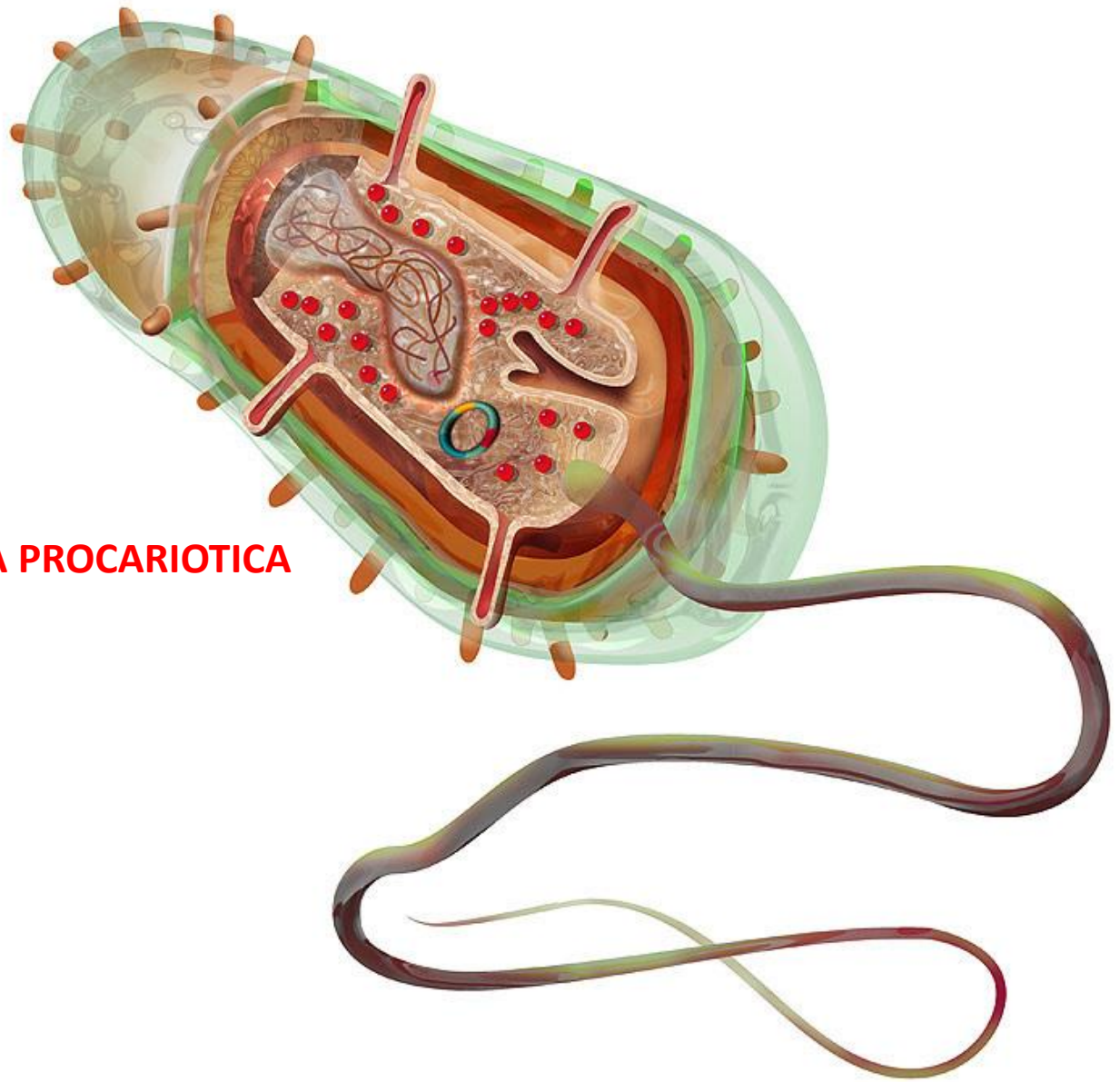


**STRUTTURA CELLULA PROCARIOTICA**



# MORFOLOGIA CELLULARE → forma del batterio (controllata geneticamente)

determinata dalla parete cellulare

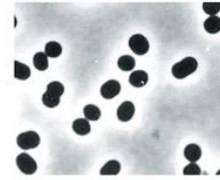
## Morfologie più comuni

sferica o ovale

*Thiocapsa roseopersicina*



Cocco



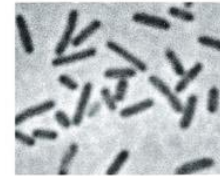
Norbert Pfennig

cilindrica o a bastoncino

*Desulforomonas acetoxidans*



Bastoncello



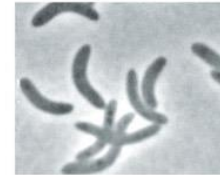
Norbert Pfennig

ricurva

*Rhodospirillum rubrum*



Spirillo



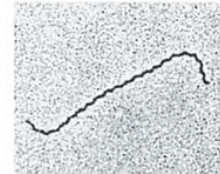
Norbert Pfennig

spiraliforme

*Spirocheta stenostrepta*



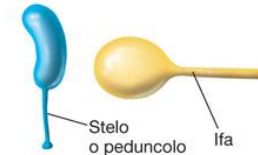
Spirocheta



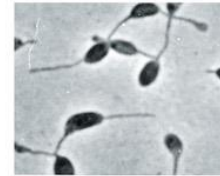
E. Canale-Parola

pedunculata

*Rhodomicrobium vannielii*



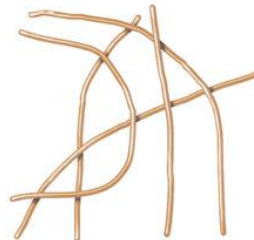
Forma gemmante pedunculata



Norbert Pfennig

filamentosa

*Chloroflexus aurantiacus*



Forma filamentosa



T. D. Brock

Esistono numerose varianti morfologiche o forme intermedie.

Alcune specie batteriche possono avere una morfologia variabile.



**Pleomorfismo**

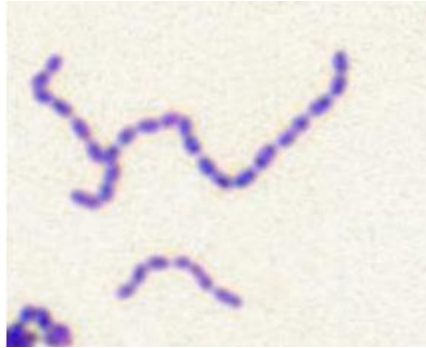


Condizioni ambientali

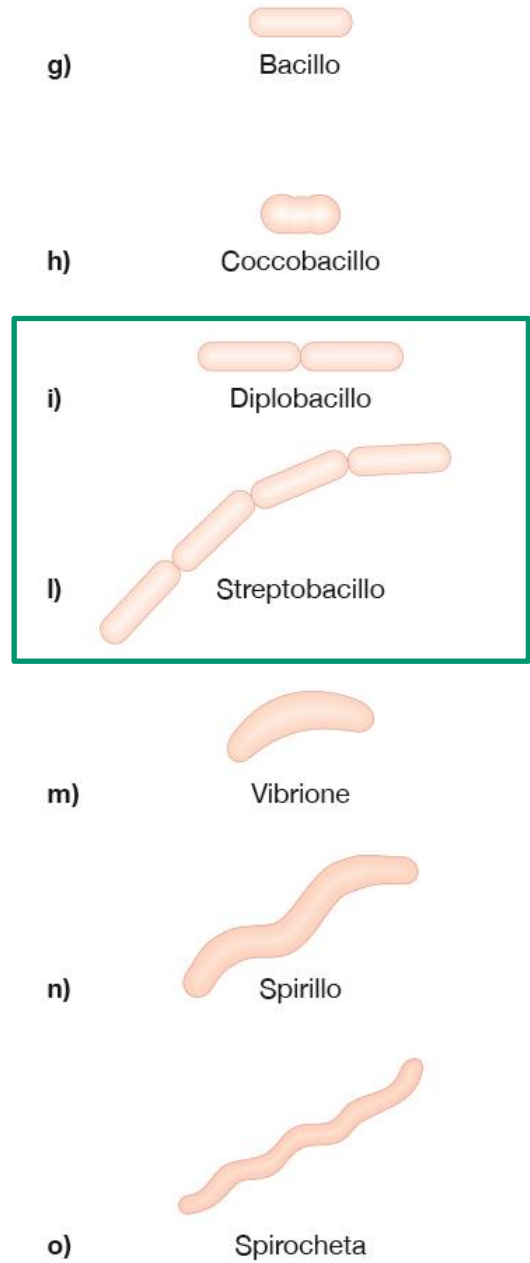
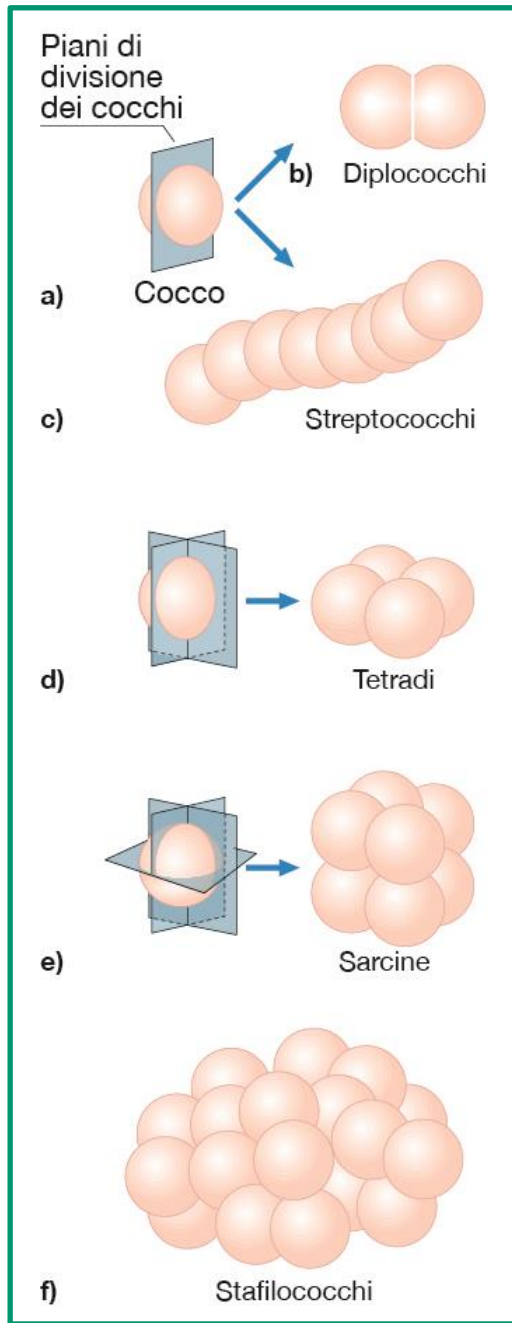
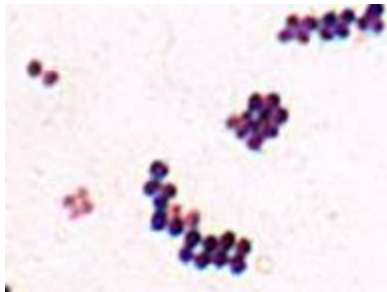
Possono indurre **cambi di morfologia**

Microscopio a contrasto di fase

# FORME CELLULE AGGREGATI BATTERICI



## Diverse forme di aggregazione



## DIMENSIONI DELLA CELLULA BATTERICA

Dimensioni e volumi possono essere enormemente diversi.

Le cellule procariotiche possono presentare dimensioni molto variabili:  $0,2 \div >50 (700) \mu\text{m}$

Le cellule batteriche, a parte alcune eccezioni, hanno dimensioni molto ridotte.



*E. coli*  $1 \times 2 \mu\text{m}$

Procarioti più grandi

- chemiolitotrofi solfurei
- cianobatteri

Strategia per immagazzinare substrati e per supplire alla limitazione nella diffusione

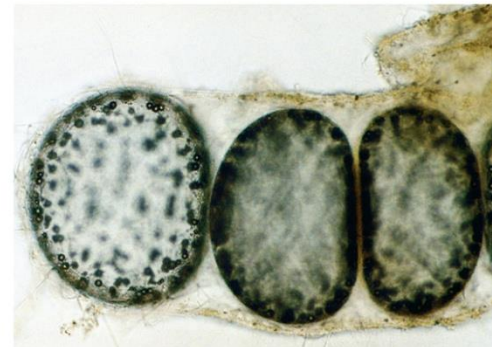
*Thiomargarita namibiensis*  
Chemiolitotrofo solfureo,  $\varnothing 0,75 \text{ mm}$

Tra le cellule procariotiche più grandi (strategia per immagazzinare inclusioni di  $\text{S}^{\circ}$ )

*Epulopiscium fishelsoni*  $80 \mu\text{m} \times >0,6 \text{ mm}$



(a)



(b)

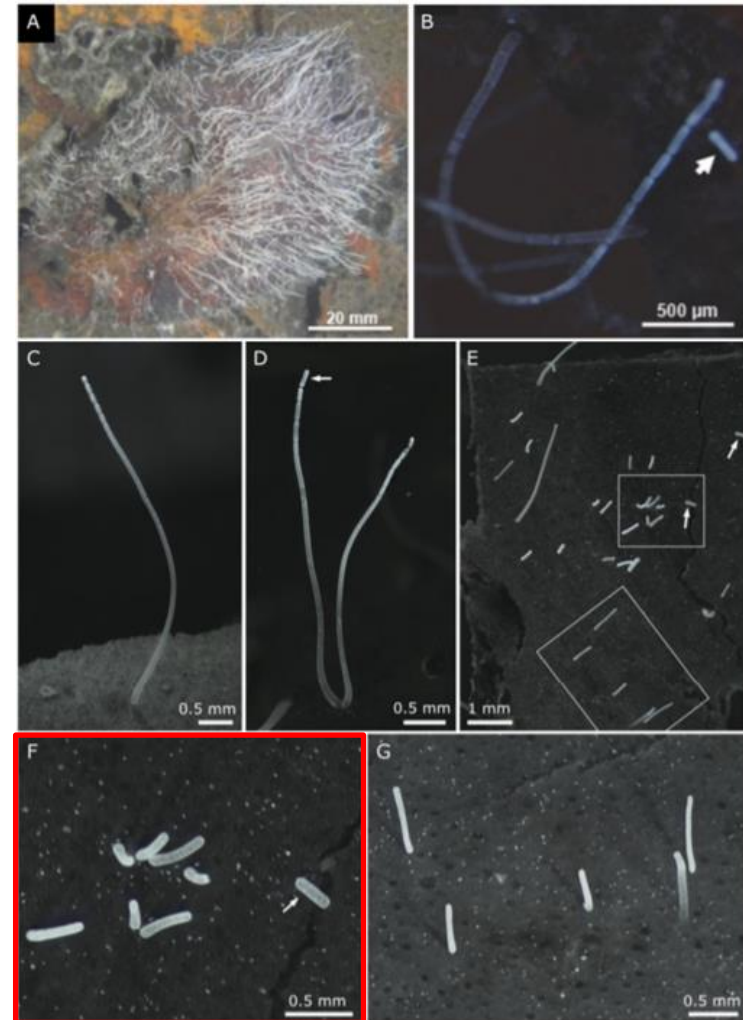
**Volland et al. (2022). A centimeter-long bacterium with DNA compartmentalized in membrane-bound organelles.**

bioRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2022.02.16.480423>; this version posted February 18, 2022.

- Batterio isolato dalle mangrovie caraibiche.
- Cellula filiforme visibile ad occhio nudo, può raggiungere 2 cm di lunghezza (~5000 volte più grande di molti altri microrganismi).
- Enorme genoma racchiuso in una membrana



**11.000 coppie di basi (11.000 geni)**



**Il tasso metabolico di una cellula è inversamente proporzionale al quadrato della sua dimensione**

**Scambi attraverso la membrana**

Il processo di scambio delle sostanze attraverso la membrana citoplasmatica, in cellule molto grandi, potrebbe limitarne il metabolismo.



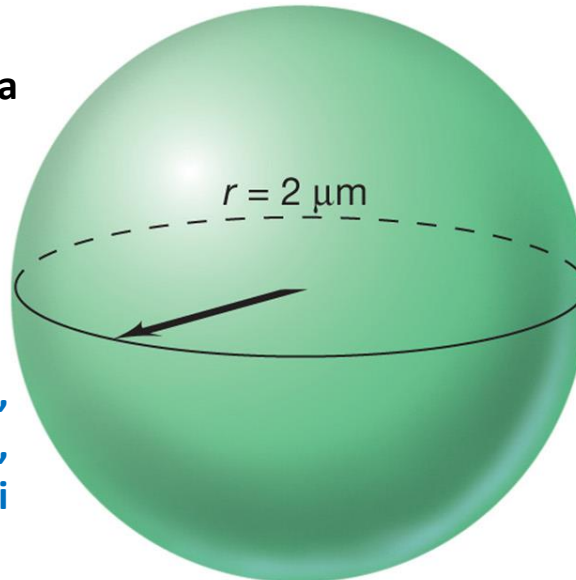
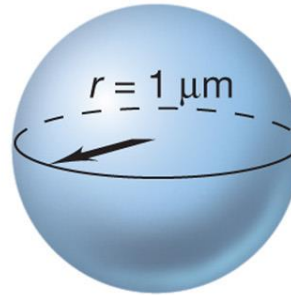
**Riduzione della competitività**

I nutrienti e le sostanze di scarto entrano ed escono più velocemente nelle cellule di piccole dimensioni (maggiore rapporto S/V).



La **velocità di trasporto** è correlata alla superficie della membrana.

Le cellule più piccole, moltiplicandosi più velocemente, potranno formare popolazioni microbiche più ampie.



**Ad un aumento delle dimensioni della cellula corrisponde una diminuzione del rapporto S/V**

$$r = 1 \mu\text{m}$$

$$\text{Superficie } (4\pi r^2) = 12,6 \mu\text{m}^2$$

$$\text{Volume } \left(\frac{4}{3}\pi r^3\right) = 4,2 \mu\text{m}^3$$

$$\frac{\text{Superficie}}{\text{Volume}} = 3$$

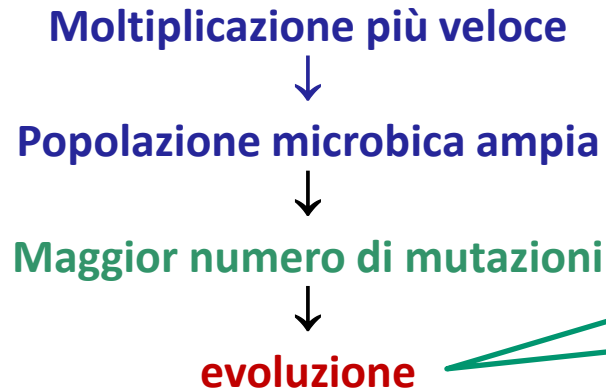
$$r = 2 \mu\text{m}$$

$$\text{Superficie} = 50,3 \mu\text{m}^2$$

$$\text{Volume} = 33,5 \mu\text{m}^3$$

$$\frac{\text{Superficie}}{\text{Volume}} = 1.5$$

## Il rapporto S/V influenza anche i processi evolutivi?



Essendo i procarioti geneticamente aploidi, ogni **mutazione vantaggiosa** si trasformerà in un **rapido adattamento** ad un nuovo ambiente.

Quanto più sono piccoli i batteri tanto più possono subire processi evolutivi.

Esistono, tuttavia, limiti inferiori relativi alle dimensioni delle cellule.

Si ipotizza l'esistenza di batteri molto piccoli (**nanobatteri**) le cui dimensioni si aggirerebbero intorno a 0,1-0,2  $\mu\text{m}$  di diametro.



In alcuni ecosistemi è possibile trovare batteri molto piccoli



Oceano  $\rightarrow 10^4$ - $10^5$  cellule procariotiche/mL (0,2-0,4  $\mu\text{m}$ )

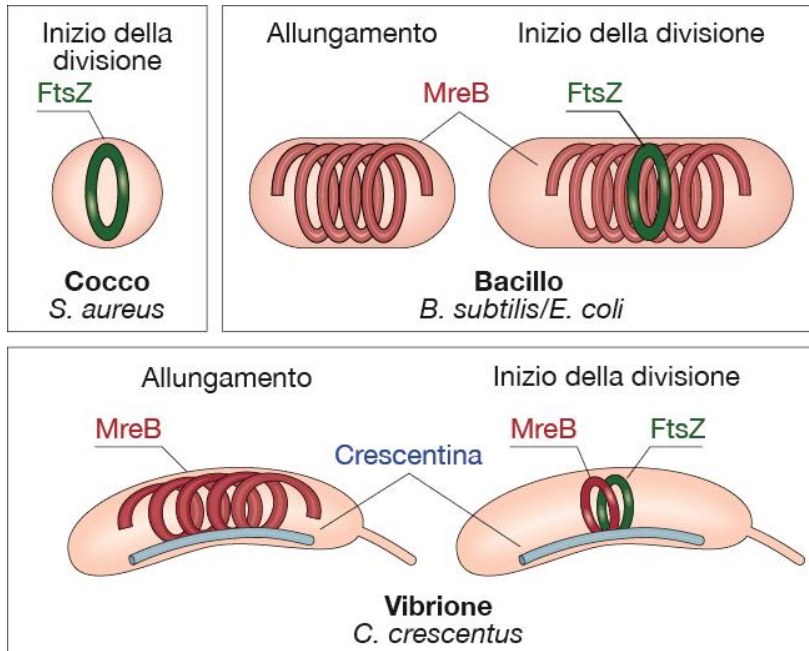
Alla definizione della **morfologia batterica** contribuiscono

- **Peptidoglicano** o **mureina** (polisaccaride complesso)
- **Citoscheletro** (proteine **FtsZ**, **MreB**, **CreS**, **ParM**, ...)



Le **proteine citoscheletriche** intervengono nell'organizzazione interna, nella crescita e nella divisione della cellula batterica.

**Ftsz** - (proteina **tubulina-simile**) forma un anello (**Z-ring**), nella zona mediana del lato interno della membrana plasmatica, necessario per la divisione cellulare.

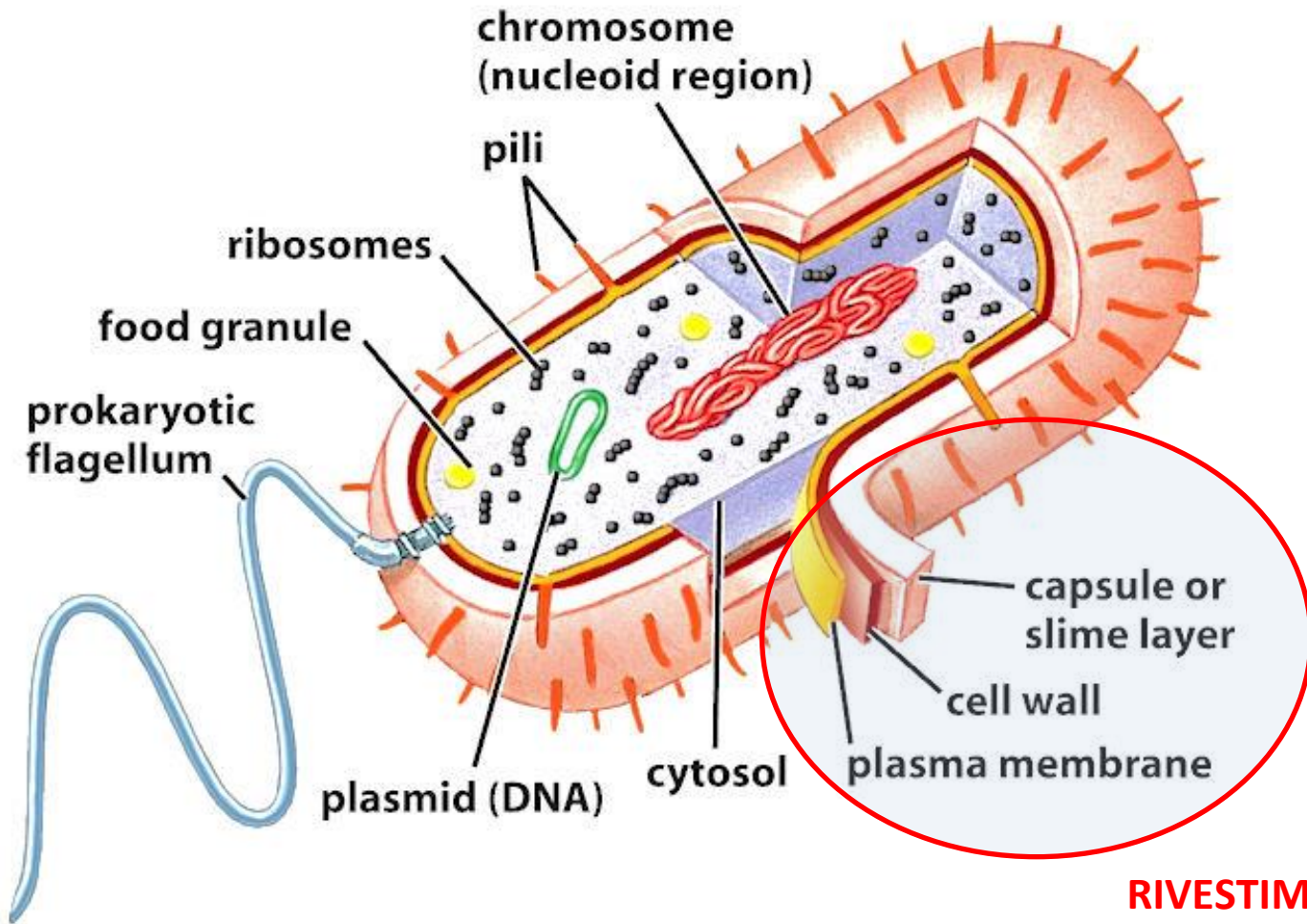


**MreB** - (proteina **actina-simile**) polimerizza formando dei filamenti simili a quelli degli eucarioti. I filamenti formano delle **bande elicoidali** che spingono la membrana plasmatica contro la parete cellulare. Contribuisce alla definizione della **forma allungata** dei batteri.

**CreS** - simile ai filamenti intermedi, contribuisce alla curvatura della cellula.

**ParM** - codificata da **geni plasmidici**, permette una corretta **distribuzione dei plasmidi** nelle cellule in divisione.





## RIVESTIMENTI CELLULARI

- Membrana citoplasmatica
- Parete cellulare
- S-layer
- Glicocalice

# MEMBRANA CITOPLASMATICA

Tutte le cellule batteriche sono delimitate dalla **membrana citoplasmatica**

## Membrana citoplasmatica (spessore 6-10 nm)

- **Barriera, altamente selettiva, che separa l'ambiente interno della cellula (citoplasma) dall'ambiente esterno;**
- **Consente l'assunzione di nutrienti e l'eliminazione delle sostanze di scarto;**
- **Conferisce scarsa protezione alla lisi osmotica.**



**TABELLA 2.1** Caratteristiche del citoplasma batterico

Organelli e molecole	Composizione	Funzioni
DNA nucleoidi	DNA, RNA, proteine	Informazione genetica di stoccaggio ed espressione genica
Proteine che impaccano il cromosoma	Proteine	Protezione e compattazione di DNA genomico
Enzimi coinvolti nella sintesi di DNA, RNA	Proteine	Replicazione del genoma e trascrizione
Fattori regolatori	Proteine, RNA	Controllo di replicazione, trascrizione e traduzione
Ribosomi	RNA, proteine	Traduzione (sintesi proteica)
Plasmidi	DNA	Variabile, codificano i geni non-cromosomici per una varietà di funzioni
Enzimi coinvolti nella decomposizione di substrati	Proteine	Produzione di energia, fornendo precursori anabolizzanti
Corpi di inclusione	Polimeri vari	Deposito di carbonio, fosfato, azoto, zolfo
Vescicole di gas	Proteine	Galleggiabilità
Magnetosomi	Proteine, lipidi, ferro	Orientamento delle cellule durante il movimento
Struttura del citoscheletro	Proteine	Dirige la sintesi della parete cellulare, la divisione della cellula e la possibile suddivisione dei cromosomi durante la replicazione

# MEMBRANA CITOPLASMATICA

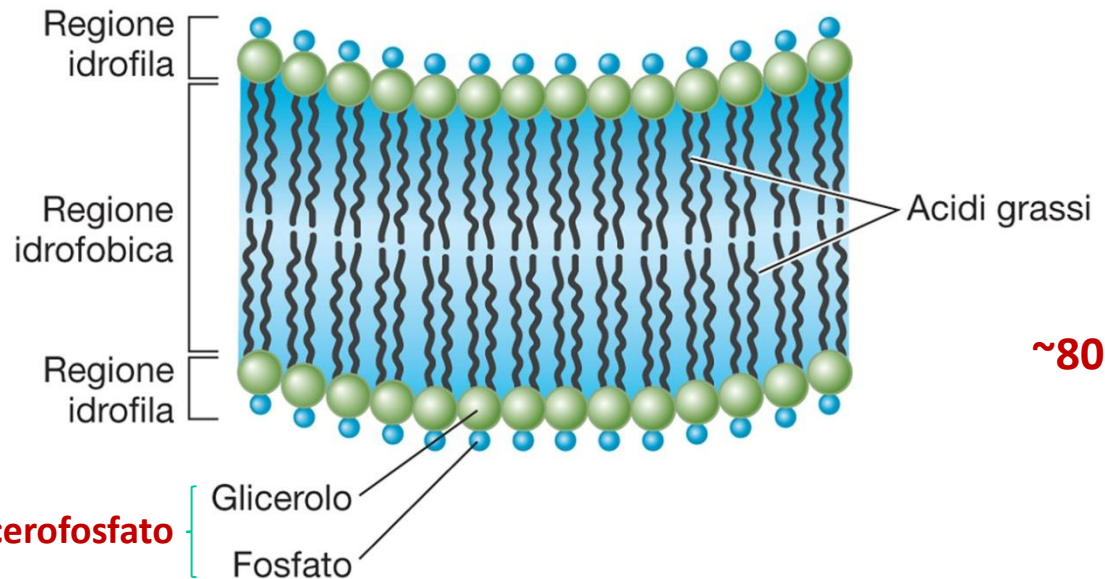
## Doppio strato fosfolipidico

I fosfolipidi si aggregano spontaneamente a formare strutture a doppio strato (organizzazione più stabile di queste molecole in ambiente acquoso)!

Le membrane presentano una composizione chimica perfettamente uguale?

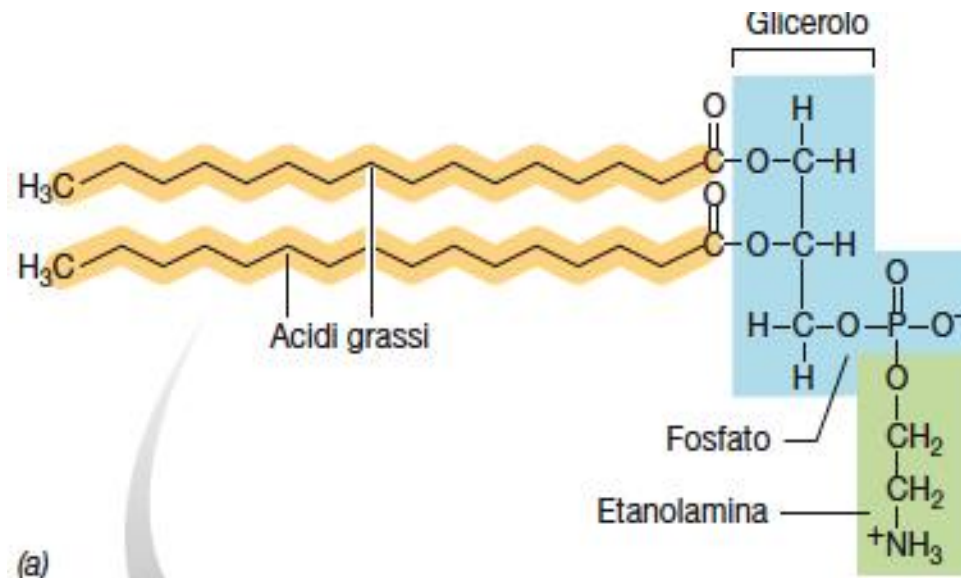


In funzione dei gruppi legati al glicerolo le membrane possono avere caratteristiche chimiche e funzionali diverse.

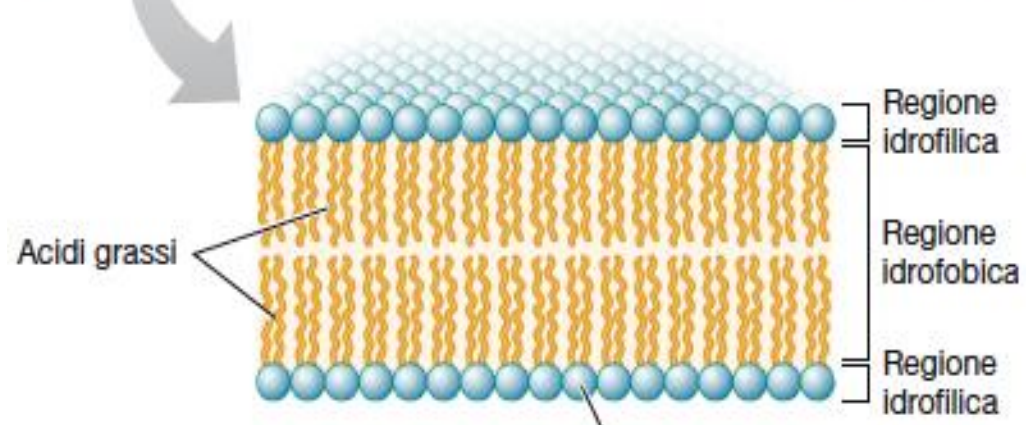


~80 Å

**Lipide complesso  
fosfatidiletanolamina**



(a)



(b)

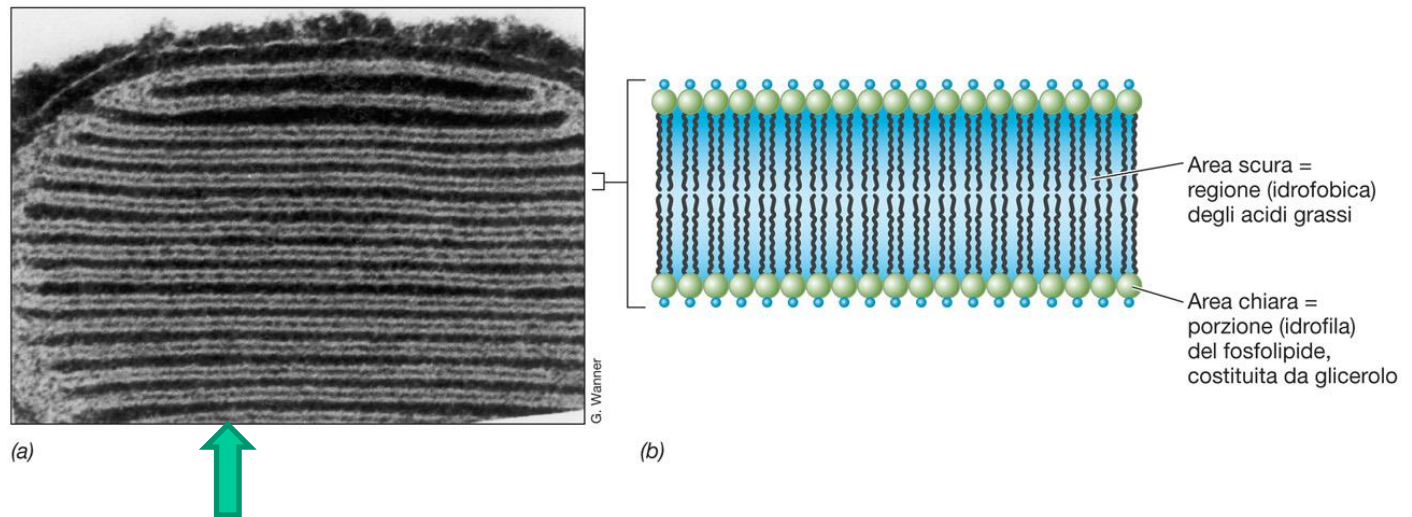


(c)

**membrana citoplasmatica  
osservata al TEM**

Sezioni sottili di membrana citoplasmatica osservata al TEM appare composta da **due linee scure (glicerofosfato)** separate da una **zona più chiara (acidi grassi)**.

**Membrana unitaria** → ogni strato fosfolipidico forma metà dell'unità.



**Membrane fotosintetiche impilate, derivate dalla membrana citoplasmatica (*Halorhodospira halochloris* → fototrofo).**

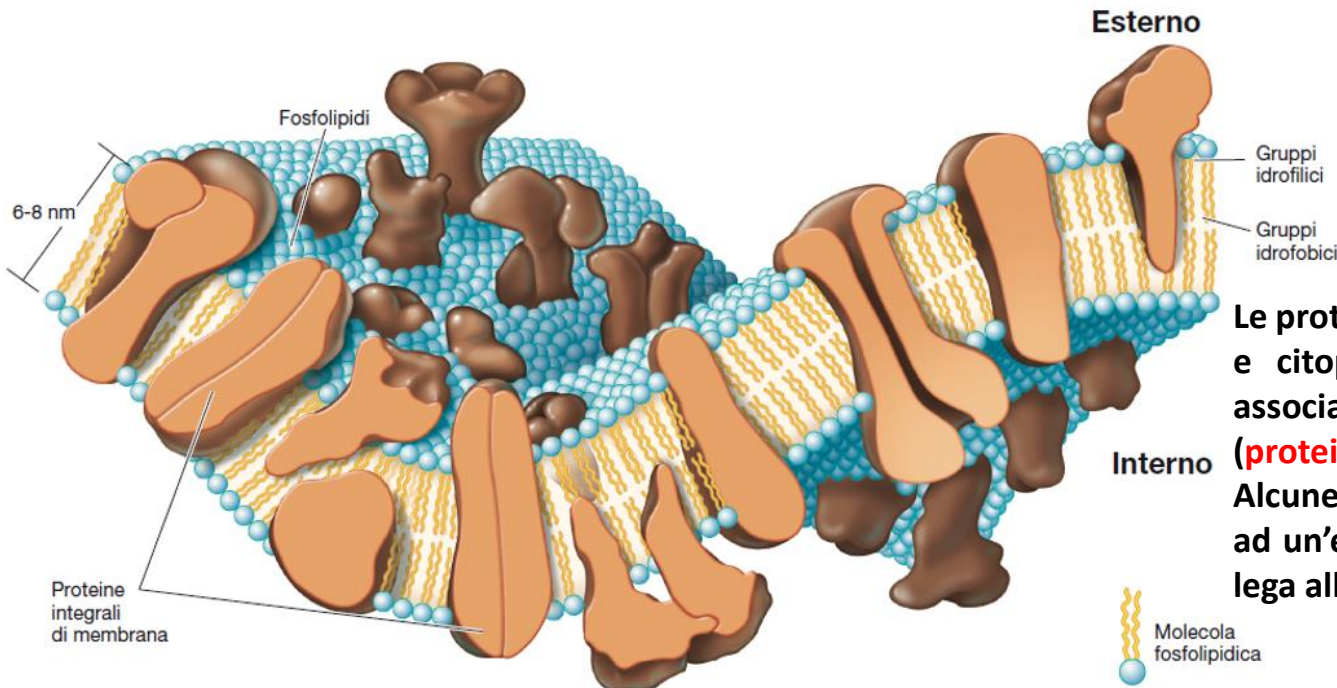
All'interno del doppio strato fosfolipidico sono immerse numerose molecole proteiche (proteine integrali).

Le superfici idrofobiche delle proteine integrali sono immerse nel doppio strato fosfolipidico della membrana, mentre le parti idrofiliche protrudono verso l'esterno o verso l'interno della cellula.

La struttura della membrana è stabilizzata da legami idrogeno, da interazioni idrofobiche e da alcuni cationi ( $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ) che interagiscono con le cariche negative dei fosfolipidi.

La parte esterna della membrana interagisce con:

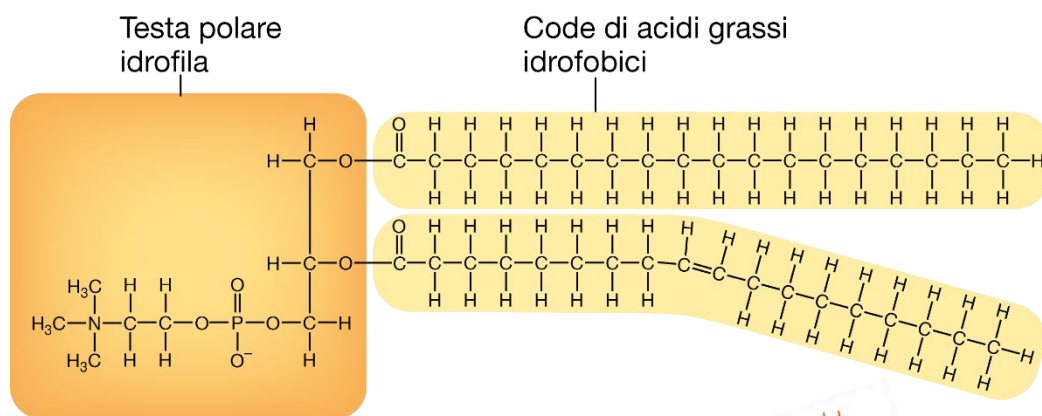
- proteine (proteine periplasmatiche) che legano i substrati;
- molecole (nutrienti) che devono essere trasportate all'interno.



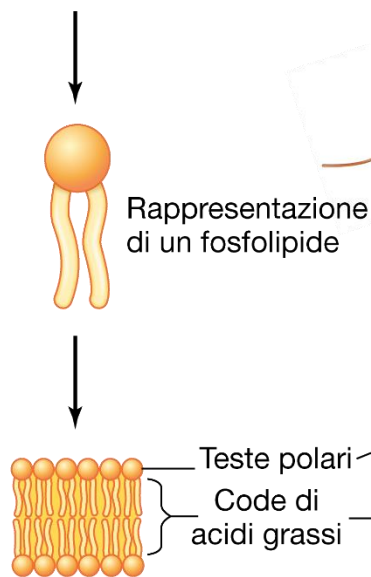
Alcune proteine penetrano solo parzialmente nello spessore della membrana.

### Proteine periferiche

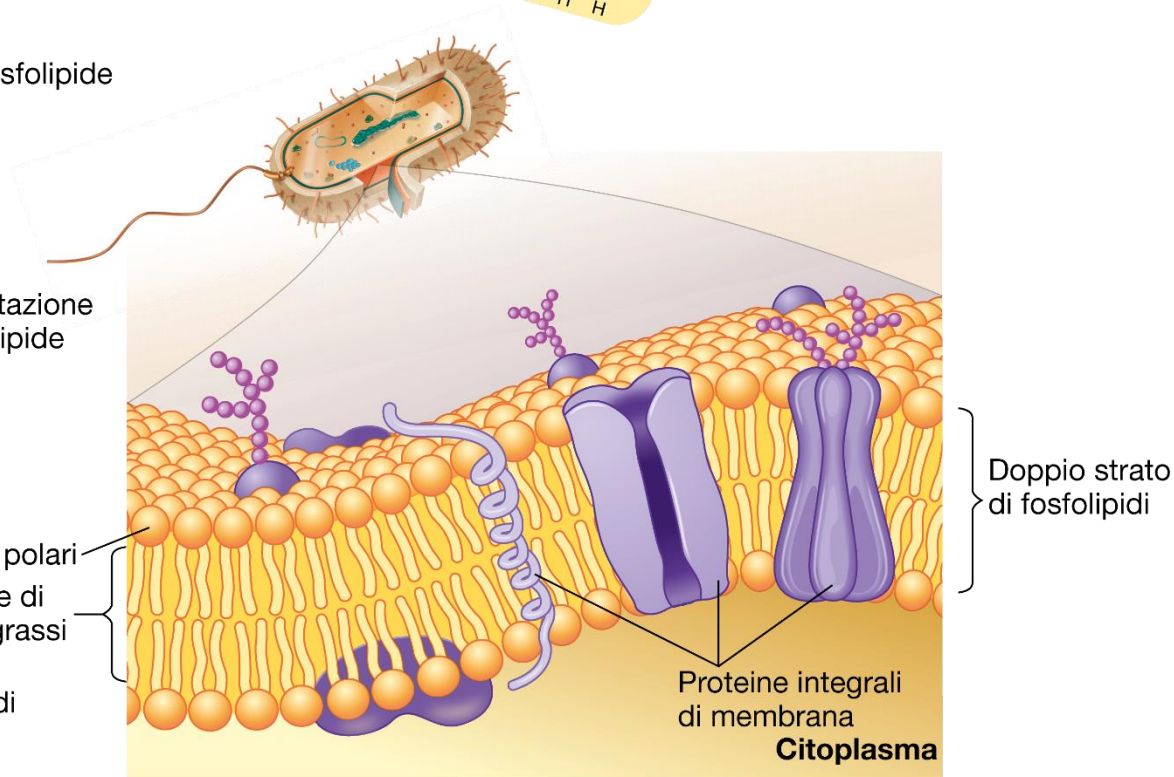
Le proteine periferiche (periplasmatiche e citoplasmatiche) sono strettamente associate alle superfici della membrana (proteine associate alla membrana). Alcune di queste sono lipoproteine con ad un'estremità una coda lipidica che le lega alla membrana.



**A. Struttura chimica di un fosfolipide**



**B. Doppio strato di fosfolipidi**



**C. Il modello a mosaico fluido**

**Membrana plasmatica dei batteri.**

La membrana viene immaginata come un **mosaico fluido**, con una struttura piuttosto fluida: i fosfolipidi e le proteine hanno libertà di movimento (viscosità simile ad un olio leggero).

Il grado di **fluidità** è correlato alla **natura dei lipidi**, alla presenza di **altre molecole associate alla membrana** ed a **fattori ambientali** (temperatura).

La struttura generale della membrana citoplasmatica è simile nei **procarioti** e negli **eucarioti**.

Negli **eucarioti** ed in alcuni procarioti (batteri metanotrofi e micoplasmi) le membrane sono stabilizzate da **steroli**.

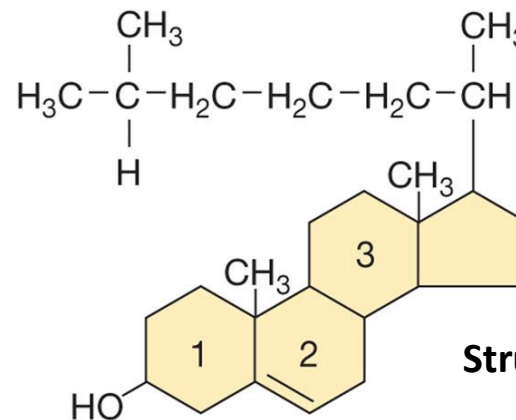
**Acidi grassi** → molecole flessibili

**Steroli** → molecole planari rigide

In numerosi **Bacteria** sono presenti **opanoidi** (sostanze simili agli steroli) che stabilizzano le membrane.

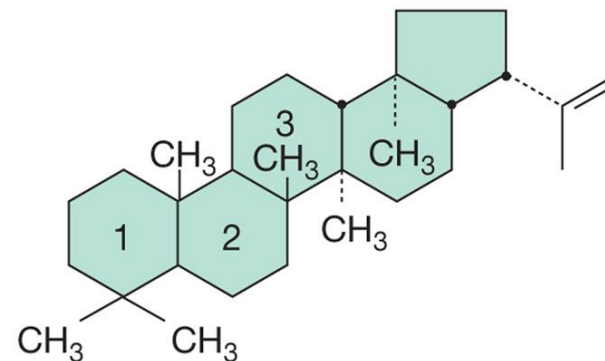
Il **diplovene**, un opanoide a 30 atomi di C, è quello più diffuso in natura.

Negli **Archaea** non sono stati rinvenuti opanoidi!



Struttura del **colesterolo**

(a)



Struttura dell'opanoide **diplovene**

(b)

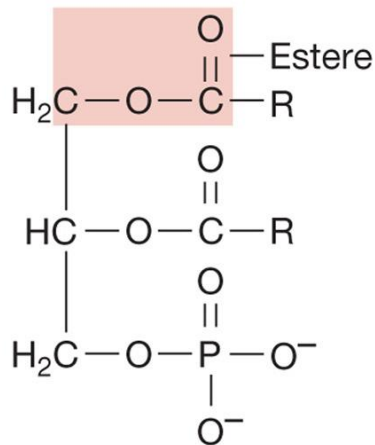


## Le MEMBRANE NEGLI ARCHAEA

### *Eukarya e Bacteria*

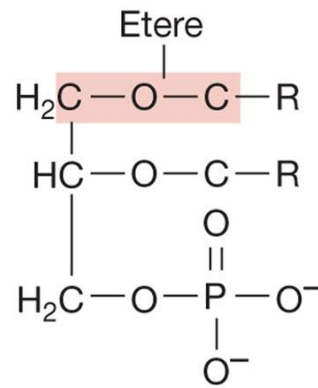
fosfolipidi: glicerolo ed acidi grassi sono uniti da un legame estere.

*Archaea* → glicerolo e catene idrofobiche sono uniti da legame etere!



(a)

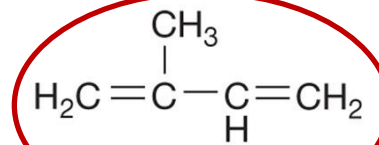
Lipidi eucarioti e *Bacteria*



(b)

Lipidi *Archaea*

Le membrane degli *Archaea* non contengono veri acidi grassi, ma catene (alifatiche) laterali idrofobiche costituite da unità ripetute di isoprene.



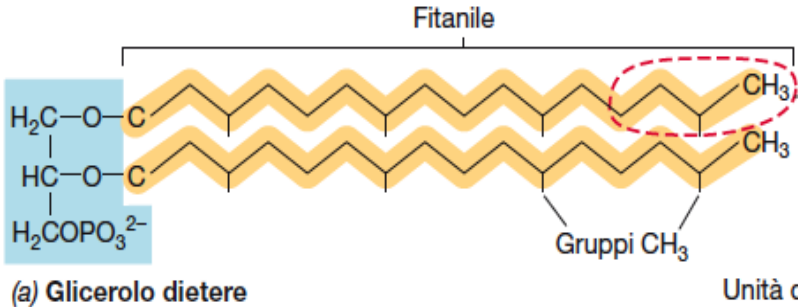
(c)

Isoprene

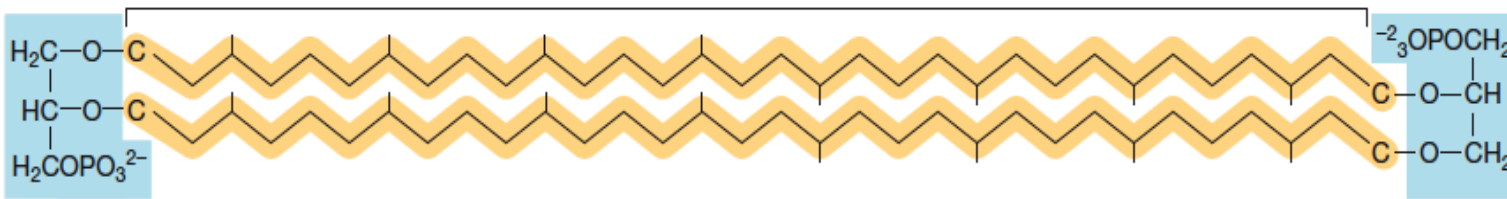
Idrocarburo a catena ramificata

# Lipidi e struttura della membrana citoplasmatica degli *Archaea*

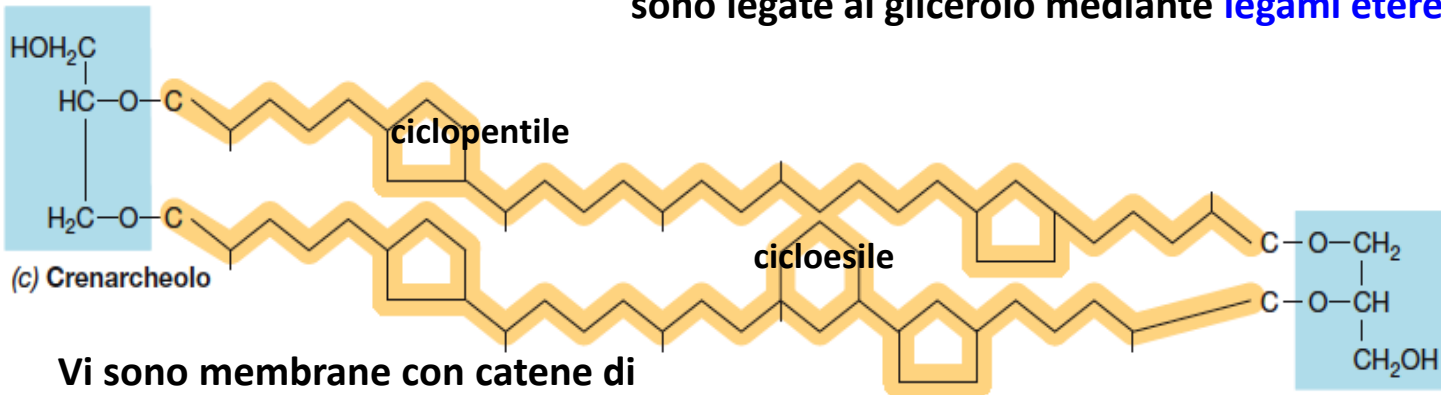
La classe più rappresentativa dei lipidi nelle membrane degli *Archaea* sono i **dieteri** ed i **tetraeteri** del glicerolo.



8 molecole di isoprene → **Bifitanile** (C<sub>40</sub>)

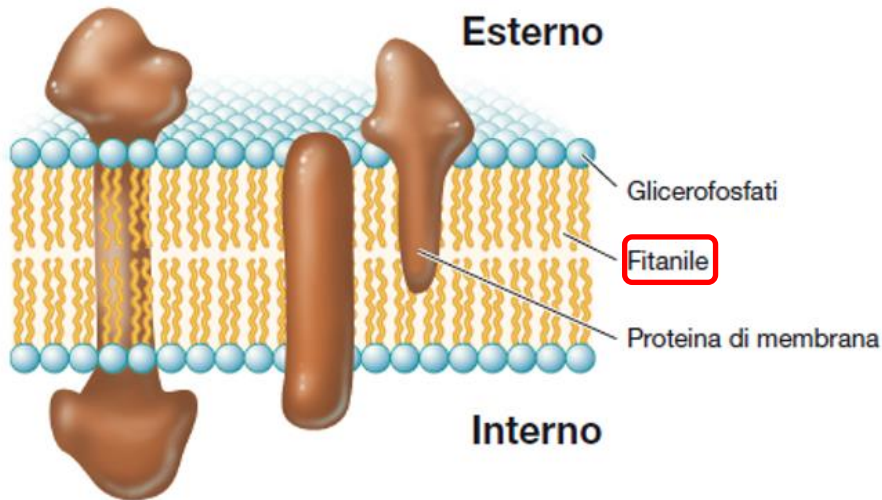
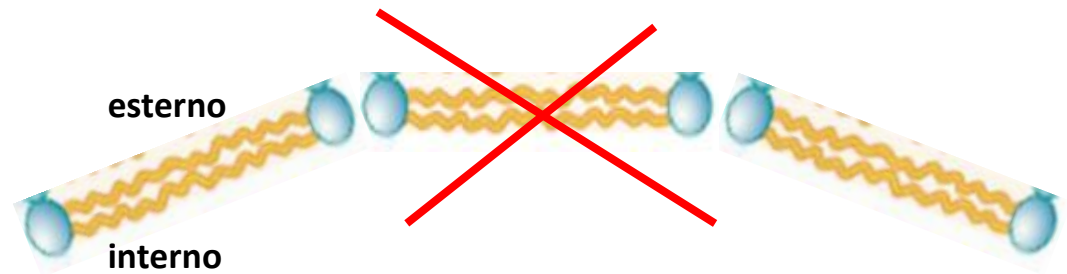


Nelle molecole **dietero** e **tetraetero** le catene idrofobiche sono legate al glicerolo mediante **legami etere**.

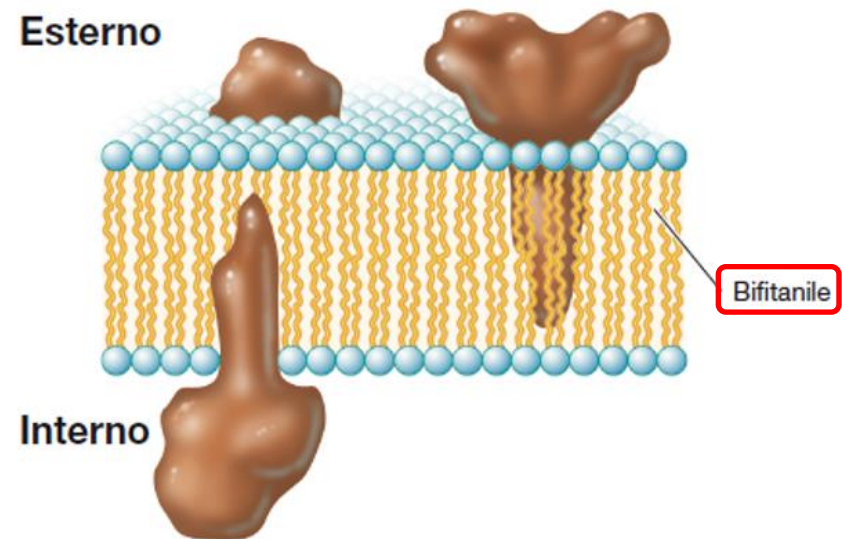


Vi sono membrane con catene di idrocarburi contenenti anelli

## Membrane negli *Archaea*



(d) Doppio strato lipidico



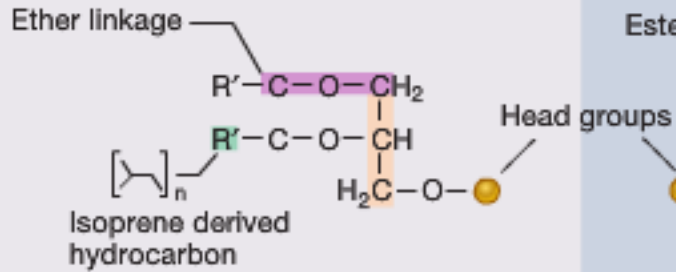
(e) Monostrato lipidico

Negli *Archaea*, la struttura della membrana citoplasmatica può essere a doppio strato, a monostrato o sotto forma di **combinazione di entrambi i tipi**.

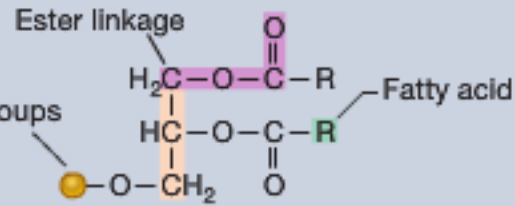
La struttura a **monostrato lipidico**, abbastanza resistente alla separazione ed alla denaturazione al calore, è frequente negli *Archaea ipertermofili* ( $T_{\text{ott}} > 80^{\circ}\text{C}$ ).

# Membrane procaroti

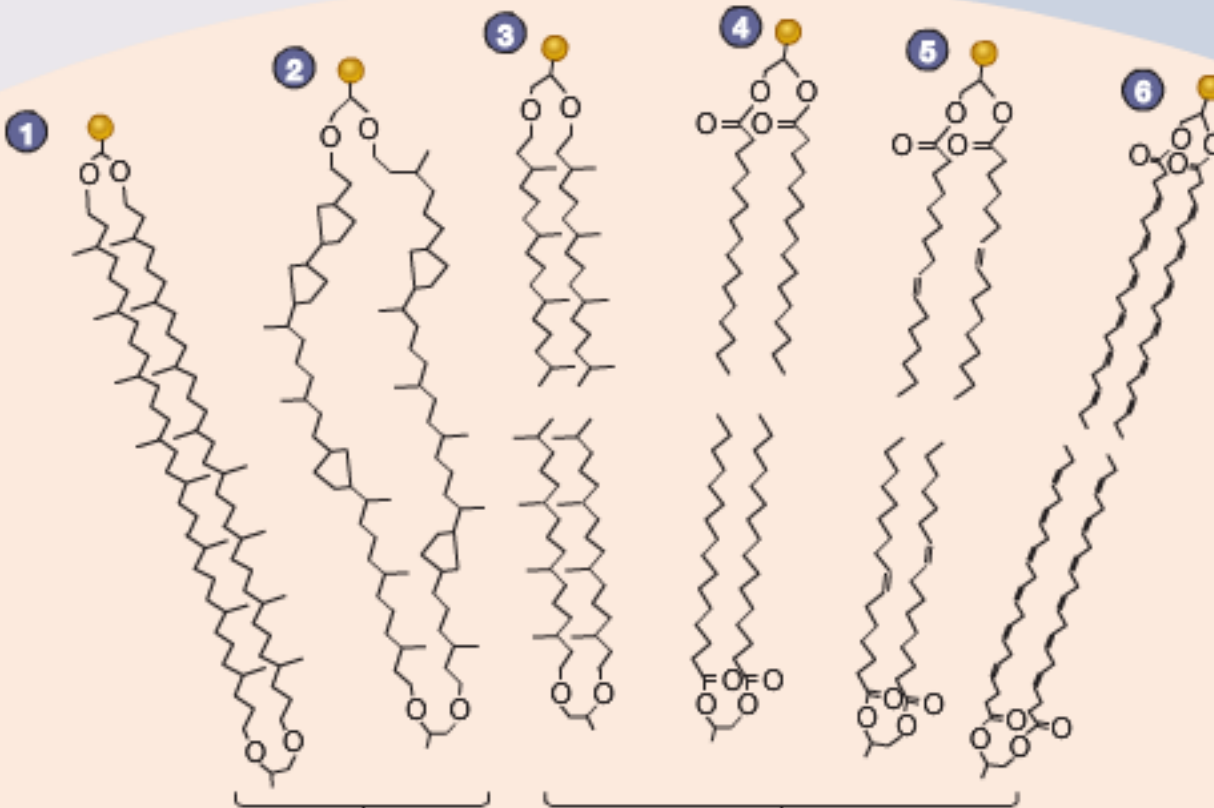
Archaeal membranes



Bacterial membranes



(a)

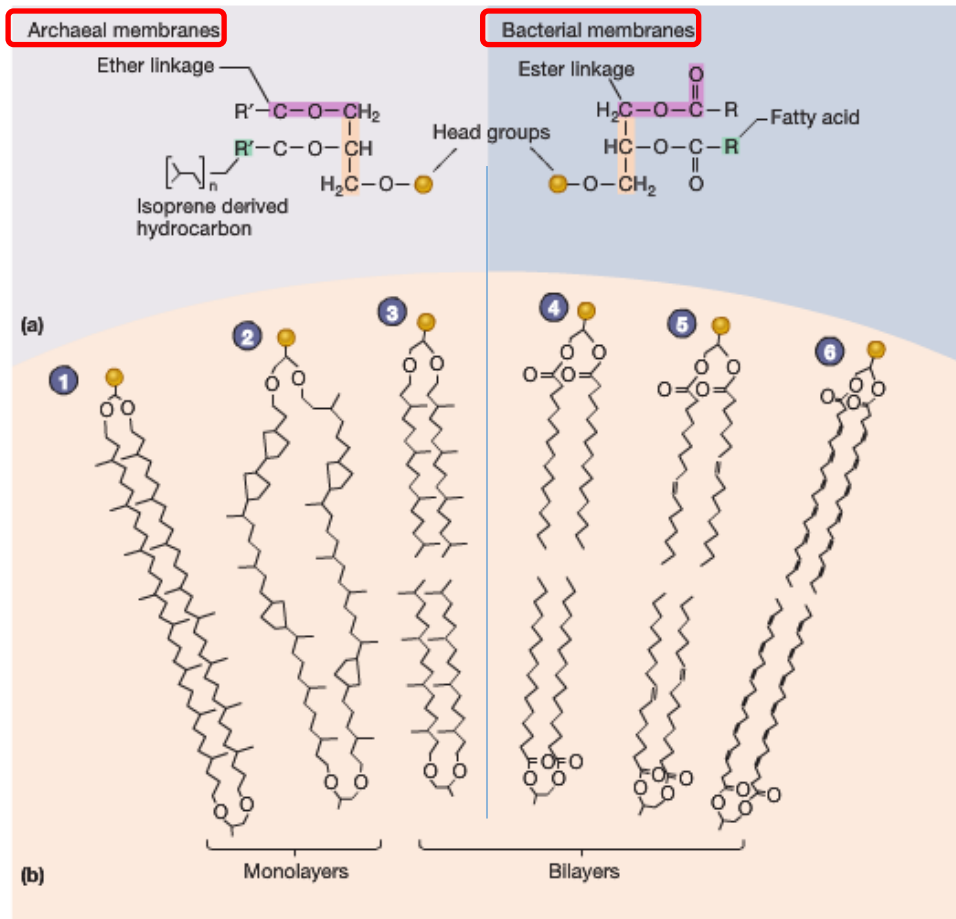


(b)

Monolayers

Bilayers

## Membrane procarioti



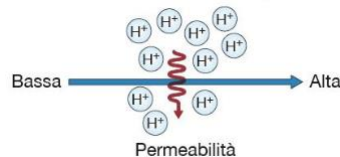
Le subunità isoprenoidi possono formare strutture cicliche sature a 5/6 atomi di carbonio (ciclopentile, cicloesile).



Modulare la **fluidità** della membrana: aumentando il numero degli anelli ciclopentastici e cicloesilici (1-8) diminuisce la fluidità.



↑ **rigidità delle membrane**  
 ↑ **impermeabilità all'acqua ed ai protoni** anche alle alte temperature.



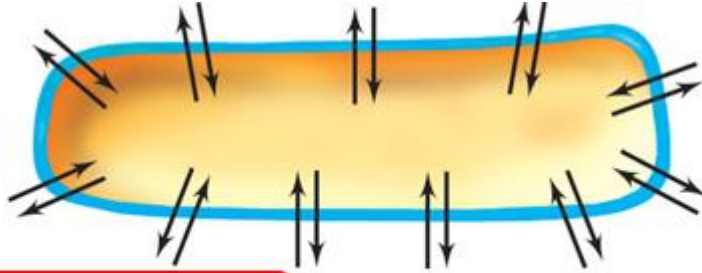
**Il grado di insaturazione degli acidi grassi influisce sulla fluidità della membrana (i doppi legami aumentano la fluidità).**

**Psicrofili:** proliferano a 0-12°C (*optimum* ~4°C).

**Psicrotrofi:** con *optimum* di 20-40°C, in grado di tollerare anche temperature basse (0-5°C).

# Funzioni membrana citoplasmatica

Il **citoplasma** è costituito da una soluzione acquosa contenente zuccheri, aminoacidi, nucleotidi, vitamine, coenzimi, sali, composti solubili, etc.

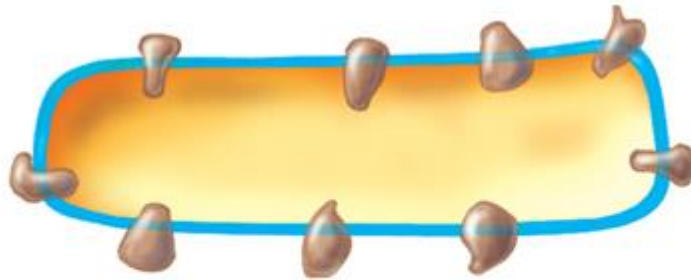


1. **Barriera di permeabilità** - Previene dispersioni e funziona come centro di transito per il trasporto di nutrienti da e verso la cellula

La **membrana** rappresenta una **barriera alla libera diffusione**.

La membrana può essere attraversata per semplice diffusione solo da alcune piccole molecole idrofobiche.

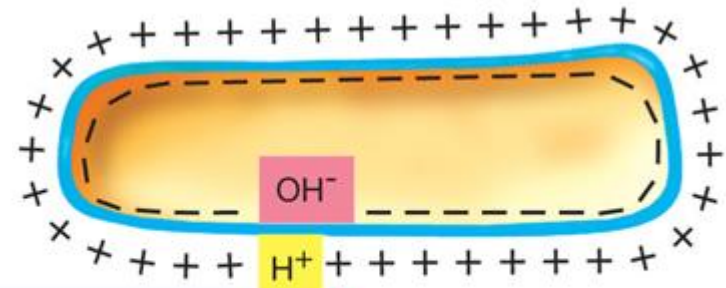
La **membrana citoplasmatica** non è solo una semplice barriera che separa l'interno della cellula dall'ambiente esterno.



2. **Sito di ancoraggio** - Siti di molte proteine coinvolte nel trasporto, nella bioenergetica e nella chemiotassi

Nella membrana sono presenti **sistemi di trasporto specifici** per molecole polari (idrofiliiche) e cariche.

**Gli ioni idrogeno ( $H^+$ ) non riescono ad attraversare liberamente la membrana!**



3. **Conservazione dell'energia** - Siti di origine e utilizzazione della forza proton-motrice

# Diffusione attraverso la membrana

**Diffusione semplice:** molecole sufficientemente piccole ed apolari ( $H_2O$ ,  $N_2$ ,  $O_2$ ,  $CO_2$ ), riescono ad attraversare il doppio strato fosfolipidico secondo gradiente.

**Diffusione facilitata** (uniporto): esistono dei trasportatori (proteine integrali) che controllano il passaggio di ioni e piccole molecole in entrambe le direzioni; le **acquaporine** facilitano il passaggio di  $H_2O$ .

*E. coli* → le **acquaporine** AqpZ, in condizioni di bassa osmoticità, funzionano prevalentemente come esportatrici di acqua piuttosto che come importatrici.

**Tab. 4.2**

## Confronto della permeabilità delle membrane ad alcune molecole

Sostanza	Grado di permeabilità <sup>a</sup>
Acqua	100
Glicerolo	0,1
Triptofano	0,001
Glucosio	0,001
Ioni cloro ( $Cl^-$ )	0,000001
Ioni potassio ( $K^+$ )	0,0000001
Ioni sodio ( $Na^+$ )	0,00000001

Molte sostanze non riescono ad attraversare passivamente la membrana

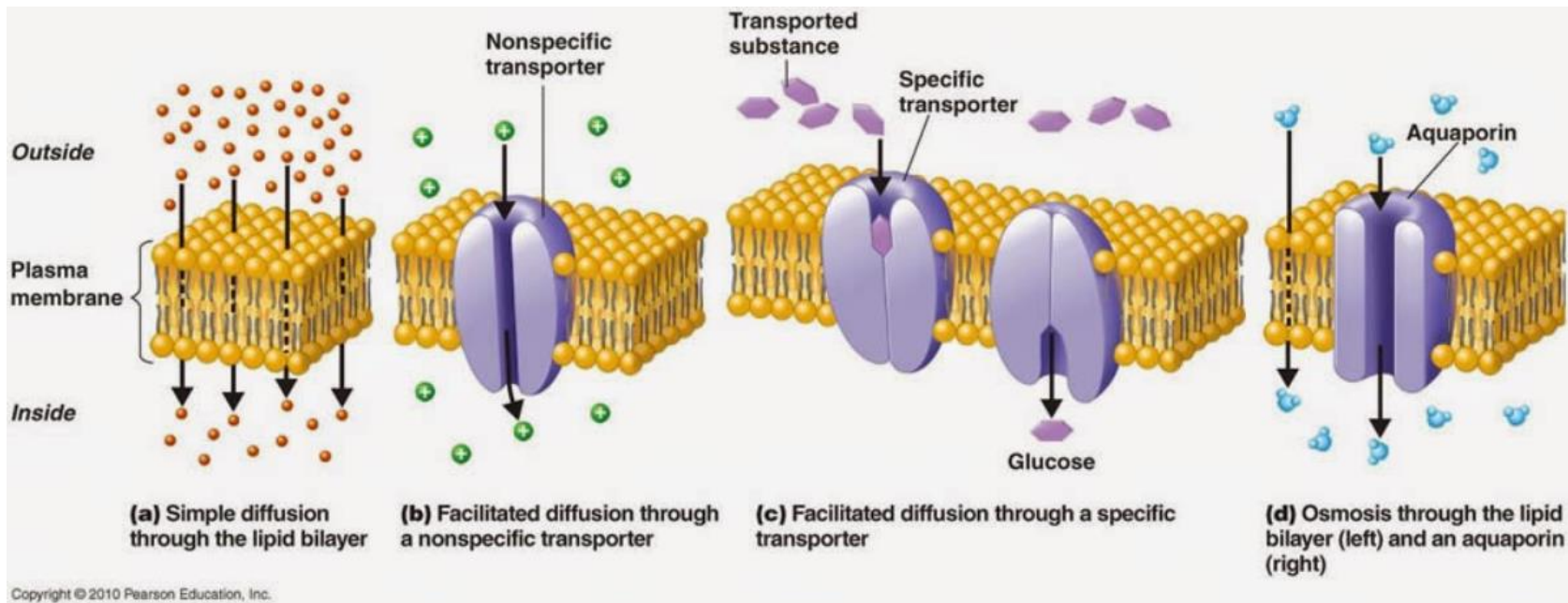
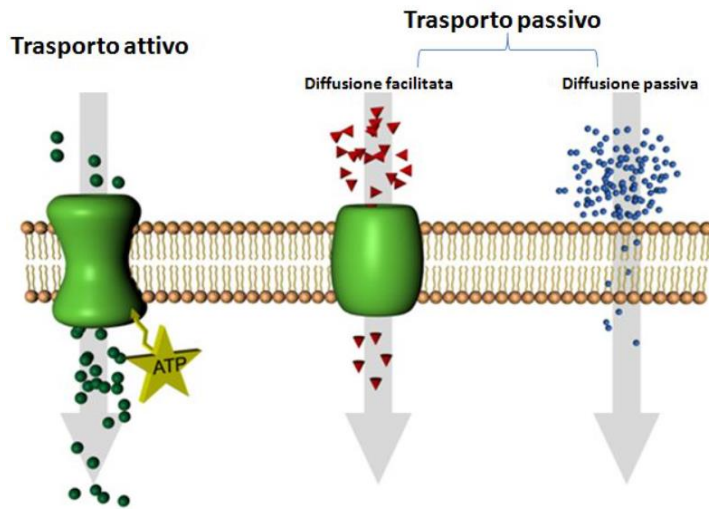
<sup>a</sup> La scala è relativa alla permeabilità dell'acqua, alla quale è attribuito un valore di 100. La permeabilità della membrana all'acqua può essere influenzata dall'acquaporina.

Nell'ambito della diffusione facilitata, le **permeasi** (proteine *carrier* specifiche) trasportano le molecole secondo gradiente (senza consumo di energia), ma ad una velocità maggiore rispetto alla diffusione semplice.

**diffusione facilitata** ≠ **diffusione semplice**

Nella diffusione semplice all'aumentare della concentrazione aumenta anche la velocità del passaggio delle molecole

Nella diffusione facilitata all'aumentare della concentrazione l'incremento del flusso diminuisce fino a che il proceso va a saturazione; ulteriori incrementi di concentrazione della molecola non provocano un corrispondente aumento della velocità di diffusione.





## Meccanismi di assunzione (uptake)

Nei processi di **diffusione**, la velocità di assunzione e la concentrazione intracellulare sono proporzionali alla concentrazione esterna.

La diffusione avviene senza dispendio di energia.

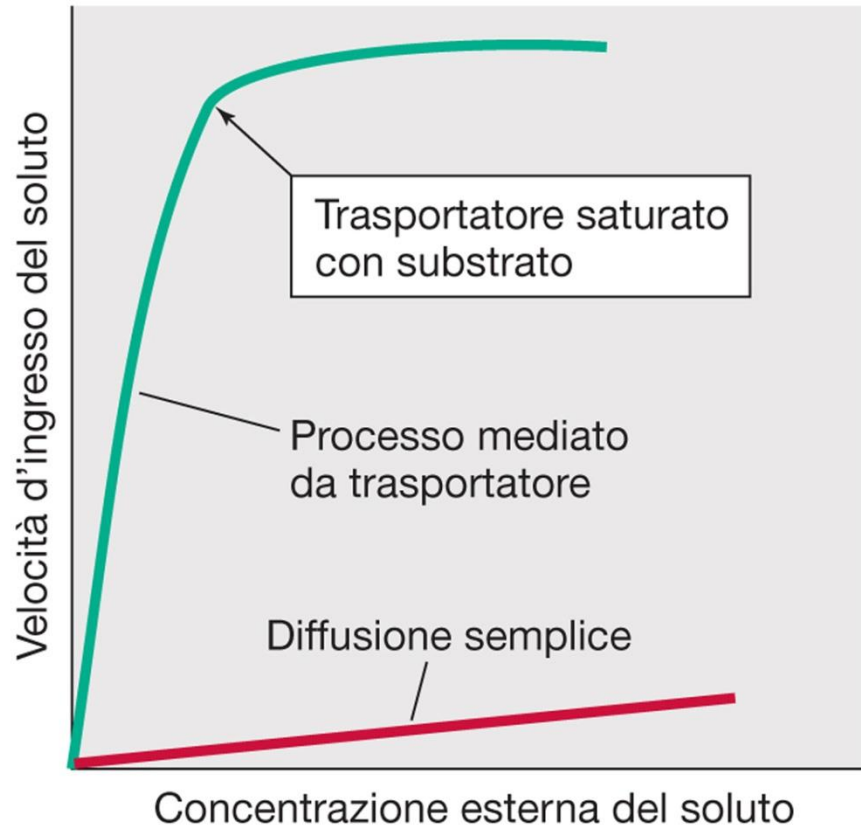
I nutrienti in natura, spesso, si trovano in bassissime concentrazioni e la semplice diffusione non permetterebbe di raggiungere concentrazioni idonee all'interno della cellula.



Le **molecole di trasporto** (**proteine carrier**) accumulano nutrienti a livelli più elevati di quelli presenti nell'ambiente, agendo contro un gradiente di concentrazione.

Il trasporto mediato da trasportatori è **altamente specifico** e mostra un **effetto di saturazione.**

La sintesi di molecole trasportatrici è altamente regolata.



### Michaelis Mentem Kinetics

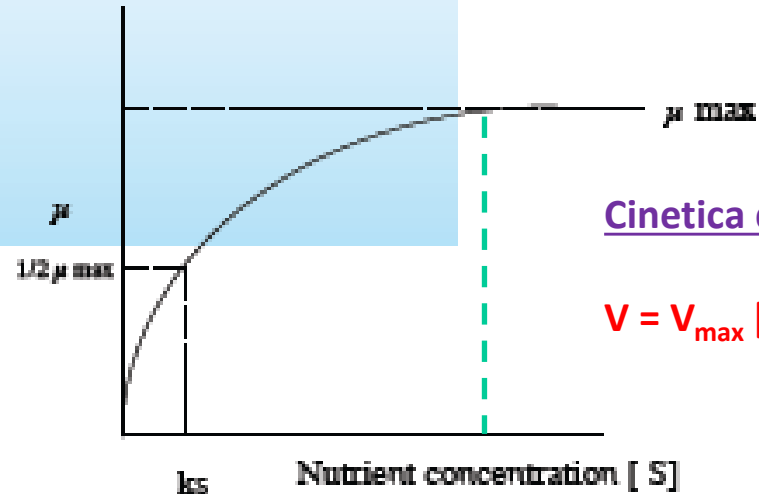
growth rate

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_s + S}$$

$\mu_{\max}$  - max growth rate

$S$  - substrate concentration

$K_s$  - 1/2 saturation constant

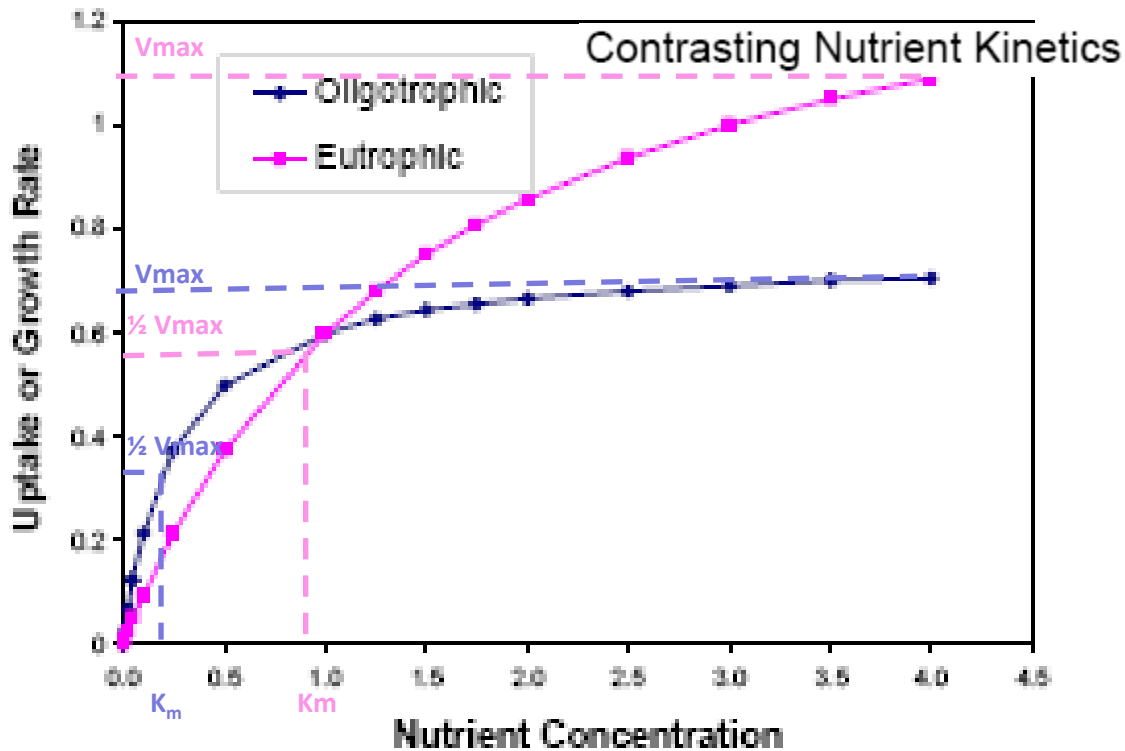


### Cinetica di assunzione dei nutrienti

$$V = V_{\max} [S]/K_m + [S]$$

$$K_m = 1/2 V_{\max}$$

Affinità del trasportatore per il substrato.  
Correlato alla concentrazione di substrato  
alla quale la velocità è pari ad  $1/2$  della  $V_{\max}$ .



## Cinetica di assunzione dei nutrienti

$$V = V_{\max} [S] / K_m + [S]$$

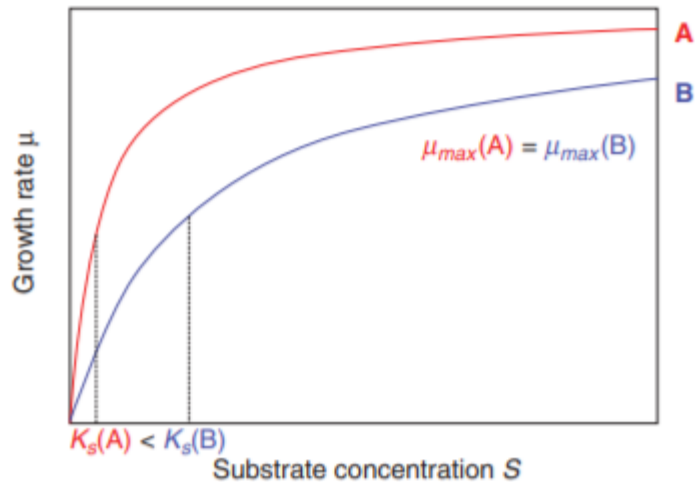
$$K_m = \frac{1}{2} V_{\max}$$

## K-strateghi

A differenza degli **r-strateghi**, i batteri **k-strateghi** riescono a sfruttare basse concentrazioni di substrati, grazie a sistemi di assunzione (uptake) ad elevata affinità.

- Sono ottimi competitori per risorse limitate.
- Sono caratterizzati da vita cellulare e tempi di generazione più lunghi.
- Sono fisiologicamente ben adattati all'ambiente in cui vivono.

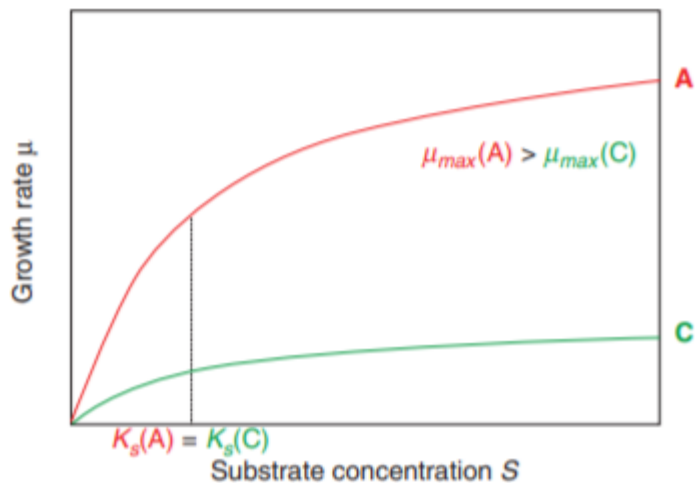
Sono **K-strateghi** i batteri autoctoni (oligotrofi) che vivono in ambienti oligotrofi (laghi, stagni, mari, etc.).



**Specie A e B**

**Stesso tasso massimo di crescita ma diverso  $K_s$**

Fig. 2. Significance of the substrate affinity of growth ( $\mu_{max}/K_s$ , i.e., the initial slope of the  $\mu$  versus  $S$  curve) for three species A, B and C. Comparison of substrate-dependent specific growth rates for two strains A and B with the same maximum growth rate but different  $K_s$  values (upper panel), and for two strains A and C with the same  $K_s$  value but different maximum growth rates  $\mu_{max}$  (bottom).



**Specie A e C**

**Stesso  $K_s$ , ma diverso tasso massimo di crescita diverso**

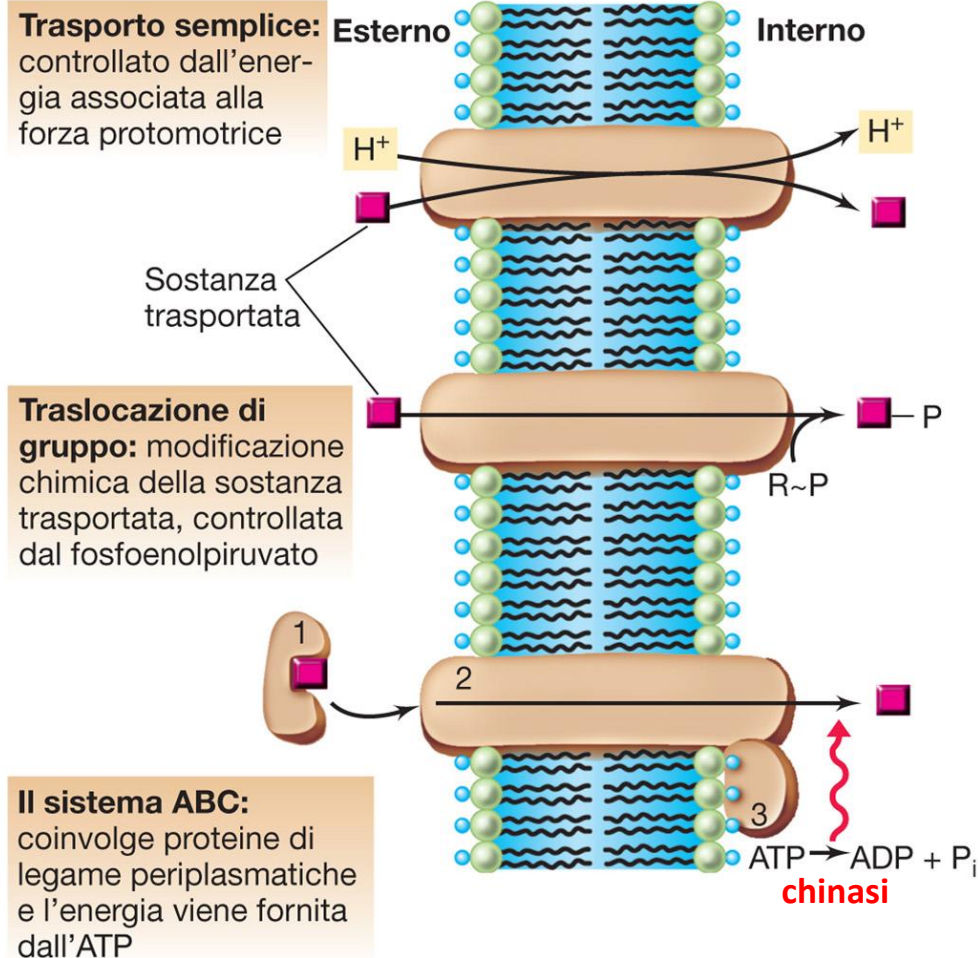
## The Prokaryotes A Handbook on the Biology of Bacteria

Martin Dworkin (Editor-in-Chief), Stanley Falkow, Eugene Rosenberg, Karl-Heinz Schleifer, Erko Stackebrandt (Editors)

# Esistono almeno 3 meccanismi di trasporto

Coinvolge soltanto componenti localizzati nello spessore della membrana.

Coinvolgono componenti localizzati anche nel periplasma o nel citoplasma.



**Tutti questi sistemi richiedono energia!**  
**Forza proton-motrice, ATP, altri composti ad alta energia**

I **trasportatori** sono in genere costituiti da **12  $\alpha$ -eliche**, assemblate fra loro in modo da formare un **canale transmembrana**.

Il **trasportatore**, dopo il legame con il substrato, subisce un **cambiamento conformazionale** che permette il passaggio attraverso la membrana.

Possono essere distinti diverse tipologie di trasporto

### Uniporter

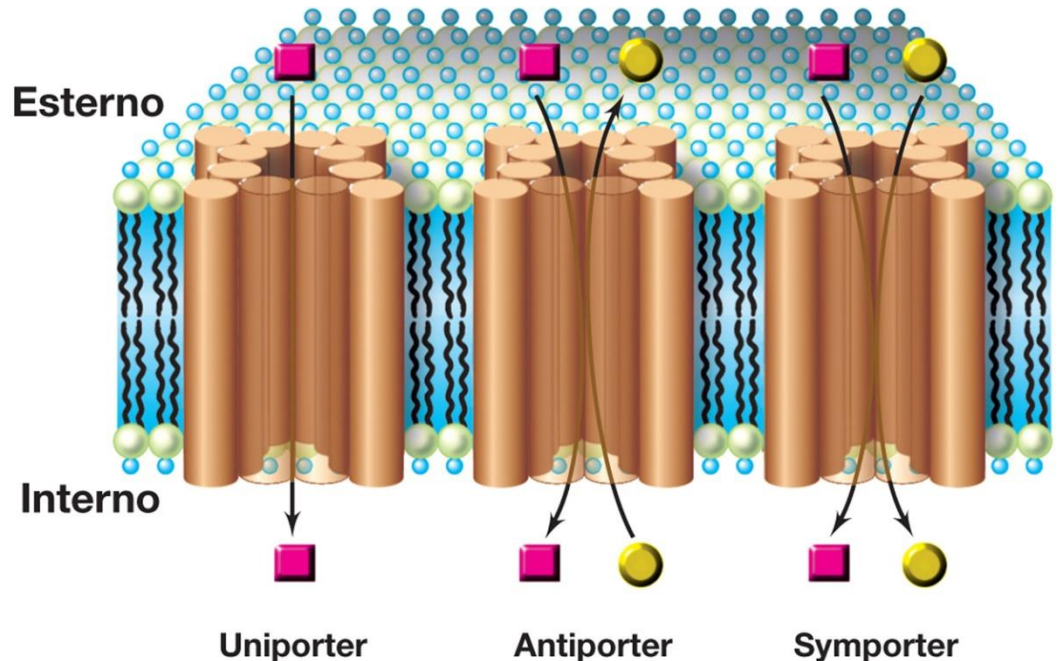
Trasporto unidirezionale di una sostanza.

### Antiporter (co-trasporto)

Trasporto di una sostanza in una direzione ed un'altra nella direzione opposta.

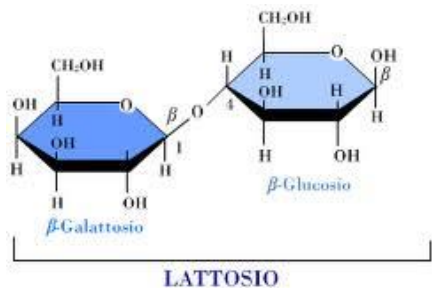
### Symporter (co-trasporto)

Trasporto unidirezionale di una sostanza insieme ad un'altra, di solito  $H^+$ .



# Trasporto semplice

La **Lac permeasi** (*E. coli*) è un trasportatore semplice



ione fosfato bibasico



Symporter fosfato



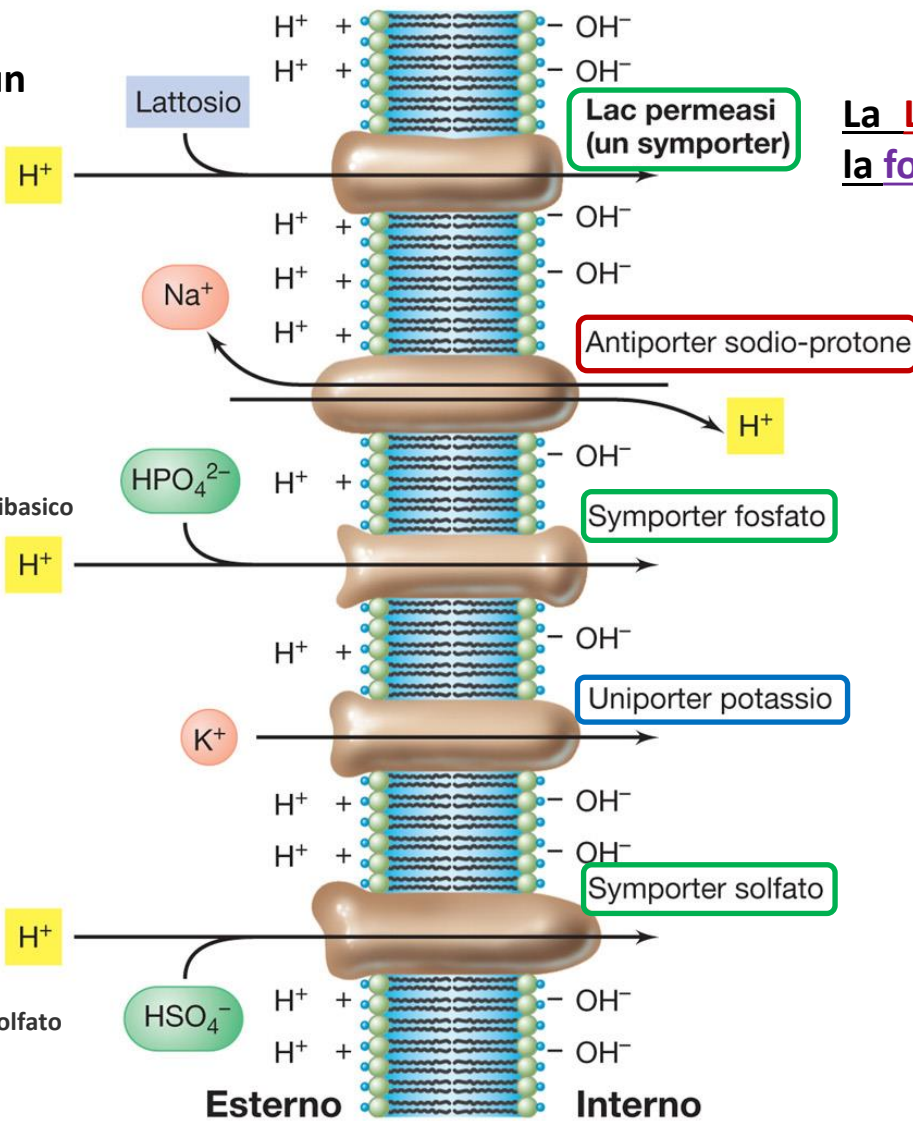
Uniporter potassio

ione bisolfato



Symporter solfato

Esterno Interno



La **Lac permeasi** dissipa la forza proton-motrice

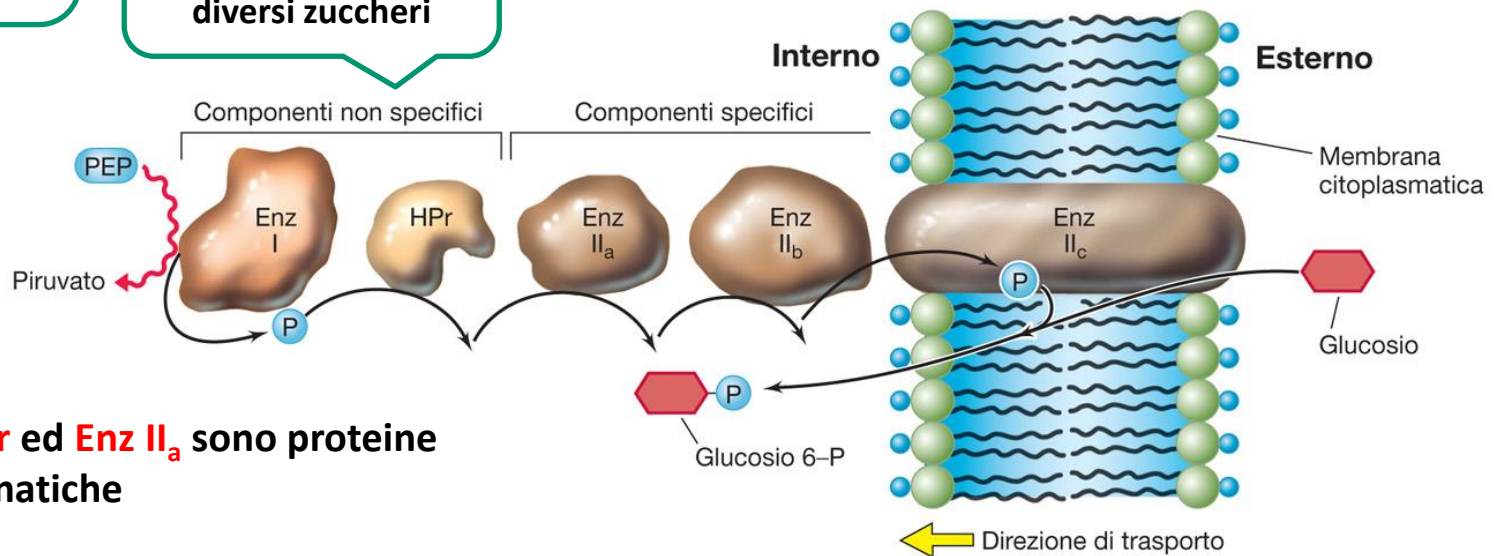
## Traslocazione di gruppo: sistema delle fosfotransferasi

Le sostanze durante il trasporto vengono modificate (fosforilazione).

glucosio,  
mannosio,  
fruttosio,  
...

Proteine coinvolte  
nel trasporto di  
diversi zuccheri

Il sistema di trasporto del glucosio  
comprende 5 proteine



**Enz I, Hpr ed Enz II<sub>a</sub>** sono proteine  
citoplasmatiche

**Enz II<sub>b</sub>** è associata alla superficie interna della membrana.

**Enz II<sub>c</sub>** è una proteina integrata di membrana.

Ampia variabilità tra gli **Enz II<sub>a,b,c</sub>**: specificità  
per i diversi tipi di zucchero da trasportare.



## Meccanismo di trasporto ABC (*ATP-binding cassette*):

Lo **spazio periplasmatico** (Gram -) contiene delle proteine con funzioni di trasporto (*proteine di legame periplasmatiche*).

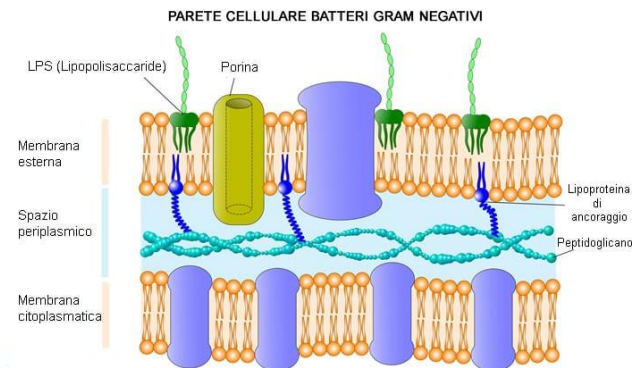
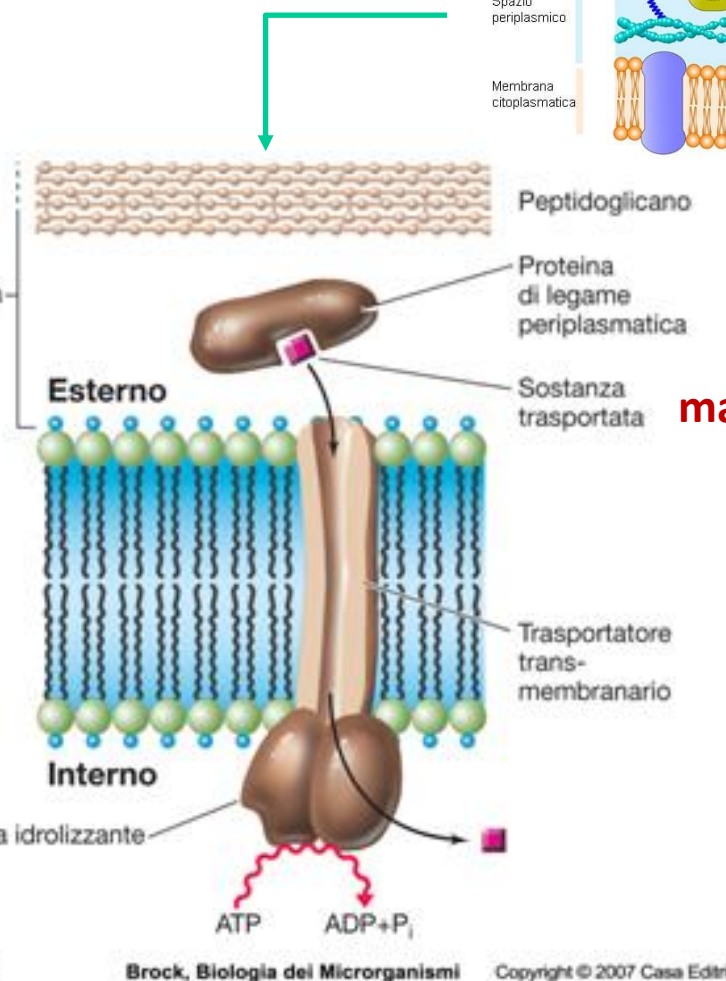
Intervengono diverse proteine:

- **Proteine di legame periplasmatiche**
- **Proteine integrali di membrana**
- **Proteine di idrolisi dell'ATP (chinasi)**

Le **proteine periplasmatiche** sono mobili e sono in grado di legare substrati presenti anche a bassissime concentrazioni (**alta affinità** per il substrato).

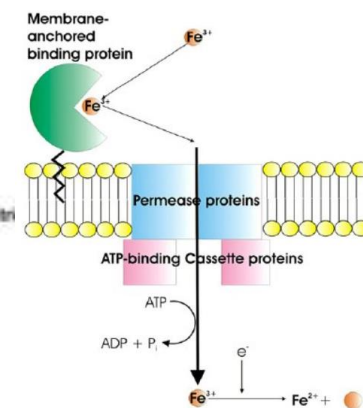
Il complesso proteina-substrato interagisce con la **proteina integrale** di membrana e, grazie all'energia fornita da una **chinasi (idrolisi dell'ATP)**, il substrato viene trasportato all'interno della cellula.

M.T. Madigan, J.M. Martinko



**maltosio**

Nei Gram + le proteine di legame sono ancorate alla membrana citoplasmatica.



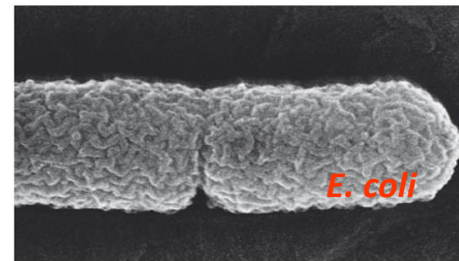
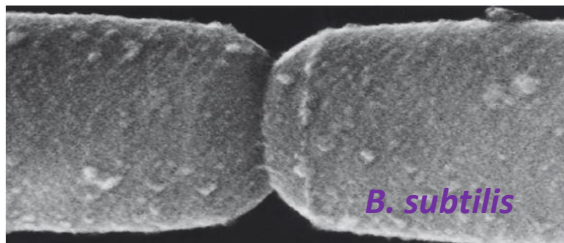
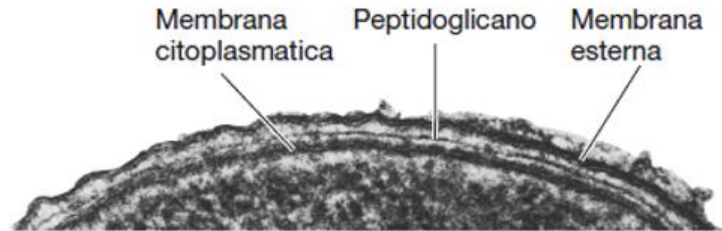
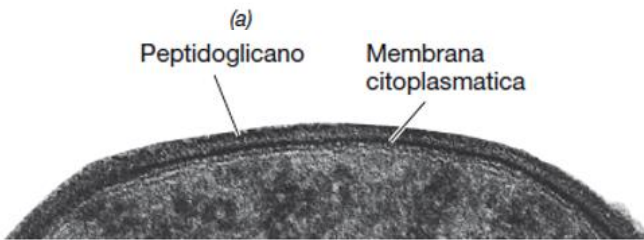
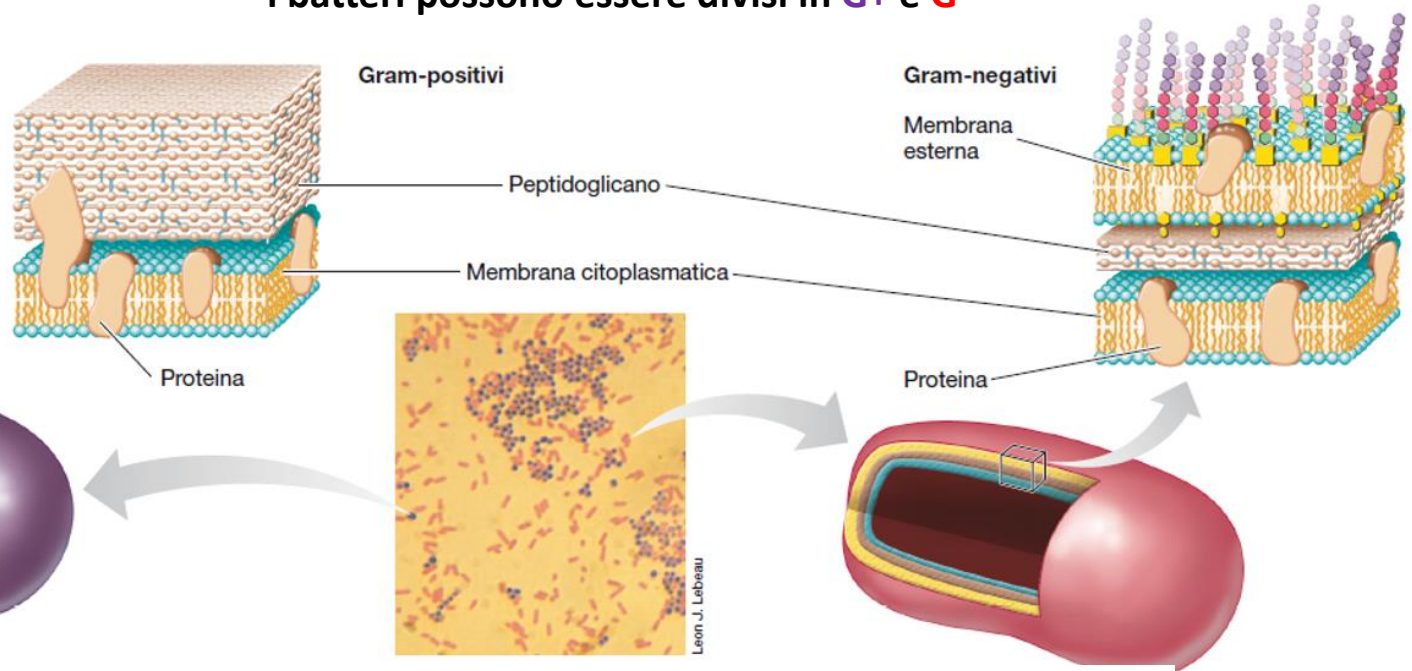
~200 tipi diversi di trasporto ABC →

Sostanze trasportate: **zuccheri, aminoacidi, solfati, fosfati, metalli in tracce, etc.**

# PARETE CELLULARE CELL WALL

Conferisce alla cellula forma, rigidità e resistenza alla pressione osmotica.

In base alla diversa struttura della **parete cellulare** i batteri possono essere divisi in **G+** e **G-**



La parete cellulare dei **Bacteria**, sia G+ che G-, è costituita da **peptidoglicano**

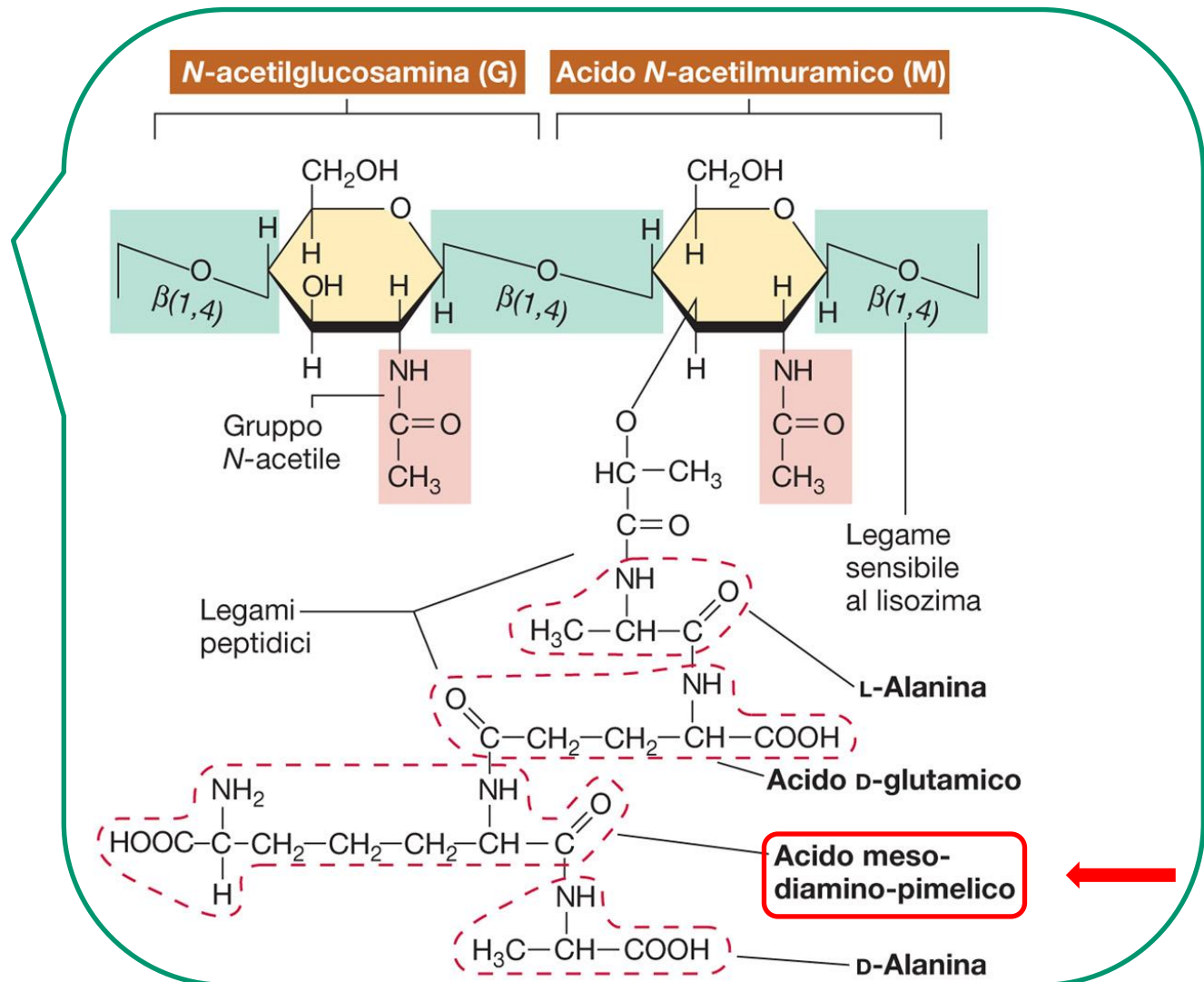
**Peptidoglicano** (polisaccaride)

- due amino zuccheri (**N-acetilglucosamina** ed **acido N-acetilmuramico**)
- alcuni aminoacidi (L-alanina, D-alanina, acido D-glutamico e L-lisina o acido diaminopimelico).
- Alcuni aminoacidi sono stereoisomeri in forma **D**

**glican tetrapeptide**

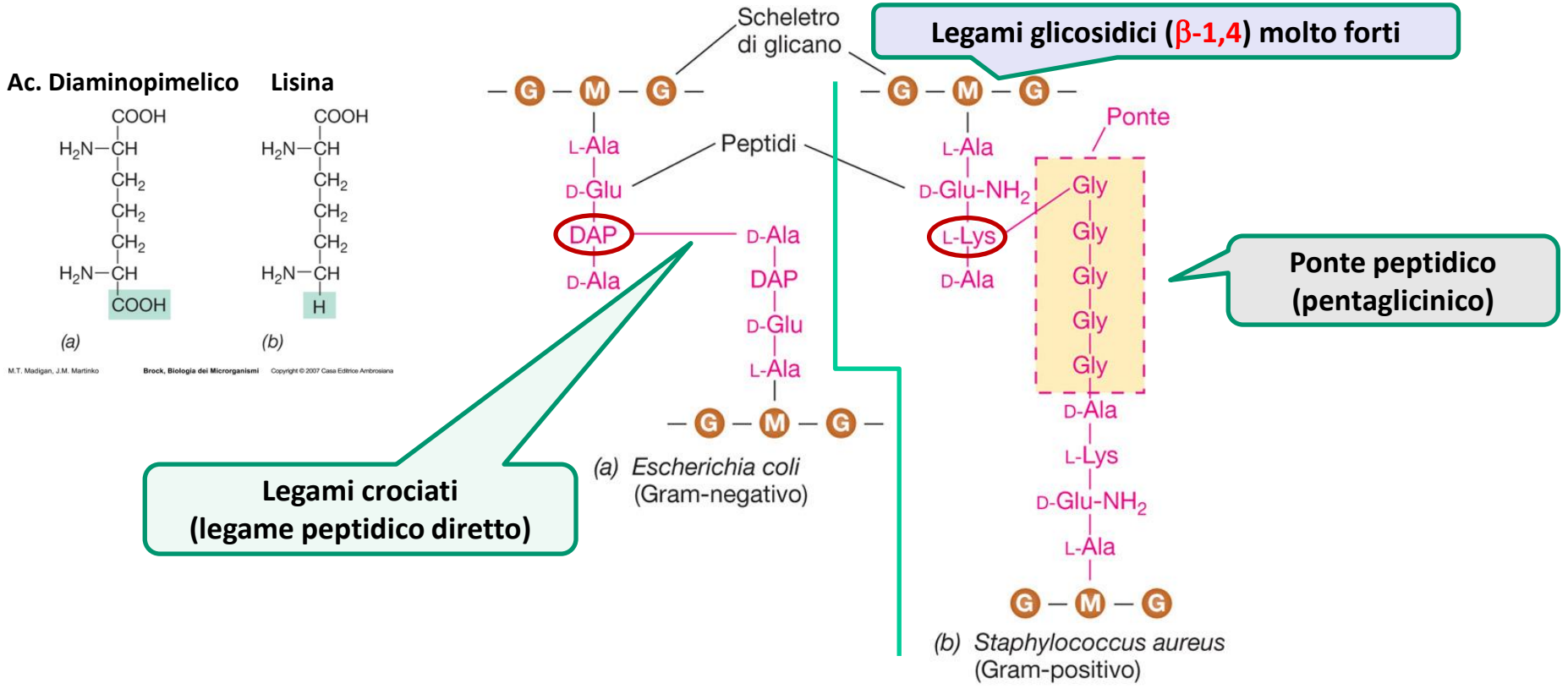
↓  
 rappresenta l'unità strutturale di ripetizione del peptidoglicano

G-	G+
L-Ala	L-Ala
D-Glu	D-Glu
<b>DAP</b>	L-Lys
D-Ala	D-Ala



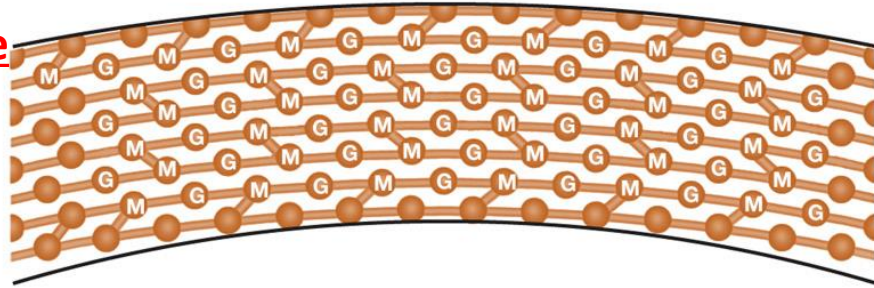
Singole catene di peptidoglicano adiacenti, grazie a **legami crociati tetrapeptidici** tra aminoacidi, formano una lamina.

Specie batteriche diverse presentano quantità diverse di legami crociati.

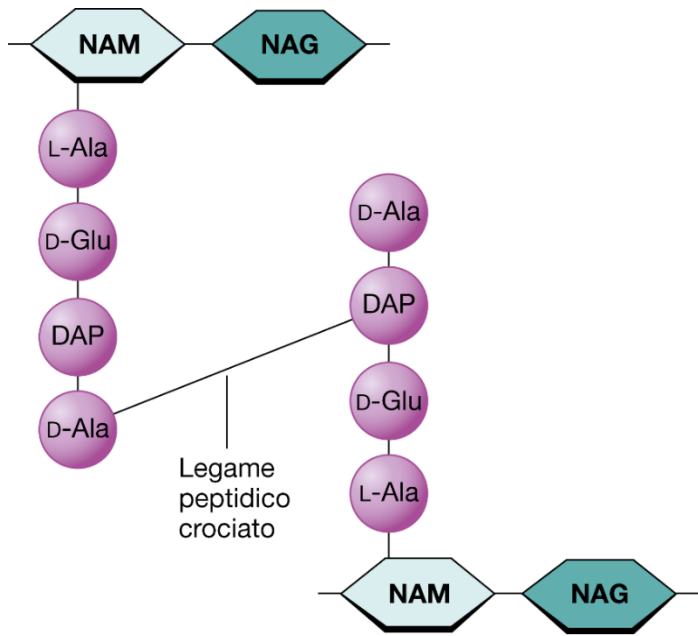


**Il peptidoglicano è presente solo nei Bacteria!**

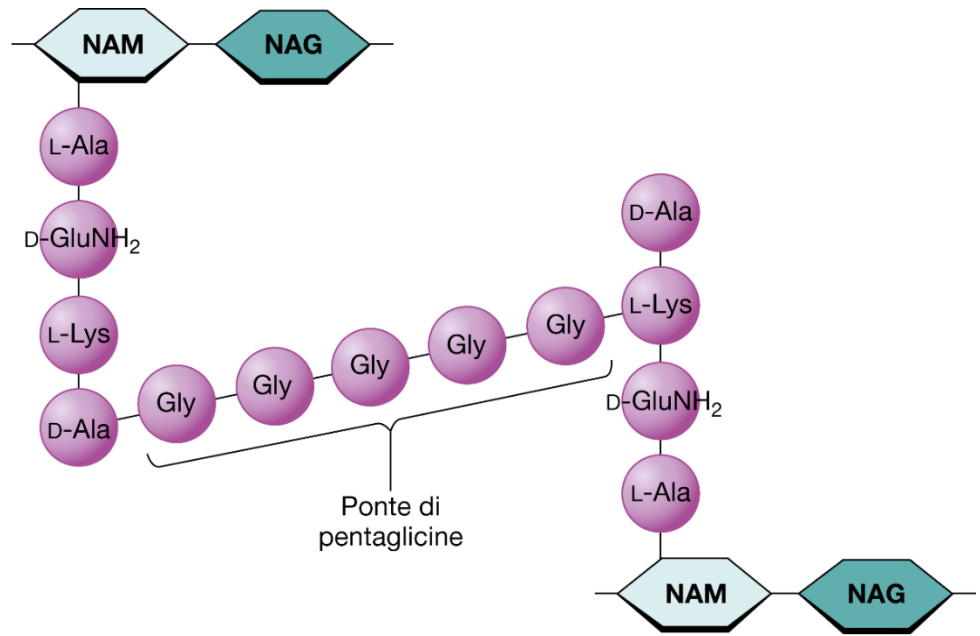
**NAM e DAP** sono assenti nella parete cellulare degli *Archaea* e degli *Eukarya*.



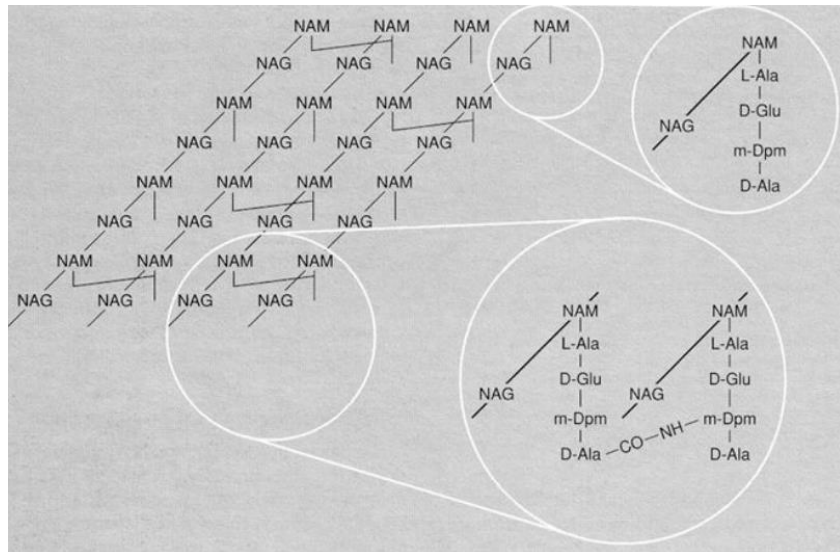
> 100 differenti tipi di peptidoglicano



A. Reticolo di peptidoglicano in *E. coli*

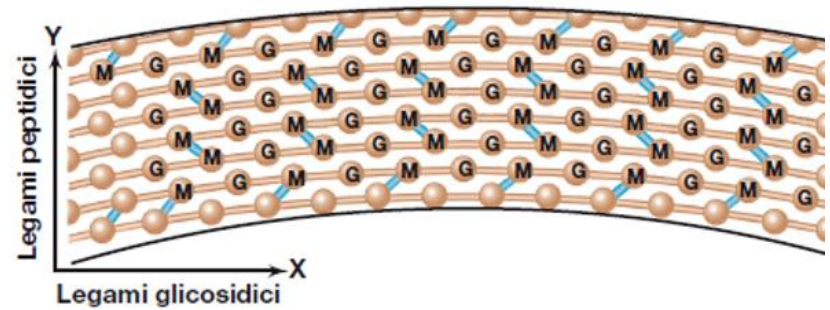


B. Reticolo di peptidoglicano in *S. aureus*



Wessner, Dupont, Charles

I legami crociati tra catene peptidiche adiacenti conferiscono **resistenza** al peptidoglicano.



Microbiologia

978-88-08-18100-8

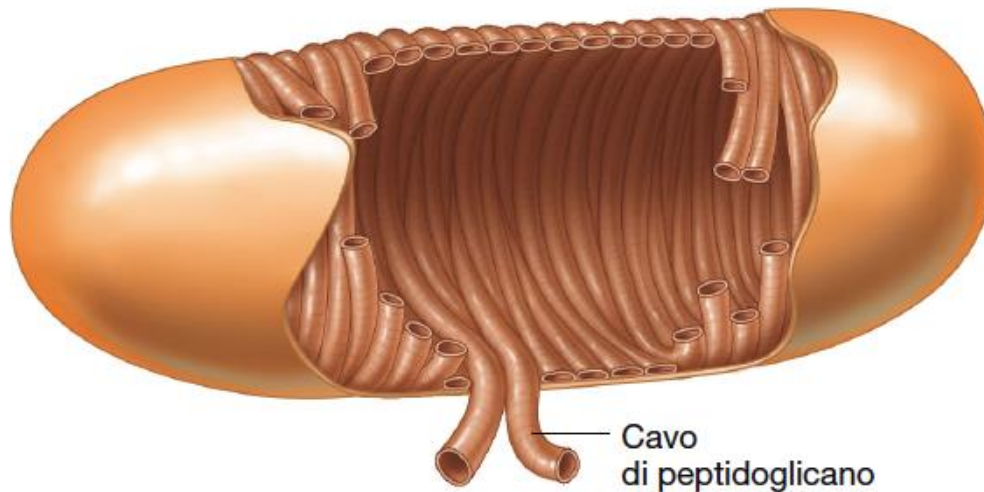
2015 © CEA - Casa Editrice Ambrosiana

## Gram positivi

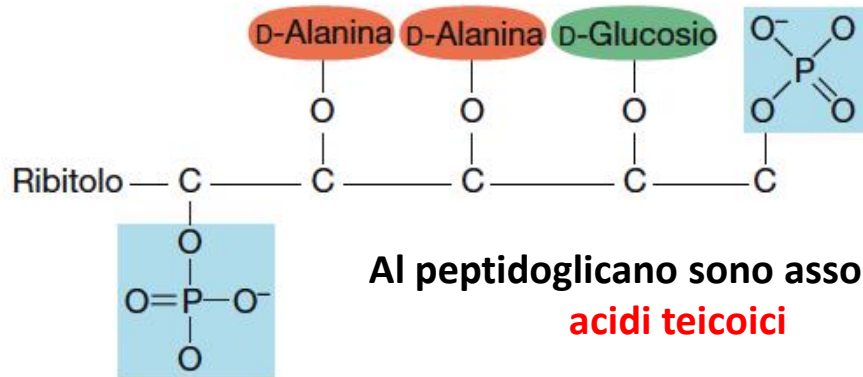


**Peptidoglicano** rappresenta circa il 90% della parete cellulare

Si ipotizza che la parete cellulare sia organizzata sotto forma di cavi ( $\varnothing \sim 50$  nm), formati da fasci di peptidoglicano, che avvolgono la cellula.



(a)



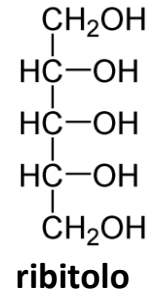
Al peptidoglicano sono associati gli **acidi teicoici**

All'interno della parete cellulare, molti batteri **G+**, presentano gli **acidi teicoici** (polisaccaridi acidi).

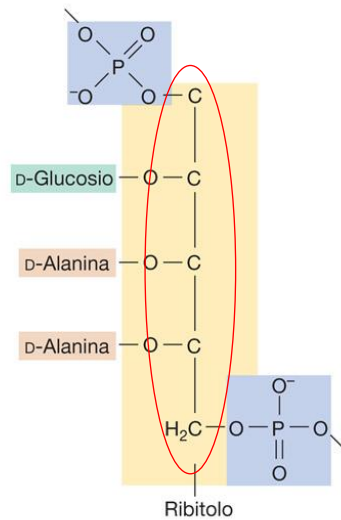
**Polimeri di glicerofosfato o ribitolfosfato** contenuti nella parete cellulare, nella membrana citoplasmatica e nella capsula.

**Gli acidi teicoici si legano al NAM** e, con le loro cariche negative (fosfati), contribuiscono

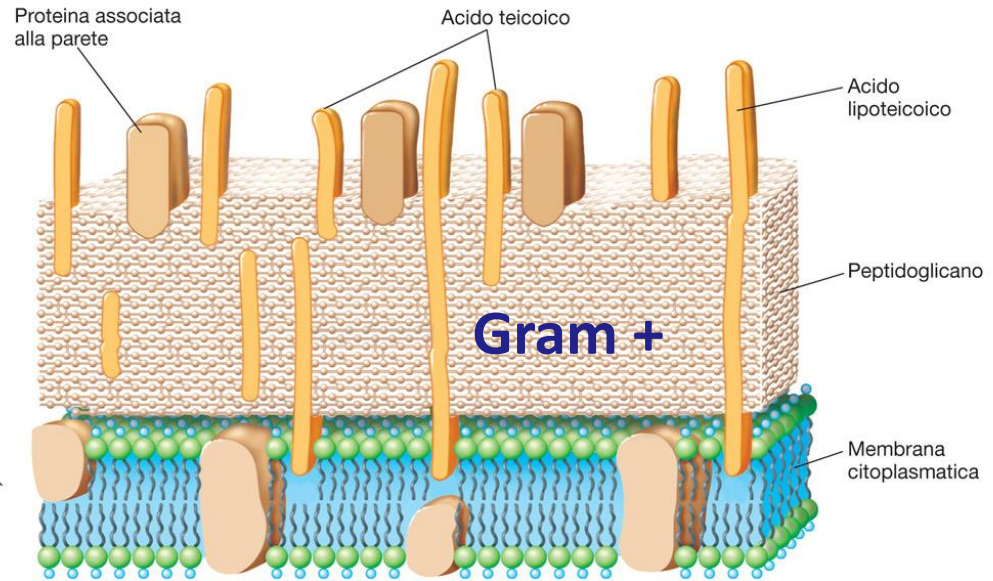
- alla carica **complessiva negativa della superficie cellulare**,
- al passaggio di **ioni** attraverso la parete cellulare,
- al legame con cationi bivalenti (**Ca<sup>2+</sup>** e **Mg<sup>2+</sup>**) e al loro trasporto all'interno della cellula.



I polialcoli sono legati da esteri fosforici e contengono **D-alanina** e **zuccheri**.

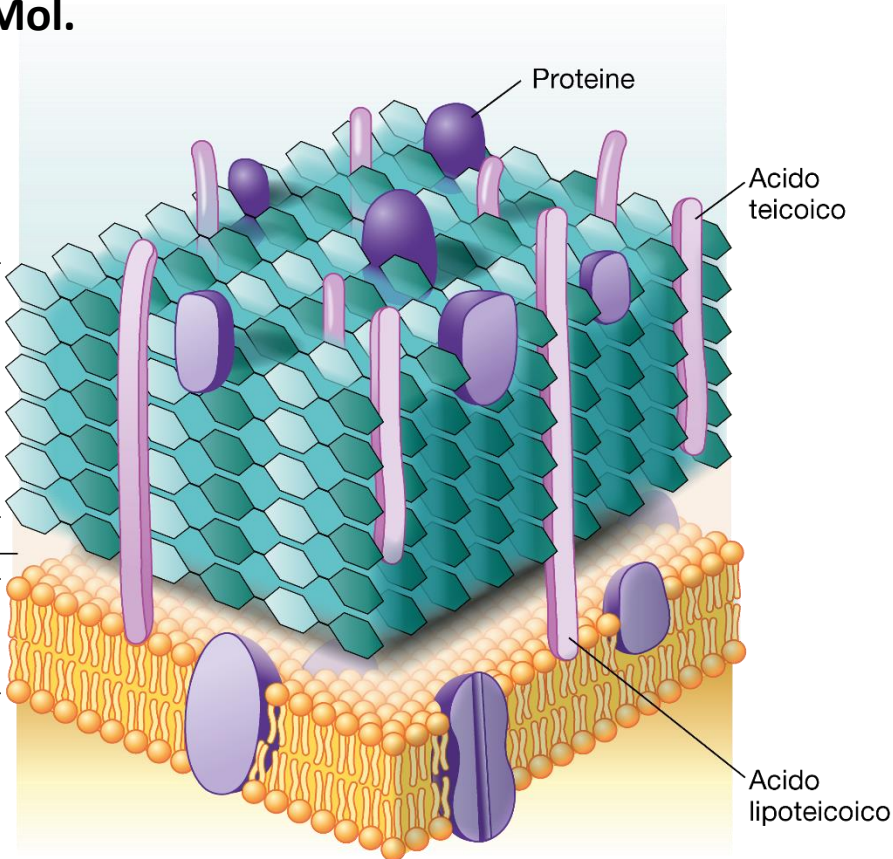
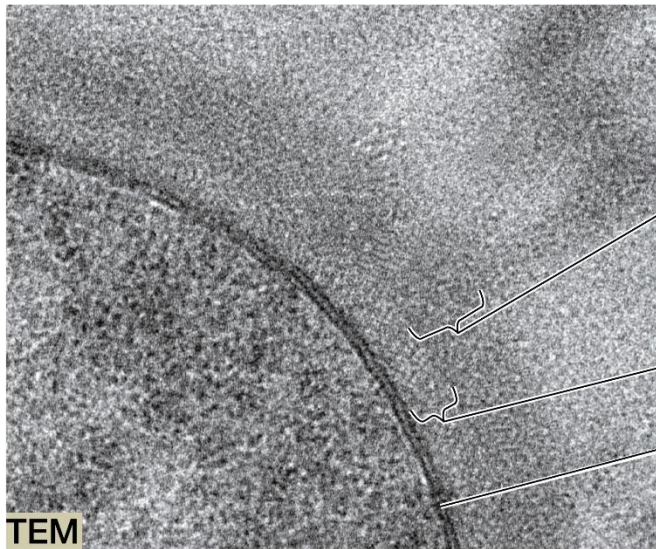


**Acido ribitol-teicoico** (*B. subtilis*). L'acido teicoico deriva dalla polimerizzazione dell'unità di ripetizione di ribitolo.



Alcuni acidi teicoici si legano covalentemente ai lipidi della sottostante membrana plasmatica (**acidi lipoteicoici, LTA**).

Matias, V.R., and T.J. Beveridge (2005). Cryo-electron microscopy reveals native polymeric cell wall structure in *Bacillus subtilis* 168 and the **existence of a periplasmic space.** Mol. Microbiol. 56:240–251.



**Pareti cellulari dei batteri Gram positivi.**

**Sembra che anche i Gram positivi possiedano uno spazio periplasmatico delimitato da membrana plasmatica e strato di peptidoglicano**

Black, *Microbiology: Principles and Explorations*, copyright 2012, John Wiley & Sons, Inc. Materiale riprodotto con il permesso di John Wiley & Sons, Inc.

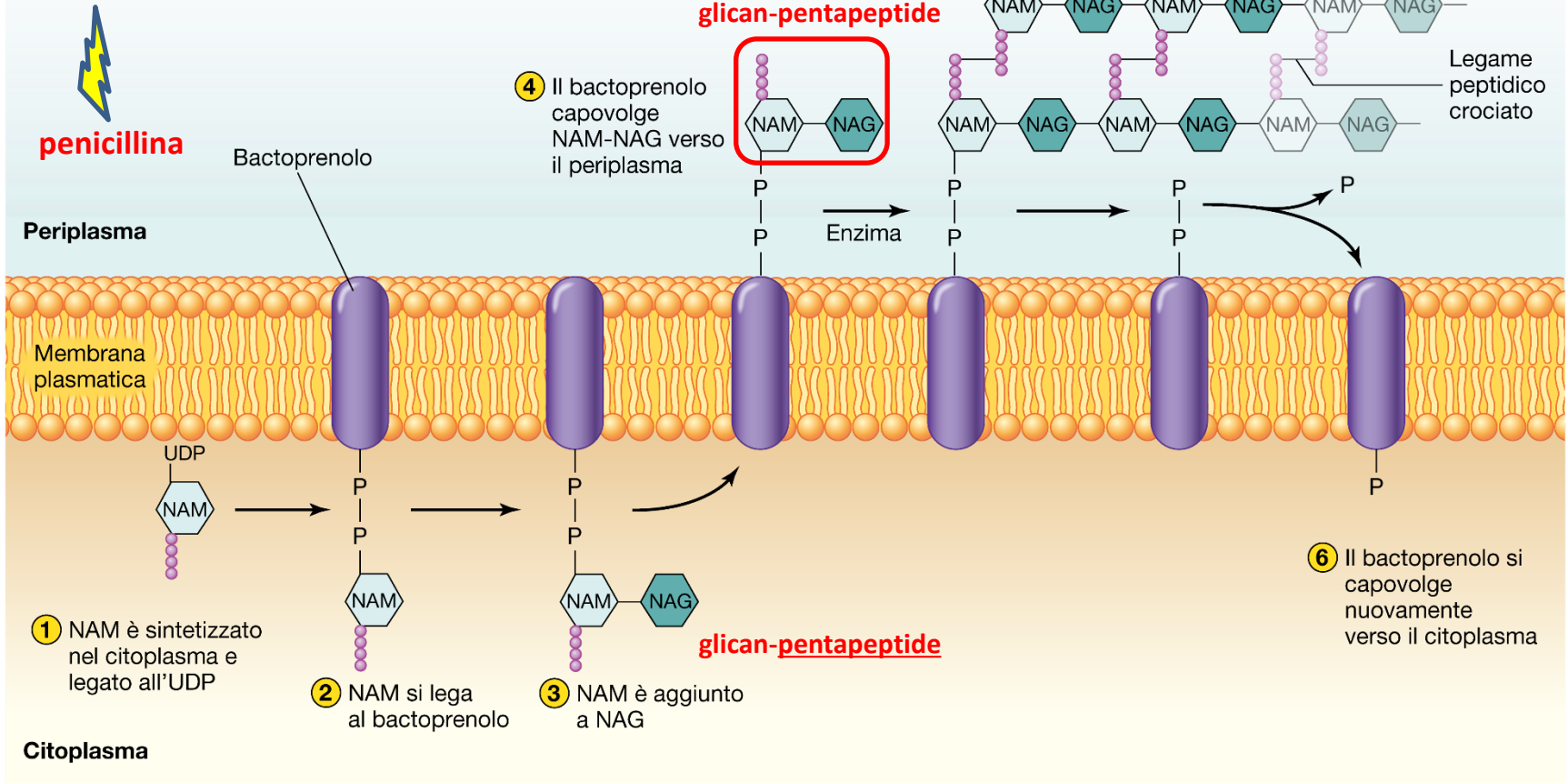


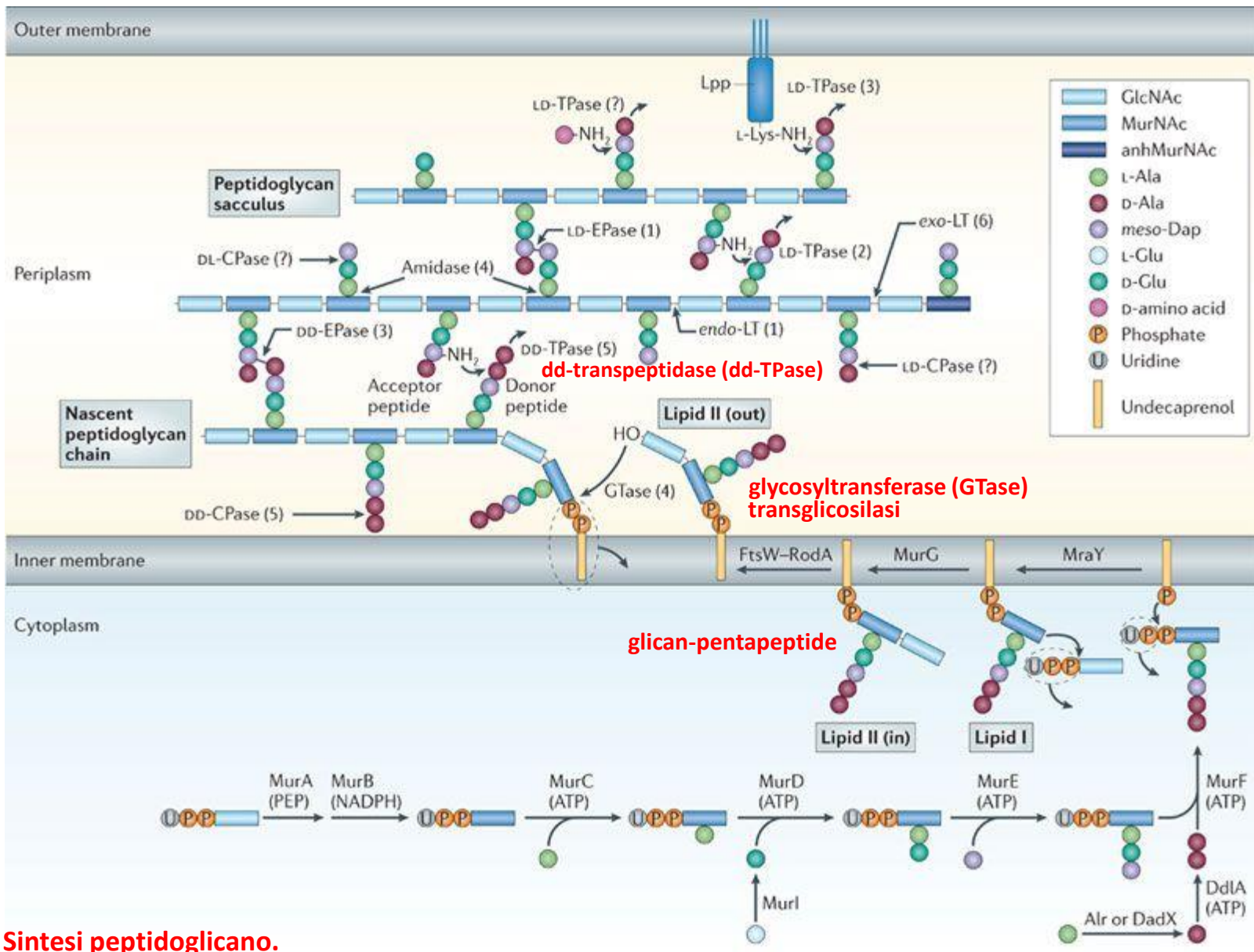
# Tappe sintesi del peptidoglicano.

## Periplasma

**Polimerizzazione (transglicosilasi) → legami β-1,4**  
**Transpeptidazione (transpeptidasi) → legami crociati**

**5** Il disaccaride è aggiunto alla catena esistente. Avviene la formazione dei legami crociati





**Sintesi peptidoglicano.**

Il trattamento con **lisozima**, in seguito alla rottura del legame  $\beta$ -1,4 tra NAM e NAG, induce la distruzione del peptidoglicano (parete cellulare) e la formazione di **protoplasti**.

**Sferoplasto** → presenta residui di parete cellulare attaccati alla membrana citoplasmatica

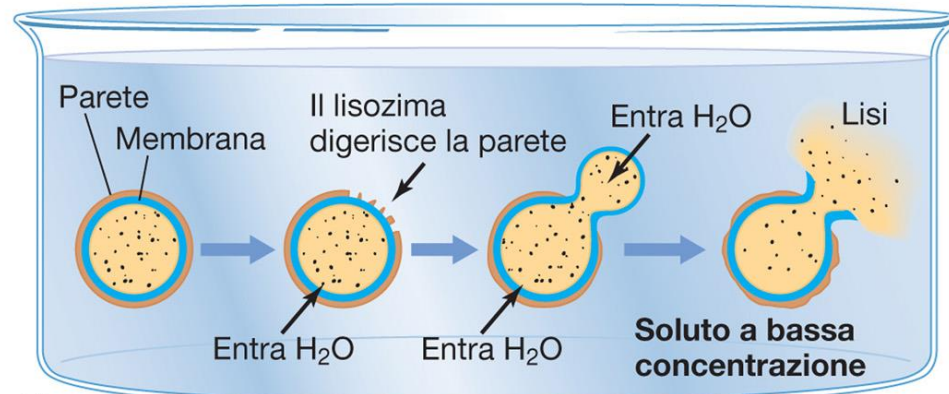
La maggior parte dei batteri non può sopravvivere senza parete cellulare.

Alcuni batteri, tuttavia, sono privi di parete

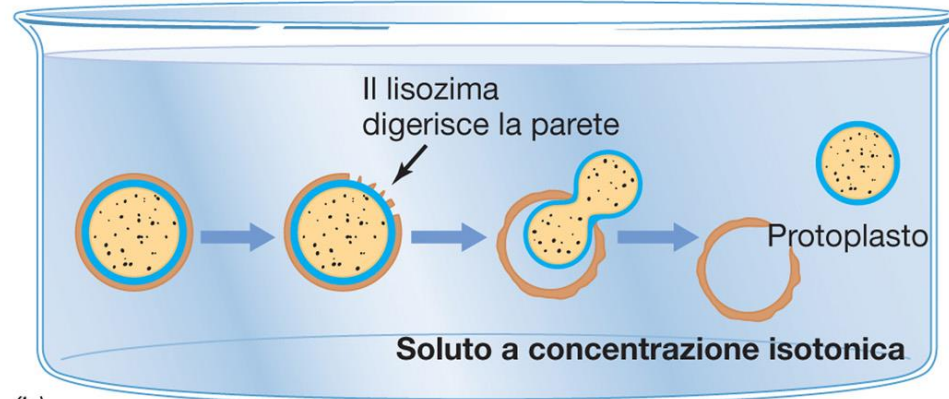
- **Micoplasmi** → contengono steroli
- **Thermoplasma** (Archaea)



Vivono in ambienti osmoticamente protetti o possiedono membrane citoplasmatiche più spesse



(a)



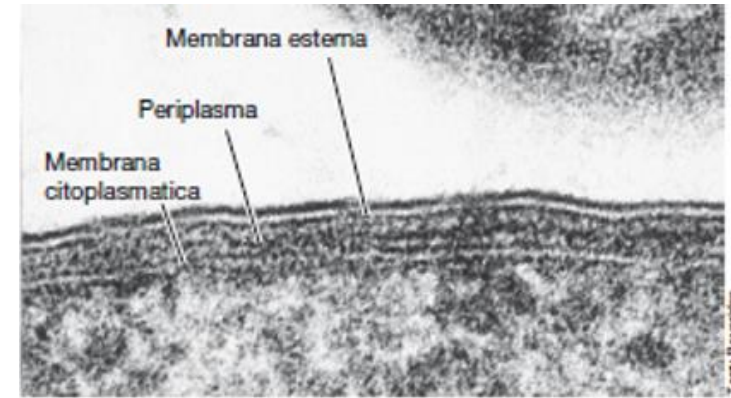
(b)

## PARETE CELLULARE GRAM –

Possiedono una **membrana esterna** (principale costituente della parete cellulare dei G-)

I **batteri G-**, oltre alla membrana citoplasmatica, possiedono una **membrana esterna a doppio strato** costituita da **fosfolipidi**, **proteine** e **polisaccaridi**.

Lipidi e polisaccaridi formano complessi, definiti **lipopolisaccaridi (LPS)**, tipici dello strato esterno della membrana esterna (**strato lipopolisaccaridico**).



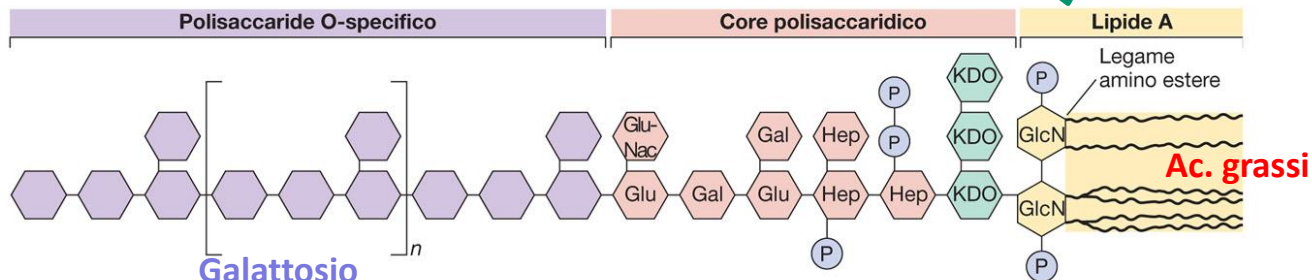
Gli **acidi grassi** sono legati, tramite un legame estere-aminico, al disaccaride **N-glucosamina fosfato**. Il disaccaride è attaccato al core polisaccaridico attraverso il **chetodeossiottanato**.

**lipopolisaccaride (glicolipide complesso)**

costituito da 3 parti:

2 di natura polisaccaridica ed 1 di natura lipidica

parte lipidica tossica  
(**lipide A**)



**Struttura base del lipopolisaccaride**

**O-pecifico**—**core**-**KDO**—**Lipide A**

La composizione del lipide A e dei componenti polisaccaridici **varia tra le diverse specie**.

Gli **LPS**, assieme a **fosfolipidi** e diverse **proteine**, costituiscono lo **strato esterno** della membrana esterna.

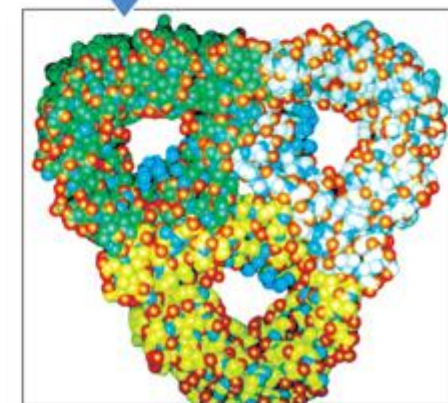
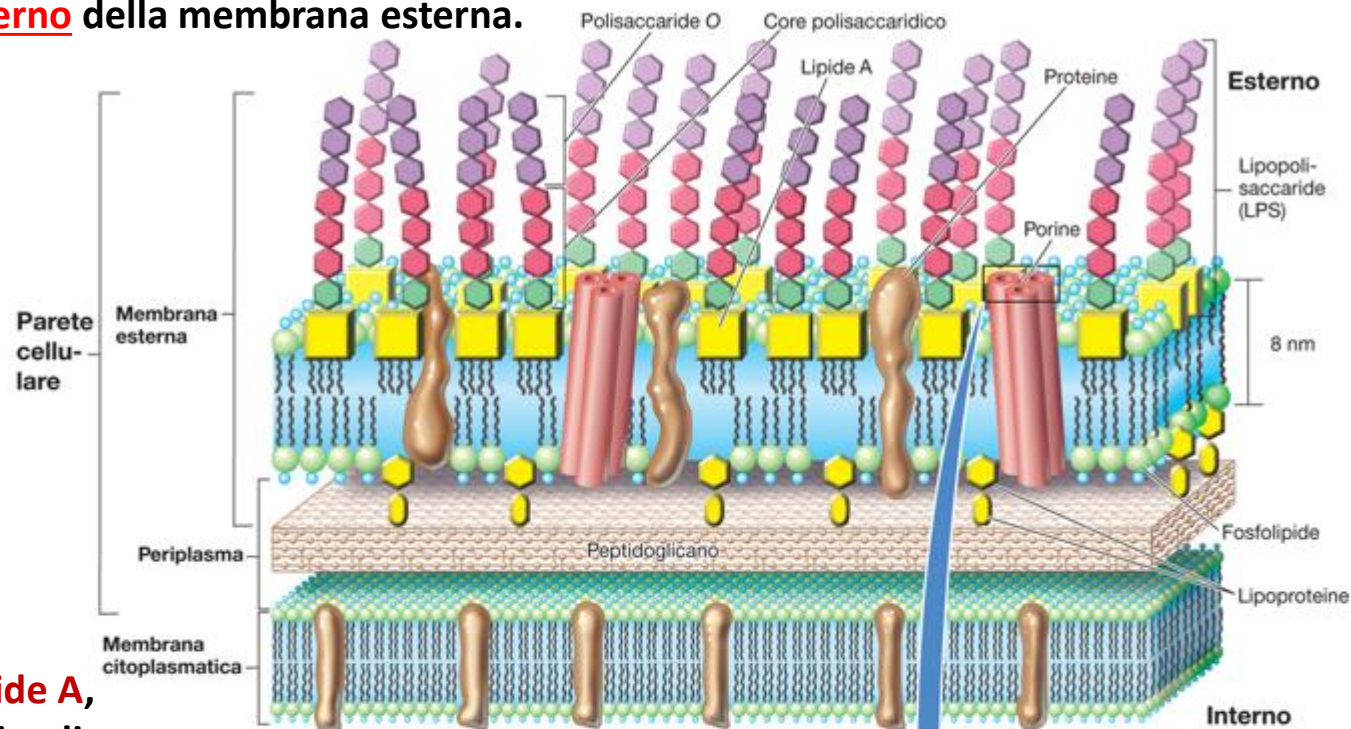
Nello **strato interno** della membrana esterna sono presenti principalmente **fosfolipidi** ed un complesso lipoproteico (**lipoproteina**) ancorato al peptidoglicano.

L'**LPS**, ed in particolare il **lipide A**, presenta tossicità per gli animali. Il lipide A viene anche definito **endotossina**.

*Salmonella, Shigella, Escherichia, ...*

La membrana esterna è impermeabile ad enzimi e a molecole di grandi dimensioni. Molti enzimi devono restare confinati nello **spazio periplasmatico** (15-20 nm).

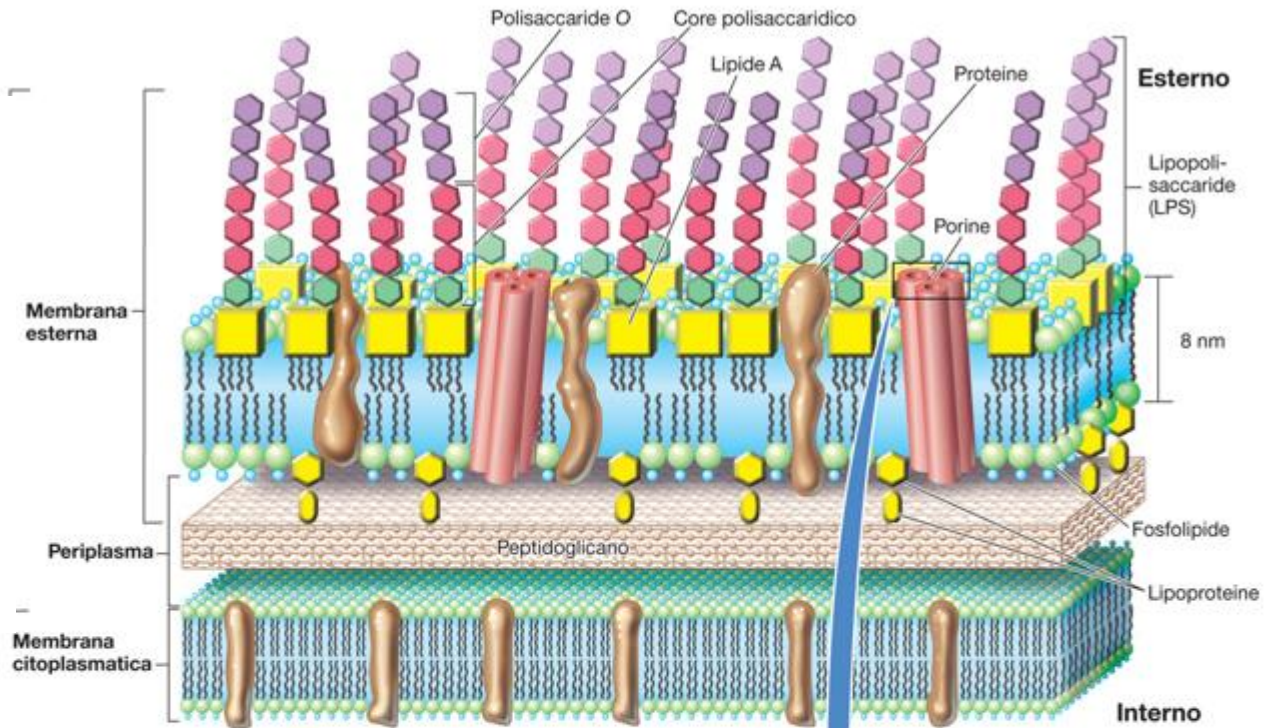
Il **periplasma** ha consistenza gelatinosa per l'abbondanza di proteine (**enzimi idrolitici, proteine di legame, chemiorecettori**).



# Gram -

La membrana esterna è impermeabile ad enzimi ed a molecole di grandi dimensioni.

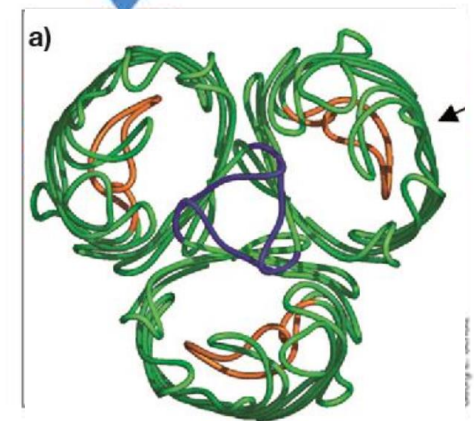
Molte sostanze (enzimi idrolitici, proteine di legame, chemiorecettori) devono restare confinate nello **spazio periplasmatico** (15-20 nm).



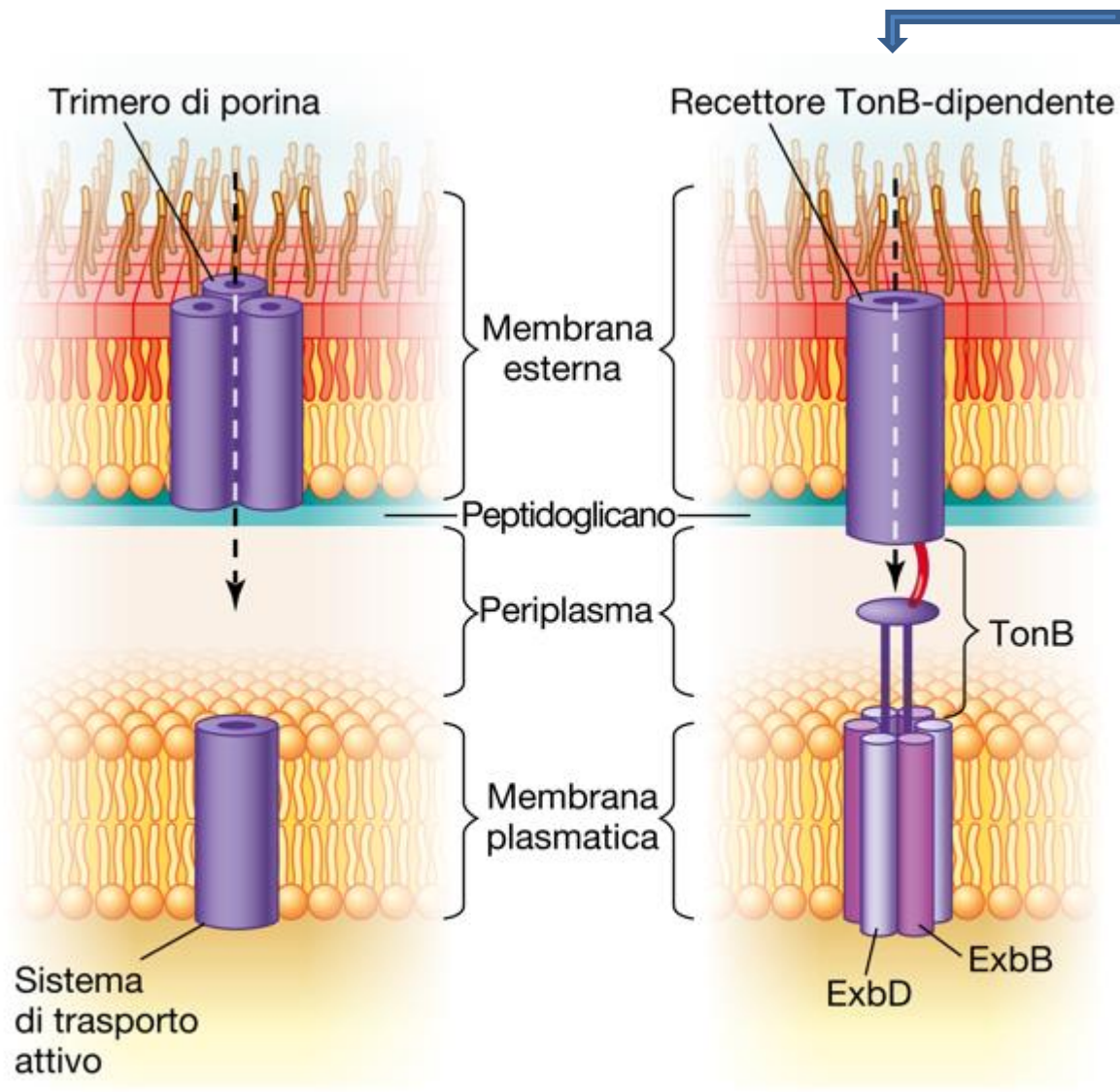
Grazie alla presenza di **proteine canale (porine)**, la membrana esterna risulta **parzialmente permeabile** a molecole, anche idrofiliche, a basso peso molecolare (fino a 600 dalton).

**Porine:** proteine transmembranaarie costituite da 3 subunità identiche (trimeri), con pori di  $\sim 1$  nm  $\varnothing$ . Associandosi delimitano un canale centrale più piccolo.

Le **porine specifiche** consentono solo il passaggio di un solo tipo di sostanza o di sostanze strutturalmente simili.



Le **porine aspecifiche**, formando canali acquosi, consentono il passaggio di piccole molecole di ogni tipo.



Oltre alle porine, nella membrana esterna sono presenti **trasportatori ad alta affinità** (recettori TonB-dipendenti) che legano e trasportano all'interno del periplasma sostanze presenti nell'ambiente in basse concentrazioni (es. ferro).

Il **complesso sideroforo-Fe<sup>3+</sup>** si lega al recettore TonB-dipendente per essere trasportato all'interno della cellula.

L'energia necessaria al trasporto deriva dalla FPM, che viene trasferita al recettore dal **complesso TonB-ExbB-ExbD** localizzato nella membrana citoplasmatica.

Successivamente, il trasporto nel citoplasma avviene ad opera del sistema ABC.

**A.** Trasporto per mezzo di porine

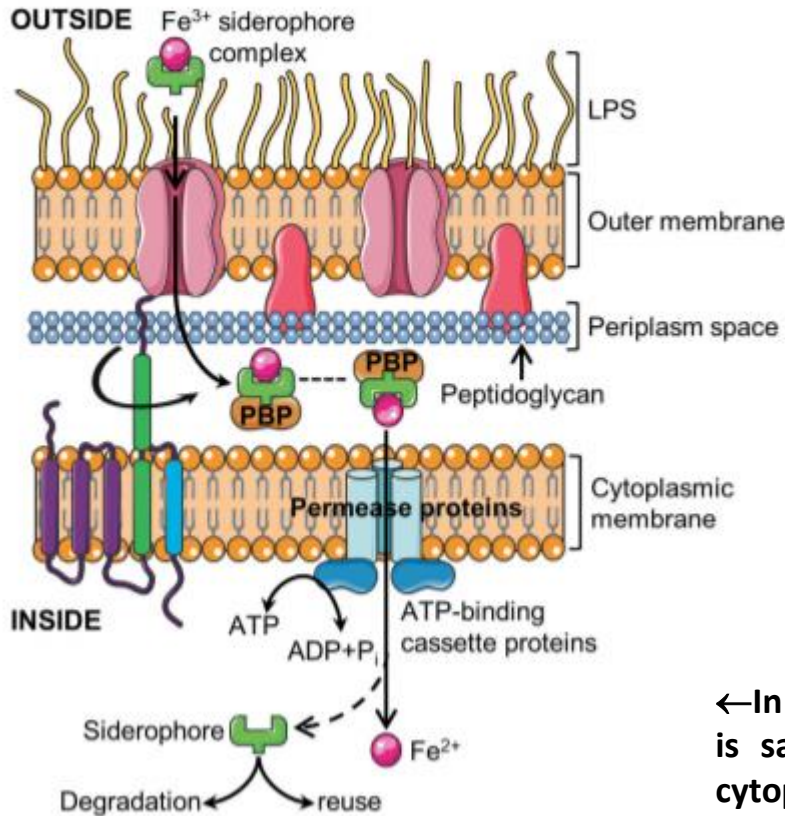
**B.** Trasporto TonB-dipendente

**Porine e recettori TonB-dipendenti facilitano il movimento attraverso la membrana esterna.**

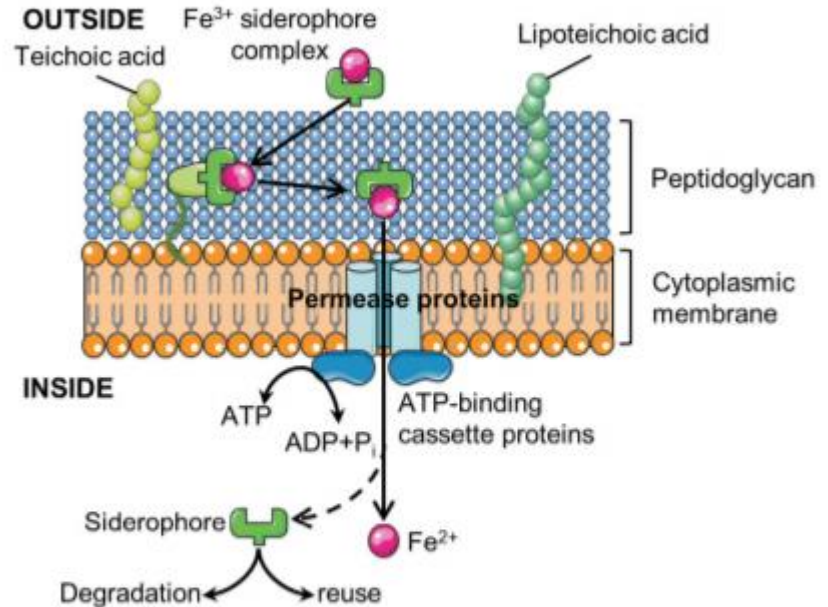
Il complesso **sideroforo-Fe<sup>2+</sup>** si lega al recettore per essere trasportato all'interno della cellula.

Schematic representation of bacterial **siderophore-mediated iron uptake** in Gram-negative (a) and Gram-positive bacteria (b).

a) Gram-negative bacteria



b) Gram-positive bacteria



← In **Gram negative bacteria**, the energy required for iron uptake is satisfied by the coupling the **proton motive force** of the cytoplasmic membrane to the outer membrane via the **TonB system** (TonB, ExbB, ExbD).

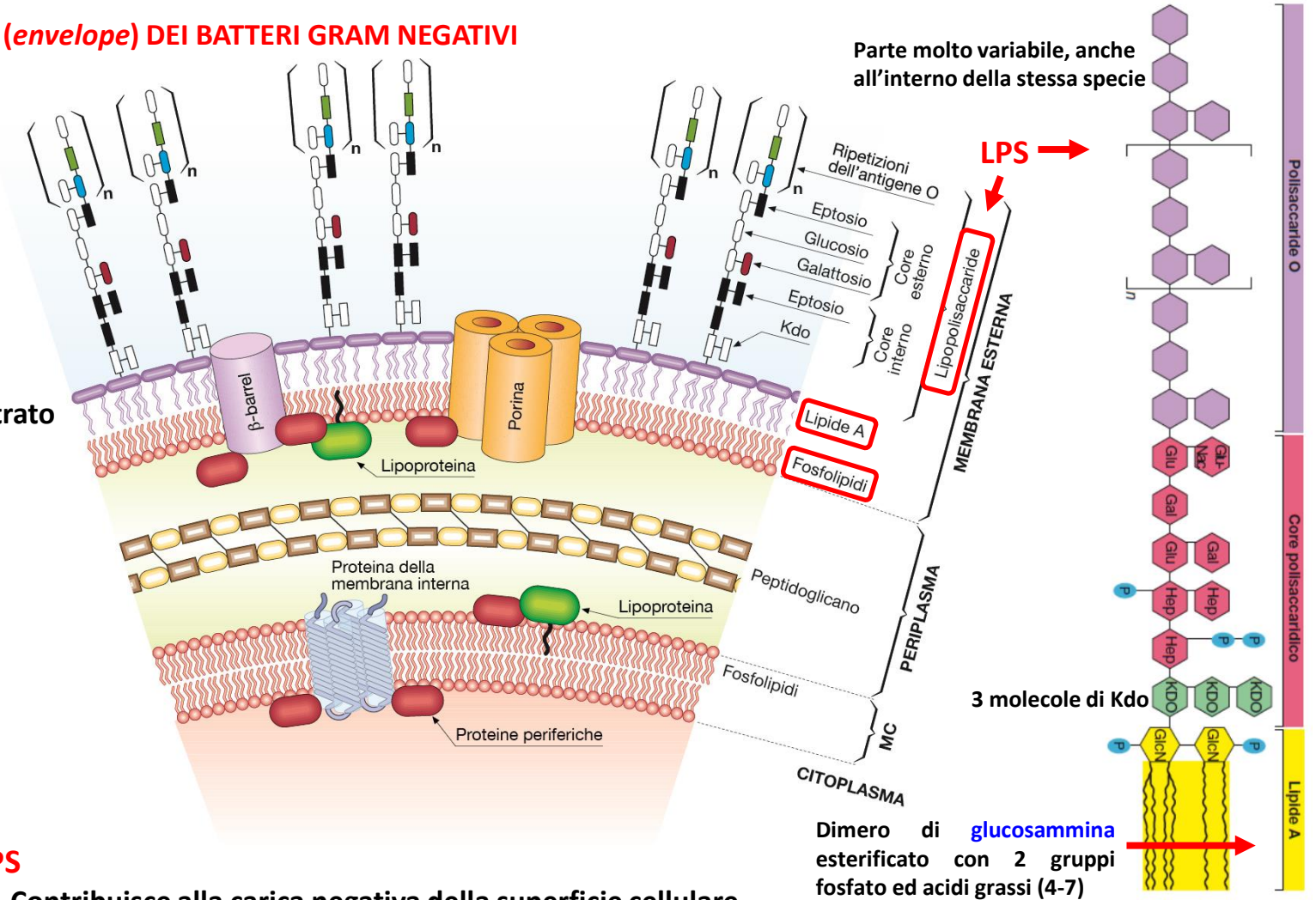
Ferric-siderophore complexes are internalized via specific outer membrane receptors, a **periplasmic binding protein (PBP)**, and inner membrane **ATP-binding cassette (ABC) transporters**.



## PARETE CELLULARE (*envelope*) DEI BATTERI GRAM NEGATIVI

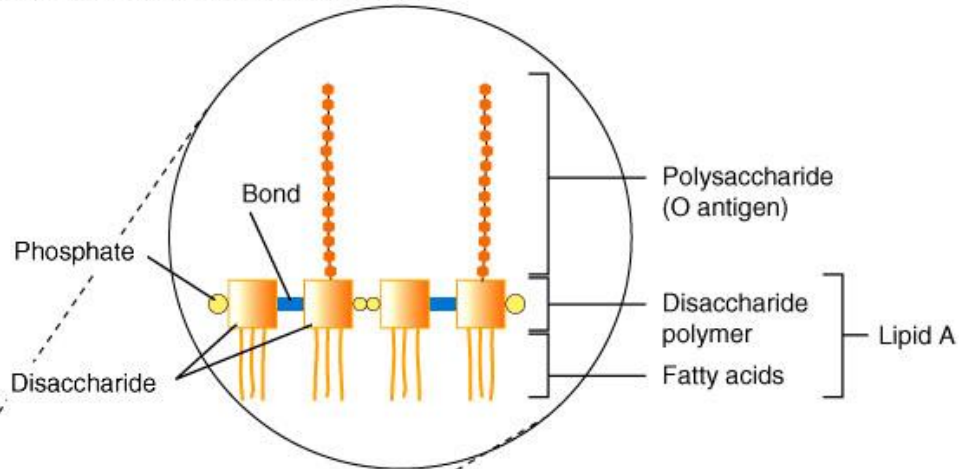
### Membrana esterna

### Membrana doppio strato (asimmetrica)

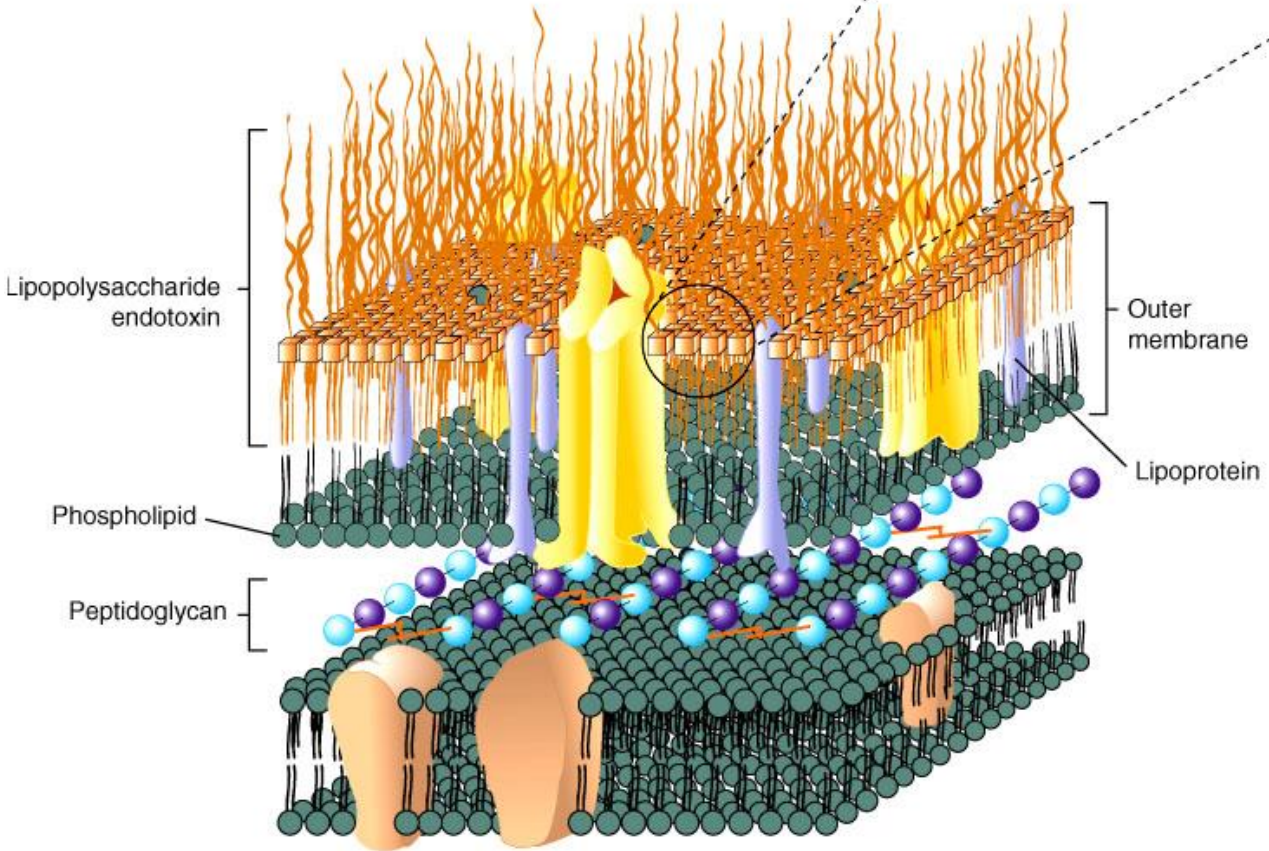


### LPS

- Contribuisce alla carica negativa della superficie cellulare
- Lega ioni  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$
- Fattore di virulenza (lipide A → endotossina)
- ...



**Endotoxin**



# Funzioni delle membrane

## Secrezione delle proteine

Alcune proteine devono essere esportate nel periplasma (*proteine di legame periplasmatiche, enzimi idrolitici, ...*) o **fuori della cellula (esoenzimi)**.

Nei procarioti l'esportazione delle proteine avviene mediante proteine "traslocasi".

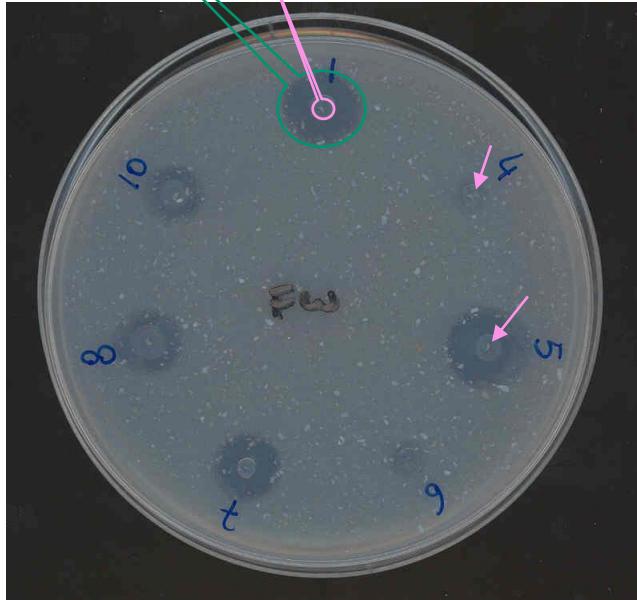
Molti enzimi batterici esplicano la loro attività all'esterno della cellula (**esoenzimi**):  
**chitinasi, gelatinasi, amilasi, tossine, ...**

Per sfruttare fonti di carbonio e/o di energia

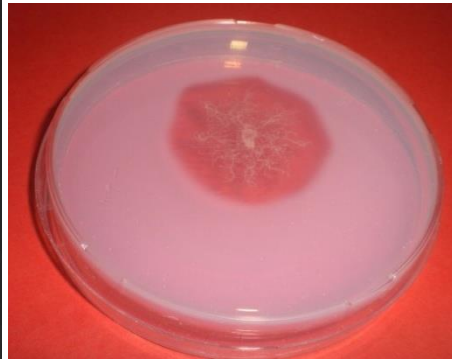
Azione patogena durante i processi infettivi

Alone degradazione

Colonia batterica



Agar chitina

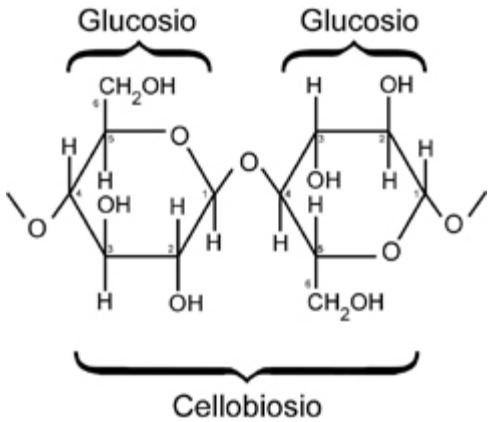


Agar gelatina  
(proteine ottenute dal collagene)



Agar amido

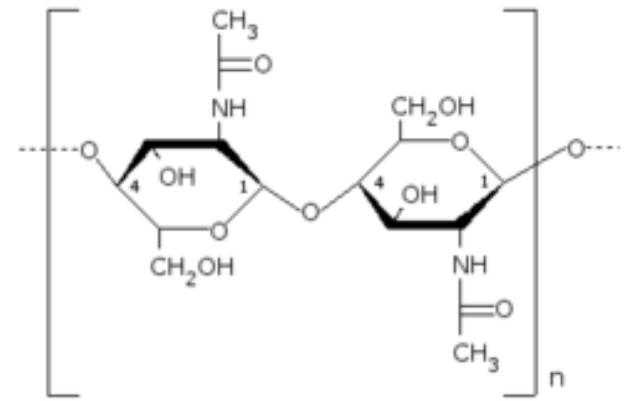
Agar → agente solidificante utilizzato nella preparazione dei terreni di coltura in forma solida.



Il cellobiosio è l'elemento fondamentale per la formazione della **cellulosa**

## Enzimi idrolitici che agiscono fuori della cellula (**esoenzimi**):

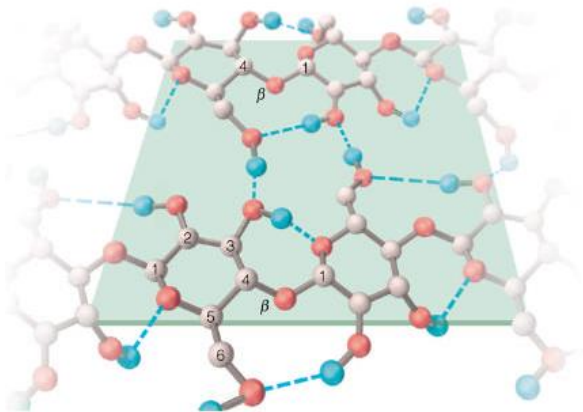
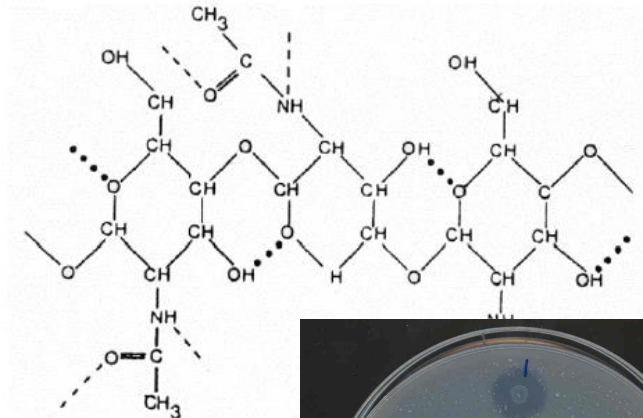
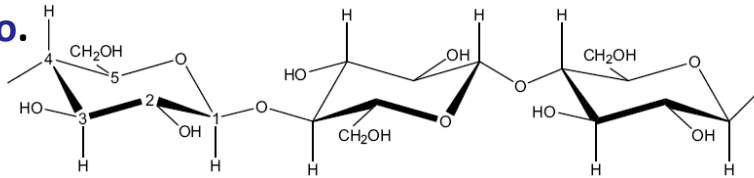
- **Cellulasi**
- **Chitinasi**
- **Amilasi**
- **Gelatinasi**
- ...



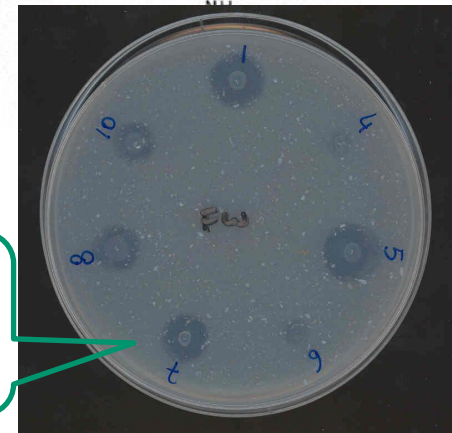
**poly(N-acetil-1,4-β-D-glucopiranosamina)**

Dopo la cellulosa, la **chitina** è il biopolimero più abbondante in natura.

La **cellulosa** è uno dei più importanti polisaccaridi. È costituita da un gran numero di molecole di glucosio (da circa 300 a 3.000 unità) unite tra loro da un **legame β 1-4 glicosidico**.



Aloni prodotti dall'attività di enzimi idrolitici secreti dalle cellule.

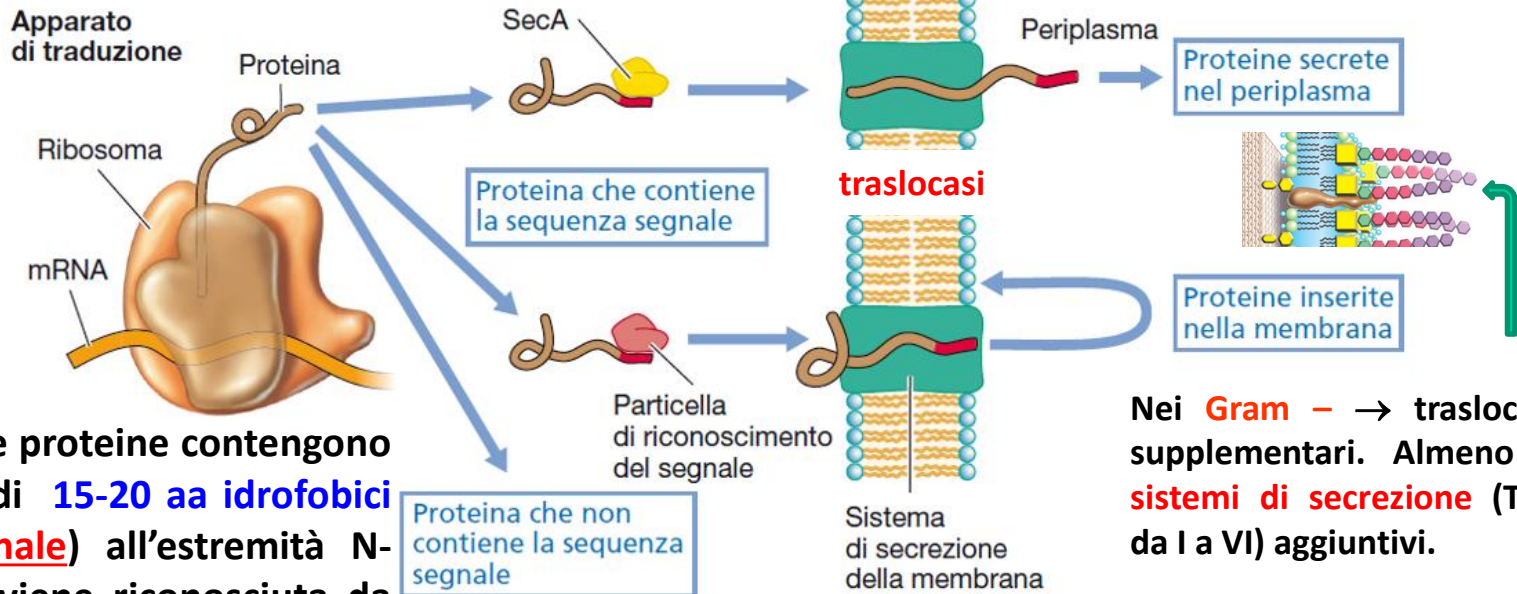


# Secrezione proteine

- Sistema Sec
- Sistema TAT
- Sistema SRP

Molte proteine esplicano la loro attività nella membrana cellulare o nello spazio periplasmatico. Esse devono, pertanto, raggiungere o attraversare la membrana citoplasmatica.

Il **SISTEMA SEC** riconosce le proteine da esportare (non ripiegate) e le avvia alle **traslocasi di membrana**.



Molte di queste proteine contengono una sequenza di **15-20 aa idrofobici** (**sequenza segnale**) all'estremità N-terminale che viene riconosciuta da **SecA** o **SRP**.

Proteina che non contiene la sequenza segnale

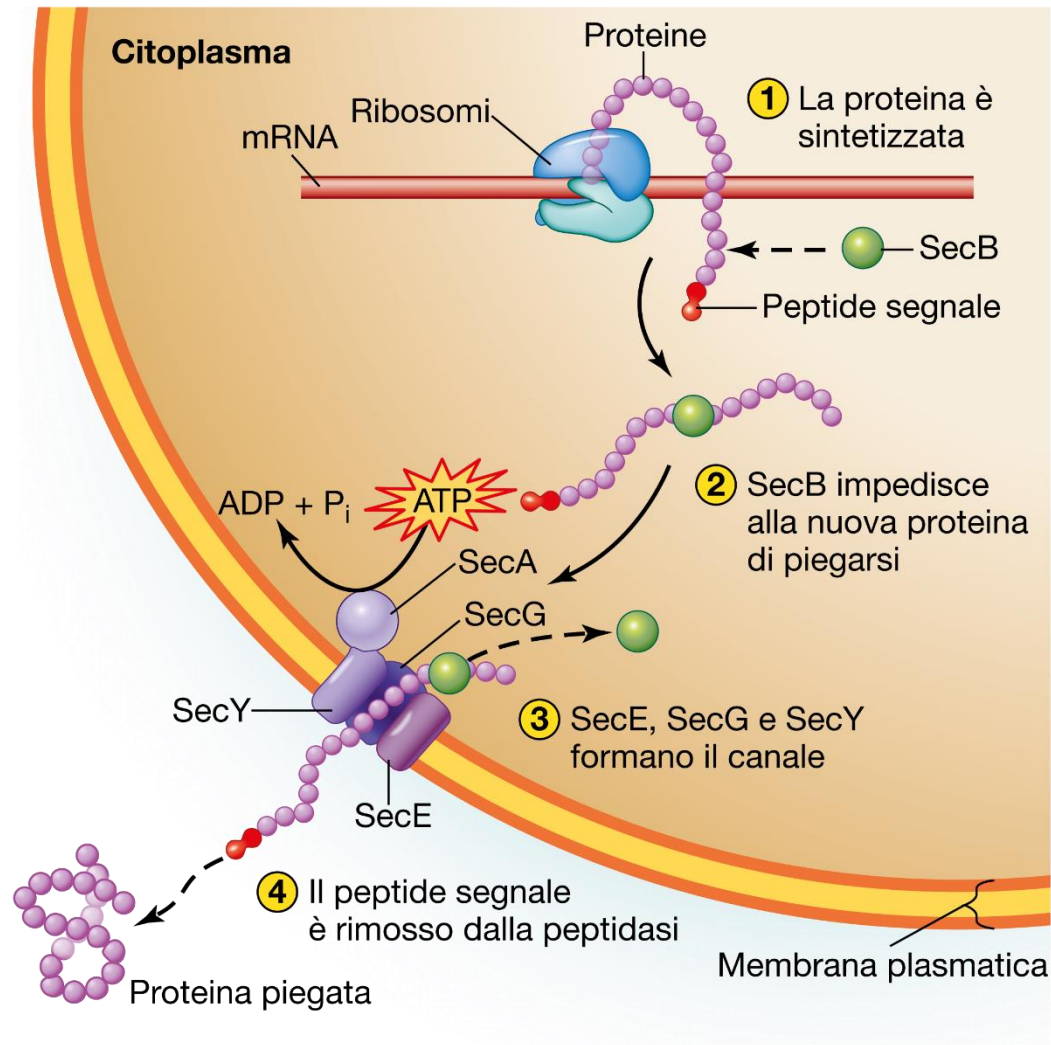
Nei **Gram -** → traslocasi supplementari. Almeno **6 sistemi di secrezione** (Tipi da I a VI) aggiuntivi.

Il **SISTEMA TAT** trasporta all'esterno della membrana proteine (con cofattori) già ripiegate a livello del citoplasma.

Le proteine con brevi **sequenze contenenti coppie di arginina** vengono riconosciute dal **complesso TatBC** che le trasporta a **TatA** (trasportatore di membrana).

Il **SISTEMA SRP** lega le proteine che devono essere inserite nella membrana.

La proteina, attraverso **traslocasi**, viene esportata nel periplasma o nell'ambiente esterno; durante questa fase una proteasi rimuove la sequenza segnale (**modificazione post-traduzionale**).

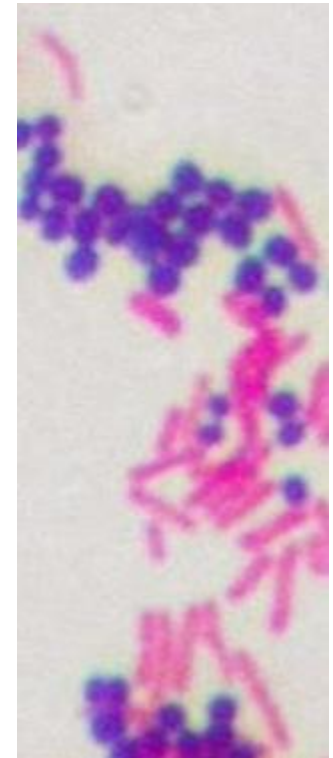


### Secrezione dei polipeptidi nei batteri.

# Classificazione dei batteri in base a proprietà tintoriali

## Colorazione di Gram

(1884)



1. Versare la soluzione di  
Cristalvioletto e lasciare  
agire per 1 minuto



2. Versare la soluzione  
di iodio



3. Lasciare agire  
lo iodio per 1  
minuto



4. Decolorare con  
acetone per 30-60  
secondi



5. Lavare il vetrino  
con acqua



6. Versare il colorante di  
contrasto di safranina e  
lasciare agire per 30-60  
secondi



7. Lavare in acqua,  
asciugare con carta bibula  
e lasciare essiccare all'aria



Gram + → trattengono il cristalvioletto

Gram - → rilasciano il cristalvioletto

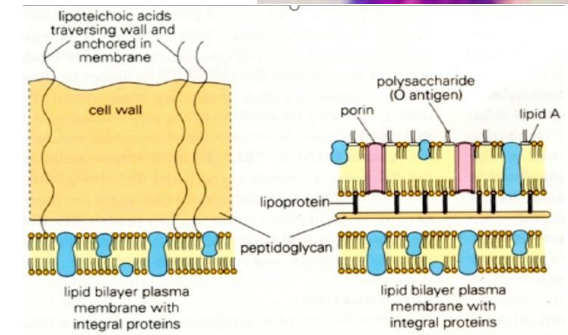
Perché i batteri si colorano diversamente?

**Gram +**

Possiedono uno spesso strato di peptidoglicano, le cui maglie, in seguito a disidratazione indotta dal trattamento con alcool, si restringono impedendo la fuoriuscita del complesso insolubile cristalvioletto-iodio.

**Gram -**

Possiedono un sottile strato di peptidoglicano ed una membrana, che solubilizzandosi in seguito al trattamento con alcool, non riescono a trattenere il complesso cristalvioletto-iodio.



# Parete cellulare Archaea

Anche gli *Archaea* possono avere una parete cellulare

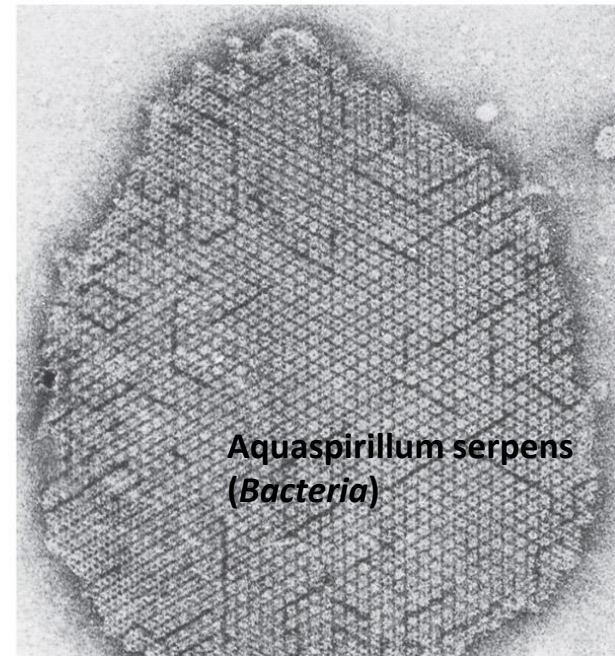
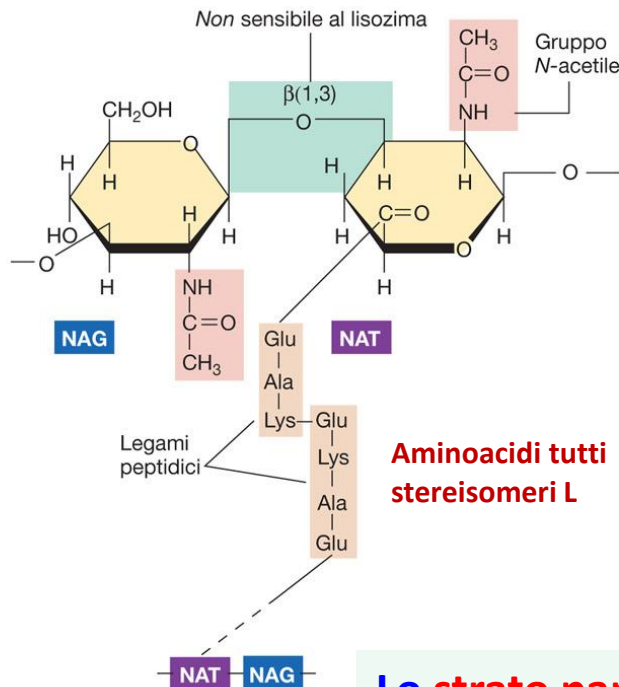
- previene la lisi cellulare
- definisce la forma cellulare
- ...

Gli Archaea non possiedono peptidoglicano!

Alcune specie di *Archaea* possiedono una parete cellulare costituita da **pseudopeptidoglicano**.

↓  
**Pseudomureina**

N-acetilglucosamina + **acido N-acetiltalasaminuronico**.  
(legame  $\beta$ -1,3)



*Aquaspirillum serpens*  
(*Bacteria*)

Susan F. Koval

Gli *Archaea* possono avere pareti cellulari costituite da **polisaccaridi**, **proteine** e **glicoproteine**.

Lo strato paracristallino o S-layer è il tipo di parete più diffuso tra gli Archaea.

Anche alcuni *Bacteria* possiedono un S-layer sulla superficie cellulare.



## Strati superficiali paracristallini

Molti procarioti, *Bacteria* e soprattutto *Archaea*, possiedono, nella parte più esterna della parete cellulare, uno strato superficiale di natura proteica e/o glicoproteica (**S-layer** o **strato S**).

**Possono assumere varie simmetrie:**

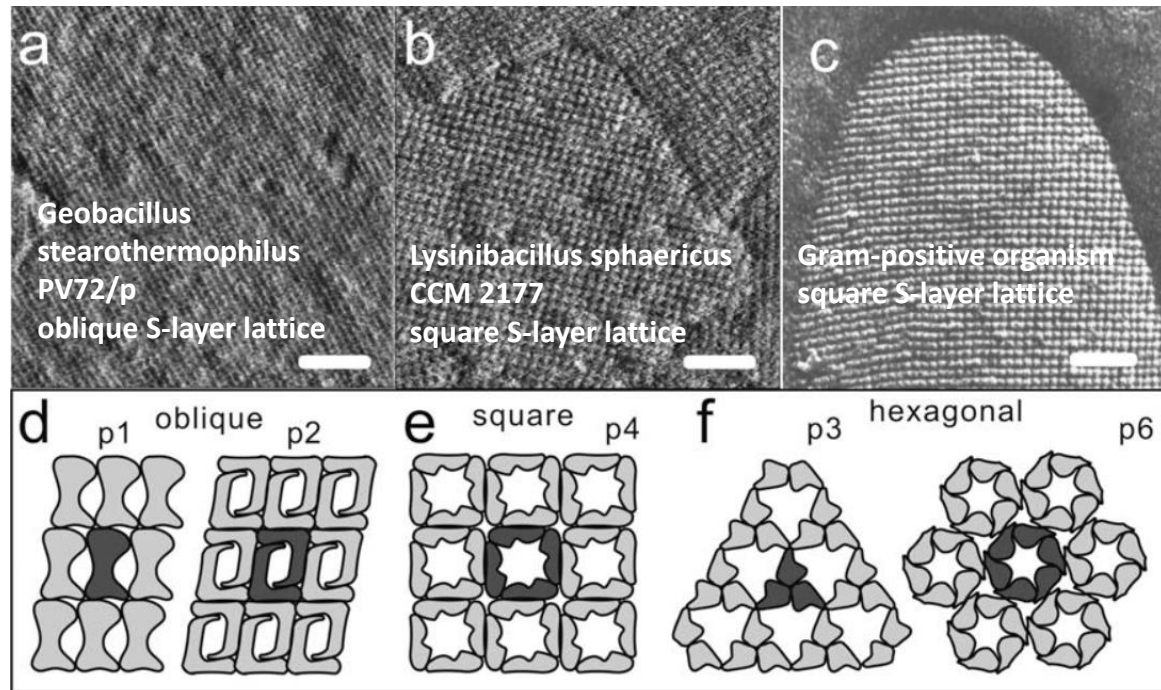
- Esagonale
- Tetragonale
- Trimerica

**Subunità proteiche** che costituiscono unità centrale del cristallo di un S-layer

In the oblique lattice (d), one **morphological unit** (dark grey) consists of one (p1) or two (p2) identical subunits.

Four subunits constitute one **morphological unit** in the square (p4) lattice type (e), whereas the hexagonal lattice type is either composed of three (p3) or six (p6) subunits (f).

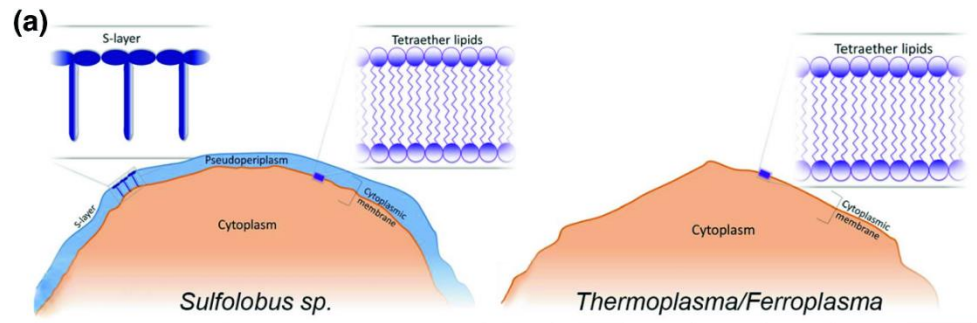
In alcuni *Archaea* l'**S-layer** costituisce la parete cellulare.



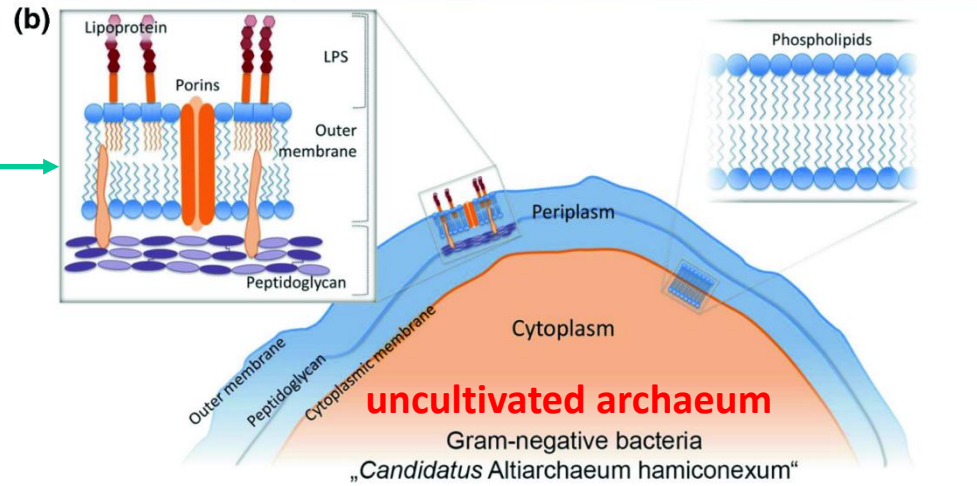
E' ancora ignota l'esatta **funzione degli S-layer:**

- Prevenzione **lisi osmotica** e conferimento **forma**;
- Filtro selettivo che consente il **passaggio di molecole** a basso peso molecolare;
- Limitazione alla diffusione di alcune proteine (**enzimi**) all'esterno della cellula;
- Prevenzione delle infezioni da parte di **batteriofagi (virus)**;
- Protezione nei confronti dei **meccanismi di difesa** dell'ospite.

## Chapter 14 - Archaeal Cell Walls – A. Klingl, C. Pickl, J.Flechsler

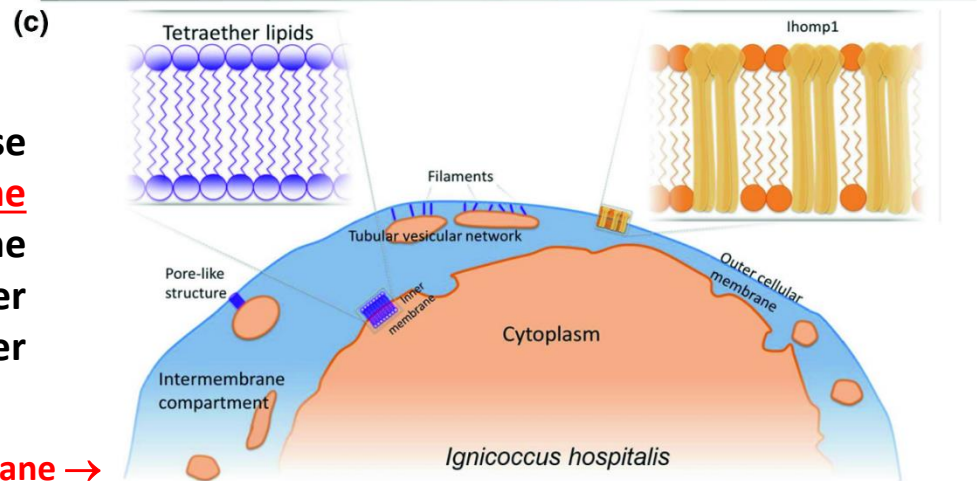


...  
 Recent advances in electron microscopy  
 also illustrated the presence of an  
**outer(most) cellular membrane** within  
 several archaeal groups, comparable to the  
**Gram-negative cell wall** within *Bacteria*.  
 ...



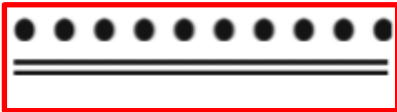
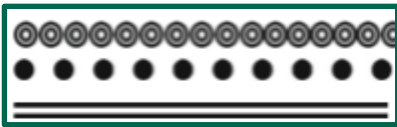



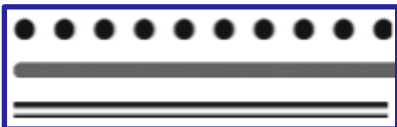

*Ignicoccus hospitalis* represents a special case  
 with an **energized outer cellular membrane**  
 and a large intermembrane compartment. The  
 inner membrane mainly consists of tetraether  
 lipids. The major protein found in the outer  
 membrane is Ihomp1.

**Energy is generated at the outer cellular membrane →**



Chapter 14 - **Archaeal Cell Walls** – A. Klingl, C. Pickl, J. Flechsler (2019)

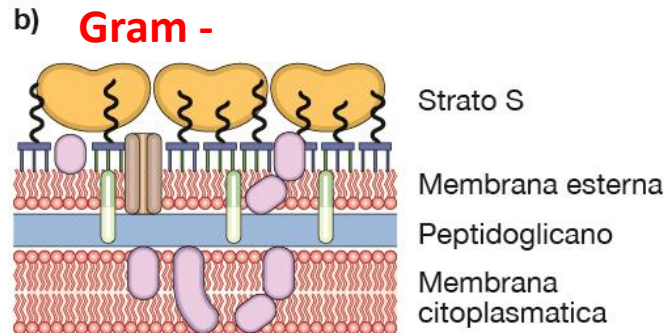
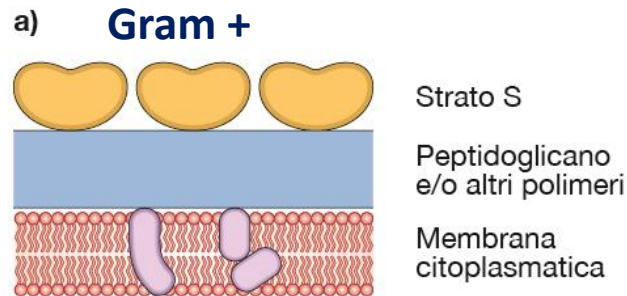
**Table 14.1** Overview of the cell wall organization of archaea showing their major components and representative genera and species

	Cell wall organization	Component	Organism
S-layer Membrana citoplasmatica		SL CM	<i>Methanococcus</i> , <i>Halobacterium</i> , <i>Pyrodictium</i> , <i>Sulfolobus</i> , <i>Thermoproteus</i>
Strato proteico S-layer Membrana citoplasmatica		PS SL CM	<i>Methanospirillum</i>
Glicocalice Membrana citoplasmatica		GC CM + LP	<i>Thermoplasma</i>
Strato metanocondrotina S-layer Membrana citoplasmatica		MC SL CM	<i>Methanosarcina</i>
Membrana citoplasmatica		PM, HP, GG CM	<i>Methanobacterium</i> , <i>Methanosphaera</i> , <i>Methanobrevibacter</i> , <i>Halococcus</i> , <i>Natronococcus</i>
S-layer Pseudopetidoglicano Membrana citoplasmatica		SL PM CM	<i>Methanothermus</i> , <i>Methanopyrus</i>
Membrana esterna Membrana citoplasmatica		OCM CM	<i>Ignicoccus</i> , SM1 Euryarchaeon, ARMAN cells

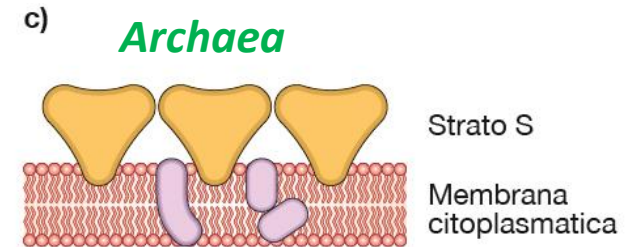
CM cytoplasmic membrane, GC glycolyx, GG glutaminyglycan, HP heteropolysaccharide, LP lipoglycans, MC methanochondroitin, OCM outermost cellular membrane or outer membrane, PM pseudomurein, PS protein sheath, SL S-layer. Based on Klingl (2014) and König (2001)

## Strato S (S-layer)

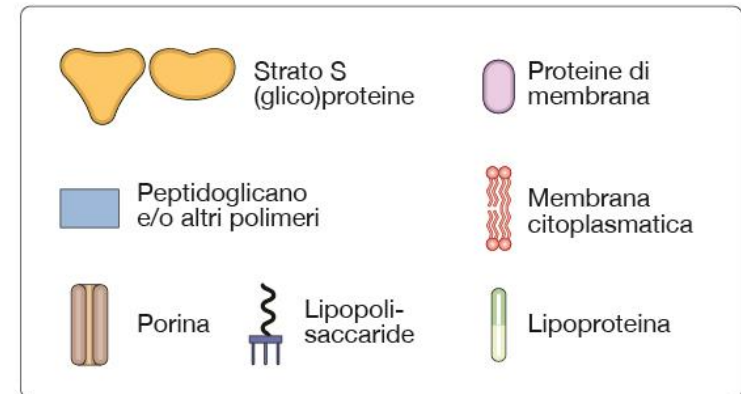
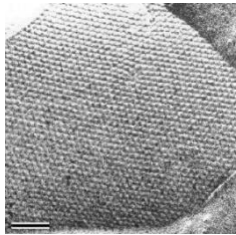
Strato superficiale di natura proteica e/o glicoproteica



Può essere associato a diverse strutture della parete cellulare



In alcuni *Archaea* costituiscono la parete cellulare.



## RIVESTIMENTI ESTERNI

Strato S, glicocalice (capsula, polisaccaridi extracellulari)

Strutture che rivestono la superficie cellulare

- Barriera protettiva
- Setaccio molecolare (trattenere proteine)
- Adesione a superfici
- Rigidità alla parete cellulare
- Protezione dalla fagocitosi
- ...

## Glicocalice

### Capsule e strati mucosi (parte della parete cellulare)

Molti procarioti secernono alla loro superficie **sostanze mucose** o vischiose di **natura polisaccaridica** o, in alcuni casi, **proteica**.

- La composizione varia a seconda dei microrganismi
- Possono essere sottili o spessi
- Possono essere in forma rigida o flessibile

La **capsula** forma uno strato fitto e rigido che non consente il passaggio di particelle di grandi dimensioni (particelle di inchiostro di china). Possono anche legarsi covalentemente agli altri componenti sottostanti della parete cellulare.



(a)



(b)

Frank Dazzo and Richard Heinson

Lo **strato mucoso** è flessibile (deformabile) e non ostacola il passaggio di particelle (difficile da visualizzare).

Le sostanze mucose svolgono un ruolo essenziale nei processi di **adesione** e **colonizzazione** delle superfici solide e dei tessuti dell'ospite.

La secrezione di polisaccaridi consente a molti batteri di formare uno spesso strato di cellule (**biofilm**) su superfici di varia natura.

La **capsula** rappresenta una forma di protezione verso l'azione delle cellule fagocitiche del sistema immunitario.

I polisaccaridi della capsula, essendo in grado di assorbire elevate quantità di acqua potrebbero proteggere la cellula dall'essiccamento.

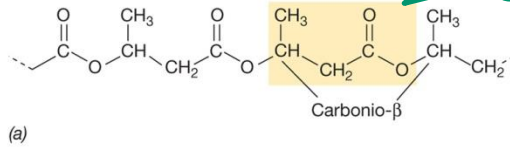
# Inclusioni cellulari

In molti procarioti sono visibili, anche al m.o., **granuli** o altre forme di **inclusioni**.

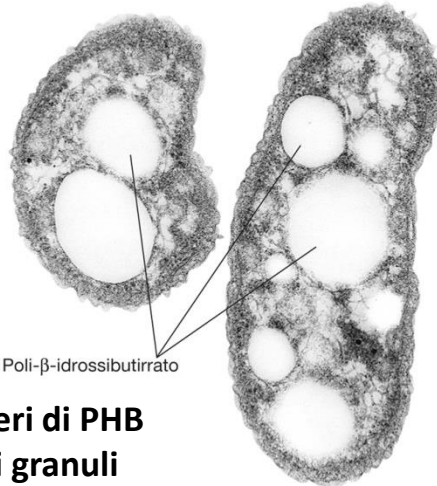
Le inclusioni sono delimitate da una sottile membrana formata da uno strato di lipidi (membrana non unitaria).

- Riserva di energia
- Accumulo di materiale necessario per la sintesi di strutture cellulari

Acido poli-β-idrossibutirrico (PHB)



I gruppi metilici possono essere sostituiti da altri idrocarburi a catena più lunga.



L'aggregazione di polimeri di PHB porta alla formazione di granuli

F. R. Turner and M. T. Madigan

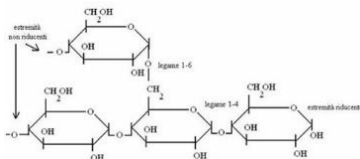
L'intera classe di polimeri di riserva viene designata con termine di **poli-β-idrossialcanoati (PHA)**.

I PHA vengono sintetizzati quando il C è in eccesso, mentre vengono utilizzati dalla cellula quando è necessario ATP o materiale per le biosintesi.

M.T. Madigan, J.M. Martinko

Brock, **Biologia dei Microorganismi**

Copyright © 2007 Casa Editrice Ambrosiana



Il **glicogeno** rappresenta un'altra forma di accumulo di energia e di C.

Produzione bioplastiche

## Granuli di polifosfati

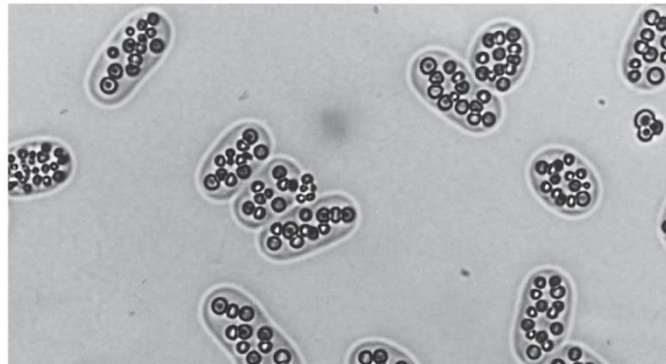
Fosfati inorganici possono essere accumulati sotto forma di granuli.

- Sintesi di acidi nucleici
- Sintesi di fosfolipidi

## Granuli di $S^0$

Molti procarioti sono in grado di ossidare composti sulfurei ridotti ( $H_2S$ ), con formazione di  $S^0$ .

$S^0$  può essere accumulato all'interno della cellula sotto forma di **granuli di zolfo**.



Batterio purpureo sulfureo con granuli di  $S^0$  all'interno delle cellule.  
Osservazione al m.o. in campo chiaro.

Quando si esauriscono le altre forme di zolfo ridotto ( $H_2S$ ), la cellula ossida  $S^0$  a  $SO_4^{2-}$  per ricavare energia.

**Globuli di zolfo** sono stati osservati nel **periplasma** di procarioti G- fototrofi o chemiolitotrofi che ossidano lo zolfo.

# Alcuni procarioti contengono strutture definite **magnetosomi**

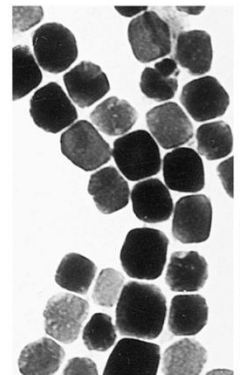
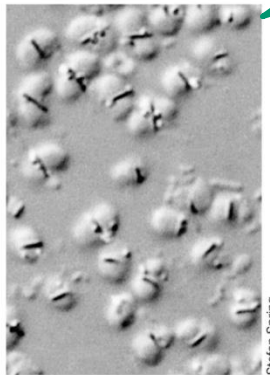
- Particelle cristalline, di forme variabili;
- Costituite da un ossido di ferro (**magnetite**  $Fe_3O_4$ ).

I magnetosomi sono delimitati da una **membrana (non unitaria)** costituita da fosfolipidi, proteine e glicoproteine.

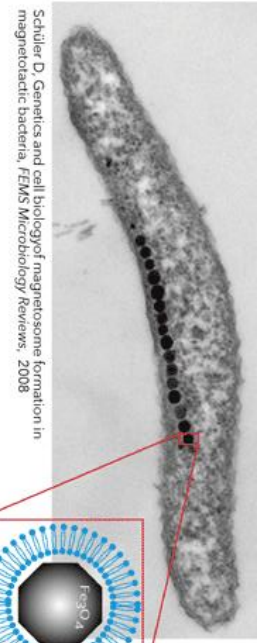
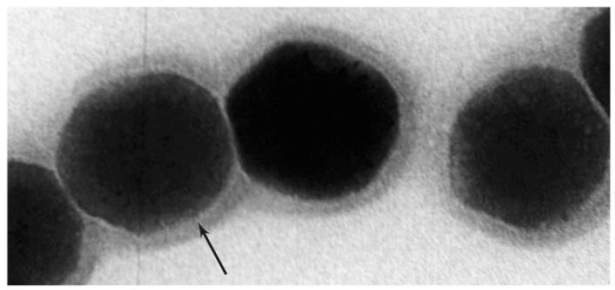
La **membrana** è organizzata sotto forma di monostrato, prevalentemente fosfolipidico.

I magnetosomi, creando un **dipolo magnetico permanente**, consentono alle cellule che li contengono di orientarsi all'interno di un campo magnetico (magnetotassi).

Batteri magnetotattici a forma di cocco

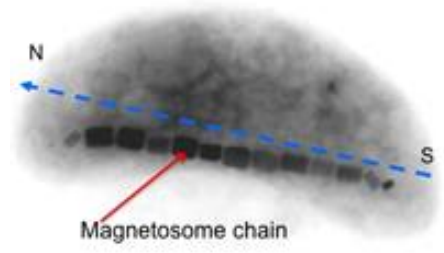


Magnetosomi isolati da *Magnetospirillum magnetotacticum*



M.T. Madigan, J.M. Martinko Brock, Biologia dei Microrganismi Copyright © 2007 Casa Editrice

Micrografia al m.e.: magnetosomi ( $\varnothing$  90 nm) delimitati da membrana



Sembra che i magnetosomi possano orientare alcuni batteri acquatici, che vivono a basse concentrazioni di ossigeno, verso i sedimenti.



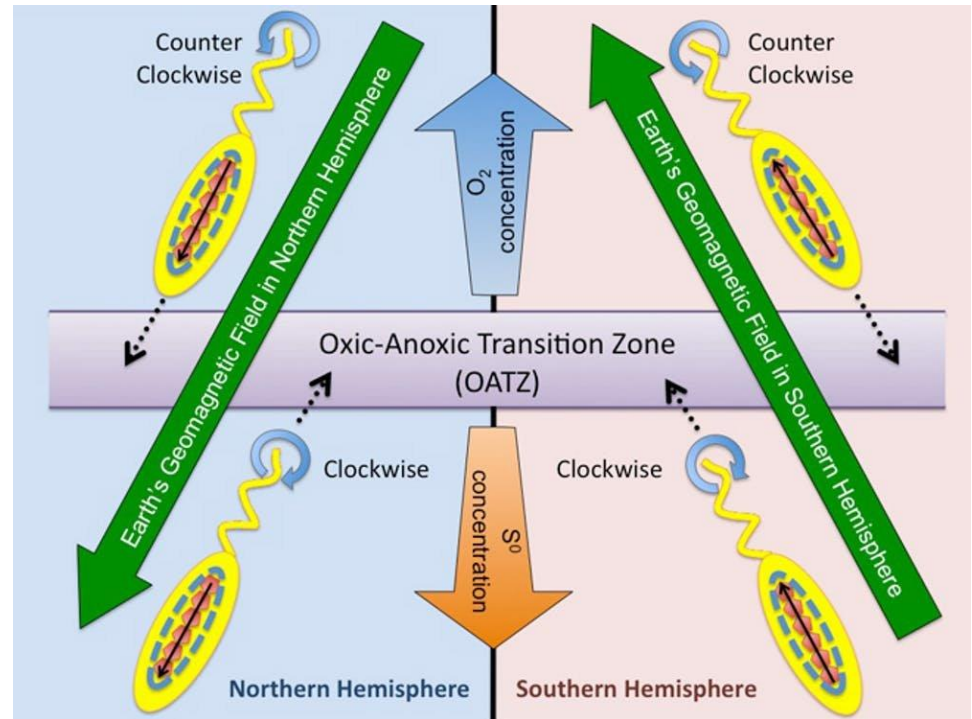
Magnetotactic bacteria synthesize magnetic iron nanominerals, which function as tiny **compasses** that allow the microbes to navigate using Earth's geomagnetic field.



Magnetotactic bacteria use Earth's magnetic field to locate an environment where they can flourish. *Nature Education, CC BY-NC-ND*

The OATZ is the part of the water column or sediment where oxygen concentrations are preferred by these bacteria. Dotted black lines show the direction that the bacterium swims. Solid black lines show the alignment of the magnetite nanoparticles with the Earth's geomagnetic field. Blue circular arrows show the rotation of the flagellum (clockwise or counterclockwise), which allows the bacterium to swim backward or forward within a water column. Oxygen and sulfur concentrations are also provided. Oxygen ( $O_2$ ) is in greater concentration at the top of the diagram, corresponding to the air-water interface. While the concentration of sulfur ( $S^0$ ) is greater at the bottom of the diagram, corresponding to some depth within the water column or sediment.

© 2010 Nature Education All rights reserved



<https://www.nature.com/scitable/knowledge/library/bacteria-that-synthesize-nano-sized-compasses-to-15669190/>

Yan, L.; Da, H.; Zhang, S.; López, V.M.; Wang, W. Bacterial magnetosome and its potential application. *Microbiol. Res.* 2017, 203, 19–28

## Vescicole gassose

Alcune cellule microbiche (*Bacteria*, *Archaea*) contengono vescicole gassose di natura proteica a forma di fuso, vuote, relativamente rigide e di dimensioni variabili (300-1000x45-120 nm).



T. D. Brock

Cianobatteri



grazie alla presenza di vescicole gassose, galleggiano sulla superficie di acque lacustri ricche di nutrienti.

Le vescicole gassose hanno **funzioni di motilità (galleggiamento)** e consentono alle cellule che vivono in ambienti idrici di galleggiare. Esse **diminuiscono la densità della cellula.**

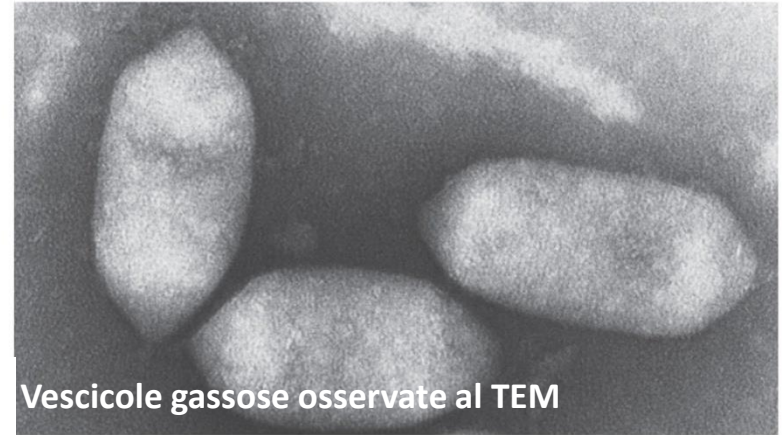
In risposta a stimoli ambientali le cellule possono spostarsi lungo la colonna d'acqua grazie alle vescicole gassose.

Le vescicole gassose, in numero variabile (fino a diverse centinaia), sono immerse nel citoplasma.

Sono delimitate da una **membrana proteica**

- impermeabile all'acqua ed ai soluti,
- permeabile ai gas.

Vescicole gassose del cianobatterio *Anabaena*, associate a formare vacuoli gassosi (m.o. a contrasto di fase).



A. E. Konopka and J. T. Staley

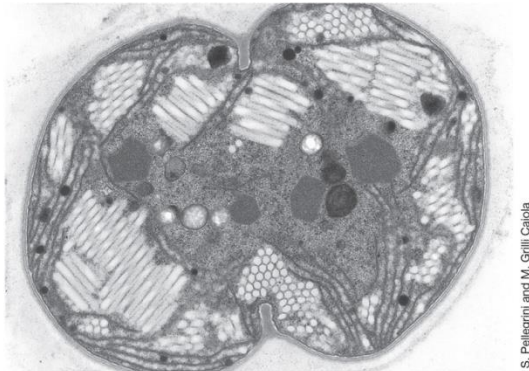
Madigan, J.M. Martinko

Brock, Biologia dei Microrganismi Copyright © 2007 Casa Editrice Ambrosiana

eterocisti



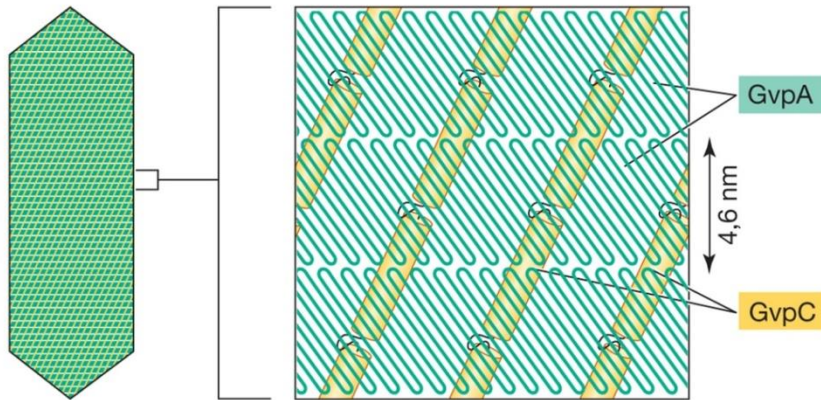
(a)



(b)

Vescicole gassose del cianobatterio *Microcystis*, raggruppate a fasci, viste sia in sezione longitudinale che trasversale (TEM).

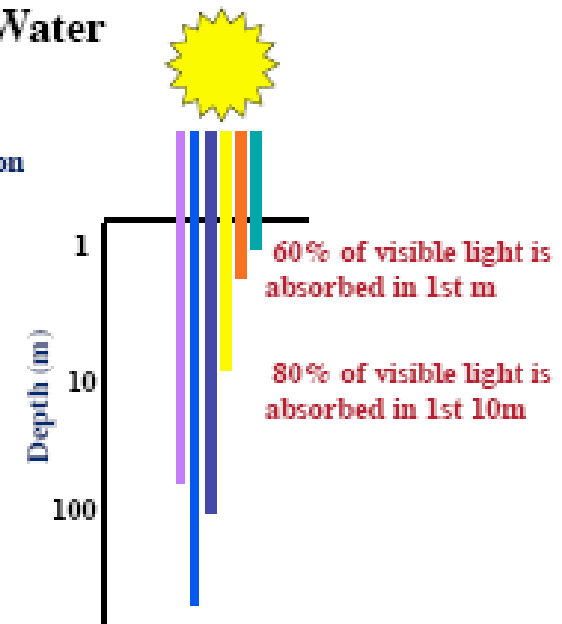
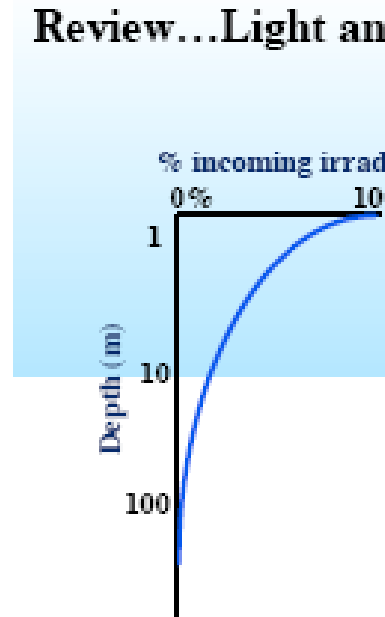
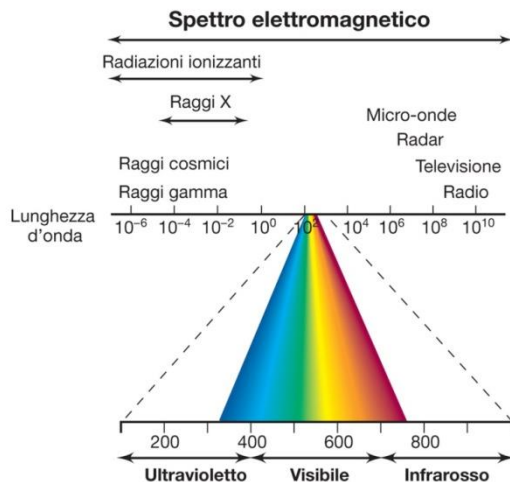
Le membrane delle vescicole gassose sono costituite da due tipi di proteine  
**GvpA (97%)** → altamente idrofobica, conferisce rigidità, forma nastri paralleli;  
**GvpC** → rafforza l'involucro della vescicola, forma legami crociati.



Le vescicole gassose, piene di gas della stessa composizione di quello ambientale, hanno una densità pari a 5-10% di quella del resto della cellula.

La diversa densità delle vescicole consente alle cellule di posizionarsi lungo la colonna d'acqua, in modo da sfruttare l'intensità luminosa ottimale per la fotosintesi.

## Review...Light and Water



# ENDOSPORE

Nel corso di un processo definito **SPORULAZIONE**, alcune cellule (sporigene) producono strutture dette **endospore**.

Si tratta di **cellule differenziate** molto resistenti a stress chimico-fisici (calore, sostanze chimiche, radiazioni, etc.).

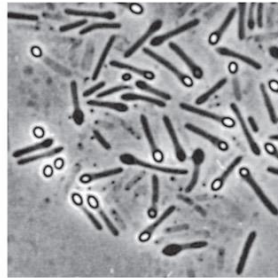
I batteri sporigeni sono **ubiquitari**, molto diffusi nel suolo.

Microrganismi sporigeni più studiati:

**Bacillus** e **Clostridium** ← Gram +

## Caratteristiche biologiche endospore

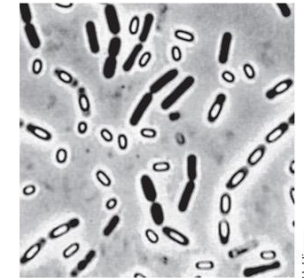
- Resistenza ad alte temperature (fino a ~150°C)
- Resistenza alla disidratazione
- Resistenza alla scarsità di nutrienti
- Resistenza ad acidi e basi forti
- Resistenza radiazioni UV
- Lunghi tempi di quiescenza
- ...



(a)



(b)



(c)

Batteri sporigeni al microscopio contrasto di fase

Disposizione intracellulare delle spore  
(**terminale**, **subterminale**, **centrale**).

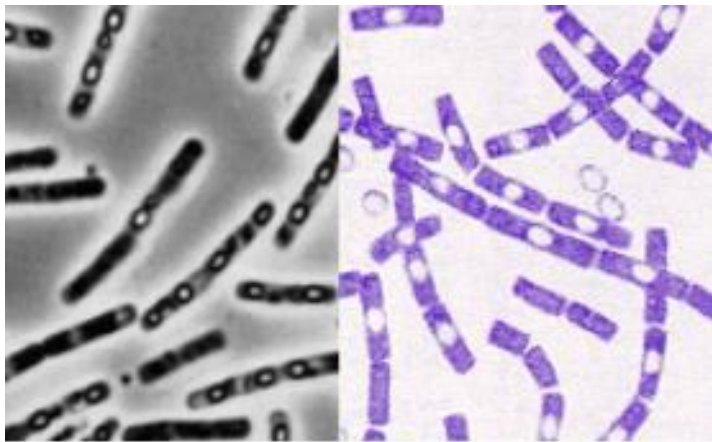
Microscopia a contrasto di fase.

**Resistenza condizioni avverse**  
**Diffusione/persistenza nell'ambiente**

Pone problemi in alcuni settori

(adozione di adeguati **mezzi di sterilizzazione**)

- nella preparazione dei terreni di coltura
- nell'industria alimentare
- nel campo della medicina
- etc.



Al **microscopio ottico** le endospore appaiono come **corpi rifrangenti** (impermeabili ai coloranti).

Gli **involucri esterni** rappresentano la principale differenza strutturale tra cellule vegetative ed endospore.

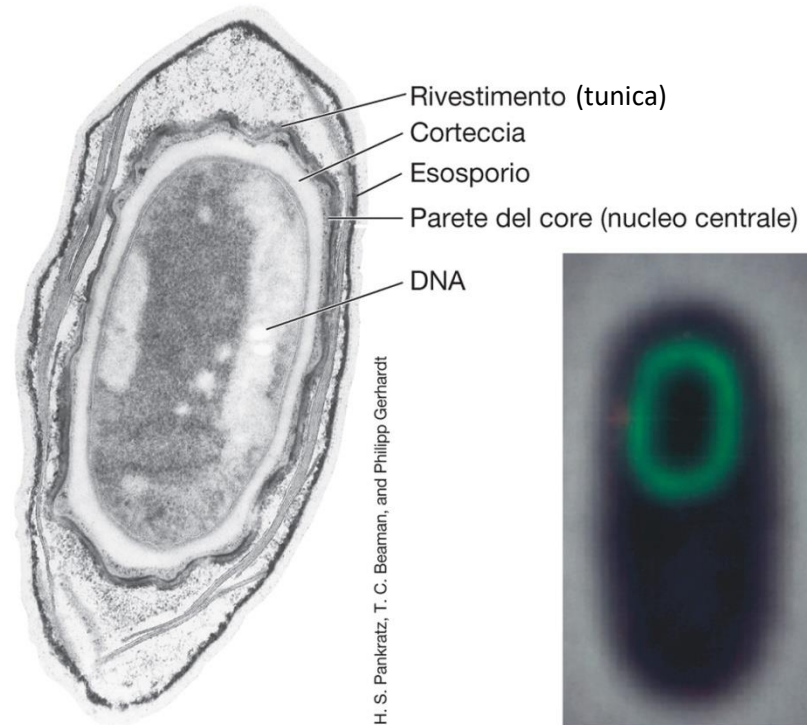
**Esosporio** → strato sottile e delicato costituito da proteine, polisaccaridi e lipidi.

**Tunica** (o **parete**) → uno o più strati proteici.

**Corteccia** → strato di peptidoglicano lasso.

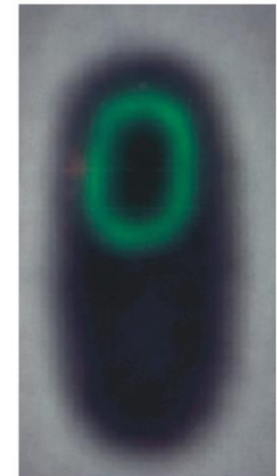
**Core** (o **protoplasto della spora**) → costituito da componenti tipici delle cellule (parete cellulare, membrana citoplasmatica, citoplasma, nucleoidi, ribosomi e costituenti cellulari essenziali).

Osservata al **microscopio elettronico** la struttura della spora appare molto più complessa.



(a)

M.T. Madigan, J.M. Martinko



(b)

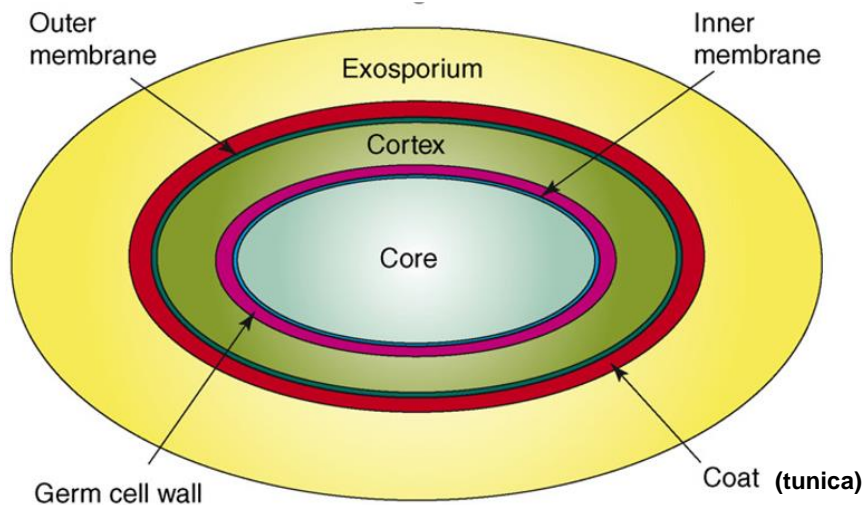
H. S. Pankratz, T. C. Beaman, and Philipp Gerhardt

Kirsten Price

Brock, *Biologia dei Microrganismi*

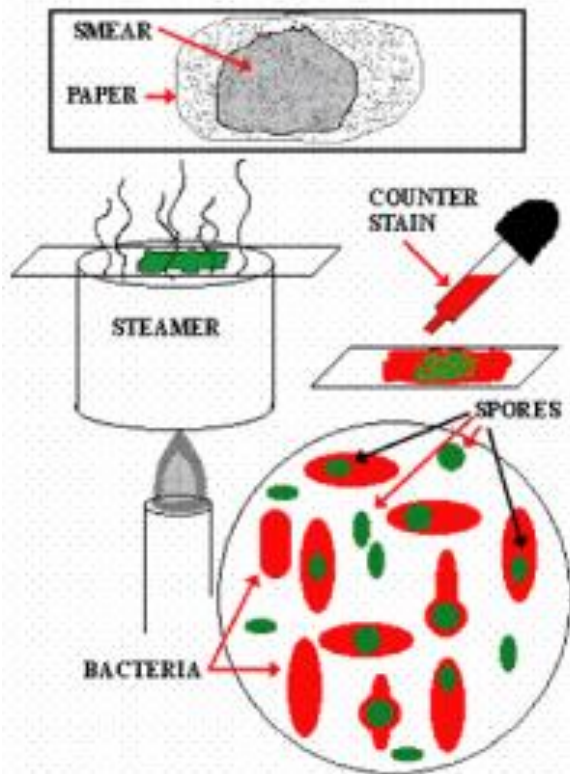
Copyright © 2007 Casa Editrice Ambrosiana

Endospore di *Bacillus megaterium* al TEM ed al microscopio a fluorescenza mediante l'impiego di un colorante specifico per una proteina delle spore.

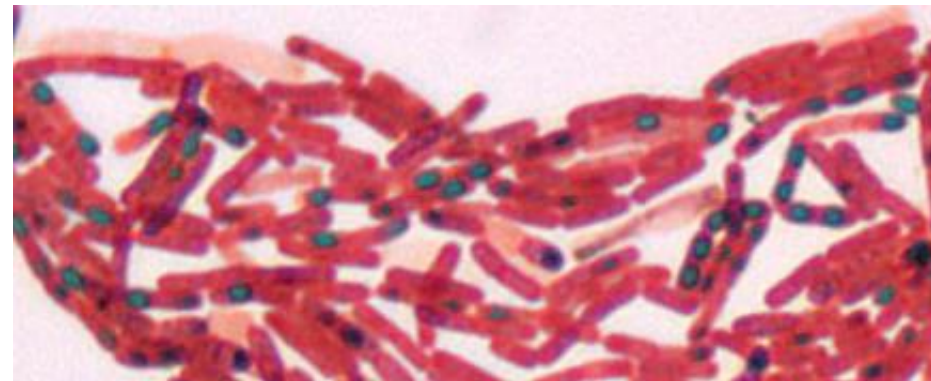


*TRENDS in Microbiology*

## The procedure for differentially staining endospores and vegetative cells (Schaeffer-Fulton's method)



- Place the heat-fixed bacterial slide over screened water bath and then apply the primary stain **malachite green**.
- Allow the slide to sit over the steaming water bath for 5 minutes, reapplying stain if it begins to dry out.
- Remove the slide from the water bath and rinse the slide with water until water runs clear.
- Flood slide with the counterstain **safranin** for 1 minute, then rinse.



Dal punto di vista chimico, le endospore (core) sono caratterizzate da

- presenza di **acido dipicolinico**
- elevate concentrazioni di **Ca<sup>2+</sup>**

Ca<sup>2+</sup> forma **complessi** con l'acido dipicolinico (**dipicolinato di calcio**)

(~10% del peso secco della spora)

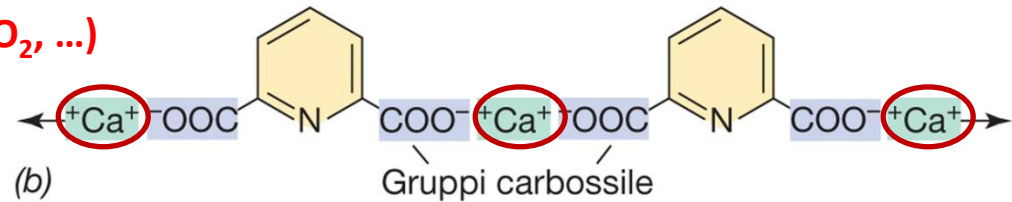
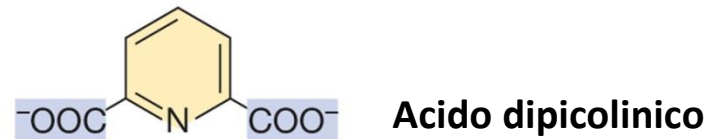
- contribuiscono alla disidratazione della spora (legano acqua libera: ↓ Aw)
- intercalandosi nel DNA ne stabilizzano la struttura

Il core dell'endospora contiene solo il 10-25% di **acqua** rispetto alla cellula vegetativa (aspetto denso gel)

↑ **Resistenza al calore**

↑ **Resistenza a sostanze chimiche (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ...)**

↑ **Parziale inattività degli enzimi**



### Core citoplasmatico

- **pH** → circa una unità più basso rispetto alla cellula vegetativa.
- ↑ **[proteine core-specifiche SASP]** (*small acid-soluble spore proteins*).

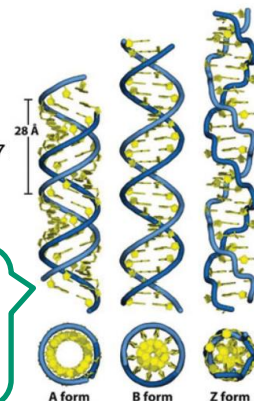
Legano e proteggono il **DNA** (struttura B → struttura A)  
da raggi UV, essiccamento e calore.  
Fonte di C ed energia nel processo di germinazione.

M.T. Madigan, J.M. Martinko

Brock, *Biologia dei Microrganismi*

Copyright © 2007

Forma del DNA più  
compatta e più resistente  
alla formazione di dimeri di  
pirimidina



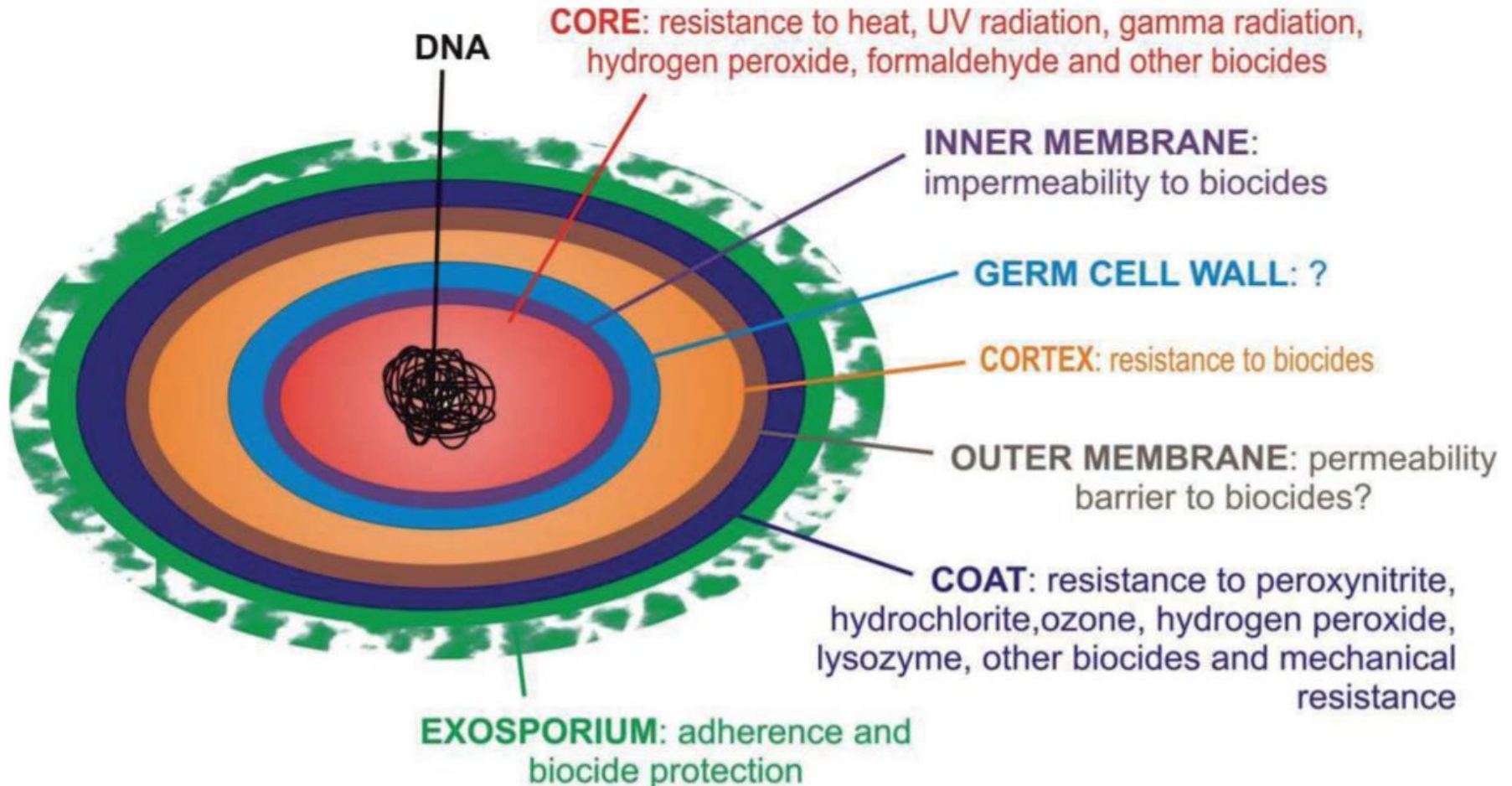


Cogliati S, Costa JG, Ayala FR, Donato V, Grau R (2016)

**Bacterial Spores and its Relatives as Agents of Mass Destruction.**

J Bioterror Biodef 7: 141. doi: 10.4172/2157-2526.1000141

“... In this review, we summarize the main structural characteristics that make the spores of Bacilli and Clostridia as the **ideal agents for use in bioterrorism.** ...”



## Cellula vegetativa → endospora → cellula vegetativa

### Formazione dell'endospora

Processo di differenziamento cellulare geneticamente controllato

*Bacillus subtilis* è lo sporigeno più studiato nell'ambito della sporulazione.

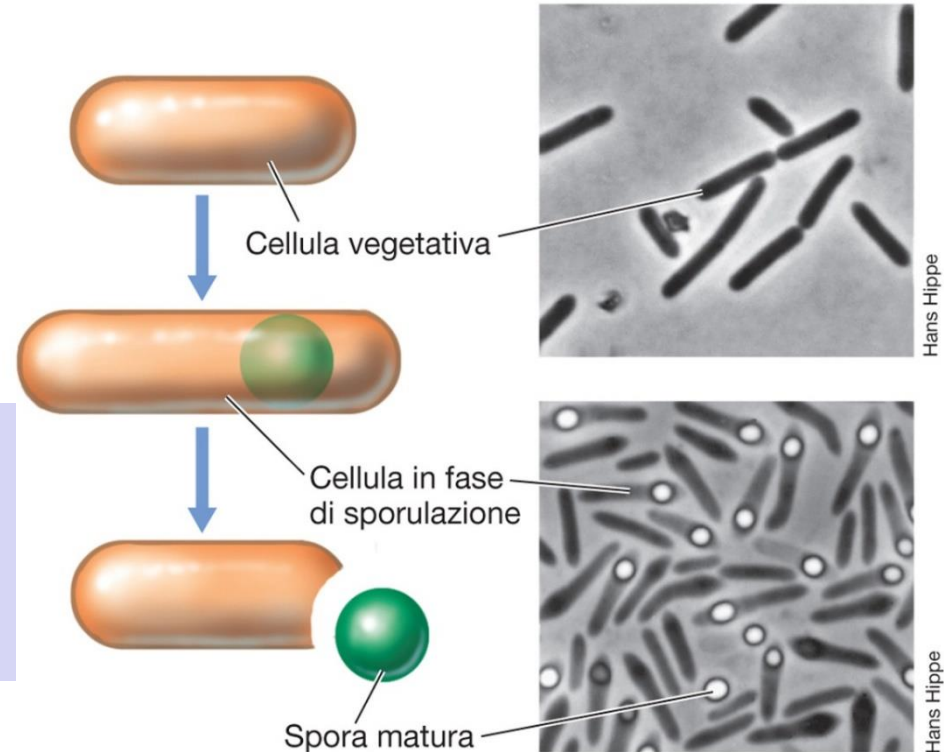
L'intero processo di sporulazione, che coinvolge circa 200 geni, dura in media 8-15 ore.

#### Avvio della sporulazione

- blocco della sintesi delle proteine tipiche della forma vegetativa;
- sintesi delle proteine specifiche della spora (es. SASP).

Le cellule vegetative avviano il processo di sporulazione:

- in seguito ad **esaurimento di nutrienti essenziali** (C, N, ...), dopo la fase esponenziale di crescita;
- **in risposta a condizioni ambientali avverse**.



M.T. Madigan, J.M. Martinko

Brock, *Biologia dei Microrganismi*

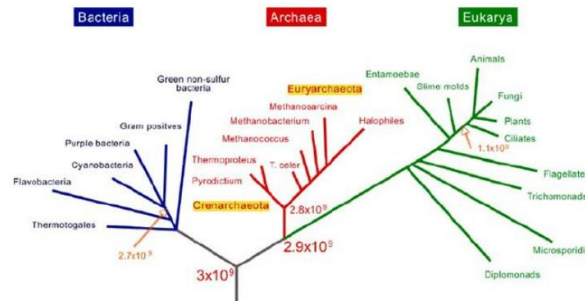
Copyright © 2007 Casa Editrice Ambrosiana

Le proteine sintetizzate sono necessarie per i processi che caratterizzano il passaggio dalla forma vegetativa alla forma sporale (**disidratata** e **metabolicamente inerte**, ma estremamente **resistente** a stress di varia natura).

Capacità formazione spore solo nel dominio dei *Bacteria* Gram +



~3,5 miliardi di anni orsono, dopo la separazione delle principali linee evolutive.



La capacità di formare spore è ampiamente diffusa tra i *Bacteria*

Psicrofili (psicrotrofi)

Mesofili

Termofili

Aerobi

Anaerobi

Acidofili

Basofili

Alofili

UV-resistenti

Fototrofi

Chemiorganotrofi

Chemiolitotrofi

...

Poehlein et al., (2013). **First Insights into the genome of the Gram-negative, endospore-forming organism *Sporomusa ovata* Strain H1 DSM 2662.** Genome announcements, 1(5), e00734-13. <https://doi.org/10.1128/genomeA.00734-13>

... The Gram-negative endospore-forming bacterium *Sporomusa ovata* belongs to the class Negativicutes within the Firmicutes. **This class comprises only a few genera, which are Gram negative and form endospores. *S. ovata* was one of the first described species with this feature... .**

~20 generi sporigeni

*Bacillus*

*Clostridium*

*Sporolactobacillus*

*Sporosarcina*

*Thermoacetobacterium*

*Lysinibacillus*

*Caldanaerobacter*

*Moraxella*

*Geobacillus*

*Anoxybacillus*

*Alicybacillus*

*Paenibacillus*

...

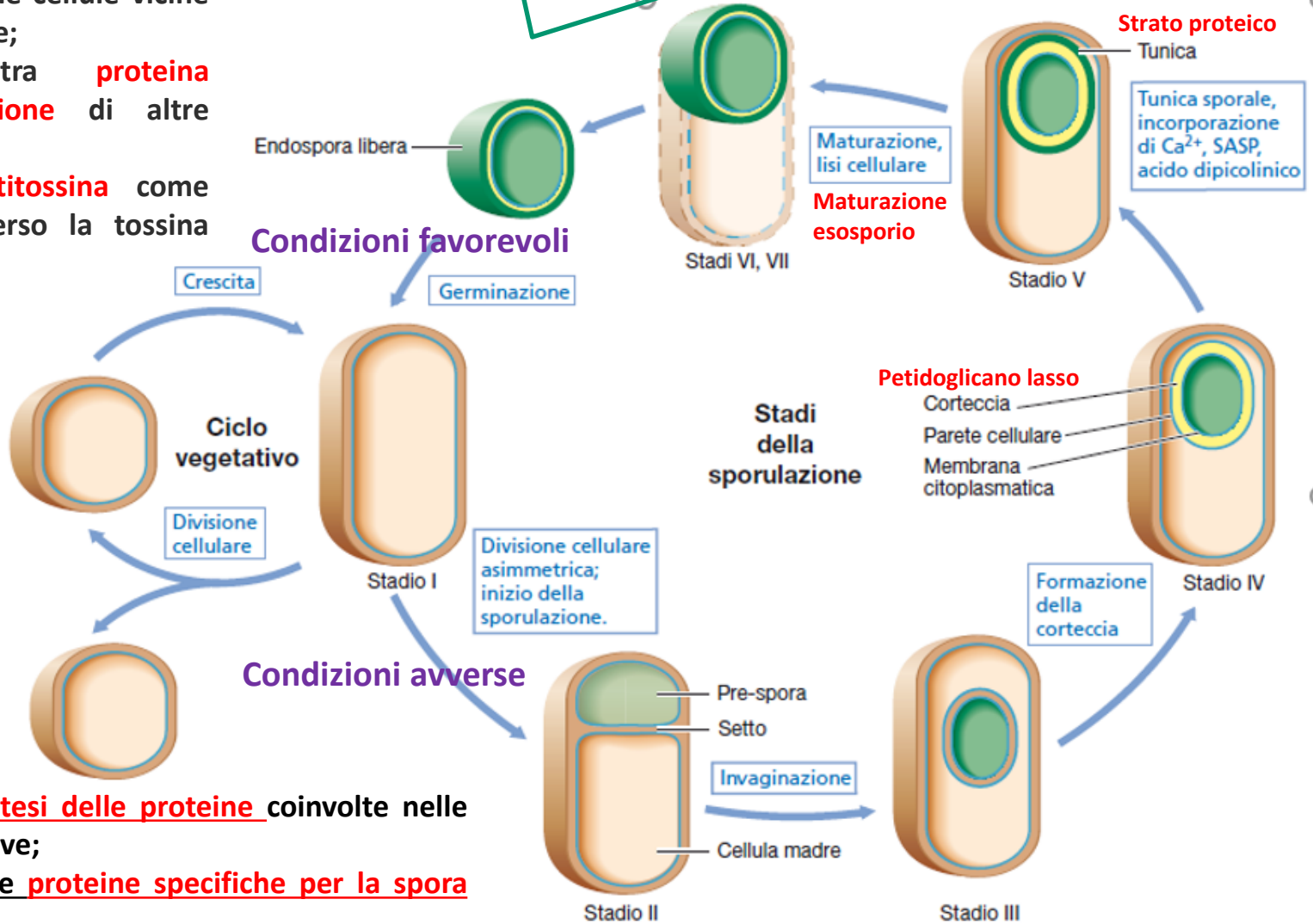
**Al momento non sono state individuate specie sporigene tra gli *Archaea*!**

# Carenza nutrienti → SPORULAZIONE ← disponibilità nutrienti???

## Le cellule stimulate alla sporulazione

- producono una **tossina proteica** che induce lisi nelle cellule vicine non ancora attivate;
- rilasciano un'altra **proteina inibente l'attivazione** di altre cellule;
- producono un'**antitossina** come autoprotezione verso la tossina prodotta.

Le endospore mature mantengono attivi **meccanismi per captare segnali esterni.**



## Avvio sporulazione

- **blocco della sintesi delle proteine** coinvolte nelle funzioni vegetative;
- **produzione delle proteine specifiche per la spora** (es. SASP);
- **divisione cellulare asimmetrica.**

## GERMINAZIONE dell'endospora

L'endospora può restare **quiescente** per molti anni (anche migliaia), fino a quando non interviene uno **stimolo ambientale** che induce il processo di germinazione .

Pur se metabolicamente inattiva, la spora mantiene attivo un sistema di rilevazione delle condizioni ambientali.

Attivazione → **germinazione** → esocrescita

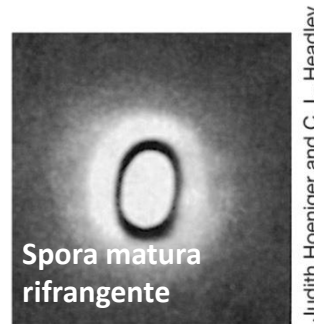
Brevi esposizioni ad elevate temperature sub-letali (70-80°C) e la presenza di nutrienti inducono l'**attivazione** della spora.

La **germinazione** è un processo che dura pochi minuti: perdita della rifrangenza e della resistenza al calore ed alle sostanze chimiche biocide.

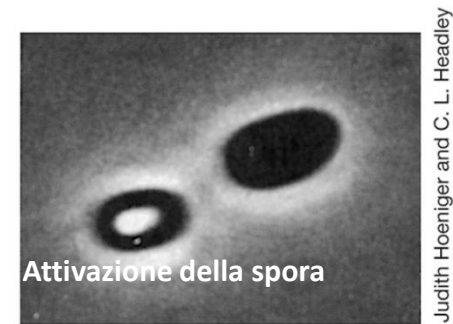
Durante questa fase scompaiono il dipicolinato di calcio, le SASP ed i componenti della corteccia.

L'**esocrescita** è caratterizzata dal rigonfiamento della cellula (assorbimento di acqua e sintesi di DNA, RNA e proteine).

La cellula si libera del rivestimento sporale ed inizia a dividersi.



(a)



(b)



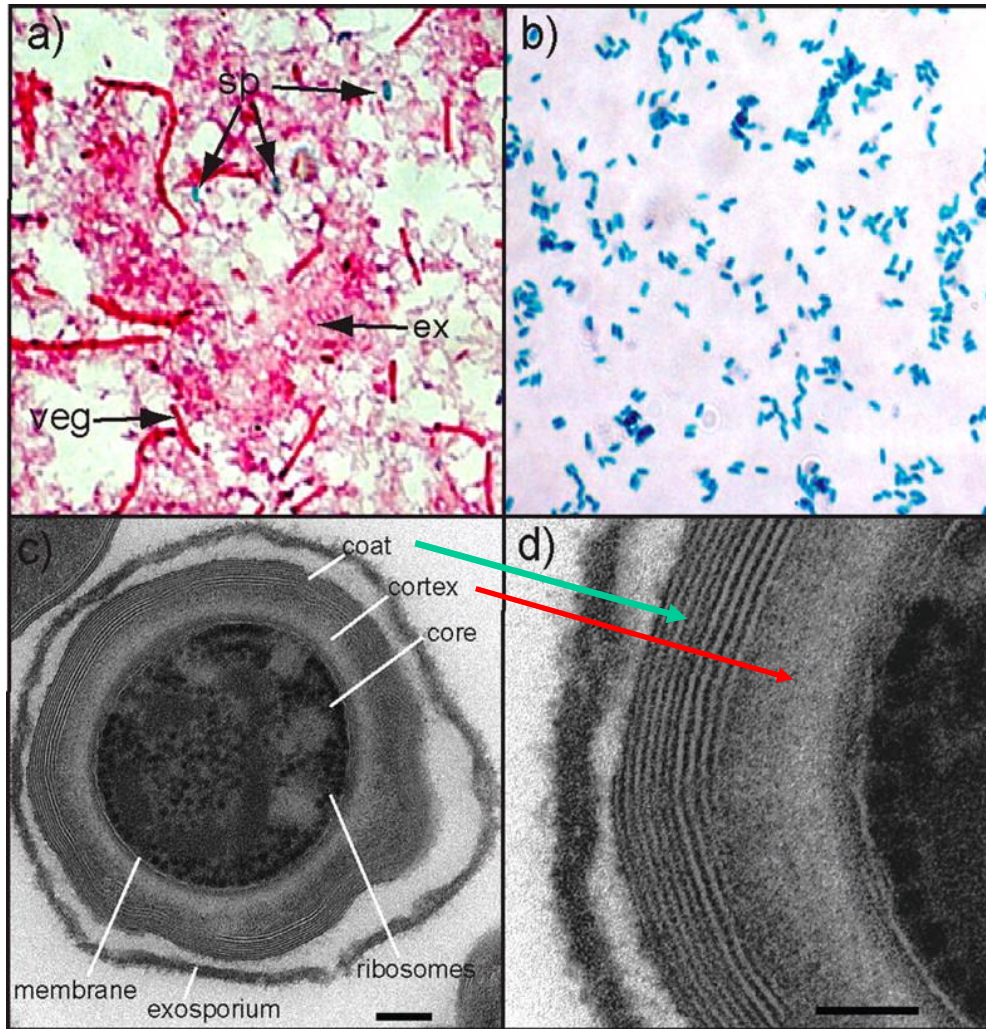
(c)



(d)

<b>Caratteristica</b>	<b>Cellula vegetativa</b>	<b>Endospora</b>
Struttura	Tipica cellula Gram-positiva; poche cellule Gram-negative	Spessa corteccia Rivestimento Esosporio
Aspetto microscopico	Non rifrangente	Rifrangente
Contenuto di calcio	Basso	Alto
Acido dipicolinico	Assente	Presente
Attività enzimatica	Elevata	Ridotta o assente
Metabolismo (assunzione di O <sub>2</sub> )	Elevato	Ridotto o assente
Sintesi di macromolecole	Presente	Assente
mRNA	Presente	Ridotto o assente
Resistenza al calore	Ridotta	Elevata
Resistenza alle radiazioni	Ridotta	Elevata
Resistenza agli agenti chimici (per esempio H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) e agli acidi	Ridotta	Elevata
Colorazione	Possibile	Solo con metodi specifici
Azione del lisozima	Sensibile	Resistente
Contenuto di acqua	Elevato, 80-90%	Ridotto, 10-25% nel core
Piccole proteine acide solubili (prodotte dai geni <i>ssp</i> )	Assente	Presente
pH citoplasmatico	Intorno a pH 7	Intorno a pH 5,5- 6,0 (nel core)

## Visualization of pure *Clostridium difficile* spores.



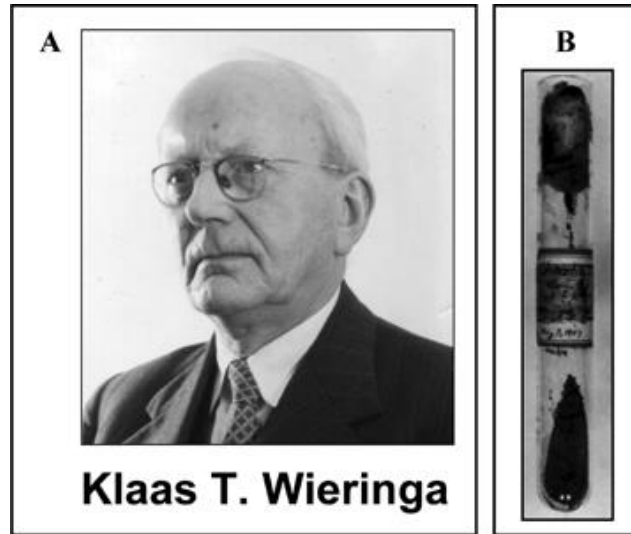
Visualization of pure *C. difficile* spores. (a) Endospore stain of *C. difficile* culture showing the pink vegetative cells (veg) and pink extracellular matrix (ex), with a few interspersed green spores (sp). (b) Purified *C. difficile* spores are stained green. (c) Transmission electron microscopy of sectioned *C. difficile* spores, demonstrating the spore ultrastructure including the exosporium, coat, cortex, core, membrane, and ribosomes. Bar, 100 nm. (d) Magnified section of outer surface of spore. Bar, 50 nm.

Trevor D. Lawley et al. J. Bacteriol. 2009;191:5377-5386

Journal of Bacteriology

## RESISTENZA DELLE SPORE NEL TEMPO

K. T. Wieringa, who isolated the first acetogen, *Clostridium aceticum*, in 1936.



Klaas T. Wieringa

A culture tube, dated 7 May 1947, containing spores of *C. aceticum* in dried soil. The tube was obtained from H. A. Barker and contained spores derived from Wieringa's culture of *C. aceticum*. These spores were used to revive the organism, as reported by Adamse in 1980 and Braun *et al.* in 1981.

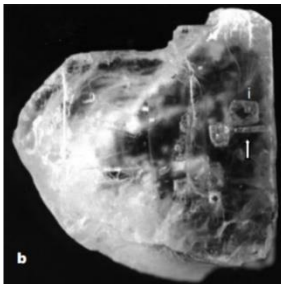
~30 anni



Electron micrograph of a peritrichiously flagellated cell of *C. aceticum*.

The characteristic enzymatic, biochemical, and 16S ribosomal DNA profiles indicated that the ancient bacterium is most closely related to extant *Bacillus sphaericus*.

← Cano, Borucki (1995). **Revival and identification of bacterial spores in 25- to 40-million-year-old Dominican amber**. *Science*, 268:1060-1064.



Vreeland, Rosenzweig, Powers (2000)

**Isolation of a 250 million-year-old halotolerant bacterium from a primary salt crystal**.

*Nature* 407, 897-900.

The sample that yielded *Bacillus* strain 2-9-3.



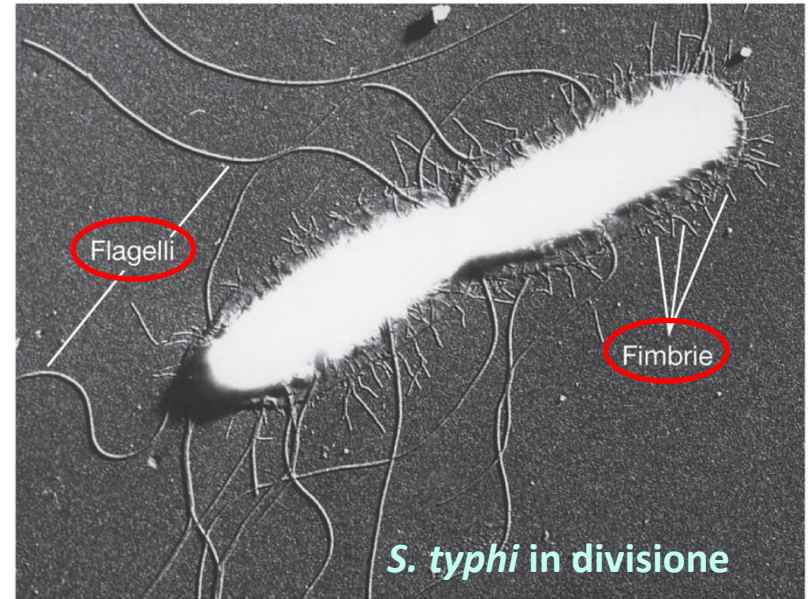
# STRUTTURE DI SUPERFICIE e locomozione microbica

I **pili** e le **fimbrie** sono appendici di natura proteica.

## Fimbrie

strutture filamentose corte che permettono ai microrganismi di aderire alle superfici (animate o inanimate) e formare **biofilm** (microrganismi immersi in una matrice esopolimerica).

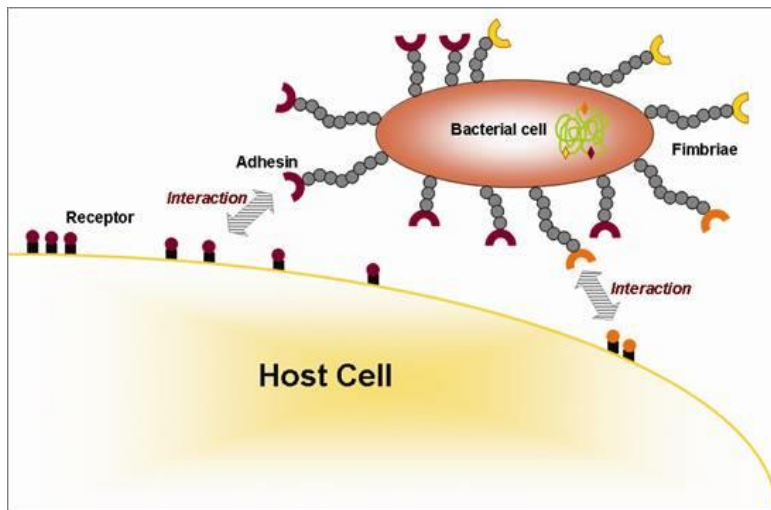
In alcuni batteri le fimbrie possono contribuire alla **colonizzazione** dei tessuti dell'ospite. *Salmonella* spp., *Neisseria gonorrhoeae*, *Bordetella pertussis*, ...



M.T. Madigan, J.M. Martinko

Brock, Biologia dei Microorganismi

Copyright © 2007 Casa Editrice Ambrosiana



Sierotipi patogeni di *Escherichia coli* (**EPEC**, **EHEC**, **EAEC**, **EIEC**, **EPEC**, **EHEC**, **VTEC/STEC**)

**E. coli enterotossici (EPEC)**

**Sintomi:**

febbre, crampi, diarrea acquosa (diarrea del viaggiatore).

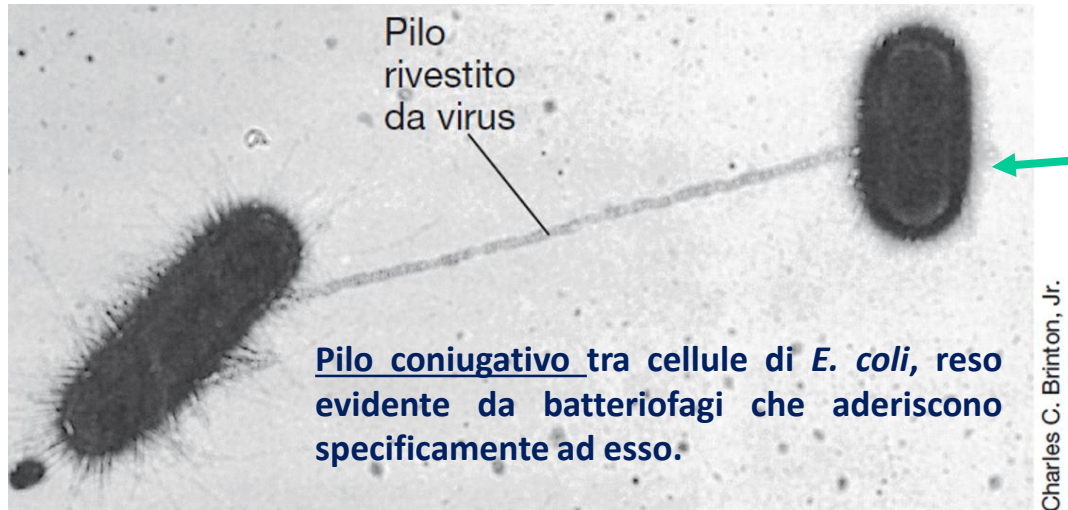
**Patogenesi:**

- presenza di **adesine**, localizzate sulle **fimbrie**, che consentono al batterio di aderire alle cellule della mucosa intestinale;
- presenza di plasmidi che codificano la produzione di **tossine** termolabili (LT) e termostabili (ST).

## PILI

strutture filamentose (**pilina**), più lunghe delle fimbrie, presenti sulle superfici dei batteri in una o poche copie.

Tipi di **pili diversi** per struttura e funzione.



**Pili di coniugazione:** sono associati soprattutto al processo di **coniugazione** (tipo di scambio genetico tra batteri).

### Fimbrie/pili di tipo IV

Sono responsabili della tipica **motilità a scatti** (**twitching motility**): l'estensione e la retrazione delle fimbrie/pili tipo IV permette ai batteri di strisciare lungo una superficie.

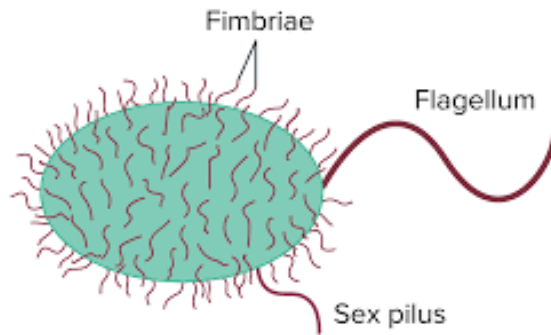
### Fimbrie/pili di tipo IV

Melville and Craig (2013)

- Si ritrovano ai poli delle cellule batteriche a bastoncello;
- Sono fra i principali **fattori di colonizzazione** di alcuni batteri patogeni (*V. cholerae*, *N. meningitidis*, *S. pyogenes*, ...).
- Possibile ruolo nel trasferimento di DNA mediante "**trasformazione**";
- Partecipano alla secrezione di alcune proteine;
- Funzionano da nanocavi elettrici;
- ...

## Pili e fimbrie

Corte appendici proteiche non flagellari



- Adesione superfici
- Interazione tra cellule
- Formazione biofilm
- ...

<b>Fimbrie</b>	<b>Pili</b>
Sottili e più brevi rispetto ai pili	Strutture tubulari proteiche, più lunghe e spesse delle fimbrie
Riscontrabili sia in batteri Gram positivi che Gram negativi	Riscontrabili solo nei batteri Gram negativi (?)
Numero variabile di 300-400 per cellula	Numero inferiore a quello delle fimbrie (3-5 per cellule)
Formazione sotto controllo di <u>geni cromosomici</u>	Formazione sotto controllo di <u>geni plasmidici</u>
Coinvolgimento nei processi di <u>adesione</u> e <u>trasformazione (?)</u>	Coinvolgimento nei processi di <u>coniugazione</u> e <u>locomozione (twitching motility)</u>

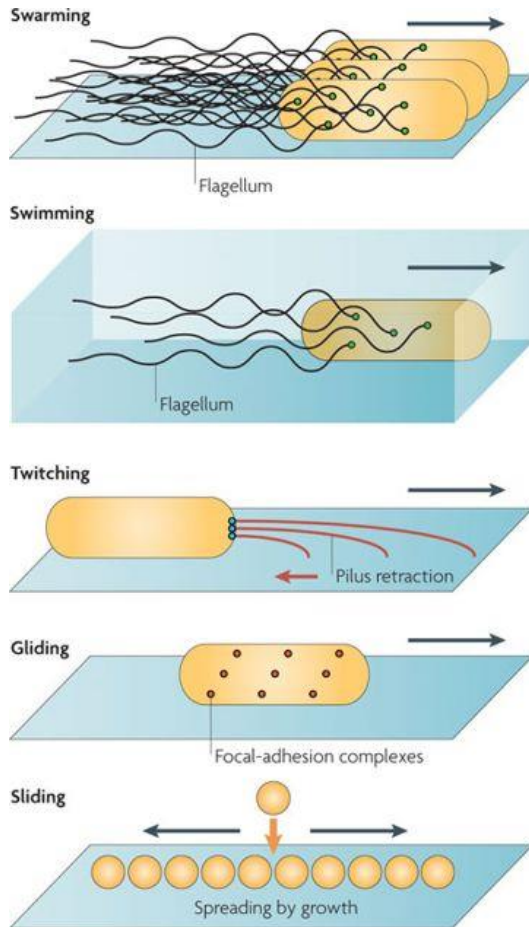
# APPENDICI ESTERNE E LOCOMOZIONE MICROBICA

## Flagelli

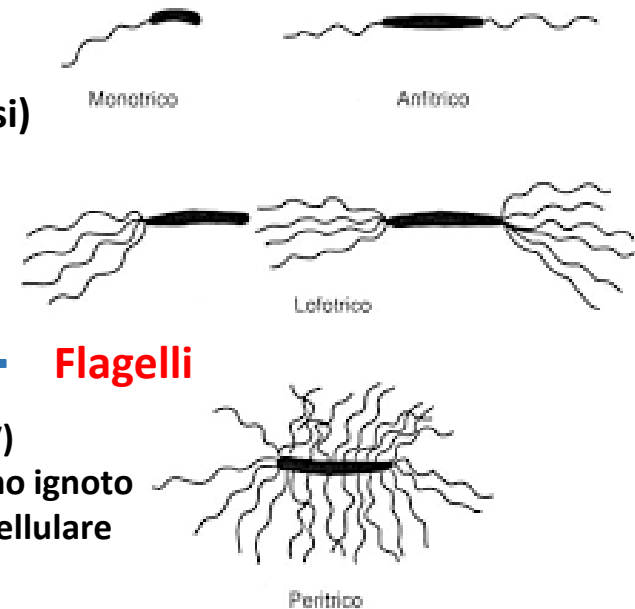
## Pili

Le cellule procariotiche sfruttano varie forme di locomozione **per rispondere agli stimoli ambientali**:

- Gradienti chimici (chemiotassi)
- Gradienti di pH (pHtassi)
- Luce (fototassi)
- Temperatura (termotassi)
- Salinità (osmotassi)
- Potenziale di ossidazione (aerotassi)
- ...



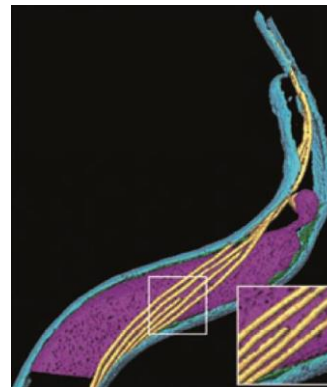
Nature Reviews | Microbiology



### Diverse forme di locomozione

*Swarming motility*  
*Swimming motility*  
*Twitching motility*  
*Gliding motility*  
*Sliding motility*

flagelli } **Flagelli**  
flagelli }  
pili (tipo IV)  
meccanismo ignoto  
divisione cellulare



### Spirochete

**Endoflagelli:** filamenti localizzati nello spazio periplasmatico, tra peptidoglicano e membrana esterna.

## Locomozione microbica (tassia)

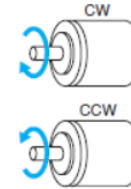
Molti microrganismi sono capaci di compiere **movimenti attivi** per mezzo di specifiche appendici di superficie (**flagelli**).

Alcuni procarioti possono muoversi per **scivolamento**.

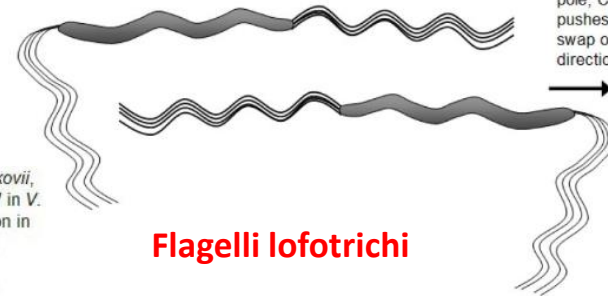
Il movimento attivo consente ai microrganismi di raggiungere zone diverse nel loro ambiente.

I flagelli sono costituiti da lunghi e sottili (~15-20 nm) filamenti con un'estremità legata alla cellula e l'altra libera.

The reverse of CW rotation is counterclockwise (CCW) rotation.



*Spirillum volutans*, 25 flagella at each pole, CCW rotation of tail end flagella pushes cell forward. Head and tail ends swap over when the cell reverses direction.



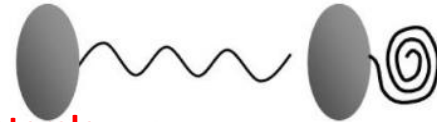
**Flagelli lofotrichi**

**Flagello polare**



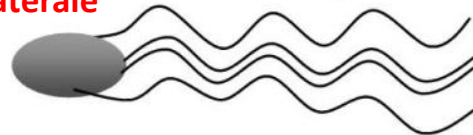
A single polar flagellum, e.g. *Vibrio metchnikovii*, *Pseudomonas*. Rotation in one sense (CCW in *V. metchnikovii*) pushes the cell forward, rotation in the opposite sense pulls the cell backwards.

**Flagello laterale**



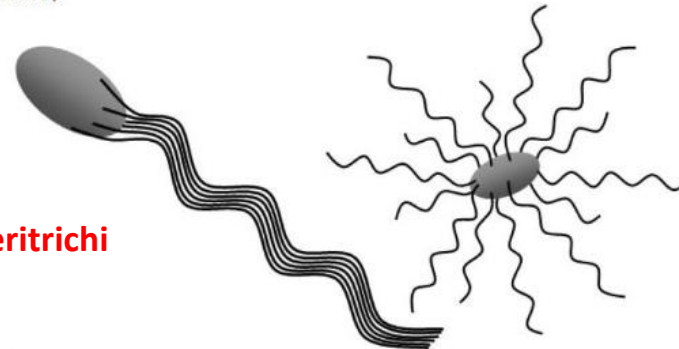
A single lateral flagellum, e.g. *Rhodobacter sphaeroides*. Rotation in one sense (CW) pushes the cell forward, a pause in rotation causes the flagellum to relax into a slowly rotating spiral which turns the cell (no CCW rotation).

**Flagelli polari + laterali**

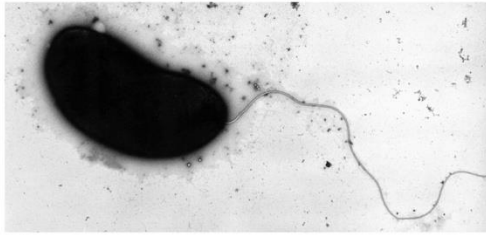


A tuft of 2 polar flagella and 2-4 lateral flagella, e.g. *Agrobacterium tumefaciens*. Rotation in one sense (CW) pushes the cell, cell turns when flagella pause (no CCW rotation).

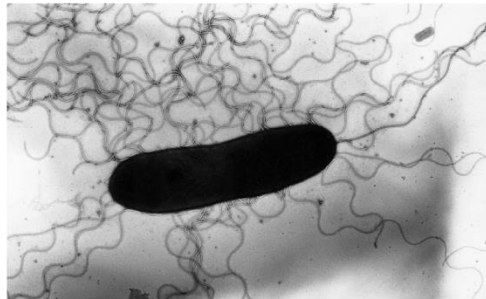
**Flagelli peritrichi**



5-10 peritrichous flagella, e.g. *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus subtilis*. CCW rotation and flagella bundle drives cell forward (straight runs), CW rotation causes the flagella to disengage from one another and the cell turns (random tumbles). In *Sinorhizobium meliloti* flagella rotate CW only, driving the cell forward as a bundle, but changes in speed cause the flagella to fly apart and the cell to tumble.



(a)



(b)

## Flagelli osservati al TEM

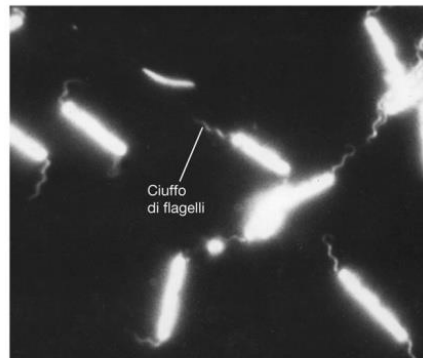
Il batterio *Rhodospirillum centenum* in genere possiede un unico **flagello polare**; in alcune condizioni può presentare **flagelli peritrichi** con formazione di cellule sciamanti.

M.T. Madigan, J.M. Martinko

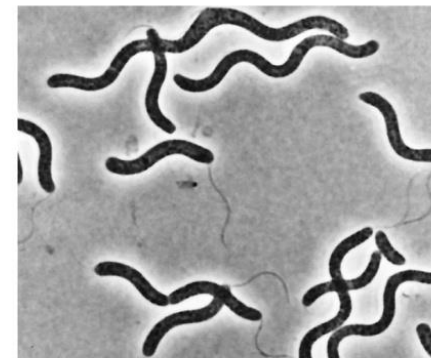
Brock, *Biologia dei Microorganismi* Copyright © 2007 Casa Editrice Ambrosiana

## Flagelli osservati in cellule vive

Bacilli, osservati in campo oscuro, con ciuffi di flagelli ad entrambi i poli della cellula (**anfitrichi**).

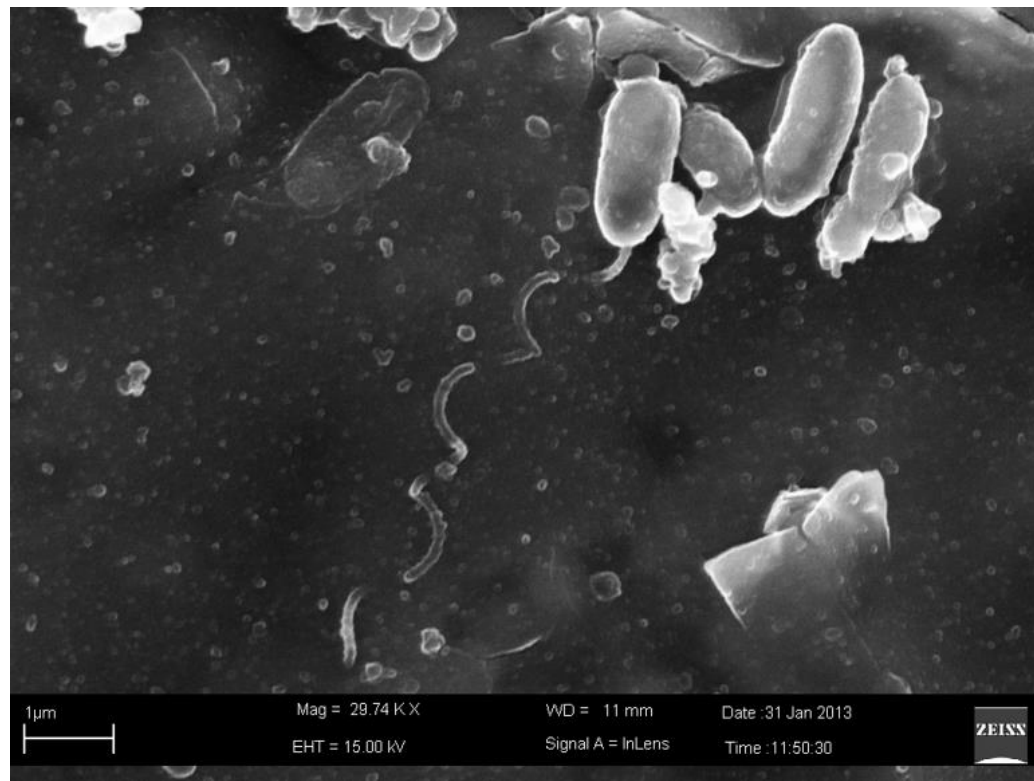


(a)



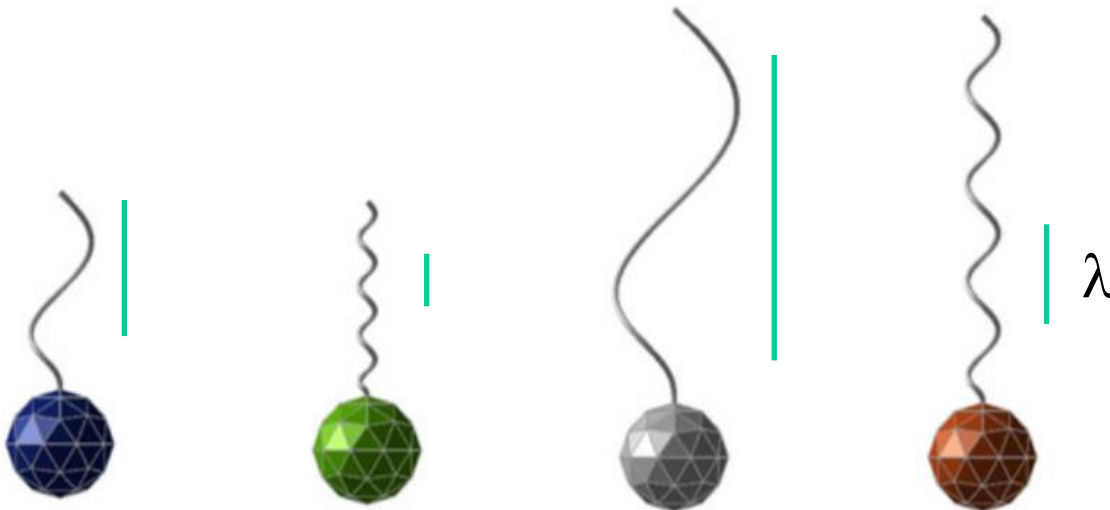
(b)

Flagelli **lofotrichi** attaccati ad un solo polo della cellula.



## Flagelli

- costituiti di **flagellina** (nei *Bacteria* sequenza aa altamente conservata)
- hanno **forma elicoidale** (non lineare)
- se appiattiti presentano una lunghezza d'onda specie-specifica

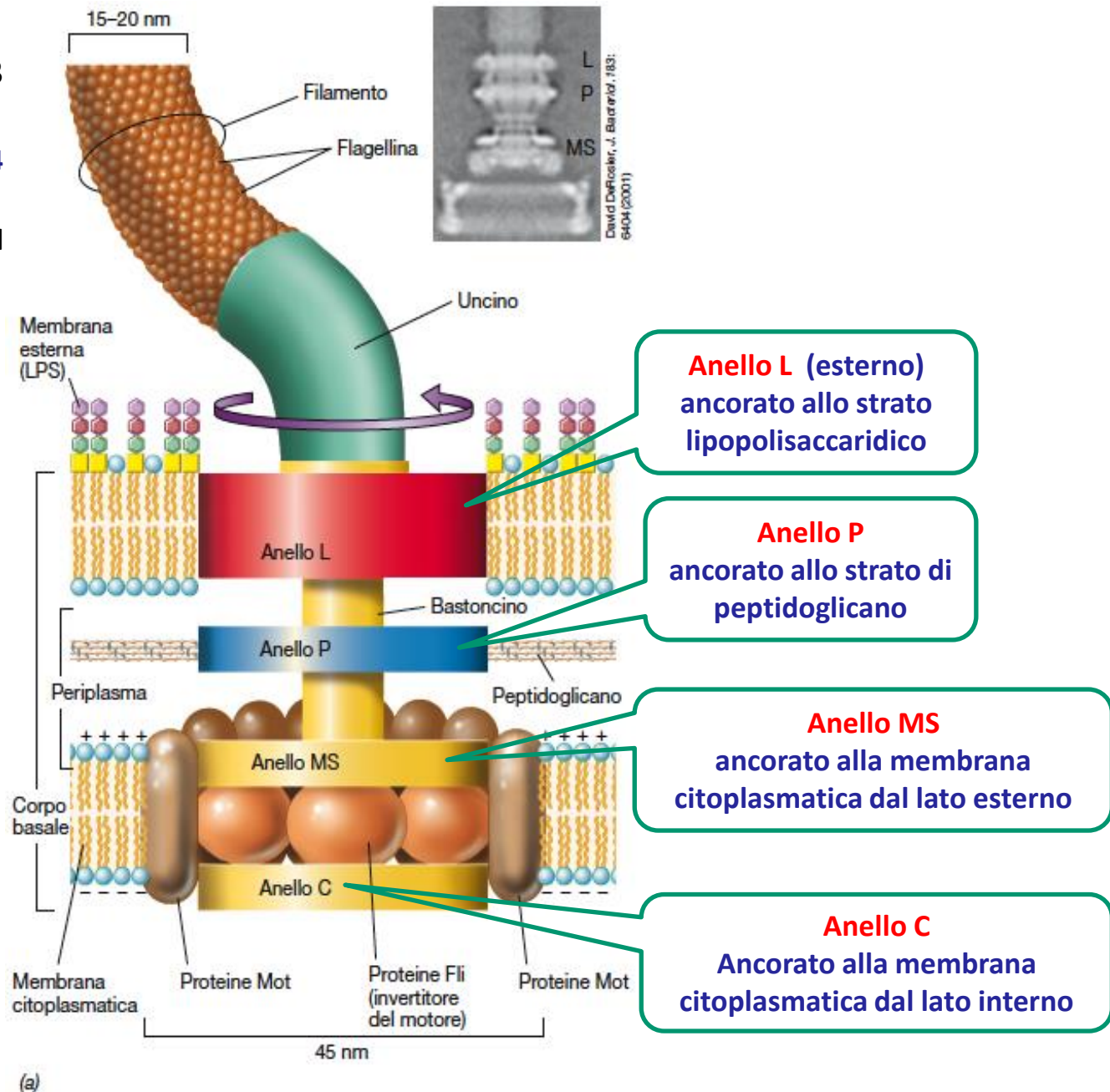


Park, Y., Kim, Y., & Lim, S. (2019). Locomotion of a single-flagellated bacterium. *Journal of Fluid Mechanics*, 859, 586-612. doi:10.1017/jfm.2018.799

# Struttura del flagello

Il flagello è costituito da 3 strutture proteiche

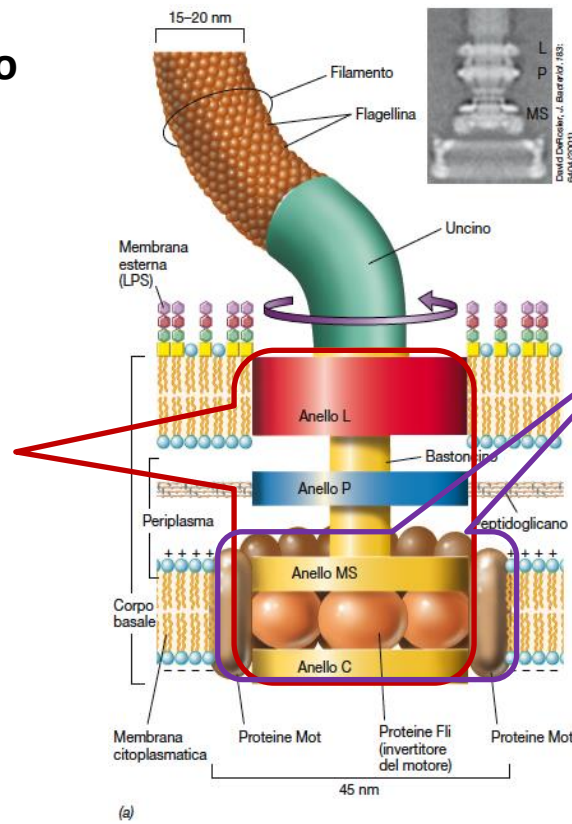
- **Corpo basale** (motore: 2/4 anelli, rotore e statore)
- **Uncino** (connette il filamento al motore del flagello)
- **Filamento** (estremità libera)





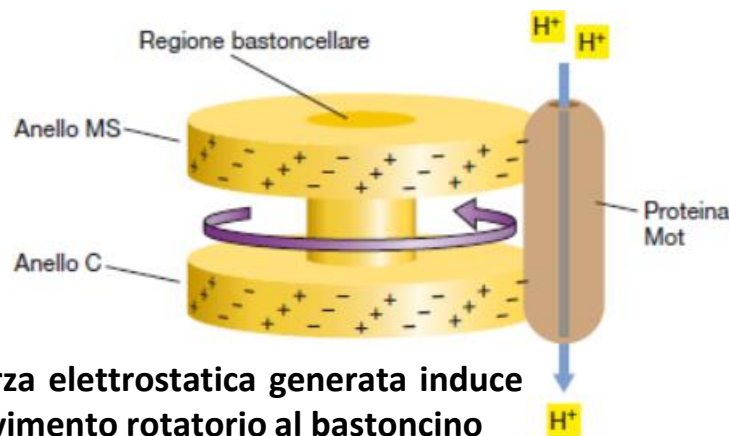
Il motore di rotazione è costituito da **rotore** e **statore**.

**Rotore** (corpo basale) costituisce il **motore flagellare** che comprende gli anelli C, MS, P, L.



**Statore** costituito dalle **proteine Mot** che circondano gli anelli MS e C.

### Rotazione flagello Modello a “**turbina protonica**”



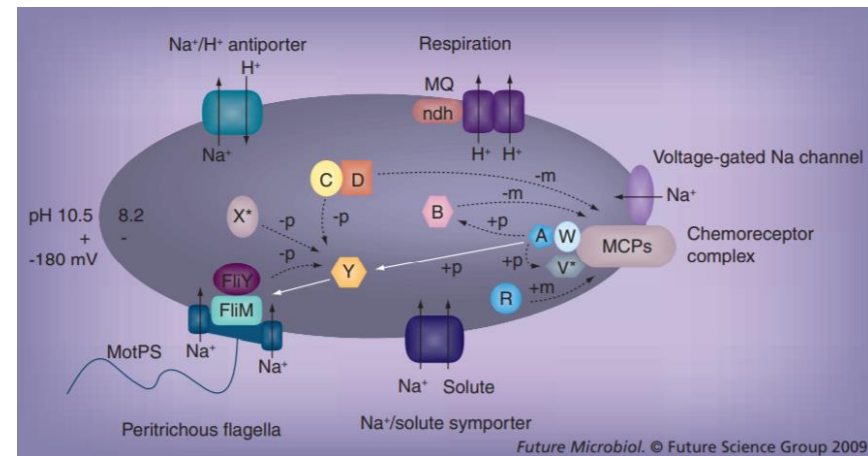
La forza elettrostatica generata induce il movimento rotatorio al bastoncino

Sfrutta la **FPM** per la rotazione del flagello.

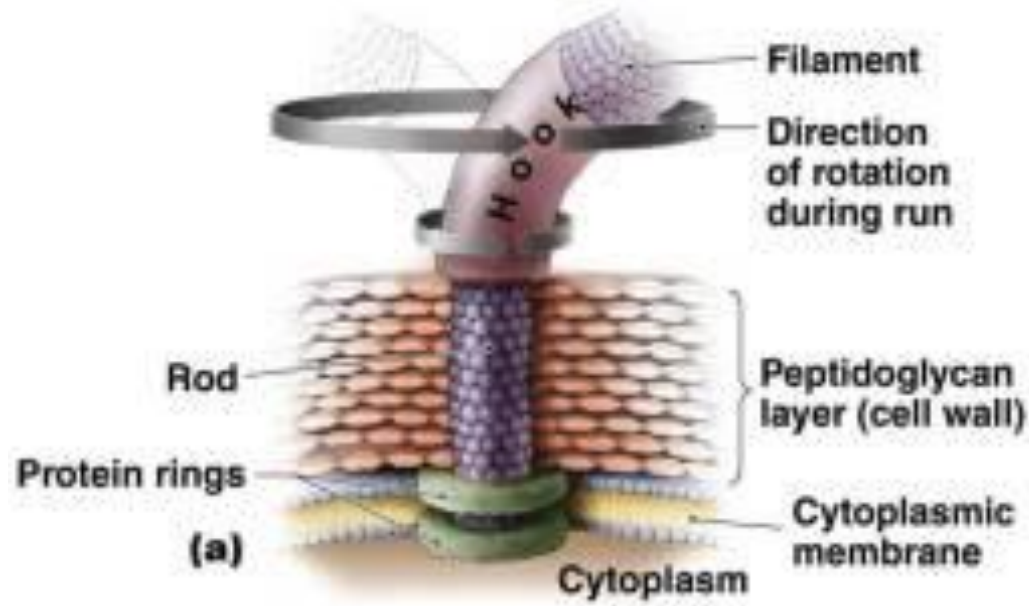
- Un singolo movimento rotatorio necessita di circa 1000 H<sup>+</sup>
- 300 rotazioni/s

In un mezzo liquido la **velocità di spostamento** di un batterio può raggiungere **60 lunghezze cellulari/secondo**.

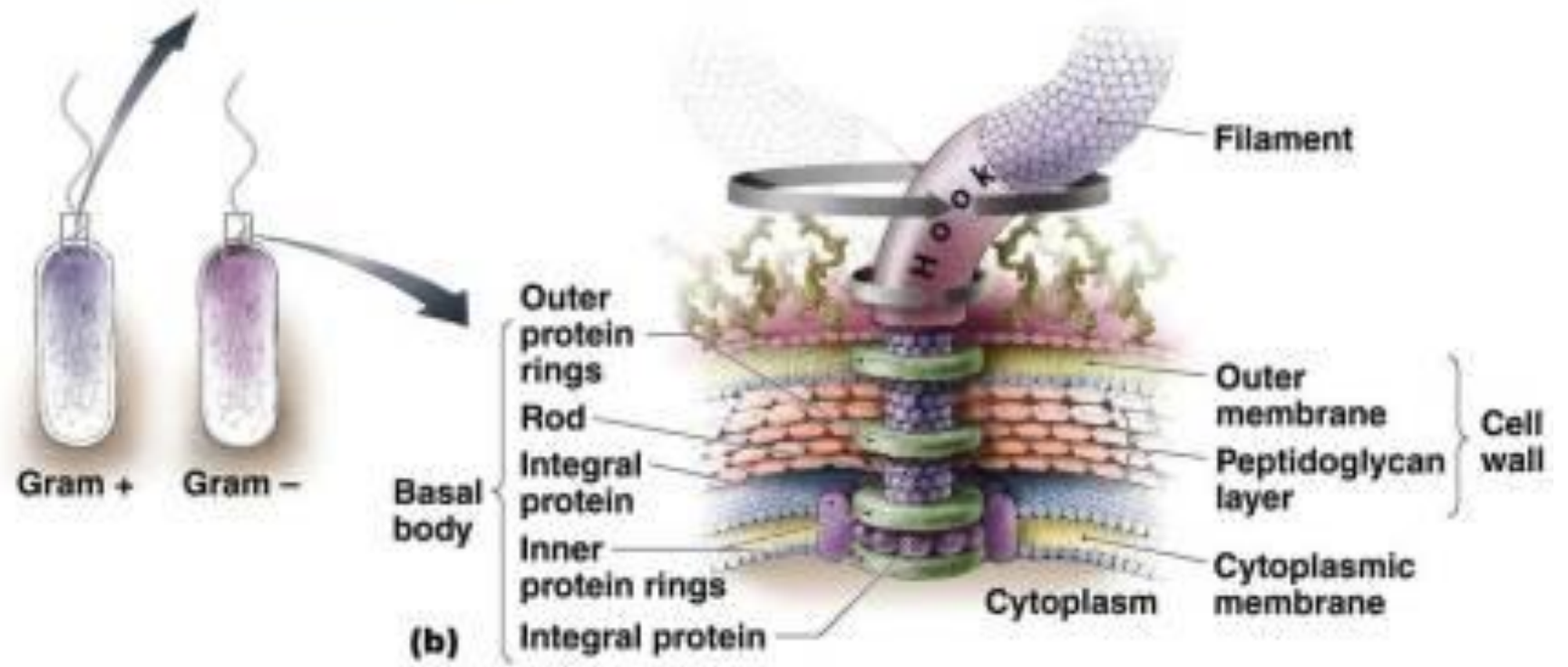
Motility and chemotaxis in alkaliphilic *Bacillus* species  
Fujinami et al., 2009



Alkaliphilic *Bacillus* species grow at pH values up to approximately 11. Motile alkaliphilic *Bacillus* use electrochemical gradients of Na<sup>+</sup> (sodium-motive force) to power ion-coupled, flagella-mediated motility as opposed to the electrochemical gradients of H<sup>+</sup> (proton-motive force) used by most neutralophilic bacteria. Membrane-embedded stators of bacterial flagella contain ion channels through which either H<sup>+</sup> or Na<sup>+</sup> flow to energize flagellar rotation. Stators of the major H<sup>+</sup>-coupled type, MotAB, are distinguishable from Na<sup>+</sup>-coupled stators, PomAB of marine bacteria and MotPS of alkaliphilic *Bacillus*. Dual ion-coupling capacity is found in neutralophilic *Bacillus* strains with both MotAB and MotPS. There is also a MotAB variant that uses both coupling ions, switching as a function of pH. Chemotaxis of alkaliphilic *Bacillus* depends upon flagellar motility but also requires a distinct voltage-gated NaChBac-type channel. The two alkaliphile Na<sup>+</sup> channels provide new vistas on the diverse adaptations of sensory responses in bacteria.



Nei batteri G+ è presente solo la coppia di anelli interna.



## Biosintesi del flagello

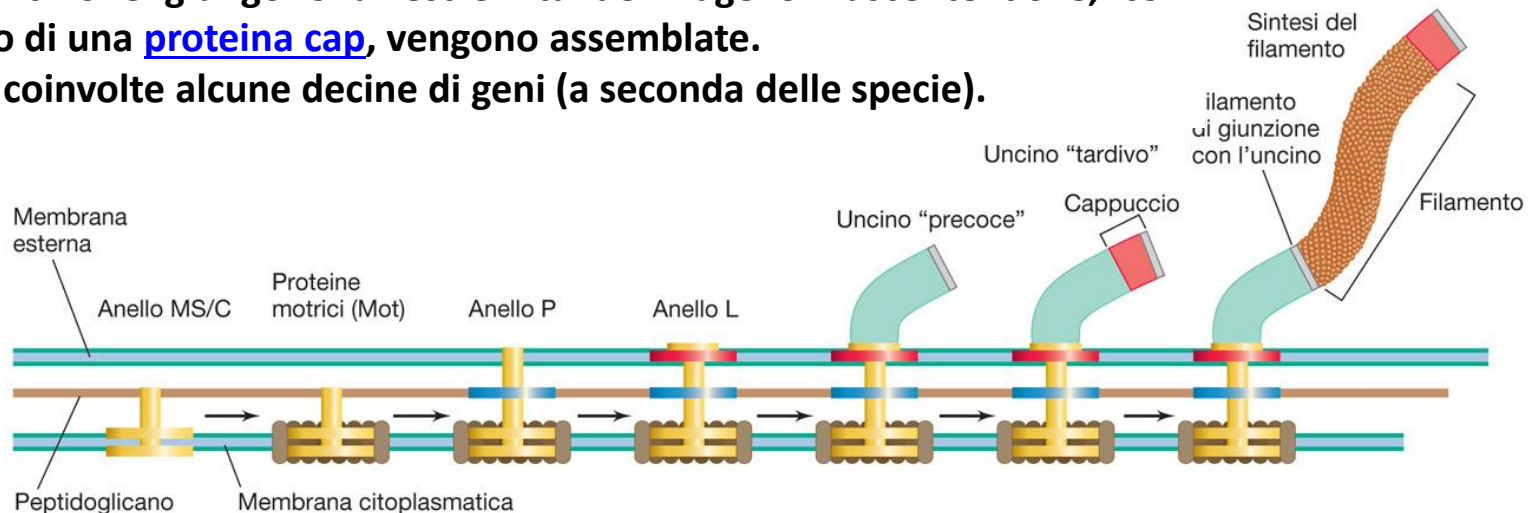
Il flagello cresce dalla punta.

Il primo elemento ad essere sintetizzato è l'**anello MS/C**, che viene inserito nella membrana citoplasmatica.

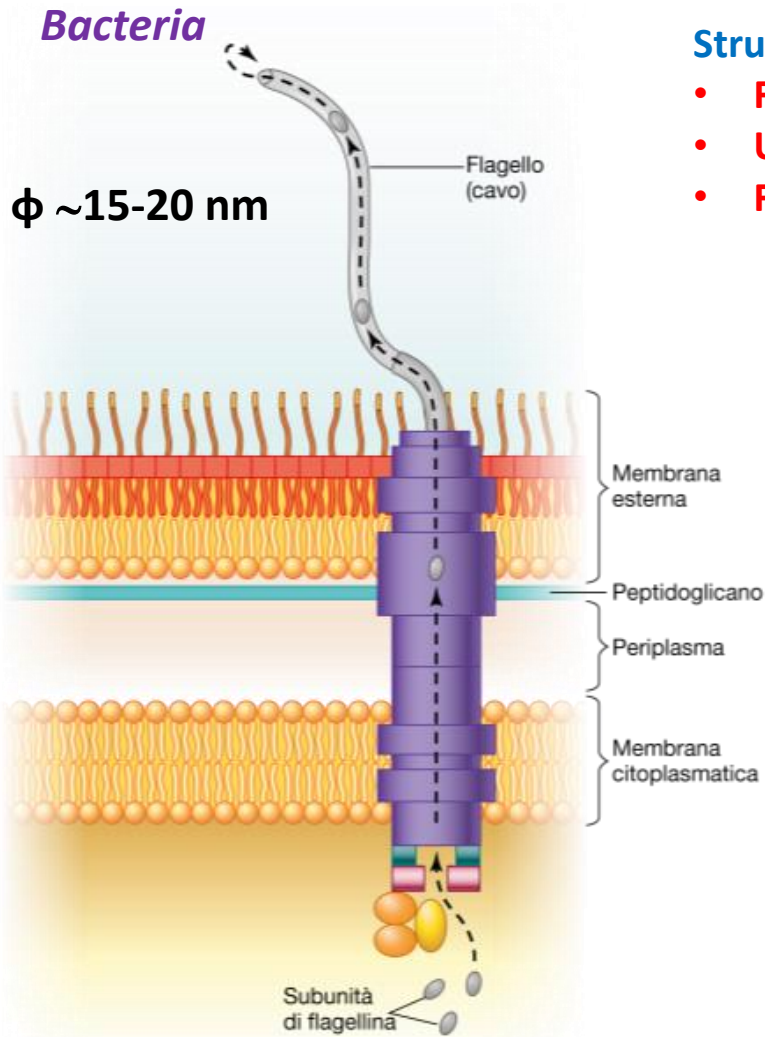
Segue la sintesi delle **proteine di ancoraggio** e dell'**uncino**.

Le molecole di **flagellina** (~20.000) passano attraverso il canale dell'uncino e giungono all'estremità del flagello nascente dove, con l'aiuto di una **proteina cap**, vengono assemblate.

Sono coinvolte alcune decine di geni (a seconda delle specie).



# Struttura e assemblaggio dei flagelli negli *Archaea*

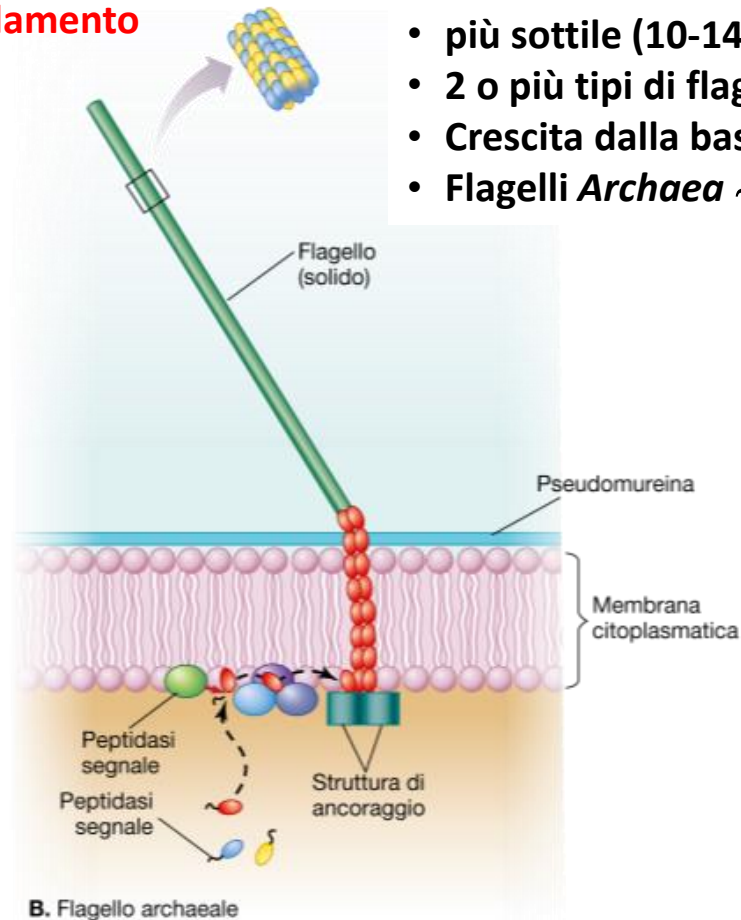


## Struttura

- **Formazione discoidale** nella membrana plasmatica
- **Uncino**
- **Filamento**

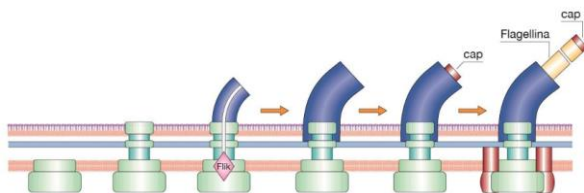
## Filamento

- più sottile (10-14 nm)
- 2 o più tipi di flagellina
- Crescita dalla base
- Flagelli *Archaea* ~ pili *Bacteria*



A. Flagello batterico

B. Flagello archaeale



Probabilmente, l'energia necessaria per la rotazione dei flagelli deriva dall'**ATP**

## Motilità non flagellare

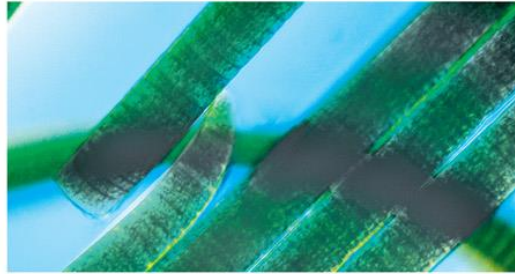
### Movimento per scivolamento (fucile a slime, motilità a scatti, ...)

Alcuni *Bacteria*, pur privi di flagelli, si muovono per **scivolamento** su una **superficie**, lungo l'asse maggiore della cellula.

Al momento non sono noti *Archaea* che si muovono per scivolamento.

Colonie filamentose di *Oscillatoria princeps* che si muovono per scivolamento sulla superficie dell'agar. Le cellule secernono una sostanza mucosa, che aderisce alla superficie, lungo la quale scivolano.

Colonia del batterio scivolante **G-**  
*Flavobacterium johnsoniae*



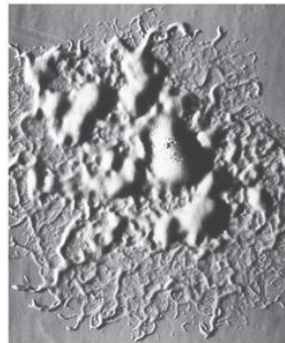
Richard W. Castenholz

Cianobatterio filamentoso  
*Oscillatoria princeps*



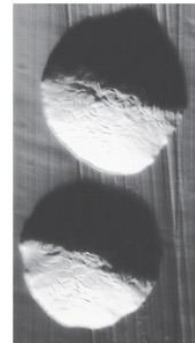
Richard W. Castenholz

(b)



Mark J. McBride

(c)



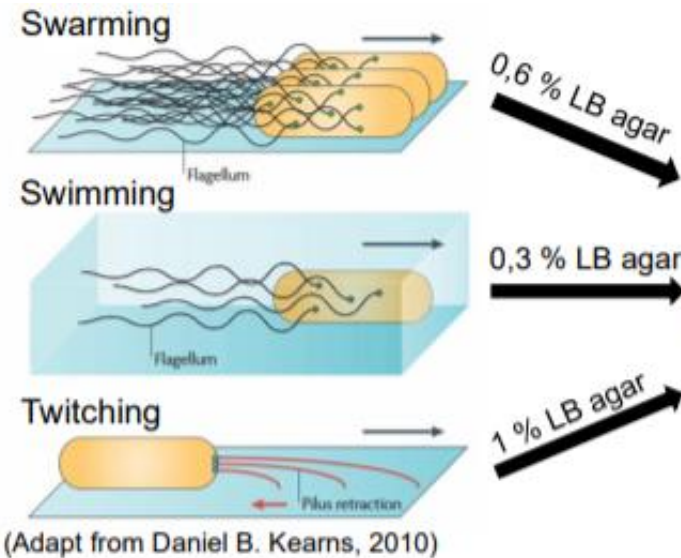
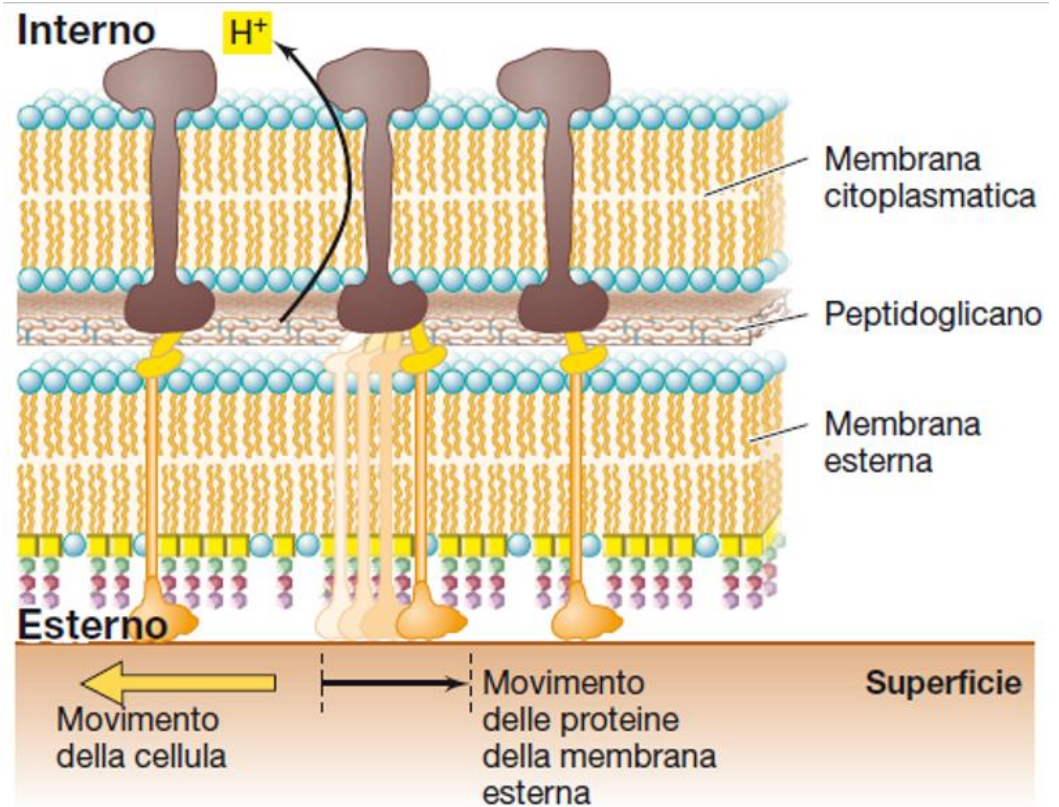
Mark J. McBride

(d)

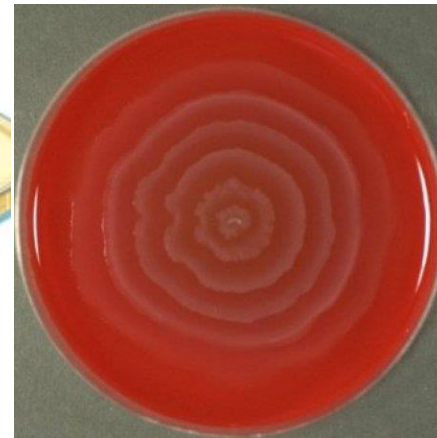
Colonia di ceppi mutanti  
(immobili) del batterio **G-**  
*Flavobacterium johnsoniae*

Il movimento di scivolamento è una forma più lenta di movimento che avviene lungo l'asse maggiore della cellula.

*Flavobacterium johnsoniae*  
Movimento a ruota dentata



Brook, Biologia dei microrganismi –  
1 Microbiologia generale - Pearson



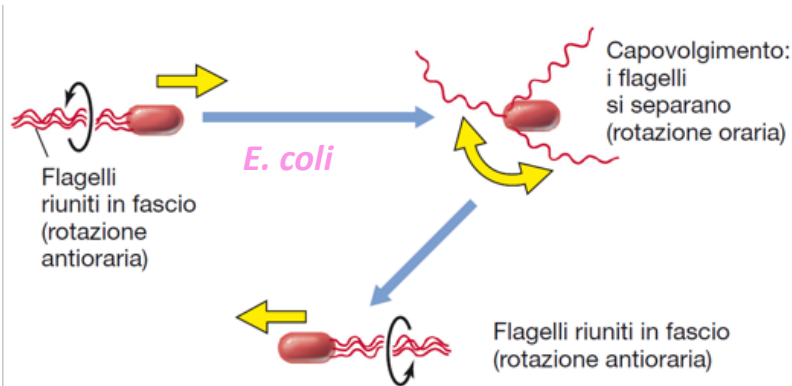
Colonia sciamante di *Proteus* su piastra di agar sangue

La velocità di rotazione dei flagelli varia in funzione della **forza proton-motrice**.

In un terreno liquido la **velocità** di spostamento di un batterio può raggiungere 60 lunghezze cellulari/secondo.

## Modalità di movimento

I batteri con **flagelli peritrichi** si muovono in linea retta (movimento lento).

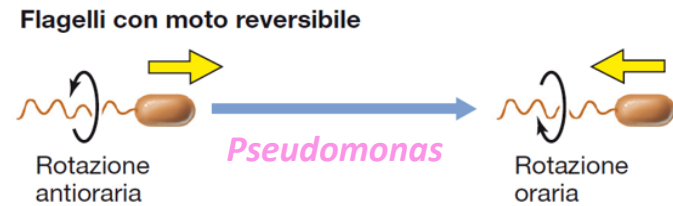


(a) Peritrichi

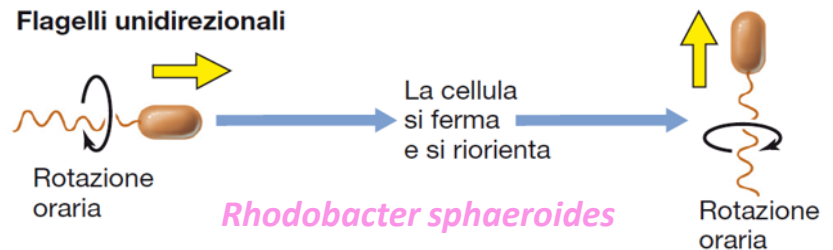
I **flagelli peritrichi** si uniscono a formare un fascio e, ruotando in **senso antiorario**, impartiscono un movimento al batterio.

La rotazione in senso orario, invece, induce il batterio a capovolgersi.

I batteri con **flagelli polari** si muovono con movimenti a scatti.



I **flagelli polari con progressione bidirezionale** ruotando in **senso antiorario** spingono in avanti la cellula. La rotazione in **senso orario** inverte il senso della progressione.

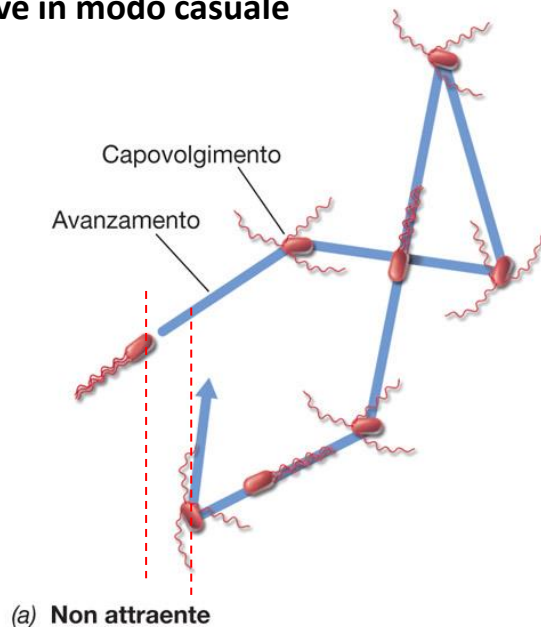


(b) Polari

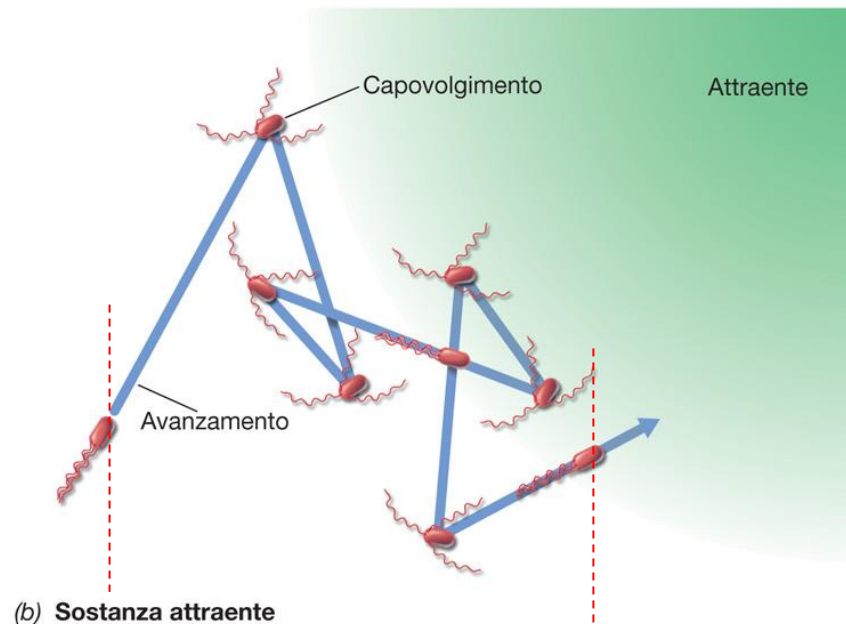
I **flagelli polari con progressione unidirezionale** ruotando in **senso orario** spingono in avanti la cellula, mentre quando si fermano la cellula si riorienta, per poi riprendere lo spostamento.



In assenza di gradiente, il batterio si muove in modo casuale



In presenza di gradiente di sostanza attraente

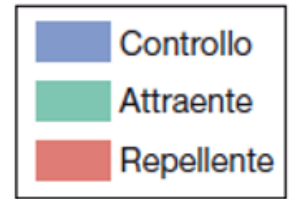
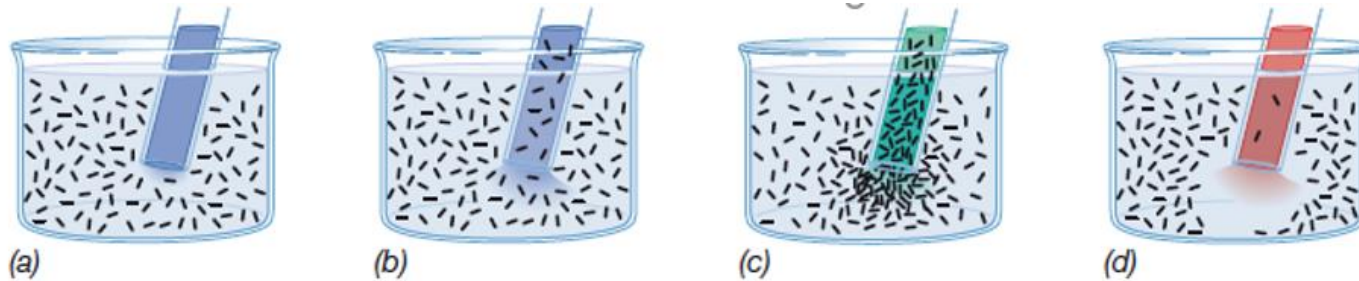


Se il batterio si sta allontanando dalla zona a maggiore concentrazione di nutriente (attraente):  
Percorsi più corti e capovolgimenti più frequenti.

Se il batterio si sta avvicinando alla zona a maggiore concentrazione di nutriente:  
**Avanzamenti più lunghi e capovolgimenti meno frequenti.**

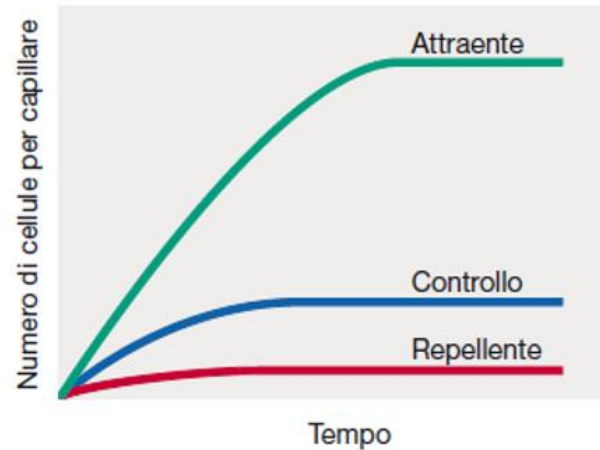
Immersione capillare contenente:

- Sostanza salina (senza effetto attraente/repellente) (b)
- Sostanza nutriente (c)
- Sostanza repellente (d)

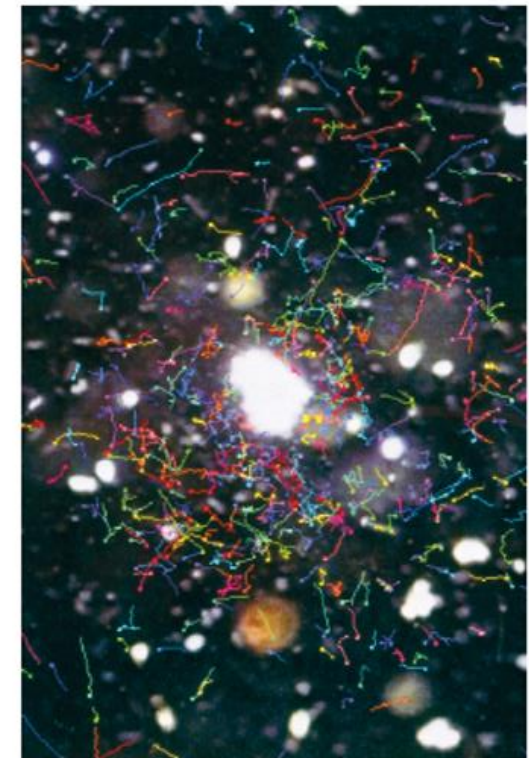


La presenza di **chemiorecettori** sulla membrana citoplasmatica e l'innescò di una serie di **reazioni chimiche a cascata** permettono alle cellule di percepire la differenza di concentrazione del nutriente/repellente rilevata in momenti diversi.

La percezione della differenza di concentrazione del nutriente/repellente viene, quindi, convertita in risposta, sotto forma di **rotazione del flagello**, **capovolgimento della cellula**.



Batteri marcati con sonde fluorescenti ripresi mentre si muovono verso una cellula algale



Nicholas Blackburn

## Flagella

bacterial mobility & chemotaxis  
to colonize under mucosa

## Urease

neutralize gastric acid  
gastric mucosal injury (by ammonia)

## Lipopolysaccharides

adhere to host cells  
inflammation

## Outer proteins

adhere to host cells

## Exotoxin(s)

- **vacuolating toxin (vacA)**  
gastric mucosal injury

## Secretory enzymes

- **mucinase, protease, lipase**  
gastric mucosal injury

## Type IV secretion system

pilli-like structure  
for injection of effectors

## Effectors (cagA e.t.c)

actin remodelling,  
IL-8 induction, host cell growth  
and apoptosis inhibition

Fattore di virulenza!

host cell

I batteri possono muoversi non solo in risposta a sostanze chimiche

## Batteri fototattici

2 diversi aspetti della fototassia

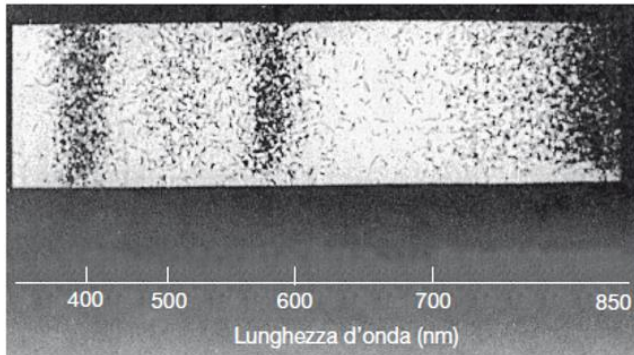
Fototassi

Scotofobotassi

Moto lungo un gradiente di luce  
(intensità più bassa → intensità più alta)

Fenomeno osservabile al microscopio:  
allontanamento di un batterio  
fototrofo dal buio verso la luce

Addensamento scotofobico dei batteri

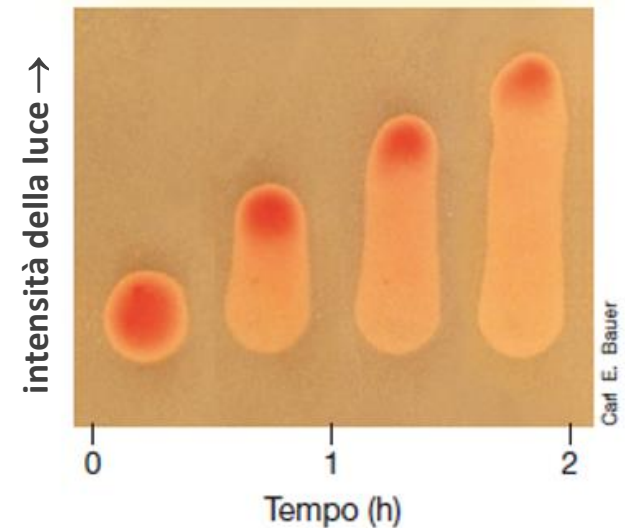


**Spettro di luce** creato su un vetrino contenente il batterio fototrofico *Thiospirillum jenense* (batterio Gram -, purpureo scotofobico).

Il batterio si dispone in corrispondenza dei picchi di assorbimento della clorofilla *a* (430-680 nm)



Luce



Fototassi di una colonia del batterio fototrofico Gram - *Rhodospirillum centenum*