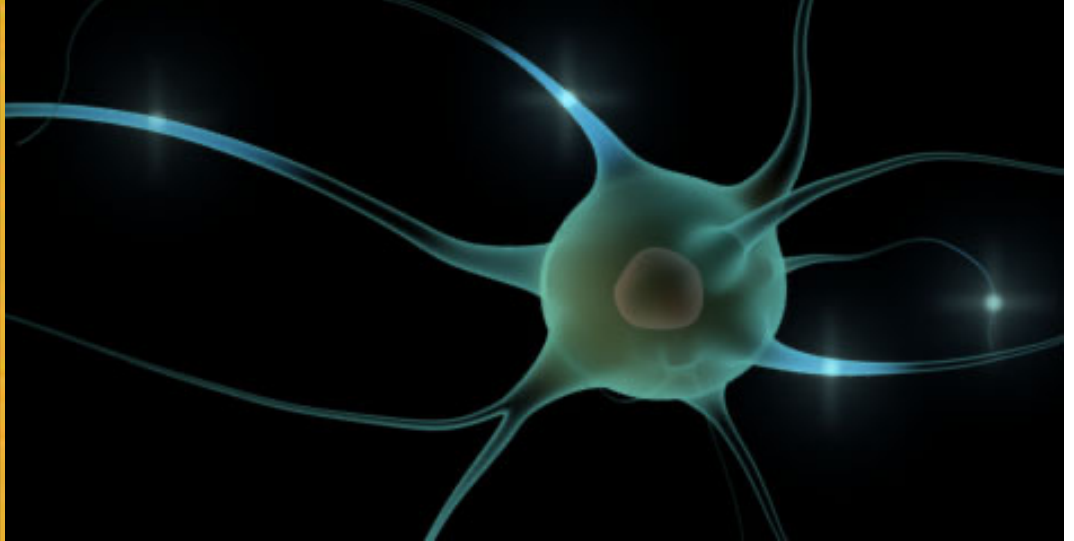


Ciclo celular



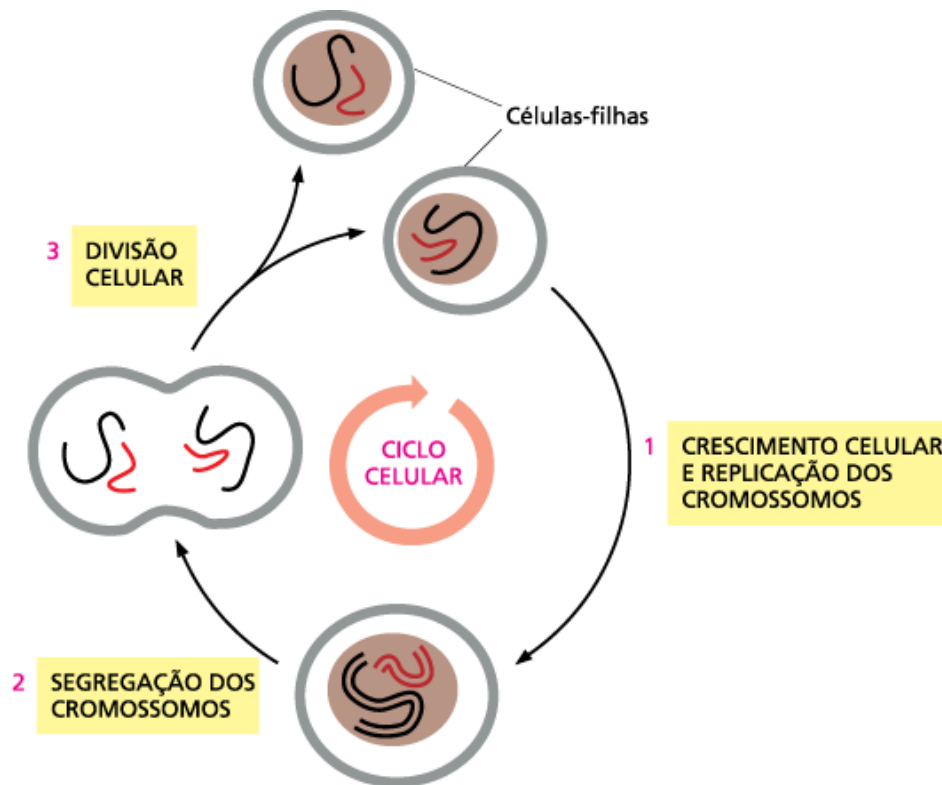
Patricia Coltri
coltri@usp.br

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



Alberts, 2010

Ciclo celular e proliferação



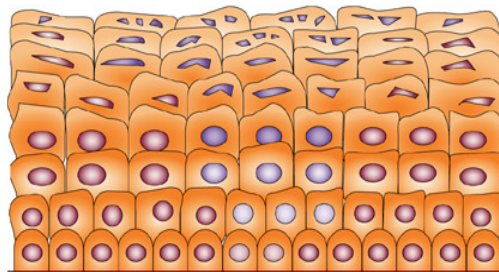
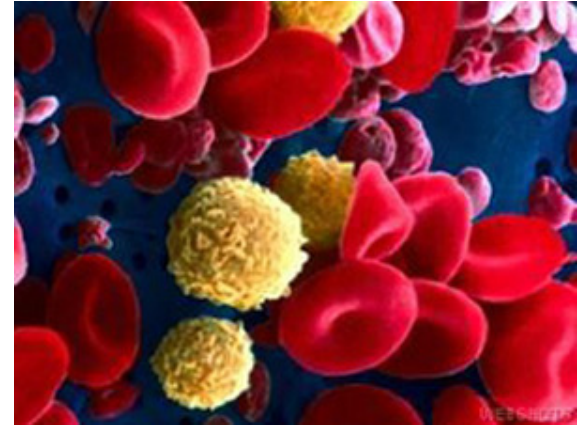
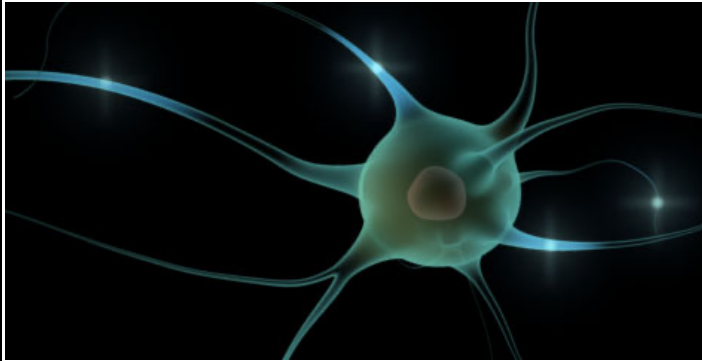
Eventos sequenciais coordenados: geração de células-filhas – geração de organismos

Ciclo celular

Estímulos: sinais intracelulares e extracelulares

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

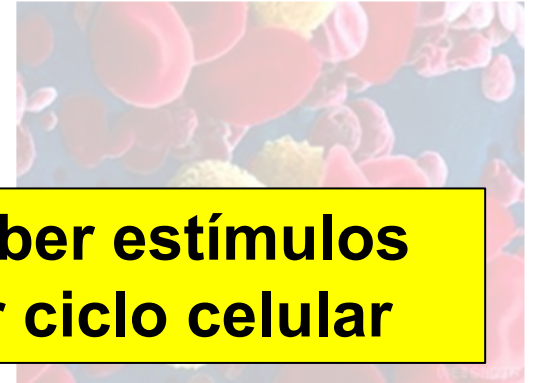
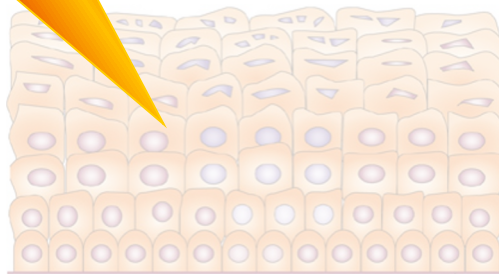
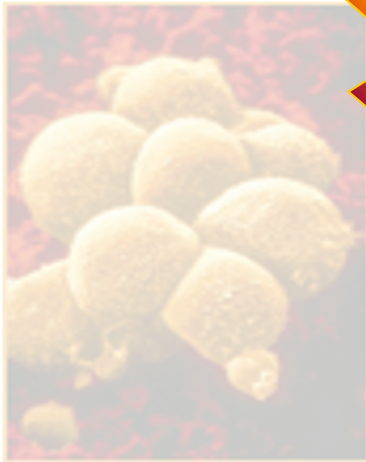
Alberts, 2010



Capacidade proliferativa no mesmo organismo é variável

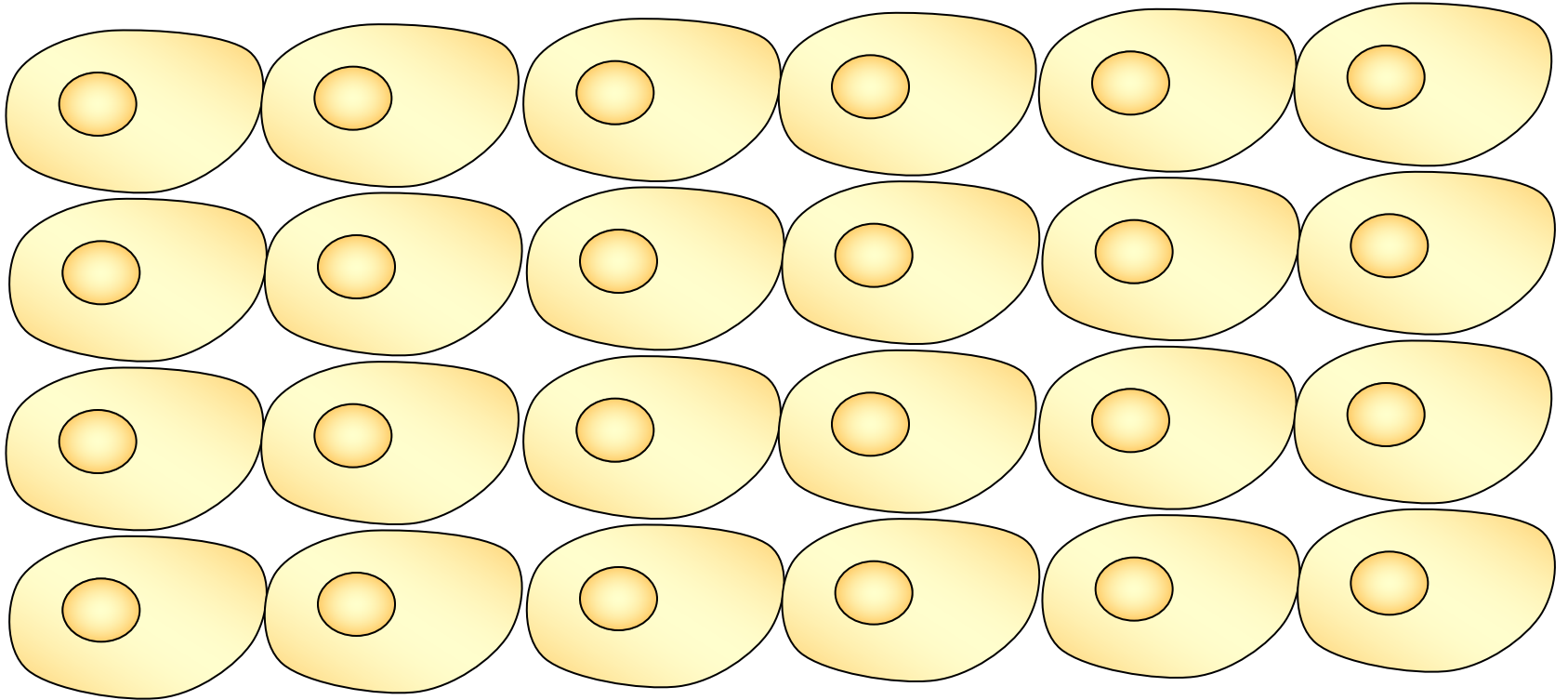


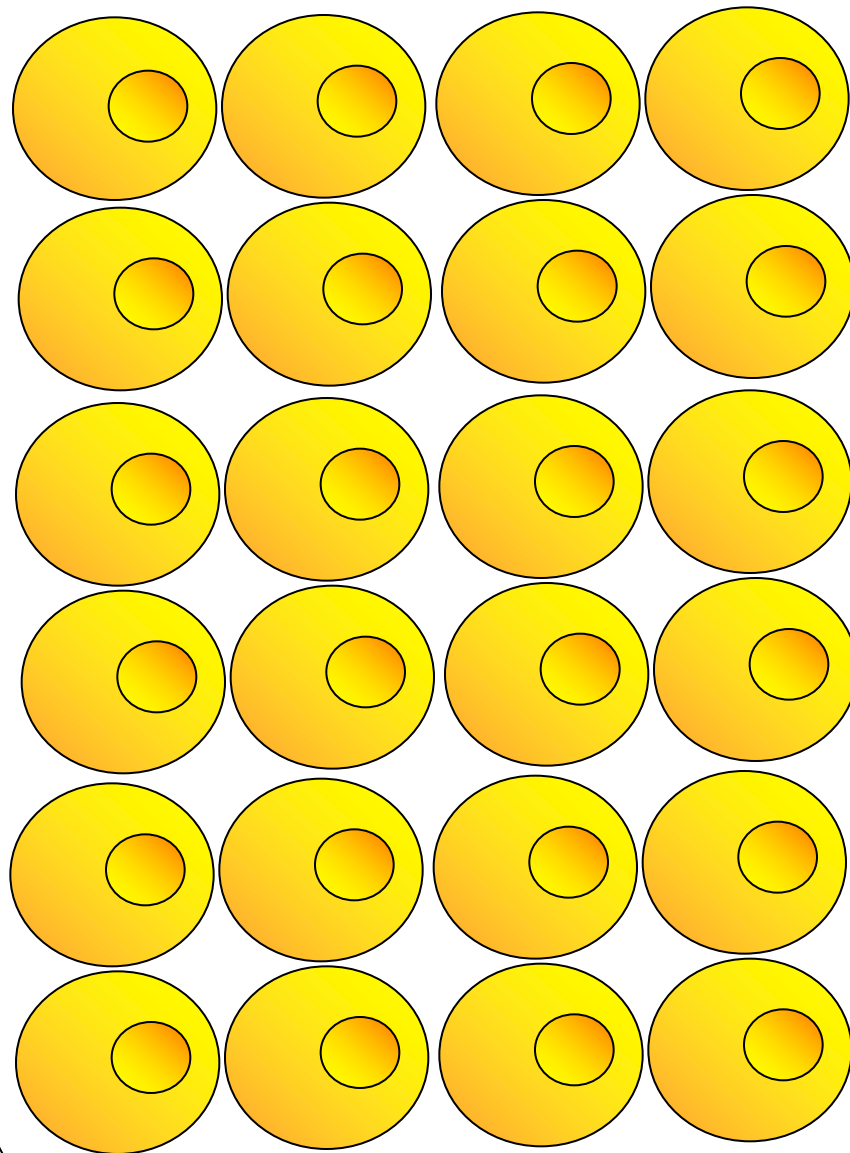
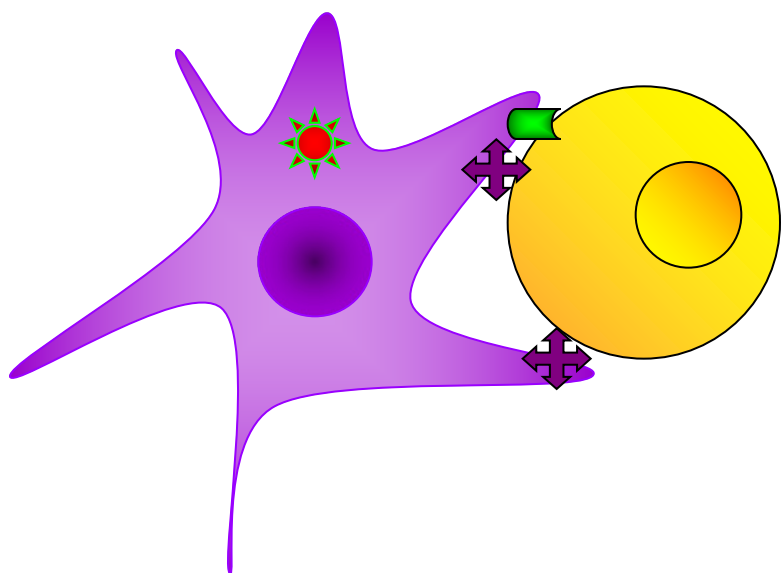
**Células podem receber estímulos
para iniciar ou parar ciclo celular**



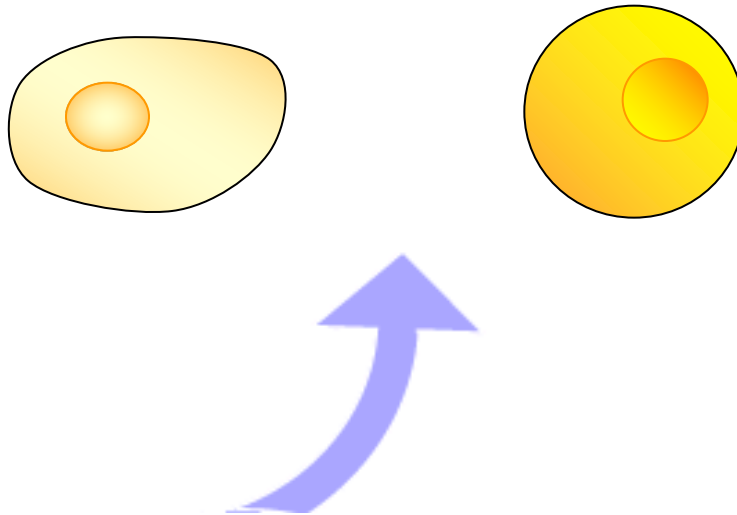
Capacidade proliferativa no mesmo organismo: variável

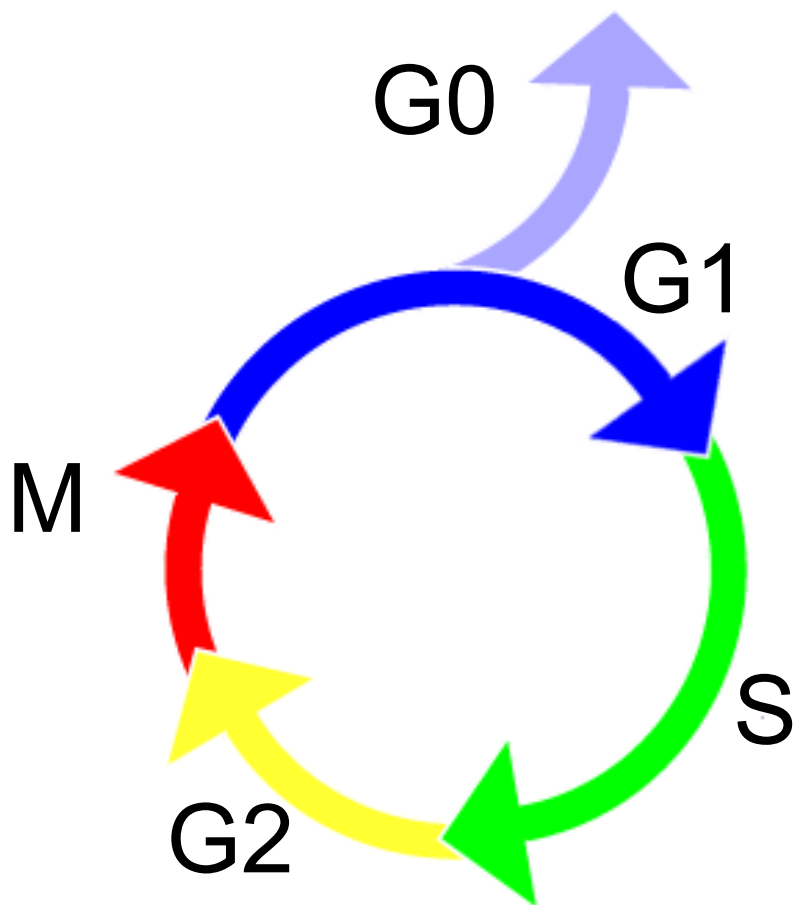
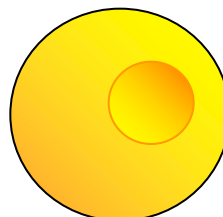
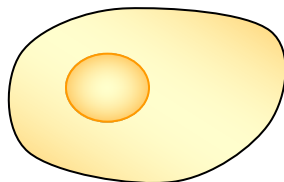
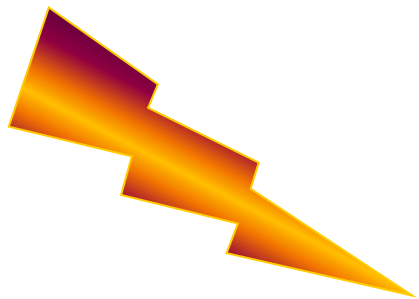
Regeneração de ferimentos



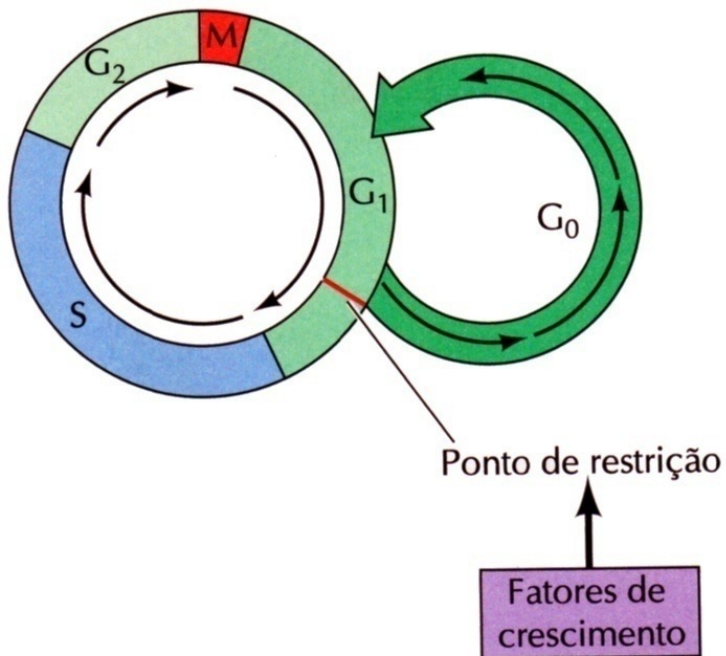


G0

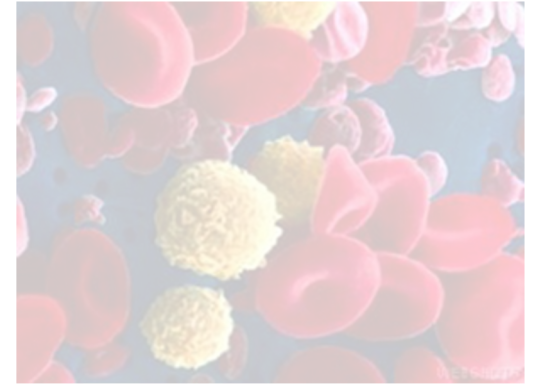
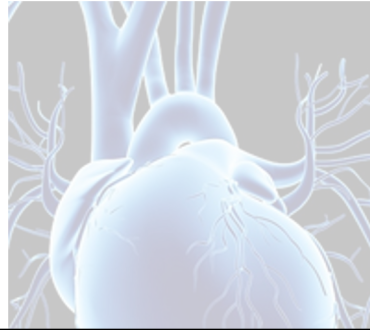
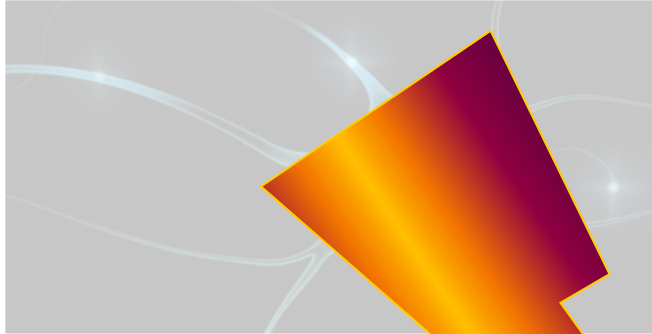




Saída para G_0 ?



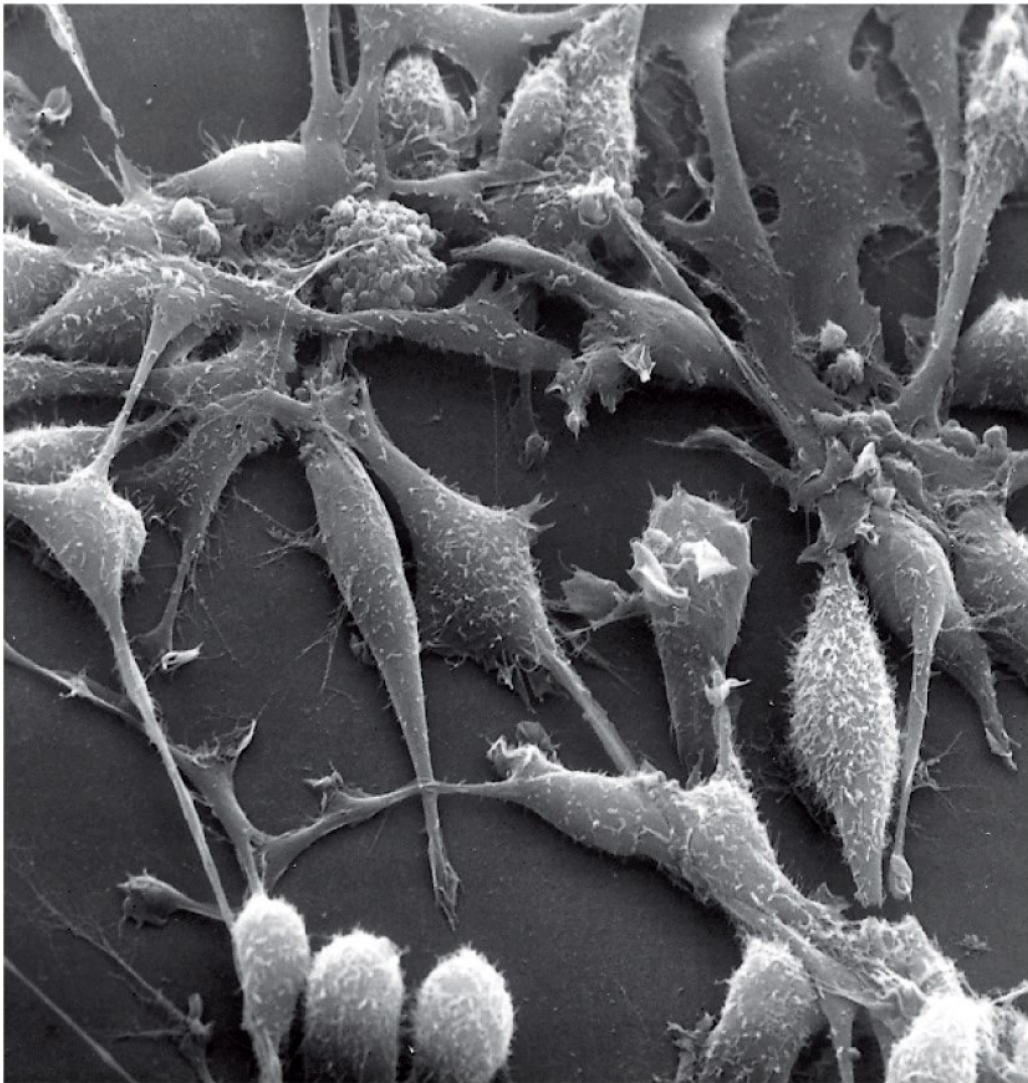
Por exemplo neurônios



Mitógenos: estimulam a divisão celular

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

Fatores de sobrevivência: supressão da morte celular



10 μm

Alberts, 2010

Exemplo: Fibroblastos em cultura

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

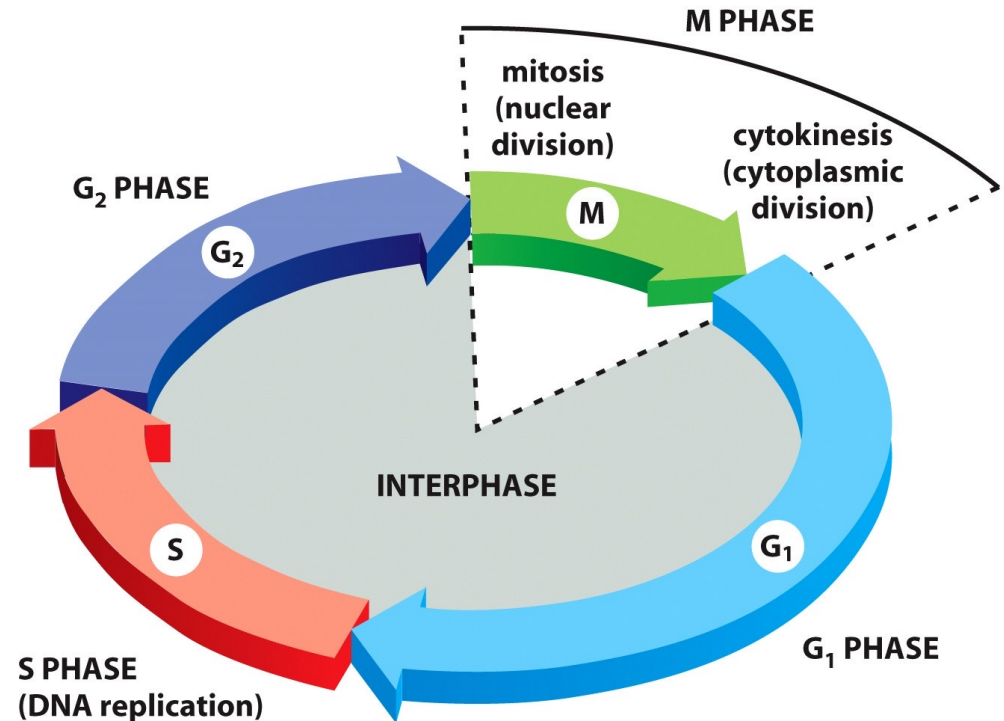
Ciclo celular

Intérfase:

-crescimento da célula e replicação do DNA

Mitose:

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

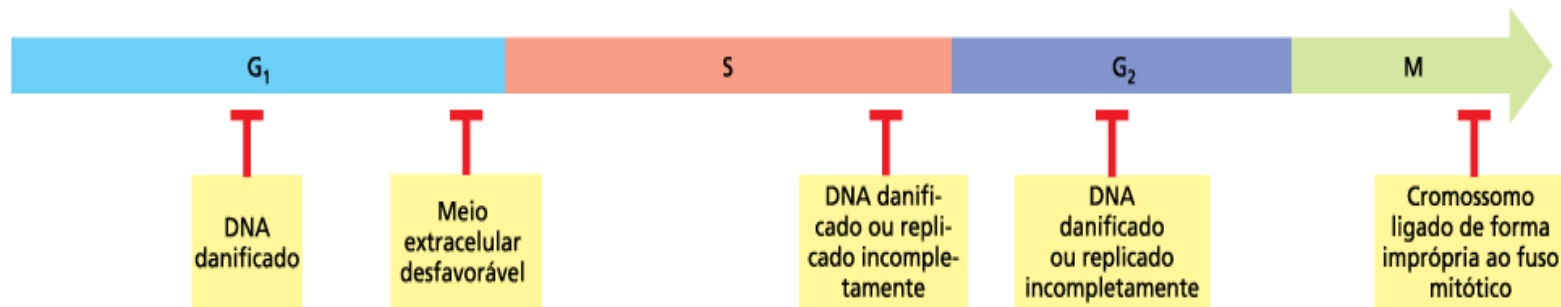


Alberts, 2010

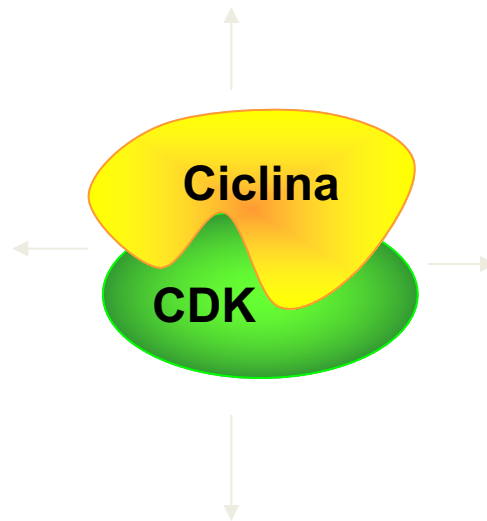
Pontos de verificação

pontos de verificação
são pontos de controle
do ciclo celular

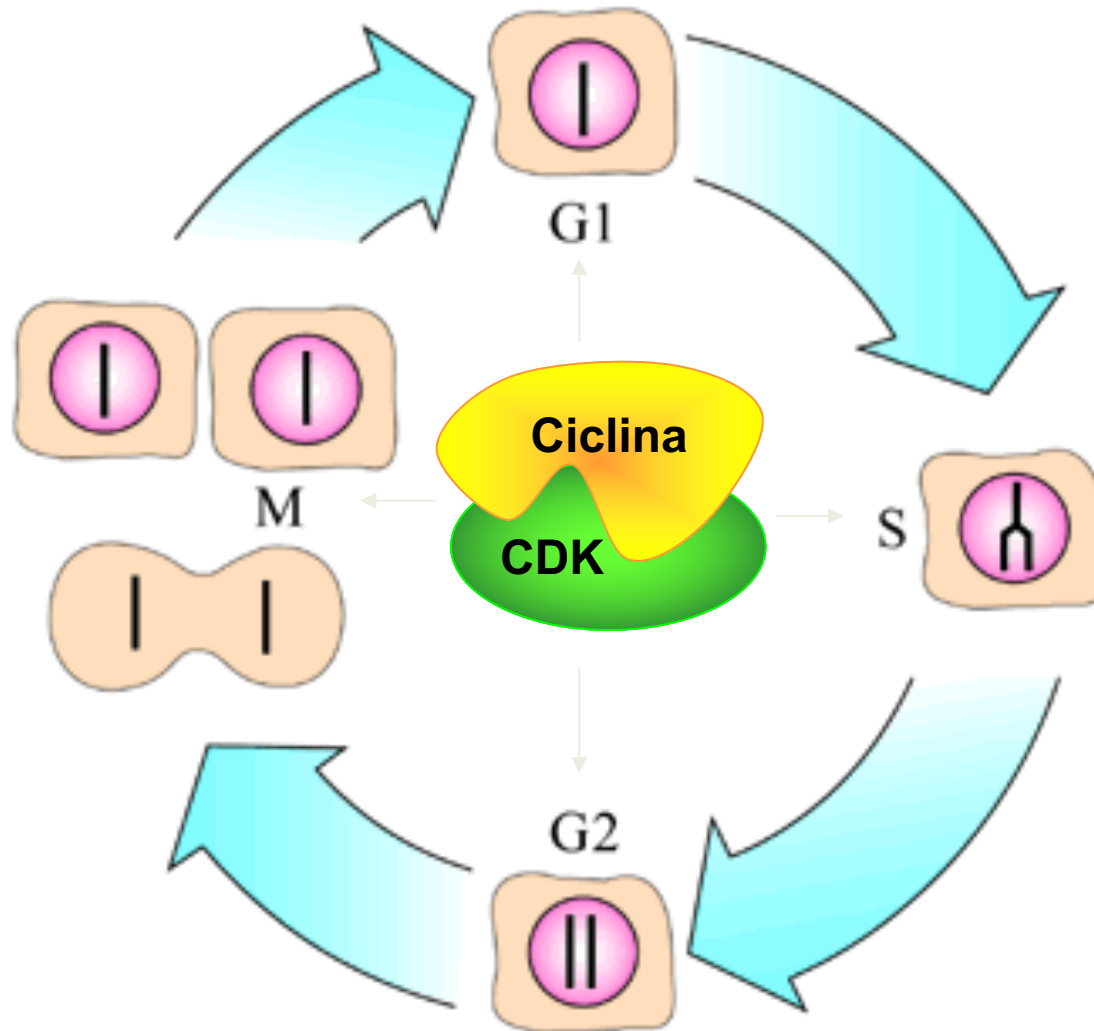
Condições externas e sinais
intracelulares



Controle do ciclo celular



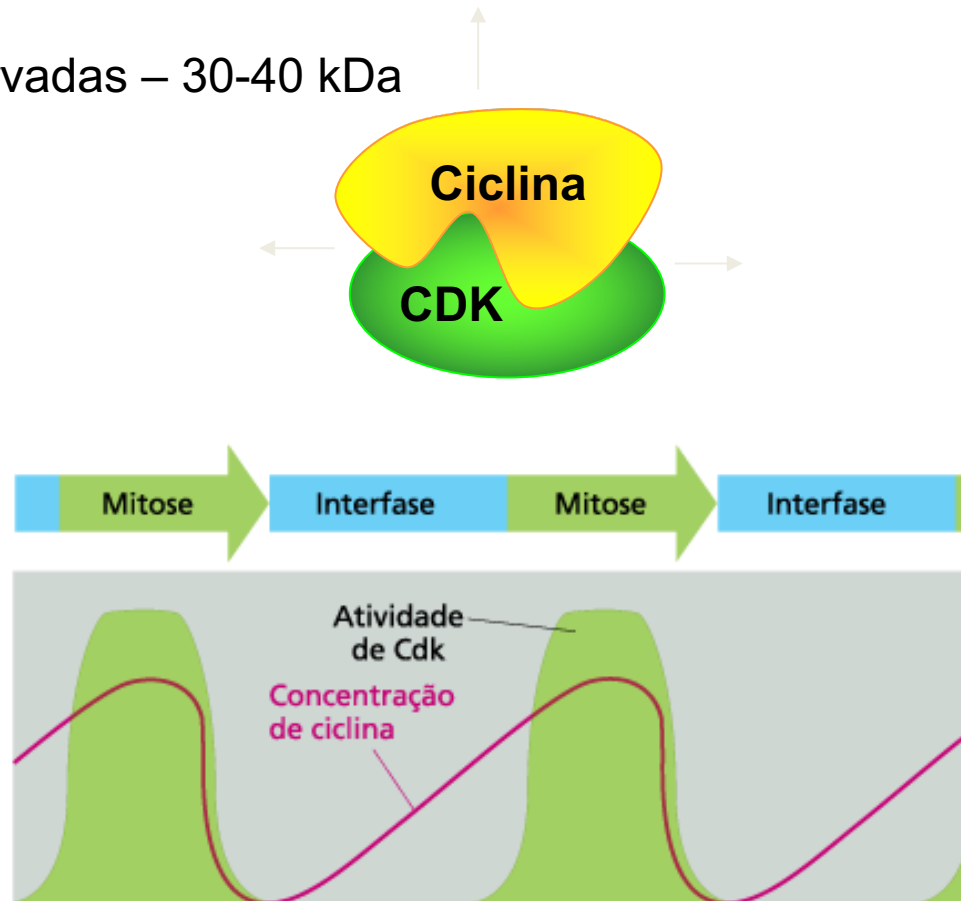
Controle do ciclo celular



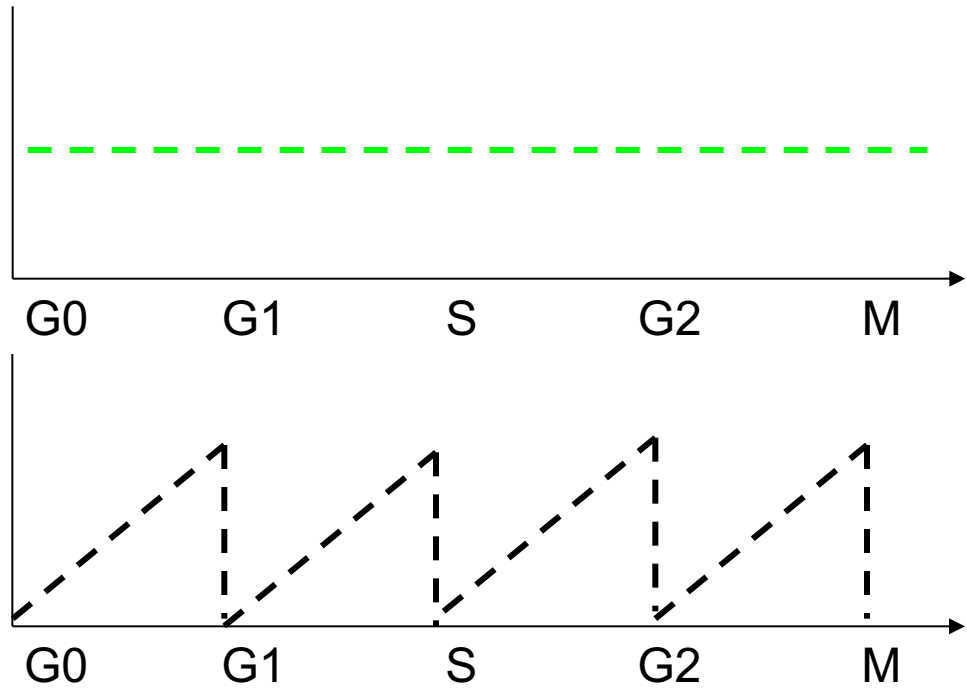
Controle do ciclo celular: ciclina-CDK

Acúmulo e degradação de ciclinas modulam a atividade das CDKs

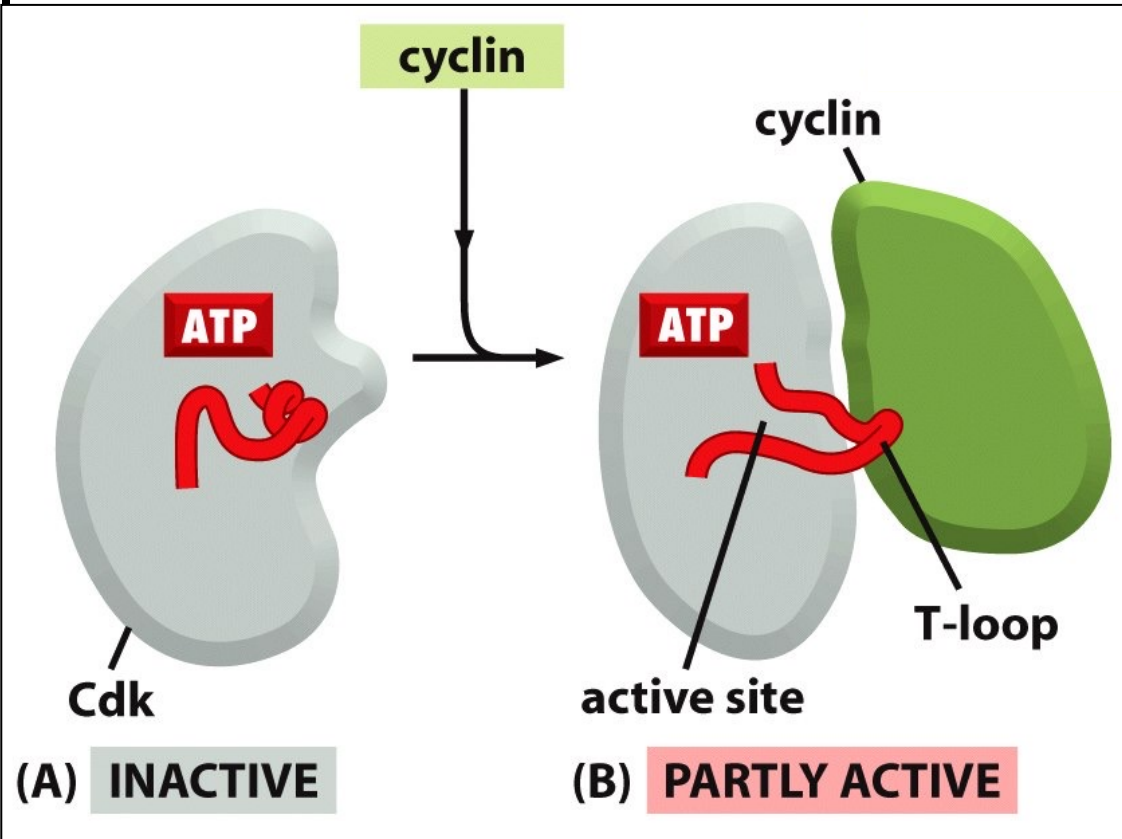
CDKs: conservadas – 30-40 kDa



Alberts, 2010



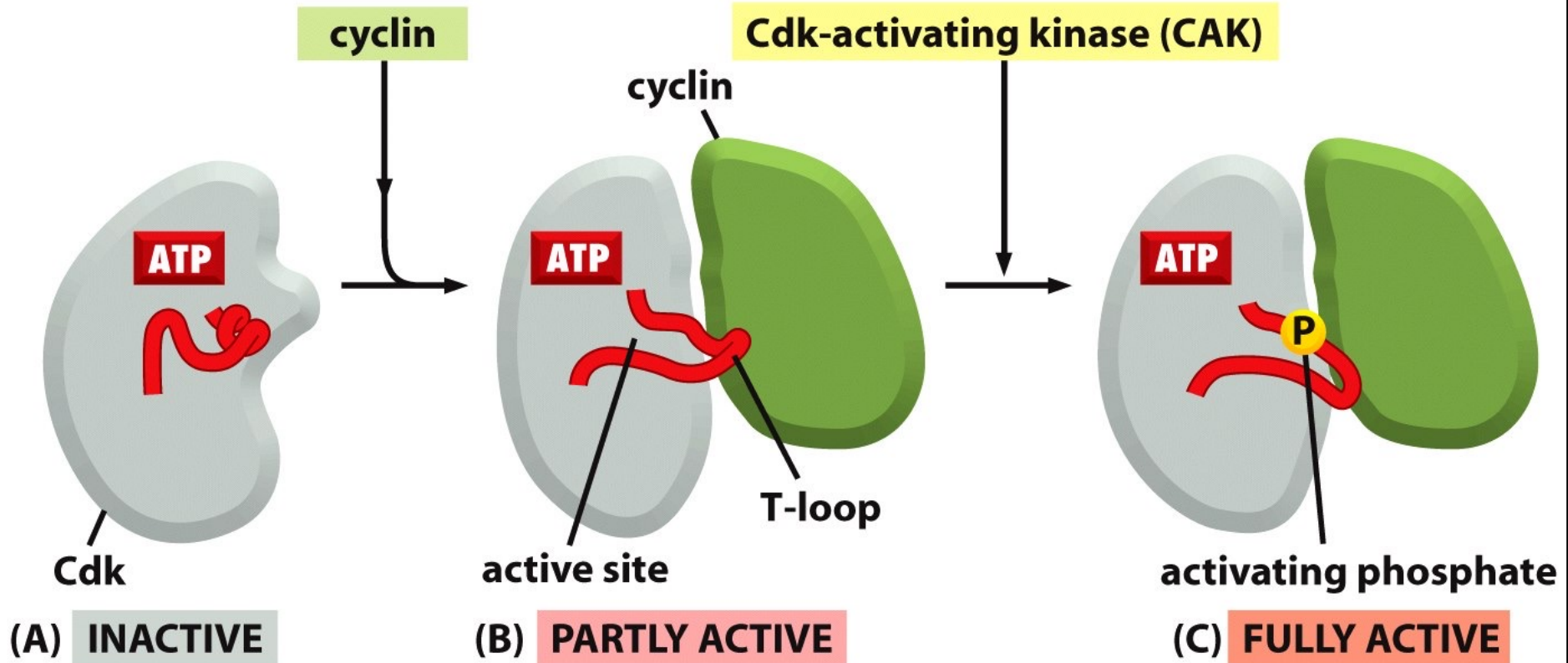
Complexo ciclina-CDK



Alberts, 2010

Complexo **não ativado:**
maior controle/ precisão
durante o ciclo

Complexo ciclina-CDK

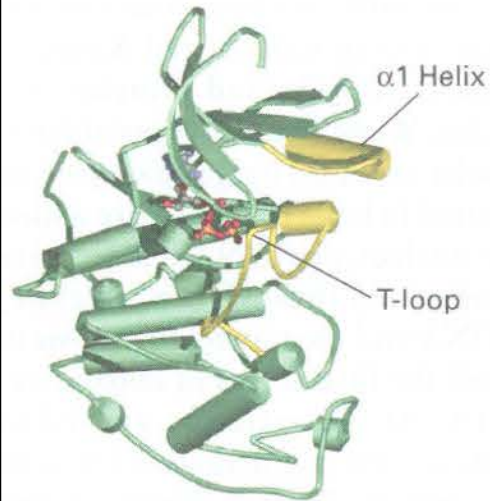


Alberts, 2010

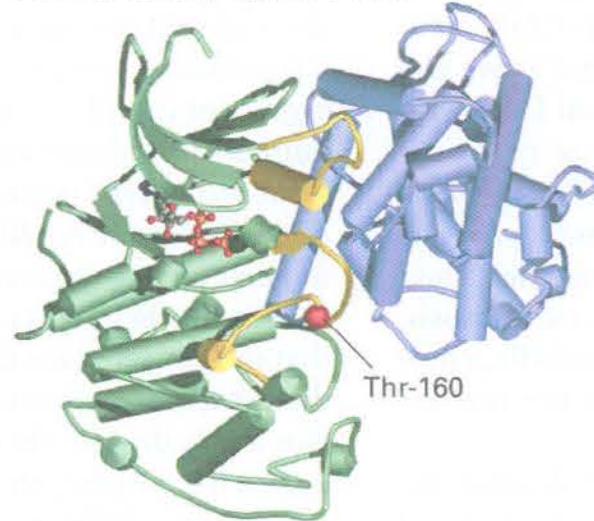
Complexo **ativado**:
depende da atividade de
quinasas e fosfatases

Complexo ciclina-CDK

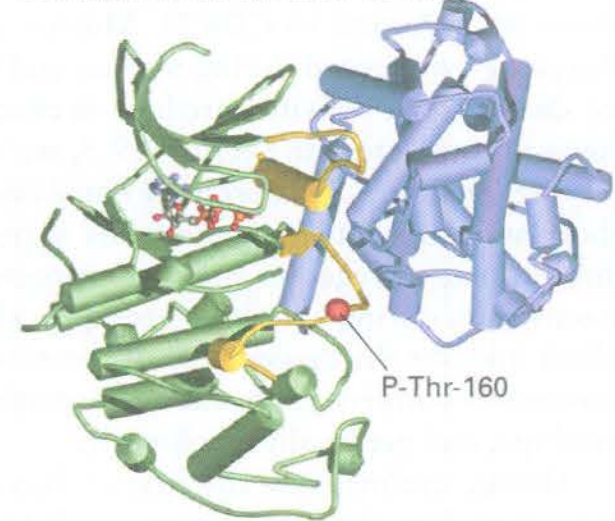
(a) Free CDK2



(b) Low-activity cyclin A-CDK2



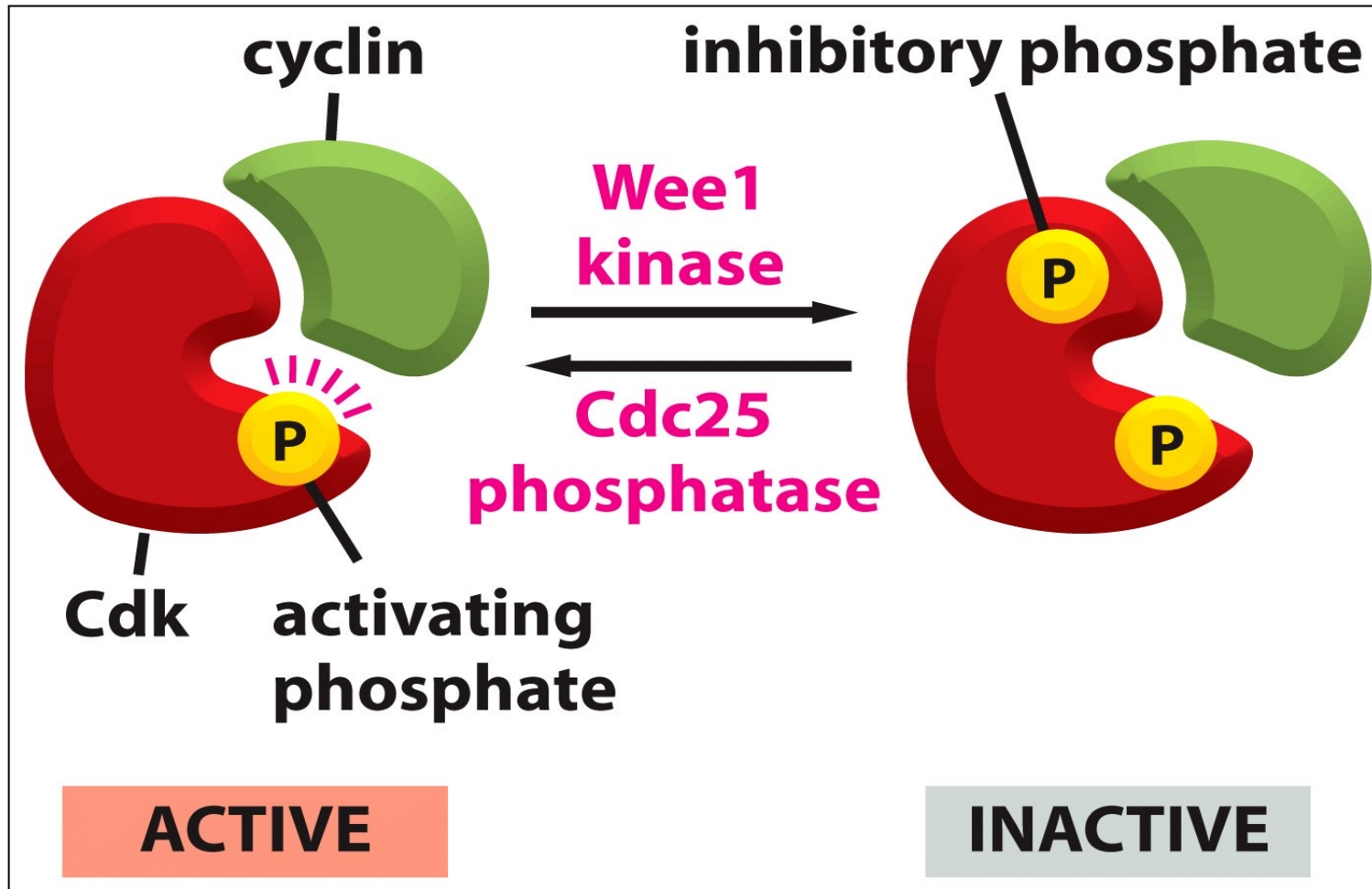
(c) High-activity cyclin A-CDK2



Lodisch, 2007

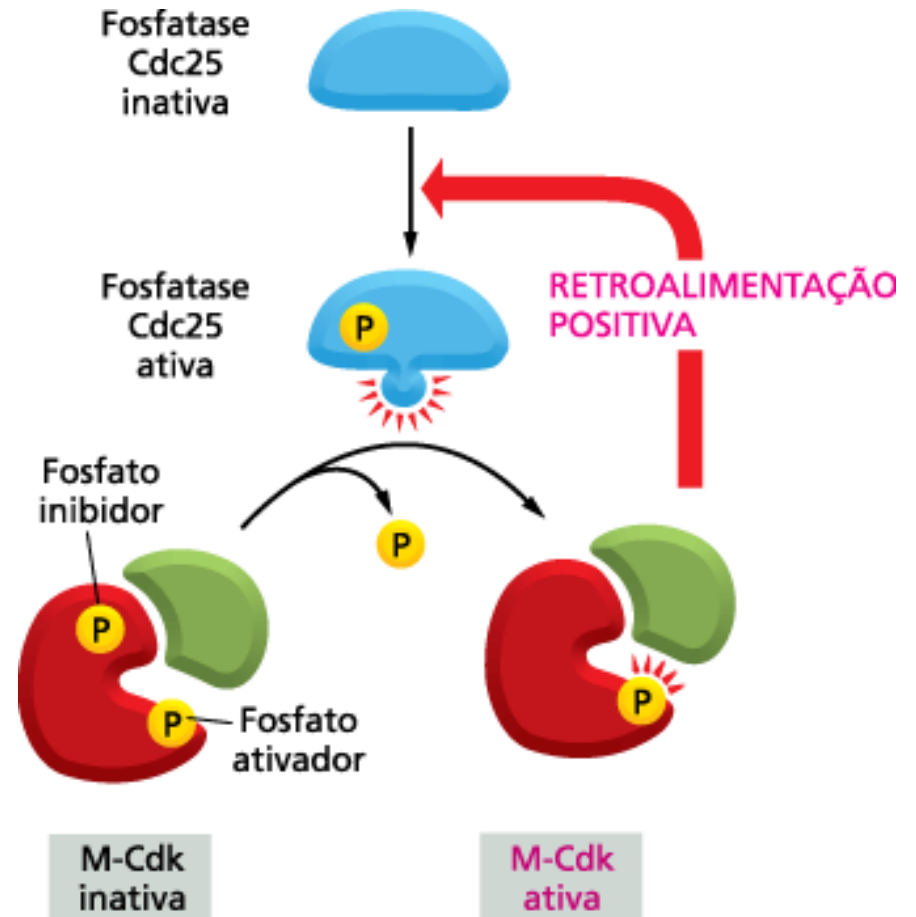
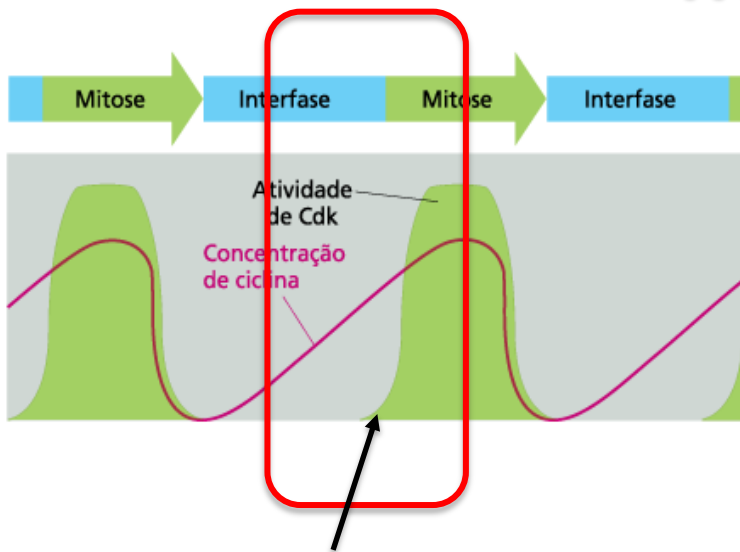
Complexo ciclina-CDK

Regulação mais fina: kinase Wee1 (fosfato inibitório) e fosfatase Cdc25 (remove fosfato inibitório)



Alberts, 2010

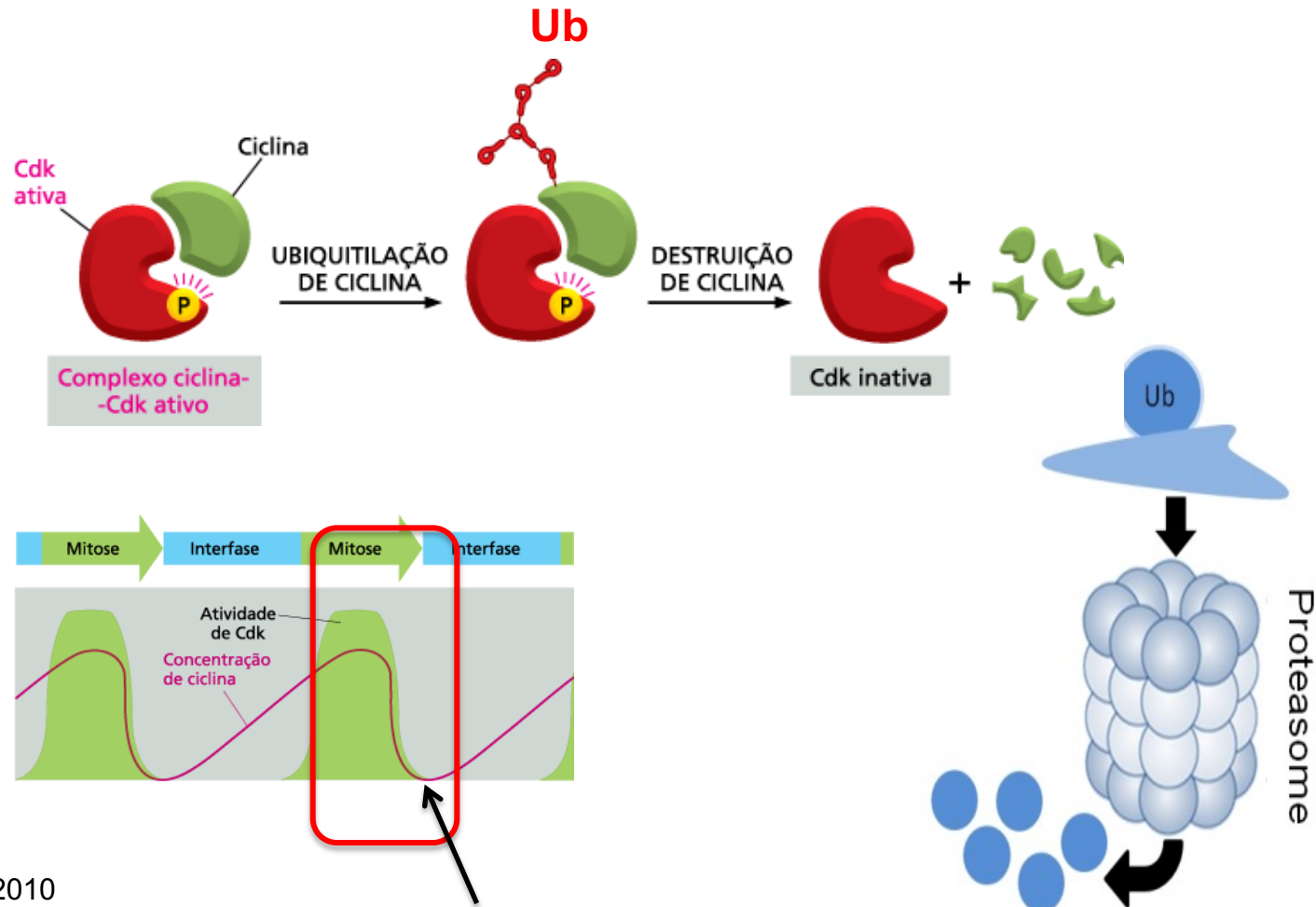
M-Cdk





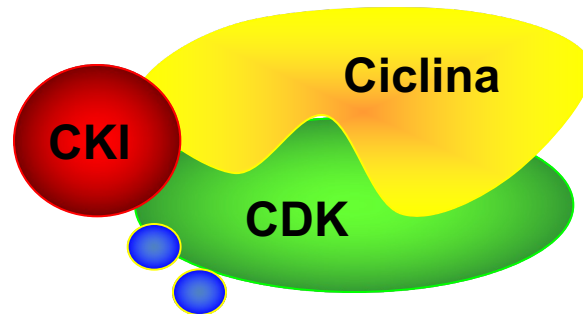
Degradação dos complexos ciclina-CDK

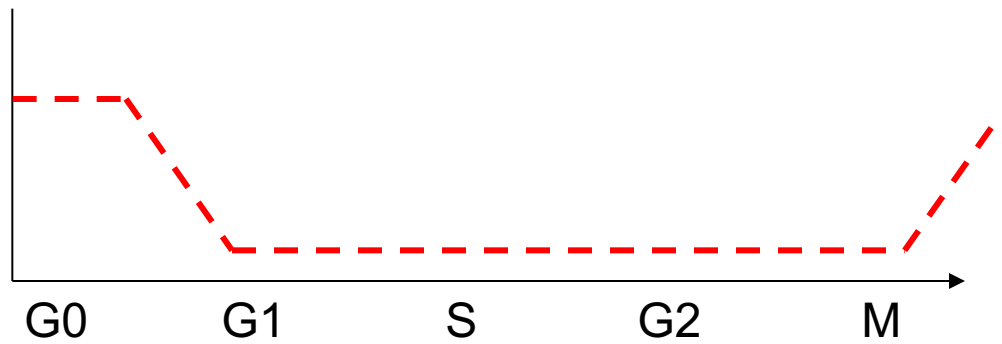
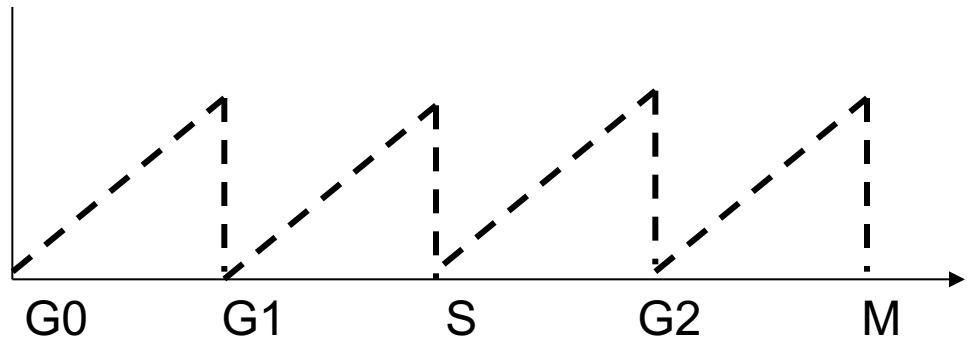
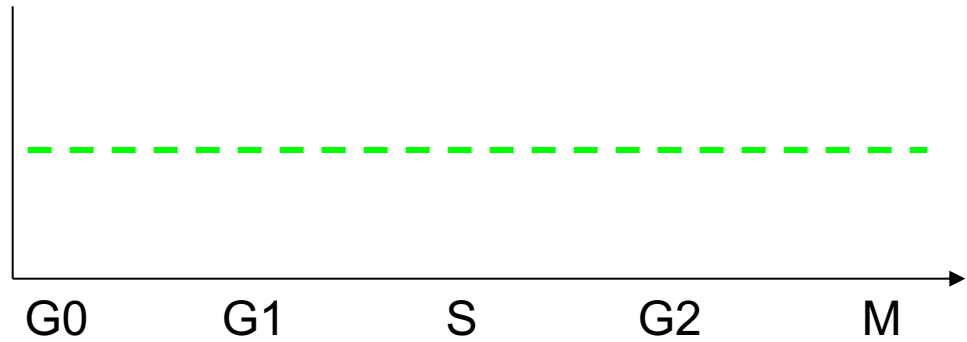
proteassoma



Controle do ciclo celular: ciclina-CDK

Interações com proteínas inibitórias: CKIs



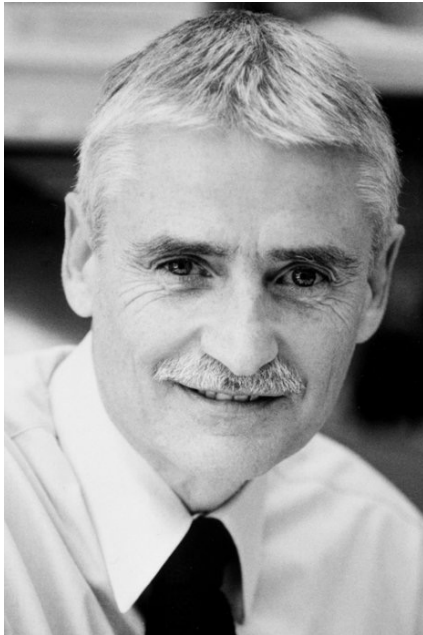


CDK, Ciclinas e **CKI**

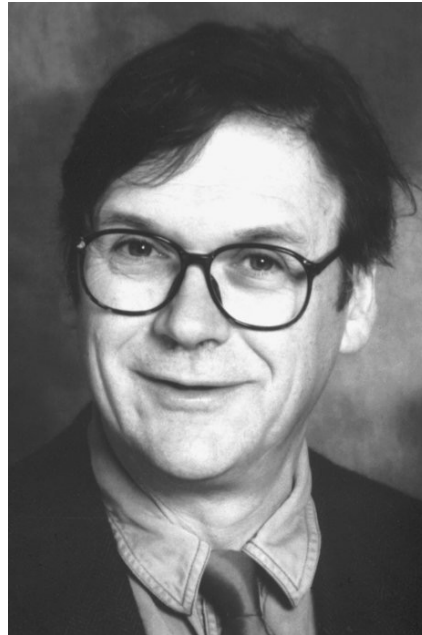
CDK1	Ciclinas A, B	p27, p21, p57	cip/kip
CDK2	Ciclinas A, E		
CDK3	Ciclina E		
CDK4	Ciclina D	p15, p16, p18, p19	INK4
CDK5	Ciclina D		
CDK6	Ciclina D		
CDK7	Ciclina H		
CDK8	Ciclina C		
CDK9	Ciclina T		



Nobel Prize in Physiology and Medicine 2001



Leland Hartwell



Tim Hunt

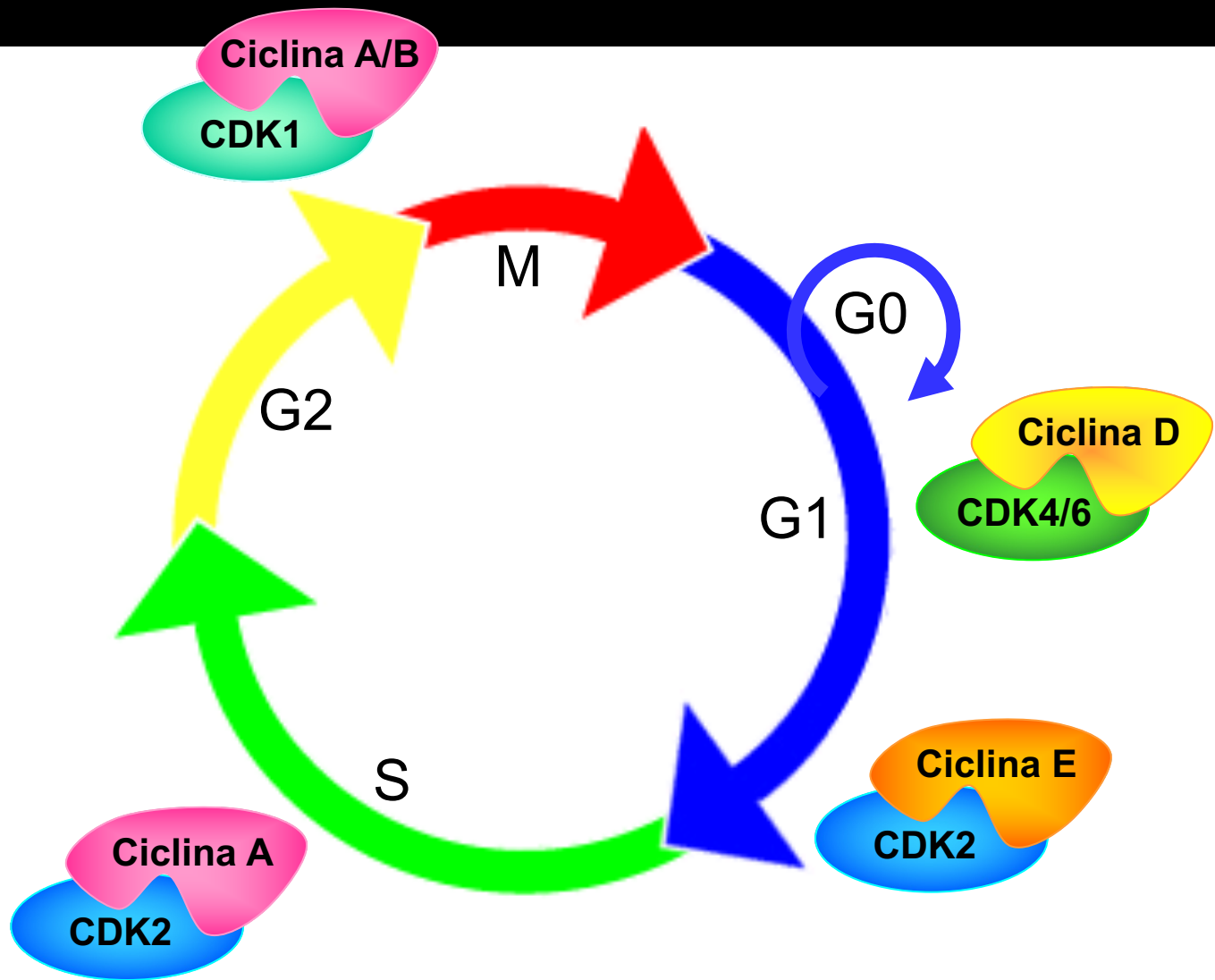


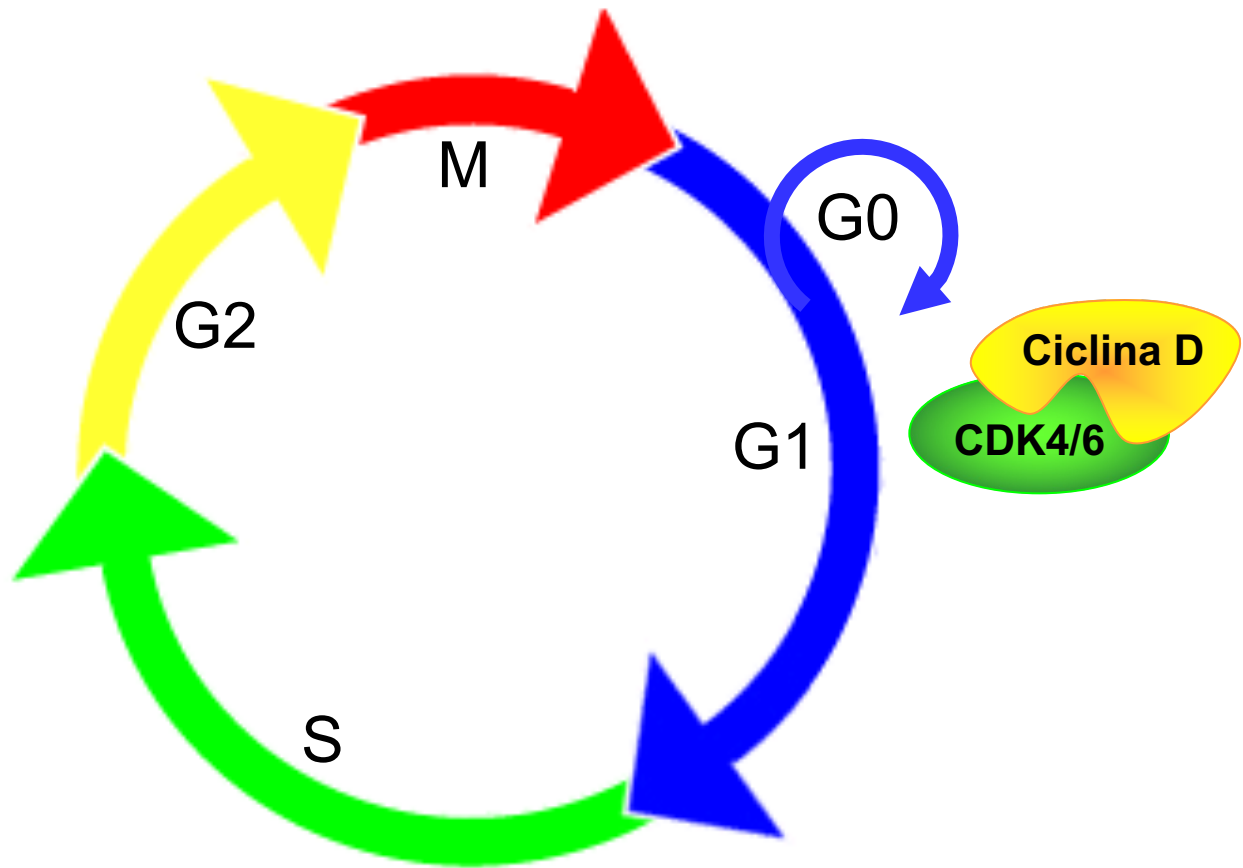
Sir Paul Nurse

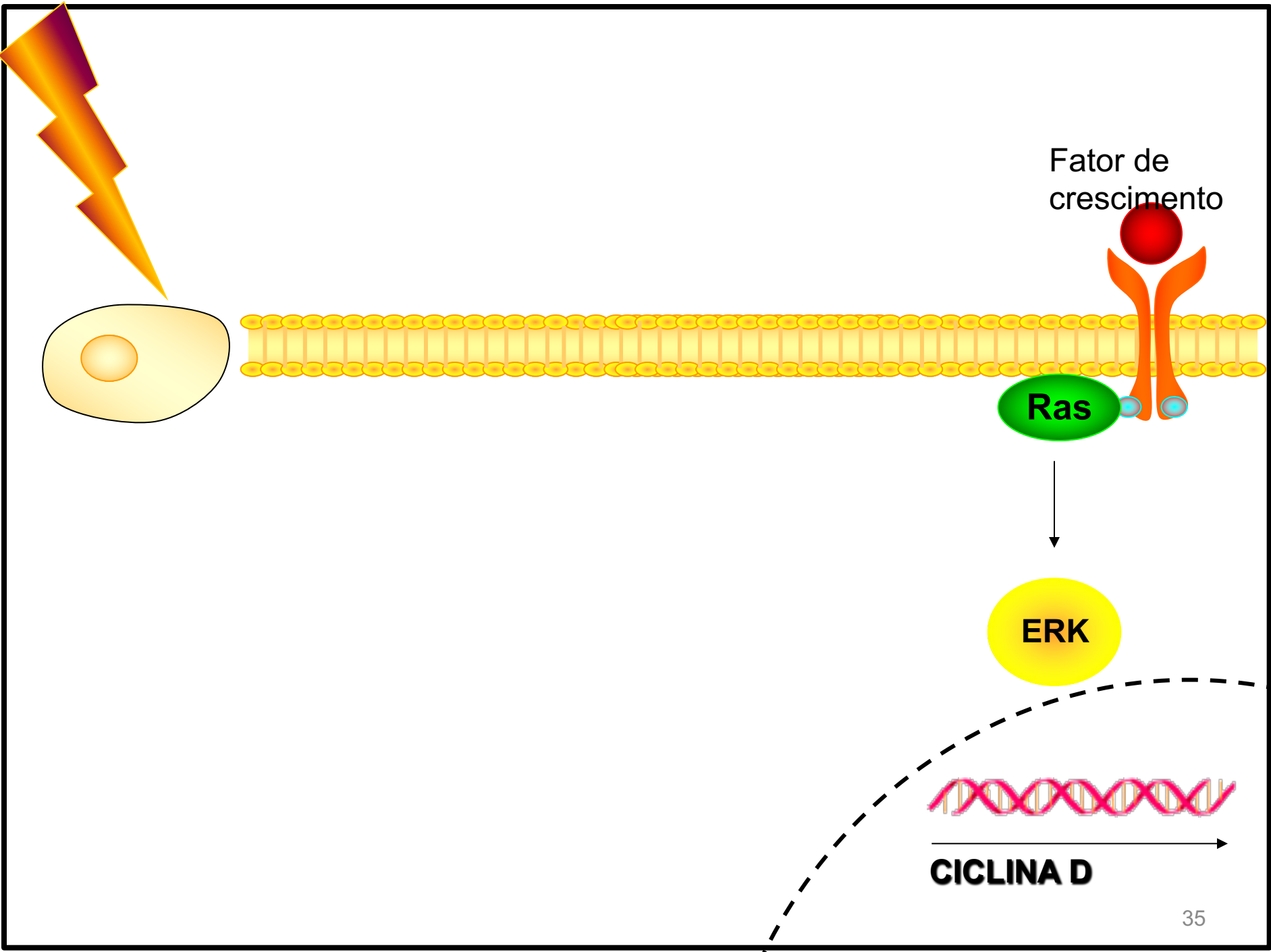
“discovery of key regulators of the cell cycle”

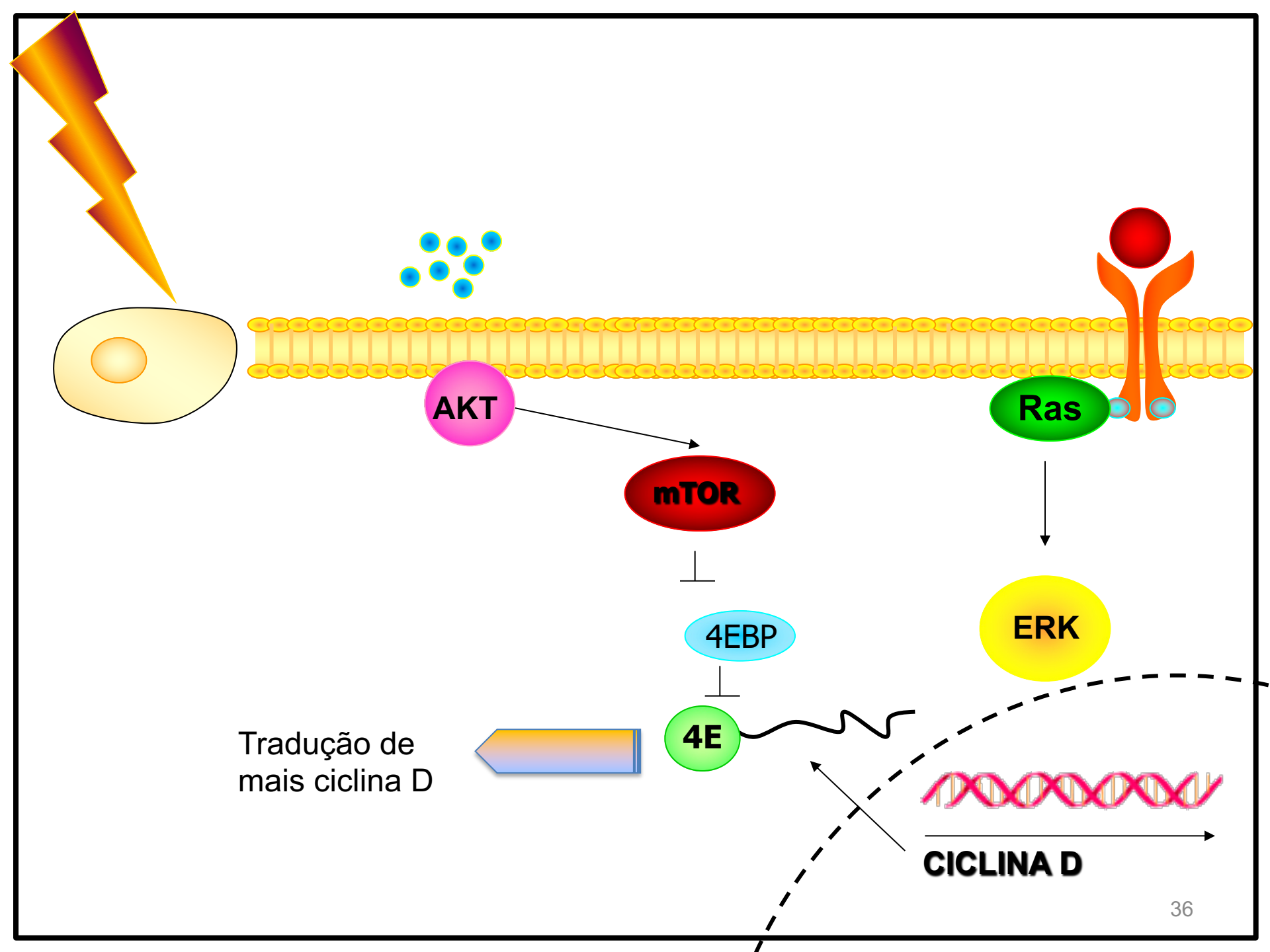
CDK, Ciclinas e fases do ciclo

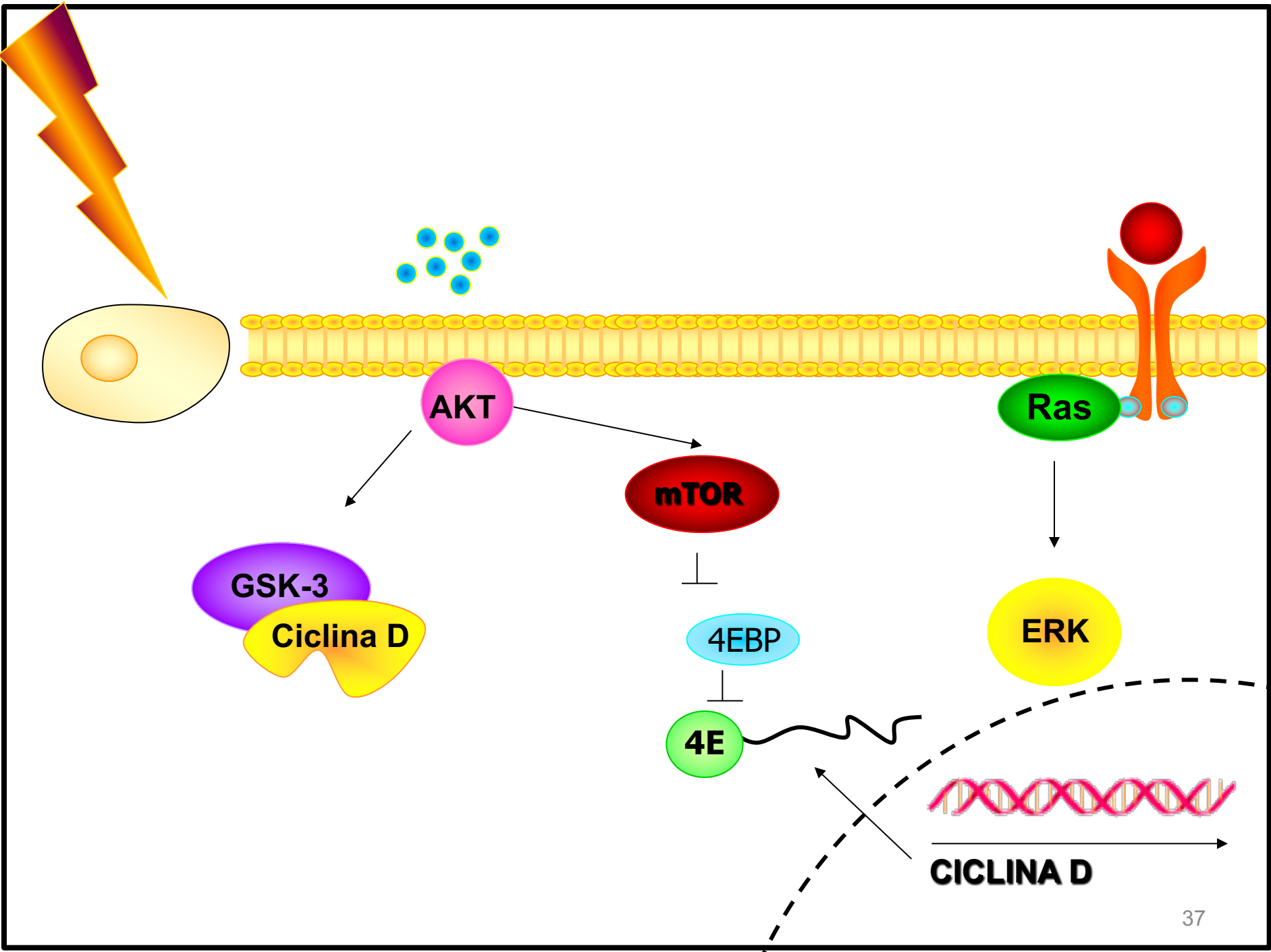
CDK1	Ciclinas A, B	G2/M
CDK2	Ciclinas A, E	G1/S, S
CDK3	Ciclina E	G1/S
CDK4	Ciclina D	G1/S
CDK5	Ciclina D	Diferenciação neuronal
CDK6	Ciclina D	G1/S
CDK7	Ciclina H	CAK
CDK8	Ciclina C	Regulação transcricional
CDK9	Ciclina T	G1/S

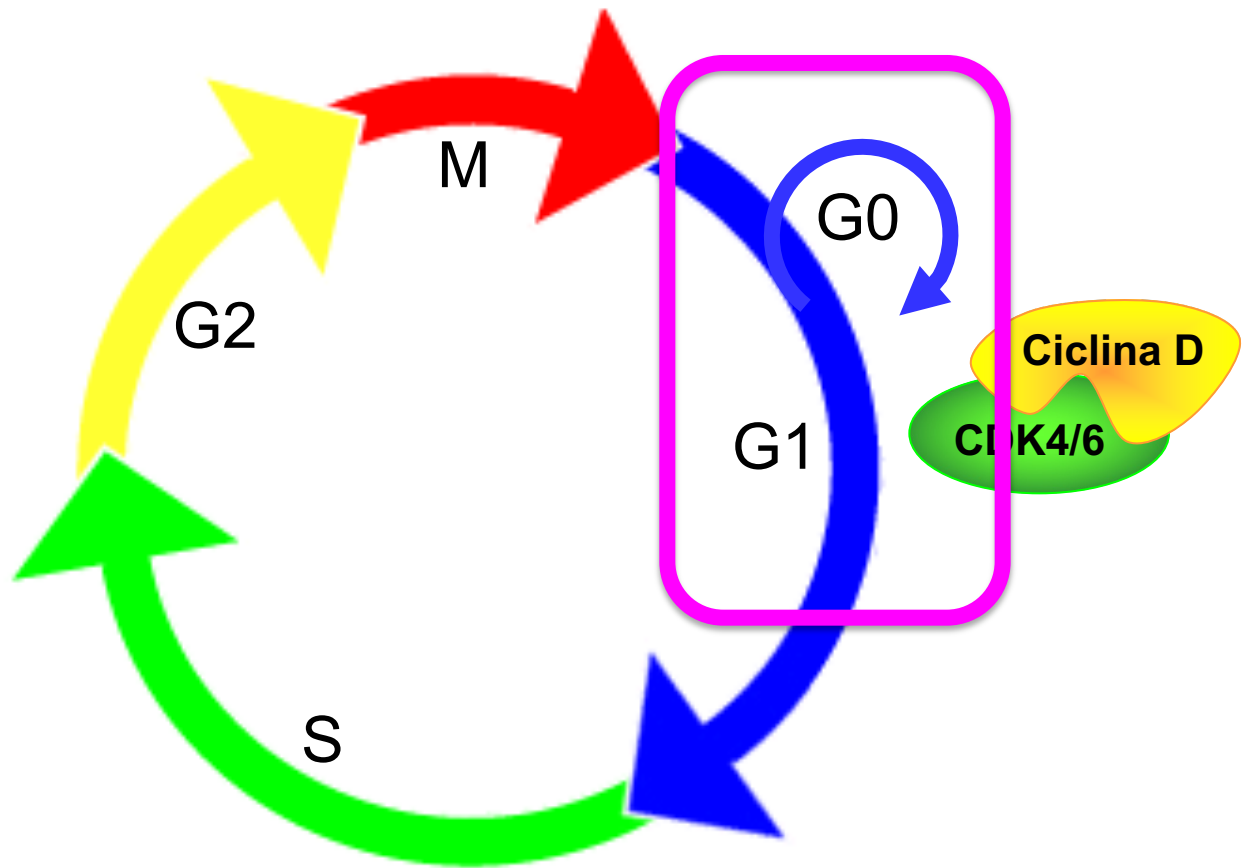






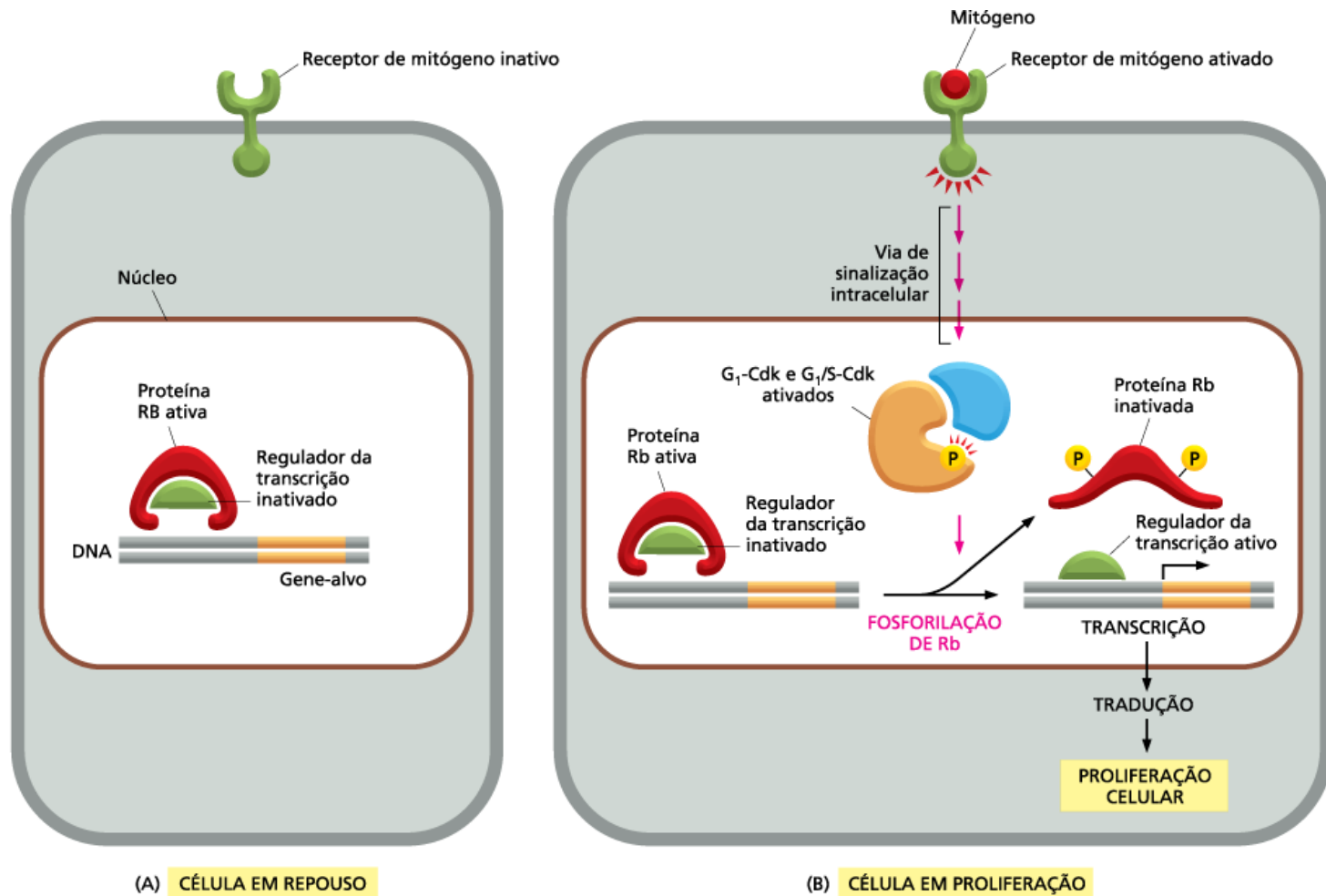


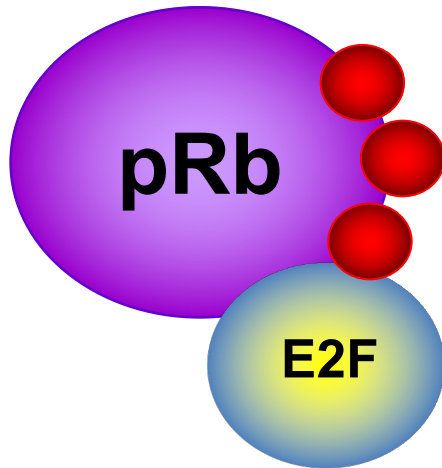




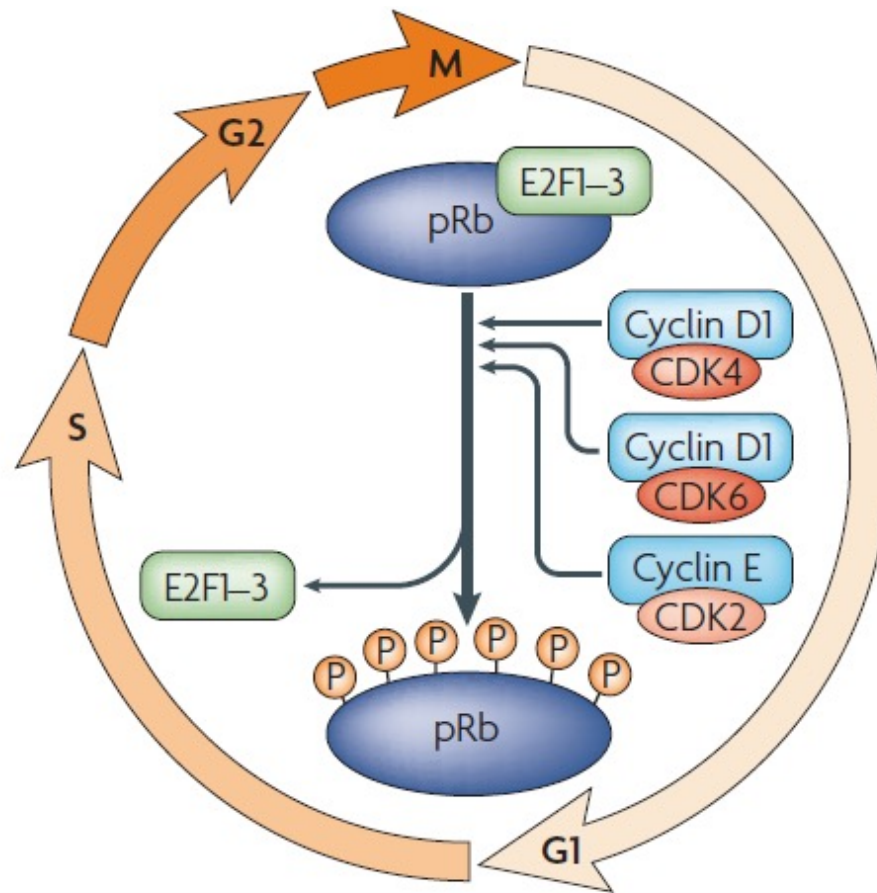
Período de resposta a estímulos extracelulares

pRB: regulador negativo do ciclo



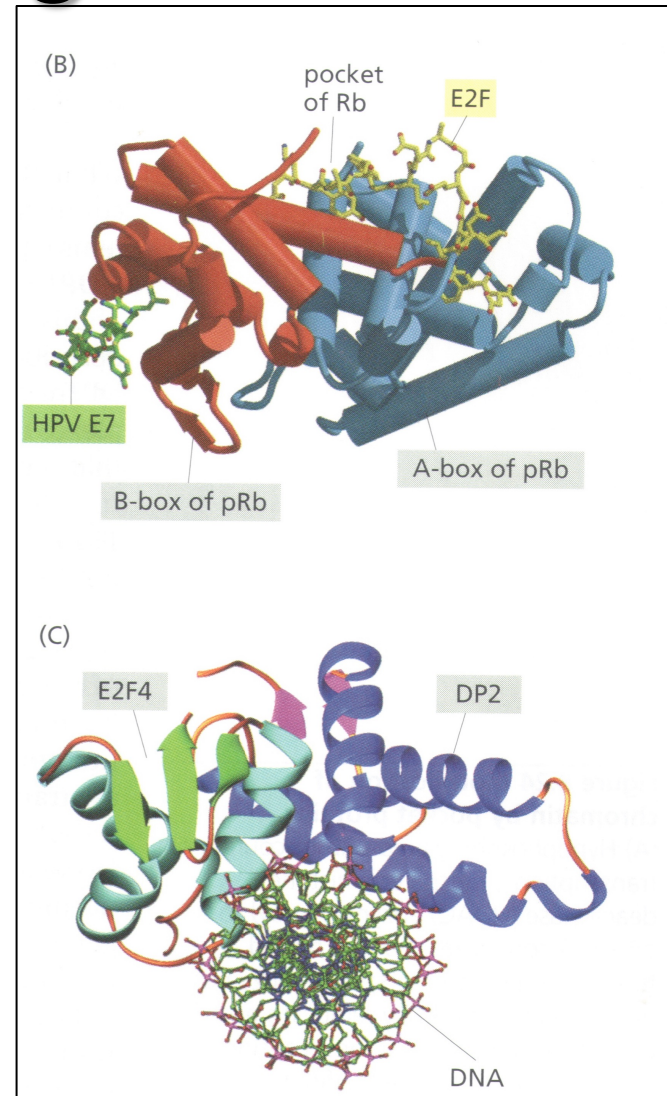


- Ciclinas E e A
- CDK1
- c-myc
- E2F
- DNA polimerase α
- Timidina quinase
- Timidilato sintetase
- Hidrofolato redutase



pRB: regulador negativo do ciclo

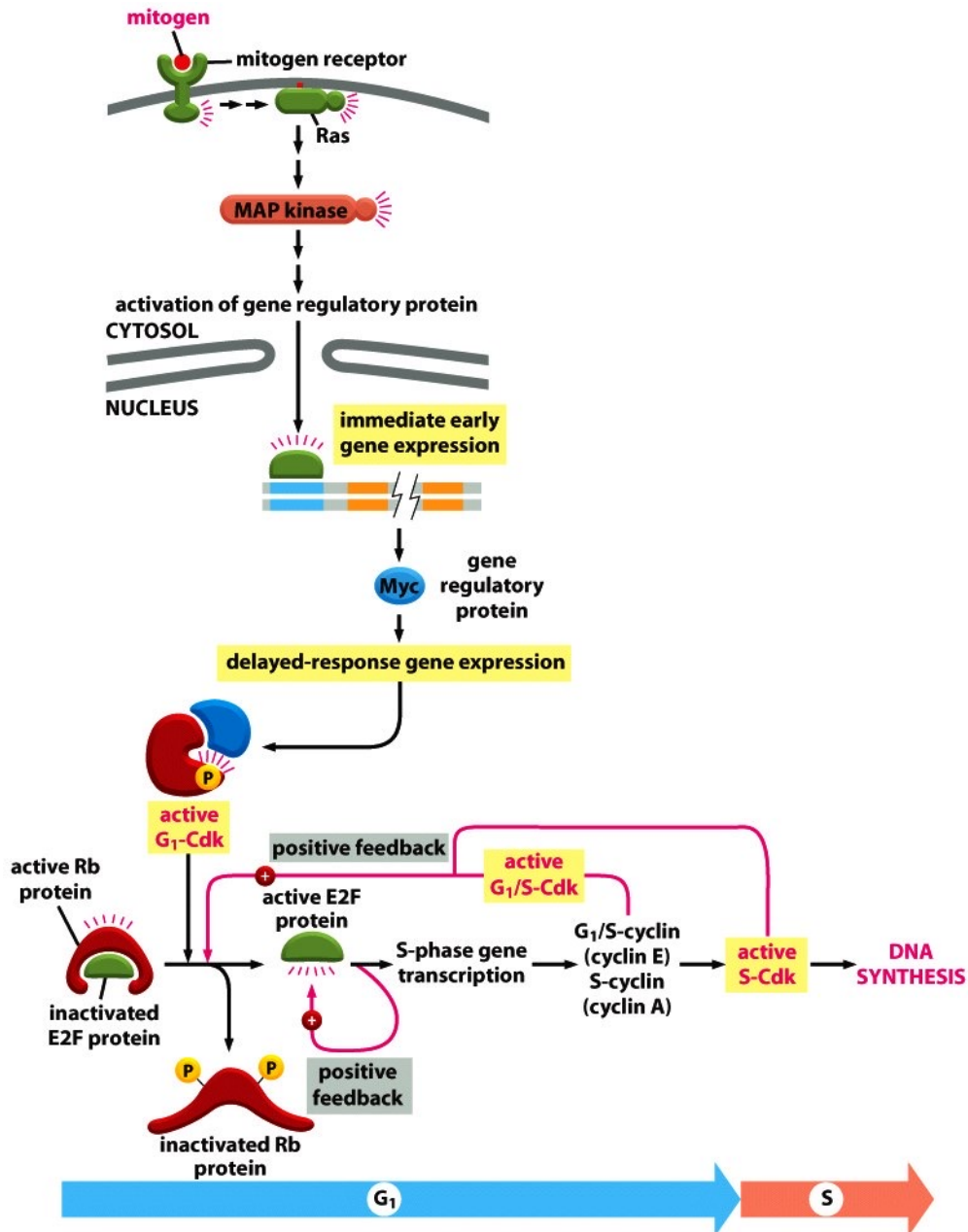
Pode se desligar de E2Fs na
presença de algumas proteínas virais
→ **oncoproteínas** (HPV)



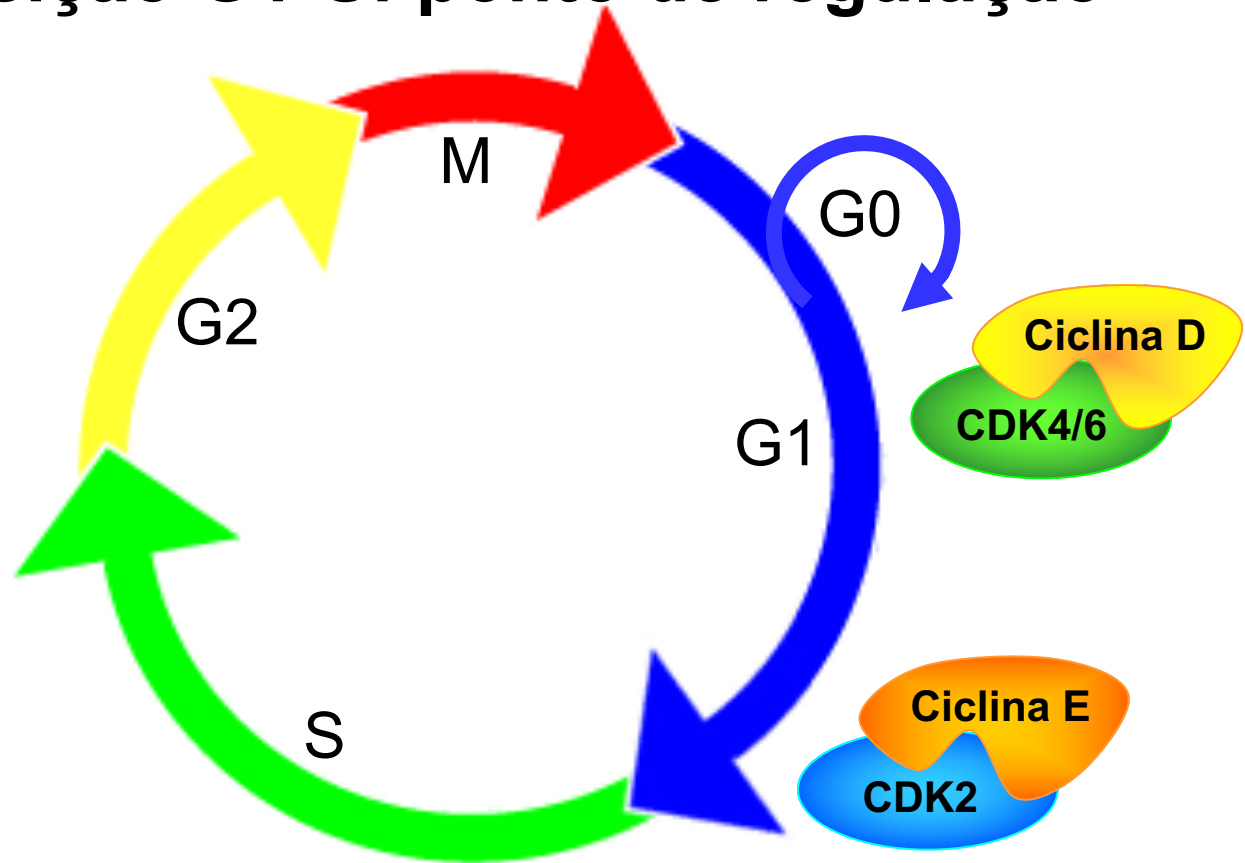
E2F4 ligando ao DNA

Myc

induz proliferação celular

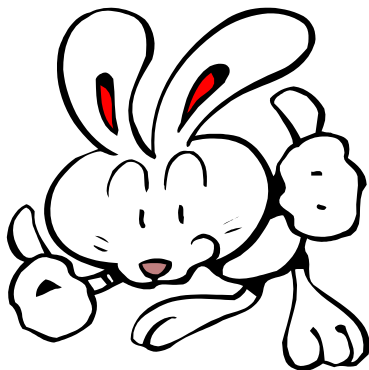


Transição G1-S: ponto de regulação



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

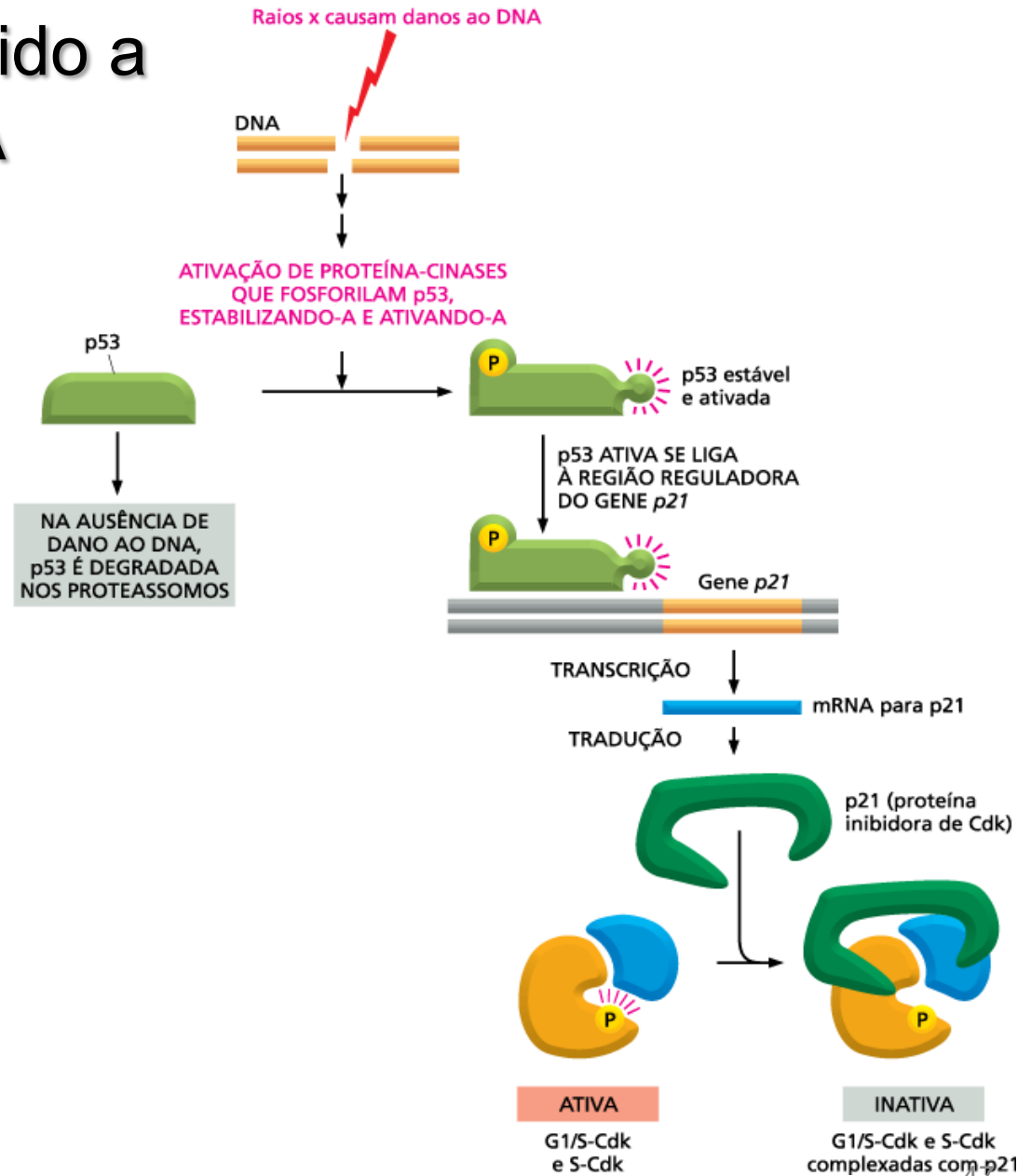
Ponto de verificação G1/S

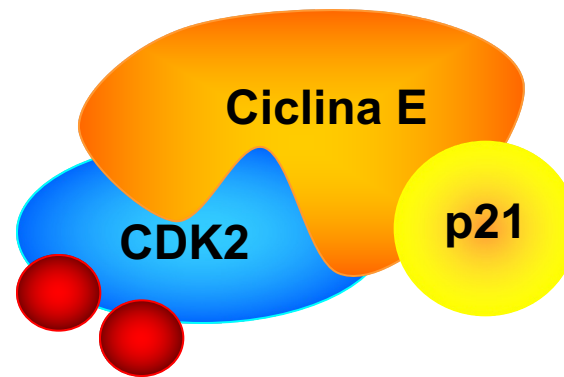
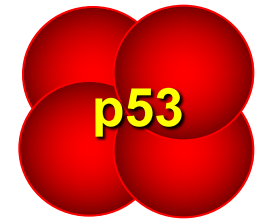
- ❖ O tamanho da célula é adequado ?
- ❖ Existe energia suficiente para continuar ?
- ❖ O estímulo para a proliferação continua ?
- ❖ A maquinaria de replicação está presente ?
- ❖ O DNA está íntegro para ser copiado ?

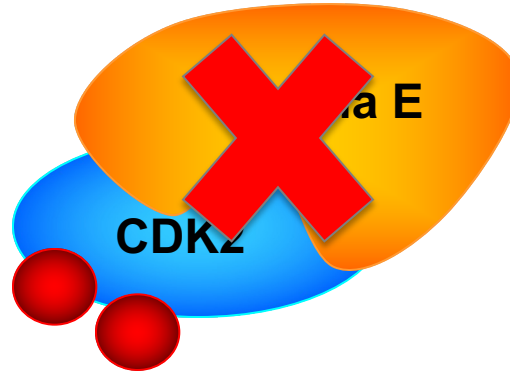
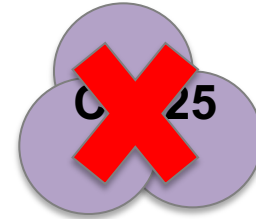


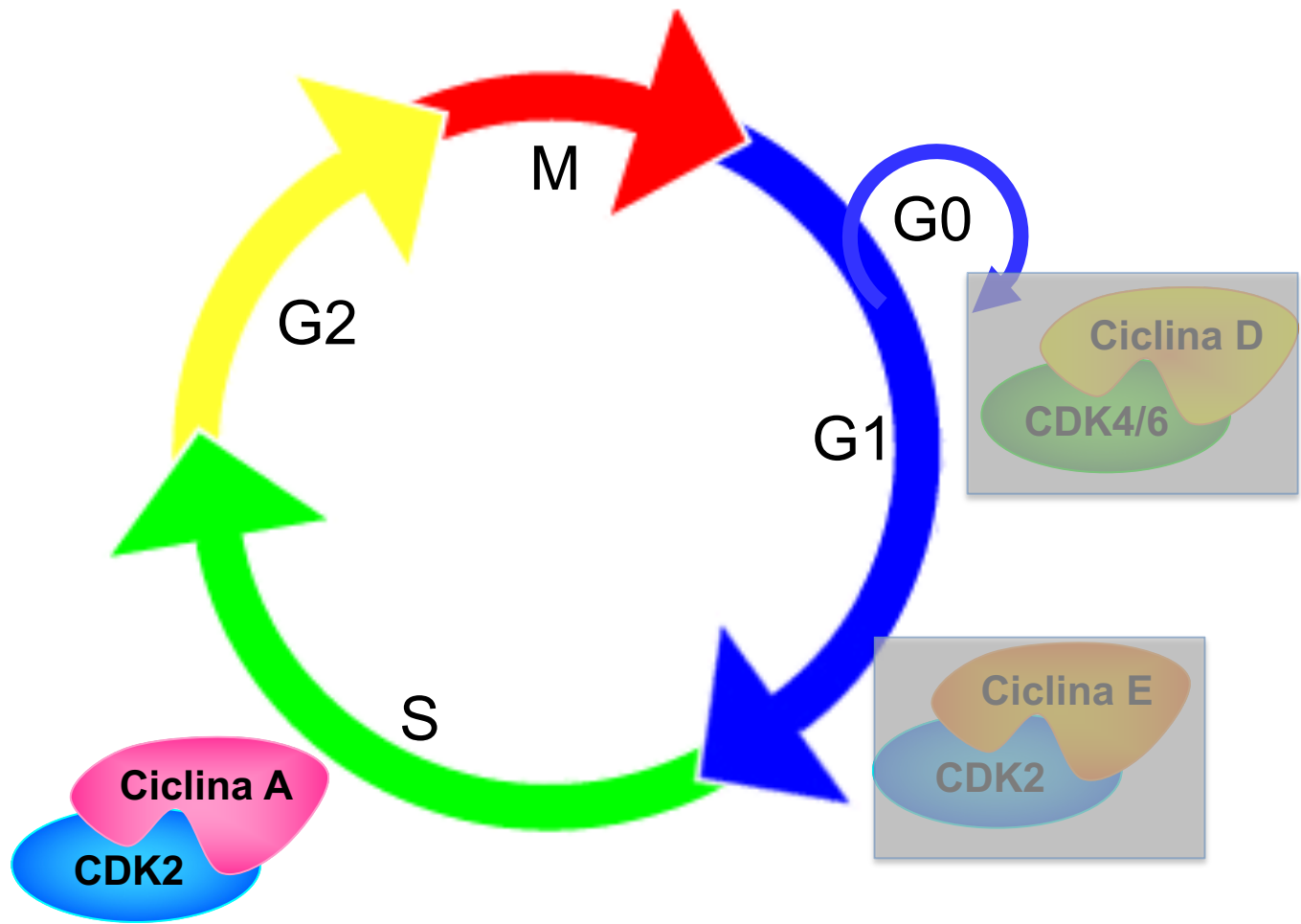
PARADA OU APOPTOSE

Parada em G1 devido a danos no DNA

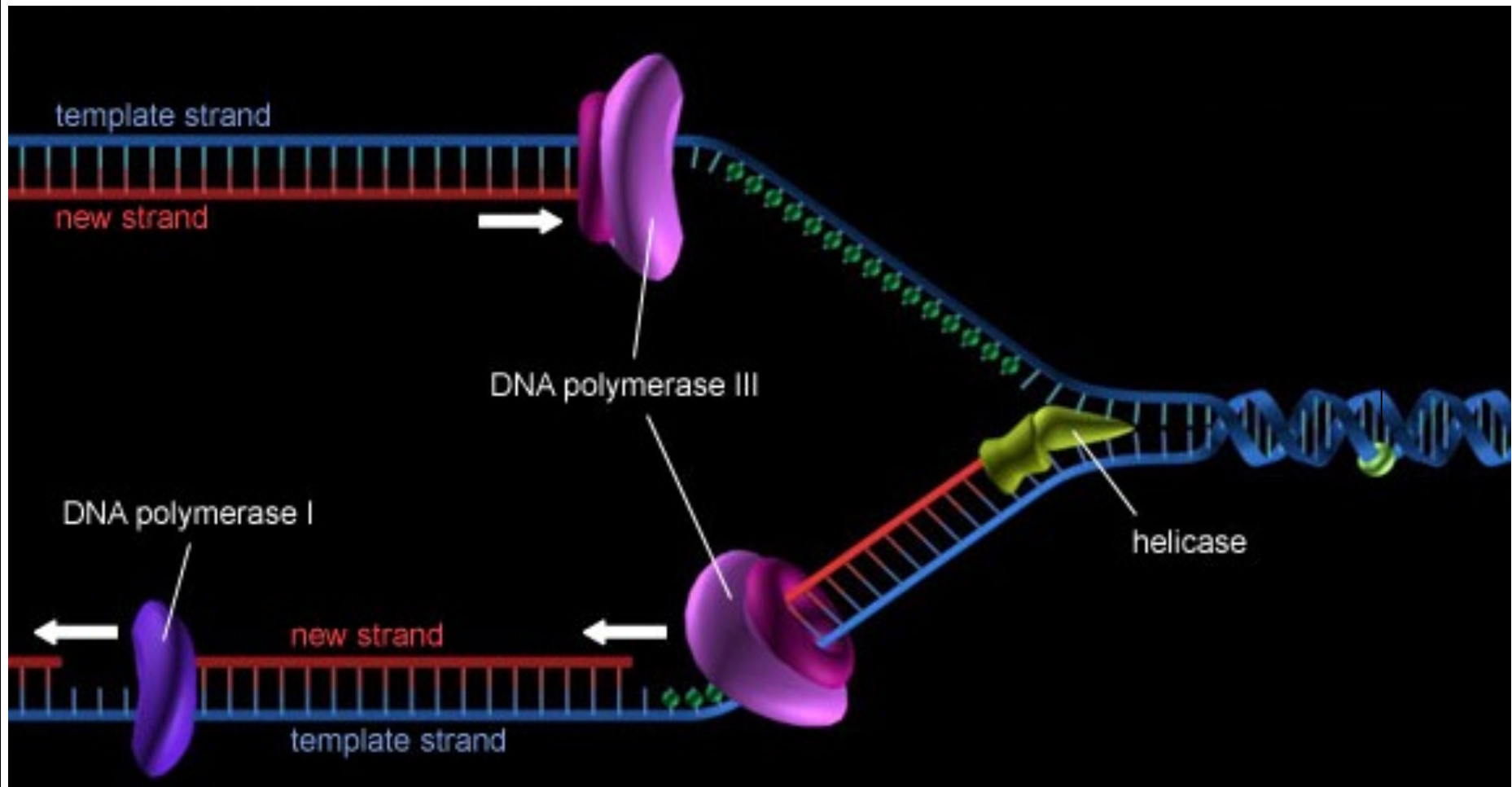




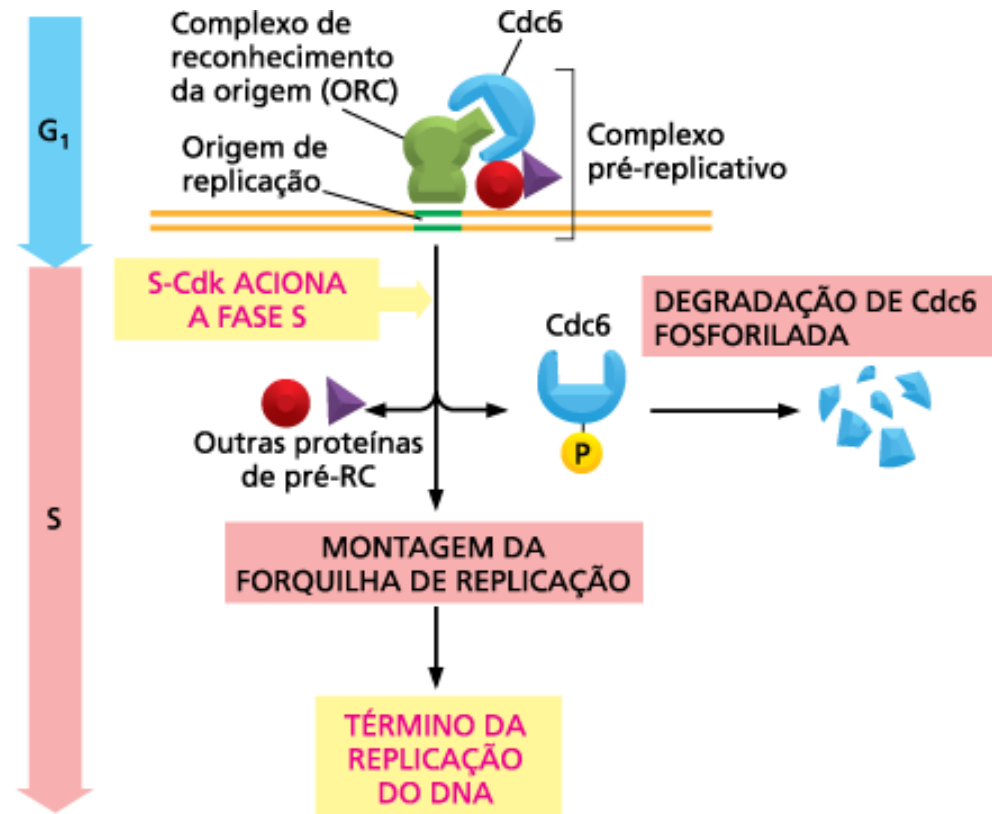




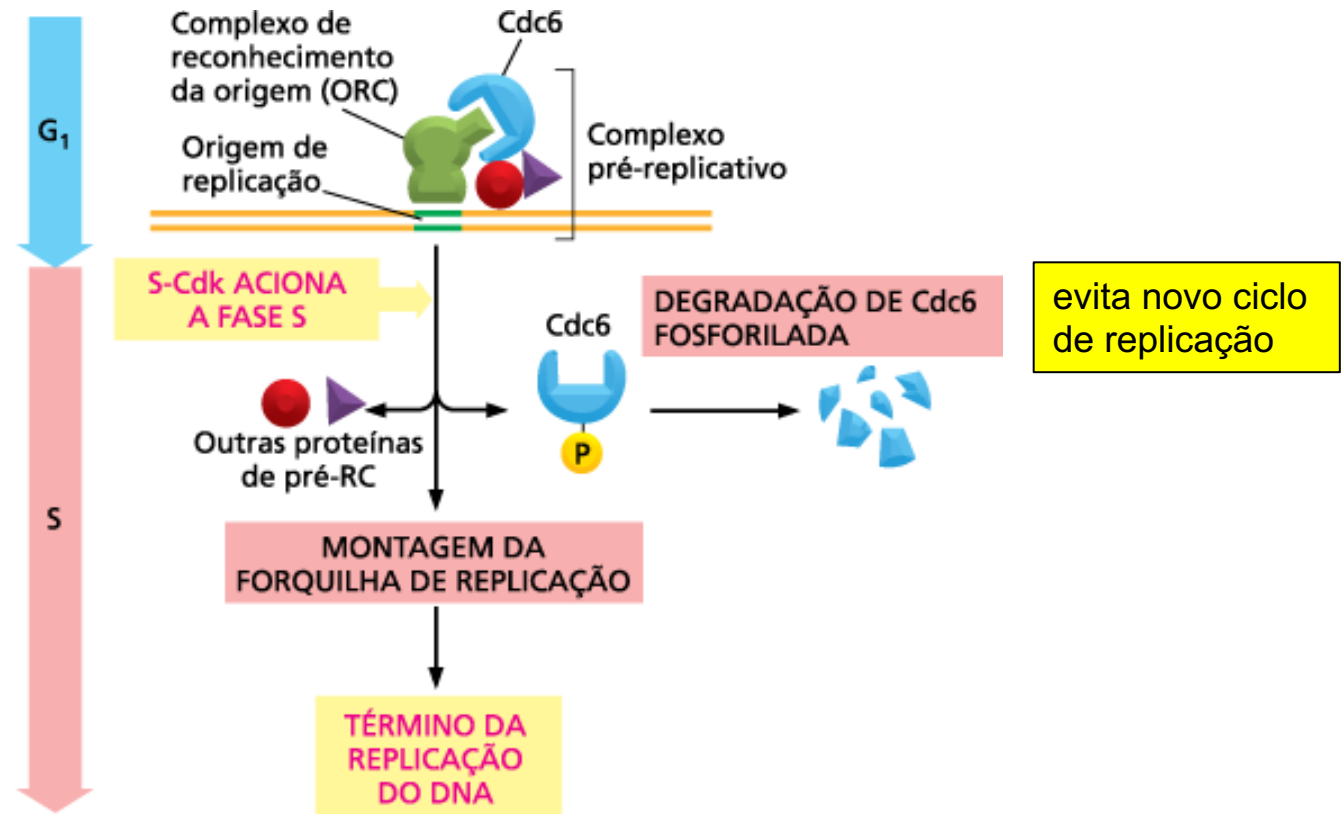
Fase S: replicação do DNA



Controle da replicação do DNA



Controle da replicação do DNA



Alberts, 2010

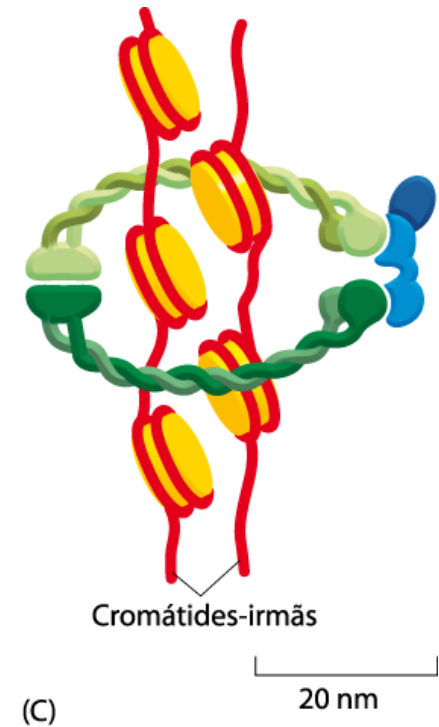
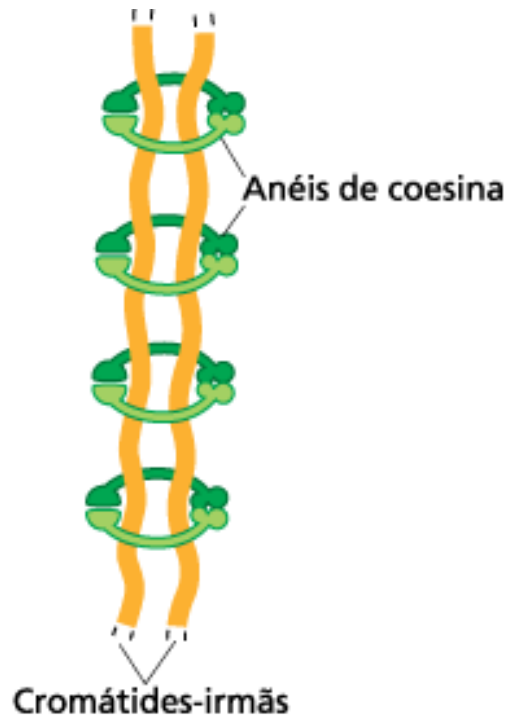
CDK2-ciclina A/ S-CDK:

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

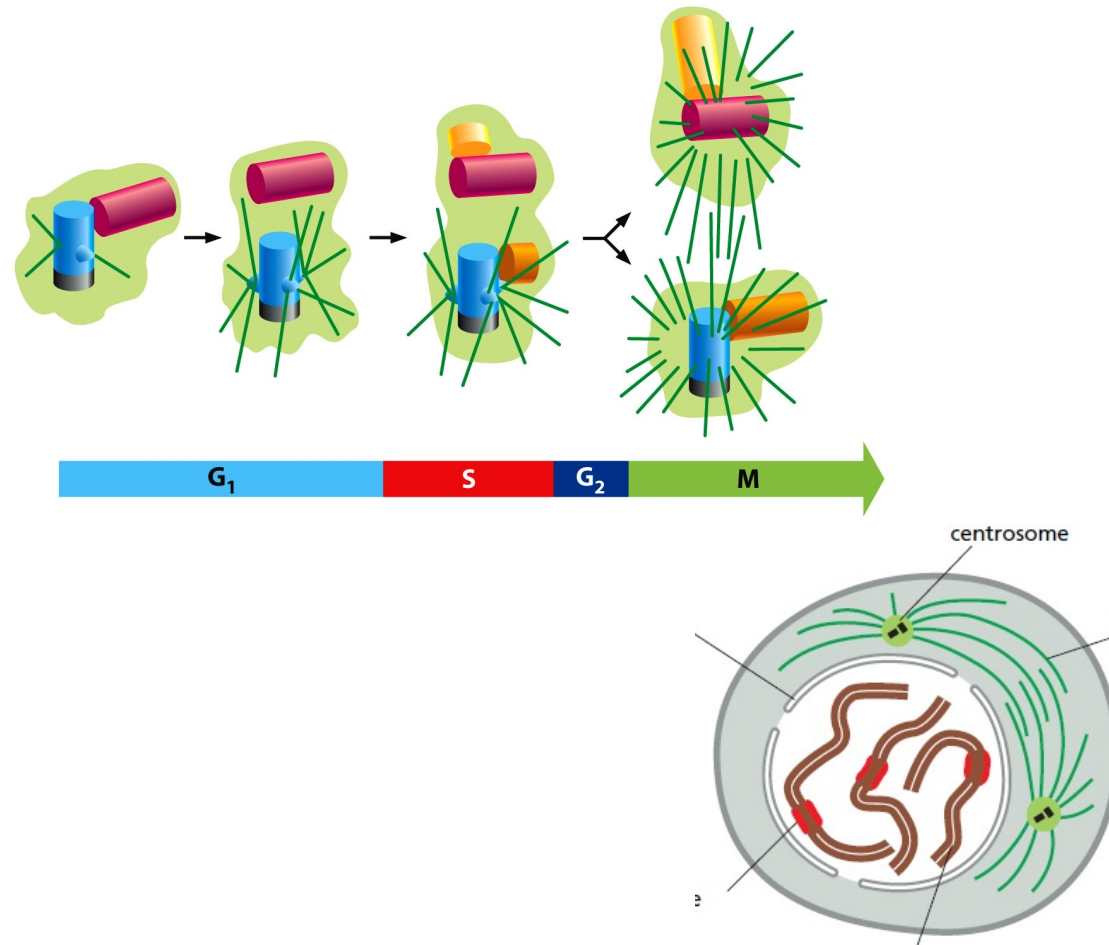
Controle da replicação do DNA

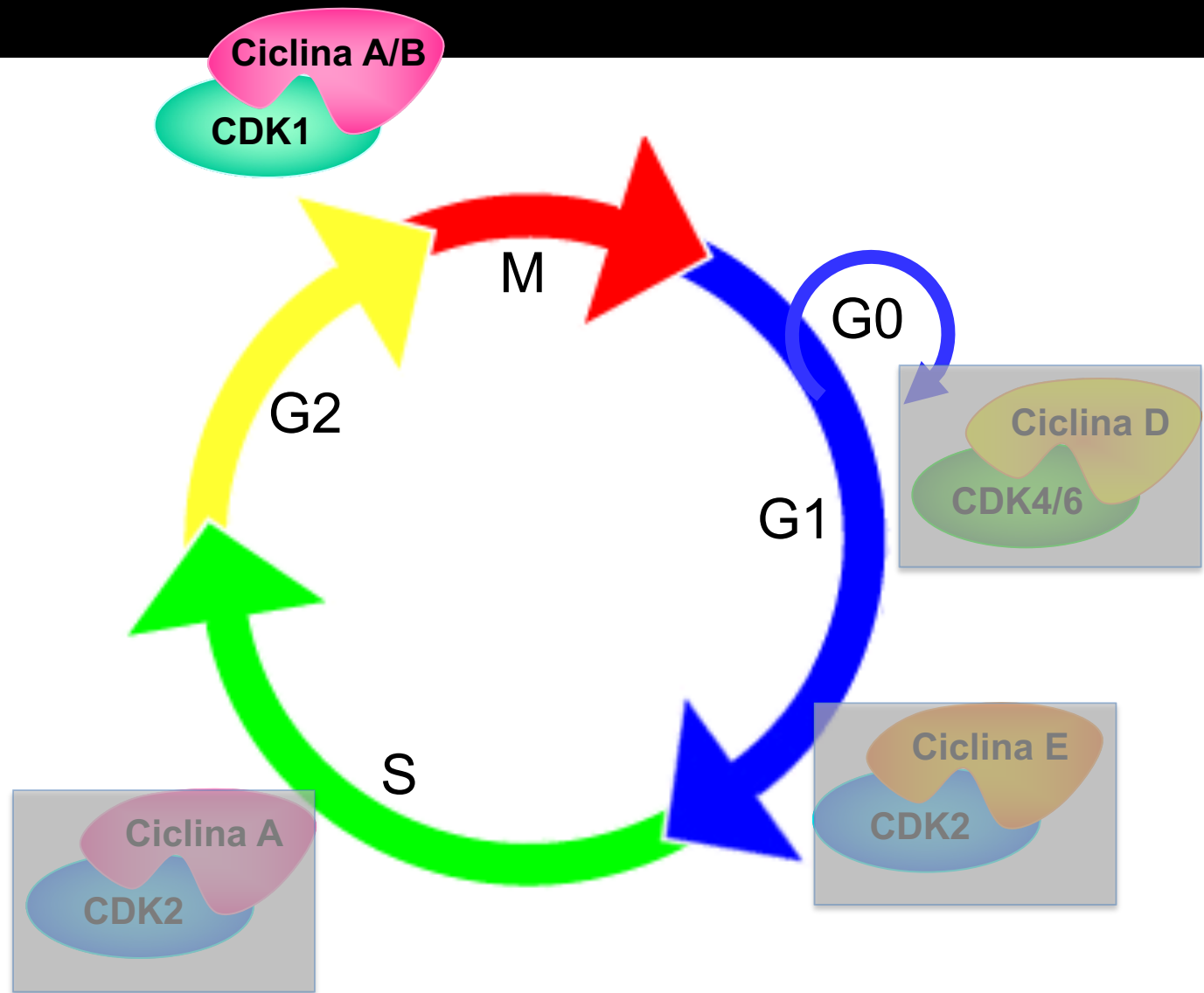
Coesina:

Mantém cromátides-irmãs
unidas até o fim da
mitose



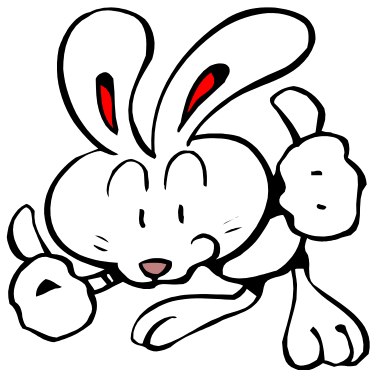
Duplicação dos centrosomos





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 ?



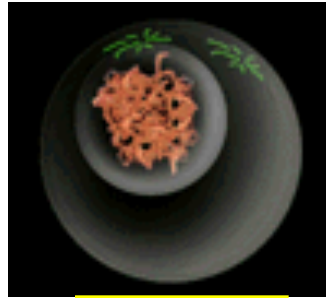
PROGRESSÃO

Ponto de verificação G2/M

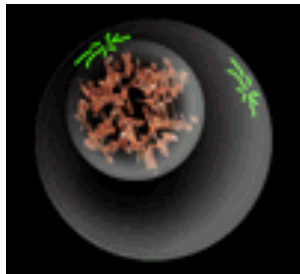
- ❖ O tamanho da célula é adequado ?
- ❖ Existe energia suficiente para continuar ?
- ❖ A replicação dos cromossomos foi adequada?
- ❖ Os centríolos foram duplicados ?



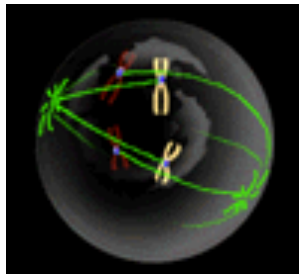
PARADA OU APOPTOSE



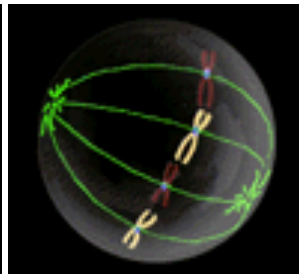
G2



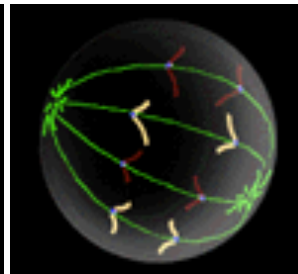
Prófase



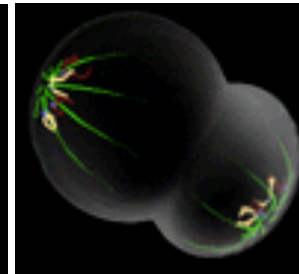
Prometáfase



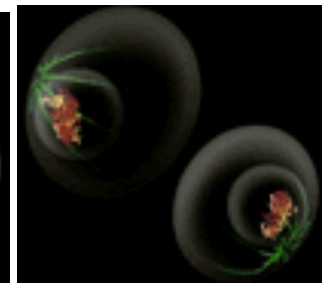
Metáfase



Anáfase



Telófase

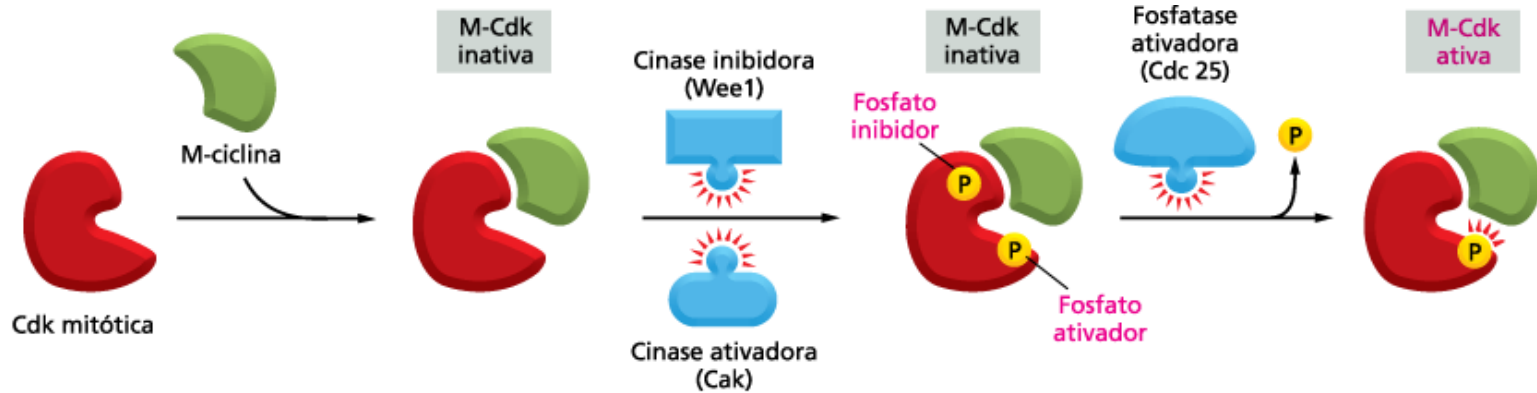


Citocinese

MITOSE

Mitose: ativação de M-CDK

[M-Cdk]: nome “genérico” para [Cdk1-ciclina A] e [Cdk1- ciclina B]

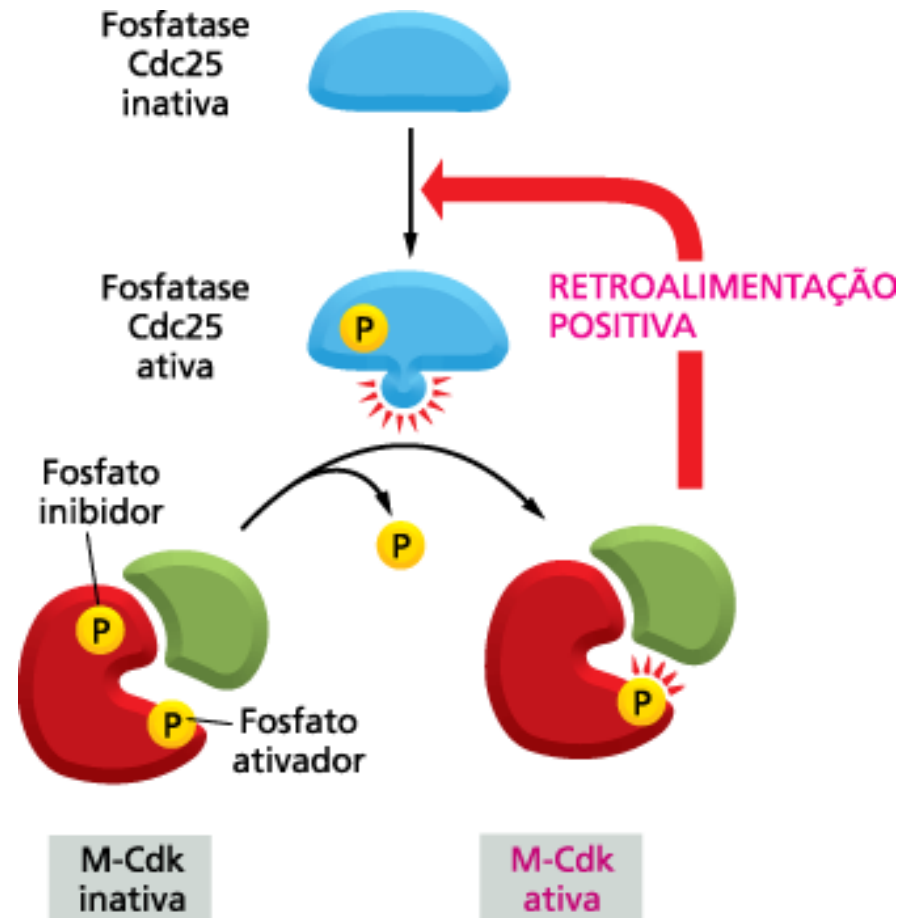
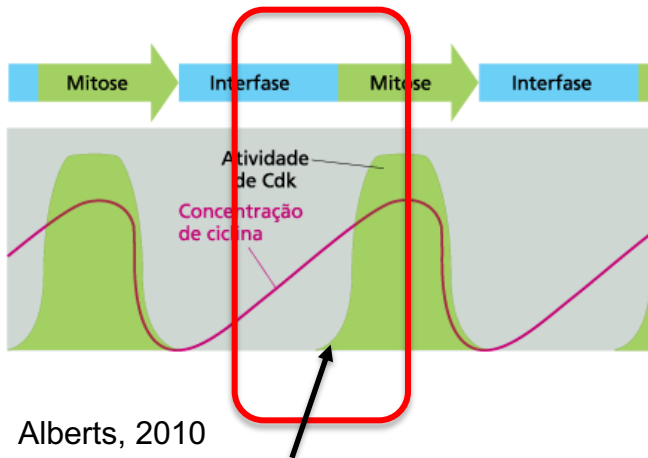


Alberts, 2010

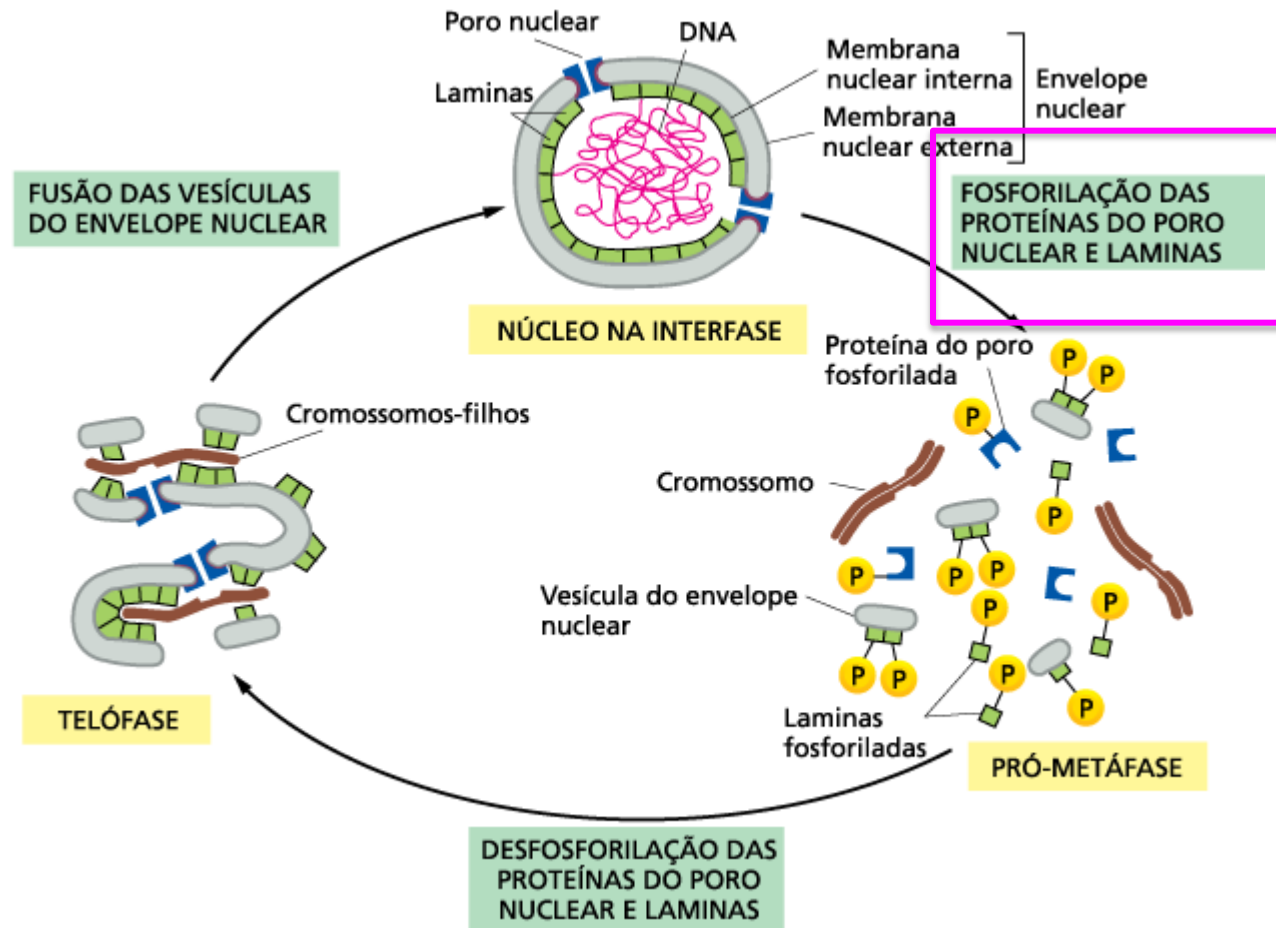
M-Cdk: condensação dos cromossomos e montagem do fuso mitótico

Mitose: ativação de M-CDK

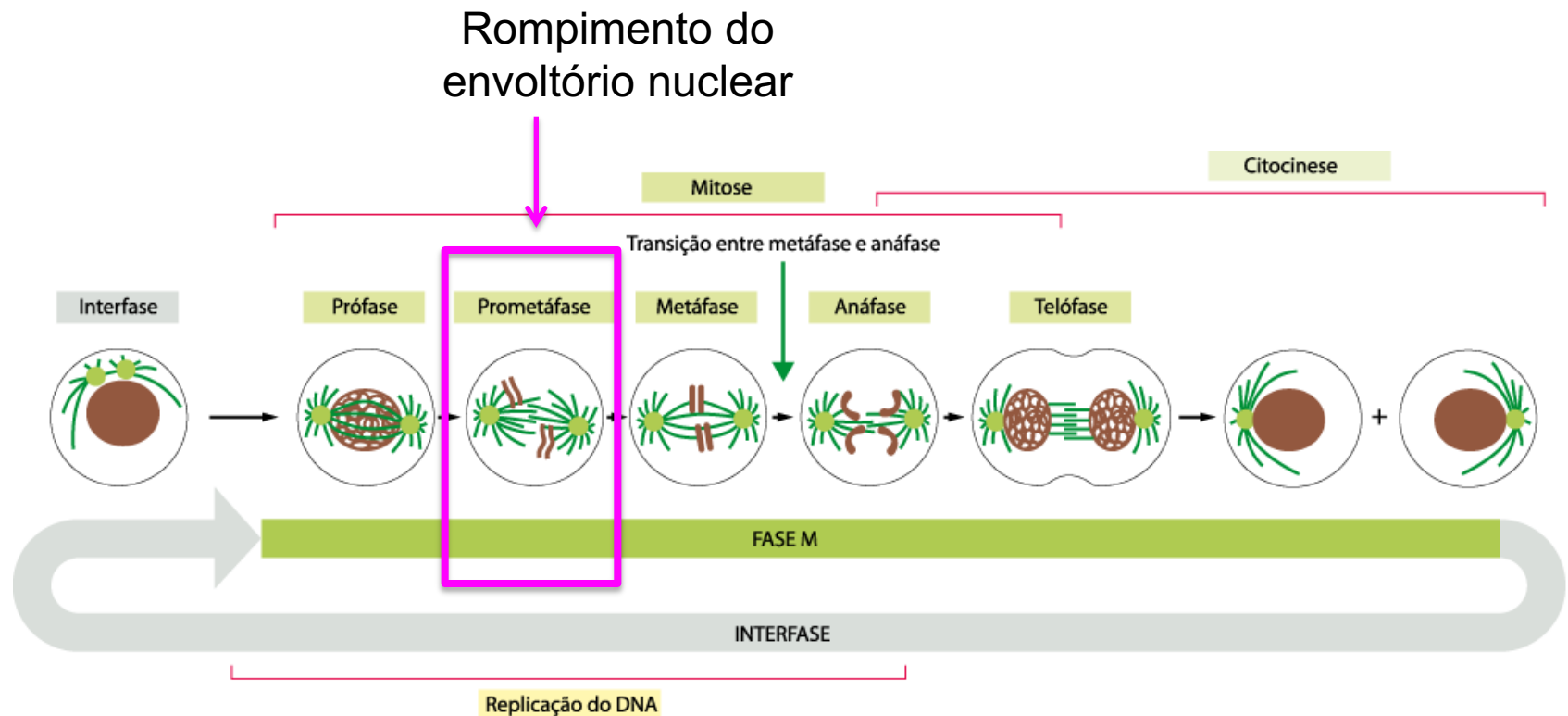
M-Cdk: Retroalimentação positiva de Cdc25



M-CDK: fosforila laminas



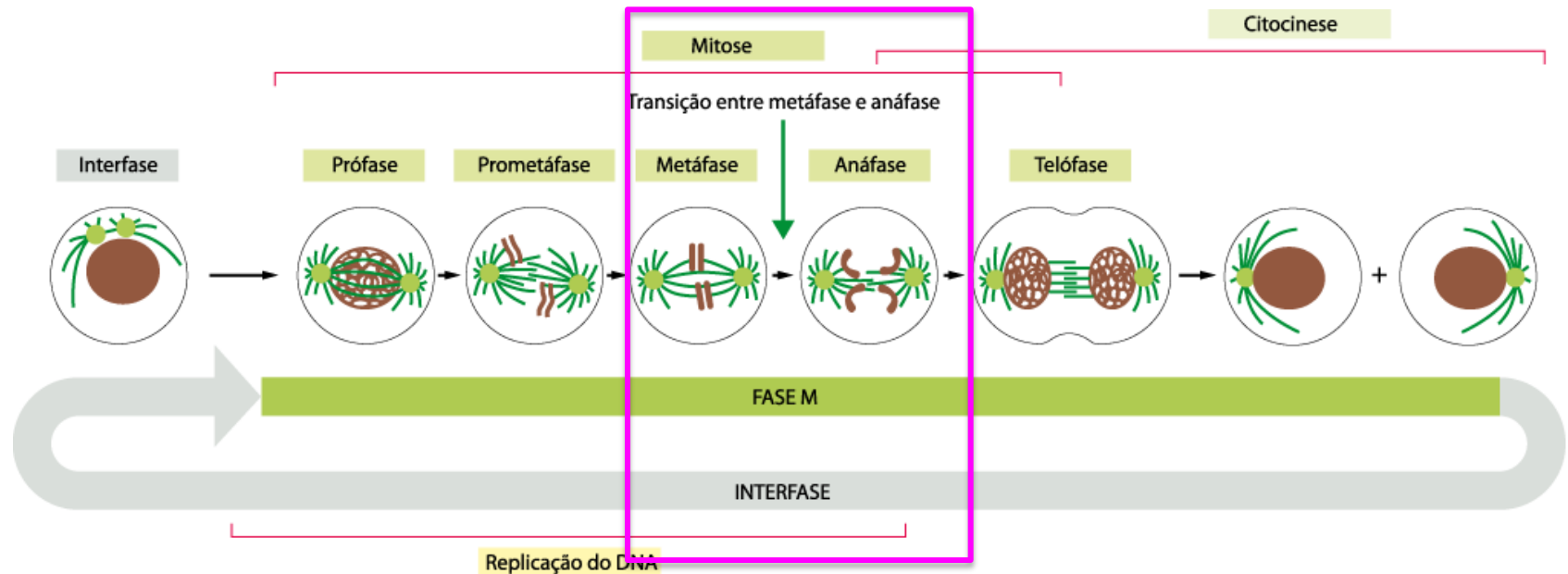
Mitose: ativação de M-CDK



Alberts, 2010

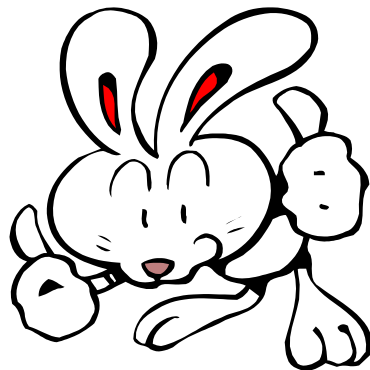
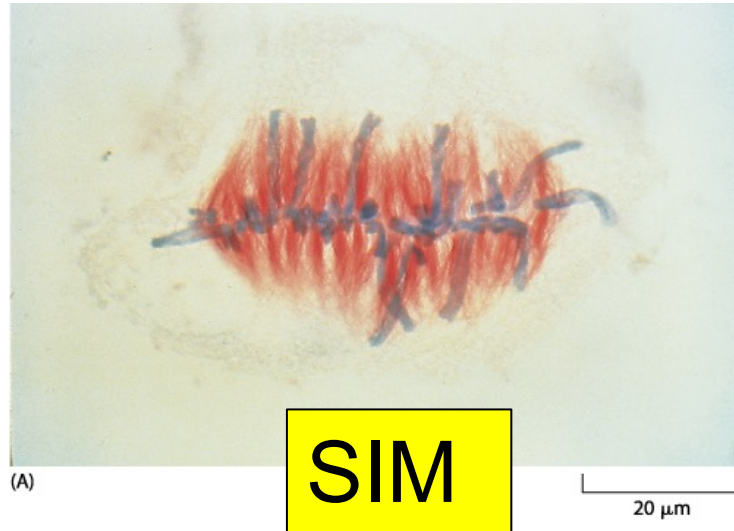
Mitose: ativação de M-CDK

Ponto de verificação M



Alberts, 2010

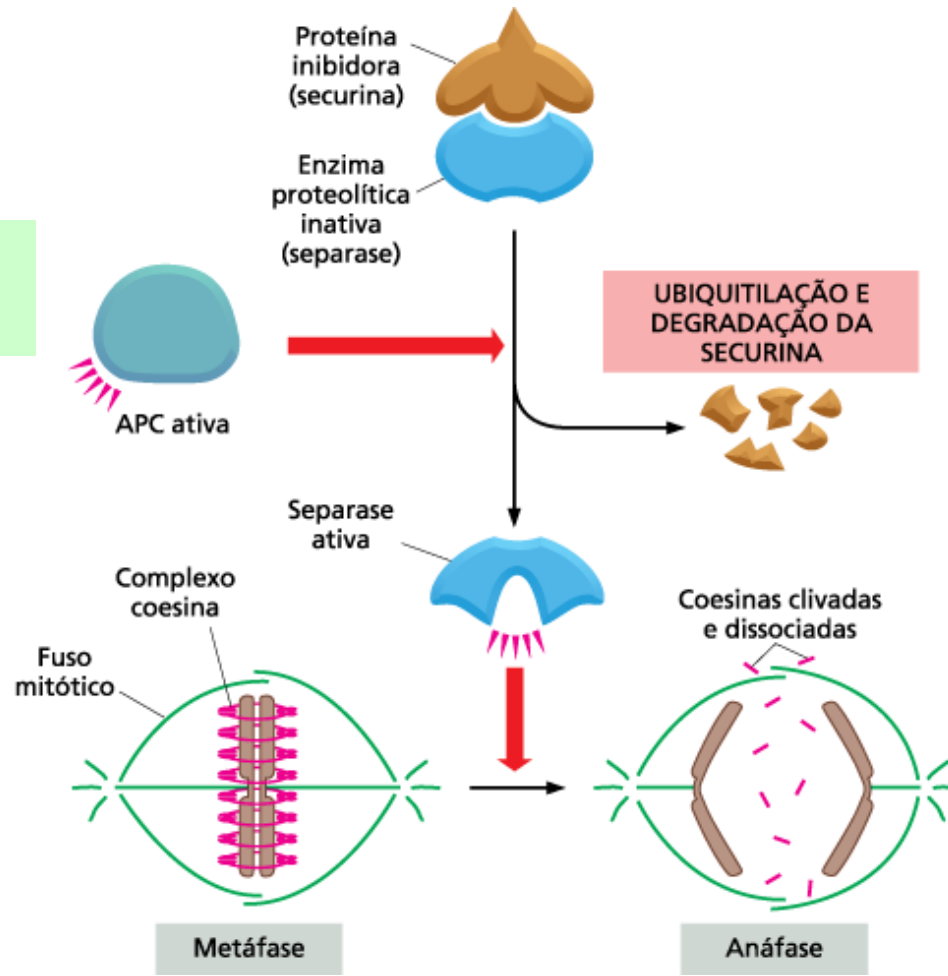
Todos os cromossomos estão ligados corretamente ao fuso?



PROGRESSÃO

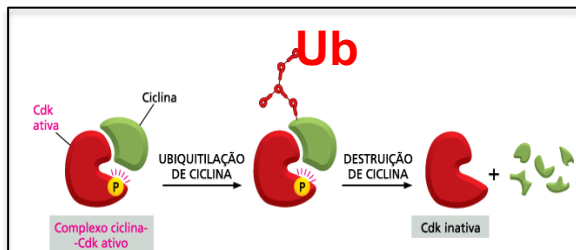
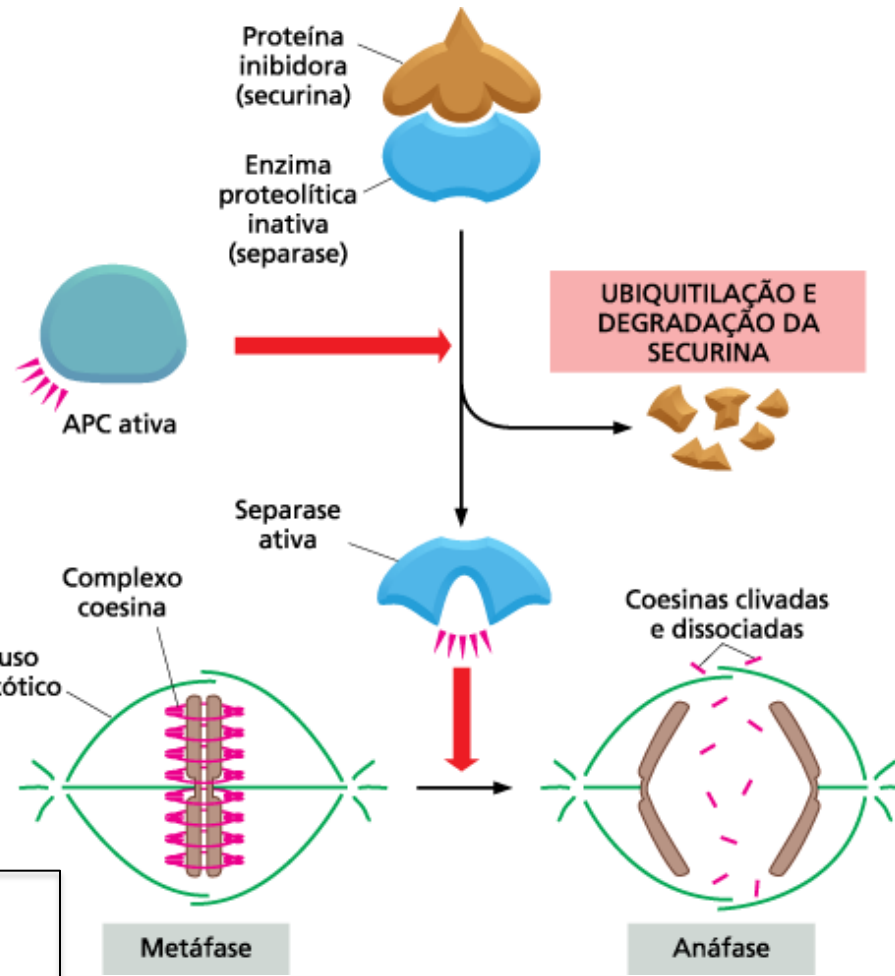
APC: complexo promotor da anáfase

APC/C:
ubiquitina ligase



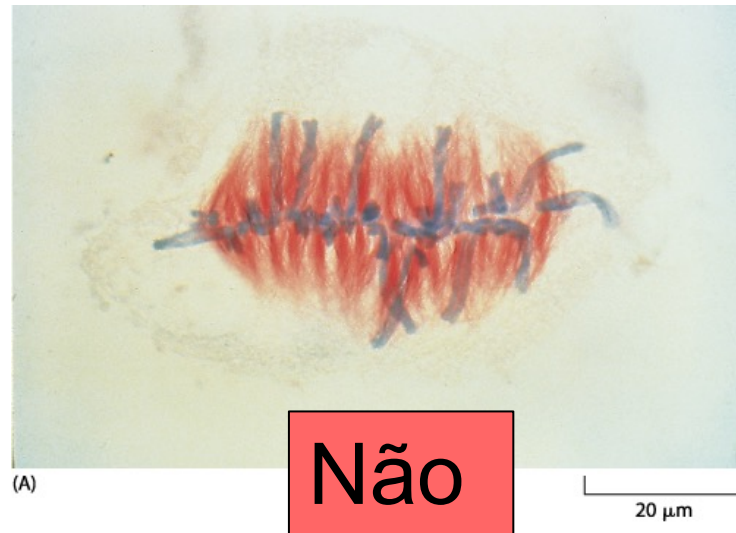
APC: complexo promotor da anáfase

APC/C:
ubiquitina ligase



Alberts, 2010

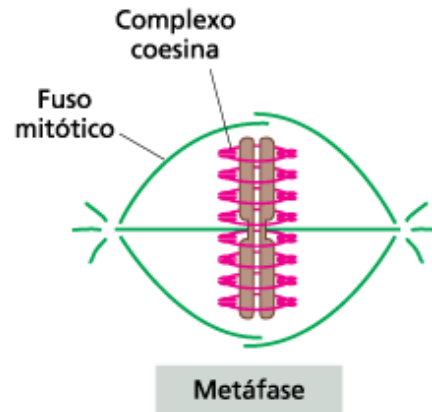
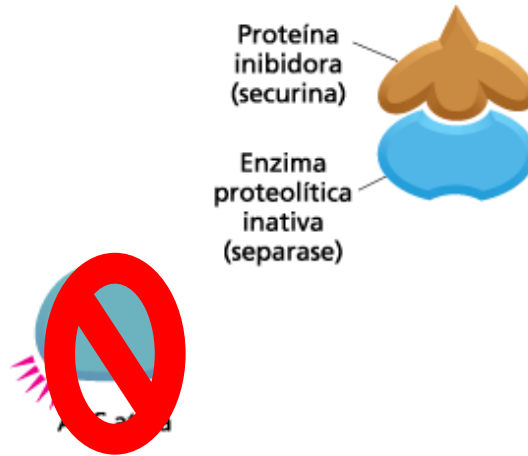
Todos os cromossomos estão ligados corretamente ao fuso?



PARADA OU APOPTOSE

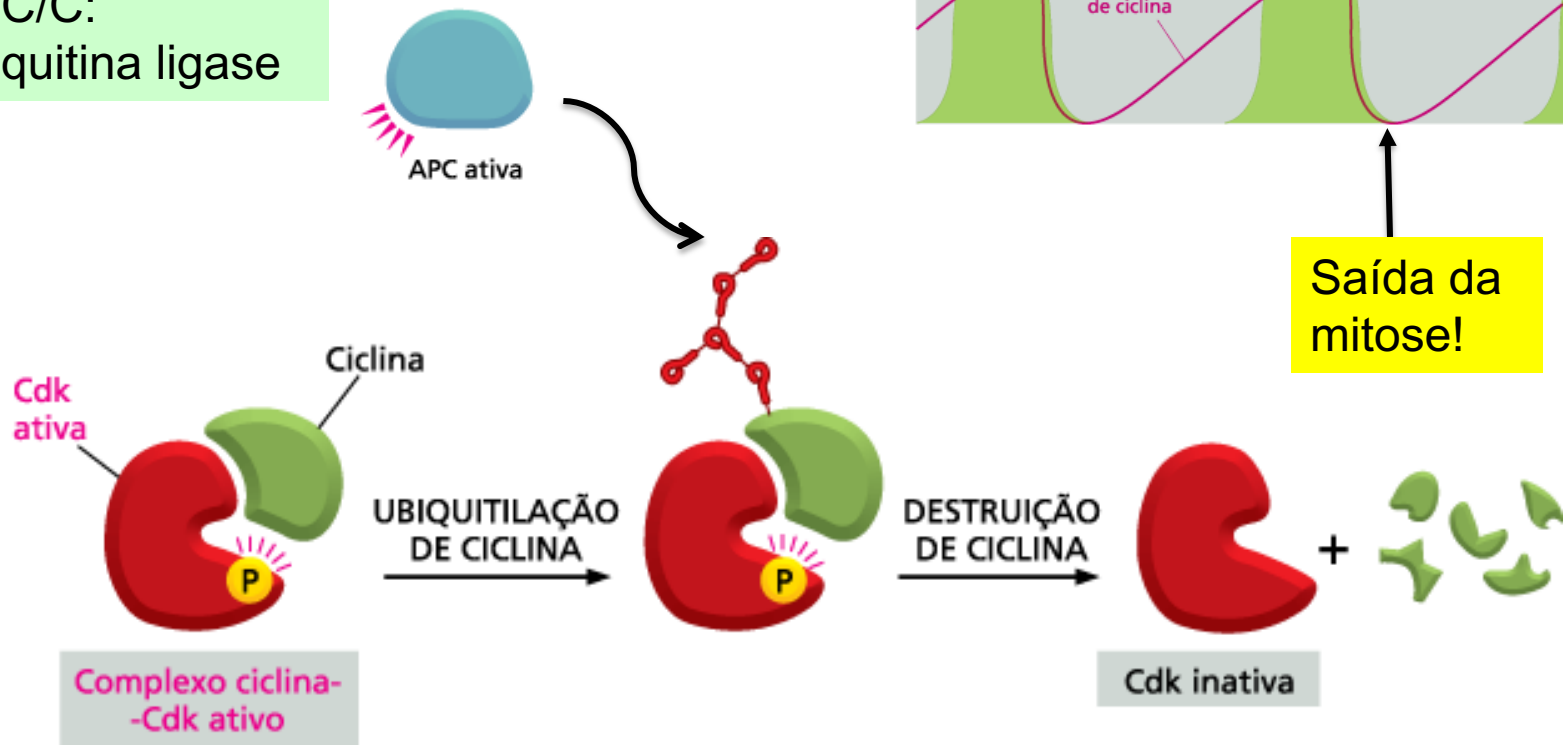
APC: complexo promotor da anáfase

APC/C:
ubiquitina ligase



APC: destruição de M-CDK

APC/C:
ubiquitina ligase



Ciclo Celular e Câncer

(reguladores G1/S)

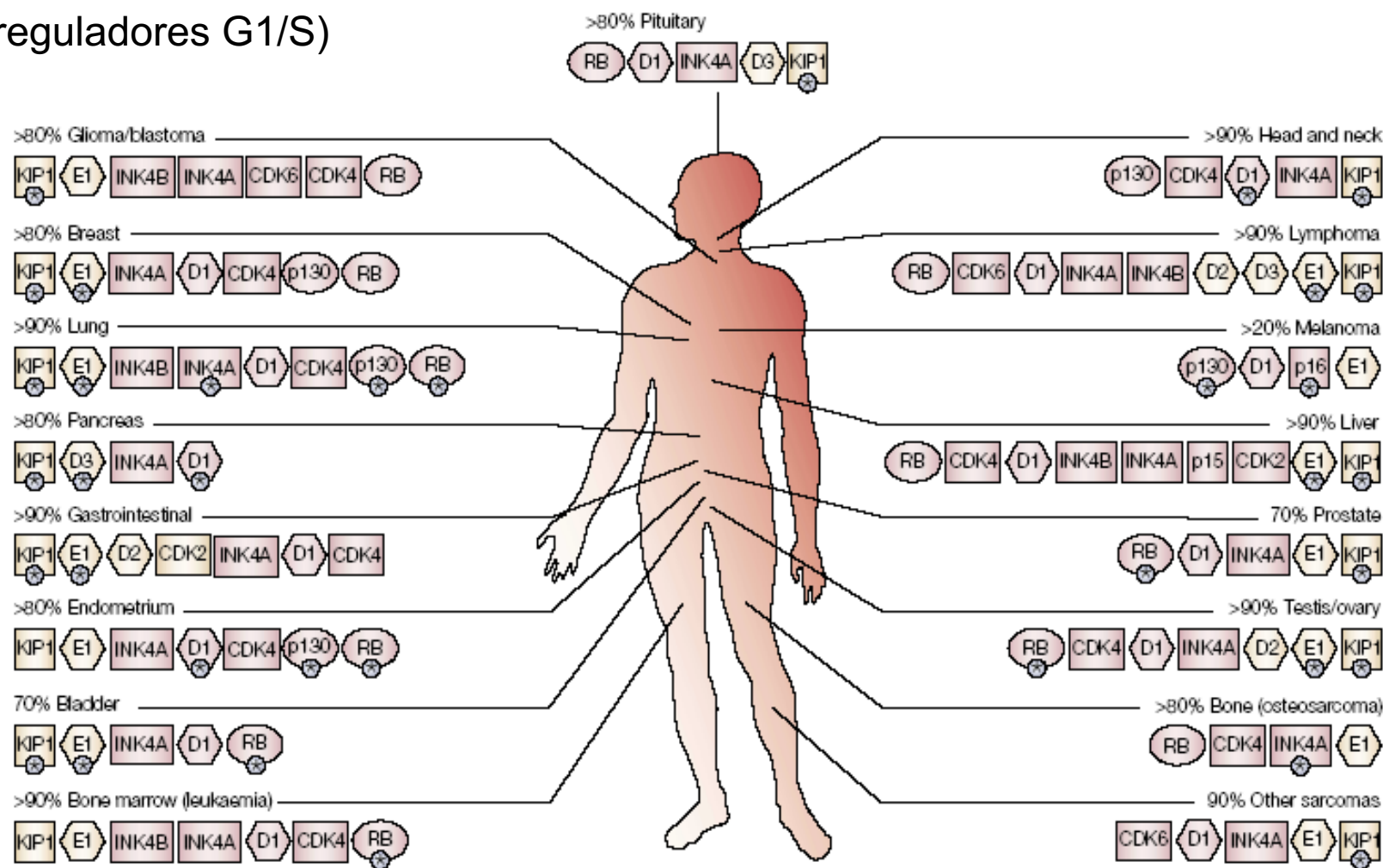


Figure 2 | **Mutation of G1/S regulators in human cancer.** Only alterations that occur in more than 10% of primary tumours have been considered. Numbers represent the percentage of tumours with alterations in any of the listed cell-cycle regulators. The loci in which specific genetic or epigenetic alteration have been defined are in pink. The alterations for which no mechanistic explanation has been provided are in yellow. Alterations relevant for tumour prognosis are indicated by asterisks.

Nesta aula:

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

Métodos de estudo do ciclo celular

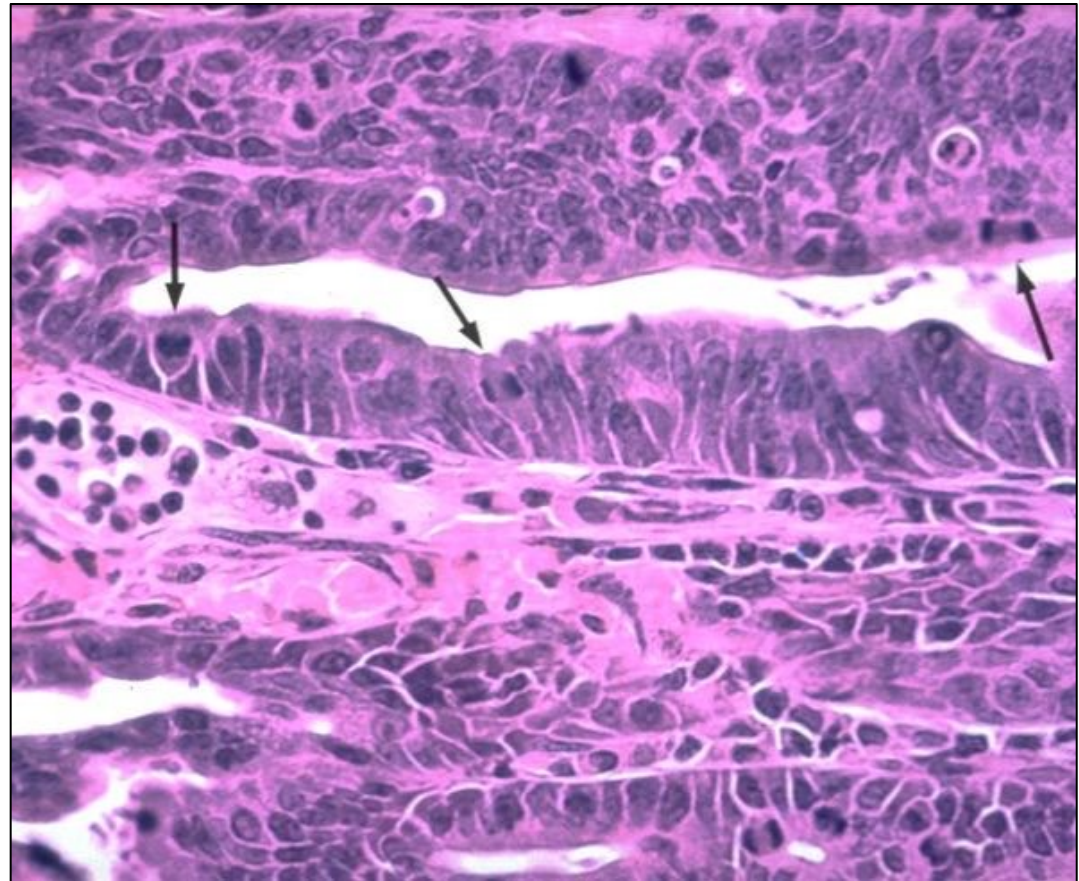
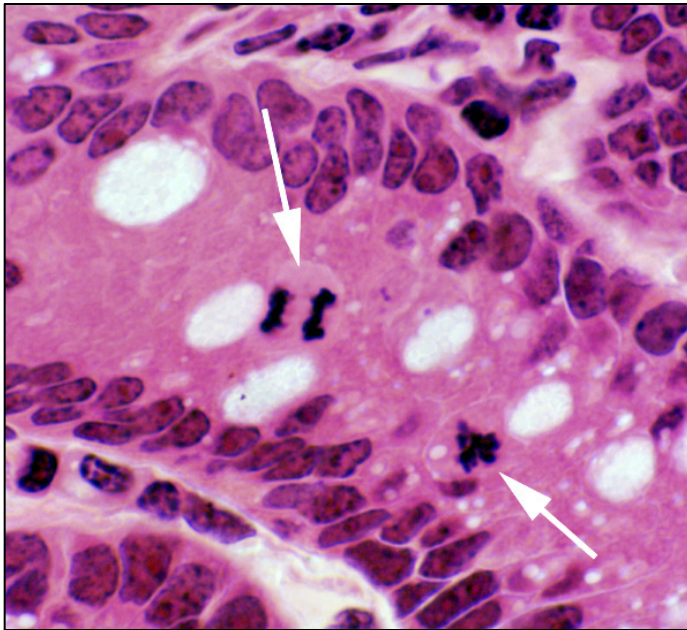
Como determinar a fase do ciclo celular em que uma célula está?

Como estudar uma população de células?



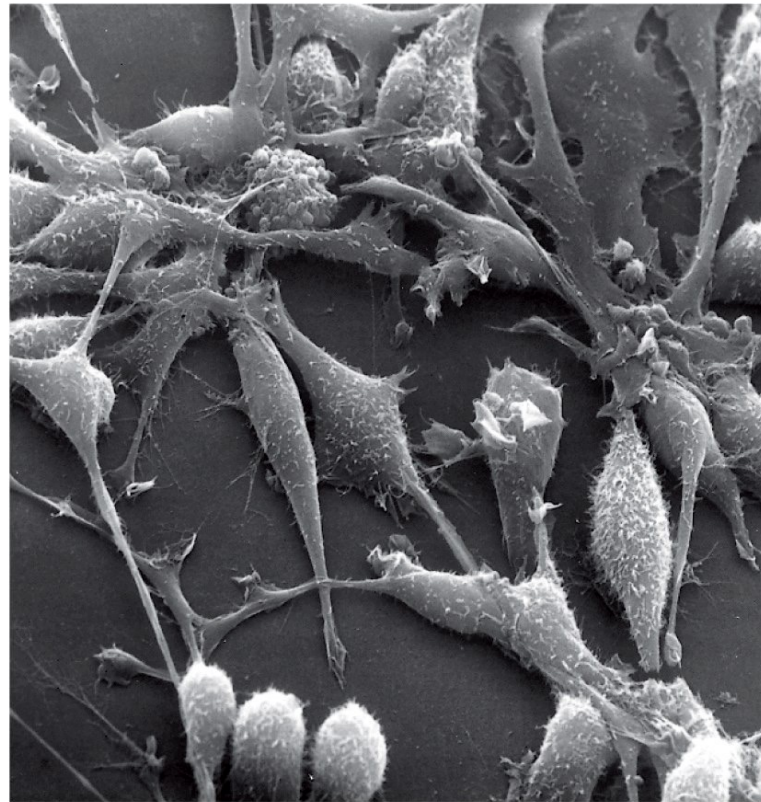
Métodos de estudo do ciclo celular

Microscopia – observação e contagem de células



Métodos de estudo do ciclo celular

Microscopia – observação e contagem de células



10 μm

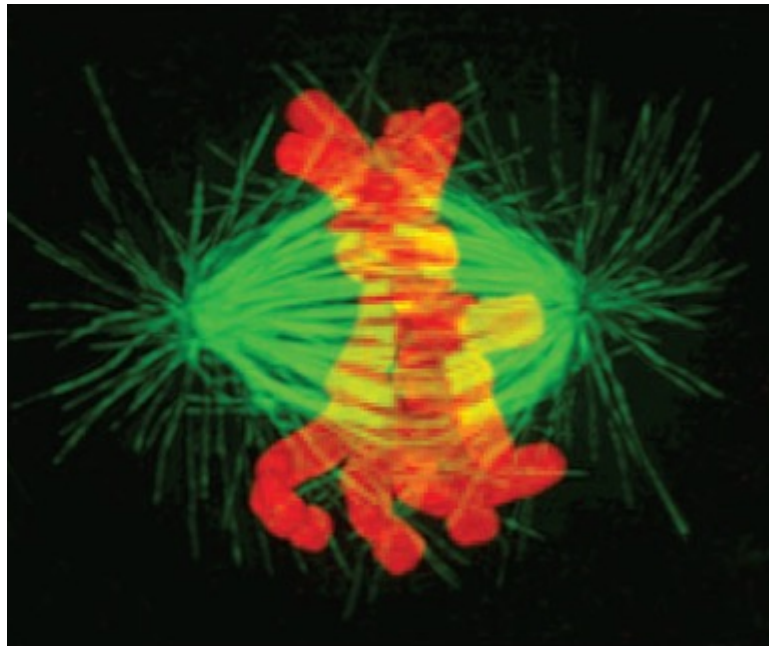
MEV

Alberts, 2010

Métodos de estudo do ciclo celular

Microscopia – observação e contagem de células

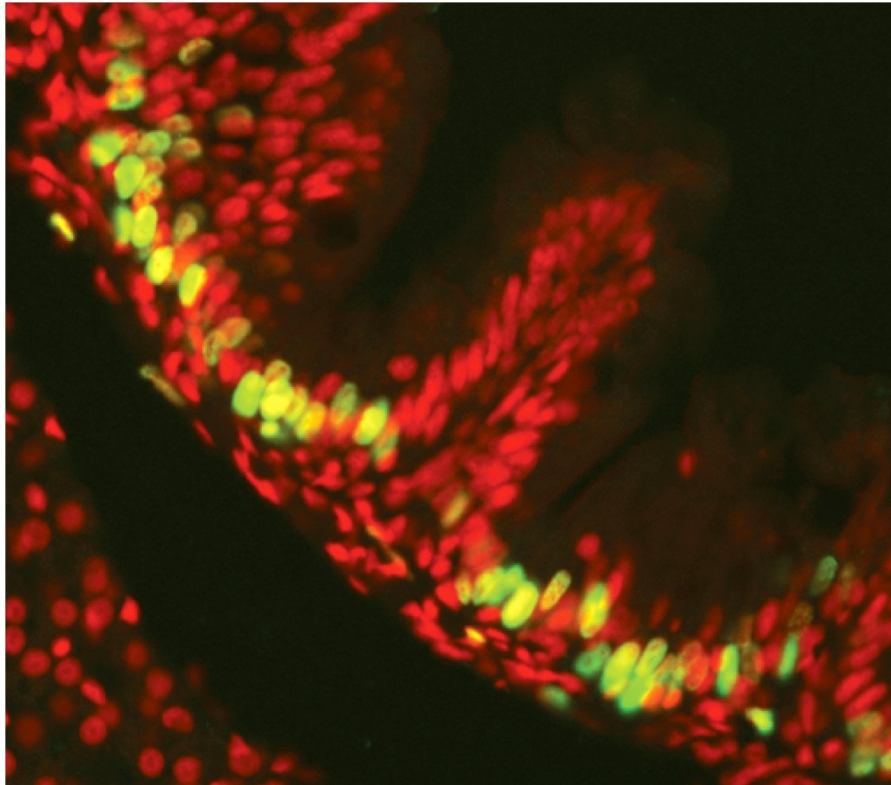
- ✧ Uso de anticorpos que reconhecem citoesqueleto
- ✧ Uso de agentes que marcam DNA (para visualizar mitose)



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)

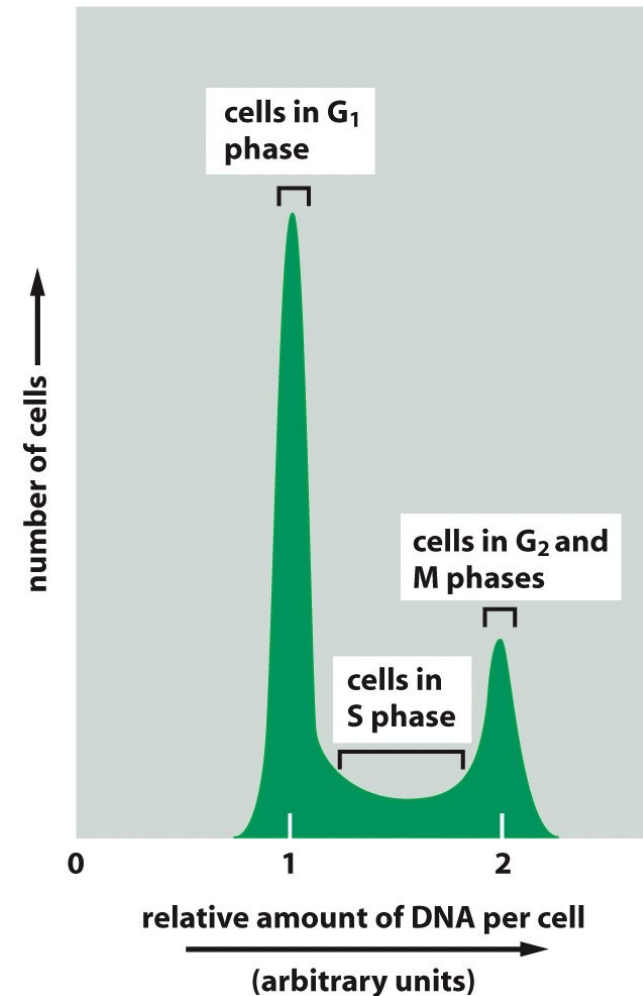


Anti-BrdU: verde
Células: vermelho

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

