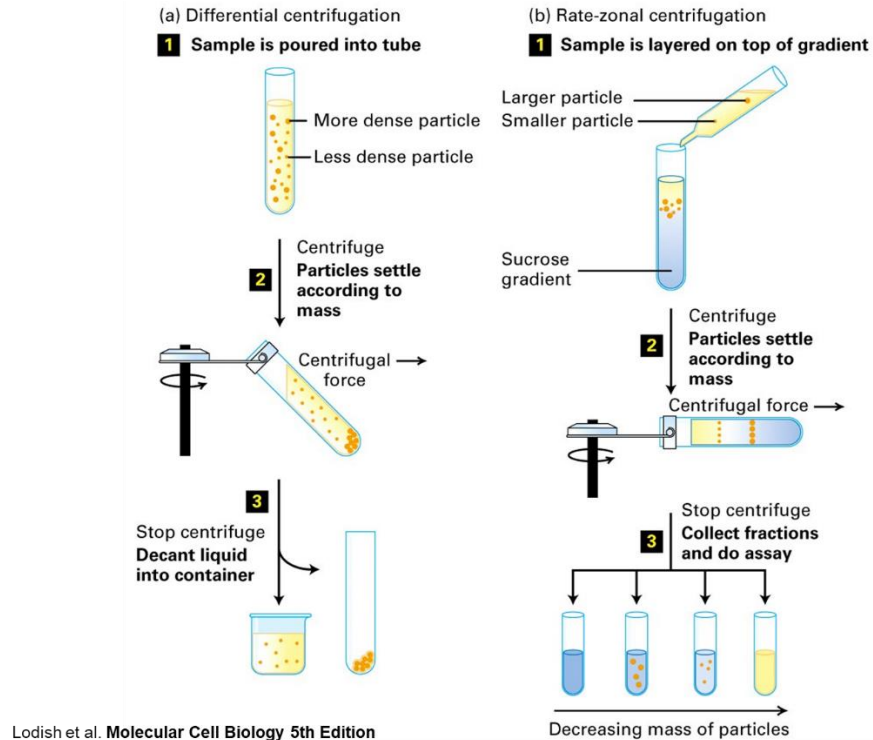
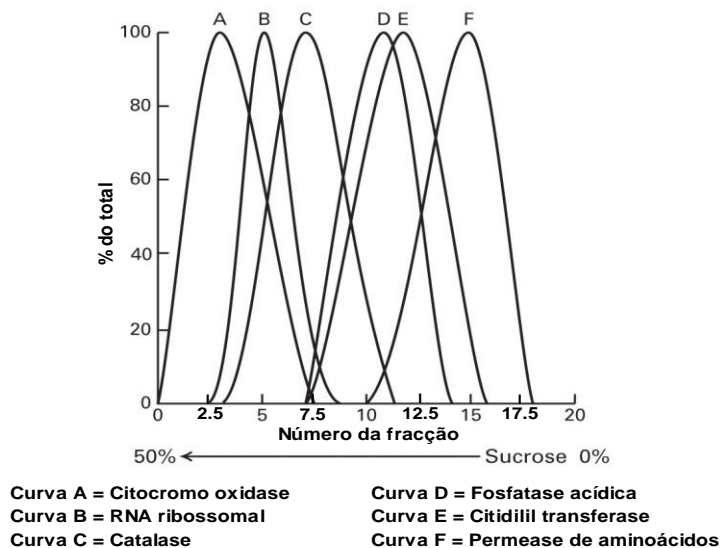


BC 4ª Aula TP – Perguntas sobre Mitocôndria

1. Células de fígado de rato foram homogeneizadas e o extracto foi submetido a centrifugação em gradiente de equilíbrio de densidade (ver imagem abaixo), com gradientes de sucrose.



As fracções obtidas a partir desses gradientes foram testadas para moléculas marcadoras (isto é, moléculas características de organelos específicos). O resultado destes ensaios está representado na figura abaixo.



As moléculas marcadoras têm as seguintes funções:

Citocromo oxidase – (ou complexo IV) última proteína da cadeia transportadora de electrões.

RNA ribossomal – componente primário dos ribossomas, envolvido na síntese proteica

Catalase – enzima que catalisa a decomposição do peróxido de hidrogénio

Fosfatase ácida – enzima que remove um grupo fosfato do seu substrato, em pH ácido

Citidilil transferase – enzima envolvida na síntese de fosfolípidos

Permease de Aminoácidos – proteína transportadora de aminoácidos através das membranas.

Com base nestas informações, indique a molécula marcadora e o número da fracção que é mais enriquecida em cada um dos seguintes organelos:

1.1. Retículo endoplasmático rugoso.

1.2. Mitocôndrias.

1.3. Lisossomas.

1.4. Peroxissoma.

1.5. Reticulo endoplasmático liso.

1.6. Os lisossomas serão mais ou menos densos que as mitocôndrias? Justifique com base na informação da figura.

2. Explique de que forma a estrutura da mitocôndria suporta a sua função.

3. Tendo em consideração os seus conhecimentos de bioenergética mitocondrial e mecanismos de morte celular, indique por que motivo o comprometimento da membrana mitocondrial externa (perda de integridade da membrana externa) conduz a uma diminuição drástica dos níveis de ATP na célula e indução da cascata apoptótica

4. Todos os processos seguintes ocorrem na mitocôndria de células de mamíferos, excepto:

a) glicólise

b) síntese proteica

c) síntese de DNA

d) mutações no DNA

5. Na fosforilação oxidativa a síntese de ATP ocorre:

- a) na membrana externa da mitocôndria
- b) na membrana interna da mitocôndria
- c) no lúmen da mitocôndria
- d) no citosol
- e) todas as hipóteses anteriores

6. As mitocôndrias sofrem ciclos de _____ e de _____, sendo que a primeira serve para aumentar a rede mitocondrial e a segunda serve para aumentar o nº de organelos e/ou é activada em caso de disfunção.

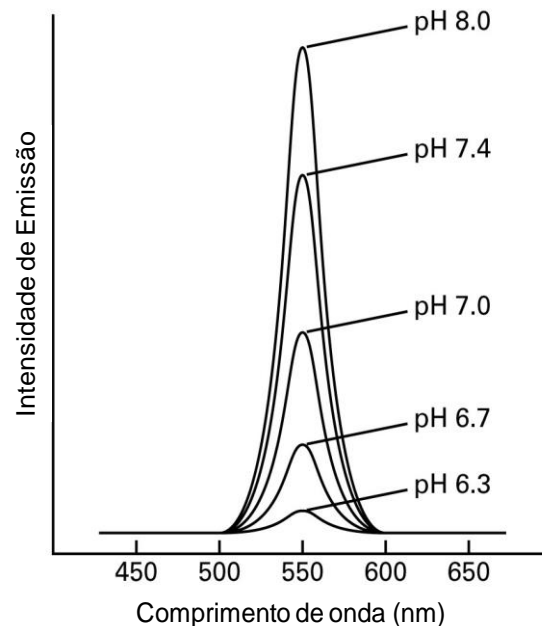
7. Relativamente à mitocôndria, indique a opção falsa:

- a) é o organelo responsável pela produção de oxigénio
- b) a sua membrana interna tem várias circunvoluções para aumentar a área
- c) um importante transportador de electrões mitocondrial é também um factor apoptogénico
- d) parte das proteínas mitocondriais são sintetizadas a partir de DNA genómico

8. Uma molécula capaz de funcionar como inibidor farmacológico de apoptose idealmente deveria actuar: (justifique a sua resposta)

- a) na membrana mitocondrial, evitando a formação de poros
- b) inibindo a actividade da caspase-3
- c) promovendo a expressão de proteínas pró-apoptóticas
- d) destruindo o citocromo-c intracelular

9. O gradiente de prótons pode ser analisado com sondas fluorescentes cujos perfis de intensidade de emissão dependem do pH. Uma das sondas mais utilizadas para medir os gradientes de pH através das membranas mitocondriais é o fluoróforo BCECF. O efeito do pH na intensidade de emissão do BCECF, excitado a 505 nm, está demonstrado na figura abaixo.



Num determinado ensaio, vesículas seladas contendo este composto no interior sofreram um processo em que foram fundidas com vesículas formadas por membranas internas isoladas de mitocôndrias; desta forma, formaram-se vesículas com membrana dupla, com a sonda encapsulada no espaço intermembranar. Estas novas vesículas de dupla membrana foram incubadas num meio não fluorescente.

Quando as vesículas foram incubadas num tampão fisiológico contendo NADH, ADP, Pi e O₂, a fluorescência do BCECF no interior das vesículas diminuiu gradualmente de intensidade. O que é que esta diminuição da intensidade da fluorescência sugere acerca desta preparação de vesículas? Justifique.