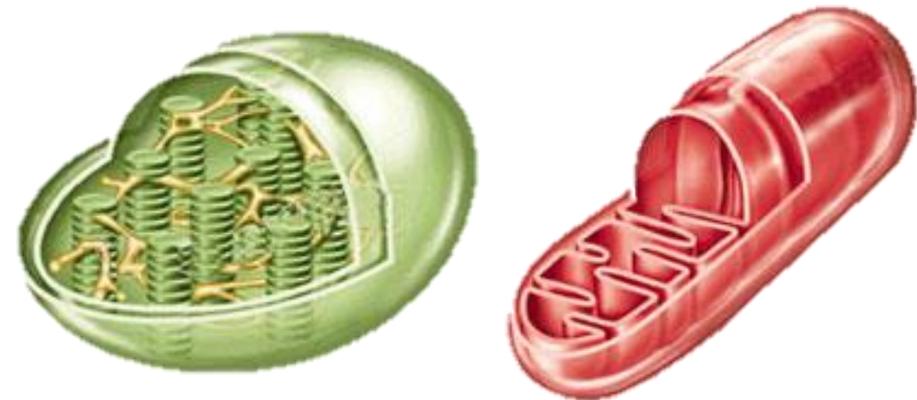


AS ORGANELAS RESPONSÁVEIS PELA GERAÇÃO DE ENERGIA: CLOROPLASTOS E MITOCÔNDRIAS

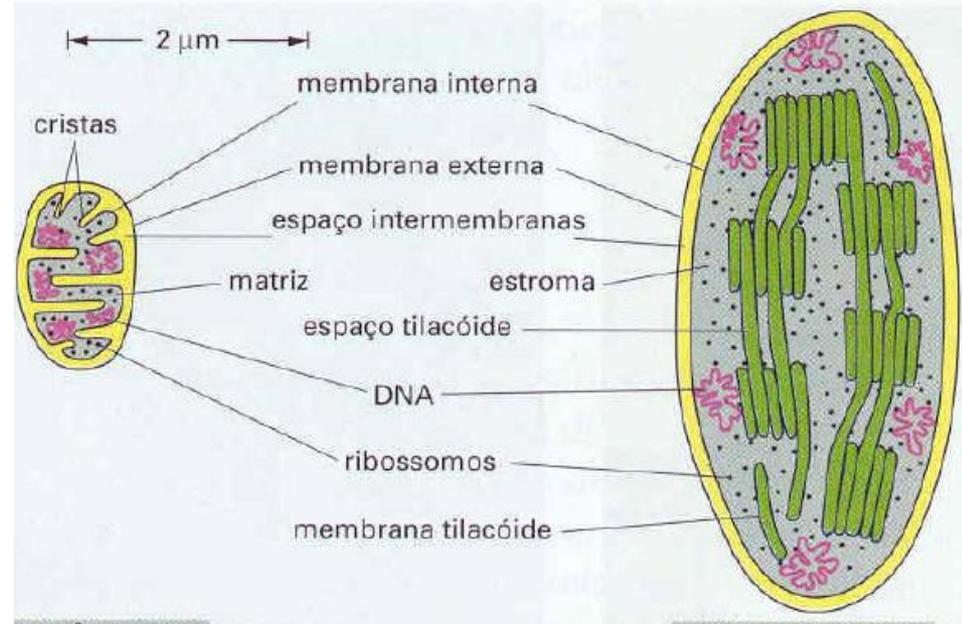
Aula Teórica 8

LGN0114 – Biologia Celular

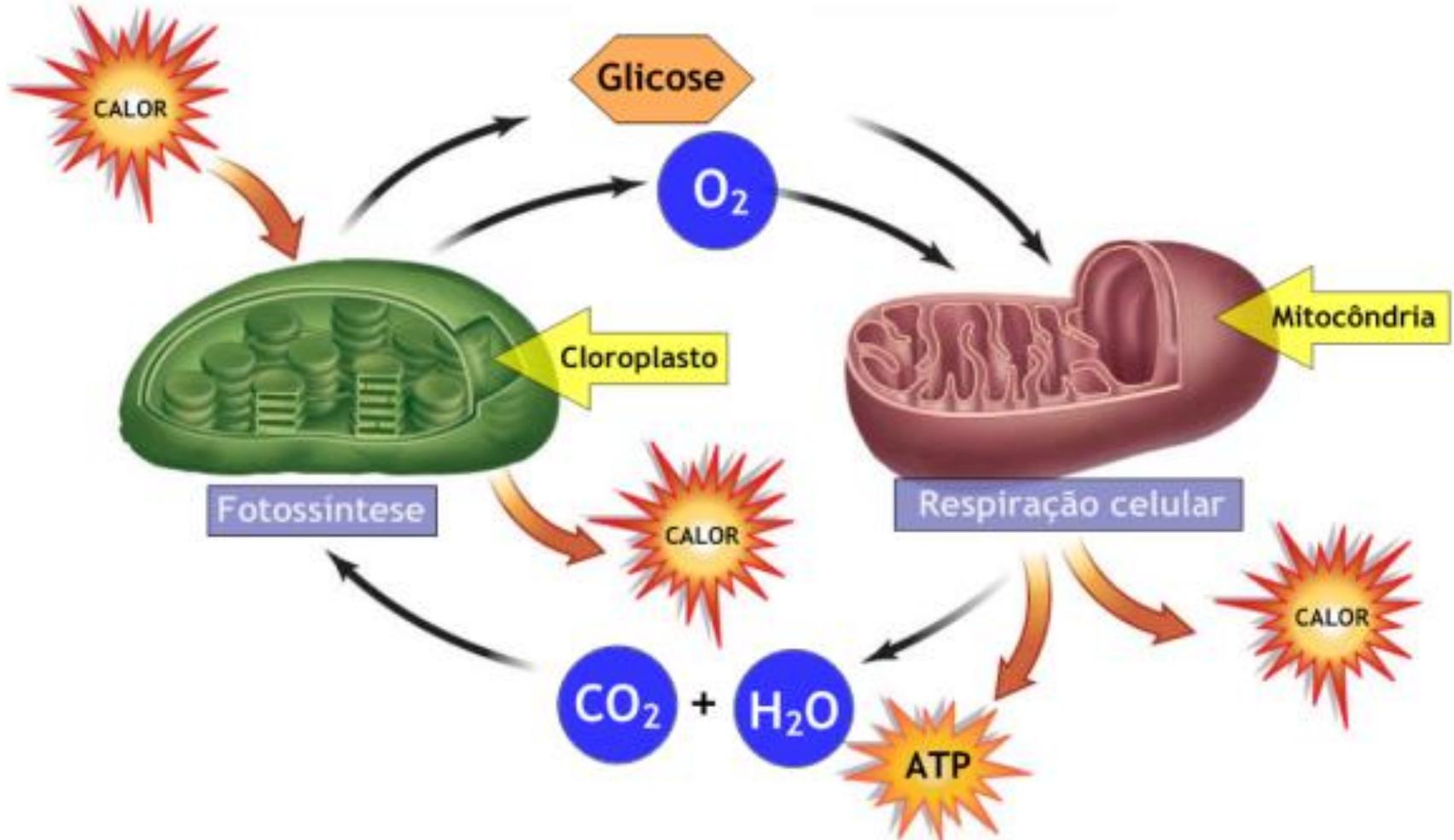


Maria Carolina Quecine
Departamento de Genética
mquecine@usp.br

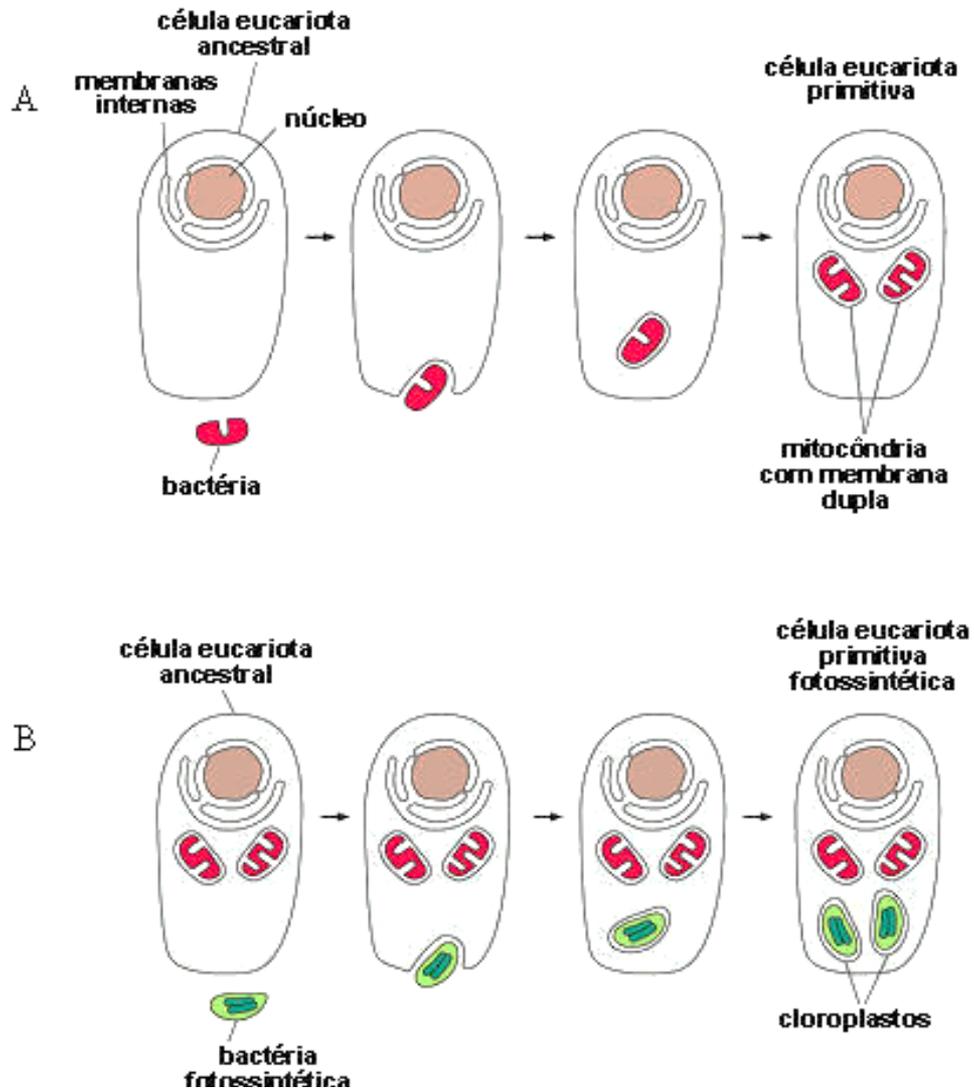
MITOCÔNDRIA E CLOROPLASTO



GERAÇÃO DE ENERGIA PELAS CÉLULAS



Possíveis mecanismos de endossimbiose da mitocôndria e do cloroplasto

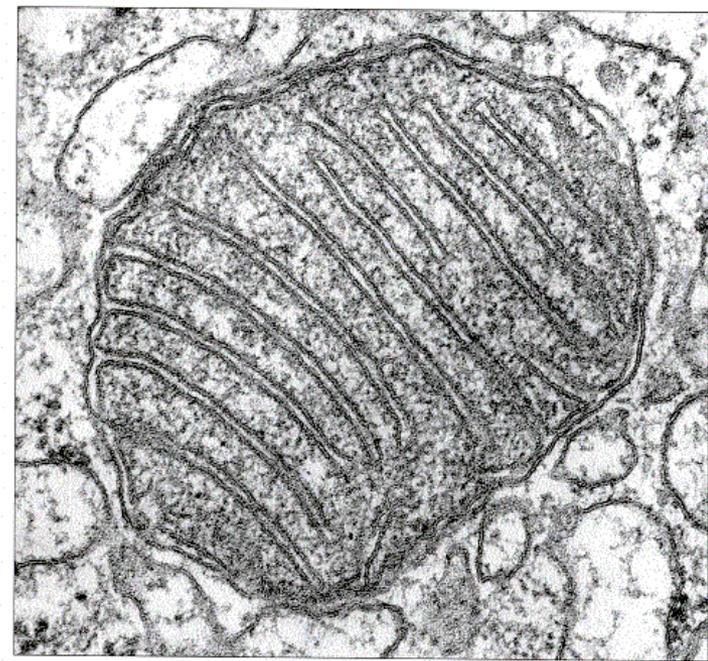


✓ Origem endossimbiótica

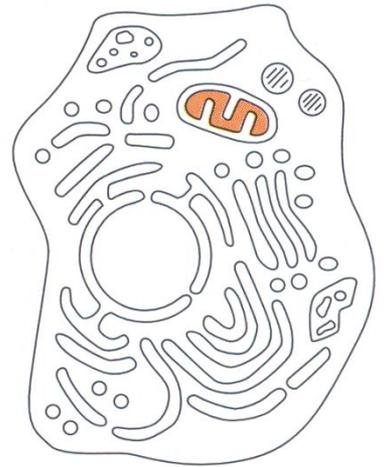
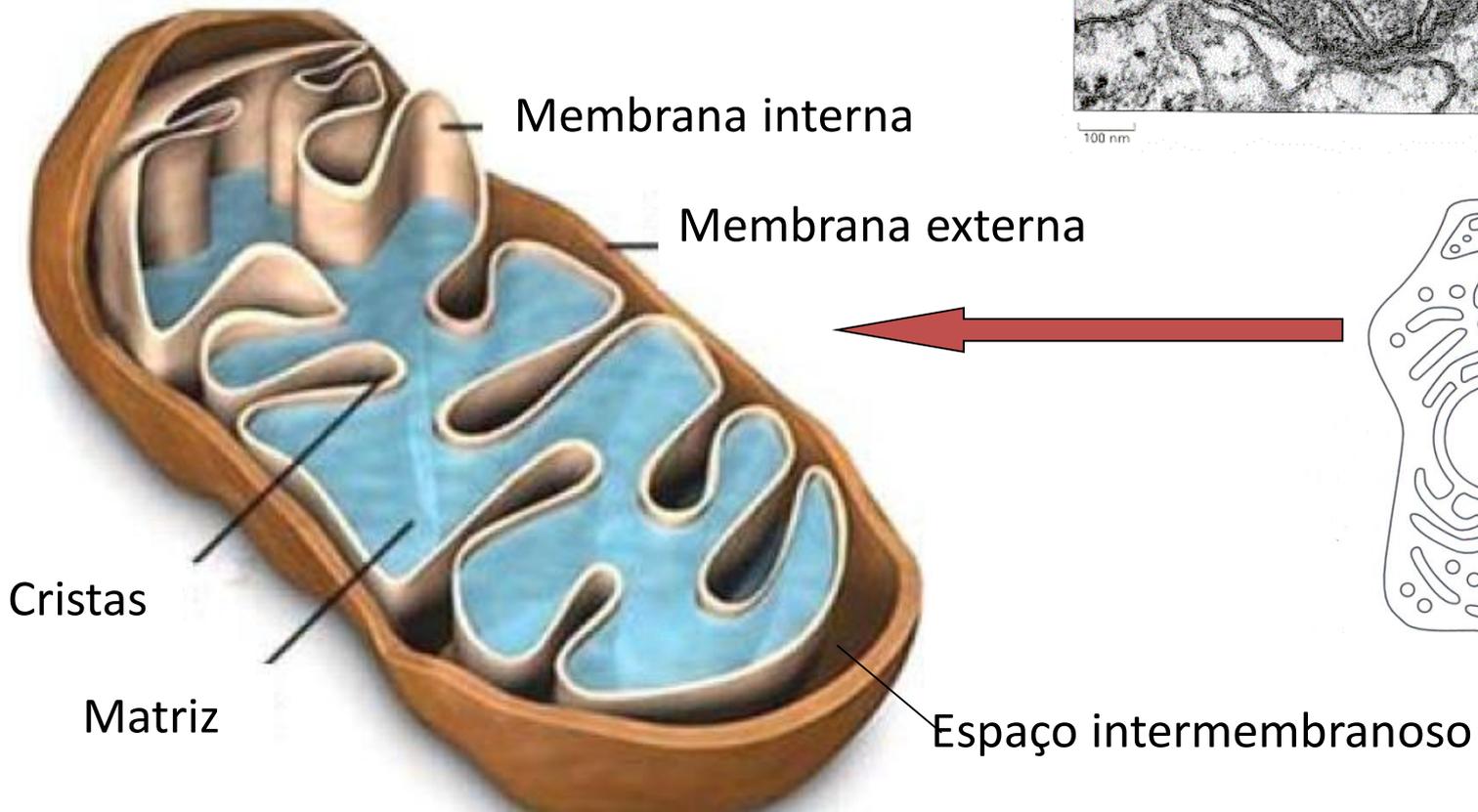
- Membrana dupla

- Genoma próprio

MITOCÔNDRIAS



100 nm



MITOCÔNDRIAS

ESTRUTURA

Duas membranas:

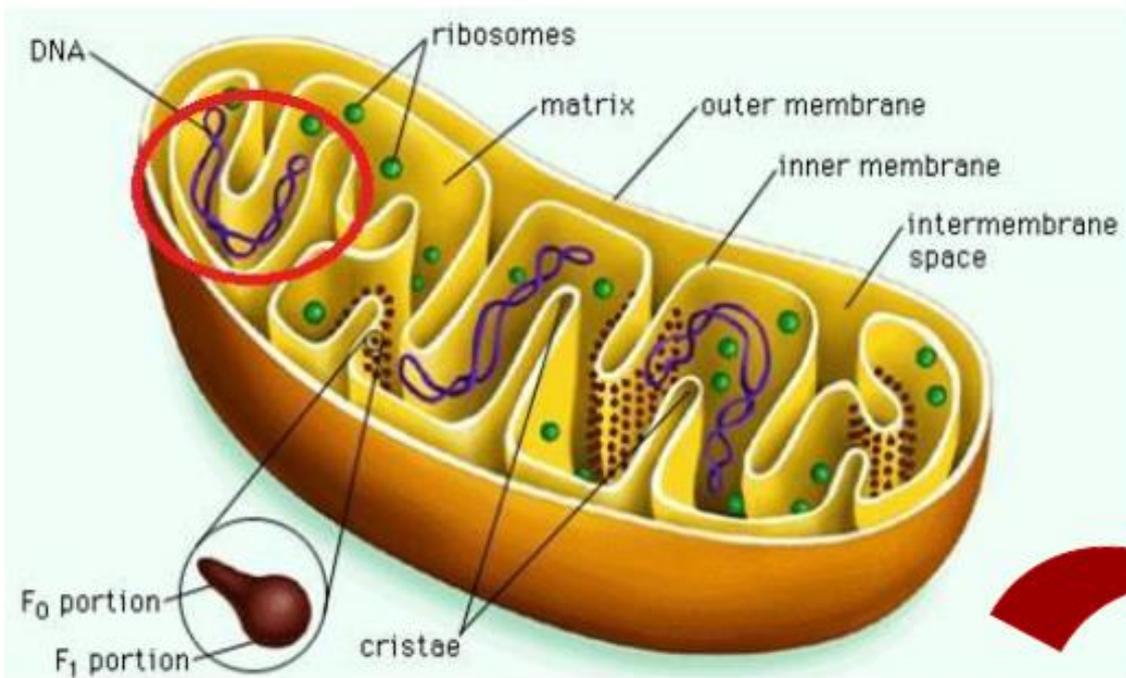
Membrana externa - permeável (presença de porinas bem caracterizadas em animais, assim como a presença de grande quantidade de colesterol);

Membrana interna - invaginações formando cristas; impermeável, devido à presença de cardiolipina (dificulta a passagem de partículas com carga elétrica – importante para a fosforilação oxidativa); rica em proteínas:

- ✓ Enzimas e proteínas que constituem a cadeia transportadora de elétrons;
- ✓ Proteínas dos corpúsculos elementares (ATP-sintase);
- ✓ Proteínas que fazem parte de múltiplos sistemas de transporte ativo.

Matriz:

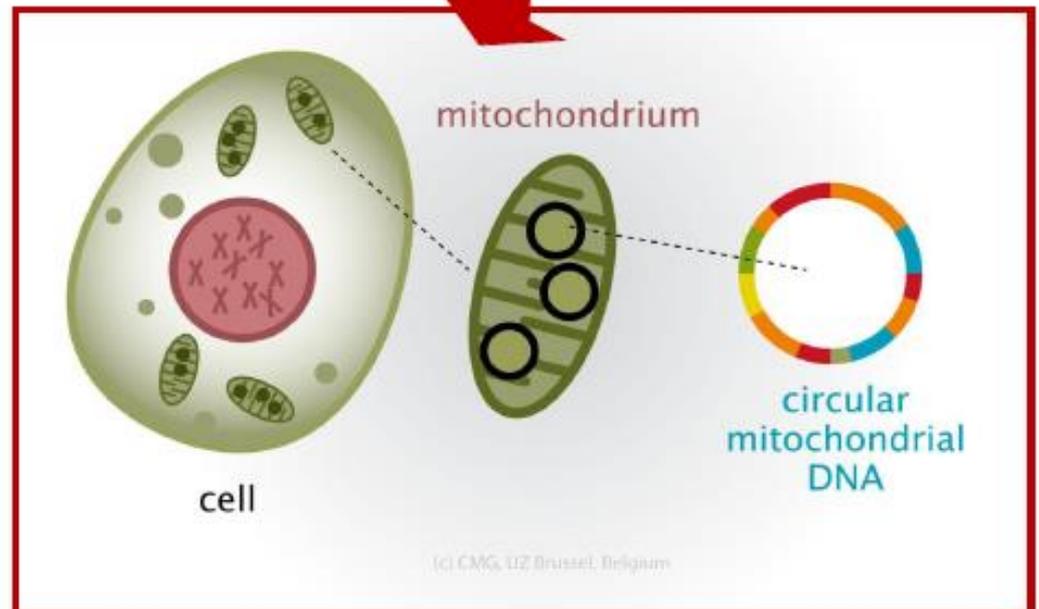
- ✓ DNA e ribossomos;
- ✓ Centenas de enzimas, dentre as quais estão as relacionadas com o ciclo de Krebs, β -oxidação de ácidos graxos e com a replicação, transcrição e tradução do DNA mitocondrial.



✓ **Matriz mitocondrial:**
ciclo de Krebs (ciclo do ácido cítrico);

✓ **Cristas mitocondriais:**
transporte de elétrons e síntese de ATP

MITOCÔNDRIAS





MITOCÔNDRIAS

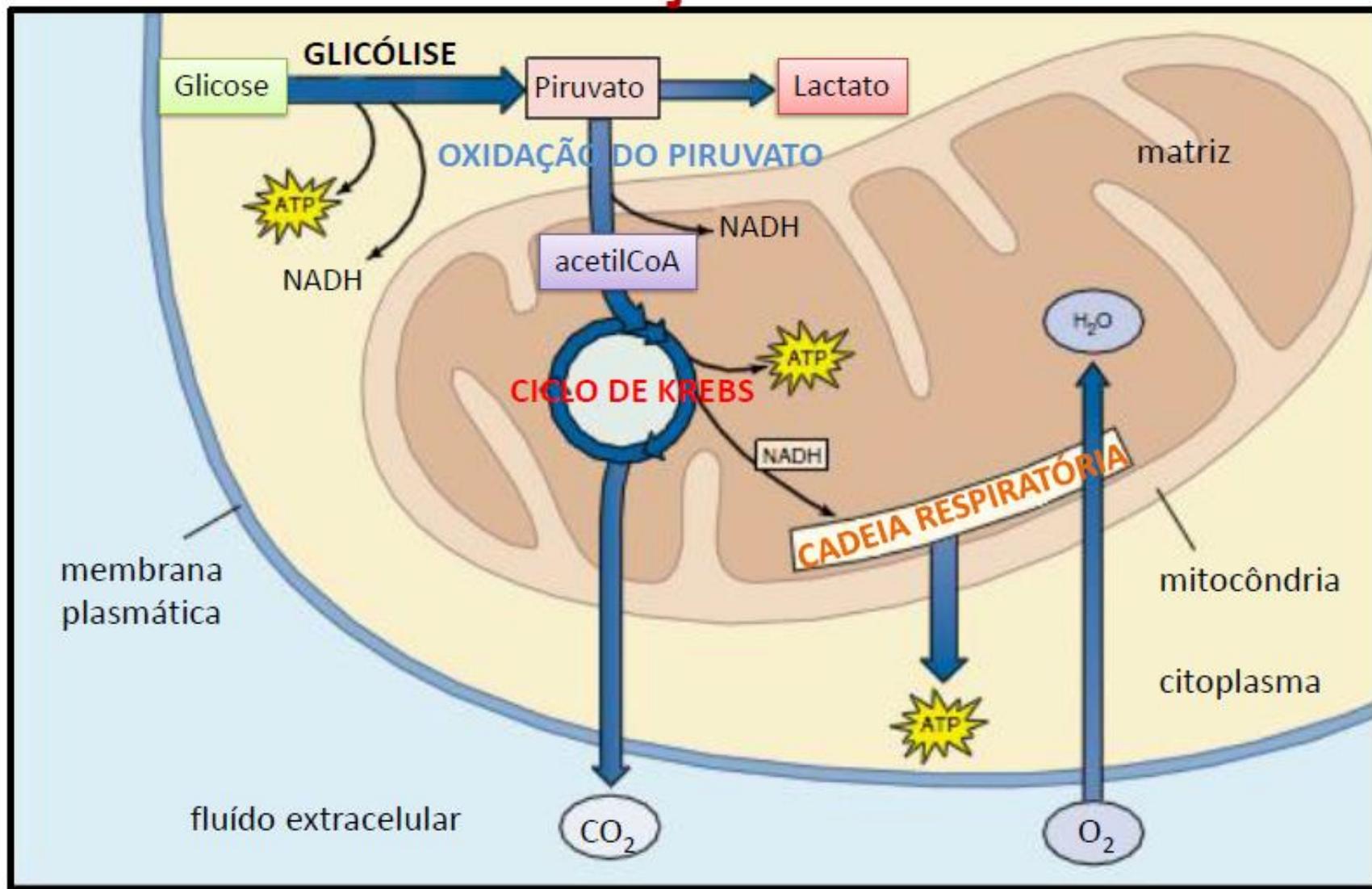
Síntese de ATP - fonte imediata de energia para a célula

Mitocôndrias de plantas tem funções especializadas como:

- ✓ sítio para a síntese de vitamina C, ácido fólico, ácido lipóico e biotina;
- ✓ estresse oxidativo.

A maioria das células vegetais contém centenas de mitocôndrias, e o seu número está relacionado com a demanda de ATP (ou seja, células com metabolismo energético alto mais mitocôndrias).

PRODUÇÃO DE ATP



*****Respiração:** Glicólise, ciclo de Krebs e cadeia respiratória.

GLICÓLISE

CITOPLASMA!!

1. Phosphorylation of glucose by ATP.

2-3. Rearrangement, followed by a second ATP phosphorylation.

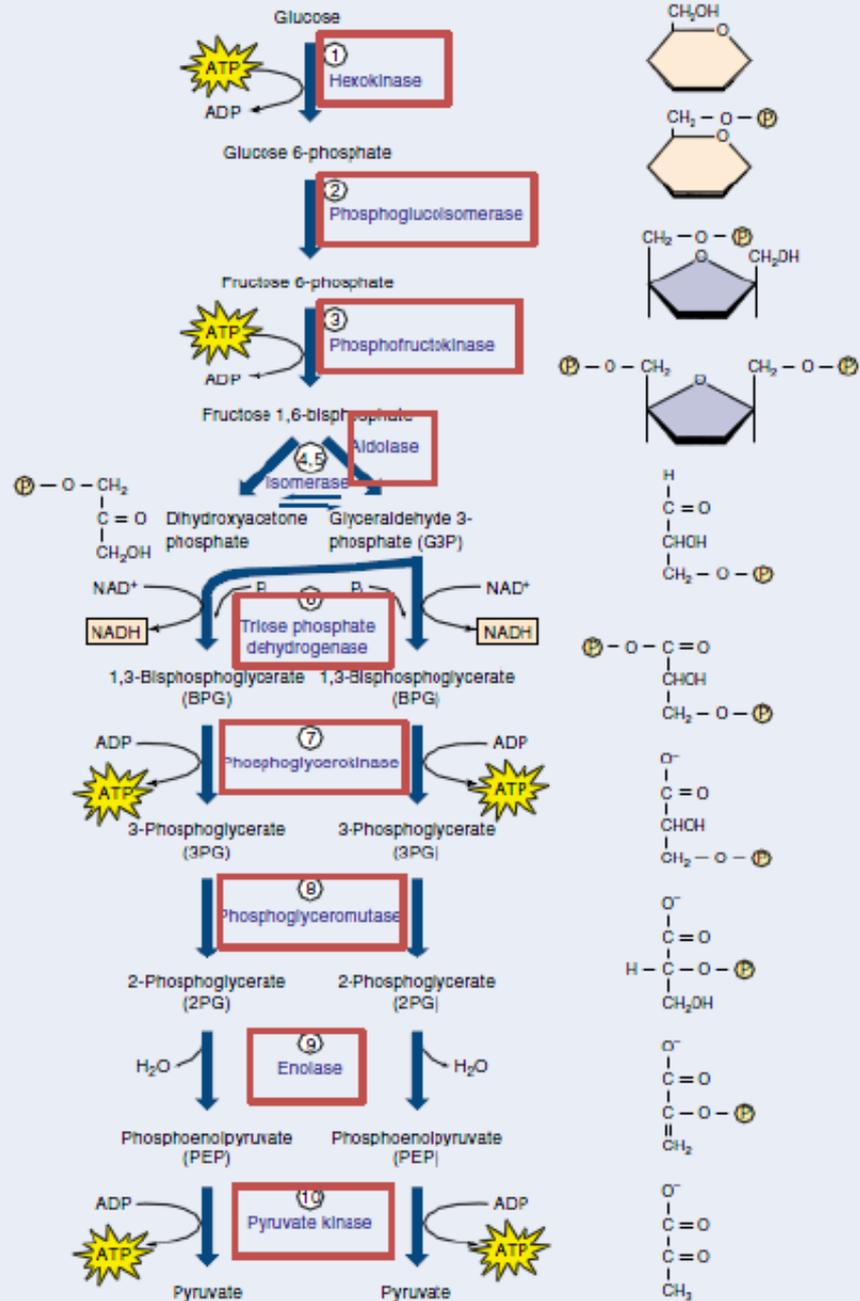
4-5. The six-carbon molecule is split into two three-carbon molecules—one G3P, another that is converted into G3P in another reaction.

6. Oxidation followed by phosphorylation produces two NADH molecules and two molecules of BPG, each with one high-energy phosphate bond.

7. Removal of high-energy phosphate by two ADP molecules produces two ATP molecules and leaves two 3PG molecules.

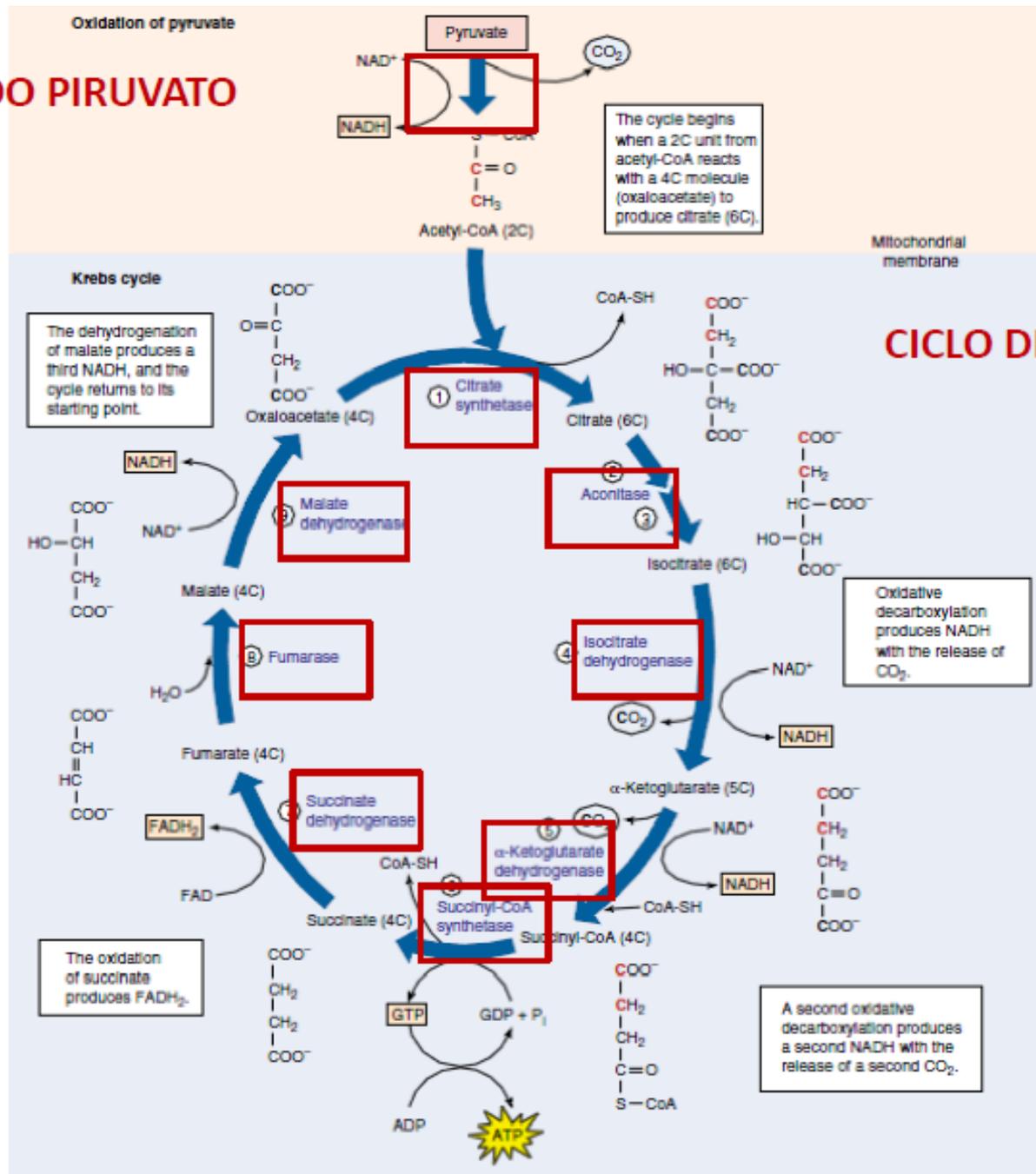
8-9. Removal of water yields two PEP molecules, each with a high-energy phosphate bond.

10. Removal of high-energy phosphate by two ADP molecules produces two ATP molecules and two pyruvate molecules.



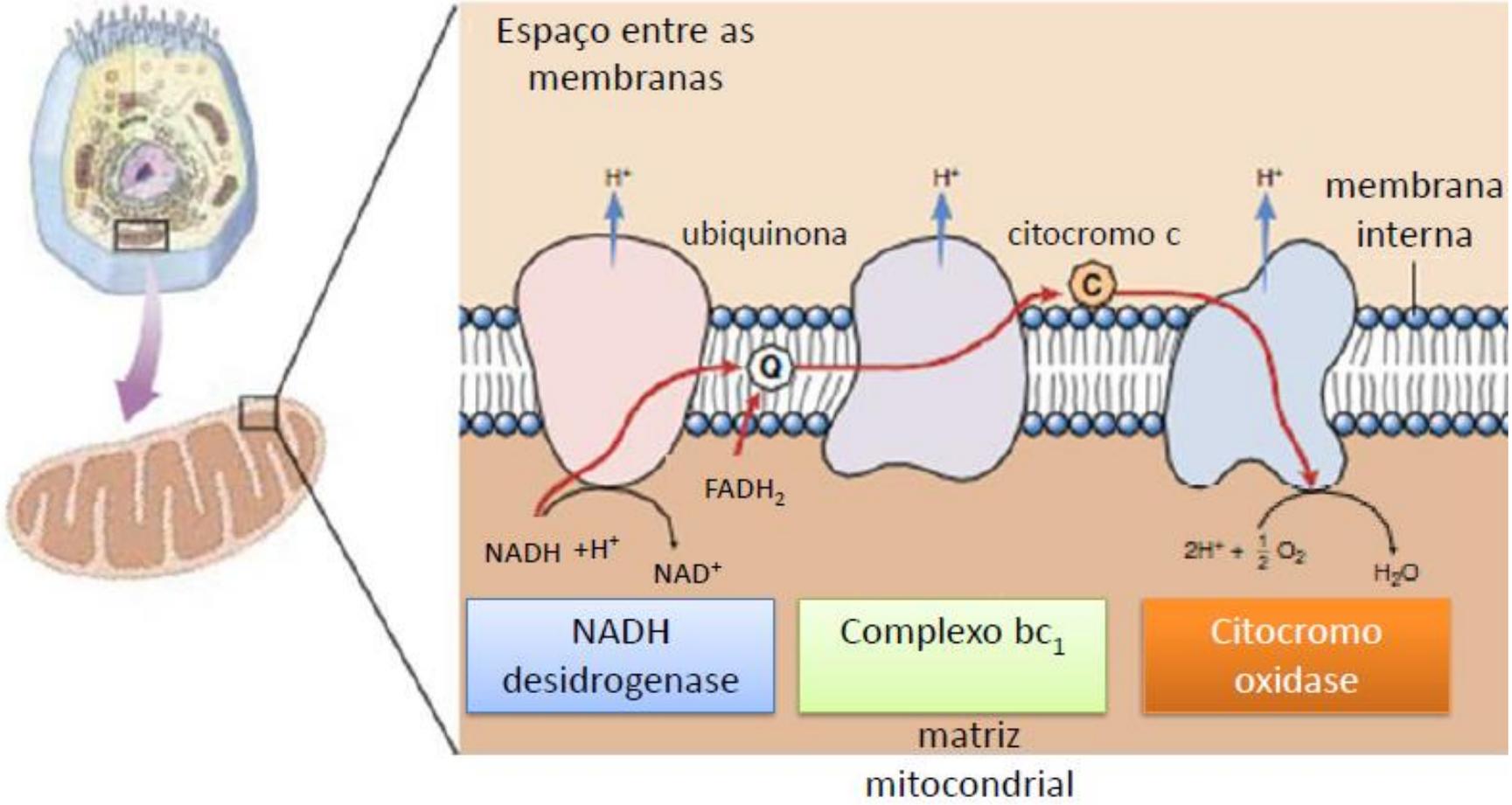
OXIDAÇÃO DO PIRUVATO

MATRIZ MITOCONDRIAL

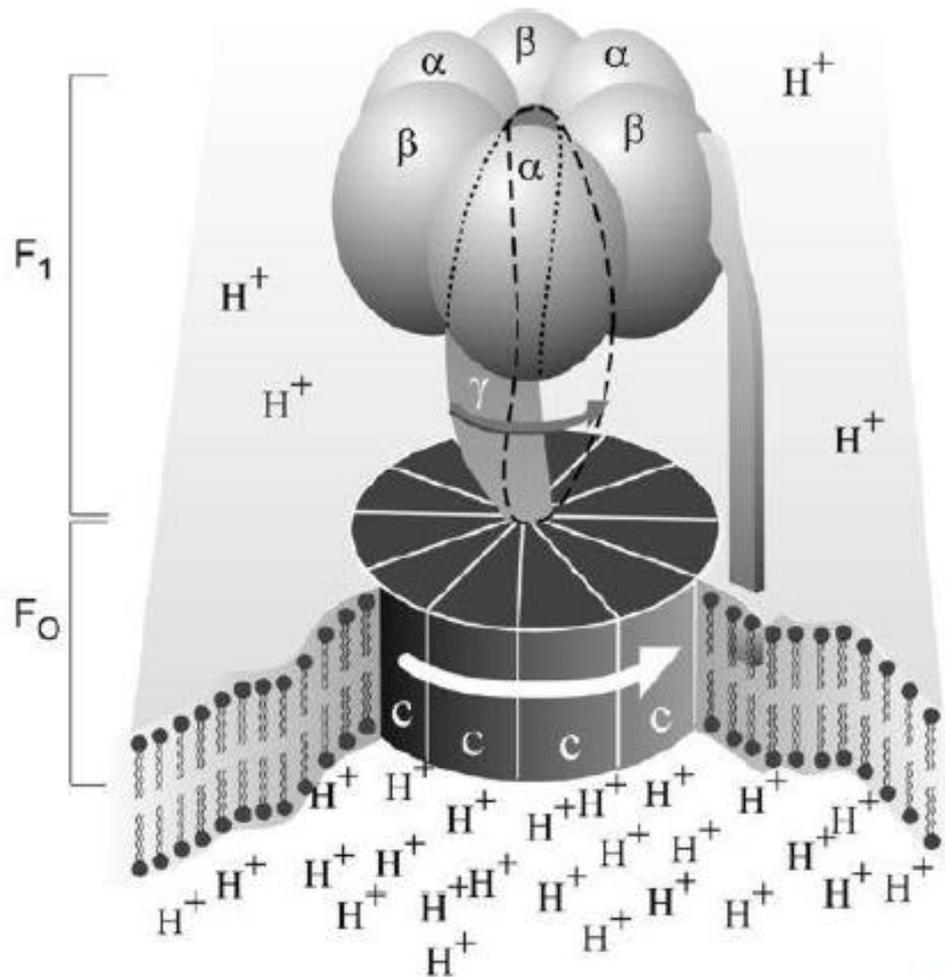


MEMBRANA INTERNA DA MITOCÔNDRIA

CADEIA RESPIRATÓRIA



ATP SINTASE



Paul D. Boyer
The Nobel Prize in Chemistry 1997



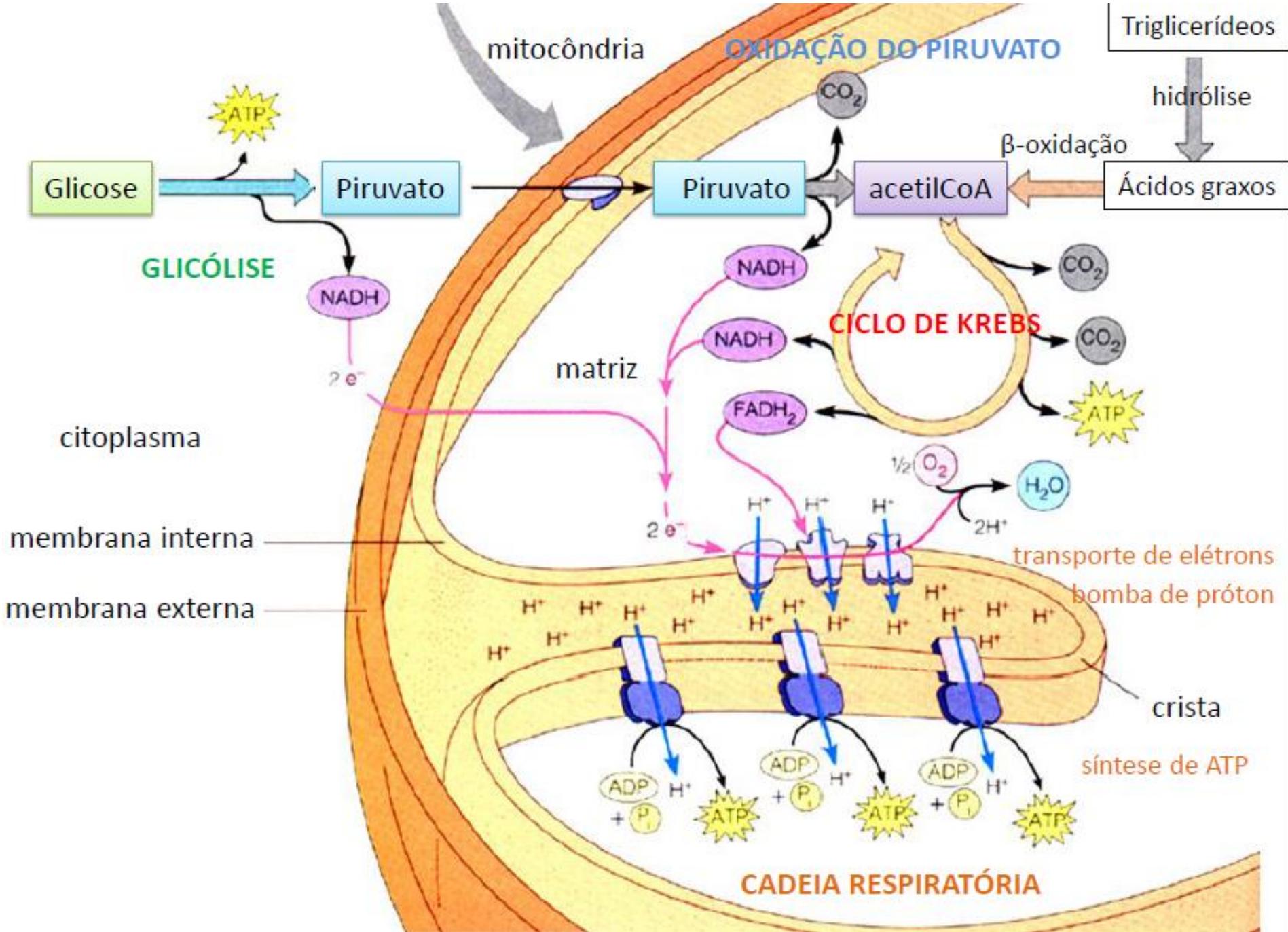
John E. Walker
The Nobel Prize in Chemistry 1997



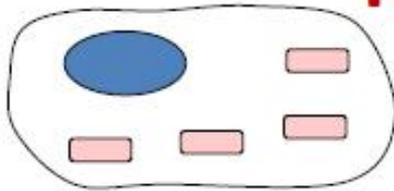
Jens C. Skou
The Nobel Prize in Chemistry 1997

- Geração de gradiente eletroquímico de H^+ ;
- Formação de ATP

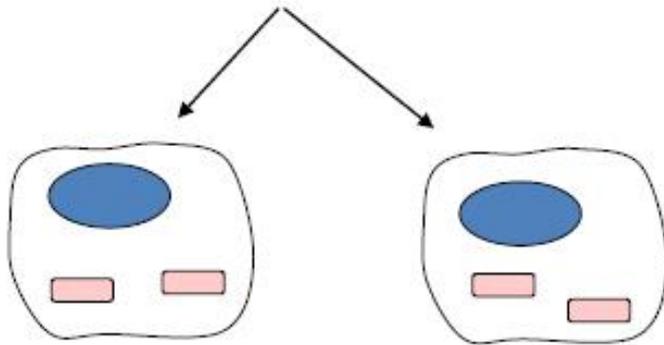
10.000 rotações por minuto \rightarrow 3ATP/rotação



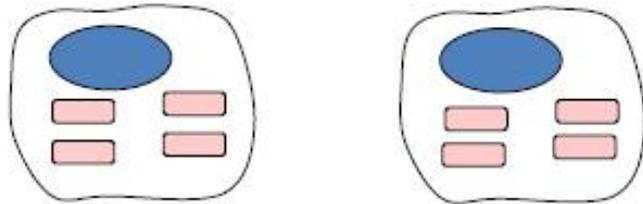
REPLICAÇÃO DAS MITOCÔNDRIAS



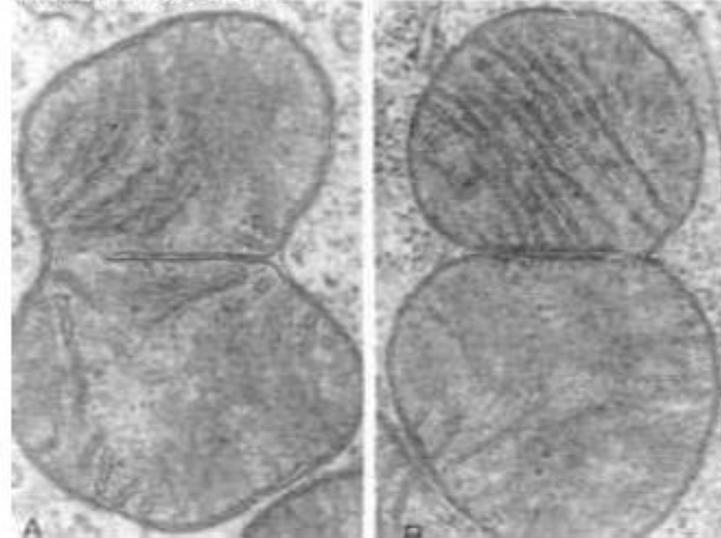
Divisão celular: distribuição das mitocôndrias entre as células filhas



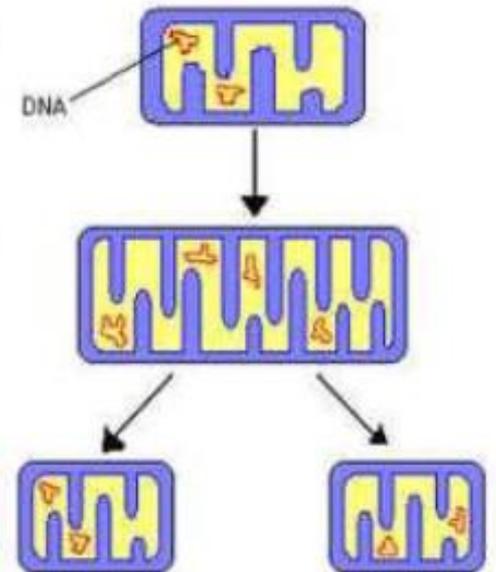
Replicação das mitocôndrias



Mitochondrial Division

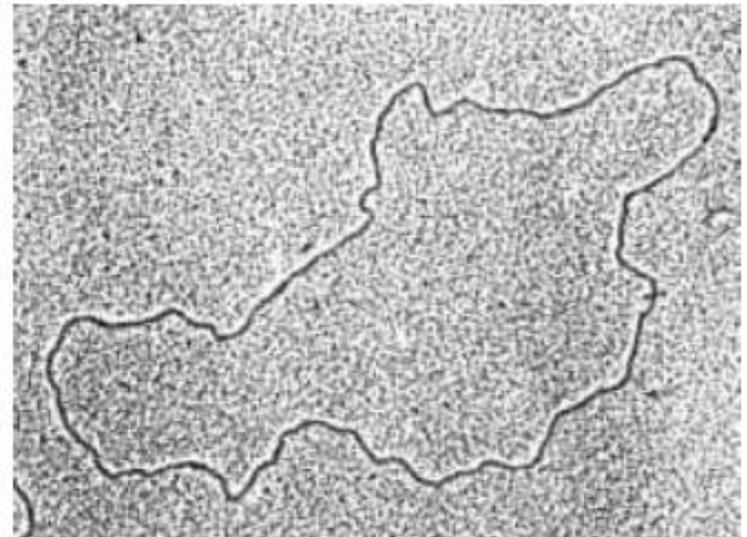


- ✓ Mitocôndria se replica como uma célula de bactéria;
- ✓ Antes de se dividir, a mitocôndria replica o seu DNA.



DNA MITOCONDRIAL (mt DNA)

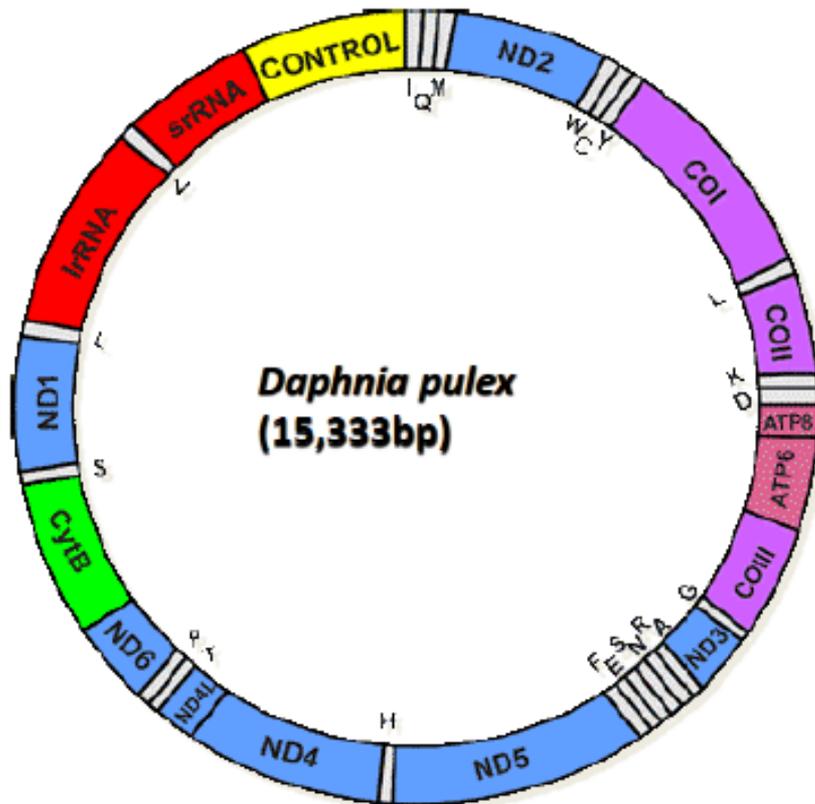
- ✓ Circular, várias cópias, cadeia dupla de replicação independente do DNA nuclear;
- ✓ Genes sem introns em animais, alguns genes com introns em fungos e plantas;
- ✓ Origem exclusivamente **materna** para qualquer indivíduo, pois são provenientes dos ovócitos;
- ✓ Codifica a sequência de aminoácidos de algumas das proteínas mitocondriais;
- ✓ Codifica três tipos de RNA (mRNA, tRNA, rRNA).



DIVERSIDADE DE GENOMAS MITOCÔNDRIAIS

	Animais	Fungos	Plantas
Tamanho	14kb - 42kb	17kb - 180kb	184kb - 2,400kb
DNA não codificador	Muito baixo	variável	Muito alto
Introns	x	✓	✓
Código genético universal	x	de maneira geral	✓

GENOMA MITOCONDRIAL DE ANIMAIS

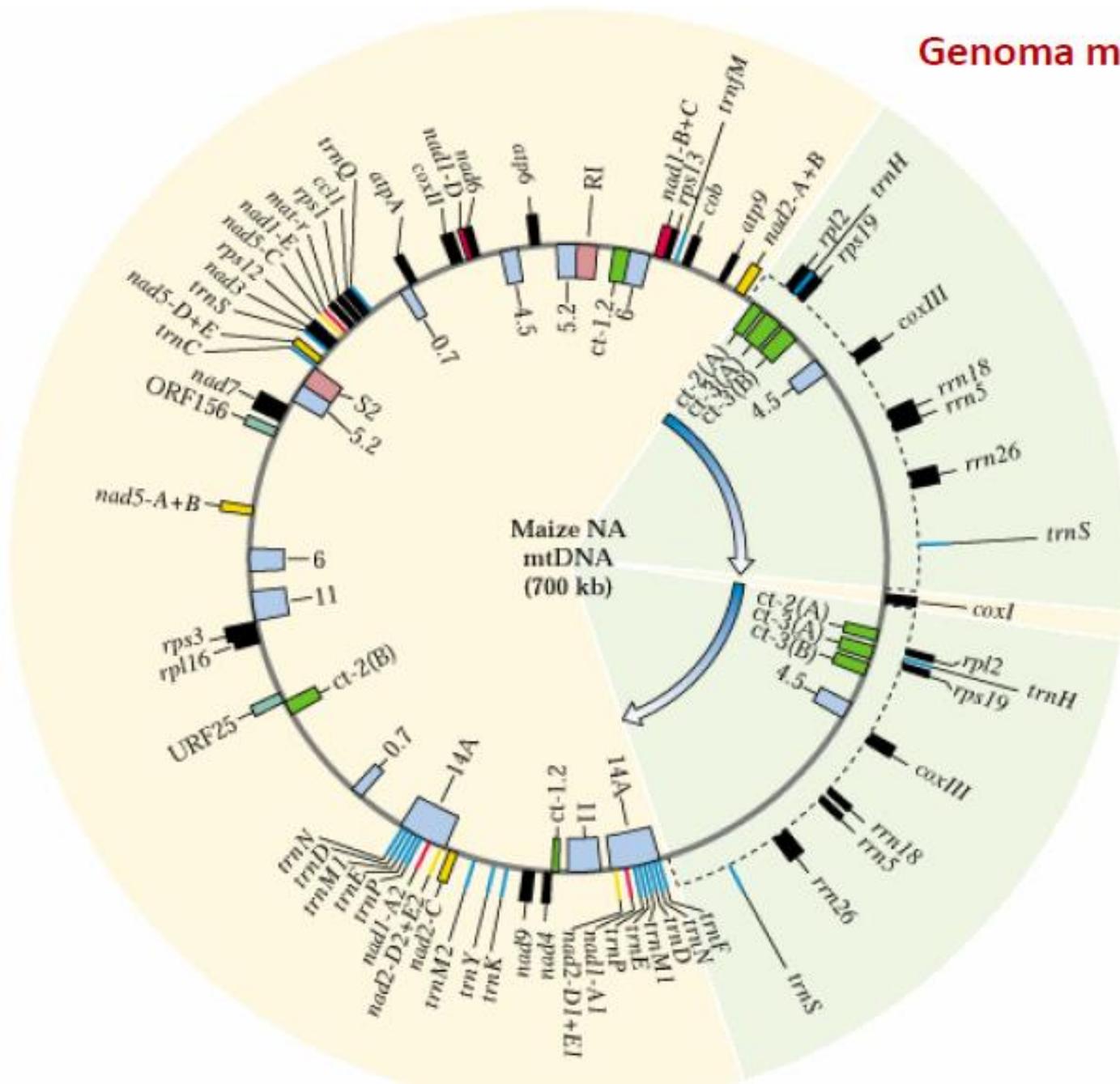


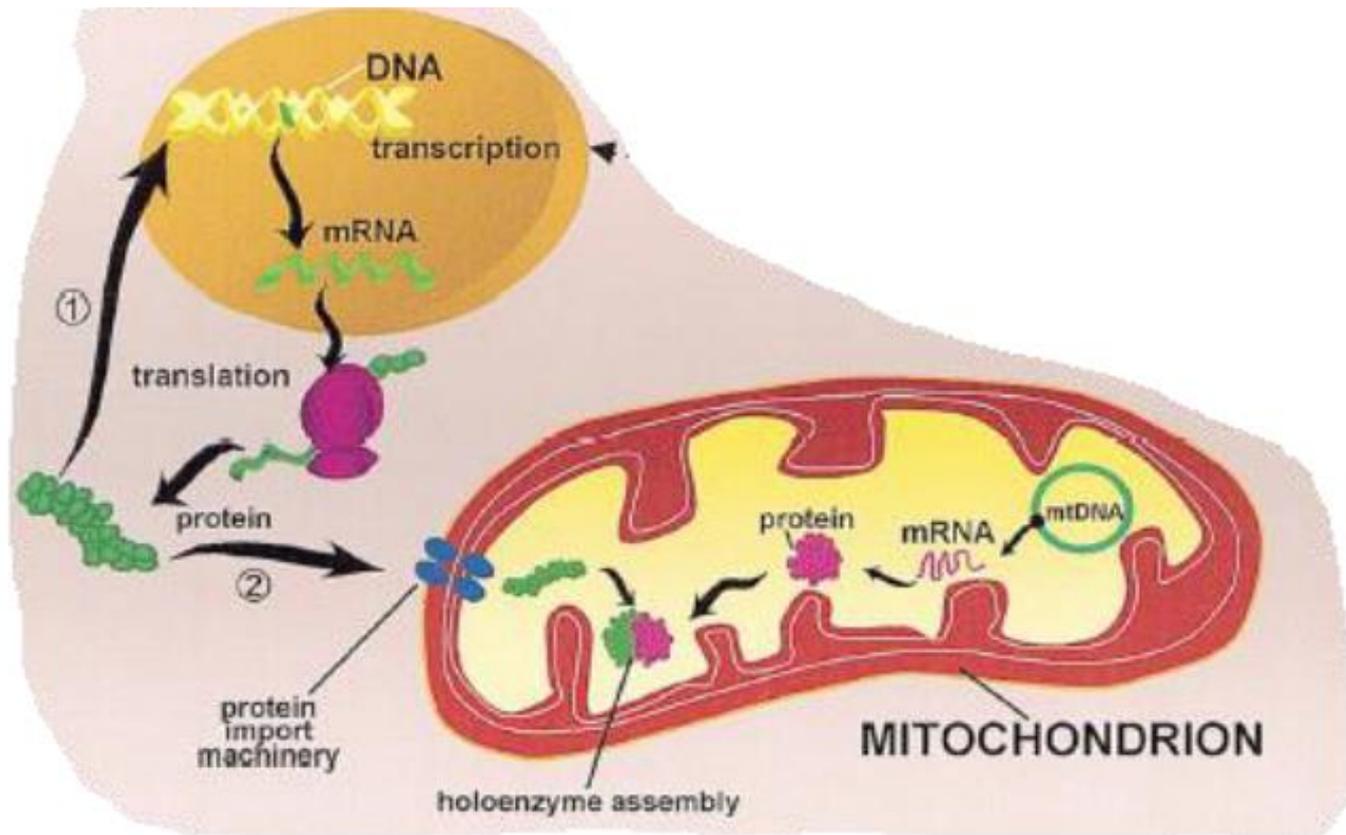
- 14kb - 42kb; múltiplas cópias (4-5 cópias);
- Apresentam os mesmos 37 genes:
 - 2 rRNA (12S e 16S),
 - 13 mRNA para síntese de proteínas,
 - 22 tRNAs;
- Pouca região intergênica;
- Genes sem introns;
- **Código genético especial** (4 dos 64 códons apresentam significados diferentes do **código universal**).

GENOMA MITOCONDRIAL DE PLANTAS

- Cromossomo - 200-2000 kb - altamente variável entre espécies;
- O DNA mitocondrial de planta contém sequências de DNA de cloroplasto, indicando troca de material genético entre as organelas em plantas;
- Maioria do mtDNA em plantas é não codificador;
- As regiões codificadoras são maiores do que em animais e fungos;
- Número de proteínas variável, mas codifica mais proteínas do que animais e leveduras (em torno de 50 proteínas).

Genoma mitocondrial de milho





Apesar de apresentar seu próprio genoma, a maioria das proteínas das mitocôndrias são codificadas pelo **genoma nuclear**, traduzidas no citoplasma e importadas para a mitocôndria (sinais de endereçamento).

São elas: enzimas do complexo piruvato desidrogenase, as responsáveis pelo ciclo de Krebs e pela β -oxidação dos ácidos graxos, muitas das proteínas que participam da fosforilação oxidativa, os canais iônicos e as permeases da membrana interna, a DNA polimerase, a RNA polimerase, as proteínas ribossomais mitocondriais, dentre outras.

A Eukaryote without a Mitochondrial Organelle

Anna Karnkowska,^{1,2,7,*} Vojtěch Vacek,¹ Zuzana Zubáčová,¹ Sebastian C. Treitli,¹ Romana Petrželková,³ Laura Eme,⁴ Lukáš Novák,¹ Vojtěch Žárský,¹ Lael D. Barlow,⁵ Emily K. Herman,⁵ Petr Soukal,¹ Miluše Hroudová,⁶ Pavel Doležal,¹ Courtney W. Stairs,⁴ Andrew J. Roger,⁴ Marek Eliáš,³ Joel B. Dacks,⁵ Cestmír Víček,⁶ and Vladimír Hampel^{1,*}

¹Department of Parasitology, Charles University in Prague, Prague 12843, Czech Republic

²Department of Molecular Phylogenetics and Evolution, University of Warsaw, Warsaw 00478, Poland

³Department of Biology and Ecology, University of Ostrava, Ostrava 710 00, Czech Republic

⁴Department of Biochemistry and Molecular Biology, Dalhousie University, Halifax, NS B3H 4R2, Canada

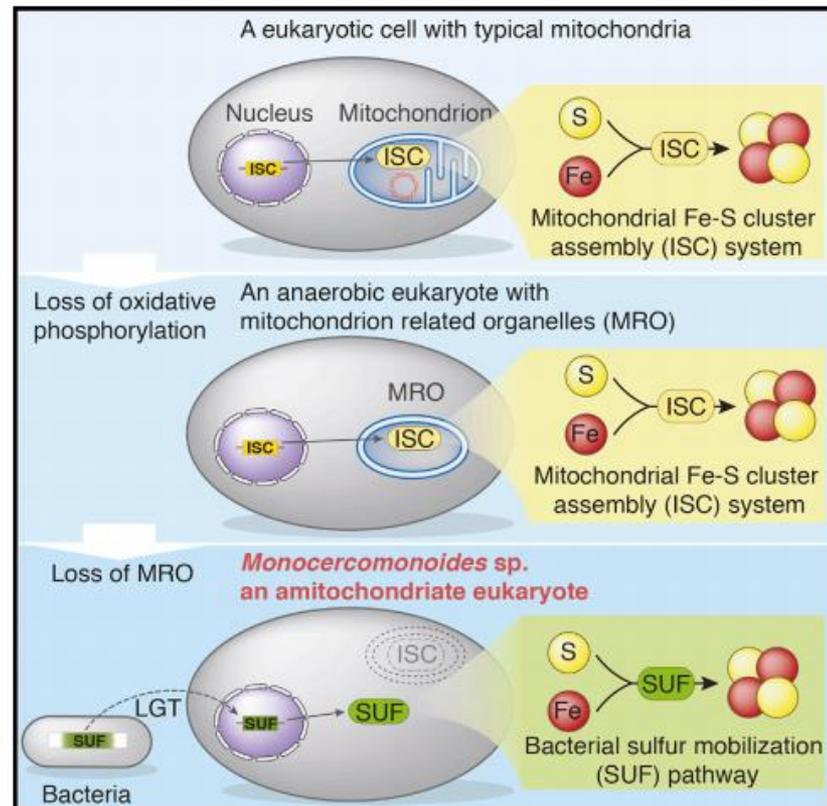
⁵Department of Cell Biology, University of Alberta, Edmonton, AB T6G 2H7, Canada

⁶Institute of Molecular Genetics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague 14220, Czech Republic

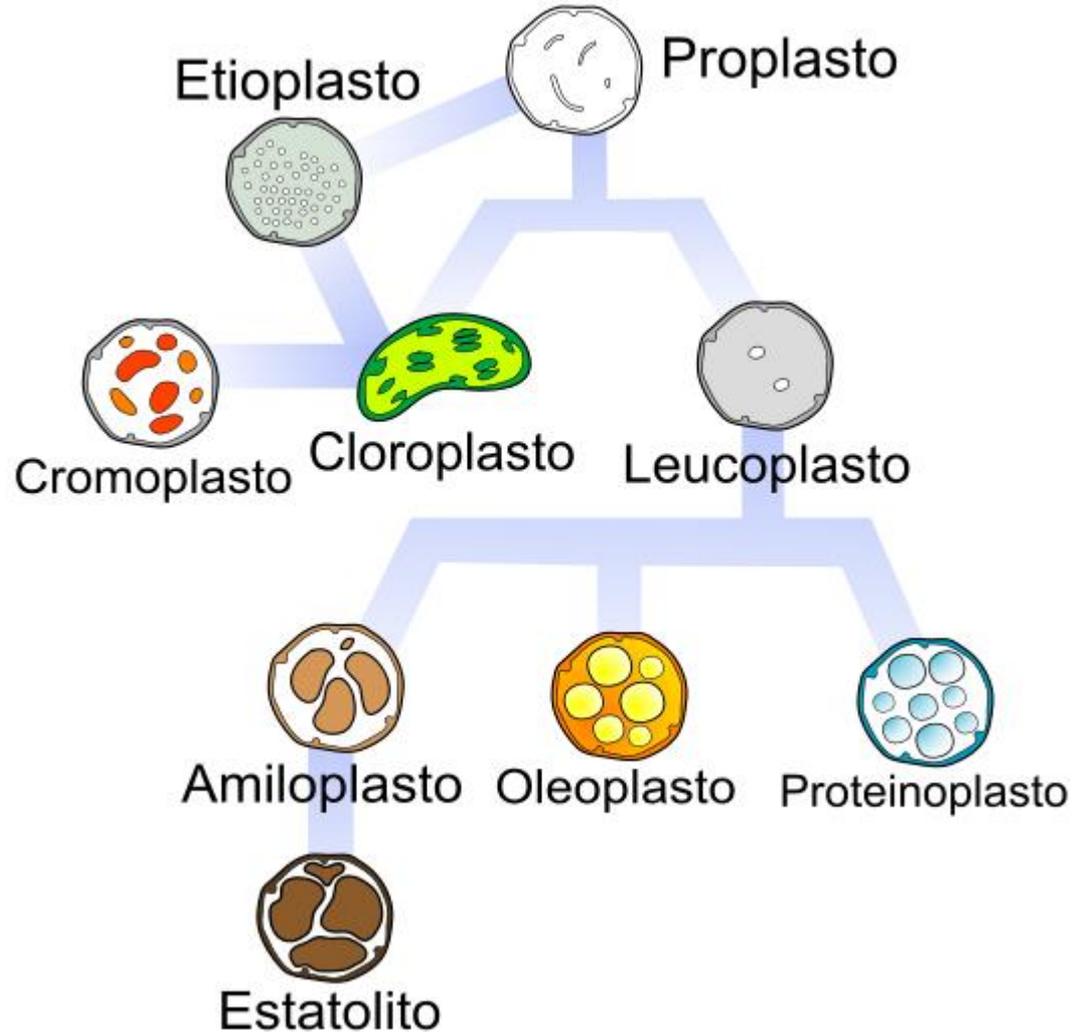
⁷Present address: Department of Botany, University of British Columbia, Vancouver, BC V6T 1Z4, Canada

*Correspondence: ankarn@biol.uw.edu.pl (A.K.), vlada@natur.cuni.cz (V.H.)

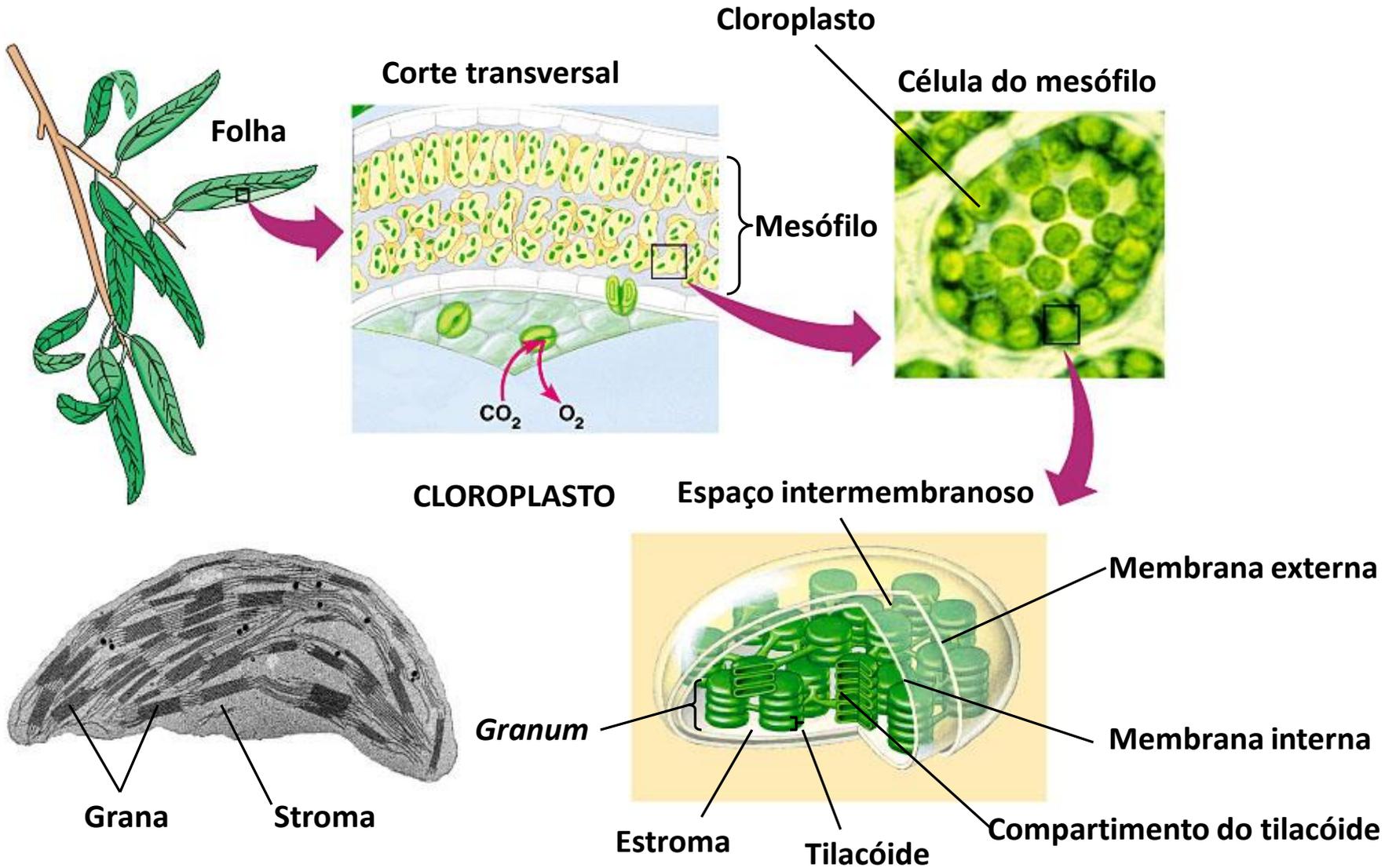
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2016.03.053>



PLASTOS EM PLANTAS

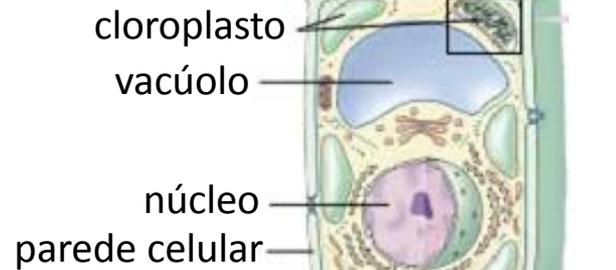
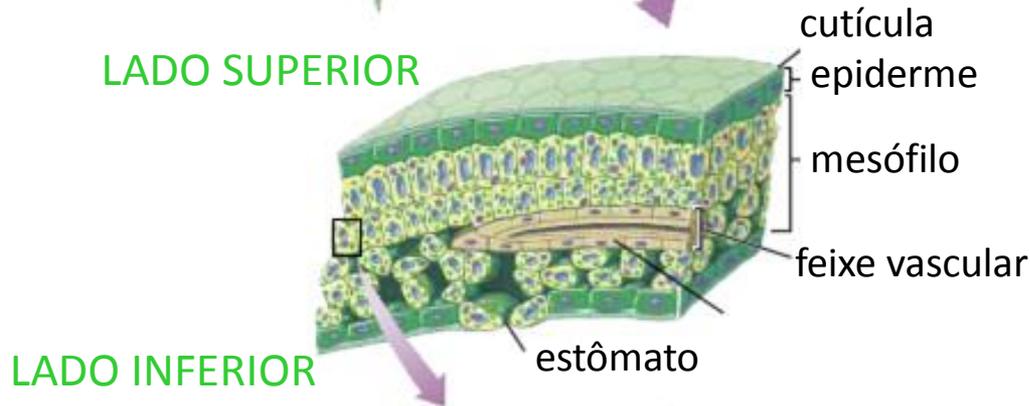


COLOROPLASTOS

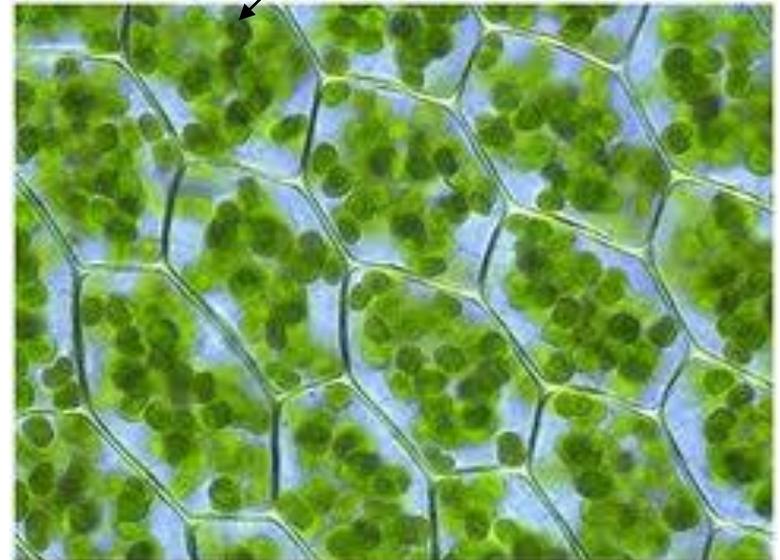
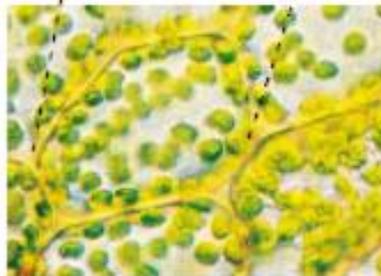


CLOROPLASTOS

Localização

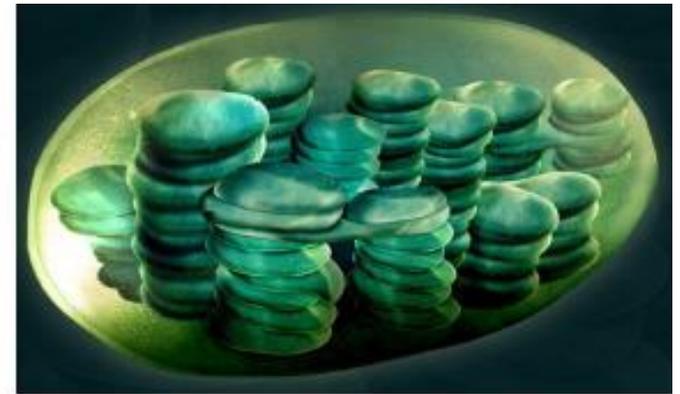


Diâmetro de 4 a 6 μm , podendo assumir uma forma discóide, ovóide ou esférica



CLOROPLASTOS

ESTRUTURA



1) Envoltório:

- Duas membranas: interna e externa, ambas desprovidas de clorofila, mas com pigmentos carotenóides;

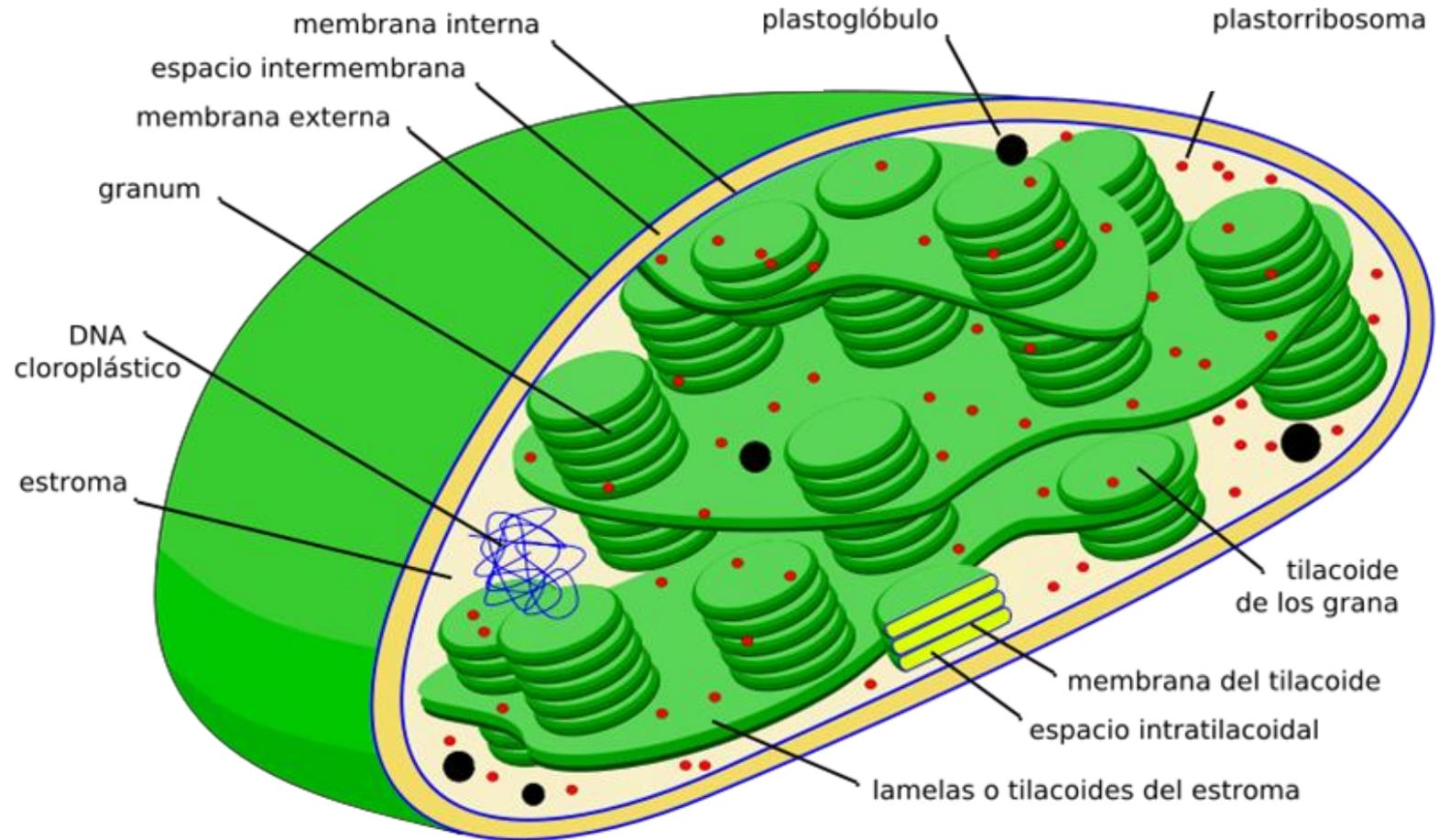
2) Estroma:

- Representa a maior parte do cloroplasto e nele se encontram imersos os tilacóides;
- É composto principalmente por proteínas;
- Contém DNA e RNA que intervêm na síntese de algumas proteínas estruturais e enzimáticas do cloroplasto;
- É no estroma onde ocorre a **fixação do carbono**, síntese de ácidos graxos e proteínas;

3) Tilacóides:

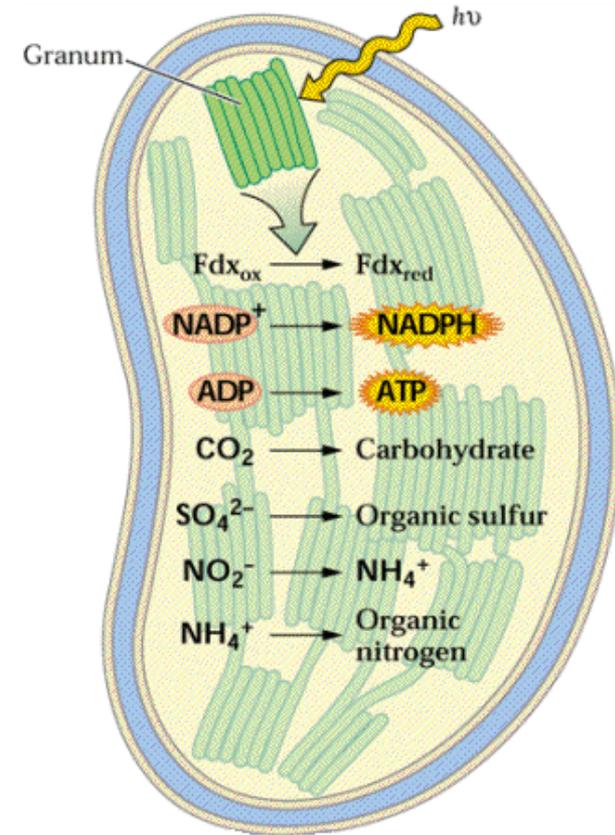
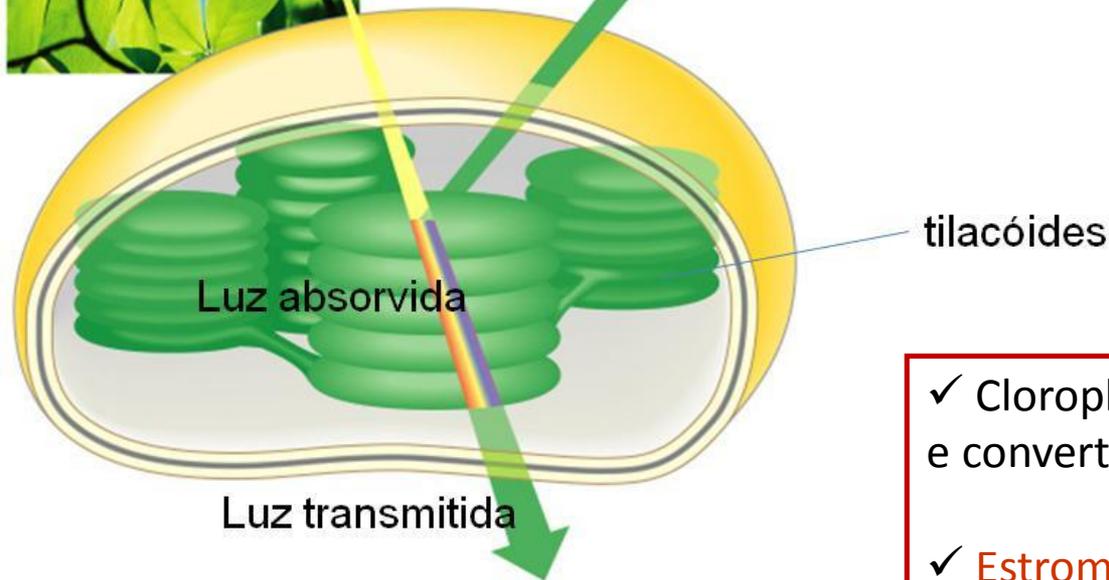
- Sacos achatados, agrupados como pilhas de moedas;
- Cada pilha recebe o nome de **granum (plural grana)**;
- Os tilacóides dos granum se conectam por tilacóides do estroma;
- Membrana do tilacóide é uma dupla camada lipídica repleta de proteínas e de outras moléculas, quase todas envolvidas nas reações químicas da fotossíntese (presença de cardiolipinas).

CLOROPLASTOS



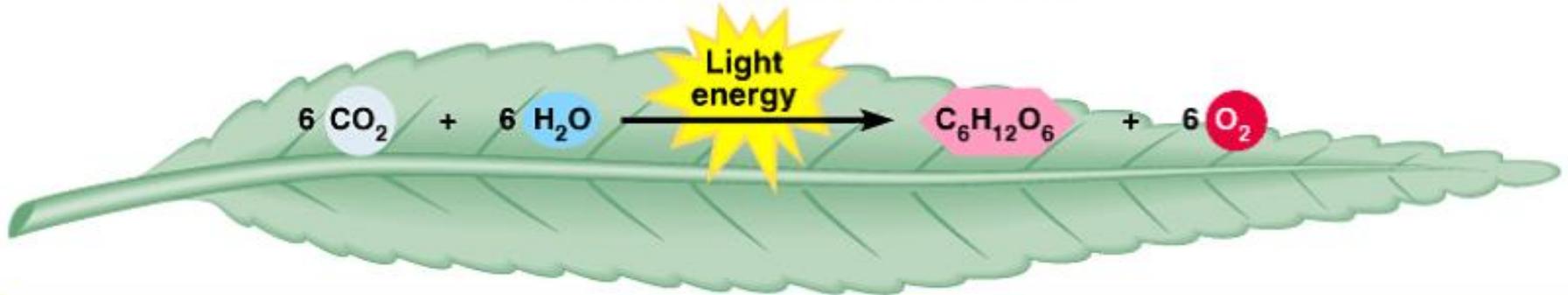
- ✓ O número de cloroplastos se mantém constante nos diversos vegetais durante a mitose;
- ✓ Nas plantas superiores existem entre 20 a 40 cloroplastos por célula.

FOTOSÍNTESE



- ✓ Cloroplasto absorve energia luminosa e converte em energia química;
- ✓ **Estroma**: ciclo de Calvin;
- ✓ **Tilacóides**: transporte de elétrons e síntese de ATP.

FOTOSÍNTESE



Fotossíntese é o processo em que os organismos autotróficos utilizam luz para produzir açúcar e O_2 a partir de água e CO_2

Os carboidratos formados pela fotossíntese são sacarídeos solúveis que circulam pelos diferentes tecidos da planta ou se acumulam como grãos de amido nos cloroplastos, ou mais frequentemente nos amiloplastos

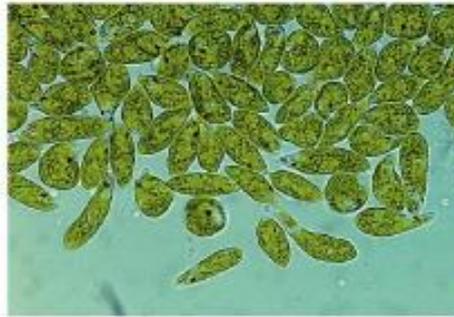
✓ plantas, algumas bactérias e protistas



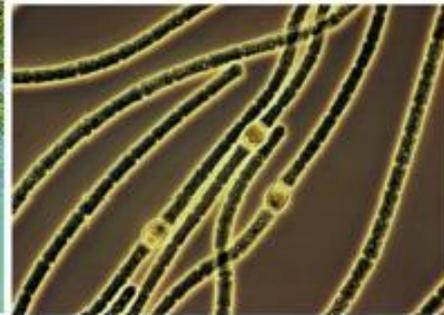
(a) Mosses, ferns, and flowering plants



(b) Kelp

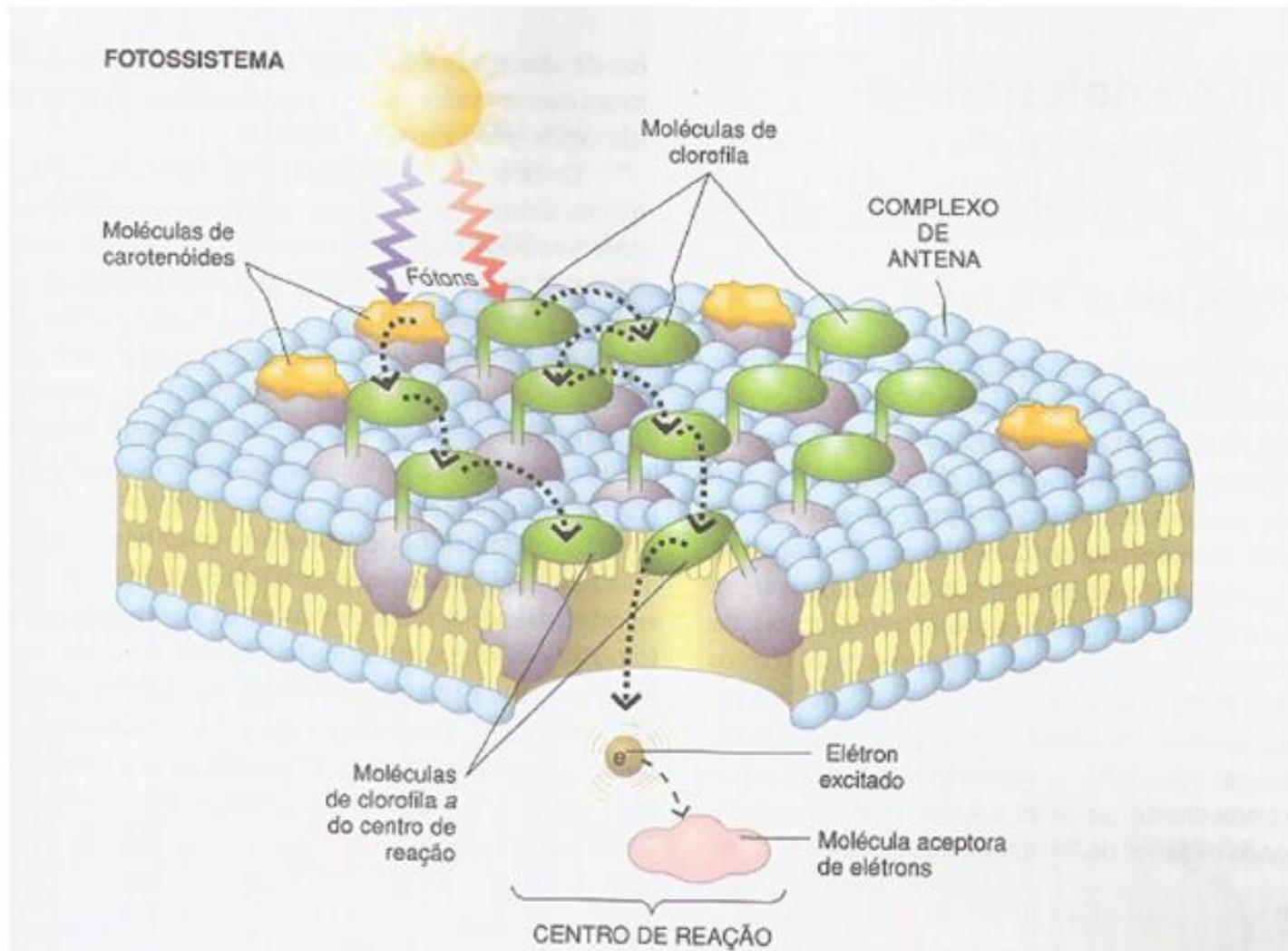


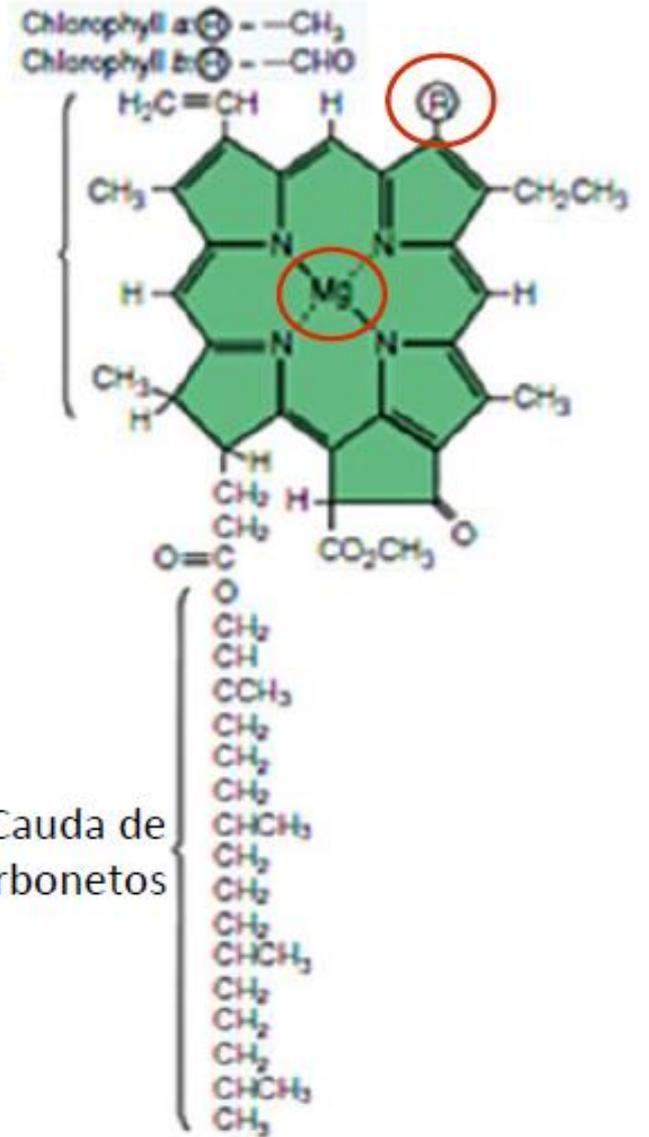
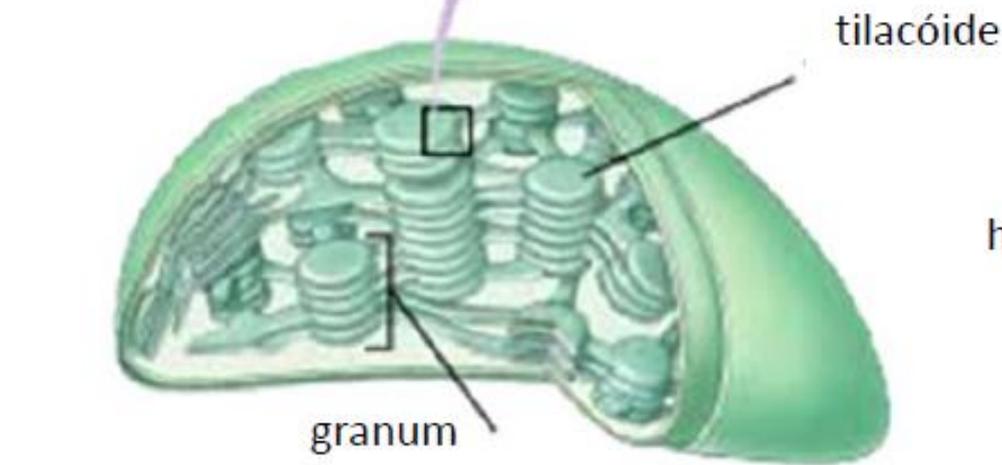
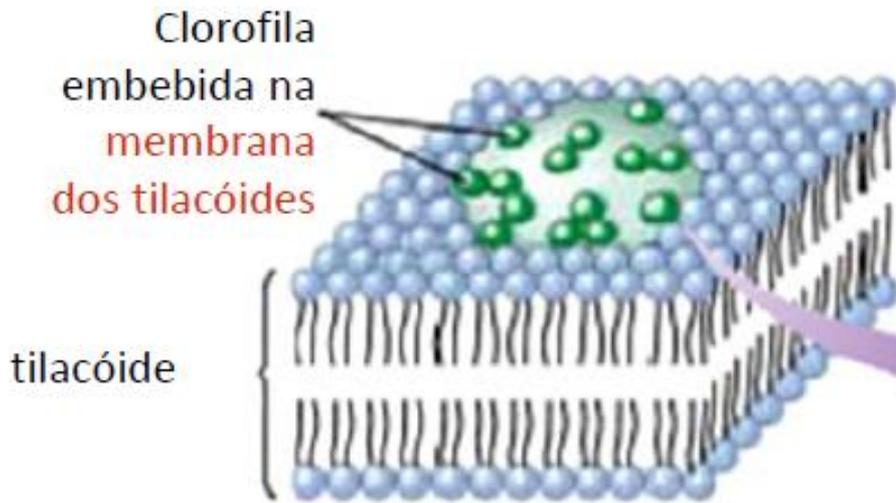
(c) *Euglena*

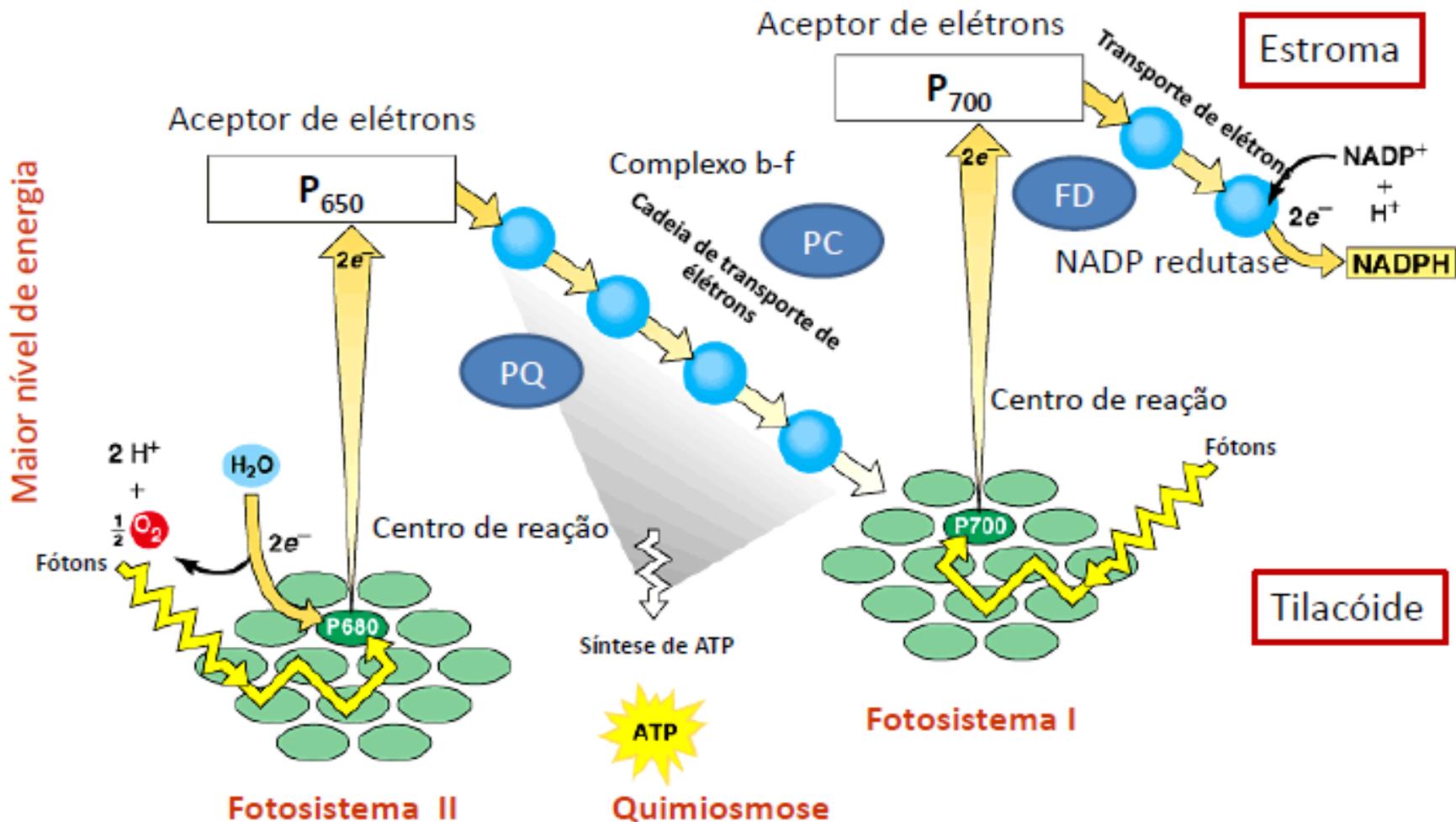


(d) Cianobactéria

PIGMENTOS DA FOTOSSÍNTESE

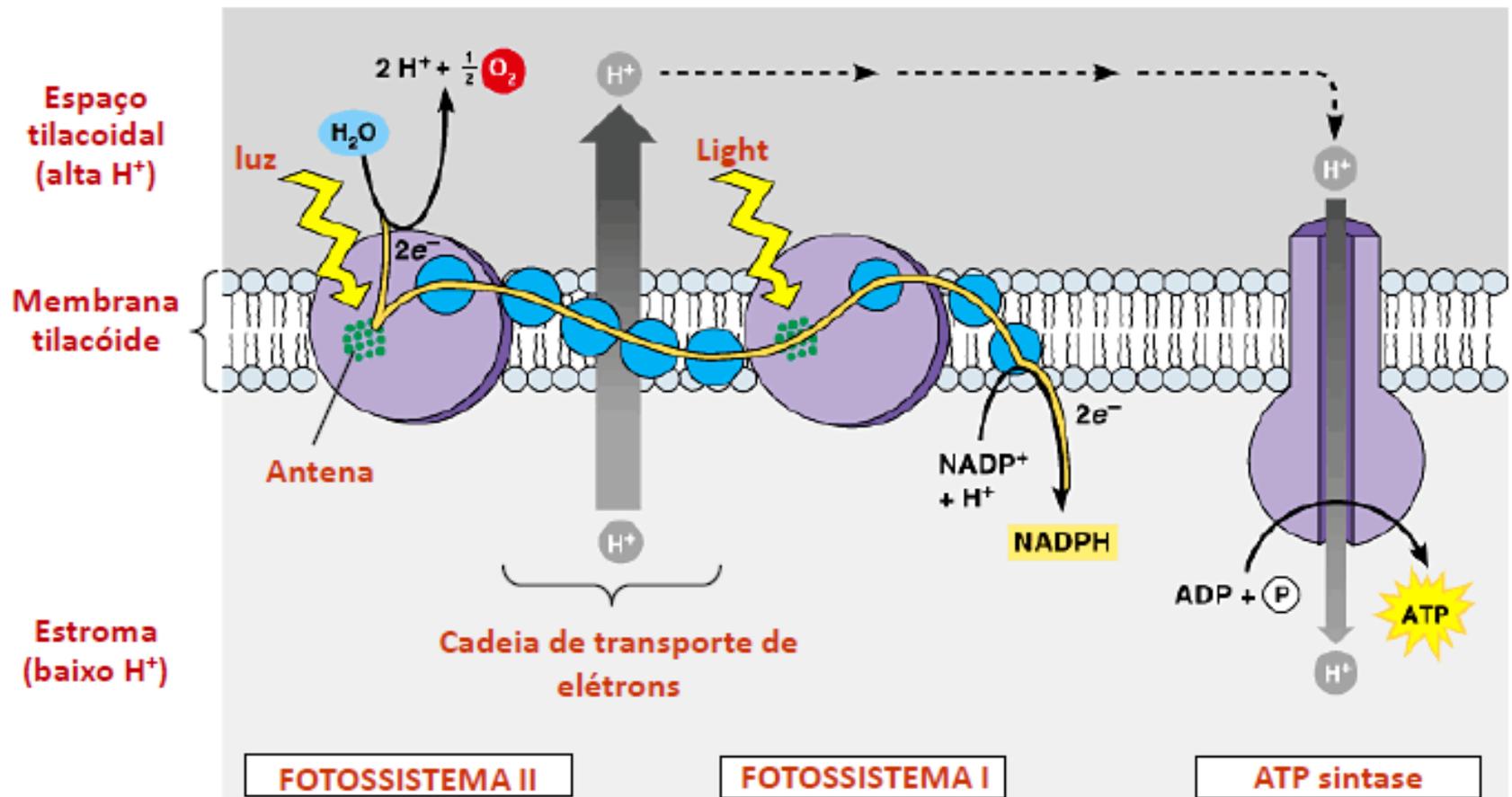






- ✓ O fotossistema I gera poder redutor na forma de NADPH;
- ✓ O fotossistema II transfere os elétrons da água a uma quinona e, concomitantemente, desprende oxigênio;
- ✓ O fluxo de elétrons entre os fotossistemas gera um gradiente de prótons transmembrana que é usado para a síntese de ATP.

Espaço tilacoidal



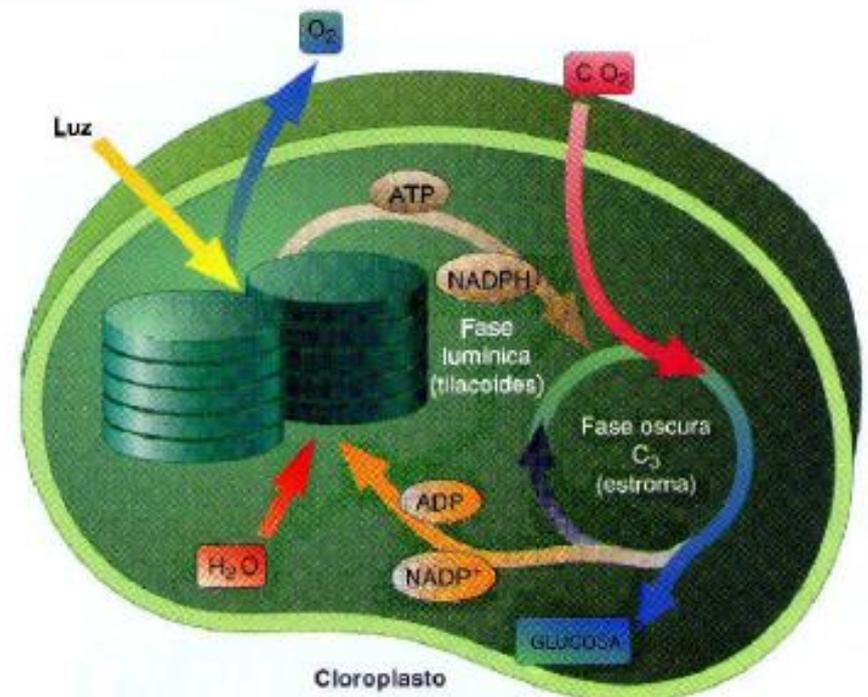
<http://highered.mcgraw-hill.com/olcweb/cgi/pluginpop.cgi?it=swf::535::535::/sites/dl/free/0072437316/120072/bio13.swf::Photosynthetic%20Electron%20Transport%20and%20ATP%20Synthesis>

REAÇÕES NA AUSÊNCIA DE LUZ

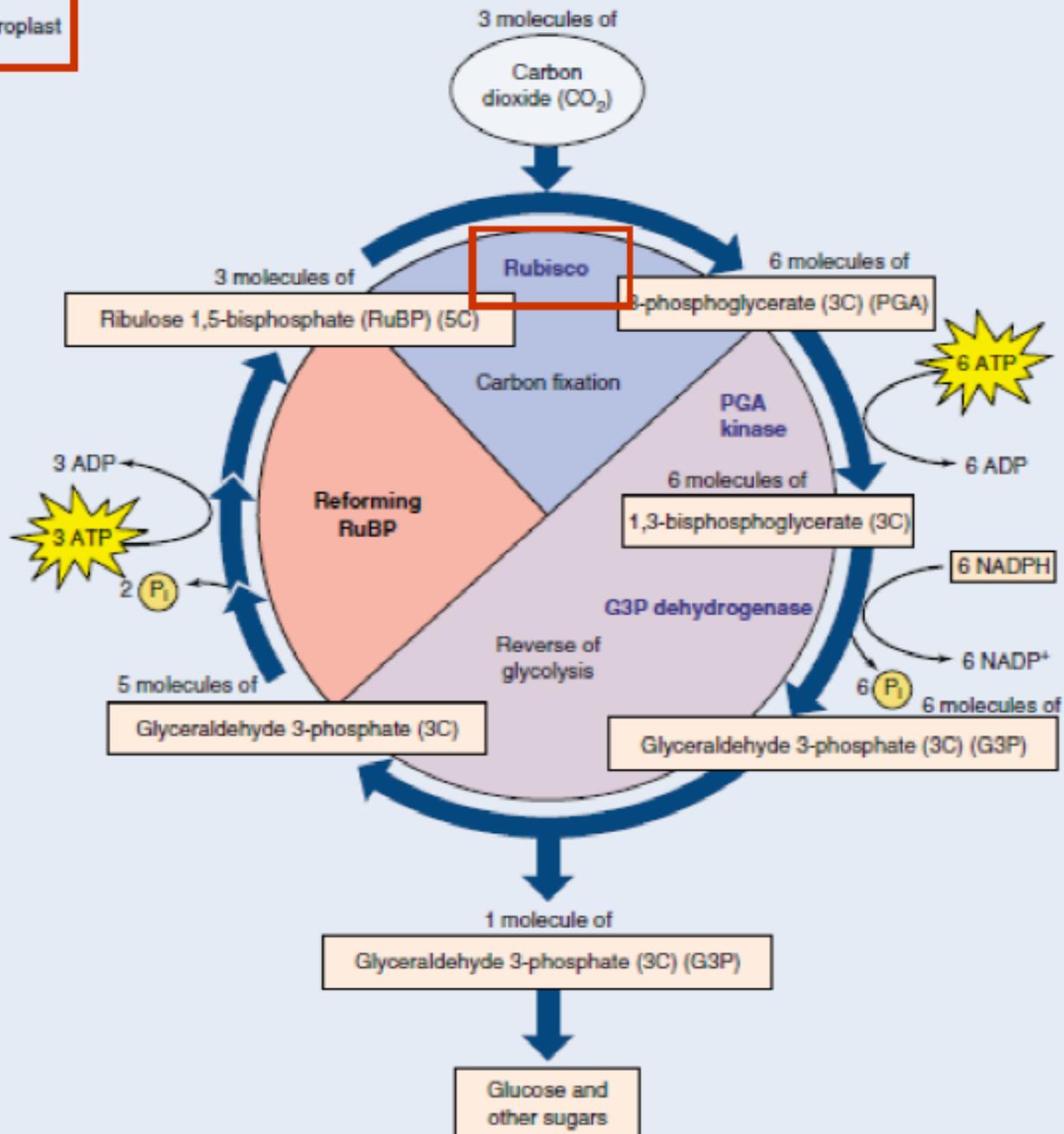
Na ausência de luz, as moléculas de ATP e NADPH produzidas pelas reações fotoquímicas proporcionam a energia necessária para sintetizar carboidratos a partir de CO_2 e H_2O .

✓ Ocorre no estroma do cloroplasto: **Ciclo de Calvin;**

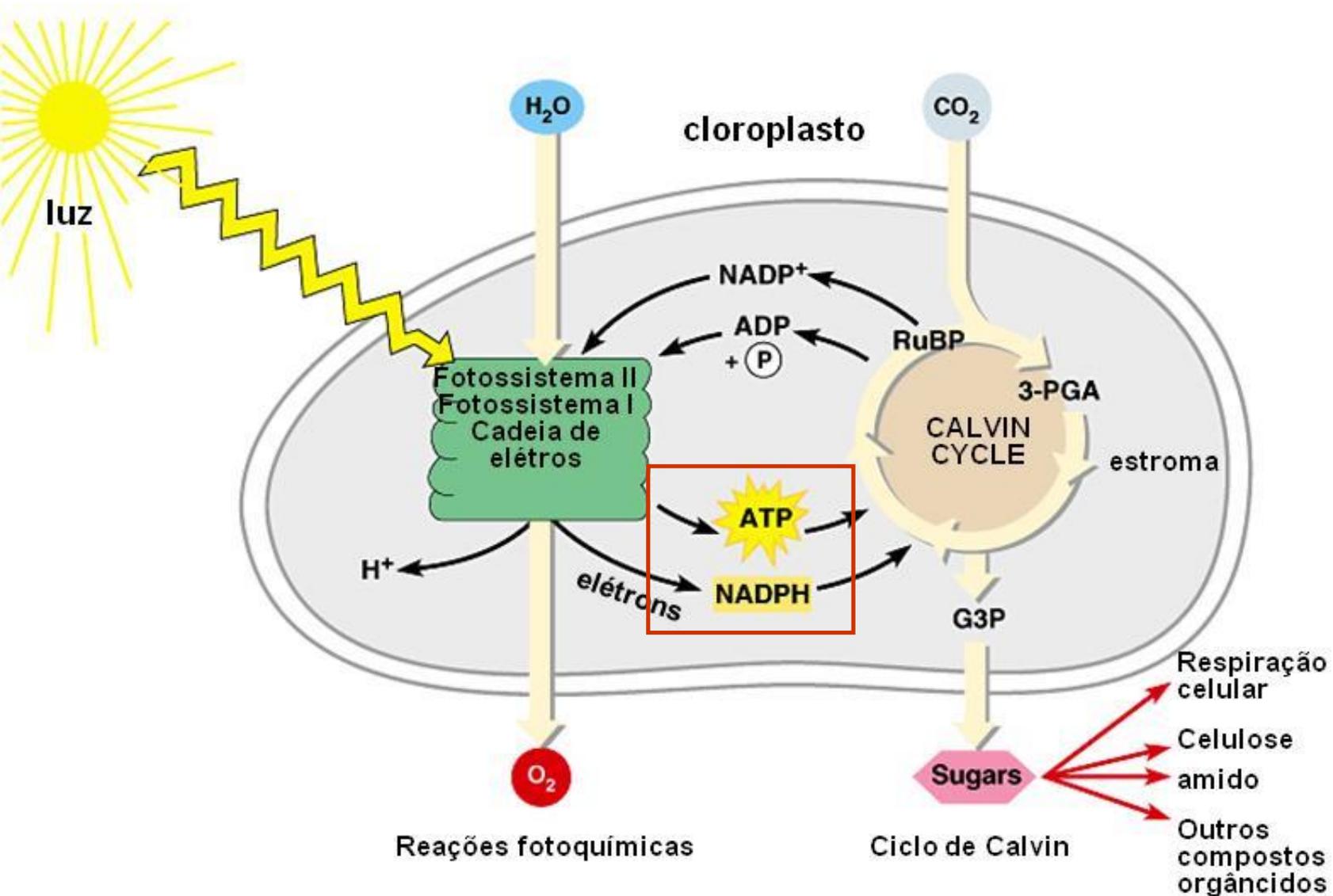
✓ Ribulose 1,5-difosfato carboxilase/oxigenase (RUBISCO)



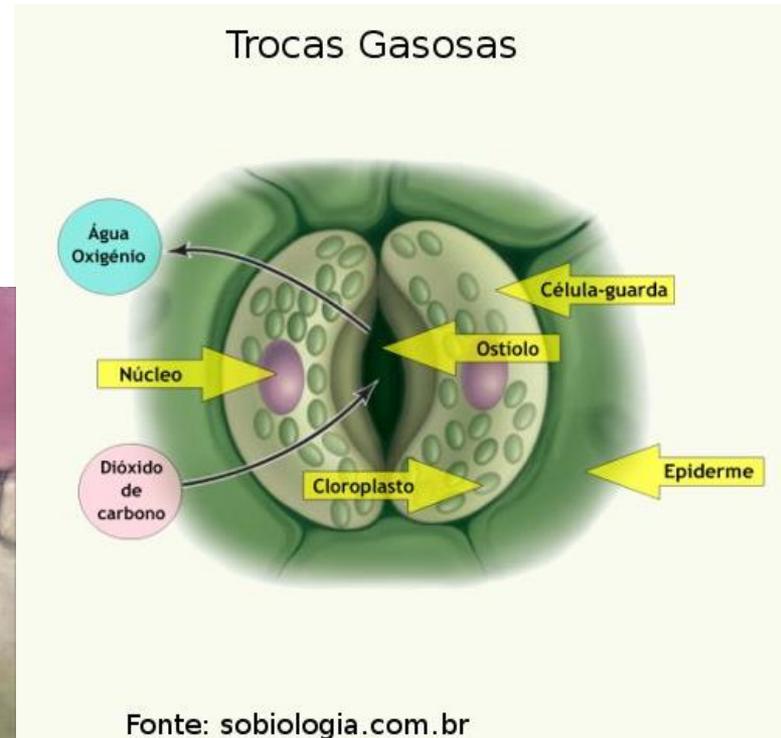
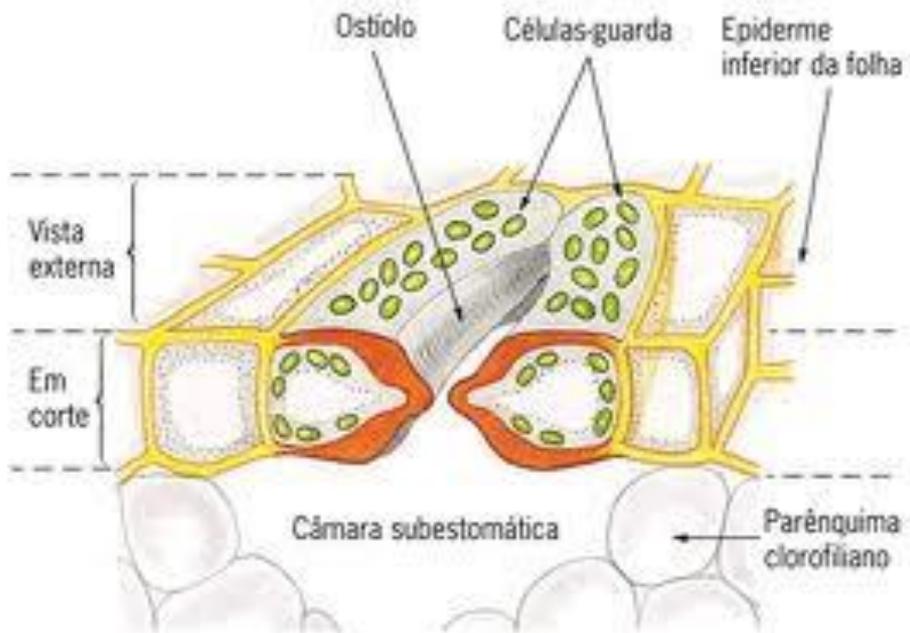
Stroma of chloroplast

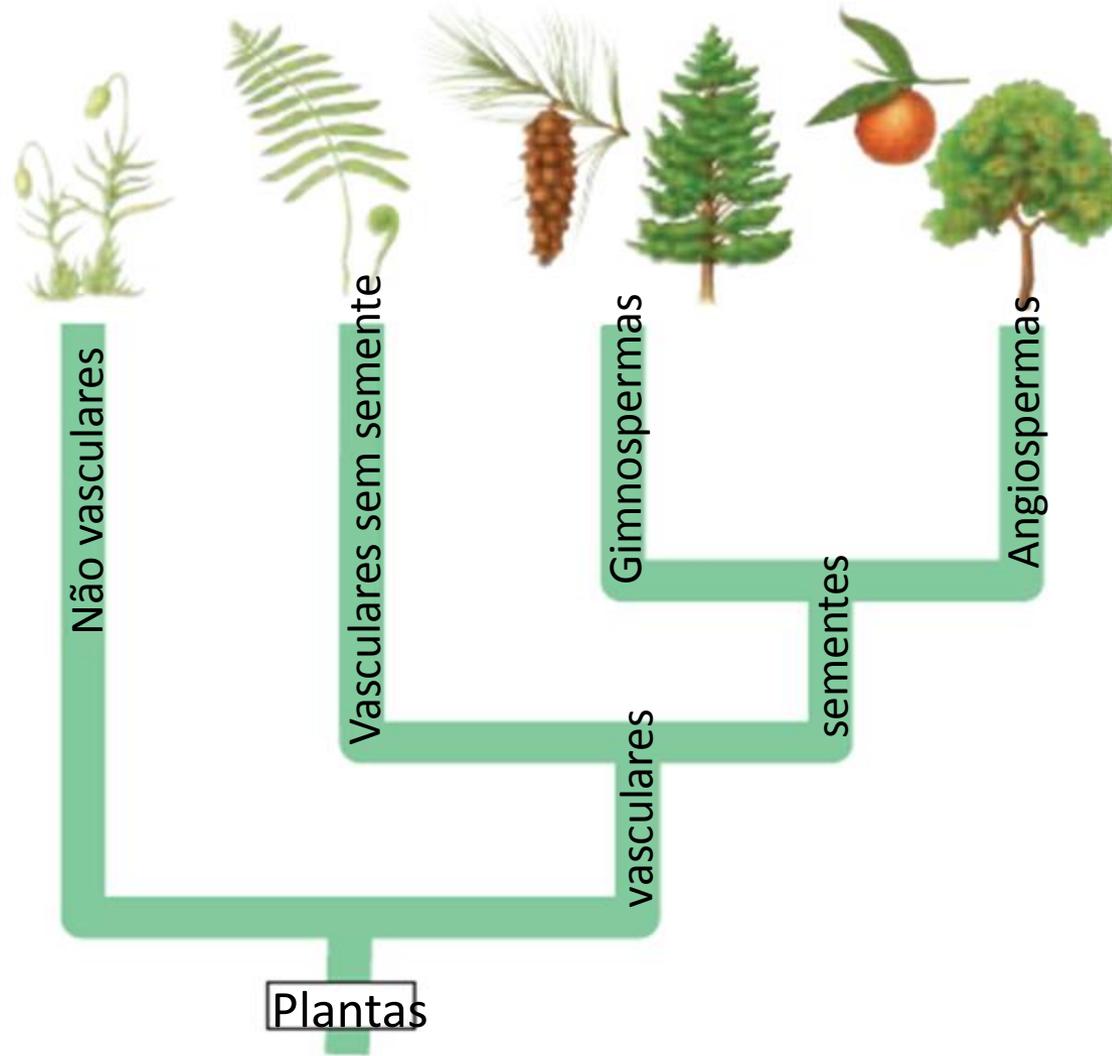


O NADPH e o ATP formados pela ação da luz reduzem o CO_2 e o convertem em 3-fosfoglicerato (precursor de açúcares, aminoácidos e ácidos graxos para a célula) por meio de uma série de reações conhecidas como Ciclo de Calvin.



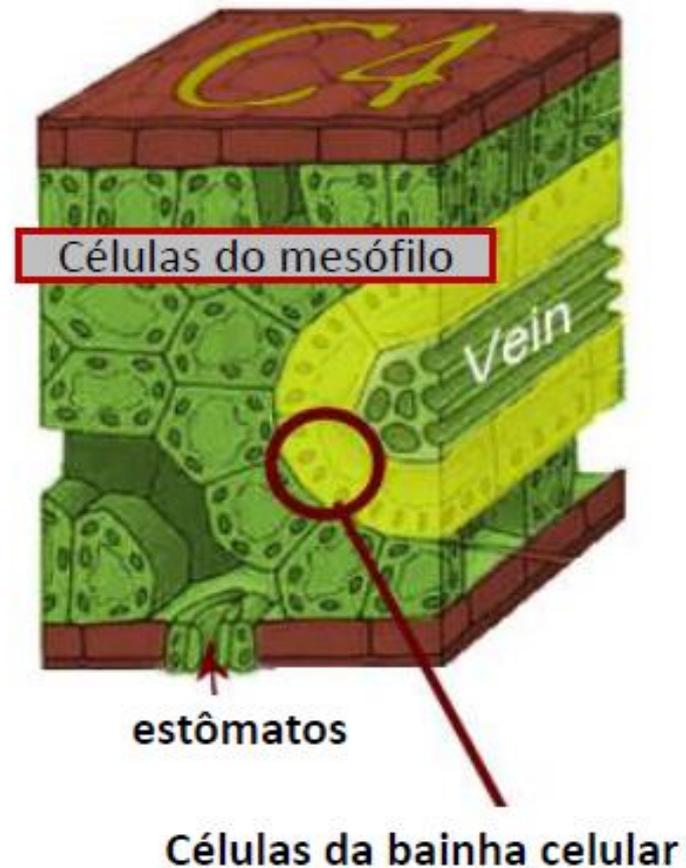
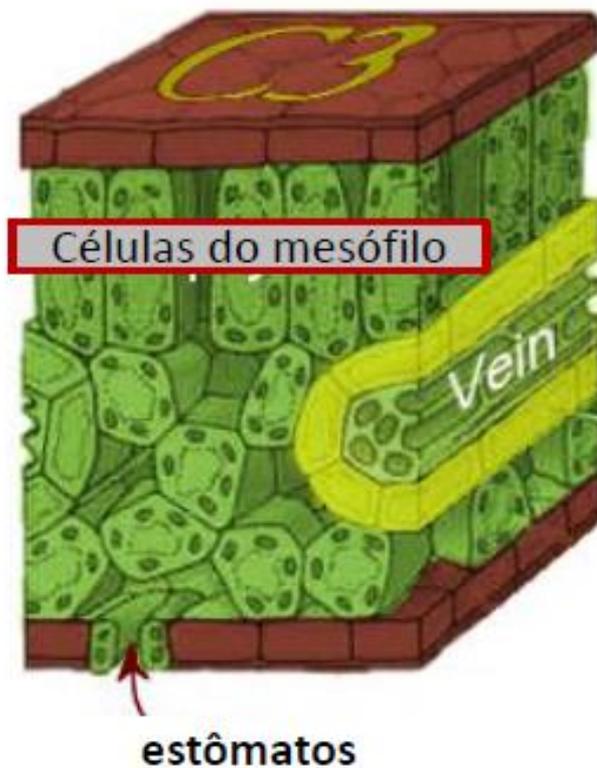
ESTÔMATOS SÃO RICOS EM CLOROPLASTOS





Localização e quantidade de cloroplastos depende da espécie vegetal

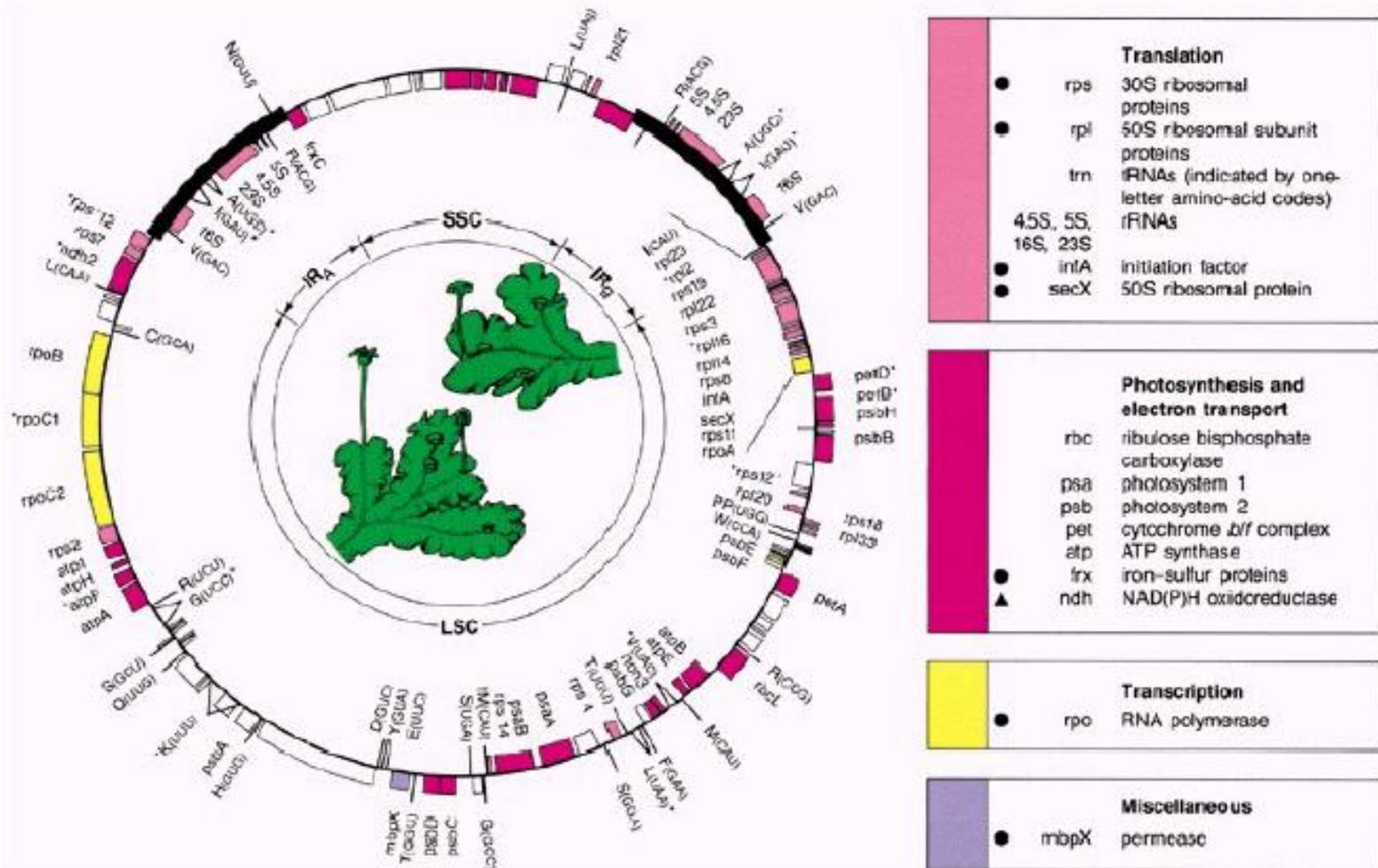
HÁ AINDA VARIAÇÕES NOS TIPOS E EFICIÊNCIA DE FOTOSISTEMAS



GENOMA DE CLOROPLASTOS

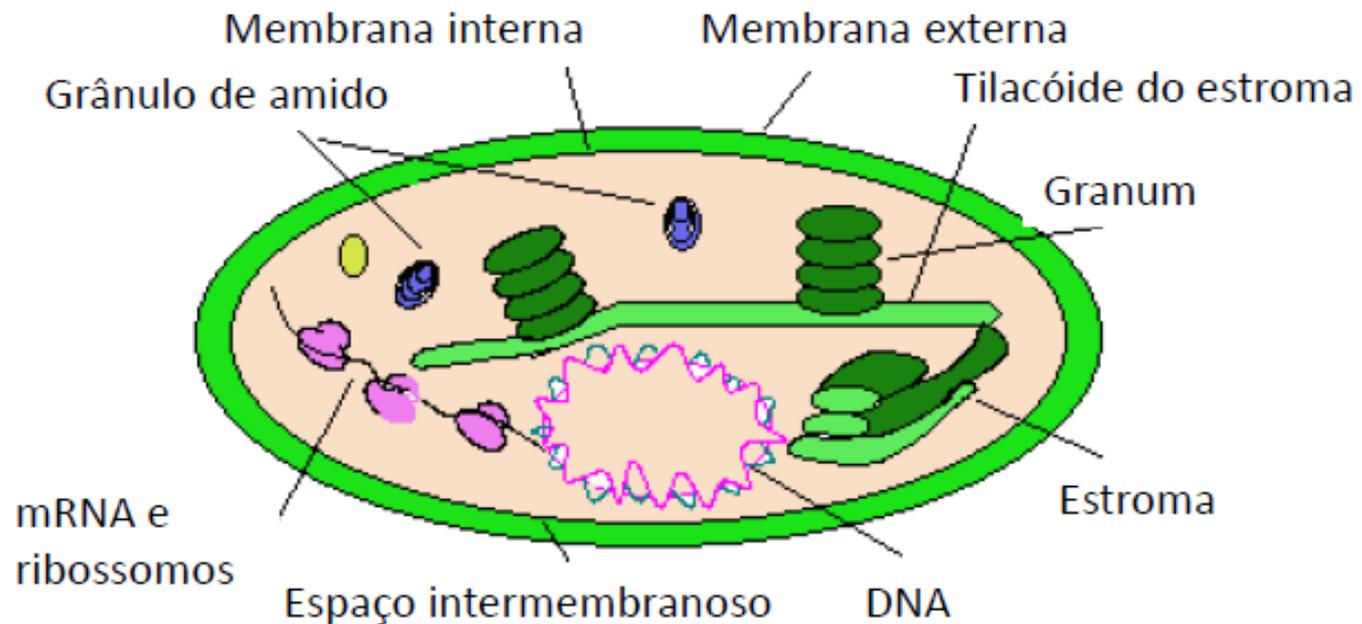
- ✓ Utiliza o **código universal**;
- ✓ Genes para transcrição e tradução;
- ✓ Maior que o mtDNA;
- ✓ Circular (45 μm), ~ 135.000 pares de bases e múltiplas cópias;
- ✓ Genes para: rRNA, proteínas de transcrição e tradução, fotossíntese e transporte de elétrons;
- ✓ **RuBiSCO**: genes que codificam a subunidade maior no cloroplasto; genes que codificam a subunidade menor no núcleo;
- ✓ Alguns genes apresentam introns.

GENOMA DE CLOROPLASTOS



DUPLICAÇÃO DOS CLOROPLASTOS

- ✓ Do mesmo modo que as mitocôndrias se multiplicam por **fissão binária**;
- ✓ Envolve genes do próprio cloroplasto, assim como genes nucleares;
- ✓ Os cloroplastos contêm DNA, RNA e os demais componentes que intervêm na síntese protéica. No entanto, a maioria das proteínas necessárias são traduzidas no citoplasma.



APLICANDO O CONHECIMENTO



A **macho esterilidade** é uma característica que pode ser empregada para a produção comercial de sementes e já foi identificada em muitas espécies vegetais: sorgo, arroz, soja e girassol, beterraba, etc. Evita a autofecundação na linha onde está sendo produzida a semente.

Herança nuclear e citoplasmática (**MITOCÔNDRIA**)



Macho estéril



Macho estéril

Normal

Doenças Mitocondriais

Ibrahim E. Nasseh¹

Célia H. Tengan²

Beatriz H. Kiyomoto²

Alberto Alain Gabbai³

RESUMO

As doenças mitocondriais são um capítulo relativamente recente no estudo das doenças humanas e seu entendimento fisiopatológico necessita de uma abordagem genética de cada paciente. O correto funcionamento das mitocôndrias depende da interação de dois genomas, o nuclear e o mitocondrial. Nesta revisão oferecemos uma introdução sobre genética mitocondrial, a atual classificação das doenças mitocondriais, discorrendo brevemente sobre as apresentações clínicas.

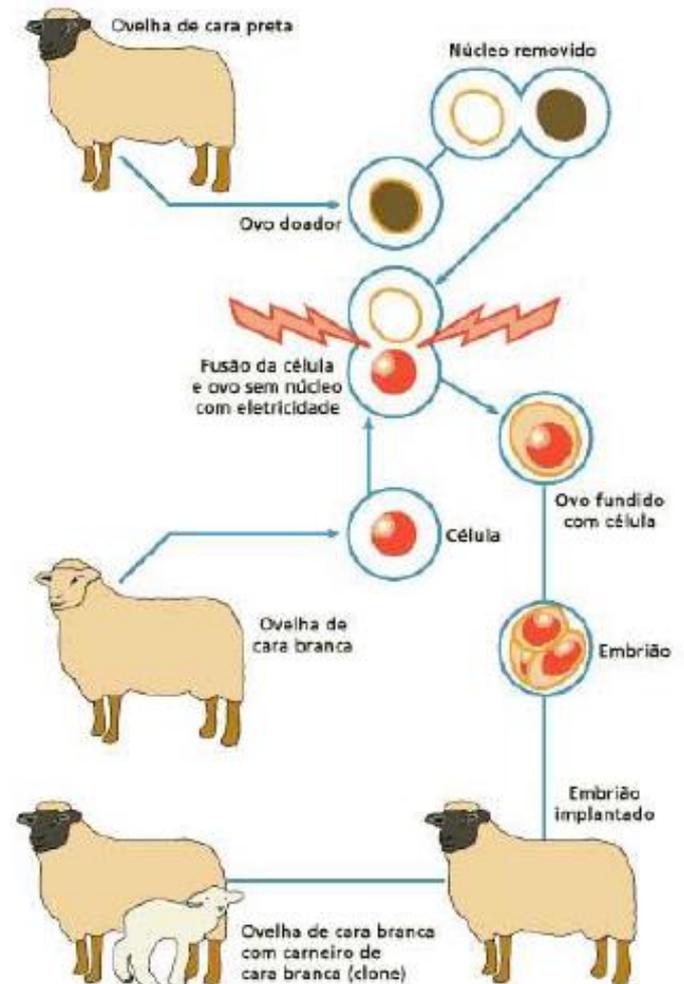
Unitermos: Mitocôndria, citocromo-c oxidase, DNA mitocondrial, doenças mitocondriais.

OUTRAS CARACTERÍSTICAS COM HERANÇA EXTRACROMOSSOMICA



Filhote clonado não identido a mãe

Porque?





TRANSFORMAÇÃO DE CLOROPLASTOS

Helaine Carrer
Pesquisadora do Centro de
Biotecnologia Agrícola (CEBTEC)
Professora doutora do
Departamento de Química,
ESALQ/USP

QUAIS AS VANTAGENS EM SE MODIFICAR ESTA ORGANELA?

Foto cedida pelos autores.



Figura 1: Estrutura do cloroplasto.



Figura 2: Genoma do cloroplasto de tabaco com aproximadamente 120 genes.



Figura 3: Protocolo de transformação de cloroplasto utilizando biolística.

THE TORTOISE AND THE HARE II: RELATIVE UTILITY OF 21 NONCODING CHLOROPLAST DNA SEQUENCES FOR PHYLOGENETIC ANALYSIS¹

JOEY SHAW,² EDGAR B. LICKEY, JOHN T. BECK, SUSAN B. FARMER,
WUSHENG LIU, JERMEY MILLER, KUNSIRI C. SIRIPUN,
CHARLES T. WINDER, EDWARD E. SCHILLING, AND RANDALL L. SMALL

Department of Botany, 437 Hesler Biology, University of Tennessee, Knoxville, Tennessee 37996 USA

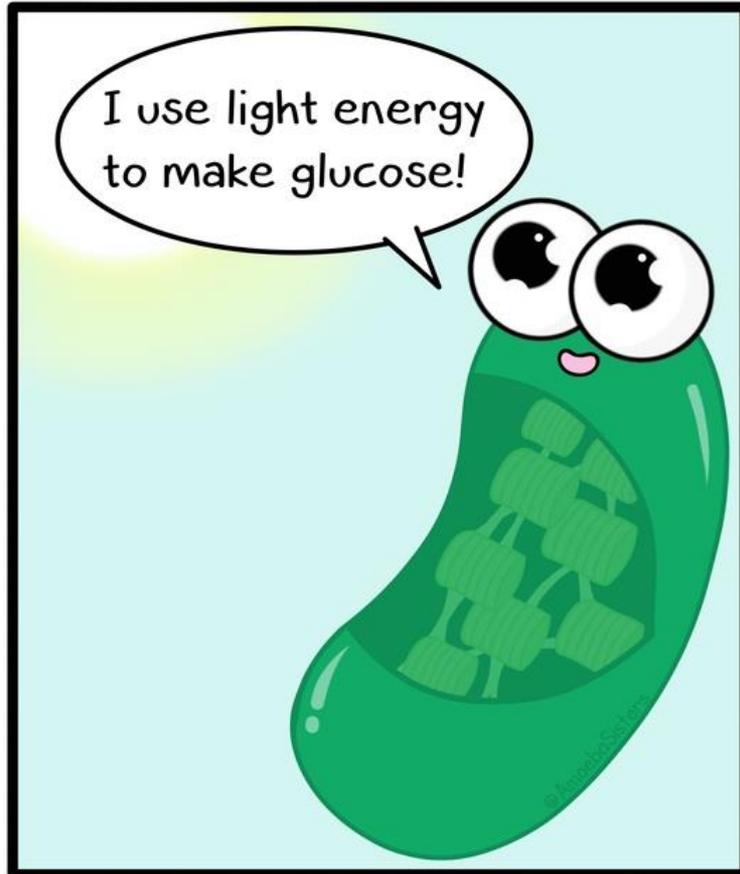
Chloroplast DNA sequences are a primary source of data for plant molecular systematic studies. A few key papers have provided the molecular systematics community with universal primer pairs for noncoding regions that have dominated the field, namely *trnL-trnF* and *trnK/matK*. These two regions have provided adequate information to resolve species relationships in some taxa, but often provide little resolution at low taxonomic levels. To obtain better phylogenetic resolution, sequence data from these regions are often coupled with other sequence data. Choosing an appropriate cpDNA region for phylogenetic investigation is difficult because of the scarcity of information about the tempo of evolutionary rates among different noncoding cpDNA regions. The focus of this investigation was to determine whether there is any predictable rate heterogeneity among 21 noncoding cpDNA regions identified as phylogenetically useful at low levels. To test for rate heterogeneity among the different cpDNA regions, we used three species from each of 10 groups representing eight major phylogenetic lineages of phanerogams. The results of this study clearly show that a survey using as few as three representative taxa can be predictive of the amount of phylogenetic information offered by a cpDNA region and that rate heterogeneity exists among noncoding cpDNA regions.

Key words: angiosperms; cpDNA; intergenic spacers; introns; molecular systematics; noncoding chloroplast DNA; phylogeny; seed plants.

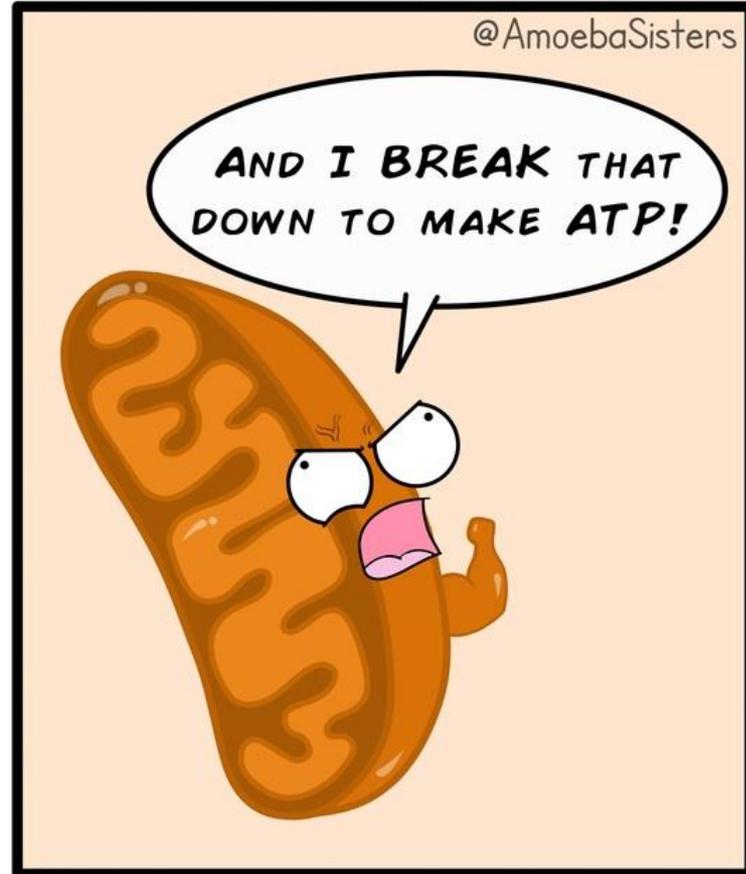
CHLOROPLAST

VS

MITOCHONDRION



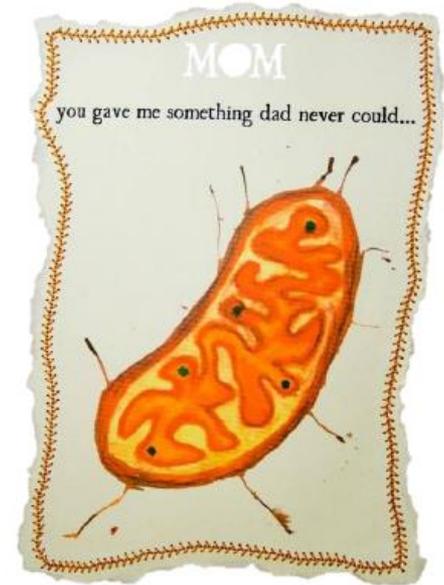
- Found in (most) photosynthetic eukaryotes
- Used for photosynthesis



- Found in (most) eukaryotes
- Used for cellular respiration

ESTUDO DIRIGIDO

- Função das mitocôndrias
- Etapas da respiração celular
- Função dos cloroplastos
- Etapas da fotossíntese
- Diferenças entre estruturas de mitocôndria e cloroplastos
- Origem das mitocôndrias e cloroplastos



Capítulo 8 - Mitocôndrias e Capítulo 9 - Cloroplastos

De Robertis, E.M.F.; Hib, J. 2014. *Biologia Celular e Molecular*. 16ª Edição. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.