

# 18

## O ciclo de divisão celular

“Onde surge uma célula, existia uma célula anteriormente, assim como os animais só podem surgir de animais, e as plantas, de plantas”. Essa afirmação que aparece em um livro escrito pelo patologista alemão Rudolf Virchow em 1858 carrega consigo uma mensagem profunda para a continuidade da vida. Se cada célula se origina a partir de uma célula anterior, todos os organismos vivos – desde bactérias unicelulares a mamíferos multicelulares – são produtos de repetidos ciclos de crescimento e divisão celular que ocorrem desde o início da vida há mais de 3 bilhões de anos.

Uma célula se reproduz realizando uma sequência ordenada de eventos nos quais ela duplica seu conteúdo e então se divide em duas. Esse ciclo de duplicação e divisão, conhecido como **ciclo celular**, é o principal mecanismo pelo qual todos os seres vivos se reproduzem. Os detalhes do ciclo celular variam de organismo para organismo e ocorrem em diferentes momentos na vida de um determinado organismo. Nos organismos unicelulares, como bactérias e leveduras, cada divisão celular produz um organismo novo completo, ao passo que vários ciclos de divisão celular são necessários para produzir um novo organismo multicelular a partir de um óvulo fertilizado. Entretanto, certas características do ciclo celular são universais, uma vez que permitem que cada célula realize a tarefa fundamental de copiar e passar sua informação genética para a próxima geração de células.

Para explicar como as células se reproduzem, devemos considerar três questões principais: (1) Como as células duplicam seu conteúdo – incluindo os cromossomos, que carregam a informação genética? (2) Como elas repartem o conteúdo duplicado e se separam em duas? (3) Como elas coordenam todas as etapas e a maquinaria necessária para esses dois processos? O primeiro problema é discutido em outros capítulos deste livro: no Capítulo 6, discutimos como o DNA é replicado, e nos Capítulos 7, 11, 15 e 17, descrevemos como a célula eucariótica produz outros componentes, como as proteínas, as membranas, as organelas e os filamentos do citoesqueleto. Neste capítulo, lidamos com a segunda e a terceira questões: como uma célula eucariótica distribui – ou *segrega* – seu conteúdo duplicado para produzir duas células-filhas geneticamente idênticas, e como ela coordena as várias etapas desse ciclo reprodutivo.

Começamos com uma visão geral sobre os eventos que ocorrem durante o ciclo celular típico. Então, descrevemos o complexo sistema de proteínas reguladoras, chamado de *sistema de controle do ciclo celular*, que ordena e coordena esses eventos para assegurar que ocorram na sequência correta. Depois, discutimos em mais detalhes os principais estágios do ciclo celular, nos quais os cromossomos são duplicados e então segregados para as duas células-filhas. No final do capítulo, consideramos como os animais utilizam sinais extracelulares para controlar a sobrevivência, o crescimento e a divisão de suas células. Esses

### VISÃO GERAL DO CICLO CELULAR

### O SISTEMA DE CONTROLE DO CICLO CELULAR

### FASE G<sub>1</sub>

### FASE S

### FASE M

### MITOSE

### CITOCINESE

### CONTROLE DO NÚMERO E DO TAMANHO DAS CÉLULAS

#### QUESTÃO 18-1

Considere a seguinte afirmação: “Todas as células de hoje se originaram de uma série ininterrupta de divisões celulares, desde a primeira divisão celular”. Isso é rigorosamente verdadeiro?

sistemas de sinalização permitem ao animal regular o tamanho e o número de suas células – e, por fim, o tamanho e a forma do próprio organismo.

## VISÃO GERAL DO CICLO CELULAR

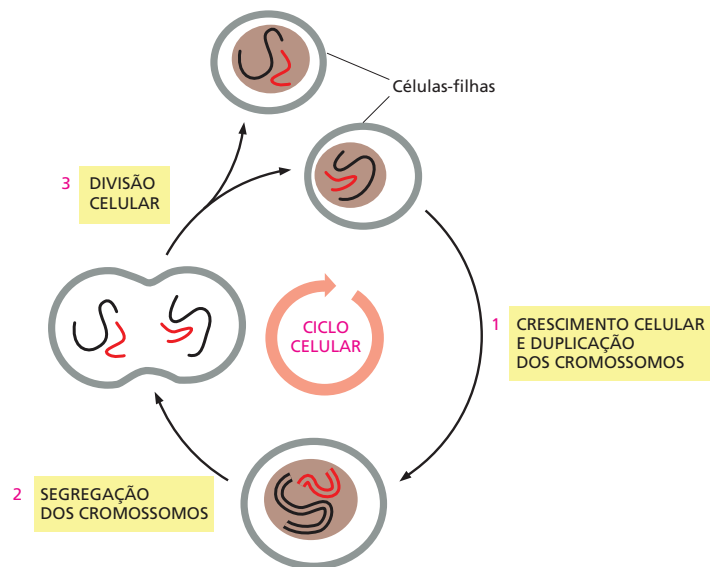
A função mais básica do ciclo celular é duplicar de maneira acurada a grande quantidade de DNA nos cromossomos e então segregar o DNA para as células-filhas geneticamente idênticas, de modo que cada célula receba uma cópia completa de todo o genoma (**Figura 18-1**). Na maioria dos casos, a célula também duplica suas outras macromoléculas e organelas e duplica seu tamanho antes de se dividir; caso contrário, a cada vez que a célula se dividisse ela ficaria cada vez menor. Assim, para manter o seu tamanho, as células em divisão coordenam o seu crescimento com a sua divisão. Retornamos a esse tópico sobre o controle do tamanho celular adiante no capítulo; aqui, nosso enfoque é a divisão celular.

A duração do ciclo celular varia muito de um tipo de célula para outro. Em um embrião jovem de rã, as células se dividem a cada 30 minutos, enquanto um fibroblasto de mamífero em cultura se divide em torno de uma vez ao dia (**Tabela 18-1**). Nesta seção, descrevemos brevemente a sequência de eventos que acontecem em células de mamíferos em divisão bastante rápida (proliferação). Fazemos uma introdução ao sistema de controle do ciclo celular que assegura que os vários eventos do ciclo ocorram na sequência e no momento corretos.

## O ciclo celular eucariótico normalmente inclui quatro fases

Visto sob um microscópio, os dois eventos mais marcantes no ciclo celular são quando o núcleo se divide, um processo chamado de *mitose*, e quando a célula se divide em duas, um processo chamado de *citocinese*. Esses dois processos juntos constituem a **fase M** do ciclo. Em uma célula de mamífero típica, toda a fase M dura cerca de uma hora, que é apenas uma pequena fração do tempo total do ciclo celular (ver Tabela 18-1).

O período entre uma fase M e a próxima fase é chamado de **interfase**. Sob o microscópio, parece, ilusoriamente, um intervalo sem ocorrências especiais durante o qual a célula simplesmente aumenta em tamanho. Entretanto, a interfase é um momento muito atarefado para uma célula proliferativa e compreende as



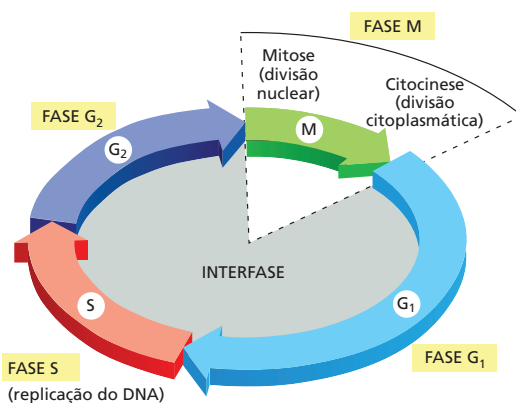
**Figura 18-1** As células se reproduzem pela duplicação do seu conteúdo e pela divisão em duas, um processo chamado de ciclo celular. Para simplificar, usamos uma célula eucariótica hipotética – cada uma com apenas uma cópia de dois cromossomos diferentes – para ilustrar como cada ciclo celular produz duas células-filhas geneticamente idênticas. Cada célula-filha pode se dividir mais uma vez ao passar por outro ciclo celular, e assim por diante, de geração em geração.

TABELA 18-1 Tempo de duração de ciclos celulares de alguns eucariotos

Tipo celular	Duração do ciclo celular
Células jovens de embrião de rã	30 minutos
Células de leveduras	1,5 hora
Células epiteliais do intestino de mamíferos	~12 horas
Fibroblastos de mamíferos em cultura	~20 horas

três fases restantes do ciclo celular. Durante a **fase S** (S = síntese), a célula replica seu DNA. A fase S é precedida e sucedida por duas fases de intervalo –  $G_1$  e  $G_2$  (do inglês *gap*) – durante as quais a célula continua a crescer (Figura 18-2). Durante as fases de intervalo, a célula monitora tanto seu estado interno como o meio externo. Esse monitoramento assegura que as condições estejam adequadas para reprodução e que os preparativos estejam completos antes de a célula se comprometer com a principal revolução da fase S (após  $G_1$ ) e a mitose (depois de  $G_2$ ). Em determinados pontos em  $G_1$  e  $G_2$ , a célula decide se vai prosseguir para a próxima fase ou interromper o processo para permitir mais tempo para se preparar.

Durante toda a interfase, uma célula em geral continua a transcrever genes, sintetizar proteínas e aumentar a massa. Junto com a fase S,  $G_1$  e  $G_2$  fornecem o tempo necessário para a célula crescer e duplicar suas organelas citoplasmáticas. Se a interfase durasse apenas o tempo suficiente para a replicação do DNA, a célula não teria tempo para duplicar sua massa antes de se dividir e consequentemente iria encolher a cada divisão celular. Em algumas circunstâncias especiais, é isso que ocorre. Por exemplo, em um embrião jovem de rã, as primeiras divisões celulares após a fertilização (chamadas de *divisões por clivagem*) servem para subdividir o óvulo gigante em várias células menores, o mais rapidamente possível (ver Tabela 18-1). Nesses ciclos celulares, as fases  $G_1$  e  $G_2$  são encurtadas drasticamente, e as células não crescem antes de se dividir.

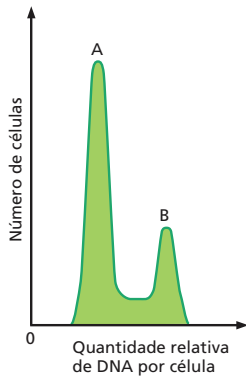


**Figura 18-2** O ciclo celular eucariótico costuma ocorrer em quatro fases.

A célula cresce continuamente na interfase, que consiste em três fases:  $G_1$ , S e  $G_2$ . A replicação do DNA está limitada à fase S.  $G_1$  é o intervalo entre a fase M e a fase S, e  $G_2$  é o intervalo entre a fase S e a fase M. Durante a fase M, o núcleo se divide em um processo denominado mitose; então o citoplasma se divide, em um processo chamado de citocinese. Nesta figura – e em figuras subsequentes no capítulo –, os comprimentos das várias fases não estão desenhados em escala: a fase M, por exemplo, em geral é muito mais curta e  $G_1$  é muito mais longa do que o mostrado.

**QUESTÃO 18-2**

Uma população de células em proliferação é corada com um agente corante que se torna fluorescente quando o agente se liga ao DNA, de modo que a quantidade de fluorescência é diretamente proporcional à quantidade de DNA em cada célula. Para medir a quantidade de DNA em cada célula, as células são passadas por um citômetro de fluxo, um instrumento que mede a quantidade de fluorescência em células individuais. O número de células com um dado conteúdo de DNA é colocado no gráfico a seguir.



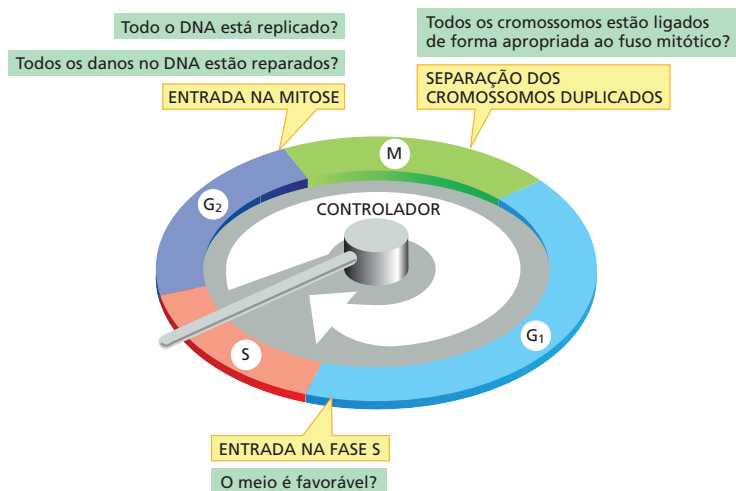
Indique no gráfico onde você esperaria encontrar células que estão em G<sub>1</sub>, S, G<sub>2</sub> e mitose. Qual é a fase mais longa do ciclo celular nessa população de células?

**Um sistema de controle do ciclo celular aciona os principais processos do ciclo celular**

Para assegurar que replicarão todo o seu DNA e organelas e se dividirão de maneira ordenada, as células eucarióticas possuem uma rede complexa de proteínas reguladoras conhecidas como *sistema de controle do ciclo celular*. Esse sistema garante que os eventos do ciclo celular – replicação do DNA, mitose e assim por diante – ocorram na sequência estabelecida e que cada processo tenha sido completado antes que o próximo se inicie. Para realizar isso, o próprio sistema de controle é regulado em determinados pontos críticos do ciclo mediante retroalimentação a partir dos processos que estão sendo realizados. Sem essa retroalimentação, uma interrupção ou um atraso em qualquer dos processos poderia ser desastroso. Todo o DNA nuclear, por exemplo, deve ser replicado antes que o núcleo comece a se dividir, ou seja, uma fase S completa deve preceder à fase M. Se a síntese de DNA é desacelerada ou interrompida, a mitose e a divisão celular também devem ser atrasadas. De maneira semelhante, se o DNA é danificado, o ciclo deve interromper em G<sub>1</sub>, S ou G<sub>2</sub>, de modo que a célula possa reparar o dano antes que a replicação do DNA tenha sido iniciada ou completada, ou antes que a célula entre na fase M. O sistema de controle do ciclo celular consegue tudo isso empregando mecanismos moleculares, muitas vezes chamados de *pontos de verificação*, para pausar o ciclo em determinados pontos de transição. Assim, o sistema de controle não aciona a próxima etapa no ciclo, a não ser que a célula esteja preparada adequadamente.

O sistema de controle do ciclo celular regula a progressão pelo ciclo celular em três pontos principais (**Figura 18-3**). Na transição de G<sub>1</sub> para a fase S, o sistema de controle confirma que o meio é favorável para a proliferação antes de prosseguir para a replicação do DNA. A proliferação celular em animais requer tanto nutrientes suficientes quanto moléculas-sinal específicas no meio extracelular; caso tais condições extracelulares sejam desfavoráveis, as células podem atrasar seu progresso por G<sub>1</sub> e até mesmo entrar em um estado especializado de repouso conhecido como G<sub>0</sub> (G zero). Na transição de G<sub>2</sub> para a fase M, o sistema de controle confirma que o DNA não apresenta danos e está totalmente replicado, assegurando que a célula não entre em mitose, a menos que o seu DNA esteja intacto. Por fim, durante a mitose, a maquinaria de controle do ciclo celular assegura que os cromossomos duplicados estão adequadamente ligados a uma máquina citoesquelética, chamada de *fuso mitótico*, antes que o fuso separe os cromossomos e os segregue para as duas células-filhas.

**Figura 18-3** O sistema de controle do ciclo celular assegura que processos-chave no ciclo ocorram na sequência apropriada. O sistema de controle do ciclo celular é mostrado como um braço controlador que gira no sentido horário, acionando processos essenciais quando alcança determinados pontos de transição no disco externo. Esses processos incluem a replicação do DNA na fase S e a segregação dos cromossomos duplicados na mitose. O sistema de controle pode interromper temporariamente o ciclo em pontos de transição específicos – em G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub> e fase M – caso as condições extracelulares e intracelulares sejam desfavoráveis.



Nos animais, a transição de  $G_1$  para a fase S é especialmente importante como um ponto no ciclo celular onde o sistema de controle é regulado. Sinais oriundos de outras células estimulam a proliferação celular quando mais células são necessárias – e bloqueiam quando não o são. Dessa forma, o sistema de controle do ciclo celular possui um papel central na regulação do número de células nos tecidos do corpo. Caso o sistema de controle não funcione de maneira correta de modo que a divisão celular seja excessiva, pode ocorrer câncer. Discutimos adiante como os sinais extracelulares influenciam nas decisões tomadas na transição de  $G_1$  para S.

## O controle do ciclo celular é semelhante em todos os eucariotos

Algumas características do ciclo celular, incluindo o tempo necessário para completar certos eventos, variam muito de um tipo de célula para outro, mesmo dentro de um mesmo organismo. Entretanto, a organização básica do ciclo é essencialmente a mesma em todas as células eucarióticas, e todos os eucariotos parecem usar maquinarias e mecanismos de controle semelhantes para ativar e regular os eventos do ciclo celular. As proteínas do sistema de controle do ciclo celular surgiram pela primeira vez há mais de um bilhão de anos, e elas foram tão bem conservadas durante o curso da evolução que várias delas funcionam perfeitamente quando são transferidas de uma célula humana para uma de levedura (ver Como Sabemos, p. 609-610).

Por causa dessa similaridade, os biólogos podem estudar o ciclo celular e sua regulação em uma variedade de organismos, e usar os achados de todos eles para montar um esquema unificado de como o ciclo funciona. Muitas descobertas sobre o ciclo celular vieram de uma procura sistemática por mutações que inativam componentes essenciais do sistema de controle do ciclo celular nas leveduras. Da mesma forma, estudos tanto de células de mamíferos em cultivo quanto de embriões de rãs e ouriços-do-mar têm sido críticos para examinar os mecanismos moleculares fundamentais do ciclo e seu controle nos organismos multicelulares, como os humanos, por exemplo.

## O SISTEMA DE CONTROLE DO CICLO CELULAR

Dois tipos de maquinaria estão envolvidos na divisão celular: um produz os novos componentes da célula em crescimento, e o outro atrai os componentes para os seus locais corretos e os reparte apropriadamente quando a célula se divide em duas. O **sistema de controle do ciclo celular** ativa e inibe toda essa maquinaria nos momentos corretos e coordena as várias etapas do ciclo. O cerne do sistema de controle do ciclo celular é uma série de interruptores moleculares que operam em uma sequência definida e orquestram os eventos principais do ciclo, incluindo a replicação do DNA e a segregação de cromossomos duplicados. Nesta seção, revisamos os componentes proteicos do sistema de controle e discutimos como eles funcionam juntos para acionar as diferentes fases do ciclo.

## O sistema de controle do ciclo celular depende de proteínas-cinase ativadas ciclicamente chamadas de Cdks

O sistema de controle do ciclo celular regula a maquinaria do ciclo celular pela ativação e pela inibição cíclicas das proteínas-chave e dos complexos proteicos que iniciam ou regulam a replicação de DNA, mitose e citocinese. Tal regulação é realizada em grande parte pela fosforilação e desfosforilação de proteínas envolvidas nesses processos essenciais.



**Figura 18-4 A progressão pelo ciclo celular depende de proteínas-quinase dependentes de ciclinas (Cdks).** Uma Cdk deve ligar-se a uma proteína reguladora denominada ciclina antes de se tornar enzimaticamente ativa. Essa ativação também requer a ativação por fosforilação da Cdk (não mostrado, mas ver [Animação 18.1](#)). Quando ativado, o complexo ciclina-Cdk fosforila proteínas-chave na célula que são necessárias para iniciar uma determinada etapa no ciclo celular. A ciclina também ajuda a direcionar a Cdk para suas proteínas-alvo que a Cdk fosforila.

Como discutido no Capítulo 4, a fosforilação seguida de desfosforilação é uma das maneiras mais comuns utilizadas pelas células para ativar e depois inibir a atividade de uma proteína (ver Figura 4-42), e o sistema de controle do ciclo celular emprega esse mecanismo extensa e repetidamente. As reações de fosforilação que controlam o ciclo celular são realizadas por um grupo específico de proteínas-quinase, ao passo que a desfosforilação é realizada por um grupo de proteínas-fosfatase.

As proteínas-quinase essenciais ao sistema de controle do ciclo celular estão presentes nas células em proliferação durante todo o ciclo celular. Contudo, elas são ativadas apenas em momentos apropriados no ciclo, após o qual elas são rapidamente inibidas. Assim, a atividade de cada uma dessas cinases aumenta e diminui de maneira cíclica. Algumas das proteínas-quinase, por exemplo, tornam-se ativas no final da fase  $G_1$  e são responsáveis pela transição da célula para a fase S; outra cinase se torna ativa logo antes da fase M e promove o início do processo de mitose.

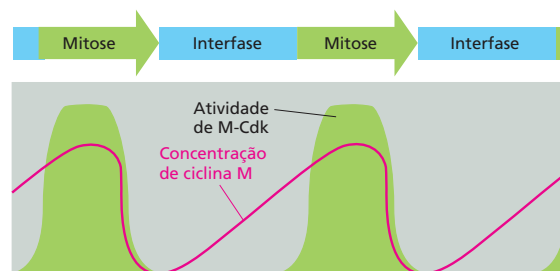
A ativação e a inibição das cinases no momento apropriado são de responsabilidade, em parte, de outro grupo de proteínas no sistema de controle – as **ciclinas**. As ciclinas não têm atividade enzimática por si mesmas, elas precisam ligar-se às cinases do ciclo celular antes que as cinases possam tornar-se enzimaticamente ativas. As cinases do sistema de controle do ciclo celular são, por isso, conhecidas como **proteínas-quinase dependentes de ciclina**, ou **Cdks** ([Figura 18-4](#)). As ciclinas são assim chamadas porque, diferentemente das Cdks, as suas concentrações variam de maneira cíclica durante o ciclo celular. As alterações cíclicas nas concentrações de ciclina ajudam a promover a formação cíclica e a ativação dos complexos ciclina-Cdk. Uma vez ativados, os complexos ciclina-Cdk desencadeiam vários eventos do ciclo celular, como a entrada na fase S ou na fase M ([Figura 18-5](#)). Discutimos como essas moléculas foram descobertas em [Como Sabemos](#), p. 609-610.

## Diferentes complexos ciclina-Cdk desencadeiam diferentes etapas do ciclo celular

Existem vários tipos de ciclinas e, na maioria dos eucariotos, diversos tipos de Cdks envolvidos no controle do ciclo celular. Diferentes complexos ciclina-Cdk promovem o início de diferentes etapas do ciclo celular. Conforme mostrado na [Figura 18-5](#), a ciclina que atua em  $G_2$  promovendo o início da fase M é chamada **ciclina M**, e o complexo ativo que ela forma com sua Cdk é chamado **M-Cdk**. Outras ciclinas, chamadas de **ciclinas S** e **ciclinas  $G_1/S$** , ligam-se a proteínas Cdk distintas no final de  $G_1$  para formar **S-Cdk** e  **$G_1/S$ -Cdk**, respectivamente; esses complexos ciclina-Cdk ajudam a progressão pela fase S. As ações de S-Cdk e M-Cdk estão indicadas na [Figura 18-8](#). Outro grupo de ciclinas, denominadas **ciclinas  $G_1$** , atua antes em  $G_1$  e se liga a outras proteínas Cdk para formar  **$G_1$ -Cdks**, que promovem a transição da célula de  $G_1$  à fase S. Observamos adiante que a formação dos complexos  $G_1$ -Cdks nas células animais em geral depende de moléculas de sinalização extracelular que estimulam as células a se dividirem. As principais ciclinas e suas Cdks estão listadas na [Tabela 18-2](#).

### Figura 18-5 O acúmulo de ciclinas ajuda a regular a atividade das Cdks.

A formação dos complexos ciclina-Cdk ativos desencadeia vários eventos do ciclo celular, incluindo a entrada na fase S ou na fase M. A figura mostra as alterações na concentração de ciclina e na atividade da proteína-quinase Cdk, responsável pelo controle da entrada na fase M. O aumento da concentração da ciclina relevante (chamada de ciclina M) ajuda a promover a formação do complexo ciclina-Cdk ativo (M-Cdk) que desencadeia o início da fase M. Embora a atividade enzimática de cada tipo de complexo ciclina-Cdk aumente e diminua durante o curso do ciclo celular, a concentração do componente Cdk não flutua (não mostrado).



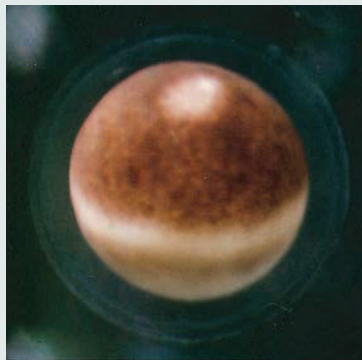
## A DESCOBERTA DAS CICLINAS E DAS CdkS

Durante vários anos, os biólogos celulares observaram o espetáculo da síntese de DNA, da mitose e da citocinese, mas não tinham ideia dos mecanismos de controle desses eventos. O sistema de controle do ciclo celular era simplesmente uma “caixa-preta” na célula. Não estava claro, até mesmo, se existia um sistema de controle separado ou se a maquinaria do ciclo celular se autocontrolava de alguma forma. Um avanço veio com a identificação das proteínas-chave do sistema de controle e a descoberta de que elas são distintas dos componentes da maquinaria do ciclo celular – as enzimas e outras proteínas que realizam os principais processos de replicação de DNA, segregação de cromossomos e assim por diante.

Os primeiros componentes do sistema de controle do ciclo celular a serem descobertos foram as ciclinas e as cinases dependentes de ciclinas (CdkS) que promovem a transição das células para a fase M. Eles foram encontrados nos estudos de divisão celular realizados em óvulos de animais.

### De volta ao óvulo

Os óvulos fertilizados de vários animais são especialmente adequados para estudos bioquímicos do ciclo celular, pois são excepcionalmente grandes e se dividem de forma rápida. Um óvulo da rã *Xenopus*, por exemplo, tem apenas 1 mm de diâmetro (Figura 18-6). Após a fertilização, ele se divide rapidamente, para partir o óvulo em várias células menores. Esses ciclos celulares rápidos consistem principalmente em fases S e M repetidas, com fases G<sub>1</sub> ou G<sub>2</sub> muito curtas, ou mesmo ausentes, entre eles. Não existe nova transcrição de genes: todas as moléculas de mRNA e a maioria das proteínas necessárias para esse estágio inicial do desenvolvimento embrionário já estão presentes no interior do óvulo muito grande durante o seu desenvolvimento, como um oócito no ovário da mãe. Nos ciclos de divisão iniciais (*divisões por clivagem*), não ocorre crescimento da célula, e todas as células do embrião se dividem em sincronia, diminuindo progressivamente a cada divisão (ver Animação 18.2).



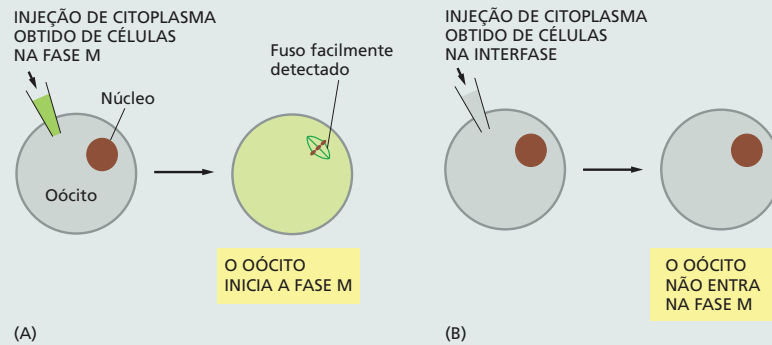
Devido à sincronia, é possível obter um extrato dos óvulos de rã que representa o estágio do ciclo celular no qual o extrato foi preparado. A atividade biológica de um extrato como esse pode então ser testada pela sua injeção em um oócito de *Xenopus* (o precursor imaturo do óvulo não fertilizado) e pela observação, microscopicamente, dos seus efeitos no comportamento do ciclo celular. O oócito de *Xenopus* é um sistema-teste especialmente conveniente para detectar uma atividade que conduza as células para a fase M, por causa do seu tamanho grande, e porque ele completou a replicação do DNA e se encontra no estágio de meiose do ciclo celular (discutido no Capítulo 19), que é equivalente à fase G<sub>2</sub> do ciclo celular mitótico.

### Dê-nos um M

Em experimentos como este, Kazuo Matsui e colegas observaram que um extrato de óvulo na fase M promove instantaneamente a transição do oócito para a fase M, ao passo que o citoplasma de um óvulo em divisão em outras fases do ciclo não o faz. Quando fizeram tal descoberta, eles não conheciam as moléculas ou o mecanismo responsável, então se referiram ao agente não identificado como fator promotor da maturação, ou MPF (do inglês, *maturation promoting factor*) (Figura 18-7). Ao testar o citoplasma de diferentes estágios do ciclo celular, Matsui e colegas observaram que a atividade de MPF oscila drasticamente durante o curso de cada ciclo celular: ela aumenta rapidamente um pouco antes do início da mitose e cai rapidamente a zero até o final da mitose (ver Figura 18-5). Essa oscilação fez do MPF um forte candidato a um componente envolvido no controle do ciclo celular.

Quando o MPF foi finalmente purificado, observou-se que ele continha uma proteína-cinase que era necessária para a sua atividade. A porção MPF da cinase não atuava sozinha. Ela necessitava de uma proteína específica (agora sabidamente uma ciclina M) ligada a ela para que funcionasse. A ciclina M foi descoberta em um tipo diferente de experimento, envolvendo óvulos de molusco.

**Figura 18-6** Um óvulo maduro de *Xenopus* fornece um sistema conveniente para estudar o ciclo celular. (Cortesia de Tony Mills.)



**Figura 18-7** A atividade de MPF foi descoberta pela injeção de citoplasma de óvulos de *Xenopus* em oócitos de *Xenopus*. (A) Um oócito de *Xenopus* é injetado com o citoplasma coletado de um óvulo de *Xenopus* na fase M. O extrato celular promove a transição do oócito para a fase M da primeira divisão meiótica (um processo chamado de maturação), causando a degradação do grande núcleo e a formação de um fuso. (B) Quando o citoplasma injetado é coletado de um óvulo em clivagem na interfase, o oócito não entra na fase M. Portanto, o extrato em (A) deve conter alguma atividade – um fator promotor da maturação (MPF) – que promova o início da fase M.

## Estudos em moluscos

Inicialmente, a ciclina M foi identificada por Tim Hunt como uma proteína cuja concentração aumentava de forma gradual durante a interfase e, então, diminuía rapidamente até zero à medida que os óvulos de moluscos em divisão passavam pela fase M (ver Figura 18-5). A proteína repetia essa atuação em cada ciclo celular. Entretanto, seu papel no controle do ciclo celular era obscuro inicialmente. A descoberta ocorreu quando se observou que a ciclina era um componente do MPF e necessária para a atividade do MPF. Assim, o MPF, que agora chamamos de M-Cdk, é um complexo proteico contendo duas subunidades – uma subunidade reguladora, a ciclina M, e uma subunidade catalítica, a Cdk mitótica. Depois que os componentes de M-Cdk foram identificados, outros tipos de ciclinas e Cdk foram isolados, cujas concentrações ou atividades, respectivamente, aumentavam e diminuía em outros estágios do ciclo celular.

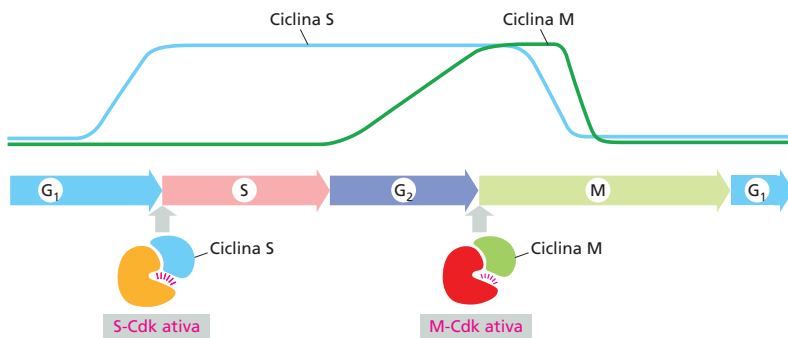
## Todos na família

Enquanto os bioquímicos estavam identificando as proteínas que regulam os ciclos celulares dos embriões de rãs e moluscos, os geneticistas de leveduras – liderados por Lee Hartwell, estudando a levedura do pão (*S. cerevisiae*), e Paul Nurse, es-

tudando as leveduras de fissão (*S. pombe*) – estavam usando uma abordagem genética para dissecar o sistema de controle do ciclo celular. Com base no estudo de mutantes que param ou que se portam mal em pontos específicos no ciclo celular, esses pesquisadores foram capazes de identificar vários genes responsáveis pelo controle do ciclo celular. Alguns desses genes codificam proteínas como ciclina ou Cdk, que são, de maneira clara, similares – tanto na sequência de aminoácidos como na função – às suas homólogas em rãs e moluscos. Genes semelhantes logo foram identificados em células humanas.

Vários dos genes de controle do ciclo celular se alteraram tão pouco durante a evolução, que a versão humana do gene funcionará perfeitamente em uma célula de levedura. Por exemplo, Nurse e colaboradores foram os primeiros a mostrar que uma levedura com uma cópia defeituosa do gene que codifica sua única Cdk não é capaz de se dividir, mas se divide normalmente se uma cópia do gene humano apropriado for introduzida artificialmente na célula defeituosa. Até mesmo Darwin ficaria atônito com uma evidência dessas, de que humanos e leveduras são primos. Apesar de bilhões de anos de evolução divergente, todas as células eucarióticas – no meio de leveduras, animais ou vegetais – usam essencialmente as mesmas moléculas para controlar os eventos do seu ciclo celular.





**Figura 18-8** Cdks distintas se associam a diferentes ciclinas para acionar os diferentes eventos do ciclo celular. Para simplificar, apenas dois tipos de complexos ciclina-Cdk são mostrados – um que desencadeia a fase S e outro que desencadeia a fase M.

Cada um desses complexos ciclina-Cdk fosforila um grupo diferente de proteínas-alvo na célula.  $G_1$ -Cdks, por exemplo, fosforilam proteínas reguladoras que ativam a transcrição de genes necessários para a replicação do DNA. Por meio da ativação de diferentes conjuntos de proteínas-alvo, cada tipo de complexo promove o início de uma etapa de transição diferente no ciclo.

## As concentrações de ciclina são reguladas pela transcrição e pela proteólise

Como discutido no Capítulo 7, a concentração de uma dada proteína na célula é determinada pela taxa na qual a proteína é sintetizada e pela taxa na qual ela é degradada. Durante o curso do ciclo celular, a concentração de cada tipo de ciclina aumenta gradualmente e então decai de maneira abrupta (ver Figura 18-8). O aumento gradual na concentração de ciclina é o resultado da transcrição aumentada dos genes de ciclina, enquanto o decaimento rápido na concentração de ciclina se deve à degradação específica da proteína.

A degradação abrupta das ciclinas M e S durante a fase M depende de um grande complexo enzimático denominado – por motivos que se tornarão claros adiante – **complexo promotor de anáfase (APC)**, do inglês *anaphase-promoting complex*). Esse complexo marca essas ciclinas com uma cadeia de ubiquitina. Conforme discutido no Capítulo 7, as proteínas marcadas dessa forma são direcionadas aos proteassomos, onde são rapidamente degradadas (ver Figura 7-40). A ubiquitinação e a degradação da ciclina alteram a Cdk ao seu estado inativo (Figura 18-9).

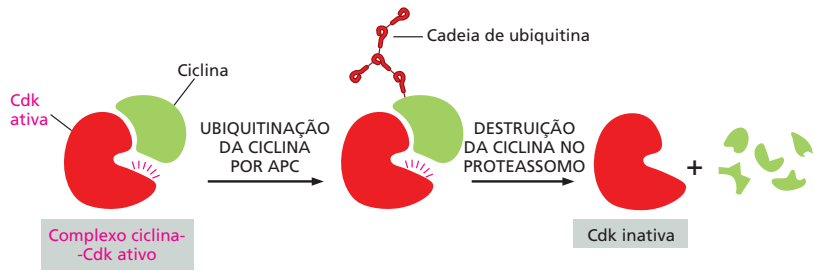
A degradação da ciclina pode ajudar a promover a transição de uma fase do ciclo celular para a próxima. Por exemplo, a degradação da ciclina M e a inativação resultante da M-Cdk levam aos eventos moleculares que finalizam o processo de mitose.

**TABELA 18-2** As principais ciclinas e Cdks de vertebrados

Complexo ciclina-Cdk	Ciclina	Componente Cdk
$G_1$ -Cdk	Ciclina D*	Cdk4, Cdk6
$G_1/S$ -Cdk	Ciclina E	Cdk2
S-Cdk	Ciclina A	Cdk2
M-Cdk	Ciclina B	Cdk1

\*Existem três ciclinas D em mamíferos (ciclinas D1, D2 e D3).

**Figura 18-9** A atividade de algumas Cdk's é regulada pela degradação da ciclina. A ubiquitinação da ciclina S ou ciclina M pelo APC marca a proteína para degradação nos proteassomos (como discutido no Capítulo 7). A perda de ciclina torna inativa sua Cdk parceira.



## A atividade dos complexos ciclina-Cdk depende de fosforilação e desfosforilação

O aumento e a diminuição da concentração de proteínas ciclina têm um papel importante na regulação da atividade de Cdk durante o ciclo celular, mas deve haver mais nessa história: embora as concentrações de ciclina aumentem de forma gradual, a atividade dos complexos ciclina-Cdk associados tende a ser iniciada abruptamente no momento apropriado do ciclo celular (ver Figura 18-5). O que poderia acionar tal ativação abrupta desses complexos? Descobriu-se que o complexo ciclina-Cdk contém fosfatos inibidores, e que, para se tornar ativa, a Cdk deve ser desfosforilada por uma proteína-fosfatase específica (Figura 18-10). Portanto, as proteínas-quinase e as fosfatases regulam a atividade de complexos ciclina-Cdk específicos e ajudam a controlar a progressão pelo ciclo celular.

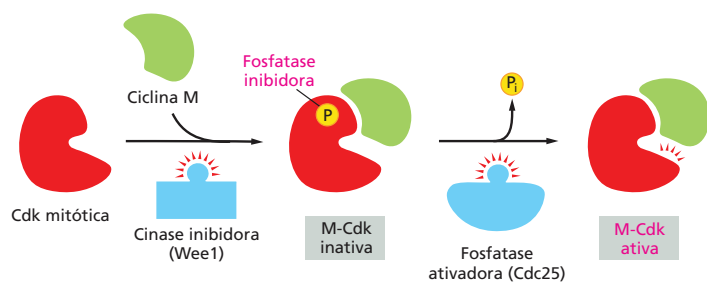
## A atividade de Cdk pode ser bloqueada por proteínas inibidoras de Cdk

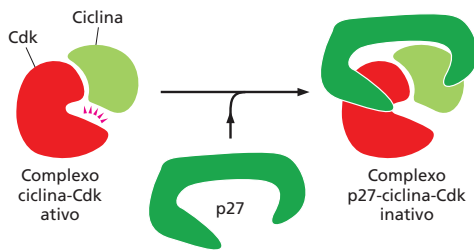
Além da fosforilação e da desfosforilação, a atividade das Cdk's também pode ser modulada pela ligação de **proteínas inibidoras de Cdk**. O sistema de controle do ciclo celular utiliza esses inibidores para bloquear a formação ou a atividade de certos complexos ciclina-Cdk. Algumas proteínas inibidoras de Cdk, por exemplo, ajudam a manter as Cdk's em um estado inativo durante a fase  $G_1$  do ciclo, retardando, assim, a progressão para a fase S (Figura 18-11). A pausa nesse ponto de verificação dá à célula mais tempo para crescer, ou permite que ela espere até que as condições extracelulares sejam favoráveis para a divisão.

## O sistema de controle do ciclo celular pode pausar o ciclo de várias formas

Como mencionado antes, o sistema de controle do ciclo celular pode atrasar transitoriamente o progresso pelo ciclo em vários pontos de transição para assegurar que os principais eventos do ciclo ocorram em uma ordem específica. Nessas transições, o sistema de controle monitora o estado interno da célula e as condições no seu ambiente, antes de permitir que a célula inicie a próxima etapa

**Figura 18-10** Para que o complexo M-Cdk seja ativo, os fosfatos inibidores devem ser removidos. Logo que o complexo ciclina M-Cdk é formado, ele é fosforilado em dois locais adjacentes por uma proteína-quinase inibidora chamada Wee1. (Para simplificar, apenas um fosfato inibidor é mostrado). Essa modificação mantém M-Cdk em um estado inativo até que esses fosfatos sejam removidos por uma proteína-fosfatase ativadora chamada Cdc25. Ainda não está claro como o momento crítico da etapa de ativação da fosfatase Cdc25, mostrado aqui, é controlado.





**Figura 18-11** A atividade de uma Cdk pode ser bloqueada pela ligação de uma inibidora de Cdk. Neste exemplo, a proteína inibidora (chamada p27) se liga a um complexo ciclina-Cdk ativado. A sua ligação impede que a Cdk fosforile proteínas-alvo necessárias para a progressão de  $G_1$  para a fase S.

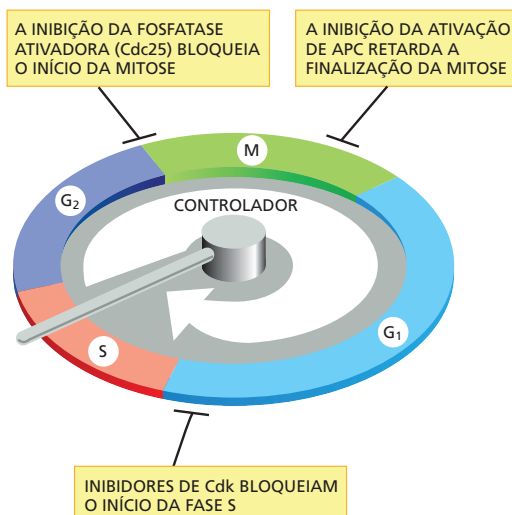
do ciclo. Por exemplo, ele somente permite o início da fase S se as condições do meio forem apropriadas; somente inicia a mitose depois que o DNA foi completamente replicado; e somente inicia a segregação dos cromossomos depois que os cromossomos duplicados estiverem corretamente alinhados no fuso mitótico.

Para realizar essa verificação, o sistema de controle utiliza uma combinação dos mecanismos que descrevemos. Na transição  $G_1$ -para-S, inibidores de Cdk são usados para impedir que as células entrem na fase S e repliquem seu DNA (ver Figura 18-11). Na transição  $G_2$ -para-M, o sistema reprime a ativação de M-Cdk por meio da inibição de fosfatases necessárias para ativar a Cdk (ver Figura 18-10). E ele pode atrasar a finalização da mitose pela inibição da ativação de APC, evitando assim a degradação da ciclina M (ver Figura 18-9).

Esses mecanismos, resumidos na **Figura 18-12**, permitem que a célula tome “decisões” sobre progredir ou não no ciclo celular. Na próxima seção, analisamos em mais detalhes como o sistema de controle do ciclo celular decide se uma célula em  $G_1$  deve se comprometer com o processo de divisão celular.

## FASE $G_1$

Além de ser um período de elevada atividade metabólica, crescimento celular e reparo,  $G_1$  é um ponto importante de tomada de decisões para a célula. Com base nos sinais intracelulares que fornecem informação sobre o tamanho da célula, e nos sinais extracelulares que refletem o meio, a maquinaria de controle do ciclo celular pode pausar a célula de forma transitória em  $G_1$  (ou em um estado não proliferativo prolongado,  $G_0$ ), ou permitir que ela se prepare para entrar na fase S de outro ciclo celular. Uma vez passada essa transição crítica  $G_1$ -para-S, a célula costuma prosseguir por todo o resto do ciclo celular rapidamente – em geral dentro de 12 a 24 horas nos mamíferos. Portanto, nas leveduras, a transição  $G_1$ -para-S às vezes é chamada de *Start* (Início), pois a passagem por ela representa um comprometimento para completar um ciclo celular inteiro (**Figura 18-13**).



**Figura 18-12** O sistema de controle do ciclo celular utiliza vários mecanismos para pausar o ciclo em pontos específicos.



**Figura 18-13** A transição de  $G_1$  para a fase S oferece à célula uma encruzilhada. A célula pode prosseguir para completar outro ciclo celular, pausar temporariamente até que as condições estejam adequadas ou interromper o ciclo celular – temporariamente em  $G_0$ , ou permanentemente no caso de células terminalmente diferenciadas.

### QUESTÃO 18-3

Por que você acha que as células desenvolveram uma fase especial  $G_0$  para sair do ciclo celular, em vez de apenas parar em  $G_1$  e não iniciar para a fase S?

Nesta seção, consideramos como o sistema de controle do ciclo celular decide entre essas opções – e o que ele faz uma vez que a decisão foi tomada. Os mecanismos moleculares envolvidos são especialmente importantes, já que defeitos podem levar à proliferação celular não controlada e câncer.

## Cdks são inativadas de forma estável em $G_1$

Durante a fase M, quando as células estão se dividindo ativamente, a célula está repleta de complexos ciclina-Cdk ativos. Se S-Cdks e M-Cdks não forem desativados no final da fase M, a célula imediatamente replicará seu DNA e iniciará outro ciclo de divisão, sem perder qualquer tempo significativo nas fases  $G_1$  ou  $G_2$ . Essa rápida passagem pelo ciclo costuma ser observada em alguns embriões jovens, onde as células diminuem de tamanho a cada divisão celular, tendo pouco tempo para crescer nos intervalos.

Para conduzir a célula a partir da agitação da fase M para a tranquilidade relativa de  $G_1$ , a maquinaria de controle do ciclo celular deve inativar seu inventário de S-Cdk e M-Cdk. Isso ocorre pela eliminação de todas as ciclinas existentes, pelo bloqueio da síntese de novas ciclinas e pela atividade de proteínas inibidoras de Cdk para inibir a atividade de qualquer complexo ciclina-Cdk remanescente. O uso de mecanismos múltiplos torna esse sistema de repressão robusto, assegurando que essencialmente toda atividade de Cdk seja suprimida. Tal inativação maciça reajusta o sistema de controle do ciclo celular e gera uma fase  $G_1$  estável, durante a qual a célula pode crescer e monitorar seu meio antes de se comprometer com um novo ciclo de divisão.

## Os mitógenos promovem a produção de ciclinas que estimulam a divisão celular

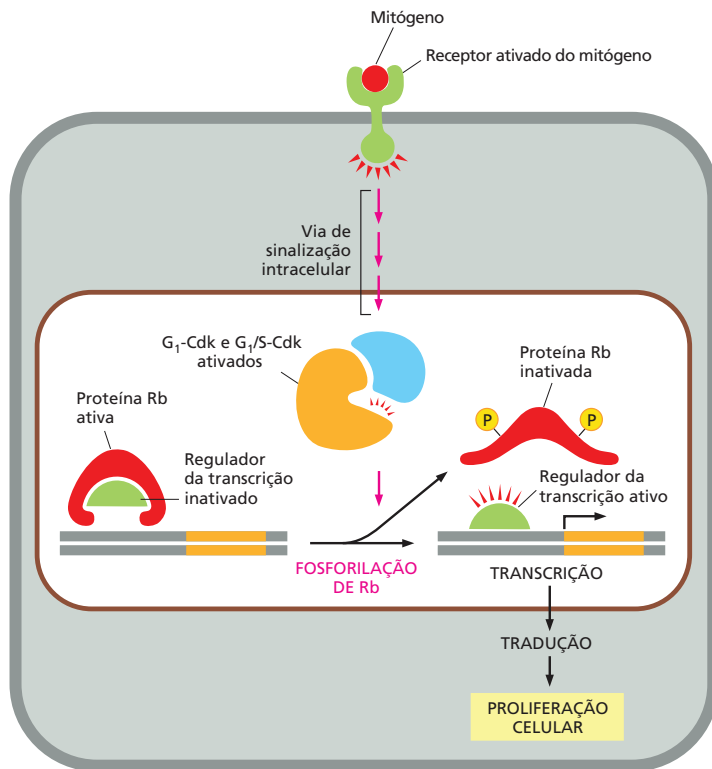
Como regra, as células de mamíferos apenas irão se multiplicar se forem estimuladas por sinais extracelulares, chamados de *mitógenos*, produzidos por outras células. Se privadas de tais sinais, o ciclo celular permanece em  $G_1$ ; se a célula é privada de mitógenos por tempo suficiente, ela interrompe o ciclo celular e entrará em um estado não proliferativo, no qual a célula pode permanecer por dias ou semanas, meses ou mesmo pelo tempo de vida do organismo, como descrevemos em breve.

A reversão da interrupção do ciclo celular – ou de certos estados não proliferativos – exige o acúmulo de ciclinas. Os mitógenos agem ativando vias de sinalização celular que estimulam a síntese de ciclinas  $G_1$ , ciclinas  $G_1/S$  e outras proteínas envolvidas na síntese de DNA e duplicação dos cromossomos. O acúmulo dessas ciclinas aciona uma onda de atividade de  $G_1/S$ -Cdk, que por fim remove os controles negativos que, caso contrário, bloqueiam a progressão de  $G_1$  para a fase S.

Um controle negativo crucial é mediado pela *proteína Retinoblastoma (Rb)*. Rb foi primeiramente identificada a partir de estudos de um raro tumor ocular da infância denominado retinoblastoma, no qual a proteína Rb está ausente ou é defeituosa. Rb é abundante no núcleo de todas as células de vertebrados, onde se liga a determinados reguladores de transcrição, impedindo que ativem os genes necessários para a proliferação celular. Os mitógenos revertem a inibição mediada por Rb, acionando a ativação de  $G_1$ -Cdks e  $G_1/S$ -Cdks. Esses complexos fosforilam a proteína Rb, alterando a sua conformação de modo que ela se dissocie dos reguladores da transcrição, que então estão livres para ativar os genes necessários para a proliferação celular (**Figura 18-14**).

## O dano ao DNA pode pausar temporariamente a progressão por $G_1$

O sistema de controle do ciclo celular utiliza vários mecanismos distintos para pausar o progresso pelo ciclo celular caso o DNA esteja danificado. Isso pode ocorrer em vários pontos de transição de uma fase do ciclo celular para a próxi-



**Figura 18-14** Um modo pelo qual os mitógenos estimulam a proliferação celular é mediante inibição da proteína Rb.

Na ausência dos mitógenos, a proteína Rb desfosforilada mantém reguladores específicos da transcrição em um estado inativo; esses reguladores da transcrição são necessários para estimular a transcrição de genes-alvo que codificam proteínas necessárias à proliferação celular. A ligação dos mitógenos a receptores da superfície celular ativa as vias de sinalização intracelular que levam à formação e ativação dos complexos G<sub>1</sub>-Cdk e G<sub>1</sub>/S-Cdk. Esses complexos fosforilam, e assim inativam, a proteína Rb, liberando os reguladores de transcrição que ativam a transcrição de genes necessários à proliferação celular.

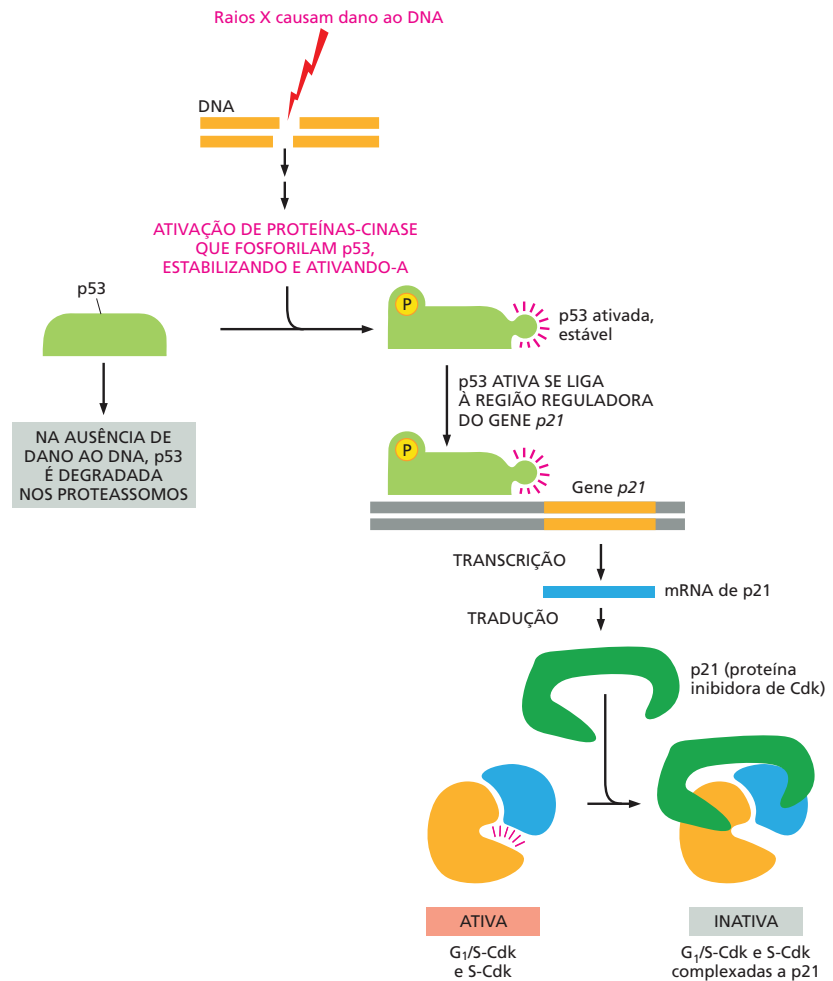
ma. O mecanismo que opera na transição G<sub>1</sub>-para-S, que impede que a célula replique o DNA danificado, é especialmente bem compreendido. Os danos ao DNA em G<sub>1</sub> causam um aumento tanto na concentração como na atividade de uma proteína, chamada de p53, um regulador da transcrição que ativa a transcrição de um gene que codifica uma proteína inibidora de Cdk chamada de p21. A proteína p21 se liga aos complexos G<sub>1</sub>/S-Cdk e S-Cdk, impedindo que eles conduzam a célula para a fase S (Figura 18-15). O aprisionamento do ciclo celular em G<sub>1</sub> permite que a célula tenha tempo para reparar o DNA danificado antes de replicá-lo. Se o dano ao DNA for muito severo para ser reparado, p53 pode induzir a célula a iniciar o processo de morte celular programada, chamado de *apoptose*, que discutimos adiante. Caso p53 não esteja presente ou esteja defeituosa, a replicação do DNA danificado conduz a uma alta taxa de mutações e à produção de células que tendem a se tornar cancerosas. Mutações no gene p53 são encontradas em cerca da metade de todos os cânceres humanos (Animação 18.3).

## As células podem retardar a divisão por períodos prolongados, entrando em estados especializados de não divisão

Como mencionado anteriormente, as células podem retardar a progressão do ciclo celular em pontos específicos de transição, para esperar por condições adequadas ou para reparar DNA danificado. Elas também podem interromper o ciclo celular por períodos prolongados – de maneira temporária ou permanentemente.

A decisão mais radical que um sistema de controle do ciclo celular pode tomar é interromper o ciclo celular permanentemente. Tal decisão tem especial importância em organismos multicelulares. Muitas células no corpo humano param de se dividir permanentemente quando se diferenciam. Nessas células com *diferenciação terminal*, como células nervosas ou musculares, o sistema de controle do ciclo celular é totalmente desmantelado, e os genes que codificam ciclinas e Cdk's relevantes são inativados de modo irreversível.

**Figura 18-15 O dano ao DNA pode interromper o ciclo celular em  $G_1$ .** Quando o DNA é danificado, proteínas-quinase específicas respondem ativando a proteína p53 e impedindo a sua rápida degradação. Desse modo, a proteína p53 ativada se acumula e estimula a transcrição do gene que codifica a proteína p21 inibidora de Cdk. A proteína p21 se liga a  $G_1/S$ -Cdk e a S-Cdk e os inativa, de forma que o ciclo celular é interrompido em  $G_1$ .



#### QUESTÃO 18-4

Quais podem ser as consequências caso uma célula replique seu DNA danificado antes de repará-lo?

Na ausência de sinais apropriados, outros tipos celulares interrompem o do ciclo celular apenas temporariamente, entrando em um estado de repouso chamado  $G_0$ . Eles mantêm a capacidade de reativar rapidamente o controle do ciclo celular e se dividir outra vez. A maioria das células hepáticas, por exemplo, está em  $G_0$ , mas pode ser estimulada para proliferar se o fígado sofrer algum dano.

A maior parte da diversidade nas taxas de divisão celular no corpo adulto depende da variação no tempo que a célula permanece em  $G_0$  ou em  $G_1$ . Alguns tipos de células, incluindo as hepáticas, em geral se dividem apenas uma ou duas vezes por ano, enquanto certas células epiteliais no intestino se dividem mais do que duas vezes por dia para renovar o revestimento do intestino continuamente. Muitas das nossas células estão entre esses dois pontos: elas podem se dividir caso surja a necessidade, mas isso em geral não é frequente.

## FASE S

Antes que a célula se divida, ela deve replicar seu DNA. Como discutimos no Capítulo 6, essa replicação deve ocorrer com extrema acuidade para minimizar o risco de mutações na próxima geração de células. De igual importância, cada nucleotídeo no genoma deve ser copiado uma vez – e somente uma vez – para evitar os efeitos danosos da multiplicação gênica. Nesta seção, consideramos os elegantes mecanismos moleculares pelos quais o sistema de controle do ciclo celular inicia a replicação do DNA e, ao mesmo tempo, impede que a replicação ocorra mais de uma vez por ciclo celular.

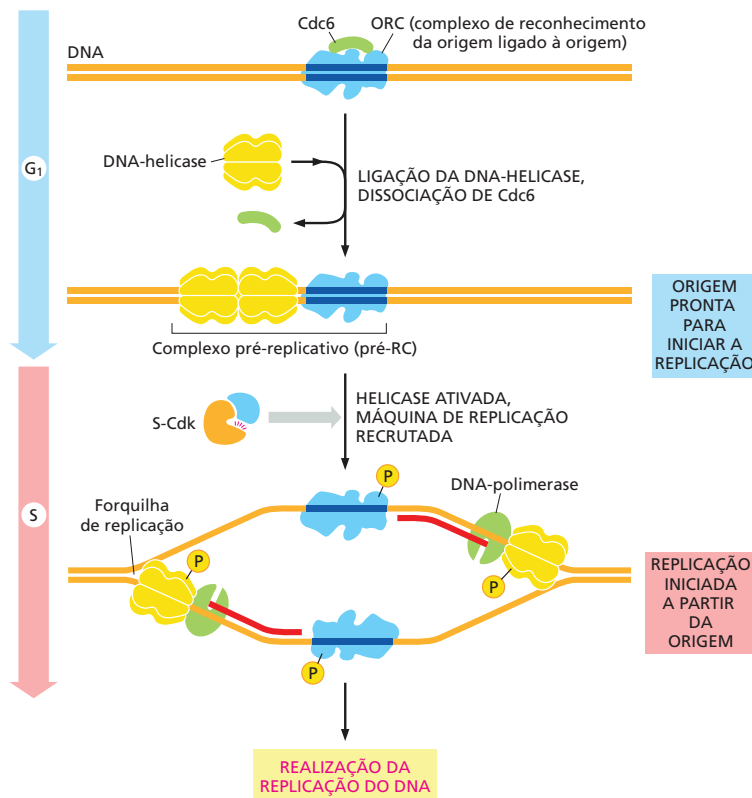
## S-Cdk inicia a replicação do DNA e impede a repetição do processo

Como qualquer tarefa monumental, a configuração dos cromossomos para replicação requer certa preparação. Para as células eucarióticas, essa preparação inicia-se cedo em  $G_1$ , quando o DNA é preparado para a replicação por meio do recrutamento de proteínas para os locais ao longo de cada cromossomo onde a replicação terá início. Essas sequências nucleotídicas, chamadas de *origens de replicação*, servem como locais de ligação para as proteínas e os complexos proteicos que controlam e realizam a síntese de DNA.

Um desses complexos proteicos, chamado de *complexo de reconhecimento da origem* (ORC, do inglês *origin recognition complex*), permanece ligado às origens de replicação durante todo o ciclo celular. Na primeira etapa do início da replicação, ORC recruta uma proteína denominada Cdc6, cuja concentração aumenta nas etapas iniciais de  $G_1$ . Juntas, essas proteínas ligam as DNA-helicases que abrirão a dupla-hélice e preparam a origem de replicação. Uma vez que este *complexo pré-replicativo* esteja no lugar, a origem de replicação está pronta para iniciar o processo.

O sinal para iniciar a replicação vem a partir de S-Cdk, o complexo ciclina-Cdk que ativa a fase S. O complexo S-Cdk é formado e ativado no final de  $G_1$ . Durante a fase S, ele ativa as DNA-helicases no complexo pré-replicativo e promove a associação do restante das proteínas que formam a *forquilha de replicação* (ver Figura 6-19). Dessa forma, S-Cdk essencialmente ativa o início da replicação do DNA (Figura 18-16).

O complexo S-Cdk não apenas desencadeia o início da síntese de DNA na origem de replicação; ele também ajuda a impedir a repetição desse processo. Isso é feito pela fosforilação de Cdc6, o que marca esta proteína para a degra-



**Figura 18-16 O início da replicação do DNA ocorre em duas etapas.** Durante  $G_1$ , Cdc6 se liga ao ORC, e juntas essas proteínas ligam um par de DNA-helicases para formar um complexo pré-replicativo. No início da fase S, S-Cdk desencadeia o início da replicação a partir da origem de replicação pronta, promovendo a formação do complexo da DNA-polimerase (verde) e a ligação de outras proteínas (não mostrado) que iniciam a síntese de DNA na forquilha de replicação (discutido no Capítulo 6). O complexo S-Cdk também bloqueia a repetição desse processo, pela fosforilação de Cdc6, o que marca essa proteína para degradação (não mostrado).

dação. A eliminação de Cdc6 ajuda a assegurar que a replicação do DNA não possa iniciar novamente durante o mesmo ciclo celular.

## A replicação incompleta pode pausar o ciclo celular em $G_2$

Na seção anterior, descrevemos como o dano ao DNA sinaliza ao sistema de controle do ciclo celular para atrasar o progresso ao longo da transição  $G_1$ -para-S, impedindo que a célula replique DNA danificado. Mas e se erros ocorrerem durante a replicação do DNA – ou se a replicação não estiver completa? Como a célula impede sua divisão, com DNA que está incorreto ou incompletamente replicado?

Para resolver esses problemas, o sistema de controle do ciclo celular utiliza um mecanismo que pode retardar o início da fase M. Como vimos na Figura 18-10, a atividade do complexo M-Cdk é inibida pela fosforilação em determinados sítios. Para que a célula progrida para a mitose, esses grupos fosfatos inibidores devem ser removidos por uma proteína-fosfatase ativadora denominada Cdc25. Quando o DNA é danificado ou replicado de forma incompleta, a própria Cdc25 é inibida, impedindo a remoção desses grupos fosfato inibidores. Em consequência, M-Cdk permanece inativo e a fase M não é iniciada até que a replicação do DNA esteja completa e qualquer dano ao DNA seja reparado.

Uma vez que a célula tenha replicado seu DNA com sucesso na fase S e progredido por  $G_2$ , ela está pronta para entrar na fase M. Durante esse período relativamente curto, a célula dividirá seu núcleo (mitose) e então seu citoplasma (citocinese; ver Figura 18-2). Nas próximas três seções, descrevemos os eventos que ocorrem durante a fase M. Primeiro, apresentamos uma breve visão geral da fase M como um todo e então discutimos, na sequência, a mecânica da mitose e da citocinese, com foco nas células animais.

## FASE M

Embora a fase M (mitose mais citocinese) ocorra em um período relativamente curto de tempo – cerca de uma hora nas células de mamíferos que se dividem uma vez ao dia, ou mesmo uma vez ao ano –, ela é, de longe, a fase mais importante do ciclo celular. Durante esse breve período, a célula reorganiza praticamente todos os seus componentes e os distribui de forma igual entre as duas células-filhas. As fases anteriores do ciclo celular, de fato, servem para estabelecer as condições para a ocorrência da fase M.

O problema central para a célula na fase M é segregar precisamente os cromossomos que foram duplicados na fase S anterior, de modo que cada célula-filha receba uma cópia idêntica do genoma. Com pequenas variações, todos os eucariotos resolvem esse problema de maneira similar: eles reúnem duas maquinarias especializadas do citoesqueleto, uma que separa os cromossomos duplicados (durante a mitose) e outra que divide o citoplasma em duas metades (citocinese). Iniciamos nossa discussão sobre a fase M com uma visão geral de como a célula coloca os processos da fase M em movimento.

## M-Cdk promove a entrada na fase M e na mitose

Uma das características mais notáveis do sistema de controle do ciclo celular é que um único complexo proteico, M-Cdk, origina todos os diversos e intrincados rearranjos que ocorrem nos estágios iniciais da mitose. Entre suas várias responsabilidades, M-Cdk ajuda a preparar os cromossomos duplicados para a segregação e induzir a formação do fuso mitótico – a maquinaria que irá segregar os cromossomos duplicados.

Os complexos M-Cdk se acumulam durante  $G_2$ . Mas essa reserva não é ativada até o final de  $G_2$ , quando a fosfatase Cdc25 ativadora remove os grupos fosfatos inibidores, mantendo a atividade de M-Cdk sob controle (ver Figura 18-10). Tal ativação é autorreforçadora: uma vez ativado, cada complexo M-Cdk pode



ativar indiretamente complexos M-Cdk adicionais – fosforilando e ativando mais Cdc25 (Figura 18-17). M-Cdk ativado também inibe a cinase inibidora Wee1 (ver Figura 18-10), promovendo a produção adicional de M-Cdk ativado. A consequência geral é que, uma vez que a ativação de M-Cdk se inicia, ela promove um aumento explosivo na atividade de M-Cdk, o que promove a transição da célula abruptamente de  $G_2$  para a fase M.

## As coesinas e condensinas ajudam a organizar os cromossomos duplicados para a separação

Quando as células entram na fase M, os cromossomos duplicados se condensam, tornando-se visíveis sob o microscópio como estruturas semelhantes a filamentos. Complexos proteicos, denominados **condensinas**, ajudam a realizar essa **condensação dos cromossomos**, que reduz os cromossomos mitóticos a corpos compactos que podem ser mais facilmente segregados no volume interno limitado da célula em divisão. A formação dos complexos de condensina sobre o DNA é acionada pela fosforilação das condensinas por M-Cdk.

Mesmo antes da condensação dos cromossomos mitóticos, o DNA replicado é tratado de um modo que permite que as células possam manter sob controle as duas cópias de cada cromossomo. Logo depois que um cromossomo é duplicado durante a fase S, as duas cópias se mantêm fortemente unidas. Cada uma dessas cópias idênticas – chamadas de **cromátides-irmãs** – contém uma molécula de DNA de fita dupla, e suas proteínas associadas. As cromátides-irmãs são mantidas juntas por complexos proteicos chamados de **coesinas**, que se formam ao longo do comprimento de cada cromátide à medida que o DNA é replicado. Essa coesão entre cromátides-irmãs é crucial para a segregação adequada dos cromossomos e é completamente rompida apenas no final da mitose para permitir que as cromátides-irmãs sejam separadas pelo fuso mitótico. Defeitos na coesão das cromátides-irmãs levam a erros grandes na segregação dos cromossomos. Nos humanos, tais erros na segregação levam a números anormais de cromossomos, como em indivíduos com a síndrome de Down, que têm três cópias do cromossomo 21.

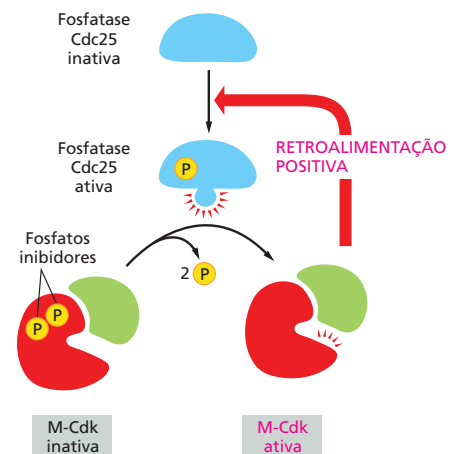
As coesinas e condensinas estão relacionadas estruturalmente, e acredita-se que ambas formem estruturas em anel ao redor do DNA cromossômico. Mas enquanto as coesinas ligam as duas cromátides-irmãs (Figura 18-18A), as condensinas se ligam a cada cromátide-irmã no início da fase M e ajudam cada uma das duplas-hélices a se enrolar em uma forma mais compacta (Figura 18-18B e C). Juntas, essas proteínas ajudam a organizar os cromossomos replicados para a mitose.

## Diferentes associações de estruturas do citoesqueleto realizam a mitose e a citocinese

Depois que os cromossomos duplicados se condensaram, duas maquinarias citoesqueléticas complexas se associam em sequência para realizar os dois processos mecânicos que ocorrem na fase M. O fuso mitótico realiza a divisão nuclear (mitose), e, em células animais e vários eucariotos unicelulares, o *anel contrátil* realiza a divisão citoplasmática (citocinese) (Figura 18-19). Ambas as estruturas se dissociam rapidamente depois de terem realizado suas tarefas.

O fuso mitótico é composto de microtúbulos e várias proteínas que interagem com eles, incluindo as proteínas motoras associadas aos microtúbulos (discutidas no Capítulo 17). Em todas as células eucarióticas, o fuso mitótico é responsável por separar os cromossomos replicados e alocar uma cópia de cada cromossomo para cada célula-filha.

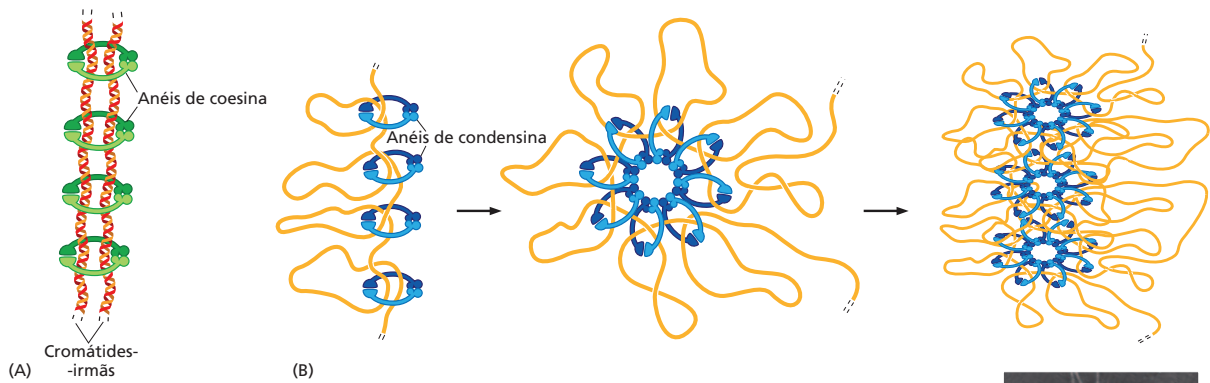
O *anel contrátil* consiste principalmente em filamentos de actina e miosina, arranjados em um anel ao redor do equador da célula (ver Capítulo 17). Ele inicia sua formação ao final da mitose logo abaixo da membrana plasmática. Quando o anel se contrai, ele puxa a membrana para o interior, dividindo a célula em duas (ver Figura 18-19). Discutimos adiante como as células vegetais, que possuem parede celular, dividem seu citoplasma por um mecanismo bem diferente.



**Figura 18-17** O complexo M-Cdk ativado indiretamente ativa mais M-Cdk, criando um ciclo de retroalimentação positiva. Uma vez ativado, M-Cdk fosforila e assim ativa mais a fosfatase ativadora de Cdk (Cdc25). Agora, essa fosfatase pode ativar mais M-Cdk pela remoção dos grupos fosforiladores da subunidade Cdk.

### QUESTÃO 18-5

Uma pequena quantidade de citoplasma isolada de uma célula em mitose é injetada em um oócito de rã não fertilizado, fazendo o oócito entrar na fase M (ver Figura 18-7A). Uma amostra do citoplasma do oócito injetado é então coletada e injetada em um segundo oócito, fazendo essa célula também entrar na fase M. O processo é repetido várias vezes até que, essencialmente, nada da amostra da proteína original permaneça, e, mesmo assim, o citoplasma coletado do último em uma série de oócitos injetados ainda é capaz de promover o início da fase M sem diminuição da eficiência. Explique essa observação notável.



**Figura 18-18** As coesinas e condensinas ajudam a organizar os cromossomos duplicados para a segregação.

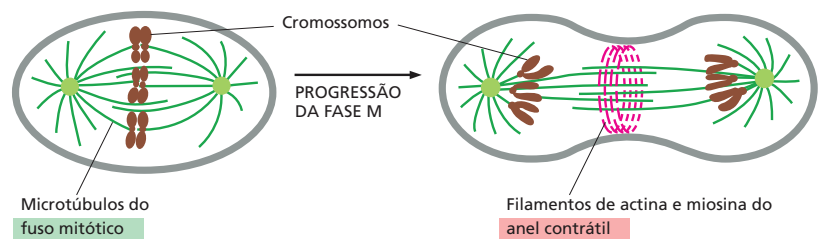
(A) As coesinas ligam as duas cromátides-irmãs adjacentes em cada cromossomo duplicado. Acredita-se que elas formem grandes anéis proteicos que circundam as cromátides-irmãs, impedindo que estas se separem, até que os anéis sejam desfeitos no final da mitose. (B) As condensinas ajudam a enroscar cada cromátide-irmã (em outras palavras, cada dupla-hélice de DNA) em uma estrutura menor mais compacta que pode ser mais facilmente segregada durante a mitose. (C) Uma micrografia eletrônica de varredura de um cromossomo mitótico replicado, que consiste em duas cromátides-irmãs ligadas em toda a sua extensão. A região de constrição (seta) é o centrômero, onde cada cromátide se ligará ao fuso mitótico, que separa as cromátides-irmãs ao final da mitose. (C, cortesia de Terry D. Allen.)

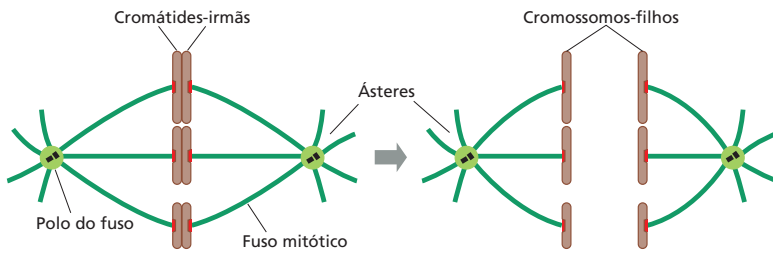


### A fase M ocorre em estágios

Embora a fase M ocorra como uma sequência contínua de eventos, ela é tradicionalmente dividida em uma série de seis estágios. Os primeiros cinco estágios da fase M – prófase, prometáfase, metáfase, anáfase e telófase – constituem a **mitose**, a qual é originalmente definida como o período no qual os cromossomos estão visíveis (pois estão condensados). A *citocinese*, que constitui o estágio final da fase M, inicia-se antes que a mitose termine. Os estágios da fase M estão resumidos no **Painel 18-1** (p. 622-623). Em conjunto, eles formam uma sequência dinâmica na qual vários ciclos independentes – envolvendo os cromossomos, o citoesqueleto e os centríolos – são coordenados para produzir duas células-filhas geneticamente idênticas (**Animação 18.4** e **Animação 18.5**).

**Figura 18-19** Duas estruturas transitórias do citoesqueleto realizam a fase M nas células animais. O fuso mitótico é formado inicialmente para separar os cromossomos duplicados. A seguir, ocorre a formação do anel contrátil para dividir a célula em duas. O fuso mitótico é composto por microtúbulos, ao passo que o anel contrátil é composto por filamentos de actina e miosina. As células vegetais usam mecanismos bastante distintos para dividir o citoplasma, como consideramos adiante.





**Figura 18-20** As cromátides-irmãs se separam no início da anáfase. O fuso mitótico então puxa os cromossomos resultantes para os polos opostos da célula.

## MITOSE

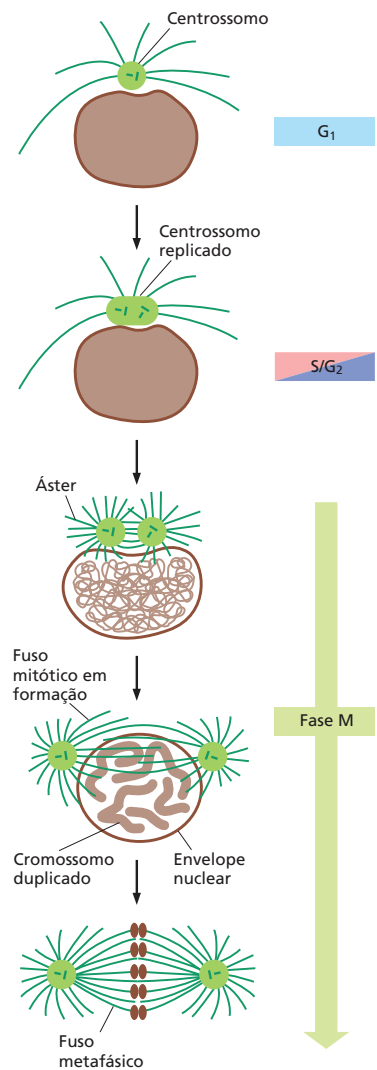
Antes do início da divisão celular, ou mitose, cada cromossomo foi duplicado e consiste em duas cromátides-irmãs idênticas, mantidas unidas ao longo de seu comprimento pelas proteínas coesinas (ver Figura 18-18A). Durante a mitose, as proteínas coesinas são clivadas, as cromátides-irmãs se separam, e os cromossomos-filhos resultantes são puxados para os polos opostos da célula pelo fuso mitótico (Figura 18-20). Nesta seção, consideramos como o fuso mitótico é formado e como ele atua. Discutimos como a instabilidade dinâmica dos microtúbulos e a atividade das proteínas motoras associadas aos microtúbulos contribuem tanto para a formação do fuso, como para a capacidade de segregar os cromossomos duplicados. Então consideramos o mecanismo que opera durante a mitose para assegurar a separação sincronizada desses cromossomos. Finalmente, discutimos como os núcleos-filhos se formam.

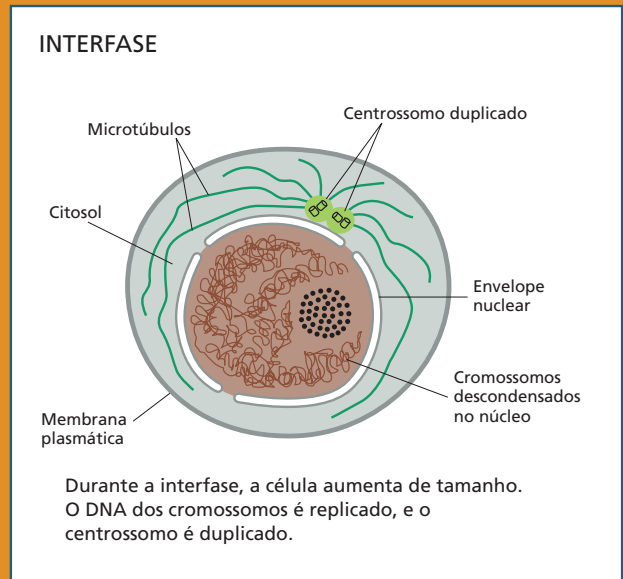
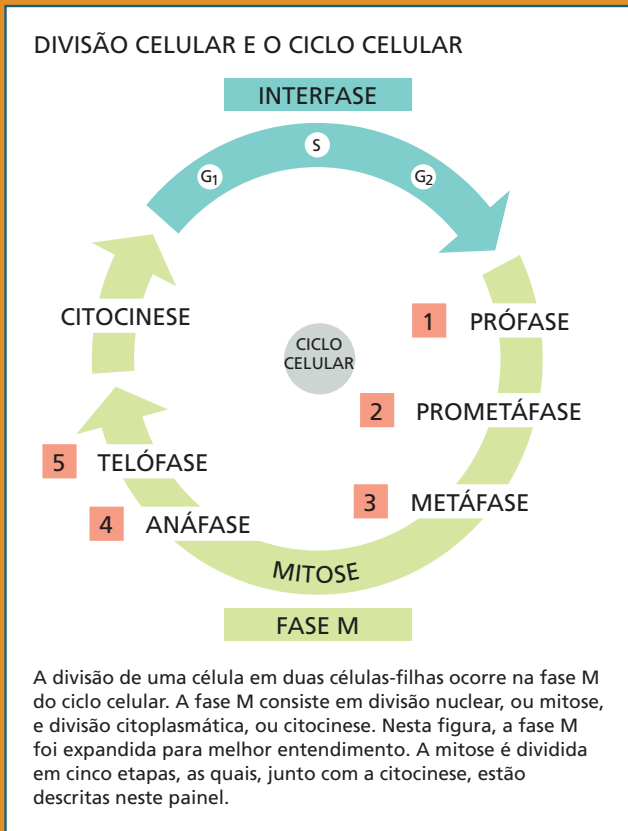
### Os centrossomos são duplicados para auxiliar a formação dos dois polos do fuso mitótico

Antes do início da fase M, dois eventos críticos devem ser completados: o DNA deve ser totalmente replicado e, em células animais, o centrossomo deve ser duplicado. O **centrossomo** é o principal *centro organizador de microtúbulos* das células animais. Ele se duplica de modo que possa promover a formação dos dois polos do fuso mitótico, de maneira que cada célula-filha possa receber seu próprio centrossomo.

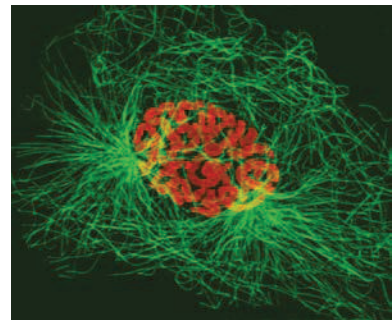
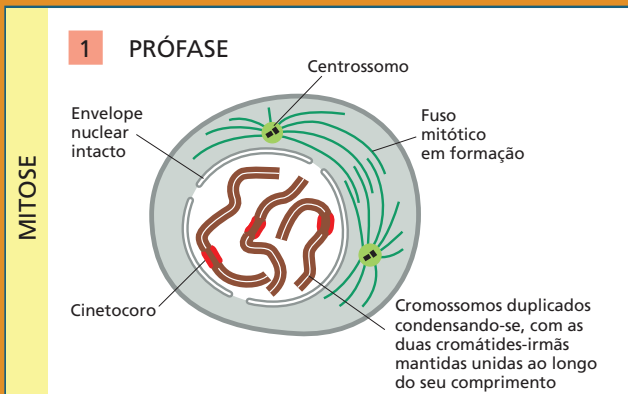
A duplicação do centrossomo inicia-se ao mesmo tempo em que a replicação do DNA. O processo é desencadeado pelas mesmas Cdks – G<sub>1</sub>/S-Cdk e S-Cdk – que iniciam a replicação do DNA. Inicialmente, quando o centrossomo se duplica, ambas as cópias permanecem unidas como um único complexo ao lado do núcleo. Entretanto, quando a mitose se inicia, os dois centrossomos se separam, e cada um irradia um arranjo radial de microtúbulos chamado de **âster**. Os dois âsteres se movem para os polos opostos do núcleo para formar os dois polos do fuso mitótico (Figura 18-21). O processo de duplicação e separação dos centrossomos é conhecido como o **ciclo do centrossomo**.

**Figura 18-21** O centrossomo nas células interfásicas se duplica para formar os dois polos do fuso mitótico. Na maioria das células animais em interfase (G<sub>1</sub>, S e G<sub>2</sub>), um par de centriolos (mostrado aqui como um par de barras verde-escuras) está associado com a matriz do centrossomo (verde-claro), que promove a nucleação do crescimento do microtúbulo. (O volume da matriz do centrossomo está exagerado neste diagrama por questões de clareza.) A duplicação do centrossomo se inicia no começo da fase S e se completa no final da fase G<sub>2</sub>. No início, os dois centrossomos permanecem unidos, mas no princípio da fase M, eles se separam e cada um faz a nucleação do seu próprio âster de microtúbulos. Os centrossomos então se deslocam e se distanciam, e os microtúbulos que interagem entre os dois âsteres, preferencialmente, alongam-se para formar o fuso mitótico bipolar com um âster em cada polo. Quando o envelope nuclear é desfeito, os microtúbulos do fuso são capazes de interagir com os cromossomos duplicados.

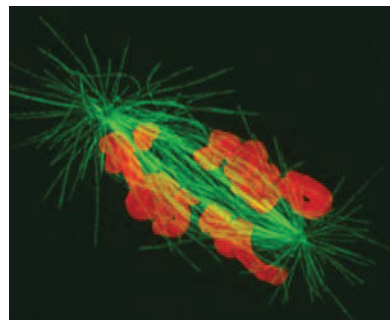
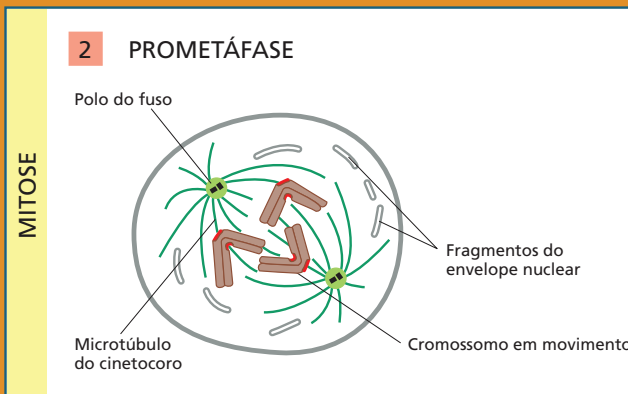




Nas micrografias ópticas de células animais em divisão, mostradas neste painel, os cromossomos estão corados de *laranja*, e os microtúbulos, de *verde*.  
 (Micrografias cortesia de Julie Canman e Ted Salmon; "Metáfase" da capa de J. Cell. Sci. 115(9), 2002, com permissão de The Company of Biologists Ltd; "Telófase" de J.C. Canman et al., Nature 424:1074-1078, 2003, com permissão de Macmillan Publishers Ltd.)



Tempo = 0 min



Tempo = 79 min

**3 METÁFASE**

**MITOSE**



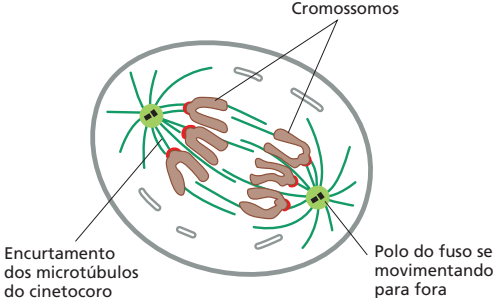
Na **metáfase**, os cromossomos estão alinhados no equador do fuso, exatamente na metade entre os dois polos. Os microtúbulos dos cinetocoros em cada cromátide-irmã se ligam aos polos opostos do fuso.



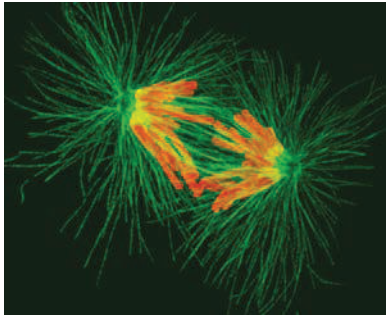
Tempo = 250 min

**4 ANÁFASE**

**MITOSE**



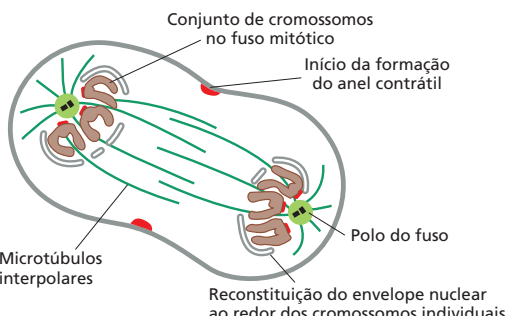
Na **anáfase**, as cromátides-irmãs se separam sincronicamente, e cada uma delas é puxada lentamente para o polo do fuso ao qual está ligada. Os microtúbulos do cinetocoro encurtam, e os polos do fuso também se distanciam, contribuindo para a segregação dos cromossomos.



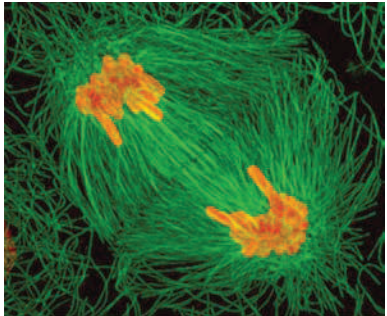
Tempo = 279 min

**5 TELÓFASE**

**MITOSE**



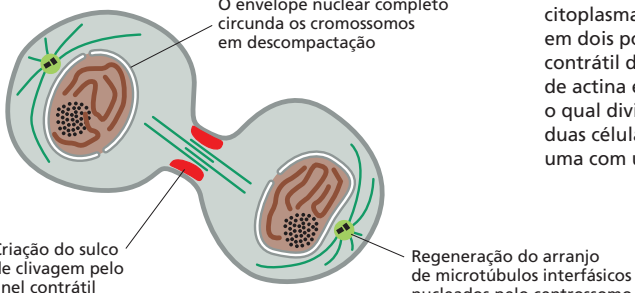
Durante a **telófase**, os dois conjuntos de cromossomos chegam aos polos do fuso. Um novo envelope nuclear é formado em torno de cada conjunto, completando a formação dos dois núcleos e marcando o fim da mitose. A divisão do citoplasma começa com a formação do anel contrátil.



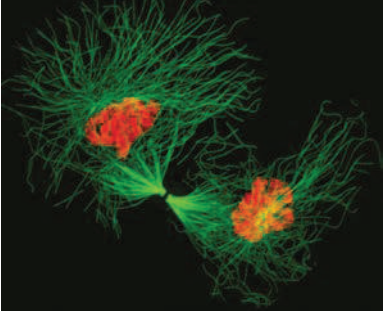
Tempo = 315 min

**CITOCINESE**

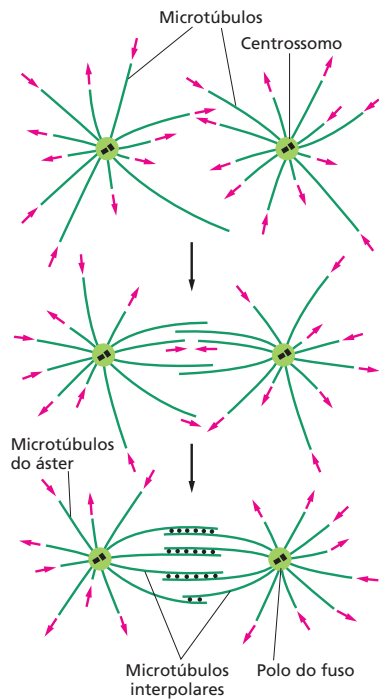
**CITOCINESE**



Durante a **citocinese** de uma célula animal, o citoplasma é dividido em dois por um anel contrátil de filamentos de actina e miosina, o qual divide a célula em duas células-filhas, cada uma com um núcleo.



Tempo = 362 min



**Figura 18-22** O fuso mitótico bipolar é formado pela estabilização seletiva dos microtúbulos que interagem entre si. Novos microtúbulos crescem a partir dos dois centrosossomos em diversas direções. As duas extremidades de um microtúbulos (por convenção, denominadas extremidades mais [+] e menos [-]) apresentam propriedades diferentes, e é a extremidade menos (-) que está ancorada ao centrosomo (discutido no Capítulo 17). As extremidades mais (+) livres são dinamicamente instáveis e mudam de maneira repentina de um crescimento uniforme (setas vermelhas que apontam para fora) para um rápido encurtamento (setas vermelhas que apontam para dentro). Quando dois microtúbulos de centrosossomos opostos interagem na região de sobreposição, as proteínas motoras e outras proteínas associadas aos microtúbulos fazem o entrecruzamento dos microtúbulos (pontos pretos), de forma que estabilizam as extremidades mais (+), diminuindo a probabilidade de sua despolimerização.

## A formação do fuso mitótico se inicia na prófase

O fuso mitótico começa a se formar na **prófase**. Essa formação do fuso altamente dinâmico depende de propriedades notáveis dos microtúbulos. Como discutido no Capítulo 17, os microtúbulos se polimerizam e despolimerizam continuamente pela adição ou perda de suas subunidades de tubulina, e os filamentos individuais se alternam entre crescimento e encurtamento – um processo chamado de *instabilidade dinâmica* (ver Figura 17-13). No início da mitose, a estabilidade dos microtúbulos diminui – em parte porque M-Cdk fosforila as proteínas associadas aos microtúbulos que influenciam a estabilidade dos microtúbulos. Como consequência, durante a prófase, os microtúbulos em rápido crescimento e encurtamento se estendem em todas as direções a partir dos dois centrosossomos, explorando o interior da célula.

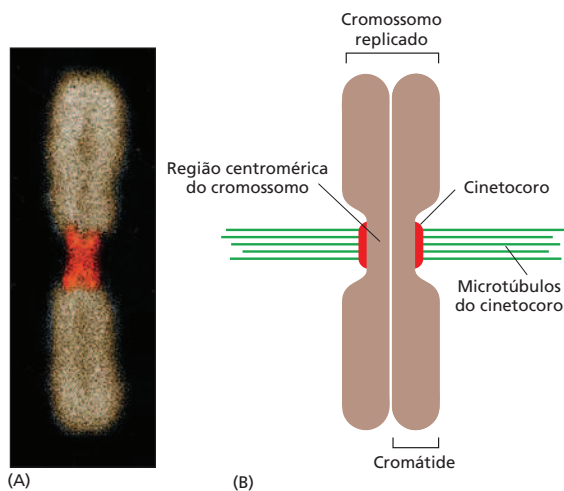
Alguns dos microtúbulos crescentes de um centrosossomo interagem com os microtúbulos do outro centrosossomo (ver Figura 18-21). Essa interação estabiliza os microtúbulos, impedindo sua despolimerização, e os liga a dois grupos de microtúbulos unidos para constituir a estrutura básica do **fuso mitótico**, que apresenta uma forma bipolar característica (**Animação 18.6**). Os dois centrosossomos que dão origem a esses microtúbulos são agora denominados **polos do fuso**, e os microtúbulos que interagem são denominados *microtúbulos interpolares* (**Figura 18-22**). A formação do fuso é controlada, em parte, por proteínas motoras associadas aos microtúbulos interpolares que auxiliam no entrecruzamento dos dois grupos de microtúbulos.

No estágio seguinte da mitose, os cromossomos duplicados se ligam aos microtúbulos do fuso de tal modo que, quando as cromátides-irmãs se separam, elas serão puxadas para os polos opostos da célula.

## Os cromossomos se ligam ao fuso mitótico na prometáfase

A **prometáfase** se inicia repentinamente com a dissociação do envelope nuclear, o qual é rompido em várias vesículas pequenas de membrana. Esse processo é iniciado pela fosforilação e consequente dissociação das proteínas do poro nuclear e proteínas do filamento intermediário da lâmina nuclear, uma rede de proteínas fibrosas que sustenta e estabiliza o envelope nuclear (ver Figura 17-8). Os microtúbulos do fuso, que estão aguardando do lado de fora do núcleo, agora têm acesso aos cromossomos duplicados e se ligam a eles (ver Painel 18-1, p. 622-623).

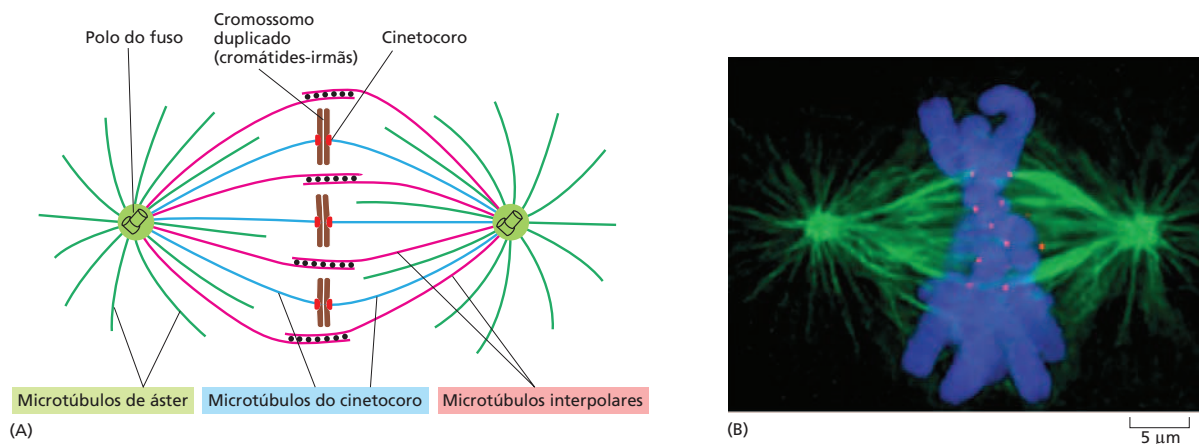
Os microtúbulos do fuso se ligam aos cromossomos nos **cinetocoros**, complexos proteicos que se formam no centrômero de cada cromossomo condensado durante o final da prófase (**Figura 18-23**). Cada cromossomo duplicado possui dois cinetocoros – um em cada cromátide-irmã – que estão voltados para direções opostas. Os cinetocoros reconhecem a sequência de DNA especial presente no centrômero: se tal sequência estiver alterada, os cinetocoros não se formam e, como resultado, os cromossomos não segregam apropriadamente durante a mitose.



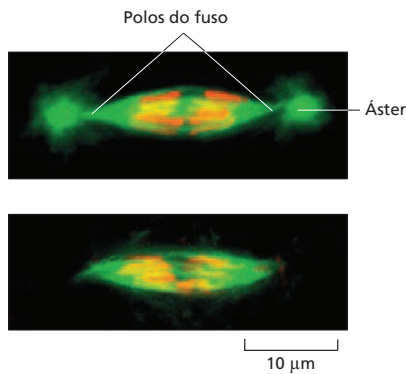
**Figura 18-23 Os cinetocoros ligam os cromossomos ao fuso mitótico.** (A) Micrografia de fluorescência de um cromossomo mitótico duplicado. O DNA está corado com um corante fluorescente, e os cinetocoros estão corados em *vermelho* com anticorpos fluorescentes que reconhecem as proteínas do cinetocoro. Esses anticorpos são de pacientes que sofrem de escleroderma (uma doença que causa superprodução progressiva de tecido conectivo na pele e em outros órgãos), os quais, por motivos desconhecidos, produzem anticorpos contra suas próprias proteínas do cinetocoro. (B) Desenho esquemático de um cromossomo mitótico mostrando suas duas cromátides-irmãs ligadas aos microtúbulos do cinetocoro, que se liga ao cinetocoro por suas extremidades mais (+). Cada cinetocoro forma uma placa na superfície do centrômero. (A, cortesia de B.R. Brinkley.)

Uma vez que o envelope nuclear foi fragmentado, um microtúbulo aleatório que encontra um cinetocoro vai se ligar a este, capturando assim o cromossomo. Esse microtúbulo do cinetocoro liga o cromossomo a um polo do fuso (ver Figura 18-23 e Painel 18-1, p. 622-623). Como os cinetocoros das cromátides-irmãs estão voltados para direções opostas, eles tendem a se ligar aos microtúbulos de polos opostos do fuso, de modo que cada cromossomo duplicado se liga aos dois polos do fuso. A ligação aos polos opostos, chamada de **biorientação**, gera tensão sobre os cinetocoros, que estão sendo puxados para direções opostas. Essa tensão sinaliza para os cinetocoros-irmãos de que eles estão ligados de forma correta e estão prontos para serem separados. O sistema de controle do ciclo celular monitora essa tensão para assegurar a ligação correta do cromossomo (ver Figura 18-3), uma medida de segurança que discutimos detalhadamente em breve.

O número de microtúbulos ligados a cada cinetocoro varia entre as espécies: cada cinetocoro humano liga 20 a 40 microtúbulos, por exemplo, ao passo que o cinetocoro de levedura liga apenas um microtúbulo. As três classes de microtúbulos que formam o fuso mitótico estão coloridas diferentemente na **Figura 18-24**.



**Figura 18-24 Três classes de microtúbulos compõem o fuso mitótico.** (A) Desenho esquemático de um fuso com os cromossomos ligados, mostrando os três tipos de microtúbulos do fuso: os microtúbulos de áster, os microtúbulos do cinetocoro e os microtúbulos interpolares. Na realidade, os cromossomos são maiores do que o mostrado, e normalmente múltiplos microtúbulos são ligados a cada cinetocoro. (B) Micrografia de fluorescência dos cromossomos na placa metafásica de um fuso mitótico real. Nesta imagem, os cinetocoros estão marcados em *vermelho*, os microtúbulos, em *verde*, e os cromossomos, em *azul*. (B, de A. Desai, *Curr. Biol.* 10:R508, 2000. Com permissão de Elsevier.)



**Figura 18-25** As proteínas motoras e os cromossomos podem organizar a formação de um fuso bipolar funcional na ausência dos centrosomos.

Nestas micrografias de fluorescência de embriões do inseto *Sciara*, os microtúbulos estão corados em verde, e os cromossomos, em vermelho. A micrografia superior mostra um fuso normal gerado com centrosomos em um embrião fertilizado normalmente. A micrografia inferior mostra um fuso formado sem centrosomos em um embrião que iniciou o desenvolvimento sem fertilização e por isso está desprovido de centrosomo, o qual costuma ser fornecido pelo espermatozoide quando fertiliza o óvulo. Note que o fuso com centrosomos possui um áster em cada polo, ao passo que o fuso formado sem centrosomos não possui áster. Como mostrado, ambos os tipos de fusos são capazes de segregar os cromossomos. (De B. de Saint Phalle e W. Sullivan, *J. Cell Biol.* 141:1383–1391, 1998. Com permissão de The Rockefeller University Press.)

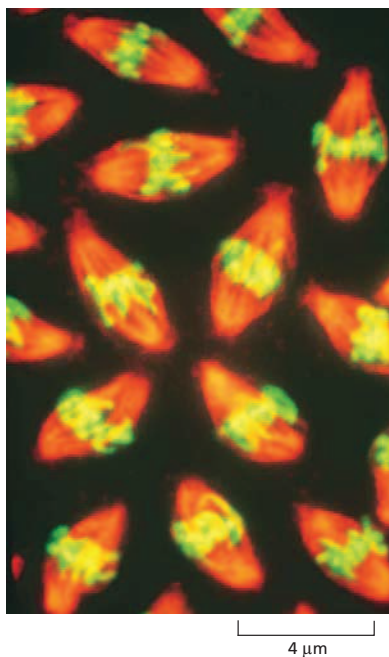
## Os cromossomos auxiliam na formação do fuso mitótico

Os cromossomos são mais do que passageiros passivos no processo de formação do fuso: eles podem estabilizar e organizar os microtúbulos em fusos mitóticos funcionais. Nas células sem centrosomos – incluindo todos os tipos de células vegetais e alguns de células animais –, os próprios cromossomos centralizam a associação dos microtúbulos, e as proteínas motoras então movem e organizam os microtúbulos e cromossomos em um fuso bipolar. Mesmo nas células animais que normalmente têm centrosomos, um fuso bipolar ainda pode ser formado dessa maneira se os centrosomos são removidos (Figura 18-25). Nas células com centrosomos, os cromossomos, as proteínas motoras e os centrosomos trabalham juntos para constituir o fuso mitótico.

## Os cromossomos se alinham no equador do fuso durante a metáfase

Durante a prometáfase, os cromossomos duplicados, agora ligados ao fuso mitótico, iniciam seu movimento para um lado e para outro. Finalmente, eles se alinham no equador do fuso, a uma distância equivalente entre os dois polos, formando a *placa metafásica*. Esse evento define o início da **metáfase** (Figura 18-26). Embora as forças que atuam para trazer os cromossomos para o equador não sejam bem compreendidas, tanto o crescimento contínuo e o encurtamento dos microtúbulos quanto a ação das proteínas motoras dos microtúbulos são necessários. O balanço contínuo de adição e perda de subunidades de tubulina e também necessário para a manutenção do fuso durante a metáfase: quando a adição de tubulina às extremidades dos microtúbulos é bloqueada pelo fármaco colchicina, a perda de tubulina continua até que o fuso metafásico desapareça.

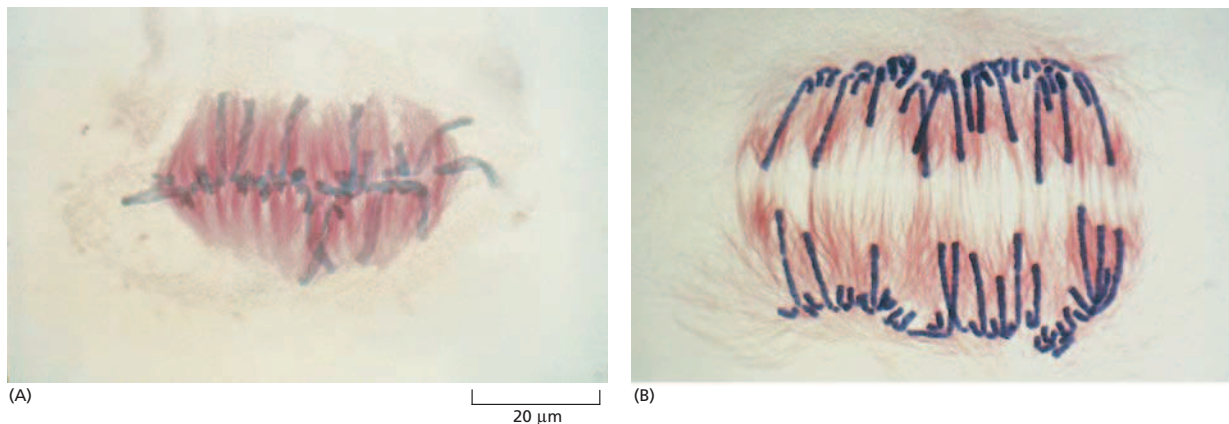
Os cromossomos reunidos no equador do fuso metafásico oscilam para frente e para trás, ajustando continuamente suas posições, indicando que o cabo de guerra entre os microtúbulos ligados aos polos opostos do fuso continua a atuar após o alinhamento dos cromossomos. Se uma das ligações do par de cinetoco-



**Figura 18-26** Durante a metáfase, os cromossomos duplicados se organizam na região entre os dois polos do fuso.

Esta micrografia de fluorescência mostra múltiplos fusos mitóticos em metáfase no embrião da mosca-da-fruta (*Drosophila*). Os microtúbulos estão corados em vermelho, e os cromossomos, em verde. Neste estágio do desenvolvimento de *Drosophila*, há múltiplos núcleos em um grande compartimento citoplasmático, e todos esses núcleos se dividem sincronicamente; por isso todos os núcleos aqui mostrados estão no mesmo estágio, de metáfase, do ciclo celular (Animação 18.7). Os fusos da metáfase em geral são representados em duas dimensões, como aqui; entretanto, quando observados em três dimensões, os cromossomos são visualizados agrupados em uma região semelhante a uma placa no equador do fuso – assim denominada placa metafásica. (Cortesia de William Sullivan.)





**Figura 18-27 As cromátides-irmãs se separam na anáfase.** Na transição da metáfase (A) para anáfase (B), as cromátides-irmãs (coradas em azul) se separam subitamente, permitindo que os cromossomos resultantes se movam em direção aos polos opostos, como visto nestas células vegetais coradas com anticorpos marcados com ouro para marcar os microtúbulos (vermelho). As células vegetais em geral não possuem centrossomos e, portanto, apresentam os polos do fuso menos definidos do que as células animais (ver Figura 18-34). Os polos do fuso estão presentes aqui, nas partes superior e inferior de cada micrografia, embora não possam ser vistos. (Cortesia de Andrew Bajer.)

ros for artificialmente danificada por um feixe de *laser* durante a metáfase, o cromossomo duplicado inteiro imediatamente se move em direção ao polo ao qual ele permaneceu ligado. Da mesma forma, se a ligação entre as cromátides-irmãs é rompida, as duas cromátides se separam e se movem para polos opostos. Esses experimentos mostram que os cromossomos duplicados não são simplesmente depositados na placa metafásica. Eles ficam suspensos lá sob tensão. Na anáfase, essa tensão separará as cromátides-irmãs.

## A proteólise desencadeia a separação das cromátides-irmãs na anáfase

A **anáfase** inicia-se abruptamente com o rompimento das ligações de coesina que mantêm as cromátides-irmãs unidas (ver Figura 18-18A). Essa liberação permite que cada cromátide – agora considerada um cromossomo – seja puxada para o polo do fuso ao qual está ligada (Figura 18-27). Esse movimento segrega os dois grupos de cromossomos idênticos para as extremidades opostas do fuso (ver Painel 18-1, p. 622-623).

A ligação pela coesina é rompida por uma protease chamada de *separase*. Antes do início da anáfase, essa protease é mantida em um estado inativo por uma proteína inibidora chamada *securina*. No início da anáfase, a securina é marcada para ser degradada pelo APC – o mesmo complexo proteico, discutido antes, que marca a ciclina M para degradação. Uma vez que a securina é degradada, a separase está livre para romper as ligações por coesina (Figura 18-28).

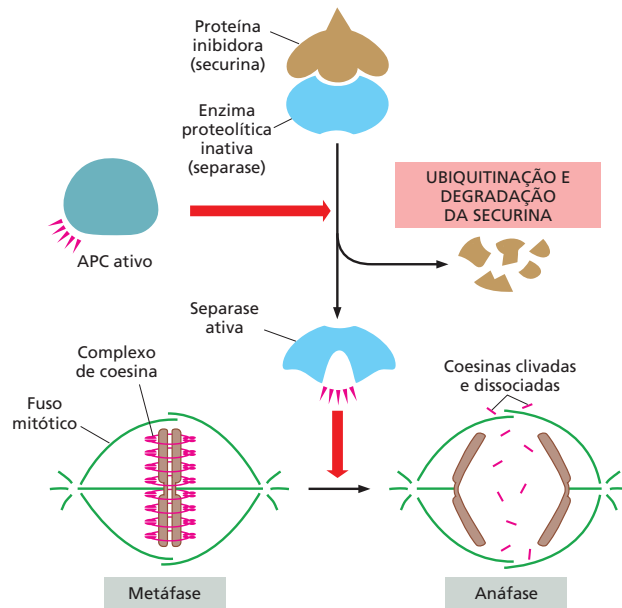
## Os cromossomos segregam-se durante a anáfase

Uma vez que as cromátides-irmãs se separam, os cromossomos resultantes são puxados para o polo do fuso ao qual estão ligados. Todos se movimentam a uma mesma velocidade, que normalmente é de cerca de 1 µm por minuto. O movimento é consequência de dois processos independentes que dependem de diferentes partes do fuso mitótico. Os dois processos são denominados *anáfase A* e *anáfase B* e ocorrem mais ou menos simultaneamente. Na anáfase A, os microtúbulos do cinetocoro encurtados e os cromossomos ligados se movem em direção aos polos. Na anáfase B, os próprios polos do fuso se separam, segregando os dois conjuntos de cromossomos (Figura 18-29).

### QUESTÃO 18-6

Se uma fina agulha de vidro for usada para manipular um cromossomo dentro de uma célula viva durante o início da fase M, é possível enganar os cinetocoros das duas cromátides-irmãs e fazê-los se ligar ao mesmo polo do fuso. Esse arranjo é, normalmente, instável, mas as ligações podem ser estabilizadas se a agulha for usada com cuidado para puxar os cromossomos de modo que os microtúbulos ligados a ambos os cinetocoros (e ao mesmo polo do fuso) estejam sob tensão. O que isso sugere a respeito do mecanismo pelo qual os cinetocoros normalmente se tornam ligados e permanecem ligados aos microtúbulos de polos opostos do fuso? Essas observações são compatíveis com a possibilidade de que um cinetocoro seja programado para se ligar aos microtúbulos de um determinado polo do fuso? Explique sua resposta.

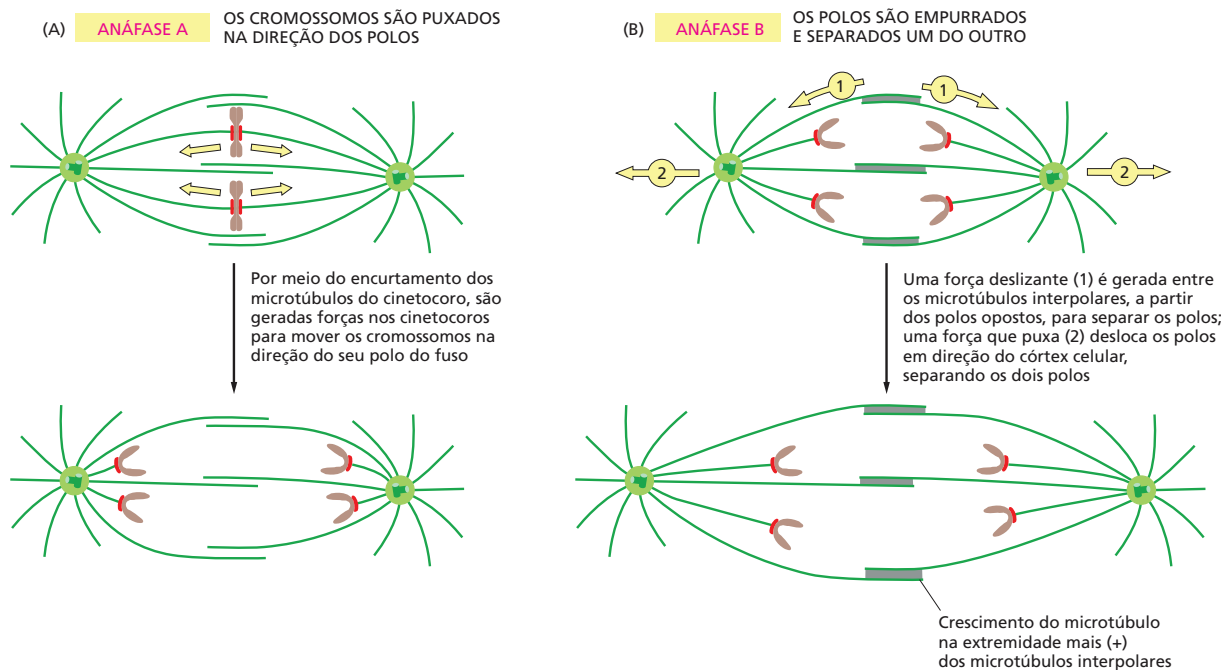
**Figura 18-28** O APC promove a separação das cromátides-irmãs pela degradação das coesinas. O APC desencadeia indiretamente a clivagem das coesinas que mantêm as cromátides-irmãs unidas. Ele catalisa a ubiquitinação e a degradação de uma proteína inibidora chamada securina. A securina inibe a atividade de uma enzima proteolítica chamada separase; quando dissociada da securina, a separase cliva os complexos de coesinas, permitindo que o fuso mitótico separe as cromátides-irmãs.



**Figura 18-29** Dois processos segregam os cromossomos-filhos na anáfase.

Na *anáfase A*, os cromossomos-filhos são puxados para os polos opostos à medida que os microtúbulos do cinetocoro se despolimerizam. A força que coordena esse movimento é gerada, principalmente, no cinetocoro. Na *anáfase B*, os dois polos do fuso se afastam como resultado de duas forças distintas: (1) o alongamento e o deslizamento dos microtúbulos interpolares um sobre o outro separam os dois polos, e (2) forças exercidas para fora sobre os microtúbulos de áster em cada polo do fuso empurram os polos para longe um do outro, em direção do córtex celular. Acredita-se que todas essas forças dependam da ação das proteínas motoras associadas aos microtúbulos.

Acredita-se que a força motora para os movimentos da anáfase A seja fornecida principalmente pela perda das subunidades de tubulina a partir de ambas as extremidades dos microtúbulos dos cinetocoros, e que as forças motoras na anáfase B sejam fornecidas por dois conjuntos de proteínas motoras – membros das famílias da cinesina e da dineína – operando em diferentes tipos de microtúbulos do fuso (ver Figura 17-21). As proteínas cinesina atuam sobre os longos microtúbulos interpolares sobrepostos, deslizando os microtúbulos dos polos opostos um sobre o outro no equador do fuso e empurrando os polos dos fusos para longe um do outro. As proteínas dineína, ancoradas ao córtex celular que sustenta a membrana plasmática, separam os polos (ver Figura 18-29B).

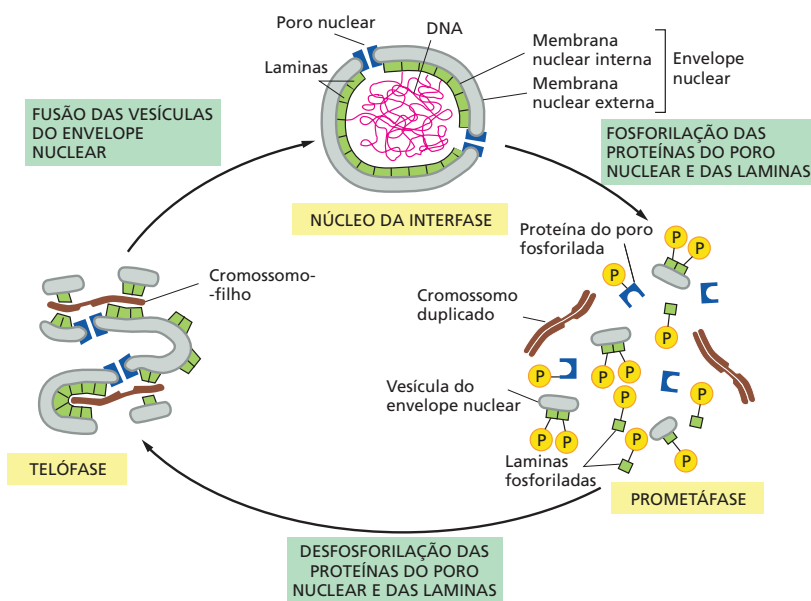


## Um cromossomo não ligado impede a separação das cromátides-irmãs

Se uma célula em divisão está para começar a segregar seus cromossomos antes de todos os cromossomos estarem ligados apropriadamente ao fuso, uma célula-filha receberia um conjunto incompleto de cromossomos, e a outra filha receberia um cromossomo excedente. Ambas as situações poderiam ser letais. Assim, uma célula em divisão deve assegurar que cada cromossomo esteja ligado de forma apropriada ao fuso antes de completar a mitose. Para monitorar a ligação do cromossomo, a célula faz uso de um sinal negativo: cromossomos não ligados enviam um sinal de parada para o sistema de controle do ciclo celular. Embora apenas alguns detalhes sejam conhecidos, o sinal inibe o progresso ao longo da mitose por meio do bloqueio da ativação do APC (ver Figura 18-28). Sem APC ativo, as cromátides-irmãs permanecem unidas. Assim, nenhum dos cromossomos duplicados pode ser separado até que todos os cromossomos se tenham posicionado corretamente sobre o fuso mitótico. Este *ponto de verificação de formação do fuso* controla o início da anáfase, assim como o término da mitose, como mencionado anteriormente (ver Figura 18-12).

## O envelope nuclear se forma novamente durante a telófase

No final da anáfase, os cromossomos-filhos já se separaram em dois conjuntos iguais em cada polo do fuso. Durante a **telófase**, o estágio final da mitose, o fuso mitótico se dissocia, e o envelope nuclear é reconstituído ao redor de cada conjunto cromossômico para gerar os dois núcleos-filhos (**Animação 18.8**). No início, as vesículas da membrana nuclear se agrupam ao redor dos cromossomos individuais e então se fusionam para formar o novo envelope nuclear (ver Painel 18-1, p. 622-623). Durante esse processo, as proteínas do poro nuclear e as laminas nucleares que foram fosforiladas durante a prometáfase são agora desfosforiladas, o que permite que se associem e que o envelope nuclear e a lamina se formem novamente (**Figura 18-30**). Uma vez refeito o envelope nuclear, os poros bombeiam proteínas nucleares para seu interior, o núcleo se expande, e os cromossomos compactados relaxam para seu estado interfásico. A transcrição gênica agora pode ocorrer, como consequência dessa descompactação. Um novo núcleo foi criado, e a mitose é completada. Tudo o que falta para a célula é completar sua divisão em duas células-filhas individuais.



**Figura 18-30** O envelope nuclear é fragmentado e formado novamente durante a mitose. A fosforilação das proteínas do poro nuclear e das laminas promove a fragmentação do envelope nuclear na prometáfase. A desfosforilação dessas proteínas na telófase reverte o processo.

### QUESTÃO 18-7

Considere os eventos que levam à formação do novo núcleo na telófase. Como as proteínas nucleares e citosólicas se tornam apropriadamente reorganizadas para que o novo núcleo contenha as proteínas nucleares, mas não as proteínas citosólicas?

## CITOCINESE

A **citocinese**, processo pelo qual o citoplasma é clivado em dois, completa a fase M. Em geral, esse processo se inicia na anáfase, mas só se completa quando os dois núcleos-filhos se formam na telófase. Enquanto a mitose depende de uma estrutura transitória formada por microtúbulos, o fuso mitótico, a citocinese nas células animais depende de uma estrutura transitória formada por filamentos de actina e miosina, o *anel contrátil* (ver Figura 18-19). No entanto, o plano de clivagem e o momento da citocinese são determinados pelo fuso mitótico.

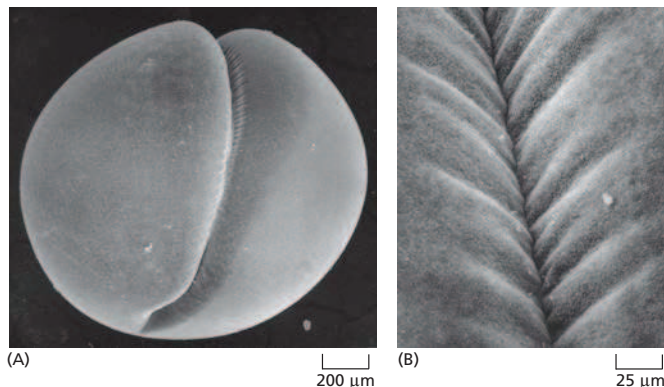
### O fuso mitótico determina o plano da clivagem citoplasmática

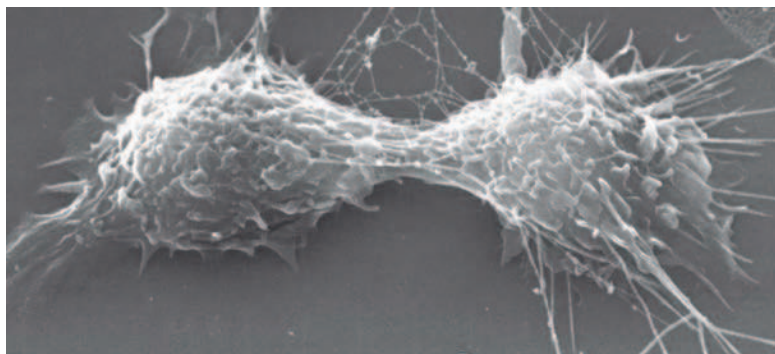
O primeiro sinal visível da citocinese nas células animais é o enrugamento e a formação de um sulco na membrana plasmática que ocorre durante a anáfase (**Figura 18-31**). O sulco, invariavelmente, ocorre no plano perpendicular ao eixo mais longo do fuso mitótico. Esse posicionamento assegura que o *sulco de clivagem* divida a célula entre os dois conjuntos de cromossomos segregados, de modo que cada célula-filha receba um conjunto idêntico e completo de cromossomos. Se, logo após o aparecimento do sulco, o fuso mitótico for propositalmente deslocado (usando uma fina agulha de vidro), o sulco desaparece, e logo se forma outro em uma posição correspondente à nova localização e à orientação do fuso. Entretanto, uma vez que o processo de geração do sulco já tenha iniciado, a clivagem continua mesmo que o fuso mitótico seja artificialmente retirado da célula ou despolimerizado com colchicina.

Como o fuso mitótico determina a posição do sulco de clivagem? O mecanismo ainda permanece incerto, mas há indícios de que, durante a anáfase, os microtúbulos interpolares sobrejacentes que formam o *fuso central* recrutam e ativam proteínas que sinalizam ao córtex celular para iniciar a formação do anel contrátil em uma posição mediana entre os polos do fuso. Como tais sinais se originam no fuso da anáfase, esse mecanismo também contribui para definir o momento da citocinese no final da mitose.

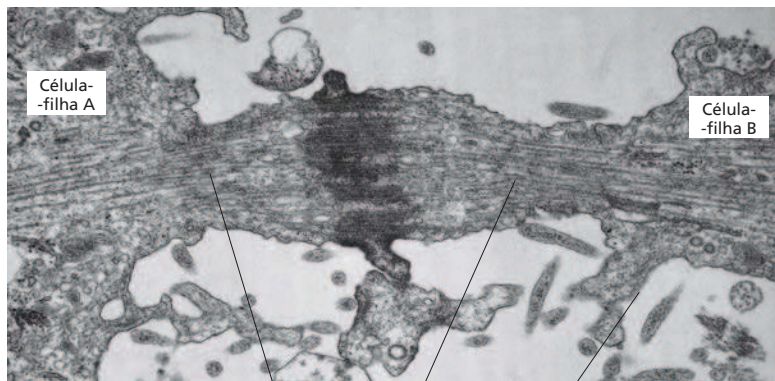
Quando o fuso mitótico está em uma posição central na célula – a situação mais comum da maioria das células em divisão –, as duas células-filhas produzidas serão de igual tamanho. Durante o desenvolvimento embrionário, contudo, há algumas situações nas quais a célula em divisão movimenta seus fusos mitóticos para uma posição assimétrica, e, como consequência, o sulco cria duas células-filhas que diferem em tamanho. Na maioria dessas *divisões assimétricas*, as células-filhas também diferem nas moléculas que herdaram e normalmente irão dar origem a diferentes tipos celulares.

**Figura 18-31** O sulco de clivagem é formado pela ação de um anel contrátil abaixo da membrana plasmática. Nesta micrografia eletrônica de varredura de um óvulo fertilizado de rã, em divisão, o sulco de clivagem está incomumente bem definido. (A) Uma vista com pouco aumento da superfície do óvulo. (B) Uma vista com maior aumento do sulco de clivagem. (De H.W. Beams e R.G. Kessel, *Am. Sci.* 64:279–290, 1976. Com permissão de Sigma Xi.)

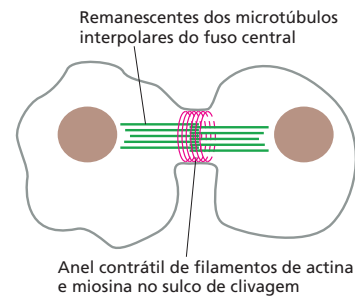




(A)



(C)



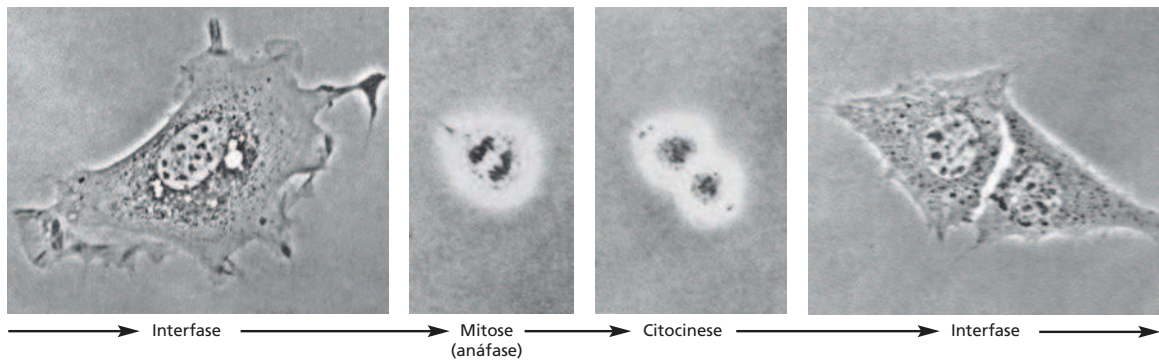
(B)

**Figura 18-32 O anel contrátil divide a célula em duas.** (A) Micrografia eletrônica de varredura de uma célula animal em cultura nos estágios finais da citocinese. (B) Diagrama esquemático da região central de uma célula similar mostrando o anel contrátil abaixo da membrana plasmática e o que restou dos dois grupos de microtúbulos interpolares. (C) Micrografia eletrônica convencional da célula animal em divisão. A clivagem está quase completa, mas as células-filhas permanecem unidas por uma fina extensão de citoplasma contendo o restante dos microtúbulos interpolares do fuso mitótico central, que se sobrepõem. (A, cortesia de Guenter Albrecht-Buehler; C, cortesia de J.M. Mullins.)

## O anel contrátil das células animais é composto por filamentos de actina e miosina

O **anel contrátil** é composto, principalmente, por uma sobreposição de arranjos de filamentos de actina e miosina (**Figura 18-32**). Ele se forma na anáfase e está ligado às proteínas associadas à membrana na face citoplasmática da membrana plasmática. Uma vez formado, o anel contrátil é capaz de exercer uma força suficientemente grande para curvar uma fina agulha de vidro inserida na célula antes da citocinese. Grande parte dessa força é gerada pelo deslizamento dos filamentos de actina contra os filamentos de miosina. Entretanto, diferentemente da associação estável dos filamentos de actina e miosina nas fibras musculares, o anel contrátil é uma estrutura transitória: ele se forma para realizar a citocinese, fica cada vez menor à medida que a citocinese progride e se dissocia completamente uma vez que a célula foi clivada em duas.

A divisão celular de muitas células animais é acompanhada por várias mudanças na forma da célula e por um decréscimo na aderência da célula às células adjacentes, à matriz extracelular, ou a ambas. Essas mudanças resultam, em parte, da reorganização dos filamentos de actina e de miosina no córtex celular, sendo uma delas a formação do anel contrátil. Fibroblastos de mamíferos em cultura, por exemplo, tornam-se achatados durante a interfase, em consequência dos contatos adesivos fortes que os fibroblastos fazem com a superfície sobre a qual estão crescendo – denominada *substrato*. Contudo, quando as células entram na fase M, elas se tornam arredondadas. Em parte, as células alteram sua forma porque algumas proteínas da membrana plasmática, responsáveis pela ligação das células ao substrato – as *integrinas* (discutidas no Capítulo 20) –, tornam-se fosforiladas e perdem sua capacidade de adesão. Uma vez finalizada a citocinese, as células-filhas res-



**Figura 18-33** As células animais mudam a forma durante a fase M. Nestas micrografias de culturas de fibroblastos em divisão de camundongos, a mesma célula foi fotografada em períodos sucessivos. Note como a célula fica arredondada quando entra em mitose; as duas células-filhas ficam achatadas novamente após o final da citocinese. (Cortesia de Guenter Albrecht-Buehler.)

tabelecem seu contato forte com o substrato e adquirem novamente um formato achatado (Figura 18-33). Quando as células se dividem em um tecido animal, esse ciclo de adesão e dissociação provavelmente permite que as células rearranjem seus contatos com as células adjacentes e com a matriz extracelular, de modo que as novas células produzidas pela divisão celular possam se acomodar no tecido.

## A citocinese nas células vegetais envolve a formação de uma nova parede celular

O mecanismo da citocinese em plantas superiores é muito diferente do das células animais, provavelmente porque as células vegetais são circundadas por uma rígida parede celular (discutida no Capítulo 20). As duas células-filhas são separadas não pela ação do anel contrátil na superfície celular, mas pela criação de uma nova parede que se forma no interior da célula em divisão. O posicionamento dessa nova parede determina precisamente a posição das duas células-filhas em relação às células adjacentes. Assim, os planos de divisão celular, junto com o aumento da célula, determinam a forma final da planta.

A nova parede celular inicia sua formação no citoplasma entre os dois conjuntos de cromossomos segregados no início da telófase. O processo de geração é coordenado por uma estrutura denominada **fragmoplasto**, a qual é formada pelos remanescentes dos microtúbulos interpolares no equador do antigo fuso mitótico. Pequenas vesículas delimitadas por membrana, em sua maioria derivadas do aparelho de Golgi e preenchidas com polissacarídeos e glicoproteínas necessárias para a matriz da parede celular, são transportadas, juntamente com os microtúbulos, para o fragmoplasto. Aqui elas se fusionam para gerar uma estrutura em forma de disco delimitada por membrana, que se expande para fora por meio da fusão de outras vesículas até alcançar a membrana plasmática e a parede celular original, dividindo assim a célula em duas (Figura 18-34). Mais tarde, as microfibrilas de celulose são depositadas na matriz para completar a construção da nova parede celular.

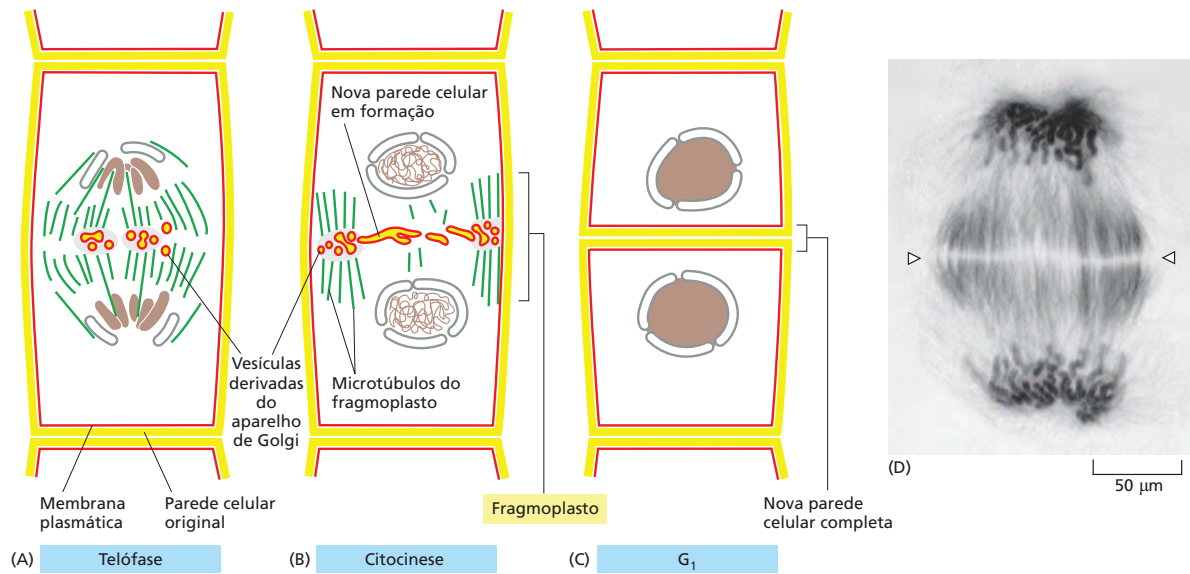
## As organelas delimitadas por membranas devem ser distribuídas para as células-filhas quando uma célula se divide

As organelas, como as mitocôndrias e os cloroplastos, não podem se formar espontaneamente a partir de cada um de seus componentes; elas surgem somente do crescimento e da divisão das organelas preexistentes. Do mesmo modo, o retículo endoplasmático (RE) e o aparelho de Golgi derivam de fragmentos de organelas preexistentes. Então, como as diversas organelas delimitadas por membrana se segregam quando a célula se divide de maneira que cada célula-filha receba algumas dessas organelas?

As mitocôndrias e os cloroplastos estão, em geral, presentes em grande número e serão facilmente herdados se, em média, seu número simplesmente dobrar

### QUESTÃO 18-8

Desenhe um esquema detalhado da formação da nova parede celular que separa as duas células-filhas quando uma célula vegetal se divide (ver Figura 18-34). Em particular, mostre onde as proteínas de membrana das vesículas derivadas do aparelho de Golgi irão se localizar, indicando o que acontece com a parte da proteína na membrana da vesícula de Golgi que está exposta para o interior da vesícula de Golgi. (Recorra ao Capítulo 11 se você precisar lembrar a estrutura da membrana.)



**Figura 18-34** A citocinese em uma célula vegetal é organizada por uma estrutura especializada composta por microtúbulos denominada fragmoplasto. No início da telófase, após a segregação dos cromossomos, uma nova parede celular inicia sua reestruturação no interior da célula no equador do antigo fuso (A). Os microtúbulos interpolares do fuso mitótico que permanecem na telófase formam o *fragmoplasto* e guiam as vesículas, derivadas do aparelho de Golgi, na direção do equador do fuso. As vesículas, que são preenchidas com material da parede celular, fundem-se para dar origem à nova parede celular em crescimento, que cresce para fora até alcançar a membrana plasmática e a parede celular original (B). A membrana plasmática preexistente e a membrana que envolve a nova parede celular (ambas mostradas em *vermelho*) se fundem, separando completamente as duas células-filhas (C). Uma micrografia óptica de uma célula vegetal em telófase é mostrada em (D) no estágio correspondente a (A). A célula foi corada para mostrar tanto os microtúbulos como os dois conjuntos de cromossomos-filhos segregados nos dois polos do fuso. A localização da nova parede celular em crescimento está indicada pelas setas. (D, cortesia de Andrew Bajer.)

a cada ciclo celular. O RE das células interfásicas é contínuo com a membrana nuclear e é organizado pelos microtúbulos do citoesqueleto (ver Figura 17-20A). Quando a célula entra na fase M, a reorganização dos microtúbulos libera o RE; na maioria das células, o RE liberado permanece intacto durante a mitose e é cortado em dois durante a citocinese. O aparelho de Golgi se fragmenta durante a mitose; os fragmentos se associam aos microtúbulos do fuso por meio de proteínas motoras, passando para as células-filhas com o alongamento do fuso na anáfase. Outros componentes da célula – incluindo as outras organelas delimitadas por membrana, os ribossomos e todas as proteínas solúveis – são herdados aleatoriamente quando a célula se divide.

Tendo discutido como as células se dividem, voltamos agora ao problema geral de como o tamanho de um animal ou de um órgão é determinado, o que nos leva a considerar como o número e o tamanho das células são controlados.

## CONTROLE DO NÚMERO E DO TAMANHO DAS CÉLULAS

Um óvulo fertilizado de camundongo e um óvulo fertilizado humano são semelhantes em tamanho – cerca de 100 µm de diâmetro. Mas um camundongo adulto é muito menor do que um humano adulto. Quais são as diferenças no controle do comportamento celular em humanos e camundongos que geram essas grandes diferenças no tamanho? A mesma pergunta fundamental pode ser feita sobre cada órgão e tecido no corpo de um indivíduo. Qual ajustamento do comportamento celular explica o comprimento da tromba de um elefante ou o tamanho do seu cérebro ou do seu fígado? Essas questões estão sem resposta, mas, no mínimo, é possível dizer quais devem ser os ingredientes dessa resposta. Três processos fundamentais determinam em grande parte o tamanho dos órgãos e do corpo: crescimento celular, divisão celular e morte celular. Cada um desses processos, por sua vez, depende de programas intrínsecos à célula individual e é regulado por sinais oriundos de outras células no corpo.

Nesta seção, discutimos inicialmente como os organismos eliminam as células indesejadas por uma forma de morte celular programada, chamada de *apoptose*. Então discutimos como sinais extracelulares equilibram a morte celular, o crescimento celular e a divisão celular – ajudando assim a controlar o tamanho de um animal e seus órgãos. Concluimos a seção com uma breve discussão sobre os sinais extracelulares que ajudam a manter tais processos sob controle.

### QUESTÃO 18-9

Acredita-se que o aparelho de Golgi seja repartido entre as células-filhas durante a divisão celular por uma distribuição aleatória de fragmentos que são criados durante a mitose. Explique por que a divisão aleatória dos cromossomos não funcionaria.

## A apoptose ajuda a regular o número de células animais

As células de um organismo multicelular são membros de uma comunidade altamente organizada. O número de células nessa comunidade é fortemente regulado – não apenas pelo controle da velocidade da divisão celular, mas também pelo controle da taxa de morte celular. Se as células não são mais necessárias, elas cometem suicídio pela ativação de um programa de morte intracelular – um processo chamado de **morte celular programada**. Nos animais, a forma mais comum de morte celular programada é chamada de **apoptose** (da palavra grega que significa “queda”, como as folhas que caem da árvore).

A quantidade de apoptose que ocorre tanto em tecidos adultos como nos que se encontram em desenvolvimento pode ser impressionante. No sistema nervoso dos vertebrados em desenvolvimento, por exemplo, mais da metade de alguns tipos de células nervosas em geral morrem logo depois que são formadas. Em um humano adulto saudável, bilhões de células morrem na medula óssea e no intestino a cada hora. Parece um grande desperdício que tantas células morram, sobretudo porque uma vasta maioria é perfeitamente saudável no momento em que elas se suicidam. Para quais propósitos serve essa morte celular massiva?

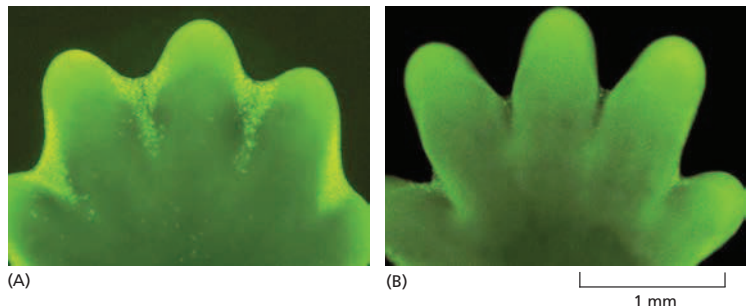
Em alguns casos, as respostas são claras. Patas de camundongos – e nossas próprias mãos e pés – são esculpidas pela apoptose durante o desenvolvimento embrionário: elas começam como estruturas em forma de pá, e os dedos individuais das mãos e dos pés se separam apenas quando as células entre eles morrem (**Figura 18-35**). Em outros casos, as células morrem quando a estrutura que elas criam não é mais necessária. Quando um girino muda para uma rã na metamorfose, as células na cauda morrem, e a cauda que não é necessária para a rã desaparece (**Figura 18-36**). Nesses casos, as células que não são necessárias morrem por apoptose.

Em tecidos adultos, a morte celular faz o balanço exato da divisão celular, a não ser que o tecido esteja crescendo ou se encolhendo. Se uma parte do fígado é removida em um rato adulto, por exemplo, as células do fígado proliferam para compensar a perda. De modo oposto, se um rato é tratado com fenobarbital, que estimula a divisão das células hepáticas, o fígado aumenta. Entretanto, quando o tratamento com fenobarbital é interrompido, a apoptose no fígado aumenta muito até que o órgão tenha voltado ao tamanho original, normalmente dentro de uma semana. Assim, o fígado é mantido com um tamanho constante pela regulação tanto da taxa de morte celular quanto da taxa de divisão celular.

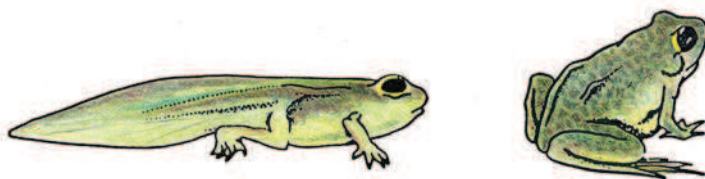
## A apoptose é mediada por uma cascata proteolítica intracelular

As células que morrem como consequência de uma doença aguda em geral incham e se rompem, extravasando todo o seu conteúdo sobre as suas células adjacentes, um processo chamado de *necrose celular* (**Figura 18-37A**). Essa erupção aciona uma resposta inflamatória potencialmente danosa. Em contraste, uma célula que sofre apoptose morre de modo limpo, sem danificar as suas células

**Figura 18-35 A apoptose nas patas de um camundongo em desenvolvimento “esculpe” os dedos.** (A) A pata neste embrião de camundongo foi tratada com um corante que marca especificamente células que sofreram apoptose. As células apoptóticas aparecem como pontos verdes-claros entre os dedos em desenvolvimento. (B) Essa morte de células elimina o tecido entre os dedos em desenvolvimento, como visto na pata mostrada um dia mais tarde. Aqui, poucas células apoptóticas podem ser observadas – demonstrando o quanto rapidamente as células apoptóticas podem ser eliminadas de um tecido. (De W. Wood et al., *Development* 127:5245–5252, 2000. Com permissão de The Company of Biologists Ltd.)







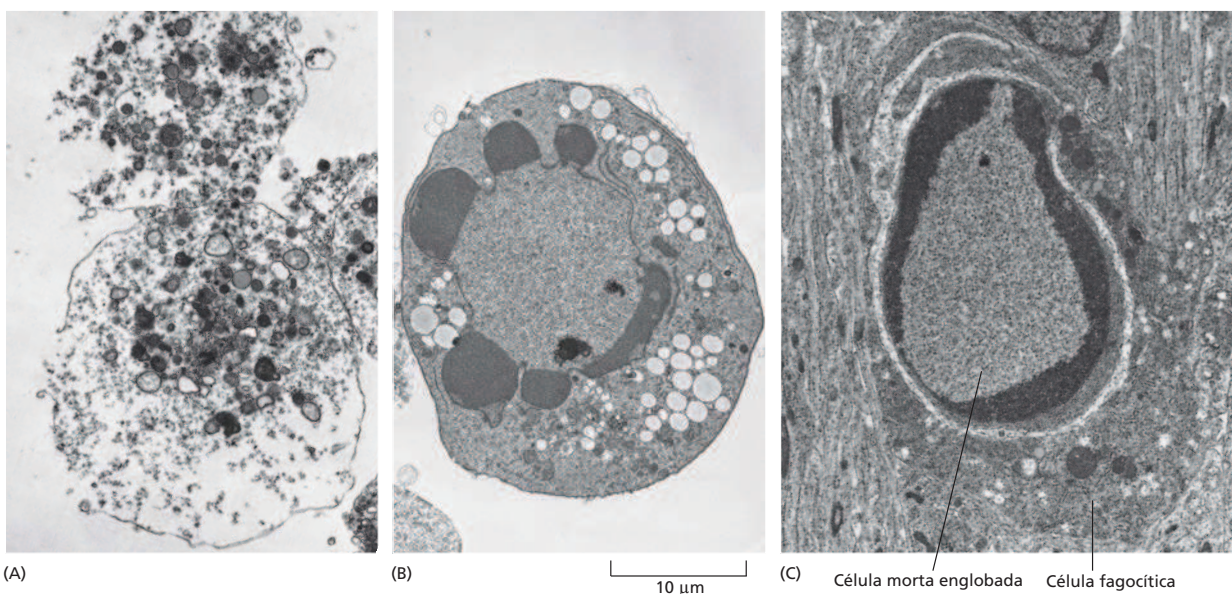
**Figura 18-36** Enquanto um girino se transforma em uma rã, as células na sua cauda são induzidas a sofrer apoptose. Todas as alterações que ocorrem durante a metamorfose, incluindo a indução da apoptose na cauda do girino, são estimuladas por um aumento no hormônio tireoidiano no sangue.

adjacentes. Uma célula no processo de apoptose pode desenvolver saliências irregulares – ou *bolhas* – sobre sua superfície; mas então encolhe e condensa (**Figura 18-37B**). O citoesqueleto colapsa, o envelope nuclear se fragmenta, e o DNA do núcleo se quebra em fragmentos (**Animação 18.9**). O mais importante é que a superfície da célula é alterada de tal forma que ela imediatamente atrai células fagocíticas, em geral células fagocíticas especializadas chamadas macrófagos (ver Figura 15-32B). Essas células englobam a célula em apoptose antes que ela extravase o seu conteúdo (**Figura 18-37C**). Essa remoção rápida da célula moribunda evita as consequências danosas da necrose celular e também permite que os componentes orgânicos da célula em apoptose sejam reciclados pela célula que aingere.

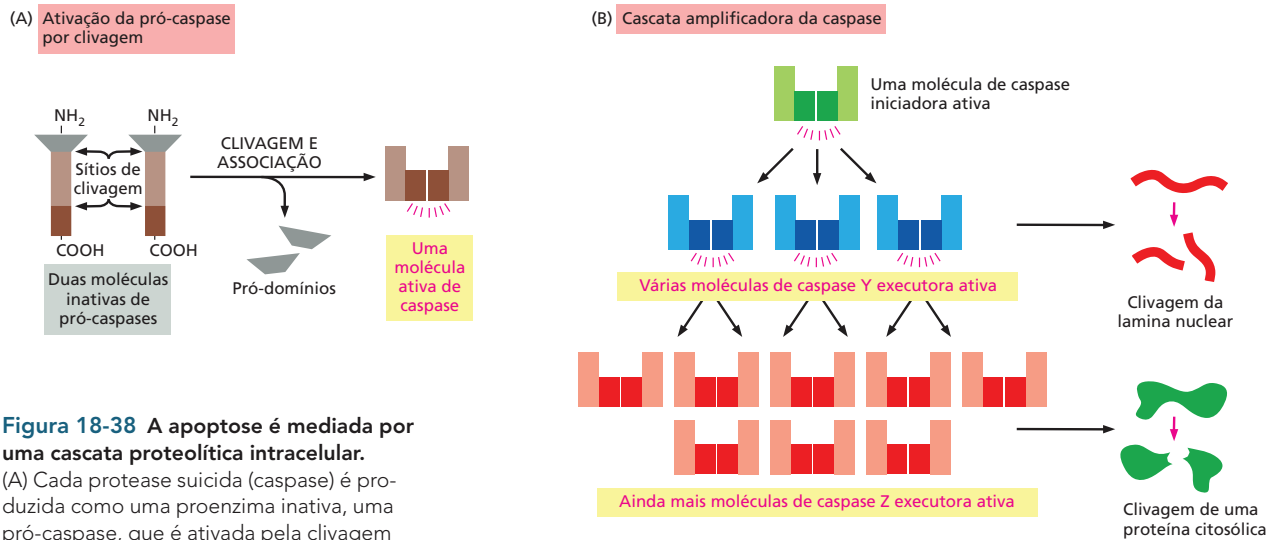
A maquinaria molecular responsável pela apoptose, que parece ser similar na maioria das células animais, envolve uma família de proteases chamadas **caspases**. Essas enzimas são produzidas na forma de precursores inativos, chamados *pró-caspases*, que são ativados em resposta a sinais que induzem a apoptose (**Figura 18-38A**). Dois tipos de caspases trabalham juntos para promover a apoptose. As *caspases iniciadoras* clivam e, assim, ativam as *caspases executoras* em etapas subsequentes dessa via. Algumas dessas caspases executoras

### QUESTÃO 18-10

Por que você acha que a apoptose ocorre por um mecanismo diferente daquele da morte celular que acontece na necrose celular? Quais poderiam ser as consequências se a apoptose não fosse realizada dessa forma tão precisa e ordenada, por meio da qual a célula se destrói a partir de seu interior e evita o vazamento do seu conteúdo para o espaço extracelular?



**Figura 18-37** As células que sofrem apoptose morrem de forma rápida e ordenada. Micrografias eletrônicas mostrando células que morreram por necrose (A) ou por apoptose (B e C). As células em (A) e em (B) morreram em uma placa de cultura, e a célula em (C) morreu em um tecido em desenvolvimento e foi englobada por uma célula fagocítica. Note que a célula em (A) parece ter explodido, e aquelas em (B) e (C) se condensaram, mas parecem relativamente intactas. Os grandes vacúolos vistos no citoplasma da célula em (B) são uma característica variável da apoptose. (Cortesia de Julia Burne.)



**Figura 18-38** A apoptose é mediada por uma cascata proteolítica intracelular.

(A) Cada protease suicida (caspase) é produzida como uma proenzima inativa, uma pró-caspase, que é ativada pela clivagem proteolítica por outro membro da mesma família de proteases. Dois fragmentos clivados a partir de cada uma das duas moléculas de pró-caspases se associam para formar uma caspase ativa, que é composta por duas subunidades pequenas e por duas subunidades grandes; os dois pró-domínios normalmente são descartados. (B) Cada molécula de caspase iniciadora ativada pode clivar várias moléculas de pró-caspases executoras, ativando-as desse modo, e estas podem então ativar mais moléculas de pró-caspases. Assim, uma ativação inicial de um pequeno número de moléculas de caspases iniciadoras pode conduzir, via reação de amplificação em cadeia (uma cascata), a uma ativação explosiva de um grande número de moléculas de caspases executoras. Algumas das caspases executoras ativadas degradam então inúmeras proteínas-chave na célula, como as laminas nucleares, levando à morte controlada da célula. A cascata proteolítica inicia-se quando as pró-caspases iniciadoras são ativadas, como discutimos em breve.

então ativam mais executoras, promovendo uma cascata proteolítica cada vez maior; outras degradam proteínas-chave na célula (**Figura 18-38B**). Por exemplo, uma caspase executora tem como alvo as proteínas lamina que formam a lâmina nuclear, que sustenta o envelope nuclear; essa clivagem causa o rompimento irreversível da lâmina nuclear, o que permite que as nucleases entrem no núcleo e degradem o DNA. Assim, a célula é degradada de forma rápida e ordenada, e seus restos rapidamente capturados e digeridos por outra célula.

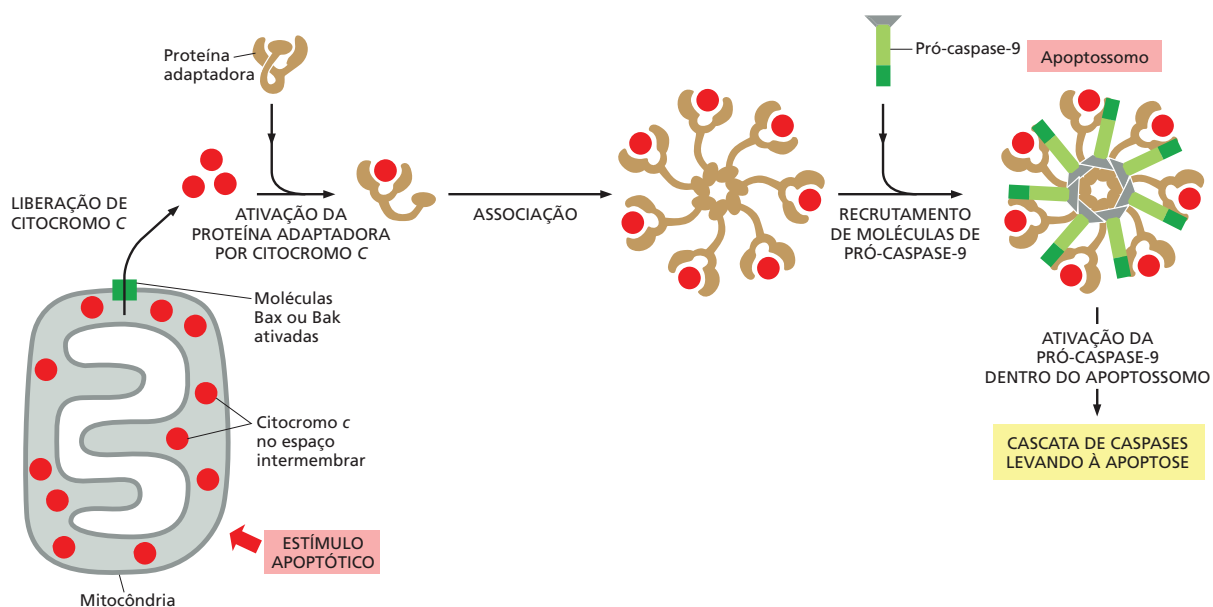
A ativação do programa de apoptose, como início de um novo estágio do ciclo celular, é normalmente controlada de maneira tudo-ou-nada. A cascata das caspases não é apenas destrutiva e autoamplificadora, mas também irreversível; uma vez que a célula chega a um ponto crítico ao longo da via para destruição, ela não pode voltar atrás. Portanto, é importante que a decisão de morte celular seja fortemente controlada.

## O programa de morte apoptótica intrínseco é regulado pela família Bcl2 das proteínas intracelulares

Todas as células animais nucleadas contêm os mecanismos da sua própria destruição: nessas células, as pró-caspases inativas ficam esperando por um sinal para degradar a célula. Portanto, não é de surpreender que a atividade da caspase seja fortemente regulada na célula para assegurar que o programa de morte seja mantido sob controle até que seja necessário – por exemplo, para eliminar as células que são supérfluas, estão no local errado ou estão muito danificadas.

As principais proteínas que regulam a ativação das caspases são membros da família Bcl2 de proteínas intracelulares. Alguns membros dessa família de proteínas promovem a ativação da caspase e da morte celular, enquanto outros inibem esses processos. Dois dos membros mais importantes da família de indução da morte são as proteínas denominadas *Bax* e *Bak*. Essas proteínas – que são ativadas em resposta ao dano de DNA ou outras lesões – promovem a morte celular por meio da indução da liberação da proteína de transporte de elétrons citocromo *c* a partir da mitocôndria para o citosol. Outros membros da família Bcl2 (incluindo a própria proteína Bcl2) inibem a apoptose, impedindo *Bax* e *Bak* de liberar citocromo *c*. O equilíbrio entre as atividades dos membros da família Bcl2 pró-apoptóticos e antiapoptóticos determina se uma célula de mamífero vive ou morre por apoptose.

As moléculas de citocromo *c* liberadas a partir das mitocôndrias ativam as pró-caspases iniciadoras – e induzem a morte celular – por meio da promoção da



formação de um grande complexo proteico semelhante a um cata-vento de sete braços chamado de *apoptossomo*. O apoptossomo então recruta e ativa uma determinada pró-caspase iniciadora, que em seguida aciona uma cascata de caspases que leva à apoptose (Figura 18-39).

## Sinais extracelulares também podem induzir apoptose

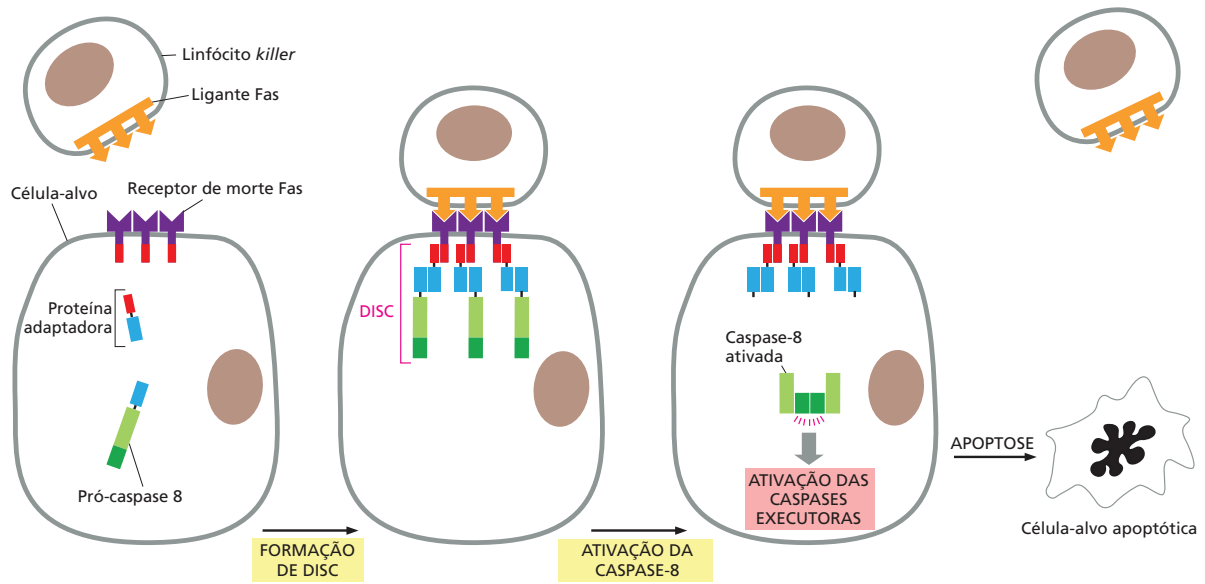
Às vezes o sinal para cometer suicídio não é gerado internamente, mas em vez disso são oriundos de uma célula adjacente. Alguns desses sinais extracelulares ativam o programa de morte celular afetando a adjacente de membros da família Bcl2 de proteínas. Outros estimulam a apoptose mais diretamente, pela ativação de um conjunto de proteínas receptoras da superfície celular conhecidas como *receptores de morte*.

Um receptor de morte particularmente bem compreendido, chamado *Fas*, está presente na superfície de vários tipos celulares de mamíferos. A ativação de Fas é feita por uma proteína ligada à membrana chamada de *ligante Fas*, presente na superfície de células imunes especializadas, denominadas *linfócitos killer* (matadores). Essas células matadoras ajudam a regular as respostas imunes pela indução da apoptose em outras células imunes indesejadas ou que não são mais necessárias – e a ativação de Fas é uma das maneiras de fazerem isso. A ligação do ligante Fas ao seu receptor aciona a formação de um complexo de sinalização indutor de morte, o qual inclui pró-caspases iniciadoras específicas que, quando ativadas, disparam uma cascata de caspases que leva à morte celular (Figura 18-40).

## As células animais requerem sinais extracelulares para sobreviver, crescer e se dividir

Em um organismo multicelular, o destino das células individuais é controlado por sinais oriundos de outras células. As células devem crescer antes de se dividir para que um tecido cresça ou para que ocorra substituição celular. Nutrientes não são suficientes para que uma célula animal sobreviva, cresça e se divida. A célula também precisa receber sinais químicos a partir de outras células, normalmente adjacentes a ela. Tais controles asseguram que a célula sobreviva apenas enquanto houver necessidade e se divida apenas quando outra célula for necessária, seja para permitir o crescimento tecidual ou para a reposição de células.

**Figura 18-39** Bax e Bak são membros promotores de morte da família Bcl2 de proteínas intracelulares que podem desencadear a apoptose por meio da liberação de citocromo c a partir das mitocôndrias. Quando as proteínas Bak ou Bax são ativadas por um estímulo apoptótico, elas se agregam na membrana mitocondrial externa, levando à liberação de citocromo c por um mecanismo desconhecido. O citocromo c é liberado no citosol do espaço intermembranar da mitocôndria (junto com outras proteínas nesse espaço – não mostrado). Acontece então a ligação de citocromo c a uma proteína adaptadora, formando um complexo de sete braços. Esse complexo então recruta sete moléculas de uma pró-caspase iniciadora específica (pró-caspase-9) para formar uma estrutura denominada apoptossomo. As proteínas pró-caspase-9 se tornam ativadas no apoptossomo e então ativam as pró-caspases executoras no citosol, provocando uma cascata de caspases e apoptose.



**Figura 18-40** Os receptores de morte ativados iniciam uma via de sinalização intracelular que leva à apoptose.

O ligante Fas na superfície de um linfócito killer ativa os receptores Fas na célula-alvo. Isso aciona a associação de um conjunto de proteínas intracelulares em um complexo de sinalização indutor da morte (DISC, do inglês *death-inducing signaling complex*), que inclui uma pró-caspase iniciadora específica (pró-caspase-8 ou 10). As pró-caspases clivam e ativam umas às outras, e as caspases ativas resultantes então ativam as pró-caspases executoras no citosol, levando a uma cascata proteolítica de caspases e apoptose.

Muitas das moléculas de sinalização extracelular que influenciam a sobrevivência celular, o crescimento celular e a divisão celular são proteínas solúveis secretadas por outras células ou proteínas ligadas à superfície de outras células ou da matriz extracelular. Embora a maioria atue positivamente para estimular um ou mais desses processos celulares, algumas atuam negativamente para inibir um determinado processo. As proteínas-sinal que atuam positivamente podem ser classificadas, com base na sua função, em três categorias principais:

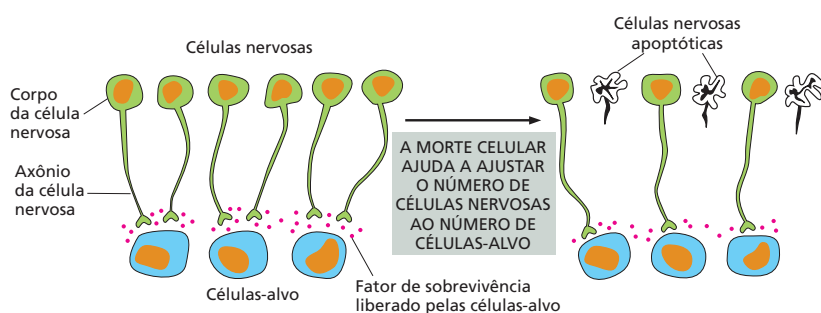
1. **Fatores de sobrevivência** promovem a sobrevivência celular, sobretudo pela supressão da apoptose.
2. **Mitógenos** estimulam a divisão celular, principalmente pelo fato de reverterem os mecanismos intracelulares que bloqueiam a progressão do ciclo celular.
3. **Fatores de crescimento** estimulam o crescimento celular (um aumento no tamanho e na massa celular) promovendo a síntese e inibição da degradação de proteínas e outras macromoléculas.

Essas categorias não são mutuamente exclusivas, já que várias moléculas de sinalização têm mais do que uma dessas funções. O termo “fator de crescimento” costuma ser utilizado como uma expressão geral para descrever uma proteína com qualquer um desses papéis. Na verdade, a expressão “crescimento celular” em geral é usada de forma inapropriada para significar um aumento no número de células, que é mais corretamente chamado de “proliferação celular”.

Nas próximas três seções, examinamos cada um desses tipos de moléculas de sinalização.

## Os fatores de sobrevivência suprimem a apoptose

As células animais precisam de sinais de outras células para sobreviverem. Se privadas desses fatores de sobrevivência, as células ativam um programa de suicídio intracelular dependente de caspases e morrem por apoptose. Essa necessidade de sinais oriundos de outras células para a sobrevivência ajuda a assegurar que as células sobrevivam apenas quando e onde forem necessárias. Vários tipos de células nervosas, por exemplo, são produzidos em excesso no sistema nervoso em desenvolvimento, e então competem por quantidades limitadas de fatores de sobrevivência que são secretados pelas células-alvo com as quais fazem contato.



As células nervosas que recebem fatores de sobrevivência suficientes vivem, ao passo que as outras morrem por apoptose. Assim, o número de células nervosas sobreviventes é ajustado automaticamente de acordo com o número de células com as quais elas se conectam (Figura 18-41). Acredita-se que uma dependência semelhante de sinais de sobrevivência, secretados por células adjacentes, ajude a controlar o número de células em outros tecidos, tanto durante o desenvolvimento como na vida adulta.

Os fatores de sobrevivência costumam atuar pela ativação de receptores da superfície celular. Uma vez ativados, os receptores acionam vias de sinalização intracelular que mantêm o programa de morte apoptótica suprimido, normalmente pela regulação de membros da família Bcl2 de proteínas. Alguns fatores de sobrevivência, por exemplo, aumentam a produção de Bcl2, uma proteína que suprime a apoptose (Figura 18-42).

## Os mitógenos estimulam a divisão celular promovendo o início da fase S

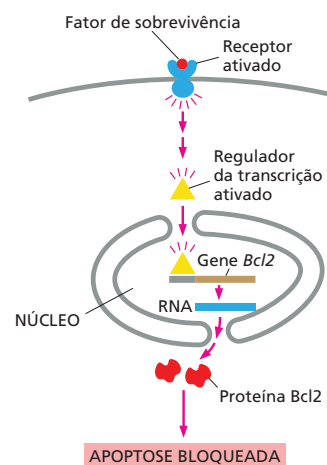
A maioria dos mitógenos consiste em proteínas de sinalização secretadas que se ligam a receptores da superfície celular. Quando ativados pela ligação do mitógeno, esses receptores ativam várias vias de sinalização intracelular (discutido no Capítulo 16) que estimulam a divisão celular. Como vimos anteriormente, essas vias de sinalização atuam principalmente pela liberação de moléculas de controle intracelular que bloqueiam a transição da fase G<sub>1</sub> do ciclo celular para a fase S (ver Figura 18-14).

A maioria dos mitógenos foi identificada e caracterizada por seus efeitos em células em cultura. Um dos primeiros mitógenos identificados dessa maneira foi o *fator de crescimento derivado de plaquetas*, ou PDGF (do inglês, *platelet-derived growth factor*), cujos efeitos são semelhantes aos de vários outros descobertos desde então. Quando os coágulos de sangue são formados (em uma lesão, por exemplo), as plaquetas sanguíneas incorporadas nos coágulos são estimuladas a liberar PDGF. Este então se liga ao receptor tirosina-cinase (discutido no Capítulo 16) nas células sobreviventes no local da ferida, estimulando-as, com isso, a proliferar e auxiliar na cicatrização da ferida. De modo semelhante, se parte do fígado é perdida em uma cirurgia ou lesão aguda, um mitógeno denominado *fator de crescimento de hepatócitos* ajuda a estimular as células hepáticas sobreviventes a proliferarem.

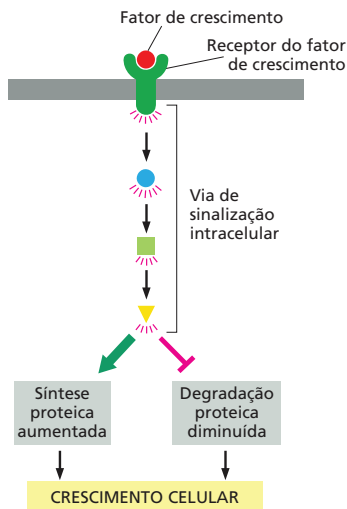
## Os fatores de crescimento estimulam as células a crescerem

O crescimento de um organismo ou órgão depende tanto do crescimento celular como da divisão celular. Se as células se dividirem sem crescer, elas ficarão progressivamente menores e não haverá um aumento total na massa celular. Nos organismos unicelulares, como leveduras, tanto o crescimento celular quanto a divisão celular exigem apenas nutrientes. Nos animais, ao contrário, tanto o crescimento celular como a divisão celular dependem de sinais oriundos de outras células. O crescimento celular, diferentemente da divisão celular, não depende do sistema de controle do ciclo celular. De fato, muitas células animais, incluindo cé-

**Figura 18-41** A morte celular pode ajudar a ajustar o número de células nervosas em desenvolvimento ao número de células-alvo com as quais elas fazem contato. Se mais células nervosas são produzidas do que pode ser suportado pela quantidade limitada de fatores de sobrevivência liberados pelas células-alvo, algumas células irão receber quantidades insuficientes de fatores de sobrevivência para manter seu programa de suicídio suprimido, e sofrerão apoptose. Essa estratégia de superprodução seguida de seleção pode ajudar a assegurar que todas as células-alvo estejam conectadas a células nervosas e que as células nervosas “extras” sejam automaticamente eliminadas.



**Figura 18-42** Fatores de sobrevivência muitas vezes suprimem a apoptose pela regulação dos membros da família Bcl2. Neste caso, o fator de sobrevivência se liga a receptores da superfície celular que ativam uma via de sinalização intracelular, a qual, por sua vez, ativa um regulador da transcrição no citosol. Essa proteína se move para o núcleo, onde ativa o gene que codifica Bcl2, uma proteína que inibe a apoptose.



**Figura 18-43** Os fatores extracelulares de crescimento aumentam a síntese e diminuem a degradação de macromoléculas. Essa mudança conduz a um aumento líquido das macromoléculas e, conseqüentemente, ao crescimento celular (ver também Figura 16-39).

lulas nervosas e a maioria das células musculares, realizam a maior parte do seu crescimento após ter se diferenciado terminalmente e parado de se dividir de forma permanente.

Assim como a maioria dos fatores de sobrevivência e mitógenos, a maioria dos fatores extracelulares de crescimento se liga a receptores da superfície celular que ativam vias de sinalização intracelular. Essas vias levam ao acúmulo de proteínas e outras macromoléculas. Os fatores de crescimento tanto aumentam a taxa de síntese dessas moléculas como diminuem sua taxa de degradação (Figura 18-43).

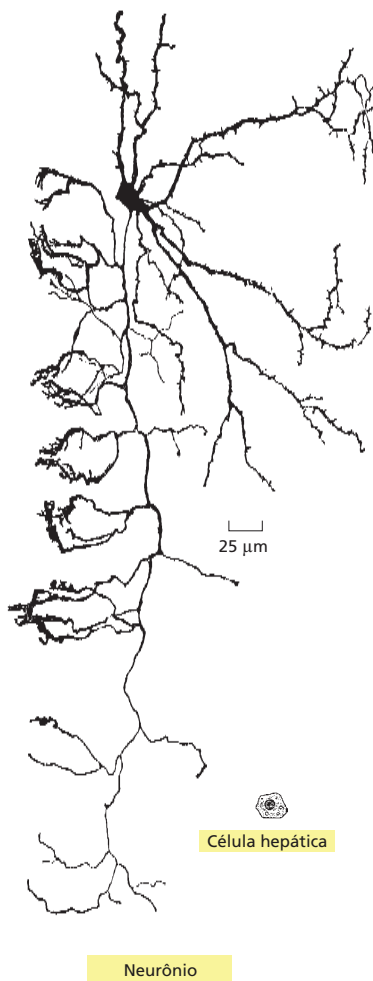
Algumas proteínas de sinalização extracelular, incluindo PDGF, podem atuar tanto como fatores de crescimento quanto como mitógenos, estimulando o crescimento celular e a progressão do ciclo celular. Essas proteínas ajudam a assegurar que as células mantenham o seu tamanho apropriado à medida que proliferam.

Em comparação com a divisão celular, existem surpreendentemente poucos estudos de como o tamanho da célula é controlado nos animais. Em consequência, continua sendo um mistério como os diferentes tipos de células em um mesmo animal são tão diferentes em tamanho (Figura 18-44).

## Algumas proteínas de sinalização extracelular inibem a sobrevivência, a divisão ou o crescimento da célula

As proteínas de sinalização extracelular que discutimos até agora – fatores de sobrevivência, mitógenos e fatores de crescimento – atuam positivamente para aumentar o tamanho de órgãos e organismos. No entanto, algumas proteínas de sinalização extracelular atuam opondo-se a esses reguladores positivos, e assim inibem o crescimento do tecido. A *miostatina*, por exemplo, é uma proteína-sinal secretada que normalmente inibe o crescimento e a proliferação das células precursoras (mioblastos) que se fundem para formar as células musculares esqueléticas durante o desenvolvimento dos mamíferos. Quando o gene que codifica a miostatina é eliminado em camundongos, os seus músculos crescem em tamanho várias vezes maior do que o normal, pois tanto o número quanto o tamanho das células musculares estão aumentados. Notavelmente, duas raças bovinas que foram cruzadas para terem músculos exacerbados apresentaram mutações no gene que codifica a miostatina (Figura 18-45).

Os cânceres são semelhantes aos produtos de mutações que deixam as células livres dos controles “sociais” normais que atuam na sobrevivência, no crescimento e na proliferação celular. Como as células cancerosas costumam ser menos dependentes de sinais provenientes de outras células do que as células normais, elas podem sobreviver por mais tempo, crescer mais e dividir-se mais



**Figura 18-44** As células em um animal podem ser muito diferentes em tamanho. O neurônio e a célula hepática mostrados aqui foram desenhados na mesma escala e ambos contêm a mesma quantidade de DNA. Um neurônio cresce progressivamente após ter se diferenciado terminalmente e parado de se dividir de forma permanente. Durante esse tempo, a proporção entre citoplasma e DNA aumenta muito – por um fator de mais de  $10^5$  para alguns neurônios. (Neurônio adaptado de S. Ramón y Cajal, *Histologie du Système Nerveux de l’Homme et de Vertébrés*, 1909–1911. Paris: Maloine; reimpresso, Madrid: C.S.I.C., 1972.)



(A)



(B)

do que as células adjacentes normais, produzindo tumores que podem matar seu hospedeiro (ver Capítulo 20).

Em nossas discussões sobre divisão celular, até agora nos concentramos muito nas divisões comuns que produzem duas células-filhas, cada uma com um complemento total e idêntico ao material genético da célula-mãe. Entretanto, existe um tipo de divisão celular diferente e altamente especializado chamado meiose, que é necessário para a reprodução sexuada nos eucariotos. No próximo capítulo, descrevemos as características especiais da meiose e como ela dá suporte aos princípios genéticos que definem as leis da hereditariedade.

## CONCEITOS ESSENCIAIS

- O ciclo celular eucariótico consiste em várias fases distintas. Na interfase, a célula cresce e o DNA do núcleo é replicado; na fase M, o núcleo se divide (mitose), seguido pelo citoplasma (citocinese).
- Na maioria das células, a interfase consiste em uma fase S quando o DNA é duplicado, e duas fases de intervalo –  $G_1$  e  $G_2$ . Essas fases de intervalo dão à célula em proliferação mais tempo para crescer e se preparar para os eventos da fase S e da fase M.
- O sistema de controle do ciclo celular coordena os eventos do ciclo celular, ativando e desativando, de forma sequencial e cíclica, as partes apropriadas da maquinaria do ciclo celular.
- O sistema de controle do ciclo celular depende de proteínas-quinase dependentes de ciclina (Cdks), que são ciclicamente ativadas pela ligação de proteínas ciclina e pela fosforilação e desfosforilação; quando ativadas, as Cdks fosforilam proteínas-chave na célula.
- Diferentes complexos ciclina-Cdk acionam diferentes etapas do ciclo celular: M-Cdk conduz a célula para mitose;  $G_1$ -Cdk a conduz por  $G_1$ ;  $G_1/S$ -Cdk e S-Cdk a conduzem para a fase S.
- O sistema de controle também utiliza complexos proteicos, como APC, para promover a degradação de reguladores específicos do ciclo celular em determinados estágios do ciclo.
- O sistema de controle do ciclo celular pode pausar o ciclo em pontos de transição específicos para assegurar que as condições intra e extracelulares sejam favoráveis e que cada etapa seja completada antes que a próxima se inicie. Alguns desses mecanismos de controle se baseiam nos inibidores de Cdk que bloqueiam a atividade de um ou mais complexos ciclina-Cdk.
- O complexo S-Cdk inicia a replicação do DNA durante a fase S e ajuda a assegurar que o genoma seja copiado apenas uma vez. O sistema de controle do ciclo celular pode atrasar a progressão do ciclo celular durante  $G_1$  ou a fase S para impedir que as células repliquem DNA danificado. Ele também pode atrasar o início da fase M para assegurar que a replicação do DNA esteja completa.

**Figura 18-45** A mutação do gene *miostatina* leva a um aumento dramático na massa muscular. (A) Este Belgium Blue foi produzido por criadores de gado, e apenas recentemente se observou que ele possui uma mutação no gene *miostatina*. (B) Camundongos intencionalmente deficientes no mesmo gene também apresentaram, de forma notável, músculos exacerbados. Um camundongo normal é mostrado no topo para comparação com o mutante mostrado abaixo. (A, de H.L. Sweeney, *Sci. Am.* 291:62–69, 2004. Com permissão de Scientific American. B, de S.-J. Lee, *PLoS ONE* 2:e789, 2007.)

- Os centrossomos se duplicam durante a fase S e se separam durante  $G_2$ . Alguns dos microtúbulos que se desenvolvem a partir dos centrossomos duplicados interagem para formar o fuso mitótico.
- Quando o envelope nuclear se fragmenta, os microtúbulos do fuso capturam os cromossomos duplicados e os puxam para direções opostas, posicionando os cromossomos no equador do fuso na metáfase.
- A separação repentina das cromátides-irmãs na anáfase permite que os cromossomos sejam puxados para os polos opostos; esse movimento ocorre pela despolimerização dos microtúbulos do fuso e por proteínas motoras associadas aos microtúbulos.
- O envelope nuclear é reconstituído ao redor dos dois conjuntos de cromossomos segregados para formar os dois novos núcleos, completando, assim, a mitose.
- Nas células animais, a citocinese é mediada por um anel contrátil de filamentos de actina e miosina, os quais se associam no meio do caminho entre os polos do fuso; nas células vegetais, ao contrário, uma nova parede celular é formada no interior da célula-mãe para dividir o citoplasma em dois.
- Nos animais, os sinais extracelulares regulam o número de células por meio do controle da sobrevivência celular, crescimento celular e proliferação celular.
- A maioria das células animais precisa de sinais de sobrevivência oriundos de outras células para evitar a apoptose – uma forma de suicídio celular mediado por uma cascata de caspases proteolíticas; tal estratégia ajuda a assegurar que as células sobrevivam apenas quando e onde forem necessárias.
- As células animais proliferam apenas quando estimuladas por mitógenos extracelulares produzidos por outras células; os mitógenos inibem os mecanismos normais intracelulares que bloqueiam a progressão de  $G_1$  ou  $G_0$  para a fase S.
- Para que um organismo ou órgão cresça, as células devem crescer, bem como se dividir. O crescimento das células animais depende de fatores extracelulares de crescimento, que estimulam a síntese proteica e inibem a degradação das proteínas.
- Algumas moléculas de sinalização extracelular inibem, ao invés de promoverem a sobrevivência celular, crescimento celular ou divisão celular.
- As células cancerosas não seguem esses controles “sociais” normais do comportamento celular e, assim, crescem mais rapidamente, dividem-se mais e vivem mais do que as suas células adjacentes normais.

## TERMOS-CHAVE

anel contrátil	citocinese	$G_1/S$ -Cdk
anáfase	coesina	interfase
apoptose	complexo promotor de anáfase (APC)	M-Cdk
áster	condensação dos cromossomos	metáfase
biorientação	condensina	mitose
caspase	cromátide-irmã	mitógeno
Cdk (proteína-quinase dependente de ciclina)	família Bcl2	morte celular programada
centrossomo	fase $G_1$	p53
ciclina	fase $G_2$	polo do fuso
ciclina $G_1$	fase M	prometáfase
ciclina $G_1/S$	fase S	proteína inibidora de Cdk
ciclina M	fator de crescimento	prófase
ciclina S	fator de sobrevivência	S-Cdk
ciclo celular	fragmoplasto	sistema de controle do ciclo celular
ciclo do centrossomo	fuso mitótico	telófase
cinetocoro	$G_1$ -Cdk	



## TESTE SEU CONHECIMENTO

### QUESTÃO 18-11

Quanto tempo levaria aproximadamente para que um único óvulo humano fertilizado produzisse um grupo de células, por meio de repetidas divisões, pesando 70 kg, se cada célula pesa 1 nanograma logo após a divisão celular e se cada ciclo celular leva 24 horas? Por que leva mais tempo do que isso para produzir um humano adulto de 70 kg?

### QUESTÃO 18-12

O ciclo celular mais curto de todas as células eucarióticas – ainda mais curto do que o de muitas bactérias – ocorre em muitos embriões animais jovens. Essas divisões de clivagem acontecem sem qualquer aumento significativo no peso do embrião. Como isso ocorre? Qual a fase do ciclo celular que você espera que seja mais reduzida?

### QUESTÃO 18-13

Um dos importantes efeitos biológicos de uma alta dose de radiação ionizante é a interrupção da divisão celular.

- Como isso ocorre?
- O que acontece se uma célula tem uma mutação que impede que ela interrompa a divisão celular depois de ser irradiada?
- Quais poderiam ser os efeitos dessa mutação se a célula não for irradiada?
- Um humano adulto que já alcançou a maturidade morrerá dentro de poucos dias depois de receber uma dose de radiação alta o bastante para interromper a divisão celular. O que isso lhe diz (além de que se devem evitar altas doses de radiação)?

### QUESTÃO 18-14

Se as células forem cultivadas em um meio de cultura contendo timidina radioativa, a timidina será covalentemente incorporada ao DNA das células durante a fase S. O DNA radioativo pode ser detectado nos núcleos de células individuais por autorradiografia (i.e., colocando uma emulsão fotográfica sobre as células, as células radioativas ativarão a emulsão e se revelarão como pontos pretos quando observadas sob microscópio). Considere um experimento simples no qual as células são marcadas radioativamente por esse método apenas durante um curto período (cerca de 30 minutos). O meio com timidina radioativa é então substituído por um meio contendo timidina não marcada, e permite-se que as células cresçam durante mais algum tempo. Em diferentes momentos de tempo após a substituição do meio, as células são examinadas sob o microscópio. A fração de células em mitose (que pode ser facilmente reconhecida, pois as células se arredondaram e seus cromossomos estão condensados), que têm DNA radiativo nos seus núcleos, é então determinada e representada em função do tempo depois da marcação com timidina radioativa (Figura Q18-14).

- Todas as células (incluindo as células em todas as fases do ciclo celular) contêm DNA radioativo depois do procedimento de marcação?
- Inicialmente não existem células mitóticas que contêm DNA radioativo (ver Figura Q18-14). Por que isso ocorre?

- Explique a elevação e a queda e então a nova elevação da curva.
- Estime o comprimento da fase  $G_2$  a partir deste gráfico.

### QUESTÃO 18-15

Uma das funções de M-Cdk é causar uma queda brusca na concentração de ciclina M no intervalo correspondente à metade da fase M. Descreva as consequências dessa súbita diminuição e sugira possíveis mecanismos pelos quais isso pode ocorrer.

### QUESTÃO 18-16

A Figura 18-5 mostra o aumento da concentração de ciclina e o aumento da atividade de M-Cdk nas células à medida que elas avançam pelo ciclo celular. É notável que a concentração de ciclina aumente de forma lenta e constante, ao passo que a atividade de M-Cdk aumenta bruscamente. Como você acha que essas diferenças surgiram?

### QUESTÃO 18-17

Qual é a ordem na qual ocorrem os seguintes eventos durante a divisão celular:

- anáfase
- metáfase
- prometáfase
- telófase
- fase da lua
- mitose
- prófase

Quando ocorre a citocinese?

### QUESTÃO 18-18

O tempo de vida de um microtúbulo nas células de mamíferos, entre sua formação pela polimerização e seu desaparecimento espontâneo pela despolimerização, varia com o estágio do ciclo celular. Em uma célula em ativa proliferação, o tempo médio é de 5 minutos na interfase e de 15 segundos na mitose. Se o tamanho médio de um microtúbulo na interfase for de 20  $\mu\text{m}$ , qual seria o seu tamanho durante a mitose, supondo que as taxas de crescimento dos microtúbulos em razão da adição de subunidades de tubulina nas duas fases sejam as mesmas?

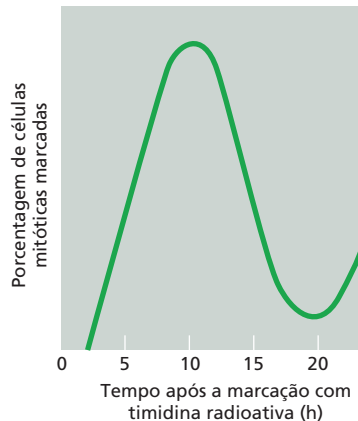


Figura Q18-14

**QUESTÃO 18-19**

Acredita-se que o equilíbrio entre as proteínas motoras direcionadas para a extremidade mais (+) e as direcionadas para a extremidade menos (-) que se ligam aos microtúbulos interpolares na região de sobreposição do fuso mitótico auxilie na determinação do comprimento do fuso. Como cada tipo de proteína motora contribui para a determinação do tamanho do fuso?

**QUESTÃO 18-20**

Faça um esquema dos principais estágios da mitose usando o Pannel 18-1 (p. 622-623) como guia. Desenhe uma cromátide-irmã com uma cor e a siga ao longo da mitose e da citocinese. Qual é o evento que compromete essa cromátide com uma célula-filha em particular? Uma vez comprometido, esse fenômeno pode ser revertido? O que pode influenciar esse comprometimento?

**QUESTÃO 18-21**

O movimento polar dos cromossomos durante a anáfase A está associado ao encurtamento dos microtúbulos. Em particular, os microtúbulos despolimerizam nas suas extremidades, as quais estão ligadas aos cinetocoros. Desenhe um modelo que explique como um microtúbulo pode encurtar e gerar força permanecendo firmemente ligado ao cromossomo.

**QUESTÃO 18-22**

Raramente, as duas cromátides-irmãs de um cromossomo replicado são segregadas na mesma célula-filha. Como isso pode acontecer? Quais seriam as consequências de tais erros mitóticos?

**QUESTÃO 18-23**

Quais das seguintes afirmativas estão corretas? Explique sua resposta.

- Os centríolos são replicados antes do início da fase M.
- Duas cromátides-irmãs surgem pela replicação do DNA do mesmo cromossomo e permanecem pareadas até se alinharem na placa metafásica.
- Os microtúbulos interpolares se ligam em suas extremidades e por isso são contínuos de um polo do fuso ao outro.
- A polimerização e a despolimerização dos microtúbulos e as proteínas motoras dos microtúbulos são todas necessárias para a replicação do DNA.
- Os microtúbulos se reúnem nos centrômeros e então se conectam aos cinetocoros, os quais são estruturas da região do centríolo dos cromossomos.

**QUESTÃO 18-24**

Um anticorpo que se liga à miosina impede o movimento das moléculas de miosina ao longo dos filamentos de actina (a interação da actina e da miosina é descrita no Capítulo 17). Como você supõe que o anticorpo exerça esse efeito? Qual seria o resultado da injeção desse anticorpo nas células (A) no movimento dos cromossomos em anáfase ou (B) na citocinese? Explique suas respostas.

**QUESTÃO 18-25**

Observe com cuidado a micrografia eletrônica da Figura 18-37. Descreva as diferenças entre as células que morreram por necro-

se e as que morreram por apoptose. Como a fotografia confirma as diferenças entre os dois processos? Justifique sua resposta.

**QUESTÃO 18-26**

Quais das seguintes afirmativas estão corretas? Explique sua resposta.

- As células não avançam de G<sub>1</sub> para a fase M do ciclo celular, a não ser que haja nutrientes suficientes para completar um ciclo celular inteiro.
- A apoptose é mediada por proteases intracelulares especiais, uma das quais cliva laminas nucleares.
- Neurônios em desenvolvimento competem por quantidades limitadas de fatores de sobrevivência.
- Algumas proteínas de controle do ciclo celular de vertebrados funcionam quando expressas em células de leveduras.
- A atividade enzimática de uma proteína Cdk é determinada tanto pela presença de uma ciclina ligada como pelo estado de fosforilação de Cdk.

**QUESTÃO 18-27**

Compare as regras do comportamento celular em um animal com as regras que determinam o comportamento humano na sociedade. O que aconteceria a um animal se as suas células se comportassem como as pessoas normalmente se comportam em nossa sociedade? As regras que determinam o comportamento celular poderiam ser aplicadas à sociedade humana?

**QUESTÃO 18-28**

No seu laboratório de pesquisa secreta, o Dr. Lawrence M. é responsável pela tarefa de desenvolver uma cepa de ratos do tamanho de cães para ser enviada aos territórios inimigos. Em sua opinião, qual das seguintes estratégias o Dr. M. deveria seguir para aumentar o tamanho dos ratos?

- Bloquear a apoptose.
- Bloquear a função de p53.
- Produzir em grandes quantidades os fatores de crescimento, os mitógenos ou os fatores de sobrevivência.
- Obter uma carteira de habilitação para motorista de táxi e mudar de profissão.

Explique as possíveis consequências de cada opção.

**QUESTÃO 18-29**

O PDGF é codificado por um gene que pode causar câncer quando expresso de maneira não apropriada. Por que os cânceres não surgem em lesões onde o PDGF é liberado a partir de plaquetas?

**QUESTÃO 18-30**

O que você supõe que ocorra em células mutantes que

- não podem degradar a ciclina M?
- sempre expressam altos níveis de p21?
- não podem fosforilar Rb?

**QUESTÃO 18-31**

As células do fígado proliferam tanto em pacientes alcoolistas quanto em pacientes com tumores hepáticos. Quais são as diferenças nos mecanismos pelos quais a proliferação celular é induzida nessas doenças?