

Unidade XI – Transdução de sinal

1. Introdução
2. Transdução de sinal em células vegetais e animais
3. Transdução de sinal no espaço e no tempo

Introdução

Desde os estudos clássicos, os pesquisadores têm demonstrado que os vegetais percebem muitos sinais ambientais e fisiológicos, a fim de realizarem o ajuste preciso do seu crescimento e desenvolvimento.

Os vegetais percebem esses sinais externos ou internos por meio do emprego de proteínas sensoras especializadas denominadas *receptores*.

Uma vez sentido seu sinal específico, eles precisam fazer a *transdução* dele a fim de amplificá-lo e desencadear a resposta celular.

Os receptores fazem isso por meio de modificação da atividade de outras proteínas e/ou empregando moléculas sinalizadoras intracelulares denominadas mensageiros secundários.

Essas moléculas, então, alteram processos celulares como a transcrição gênica.

Assim, as rotas de transdução de sinal, em geral, envolvem a seguinte cadeia de eventos:

Sinal → *receptor* → *transdução de sinal* → *resposta*

Nos últimos 50 anos, essa base se tornou fundamental para a nossa compreensão da transdução de sinal em vegetais.

Transdução de sinal em células vegetais e animais

Muitos dos principais eventos de desenvolvimento em um ciclo de vida vegetal (como germinação, formação de folhas e florescimento) são regulados por sinais ambientais (tais como temperatura, luz e comprimento do dia), enquanto o desenvolvimento animal geralmente é regulado por sinais fisiológicos (internos).

A seguir, serão consideradas as semelhanças e as diferenças entre os sistemas de transdução de sinal encontrados em vegetais e animais.

A despeito das diferenças óbvias em seu desenvolvimento, vegetais e animais compartilham semelhanças ao nível de sua maquinaria de transdução de sinal.

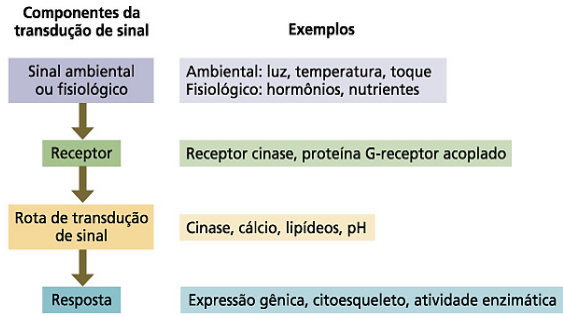


FIGURA 14.1 Esquema genérico da transdução de sinal, com exemplos. Os sinais ambientais ou fisiológicos são percebidos por um receptor. Após, é ativada uma cascata de sinalização, que envolve mensageiros secundários e leva a uma resposta da célula vegetal.

Os receptores quinases podem iniciar uma cascata de transdução de sinal

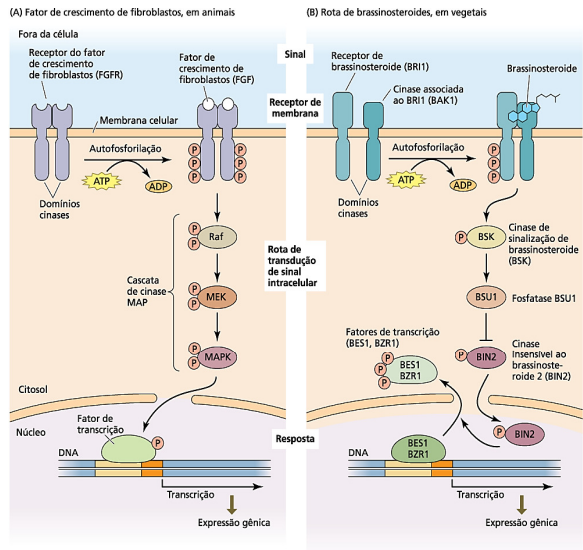


FIGURA 14.2 Transdução de sinal baseada em cinase em animais e vegetais, para comunicar informação da membrana plasmática para o núcleo. (A) Percepção do ligante do fator de crescimento de fibroblastos (*fibroblast growth factor*, FGF) pelo receptor de tirosina-cinase (*fibroblast growth factor receptor*, FGFR), para fazer a transdução do sinal do evento de reconhecimento junto à membrana plasmática para o núcleo, em uma célula animal. (B) Em vegetais, a percepção de brassinosteroides (BR) causa a própria fosforilação do BRI1 e das cinases de sinalização de brassinosteroides associadas à membrana plasmática (BSK). A fosforilação de BSK promove a interação com a proteína fosfatase BSU1. Após, a BSU1 desfosforila e inativa a cinase BIN2, um repressor que inibe fatores de transcrição de BR, causando a saída deles do núcleo. A inativação de BIN2 permite o prosseguimento da transcrição induzida por BR. FGF: fator de crescimento de fibroblastos; FGFR, receptor do FGF; BRI1, insensível ao brassinosteroides 1; BAK1, cinase associada ao BRI1; BIN2, insensível ao brassinosteroides 2.

Além das quinases, as proteínas fosfatases desempenham funções importantes nas rotas de transdução de sinal

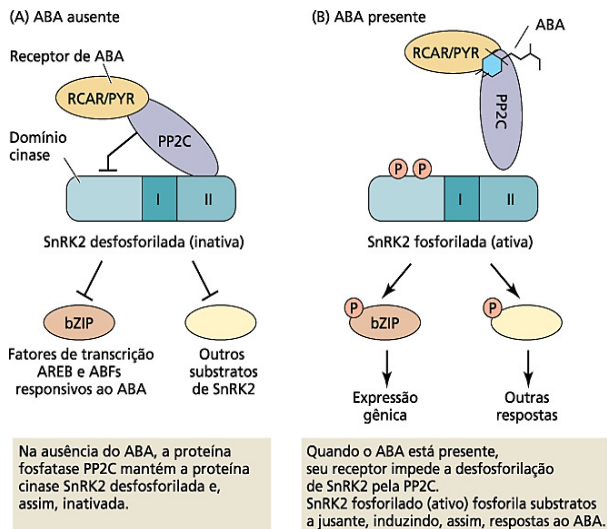


FIGURA 14.3 A sinalização do ácido abscísico (ABA) envolve atividades de quinases e fosfatases. (A) Na ausência do ABA, a proteína fosfatase PP2C desfosforila e inativa a SnRK2 cinase. (B) Na presença de ABA, RCAR/PYR – proteína receptora desse ácido – interage com PP2C, bloqueando a ação da fosfatase e liberando SnRK2 da regulação negativa. A SnRK2 ativada fosforila fatores de transcrição ABA-responsivos (bZIP) e outros substratos desconhecidos, para induzir uma resposta ao ABA. ABA, ácido abscísico; SnRK2, proteína cinase 2 relacionada a SNF1; PP2C, proteína fosfatase 2C; KD, domínio cinase.

Os componentes da transdução de sinal em plantas evoluíram de ancestrais procarióticos e eucarióticos

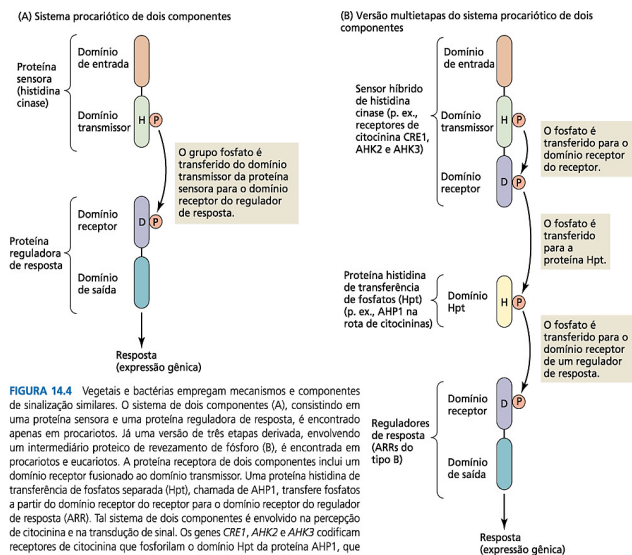


FIGURA 14.4 Vegetais e bactérias empregam mecanismos e componentes de sinalização similares. O sistema de dois componentes (A), consistindo em uma proteína sensora e uma proteína reguladora de resposta, é encontrado apenas em procariotos. Já uma versão de três etapas derivada, envolvendo um intermediário proteico de rezeamento de fósforo (B), é encontrada em procariotos e eucariotos. A proteína receptora de dois componentes inclui um domínio receptor fusionado ao domínio transmissor. Uma proteína histidina de transferência de fosfatos separada (Hpt), chamada de AHP1, transfere fosfatos a partir do domínio receptor do receptor para o domínio receptor do regulador de resposta (ARR). Tal sistema de dois componentes é envolvido na percepção de citocinina e na transdução de sinal. Os genes *CRE1*, *AHK2* e *AHK3* codificam receptores de citocinina que fosforilam o domínio Hpt da proteína AHP1, que transfere então um grupo fosfato para proteínas ARR do tipo B. AHK, histidina cinase em *Arabidopsis*; AHP, proteína histidina de transferência de fosfatos em *Arabidopsis*; ARR regulador de resposta em *Arabidopsis*.

Os sinais são percebidos em muitos locais dentro de células vegetais

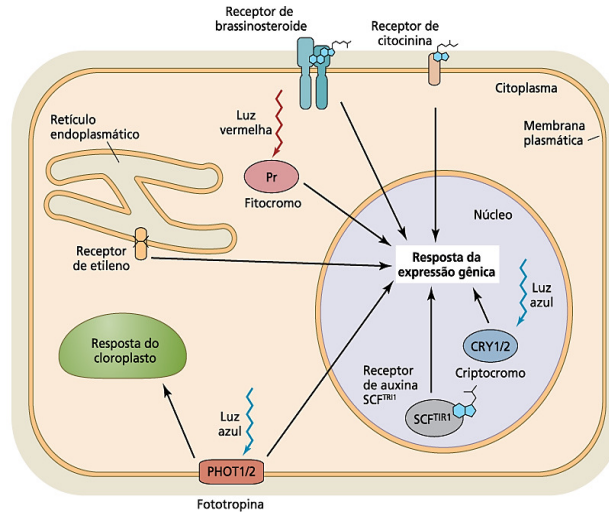


FIGURA 14.5 Os sinais podem ser percebidos em locais diferentes dentro de uma célula vegetal. Os receptores de membrana podem perceber sinais na membrana plasmática (brassinosteróides, citocininas e luz azul) ou no retículo endoplasmático (etileno), enquanto ou-

tros sinais são percebidos no citoplasma (luz vermelha) ou no núcleo (auxina e luz azul). As respostas frequentemente resultam na indução da expressão gênica, mas podem envolver também modificação de estruturas biológicas preexistentes, como proteínas e organelas.

Os sinais são percebidos em muitos locais dentro de células vegetais

Os genes de fitocromo codificam fotorreceptores de luz V/VD distribuídos entre o citoplasma e o núcleo.

A luz induz uma mudança conformacional na proteína citoplasmática, expondo um sinal de localização nuclear (SLN), que causa a translocação de fitocromos para o núcleo.

Uma vez no interior do núcleo, o fitocromo interage com fatores de transcrição, desencadeando alterações na expressão gênica.

A transdução de sinais em vegetais frequentemente envolve a inativação de proteínas repressoras

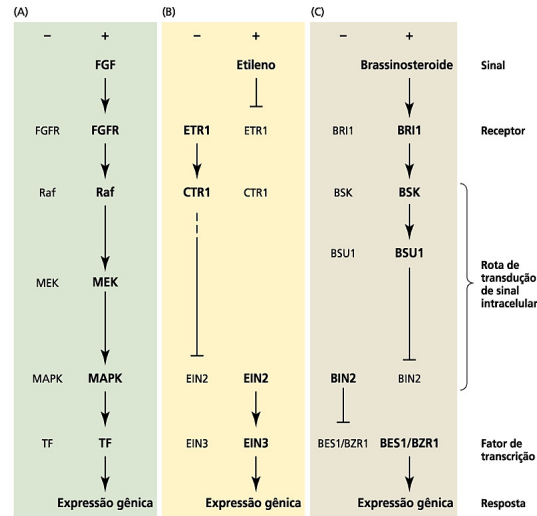


FIGURA 14.6 As rotas de transdução de sinal em animais e vegetais diferem em sua organização funcional. A maioria das rotas de transdução de sinal em animais caracteriza uma sequência de etapas de ativação positivas que basicamente ativam fatores de transcrição. Por outro lado, a maioria das rotas de transdução de sinal em vegetais funciona por meio da inativação de um repressor transcripcional. Três exemplos ilustram este ponto. (A) Em células animais, a ligação do fator de crescimento dos fibroblastos (FGF) ao seu receptor inicia a ativação de uma série de cinases (cascata de MAP-cinase). A última cinase na sequência (MAPK) ativa fatores de transcrição, que iniciam a transcrição gênica. (B) A rota de transdução de sinal do

etileno (vegetal), diferentemente da rota do FGF, é ativa na ausência de uma interação receptor-ligante. Na ausência de etileno, o intermediário de sinalização CTR1 reprime a expressão gênica através de uma rota – possivelmente envolvendo uma cascata de MAP-cinase – que inativa o regulador transcripcional EIN2. Na presença de etileno, a rota de CTR1 é bloqueada e EIN2 ativa os fatores de transcrição apropriados. (C) A rota do brassinosteroides (BR) também resulta na inativação de um repressor transcripcional, BIN2, que normalmente inibe a expressão gênica induzida por BR. No diagrama, a fonte regular (simples) indica intermediários inativos e a fonte em negrito indica componentes ativos.

Por que as células vegetais desenvolveram rotas de sinalização baseadas na regulação negativa, em vez de regulação positiva, como ocorre em células animais?

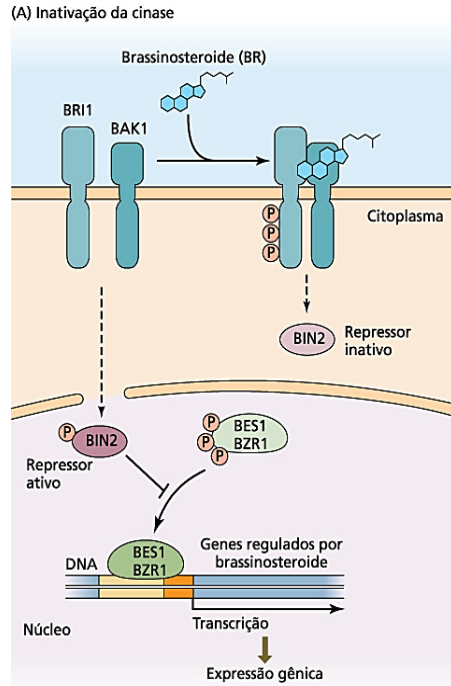
A modelagem matemática de rotas de transdução de sinal empregando reguladores negativos sugere que estes resultam em indução mais rápida de genes de resposta a jusante (Rosenfeld et al., 2002).

A velocidade de uma resposta, especialmente a um estresse ambiental tal como a seca, pode ser crucial à sobrevivência da planta imóvel.

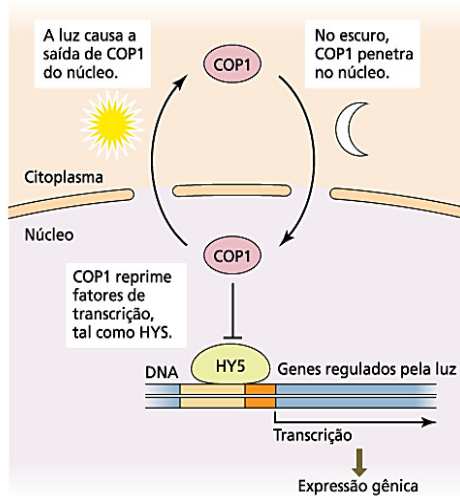
Em consequência, a adoção de tal disposição reguladora na maioria das rotas de sinalização em plantas provavelmente conferiu uma vantagem seletiva durante a evolução.

Em células vegetais, têm sido descritos vários mecanismos moleculares diferentes para inativar proteínas repressoras.

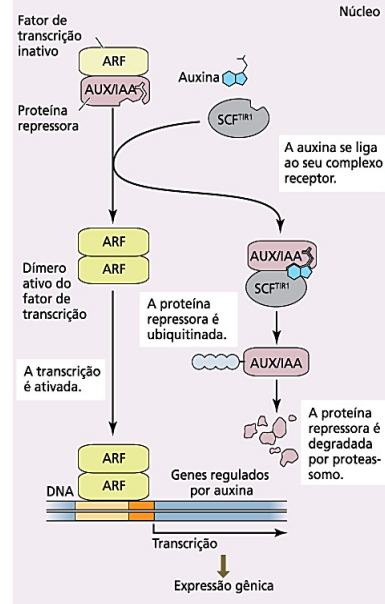
FIGURA 14.7 As rotas de transdução em vegetais frequentemente sinalizam por inativação de proteínas repressoras. (A) Na rota de sinalização de brassinosteroides, o regulador negativo BIN2 é inativado por meio da inibição da sua atividade de cinase. (B) A absorção de luz vermelha pelo fitocromo causa a saída do núcleo da proteína repressora COP1. (C) A ligação da auxina ao seu complexo repressor inicia a degradação ubiquitina-dependente da proteína repressora de AUX/IAA pelo proteassomo 26S. Nos três casos, a inativação da proteína repressora resulta em ativação do fator de transcrição.



(B) Remarcação do repressor



(C) Degradação do repressor



A degradação proteica é uma característica comum de rotas de sinalização em vegetais

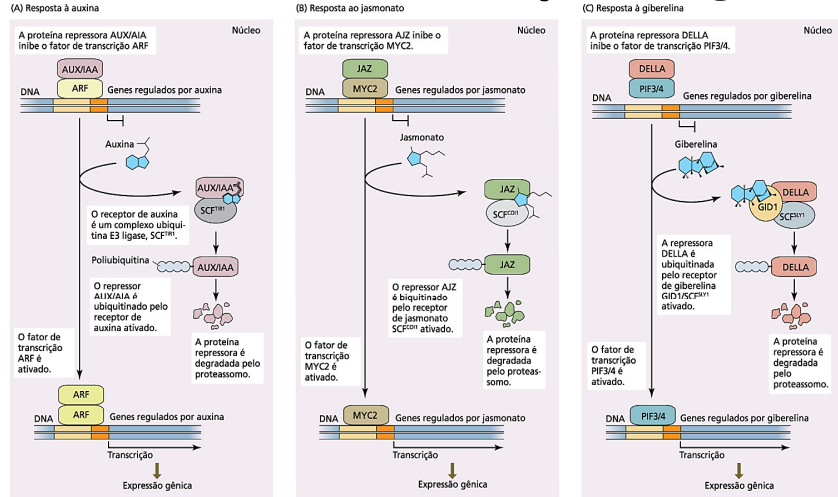


FIGURA 14.8 Vários receptores de hormônios vegetais fazem parte de complexos de ubiquitinação SCF. Auxina, jasmonato (AJ) e giberelinas (GA) sinalizam pelo estímulo à interação entre componentes da maquinaria de ubiquitinação SCF e proteínas repressoras operando em cada rota de transdução do hormônio. A auxina (A) e o AJ (B) promovem diretamente a interação entre os complexos SCF^{TR1} e SCF^{J2H1} e as repressoras AUX/IAA e AJZ, respectivamente.

Por outro lado, a GA (C) adicionalmente requer uma proteína adaptadora, GID1, para formar o complexo entre SCF^{TR1} e as proteínas DELLA. A adição de ubiquitinas múltiplas (poliubiquitina) marca essas proteínas repressoras para a degradação. Isso desencadeia a ativação de fatores de transcrição ARF, MYC2 e PIF3/4, resultando em alterações na expressão gênica induzidas pela auxina, pelo AJ e pela GA.

Vários receptores de hormônios vegetais codificam componentes da maquinaria de ubiquitinação

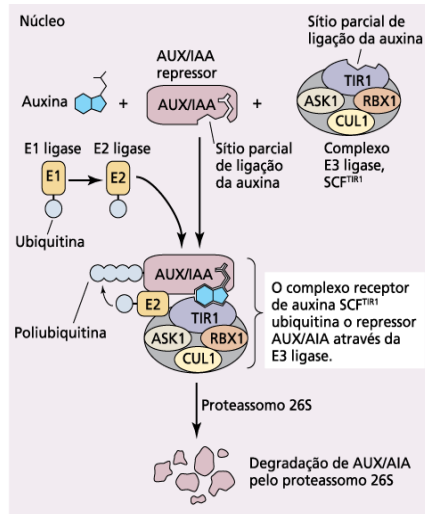


FIGURA 14.9 O receptor de auxina é composto de duas proteínas: o componente TIR1 do complexo SCF e a proteína repressora AUX/IAA. As porções de ubiquitina são primeiramente ativadas pela E1 ligase e adicionada às proteínas-alvo pela E2 ligase. TIR1 recruta proteínas AUX/IAA para o complexo SCF^{TR1}, de uma maneira dependente de auxina. Uma vez recrutadas pela auxina, as proteínas AUX/IAA são ubiquitinadas pela atividade da E3 ligase do complexo SCF^{TR1}, que marca a proteína para destruição pelo proteossomo 26S.

A inativação de proteínas repressoras resulta em uma resposta de expressão gênica

Em última análise, a maioria das rotas de transdução de sinal provoca uma resposta biológica, por indução de mudanças na expressão de genes-alvo selecionados.

Em vegetais, uma mudança na expressão gênica quase sempre resulta da inativação de uma proteína repressora, desreprimindo, assim, a atividade de um fator de transcrição.

Os vegetais desenvolveram mecanismos para desligamento ou atenuação de respostas de sinalização

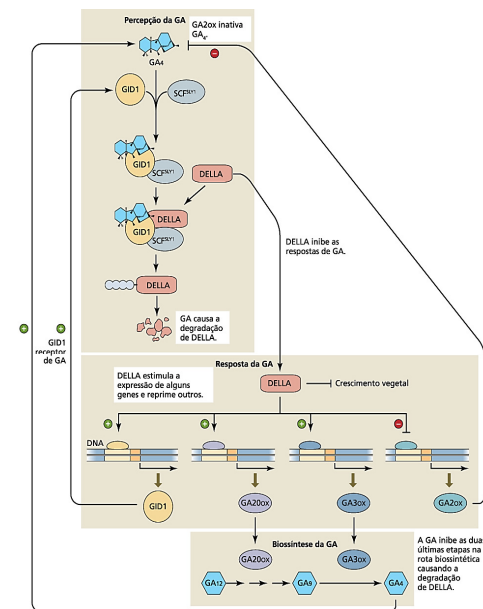


FIGURA 14.10 A resposta da GA é regulada por uma série de mecanismos de retroalimentação envolvendo componentes de transdução de sinal da GA e de biossíntese desse hormônio. Os genes *GA20ox* e *GA3ox* codificam enzimas que catalisam as últimas etapas da rota biossintética da GA, enquanto *GA2ox* catalisa a decomposição da GA bioativa, *GA₁*. *GID1* codifica o receptor de GA que, após a ligação ao ligante, recruta proteínas repressoras DELLA ao complexo *SCF^{E3}* para ubiquitinação, desencadeando sua degradação. Na ausência de GA, as proteínas DELLA regulam positivamente *GID1*, *GA20ox* e *GA3ox* (sinais de mais), e regulam negativamente *GA2ox* (sinal de menos). Inversamente, a GA bioativa e o receptor *GID1* intensificam a degradação do repressor DELLA (sinal de mais), ao passo que *GA2ox* bloqueia a degradação do repressor DELLA (sinal de menos).

A regulação cruzada permite a integração das rotas de transdução de sinal

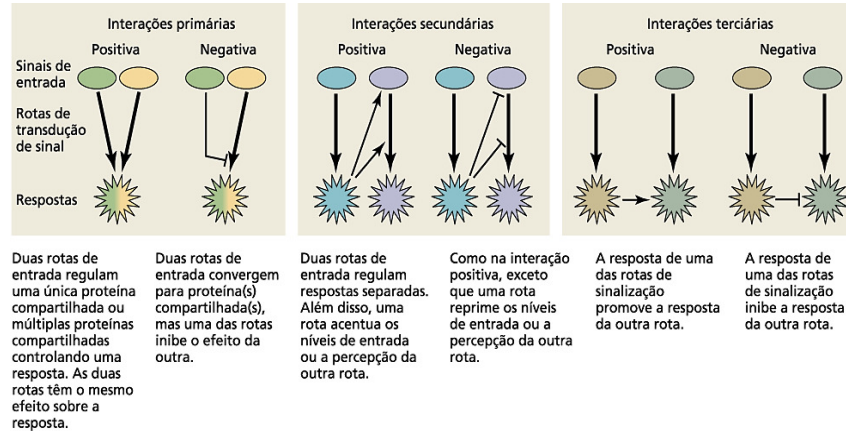


FIGURA 14.11 As rotas de transdução de sinal operam como parte de uma rede complexa de interações de sinais. Três categorias de regulação cruzada têm sido propostas: primária, secundária e terciária. Os sinais de entrada são apresentados com a forma oval, as rotas de transdução de sinal são indicadas por setas grossas e as respostas (saídas da rota) são mostradas como estrelas. As linhas finas com pontas de flecha (positivas) ou barras (negativas) indicam onde uma rota influencia a outra rota. Os três tipos de interações podem ser

positivos ou negativos. As interações primárias envolvem a convergência de duas rotas de entrada para uma única proteína de transdução de sinal compartilhada ou grupo de proteínas que interagem diretamente para controlar a resposta. Nas interações secundárias, a resposta de saída de uma rota regula a percepção do segundo sinal de entrada. As interações terciárias ocorrem quando há uma influência recíproca entre as respostas de saída independentes de duas rotas de sinalização.

A interação entre rotas de sinalização tem sido denominada regulação cruzada, sendo propostas diversas categorias

1. **A regulação cruzada primária envolve duas rotas de sinalização distintas regulando um elemento de transdução compartilhado, de um modo positivo ou negativo;**
2. **A regulação cruzada secundária envolve a saída de uma rota de sinalização regulando a abundância ou a percepção de um segundo sinal;**
3. **A regulação cruzada terciária envolve as saídas de duas rotas distintas exercendo influências mútuas.**

O controle do alongamento celular em hipocótilo de *A. thaliana* pela luz e GA representa um exemplo de regulação cruzada primária negativa.

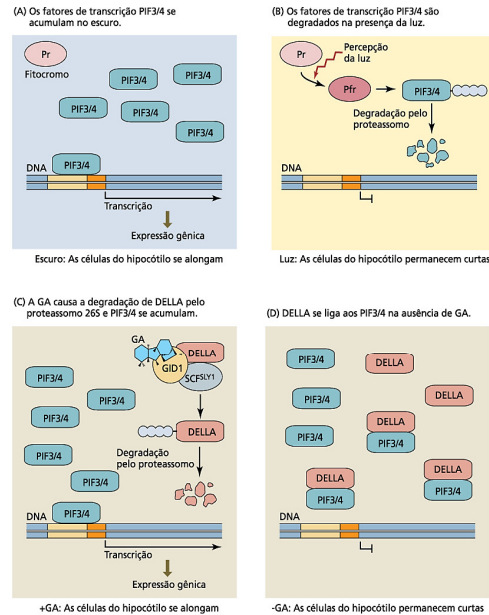


FIGURA 14.12 A GA e a luz regulam positivamente e negativamente, respectivamente, a acumulação dos seus componentes de sinalização compartilhados a jusante, PIF3 e PIF4. (A) As células do hipocótilo cultivado no escuro se alongam, por causa da acumulação dos fatores de transcrição PIF3/4. (B) Na presença da luz, o fitocromo fotorreceptor de luz vermelha-vermelha distante (Pr/Pfr) marca PIF3/4 para degradação, reduzindo o alongamento celular e, portanto, encurtando o comprimento do hipocótilo. (C) Níveis elevados de GAs bioativas marcam DELLAs para degradação, liberando PIF3/4 e promovendo a expansão celular. (D) Na ausência de GA, os fatores de transcrição PIF3/4 se ligam diretamente às proteínas repressoras DELLA e são inativos.

Um exemplo de regulação cruzada secundária envolve a inibição do alongamento celular da raiz de *A. thaliana* por auxina e etileno.

Nesse caso, a sinalização do etileno inibe o alongamento celular da raiz indiretamente, por meio da estimulação da biossíntese de auxina (Stepanova et al., 2007; Swarup et al., 2007).

Um exemplo de regulação cruzada terciária é a interação entre as rotas de auxina e citocinina para especificar células-tronco da raiz (Muller & Sheen, 2008).

Nesse caso, a auxina regula negativamente a saída da rota de resposta à citocinina, reguladores de resposta de Arabidopsis (ARRs) do tipo B. A auxina atua dessa forma aumentando a expressão de ARRs do tipo A que funcionam como inibidores por retroalimentação dos ARRs do tipo B.

Ao longo do tempo, tornou-se evidente que a sinalização vegetal não está baseada em uma sequência linear simples de eventos de transdução, mas envolve regulação cruzada entre muitas rotas.

A compreensão de como tais rotas de sinalização complexas operam demandará uma nova abordagem científica.

Esta abordagem é muitas vezes referida como **Biologia de Sistemas** e emprega modelos matemáticos e computacionais para estimular essas redes biológicas não lineares e fazer previsões melhores de suas saídas (Locke et al., 2006; Coruzzi et al., 2009; Middleton et al., 2010).

Transdução de sinal no espaço e no tempo

As rotas de transdução de sinal em vegetal não operam na escala de rede no interior de células individuais.

Como organismos multicelulares, os vegetais desenvolveram mecanismos de sinalização sofisticados para coordenar o crescimento e o desenvolvimento de cada célula dentro de um tecido, um órgão e um organismo.

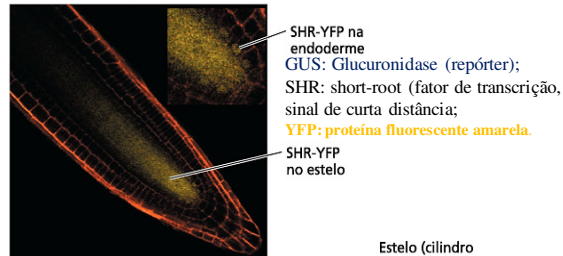
Esses mecanismos de sinalização frequentemente operam ao longo de uma ampla faixa de escalas físicas, variando de nanômetros a metros, e de tempo, variando de segundos até anos.

A transdução de sinal em vegetais ocorre em uma ampla faixa de distâncias

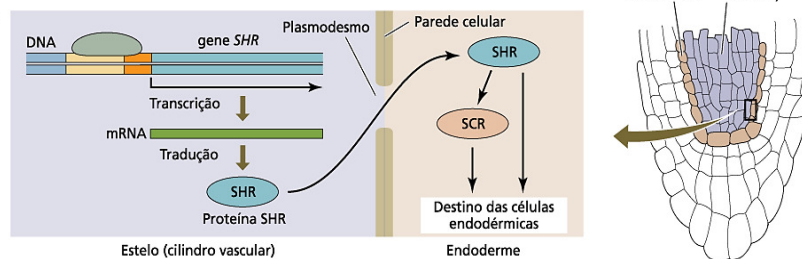
(A) Localização da expressão do gene *SHR* na raiz de *Arabidopsis*



(B) Localização da proteína *SHR* na raiz de *Arabidopsis*



(C)



As complexas respostas de crescimento no interior de um órgão frequentemente envolvem a sinalização entre muitas células.

Um exemplo é a resposta de crescimento que segue uma mudança na orientação da raiz em relação à gravidade. ➡

Este exemplo mostra que a auxina pode ser considerada um sinal vegetal de curta a longa distância, capaz de operar entre células, tecidos e órgãos adjacentes, dependendo da distribuição de sua maquinaria de transporte especializada. ➡

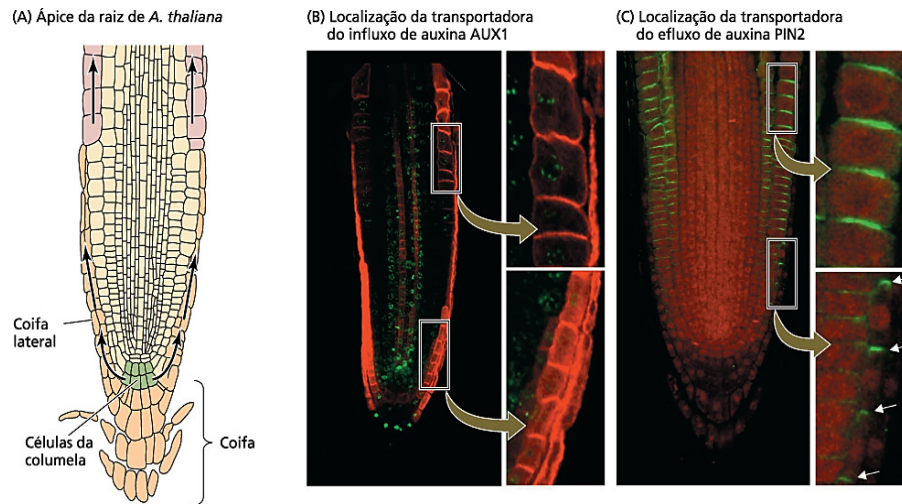


FIGURA 14.14 O transporte de auxina dentro do tecido externo da raiz é mediado pelo influxo especializado de auxina e proteínas do efluxo. (A) Os transportadores de auxina movem esse hormônio (indicado por setas) das células sensoras da gravidade no ápice da raiz, via células laterais da coifa. Esse transporte é fundamental para desencadear respostas de crescimento nas células da zona de alongamento.

(B, C) Imagens de microscopia confocal, ilustrando a localização da proteína transportadora do influxo de auxina AUX1 (B, em vermelho) e da transportadora do efluxo de auxina PIN2 (C, em verde), no interior de tecidos e células apicais da raiz de *A. thaliana*. AUX1, AUXIN RESISTANT 1; PIN2, PIN-FORMED 2 (B e C, cortesia de Malcolm Bennett).

O crescimento e desenvolvimento de um órgão vegetal frequentemente são influenciados por sinais originados de um outro órgão.

A transição do meristema apical do caule de uma identidade vegetativa para uma reprodutiva (denominada indução floral), por exemplo, pode ser desencadeada por um sinal originado nas folhas (Imaizumi & Kay, 2006).

Um sinal indutor de dias longos pode provocar a expressão do gene FLOWERING TIME (FT), que codifica um fator de transcrição, em células do floema foliar de *A. thaliana*. Após, a proteína FT é transportada para o ápice do caule. A proteína FT, então, interage com o fator de transcrição, FLOWERING LOCUS D (FD), para coativar genes-alvo e desencadear a floração.

Exemplos dessa interação FT-FD ilustram refinadamente que em vegetais (diferentemente de animais) os reguladores transcricionais são capazes de atuar por distâncias longas, a fim de controlar programas de desenvolvimento.

A escala temporal da transdução de sinal em plantas varia de segundos a anos

Quanto tempo é necessário para induzir uma resposta em plantas?

Os exemplos das rotas de transdução de sinal operam em dezenas de minutos até horas, porque as respostas manifestadas em mudanças na expressão gênica são relativamente lentas.

As células vegetais utilizam 30 minutos para transcrever um gene, processar seu mRNA e exporta-lo para o citoplasma. Um tempo adicional é necessário para a síntese proteica e para o transporte intracelular.

Tais escalas temporais são apropriadas para os processos de crescimento e desenvolvimento vegetais.

Muitas respostas vegetais, no entanto, precisam ocorrer rapidamente, algumas em segundos.

Por exemplo, as plantas, com frequência, são expostas a períodos rápidos em que luminosidades intensa e baixa se alternam, quando as nuvens passam em frente ao sol. A exposição à luz muito alta pode ser extremamente prejudicial à maquinaria fotossintética das células vegetais.

Uma resposta das células foliares à alta intensidade luminosa é a reorientação rápida dos seus cloroplastos minimizando a exposição à luz.

Como tais respostas a sinais podem ocorrer em segundos?

A célula vegetal deve empregar mecanismos de transdução de sinal que alterem a atividade de proteínas existentes.

No exemplo anterior, a reorientação dos cloroplastos é regulada pelos fotorreceptores de luz azul da classe PHOTOTROPIN (PHOT), que estão localizados na membrana plasmática.

Algumas respostas vegetais operam em escalas temporais de meses ou mesmo anos.

Um período de frio, por exemplo, é exigido por muitas espécies vegetais para que ocorra o florescimento. A exposição a um período relativamente longo de frio (um período de inverno) deve ser sentida e passar por transdução manifestada em uma resposta (a “competência” ou potencial, para florescer). Esse importante processo é denominado vernalização.

Embora o mecanismo sensor do frio não seja conhecido, a parte a jusante da rota de transdução de sinal envolve mudanças na organização da cromatina.

A escala temporal da transdução de sinal em plantas varia de segundos a anos

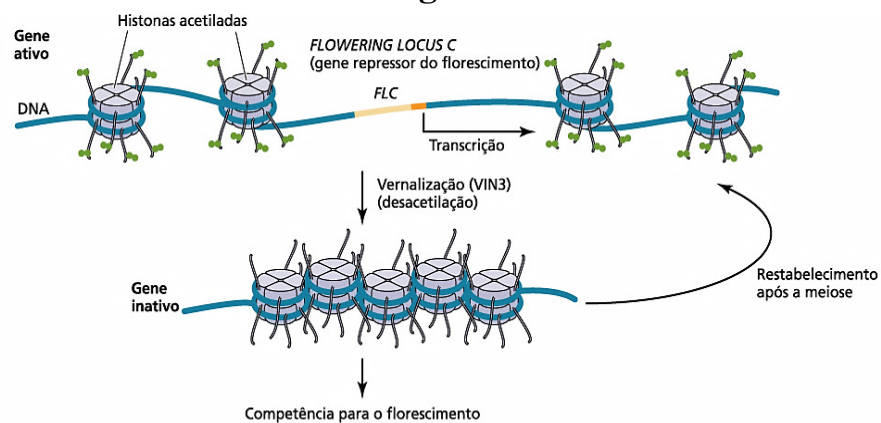


FIGURA 14.15 O controle térmico do florescimento é alcançado pela modificação de proteínas da cromatina circundando o gene *FLC*. O frio prolongado (vernalização) causa reorganização da cromatina do *FLC* e acumulação de modificações de histonas caracte-

rísticas da heterocromatina, que reprime a transcrição de *FLC*. Após a meiose, o repressor *FLC* é expresso novamente, a fim de impedir o florescimento precoce.

Por fim, entre os vegetais não são incomuns as escalas temporais de resposta de sinalização que se estendem por anos.

Alguns exemplos de respostas de sinalização multianuais incluem a vernalização em espécies bianuais, florescimento em árvores e dormência de sementes, que em alguns casos podem ser mantidas por séculos ou mesmo milhares de anos.

Em resumo, os processos de transdução de sinal em vegetais devem operar ao longo de escalas temporais que variam de segundos até anos.

A velocidade da resposta requerida determinará se a transdução de sinal envolverá mudanças na atividade proteica (a mais rápida, talvez em segundos), expressão gênica (moderadamente rápida) ou organização de cromatina (a mais lenta, podendo ocupar meses).