

Ciclo celular



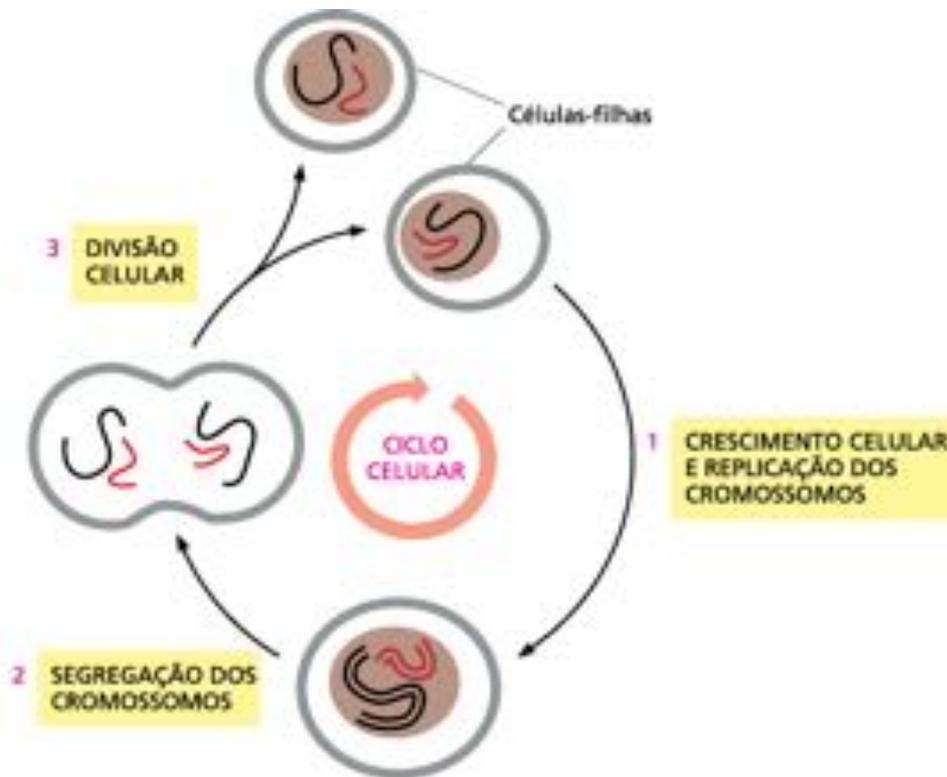
Patricia Coltri
coltri@usp.br

Nesta aula:

- Controle do ciclo celular
- Fatores que estimulam/inibem o ciclo celular
- Métodos para estudo do ciclo

Ciclo celular

Células se reproduzem com a duplicação de seu conteúdo e divisão em duas



Ciclo celular e proliferação

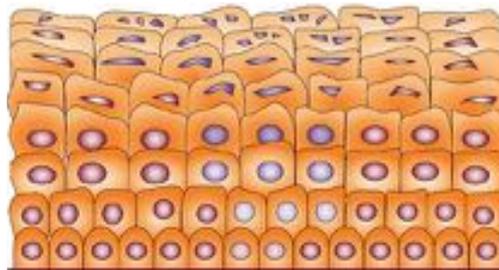
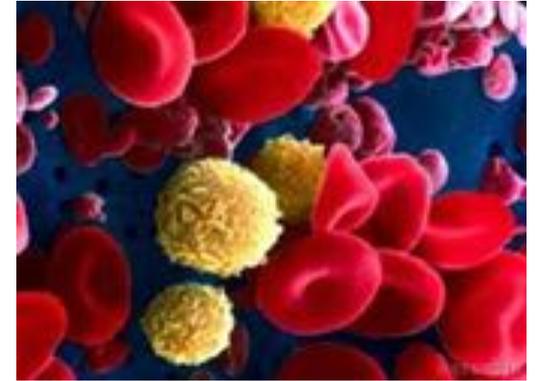
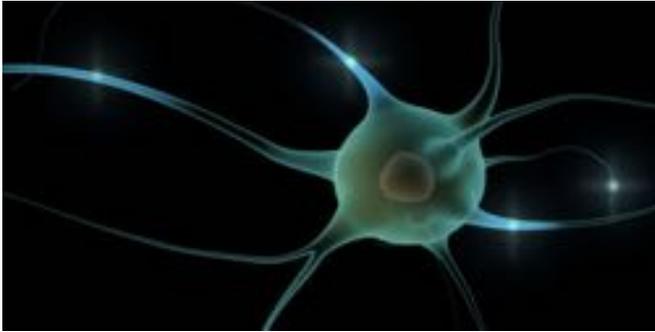


Eventos sequenciais coordenados: geração de células-filhas – geração de organismos

Ciclo celular

TIPO CELULAR	DURAÇÃO DO CICLO CELULAR
Células jovens de embrião de sapo	30 min
Célula de levedura	1,5 – 3 horas
Células epiteliais de intestino	~ 12 horas
Fibroblastos de mamíferos (cultura)	~ 20 horas
Células hepáticas humanas	~ 1 ano

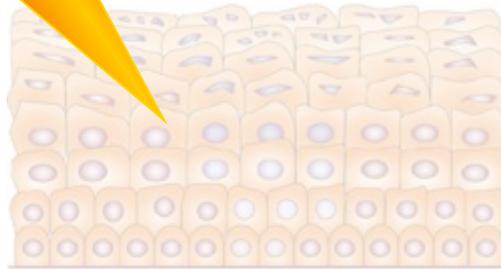
Estímulos: sinais intracelulares e extracelulares



Capacidade proliferativa no mesmo organismo: variável

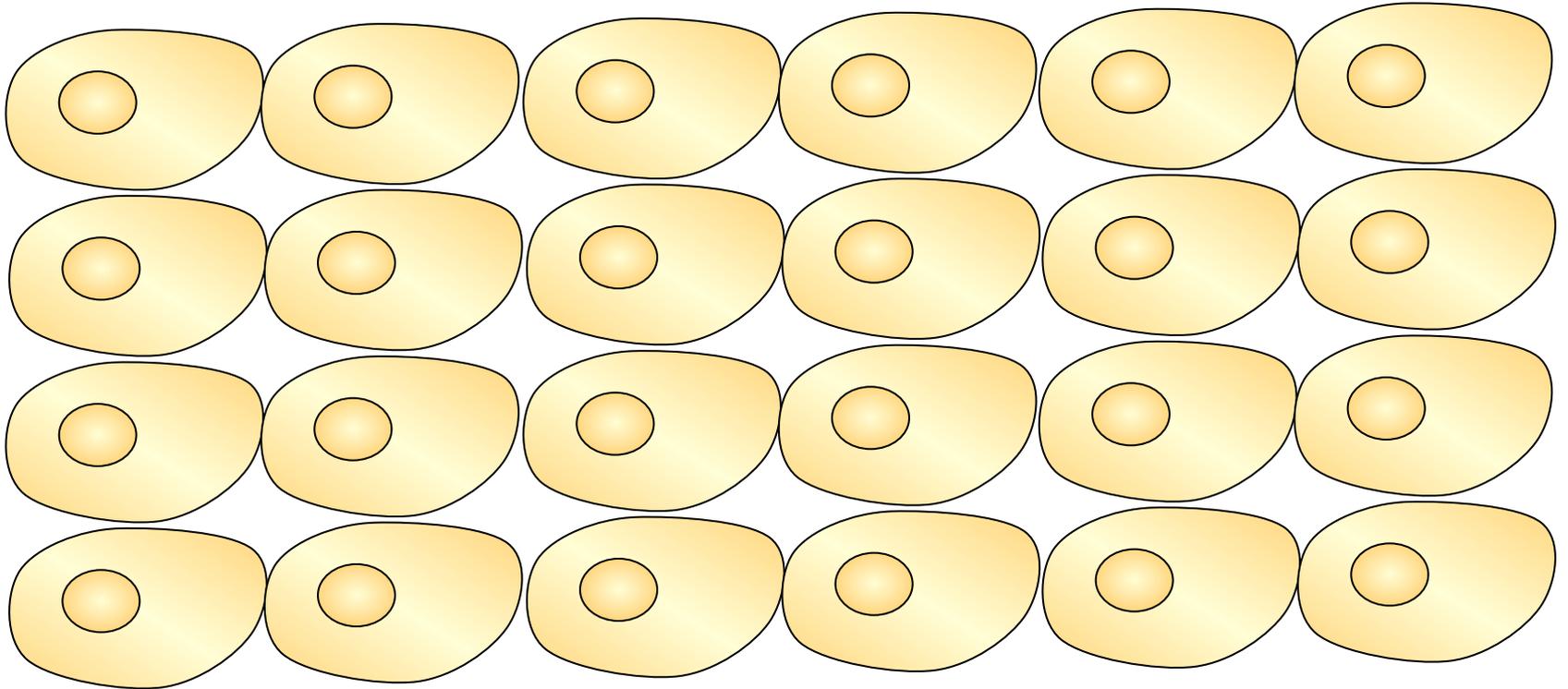


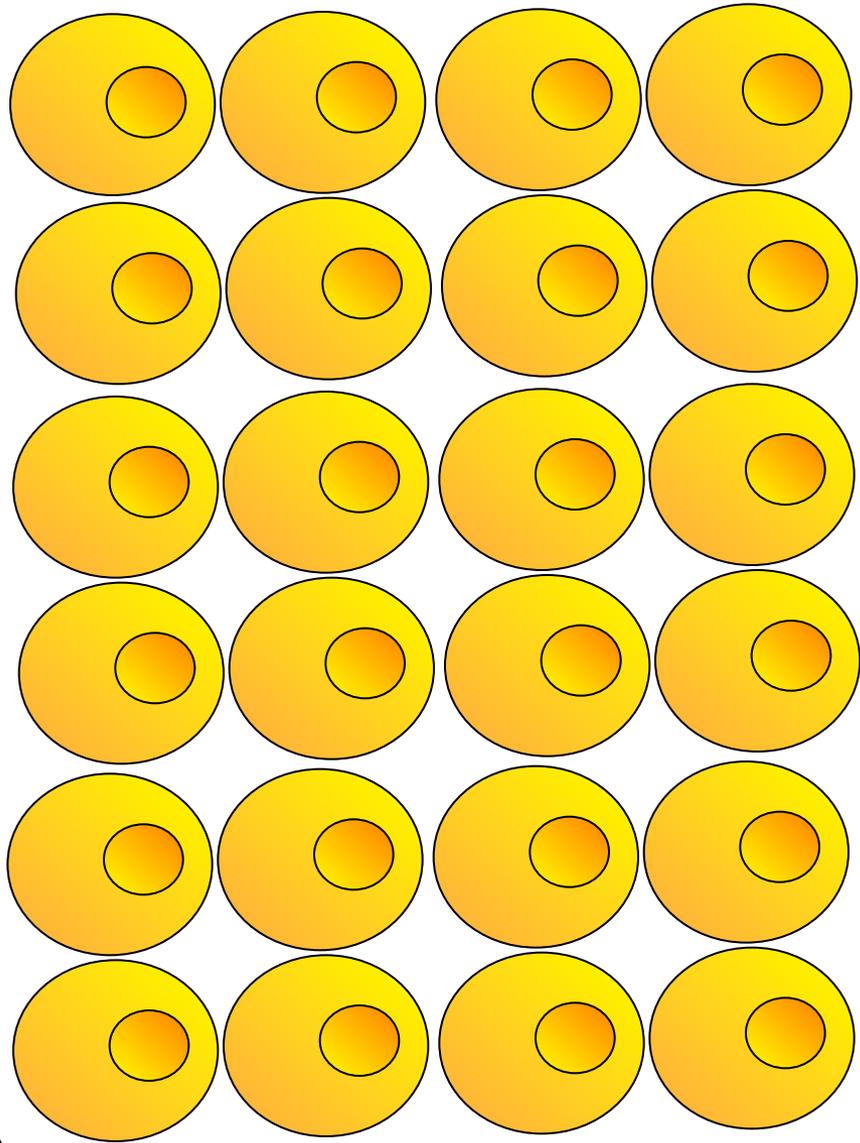
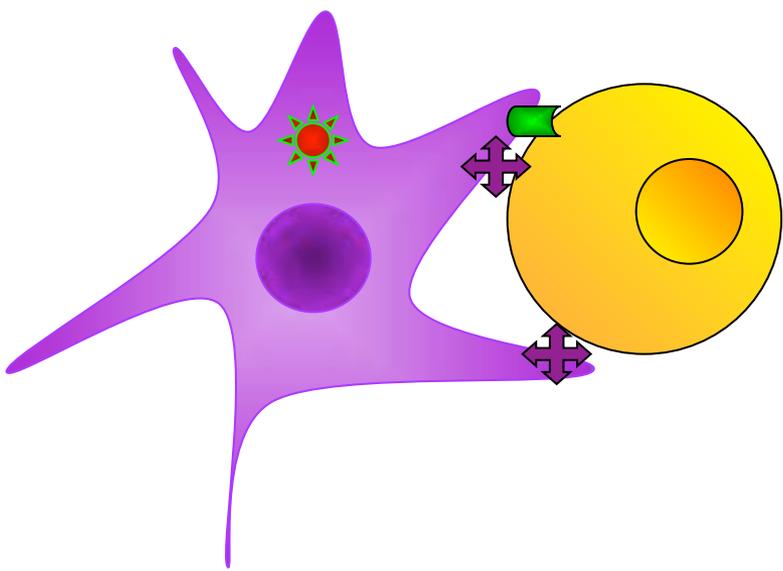
Células podem receber estímulos para iniciar ou parar ciclo celular

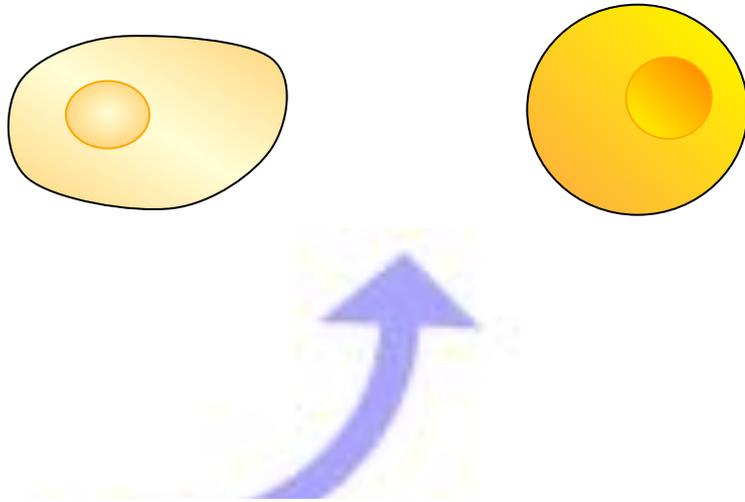


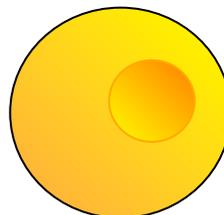
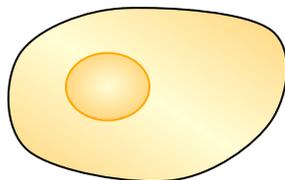
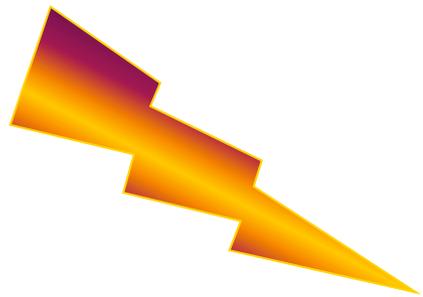
Capacidade proliferativa no mesmo organismo: variável

Regeneração de ferimentos









G0



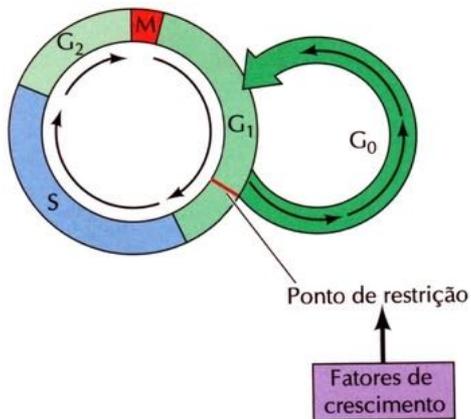
G1

M

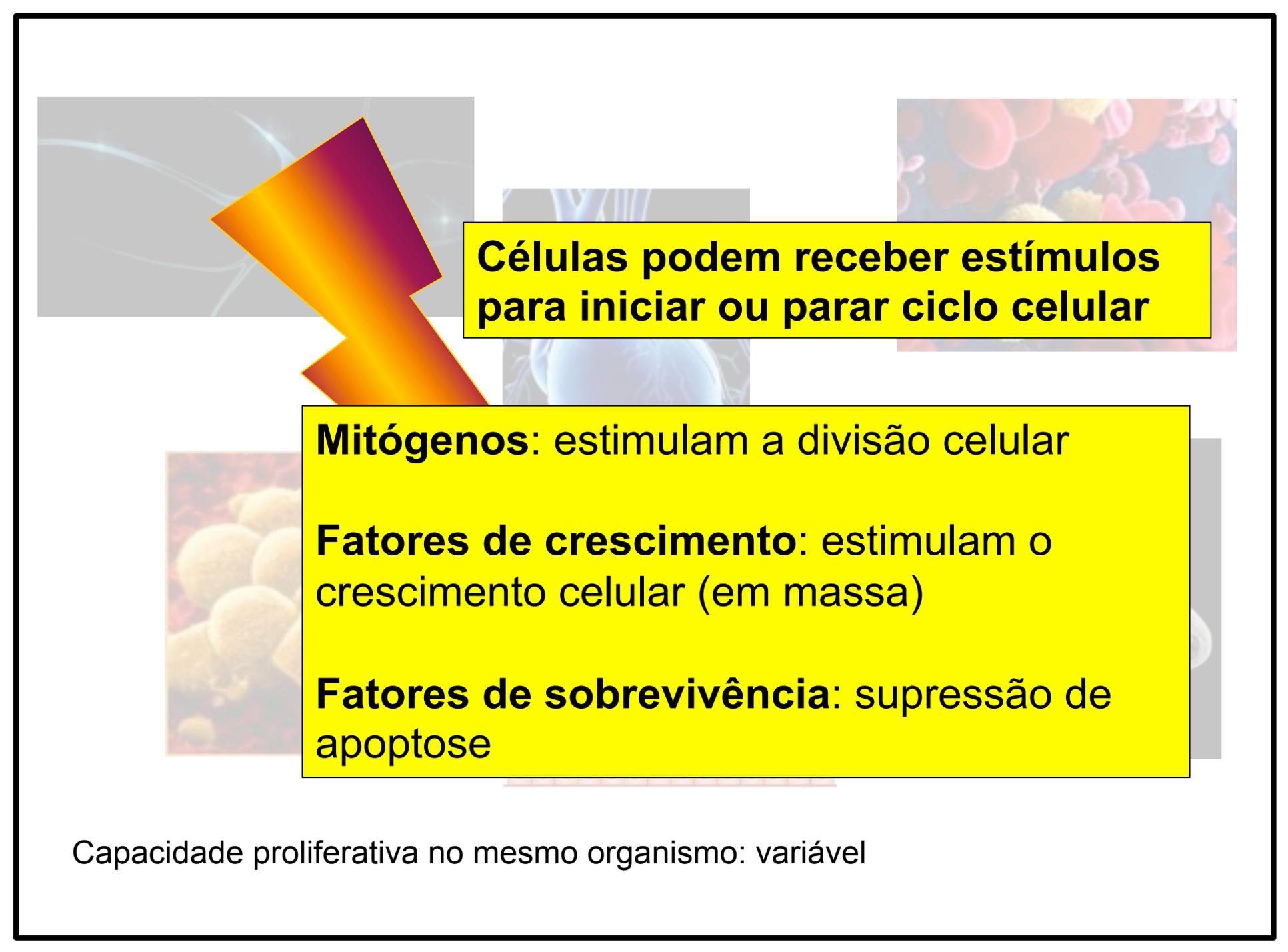
S

G2

Saída para G_0 ?



Por exemplo neurônios



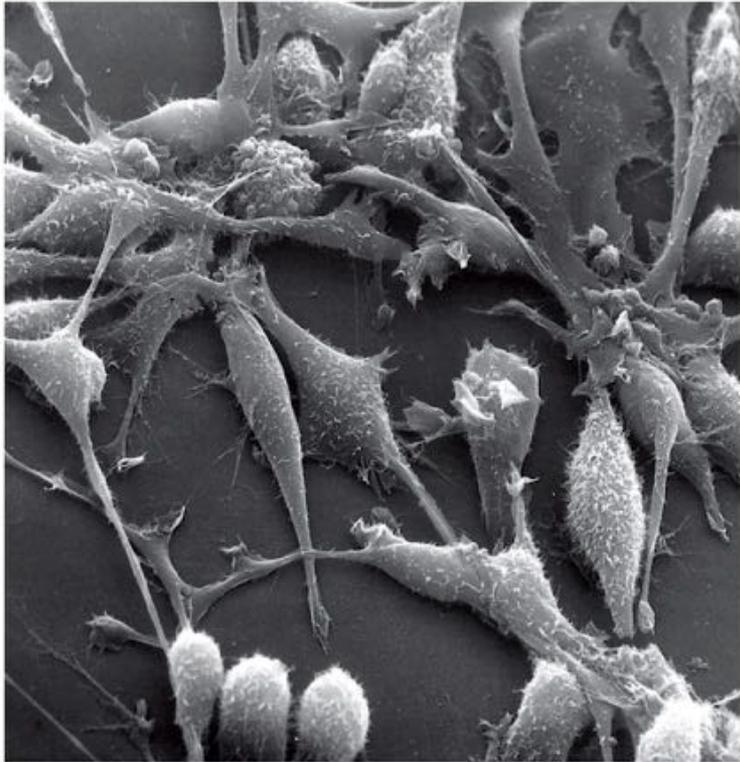
Células podem receber estímulos para iniciar ou parar ciclo celular

Mitógenos: estimulam a divisão celular

Fatores de crescimento: estimulam o crescimento celular (em massa)

Fatores de sobrevivência: supressão de apoptose

Capacidade proliferativa no mesmo organismo: variável



10 μm

Exemplo: Fibroblastos em cultura

- Estímulo para sair de G0: PDGF
- Estímulo para entrada no ciclo: EGF

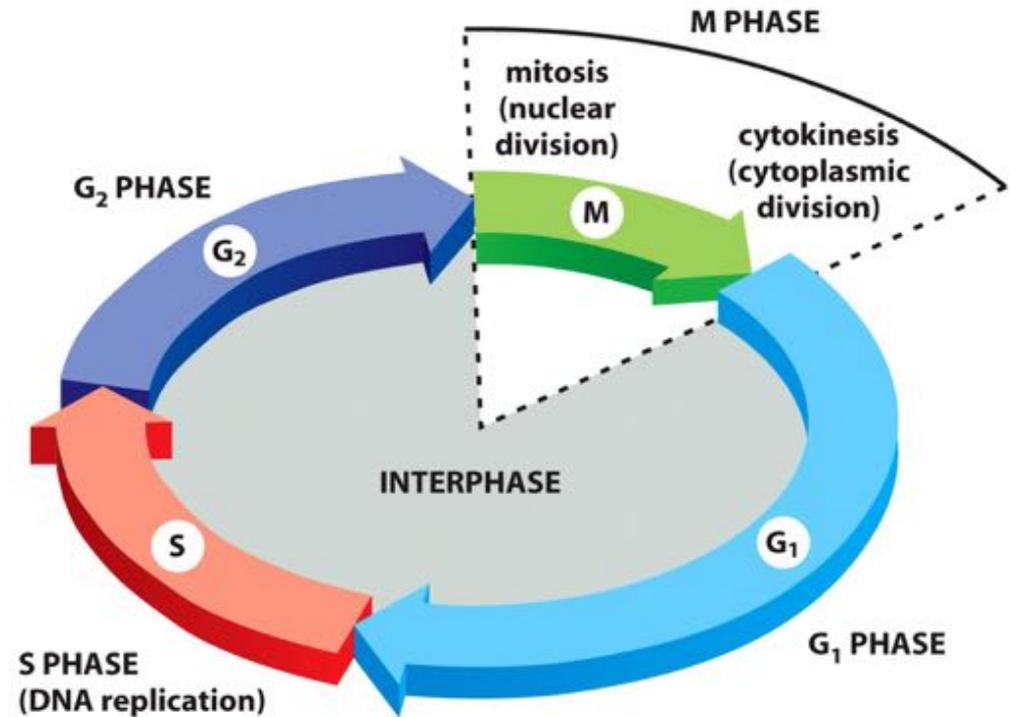
Ciclo celular

Intérfase:

-crescimento da célula e replicação do DNA

Mitose:

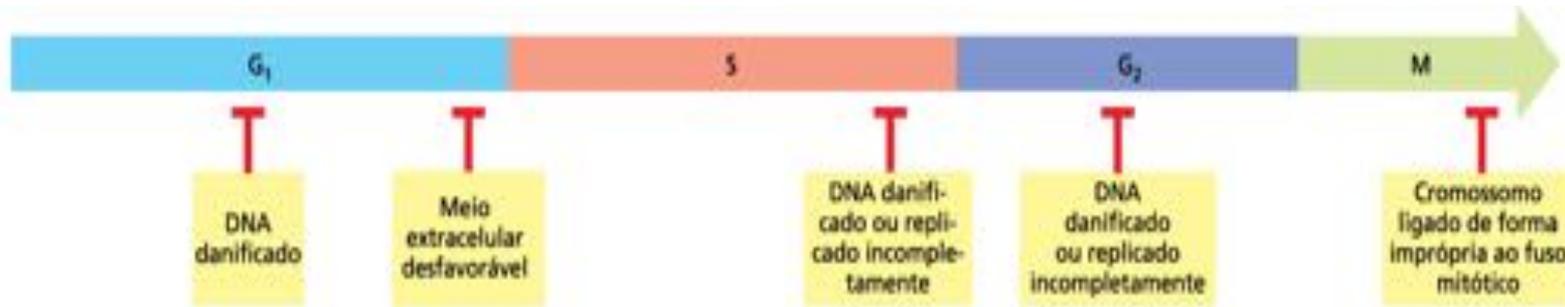
-divisão nuclear (mitose)
-divisão do citoplasma (citocinese)



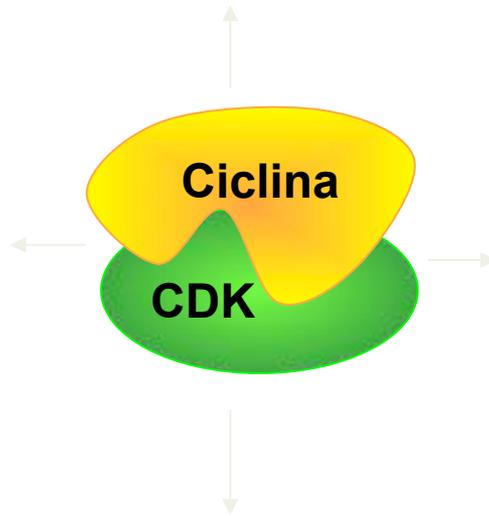
Pontos de verificação

pontos de verificação
são pontos de controle
do ciclo celular

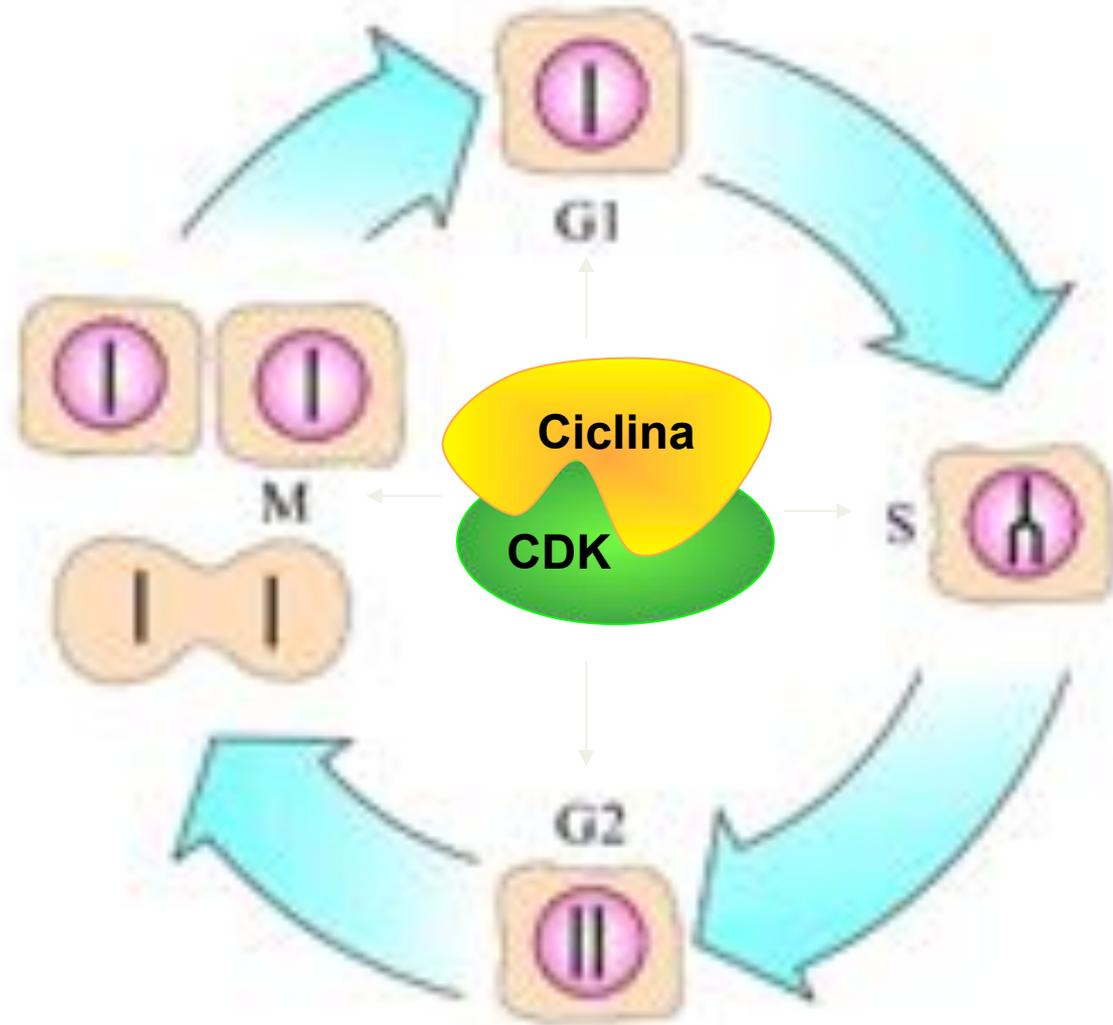
Condições externas e sinais
intracelulares



Controle do ciclo celular

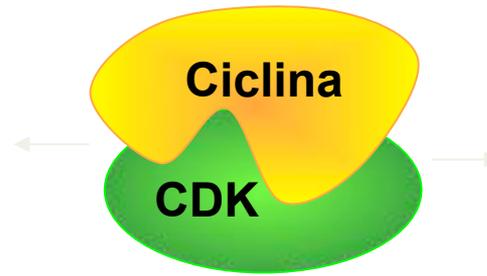


Controle do ciclo celular



Controle do ciclo celular: ciclina-CDK

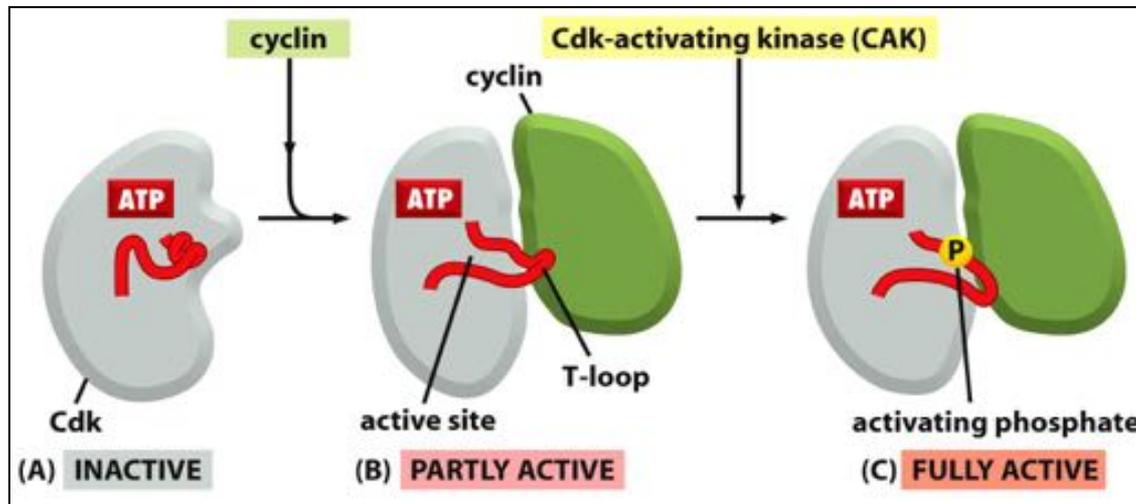
Acúmulo e degradação de ciclinas modulam a atividade das CDKs



Controle do ciclo celular: ciclina-CDK

CDKs: proteínas conservadas; 30-40kDa

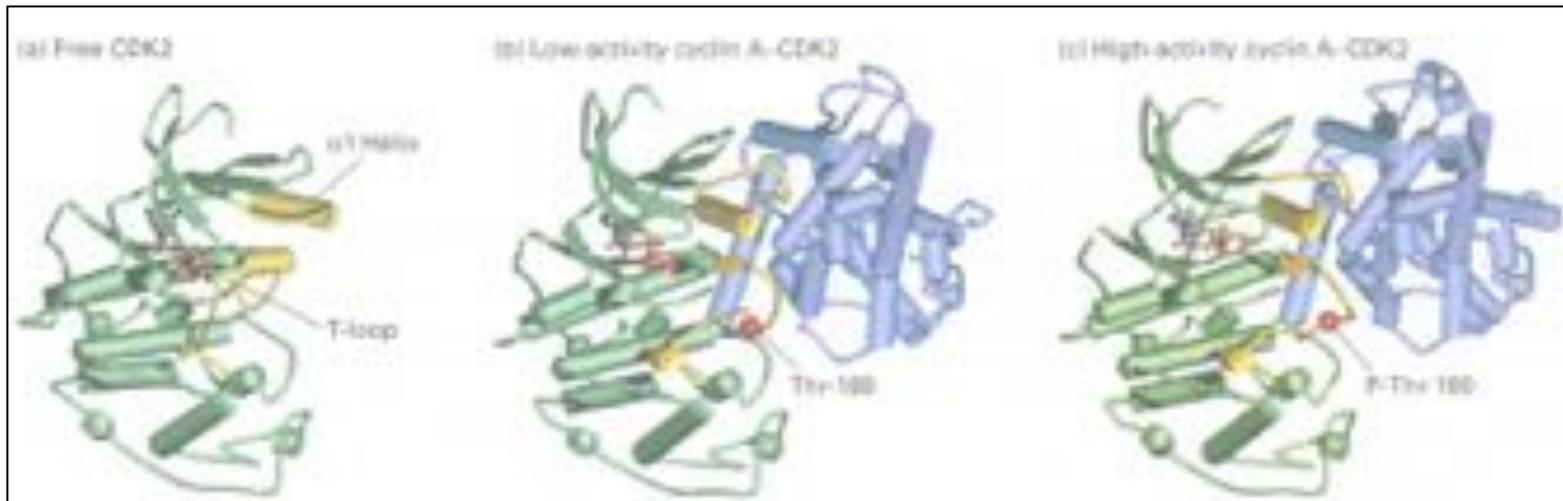
Ativação: 1) ligação a ciclina (altera conformação) e 2) fosforilação sítio ativo



Controle do ciclo celular: ciclina-CDK

CDKs: proteínas conservadas; 30-40kDa

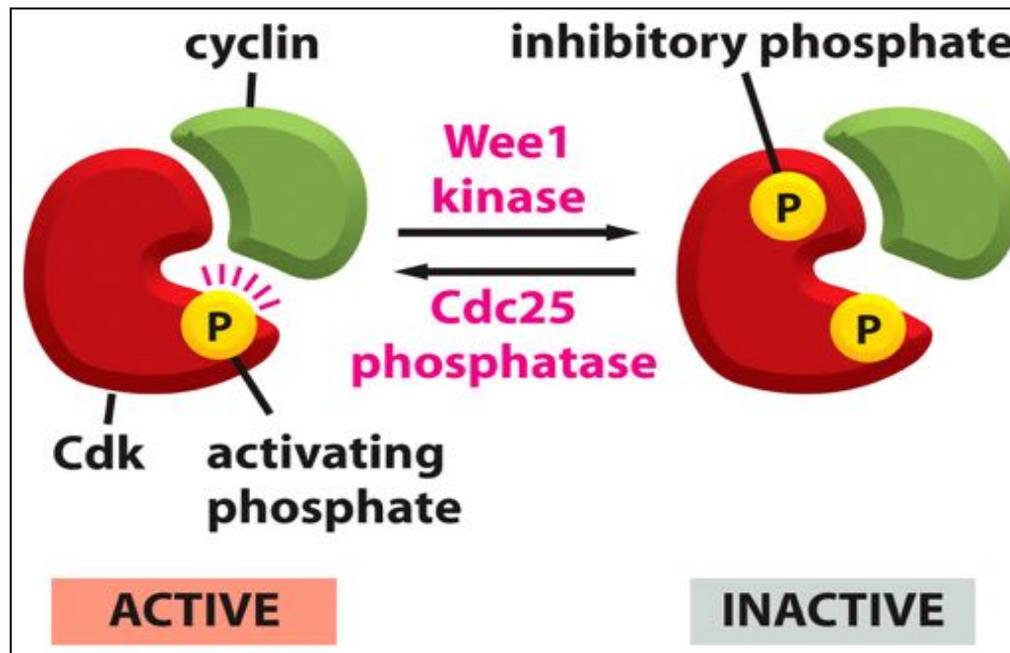
Ativação: 1) ligação a ciclina (altera conformação) e 2) fosforilação sítio ativo



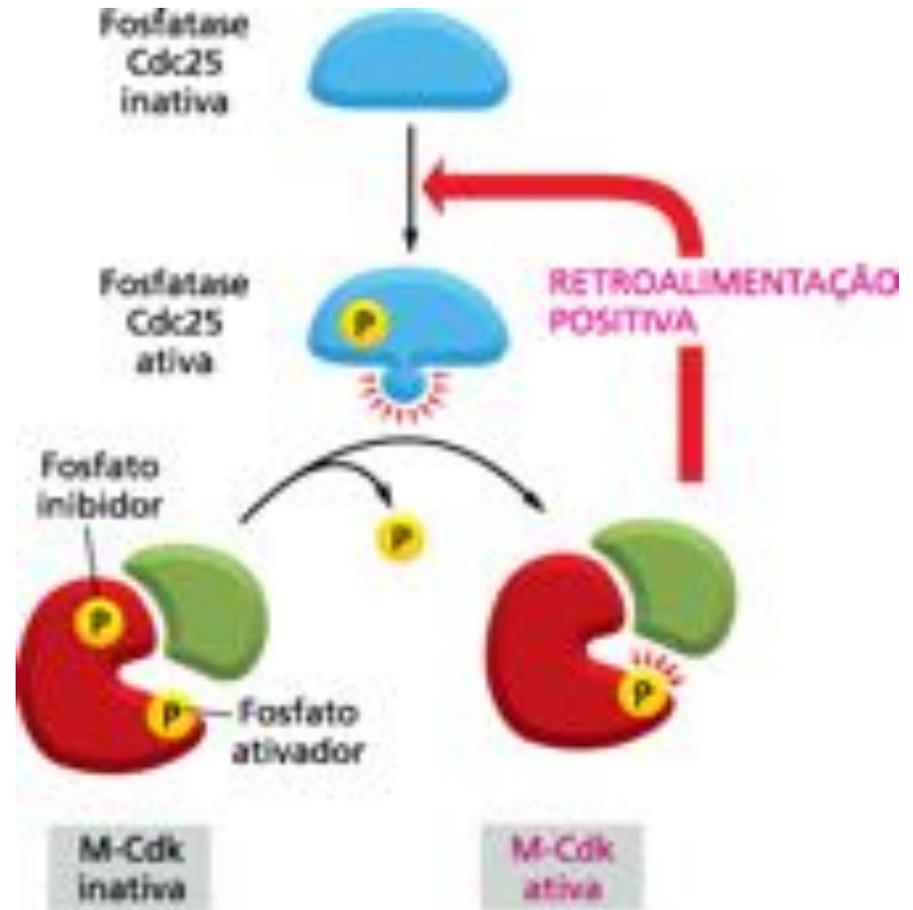
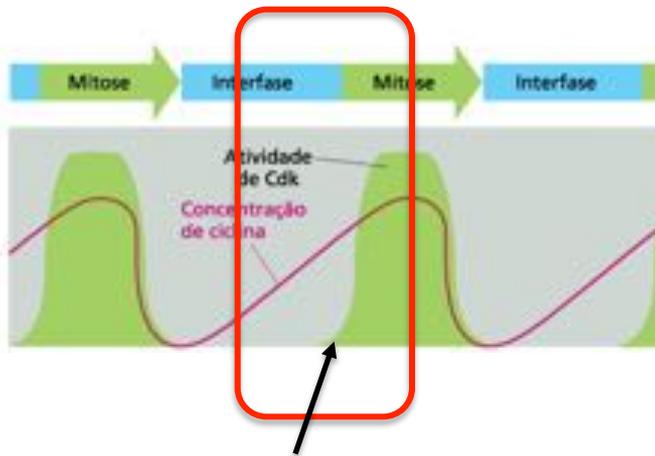
Controle do ciclo celular: ciclina-CDK

CDKs: proteínas conservadas; 30-40kDa

Regulação mais fina: kinase Wee1/ fosfatase Cdc25



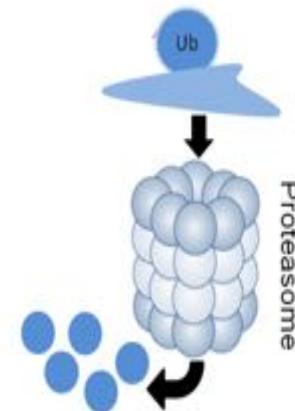
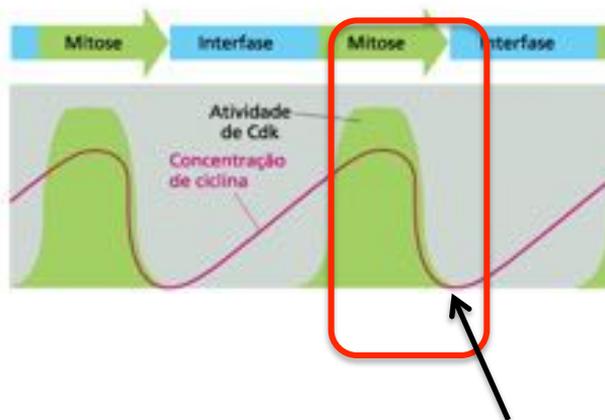
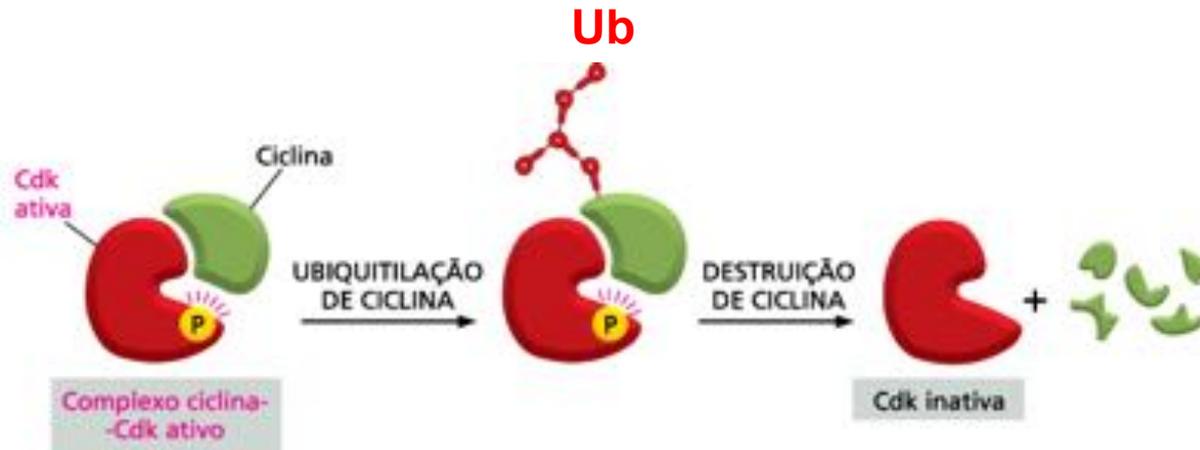
Controle do ciclo celular: ciclina-CDK



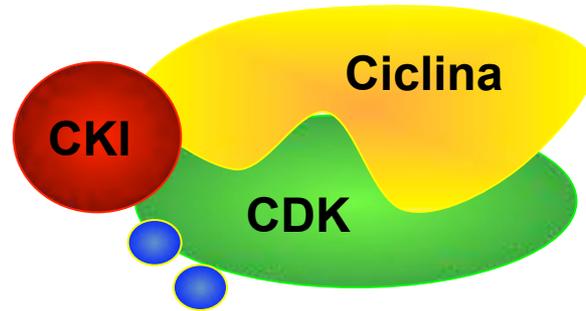


Controle do ciclo celular: ciclina-CDK

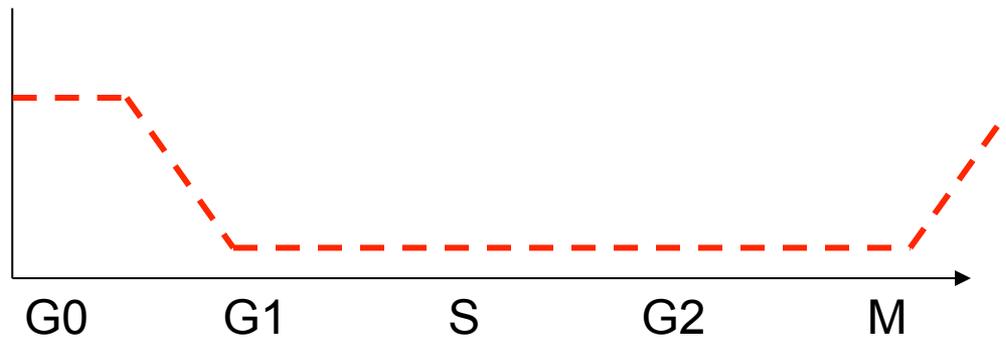
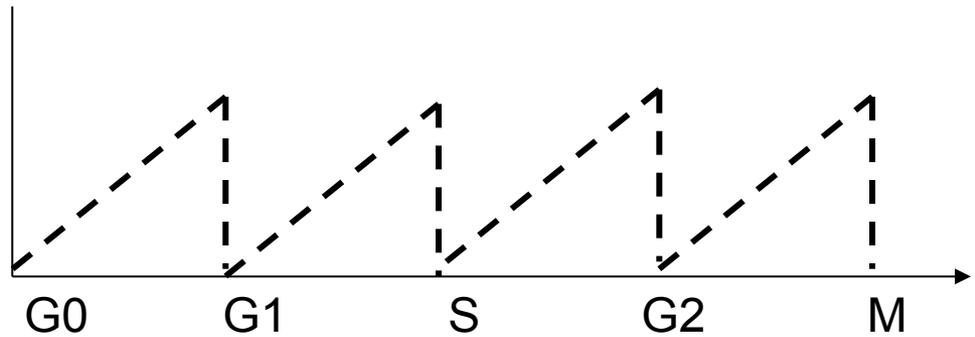
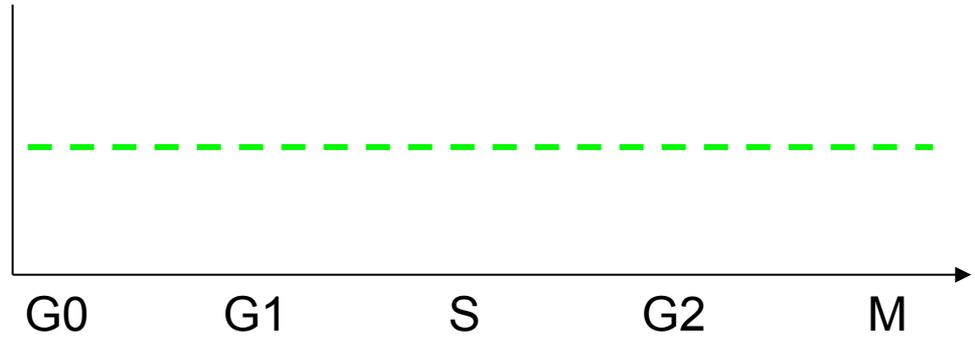
Degradação: proteassoma



Controle do ciclo celular: ciclina-CDK



Interações com proteínas inibitórias: CKIs



CDK, Ciclinas e **CKI**

CDK1 Ciclinas A, B

p27, p21, p57

cip/kip

CDK2 Ciclinas A, E

CDK3 Ciclina E

CDK4 Ciclina D

p15, p16, p18, p19

INK4

CDK5 Ciclina D

CDK6 Ciclina D

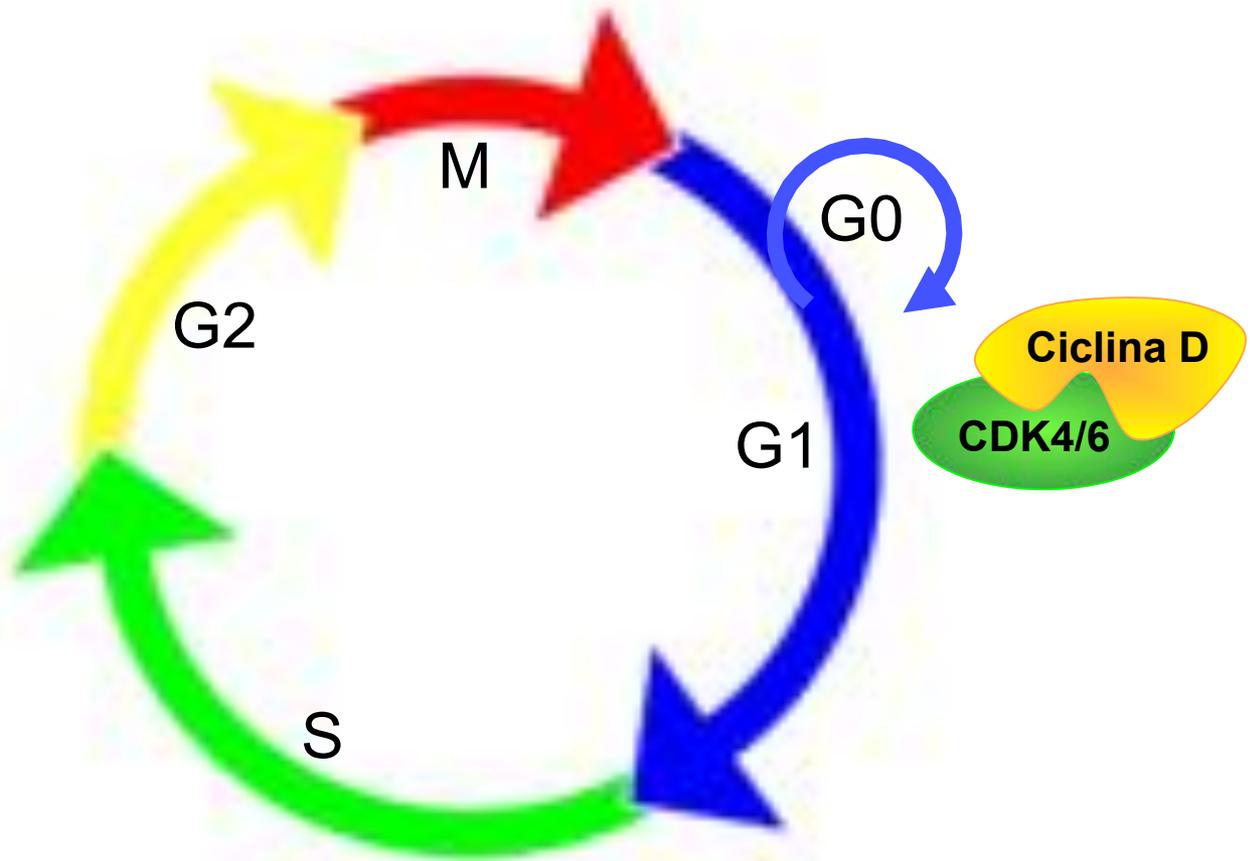
CDK7 Ciclina H

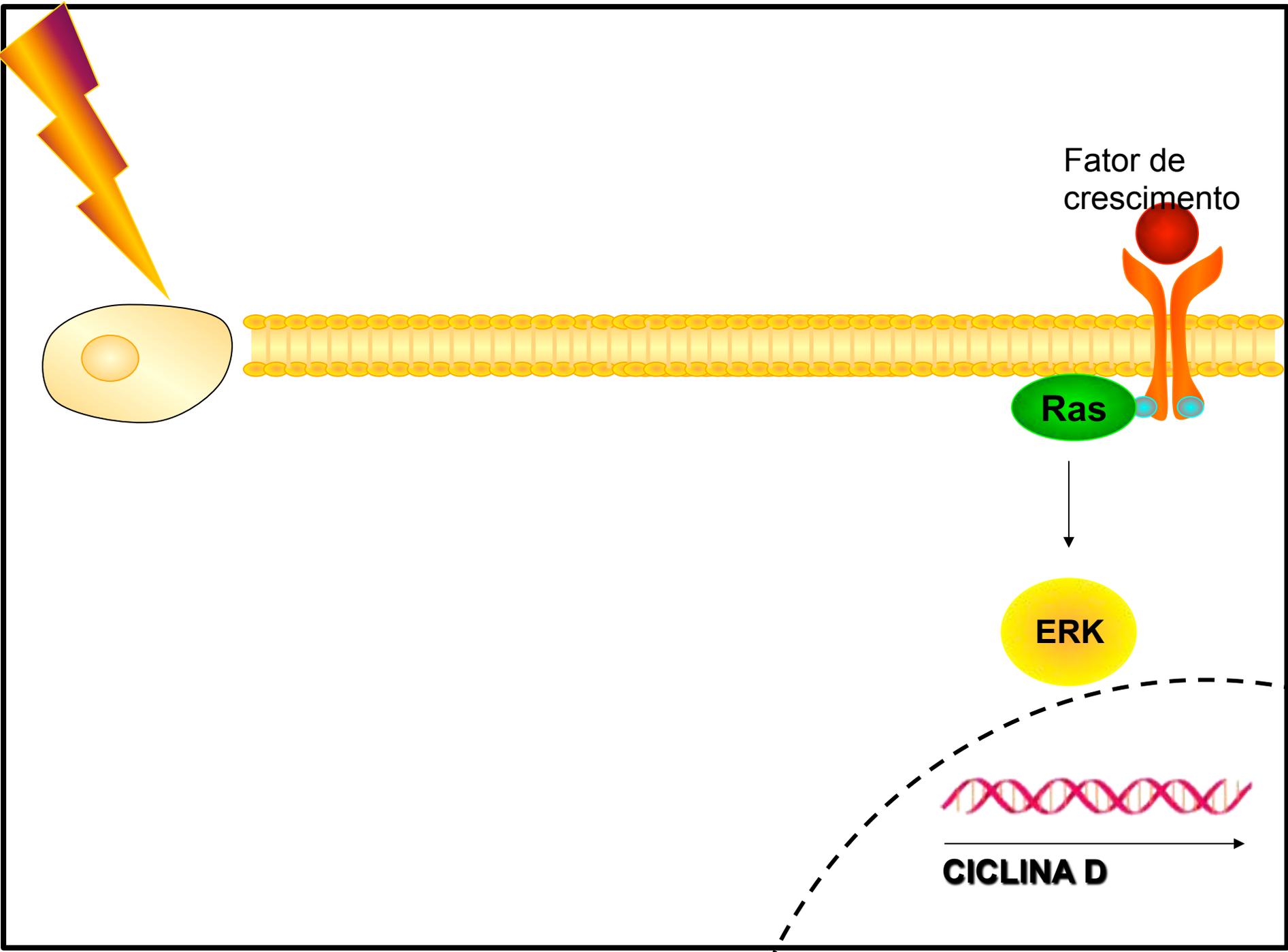
CDK8 Ciclina C

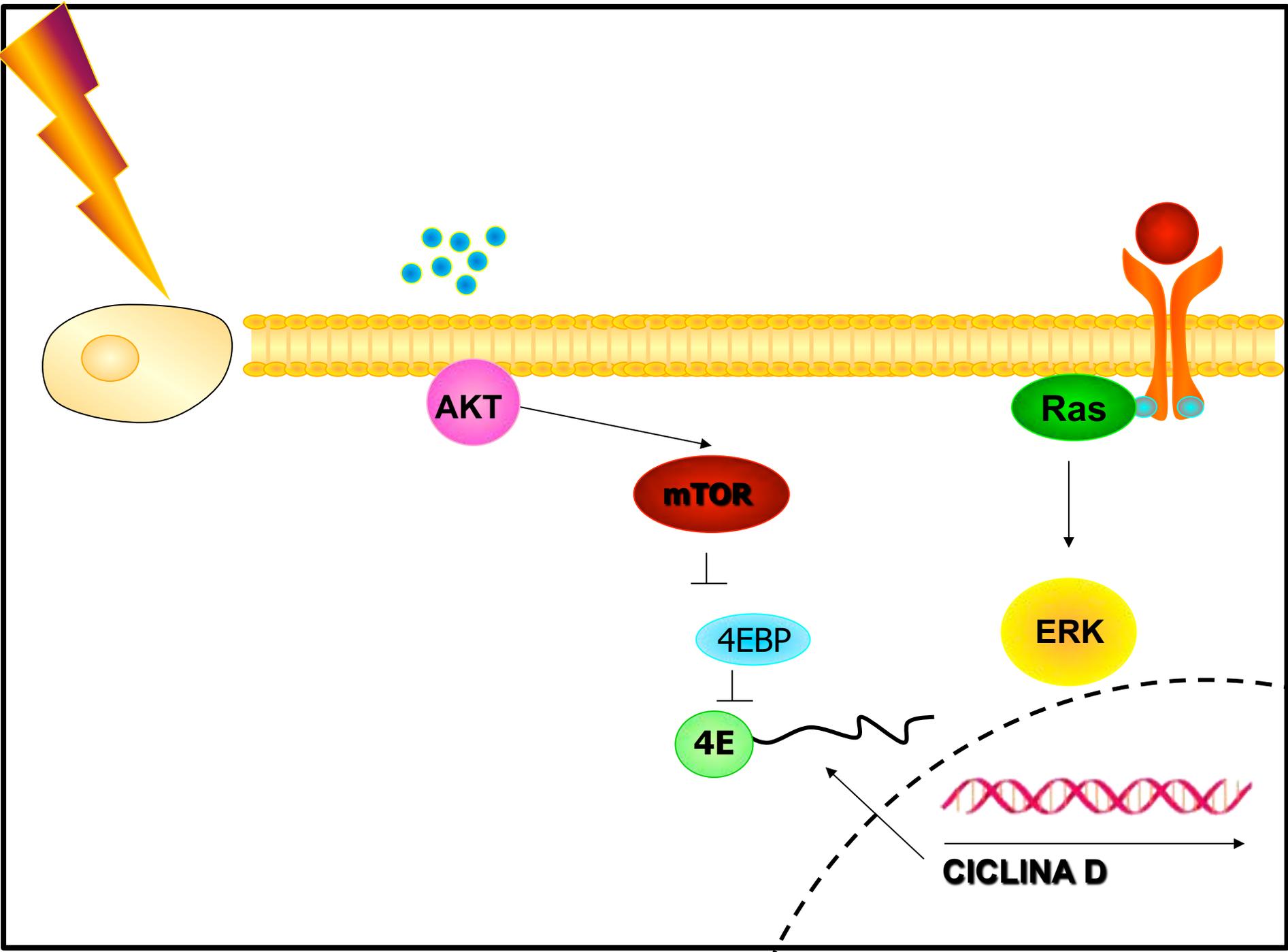
CDK9 Ciclina T

CDK, Ciclinas e fases do ciclo

CDK1	Ciclinas A, B	G2/M
CDK2	Ciclinas A, E	G1/S, S
CDK3	Ciclina E	G1/S
CDK4	Ciclina D	G1/S
CDK5	Ciclina D	Diferenciação neuronal
CDK6	Ciclina D	G1/S
CDK7	Ciclina H	CAK
CDK8	Ciclina C	Regulação transcricional
CDK9	Ciclina T	G1/S







AKT

mTOR

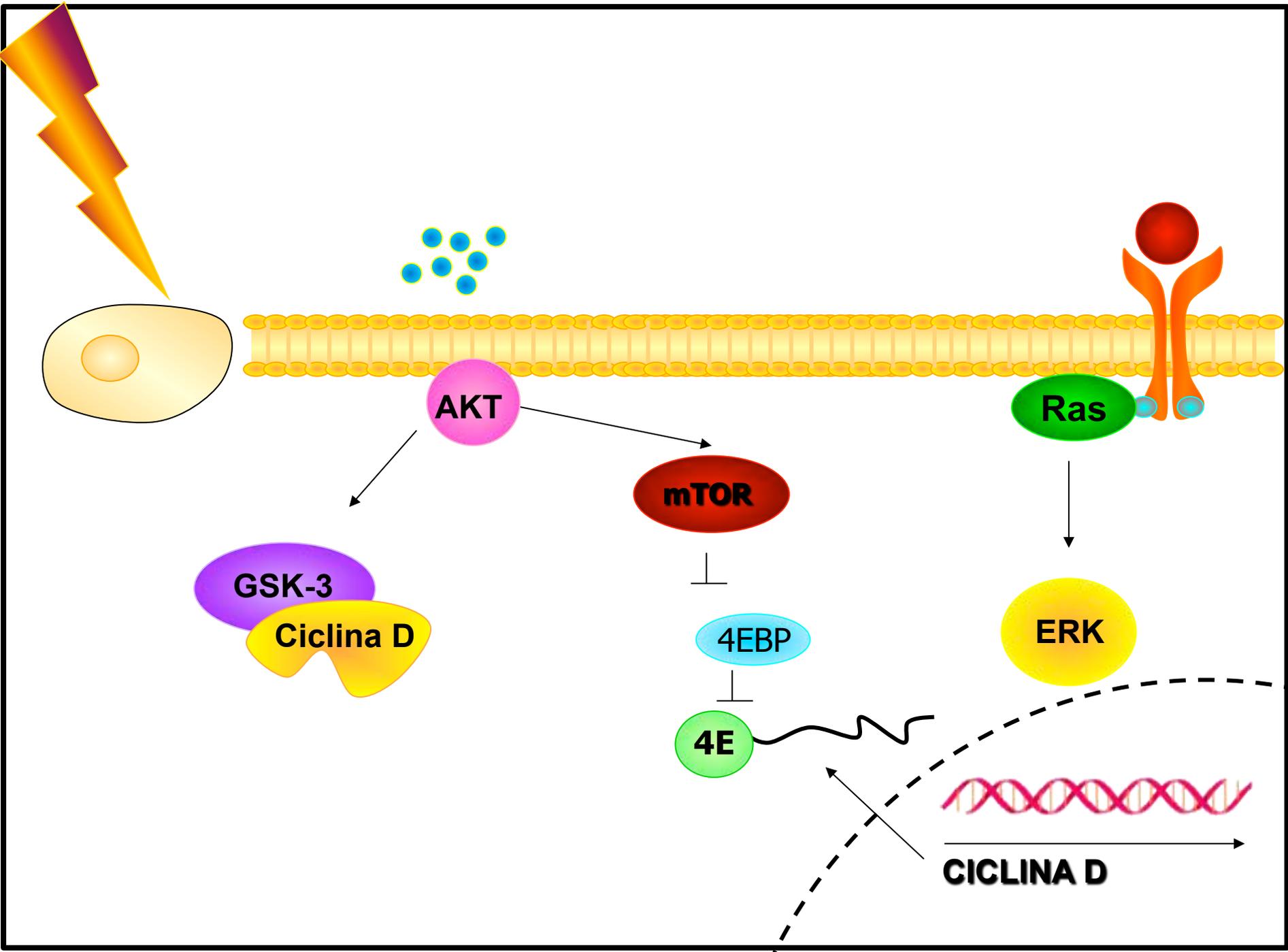
4EBP

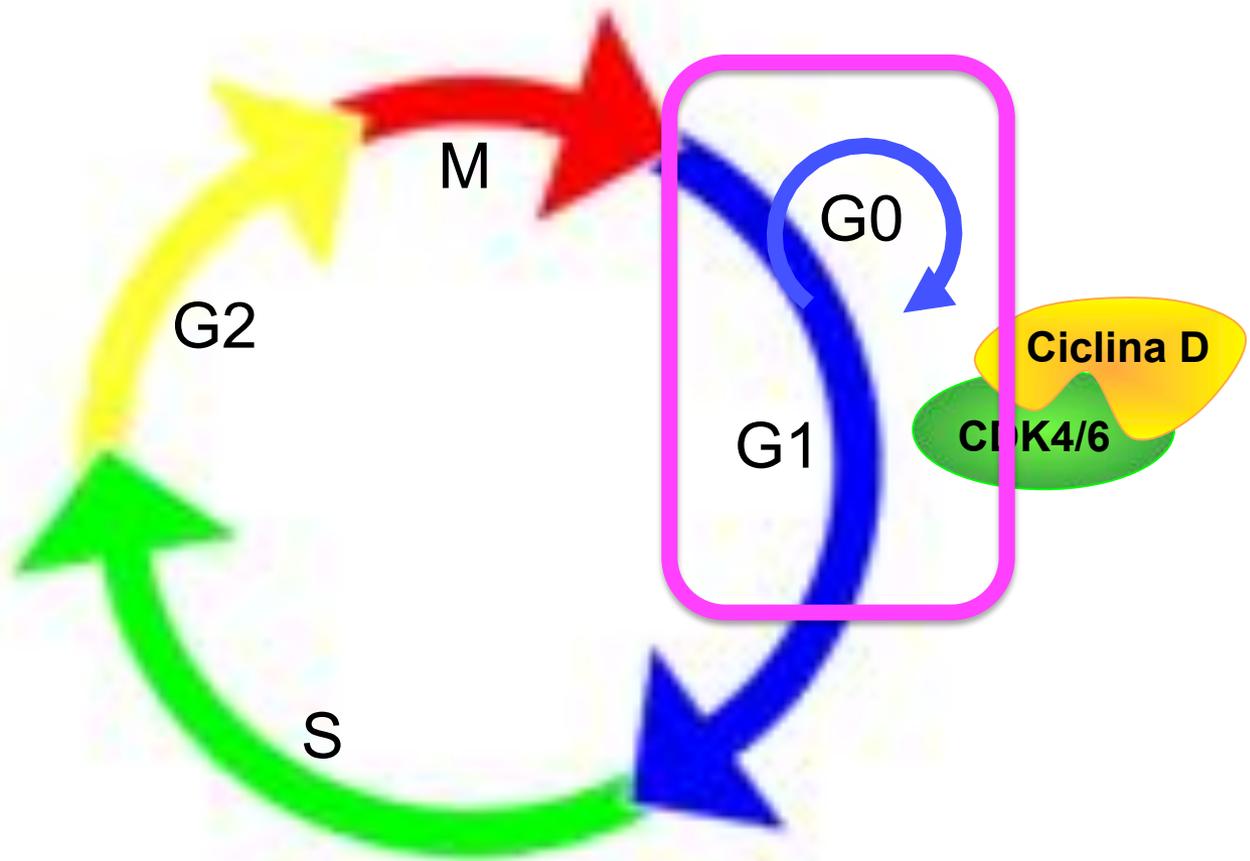
4E

Ras

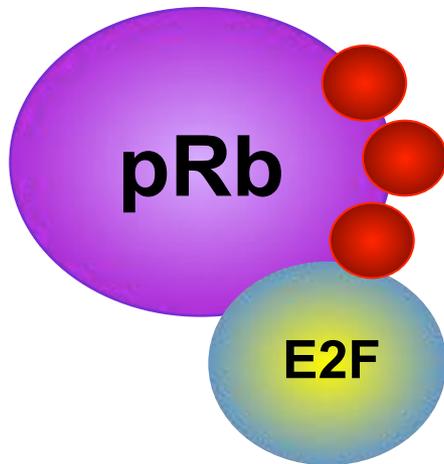
ERK

CICLINA D



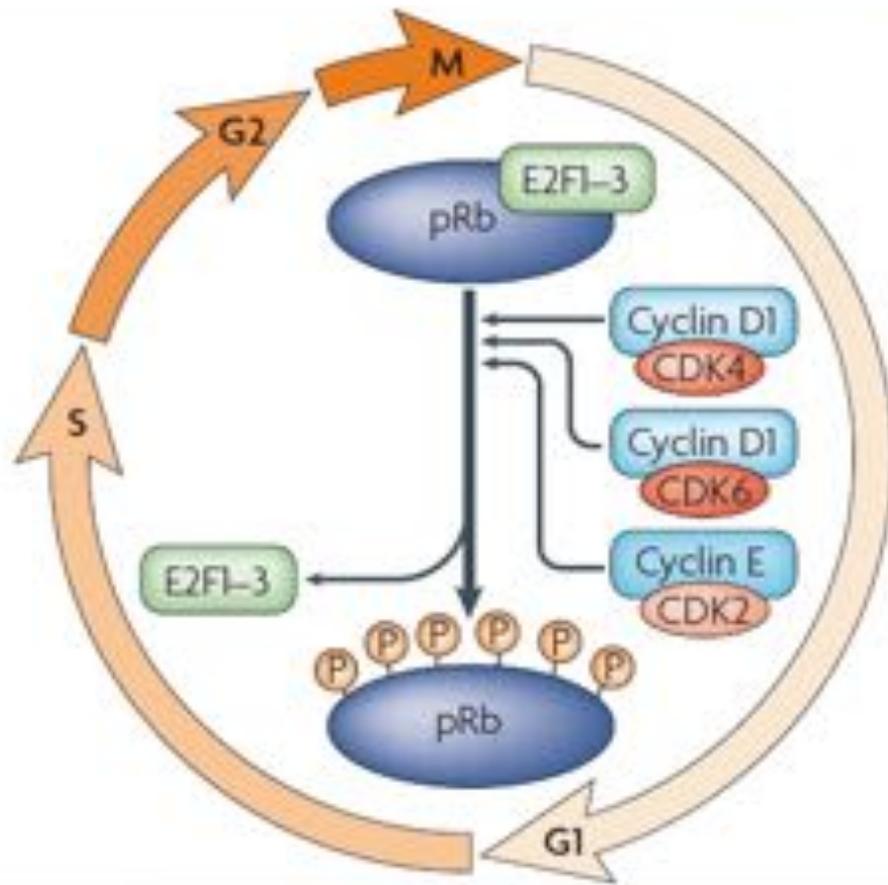


Período de resposta a estímulos extracelulares



- Ciclinas E e A
- CDK1
- c-myc
- E2F

- DNA polimerase α
- Timidina quinase
- Timidilato sintetase
- Hidrofolato redutase

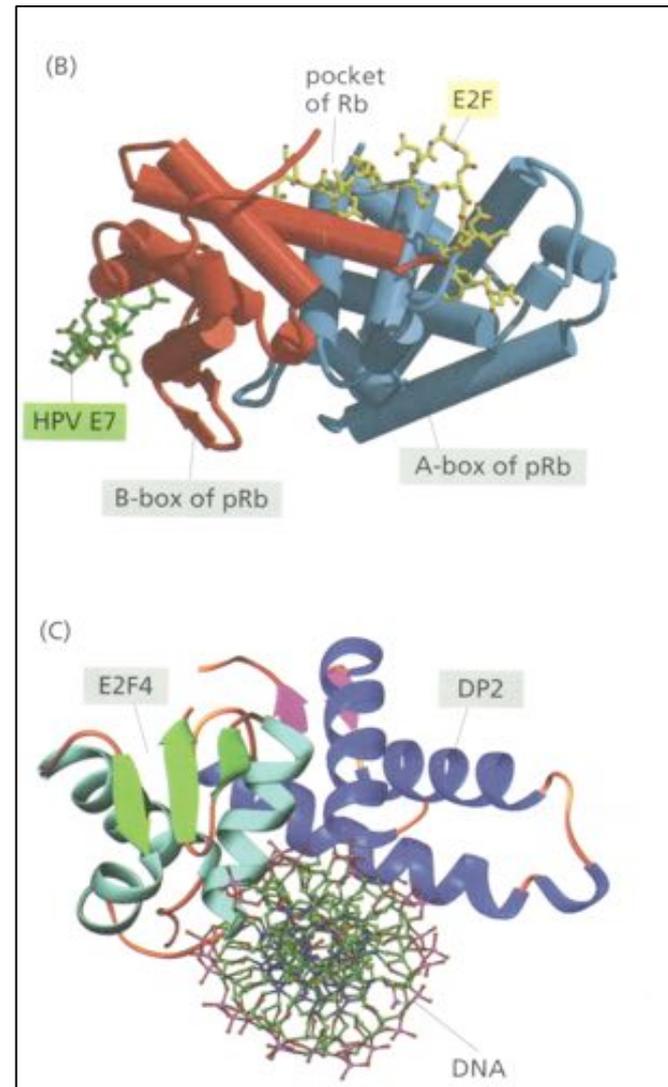


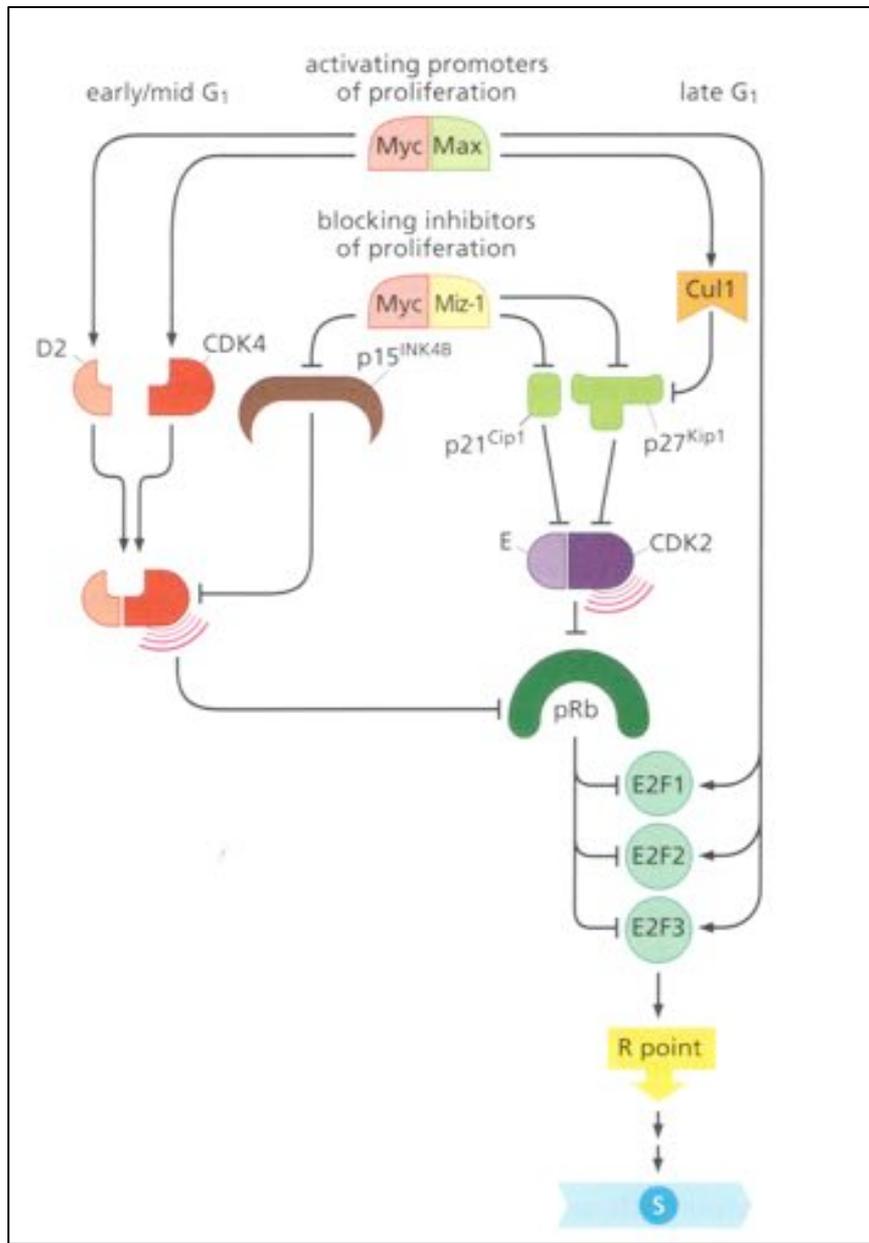
Proteína pRB

Reguladora do ciclo

Ligação com E2Fs pode ser reduzida na presença de algumas proteínas virais → oncoproteínas (HPV)

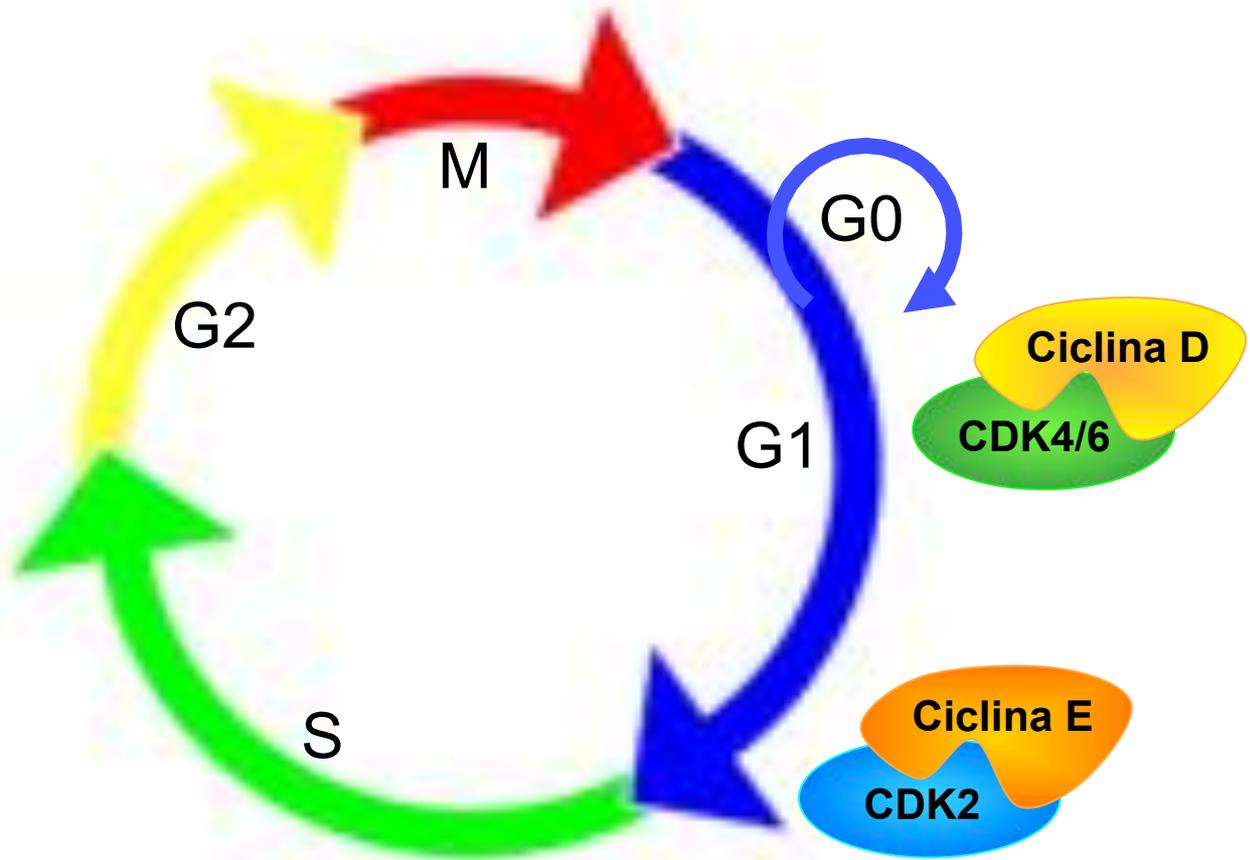
E2F4 ligando ao DNA





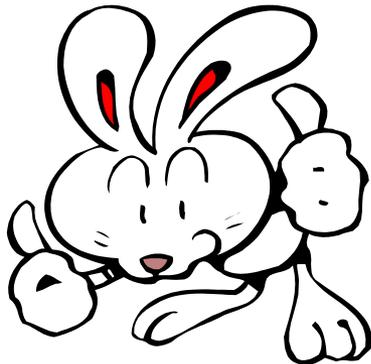
Myc

induz proliferação celular



Ponto de verificação G1/S

- ❖ O tamanho da célula é adequado ?
- ❖ Existe energia suficiente para continuar ?
- ❖ O estímulo para a proliferação continua ?
- ❖ A maquinaria de replicação está presente ?
- ❖ O DNA está íntegro para ser copiado ?



PROGRESSÃO

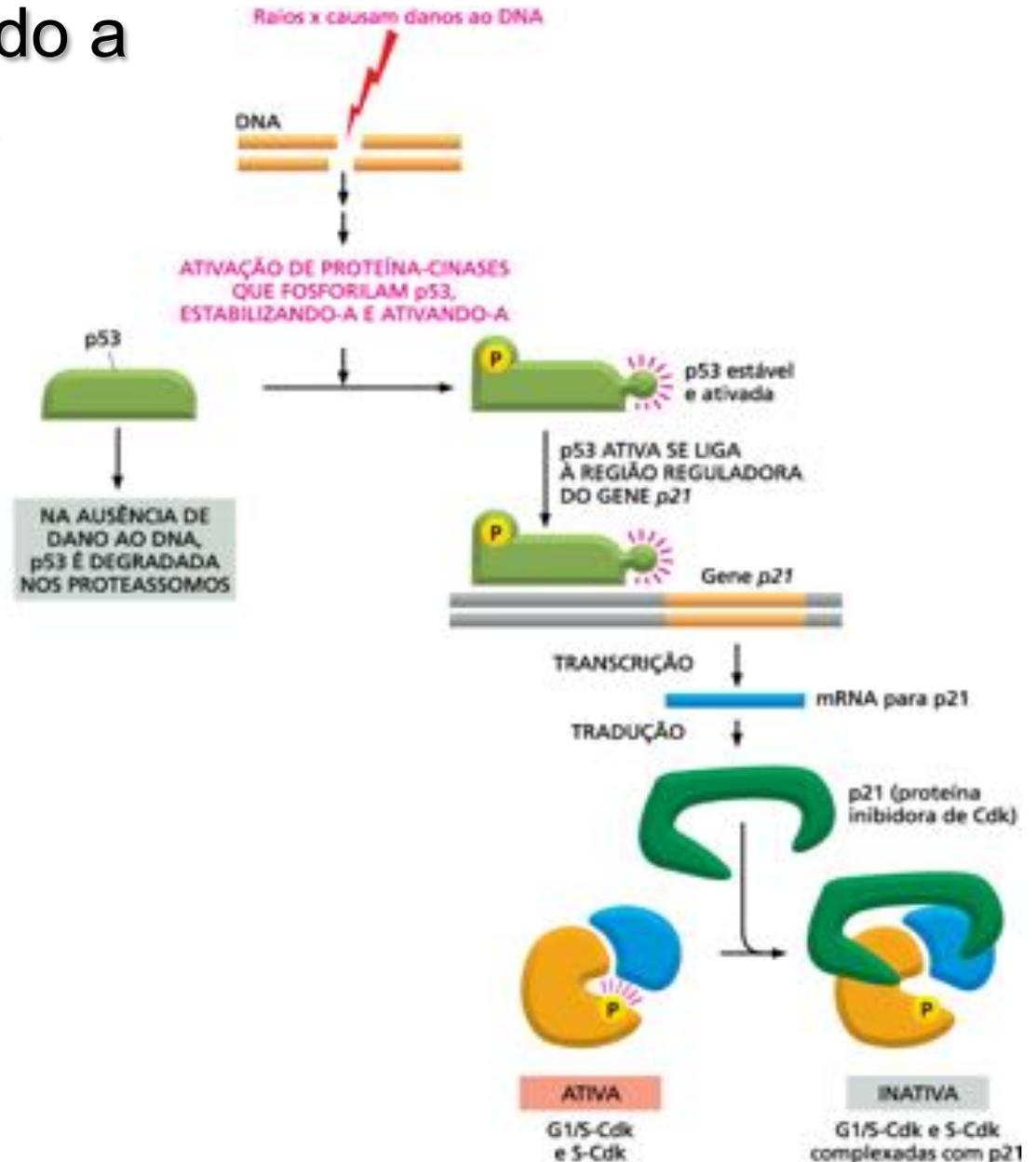
Ponto de verificação G1/S

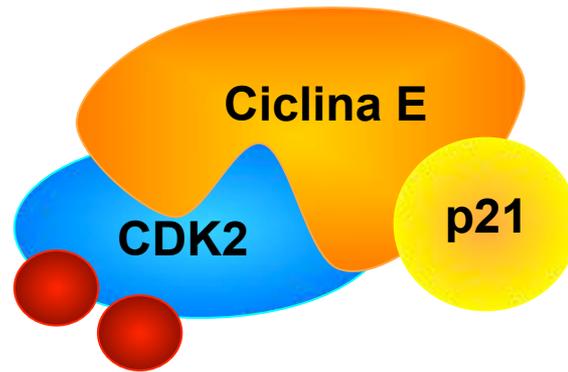
- ❖ O tamanho da célula é adequado ?
- ❖ Existe energia suficiente para continuar ?
- ❖ O estímulo para a proliferação continua ?
- ❖ A maquinaria de replicação está presente ?
- ❖ O DNA está íntegro para ser copiado ?

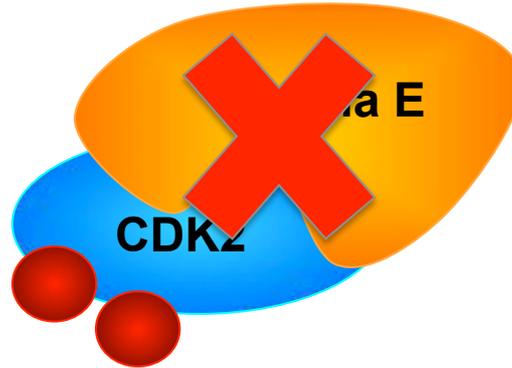


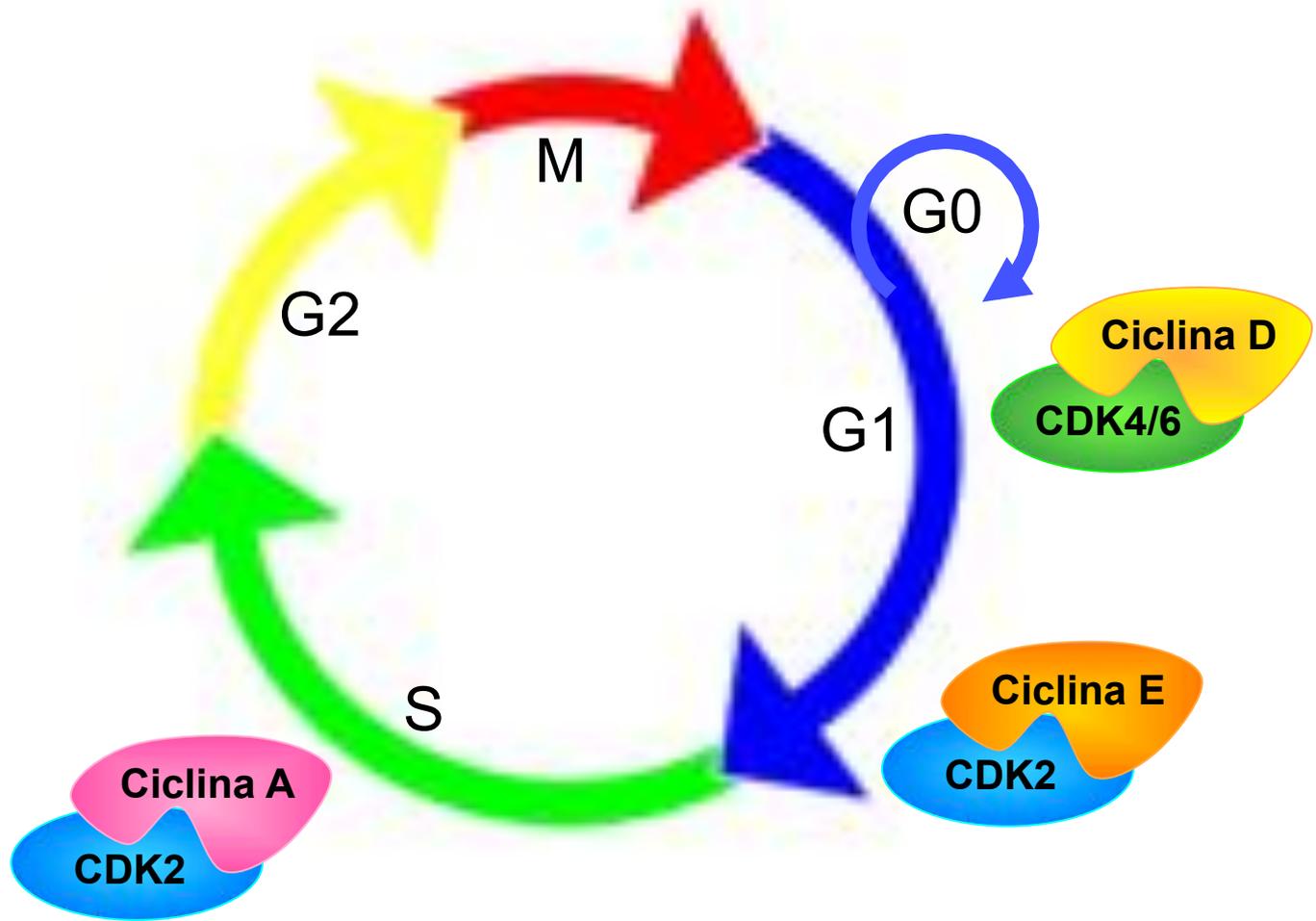
PARADA OU APOPTOSE

Parada em G1 devido a danos no DNA

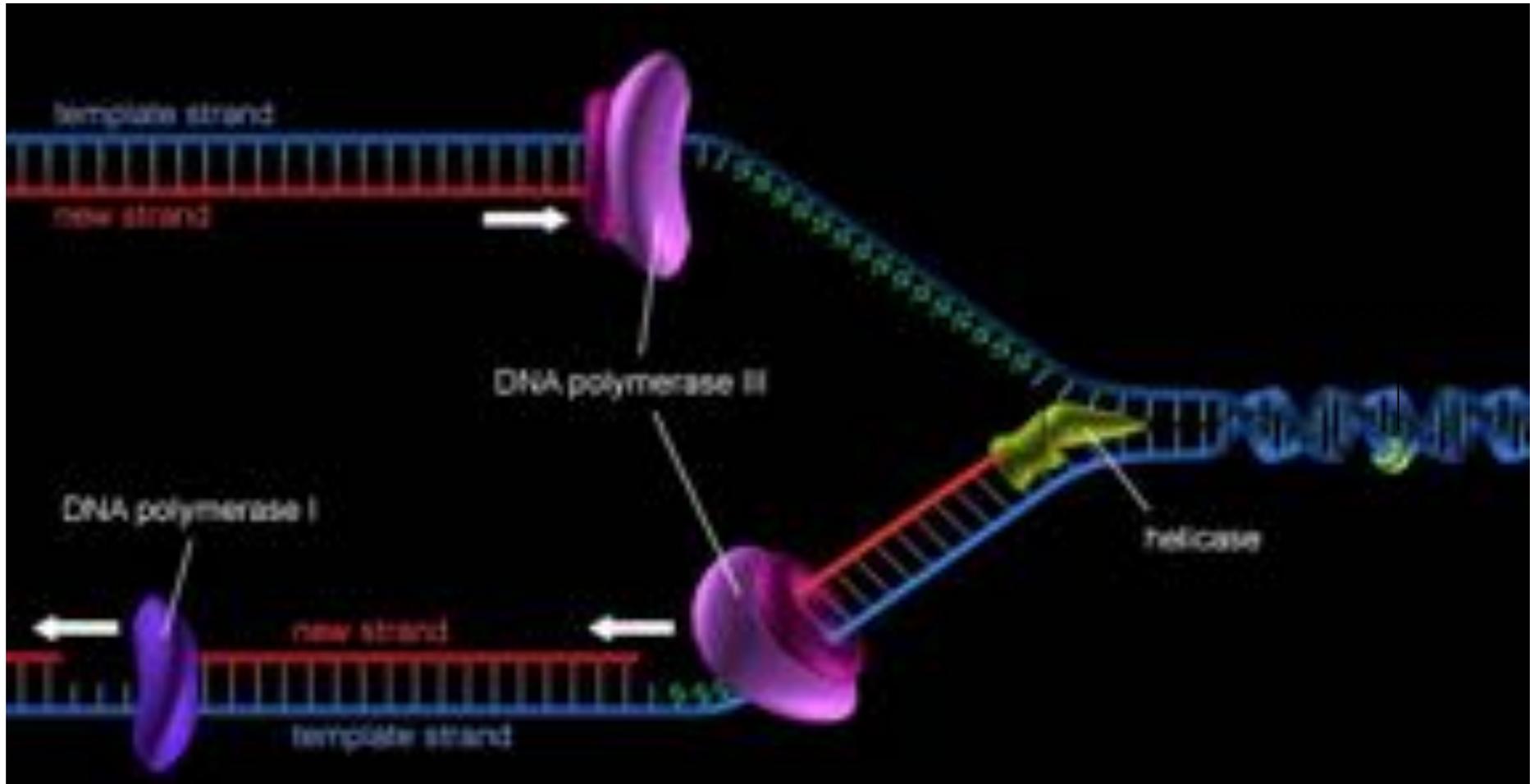








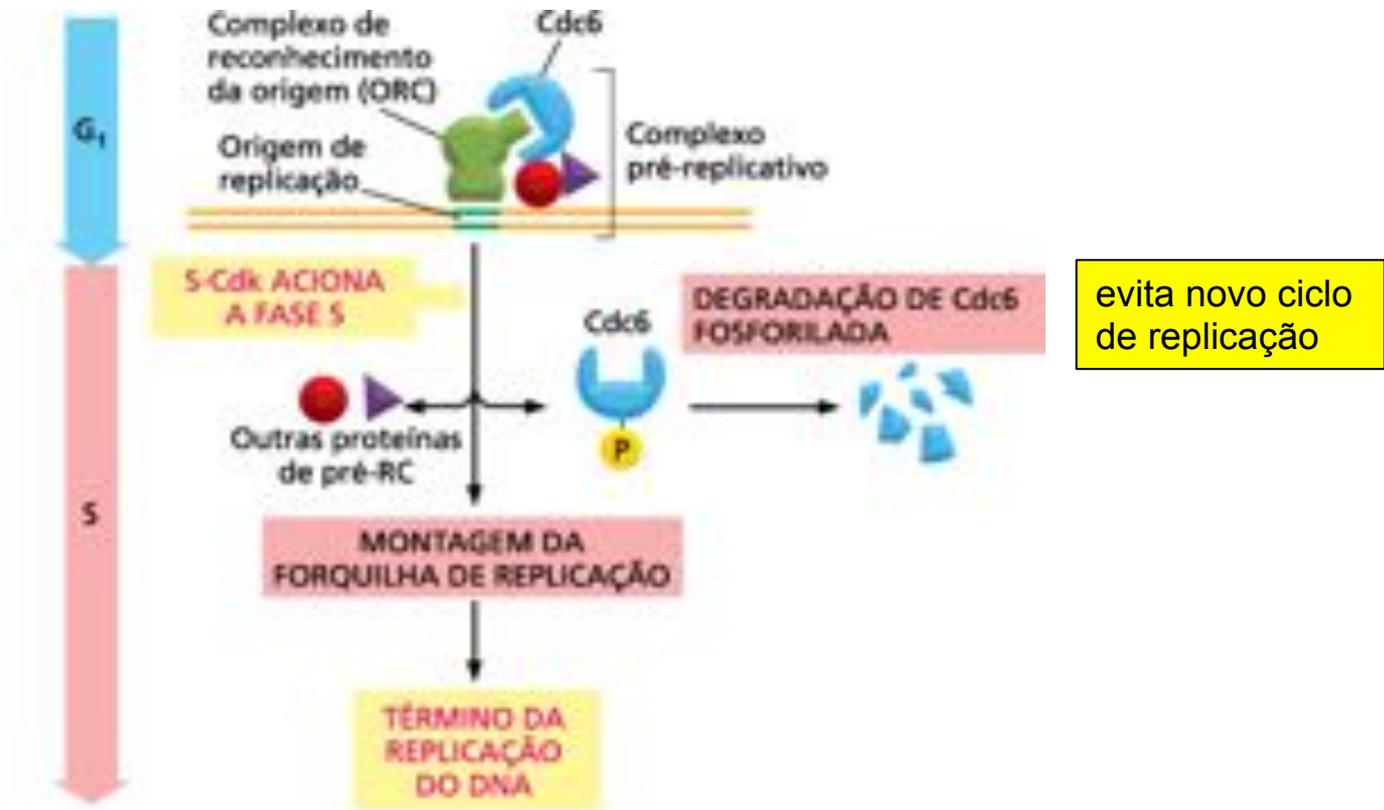
Fase S: replicação do DNA



Controle da replicação do DNA



Controle da replicação do DNA



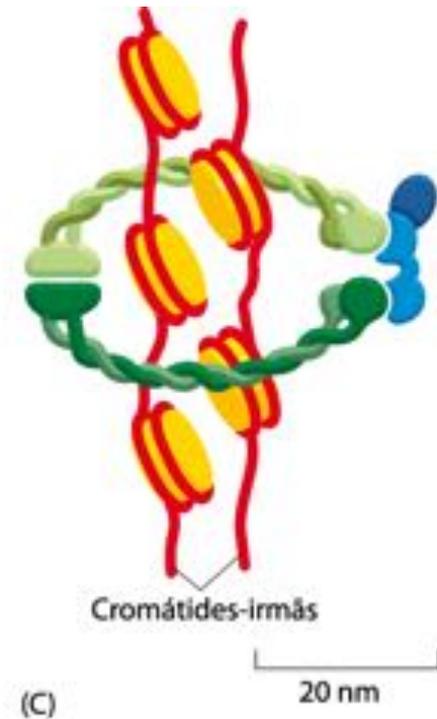
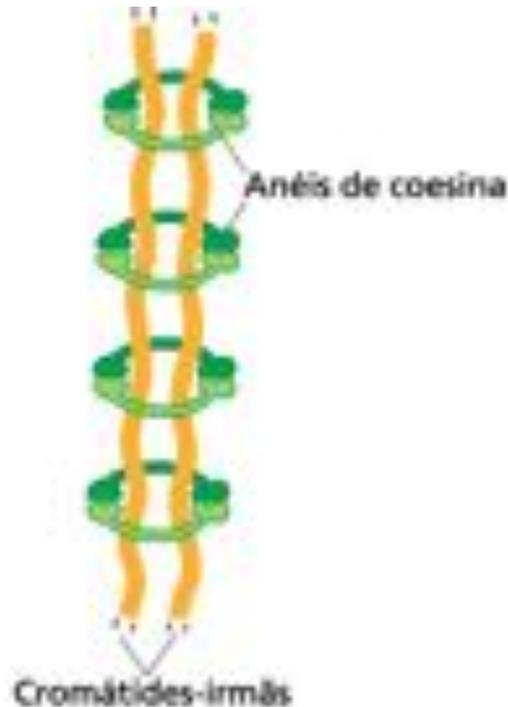
CDK2-ciclina A/ S-CDK:

- dispara replicação do DNA
- impede que a origem seja utilizada novamente

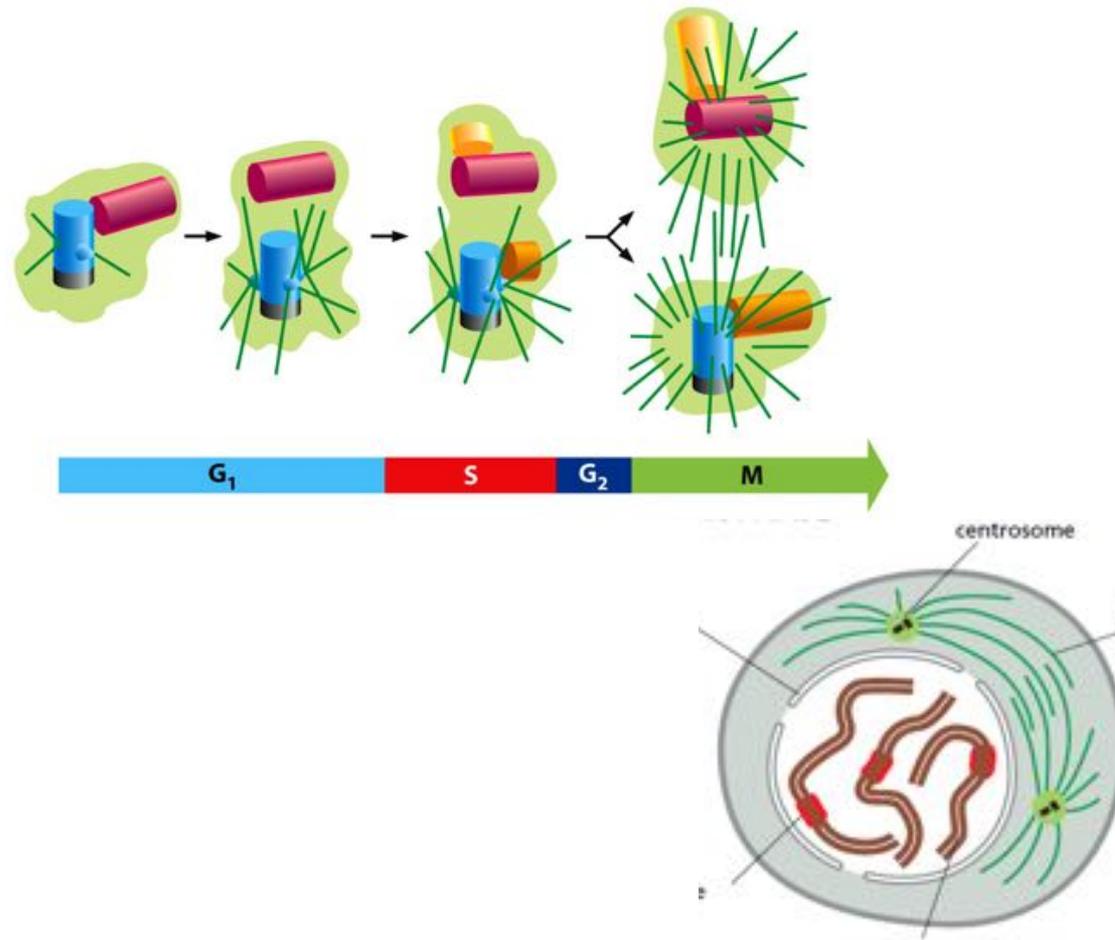
Controle da replicação do DNA

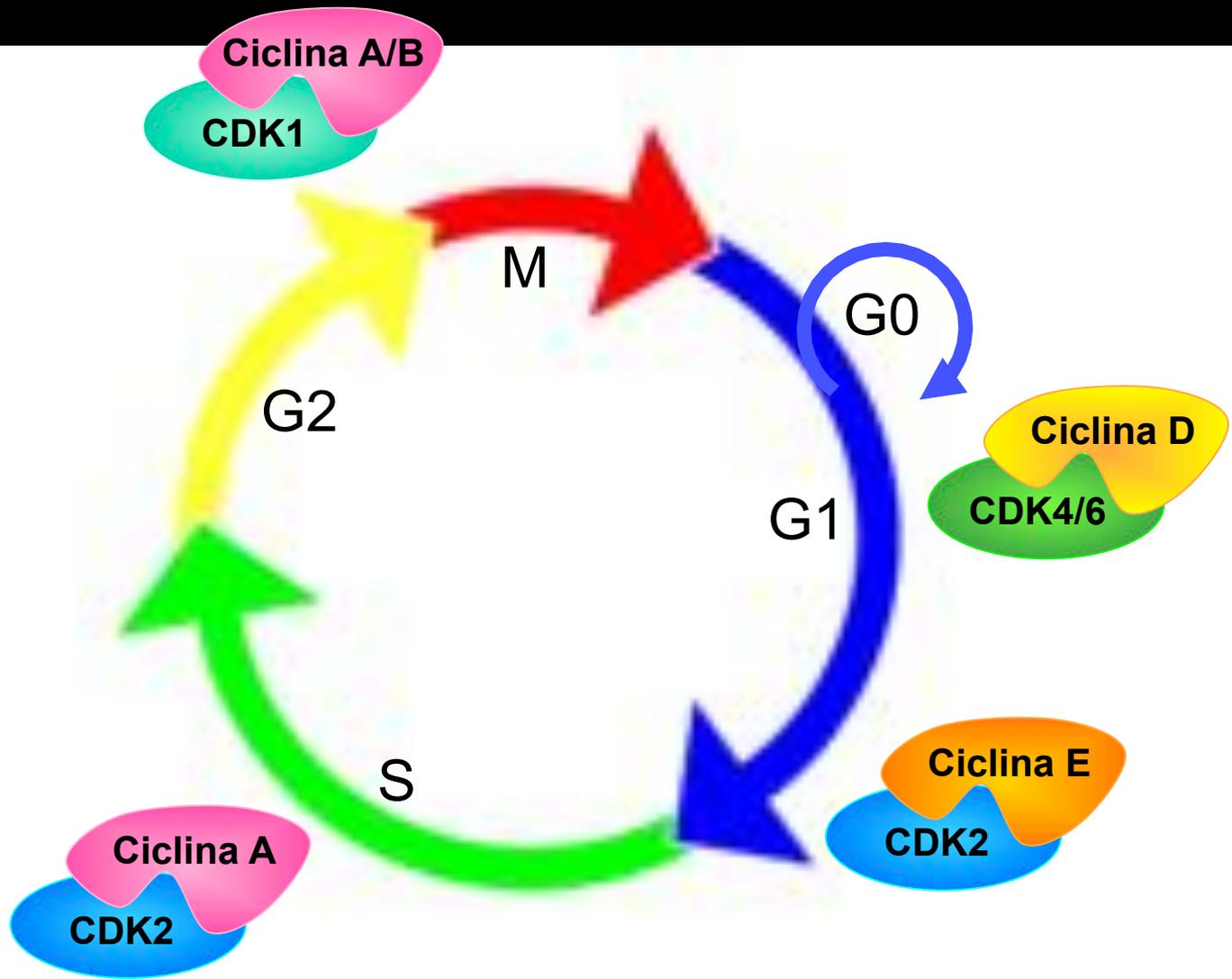
Coesina:

Mantém cromátides-irmãs unidas até o fim da mitose



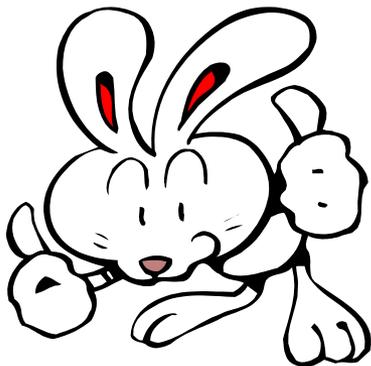
Duplicação dos centrosossomos





Ponto de verificação G2/M

- ❖ O tamanho da célula é adequado ?
- ❖ Existe energia suficiente para continuar ?
- ❖ A replicação dos cromossomos foi adequada?
- ❖ Os centrossomos foram duplicados ?



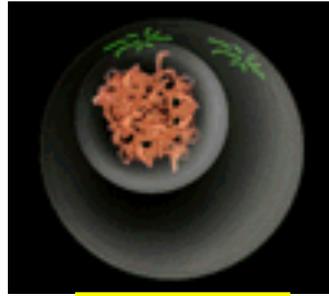
PROGRESSÃO

Ponto de verificação G2/M

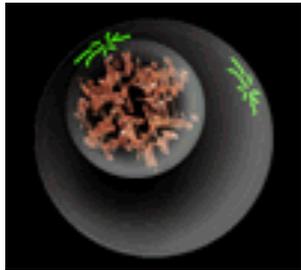
- ❖ O tamanho da célula é adequado ?
- ❖ Existe energia suficiente para continuar ?
- ❖ A replicação dos cromossomos foi adequada?
- ❖ Os centrossomos foram duplicados ?



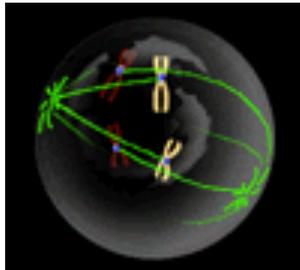
PARADA OU APOPTOSE



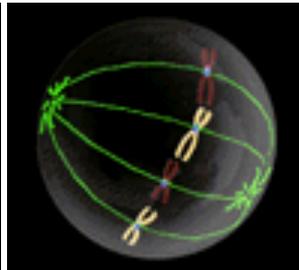
G2



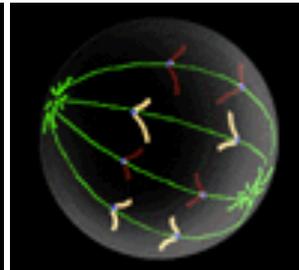
Prófase



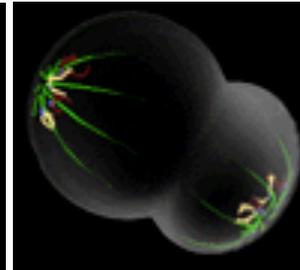
Prometáfase



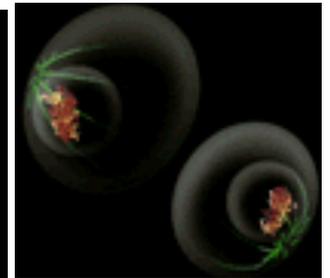
Metáfase



Anáfase



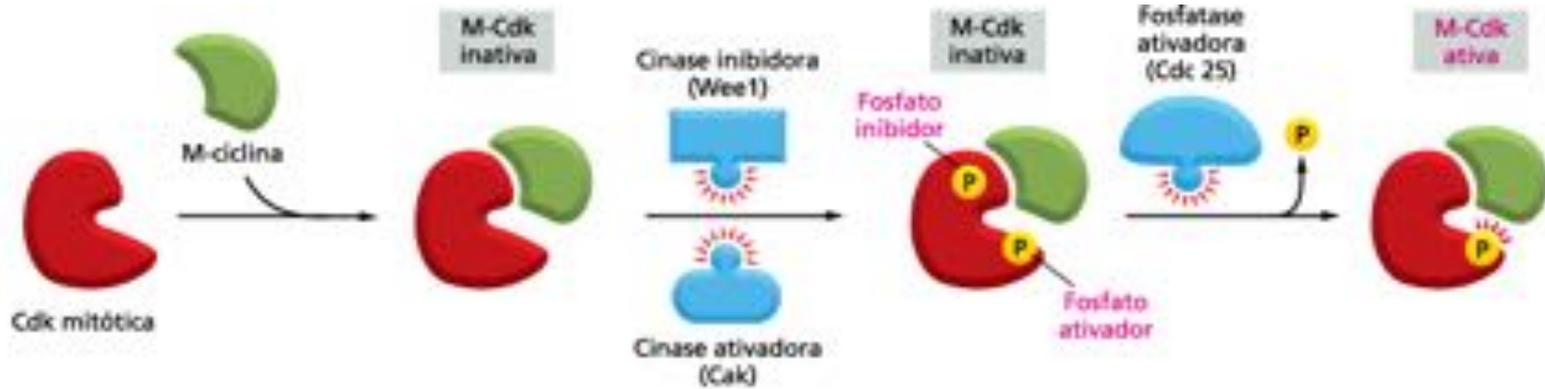
Telófase



Citocinese

MITOSE

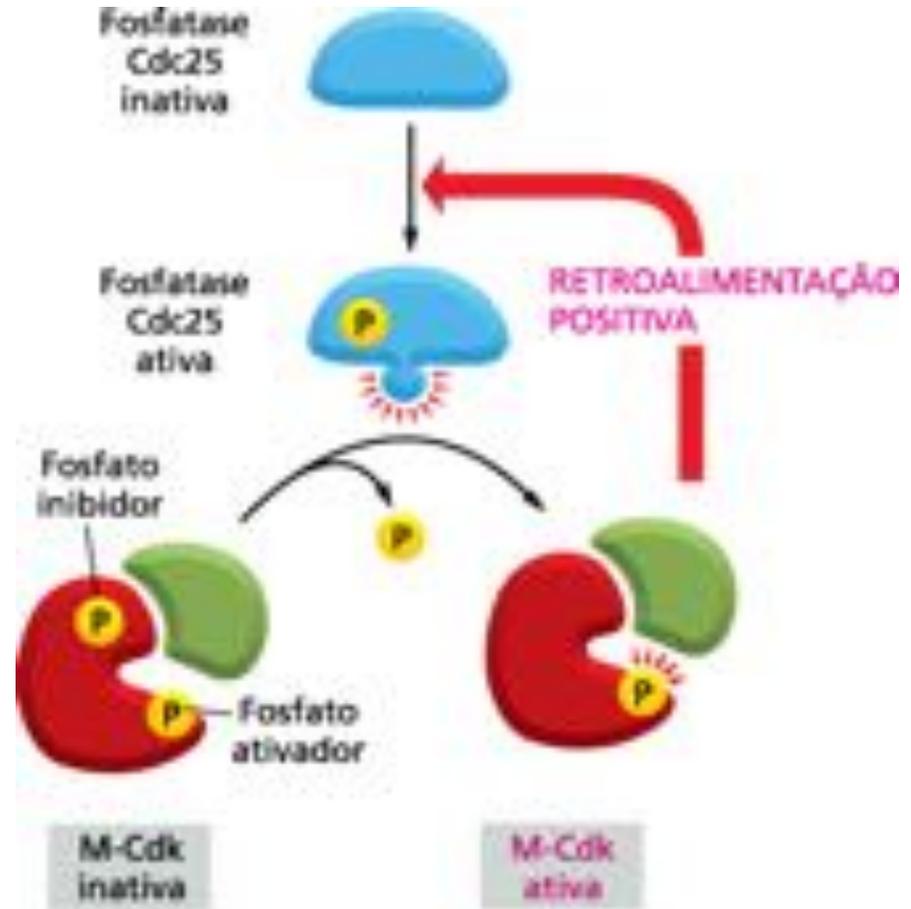
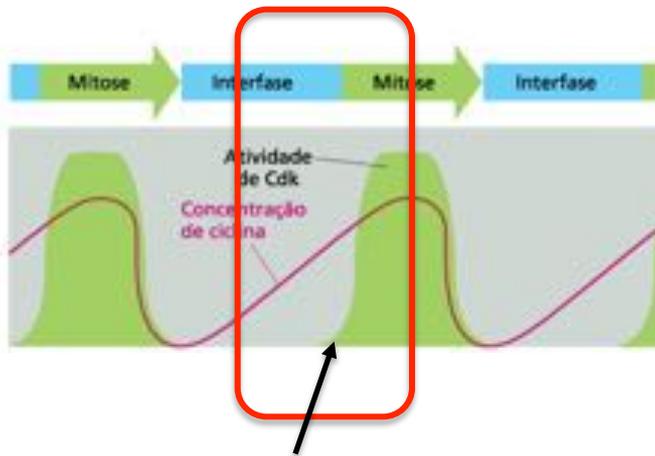
Mitose: ativação de M-CDK



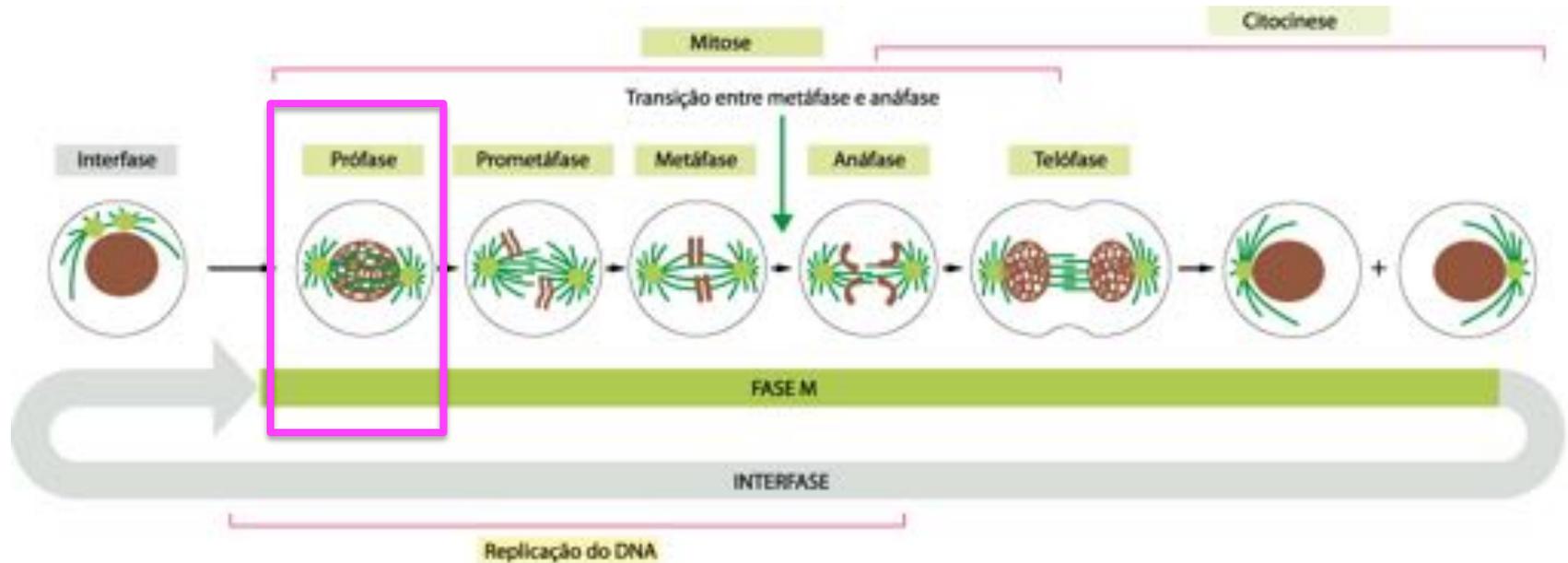
M-Cdk: condensação dos cromossomos e montagem do fuso mitótico

Mitose: ativação de M-CDK

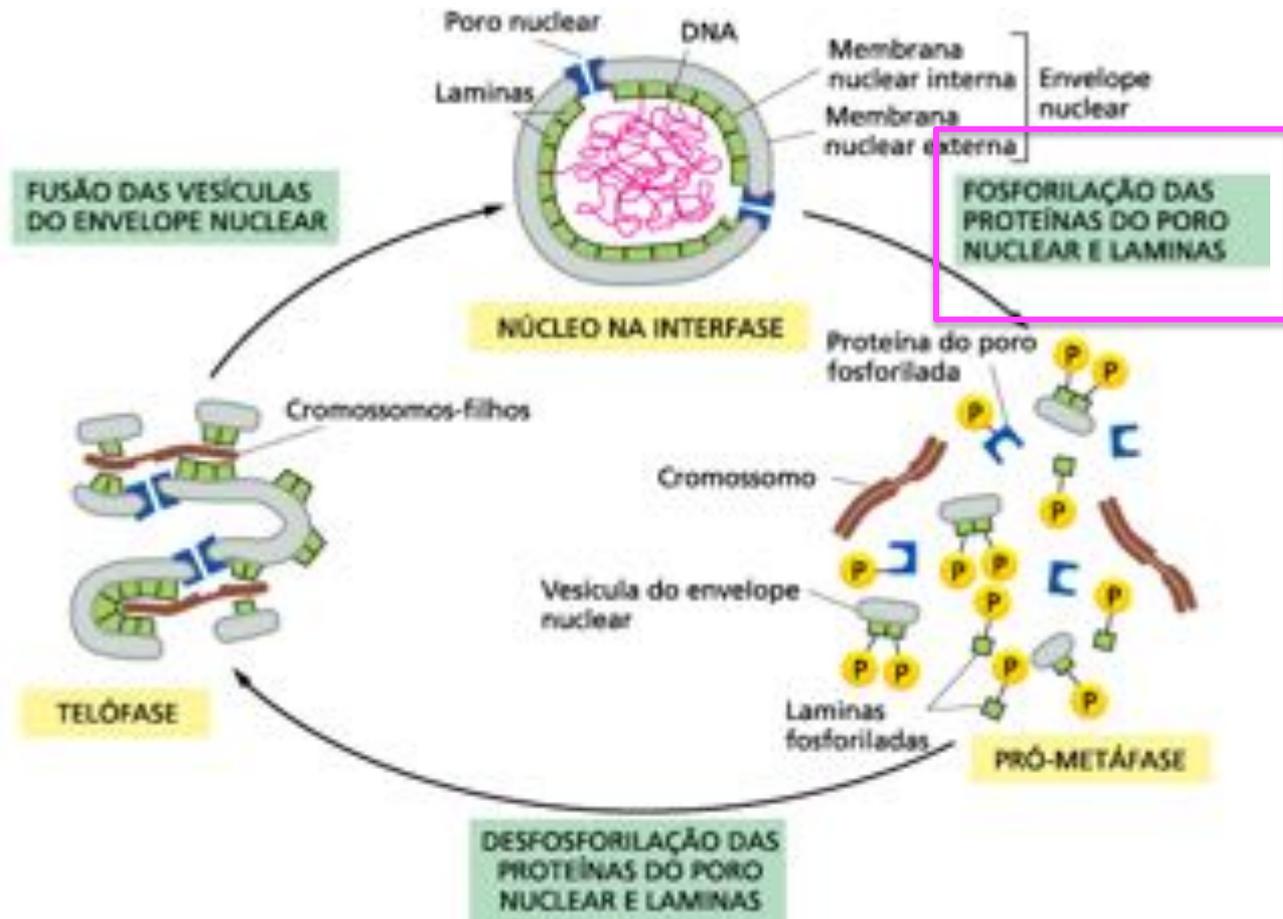
M-Cdk: Retroalimentação positiva de Cdc25



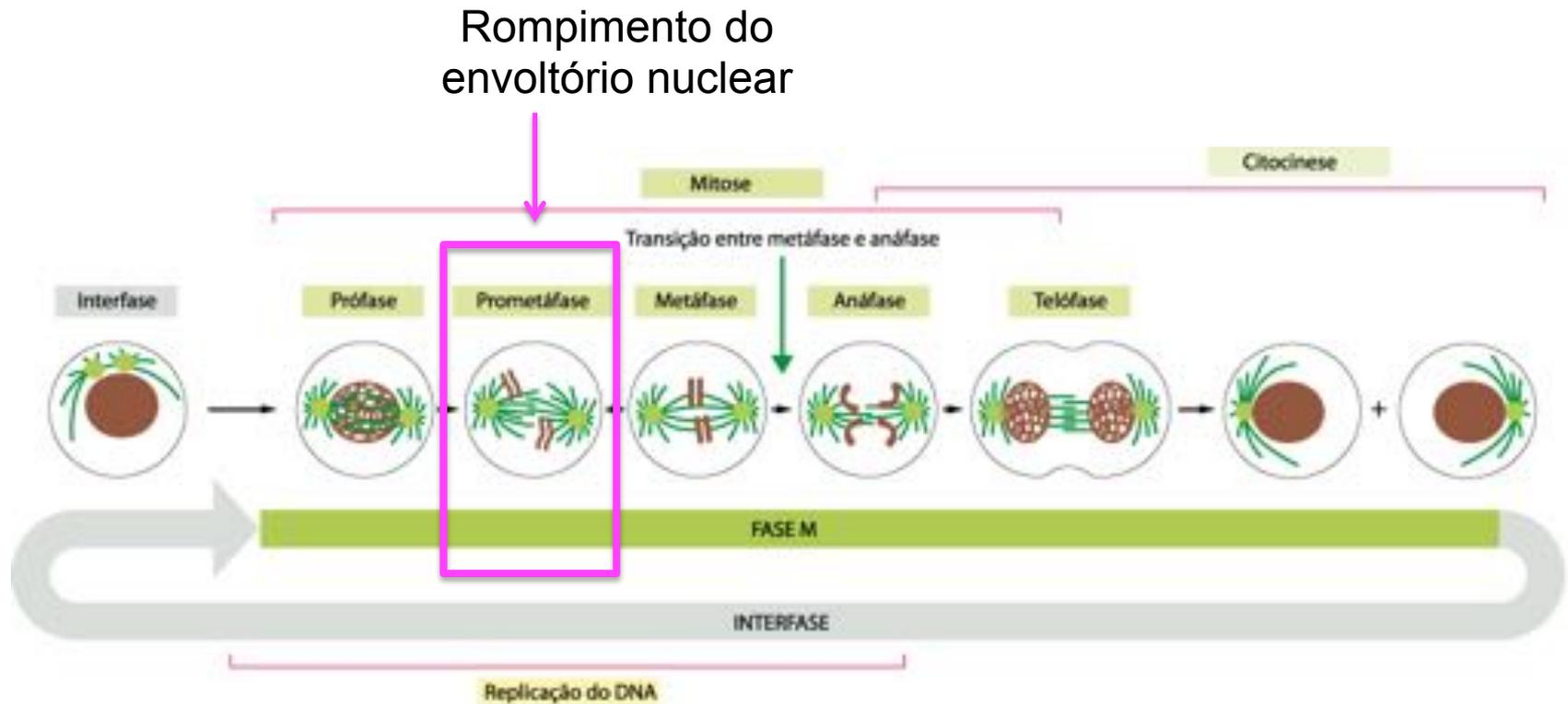
Mitose: ativação de M-CDK



M-CDK: fosforila laminas

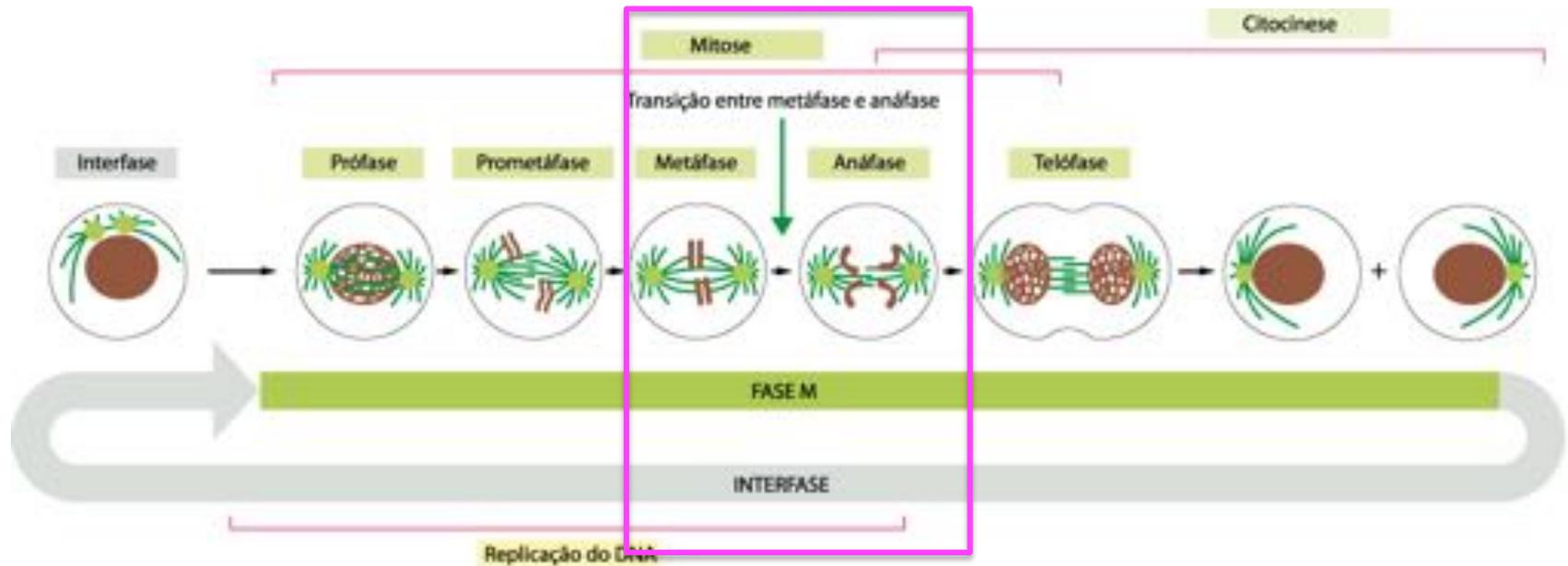


Mitose: ativação de M-CDK



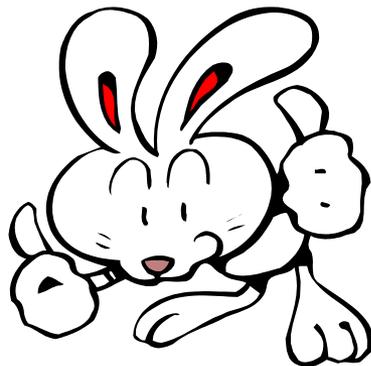
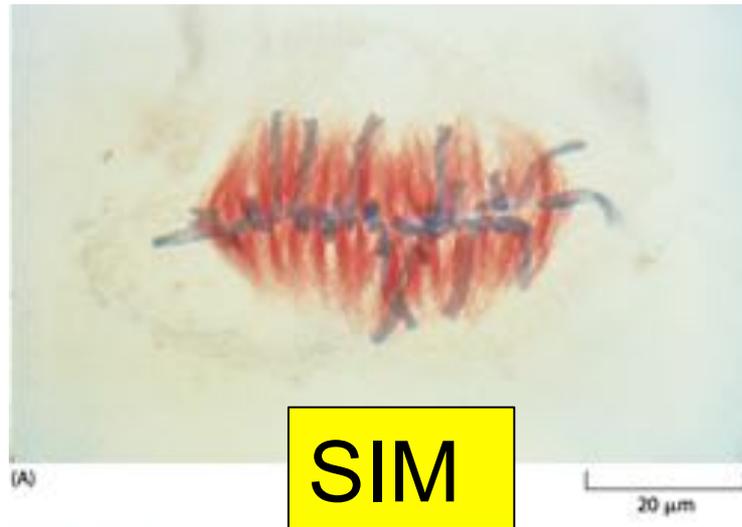
Mitose: ativação de M-CDK

Ponto de verificação M



Todos os cromossomos estão ligados corretamente ao fuso?

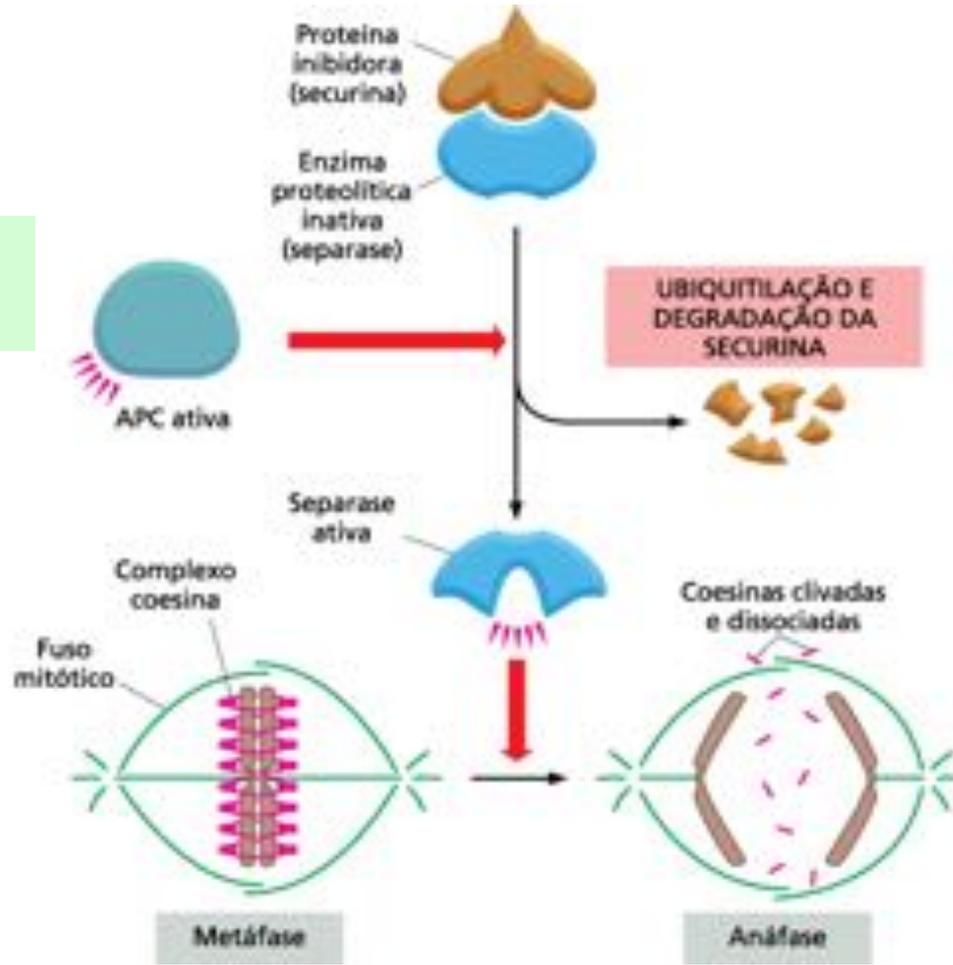
Todos os cromossomos estão ligados corretamente ao fuso?



PROGRESSÃO

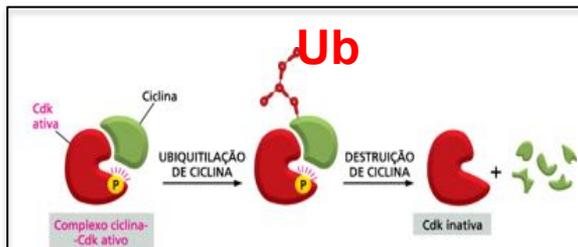
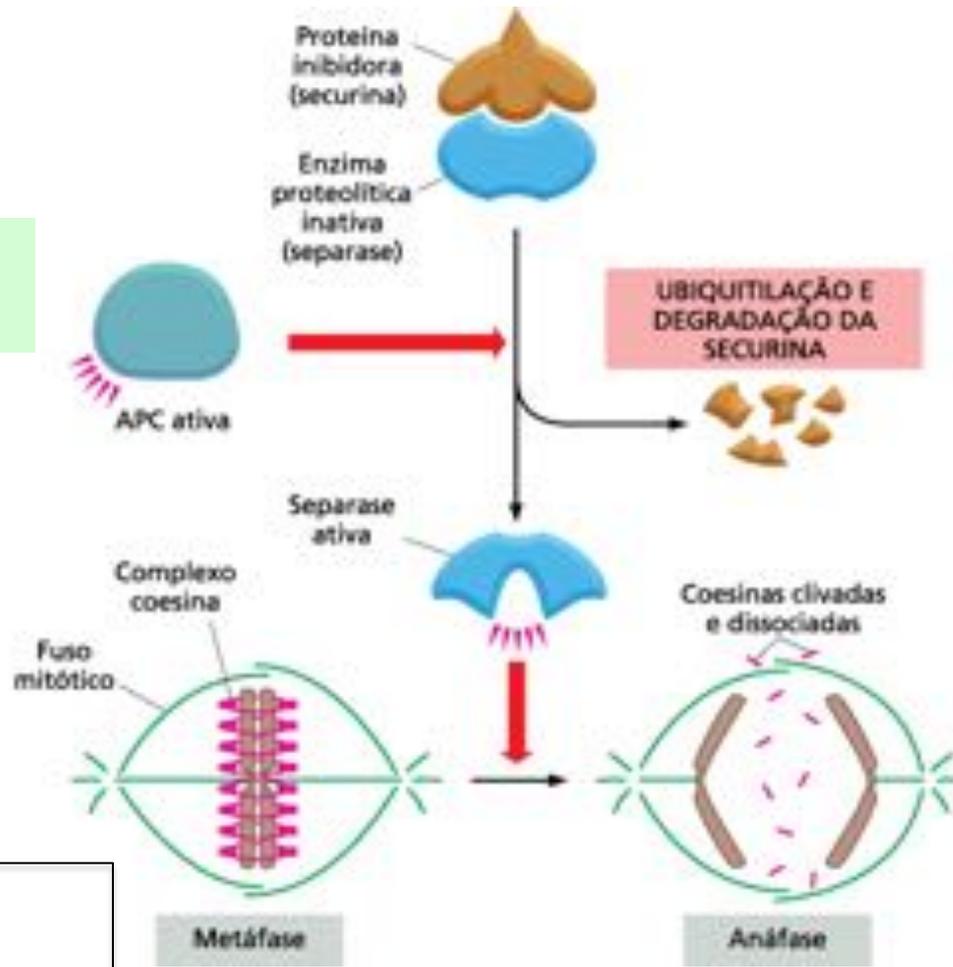
APC: complexo promotor da anáfase

APC/C:
ubiquitina ligase

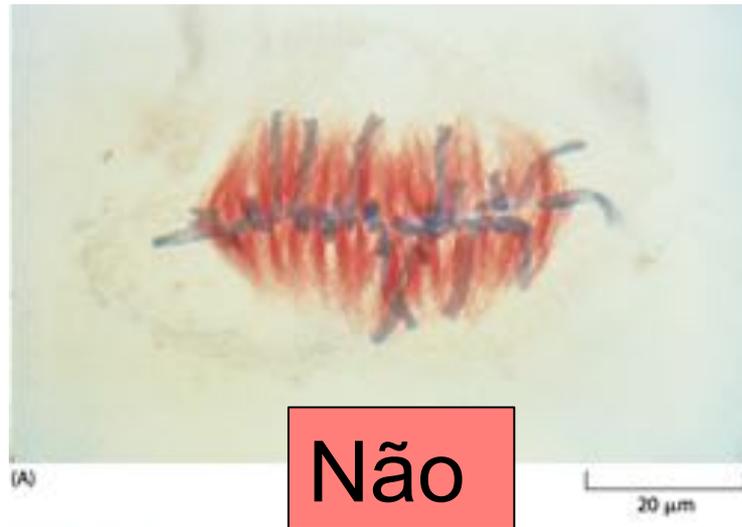


APC: complexo promotor da anáfase

APC/C:
ubiquitina ligase



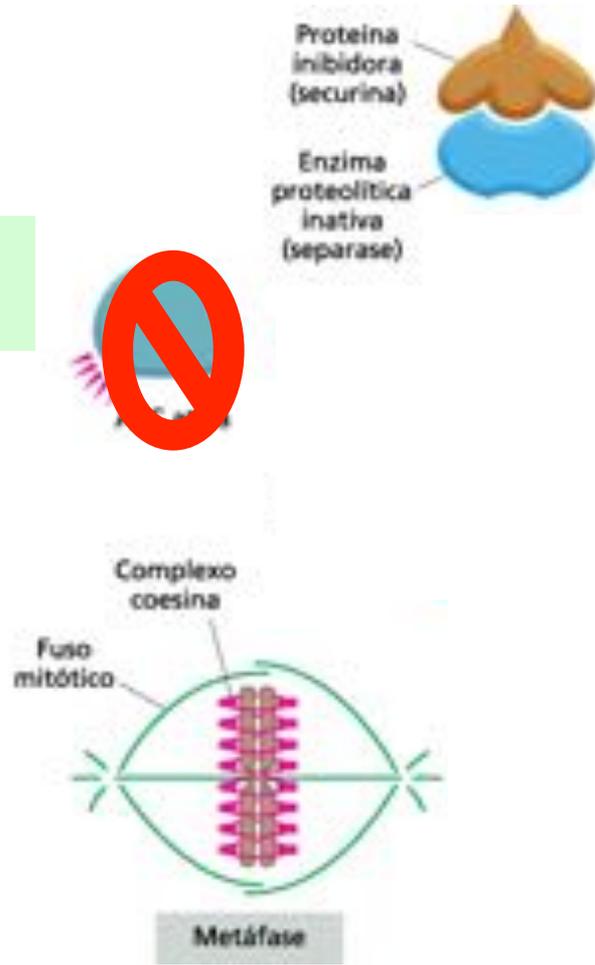
Todos os cromossomos estão ligados corretamente ao fuso?



PARADA OU APOPTOSE

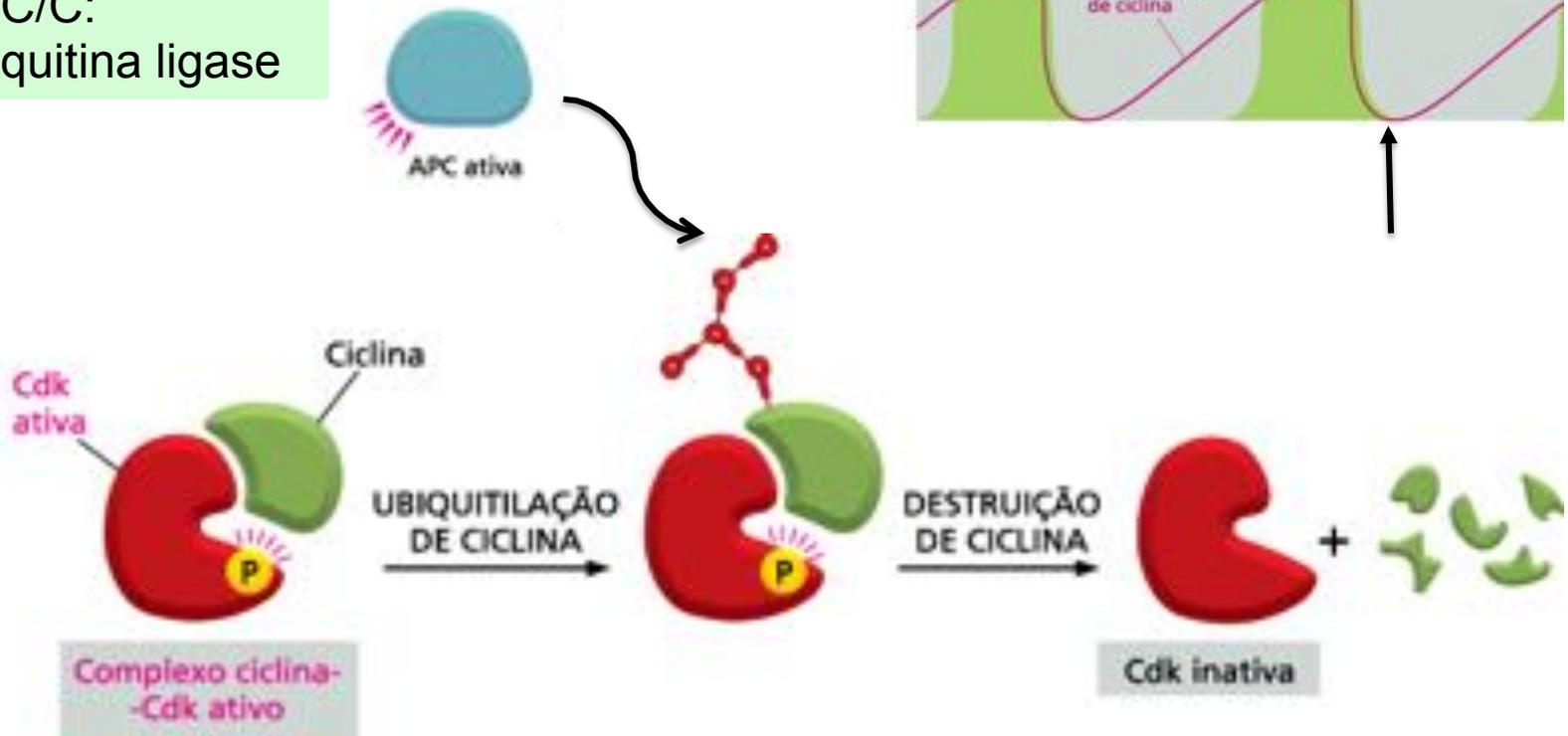
APC: complexo promotor da anáfase

APC/C:
ubiquitina ligase



APC: destruição de M-CDK

APC/C:
ubiquitina ligase



Nesta aula:

- Controle do ciclo celular
- Fatores que estimulam/inibem o ciclo celular
- Métodos de estudo

Métodos de estudo do ciclo celular

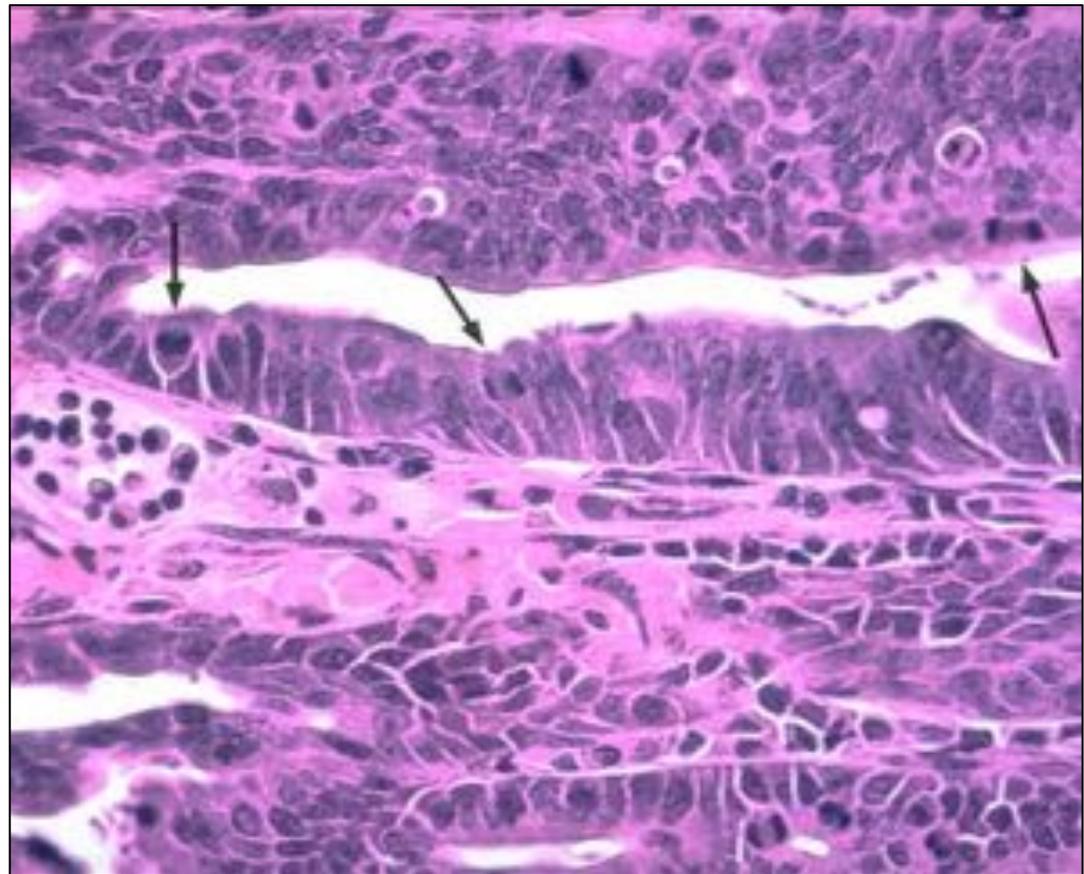
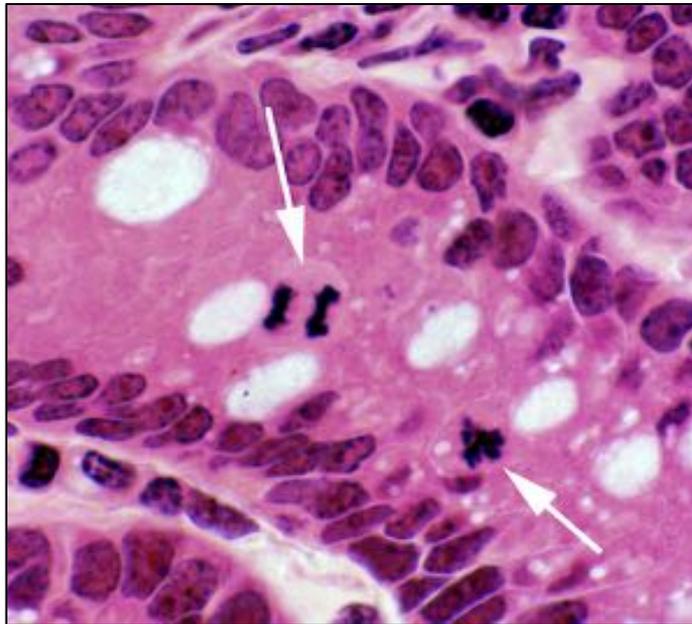
Como determinar a fase do ciclo celular em que uma célula está?

Como estudar uma população de células?



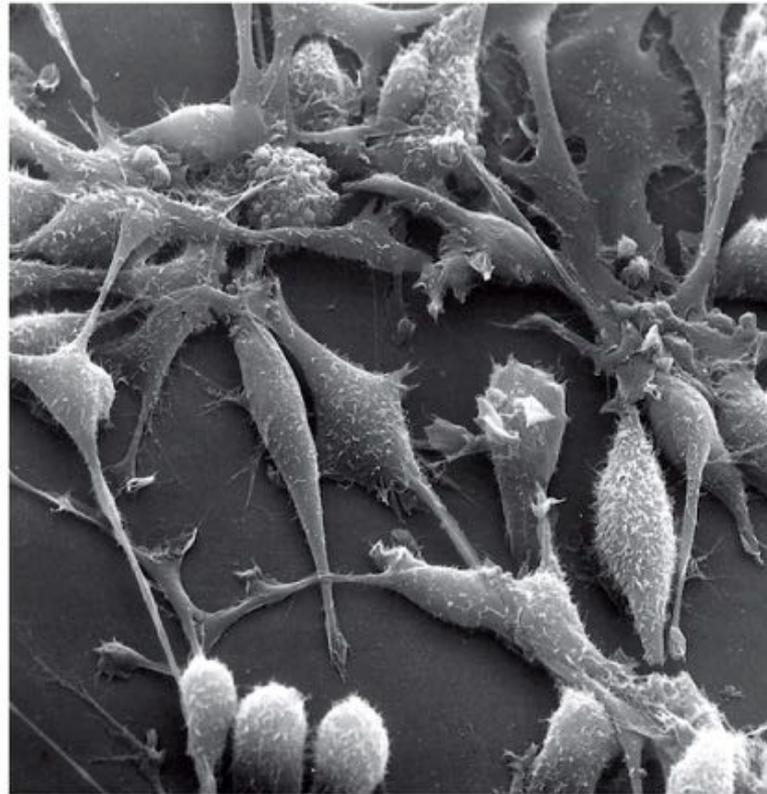
Métodos de estudo do ciclo celular

Microscopia – observação e contagem de células



Métodos de estudo do ciclo celular

Microscopia – observação e contagem de células



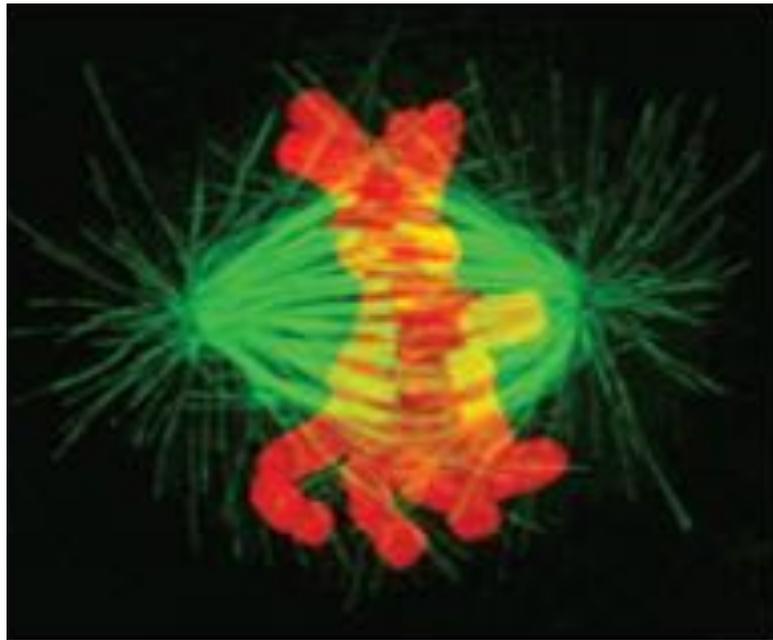
MEV

10 μm

Métodos de estudo do ciclo celular

Microscopia – observação e contagem de células

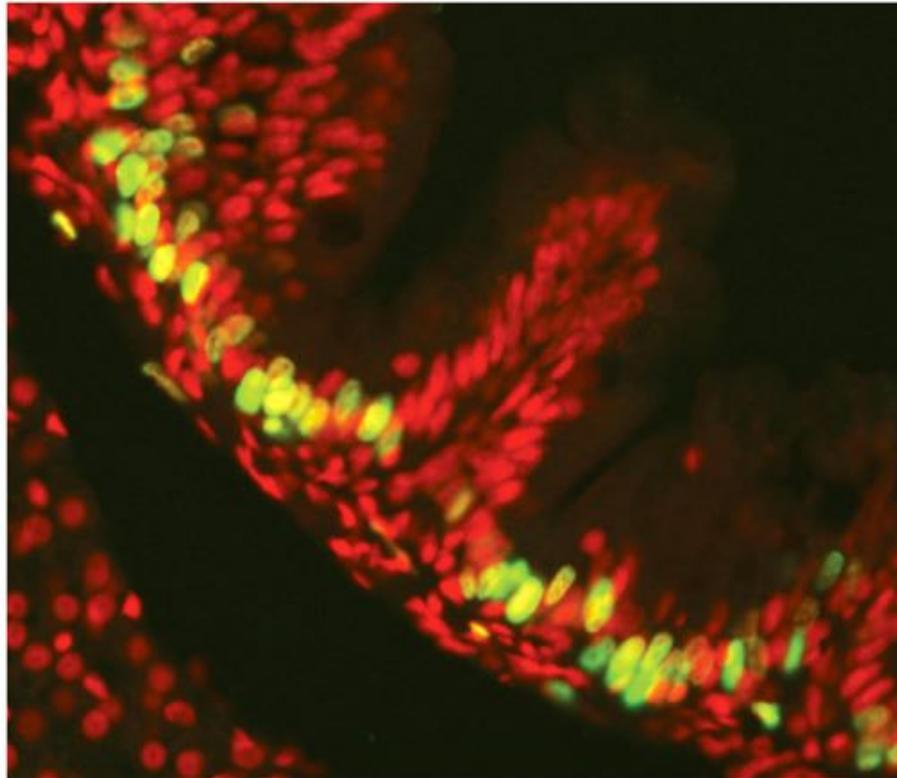
- ✧ Uso de anticorpos que reconhecem citoesqueleto
- ✧ Uso de agentes que marcam DNA (para visualizar mitose)



Métodos de estudo do ciclo celular

Microscopia – observação e contagem de células

- ✧ Uso de agentes que podem incorporar-se ao DNA (fase S) – **BrDU** (deoxi-uridina modificada com bromo)

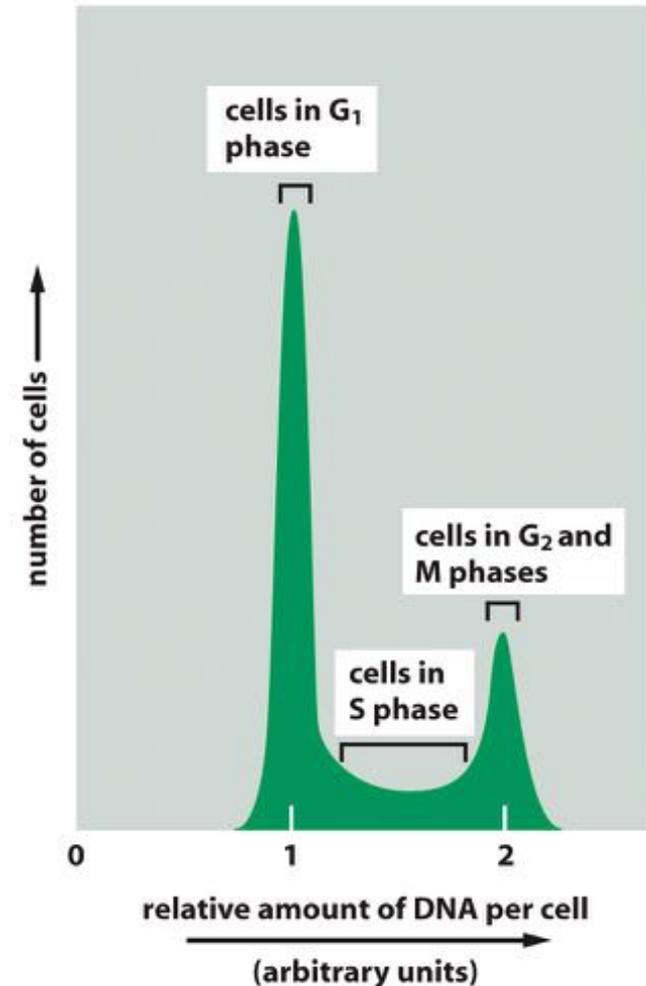


Anti-BrdU: verde
Células: vermelho

Métodos de estudo do ciclo celular

Citometria de fluxo (FACS)

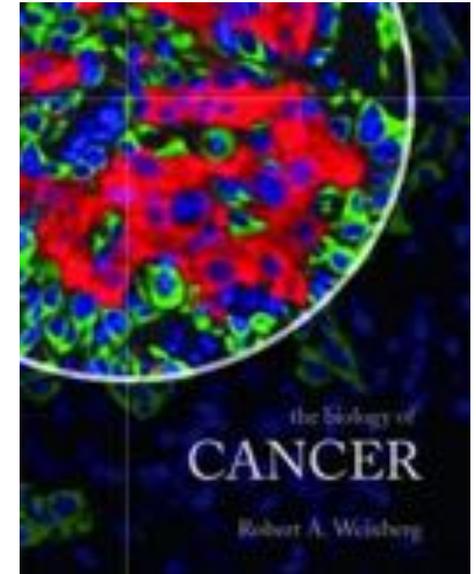
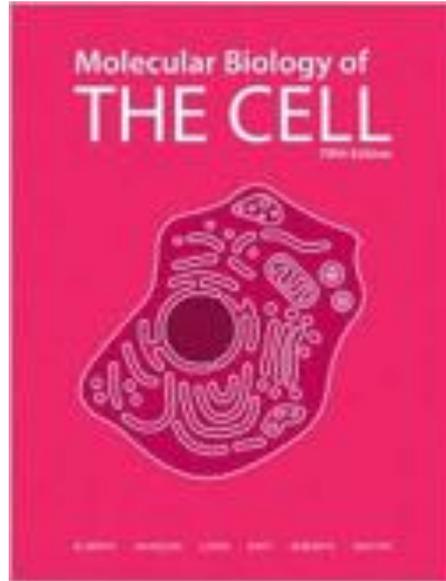
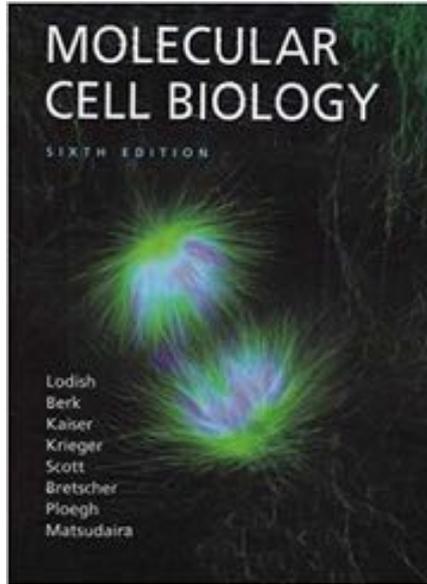
Agente fluorescente ligado ao DNA:
permite inferir a fase do ciclo



Resumo

- Ciclo celular: duplicar o DNA dos cromossomos e as organelas e distribuir esse material igualmente entre as células-filhas
- Muitas células não realizam ciclo constantemente/ Saída de G_0 : estímulos
- Pontos de verificação ocorrem ao longo do ciclo
- A passagem de G1 para S compromete a célula com o ciclo: ponto de restrição/ ou START
- Controle do ciclo celular: ciclinas-Cdk/ CKI's – fosforilação/ desfosforilação/ degradação
- Métodos de estudo de ciclo celular: marcação com anticorpos/ contagem de células

Para saber mais



Aula:

www.coltri.bio.br/disciplina.html