

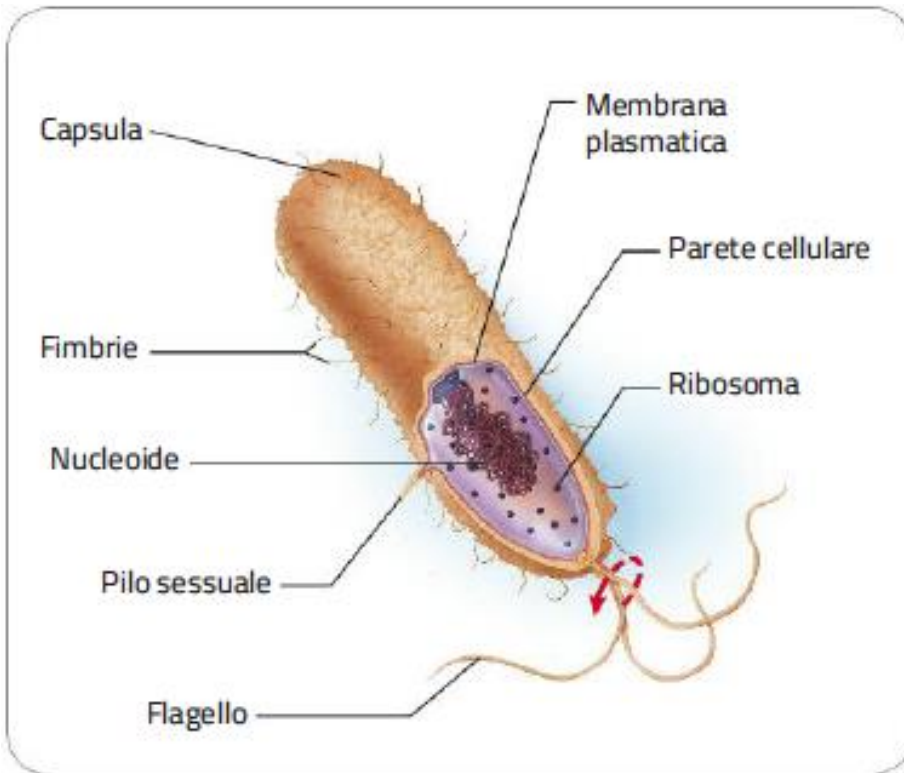


Lezione 2: Uno sguardo alla cellula microbica

DOTT. ROSA ANNA NASTRO – STANZA 425° - 4°PIANO, LATO NORD

EMAIL: ROSA.NASTRO@UNIPARTHENOPE.IT

I procarioti



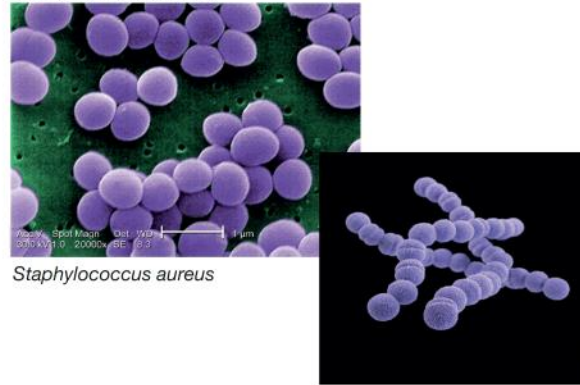
Sono **unicellulari (?)** e sono privi di un vero e proprio nucleo e di organuli complessi (?).

L'immagine illustra l'anatomia generale di un **batterio**.

- Il *nucleoide* è un'area del citoplasma più addensata, dove si trova un unico cromosoma costituito in larga parte da un filamento circolare di DNA.

- La *parete cellulare* che circonda la membrana plasmatica è rinforzata da peptidoglicano.

© CDC/Matthew J. Arduino

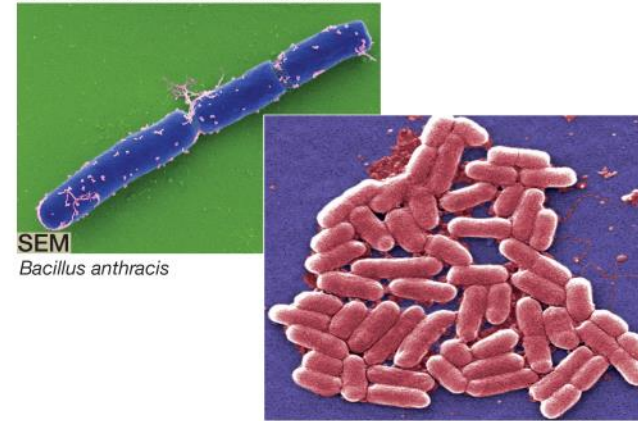


Staphylococcus aureus

Streptococcus pyogenes

A. I cocci sono sferici

© Dr. Gary Gaugler/Photo Researchers, Inc.



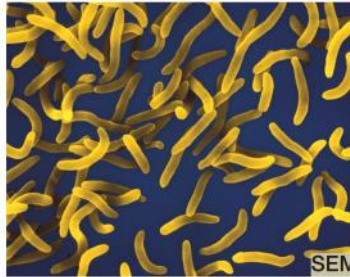
SEM

Bacillus anthracis

Escherichia coli

B. I bacilli sono a forma di bastoncello

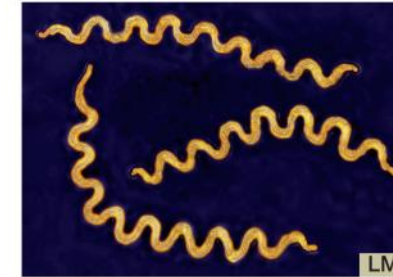
© Dennis Kunkel Microscopy, Inc./Phototake



Vibrio cholerae

C. I vibriani sono a forma di bacchetta ricurva

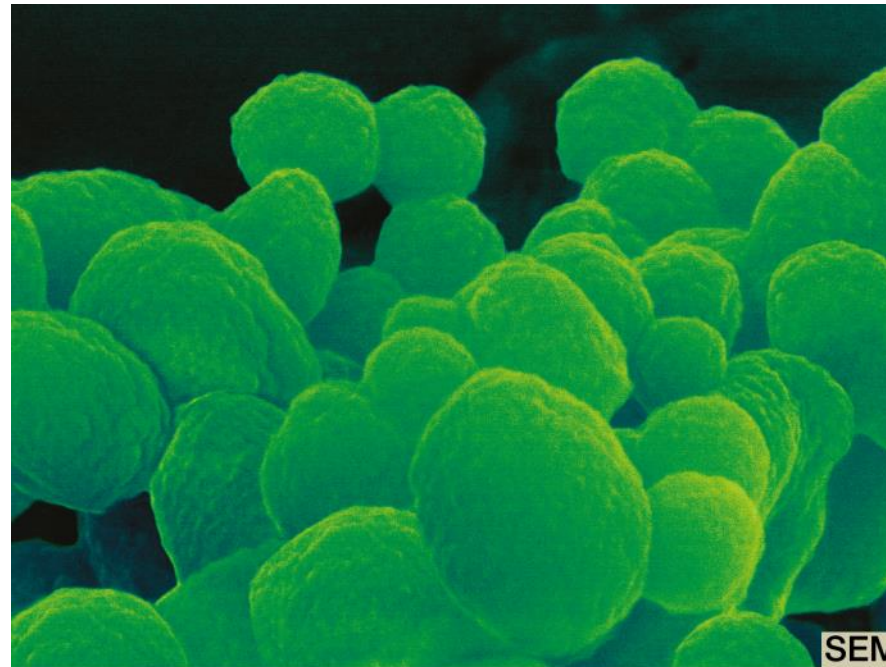
© James Cavallini/Photo Researchers, Inc.



Treponema pallidum

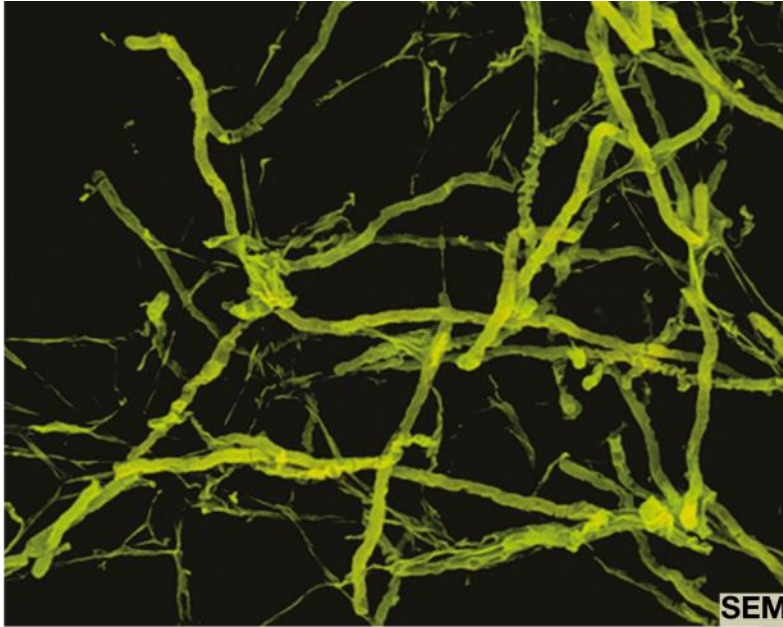
D. Gli spirilli sono a forma di spirale

FIGURA 2.1. Forme comuni di batteri. **A.** Presenti normalmente sulla pelle, le cellule di *Staphylococcus aureus* sono sferiche, come lo sono quelle di *Streptococcus pyogenes*, che possono causare infezioni lievi o gravi, tra cui la scarlattina. **B.** *Bacillus anthracis*, a forma di bastoncello, provoca l'antrace, mentre *Escherichia coli* è, in genere, associato all'intestino umano e non causa malattie. **C.** *Vibrio cholerae* è curvo e provoca il colera nell'uomo. **D.** I batteri a forma di spirale includono le spirochete come *Treponema pallidum*, che è la causa della sifilide.



© Dennis Kunkel Microscopy, Inc./Phototake

FIGURA 2.2. Micoplasmi pleomorfici. Questi batteri sono molto piccoli (circa un decimo delle dimensioni di *E. coli*). Non avendo parete, le cellule tendono ad avere una forma irregolare: alcuni sono sferici, altri allungati; le cellule possono aderire tra loro, ma i micoplasmi non sono multicellulari.



A. lfe



B. Tricomi

FIGURA 2.3. Arrangiamenti pluricellulari di batteri. Alcuni batteri hanno un'organizzazione più complessa e specifica. **A.** Una specie di *Streptomyces* che cresce con filamenti ramificati in modo irregolare, che possono formare una rete tridimensionale (micelio) nel suolo. **B.** Le cellule del cianobatterio *Spirulina* crescono in una lunga struttura (tricoma) liscia, non ramificata, circondata da una guaina.

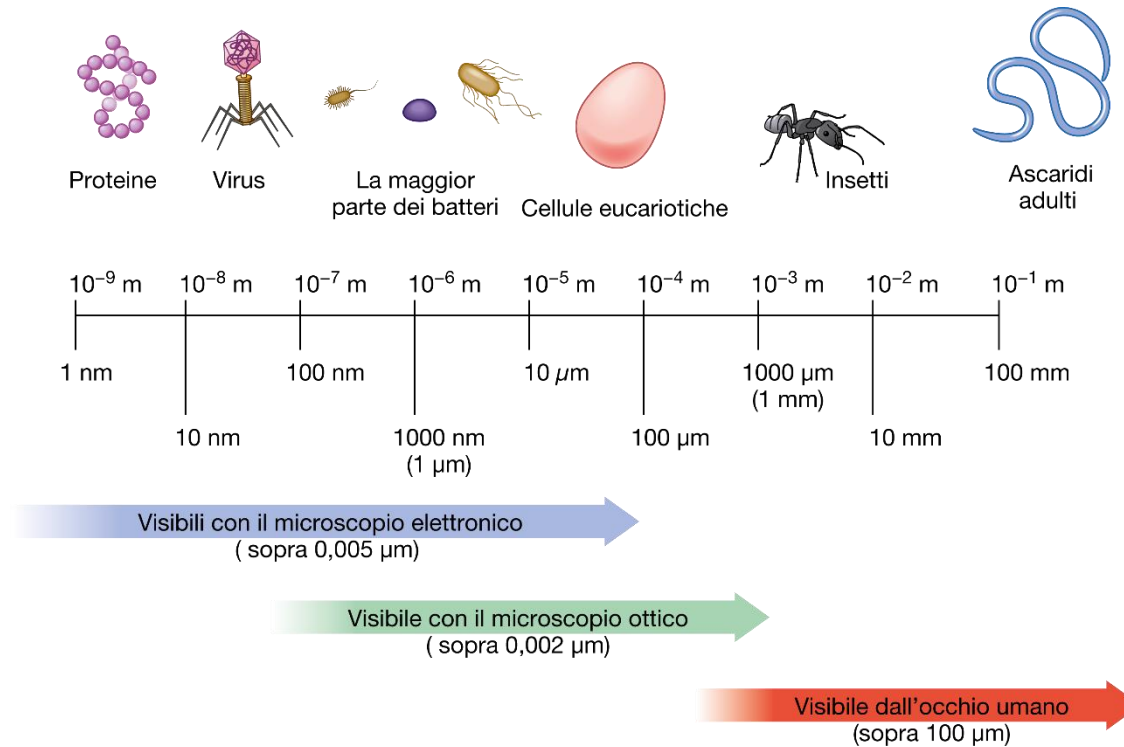
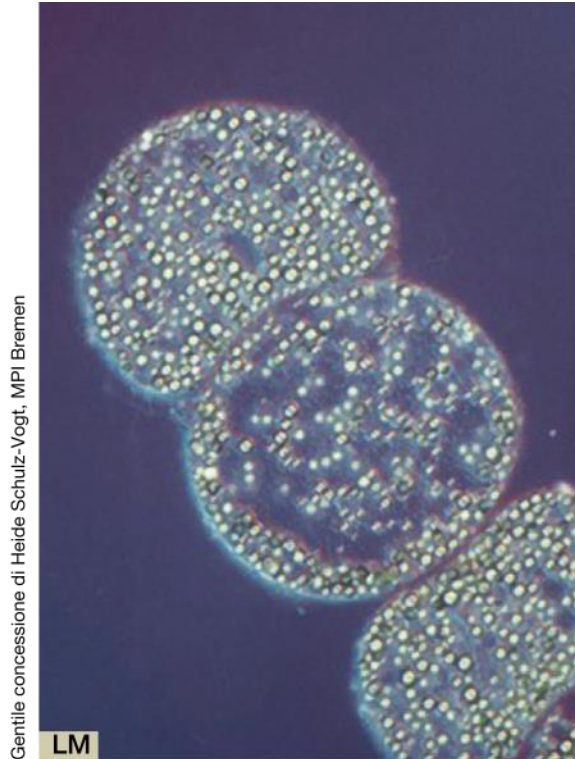


FIGURA 2.4. Dimensioni relative dei microbi. I batteri hanno dimensioni variabili, da 200 nm (0,2 μ m) a diverse centinaia di μ m, ma la grande maggioranza delle cellule batteriche individuali è compresa tra 0,5 e 5 μ m. A causa delle piccole dimensioni, la maggior parte dei batteri può essere vista solo con un microscopio. Gli oggetti devono avere circa 100 μ m di diametro o più, per essere visti a occhio nudo. NOTA: m = metri, mm = millimetri, μ m = micrometri, nm = nanometri.

Thiomargarita
magnifica può
raggiungere i 20 mm di
lunghezza!!



A. *Thiomargarita namibiensis*



B. *Epulopiscium fishelsoni*

© Esther R. Angert, Ph.D./Phototake

FIGURA 2.5. Giganti del mondo batterico. **A.** Le cellule di *Thiomargarita namibiensis* possono avere fino a 700 μm di diametro. Le cellule arrotondate, spesso piene di granuli di zolfo, sono quasi visibili a occhio nudo. **B.** *Epulopiscium fishelsoni*, a forma di sigaro, è così grande (200-700 μm \times 80 μm) che, quando è stato scoperto, da Avi Fishelsoni nel 1985, si credeva fosse un eucariote. Questo batterio gigante vive in simbiosi nell'intestino del pesce chirurgo. Le cellule figlie si formano all'interno della cellula parentale: un meccanismo di riproduzione raro per un batterio.

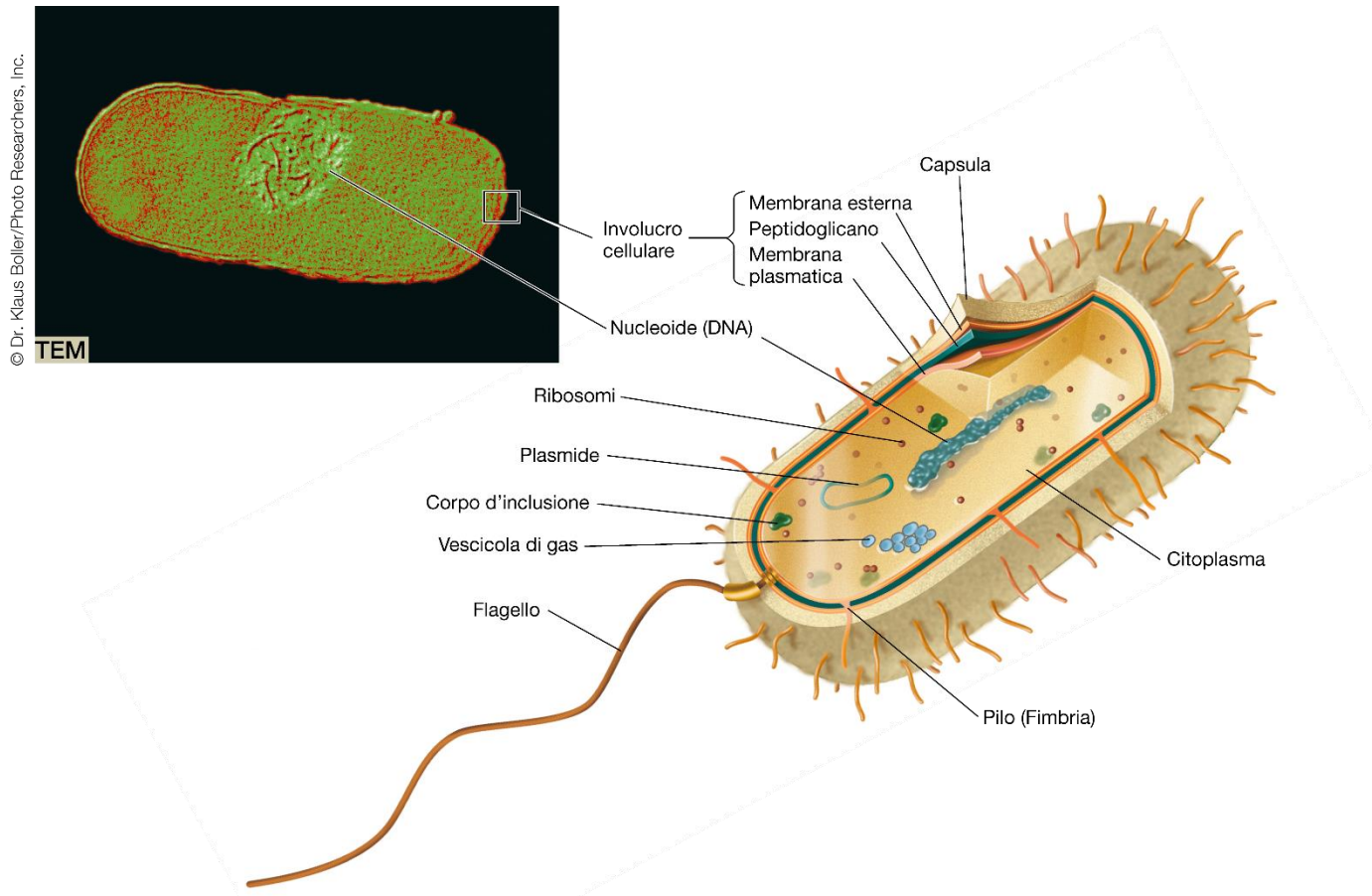


FIGURA 2.6. Strutture cellulari nei batteri. Questa immagine di *Escherichia coli* mostra il nucleoide e la membrana cellulare. Il disegno identifica queste e altre strutture batteriche, non necessariamente presenti in ogni specie. Il flagello e la capsula, per esempio, sono presenti in alcune specie e non in altre.

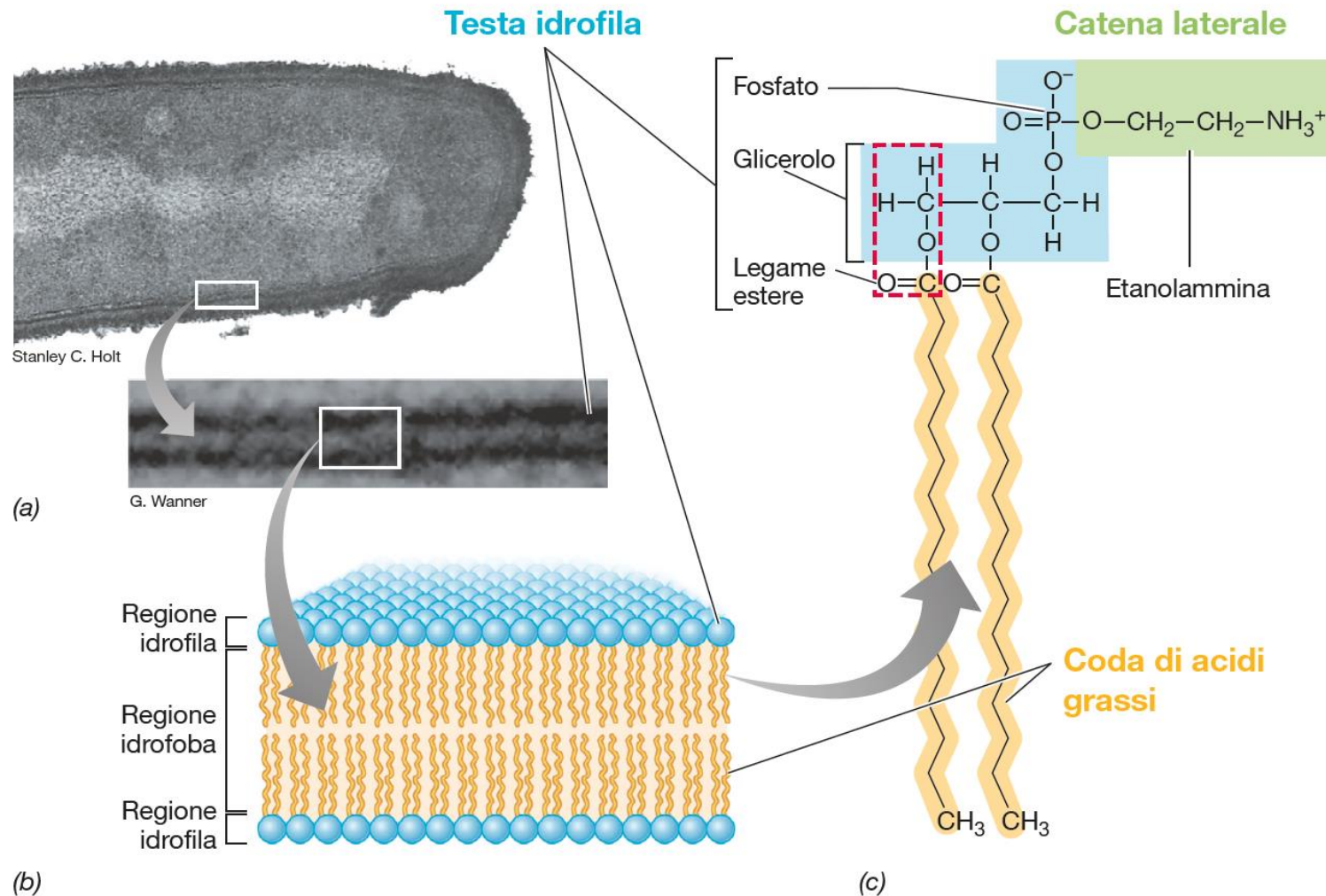


Figura 2.1 Membrana a doppio strato fosfolipidico.

(a) Micrografia elettronica a trasmissione di una cellula batterica con dettaglio della regione di membrana. (b) Architettura generale di una membrana a doppio strato; i fosfolipidi sono costituiti da una testa idrofila (sfere blu) e da code di acidi grassi (linee gialle). Le teste dei fosfolipidi del doppio strato sono visibili in a come linee

scure parallele, separate da una zona più chiara che corrisponde alla regione idrofoba della membrana. (c) Struttura del fosfolipide fosfatidiletanolamina. Ogni catena laterale di acidi grassi è legata alla testa mediante un legame estere (contornato da un riquadro tratteggiato in rosso); i legami di tipo estere sono una caratteristica distintiva dei lipidi dei *Bacteria* e degli *Eukarya*, ma non degli *Archaea*.

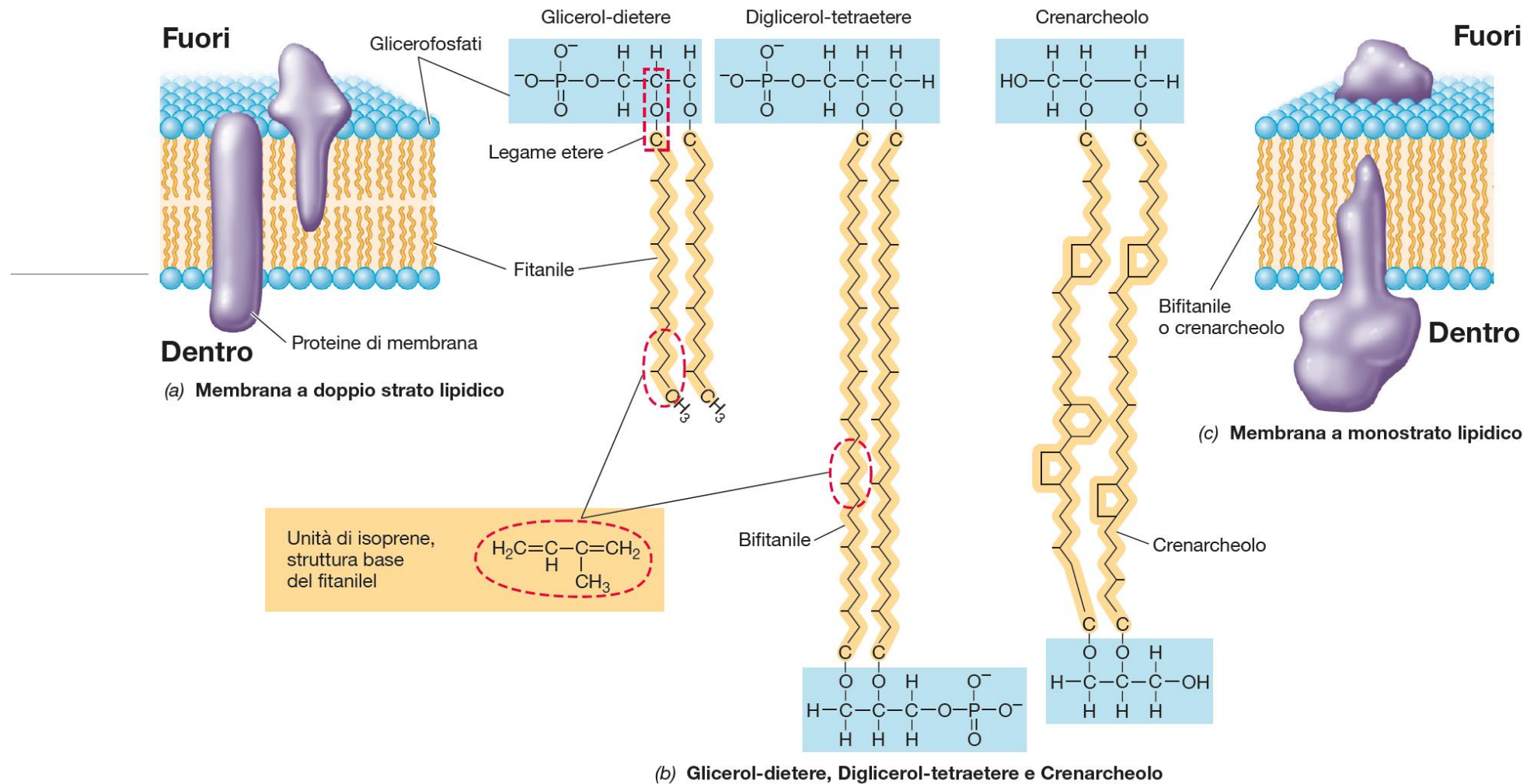
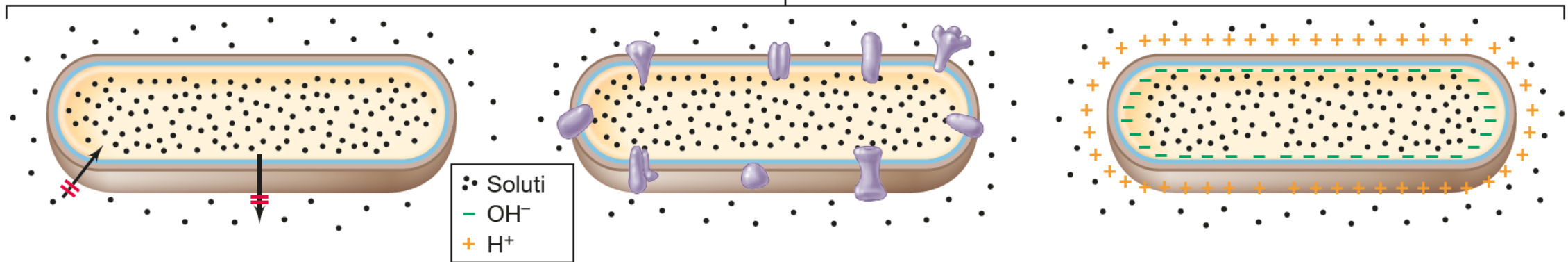


Figura 2.3 Principali lipidi e varietà di struttura delle membrane degli *Archaea*. (a, b) Gli *Archaea* possono presentare un doppio strato lipidico costituito da dieteri del fosfoglicerolo. Le regioni idrofobe dei lipidi degli *Archaea* consistono in catene fitaniliche formate da unità ripetute di isoprene (negli ovali tratteggiati di rosso), mentre i lipidi dei *Bacteria* e degli *Eukarya* hanno code composte da acidi grassi (Figura 2.1). Si noti che le catene isopreniche sono unite al glicerolo da un legame etere

(nel rettangolo tratteggiato). (b, c) Alcuni *Archaea* sono caratterizzati da un monostrato lipidico costituito da tetraeteri del difosfoglicerolo o da altri lipidi isoprenoidi, come il crenarceolo. I lipidi isoprenoidi in b sono il fitanile (C₂₀), il bifitanile (C₄₀) e il crenarceolo. Questi lipidi spesso contengono anelli a 5 e a 6 atomi di carbonio, come nel caso del crenarceolo. La struttura della membrana degli *Archaea* può essere a doppio strato o a monostrato lipidico (o una combinazione di entrambi i tipi).

Funzioni della membrana citoplasmatica



(a) **Barriera semipermeabile:**

Previene la dispersione di sostanze e funziona come una porta per il controllo del trasporto di nutrienti verso l'interno e di sostanze di scarto verso l'esterno della cellula.

(b) **Ancoraggio di proteine:**

Sito di ancoraggio di molte proteine coinvolte nel trasporto, nei processi di produzione di energia e nella chemiotassi.

(c) **Conservazione dell'energia:**

Sito a livello del quale si genera e viene utilizzata la forza proton-motrice.

Figura 2.4 Principali funzioni della membrana citoplasmatica. Nonostante sia fisicamente debole, la membrana citoplasmatica controlla almeno tre funzioni cellulari estremamente importanti: il mantenimento della permeabilità selettiva, l'ancoraggio di proteine catalitiche e la conservazione dell'energia.

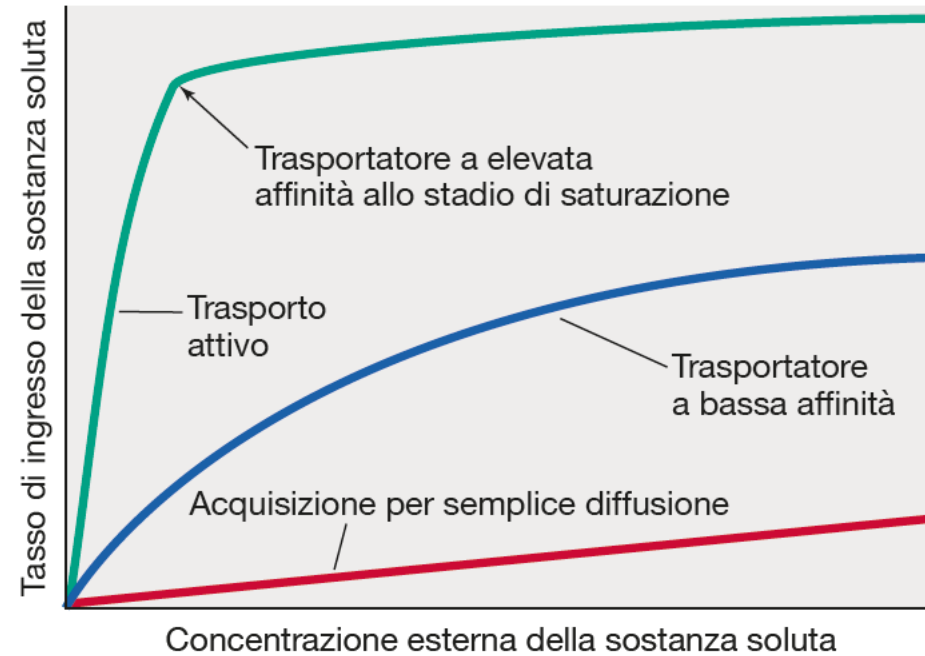


Figura 2.5 L'importanza del trasporto nell'ambito delle funzioni della membrana. In entrambi i tipi di trasporto, il tasso di acquisizione della sostanza nutriente raggiunge la saturazione in presenza di concentrazioni esterne di soluto relativamente basse. Il grafico illustra sia il trasporto a elevata affinità sia quello a bassa affinità.

Trasporto semplice (una singola proteina transmembrana)

Traslocazione di gruppo (più proteine coinvolte nel meccanismo di trasporto)

Trasporto tipo ABC (una proteina che lega il substrato, una proteina transmembrana, una proteina che idrolizza l'ATP=

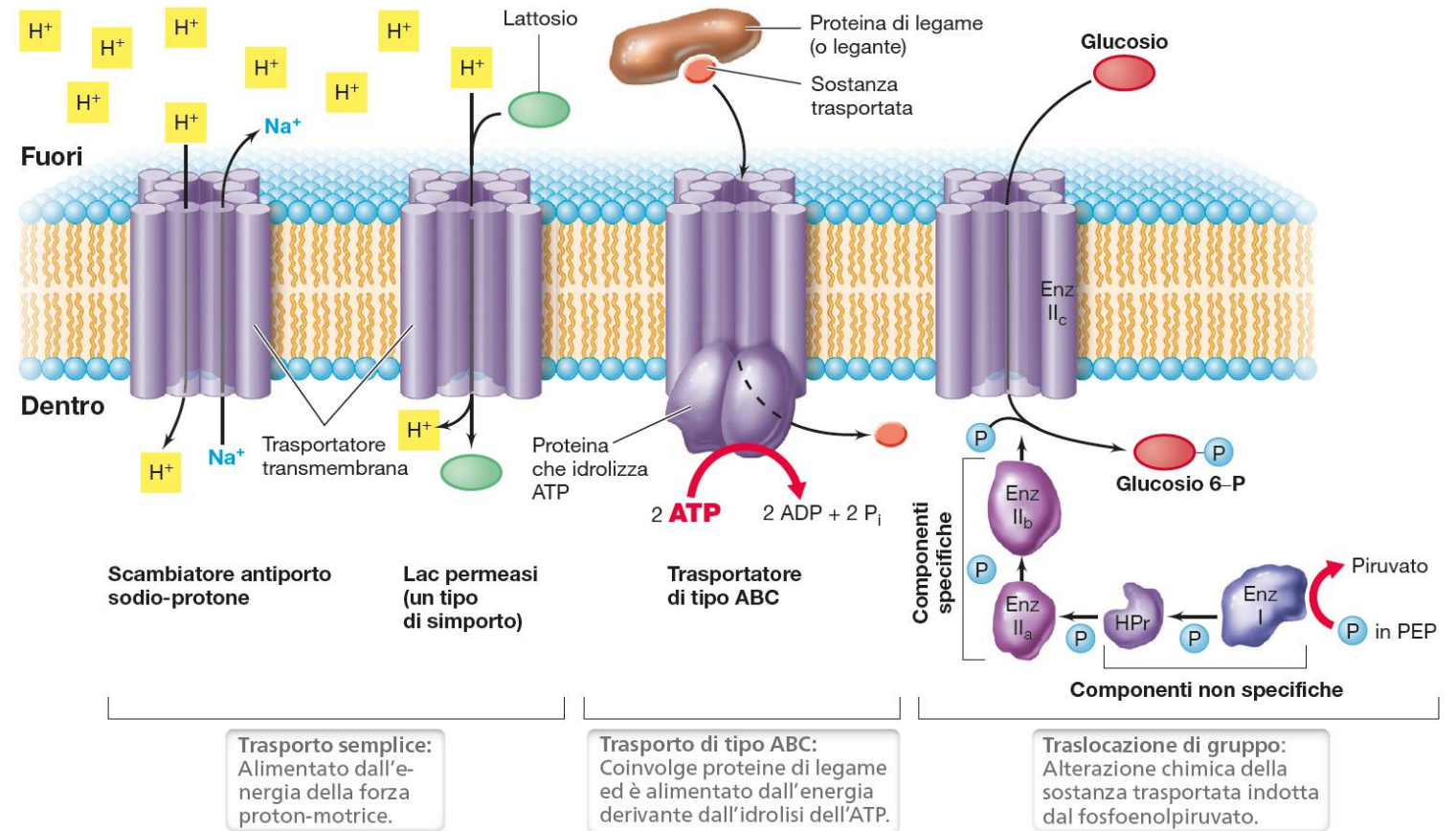


Figura 2.6 I tre sistemi di trasporto. I trasportatori transmembrana sono generalmente costituiti da un polipeptide che presenta 12 α eliche (ciascuna corrispondente a un cilindro nell'immagine) le quali si aggregano in modo da formare un canale che consente ai soluti di attraversare la membrana. Nel trasporto semplice, il movimento del soluto coincide con la dissipazione di un gradiente elettrochimico quale la forza proton-motrice. I trasportatori di tipo ABC constano di tre componenti: una proteina di legame con un'alta affinità per un determinato substrato, un canale costituito da proteine transmembrana e una proteina che idrolizza l'ATP nel citoplasma, fornendo così l'energia necessaria per alimentare il trasporto del substrato stesso. Nella traslocazione di gruppo, la sostanza trasportata viene modificata chimicamente

al momento dell'ingresso nella cellula. Per esempio, il sistema di traslocazione di gruppo relativo al trasporto del glucosio richiede cinque proteine: l'Enzima (Enz) I, gli Enzimi II_a, II_b e II_c, e la proteina Hpr. Il trasferimento sequenziale a cascata del fosfato avviene a partire dal fosfoenolpiruvato (PEP) per arrivare fino all'Enzima II_c. È quest'ultimo che trasporta e contemporaneamente fosforila lo zucchero. Le proteine HPr e Enz I non sono specifiche e sono coinvolte nel trasporto di qualsivoglia zucchero, mentre le componenti di Enz II sono specifiche per ogni singolo particolare zucchero. Si noti che i trasportatori semplici e il sistema di tipo ABC trasportano sostanze senza modificarle chimicamente, laddove la traslocazione di gruppo comporta la modificazione chimica (in questo caso la fosforilazione) della sostanza trasportata.

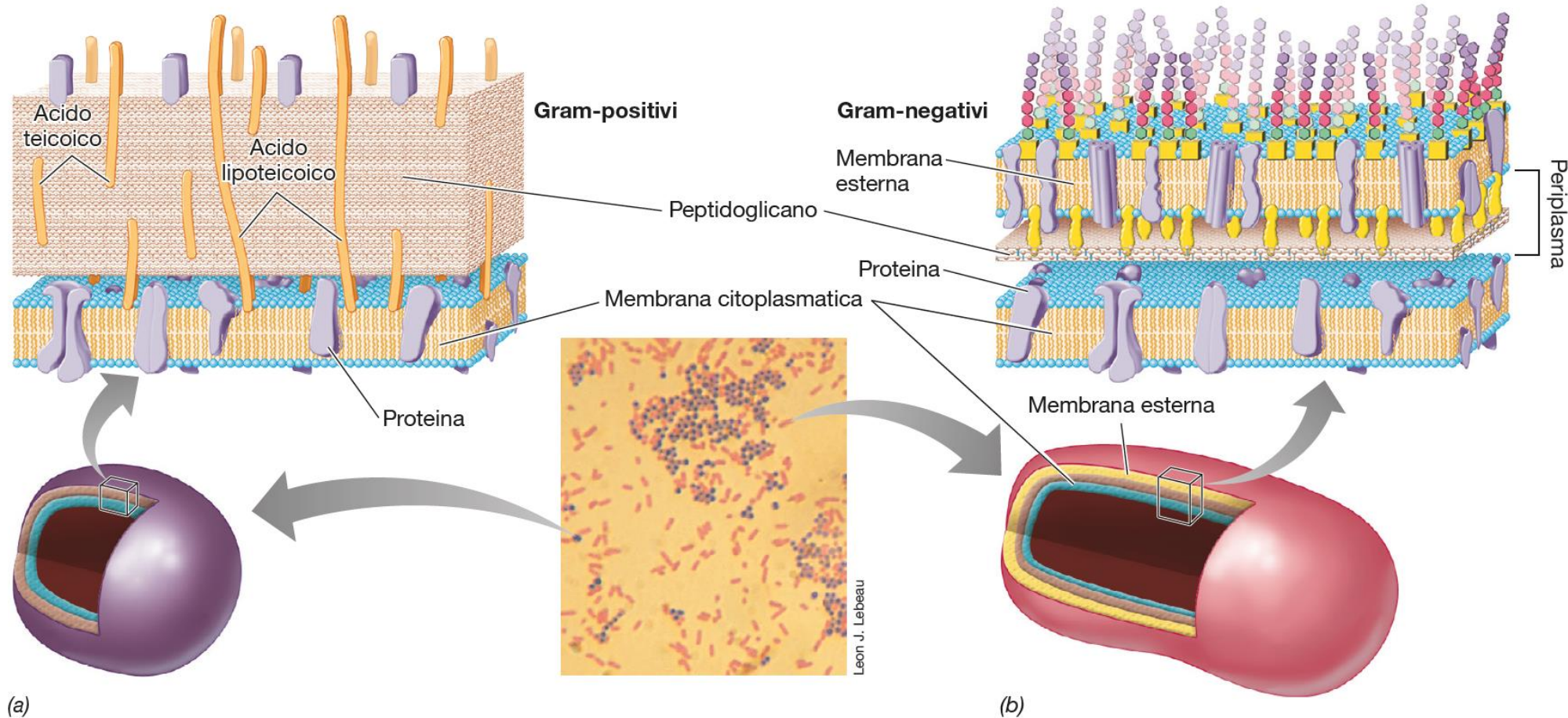
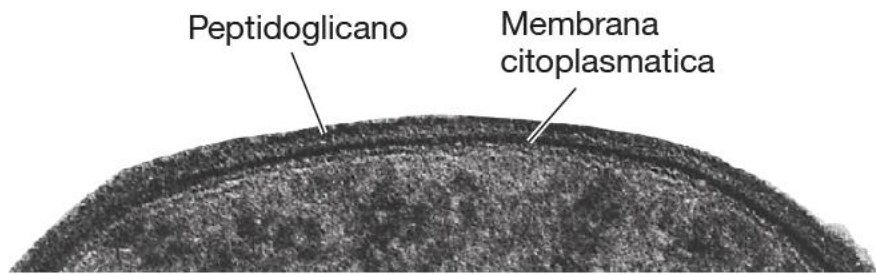


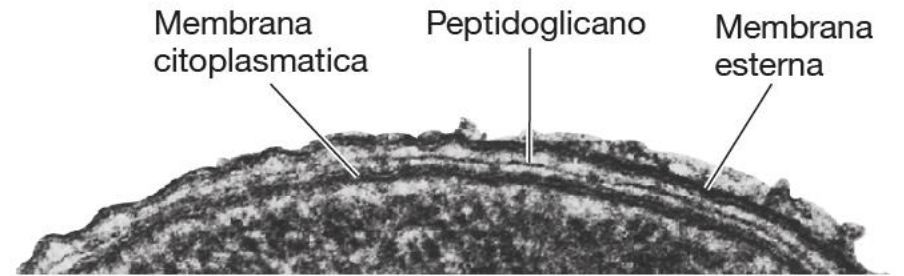
Figura 2.7 Gli involucri cellulari dei *Bacteria*. (a, b) Rappresentazione schematica degli involucri cellulari dei batteri gram-positivi e gram-negativi. La procedura di colorazione secondo il metodo di Gram è descritta al Paragrafo 1.8 e illustrata nella Figura 1.23. Al centro, la fotografia di batteri sottoposti alla colorazione di Gram mostra cellule di *Staphylococcus aureus* (in viola, gram-positivo) e di *Escherichia coli* (in rosa, gram-negativo). (c, d) Micrografie elettroniche a trasmissione che mostrano rispettivamente la parete cellulare di un batterio gram-positivo e quella di un batterio gram-negativo. (e, f) Micrografie elettroniche a scansione rispettivamente di un batterio gram-positivo e di un batterio gram-negativo. Si notino le differenze nella trama superficiale. Ciascuna cellula è larga circa 1 μm .

(segue)

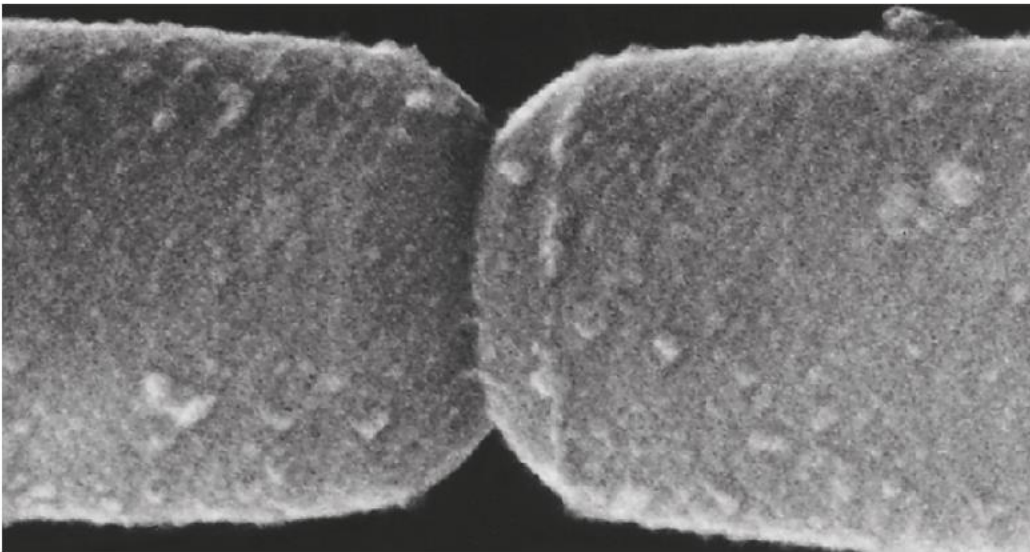
(continua)



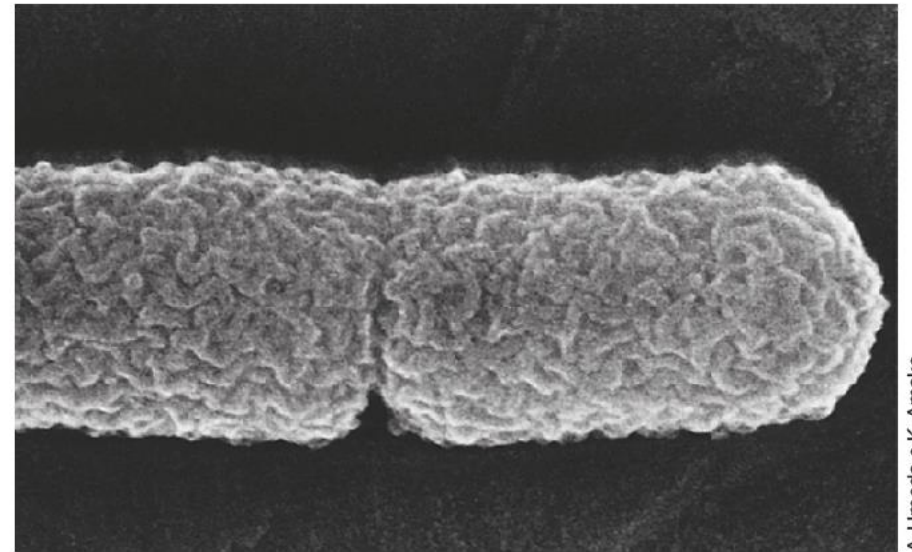
(c)



(d)



(e)



(f)

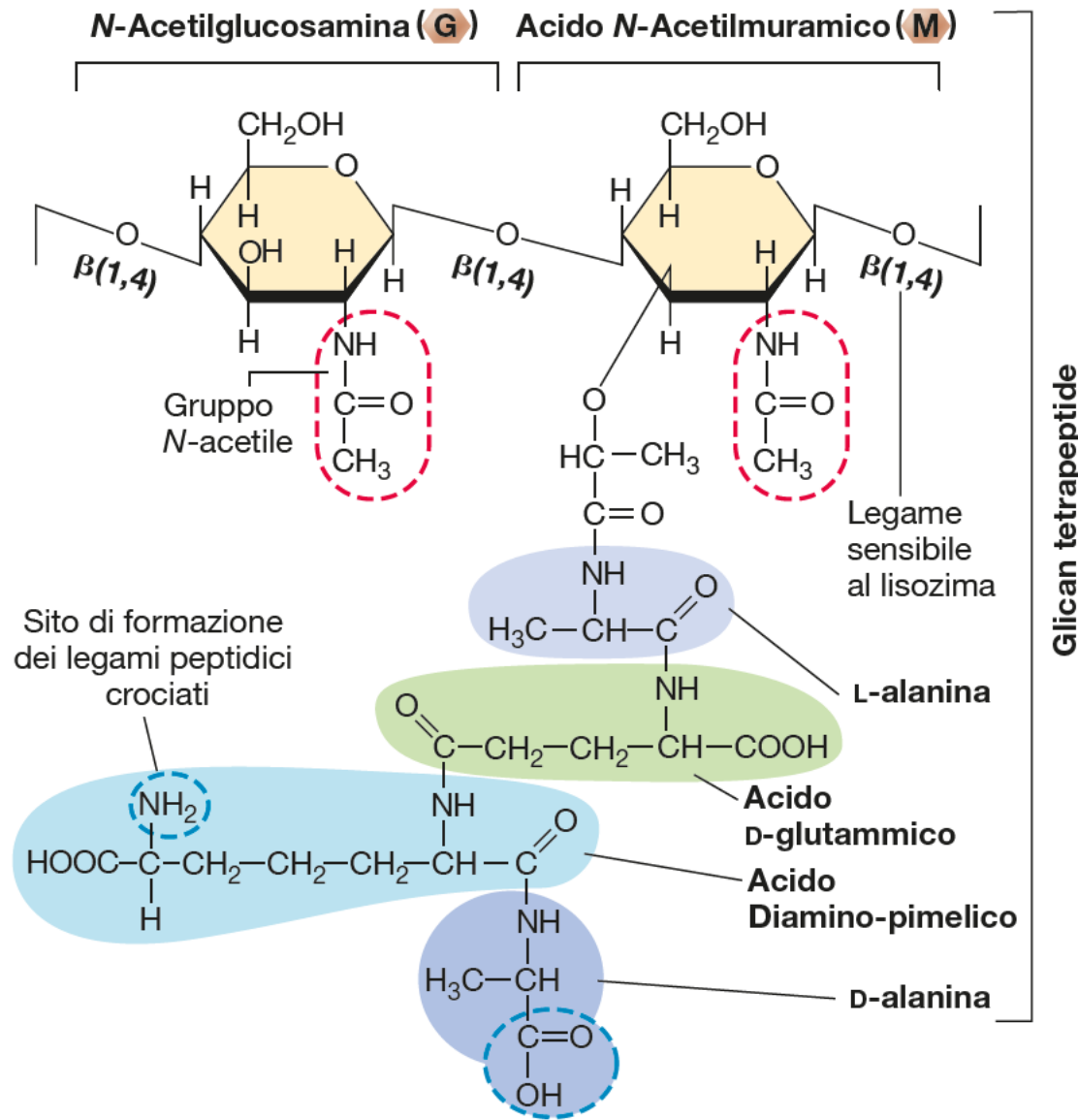


Figura 2.8 Struttura del glican-tetrapeptide, l'unità ripetitiva del peptidoglicano. L'immagine illustra la struttura del peptidoglicano presente in *Escherichia coli* e nella maggior parte dei *Bacteria* gram-negativi. I legami crociati possono formarsi tra le catene laterali peptidiche adiacenti, in corrispondenza dei residui aminoacidici aventi gruppi aminici e carbossilici liberi (cerchiati in blu). Per esempio, i legami crociati in *E. coli* intercorrono perlopiù tra il gruppo aminico dell'acido diaminopimelico presente su un peptide e il gruppo carbossilico terminale della D-alanina presente su un altro peptide.

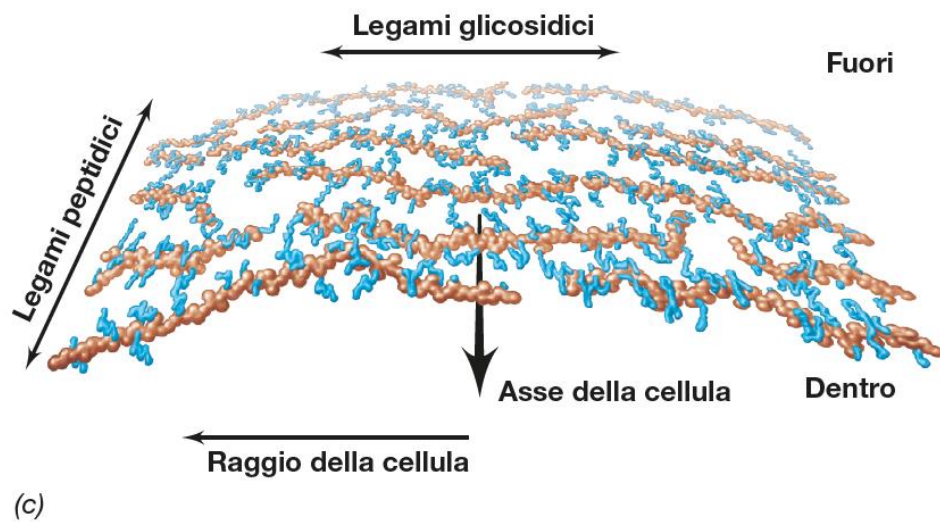
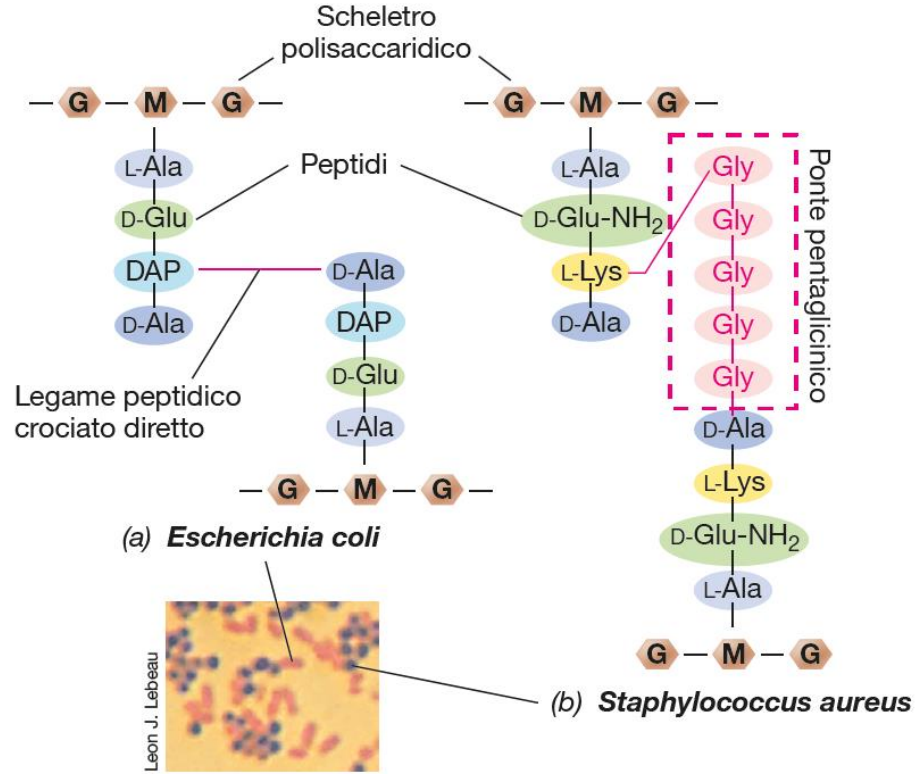


Figura 2.9 Struttura del peptidoglicano nell'ambito della parete cellulare. (a) Le cellule gram-negative dotate di pareti cellulari sottili, come quella di *E. coli*, formano per lo più legami crociati diretti tra le catene peptidiche laterali. (b) Le cellule gram-positive dotate di pareti cellulari spesse, come quella di *S. aureus*, possono anche presentare ponti peptidici intercalari che si estendono tra catene peptidiche laterali unite da legami crociati. (c) Conformazione del peptidoglicano nella parete cellulare gram-negativa. G: *N*-acetilglucosamina; M: acido *N*-acetilmuramico. Si noti come i legami glicosidici conferiscano robustezza al peptidoglicano lungo l'arco della circonferenza della cellula, laddove i legami peptidici conferiscano invece robustezza lungo l'asse della cellula stessa.

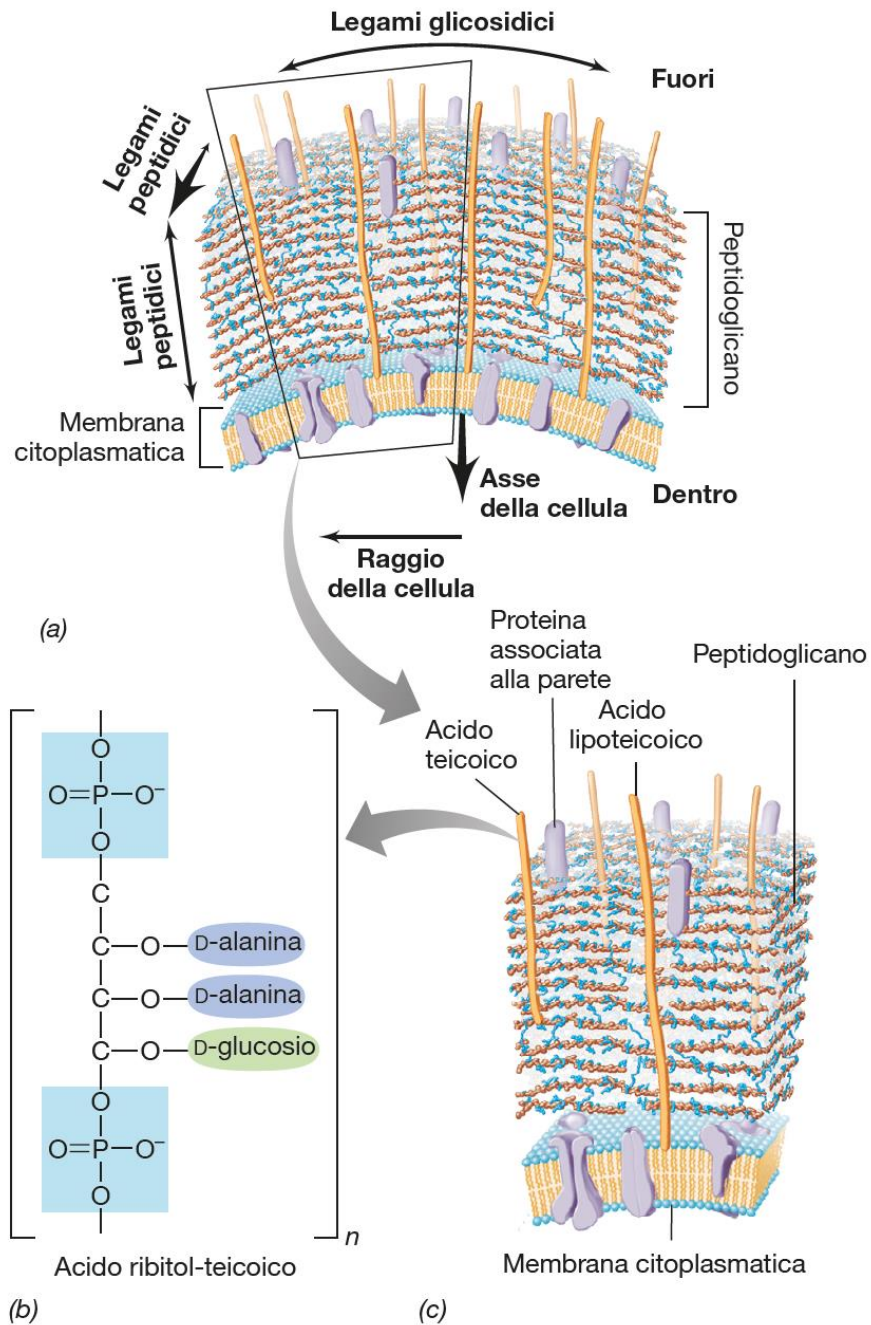


Figura 2.10 **Struttura della parete cellulare dei batteri gram-positivi.** (a) Rappresentazione schematica della parete di una cellula gram-positiva mostrante l'architettura interna del peptidoglicano e delle interazioni di questo con gli acidi teicoici. I legami peptidici crociati si formano tra filamenti di peptidoglicano adiacenti sia in orizzontale sia in verticale. Il peptidoglicano può formare tuttavia anche legami covalenti con gli acidi teicoici. (b) Struttura di un acido ribitol-teicoico. L'acido teicoico è di fatto un polimero composto dalla ripetizione di unità di ribitolo come quella qui raffigurata. (c) Schema riassuntivo dell'organizzazione della parete cellulare dei batteri gram-positivi. Gli acidi lipoteicoici in pratica ancorano la parete cellulare alla membrana cellulare.

L'involucro cellulare negli archeobatteri

I lipidi di membrana sono eteri del glicerolo (glicerol-dietero, diglicerol-tetraetero) e possono contenere lipidi isoprenoidi come il creanarcheolo (contiene anelli aromatici)

La membrana puo' essere composta da un singolo o da un doppio strato o da una combinazione di questi

Manca il peptidoglicano e la membrana esterna, presente strato S nella parete cellulare → Guscio proteico che previene la lisi osmotica

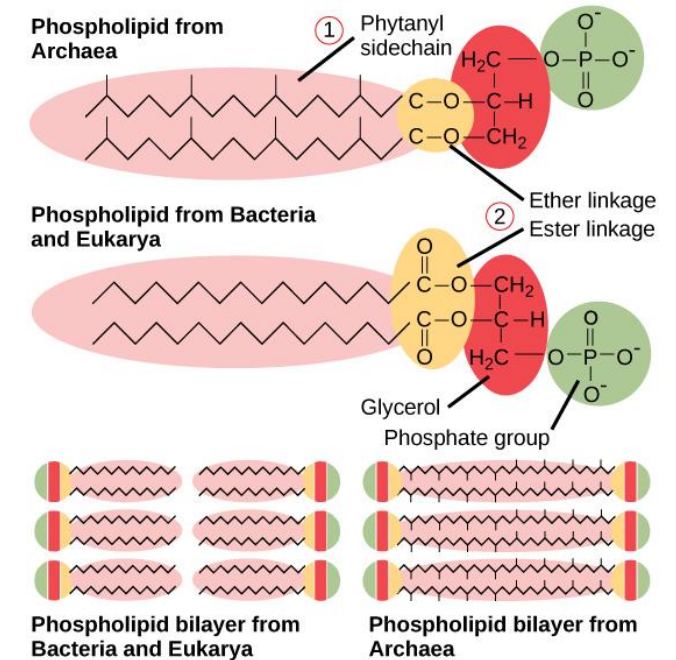
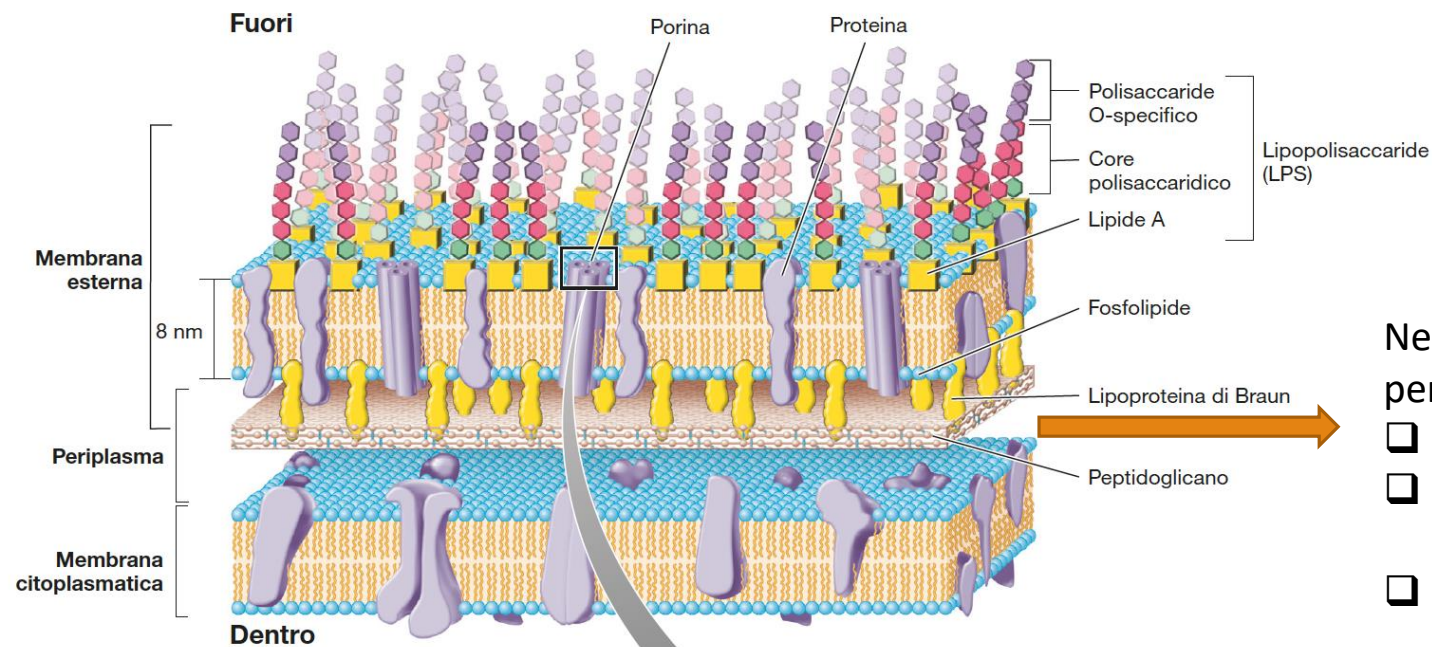


Figure 22.15 Bacterial and archaeal phospholipids. Archaeal phospholipids differ from those found in Bacteria and Eukarya in two ways. First, they have branched phytanyl sidechains instead of linear ones. Second, an ether bond instead of an ester bond connects the lipid to the glycerol.

Strutture esterne dell'involucro cellulare

L'involucro delle cellule procariotiche può essere rivestito da ulteriori strutture di natura lipopolisaccaridica o proteica che conferiscono alle cellule microbiche particolari caratteristiche fisiologiche

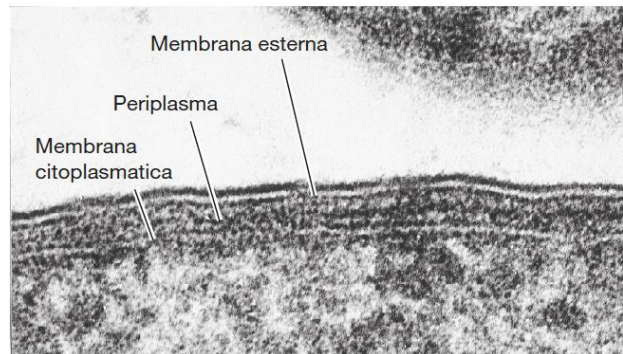
- ❑ Lipopolisaccaride (batteri Gram negativi): media il riconoscimento delle superfici di adesione, è un fattore di virulenza per alcune specie (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Shigella spp*) e contribuisce alla resistenza meccanica della cellula.
- ❑ Lo strato S (in molti batteri e quasi tutti gli archeobatteri): formato da proteine e/o glicoproteine che formano delle «piastrelle» autoassemblanti a struttura esagonale, tetragonale o trimerica che si ripetono. Conferisce resistenza cellulare, funge da setaccio per il passaggio di molecole verso la membrana citoplasmatica, forma un compartimento che ha funzione simile a quello dello spazio periplasmatico presente nei batteri Gram negativi, media le interazioni tra le cellule e le superfici (fattore di virulenza)



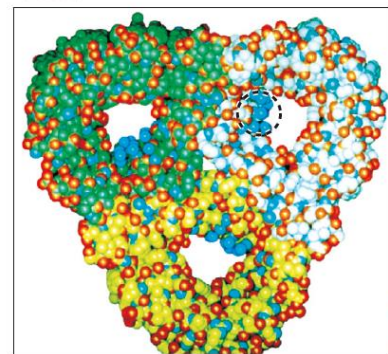
Nei batteri Gram-negativi, lo spazio periplasmatico contiene:

- Enzimi idrolitici (digestione polimeri)
- Proteine di trasporto (legano substrati destinati ad entrare nella cellula)
- Chemiorecettori (coinvolti nella risposta chemiotattica)

(a)



(b)

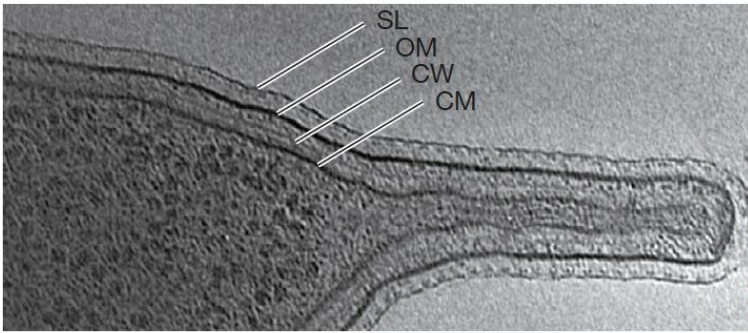


(c)

Presenti nella membrana esterna, mediano il trasporto di molecole di natura idrofila

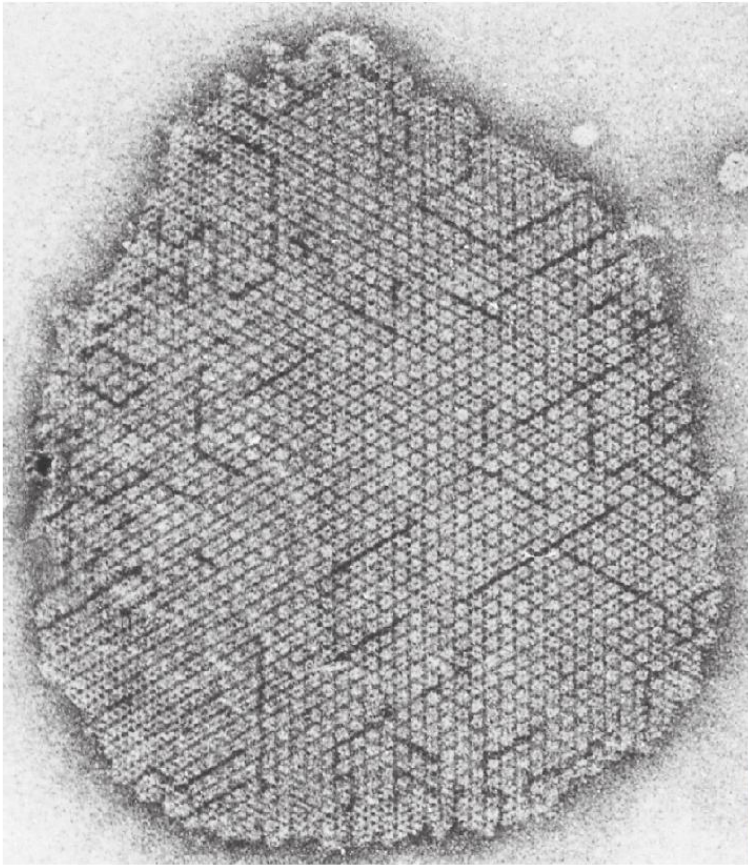
Figura 2.12 L'involucro cellulare dei batteri gram-negativi. (a) Disposizione del lipopolisaccaride, del lipide A, dei fosfolipidi, delle porine e della lipoproteina di Braun nell'ambito della membrana esterna. Si veda la Figura 2.13 per i dettagli relativi alla struttura dell'LPS. (b) Micrografia elettronica a trasmissione di una cellula di *Escherichia coli* in cui sono mostrate la membrana

citoplasmatica e la parete, con interposto il periplasma. (c) Modello molecolare delle porine con i pori che consentono il trasporto dei soluti attraverso la membrana esterna. La porina raffigurata è vista perpendicolarmente al piano della membrana. Il cerchietto nero tratteggiato evidenzia alcuni degli aminoacidi idrofili che rivestono l'interno del poro.



Tanmay A.M. Bharat

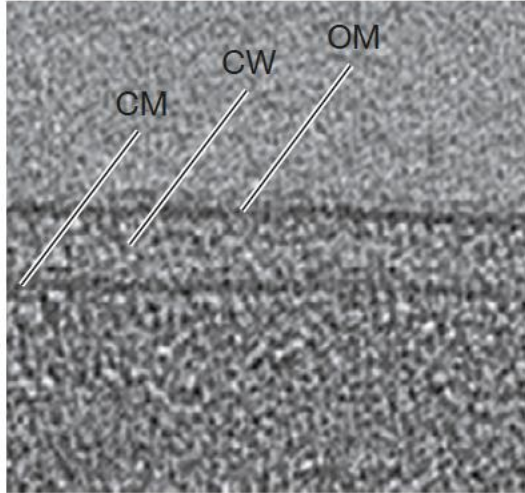
(a) Involucro cellulare di *Caulobacter crescentus*



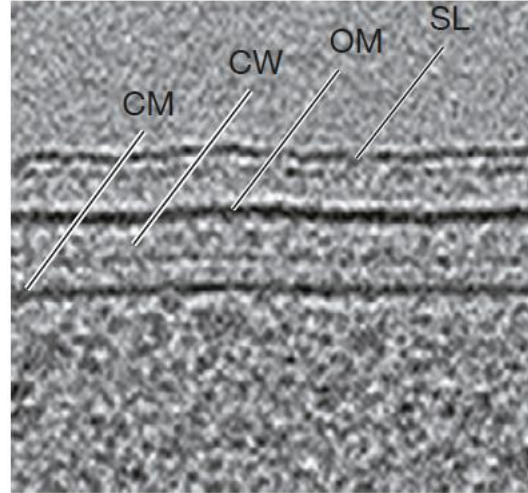
Susan F. Koval

(b) Frammento dello strato S in *Aquaspirillum*

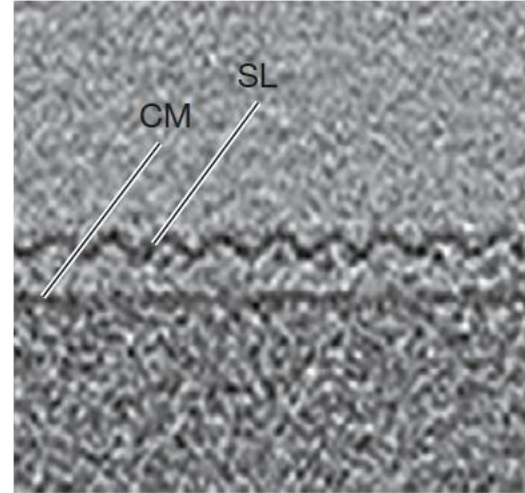
Figura 2.14 Strato S. (a) Lo strato S (SL), la membrana esterna (OM), la parete cellulare di peptidoglicano (CW) e la membrana citoplasmatica (CM) sono chiaramente visibili in questa tomografia elettronica di una sezione cellulare di *Caulobacter crescentus*, batterio peduncolato con un involucro cellulare gram-negativo e uno strato S esterno. (b) Micrografia elettronica a trasmissione di una porzione di strato S prelevato dal batterio *Aquaspirillum*, appiattita per mostrare la natura paracristallina e la simmetria esagonale dello strato S. Il peduncolo in a ha un diametro esterno di circa 150 nm e le due immagini sono rese nella stessa scala.



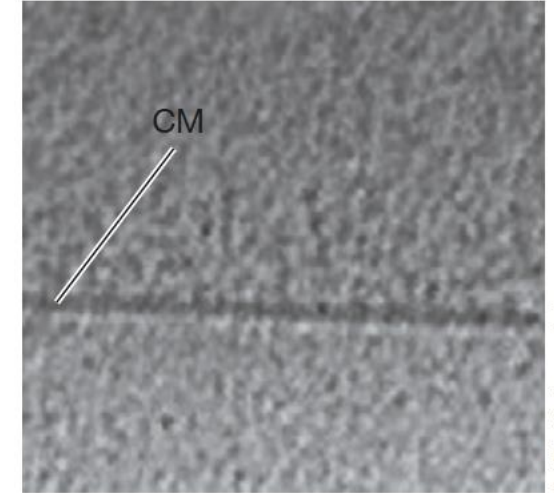
Y.-W. Yang, G. Jensen Lab



Q. Yao, G. Jensen Lab



R. Ramdasi, G. Jensen Lab



J. Shi, G. Jensen Lab

(a) *Vibrio cholerae*

(b) *Caulobacter crescentus*

(c) *Nitrosopumilus maritimus*

(d) *Mycoplasma pneumoniae*

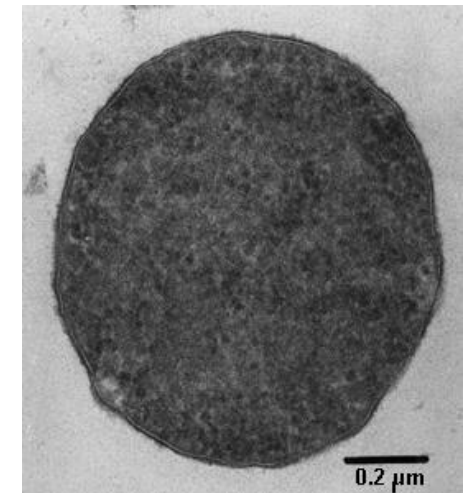
Figura 2.15 Possibili varianti della struttura dell'involucro cellulare. Le strutture dell'involucro cellulare, tra cui la membrana citoplasmatica (CM), la parete cellulare (CW), la membrana esterna (OM) e lo strato S (SL), sono comuni sia nei *Bacteria* sia negli *Archaea*. (a) *Vibrio cholerae* ha un classico involucro cellulare batterico gram-negativo. (b) *Caulobacter crescentus* è un batterio con un involucro gram-negativo e uno strato S (si veda anche la Figura 2.14a). (c) *Nitrosopumilus maritimus* ha un involucro cellulare assai tipico negli *Archaea*, contenente una membrana citoplasmatica e uno strato S. (d) *Mycoplasma pneumoniae* è un

batterio patogeno il cui involucro cellulare è costituito solo da una membrana citoplasmatica. Anche se gli strati S sono tipicamente composti da uno strato di proteine o glicoproteine paracristalline (si veda anche la Figura 2.14b), la loro struttura molecolare può variare in modo considerevole (si confrontino gli strati S in b e c). Tutte le immagini sono tomografie elettroniche a trasmissione, ottenute con l'ausilio di uno speciale microscopico elettronico a trasmissione in grado di inviare elettroni attraverso un campione da diverse angolazioni e poi ricomporre le immagini ottenute per formare un'unica visualizzazione finale tridimensionale.

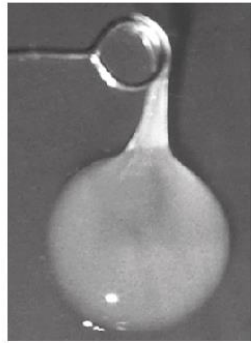
La parete cellulare è assente in *Thermoplasma* (Archea) ed alcuni batteri patogeni in grado di crescere all'interno della cellula ospite, come i micoplasmi i quali non hanno necessità di contrastare la pressione osmotica in quanto vivono e riproducono in ambiente isosmotico.

L'assenza del peptidoglicano sembra permettere ai micoplasmi di eludere le difese dell'organismo ospite.

Thermoplasma is a thermophile, meaning that it grows best in hot environments, usually between 55 and 60 degrees Celsius. This genus is most famous for its acidophilia, preferring pH range of 0.5-4. *Thermoplasma* cells lyse at a neutral pH. It has plasma membranes which consists of diether and tetraether lipids(Microbewiki)

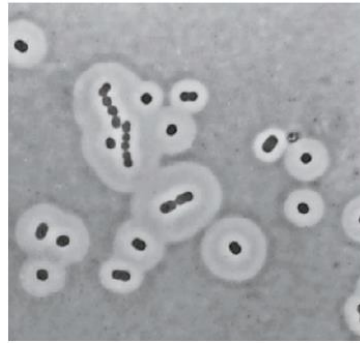


Da Microbewiki



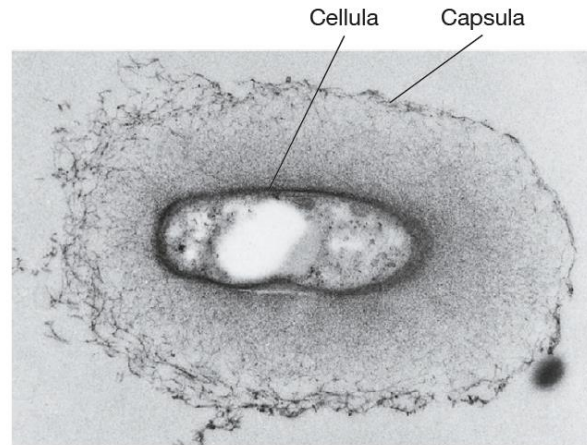
T.D. Brock

(a)



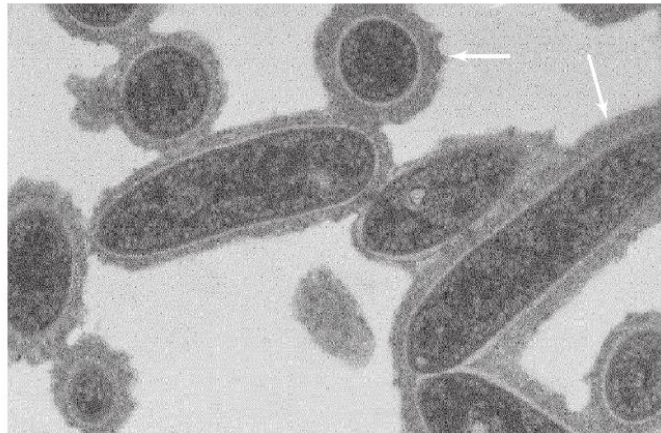
Elliott Juni

(b)



Frank Dazzo e Richard Heinzen

(d)



M.T. Madigan

(c)

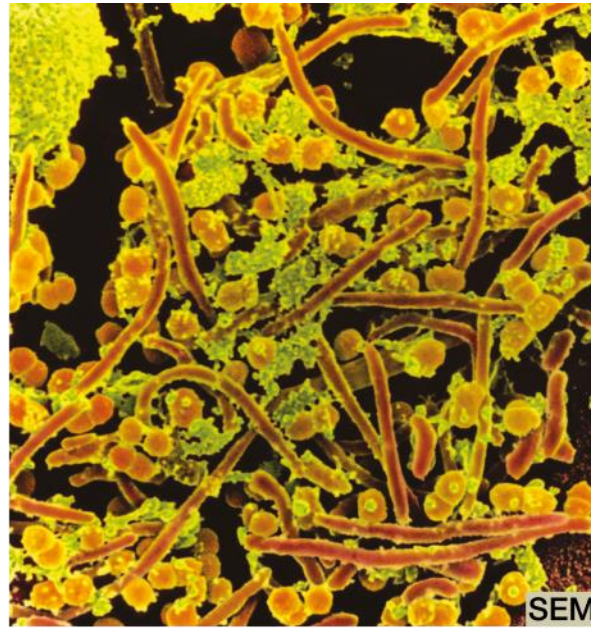
Figura 2.16 Capsule batteriche e strati mucosi. (a) Colonia semisolido del batterio *Leuconostoc mesenteroides* (prelevata con un'ansa da inoculo) caratterizzata dalla presenza di uno spesso strato mucoso di destrano (polimero del glucosio) prodotto dalle cellule. (b) Capsule della specie *Acinetobacter* osservate al microscopio a contrasto di fase dopo colorazione negativa delle cellule con inchiostro di china. L'inchiostro di china non penetra nella capsula, pertanto questa appare come un'area chiara che circonda la cellula, la quale invece appare nera. (c) Micrografia elettronica a trasmissione di una sezione sottile di cellule di *Rhodobacter capsulatus* con capsule ben evidenti (freccie). Il diametro delle cellule è di circa 0,9 μm . (d) Micrografia elettronica a trasmissione di *Rhizobium trifolii* colorato con rosso rutenio per evidenziare la capsula. Il diametro della cellula è di circa 0,7 μm .

Le capsule e gli strati mucosi svolgono un ruolo fondamentale nella sopravvivenza a stress ed aggressioni ambientali (essiccazione).

In microorganismi patogeni costituiscono un fattore di virulenza.

Costituiscono una parte di fondamentale importanza dei biofilm microbici (EPS – Extracellular Polimeric Substance)

© Steve Gschmeissner/Photo Researchers, Inc.



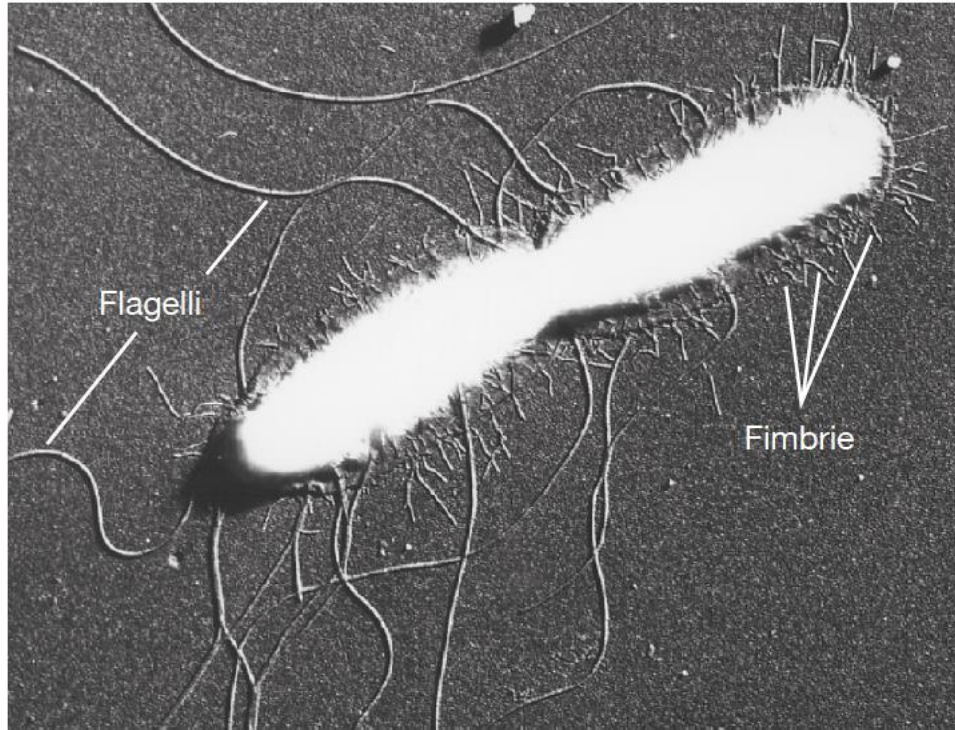
A. Biofilm su dente umano



B. Biofilm su spazzolino da denti

© Steve Gschmeissner/Photo Researchers, Inc.

FIGURA 2.35. Biofilm. Queste immagini, ricolorate, mostrano il biofilm microbico **A.** sulla superficie di un dente umano e **B.** sulle setole di uno spazzolino. Da notare la varietà di dimensioni delle cellule e le morfologie differenti. All'interno della bocca, la placca sarebbe coperta da uno strato di polisaccaride e altro materiale, ma la matrice si disidratata durante la preparazione per la microscopia e qui non è visibile.

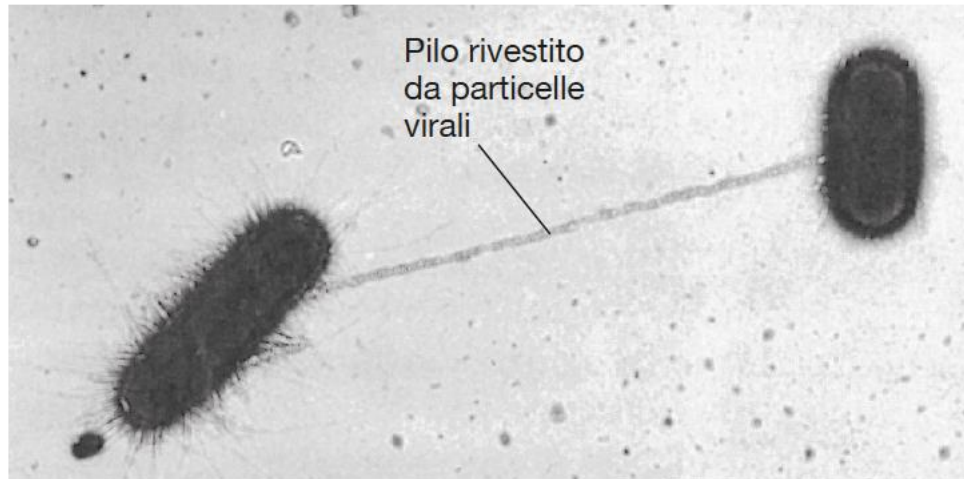


J.P. Duguid e J.F. Wilkinson

Figura 2.17 Fimbrie. Micrografia elettronica di una cellula di *Salmonella enterica (typhi)* in divisione, dotata di flagelli e fimbrie. Ogni cellula ha un diametro di circa $0,9 \mu\text{m}$.

Pili: strutture filamentose dal diametro compreso tra 2 e $10 \mu\text{m}$. Comprendono:

- ❑ Fimbrie: strutture che permettono ai batteri di aderire alle superfici, anche di altre cellule (fattore di virulenza)
- ❑ Pili sessuali o coniugativi: mediano lo scambio di materiale genetico tra cellule batteriche
- ❑ Nanowires o pili conduttori di elettricità: possono traslocare elettroni in ingresso o in uscita da una cellula (importanti per metabolismo energetico)
- ❑ Pili di Tipo IV: permettono la motilità a scatti che a sua volta consente ai batteri di «trascinarsi» sulle superfici). Necessita idrolisi di ATP
- ❑ *hami*: presenti nell'archeobatterio SM1 è una vera e propria struttura di ancoraggio alle particelle di suolo.



Charles C. Brinton, Jr. e Judith Carnahan

Figura 2.18 Pili. Pilo estendentesi da una cellula di *Escherichia coli* in fase di coniugazione. Le cellule hanno un diametro di circa $0,8 \mu\text{m}$. La visibilità del pilo in questa micrografia elettronica è accentuata in ragione del fatto che il pilo è rivestito da particelle virali in grado di legarsi alla proteina pilina.

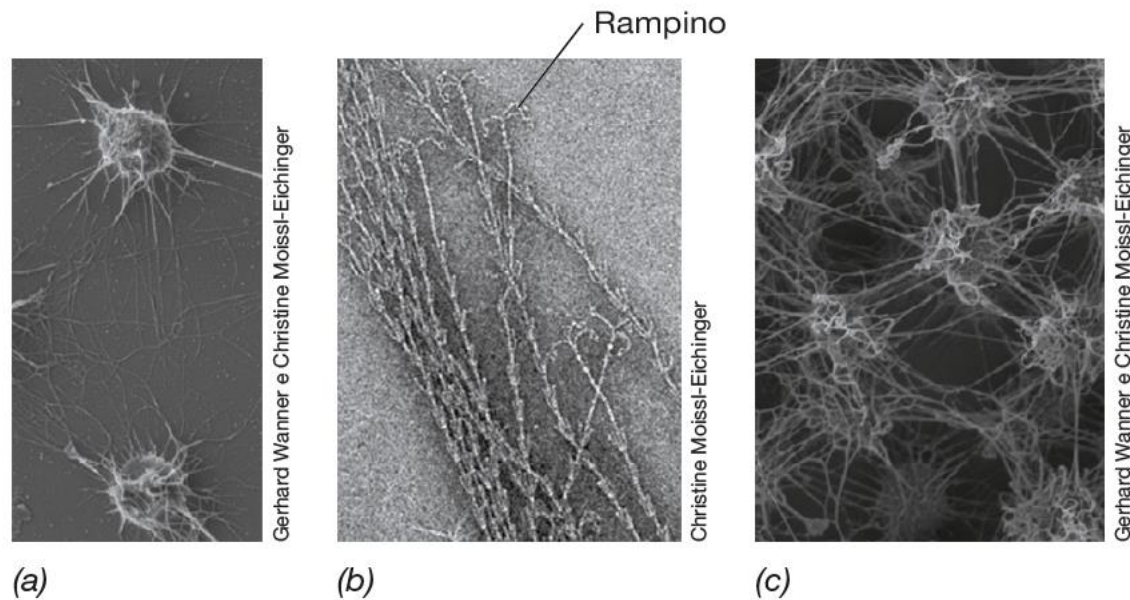


Figura 2.19 Strutture affatto particolari per l'adesione cellulare ricorrenti nell'ambito del gruppo SM1 degli *Archaea*: gli *hami*.

(a) Cellule di *Archaea* SM1 dotate di *hami*, strutture superficiali simili a pili. (b) Micrografia elettronica a trasmissione di *hami* isolati. Il "rampino" di un *hamus* (indicato nell'immagine) ha un diametro di circa 60 nm. (c) In questo biofilm di cellule di *Archaea* SM1 è visibile la rete di *hami* che interconnettono le singole cellule.

SM1 vive nelle acque sotterranee, povere di nutrienti. Gli hami impediscono alle cellule di essere spazzate via dall'acqua, promuovono la formazione di biofilm che rappresenterebbero una strategia di adattamento per incrementare l'assorbimento di sostanza nutritive dall'ambiente circostante.

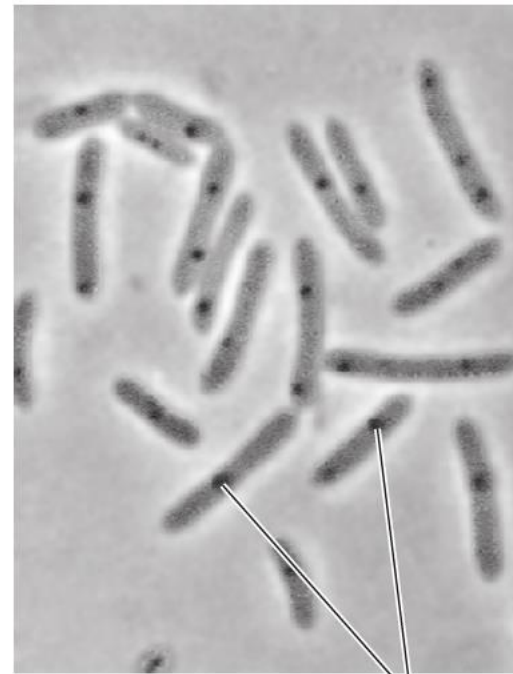
Inclusioni cellulari

Le cellule procariotiche contengono spesso inclusioni costituite da materiale che funge da riserva di energia e di elementi nutritivi. Tali inclusioni si formano in presenza di eccesso di nutrienti.

Sono tuttavia presenti anche inclusioni che conferiscono alle cellule delle proprietà particolari alle cellule, per esempio la resistenza allo stress osmotico.

Sono inclusioni cellulari:

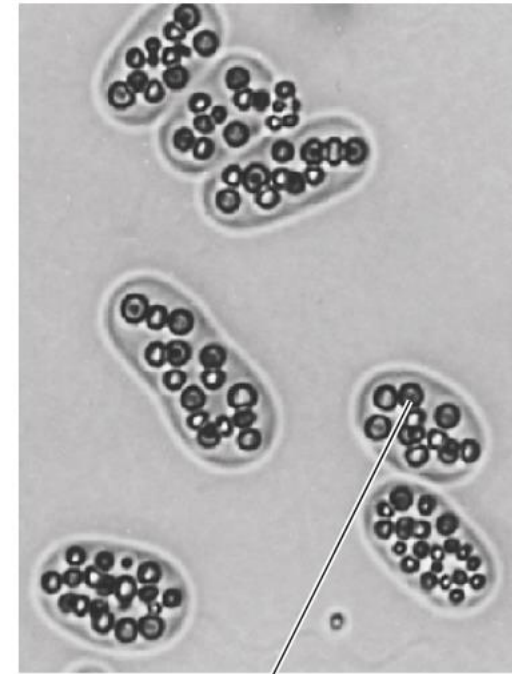
- granuli di polimeri carboniosi quali poli- β -idrossibutirrato (PHB) e di glicogeno
- granuli di polifosfato, zolfo (batteri zolfo-ossidanti) e carbonati (cianobatteri)
- Vescicole gassose
- Magnetosomi (magnetite o greigite)



M.T. Madigan

Polifosfato

(a)



Norbert Pfennig

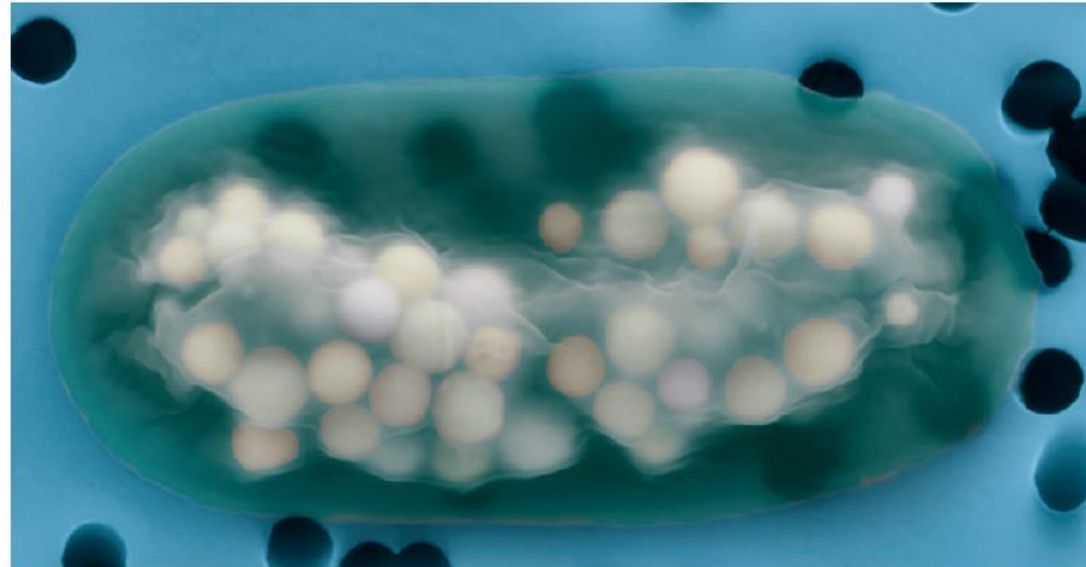
Zolfo

(b)

Figura 2.21 Formazioni di riserva contenenti polifosfati e zolfo.

(a) Fotomicrografia a contrasto di fase di cellule di *Heliobacterium modesticaldum* all'interno delle quali i polifosfati appaiono come granuli scuri (ogni cellula ha un diametro di circa 1 μm).

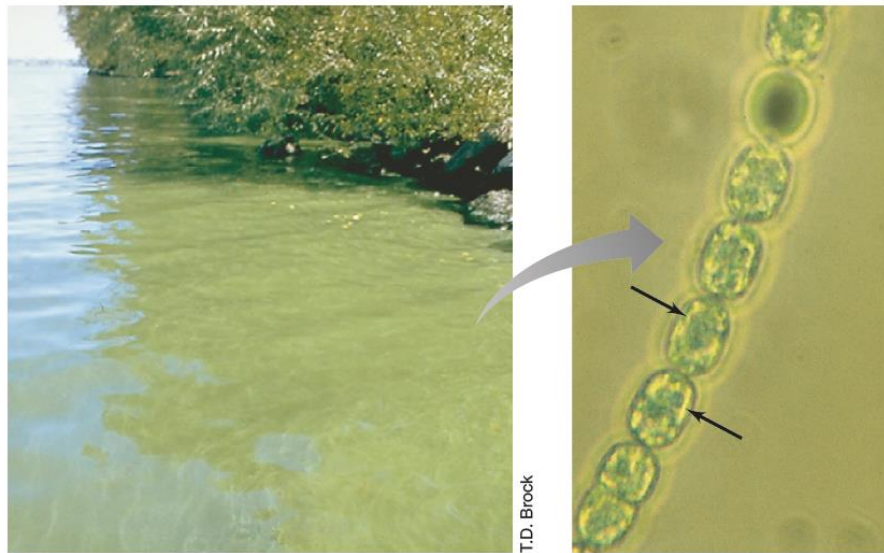
(b) Fotomicrografia in campo chiaro di cellule del batterio rosso solfureo *Isochromatium buderi*. Le inclusioni periplasmatiche sono granuli di zolfo formati a seguito dell'ossidazione dell'idrogeno solforato (H_2S) (ogni cellula ha un diametro di circa 4 μm).



Karim Benzerara

Figura 2.22 Esempio di biomineralizzazione in un cianobatterio.

Micrografia elettronica di una cellula del cianobatterio *Gleomargarita* contenente granuli del minerale benstonite $[(Ba,Sr)_6(Ca,Mn)_6Mg(CO_3)_{13}]$. La cellula misura circa $2 \mu m$.



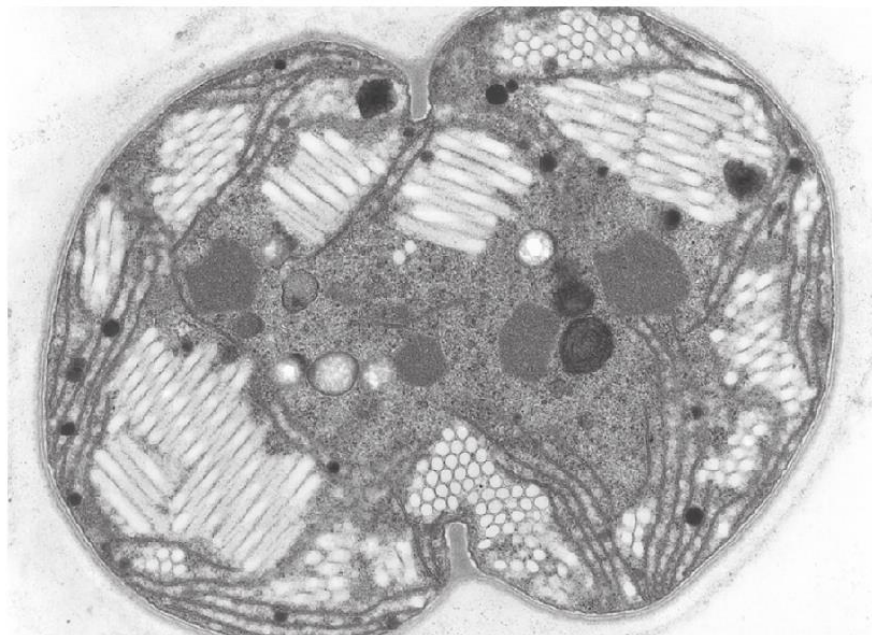
T.D. Brock

A.E. Walsby

(a)

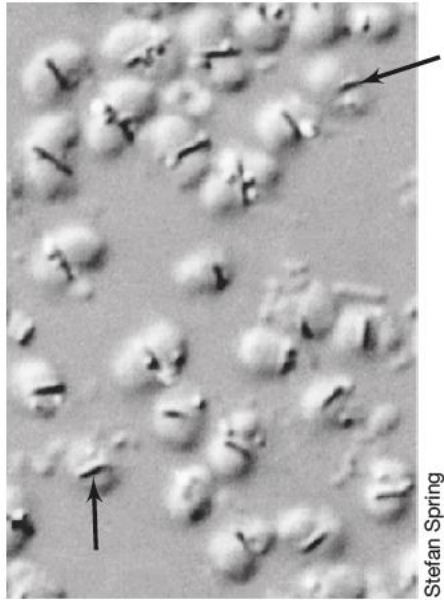
(b)

Figura 2.23 Cianobatteri capaci di galleggiamento e relative vescicole gassose. (a) Fioritura di cianobatteri, dotati di vescicole gassose, alla superficie di acque lacustri. (b) Fotomicrografia a contrasto di fase di *Anabaena*. Gruppi di vescicole si uniscono a formare vacuoli gassosi rifrangenti (frecche piccole). (c) Micrografia elettronica a trasmissione di una cellula di *Microcystis* in fase di divisione. Le vescicole gassose sono organizzate in fasci, qui visibili in sezione sia longitudinale sia trasversale. Una cellula di *Microcystis* misura circa 5 μm .

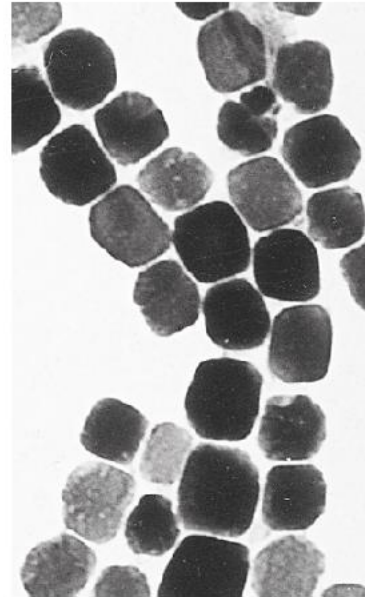


S. Pellegrini e M. Grilli Caiola

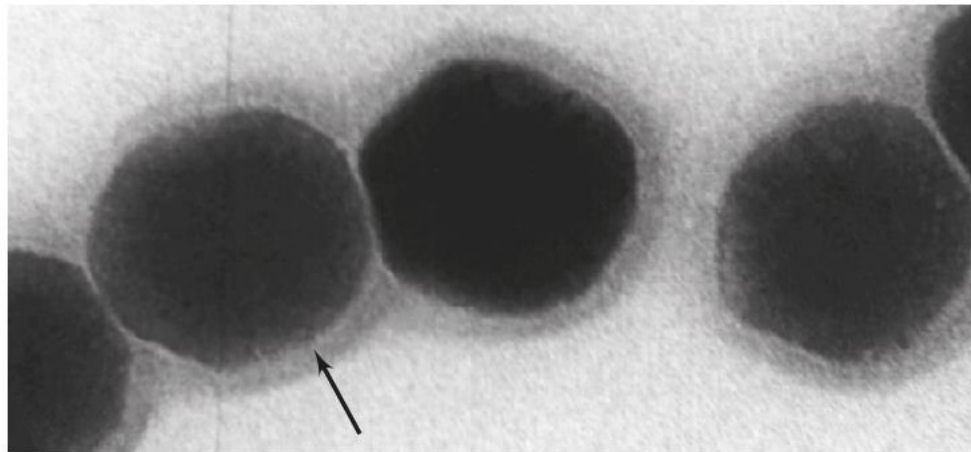
(c)



(a)



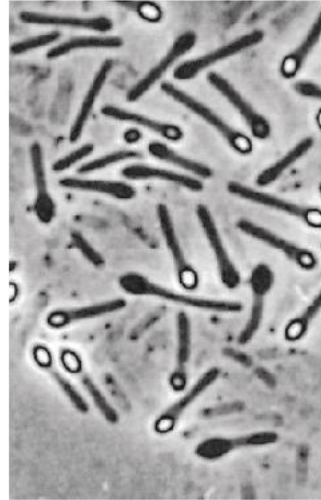
(b)



(c)

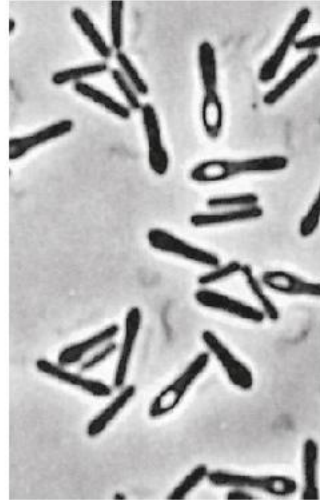
Figura 2.24 Batteri magnetotattici e magnetosomi.

(a) Micrografia a contrasto di fase interferenziale di batteri magnetotattici con cellule di forma coccoide; si notino le catene di magnetosomi (indicate da frecce). Una singola cellula misura circa $2,2 \mu\text{m}$. (b) Magnetosomi isolati dal batterio magnetotattico *Magnetospirillum magnetotacticum*: ciascuna particella ha un diametro di circa 50 nm . (c) Micrografia elettronica a trasmissione di magnetosomi provenienti da un non meglio specificato batteriococco magnetico. La freccia indica la membrana che circonda ciascun magnetosoma. Ogni singolo magnetosoma ha un diametro di circa 90 nm .



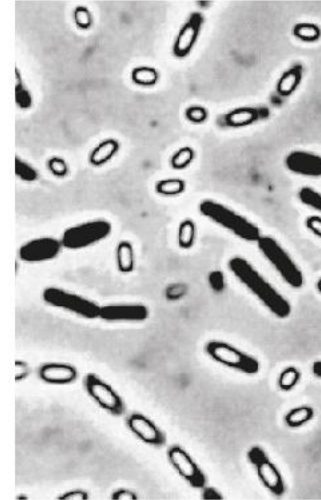
H. Hippe

(a) Endospore terminali



H. Hippe

(b) Endospore subterminali



H. Hippe

(c) Endospore centrali

Figura 2.25 Endospore batteriche. Le fotomicrografie a contrasto di fase mostrano la diversa posizione intracellulare delle endospore in differenti specie di batteri. Le endospore appaiono come corpi luminosi al microscopio a contrasto di fase.

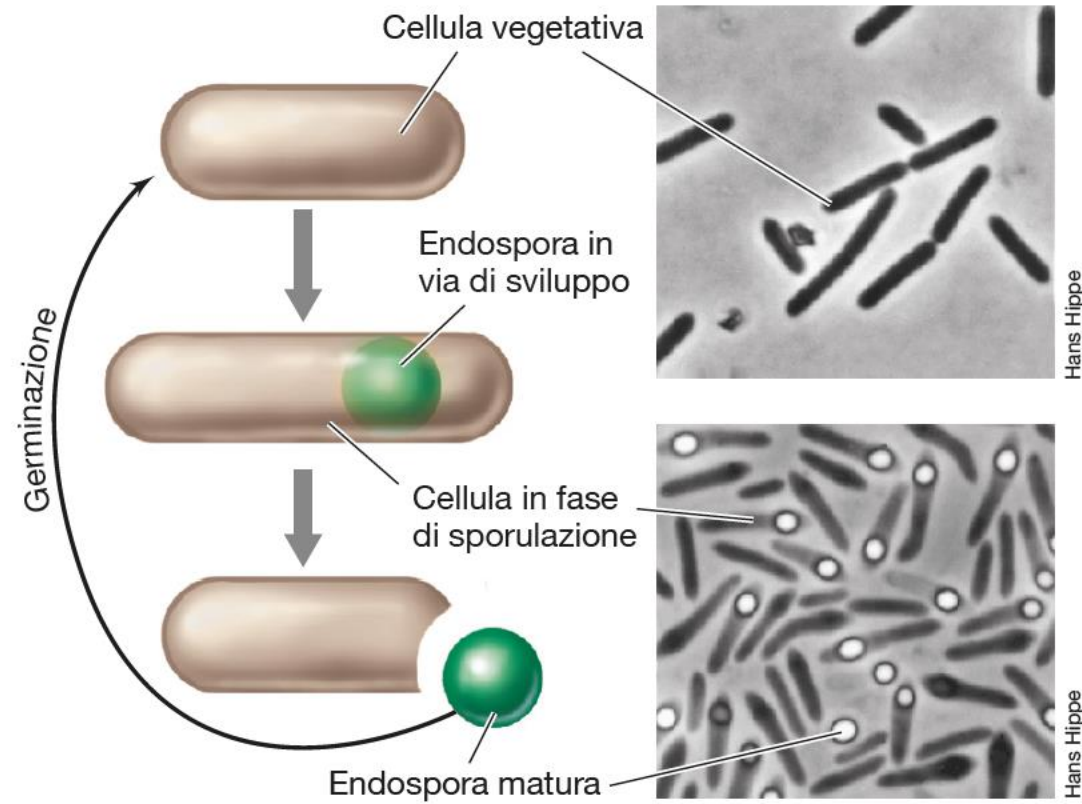


Figura 2.26 Ciclo vitale di un batterio sporigeno. Fotomicrografie a contrasto di fase di cellule di *Clostridium pascui*. Ogni cellula vegetativa misura circa 0,8 μm .

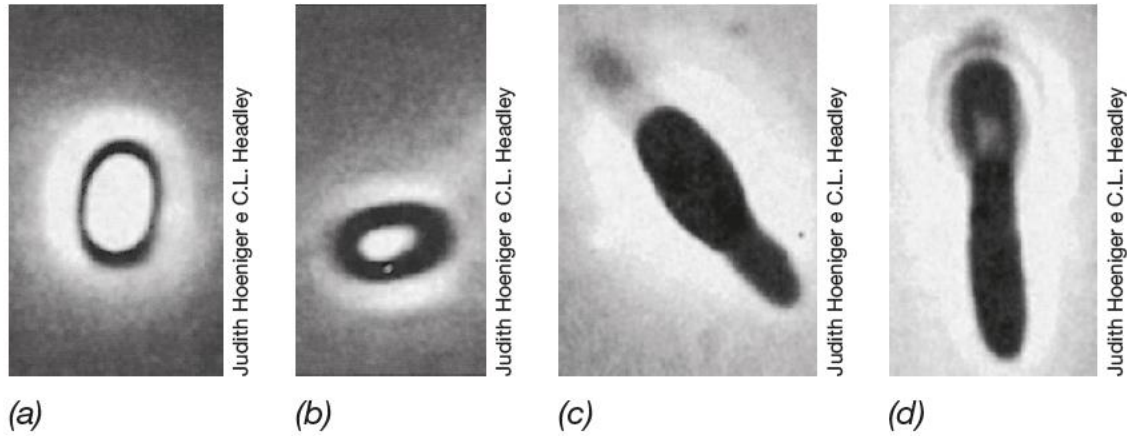


Figura 2.27 Germinazione di endospora in *Bacillus*. Conversione di un'endospora in una cellula vegetativa. La serie di fotomicrografie a contrasto di fase mostra la sequenza degli eventi a partire da (a) un'endospora libera altamente rifrangente. (b) *Attivazione*: la spora perde rifrangenza e viene idratata. (c) *Germinazione*: la spora inizia a svilupparsi in una cellula vegetativa. (d) *Esocrescita*: la cellula vegetativa emerge dalle strutture sporiali e inizia a dividersi.

Tabella 2.1 Differenze tra endospore e cellule vegetative

Caratteristica	Cellula vegetativa	Endospora
Aspetto microscopico	Non rifrangente	Rifrangente
Contenuto di calcio	Basso	Alto
Acido dipicolinico	Assente	Presente
Attività enzimatica	Elevata	Ridotta
Tasso di respirazione	Elevato	Ridotto o assente
Sintesi di macromolecole	Presente	Assente
Resistenza al calore	Ridotta	Elevata
Resistenza alle radiazioni	Ridotta	Elevata
Resistenza agli agenti chimici	Ridotta	Elevata
Lisozima	Sensibile	Resistente
Contenuto di acqua	Elevato, 80-90%	Ridotto, 10-25% nel core
Piccole proteine acido-solubili	Assenti	Presenti

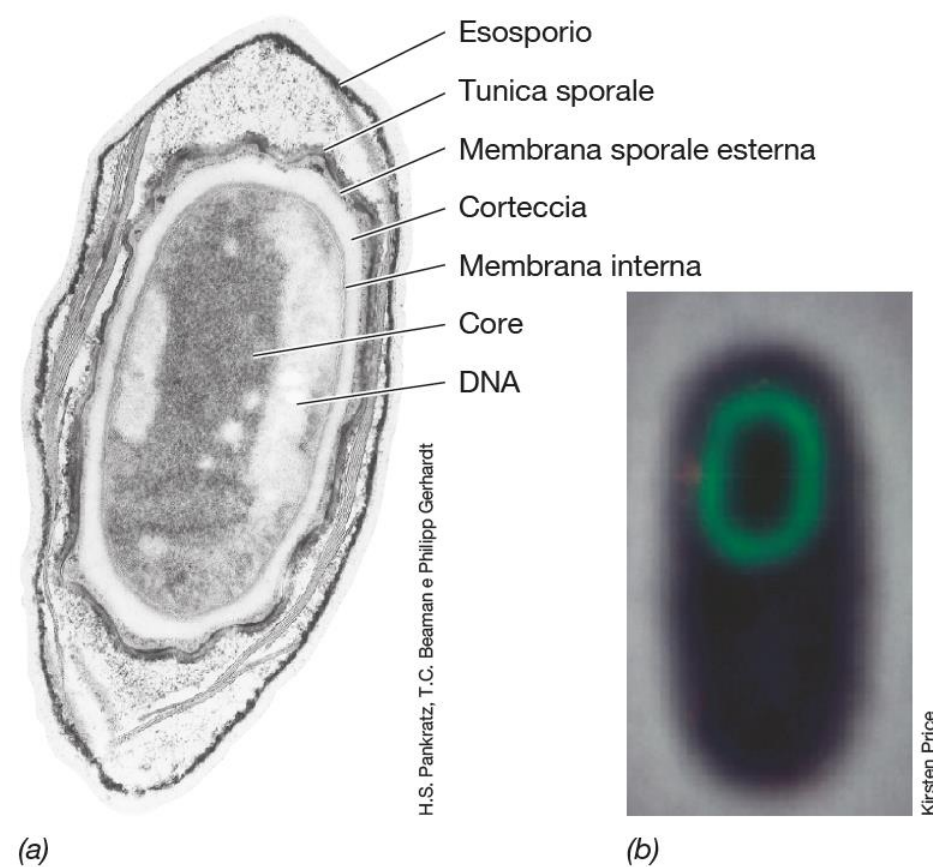


Figura 2.28 Struttura di un'endospora batterica. (a) Micrografia elettronica a trasmissione di una sezione sottile di un'endospora di *Bacillus megaterium*. È importante sottolineare come la composizione della "membrana esterna" dell'endospora non corrisponda assolutamente a quella della membrana esterna (strato LPS) dei batteri gram-negativi, mostrata in Figura 2.12. (b) Fotomicrografia in fluorescenza di una cellula di *Bacillus subtilis* in fase di sporulazione. Il colore verde è dovuto a una colorazione fluorescente, specifica per una proteina della spora localizzata nella tunica.

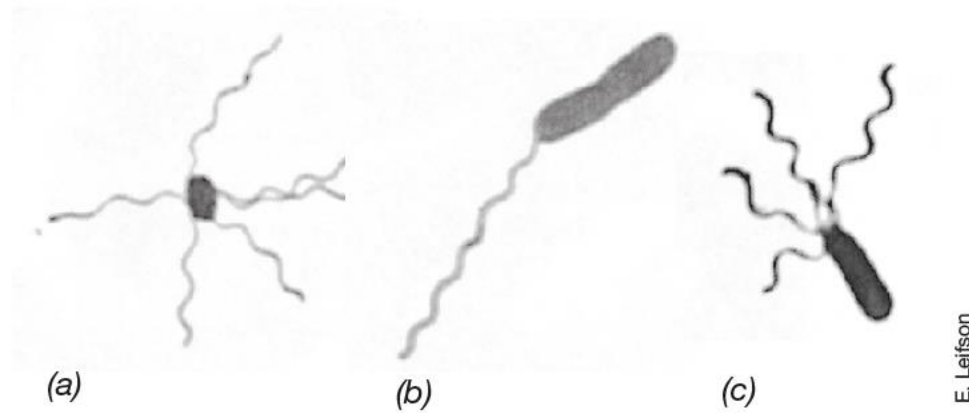
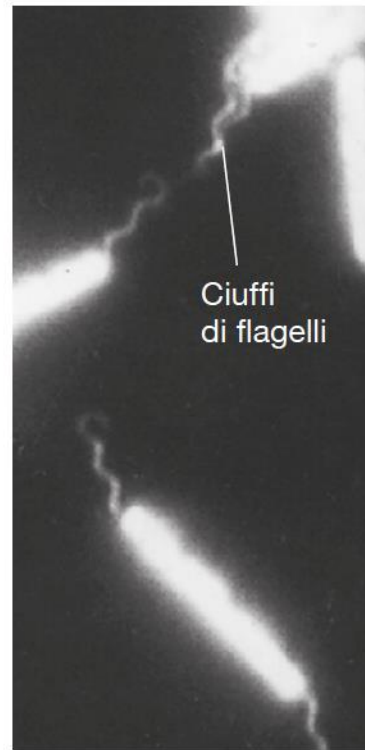
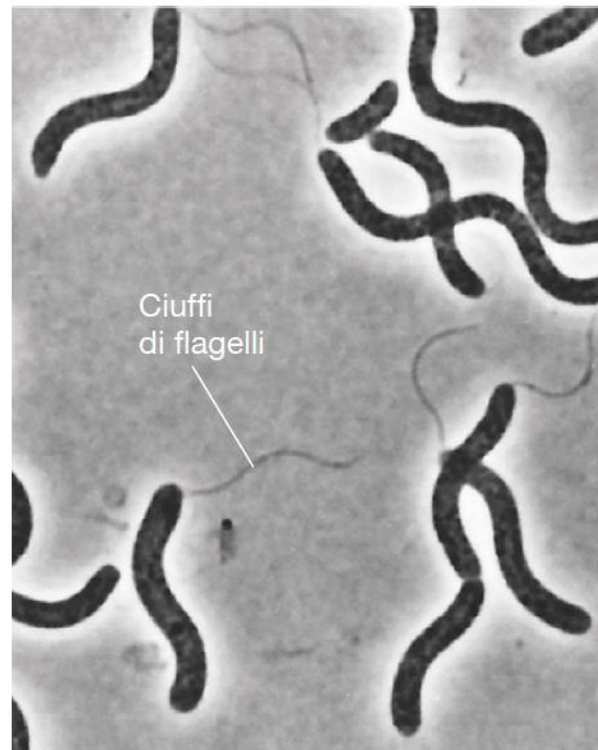


Figura 2.30 **Flagelli batterici.** Classiche fotomicrografie ottenute da Einar Leifson al microscopio ottico, raffiguranti batteri con diversa disposizione dei flagelli. Le cellule sono colorate mediante colorazione di Leifson, specifica per i flagelli. Disposizione dei flagelli: (a) peritrica, (b) polare, (c) lofotrica.



(a)



(b)

Figura 2.32 Ciuffi di flagelli batterici osservati in cellule vitali.

(a) Fotomicrografia in campo oscuro di un gruppo di batteri bacilliformi di grandi dimensioni, con ciuffi di flagelli a ciascun polo (*disposizione anfitrica*). Una singola cellula misura circa 2 μm .

(b) Fotomicrografia a contrasto di fase di cellule di *Rhodospirillum photometricum*, batterio rosso fototrofo di grandi dimensioni, con un ciuffo di flagelli lofotrichi che si diparte da uno dei poli.

Una singola cellula misura circa 4 \times 25 μm .

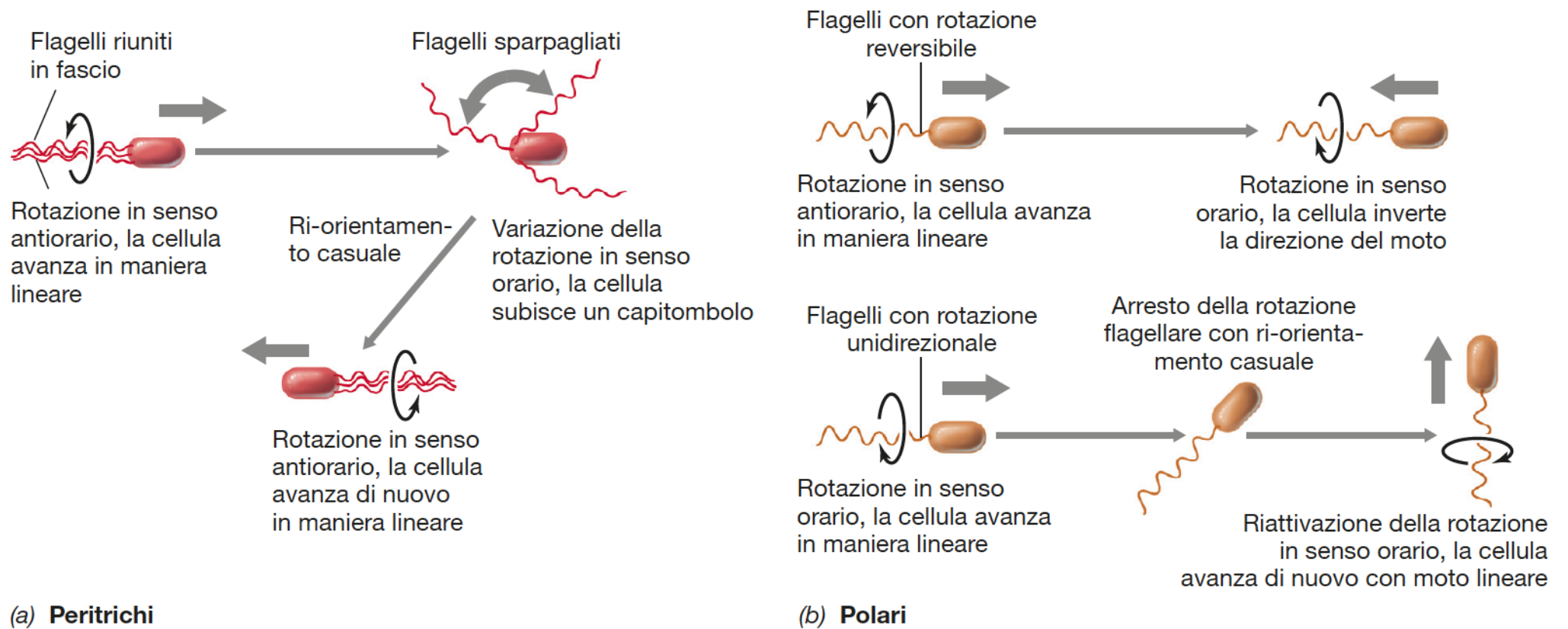


Figura 2.33 Modalità di movimento delle cellule procariotiche con flagelli peritrichi e polari. (a) Cellule peritriche: il movimento in avanti è impartito dalla rotazione in senso antiorario di tutti i flagelli riuniti in un fascio. La rotazione in senso orario determina la separazione disordinata dei flagelli, con capitolombolo della cellula. Il ritorno alla rotazione antioraria fa procedere la cellula in una nuova direzione. (b) Cellule con flagellazione polare: le cellule, in questo caso, possono cambiare direzione invertendo la rotazione flagellare (quindi trainando la cellula invece di sospingerla) oppure, nel caso di flagelli cosiddetti unidirezionali, fermarsi periodicamente per poi ri-orientarsi e muoversi in avanti mantenendo la rotazione oraria dei flagelli. Le frecce grigie sopra a ogni cellula indicano la direzione del movimento.

Forme di tassaia nei procarioti

La tassaia è la capacità dei microrganismi di orientarsi e spostarsi nell'ambiente in seguito alla presenza di stimoli di diversa natura. Recettori per determinati fattori chimico-fisici «comunicano» con le proteine che regolano la rotazione dei flagelli

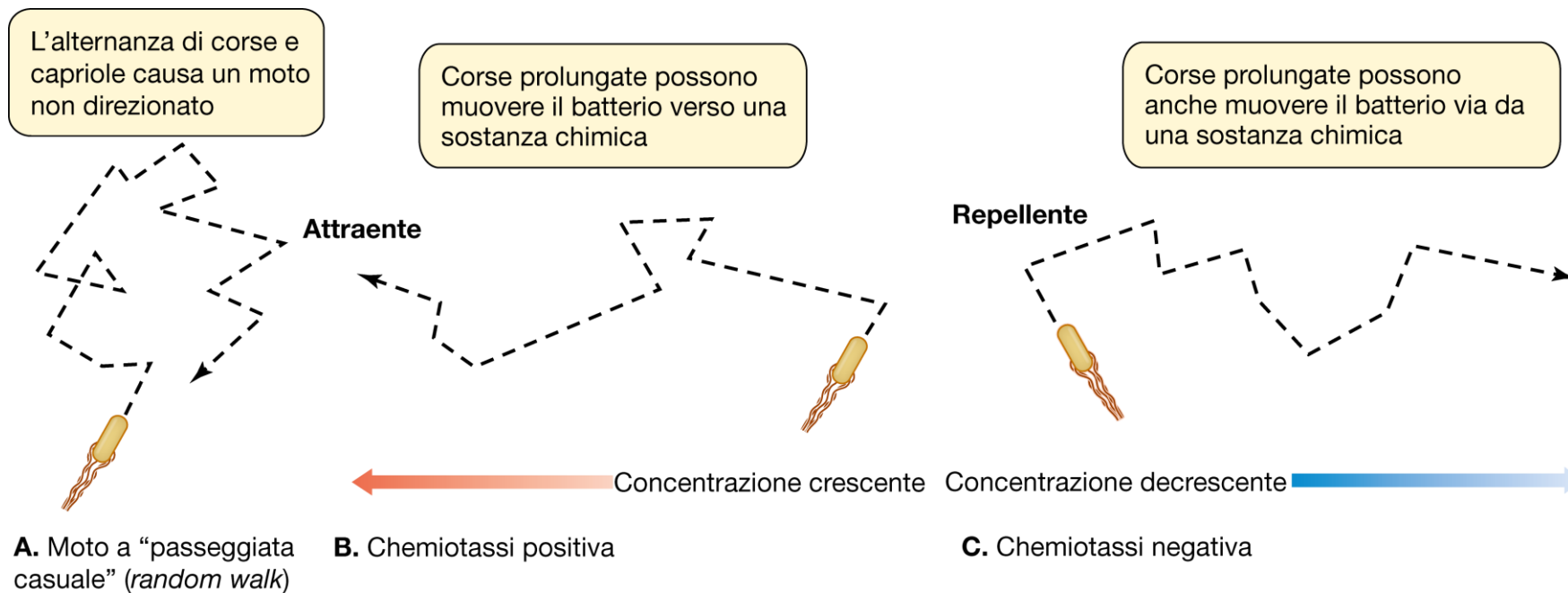
Chemiotassi: movimento in risposta alla presenza di nutrienti o di sostanze tossiche.

Fototassi: movimento in risposta alla variazione di intensità luminosa

Scotofobotassi: risposta che batteri fotosintetici assumono quando si trovano in assenza di luce.

Aerotassi: le cellule si muovono in funzione della concentrazione di O₂ (batteri microaerofili)

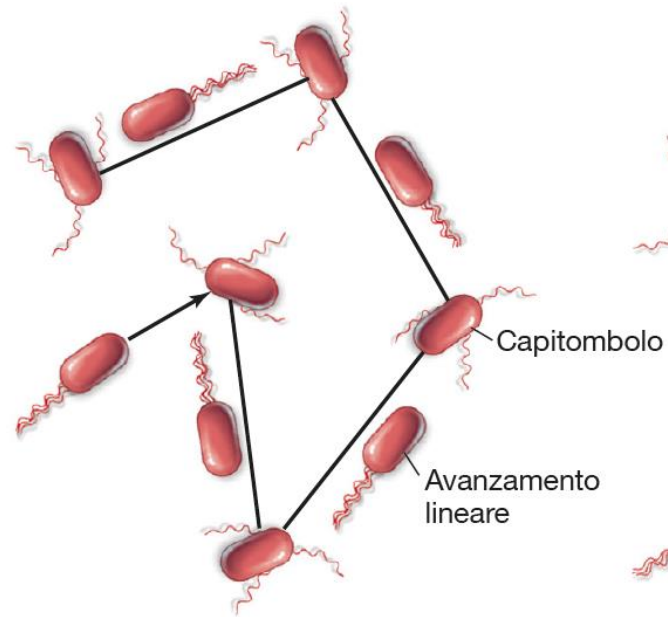
Magnetotassi: tipica di batteri che vivono in laghi, sedimenti, stagni in cui O₂ è scarso. Permette ai batteri di spostarsi verso l'alto o verso il basso, seguendo le linee del campo magnetico, dirigendosi verso zone più ricche o meno ricche di O₂ (i batteri magnetotattici sono microaerofili)



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

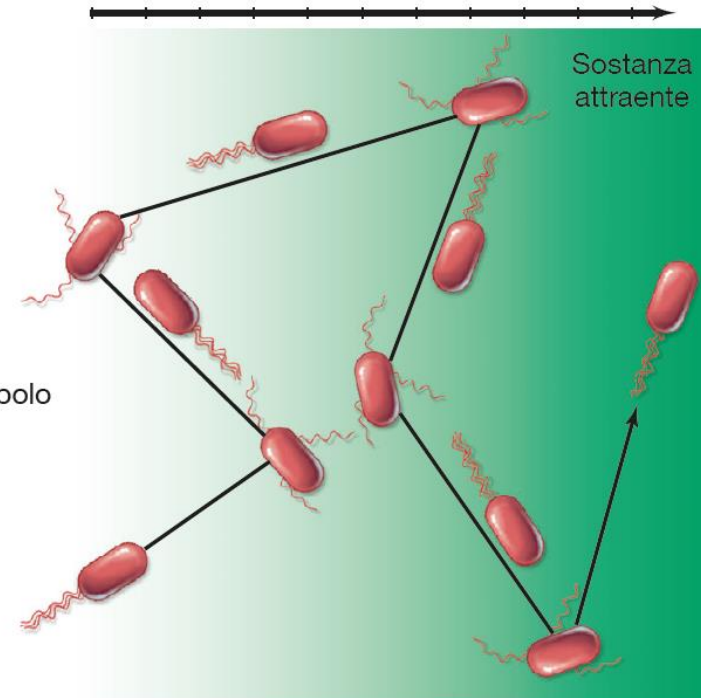
FIGURA 2.28. La mobilità indirizzata permette ai batteri di rispondere a segnali chimici esterni. **A.** Un batterio flagellato peritrico come *E. coli*, che non rileva alcun segnale chimico, alternerà “corse” e “capriole”, e non ne risulterà alcun movimento diretto. Questo tipo di movimento non diretto è spesso indicato con il termine “random walk” (andare a zozzo). **B.** Prolungando la modalità di nuoto (“corsa”), e ritardando le “capriole”, il batterio si sposterà verso concentrazioni più elevate di un composto desiderabile (chemiotassi positiva). **C.** Allo stesso modo, i batteri possono allontanarsi da composti indesiderati (chemiotassi negativa).

Nessun significativo spostamento orientato al netto dei movimenti casuali.



(a) Assenza di sostanza attraente: movimenti casuali

Significativo spostamento verso l'attraente.



(b) Presenza di sostanza attraente: movimento orientato

Figura 2.39 Chemiotassi in un batterio con flagelli peritrichi. (a) In assenza di una sostanza chimica attraente, la cellula si muove casualmente con fasi di avanzamento e cambio direzione del movimento in seguito di ripetuti capitomboli. (b) In presenza di una sostanza attraente, le fasi di avanzamento diventano invece orientate e la cellula si muove in direzione del gradiente crescente della sostanza attraente medesima. Il gradiente della sostanza attraente è rappresentato dal colore verde: l'area dove il colore è più intenso corrisponde alla concentrazione più elevata.

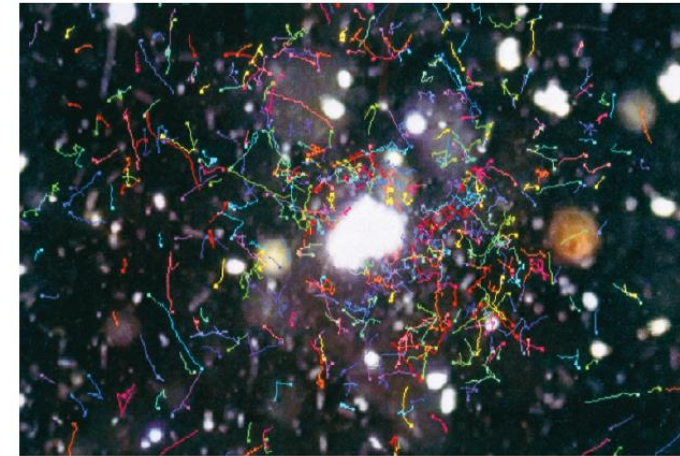
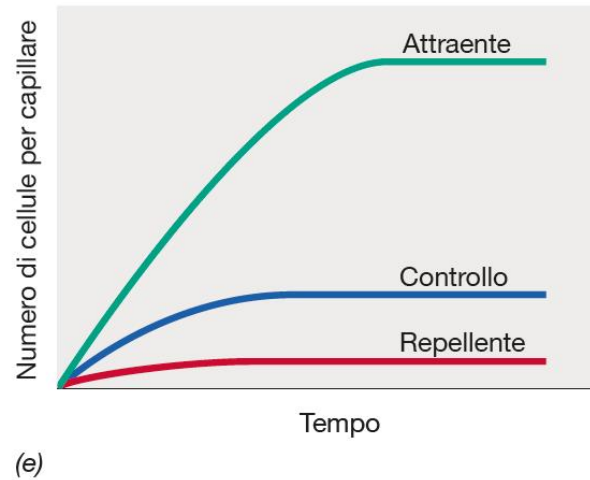
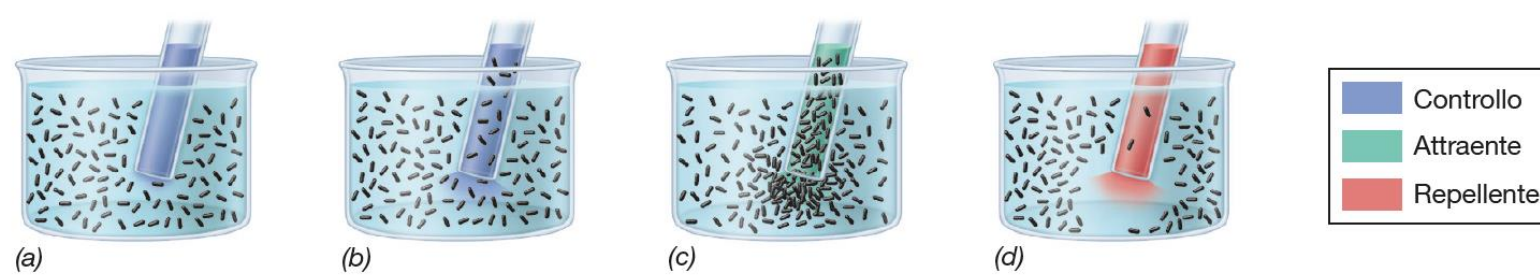
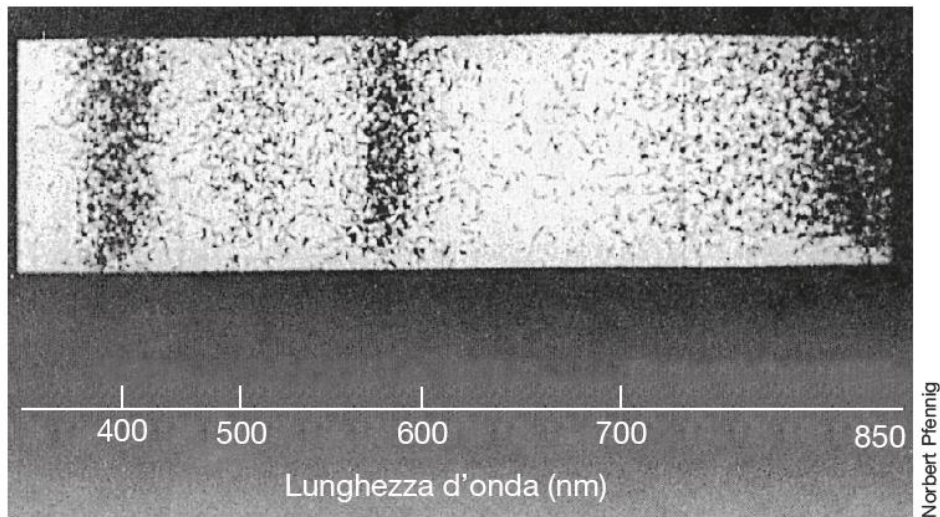
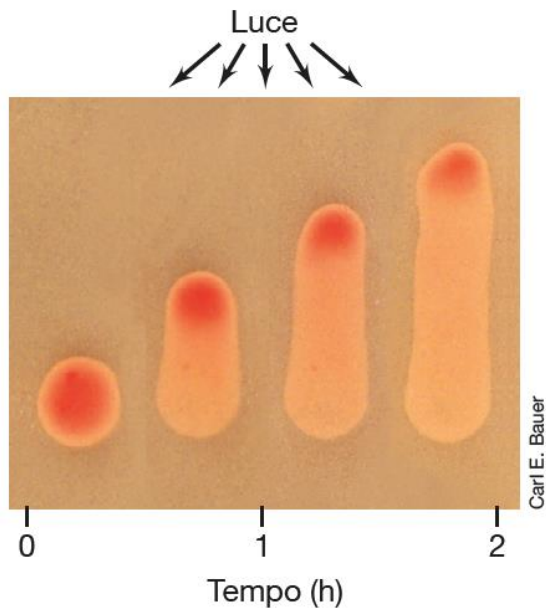


Figura 2.40 Rilevazione della chemiotassi batterica mediante il metodo del tubo capillare. (a) Immersione del capillare in una sospensione batterica. Non appena il capillare viene inserito, laddove questo contenga una qualsiasi sostanza chimica, inizia a formarsi un gradiente di concentrazione. (b) Un capillare di controllo contiene una soluzione salina che risulta né attraente né repellente. La concentrazione cellulare all'interno del capillare si equalizza rispetto a quella che si trova all'esterno. (c) Accumulo di batteri in un capillare che contiene una sostanza attraente. (d) Effetto di repulsione esercitato sulle cellule batteriche da parte di una sostanza repellente. (e) Variazione nel tempo del numero

di cellule batteriche all'interno di capillari contenenti varie sostanze chimiche. (f) Tracciamento del movimento di batteri immersi in acqua di mare che sciamano intorno a un'alga unicellulare (la macchia bianca grande, al centro) responsabile del rilascio di sostanze ad azione chemiotattica (composti organici e ossigeno). Questa immagine è stata realizzata ricorrendo a un sistema di tracciamento basato su una videocamera collegata a un microscopio. Le cellule batteriche manifestano una risposta positiva all'ossigeno (aerotassi) muovendosi verso l'alga unicellulare produttrice di O_2 . L'alga ha una dimensione di circa $60 \mu m$.



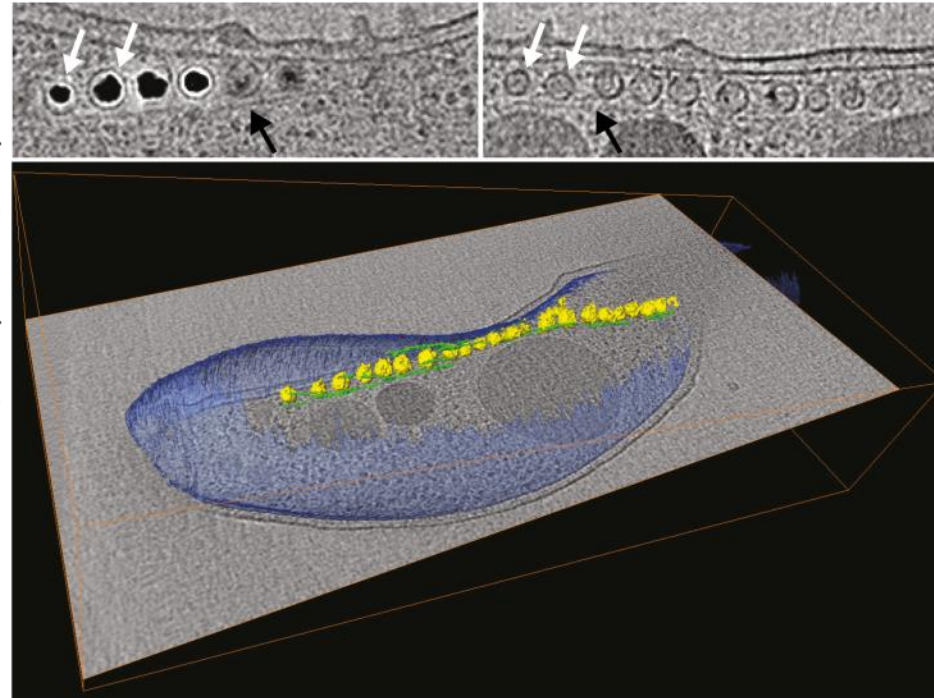
(a)



(b)

Figura 2.41 Fototassi di batteri fototrofi. (a) Addensamento di cellule del batterio rosso fototrofo *Thiospirillum jenense* indotto dal meccanismo di scotofobotassi alle lunghezze d'onda d'assorbimento specifiche per i pigmenti del microorganismo. Un vetrino da microscopia, caricato con una densa sospensione di batteri e sottoposto a uno spettro luminoso, mostra nella fotomicrografia, scattata dopo un certo periodo di tempo, addensamenti selettivi di cellule batteriche. Le lunghezze d'onda alle quali i batteri evidenziano accumulo sono quelle a quali assorbe il pigmento fotosintetico batterioclorofilla *a*. (b) Fototassi di un'intera colonia del batterio rosso fototrofo *Rhodospirillum rubrum*. Queste cellule fortemente fototattiche si muovono all'unisono verso la sorgente di luce posta in alto. Si vedano le micrografie elettroniche delle cellule flagellate di *R. rubrum* nella Figura 2.31.

A. Catena di magnetosomi in presenza di ferro **B.** Catena di magnetosomi in assenza di ferro



Gentile concessione di Arash Komeili, University of California, Berkeley

C. Immagine colorata di una cellula

FIGURA B2.1. L'organizzazione di un magnetosoma. **A.** Nella cellula di *Magnetospirillum magneticum* si osserva una catena di magnetosomi (freccie bianche). Ogni magnetosoma è racchiuso in vescicole invaginate dalla membrana plasmatica. Uno o più filamenti del citoscheletro (freccia nera) fiancheggiano la catena. **B.** Fotografia simile, di una cellula cresciuta in assenza di ferro, condizione che previene la formazione dei cristalli di magnetite. Sono comunque presenti vescicole vuote e filamenti. **C.** Ricostruzione tridimensionale di una cellula di *Magnetospirillum* (blu), che mostra i magnetosomi (gialli) e i filamenti associati (verdi). Per generare queste immagini è stata utilizzata la microscopia elettronica crio-EM.

TABELLA 2.1 Caratteristiche del citoplasma batterico

Organelli e molecole	Composizione	Funzioni
DNA nucleotide	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

TABELLA 2.2 Molecole e strutture sulla superficie cellulare dei batteri

Organelli o molecole	Composizione	Collocazione	Funzioni
Lipopolisaccaridi (LPS)	Lipidi, polisaccaridi	Strato esterno della membrana esterna dei Gram negativi; porzione lipidica incorporata nella membrana; polisaccaride esposto sulla superficie	Stabilizzano la membrana; suscitano una risposta infiammatoria nel corpo umano
Acido lipoteicoico (LTA)	Lipidi, polisaccaridi	Trovato in strato di peptidoglicano dei batteri Gram positivi	Sconosciuta; suscita una risposta infiammatoria nel corpo umano
Peptidoglicani	Scheletro di polisaccaride collegato con i peptidi mediante legami incrociati	Nei batteri Gram positivi, normalmente esposto all'ambiente Nei batteri Gram negativi coperto dalla membrana esterna	Mantengono la forma e forniscono integrità alla strutturale cellulare
Porine	Proteine	Incorporate nella membrana esterna di Gram negativi	Formano dei pori che consentono la diffusione di sostanze nutritive e di acqua attraverso la membrana esterna
Recettori TonB-dipendenti	Proteine	Incorporati nella membrana esterna dei Gram negativi	Catalizzano sistemi di trasporto attivo ad alta affinità delle molecole attraverso la membrana esterna
Flagelli	Subunità proteiche	Si estendono verso l'esterno dalla superficie, fatta eccezione per le spirochete, dove i flagelli periplasmatici si avvolgono intorno alla cellula	Provvedono alla motilità
Pili	Subunità proteiche	Si estendono verso l'esterno della cellula	Consentono l'attaccamento; la punta spesso si lega a specifiche molecole. In alcuni batteri, i pili sono retrattili e permettono la "mobilità contrattile"
Capsule	Generalmente lassa rete di polisaccaridi	Coprono la superficie cellulare	Proteggono dai patogeni; contribuiscono alla formazione del biofilm
Matrice di superficie (S-layer)	Proteine	Copre la superficie cellulare	Può proteggere dai batteriofagi

TABELLA 2.3 Gerarchia di classificazione all'interno del dominio dei batteri, usando come esempio *Brucella melitensis*

Livello tassonomico	Esempio
Phylum	Proteobatteri
Classe	Alfaproteobatteri
Ordine	<i>Rhizobiales</i>
Famiglia	<i>Brucellaceae</i>
Genere	<i>Brucella</i>
Specie	<i>melitensis</i>