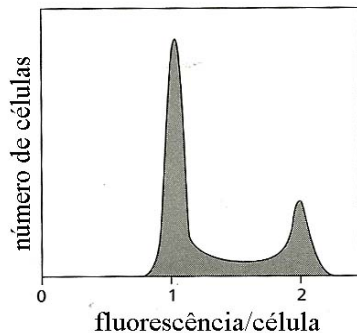


## Lista de exercícios – Aula Ciclo Celular

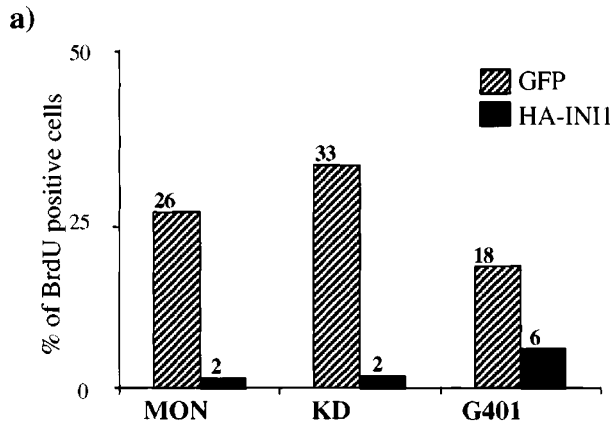
- 1) Cite uma proteína envolvida no controle do ciclo e descreva como pode ser ativada/inativada.
- 2) O que são Cki's? Qual é o seu papel no ciclo celular? Cite uma proteína deste grupo.
- 3) O corante fluorescente Hoechst 33342 atravessa a membrana plasmática e se liga ao DNA. Quando uma população de células é incubada brevemente com Hoechst e analisada por citometria de fluxo (que mede a fluorescência de cada célula), vários níveis de fluorescência são observados, como mostra a figura abaixo.
  - 3.1. Mostre na figura quais células estão em G1, S, G2 e M.
  - 3.2. As células foram separadas em três tubos, A, B e C. Em cada um dos tubos foi adicionada uma droga que bloqueia o ciclo celular nas fases G1, S e M, respectivamente. Após a incubação, as células foram incubadas com Hoechst e analisadas por citometria de fluxo, como descrito acima. Desenhe os gráfico esperados em cada uma dessas situações. Explique o seu raciocínio brevemente.



4) A proteína hSNF5/INI1 foi caracterizada como um supressor tumoral, cuja expressão é muito reduzida em alguns cânceres agressivos, como o tumor teratóide rabdóide maligno (MRT). A super-expressão de hSNF5/INI1 foi induzida em algumas linhagens tumorais e o progresso do ciclo celular foi avaliado com incorporação de BrdU. O BrdU (bromo-deoxi-uridina) é um nucleosídeo sintético análogo da timidina. Este composto pode ser incorporado ao DNA durante sua síntese, na fase S do ciclo celular, e por isso funciona como um marcador de detecção de proliferação celular.

(baseado em Versteeg et al., Oncogene, 2002)

4.1) Explique os resultados observados no gráfico abaixo, após super-expressão de HA-INI1. A GFP foi utilizada como controle. Qual das três linhagens (descritas no eixo x) tem maior taxa de proliferação com a super-expressão de INI1? E a menor?



4.2) Algumas proteínas adenovirais podem ligar-se diretamente a pRB, como é o caso de E1A. E1A foi co-transfectada com HA-INI1 na linhagem MON, e o resultado abaixo foi observado. As versões mutantes E1A- $\Delta$ CR1 e E1A-RBmut não tem domínios de ligação com pRB. Na parte inferior da figura há um western blot mostrando a expressão das respectivas proteínas. Como você interpretaria estes resultados com relação ao controle do ciclo celular? E qual o papel de pRB nesse processo? Explique.

