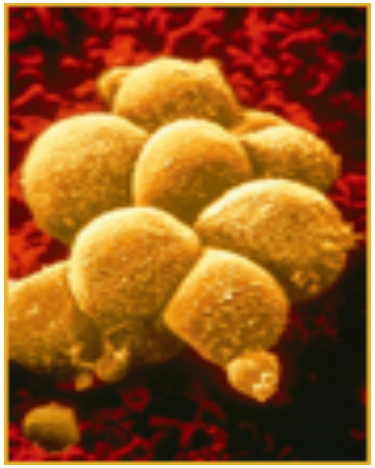
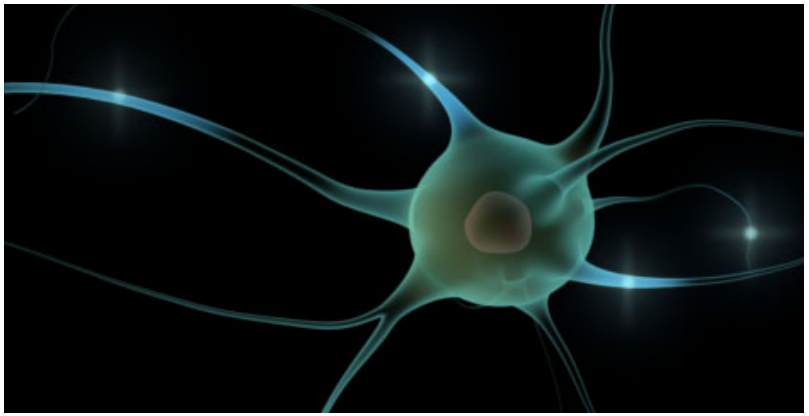
Ciclo celular





Parte 1

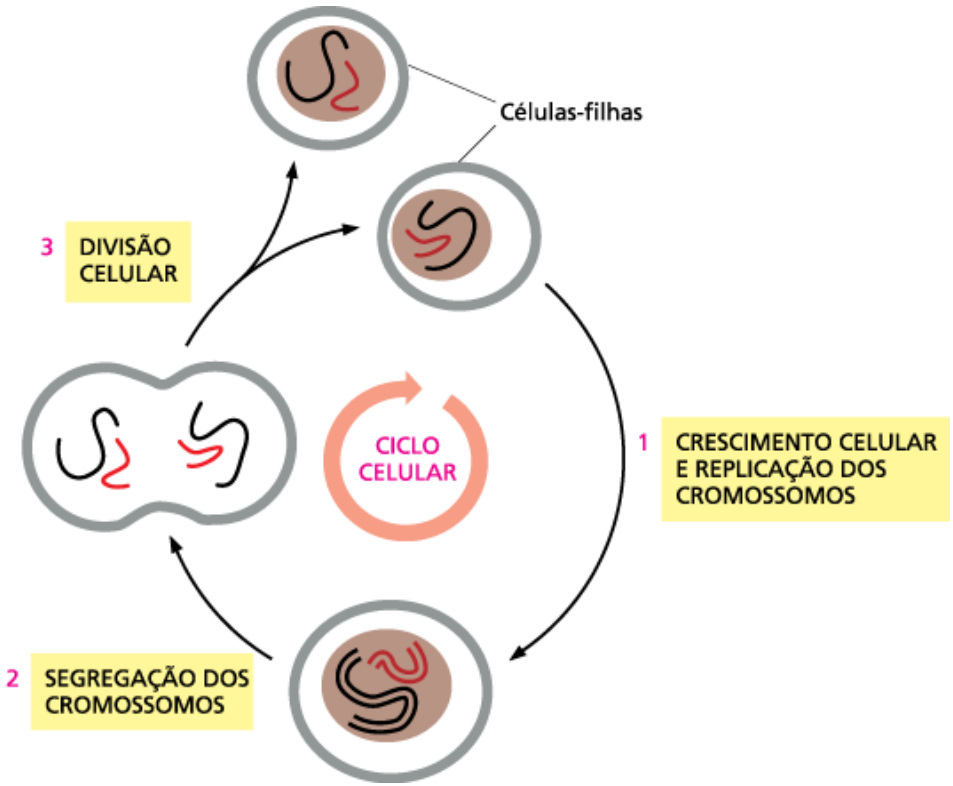
Patricia Coltri
coltri@usp.br

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



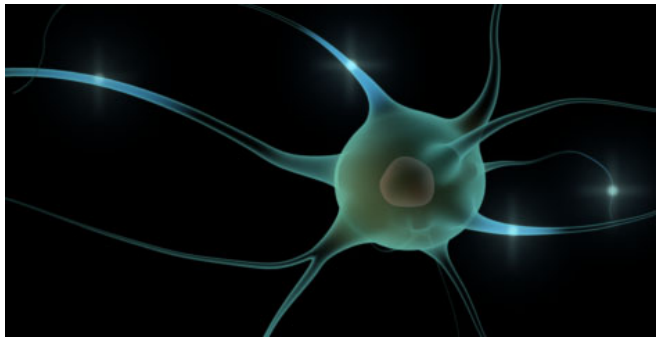


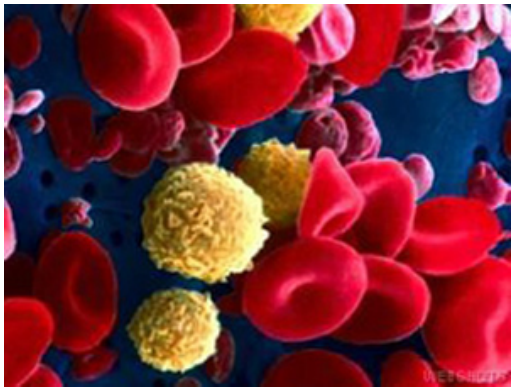
Eventos sequenciais coordenados: geração de células-filhas – geração de organismos

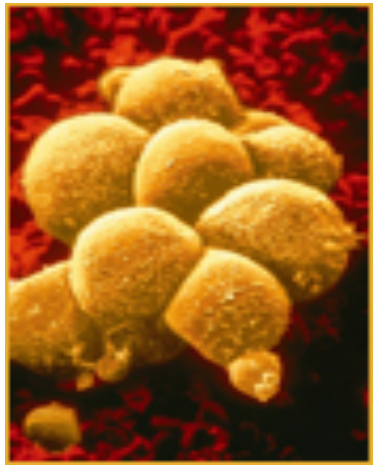
Ciclo celular

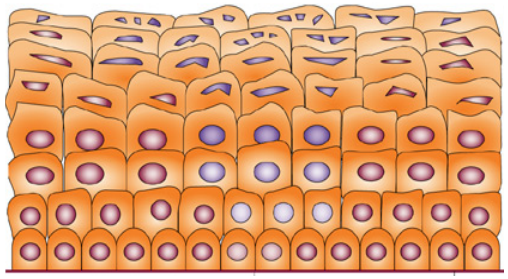
TIPO CELULAR	DURAÇÃO DO CICLO CELULAR
Células jovens de embrião de sapo	30 min
Célula de levedura	1,5 – 3 horas
Células epiteliais de intestino	~ 12 horas
Fibroblastos de mamíferos (cultura)	~ 20 horas
Células hepáticas humanas	~ 1 ano

Estímulos: sinais intracelulares e extracelulares

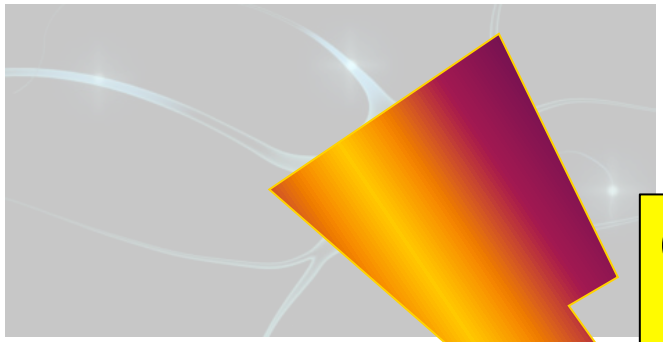


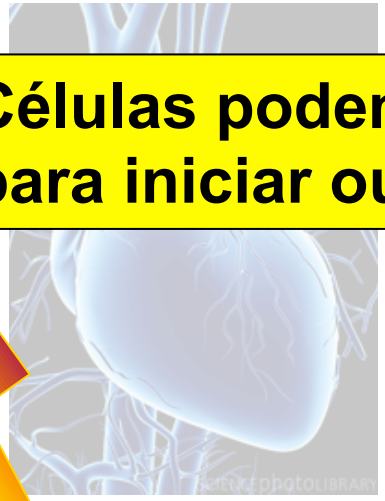


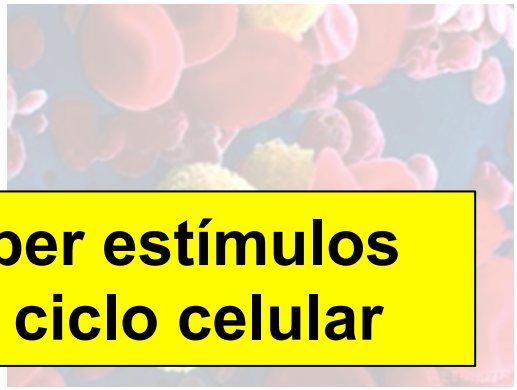




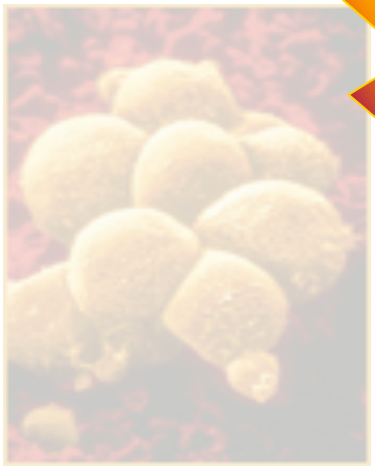
Capacidade proliferativa no mesmo organismo: variável

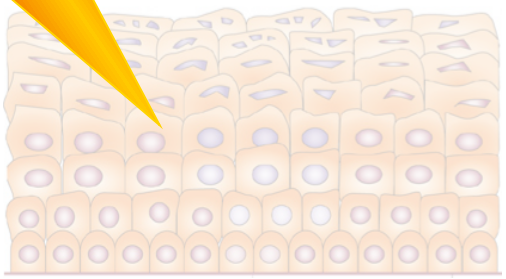






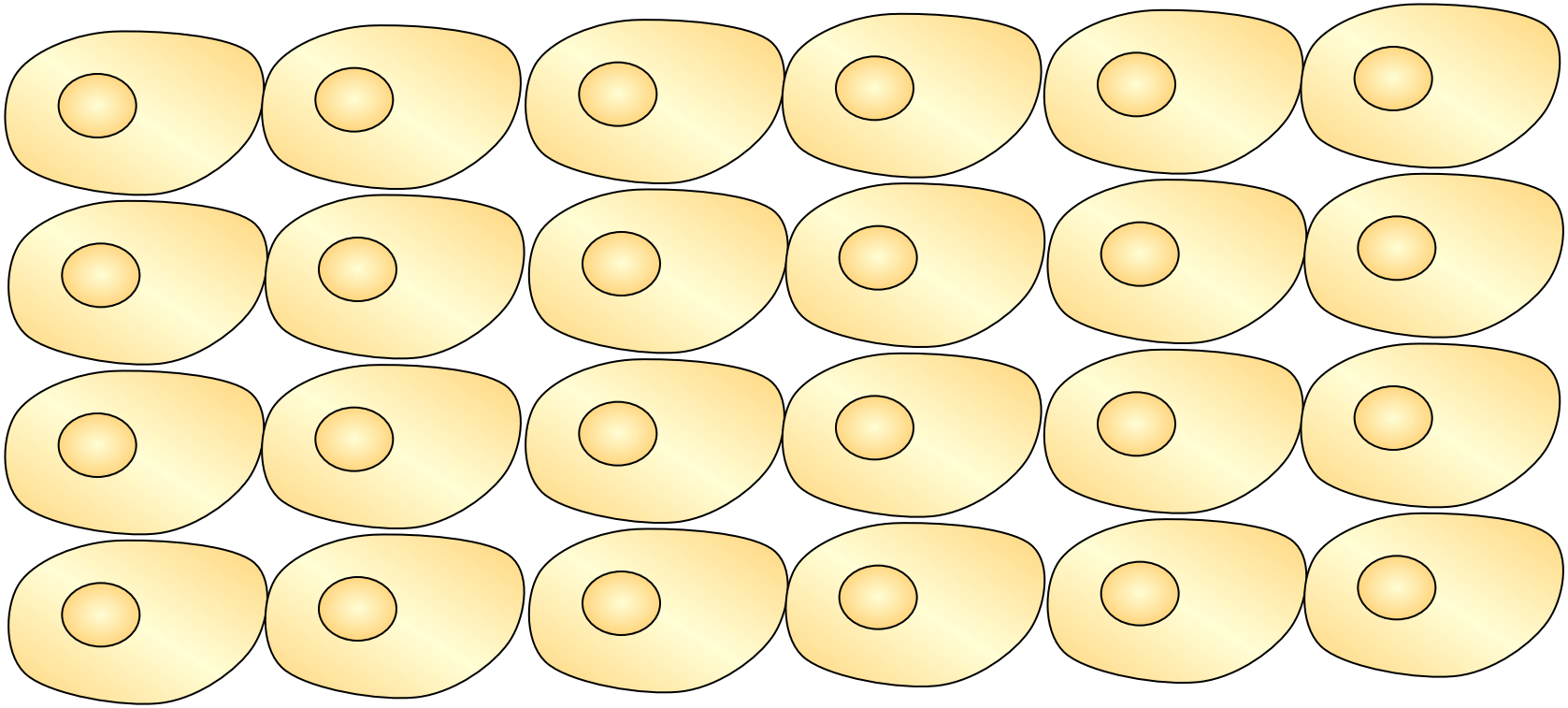
Células podem receber estímulos para iniciar ou parar ciclo celular

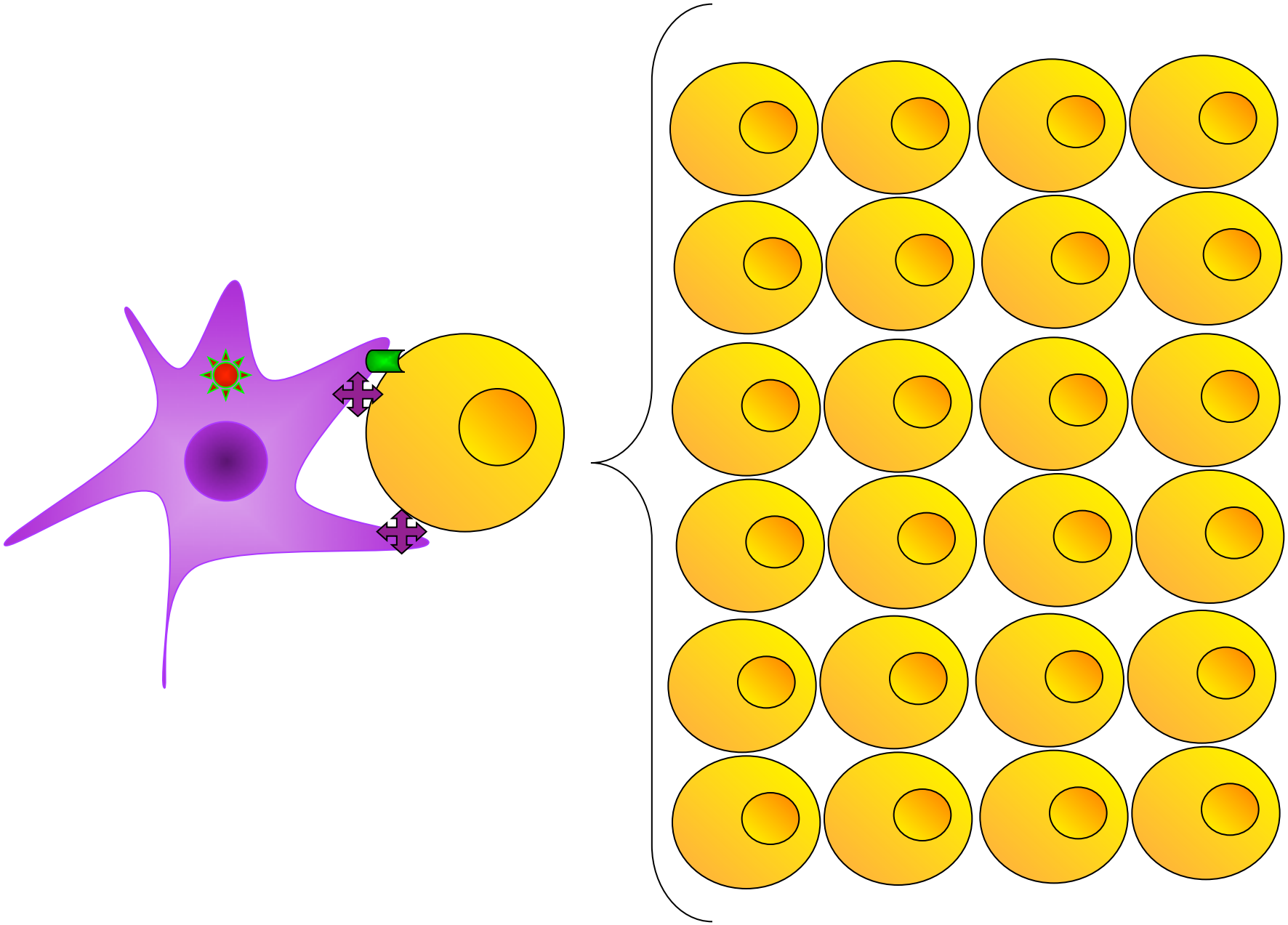


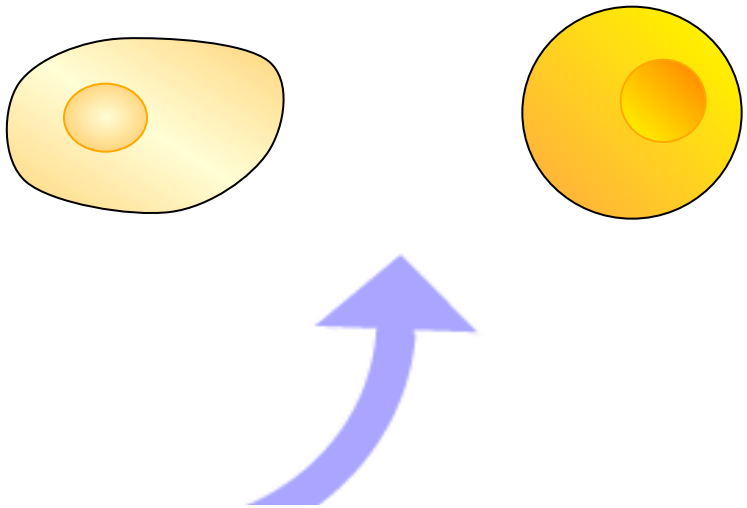


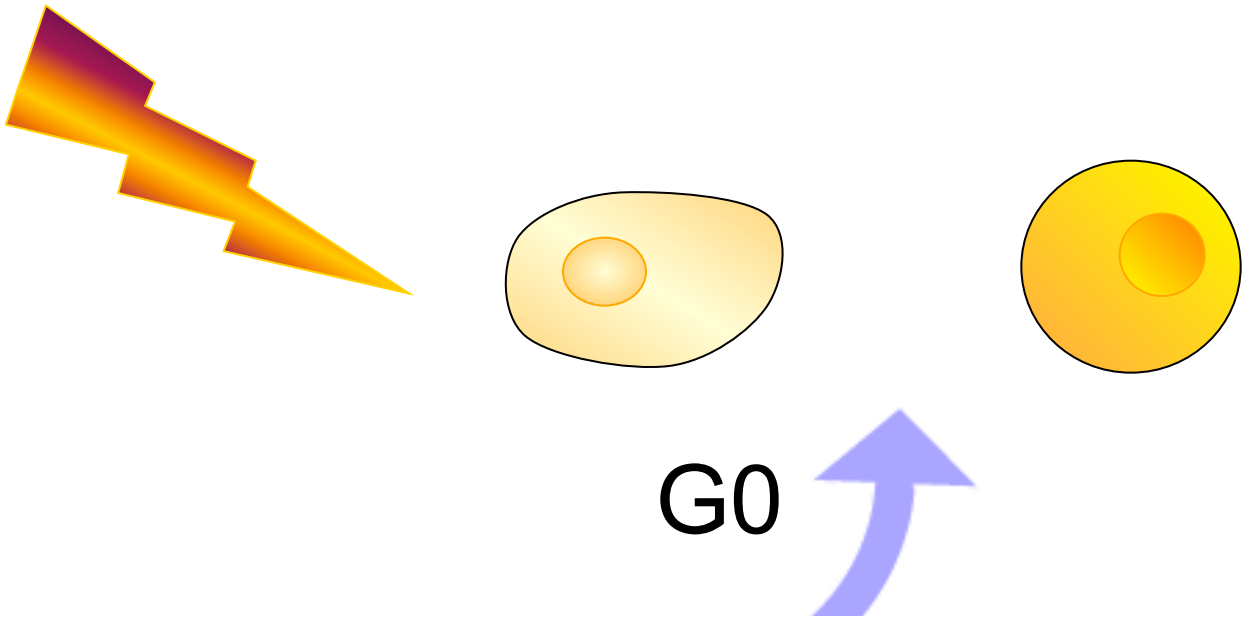
Capacidade proliferativa no mesmo organismo: variável

Regeneração de ferimentos









G0

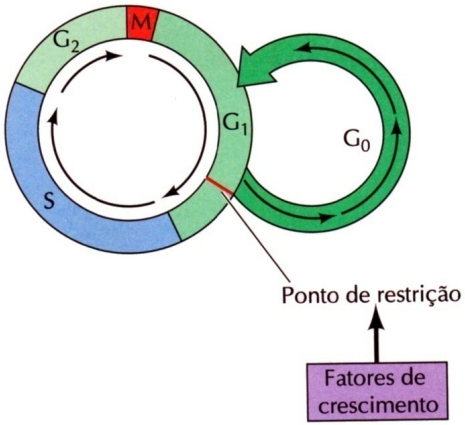
G1

M

S

G2

Saída para G_0 ?



Por exemplo neurônios

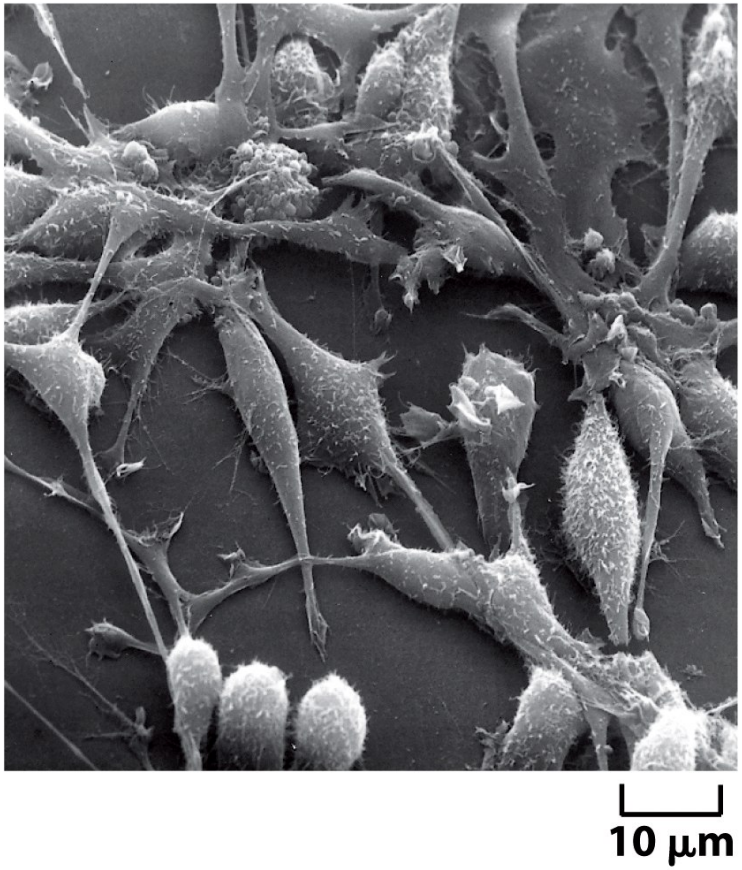
Células podem receber estímulos para iniciar ou parar ciclo celular

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



Exemplo: Fibroblastos em cultura

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

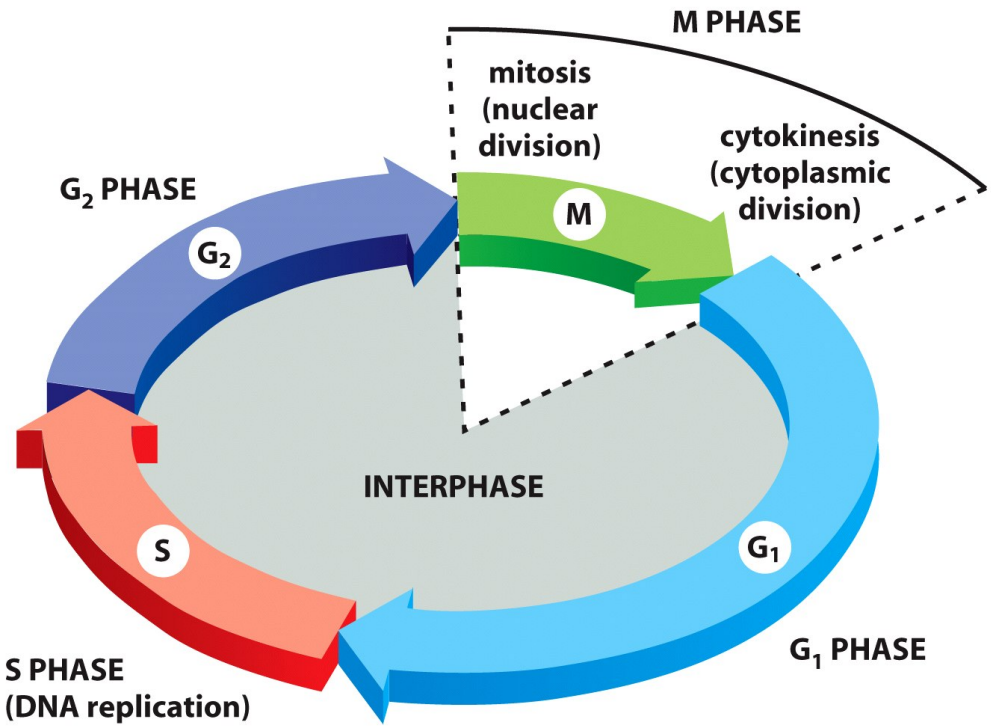
Ciclo celular

Intérfase:

-crescimento da célula e replicação do DNA

Mitose:

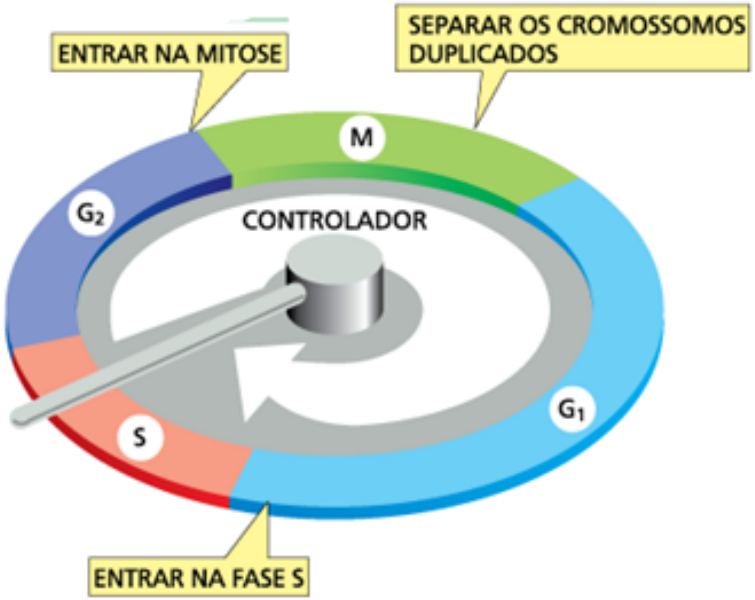
-divisão nuclear (mitose)
-divisão do citoplasma (citocinese)

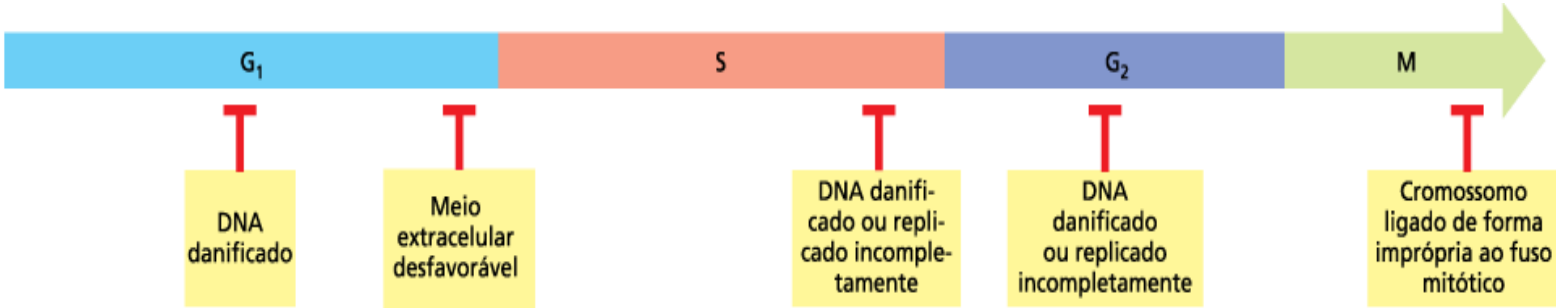


Pontos de verificação

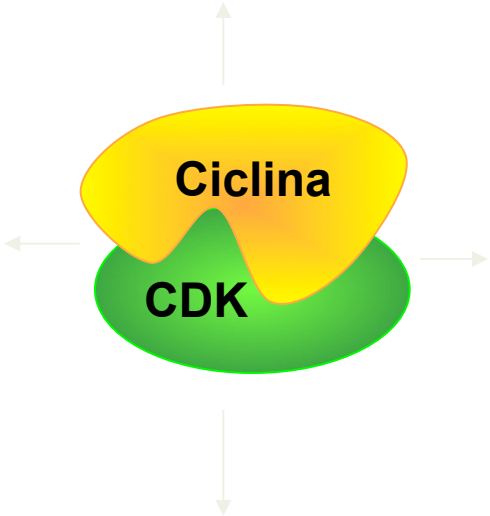
<u>pontos de verificação</u>
são pontos de controle do ciclo celular

Condições externas e sinais intracelulares

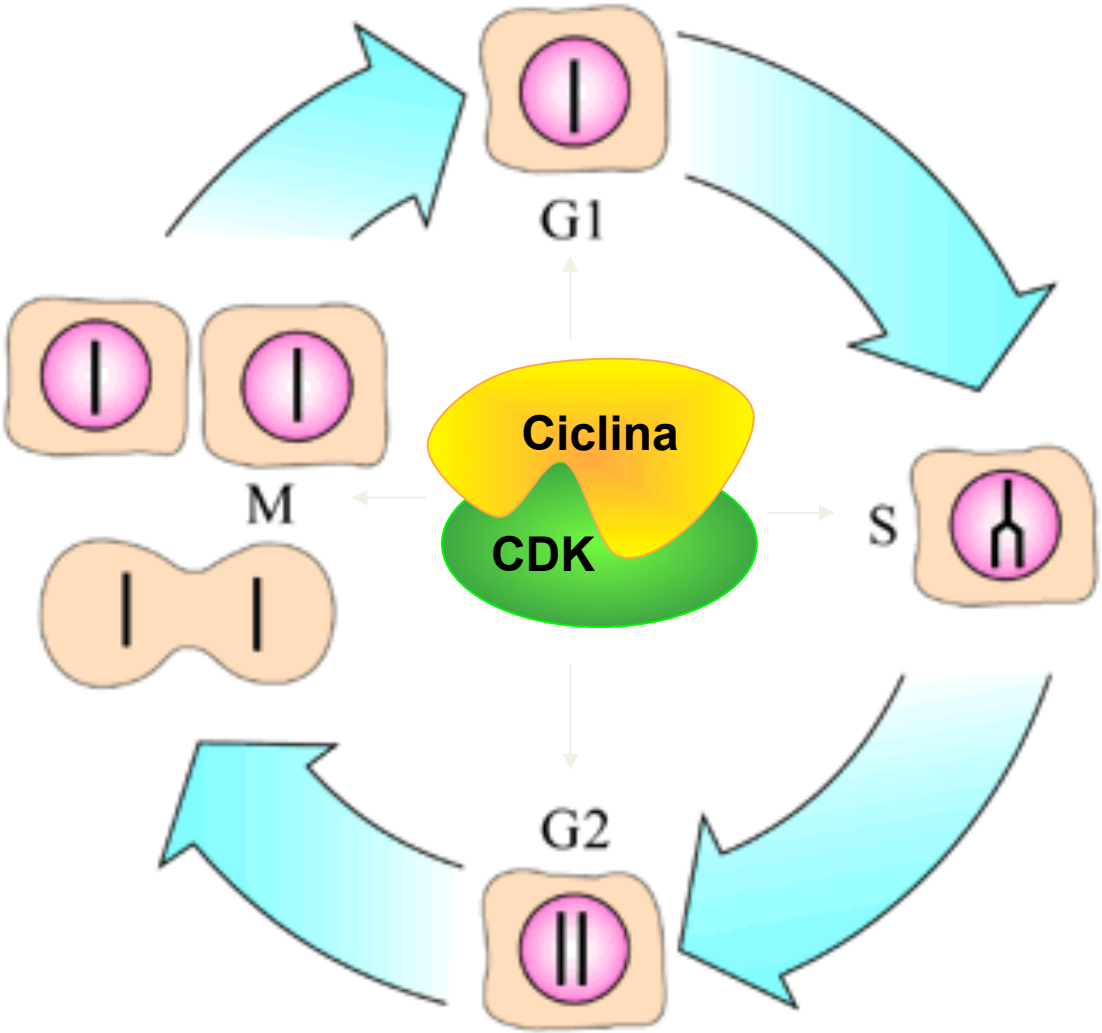




Controle do ciclo celular

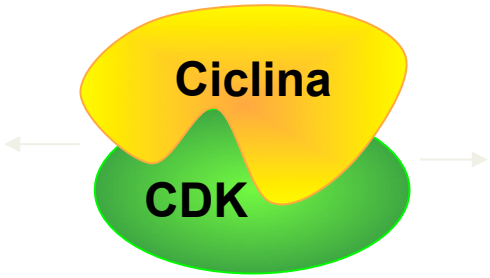


Controle do ciclo celular



Controle do ciclo celular: ciclina-CDK

Acúmulo e degradação de ciclinas modulam a atividade das CDKs

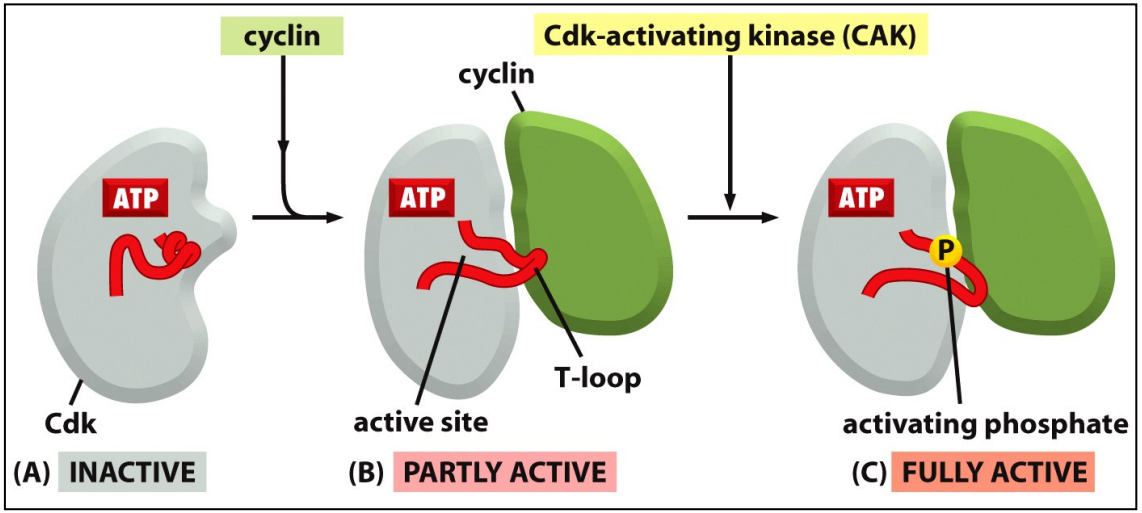


Controle do ciclo celular: ciclina-CDK

CDKs: proteínas conservadas; 30-40kDa

Ativação:

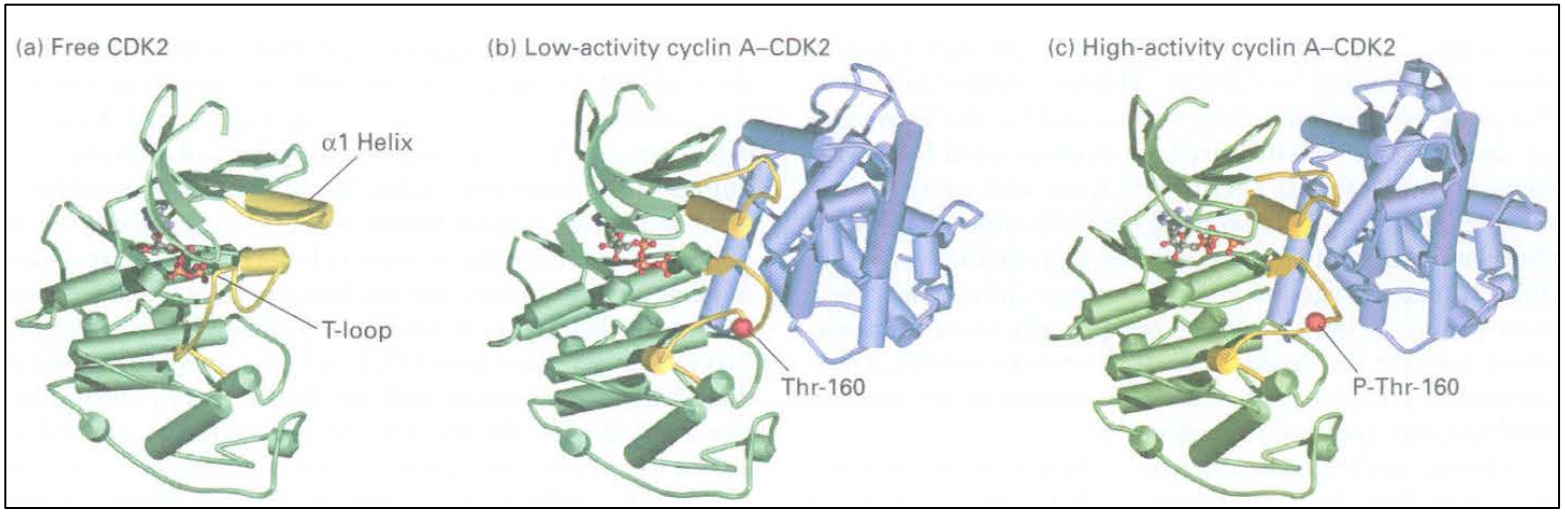
1) ligação a ciclina (altera conformação)
2) fosforilação sítio ativo



Controle do ciclo celular: ciclina-CDK

CDKs: proteínas conservadas; 30-40kDa

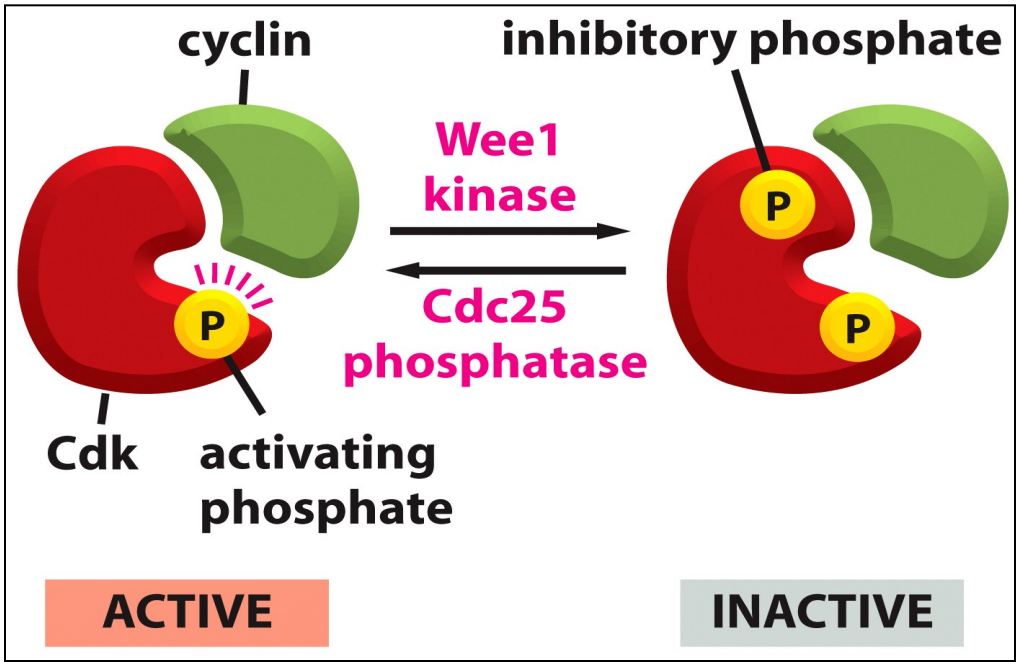
Ativação: 1) ligação a ciclina (altera conformação) e 2) fosforilação sítio ativo



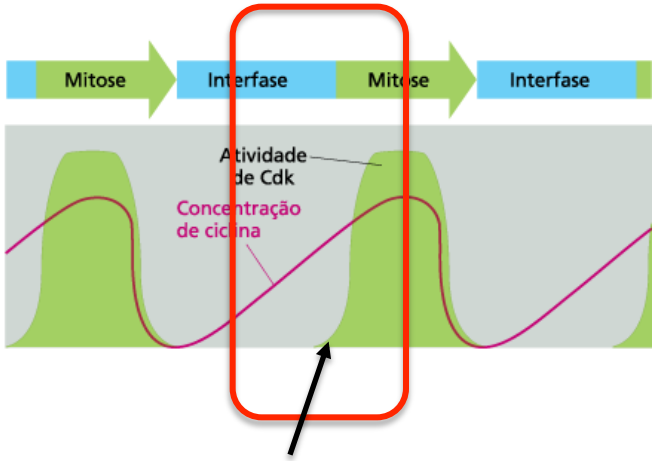
Controle do ciclo celular: ciclina-CDK

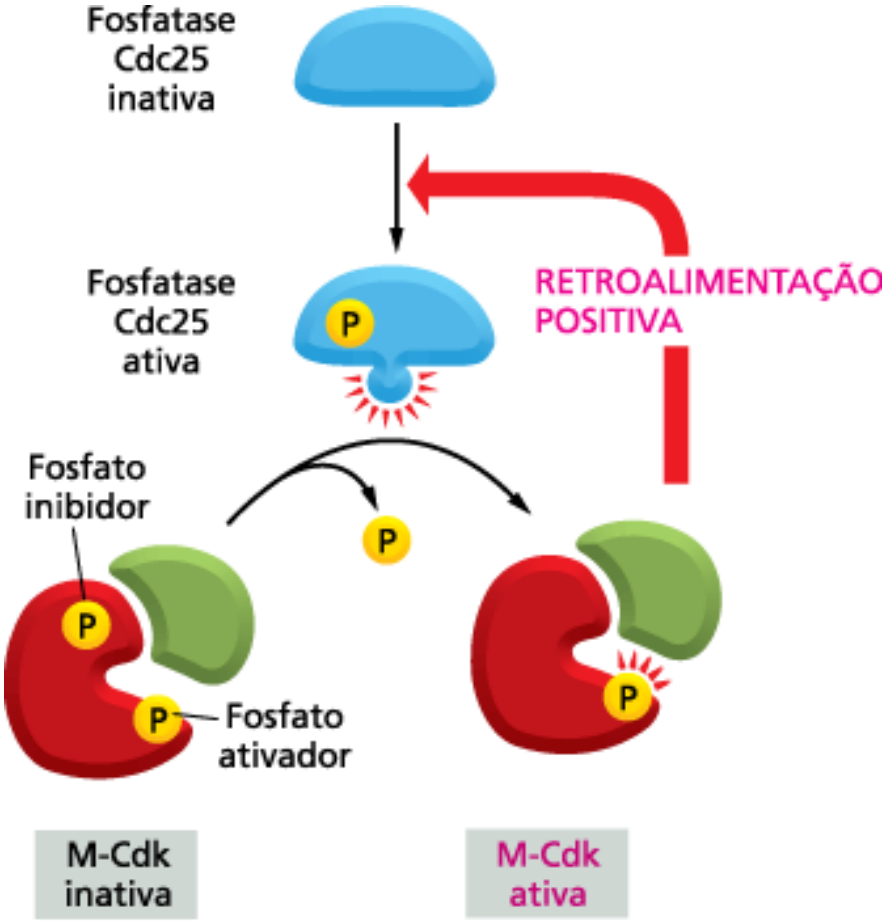
CDKs: proteínas conservadas; 30-40kDa

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



Controle do ciclo celular: ciclina-CDK

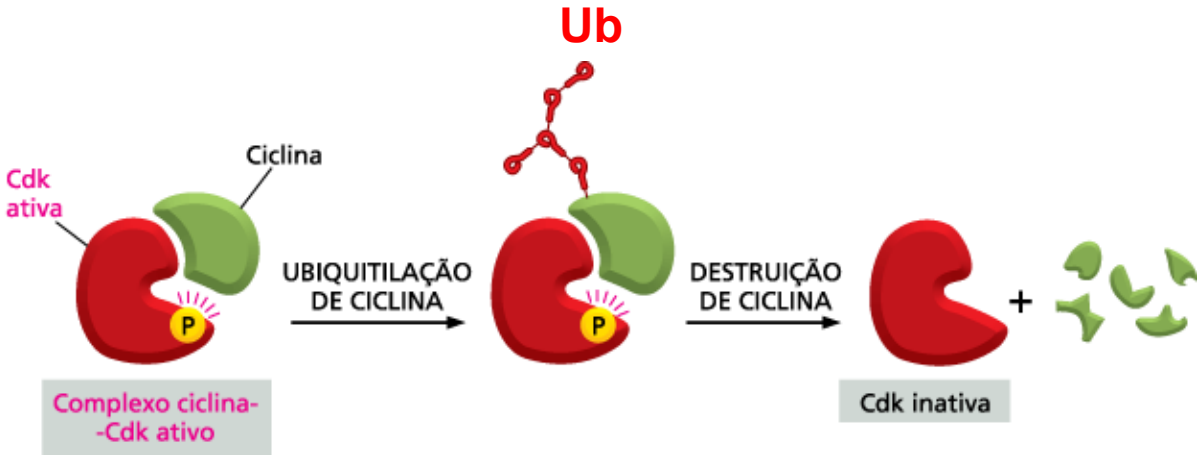


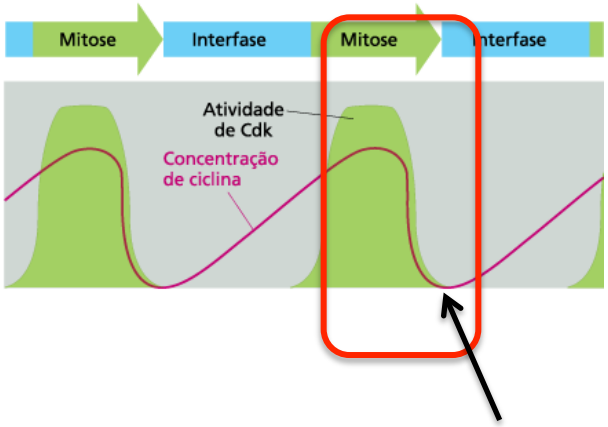


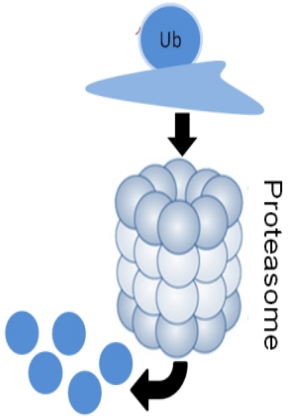

ATP
KINASE
PROTEIN MINDING
ITS OWN BUSINESS
P
ADP
KINASE

Controle do ciclo celular: ciclina-CDK

Degradação: proteassoma

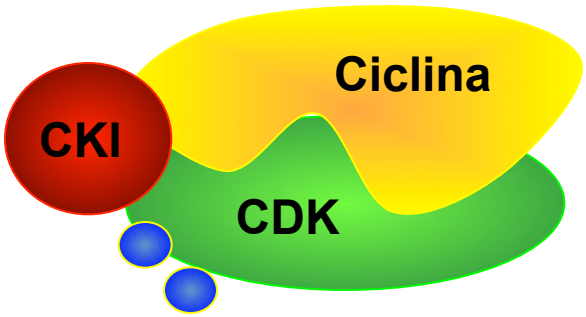


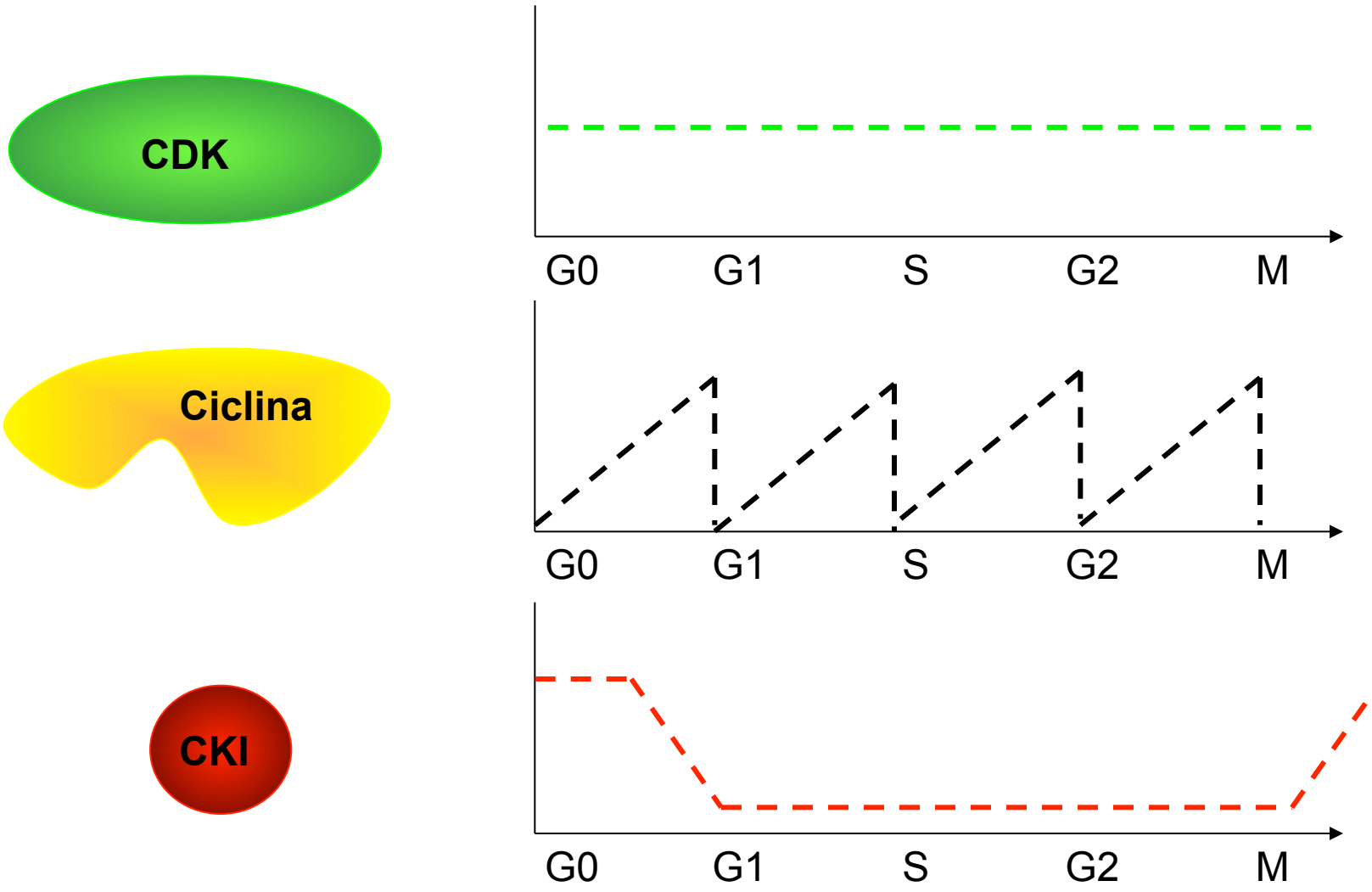




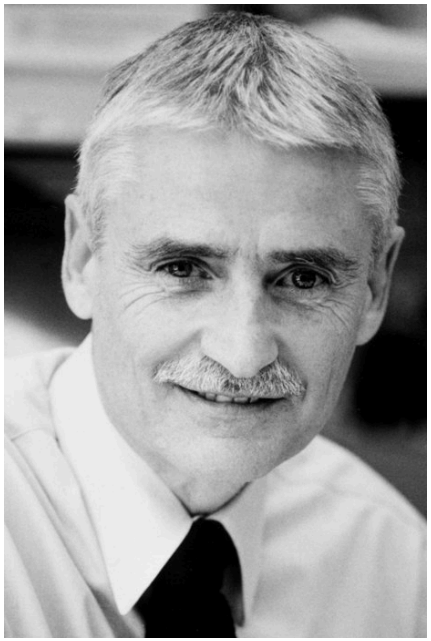
Controle do ciclo celular: ciclina-CDK

Interações com proteínas inibitórias: CKIs

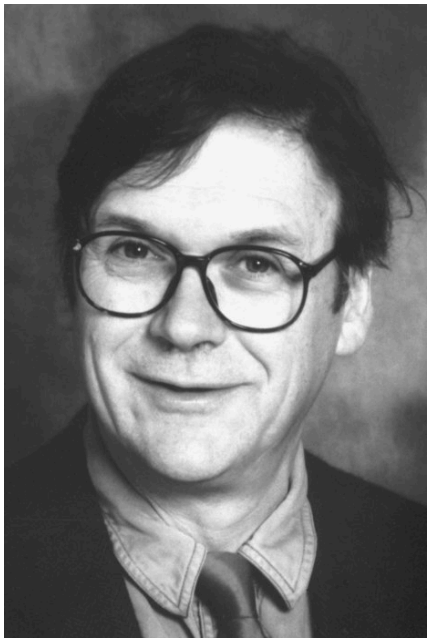



CDK
G0
G1
S
G2
M
Ciclina
G0
G1
S
G2
M
CKI
G0
G1
S
G2
M

Nobel Prize in Physiology and Medicine 2001



Leland Hartwell



Tim Hunt

Sir Paul Nurse

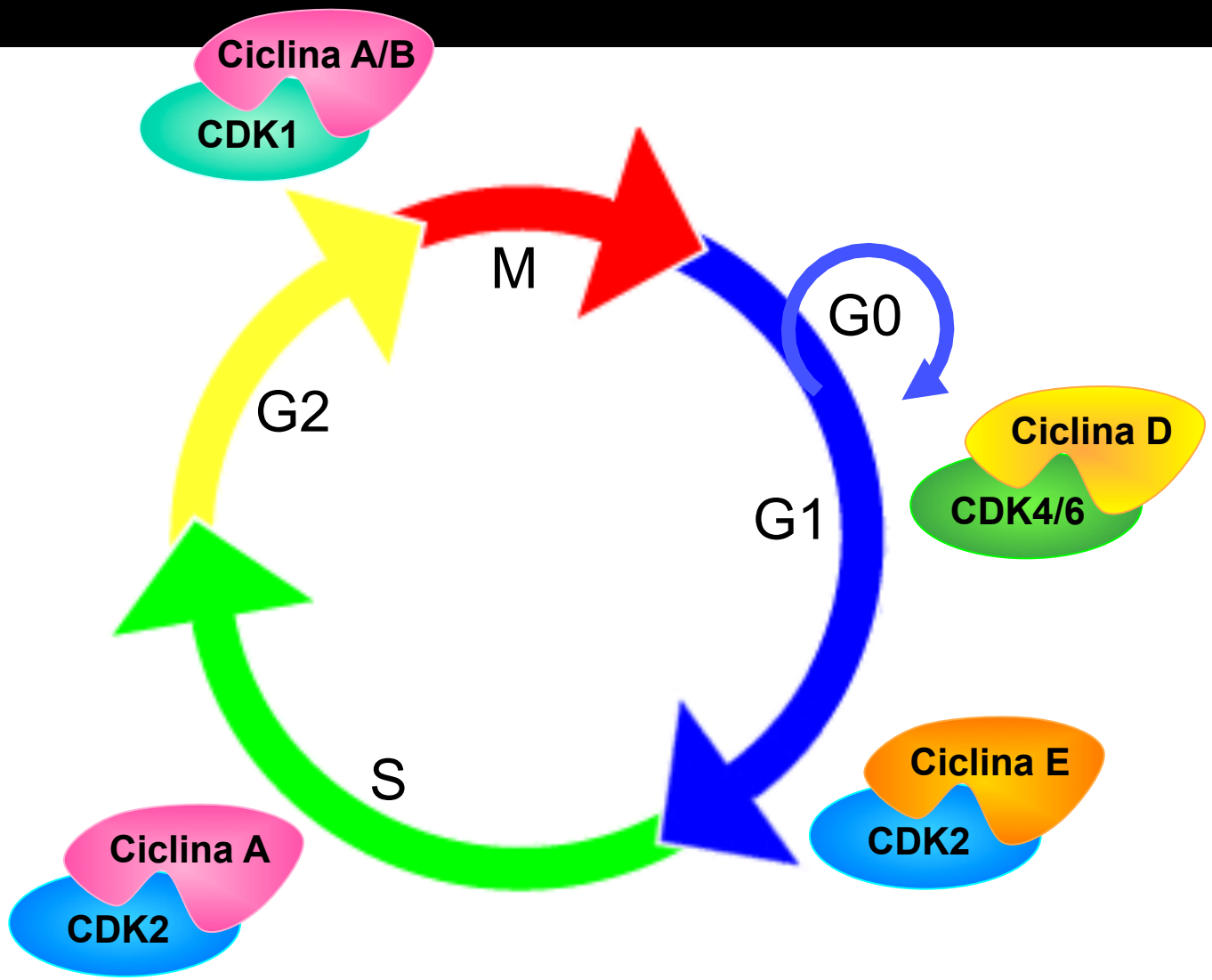
"discovery of key regulators of the cell cycle"

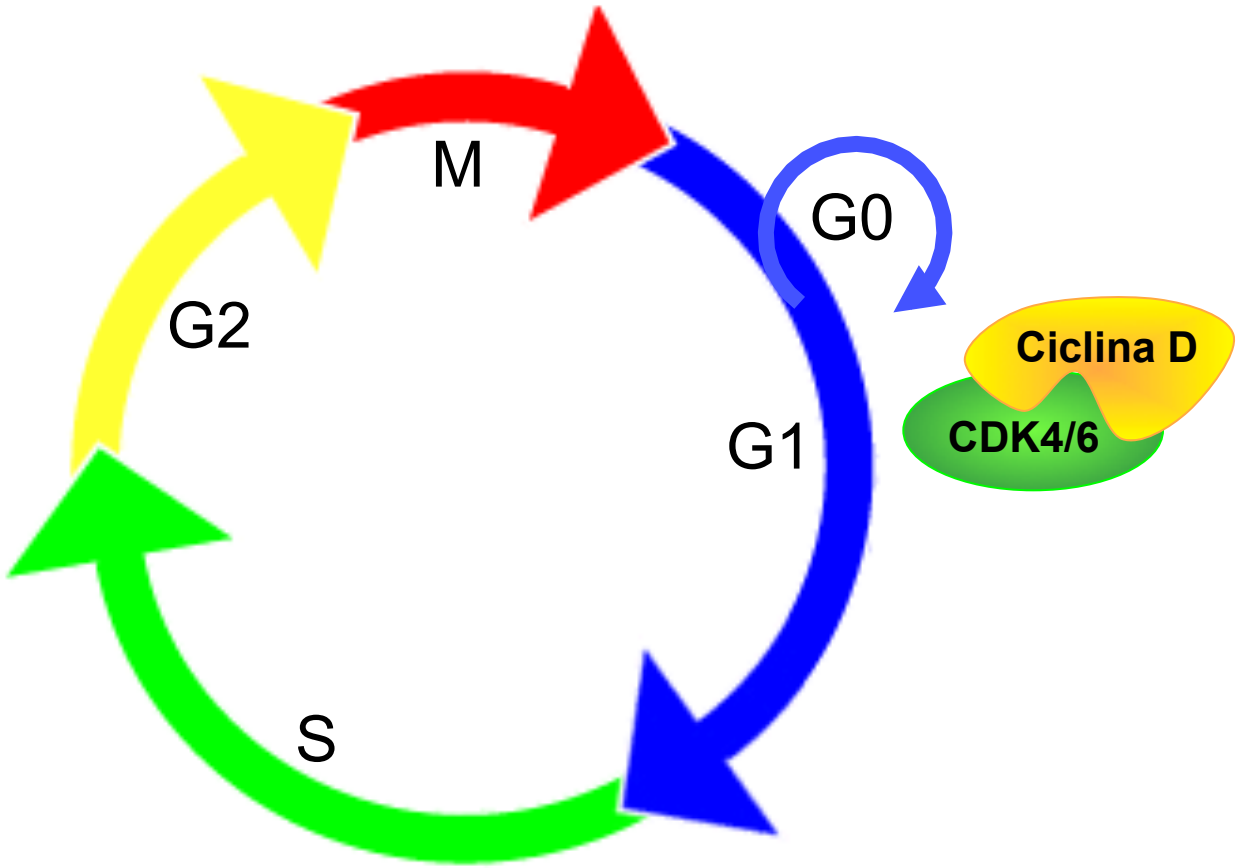
CDK, Ciclinas e CKI

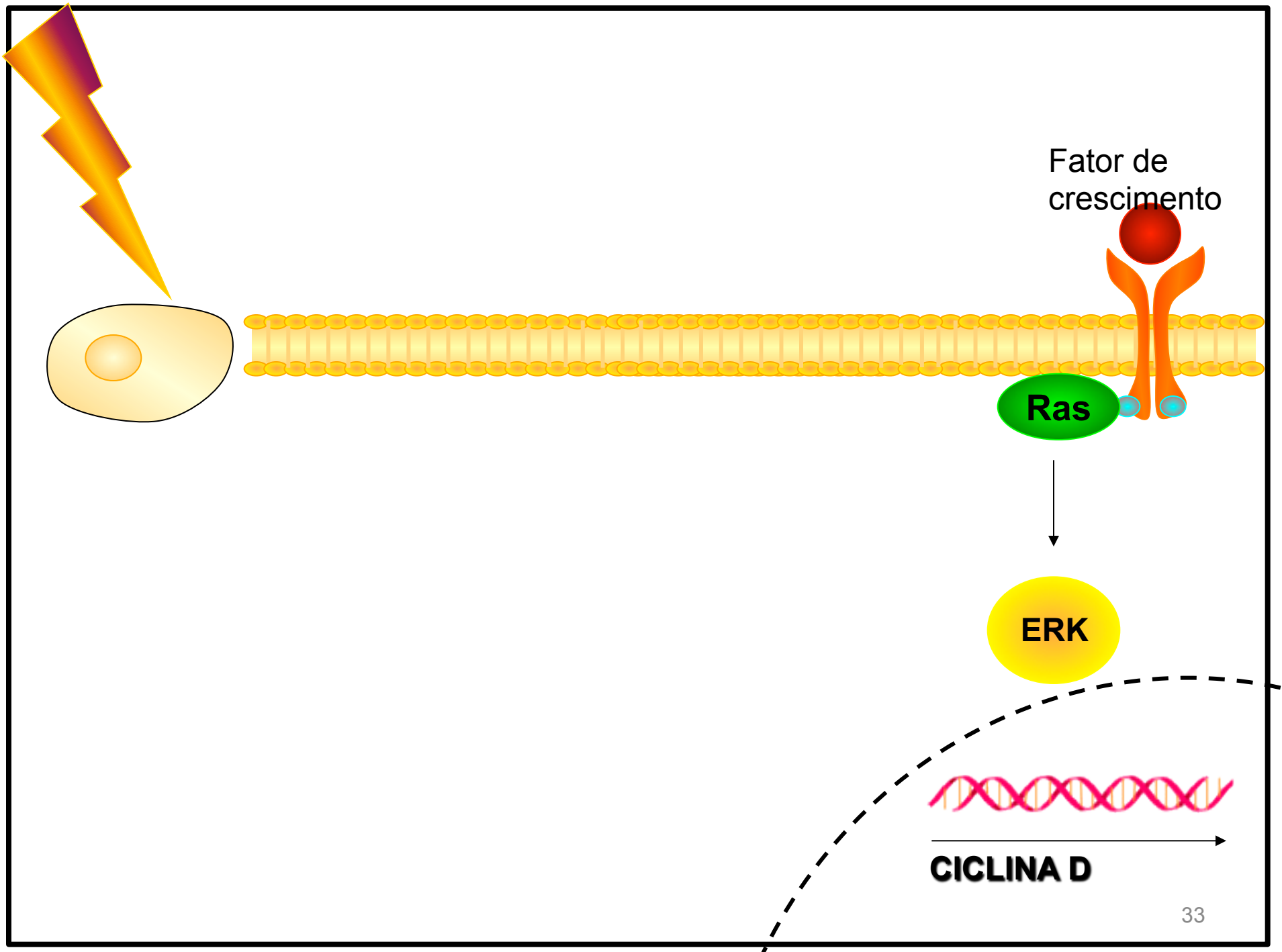
CDK1	Ciclinas A, B	p27, p21, p57	cip/kip
CDK2	Ciclinas A, E		
CDK3	Ciclina E		
CDK4	Ciclina D	p15, p16, p18, p19	INK4
CDK5	Ciclina D		
CDK6	Ciclina D		
CDK7	Ciclina H		
CDK8	Ciclina C		
CDK9	Ciclina T		

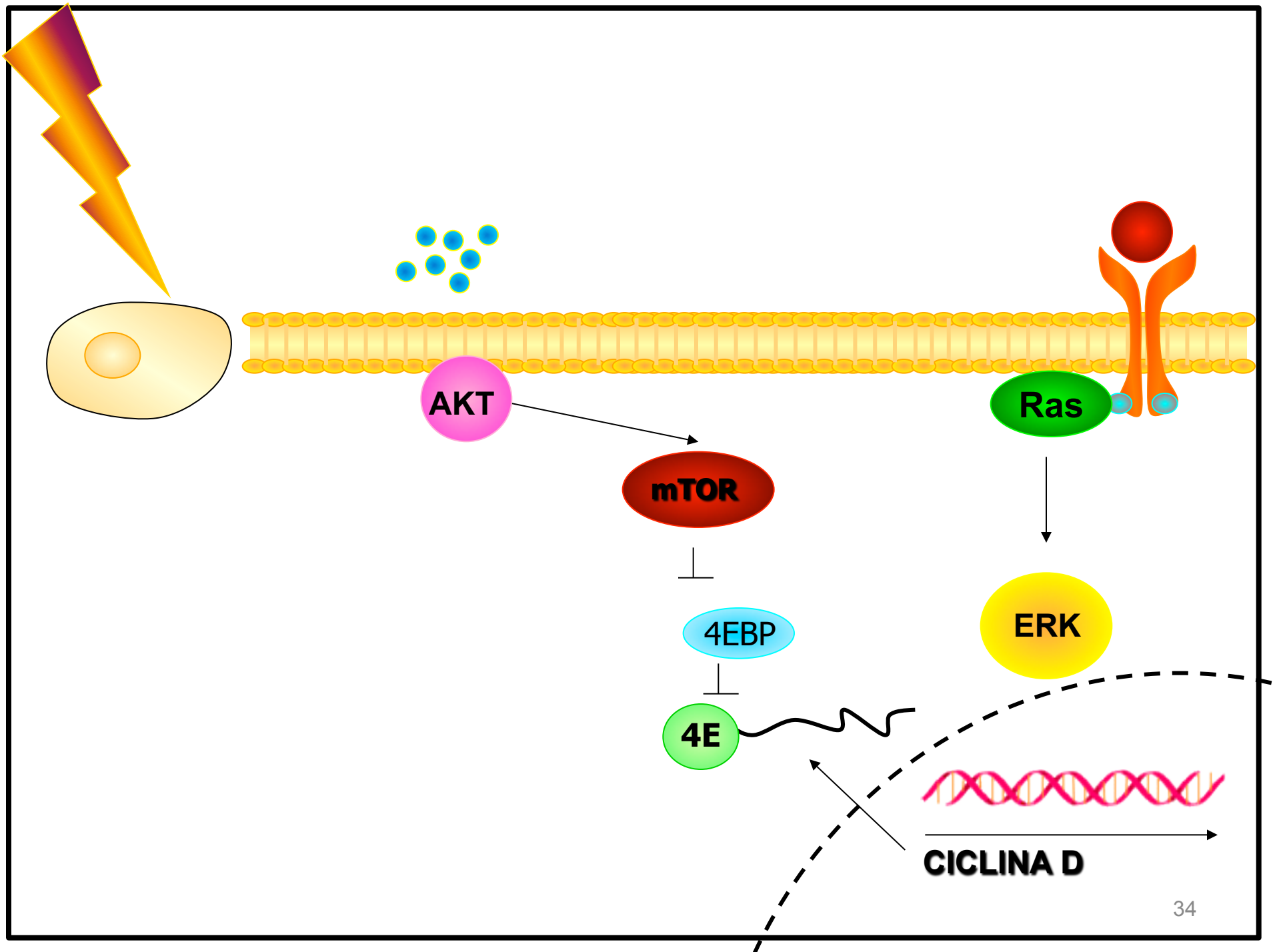
CDK, Ciclinas e fases do ciclo

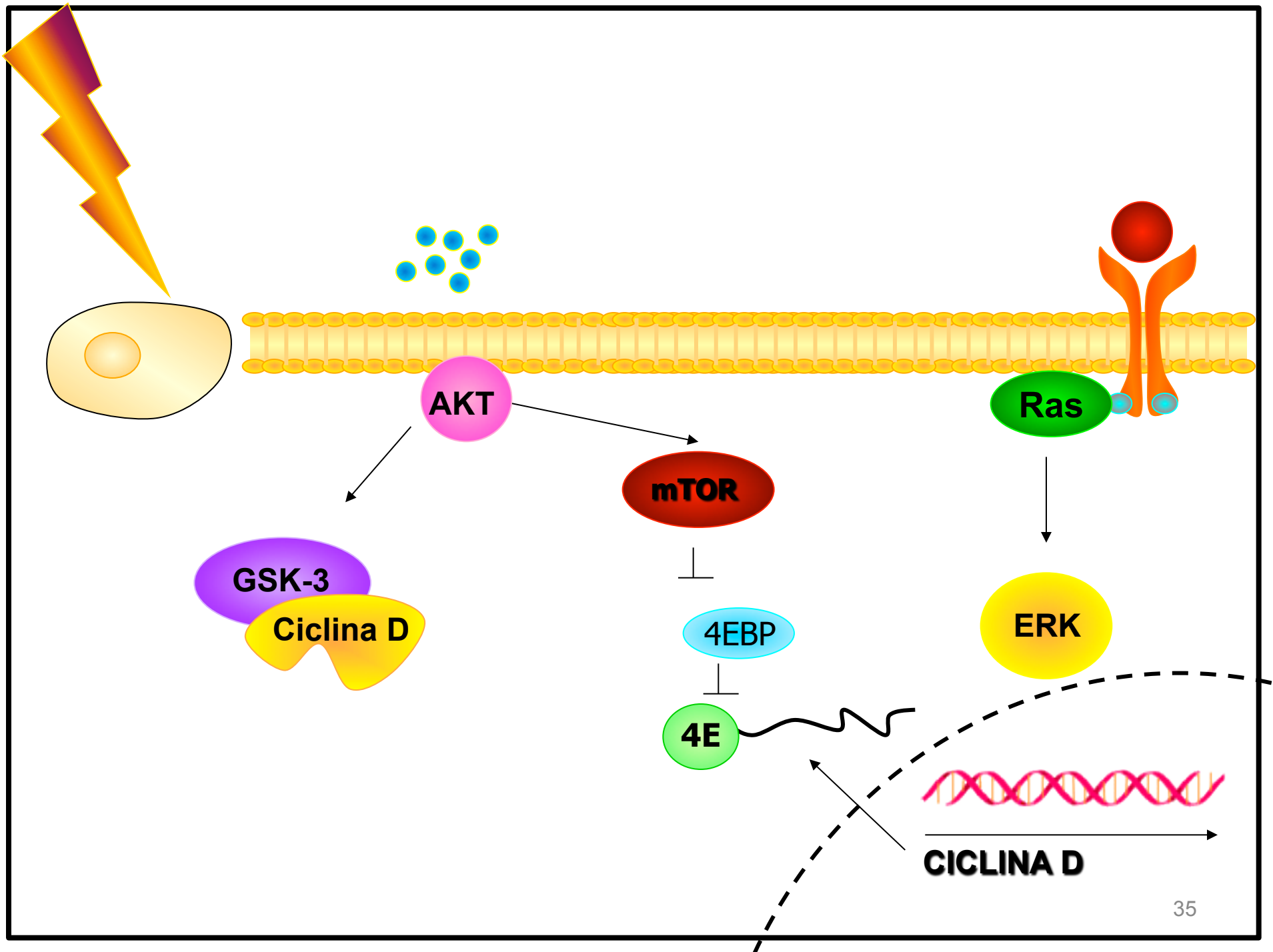
CDK1	Ciclinas A, B	G2/M
CDK2	Ciclinas A, E	G1/S, S
CDK3	Ciclina E	G1/S
CDK4	Ciclina D	G1/S
CDK5	Ciclina D	Diferenciação neuronal
CDK6	Ciclina D	G1/S
CDK7	Ciclina H	CAK
CDK8	Ciclina C	Regulação transcricional
CDK9	Ciclina T	G1/S

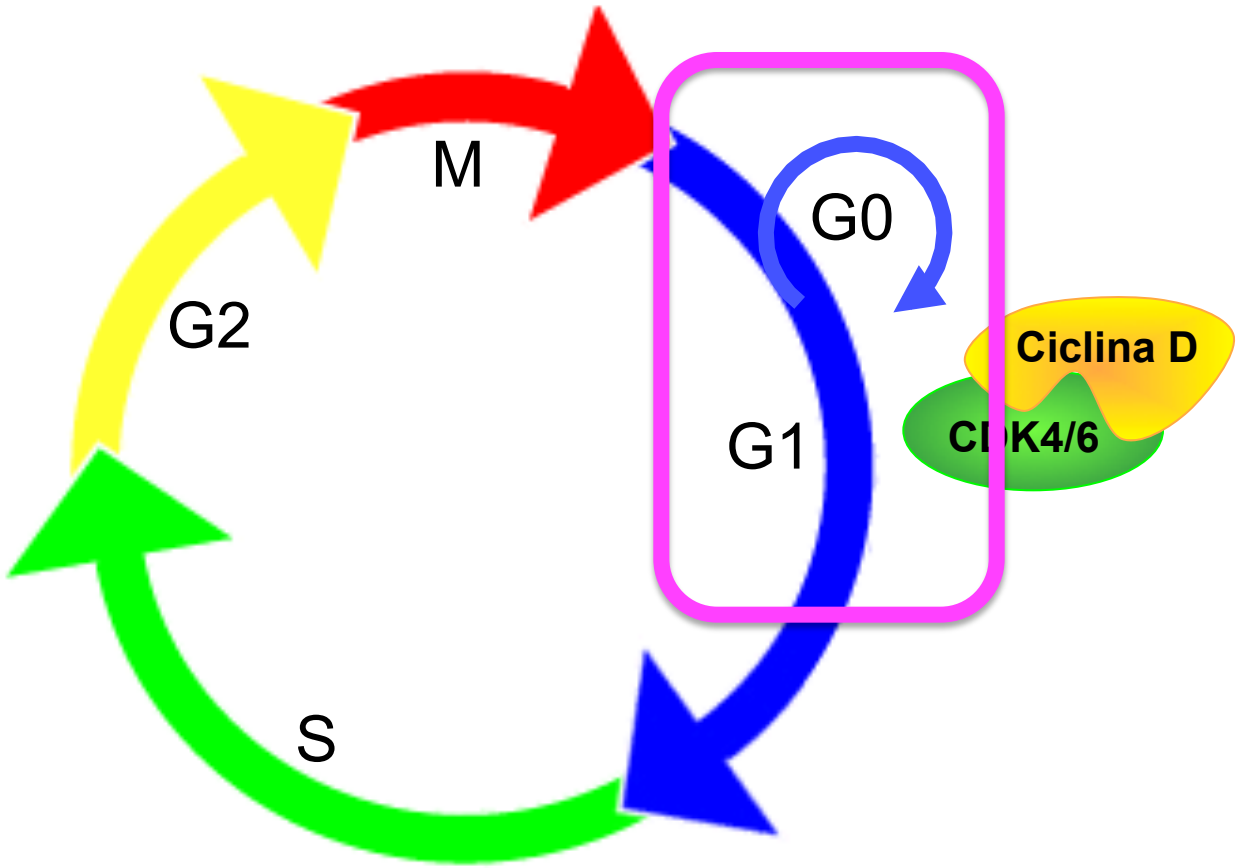

Ciclina A/B
CDK1
M
G0
G2
Ciclina D
CDK4/6
G1
S
Ciclina E
CDK2
Ciclina A
CDK2


M
G0
G2
Ciclina D
CDK4/6
G1
S

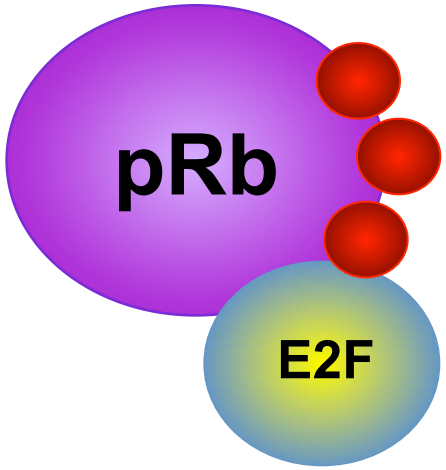

Fator de
crescimento
Ras
ERK
CICLINA D


AKT
Ras
mTOR
4EBP
ERK
4E
CICLINA D


AKT
Ras
mTOR
GSK-3
Ciclina D
4EBP
ERK
4E
CICLINA D

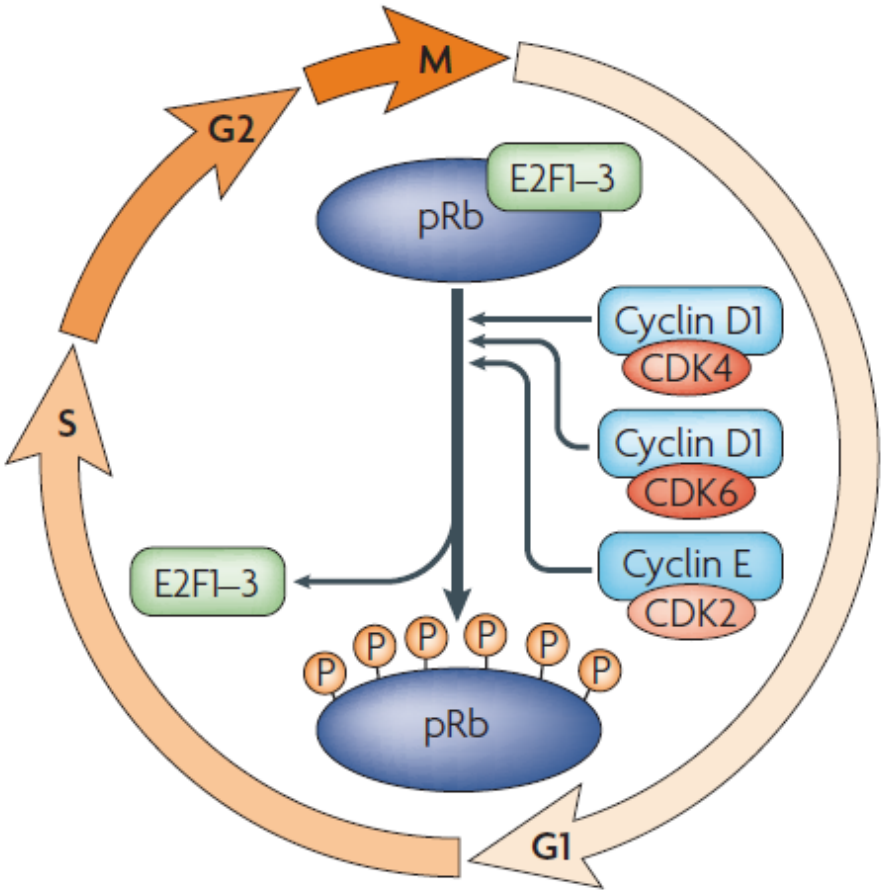


Período de resposta a estímulos extracelulares

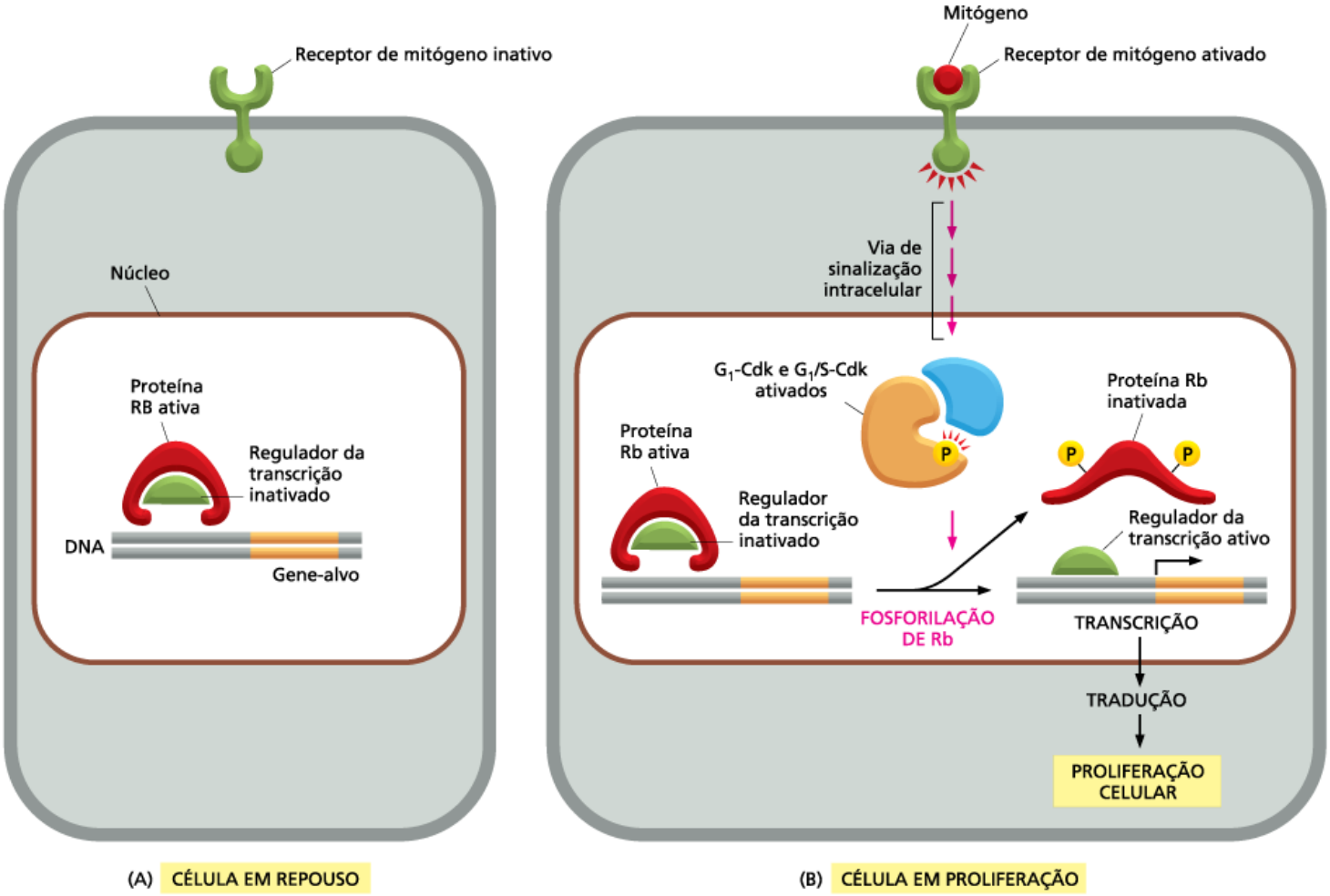


- Ciclinas E e A
- CDK1
- c-myc
- E2F

- DNA polimeraseα
- Timidina quinase
- Timidilato sintetase
- Hidrofolato redutase


M
G2
S
G1
E2F1–3
pRb
Cyclin D1
CDK4
Cyclin D1
CDK6
Cyclin E
CDK2
E2F1–3
P
pRb

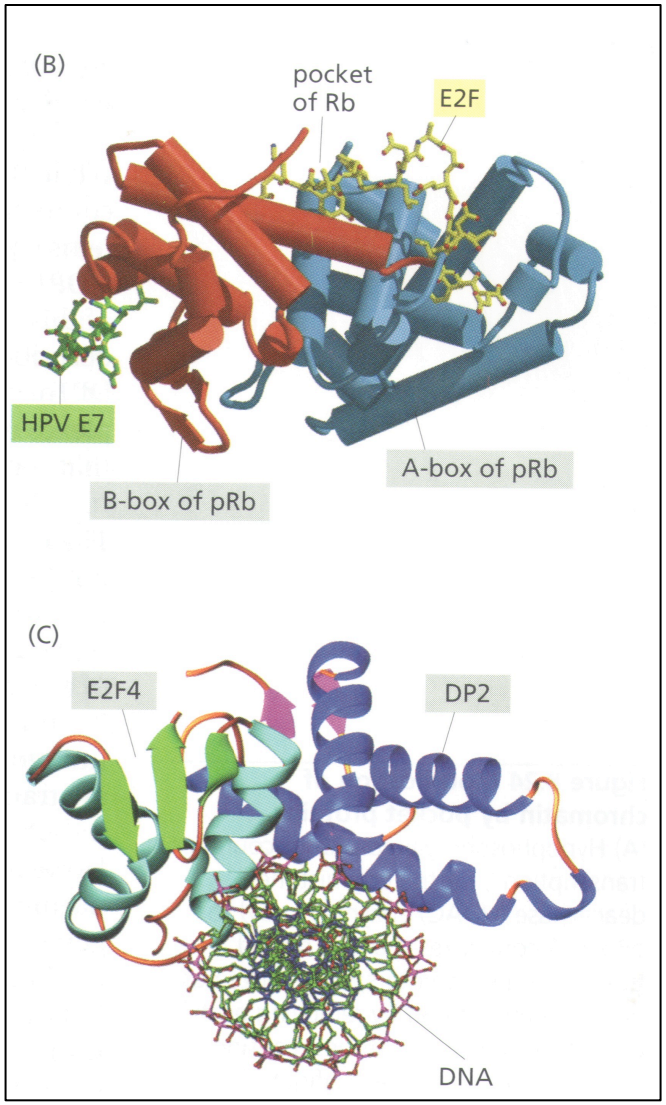
Proteína pRB



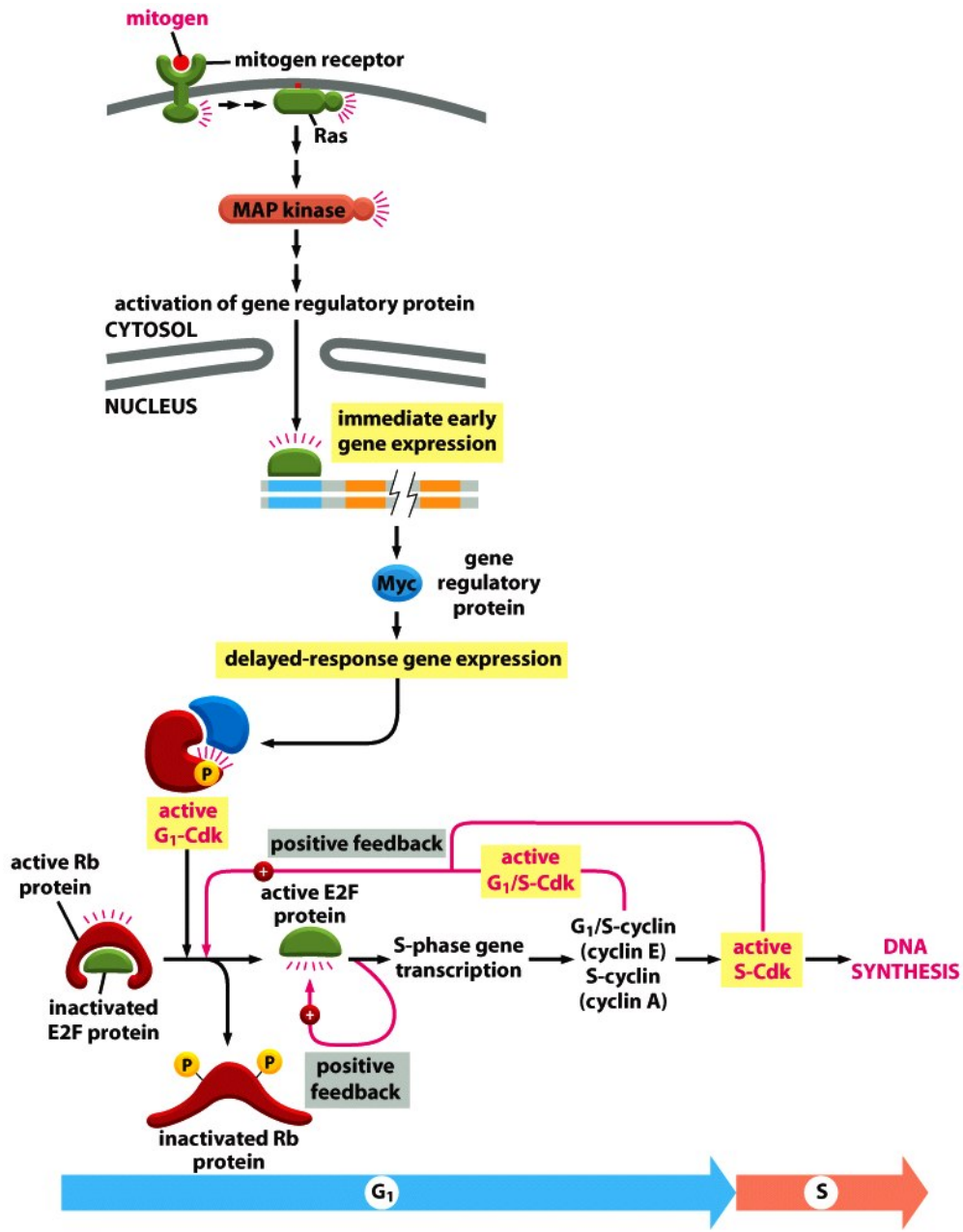
Proteína pRB

Reguladora do ciclo

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

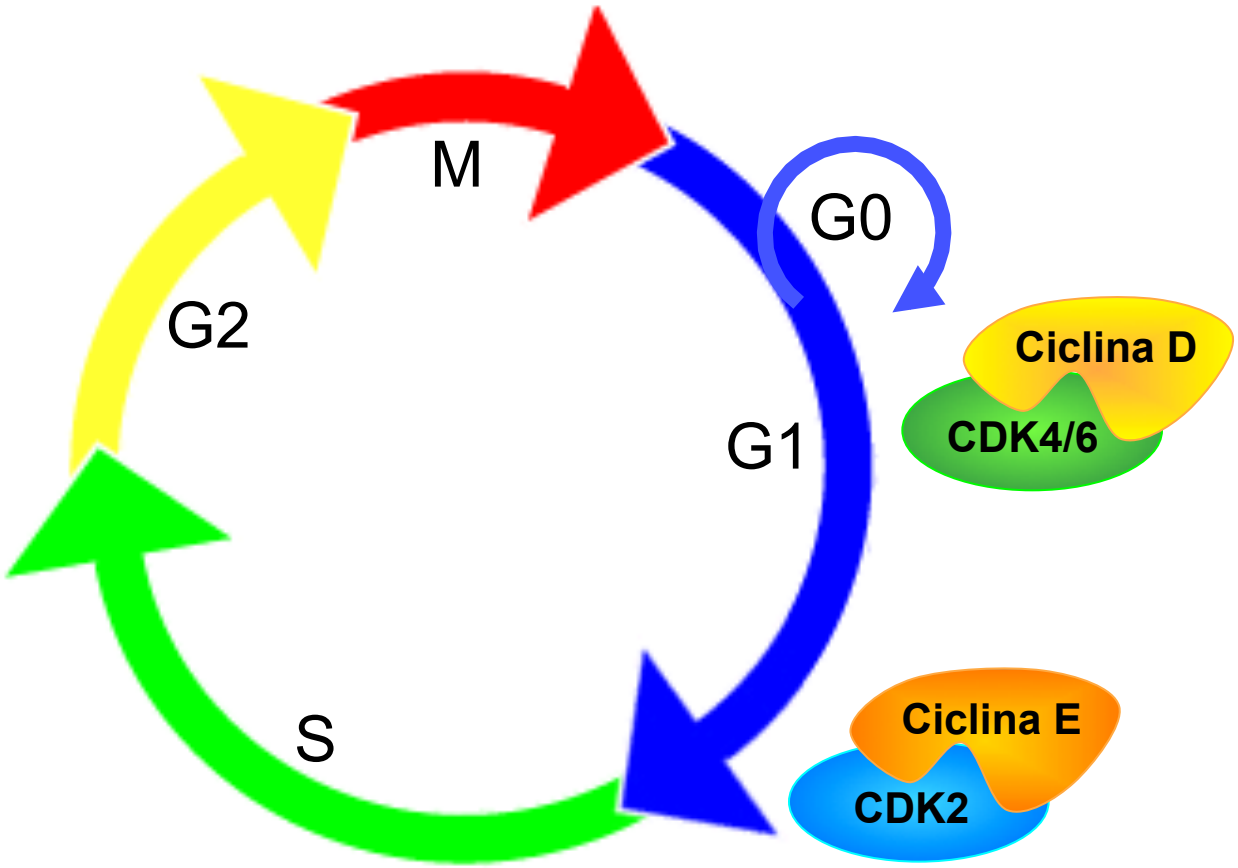


E2F4 ligando ao DNA



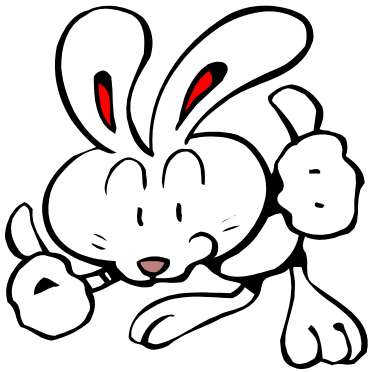
Myc

induz proliferação celular


M
G0
G2
Ciclina D
CDK4/6
G1
S
Ciclina E
CDK2

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 integro para ser copiado ?



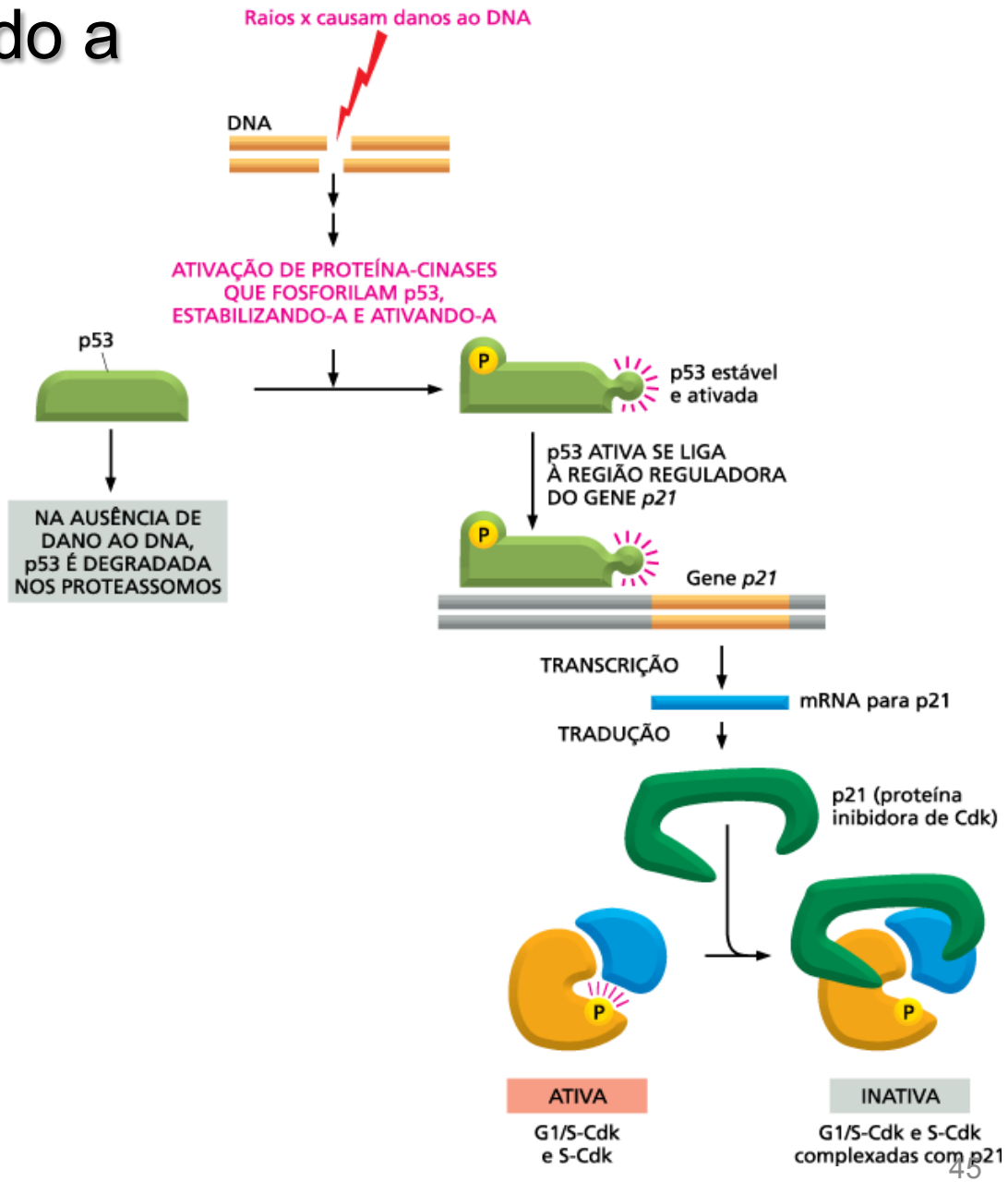
PROGRESSÃO

Ponto de verificação G1/S

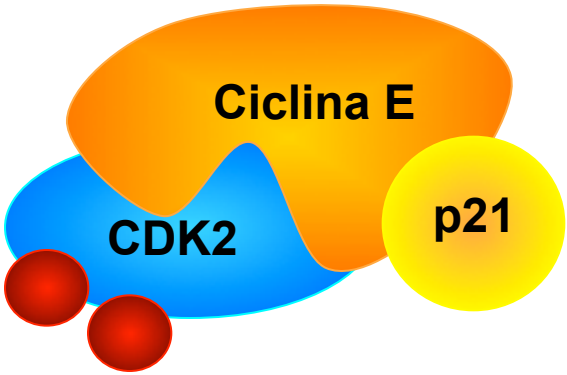
- O tamanho da célula é adequado ?
- Existe energia suficiente para continuar ?
- O estímulo para a proliferação continua ?
- A maquinaria de replicação está presente ?
- O DNA está integro para ser copiado ?

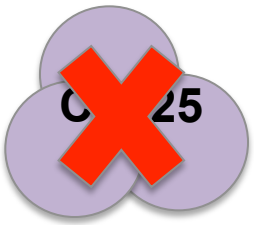
PARADA OU APOPTOSE

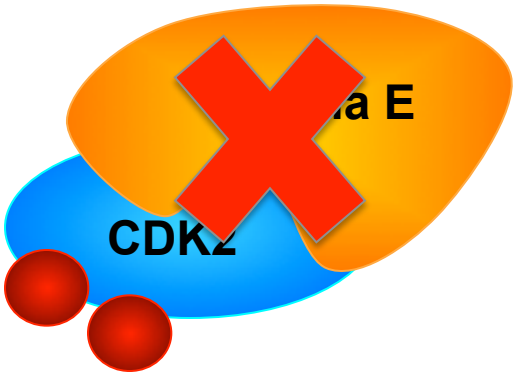
Parada em G1 devido a danos no DNA

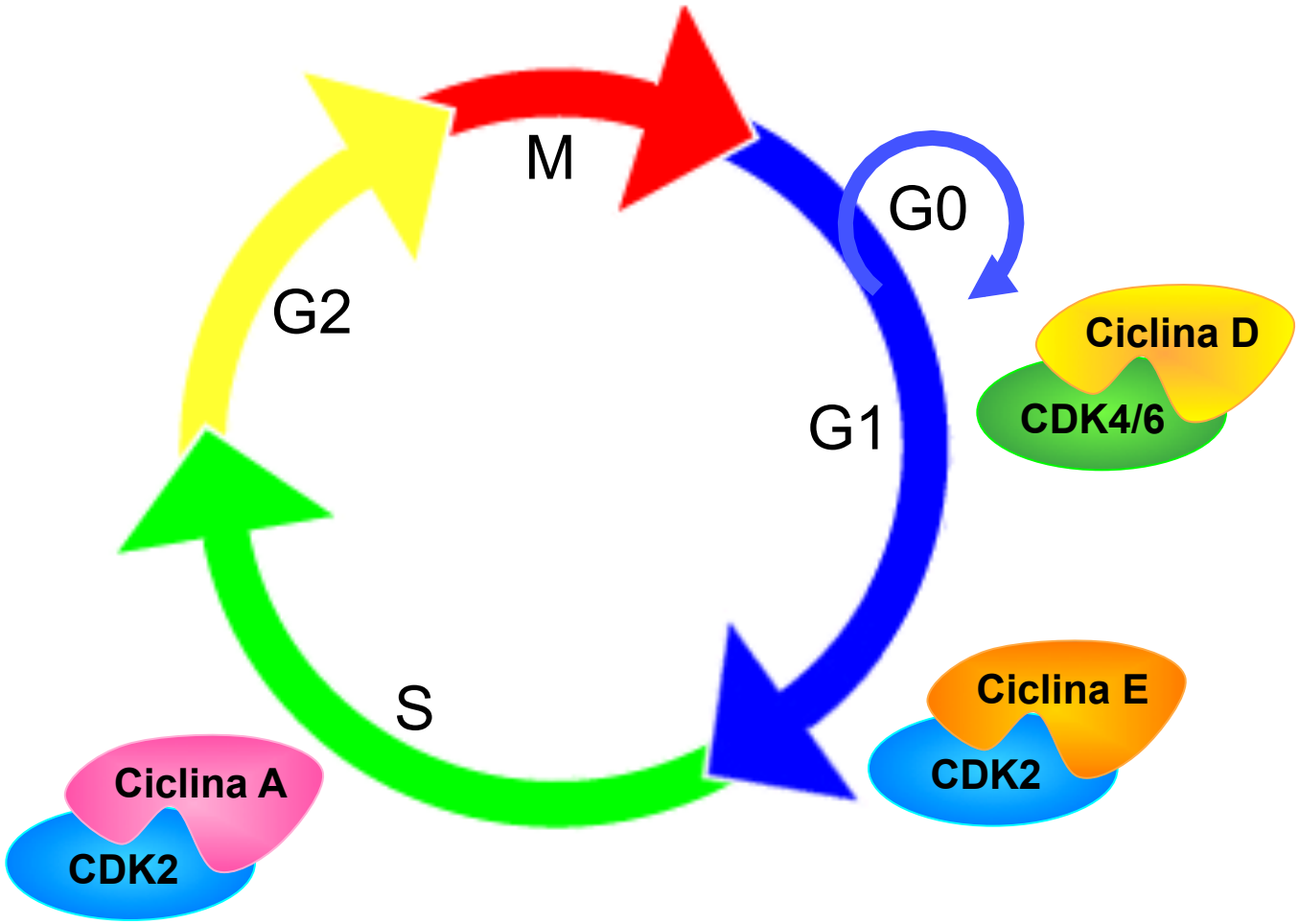



p53

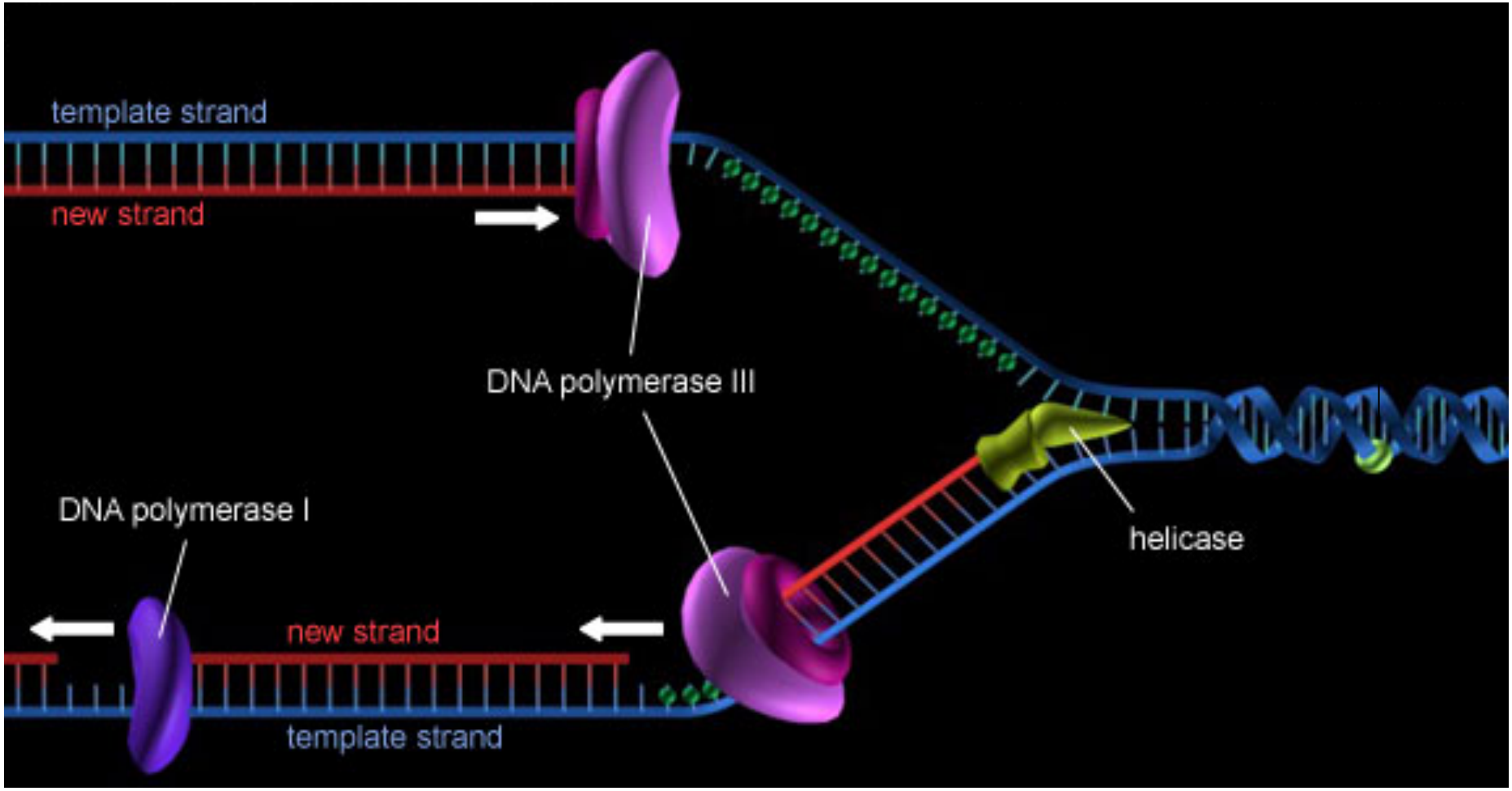

Ciclina E
CDK2
p21


25

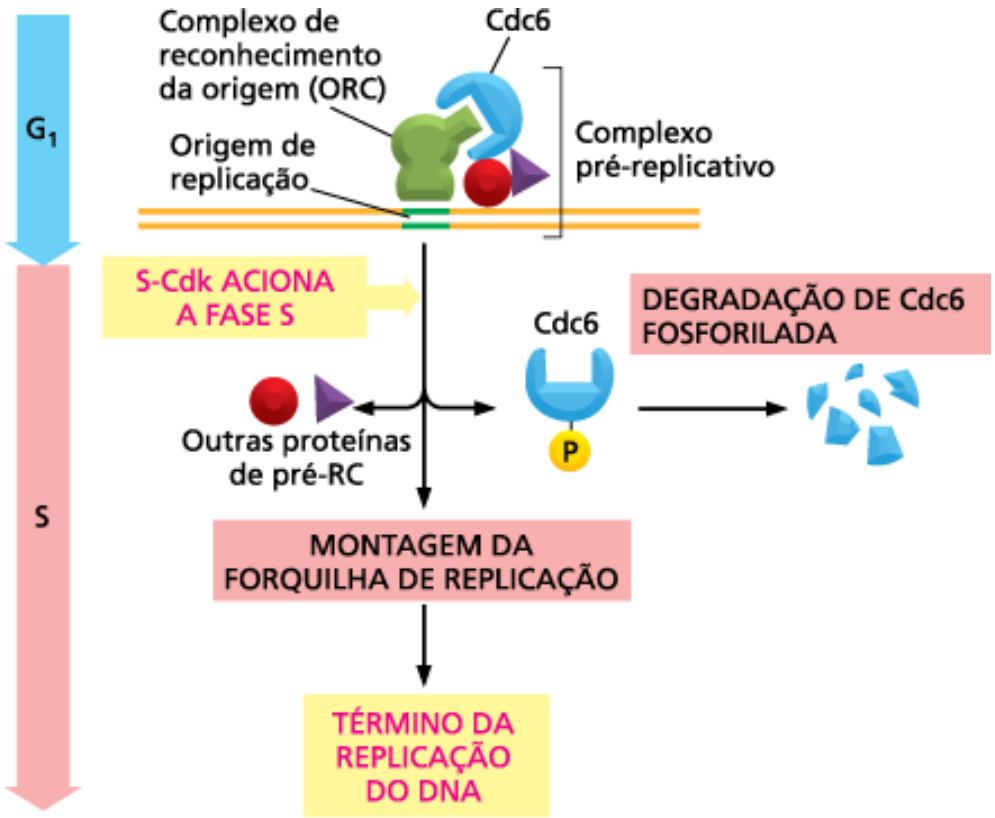

a E
CDK2


M
G0
G2
Ciclina D
CDK4/6
G1
S
Ciclina E
CDK2
Ciclina A
CDK2

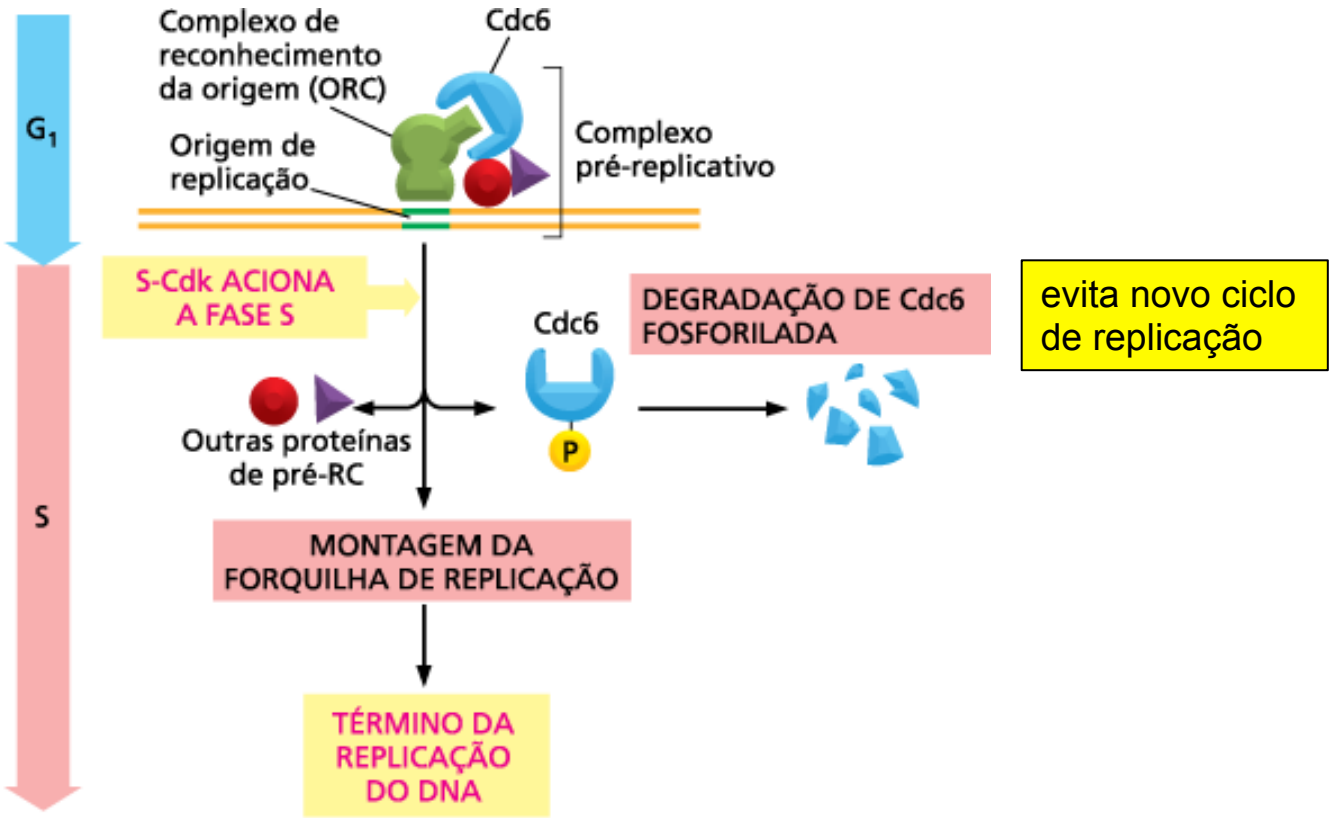
Fase S: replicação do DNA



Controle da replicação do DNA



Controle da replicação do DNA



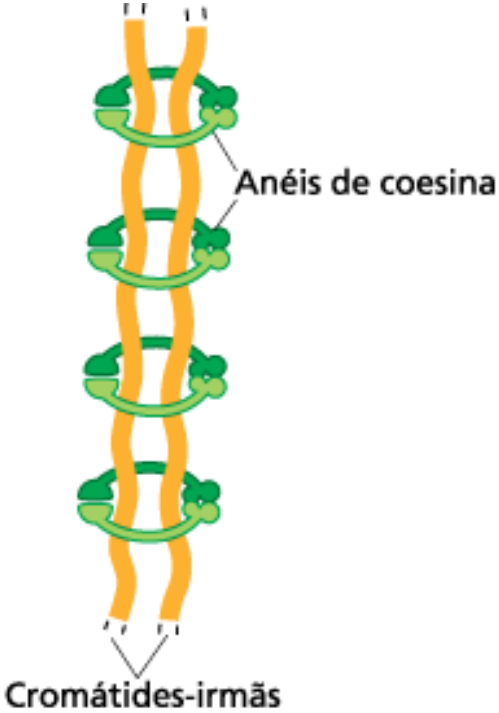
CDK2-ciclina A/ S-CDK:

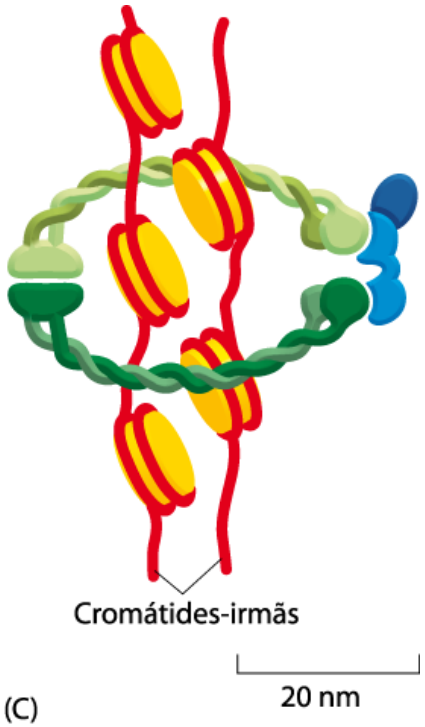
-dispara replicação do DNA
-impede que a origem seja utilizada novamente

Controle da replicação do DNA

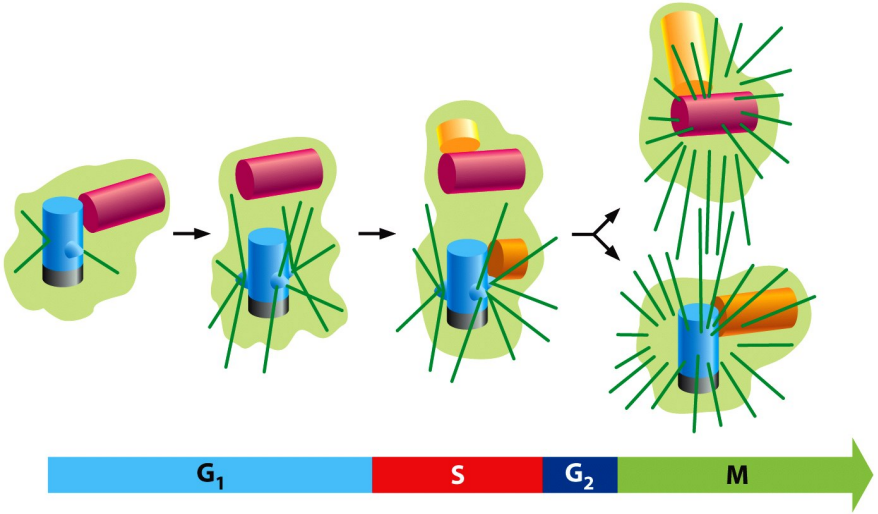
Coesina:

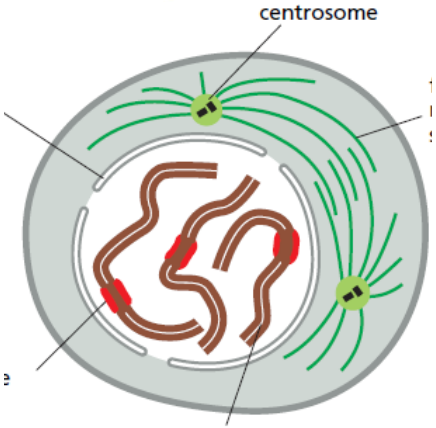
Mantém cromátides-irmãs unidas até o fim da mitose

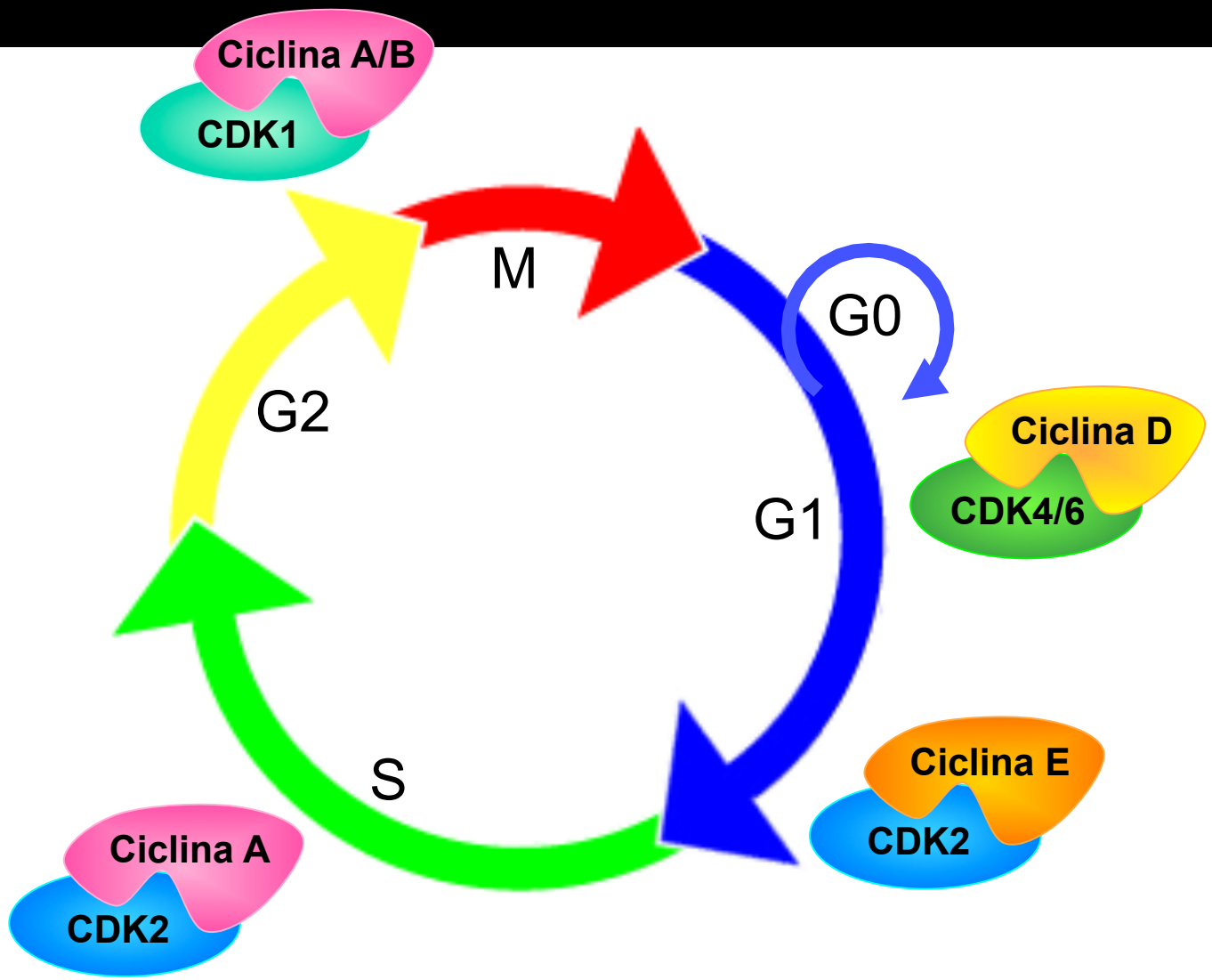




Duplicação dos centrossomos

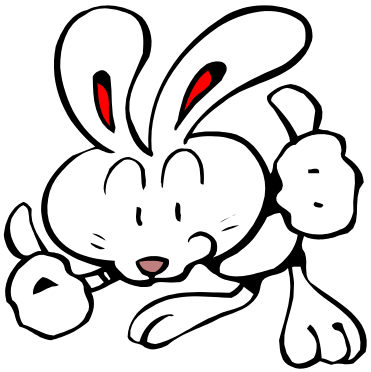





Ciclina A/B
CDK1
M
G0
G2
Ciclina D
CDK4/6
G1
S
Ciclina E
CDK2
Ciclina A
CDK2

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 ?

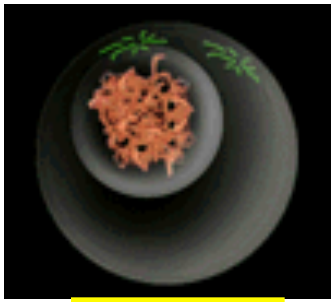


PROGRESSÃO

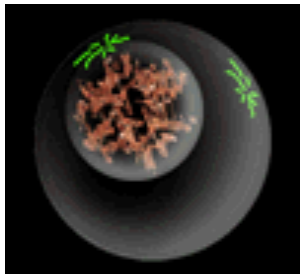
Ponto de verificação G2/M

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

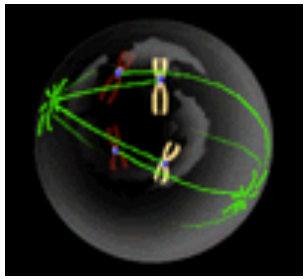
PARADA OU APOPTOSE



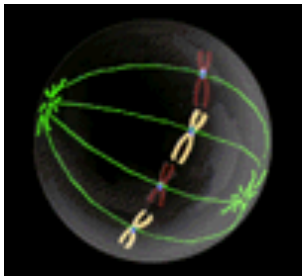
G2



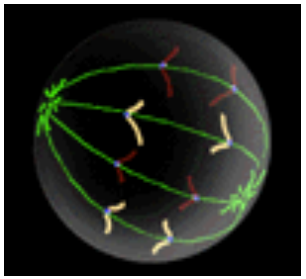
Prófase



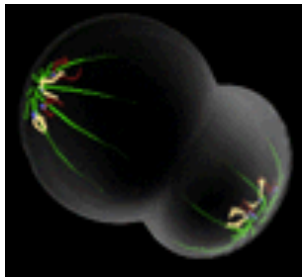
Prometáfase



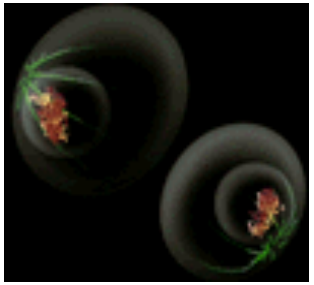
Metáfase



Anáfase



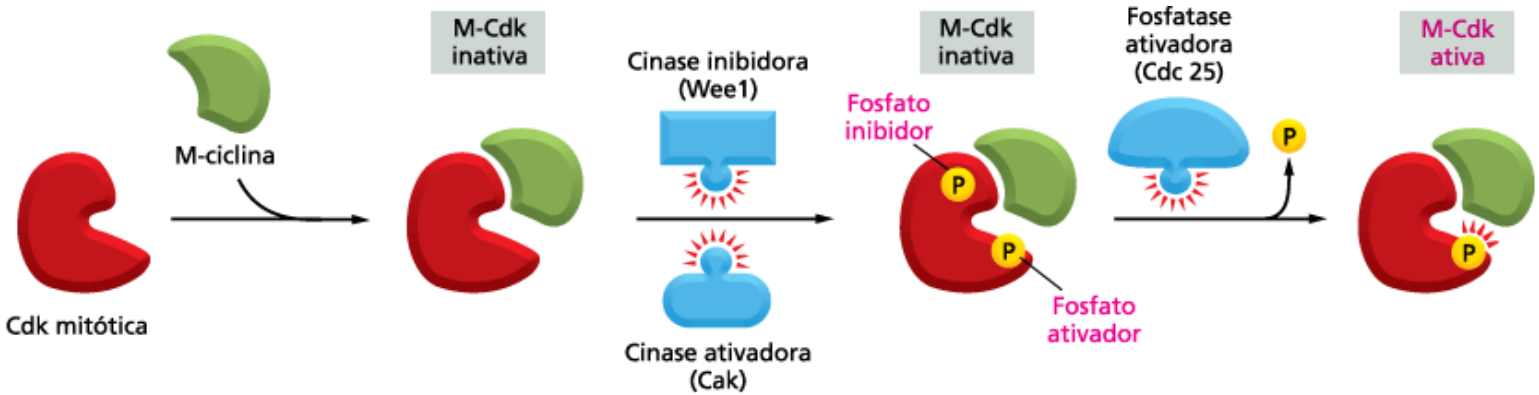
Telófase



Citocinese

MITOSE

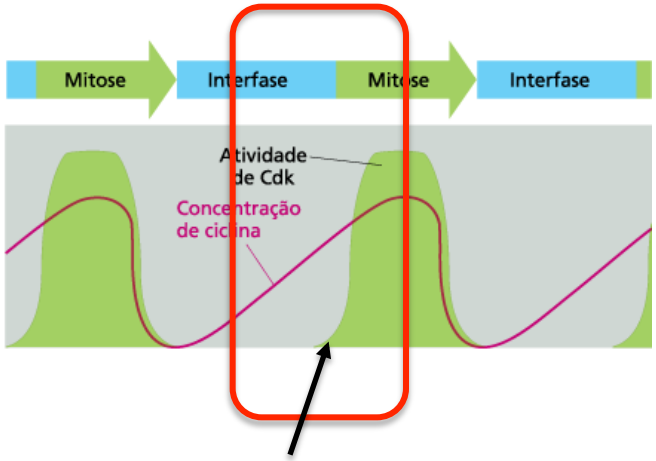
Mitose: ativação de M-CDK

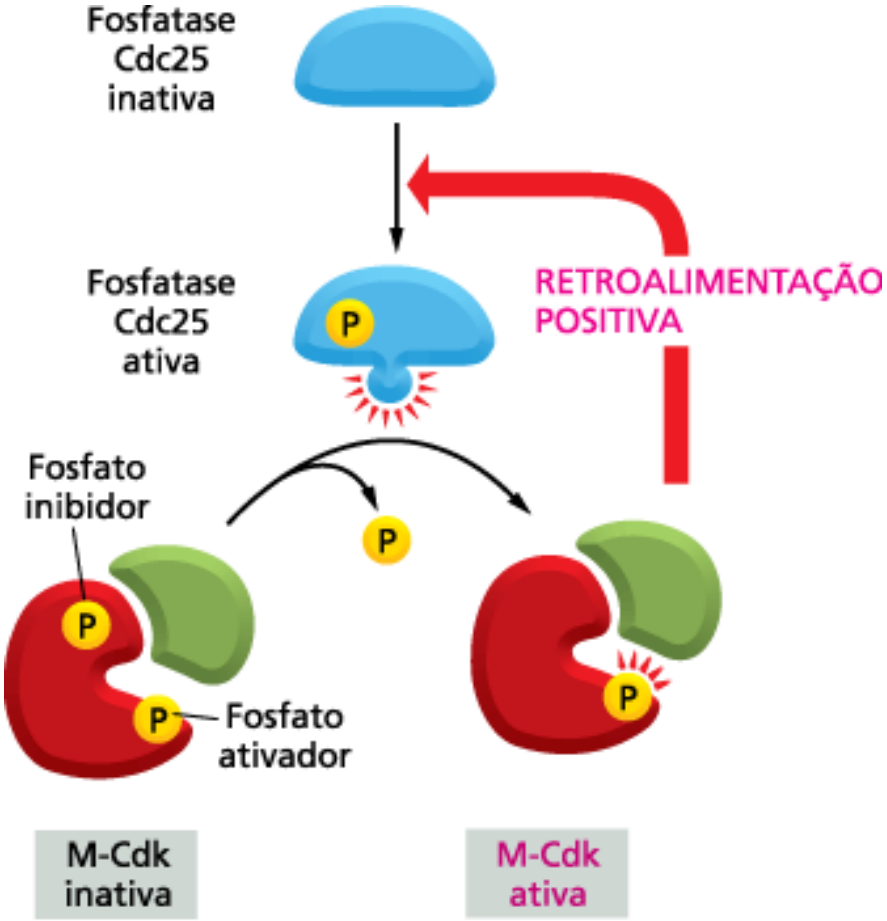


M-Cdk: condensação dos cromossomos e montagem do fuso mitótico

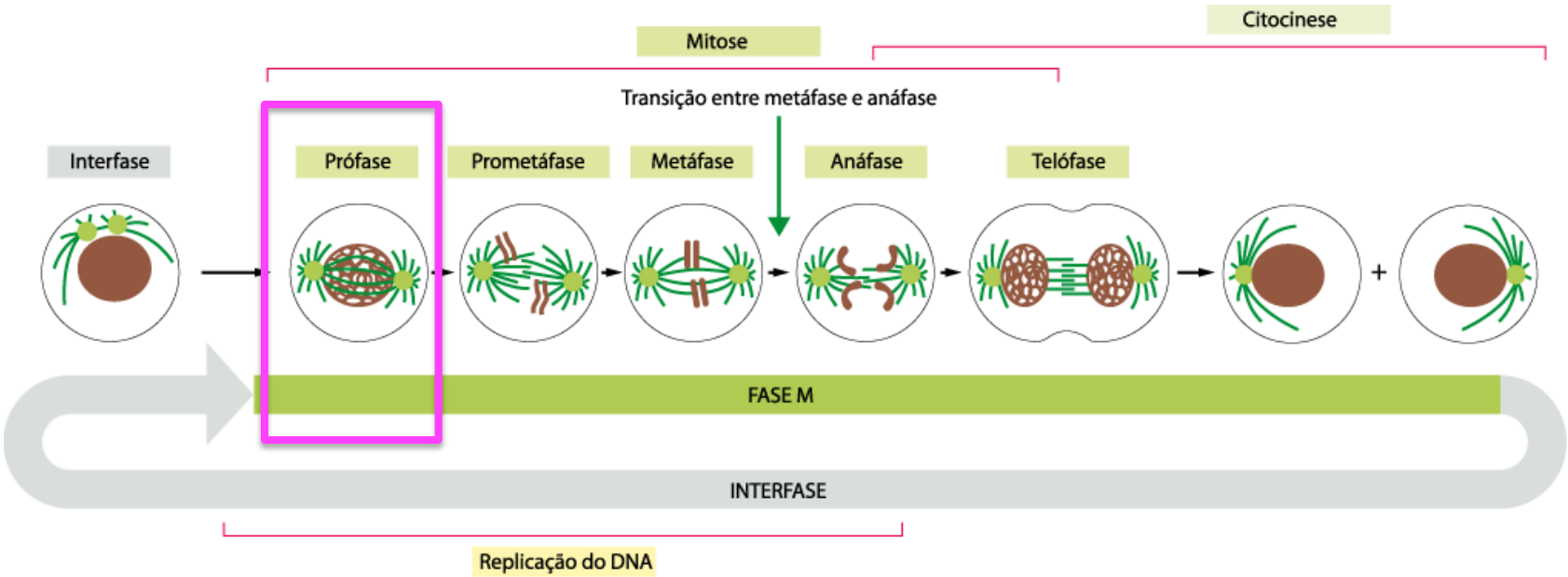
Mitose: ativação de M-CDK

M-Cdk: Retroalimentação positiva de Cdc25

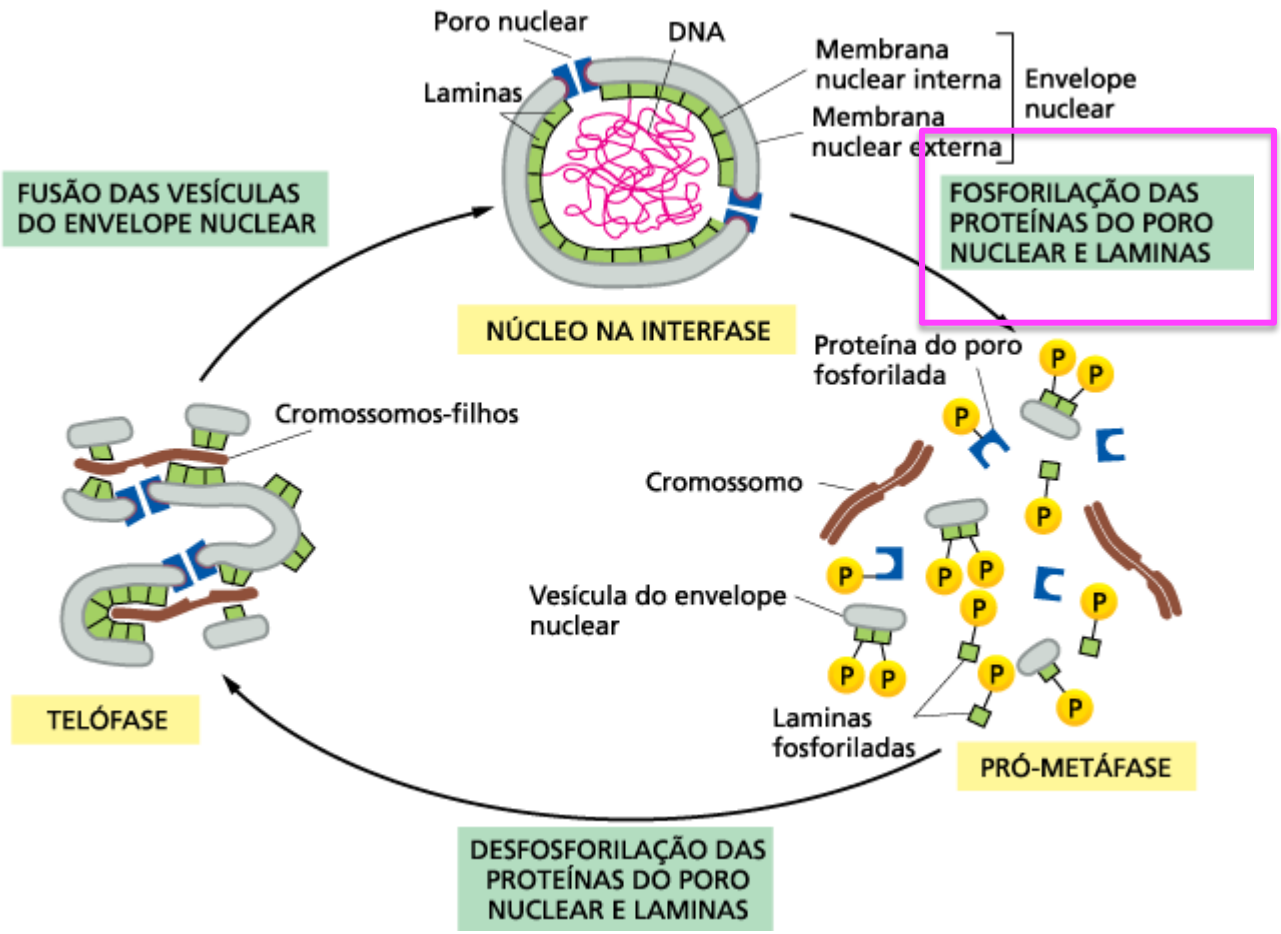




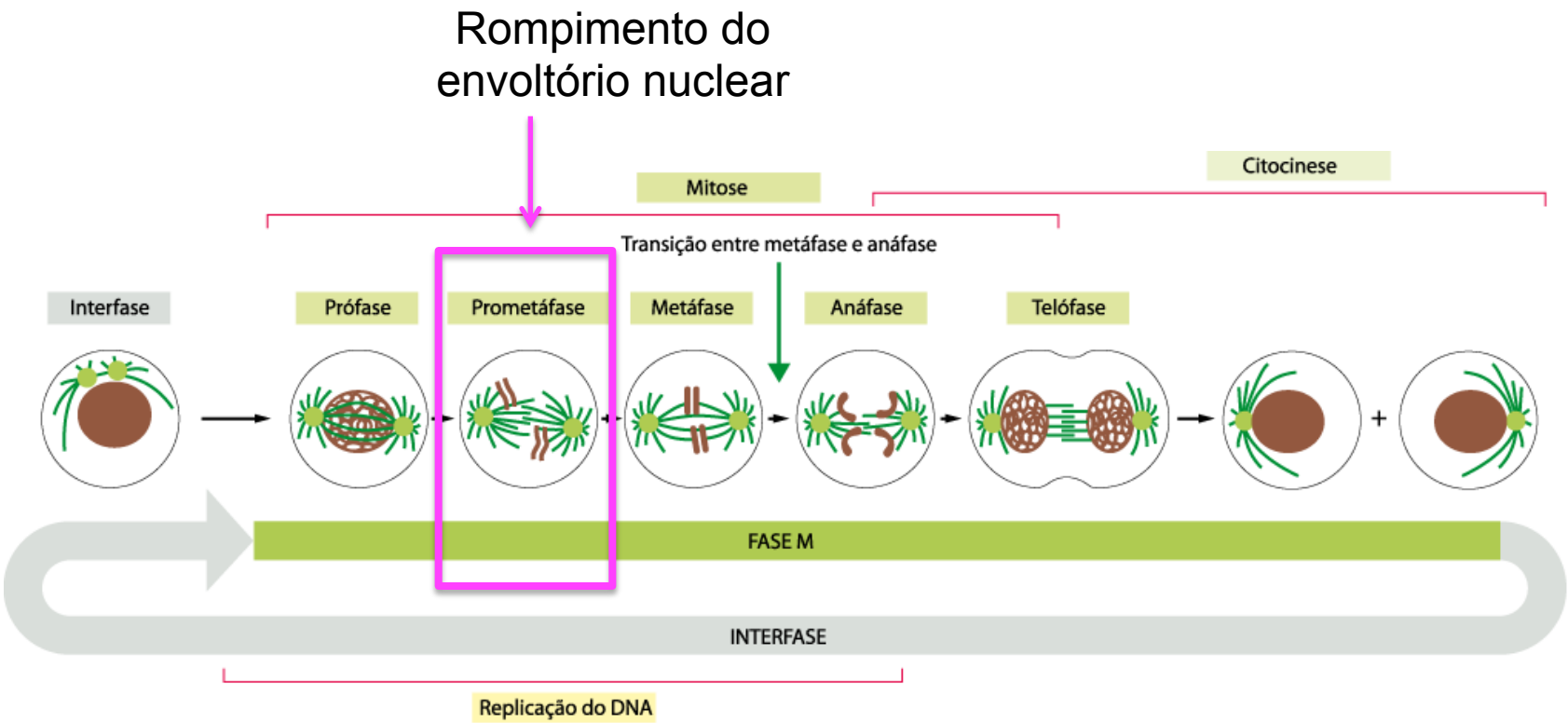
Mitose: ativação de M-CDK



M-CDK: fosforila laminas

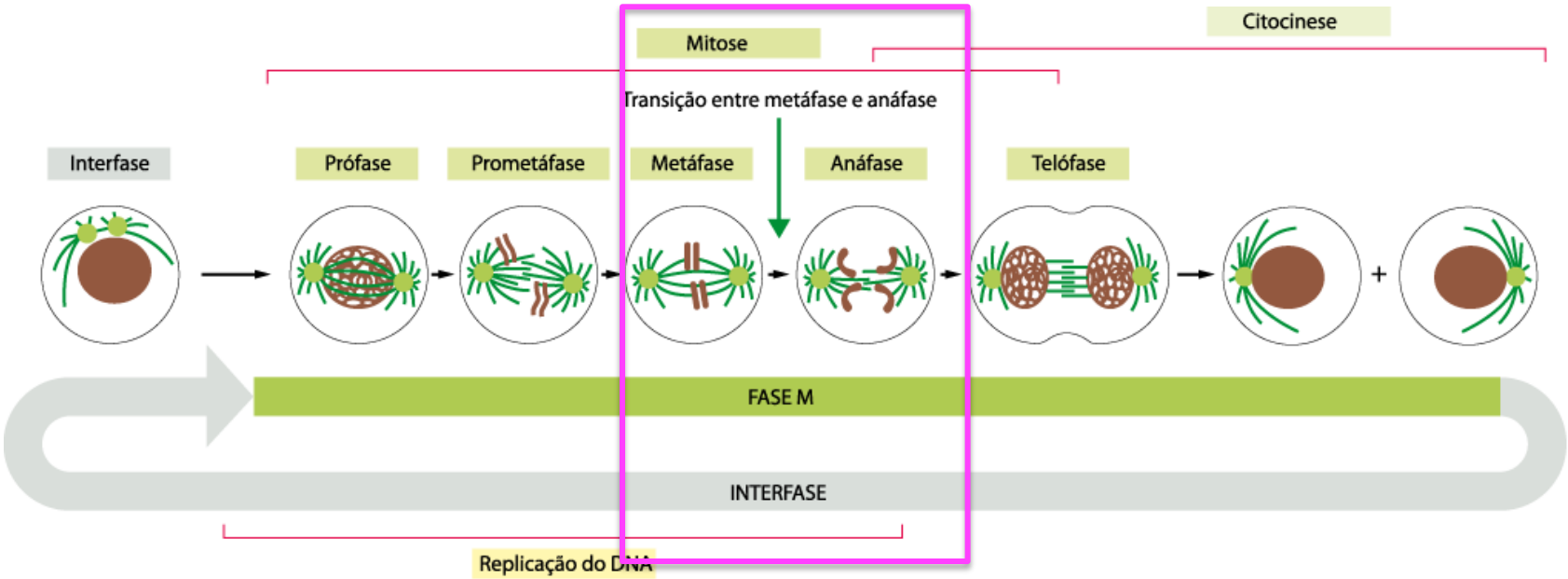


Mitose: ativação de M-CDK



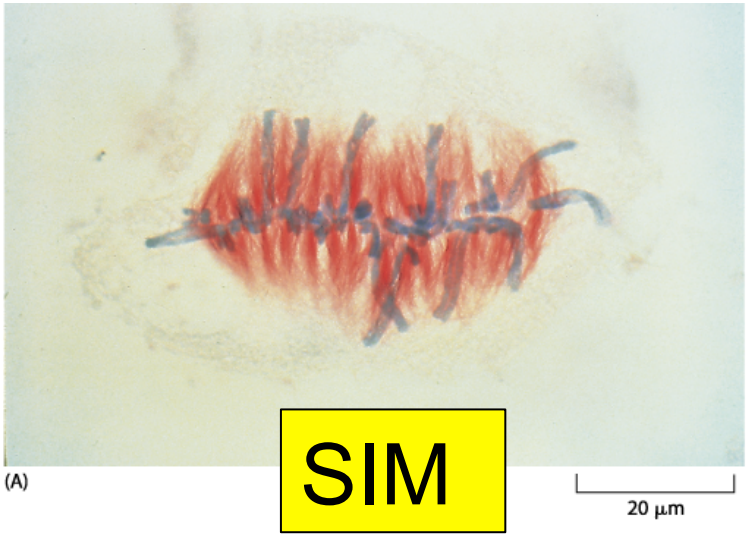
Mitose: ativação de M-CDK

Ponto de verificação M

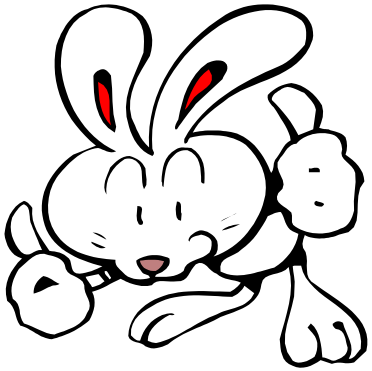


Todos os cromossomos estão ligados corretamente ao fuso?

Todos os cromossomos estão ligados corretamente ao fuso?



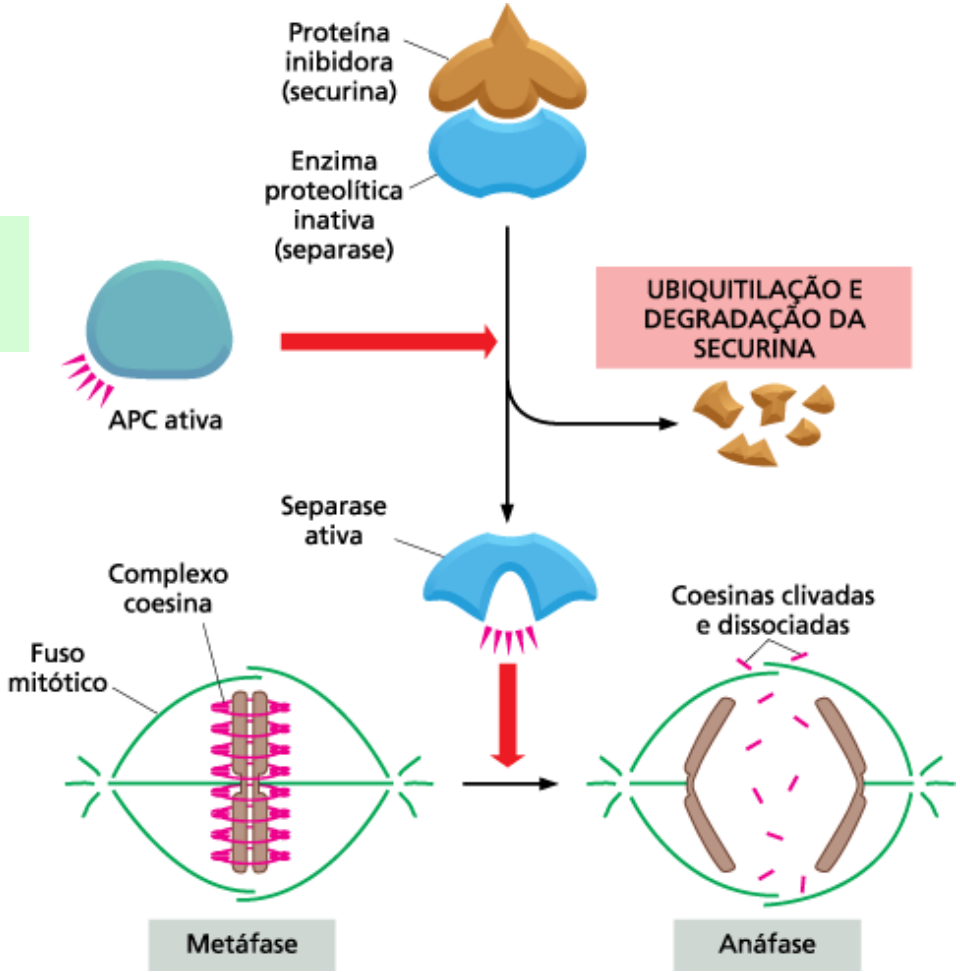
SIM



PROGRESSÃO

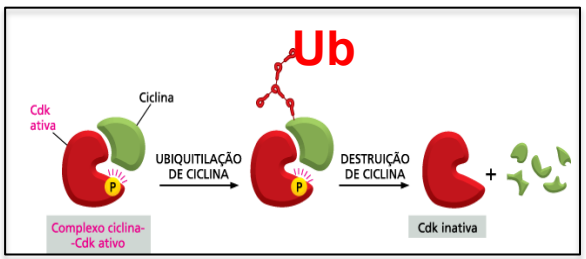
APC: complexo promotor da anáfase

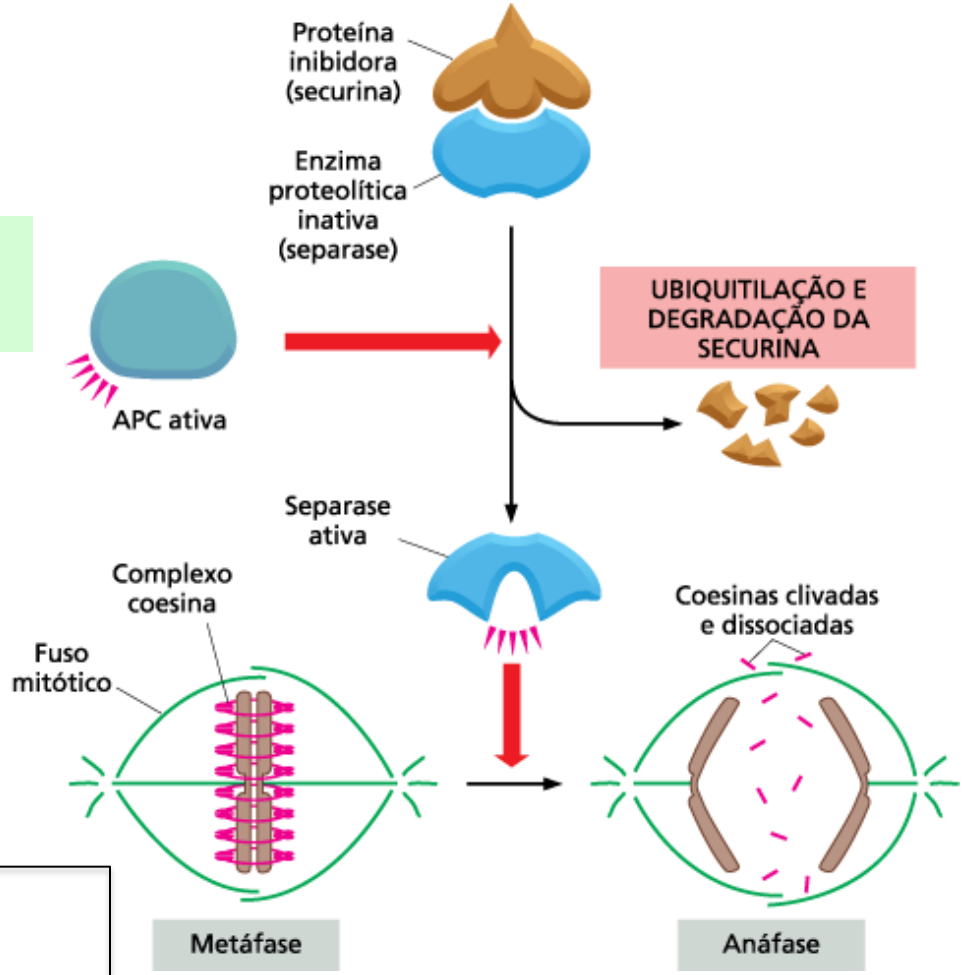
APC/C:
ubiquitina ligase



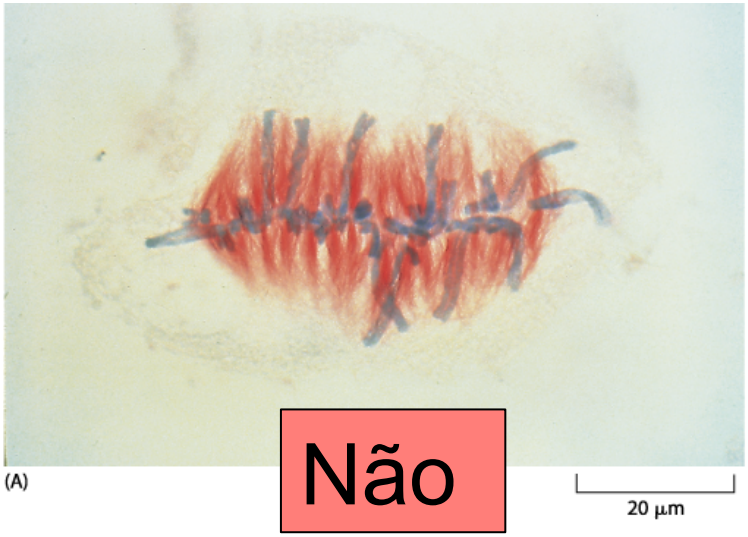
APC: complexo promotor da anáfase

APC/C:
ubiquitina ligase





Todos os cromossomos estão ligados corretamente ao fuso?

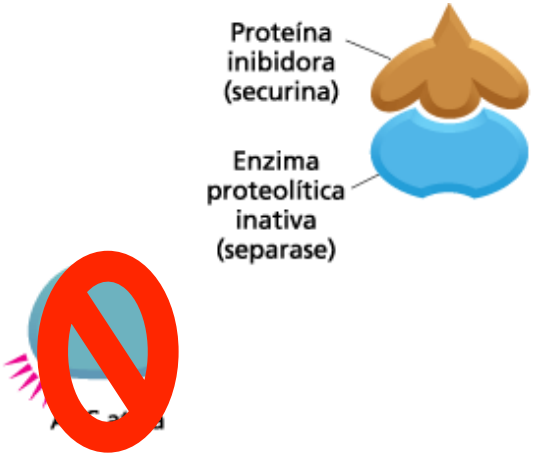


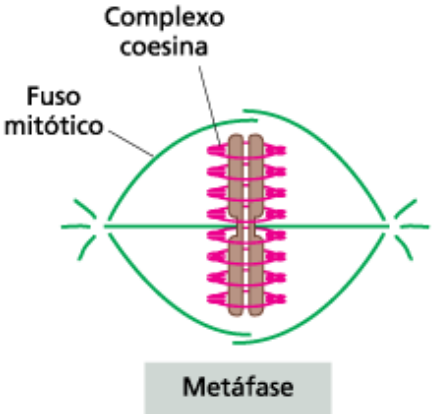
Não

PARADA OU APOPTOSE

APC: complexo promotor da anáfase

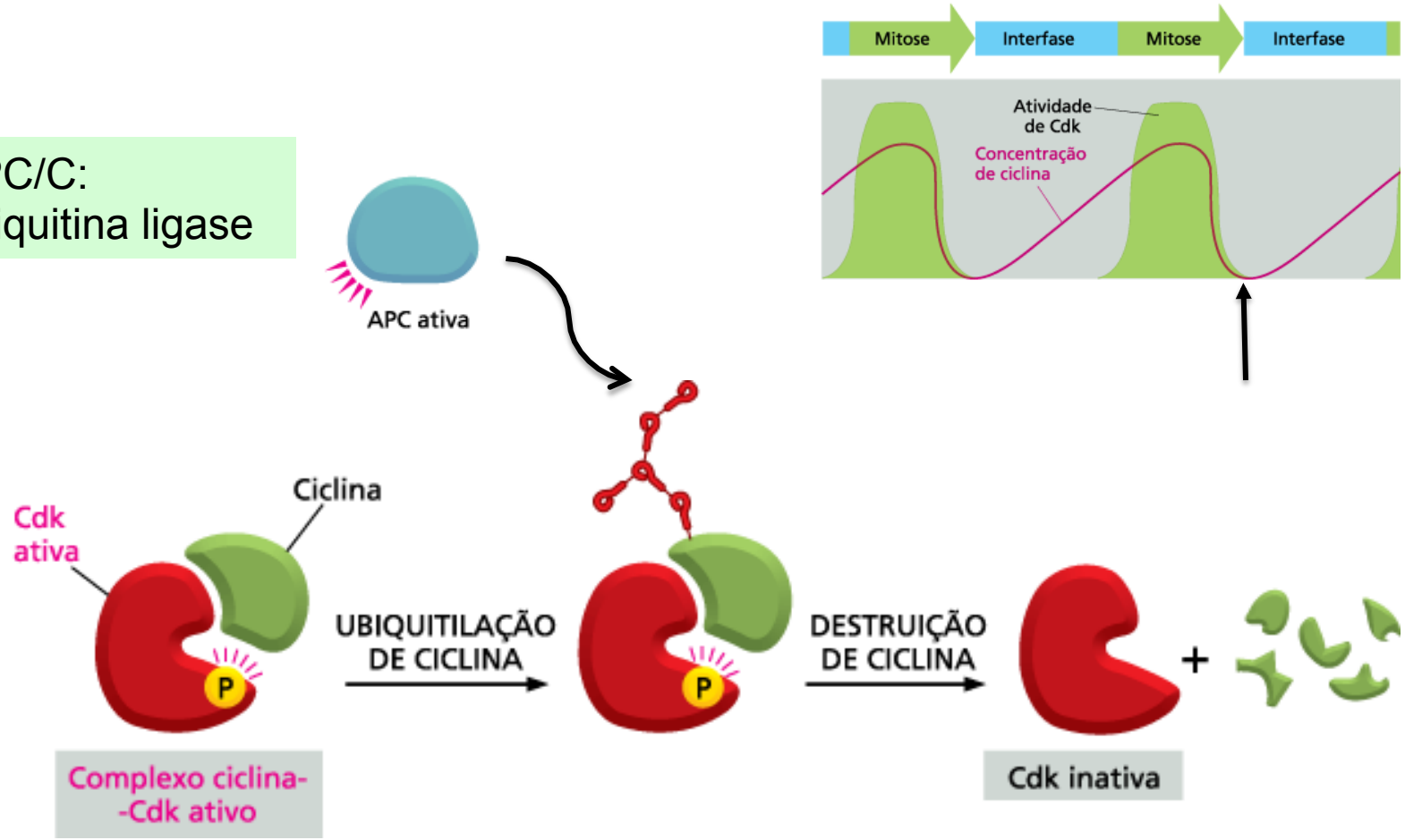
APC/C:
ubiquitina ligase





APC: destruição de M-CDK

APC/C:
ubiquitina ligase



Ciclo Celular e Câncer

(reguladores G1/S)

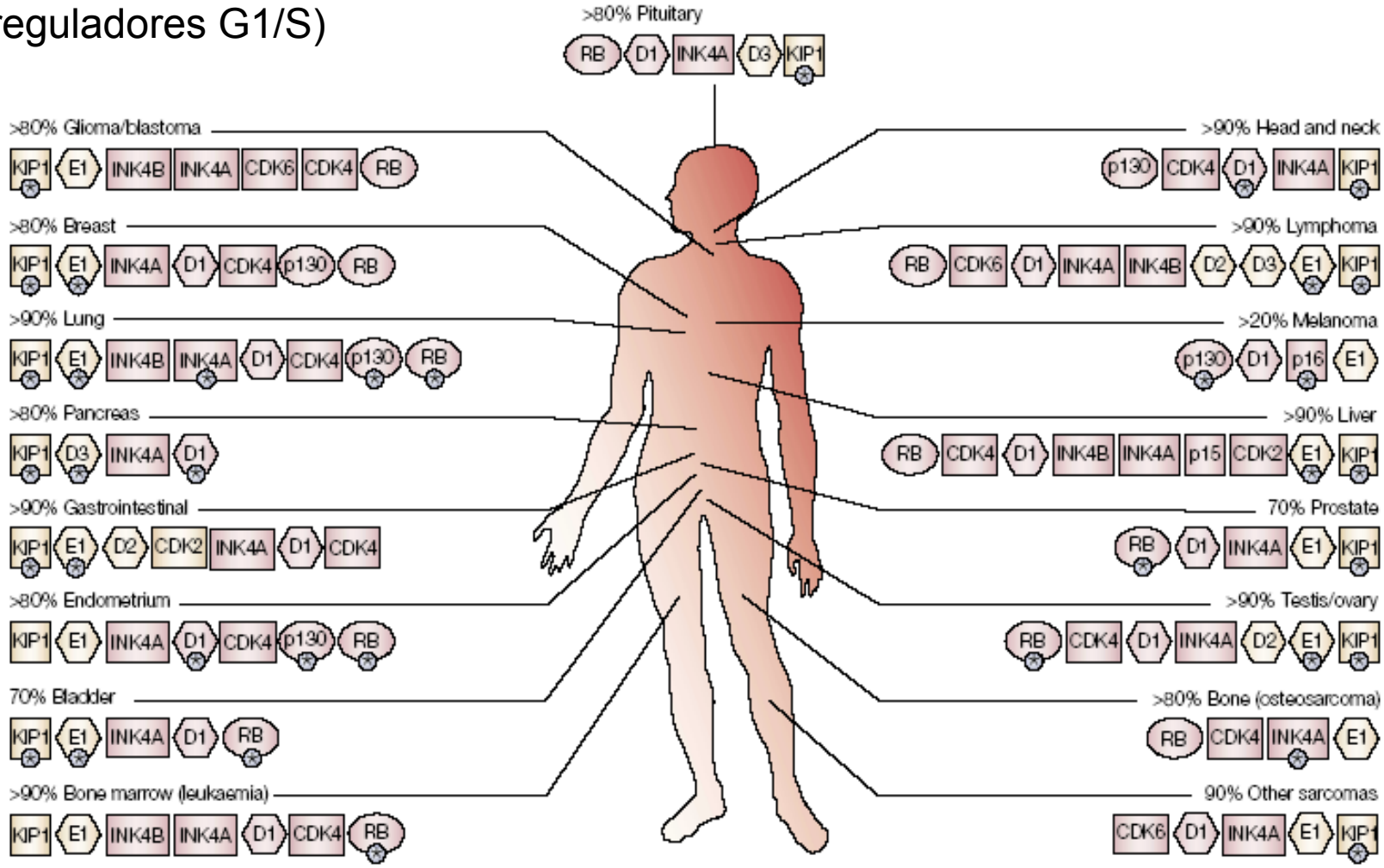


Figure 2 | **Mutation of G1/S regulators in human cancer.** Only alterations that occur in more than 10% of primary tumours have been considered. Numbers represent the percentage of tumours with alterations in any of the listed cell-cycle regulators. The loci in which specific genetic or epigenetic alteration 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

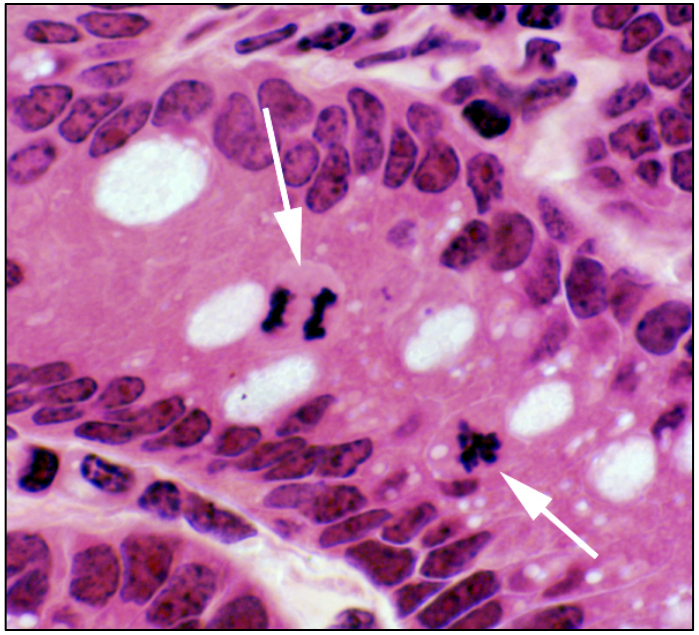
Métodos de estudo do ciclo celular

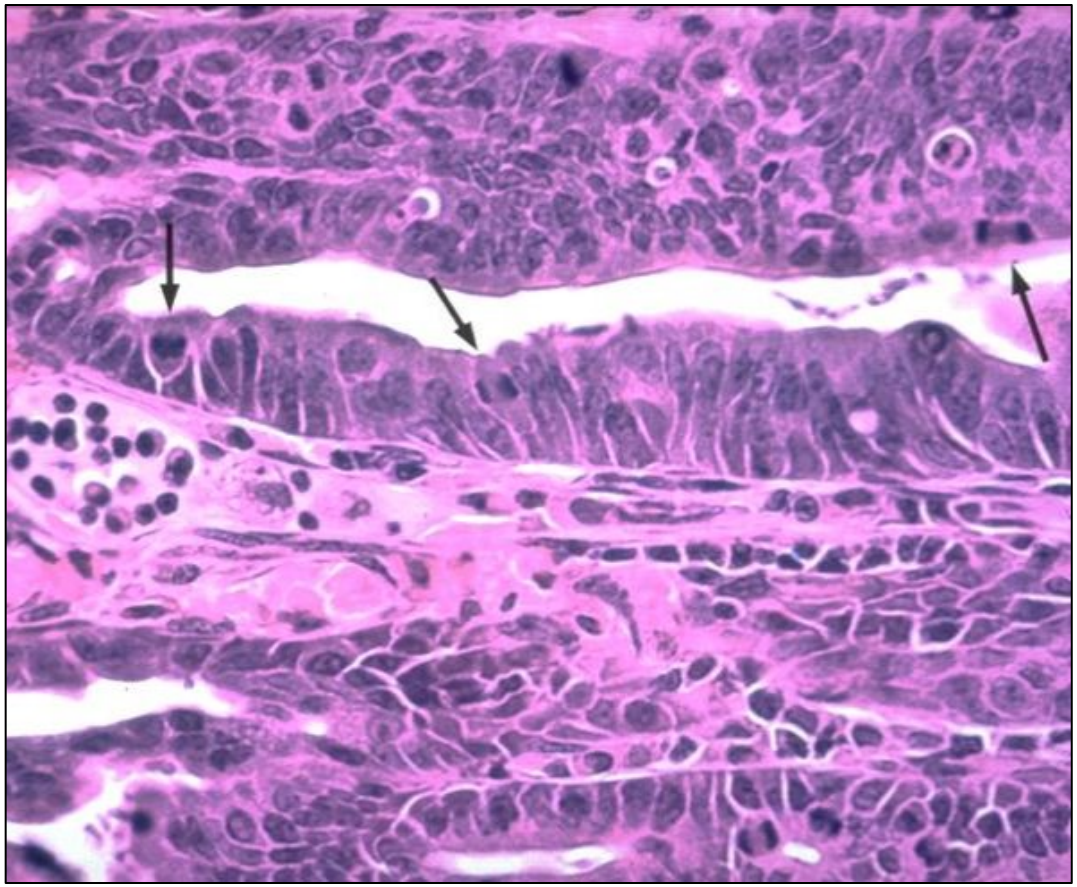
Como determinar a fase do ciclo celular em que uma célula está?

Como estudar uma população de células?

Métodos de estudo do ciclo celular

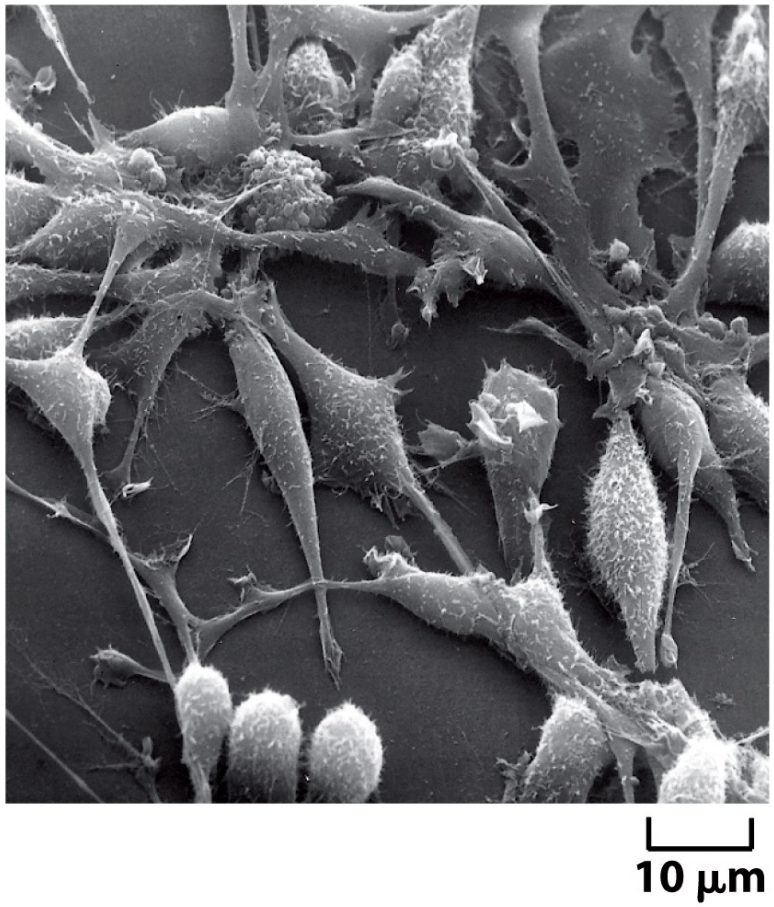
Microscopia – observação e contagem de células





Métodos de estudo do ciclo celular

Microscopia – observação e contagem de células

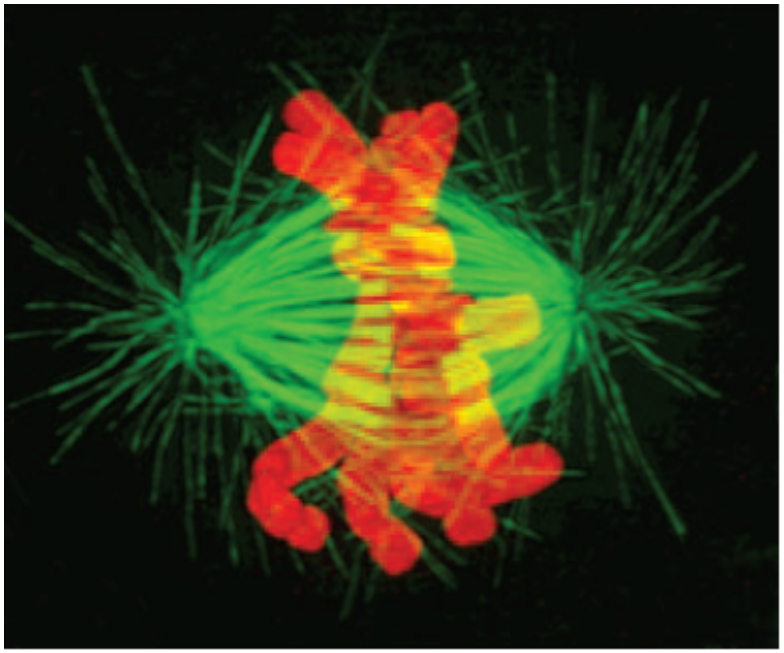


MEV

Métodos de estudo do ciclo celular

Microscopia – observação e contagem de células

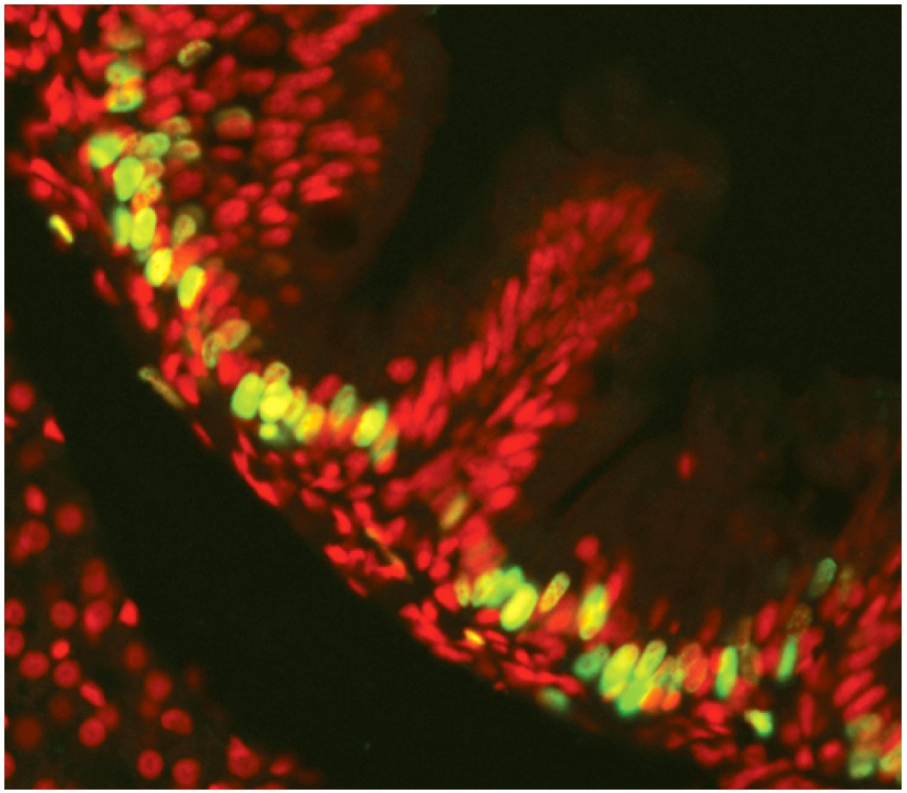
- ✧ Uso de anticorpos que reconhecem citoesqueleto
- ✧ Uso de agentes que marcam DNA (para visualizar mitose)



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)

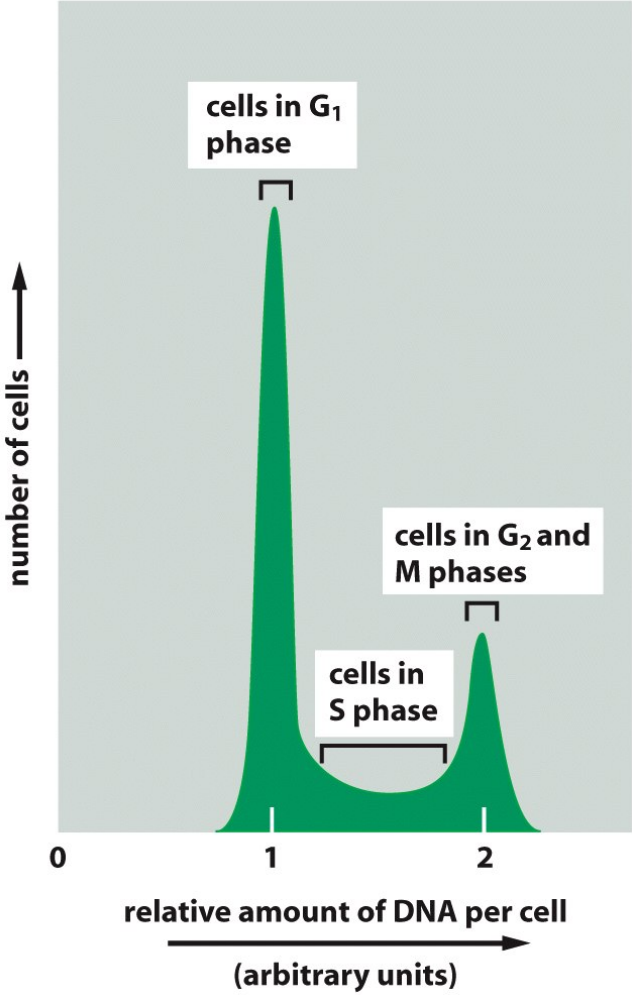


Anti-BrdU: verde
Células: vermelho

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