



FORMULÁRIO PARA CRIAÇÃO DE COMPONENTE CURRICULAR

1. IDENTIFICAÇÃO DO PROGRAMA

Programa PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA

2. TIPO DE COMPONENTE

Atividade () Disciplina (X) Módulo ()

3. NÍVEL

Mestrado (X) Doutorado (X)

4. IDENTIFICAÇÃO DO COMPONENTE

Nome: CIP5255-ISOLAMENTO DE MEMBRANAS E ORGANELAS

Carga Horária Prática: -

Carga Horária Teórica: 48 h

Nº de Créditos: 3 créditos

Obrigatória: Sim () Não (X)

Área de Concentração:

5. DOCENTE RESPONSÁVEL

JOSÉ HÉLIO COSTA

6. JUSTIFICATIVA

A extração de membranas e organelas com pureza e integridade satisfatórias é sempre um obstáculo a ser ultrapassado no desenvolvimento de pesquisas experimentais envolvendo essas estruturas celulares. Dessa forma, o conhecimento passado aos estudantes, através da disciplina, sobre diferentes métodos já desenvolvidos, possibilitará discussões e reflexões sobre metodologias que os alunos de pós-graduação necessitem utilizar no desenvolvimento de Dissertações e ou Teses.

7. OBJETIVOS

A referida disciplina visa familiarizar o aluno com diferentes metodologias de extração de organelas tais como mitocôndrias, cloroplastos, membrana plasmática e tonoplasto

8. EMENTA

A disciplina Isolamento de Membranas e Organelas será ministrada em caráter teórico. Os alunos serão instruídos sobre as diferentes metodologias de isolamento de organelas como mitocôndrias, cloroplastos, membranas plasmática e tonoplasto. Os alunos irão buscar protocolos de extração estabelecidos para

diferentes espécies, os quais servirão de base para o estabelecimento de novos protocolos, quando houver a necessidade de se estudar novas espécies. Os alunos deverão saber a função dos constituintes de diferentes protocolos de maneira que eles possam ser capazes de refletir sobre mudanças necessárias a fim de solucionar problemas experimentais

9. PROGRAMA DA DISCIPLINA/ATIVIDADE/MÓDULO

Módulo 1:

- Fracionamento subcelular;
- Procedimentos para rompimentos de membranas;
- Centrifugações diferenciais;
- Centrifugações em gradiente de densidade;
- Ultracentrifugações;

Módulo 2:

- Metodologias aplicadas ao isolamento de mitocôndrias vegetais;
- Metodologias aplicadas ao isolamento de plátídeos;
- Metodologias aplicadas ao isolamento de membrana plasmática e tonoplasto;
- Metodologias para avaliar a purificação das organelas obtidas;
- Metodologias de análise funcional das organelas.

10. FORMA DE AVALIAÇÃO

- Provas sobre o assunto abordado;
- Apresentação de seminários.

11. BIBLIOGRAFIA

- NICOLAS L. TAYLOR, A. HARVEY MILLAR, 2017. **Isolation of Plant Organelles and Structures**. Methods and Protocols. Humana Press.
- Raj DBTG, AliKhan N. **Protocol for eukaryotic plasma membrane isolation using superparamagnetic nanoparticles**. Journal of Magnetism and Magnetic Materials. Volume 476, 15 April 2019, Pages 628-631. doi: 10.1016/j.jmmm.2017.12.070
- AHMED, Z., FU, Y. **An improved method with a wider applicability to isolate plant mitochondria for mtDNA extraction**. *Plant Methods* **11**, 56 (2015). <https://doi.org/10.1186/s13007-015-0099-x>
- KUHNERT F., STEFANSKI A., OVERBECK N., DREWS L., REICHERT A.S., STÜHLER K., WEBER A.P.M. **Rapid Single-Step Affinity Purification of HA-Tagged Plant Mitochondria**. *Plant Physiology* Feb 2020, 182 (2) 692-706; DOI: 10.1104/pp.19.00732
- GRABSZTUNOWICZ M, JACKOWSKI G. **Isolation of intact and pure chloroplasts from leaves of *Arabidopsis thaliana* plants acclimated to low irradiance for studies on Rubisco regulation**. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 82(1):91–95 DOI: 10.5586/asbp.2012.043
- SNOWDEN C.J., THOMAS B., BAXTER C.J., SMITH J.A.C., SWEETLOVE L.J. **Isolation of Tonoplast Vesicles from Tomato Fruit Pericarp**. *Bio Protoc.* 2015;5(24):e1686. doi:10.21769/BioProtoc.1686
- GRAHAM, J. M. 2001. **Isolation of Mitochondria from Tissues and Cells by Differential Centrifugation**. *Current Protocols in Cell Biology*.
- KERBLER SM, TAYLOR NL. **Isolation of Mitochondria from Model and Crop Plants**. *Methods Mol Biol.* 2017;1670:115-142. doi:10.1007/978-1-4939-7292-0_12
- MILLAR AH, LIDDELL A, LEAVER CJ. **Isolation and subfractionation of mitochondria from plants**. *Methods Cell Biol.* 2007;80:65-90. doi:10.1016/S0091-679X(06)80003-8
- MOREAU F, ROMANI R. **Preparation of Avocado Mitochondria Using Self-Generated Percoll Density Gradients and Changes in Buoyant Density during Ripening**. *Plant Physiology* Nov 1982, 70 (5) 1380-1384; DOI: 10.1104/pp.70.5.1380
- HAN SAN KU, PRATT, H., SPURR, A., & HARRIS, W. (1968). **Isolation of Active Mitochondria from Tomato**

Fruit. *Plant Physiology*, 43(6), 883-887. Retrieved July 2, 2020, from www.jstor.org/stable/4261391

- LUNG SC, SMITH MD, CHUONG SD. **Isolation of Chloroplasts from Plant Protoplasts.** *Cold Spring Harb Protoc.* 2015;2015(10):895-899. Published 2015 Oct 1. doi:10.1101/pdb.prot074559

- VIEIRA Ldo N, FAORO H, FRAGA HP, et al. **An improved protocol for intact chloroplasts and cpDNA isolation in conifers.** *PLoS One.* 2014;9(1):e84792. Published 2014 Jan 2. doi:10.1371/journal.pone.0084792

-JOZEFOWICZ AM, MATROS A, WITZEL K, MOCK HP. **Mini-Scale Isolation and Preparation of Plasma Membrane Proteins from Potato Roots for LC/MS Analysis.** *Methods Mol Biol.* 2018;1696:195-204. doi:10.1007/978-1-4939-7411-5_13

-SHIMAOKA T, OHNISHI M, SAZUKA T, et al. **Isolation of intact vacuoles and proteomic analysis of tonoplast from suspension-cultured cells of Arabidopsis thaliana.** *Plant Cell Physiol.* 2004;45(6):672-683. doi:10.1093/pcp/pch099



Documento assinado eletronicamente por **CLEVERSON DINIZ TEIXEIRA DE FREITAS, Coordenador de Pós-Graduação**, em 09/03/2021, às 16:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufc.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1832615** e o código CRC **36580787**.