

**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO**  
**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**INSTITUTO DE BIOLOGIA**  
**DEPARTAMENTO DE ZOOLOGIA E GENÉTICA**  
**Texto Didático**  
**agosto2008**  
**Dr<sup>a</sup> Judith Viégas, Prof<sup>a</sup> Adjunta**

**BIOLOGIA CELULAR – Parte I**

**ESTRUTURA CROMOSSÔMICA EM INTERFASE E DIVISÃO MITÓTICA**

**O gene é uma seqüência de nucleotídeos em uma molécula de DNA, que atua como unidade funcional para a produção de uma proteína, de um RNA estrutural ou de uma molécula de RNA catalítico ou regulador (Alberts et al., 2008).**

Em eucariotes, várias seqüências codificantes (genes para proteínas) e não codificantes (genes para tRNAs, rRNAs, miRNAs, snRNAs, etc...) estão localizadas nas moléculas de DNA que compõem seus genomas<sup>1</sup>. O material genético de eucariotes está distribuído em várias e longas moléculas lineares de DNA, que originam os cromossomos. O número, morfologia e tamanho dos cromossomos são característicos de cada espécie. Por exemplo, no núcleo de suas células somáticas, o ser humano tem 46 cromossomos e o milho, 20 cromossomos. O DNA, contido nos cromossomos de uma destas células somáticas de humano, extraído e enfileirado, medirá cerca de 2 metros e de uma célula de milho medirá 4,5 metros. *Trillium erectum* (lírio-do-bosque), com 10 cromossomos, possui 68 metros de DNA no núcleo de cada célula somática. O DNA humano fica contido em um núcleo de 6 µm (6 micrômetros<sup>2</sup>), o que equivale geometricamente a empacotar 40 km de fio extremamente fino em uma bola de tênis! O complexo processo de empacotamento do DNA é acompanhado por uma série de proteínas especializadas que se ligam a ele, gerando enrolamentos e alças, as quais providenciam níveis de organização altamente especializados, impedindo que o DNA fique emaranhado e possibilitando que esteja disponível para transcrição, replicação e reparo e que, durante a divisão celular, possa se movimentar sem se quebrar.

[ <sup>1</sup>genoma é o complemento total de material genético de um conjunto cromossômico. Também se denomina de genoma ao conjunto haplóide de cromossomos. ]

[ <sup>2</sup>µm = micrômetro ou micron é a milionésima parte do metro ou 1x10<sup>-6</sup>, equivalendo à milésima parte do milímetro. O plural de micron é micra. ]

O DNA nuclear de eucariotes combina-se com uma série de outras moléculas formando a **cromatina**. No núcleo interfásico, a cromatina apresenta-se difusa ou distendida, sendo constituída por filamentos irregularmente dispostos e ligados, por suas extremidades (**telômeros**), a pontos específicos do envelope nuclear. Cada filamento de cromatina do núcleo interfásico corresponde a um cromossomo da célula em divisão. Na célula em divisão, consegue-se individualizar os cromossomos, pois a cromatina sofre um processo progressivo de condensação e disposição ao redor de um esqueleto protéico. O DNA de um cromossomo eucarioto deve ter 3 seqüências essenciais para que possa replicar e então segregar em mitose. Cada cromossomo deve ter várias origens de replicação, um centrômero e dois telômeros (Figura 1).

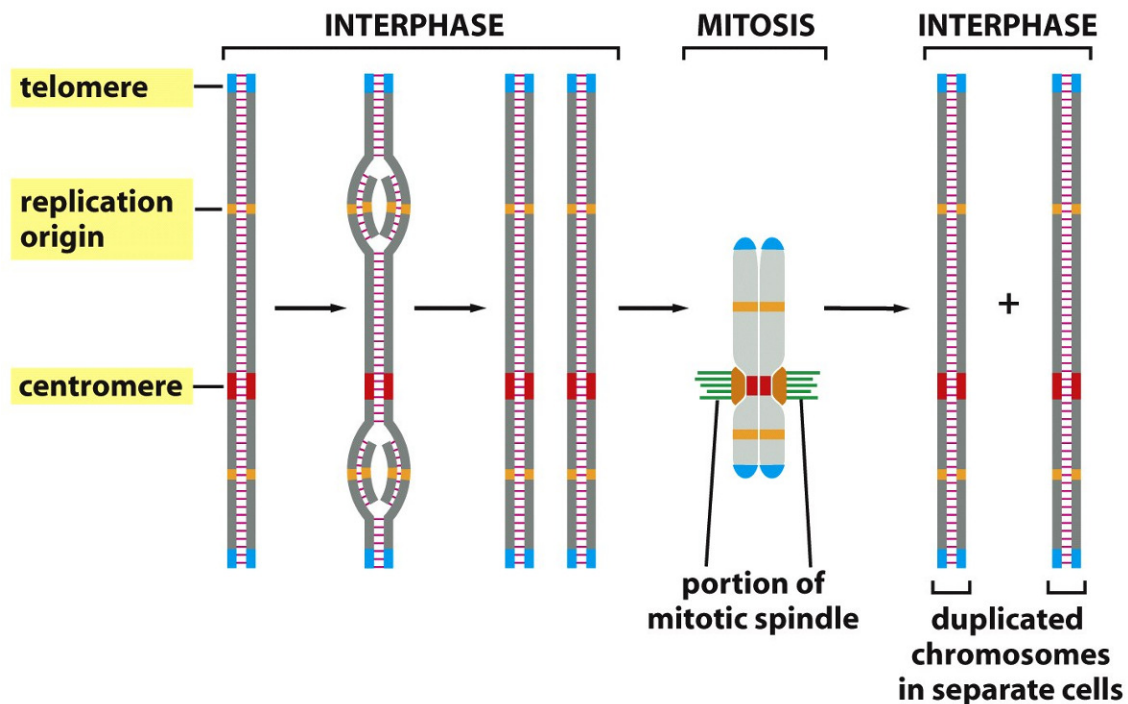


Figure 4-21 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

**Figura 1:** Esquema das 3 seqüências de DNA necessárias para produzir um cromossomo eucarioto que possa replicar e então segregar em mitose. Cada cromossomo deve ter várias origens de replicação, um centrômero e dois telômeros (Alberts et al, 2008).

## 1. COMPONENTES MOLECULARES DA CROMATINA

Além do **DNA**, que é o único elemento estável do material cromossômico - é conservado de uma geração celular para outra - ocorrem, entre os componentes majoritários, as **proteínas histônicas** (proteínas básicas), as **proteínas não histônicas** (geralmente proteínas ácidas) e o **RNA**. A quantidade de DNA e histonas é proporcional (1:1), sendo que a quantidade de proteínas não histônicas e de RNA é altamente variável. Nos cromossomos metafásicos ocorre, aproximadamente, uma quantidade duas vezes maior de proteínas do que na cromatina interfásica.

### 1.1. DNA

Nos procaríotes, cada seqüência de DNA (gene ou porção de DNA) é única. Nos eucariotes, encontram-se porções da molécula de DNA de seqüência única e porções de seqüências repetidas.

- **DNA de Seqüência Única:** 1 cópia do gene por genoma. Na maioria das plantas, somente 20 a 40% do genoma consiste em seqüência única de DNA, que são os **genes estruturais** (ou genes produtores), aqueles responsáveis pela codificação de proteínas com diversas funções: fisiológicas como a hemoglobina, nutritivas como a ovalbumina, estruturais como a fibroína e a miosina, enzimáticas como a tirosinase, a peroxidase, a fosfoglucomutase, etc... Estes genes, em eucariotes, possuem exons e introns em números variáveis.
- **DNA de Seqüências Medianamente Repetidas:**  $10^1$  a  $10^5$  cópias por genoma. São famílias de **genes codificantes**, como os genes para rRNA, tRNA e histonas, assim como **seqüências funcionais não codificantes**, como as repetições teloméricas, encontradas nos **telômeros** dos cromossomos.

- **DNA de Sequências Altamente Repetidas:**  $10^5$  ou mais cópias por genoma. Geralmente são seqüências muito curtas, compostas de poucos nucleotídeos, que se localizam, preferencialmente, nas regiões próximas ao centrômero (**heterocromatina centromérica**), ocorrem em um número variável de repetições em tandem (**DNA minissatélite**) ou formam seqüências transponíveis<sup>3</sup> (**transposons**<sup>4</sup>).

[<sup>3</sup>Seqüências transponíveis são pedaços móveis de DNA, os quais vêm se auto-inserindo nos cromossomos durante a evolução dos organismos.]

[<sup>4</sup>Transposon é um elemento móvel de DNA, flanqueado por seqüências repetitivas terminais e que codifica genes com função de transposição.]

Alguns autores classificam as seqüências medianamente repetidas e as altamente repetidas em uma única categoria, a de DNA presente em mais de uma cópia, e colocam o **DNA espaçador** (seqüências de DNA não codificante, encontrado entre genes) como uma terceira classe de DNA.

## 1.2.HISTONAS

São proteínas cromossômicas especiais, relativamente pequenas (102 a 135 aminoácidos), encontradas apenas em células eucariotes. São cinco tipos principais de proteínas básicas denominadas de H1 (ricas em lisina), H2A e H2B (moderadamente ricas em lisina) e H3 e H4 (ricas em arginina). As histonas H2A, H2B, H3 e H4 são chamadas de histonas nucleossômicas. Duas unidades de cada uma destas histonas nucleossômicas (H2A, H2B, H3 e H4) reúnem-se formando um octâmero. O DNA enrola-se ao redor do octâmero de histonas, ligando-se ao mesmo, assim é formada uma estrutura denominada de nucleossomo<sup>5</sup>.

[<sup>5</sup>O nucleossomo é a unidade básica estrutural da cromatina.]

As histonas são proteínas evolutivamente constantes, ou seja, elas mantiveram-se evolutivamente conservadas, isto quer dizer que suas estruturas modificaram pouco ao longo da evolução das espécies. Esta constância evolutiva é evidenciada pelo fato de que organismos tão distantes como o boi, a carpa e a ervilha possuem histonas praticamente idênticas.

## 1.3. PROTEÍNAS NÃO HISTÔNICAS

A quantidade das proteínas não histônicas da cromatina é extremamente variável, tendo sido relatada a ocorrência de mais de 1.000 tipos diferentes. Existe, portanto, uma série de diferentes tipos de proteínas não histônicas, que ocorrem em pequenas quantidades cada uma e que podem ser diferentes em diversos tecidos de um mesmo organismo; isto dificulta a extração e o estudo detalhado das mesmas. Elas atuam em uma série de processos, entre os quais a replicação do DNA, a regulação da expressão gênica e a condensação cromossômica. De modo geral, tem sido observado que as proteínas não histônicas:

- têm seu aumento relacionado à alta atividade metabólica da célula;
- estão em maior concentração na cromatina ativa (eucromatina);
- ocorrem em menor concentração na cromatina inativa (heterocromatina);
- ocorrem mais em células em divisão do que em células que não estão se dividindo.

Estudos realizados com grande parte destas proteínas mostraram que elas parecem ter um papel enzimático, estrutural ou cinético. Entre as proteínas não histônicas já identificadas encontram-se proteínas contráteis; proteínas cinetocóricas; proteínas com função enzimática, sendo que a proteína encontrada em maior quantidade é a topoisomerase II, enzima que atua na replicação do DNA.

## 1.4. RNA

Assim como as proteínas não histônicas, a concentração do RNA nos cromossomos dependerá do momento em que os mesmos forem analisados. Geralmente é RNA que está sendo transcrito ou moléculas de RNA necessárias para o processo de expressão gênica, etc...

## 2. ESTRUTURA DA CROMATINA INTERFÁSICA

Ao conseguir um desenrolamento máximo da cromatina interfásica, observa-se, ao microscópio eletrônico, uma configuração semelhante a um "colar de contas". A este filamento básico da cromatina foi dado o nome de nucleofilamento.

O **nucleofilamento** é composto pela dupla hélice de DNA ("fio do colar"), que de espaço em espaço enrola-se ao redor de um octâmero de histonas ("conta do colar"), e constitui o filamento básico da cromatina. O octâmero de histonas com DNA enrolado ao seu redor é denominado de **nucleossomo** e constitui a unidade estrutural básica da cromatina (Figura 2).

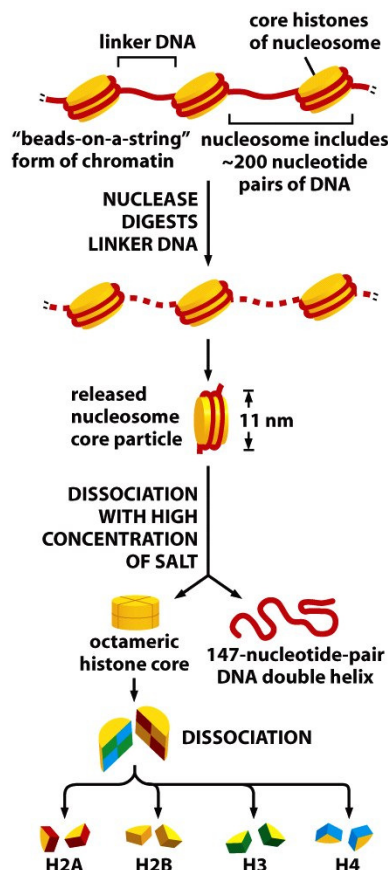


Figure 4-23 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

**Figura 2:** Modelo da estrutura básica da cromatina: formação dos nucleossomos (Alberts et al., 2008).

A parte central do nucleossomo é o octâmero das histonas H2A, H2B, H3 e H4 (duas moléculas de cada), ao redor do qual um segmento de DNA (com aproximadamente 146 a 166 pares de bases) dá cerca de 1,7 voltas. O segmento de DNA livre entre dois octâmeros de histonas tem cerca de 80 pares de bases (pb) e é chamado de **DNA de ligação**, sendo que desta maneira, um nucleossomo contém, em seu total, cerca de 200 pb. A esse complexo, associa-se, externamente, uma molécula da histona H1, no local onde ocorre a "entrada" e a "saída" do DNA no nucleossomo, prendendo o DNA, formando a subunidade conhecida por **cromatossomo**.

Os nucleossomos associados lado a lado, separados pelo DNA de ligação, originam o "colar de contas" e correspondem ao primeiro nível de condensação da cromatina, formando

uma fibra de 11 nm. O empacotamento do DNA nesta fibra de cromatina de 11 nm encurta o seu comprimento em aproximadamente 6 vezes.

O segundo nível de compactação da cromatina é representado pela fibra de 30 nm, formada pelo enrolamento da fibra de 10 nm ("colar de contas") em uma estrutura helicoidal, levando a um novo encurtamento do comprimento do DNA, desta vez da ordem de 40 vezes. Este solenóide possui 6 nucleossomos dispostos radialmente em cada volta, estando as moléculas de histona H1 posicionadas para o interior da fibra e interagindo entre si. As histonas H1 são essenciais para a montagem e estabilização da estrutura desta fibra de 30 nm. **A fibra de 30 nm é o constituinte básico da cromatina interfásica, assim como dos cromossomos mitóticos e meióticos (Figura 3).**

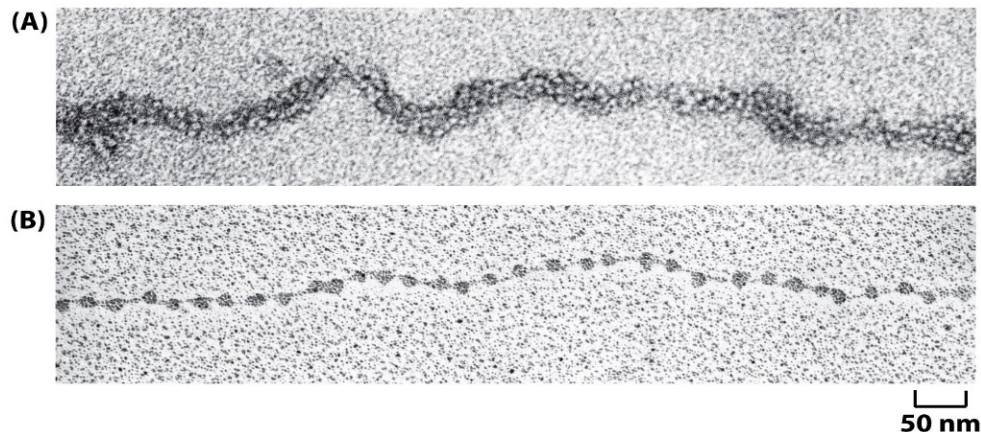


Figure 4-22 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

**Figura 3:** Fotografias em microscópio eletrônico da cromatina interfásica: (A) fibra de 30 nm, (B) fibra de 10 nm = “colar de contas” (Alberts et al., 2008).

Na célula em interfase, período do ciclo celular durante o qual os genes são transcritos e ocorre a replicação do DNA, a maioria da cromatina está relativamente descondensada e distribuída pelo núcleo, é chamada de **eucromatina**. A maioria da eucromatina dos núcleos interfásicos parece estar na forma de fibra de 30 nm, organizada em grandes alças de aproximadamente 50 a 100 kb (kb = quilobase = 1.000 pb) de DNA. Cerca de 10% da eucromatina contém genes que estão sendo transcritos e está em estado mais descondensado, ou seja, na forma de fibra de 10 nm, para permitir o processo de síntese de RNA (transcrição).

Também, na célula interfásica, cerca de 10% da cromatina está em estado altamente condensado, é a chamada **heterocromatina**. A heterocromatina é geneticamente inativa e contém seqüências de DNA altamente repetitivo, tais como as seqüências de DNA presentes em centrômeros e telômeros.

### 3. ESTRUTURA DO CROMOSSOMO METAFÁSICO

Cada cromossomo eucariótico contém uma única e longa molécula de DNA altamente compactada. Na interfase, o enrolamento do DNA sobre os octâmeros de histonas ocasiona um encurtamento da molécula de DNA da ordem de 6 a 7 vezes e a organização helicoidal deste nucleofilamento encurta a molécula do DNA em cerca de 40 vezes. A condensação que ocorre durante a divisão celular, que resulta na formação do cromossomo metafásico, compacta a molécula de DNA em cerca de 10.000 vezes (Figuras 4 e 5). Esta cromatina altamente condensada não serve mais como molde para a duplicação nem para a transcrição, processos que não ocorrem durante a divisão celular.

O processo de condensação cromossômica, que acontece a partir do início da divisão celular, encontra o seu máximo na fase de metáfase e é essencial para que ocorra a segregação dos cromossomos para as células filhas sem que ocorra quebra das moléculas de DNA.

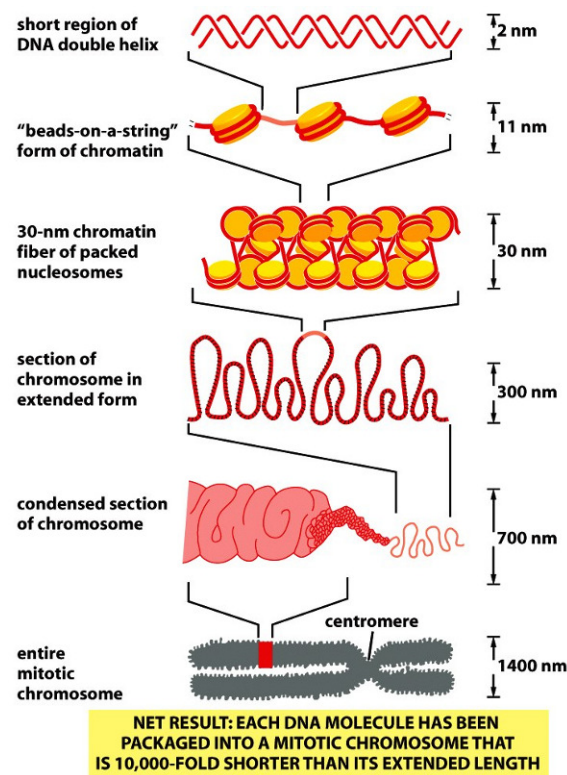
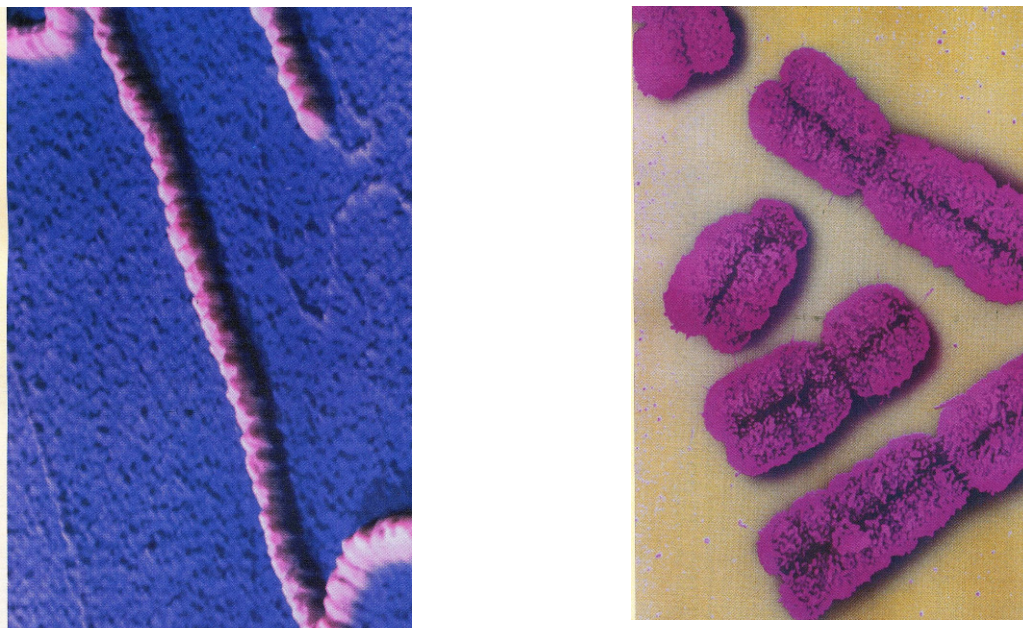


Figure 4-72 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

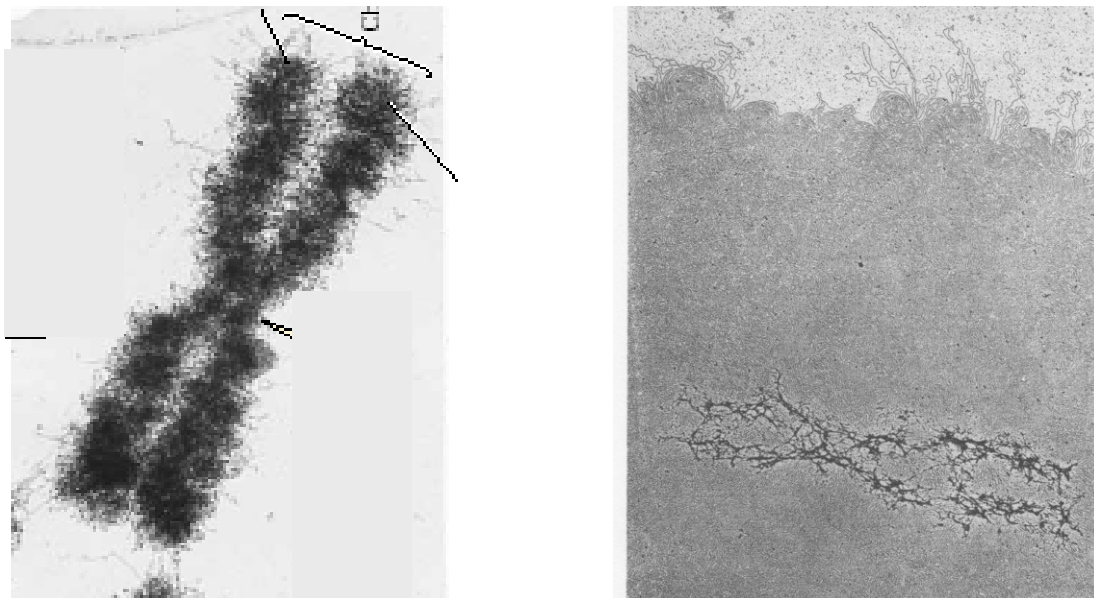
**Figura 4:** Esquema da estrutura cromossômica desde a interfase até a metáfase mitótica, segundo Alberts et al., 2008



**Figura 6:** Cromatina interfásica de 30nm, (esquerda); Cromossomo metafásico (direita). Fotografias feitas em microscópio eletrônico de varredura, coloração computadorizada.

O processo de condensação cromossômica inicia pela formação de um **esqueleto protéico metafásico**, formado por proteínas não histônicas, ao redor do qual se ligam alças de cromatina (Figura 6). Quando as histonas são removidas de um cromossomo metafásico, forma-se um halo de DNA não compactado. Este halo consiste de muitas alças de DNA ligadas à estrutura protéica. Cada alça de DNA que se ligou ao esqueleto protéico sai do mesmo e retorna ao ponto adjacente, constituindo um domínio independente, com uma extensão de cerca de 35 a 100 kb de DNA. O esqueleto protéico é constituído morfologicamente de duas partes, cada uma correspondente a uma cromátide irmã, presas pelas suas regiões centroméricas. Ao redor de cada cromátide irmã do esqueleto metafásico liga-se uma única cadeia filha de DNA, originada pela replicação da molécula de DNA do filamento de cromatina. As alças que se ligam e saem do esqueleto protéico de cada cromátide são desta única dupla hélice de DNA de cada uma.

Este conjunto - esqueleto metafásico + alças de cromatina - ainda sofre mais uma espiralização formando a chamada **macro-espiral**, levando assim o cromossomo à sua condensação máxima. É provável que a formação da macro-espiral seja devida a interações de outras proteínas ácidas com o esqueleto protéico.



**Figura 6:** Cromossomo metafásico, à esquerda (Purves et al., 2004) ); Cromossomo metafásico sem histonas, mostrando esqueleto de proteínas ácidas e nuvem formada pelas 2 cadeias de DNA-uma de cada cromátide irmã (direita). Fotografias feitas em microscópio eletrônico.

#### 4. NÚMERO E MORFOLOGIA DOS CROMOSSOMOS

Os cromossomos interfásicos, tanto de animais como de vegetais, são indistinguíveis ao microscópio ótico, pelo fato dos filamentos de cromatina ou nucleofilamentos serem filamentos muito finos. Mas, durante a divisão celular, sofrem o processo de condensação cromossômica e tornam-se individualizados, apresentando-se como cromossomos.

Na fase de metáfase mitótica (ver item 5.2.3), os cromossomos estão em seu estágio de maior condensação, o envelope nuclear está rompido e, com técnicas especiais, pode-se despolimerizar os microtúbulos do fuso e espalhar os cromossomos pelo citoplasma celular, podendo então realizar a contagem do número e observar a morfologia dos cromossomos (Figura 7).

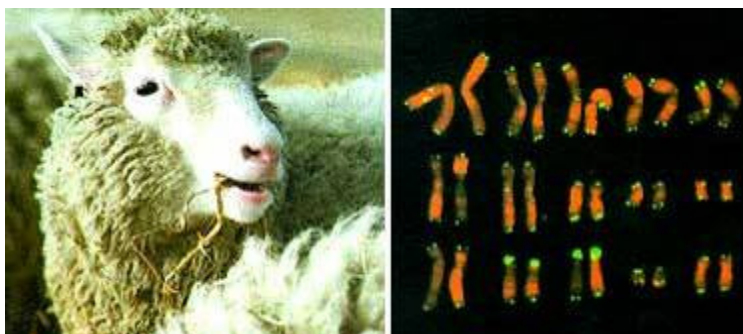
O milho e o aspargo têm 20 cromossomos, os cães possuem 78 cromossomos e os humanos apresentam 46 cromossomos em suas células somáticas, com exceção de células de alguns tecidos especiais. **O número cromossômico das células somáticas é denominado de  $2n$ .** Nos gametas dos organismos, citados acima, iremos encontrar 10, 39 e 23 cromossomos, respectivamente, devido à redução ocorrida durante a meiose. **O número cromossômico das células gaméticas é denominado de  $n$ .**

Em plantas e animais, cada gameta possui apenas um genoma  $n$ , ou seja, apenas um representante de cada cromossomo do conjunto  $2n$  encontrado nas células somáticas. Já suas células somáticas possuem o dobro do número de cromossomos das células gaméticas. Os cromossomos estão aos pares e cada par é constituído de um cromossomo de origem materna e um de origem paterna. Os membros de um par cromossômico são denominados de cromossomos homólogos. **Cromossomos homólogos são aqueles que possuem o mesmo tamanho, a mesma morfologia e o mesmo conteúdo de genes, sendo um de origem materna e outro de origem paterna.** Desta maneira, podemos dizer que os organismos anteriormente citados possuem 10, 39 e 23 pares de cromossomos homólogos em suas células somáticas, respectivamente.

Os cromossomos têm morfologia diversa de acordo, com a posição da **constricção primária** ou **centrômero**: cromossomo **metacêntrico** possui centrômero mediano (o cromossomo possui, então, dois braços de mesmo tamanho); **submetacêntrico** possui centrômero deslocado do centro do cromossomo (o cromossomo possui um braço longo e um braço curto); **acrocêntrico**, com centrômero quase apical (o cromossomo possui um braço curto muito pequeno) e **telocêntrico** tem o centrômero localizado na região telomérica (este cromossomo possui apenas um braço).

Um ou poucos pares de cromossomos podem apresentar uma **constricção secundária**, que consiste em uma região com condensação praticamente nula se comparada ao restante do cromossomo. A região cromossômica situada logo após esta constricção secundária é denominada de **satélite** (por ser, normalmente, pequena e parecer destacada do restante do cromossomo). Esta constricção secundária é, geralmente, mas nem sempre, a responsável pela formação de rRNA. Devido a isto, é também denominada de **RON (região organizadora de nucléolo)** ou **NOR (nucleolar organization region)**.

Os cromossomos lineares de eucariotos têm suas extremidades “seladas” por uma região especializada, o **telômero**, que dá estabilidade aos cromossomos e impede que os mesmos se fusionem uns aos outros (Figura 8). São regiões constituídas de várias repetições (de 250 a 1.500 repetições) em *tandem* de seqüências de 6 a 12 nucleotídeos ricas em G (5'-TTAGGG-3' em vertebrados; 5'-TGTGGG-3' em leveduras, 5'-TTGGGG-3' em protozoários), que vão sendo perdidas de acordo com o envelhecimento celular. Na replicação/duplicação do DNA, elas sofrem um processo especial de replicação, feito pela enzima **telomerase**.



**Figura 8:**

**Direita:** Cariótipo de ovelha, com marcação dos telômeros, em verde.

**Esquerda:** Dolly, o primeiro mamífero clonado envelheceu e morreu precocemente, porque foi clonado de célula adulta, cujos cromossomos possuíam telômeros curtos.

Nos animais e em poucos vegetais, as células masculinas e femininas diferenciam-se pela presença de um par de cromossomos não homólogos, os **cromossomos sexuais ou**

**alossomos.** Os outros pares cromossômicos são idênticos em ambos os sexos e são chamados de **cromossomos autossômicos ou autossomos.**

Em vertebrados, em alguns insetos e em poucas plantas dióicas (lúpulo, cânhamo, maravilha), os indivíduos do sexo feminino têm dois cromossomos de mesmo tamanho e morfologia chamados de cromossomos X e os indivíduos do sexo masculino possuem um cromossomo X, idêntico ao da fêmea, e um cromossomo de tamanho e morfologia diferentes denominado de Y (**sistema XX-XY**). Em muitos insetos, as fêmeas têm dois cromossomos X e o macho apenas um cromossomo X, possuindo número ímpar de cromossomos (**sistema XX-X0**). Muitas aves, alguns peixes e muitos insetos possuem o **sistema ZW-ZZ**, em que o macho é que possui os dois cromossomos sexuais idênticos e homólogos, denominados de cromossomos Z, e a fêmea possui um cromossomo Z e um W, que não são homólogos.

Nos dois primeiros sistemas (XX-XY e XX-X0), as fêmeas são **homogaméticas** (produzem gametas de um só tipo com relação aos cromossomos sexuais – gametas X) e os machos são **heterogaméticos** (produzem dois tipos de gametas: gametas X e gametas Y ou gametas X e gametas 0, respectivamente). Nestes dois tipos de sistema, o macho é que determina o sexo dos descendentes. No caso do sistema ZW-ZZ, a relação é invertida: as fêmeas são heterogaméticas e os machos, homogaméticos, sendo que as fêmeas é que determinam o sexo dos descendentes, pois formam dois tipos de gametas (gametas Z e gametas W), enquanto os machos produzem apenas um tipo (gametas W).

A descrição da constituição cromossômica característica de uma espécie - número, tamanho e morfologia dos cromossomos - é denominada de **cariótipo**. A análise do cariótipo na espécie humana e, principalmente, em animais domésticos tem sido muito utilizada para correlacionar determinadas patologias com alterações cromossômicas numéricas ou estruturais. Em animais, de modo geral, e em vegetais tem sido utilizada principalmente para estudos citotaxonomicos e evolutivos. O cariótipo pode ser representado pelo **cariograma** (cromossomos metafásicos, fotografados ou desenhados, arranjados aos pares e ordenados por tamanho e morfologia, conforme a Figura 8) ou pelo **idiograma** (representação esquemática do conjunto haplóide, baseada em valores médios de posição de centrômero e tamanho cromossômico). Os cromossomos não homólogos de uma espécie podem ser bastante semelhantes em morfologia e tamanho (mas não em conteúdo de genes) formando o que se denomina de **cariótipo simétrico** ou ser muito diferentes, formando um **cariótipo assimétrico**. As variações cariotípicas podem ser bastante grandes, principalmente entre diferentes gêneros:

→ Número cromossômico somático:

- *Parascaris equorum* (nematelminto):  $2n = 2$ , somente no ovo
- *Myrmecia pilosula* (formiga):  $2n = 2$
- *Chalcolepidius zonatus* (coleóptero):  $2n = 4$
- *Ophioglossum reticulatum* (pteridófita, samambaia):  $2n = 1.260$

→ Tamanho cromossômico somático:

- Fungos e alguns organismos superiores: cromossomos com 0,5 micrômetros
- *Trillium* (monocotiledônea): cromossomos com 36 micrômetros
- Tamanho cromossômico médio da maioria das espécies varia de 5 a 6 micrômetros

## 5. CICLO CELULAR

As células, durante seu período de vida, denominado de **ciclo celular**, passam por uma seqüência de eventos em que ocorrem dois processos fisiológicos e morfológicos específicos, que são a interfase (I) e a divisão celular ou mitose (M).

Durante a **interfase** ocorre a replicação do DNA (= duplicação dos cromossomos), que é geralmente antecedida e seguida por períodos de grande síntese metabólica. Durante a **mitose**

ocorre o processo de divisão celular, habitualmente seguido pela citocinese (= separação das células filhas).

Estes processos têm durações diversas de acordo com a célula e/ou organismo estudado. Incluindo a divisão mitótica, células humanas cultivadas levam 12 a 24 horas para completar um ciclo celular, do qual a mitose ocupa apenas 1 hora. Em vegetais, uma célula de ponta de raiz de cebola tem um ciclo celular de 13 a 33 horas, das quais a divisão mitótica ocupa de 1 a 3 horas. O ciclo celular da *Vicia faba* é de cerca de 13 a 20 horas, das quais apenas 10% é dispendido pela mitose, sendo os períodos G1, S e G2 da interfase responsáveis por 25%, 40% e 25% , respectivamente.

A duração do ciclo mitótico varia com a espécie (ver tabelas apêndice). Em plantas, o nível de ploidia parece não ter efeito, isto é, uma planta cujo número cromossômico foi duplicado, espontânea ou artificialmente, apresentará um ciclo mitótico com mesma duração independente da duplicação cromossômica. No entanto, a duração da mitose parece estar ligada ao conteúdo de DNA: quanto maior o conteúdo de DNA, mais longa a divisão mitótica.

### 5.1. INTERFASE

Durante o processo de interfase do ciclo celular não ocorre divisão celular.

#### A interfase não faz parte da divisão celular.

Durante a interfase, a cromatina está descondensada, ou seja, cada filamento de cromatina (que formará um cromossomo durante a divisão celular) é uma longa fibra com partes de 30 nm e outras 10 nm de espessura, conforme estiverem inativas ou ativas, respectivamente. A interfase é caracterizada por uma grande atividade metabólica. É durante a interfase que ocorre a replicação do DNA, conseqüentemente acontece a duplicação dos cromossomos, e a síntese de RNA (transcrição). Durante a divisão celular, devido à condensação cromossômica, os processos de replicação e transcrição ficam praticamente suspensos.

A interfase compreende três períodos, conhecidos como G1, S e G2 (G = gap = intervalo).

\* **G1 ou Período G1 ou Intervalo 1:** é o período que ocorre logo após a formação das duas células filhas originadas de uma divisão celular. É um período de crescimento celular (aumento do tamanho da célula) e de rearranjo e aumento em número de organelas, membranas internas e outros componentes citoplasmáticos, além de ativa síntese de RNAs e de proteínas. Durante este período, cada “cromossomo” apresenta-se constituído por apenas **uma cromátide** (= um filamento de cromatina = uma molécula DNA). É, de modo geral, o período de tempo de duração mais variável, geralmente, dura várias horas na maioria das células animais e vegetais. No entanto, este período é suprimido em células embrionárias iniciais, em que as divisões se sucedem rapidamente, mas não há crescimento celular, apenas aumento do número de células.

\* **S ou Período S ou Síntese de DNA:** é neste período que ocorre a replicação do DNA e, em nível citoplasmático, a síntese de histonas e de outras proteínas, as quais irão se associar ao DNA, tudo isto resultando na duplicação cromossômica. Esta fase dura, em média, de 7 a 8 horas. Ao final da fase S, cada cromossomo apresenta-se duplicado em **duas cromátides irmãs, as quais estão presas pelos seus respectivos centrômeros** (= dois filamentos de cromatina = duas moléculas de DNA). Os centrômeros são seqüências específicas do DNA, cuja função é manter unidas as cromátides irmãs e proporcionar os locais para a formação dos **cinetocoros**<sup>6</sup>. Também, nesta fase, ocorre a duplicação do **centrossomo**<sup>7</sup>. Em células animais, um par de centríolos localiza-se na região central de cada centrossomo e duplica-se junto com o centrossomo. A maioria das células vegetais não possui centríolos em seus centrossomos.

[<sup>6</sup> Os cinetocoros são complexos protéicos, de estrutura tri-laminar, especializados para ligação dos microtúbulos do fuso, localizados na região centromérica de cada cromátide.]

[<sup>7</sup> O centrossomo é constituído de uma matriz, que contém um conjunto de proteínas centrossomo-específicas, que formam uma nuvem de bordos pouco definidos, situa-se do lado externo do núcleo, e é o principal centro organizador de microtúbulos (MTOC = *microtubule organizing center*).]

- **G2 ou Período G2 ou Intervalo 2:** este é o período em que a célula prepara-se para a divisão celular, começam a formar-se as proteínas necessárias para a divisão, tais como as tubulinas formadoras dos microtúbulos do fuso e as proteínas não histônicas do esqueleto metafásico entre outras. Este período dura, em média, de 2 a 4 horas, sendo maior em células tumorais. Os cromossomos estão formados pelas **duas cromátides irmãs** presas entre si por quase todo seu comprimento, por uma série de proteínas chamadas de **coesinas**, principalmente na área do centrômero. Nas células vegetais, os microtúbulos, que estavam posicionados em toda a extensão celular, adjacentes à membrana plasmática, iniciam a formar a banda pré-profásica, em forma de anel, ao redor do núcleo, na altura da placa equatorial da célula.

- **Células com ciclo celular diferenciado:**

- Algumas células, normalmente, não se dividem apesar de poder fazê-lo em resposta a estímulos específicos, como as células hepáticas, renais e pancreáticas. Outras perdem permanentemente ou quase permanentemente a capacidade reprodutiva e, normalmente, não mais se dividem como as células esqueléticas e os neurônios. Estes dois tipos de célula podem permanecer, por longos períodos, no período G1, que é então chamado de **período G0 (G zero)**.
- Células com vida curta, como os eritrócitos anucleados de mamíferos, têm de ser substituídas constantemente, mas elas próprias não conseguem fazê-lo e são substituídas pelas **células-tronco**, que têm pluripotencialidade de diferenciar-se em qualquer outro tipo de célula, assim como, constantemente, de formar novas células-tronco.

## 5.2. MITOSE (figuras e fotos em anexo)

Os cromossomos de eucariotes diferem dos de procariotes por serem muito longos (cromossomo humano médio é, ao menos, 25 vezes maior que o de *E. coli*); serem lineares; ocorrer mais de um cromossomo por núcleo de célula somática; serem formados por DNA complexado com histonas e outras proteínas. Estas e outras diferenças fazem com que haja necessidade da existência de um mecanismo eficiente de replicação e reparo do DNA, assim como de duplicação cromossômica e de divisão celular.

As divisões celulares mitóticas em animais e vegetais têm como objetivo:

1. **o aumento do número de células e conseqüente crescimento do organismo;**
2. **a reposição de células descartadas;**
3. **a manutenção do número cromossômico da espécie.**

Assim, através da **mitose**, uma célula mãe origina duas células filhas, que possuem o mesmo número de cromossomos que a célula que lhes deu origem (= célula mãe).

Cada célula mãe  $2n$  resulta em duas células filhas, também  $2n$ , as quais mantêm tanto o número cromossômico como a informação genética, que lhes foi transmitida pela célula mãe.

Para que qualquer célula venha a se dividir, há necessidade do acontecimento de quatro eventos importantes, que se constituem na ocorrência:

1º) de um  **sinal reprodutivo**, que pode ser interno ou externo à célula, que dá início aos eventos da divisão celular. Os sinais extracelulares como o meio nutritivo e a compatibilidade sexual são importantes em fungos e leveduras. O tamanho celular e as substâncias produzidas pelo organismo ou pelas células, como as ciclinas e quinases (fatores promotores da maturação) ou os fatores de crescimento (interleucinas, eritropoetinas, etc..) ou os hormônios, também funcionam como sinais reprodutivos;

2º) da  **replicação** do DNA, assim como de outros componentes celulares vitais, de maneira que as duas novas células filhas sejam idênticas e tenham todas as funções celulares;

3º) da distribuição do DNA replicado para cada célula filha, através do processo denominado de **segregação**;

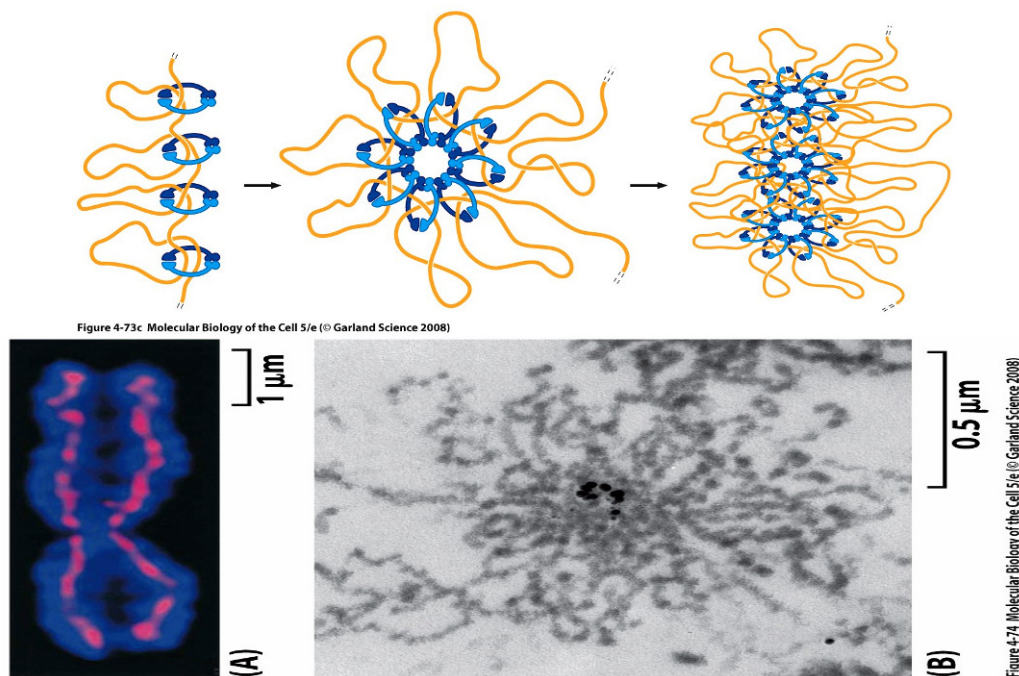
4º) da adição de material novo à membrana plasmática (e à parede celular, nos organismos que a possuem), para que as duas células filhas fiquem separadas, através do processo chamado de **citocinese**.

Aparentemente, a mitose é uma seqüência simples, antes da qual cada cromossomo duplica para originar uma estrutura com dois filamentos, cujas unidades componentes são idênticas em organização morfológica e genética e são chamadas cromátides irmãs. Esta duplicação cromossômica é acurada e baseia-se nas propriedades de replicação do DNA. Assim, a mitose constitui-se em um mecanismo que assegura a distribuição qualitativa e quantitativa exata dos produtos desta duplicação cromossômica/gênica para as células filhas. Esta distribuição é obtida através de uma seqüência regular e precisa de movimentos cromossômicos, que resultam na separação das cromátides irmãs, as quais se dirigem para pólos opostos da célula.

A divisão mitótica é dividida em **prófase**, **pró-metáfase**, **metáfase**, **anáfase** e **telófase**. Atualmente, alguns autores subdividem a anáfase em duas subfases: **anáfase A** e **anáfase B**. Também, a **citocinese**, que é a divisão citoplasmática, é considerada por alguns pesquisadores como pertencente à fase final da telófase e por outros como uma fase distinta e que ocorre logo após a divisão mitótica.

### 5.2.1. PRÓFASE

Quando inicia o processo de condensação dos filamentos de cromatina, que já estão duplicados em cromátides irmãs, tem início a prófase mitótica. Este processo de condensação é auxiliado por proteínas denominadas de **condensinas**, que vão colocando juntas várias alças de cromatina (Figura 10).



**Figura 10:** Superior: Esquemas de ação da condensina; Inferior A: Cromossomo metafásico com coloração fluorescente vermelha para condensinas; Inferior B: Fotografia microscópio eletrônico, de corte transversal de cromossomo metafásico, mostrando as condensinas (pontos pretos) e as alças de cromatina (Alberts et al. 2008).

Ao microscópio ótico, observam-se os cromossomos como emaranhados filamentos de cromatina longos e finos, de contorno irregular e difuso (como se estivessem recobertos de pêlos ou fios delgados = alças de cromatina). Estes filamentos estão compostos de duas cromátides irmãs, as quais permanecem juntas devido à ação das moléculas de **coesinas**.

Cada par de **centrossomos** (originados por duplicação na fase S) inicia a migração para um dos pólos da célula, afastando-se um do outro e comandando a montagem dos microtúbulos do fuso mitótico. O fuso já vai sendo formado, por fora do núcleo, enquanto os centrossomos vão migrando em direções opostas. Na célula vegetal, os microtúbulos formam uma banda pré-profásica antes de começar a rearranjar-se para formar o fuso mitótico. Na célula animal, cada centrossomo possui em seu centro um par de centríolos, posicionados entre si de maneira a formar um ângulo reto.

Durante todo o período da prófase, os cromossomos continuam o processo de condensação e o nucléolo vai diminuindo gradualmente. No final da prófase, os cromossomos já atingiram um nível bastante grande de condensação e sua aparência irregular e difusa foi gradualmente se modificando. Os cromossomos, neste período de prófase final, apresentam contorno mais liso, mas permanecem ainda com aparência de “emaranhados”.

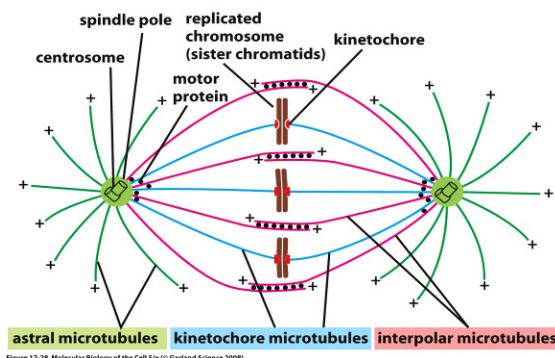
### 5.2.2. PRÓ-METÁFASE

A pró-metáfase inicia bruscamente com o rompimento do envelope nuclear, que se quebra em pequenos pedaços, os quais formam vesículas membranosas semelhantes a pedaços do retículo endoplasmático. Com o rompimento do envelope nuclear, os microtúbulos do fuso entram na região nuclear e ligam-se aos cinetocoros. Estes microtúbulos, chamados de **microtúbulos dos cinetocoros**, tensionam e direcionam os cromossomos para a região da placa metafásica no equador da célula.

### 5.2.3. METÁFASE

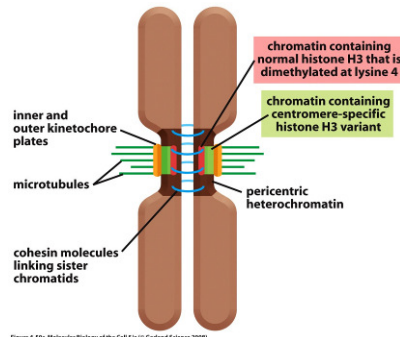
Quando os cromossomos atingiram seu grau máximo de condensação e tiveram seus centrômeros alinhados no plano equatorial da célula, formando a **placa metafásica**, diz-se que a célula está em metáfase. Quando a célula está em metáfase, já ocorreu o desaparecimento do nucléolo e houve a quebra total do envelope nuclear, cujos pedaços estão dispersos pelo citoplasma. Nesta ocasião, o fuso mitótico está plenamente formado entre os dois centrossomos. O fuso consiste de (Figura 11):

- **microtúbulos interpolares**, que irradiam do centrossomo até a placa equatorial da célula, encontrando-se e ligando-se de maneira sobreposta aos que se originam do centrossomo oposto, com o auxílio de proteínas específicas;
- **microtúbulos dos cinetocoros**, que são os que se ligam aos cromossomos;
- **microtúbulos astrais**, que irradiam do centrossomo para fora do fuso, formando uma estrutura radial chamada de **âster**.



**Figura 11:** Microtúbulos do fuso mitótico: microtúbulos astrais, microtúbulos do cinetócoro e microtúbulos interpolares

Até o final da metáfase, os centrômeros que unem as cromátides irmãs comportam-se como se não estivessem duplicados sendo funcionalmente únicos, mas morfológicamente existe um centrômero em cada cromátide irmã, os quais permanecem juntos ligados pelas coesinas. Nesta fase, as coesinas estão apenas nos centrômeros, sendo que os braços das cromátides irmãs encontram-se livres (Figura 12).



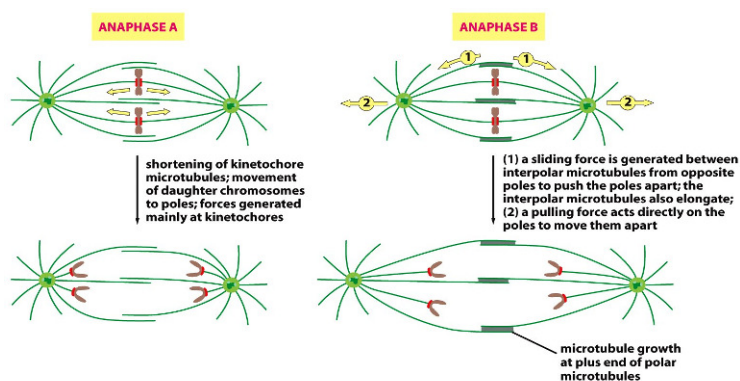
**Figura 12:** Esquema do centrômero de um cromossomo metafásico e o posicionamento do cinetócoro, assim como a ligação dos microtúbulos do fuso e a ligação entre as cromátides irmãs pelas moléculas de coesinas (Alberts et al., 2008).

A metáfase é a melhor fase para o estudo tradicional dos cromossomos de células somáticas, devido a seu alto grau de condensação, o que propicia coloração intensa e boa visualização morfológica. No entanto, para que a análise dos cromossomos mitóticos possa ser bem realizada, os cromossomos devem estar bem espalhados pela célula. Isto somente ocorre se a célula for tratada com substâncias chamadas anti-mitóticas (ex: paradiclorobenzeno, colchicina, 8-hidroxiquinoléina, etc.), que interrompem a mitose ao promover a despolimerização das tubulinas dos microtúbulos ou impedir a polimerização dos mesmos.

#### 5.2.4. ANÁFASE

Na anáfase, os centrômeros das cromátides irmãs separam-se, devido à hidrólise das coesinas feita por uma protease específica denominada de **separase**. Estando separadas uma da outra, as cromátides irmãs começam a ir para pólos opostos da célula, por ação de proteínas motoras, as dineínas citoplasmáticas, que movimentam as cromátides ao longo das fibras do fuso, as quais também vão encurtando devido à despolimerização dos microtúbulos dos cinetocoros. Este processo, de movimentação para pólos opostos da célula, por despolimerização dos microtúbulos dos cinetocoros caracteriza a chamada **anáfase A** (Fig. 13).

As cromátides irmãs, agora separadas, passam a ser chamadas de **cromossomos filhos**. Estes cromossomos filhos afastam-se ainda mais devido à ação de proteínas motoras entre os microtúbulos interpolares e à polimerização destes que, ao alongar-se, também alongam a célula em divisão. Este processo de afastamento dos cromossomos filhos por polimerização dos microtúbulos interpolares caracteriza a chamada **anáfase B** (Figura 13).



**Figura 13:**

**Anáfase A:** despolimerização dos microtúbulos dos cinetocoros;

**Anáfase B:** polimerização dos microtúbulos interpolares.

Resumindo, na anáfase ocorrem dois movimentos que afastam os cromossomos filhos e os direcionam para pólos opostos da célula mãe após a separação das cromátides irmãs:

- (1) puxamento dos cromossomos pelo encurtamento dos microtúbulos dos cinetocoros e
- (2) alongamento da célula por alongamento dos microtúbulos interpolares.

### 5.2.5. TELÓFASE

Os cromossomos filhos, situados nos pólos da célula, ainda encontram-se bastante condensados no início da telófase e agregam-se formando massas pequenas e densas. Após este processo de agregação, começam a descondensar e tomar aparência de cromatina difusa interfásica. No entanto, os cromossomos encontram-se polarizados, isto é, com os telômeros voltados para a placa equatorial e os centrômeros para os pólos opostos.

As vesículas do envelope nuclear coalescem ao redor dos cromossomos e, pela agregação dos mesmos, o envelope nuclear é refeito ao redor de cada conjunto de cromossomos filhos. As regiões organizadoras de nucléolo reiniciam a síntese dos rRNAs, os quais se juntam às proteínas ribossômicas, e ocorre o aparecimento de dois ou mais pequenos nucléolos que acabarão, posteriormente, fusionando-se em um único nucléolo. O fuso mitótico é desfeito e os microtúbulos iniciam a se posicionar ao redor dos núcleos e por todo o citoplasma das células filhas.

### 5.2.6. CITOCINESE

**A citocinese corresponde à divisão do citoplasma em duas porções, cada uma contendo um núcleo, e à formação de membrana nuclear (ou membrana nuclear + parede celular) entre as duas células filhas.**

Em células animais, o processo de separação das células filhas ocorre por constrição da membrana plasmática, devido à ação de um anel contrátil de filamentos de actina e miosina, que se forma na região equatorial da célula. Este processo é conhecido, também, como **clivagem** e o sulco formado entre as duas células filhas, pelo processo de “puxamento” da membrana plasmática para dentro, é chamado de **sulco de clivagem**.

Em células vegetais, a citocinese consiste na formação do fragmoplasto na altura da placa equatorial. O **fragmoplasto** é constituído de microtúbulos, que se dispõem de forma perpendicular aos microtúbulos do fuso mitótico, e formam discos, que crescem de dentro para fora da célula. Estes discos vão se fusionando com vesículas do complexo de Golgi até alcançarem a parede celular, separando então as células filhas. As vesículas do complexo de Golgi contêm substâncias pécticas, que formam a lamela média, e suas membranas devem contribuir para a formação das membranas plasmáticas. Após a formação da lamela média, cada célula promove a deposição de sua parede primária.

Podem ocorrer citocineses assimétricas, em que são formadas células filhas de tamanhos diferentes, com distribuições citoplasmáticas diferentes, mas os núcleos são idênticos, como é o caso da brotação em leveduras.

Quando o processo de citocinese termina, os cromossomos já estão totalmente descondensados, as duas células filhas apresentam-se como células interfásicas iniciando o seu período G1.

## 5.3. CONSEQÜÊNCIAS GENÉTICAS DA MITOSE

Todas as células, que compõem um organismo adulto, originaram-se por divisões mitóticas da célula ovo ou zigoto e, conseqüentemente, são idênticas a ela. No entanto, ao observar um indivíduo adulto, uma planta adulta, verifica-se que as células da raiz são diferentes das células das pétalas, do caule, das folhas, etc.; em um animal adulto, verifica-se também esta variação entre as células de diferentes órgãos e tecidos.

A identidade celular refere-se à identidade genômica, ou seja, todas as células possuem os mesmos cromossomos e genes que a célula que lhe deu origem e a diversidade celular refere-se ao controle da expressão gênica, isto é, a quais genes estarão ativos ou inativos nos diversos órgãos e tecidos.

Os processos de reprodução assexuada ocorrem por diversas maneiras, como por exemplo, por tubérculos em batatas, estolões em moranginhos, turriões em aspargos, rizomas em gramíneas, gemas em bananeiras, originando mitoticamente plantas idênticas à planta matriz. Os processos apomíticos (reprodução assexuada com formação de sementes) do tipo diplosporia mitótica, aposporia e embrionia adventícia, também formam plantas idênticas às plantas mãe.

A clonagem vegetal e animal, também, são processos que originam indivíduos adultos, assexuadamente, por divisões mitóticas, a partir de uma ou mais células, conforme a metodologia utilizada.

## 6. BIBLIOGRAFIA

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P. **Molecular Biology of the Cell**, Garland Science, New York, 2008, 1.268 p.

Cooper, G.M.; Hausmann, R.E. **The Cell: A Molecular Approach**, ASM Press, Washington, 2004, 713 p.

Griffiths, A.J.F., Wessler, S.R., Lewontin, R.C., Carroll, S.B. **Introduction to Genetic Analysis**, W. H. Freeman and Company, New York, 2008, 838 p.

Guerra, M. **Introdução à Citogenética Geral**, Editora Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro, 1994, 142 p.

Otto, P.G. **Genética Básica para Veterinária**, Editora Roca Ltda, São Paulo, 2006, 284 p.

Purves, W.K., Sadava, D., Orians, G.H., Heller, C. **Life: The Science of Biology**, W.H. Freeman and Company, 2004, 1121 p.

Ramalho, M.A.P., Santos, J.B., Pinto, C.A.B. **Genética na Agropecuária**, Editora UFLA, 2000, 472 p.

Raven P.H., Evert, R.F., Eichhorn, S.E. **Biologia Vegetal**, Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 1996, 728 p.

Singh, R.J. **Plant Cytogenetics**, CRC Press, Boca Raton, 2003, 463 p.

Snustad, D.P., Simmons, M.J. **Principles of Genetics**, John Wiley & Sons Inc, New York, 2003, 840 p.

## APÊNDICE

### Valores equivalentes de 1 micrômetro

<b>km</b>	<b>metro</b>	<b>dm</b>	<b>cm</b>	<b>mm</b>	<b>µm</b>	<b>nm</b>	<b>Å</b>
<b>10<sup>-9</sup></b>	<b>10<sup>-6</sup></b>	<b>10<sup>-5</sup></b>	<b>10<sup>-4</sup></b>	<b>10<sup>-3</sup></b>	<b>1</b>	<b>1.000</b>	<b>10.000</b>

<http://www.convertworld.com/pt/comprimento/Micr%C3%B4metro.html>

### Número cromossômico somático (2n) e tempo do ciclo celular (horas) de algumas espécies de plantas, modificado de Singh (2003)

Espécie	2n	Ciclo mitótico (horas)
<i>Happoplapus gracilis</i>	4	10:50
<i>Crepis capillaris</i>	6	10:75
<i>Trillium erectum</i>	10	29:00
<i>Tradescantia paludosa</i>	12	20:00
<i>Impatiens balsamina</i>	14	8:80
<i>Vicia faba</i>	12	13:00
<i>Lathyrus angulatus</i>	14	12:25
<i>Lathyrus articularis</i>	14	14:25
<i>Lathyrus hirsutus</i>	14	18:00
<i>Avena strigosa</i>	14	9:80
<i>Secale cereale</i>	14	12:75
<i>Allium cepa</i>	16	17:40
<i>Hyacinthus fistulosum</i>	16	18:80
<i>Hyacinthus orientalis</i>	16	24:00
<i>Zea mays</i>	20	10:50
<i>Melandrium álbum</i>	22	15:50
<i>Lycopersicon esculentum</i>	24	10:60
<i>Tulipa kaufmanniana</i>	24	23:00
<i>Avena strigosa</i>	28	9:90
<i>Pisum sativum</i>	28	12:00
<i>Triticum durum</i>	28	14:00
<i>Allium tuberosum</i>	32	20:60
<i>Helianthus annuus</i>	34	9:00
<i>Triticum aestivum</i>	42	10:50

### Número cromossômico somático (2n) de alguns animais, de acordo com Otto (2006)

Espécie	2n
<b>Gatos</b>	<b>38</b>
<b>Porcos</b>	<b>38</b>
<b>Coelhos</b>	<b>44</b>
<b>Chimpanzés, orangotangos e gorilas</b>	<b>48</b>
<b>Carneiros</b>	<b>54</b>
<b>Cabras</b>	<b>60</b>
<b>Bovinos</b>	<b>60</b>
<b>Cavalos</b>	<b>64</b>
<b>Cães</b>	<b>78</b>
<b>Galinhas</b>	<b>78</b>
<b>Patos</b>	<b>80</b>
<b>Perus</b>	<b>82</b>