

Biologia Celular

Estudo da Permeabilidade em Células Vivas

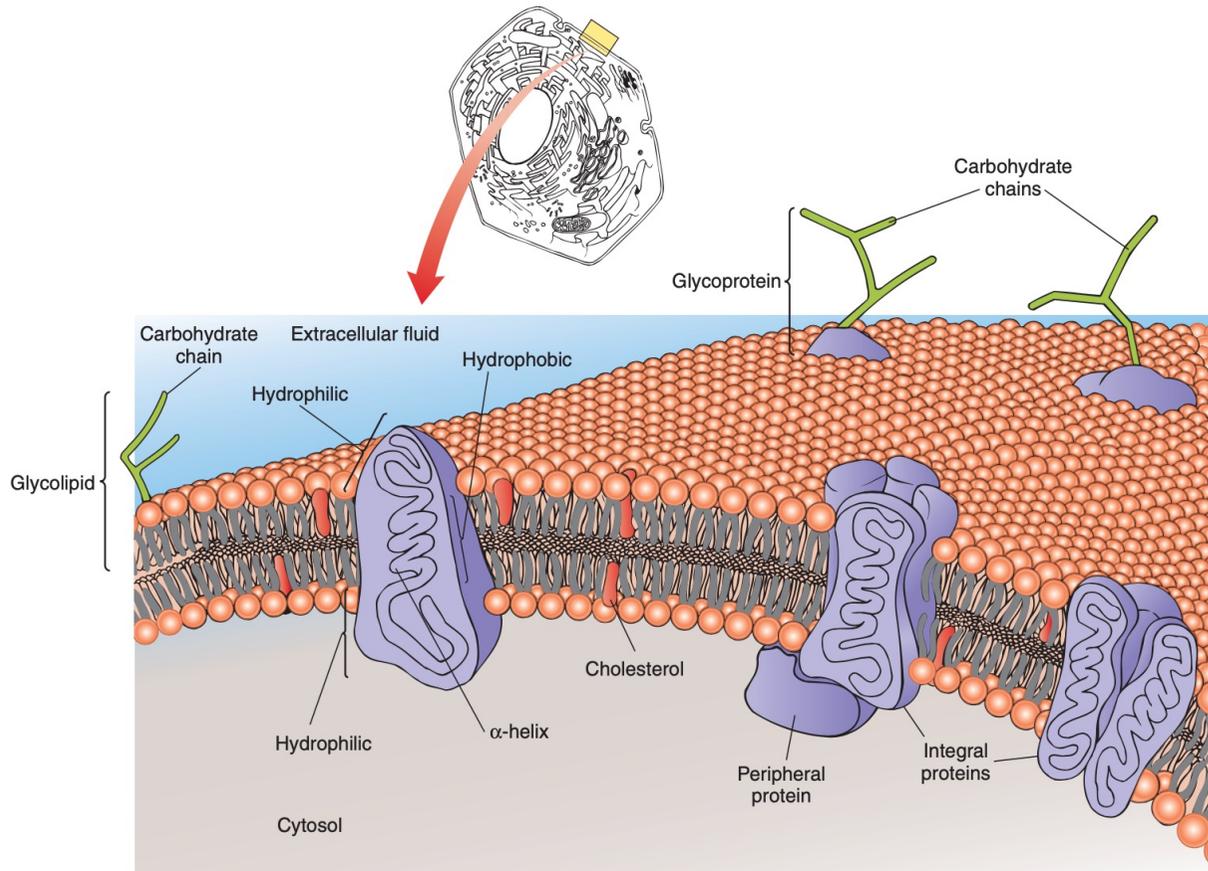
Imagens:

Molecular Biology of the Cell,

Fifth Edition (© Garland Science 2008)

Constituição das Biomembranas

Modelo do mosaico fluido



Proteínas *integrals*: dois domínios

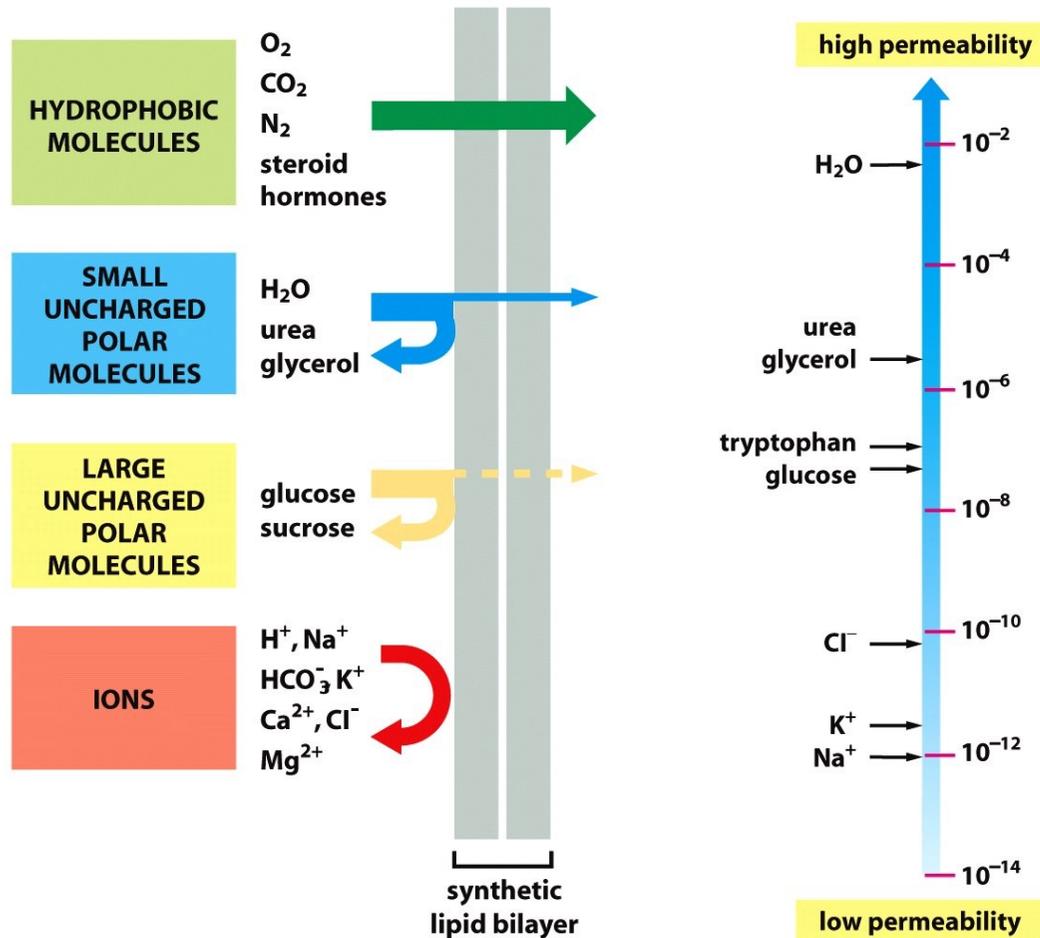
- hidrofóbico que interage com a região hidrofóbica
- hidrofílico, em contacto com o meio aquoso interno ou externo.

Proteínas *transmembranares* – três domínios

- dois domínios hidrofílicos interno e externo
- domínio hidrofóbico

Proteínas *periféricas* – associadas a lípidos ou proteínas integrais

Membrana plasmática



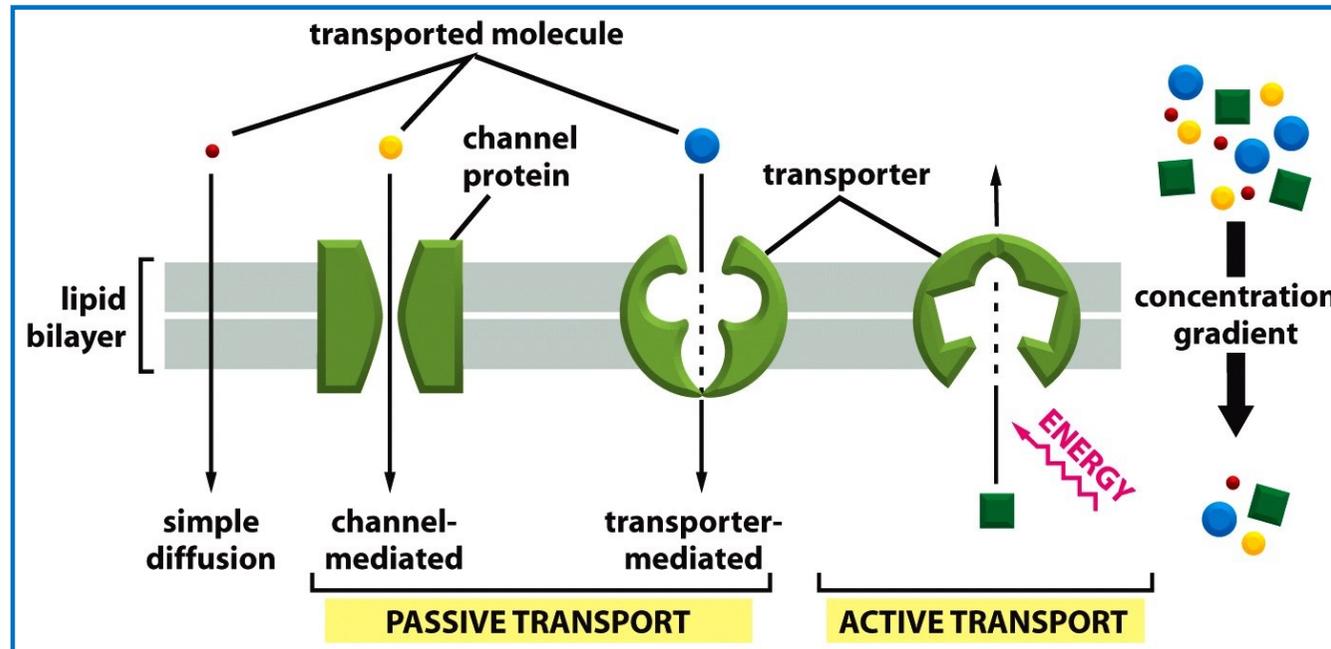
Semi-permeabilidade da membrana plasmática

A **permeabilidade** de uma bi-camada lipídica difere para diferentes classes de moléculas.

Quanto menor a molécula e, mais importante, quanto menos fortemente ela se associa à água, **mais rapidamente** a molécula se difunde pela bi-camada.

Figure 11-1 *Molecular Biology of the Cell* (© Garland Science 2008)

Transporte através das biomembranas



Com a exceção dos gases (O_2 e CO_2) e pequenas moléculas hidrofóbicas, a maioria das moléculas não se **difunde** através da dupla camada fosfolipídica.

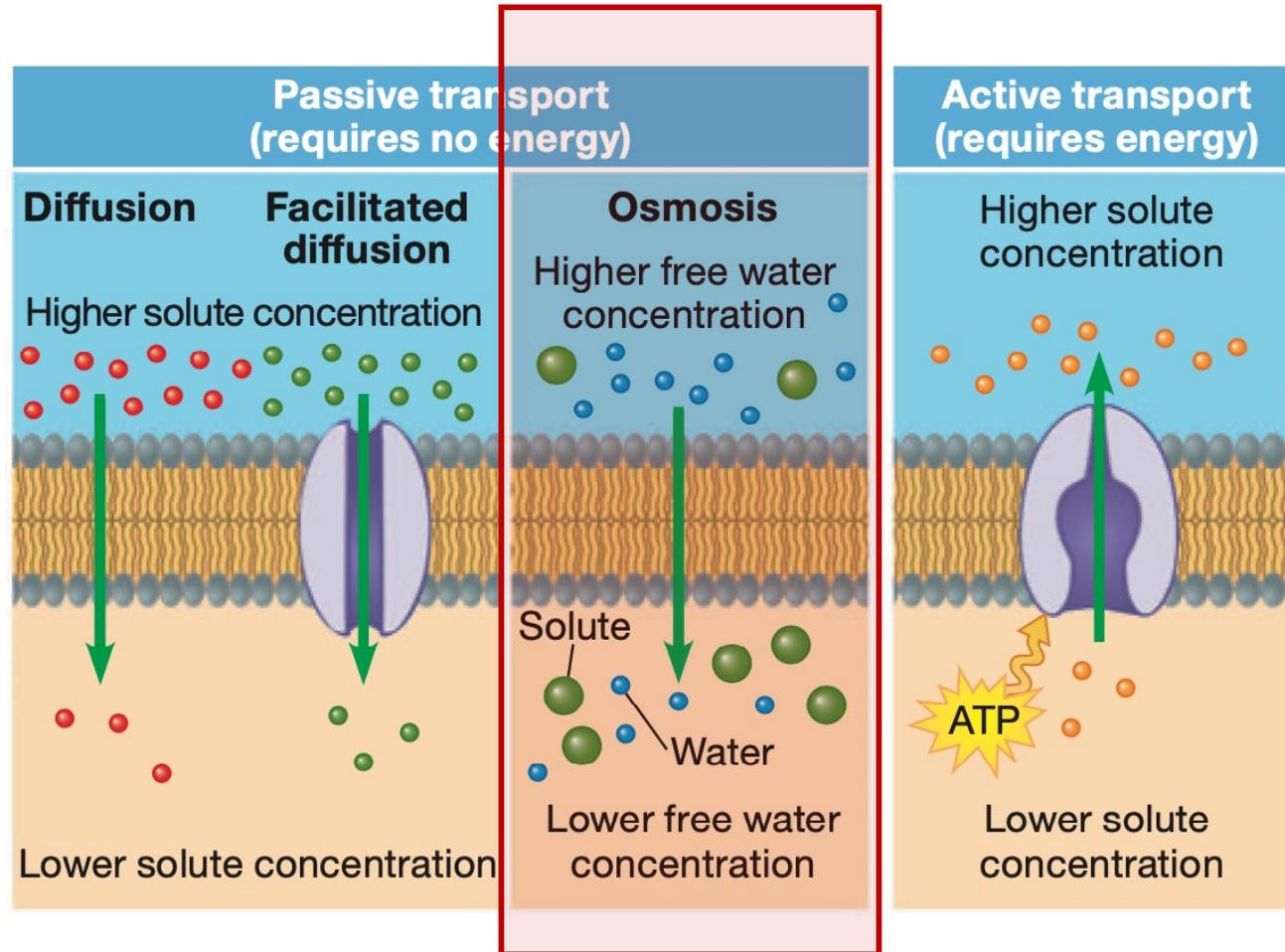
O **transporte** da maioria das moléculas e de todos os iões é mediado por proteínas transmembranares

Os **canais proteicos** e os **transportadores** transportam compostos específicos a favor do gradiente de concentração – **difusão facilitada**.

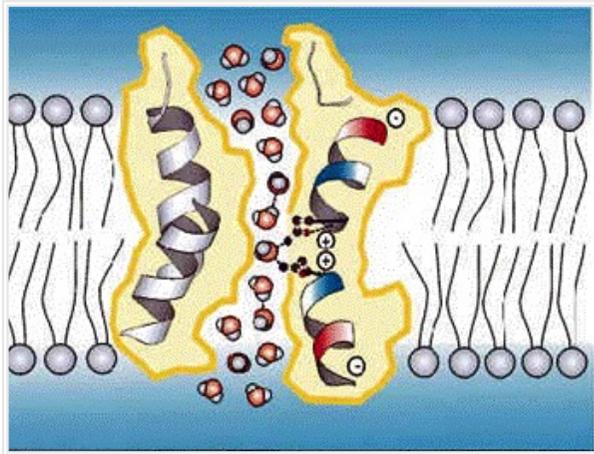
Bombas – proteínas que possibilitam o **transporte ativo** utilizando energia para mover os solutos de baixas concentrações para altas concentrações (contra o gradiente).

Osmose

Difusão de água através da membrana



Difusão facilitada

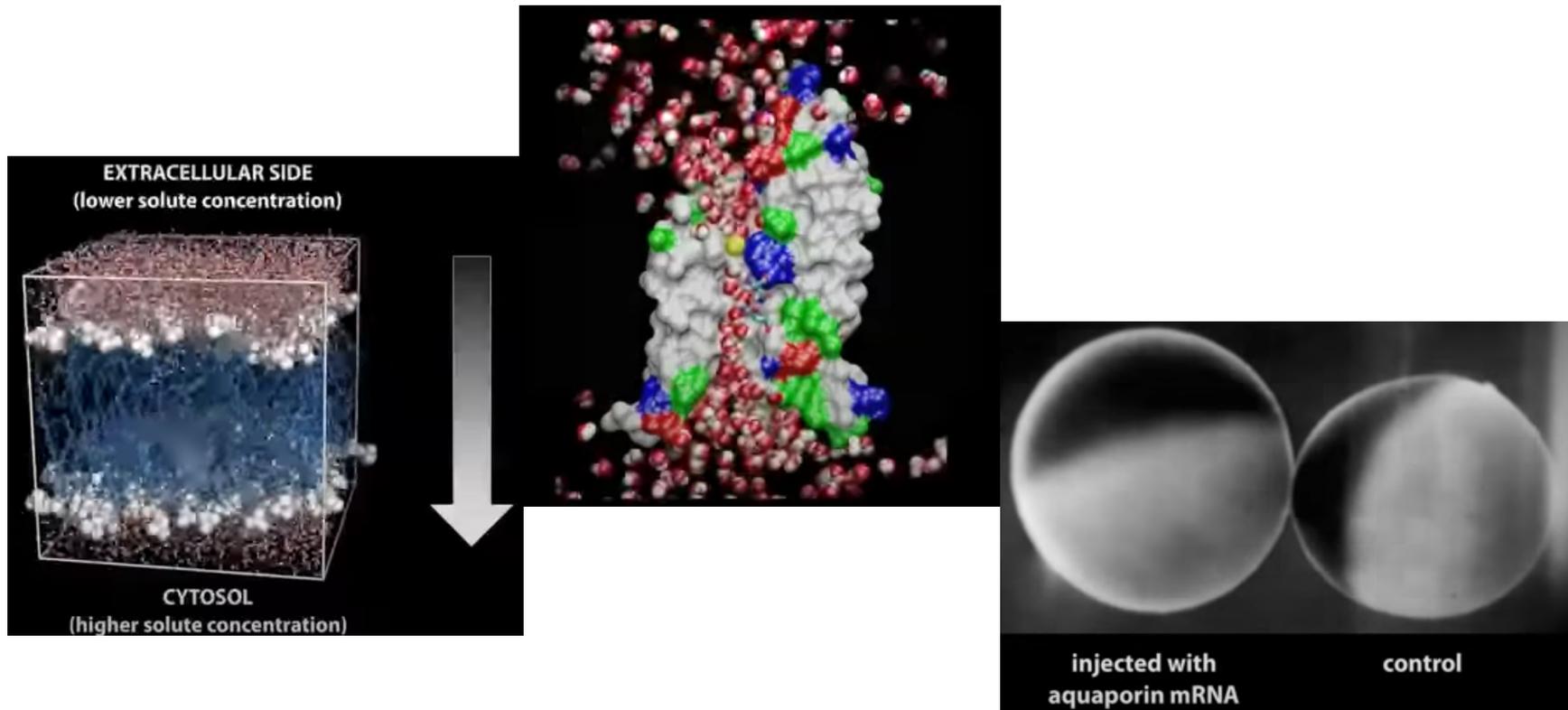


Aquaporinas

Proteínas transmembranares
transportadoras de moléculas
de água



Aquaporinas



https://www.youtube.com/watch?v=SzbjexaSM0Q&ab_channel=RichardPosner

Tonicidade Celular – transporte de água

Osmotic Terminology

Solute Concentration in Solution A	Solute Concentration in Solution B	Tonicity	Direction of Net Movement of Water
Greater	Less	A hypertonic to B; B hypotonic to A	B to A
Less	Greater	B hypertonic to A; A hypotonic to B	A to B
Equal	Equal	A and B are isotonic to each other	No net movement

Osmose

Movimento da água através da membrana

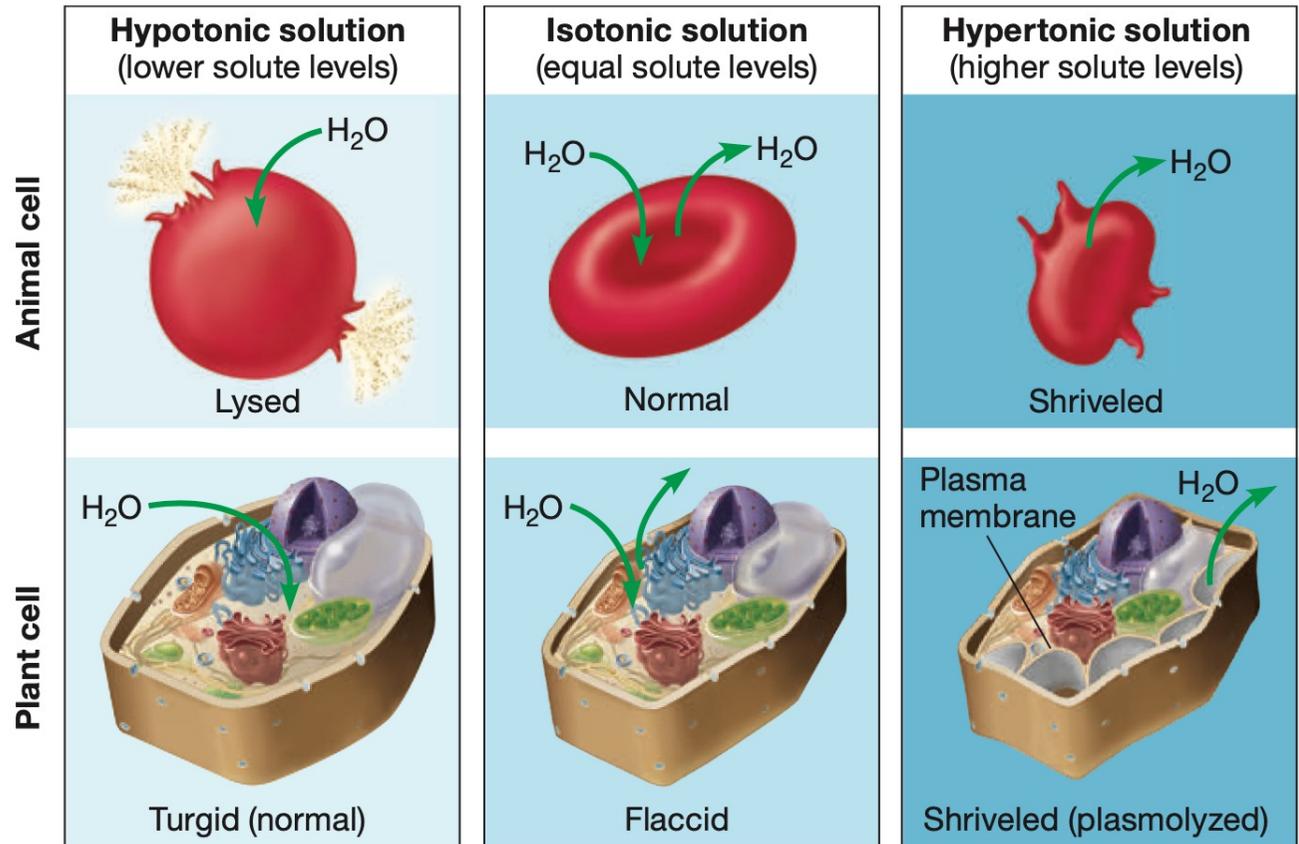
solução **hipotónica** - baixa concentração de soluto (muita água)



Solução **hipertónica** - alta concentração de soluto (pouca água)

→ **igualar a concentração** em ambos os lados da membrana

Tonicidade Celular



Osmose

Movimento da água através da membrana

solução **hipotónica** - baixa concentração de soluto (muita água)



Solução **hipertónica** - alta concentração de soluto (pouca água)

→ **igualar a concentração** em ambos os lados da membrana

Vacúolo

Exclusivo das **células vegetais**.

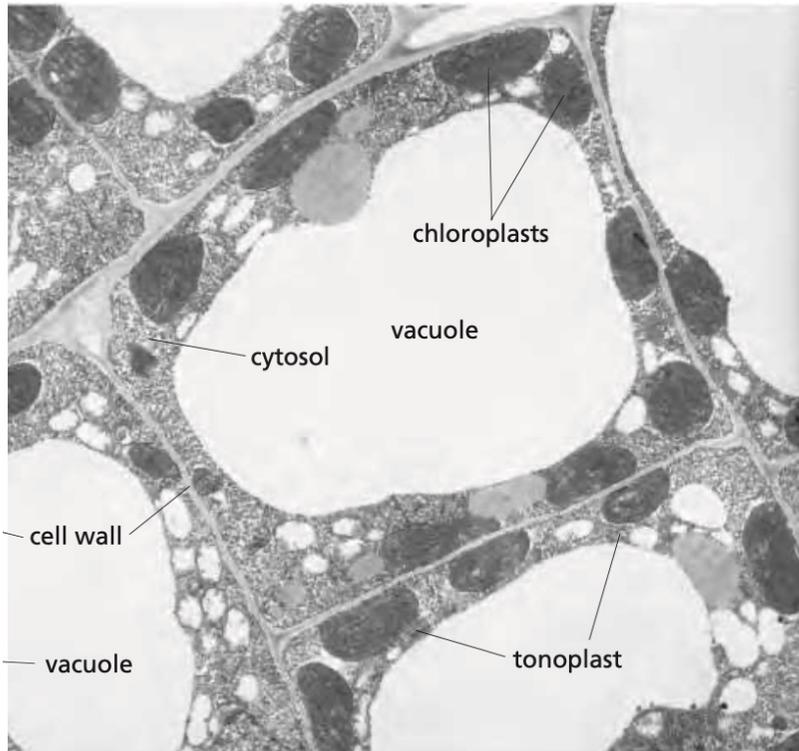
O nº e tamanho - tipo de célula e do estado de desenvolvimento

(Podem ocupar até 90% do volume celular)

Funções:

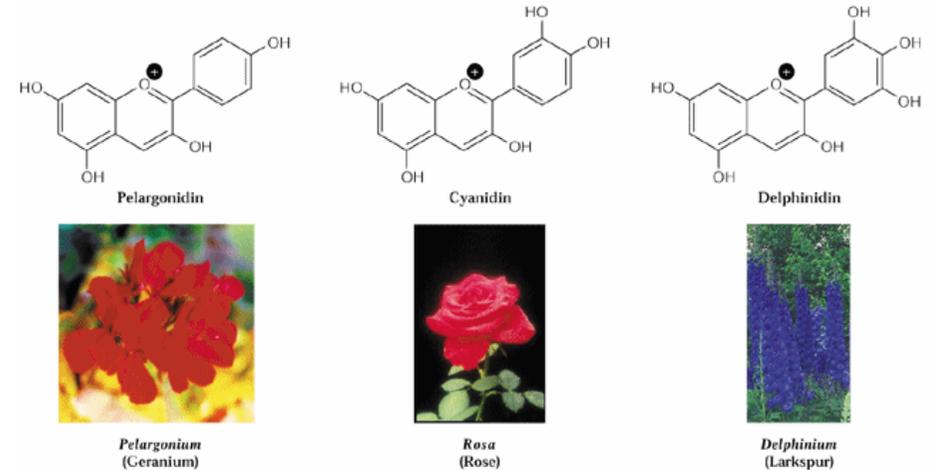
- **Armazenamento** de íões, nutrientes e produtos tóxicos
- **Degradação** (enzimas hidrolíticas)
- Regulação do **balanço hídrico** e consequente aumento de dimensão das células vegetais
→ **pressão de turgescência**

A membrana do vacúolo – **tonoplasto** – possui características de permeabilidade selectiva semelhantes às da membrana plasmática



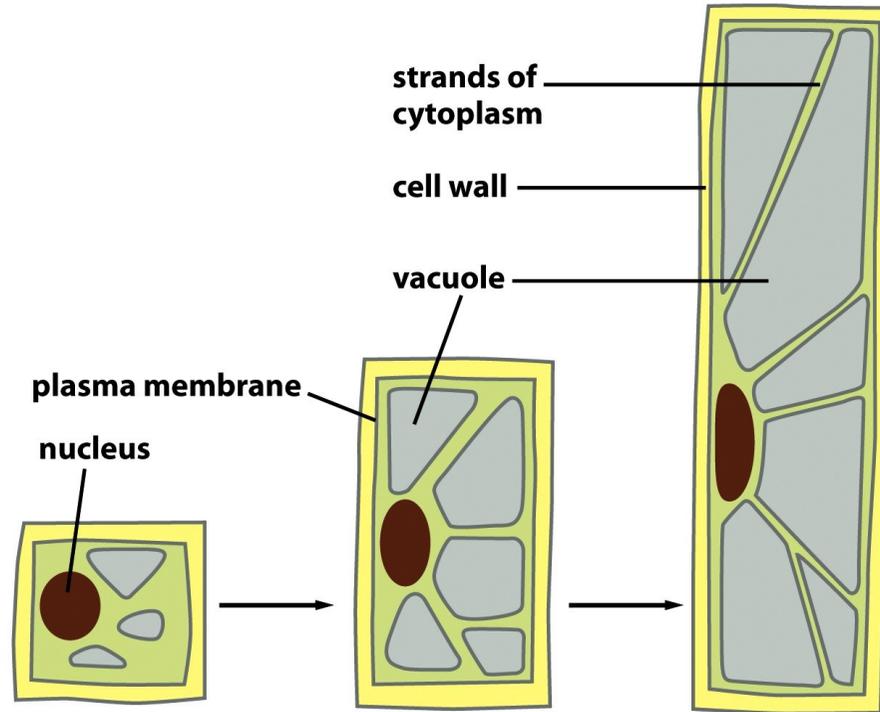
Funções dos Vacúolos

Os vacúolos são organelos multifuncionais
A mesma célula pode ter diferentes vacúolos com
funções distintas, como digestão e armazenamento.



- **Regulação do balanço hídrico** e consequente aumento de dimensão das células vegetais
→ **pressão de turgescência**
- **Armazenamento** (proteínas, aminoácidos, ácidos orgânicos, açúcares e pigmentos)
- **Digestão** (diversas hidrolases ácidas: proteases, nucleases, glicosidases, lipases)
- **pH e homeostasis iônica** (serve como reservatório de prótons e outros íons metabolicamente importantes)
- **Defesa** contra patógenos e herbívoros (produtos tóxicos secundários de auto-defesa dos quais alguns são medicinais tais como cafeína, ópio, taxol, etc)
- **Sequestro** de compostos tóxicos
- **Pigmentação** (acumulação de pigmentos responsáveis pela coloração de diversos órgãos)

Pressão de turgescência → células da zona de alongamento



O **transporte ativo** de íons e outras moléculas **para o vacúolo** é mediado por **bombas** presentes no **tonoplasto**
→ água difunde para o seu interior através de **aquaporinas**.

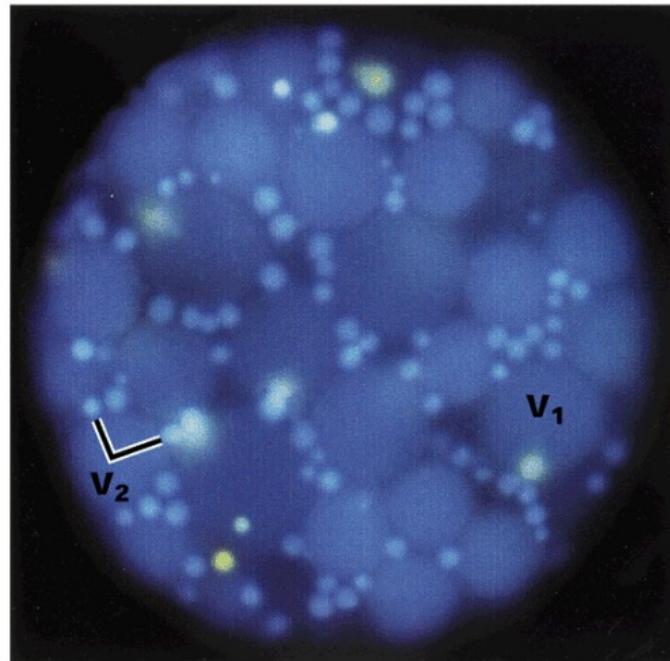
Durante a fase de crescimento / alongamento celular a pressão exercida pelo vacúolo é importante para a **expansão da parede celular**.

Tipos de Vacúolos

Vacúolos de reserva de proteínas
comuns nas células do endosperma

Tipos de vacúolos:

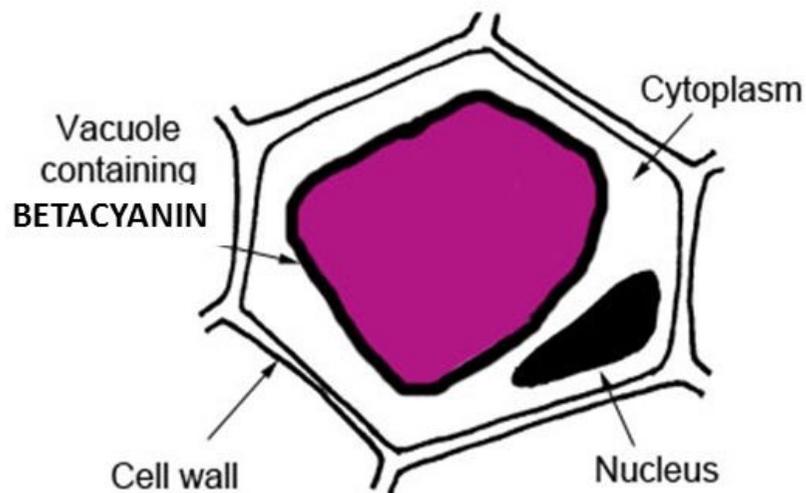
- de reserva
- líticos



vacúolos grandes - reserva

vacúolos pequenos - líticos

Acumulação de **antocianinas** nos vacúolos

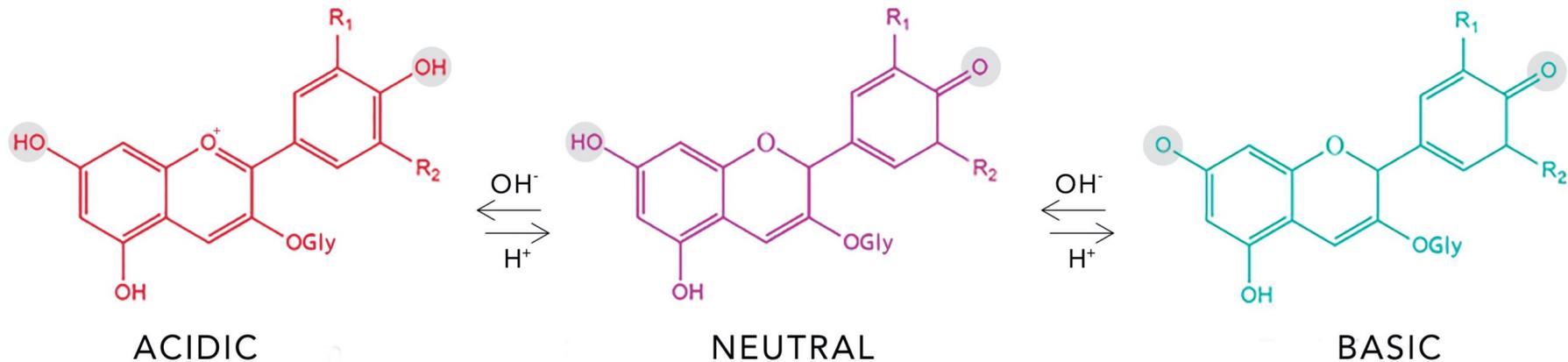


Acumulação de **betacianina** no vacúolo de células de beterraba

O armazenamento vacuolar de **metabólitos secundários** desempenha papéis importantes nas respostas ambientais (por exemplo na proteção contra insetos e atração de polinizadores).

As **antocianinas**, principais pigmentos vegetais, **acumulam-se no vacúolo**.

Porque é que as antocianinas mudam de cor?



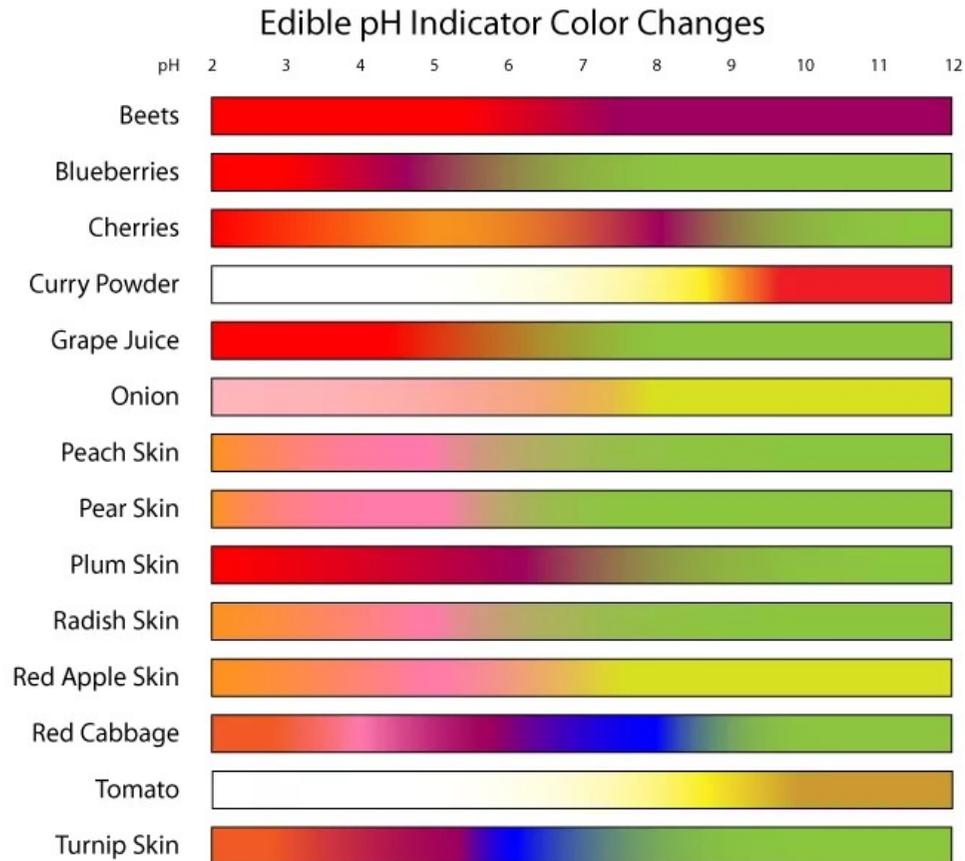
As antocianinas sofrem alterações reversíveis na sua estrutura molecular de acordo com o **pH** do meio.

Em meio **ácido** (pH ~3), a molécula de antocianina é **vermelha**.

Em meio **básico**, os prótons são removidos dos grupos fenol → as antocianinas tornam-se **azuladas** ou esverdeadas. Se o pH diminuir novamente, os prótons ligam-se às moléculas de antocianina revertendo a sua cor.

<https://www.youtube.com/watch?v=3WBI1DXDPEw>

Variação de cor das antocianinas



Muitos órgãos de plantas contêm pigmentos que mudam de cor em resposta ao pH

→ indicadores de pH naturais.

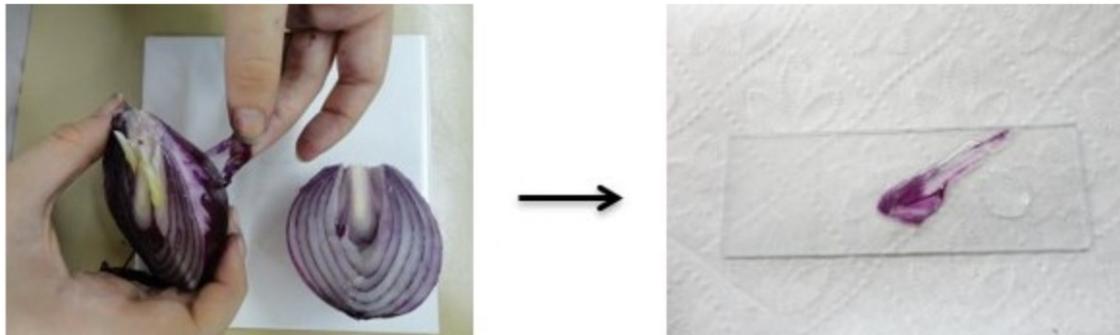
A maioria são **antocianinas**, que geralmente variam em cor do vermelho ao roxo e ao azul de acordo com o pH.

<https://tinyurl.com/ProtocoloPermeabilidade>

PROTOCOLO

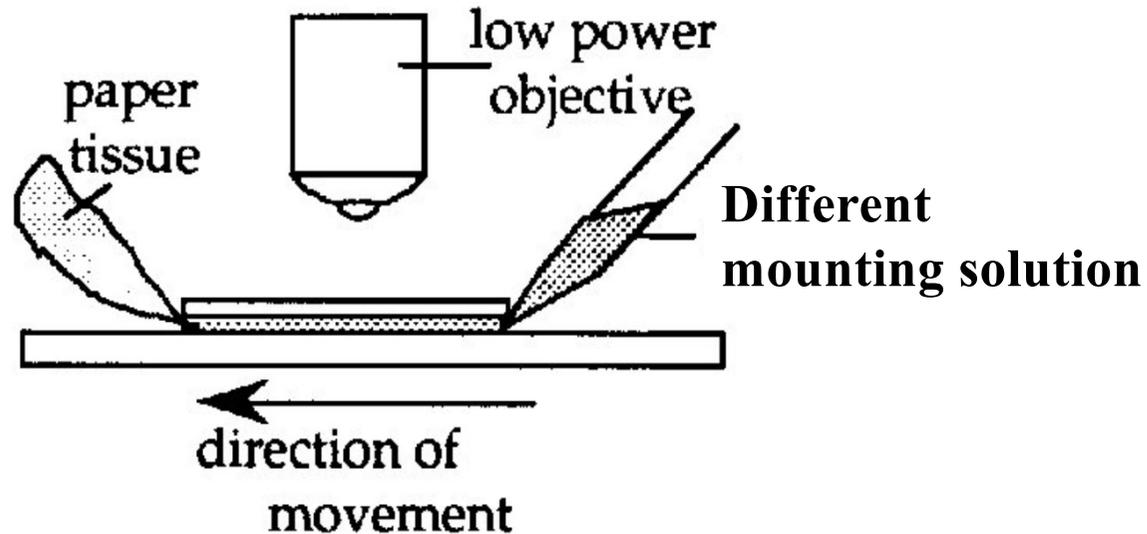
1- Indução de plasmólise e deplasmólise

- Destacar uma pequena porção da epiderme interna de uma escama do bolbo de *Allium cepa* (cebola) roxa, montar em água entre lâmina e lamela e observar ao microscópio. Procurar zonas com células coradas de roxo.
- Substituir o meio de montagem por uma solução de **cloreto de sódio a 8%** (solução hipertónica) através do método de irrigação. Observar e fazer um esquema.
- Substituir a solução por água destilada (solução hipotónica). Observar e fazer um esquema.



<https://tinyurl.com/ProtocoloPermeabilidade>

Método de irrigação

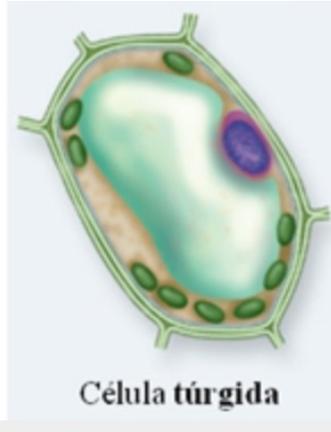
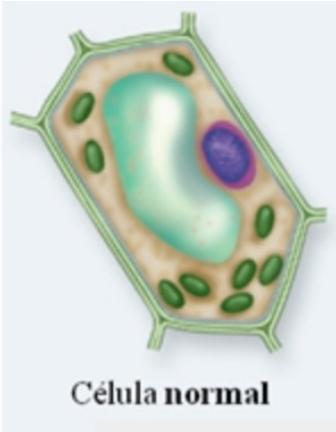


Substituir o meio de montagem por **irrigação**, colocando uma ou várias gotas de solução a introduzir num dos lados da lamela e colocando no lado oposto uma tira de papel de filtro.

Meio hipertónico

Meio isotónico

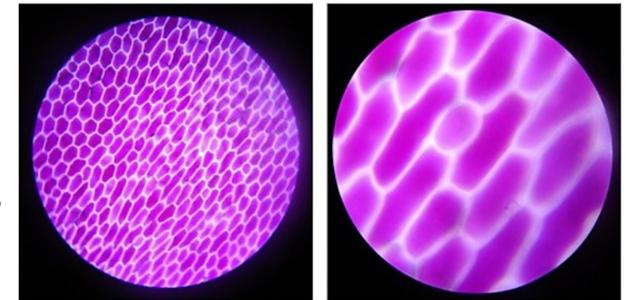
Meio hipotónico



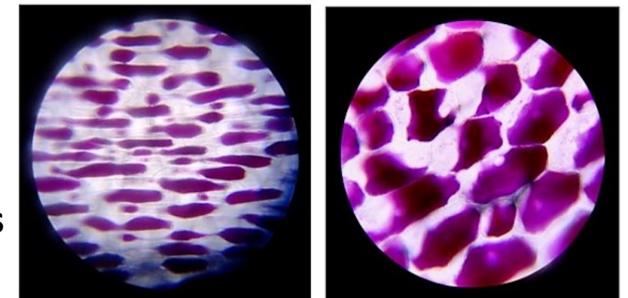
As **células vegetais** suportam alta pressão hidrostática interna porque as suas **paredes celulares** as impedem de se expandir e rebentar. A água move-se por **osmose** e preenche os **vacúolos** centrais.

→ As células incham e aumentam a pressão de turgescência contra as paredes celulares rígidas.

Em água
→ células turgidas



Solução de cloreto de sódio 8%
→ células plasmolisadas



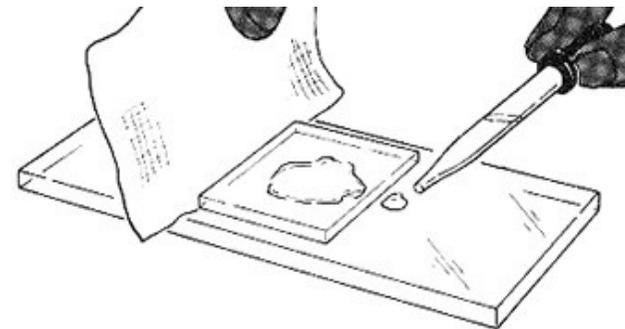
<https://tinyurl.com/ProtocoloPermeabilidade>

PROTOCOLO

2- Indução da alteração da coloração dos vacúolos

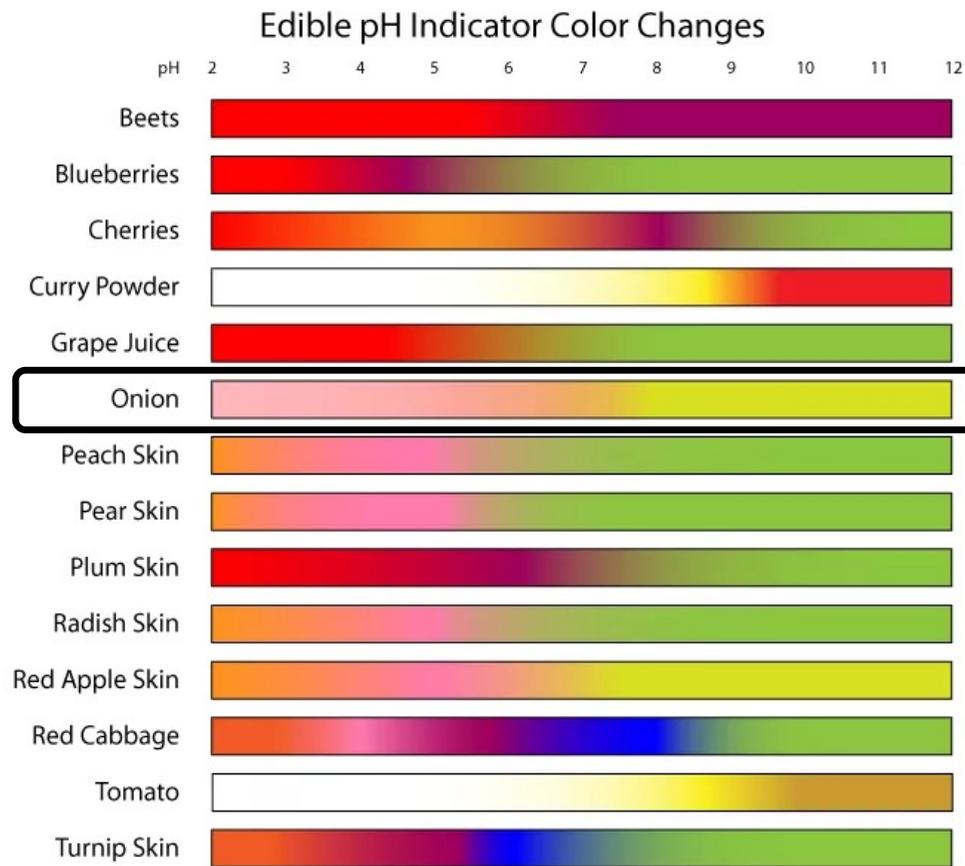
- Fazer uma nova preparação.
 - Substituir o meio de montagem por uma solução de **hidróxido de sódio 0,01M** (solução básica).
 - Observar a variação da coloração do vacúolo com o aumento do pH.

 - Fazer uma nova preparação repetindo o passo 1.
 - Substituir o meio de montagem por uma solução de **ácido acético 6%** (solução ácida).
- Observar e fazer um esquema com legenda.



PROCOLO

2- Indução da alteração da coloração dos vacúolos



Varição de cor na
cebola roxa