

PRÁTICAS EM BIOLOGIA CELULAR



IPA – Instituto Porto Alegre da Igreja Metodista

Diretor Geral

Robson Ramos de Aguiar

CONS AD – Conselho Superior de Administração

Paulo Borges Campos Jr. (Presidente)

Aires Ademir Leal Clavel (Vice-Presidente)

Esther Lopes (Secretária)

Titulares: Afranio Gonçalves Castro, Augusto Campos de Rezende, Jonas Adolfo Sala,

Marcos Gomes Tôrres, Oscar Francisco Alves Jr., Valdecir Barreros

Suplente: Nelson Custódio Fér

Reitora

Anelise Coelho Nunes

Coordenador de Pesquisa e Pós-Graduação Stricto Sensu

Edgar Zanini Timm

Conselho Editorial

Anelise Coelho Nunes (Presidente)

Edgar Zanini Timm (Vice-Presidente)

Alessandra Peres

Caroline Dani

Jose Clovis de Azevedo

Maristela Padilha

Marlis Morosini Polidori

Ágata Cristina Silveira Pamplona (Assistente Editorial)

Rodrigo Ramos Sathler Rosa (Editor Executivo)

Editora Universitária Metodista IPA

Rua Cel. Joaquim Pedro Salgado, 80

Prédio A – Sala A001 – Rio Branco

Porto Alegre/RS CEP: 90420-060

Tel.: (51) 3316-1249

PRÁTICAS EM BIOLOGIA CELULAR

– Ampliado e atualizado –

Carlos Augusto Borba Meyer Normann
Org.

Alessandra Angélica de Pádua Bueno

Alessandra Peres

Cláudia Funchal

Emerson André Casali

Fabício Deiques (ilustrações)

Joyce da Silva Fernandes

Karina Amadori Stroschein Normann

Marcello Mascarenhas

Valesca Veiga Cardoso Casali

© Os autores, 2008

Capa:

Leticia Lampert

Projeto Gráfico e Editoração:

Vânia Möller

Revisão:

Gaia Assessoria Linguística

Revisão gráfica:

Miriam Gress

Editor:

Luis Antônio Paim Gomes

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Bibliotecária responsável: Denise Mari de Andrade Souza CRB 10/960

P912 Práticas em biologia celular / org. por Carlos Augusto Borba Meyer Normann. -- 2. ed. Porto Alegre: Sulina; Porto Alegre: Editora Universtária Metodista IPA, 2017.
303 p.

ISBN: 978-85-205-0780-3

ISBN: 978-85-99738-09-2

1. Biologia Celular. 2. Biologia - Ensino. I. Normann, Carlos Augusto Borba Meyer.

CDD: 574.8

CDU: 576

372.857.6

Todos os direitos desta edição reservados a:
Editora Universitária Metodista – IPA e Editora Meridional Ltda.

Av. Osvaldo Aranha, 440 cj. 101 – Bom Fim
Cep: 90035-190 Porto Alegre-RS

Tel: (0xx51) 3311-4082

www.editorasulina.com.br

e-mail: sulina@editorasulina.com.br

{Março/2017}

IMPRESSO NO BRASIL/PRINTED IN BRAZIL

Organizador e autores

Alessandra Angélica de Pádua Bueno

Bióloga, doutora em Biologia Animal (UFRGS)
Docente da UFLA

Alessandra Peres

Bióloga, doutora em Genética (UFRGS)
Docente do Centro Universitário Metodista, IPA

Carlos Augusto Borba Meyer Normann

Biólogo, mestre em Biologia Celular (UNICAMP)
Biólogo da Secretaria de Meio Ambiente, Novo Hamburgo-RS

Cláudia Funchal

Farmacêutica-bioquímica, doutora em Bioquímica (UFRGS)
Docente do Centro Universitário Metodista, IPA

Emerson André Casali

Biólogo, doutor em Bioquímica (UFRGS)
Docente do IB/UFRGS

Fabrcio Deiques

Geólogo (UFRGS)
Técnico-administrativo do Centro Universitário Metodista, IPA

Joyce da Silva Fernandes

Bióloga, mestre em Bioquímica (UFRGS)
Docente da Universidade FEEVALE

Karina Amadori Stroschein Normann

Enfermeira, mestre em
Reabilitação e Inclusão (IPA)
Docente do Centro Universitário Metodista, IPA

Marcello Mascarenhas

Farmacêutico-Bioquímico, doutor em
Ciências Cardiovasculares (UFRGS)
Docente do Centro Universitário Metodista, IPA

Valesca Veiga Cardoso Casali

Bióloga, doutora em Genética (UFRGS)
Docente do Centro Universitário Metodista, IPA

Agradecimentos

Agradecemos, primeiramente, às mãos amigas que se juntaram para trazer esta obra à realidade. Parafraseando Raul Seixas, “um sonho que se sonha junto é realidade”. Também agradecemos a nossos(as) orientadores(as) de mestrado e doutorado e a cada docente de nossa graduação. Sem aqueles primeiros incentivos, nada disso teria acontecido.

Ao Centro Universitário Metodista do Sul – IPA, pelo crédito em seus/suas docentes, tendo apostado nesta e em outras obras. Com certeza, faz a diferença o voto de confiança dado pela Instituição. Nas pessoas de seu Coordenador de Pesquisa e Pós-Graduação *Stricto Sensu*, o prof. dr. Edgar Zanini Timm, do prof. dr. José Clóvis de Azevedo, conselheiro editorial, fazemos o agradecimento extensivo a todos(as) que aqui dedicam-se ao ensino, pesquisa e extensão.

Ao Departamento de Genética da UFRGS, especialmente à coordenação do Laboratório de Imunogenética, à professora doutora Nanci Bayer Nardi e ao Histolab do Hospital Regina de Novo Hamburgo, na pessoa do professor doutor Roque Furlan. Nos fotomicroscópios das duas instituições, foi feita a maior parte das fotomicrografias deste trabalho.

Aos nossos(as) queridos(a) filhos(as) e cônjuges, pelo apoio e pela compreensão pelas horas ausentes, imersas na produção deste livro.

Pessoalmente, quero dedicar esta obra a uma pessoa que sempre foi minha maior incentivadora: dona Eunice Mallmann Borba, por tudo que é, foi e será. Te dedico este trabalho, por sua sempre doce e presente memória.

Carlos Augusto Borba Meyer Normann

Sumário

| | | |
|-----|--|---|
| 11 | | Prefácio |
| 13 | | Introdução |
| 19 | | Unidade 1: Uso do microscópio e Morfologia das células |
| 33 | | Unidade 2: Membrana Plasmática |
| 49 | | Unidade 3: Retículo Endoplasmático |
| 63 | | Unidade 4: Complexo golgiense, Lisossomos e Inclusões Citoplasmáticas |
| 89 | | Unidade 5: Cloroplastos, Mitocôndrias e Peroxissomos |
| 115 | | Unidade 6: Citoesqueleto |
| 141 | | Unidade 7: Junções |
| 157 | | Unidade 8: Matriz Extracelular |
| 189 | | Unidade 9: Morfologia Nuclear |
| 207 | | Unidade 10: Cromatina e Cromossomos |
| 219 | | Unidade 11: Extração de DNA |
| 229 | | Unidade 12: Ciclo Celular, Mitose e Meiose |
| 253 | | Unidade 13: Apoptose |
| 267 | | Unidade 14: Degradação proteica: proteassomos |
| 273 | | Unidade 15: Técnicas de Histo e citoprocessamento |
| 297 | | Referências |

Prefácio

Este trabalho é um guia para ser utilizado em aulas práticas por alunos(as) das disciplinas de Biologia Celular e assemelhadas, a fim de sistematizar o estudo ao microscópio ou no laboratório de tópicos relacionados a elas. A ideia é auxiliar a desvendar o que o ser humano levou décadas e séculos construindo. Essa construção resultou na compreensão, ou pelo menos direcionou a busca pelo entendimento, da forma, origem e do funcionamento de células, tecidos, órgãos, sistemas e organismos.

Muitos procuram respostas nos livros. Nesta obra, no entanto, nos propomos a trazer as perguntas, direcionando o estudo da Biologia Celular para seus principais tópicos. Nenhum livro pode ser arrogante e se propor a trazer “todas” as respostas para um tema, ainda mais algo tão complexo quanto a Biologia Celular. Aqui, você encontra a pergunta que direciona para a busca da resposta.

Além disso, queremos, por meio desta obra, estimular os(as) alunos(as) em direção ao trabalho de laboratório. Quantos docentes não têm um caderno de laboratório, o qual é tratado como repositório mágico de conhecimentos práticos do laboratório? Naquele caderno, cheio de manchas de corantes, fixadores e outras menos votadas, repousam dicas importantes para quem se inicia na caminhada da Biologia Estrutural e Funcional.

É um trabalho escrito e gerado a partir de diferentes colaborações de várias mãos amigas, em que queremos mostrar, ainda, que a soma dos saberes diferentes é essencial para fazer Ciência de boa qualidade. É isso que faz a diferença entre a pesquisa meramente voltada a interesses do mercado ou a “modismos” academicistas e aquela voltada às necessidades reais das pessoas.

INTRODUÇÃO

O conceito clássico que os livros didáticos nos dão de células é de que elas são as “unidades estruturais e funcionais dos organismos vivos”. Como sabemos, todos os seres vivos, sem exceção, são formados por células, seja uma simples bactéria intestinal, um minúsculo rotífero de uma área alagadiça, até gigantescas sequoias e baleias-azuis. As formas mais simples de vida são justamente células individualizadas, que se propagam por cissiparidade. Aquelas culturas bacterianas usadas para fabricar iogurtes caseiros, ou as leveduras, que convertem cereais em cerveja, que fazem levedar a massa do pão, ou que tornam o suco dos frutos da videira em um vinho, são formadas por células. Um ovo de ave, antes de ser fertilizado, é uma célula com uma gigantesca capacidade de armazenar reservas, o vitelo ou a gema.

Como vimos, há muitos tipos diferentes de células, que variam enormemente em tamanho, forma e funções especializadas. Os organismos mais complexos, como dos humanos e demais mamíferos, podem conter pelo menos 100 trilhões de células. Num punhado de solo fértil, ou numa xícara de água empoçada, poderá haver dúzias de diferentes tipos de organismos unicelulares. Em cada organismo multicelular, seja ele aquele bebê que acabou de nascer ou o pé de milho que nos cedeu suas espigas para uma refeição, há dúzias ou centenas de diferentes tipos celulares, todos altamente especializados, funcionando juntos na forma de tecidos, órgãos e sistemas. Não importa quão grande e complexo seja o organismo, cada um dos seus tipos celulares retém alguma individualidade e independência.

Apesar das muitas diferenças visíveis, várias espécies de células são admiravelmente semelhantes nas suas características estruturais

básicas. As células são, via de regra, pequeninas mas complexas, o que torna difícil ver suas estruturas, descobrir sua composição molecular e, mais difícil ainda, encontrar funções para seus vários componentes. Contudo, a genialidade e a curiosidade humanas permitiram descobrir artifícios para sanar perguntas que quando parecem respondidas fazem surgir novas e ainda mais instigantes.

Em se tratando de estruturas pequeninas, temos que usar escalas convenientes. Uma célula animal típica tem um diâmetro de 10 a 20 micrômetros, ou seja, 10 a 20 milésimos do milímetro. O micrômetro é a unidade antigamente referida como *mícron*. Portanto, as observações de células individualizadas demoraram a acontecer, por limitações de nossa visão. Elas aconteceram, claro, mas ainda era pouco. As toscas lentes antigas não respondiam a todas as perguntas dos pesquisadores. Somente quando microscópios ópticos de boa qualidade tornaram-se disponíveis, no início do século XIX, pôde-se descobrir que tecidos animais e vegetais são agregados de células individuais. Essa descoberta, proposta como a doutrina celular por Schleiden e Schwann, em 1838, marca o nascimento formal da Biologia Celular.

Células animais não são apenas minúsculas, mas também incolores e translúcidas, e por isso, para visualizá-las, é importante o desenvolvimento de técnicas de microscopia. A seguir, vamos listar, a título de curiosidade, algumas datas e descobertas importantes na história da microscopia.

1611 – O físico **Kepler** sugere maneiras para a construção de um microscópio composto.

1655 – Na Inglaterra, **Hooke** utiliza o microscópio composto para descrever pequenos poros em seções de rolhas de cortiça, que chamou de “células”, pela sua semelhança com as celas de um mosteiro.

1674 – **Leuwenhoek** comunica a descoberta de protozoários. Visualiza uma bactéria pela primeira vez nove anos mais tarde.

1800 – **Bichat**, patologista francês, aficionado pela análise necrológica, cria a ciência da Histologia, diferenciando os tecidos animais.

1819 – **Mayer** cria o termo “Histologia”, a partir do conceito de Bichat de “tecidos”, e utiliza corantes comuns em tinturaria para diferenciá-los.

1833 – **Brown** publica suas observações microscópicas de orquídeas, descrevendo claramente o núcleo da célula.

1838 – **Schleiden** e **Schwann** propõem a Teoria Celular, afirmando que a célula nucleada é a unidade da estrutura e função em plantas e em animais.

1857 – **Kölliker** descreve a mitocôndria em células de músculo.

1876 – **Abbé** analisa os efeitos da difração na formação da imagem e mostra como melhorar a construção do microscópio.

1879 – **Flemming** descreve com muita clareza o comportamento dos cromossomos durante a mitose, em células animais.

1881 – **Retzius** descreve tecidos animais com um nível de detalhamento até então não obtido por nenhum outro microscopista óptico. Nas duas décadas seguintes, ele, **Cajal**, **Del Rio**, **Ortega** e outros anatomistas e histologistas desenvolvem métodos de coloração e lançam os fundamentos da anatomia microscópica, em especial a Neuroanatomia, uma das bases das modernas Neurociências.

1882 – **Koch** utiliza anilina para corar microrganismos e identificar as bactérias causadoras da tuberculose e da cólera. Nas duas décadas seguintes, outros bacteriologistas, como **Klebs** e **Pasteur**, identificam os agentes causais de muitas outras doenças através do exame de preparações coradas ao microscópio.

1886 – **Zeiss** constrói uma série de lentes, para o projeto proposto por Abbé, que permite aos microscopistas revelar estruturas nos limites teóricos da luz visível.

1898 – **Golgi** visualiza pela primeira vez e descreve o que viria a ser conhecido como **aparelho de Golgi**, através da coloração de células do cérebro de coruja com nitrato de prata.

1902 – **Boveri** relaciona os cromossomos à hereditariedade pela observação do comportamento destes durante a reprodução sexual.

1924 – **Lacassagne** e colaboradores desenvolvem método autorradiográfico para localizar polônio radioativo em amostras biológicas.

1930 – **Lebedeff** projeta e constrói o primeiro microscópio de interferência. Em 1932, **Zernicke** inventa o microscópio de contraste de fase. Esses dois tipos de microscópios permitem que células vivas, não coradas, sejam vistas em detalhe pela primeira vez.

1937 – Hans Adolf Krebs descreve o ciclo do ácido cítrico, popularmente conhecido como Ciclo de Krebs em sua homenagem, elucidando os fenômenos da respiração aeróbica celular.

1941 – Coons usa anticorpos acoplados a corantes fluorescentes para detectar antígenos celulares, introduzindo a **imunocitoquímica**.

1941 – Porter, Claude e Fullam descobrem e nomeiam o **retículo endoplasmático**. Porter, um dos pioneiros no uso do microscópio eletrônico na Biologia Celular descreve a ultraestrutura dos cílios e flagelos no modelo que hoje conhecemos do axonema.

1951 – A partir de células tumorais da senhora **Henrietta Lacks, George Otto Gey** cria a primeira linhagem de células em cultura, até hoje utilizadas experimentalmente e batizadas como **HeLa** em homenagem à doadora. Tais células foram fundamentais para várias descobertas importantíssimas, como a vacina de Salk para a poliomielite.

1952 – Nomarski idealiza e patenteia o sistema de contraste de interferência diferencial para o microscópio óptico, o qual tem seu nome.

1952 – Palade, Porter e Sjöstrand desenvolvem e aperfeiçoam métodos de microscopia eletrônica.

1952 – Huxley demonstra pela primeira vez o citoesqueleto em células musculares. No mesmo ano, **Alfred Hershey e Martha Chase** confirmam, experimentalmente, que o DNA é a base do material genético.

1953 – Watson e Crick descobrem a estrutura da molécula de DNA.

1955 – Christian de Duve descreve os lisossomos. No mesmo ano, **George Emil Palade** estuda com detalhes o retículo endoplasmático, além de ter descoberto os ribossomos.

1957 – Robertson descreve a estrutura bilaminar da membrana plasmática, observando-a pela primeira vez ao microscópio eletrônico.

1958 – Crick postula o Dogma Central da Biologia Molecular, afirmando que o DNA produz RNA mensageiro e que, a partir do que está codificado neste, a célula produz a proteína, elemento que, por fim, efetua a ação celular.

1961 – Peter D. Mitchell formula a Teoria Quimiosmótica, esclarecendo os mecanismos de produção de ATP na célula.

1981 – Allen e Inoué aperfeiçoam o microscópio óptico de contraste com sistema de vídeo avançado. Nesse ano, **Lynn Margulis** publica sua hipótese sobre a endossimbiose ou endossimbiose sequencial, que explica a origem da célula eucarionte.

1988 – Microscópios confocais de varredura comerciais passam a ser amplamente utilizados em centros de excelência em pesquisa.

1997 – Ian Wilmut, escocês, realiza a introdução de um núcleo de célula de glândula mamária em um óvulo de ovelha, originando o primeiro clone de um mamífero, a popular Dolly.

2003 – Maria de Fátima Leite, Mateus Tavares Guerra, Wihelma Echevarría, Warren Zipfel e Michael H. Nathanson, pesquisadores brasileiros e americanos, do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG e Yale University School of Medicine (Estados Unidos), descobrem uma nova organela, intranuclear: o retículo nucleoplasmático, fundamental para armazenar o cálcio dentro do núcleo da célula.

2012 – Shinya Yamanaka e John Gurdon recebem o Prêmio Nobel de Medicina pela descoberta de mecanismos de desdiferenciação celular, criando assim uma possibilidade de obter células-tronco a partir de células diferenciadas.

2013 – James E. Rothman, Randy W. Schekman e Thomas C. Südhof recebem o Prêmio Nobel de Medicina por descobertas nos mecanismos moleculares de tráfego de vesículas nas células.

Como se percebe, ainda há muito o que descobrir dentro de nossas próprias células... Este livro pode ser uma porta para que, ao estudá-lo, você, aluno/aluna, possa fazer parte dessa fantástica jornada de (auto)descobertas.