

2. Cicle cel·lular

M01. Cultius cel·lulars

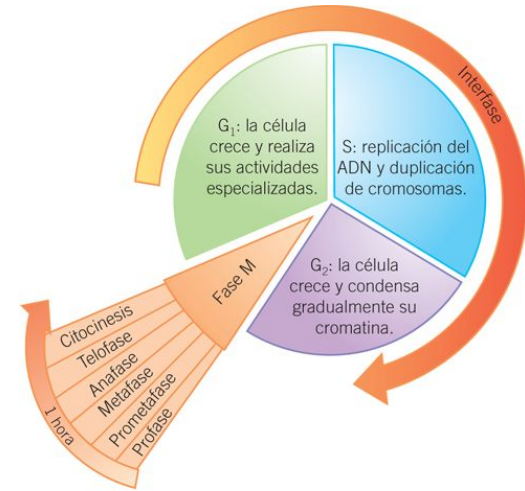
- — —
- 1.1 Reconeix les estructures cel·lulars i subcel·lulars i les seves funcions.
 - 1.2 Caracteritza els diferents tipus de cèl·lules.
 - 1.3 Reconeix les etapes del cicle cel·lular.
 - 1.4 Descriu els principis de la genètica cel·lular.
 - 1.5 Descriu l'evolució històrica dels cultius cel·lulars.
 - 1.6 Caracteritza les cèl·lules primàries i les línies cel·lulars.
 - 1.7 Descriu metodologia per a garantir l'asèpsia en els cultius cel·lulars.
 - 1.8 Justifica la importància de l'asèpsia en els cultius cel·lulars.

— — —

El cicle cel·lular s'inicia en l'instant en què apareix una nova cèl·lula, descendent d'una altra que s'ha dividit, i acaba en el moment en què aquesta cèl·lula, per divisió subsegüent, origina noves cèl·lules filles.

Durant la interfase varia el grau de condensació del material genètic així com el contingut d'ADN, sense modificar-se el nombre de cromosomes.

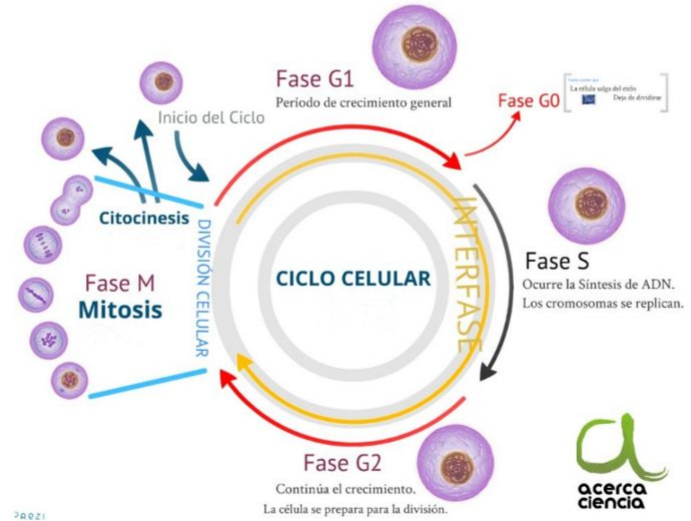
La fase M sol durar aproximadament 1 h en les cèl·lules de mamífers, mentre que la interfase pot tenir una durada de dies, setmanes o fins i tot més temps, segons el llinatge cel·lular i les condicions ambientals o fisiològiques imperants

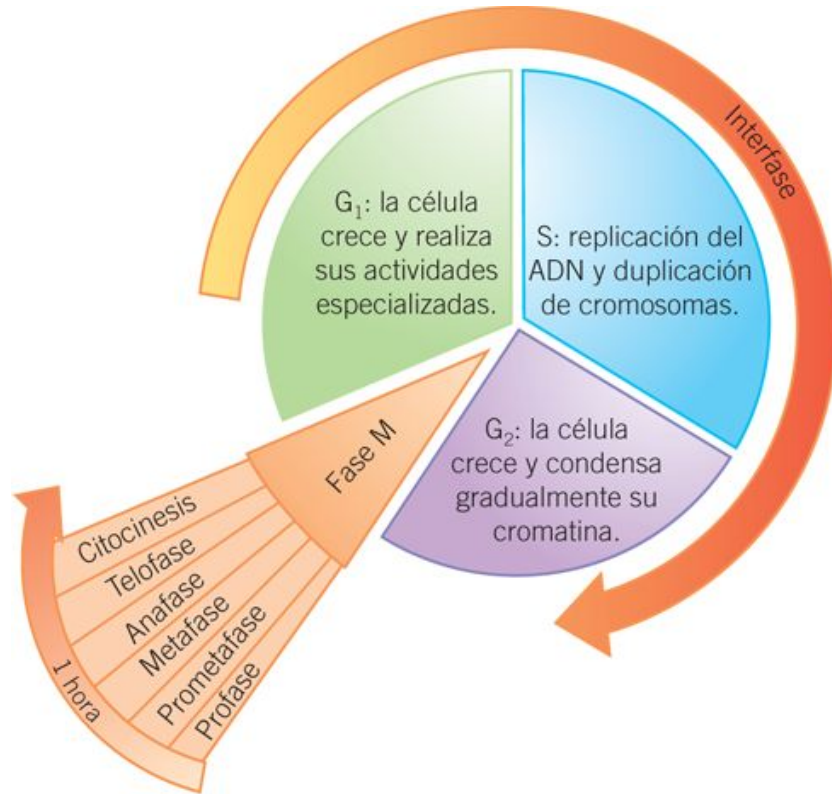


Fuente: Adriana María Salazar Montes, Ana Soledad Sandoval Rodríguez, Juan Socorro Armendáriz Borunda: *Biología molecular. Fundamentos y aplicaciones en las ciencias de la salud*, www.accessmedicina.com
Derechos © McGraw-Hill Education. Derechos Reservados.

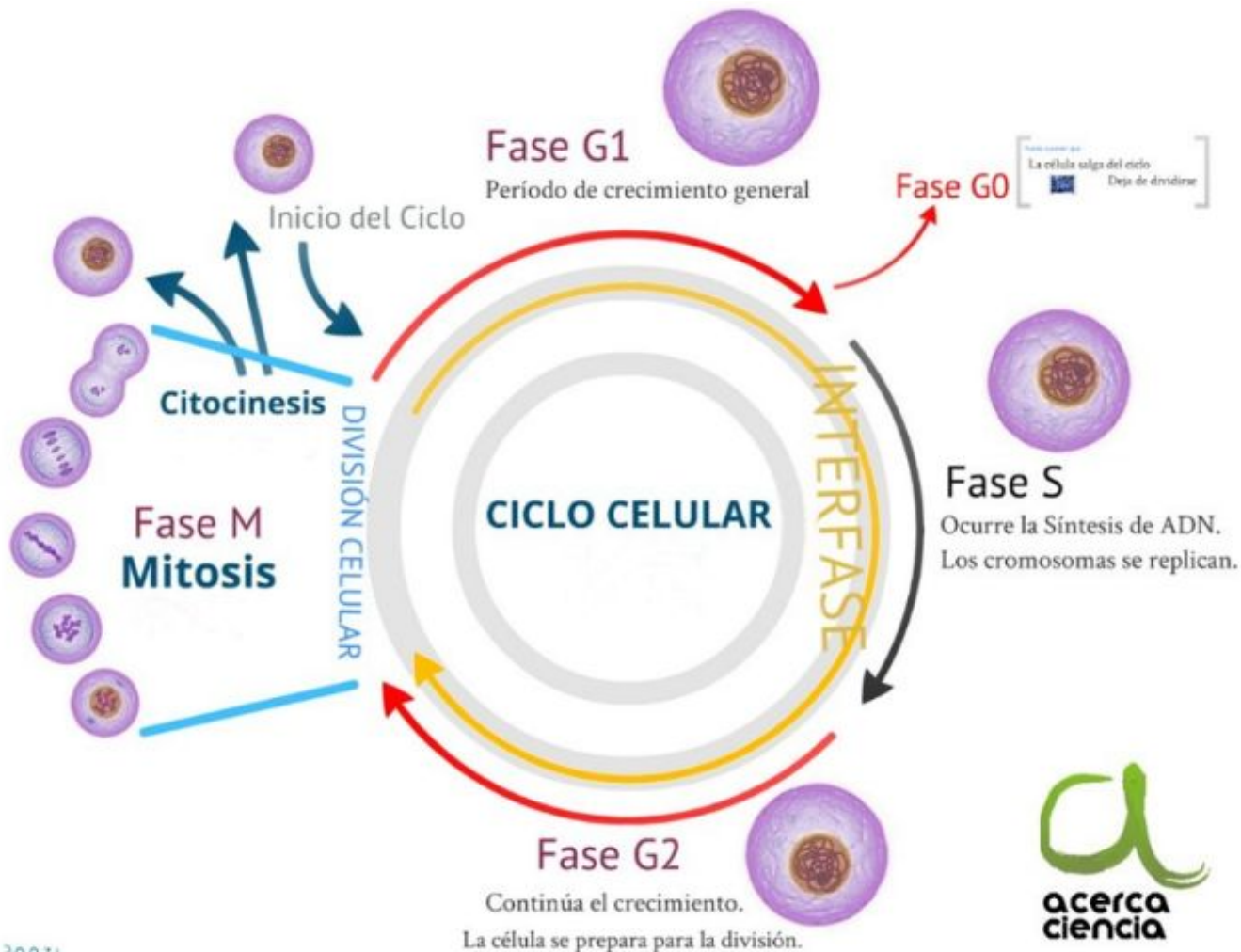
Fases del ciclo celular

- Interfase
 - Fase G1
 - Fase S
 - Fase G2
- Divisió celular (o fase M)
 - Mitosi
 - Citoquinesi
- Fase G0 o de quiescència





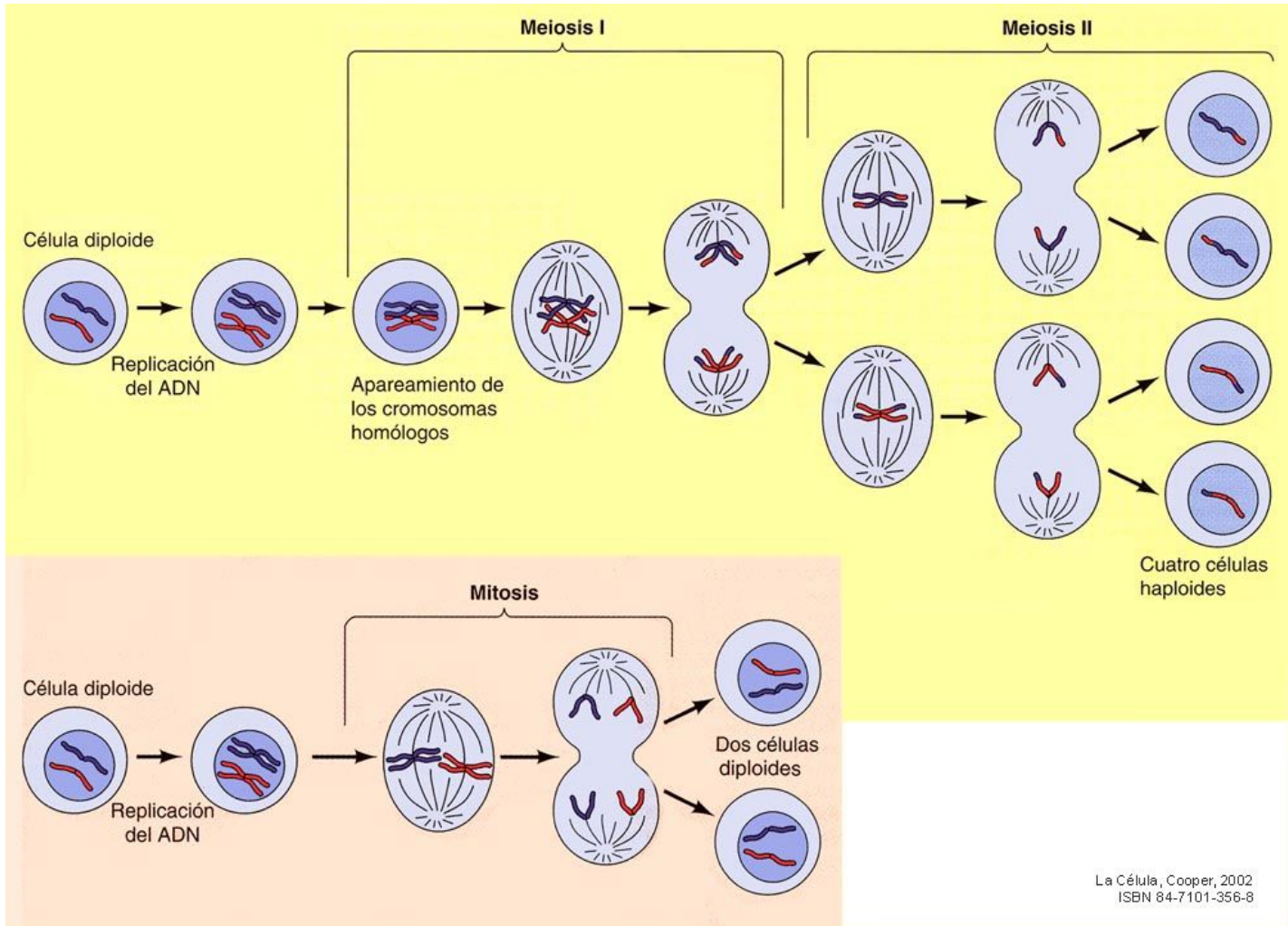
Fuente: Adriana María Salazar Montes, Ana Soledad Sandoval Rodríguez, Juan Socorro Armendáriz Borunda: *Biología molecular. Fundamentos y aplicaciones en las ciencias de la salud*, www.accessmedicina.com
Derechos © McGraw-Hill Education. Derechos Reservados.

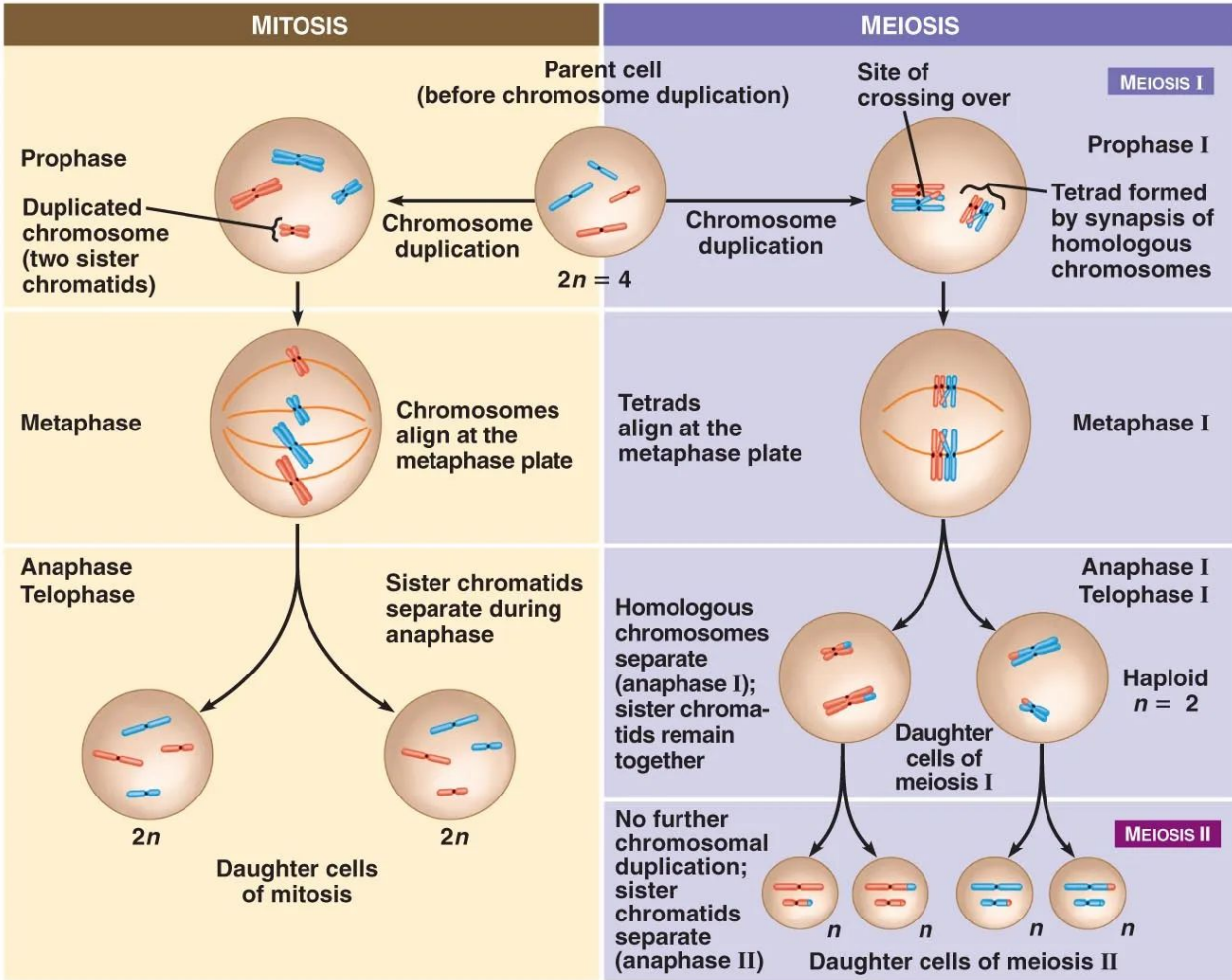


Divisió cel·lular o Fase M

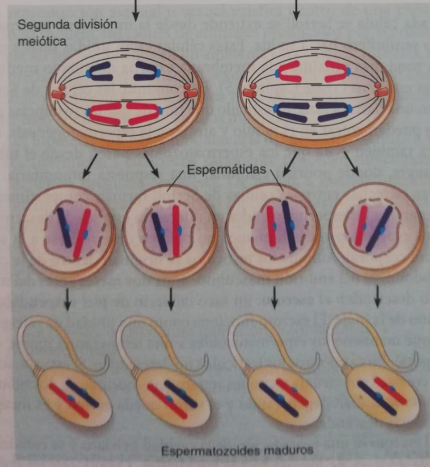
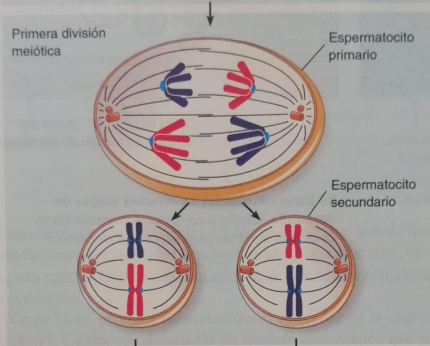
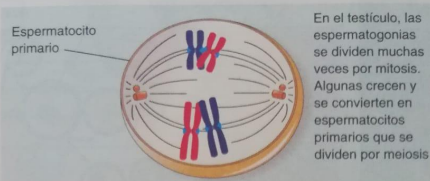
Quins dos tipus de divisió cel·lular existeix en les cèl·lules eucariotes?

- Mitosi
- Meiosi





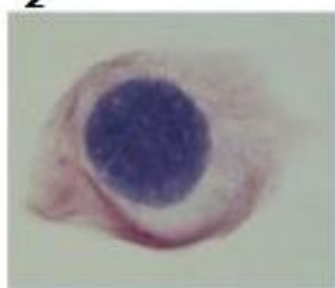
través de pequeños tubitos que desembocan en un tubo arronado



1



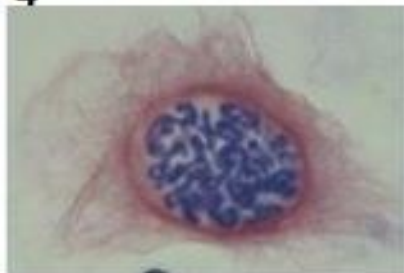
2



3

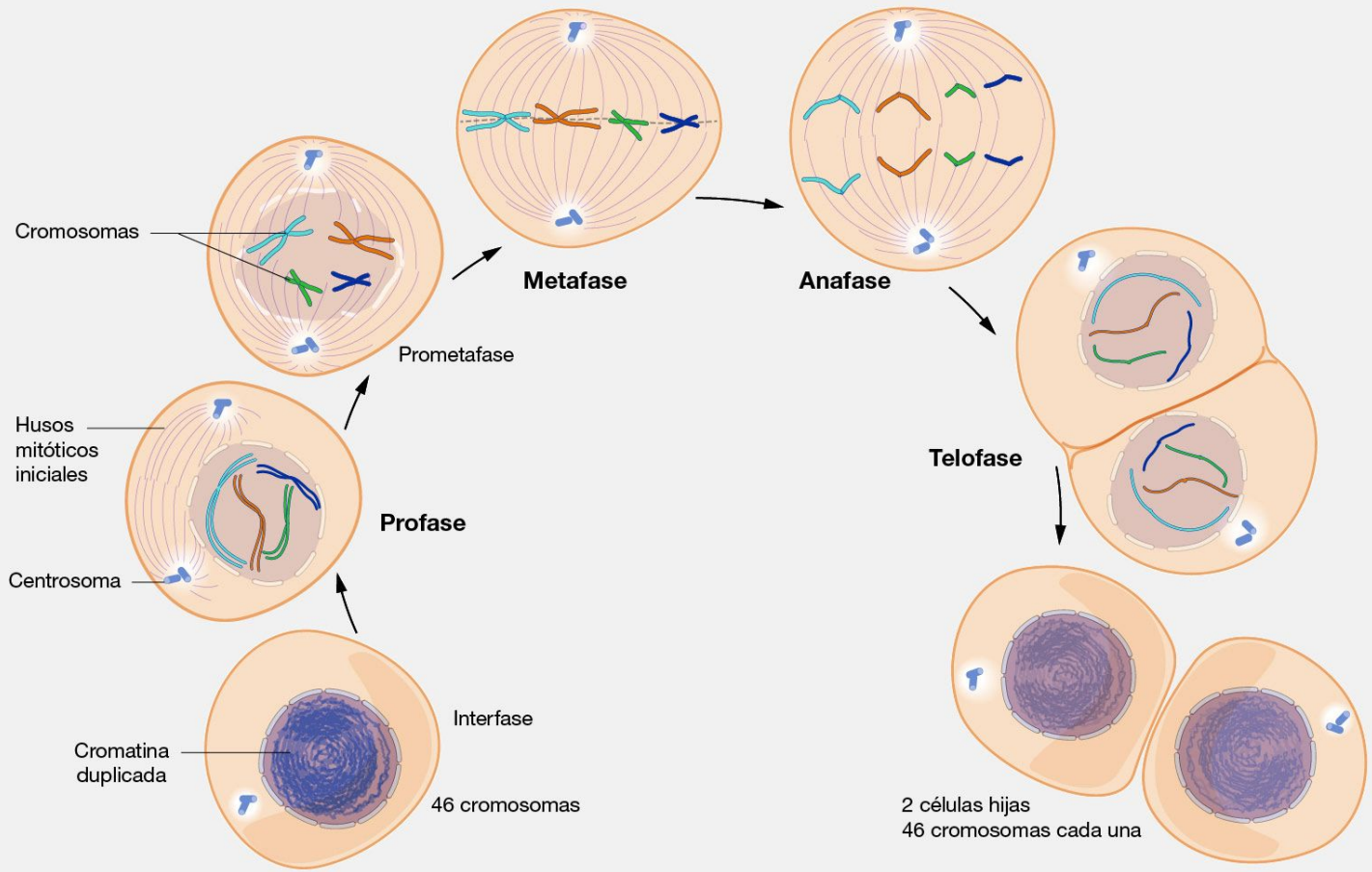


4



5





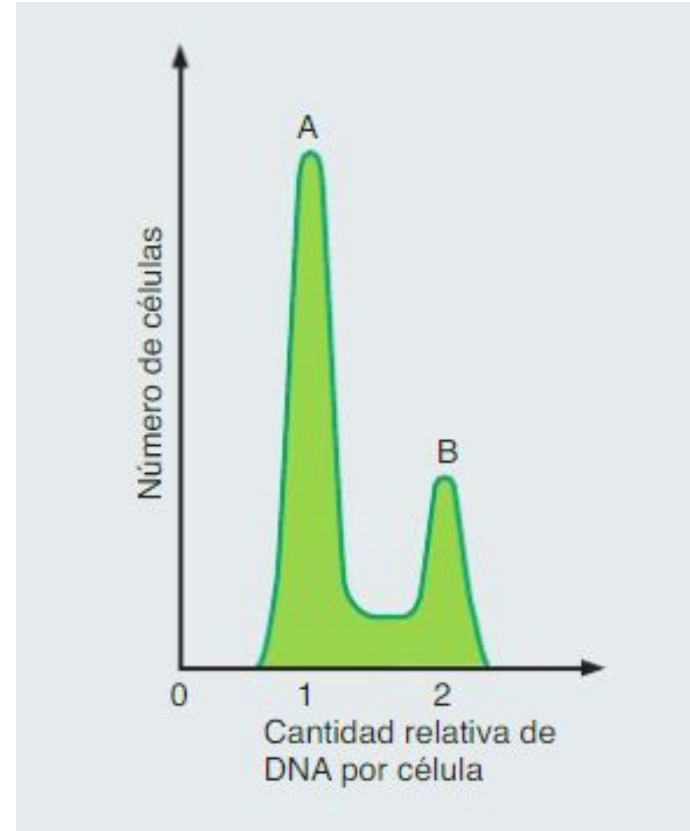
Fases - Resum alumnat



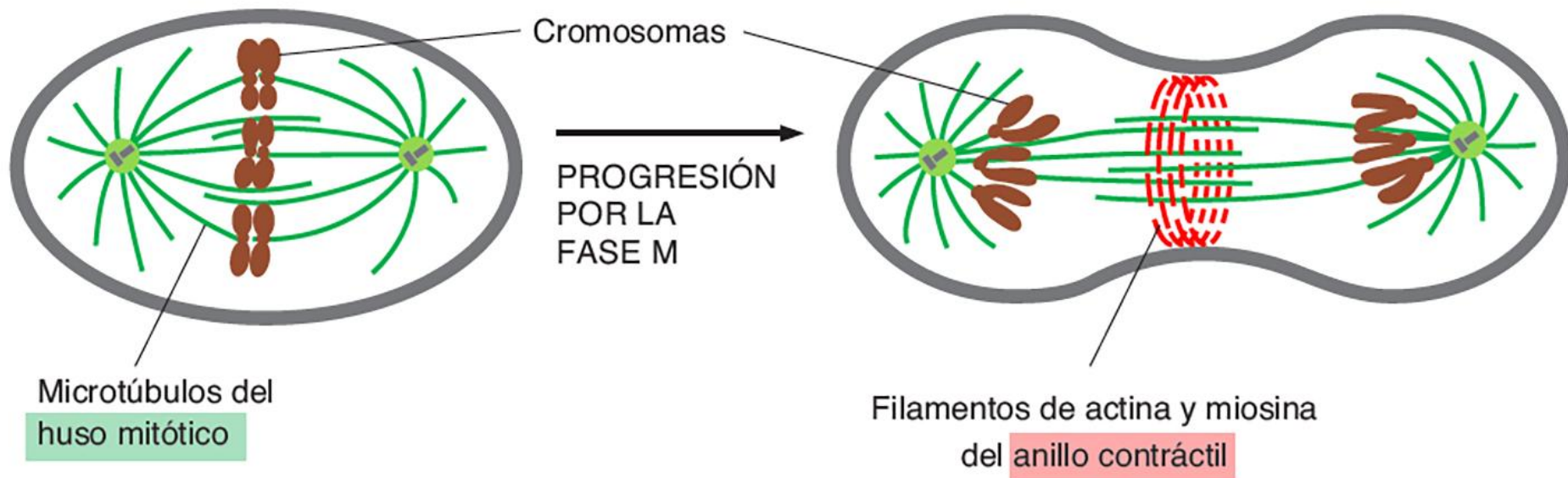
Pregunta Test

Es tenyeix una població de cèl·lules en proliferació amb un colorant que emmet fluorescència quan s'uneix al DNA. De manera que la quantitat de fluorescència és directament proporcional a la quantitat d'ADN. Aquesta fluorescència s'analitza mitjançant un citòmetre de flux i s'obté el següent gràfic:

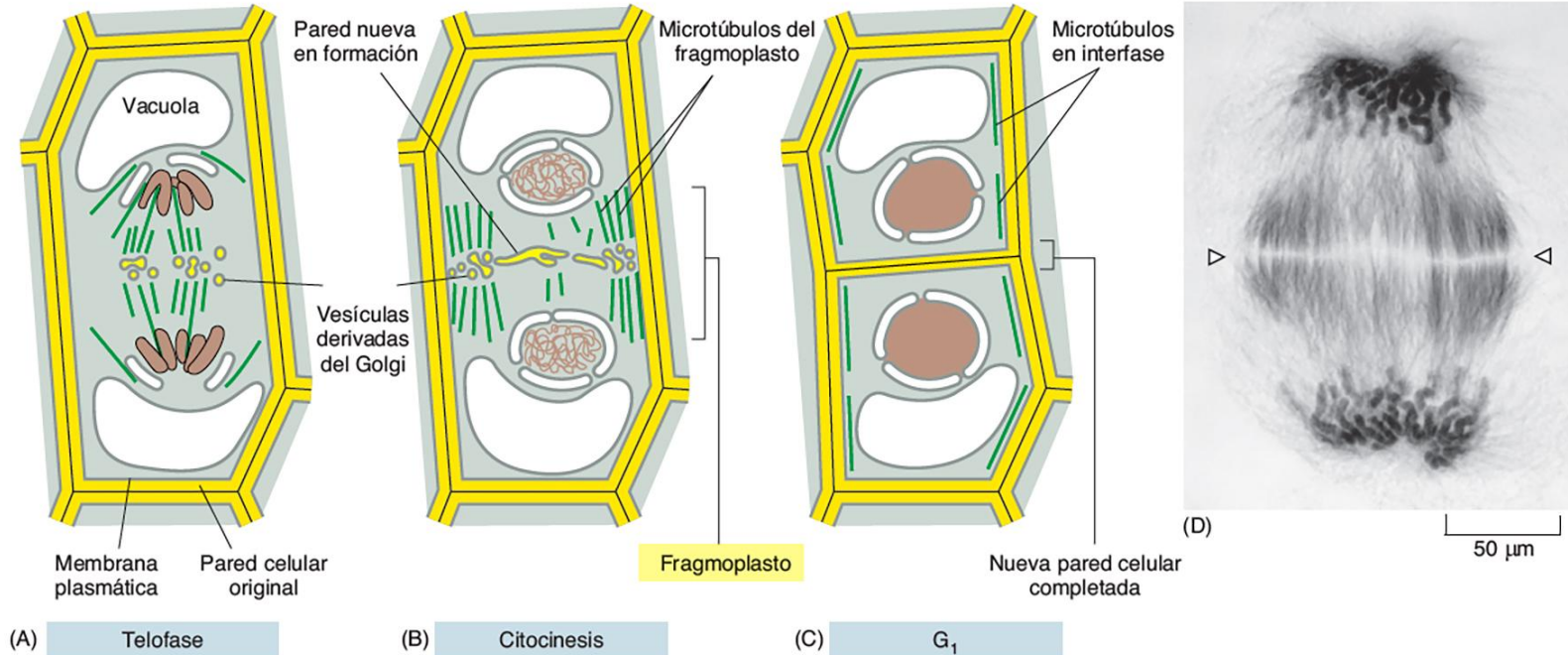
- a) **On esperarieu trobar les cèl·lules que estan en:**
- Fase G1
 - Fase S
 - Fase G2
 - Mitosi
- b) **Quina és la fase més llarga del cicle cel·lular en aquesta població?**



Citosinesi Animal

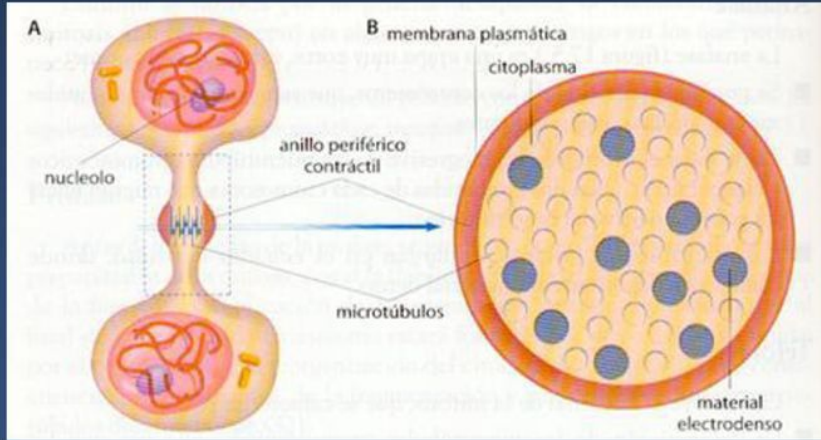


Citosinesi Vegetal

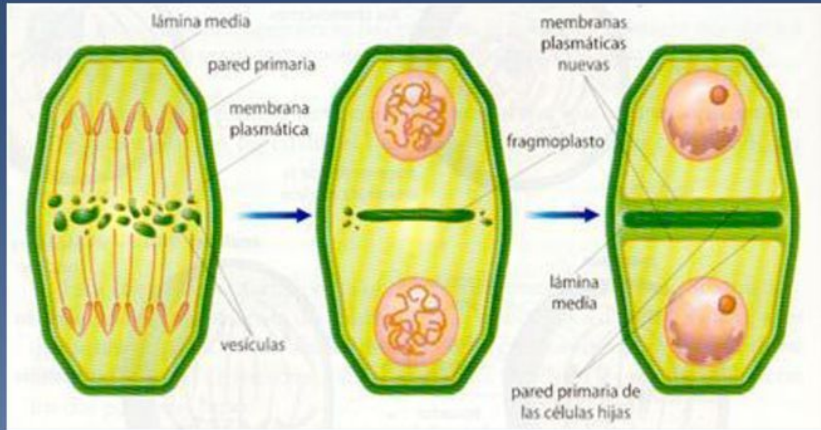


CITOCINESIS

CÉLULAS ANIMALES



CÉLULAS VEGETALES



REGULACIÓ

— — —

El cicle cel·lular és un procés altament complex que requereix d'una alta precisió en els punts de control, per a evitar duplicacions innecessàries de l'ADN, així com impedir que una cèl·lula que presenti errors en l'ADN continuï duplicant-se, ja que això pot conduir a una transformació maligna.

És important conèixer els punts de restricció de cada fase del cicle cel·lular, ja que d'aquesta manera podem aclarar la seva importància i usar-los com a possibles dianes en l'ús i desenvolupament de fàrmacs dirigits contra cèl·lules tumorals i poder minimitzar l'efecte sobre cèl·lules normals.

El camp de recerca de cicle cel·lular és ampli, i s'interrelaciona amb altres fenòmens biològics com la **senescència** i **l'apoptosi**, encara que aquesta relació és difusa en el cas de senescència, per la qual cosa es requereix aprofundir més en aquesta relació.

Factors EXTERNS que intervenen en la regulació del cicle cel·lular

Falta de nutrients

Canvis de T

Canvi de pH

Presència de cèl·lules contigües



Poden aturar el
creixement i la divisió

Hormones

Factors de creixement



Poden estimular la mitosi

Factors INTERNS de regulació del DNA

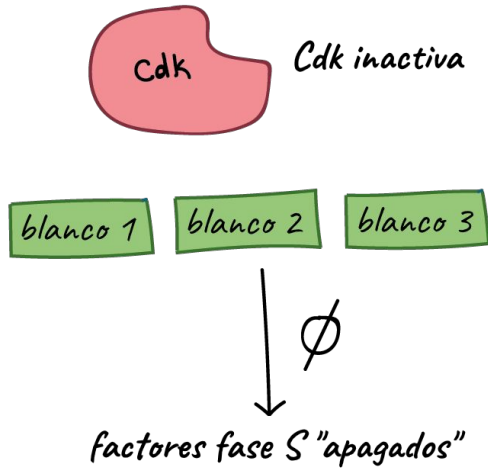
El cicle cel·lular està regulat a través de la fosforilació i la degradació d'unc complexos de proteïnes formats per:

- Una subunitat **reguladora**: CICLINES
- Una subunitat **catalíitica**: QUINASES

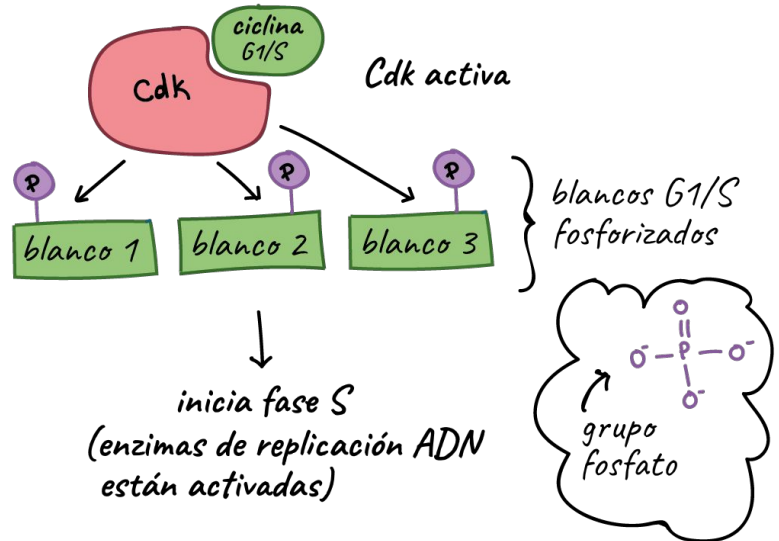
Les **ciclines** varien la seva concentració de forma cíclica a mesura que la cèl·lula avança en el cicle cel·lular.

Una **quinasa** (kinasa) és un enzim que és capaç de modificar altres molècules mitjançant l'addició de grups fosfats de l'ATP, és a dir, mitjançant fosforilació. Les anomenarem **CDK** (kinasa dependent de ciclina) ja que només actuen quan estan unides a una ciclina.

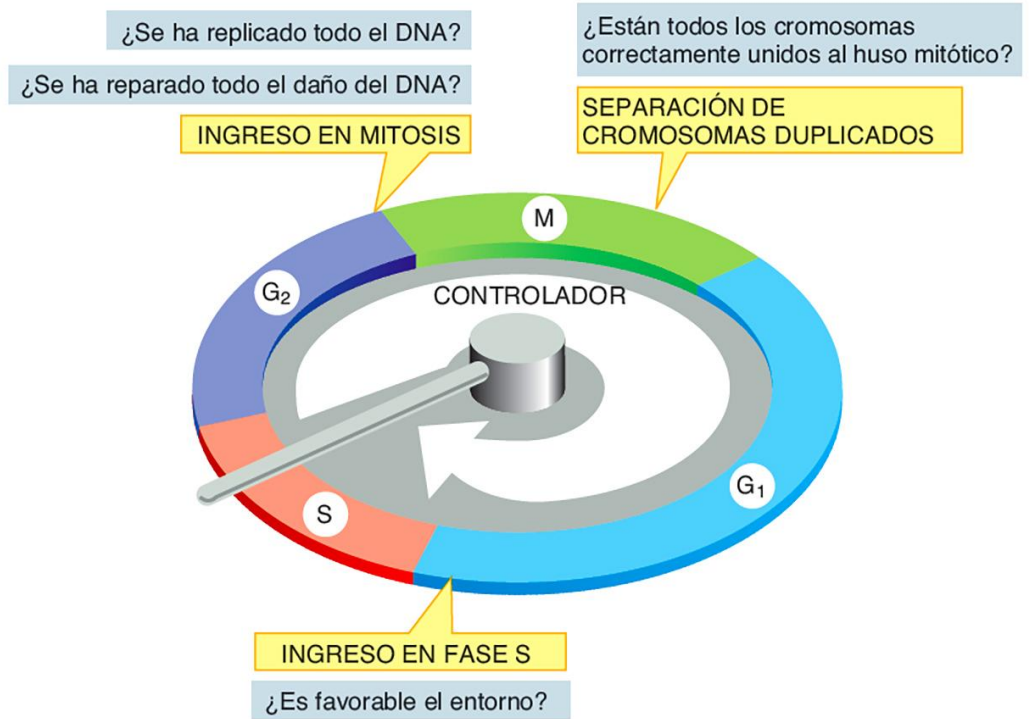
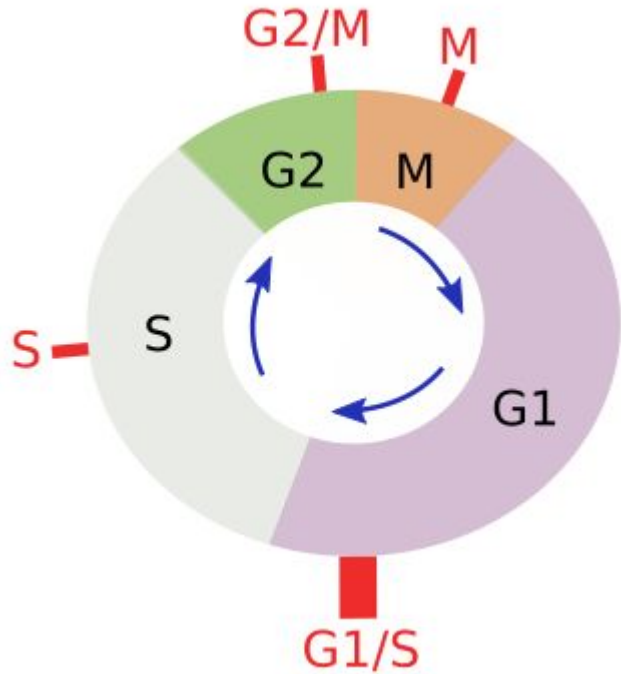
SIN CICLINA

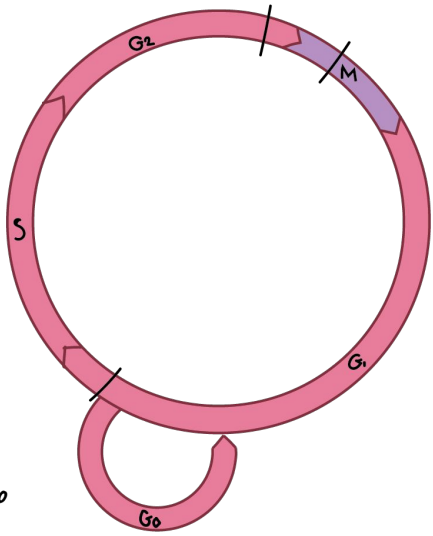


CON CICLINA G1/S



CHECK POINTS



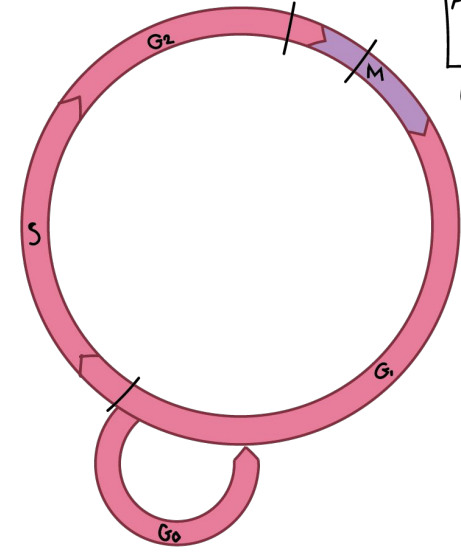
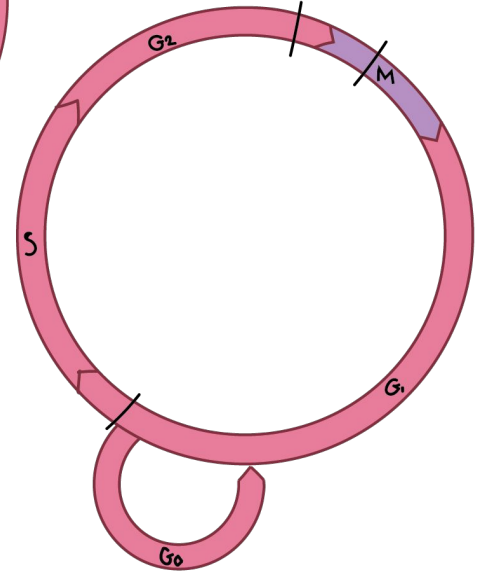


PUNTO DE CONTROL G1

- Verifica:
- Tamaño de la célula
 - Nutrientes
 - Factores de crecimiento
 - Daño al ADN

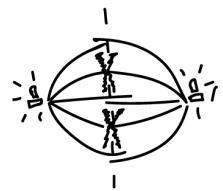
PUNTO DE CONTROL G2

- Verifica:
- Daño al ADN
 - Integridad de la replicación del ADN



PUNTO DE CONTROL DEL HUSO

- Verifica:
- Acoplamiento del cromosoma al huso en la placa metafásica



Punts de control (Checkpoints)

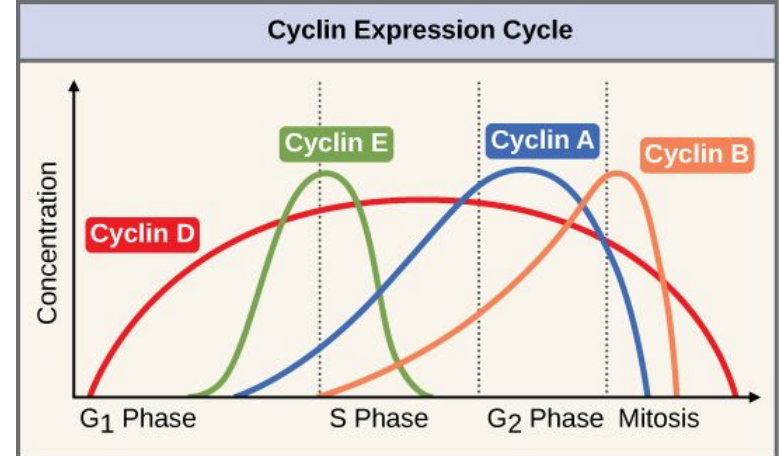
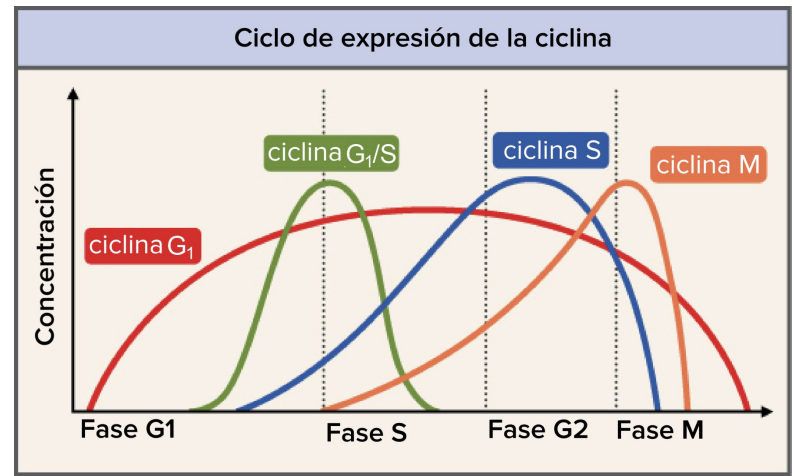
- **G1:** determina si totes les condicions són favorables perquè continuï la divisió cel·lular. És un punt en el qual la cèl·lula es compromet irreversiblement amb el procés de divisió cel·lular.
- **G2:** s'assegura que tots els cromosomes s'hagin replicat amb precisió sense errors ni danys. Si detecten problemes amb l'ADN, el cicle cel·lular es deté i la cèl·lula intenta completar la replicació de l'ADN o reparar l'ADN danyat.
- **M:** controla al final de la metafase, determinant si les cromàtides estan unides correctament a les proteïnes del fus mitòtic i per tant aquestes es separaran de manera correcta.

Presentació alumnat

Ciclins-CDK

Es coneixen 6 complexos CDK-Ciclina que intervienen en la regulació del cicle cel·lular.

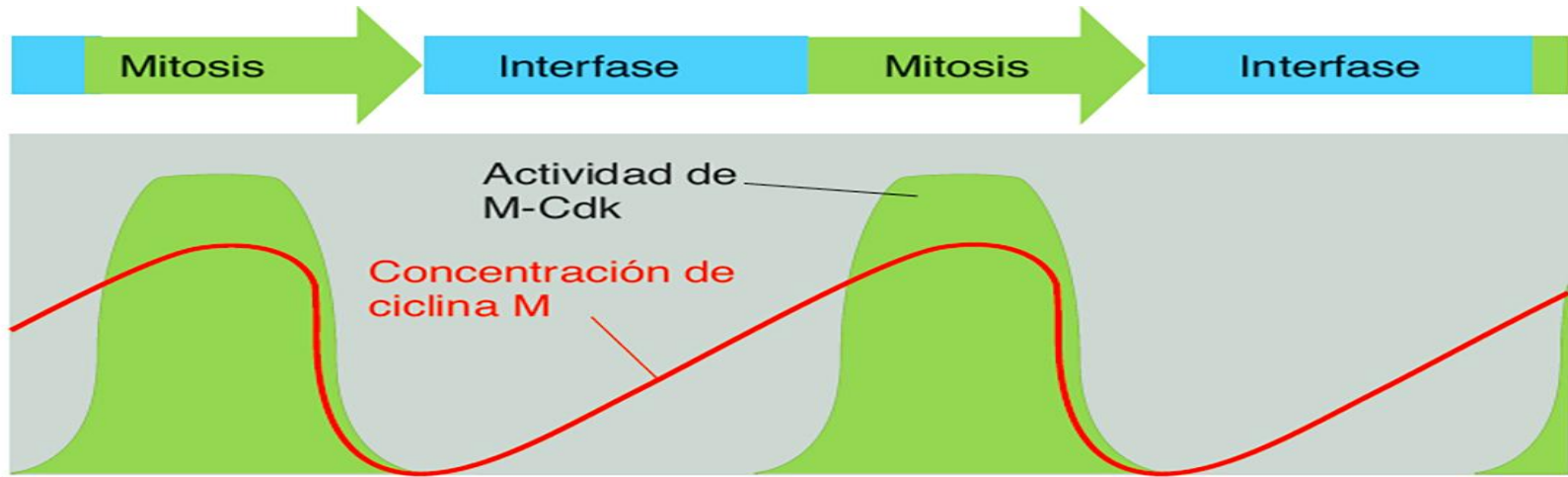
Cadascuna d'elles s'activa en determinades fases del cicle cel·lular, i algunes depenen del tipus de teixit.



La presencia de CDK és constant, però la seva activació depen de la periodicitat de les ciclines que es van sintetitzant i degradant de manera controlada.

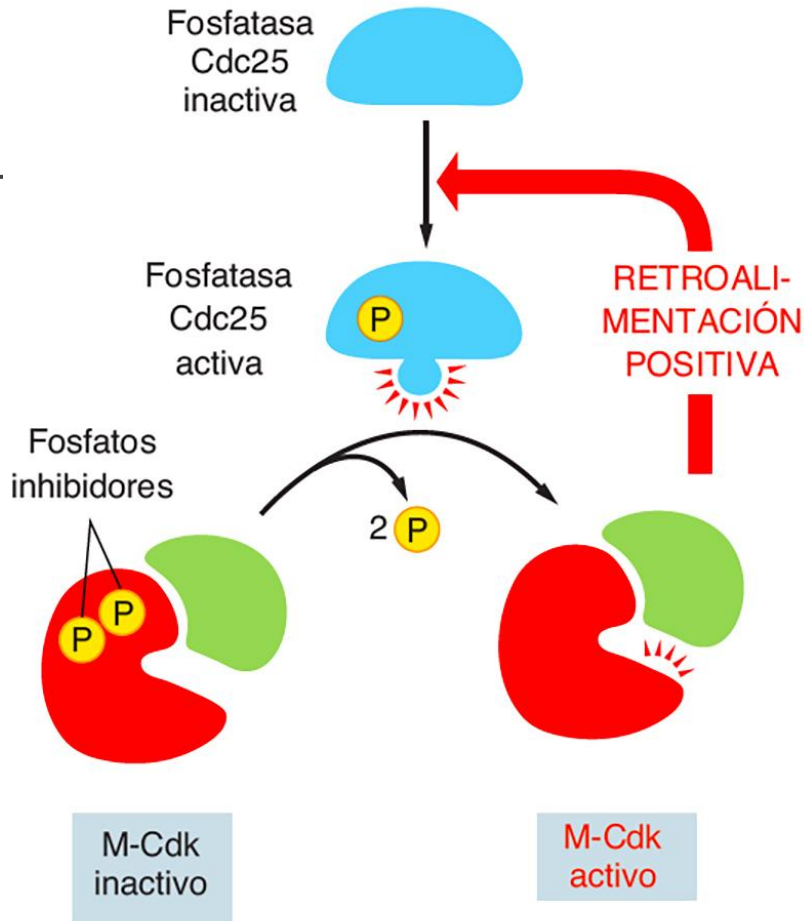
L'activació i inactivació successiva del complex Cdk/ciclina té una conseqüència:

El cicle cel·lular només va en una direcció



L'acumulació de ciclins ajuda a regular l'activitat de les **Cdk**. La formació de complexos actius ciclina-Cdk impulsa diversos esdeveniments del cicle cel·lular, entre els quals s'inclou l'ingrés en la fase S o en la fase M. La figura mostra els canvis en la concentració de ciclins i l'activitat de proteïna quinasa de Cdk responsables de controlar l'ingrés en la fase M. L'augment de la concentració de la ciclina pertinent (denominada ciclina M) ajuda a dirigir la formació del complex ciclina-Cdk actiu (M-Cdk) que impulsa l'ingrés en la fase M. Encara que l'activitat enzimàtica de cada tipus de complex ciclina-Cdk augmenta i disminueix durant el curs del cicle cel·lular, la concentració del component Cdk, no.

MFP (Factor promotor de la mitosi)



El complex M-Cdk activat activa indirectament més M-Cdk, la qual cosa crea una bucle de **retroalimentació positiva**. Una vegada activat, el M-Cdk fosforila, i per consegüent activa, més fosfatasa activadora de Cdk (Cdc25).

Aquesta fosfatasa pot activar més M-Cdk, eliminant els grups fosfat inhibidors de la subunitat CDK

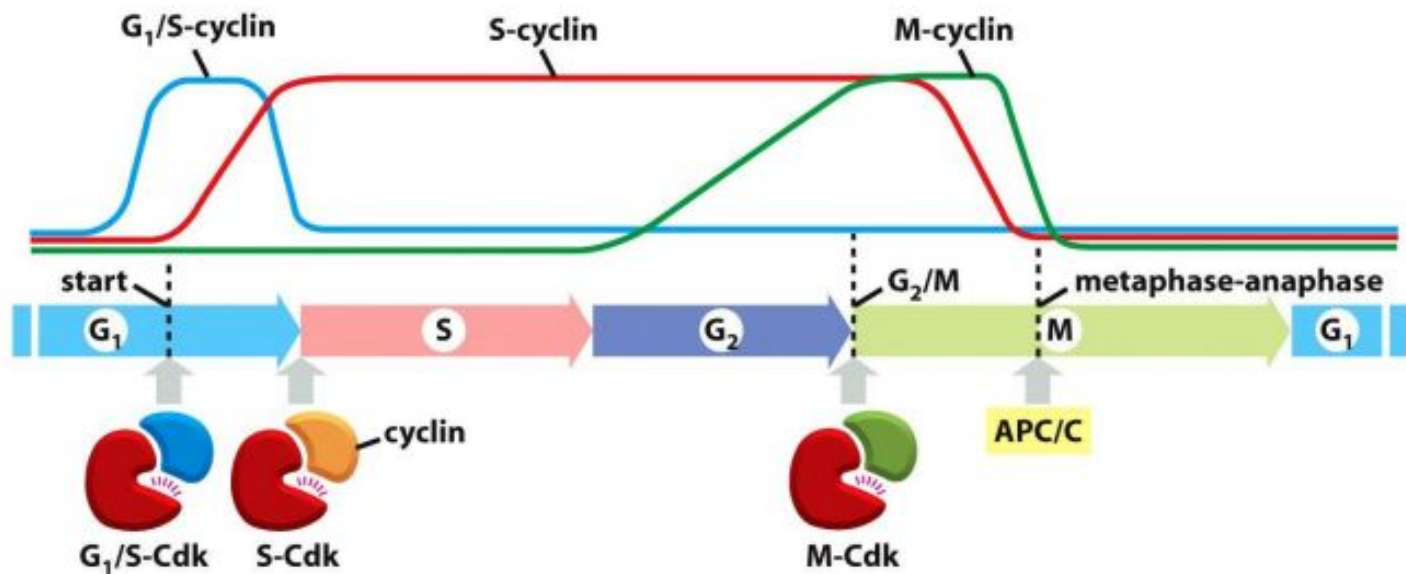


Figure 17-16 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Reguladors

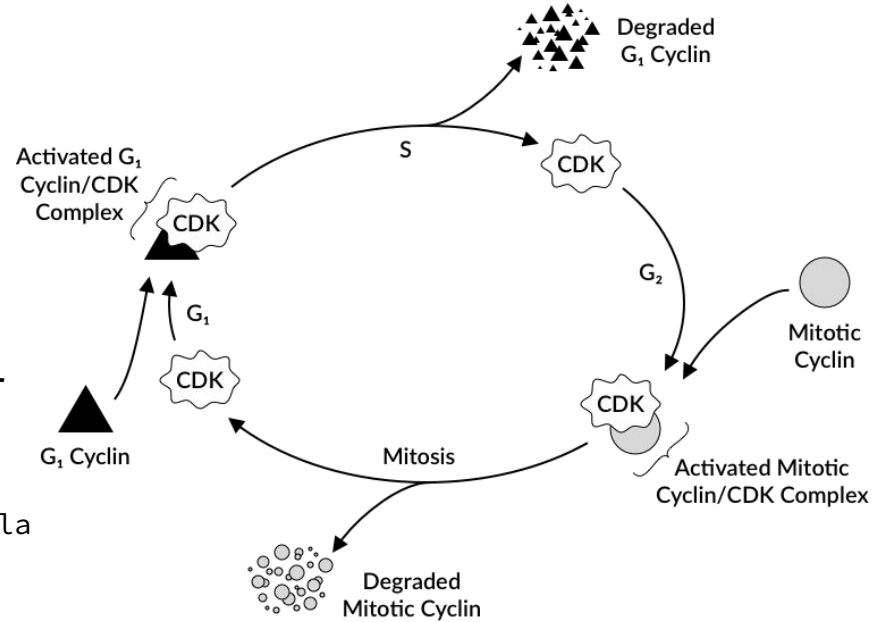
G1/S-cdk

- **G1:** determina si totes les condicions són favorables perquè continuï la divisió cel·lular. És un punt en el qual la cèl·lula es compromet irreversiblement amb el procés de divisió cel·lular. **S-cdk**
- **G2:** s'assegura que tots els cromosomes s'hagin replicat amb precisió sense errors ni danys. Si detecten problemes amb l'ADN, el cicle cel·lular es deté i la cèl·lula intenta completar la replicació de l'ADN o reparar l'ADN danyat. **M-cdk**
- **M:** controla al final de la metafase, determinant si les cromàtides estan unides correctament a les proteïnes del fus mitòtic i per tant aquestes es separaran de manera correcta. **APC**

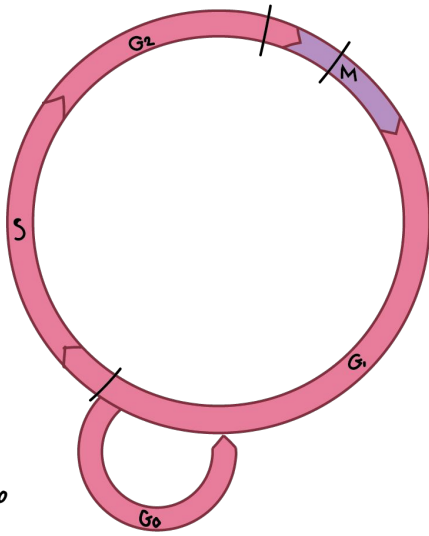
Test

En base al diagrama, quin dels següents descriu millor l'efecte d'una toxina que impedeix la producció de la ciclina G1?

- A. La ciclina mitòtica reemplaçaria funcionalment a la ciclina G1, la qual cosa permetria que la cèl·lula continués dividint-se normalment
- B. La replicació de l'ADN seria inhibida, la qual cosa faria que la cèl·lula deixés de dividir-se
- C. Es bloquejaria la transició a la mitosi, la qual cosa causaria que la cèl·lula deixés de dividir-se
- D. Els punts de control del cicle cel·lular serien ignorats, la qual cosa faria que la cèl·lula esdevingués cancerosa



23/10

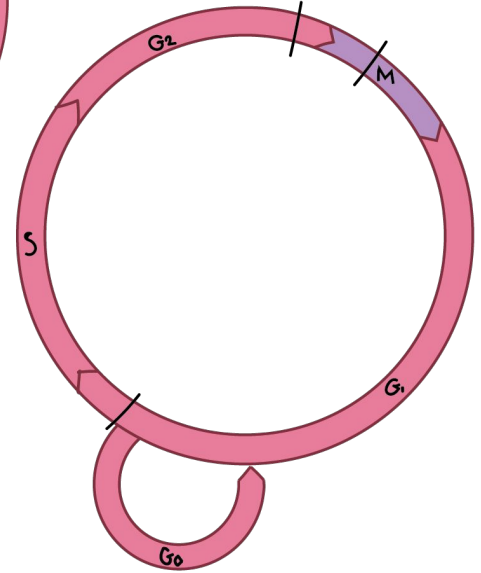


PUNTO DE CONTROL G1

- Verifica:
- Tamaño de la célula
 - Nutrientes
 - Factores de crecimiento
 - Daño al ADN

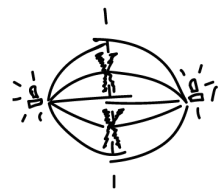
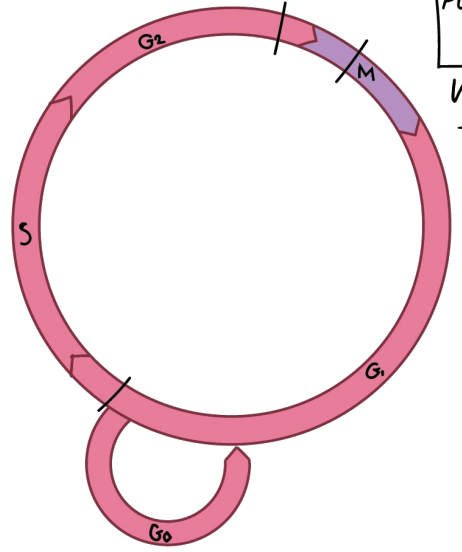
PUNTO DE CONTROL G2

- Verifica:
- Daño al ADN
 - Integridad de la replicación del ADN



PUNTO DE CONTROL DEL HUSO

- Verifica:
- Acoplamiento del cromosoma al huso en la placa metafásica

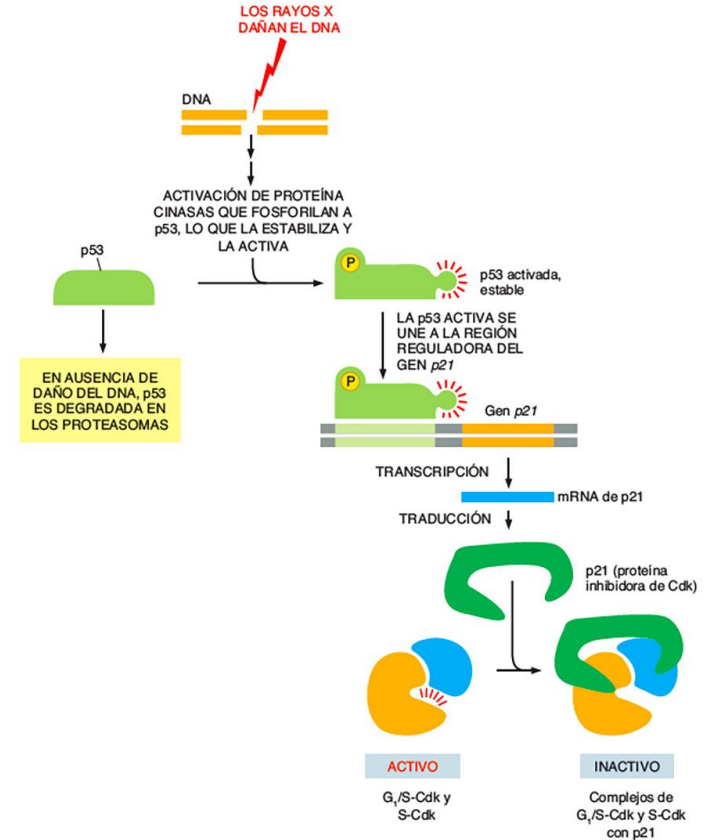


Control de Dany al DNA

Quan el DNA està danyat, proteïnes kinases específiques responen activant la proteïna **p53** i detenint la seva degradació que, en cas contrari, és ràpida.

Per consegüent, s'acumula proteïna p53 activada que estimula la transcripció del gen que codifica a la proteïna inhibidora de Cdk (p21).

La proteïna p21 s'uneix a G1/S-Cdk i S-Cdk i les desactiva, de manera que el cicle cel·lular es deté en G1.

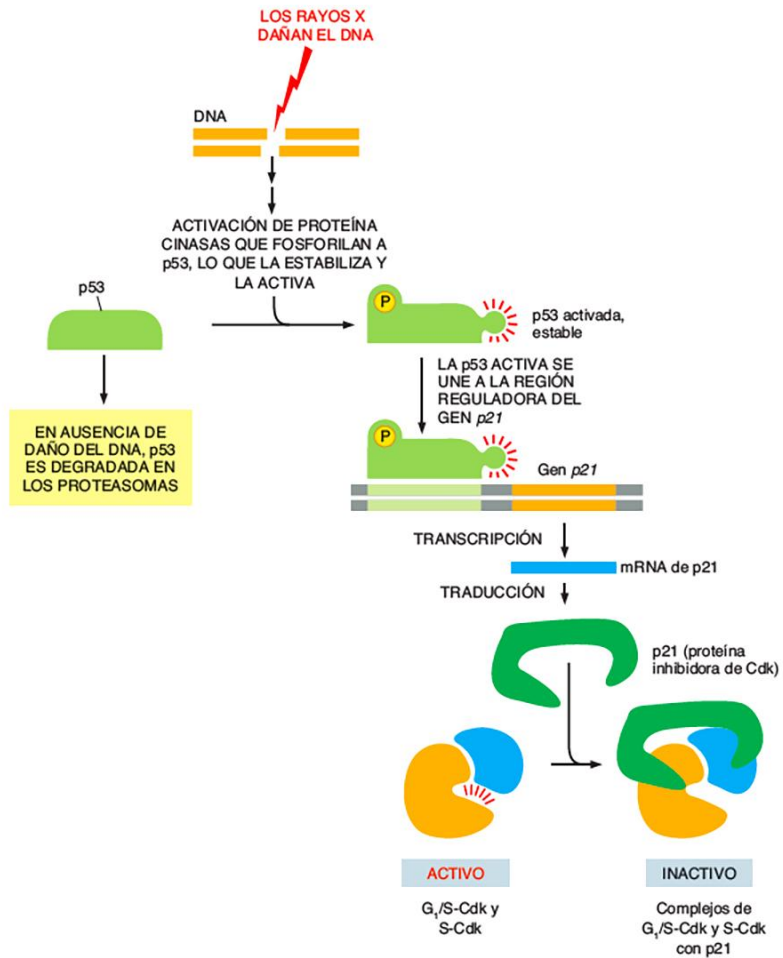


Quines podrien ser les conseqüències d'una cèl·lula si repliqués DNA danyat abans de reparar-lo?

— — —

Després de la generació d'un error en l'ADN, les cèl·lules activen una cascada d'esdeveniments coneguts com a resposta al dany de l'ADN (RDA) per a coordinar, d'una banda, la reparació del dany i, d'altra banda, la detenció transitòria de la progressió del cicle cel·lular fins que el mal s'ha eliminat íntegrament.

Si el dany de l'ADN no es repara, les cèl·lules entren en un estat permanent de senescència cel·lular. L'activació RDA s'ha observat en resposta a diferents estímuls: agents genotòxics, l'escurçament o la disfunció dels telòmers i l'activació **d'oncogens**.



p53 inhibeix cdk indirectament → detenció cicle cel·lular

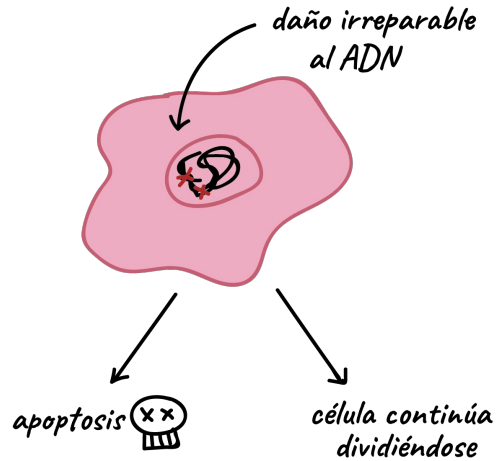


Cómo bloquean la división celular los genes supresores de tumores



El punto de control G_1 se pasa cuando unas proteínas especiales del ciclo celular, la ciclina y Cdk, colaboran para liberar el E2F de la Rb. El factor de transcripción liberado activa a continuación los genes que inician el proceso de división celular.

Apoptosi



SIN RIESGO DE CÁNCER

PUEDE CAUSAR CÁNCER

L'apoptosi elimina les cèl·lules amb DNA danyat, teixits infectats, regula unes certes cèl·lules del sistema immunitari (els limfòcits B i T) per a evitar un autoatac, és part integral del desenvolupament dels teixits, regula la quantitat de cèl·lules que componen un òrgan o teixit, manté l'homeòstasi mitjançant l'activitat coordinada dels productes de gens que regulen la mort cel·lular.

Mort cel·lular programada vs necrosis

APOPTOSIS

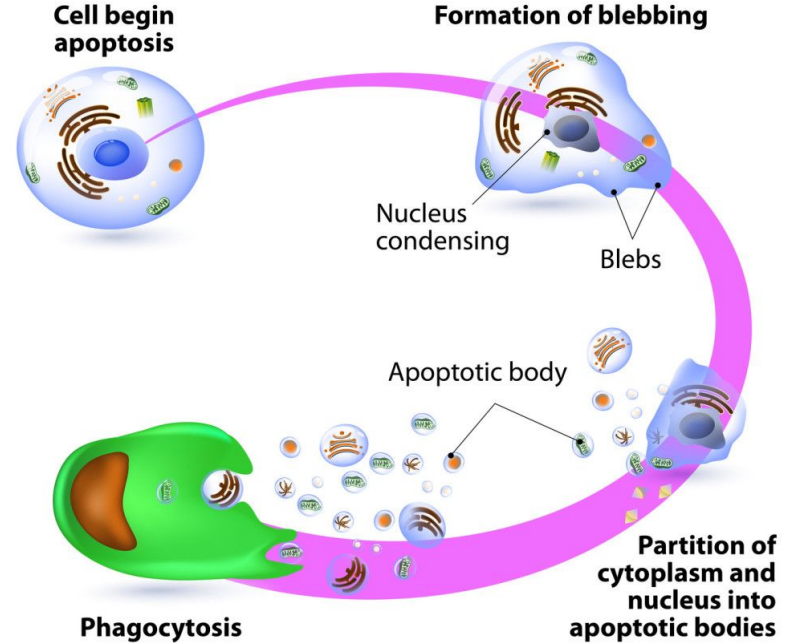
— — —

Té lloc durant les primeres etapes de desenvolupament per a eliminar les cèl·lules innecessàries, per exemple, les que es troben entre els dits quan es desenvolupa una mà.

En els adults, l'apoptosi s'utilitza per a desfer-se de les cèl·lules que han estat danyades irreversiblement.

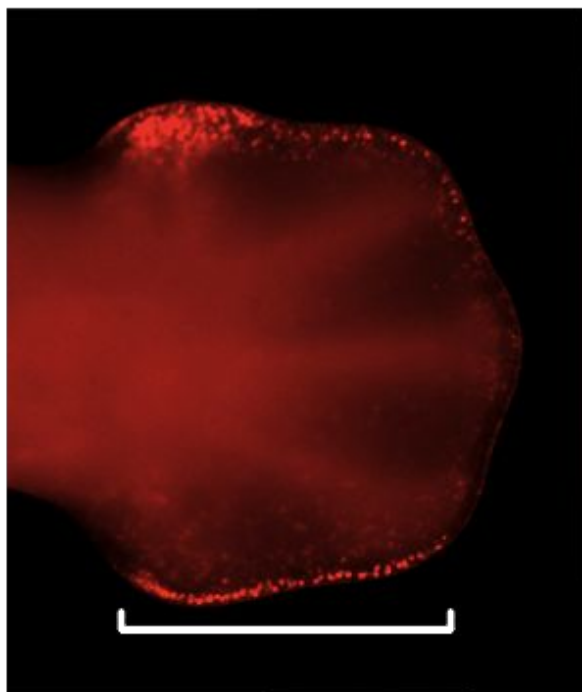
En els organismes adults és imprescindible per mantenir la mida constant, mantenint un equilibri entre la proliferació i l'apoptosi.

Quan aquest equilibri es troba alterat, això pot donar lloc a una divisió cel·lular incontrolada i, per consegüent, a un procés cancerígen.

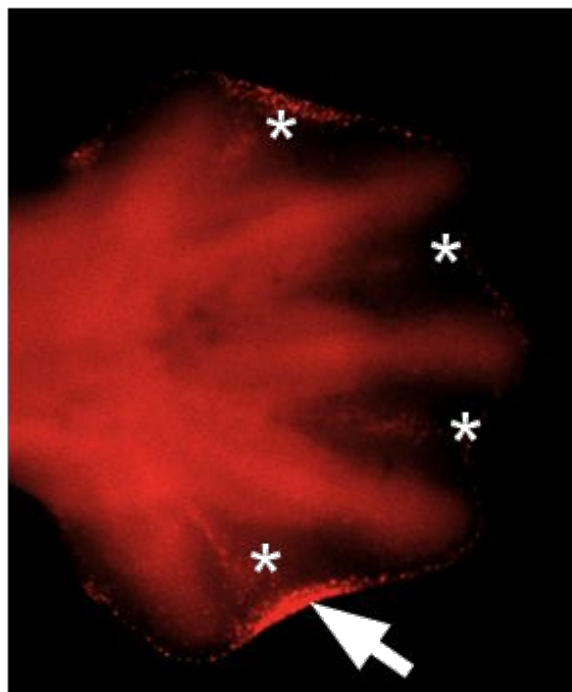


Assajos apoptòtics

Puntos rojos muestran células en proceso de apoptosis



Pata de ratón en desarrollo,
día embrionario 12.5



Pata de ratón en desarrollo,
día embrionario 13.5

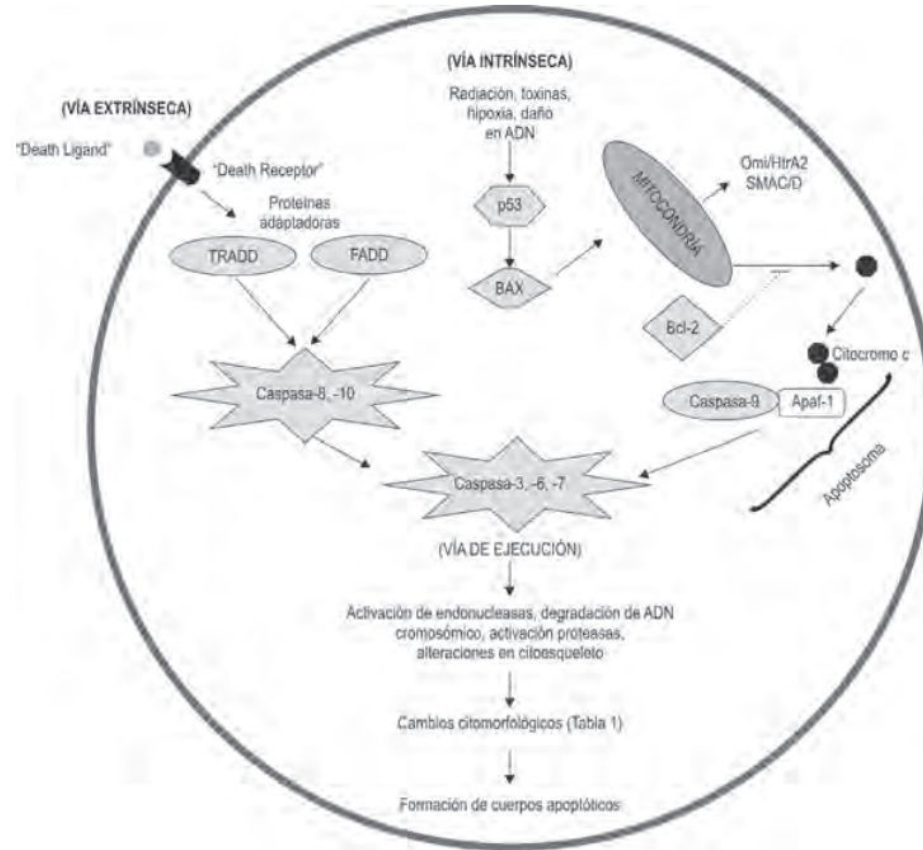


Figura 1. Representación esquemática de las vías de señalización celular de activación de apoptosis en una célula. Las principales vías son la extrínseca y la intrínseca, las cuales activan la vía de ejecución.

Senescència

— — —

La senescència cel·lular és un estat de detenció replicativa permanent que permet que les cèl·lules es mantinguin viables i metabòlicament actives, però resistent als estímuls apoptòtics i mitogènics.

La senescència és una conseqüència natural de la replicació de l'ADN dels telòmers associada a l'erosió, però també pot ser induïda pels esdeveniments de manera prematura com ara falta de reparació de trencament de l'ADN de doble cadena.

Marcadors validats específics poden identificar les cèl·lules senescentes, incloent-hi l'activitat associada: S- β -galactosidasa associada a senescència, alteracions de la cromatina, canvis en la morfologia cel·lular, p16 activada (estabilitza a **p53**) i p53 (que pot activar a ATM, que inicia la resposta de dany genètic) i la detenció del cicle cel·lular permanent.

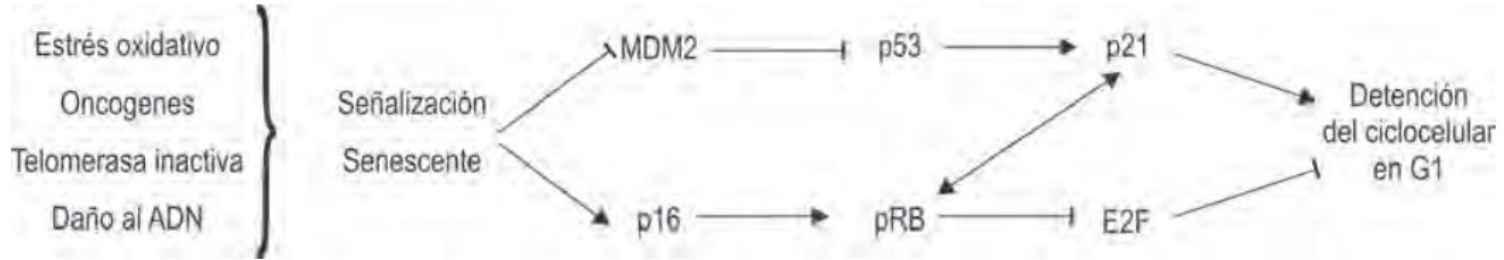
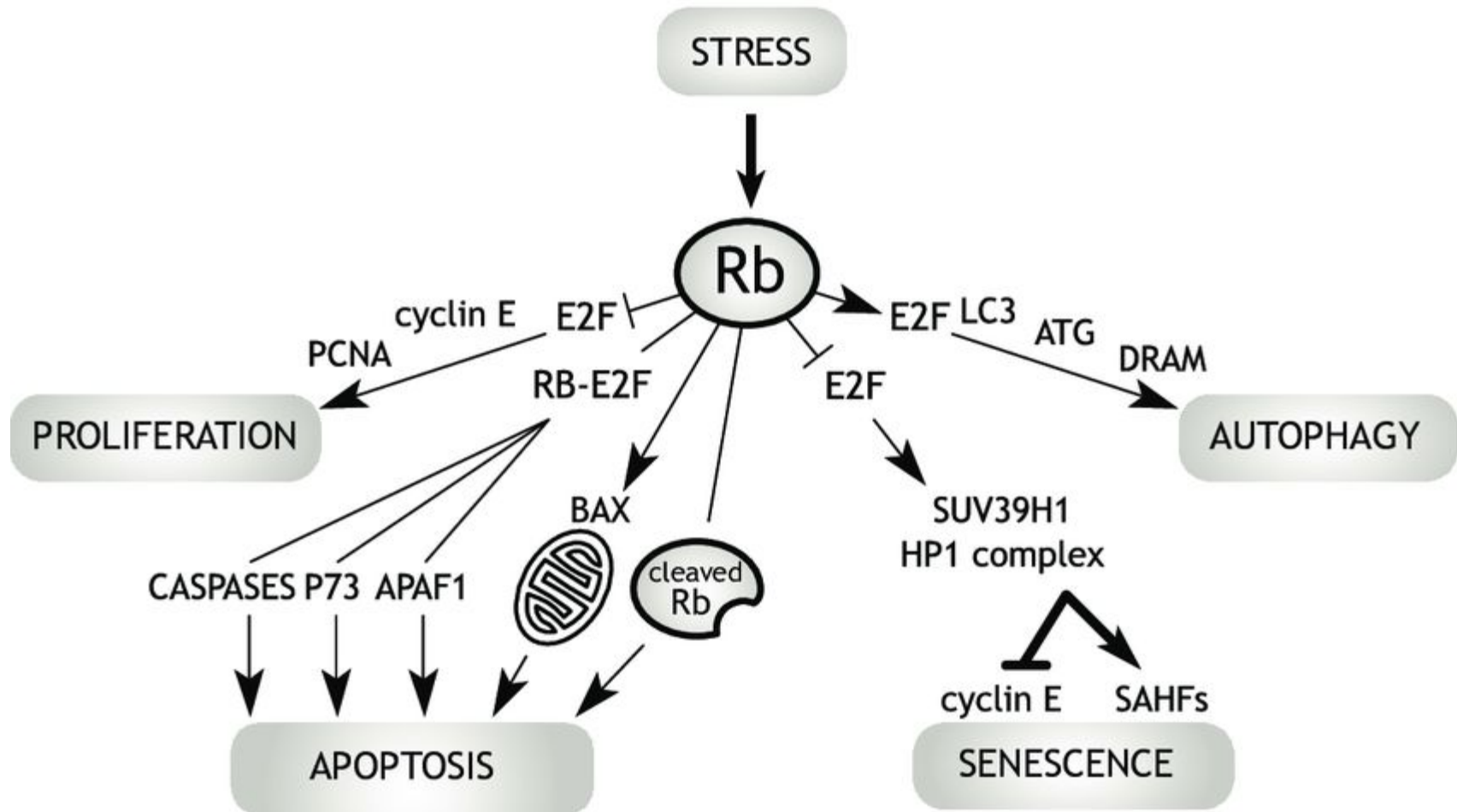


Figura 2. Diagrama de las dos vías de señalización intracelular en el fenómeno de senescencia celular. Posterior al arresto del ciclo celular se genera un fenotipo senescente.



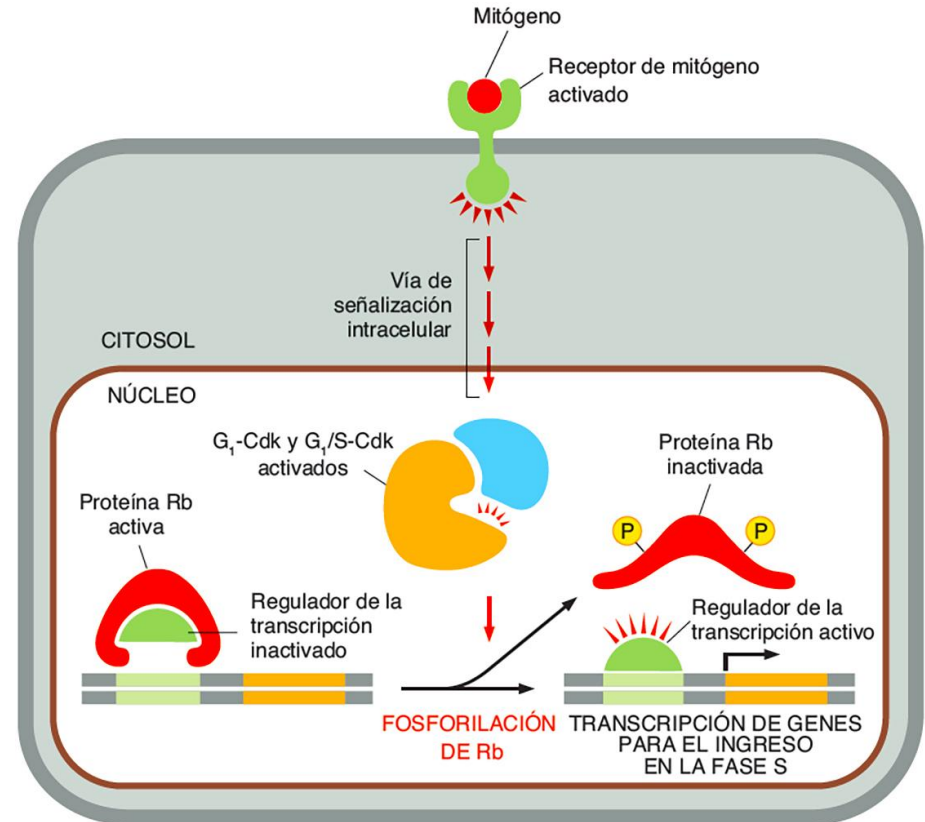
Mitogen: factors que estimulen la divisió cel·lular

Una de les maneres en què els **mitògens** estimulen la proliferació cel·lular és la inhibició de la proteïna Rb.

En absència de mitògens, la proteïna Rb desfosforilada manté a determinats reguladors de la transcripció en estat inactiu.

La unió de mitògens a receptors de la superfície cel·lular activa vies de senyalització intracel·lular que indueixen la formació i l'activació de complexos G1-Cdk i G1/S-Cdk.

Aquests complexos fosforilen, i en conseqüència desactiven, a la proteïna Rb; això allibera els reguladors de la transcripció necessaris per a activar la transcripció dels gens requerits per a ingressar en la fase S.

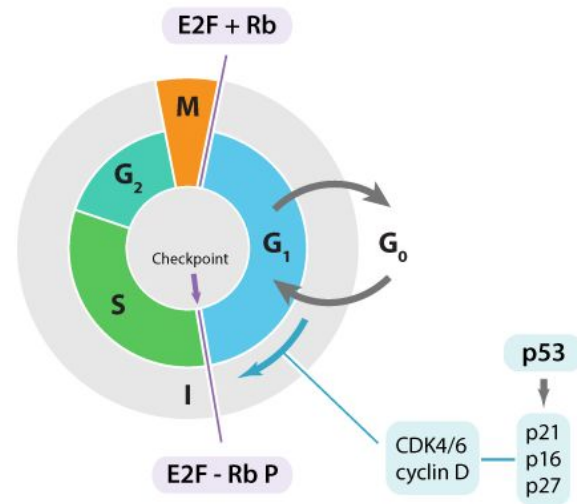


Si una línia cel·lular s'immortalitza significa que ha perdut el control en la regulació del cicle cel·lular?

Com és el cicle cel·lular dels cultius? - Immortalització

Hi ha diversos mecanismes per immortalitzar cultius:

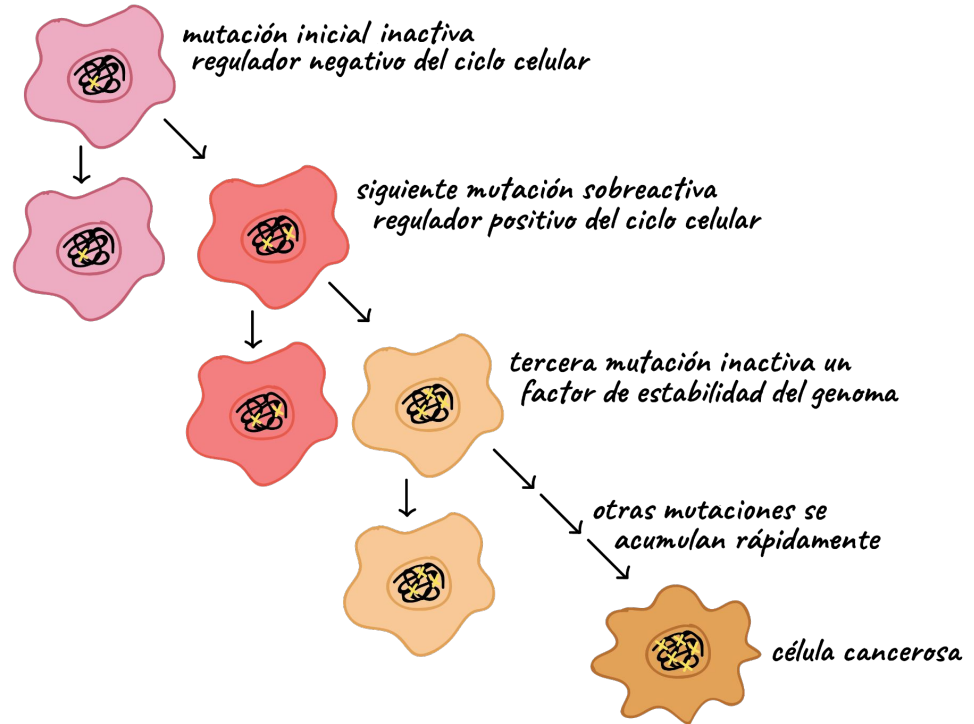
- Ús d'oncogens (E6 i E7)
- Inhibició p53
- Introduir telomerasa catalítica
- Alterar checkpoints, inactivant pRb i p53



It is important to note that not all immortalized cells will retain the same characteristics as the primary cells and often times characterization experiments are performed on the newly established cell lines to determine their usefulness in research settings.

Descontrol del ciclo celular → Càncer

SERIE HIPOTÉTICA DE MUTACIONES QUE LLEVAN AL CÁNCER



PRÀCTICA MITOSI CEBA

