

CLOROPLASTO

Objetivos:

- Obtención de una fracción subcelular enriquecida en cloroplastos.
- Identificación de cloroplastos en dicha fracción.
- Estudio de la ultraestructura del cloroplasto.

Introducción:

En algas y plantas superiores, la fotosíntesis ocurre en el cloroplasto. Este organelo posee, al igual que la mitocondria, una envoltura compuesta de dos membranas, una externa y una interna, pero además posee un tercer sistema de membrana, la membrana tilacoidal. Esta membrana forma pequeños sacos aplanados, denominados tilacoides, cuyo lumen es el espacio tilacoidal. Los tilacoides se apilan, formando bloques denominados *grana* (cada bloque en singular es un *granum*). Los grana están interconectados por regiones de la membrana tilacoidal alargadas, denominadas laminillas del estroma, cuyo lumen es continuo con el espacio tilacoidal. El estroma es el espacio interno del cloroplasto que queda por fuera de la membrana tilacoidal (Figura 1).

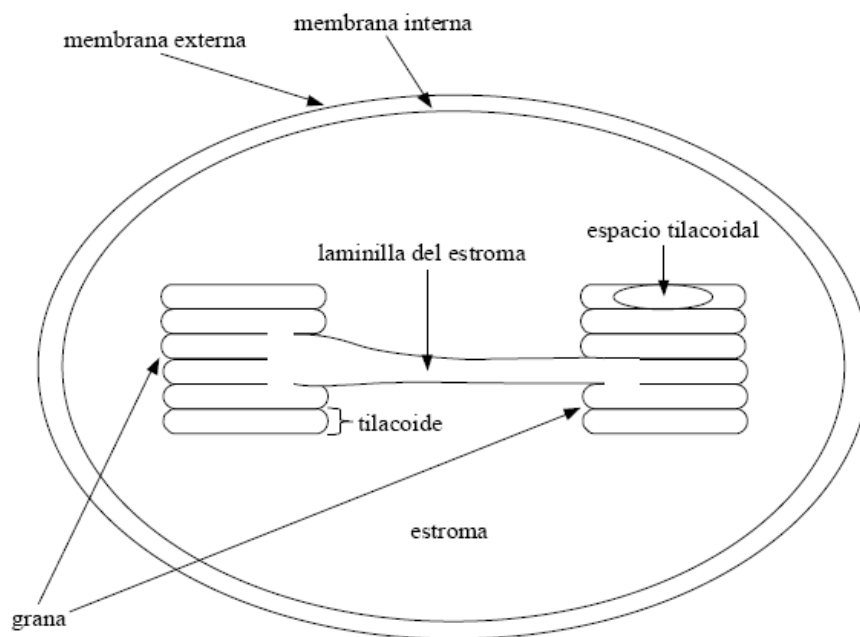


Figura 1: Representación esquemática de un cloroplasto.

La fotosíntesis es un complejo proceso en el cual la energía de la luz se usa para generar energía química en forma de ATP y poder reductor en forma de NADPH, que se usan a su vez para convertir el CO_2 del aire en carbohidratos, liberándose paralelamente O_2 a partir de agua (en plantas, algas y algunas bacterias). La reacción global de la fotosíntesis es:



Las reacciones de la fotosíntesis pueden agruparse en dos clases, las reacciones fotoquímicas, que ocurren en la membrana tilacoidal y en las que se generan ATP y NADPH, y las reacciones bioquímicas, que comienzan en el estroma del cloroplasto y continúan en el citosol, en las que el CO₂ es convertido en carbohidratos.

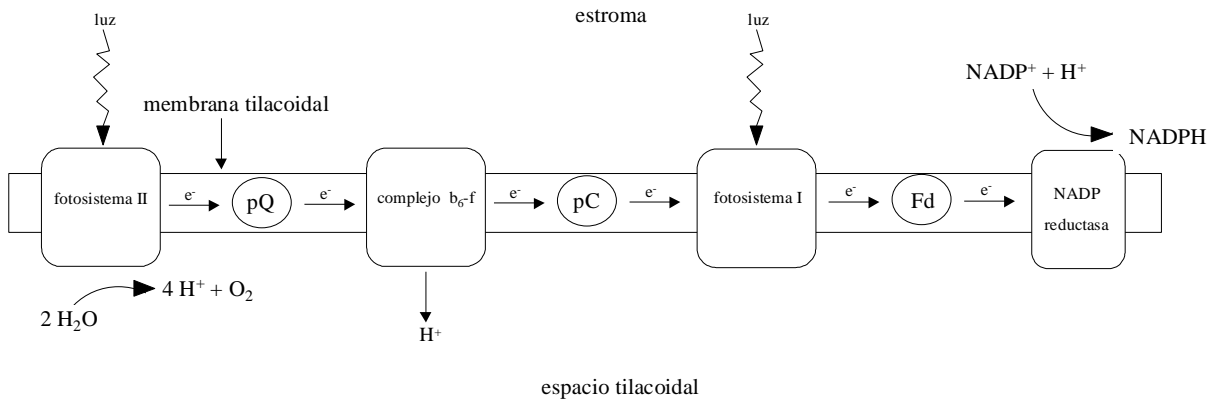


Figura 2: Esquema del camino seguido por los electrones durante las reacciones fotoquímicas.

Las reacciones fotoquímicas, mediante las que se obtiene ATP y NADPH, constituyen un proceso de dos fases, denominado fotofosforilación no cíclica, para distinguirlo de otro proceso, la fotofosforilación cíclica, en el que sólo se genera ATP. En la primera fase de la fotofosforilación no cíclica, la absorción de luz por el fotosistema II le permite remover electrones provenientes del agua y transferirlos a una cadena de transporte, hasta llegar al fotosistema I. Allí, una nueva absorción de luz confiere suficiente energía a los electrones para poder reducir a su aceptor final, el NADP⁺, formando NADPH (Figura 2).

Los fotosistemas son complejos formados por varios polipéptidos y distintos tipos de pigmentos, y en ellos la luz absorbida se utiliza para excitar a un electrón en una molécula de clorofila particular. En el fotosistema II, este electrón es transferido a la plastoquinona, una pequeña molécula análoga a la coenzima Q de la fosforilación oxidativa. Cada electrón transferido por el fotosistema II se repone con uno proveniente del agua, en una compleja reacción cuyo resultado final es la liberación de O₂ a partir de agua. La plastoquinona transfiere electrones al complejo b₆-f, análogo al complejo b-c₁ de la mitocondria, el cual bombea protones dentro del espacio tilacoidal. La plastocianina, una proteína pequeña que contiene un átomo de cobre que varía de estado de oxidación, transporta electrones desde el complejo b₆-f hasta el fotosistema I. Allí, la absorción de un fotón aumenta la energía de estos electrones, que pueden reducir a la ferredoxina, una proteína con un grupo prostético que contiene hierro y azufre. Esta a su vez transfiere los electrones al NADP⁺, en una reacción catalizada por la enzima NADP reductasa. Además de generar NADPH, este proceso de transporte de electrones provoca la acumulación de protones en el espacio tilacoidal, con la consecuente generación de un gradiente electroquímico a través de la membrana tilacoidal, el cual es usado para sintetizar ATP.

En 1937, Robert Hill descubrió que cuando cloroplastos aislados son iluminados en ausencia de CO₂, son capaces de reducir un aceptor artificial, liberando O₂ paralelamente. Este resultado fue una de las primeras demostraciones de que el CO₂ no participa directamente en el proceso que produce O₂, y puede resumirse en la siguiente reacción química, denominada **reacción de Hill**:

