

DIFERENCIAÇÃO DO PROTOZOÁRIO *NAEGLERIA GRUBERI*



Autora: **Vivian Lavander Mendonça**
Revisão: **Eliana Maria Beluzzo Dessen**
Diagramação: **Regina de Siqueira Bueno**



Introdução

Existe um caso muito interessante de diferenciação que ocorre em um ser unicelular: trata-se do protozoário *Naegleria gruberi*. Esse protozoário de vida livre é mais comumente encontrado em solo úmido, apresentando forma amebóide. Com essa morfologia, os indivíduos capturam bactérias, seu principal alimento, utilizando pseudópodes e se reproduzem por cissiparidade.

Em algumas situações, como estar em um ambiente líquido, *N. gruberi* se transforma em uma célula alongada e portadora de dois longos flagelos. Com essa morfologia, passa a se alimentar de nutrientes que absorve do meio e não se divide. O processo de diferenciação pode ser reproduzido em laboratório pela transferência de indivíduos amebóides cultivados em um meio com nutrientes e bactérias para um meio nutritivo líquido sem bactérias e leva cerca de 100 minutos.

Para que se formem os flagelos, a célula sintetiza cerca de 200 proteínas, como as **tubulinas**, que compõem o corpúsculo basal e os microtúbulos. Essa proteína não foi encontrada nos indivíduos amebóides, o que significa que os genes envolvidos nessa síntese estão “desligados” e na diferenciação são “ligados”.

Os fatores que desencadeiam a diferenciação em *N. gruberi* ainda não são totalmente conhecidos. Nesta atividade vamos considerar apenas alguns processos celulares que ocorrem durante a diferenciação e as principais transformações morfológicas decorrentes desses processos.

Objetivo

Esta atividade interativa tem por objetivo facilitar a compreensão do processo de diferenciação celular, pois relaciona de modo concreto eventos de estimulação ambiental, ativação gênica e alteração de forma do organismo unicelular.

Metodologia

Construção de modelos seqüenciais das etapas de diferenciação do protozoário.

Materiais

- Massa de modelar (6 cores diferentes), miçangas, vidrilhos, pedaços de barbante, etc; (Anexo 1)
- 28 Cartas de Sinais, organizadas em 4 conjuntos. Cada conjunto de oito cartas estão em envelopes denominados Etapa A, Etapa B, Etapa C e Etapa D. (Anexo 2)

Número de participantes

O ideal é realizar a atividade em grupo para que possa haver discussão dos processos entre os participantes. Sugestão: grupos de 6 pessoas

Tarefa inicial

1. Representar com massa de modelar e demais materiais fornecidos um modelo de indivíduo **amebóide** de *Naegleria gruberi* de acordo com as seguintes características:
 - o núcleo é esférico;
 - o citoplasma apresenta as organelas características de uma célula eucariótica animal – por simplificação, representar apenas os ribossomos, as mitocôndrias e as algumas vesículas;
 - no estágio amebóide o núcleo e as organelas citoplasmáticas não apresentam posições fixas na célula.
2. Compreender a situação problema apresentada na página 3 para estar em condições de dar continuidade ao restante da atividade

Situação problema

1. Supor que o indivíduo amebóide representado no modelo foi transferido para um meio de cultura líquido sem bactérias (tempo zero). A mudança do meio externo atua como um sinal que desencadeia na célula o processo de diferenciação. Nesse processo alguns genes são ativados, entre eles os envolvidos na formação dos flagelos e na mudança de forma (citoesqueleto). Analisar a figura 1 e verificar as alterações morfológicas que o protozoário sofrerá.

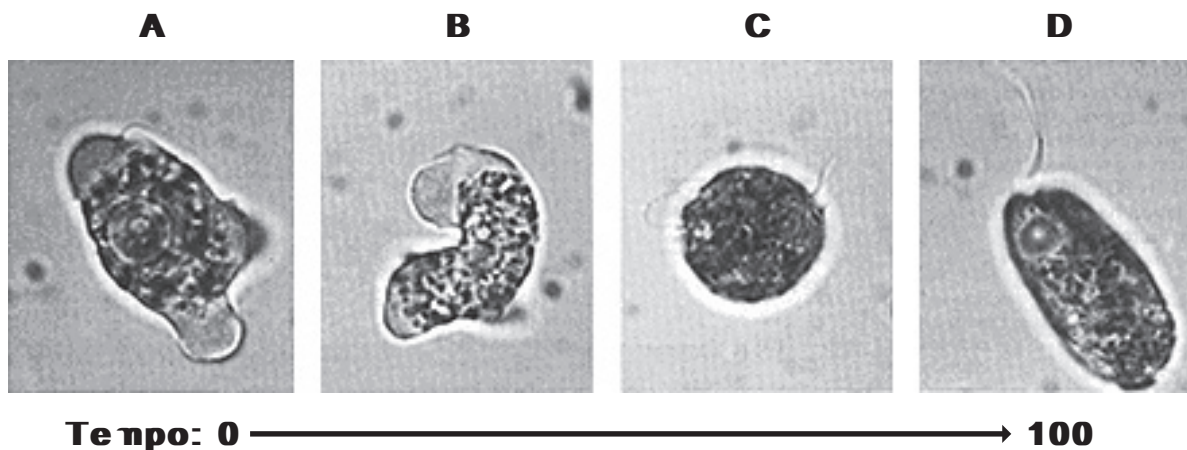


Figura 1. Fotografias de *N. gruberi* observado em microscopia óptica após ser colocado em meio líquido.

2. As transformações sofridas durante o processo de diferenciação se completam em cerca de 100 minutos. Esse período foi subdividido em 4 etapas, indicadas pelas letras **A**, **B**, **C** e **D** e está esquematizado na figura 2.

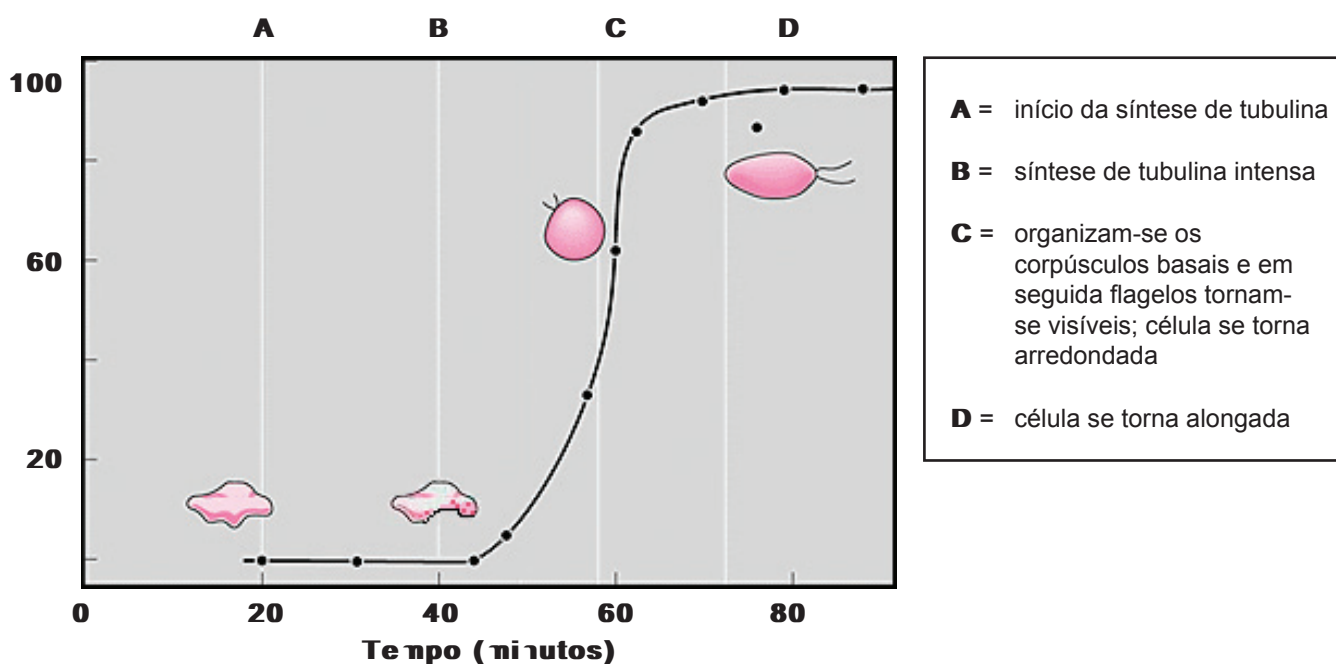


Figura 2. Diferenciação em indivíduos de *Naegleria gruberi*. Indivíduos com célula amebóide foram cultivados em meio contendo bactérias; no tempo 0, foi adicionada água no meio, simulando o que ocorre após uma chuva. Após 100 minutos, quase 100% da população apresenta a forma flagelada.

Entendendo os sinais para a diferenciação

1. Selecionar o envelope referente a **Etapa A** da diferenciação. Ele contém cartas de sinais celulares. Discutir em grupo quais sinais são necessários para o protozoário cumprir essa etapa. Para isso, consultar a figura 3 que resume os principais eventos celulares que ocorrem durante a diferenciação. Observar também o gráfico que indica a síntese de tubulina durante os 100 minutos do processo de diferenciação (Figura 4).

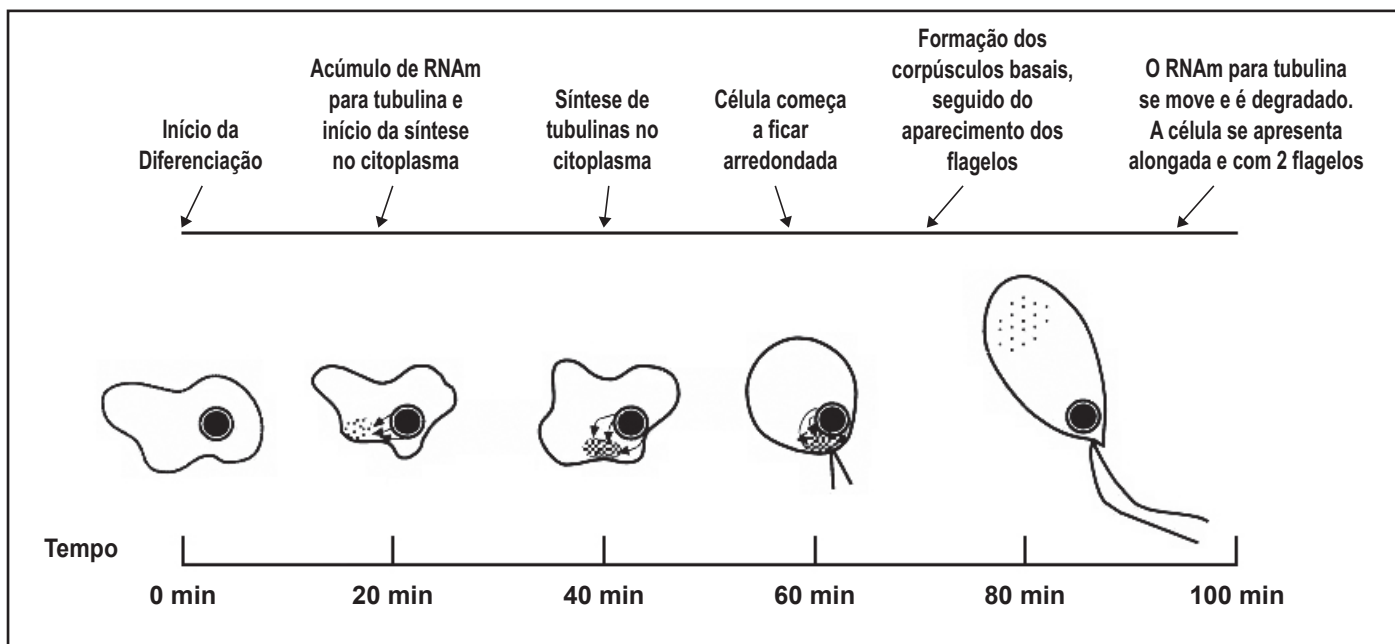


Figura 3. Principais eventos que ocorrem durante a diferenciação da célula

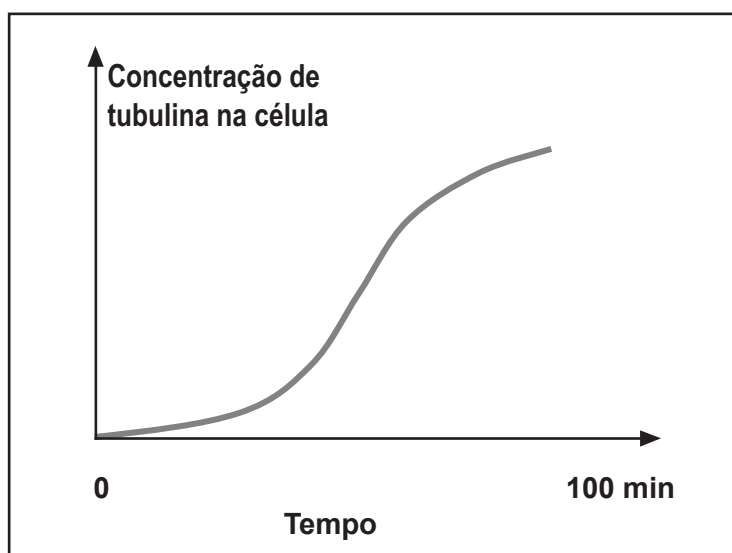


Figura 4. Gráfico representando a concentração de tubulina na célula durante a diferenciação.

2. Escolher **três** cartas sinais a serem aplicadas na célula.
3. Representar, sempre que possível, em massa de modelar e demais materiais, o efeito de cada um dos sinais.
4. Devolver para o envelope correspondente as cartas não selecionadas.
5. Repetir esse procedimento para os envelopes **Etapa B**, **Etapa C** e **Etapa D**.

ANEXO 1

Foto dos materiais fornecidos



ANEXO 2

Cartas sinais

1/4

Imprimir o anexo, recortar as cartas dessa página e colocá-las em um envelope identificado como **Etapa A**

<p>1. Diminuir o volume celular e nuclear.</p>	<p>2. No núcleo, iniciar síntese de RNA mensageiro para tubulina. O RNAm vai para o citoplasma.</p>
<p>3. Desativar todos os processos de transcrição da célula.</p>	<p>4. Manter a forma amebóide.</p>
<p>5. Inibir os genes responsáveis pela síntese de tubulinas.</p>	<p>6. Expressar o único gene responsável pela síntese do flagelo.</p>
<p>7. No citoplasma, organizam-se poli-ribossomos e inicia-se síntese de tubulina.</p>	<p>8. Condensar a cromatina.</p>

ANEXO 2

Cartas sinais

2/4

Imprimir o anexo, recortar as cartas dessa página e colocá-las em um envelope identificado como **Etapa B**

1. Acumular tubulina em região específica do citoplasma.

2. Condensar a cromatina e perder alguns ribossomos.

3. Perder o núcleo.

4. Estimular a divisão celular.

5. Expressar os genes responsáveis pela síntese de tubulinas.

6. Manter a forma amebóide, mas reduzir emissão de pseudópodes.

7. Cessar síntese de tubulinas no citoplasma.

8. Inibir a atividade dos genes responsáveis pela síntese de tubulinas.

ANEXO 2

Cartas sinais

3/4

Imprimir o anexo, recortar as cartas dessa página e colocá-las em um envelope identificado como **Etapa C**

1. Manter a célula inalterada.

2. Formar dois corpúsculos basais.

3. Estimular a divisão celular.

4. Tomar forma arredondada.

5. Perder todos os ribossomos.

6. Fagocitar bactérias.

7. Iniciar formação do flagelo, a partir da organização de tubulinas e outras proteínas em microtúbulos.

8. Reduzir o número de mitocôndrias.

ANEXO 2

Cartas sinais

4/4

Imprimir o anexo, recortar as cartas dessa página e colocá-las em um envelope identificado como **Etapa D**

<p>1. Tomar forma alongada.</p>	<p>2. Estimular a divisão celular.</p>
<p>3. Manter a célula inalterada.</p>	<p>4. Emitir pseudópodes.</p>
<p>5. Organizar tubulinas e outras proteínas para alongamento dos flagelos.</p>	<p>6. Degradar mitocôndrias.</p>
<p>7. Perder o núcleo</p>	<p>8. Posição fixa do núcleo na base da célula.</p>

Informações adicionais sobre o processo de diferenciação do protozoário *N. gruberi*

Quando consideramos o processo de diferenciação celular, logo pensamos no desenvolvimento dos animais, que apresentam centenas de tipos celulares diferentes geradas a partir de uma única célula, o zigoto. Existe, no entanto, um caso muito interessante de diferenciação celular que ocorre em um ser unicelular: trata-se do protozoário *Naegleria gruberi*.

A célula de *N. gruberi* é mais comumente encontrada na forma amebóide, locomovendo-se por meio de pseudópodes entre as partículas do solo. Os pseudópodes também são usados na captura de bactérias, que constituem seu alimento.

Em algumas situações, como após uma chuva, torna-se mais difícil a captura das bactérias, que ficam dispersas na água que passa a ocupar os espaços entre as partículas do solo. Em pouco mais de uma hora, *N. gruberi* se transforma em uma célula alongada e portadora de dois longos flagelos. Com eles, os protozoários locomovem-se com agilidade no meio líquido e localizam rapidamente seu alimento.

Para que se formem flagelos, a célula deve sintetizar diversas proteínas, como a tubulina, que compõe o corpúsculo basal e os microtúbulos. Essa proteína está ausente nos indivíduos com fenótipo amebóide, o que significa que os genes envolvidos estão “desligados” nessas células. Como a célula “sabe” que deve ativar/modificar a expressão de seus genes e sintetizar as proteínas dos flagelos?

Temos aí um indício de que existe um processo de **sinalização entre a célula e o meio externo**. A presença ou ausência de determinadas substâncias no meio extracelular pode ser detectada pela membrana plasmática e pode desencadear uma série de reações químicas no citoplasma. Essa cascata de reações pode gerar moléculas capazes de entrar no núcleo da célula e ativar/desativar certos genes. No caso do protozoário, a mudança no meio externo desencadeia um processo que leva à ativação dos genes que comandam a síntese das proteínas flagelares. Assim, a mudança na forma da célula resulta de modificações na expressão dos genes de cada indivíduo.

Utilizando marcadores de RNAm, pesquisadores observaram que, após a transcrição dos genes que codificam a tubulina, as moléculas de RNAm se dirigem para a periferia da célula e se agrupam em uma região determinada, onde ocorrerá a síntese das subunidades que vão compor a proteína e onde, em seguida, surgirão os flagelos. O citoesqueleto participa desse processo de transporte e ancoragem das moléculas de RNAm em pontos específicos do citoplasma. Temos aí um indício de que existe também uma **sinalização interna**, responsável pela orientação das substâncias dentro da célula.

Após a síntese protéica, moléculas de tubulinas organizam-se formando microtúbulos. Outras proteínas também participam da estrutura do flagelo. Assim, podemos destacar três eventos fundamentais no processo de diferenciação celular:

- a sinalização entre a célula e o meio externo a ela, resultando em mudanças na expressão gênica;
- a sinalização interna, da qual participa o citoesqueleto, resultando em orientação de moléculas dentro da célula;
- a organização das proteínas após a síntese protéica, resultando em mudanças no fenótipo da célula.

Fontes de consulta:

- Gilbert, S.F – **Developmental Biology**. Sinauer Associated Inc. Publishers, 2006. <http://7e.devbio.com/article.php?ch=12&id=10>
- Han, J. W.; Park, J. H.; Kim, M.; Lee, J. 1997. mRNAs for microtubule proteins are specifically colocalized during the sequential formation of basal body, flagella and cytoskeletal microtubules in the differentiation of *Naegleria gruberi*. **The Journal of Cell Biology**, vol. 137: 871-879.
- Walsh, C. 1984. Synthesis and assembly of the cytoskeleton of *Naegleria gruberi* flagellates. **The Journal of Cell Biology**, vol. 98: 449-456.

Gabarito

Etapa A

Sinais: 2 – 4 – 7

Etapa B

Sinais: 1 – 5 – 6

Etapa C

Sinais: 2 – 4 – 7

Etapa D

Sinais: 1 – 5 – 8