

A geração de energia em mitocôndrias e cloroplastos

A necessidade fundamental de gerar energia de maneira eficiente determinou uma influência profunda na história da vida sobre a Terra. Muito da estrutura, função e evolução das células e dos organismos pode ser relacionado às suas necessidades de energia. Acredita-se que, na ausência do oxigênio atmosférico, as primeiras células devem ter produzido o oxigênio a partir da quebra de moléculas orgânicas formadas por processos geoquímicos. Tais reações de fermentação, discutidas no Capítulo 13, ocorrem no citosol das células atuais, onde utilizam a energia gerada da oxidação parcial de moléculas de alimento ricas em energia para formar ATP.

Contudo, no início da história da vida, surgiu um mecanismo muito mais eficiente para gerar energia e sintetizar ATP – baseado no transporte de elétrons ao longo das membranas. Bilhões de anos mais tarde, tal mecanismo é tão fundamental para a existência de vida na Terra que dedicamos este capítulo inteiro a ele. Como vamos observar, os mecanismos de transporte de elétrons associado à membrana são usados pelas células para extrair energia de uma grande variedade de fontes. Esses mecanismos são fundamentais tanto para a conversão da energia luminosa em energia de ligações químicas na fotossíntese quanto para a formação de grandes quantidades de ATP a partir dos alimentos durante a **respiração celular**. Embora o transporte de elétrons associado à membrana tenha surgido primeiro nas bactérias há mais de três bilhões de anos, atualmente os descendentes dessas células pioneiras ocupam todos os cantos e fendas da terra e dos oceanos de nosso planeta com uma diversidade de formas de vida. Talvez ainda mais notável, os remanescentes dessas bactérias sobrevivem dentro de cada célula eucariótica sob a forma de cloroplastos e mitocôndrias.

Neste capítulo, consideramos os mecanismos moleculares pelos quais o transporte de elétrons permite que as células produzam a energia necessária para sobreviver. Descrevemos como esses sistemas funcionam nas mitocôndrias e nos cloroplastos, e analisamos os princípios químicos que permitem que a transferência de elétrons libere grandes quantidades de energia. Por fim, traçamos os caminhos evolutivos que deram origem a esses mecanismos.

Mas em primeiro lugar, vamos dar uma breve olhada nos princípios gerais centrais para a geração de energia em todos os seres vivos: o uso de uma membrana para aproveitar a energia do movimento de elétrons.

As células obtêm a maior parte da sua energia a partir de um mecanismo baseado em membranas

A principal moeda corrente de energia química nas células é o ATP (ver Figura 3-32). Pequenas quantidades de ATP são geradas durante a glicólise no citosol de todas as células (discutido no Capítulo 13). Contudo, para a grande maioria das células, a maior parte do ATP é produzida por *fosforilação oxidativa*. A fosfo-

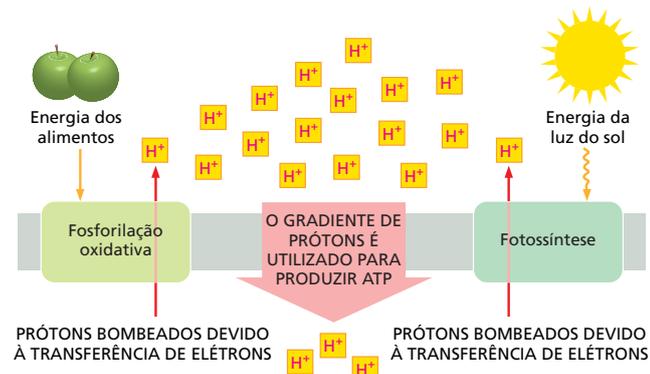
AS MITOCÔNDRIAS E A FOSFORILAÇÃO OXIDATIVA

OS MECANISMOS MOLECULARES DO TRANSPORTE DE ELÉTRONS E DO BOMBEAMENTO DE PRÓTONS

OS CLOROPLASTOS E A FOTOSÍNTESE

A EVOLUÇÃO DOS SISTEMAS GERADORES DE ENERGIA

Figura 14-1 Mecanismos associados à membrana utilizam a energia fornecida pelos alimentos ou pela luz solar para gerar ATP. Na fosforilação oxidativa, que ocorre nas mitocôndrias, um sistema de transporte de elétrons utiliza a energia proveniente da oxidação de alimentos para gerar um gradiente de prótons (H^+) através da membrana. Na fotossíntese, que ocorre nos cloroplastos, um sistema de transporte de elétrons utiliza a energia fornecida pela luz solar para gerar um gradiente de prótons através da membrana. Em ambos os casos, esse gradiente de prótons é utilizado para promover a síntese de ATP.



rialação oxidativa gera o ATP de forma diferente da glicólise, na medida em que requer uma membrana. Nas células eucarióticas, a fosforilação oxidativa ocorre nas mitocôndrias. Essa depende do processo de transporte de elétrons que impulsiona o transporte de prótons (H^+) através da membrana mitocondrial interna. Um processo semelhante produz ATP durante a fotossíntese em plantas, algas e bactérias fotossintetizantes (Figura 14-1).

O processo de produção de ATP baseado em membrana consiste em duas fases conectadas: a primeira constitui um gradiente eletroquímico de prótons, que a outra fase utiliza para gerar ATP. Ambas as fases são levadas a cabo pelos complexos proteicos especiais na membrana.

1. Na fase 1, os elétrons de alta energia originados da oxidação de moléculas de alimentos (discutidos no Capítulo 13), da luz solar, ou de outras fontes (discutidas adiante) são transferidos ao longo de uma série de transportadores de elétrons – denominada **cadeia transportadora de elétrons** – incorporada à membrana. As transferências de elétrons liberam energia, que é usada para bombear prótons, derivados da água que está onipresente nas células, através da membrana e, portanto, gerando um gradiente eletroquímico de prótons (Figura 14-2A). Um gradiente de íons através de uma membrana representa uma forma de armazenar energia que pode ser aproveitada para produzir um trabalho útil quando os íons são permitidos a fluir de volta, através da membrana, a favor do seu gradiente eletroquímico (discutido no Capítulo 12).
2. Na fase 2 da fosforilação oxidativa, os prótons fluem de volta a favor do seu gradiente eletroquímico por meio de um complexo proteico chamado de *ATP-sintase*, que catalisa a síntese do ATP com gasto de energia a partir de ADP e fosfato inorgânico (P_i). Essa enzima onipresente funciona como uma turbina, permitindo que o gradiente de prótons propulsione a produção de ATP (Figura 14-2B).

Quando esse mecanismo de gerar energia foi inicialmente proposto em 1961, ele foi chamado de *hipótese quimiosmótica* devido à relação existente entre as reações de ligação química que sintetizam o ATP (“quimi-”) com o processo de transporte da membrana que bombeia prótons (“osmótico”, do grego *osmos*, empurrar). Graças ao mecanismo quimiosmótico, conhecido hoje como **acoplamento quimiosmótico**, as células podem aproveitar a energia da transferência de elétrons de maneira semelhante à capacidade de utilizar a energia armazenada em uma bateria para realizar trabalho útil (Figura 14-3).

O acoplamento quimiosmótico é um processo antigo, preservado nas células de hoje

O mecanismo quimiosmótico associado à membrana para produção de ATP surgiu muito cedo na história da vida. Exatamente o mesmo tipo de processo gera-

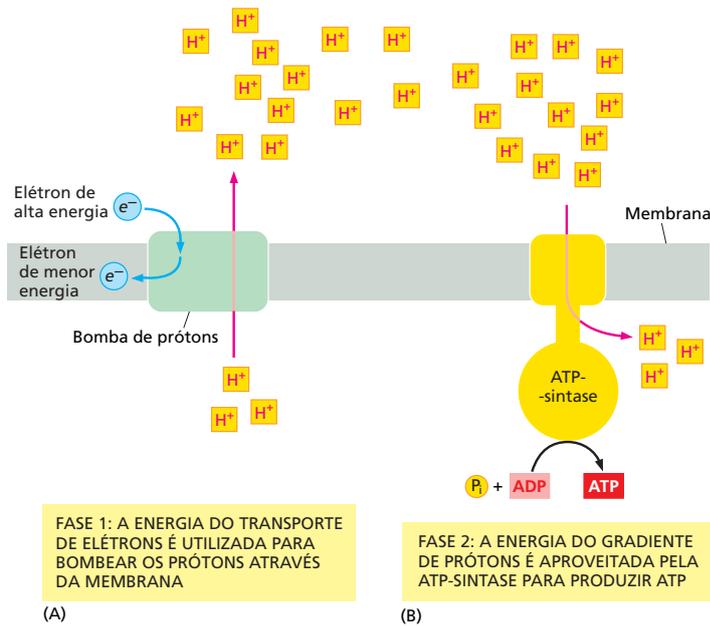


Figura 14-2 Sistemas associados à membrana utilizam a energia armazenada em um gradiente eletroquímico de prótons para produzir ATP. O processo ocorre em duas fases. (A) Na primeira fase, uma bomba de prótons aproveita a energia da transferência de elétrons (detalhes não apresentados aqui) para bombear prótons (H^+) derivados da água, criando um gradiente de prótons através da membrana. Uma seta azul indica o sentido de sua migração. Esses elétrons de alta energia podem vir de moléculas orgânicas ou inorgânicas, ou podem ser produzidos pela ação da luz sobre moléculas especiais, como a clorofila. (B) O gradiente de prótons produzidos em (A) serve como um armazenamento versátil de energia. Esse gradiente promove uma variedade de reações que requerem energia nas mitocôndrias, nos cloroplastos e nos procariotos – incluindo a síntese de ATP pela ATP-sintase.

dor de ATP ocorre na membrana plasmática de bactérias e arqueias modernas. Aparentemente, o mecanismo teve tanto sucesso que as suas características essenciais foram mantidas ao longo do processo evolutivo, desde os primeiros procariotos até as células atuais.

Essa notável semelhança pode ser atribuída em parte ao fato de que as organelas que produzem o ATP nas células eucarióticas – os cloroplastos e as mitocôndrias – evoluíram a partir de bactérias que foram incorporadas por células ancestrais há mais de um bilhão de anos (ver Figuras 1-18 e 1-20). Como evidência da sua linhagem bacteriana, tanto os cloroplastos quanto as mitocôndrias se reproduzem de maneira semelhante à da maioria dos procariotos (Figura 14-4). Eles também possuem maquinaria biossintética semelhante à das bactérias para produzir RNA e proteínas, além de manter seus próprios genomas (Figura 14-5). Muitos genes de cloroplastos são marcadamente semelhantes aos genes de cianobactérias, a bactéria fotossintetizante da qual se acredita que os cloroplastos sejam derivados.

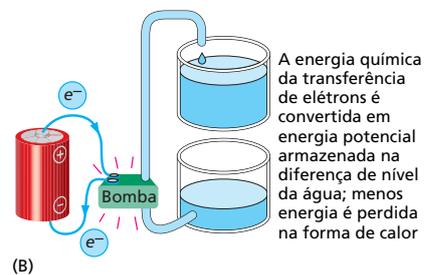
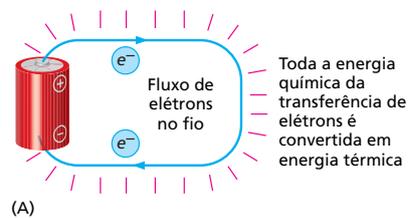
Embora mitocôndrias e cloroplastos ainda possuam DNA, as bactérias que deram origem a essas organelas perderam muitos dos genes necessários para uma vida independente, desenvolvendo relações simbióticas que levaram à evolução de células eucarióticas animais e vegetais. Contudo, esses genes alijados não foram perdidos. Muitos foram transferidos para o núcleo da célula, onde continuam a produzir proteínas que as mitocôndrias e os cloroplastos importam para poderem desempenhar suas funções especializadas – incluindo a geração de ATP, um processo discutido em detalhes durante o restante do capítulo.

QUESTÃO 14-1

O dinitrofenol (DNP) é uma pequena molécula que torna as membranas permeáveis a prótons. Na década de 1940, pequenas quantidades desse composto altamente tóxico foram administradas a pacientes para induzir a perda de peso. O DNP foi efetivo na promoção da perda de peso, sobretudo das reservas lipídicas. Você poderia explicar como ele pôde causar tal perda? Como reação colateral indesejada, entretanto, os pacientes tiveram elevação da temperatura e suavam profusamente durante o tratamento. Forneça uma explicação para esses sintomas.

Figura 14-3 Baterias podem utilizar a energia de transferência de elétrons para realizar trabalho.

(A) Se os terminais da bateria forem conectados diretamente um ao outro, a energia liberada pela transferência dos elétrons é totalmente convertida em calor. (B) Se a bateria for conectada a uma bomba, grande parte da energia liberada pela transferência dos elétrons pode ser aproveitada para realizar trabalho (nesse caso, uma bomba de água). As células, de maneira semelhante, podem aproveitar a energia de transferência de elétrons para realizar trabalho – por exemplo, para bombear H^+ (ver Figura 14-2A).



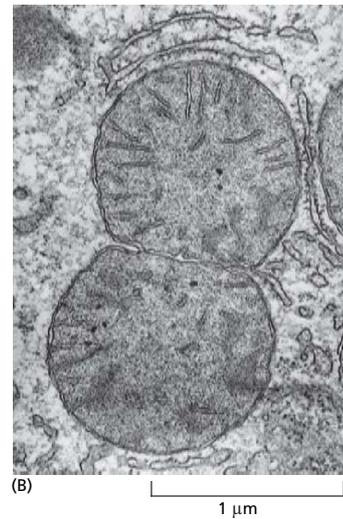
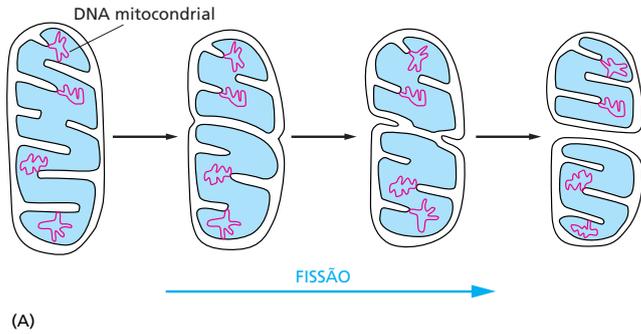


Figura 14-4 Uma mitocôndria pode se dividir como uma bactéria. (A) Ela é submetida a um processo de fissão conceitualmente similar à divisão bacteriana. (B) Uma micrografia eletrônica de uma mitocôndria em divisão em uma célula hepática. (B, cortesia de Daniel S. Friend.)

AS MITOCÔNDRIAS E A FOSFORILAÇÃO OXIDATIVA

As **mitocôndrias** estão presentes em quase todas as células eucarióticas, onde produzem a maior parte do ATP da célula. Sem as mitocôndrias, os eucariotes teriam de contar com o processo relativamente ineficiente da glicólise para a produção de todo o ATP. Quando a glicose é convertida em piruvato pela glicólise no citosol, o resultado líquido é que apenas duas moléculas de ATP são produzidas por molécula de glicose, o que representa menos de 10% do total de energia livre potencialmente disponível a partir da oxidação do açúcar. Em comparação, cerca de 30 moléculas de ATP são produzidas quando as mitocôndrias são utilizadas para completar a oxidação da glicose, que começa na glicólise. Se as células ancestrais não tivessem estabelecido relações com as bactérias que deram origem às mitocôndrias modernas, parece improvável que os organismos multicelulares complexos pudessem ter evoluído.

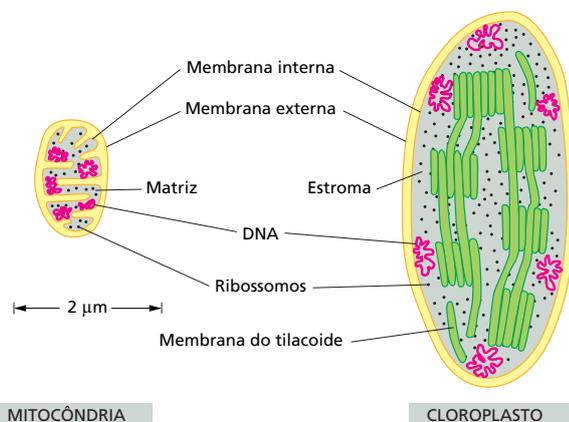


Figura 14-5 As mitocôndrias e os cloroplastos compartilham muitas das características de seus ancestrais bacterianos. Ambas as organelas possuem seu próprio genoma de DNA e os sistemas para copiar esse DNA e produzir RNA e proteínas. Os compartimentos internos dessas organelas – matriz mitocondrial e estroma dos cloroplastos – possuem DNA (*vermelho*) e um conjunto especial de ribossomos. As membranas de ambas as organelas – membrana mitocondrial interna e membrana do tilacoide – possuem os complexos de proteínas envolvidas na produção de ATP.

A importância das mitocôndrias é realçada pelas consequências desastrosas da disfunção mitocondrial. Por exemplo, os pacientes com uma doença hereditária chamada *epilepsia mioclônica com fibras vermelhas rotas* (MERRF, de *myoclonic epilepsy and ragged red fiber disease*) são deficientes em várias proteínas necessárias para o transporte de elétrons. Em consequência, eles costumam experimentar fraqueza muscular, problemas cardíacos, epilepsia e, muitas vezes, demência. As células musculares e nervosas são especialmente sensíveis a defeitos mitocondriais, pois necessitam de muito ATP para funcionar normalmente.

Nesta seção, fazemos uma revisão da estrutura e função das mitocôndrias. Descrevemos a forma como essa organela faz uso de uma cadeia transportadora de elétrons, incorporada na sua membrana interna, para gerar o gradiente de prótons necessário para promover a síntese de ATP. Também consideramos a eficiência global com a qual esse sistema associado à membrana converte a energia armazenada nas moléculas energéticas (alimentos) em energia armazenada nas ligações de fosfato do ATP.

As mitocôndrias podem mudar sua forma, localização e número para atender às necessidades celulares

As mitocôndrias isoladas são em geral semelhantes em tamanho e forma aos seus antepassados bacterianos. Embora não sejam mais capazes de viver de forma independente, as mitocôndrias são notáveis em se adaptar, ajustando sua localização, forma e número para atender às necessidades da célula. Em algumas células, as mitocôndrias permanecem fixas em um único local, onde fornecem ATP diretamente a uma região com consumo de energia excepcionalmente elevado. Em uma célula muscular cardíaca, por exemplo, as mitocôndrias estão localizadas próximas aos aparelhos contráteis, ao passo que, no espermatozoide, estão firmemente presas ao redor do flagelo motor (**Figura 14-6**). Em outras células, as mitocôndrias fundem-se, formando estruturas alongadas em redes tubulares dinâmicas, que são difusamente distribuídas pelo citoplasma (**Figura 14-7**). Essas redes são dinâmicas, quebrando-se continuamente por fissão (ver Figura 14-4) e se fundindo novamente.

As mitocôndrias estão presentes em grande número – 1.000 a 2.000 em uma célula do fígado, por exemplo. Mas os seus números variam dependendo do tipo celular e podem mudar com as necessidades de energia da célula. Nas células do músculo esquelético, as mitocôndrias podem se dividir até aumentar de cinco a dez vezes o seu número se o músculo for estimulado repetidamente a se contrair.

Independentemente da sua aparência variada, localização e número, todas as mitocôndrias têm a mesma estrutura interna básica – um modelo que mantém a produção eficiente de ATP, como vemos a seguir.

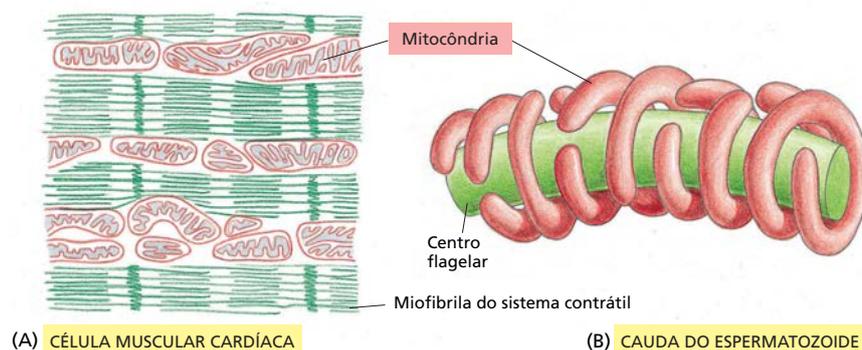
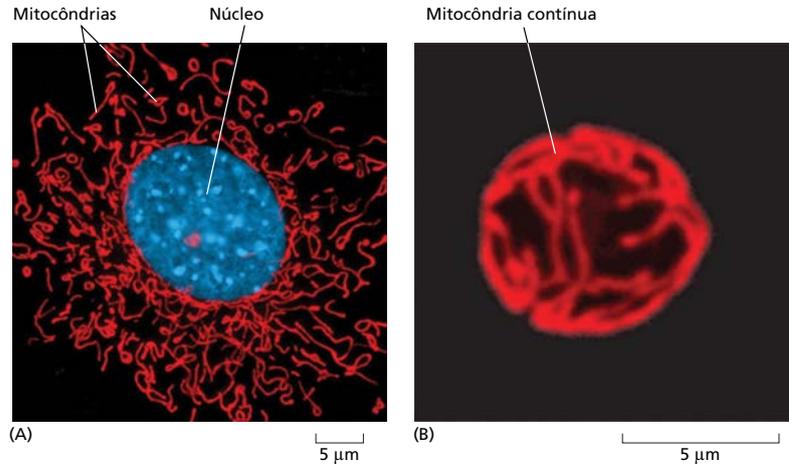


Figura 14-6 Algumas mitocôndrias estão localizadas próximas aos sítios de alta utilização de ATP. (A) Em uma célula muscular cardíaca, as mitocôndrias se situam próximas aos aparelhos contráteis, nos quais a hidrólise de ATP fornece a energia para a contração. (B) Em um espermatozoide, as mitocôndrias se encontram na cauda, ao redor de uma porção do flagelo motor que requer ATP para o seu movimento.

Figura 14-7 Muitas vezes as mitocôndrias se fundem para formar redes tubulares alongadas que podem se estender por todo o citoplasma. (A) As mitocôndrias (vermelho) estão marcadas com fluorescência nestes fibroblastos cultivados de camundongo. (B) Em uma célula de levedura, as mitocôndrias (vermelho) formam uma rede contínua, dobrada contra a membrana plasmática. (A, cortesia de Michael W. Davidson, Carl Zeiss Microscopy Online Campus; B, de J. Nunnari et al., *Mol. Biol. Cell.* 8:1233–1242, 1997. Com a permissão de The American Society for Cell Biology.)



Uma mitocôndria possui uma membrana externa, uma membrana interna e dois compartimentos internos

Uma mitocôndria é delimitada por duas membranas altamente especializadas – uma em torno da outra. Essas membranas, chamadas de membranas mitocondriais externa e interna, criam dois compartimentos mitocondriais: um grande espaço interno chamado de **matriz** e um *espaço intermembranar* muito mais estreito (Figura 14-8). Quando mitocôndrias isoladas são suavemente fracionadas, tendo os seus componentes separados e os seus conteúdos analisados (ver Painel 4-3, p. 164-165), cada uma das membranas, e os espaços que elas delimitam, apresentam um conjunto único de proteínas.

A *membrana externa* possui muitas moléculas de uma proteína de transporte denominada *porina*, a qual forma amplos canais aquosos pela bicamada lipídica (descritos no Capítulo 11). Como resultado, a membrana externa é como uma peneira, permeável a todas as moléculas de 5.000 dáltons ou menos, incluindo pequenas proteínas. Isso torna o espaço intermembranar quimicamente equivalente ao citosol em relação às pequenas moléculas e íons inorgânicos que ela contém. Em contrapartida, a *membrana interna*, como outras membranas da célula, é impermeável à passagem de íons e à maioria das pequenas moléculas, exceto onde uma rota é fornecida por proteínas de transporte de membrana específicas. A matriz mitocondrial, portanto, contém apenas moléculas que são seletivamente transportadas à matriz através da membrana interna, e então o seu conteúdo é altamente especializado.

A membrana mitocondrial interna é o local onde ocorre a fosforilação oxidativa, e ela contém as proteínas da cadeia transportadora de elétrons, as bombas de prótons e a ATP-sintase, necessária para a produção de ATP. Ela também possui uma variedade de proteínas de transporte que permitem a entrada seletiva de pequenas moléculas – como o piruvato e os ácidos graxos que serão oxidados na mitocôndria – no interior da matriz.

A membrana interna é altamente sinuosa, formando uma série de dobramentos conhecidos como *cristas* – que se projetam para o interior do espaço da matriz (ver Figura 14-8 e Animação 14.1). Essas dobras aumentam muito a área da superfície da membrana. Em uma célula hepática, por exemplo, as membranas internas de todas as mitocôndrias representam cerca de um terço das membranas totais da célula. E o número de cristas em uma mitocôndria de célula muscular cardíaca é três vezes maior do que o de uma mitocôndria de uma célula hepática.

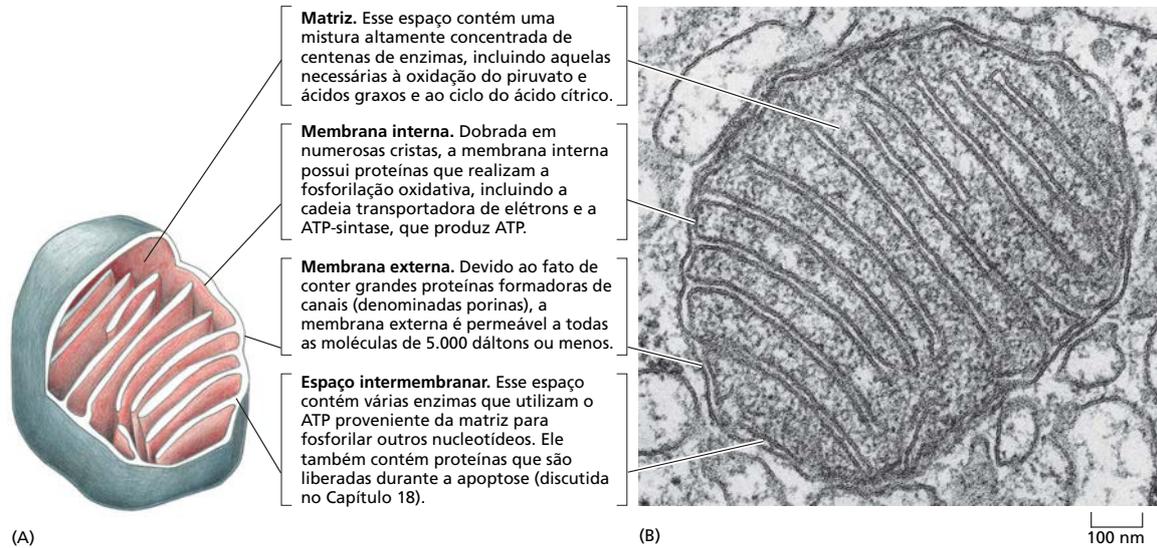


Figura 14-8 Uma mitocôndria é organizada em quatro compartimentos separados. (A) Um desenho esquemático e (B) uma micrografia eletrônica de uma mitocôndria. Cada compartimento possui um conjunto único de proteínas que permite a realização de suas funções distintas. Em mitocôndrias hepáticas, cerca de 67% das proteínas mitocondriais totais estão localizadas na matriz, 21% estão localizados na membrana interna, 6%, na membrana externa, e 6%, no espaço intermembranar. (B, cortesia de Daniel S. Friend.)

O ciclo do ácido cítrico gera elétrons de alta energia necessários para a produção de ATP

A geração de ATP é promovida pelo fluxo de elétrons originados a partir da queima de carboidratos, gorduras e outras fontes durante a glicólise e o ciclo do ácido cítrico (discutido no Capítulo 13). Tais elétrons de alta energia são fornecidos pelos carreadores ativados gerados durante essas duas fases do catabolismo, sendo a maioria produzida pelo ciclo do ácido cítrico, que opera na matriz mitocondrial.

O ciclo do ácido cítrico recebe o combustível de que necessita para produzir esses carreadores ativados a partir de moléculas derivadas de alimentos que fazem o seu caminho do citosol para dentro da mitocôndria. Tanto o piruvato produzido pela glicólise, que ocorre no citosol, quanto os ácidos graxos originados a partir da quebra de gorduras (ver Figura 13-3) podem entrar no espaço intermembranar mitocondrial pelas porinas da membrana mitocondrial externa. Essas moléculas de combustível são, em seguida, transportadas através da membrana mitocondrial interna para o interior da matriz, onde são convertidas em acetil-CoA, o intermediário metabólico fundamental (Figura 14-9). Os grupos acetila da acetil-CoA são, em seguida, oxidados a CO₂ pelo ciclo do ácido cítrico (ver Figura 13-12). Parte da energia derivada dessa oxidação é armazenada na forma de elétrons de alta energia, representada pelos carreadores ativados NADH e FADH₂. Tais carreadores ativados podem doar seus elétrons de alta energia para a cadeia transportadora de elétrons localizada na membrana mitocondrial interna (Figura 14-10).

QUESTÃO 14-2

Fotomicrografias eletrônicas mostram que as mitocôndrias do músculo cardíaco possuem uma densidade muito maior de cristas do que as mitocôndrias das células da pele. Sugira uma explicação para essa observação.

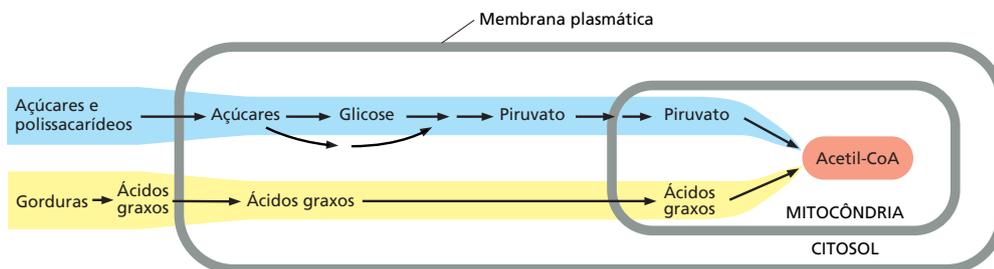
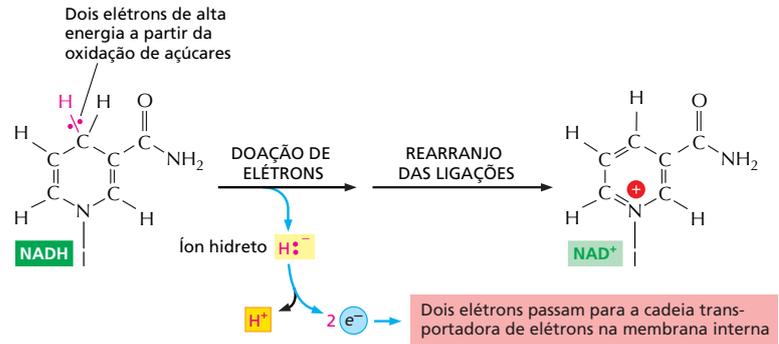


Figura 14-9 Nas células eucarióticas, a acetil-CoA é produzida nas mitocôndrias a partir de moléculas derivadas de açúcares e gorduras. A maioria das reações de oxidação da célula ocorre nessas organelas, e a maior parte do ATP é produzida aí.

Figura 14-10 O NADH doa seus elétrons de alta energia para a cadeia transportadora de elétrons. Neste desenho, os elétrons que estão sendo transferidos são apresentados como dois pontos vermelhos em um átomo vermelho de hidrogênio. Um íon hidreto (um átomo de hidrogênio com um elétron extra) é removido do NADH e convertido em um próton e dois elétrons. É apresentada apenas a parte do NADH que transporta os elétrons de alta energia; para a estrutura completa e a conversão do NAD^+ de volta a NADH, ver a estrutura intimamente relacionada de NADPH na Figura 3-34. Os elétrons também são transportados de maneira semelhante por FADH_2 , cuja estrutura é mostrada na Figura 13-13B.

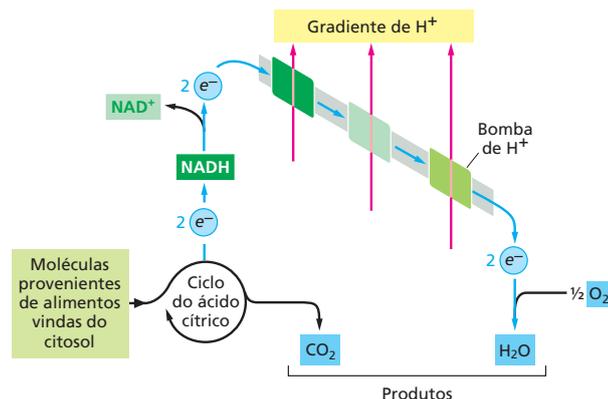


O movimento de elétrons está acoplado à bomba de prótons

A geração quimiosmótica de energia começa quando os carreadores ativados NADH e FADH_2 doam seus elétrons de alta energia para a cadeia transportadora de elétrons na membrana mitocondrial interna, tornando-se oxidados a NAD^+ e FAD no processo (ver Figura 14-10). Os elétrons são rapidamente passados ao longo da cadeia até o oxigênio molecular (O_2) para formar água (H_2O). O movimento gradual desses elétrons de alta energia ao longo dos componentes da cadeia transportadora de elétrons libera energia que pode, então, ser utilizada para bombear prótons através da membrana interna (Figura 14-11). O gradiente de prótons resultante, por sua vez, é usado para promover a síntese de ATP. A sequência completa das reações pode ser vista na Figura 14-12. A membrana mitocondrial interna serve, assim, como um dispositivo que converte a energia contida nos elétrons de alta energia do NADH (e FADH_2) na ligação fosfato de moléculas de ATP (Figura 14-13). Esse mecanismo quimiosmótico para síntese do ATP é chamado de **fosforilação oxidativa** porque envolve tanto o consumo de O_2 quanto a síntese de ATP pela adição de um grupo fosfato ao ADP.

A fonte dos elétrons de alta energia que promove o bombeamento de prótons é muito diferente entre os diversos organismos e processos. Na respiração celular – que ocorre nas mitocôndrias e nas bactérias aeróbicas –, os elétrons de alta energia são, em última análise, derivados de açúcares ou de gorduras. Na fotossíntese, os elétrons de alta energia vêm do pigmento verde *clorofila*, que capta a energia da luz solar. Muitos organismos unicelulares (arqueias e bactérias) usam substâncias inorgânicas como o hidrogênio, o ferro e o enxofre como fonte de elétrons de alta energia, necessários para produzir o ATP (ver, por exemplo, a Figura 1-12).

Figura 14-11 Conforme os elétrons são transferidos de carreadores ativados para o oxigênio, os prótons são bombeados através da membrana mitocondrial interna. Essa é a fase 1 do acoplamento quimiosmótico (ver Figura 14-2). A rota do fluxo de elétrons é indicada por setas azuis.



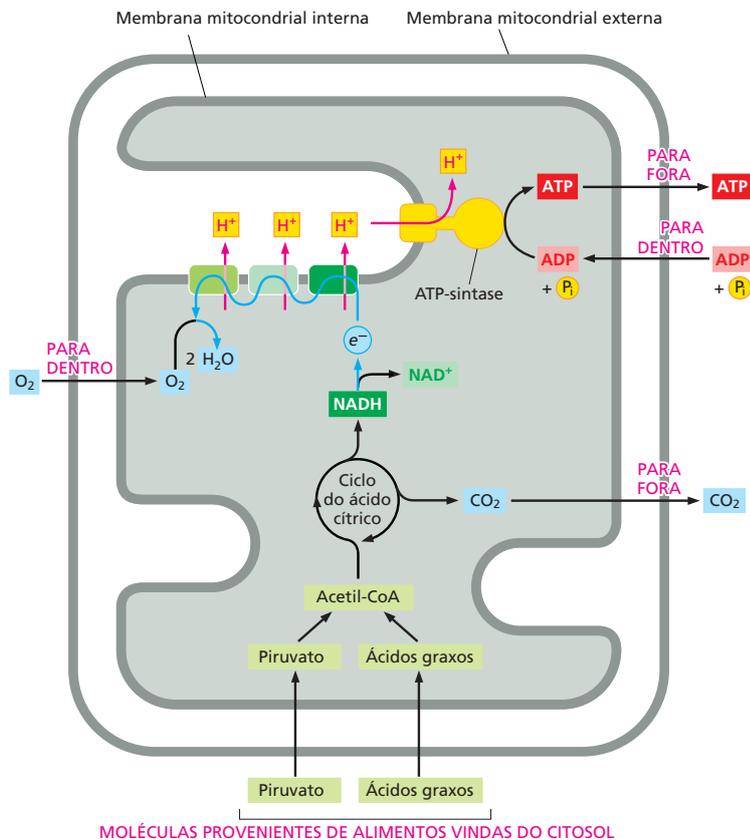


Figura 14-12 Carreadores ativados gerados durante o ciclo do ácido cítrico propulsionam a síntese de ATP. O piruvato e os ácidos graxos entram na matriz mitocondrial (*inferior*), onde são convertidos em acetil-CoA. A acetil-CoA é então metabolizada no ciclo do ácido cítrico, produzindo NADH (e FADH₂, não mostrado). Durante a fosforilação oxidativa, os elétrons de alta energia doados pelo NADH (e FADH₂) são transferidos ao longo da cadeia transportadora de elétrons, na membrana interna, para o oxigênio (O₂); esse transporte de elétrons gera um gradiente de prótons através da membrana interna, que é utilizado para promover a produção de ATP pela ATP-sintase. As proporções exatas de “reagentes” e “produtos” não estão indicadas neste diagrama: por exemplo, em breve veremos que são necessários de quatro elétrons, provenientes de quatro moléculas de NADH, para converter o O₂ em duas moléculas de H₂O.

Independentemente da fonte de elétrons, a grande maioria dos organismos vivos utiliza um mecanismo quimiosmótico para gerar ATP. Nas seções seguintes, descrevemos em detalhes como ocorre esse processo.

Os prótons são bombeados através da membrana mitocondrial interna por proteínas da cadeia transportadora de elétrons

A cadeia transportadora de elétrons – ou *cadeia respiratória* – que conduz a fosforilação oxidativa está presente em muitas cópias na membrana mitocondrial interna. Cada cadeia contém mais de 40 proteínas, agrupadas em três grandes **complexos enzimáticos respiratórios**. Cada complexo possui diversas proteínas individuais, incluindo as proteínas transmembrânicas que ancoram o complexo firmemente na membrana mitocondrial interna.

Os três complexos enzimáticos respiratórios, na ordem em que eles recebem elétrons, são: (1) *complexo NADH-desidrogenase*, (2) *complexo citocromo c-redutase* e (3) *complexo citocromo c-oxidase* (**Figura 14-14**). Cada complexo possui íons metálicos e outros grupos químicos que agem como trampolins para facilitar a passagem de elétrons. O movimento dos elétrons ao longo desses complexos respiratórios é acompanhado pelo bombeamento de prótons a partir da matriz mitocondrial para o espaço intermembranar. Assim, cada complexo pode ser considerado uma bomba de prótons.

O primeiro complexo enzimático respiratório, o NADH-desidrogenase, recebe elétrons do NADH. Esses elétrons são retirados do NADH, sob a forma de um íon hidreto (H⁻), que é então convertido em um próton e dois elétrons de alta energia. Essa reação, H⁻ → H⁺ + 2e⁻ (ver Figura 14-10), é catalisada pelo complexo NADH-desidrogenase. Os elétrons são então transferidos ao longo da cadeia para cada um dos outros complexos enzimáticos. Por sua vez, carreadores móveis de elétrons

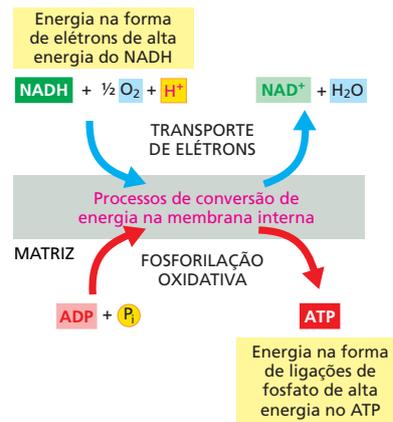
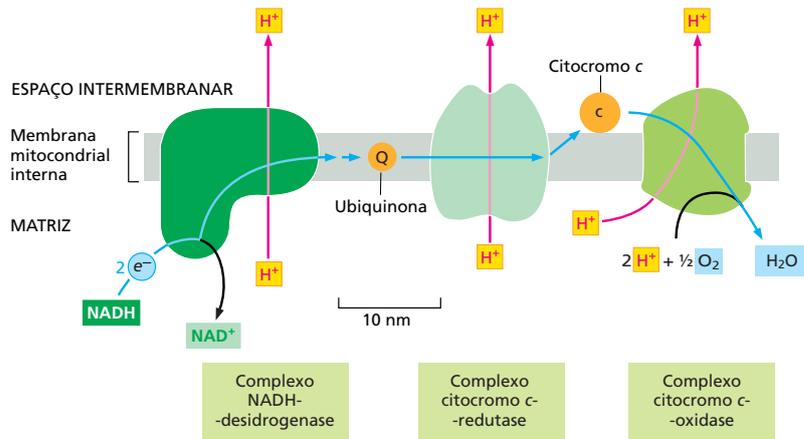


Figura 14-13 As mitocôndrias catalisam a principal conversão de energia. Na fosforilação oxidativa, a energia liberada pela oxidação de NADH para NAD⁺ é aproveitada – por processos conversores de energia na membrana mitocondrial interna – para fornecer a energia necessária para fosforilar o ADP e formar ATP. A equação líquida desse processo, no qual dois elétrons passam do NADH para o oxigênio, é 2NADH + O₂ + 2H⁺ → 2NAD⁺ + 2H₂O.

Figura 14-14 Os elétrons de alta energia são transferidos por meio de três complexos enzimáticos respiratórios na membrana mitocondrial interna. O tamanho relativo e a forma de cada complexo estão indicados, embora os vários componentes proteicos individuais que formam cada complexo, não. Durante a transferência de elétrons de alta energia do NADH para o oxigênio (*linhas azuis*), prótons derivados da água são bombeados através da membrana, da matriz para o espaço intermembranar, por todos os complexos (**Animação 14.2**). A ubiquinona (Q) e o citocromo c (c) servem como carreadores móveis que transportam os elétrons de um complexo para o próximo.



são utilizados para transportar os elétrons entre os complexos (ver Figura 14-14). Essa transferência de elétrons é energeticamente favorável: os elétrons são transferidos, a partir de carreadores de elétrons com fraca afinidade por elétrons, para aqueles com maior afinidade por elétrons, até que eles se combinem com uma molécula de O_2 para formar água. Essa reação final é a única etapa dependente de oxigênio na respiração celular, e ela consome quase todo o oxigênio que respiramos.

O bombeamento dos prótons produz um gradiente eletroquímico abrupto de prótons através da membrana mitocondrial interna

Sem um mecanismo para aproveitar a energia liberada pela transferência de elétrons energeticamente favorável do NADH para O_2 , essa energia seria simplesmente liberada na forma de calor. As células são capazes de recuperar a maior parte dessa energia. Os três complexos enzimáticos respiratórios da cadeia transportadora de elétrons utilizam tal energia para bombear prótons através da membrana mitocondrial interna, a partir da matriz, para o interior do espaço intermembranar (ver Figura 14-14). Mais tarde, delineamos os mecanismos moleculares envolvidos. Por enquanto, são ressaltadas as consequências dessa elegante estratégia. Em primeiro lugar, o bombeamento de prótons gera um gradiente de H^+ – ou um gradiente de pH – através da membrana interna. Como consequência, o pH na matriz (em torno de 7,9) é cerca de 0,7 unidades mais elevado que no espaço intermembranar (que é de 7,2, o mesmo pH do citosol). Em segundo lugar, o bombeamento de prótons gera um gradiente de voltagem – ou potencial de membrana – através da membrana interna; como H^+ flui para fora, a região da membrana voltada para a matriz torna-se negativa, e a região voltada para o espaço intermembranar torna-se positiva.

Conforme discutido no Capítulo 12, a força que impulsiona o fluxo passivo de um íon através da membrana é proporcional ao *gradiente eletroquímico* do íon. A força do gradiente eletroquímico depende tanto da tensão através da membrana, como medida pelo potencial de membrana, quanto do gradiente de concentração iônica (ver Figura 12-5). Devido à carga positiva dos prótons, eles irão atravessar mais facilmente uma membrana se houver um excesso de carga negativa no outro lado. No caso da membrana mitocondrial interna, o gradiente de pH e o potencial de membrana agem juntos para criar um elevado gradiente eletroquímico de prótons, tornando energeticamente muito favorável o fluxo de H^+ de volta para a matriz mitocondrial. O potencial de membrana contribui de modo significativo para esta *força motriz protônica*, que puxa o H^+ de volta através da membrana; quanto maior for o potencial de membrana, mais energia é armazenada no gradiente de prótons (**Figura 14-15**).

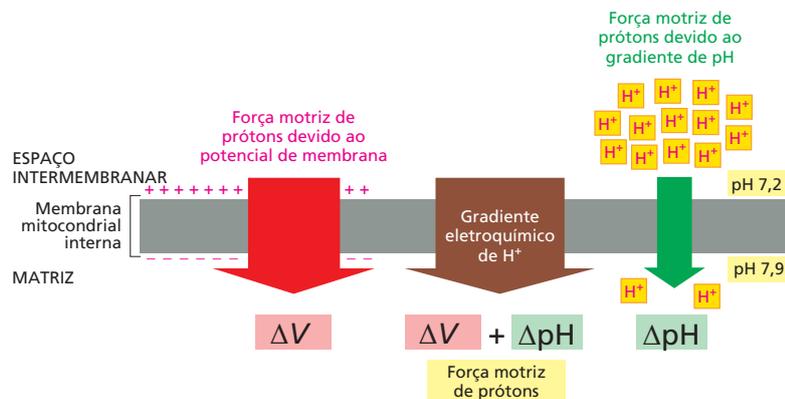


Figura 14-15 O gradiente eletroquímico de H^+ através da membrana mitocondrial interna compreende uma grande força, devido ao potencial de membrana (ΔV), e uma força menor, devido ao gradiente de concentração de H^+ – isto é, o gradiente de pH (ΔpH). Ambas as forças combinam-se para gerar a força motriz protônica, que puxa de volta o H^+ para a matriz mitocondrial. A relação matemática exata entre essas forças é expressa pela equação de Nernst (ver Figura 12-23).

A ATP-sintase utiliza a energia armazenada no gradiente eletroquímico de prótons para produzir ATP

Se fosse permitido que os prótons presentes no espaço intermembranar fluissem livremente de volta para a matriz mitocondrial, a energia armazenada no gradiente eletroquímico de prótons seria perdida na forma de calor. Esse processo de aparente desperdício possibilita que os ursos mantenham-se aquecidos durante a hibernação, como discutimos adiante em Como Sabemos (p. 462–463). Na maioria das células, no entanto, o gradiente eletroquímico de prótons através da membrana mitocondrial interna é usado para promover a síntese de ATP a partir de ADP e P_i (ver Figura 2-25). O dispositivo que torna isso possível é a **ATP-sintase**, uma proteína grande, de múltiplas subunidades e incorporada na membrana mitocondrial interna.

A ATP-sintase tem origem remota; a mesma enzima gera ATP nas mitocôndrias de células animais, nos cloroplastos de plantas e algas e na membrana plasmática de bactérias. A região da proteína que catalisa a fosforilação do ADP tem a forma de uma cabeça de pirulito que se projeta na matriz mitocondrial; ela está ligada por uma haste central a um transportador de H^+ transmembrânico (Figura 14-16). A passagem de prótons pelo transportador promove uma rápida rotação do transportador e de sua haste, semelhante a um pequeno motor. Quando a haste gira, ela atrita contra as proteínas da cabeça estacionária, alterando suas conformações e levando-as a produzir ATP. Desse modo, uma deformação mecânica é convertida em energia de ligação química no ATP (**Animação 14.3**). Esta delicada sequência de interações permite que a ATP-sintase produza mais de 100 moléculas de ATP por segundo – 3 moléculas de ATP por revolução.

A ATP-sintase também pode funcionar no sentido inverso – utilizando a energia da hidrólise do ATP para bombear prótons “ladeira acima”, contra o seu gradiente eletroquímico através da membrana (Figura 14-17). Nesse modo, a ATP-sintase funciona de forma semelhante à bomba de H^+ descrita no Capítulo 12. O fato de a ATP-sintase produzir principalmente ATP – ou consumir o ATP para bombear prótons – depende da magnitude do gradiente eletroquímico de prótons através da membrana na qual tal enzima está presente. Em muitas bactérias que podem crescer tanto em condições aeróbias quanto anaeróbias, a direção do funcionamento da ATP-sintase é rotineiramente revertida quando a bactéria fica sem O_2 . Nessas condições, a ATP-sintase usa parte do ATP gerado no interior da célula pela glicólise para bombear prótons para fora da

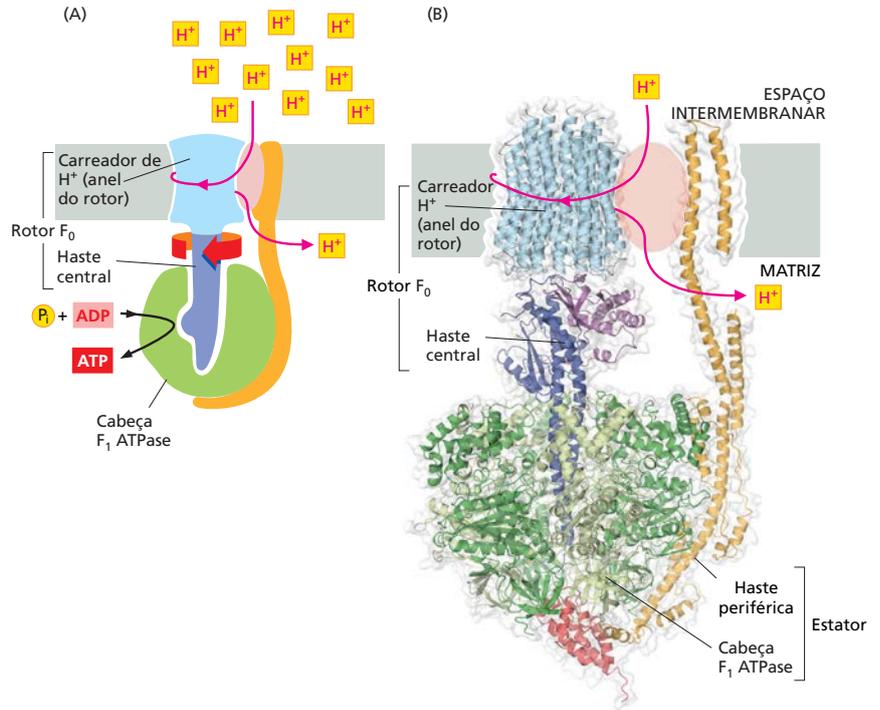
QUESTÃO 14-3

Quando o fármaco dinitrofenol (DNP) é adicionado a mitocôndrias, a membrana interna se torna permeável a prótons (H^+). Em contrapartida, quando o fármaco nigericina é adicionado a mitocôndrias, a membrana interna se torna permeável a K^+ . (A) Como o gradiente eletroquímico de prótons irá mudar em resposta ao DNP? (B) Como ele se modificará em resposta à nigericina?

Figura 14-16 A ATP-sintase age como um motor, convertendo a energia dos prótons que fluem a favor do gradiente eletroquímico e gerando a energia de ligação química do ATP.

(A) A proteína de múltiplas subunidades é composta por uma cabeça estacionária, denominada F_1 ATPase, e uma porção rotativa chamada de F_0 . Tanto F_1 quanto F_0 são formadas de múltiplas subunidades. Impulsionada pelo gradiente eletroquímico de prótons, a subunidade F_0 da proteína – que consiste em um transportador transmembrânico de H^+ (azul) e uma haste central (roxo) – gira rapidamente dentro da cabeça estacionária F_1 ATPase (verde), promovendo a formação de ATP a partir de ADP e P_i . A cabeça estacionária está ancorada à membrana interna por um “braço”, uma proteína alongada denominada haste periférica (laranja). A F_1 ATPase recebeu este nome porque pode realizar a reação inversa – a hidrólise de ATP formando ADP e P_i – quando separada da porção F_0 do complexo.

(B) A estrutura tridimensional da ATP-sintase, conforme determinado por cristalografia por raios X. A haste periférica está fixada à membrana com o auxílio da subunidade indicada pela forma oval rosa, que é a única parte do complexo onde faltam detalhes estruturais. Na sua outra extremidade, essa haste é fixada na cabeça F_1 ATPase por meio da subunidade vermelha pequena. (B, cortesia de K. Davies.)



célula, criando um gradiente de prótons de que a célula bacteriana precisa para importar seus nutrientes essenciais por transporte acoplado. Um mecanismo semelhante é usado para promover o transporte de pequenas moléculas para dentro e para fora da matriz mitocondrial, como discutimos a seguir.

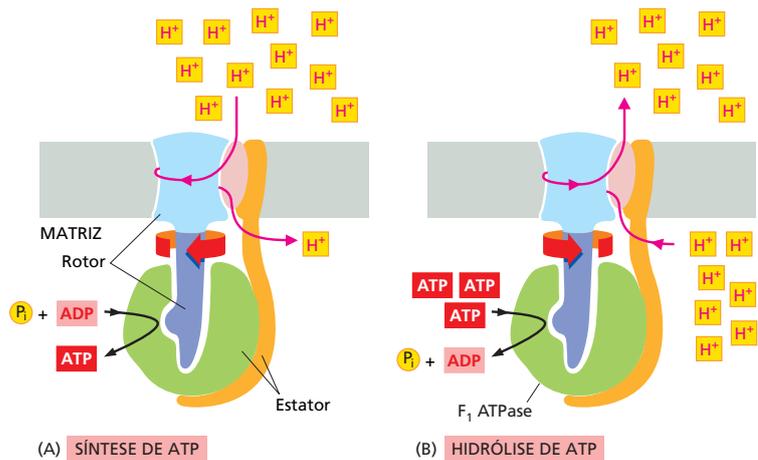


Figura 14-17 A ATP-sintase é um dispositivo de acoplamento reversível. Ela pode tanto sintetizar ATP por meio do aproveitamento do gradiente eletroquímico de H^+ (A) quanto bombear prótons contra esse gradiente eletroquímico, com hidrólise do ATP (B). A direção da operação em um dado momento depende do lucro líquido em energia livre (ΔG , discutido no Capítulo 3) para os processos acoplados de transferência de H^+ através da membrana e da síntese de ATP a partir de ADP e P_i . Por exemplo, se o gradiente eletroquímico de prótons cair abaixo de certo nível, o ΔG para o transporte do H^+ para a matriz já não será grande o suficiente para impulsionar a produção de ATP; em vez disso, o ATP será hidrolisado pela ATP-sintase, para restituir o gradiente de prótons. Um tributo à atividade da ATP-sintase é apresentado na **Animação 14.4**.

O transporte acoplado através da membrana mitocondrial interna também é promovido pelo gradiente eletroquímico de prótons

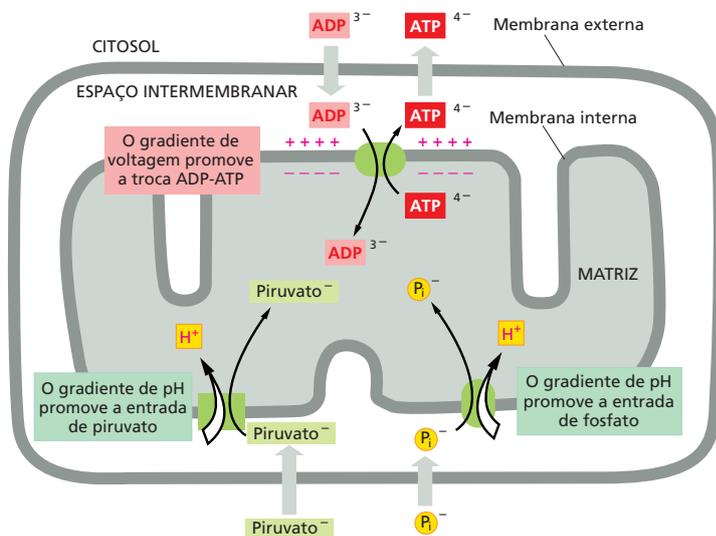
A síntese de ATP não é o único processo promovido pelo gradiente eletroquímico de prótons nas mitocôndrias. Muitas moléculas pequenas, eletricamente carregadas, como o piruvato, o ADP e o fosfato inorgânico (P_i), são importadas para a matriz mitocondrial a partir do citosol, enquanto outras, como o ATP, devem ser transportadas na direção oposta. Proteínas transportadoras, que se ligam a essas moléculas, podem acoplar o seu transporte ao fluxo energeticamente favorável de H^+ para o interior da matriz (ver os “transportadores associados” na Figura 12-14). O piruvato e o P_i , por exemplo, são cotransportados para dentro junto com os prótons, à medida que os prótons se movem para o interior da matriz a favor do seu gradiente eletroquímico.

Outros transportadores aproveitam o potencial de membrana gerado pelo gradiente eletroquímico de prótons, o qual deixa a face da membrana mitocondrial interna voltada para a matriz mitocondrial mais carregada negativamente do que a face da membrana que está voltada para o espaço intermembranar. Uma proteína transportadora antiporte explora esse gradiente de voltagem para exportar ATP a partir da matriz mitocondrial e para importar o ADP. Essa troca permite que o ATP sintetizado na mitocôndria seja rapidamente exportado (Figura 14-18).

Como consequência, o gradiente eletroquímico de prótons em células eucarióticas é usado tanto para promover a formação de ATP quanto para transportar metabólitos selecionados através da membrana mitocondrial interna. Em bactérias, o gradiente de prótons através da membrana plasmática é utilizado de forma semelhante, promovendo a síntese de ATP e o transporte de metabólitos. Contudo, ele também serve como uma importante fonte de energia diretamente utilizável: em bactérias com motilidade, por exemplo, o fluxo de prótons para dentro da célula promove a rápida rotação do flagelo bacteriano, que impulsiona a bactéria (Animação 14.5).

A rápida conversão de ADP em ATP nas mitocôndrias mantém uma alta razão ATP:ADP nas células

Em consequência da troca de nucleotídeos apresentada na Figura 14-18, as moléculas de ADP – produzidas pela hidrólise do ATP no citosol – são rapidamente



QUESTÃO 14-4

A propriedade marcante que faz a ATP-sintase funcionar em qualquer direção permite a interconversão, em uma ou outra direção, da energia armazenada no gradiente de H^+ ou a energia armazenada no ATP. (A) Se a ATP-sintase, produtora de ATP, fosse comparada a uma turbina hidrelétrica, produtora de energia elétrica, qual seria a analogia adequada quando ela funcionar na direção oposta? (B) Sob certas condições, poder-se-ia esperar que a ATP-sintase parasse, não girando para frente, nem para trás? (C) O que determina a direção de operação da ATP-sintase?

Figura 14-18 O gradiente eletroquímico de prótons pela membrana mitocondrial interna também é usado para conduzir alguns processos acoplados ao transporte. A carga de cada molécula transportada está indicada em comparação ao potencial de membrana, o qual é negativo internamente. O piruvato e o fosfato inorgânico (P_i) são deslocados para a matriz, junto com os prótons, tal como os prótons se movem a favor de seu gradiente eletroquímico. Ambos são carregados negativamente, sendo o seu movimento antagônico ao potencial negativo da membrana; no entanto, o gradiente de concentração de H^+ – o gradiente de pH – promove o seu transporte para dentro. O ADP é bombeado para dentro da matriz e o ATP é bombeado para fora por um processo de antiporte que utiliza o gradiente de voltagem através da membrana para promover essa troca. A membrana mitocondrial externa é livremente permeável para todos esses compostos devido à presença de porinas na membrana (não mostradas). O transporte ativo de moléculas através de membranas por proteínas carreadoras e a formação do potencial de membrana são discutidos no Capítulo 12.

devolvidas para dentro das mitocôndrias para a recarga, enquanto a maior parte das moléculas de ATP produzidas nas mitocôndrias é exportada para o citosol, onde são mais necessárias. (Uma pequena quantidade de ATP é utilizada dentro das próprias mitocôndrias como energia para a replicação do DNA, a síntese de proteínas e outras reações que consomem energia.) Com estas idas e vindas, uma molécula típica de ATP em uma célula humana irá sair da mitocôndria e para ela voltar (como ADP) mais de uma vez a cada minuto.

Como discutido no Capítulo 3, a maioria das enzimas biossintéticas realiza reações energeticamente desfavoráveis pelo acoplamento dessas reações à hidrólise energeticamente favorável do ATP (ver Figura 3-33A). O montante de ATP em uma célula é, assim, utilizado para promover uma enorme variedade de processos celulares, assim como uma bateria é usada para acionar um motor elétrico. Para ser útil, a concentração de ATP no citosol deve ser mantida cerca de 10 vezes mais elevada do que a de ADP. Se a atividade das mitocôndrias fosse interrompida, os níveis de ATP cairiam drasticamente e a “bateria” da célula ficaria descarregada. Por fim, reações energeticamente desfavoráveis não poderiam ser mantidas, levando à morte celular. O veneno cianeto, o qual bloqueia o transporte de elétrons na membrana mitocondrial interna, causa a morte celular exatamente por esse processo.

A respiração celular é surpreendentemente eficiente

A oxidação de açúcares para a produção de ATP pode parecer desnecessariamente complexa. Sem dúvida, o processo poderia ser realizado mais diretamente – talvez por meio da eliminação do ciclo do ácido cítrico ou de alguns dos passos da cadeia respiratória. Essa simplificação certamente facilitaria o aprendizado de química pelos alunos – mas isso seria uma má notícia para a célula. Como discutido no Capítulo 13, as vias oxidativas que permitem às células obterem e utilizarem de forma mais eficiente a energia dos alimentos envolvem muitos intermediários, cada um diferindo apenas ligeiramente do seu antecessor. Dessa forma, a enorme quantidade de energia armazenada nos alimentos pode ser parcelada em pequenos pacotes que podem ser aprisionados pelos carreadores ativados, como NADH e FADH₂ (ver Figura 13-1).

Grande parte da energia carregada por NADH e FADH₂ é finalmente convertida em energia de ligação do ATP. A quantidade de ATP que cada um desses carreadores ativados pode produzir depende de vários fatores, incluindo onde seus elétrons entram na cadeia respiratória. As moléculas de NADH produzidas na matriz mitocondrial durante o ciclo do ácido cítrico transferem seus elétrons de alta energia para o complexo NADH-desidrogenase – o primeiro complexo da cadeia. À medida que os elétrons passam de um complexo enzimático para o próximo, eles promovem o bombeamento de prótons pela membrana mitocondrial interna em cada etapa ao longo do caminho. Dessa forma, cada molécula de NADH fornece energia suficiente para gerar cerca de 2,5 moléculas de ATP (ver Questão 14-5 e sua resposta).

Moléculas de FADH₂, por outro lado, evitam o complexo NADH-desidrogenase, transferindo os seus elétrons para o carreador móvel ubiquinona incorporado à membrana (ver Figura 14-14). Tendo em vista que tais elétrons entram “mais adiante” na cadeia respiratória do que aqueles doados pelo NADH, eles promovem um menor bombeamento de prótons: cada molécula de FADH₂ produz, assim, apenas 1,5 molécula de ATP. A **Tabela 14-1** possibilita um cálculo inteiro do ATP produzido pela oxidação completa da glicose.

Embora a oxidação biológica da glicose em CO₂ e H₂O consista em muitas etapas interdependentes, o processo global é notavelmente eficiente. Quase 50% do total da energia que pode ser liberada pela queima de açúcares ou gorduras são capturados e armazenados nas ligações de fosfato do ATP durante a respiração celular. Isso pode não parecer impressionante, mas é consideravelmente melhor do que a maioria dos dispositivos de conversão de energia não biológicos. Motores elétricos e motores a gasolina operam com eficiência aproximada de 10 a 20%. Se as células funcionassem com essa eficiência, um organismo teria de comer vo-

TABELA 14-1 Rendimentos de produtos a partir da oxidação da glicose

Processo	Produto direto	Rendimento final de ATP por molécula de glicose
Glicólise	2 NADH (citossólico)	3*
	2 ATP	2
Oxidação do piruvato a acetil-CoA (dois por glicose)	2 NADH (matriz mitocondrial)	5
Oxidação completa do grupo acetila da acetil-CoA (dois por glicose)	6 NADH (matriz mitocondrial)	15
	2 FADH ₂	3
	2 GTP	2
	TOTAL	30

*O NADH produzido no citosol rende menos moléculas de ATP do que o NADH produzido na matriz mitocondrial porque a membrana interna mitocondrial é impermeável ao NADH. O transporte do NADH para o interior da matriz mitocondrial – onde ele encontra NADH-desidrogenase – necessita de energia.

razmente apenas para se manter. Além disso, devido ao desperdício de energia liberada na forma de calor, grandes organismos (inclusive nós mesmos) necessitariam de melhores mecanismos de resfriamento. É difícil imaginar como os animais poderiam ter evoluído sem os elaborados mecanismos econômicos que permitem que as células extraiam a máxima quantidade de energia dos alimentos.

OS MECANISMOS MOLECULARES DO TRANSPORTE DE ELÉTRONS E DO BOMBEAMENTO DE PRÓTONS

Por muitos anos, os bioquímicos se esforçaram para entender por que as cadeias transportadoras de elétrons tinham de estar incorporadas às membranas para poderem funcionar produzindo ATP. Esse quebra-cabeça foi resolvido na década de 1960, quando se descobriu que o gradiente transmembrânico de prótons promove o processo. No entanto, o conceito de acoplamento quimiosmótico era tão novo que não foi amplamente aceito até muitos anos mais tarde, quando experimentos adicionais utilizando sistemas de geração de energia artificiais colocaram o gradiente de prótons à prova (ver **Como Sabemos**, p. 462-463).

Embora os investigadores da atualidade ainda estejam revelando muitos detalhes do acoplamento quimiosmótico em nível atômico, hoje os fundamentos estão claros. Nesta seção, apresentamos os princípios básicos que coordenam o movimento dos elétrons e explicamos, com detalhe molecular, como o transporte de elétrons pode gerar um gradiente de prótons. Devido à semelhança dos mecanismos usados por mitocôndrias, cloroplastos e procaríotos, tais princípios aplicam-se a quase todos os seres vivos.

Os prótons são prontamente movidos pela transferência de elétrons

Embora os prótons se assemelhem a outros íons positivos, como Na⁺ e K⁺, no seu movimento pelas membranas, eles são únicos em outros aspectos. Os átomos de hidrogênio são disparadamente os mais abundantes átomos nos organismos vivos: estão presentes em profusão não apenas nas moléculas biológicas que contêm carbono, mas também nas moléculas de água que os cercam. Os prótons na

QUESTÃO 14-5

Calcule o número de moléculas de ATP utilizáveis produzidas por par de elétrons transferidos de NADH ao oxigênio se (i) cinco prótons são bombeados através da membrana mitocondrial interna para cada elétron passado pelos três complexos enzimáticos respiratórios; (ii) três prótons devem passar pela ATP-sintase para cada molécula de ATP produzida a partir de ADP e fosfato inorgânico dentro da mitocôndria; (iii) um próton é utilizado para produzir o gradiente de voltagem necessário ao transporte de cada molécula de ATP para fora da mitocôndria até o citosol onde é utilizada.

COMO O ACOPLAMENTO QUIMIOSMÓTICO CONDUZ A SÍNTESE DE ATP

Em 1861, Louis Pasteur descobriu que células de levedura crescem e se dividem com mais vigor na presença de ar, a primeira demonstração de que o metabolismo aeróbio é mais eficiente do que o metabolismo anaeróbio. Suas observações fazem sentido hoje, quando sabemos que a fosforilação oxidativa é um meio muito mais eficiente de gerar ATP do que a glicólise, produzindo cerca de 30 moléculas de ATP para cada molécula de glicose oxidada, em comparação com duas moléculas de ATP geradas pela glicólise sozinha. Entretanto, passaram-se outros 100 anos até que os pesquisadores determinassem que o processo de acoplamento quimiosmótico – usando bombeamento de prótons para fornecer energia para a síntese de ATP – permite às células gerar energia com tal eficiência.

Intermediários imaginários

Na década de 1950, muitos pesquisadores acreditavam que a fosforilação oxidativa que ocorre nas mitocôndrias gerava ATP por meio de um mecanismo semelhante ao que é usado na glicólise. Durante a glicólise, o ATP é produzido quando uma molécula de ADP recebe um grupo fosfato diretamente de um intermediário de “alta energia”. Tal fosforilação em nível de substrato ocorre nas etapas 7 e 10 da glicólise, onde os grupos fosfato de alta energia do 1,3-bifosfoglicerato e do fosfoenolpiruvato, respectivamente, são transferidos ao ADP para formar ATP (ver Painel 13-1, p. 428-429). Acreditava-se que a cadeia transportadora de elétrons nas mitocôndrias geraria de forma semelhante algum intermediário fosforilado que poderia então doar seu grupo fosfato diretamente para o ADP. Esse modelo inspirou uma longa e frustrante busca por esse intermediário de alta energia. Investigadores ocasionalmente alegavam ter descoberto o intermediário procurado, mas os compostos se revelavam não relacionados ao transporte de elétrons ou, como um pesquisador observou em uma revisão da história da bioenergética, “produtos da imaginação de alta energia”.

Capturando a força

Foi somente em 1961 que Peter Mitchell sugeriu que o “intermediário de alta energia” que seus colegas procuravam era, na verdade, o gradiente eletroquímico de prótons gerado pelo sistema de transporte de elétrons. Sua proposta, apelidada de hipótese quimiosmótica, afirma que a energia de um gradiente eletroquímico de prótons, formado durante a transferência de elétrons por meio da cadeia transportadora de elétrons, poderia ser aproveitada para promover a síntese de ATP.

Diversas linhas de evidência oferecem suporte para o mecanismo proposto por Mitchell. Primeiro, as mitocôndrias realmente geram um gradiente eletroquímico de prótons através da membrana interna. Contudo, por que elas formam esse gradiente – também denominado força motriz protônica? Se o gradiente é necessário para promover a síntese de ATP, conforme postula a hipótese quimiosmótica, o rompimento da membrana interna ou a eliminação do gradiente de prótons através dela deveria inibir a produção de ATP. Na verdade, os pesquisadores descobriram que ambas as previsões são verdadeiras. O rompimento físico da membrana mitocondrial interna cessa a síntese de ATP naquela organela. Do mesmo modo, a dissipação do gradiente de prótons por um agente químico “desacoplador”, como o 2,4-dinitrofenol (DNP), também inibe a produção de ATP mitocondrial. Esses produtos químicos dissipadores de gradiente transportam o H^+ através da membrana mitocondrial interna, formando um sistema de transporte para a circulação do H^+ que ignora a ATP-sintase (Figura 14-19). Dessa forma, compostos como o DNP desacoplam o transporte de elétrons da síntese de ATP. Como resultado deste curto-circuito, a força motriz protônica é dissipada completamente e a organela não pode mais produzir ATP.

Tal desacoplamento ocorre naturalmente em algumas células adiposas especializadas. Nessas células, chamadas de *células adiposas marrons*, a maior parte da energia da oxi-



Figura 14-19 Agentes de desacoplamento são transportadores de H^+ que podem se inserir na membrana mitocondrial interna. Eles tornam a membrana permeável aos prótons, permitindo que o H^+ se mova para a matriz mitocondrial, sem passar pela ATP-sintase. Esse curto-circuito desacopla o transporte de elétrons da síntese eficiente do ATP.

dação de gordura é dissipada como calor, em vez de ser convertida em ATP. As membranas internas das grandes mitocôndrias dessas células contêm uma proteína carreadora que permite que os prótons se movam de acordo com seu gradiente eletroquímico, burlando a ATP-sintase. Como resultado, as células oxidam seus estoques de gordura rapidamente e produzem mais calor do que ATP. Tecidos contendo gordura marrom servem como aquecedores biológicos, ajudando a reavivar animais hibernantes e a proteger áreas sensíveis de bebês humanos recém-nascidos (como a nuca) do frio.

Geração artificial de ATP

Rompendo-se o gradiente eletroquímico de prótons através da membrana mitocondrial interna, anula-se a síntese de ATP; então, ao contrário, a geração de um gradiente de prótons artificial deveria estimular a síntese de ATP. Novamente, isso é o que acontece. Quando um gradiente de prótons é imposto artificialmente pela diminuição do pH na face externa da membrana mitocondrial interna, o ATP flui para o exterior.

Como esse gradiente eletroquímico de prótons promove a síntese de ATP? Neste momento, a ATP-sintase pode responder. Em 1974, Efraim Racker e Walther Stoeckenius demonstraram que podiam reconstituir um sistema artificial completo para gerar ATP por meio da combinação de uma ATP-sintase isolada a partir da mitocôndria do músculo cardíaco de vaca com uma bomba de prótons purificada a partir da membrana roxa do procaríoto *Halobacterium halo-*

bium. Como discutido no Capítulo 11, a membrana plasmática dessa arqueia é empacotada com bacteriorrodopsina, uma proteína que bombeia H^+ para fora da célula em resposta à luz solar (ver Figura 11-27).

Quando a bacteriorrodopsina foi reconstituída em vesículas lipídicas artificiais (lipossomos), Racker e Stoeckenius demonstraram que, na presença da luz, a proteína bombeava H^+ para as vesículas, gerando um gradiente de prótons. (A orientação da proteína é invertida nestas membranas, de modo que os prótons são transportados para o interior das vesículas; no organismo, os prótons são bombeados para fora.) Quando a ATP-sintase de bovino foi então incorporada a essas vesículas, para surpresa de muitos bioquímicos, o sistema catalisou a síntese de ATP a partir de ADP e fosfato inorgânico em resposta à luz. Essa síntese de ATP mostrou a dependência absoluta em um gradiente intacto de prótons, como se eliminando a bacteriorrodopsina presente no sistema ou adicionando agentes desacopladores, como o DNP, fosse abolir a síntese de ATP (Figura 14-20).

Esse experimento notável demonstrou sem sombra de dúvidas que um gradiente de prótons poderia estimular a ATP-sintase para produzir ATP. Assim, embora os bioquímicos tivessem inicialmente a esperança de descobrir um intermediário de alta energia envolvido na fosforilação oxidativa, a evidência experimental os convenceu de que sua busca foi em vão e que a hipótese quimiosmótica estava correta. Mitchell foi agraciado com o Prêmio Nobel em 1978.

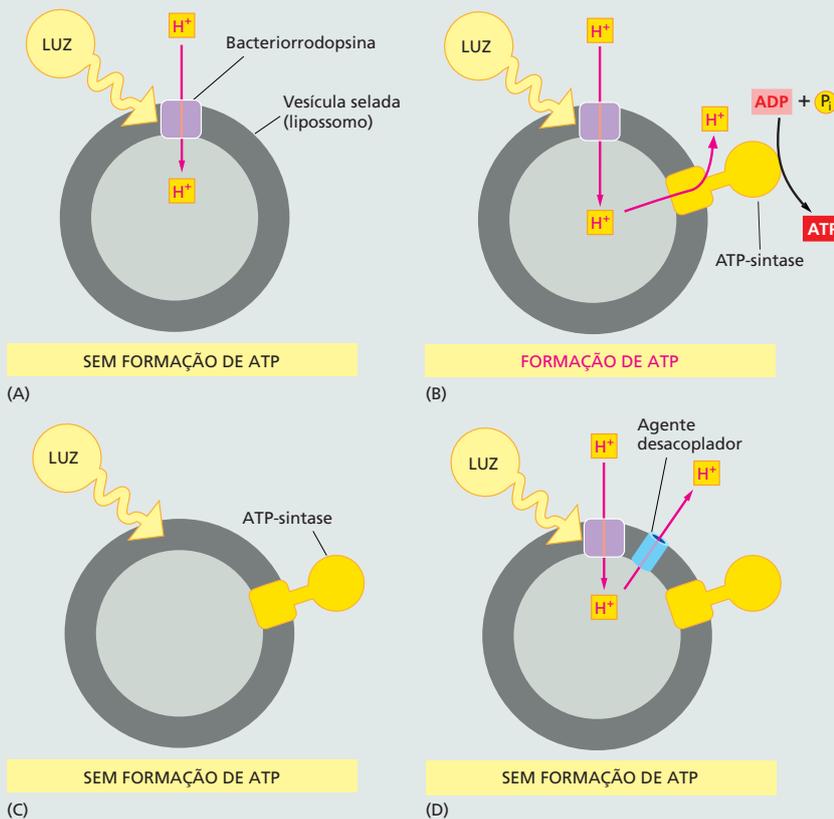


Figura 14-20 Os experimentos em que a bacteriorrodopsina e a ATP-sintase mitocondrial bovina foram introduzidas em lipossomos forneceram a evidência direta de que os gradientes de prótons podem promover a síntese de ATP. (A) Quando a bacteriorrodopsina é adicionada a vesículas lipídicas artificiais (lipossomos), a proteína gera um gradiente de prótons em resposta à luz. (B) Em vesículas artificiais contendo tanto bacteriorrodopsina quanto uma ATP-sintase, um gradiente de prótons gerado pela luz conduz à formação de ATP a partir de ADP e P_i . (C) Vesículas artificiais contendo apenas ATP-sintase não são capazes de produzir ATP em resposta à luz. (D) Em vesículas que possuem a bacteriorrodopsina e a ATP-sintase, os agentes de desacoplamento eliminam o gradiente de prótons e suprimem a síntese de ATP induzida pela luz.

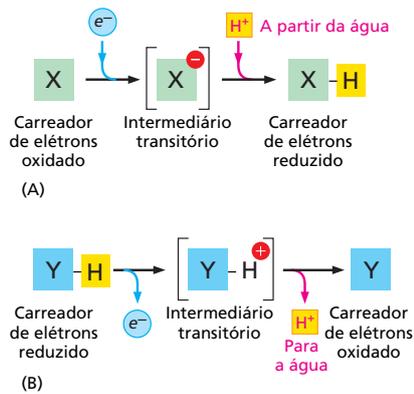


Figura 14-21 A transferência de elétrons pode causar o movimento de átomos inteiros de hidrogênio, porque os prótons são prontamente captados ou doados pela água intracelular. Nestes exemplos, uma molécula oxidada carreadora de elétrons, X, pega um elétron e um próton quando é reduzida (A), e uma molécula reduzida carreadora de elétrons, Y, perde um elétron e um próton quando é oxidada (B).

água são altamente móveis: devido à rápida dissociação e reassociação de uma molécula de água, os prótons podem mover-se rapidamente ao longo de uma rede de hidrogênios ligados nas moléculas de água (ver Figura 2-15B). Assim, a água, que está por toda a célula, serve como um reservatório imediato para a doação e a aceção de prótons.

Esses prótons muitas vezes acompanham os elétrons que são transferidos durante a oxidação e redução. Quando uma molécula é reduzida mediante aquisição de um elétron (e^-), o elétron traz consigo uma carga negativa; em muitos casos, essa carga é imediatamente neutralizada pela adição de um próton, a partir da água, de modo que o efeito final da redução é a transferência de um átomo inteiro de hidrogênio, $H^+ + e^-$ (Figura 14-21A). Do mesmo modo, quando uma molécula é oxidada, ocorre frequentemente a perda de um elétron de um dos seus átomos de hidrogênio: na maioria dos casos, o elétron é transferido para um transportador de elétrons, e o próton é transferido para a água (Figura 14-21B). Portanto, em uma membrana na qual os elétrons são levados ao longo de uma cadeia transportadora de elétrons, é um problema relativamente simples, em princípio, mover prótons de um lado para outro da membrana. Dessa maneira, é necessário somente que os transportadores de elétrons sejam orientados na membrana de tal forma que eles recebam um elétron – junto com um próton proveniente da água – em uma das faces da membrana, e, em seguida, liberem o próton do outro lado da membrana quando o elétron é transferido para a próxima molécula da cadeia transportadora de elétrons (Figura 14-22).

O potencial redox é uma medida das afinidades eletrônicas

As proteínas da cadeia respiratória direcionam os elétrons de forma que eles são sequencialmente movidos de um complexo enzimático para outro – sem curtos-circuitos que saltam um complexo. Cada elétron é transferido em uma reação de oxidação-redução: como descrito no Capítulo 3, a molécula ou o átomo doador de elétron se torna oxidado, e a molécula ou o átomo que o recebe se torna reduzido (ver p. 89-90). Os elétrons vão ser espontaneamente transferidos a partir de moléculas que possuam uma afinidade relativamente baixa por seus elétrons na camada mais externa, perdendo-os facilmente para moléculas que possuem uma maior afinidade por elétrons. Por exemplo, o NADH tem uma baixa afinidade por elétrons, de modo que os seus elétrons são prontamente transferidos para o complexo NADH-desidrogenase (ver Figura 14-14). As baterias que utilizamos para alimentar aparelhos eletrônicos são baseadas, de modo semelhante, na transferência de elétrons entre substâncias químicas com diferentes afinidades por elétrons.

Nas reações bioquímicas, quaisquer elétrons removidos de uma molécula são transferidos para outra, de modo que a oxidação de uma molécula determina a redução de outra. Semelhantemente a qualquer outra reação química, a tendência de tal oxidação-redução, ou **reações redox**, ocorrer de maneira espontânea depende da variação de energia livre (ΔG) para a transferência de elétrons, a qual depende, por sua vez, das afinidades relativas das duas moléculas por elétrons. (O papel da energia livre nas reações químicas é discutido no Capítulo 3, p. 90-100.)

Como as transferências de elétrons fornecem a maior parte da energia nos organismos vivos, é importante despender mais tempo para entendê-las. Moléculas que doam prótons são denominadas ácidos; aquelas que aceitam prótons são chamadas de bases (ver Painel 2-2, p. 68-69). Essas moléculas existem em

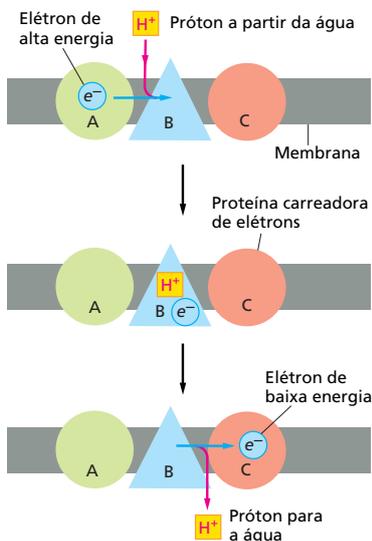
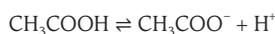


Figura 14-22 A orientação de um transportador de elétrons incorporado à membrana permite a transferência de elétrons para promover o bombeamento de prótons. À medida que um elétron passa por uma cadeia transportadora de elétrons, ele pode ligar-se e liberar um próton em cada etapa. Neste diagrama esquemático, o transportador de elétrons, a proteína B, pega um próton (H^+) de um lado da membrana quando recebe um elétron (e^-) doado pela proteína A; a proteína B libera o próton para o outro lado da membrana, quando doa seus elétrons ao transportador de elétrons, a proteína C.

pares conjugados ácido-base, onde o ácido é prontamente convertido na base pela perda de um próton. Por exemplo, o ácido acético (CH_3COOH) é convertido em sua base conjugada (CH_3COO^-) na reação:



Da mesma forma, pares de compostos, como NADH e NAD^+ , são chamados de **pares redox**, uma vez que NADH é convertido a NAD^+ pela perda de elétrons na reação:



O NADH é um forte doador de elétrons. Pode-se considerar que seus elétrons são mantidos com alta energia porque o ΔG para transferi-los para outras moléculas é favorável. Por outro lado, é difícil produzir elétrons de alta energia no NADH, portanto, seu parceiro, o NAD^+ , é necessariamente um fraco receptor de elétrons.

A tendência para um par redox como NADH/ NAD^+ de doar ou receber elétrons pode ser determinada experimentalmente a partir da medição do seu **potencial redox** (Painel 14-1, p. 466). Os elétrons irão mover-se de forma espontânea de um par redox com baixo potencial redox (ou baixa afinidade por elétrons), como NADH/ NAD^+ , para um par redox com alto potencial redox (ou alta afinidade por elétrons), como $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$. Assim, o NADH é uma excelente molécula para doar elétrons para a cadeia respiratória, enquanto o O_2 é apropriado para atuar como um “dreno” de elétrons no final da via. Como explicado no Painel 14-1, a diferença no potencial redox, $\Delta E_0'$, é uma medida direta da variação de energia livre padrão ($\Delta G_0'$) para a transferência de um elétron de uma molécula para outra. De fato, $\Delta E_0'$ é simplesmente igual a $\Delta G_0'$ vezes um número negativo que é uma constante.

As transferências de elétrons liberam grandes quantidades de energia

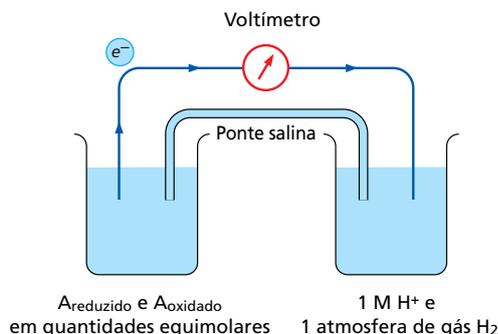
A quantidade de energia que pode ser liberada em uma transferência de elétrons pode ser determinada pela comparação dos potenciais redox das moléculas envolvidas. Mais uma vez, vamos considerar a transferência de elétrons do NADH e do O_2 . Como apresentado no Painel 14-1, uma mistura 1:1 de NADH e NAD^+ tem um potencial redox de -320 mV, indicando que o NADH tem uma fraca afinidade por elétrons – e uma forte tendência para doá-los; uma mistura 1:1 de H_2O e $\frac{1}{2}\text{O}_2$ tem um potencial redox de +820 mV, o que indica que o O_2 tem uma forte afinidade por elétrons – e uma forte tendência a recebê-los. A diferença de potencial redox entre esses dois pares é 1,14 volts (1.140 mV), ou seja, a transferência de cada elétron do NADH para o O_2 sob essas condições-padrão é extremamente favorável: o ΔG° para a transferência de elétrons é de -26,2 kcal/mol por elétron – ou -52,4 kcal/mol para os dois elétrons que são doados de cada molécula de NADH (ver Painel 14-1). Se compararmos tal variação de energia livre com a energia necessária para a formação das ligações fosfoanidrido do ATP nas células (cerca de 13 kcal/mol), podemos observar que é liberada energia suficiente pela oxidação de uma molécula de NADH para sintetizar um par de moléculas de ATP.

Os sistemas vivos poderiam ter desenvolvido enzimas que permitissem ao NADH doar elétrons diretamente para o O_2 para produzir água. Entretanto, em razão da brusca queda de energia livre, essa reação ocorreria com uma força quase explosiva, e aproximadamente toda a energia seria liberada na forma de calor. Em vez disso, como já vimos, a transferência de elétrons a partir do NADH para o O_2 é realizada em vários pequenos passos, ao longo da cadeia transportadora de elétrons, permitindo que quase a metade da energia liberada seja armazenada no gradiente de prótons, através da membrana interna, em vez de ser perdida para o ambiente na forma de calor.

Os metais fortemente ligados a proteínas formam carreadores versáteis de elétrons

Cada um dos três complexos enzimáticos respiratórios inclui átomos de metal que estão fortemente ligados às proteínas. Quando um elétron é doado a um

COMO OS POTENCIAIS REDOX SÃO MEDIDOS



Um copo de Becker (*esquerda*) contém a substância A em uma mistura equimolar dos membros reduzido (A_{reduzido}) e oxidado (A_{oxidado}) do seu par redox. O outro Becker contém o padrão hidrogênio de referência ($2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightleftharpoons \text{H}_2$), cujo potencial redox é arbitrariamente assumido como zero por acordo internacional. (Uma ponte salina formada por uma solução concentrada de KCl permite que os íons K⁺ e Cl⁻ se movam entre os dois copos Becker, como necessário para neutralizar as cargas em cada Becker quando os elétrons fluem entre eles.) O cabo metálico (*azul-escuro*) propicia um caminho livre de resistências para os elétrons, e um voltímetro (*vermelho*) o potencial redox da substância A. Se os elétrons fluem de A_{reduzido} para H⁺, como aqui indicado, entende-se que o par redox formado pela substância A possui um potencial redox negativo. Se eles, ao contrário, fluírem do H₂ para A_{oxidado}, esse par redox terá um potencial redox positivo.

O POTENCIAL REDOX PADRÃO, E'_0

O potencial redox padrão para um par redox, definido como E'_0 , é medido em uma determinada condição padrão na qual todos os reagentes estão na concentração de 1 M, incluindo o H⁺. Uma vez que as reações biológicas ocorrem em pH 7, os biólogos definem como condição padrão A_{reduzido} = A_{oxidado} e H⁺ = 10⁻⁷ M. Esse potencial redox padrão é denominado E'_0 em vez de E_0 .

Exemplos de reações redox	Potencial redox padrão E'_0
$\text{NADH} \rightleftharpoons \text{NAD}^+ + \text{H}^+ + 2\text{e}^-$	-320 mV
Ubiquinona reduzida \rightleftharpoons Ubiquinona oxidada + $2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$	+30 mV
Citocromo c reduzido \rightleftharpoons Citocromo c oxidado + e^-	+230 mV
$\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \frac{1}{2}\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$	+820 mV

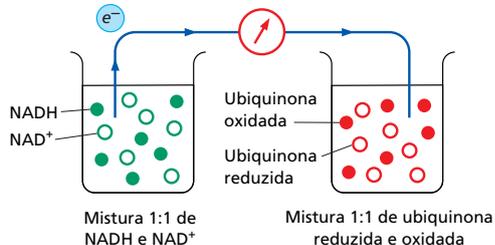
CALCULANDO O ΔG° DE POTENCIAIS REDOX

Para determinar a mudança de energia da transferência de um elétron, deve-se calcular o ΔG° da reação (kcal/mol) conforme segue:

$\Delta G^\circ = -n(0,023) \Delta E'_0$, onde n é o número de elétrons transferidos por uma variação de potencial redox de $\Delta E'_0$ milivolts (mV), e

$$\Delta E'_0 = E'_0(\text{aceptor}) - E'_0(\text{doador})$$

EXEMPLO:



Para a transferência de um elétron do NADH para a ubiquinona:

$$\Delta E'_0 = +30 - (-320) = +350 \text{ mV}$$

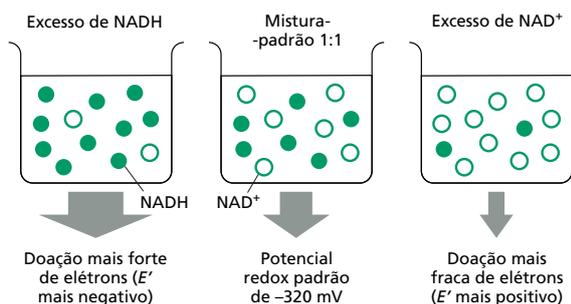
$$\Delta G^\circ = -n(0,023)\Delta E'_0 = -1(0,023)(350) = -8,0 \text{ kcal/mol}$$

O mesmo cálculo revela que a transferência de um elétron da ubiquinona para o oxigênio tem um ΔG° ainda mais favorável de -18,2 kcal/mol. O valor de ΔG° para a transferência de um elétron do NADH para o oxigênio é a soma desses dois valores, -26,2 kcal/mol.

EFEITO DAS ALTERAÇÕES DE CONCENTRAÇÃO

Como explicado no Capítulo 3 (ver p. 94), a real variação de energia livre para uma reação, ΔG , depende da concentração dos reagentes e em geral será diferente da variação de energia livre padrão, ΔG° . Os potenciais redox padrão são para uma mistura 1:1 do par redox. Por exemplo, o potencial redox padrão de -320 mV é para uma mistura 1:1 de NADH e NAD⁺.

Porém, quando há excesso de NADH sobre NAD⁺, a transferência de elétrons de NADH para um acceptor de elétrons se torna mais favorável. Isso se reflete em um potencial redox mais negativo e um ΔG mais negativo para a transferência de elétrons.



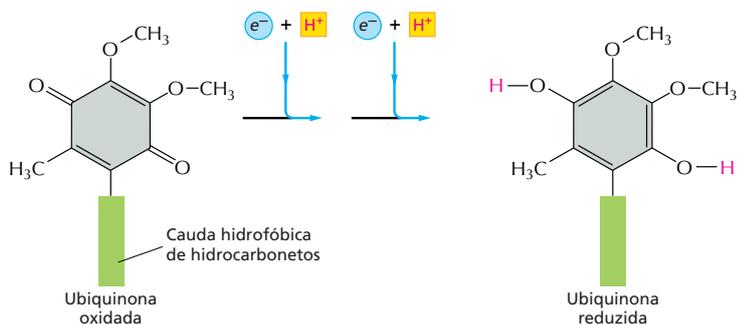


Figura 14-23 As quinonas transportam elétrons dentro da bicamada lipídica. A quinona na cadeia transportadora de elétrons mitocondrial é denominada ubiquinona. Ela capta um H⁺ do ambiente aquoso para cada elétron que aceita, e pode carregar dois elétrons como parte dos seus átomos de hidrogênio (*vermelho*). Quando essa ubiquinona reduzida doa os seus elétrons para o próximo carreador da cadeia, esses prótons são liberados. Sua longa e hidrofóbica cauda de hidrocarboneto restringe a ubiquinona à membrana mitocondrial interna.

complexo respiratório, ele se move dentro do complexo saltando de um íon metálico para outro íon metálico com maior afinidade por elétrons.

Em contraste, ao passar de um complexo respiratório para o próximo, os elétrons são transferidos por transportadores de elétrons que se difundem livremente no interior da bicamada lipídica. Essas moléculas móveis pegam elétrons de um complexo e os entregam para o próximo na linha. Na cadeia respiratória mitocondrial, por exemplo, uma molécula pequena e hidrofóbica, denominada ubiquinona, pega os elétrons do complexo NADH-desidrogenase e os entrega para o complexo citocromo *c*-redutase (ver Figura 14-14). Funções semelhantes da **quinona** são observadas durante o transporte de elétrons na fotossíntese. A ubiquinona pode receber ou doar um ou dois elétrons, pegando um H⁺ da água com o elétron que ele carrega (Figura 14-23). Seu potencial redox de +30 mV coloca a ubiquinona entre o complexo NADH-desidrogenase e o complexo citocromo *c*-redutase, em termos da sua tendência para ganhar ou perder elétrons – o que explica por que a ubiquinona recebe elétrons do primeiro complexo e os doa a este último (Figura 14-24). A ubiquinona também serve como ponto de entrada para os elétrons doados pelo FADH₂, que é produzido durante o ciclo do ácido cítrico e na oxidação de ácidos graxos (ver Figuras 13-11 e 13-12).

Os potenciais redox de diferentes complexos metálicos influenciam onde estes irão atuar ao longo da cadeia transportadora de elétrons. **Centros de ferro-enzofre** têm relativamente baixa afinidade por elétrons e, portanto, são predominantes nos transportadores de elétrons que funcionam no início da cadeia. Um centro de ferro-enzofre no complexo NADH-desidrogenase, por exemplo, transfere elétrons para a ubiquinona. Mais tarde na via, átomos de ferro dos

QUESTÃO 14-6

Em muitas etapas da cadeia transportadora de elétrons, os íons de Fe são utilizados como parte de grupos heme ou FeS para ligar os elétrons em trânsito. Por que esses grupos funcionais que conduzem a química das transferências de elétrons precisam estar ligados a proteínas? Forneça várias razões diferentes para explicar por que isso é necessário.

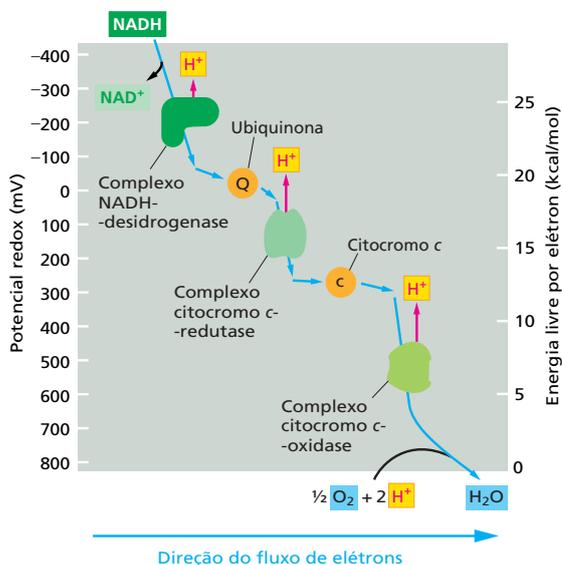
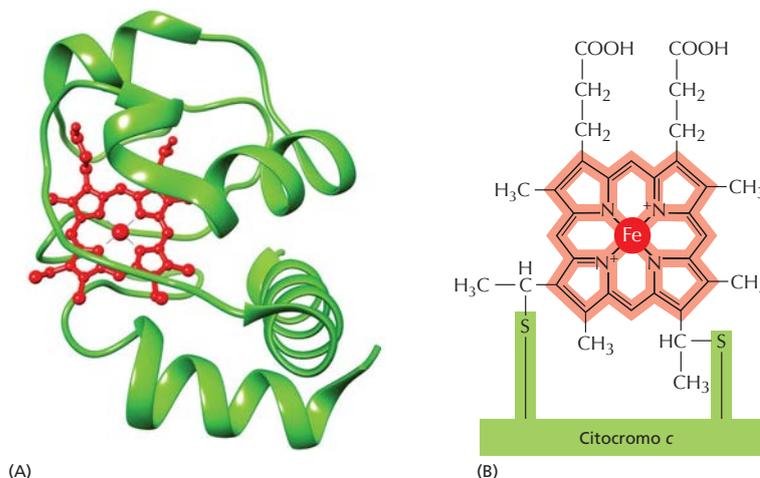


Figura 14-24 Os potenciais redox aumentam ao longo da cadeia transportadora de elétrons mitocondrial. O grande aumento no potencial redox ocorre ao longo de cada um dos três complexos enzimáticos respiratórios, conforme necessário para cada um deles bombear prótons. Para converter os valores de energia livre em kJ/mol, lembre que 1 quilocaloria é igual a cerca de 4,2 quilojoules.

Figura 14-25 O ferro de um grupamento heme pode servir como umceptor de elétrons. (A) A estrutura em fita mostra a posição do grupamento heme (vermelho) associado ao citocromo *c* (verde). (B) O anel de porfirina do grupamento heme (vermelho claro) está ligado covalentemente a cadeias laterais da proteína. Os grupamentos heme de diferentes citocromos têm diferentes afinidades eletrônicas pelo fato de diferirem ligeiramente em estrutura e estarem em locais diferentes dentro de cada proteína.



grupamentos heme ligados às proteínas do citocromo são em geral utilizados como transportadores de elétrons (Figura 14-25). Esses grupamentos heme conferem cor aos **citocromos**, como nos complexos citocromo *c*-redutase e citocromo *c*-oxidase (“citocromo” do grego *croma*, “cor”). À semelhança de outros transportadores de elétrons, o potencial redox das proteínas do citocromo vai aumentando quanto mais adiante eles estiverem localizados na cadeia transportadora de elétrons da mitocôndria. Por exemplo, o *citocromo c*, uma pequena proteína que recebe elétrons do complexo citocromo *c*-redutase e os transfere para o complexo citocromo *c*-oxidase, possui um potencial redox de +230 mV – um valor intermediário entre os dos citocromos com os quais ele interage (ver Figura 14-24).

O citocromo *c*-oxidase catalisa a redução do oxigênio molecular

O transportador final de elétrons na cadeia respiratória, **citocromo *c* oxidase**, possui o mais alto potencial redox de todos. Esse complexo proteico remove elétrons do citocromo *c*, causando sua oxidação – daí a denominação “citocromo-*c* oxidase.” Esses elétrons são então transferidos ao O_2 para produzir H_2O . No total, quatro elétrons doados pelo citocromo *c* e quatro prótons do ambiente aquoso são adicionados a cada molécula de O_2 na reação $4e^- + 4H^+ + O_2 \rightarrow 2H_2O$.

Além dos prótons que se combinam com o O_2 , quatro outros prótons são bombeados através da membrana durante a transferência de quatro elétrons do citocromo *c* para o O_2 . Essa transferência de elétrons provoca mudanças alostéricas na conformação da proteína que transfere prótons para fora da matriz mitocondrial. Uma região especial de ligação do oxigênio dentro deste complexo proteico – a qual possui um grupamento heme, além de um átomo de cobre – funciona como o depósito final para todos os elétrons fornecidos pelo NADH no início da cadeia transportadora de elétrons (Figura 14-26). É neste momento que quase todo o oxigênio que respiramos é consumido.

O oxigênio é útil como um escoadouro de elétrons em razão da sua alta afinidade por elétrons. Contudo, uma vez que o O_2 tenha obtido um elétron, ele forma o radical superóxido O_2^- ; esse radical é perigosamente reativo e irá avidamente captar outros três elétrons em qualquer lugar que possa encontrar – uma tendência que pode causar danos sérios ao DNA, às proteínas e às membranas lipídicas que se encontrarem por perto. O sítio ativo do citocromo *c*-oxidase prende firmemente uma molécula de oxigênio até que receba todos os quatro elétrons necessários para convertê-lo em duas moléculas de H_2O . Essa retenção ajuda a evitar que radicais superóxido ataquem macromoléculas celulares – tem sido postulado que o dano celular contribui para o envelhecimento humano.

QUESTÃO 14-7

Dois diferentes carreadores difusíveis de elétrons, ubiquinona e citocromo *c*, transportam elétrons entre os três complexos proteicos da cadeia transportadora de elétrons. Em princípio, os mesmos carreadores difusíveis poderiam ser utilizados em ambas as etapas? Justifique sua resposta.

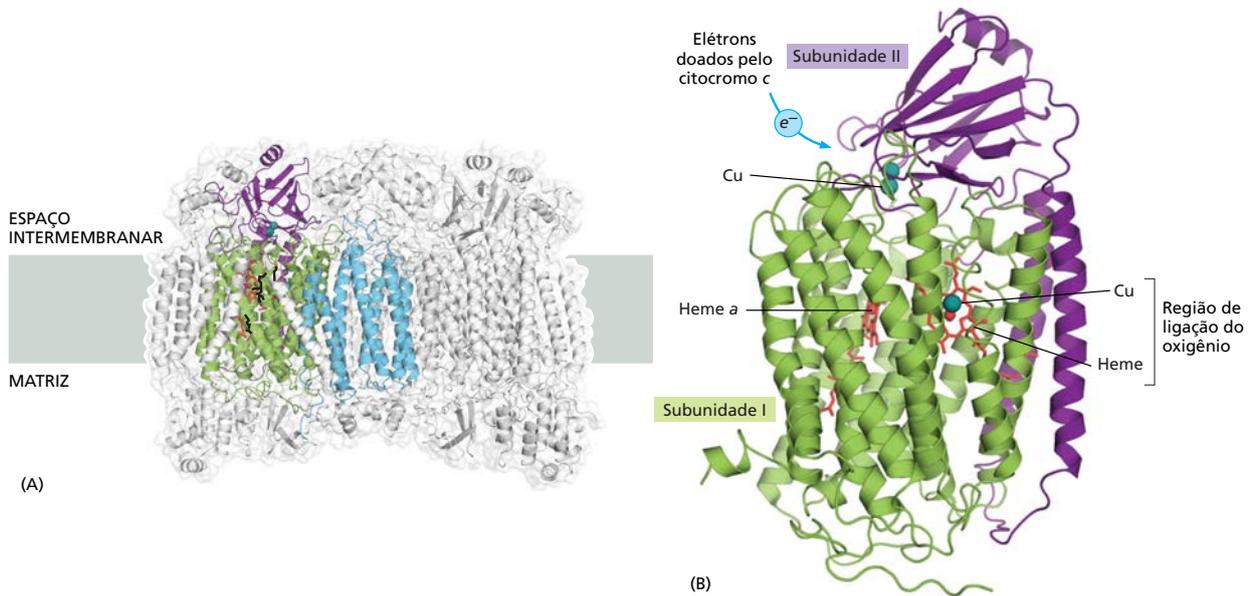


Figura 14-26 A citocromo *c*-oxidase é uma proteína precisamente regulada.

A proteína é um dímero formado a partir de um monômero com 13 subunidades diferentes de proteína. (A) A proteína inteira é apresentada posicionada na membrana mitocondrial interna. As três subunidades coloridas que formam o núcleo funcional do complexo são codificadas pelo genoma mitocondrial; as subunidades restantes são codificadas pelo genoma nuclear. (B) À medida que os elétrons passam por essa proteína a caminho de se ligarem à molécula de O_2 , eles promovem o bombeamento de prótons pela proteína através da membrana. Conforme indicado, o grupamento heme e um átomo de cobre (Cu) formam o local onde uma molécula de O_2 firmemente ligada é reduzida e forma H_2O .

A evolução do citocromo *c*-oxidase foi crucial para o desenvolvimento de células que possam utilizar o O_2 comoceptor de elétrons. Esse complexo proteico é, portanto, essencial para toda a vida aeróbia. Venenos como o cianeto são extremamente tóxicos porque se ligam firmemente aos complexos citocromo *c*-oxidase, bloqueando o transporte de elétrons e a produção de ATP.

OS CLOROPLASTOS E A FOTOSÍNTESE

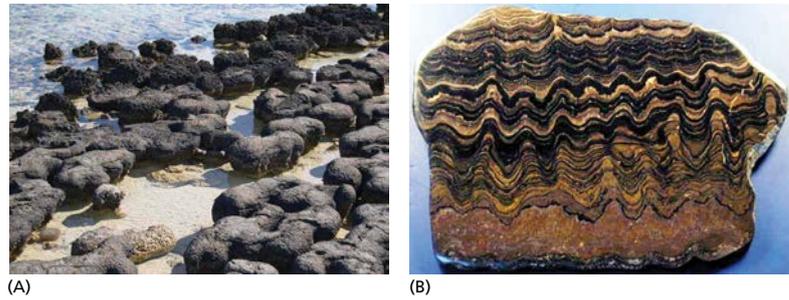
Praticamente todos os materiais orgânicos nas células vivas atuais são produzidos pela **fotossíntese** – séries de reações promovidas pela luz que criam moléculas orgânicas a partir do dióxido de carbono atmosférico (CO_2). Plantas, algas e bactérias fotossintetizantes, como as cianobactérias, usam elétrons da água e a energia da luz solar para converter CO_2 atmosférico em compostos orgânicos. Ao longo destas reações, as moléculas de água são divididas, liberando grandes quantidades de gás O_2 para a atmosfera. Esse oxigênio, por sua vez, subsidia a fosforilação oxidativa – não apenas em animais, mas também em plantas e bactérias aeróbias. Assim, a atividade das primeiras bactérias fotossintetizantes, que enchem a atmosfera com oxigênio, permitiu a evolução das inúmeras formas de vida que utilizam o metabolismo aeróbio para produzir ATP (**Figura 14-27**).

Nas plantas, a fotossíntese é realizada em uma organela intracelular especializada – o **cloroplasto**, que possui pigmentos, como o pigmento verde *clorofila*, que capturam a luz. Para a maioria das plantas, as folhas são os principais locais de fotossíntese. A fotossíntese ocorre apenas durante o dia, produzindo ATP e NADPH. Tais carreadores ativados podem então ser usados, em qualquer momento do dia, para converter o CO_2 em açúcar no cloroplasto – um processo denominado *fixação de carbono*.

Dado o papel central do cloroplasto na fotossíntese, iniciamos esta seção descrevendo a estrutura dessa organela altamente especializada. Em seguida, fornecemos uma visão geral da fotossíntese, seguida por uma contabilidade detalhada do mecanismo pelo qual os cloroplastos capturam a energia luminosa para produzir grandes quantidades de ATP e NADPH. A seguir, descrevemos como as plantas utilizam esses dois carreadores ativados para sintetizar açúcares e outras moléculas orgânicas usadas para sustentá-las – e aos muitos organismos que se alimentam de plantas.

Figura 14-27 Os microrganismos que realizam fotossíntese produzindo oxigênio mudaram a atmosfera da Terra.

(A) Estromatólitos vivos de uma lagoa no oeste da Austrália. Estas estruturas são formadas em ambientes específicos por grandes colônias de cianobactérias fotossintéticas produtoras de oxigênio, que aprisionam areia ou minerais em finas camadas. (B) Seção transversal de um estromatólito atual mostrando sua estratificação. Uma estrutura semelhante é observada em estromatólitos fósseis (não mostrados). Essas formações antigas, algumas com mais de 3,5 bilhões de anos, contêm os restos de bactérias fotossintéticas cujas atividades de liberação de O_2 transformaram a atmosfera da Terra. (A, cortesia de Cambridge Carbonates Ltd.; B, cortesia de Roger Perkins, Virtual Fossil Museum.)



Cloroplastos assemelham-se a mitocôndrias, mas possuem um compartimento extra – o tilacoide

Os cloroplastos são maiores que as mitocôndrias, mas ambas as organelas são organizadas de acordo com princípios semelhantes de estrutura. Eles possuem uma membrana externa altamente permeável e uma membrana interna muito menos permeável, onde várias proteínas de transporte estão embebidas. Juntas, essas duas membranas – e o estreito espaço intermembranar entre elas – formam o envelope do cloroplasto. A membrana interna circunda um grande espaço denominado **estroma**, o qual é análogo à matriz mitocondrial e contém muitas enzimas metabólicas (ver Figura 14-5).

Existe, contudo, uma importante diferença entre a organização da mitocôndria e a do cloroplasto. A membrana interna do cloroplasto não possui a maquinaria fotossintética. Em vez disso, os sistemas de captura de luz, a cadeia transportadora de elétrons e a ATP-sintase, que produz ATP durante a fotossíntese, estão localizados na **membrana do tilacoide**. Essa terceira membrana é dobrada para formar um conjunto achatado, semelhante a sacos na forma de discos, denominados **tilacoides**, que estão dispostos em pilhas chamadas de **grana** (Figura 14-28). Considera-se que o espaço interno de cada tilacoide esteja conectado ao de outros tilacoides, formando um terceiro compartimento interno, o **espaço do tilacoide**, que é separado do estroma.

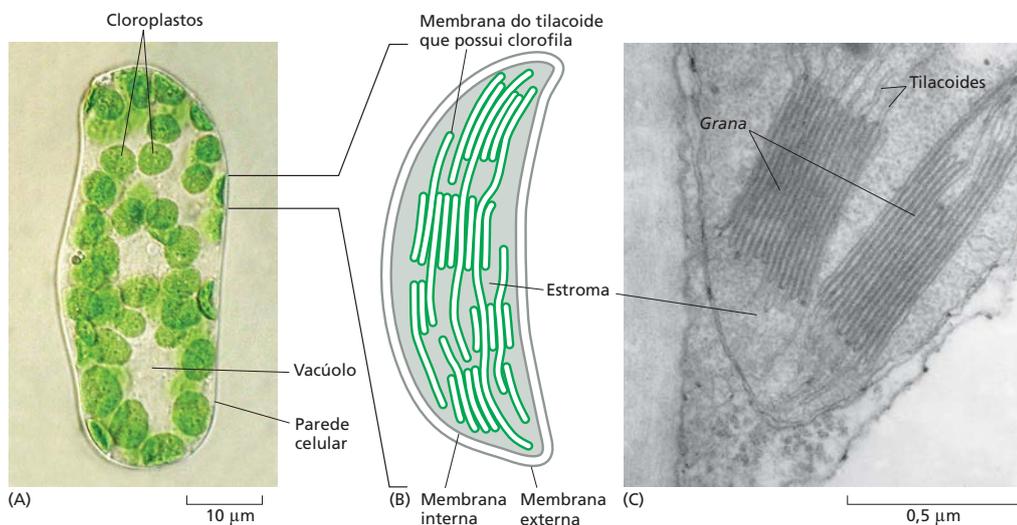
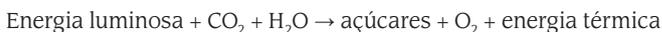


Figura 14-28 Os cloroplastos, assim como as mitocôndrias, possuem um conjunto de membranas e compartimentos especializados. (A) Micrografia mostrando cloroplastos (verde) na célula de uma angiosperma. (B) Desenho de um cloroplasto apresentando três conjuntos de membranas da organela, incluindo a membrana do tilacoide, a qual possui os sistemas de captura de luz e o sistema de geração do ATP. (C) Uma visão ampliada de uma micrografia eletrônica apresentando os tilacoides dispostos em pilhas denominadas *grana*; uma única pilha de tilacoides é chamada de *granum*. (A, cortesia de Preeti Dahiya; C, cortesia de K. Plaskitt.)

A fotossíntese produz e consome o ATP e o NADPH

A química realizada por fotossíntese pode ser resumida em uma simples equação:



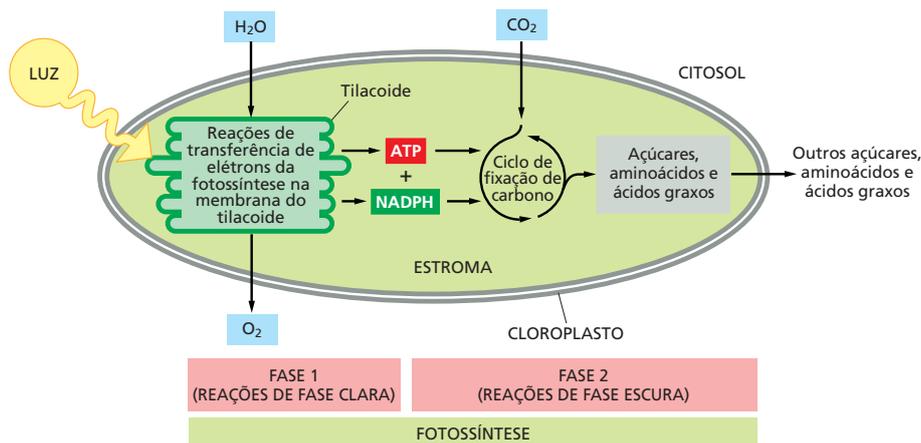
Inicialmente, a equação representa com precisão o processo pelo qual a energia luminosa promove a síntese de açúcares a partir do CO₂. Mas essa representação inicial deixa de fora dois dos jogadores mais importantes da fotossíntese: os carreadores ativados ATP e NADPH. Na primeira fase da fotossíntese, a energia da luz solar é usada para a produção de ATP e NADPH; na segunda fase, esses carreadores ativados são consumidos para possibilitar a síntese de açúcares.

1. A *fase 1* da fotossíntese é, em grande parte, o equivalente à fosforilação oxidativa que ocorre na membrana mitocondrial interna. Nessa fase, a cadeia transportadora de elétrons da membrana do tilacoide utiliza a energia do transporte de elétrons para bombear prótons para o interior do espaço do tilacoide; então, o gradiente de prótons gerado promove a síntese de ATP por meio da ATP-sintase. O que faz a fotossíntese diferente é que os elétrons de alta energia transferidos à *cadeia transportadora de elétrons da fotossíntese* vêm de uma molécula de **clorofila** que absorveu energia da luz solar. Assim, as reações de produção de energia da fase 1 são algumas vezes denominadas **reações de fase clara*** (**Figura 14-29**). Outra grande diferença entre a fotossíntese e a fosforilação oxidativa é o destino dos elétrons de alta energia: aqueles que percorrem a cadeia transportadora de elétrons da fotossíntese nos cloroplastos não são transferidos para o O₂, mas sim para o NADP⁺, para produzir NADPH.
2. Na *fase 2* da fotossíntese, o ATP e o NADPH produzidos nas reações de transferência de elétrons da fase 1 da fotossíntese são utilizados para promover a síntese de açúcares a partir do CO₂ (ver Figura 14-29). Tais reações de *fixação de carbono* podem ocorrer na ausência de luz e, assim, são denominadas **reações de fase escura****. Elas se iniciam no estroma do cloroplasto, onde geram um açúcar de três carbonos chamado de *gliceraldeído 3-fosfato*. Esse açúcar simples é exportado para o citosol, onde é usado para a produção de sacarose e uma grande quantidade de outras moléculas orgânicas nas folhas do vegetal.

Embora a produção de ATP e NADPH durante a fase 1 e a conversão do CO₂ em carboidratos durante a fase 2 sejam mediadas por dois conjuntos separados de reações, elas estão ligadas por mecanismos elaborados de retroalimentação que permitem ao vegetal produzir açúcares apenas quando é conveniente fazê-lo.

*N. de T. Reações de fase clara, reações luminosas ou reações fotoquímicas.

**N. de T. Reações de fase escura ou reações químicas.



QUESTÃO 14-8

Os cloroplastos possuem um terceiro compartimento interno, o espaço do tilacoide, delimitado pela membrana do tilacoide. Essa membrana contém os fotossistemas, os centros de reação, a cadeia transportadora de elétrons e a ATP-sintase. Já as mitocôndrias utilizam as suas membranas internas para o transporte de elétrons e a síntese de ATP. Em ambas as organelas, os prótons são bombeados para fora do maior compartimento interno (a matriz nas mitocôndrias e o estroma nos cloroplastos). O espaço do tilacoide é completamente isolado do resto da célula. Por que esse arranjo permite aos cloroplastos gradientes maiores de H⁺ do que os que ocorrem nas mitocôndrias?

Figura 14-29 As duas fases da fotossíntese dependem do cloroplasto. Na fase 1, uma série de reações de transferência de elétrons na fotossíntese produz ATP e NADPH; no processo, os elétrons são retirados da água e o oxigênio é liberado como subproduto, como discutimos brevemente. Na fase 2, o dióxido de carbono é assimilado (fixado) para produzir açúcares e várias outras moléculas orgânicas. A fase 1 ocorre na membrana do tilacoide, enquanto a fase 2 se inicia no estroma do cloroplasto (como mostrado) e continua no citosol.

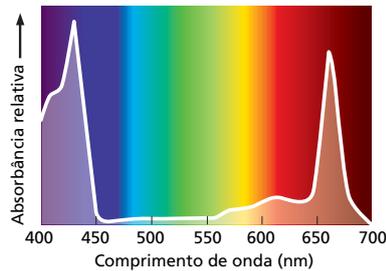
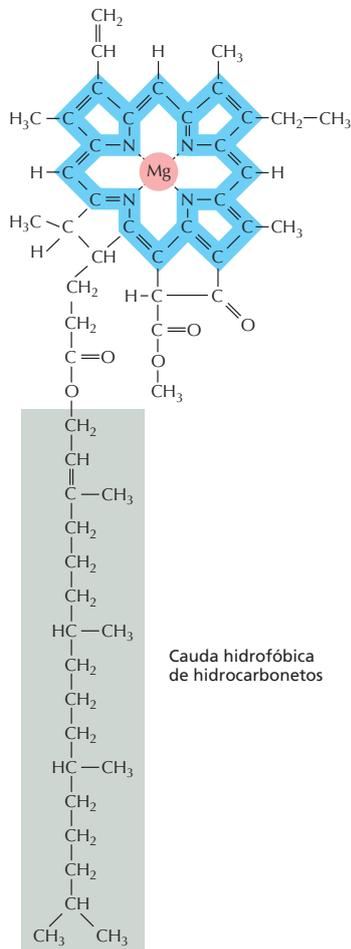


Figura 14-30 As clorofilas absorvem a luz de comprimentos de onda azul e vermelho. Como mostrado neste espectro de absorção, uma forma de clorofila absorve, preferencialmente, a luz em comprimentos de onda de cerca de 430 nm (azul) e 660 nm (vermelho). Em contrapartida, a luz verde é pouco absorvida por este pigmento. Outras clorofilas podem absorver a luz com comprimentos de onda ligeiramente diferentes.



Muitas das enzimas necessárias para a fixação do carbono, por exemplo, são inativadas no escuro e reativadas pelo transporte de elétrons estimulado pela luz.

As moléculas de clorofila absorvem energia da luz solar

A luz visível é uma forma de radiação eletromagnética composta de muitos comprimentos de onda, variando do violeta (comprimento de onda de 400 nm) ao vermelho-escuro (700 nm). Os melhores comprimentos de onda para a maioria das clorofilas absorver são o azul e o vermelho (Figura 14-30). Como esses pigmentos absorvem pouco a luz verde, os vegetais parecem verdes: a luz verde é refletida de volta para os nossos olhos.

A capacidade da clorofila de aproveitar a energia luminosa se deve à sua estrutura única. Os elétrons de uma molécula de clorofila são distribuídos em uma nuvem descentralizada em torno das moléculas do anel de porfirina, responsável pela absorção da luz (Figura 14-31). Quando a luz de um comprimento de onda apropriado alcança uma molécula de clorofila, ocorre a excitação dos elétrons nessa rede difusa, perturbando a forma como os elétrons estão distribuídos. Esse estado perturbado de alta energia é instável, e a molécula de clorofila tentará se livrar desse excesso de energia para poder retornar ao seu estado mais estável, não excitado.

Uma molécula isolada de clorofila, mantida em solução, irá simplesmente liberar a energia absorvida na forma de luz ou calor – não promovendo algo útil. No entanto, as moléculas de clorofila em um cloroplasto são capazes de converter a energia luminosa em uma forma de energia útil para a célula pelo fato de estarem associadas a um conjunto especial de proteínas fotossintéticas na membrana do tilacoide, como verificamos a seguir.

As moléculas excitadas de clorofila direcionam a energia a um centro de reação

Na membrana do tilacoide dos vegetais e na membrana plasmática das bactérias fotossintetizantes, as moléculas de clorofila são organizadas em grandes complexos multiproteicos chamados de **fotossistemas**. Cada fotossistema consiste em um conjunto de *complexos antena*, que capturam a energia luminosa, e um *centro de reação*, que converte a energia luminosa em energia química.

Em cada **complexo antena**, centenas de moléculas de clorofila estão dispostas de forma que a energia luminosa captada por uma molécula de clorofila possa ser transferida para uma molécula de clorofila adjacente no sistema. Dessa maneira, a energia é transferida aleatoriamente a partir de uma molécula de clorofila para a próxima – quer dentro da mesma antena ou de uma antena adjacente. Em algum momento, essa energia errante vai encontrar um dímero de clorofila denominado *par especial*, que segura os seus elétrons com uma menor energia em comparação com as outras moléculas de clorofila. Assim, quando a energia é recebida por este par especial, ela torna-se efetivamente presa.

O par especial de clorofila não está localizado no complexo antena. Em vez disso, é parte do **centro de reação** – um complexo transmembrânico de proteínas e pigmentos que deve ter evoluído, inicialmente, há mais de 3 bilhões de anos em bactérias fotossintetizantes primitivas (Animação 14.6). Dentro do centro de reação, o par especial é posicionado próximo a um conjunto de transportadores de elétrons que estão prontos para receber um elétron de alta energia da clorofila

Figura 14-31 A estrutura da clorofila permite absorver a energia luminosa. Cada molécula de clorofila possui um anel de porfirina com um átomo de magnésio (rosa) no seu centro. Esse anel de porfirina é estruturalmente semelhante àquele que liga o ferro ao grupamento heme (ver Figura 14-25). A luz é absorvida pelos elétrons no interior da rede de ligações apresentada em azul, enquanto a longa cauda hidrofóbica (cinza) ajuda a manter a clorofila na membrana do tilacoide.

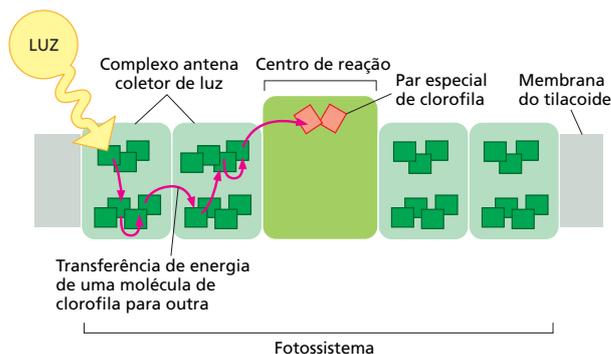


Figura 14-32 Um fotossistema consiste em um centro de reação rodeado por complexos antena que possuem clorofilas. Ocorrendo a captura da energia luminosa por uma molécula de clorofila de um complexo antena, ela será transferida aleatoriamente, de uma molécula de clorofila para outra (*linhas vermelhas*), até ser aprisionada por um dímero de clorofila denominado *par especial*, localizado no centro da reação. O par especial de clorofila segura seus elétrons com menor energia do que as clorofilas da antena. Desse modo, a energia transferida ao par especial, a partir da antena, fica aprisionada. Observe que, no complexo antena, somente a energia se move de uma molécula de clorofila para outra, sem o envolvimento de elétrons.

excitada do par especial (Figura 14-32). Essa transferência de elétrons representa a essência da fotossíntese, pois converte a energia luminosa, capturada no par especial, em energia química sob a forma de um elétron transferível. Assim que o elétron de alta energia é transferido, o par especial de clorofila fica positivamente carregado, e o transportador de elétrons, que recebeu o elétron, fica negativamente carregado. O rápido movimento desses elétrons ao longo de um conjunto de transportadores de elétrons no centro de reação gera uma *separação de cargas* que coloca em movimento um fluxo de elétrons a partir do centro de reação para a cadeia transportadora de elétrons (Figura 14-33).

Um par de fotossistemas cooperam para produzir ATP e NADPH

A fotossíntese é, em última análise, um processo de biossíntese que produz moléculas orgânicas a partir do CO₂. Para isso, a célula vegetal necessita de uma grande quantidade de energia sob a forma de ATP, e uma grande quantidade de poder redutor sob a forma do carreador ativado NADPH (ver Figura 3-34). Para gerar o ATP e o NADPH, as células vegetais – e os organismos fotossintetizantes de vida livre, como as cianobactérias – utilizam um par de fotossistemas que possuem estruturas semelhantes, mas que fazem coisas diferentes com os elétrons de alta energia que saem das clorofilas de seus centros de reação.

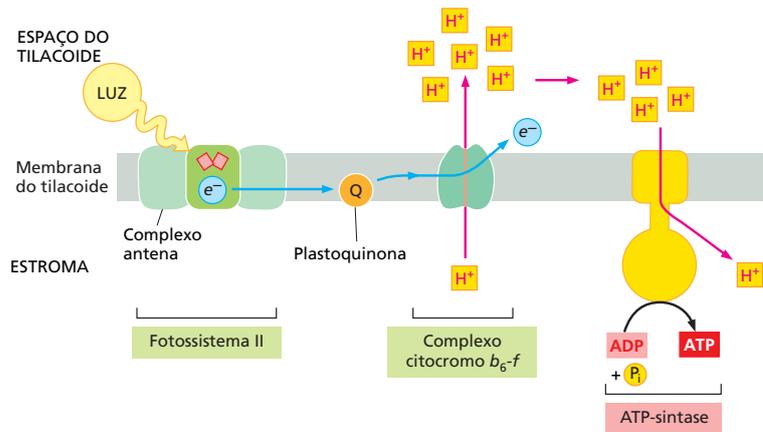
Quando o primeiro fotossistema (que, paradoxalmente, é chamado de fotossistema II por motivos históricos) absorve a energia luminosa, o seu centro de reação transfere elétrons para um transportador móvel de elétrons denominado *plastoquinona*. A plastoquinona faz parte da cadeia transportadora de elétrons da fotossíntese. Esse transportador transfere os elétrons de alta energia para uma bomba de prótons que – assim como as bombas de prótons na membrana mitocondrial interna – usa o movimento de elétrons para gerar um gradiente eletroquímico de prótons. O gradiente eletroquímico de prótons, em seguida, promove a síntese de ATP por meio de uma ATP-sintase localizada na membrana do tilacoide (Figura 14-34).

Ao mesmo tempo, um segundo fotossistema adjacente – denominado fotossistema I – também está ocupado capturando energia luminosa. O centro de reação desse fotossistema transfere os seus elétrons de alta energia para um transportador móvel de elétrons diferente. Então, esses elétrons são transferidos para uma enzima

Figura 14-33 No centro de reação, um elétron de alta energia é transferido do par especial para um transportador que se torna parte de uma cadeia transportadora de elétrons. Não é apresentado o conjunto de transportadores intermediários incorporados ao centro de reação que fornece o caminho, a partir do par especial, para este transportador (*laranja*). Tal como ilustrado, a transferência do elétron de alta energia da clorofila excitada do par especial deixa para trás uma carga positiva que cria um estado de separação de carga, convertendo assim a energia luminosa em energia química. Uma vez que o elétron do par especial seja restituído (um evento que em breve discutimos em detalhes), o transportador se difunde para longe do centro de reação, transferindo o elétron de alta energia para a cadeia transportadora.



Figura 14-34 O fotossistema II fornece elétrons para a bomba de prótons da fotossíntese, levando à síntese de ATP pela ATP-sintase. Quando a energia luminosa é capturada pelo fotossistema II, um elétron de alta energia é transferido para um transportador móvel de elétrons denominado plastoquinona (Q), que se assemelha à ubiquinona das mitocôndrias. Esse transportador transfere os seus elétrons para uma bomba de prótons chamada de complexo citocromo b_6-f , que se assemelha ao complexo citocromo c -redutase das mitocôndrias. Este é o único lugar em que ocorre o bombeamento ativo de prótons na cadeia transportadora de elétrons do cloroplasto. Assim como nas mitocôndrias, uma ATP-sintase incorporada na membrana utiliza a energia do gradiente eletroquímico de prótons para a produção de ATP.



que os utiliza para reduzir NADP^+ a NADPH (Figura 14-35). A ação combinada desses dois fotossistemas produz, assim, tanto o ATP (fotossistema II) quanto o NADPH (fotossistema I), que serão usados na fase 2 da fotossíntese (ver Figura 14-29).

O oxigênio é produzido por um complexo associado ao fotossistema II que quebra a molécula de água

O modelo que foi descrito até agora para a fotossíntese ignorou um grande dilema químico. Quando um transportador móvel de elétrons retira um elétron de um centro de reação (tanto do fotossistema I quanto do fotossistema II), uma clorofila, de um par especial de clorofilas, fica positivamente carregada (ver Figura 14-33). Para restaurar o sistema e permitir que a fotossíntese prossiga, deve ocorrer a reposição desse elétron em falta.

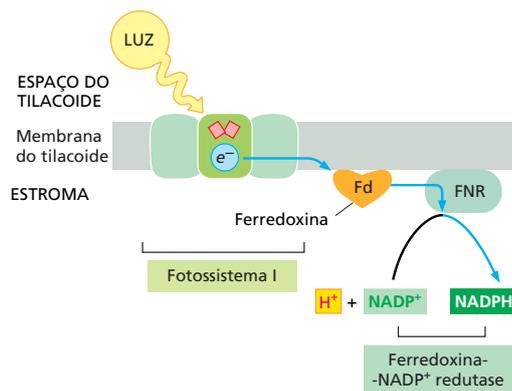
No fotossistema II, o elétron em falta é restituído por um complexo proteico especial, que retira os elétrons da água. Esta *enzima que quebra a água* possui um conjunto de átomos de manganês que se liga a duas moléculas de água para retirar os elétrons, extraíndo um de cada vez. Uma vez que os quatro elétrons foram removidos dessas duas moléculas de água – e utilizados para restituir os elétrons perdidos das quatro clorofilas excitadas do par especial de clorofilas –, o O_2 é produzido (Figura 14-36).

Tal “espera por quatro elétrons” garante que não haverá moléculas de água parcialmente oxidadas presentes como agentes perigosos altamente reativos. A mesma estratégia é usada pelo citocromo c -oxidase que catalisa a reação inversa – a transferência de elétrons ao O_2 para produzir água – durante a fosforilação oxidativa (ver Figura 14-26).

QUESTÃO 14-9

Tanto o NADPH quanto a molécula carreadora relacionada NADH são fortes doadores de elétrons. Por que as células vegetais desenvolveram NADPH em detrimento de NADH para fornecer poder redutor para a fotossíntese?

Figura 14-35 O fotossistema I transfere elétrons de alta energia para uma enzima que produz NADPH . Quando a energia luminosa é capturada pelo fotossistema I, um elétron de alta energia é transferido para um transportador móvel de elétrons denominado ferredoxina (Fd), uma pequena proteína que possui um núcleo ferro-enxofre. A ferredoxina transporta seus elétrons para a ferredoxina- NADP^+ redutase (FNR), a proteína final da cadeia transportadora de elétrons que vai formar o NADPH .



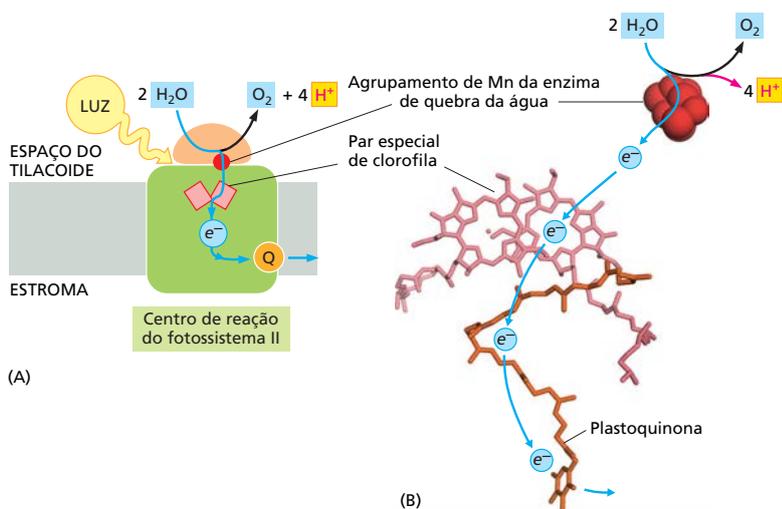


Figura 14-36 O centro de reação do fotossistema II inclui uma enzima que catalisa a retirada de elétrons da água. (A) Diagrama esquemático apresentando o fluxo de elétrons ao longo do centro de reação do fotossistema II. Quando a energia luminosa excita o par especial de clorofila, um elétron é transferido para o transportador móvel de elétrons, a plastoquinona (Q). Então, ocorre a restituição de um elétron ao par especial pela enzima que quebra a água, extraíndo elétrons da água. O agrupamento de Mn que participa da extração de elétrons é apresentado como uma mancha vermelha. Uma vez que quatro elétrons tenham sido retirados de duas moléculas de água, o O₂ é liberado para a atmosfera. (B) Estrutura e posição de alguns dos transportadores de elétrons envolvidos.

É espantoso perceber que, essencialmente, todo o oxigênio da atmosfera da Terra foi produzido pela enzima que quebra a água do fotossistema II.

O par especial do fotossistema I recebe seus elétrons do fotossistema II

Vimos que o fotossistema II recebe elétrons da água. Contudo, de onde o fotossistema I obtém os elétrons de que necessita para restabelecer seu par especial? Ele os recebe do fotossistema II: o par especial de clorofilas do fotossistema I funciona como oceptor final de elétrons da cadeia transportadora de elétrons que transporta os elétrons a partir do fotossistema II. O fluxo global de elétrons é apresentado na **Figura 14-37**. Os elétrons removidos da água pelo fotossistema II são transferidos, por meio de uma bomba de prótons (o complexo citocromo *b₆-f*), a um transportador móvel de elétrons denominado plastocianina. Então, a plastocianina transporta esses elétrons para o fotossistema I para restituir os elétrons perdidos pelo seu par especial de clorofilas excitadas. Quando a luz for novamente absorvida por esse fotossistema, este elétron será impulsionado para um nível muito alto de energia, necessário para reduzir NADP⁺ a NADPH.

Ter esses dois fotossistemas operando em conjunto acopla efetivamente suas duas etapas de energização de elétrons. Este impulso extra de energia – fornecida pela luz absorvida por ambos os fotossistemas – permite que um elétron seja movido da água, que em geral segura firmemente seus elétrons (potencial redox

Figura 14-37 O movimento de elétrons ao longo da cadeia transportadora de elétrons da fotossíntese fornece energia para a produção de ATP e NADPH. Os elétrons são fornecidos para o fotossistema II pelo complexo de quebra da água que retira quatro elétrons de duas moléculas de água, gerando O₂ como um subproduto. Após a sua energia ser aumentada pelo processo de absorção de luz, esses elétrons impulsionam o bombeamento de prótons pelo complexo citocromo *b₆-f*. Depois que os elétrons passam por esse complexo, eles são transferidos para uma proteína que possui cobre, a plastocianina (pC), um transportador móvel de elétrons que então os transfere para o centro de reação do fotossistema I. Após um impulso adicional de energia luminosa, esses elétrons são utilizados para gerar NADPH. Uma visão geral destas reações é apresentada na **Animação 14.7**.

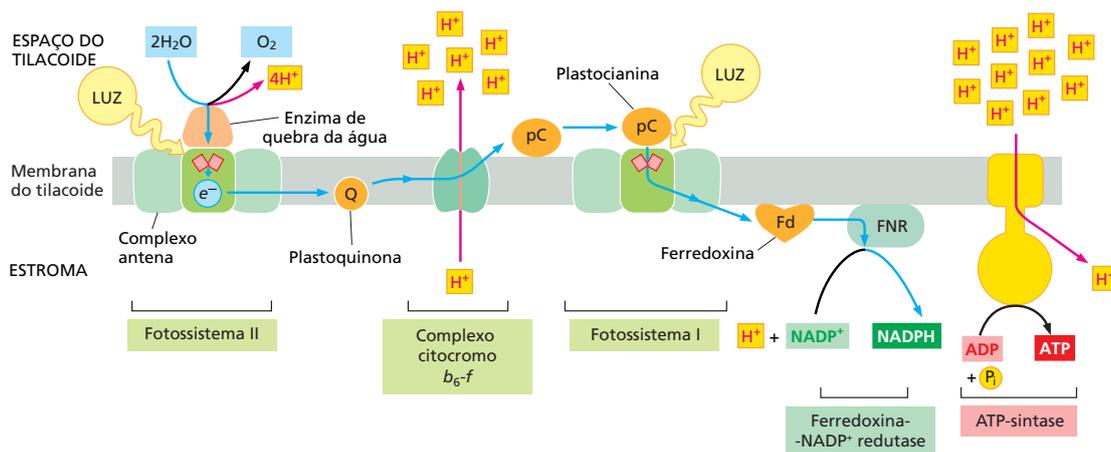
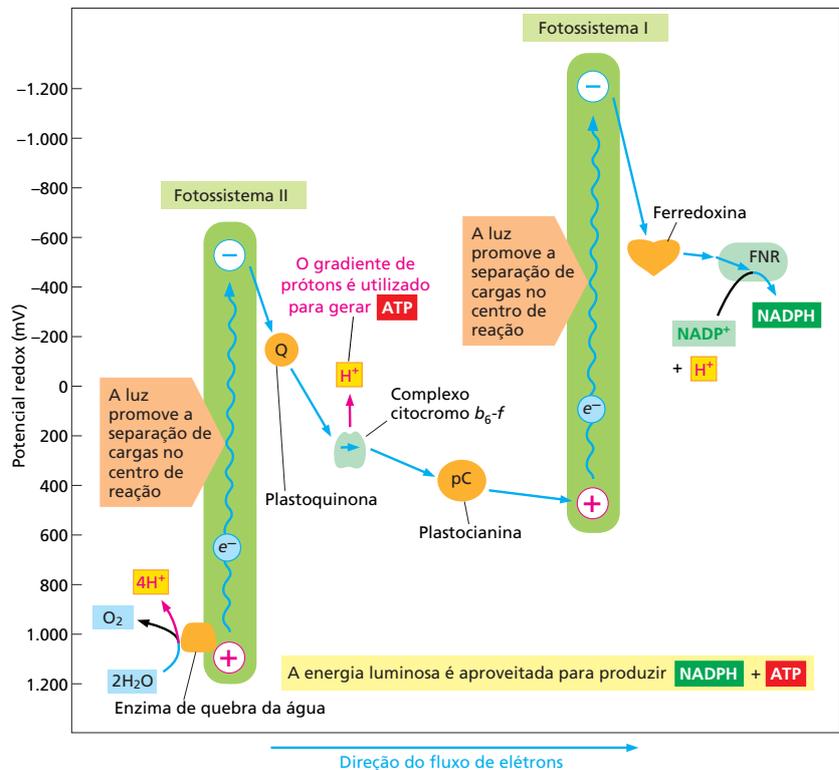


Figura 14-38 As ações combinadas dos fotossistemas I e II impulsionam elétrons para um nível de energia necessário para produzir ATP e NADPH. O potencial redox para cada molécula está indicado pela sua posição em relação ao eixo vertical. A transferência de elétrons é apresentada com setas azuis não onduladas. O fotossistema II transfere elétrons de seu par de clorofila excitado para uma cadeia transportadora de elétrons da membrana do tilacoide, levando esses elétrons até o fotossistema I (ver Figura 14-37). O fluxo de elétrons ao longo dos dois fotossistemas conectados em série é da água para o NADP^+ , formando NADPH.



= +820 mV), para o NADPH, que costuma segurar frouxamente seus elétrons (potencial redox = -320 mV). Há ainda sobra suficiente de energia para permitir que a cadeia transportadora de elétrons, que une os dois fotossistemas, bombeie H^+ através da membrana do tilacoide, de forma que a ATP-sintase possa aproveitar uma parte da energia derivada da luz para a produção de ATP (Figura 14-38).

A fixação de carbono utiliza ATP e NADPH para converter CO_2 em açúcares

As reações luminosas da fotossíntese geram ATP e NADPH no estroma do cloroplasto, como acabamos de ver. Contudo, a membrana interna do cloroplasto é impermeável a ambos os compostos, ou seja, eles não podem ser exportados diretamente para o citosol. Para fornecer energia e poder redutor para o restante da célula, o ATP e o NADPH são utilizados no estroma do cloroplasto para produzir açúcares, os quais podem ser exportados por proteínas transportadoras específicas presentes na membrana interna do cloroplasto. A produção de açúcar a partir do CO_2 e da água, que ocorre durante as reações de fase escura (fase 2) da fotossíntese, é denominada **fixação de carbono**.

Na reação central de fixação de carbono na fotossíntese, o CO_2 atmosférico é ligado a um composto de cinco carbonos derivado de um açúcar, a ribulose 1,5-bifosfato, para produzir duas moléculas de um composto de três carbonos, o *3-fosfoglicerato*. Essa reação de fixação de carbono, descoberta em 1948, é catalisada no estroma do cloroplasto por uma grande enzima denominada ribulose-bifosfato-carboxilase ou *rubisco* (Figura 14-39). A rubisco funciona muito mais lentamente do que a maioria das outras enzimas: ela processa cerca de três moléculas de substrato por segundo – quando comparada com 1.000 moléculas por segundo em uma enzima típica. Para compensar essa lenta atividade, os vegetais mantêm um excedente de rubisco para garantir a produção eficiente de açúcares. A enzima costuma representar mais de 50% do total de proteínas do cloroplasto e é amplamente reconhecida como a proteína mais abundante no planeta.

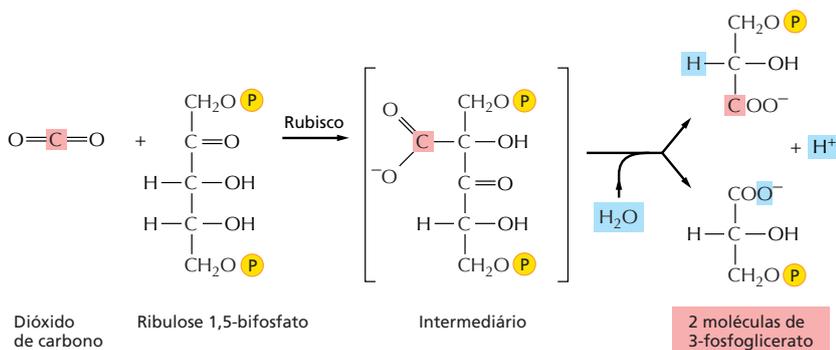


Figura 14-39 A fixação do carbono é catalisada pela enzima ribulose-bifosfato-carboxilase, também chamada de Rubisco. Nessa reação, que ocorre no estroma do cloroplasto, uma ligação covalente é formada entre o dióxido de carbono e uma molécula de ribulose-1,5-bifosfato rica em energia. Essa união resulta em um intermediário químico que reage com água (destacado em azul) para gerar duas moléculas de 3-fosfoglicerato.

Embora a produção de carboidratos a partir de CO₂ e H₂O seja energeticamente desfavorável, a fixação do CO₂ catalisada pela rubisco é energeticamente favorável. A fixação do carbono é energeticamente favorável devido ao contínuo fornecimento de ribulose 1,5-bifosfato, rica em energia. Uma vez que este composto é consumido – pela ligação ao CO₂ (ver Figura 14-39) – ele deve ser restaurado. A energia e o poder redutor necessários para regenerar a ribulose 1,5-bifosfato provêm do ATP e do NADPH produzidos nas reações fotossintéticas da fase clara.

A elaborada série de reações nas quais CO₂ se combina com ribulose 1,5-bifosfato para produzir um açúcar simples – parte desse açúcar sendo utilizado para regenerar a ribulose 1,5-bifosfato – forma um ciclo denominado *ciclo de fixação de carbono*, ou ciclo de Calvin (Figura 14-40). Para cada três moléculas de CO₂ que entram no ciclo, uma molécula de gliceraldeído 3-fosfato é produzida, e nove moléculas

QUESTÃO 14-10

- A. Como as células das raízes dos vegetais sobrevivem, uma vez que elas não possuem cloroplastos e não estão expostas à luz?
- B. Diferentemente das mitocôndrias, os cloroplastos não possuem um transportador que permita a exportação de ATP para o citosol. Como as células vegetais podem obter o ATP de que necessitam para conduzir as suas reações metabólicas dependentes de energia no citosol?

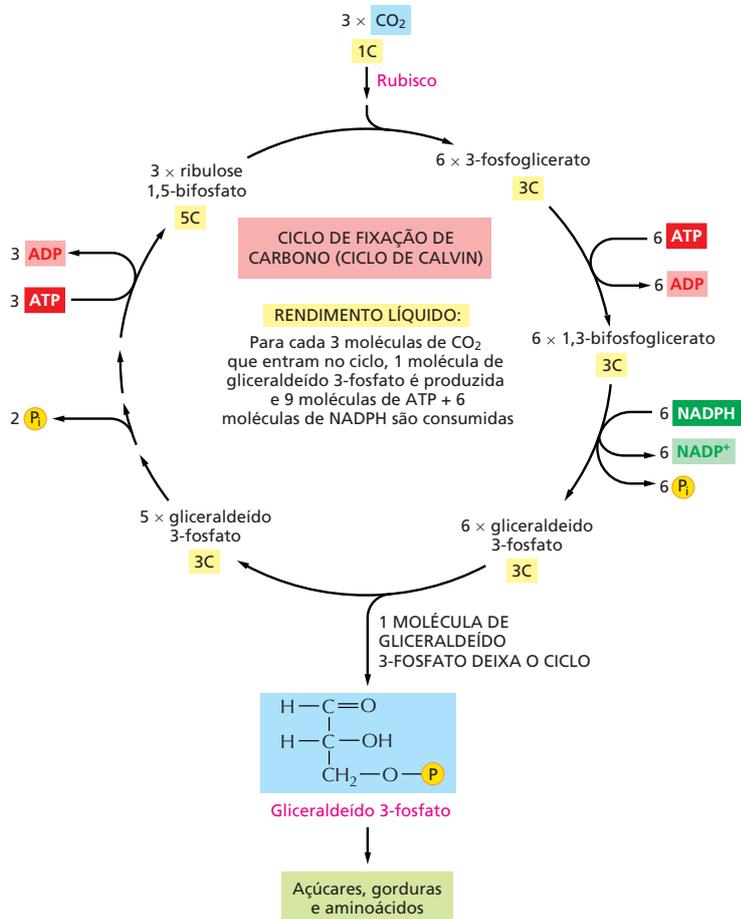
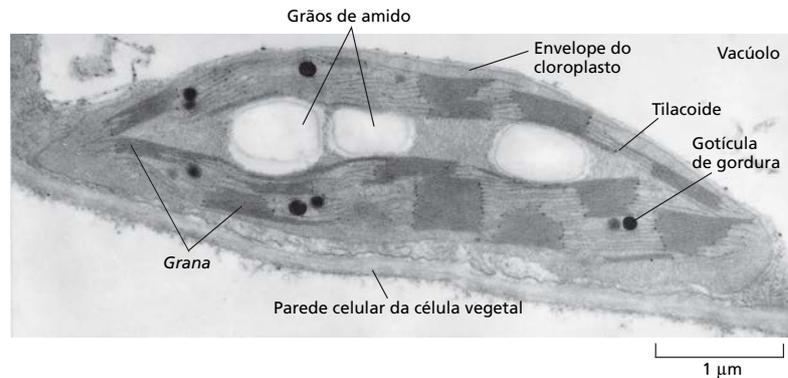


Figura 14-40 O ciclo de fixação de carbono consome ATP e NADPH para formar gliceraldeído 3-fosfato a partir de CO₂ e H₂O. Na primeira fase do ciclo, o CO₂ é adicionado à ribulose 1,5-bifosfato (como mostrado na Figura 14-39). Na segunda fase, o ATP e o NADPH são consumidos para produzir gliceraldeído 3-fosfato. Na fase final, uma parte do gliceraldeído 3-fosfato produzido é utilizado para regenerar a ribulose 1,5-bifosfato; o resto é transportado do estroma do cloroplasto para o citosol. O número de átomos de carbono em cada tipo de molécula está indicado em amarelo. Há muitos intermediários entre o gliceraldeído 3-fosfato e a ribulose 1,5-bifosfato, mas eles foram omitidos aqui para maior clareza. A entrada de água no ciclo não está representada.

Figura 14-41 Os cloroplastos frequentemente contêm grandes quantidades de carboidratos e ácidos graxos. Uma micrografia eletrônica de uma secção fina de um único cloroplasto mostra o envelope do cloroplasto, grãos de amido e gotículas de gordura que se acumulam no estroma como resultado dos processos biossintéticos que lá ocorrem. (Cortesia de K. Plaskitt.)



las de ATP e seis moléculas de NADPH são consumidas. O *gliceraldeído 3-fosfato*, um açúcar de três carbonos, é o produto final do ciclo. Este açúcar representa o material de partida para a síntese de muitos outros açúcares e outras moléculas orgânicas.

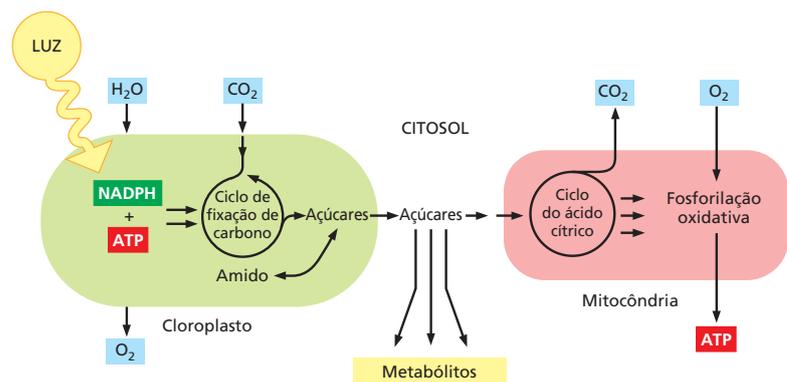
Os açúcares gerados pela fixação de carbono podem ser armazenados como amido ou utilizados para produzir ATP

O gliceraldeído 3-fosfato produzido pela fixação de carbono no estroma dos cloroplastos pode ser usado de diferentes maneiras, dependendo da necessidade dos vegetais. Durante os períodos de intensa atividade fotossintética, muito deste açúcar fica retido no estroma do cloroplasto e é convertido em *amido*. Semelhante ao glicogênio das células animais, o amido é um grande polímero de glicose que serve como reserva de carboidratos, sendo armazenado como grânulos grandes no estroma do cloroplasto. O amido constitui uma parte importante das dietas de todos os animais que se alimentam de plantas. Outras moléculas de gliceraldeído 3-fosfato são convertidas em gorduras no estroma. Este material, que se acumula como gotas de gordura, serve, da mesma forma, como reserva de energia (Figura 14-41).

À noite, o amido e a gordura armazenados podem ser quebrados em açúcares e ácidos graxos, que são exportados para o citosol para suprir as demandas metabólicas do vegetal. Parte dos açúcares exportados entra na via glicolítica (ver Figura 13-5), onde é convertida em piruvato. O piruvato, juntamente com os ácidos graxos, pode penetrar nas mitocôndrias da célula vegetal e ser utilizado no ciclo do ácido cítrico, levando à produção de ATP pela fosforilação oxidativa (Figura 14-42). Os vegetais usam esse ATP da mesma maneira que as células animais e outros organismos não fotossintéticos o fazem, para manter as reações metabólicas.

Figura 14-42 Nos vegetais, os cloroplastos e as mitocôndrias colaboram para suprir as células com metabólitos e ATP.

A membrana interna dos cloroplastos é impermeável ao ATP e ao NADPH que são produzidos no estroma durante as reações luminosas da fotossíntese. Essas moléculas são direcionadas para o ciclo de fixação de carbono, onde são utilizadas na produção de açúcares. Os açúcares produzidos e seus metabólitos são armazenados dentro do cloroplasto – sob a forma de amido ou gordura – ou são exportados para as demais células do vegetal. Assim, eles podem entrar na via de geração de energia que termina na produção de ATP pelas mitocôndrias. As membranas mitocondriais são permeáveis ao ATP, como indicado. Observe que o O_2 liberado para a atmosfera pela fotossíntese dos cloroplastos é usado para a fosforilação oxidativa das mitocôndrias; do mesmo modo, o CO_2 liberado pelo ciclo do ácido cítrico nas mitocôndrias é utilizado para a fixação de carbono nos cloroplastos.



O gliceraldeído 3-fosfato exportado dos cloroplastos pode também ser convertido no citosol em muitos outros metabólitos, incluindo o dissacarídeo *sacarose*. A sacarose é a principal forma na qual o açúcar é transportado entre as células vegetais: assim como a glicose é transportada no sangue dos animais, a sacarose é exportada das folhas, pelos feixes vasculares, para fornecer carboidratos para o restante do vegetal.

A EVOLUÇÃO DOS SISTEMAS GERADORES DE ENERGIA

A capacidade de sequenciar os genomas de microrganismos difíceis –se não impossíveis– de crescer em cultura possibilitou a identificação de uma grande variedade de formas de vida anteriormente misteriosas. Alguns desses organismos unicelulares prosperaram nos habitats mais inóspitos do planeta, incluindo fontes termais de enxofre e fontes hidrotermais localizadas no fundo dos oceanos. Nesses notáveis microrganismos, estamos encontrando pistas sobre a história da vida. Como impressões digitais deixadas na cena de um crime, as proteínas e pequenas moléculas produzidas por esses organismos fornecem evidências que permitem traçar a história de eventos biológicos antigos, incluindo aqueles que deram origem aos sistemas geradores de ATP, presentes nas mitocôndrias e nos cloroplastos de células eucarióticas modernas. Terminamos o capítulo com uma breve revisão do que se conhece sobre as origens dos atuais sistemas de captação de energia, que têm desempenhado um papel fundamental no fornecimento de energia para a evolução da vida na Terra.

A fosforilação oxidativa evoluiu em etapas

Como já mencionamos, as primeiras células vivas da Terra – tanto procaríotes quanto eucariotes primitivos – muito provavelmente consumiam moléculas orgânicas produzidas geoquimicamente e geravam ATP pela fermentação. Em razão da falta do oxigênio na atmosfera, as reações anaeróbicas de fermentação devem ter excretado ácidos orgânicos – como os ácidos láctico ou fórmico, por exemplo – no meio ambiente (ver Figura 13-6A).

Talvez esses ácidos tenham reduzido o pH do meio, favorecendo a sobrevivência de células que tivessem desenvolvido proteínas transmembrânicas com capacidade de bombear H^+ para fora do citosol, impedindo assim que a célula se tornasse demasiadamente ácida (etapa 1 na Figura 14-43). Uma dessas bombas pode ter usado a energia disponível da hidrólise de ATP para remover o H^+ da célula; tal bomba de prótons poderia ter sido o ancestral das ATP-sintases de hoje.

À medida que o suprimento de nutrientes fermentáveis da Terra começou a diminuir, os organismos que podiam encontrar uma forma de bombear H^+ sem consumir ATP estariam em vantagem: eles poderiam armazenar a pequena quantidade de ATP derivada da fermentação de nutrientes para abastecer outras importantes atividades celulares. Essa necessidade de conservar os recursos pode ter levado à evolução de proteínas transportadoras de elétrons, permitindo que as células utilizassem o movimento dos elétrons entre moléculas com potencial redox diferente como fonte de energia para o bombeamento de H^+ através da membrana plasmática (etapa 2 na Figura 14-43). Algumas dessas células poderiam ter usado os ácidos orgânicos não fermentáveis que as células vizinhas tinham excretado como resíduos para fornecer os elétrons necessários para alimentar este sistema de transporte de elétrons. Algumas bactérias de hoje crescem em ácido fórmico, por exemplo, usando a pequena quantidade de energia redox derivada da transferência de elétrons do ácido fórmico ao fumarato para bombear H^+ .

Por fim, algumas bactérias teriam desenvolvido sistemas transportadores de elétrons bombeadores de H^+ , os quais seriam tão eficientes que poderiam captar mais energia redox do que a necessária para manter seu pH interno. Tais células provavelmente teriam gerado grandes gradientes eletroquímicos de prótons, os quais poderiam então ser usados para produzir ATP. Os prótons poderiam escoar

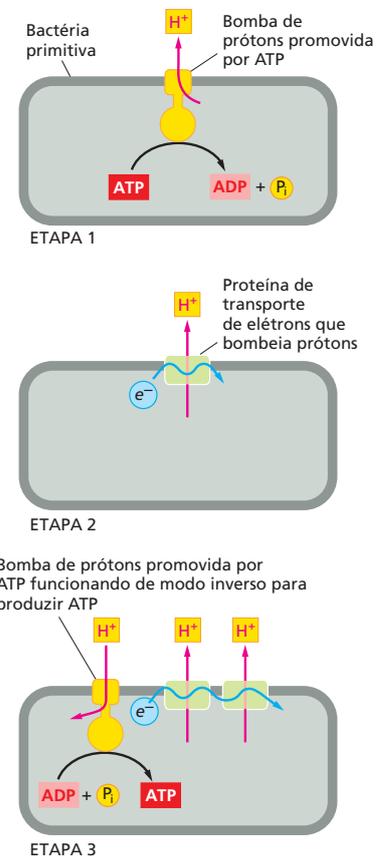


Figura 14-43 A fosforilação oxidativa deve ter evoluído em etapas. A primeira etapa pode ter incluído a evolução de uma ATPase que bombeava prótons para fora da célula utilizando a energia da hidrólise do ATP. A etapa 2 poderia ter incluído a evolução de uma bomba de prótons diferente, impulsionada por uma cadeia de transporte de elétrons. Na etapa 3 teria então ocorrido a união desses dois sistemas para gerar uma ATP-sintase que utiliza os prótons bombeados pela cadeia transportadora de elétrons para sintetizar ATP. Uma bactéria com esse sistema final teria uma vantagem seletiva sobre as bactérias com apenas um dos sistemas ou sem sistema algum.

de volta para o interior da célula por meio de bombas de H^+ promovidas por ATP (etapa 3 na Figura 14-43). Uma vez que essas células teriam requerido muito menos do cada vez mais escasso suprimento de nutrientes fermentáveis, elas teriam proliferado à custa de seus vizinhos.

As bactérias fotossintetizantes exigiram ainda menos dos seus ambientes

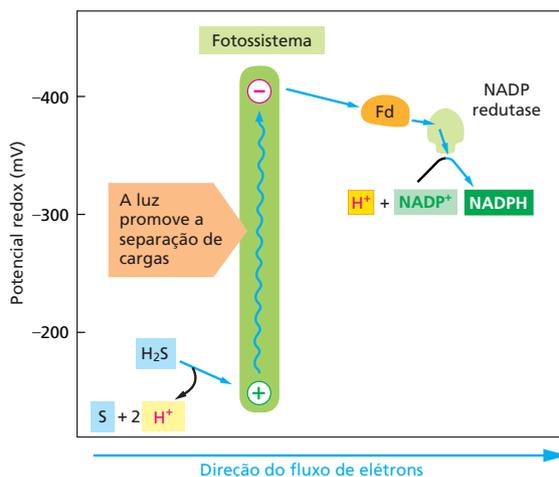
O maior avanço evolutivo no metabolismo energético, no entanto, foi provavelmente a formação de centros de reação fotoquímica que podiam usar a energia da luz solar para produzir moléculas como NADH. Acredita-se que esse desenvolvimento ocorreu no começo do processo de evolução celular – há mais de 3 bilhões de anos, nos ancestrais das bactérias verdes sulfurosas. As bactérias verdes sulfurosas de hoje usam a energia luminosa para transferir átomos de hidrogênio (um elétron mais um próton) do H_2S para o NADPH, criando, dessa forma, o forte poder redutor necessário para a fixação do carbono (Figura 14-44).

Considera-se que o próximo passo tenha envolvido a evolução de organismos capazes de utilizar a água em vez do H_2S como fonte de elétrons para a fotossíntese. Isso acarretou a evolução de uma enzima que quebra a água e a adição de um segundo fotossistema, agindo em conjunção com o primeiro, para superar a enorme diferença em potencial redox entre H_2O e NADPH (ver Figura 14-38). As consequências biológicas desse passo evolutivo foram de longo alcance. Pela primeira vez, havia organismos que tinham poucas demandas químicas de seu ambiente. Estas células – incluindo as primeiras cianobactérias (ver Figura 14-27) – poderiam ter se espalhado e evoluído de forma diferente das primeiras bactérias fotossintéticas que haviam falhado devido à dependência de H_2S , ácidos orgânicos ou outras moléculas como fonte de elétrons. Consequentemente, grandes quantidades de materiais orgânicos fermentáveis – produzidos por essas células e seus antepassados – começaram a se acumular. Além disso, o O_2 foi lançado na atmosfera em grandes quantidades (Figura 14-45).

A disponibilidade de O_2 tornou possível o desenvolvimento de bactérias que dependiam do metabolismo aeróbio para produzir ATP. Como foi apresentado antes, esses organismos podiam aproveitar a grande quantidade de energia liberada pela quebra de carboidratos e outras moléculas orgânicas reduzidas, todos no caminho do CO_2 e H_2O .

Conforme o material orgânico se acumulava como um subproduto da fotossíntese, algumas bactérias fotossintetizantes – incluindo os ancestrais da bactéria *E. coli* – perderam sua capacidade de sobreviver apenas da energia luminosa e passaram a depender inteiramente da respiração celular. A mitocôndria surgiu provavelmente quando uma célula pré-eucariótica incorporou uma bactéria ae-

Figura 14-44 A fotossíntese nas bactérias verdes sulfurosas utiliza o sulfeto de hidrogênio (H_2S) como doador de elétrons em detrimento da água. Os elétrons são mais facilmente retirados do H_2S do que da água, pois o H_2S possui um potencial redox muito maior (compare com a Figura 14-38). Portanto, somente um fotossistema é necessário para produzir NADPH, sendo formado como subproduto o enxofre elementar, em vez do O_2 . O fotossistema na bactéria verde sulfurosa se assemelha ao fotossistema I em plantas e cianobactérias. Os dois fotossistemas usam uma série de centros ferro-enxofre como carreadores de elétrons que, por fim, doam seus elétrons de alta energia à ferredoxina (Fd). Um exemplo de uma bactéria desse tipo é a *Chlorobium tepidum*, que pode prosperar em altas temperaturas e com baixa intensidade luminosa nas fontes termais.



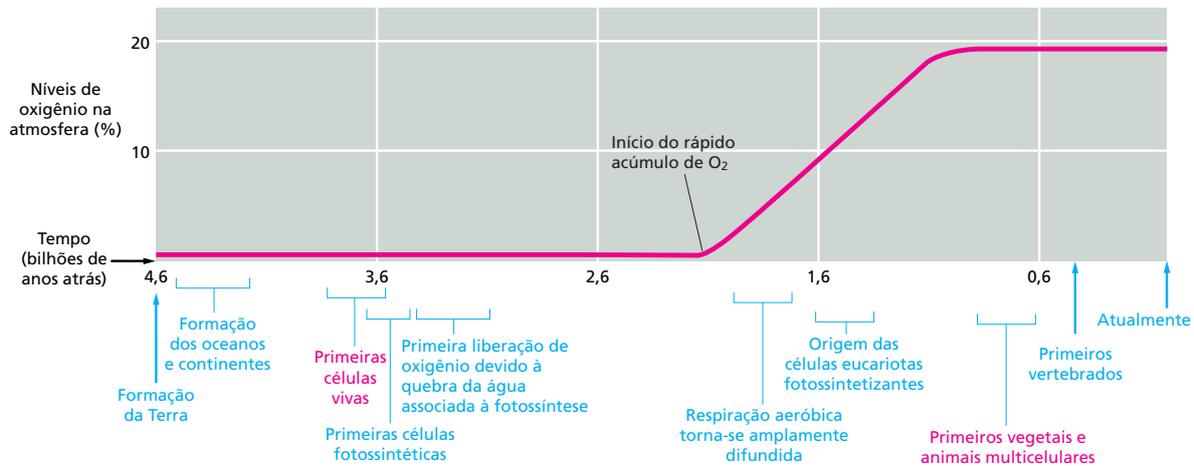


Figura 14-45 O oxigênio entrou na atmosfera da Terra há bilhões de anos.

Com a evolução da fotossíntese em procariontes, há mais de 3 bilhões de anos, os organismos tornaram-se independentes de produtos químicos orgânicos pré-formados. Dessa forma, eles teriam condições de produzir suas próprias moléculas orgânicas a partir do CO₂. Acredita-se que a demora de mais de um bilhão de anos entre o surgimento da bactéria capaz de quebrar a água e liberar O₂ durante a fotossíntese e o acúmulo de altos níveis de O₂ na atmosfera é devida à reação inicial do O₂ com o abundante ferro (Fe²⁺) dissolvido nos oceanos primitivos. Apenas quando o ferro foi esgotado, grandes quantidades de O₂ teriam começado a se acumular na atmosfera. Em resposta ao aumento da quantidade de O₂ na atmosfera, organismos não fotossintéticos aeróbicos apareceram, e a concentração de O₂ na atmosfera finalmente se equilibrou.

róbica (ver Figura 1-18). Os vegetais surgiram um pouco mais tarde, quando um descendente desses eucariotes aeróbios primitivos capturou uma bactéria fotossintetizante, a qual se tornou o precursor dos cloroplastos (ver Figura 1-20). Uma vez que os eucariotes adquiriram os simbiontes bacterianos que se tornaram mitocôndrias e cloroplastos, eles poderiam, então, embarcar no fantástico caminho da evolução que, por fim, levou aos organismos multicelulares complexos.

O estilo de vida do *Methanococcus* sugere que o acoplamento quimiosmótico seja um processo antigo

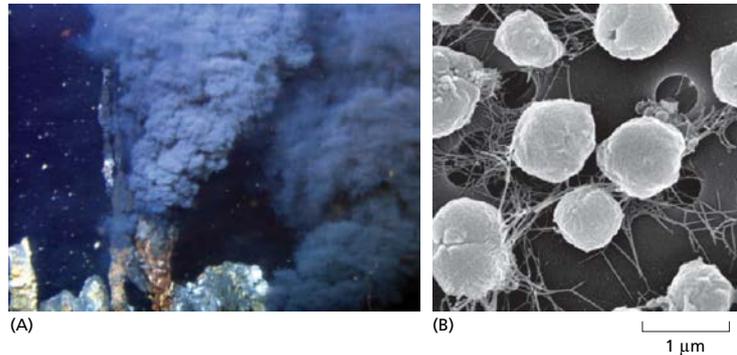
As condições de hoje que mais se assemelham àquelas sob as quais se acredita que as células viviam há 3,5 a 3,8 bilhões de anos podem ser as das fendas hidrotérmicas das profundezas oceânicas. Essas fendas representam lugares onde o manto fundido da Terra está rompendo a crosta, expandindo a largura do solo oceânico. De fato, os organismos modernos que aparentam ser os mais próximos a essas células hipotéticas das quais toda a vida evoluiu vivem em temperaturas de 75 a 95°C, perto da temperatura da água em ebulição. Essa capacidade de prosperar em tais temperaturas extremas sugere que o ancestral comum da vida – a célula que originou bactérias, arqueias e eucariotes – viveu sob condições anaeróbicas muito quentes.

Uma dessas arqueias que vive hoje nesse ambiente é *Methanococcus jannaschii*. Originalmente isolado de uma fenda hidrotérmica localizada a mais de uma milha abaixo da superfície do oceano, esse organismo cresce na ausência completa de luz e oxigênio gasoso, utilizando gases inorgânicos como nutrientes – hidrogênio (H₂), CO₂ e nitrogênio (N₂) – que borbulham do respiradouro (Figura 14-46). Seu modo de existência nos dá uma dica de como as células primitivas poderiam ter usado o transporte de elétrons para produzir energia, e de como extraíram moléculas de carbono a partir de materiais inorgânicos que estavam livremente disponíveis na quente Terra primitiva.

O *Methanococcus* depende do gás N₂ como fonte de nitrogênio para produzir moléculas como aminoácidos. O organismo reduz o N₂ à amônia (NH₃) pela adição de hidrogênio, um processo chamado de **fixação de nitrogênio**. A fixação do azoto requer uma grande quantidade de energia, assim como o processo de fixação de carbono que converte CO₂ e H₂O em açúcares. Grande parte da energia de que *Methanococcus* necessita para ambos os processos é proveniente da transferência de elétrons do H₂ para o CO₂, com a liberação de grandes quantidades de metano (CH₄) como produto residual (produzindo, assim, o gás natural e dando seu nome ao organismo). Parte dessa transferência de elétrons ocorre na membrana plasmática e resulta no bombeamento de prótons (H⁺) através dela.

Figura 14-46 *Methanococcus* representam formas de vida que poderiam ter existido no início da história da Terra.

(A) Estas arqueias de oceanos profundos vivem em respiradouros hidrotermais, como esta apresentada, onde as temperaturas quase alcançam a temperatura da água em ebulição. (B) Micrografia eletrônica de varredura mostrando células individuais de *Methanococcus*. Estes organismos utilizam o gás hidrogênio (H_2) que borbulha dos respiradouros, como fonte de poder redutor para gerar energia a partir do acoplamento quimiosmótico. (A, cortesia de National Oceanic and Atmospheric Administration's Pacific Marine Environmental Laboratory Vents Program; B, cortesia de Chan B. Park.)



O gradiente eletroquímico de prótons resultante leva uma ATP-sintase, da mesma membrana, a produzir ATP.

O fato de que existe esse acoplamento quimiosmótico em um organismo como o *Methanococcus* sugere que o armazenamento de energia em um gradiente de prótons, devido ao transporte de elétrons, é um processo extremamente antigo. Assim, o acoplamento quimiosmótico pode ter abastecido de energia a evolução de quase todas as formas de vida na Terra.

CONCEITOS ESSENCIAIS

- As mitocôndrias, os cloroplastos e muitos procariotos geram energia por um mecanismo baseado em membrana, conhecido como acoplamento quimiosmótico, que envolve a utilização de um gradiente eletroquímico de prótons para promover a síntese de ATP.
- As mitocôndrias produzem a maior parte do ATP das células animais, usando a energia derivada da oxidação de açúcares e ácidos graxos.
- As mitocôndrias possuem uma membrana interna e outra externa. A membrana interna encerra a matriz mitocondrial, na qual o ciclo do ácido cítrico produz grandes quantidades de NADH e $FADH_2$ a partir da oxidação de acetil-CoA.
- Na membrana mitocondrial interna, os elétrons de alta energia doados pelos NADH e $FADH_2$ são transferidos ao longo de uma cadeia transportadora de elétrons e, por fim, combinam-se com o oxigênio molecular (O_2) para formar água.
- Grande parte da energia liberada pela transferência de elétrons ao longo da cadeia transportadora de elétrons é aproveitada para bombear prótons (H^+) para fora da matriz mitocondrial, criando um gradiente eletroquímico de prótons. O bombeamento de prótons é conduzido por três grandes complexos enzimáticos respiratórios embebidos na membrana interna.
- O gradiente eletroquímico de prótons, através da membrana mitocondrial interna, é utilizado para produzir ATP quando os prótons se movem de volta para o interior da matriz, por meio de uma ATP-sintase localizada na membrana interna.
- O gradiente eletroquímico de prótons também promove o transporte ativo de metabólitos selecionados para dentro e para fora da matriz mitocondrial.
- Na fotossíntese realizada nos cloroplastos e nas bactérias fotossintéticas, a energia da radiação luminosa é capturada por moléculas de clorofila incorporadas em grandes complexos de proteínas denominados fotossistemas; nos vegetais, esses fotossistemas estão localizados nas membranas dos tilacoides dos cloroplastos nas células das folhas.
- As cadeias transportadoras de elétrons, associadas aos fotossistemas, transferem elétrons de alta energia da água para o $NADP^+$, para formar NADPH, gerando o O_2 como subproduto.
- As cadeias transportadoras de elétrons da fotossíntese nos cloroplastos também geram um gradiente de prótons através da membrana do tilacoide,

o qual é utilizado por uma ATP-sintase incorporada na membrana, para formar o ATP.

- O ATP e o NADPH, produzidos na fotossíntese, são usados no interior do estroma do cloroplasto para promover o ciclo de fixação de carbono que produz carboidratos a partir de CO_2 e água.
- O carboidrato é exportado do estroma para o citosol da célula, onde é utilizado como material de partida para a síntese de outras moléculas orgânicas.
- Acredita-se que tanto as mitocôndrias quanto os cloroplastos evoluíram de bactérias que foram endocitadas por outras células. Ambos mantêm seu próprio genoma e se dividem por processos que se assemelham à divisão celular bacteriana.
- Os mecanismos de acoplamento quimiosmótico têm origem muito antiga. Microrganismos modernos que vivem em ambientes semelhantes àqueles que supostamente existiam na Terra primitiva também utilizam o acoplamento quimiosmótico para produzir ATP.

TERMOS-CHAVE

acoplamento quimiosmótico

ATP-sintase

cadeia transportadora de elétrons

centro de reação

centro ferro-enxofre

citocromo

citocromo c-oxidase

clorofila

cloroplasto

complexo antena

complexo enzimático respiratório

estroma

fixação de carbono

fixação de nitrogênio

fosforilação oxidativa

fotossistema

fotossíntese

matriz

mitocôndria

par redox

potencial redox

quinona

reação redox

reações de fase clara

reações de fase escura

respiração celular

tilacoide

TESTE SEU CONHECIMENTO

QUESTÃO 14-11

Quais das seguintes afirmativas estão corretas? Justifique sua resposta.

- Após um elétron ter sido removido pela luz, a afinidade por elétrons da clorofila carregada positivamente no centro de reação do primeiro fotossistema (fotossistema II) é comparativamente maior do que a afinidade por elétrons do O_2 .
- A fotossíntese é a transferência, promovida pela luz, de um elétron da clorofila para uma segunda molécula que costuma ter afinidade muito menor por elétrons.
- Devido à necessidade de remover quatro elétrons para que ocorra a liberação de uma molécula de O_2 a partir de duas moléculas de H_2O , a enzima que quebra a água presente no fotossistema II precisa manter os intermediários da reação firmemente unidos para impedir reduções parciais e, portanto, minimizar o risco de escape de radicais superóxido.

QUESTÃO 14-12

Quais das seguintes afirmativas estão corretas? Justifique sua resposta.

- Muitas reações de transferência de elétrons, porém não todas, envolvem íons metálicos.
- A cadeia transportadora de elétrons gera um potencial elétrico através da membrana porque move elétrons do espaço intermembranar para a matriz.
- O gradiente eletroquímico de prótons consiste em dois componentes: uma diferença de pH e um potencial elétrico.
- A ubiquinona e o citocromo c são carreadores difusíveis de elétrons.
- As plantas possuem cloroplastos e, portanto, podem sobreviver sem mitocôndrias.
- Tanto a clorofila quanto o grupamento heme contêm um extenso sistema de ligações duplas que permitem absorver a luz visível.
- A função da clorofila na fotossíntese é equivalente àquela do grupamento heme no transporte mitocondrial de elétrons.
- A maior parte do peso seco de uma árvore vem dos minerais captados pelas raízes.

QUESTÃO 14-13

Um único próton que se move a favor do seu gradiente eletroquímico para o espaço da matriz mitocondrial libera 4,6 kcal/mol de energia livre (ΔG). Quantos prótons devem fluir através da membrana mitocondrial interna para sintetizar uma molécula de ATP se o ΔG para a síntese de ATP sob as condições intracelulares está entre 11 e 13 kcal/mol? (O ΔG foi discutido no Capítulo 3, p. 90-100.) Por que é dada uma aproximação para esse último valor, e não um número preciso? Sob que condições o valor mais baixo seria aplicado?

QUESTÃO 14-14

Na afirmação seguinte, escolha a alternativa correta em itálico e justifique a sua resposta. "Se não houver O_2 disponível, todos os componentes da cadeia transportadora de elétrons mitocondrial se acumularão nas suas formas *reduzidas/oxidadas*. Se o O_2 for adicionado novamente, os carreadores de elétrons no citocromo c-oxidase se tornarão *reduzidos/oxidados antes/depois* daqueles na NADH-desidrogenase".

QUESTÃO 14-15

Suponha que a conversão da ubiquinona oxidada em ubiquinona reduzida por NADH-desidrogenase ocorra na face interna da membrana mitocondrial voltada para a matriz, e que a sua oxidação pelo citocromo c-redutase ocorra na região do espaço intermembranar (ver Figuras 14-14 e 14-23). Quais são as consequências desse arranjo para a geração do gradiente de H^+ através da membrana?

QUESTÃO 14-16

Se uma voltagem é aplicada em dois eletrodos de platina imersos em água, as moléculas de água são quebradas nos gases H_2 e O_2 . No eletrodo negativo, elétrons são doados, e o gás H_2 é liberado; no eletrodo positivo, elétrons são captados, e o gás O_2 é produzido. Quando bactérias fotossintetizantes e células vegetais quebram as moléculas de água, elas produzem somente O_2 e não H_2 . Por quê?

QUESTÃO 14-17

Em um criterioso experimento realizado na década de 1960, cloroplastos foram primeiramente embebidos em uma solução ácida de pH 4, de forma que o estroma e o espaço do tilacoide foram acidificados (Figura Q14-17). Eles foram então transferidos para uma solução básica (pH 8). Isso levou a um rápido aumento do pH do estroma para 8, permanecendo o espaço do tilacoide temporariamente com pH 4. Uma explosão de síntese de ATP foi observada, e a diferença de pH entre o tilacoide e o estroma desapareceu.

- A. Explique por que essas condições levaram à síntese de ATP.
- B. É necessário luz para que ocorra o experimento?
- C. O que aconteceria se as soluções fossem trocadas, de forma que a primeira incubação fosse na solução de pH 8, e a segunda, na solução de pH 4?
- D. O experimento confirma ou questiona o modelo quimiosmótico?

Explique sua resposta.

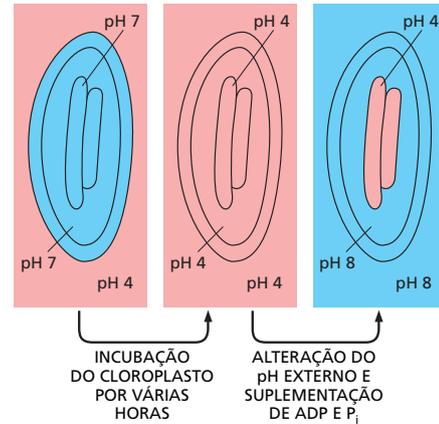


Figura Q14-17

QUESTÃO 14-18

Como seu primeiro experimento em laboratório, seu orientador lhe solicita que faça a reconstituição de bacteriorrodopsina purificada, uma bomba de H^+ promovida pela luz obtida de membranas plasmáticas de bactérias fotossintetizantes, e ATP-sintase, purificada de mitocôndrias do coração de bovino, juntas nas mesmas membranas de vesículas – como apresentado na Figura Q14-18. Você deve, então, adicionar ADP e P_i ao meio externo e irradiar luz sobre a suspensão de vesículas.

- A. O que você observa?
- B. O que você observa se nem todo o detergente é removido, e as membranas das vesículas permanecem permeáveis aos íons?
- C. Você descreve a um amigo, durante o jantar, os seus novos experimentos, e ele questiona a validade de um ensaio que utiliza componentes tão divergentes, de organismos tão pouco relacionados: "Por que alguém iria misturar pudim de baunilha com líquido de freios?". Defenda os seus ensaios contra a crítica.

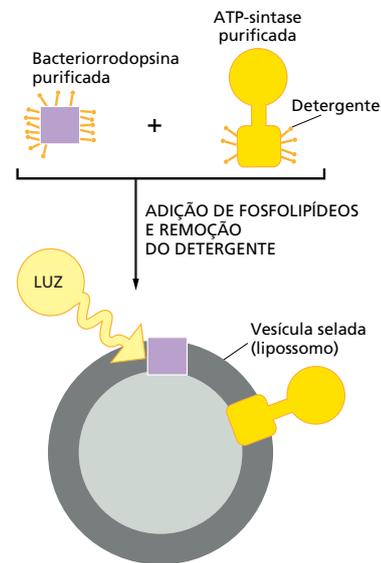
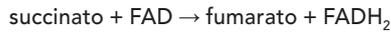


Figura Q14-18

QUESTÃO 14-19

O FADH_2 é produzido no ciclo do ácido cítrico por um complexo enzimático embebido na membrana, chamado de succinato-desidrogenase, que contém FAD ligado e conduz as reações:



e



O potencial redox de FADH_2 , entretanto, é de somente -220 mV. Com referência ao Painel 14-1 (p. 466) e à Figura 14-24, sugira um mecanismo plausível pelo qual os elétrons poderiam ser alimentados para a cadeia transportadora de elétrons. Desenhe um diagrama para ilustrar o seu mecanismo proposto.

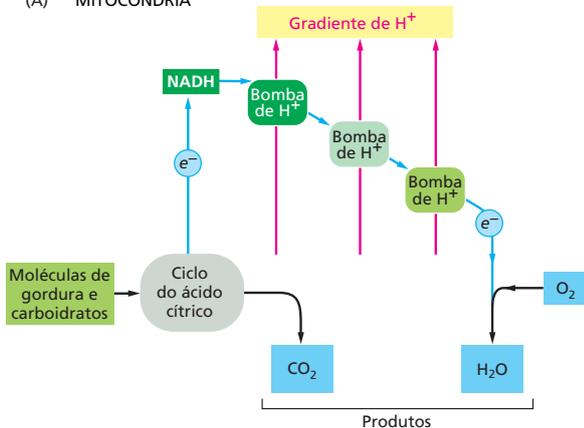
QUESTÃO 14-20

Algumas bactérias se especializaram para viver em ambientes de alto pH (pH ~ 10). Você supõe que essas bactérias utilizam um gradiente de prótons através das suas membranas plasmáticas para produzir ATP? (Dica: todas as células devem manter os seus citoplasmas em um pH próximo à neutralidade.)

QUESTÃO 14-21

A Figura Q14-21 resume o circuito utilizado por mitocôndrias e cloroplastos para interconverter diferentes formas de energia. Está correto afirmar

(A) MITOCÔNDRIA



(B) CLOROPLASTO

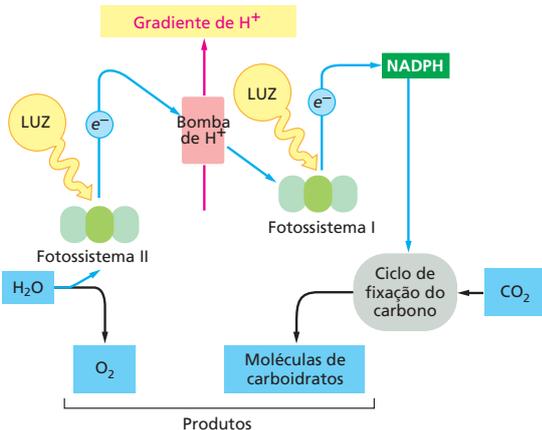


Figura Q14-21

- A. que os produtos dos cloroplastos são os substratos para as mitocôndrias?
- B. que a ativação de elétrons pelos fotossistemas permite aos cloroplastos promover a transferência de elétrons da H_2O para carboidratos, o que é a direção oposta da transferência de elétrons na mitocôndria?
- C. que o ciclo do ácido cítrico é inverso ao ciclo normal de fixação do carbono?

QUESTÃO 14-22

Um original foi submetido para publicação em uma respeitável revista científica. No trabalho, os autores descrevem um experimento no qual eles aprisionaram uma molécula de ATP-sintase e rodaram, mecanicamente, a sua cabeça aplicando uma força sobre ela. Os autores demonstram que, ao rodar a cabeça da ATP-sintase, é produzido ATP, na ausência de um gradiente de H^+ . O que isso significaria acerca do mecanismo pelo qual funciona a ATP-sintase? Esse original deveria ser considerado para publicação em uma das melhores revistas científicas?

QUESTÃO 14-23

Você mistura os componentes a seguir em uma solução. Supondo que os elétrons devem fluir pela rota especificada na Figura 14-14, em quais experimentos você esperaria uma transferência líquida de elétrons para o citocromo c? Discuta por que não ocorre transferência de elétrons em outros experimentos.

- A. Ubiquinona reduzida e citocromo c oxidado
- B. Ubiquinona oxidada e citocromo c oxidado
- C. Ubiquinona reduzida e citocromo c reduzido
- D. Ubiquinona oxidada e citocromo c reduzido
- E. Ubiquinona reduzida, citocromo c oxidado e complexo citocromo c-redutase
- F. Ubiquinona oxidada, citocromo c oxidado e complexo citocromo c-redutase
- G. Ubiquinona reduzida, citocromo c reduzido e complexo citocromo c-redutase
- H. Ubiquinona oxidada, citocromo c reduzido e complexo citocromo c-redutase