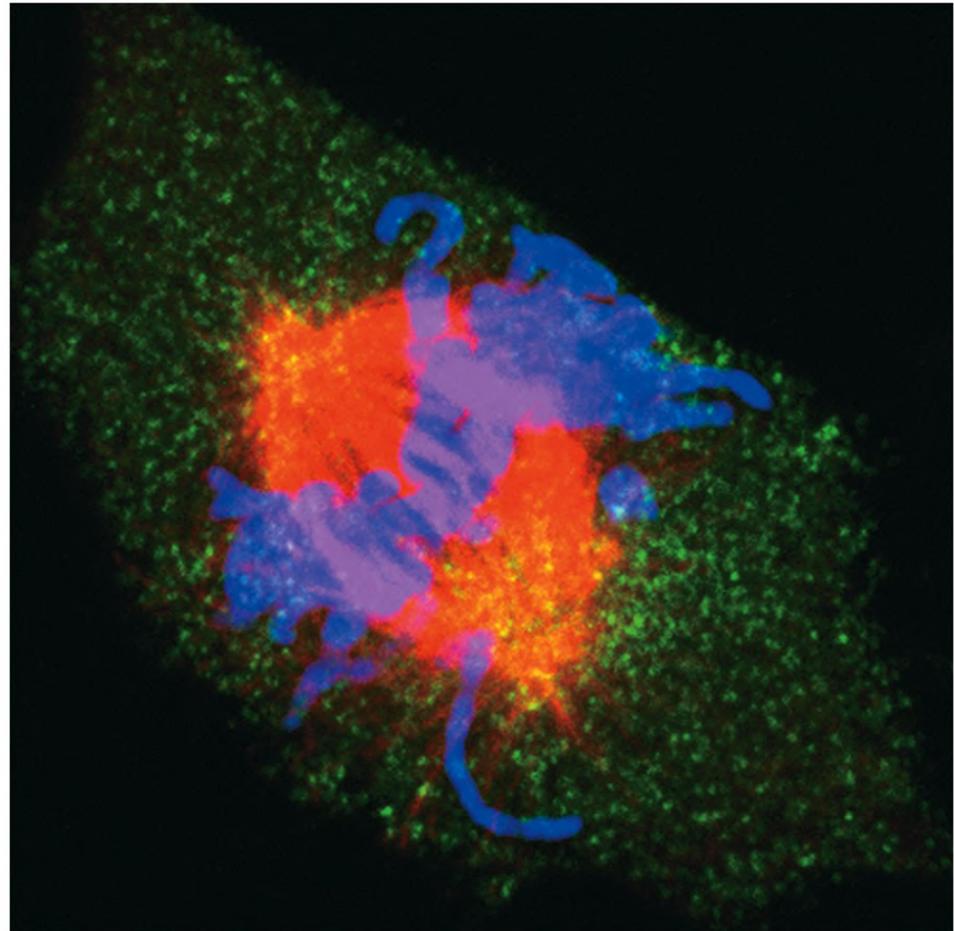


# REGULAÇÃO DO CICLO CELULAR DOS EUCARIOTOS



Célula de rim de rato em metáfase. Cromossomos condensados (azul), microtúbulos (vermelho) e uma proteína do envelope nuclear – POM121 (verde).

Burke & Elenberger – Nature Rev. Mol.Cell.Biol. 3:487, 2002

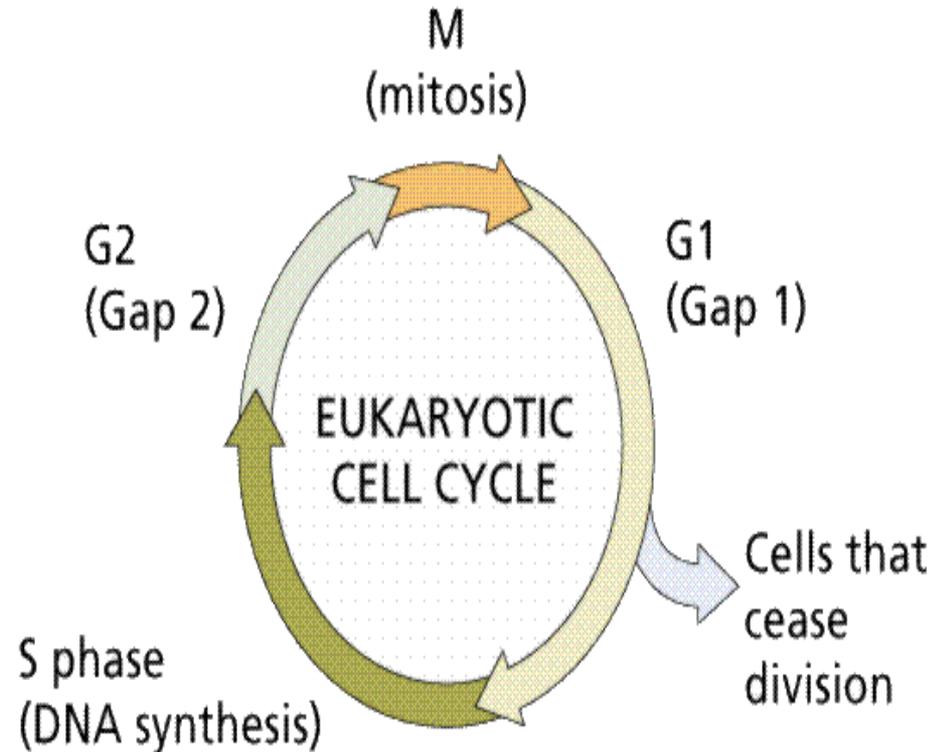
As células se reproduzem pela duplicação de seus conteúdos e, então, dividem-se em duas. Este ciclo de divisão celular é a maneira fundamental pela qual todos os seres vivos são reproduzidos

## Finalidade: divisão celular

Fases do ciclo celular

Mecanismos de divisão celular

Regulação do ciclo celular



**Mitose é o processo mais visível do ciclo celular embora seja a etapa mais curta.**

## **Intérfase : etapa de preparação para a mitose**

- Interfase: duplicação do DNA e dos centríolos
- Fase M: segregação dos cromossomos e divisão celular

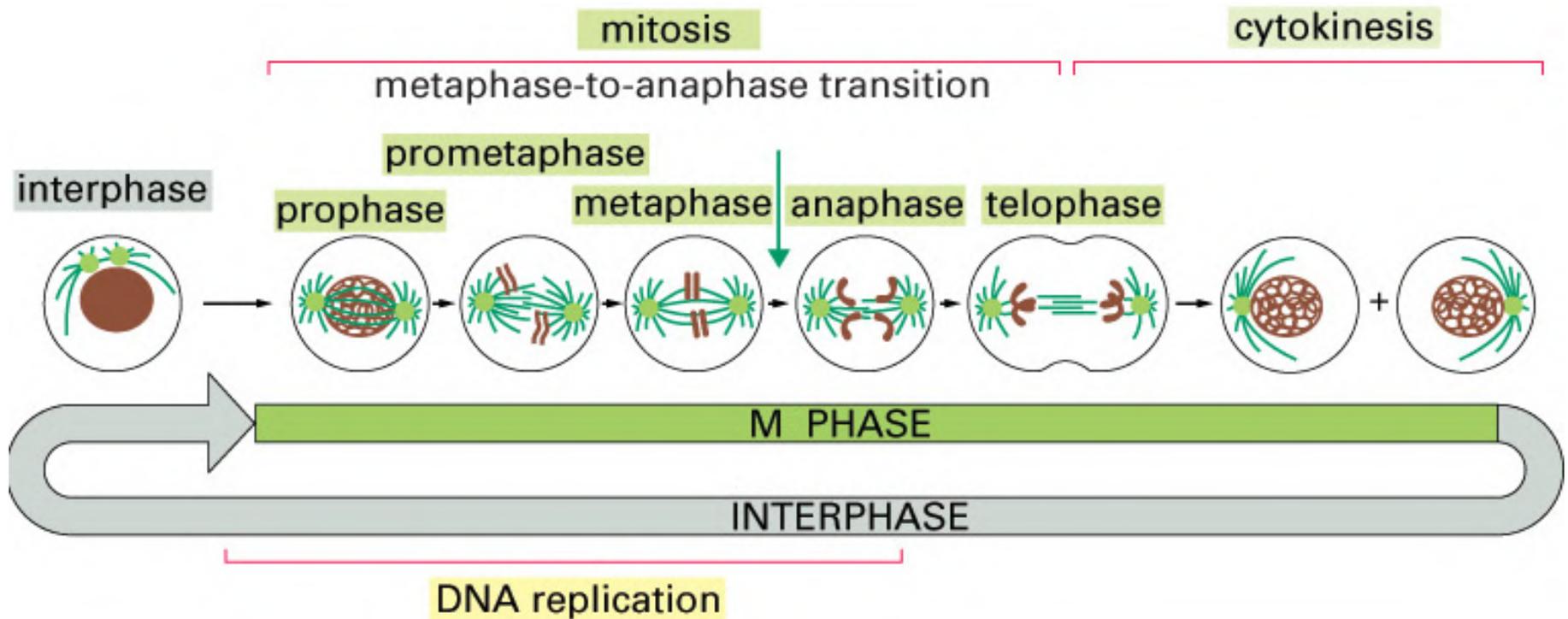
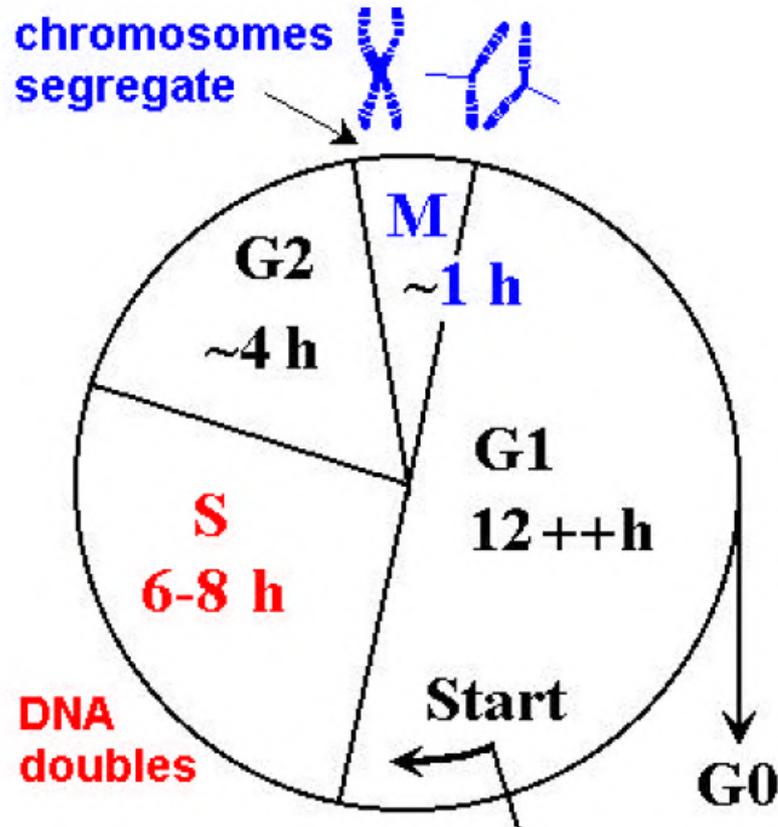


Figure 17–2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

# DURAÇÃO DO CICLO CELULAR



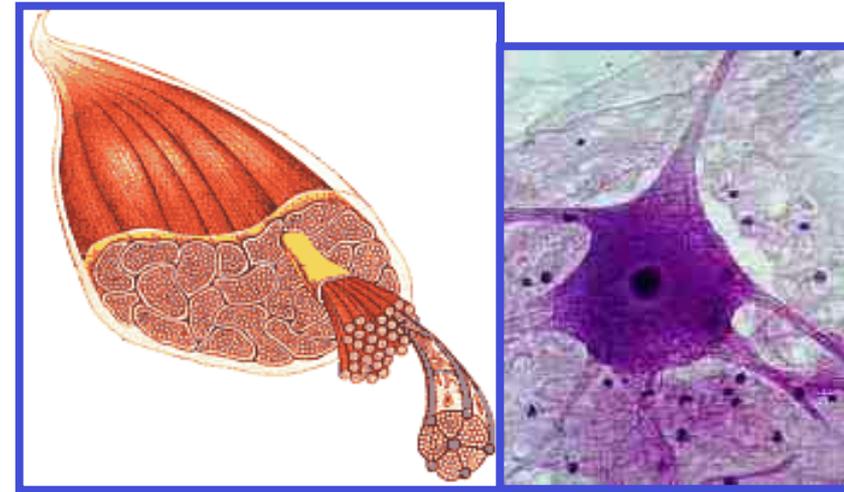
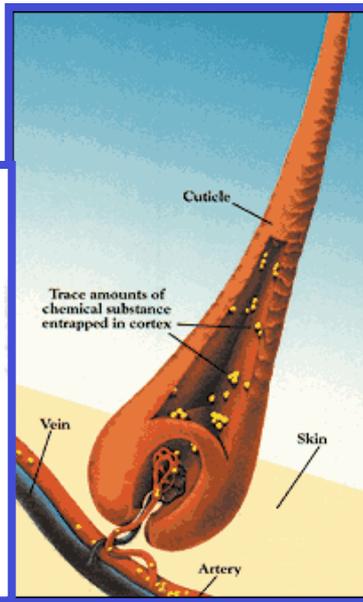
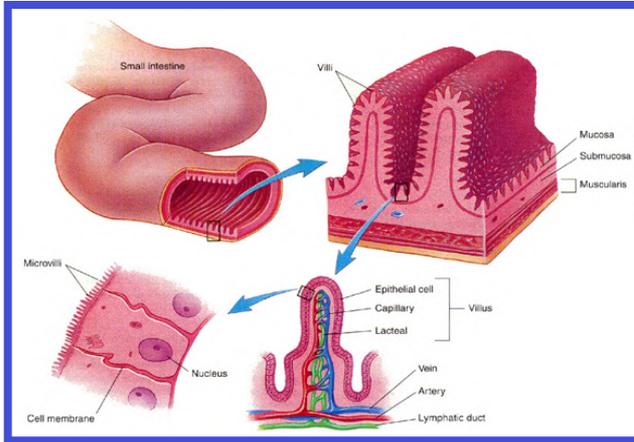
CÉLULAS MAMÍFEROS - 24 HORAS

CÉLULAS LEVEDURAS - 2 HORAS

# Duração do Ciclo Celular

Fase  $G_0$  curta

Fase  $G_0$  longa



**intestino**

**folículo  
piloso**

**miócito**

**neurônio**

Divisão celular rápida

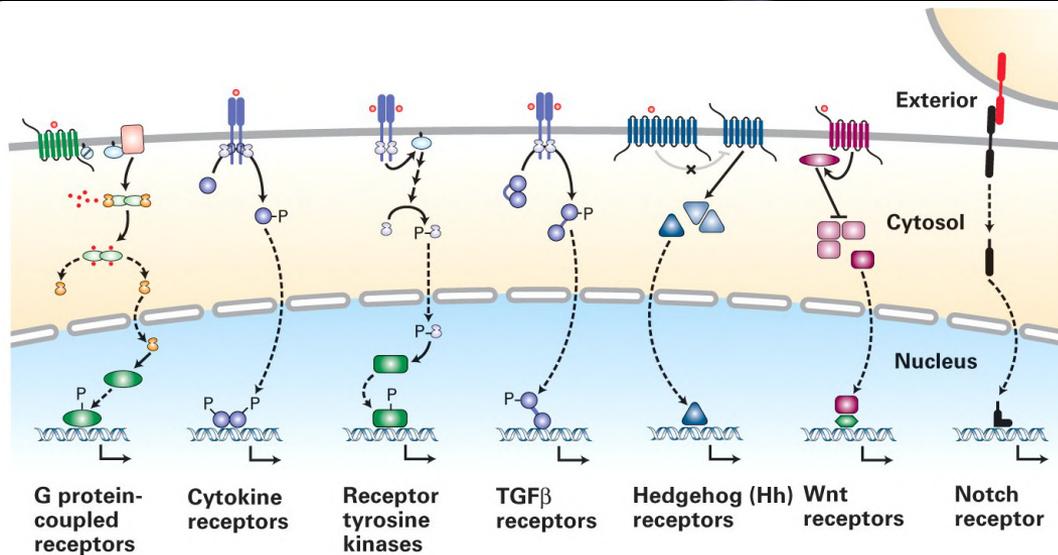
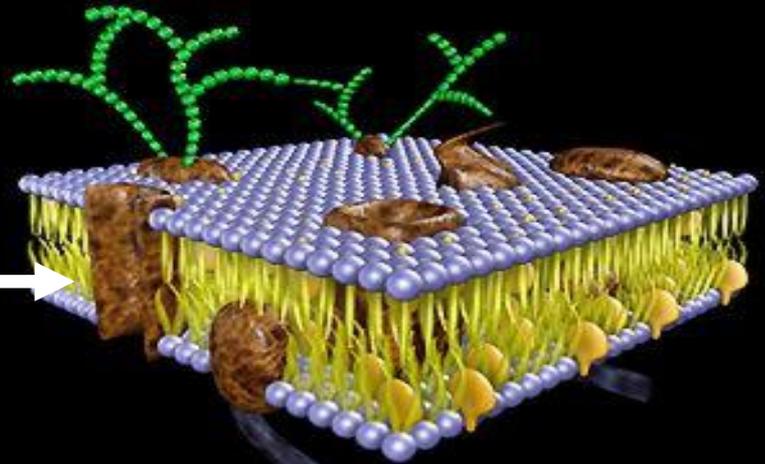
Divisão celular lenta

# Fatores estimulantes

## PROTEÍNAS SINALIZADORAS

- **PDGF** (*Platelet-derived growth factor*)
- **EGF** (*epidermal growth factor*)

**RECEPTORES DE MEMBRANA**



# Proteínas regulam o Ciclo Celular

-o sistema de controle do ciclo celular compreende um conjunto distinto de proteínas

-*checkpoints*: pontos de parada no qual o ciclo celular pode ser interrompido

-participação de sinais extra e intracelulares

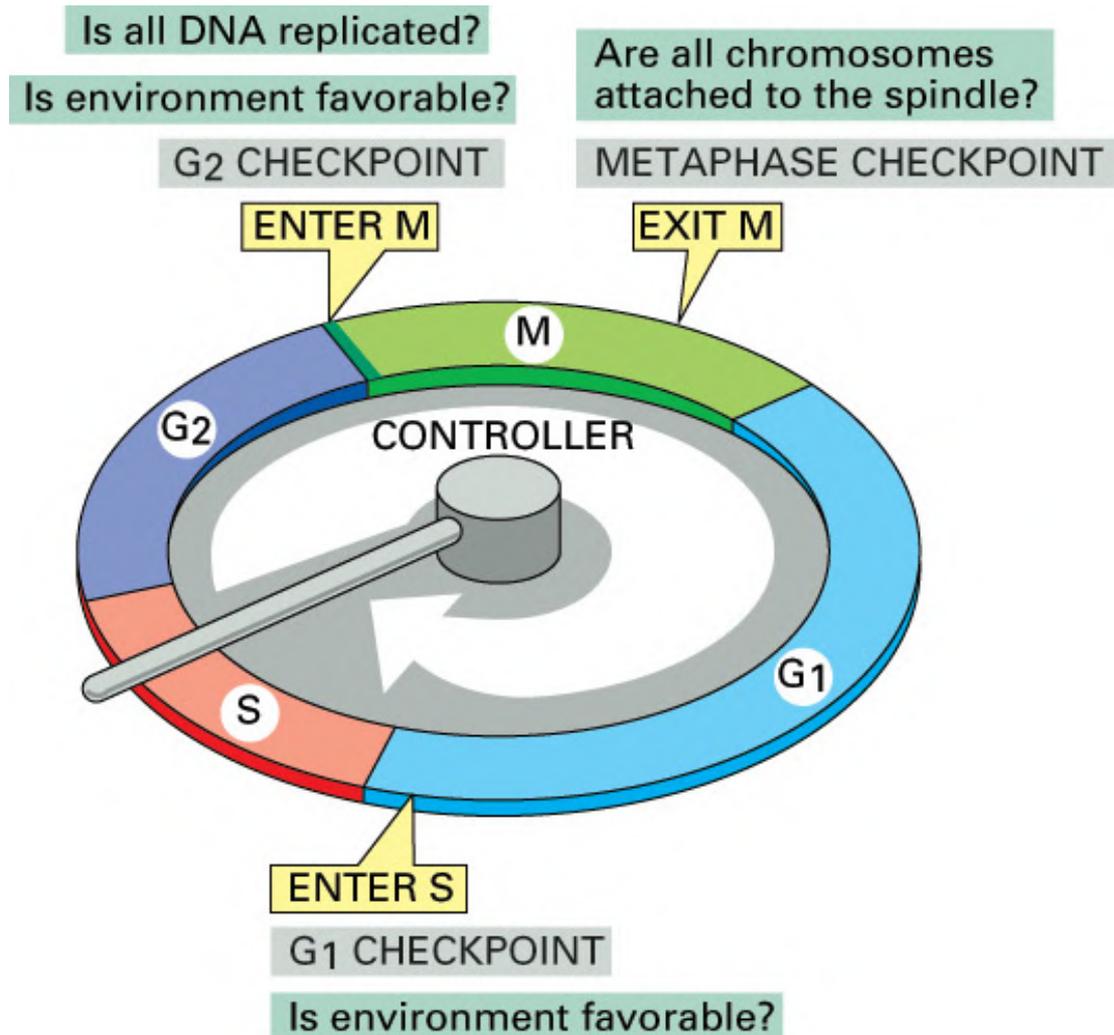
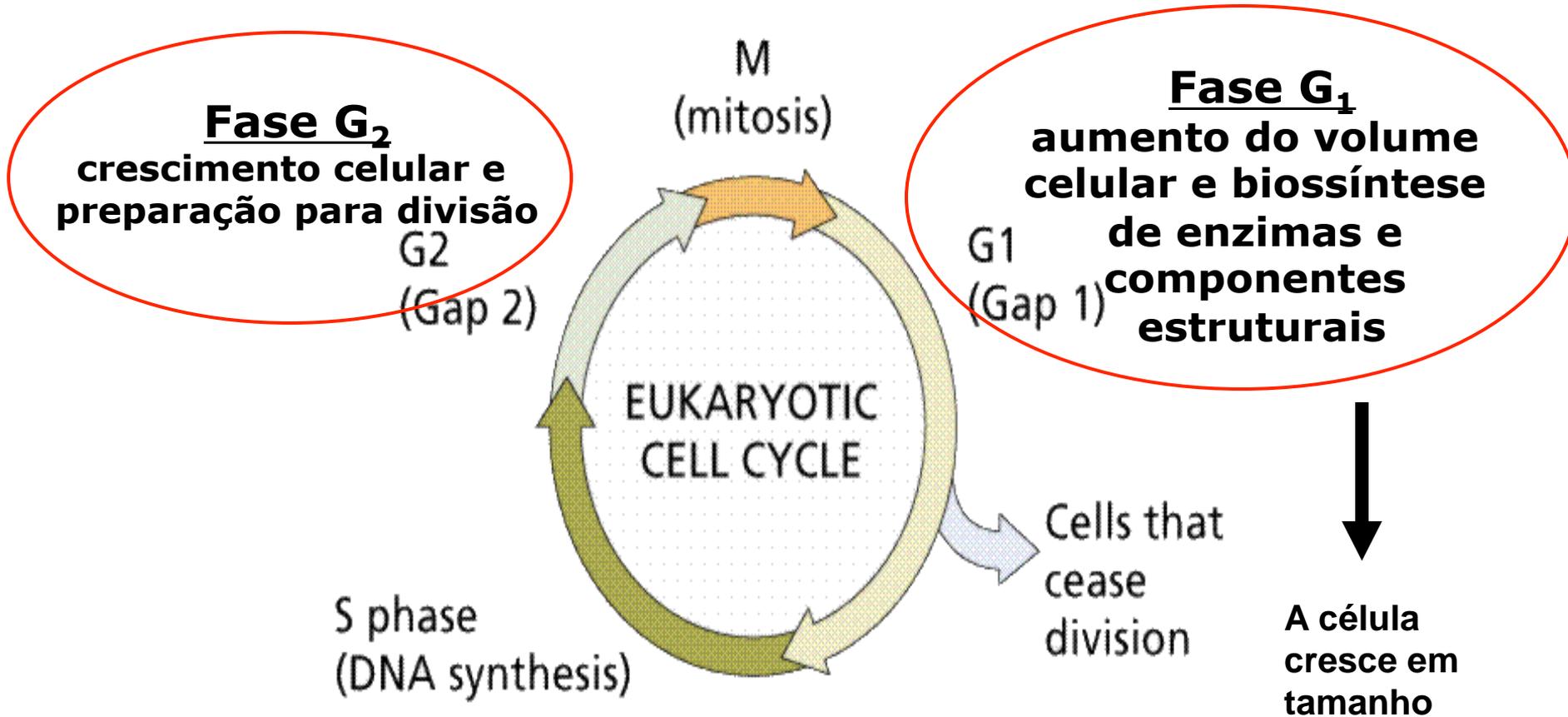
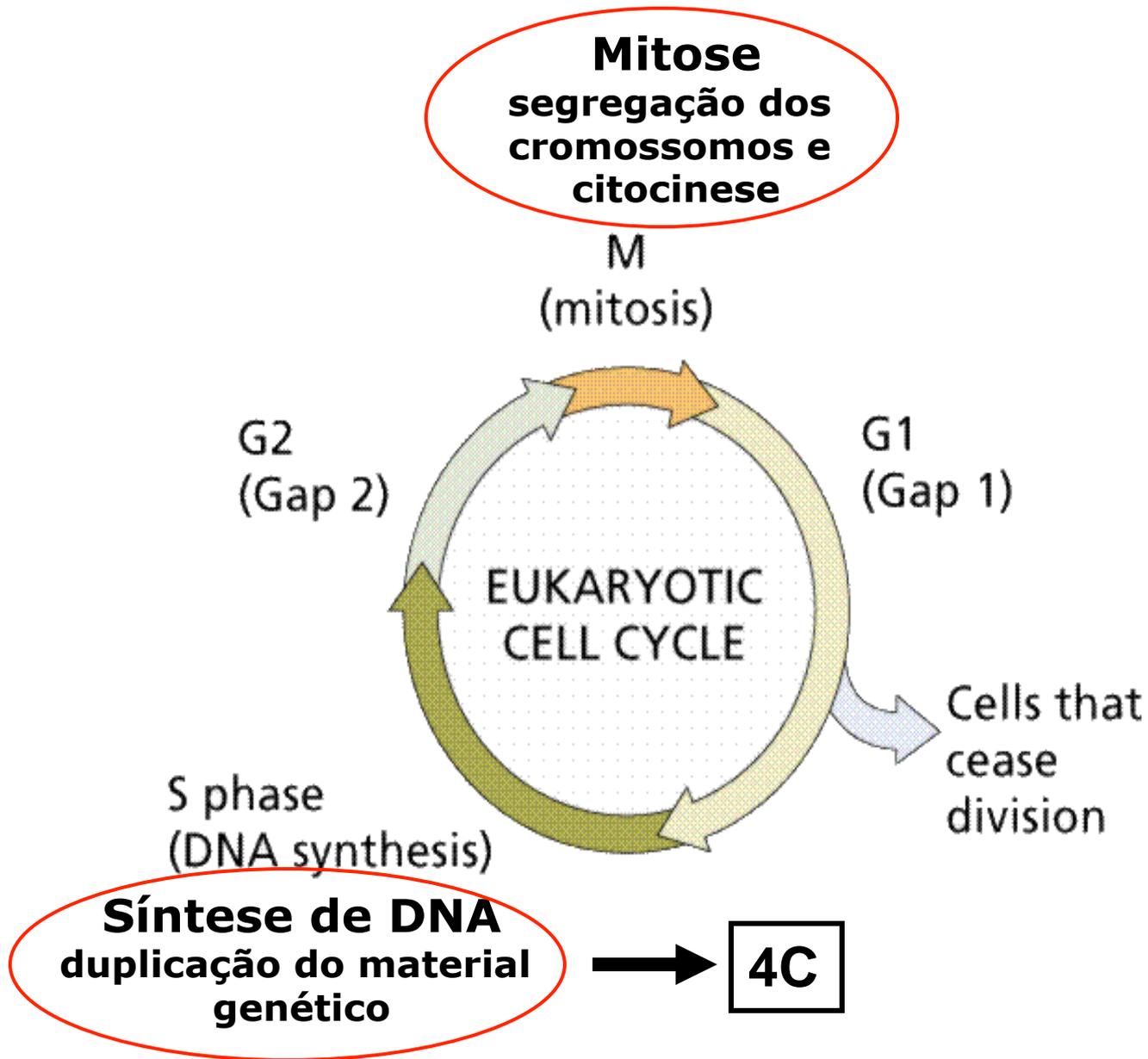


Figure 17-14. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

# Fases regulatórias - G1 e G2



# Fases mecânicas - S e M



**TEMPO REGULADO.** Cada evento acontece a uma etapa específica, providenciando um **tempo fixo para completar cada evento.**

**START.** Um mecanismo para iniciar eventos na ordem correta, por exemplo entrada em MITOSE, deve sempre vir depois da replicação do DNA.

Um mecanismo que assegure que cada evento aconteça uma única vez por ciclo.

**SISTEMAS BINÁRIOS (ligado/desligado)** que dipare eventos de forma que eles sejam completos e irreversíveis. Seria claramente desastroso se eventos como condensação dos cromossomos ou quebra do envelope nuclear fossem iniciados mas não completados.

**ROBUSTO.** Mecanismos para assegurar que o ciclo possa trabalhar apropriadamente mesmo que partes do sistema não estejam funcionando bem.

**ADAPTABILIDADE** tal que o comportamento do sistema possa ser modificado para tipos específicos de células ou condições ambientais

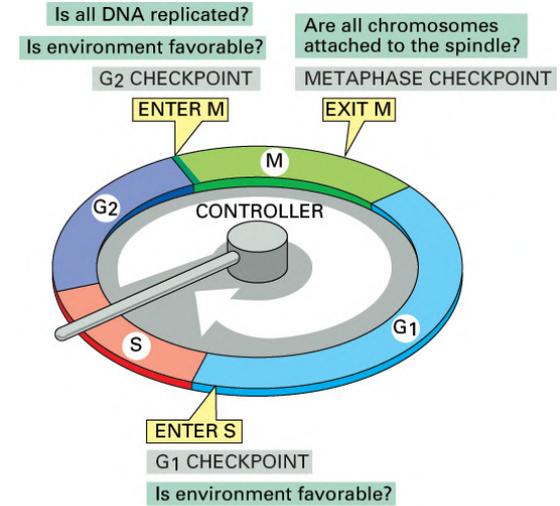


Figure 17-14. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.



# Proteínas regulam o Ciclo Celular

-fator de crescimento  
PDGF  
EGF

Ciclina-Cdks

Rb (Retinoblastoma)  
p53

-*checkpoints*:  
pontos de parada no  
qual o ciclo celular  
pode ser interrompido

-participação de sinais  
extra e intracelulares

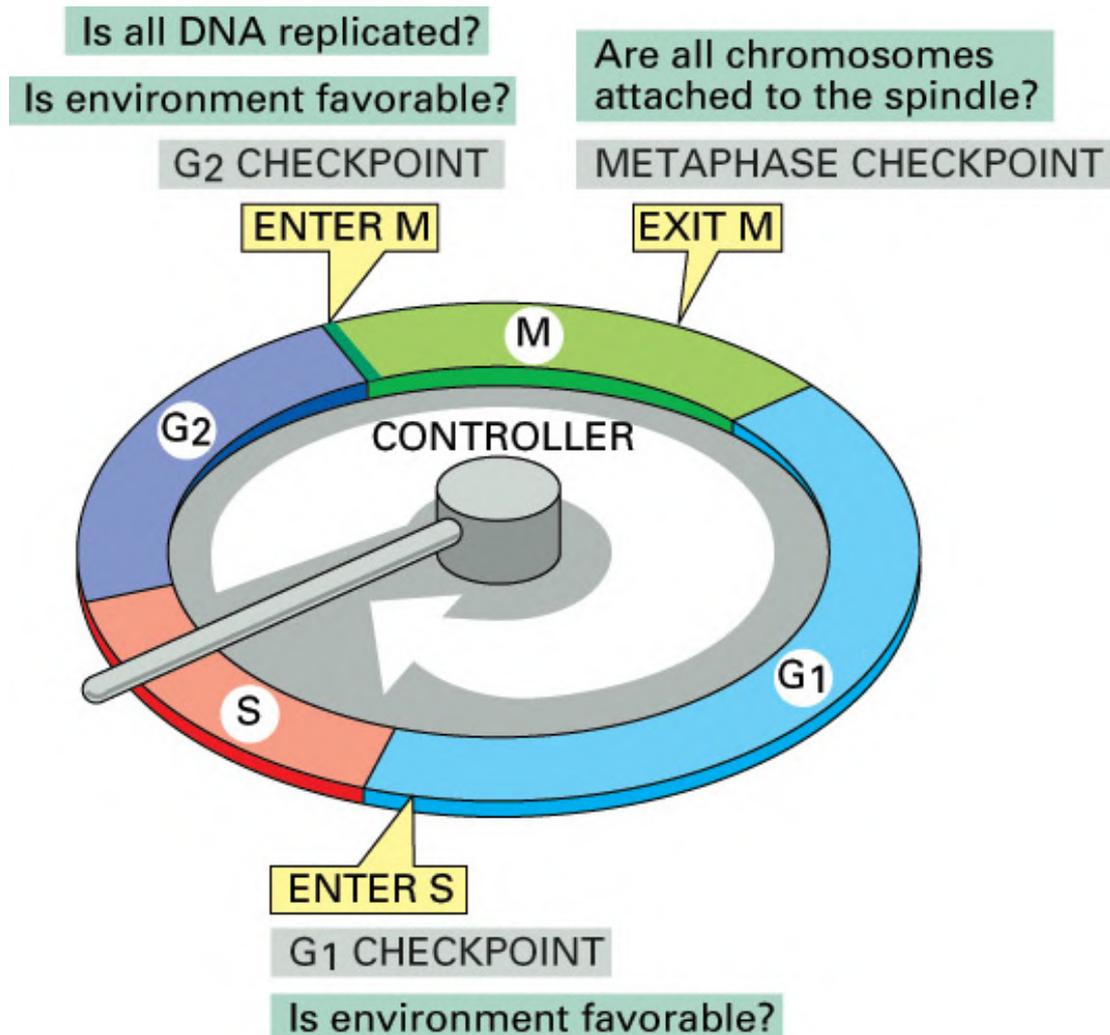
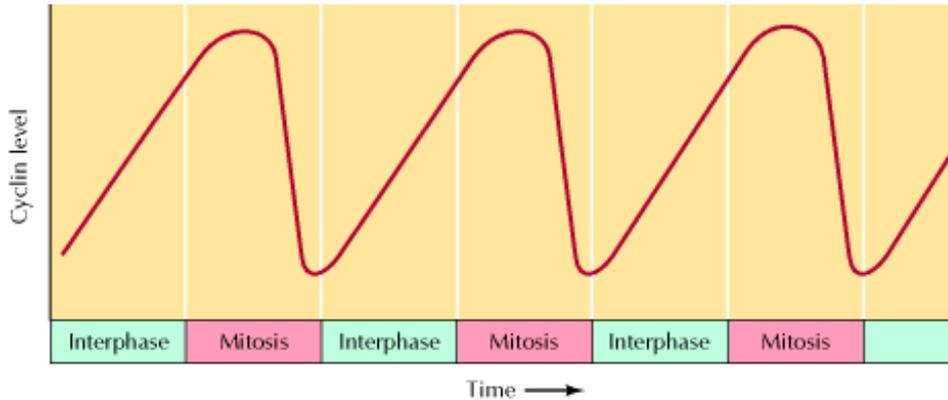


Figure 17-14. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

# CICLINAS - Cdk's



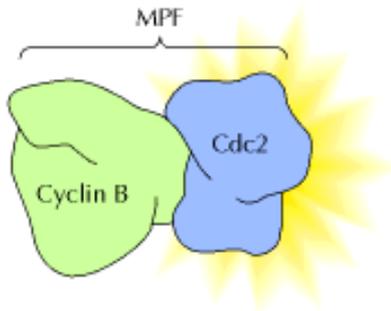
## Acúmulo e degradação das ciclinas em embrião de ouriço do mar.

As ciclinas foram identificadas como proteínas que acumulam na interfase e são rapidamente degradadas ao final da mitose.

O coração do sistema de controle do ciclo celular é uma família de proteína quinases conhecidas como quinases dependentes de ciclinas (Cdks).

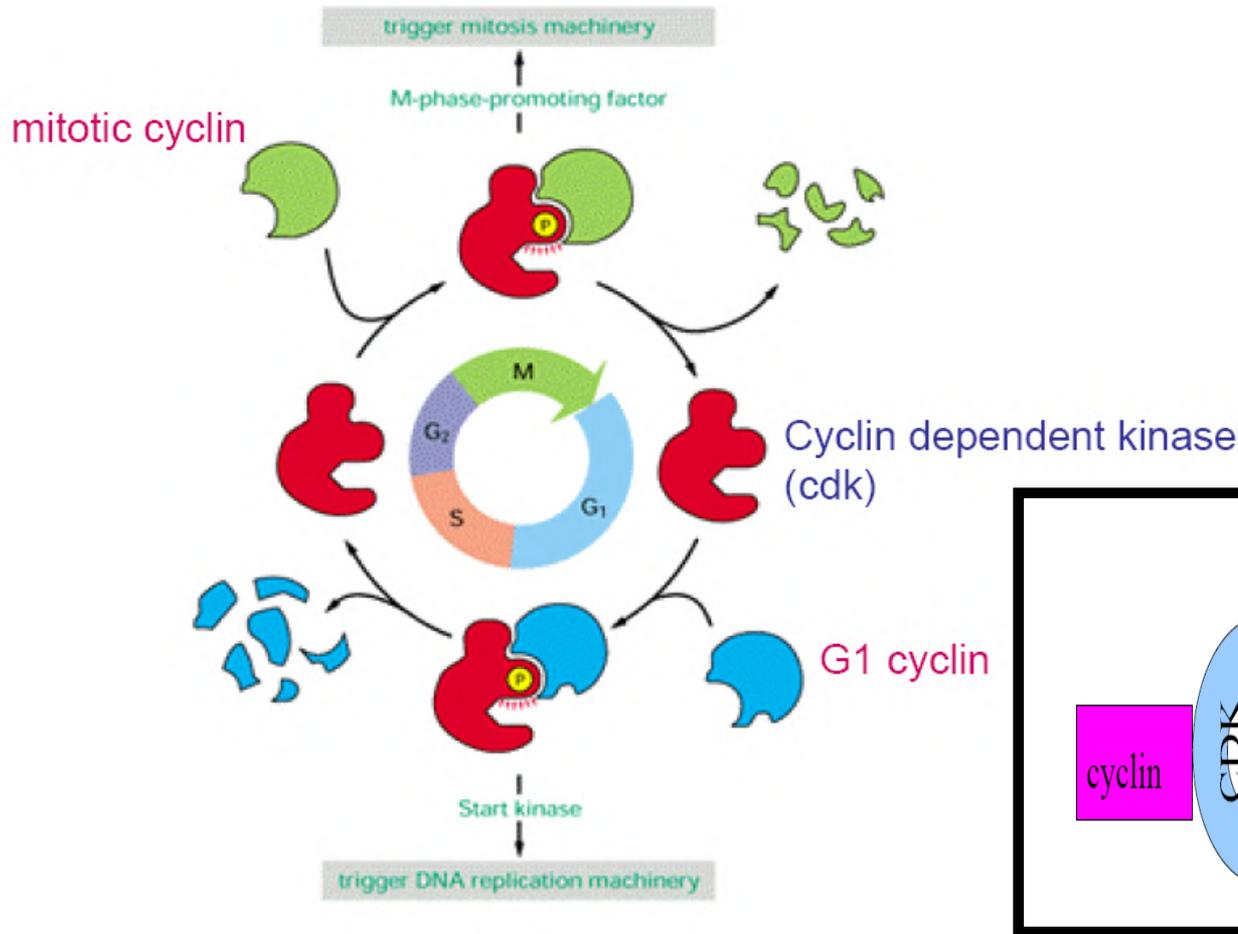
## As quinases somente são ativas quando ligadas a ciclinas.

A atividade dessas quinases aumentam e diminuem conforme o ciclo celular progride . As oscilações são diretamente ligadas a mudanças cíclicas na fosforilação de proteínas intracelulares que iniciam ou regulam os maiores eventos da divisão celular.



- Replicação do DNA
- Mitose
- Citocinese

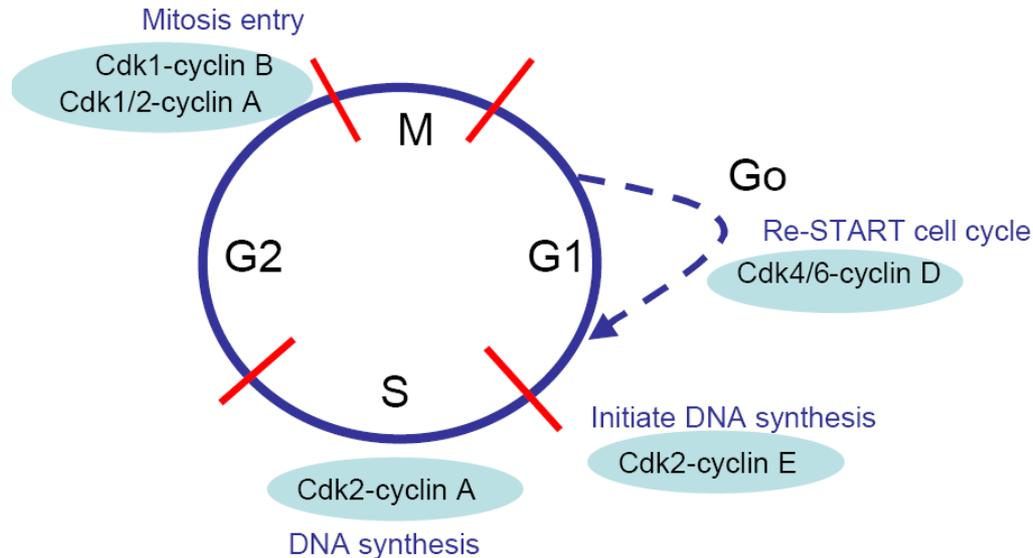
# Proteínas quinases dependentes de ciclinas determinam a progressão do ciclo celular



**Ciclinas mitóticas (G<sub>2</sub> e M)**

**Ciclinas G<sub>1</sub> (G<sub>1</sub> e S)**

**A degradação das ciclinas determina a inativação das Cdk.**



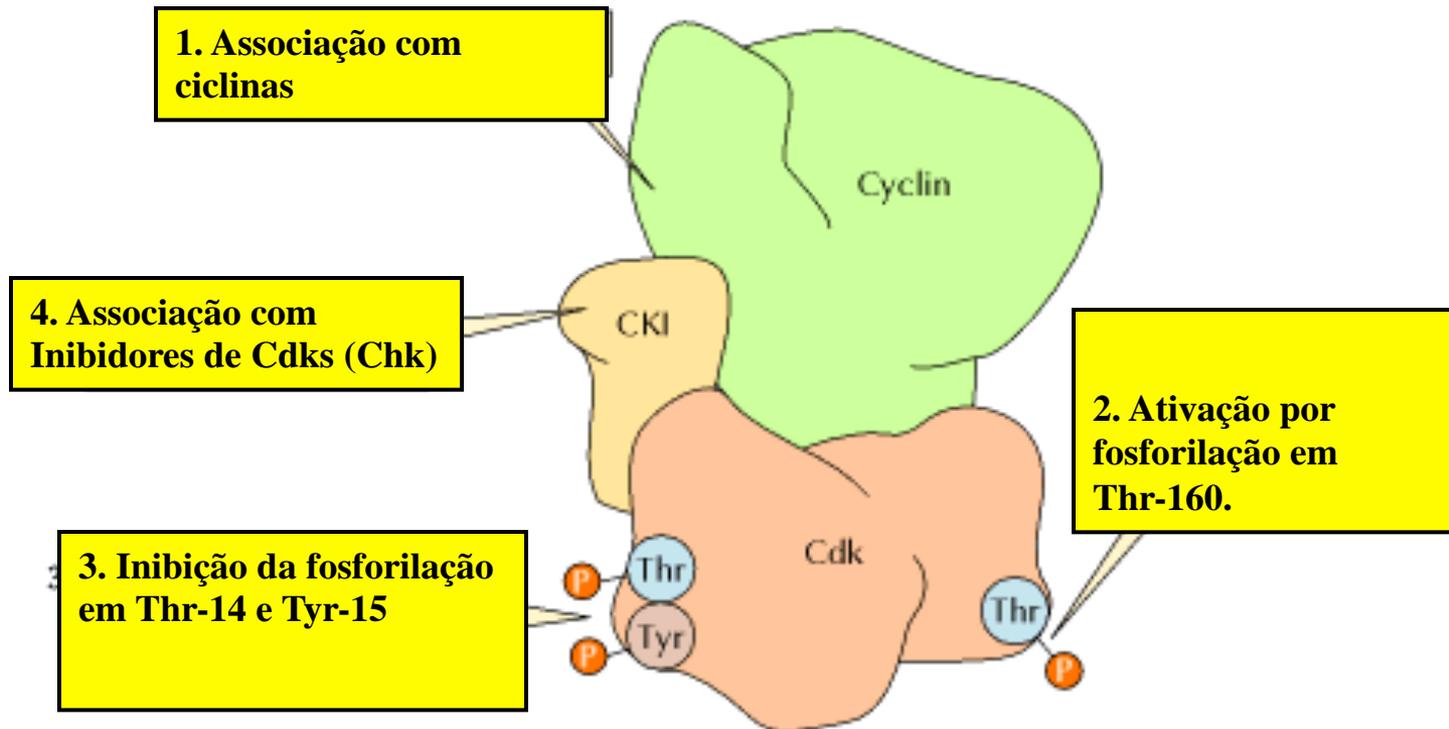
**Combinação de ciclinas e proteínas quinases (Cdk) controlam a passagem através de fases distintas do ciclo celular.**

Em mamíferos	estágio	Proteínas alvos
<b>Ciclina D – Cdk4/6</b>	<b>Progressão na fase G1</b>	<b>Reguladoras da proliferação celular</b>
<b>Ciclina E – Cdk2</b>	<b>Entrada na fase S</b>	<b>Proteínas envolvidas na replicação do DNA</b>
<b>Ciclina A – Cdk2</b>	<b>Progressão na fase S</b>	
<b>Ciclina A – Cdk1</b>	<b>Progressão na fase G2</b>	<b>Ciclina B, CDK fosfatase</b>
<b>Ciclina B – Cdk1</b>	<b>Fase M</b>	<b>Proteína do envelope nuclear</b>

**Em leveduras existe apenas um membro da famílias de Cdks (Cdc2), o que varia são as ciclinas**

# Mecanismos de regulação no complexo ciclina-Cdk

Quatro mecanismos moleculares regulam a atividade das quinases dependentes de ciclina (Cdk)



# Fases G1 e G2 do ciclo celular

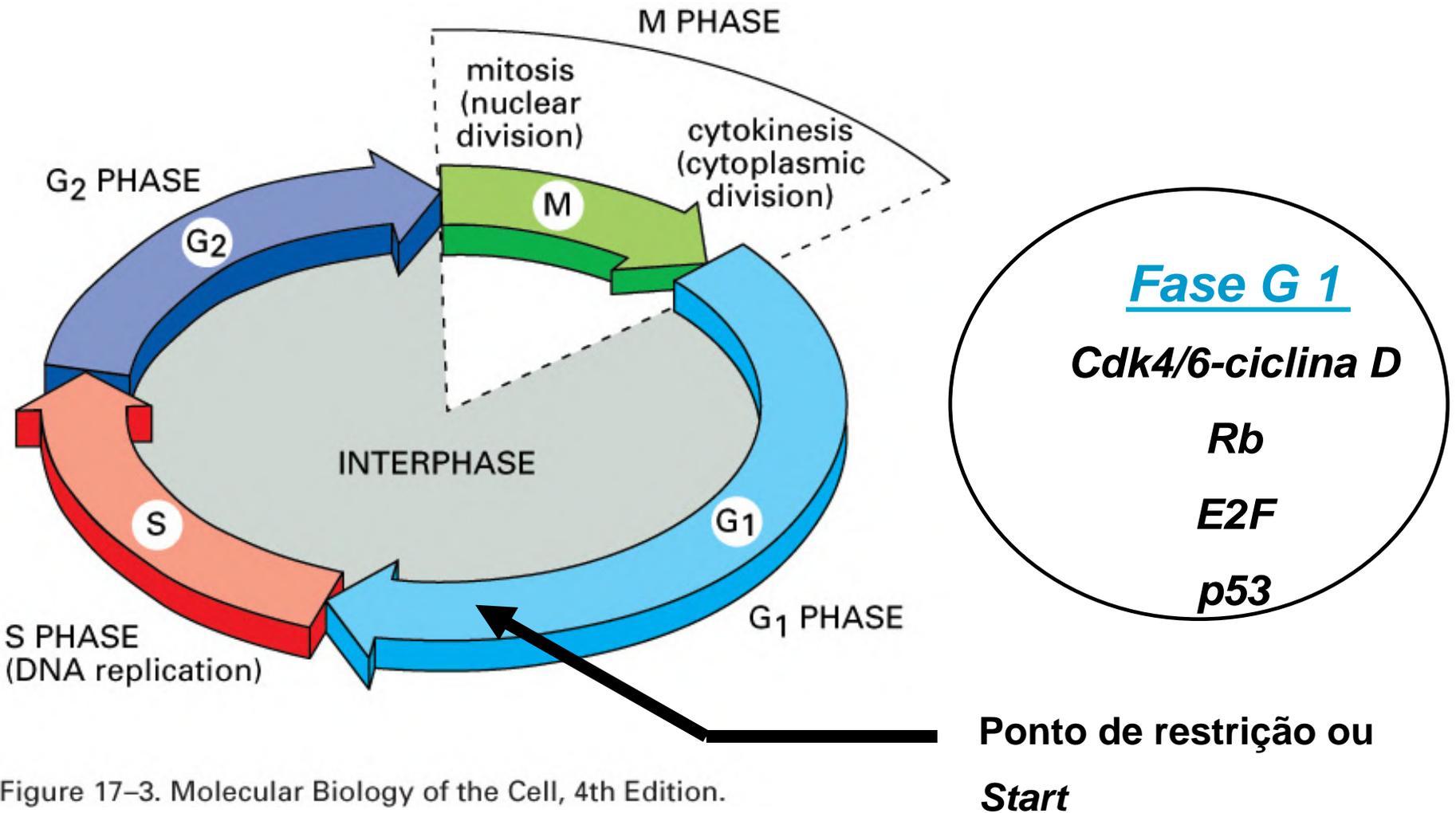
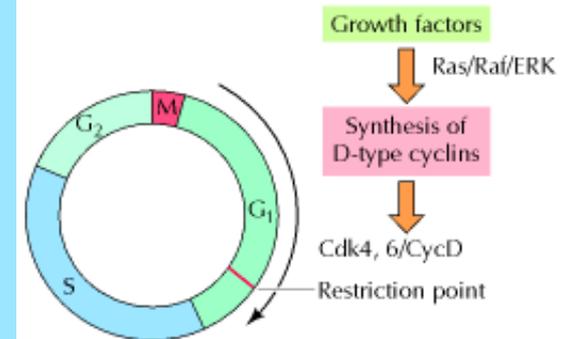
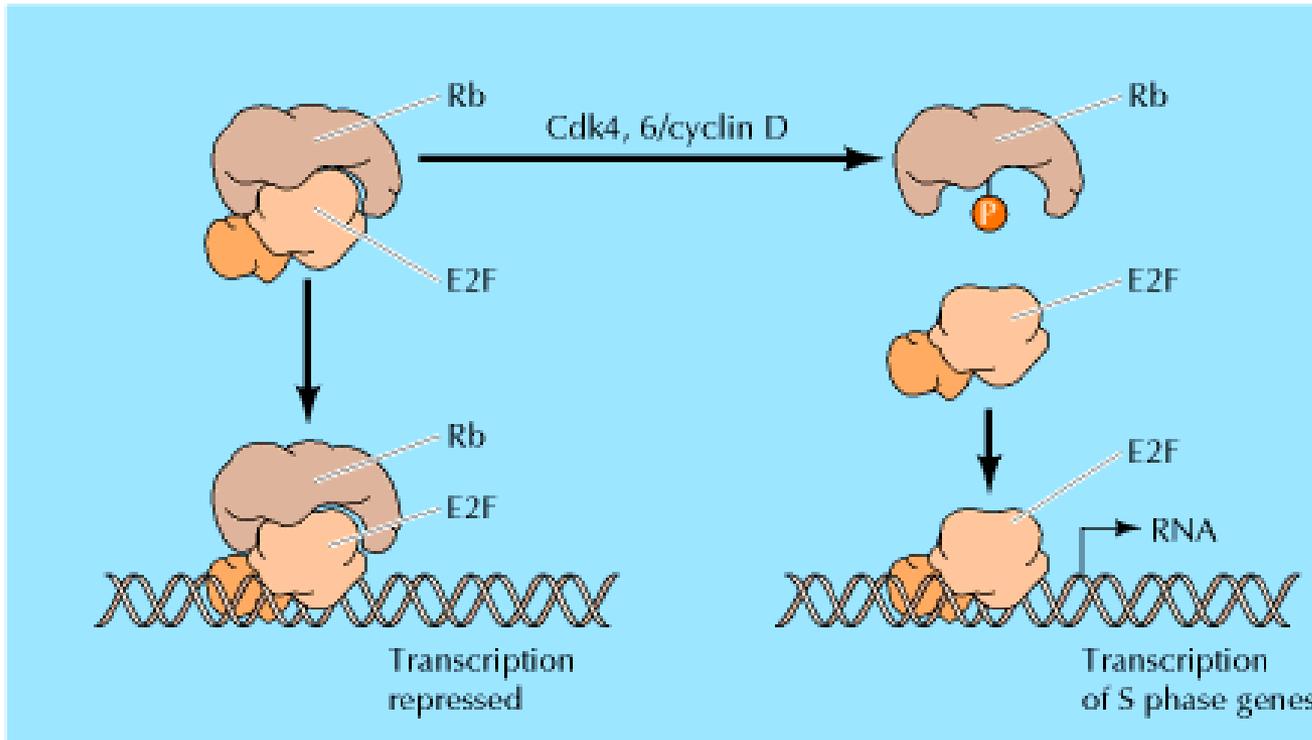


Figure 17-3. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

# A proteína RB: guardiã do ciclo celular - G1

## Regulação da fase G1-S

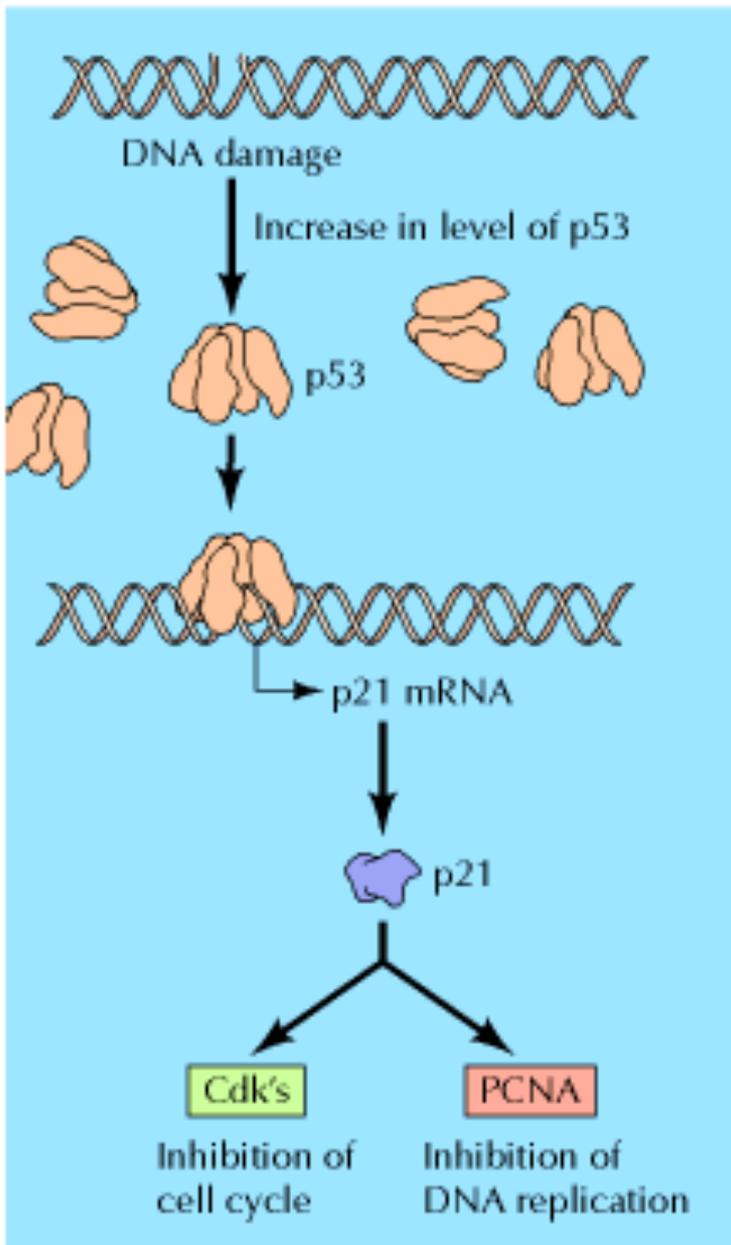


### Regulação do ciclo celular por Rb e E2F

Rb na sua forma não fosforilada liga-se a E2F reprimindo a transcrição de genes regulados por E2F.

Rb é fosforilado por ciclina-Cdk e como resultado dissocia-se de E2F no final de G1.

E2F estimula a expressão de seus genes que codificam proteínas necessárias para a progressão do ciclo celular.



## Checkpoint em G1 - Papel da proteína p53 (codificada por gene supressor de tumor)

**DNA danificado** aumenta os níveis intracelular de **p53** o qual ativa um fator de transcrição chamado **p21**.

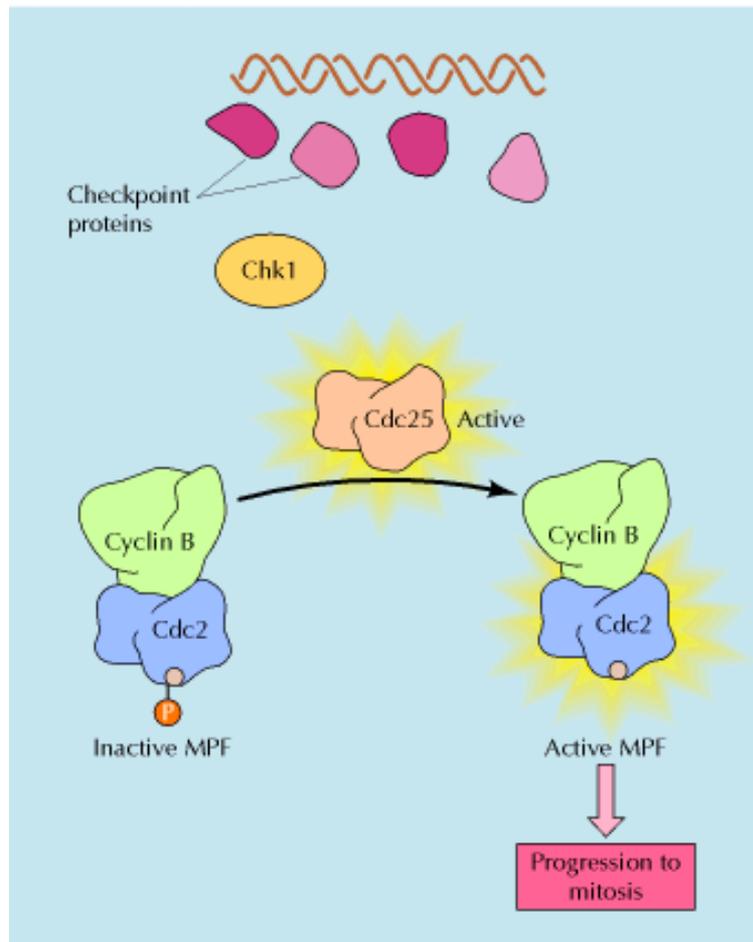
A proteína **p21** inibe vários complexos **ciclina-Cdks**.

Essa **inibição provoca parada no ciclo celular** em final de G1.

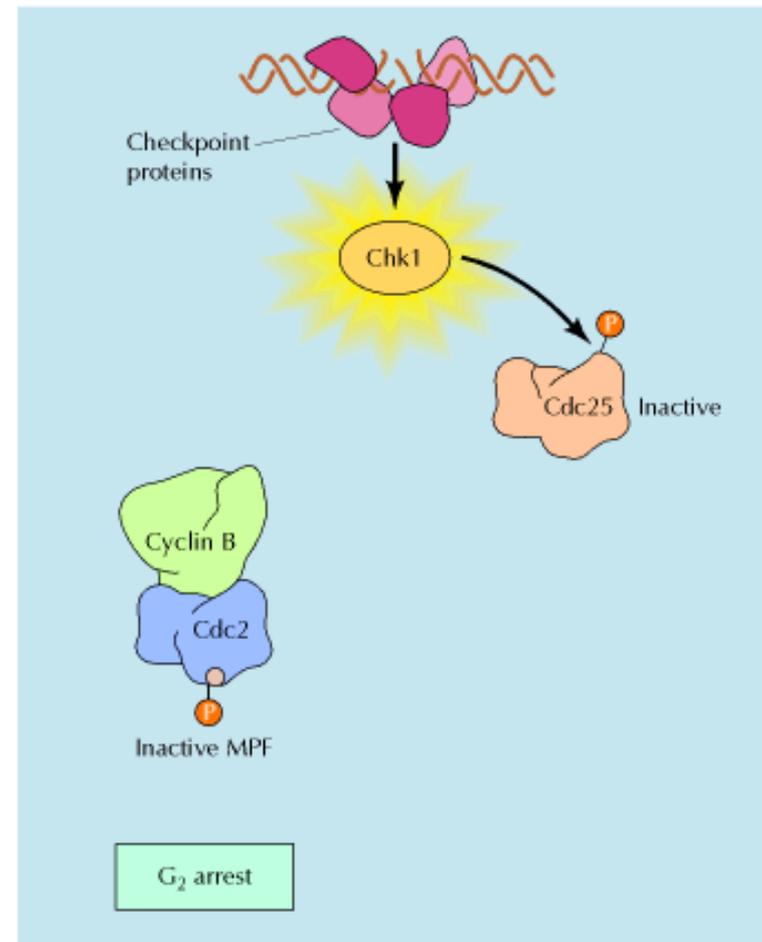
O ciclo celular continua parado neste ponto até que a maquinaria de reparo de DNA repare o DNA.

Se DNA não pode ser reparado, a célula entra em **apoptose** (morte celular programada)

Replication completed



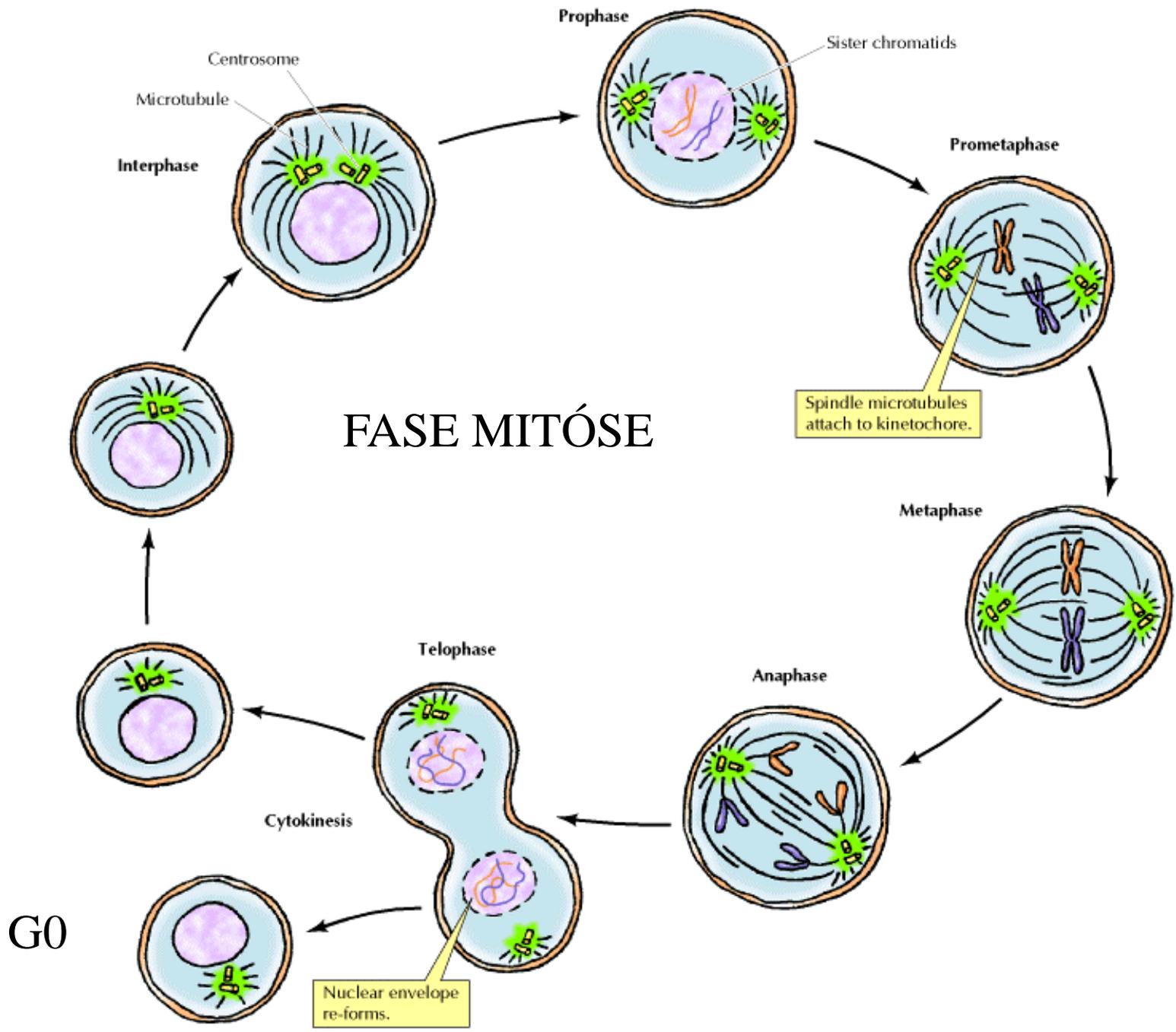
Unreplicated or damaged DNA



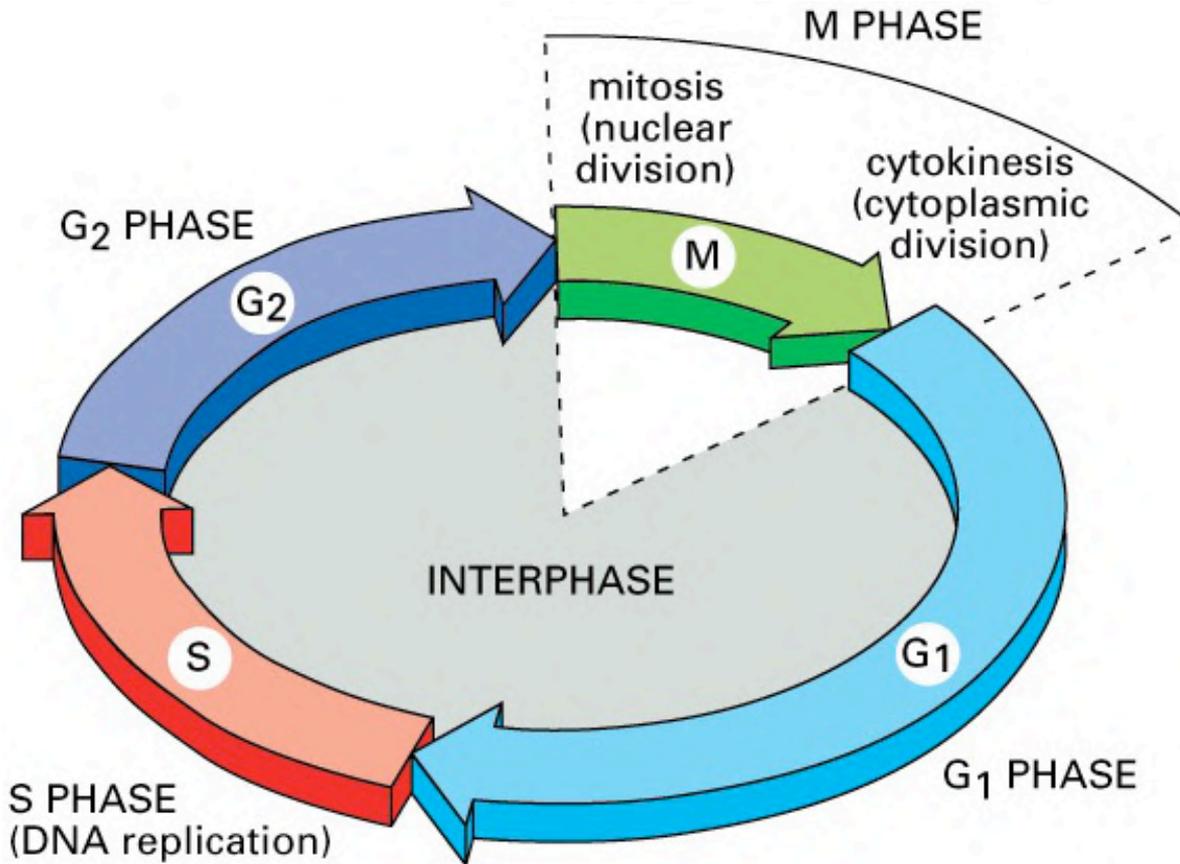
## CONTROLE DE G<sub>2</sub> CHECKPOINT - Papel da fosfatase Cdc25.

Um complexo de proteínas checkpoints reconhecem DNA não replicado ou danificado e ativa proteína **quinase Chk1** que fosforila e **inibe** a proteína **fosfatase Cdc25**.

A **inibição de Cdc25** previne a de-fosforilação de Cdc2 (quinase dependente de ciclina) e ativação da mesma, impedindo o ciclo de continuar.



# Fases M do ciclo celular



## **Mitose**

***Cdk1-ciclina B (MPF)***  
***maturation promoting***  
***fator***

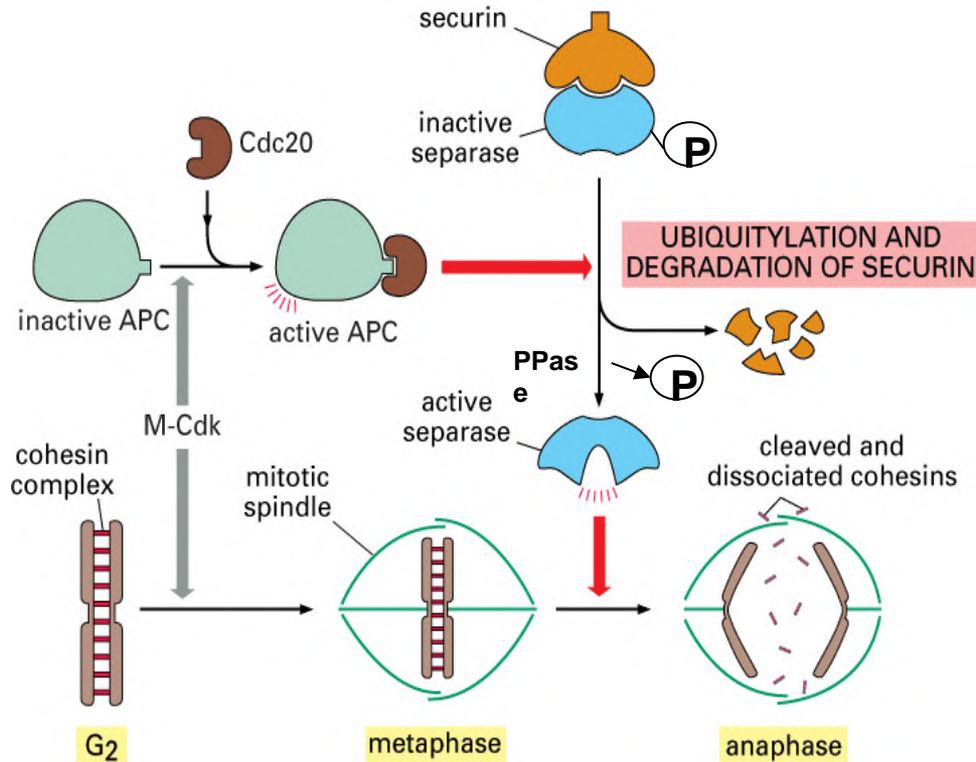
***APC***  
***Anaphase promoting***  
***complex***

Figure 17-3. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

# O complexo APC (*Anaphase promoting complex*) saída da mitose

O complexo APC apresenta duas funções:

- 1) Auxilia na ubiquitinação de ciclina B (degradação pelo proteassomo) e saída da mitose
- 2) Ativa a separase que promove a clivagem de coesinas propiciando a separação das cromatídes irmãs.

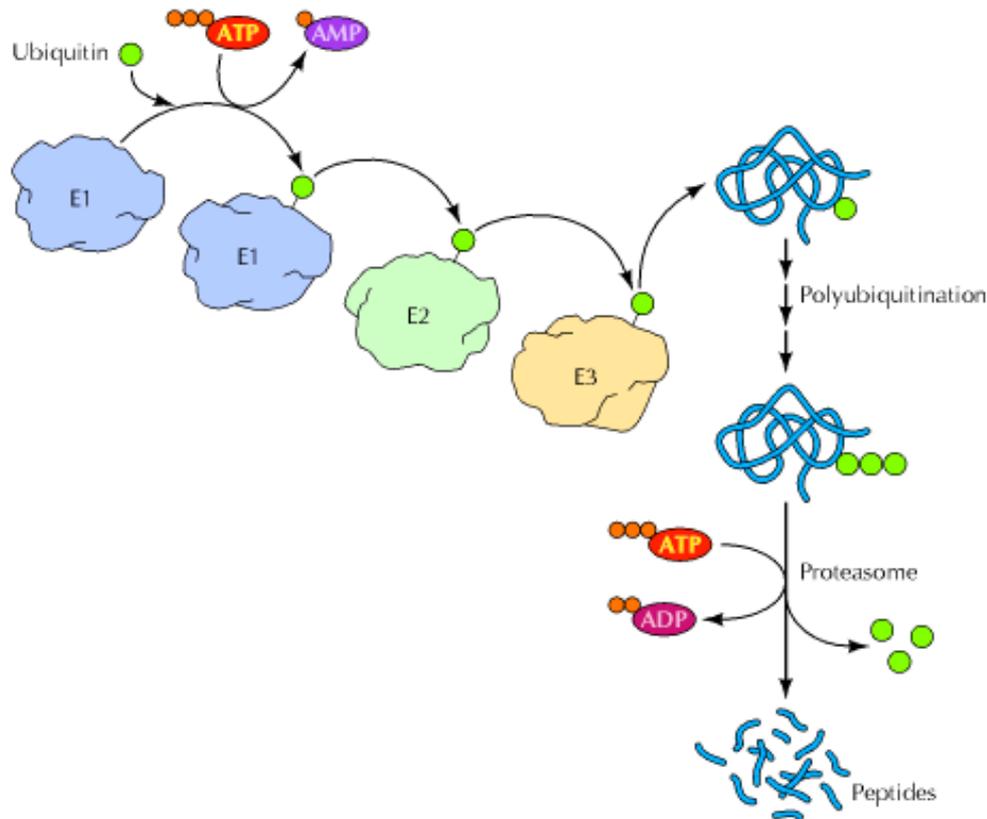


Parte ainda não bem esclarecida do ciclo celular, mas enquanto as cromátides não são alinhadas corretamente o complexo APC fica inativo.

**APC** ativa a degradação de **Ciclina-Cdk** (proteassomo) e ativa enzima **separase** que promove a degradação das **coesinas**

Figure 17-26. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

# Ubiquitina-proteassomo



Proteínas são marcadas para degradação rápida por ligação covalente de várias moléculas da proteína chamada ubiquitina.

Múltiplas ubiquitinas são adicionadas e as proteínas poli-ubiquitiniladas são degradadas por um complexo de proteases (proteassomo)

Após exercer seu papel durante entrada e saída da fase M, ciclina B é ubiquitinilada para ser degradada.

## RESUMO

Cdks são ativas somente quando complexada com ciclinas

O complexo ciclina-Cdk pode ser inibido por outras proteínas.

O complexo ciclina-Cdk pode ser inativado pela marcação de ciclinas para degradação proteolítica através de ubiquitinação-proteassomo ao final do ciclo celular.

Importante: o controle da ação de ciclina-Cdks é fundamental para coordenar as diversas funções exercidas por este complexo durante a divisão celular.

## Resumo das etapas de checkpoints do ciclo celular

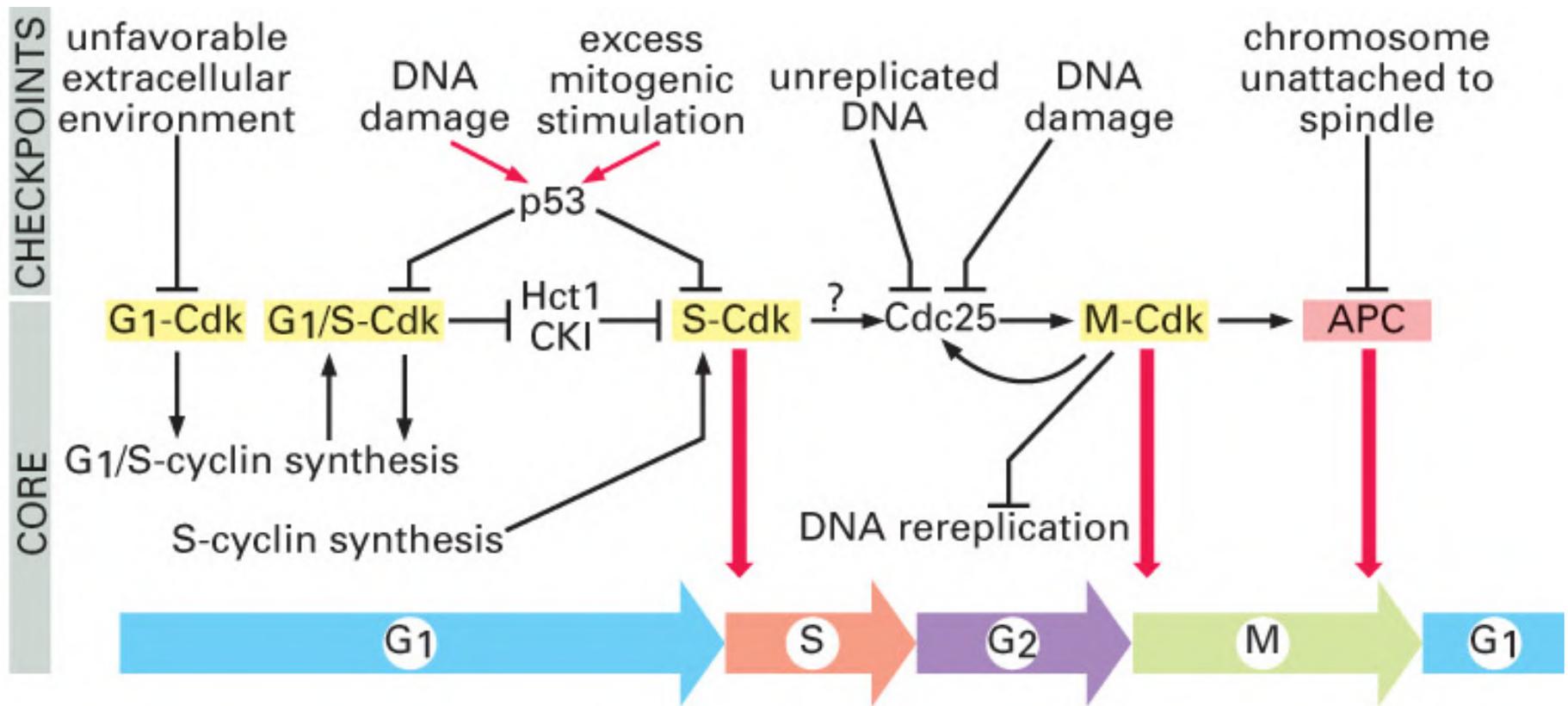
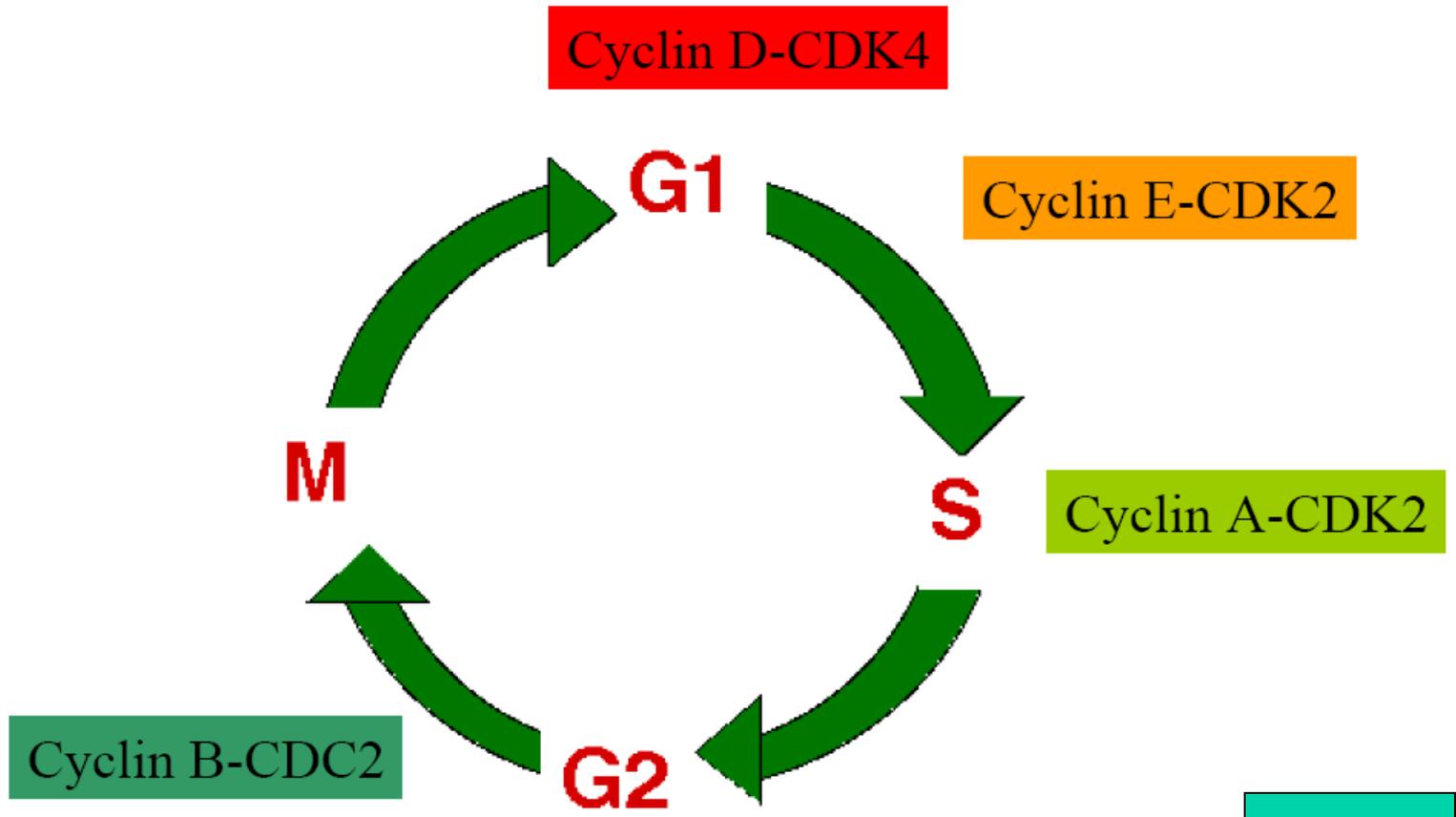
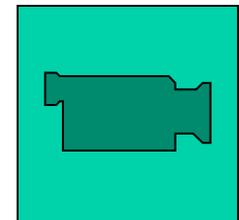


Figure 17–34. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.



Mcb130.mov



## 1 PRÓFASE

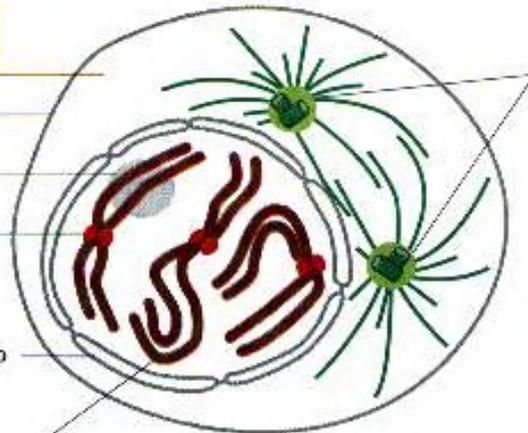
citoplasma  
membrana plasmática

nucléolo disperso

cinetocoros  
ligados ao  
centrômero

envelope nuclear intacto

cromossomo condensado com  
as duas cromátides-irmãs  
unidas pelo centrômero



centrossomos  
em separação  
irão formar os  
pólos do fuso

ROMPIMENTO DO  
ENVELOPE CELULAR

## 2 PRÓ-METÁFASE

membrana plasmática

microtúbulo polar

cinetocoros

microtúbulos  
com cinetocoros

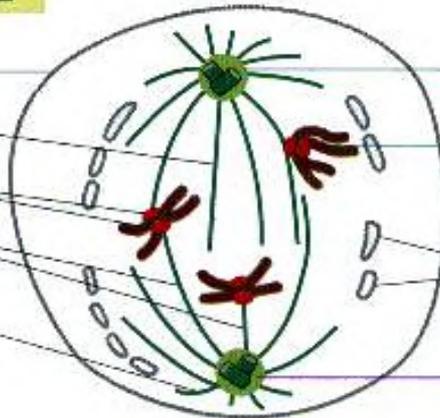
microtúbulo astral

pólo do fuso

cromossomo  
aleatoriamente  
colocado em  
movimento ativo

vesículas do  
envelope nuclear

pólo da fuso



CROMOSSOMOS MOVEM-SE  
PARA PLACA DA METÁFASE

-DNA replicado e cromátides irmãs associadas, cromossomos condensados

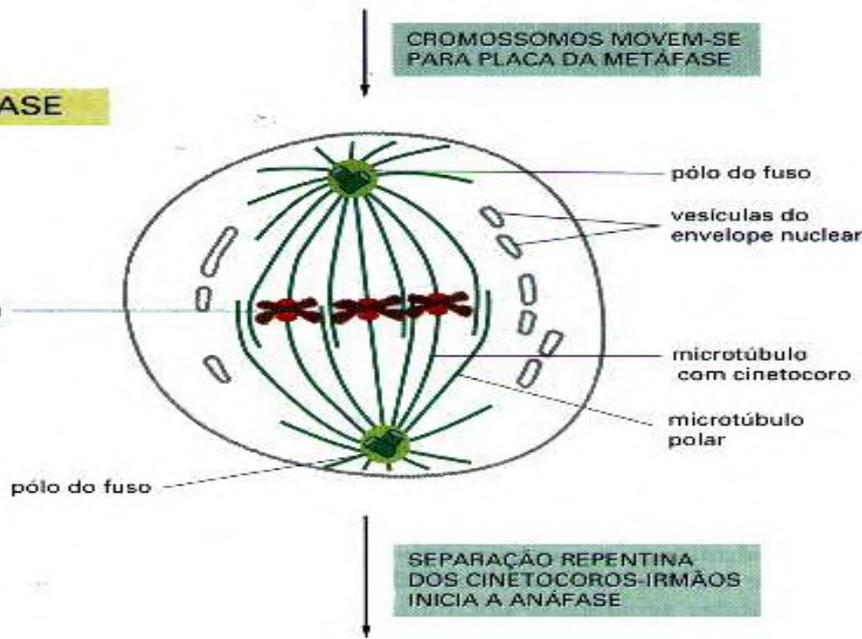
-no citoplasma os centrossomos já replicados e separados dando início à montagem do fuso

-quebra do envelope nuclear

-cinetócoros dos cromossomos podem associar-se aos microtúbulos do fuso

### 3 METÁFASE

cromossomos alinhados na placa metafásica equidistante dos pólos



CROMOSSOMOS MOVEM-SE PARA PLACA DA METÁFASE

pólo do fuso  
vesículas do envelope nuclear  
microtúbulo com cinetocoro  
microtúbulo polar

pólo do fuso

SEPARAÇÃO REPENTINA DOS CINETOCOROS-IRMÃOS INICIA A ANÁFASE

-alinhamento dos cromossomos no equador do fuso

-as cromátides irmãs ficam associadas à pólos opostos do fuso via cinetócoros

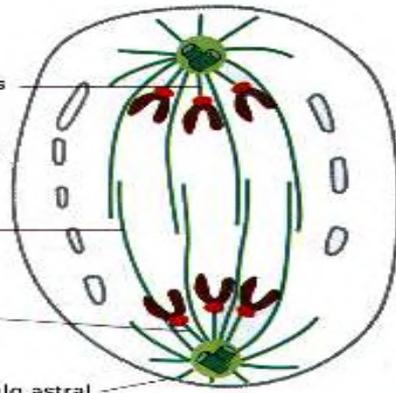
### 4 ANÁFASE

cinetocoro com microtúbulos encurtam à medida que a cromátide (cromossomo) é trazida em direção ao pólo

alongamento polar do microtúbulo

encurtamento do cinetocoro com microtúbulo

microtúbulo astral



aumento progressivo da distância entre os pólos do fuso

REGENERAÇÃO DO ENVELOPE NUCLEAR

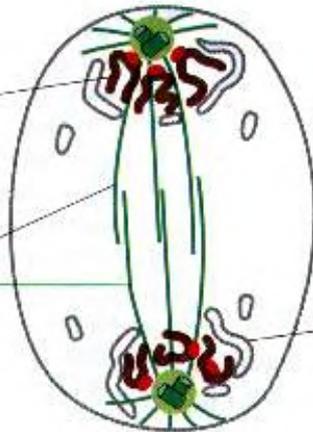
-separação sincrônica dos cromossomos filhos, cada um dos cromossomos é levado para um dos pólos

-microtúbulos associados aos cinetócoros encurtam e os pólos do fuso afastam-se, ambos mecanismos contribuem para a separação dos cromossomos

## 5 TELÓFASE

expansão dos cromossomos sem microtúbulos com cinetocoros

microtúbulos polares



regeneração do envelope nuclear ao redor dos cromossomos individuais

SULCO DE DIVISÃO  
DIVIDE A CÉLULA EM DUAS

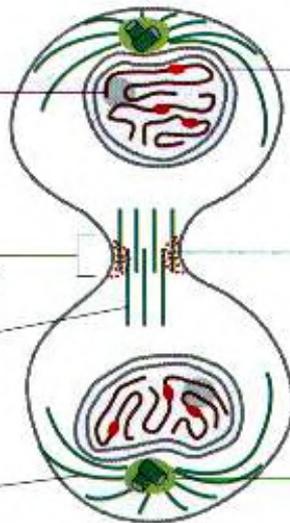
## 6 CITOCINESE

reaparecimento do nucléolo

corpo mediano: região de sobreposição de microtúbulos

restos comprimidos dos microtúbulos do fuso polar

regeneração do ordenamento dos microtúbulos nucleados pelo centrosomo na interfase



envelope nuclear completo envolvendo os cromossomos em descondensamento

anel contrátil criando sulco de clivagem

par de centriolos marcam a localização do centrosomo

-os cromossomos filhos chegam aos pólos e descondensam

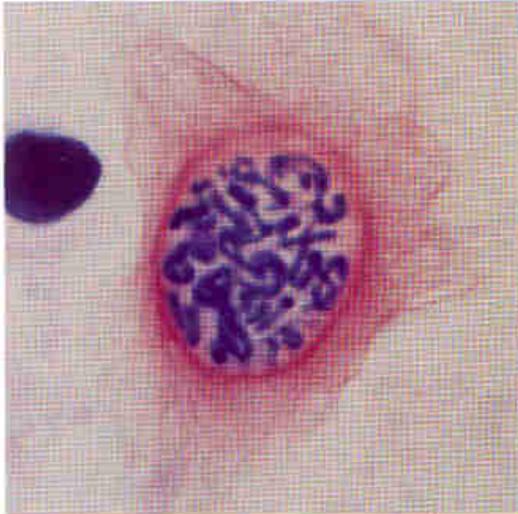
-novo envelope nuclear é montado

-início da divisão do citoplasma (anel contrátil)

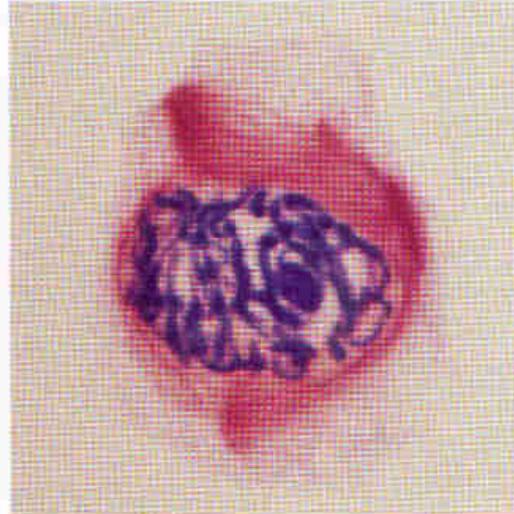
-anel contrátil de actina e miosina divide o citoplasma em dois, originando duas células filhas, cada uma com um núcleo

# VISUALIZAÇÃO DO NÚCLEO DURANTE MITOSE

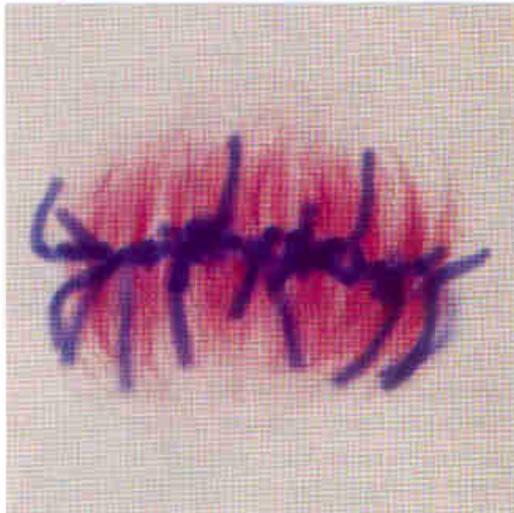
Prophase



Prometaphase



Metaphase



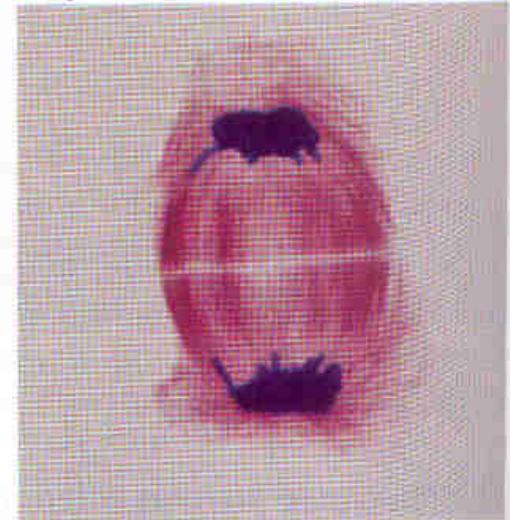
Anaphase



**Figure 8.29 The nucleus during mitosis**

Micrographs illustrating the progressive stages of mitosis in a plant cell. During prophase, the chromosomes condense, the nucleolus disappears, and the nuclear envelope breaks down. At metaphase, the condensed chromosomes align on the center of the spindle. The daughter chromosomes then move to opposite poles of the spindle (anaphase), and during telophase the chromosomes decondense and the nuclei re-form. Chromosomes are stained blue and spindle microtubules are stained red. (Courtesy of Andrew S. Bajer, University of Oregon.)

Telophase



# A mitose em célula animal

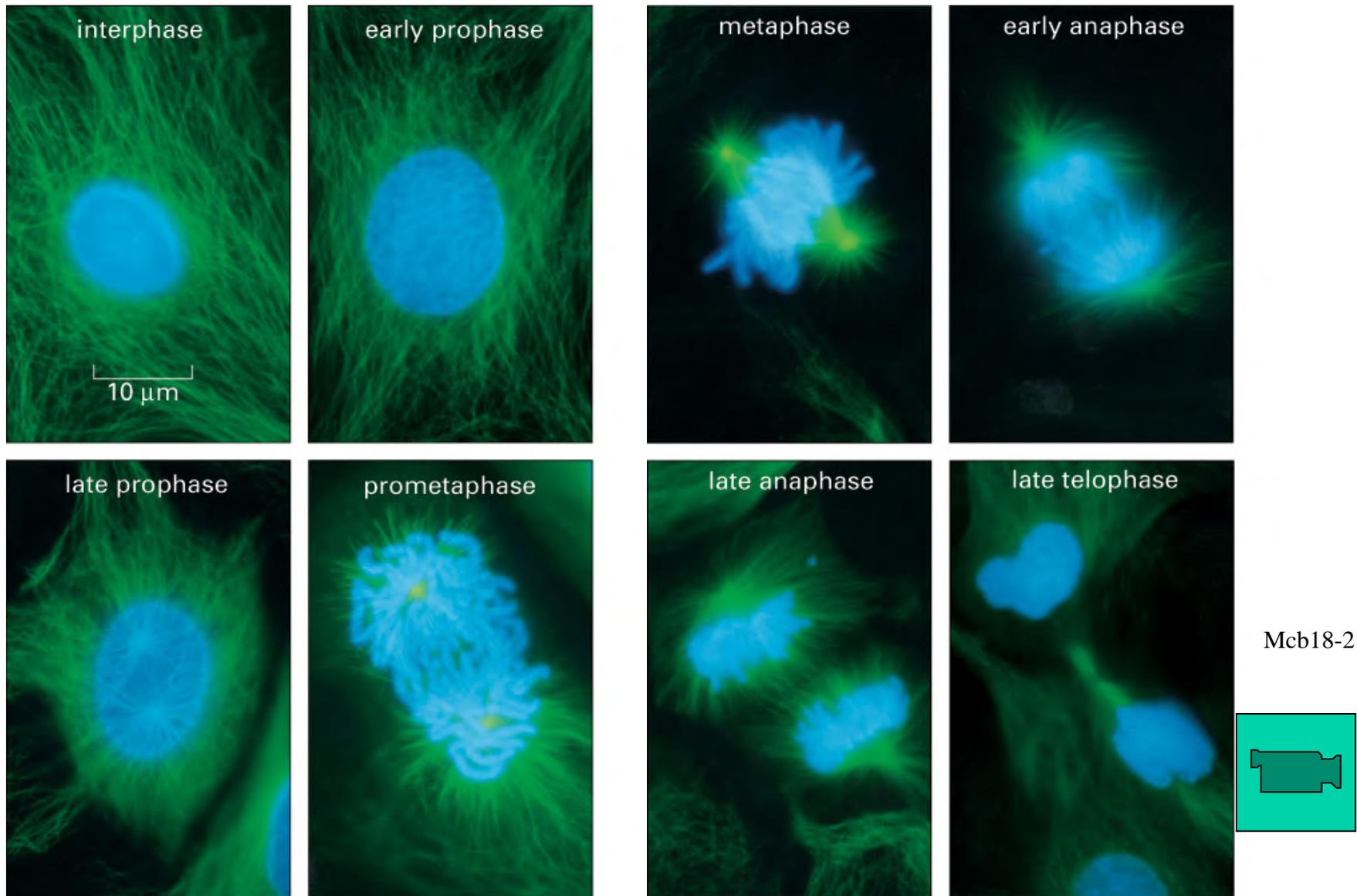
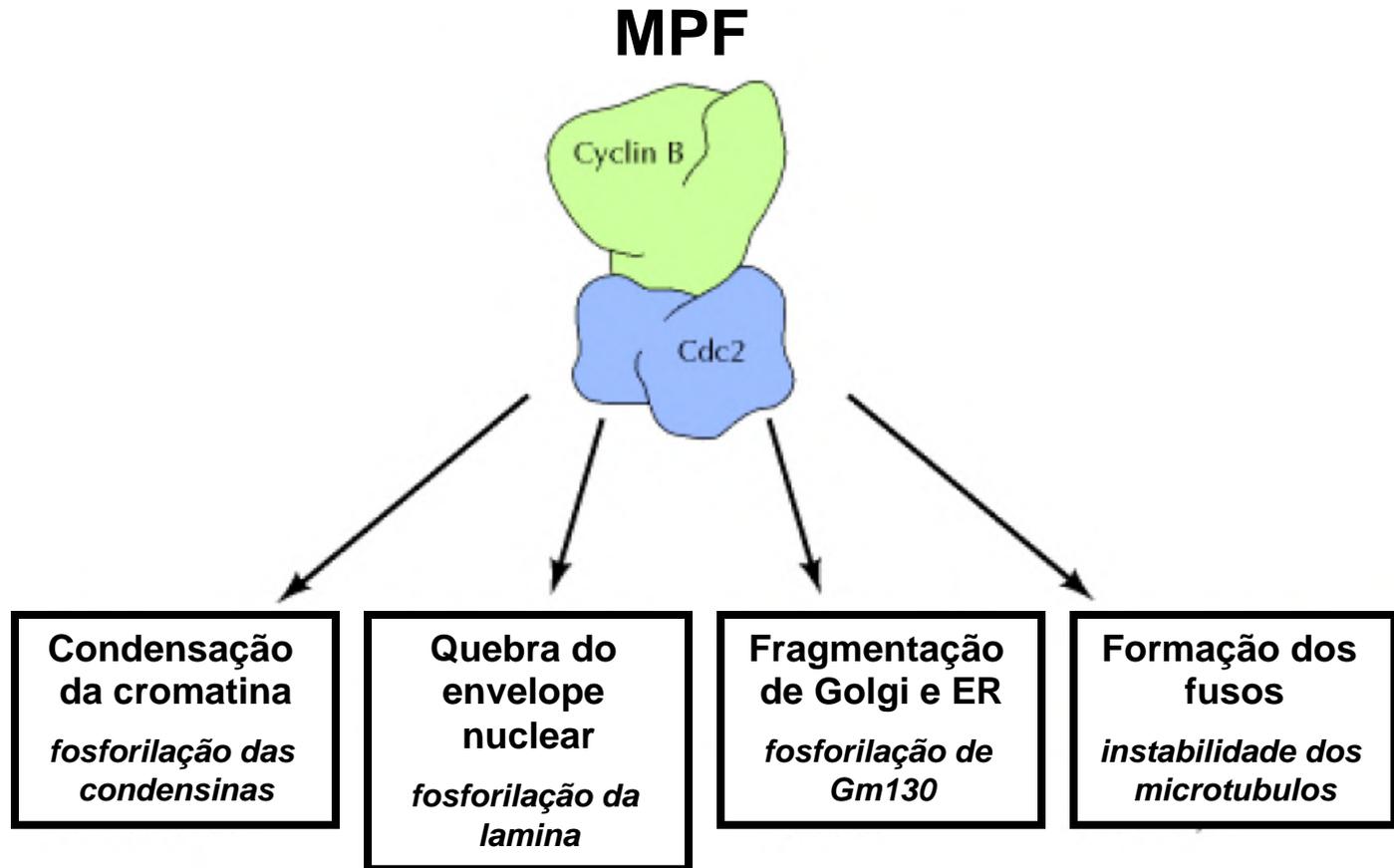
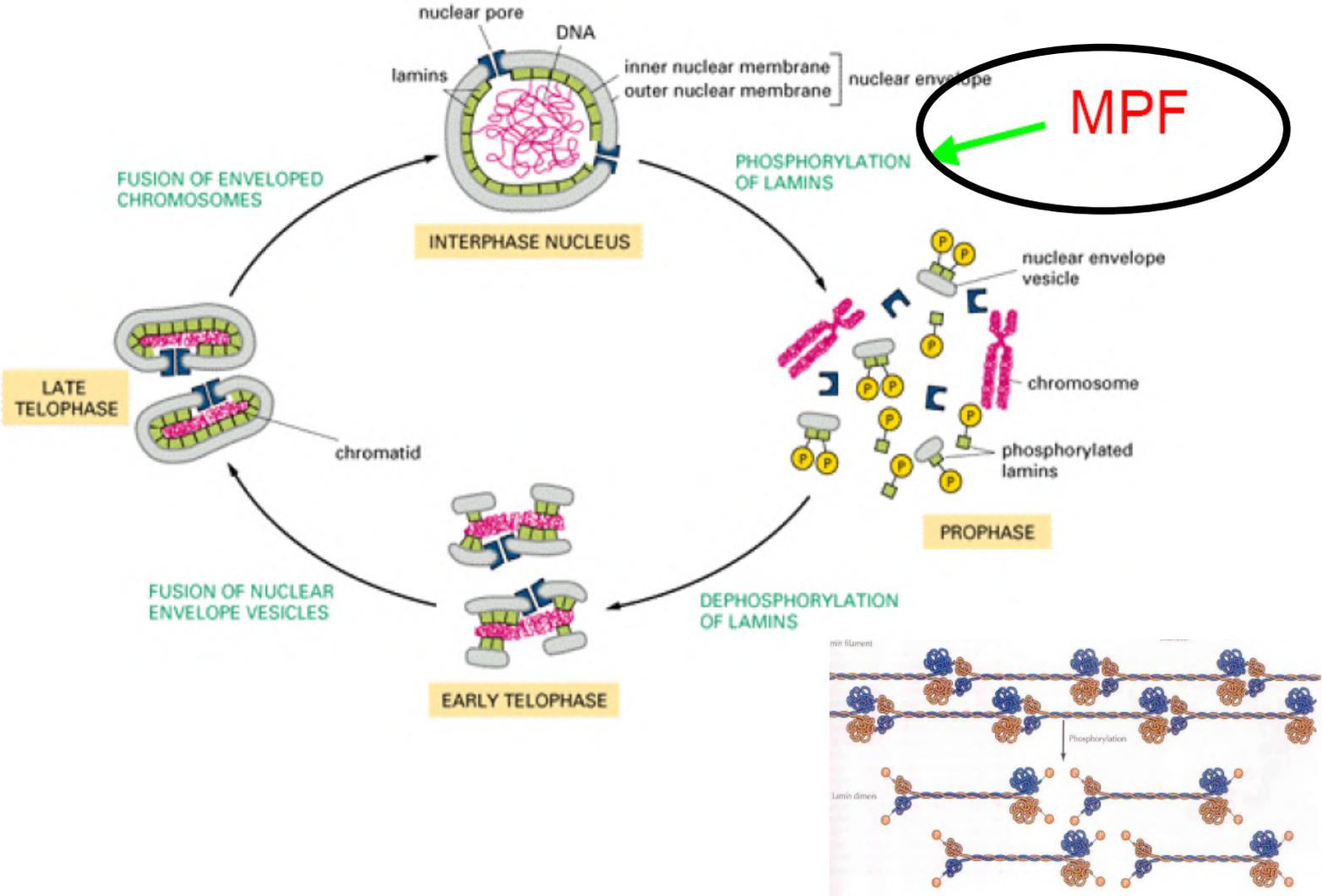


Figure 18–8 part 1 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition. EcFigure 18–8 part 2 of 2. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.

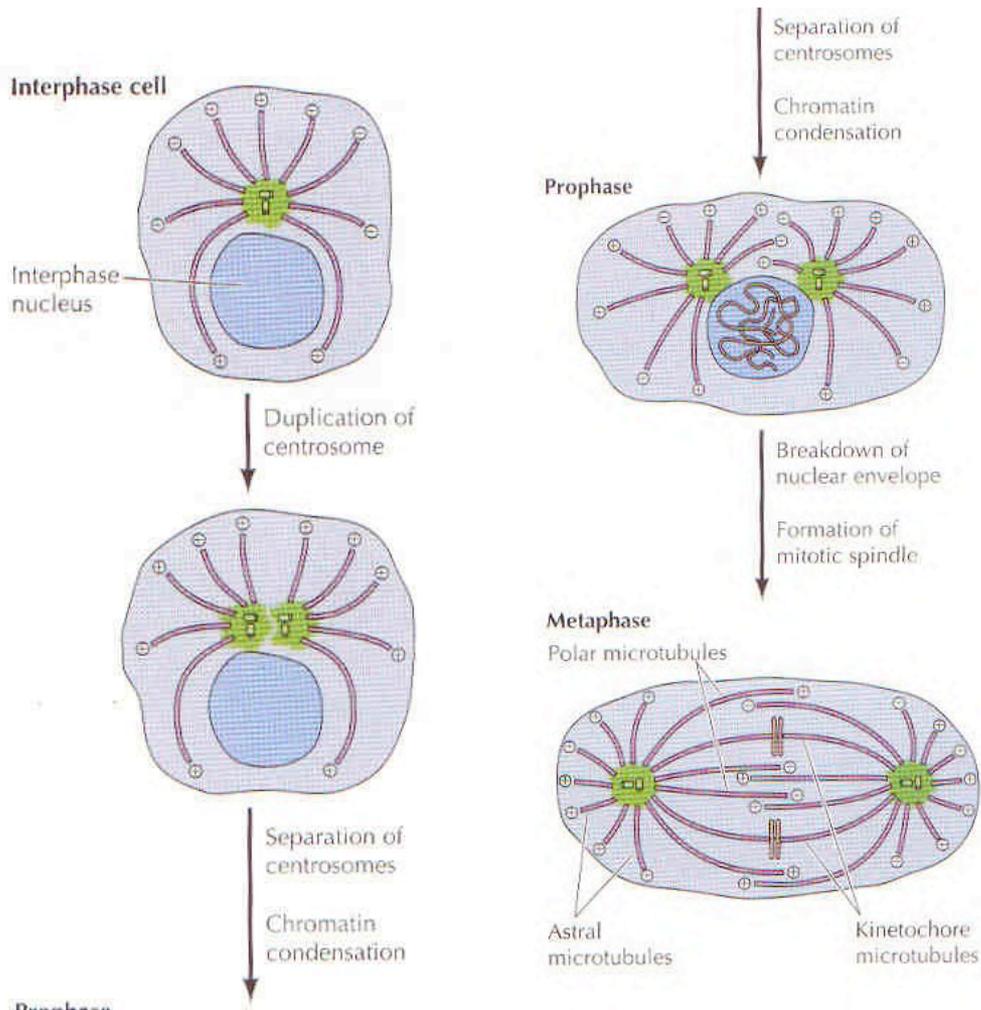
**A atividade de Cdk1-ciclina B coordena eventos nucleares e citoplasmáticos durante a entrada e a saída da fase M (mitose)**



# Cdk-ciclina B : Papel na dissolução do envelope nuclear



# FORMAÇÃO DOS FUSOS MITÓTICOS



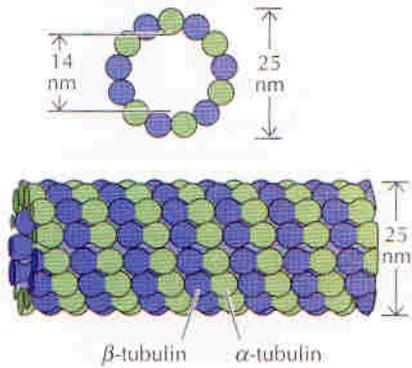
Os centríolos e centrossomos se duplicam durante a interfase.

Durante prófase os centrossomos duplicados movem-se em direção oposta ao núcleo.

O envelope nuclear é quebrado e os microtubulos reorganizam-se para formar os fusos mitóticos.

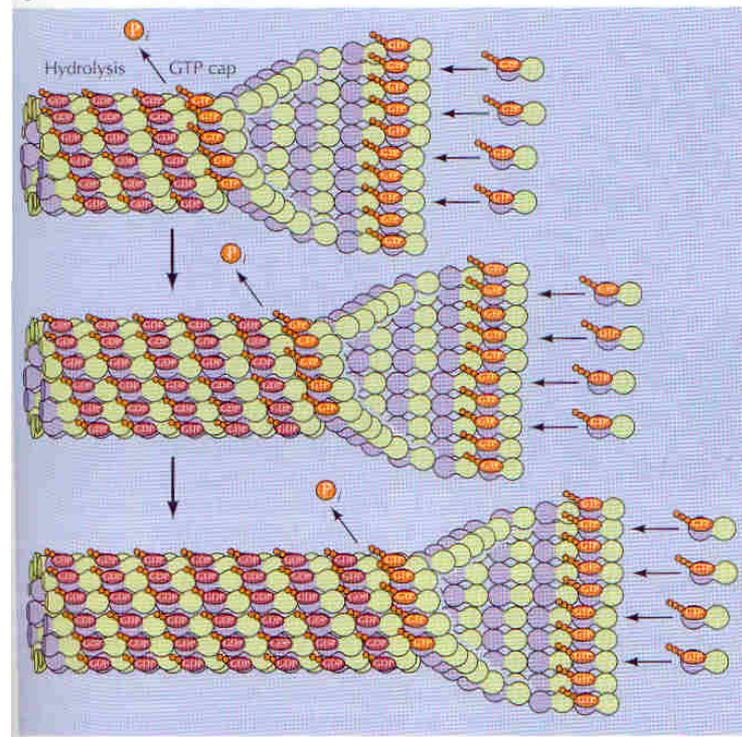
Na metáfase os cromossomos condensados são alinhados no centro dos fusos.

# Microtubulos

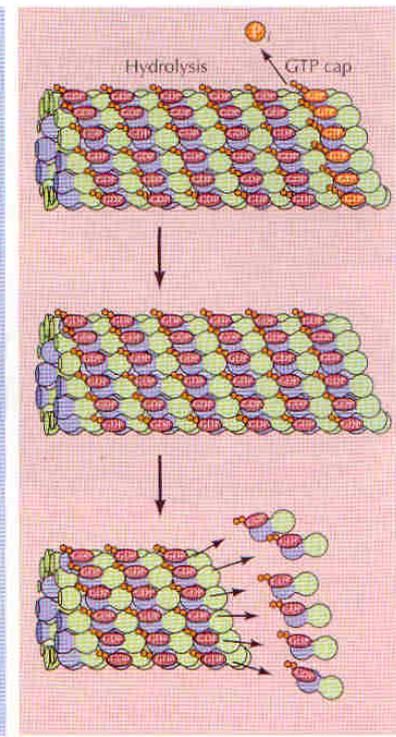


Dímeros de alfa e beta-tubulinas polimerizam para formar microtubulos, os quais são compostos por 13 protofilamentos montados em núcleo cilíndrico

High concentration of tubulin bound to GTP



Low concentration of tubulin bound to GTP

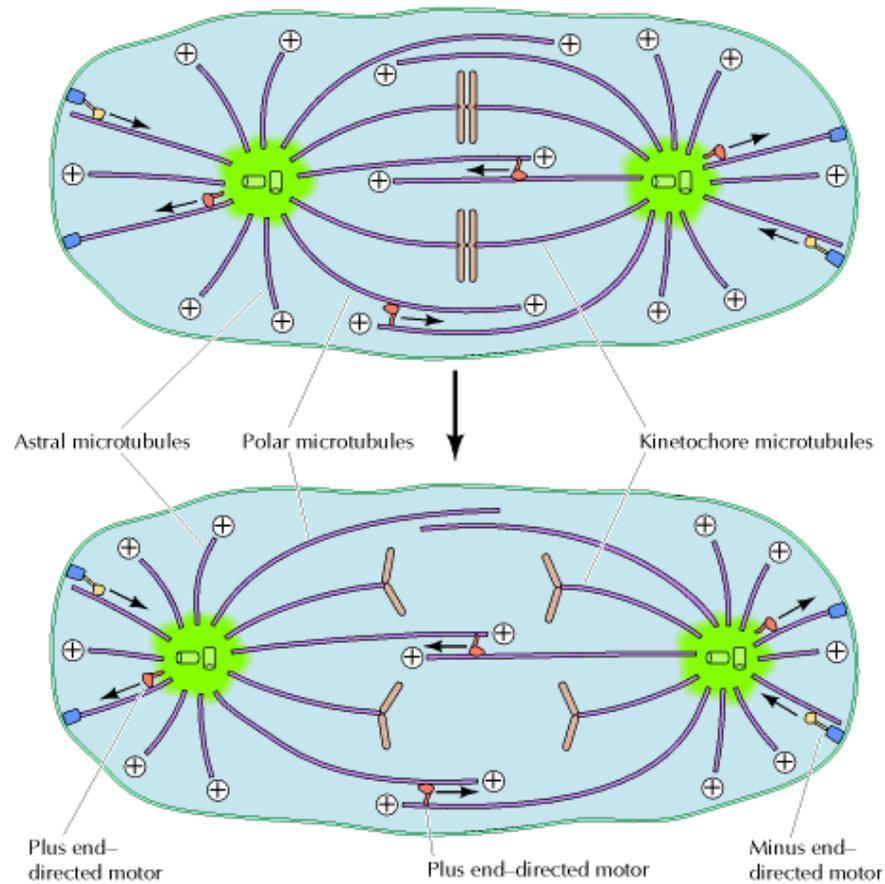
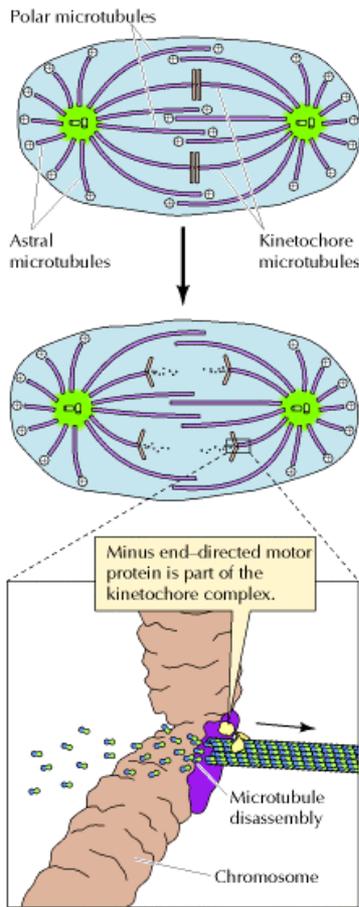


Como actina, microtubulos também tem uma polaridade. Extremidade mais (+) crece mais rápido, enquanto a extremidade menos (-) cresce lentamente.

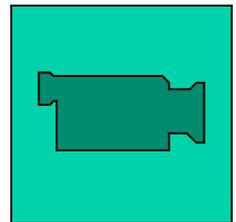
Tubulina-GTP é adicionado a + e rapidamente GTP é hidrolisado a GDP.

A hidrólise para GDP enfraquece a interação da tubulina-GDP com moléculas adjacentes e então despolimerização acontece

O processo leva a alongação e encurtamento de microtubulos (**instabilidade dinâmica dos microtubulos**) que é importante para a função destes elementos na célula, principalmente durante divisão celular.

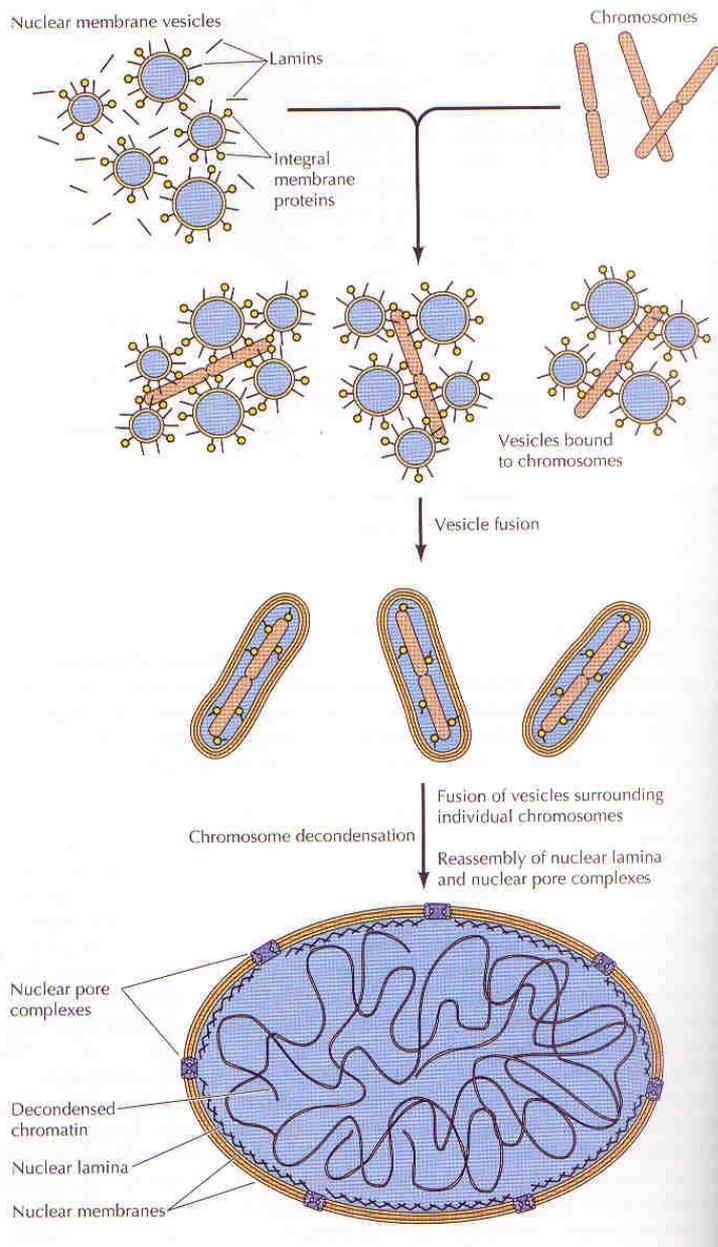


Mcb1902.mov



## Movimento dos cromossomos durante a anáfase

A anáfase consiste de movimento dos cromossomos em direção aos cinetocoro através do auxílio de uma proteína motora (dineína) em direção ao lado menos dos microtubulos e também encurtamento desses microtubulos por despolimerização de tubulinas. Também outra família de proteínas motoras as quinesinas (em direção ao lado mais) agem sobre os microtubulos puxando os cromossomos agora separados para os polos em direção aos centrossomos.

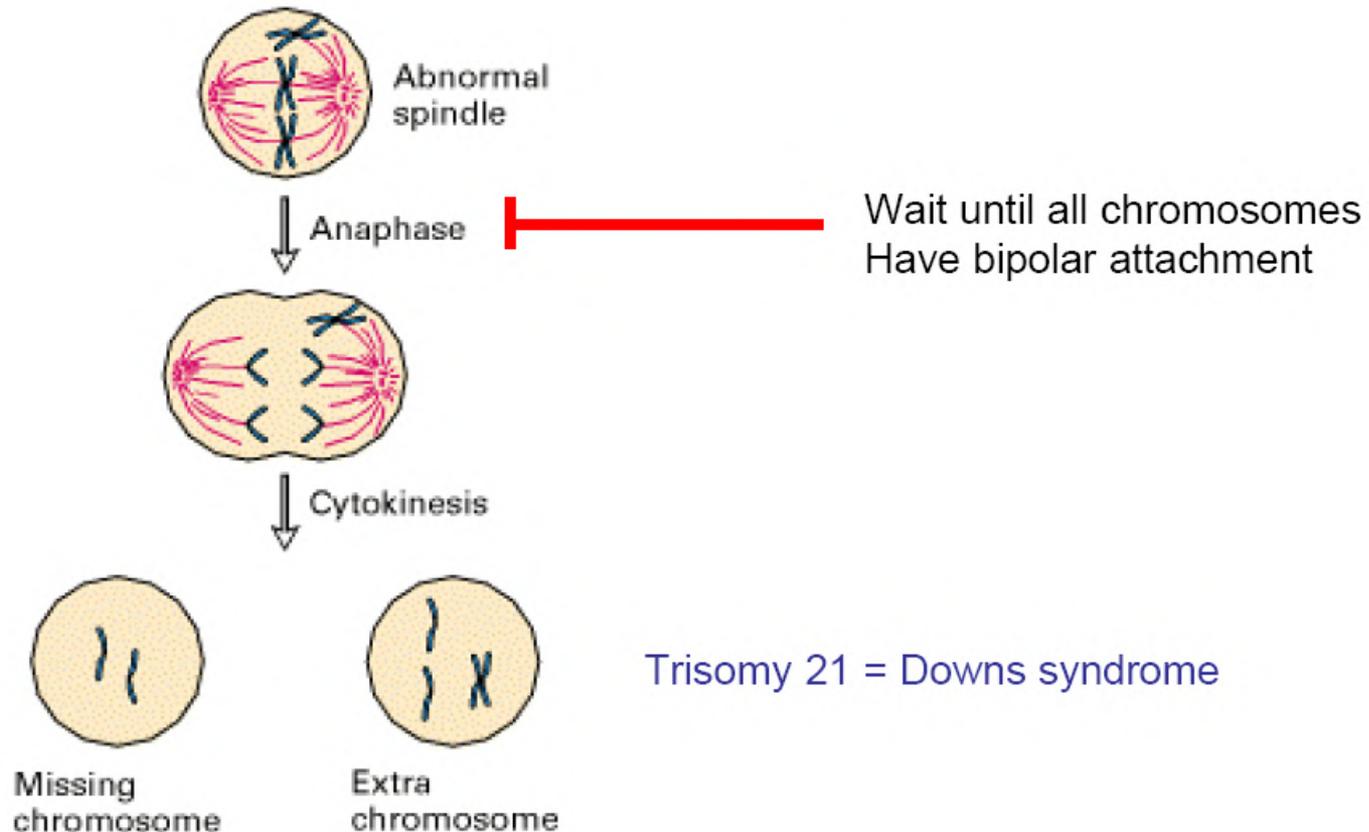


## Reconstrução da membrana nuclear durante telófase.

A primeira etapa na reconstrução do envelope nuclear é a ligação de membrana de vesículas (formadas durante a dissolução do envelope) com os cromossomos auxiliadas por proteínas de membrana e lamina

A fusão das vesículas reconstrói o envelope nuclear e os cromossomos sofrem descondensação.

# Checkpoints guard the fidelity of the cell cycle

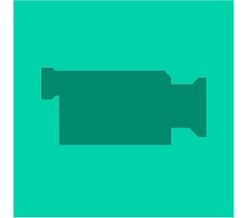


# Resumo dos eventos da Fase M

**Mitose é convencionalmente dividida em quatro estágios:**

- **PRÓFASE** - O começo desta fase é marcada pelo aparecimento dos cromossomos condensados
  - Duas cromátides irmãs (DNA produzido durante a fase S)
  - As cromátides são mantidas juntas pelo centrômero, o qual contém uma sequência de DNA na qual proteínas se ligam para formar o cinetocóro - local de ligação dos microtubulos.
  - O centrôssomo duplicado na interfase separam-se e movem-se em direção aos polos opostos em relação ao núcleo e servem como origem dos fusos mitóticos, os quais começam a se formarem no final da prófase.
  - Quebra do envelope nuclear.
- **PROMETÁFASE** - As cromátides irmãs estão anexadas ao cinetocoro, e em processo de alongação e encurtamento dos fusos mitóticos, os cromossomos condensados encaminham-se para uma posição equatorial da célula.
- **METÁFASE** - Muitas células permanecem brevemente nesta fase. A transição para ANÁFASE é marcada pela quebra e separação das cromátides e migração para os polos.
- **ANÁFASE** - Checkpoint dos cromossomos (se não houver anexação e separação correta, o ciclo celular permanece parado)
- **TELÓFASE**. Término da mitose durante essa fase o núcleo se re-forma e os cromossomos sofrem descondensação.

# CITOCINÉSE



- Citocinese inicia-se no final de anáfase e termina ao final da telófase
- Formação de um anél contráctil de filamentos de actina e miosina II.
- A clivagem acontece com a contração dos filamentos de actina e miosina puxando a membrana plasmática para dentro, formando um estrangulamento até que as duas células filhas se separam e a suas membranas plasmáticas são re-seladas.
- Células filhas idênticas são agora disponíveis para um novo ciclo de divisão celular ou entram G0

**Molecular Cell Biology**

Harvey Lodish

Arnold Berk

Lawrence S. Zipursky

Paul Matsudaira

David Baltimore

James Darnell

Fourth Edition W. H. FREEMAN

**Molecular Biology of the Cell**

Fourth Edition

Bruce Alberts, Alexander Johnson, Julian

Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, Peter

Walter

**The Cell**

**A Molecular Approach**

Geoffrey M. Cooper

Boston University