



Pontificia Universidad Católica de Chile
Facultad de Ciencias Biológicas
BIO141C - Biología de la Célula
Secciones 1, 2, 3, 4, 9, 10
2° Semestre, 2020

Taller 7

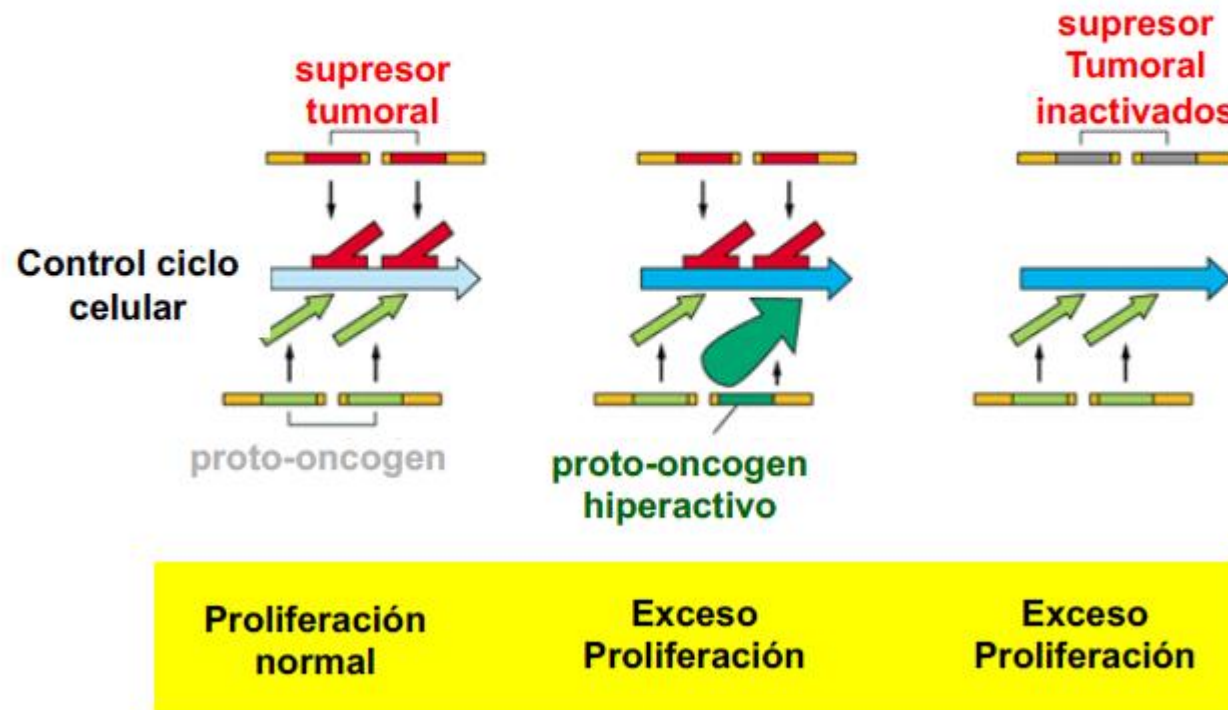
Ciclo Celular, Mitosis y Meiosis

DRA. ALICIA NOGUERAS

INSTRUCTORES: DANIELA ORELLANA – CARLOS SANTANA

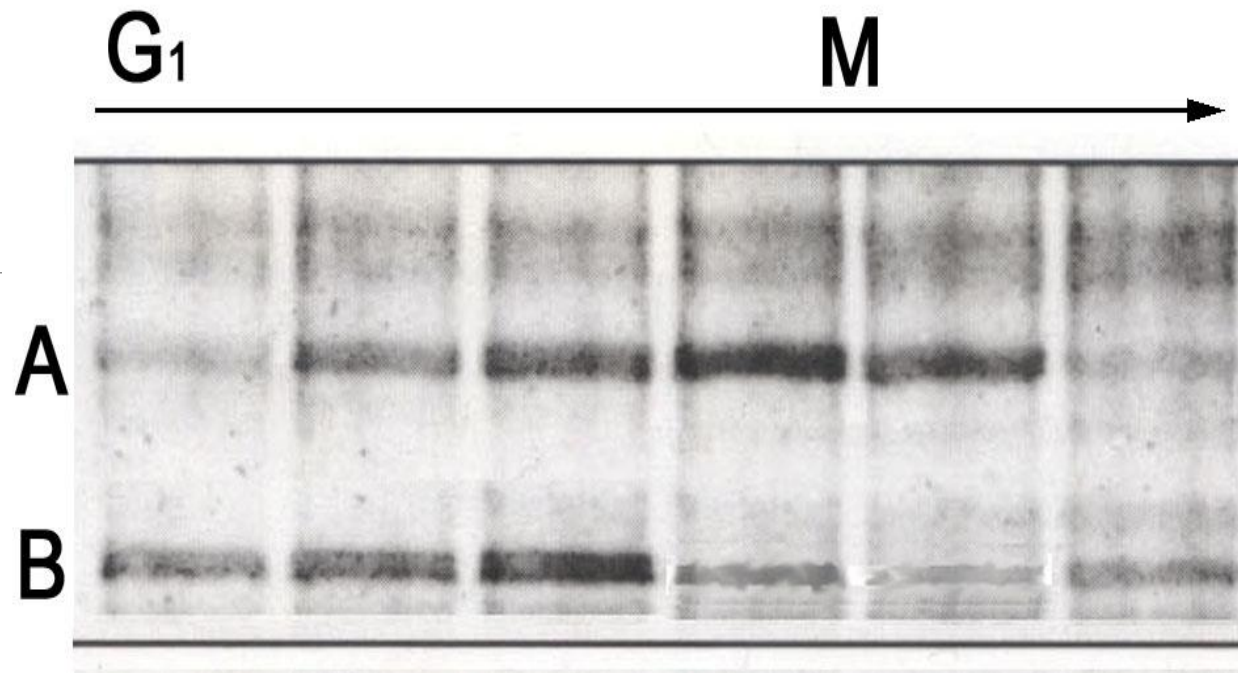
-
1. Una mutación en el proto-oncogen Ras puede causar cáncer en la condición heterocigota, pero una mutación en el supresor de tumores Retinoblastoma (Rb) sólo puede causar cáncer en su condición homocigota. De esta diferencia entre mutaciones dominantes y recesivas: ¿qué puede inferir acerca de las funciones de los productos génicos de Ras y Rb en la actividad normal de las células?

Proto-oncogenes y supresores tumorales



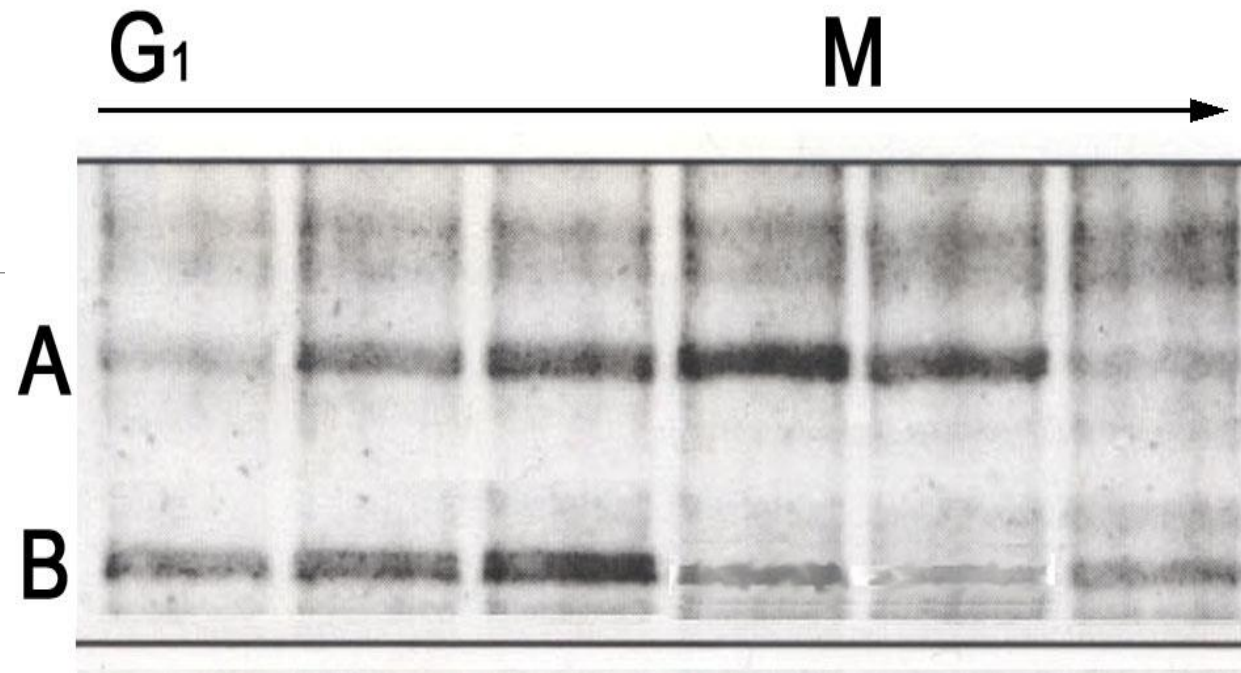
- La mutación en un alelo de un proto-oncogen puede llevar a que se convierta en un oncogen.
- Una mutación en un gen supresor de tumores, para inactivar su función requiere que la mutación sea en ambos alelos.
- Si la mutación es en sólo un alelo, este puede suplir la función del alelo mutado y seguir ejerciendo su función normal.

2. Ovocitos de *Xenopus* fueron fertilizados y tuvieron varios ciclos de división celular sincronizados en presencia de metionina marcada radioactivamente con S35. Algunos de los huevos fueron recolectados y homogeneizados a diferentes tiempos durante un ciclo de replicación/división. Las proteínas extraídas de estos huevos sincronizados a distintos tiempos fueron separadas por electroforesis en un gel de poliacrilamida. El gel fue luego secado y las proteínas marcadas radioactivamente fueron identificadas por autoradiografía. La figura muestra parte del gel. Cada carril representa una muestra recolectada secuencialmente durante el ciclo celular. Nota: este tipo de procedimiento desnatura las proteínas.

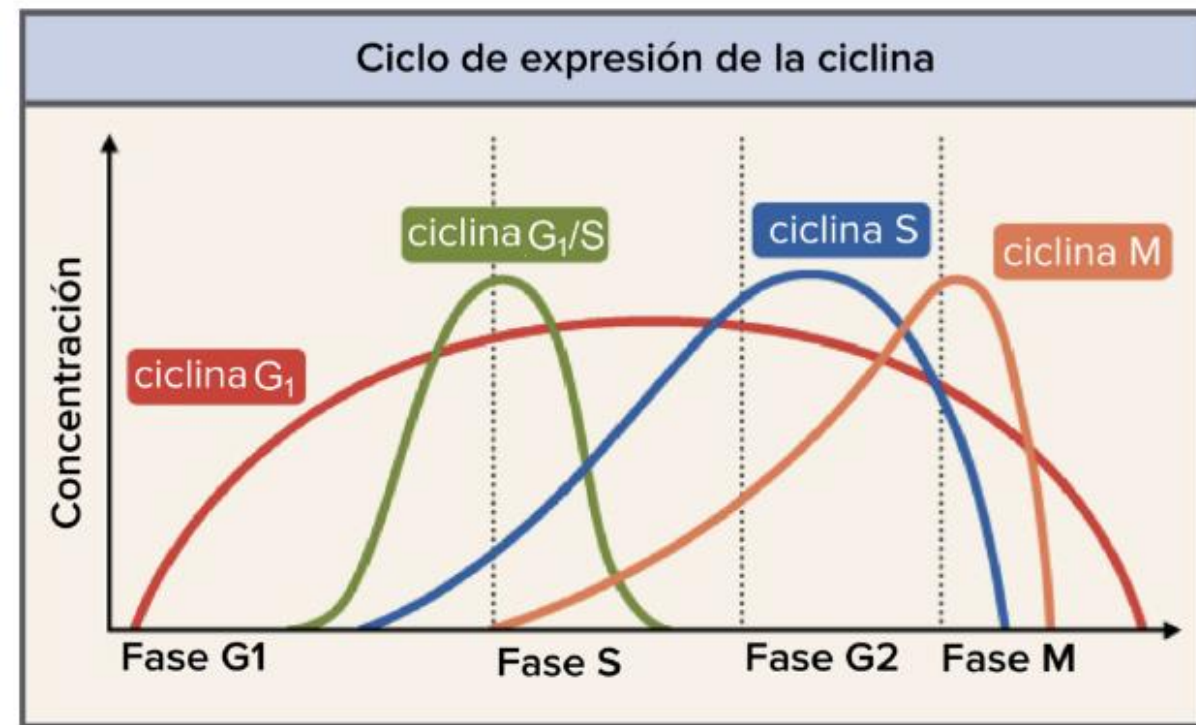
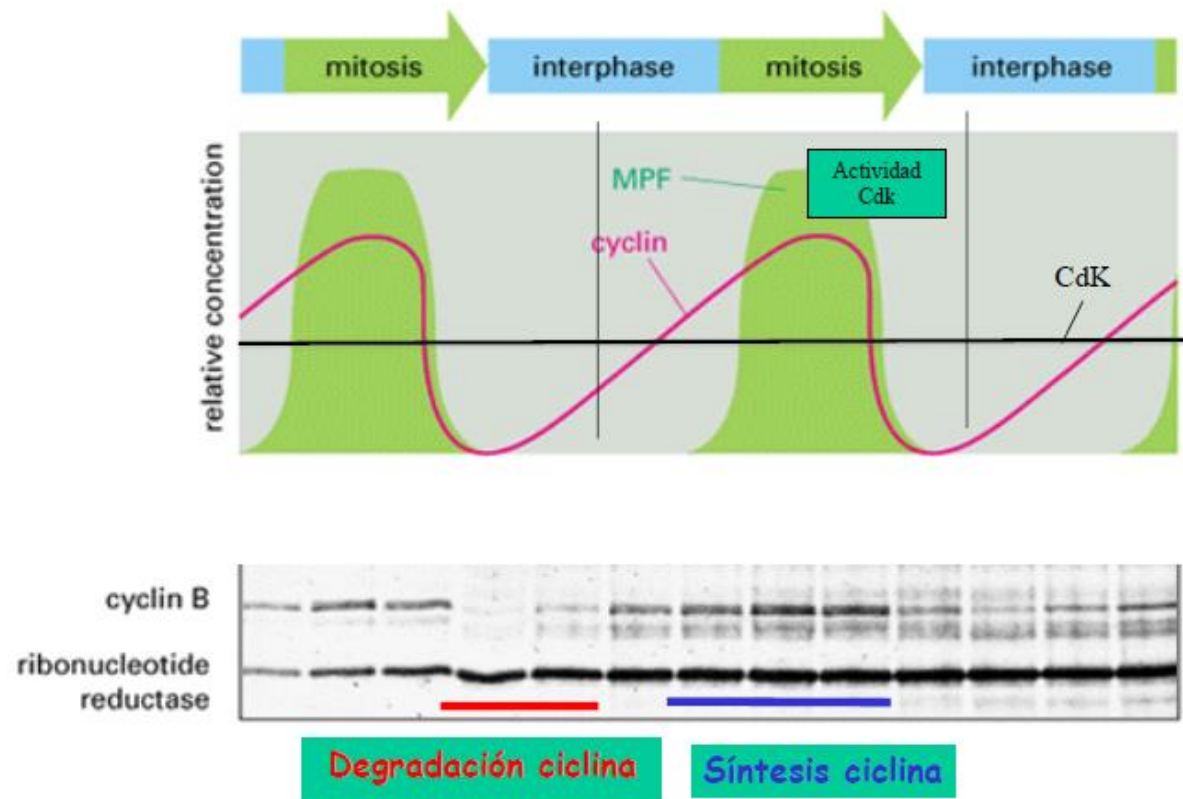


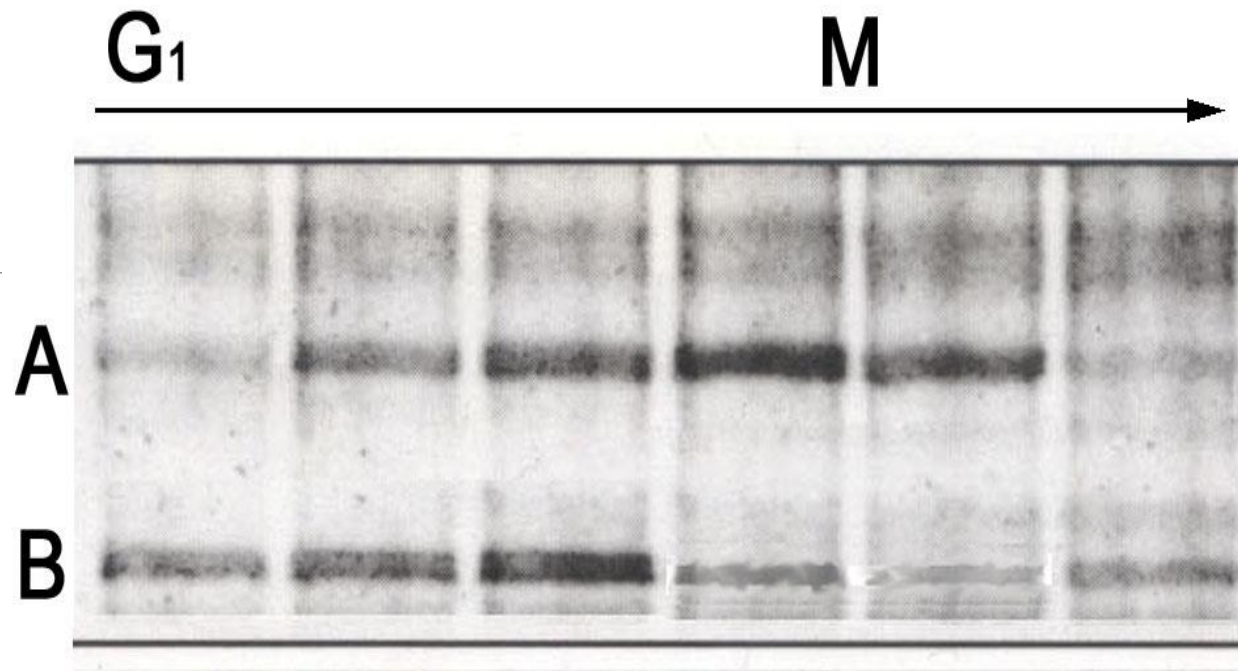
a) ¿Qué está ocurriendo con las proteínas A y B? ¿Por qué se va incrementando la intensidad de las bandas durante el ciclo celular? ¿Por qué la intensidad de las bandas disminuye abruptamente?

Las proteínas A y B cambian su concentración a lo largo del ciclo. La intensidad de las bandas se incrementa porque las proteínas están siendo sintetizadas. La intensidad disminuye abruptamente cuando son degradadas.



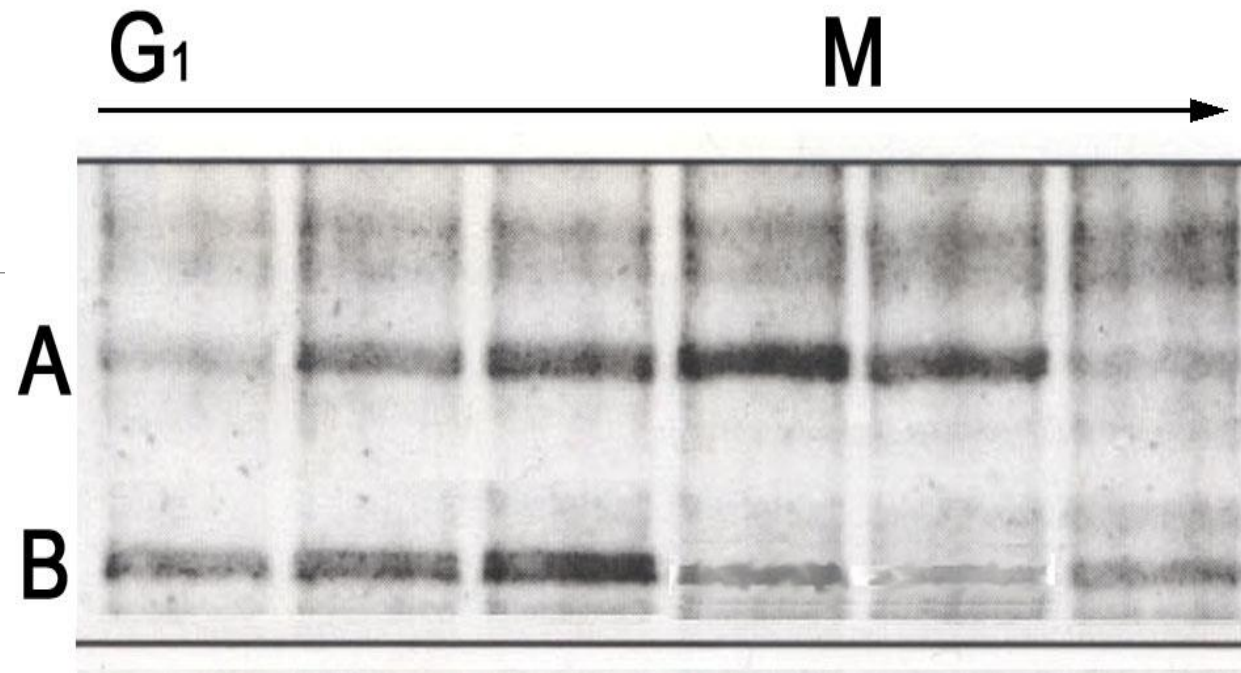
b) ¿Las proteínas A y B son probablemente Ciclinas, Cdks o complejos Cyclina-Cdks? ¿Cuál estará acoplada al inicio de la fase S? ¿Cuál a la fase M?



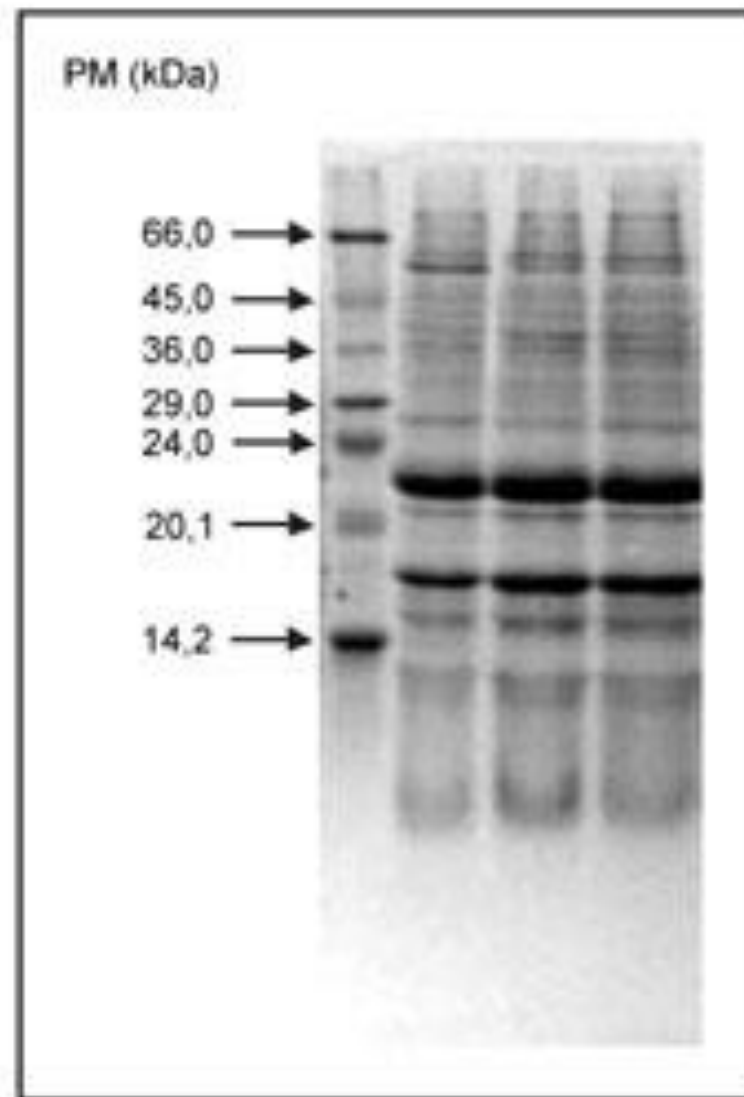


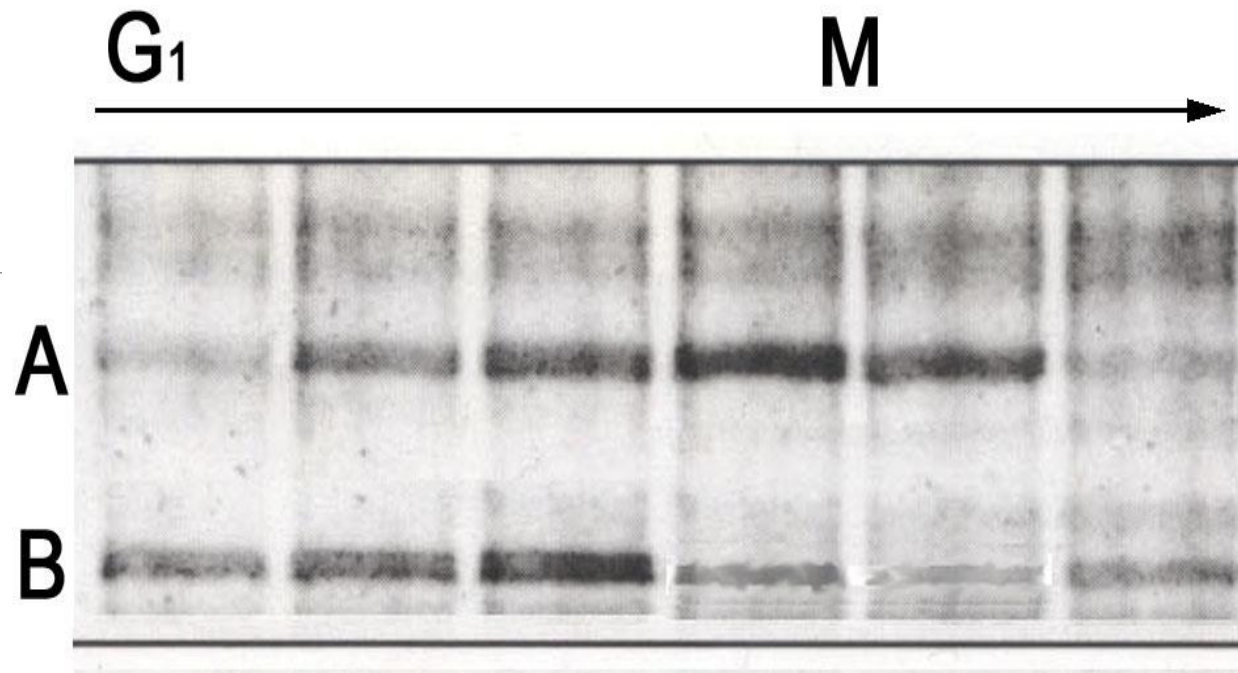
b) ¿Las proteínas A y B son probablemente Ciclinas, Cdks o complejos Cyclina-Cdks? ¿Cuál estará acoplada al inicio de la fase S? ¿Cuál a la fase M?

Son ciclinas, no son cdks porque la concentración de estas proteínas se mantiene constante a lo largo del ciclo, y no pueden ser complejos ya que éstos se desnaturan en el gel. B se acopla a la fase S. A se acopla a la fase M.



c) Si el gel, en vez de ser expuesto a autoradiografía, para detectar las proteínas marcadas, se hubiera teñido para revelar las proteínas totales (todas las proteínas presentes en la célula en un momento dado: ¿qué esperarías observar?





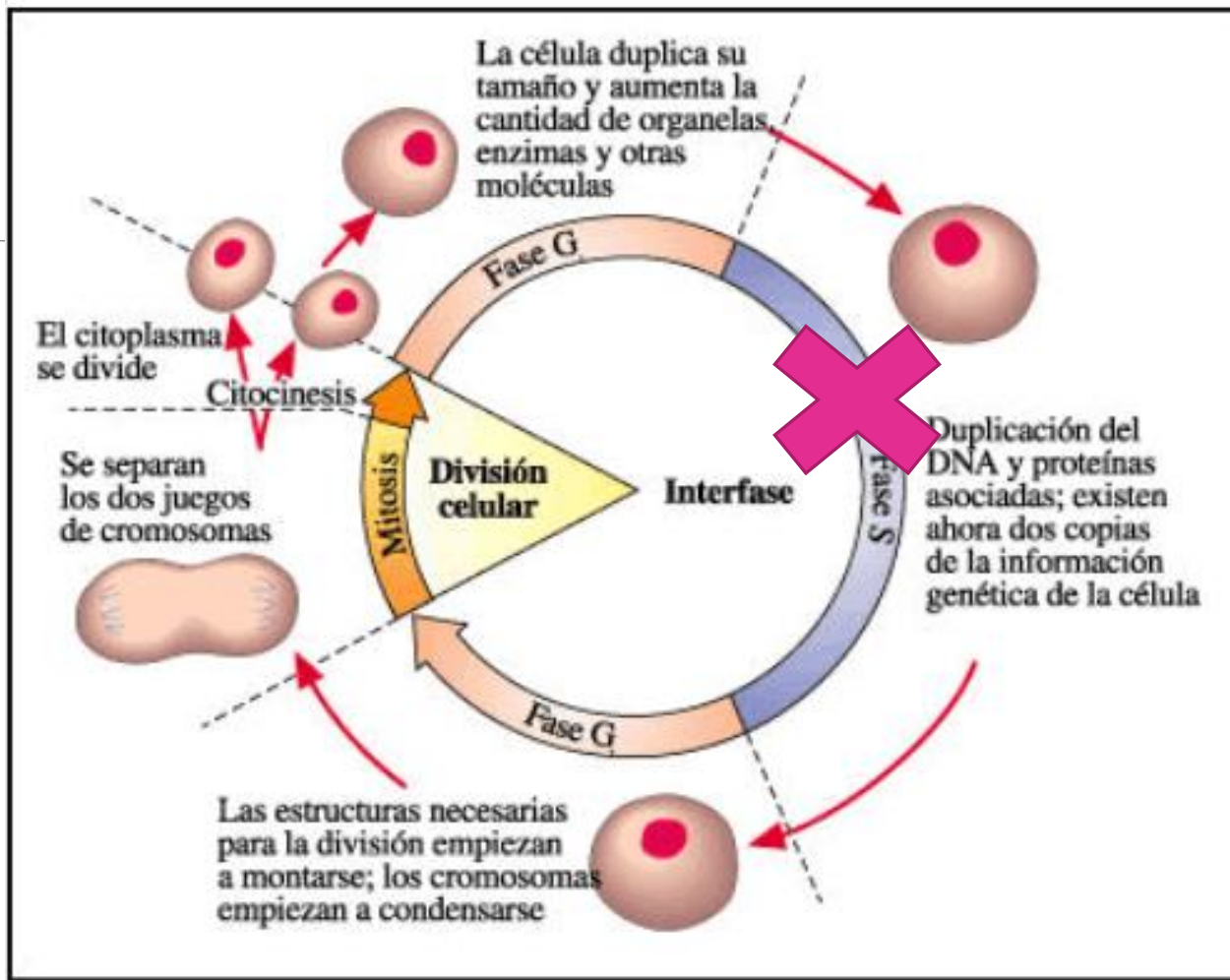
c) Si el gel, en vez de ser expuesto a autoradiografía, para detectar las proteínas marcadas, se hubiera teñido para revelar las proteínas totales (todas las proteínas presentes en la célula en un momento dado: ¿qué esperaríamos observar?

Se observaría muchísimas bandas de todas las proteínas presentes en la célula en un momento dado. No se podría observar el cambio en la concentración de las proteínas que se están sintetizando y degradando.

3. Se realizaron los siguientes tratamientos a células en cultivos sincrónicos

Cultivo N°	Condiciones	Resultados
1	Control sin tratamiento	Las células pasaron por las fases S, G2 y M, generando células hijas normales
2	Tratamiento con cafeína	Igual que el cultivo N° 1
3	Tratamiento con hidroxiaurea	Las células quedaron detenidas en fase S
4	Tratamiento con cafeína e Hidroxiaurea	Las células pasaron por las fases S, G2 y M, pero generaron células hijas no viables con DNA incompletamente replicado

a) ¿Qué efecto tiene la hidroxiaurea sobre el metabolismo de las células en ciclo proliferativo?



La Hidroxiurea
inhibe la síntesis de
ADN por el bloqueo
de la síntesis de
desoxinucleótidos

3. Se realizaron los siguientes tratamientos a células en cultivos sincrónicos

Cultivo N°	Condiciones	Resultados
1	Control sin tratamiento	Las células pasaron por las fases S, G2 y M, generando células hijas normales
2	Tratamiento con cafeína	Igual que el cultivo N° 1
3	Tratamiento con hidroxiaurea	Las células quedaron detenidas en fase S
4	Tratamiento con cafeína e Hidroxiaurea	Las células pasaron por las fases S, G2 y M, pero generaron células hijas no viables con DNA incompletamente replicado

a) ¿Qué efecto tiene la hidroxiaurea sobre el metabolismo de las células en ciclo proliferativo?

La hidroxiaurea inhibe la síntesis de ADN (por bloqueo en la síntesis de deoxinucleótidos)

3. Se realizaron los siguientes tratamientos a células en cultivos sincrónicos

Cultivo N°	Condiciones	Resultados
1	Control sin tratamiento	Las células pasaron por las fases S, G2 y M, generando células hijas normales
2	Tratamiento con cafeína	Igual que el cultivo N° 1
3	Tratamiento con hidroxiurea	Las células quedaron detenidas en fase S
4	Tratamiento con cafeína e Hidroxiurea	Las células pasaron por las fases S, G2 y M, pero generaron células hijas no viables con DNA incompletamente replicado

b) Explique los resultados del cultivo 4

¿DNA replicado?
¿Está reparado todo el
daño al DNA?

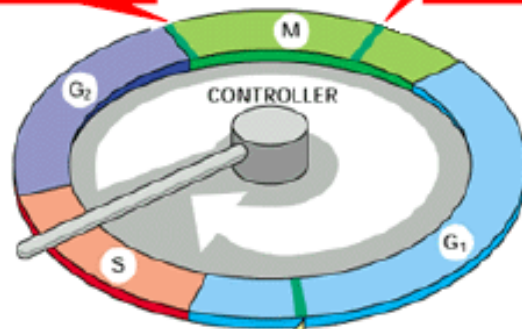
CHECKPOINT G2

Entrada
Fase M

Cromosomas unidos
al huso mitótico

CHECKPOINT
METAFASE

Salida
Fase M



CHECKPOINT
Condiciones externas e
internas.

Tamaño, nutrientes,
daño al DNA, factores
de crecimiento

Hidroxiurea + cafeína
avanza en el ciclo
celular, saltándose
checkpoints de G2 y
fase M

3. Se realizaron los siguientes tratamientos a células en cultivos sincrónicos

Cultivo N°	Condiciones	Resultados
1	Control sin tratamiento	Las células pasaron por las fases S, G2 y M, generando células hijas normales
2	Tratamiento con cafeína	Igual que el cultivo N° 1
3	Tratamiento con hidroxiaurea	Las células quedaron detenidas en fase S
4	Tratamiento con cafeína e Hidroxiaurea	Las células pasaron por las fases S, G2 y M, pero generaron células hijas no viables con DNA incompletamente replicado

b) Explique los resultados del cultivo 4

Las células tratadas con hidroxiaurea no son capaces de completar la síntesis de ADN (según los resultados del cultivo N°3), pero en presencia de cafeína ellas prosiguen a las fases G2 y M, sobrepasando el bloqueo. El producto de la división celular en estas condiciones es defectuoso (células hijas no viables), ya que la síntesis de ADN no se ha completado

3. Se realizaron los siguientes tratamientos a células en cultivos sincrónicos

Cultivo N°	Condiciones	Resultados
1	Control sin tratamiento	Las células pasaron por las fases S, G2 y M, generando células hijas normales
2	Tratamiento con cafeína	Igual que el cultivo N° 1
3	Tratamiento con hidroxiaurea	Las células quedaron detenidas en fase S
4	Tratamiento con cafeína e Hidroxiaurea	Las células pasaron por las fases S, G2 y M, pero generaron células hijas no viables con DNA incompletamente replicado

c) ¿Qué efecto tiene el tratamiento sólo con cafeína sobre el ciclo proliferativo a nivel molecular? Explique.

EL tratamiento sólo con cafeína no afecta el progreso de la células por las diferentes etapas del ciclo proliferativo, como se evidencia en los resultados del cultivo N°2 que son similares al control sin tratamiento.