https://youtu.be/aC-KZN91CD0?si=TzZf7dyJszlfHm6f

14 OTTOBRE ORE 16:00

Aula 3B dell'edificio D
Via Alfonso Valerio 4/1, Trieste

SARÒ SINTETICO: TRE PIANTE, TRE MOLECOLE, TRE STORIE

LEZIONE

a cura di:
Ruggero Rollini, chimico e divulgatore scientifico

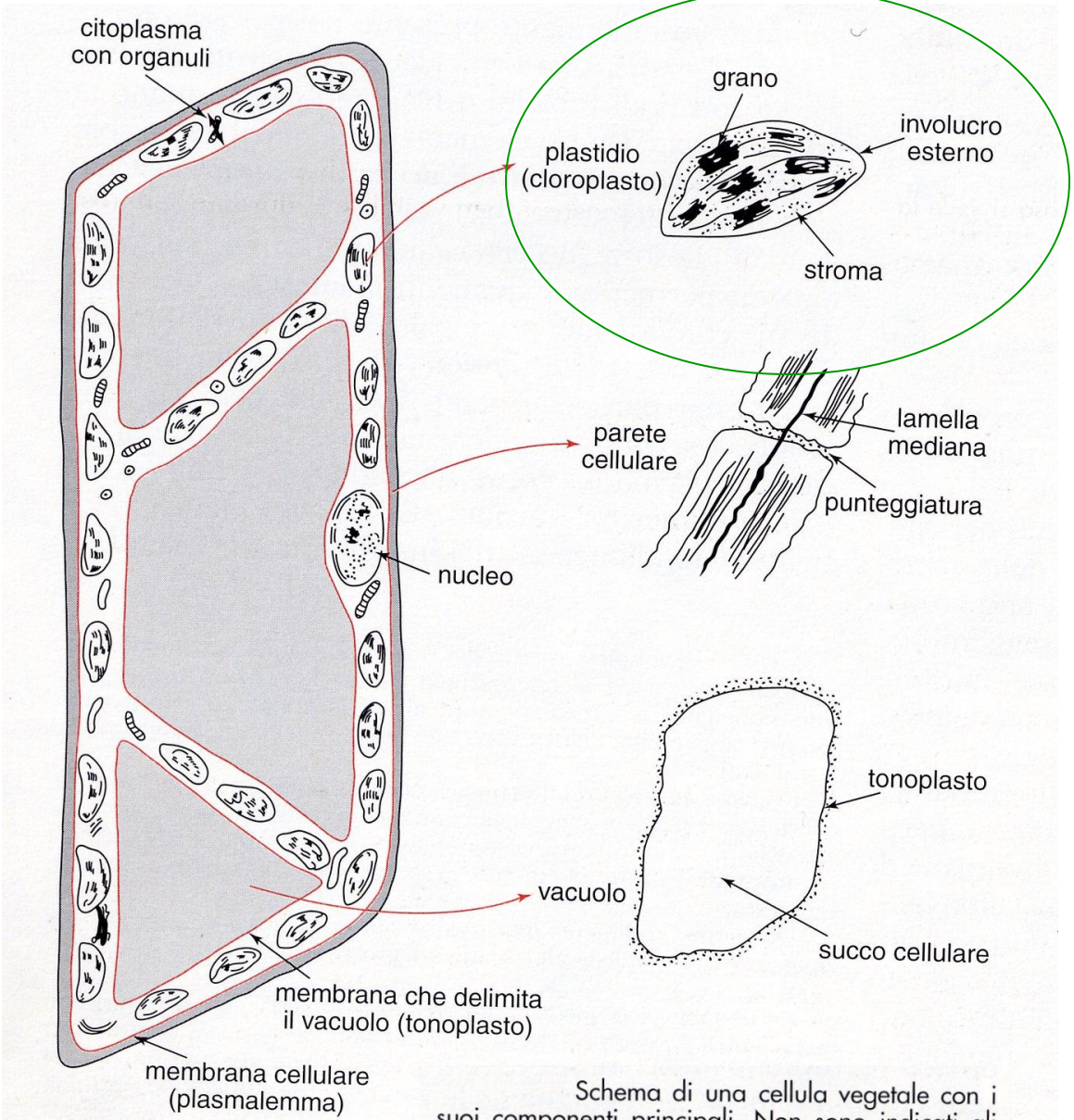
Corso di Laurea in **Scienze e tecnologie per scienza e natura**
Insegnamento di **Botanica generale**

Ospita il docente
Fabio Carniel Candotto

L'appuntamento fa parte di AIRCampus, il progetto con cui AIRC incontra gli studenti delle università italiane.
Affrontiamo il cancro. Insieme.

AIRC CAMPUS

INFO E CONTATTI
airc.it | campus.airc.it | infocampus@airc.it



Schema di una cellula vegetale con i suoi componenti principali. Non sono indicati gli organuli citoplasmatici identici a quelli della cellula animale: mitocondri, ribosomi, ecc.

PLASTIDI

PARETI
(di diversa natura)

FOTOSINTESI

PLASTIDI

Cianobatteri
(*procarioti*)

VIRIDIPLANTAE

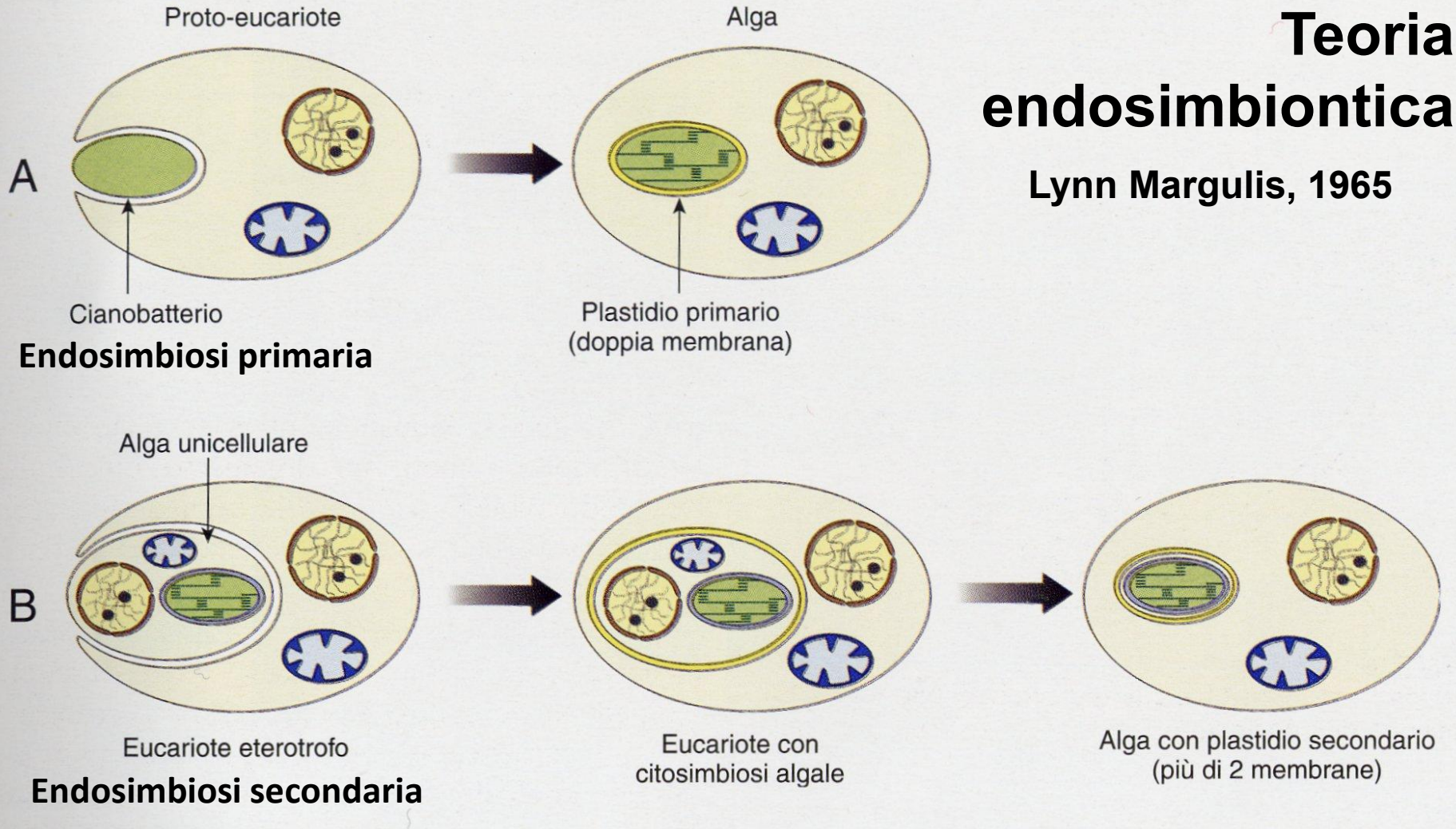
VACUOLO
VEGETATIVO

Alghe varie,
non verdi

Funghi

Teoria endosimbiontica

Lynn Margulis, 1965



La cellula ospitante doveva possedere le seguenti caratteristiche “eucitarie”:

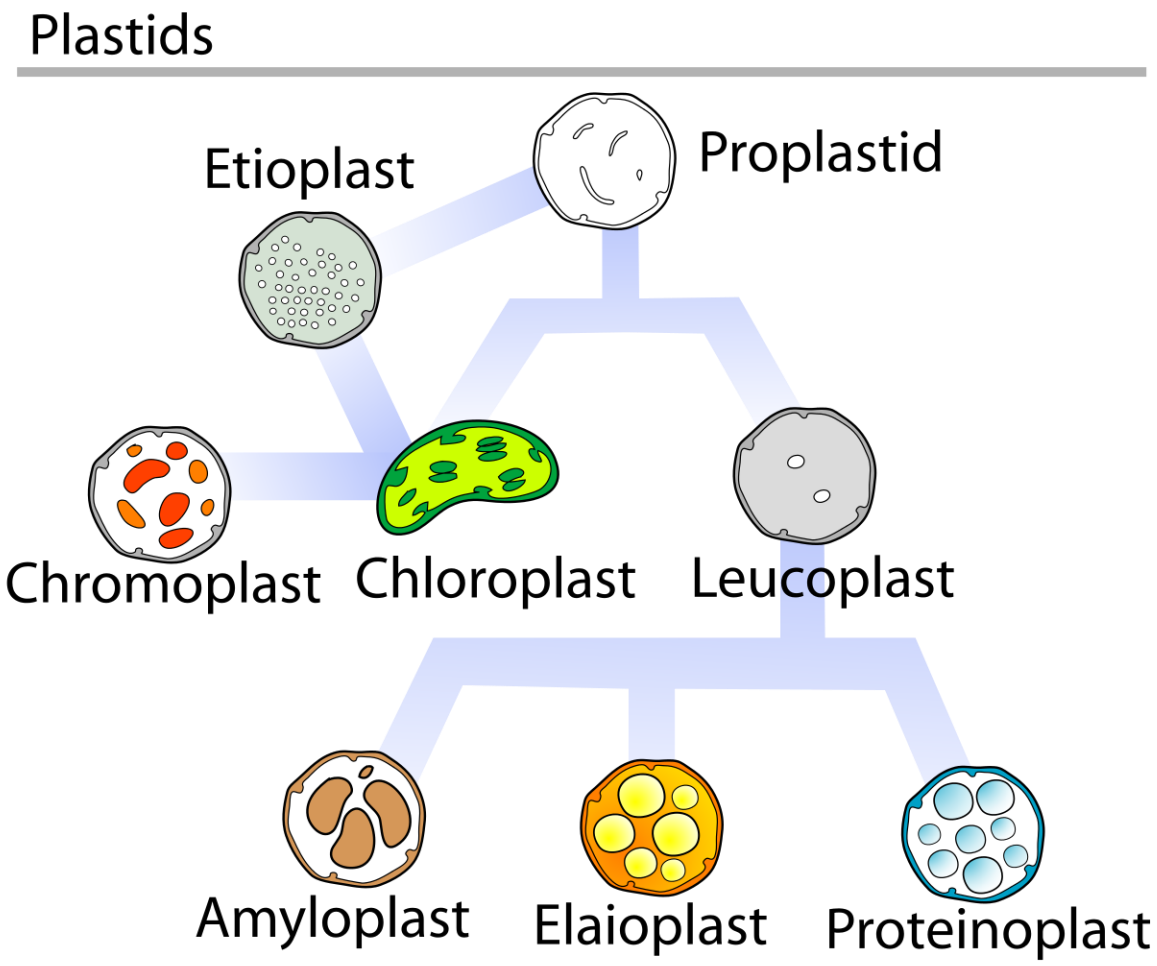
- Sistemi di endomembrane con involucro nucleare;
- Cromosomi lineari;
- Citoscheletro e motomolecole per mitosi e meiosi;
- Motilità ameboide;
- Capacità di fagocitosi.

PROPLASTIDI: dimensioni molto ridotte, presenti in citoplasma delle cellule dei tessuti meristematici (= in attiva divisione).

PROPLASTIDI → → → plastidi

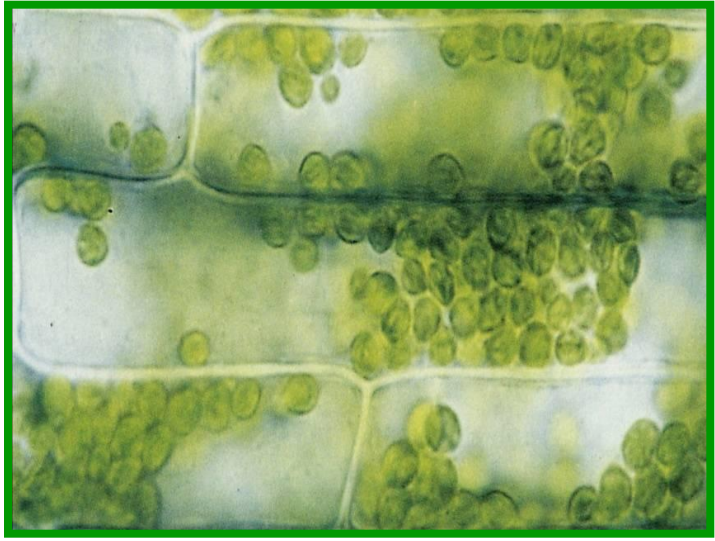
Nello zigote i proplastidi sono in genere di **derivazione materna** (portati dal citoplasma della cellula uovo).

Differenziazione cellulare → sviluppo/"destino" del proplastide in organulo di riserva o di assimilazione (→ulteriore differenziamento in organuli di riserva)

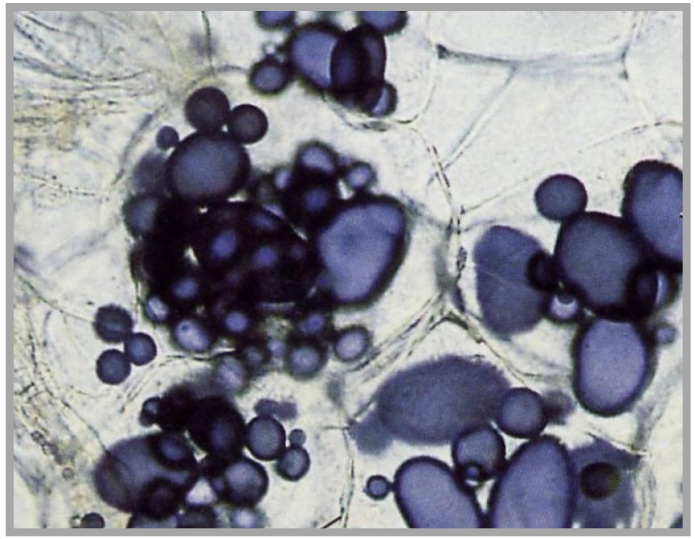


Famiglia di organuli propri degli organismi fotoautotrofi ossigenici eucariotici.

Multiple f(x).



Cloroplasti: assimilazione della CO_2 (fotosintesi) e molto altro…

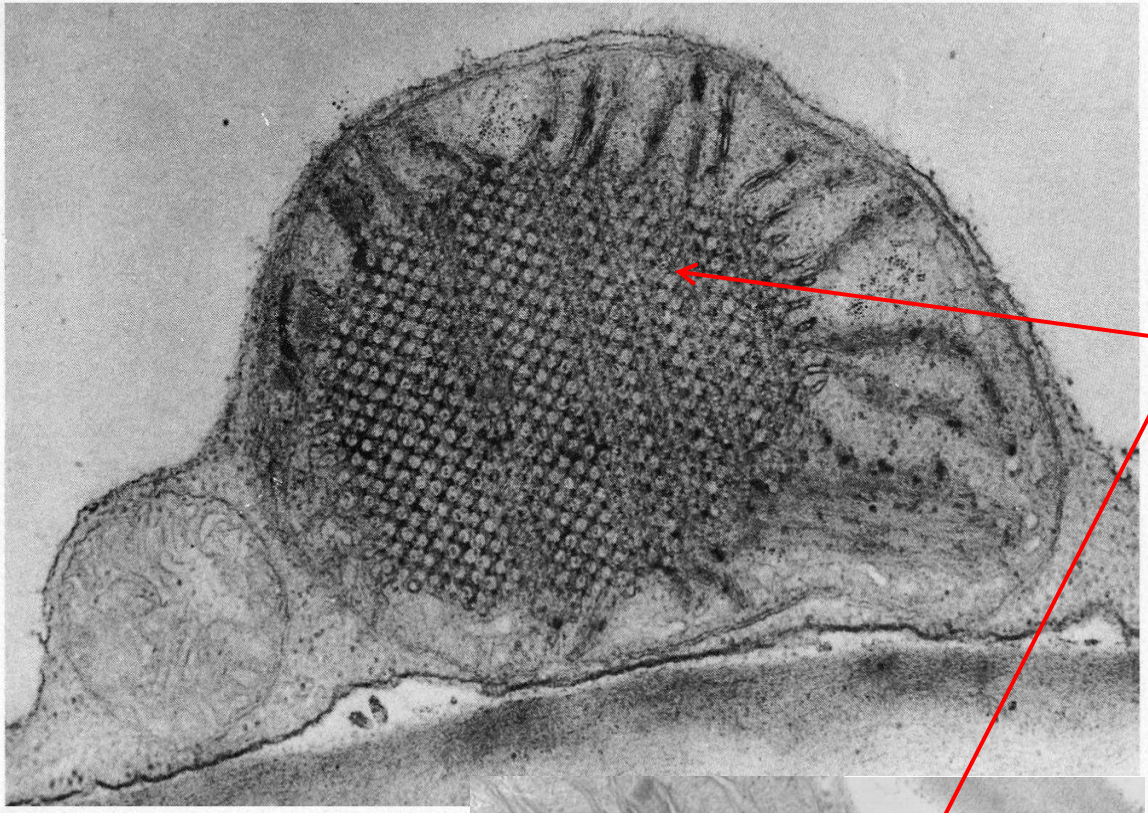


Leucoplasti: accumulo di sostanze di riserva



Cromoplasti: accumulo di pigmenti lipofili (per colorare i tessuti, ma talvolta anche come sostanze di riserva)

EZIOPLASTI



Pianta tenuta al buio
→**Eziolamento**

Corpo prolamellare: tubuli disposti regolarmente

Luce → disgregazione del corpo prolamellare

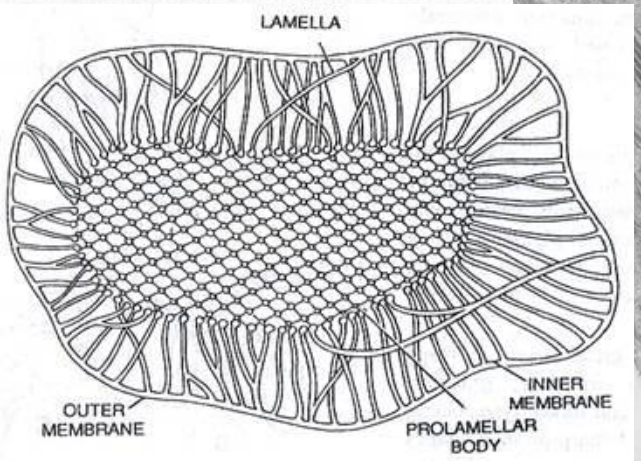
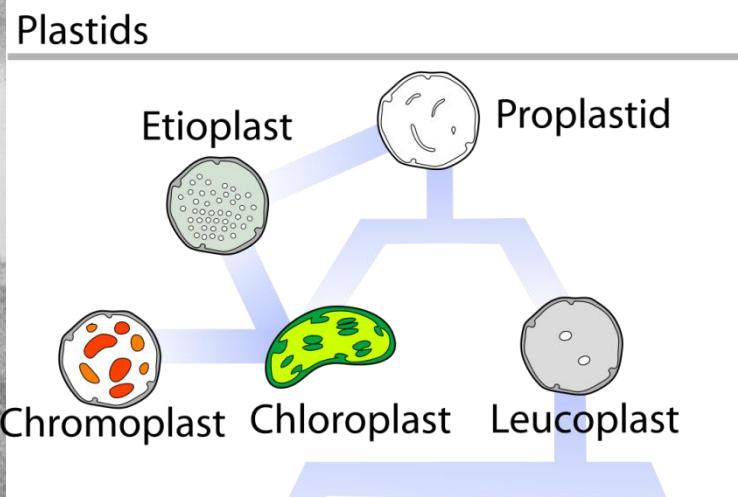


Fig. 33.33. Plastids. A, proplastid which gives rise to a plastid.



Differenze di composizione e proprietà delle due membrane plastidiali:

Membrana esterna:

- relativamente permeabile;
- organizzazione relativamente semplice;
- composizione apparentemente simile a quella di altre membrane presenti nella cellula (es. sono presenti gli steroidi), ma in realtà con alcuni markers procariotici.

Membrana interna:

- barriera selettiva (ricco corredo di trasportatori selettivi);
- ricca in proteine (50%), sede di enzimi (es. sintesi fosfolipidica);
- composizione diversa da quella di altre membrane cellulari, simile alla membrana plasmatica degli EUBATTERI (e.g. presenza di cardiolipina – «diphosphate-glycerol **phospholipid**»).

In alcuni taxa algali il cloroplasto risulta delimitato da membrane soprannumerarie, da 1 a 3 (numero finale di membrane = da 3 a 5!).

CARATTERISTICHE DEI PLASTIDI:

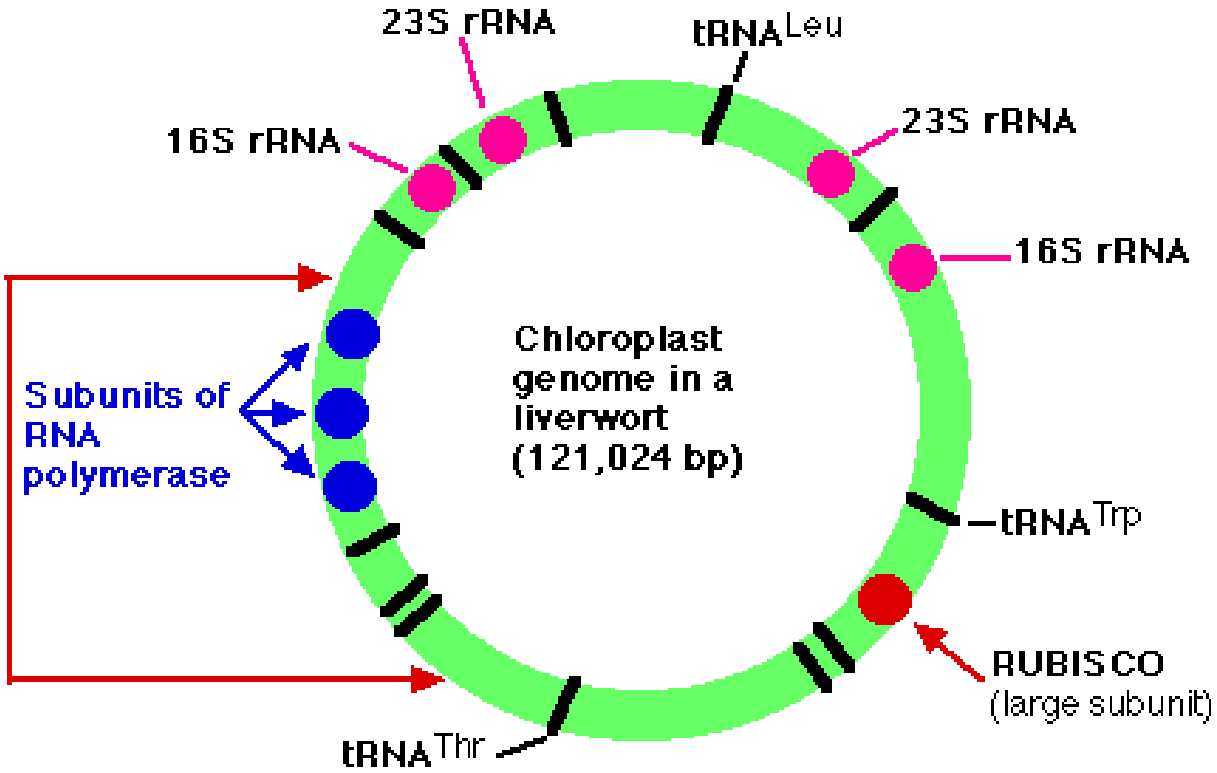
1) **DNA EXTRANUCLEARE** circolare (detto "**PLASTOMA**", cioè il genoma dei plastidi), responsabile di parte dell'ereditarietà extranucleare della cellula;
2) **ribosomi 70S** tipo procariotico (nel citoplasma ribosomi 80S tipo eucariotico) e della macchina di trascrizione e traduzione proteica;
3) **due membrane** (come nei mitocondri!): membrana esterna e membrana interna;
4) sviluppo di ulteriori membrane chiuse, **tilacoidi**, delimitanti spazi interni che **originano dalla membrana interna per un processo di evaginazione**.

PLASTOMA

In mais (*Zea mais*, i plastidi più intensamente indagati) il plastoma codifica per circa 100 proteine (= 1/3-1/2 pool totale di proteine presenti nel plastidio). Sono presenti diverse copie per cloroplasto (che può essere considerato "poliploide", con 40-100 copie di ptDNA).

Affinità "**procariotica**":

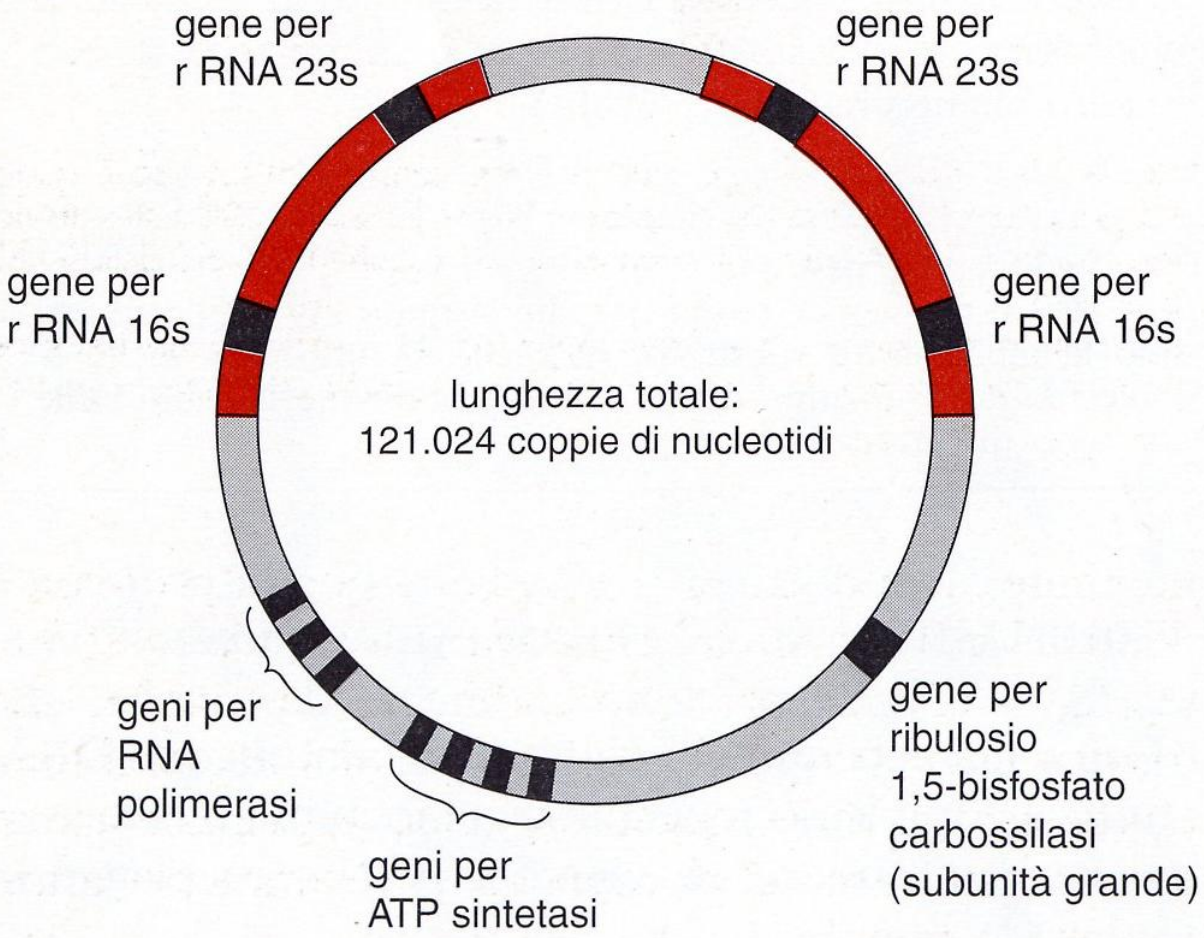
- struttura circolare
- mancano sequenze ripetitive



Affinità "**eucariotica**":

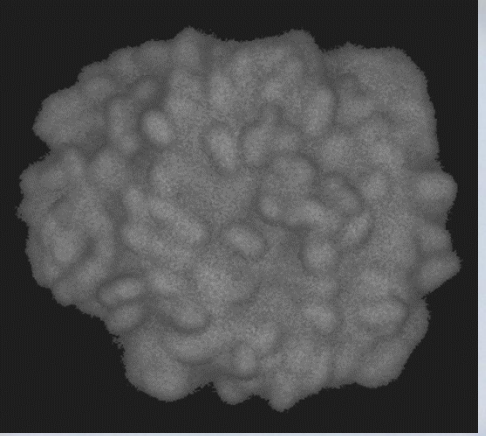
- esistono introni
- complessi multienzimatici codificati almeno in parte dal genoma nucleare

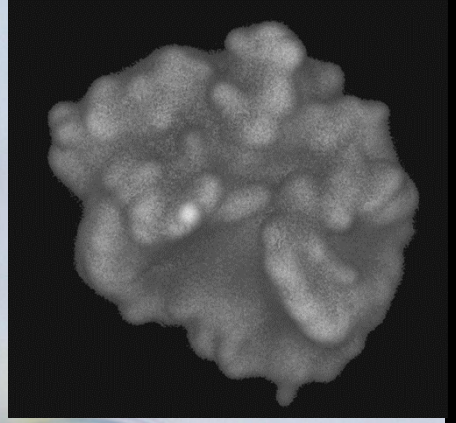
PLASTOMA

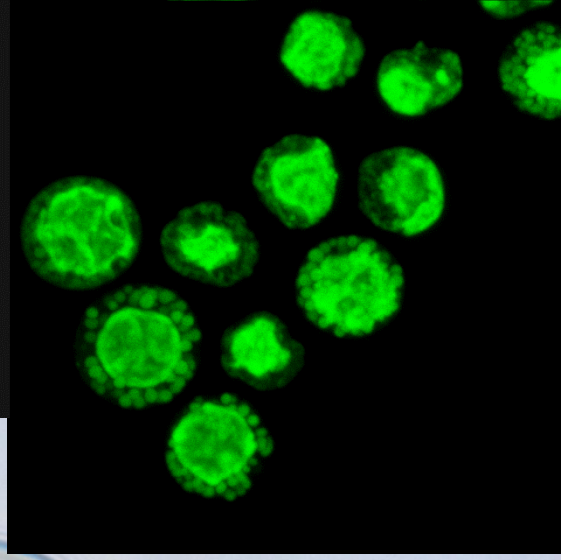


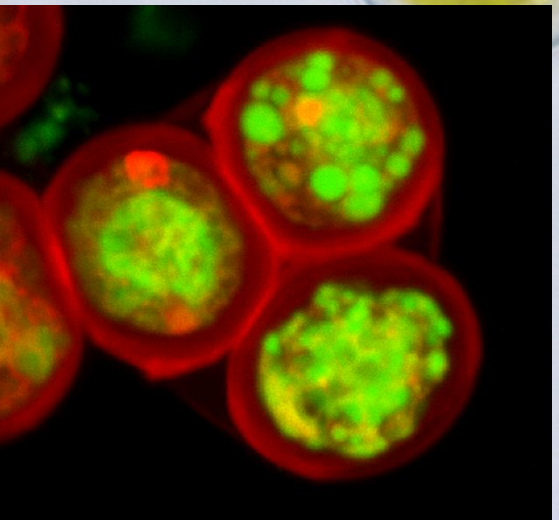
Rappresentazione schematica del DNA dei cloroplasti di un'epatica (una briofita). Il DNA dei cloroplasti delle angiosperme è organizzato nello stesso modo.
Nello schema sono messi in evidenza alcuni geni. Altri geni (per esempio quelli per i vari t-RNA) sono sparsi in molte zone della molecola di DNA. Caratteristica per il DNA dei cloroplasti è una zona contenente i geni per l'RNA ribosomiale (16s e 23s) che è presente in doppia copia. Questa zona è indicata in rosso. Nelle due copie i geni si susseguono in ordine inverso.

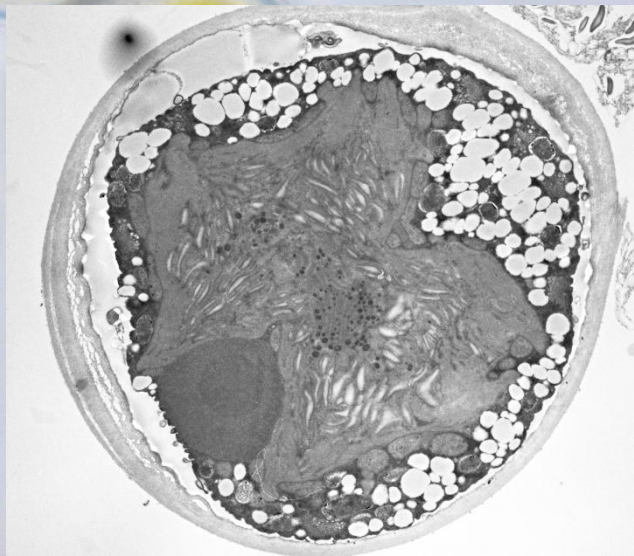
CLOROPLASTI

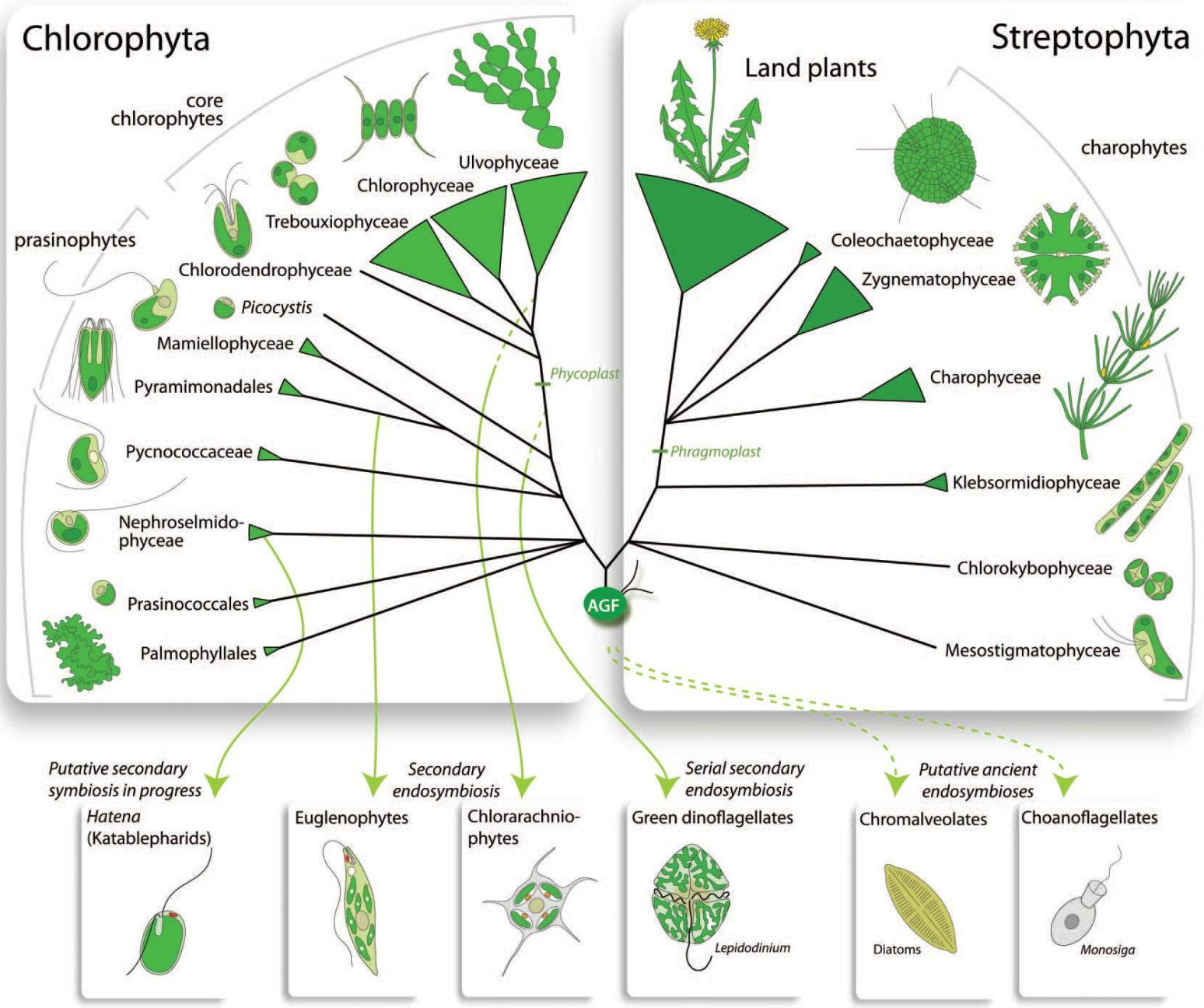










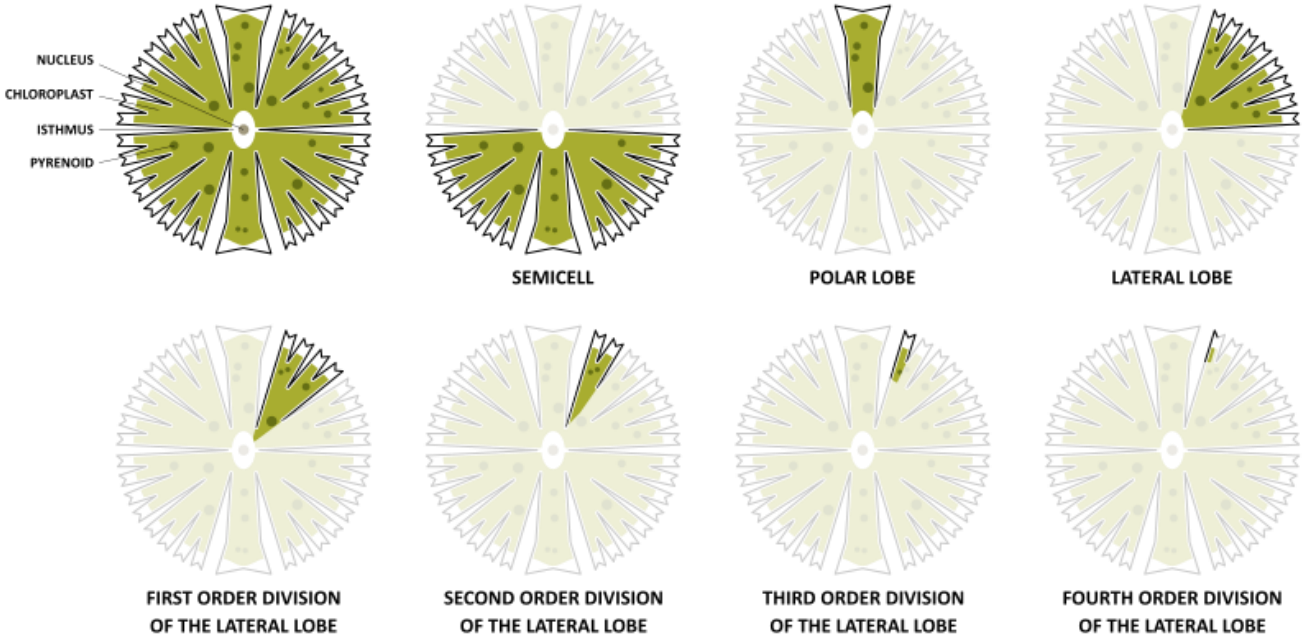


From Leliaert et al. (2012) *Critical Reviews in Plant Sciences, 31:1–46*

Morfologia

In **alghe** i cloroplasti si differenziano molto per morfologia ed ultrastruttura.
In alghe unicellulari: frequente un unico cloroplasto di forma molto variabile …. spesso spettacolare.



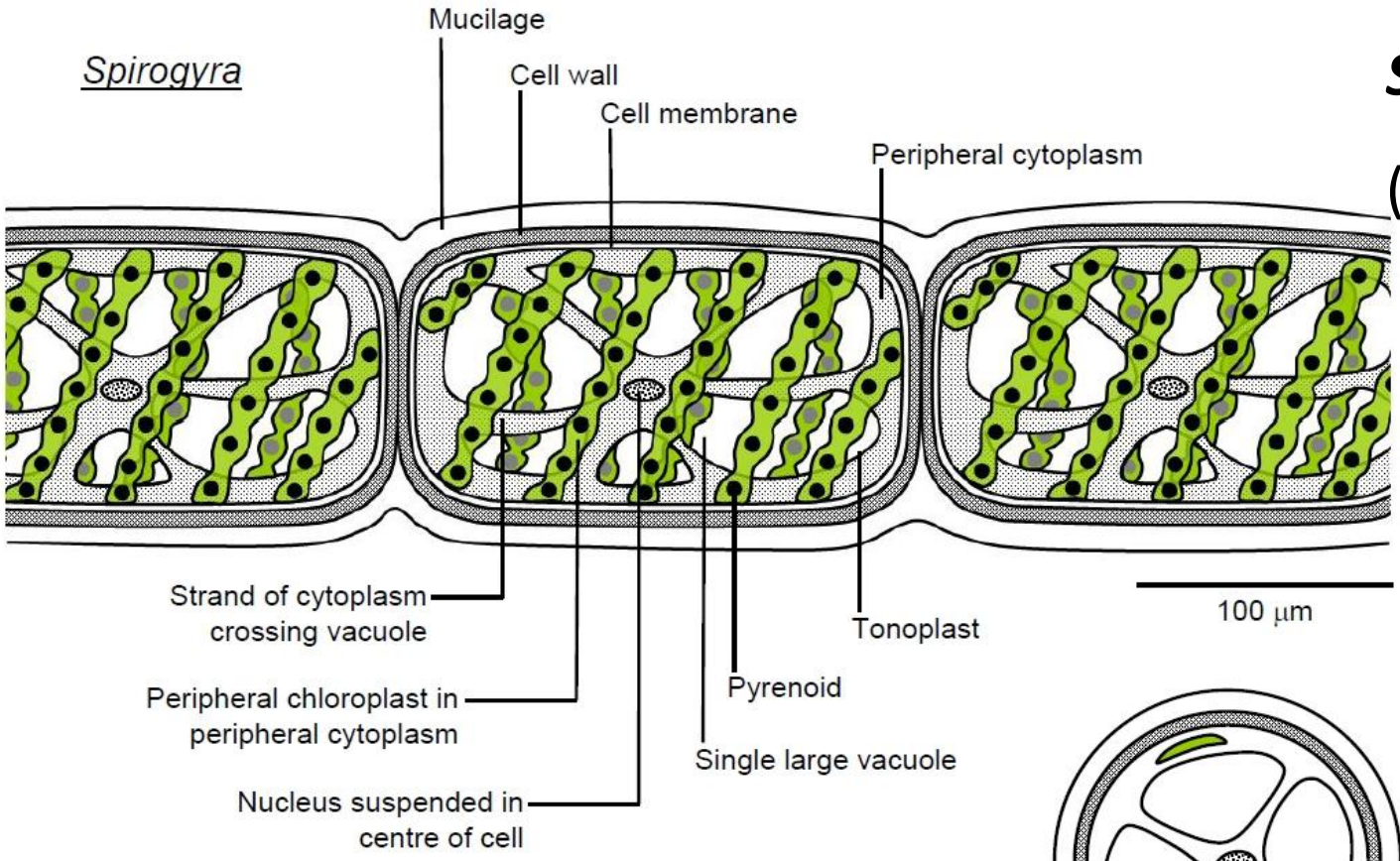


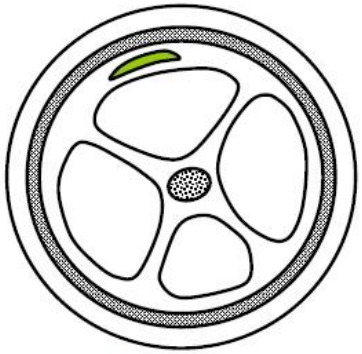
***Micrasteria* sp.** (Charophyceae):

2 semi-cellule, istmo, 1 cloroplasto

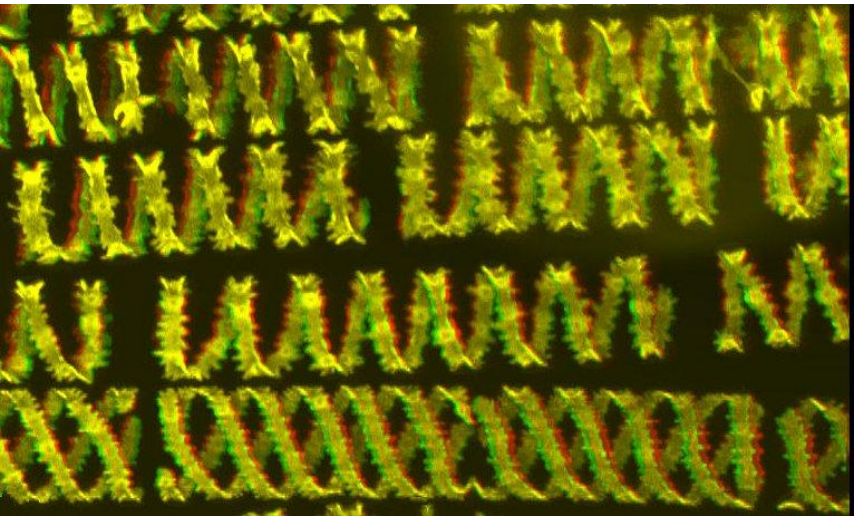
***Spirogyra* sp.**

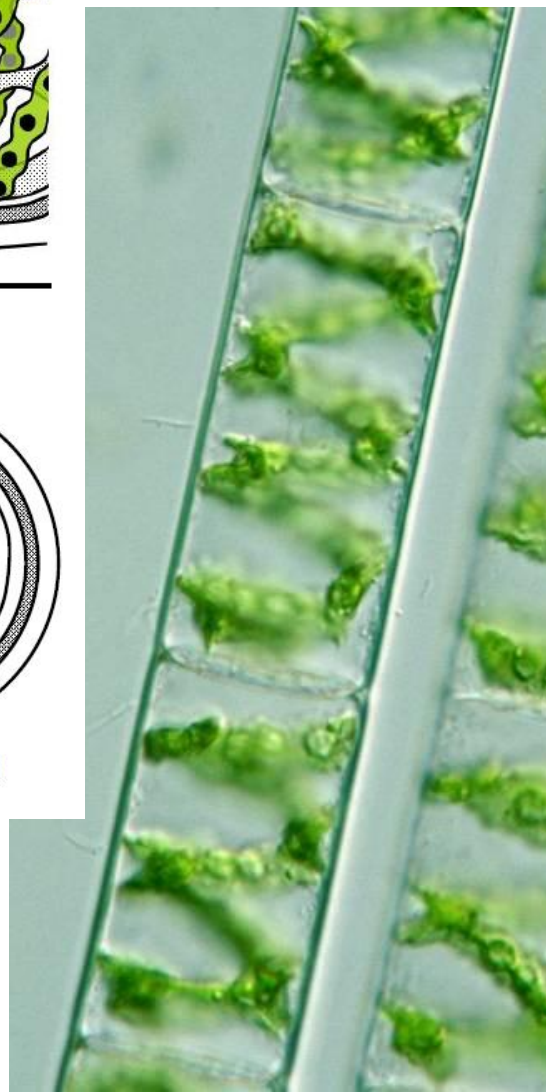
(Charophyceae):

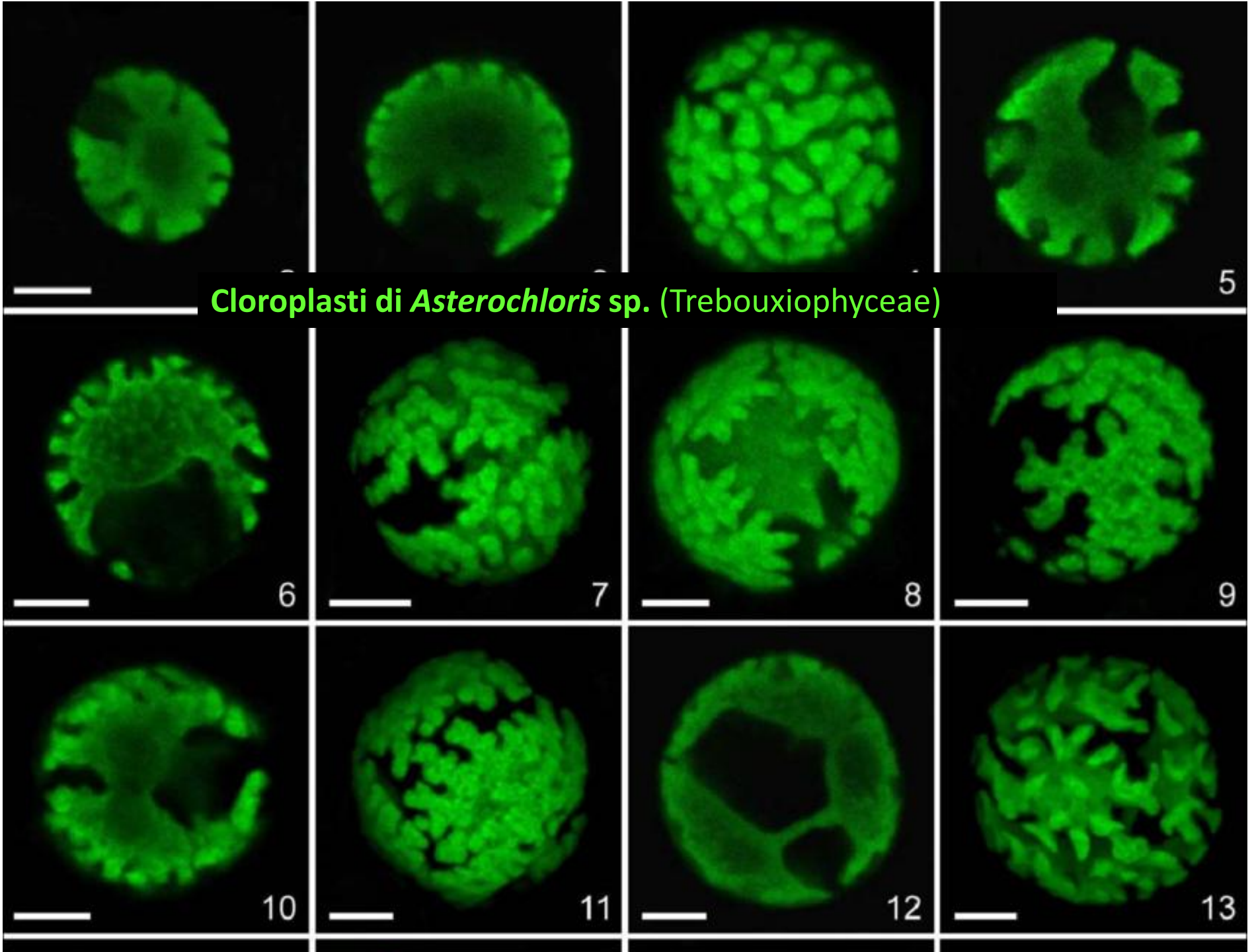




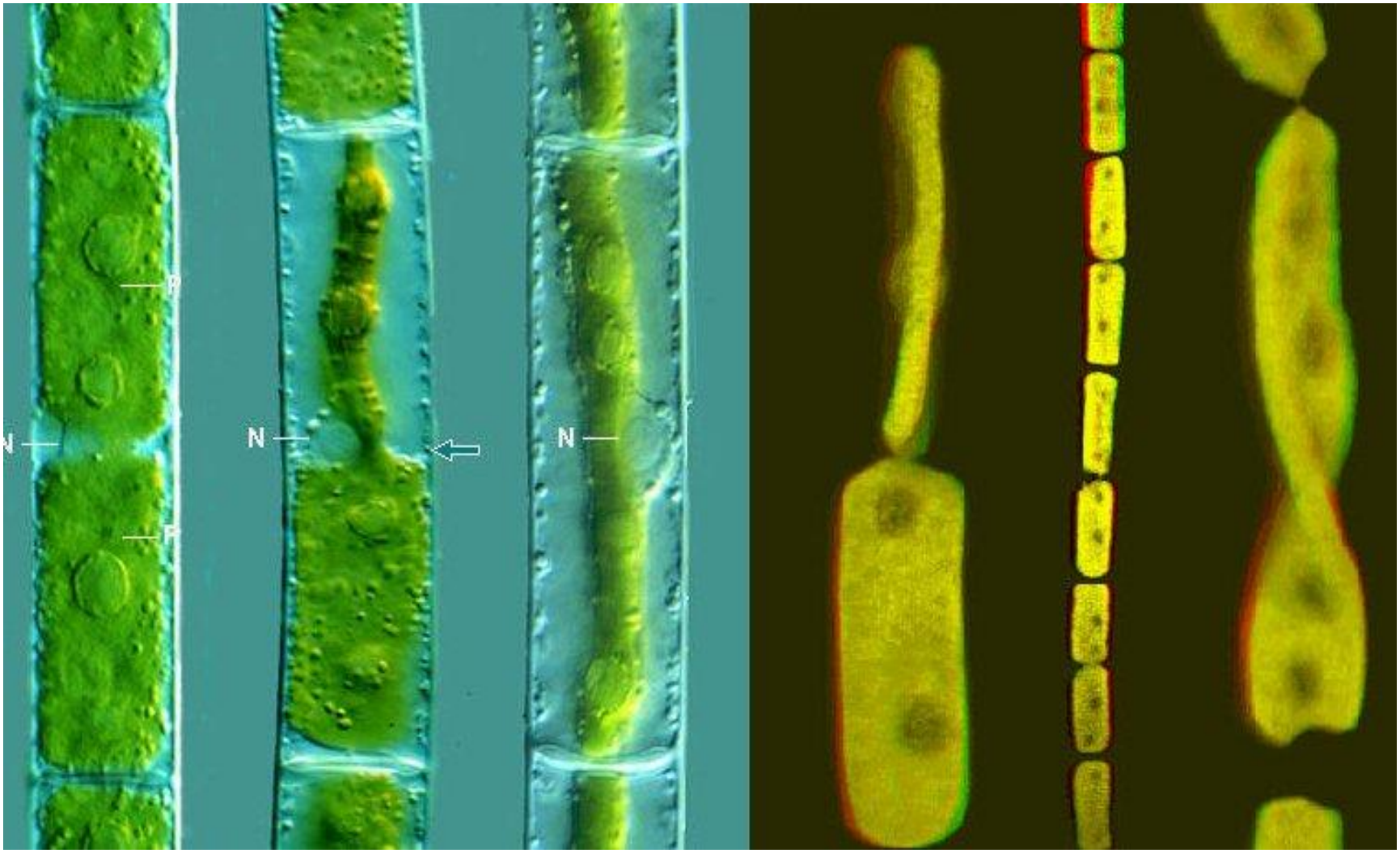
T.S. Filament







Cloroplasti di *Asterochloris* sp. (Trebouxiophyceae)

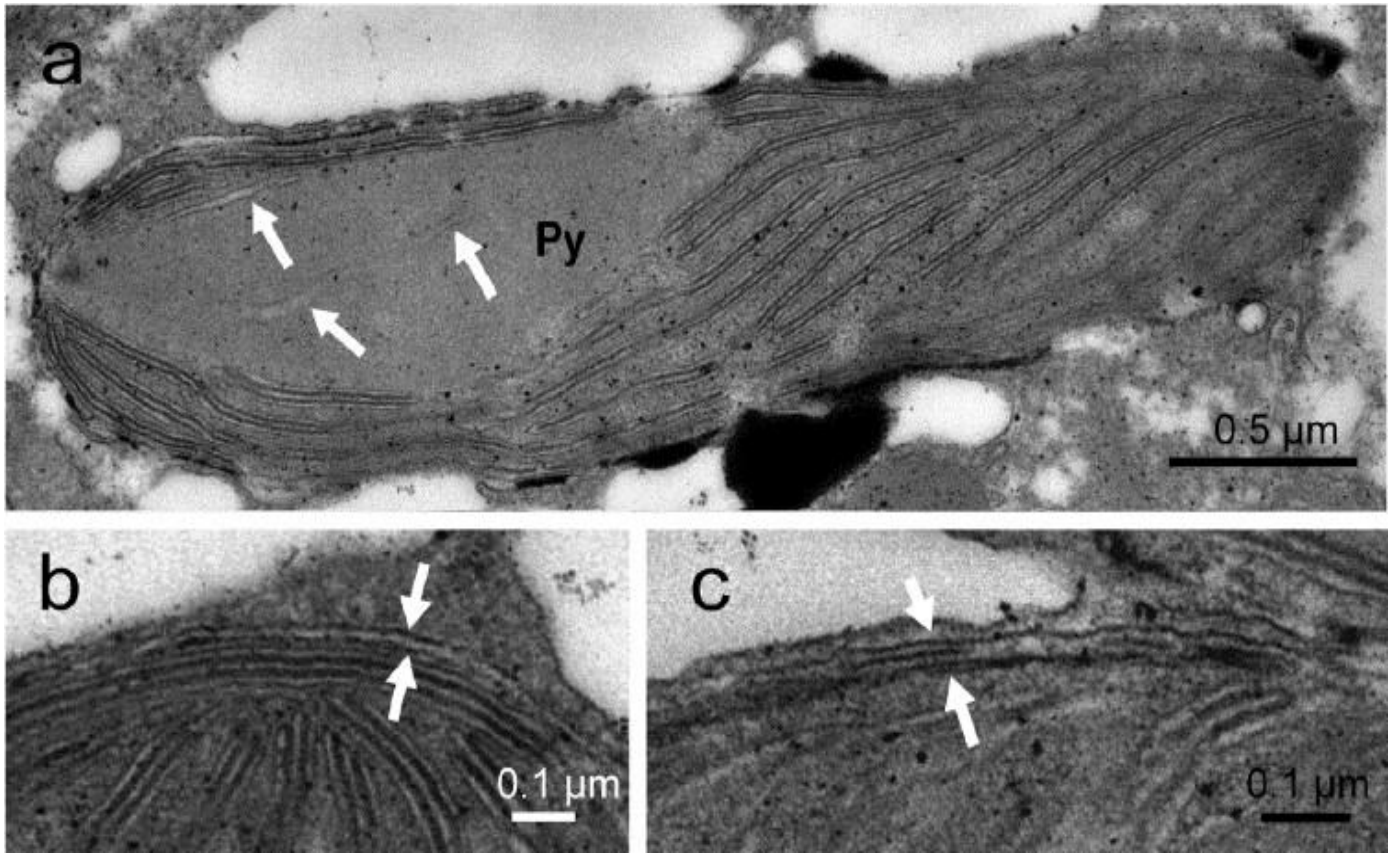


Mougeotia sp.

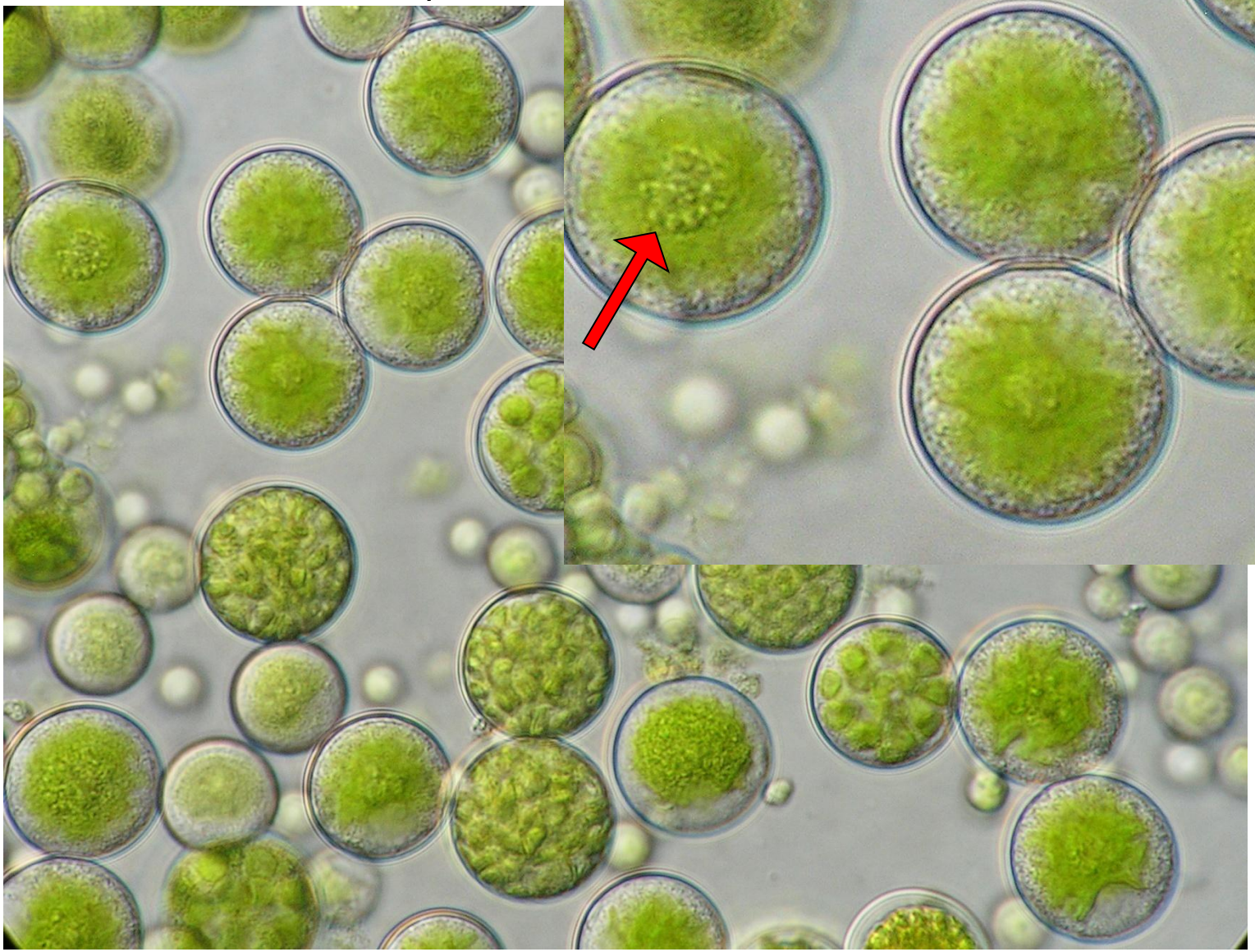
….non sempre verde! altri colori per la <u>prevalenza</u> di altri “pigmenti fotosintetici accessori” coinvolti nel processo fotosintetico e che suddividono le alghe in gruppi tassonomici empirici: alghe rosse, brune, dorate, ecc.

Nei cloroplasti algali:

- tilacoidi isolati o paralleli (in alghe rosse) a decorrenza in gruppi da 2 a 4,
- possibile presenza di tilacoide circolare, parallelo alla membrana interna del cloroplasto, che racchiude tutti gli altri.
- **Pirenoide** (pyrenoid): area stromatica densa in cui si accumula l' enzima RUBISCO.



***Trebouxia* sp.**
(Trebouxiophyceae)

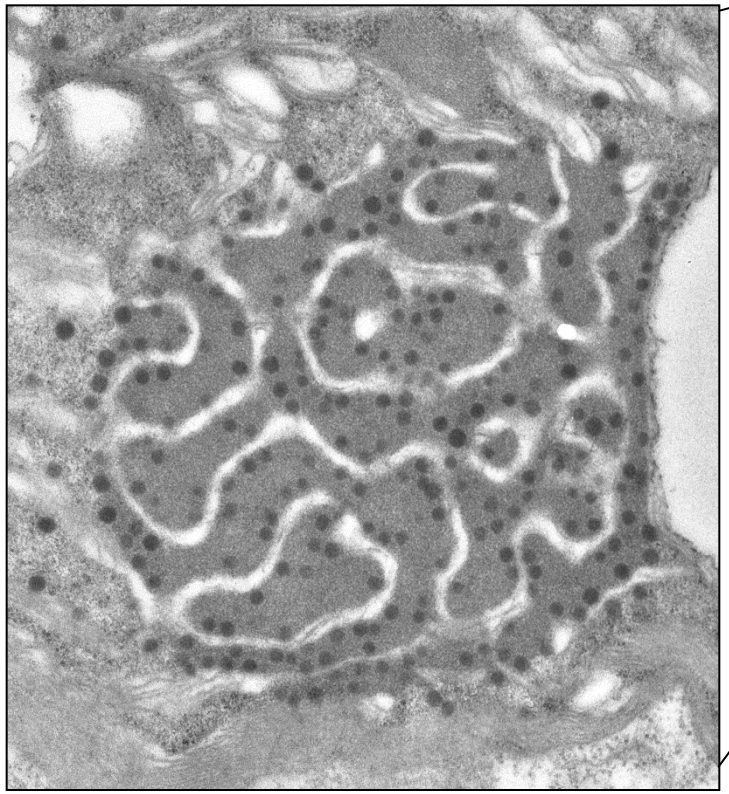


PIRENOIDE

PIRENOIDE: presenti anche in epatiche; associati al meccanismo di concentrazione della CO_2 presso l'aggregato enzimatico della rubisco.

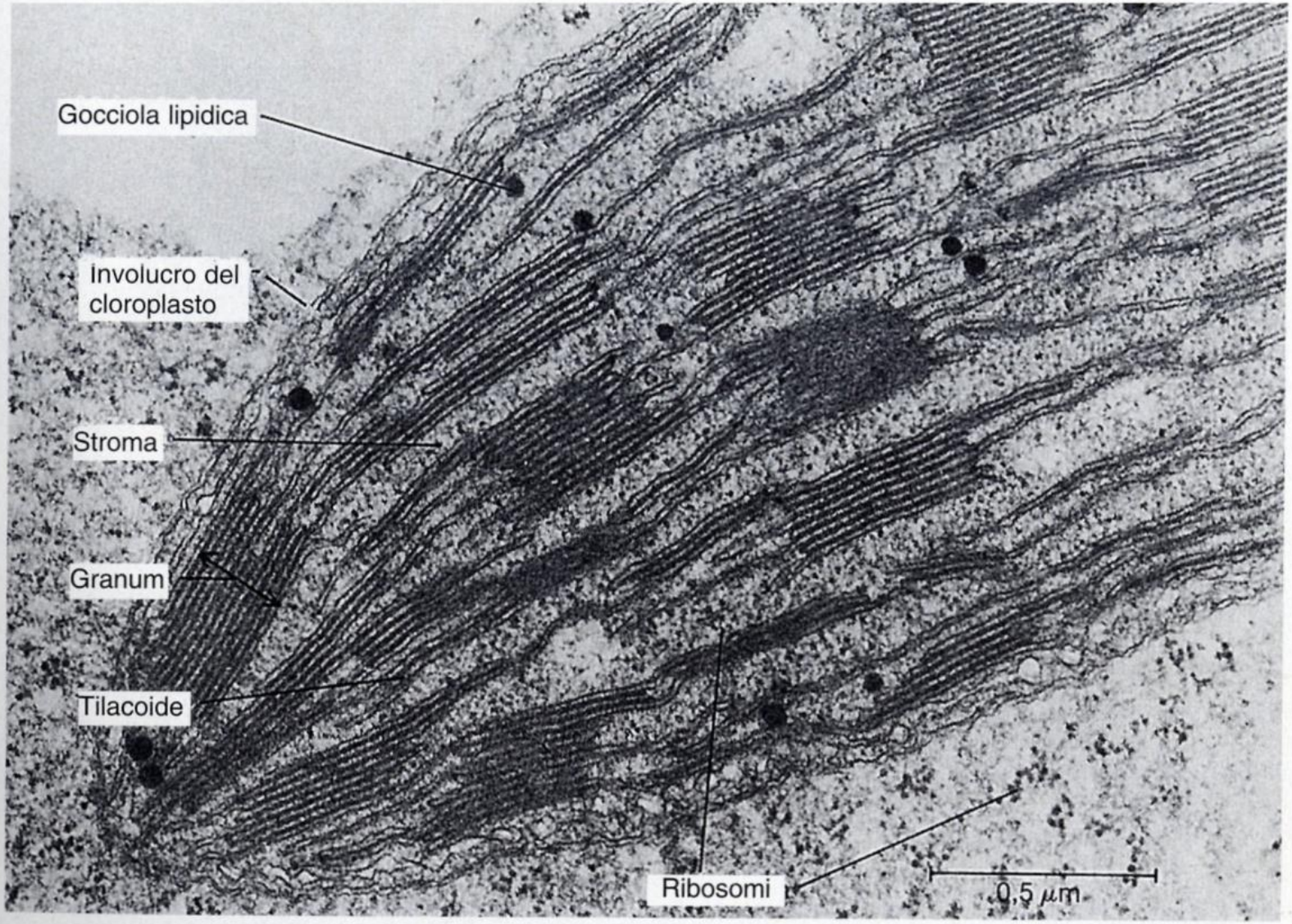
RUBISCO: enzima che lega CO_2 ad un pentoso (zucchero 5 atomi di C), primo step dell'**organicazione** della CO_2.



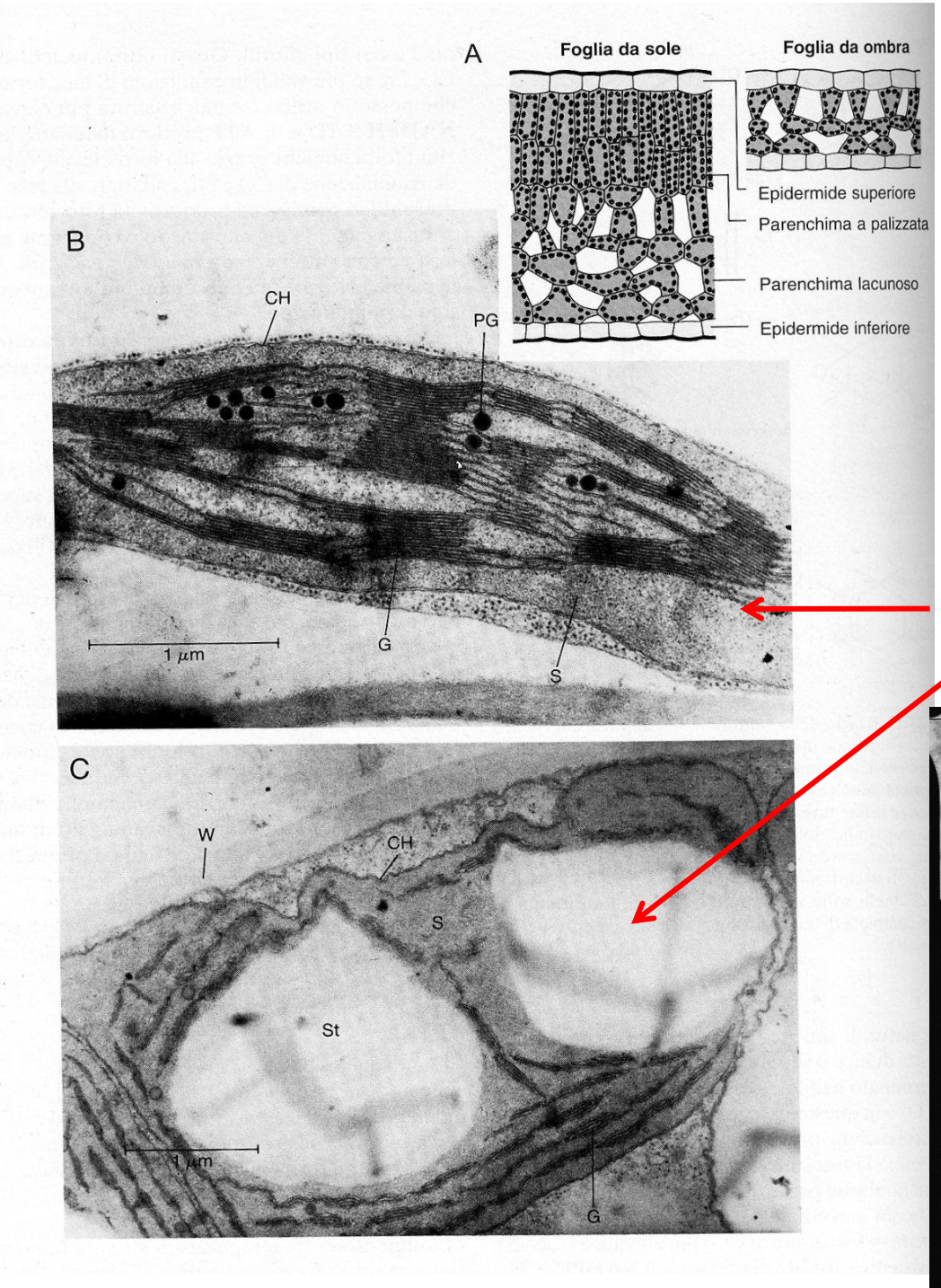


Pirenoide coinvolto nella formazione di amido??? → NO!

- mutanti privi di pirenoidi in cui si ha la formazione di depositi di amido,
- mutanti che hanno pirenoidi *non (!!!)* associati alla formazione di depositi di amido.



Ultrastruttura dei cloroplasti. Nella pagina accanto, in alto: sezione schematica, sotto, modello tridimensionale di cloroplasto con un dettaglio fortemente ingrandito; in basso a destra, modello di formazione dei tilacoidi per invaginazione della membrana (da ALBERTS, BRAY, LEWIS, RAFF, ROBERTS e WATSON). In questa pagina: sezione trasversale di un cloroplasto di *Noea mucronata* vista al microscopio elettronico (foto: D. KRAMER).



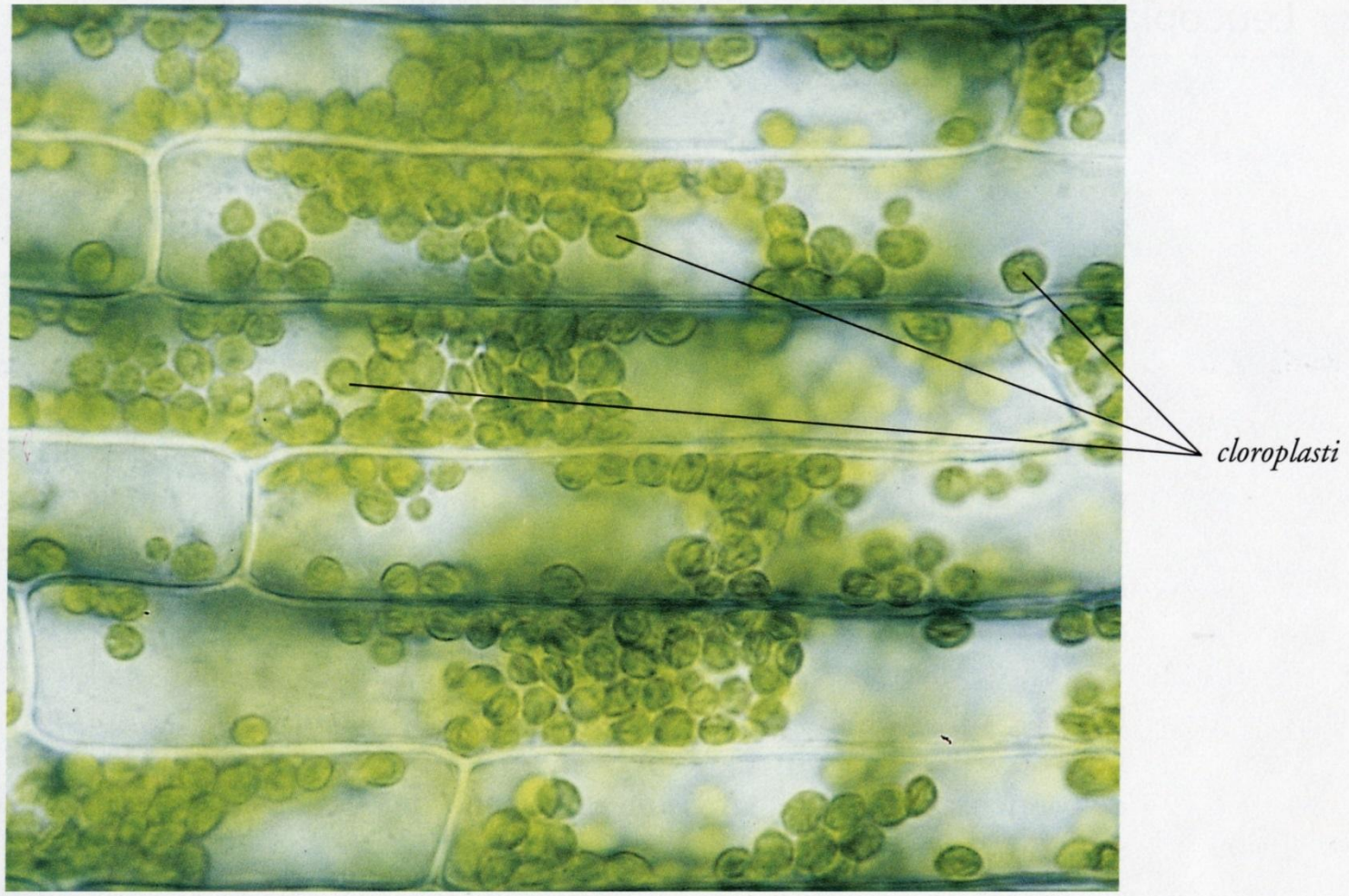


Membrane fotosintetiche

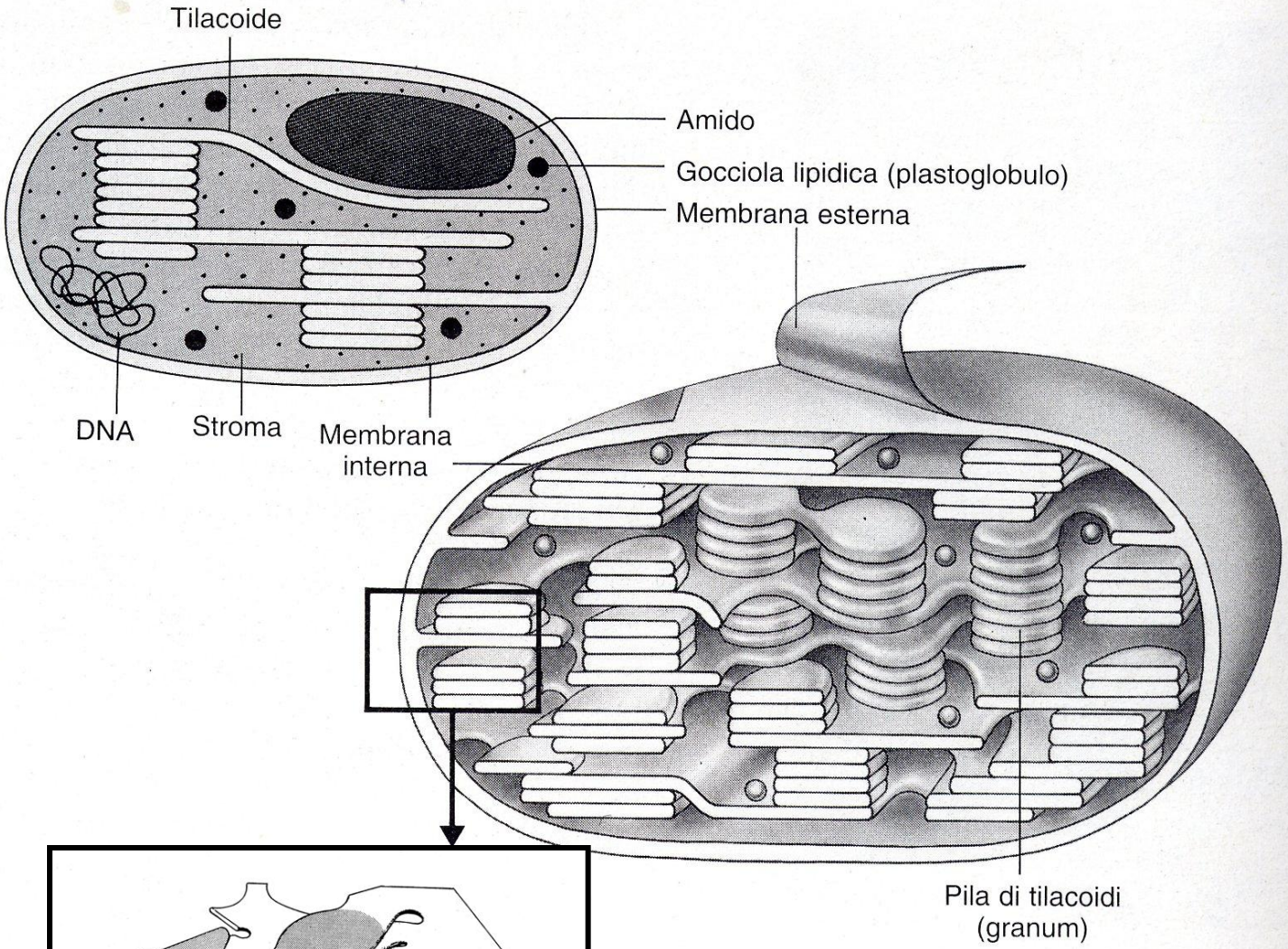
Granulo di amido primario

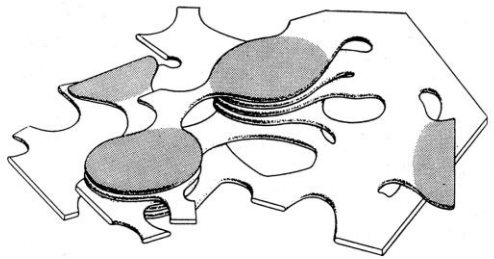


In Characeae (alghe verdi) e nei taxa derivati, comprese **tutte le piante superiori**, i cloroplasti sono … una noia!



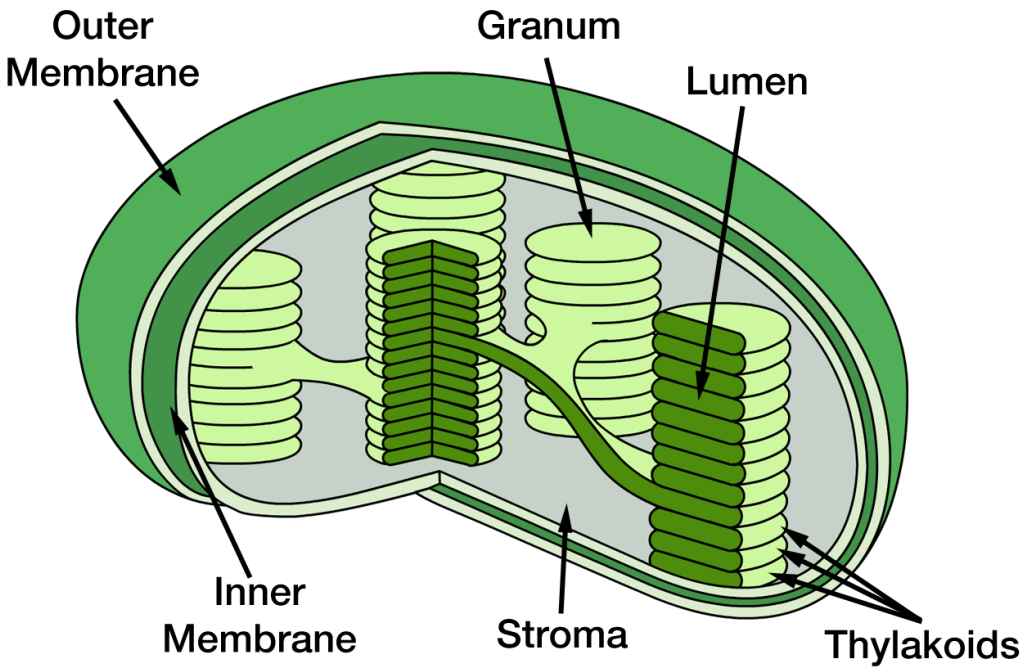
Cloroplasti nella foglia di peste d'acqua (*Elodea canadensis* Michx., fam. Hydrocharitaceae). x 1000 (*950*)

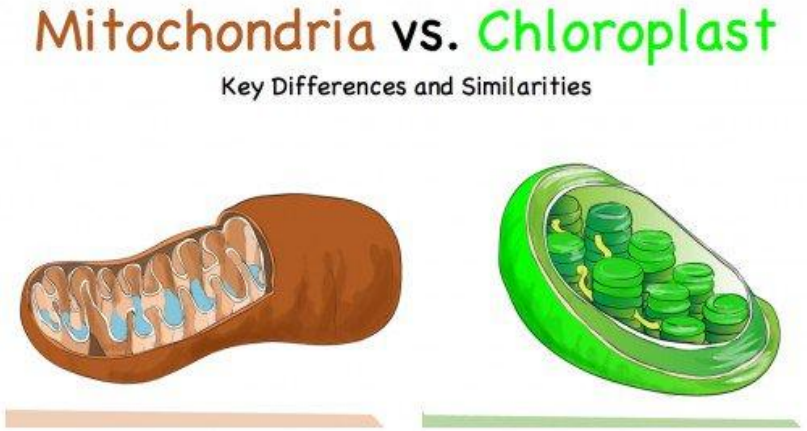




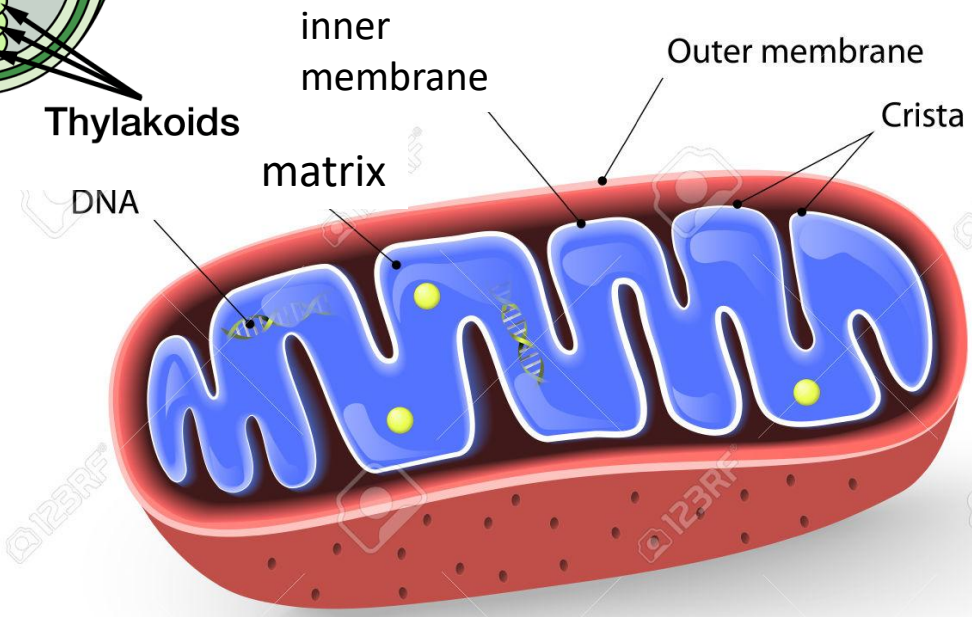
I tilacoidi dei grana e dello stroma non sono compartimenti separati, ma presentano invece un continuum spaziale con numerosi collegamenti di membrana (originale: W. Wehrmeyer).

CLOROPLASTO





MITOCONDRIO



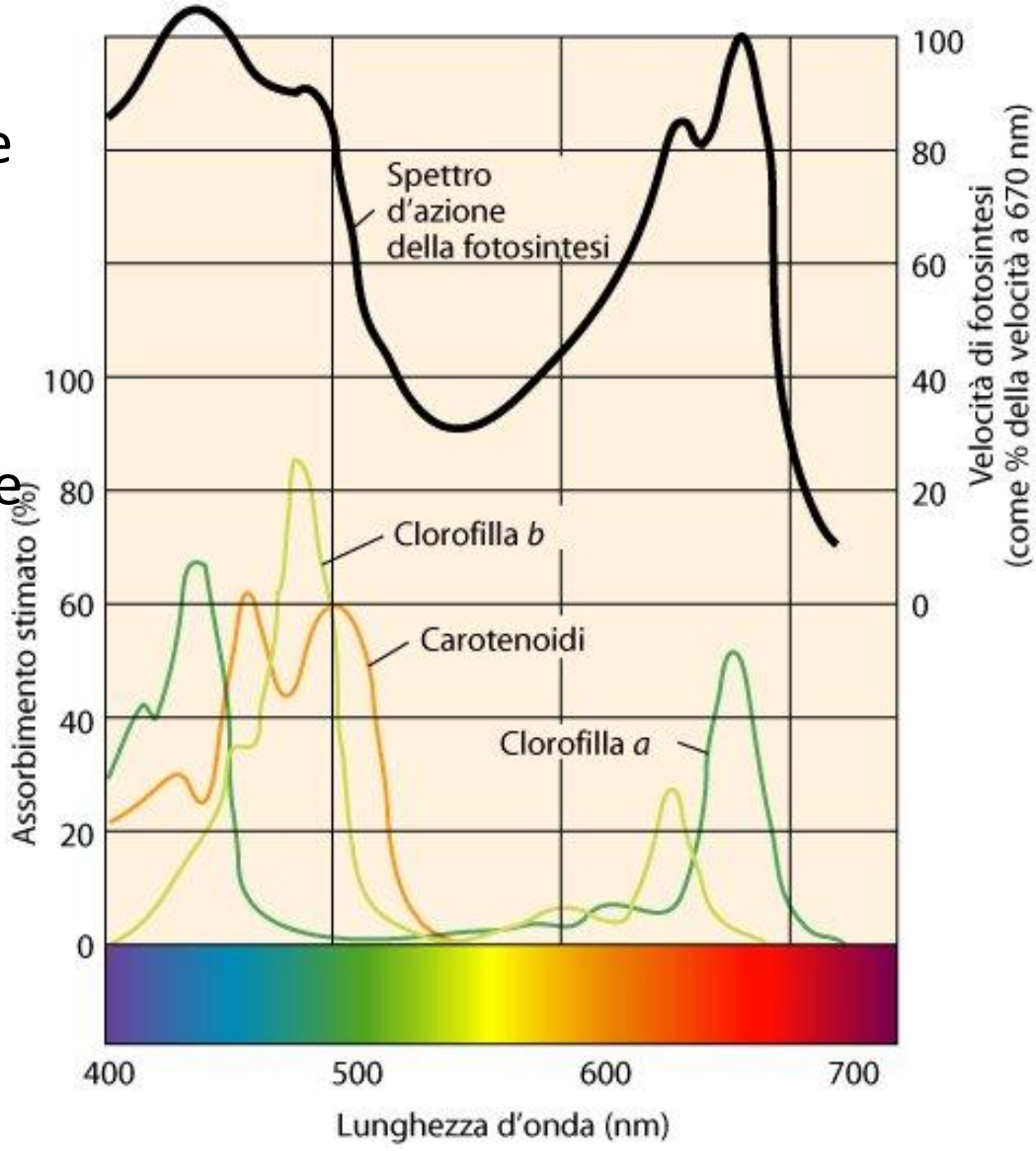
Pigmenti dei cloroplasti

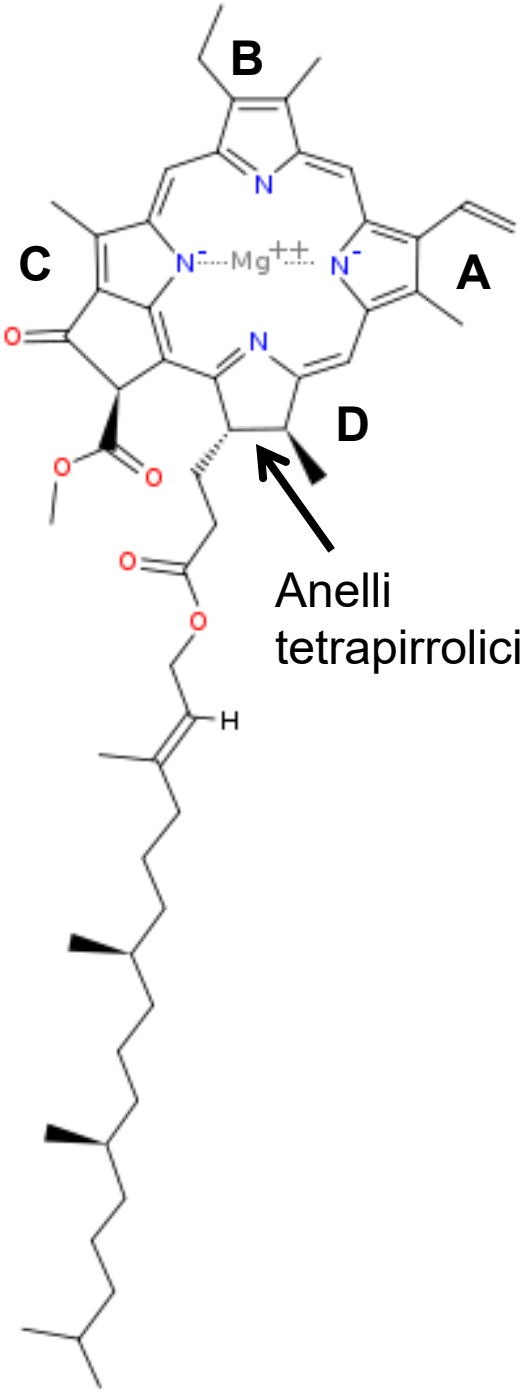
clorofilla a: sempre presente**!** così abbondante da mascherare la presenza di altri pigmenti eventualmente presenti.

clorofilla b: dalle alghe verdi in su, associata a clorofilla a, simile nella struttura molecolare, ma diverse proprietà.

carotenoidi, beta carotene (sempre presente)

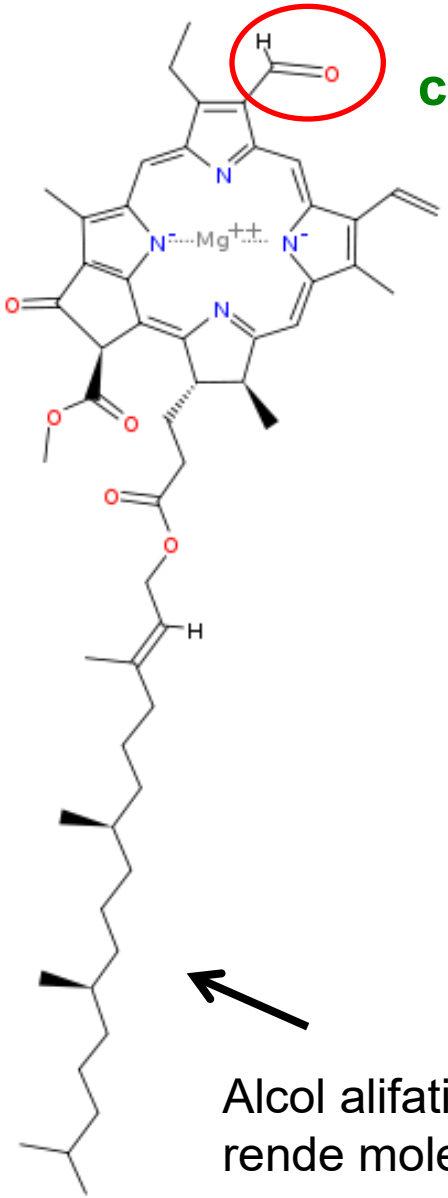
Xantofille: f(x) assorbimento dell'energia luminosa & "fotoprotezione".





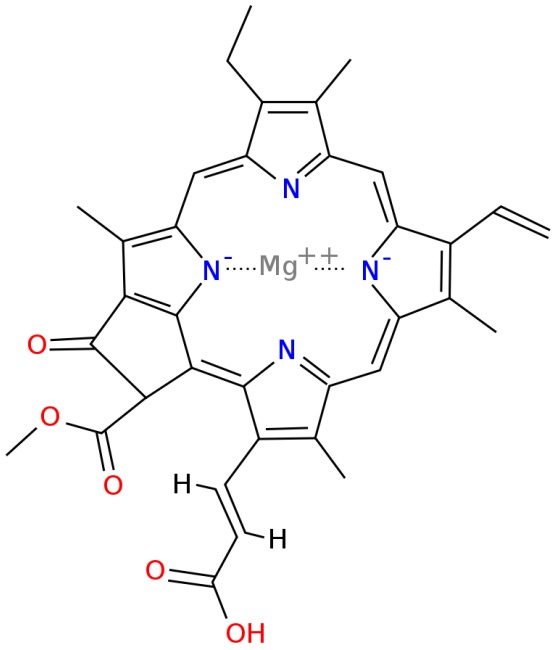
Anelli tetrapirrolici

clorofilla a: anello porfirinico, catena idrofoba per ancoraggio ai tilacoidi



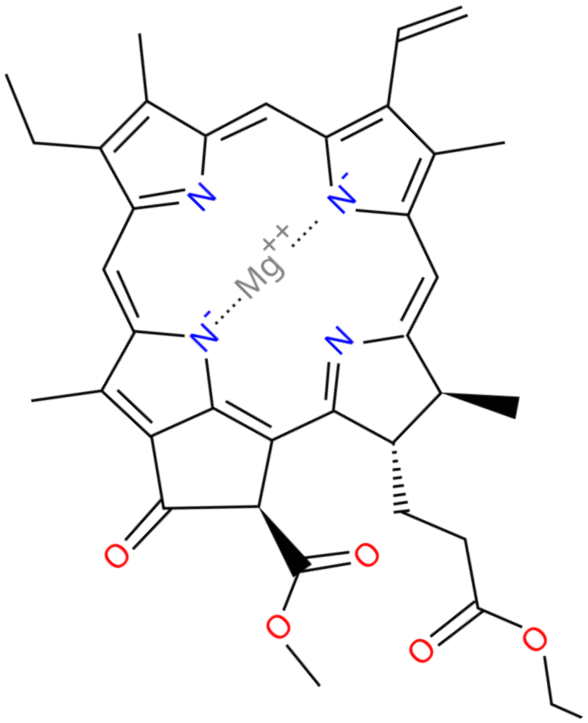
clorofilla b: gruppo aldeidico

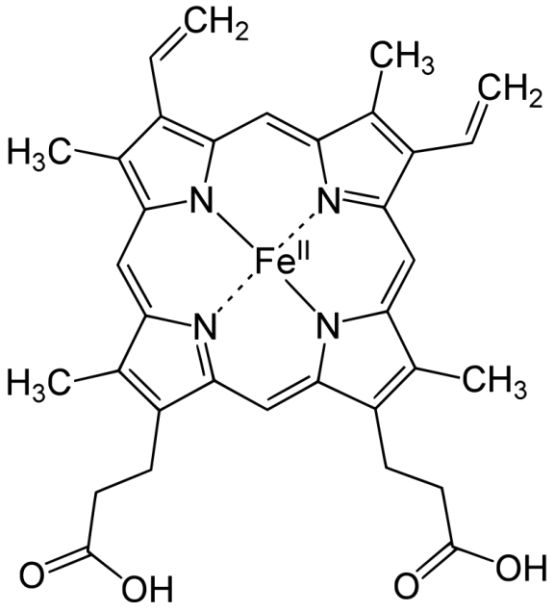
clorofilla c: mancanza fitolo anello D



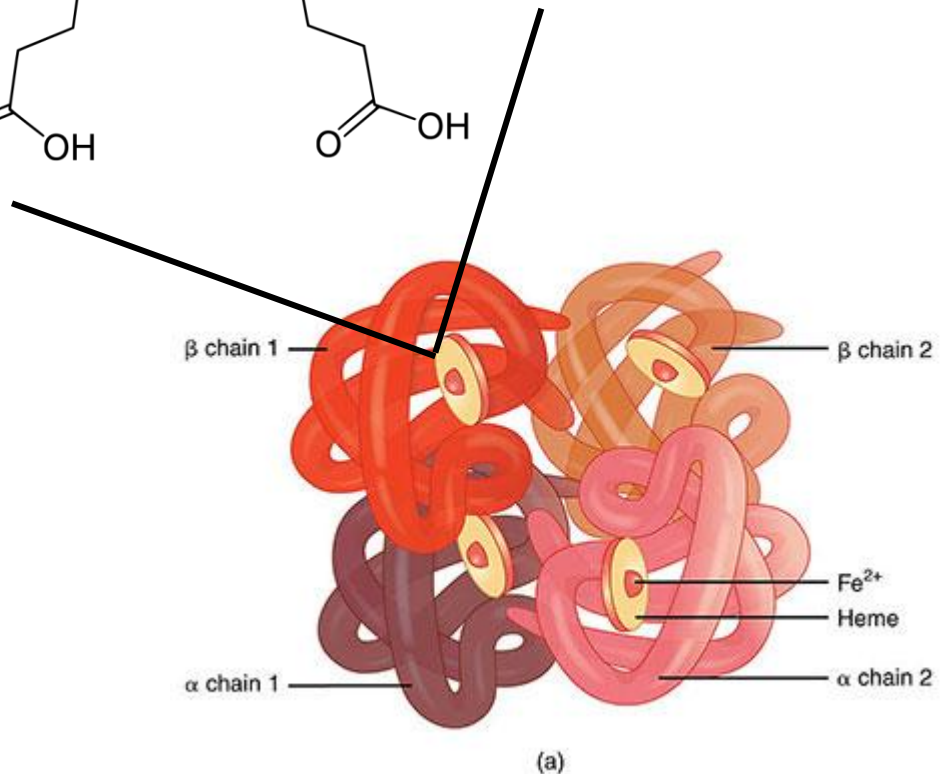
Alcol alifatico (fitolo) esterificato all'anello D -> rende molecola idrofobica

…. analogia con gruppo eme dell'emoglobina negli animali!

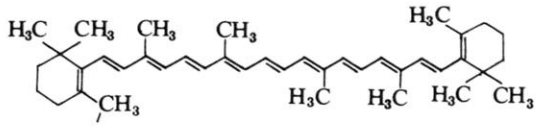




Anello porfirinico Clorofilla a

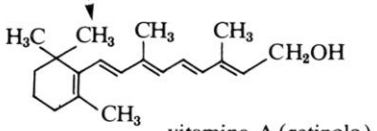


PIANTE

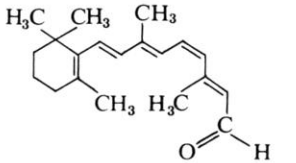


β-carotene

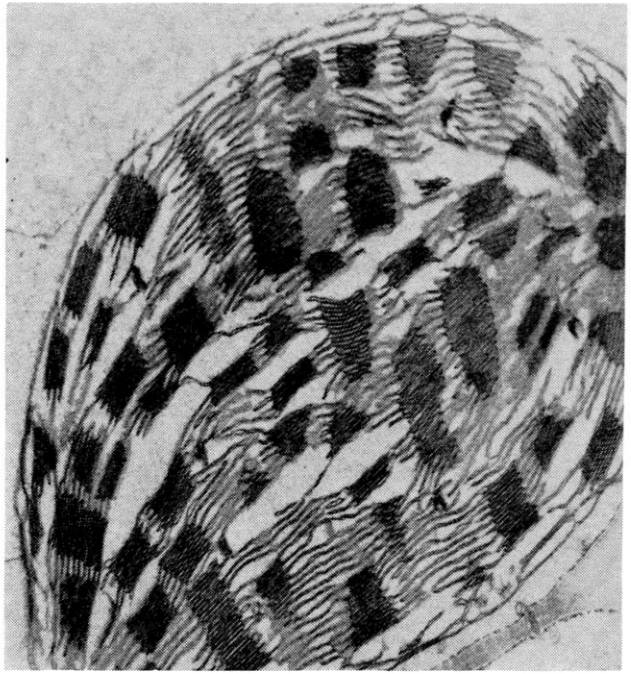
ANIMALI



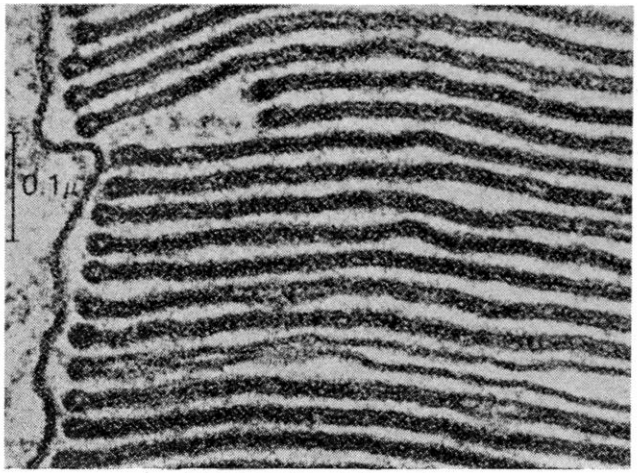
vitamina A (retinolo)



11-CIS-Retinale



Cloroplasto



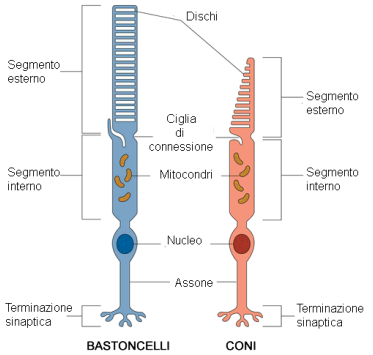
Bastoncello della retina

Questa figura mostra la sorprendente analogia sia chimica che morfologica tra i recettori della luce negli animali e nelle piante. Il β-carotene (uno dei pigmenti carotenoidi dei cloroplasti) può essere convertito dagli animali in vitamina A la quale attraverso due reazioni enzimatiche viene trasformata in 11-cis-retinale, il recettore visivo che si lega a una proteina, l'opsina. Anche la struttura dei recettori della retina ha una certa somiglianza con quella dei cloroplasti. In ambedue i casi si osserva un esteso sistema di membrane interne che formano dei dischi appiattiti messi in pila l'uno sull'altro. A questo punto le analogie si fermano. Ricordatevi che nelle piante la luce viene utilizzata come fonte di energia, negli animali solo come segnale. Lo stato di eccitazione dei pigmenti provocato dalla luce viene quindi sfruttato nei due casi con «macchinari biochimici» completamente diversi.

β-carotene (carotenoide) in piante → vitamina A in animali → retinale (recettore visivo) + opsina (proteina)

In piante: luce = fonte di energia

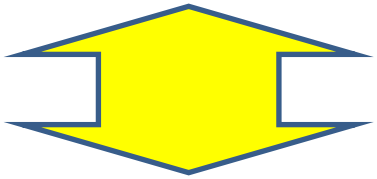
In animali: luce = segnale



I cloroplasti sono la centrale chimica della cellula vegetale.

I testi di biochimica danno quasi per scontato che le piante siano biochimicamente simili agli altri organismi, se si fa eccezione per l'organicazione fotosintetica del carbonio.

Nel metabolismo vegetale molte attività, che sono citosoliche in altri organismi, negli organismi vegetali superiori si svolgono nei PLASTIDI: gran parte delle capacità biosintetiche di una cellula vegetale è localizzata nei plastidi, nei cloroplasti !!!



elevate concentrazioni di ATP e potere riducente a livello stromatico.

Attività metaboliche nei plastidi

1) sintesi degli acidi grassi;

2) riduzione e assimilazione primaria del nitrito nella neosintesi del glutamato;

3) riduzione e assimilazione del solfato nella neosintesi della cisteina;

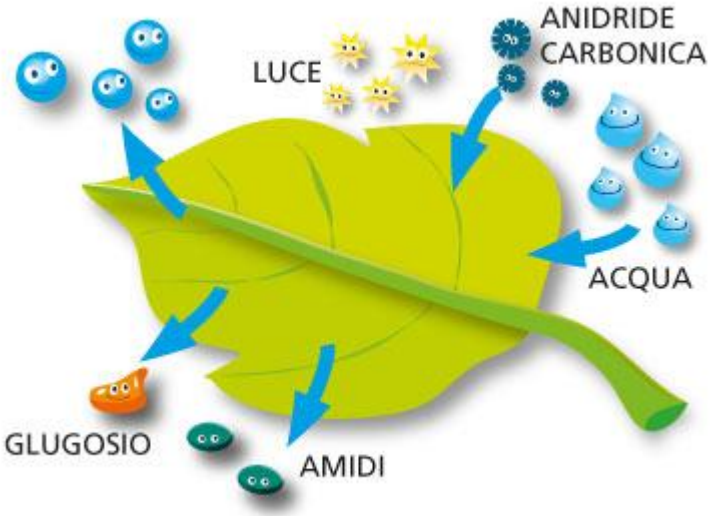
4) biosintesi degli altri aminoacidi;

5) biogenesi dei pigmenti fotosintetici;

6) sintesi dell'amido primario;

7) parte delle reazioni della **FOTOSINTESI.**

Potere riducente



Nel cloroplasto:

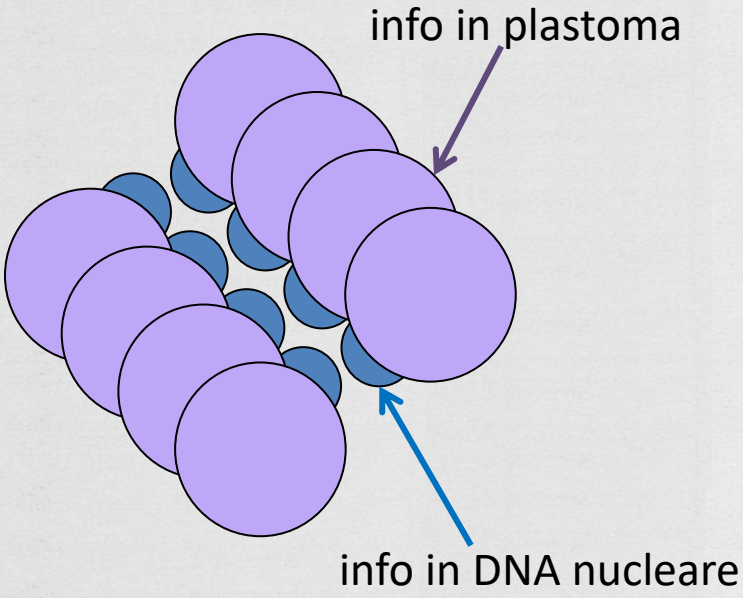
-**In stroma**: DNA, ribosomi, prodotti, substrati... enzimi coinvolti in processi metabolici,

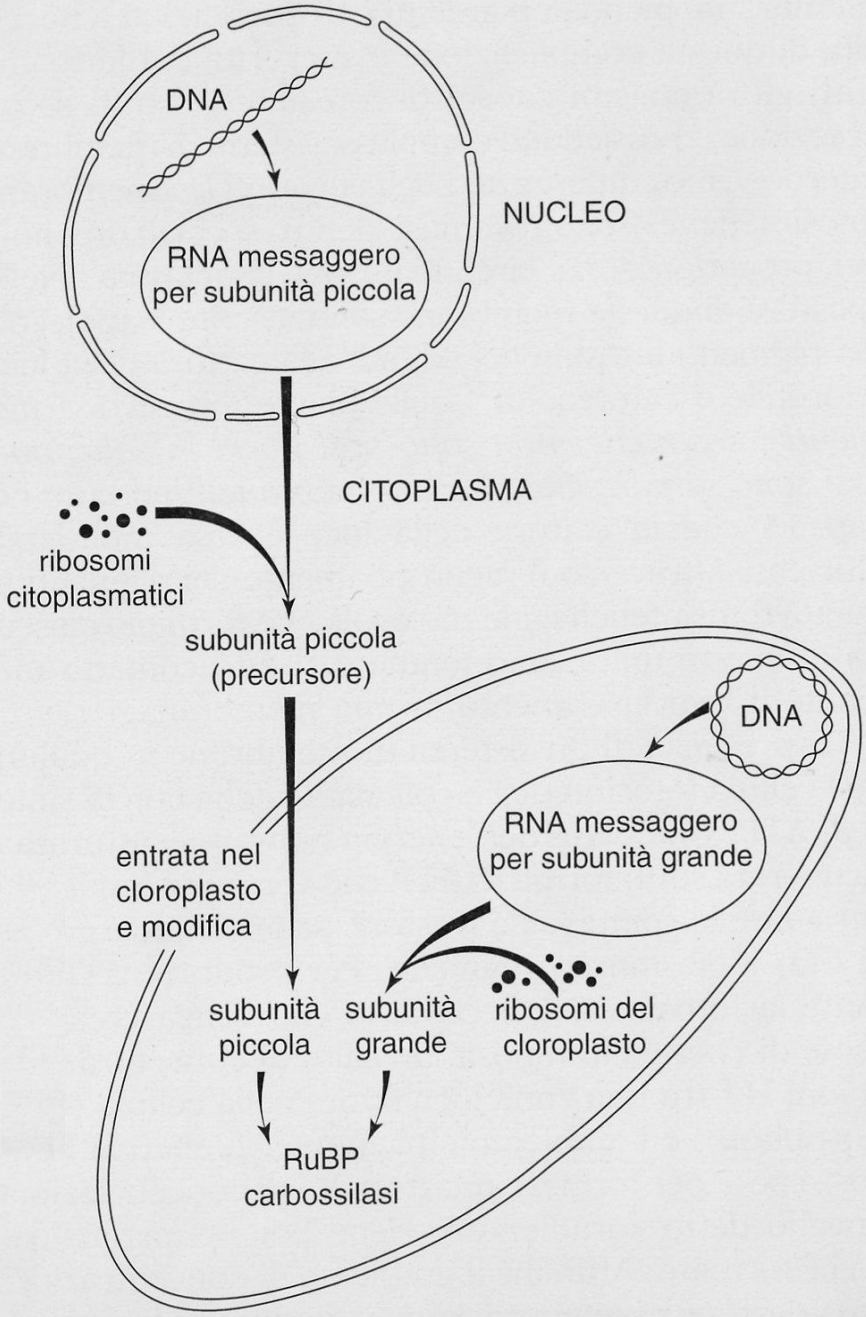
RUBISCO: **R**ib**u**losio 1,5 **bi**fo**s**fato **c**arbossilasi-**o**ssigenasi, enzima chiave della fissazione di CO_2 su substrato organico (pentoso = zucchero a 5 atomi di C attivato da due gruppi fosforici).

- **Sulle membrane tilacoidali**: pigmenti per assorbimento della luce, organizzati in **fotosistemi** (in unità funzionali), **catene ossidoriduttive** formate da molte molecole diverse per natura e struttura.

- **Nel lume tilacoidale**: altri enzimi, … il complesso responsabile della “rottura” della molecola dell’acqua (“fotolisi”).

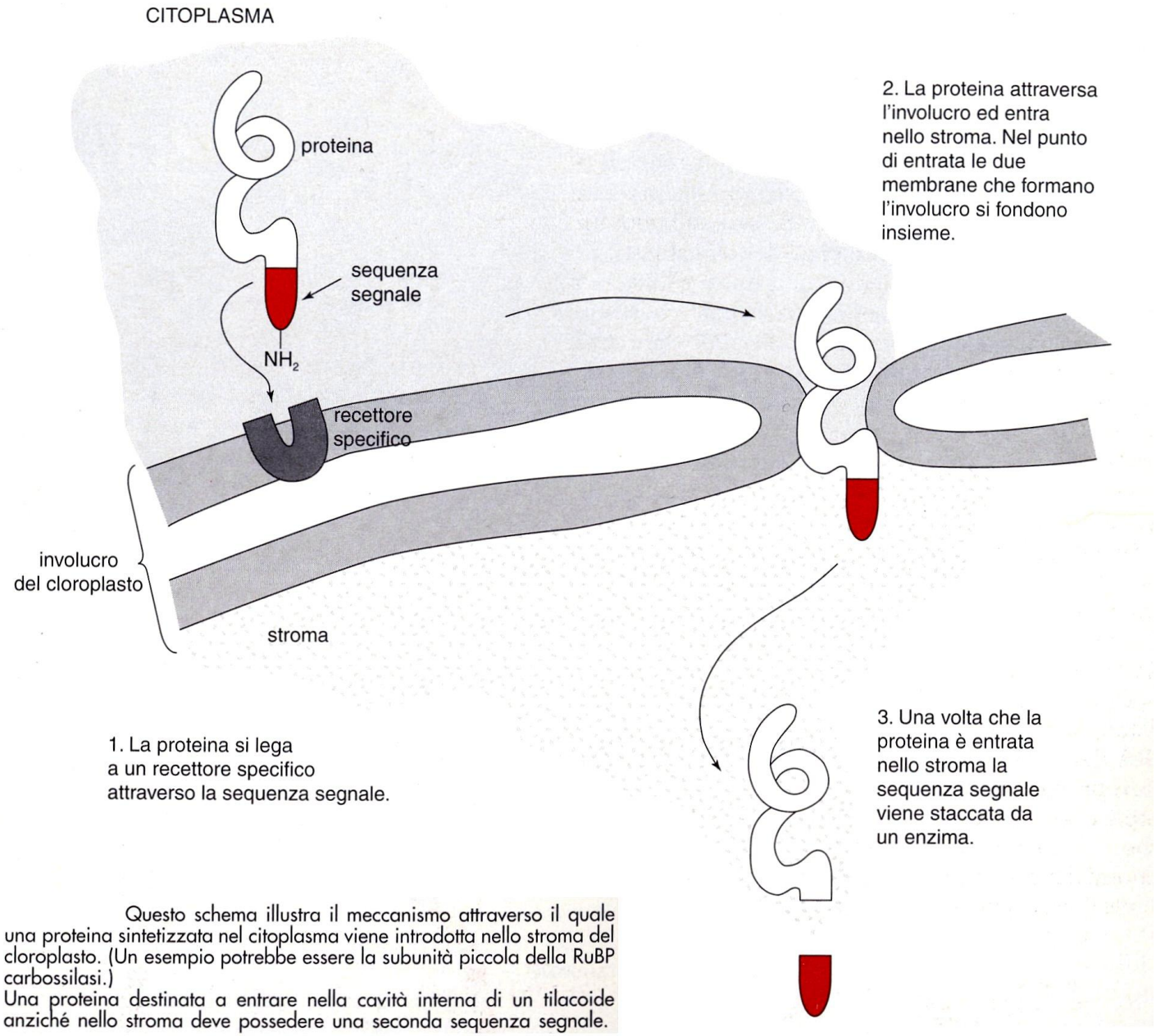
RUBISCO





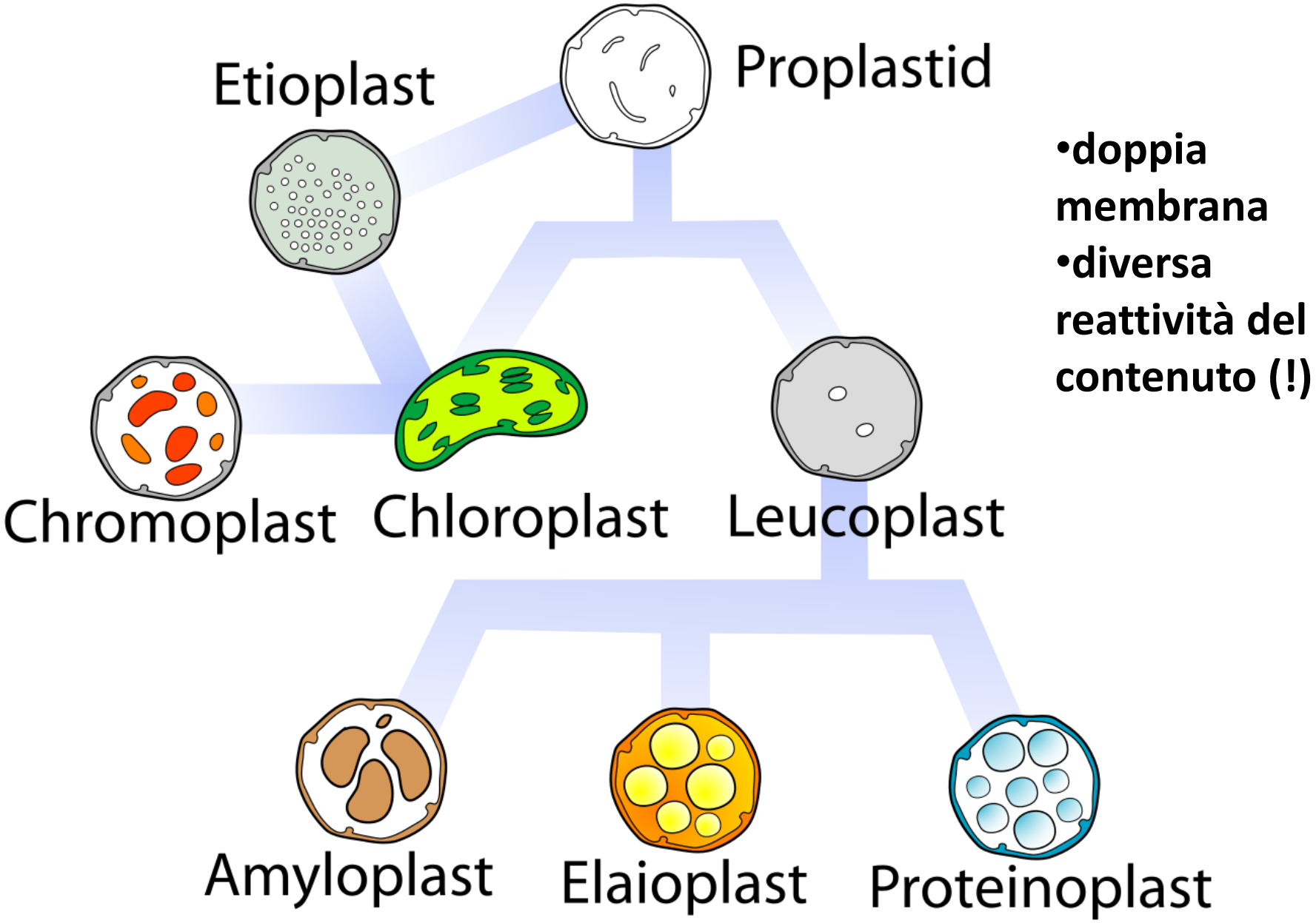
La ribulosiobisfosfato carbossilasi (RuBP carbossilasi) dei cloroplasti è fatta da 8 subunità grandi e 8 subunità piccole. L'informazione per costruire la subunità grande è contenuta nel DNA dei cloroplasti, quella per costruire la subunità piccola nel DNA nucleare. Nel citoplasma viene sintetizzato un precursore della subunità piccola, di dimensioni maggiori di quelle definitive: una parte di questa molecola viene idrolizzata nel passaggio attraverso l'involucro del cloroplasto. Lo schema illustra in quali compartimenti cellulari avvengono le diverse fasi del «montaggio» della RuBP carbossilasi.

Trasporto di proteine dal citoplasma allo stroma plastidiale:



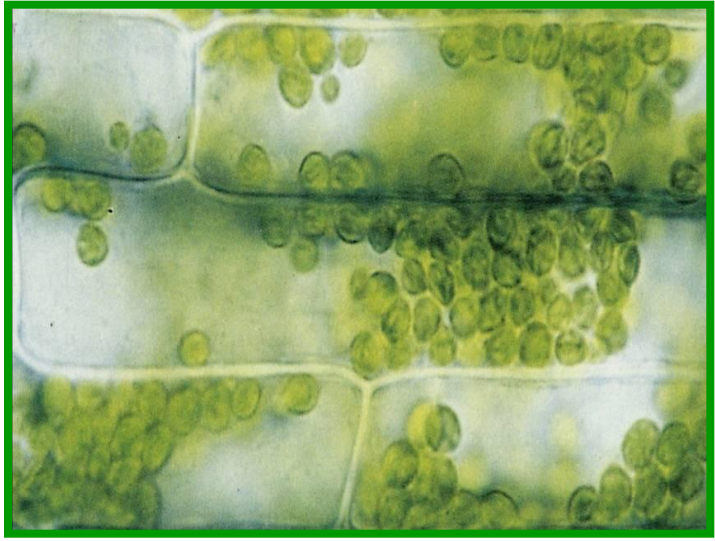
Questo schema illustra il meccanismo attraverso il quale una proteina sintetizzata nel citoplasma viene introdotta nello stroma del cloroplasto. (Un esempio potrebbe essere la subunità piccola della RuBP carbossilasi.)
Una proteina destinata a entrare nella cavità interna di un tilacoide anziché nello stroma deve possedere una seconda sequenza segnale.

Plastids



- **doppia membrana**
- **diversa reattività del contenuto (!)**

Famiglia di organuli propri degli organismi fotoautotrofi ossigenici eucariotici.

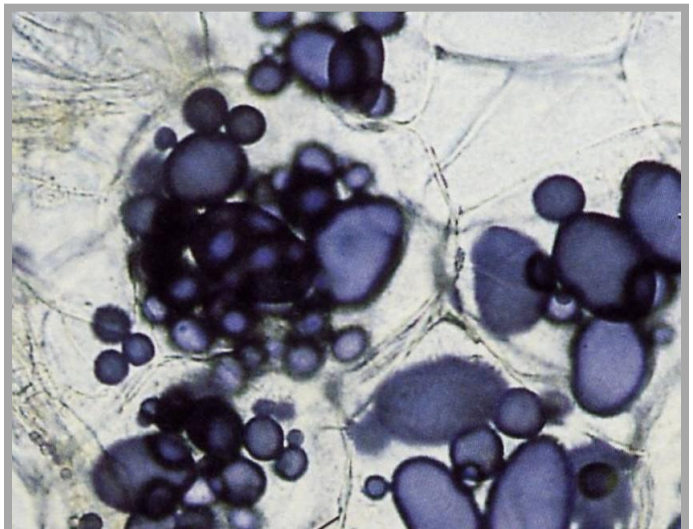


Multiple f(x).

Cloroplasti: assimilazione della CO_2 (fotosintesi) e molto altro…



Cromoplasti: accumulo di pigmenti lipofili (per colorare i tessuti, ma talvolta anche come sostanze di riserva)



Leucoplasti: accumulo di sostanze di riserva

CROMOPLASTI







CROMOPLASTI

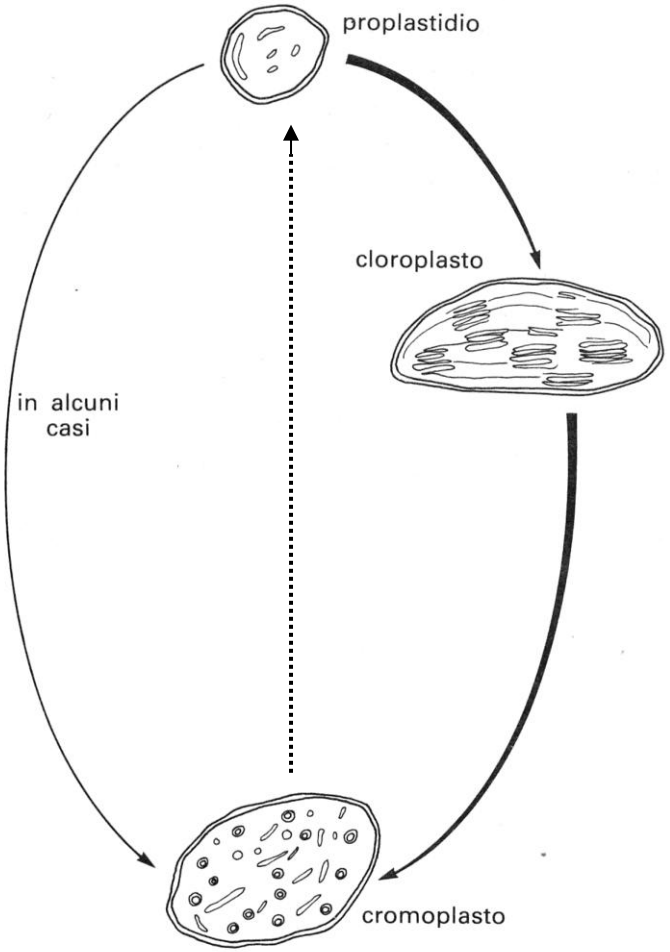
•La differenziazione in cromoplasti segue un preciso piano di sviluppo, può anche essere reversibile (trasformazione inversa).

•Geni nucleari regolatori della cromoplastogenesi correlati con la biosintesi dei carotenoidi.

•Fattori eso- ed endogeni agiscono su differenziamento (fitormoni con f(x) antagonista).

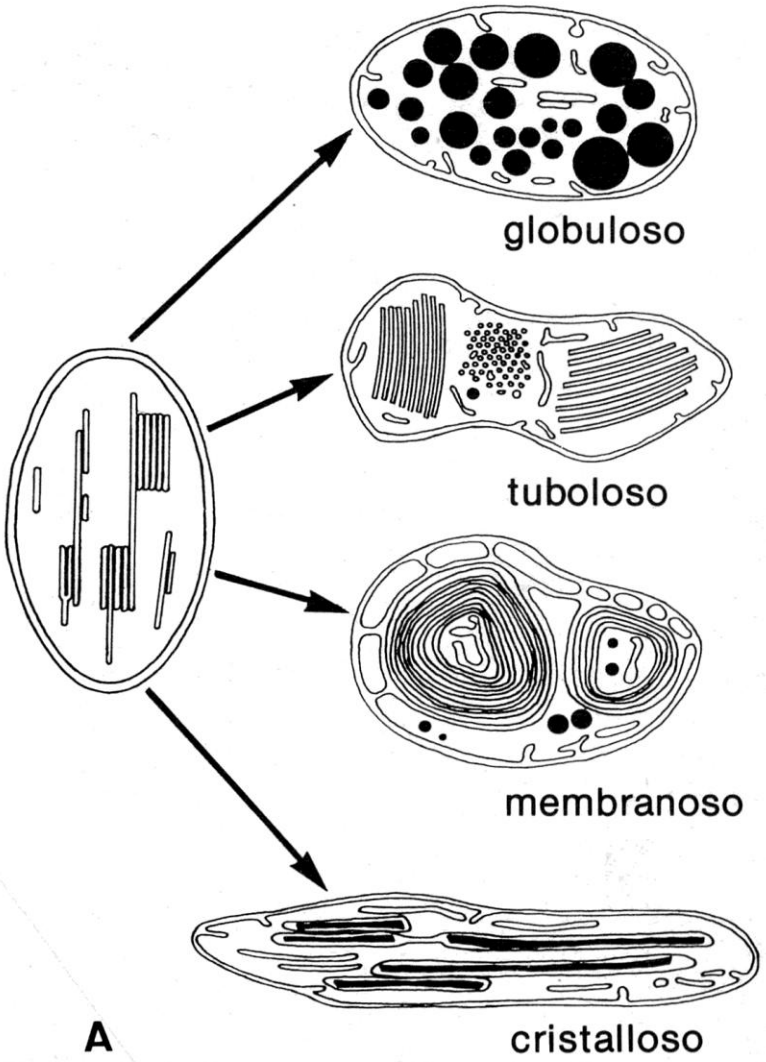
•Mancano di membrane tilacoidali.

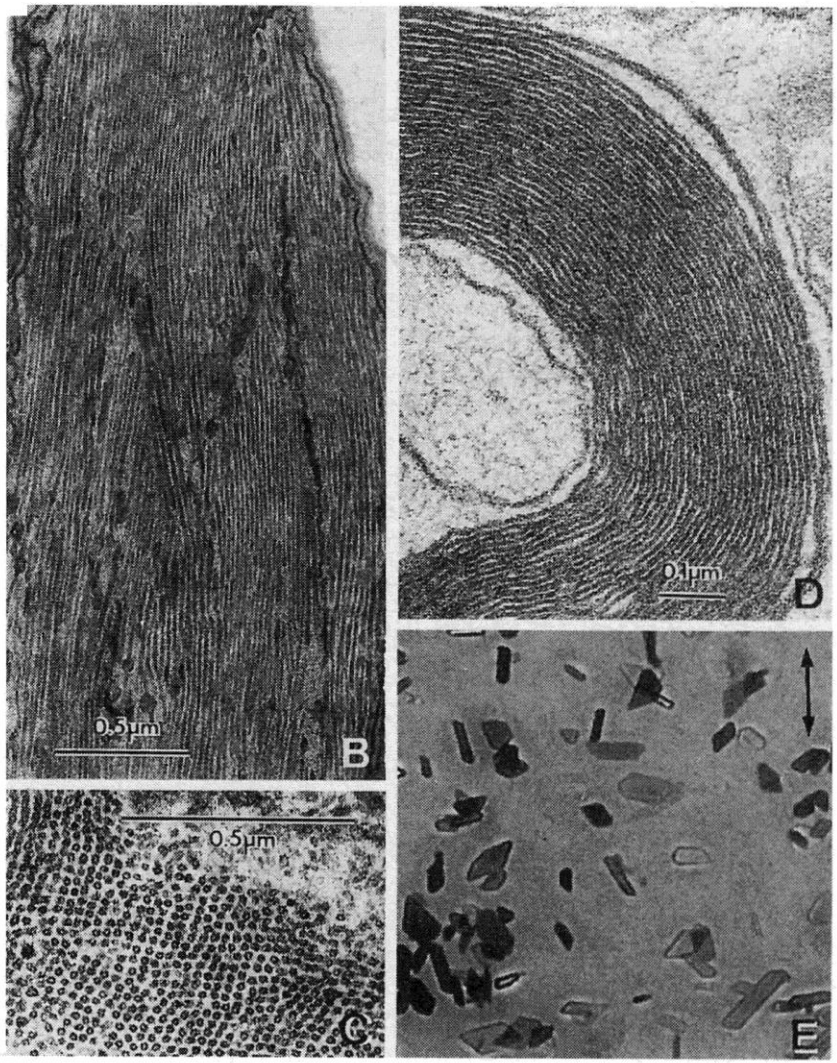




Questo schema illustra in quali modi i diversi tipi di plastidi possono trasformarsi l'uno nell'altro. È evidente che tutti i plastidi derivano direttamente o indirettamente dai proplastidi.

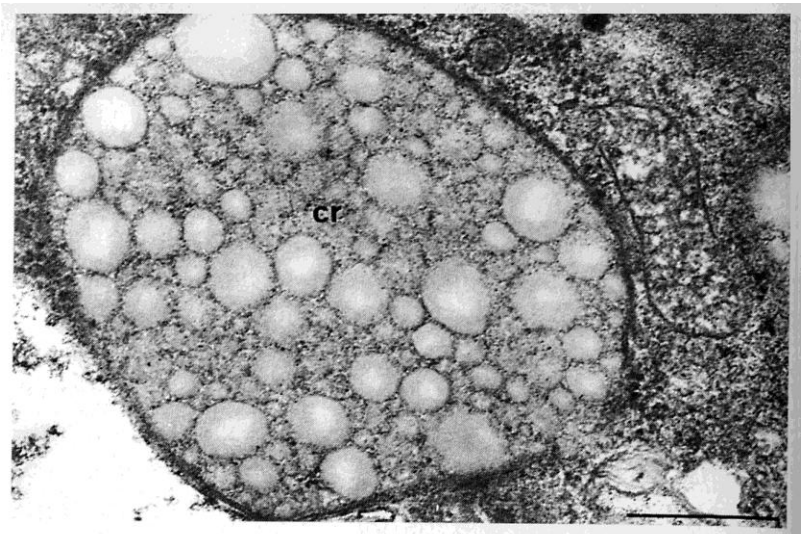
CROMOPLASTI





Cromoplasti. **A**, diversi modelli strutturali; lo sviluppo inizia spesso da cloroplasti (giovani). **B, C**, cromoplasti tubolari sezionati longitudinalmente e traversalmente (frutto di rosa e petalo di *Impatiens noli-tangere*). **D**, cromoplasti membranosi di *Narcissus pseudonarcissus*, in sezione. **E**, cromoplasti cristallosi dalla radice di carota in luce polarizzata; i cristalli di β-carotene sono dicroici, l'assorbimento della luce dipende dalla direzione di oscillazione della radiazione luminosa (freccia) (A da H. Mohr e P. Schopfer, Lehrbuch der Pflanzenphysiologie. Springer-Verlag, Berlin, 4a edizione 1991. B-D originali. E 750:1, preparato di D. Kuhnen).

CROMOPLASTI



Cromoplasto (*cr*) globulare in petalo di crisantemo. Le masse globulari in questo caso sono poco elettron-dense e occupano l'intero volume dell'organello. (TEM, barra = 0,5 µm)



Cromoplasti **globulari:** i più primitivi, in frutti (es. arancia, pesca) e in alcuni fiori (es. *Ranunculus*). Le vescicolette interne sono delimitate da un monostrato di lipidi e proteine.

Cromoplasti **membranosi**: i più poveri di pigmenti (3% di carotenoidi), fortemente apolari; nei petali del narciso e nel frutto del peperone.

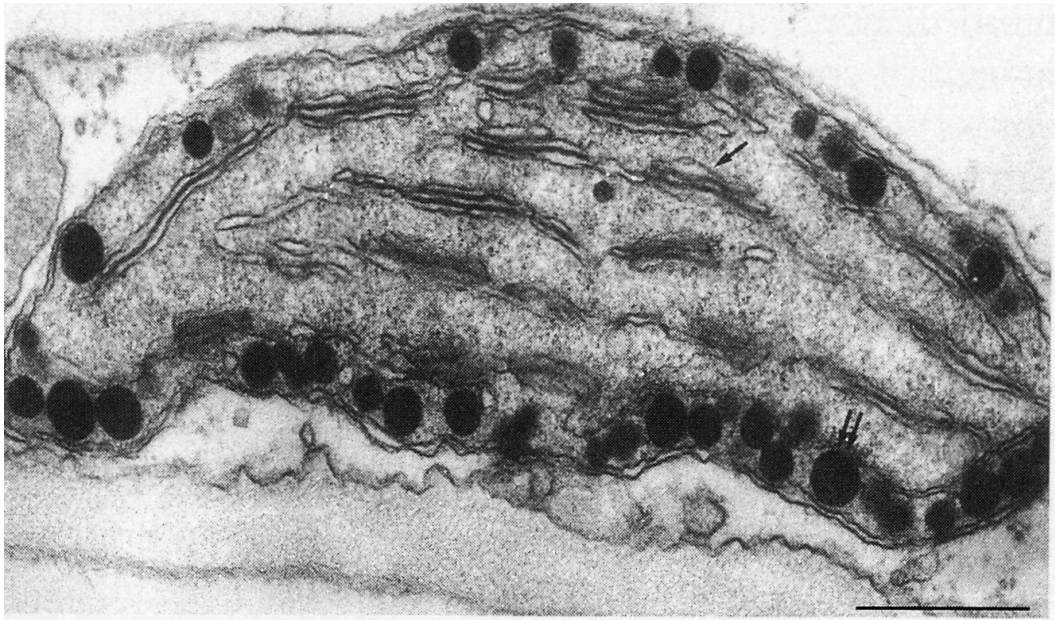
Cromoplasti **cristallini**: accumulano cristalli di beta carotene (radice di carota) o di licopene (frutto del pomodoro).



(i falsi) CROMOPLASTI

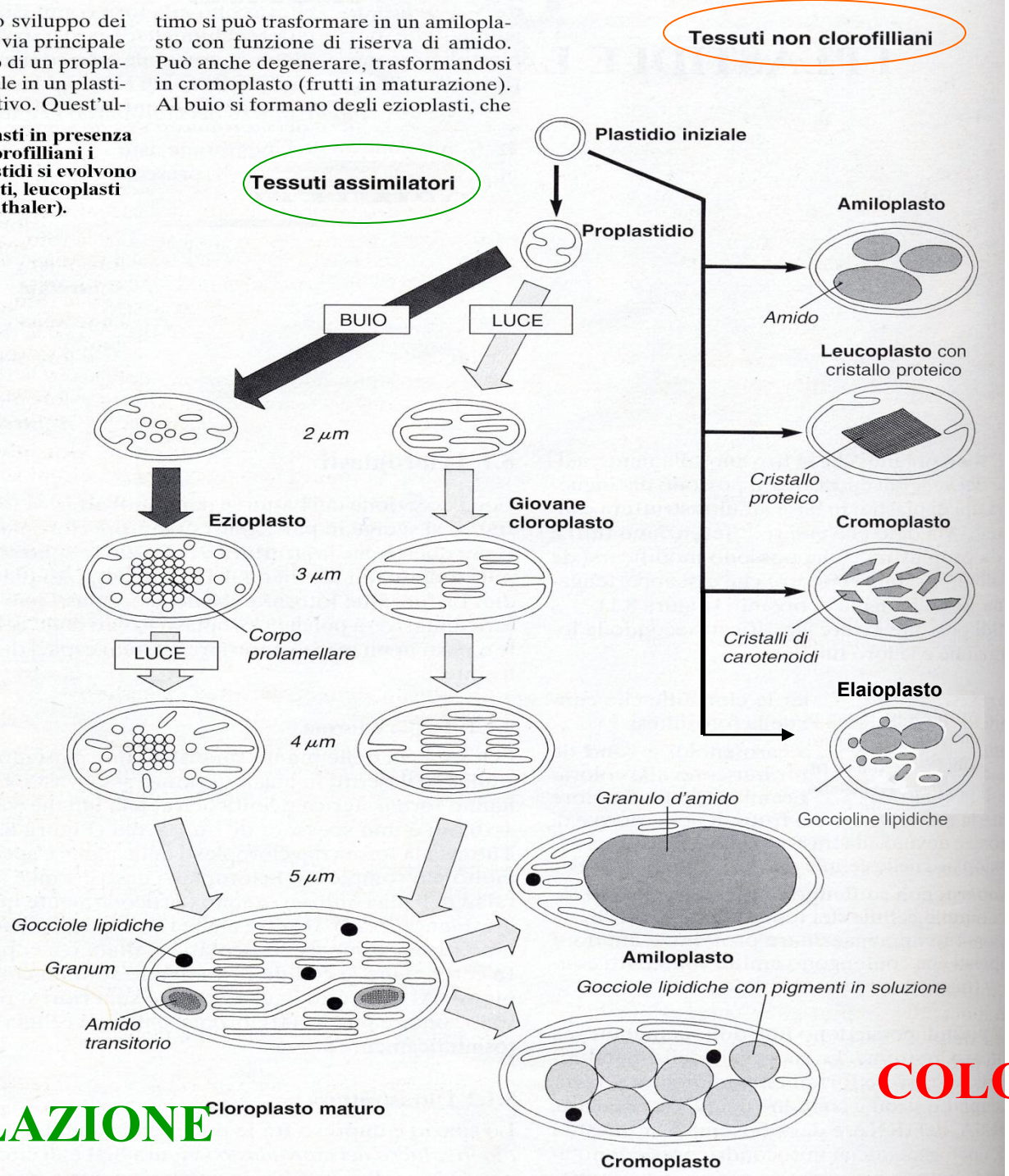
La sintesi ex novo di elevate quantità di carotenoidi è l'evento che definisce i veri cromoplasti.

In foglie senescenti o in tessuti verdi attaccati da patogeni (es. funghi) → degenerazione dei cloroplasti con degradazione delle clorofille e dei tilacoidi → formazione di plastoglobuli, "scoprendo" i carotenoidi già presenti, senza che si verifichi un loro aumento → plastidi senescenti = **gerontoplasti**



GERONTOPLASTI

Schema dello sviluppo dei diversi tipi di plastidi. La via principale corrisponde allo sviluppo di un proplastidio e del plastidio iniziale in un plastidio fotosinteticamente attivo. Quest'ultimo si può trasformare in un amiloplasto con funzione di riserva di amido. Può anche degenerare, trasformandosi in cromoplasto (frutti in maturazione). Al buio si formano degli ezioplasti, che **si trasformano in cloroplasti in presenza di luce. Nei tessuti non clorofilliani i plastidi iniziali e i proplastidi si evolvono direttamente in amiloplasti, leucoplasti o cromoplasti (da Lichtenthaler).**

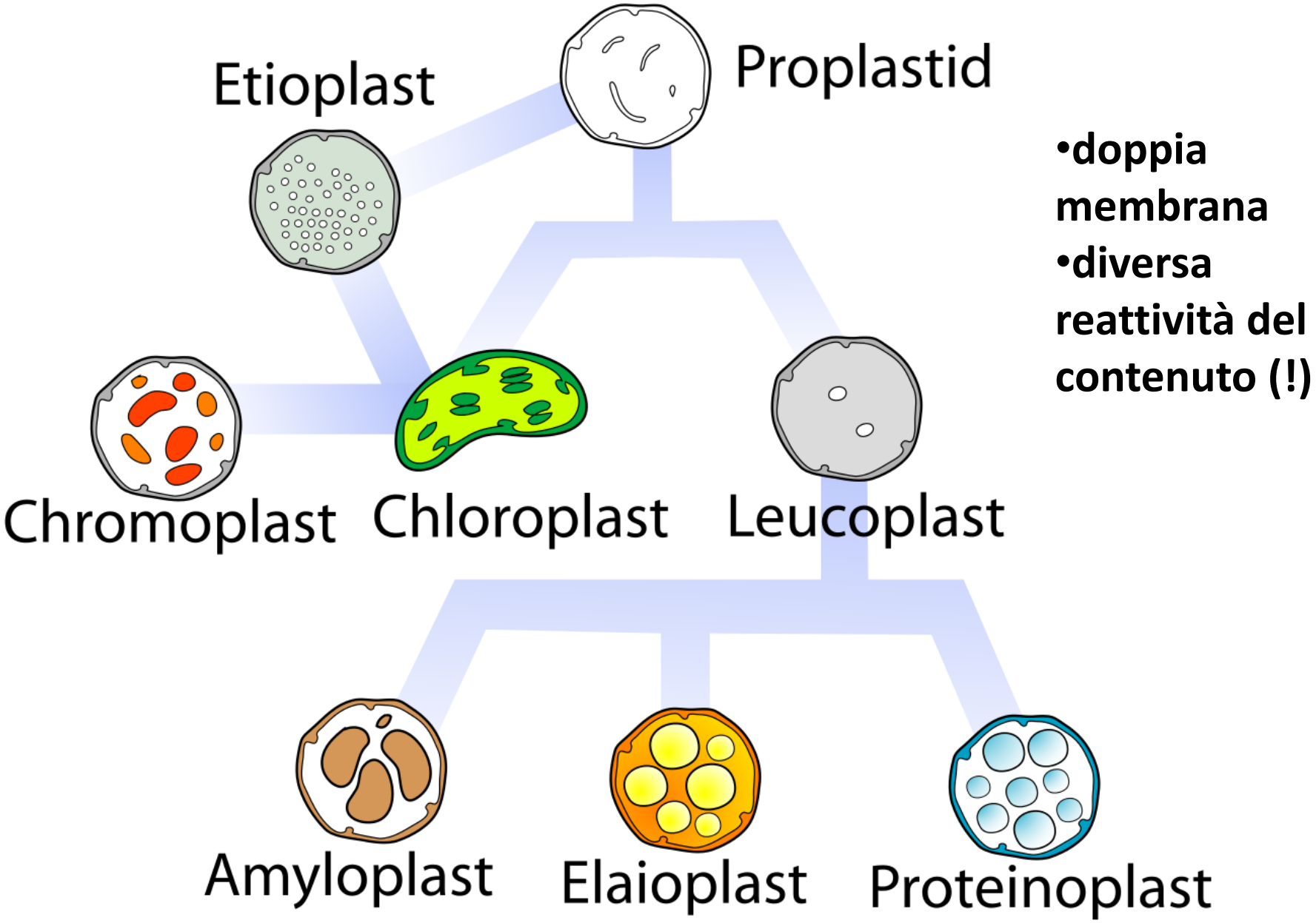


RISERVA

ASSIMILAZIONE

COLORAZIONE

Plastids



- **doppia membrana**
- **diversa reattività del contenuto (!)**

PLASTIDI DI RISERVA

Numerosi in *i)* tessuti di riserva degli organi di riserva (tuberi, bulbi, bulbotuberi, radici tuberizzate), *ii)* parte corticale di alcuni cauli (subito sotto lo strato verde più esterno), *iii)* radici.

- granuli di amido → **AMILOPLASTI**
- cristalli di proteine → **PROTEOPLASTI**
- olii o grassi → **ELAIOPLASTI**

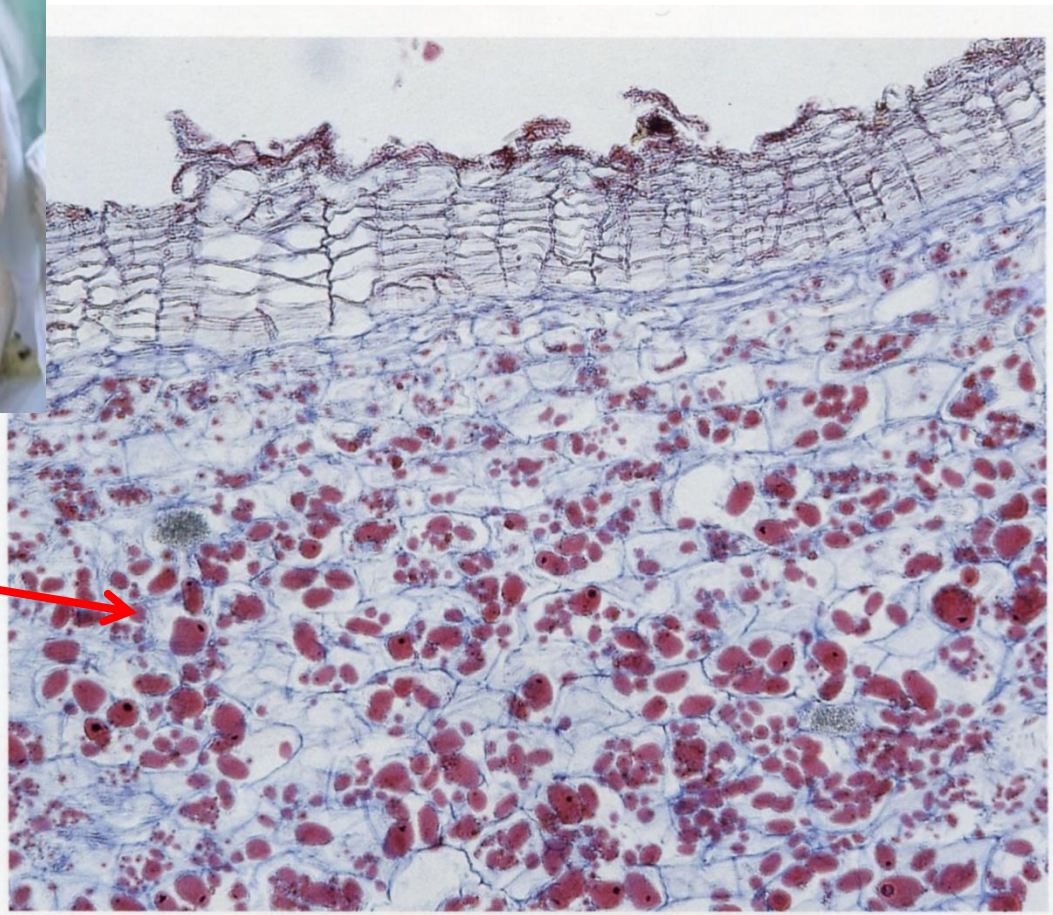


TUBERO DI PATATA



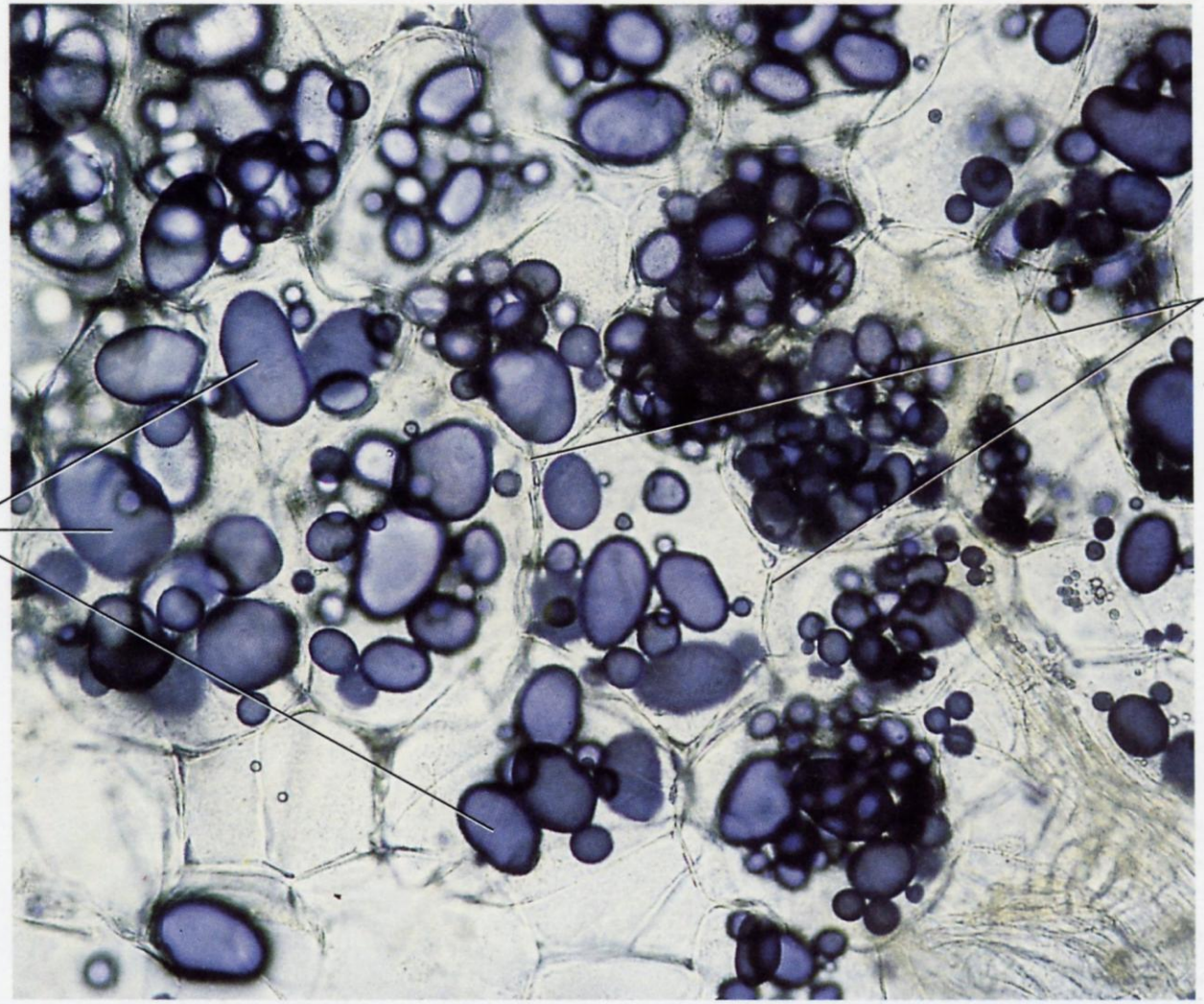
Parenchima amilifero
con **amido secondario**





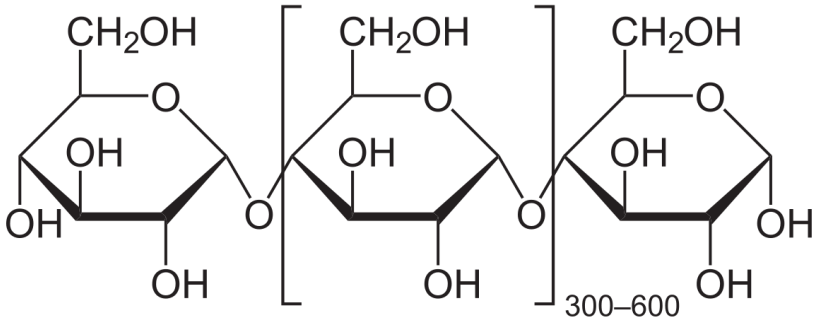
Parenchima di riserva amilifero nel tubero di patata (*Solanum tuberosum* L., fam. Solanaceae)
Sezione trasversale. x 100 (*100*)
Il caso più comune è quello del parenchima cosiddetto amilifero, in cui la sostanza immagazzinata è amido (secondario), contenuto nei leucoplasti.

AMILOPLASTI



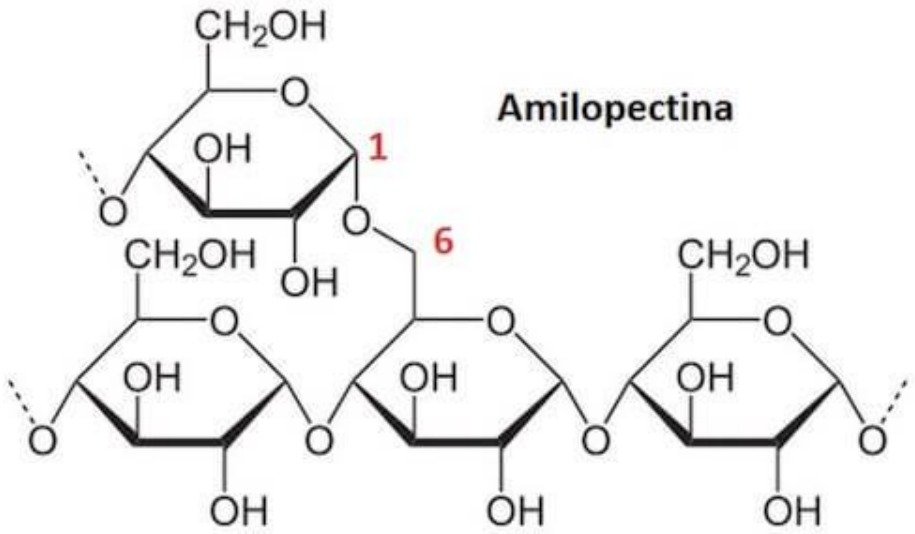
Parenchima di riserva amilifero nel tubero di patata (*Solanum tuberosum* L., fam. Solanaceae).
Sezione trasversale. x 200 (*200*)

Amido secondario: funzione di riserva



Amilosio = catene **lineari** di molecole di α-D(+)-glucosio unite da legami α(1->4) (da 300 a 3000)

+

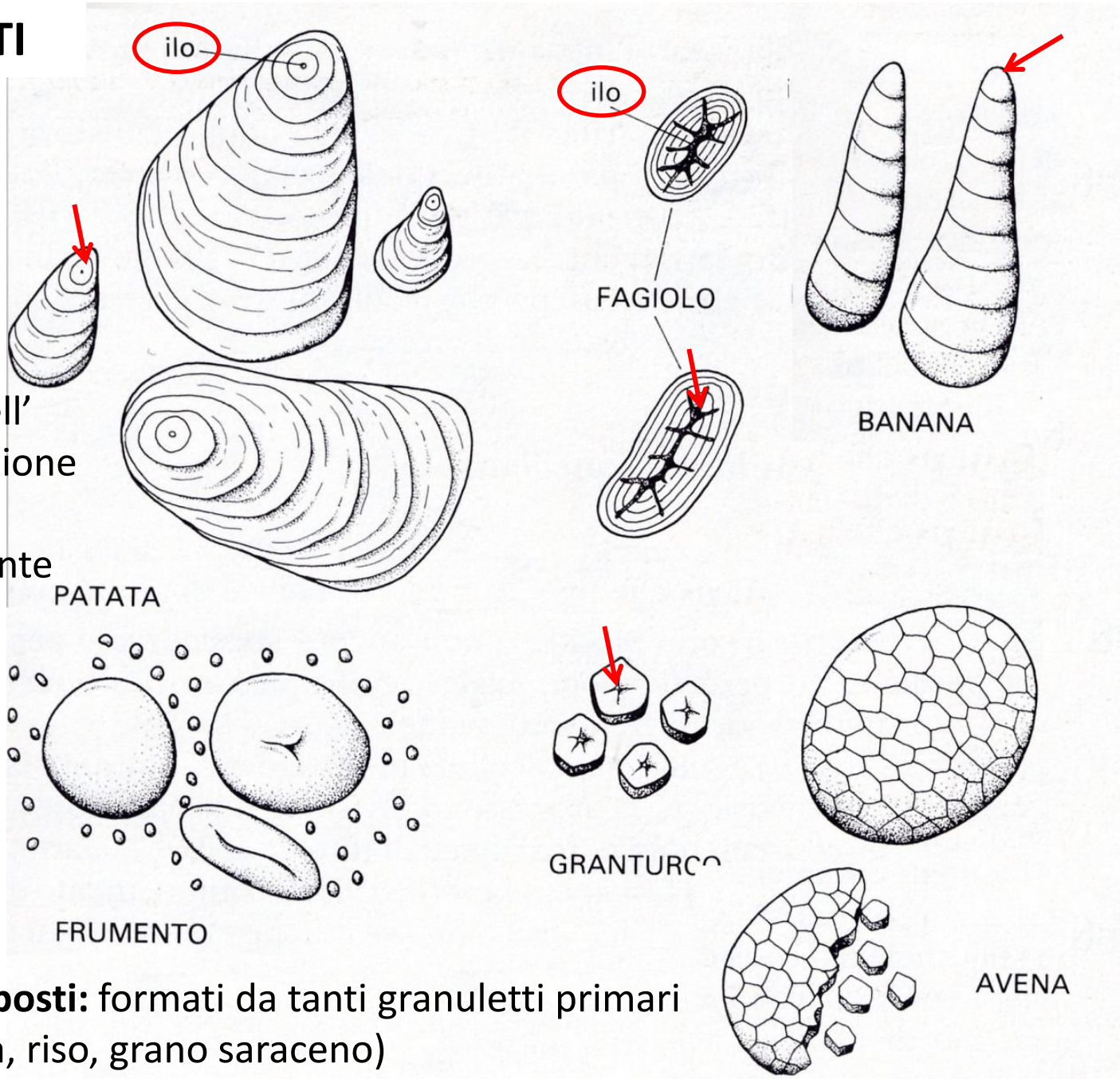


Amilopectina = catene **ramificate** di molecole di α-D(+)-glucosio unite da legami α(1->4) e α(1->6) (ogni 24-30 unità). Da 20.000 a 200.000 unità totali

Amilosio e Amilopectina si possono colorare con lo iodio = colorazione più intensa dell'amilosio. Amilopectina = **rosso-viola**; amilosio = **azzurro - viola**

AMILOPLASTI

ilo: centro di aggreazione dell' amido; deposizione dell' amido concentricamente attorno

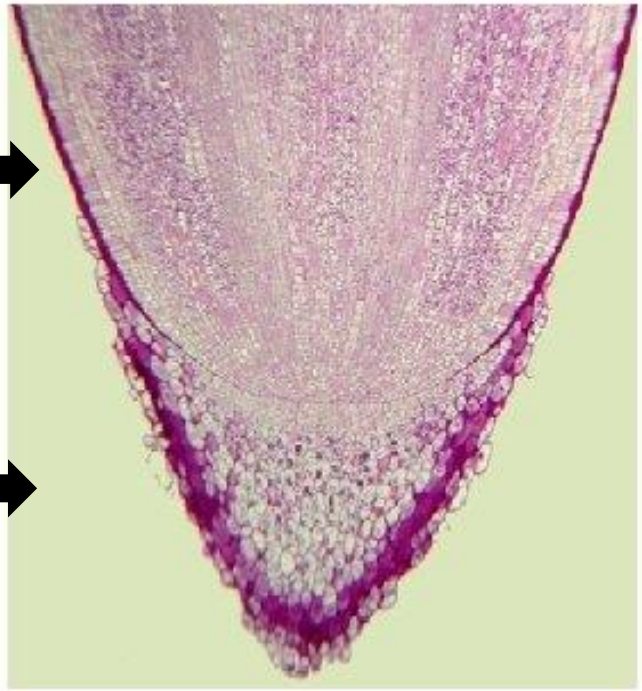


Granuli composti: formati da tanti granuletti primari (e.g. in avena, riso, grano saraceno)

AMILOPLASTI: presenza nelle cellule della cuffia di apici radicali -> GRAVITROPISMO

Apice radicale

Cuffia



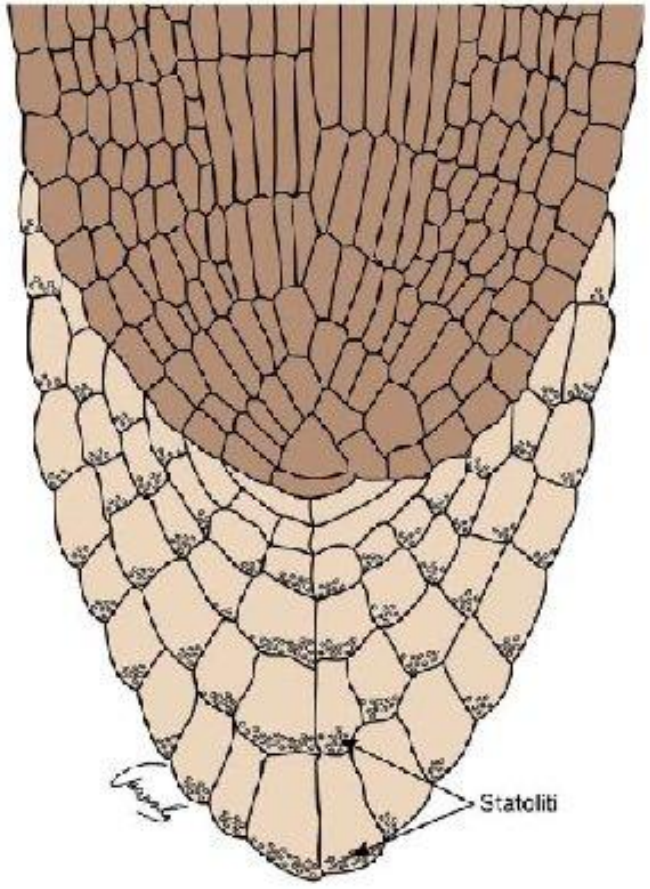
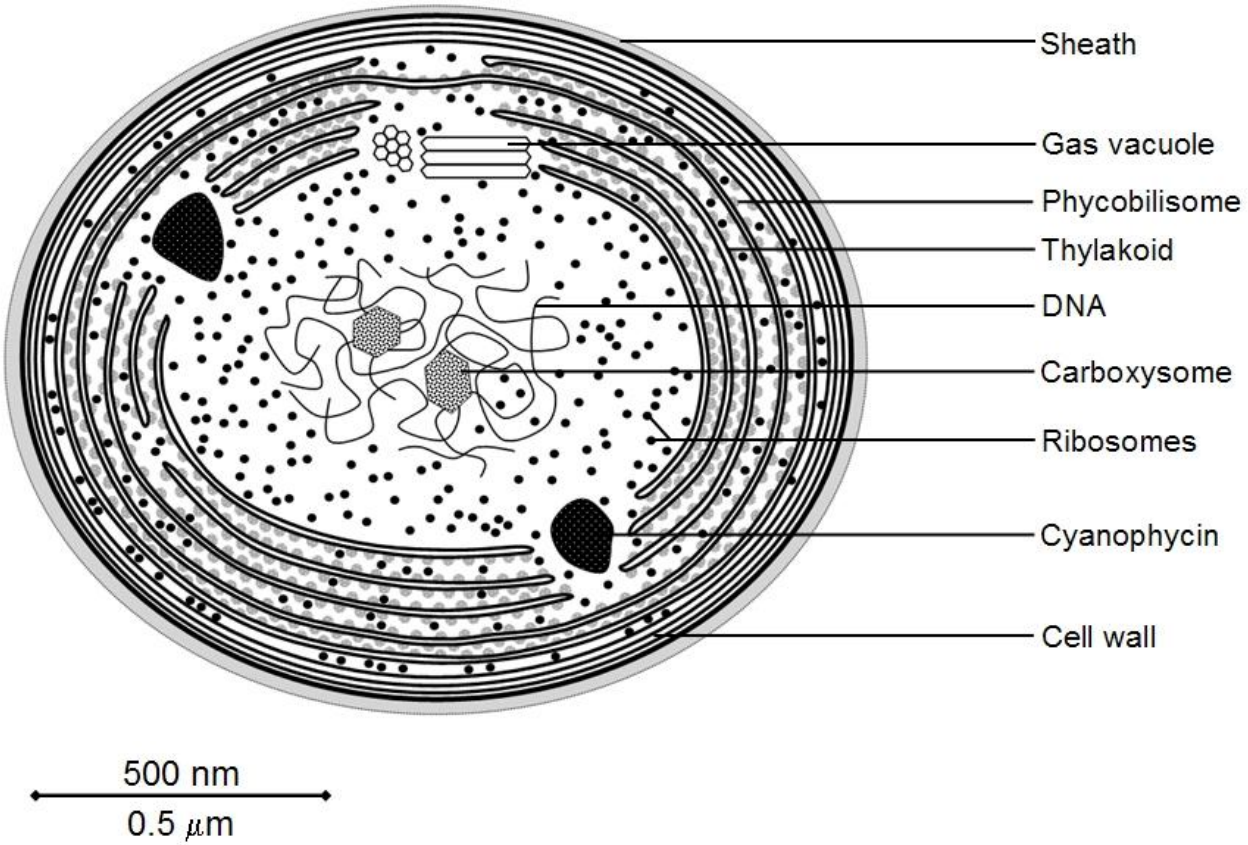


Figura 6.11
Statoliti (frecce) nella cuffia di un apice radicale.

Cross-section through a cyanobacterial cell





Synechococcus lividus is a photosynthetic freshwater extreme thermophilic Cyanobacteria

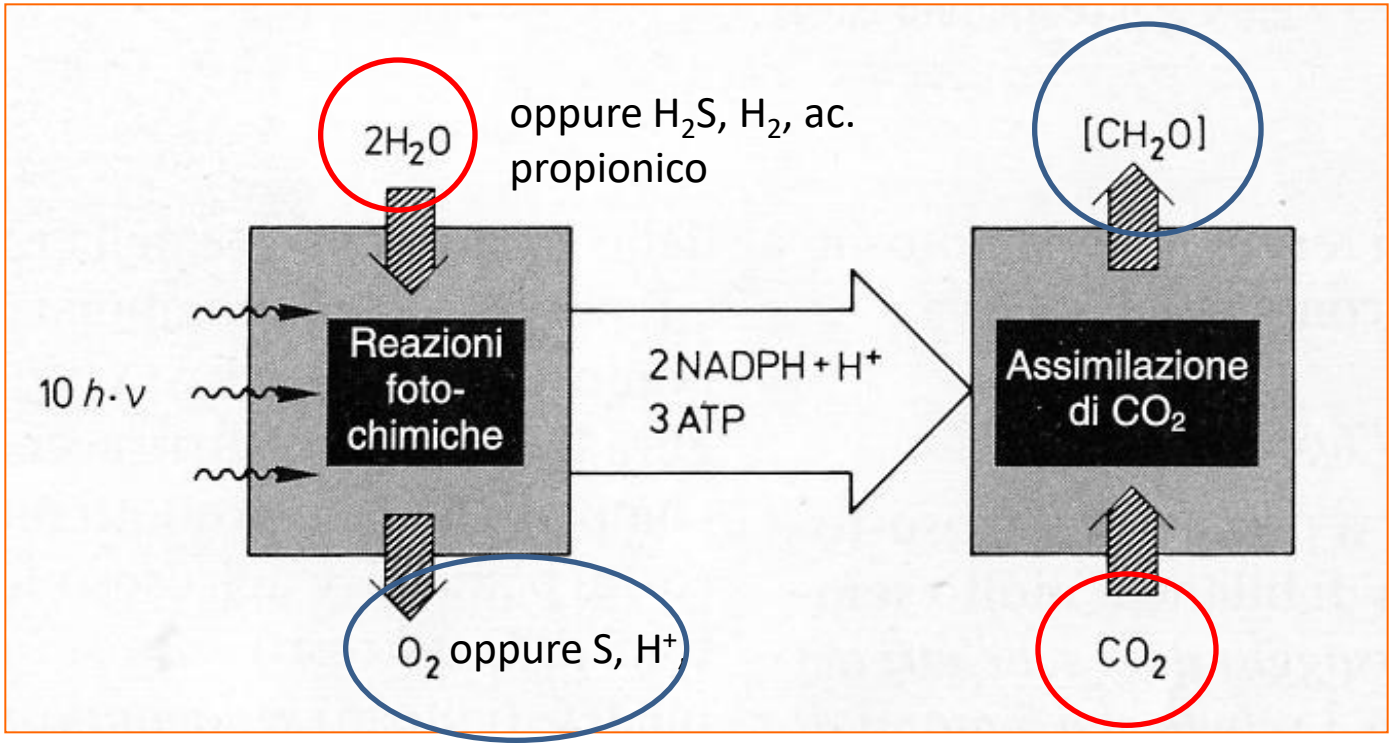
FOTOSINTESI

Reazione anabolica (di sintesi)

Il carbonio è stato parzialmente ridotto

Sost. INORGANICA

sost. ORGANICA



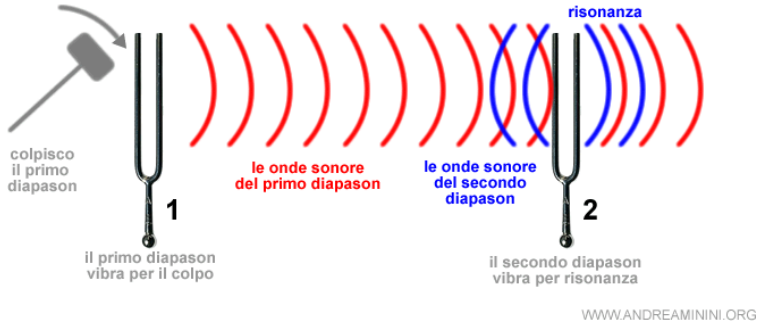


L'ossigeno, lo zolfo o l'idrogeno sono stati ossidati, avendo ceduto elettrone(i)

$$n\,H_2O + n\,CO_2 \rightarrow (CH_2O)n + nO_2$$

Processo endoergonico!
anabolico

Membrane tilacoidali:
fotosistemi + compelssi antenna (cattura della luce)

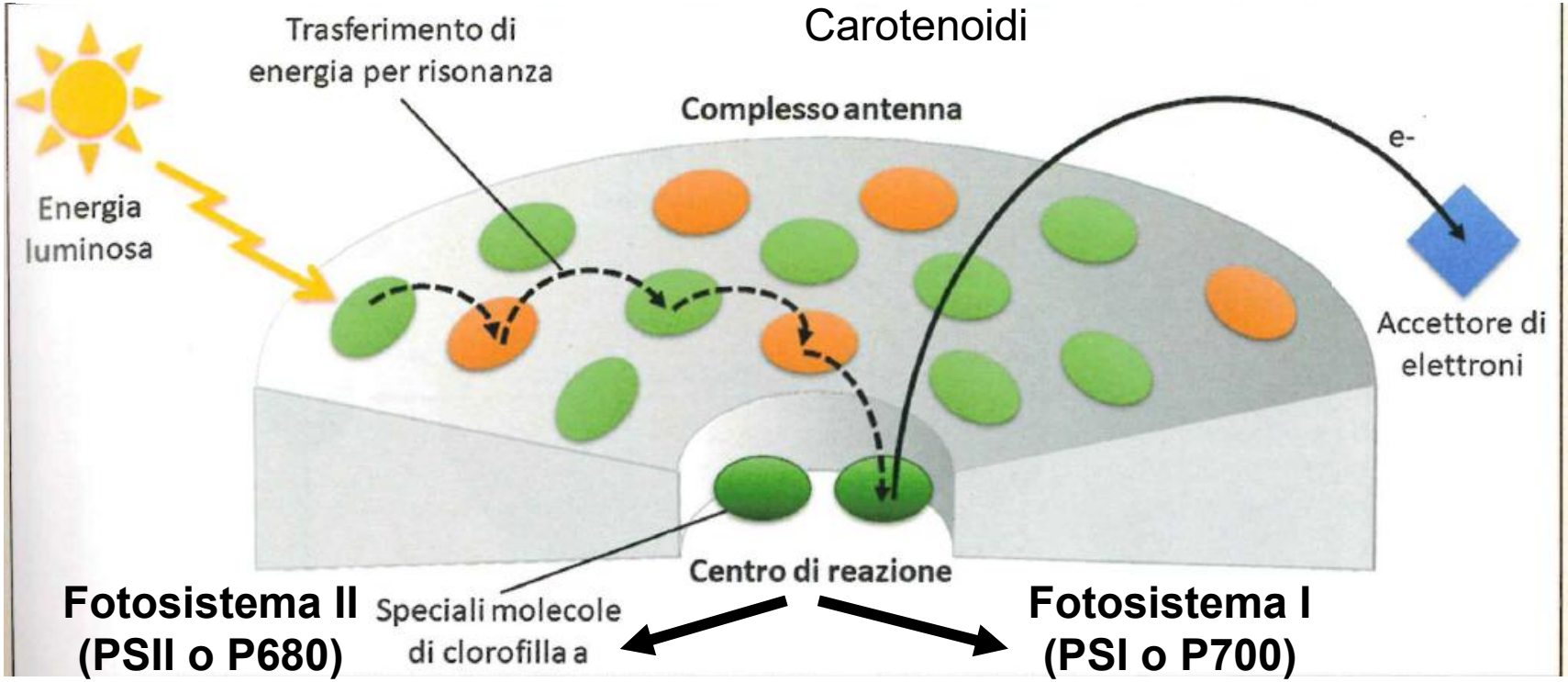


Pigmenti =

clorofilla a (ass. λmax = **670 nm**)

clorofilla b (ass. λmax = **650 nm**)

Carotenoidi

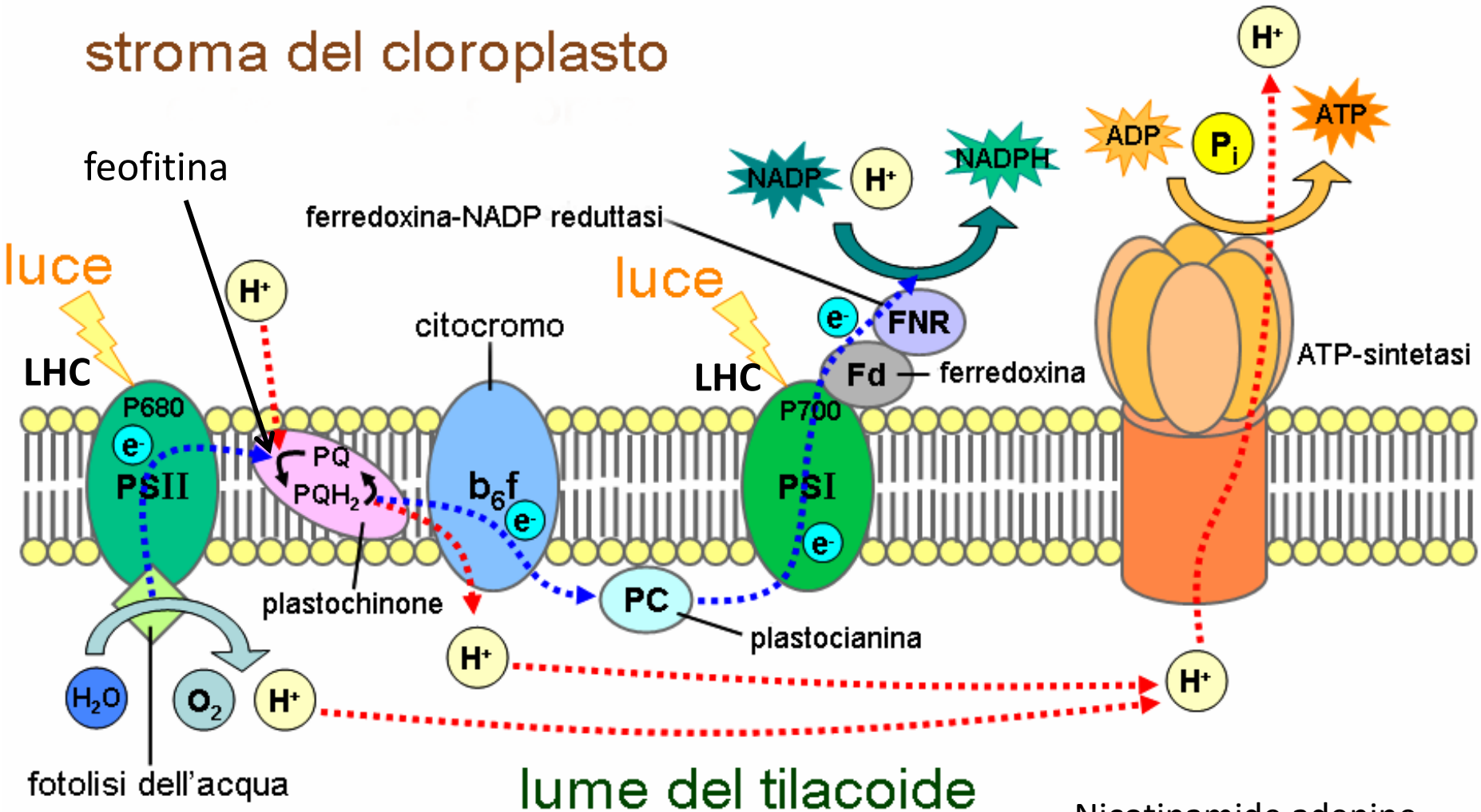


Fotosistema II (PSII o P680)

Fotosistema I (PSI o P700)

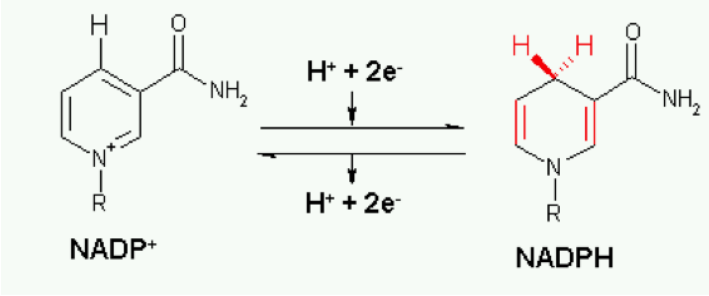
λmax = 680 nm (rosso)

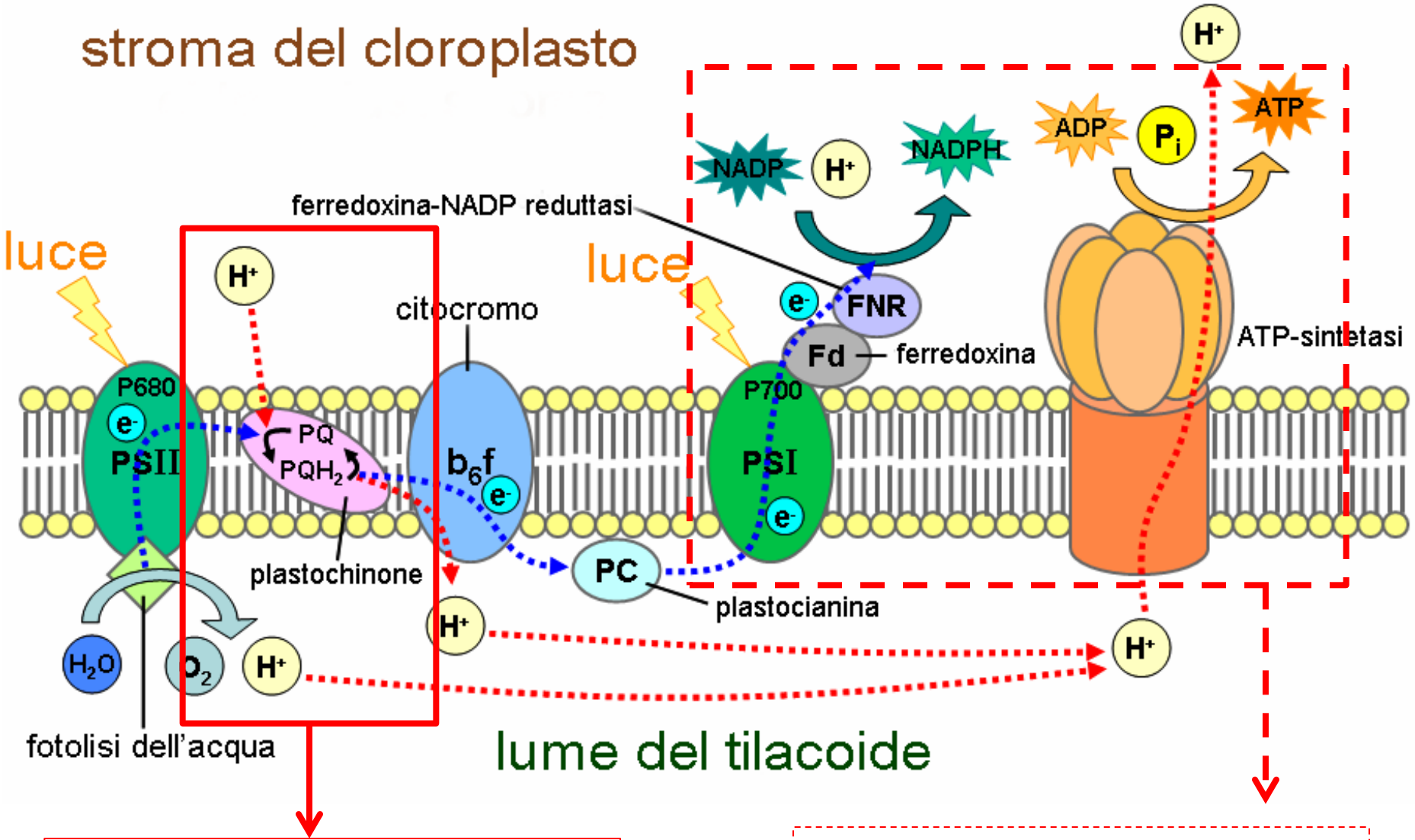
λmax = 700 nm (rosso lontano)



- Molecole antenna (captazione luce)
- Centri di reazione (attivazione Chl-a)

Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

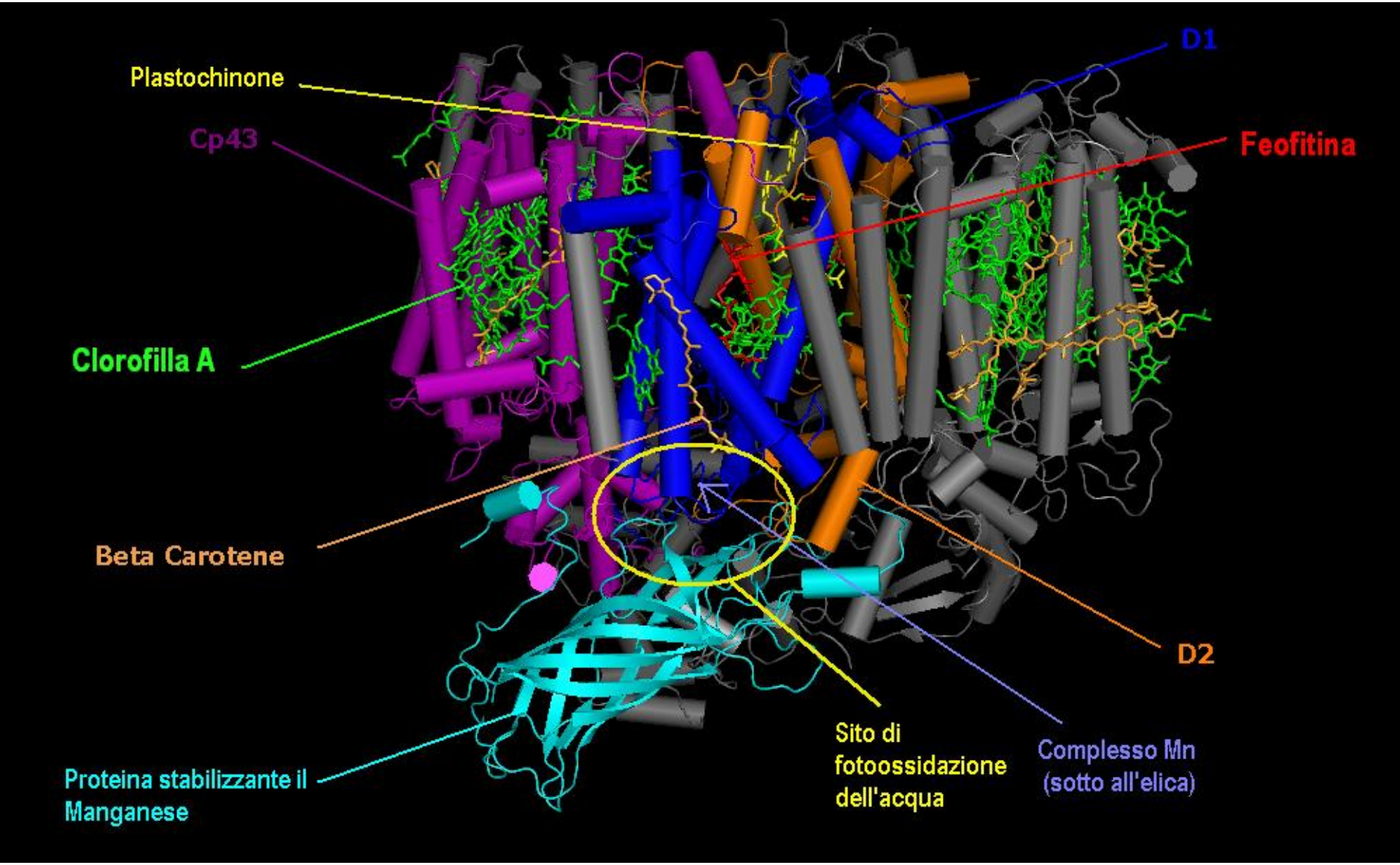




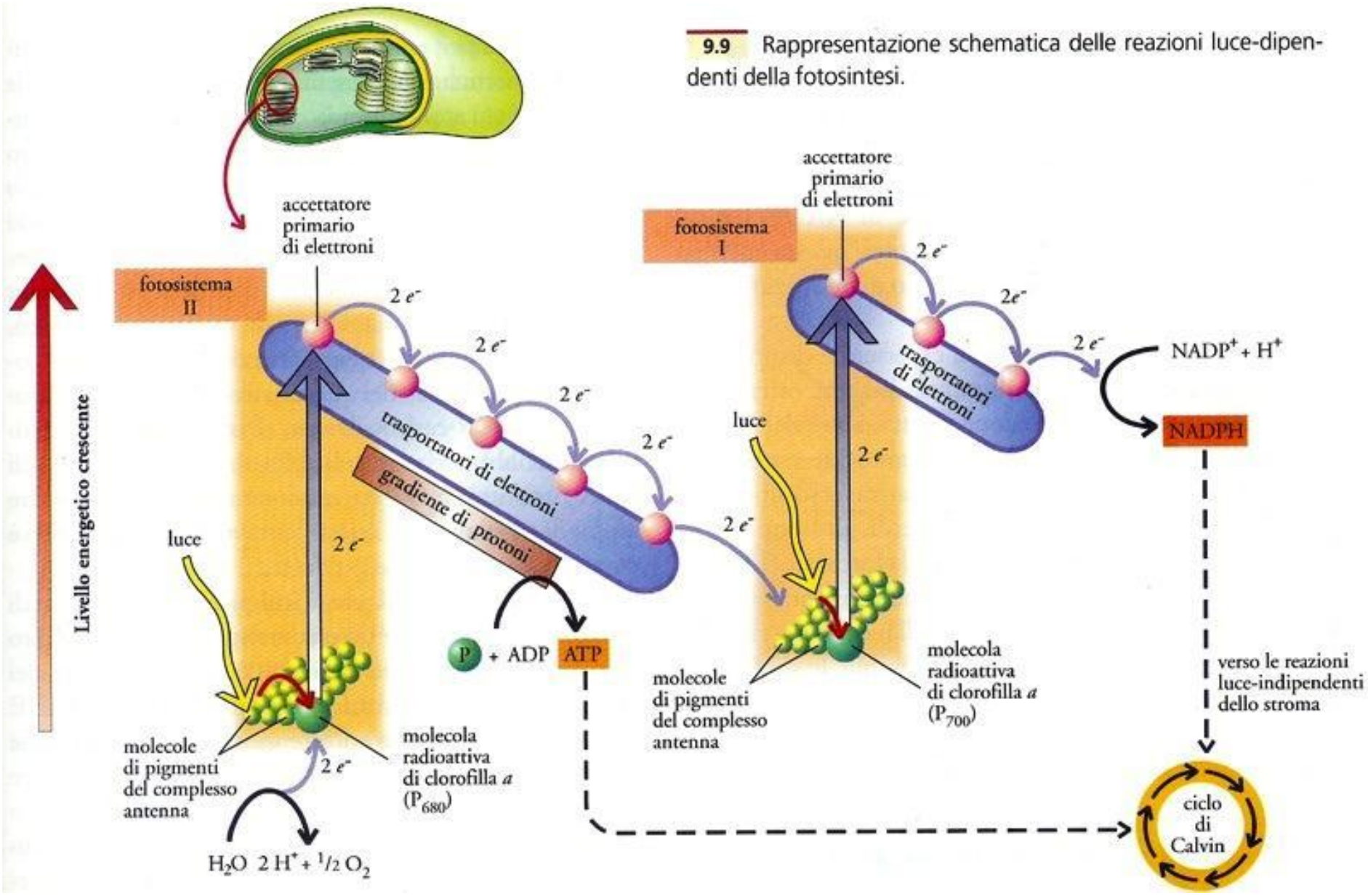
Catena di trasporto e^-, perdita di energia→ livello energetico inferiore
Energia persa→ pompaggio H^+ da stroma a lume (contro gradiente!) = gradiente H^+

gradiente H^+ sfruttato da ATP-syntase (ADP→ATP, ogni 2 e^-)

Fotosystema II - P680



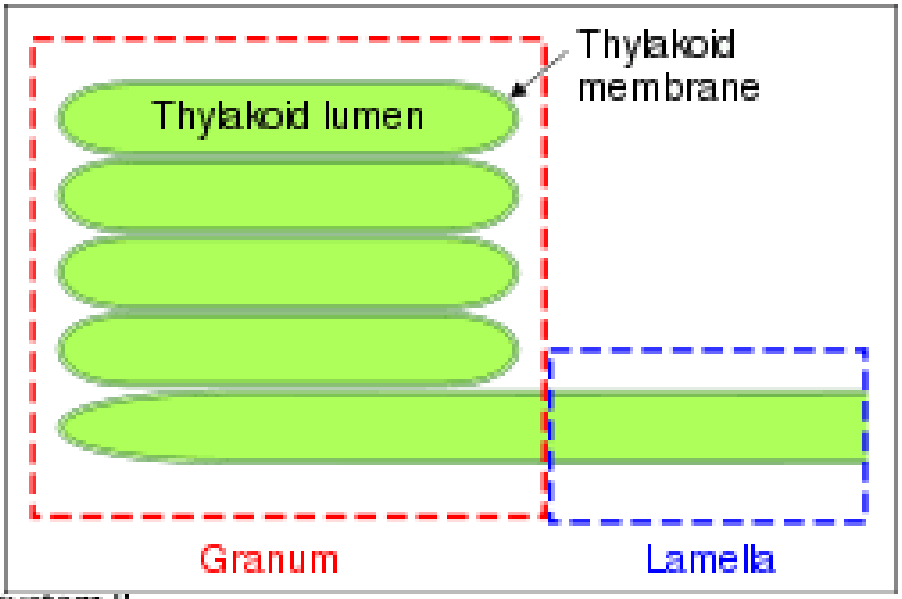
FOTOSINTESI

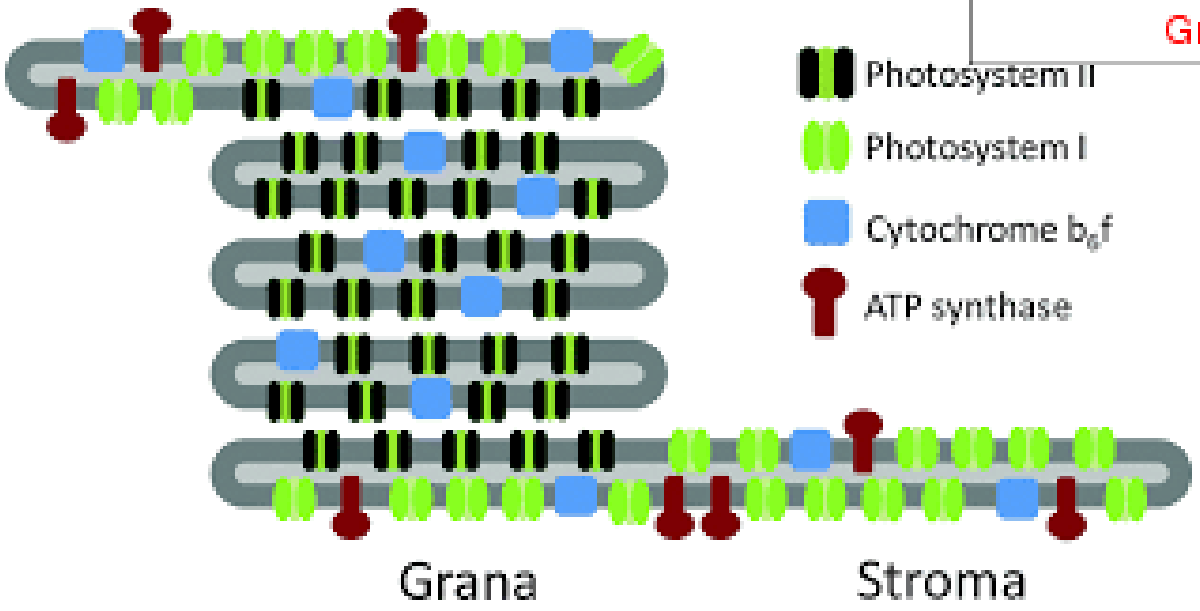


9.9 Rappresentazione schematica delle reazioni luce-dipendenti della fotosintesi.

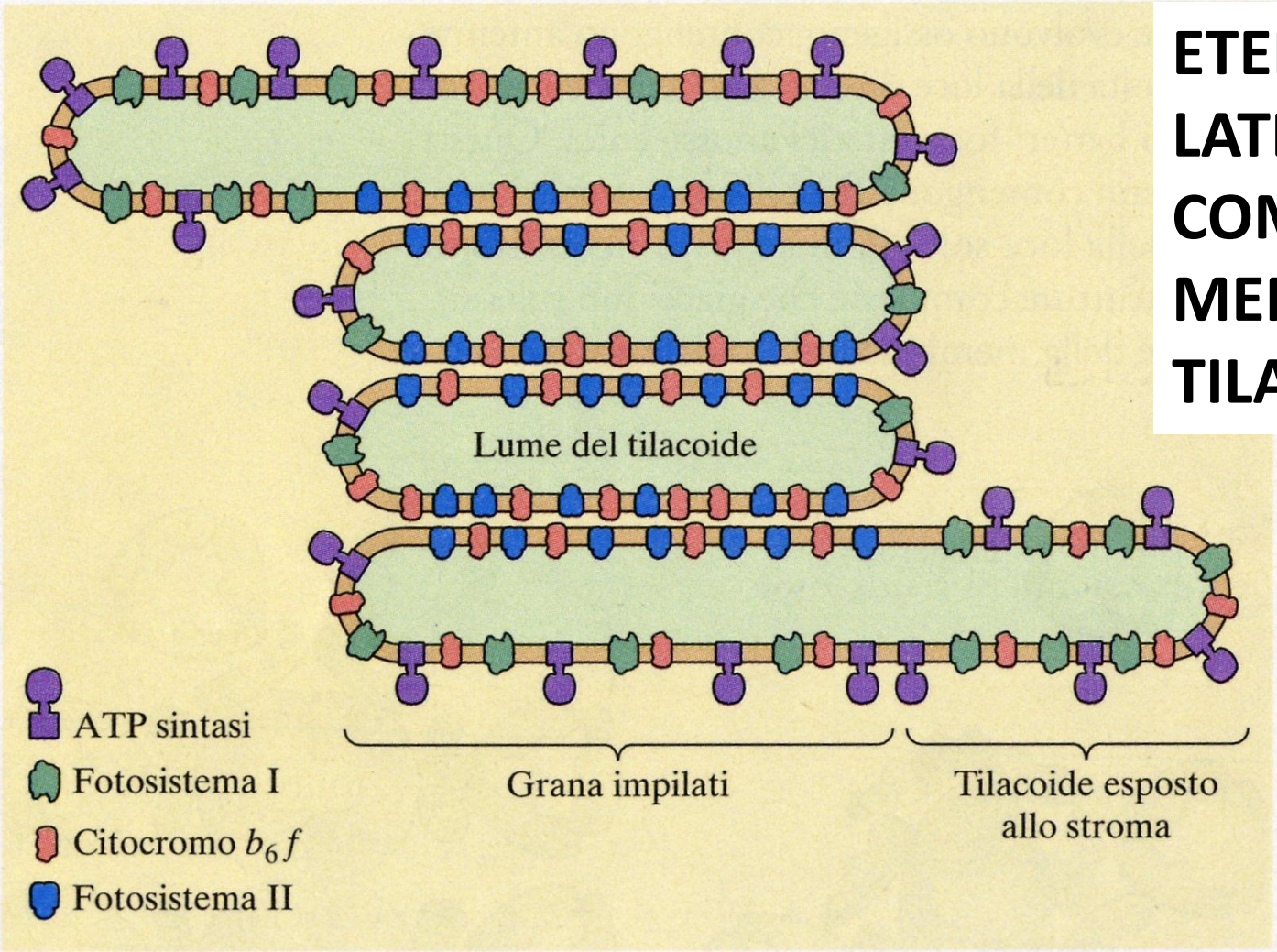
TILACOIDI: evaginazioni interne della membrana interna; delimitano il **lume tilacoidale**; particolarmente sviluppate in cloro- e cromoplasti, particolarmente ricche in:

- pigmenti apolari (liposolubili);
- complessi enzimatici.

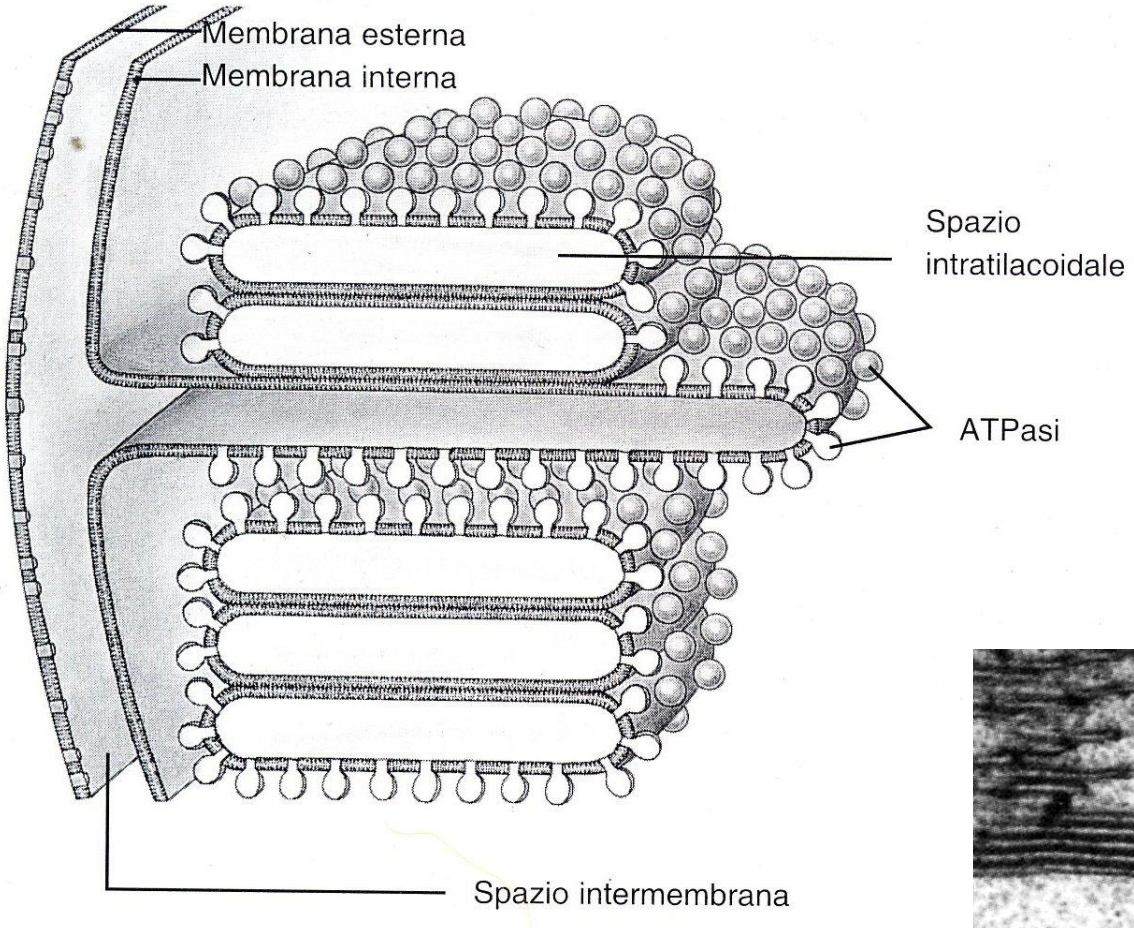


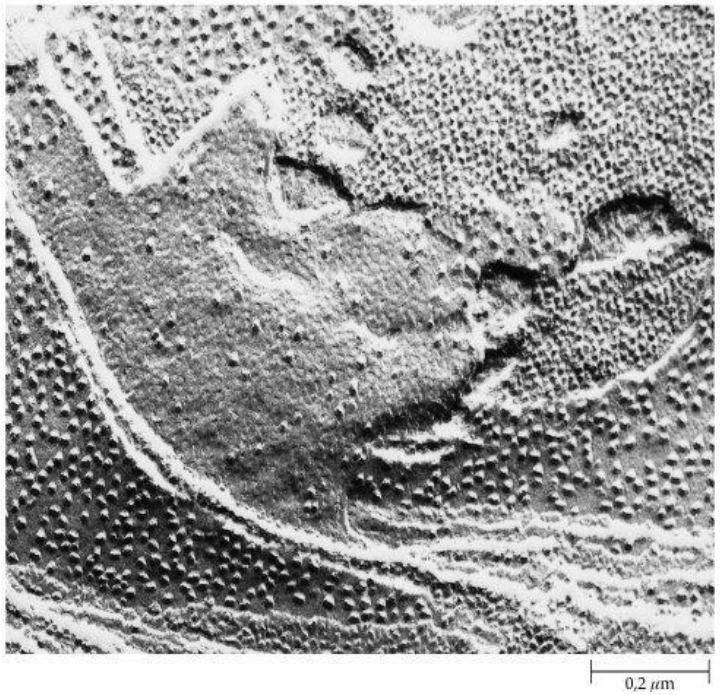


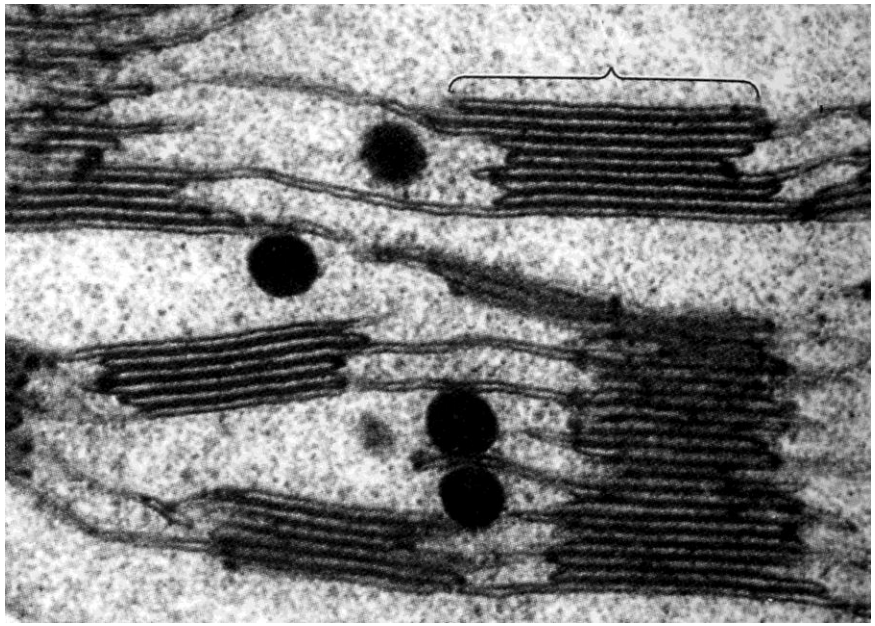
ETEROGENEITA' LATERALE dei COMPLESSI DI MEMBRANA TILACOIDALE



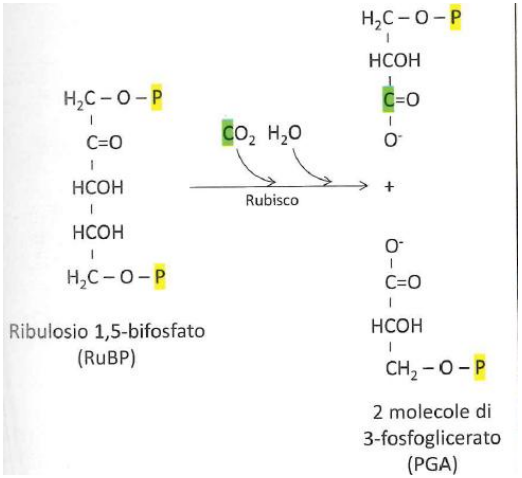
L'eterogeneità laterale dei complessi della membrana del cloroplasto. Il PSII è localizzato soprattutto nelle regioni impilate delle membrane tilacoidali, mentre il PSI e l'ATPasi sono localizzate quasi esclusivamente nelle membrane non impilate. Il complesso del citocromo b_6f è distribuito equamente attraverso le due regioni. La separazione dei fotosistemi necessita di trasportatori elettronici mobili come il plastochinone e la plastocianina, che trasportano gli elettroni tra i complessi della membrana separati spazialmente.


Membrana esterna
Membrana interna
Spazio intratilacoidale
ATPasi
Spazio intermembrana


0,2 μm



Ciclo di Calvin – ciclo C3



3 x CO_2

3 x intermedio instabile (6C)

6 x 3-Fosfoglicerato (3C)

6 ATP

6 ADP + Pi

6 x 1,3-Bifosfoglicerato (3C)

6 NADPH

6 H^+ + 6 NADP+

6 x Gliceraldeide 3-fosfato (3C)

Zuccheri e altri metaboliti

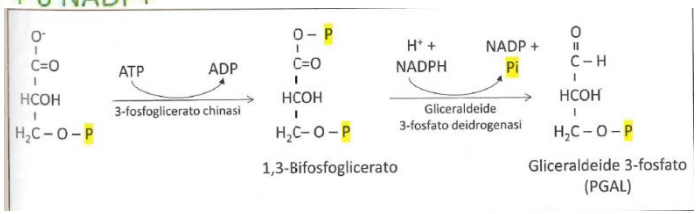
3 ADP + Pi

3 ATP

3 x Ribulosio 1,5-bifosfato (5C)

Ciclo di Calvin

5 molecole di gligeraldeide 3-fosfato vengono impiegate per rigenerare ribulosio 1,5-bifosfato, mentre una molecola è utilizzata per sintetizzare zuccheri ed altri metaboliti



$$n\,H_2D + n\,CO_2 \rightarrow (CH_2O)n + nD_2$$

Tipo di nutrizione	AUTOTROFISMO			
		FOTO-		CHEMO-
	IDROTROFIA	LITOTROFIA	ORGANOTROFIA	LITOTROFIA
Fonte di energia	luce	luce	luce	ossidazioni
Fonte di carbonio	CO2	CO2	CO2, sost. org.	CO2
Donatore di elettroni	H2O	H2S	sost. org.	H2S, NH3, Fe2+, H2
organismi	piante verdi cianobatteri	Solfobatteri verdi e purpurei	Batteri verdi e purpurei NON a zolfo	vari batteri non fotosintetici
Prodotto di scarto	O_2	S	Altra sot.org., più ossidata	S, NO_3^-, Fe^{3+}, H^+

FOTOSINTESI OSSIGENICA

LUCE
(ambienti esposti alla luce)

BUIO
(anche ambienti profondi)