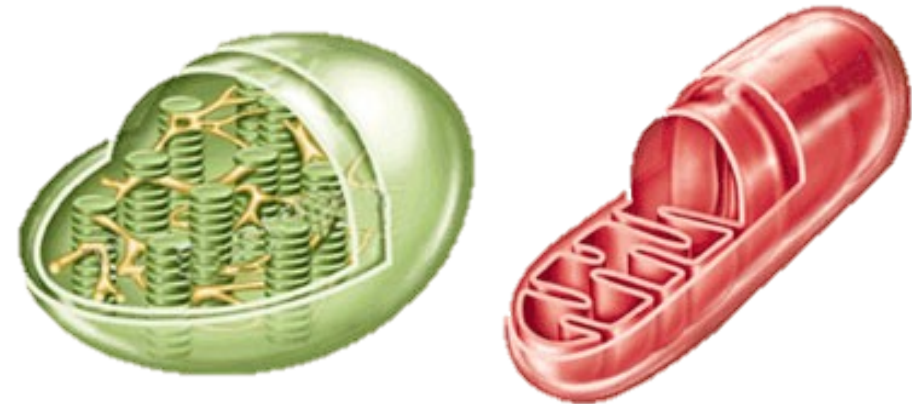


AS ORGANELAS RESPONSÁVEIS PELA GERAÇÃO DE ENERGIA: CLOROPLASTOS E MITOCÔNDRIAS

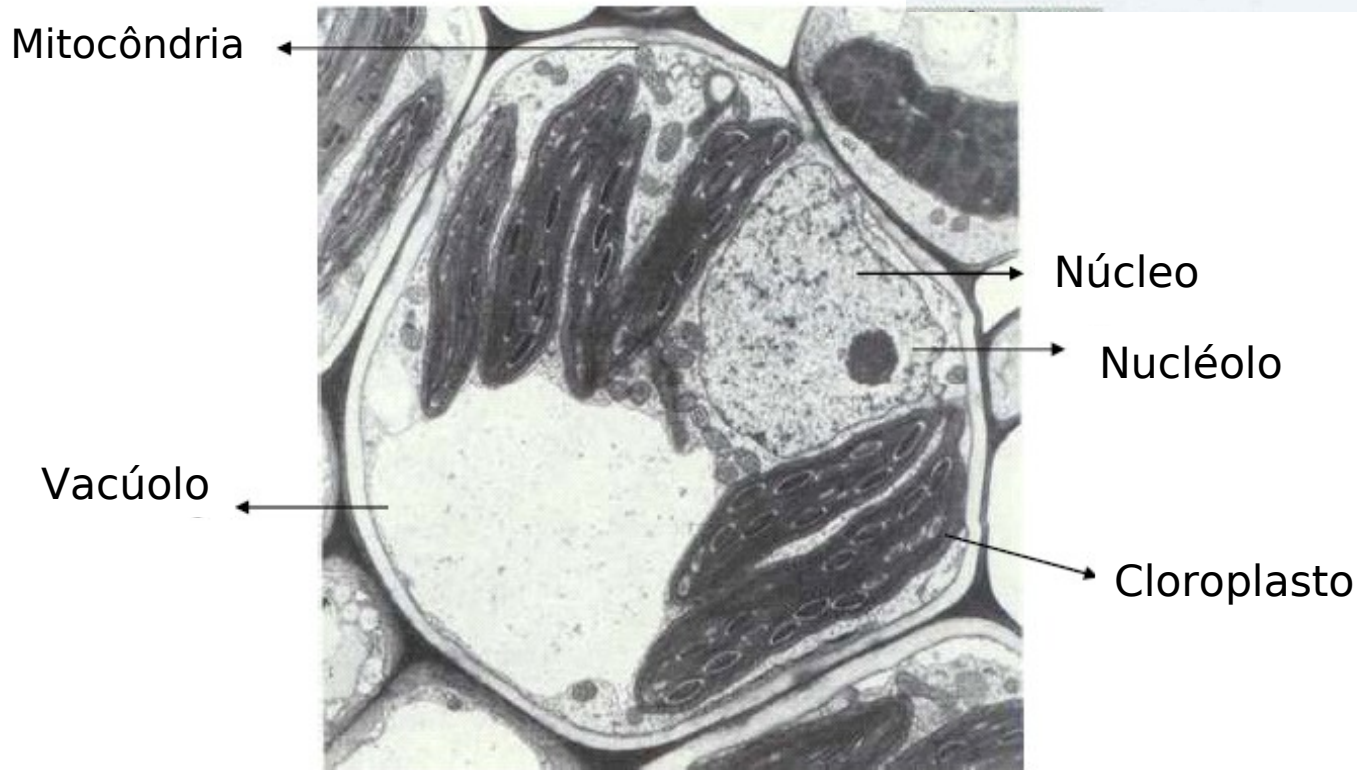
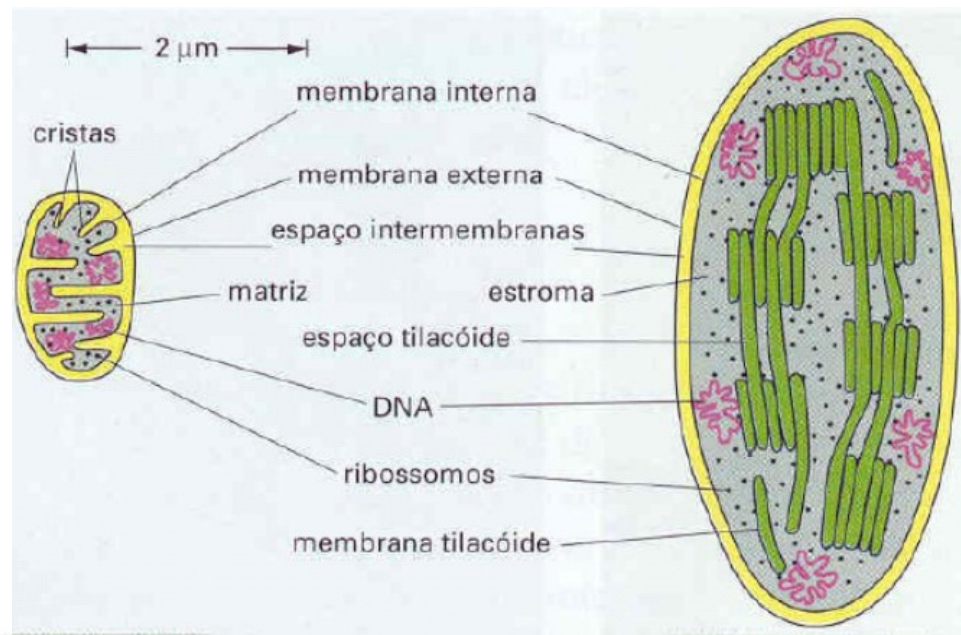
Aula Teórica 8

LGN0114 - Biologia Celular



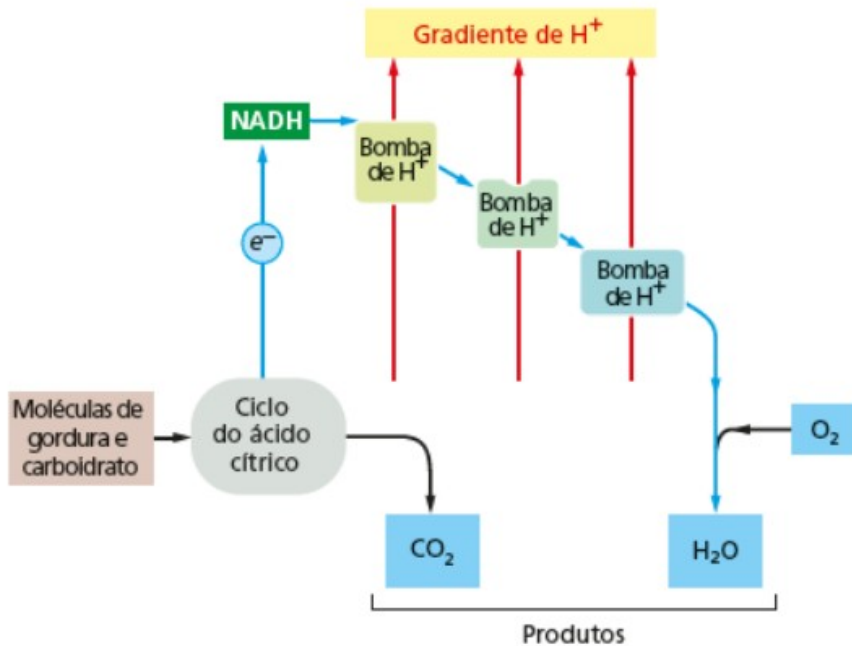
Leandro F. de Souza
Departamento de Genética
leandro_fonseca@usp.br

MITOCÔNDRIA E CLOROPLASTO

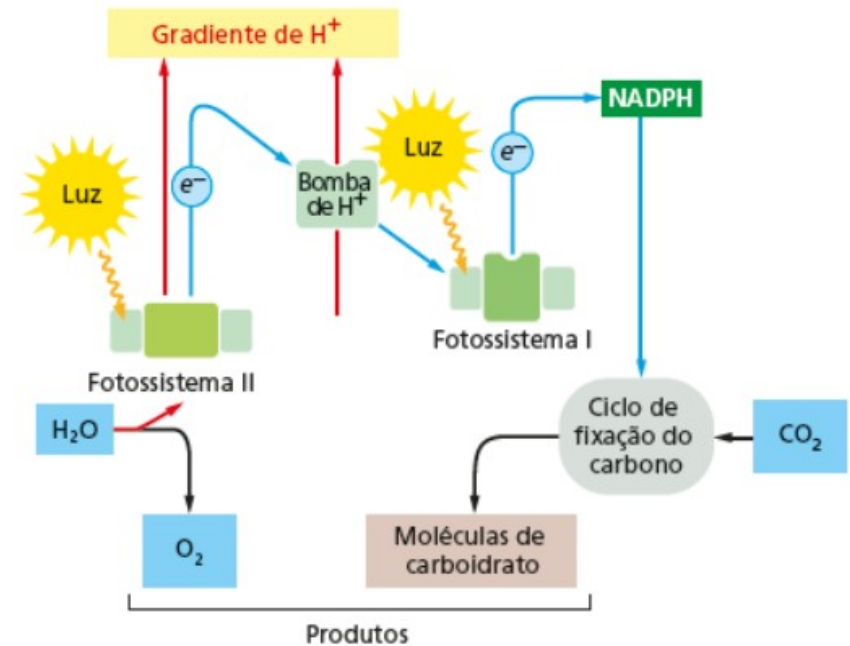


GERAÇÃO DE ENERGIA PELAS CÉLULAS

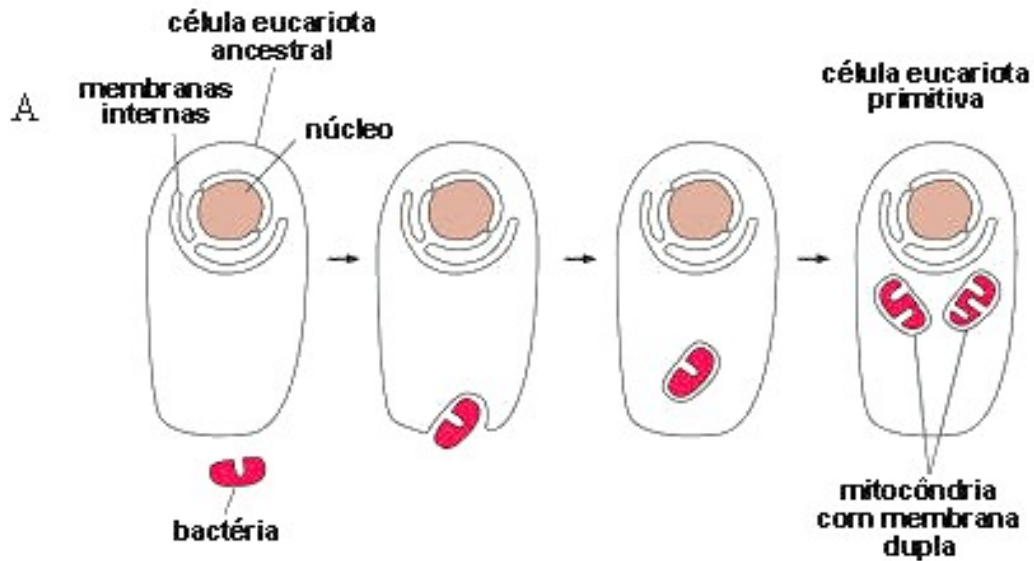
(A) MITOCÔNDRIA



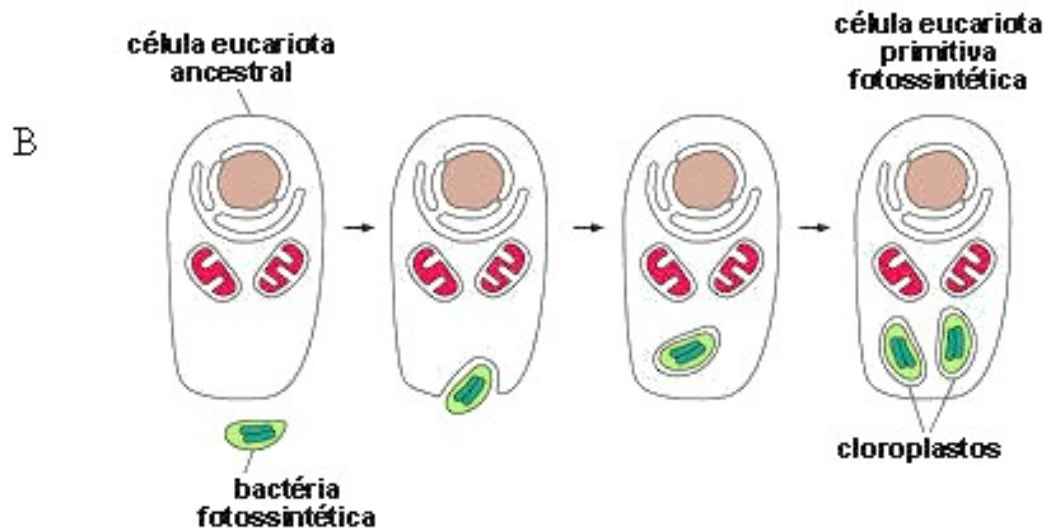
(B) CLOROPLASTO



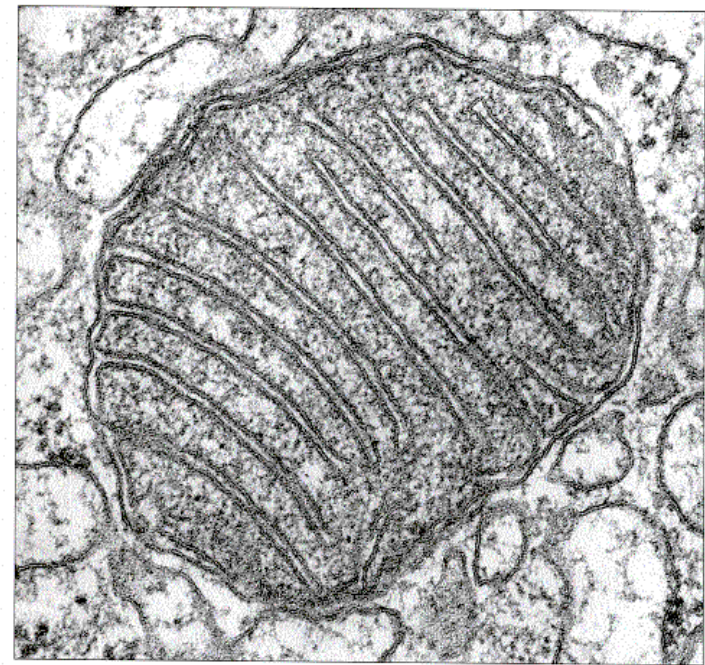
Possíveis mecanismos de endossimbiose da mitocôndria e do cloroplasto



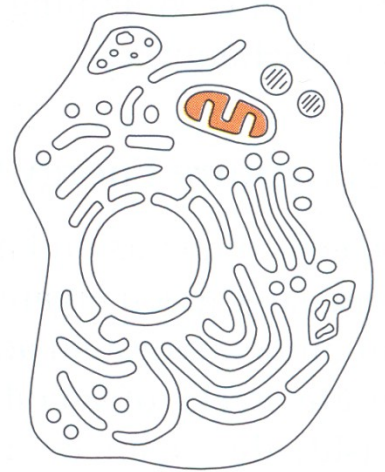
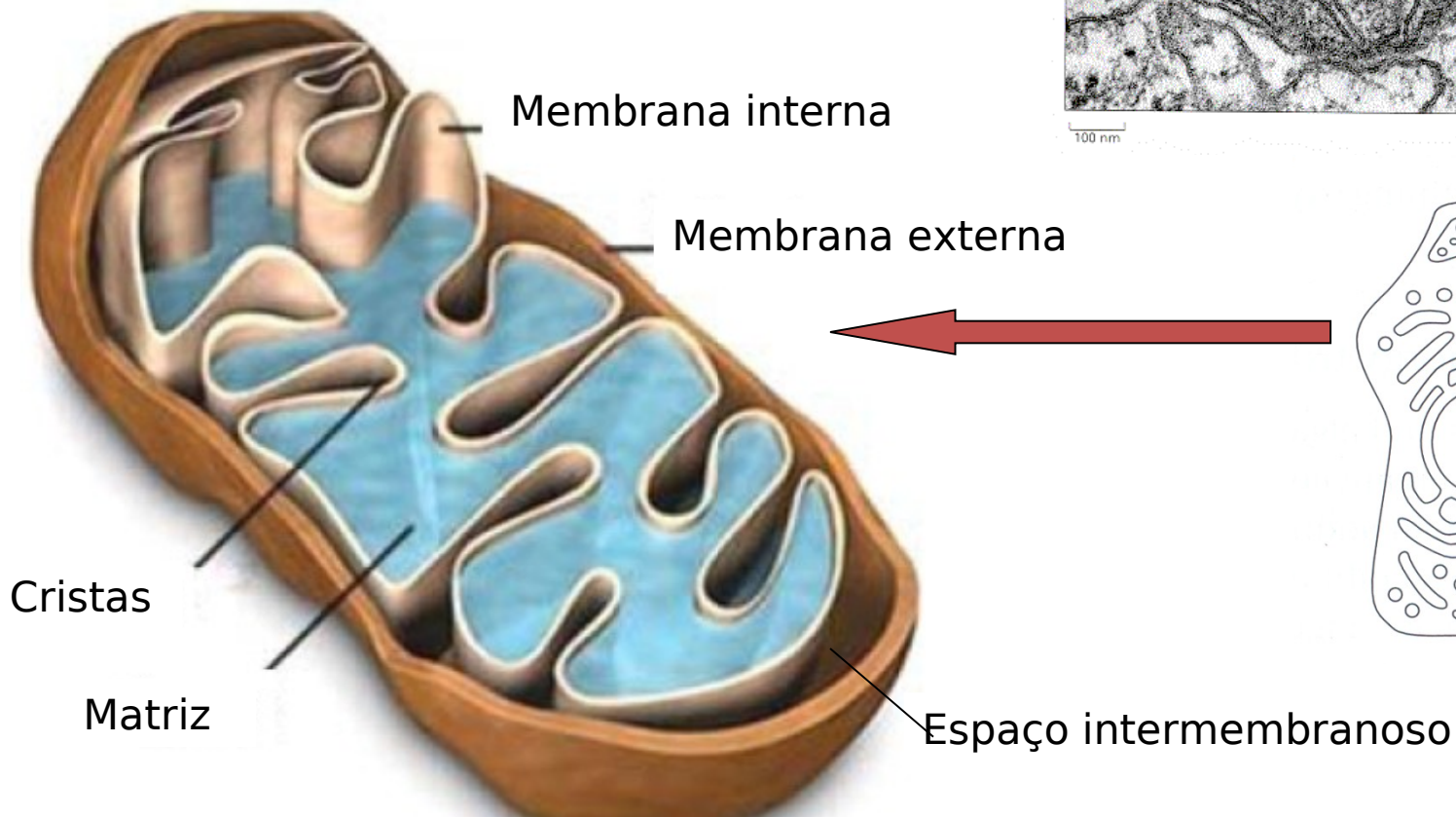
- ✓ Origem endossimbiótica
- Membrana dupla
- Genoma próprio



MITOCÔNDRIAS



100 nm



MITOCÔNDRIAS

ESTRUTURA

Duas membranas:

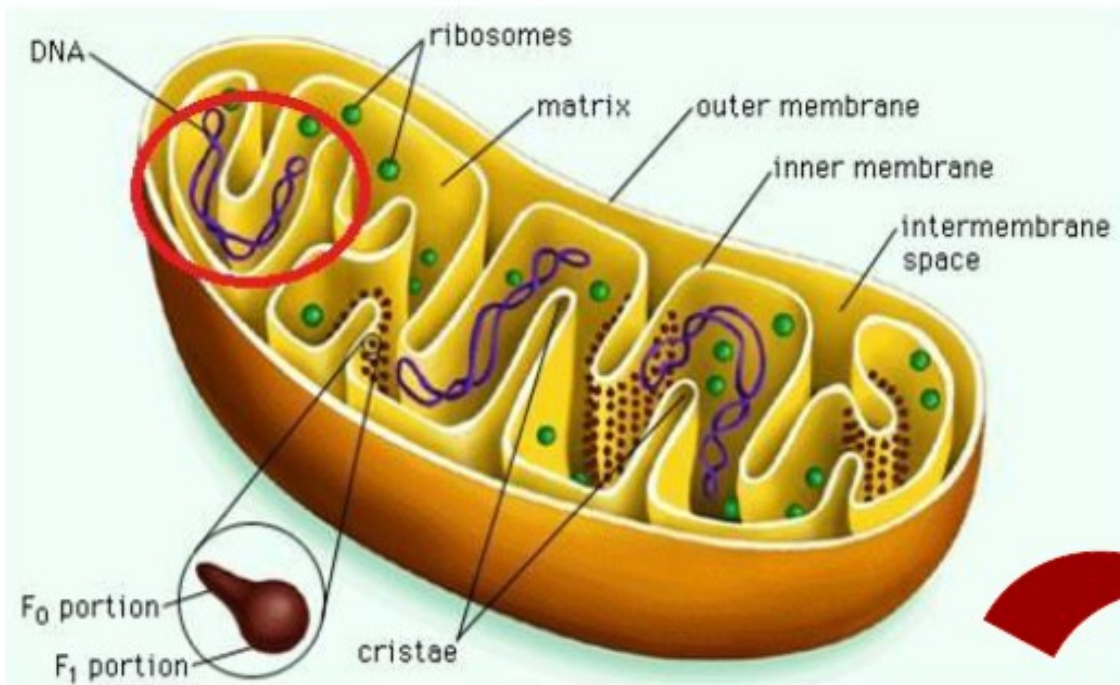
Membrana externa - permeável (presença de porinas bem caracterizadas em animais, assim como a presença de grande quantidade de colesterol);

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:

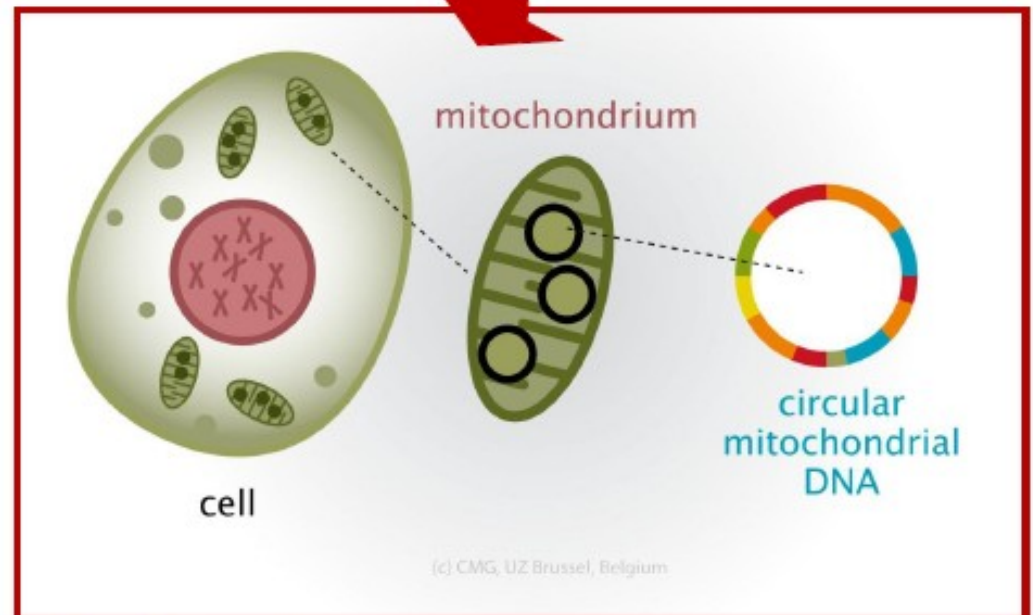
- ✓ DNA e ribossomos;
- ✓ Centenas de enzimas, dentre as quais estão as relacionadas com o ciclo de Krebs, β -oxidação de ácidos graxos e com a replicação, transcrição e tradução do DNA mitocondrial.



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

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

MITOCÔNDRIAS





Diâmetro de 0,5 a 1 μm e comprimento 0,5 a 10 μm



MITOCÔNDRIAS

Síntese de ATP - fonte imediata de energia para a célula

Mitocôndrias de plantas tem funções especializadas como:

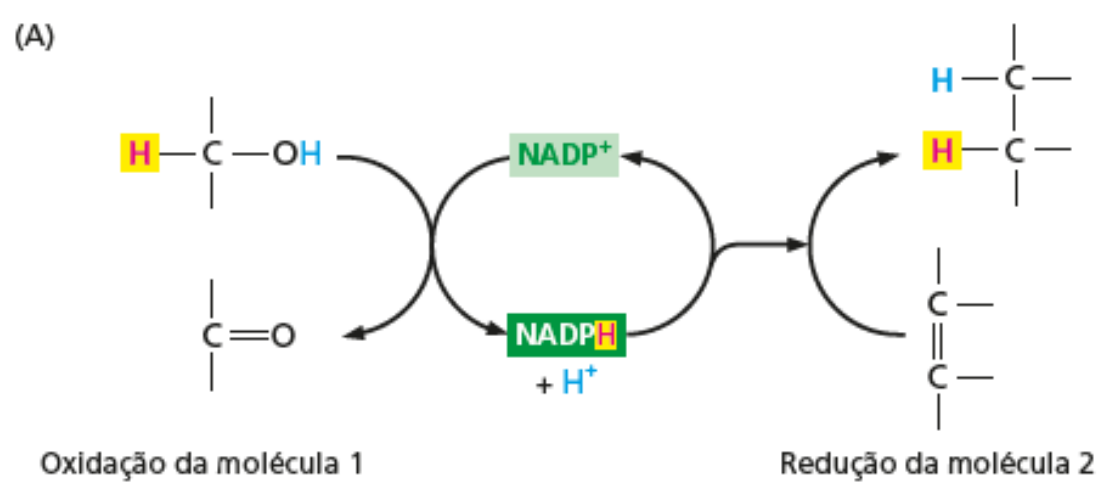
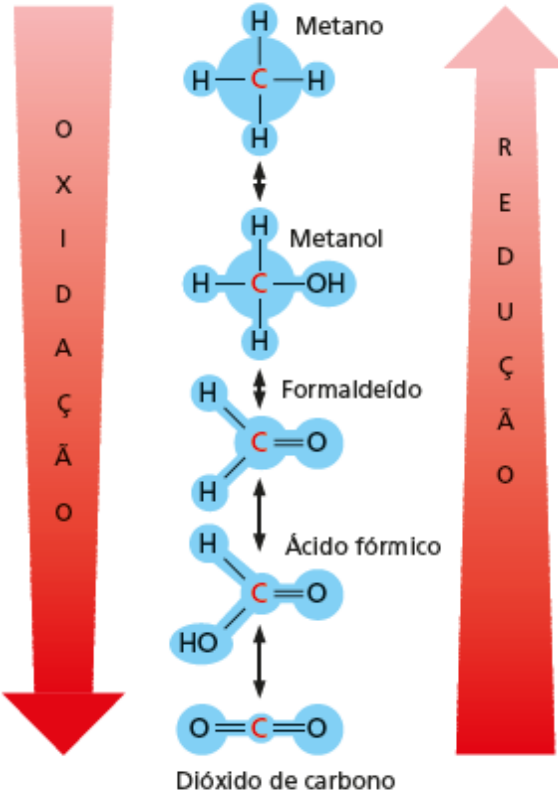
- ✓ sítio para a síntese de vitamina C, ácido fólico, ácido lipóico e biotina;
- ✓ estresse oxidativo.

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).

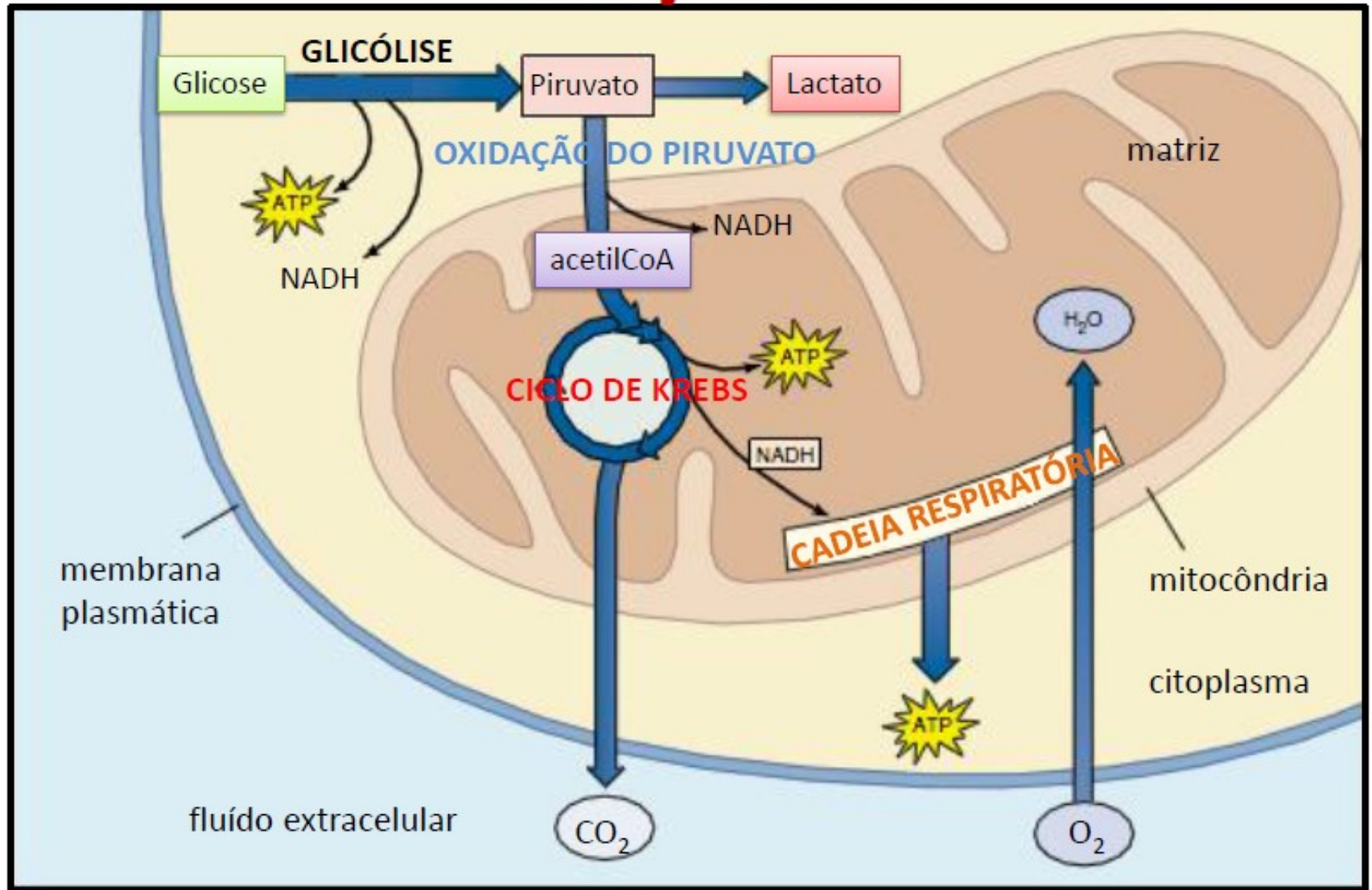
Ocupam até 20% do volume citoplasmático de uma célula eucariótica

OXIDAÇÃO-REDUÇÃO

Quem "doa" elétrons → Oxida
 Quem "recebe" elétrons → Reduz

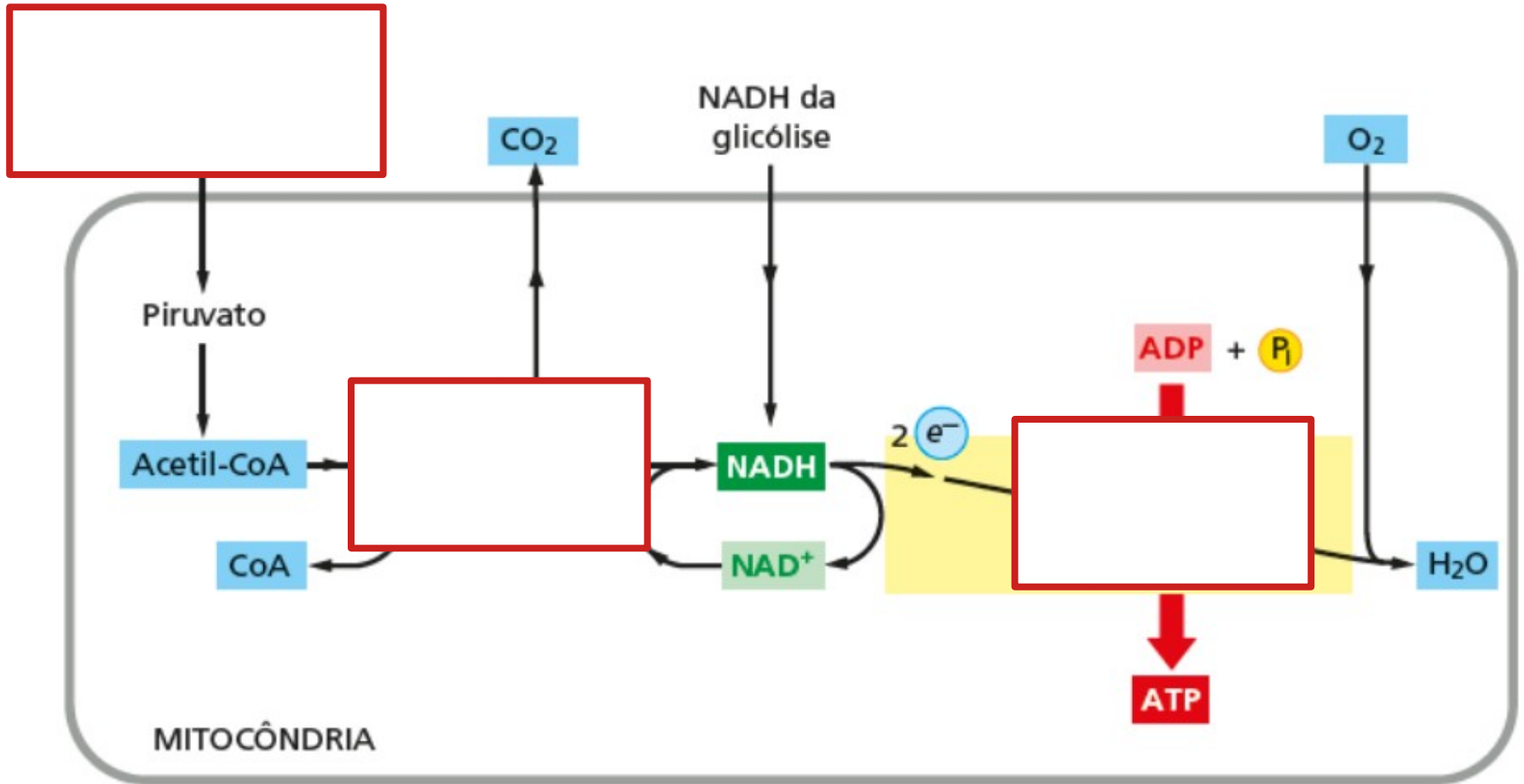


PRODUÇÃO DE ATP

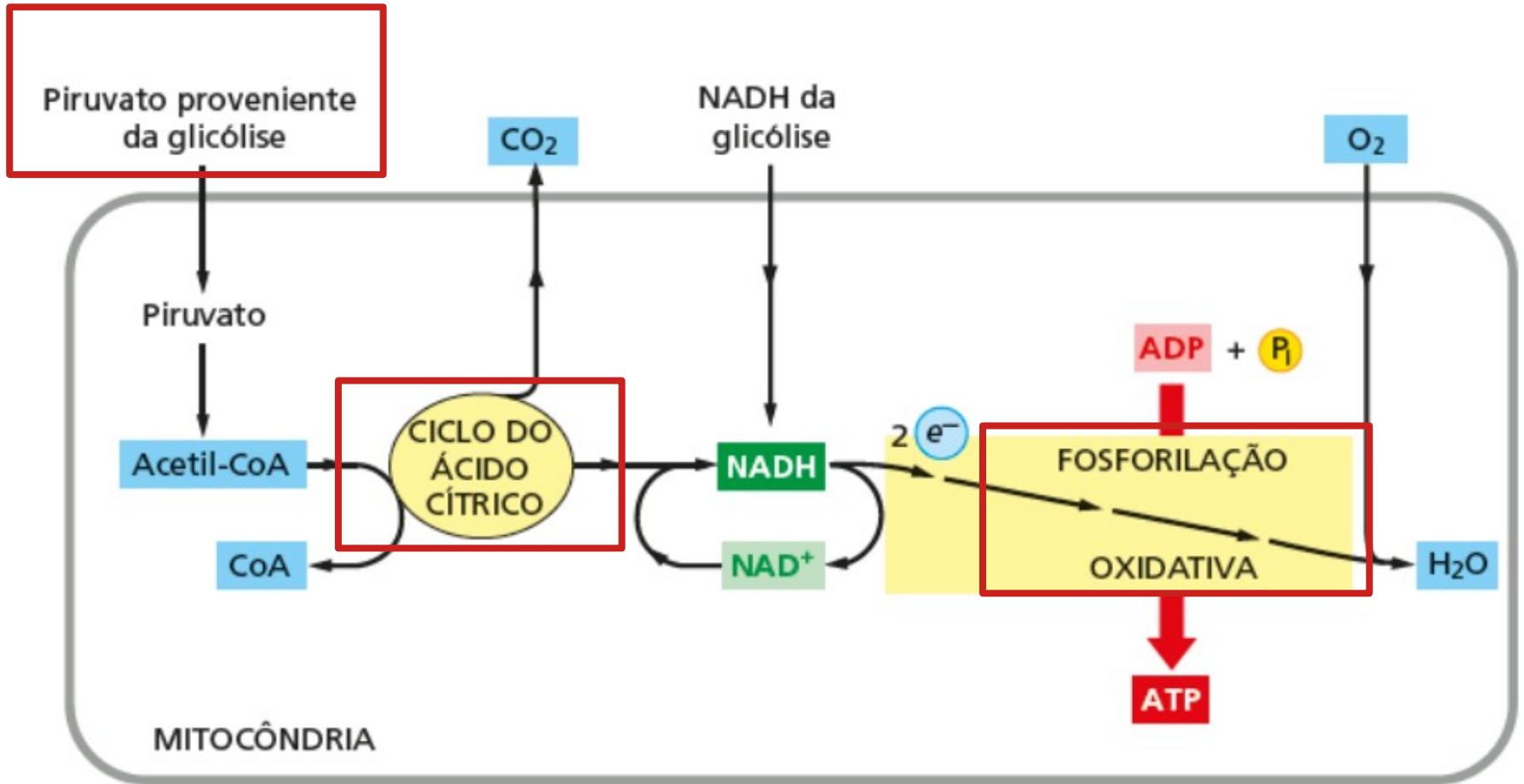


***Respiração: Glicólise, ciclo de Krebs e cadeia respiratória.

PRODUÇÃO DE ATP



PRODUÇÃO DE ATP



GLICÓLISE

CITOPLASMA!!

1. Phosphorylation of glucose by ATP.

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

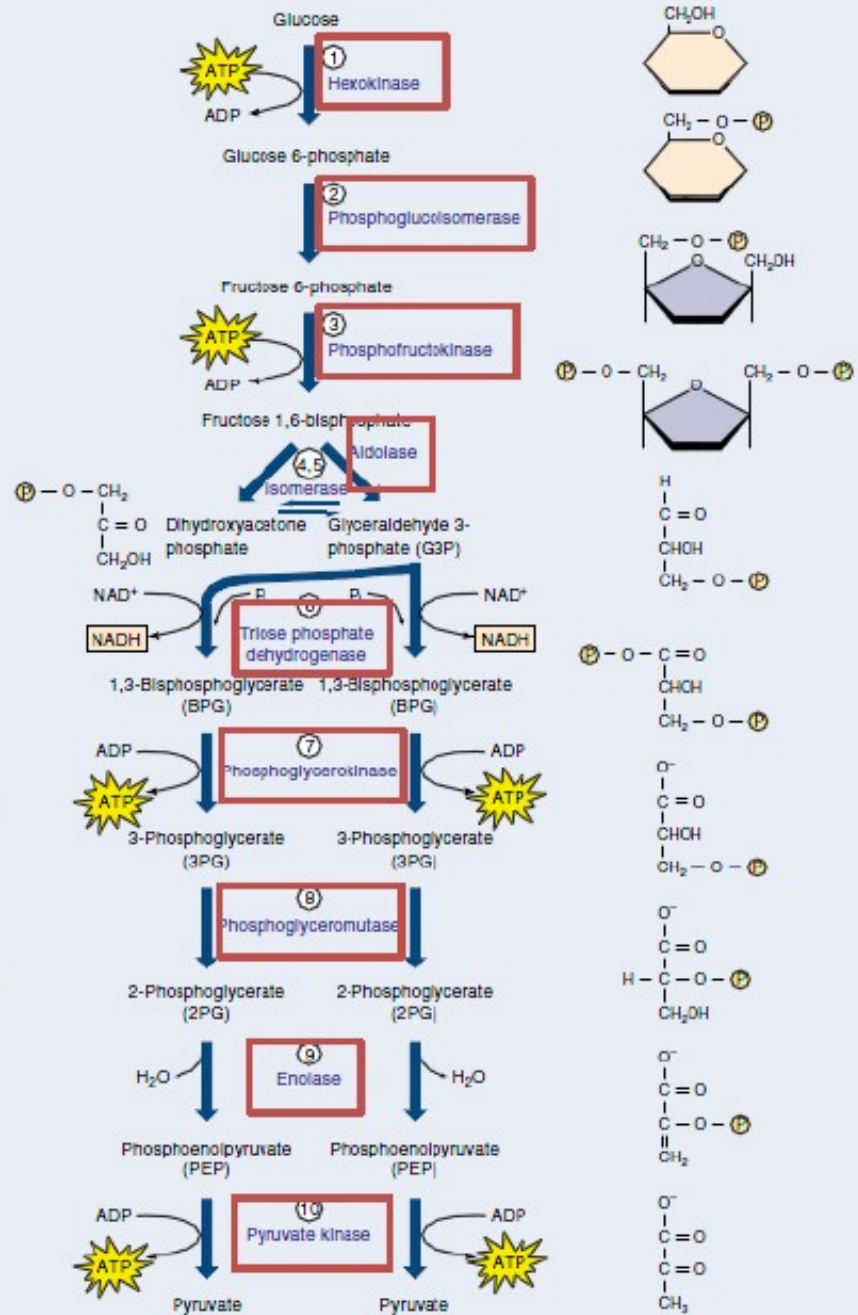
4-5. The six-carbon molecule is split into two three-carbon molecules—one G3P, another that is converted into G3P in another reaction.

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.



Saldo por cada glicose:

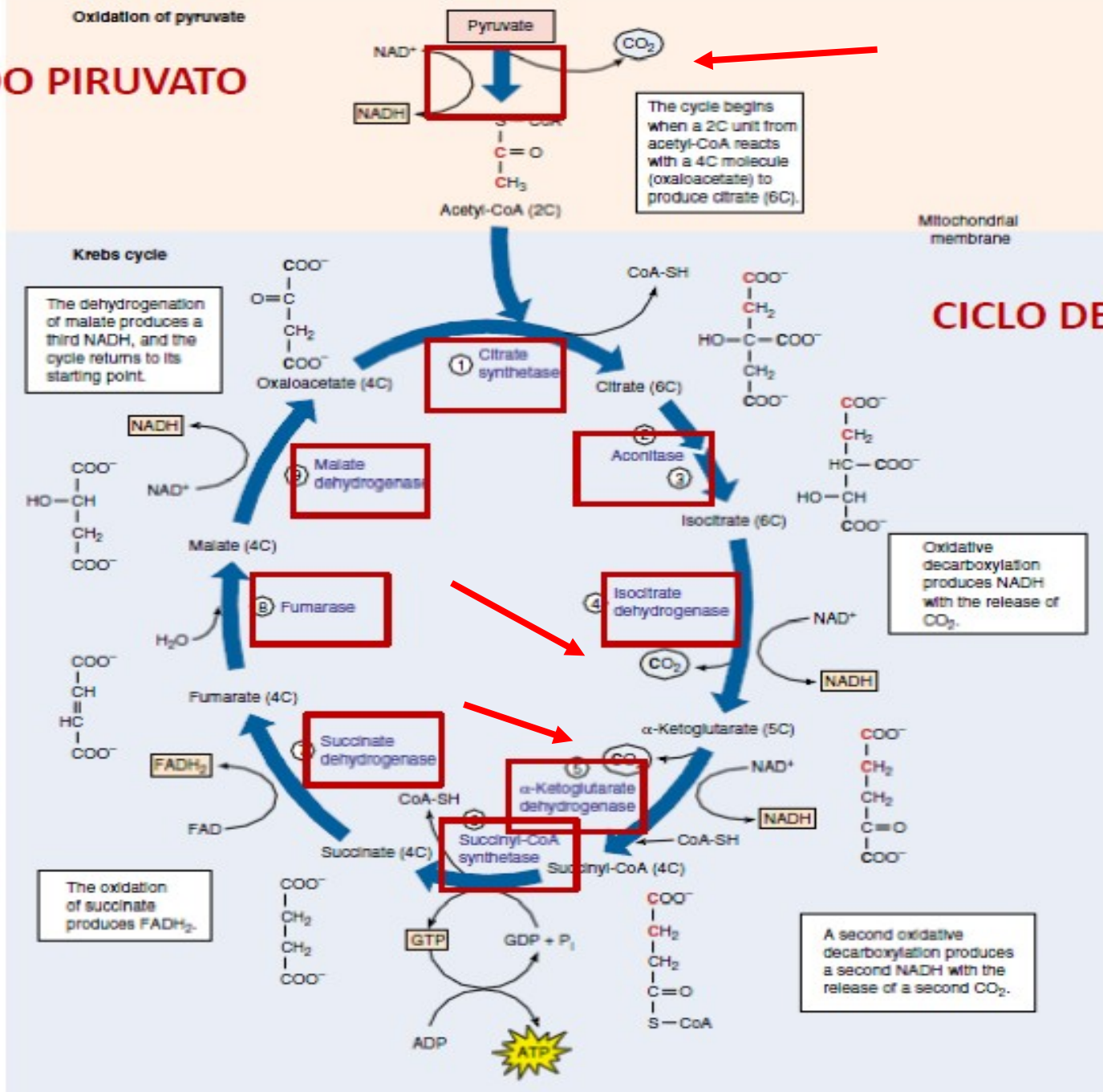
2 ATP

2 NADH

2 Piruvato

OXIDAÇÃO DO PIRUVATO

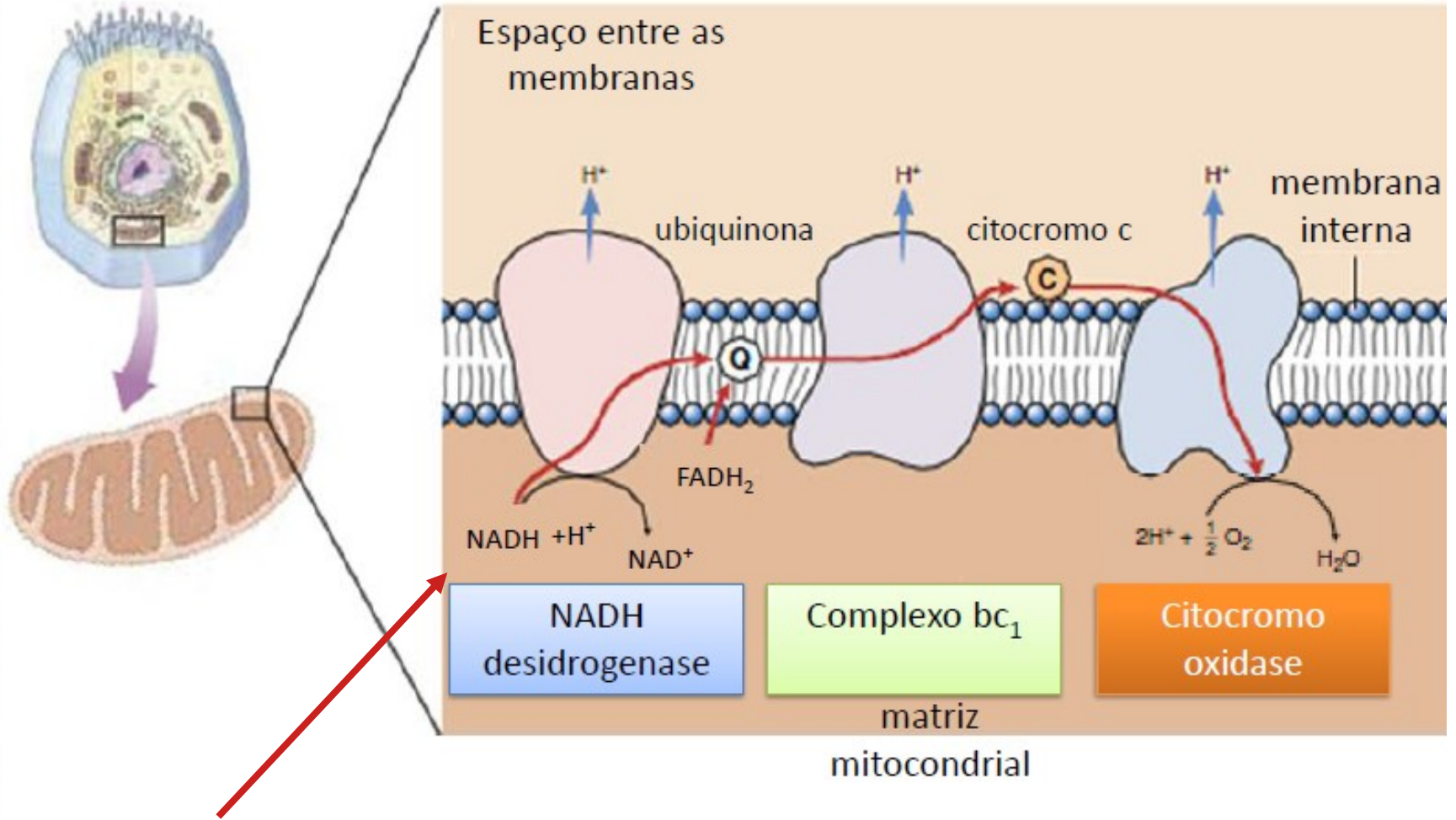
MATRIZ MITOCONDRIAL



CICLO DE KREBS

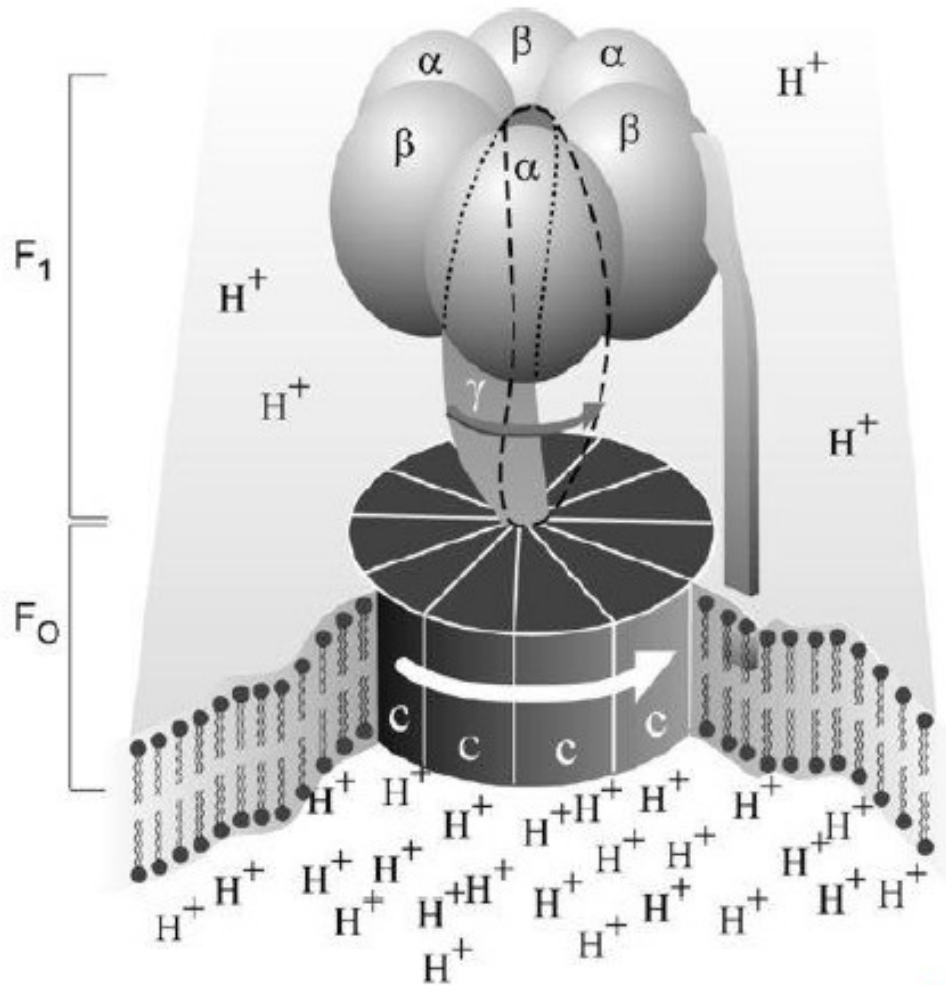
Saldo por cada glicose:
 2 ATP
 8 NADH
 2 FADH_2
 6 CO_2

CADEIA RESPIRATÓRIA



E o ATP?

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

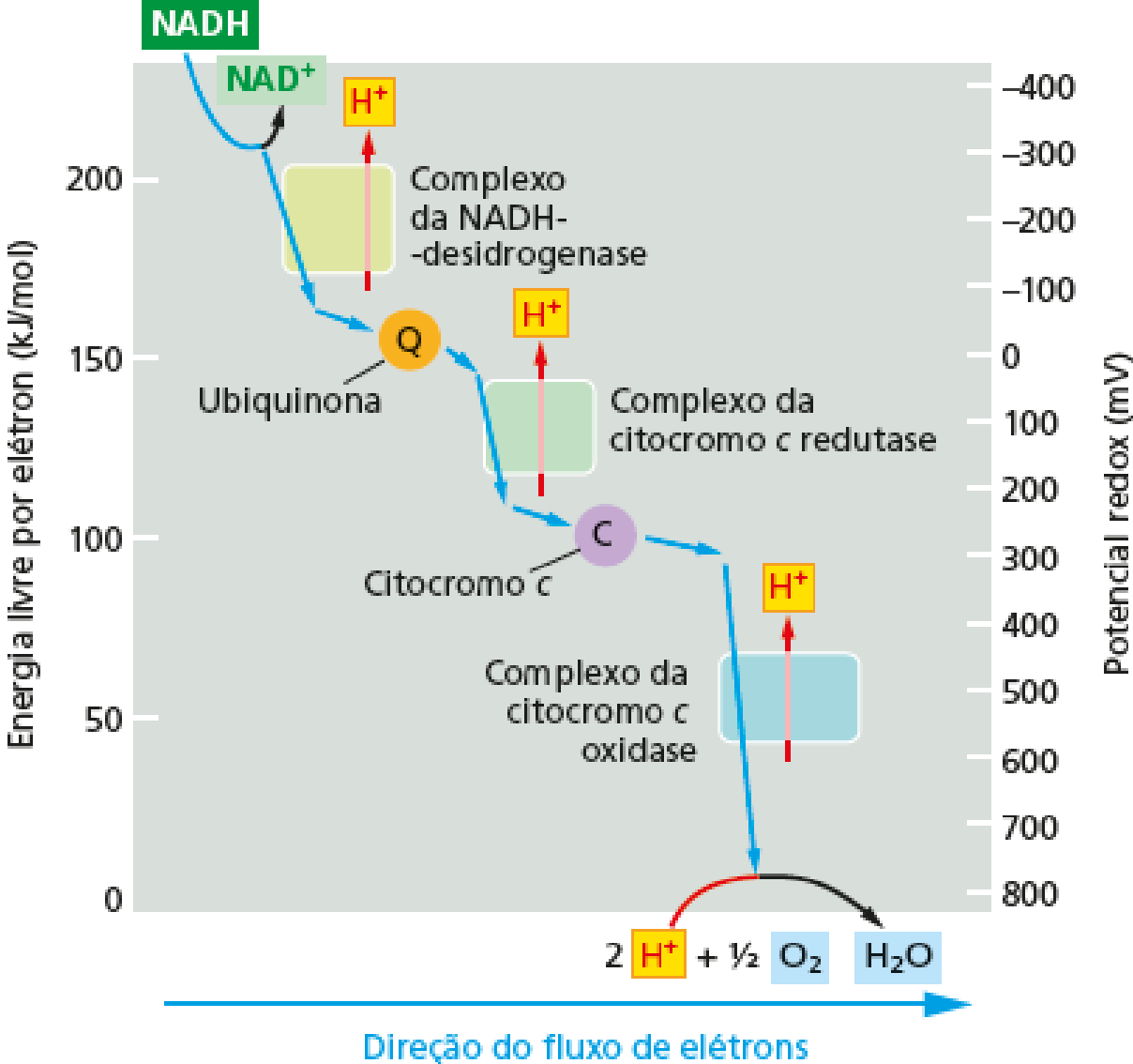
- Composta por mais de 23 subunidades
- Síntese de ATP

10.000 rotações por minuto \rightarrow 3ATP/rotação

CADEIA RESPIRATÓRIA



Por que tantos elementos intermediários?



BALANÇO ENERGÉTICO



Glicólise = 2 ATP + 2 NADH

Ciclo do ácido cítrico = 2 ATP + 8 NADH + 2 FADH₂

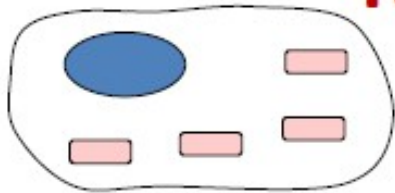
Fosforilação oxidativa: a cada NADH = 2,5 ATP *
a cada FADH₂ = 1,5 ATP *

Glicólise + Ciclo do ácido cítrico + Fosforilação oxidativa = 4 ATP + 10 NADH + 2 FADH₂ = 4 ATP + 10*2,5 ATP + 2*1,5 ATP = **32 ATP**

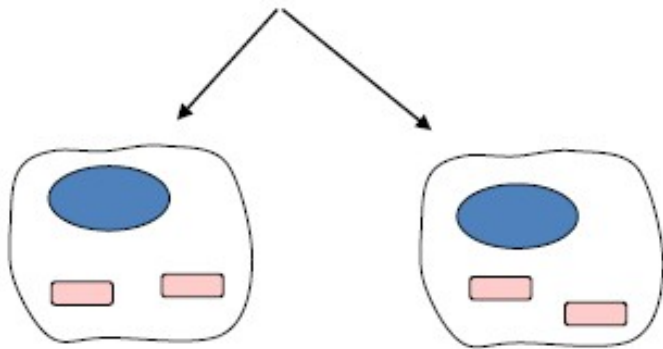
O valor total pode variar de 30 a 32 ATP, dependendo do tipo celular em questão e a via que utiliza para transporte dos elétrons do NADH produzido no citoplasma para a matriz mitocondrial. Se pela via malato-aspartato ou via glicerol-3-fosfato.

*Alberts et al. 2017 – 6ª edição

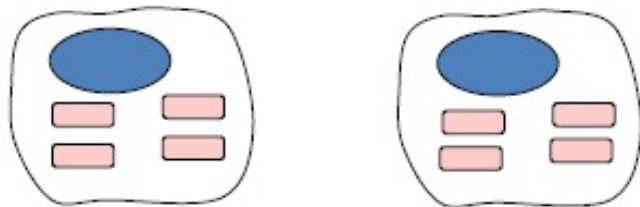
REPLICAÇÃO DAS MITOCÔNDRIAS



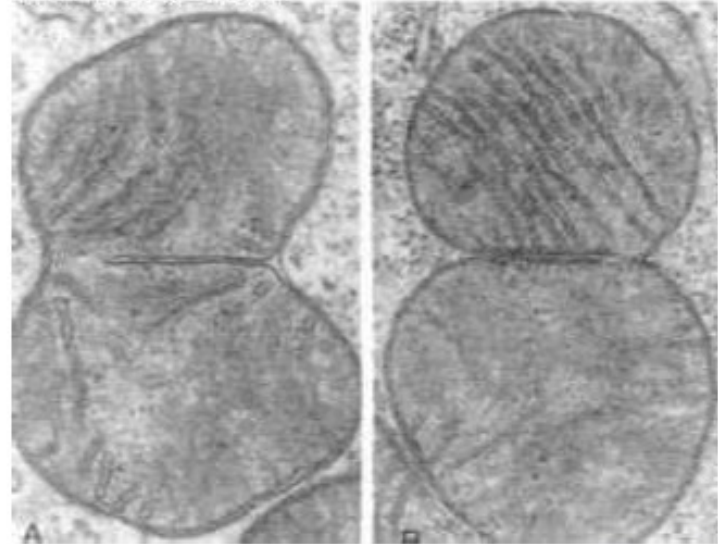
Divisão celular: distribuição das mitocôndrias entre as células filhas



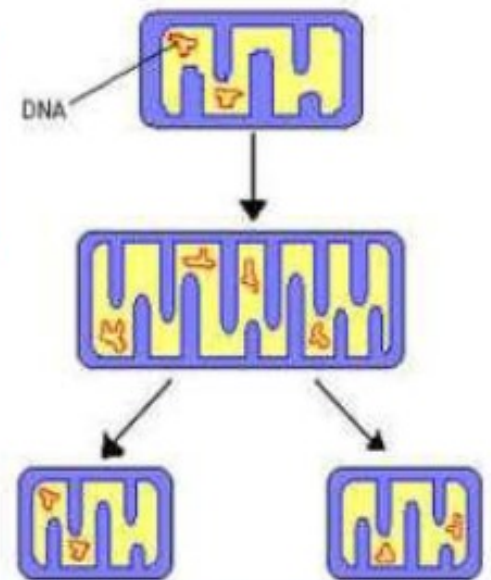
Replicação das mitocôndrias



Mitochondrial Division

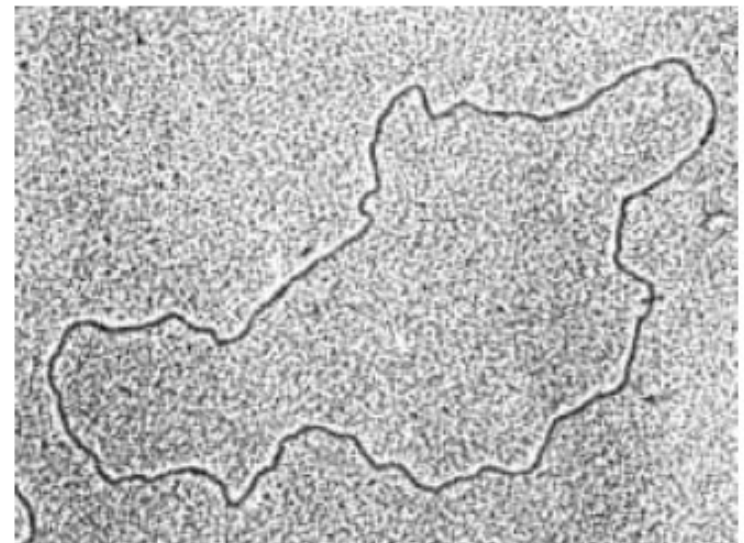


- ✓ Mitocôndria se replica como uma célula de bactéria;
- ✓ Antes de se dividir, a mitocôndria replica o seu DNA.



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).

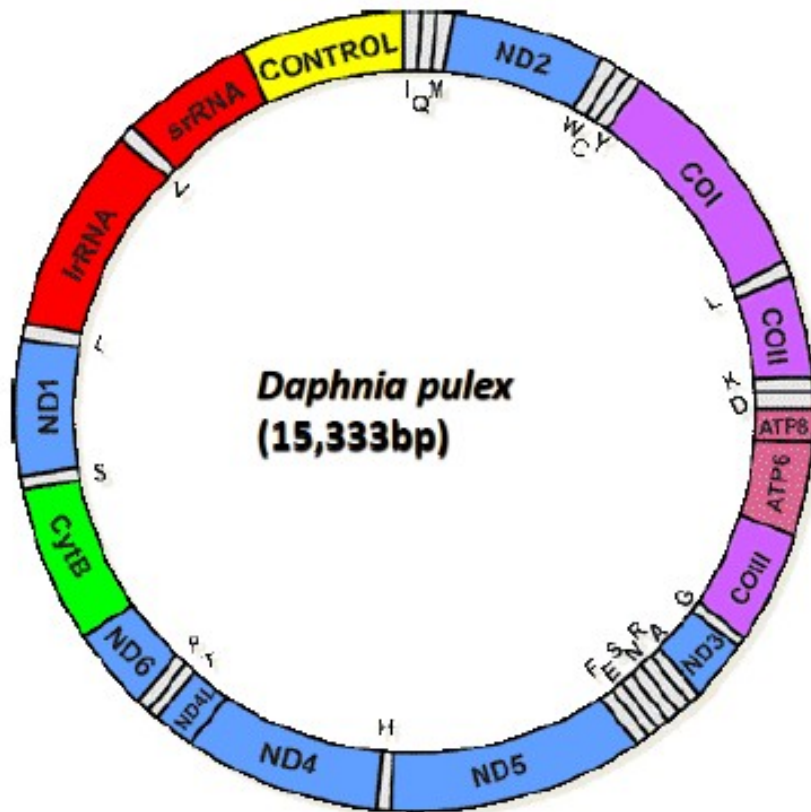




DIVERSIDADE DE GENOMAS MITOCÔNDRIAIS

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

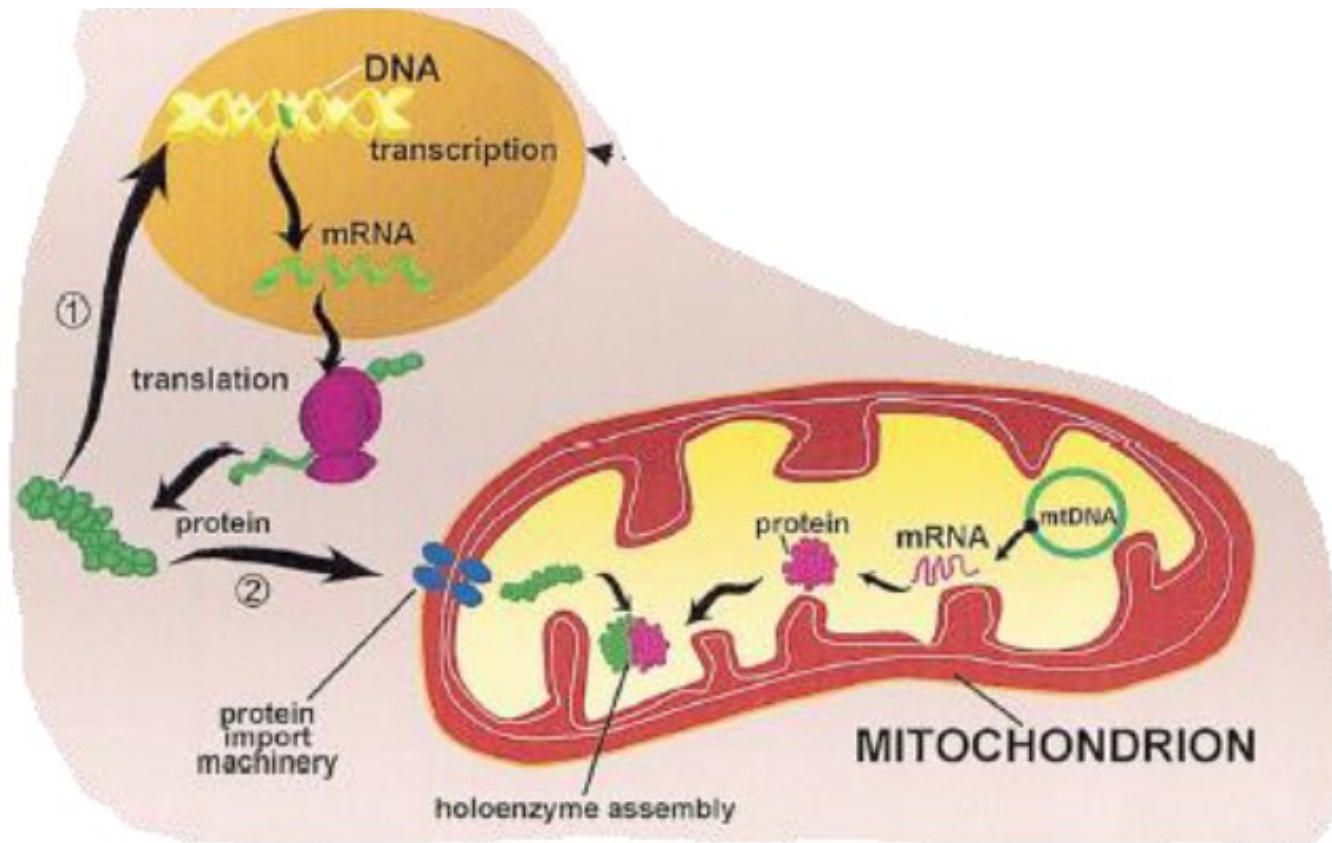
GENOMA MITOCONDRIAL DE ANIMAIS



- 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

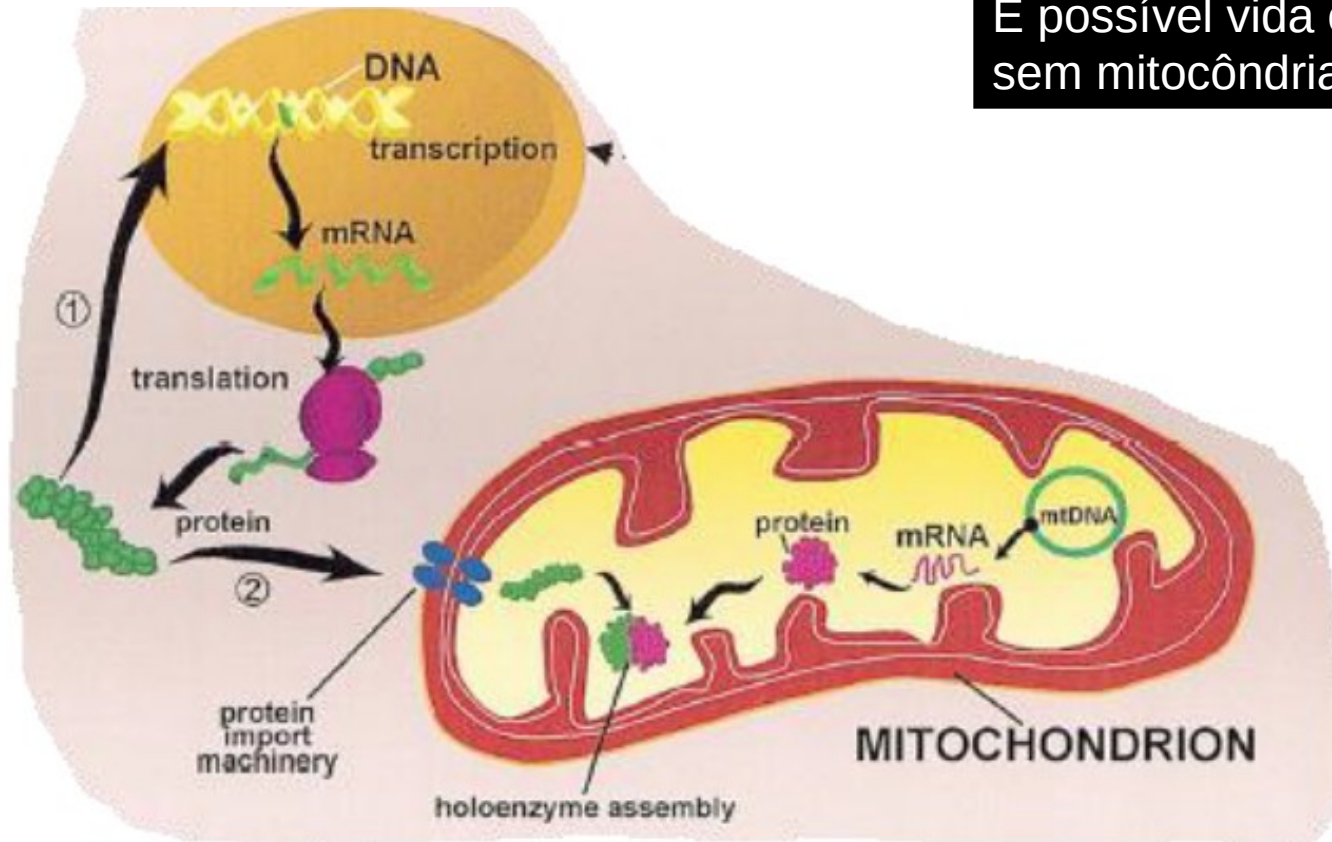
- Cromossomo - 200-2000 kb - altamente variável entre espécies;
- O DNA mitocondrial de planta contém sequências de DNA de cloroplasto, indicando troca de material genético entre as organelas em plantas;
- Maioria do mtDNA em plantas é não codificador;
- As regiões codificadoras são maiores do que em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



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.

É possível vida eucariótica sem mitocôndrias?



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.

Anna Karnkowska,^{1,2,7,*} Vojtěch Vacek,¹ Zuzana Zubáčová,¹ Sebastian C. Treitli,¹ Romana Petrzelková,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 Vlček,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

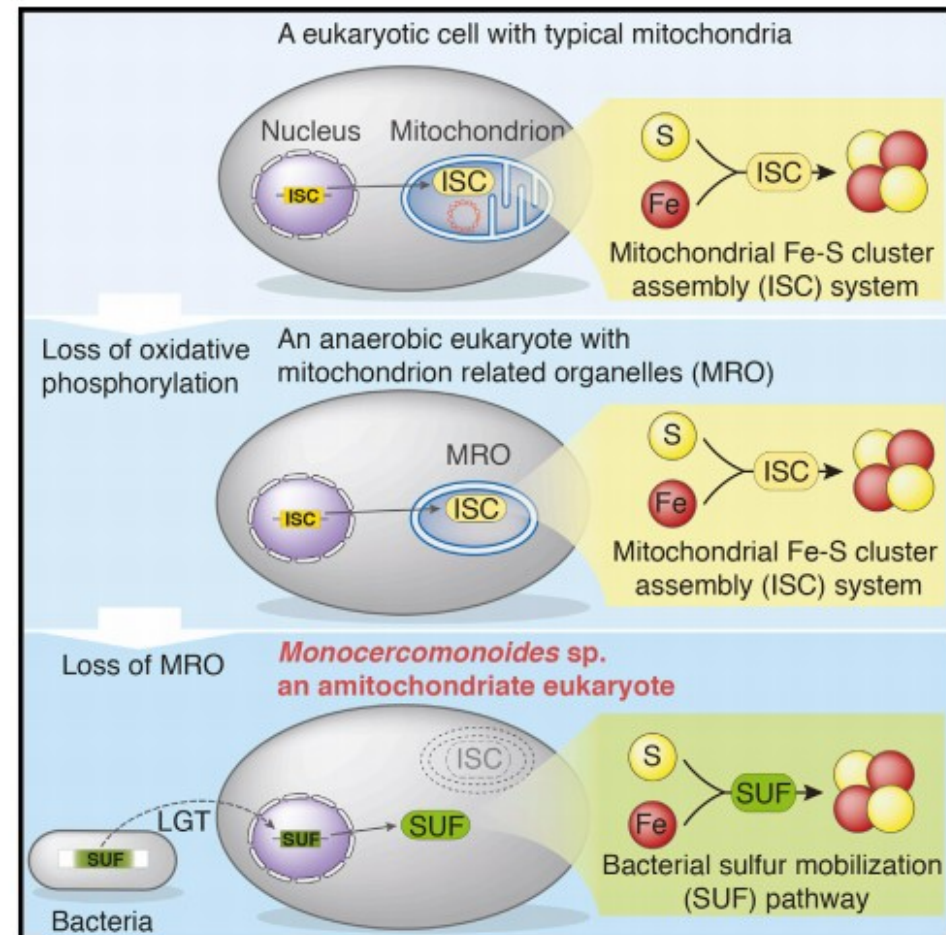
⁷Present address: Department of Botany, University of British Columbia, Vancouver, BC V6T 1Z4, Canada

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

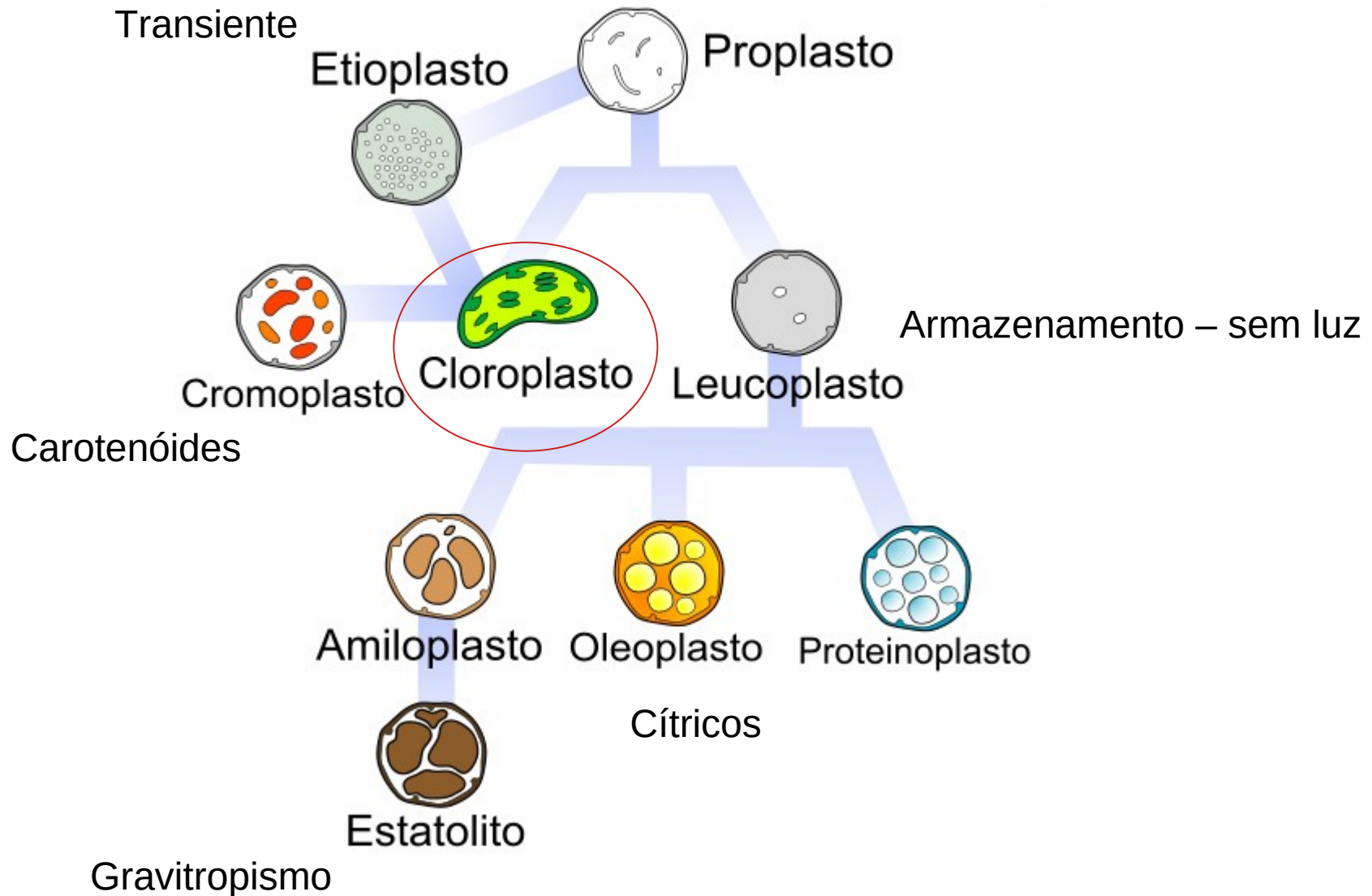
<http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2016.03.053>

Abstract

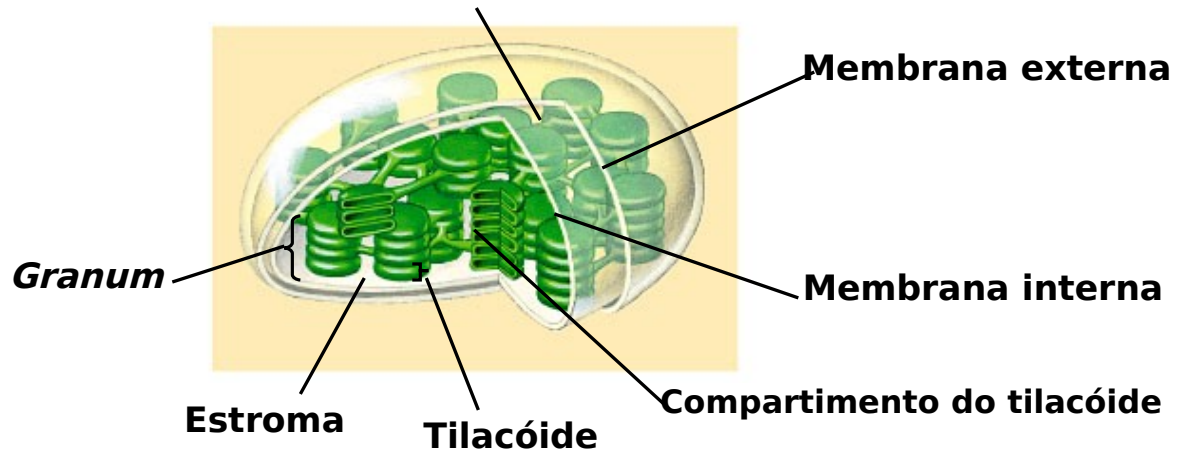
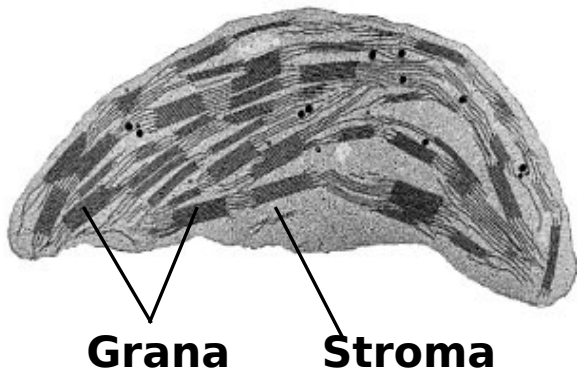
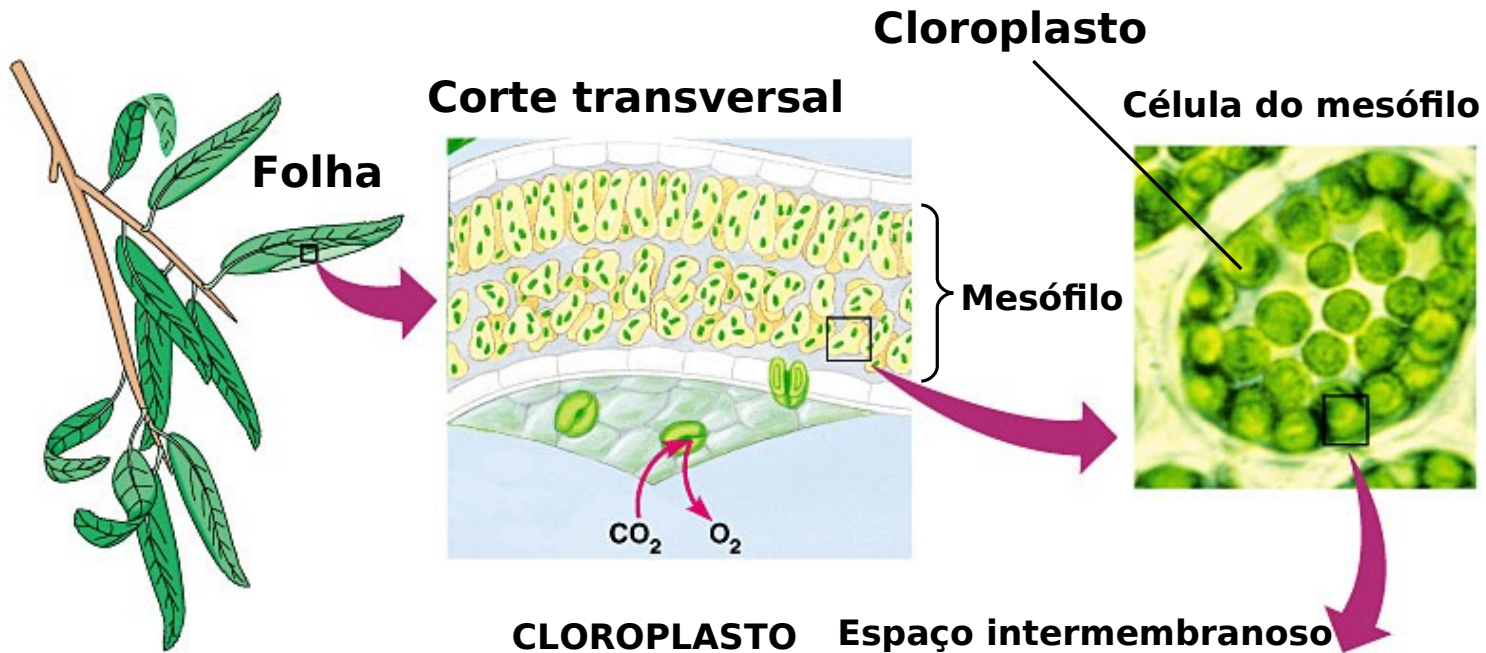
The presence of mitochondria and related organelles in every studied eukaryote supports the view that mitochondria are essential cellular components. Here, we report the genome sequence of a microbial eukaryote, the oxymonad *Monocercomonoides* sp., which revealed that this organism lacks all hallmark mitochondrial proteins. Crucially, the mitochondrial iron-sulfur cluster assembly pathway, thought to be conserved in virtually all eukaryotic cells, has been replaced by a cytosolic sulfur mobilization system (SUF) acquired by lateral gene transfer from bacteria. In the context of eukaryotic phylogeny, our data suggest that *Monocercomonoides* is not primitively amitochondrial but has lost the mitochondrion secondarily. This is the first example of a eukaryote lacking any form of a mitochondrion, demonstrating that this organelle is not absolutely essential for the viability of a eukaryotic cell.



PLASTOS EM PLANTAS



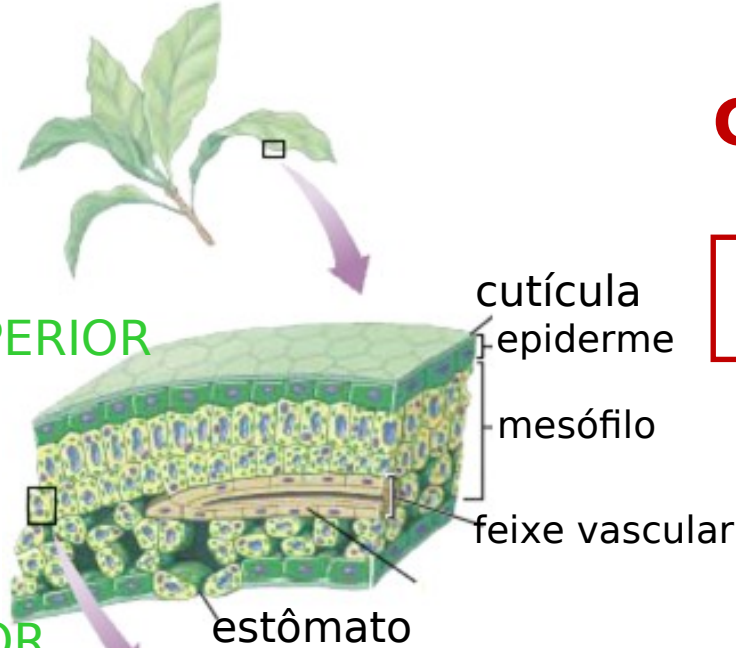
CLOROPLASTOS



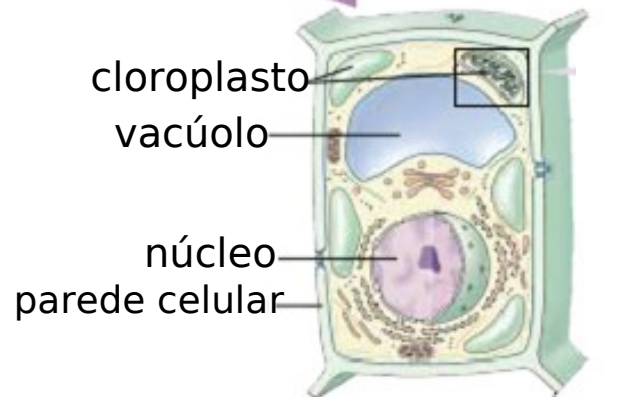
CLOROPLASTOS

Localização

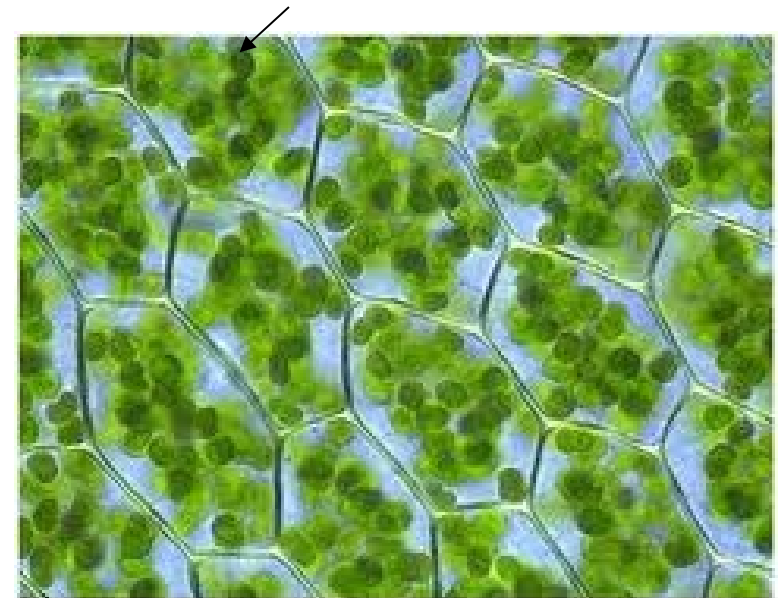
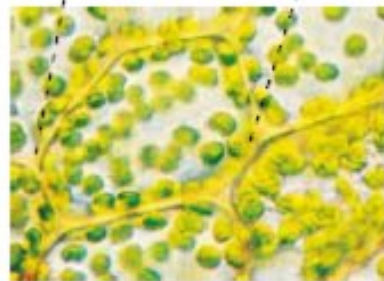
LADO SUPERIOR



LADO INFERIOR

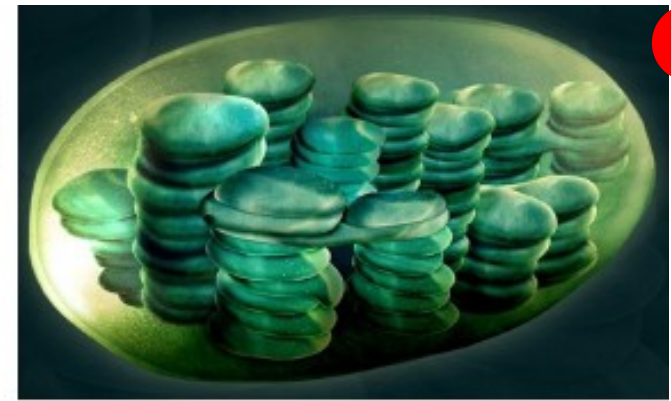


Diâmetro de 4 a 6 μm , podendo assumir uma forma discóide, ovóide ou esférica



CLOROPLASTOS

ESTRUTURA



1) Envoltório:

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

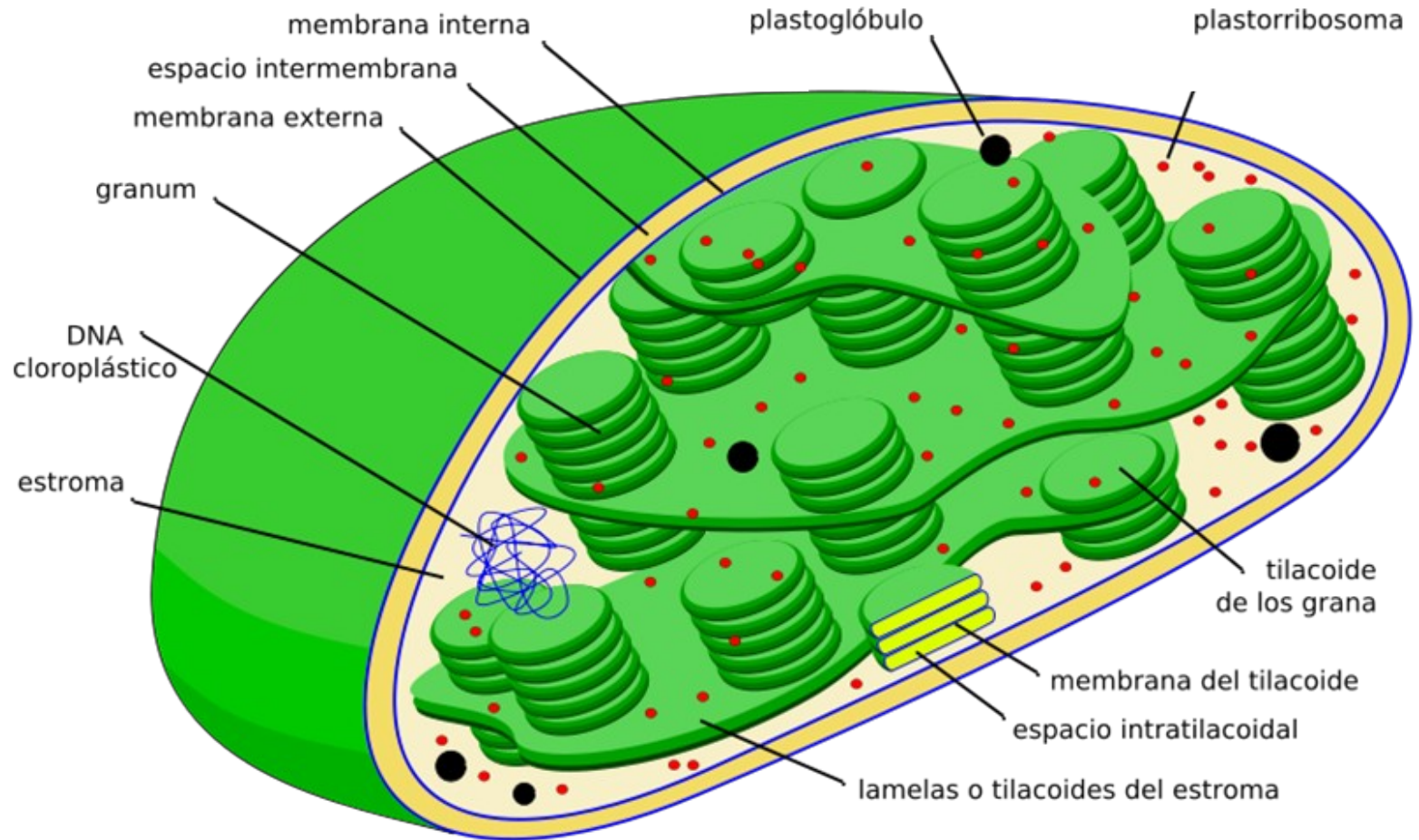
2) Estroma:

- 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:

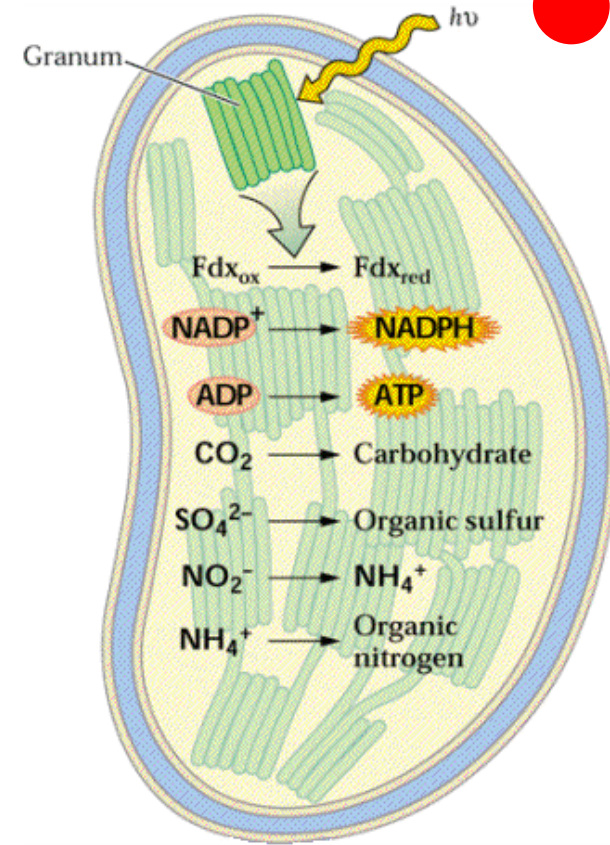
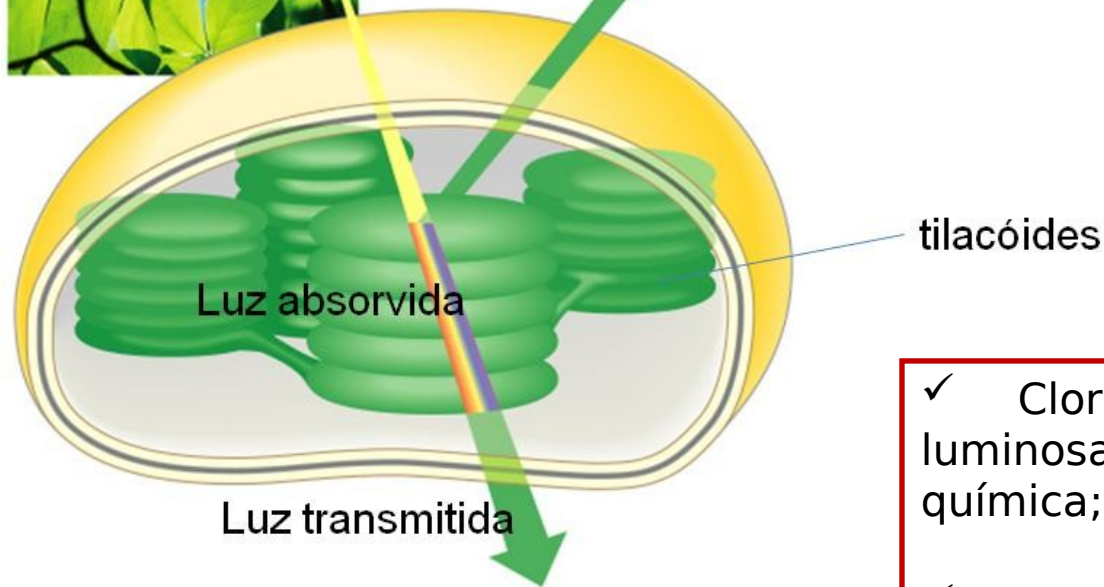
- Sacos achatados, agrupados como pilhas de moedas;
- Cada pilha recebe o nome de **granum (plural grana)**;
- Os tilacóides dos granum se conectam por tilacóides do estroma;
- Membrana do tilacóide é uma dupla camada lipídica repleta de proteínas e de outras moléculas, quase todas envolvidas nas reações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

CLOROPLASTOS



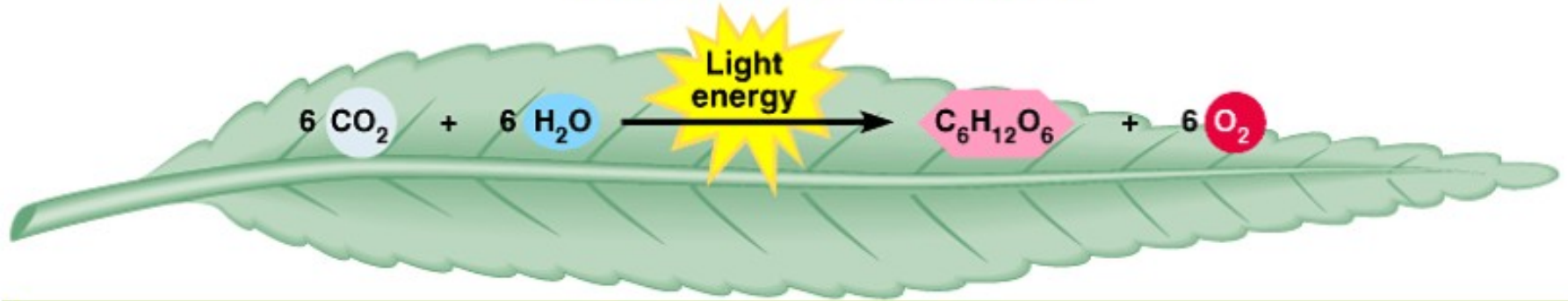
- ✓ O número de cloroplastos se mantém constante nos diversos vegetais durante a mitose;
- ✓ Nas plantas superiores existem entre 20 a 40 cloroplastos por célula.

FOTOSSÍNTESE



- ✓ 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

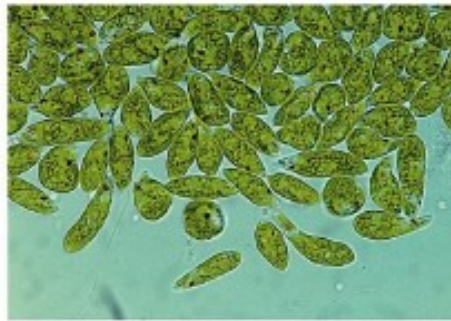
✓ plantas, algumas bactérias e protistas



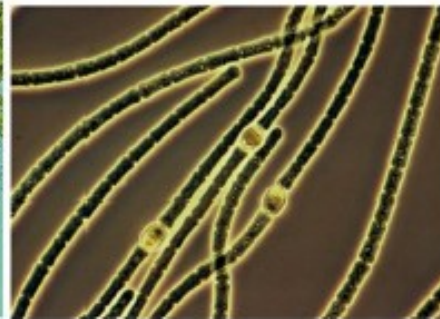
(a) Mosses, ferns, and flowering plants



(b) Kelp



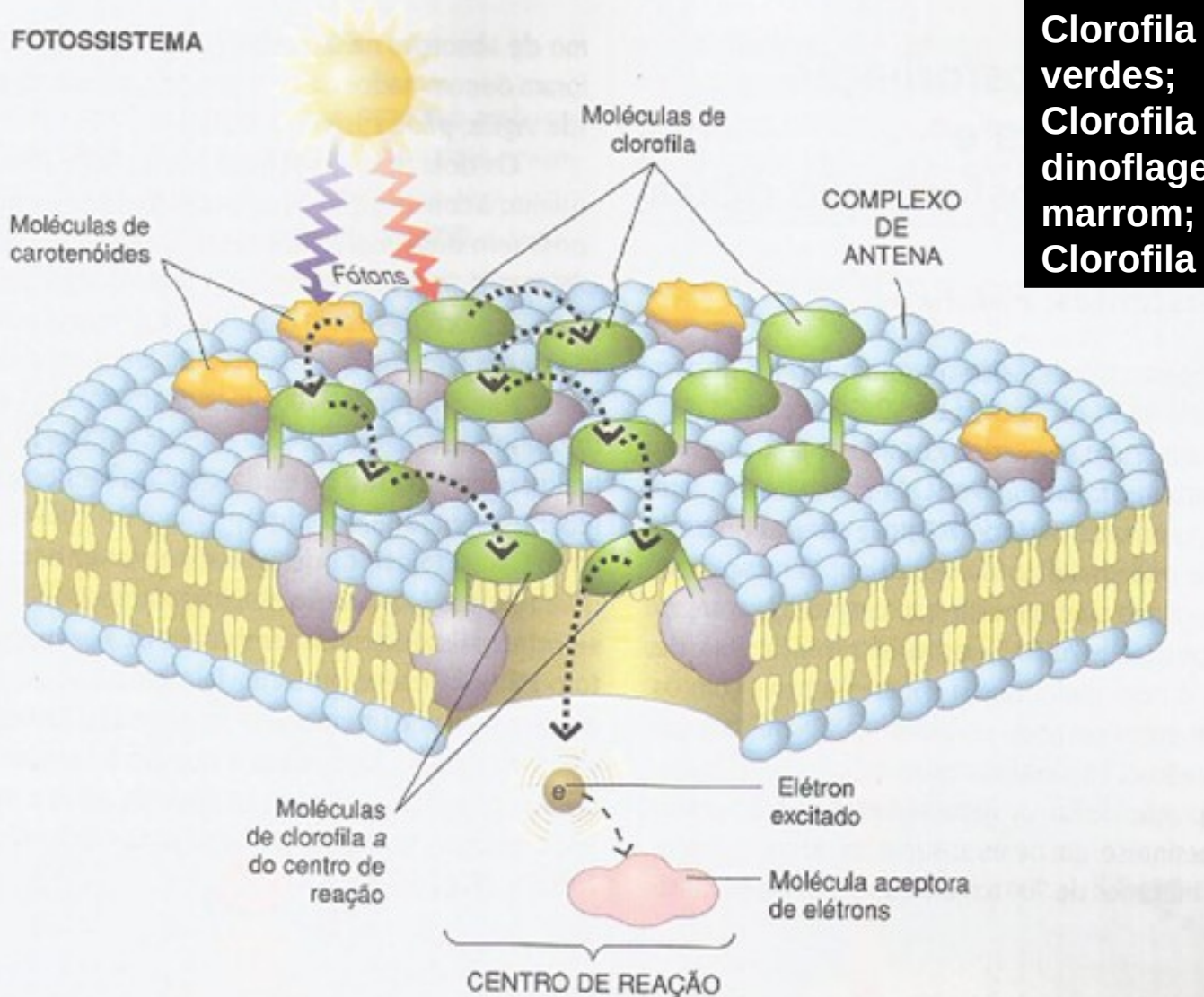
(c) *Euglena*



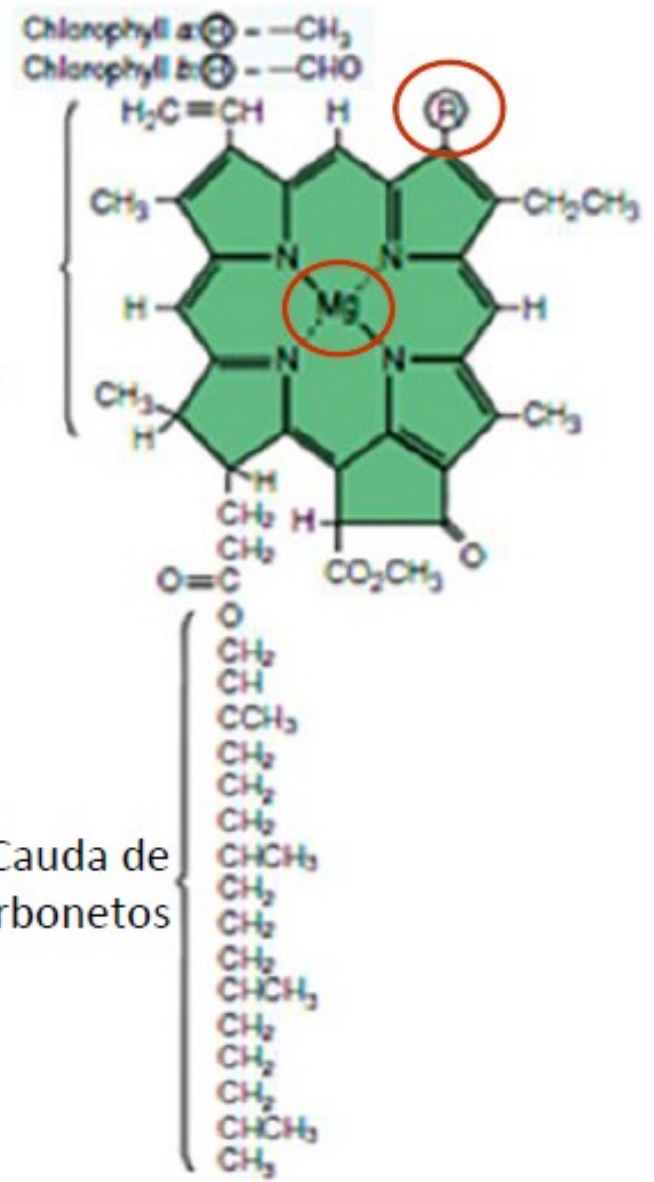
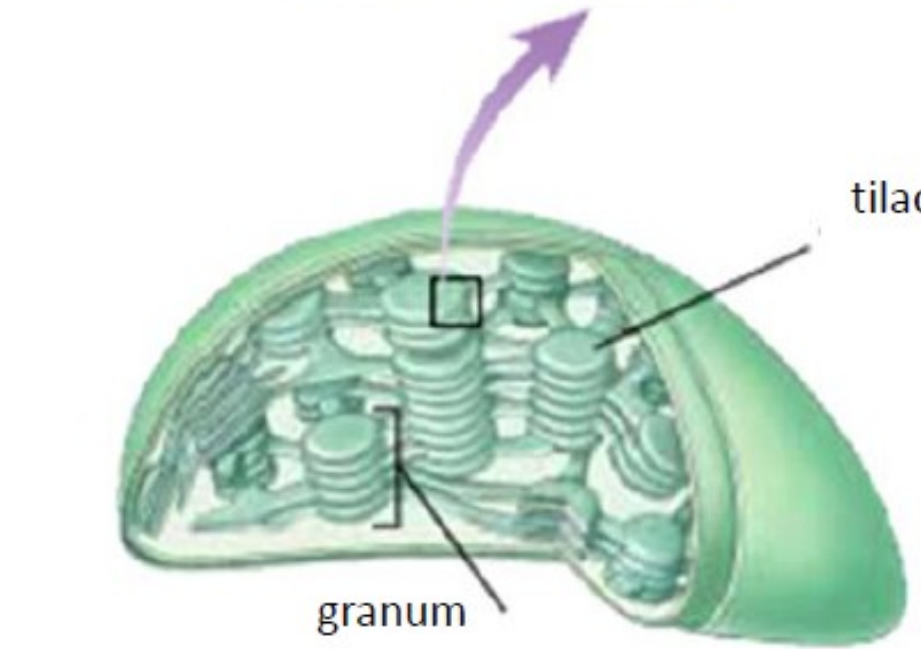
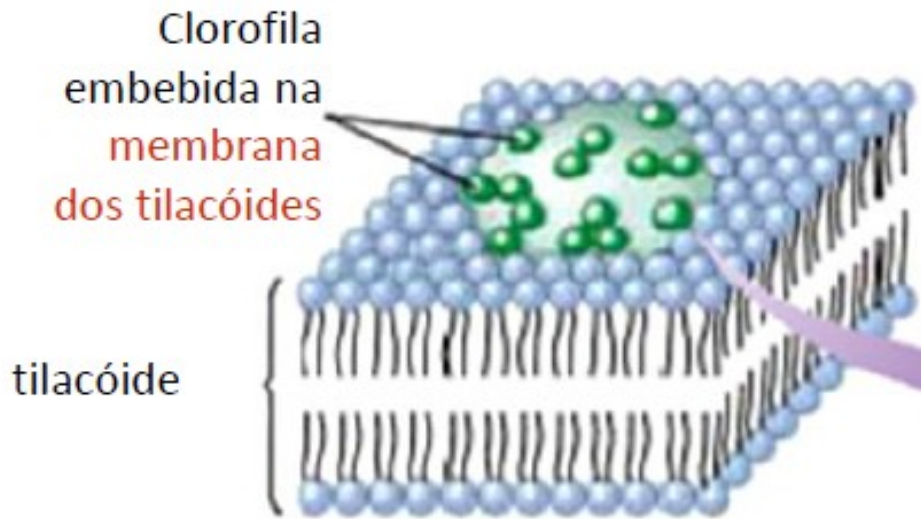
(d) Cianobactéria

PIGMENTOS DA FOTOSÍNTESE

FOTOSSISTEMA

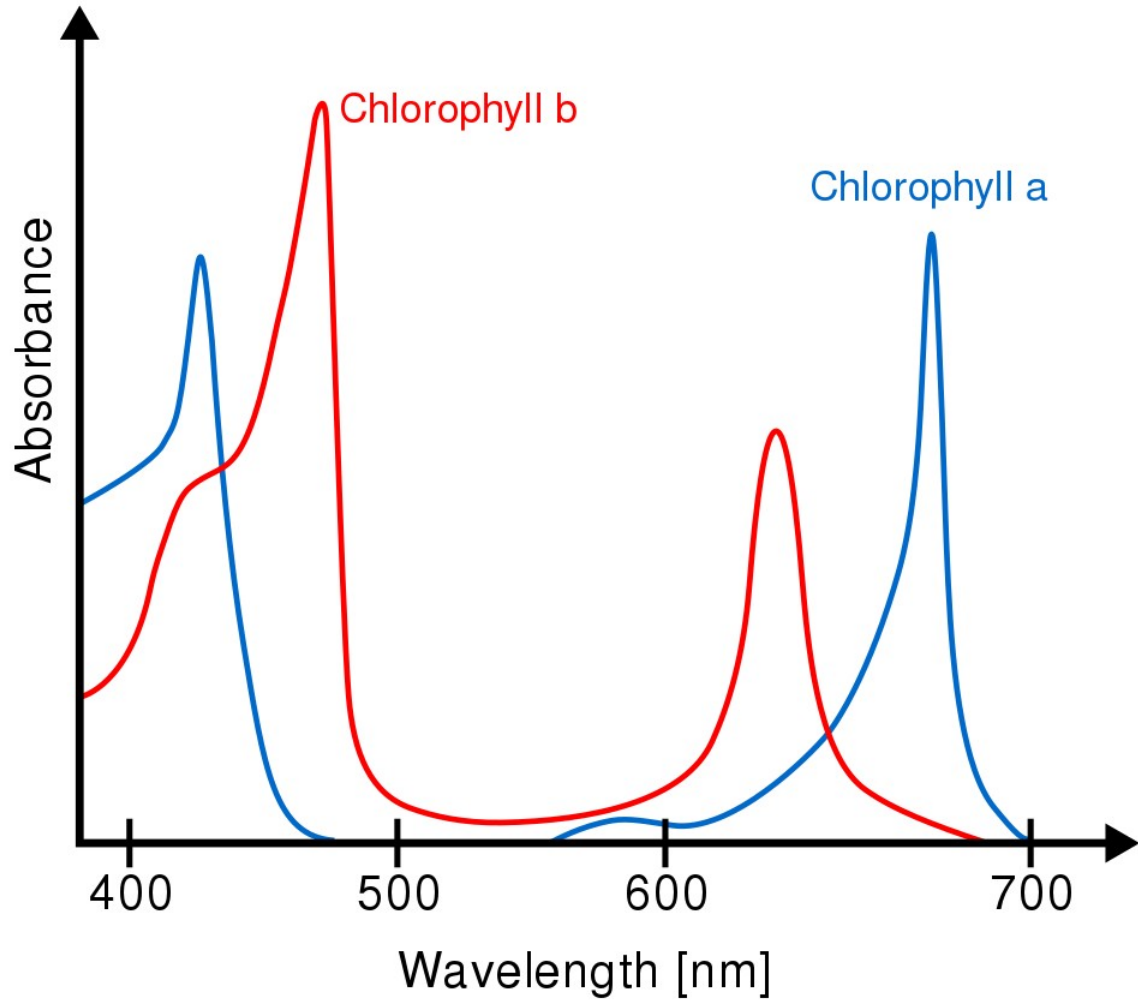


Clorofila a - plantas, algas e cianobactérias;
Clorofila b – plantas e algas verdes;
Clorofila c - diatomáceas, dinoflagelados e algas marrom;
Clorofila d – algas vermelhas

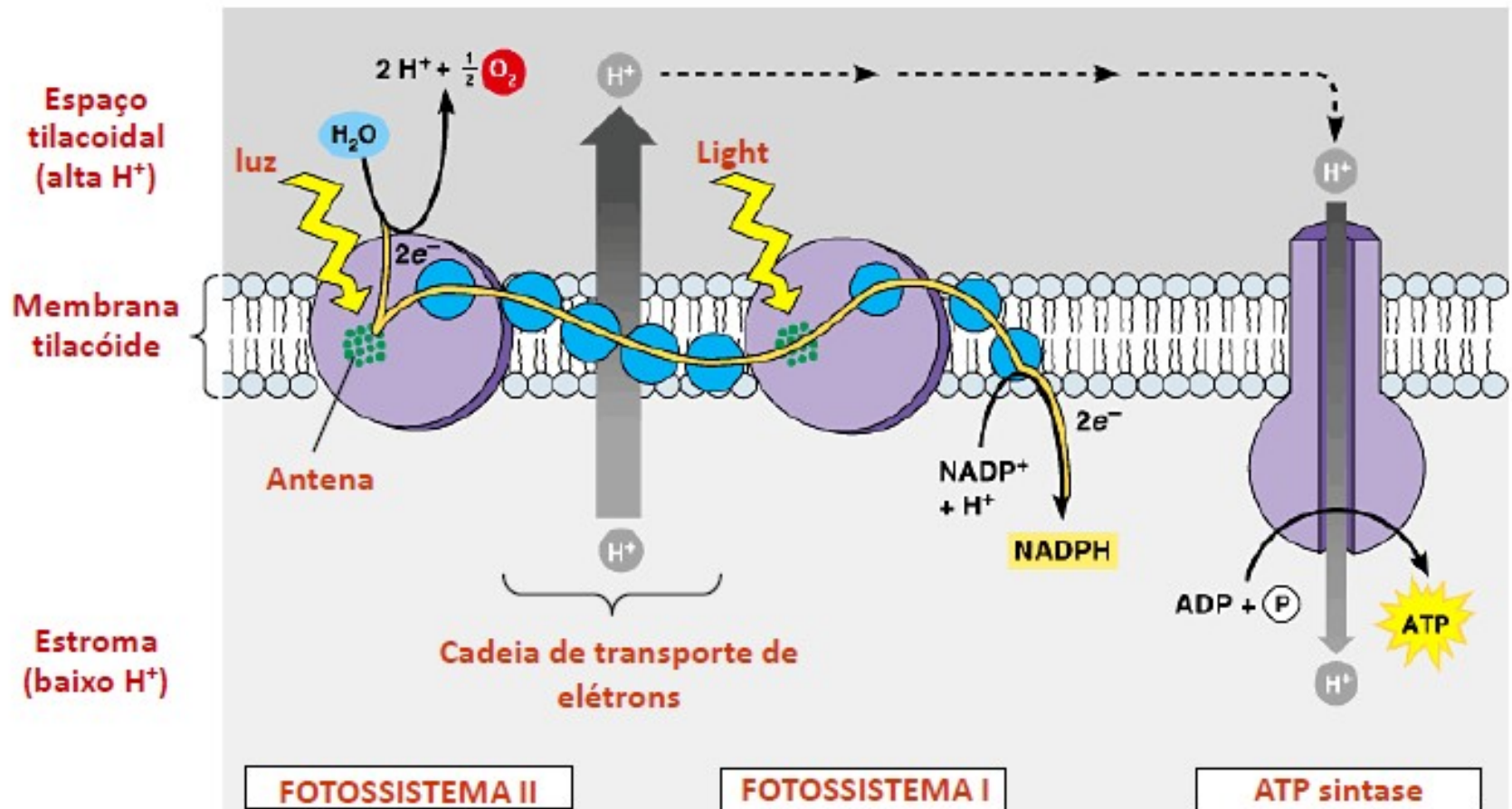


Por que diferentes clorofilas?

Clorofila a e b



Clorofila a e b



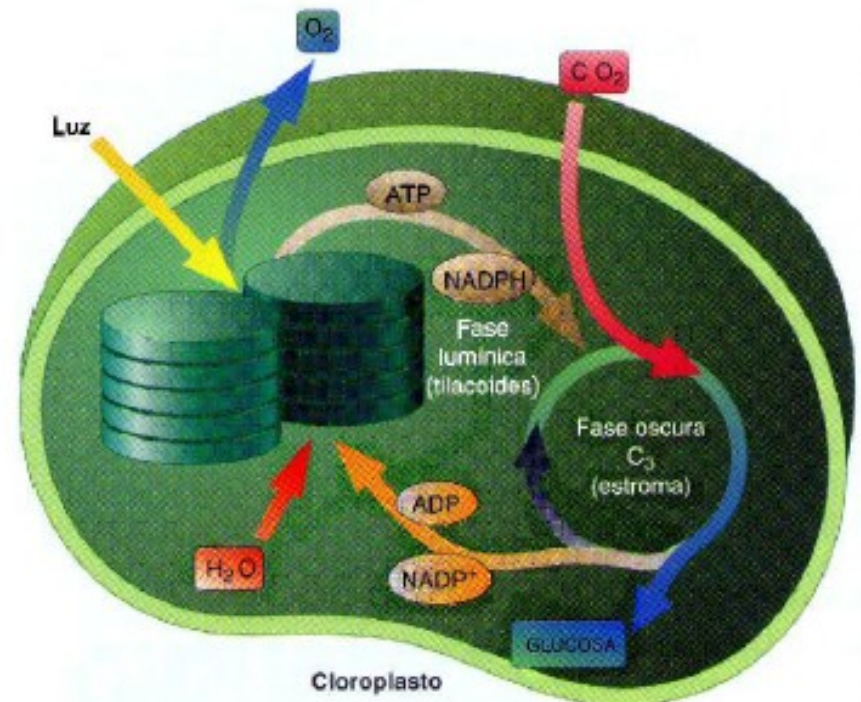
<http://highered.mcgraw-hill.com/olcweb/cgi/pluginpop.cgi?it=swf::535::535::/sites/dl/free/0072437316/120072/bio13.swf::Photosynthetic%20Electron%20Transport%20and%20ATP%20Synthesis>

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;**

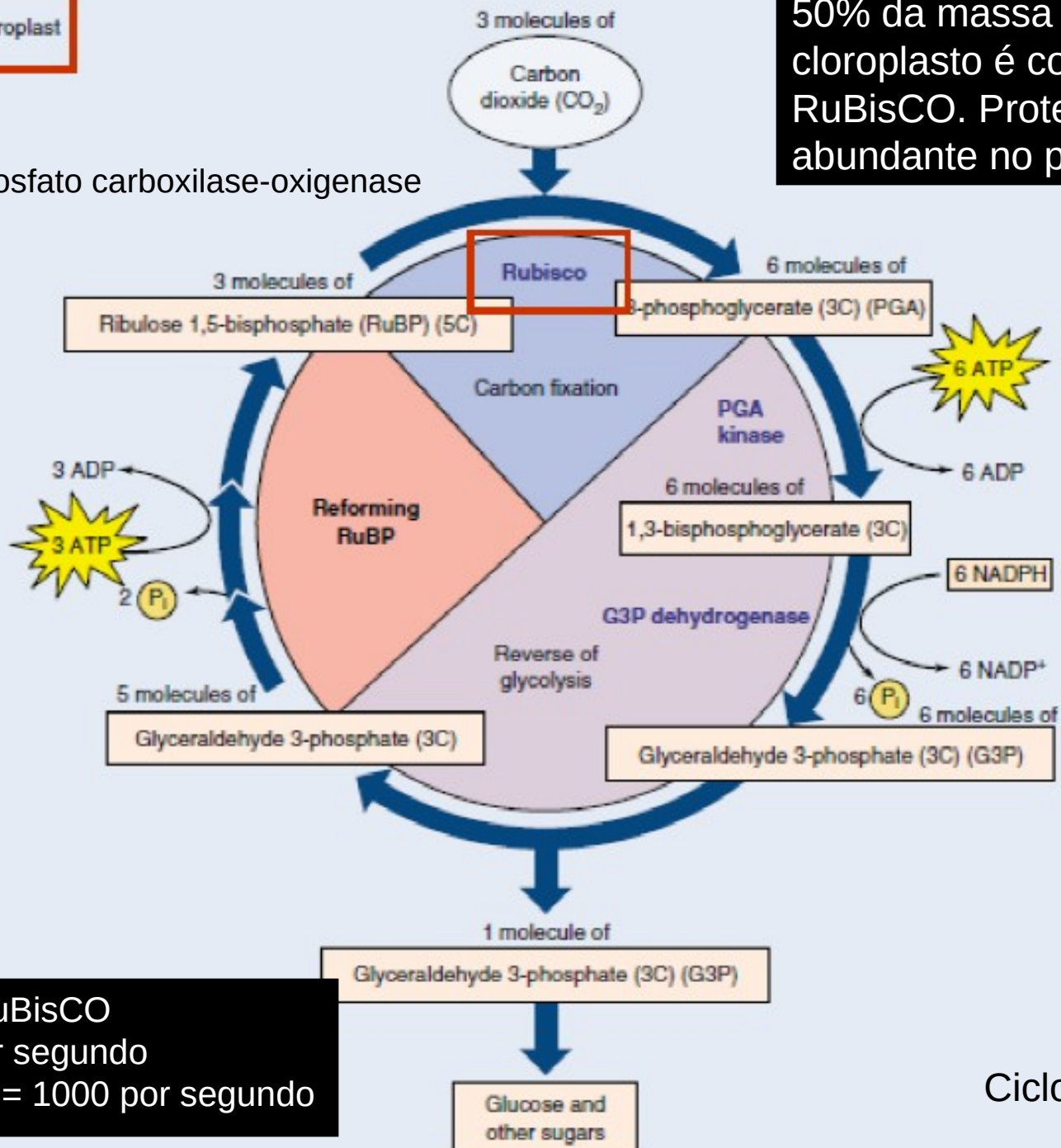
✓ Ribulose 1,5-difosfato carboxilase/oxigenase (RUBISCO)



Stroma of chloroplast

50% da massa proteica do cloroplasto é composta de RuBisCO. Proteína mais abundante no planeta.

Ribulose-1,5-difosfato carboxilase-oxigenase



Eficiência da RuBisCO
3 moléculas por segundo
Média enzimas = 1000 por segundo

Ciclo de Calvin

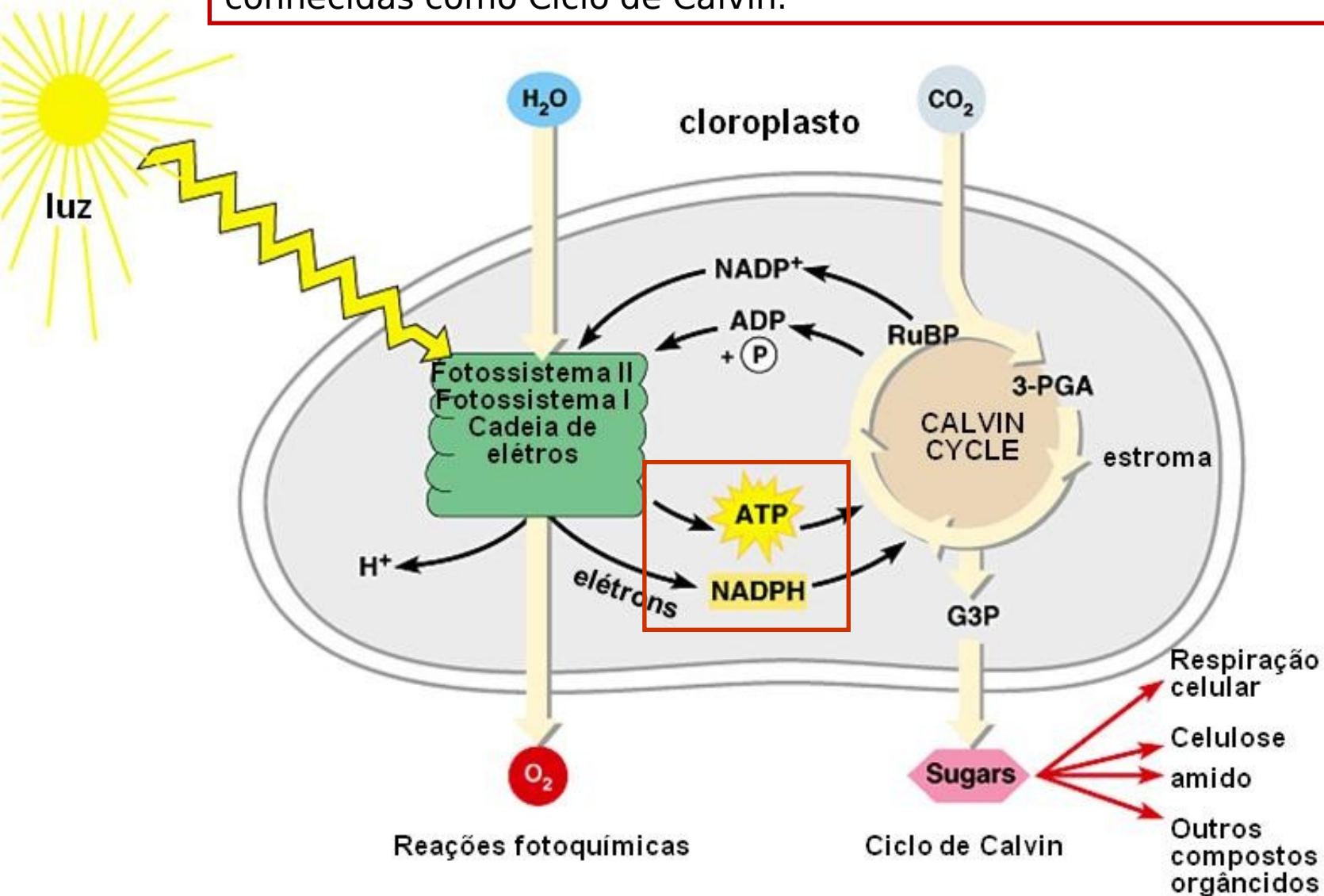
PLANT SCIENCES

Improving the efficiency of Rubisco by resurrecting its ancestors in the family Solanaceae

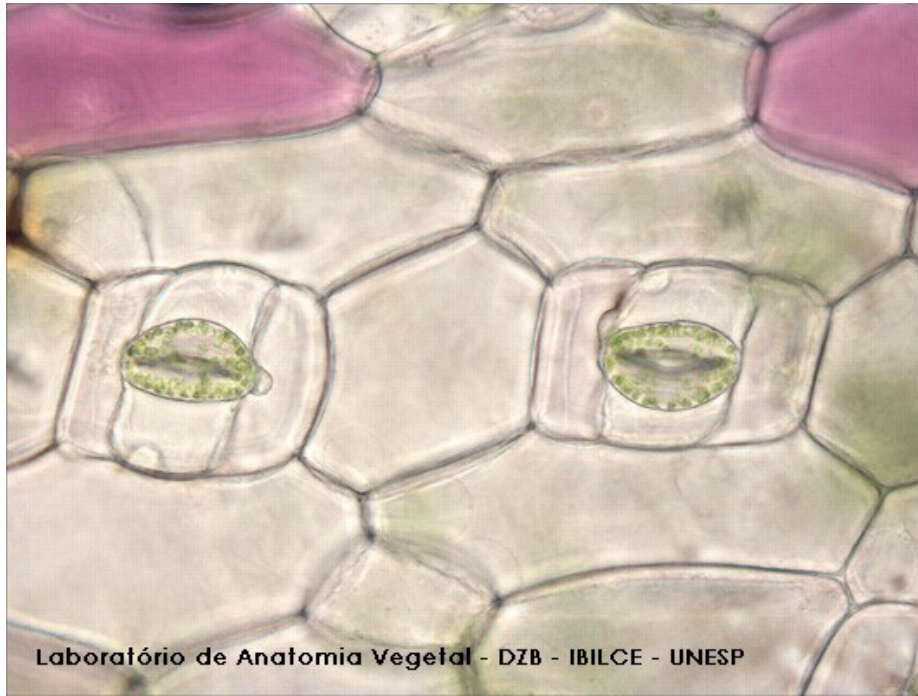
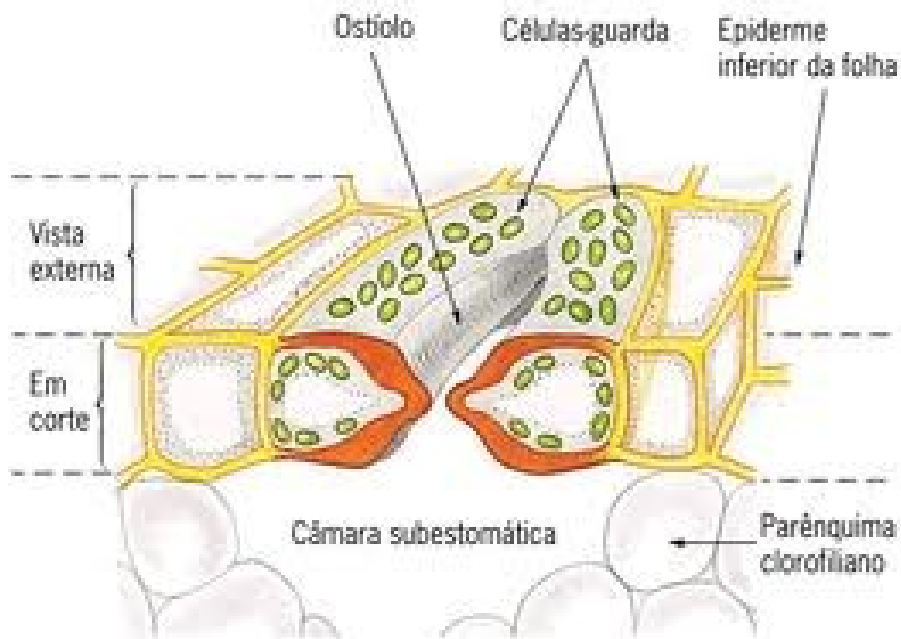
Myat T. Lin, Heidi Salihovic, Frances K. Clark, Maureen R. Hanson*

Plants and photosynthetic organisms have a remarkably inefficient enzyme named Rubisco that fixes atmospheric CO₂ into organic compounds. Understanding how Rubisco has evolved in response to past climate change is important for attempts to adjust plants to future conditions. In this study, we developed a computational workflow to assemble de novo both large and small subunits of Rubisco enzymes from transcriptomics data. Next, we predicted sequences for ancestral Rubiscos of the (nightshade) family Solanaceae and characterized their kinetics after coexpressing them in *Escherichia coli*. Predicted ancestors of C₃ Rubiscos were identified that have superior kinetics and excellent potential to help plants adapt to anthropogenic climate change. Our findings also advance understanding of the evolution of Rubisco's catalytic traits.

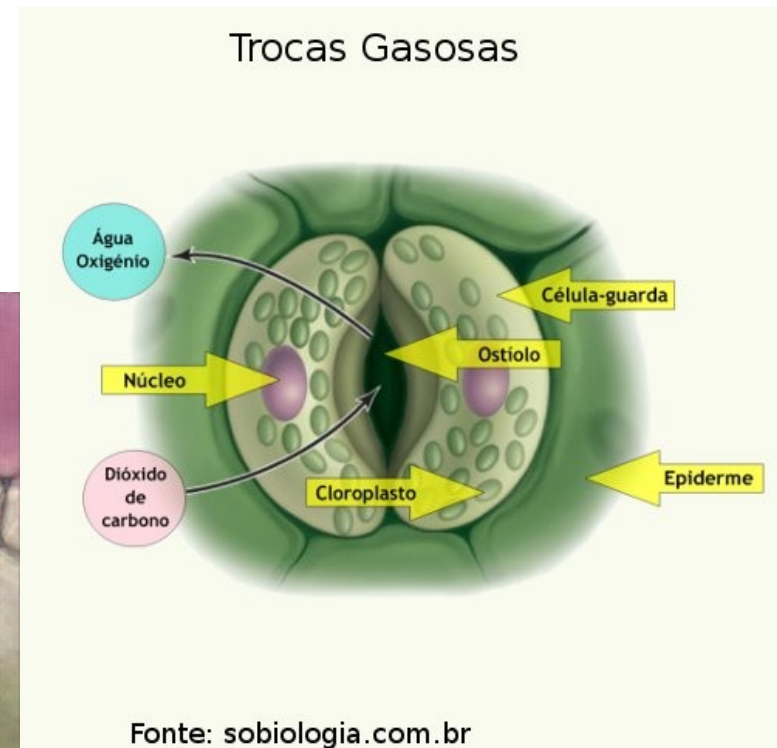
O NADPH e o ATP formados pela ação da luz reduzem o CO_2 e o convertem em 3-fosfoglicerato (precursor de açúcares, aminoácidos e ácidos graxos para a célula) por meio de uma série de reações conhecidas como Ciclo de Calvin.

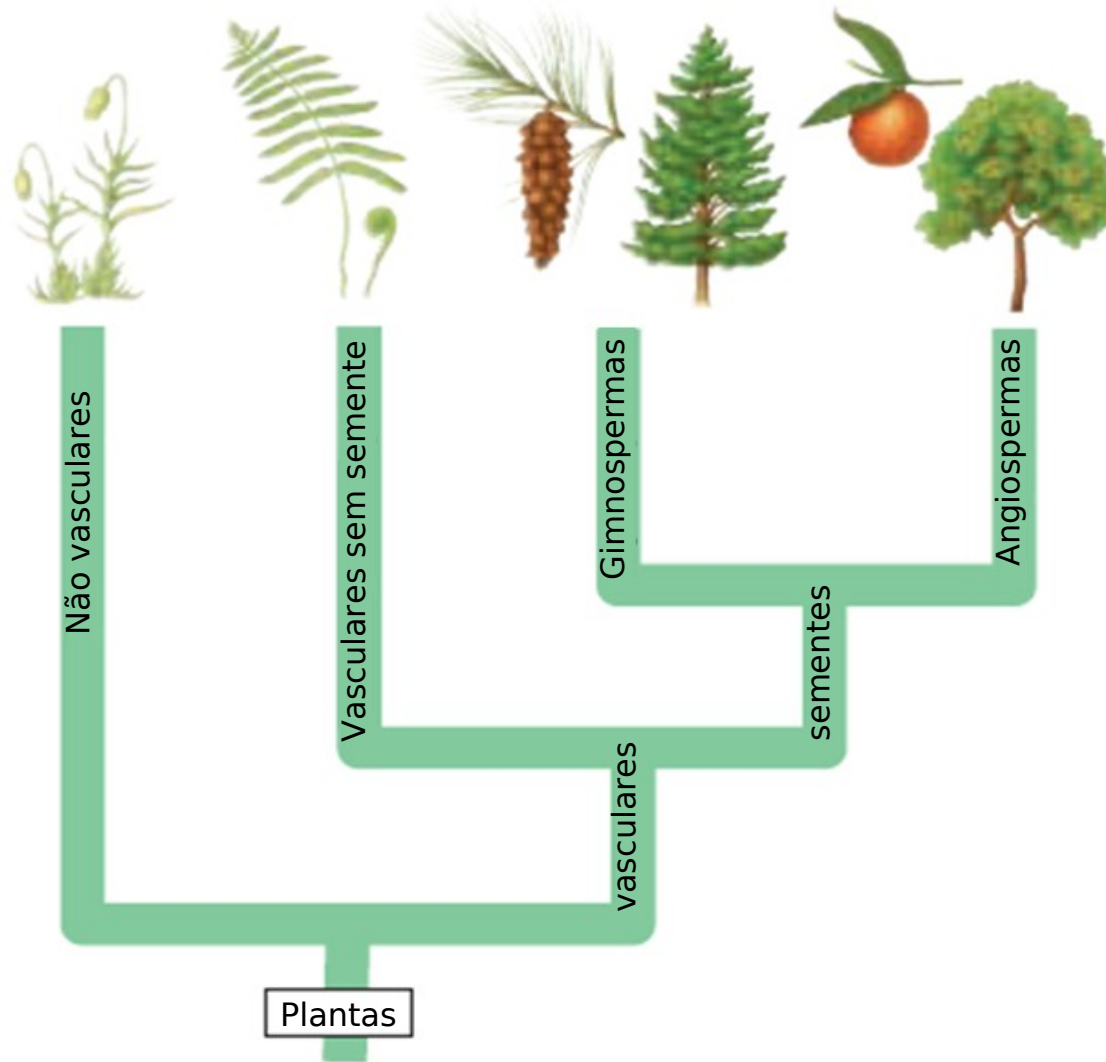


ESTÔMATOS SÃO RICOS EM CLOROPLASTOS



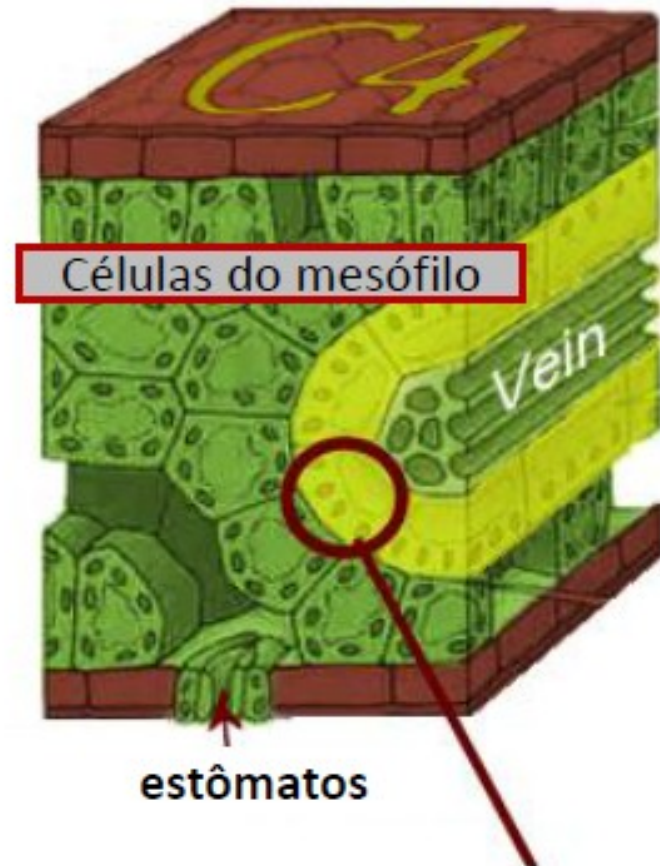
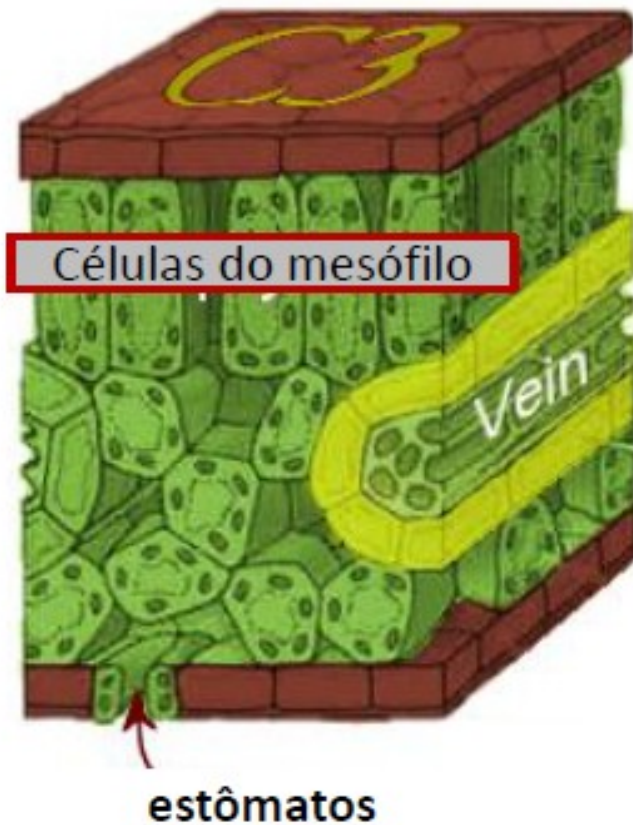
Laboratório de Anatomia Vegetal - DZB - IBILCE - UNESP





Localização e quantidade de cloroplastos depende da espécie vegetal

HÁ AINDA VARIAÇÕES NOS TIPOS E EFICIÊNCIA DE FOTOSISTEMAS



Células da bainha celular

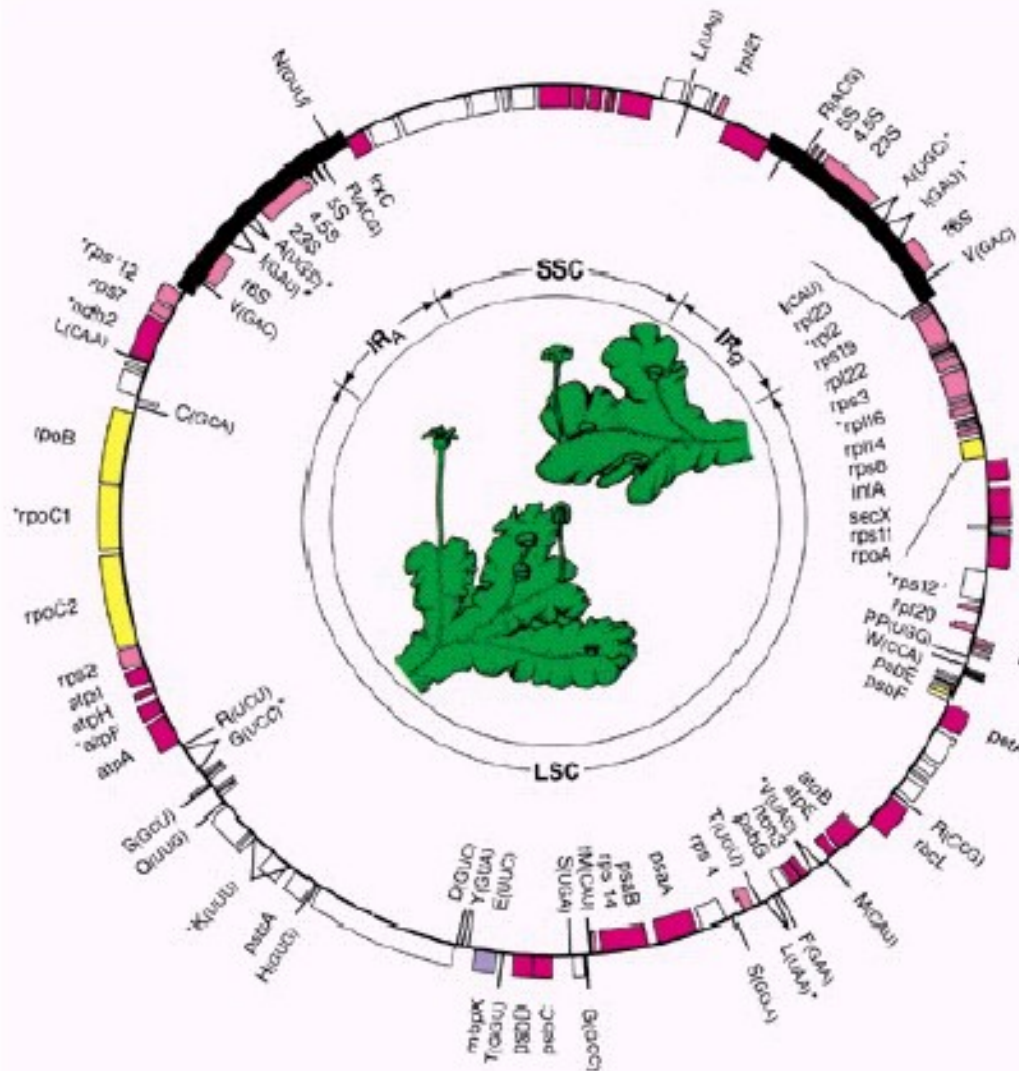
Ribulose-1,5-difosfato carboxilase-oxigenase

30% das reações troca CO₂ por O₂

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



Translation	
●	rps 30S ribosomal proteins
●	rpl 50S ribosomal subunit proteins
	trn tRNAs (indicated by one-letter amino-acid codes)
	45S, 5S, 16S, 23S rRNAs
●	infA initiation factor
●	secX 50S ribosomal protein

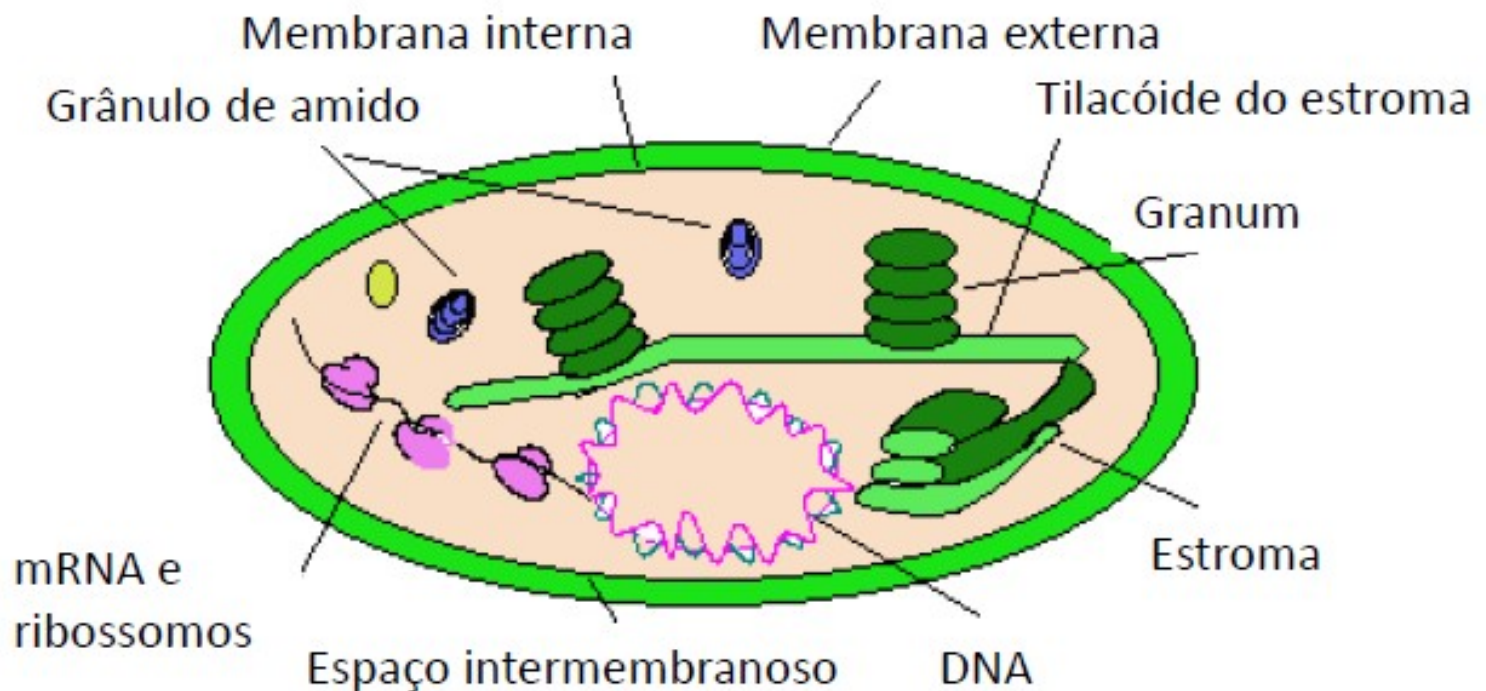
Photosynthesis and electron transport	
	rbc ribulose biphosphate carboxylase
	psa photosystem 1
	psb photosystem 2
	pet cytochrome <i>b/l</i> complex
	atp ATP synthase
●	irx iron-sulfur proteins
▲	ndh NAD(P)H oxidoreductase

Transcription	
●	rpo RNA polymerase

Miscellaneous	
●	mbpX permease

DUPLICAÇÃO DOS CLOROPLASTOS

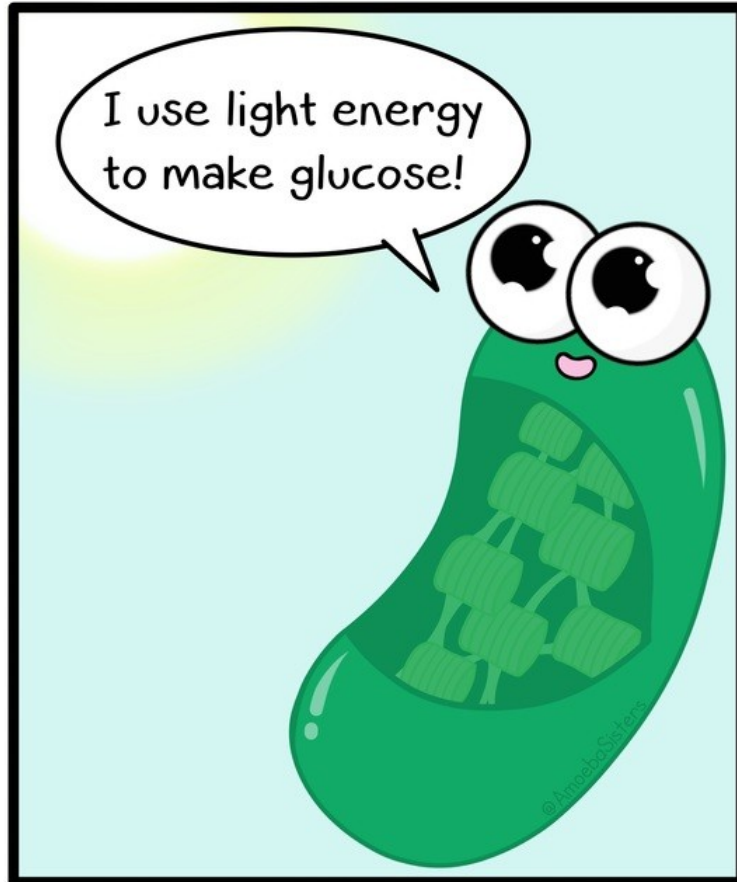
- ✓ Do mesmo modo que as mitocôndrias se multiplicam por **fissão binária**;
- ✓ Envolve genes do próprio cloroplasto, assim como genes nucleares;
- ✓ Os cloroplastos contêm DNA, RNA e os demais componentes que intervêm na síntese protéica. No entanto, a maioria das proteínas necessárias são traduzidas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



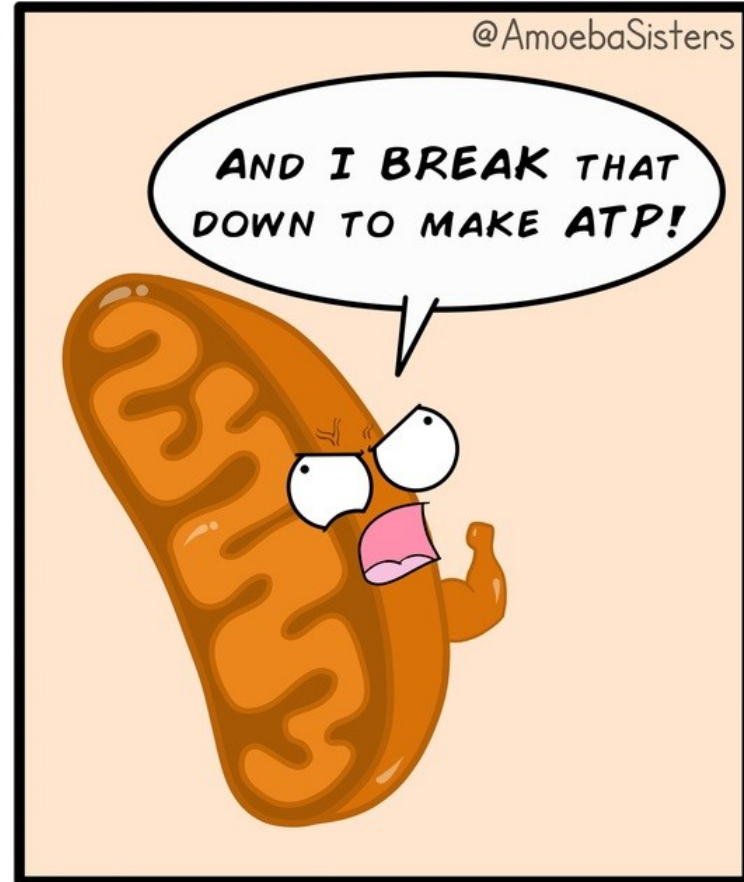
CHLOROPLAST

VS

MITOCHONDRION



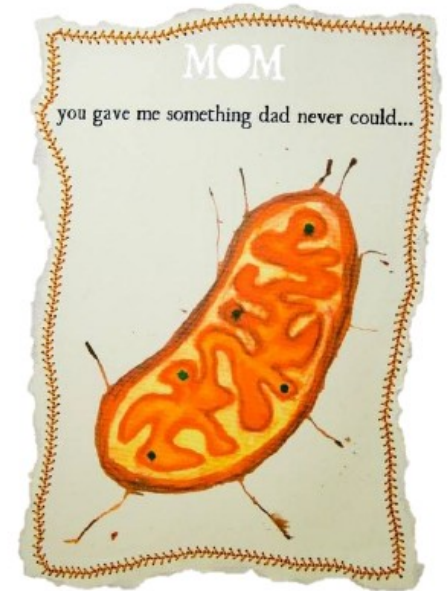
- Found in (most) photosynthetic eukaryotes
- Used for photosynthesis



- 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.