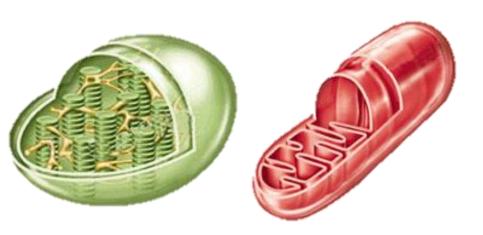
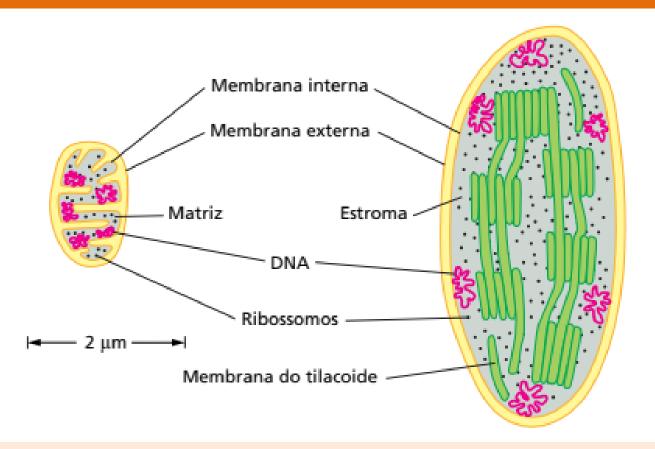
AS ORGANELAS RESPONSÁVEIS PELA GERAÇÃO DE ENERGIA: CLOROPLASTOS E MITOCÔNDRIAS

Aula Teórica 8 LGN0114 – Biologia Celular

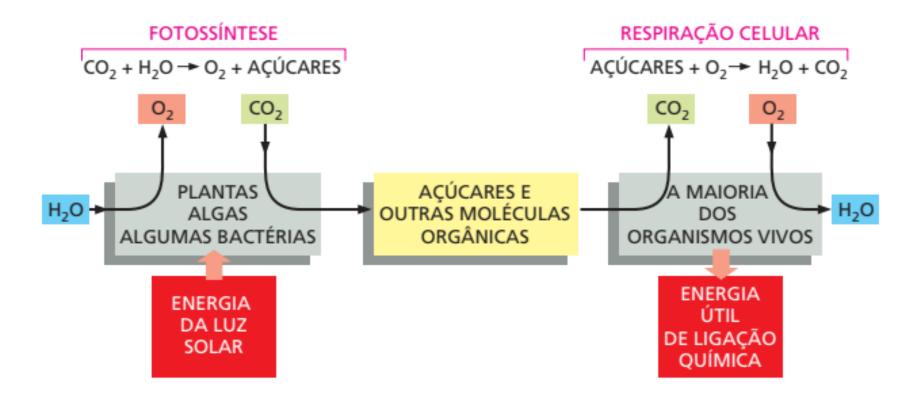


Ilara Budzinski Departamento de Genética ilara@usp.br



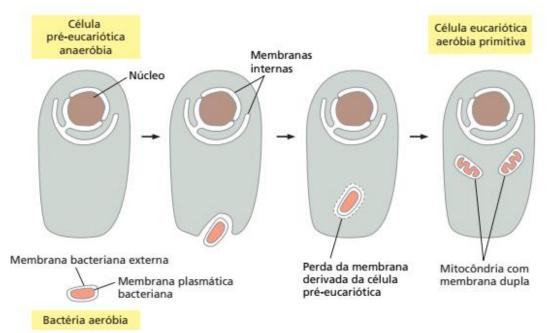
Possuem: Genoma próprio,
 Membrana dupla,
 Complexos de proteínas envolvidas na produção de ATP,
 Origem endossimbiótica.

GERAÇÃO DE ENERGIA PELAS CÉLULAS



Mecanismo eficiente para gerar energia e sintetizar ATP – baseado no transporte de elétrons ao longo das membranas.

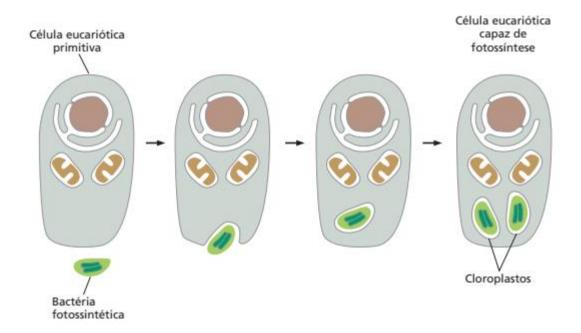
> TEORIA ENDOSSIMBIÓTICA (LYNN MARGULIS, 1980)





- 1) A mitocôndria original era uma bactéria aeróbia que foi absorvida por outro organismo procariótico.
- 2) Ao longo do tempo, esse endossimbionte original evoluiu para uma organela que não era mais capaz de viver por conta própria.
- 3) A célula hospedeira + o seu endossimbionte, originaram uma linhagem de células que eram capazes de usar oxigênio no metabolismo aeróbico;

> TEORIA ENDOSSIMBIÓTICA (LYNN MARGULIS, 1980)



- 1) As células vegetais, surgiram quando ocorreu um segundo evento de endossimbiose.
- 2) Uma célula contendo mitocôndrias engolfou uma cianobactéria fotossintética, que, dentro da célula, evoluiu ao longo do tempo para o plastídio.

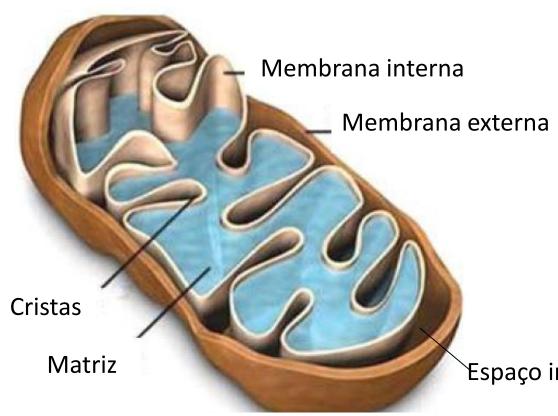
> TEORIA ENDOSSIMBIÓTICA (LYNN MARGULIS, 1980)

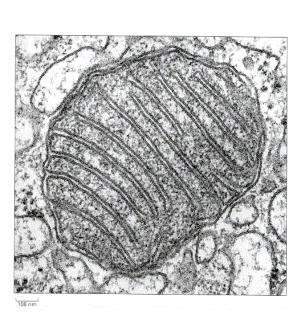
✓ FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA:

- Considerando-se a composição lipídica, as mitocôndrias se parecem mais com as bactérias.
- Tanto mitocôndrias quanto plastídios são delimitados por uma membrana externa e uma interna,
- Ambos os genomas organelares possuem sequência similar aos genomas procarióticos. Os genomas organelares, não estão incluídos em envoltório nuclear e são chamados de nucleoides.

 Utilizam a energia da oxidação de moléculas de açúcares, para produzir ATP.

> ESTRUTURA:





Espaço intermembranoso

> ESTRUTURA: Organela semiautônoma

- Membrana Externa
- Membrana Interna
- Cristas
- Espaço Intermembrânico
- Matriz
- Ribossomos
- Grânulos
- Partículas sintetizadoras de ATP
- DNA

espaço intermembranoso matriz ribosomos grânulos grânulos DNA membrana interna membrana externa

Dimensões:

- 0,5 a 1 μm de diâmetro;
- 0,5 a 10 μm de comprimento;

1. Membranas Mitocondriais

→ Externa e Interna possuem propriedades diferentes

• Externa:

- membrana fosfolipídica semelhante a membrana plasmática;
- composta 50% por lipídios e 50% proteínas;
- Possuem proteínas de transporte: Porinas, que são canais permeáveis a moléculas menores de 5.000 a 10.000 dáltons (ATP, NAD e coenzima A);

• Interna:

- Possui 20% de lipídeos e 80% de proteínas;
- desprovida de colesterol e rica em fosfolipídeos (Cardiolipina);
- Se dobra formando vilosidades e ondulações Cristas;
- Altamente impermeável (íons e pequenas moléculas);
- Permeável ao piruvato e a ácidos graxos;
- Proteínas e enzimas que constituem a Cadeia Transportadora de Elétrons
- Fundamental na atividade bioenergética da mitocôndria devido a síntese de ATP (Cadeia de Transporte de Elétrons e ATP-sintetase);

2. Cristas:

- Tem finalidade de aumentar a área de superfície da membrana interna;
- Quanto maior é o aporte de energia pela célula maior são estas ondulações;

3. Espaço Intermembranas

- → Espaço entre as membranas Externa e Interna
- Possui várias enzimas que utilizam o ATP proveniente da matriz para fosforilar outros nucleotídeos;

4. Matriz Mitocondrial

- Contém proteínas, ribossomos e DNA circular (típico de bactérias);
- Possui enzimas necessárias para:

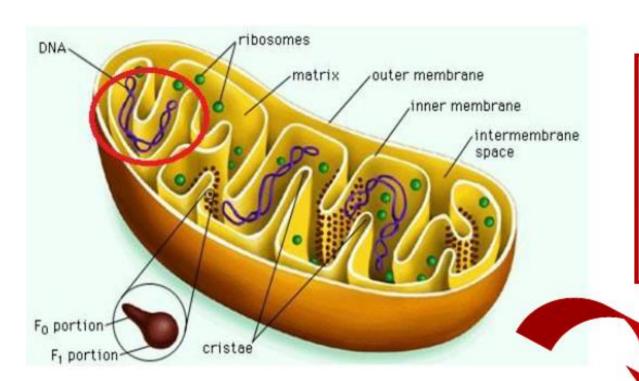
Oxidação do Piruvato e Ácidos Graxos, no **Ciclo do Ácido Cítrico ou Ciclo de Krebs**; B-oxidação de ácidos graxos;

Replicação, Transcrição e Tradução do DNA mitocondrial (mtDNA);

Mitocôndrias vegetais tem funções especializadas como:

- √ Sítio para a síntese de vitamina C, ácido fólico, ácido lipóico e biotina;
- ✓ Estrese oxidativo

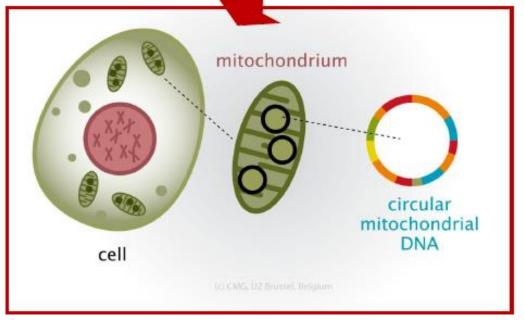
A maioria das células vegetais contém centenas de mitocôndrias, e o seu número está relacionado com a demanda de ATP (ou seja, células com metabolismo energético alto mais mitocôndrias).



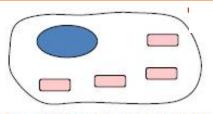
✓ Matriz mitocondrial: ciclo de Krebs (ciclo do ácido cítrico);

✓ Cristas mitocondriais: transporte de elétrons e síntese de ATP

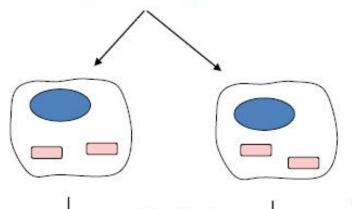
MITOCÔNDRIAS



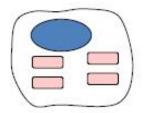
MITOCÔNDRIAS - REPLICAÇÃO

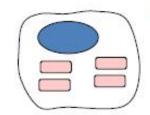


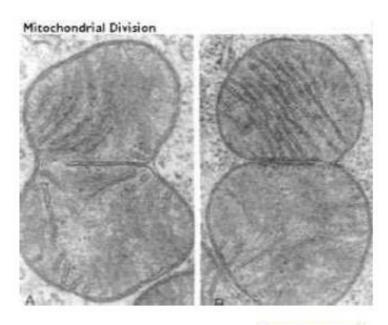
Divisão celular: distribuição das mitocôndrias entre as células filhas



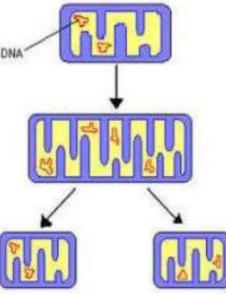
Replicação das mitocôndrias





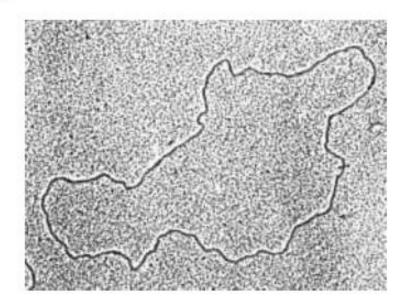


- ✓ Mitocôndria se replica como uma célula de bactéria;
- ✓ Antes de se dividir, a mitocôndria replica o seu DNA.



DNA MITOCONDRIAL (mt DNA)

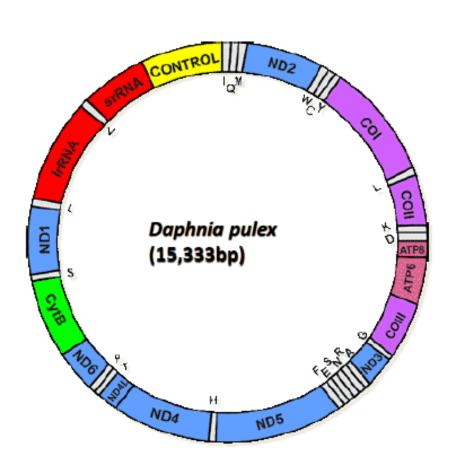
- √ Circular, várias cópias, cadeia dupla de replicação independente do DNA nuclear;
- ✓ Genes sem introns em animais, alguns genes com introns em fungos e plantas;
- ✓ Origem exclusivamente materna para qualquer indivíduo, pois são provenientes dos ovócitos;
- ✓ Codifica a sequência de aminoácidos de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



DIVERSIDADE DE GENOMAS MITOCÔNDRIAIS

Animais	Fungos	Plantas
14kb - 42kb	17kb - 180kb	184kb - 2,400kb
Muito baixo	variável	Muito alto
×	✓	✓
×	de maneira geral	✓
	14kb - 42kb Muito baixo *	14kb - 42kb 17kb - 180kb Muito baixo variável

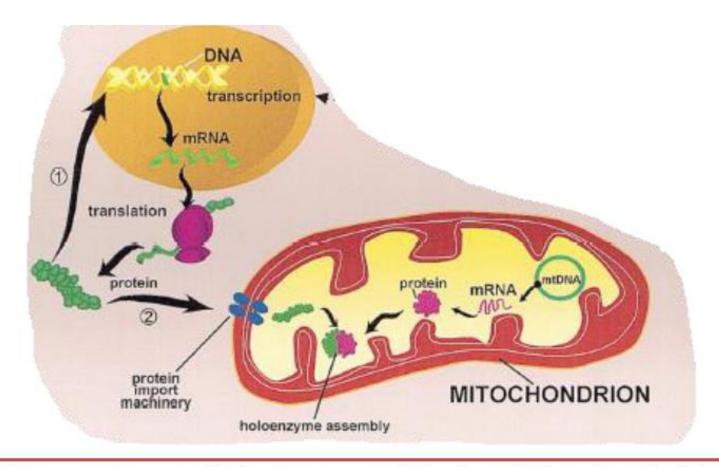
GENOMA MITOCONDRIAL DE ANIMAIS



- 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

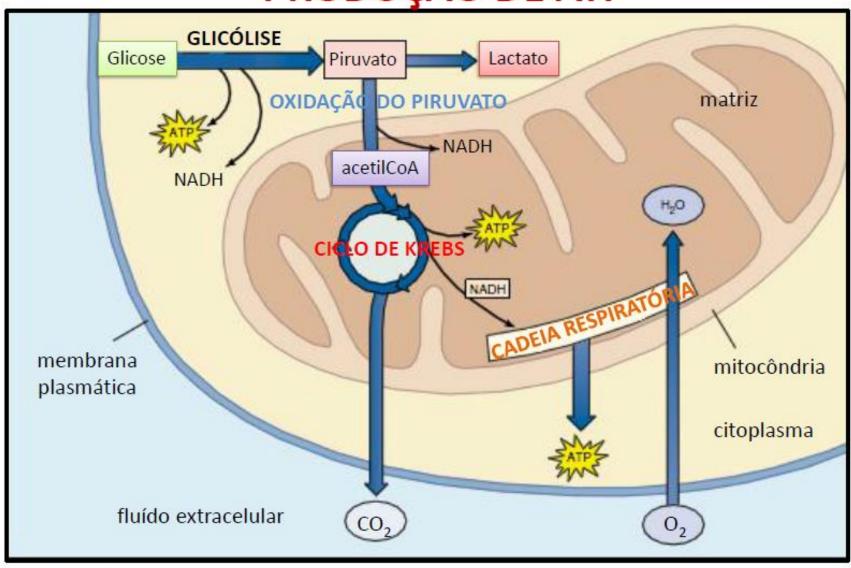
- Cromossomo 200-2000 kb altamente variável entre espécies;
- O DNA mitocondrial de planta contém sequências de DNA de cloroplasto, indicando troca de material genético entre as organelas em plantas;
- Maioria do mtDNA em plantas é não codificador;
- As regiões codificadoras são maiores do que em animais 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).

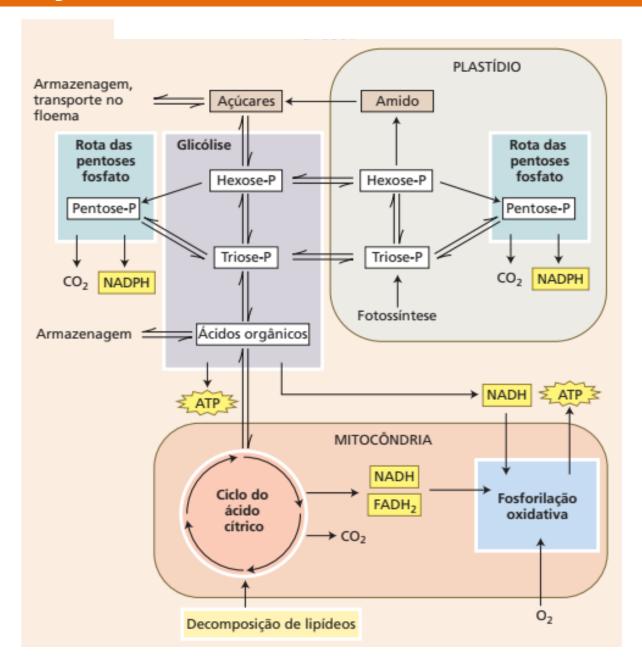
São elas: enzimas do complexo piruvato desidrogenase, as responsáveis pelo ciclo de Krebs e pela β-oxidação dos ácidos graxos, muitas das proteínas que participam da fosforilação oxidativa, os canais iônicos e as permeases da membrana interna, a DNA polimerase, a RNA polimerase, as proteínas ribossomais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

PRODUÇÃO DE ATP



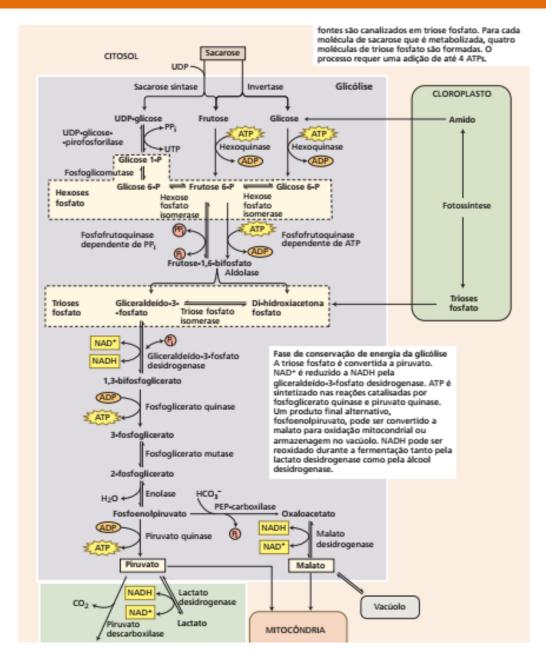
***Respiração: Glicólise, ciclo de Krebs e cadeia respiratória.

RESPIRAÇÃO CELULAR

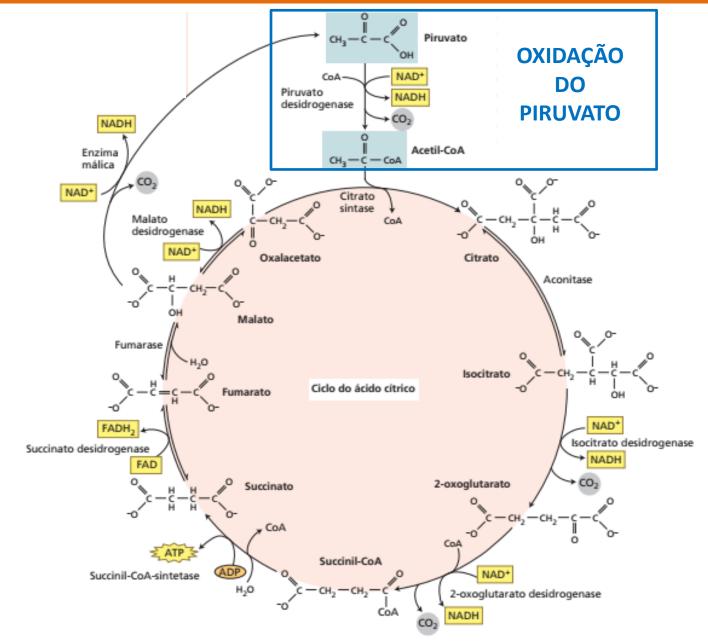


RESPIRAÇÃO CELULAR - GLICÓLISE

CITOSOL



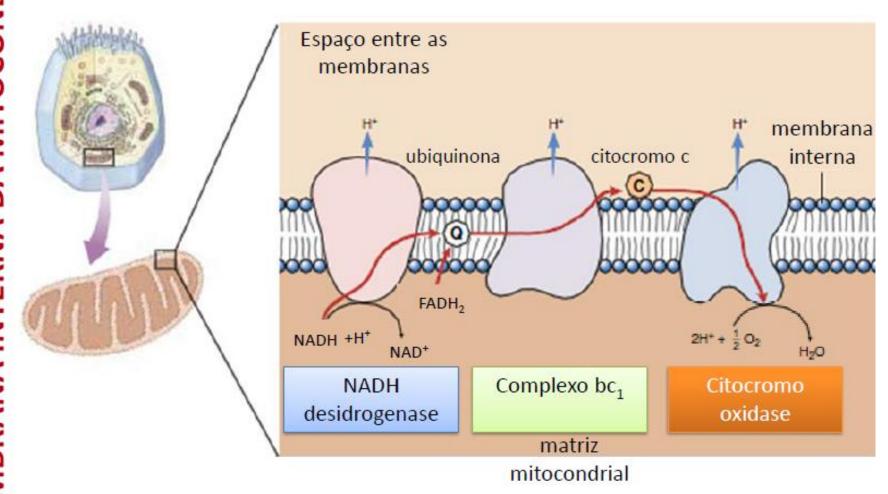
RESPIRAÇÃO CELULAR – CICLO DO ÁCIDO CÍTRICO



MATRIZ MITOCONDRIAL

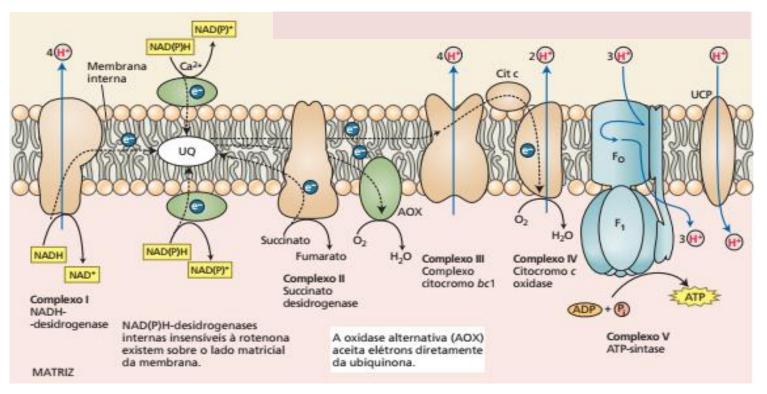
RESPIRAÇÃO CELULAR – Cadeia Transporte de elétrons

CADEIA RESPIRATÓRIA



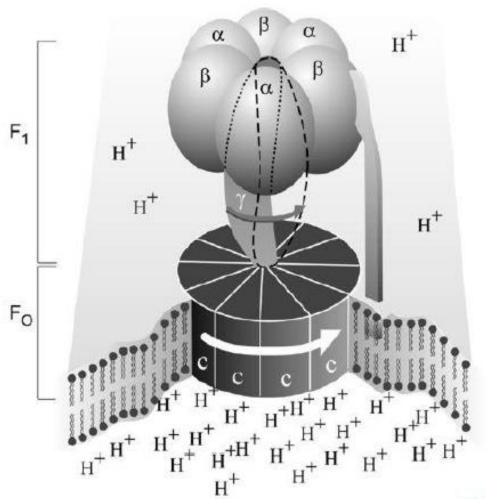
RESPIRAÇÃO CELULAR – Cadeia Transporte de elétrons

FOSOFORILAÇÃO OXIDATIVA



- **Complexo I:** os elétrons do NADH gerados pelo ciclo do ácido cítrico na matriz mitocondrial são oxidados e transferidos para a ubiquinona. Bombeia prótons.
- Complexo II: catalisa a oxidação do succinato no ciclo do ácido cítrico. Não bombeia prótons.
- Complexo III: oxidação da ubiquinona reduzida (ubiquinol) e transferência de elétrons.
- Complexo IV: é a oxidase terminal e realiza a redução do O_2 a duas moléculas de H_2O . Dois prótons são bombeados para cada par de elétrons.

ATP SINTASE





Paul D. Boyer
The Nobel Prize in Chemistry 1997



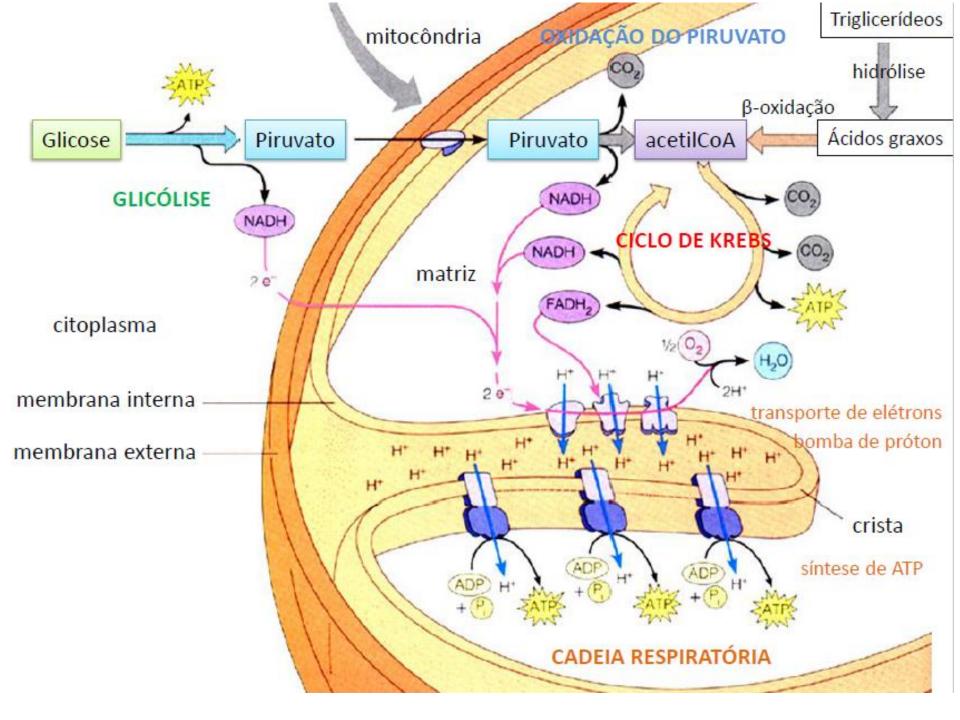
John E. Walker
The Nobel Prize in Chemistry 1997



Jens C. Skou The Nobel Prize in Chemistry 1997

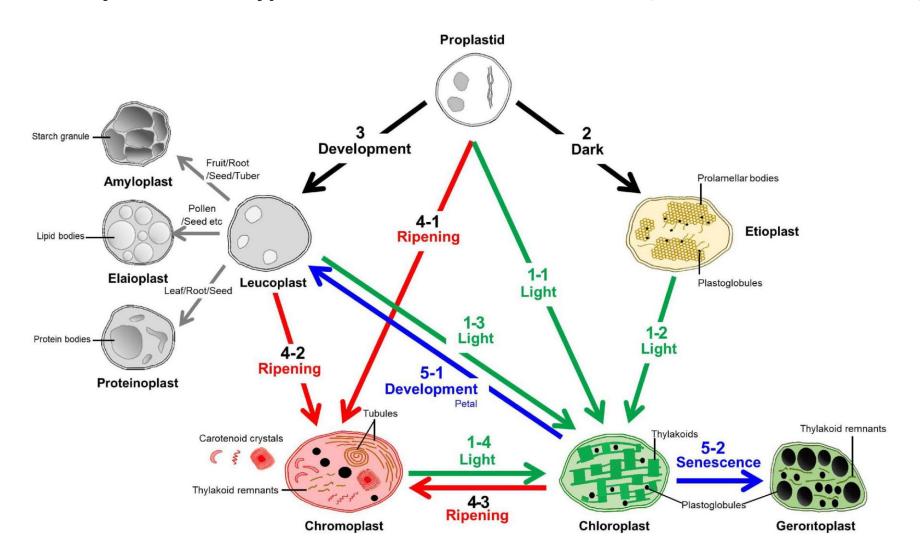
- Geração de gradiente elétroquímico de H⁺;
- Formação de ATP

10.000 rotações por minuto → 3ATP/rotação



- São estruturas vegetais que contem membrana dupla e genoma próprio, sendo classificados de acordo com os pigmentos que possuem:
- Cloroplastos, Cromoplastos, Leucoplastos, Etioplastos.
- Todos os plastídios especializados em diferentes tecidos vegetais são originados a partir do <u>Pró-Plastídio</u>, pequenas organelas (0.5 to 1 μm) indiferenciadas presentes nas células meristemáticas.
- Desenvolvem-se em plastídios especializados de acordo com as necessidades das células e podem mudar de um tipo de plastídio para outro.

Diversity of Plastid Types and Their Interconversions (Front. Plant Sci., June 2021)



FORMAÇÃO: A PARTIR DOS PRÓ-PLASTÍDIOS

- Encontrados nas células meristemáticas, que <u>não possuem clorofila</u>, apresentam <u>pouca ou nenhuma membrana interna</u> e um <u>conjunto incompleto</u> de enzimas fotossintetizantes.
- Nas angiospermas e em algumas gimnospermas, o desenvolvimento do cloroplasto a partir do pró-plastídio é desencadeado pela luz.
- Na presença de luz: as enzimas são formadas ou importadas do citosol; os pigmentos para a absorção da luz são produzidos, e as membranas proliferam rapidamente, originando as lamelas do estroma e as pilhas de grana.
- Nas sementes os pró-plastídios desenvolvem-se em cloroplastos somente quando a parte aérea jovem é exposta à luminosidade. Por outro lado, se as plântulas são mantidas no escuro, os pró-plastídios diferenciam-se em etioplastos, que contêm um pigmento precursor de clorofila, de cor verde-amarelada, a protoclorofilida.

FORMAÇÃO: A PARTIR DOS PRÓ-PLASTÍDIOS

- A manutenção da estrutura do cloroplasto depende da presença de luz; os cloroplastos maduros podem ser revertidos a etioplastos se mantidos por longos períodos no escuro.
- Da mesma forma, sob condições ambientais diferentes, os cloroplastos podem ser convertidos em **cromoplastos**, como no caso das folhas no outono e do amadurecimento dos frutos.

PRÓ-PLASTOS:

São plastídios não diferenciados e incolores,

Possuem estrutura mínima – membrana interna e externa,

Encontrados nos tecidos merestemáticos.

CLOROPLASTOS:

Possuem clorofila,

Especializados na atividade fotossintética,

Possuem um terceiro sistema de membranas, o tilacoide.

CROMOPLASTOS:

Não possuem clorofila mas contém carotenóides (cores amarelo, laranja e vermelho),

A sua função no metabolismo vegetal vem sendo estudada.

ETIOPLASTOS:

Plastídios encontrados em sementes crescendo no escuro,

Podem representar um estado transitório até o desenvolvimento do cloroplasto,

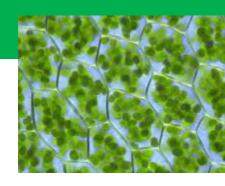
LEUCOPLASTOS:

Plastídeos sem pigmentos,

Armazenam grande quantidade de fontes energéticas em tecidos não fotossintetizantes,



<u>Amiloplastos</u>: um plastídio de reserva de amido, abundante nos tecidos de partes aéreas, de raízes e em sementes.



• CONCEITO:

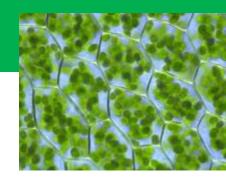
São as maiores organelas das células vegetais, algas verdes e cianobactérias (organismos fotossintetizadores);

O Cloroplasto é a organela onde se realiza a Fotossíntese;

Cloroplastos possuem a Clorofila, pigmento responsável pela sua cor verde, que captura a luz;

Todas as partes verdes de um vegetal possuem cloroplastos → folhas são o principal local de fotossíntese;

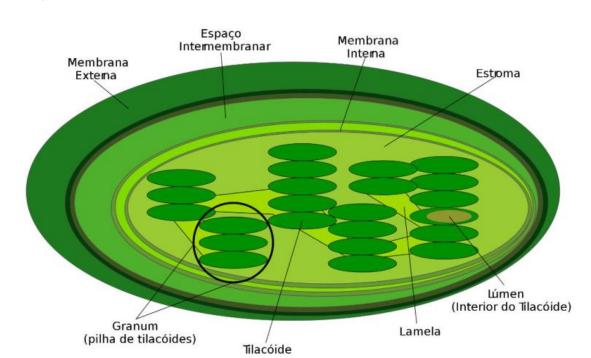
Herança Citoplasmática Materna (2/3); 1/3 herança mendeliana);



• CARACTERÍSTICAS:

- Composição: 50% de proteínas, 35% de lipídeos, 5% de clorofila, água e carotenóides;
- Possuem RNA, DNA e ribossomos, podendo assim sintetizar proteínas e multiplicar-se;
- Variam em tamanho e forma entre as diferentes células;
- Os cloroplastos realizam fotossíntese durante as horas diurnas;
- Cloroplastos assemelham-se a mitocôndrias, porém são maiores. No entanto, **não** há cadeia de transporte de elétrons na membrana interna dos cloroplastos;

- ESTRUTURA:
- Membrana Externa
- Membrana Interna
- Tilacóides (membrana do Tilacóide)
- Lúmen (interior do Tilacóide)
- Clorofila
- Grana ou Granum
- Lamela
- Estroma (interior do clo
- DNA circular



1. Membranas dos Cloroplastos

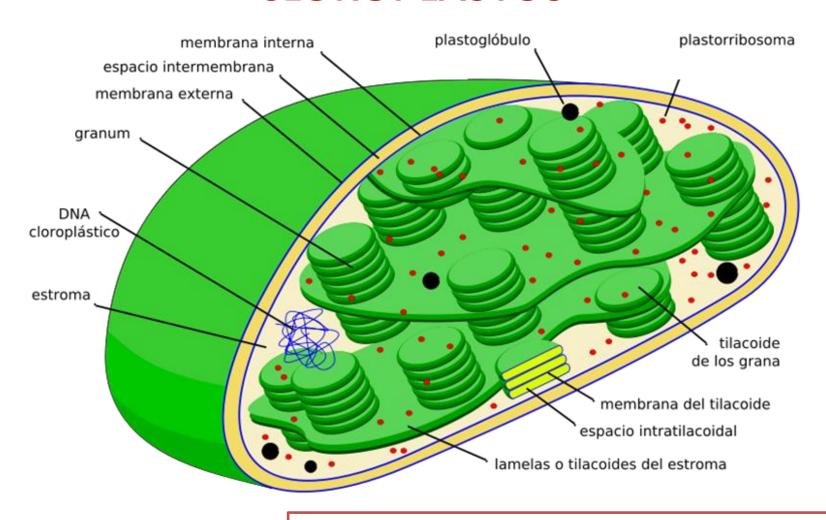
- EXTERNA:
- Membrana lipoproteica (glicosilglicerídeos);
- Altamente permeável;
- contém Porinas, canais permeáveis a moléculas inferiores a 13.000 dáltons;
- INTERNA:
- Menos permeável (impermeável a íons e metabólitos);
- Possui proteínas de membrana e proteínas transportadoras de Fosfato inorgânico (Pi);
- Circunda o espeço interno determinado como Estroma;
- Não possui cadeia transportadora de elétrons e não possui cristas;

2. ESTROMA:

- Representa a maior parte do cloroplasto e nele se encontram os tilacoides;
- É composto principalmente por proteínas;
- Possui enzimas metabólicas, grãos de amido, ribossomos e DNA circular;
- É o local onde ocorre a fixação do carbono, síntese de ácidos graxos e proteínas

3. TILACÓIDE:

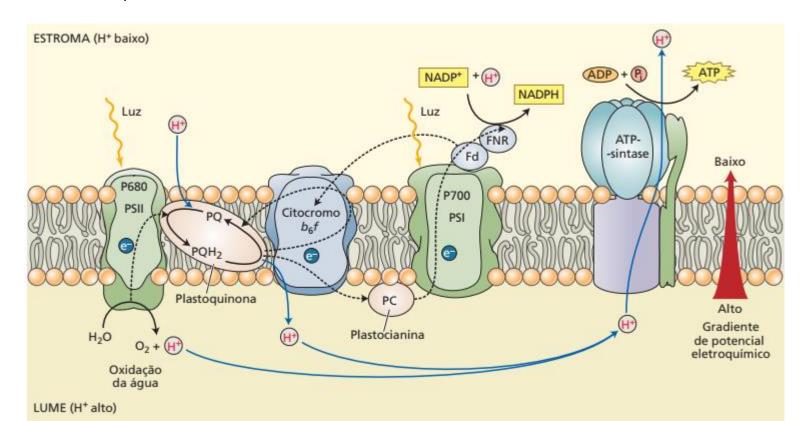
- sacos chatos em forma de disco;
- Os Tilacóide são envoltos por uma terceira membrana, Membrana do Tilacóide;
- Tilacóides são arranjados em forma de pilhas, que são Grana ou Granum;
- O espaço interno de cada tilacóide é conectado, Lamelas;



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

4. Membrana do Tilacóide:

- → contém todos os sistemas geradores de energia
- Sistemas captadores de luz (Fotossistemas)
- Cadeias Fotossintéticas Transportadoras de Elétrons
- Ribulose (Fixação dos Carbonos)
- ATP-sintetase;



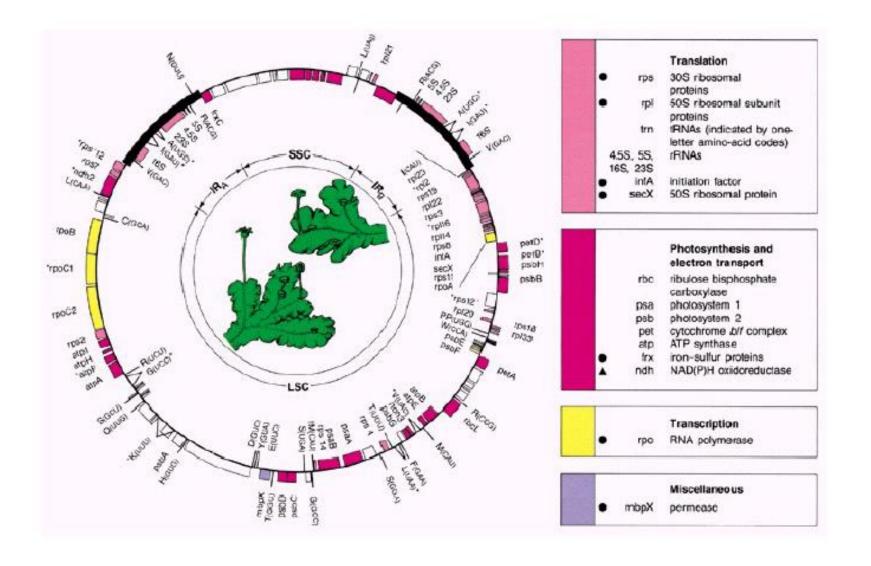
As **reações de fotossíntese dos tilacoides** ocorrem em membranas internas especializadas, encontradas nos cloroplastos e chamadas de tilacoides (ver Capítulo 1). Os produtos finais dessas reações dos tilacoides são os compostos de alta energia ATP e NADPH, utilizados para a síntese de açúcares nas **reações de fixação do carbono**. Esses processos de síntese ocorrem no estroma do cloroplasto, a região aquosa que circunda os tilacoides. As reações dos tilacoides, também chamadas de "reações luminosas" da fotossíntese, são o assunto deste capítulo; as reações de fixação do carbono serão discutidas no Capítulo 8.

No cloroplasto, a energia luminosa é convertida em energia química por duas unidades funcionais diferentes denominadas *fotossistemas*. A energia absorvida da luz é utilizada para impulsionar a transferência de elétrons por uma série de compostos que atuam como doadores e aceptores desses elétrons. A maior parte dos elétrons é extraída da H 2O, a qual é oxidada a O2, e, por fim, reduz NADP+ a NADPH. A energia luminosa também é utilizada para gerar a força motriz de prótons (ver Capítulo 6) através da membrana do tilacoide; essa força motriz é utilizada para sintetizar ATP.

GENOMA DOS CLOROPLASTOS

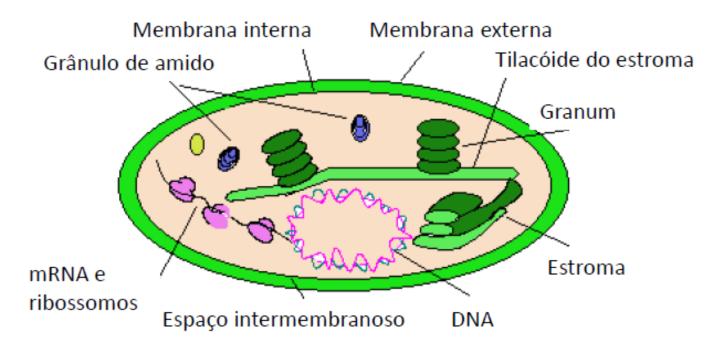
- ✓ Utiliza o código universal;
- ✓ Genes para transcrição e tradução;
- ✓ Maior que o mtDNA;
- ✓ Circular (45 µm), ~135.000 pares de bases e múltiplas cópias;
- ✓ Genes para: rRNA, proteínas de transcrição e tradução, fotossíntese e transporte de elétrons;
- ✓ RuBiSCO: genes que codificam a subunidade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

GENOMA DE CLOROPLASTOS

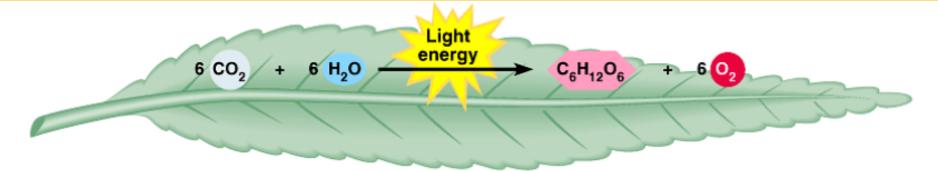


DUPLICAÇÃO DOS CLOROPLASTOS

- ✓ 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.

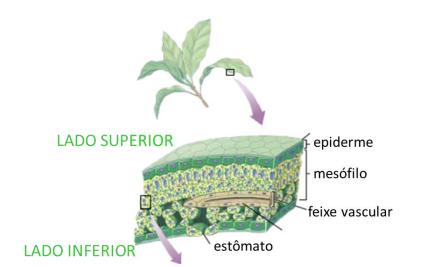


FOTOSSÍNTESE

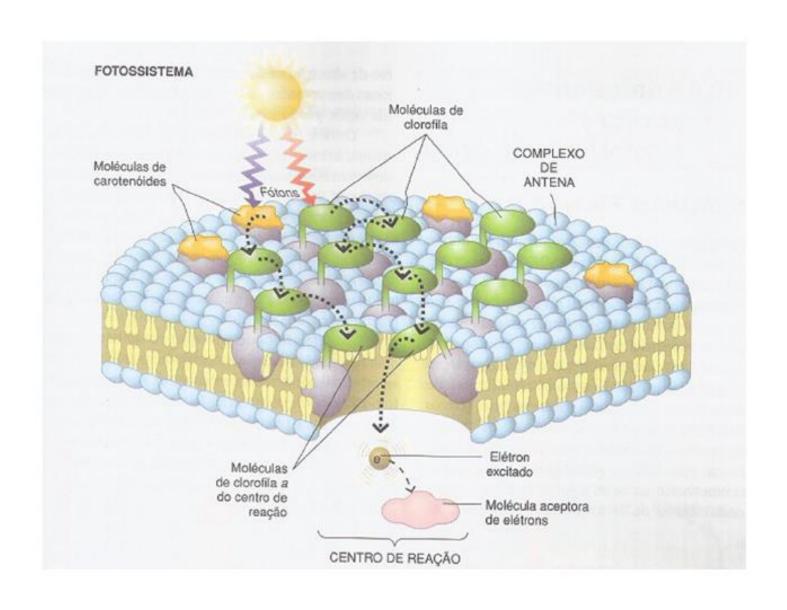


Fotossíntese é o processo em que os organismos autotróficos utilizam luz para produzir açúcar e $\rm O_2$ a partir de água e $\rm CO_2$

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

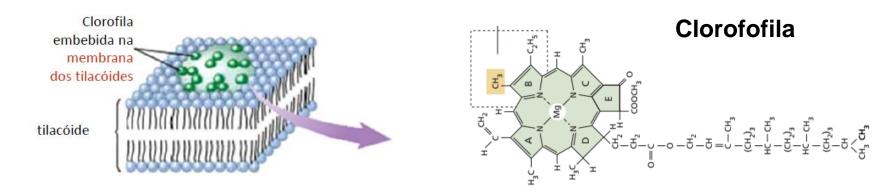


PIGMENTOS DA FOTOSSÍNTESE



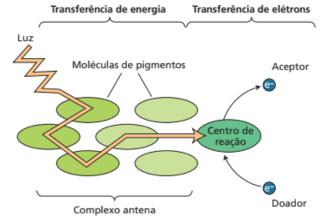
FOTOSSÍNTESE

- A energia da luz solar é absorvida primeiro pelos pigmentos da planta.
- Os pigmentos ativos na fotossíntese são encontrados nos cloroplastos.



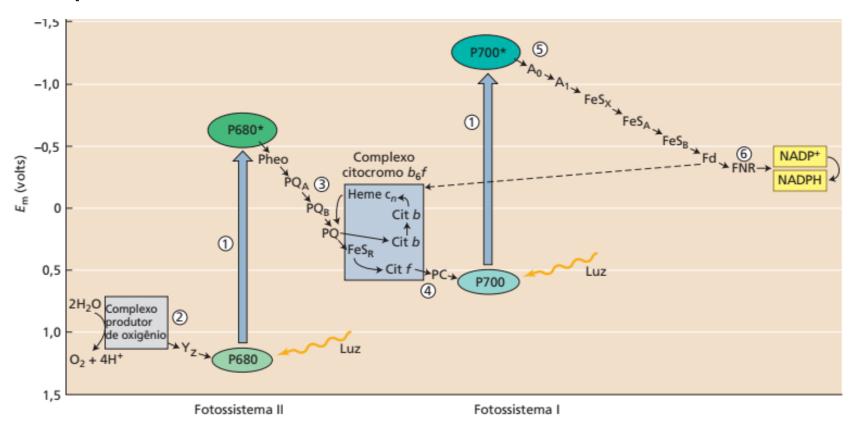
A maior parte dos pigmentos serve como um complexo antena, coletando luz e transferindo a energia para o complexo dos centros de reação, onde acontecem as reações químicas de oxidação e redução que levam ao armazenamento de

energia a longo prazo.



FOTOSSÍNTESE – Reações dos Tilacóides

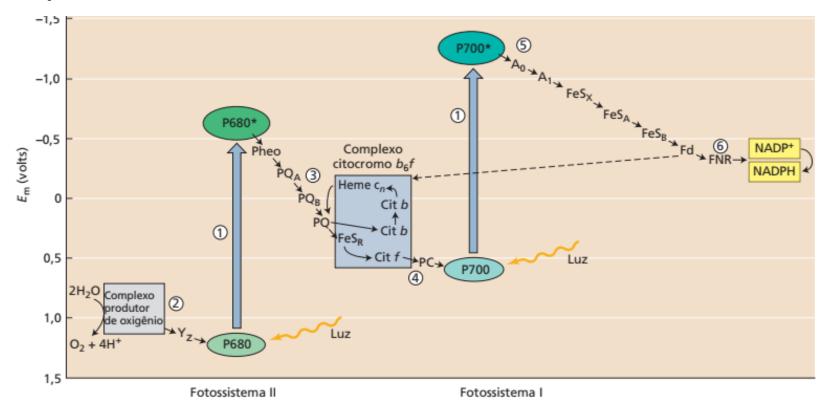
- Dois complexos fotoquímicos, fotossistemas I e II (PSI e PSII) operam em série para realizar as reações de armazenamento de energia da fotossíntese.
- Esquema Z da fotossíntese



O PSII produz um forte oxidante que oxida a água, enquanto PSI produz um forte redutor que reduz o NADP+.

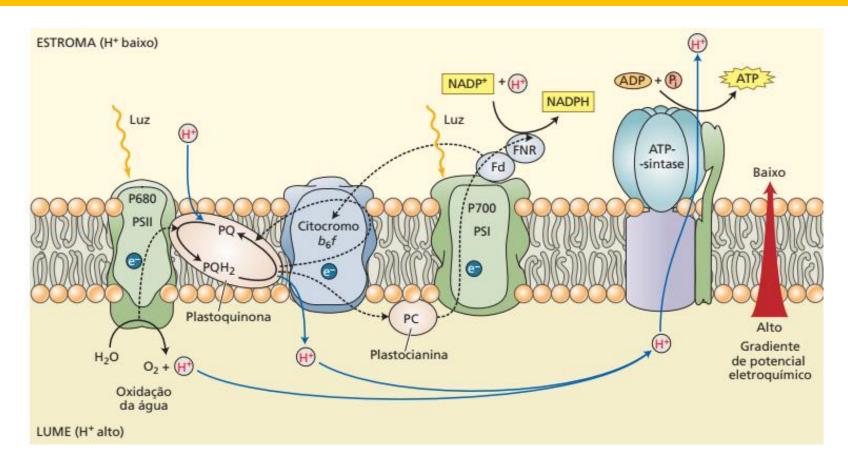
FOTOSSÍNTESE – Reações dos Tilacóides

Esquema Z da fotossíntese



- (1) A clorofila do centro de reação PSII excitada, P680*, transfere um elétron para a feofitina (Pheo).
- (2) O P680 oxidado pela luz é reduzido novamente pelo Yz, o qual recebeu elétrons via oxidação da água.
- (3) A feofitina transfere elétrons para os aceptores PQA e PQB, que são plastoquinonas

FOTOSSÍNTESE – Reações dos Tilacóides



A água é oxidada e os prótons são liberados no lume pelo PSII.

O PSI reduz o NADP+ a NADPH no estroma.

Os prótons também são transportados para o lume pelo complexo citocromo *b*6*f* e contribuem para o gradiente eletroquímico de prótons.

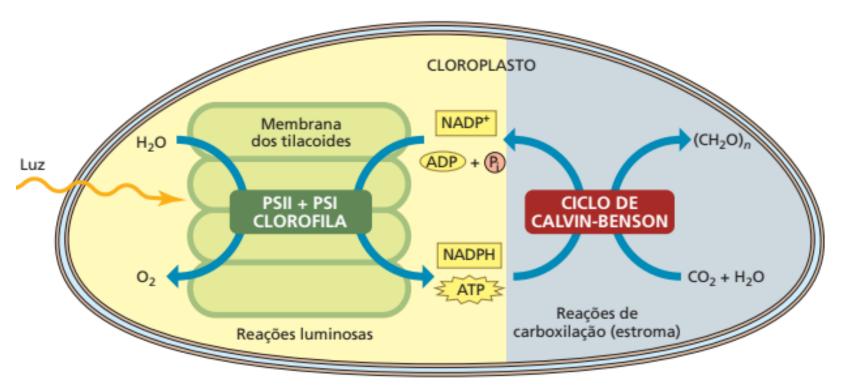
Esses prótons necessitam, então, difundir-se até a enzima ATP-sintase, onde sua difusão, por meio do gradiente de potencial eletroquímico, será utilizada para sintetizar ATP no estroma.

FOTOSSÍNTESE – Reações do Estroma

- Reações de fixação de carbono
- Rubisco: enzima que faz a fixação de carbono nos cloroplastos, 50% das proteínas do cloroplasto;
- Estas reações correm no estroma do cloroplasto e continuam no citosol;
- Independente de luz
- ATP e NADPH produzidos pelas reações fotossintéticas de transferência de elétrons (estágio I) servem como fonte de energia e força redutora, promovendo a conversão de CO2 em carboidratos (Sacarose);
- Sacarose é transportada para outros tecidos como fonte de moléculas orgânicas e energia para o crescimento;

FOTOSSÍNTESE – Reações do Estroma

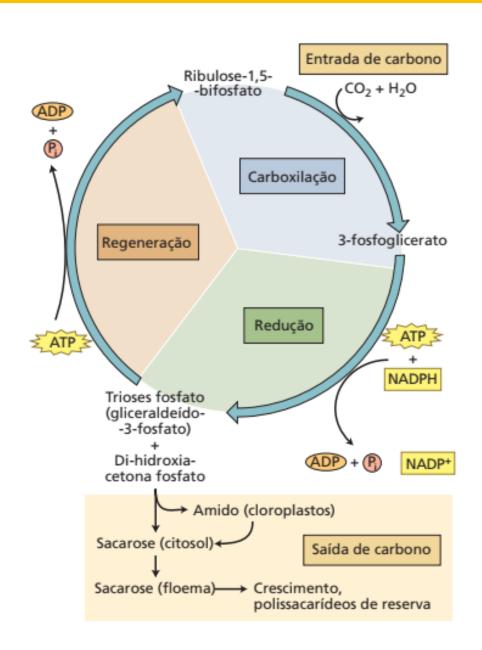
Reações de fixação de carbono



Nas **membranas dos tilacoides**, a excitação da clorofila no sistema de transporte de elétrons (**PSII + P**SI) pela luz induz a formação de **ATP e NADPH**.

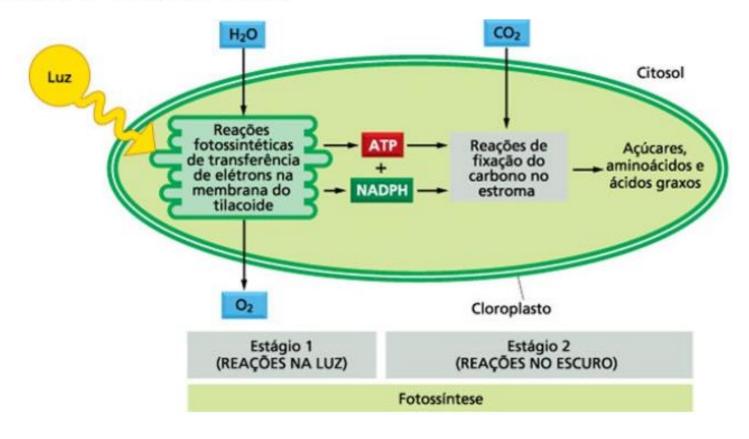
No **estroma**, **ATP e NADPH** são consumidos pelo **ciclo de Calvin-Benson**, em uma série de reações catalisadas por enzimas que reduzem o CO2 atmosférico a carboidratos.

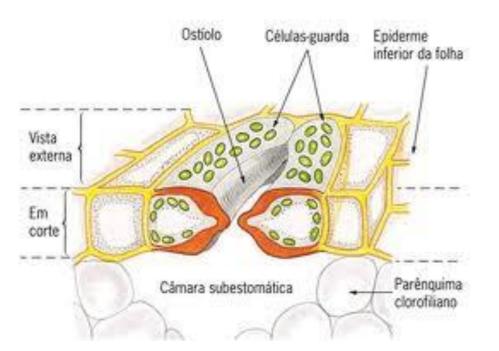
FOTOSSÍNTESE – Ciclo de Calvin-Benson



FOTOSSÍNTESE

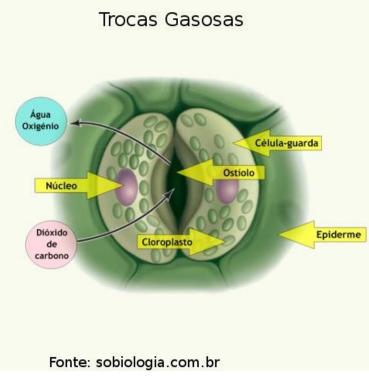
- ✓ <u>Estágio 1:</u> água é oxidada e o oxigênio é liberado nas reações fotossintéticas de transferência de elétrons que produz ATP e NADPH;
- ✓ Estágio 2: dióxido de carbono é assimilado para produzir açúcares e outras moléculas orgânicas nas reações de fixação do carbono. Inicia no estroma do cloroplasto e segue no citosol;

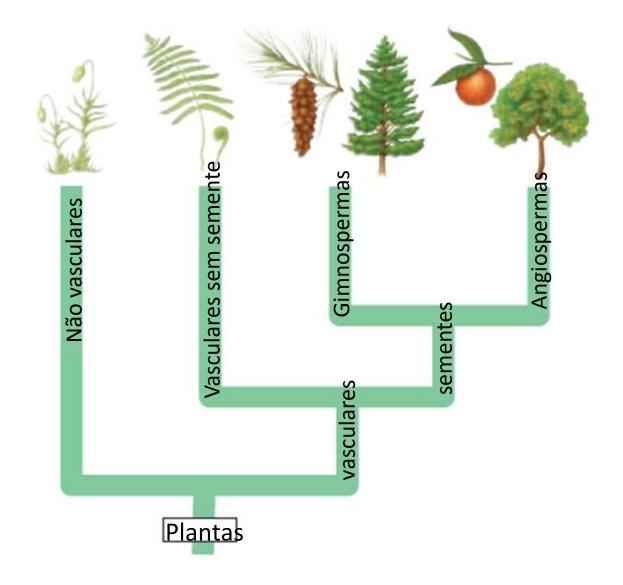




ESTÔMATOS SÃO RICOS EM CLOROPLASTOS



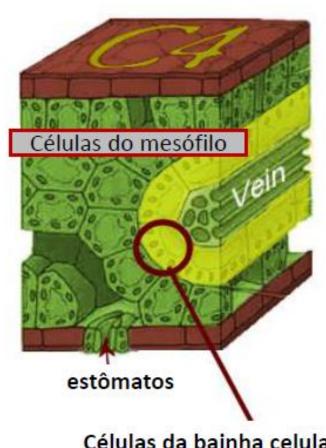




Localização e quantidade de cloroplastos depende da espécie vegetal

HÁ AINDA VARIAÇÕES NOS TIPOS E EFICIÊNCIA **DE FOTOSSISTEMAS**





Células da bainha celular

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







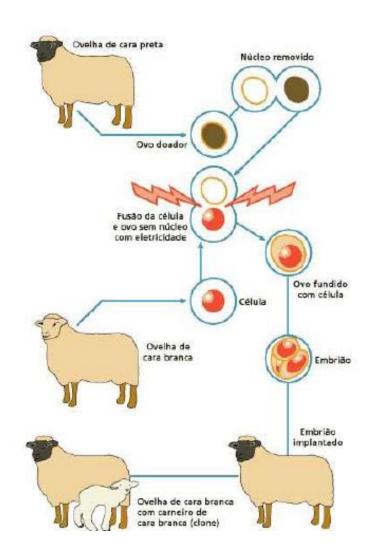
Macho estéril

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, ESALO/USP

QUAIS AS VANTAGENS EM SE MODIFICAR ESTA ORGANELA?

Foto cedida pelos autores.



Figura 1: Estrutura do cloroplasto.

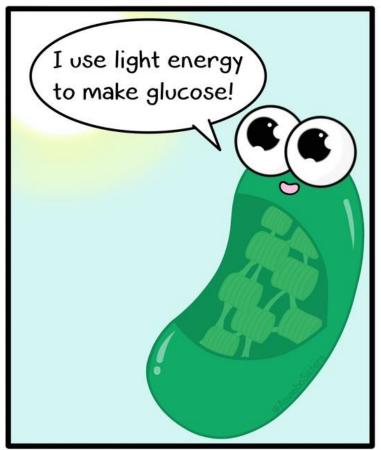


Figura 2: Genoma do cloroplasto de tabaco com aproximadamente 120 genes.

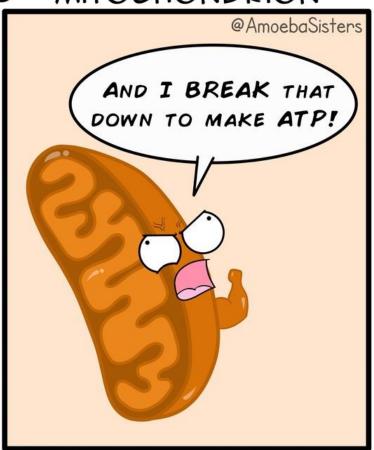


Figura 3: Protocolo de transformação de cloroplasto utilizando biolística.

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 cellular
- Função dos cloroplastos
- Etapas das 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.