

# Ciclo celular

## Poblaciones celulares

SEMINARIO 2  
BIOLOGIA CELULAR Y MOLECULAR AÑO 2020  
ADAPTACIÓN VIRTUAL



# Objetivos

A la hora de jerarquizar información  
**presten siempre atención a los  
objetivos planteados por el plantel.**

## Objetivos básicos

- 1) Describir etapas del ciclo celular y analizar sus consecuencias en la célula.
- 2) Describir operantes en todas las etapas del ciclo celular: CDKs y ciclinas y explicar mecanismos biológicos de regulación
- 3) Explicar eventos claves en el ciclo celular, puntos de restricción y checkpoints y reconocer mecanismos de regulación.
- 4) Advertir características particulares del ciclo celular en distintos subtipos celulares
- 5) Describir el rol de proteínas dependientes de ciclo y determinar su relación con otros eventos celulares: daño en ADN, mecanismos de reparación y oncogénesis.
- 6) Explicar el rol de p53 y vía de MAP kinasas en ciclo celular y reconocer el rol de estas proteínas como genes supresores de tumores y protooncogenes
- 7) Diferenciar eventos celulares y moleculares característicos de la meiosis y mitosis, describiendo mecanismos moleculares implicados y su relación con el citoesqueleto.

# Objetivos

A la hora de jerarquizar información  
**presten siempre atención a los  
objetivos planteados por el plantel.**

## Objetivos para profundización de la temática.

- 1) Interpretar mecanismos moleculares implicados en las etapas de transición del ciclo celular: G1-S, G2-M y anafase.
- 2) Analizar mecanismos moleculares y celulares desencadenados por el daño en el ADN.
- 3) Interpretar mecanismos celulares y moleculares implicados en los procesos de meiosis y mitosis.
- 4) Aplicar conceptos de ciclo celular en áreas de interés médico: embriología, histología, oncología, neurología y farmacología.

**No se pretende la memorización de moléculas particulares o vías de señalización: Se desarrollan en las diapositivas a modo ilustrativo.**

**Jerarquizar el rol de ciclinas, CDK, p53 y vía de MAP kinasas**

Modelos experimentales:

Ovocitos

Fusión de células en cultivos

Hongos unicelulares: estudios genéticos

Estudios bioquímicos libres de células

Técnicas:

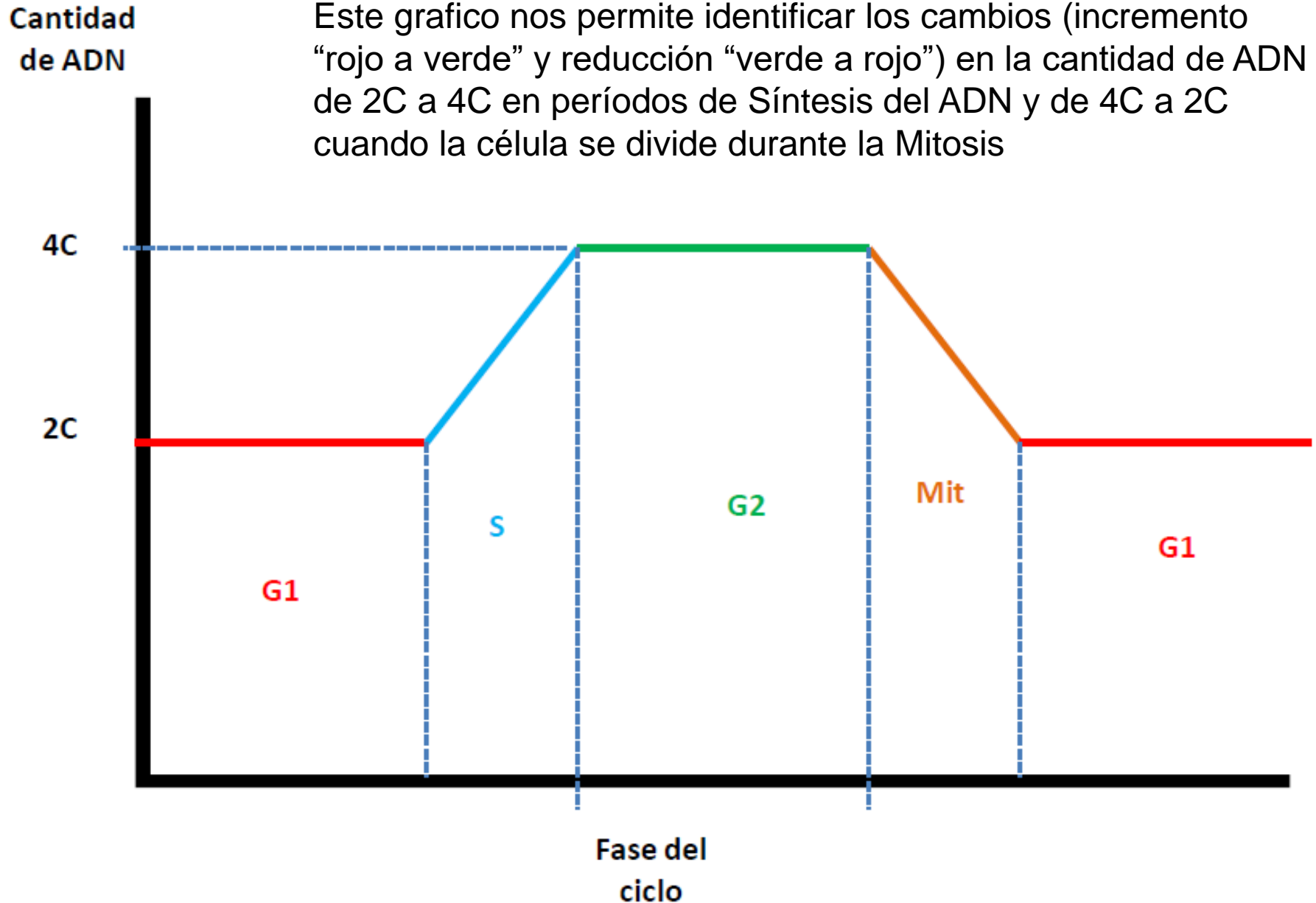
Cuantificación de células en mitosis

Detección de células que duplican su ADN (radioautografía con timidina tritiada, bromodeoxiuridina)

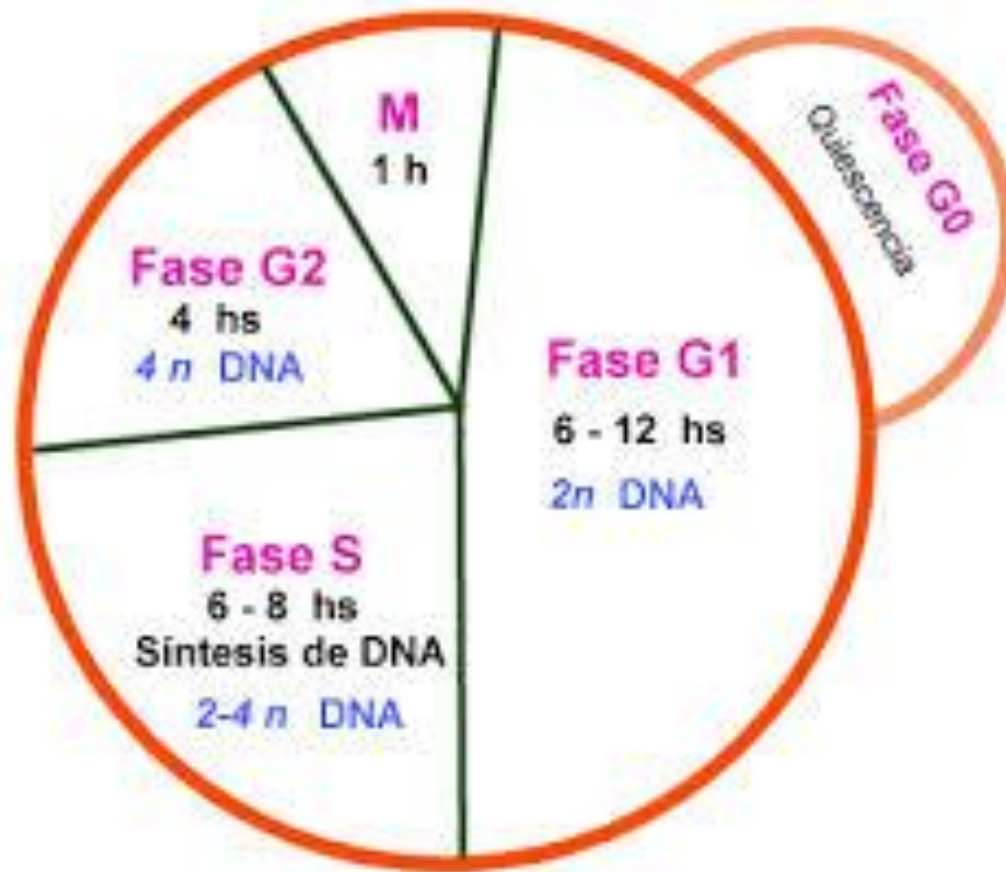
Cuantificación de células con distinta cantidad de ADN (citometría de flujo)

Esto nos permite el reconocimiento de diferencias iniciales en distintas fases

Este grafico nos permite identificar los cambios (incremento “rojo a verde” y reducción “verde a rojo”) en la cantidad de ADN de 2C a 4C en períodos de Síntesis del ADN y de 4C a 2C cuando la célula se divide durante la Mitosis



Y conocer la duración de las etapas en distintos subtipos celulares



El ciclo celular tiene características

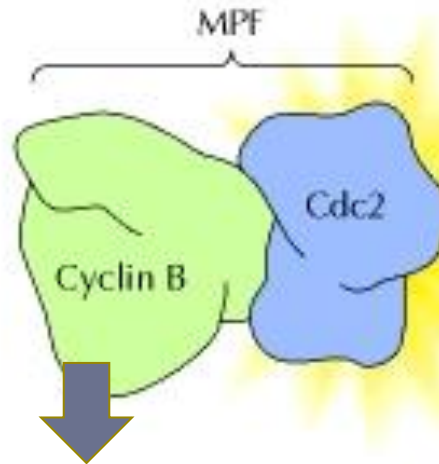
- 1) Secuencia temporal unívoca de procesos asociados
- 2) Adaptable a condiciones ambientales
- 3) Mantiene fidelidad del proceso en condiciones variables
- 4) En cada etapa ocurren eventos moleculares que facilitan el progreso a la siguiente

# 1

Mecanismos que operan en todas las etapas del ciclo celular  
CDK y ciclinas

# Regulación **intracelular** del ciclo: complejos ciclina-quinasa

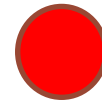
La Cdk no unida a ciclina tiene una ultraestructura que bloquean el acceso del sustrato al sitio activo unido al ATP. La unión de la ciclina a la Cdk induce cambios conformacionales que exponen el sitio activo



Su concentración es constante durante todo el ciclo celular

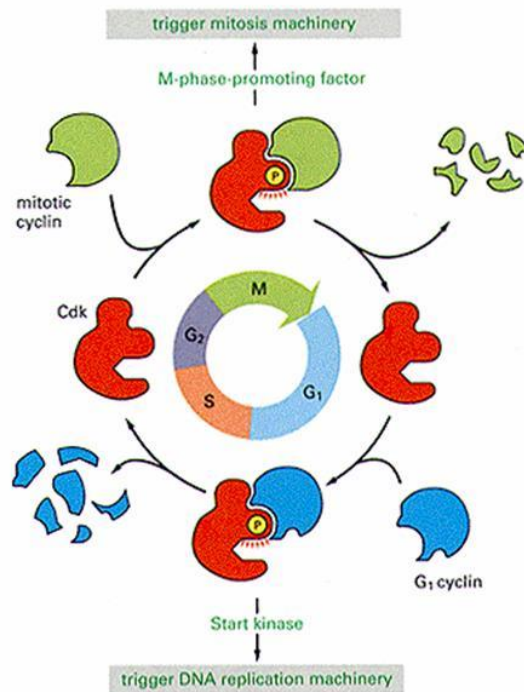
Quinasas Subunidad catalizadora

Ciclinas:  
Subunidad reguladora cambia su concentración a lo largo del ciclo





# El corazón del sistema de control del Ciclo Celular



From The Art of MBoc3 © 1995 Garland Publishing, Inc.

Las ciclinas (en verde y azul) son proteínas que varían su cantidad a lo largo del ciclo celular (aumentan y disminuyen = ciclan). Al unirse a las kinasas dependientes de ciclinas CDK (rojo) las activan para cumplir funciones específicas en los puntos de control del ciclo celular. Entonces las ciclinas aumentan sus niveles por síntesis de novo y disminuyen sus niveles por degradación.

**Hay grandes grupos de complejos ciclina-quinasa:**  
**Podemos dividir las flías de Ciclinas en ciclinas de G1; de S; Mitóticas**

Tomar el concepto que diferentes ciclinas (A, B, C, D) y distintas kinasas dependientes de ciclinas (CDK 1, 2, 4, 6) en distintos momentos del ciclo celular tienen funciones regulatorias que controlan y permiten avanzar en las fases del ciclo celular.

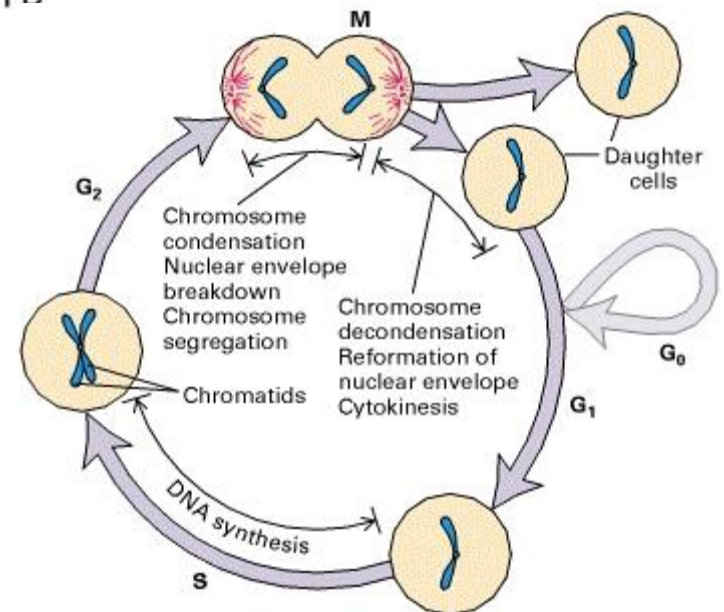
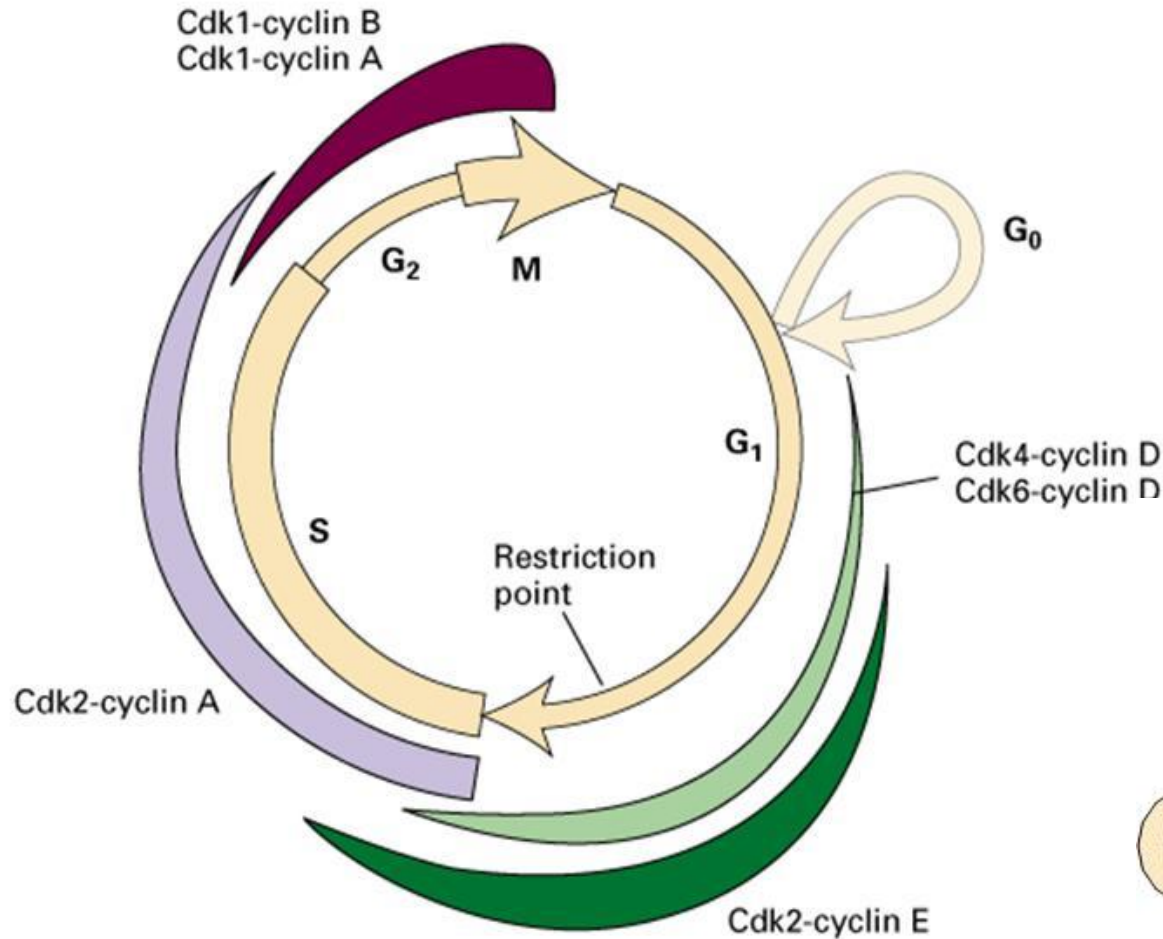


Tabla que incluye los complejos de ciclinas y kinasas dependientes  
ciclinas mas relevantes de vertebrados y levaduras que se asocian  
en distintas fases de la división celular.

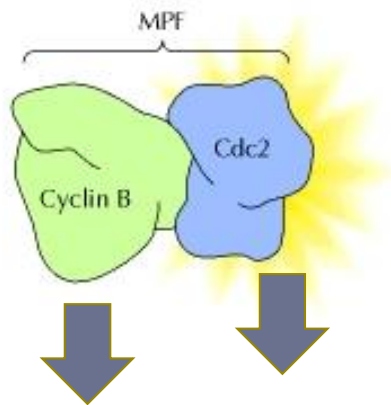
**TABLE 17–1 The Major Cyclins and Cdks of Vertebrates and Budding Yeast**

	Vertebrates		Budding yeast	
Cyclin–Cdk complex	Cyclin	Cdk partner	Cyclin	Cdk partner
G <sub>1</sub> -Cdk	Cyclin D*	Cdk4, Cdk6	Cln3	Cdk1**
G <sub>1</sub> /S-Cdk	Cyclin E	Cdk2	Cln1, 2	Cdk1
S-Cdk	Cyclin A	Cdk2, Cdk1**	Clb5, 6	Cdk1
M-Cdk	Cyclin B	Cdk1	Clb1, 2, 3, 4	Cdk1

\* There are three D cyclins in mammals (cyclins D1, D2, and D3).

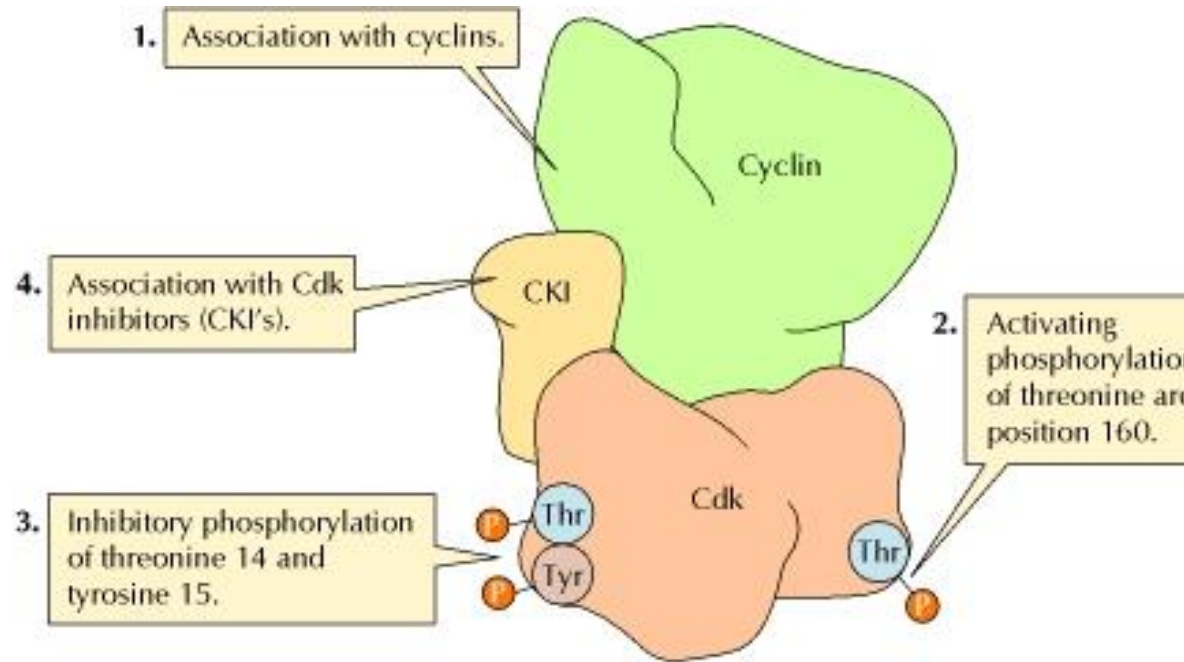
\*\* The original name of Cdk1 was Cdc2 in both vertebrates and fission yeast, and Cdc28 in budding yeast.

# Regulación **intracelular** del ciclo:



Ciclinas:  
Subunidad  
reguladora cambia  
su concentración a  
lo largo del ciclo

Quinasas  
Subunidad catalizadora



La actividad del complejo puede ser máxima cuando además de la ciclina se fosforilan/desfosforilan sitios específicos y se disocian los inhibidores de quinasas (CKI)

Existen varias formas de regular a las CDKs: Si bien la regulación esencial depende de la ciclina asociada, otros elementos pueden condicionar su actividad

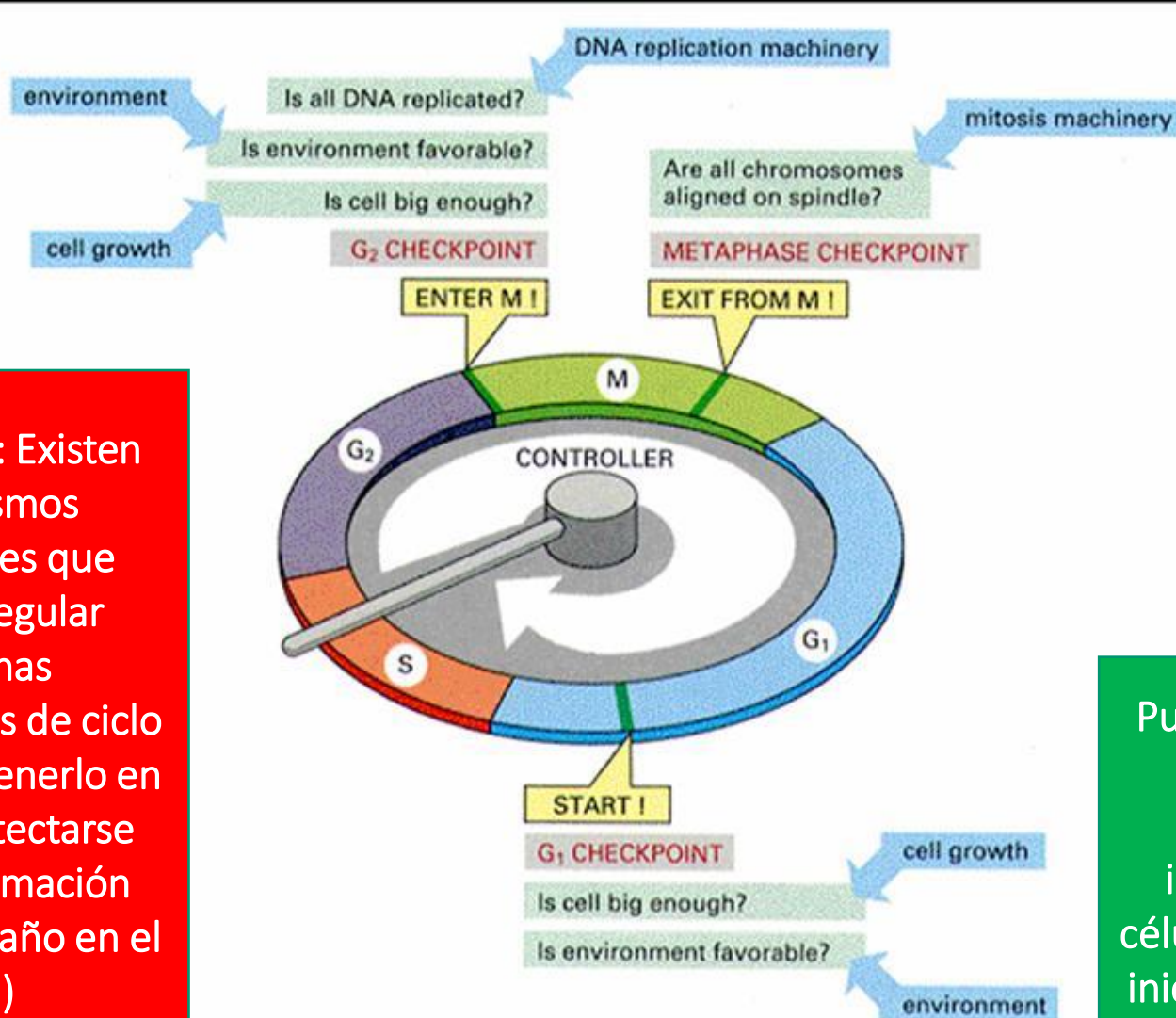
# 2

Eventos claves en el ciclo celular

Punto de restricción.

Características de G0, G1, transición G1-S, S

# Puntos de control del Ciclo Celular

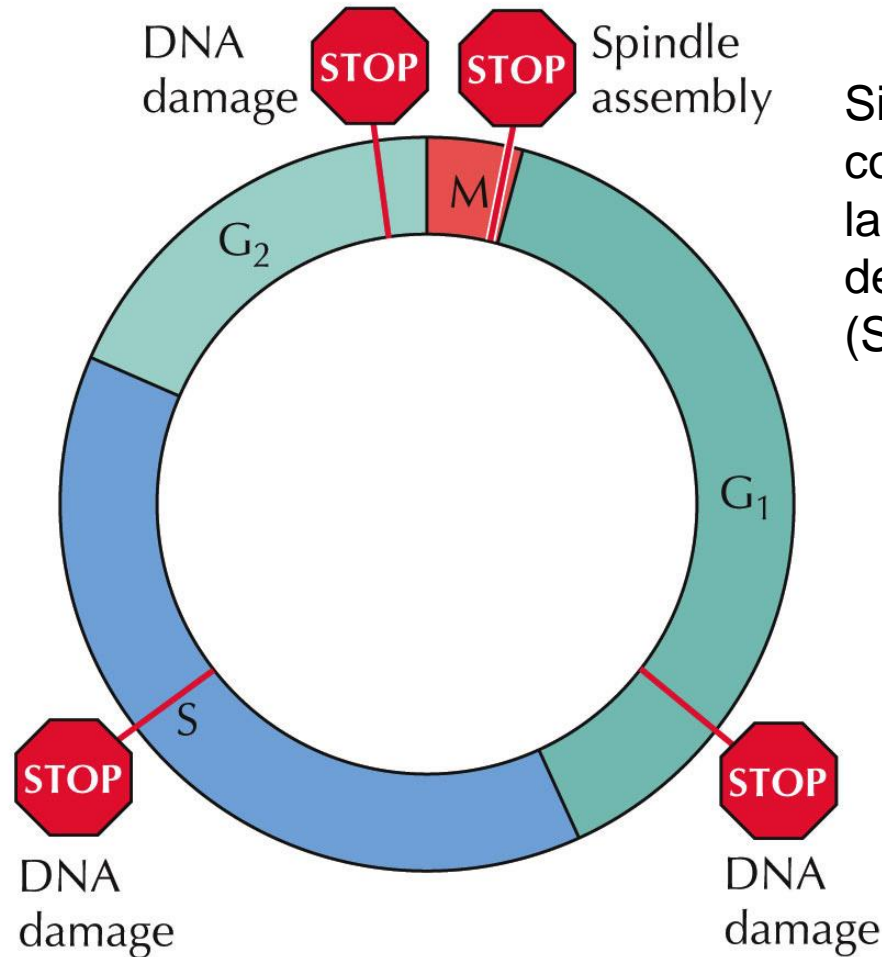


Checkpoint: Existen mecanismos moleculares que pueden regular proteínas dependientes de ciclo celular y detenerlo en caso de detectarse cierta información celular (ej: Daño en el ADN)

Punto de restricción: Debe haber un conjunto de información en la célula que favorezca el inicio del ciclo celular. De lo contrario no inicia

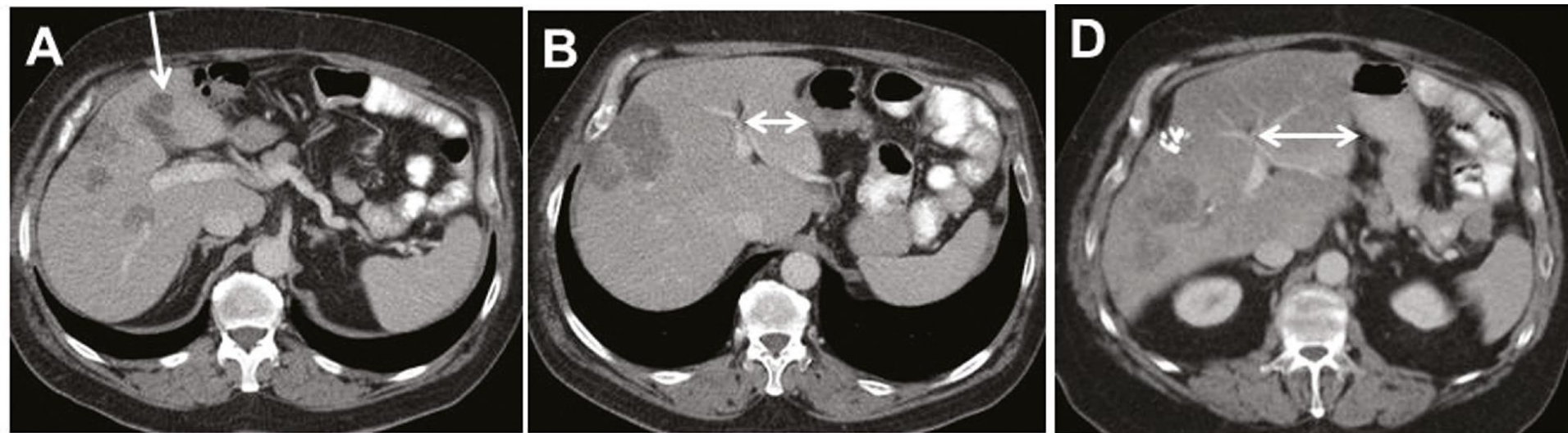


# Puntos de control del Ciclo Celular que tienden a asegurar que los genomas completos y no dañados se transmitan a las células hijas.



Si en los diferentes puntos de control se detectan alguno de las siguientes fenómenos se detiene o arresta el ciclo celular (STOP).

En este caso, a un paciente que presentaba metástasis hepáticas (fig. A), se le debió efectuar una hepatectomía izquierda. Noten (fig. B y D) que se advirtió desarrollo hepático luego de la cirugía.



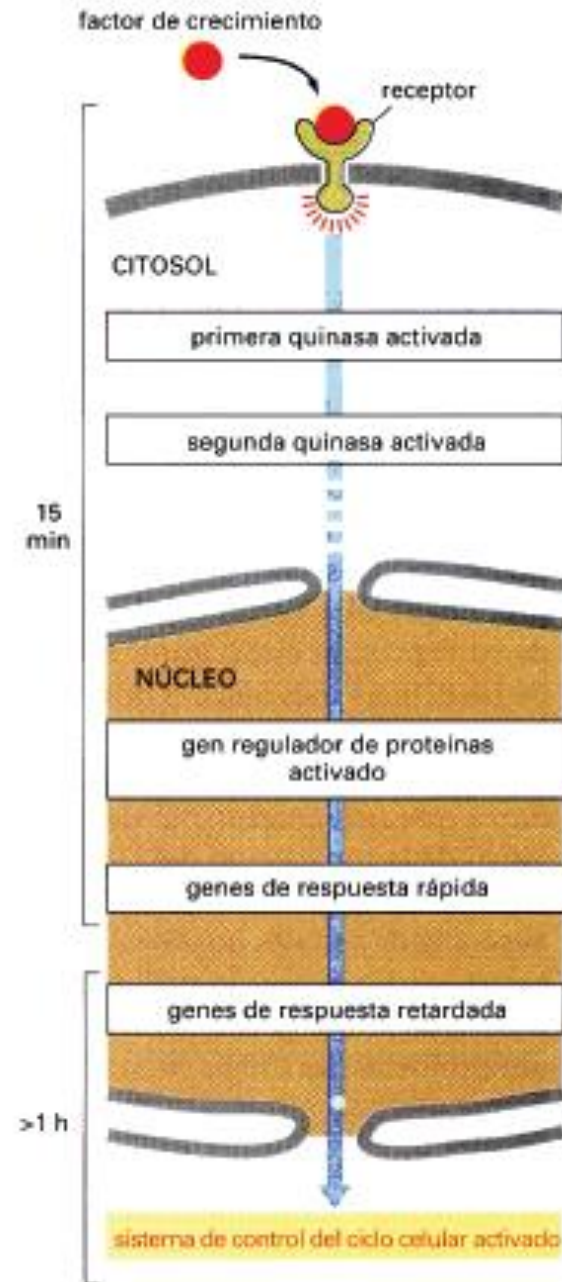
**Para discutir en el Google Classroom:**

- ¿En qué etapa del ciclo celular se encuentra un hepatocito representado en la Fig. A? ¿Y en la D? ¿Qué pudo haber sucedido?
- ¿Cuáles son las características de las células en la fase G0?



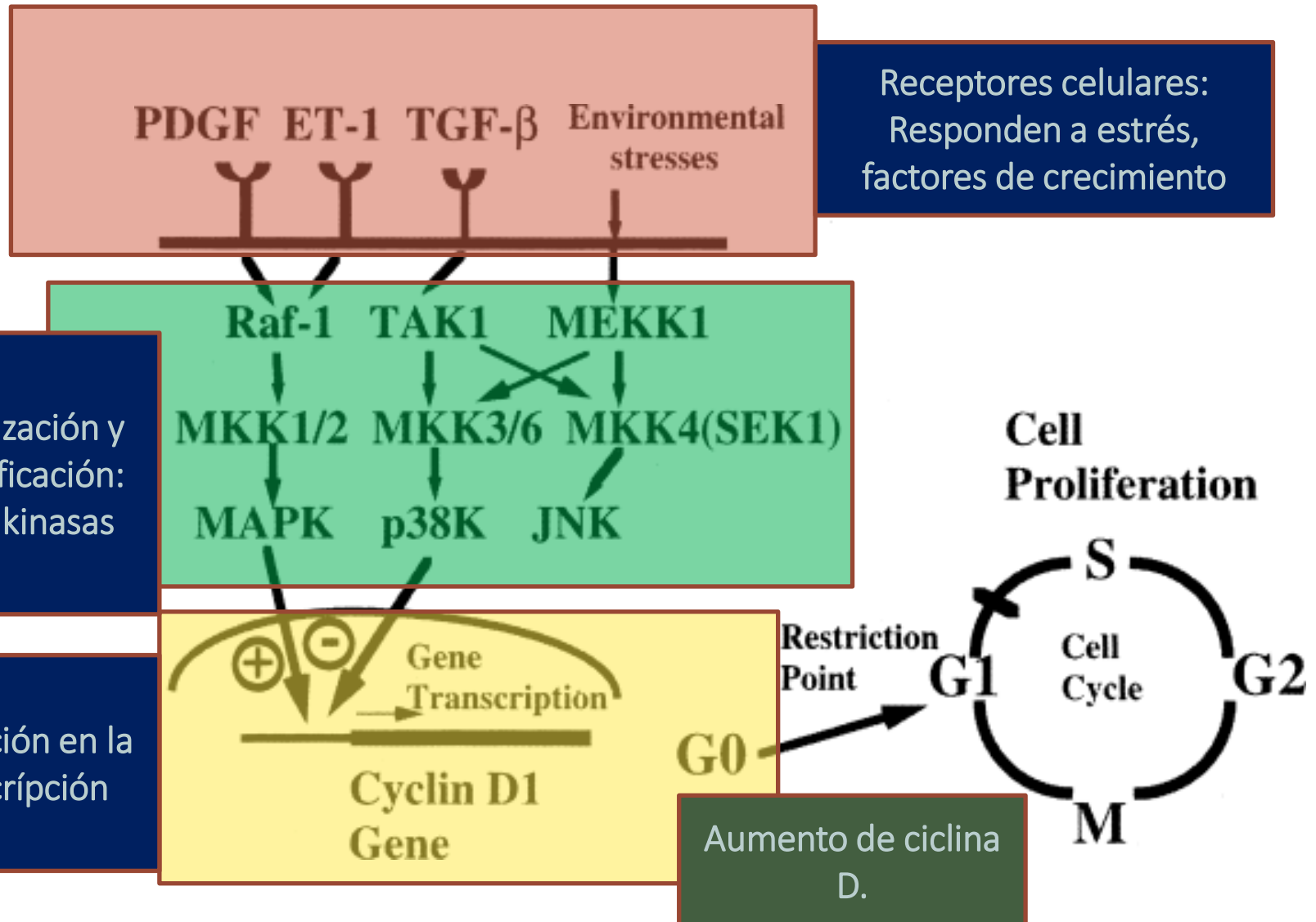
# FACTORES DE CRECIMIENTO MITÓGENOS (señales extracelulares)

## QUE ES UN FACTOR DE CRECIMIENTO?



## Entrada a G1

Factores de crecimiento son moléculas reconocidas por receptores que activan cascadas de señalización intracelular controlando la transcripción de ciclinas que favorecen el pasaje de los puntos de control en el ciclo celular.



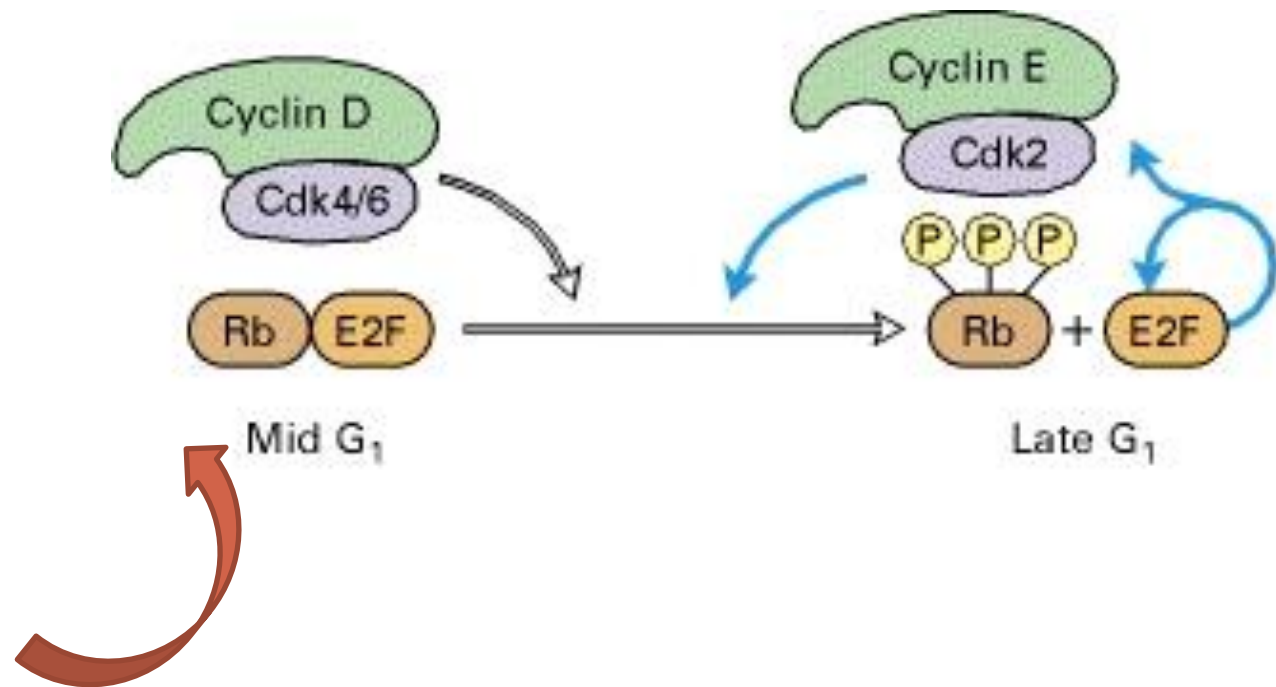
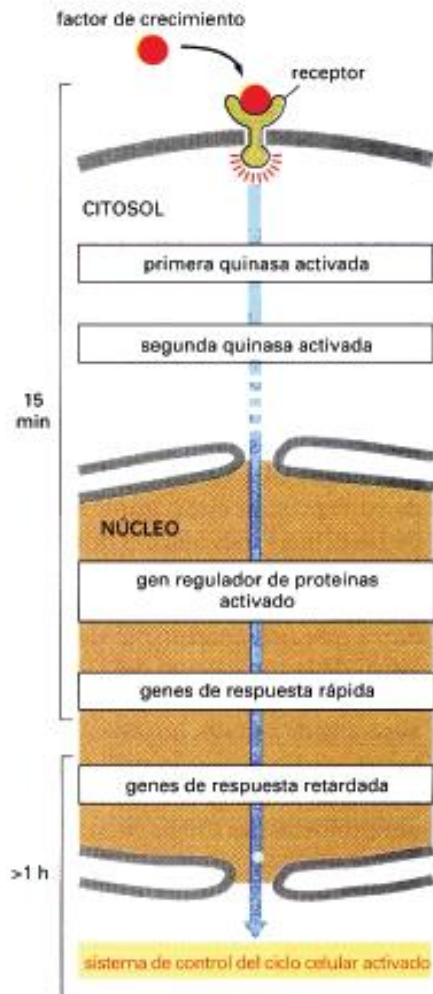
### Algunos eventos claves de G1

- Se unirán complejos de reconocimiento de los sitios de origen de replicación del ADN (ver Seminario 1)
- Se recluta la helicasa y se forma el complejo de pre-replicación (ver Seminario 1)
  - Se expresan ciclinas de la etapa G1

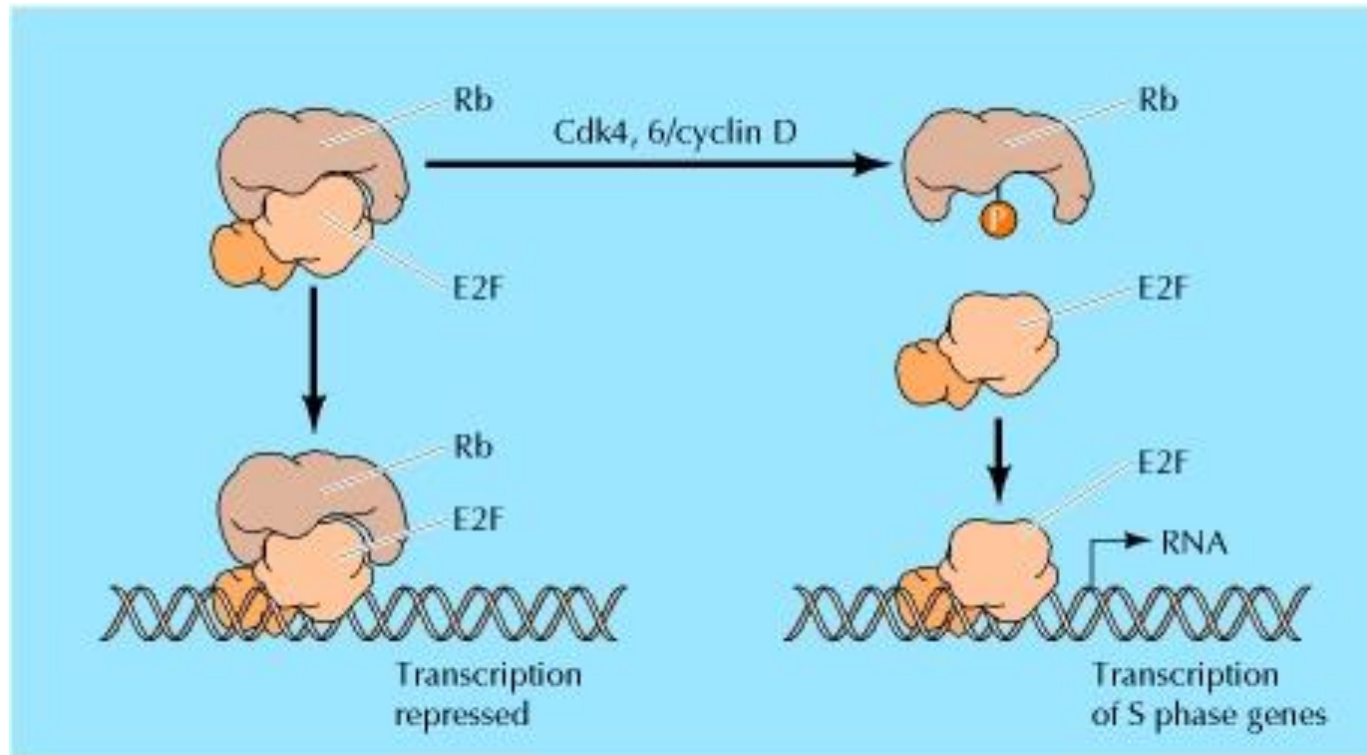
### Algunos eventos claves de la transición G1-S

- La activación de CDK4/6 permitirá la fosforilación de la proteína Rb
- Una vez fosforilada, esta proteína **dejará de inhibir (=estimulará)** la transcripción de la siguiente ciclina en juego: ciclina E.

## Correlación pasaje del punto de restricción e independencia de mitógenos

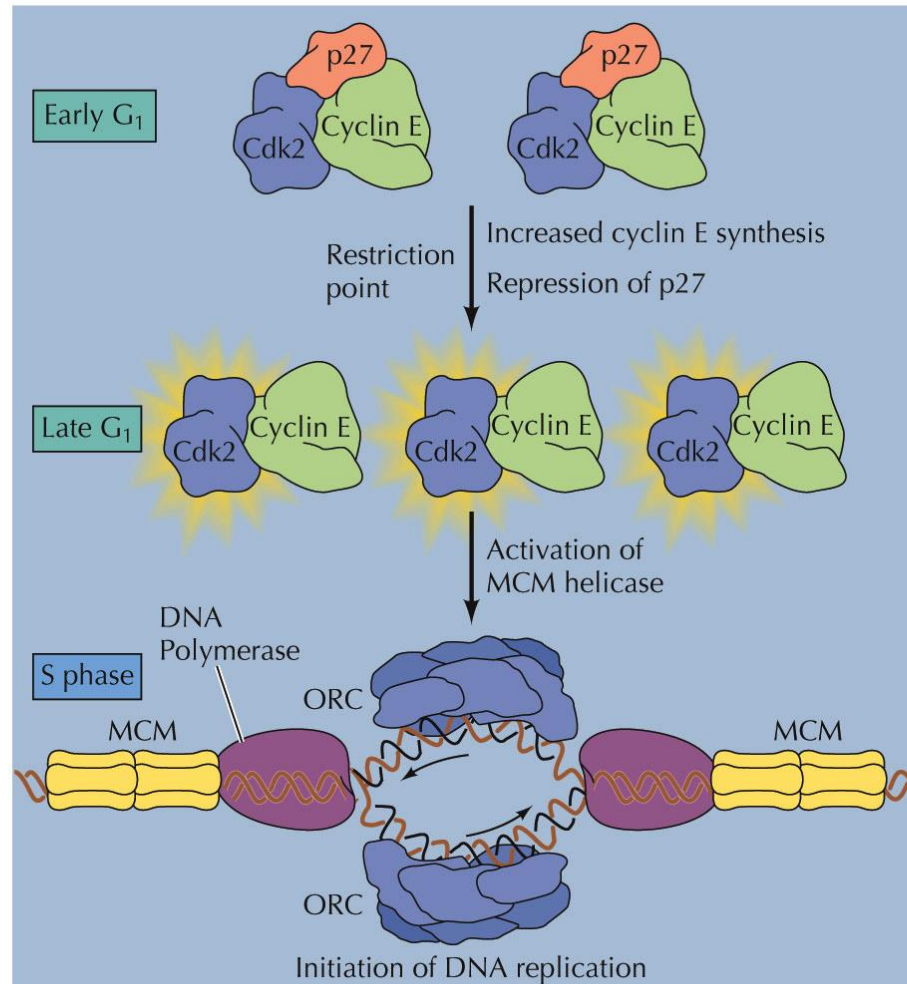


# Acción de retinoblastoma (RB): un gen supresor de tumor



## Que regula RB?

## *Entrada en fase S por acción de Cdk2 y ciclina E*



Reconocimiento de  
orígenes de replicación  
del ADN y acción de  
helicadas en inicio de  
fase S.

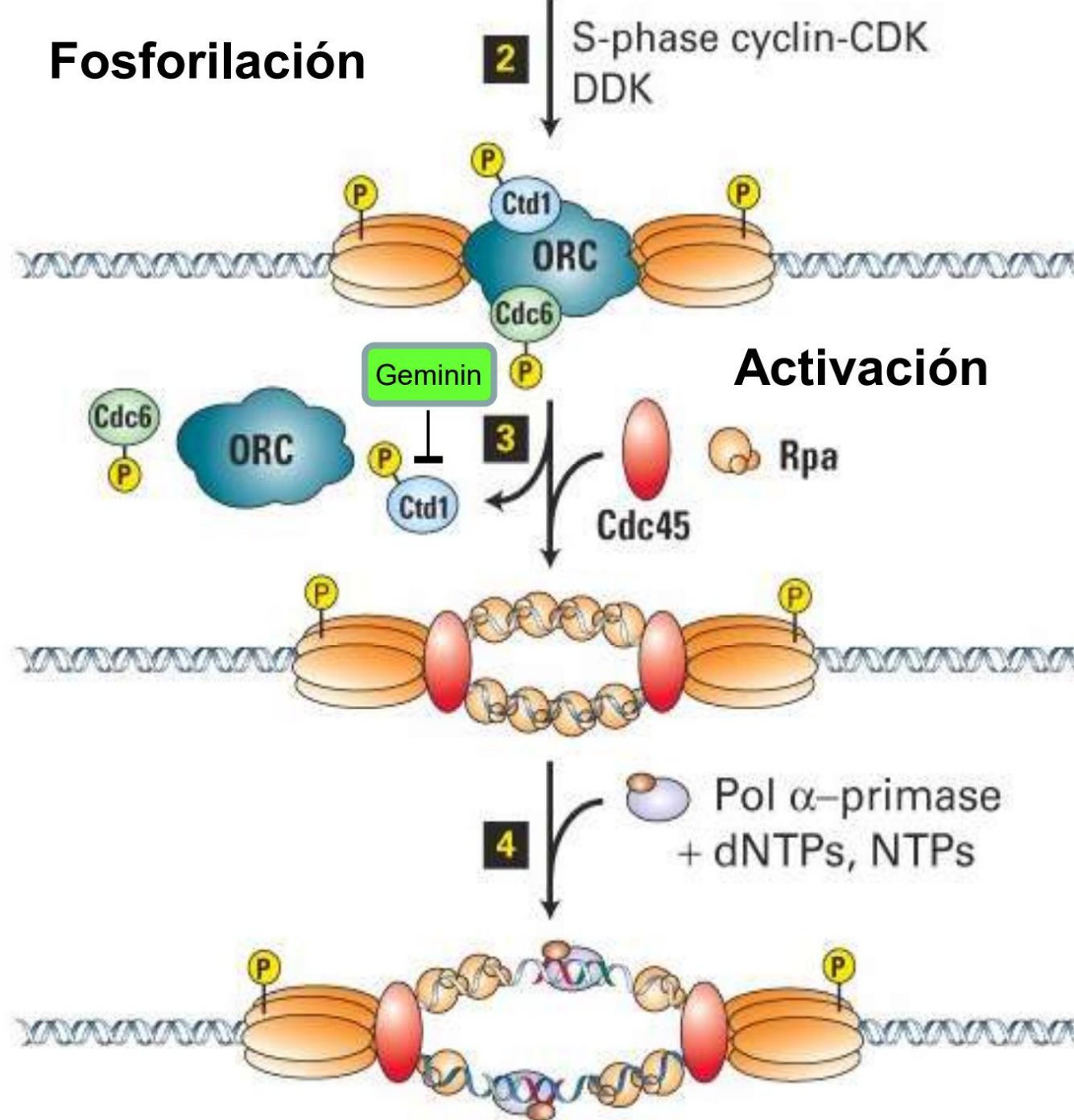
### Algunos eventos claves de S

- La activación de CDK correspondientes a esta etapa conllevarán la fosforilación del complejo de pre-replicación.
- **Cesa la actividad del Complejo Promotor de la Anafase (Todavía no lo vimos!)**
- Se reclutan proteínas a la burbuja de replicación: topoisomerasas, RPA, primasas, ligasas.
- La fosforilación de proteínas del complejo de pre-replicación (libres y unidas al ADN) impiden que puedan volver a unirse.... evitando que factores de iniciación se unan en etapas tardías
  - Replicación del ADN



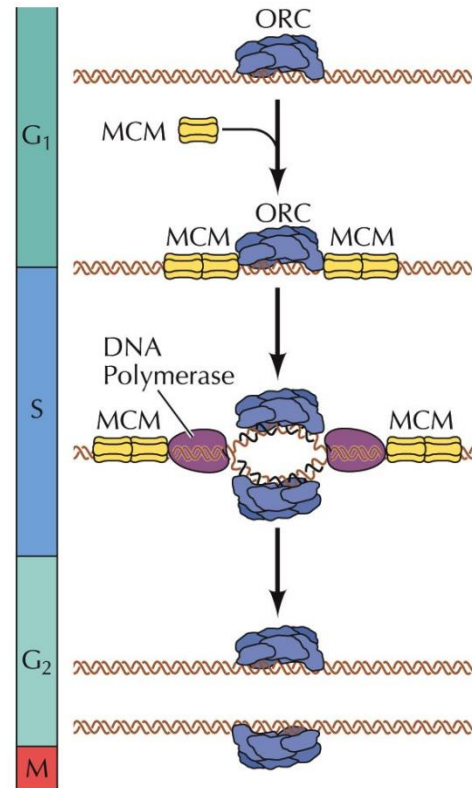
# Fosforilación

S

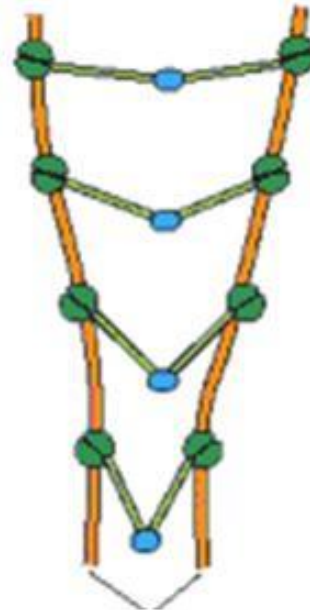
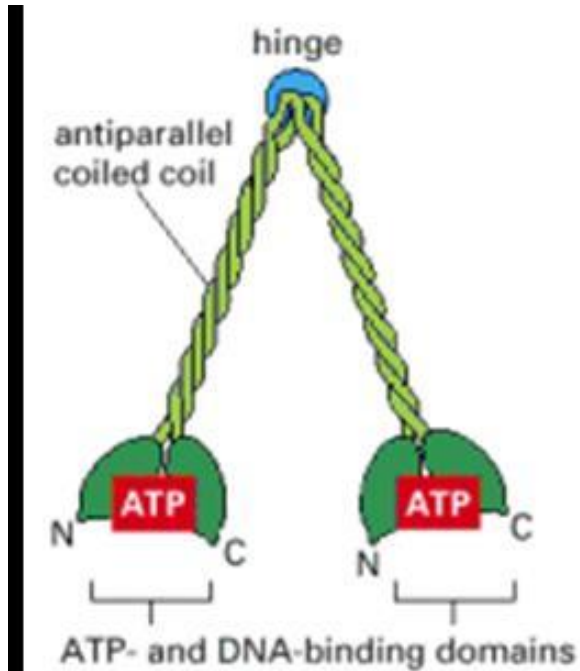




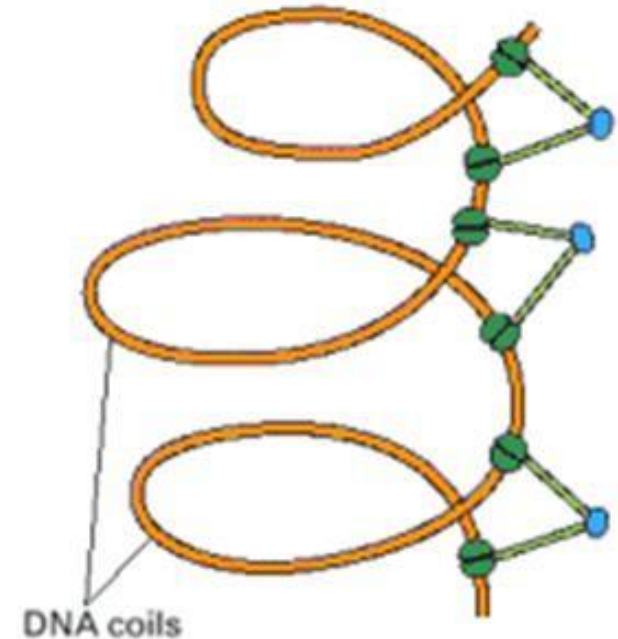
El ADN no se duplica dos veces en el mismo ciclo celular debido a que durante la replicación del ADN se separan del sitio de inicio de la replicación las proteínas MCM que no pueden volver a unirse a dicho sitio hasta la interfase siguiente.



# Cohesinas



Unión de cromátides hermanas por cohesina



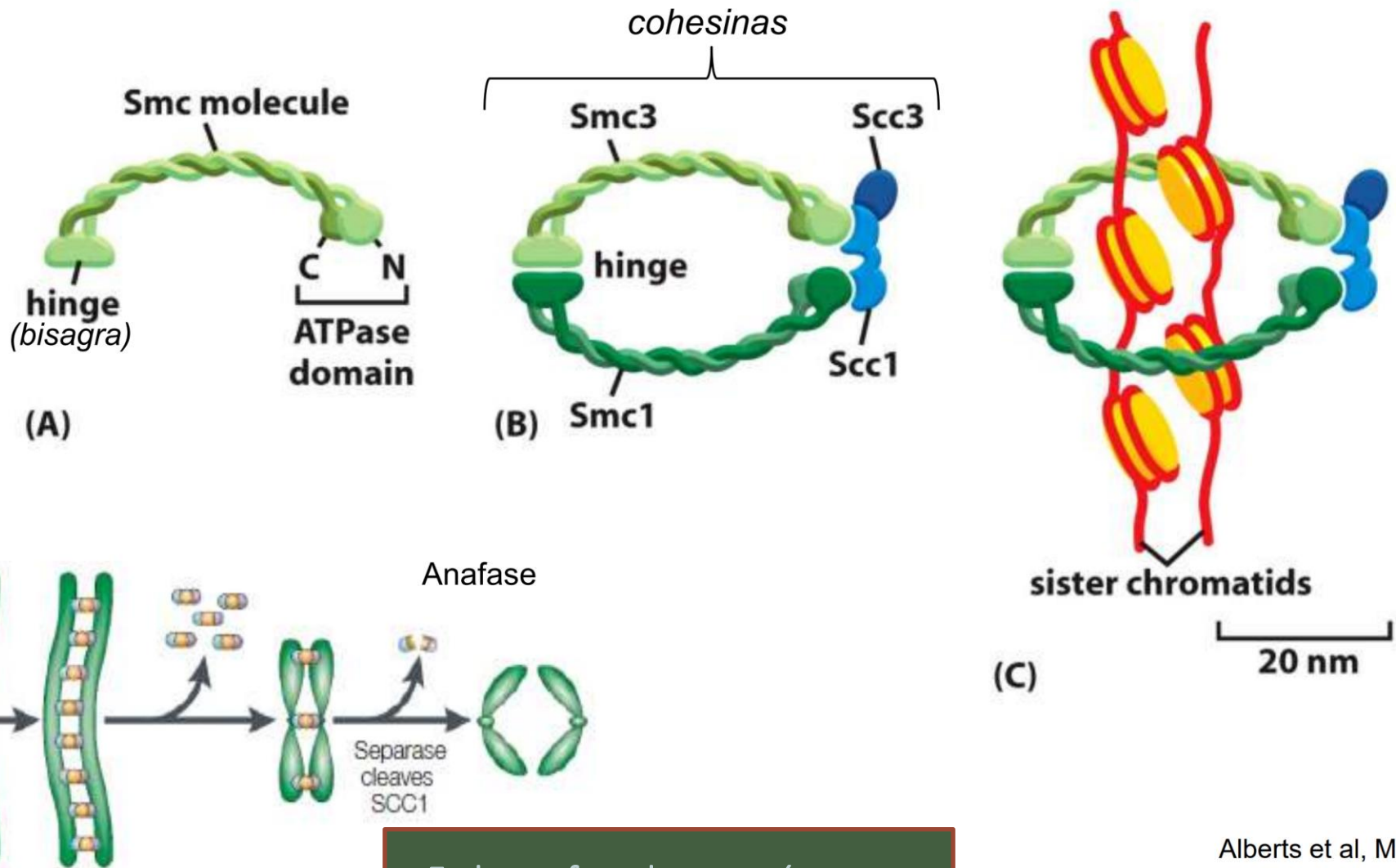
Enrollamiento del ADN por condensinas

Dímero de SMC  
(Structural Maintenance of Chromosomes)  
en complejo de condensina o cohesina

Son complejos proteicos que contienen dímeros de proteínas SMC y pueden unirse al ADN por sus extremos globulares

Las condensinas hidrolizan ATP y pueden “enrollar” el ADN bajo condiciones

experimentales. Las cohesinas “unen” a las cromátides hermanas a lo largo de toda su extensión. No se conoce el mecanismo preciso de condensación por condensina



En la anafase, las proteínas que conforman las cohesinas serán degradadas.

# 3

Eventos claves en el ciclo celular

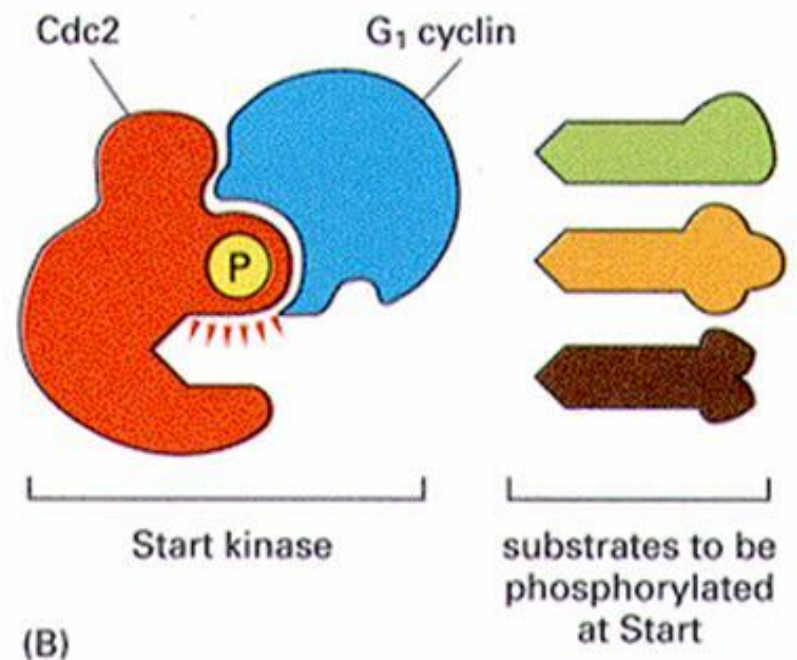
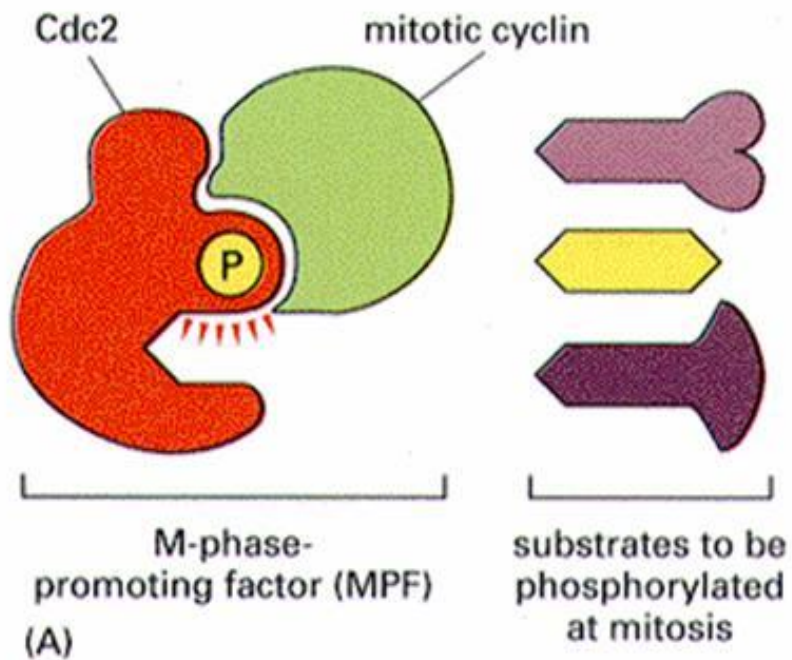
Inicio de la mitosis. Eventos

Regulación de la anafase

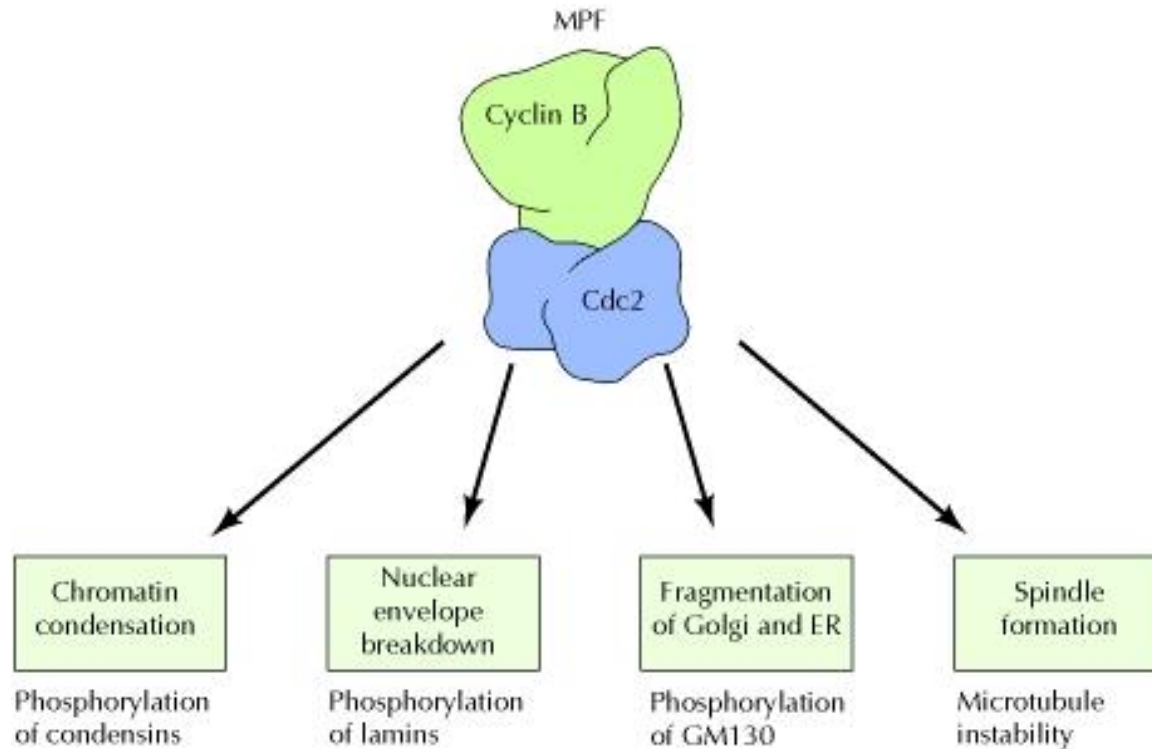
Complejo promotor de la anafase

Ejemplos de diferencias entre mitosis y meiosis

## El factor citoplasmático: CDK1 y su regulación



# Blancos del FPM: procesos de inicio de mitosis



### Algunos eventos claves de la transición G2-M

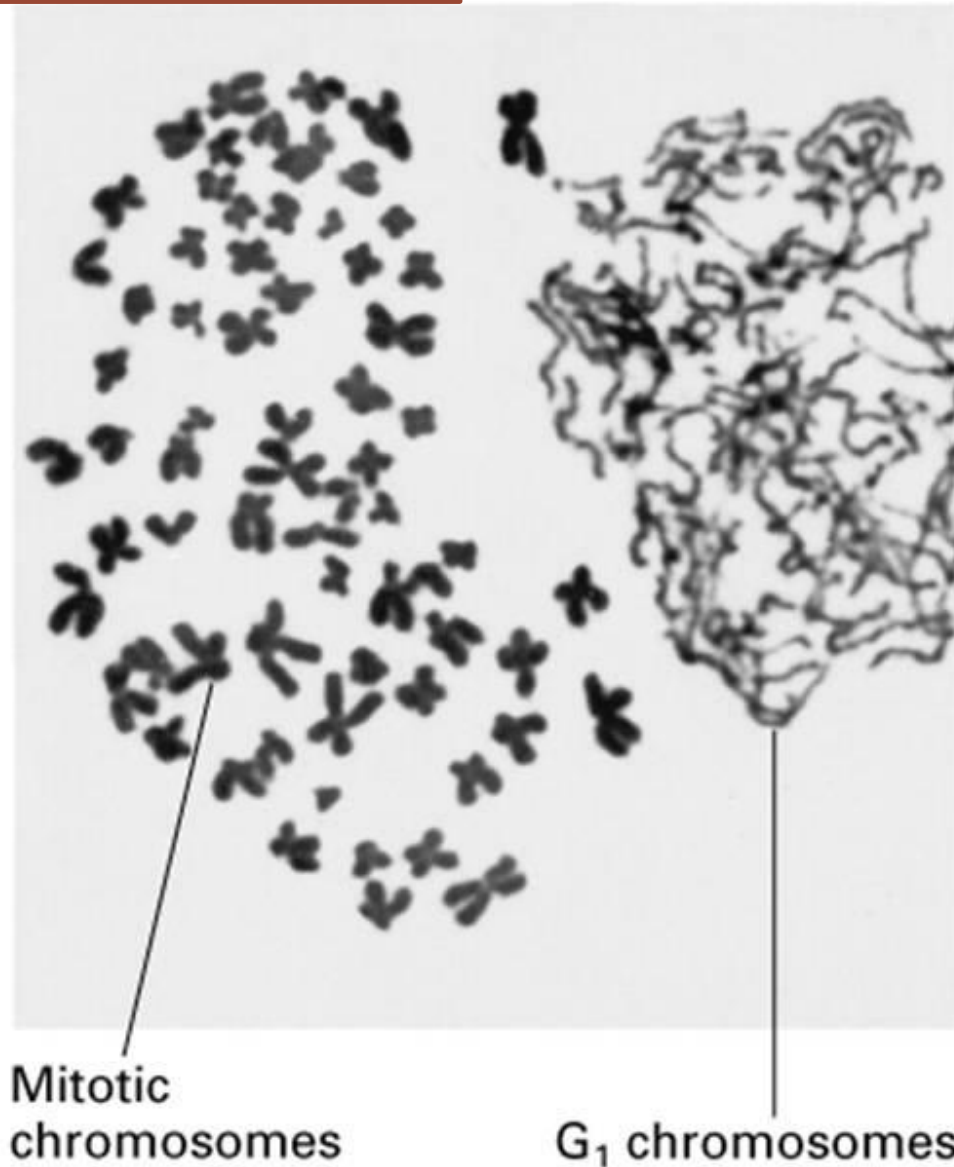
- Eventos nucleares: Fosforilación de laminas (desensamblaje de lámina nuclear), fosforilación de nucleoporinas (desensamble de complejo de poro nuclear), fosforilación de proteínas de anclaje de la cromatina a la membrana, fosforilación de condensinas.
- Eventos citoplasmáticos: Fosforilación de proteínas asociadas a microtúbulos, fosforilación de proteínas del REG y Golgi (inhibición de tráfico vesicular, fragmentación de Golgi y REG)

Para resolver luego de ver citoesqueleto:

CDK1 induce la fosforilación de KIF2 (catastrofina)

¿Por qué el proceso de mitosis estará asociado con el de catástrofe microtubular?





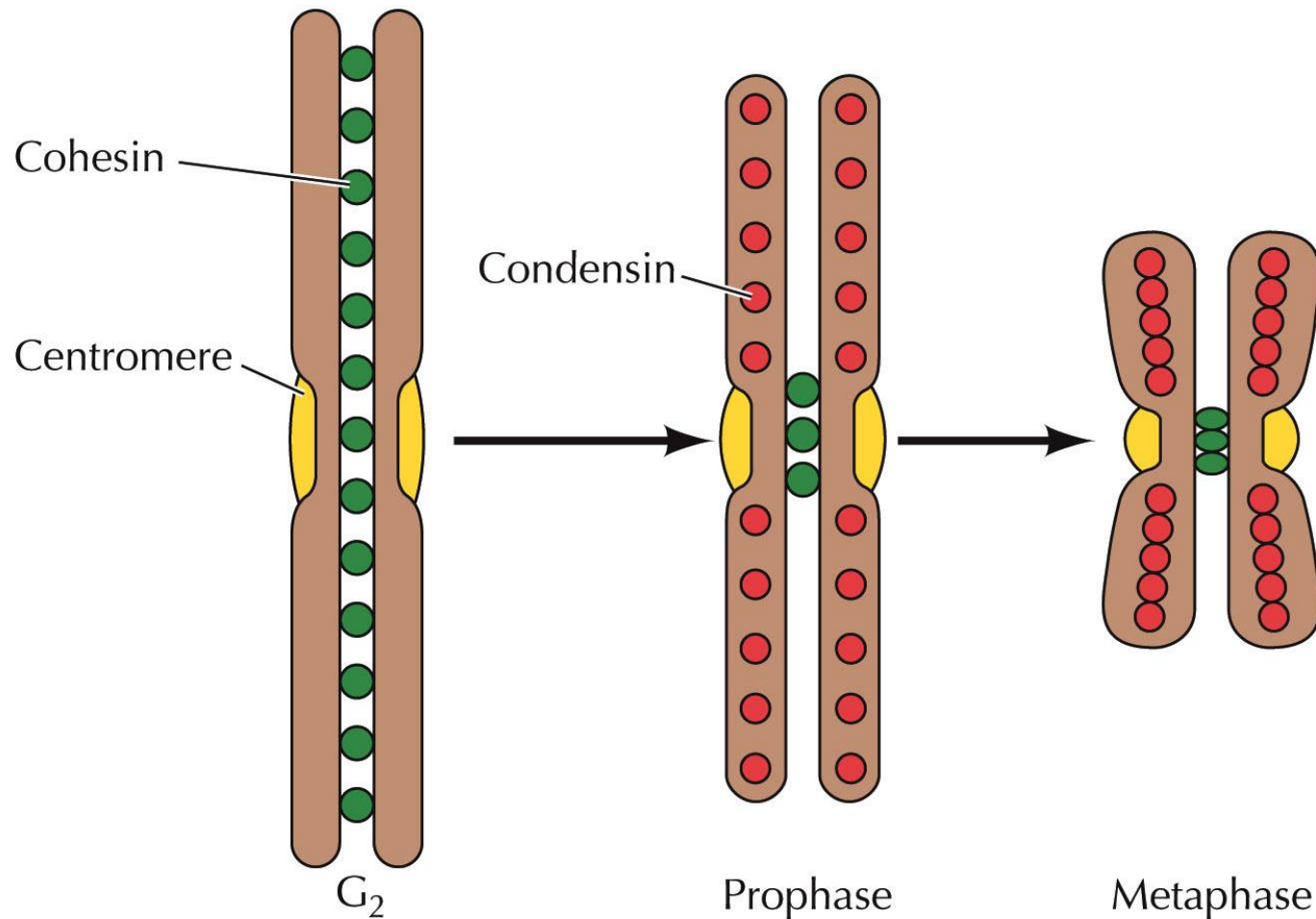
## Cromosomas Mitóticos y en G<sub>1</sub>

Los cromosomas  
mitóticos  
representan el nivel  
más alto de  
condensación de la  
cromatina

¿Cuáles son las bases  
moleculares de ésta  
condensación?

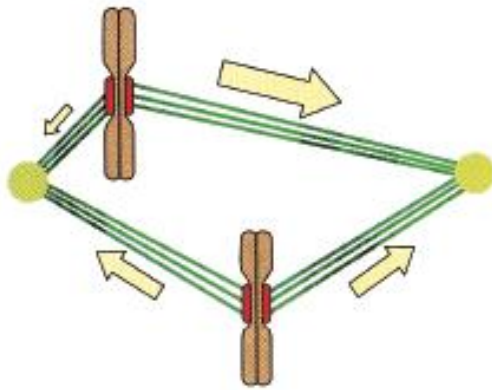


## Acción de las condensinas y de las cohesinas

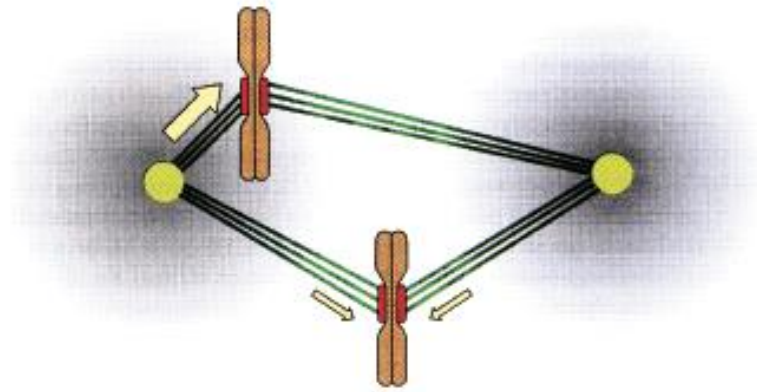


# Etapas de la Mitosis:

- Profase: Condensación de los cromosomas, ensamblado del huso mitótico.
- Prometafase: Ruptura de la envoltura nuclear y contacto entre los microtúbulos del huso y los cromosomas (a través de los cinetocoros): movimiento activo.



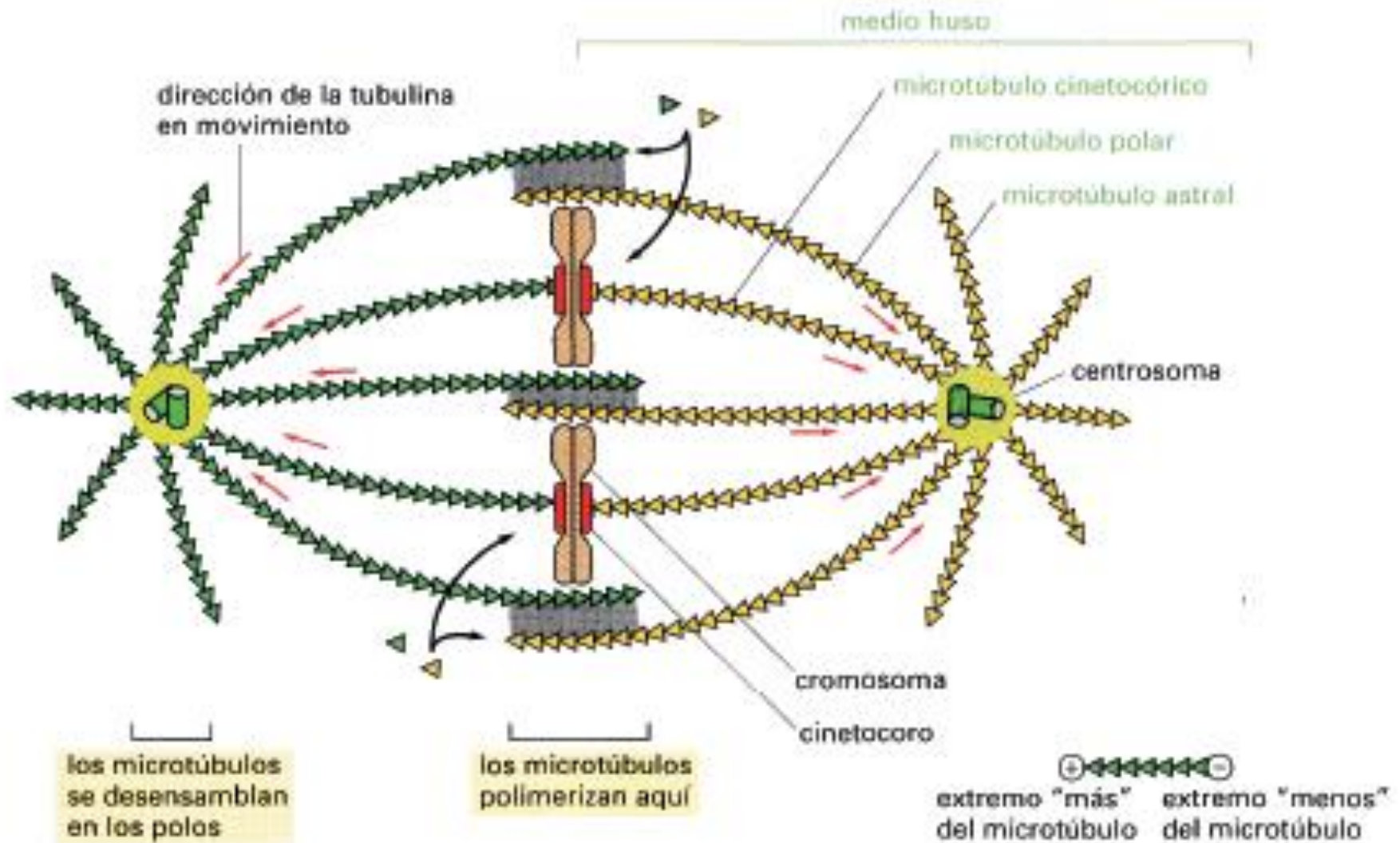
(A) **"ESTIRAR"** la fuerza de atracción es proporcional a la longitud de los microtúbulos cinetocóricos

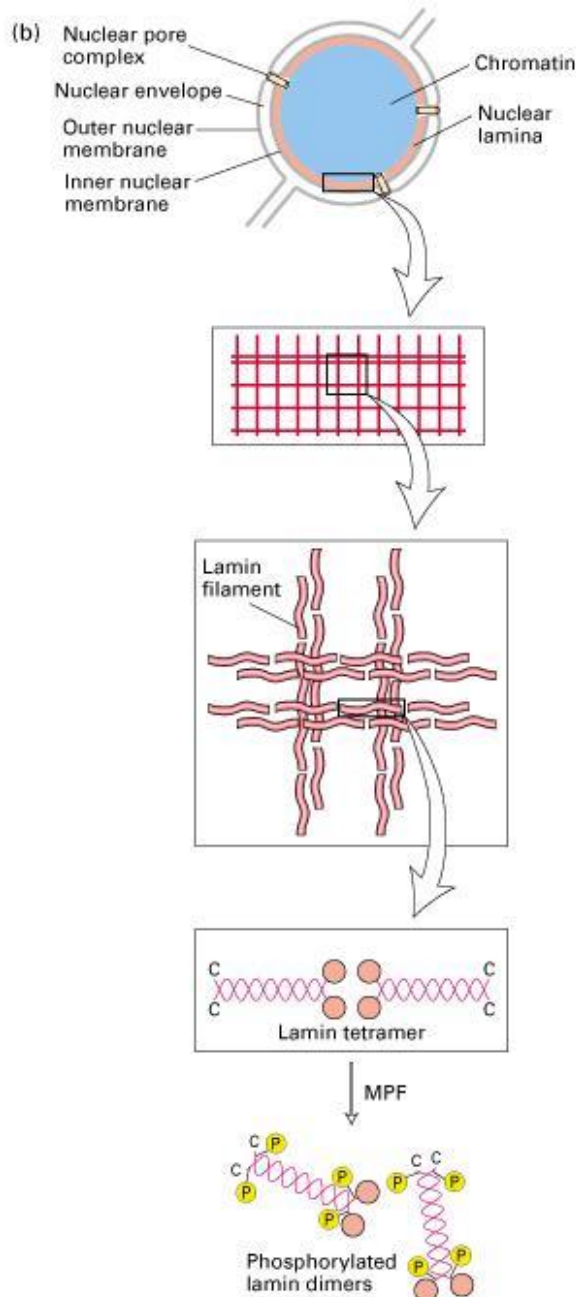


(B) **"EMPUJAR"** la fuerza de exclusión astral disminuye con la distancia al polo

## Etapas de la Mitosis:

-Metafase: los cromosomas se alinean en el ecuador.

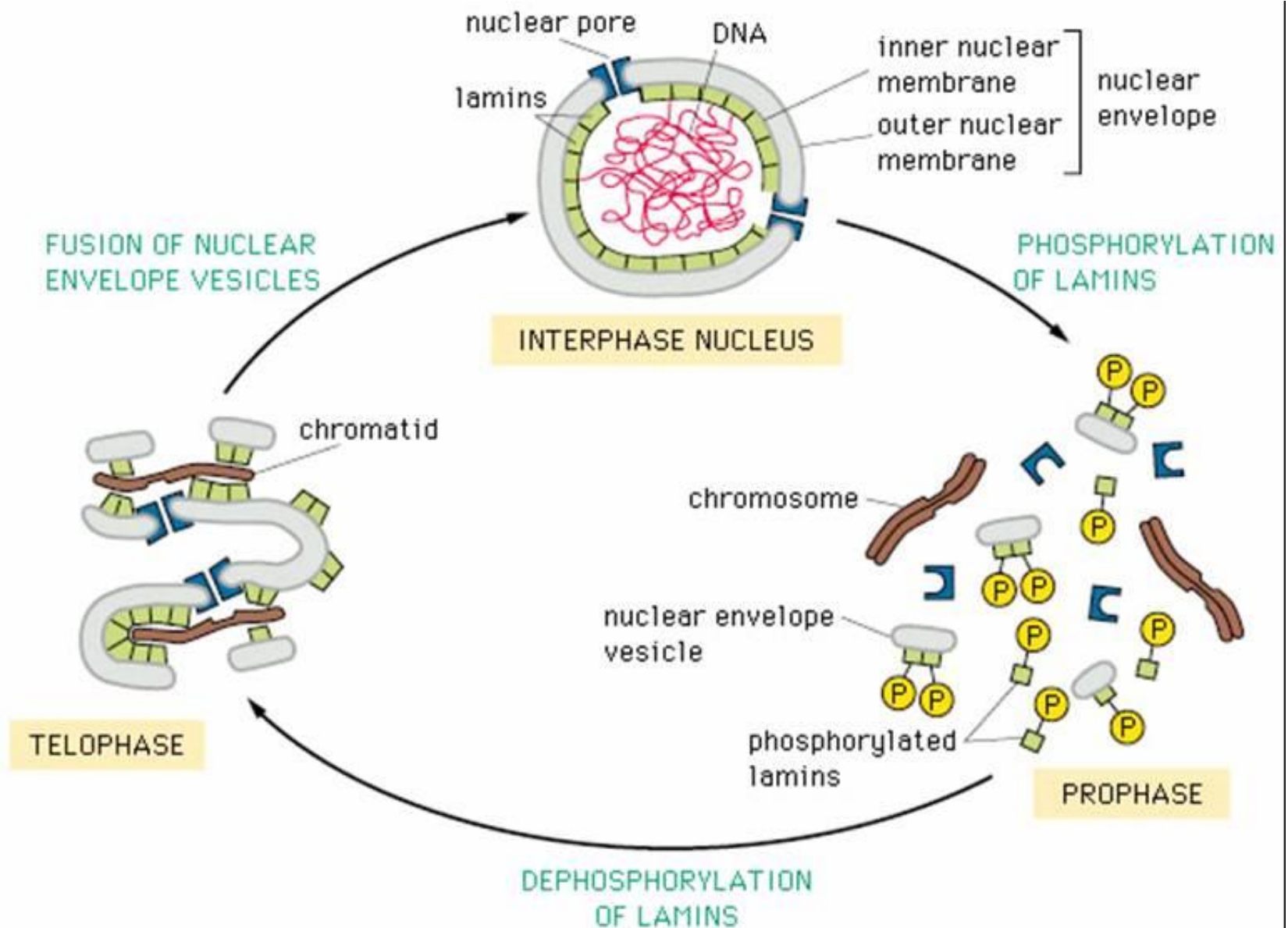




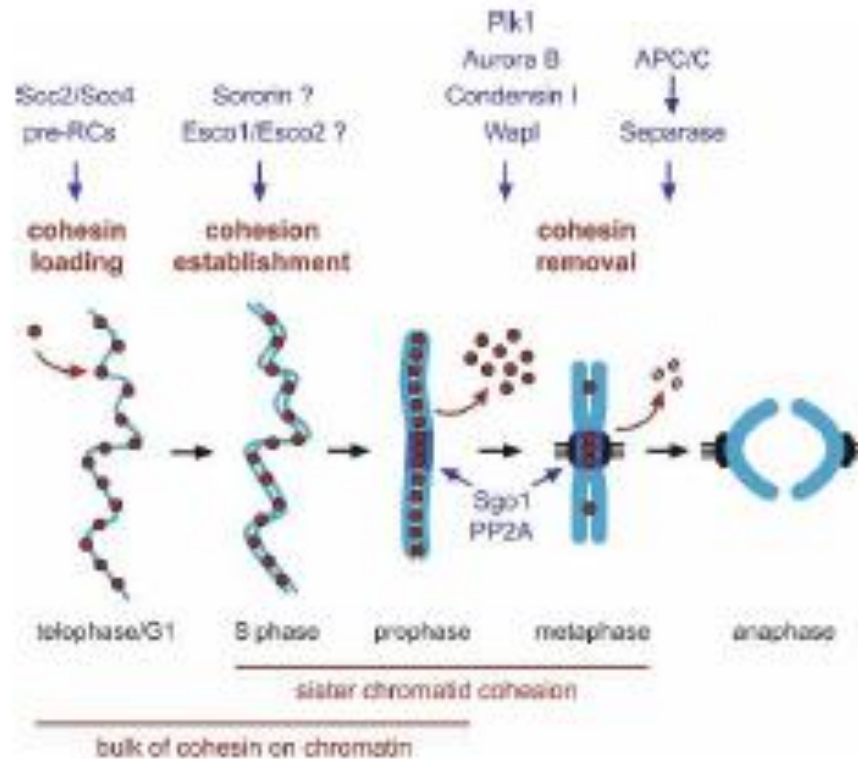
## LA LÁMINA NUCLEAR Y SU DESPOLIMERIZACIÓN

El entramado de proteínas que forman la lamina nuclear se asocian en estado no fosforilado y se separan o disocian cuando se fosforilan las proteínas que constituyen la lamina nuclear.

# Envoltura Nuclear



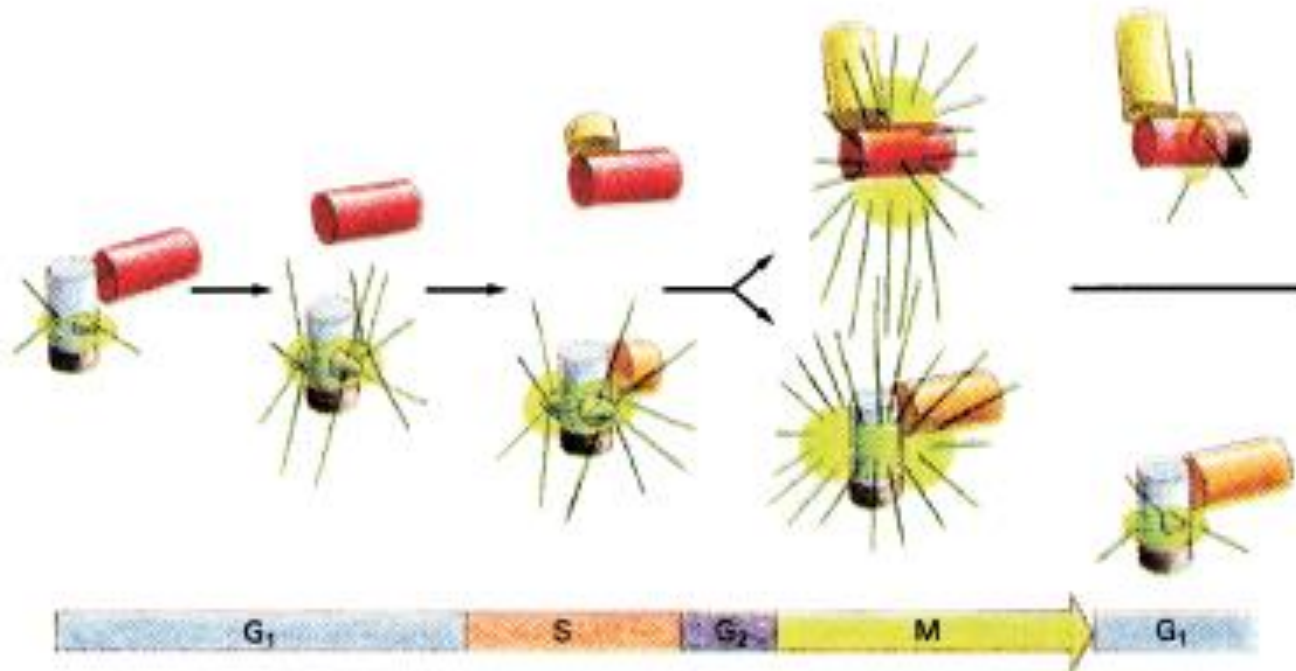
## Regulación de la cohesión de cromátides hermanas durante el ciclo celular en vertebrados



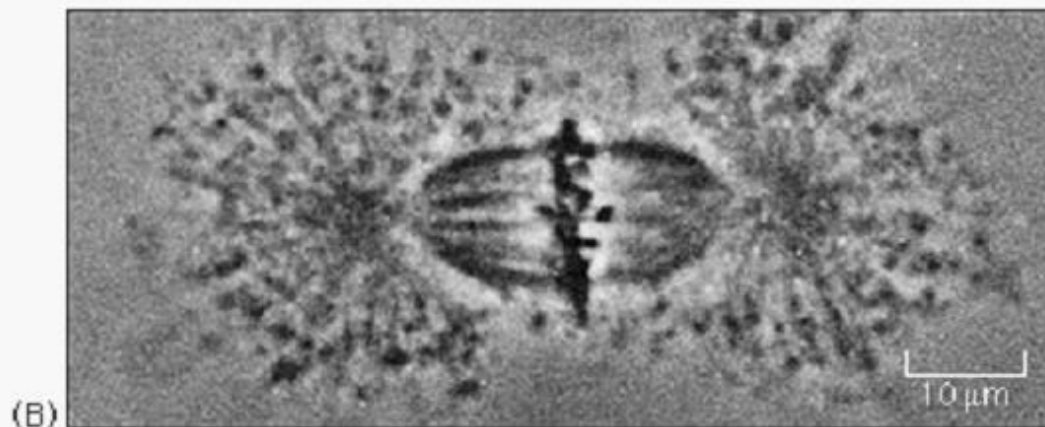
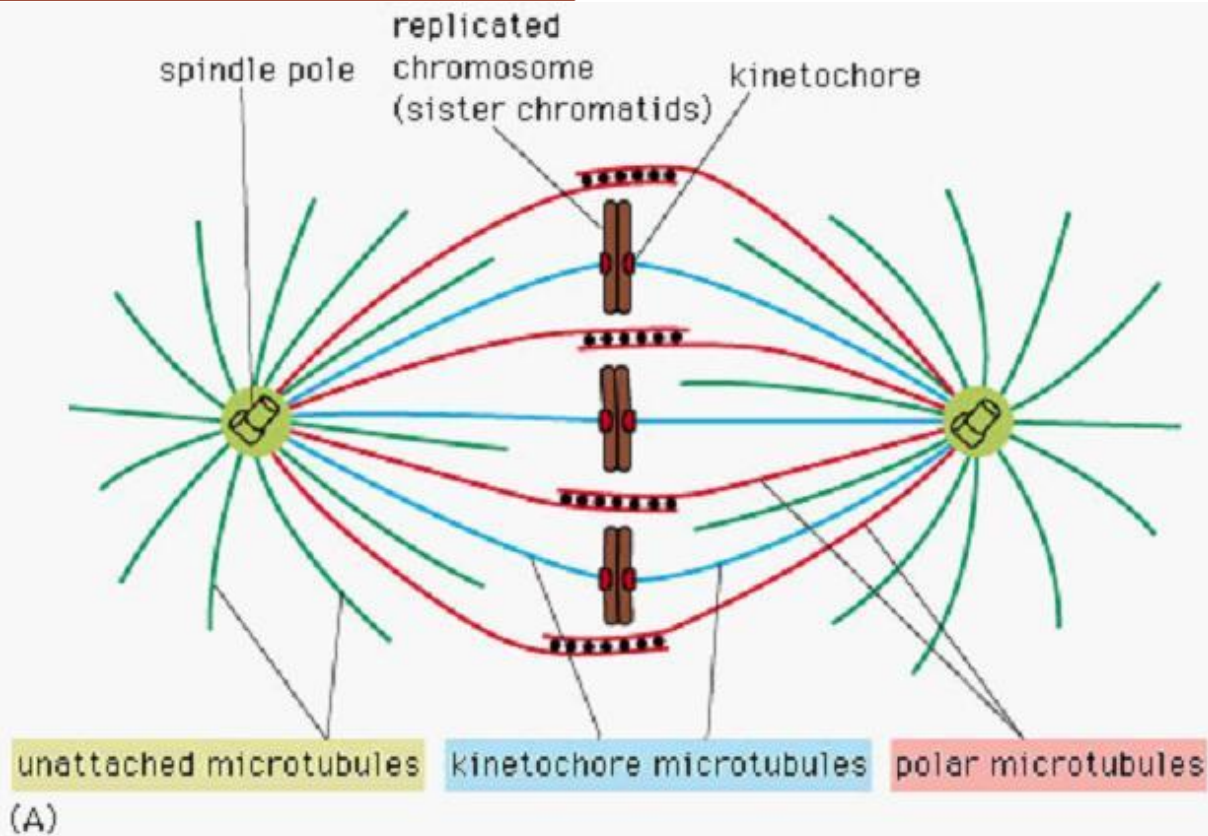


## Ciclo del centrosoma

Duplicación del centrosoma durante la división celular

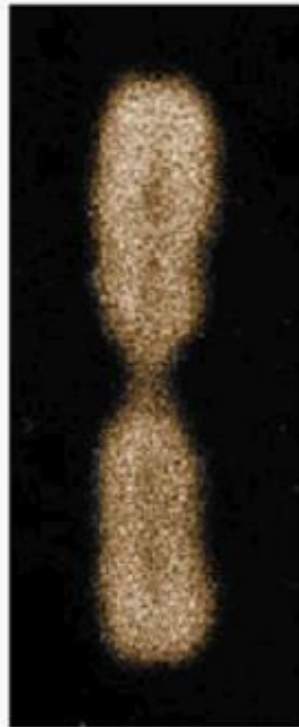


## Profase

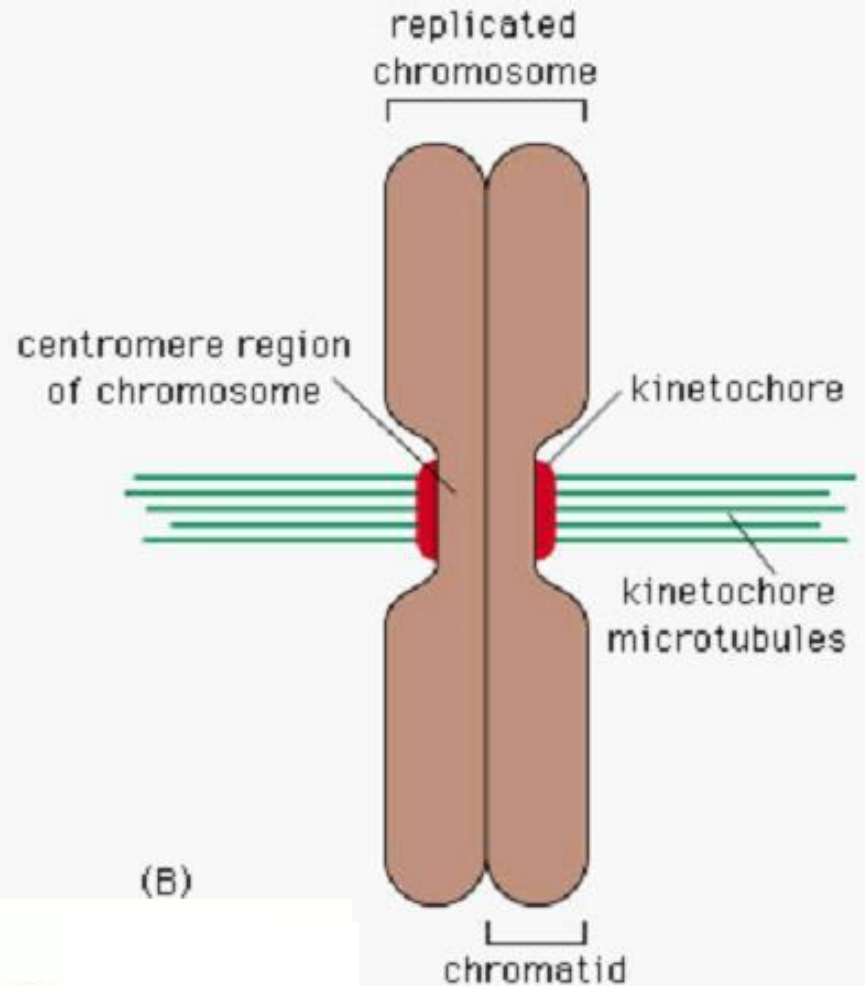
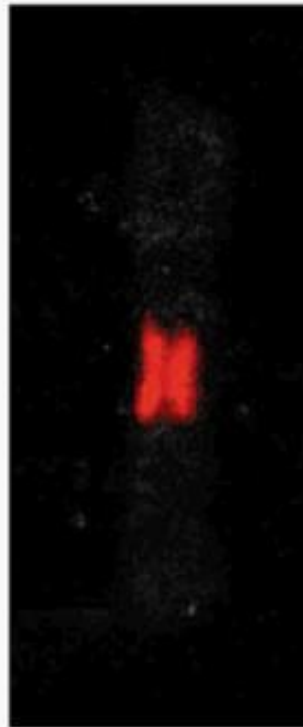


## Las Tres Clases de Microtúbulos del Huso Mitótico

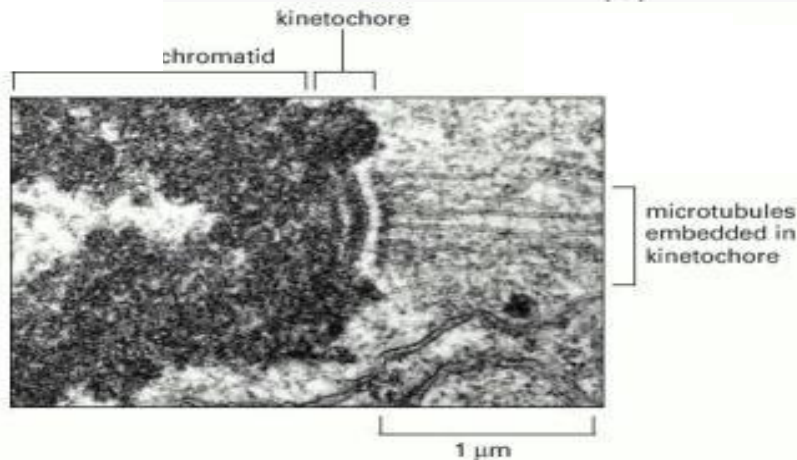




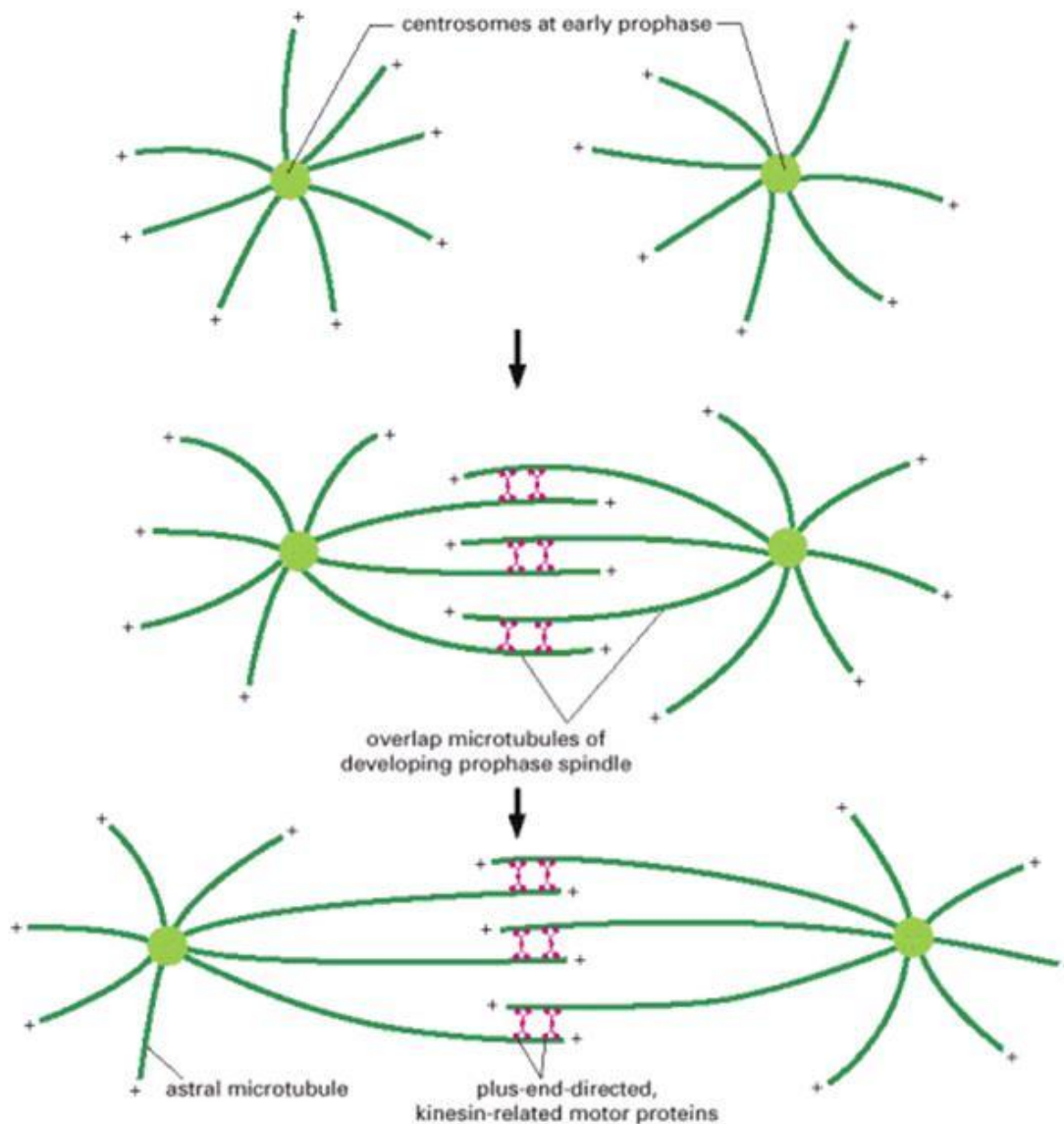
(A)



(B)



## *El huso acromático*

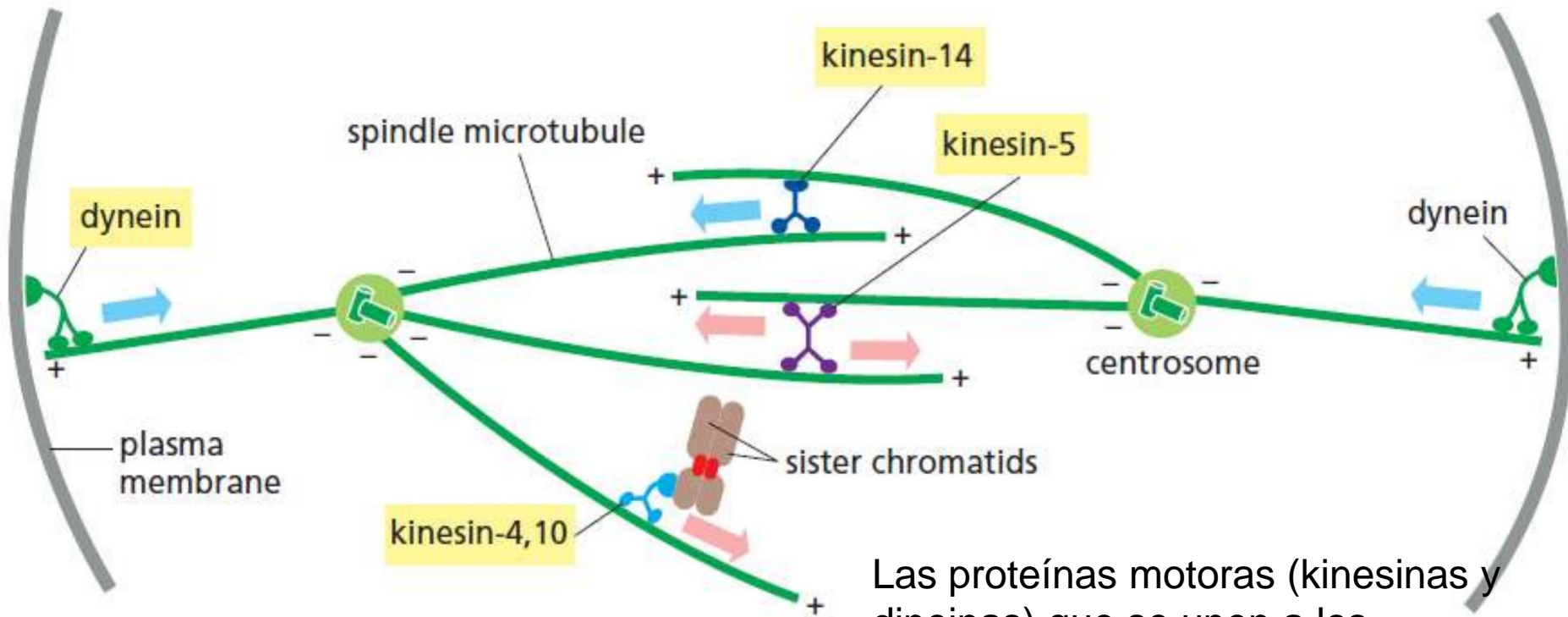


Separación de los centriolos a ambos polos.

Se produce por proteínas motoras que se desplazan hacia los extremos +, interactuando sobre microtúbulos antiparalelos

Esas proteínas motoras están relacionadas a la kinesina

## Metafase



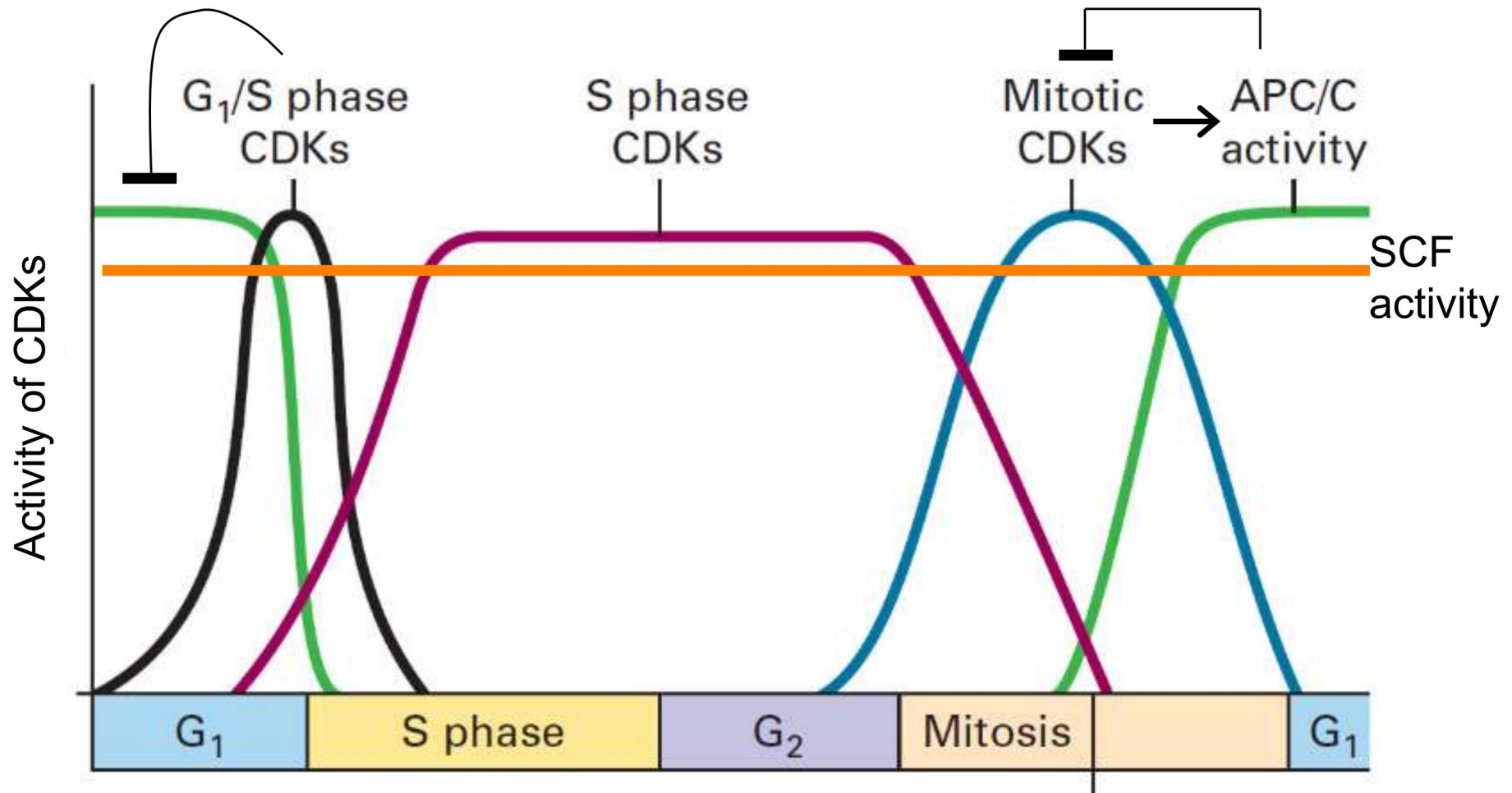
Las proteínas motoras (kinesinas y dineínas) que se unen a los microtúbulos ejercen fuerzas de atracción, repulsión y anclaje que permiten la separación de los centrosomas.

### **Algunos eventos claves de la transición metafase-anafase:**

- La unión de los microtúbulos del huso al cinetocoro permitirá la liberación de proteínas reguladoras (cdc20) y su unión al complejo promotor de la anafase (APC)
- APC actúa como ubiquitin ligasa: Permitirá la degradación de la ciclina B y de las cohesinas. Finalizan los eventos que iniciaron durante la mitosis
- APC también “libera” de su inhibición a las proteínas del complejo de pre-replicación, cuya actividad volverá a observarse en la siguiente fase G1

**Este evento es un checkpoint!**

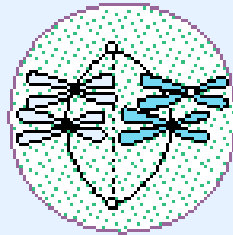
## Anafase



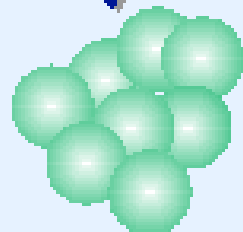
Regulación e interacción entre complejos CDK/ciclinas y complejos ubiquitin ligasa (APC)

# Anafase

Unattached  
kinetochore

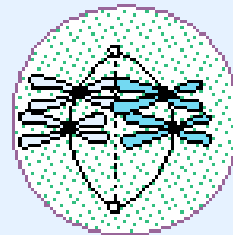


Mad2,3



CDC20 cannot  
activate APC

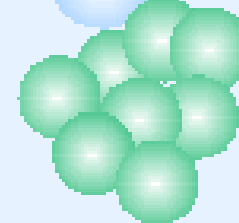
All kinetochores  
attached



Mad proteins  
released



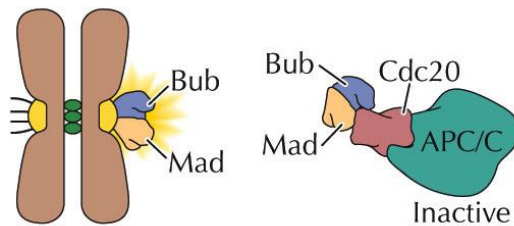
CDC20



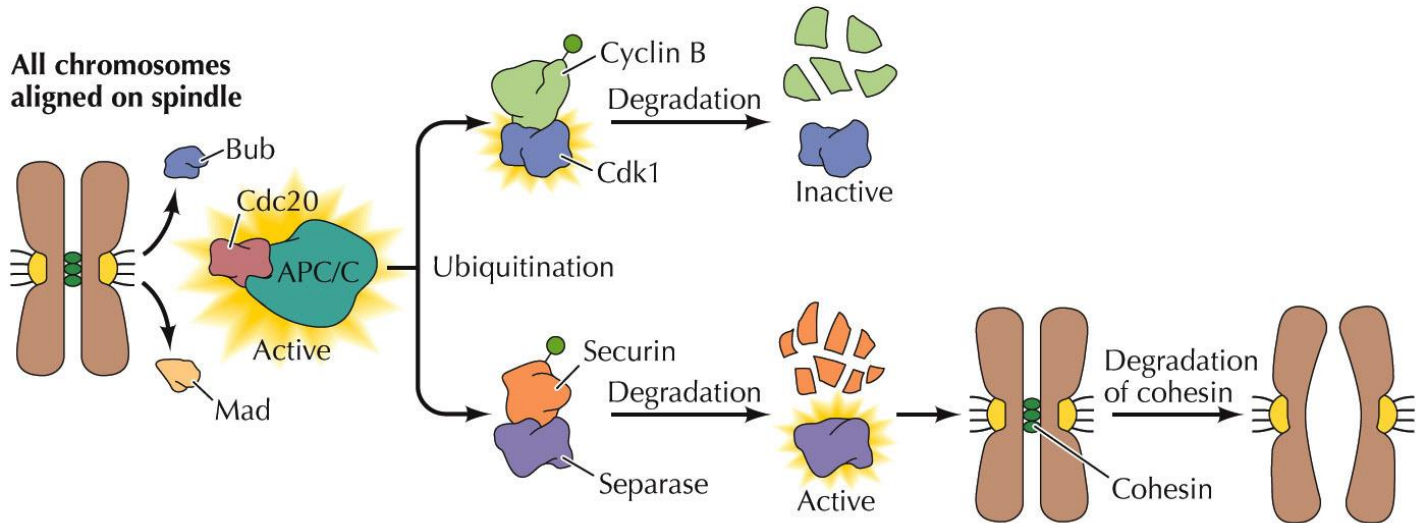
CDC20-APC  
is active

## Punto de control del ensamblaje del huso

### Unattached kinetochore

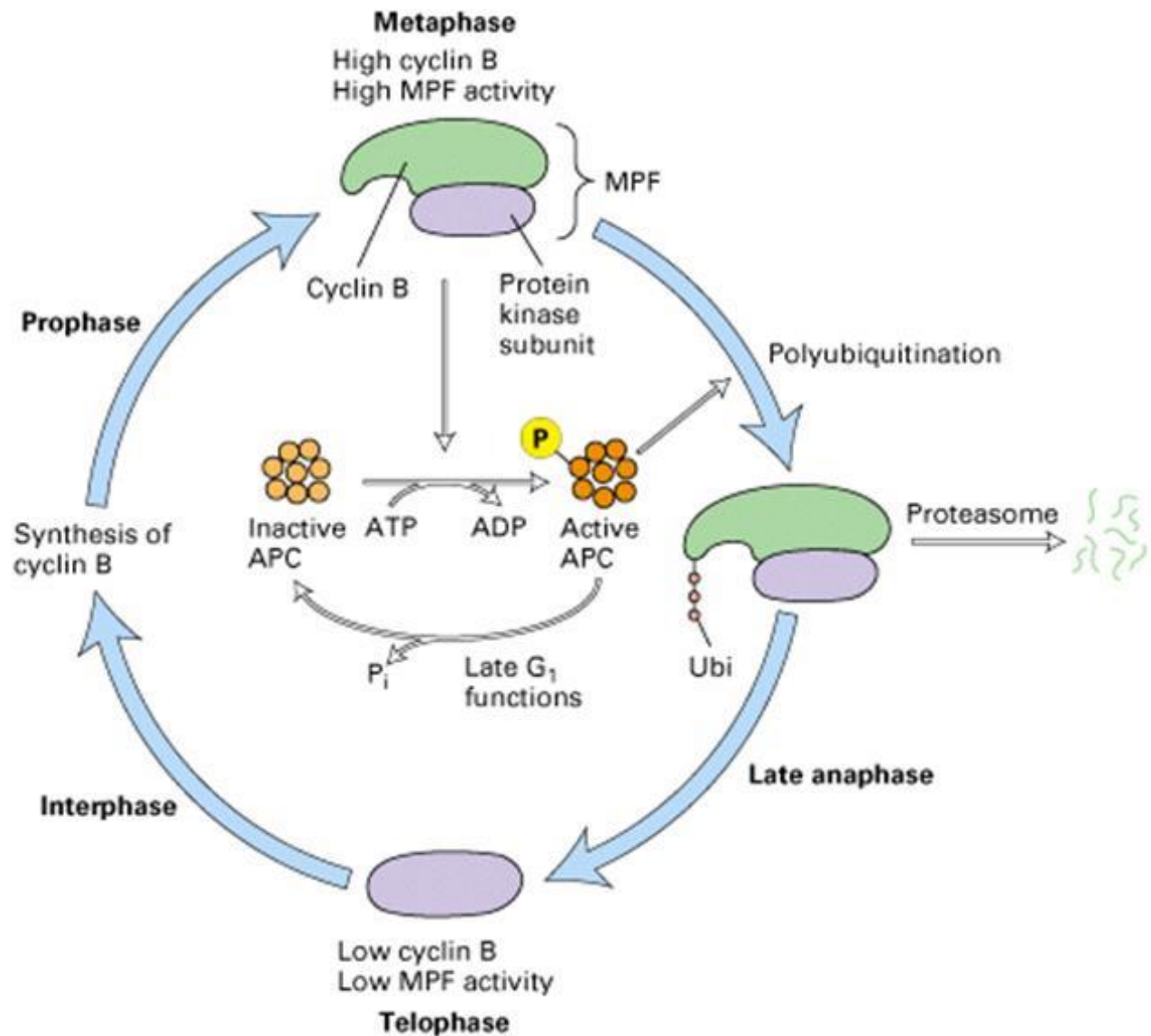


### All chromosomes aligned on spindle

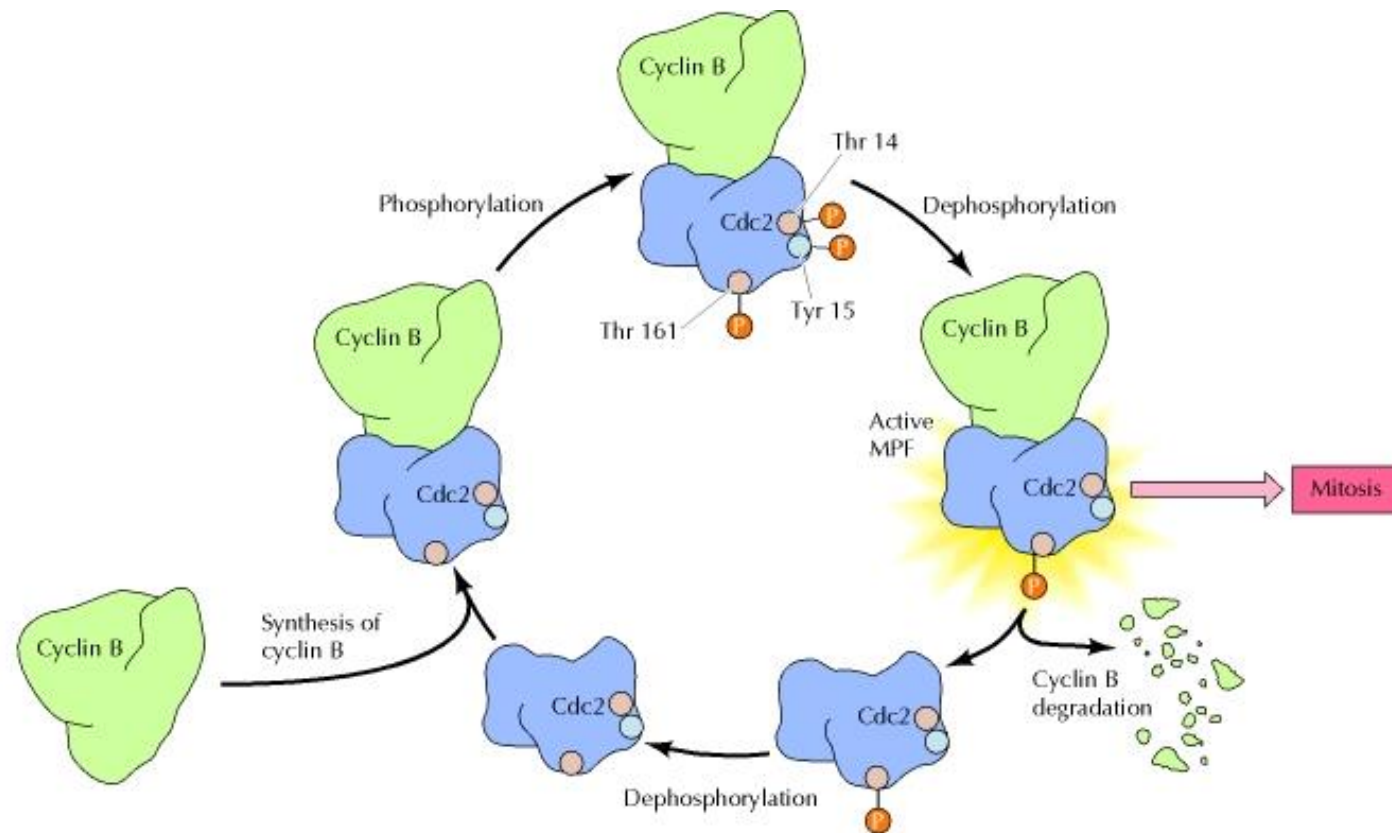




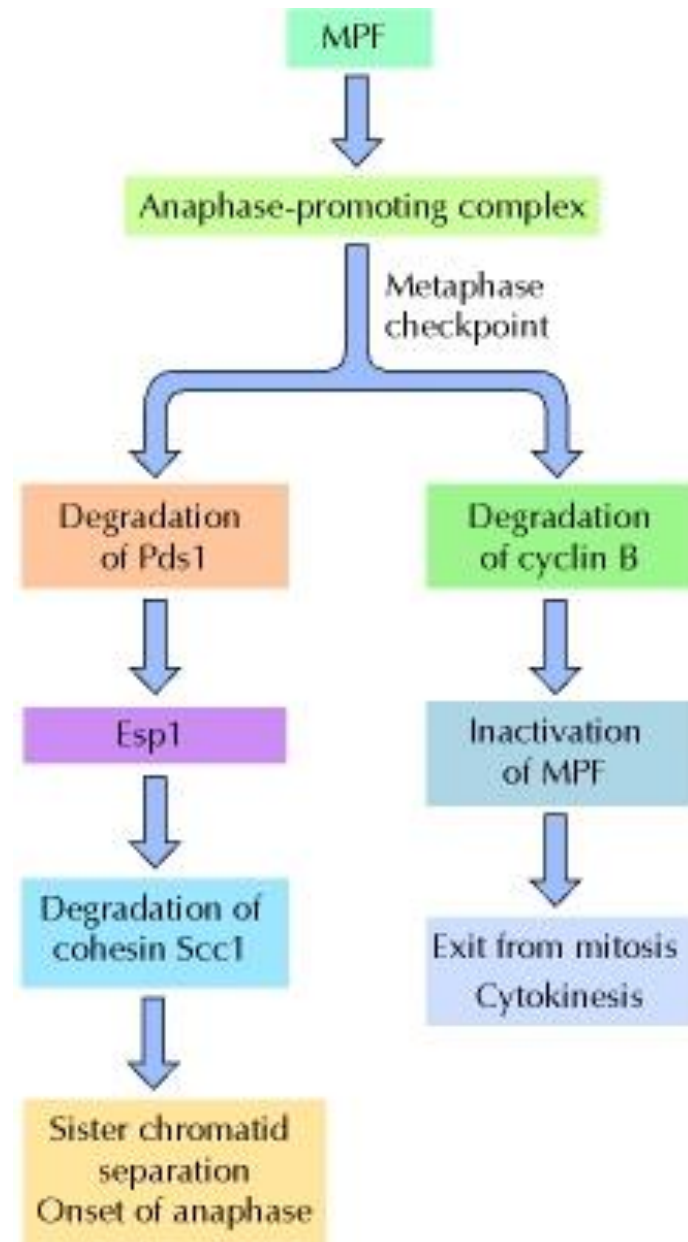
## Regulación de las concentraciones de Ciclinas mitóticas



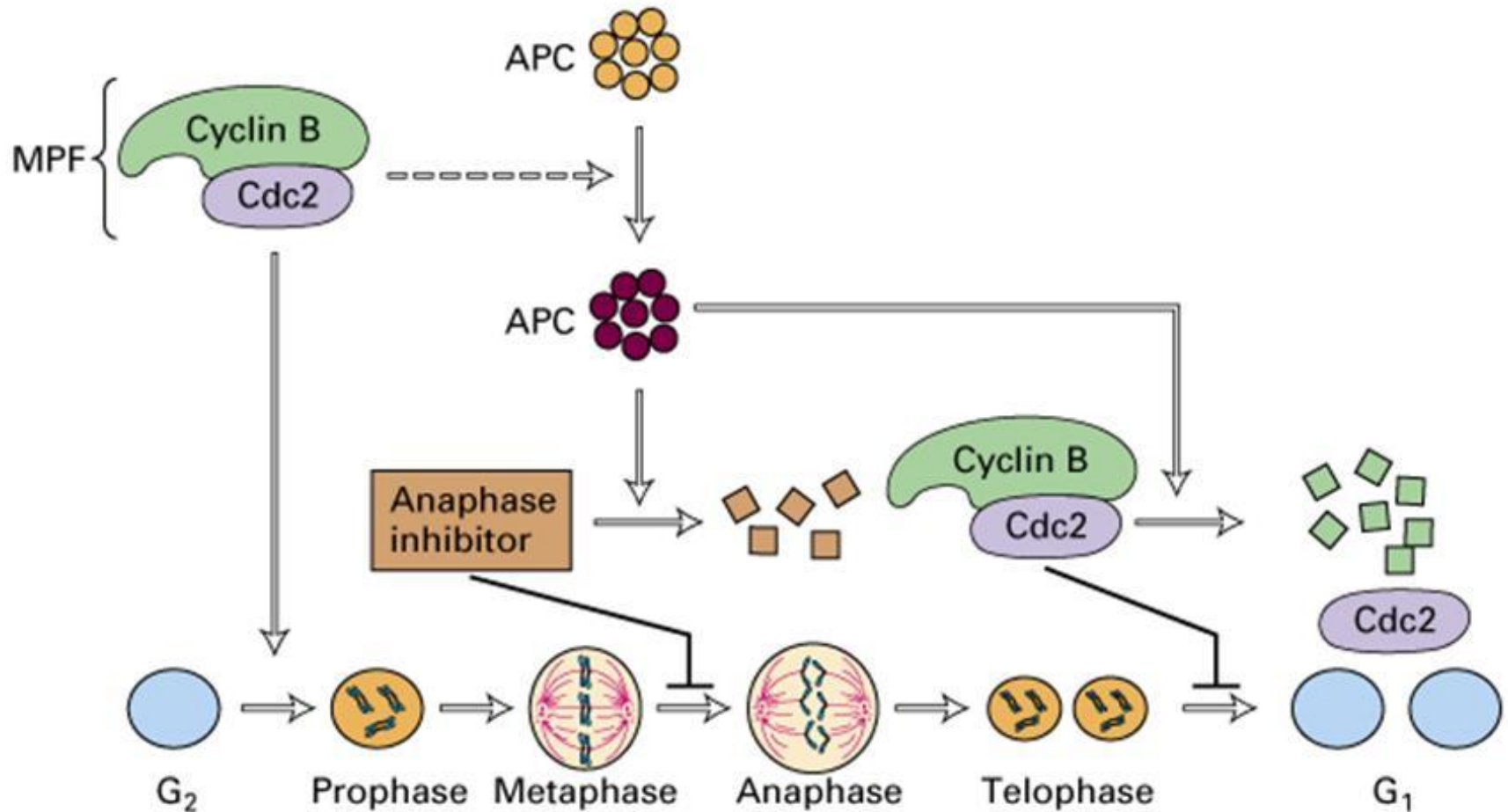
# Regulación **intracelular** del ciclo



# APC: Complejo promotor de anafase



## Control de la entrada de anafase y salida de la mitosis por el complejo Promotor de la Anafase (APC)



## Poliubiquitinación de las ciclinas mitóticas

(a) Mitotic cyclin destruction box

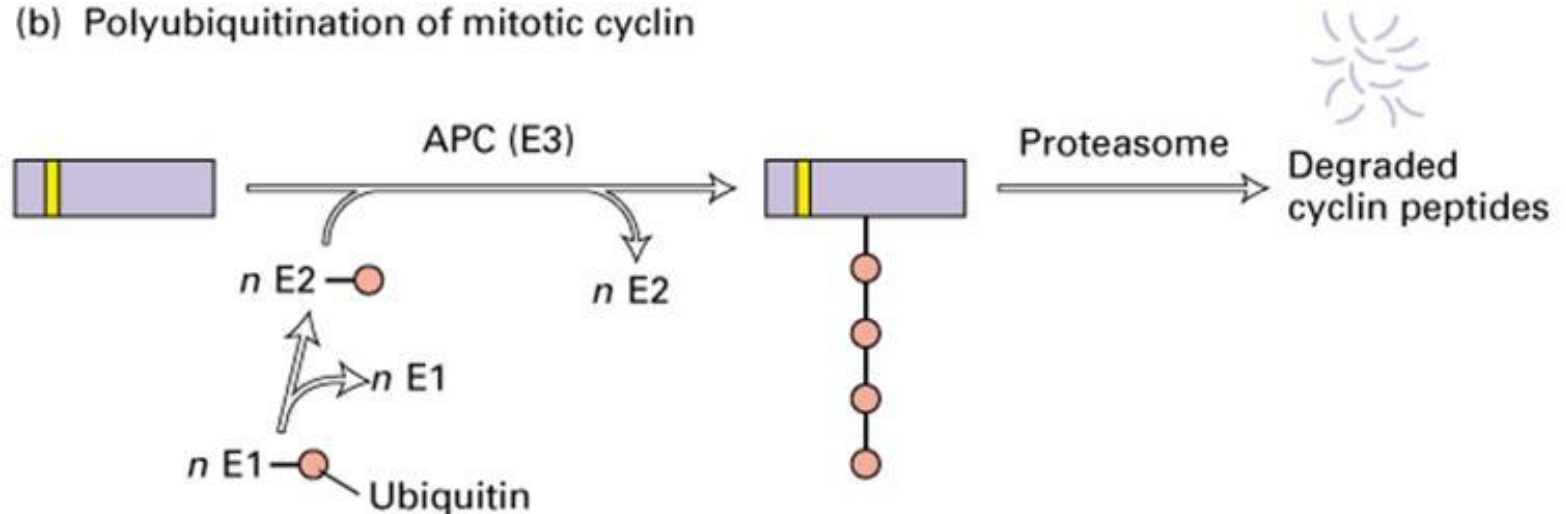


Cyclin A **Arg—Thr—Val—Leu—Gly—Val—Ile—Gly—Asp**

Cyclin B1 **Arg—Thr—Ala—Leu—Gly—Asp—Ile—Gly—Asn**

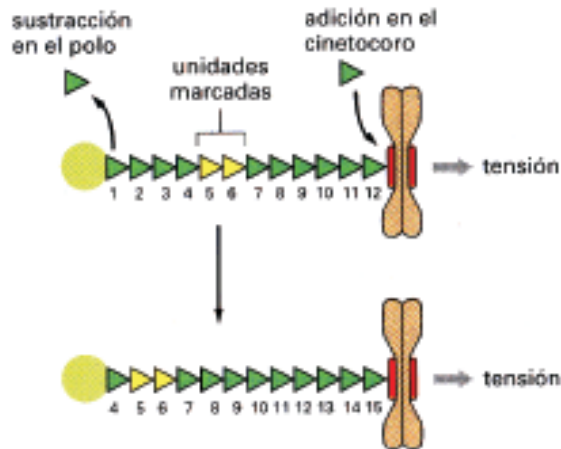
Cyclin B2 **Arg—Ala—Ala—Leu—Gly—Glu—Ile—Gly—Asn**

(b) Polyubiquitination of mitotic cyclin



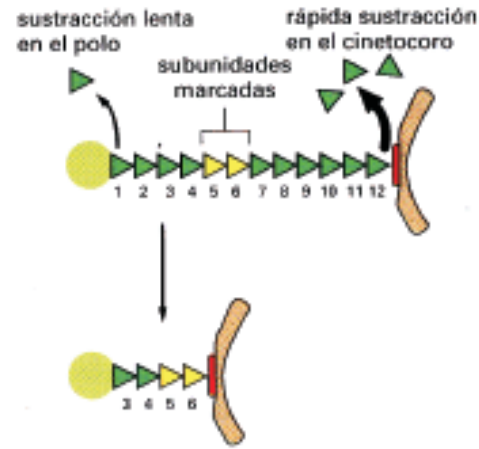
# Anafase

## METAFASE

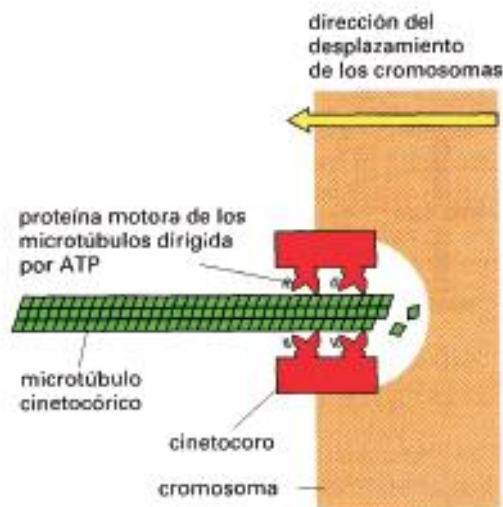


(A) el microtúbulo cinetocórico mantiene una longitud constante

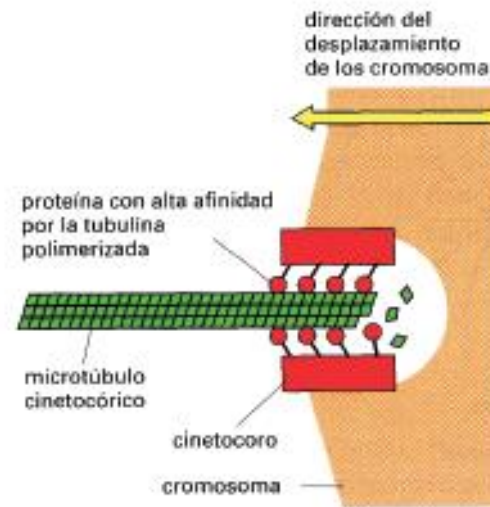
## ANAFASE



(B) el microtúbulo cinetocórico se acorta debido a la despolimerización en ambos extremos



(A) el desplazamiento de los cromosomas impulsado por el ATP controla el desensamblaje de los microtúbulos

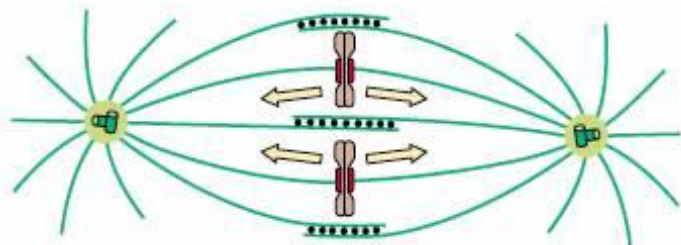


(B) el desensamblaje de los microtúbulos impulsa el desplazamiento de los cromosomas

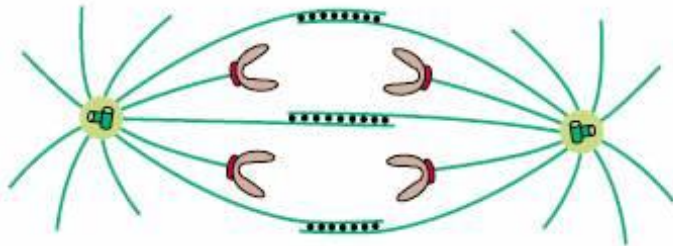


## Los dos procesos que separan las cromátides en anafase

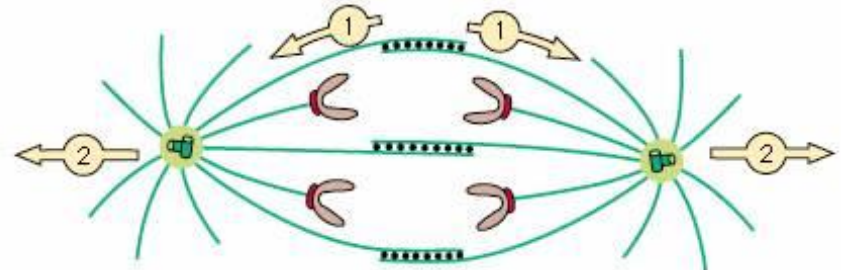
**ANAPHASE A** CHROMOSOMES ARE PULLED POLEWARD



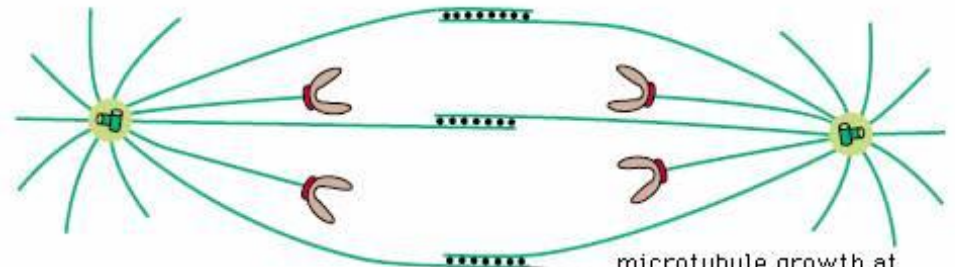
shortening of kinetochore microtubules; forces generated at kinetochores to move daughter chromosomes toward their spindle pole



**ANAPHASE B** POLES MOVE APART



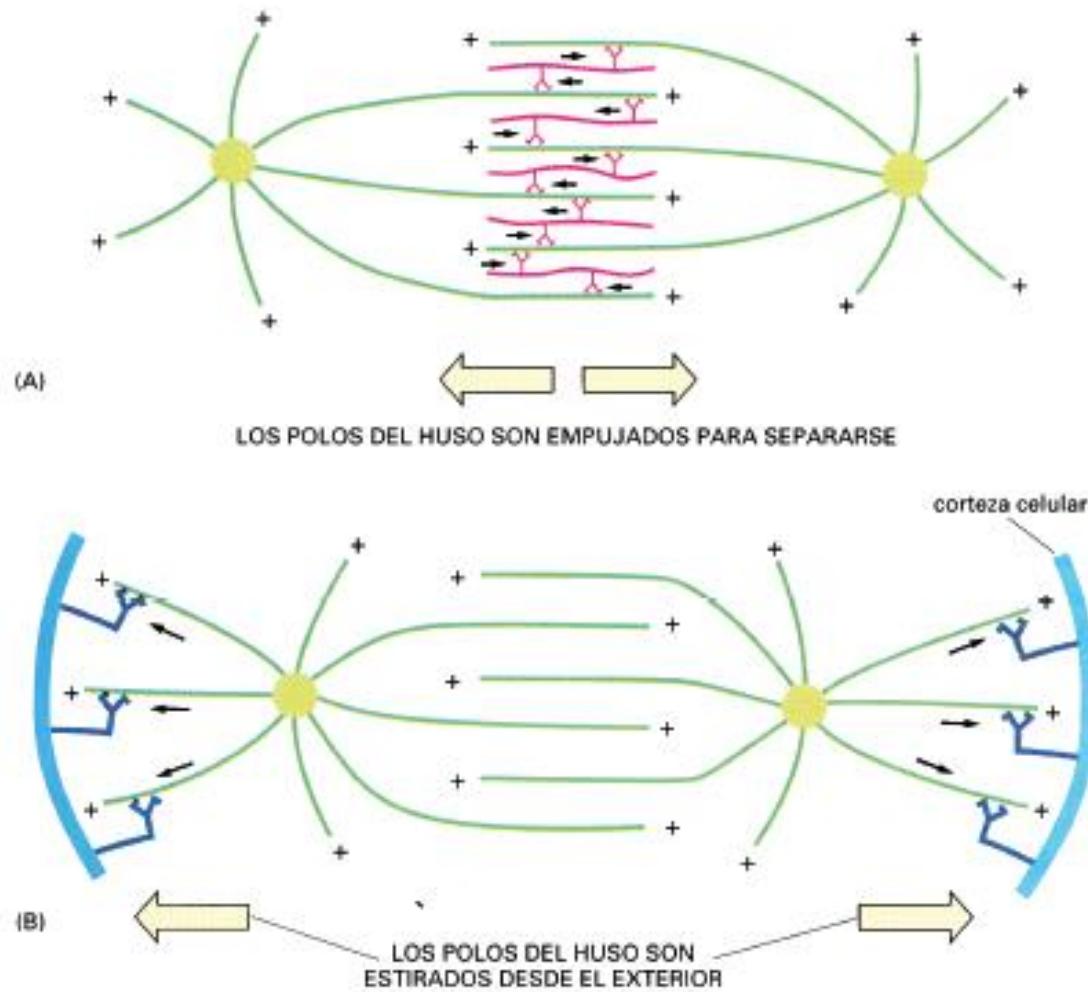
a sliding force (1) is generated between polar microtubules from opposite poles to push them apart; a pulling force (2) acts directly on the poles to move them apart



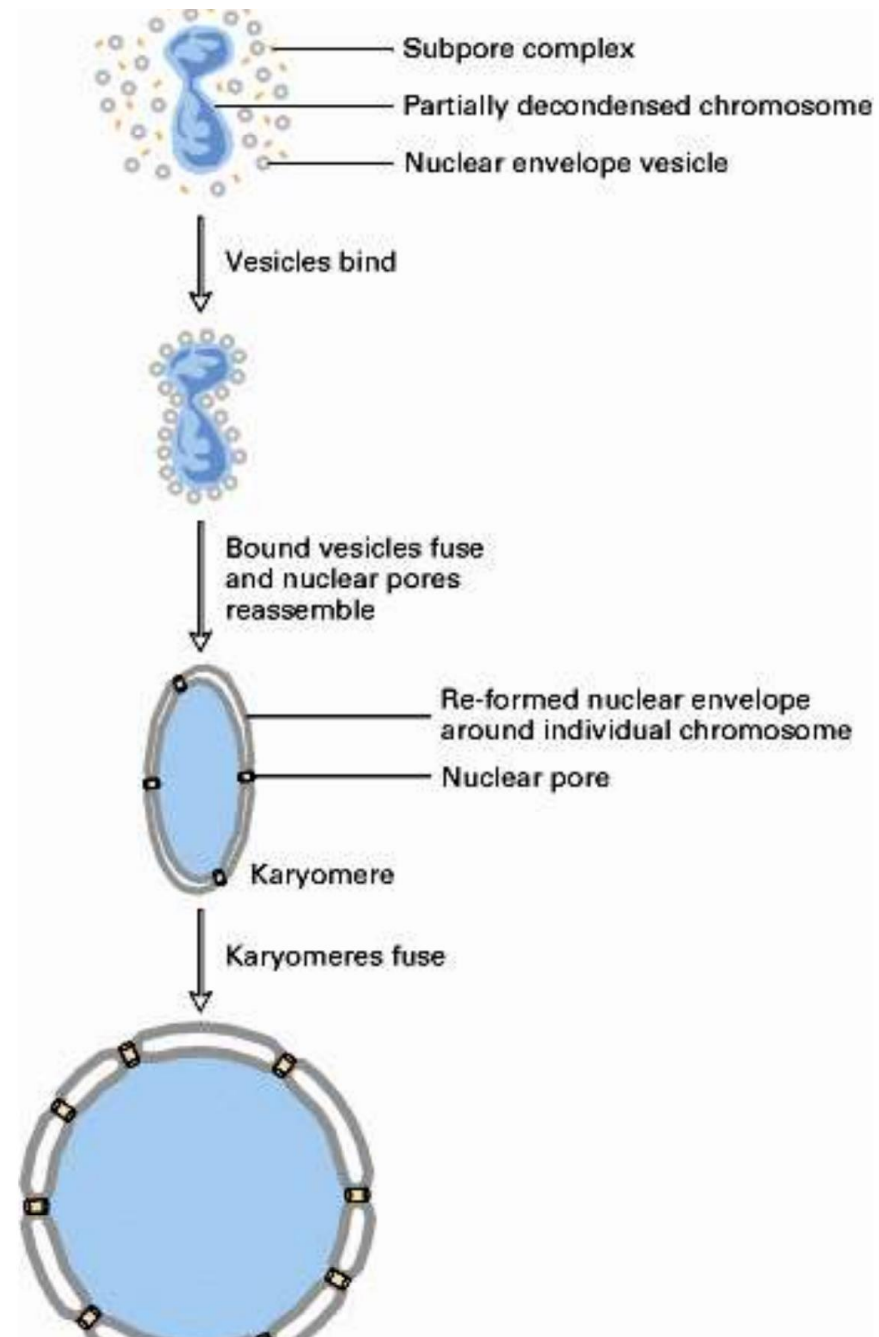
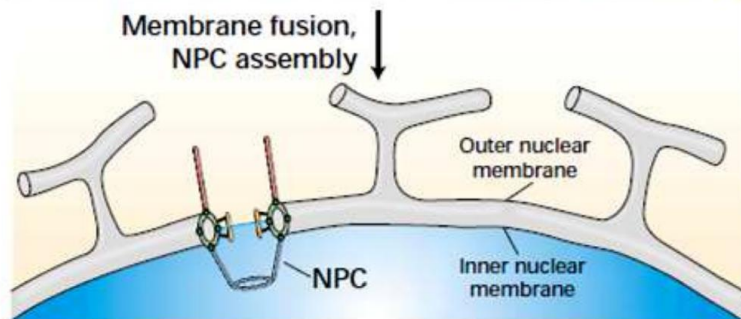
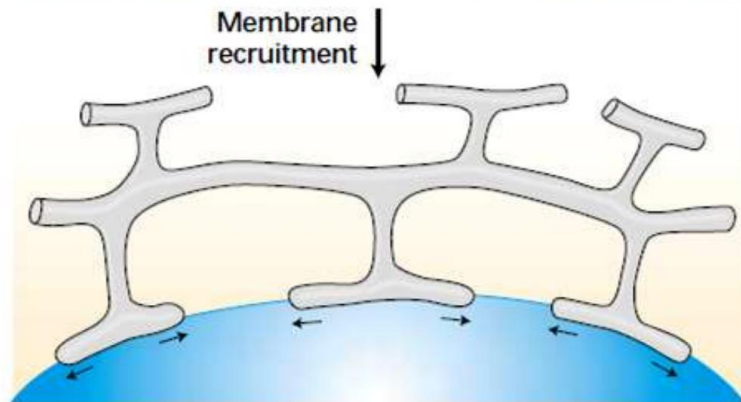
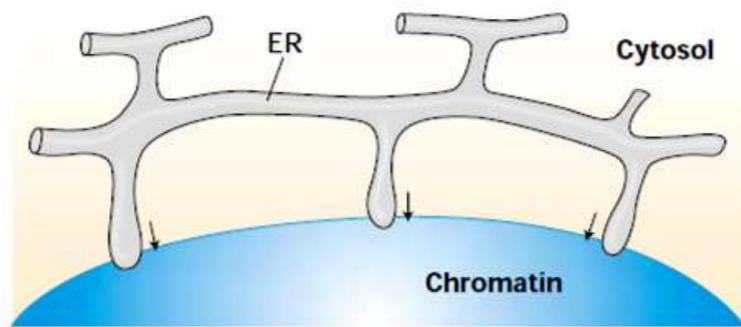
microtubule growth at plus end of polar microtubules



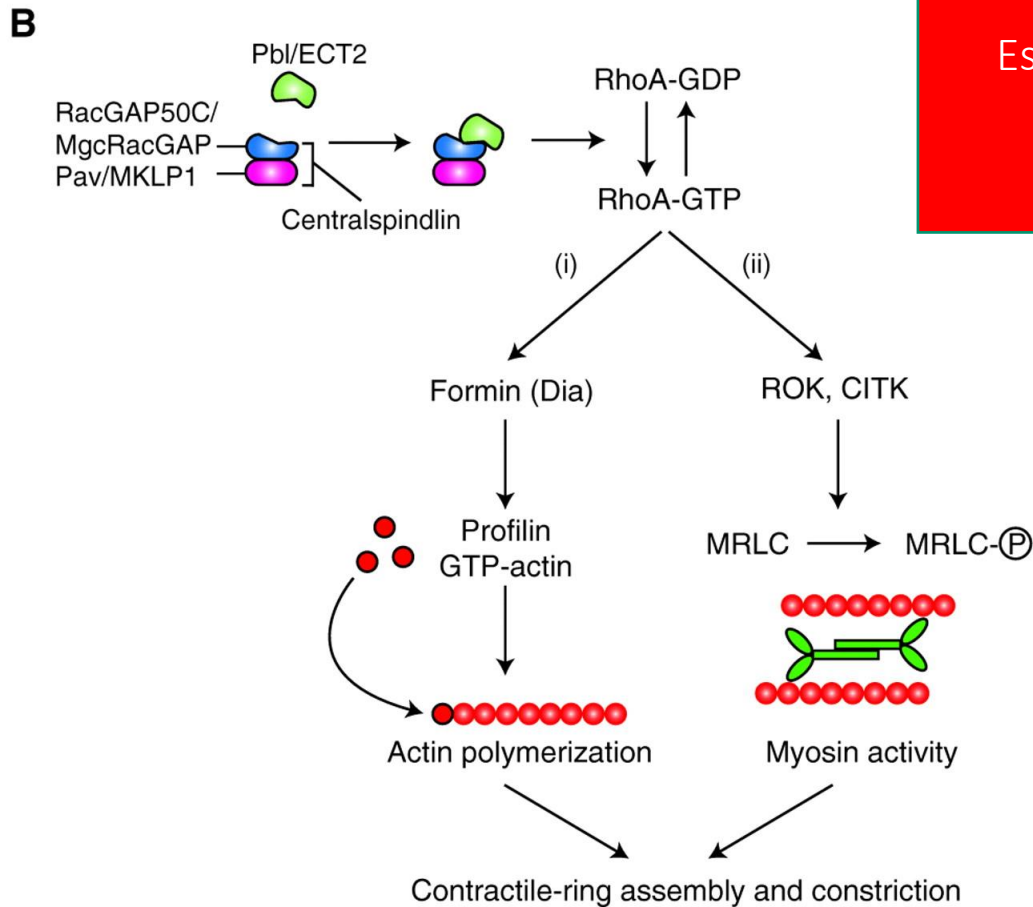
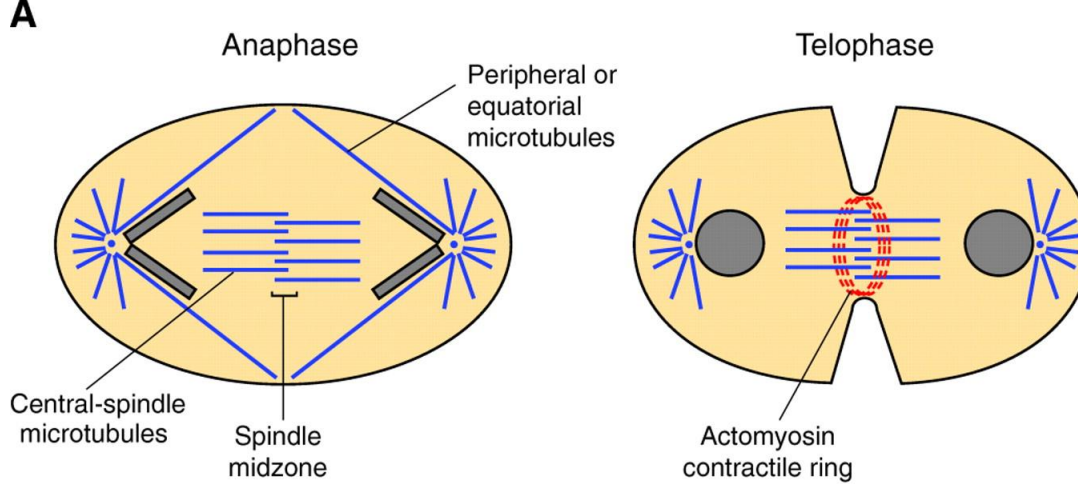
# Anafase



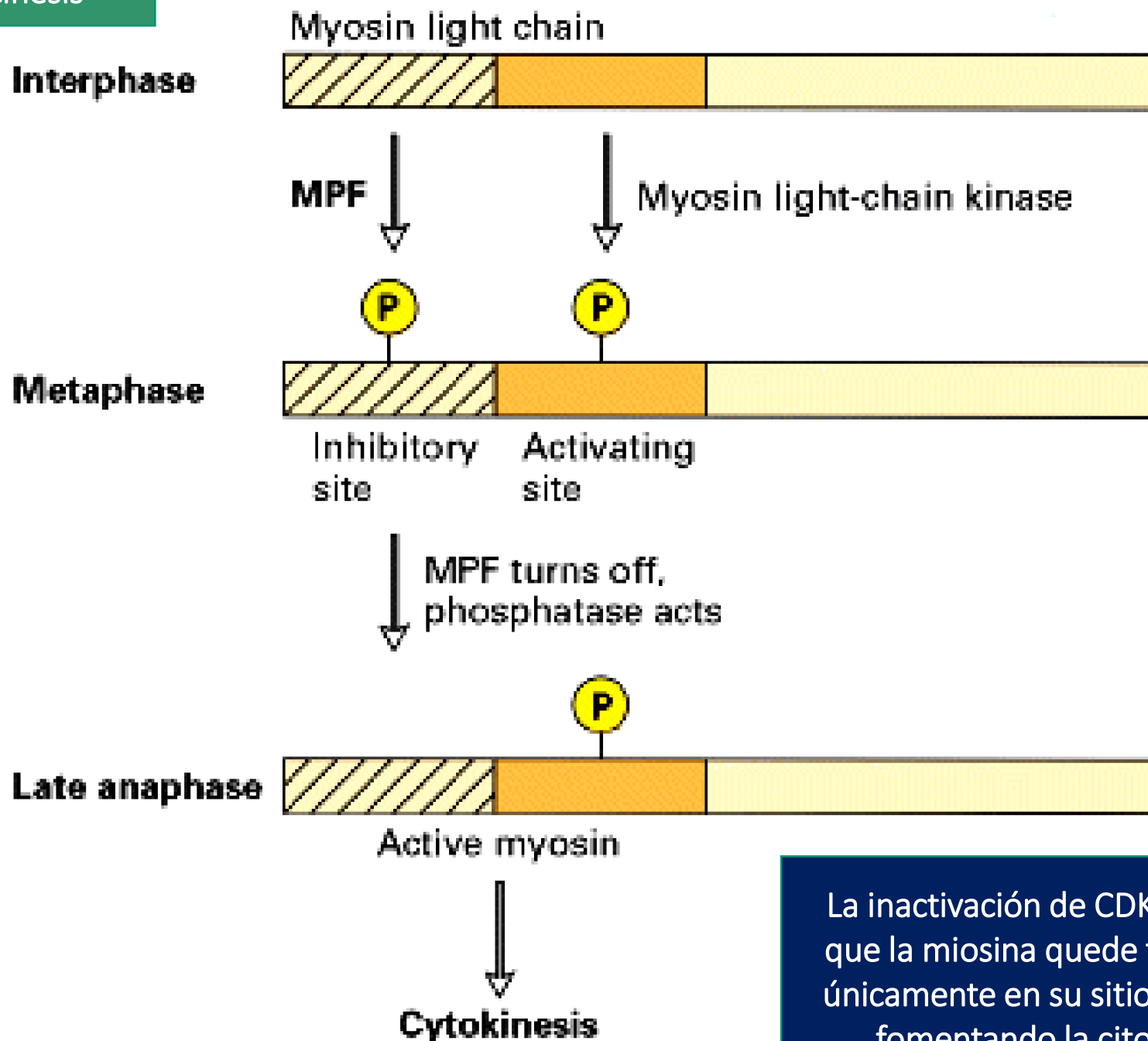
# Telofase



# Telofase Citocinesis



Estudiaremos estos  
mecanismos en  
citoesqueleto

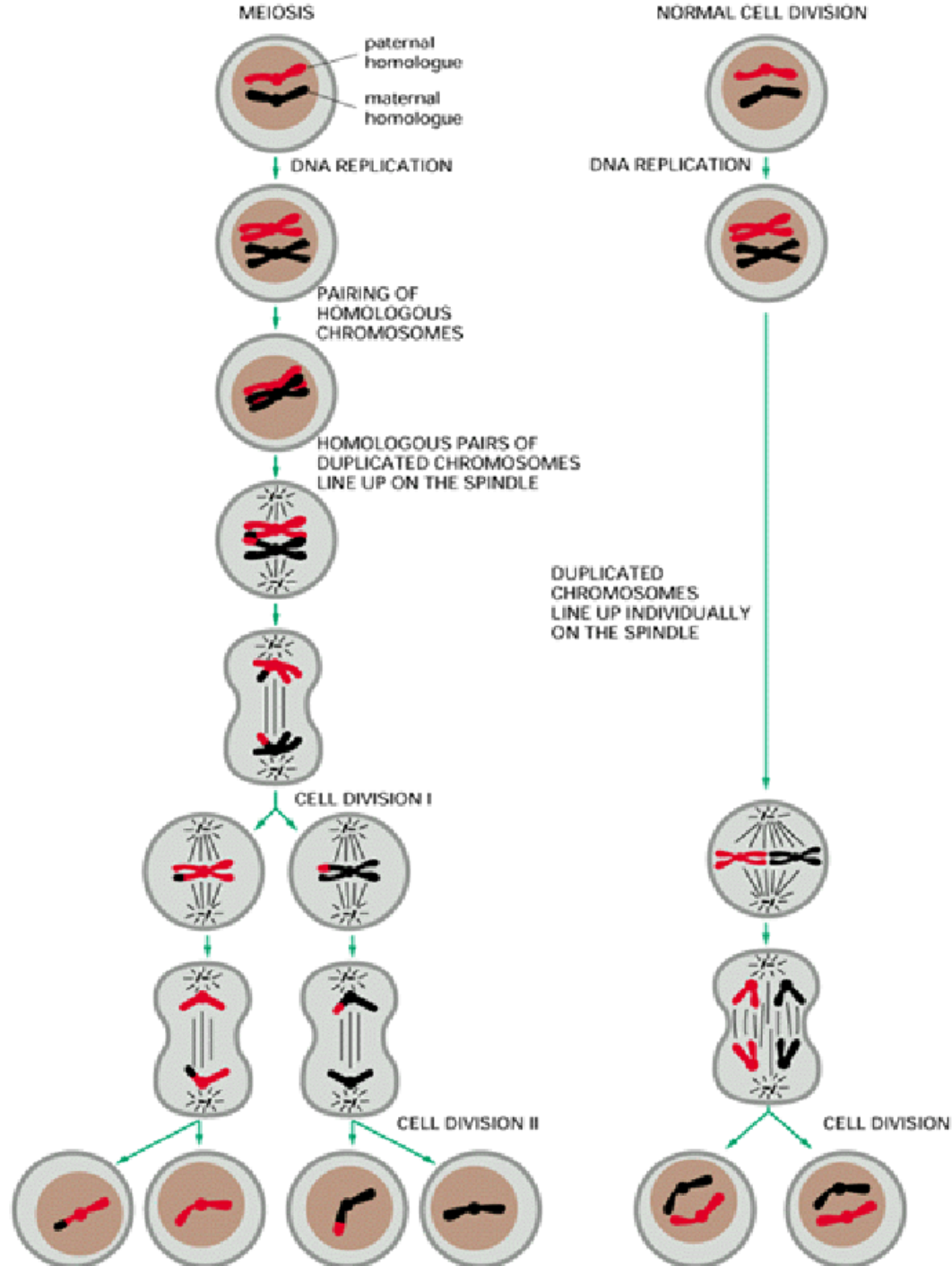


La inactivación de CDK1 permite que la miosina quede fosforilada únicamente en su sitio activador, fomentando la citocinesis

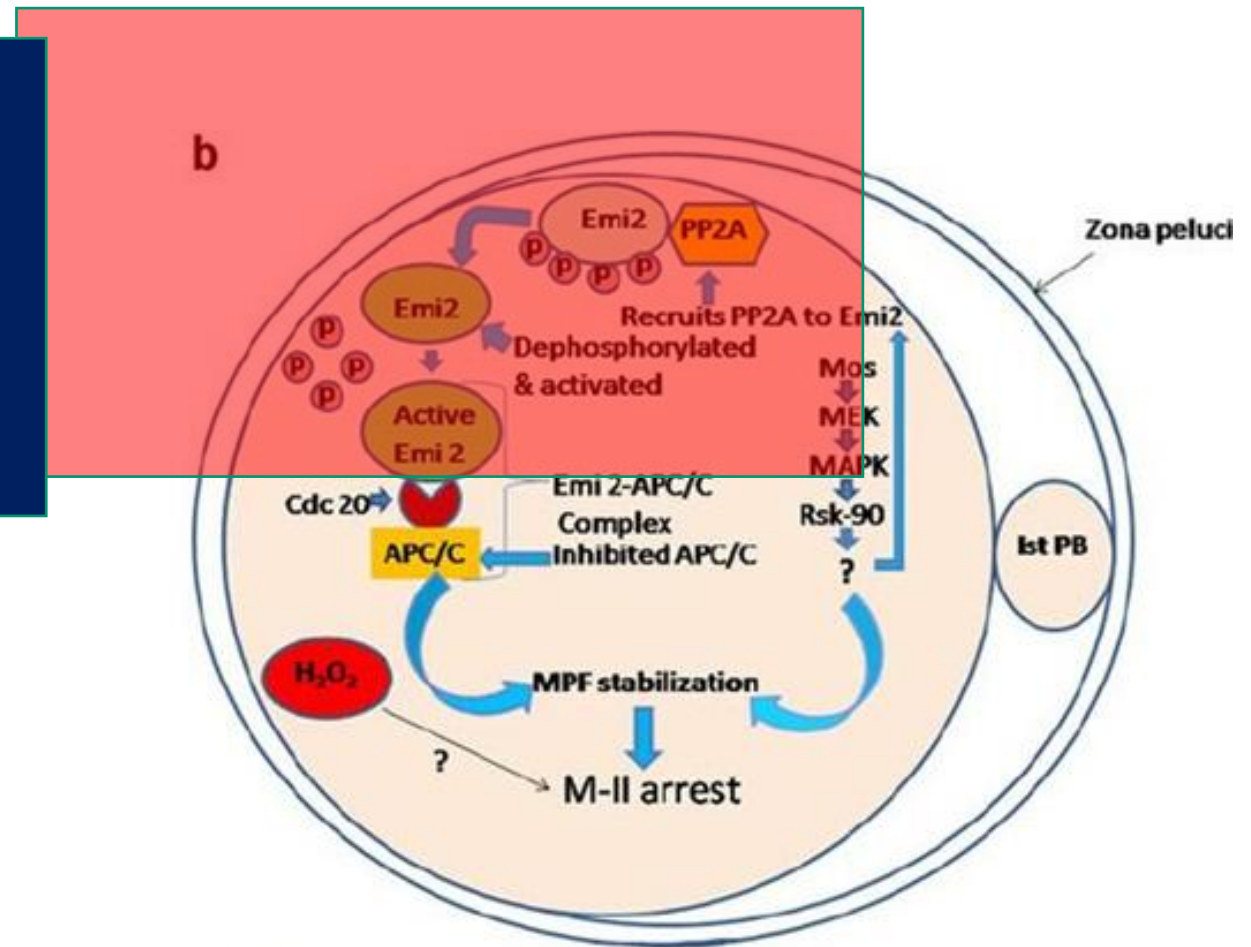
# Meiosis

MEIOTIC DIVISION I

MEIOTIC DIVISION II

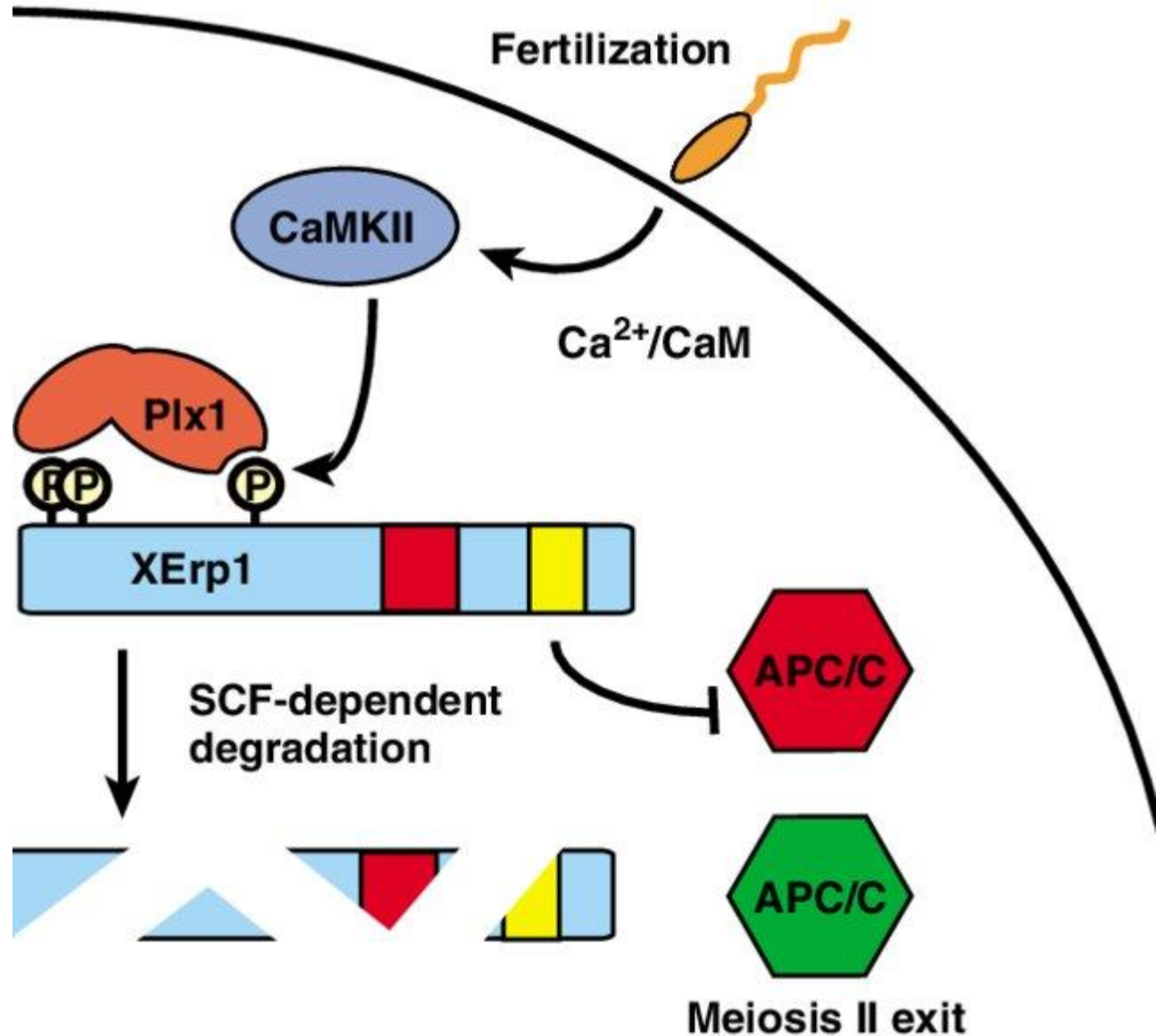


Ciertas vías de señalización y factores intracelulares del ovocito II inhiben específicamente a APC





Durante la activación del ovocito, la generación de ondas de calcio permitirá la activación de proteínas que liberarán a APC

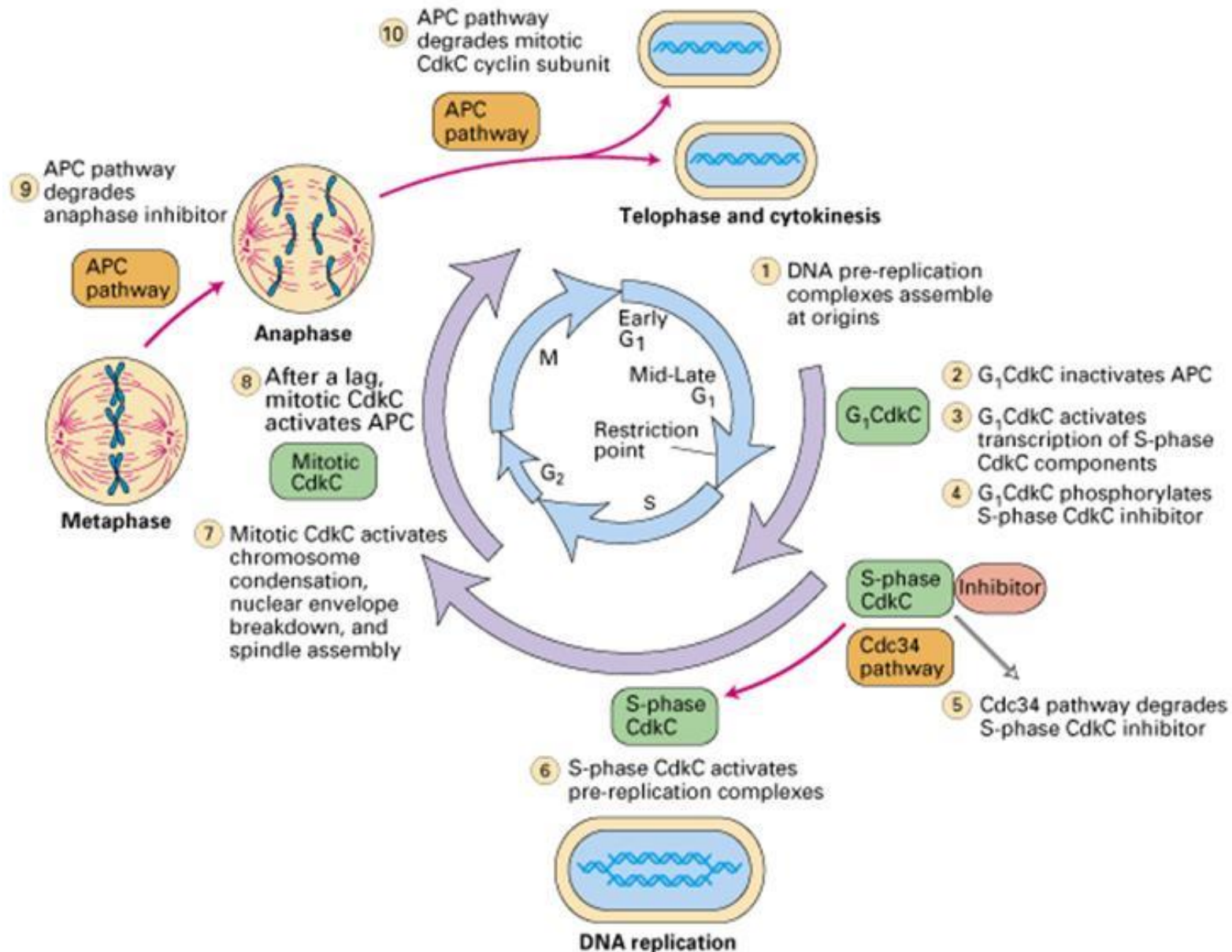




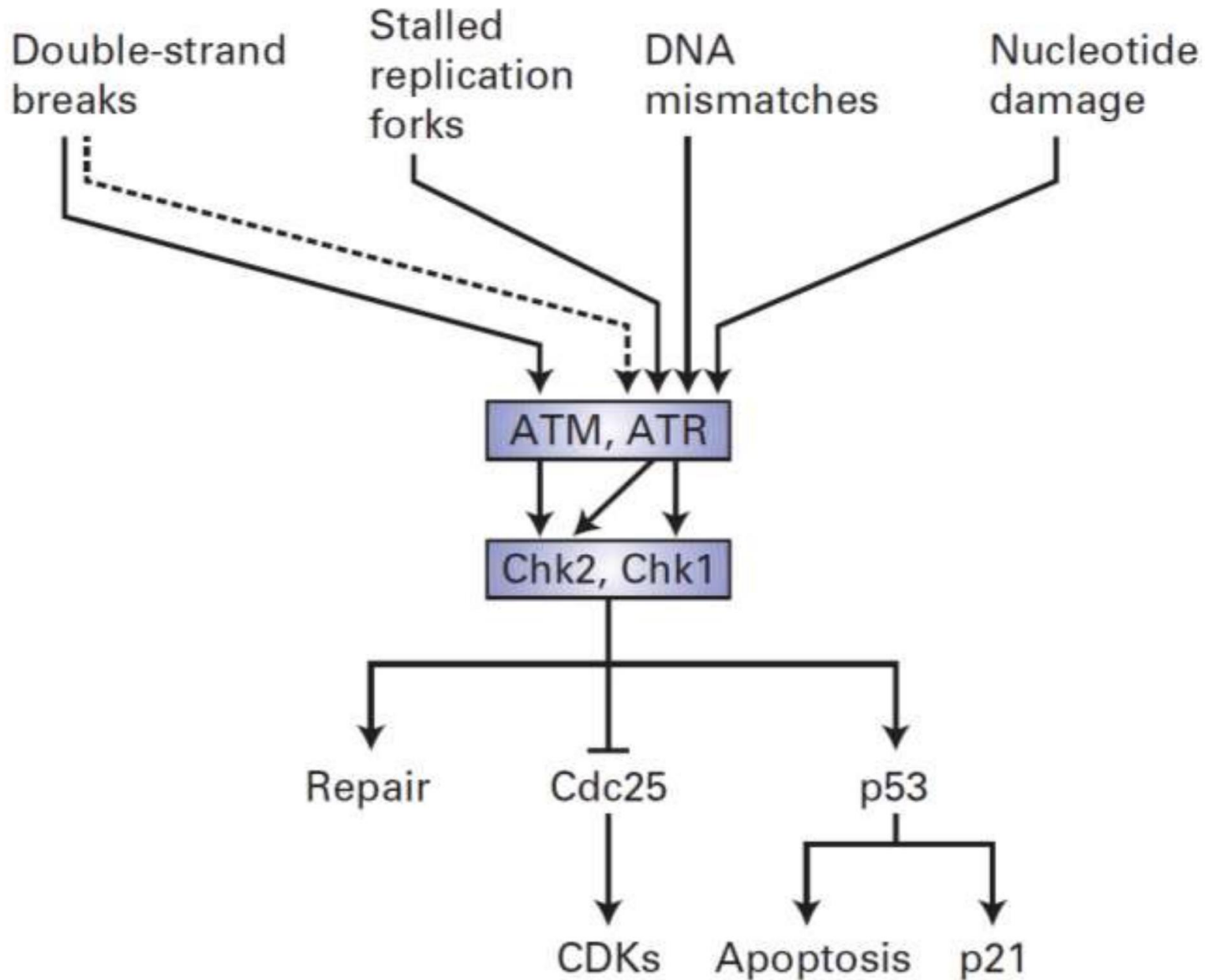
# 4

Otros mecanismos de regulación del ciclo celular  
Daño en ADN. Otros checkpoints o puntos de control . p53  
Consecuencias celulares  
Genes supresores de tumores. Protooncogenes

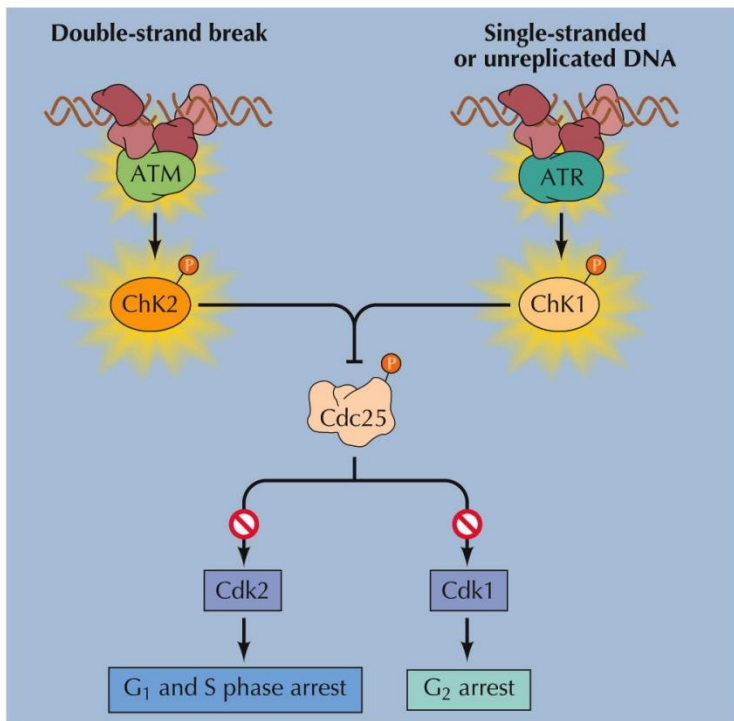
# Modelo de la regulación del Ciclo Celular en eucariontes



Daños en el ADN que activan mecanismos de reparación o detención del ciclo celular



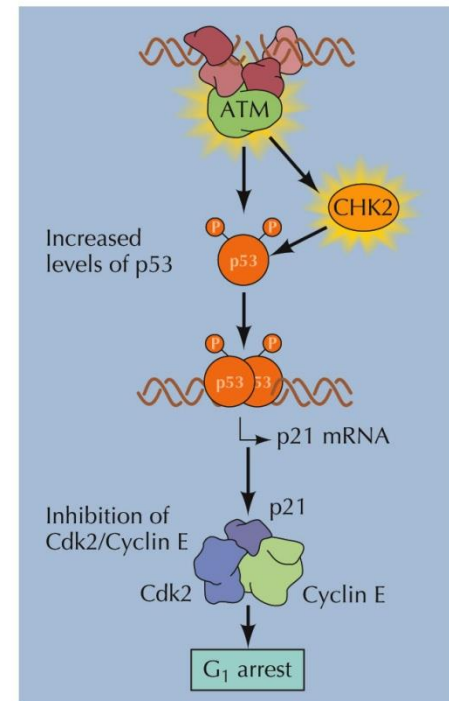
# Detención del ciclo celular en los puntos de control de lesión del ADN y rol de la proteína p53 en la detención del ciclo en G1.



THE CELL 5e, Figure 16.19

© 2009 ASM Press and Sinauer Associates, Inc.

THE CELL 5e, Figure 16.20



© 2009 ASM Press and Sinauer Associates, Inc.

## Caracterización “clásica” de ciertas regiones génicas en virtud de su rol en el desarrollo tumoral

Genes supresores de tumores	Protooncogenes
Codifican proteínas cuyo rol, en general, es el de impedir el desarrollo tumoral.	Codifican proteínas, que cuando aumentan su número o actividad favorecen el desarrollo tumoral (Si ya existieron mutaciones que facilitaron este fenómeno: se denominan <b>oncogenes</b> )
En algunos casos codifican proteínas que <b>detienen el ciclo celular</b> : Actúan en checkpoints mecanismos de reparación (p53, p21, BRCA, ATM)	En algunos casos codifican proteínas que estimulan la <b>progresión del ciclo celular</b> . Ejemplos: ciclina D, EGFR, Ras, Raf, Erk.
Se requiere que <b>ambos</b> alelos estén mutados para favorecer el desarrollo tumoral. Se observa <b>pérdida de función</b>	Se requiere que <b>uno</b> de los alelos estén mutados para favorecer el desarrollo tumoral. Se observa <b>ganancia de función</b>
Otros ejemplos: <ul style="list-style-type: none"><li>• Proteínas proapoptóticas: Bax, Bad.</li><li>• Inhibidores de vías de crecimiento: PTEN</li><li>• Inhibidores de angiogénesis: VHL</li></ul>	Otros ejemplos: <ul style="list-style-type: none"><li>• Proteínas antiapoptóticas: bcl2</li><li>• ↑ actividad telomerasa: c-myc</li><li>• Adquisición fenotipo invasivo: Wnt1</li></ul>

Esto último lo veremos en Seminario 13

## Caracterización “clásica” de ciertas regiones génicas en virtud de su rol en el desarrollo tumoral

### Genes supresores de tumores

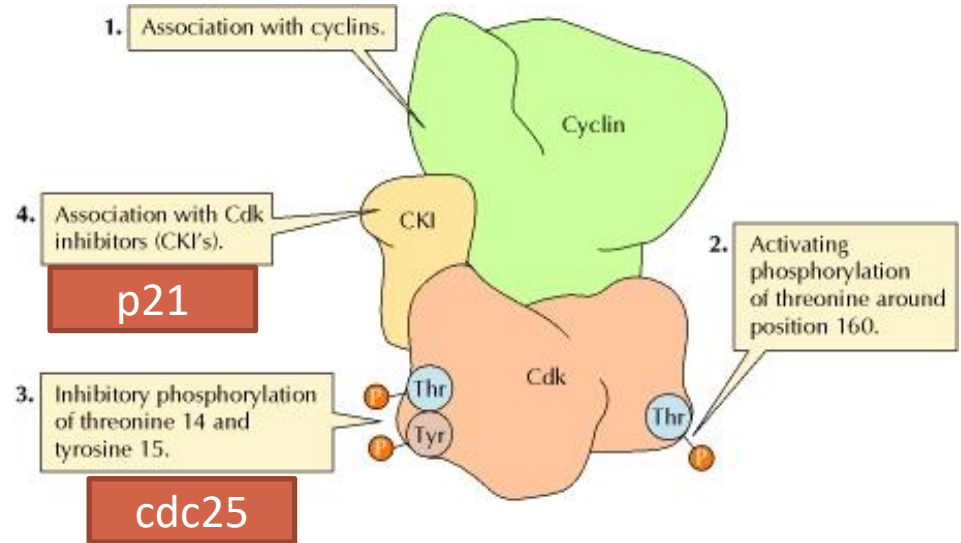
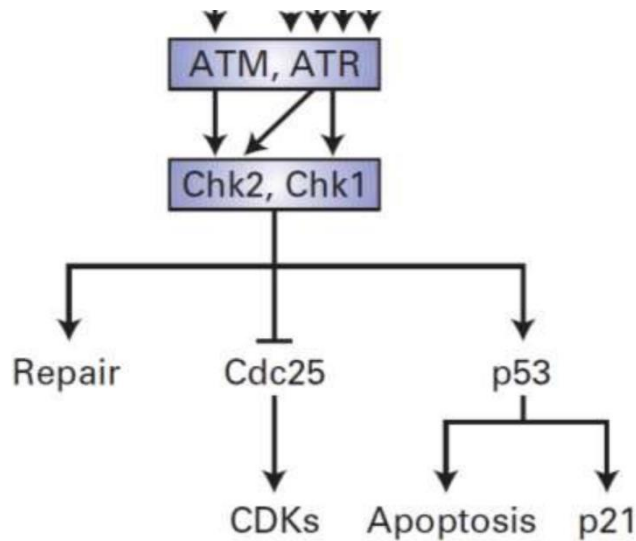
### Protooncogenes

Recuerden que las mutaciones pueden ser en células germinales y somáticas

En pacientes que presentan mutaciones en células germinales, **sobre todo vinculadas a genes supresores de tumores**, existirá riesgo de **síndrome de cancer hereditario**

Suele observarse en algunos de estos casos, que luego de que uno de los alelos ha sido heredado con una variante patogénica, a lo largo del desarrollo del individuo ocurrirá una mutación somática en el **otro alelo**. Este fenómeno suele ser conocido bajo el concepto de “teoría de los dos golpes” o Hipótesis de Knudson

# P53: rol gen supresor de tumor

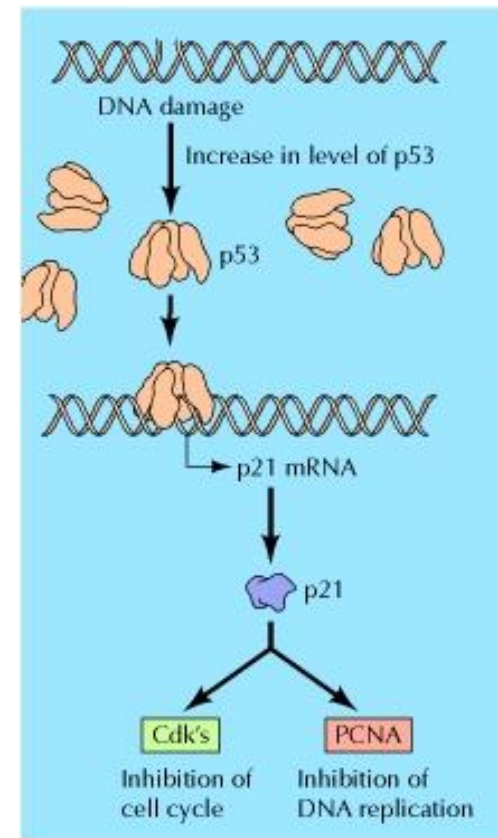




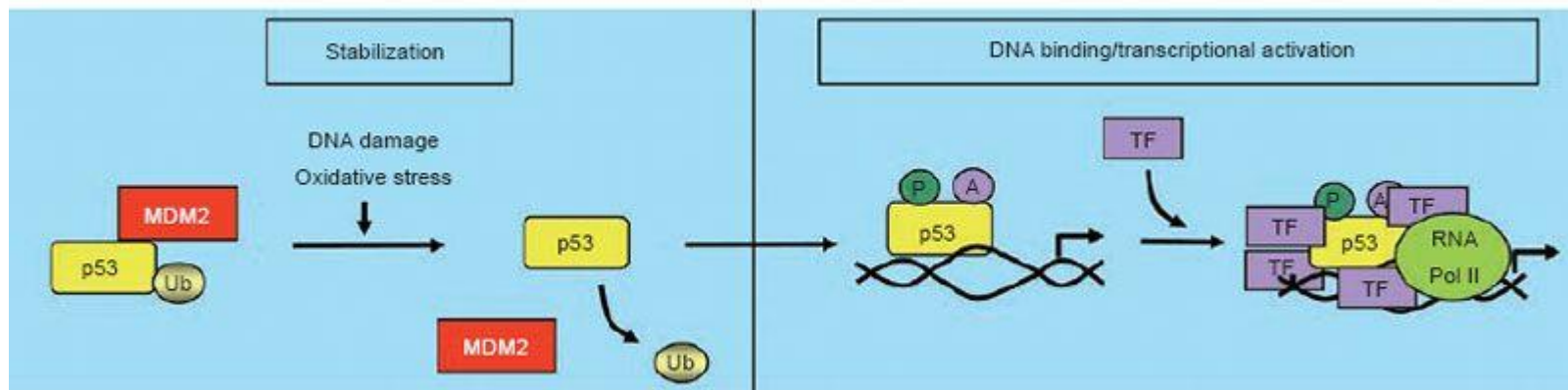
La proteína p53, en condiciones normales, será ubiquitinizada y degradada.

De existir eventos de daño, esta proteína será fosforilada, lo que conllevará a que actúe como factor de transcripción.

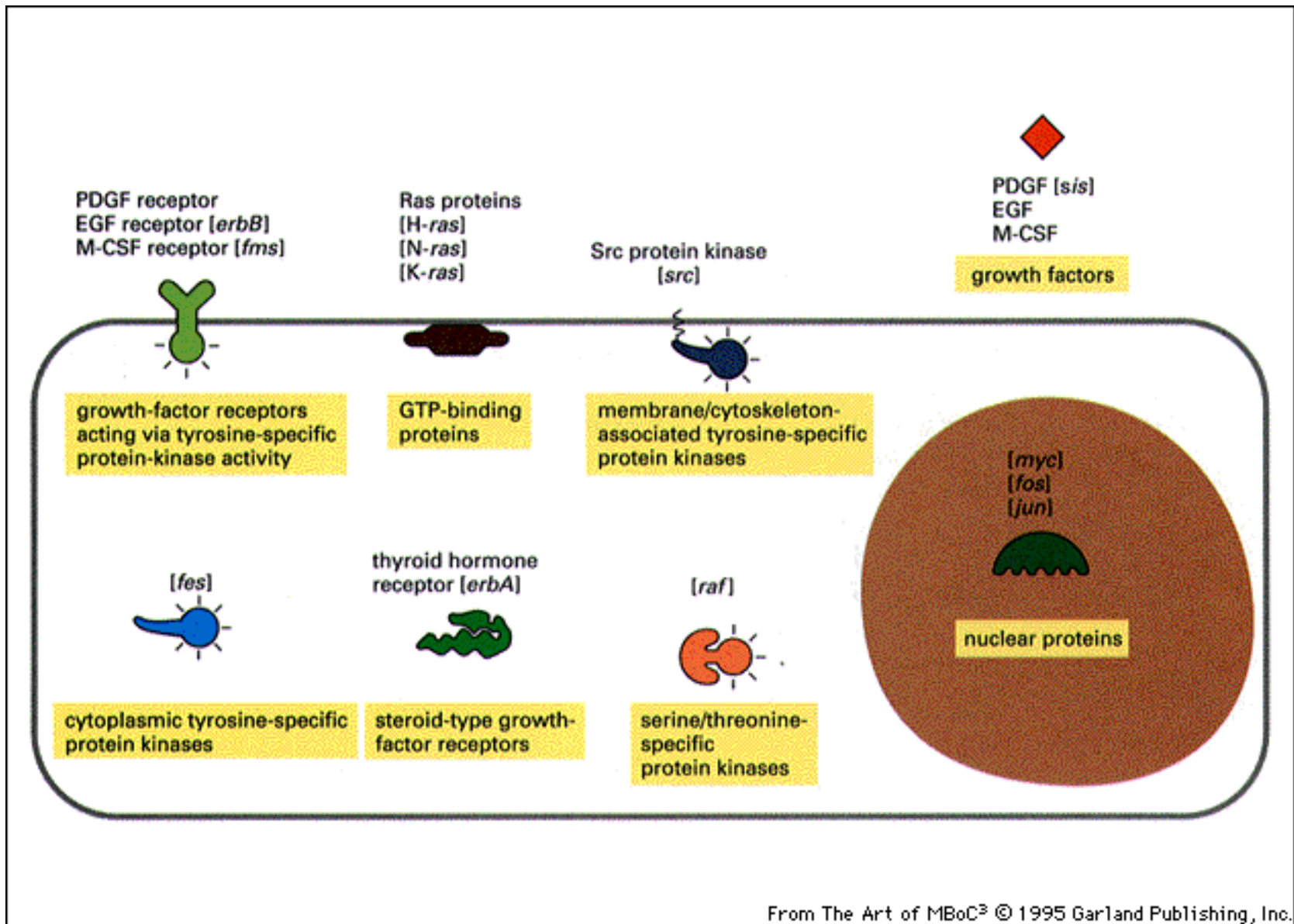
Para contestar luego del seminario 3: ¿Es un factor de transcripción basal o específico?



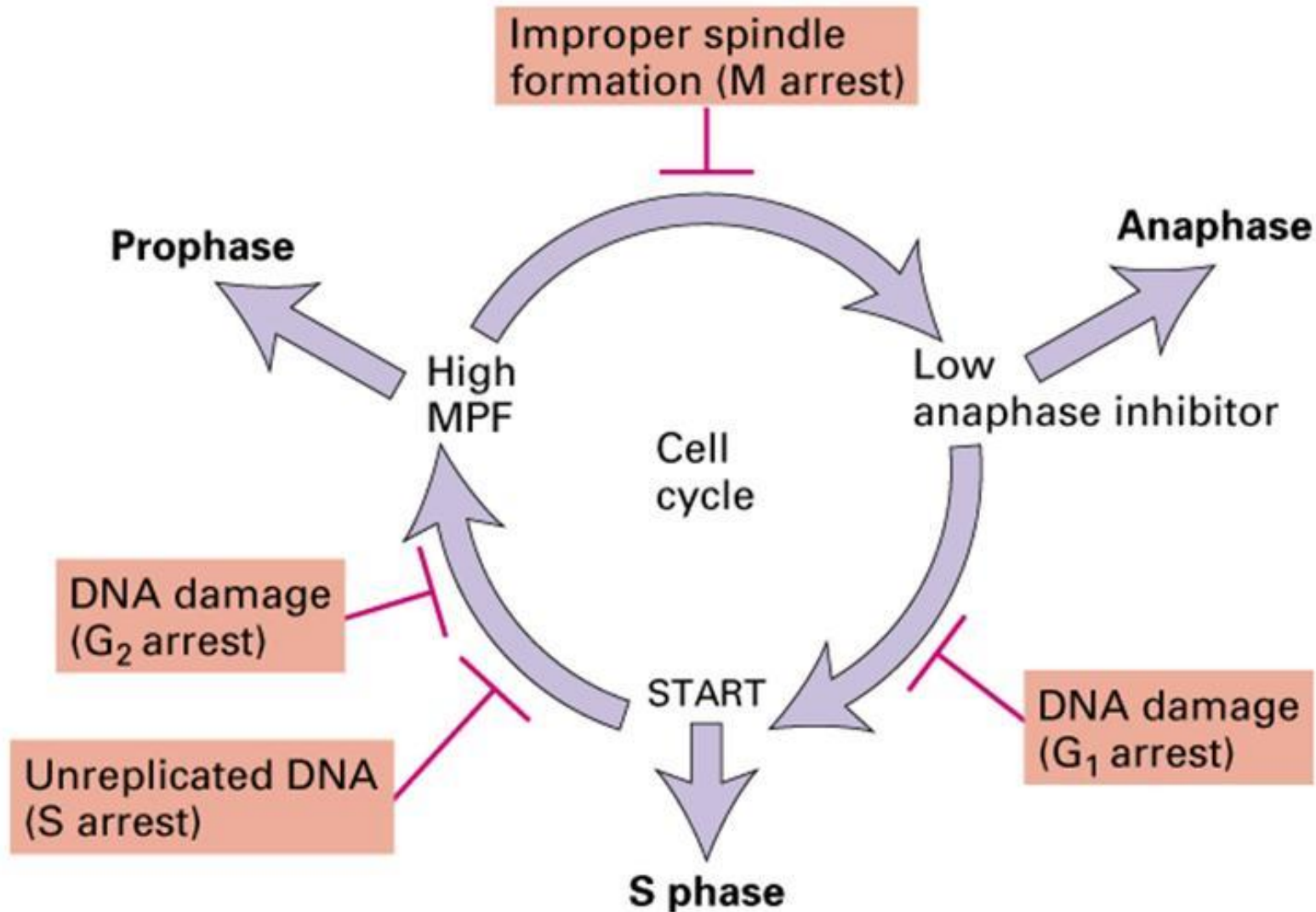
#### A Classical model for p53 activation



# Algunos proto-oncogenes...



## Etapas en las cuales los puntos de control pueden detener el paso en el ciclo celular



5

Poblaciones celulares

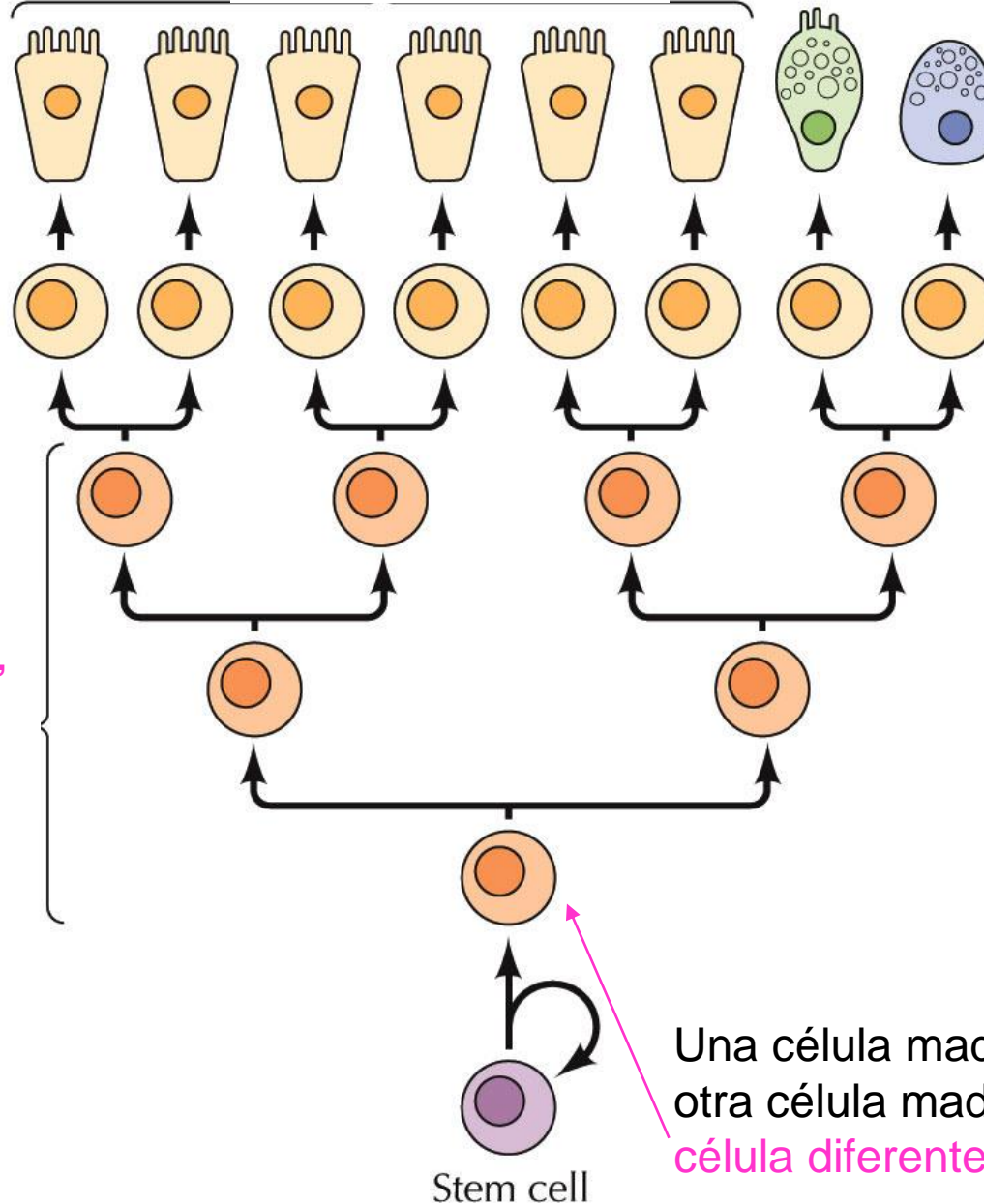
# CÉLULAS MADRE

Células epiteliales  
absortivas

Célula  
secretora

Células  
enteroendócrinas

Proceso de  
diferenciación  
celular



Una célula madre da lugar a  
otra célula madre y a una  
célula diferente

# Población celular

A

- Compartimiento Proliferativo
- Compartimiento no Proliferativo

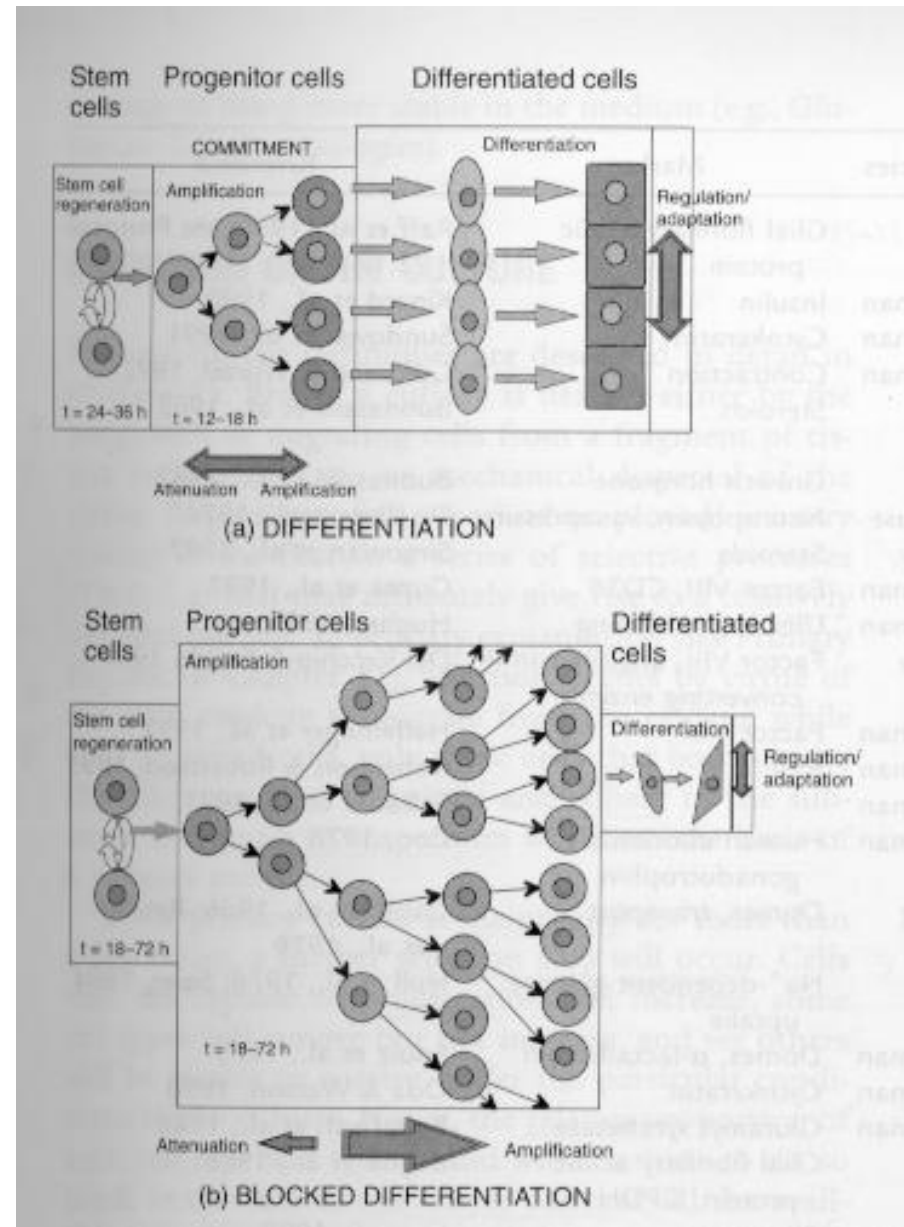
***Agentes moduladores de ambos***

A. Ejemplo de mantenimiento de una población celular mediante proliferación de células madre *in vivo*.

*Primera división asimétrica origina una célula madre y una célula progenitora*

B

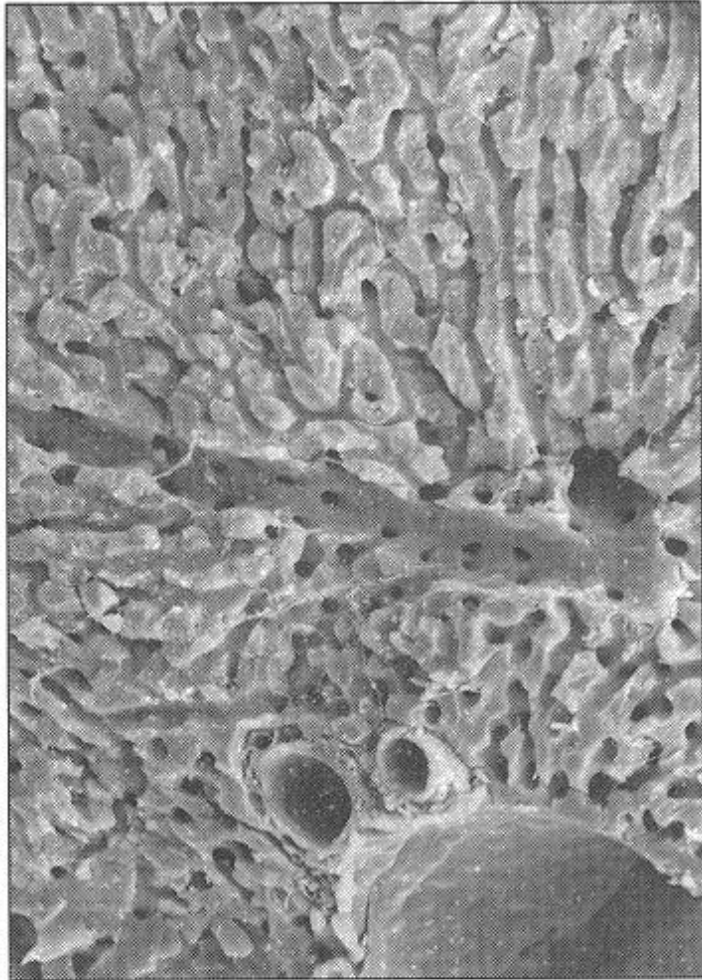
B. Ejemplo de mantenimiento de una población celular mediante proliferación de células *in vitro*. *In vitro* se produce una expansión del compartimiento de células progenitoras.





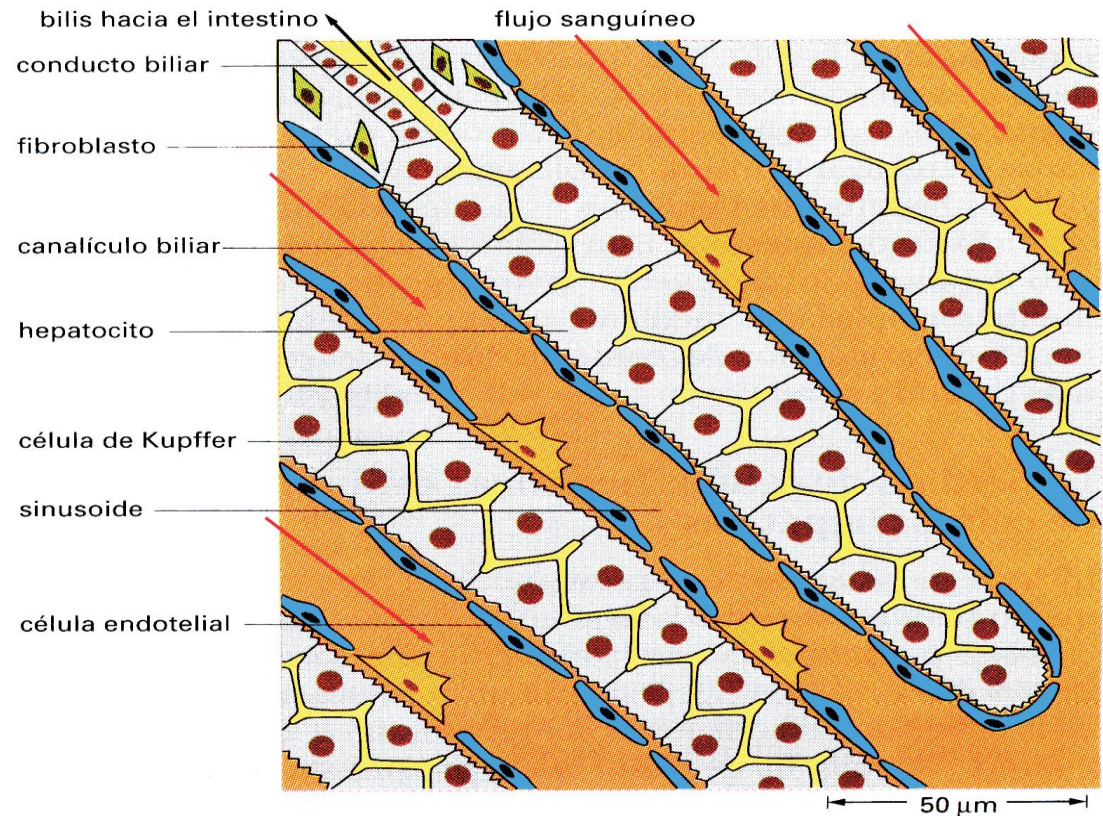
# MANTENIMIENTO DE TEJIDOS.

## 1. Mantenimiento de tejidos por división de células diferenciadas.



(A)

100 μm

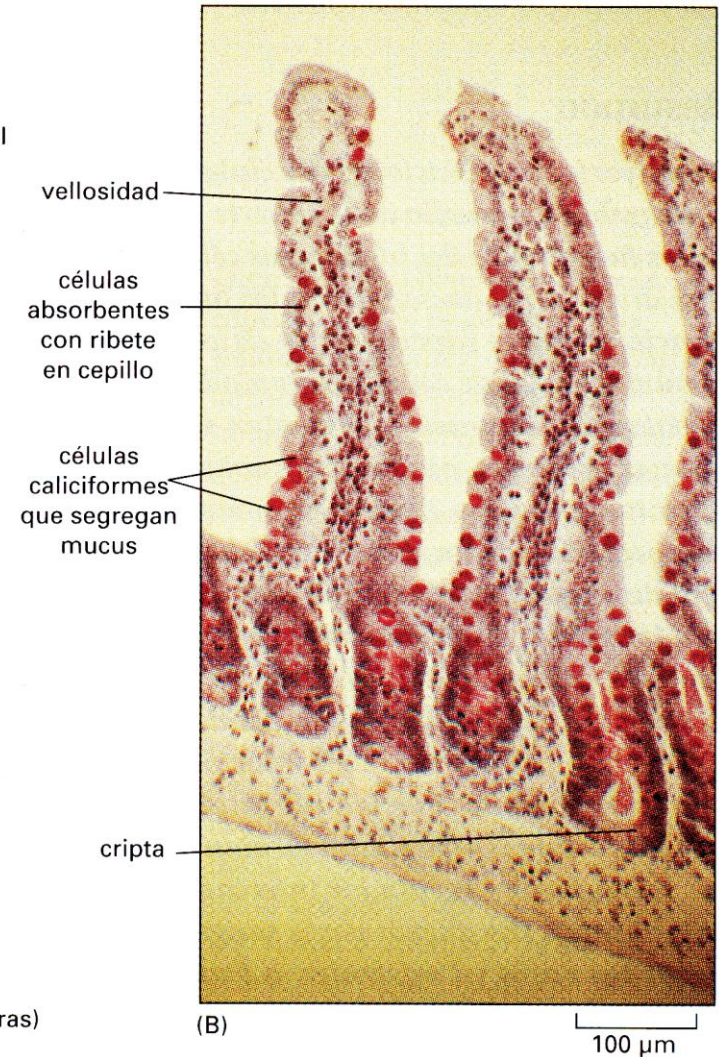
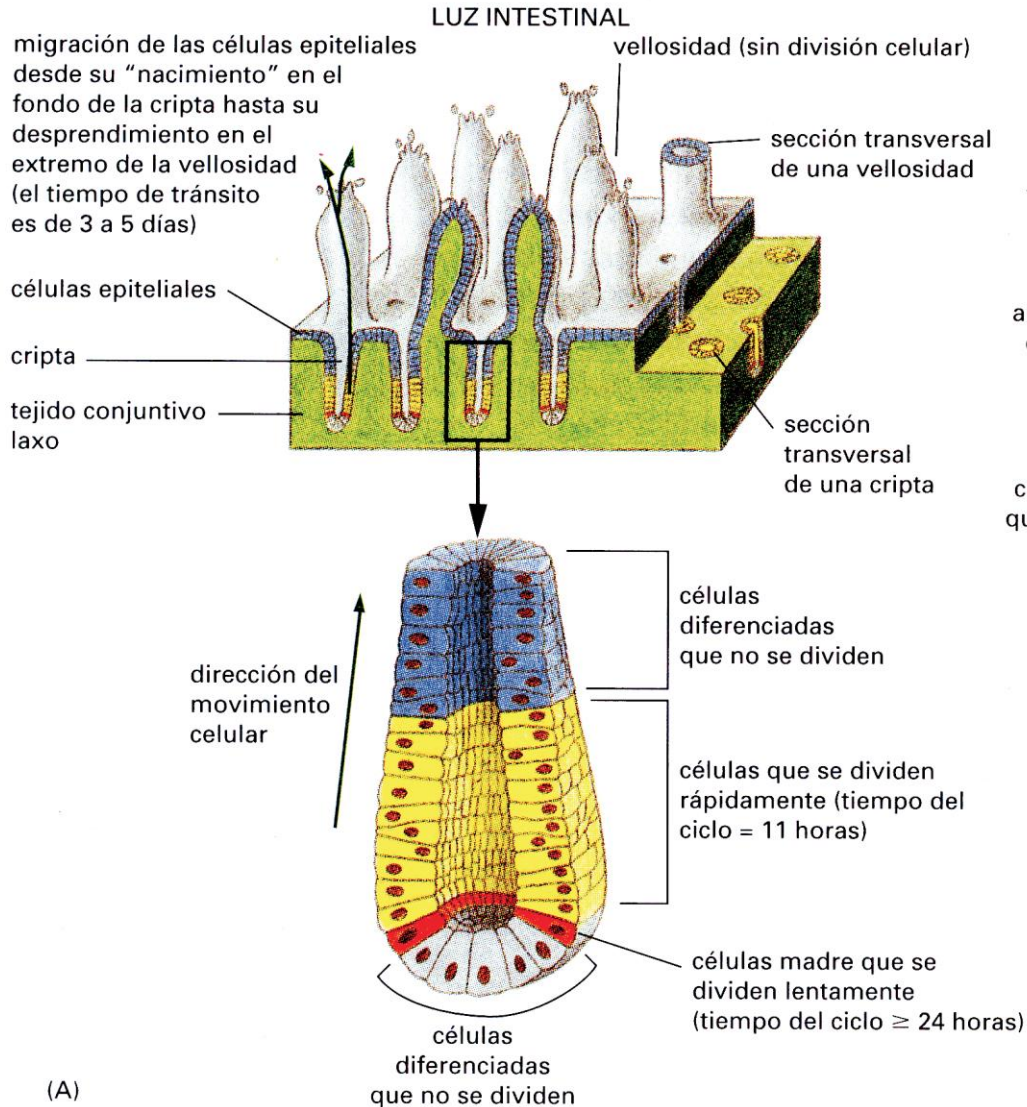


(B)

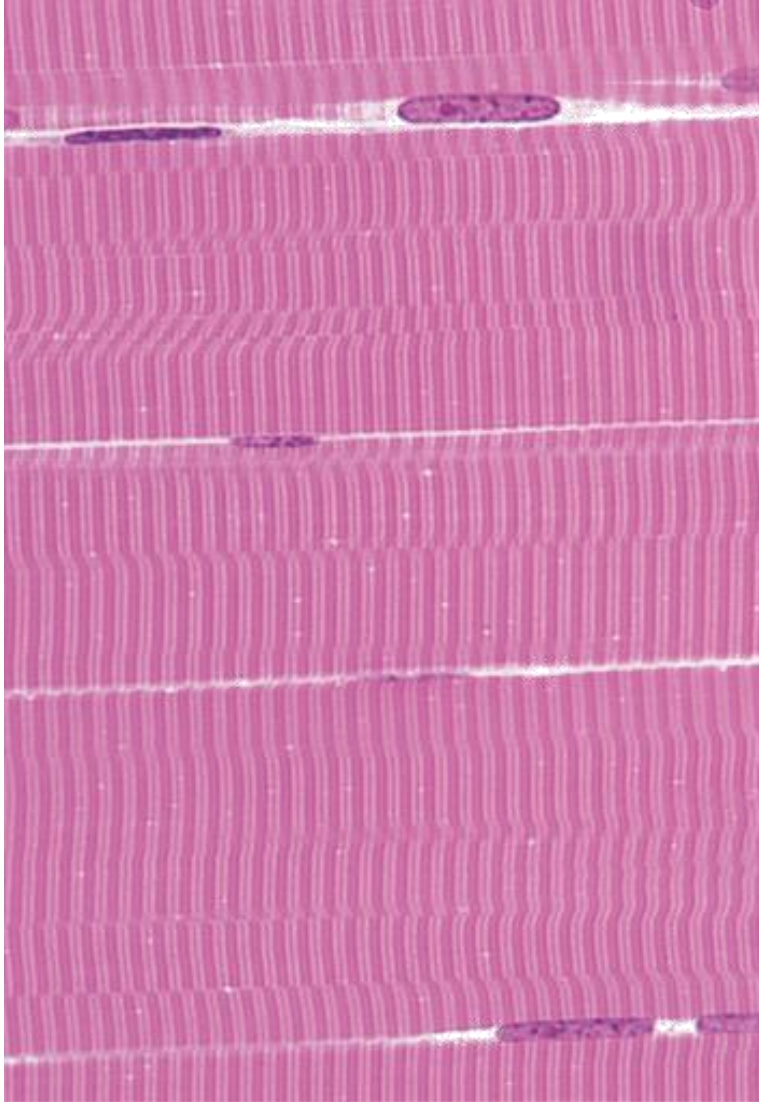
50 μm



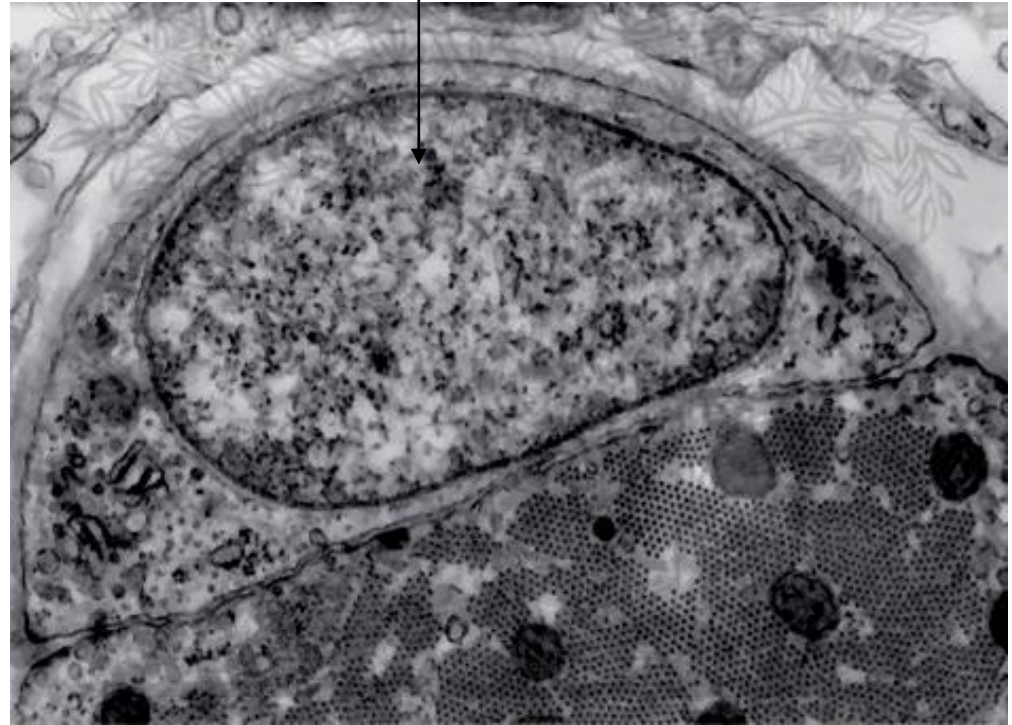
## 2.1. Mantenimiento por células madre en tejidos de alto nivel de renovación celular.



## 2.2. Reparación por células madre en tejidos con escasa o nula renovación celular.



**Célula satélite (célula madre)**

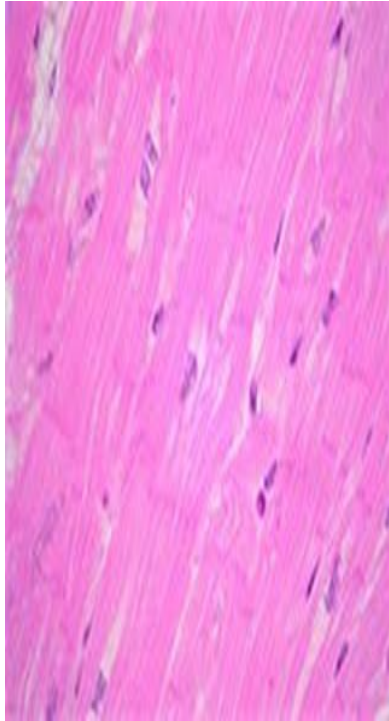


**Músculo estriado esquelético**



### 3. Tejidos con células permanentes.

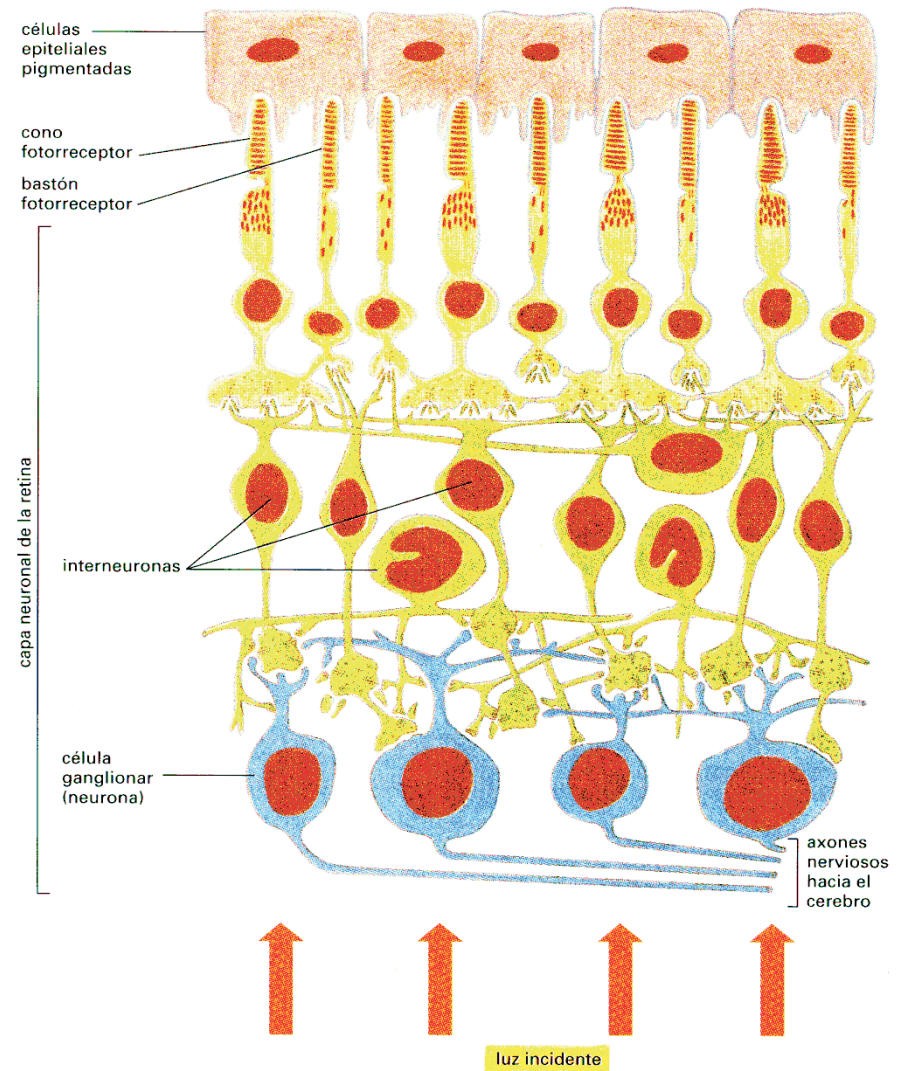
Músculo estriado cardíaco



Neuronas en tejido nervioso



Fotorreceptores en retina



# Poblaciones celulares

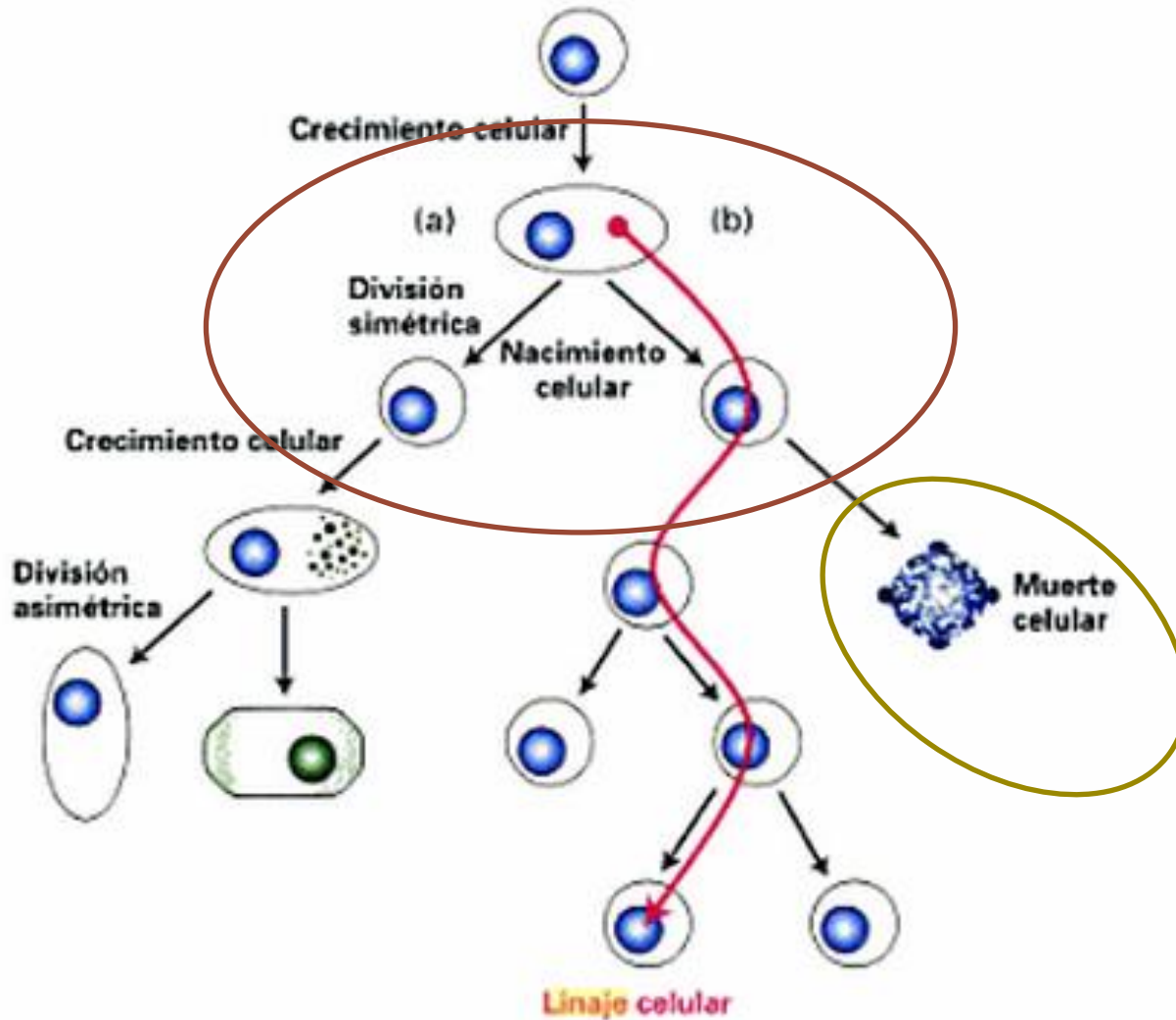
- Las distintas poblaciones celulares tienen duraciones variables del ciclo celular.
- bacterias  $\approx 30$  min
- levaduras  $\approx 1.5$  hs
- fibroblastos  $\approx 24$  hs

Las **transiciones** de una fase a otra están controladas y reguladas por **diversas señales y puntos de control**.

En estos puntos la célula censa las condiciones externas como internas de forma de asegurar su futura supervivencia



## Organismo multicelular- Mantenimiento de tejidos: Esquema general de nacimiento, linaje y muerte celular



# La muerte como destino celular

