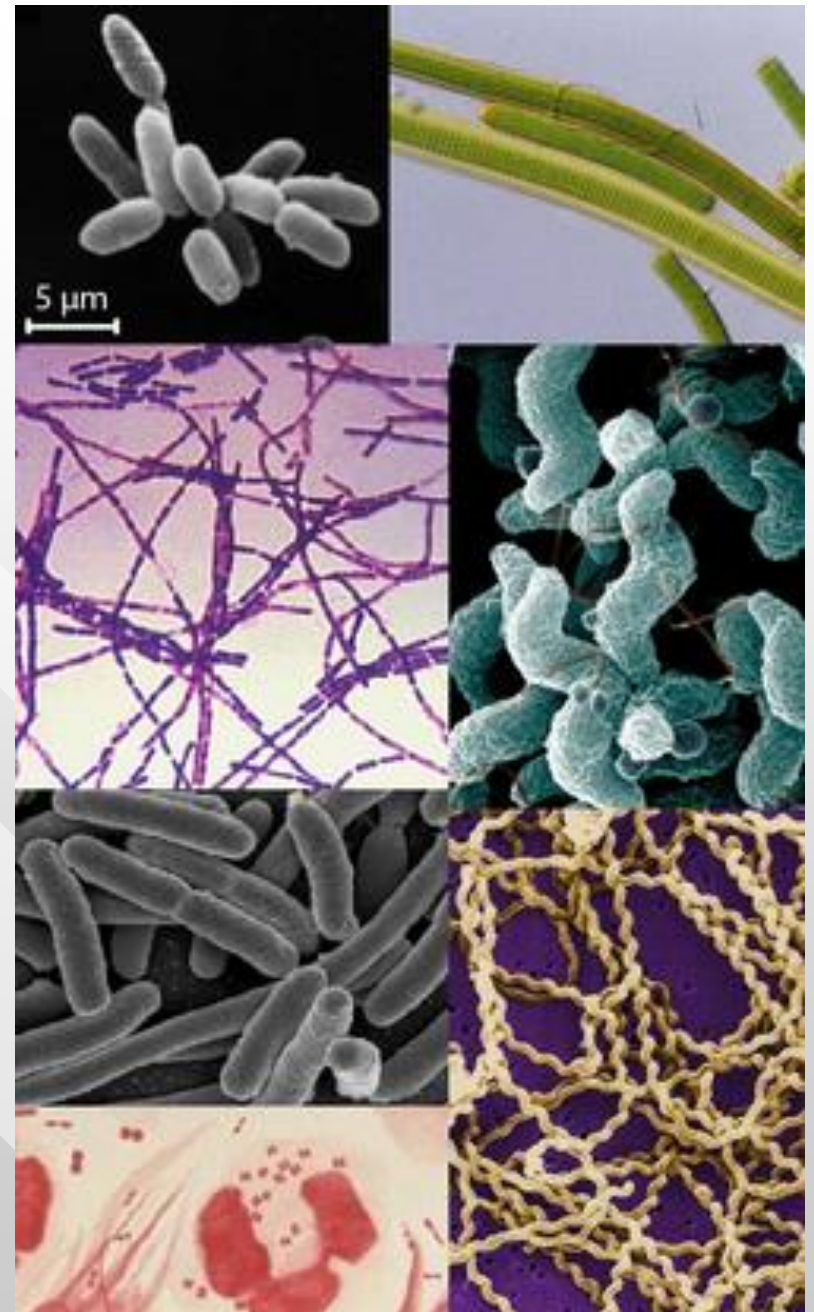


I Procarioti:

Eubatteri (**Eubacteria**)
e Archeobatteri (**Archaea**)



Eubatteri, Archaea ed Eucarioti (Eukarya)

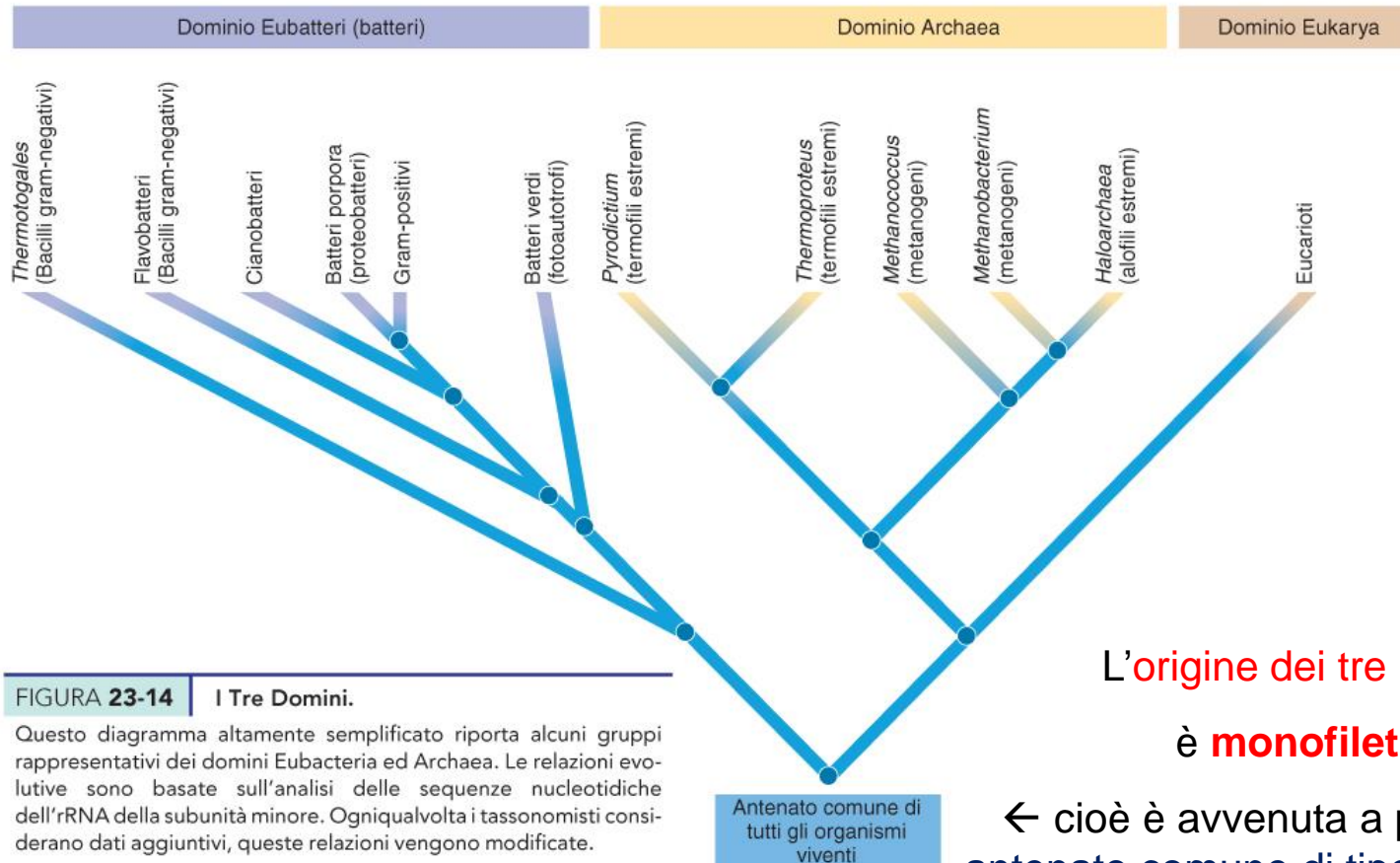


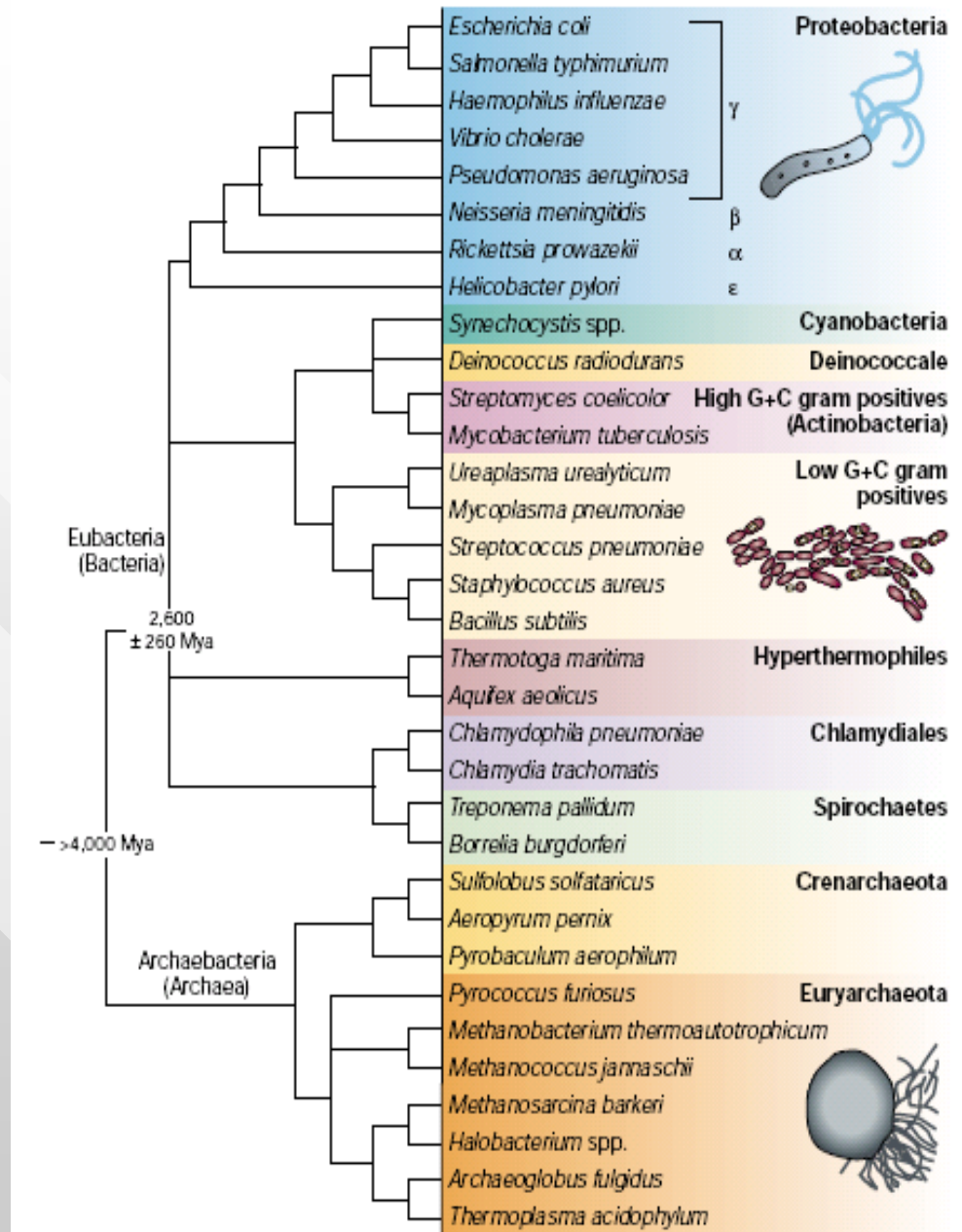
FIGURA 23-14 | I Tre Domini.

Questo diagramma altamente semplificato riporta alcuni gruppi rappresentativi dei domini Eubacteria ed Archaea. Le relazioni evolutive sono basate sull'analisi delle sequenze nucleotidiche dell'rRNA della subunità minore. Ogniqualvolta i tassonomisti considerano dati aggiuntivi, queste relazioni vengono modificate.

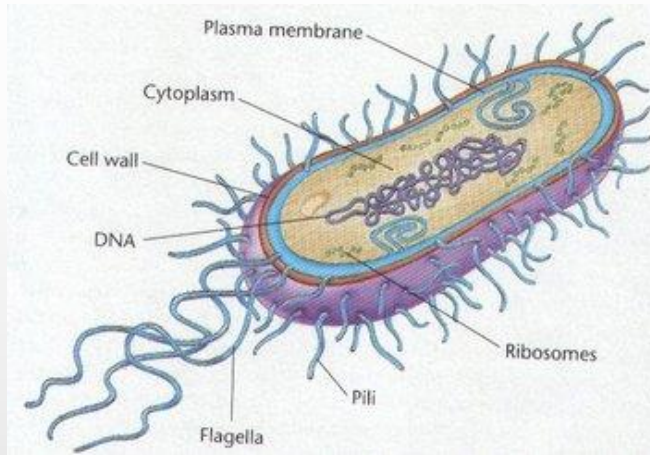
Relazioni filogenetiche tra Eubacteria ed Archaea

Sono note circa **10 000 specie di Eubatteri** e circa **500 specie di Archaea**
 ... ma ne esistono **altrettante** (forse **milioni**) che **ancora non conosciamo**

Fonte:
 Sadava et al., 2014



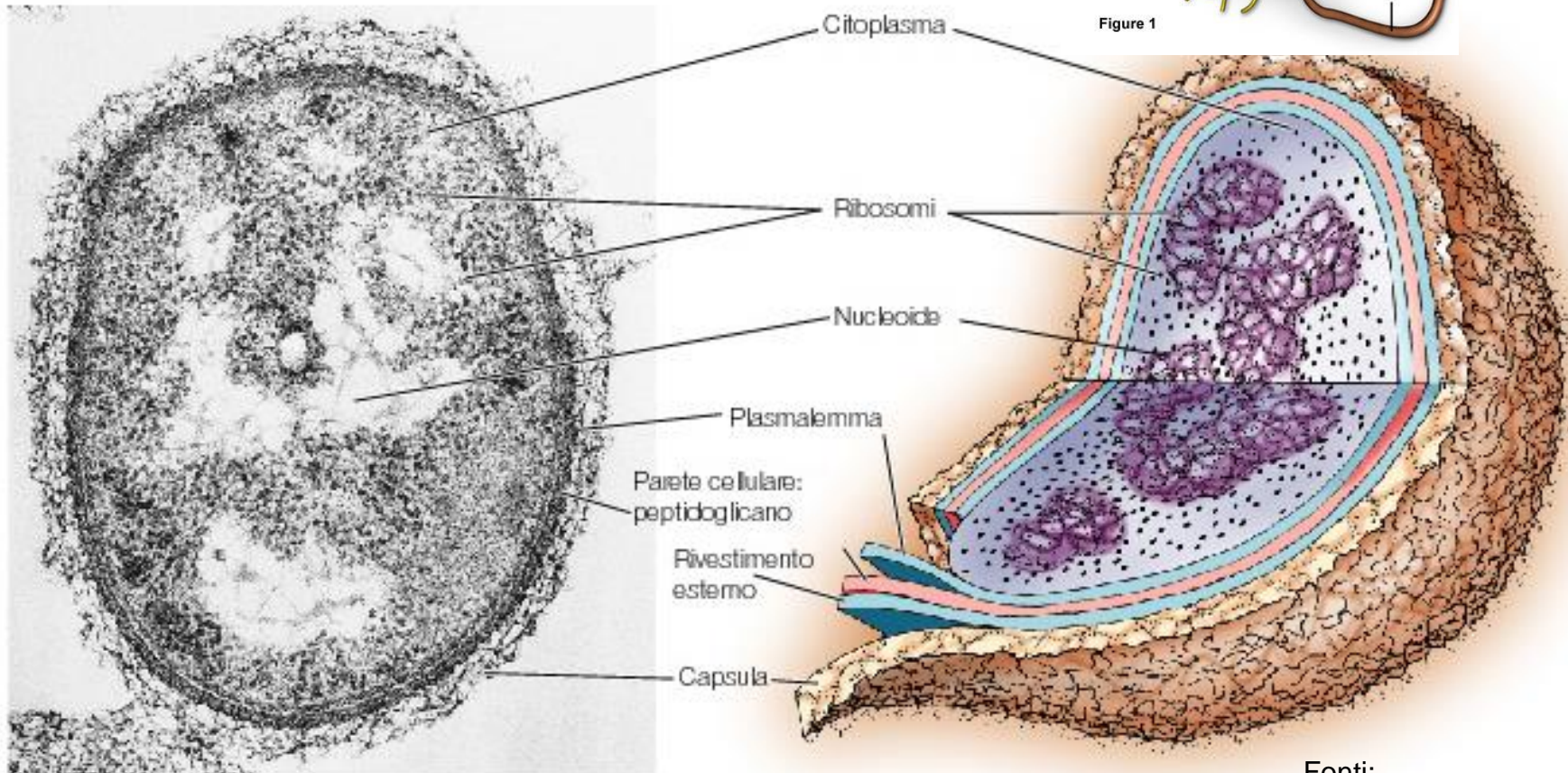
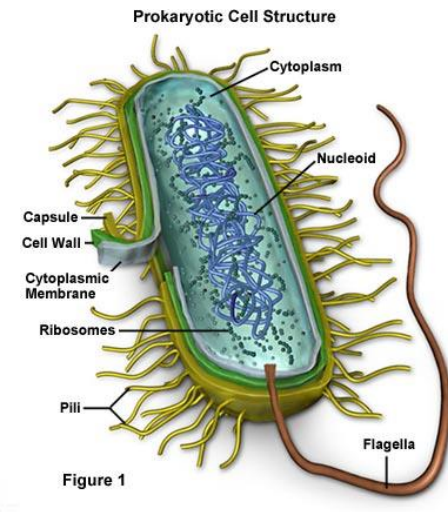
Eubatteri (Dominio e Regno Eubacteria)



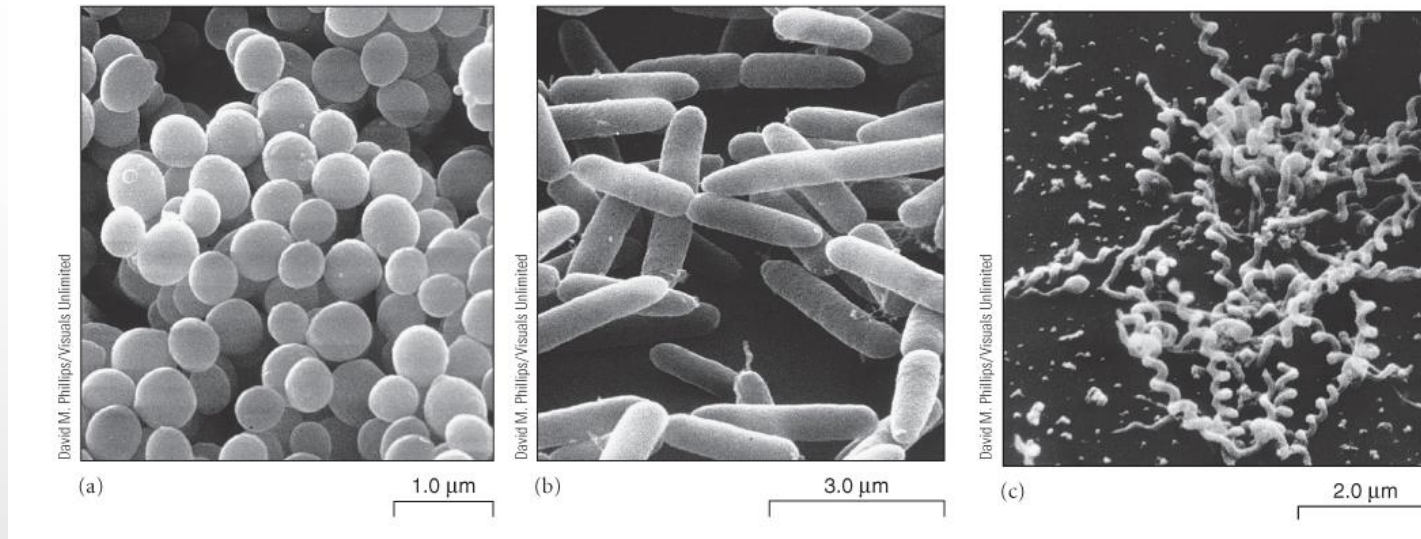
Google-Doodle del 13 settembre 2019 che ricorda il 166esimo anniversario della nascita del microbiologo danese **Hans Joachim Christian Gram** (1853 – 1938)

La cellula che costituisce gli Eubatteri è (ovviamente) una cellula procariotica

Attenzione: per “nucleoide” (termine impreciso che può indurre confusione) si intende **l'unica molecola di DNA circolare del batterio** (a volte indicata, in modo altrettanto impreciso, come “cromosoma” batterico)



Forme principali della cellula batterica



Cocchi (*Micrococcus* sp.), bacilli (*Salmonella typhimurium*) e spirilli (*Spiroplasma* sp.)

Le specie di Eubatteri finora conosciute, escludendo i diversi “ceppi”, o varianti genetiche (“strain”) della stessa specie, sono circa **10 000**, ma ne esistono probabilmente milioni che ancora non conosciamo...

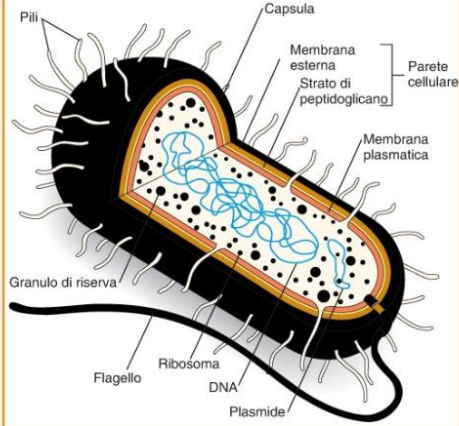
Gli Eubatteri sono estremamente diversificati perché sono **il primo tipo di cellula che si è evoluta sul pianeta**: hanno quindi potuto occupare per primi tutti gli habitat

La cellula degli Eubatteri è di tipo **procariotico**

La parete cellulare degli Eubatteri

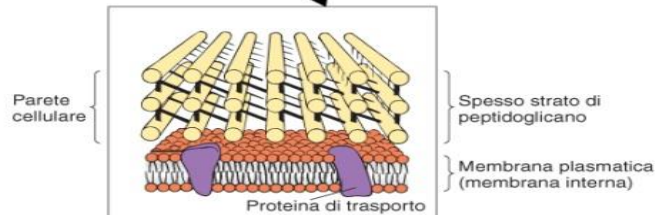
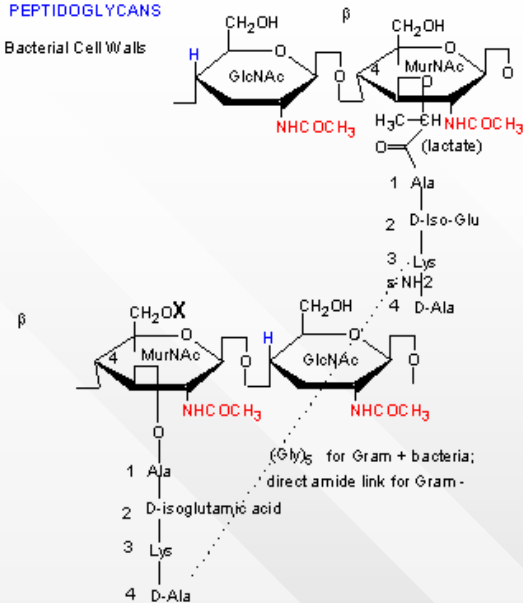
FIGURA 23-8 Struttura di una cellula procariotica. Questo bacillo è un batterio gram-negativo (vedi testo). Si noti l'assenza di un involucro nucleare che avvolge il DNA del batterio.

CONCETTO CHIAVE: Le cellule procariotiche sono fondamentalmente diverse dalle cellule eucariotiche. Gli organelli delle cellule procariotiche non sono racchiusi da membrane.

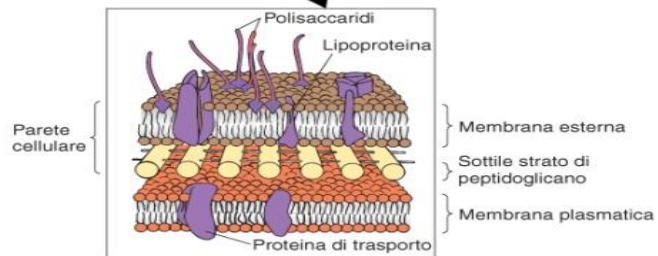


PEPTIDOGLYCANS

Bacterial Cell Walls



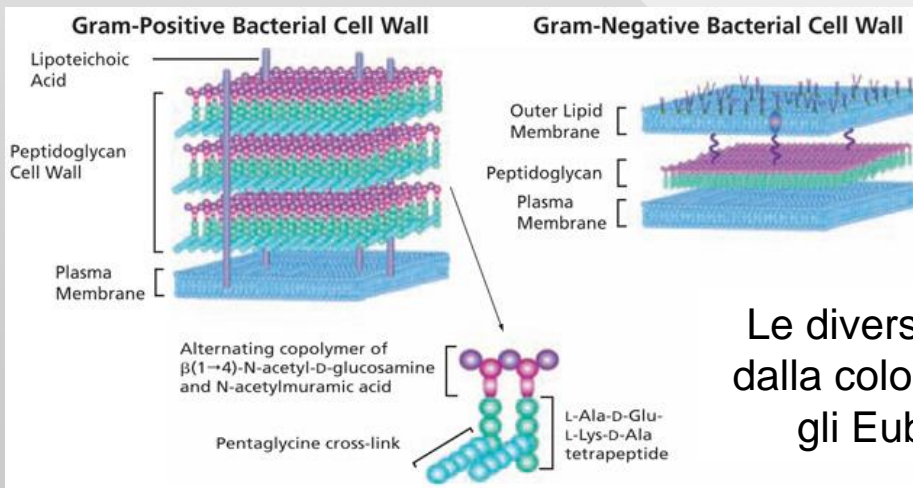
(a) Parete cellulare gram-positiva



(b) Parete cellulare gram-negativa

FIGURA 23-9 Le pareti cellulari batteriche. (a) Nella parete cellulare gram-positiva molti strati di peptidoglicani sono uniti tra loro da aminoacidi. (b) Nella parete gram-negativa un sottile strato di peptidoglicano è ricoperto da una spessa membrana esterna.

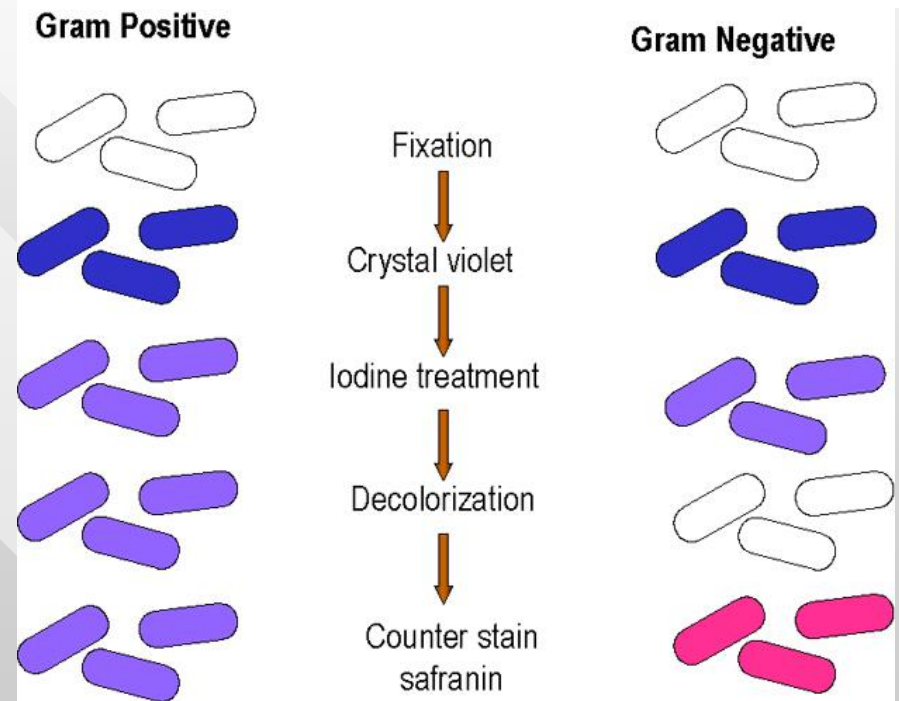
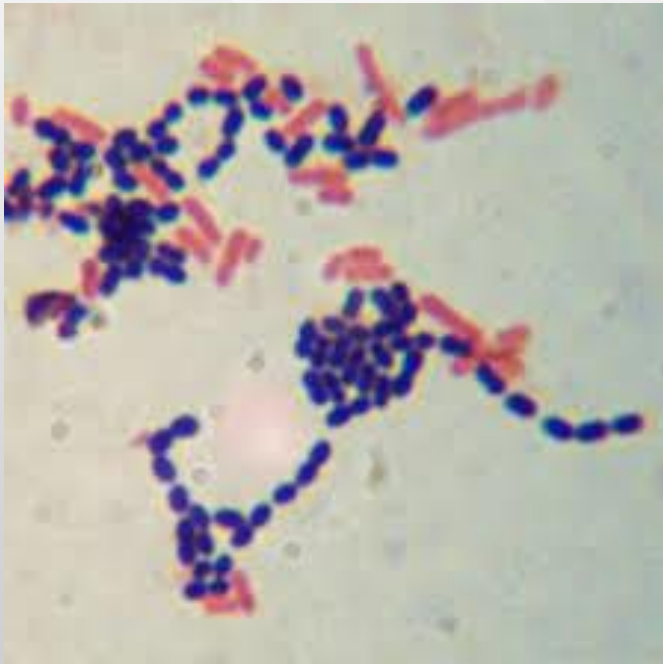
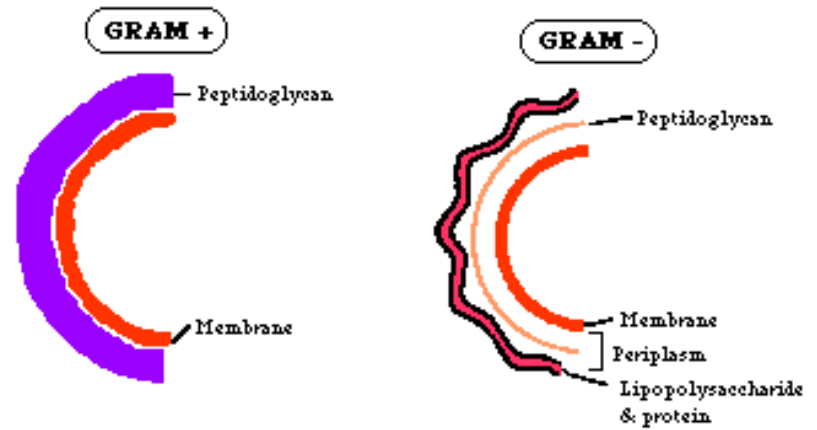
La parete cellulare degli Eubatteri contiene **peptidoglicani**, polimeri di due amminozuccheri, **N-acetilglucosamina (NAG)** e **acido N-acetilmurammico (NAM)** collegati tra loro da piccoli peptidi



Le diverse caratteristiche della parete, evidenziate dalla colorazione ideata da H. C. Gram, distinguono gli Eubatteri in **Gram-positivi** e **Gram-negativi**

La colorazione di Gram

La colorazione ideata nel 1884 dal microbiologo danese **Hans Christian Gram** usa coloranti come il cristalvioletto e la safranina (o la fucsina) per distinguere i batteri provvisti della sola parete di peptidoglicani (**Gram-positivi**) da quelli con parete di peptidoglicani e con una membrana esterna (**Gram-negativi**)

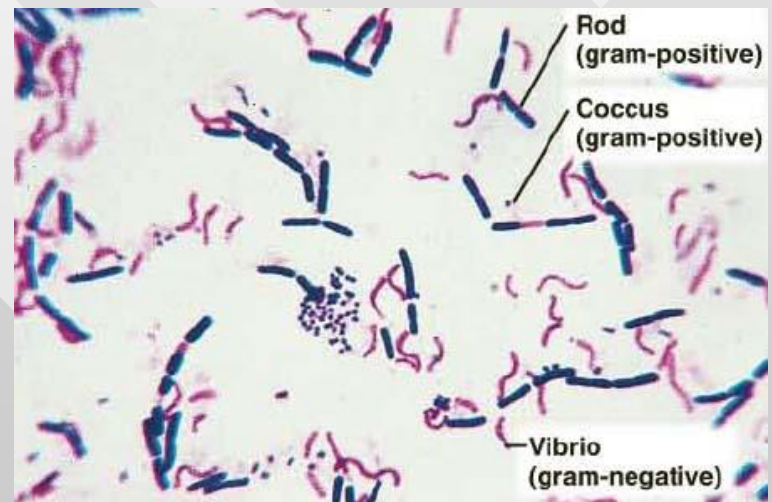
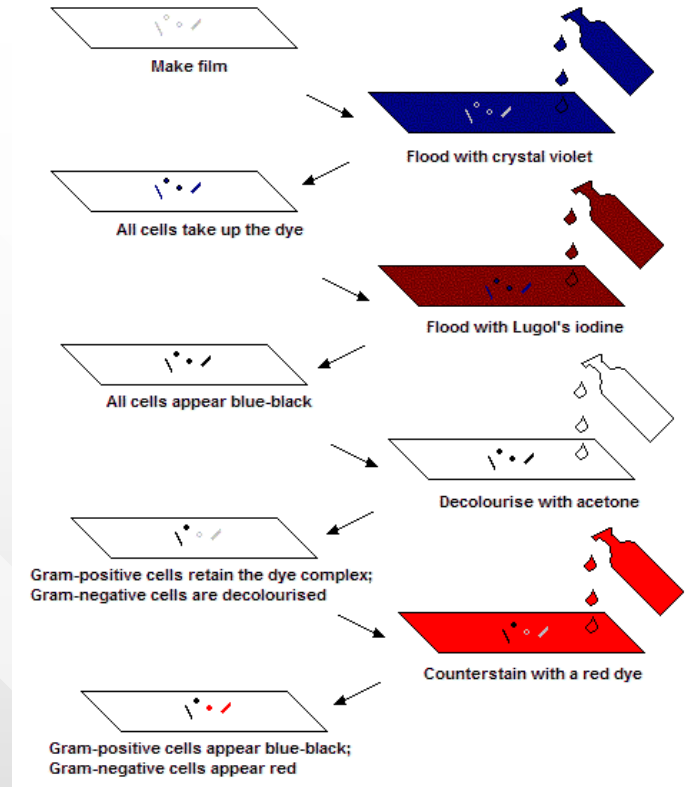


Fonte:

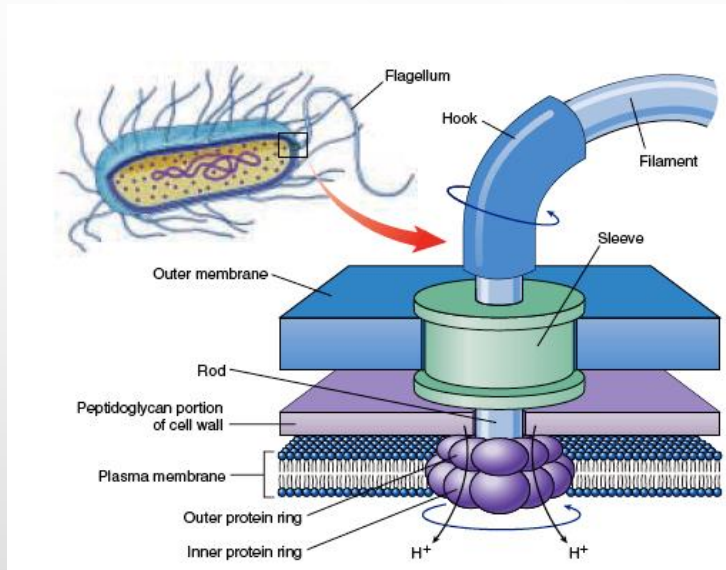
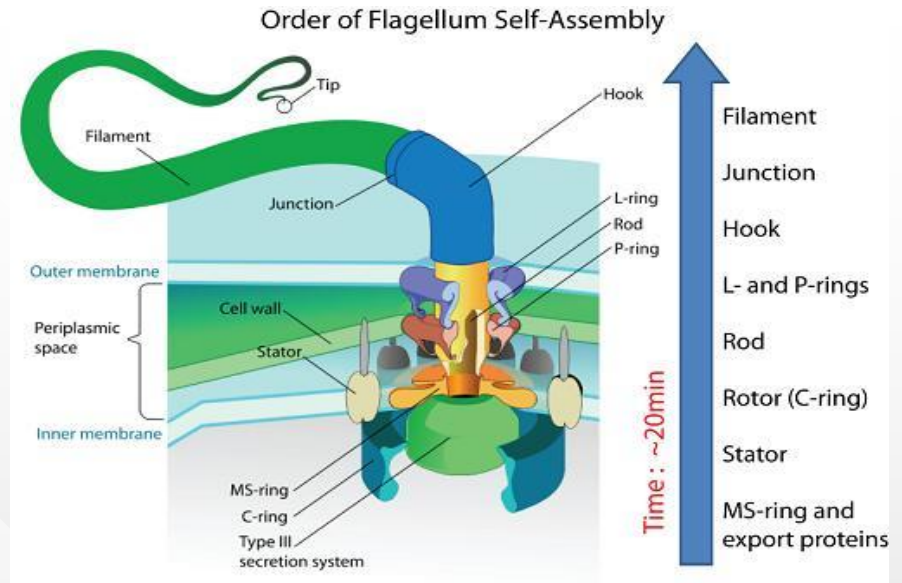
Holt et al. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Ed. Lippincott Williams & Wilkins, 1994

Sadava et al., 2014; 2019

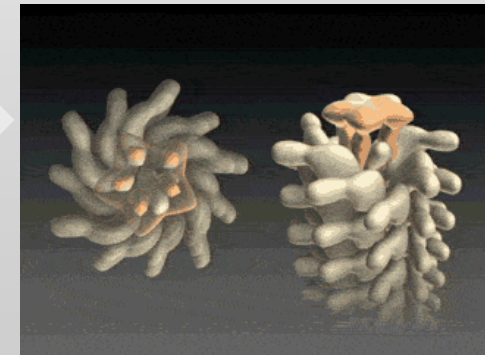
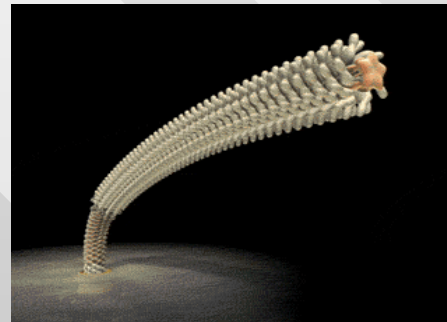
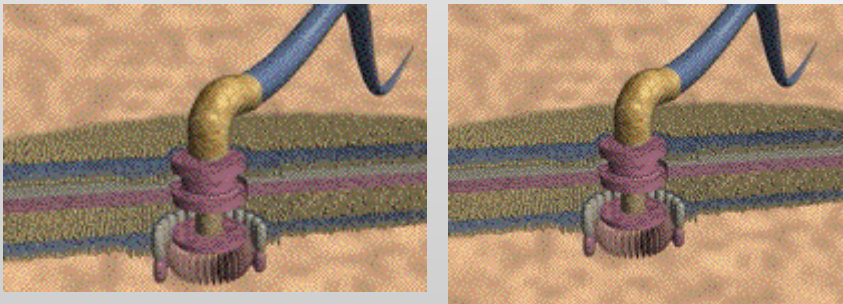
GRAM STAINING			
1		2	
Flow Through Procedure	Wipe bottom of biofilm slide clean	Clean top edges of slide about 2mm	
3		4	
5			
Build up a ridge of petroleum jelly on the top and bottom of a cover slip	Cover slip with petroleum jelly	Biofilm on slide with cover slip	
6		7	
Add crystal violet-wait 30 sec.	Wash with water	8	
		Add Grams iodine -wait 1.5 min.	
9		10	
Decolorize with alcohol	Wash with water	11	
		Stain with Safranin dye-wait 30 sec.	
12		13	
Wash with water	Examine under oil immersion through the cover slip		



Numerosi Eubatteri possiedono flagelli, ma i flagelli dei Procarioti sono molto diversi da quelli degli Eucarioti

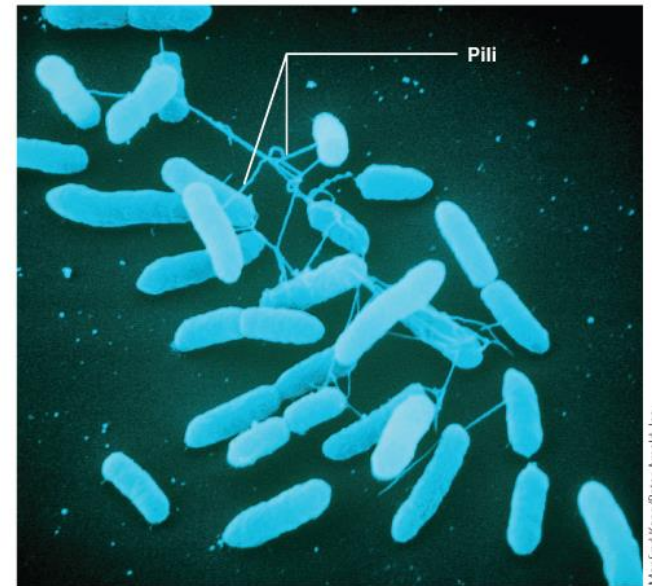
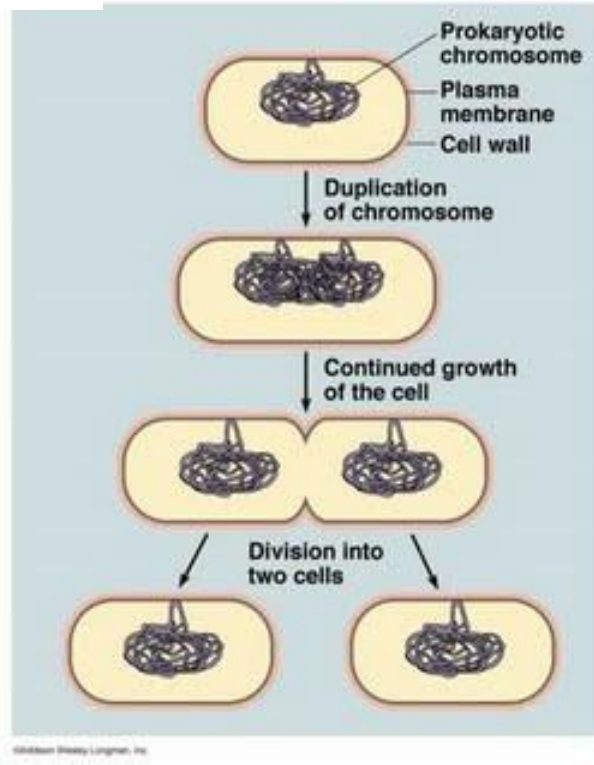


Il flagello batterico è un “motorino” molecolare a protoni, costituito da più di 50 proteine: il movimento è determinato dal flusso di protoni in una struttura che ruota intorno alla base, situata nella membrana plasmatica del batterio





Riproduzione nei batteri: scissione binaria e coniugazione



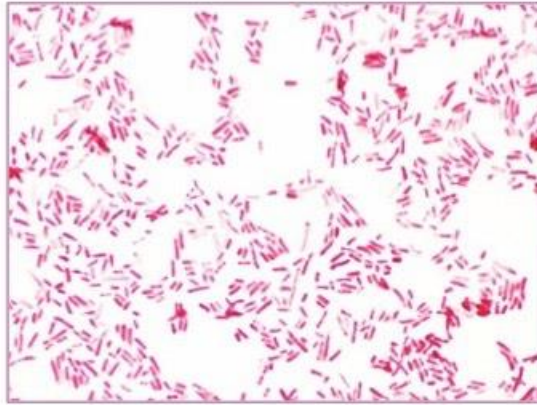
I Procarioti (Eubatteri ed Archea) si riproducono per **scissione binaria**:

il DNA circolare si replica e si separa in due molecole, poi si separano anche la membrana plasmatica e il citoplasma: infine si ricostruisce la parete batterica intorno alla membrana delle due cellule figlie

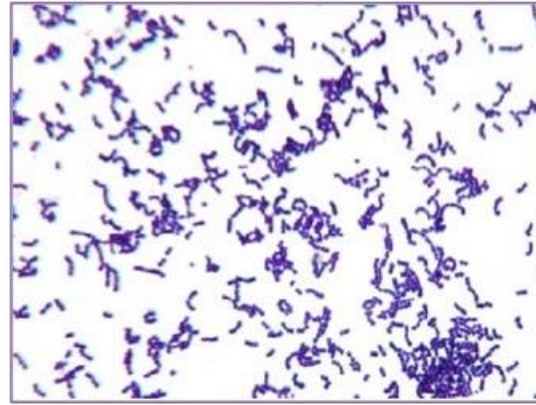
Gli Eubatteri possiedono anche una forma primitiva di riproduzione sessuata (detta “**coniugazione**”) in cui avviene un trasferimento di geni da una cellula all’altra tramite sottili protuberanze (“**pili**”)

Fonti: Sadava et al., 2014; 2019
Solomon et al., 2012

Suddivisione degli Eubatteri



Gram-Negative Bacteria



Gram-Positive Bacteria

Gram-negativi:

- Spirochete
- Cianobatteri
- Adobatteri
- Ipertermofili
- **Proteobatteri**

Gram-positivi:

- a basso contenuto in guanina e citosina (GC) nel DNA (***Firmicutes***)
- ad alto contenuto in GC nel DNA (***Actinobacteria***)

Fonti:

Holt et al. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Ed. Lippincott Williams & Wilkins, 1994

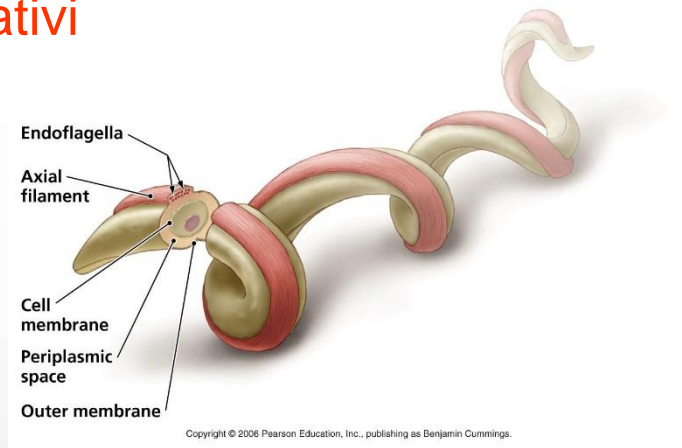
Sadava et al., 2014; 2019

Eubatteri Gram-negativi

Spirochete (Spirochaetae)

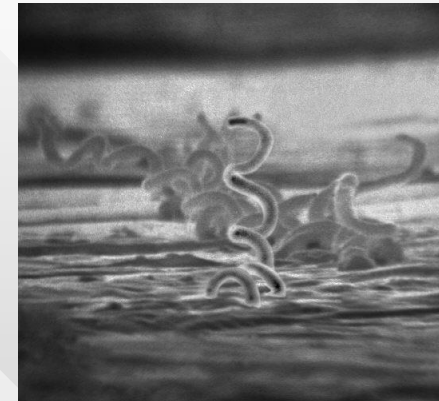
Batteri Gram-negativi con **filamenti assiali** nella membrana periplasmica (“**endoflagelli**”) che determinano un veloce movimento a spirale

Molte spirochete sono chemioeterotrofe e conducono vita libera, ma alcune provocano malattie gravi come la **sifilide** o la **malattia di Lyme**



Borrelia burgdorferi

agente della malattia (o febbre) di Lyme, zoonosi trasmessa dalla zecca *Ixodes* sp.



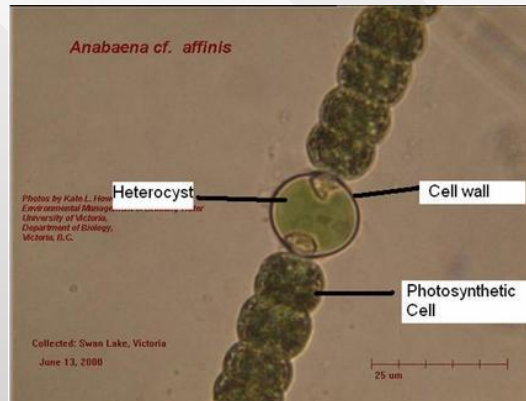
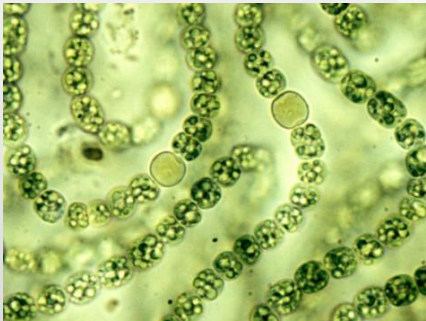
Treponema pallidum, agente della sifilide



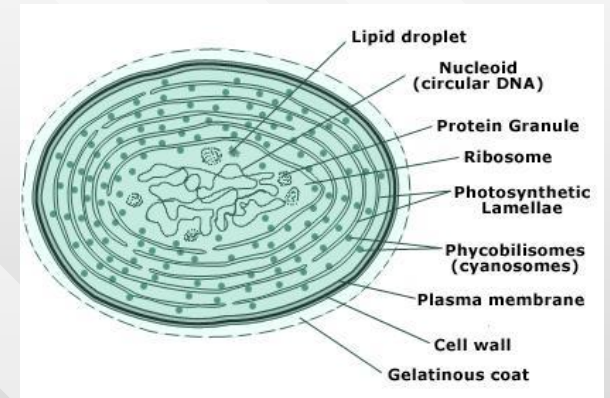
Cianobatteri

(Cyanobacteria, “alghe verdi-azzurre”)

- Importantissimi **procarioti autotrofi**, i primi a sviluppare la **fotosintesi ossigenica** che ha arricchito di O_2 l'**atmosfera del pianeta** circa 2.3 miliardi di anni fa
- Alcune specie formano colonie filamentose e sono in grado di **fissare l'azoto atmosferico**, riducendolo a ione ammonio tramite cellule specializzate (“**eterocisti**”)



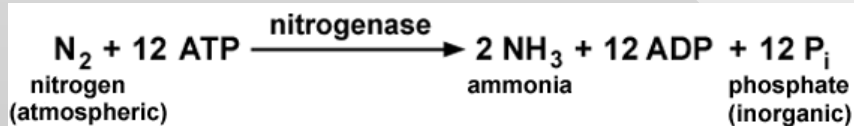
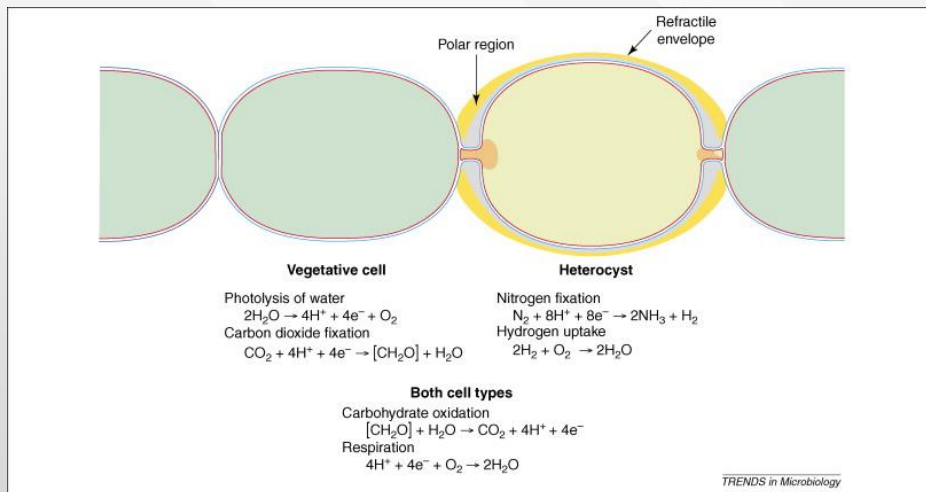
Anabaena sp.



Non a caso, la struttura di un tipico cianobatterio è molto simile a quella di un cloroplasto: sono infatti questi procarioti fotosintetici che **per endosimbiosi secondaria hanno originato questo organello eucariotico**, esclusivo delle Piante

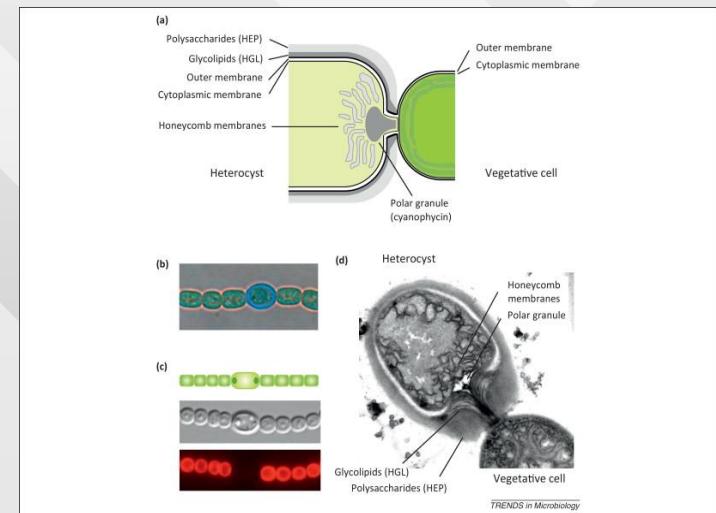
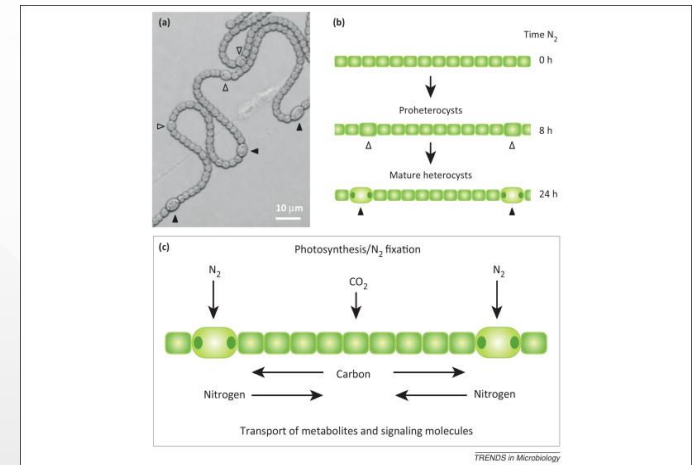
Nelle eterocisti avviene la fissazione dell'azoto atmosferico da parte dell'enzima **nitrogenasi**, che richiede condizioni quasi anossiche per il suo funzionamento

- L'eterocisti è una cellula specializzata per la fissazione di azoto tramite la **nitrogenasi**, che è **inattivata dall'ossigeno**
- L'eterocisti si differenzia a partire da una normale cellula, spostando i tilacoidi (le membrane interne fotosintetiche) e rinforzando la membrana esterna, **in modo da ottenere un ambiente cellulare quasi privo di ossigeno**

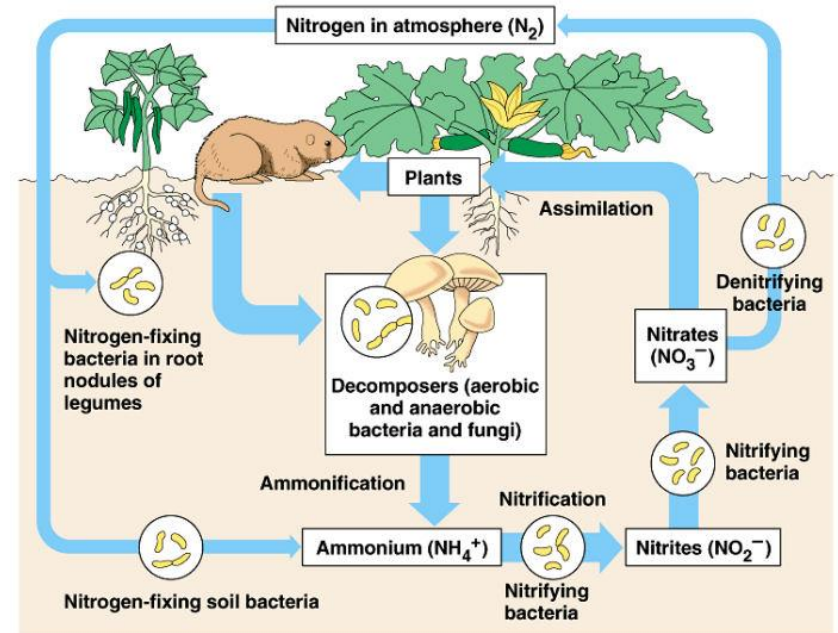
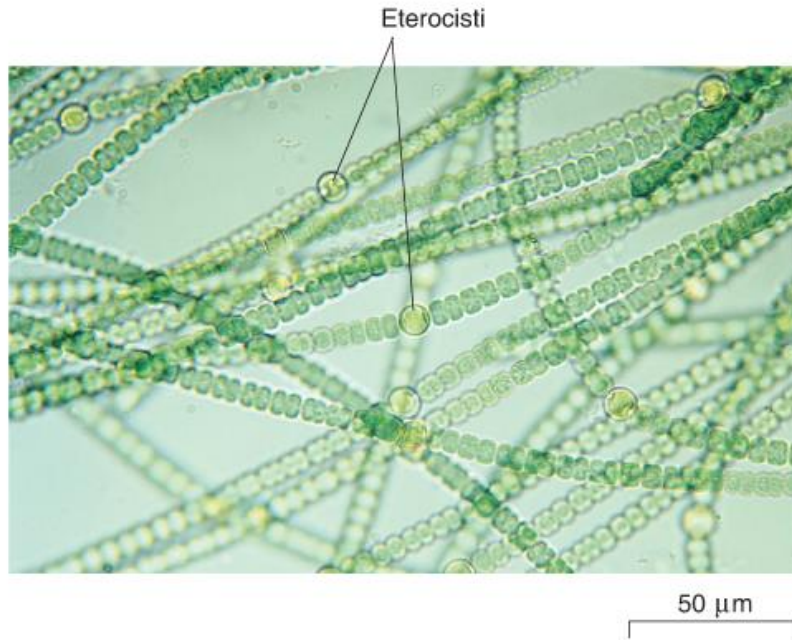


It takes 12 ATPs to provide sufficient energy to break the strong triple bond between the two nitrogen atoms of N_2 gas: $\text{N}\equiv\text{N}$

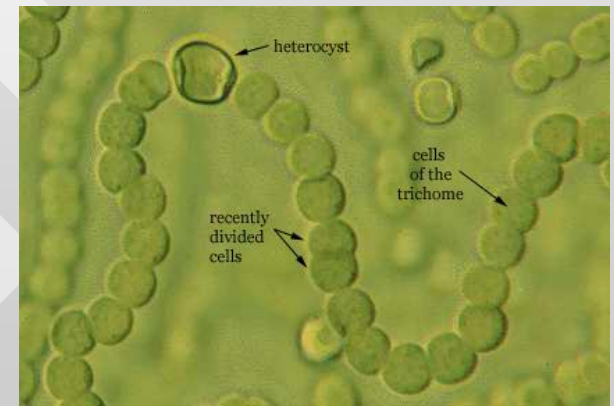
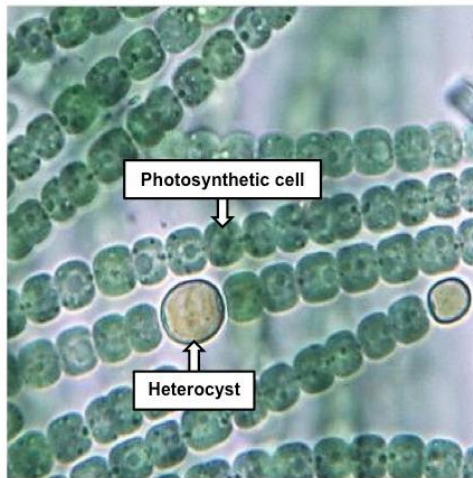
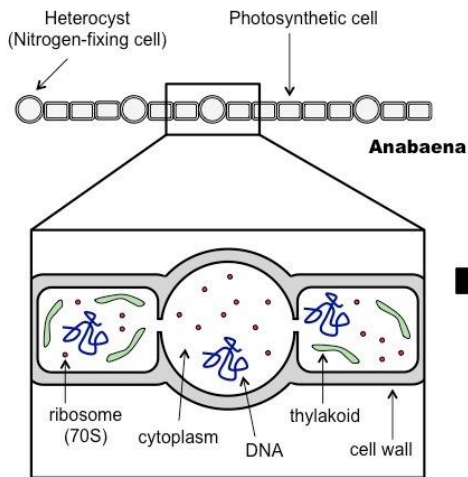
Simplified Equation For Nitrogen Fixation



I cianobatteri azotofissatori sono uno dei "pilastri" sui quali si mantiene la vita sulla Terra



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.



Fonte: Sadava et al., 2014; 2019

Synechococcus sp. (Chroococcales)
organismo modello per i Cyanobacteria

- Cianobatterio marino a fotosintesi ossigenica, dotato di motilità elevata anche se privo di flagelli o cilia (si muove tramite blandi gradienti di azoto)
- Componente fondamentale del fitoplancton procariotico nei mari temperati e caldi

Organismo modello per lo studio della fissazione del carbonio,
con genoma interamente sequenziato nel 2003

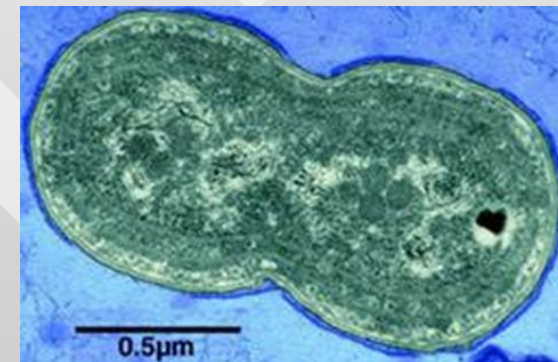
Il genoma circolare di tipo procariotico
contiene 2.7 Mb e 2662 geni codificanti

Nel citoplasma è presente anche un piccolo
plasmide (DNA extracromosomico)

Banche dati genomiche *dedicate a *Synechococcus* sp.*

KEGG Genome
CyanoBase

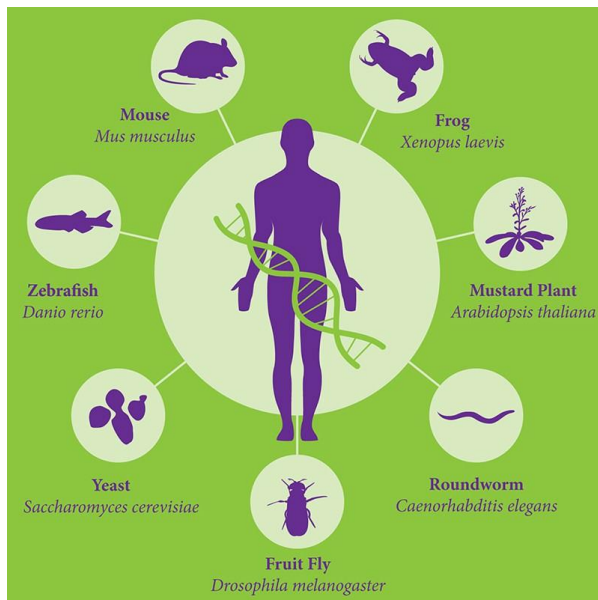
<http://genome.microbedb.jp/cyanobase/>



Fonte: Palenik et al., Nature 424, 1037, 2003

Definizione di “organismo modello”

- Un “organismo modello” è una specie “non-umana” studiata in modo approfondito per ottenere informazioni estensibili ad altre specie, in particolare a *H. sapiens*
- Un organismo modello è solo una piccola frazione della grande biodiversità terrestre, ma **deve essere rappresentativo per molte altre specie**, specialmente per quelle nelle quali la sperimentazione non è etica oppure non facilmente realizzabile



In passato si intendeva per “organismo modello” un organismo di piccole dimensioni, a ciclo biologico breve, facile ed economico da allevare, adatto quindi in modo particolare per ricerche di laboratorio

→ esempi di organismi modello classici: *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Drosophila melanogaster*, *Mus musculus*

I progressi della genomica hanno tuttavia permesso di estendere la definizione di “organismo modello” a **specie che non hanno le caratteristiche precedentemente elencate**, ma che sono di grande interesse in campo biologico, biomedico, biotecnologico o industriale (“**modello genomico**”)

→ ad esempio: *Chlamydomonas reinhardtii*, *Arabidopsis thaliana*, *Caenorhabditis elegans*, *Takifugu rubripes*, *Danio rerio*

Eubatteri ipertermofili

Alcuni Eubatteri sono **estremofili**, una caratteristica tipica degli Archaea, ma presente anche negli Eubatteri

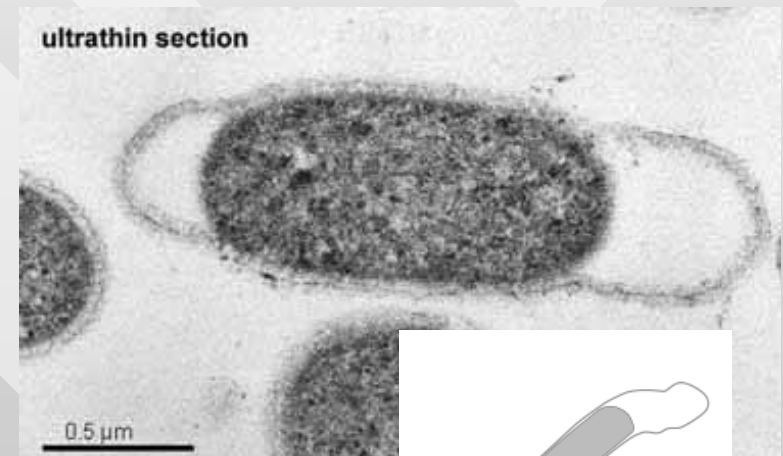
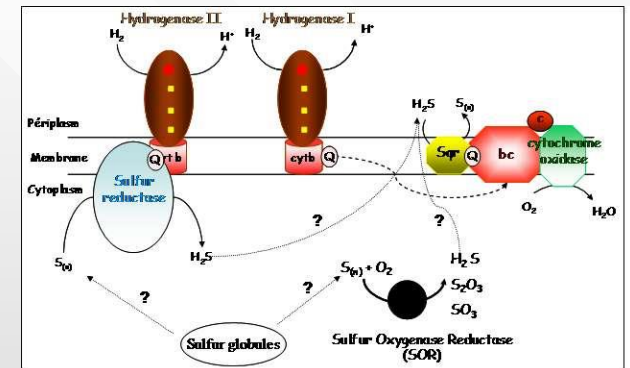
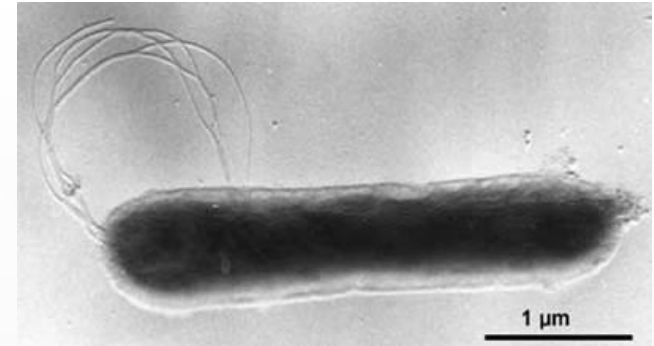
Ad esempio, *Aquifex aeolicus*, un batterio scoperto nel 1992 in una sorgente termale delle Isole Eolie) **vive senza problemi alla temperatura di 95 °C**

- *A. aeolicus* è di grande interesse biotecnologico per gli **enzimi termoresistenti** che produce (solfo-reduttasi ed idrogenasi) di grande interesse biotecnologico
- Il suo genoma (non a caso simile per il 16% a quello degli Archaea) è stato interamente sequenziato nel 1998

Thermotoga maritima, scoperto nel 1986 in una area marina geotermica dell'isola di Vulcano, vive tra 55 e 90° nei camini vulcanici sottomarini (“**hydrothermal vents**”) e nei depositi di petrolio

E' rivestito da un curioso involucro, detto “**toga**”, costituita da espansioni dello strato esterno

Fonti: Sadava et al., 2014; 2019
Solomon et al., 2012

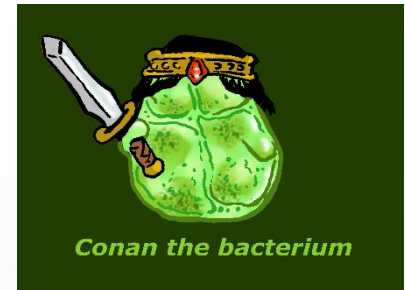
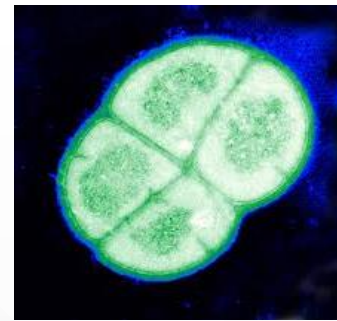


Adobatteri

Altri Eubatteri estremofili sono **fortemente radioresistenti**, come *Deinococcus radiodurans*, o **fortemente ipertermofili**, come *Thermus aquaticus*

Thermus aquaticus, chemiotrofo isolato nel 1969 nella Geysir Valley (Yellowstone National Park, Wyoming), vive tra 55 e 80°, con **temperatura ideale 70°**

E' stata la prima **preziosa fonte biotecnologica di enzimi termostabili**, come la DNA polimerasi ("Taq pol", 1976), RNA polimerasi, endonucleasi di restrizione e aldolasi



D. radiodurans, adobatterio in grado di **sopravvivere fino a 1500 Krad**

(1 Krad è mortale per *H. sapiens* e 6 Krad per *E. coli*)



JOURNAL OF BACTERIOLOGY, Sept. 1976, p. 1550-1557
Copyright © 1976 American Society for Microbiology

Vol. 127, No. 3
Printed in U.S.A.

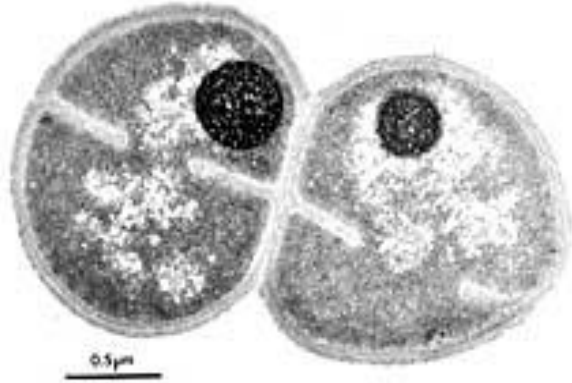
Deoxyribonucleic Acid Polymerase from the Extreme Thermophile *Thermus aquaticus*

ALICE CHIEN, DAVID B. EDGAR, AND JOHN M. TRELA*
Department of Biological Sciences, University of Cincinnati, Cincinnati, Ohio 45221

Received for publication 12 April 1976

A stable deoxyribonucleic acid (DNA) polymerase (EC 2.7.7.7) with a temperature optimum of 80°C has been purified from the extreme thermophile *Thermus aquaticus*. The enzyme is free from phosphomonoesterase, phosphodiesterase, and single-stranded exonuclease activities. Maximal activity of the enzyme requires all four deoxyribonucleotides and activated calf thymus DNA. An absolute requirement for divalent cation cofactor was satisfied by Mg²⁺ or to a lesser extent by Mn²⁺. Monovalent cations at concentrations as high as 0.1 M did not show a significant inhibitory effect. The pH optimum was 8.0 in tris(hydroxymethyl)aminomethane-hydrochloride buffer. The molecular weight of the enzyme was estimated by sucrose gradient centrifugation and gel filtrations on Sephadex G-100 to be approximately 63,000 to 68,000. The elevated temperature requirement, small size, and lack of nuclease activity distinguish this polymerase from the DNA polymerases of *Escherichia coli*.

Deinococcus radiodurans Brooks & Murray, 1981
(soprannominato scherzosamente “**Conan il batterio**”)

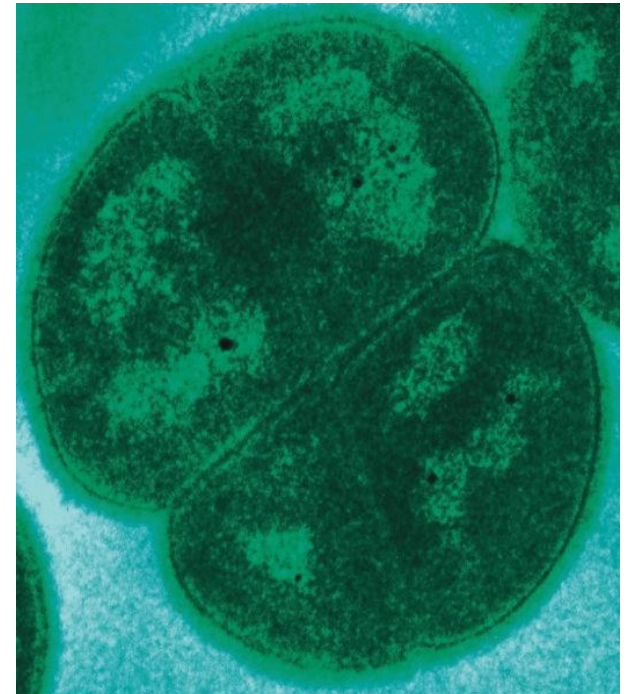


Eubatterio aerobio e chemiorganotrofo
a colorazione di **Gram ambigua**
(ufficialmente Gram-negativo, ma spesso indicato
anche come Gram-positivo)

E' estremamente resistente a **radiazioni ionizzanti e ultraviolette**, alla **disidratazione**, allo **stress ossidativo** (esposizione alle specie reattive dell'ossigeno, o **ROS**) e a molti altri tipi di danno al DNA

Il suo **genoma**, con **due molecole di DNA circolare** e **due plasmidi**, che codificano per 3195 geni, **è stato interamente sequenziato nel 2001** (Makarova et al., 2001)

Fonti: Krisko and Radman, Cold Spring Harb. Perspect. Biol. 5:a012765, 2013
Sadava et al., 2014



Misure di radioattività

(o, più correttamente, misure di **emissione di energia** da parte di radionuclidi)

Le misure di radioattività dipendono dall'**obiettivo scelto per la ricerca**:

- Entità delle radiazioni emesse da una sorgente
- Dose assorbita da un essere vivente
- Effetti biologici su un vivente esposto alle radiazioni e potenziali rischi per la salute

Unità di misura

La quantità di radiazioni emessa da una sorgente radioattiva si misura in **Curie** (Ci, 37 miliardi di disintegrazioni al secondo), oppure, nel Sistema Internazionale, in **Becquerel** (Bq, 1 disintegrazione al secondo)

La radiazione assorbita da una persona (cioè la quantità di energia depositata in un tessuto umano a causa dell'esposizione a radiazioni) si misura in **rad**, oppure, nel Sistema Internazionale, in **gray** (Gy)

1 rad (acronimo di "radiation absorbed dose") corrisponde a **100 erg per g**
1 Gy corrisponde a **1 joule** ($1 \text{ kg} \times \text{m}^2/\text{s}^2$) di energia **per kg** ed equivale a 100 rad

Il rischio biologico di esposizione a radiazioni si misura in **rem** oppure, nel Sistema Internazionale, in **sievert** (Sv)

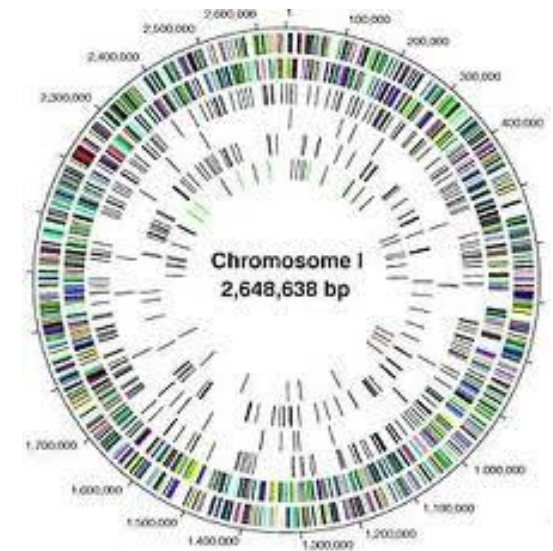
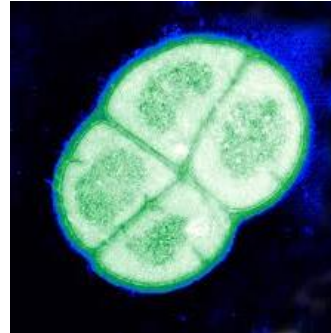
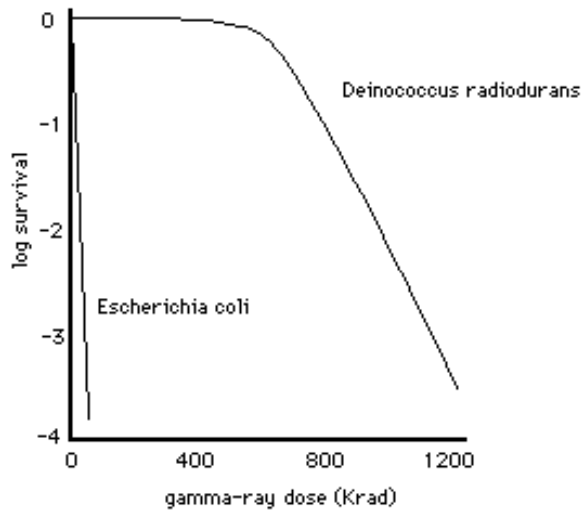
Il **rischio biologico** (cioè la possibilità che la salute di una persona o di un altro essere vivente sia compromessa dall'esposizione a radiazioni) si misura in **rem** o in **Sv**

1 rem (Roentgen-equivalent man) = **1 rad x Q** ("quality factor"), diverso a seconda del tipo di radiazione: ad esempio, Q = 1 per raggi X e raggi gamma, Q = 20 per i raggi alfa

1 Sv (1 joule / kg) corrisponde a **100 rem**

Source of exposure	Dose in rem	Dose in sievert (Sv)
Exposure to cosmic rays during a roundtrip airplane flight from New York to Los Angeles	3 mrem	0.03 mSv
One dental x-ray	4-15 mrem	0.04-0.15 mSv
One chest x-ray	10 mrem	0.1 mSv
One mammogram	70 mrem	0.7 mSv
One year of exposure to natural radiation (from soil, cosmic rays, etc.)	300 mrem	3 mSv

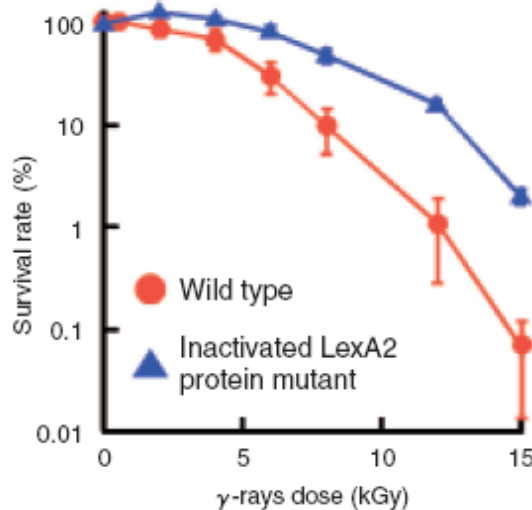
Resistenza di *D. radiodurans* alle radiazioni



Per un essere umano la quantità di radiazioni potenzialmente mortale è **10 Gy** (pari a 1000 rad, cioè **1 Krad**)

Una colonia di *E. coli* è completamente distrutta a **60 Gy** (pari a 6000 rad, cioè **6 Krad**)

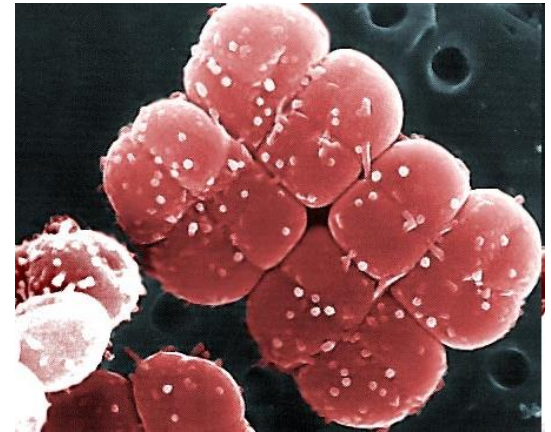
D. radiodurans vive senza problemi a **5000 Gy** (pari a **500 Krad**) e alcune sue cellule possono sopravvivere fino a **15000 Gy** (pari a **1500 Krad**)



D. radiodurans

poliestremofilo definito come “**la forma di vita più resistente al mondo**”
(come indicato anche in “The Guinness Book of World Records”)

Sulla Terra i **livelli di radiazione di fondo sono molto bassi** (3 mSv all’anno), quindi la resistenza alla radioattività di *D. radiodurans* non è facilmente spiegabile: alcuni studiosi hanno avanzato anche la curiosa ipotesi (priva di fondamento) che questo eubatterio sia di origine extraterrestre, ma **il suo genoma è certamente molto “terrestre”...**



Recenti studi hanno dimostrato che *D. radiodurans* ha evoluto una estrema resistenza allo stress da carenza idrica (disseccamento), potenziando alcune proteine (dette **LEA**, Late Embryogenesis Abundant proteins), una categoria di “**chaperonine**” che proteggono le altre proteine dalla siccità estrema

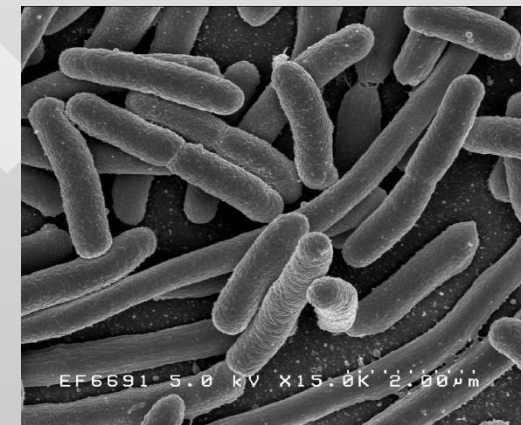
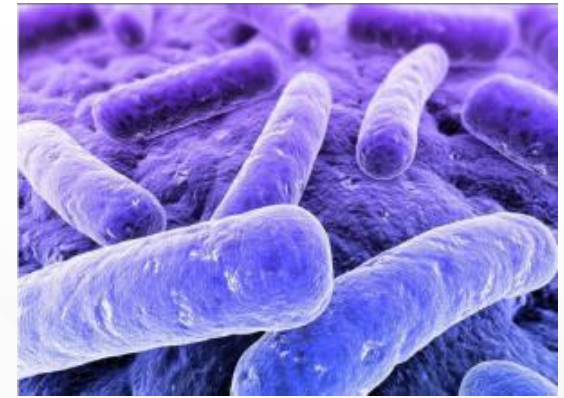
→ La sua resistenza alla radioattività si sarebbe quindi evoluta come “**effetto secondario**” dell’estrema resistenza al disseccamento

La sua resistenza al disseccamento e alla radioattività sembra inoltre basata sul **numero elevato di copie del genoma** (da 8 a 10) e sull’efficientissimo **meccanismo di riparo del DNA** tramite enzimi che impediscono rotture del doppio filamento (Timmins e Moe, 2016)

Ceppi ingegnerizzati di *D. radiodurans* sono impiegati nei processi di “**bioremediation**” per digerire solventi e metalli pesanti in ambienti radioattivi

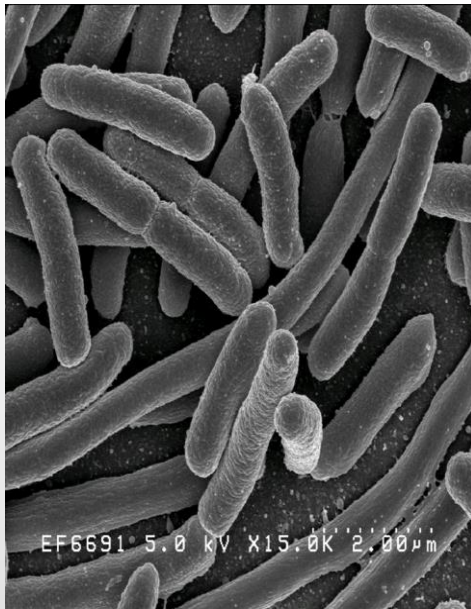
I Proteobatteri (Gram-negativi)

- E' il gruppo **più numeroso e diversificato** di Eubatteri, con **forme autotrofe, eterotrofe ed azotofissatrici di grande importanza**
- E' il gruppo che tramite endosimbiosi **ha originato i mitocondri nella cellula eucariotica**
- Ai proteobatteri appartiene *Escherichia coli*, organismo **modello fondamentale tra i Procarioti**, ma a questo gruppo appartengono anche patogeni come *Helicobacter pylori*, *Salmonella enterica*, *Neisseria meningitidis*, *Vibrio cholerae* e *Yersinia pestis*
- Tra i proteobatteri vi sono tuttavia anche importanti **azotofissatori** come *Rhizobium leguminosarum* e l'agente del tumore del colletto ("crown gall"), *Agrobacterium tumefaciens*, il cui **plasmide** è usato per le **trasformazioni genetiche** delle piante



Escherichia coli

il primo e più importante organismo modello tra i Procarioti



Eubatterio coliforme Gram-negativo
("bacillo"), appartenente al gruppo
Enterobacteriaceae

Il nome deriva dal suo scopritore, il pediatra tedesco Theodor von Escherich (1857-1911)

E. coli costituisce lo **0.1% della flora batterica intestinale** ed è usato come **indicatore ambientale di contaminazione fecale**

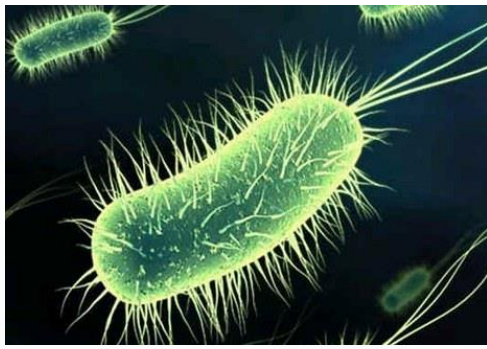


Ha un **ruolo fondamentale** negli studi sul **DNA ricombinante**, in **bioingegneria** e in **microbiologia industriale**

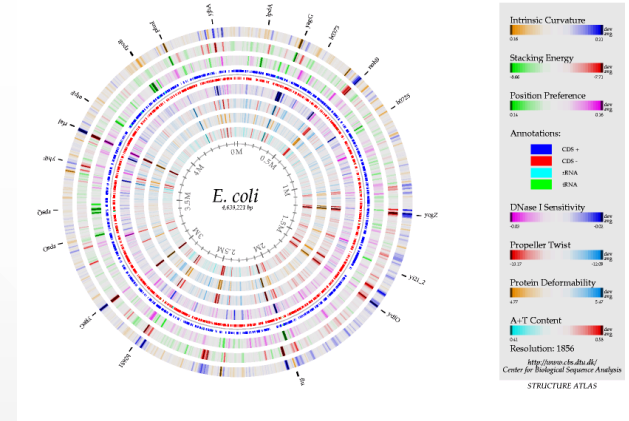
*“Once we understand the biology of *E. coli*, we will understand the biology of an elephant”*

Jacques Monod

Fonti: Holt et al., 1994
Sadava et al., 2014; 2019



Genoma di *E. coli*



- Il genoma di *E. coli*, costituito da **un'unica molecola circolare di DNA**, è stato interamente sequenziato nel 1997 (Blattner et al., Science 1997)

- La molecola circolare di DNA (detta impropriamente "cromosoma batterico") è lunga 4.6 Mb (milioni di coppie di basi) e contiene 4435 geni, che codificano per 4339 proteine e 168 molecole di RNA

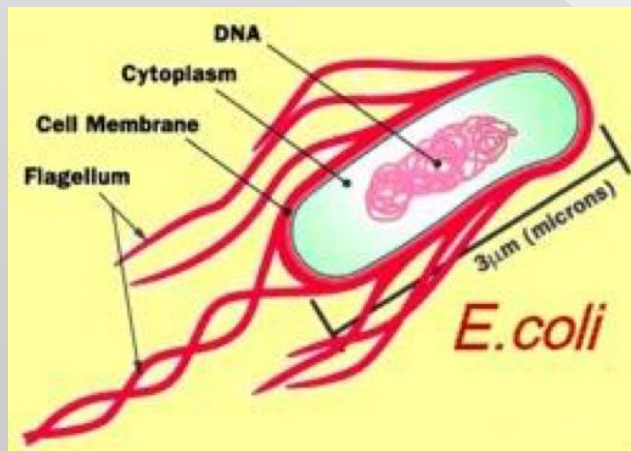
Anche il proteoma (insieme di tutte le proteine) di *E. coli* è stato completato (Hu et al., PLoS Biol. 7, 96, 2009)

Risorse (banche dati) per il genoma e proteoma di *E. coli*

EcoGene
<http://www.ecogene.org/>

EcoCyc
<http://www.ecocyc.org/>

E. coli Genome Project
<http://www.genome.wisc.edu/>

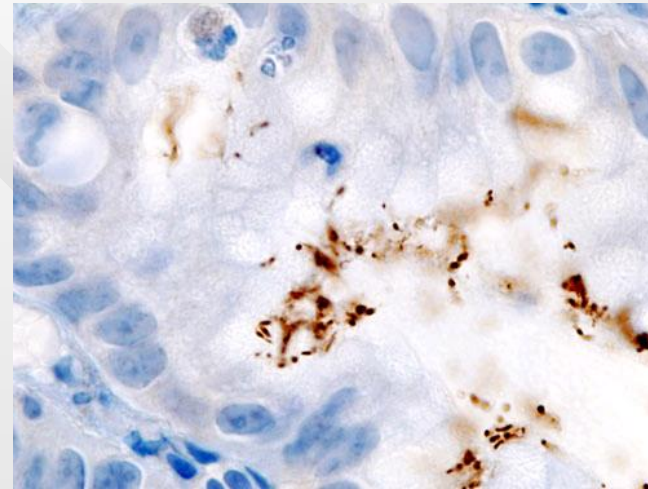
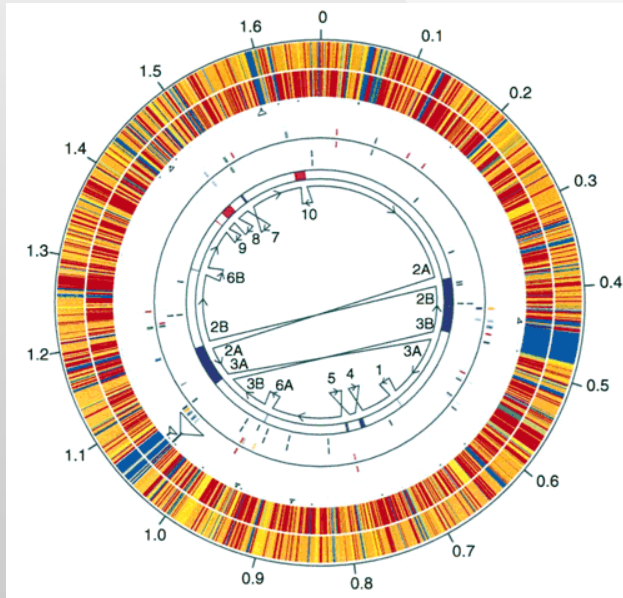
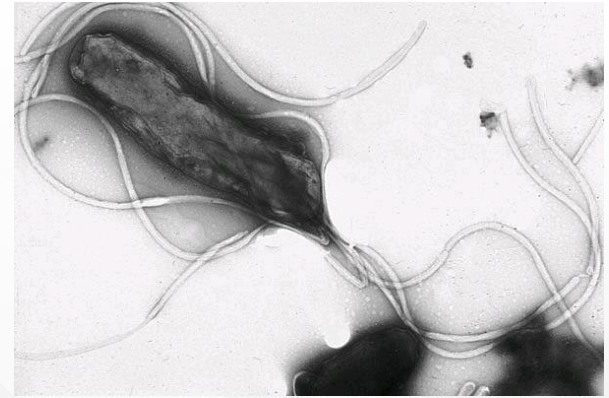


Helicobacter pylori (Proteobacteriaceae)

Proteobatterio Gram-negativo direttamente coinvolto nella **patogenesi dell'ulcera gastrica e del cancro allo stomaco**

E' presente in 2/3 della popolazione mondiale, quindi è **l'infezione umana più diffusa al mondo (70% asintomatica)**

Il suo genoma (1.6 Mb) è stato interamente sequenziato nel 1997 (Tomb et al., Nature 1997): contiene 933 geni in grado di produrre 1587 proteine



Risorse per il genoma di *H. pylori*

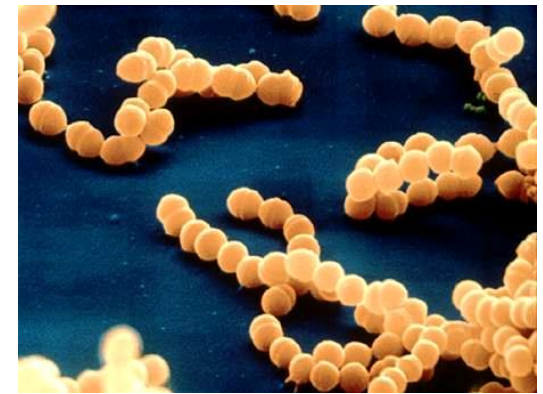
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2429/>

http://www.genome.jp/kegg-bin/show_organism?org=hpy

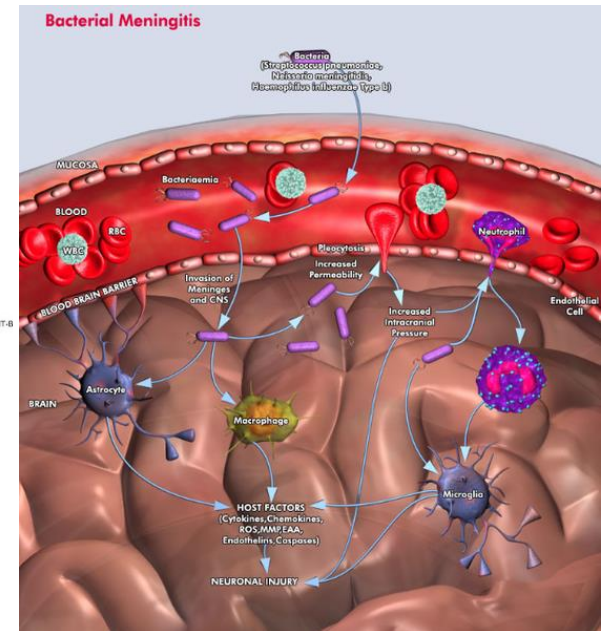
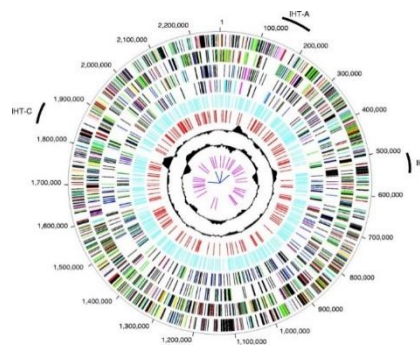
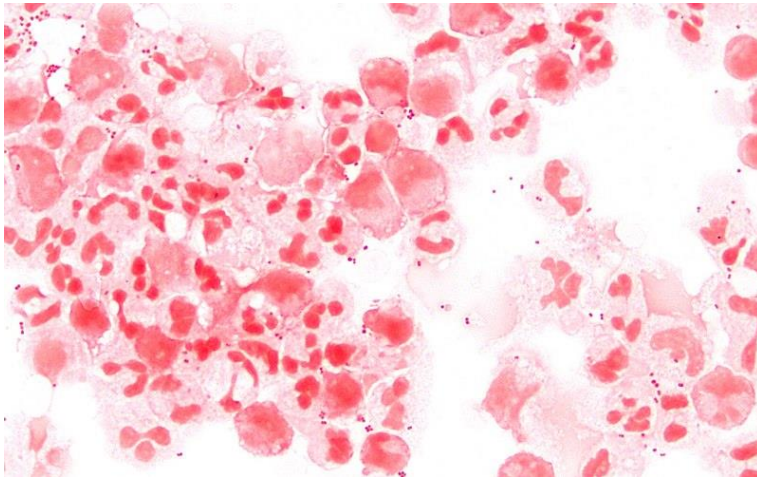


Neisseria meningitidis (Proteobacteria, Neisseriaceae)

“meningococco”
agente della meningite batterica umana



Patogeno esclusivamente umano e molto pericoloso (mortalità 10%, per alcuni ceppi fino al 50%), è l'agente dell'unico tipo di meningite batterica che può causare epidemie nella cosiddetta “fascia della meningite” (Africa ed Asia)



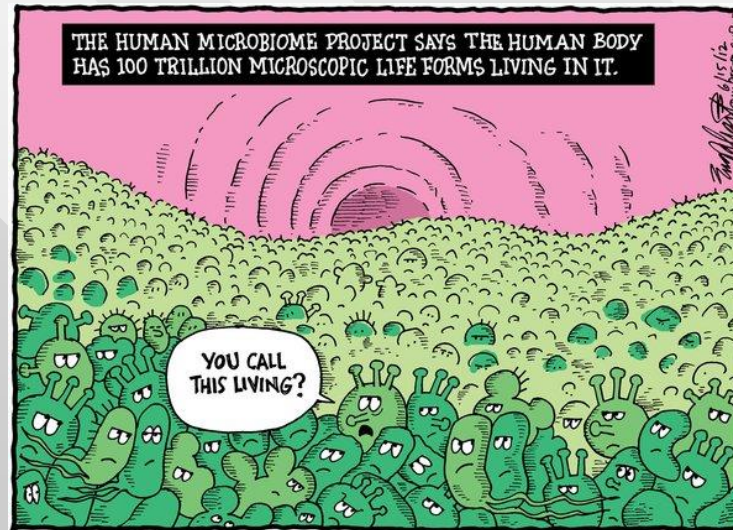
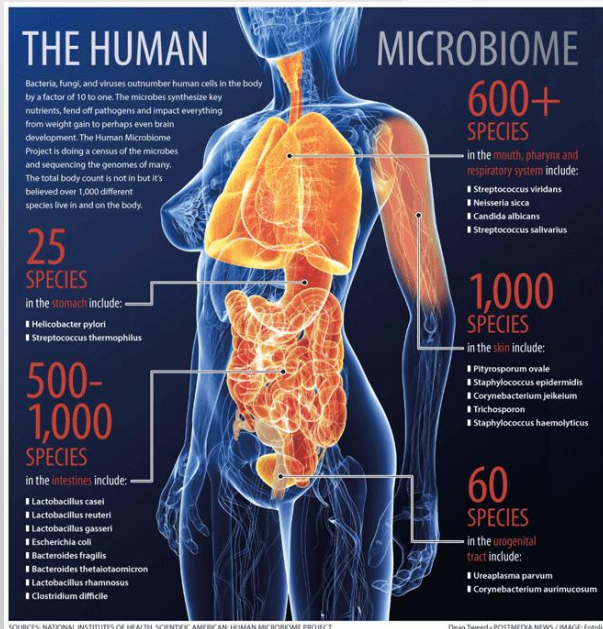
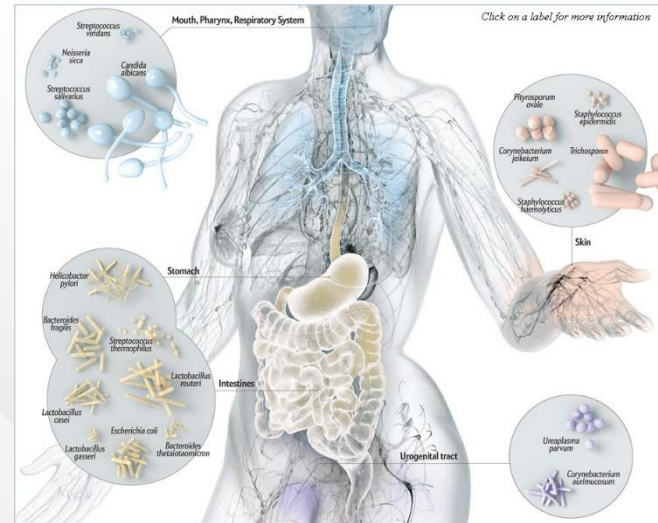
Il genoma del meningococco (ceppo MC58, 2.27 Mb) è stato interamente sequenziato dal gruppo di J. Craig Venter nel 2000 (Tettelin et al., Science 2000): contiene 2225 geni codificanti per 2063 proteine

Il microbioma

la comunità complessa di microorganismi commensali, simbiotici e patogeni che condividono il nostro corpo



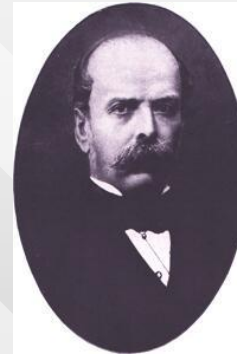
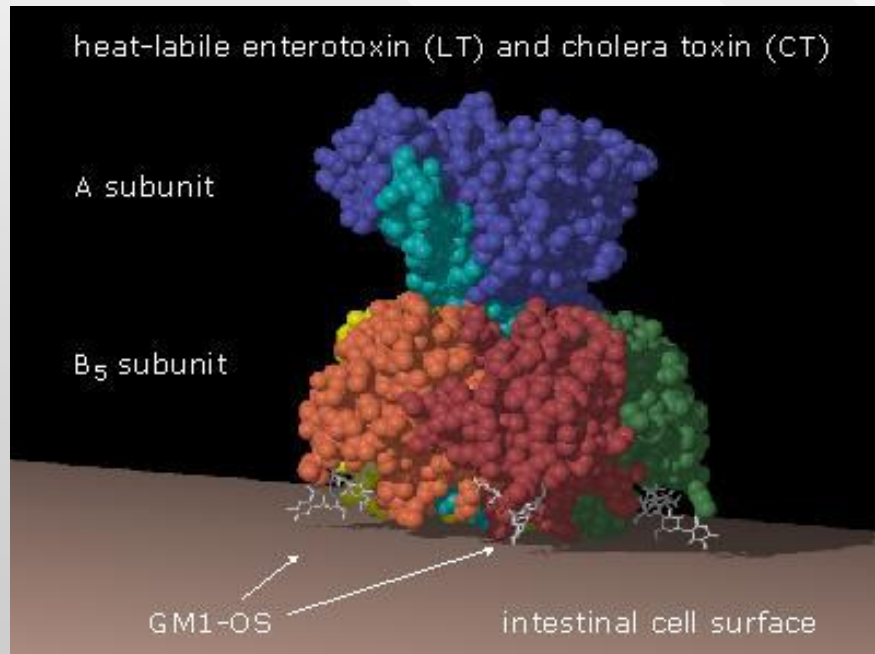
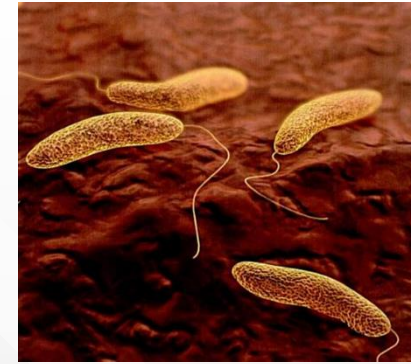
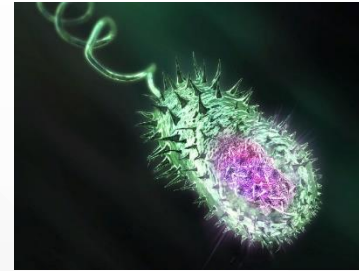
L'Human Microbiome Project (HMP) ha lo scopo di identificare e caratterizzare tutti i microorganismi associati alla fisiologia e alle patologie umane



Vibrio cholerae (Proteobacteria Vibrionales) e la sua tossina disidratante

Vibrio cholerae è un anaerobio facoltativo a forma di virgola e provvisto di un flagello, che vive bene in ambienti molto diversi come l'acqua (dolce o salata) e l'intestino umano

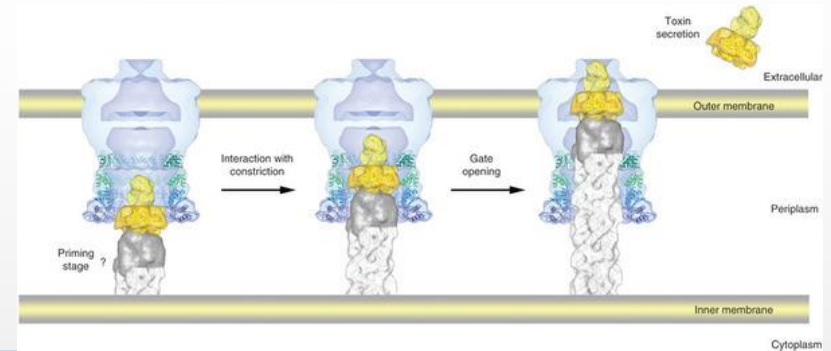
Produce una **enterotossina a gravità variabile**, detta **CtX**, costituita da un complesso di sei proteine (**eteroesamero**), una di tipo A e 5 di tipo B



Vetrino contenente vibrioni del colera preparato nel 1854 dall'anatomista fiorentino Filippo Pacini, che isolò e descrisse il batterio durante la pandemia di colera asiatico del 1846-1863

Le proteine di tipo B inducono l'endocitosi della tossina nelle cellule intestinali, **liberando la proteina di tipo A nel citoplasma**: questa evita la distruzione nel proteasoma e si ripiega di nuovo, aumentando l'**attività dell'enzima adenilato ciclasi** e **fosforilando i canali del sodio e del cloro**

I canali attivati rendono permeabile la membrana della cellula intestinale, provocando una **rapida perdita di acqua dall'intestino** (fino a 2 litri ogni ora) ed una gravissima (e spesso fatale) disidratazione



The Infection Cycle of *Vibrio Cholerae*

1. Infection
The main reservoirs of *V. cholerae* are people and aquatic sources such as brackish water and estuaries. Cholera infections are most commonly acquired from drinking water in which *V. cholerae* is found naturally or it has been introduced from the feces of an infected person. Other vehicles are contaminated fish and shellfish.

2. Gastric Acid Barrier
Only a few bacteria survive the acidic conditions in the human stomach and arrive at the small intestine. They conserve energy by shutting down protein production. Regulation of protein biosynthesis is regulated by changing altering environmental conditions.

3. Chemotaxis
Bacteria express the genes to produce flagella to make flagella and propel themselves through the thick mucus to get to the intestinal wall. (Bacteria here not to scale)

4. Colonization of the small intestine
Bacteria no longer synthesize flagella, attach to intestinal cells and aggregate to colonies.

5. Secretion of Cholera Toxin
Reaching the intestinal wall, the bacteria start producing the toxic proteins.

6. Expression of TCP
Specific adherence to the intestinal mucosa is probably mediated by long filamentous fimbriae, the toxin co-regulated pilus (TCP).

7. Effects of Cholera Toxin
The cholera toxin is a complex made up of six protein subunits. The complex is taken into the cell via endocytosis. This finally results in release of chloride ions into the lumen of the small intestine. (ADPR=ADP-Ribosylase; AC=Adenylate Cyclase)

8. Diarrhea
Increased ion concentration creates a salt-water environment in the small intestine, resulting in severe diarrhea and vomiting that can lead to dehydration and electrolyte imbalance and death in some cases.

9. Escape Response
V. cholerae detaches from the epithelium and prepares for transmission to another host or entry into the aquatic environment. This mobile, but non chemotactic stage is highly infectious.

Prevention
In developed countries due to advanced water treatment and sanitation practices, cholera is no longer a major health threat. Effective sanitation practices are usually sufficient to stop an epidemic.
An effective and relatively cheap method to prevent transmission of *V. cholerae* is the use of folding Saris multiple times to create a simple filter.

© 2012 Layla Lang. All rights reserved.

Yersinia pestis, agente della peste bubbonica

- Il proteobatterio *Yersinia* (syn. *Pasteurella*) *pestis* è l'agente della peste bubbonica, trasmessa dalla pulce orientale del ratto, *Xenopsylla cheopis* (Insecta Aphaniptera), che ospita il batterio
- La peste si è diffusa dall'Asia in Europa a seguito delle **migrazioni del ratto nero** (*Rattus rattus norvegicus*), iniziate intorno al 1300
- Secondo studi recenti, le ricorrenti epidemie di peste fino al 1900 hanno comportato un adattamento del batterio alla **trasmissione diretta da persona a persona**
- Le organizzazioni sanitarie internazionali documentano **ogni anno circa 600 casi di peste** nel mondo

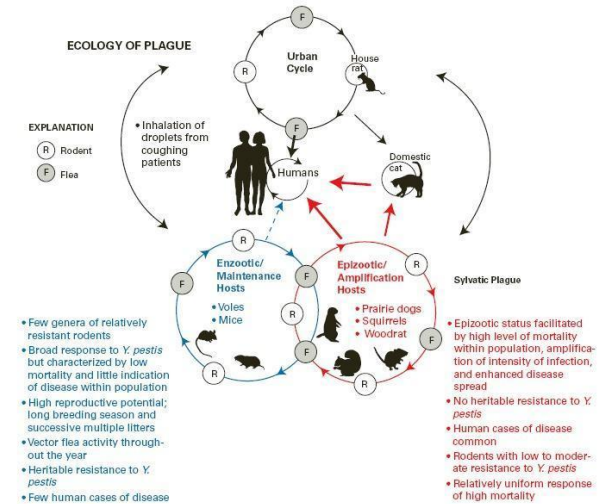
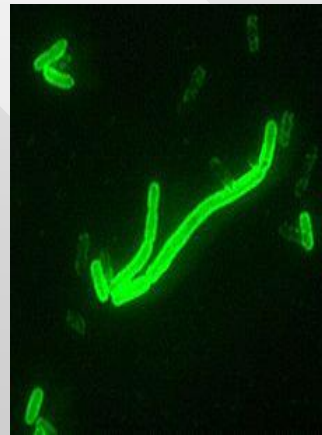
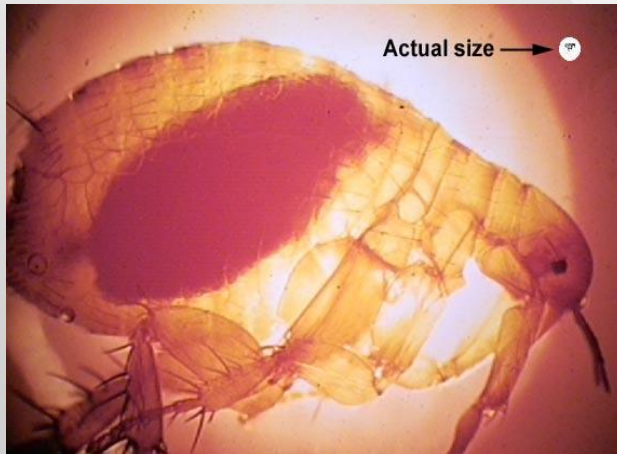
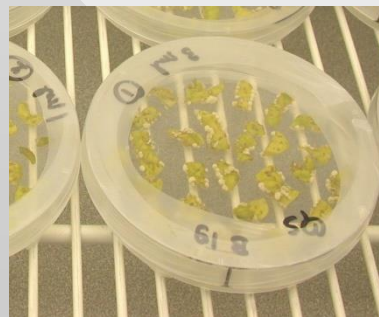
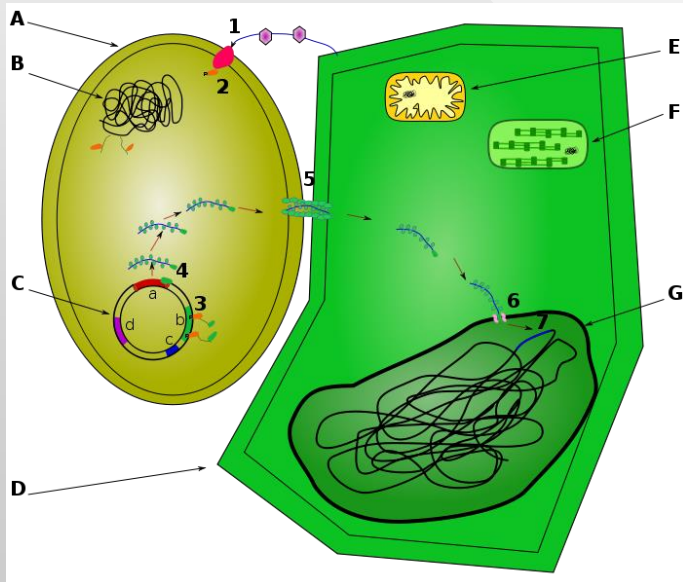
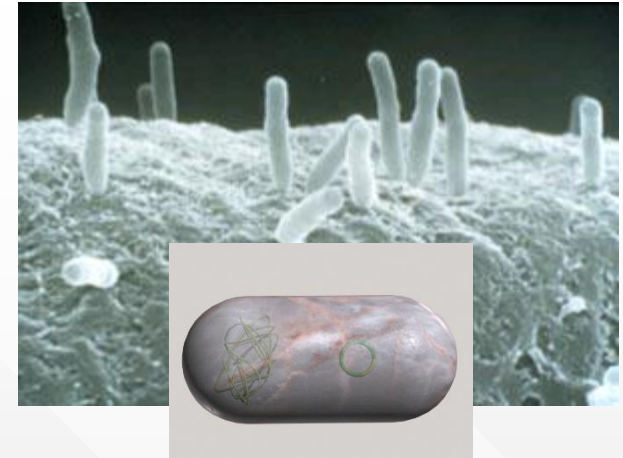


Figure 6.2 General ecology of plague (*Yersinia pestis*). (Developed from Butler,²⁰⁶ Gasper and Watson²⁰⁹.)
Friend, Milton, 2006, Disease Emergence and Resurgence: The Wildlife-Human Connection: Reston, Va., U.S. Geological Survey, Circular 1285, 235 p.

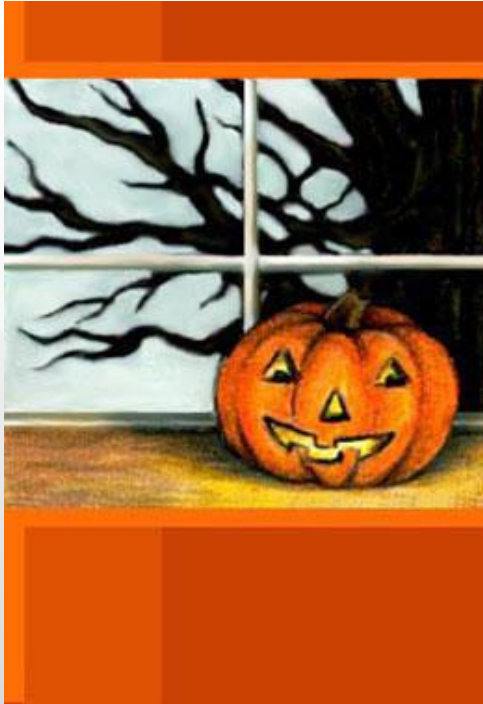


Agrobacterium tumefaciens (Proteobacteria, Rhizobiaceae)

- Batterio Gram-negativo che provoca i “tumori del colletto” (“**crow**n gall”) nelle piante
- Il suo genoma e quello del **plasmide Ti che trasmette la malattia** sono stati interamente sequenziati nel 2001 (Goodner et al., Science 2001)
- E' uno strumento fondamentale in biotecnologia vegetale per la **trasformazione genica nelle piante**



Happy All Hallows Eve ! ("Halloween")



“All Hallows Eve” significa
“La sera che precede il giorno dedicato a Tutti i Santi”

Felice Festa di Ognissanti !

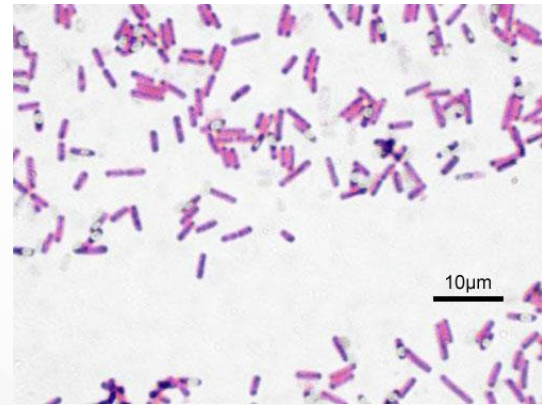


Beato Angelico (Fra Giovanni da Fiesole)

“Gaudio dei Santi”, predella della Pala di Fiesole

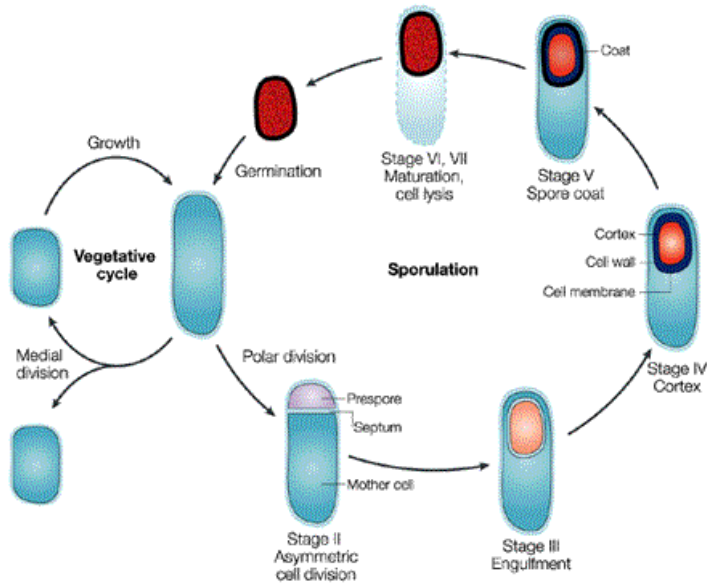
(tempera su tavola, 1424 -1425)

Eubatteri Gram-positivi a basso contenuto in GC (*Firmicutes*)



- Eubatteri Gram-positivi con un basso contenuto di **coppie di basi GC** nel DNA, caratterizzati dalla **formazione di endospore**
- Tra i Firmicutes vi sono *Bacillus subtilis*, fondamentale organismo modello tra gli Eubatteri sporigeni, *Clostridium tetani* (agente del tetano) e *Bacillus anthracis* (agente del carbonchio o antrace)
- Un altro gruppo di Firmicutes è costituito dagli stafilococchi, che comprende *Staphylococcus aureus*, il principale patogeno umano responsabile di infezioni cutanee, polmonari ed intestinali
- Questo gruppo comprende anche i più piccoli procarioti conosciuti, i **micoplasm**i, **privi di parete cellulare** (quindi non colorabili con la colorazione di Gram), di grande **interesse per lo studio del genoma** (“**genoma minimo**”)

Le endospore, forme di resistenza dei Firmicutes a condizioni difficili



Nature Reviews | Microbiology

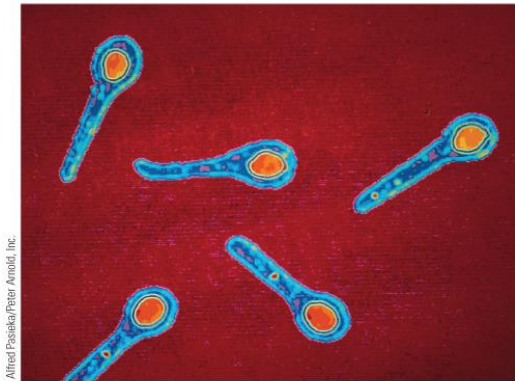


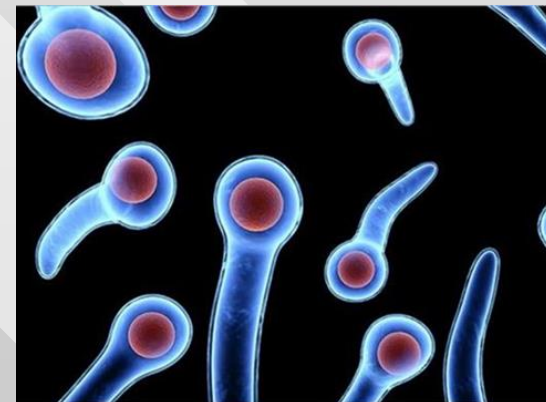
FIGURA 23-13 Le endospore.

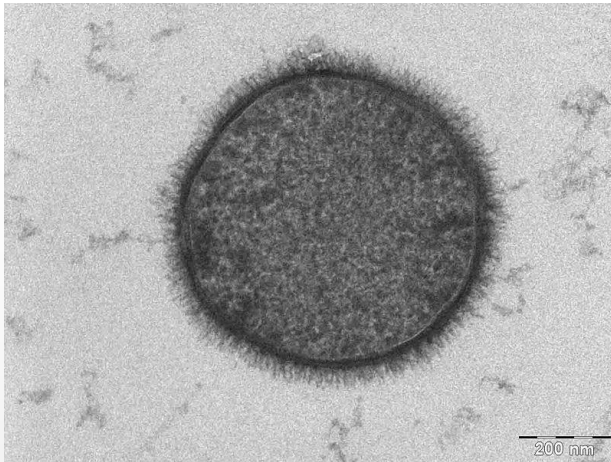
Immagine MET a colori di *Clostridium tetani*, il batterio che causa il tetano. Ogni cellula batterica (blu) contiene una sola endospora (arancio), una cellula disidratata e resistente che si forma all'interno della cellula originaria.

Endospore di *Clostridium tetani*

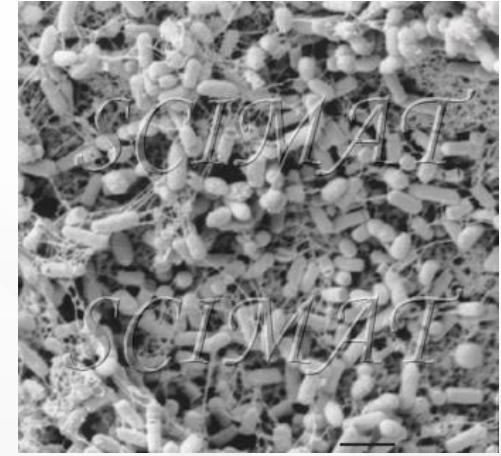
Le endospore sono **forme quiescenti** (“dormienti”) **e non riproduttive**, che consentono **la sopravvivenza dei Firmicutes in condizioni difficili** come la siccità, il calore, il gelo l’esposizione a radiazioni ultraviolette e ad agenti chimici

Fonti: Sadava et al., 2014; 2019
Nature Microbiology 2012

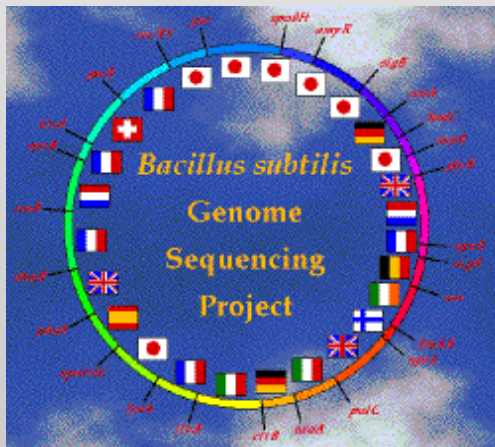




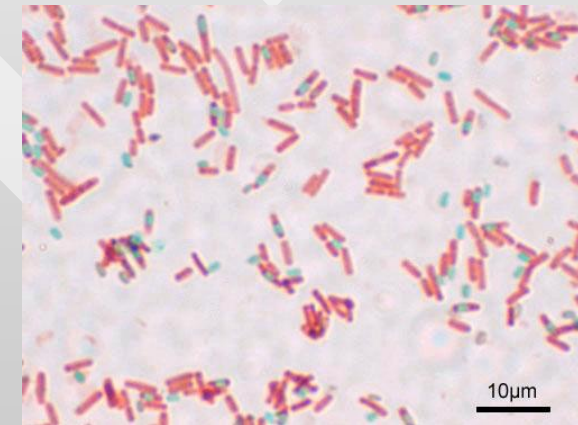
Bacillus subtilis
(Firmicutes Bacillaceae)



- Eubatterio Gram-positivo, aerobio obbligato, che forma endospore
- Organismo modello per gli Eubatteri Gram-positivi, per la sporulazione e per il differenziamento cellulare, con genoma interamente sequenziato nel 1997



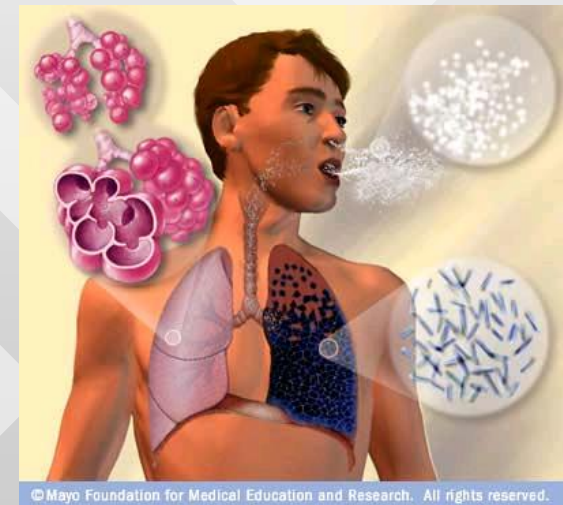
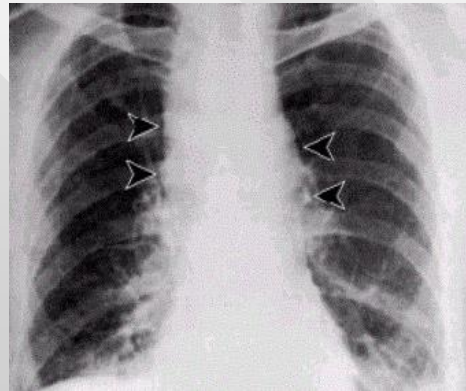
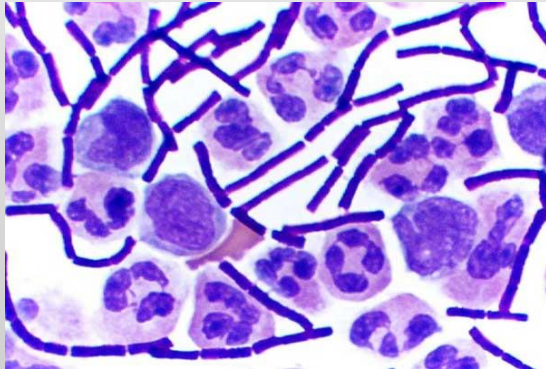
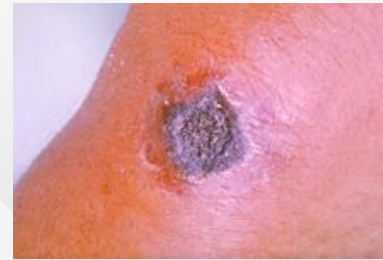
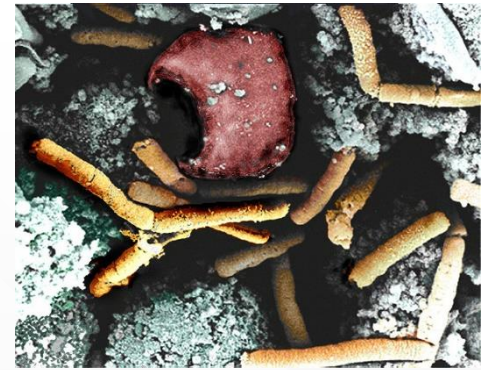
Banche dati dedicate a *B. subtilis*
<http://bacillus.genome.jp/>
<http://genolist.pasteur.fr/SubtiList/>



Bacillus anthracis

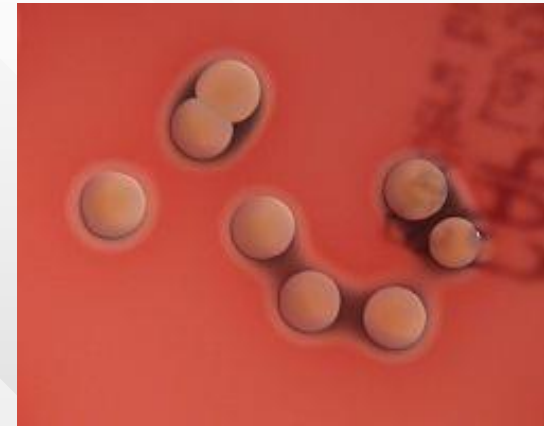
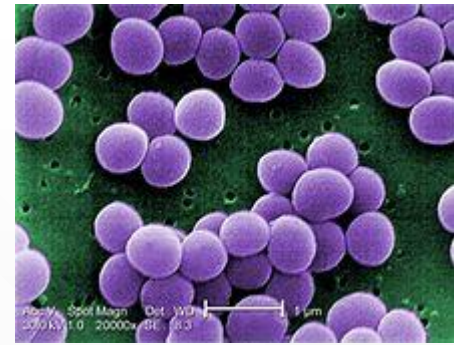
endosporigeno che causa il **carbonchio** (o “antrace”)

- *B. anthracis*, scoperto dal batteriologo tedesco Robert Koch nel 1876, produce **endospore che restano infettive per molti anni** anche in condizioni sfavorevoli
- Il sintomo tipico è una lesione con **area centrale necrotica** di colore nero (“antrace”)
- La malattia ha tre forme principali: gastrointestinale, cutanea e respiratoria (**mortalità 97%**)

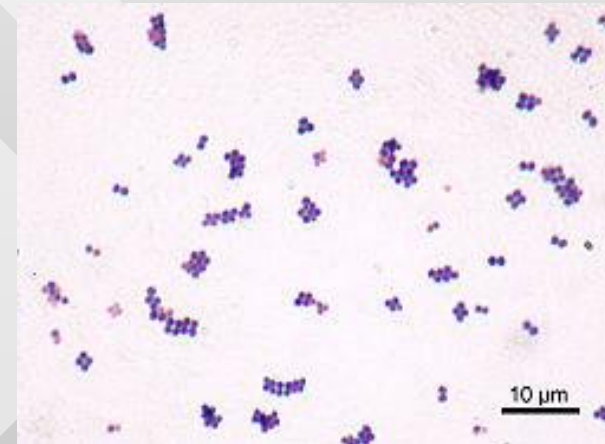


Stafilococchi, i principali “piogeni”

Gli stafilococchi sono Firmicutes **anaerobi facoltativi** normalmente presenti come **commensali** sulla pelle intatta, ma in caso di ferite **possono invadere i tessuti e le mucose**, causando dermatiti, ulcere e, in alcuni casi, **gravi setticemie**



Infezione antibiotico-resistente da
Staphylococcus aureus



Clostridium tetani, agente del **tetano**

Detto anche “bacillo di Nicolayer”, è un batterio anaerobio di forma simile ad una racchetta da tennis

Il suo genoma è stato **interamente sequenziato nel 2003**

Forma **endospore** e produce due esotossine polipeptidiche, la tetanolisina e la **tetanospasmina**

La **tetanospasmina** (una metalloproteasi Zn-dipendente di 150 KD) è una **neurotossina spasmogenica** tra le più potenti finora note, superata solo dalla **tossina botulinica** (prodotta dalla specie affine *C. botulinum*) e dalla **tossina difterica** (prodotta dall'actinomicete *Corynebacterium diphtheriae*)

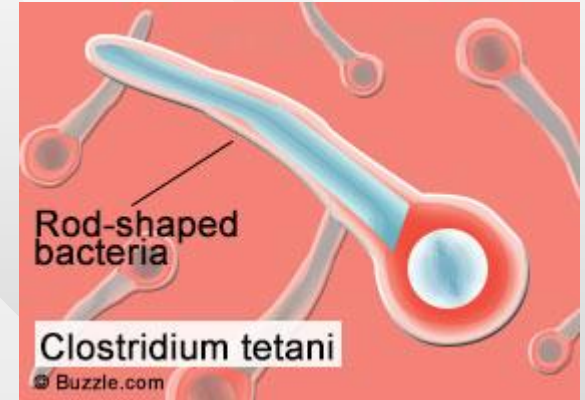
La dose letale per *H. sapiens* è **2 ng / Kg** (175 ng/70 Kg)

Un **caso di tetano** è stato riscontrato **a Torino nell'ottobre 2017**, in una bambina di 7 anni che **non era stata vaccinata** contro questa malattia

In Italia si riscontrano 60-70 casi di tetano all'anno, che riguardano quasi tutti adulti di oltre 64 anni: **i casi di tetano nei bambini sono molto rari perché il tetano è inserito tra le vaccinazioni obbligatorie per l'infanzia**



Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.



Trasportata al sistema nervoso centrale tramite proteine dette “dineine”, la **tetanospasmina è separata in due catene**: la prima trasporta la seconda all’interno dei neuroni

La seconda catena **si lega irreversibilmente ai neuroni extrapiramidali** e blocca il rilascio dei neuromediatori inibitori acido gamma-amminobutirrico (GABA) e glicina, causando una **contrazione simultanea dei muscoli agonisti e antagonisti (“spasmo opistotonico”)**

Gli spasmi possono causare la **morte del paziente in 5-6 giorni per sincope e asfissia**

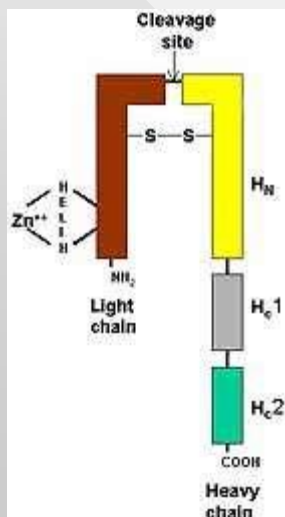
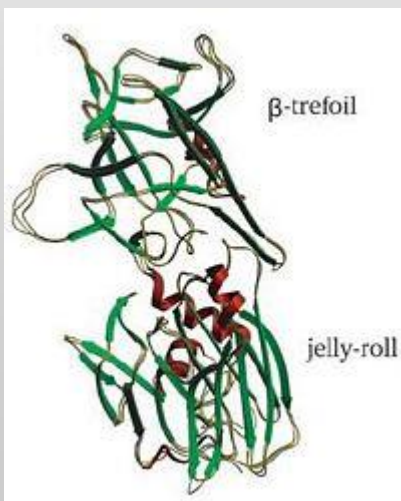
L’immunizzazione tramite un derivato della tossina (“toxoide”) **non è permanente** e deve essere ripetuta ogni 10 anni



“Lockjaw” e spasmo opistotonico



Opistotono in paziente tetanico, dipinto da Charles Bell nel 1809

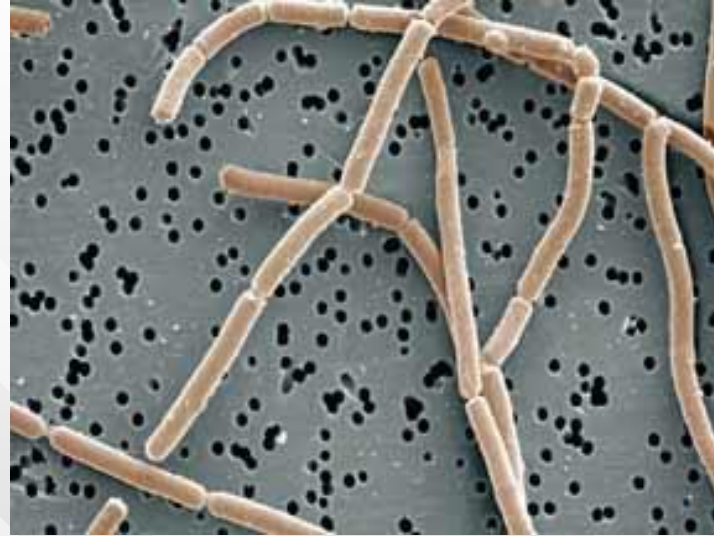


Sintomi del Tetano:

<p>Torace</p> <ul style="list-style-type: none"> * Difficoltà di deglutizione * Difficoltà nella respirazione 	<p>Viso</p> <ul style="list-style-type: none"> * Contrazioni della mascella e del collo
<p>Arti</p> <ul style="list-style-type: none"> * Posizione iperestesa * Posizione contratta 	<p>Addome</p> <ul style="list-style-type: none"> * Rigidità addominale
<p>Sistemici</p> <ul style="list-style-type: none"> * Febbre * Dolore muscolare * Cefalea * Irritabilità 	

Fonti: <http://www.who.int>
<http://www.epicentro.iss.it/>

Alcuni importanti *Firmicutes* trasformano il latte in yogurt:
Lactobacillus acidophilus e *L. bulgaricus*
(ridenominato *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*)



Fonti: Sadava et al., 2014; 2019
Solomon et al, 2014