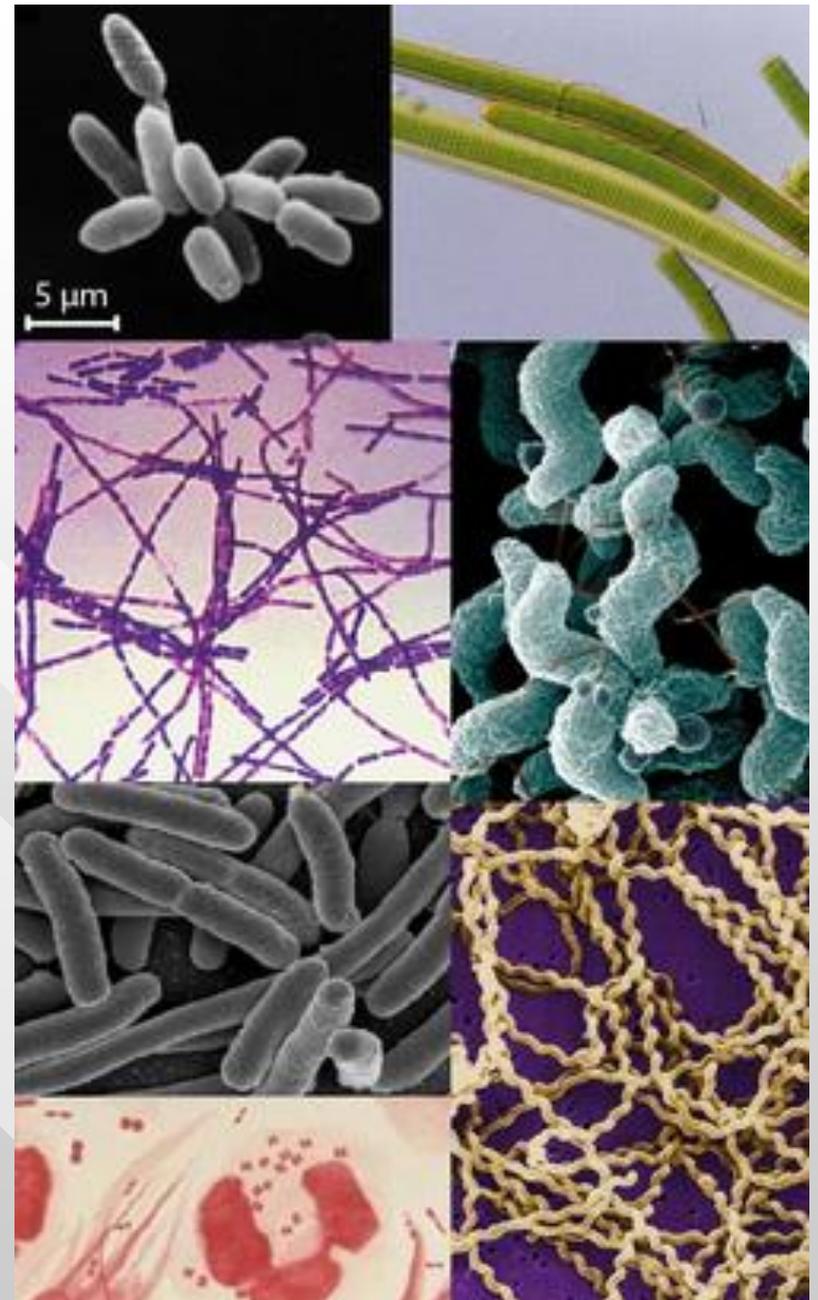


I Procarioti:

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



Eubatteri, Archaea ed Eucarioti (Eukarya)

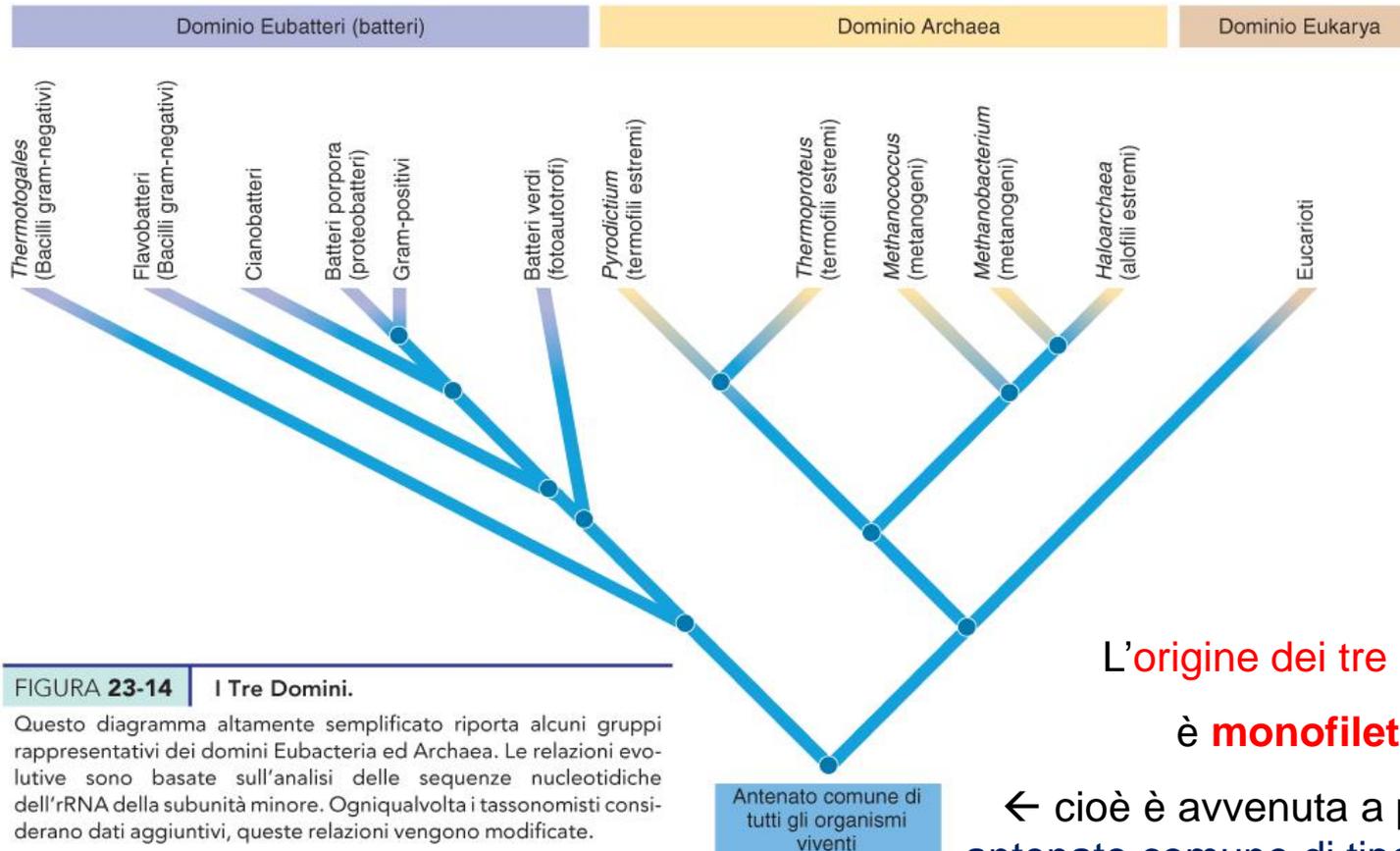


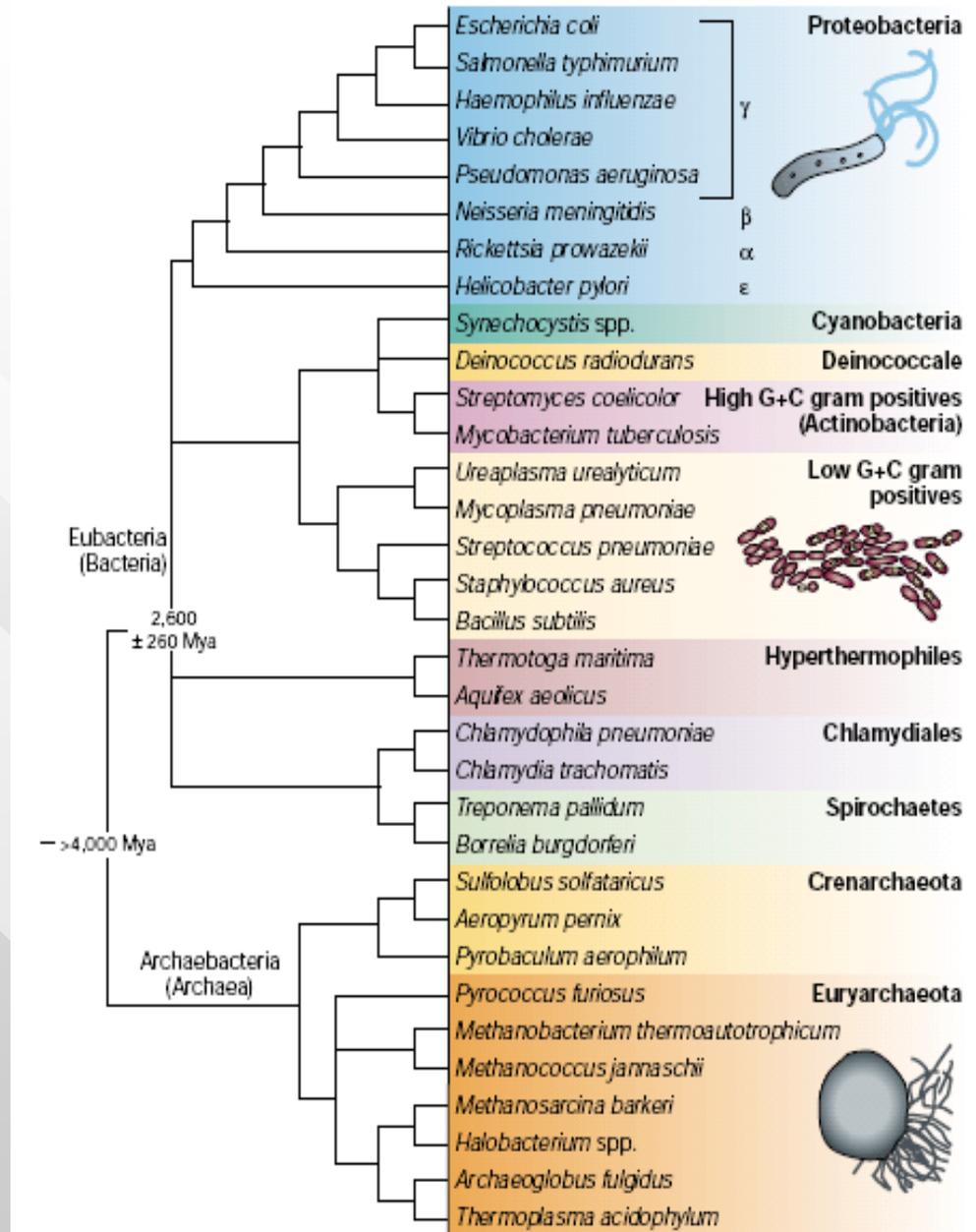
FIGURA 23-14 | I Tre Domini.

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.

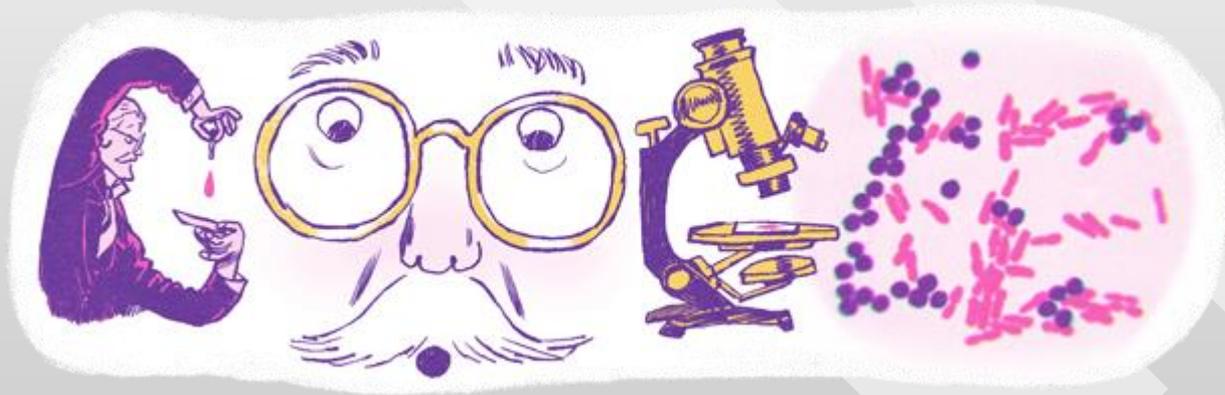
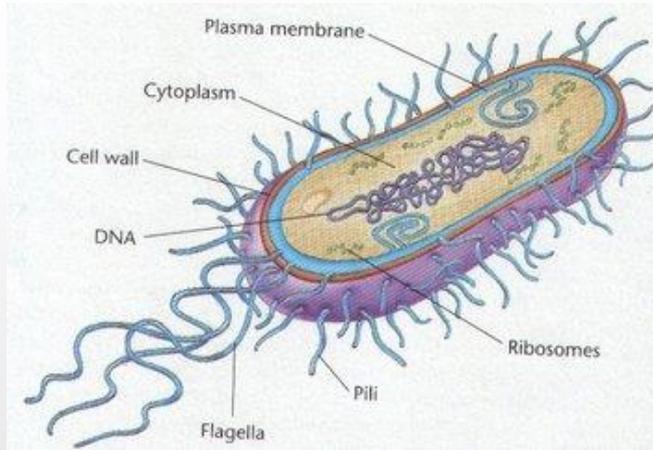
Relazioni filogenetiche tra Eubacteria ed Archaea

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



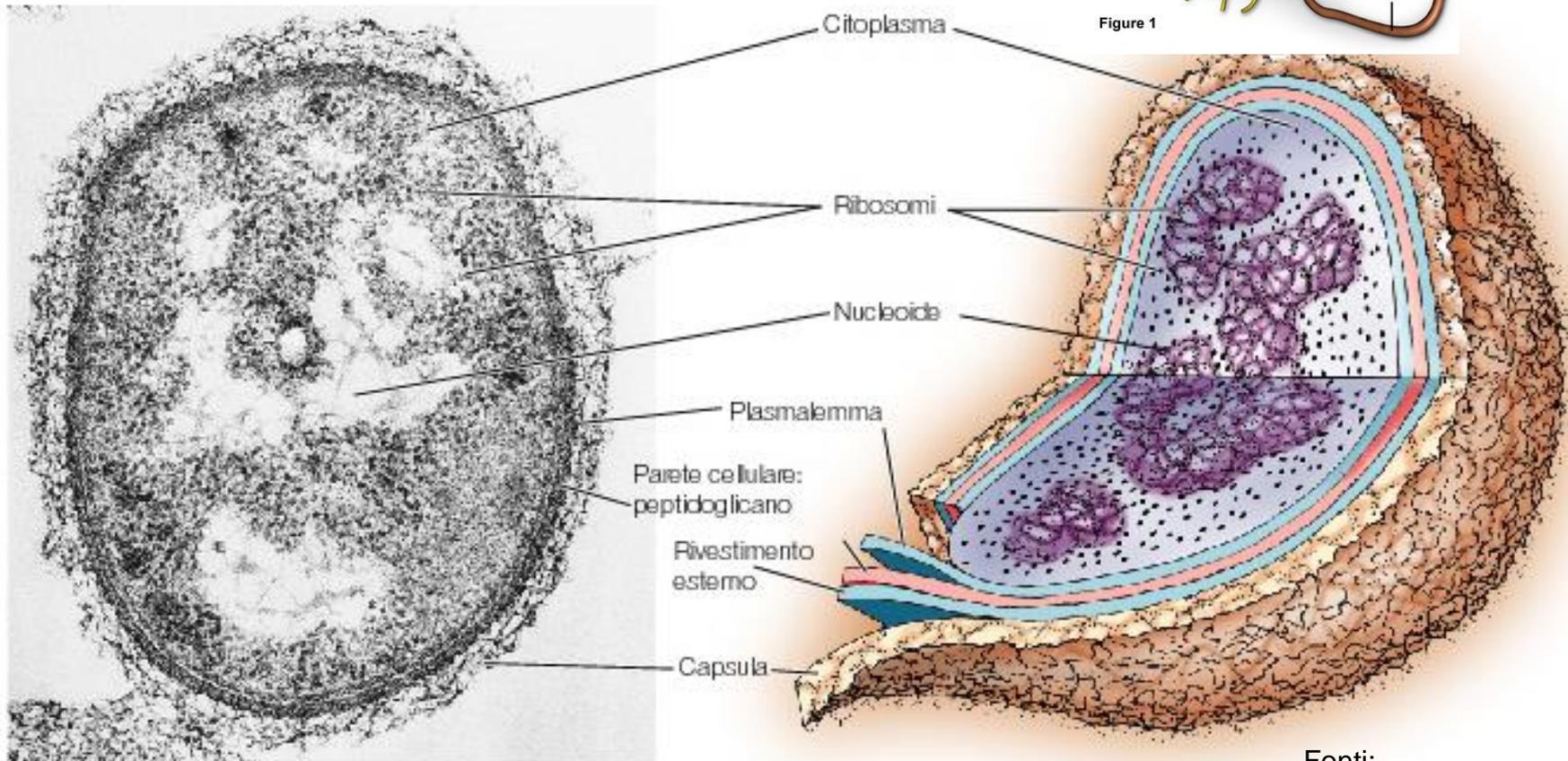
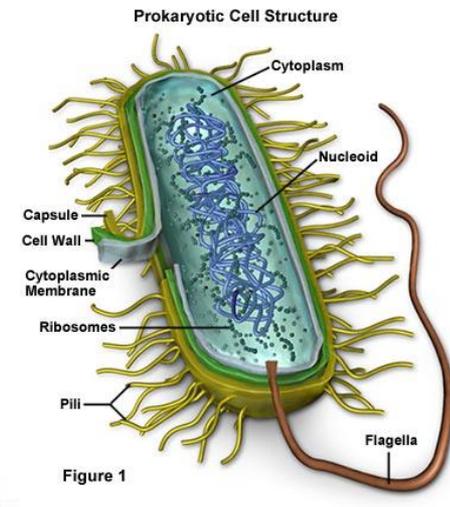
Eubatteri (Dominio e Regno Eubacteria)



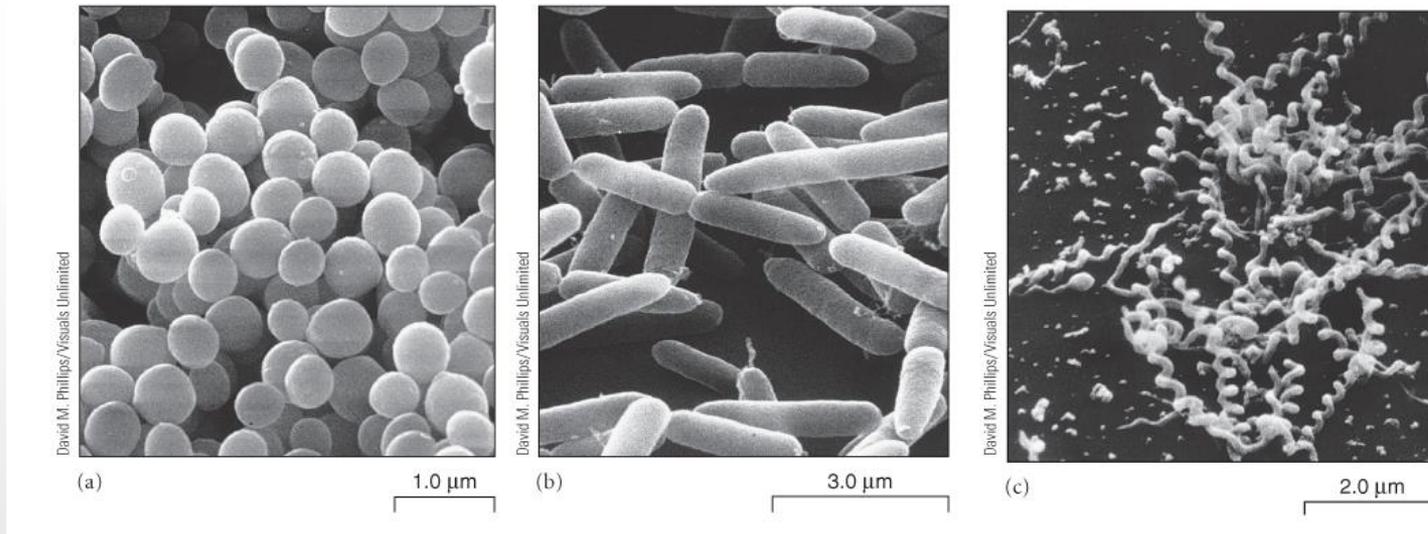
Google-Doodle del 13 settembre 2019 che ricorda il 166esimo anniversario della nascita del microbiologo danese **Hans Joachim Christian Gram** (1853 – 1938)

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...

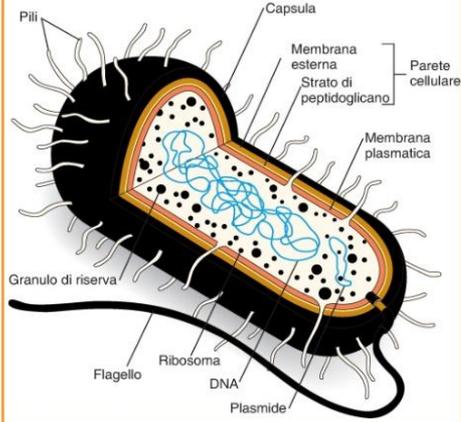
Gli Eubatteri sono estremamente diversificati perché sono **il primo tipo di cellula che si è evoluta sul pianeta**: hanno quindi potuto occupare per primi tutti gli habitat

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

La parete cellulare degli Eubatteri

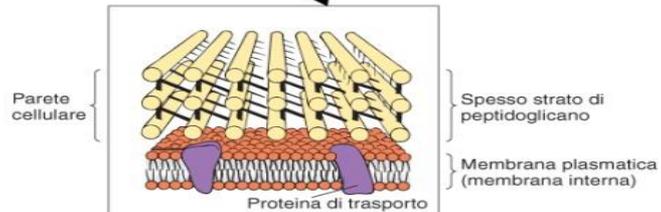
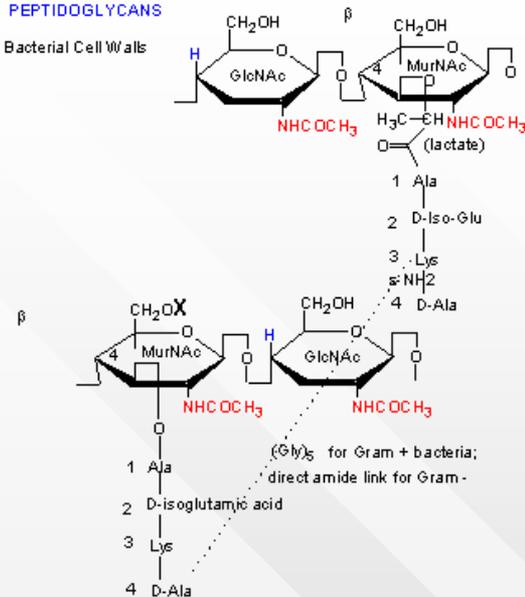
FIGURA 23-8 Struttura di una cellula procariotica. Questo bacillo è un batterio gram-negativo (vedi testo). Si noti l'assenza di un involucro nucleare che avvolge il DNA del batterio.

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

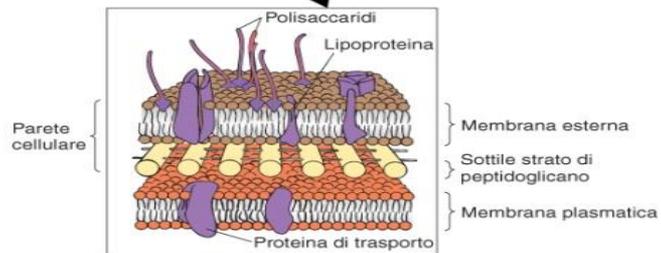


PEPTIDOGLYCANS

Bacterial Cell Walls



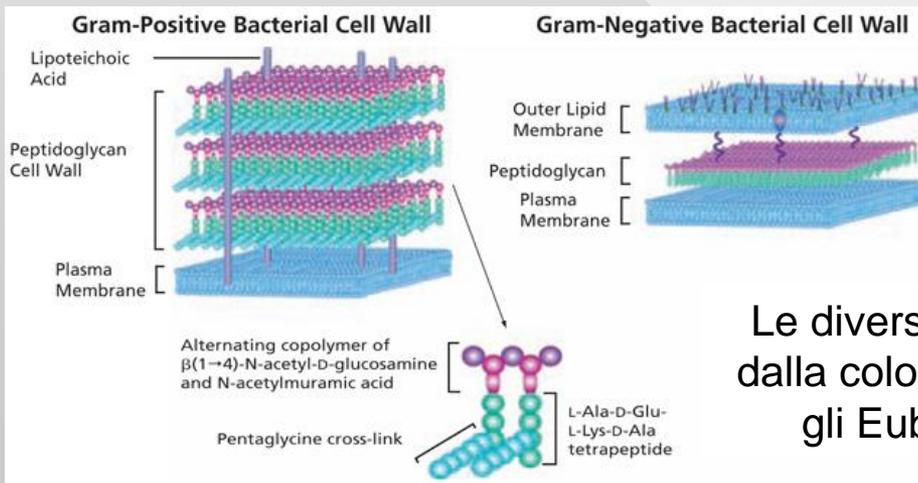
(a) Parete cellulare gram-positiva



(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.

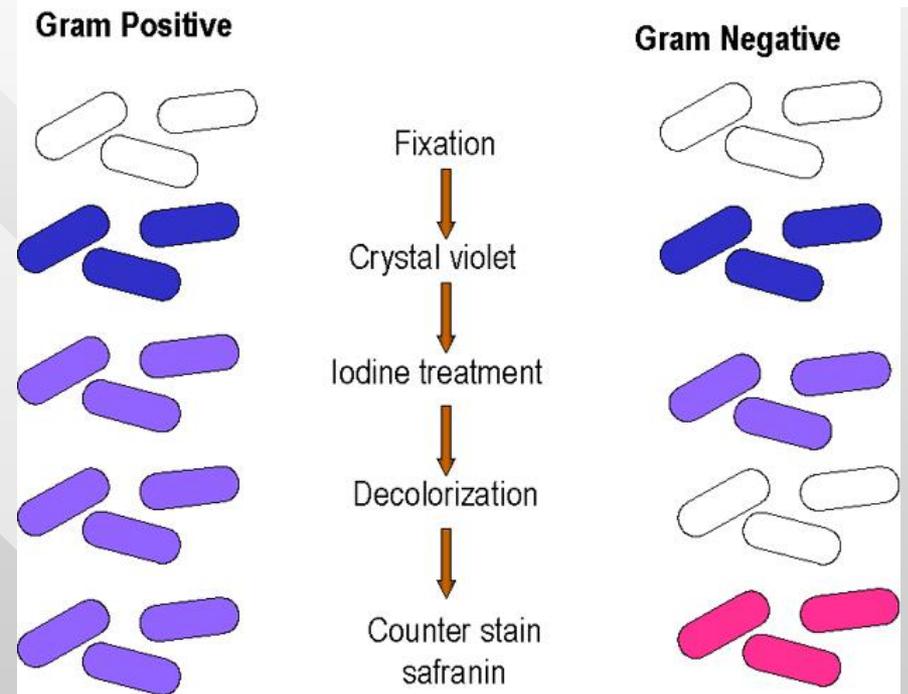
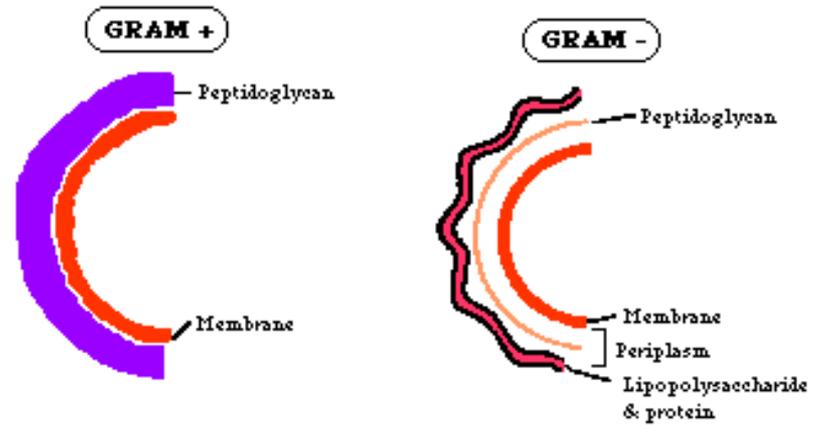
La parete cellulare degli Eubatteri contiene **peptidoglicani**, polimeri di due amminozuccheri, **N-acetilglucosamina (NAG)** e **acido N-acetilmurammico (NAM)** collegati tra loro da piccoli peptidi



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

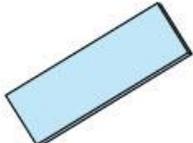
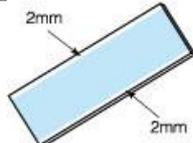
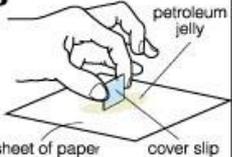
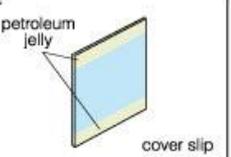
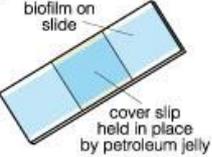
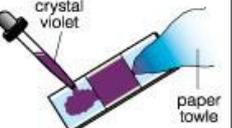
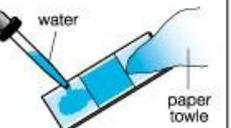
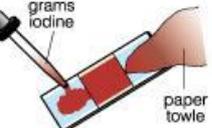
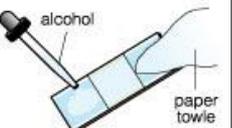
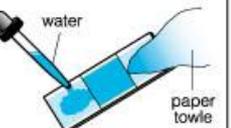
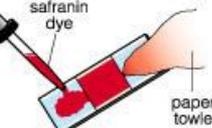
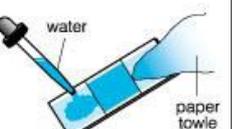
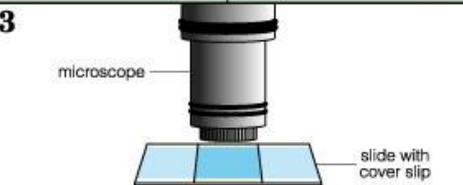
La colorazione ideata nel 1884 dal microbiologo danese **Hans Christian Gram** usa coloranti come il cristalvioletto e la safranina (o la fucsina) per distinguere i batteri provvisti della sola parete di peptidoglicani (**Gram-positivi**) da quelli con parete di peptidoglicani e con una membrana esterna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

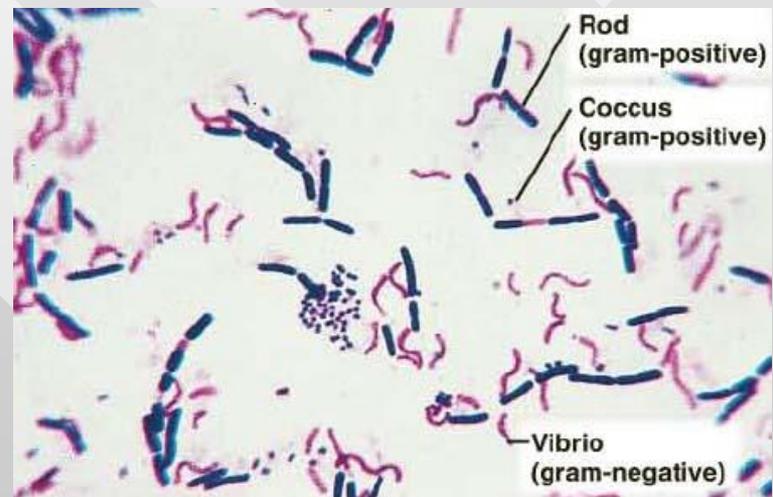
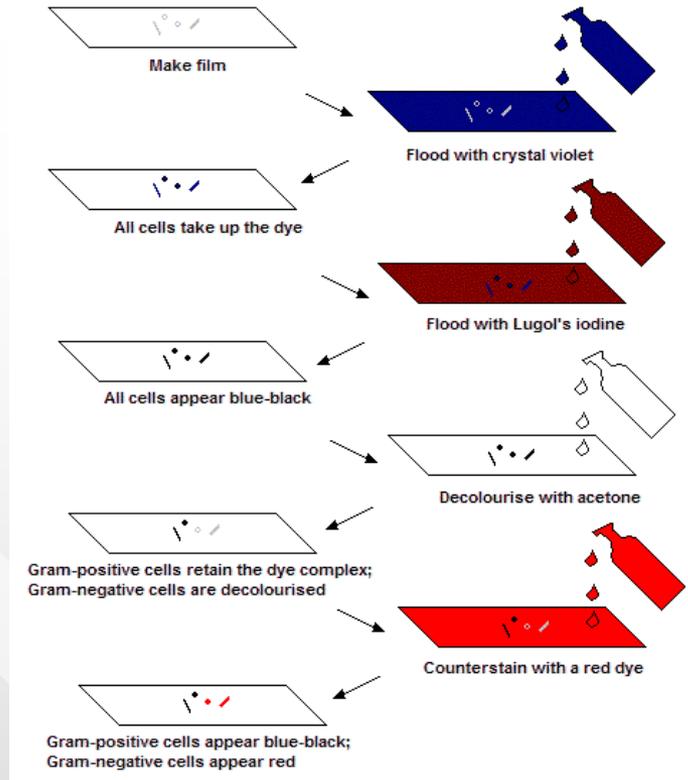


Fonte:

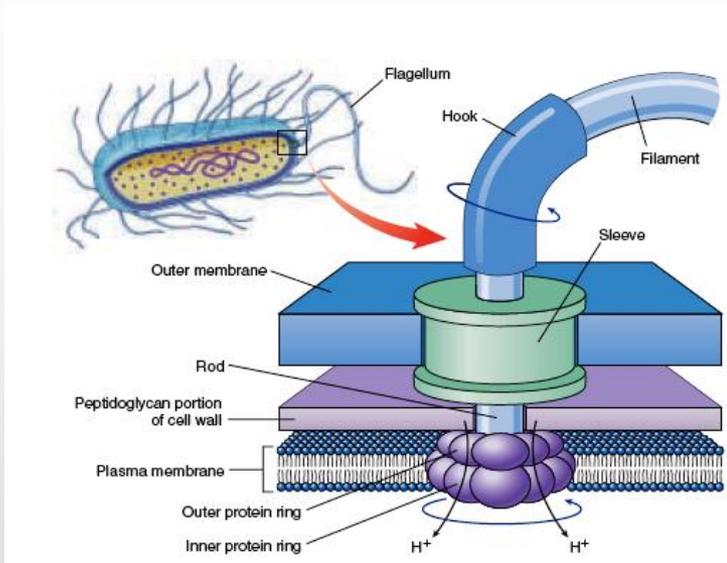
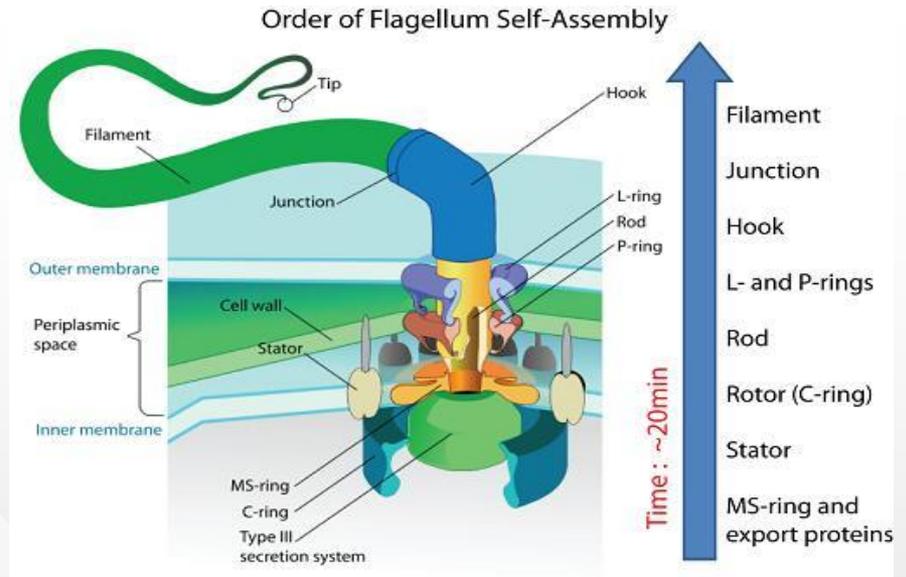
Holt et al. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Ed. Lippincott Williams & Wilkins, 1994

Sadava et al., 2014; 2019

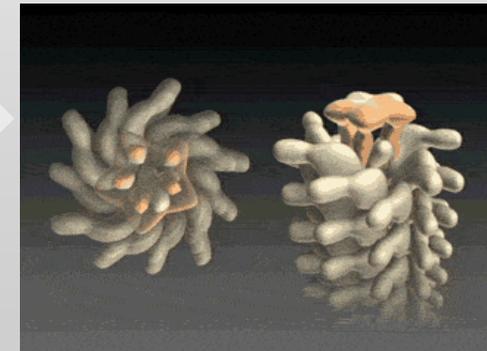
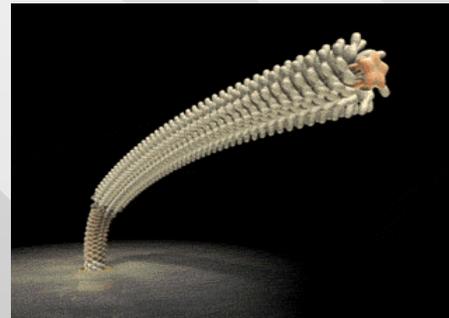
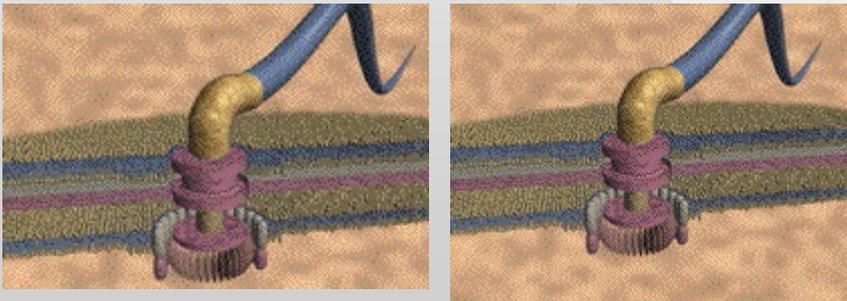
GRAM STAINING			
1		2	
Flow Through Procedure	Wipe bottom of biofilm slide clean	Clean top edges of slide about 2mm	
3		4	
5		Biofilm on slide with cover slip	
6		7	
Add crystal violet-wait 30 sec.	Wash with water	8	
		Add Grams Iodine -wait 1.5 min.	
9		10	
Decolorize with alcohol	Wash with water	11	
		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

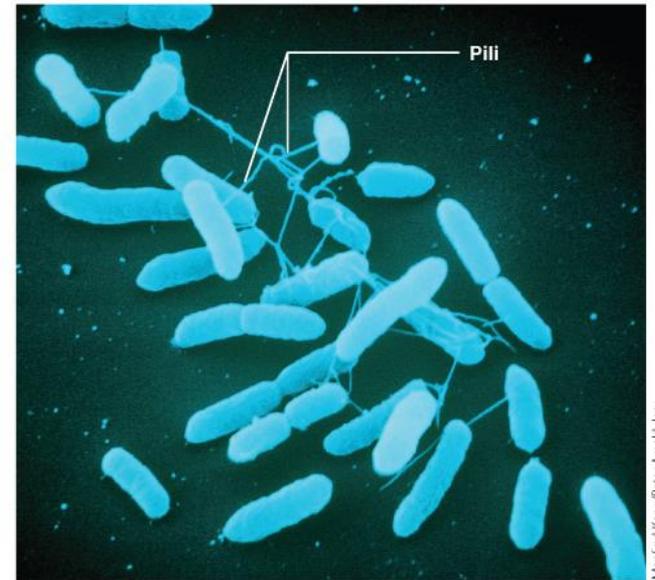
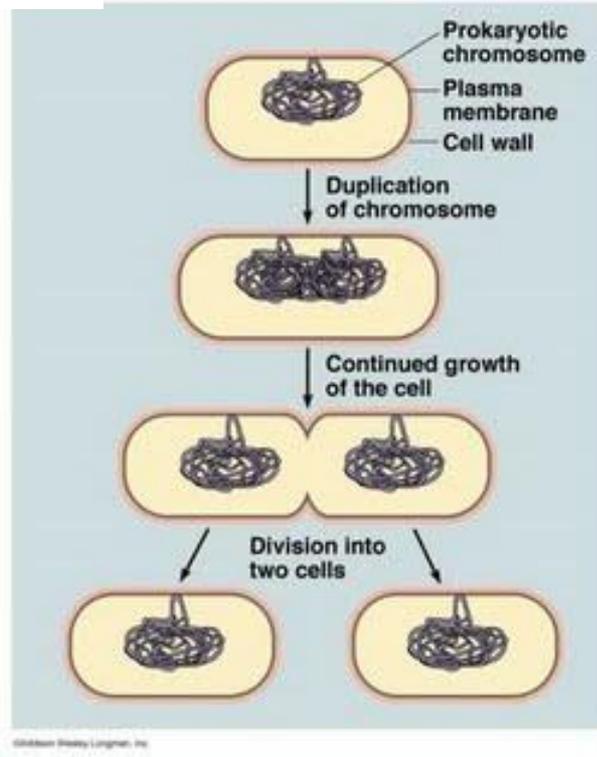


Il flagello batterico è un **“motorino” molecolare a protoni**, costituito da **più di 50 proteine**: il movimento è determinato dal **flusso di protoni in una struttura che ruota intorno alla base**, situata nella membrana plasmatica del batterio





Riproduzione nei batteri: scissione binaria e coniugazione



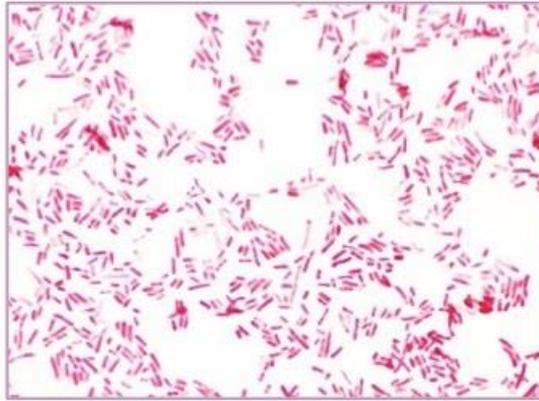
I Procarioti (Eubatteri ed Archea) si riproducono per **scissione binaria**:

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

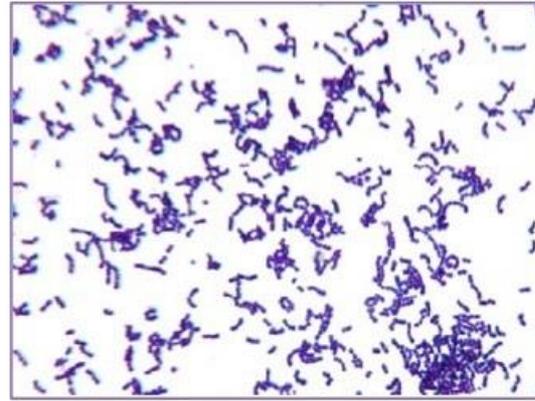
Gli Eubatteri possiedono anche una forma primitiva di riproduzione sessuata (detta “**coniugazione**”) in cui avviene un trasferimento di geni da una cellula all’altra tramite sottili protuberanze (“**pili**”)

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

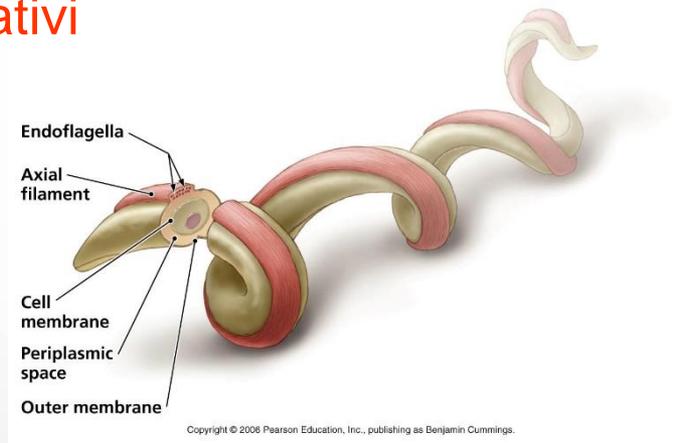
Sadava et al., 2014; 2019

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.



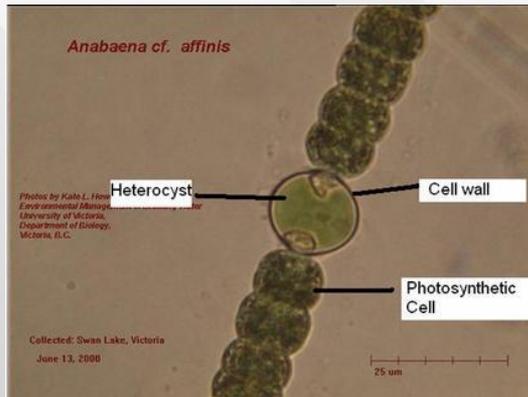
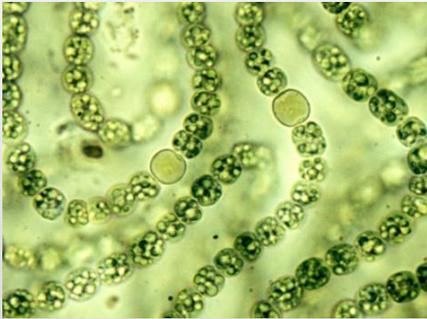
Treponema pallidum, agente della sifilide



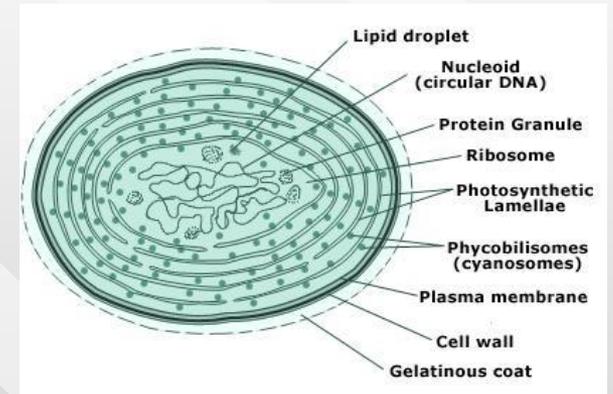
Cianobatteri

(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**”)



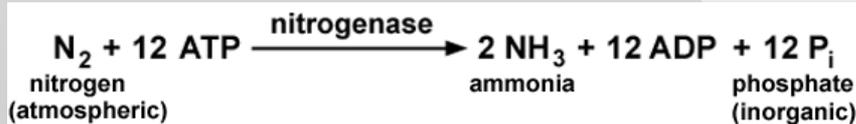
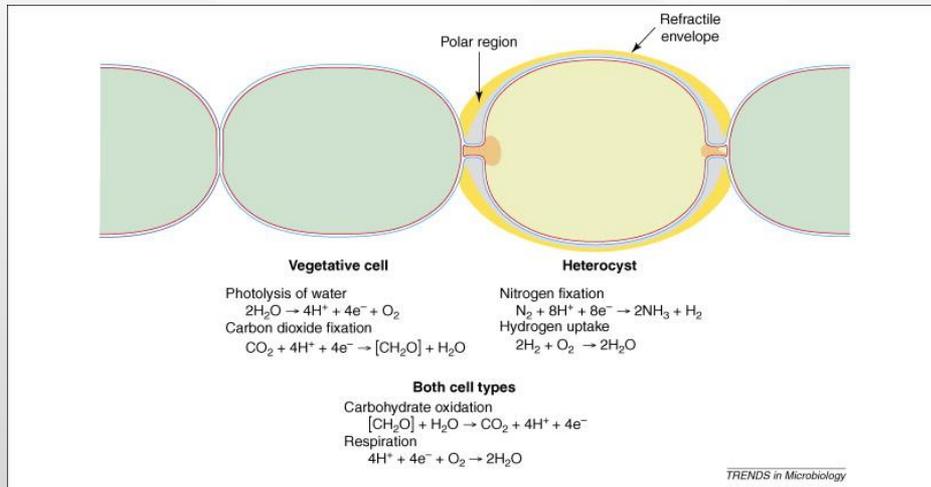
Anabaena sp.



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

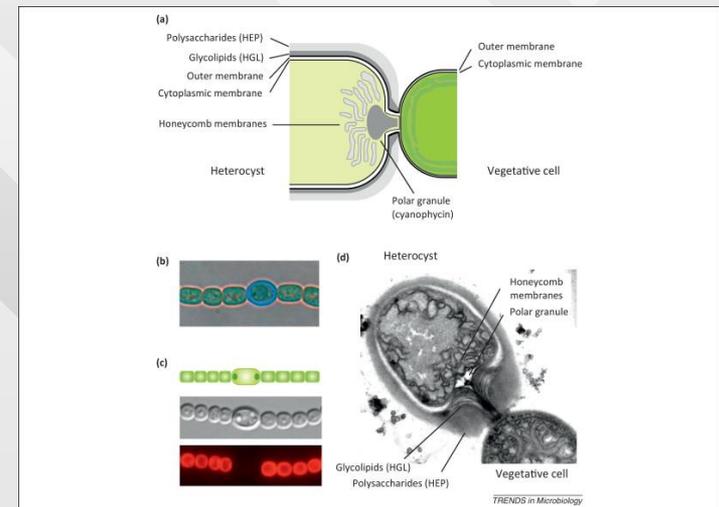
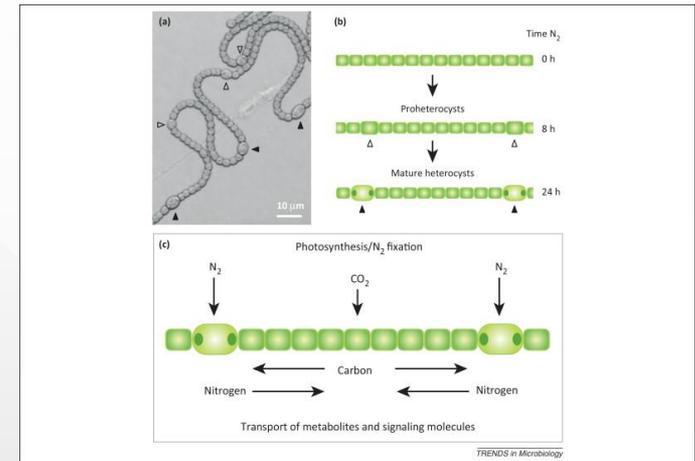
Nelle eterocisti avviene la fissazione dell'azoto atmosferico da parte dell'enzima **nitrogenasi**, che richiede condizioni quasi anossiche per il suo funzionamento

- 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**

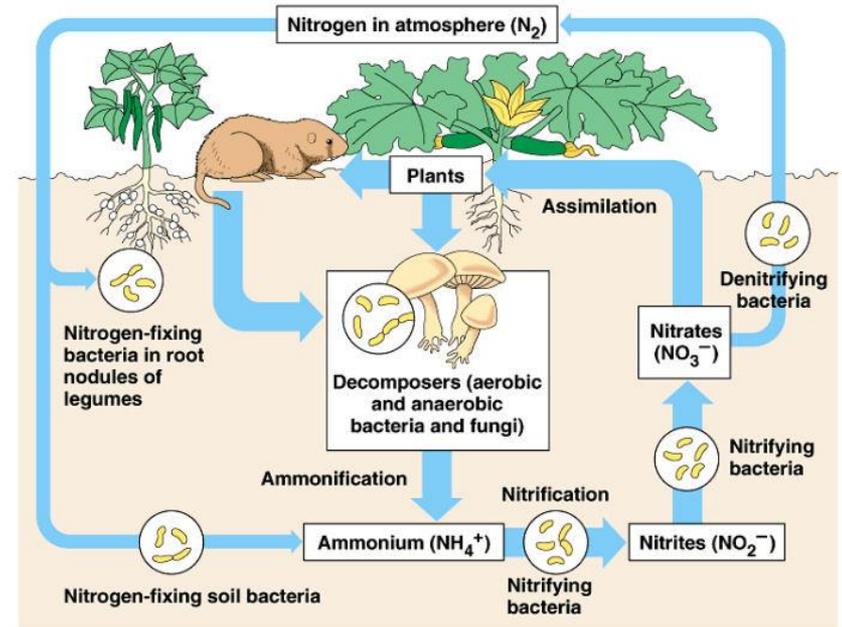
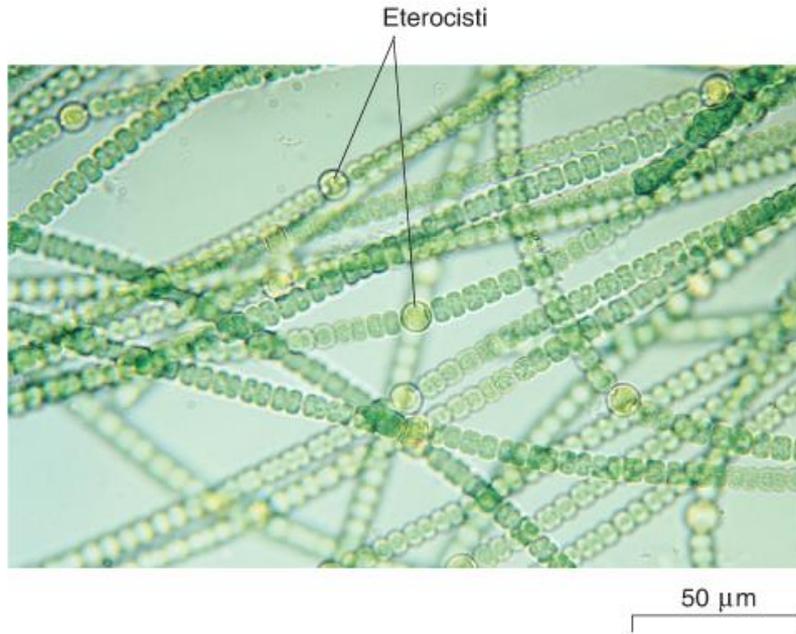


It takes 12 ATPs to provide sufficient energy to break the strong triple bond between the two nitrogen atoms of N_2 gas: $\text{N}\equiv\text{N}$

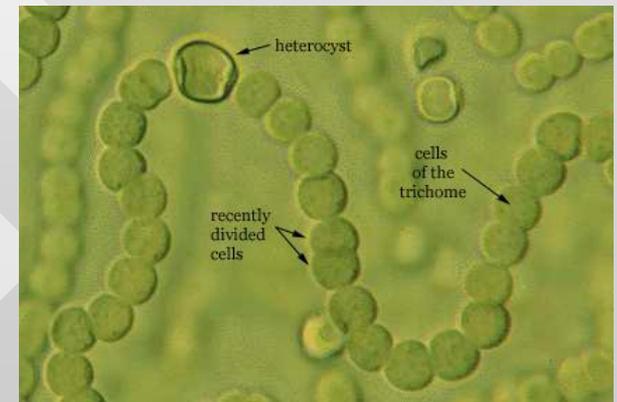
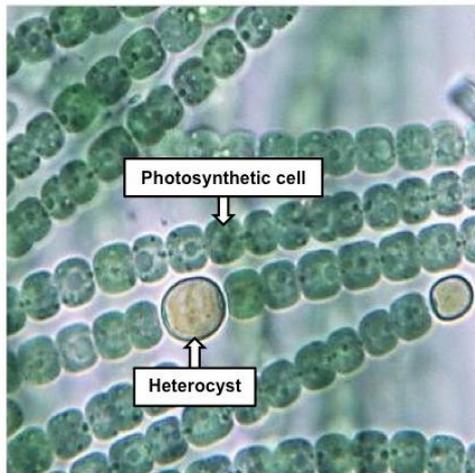
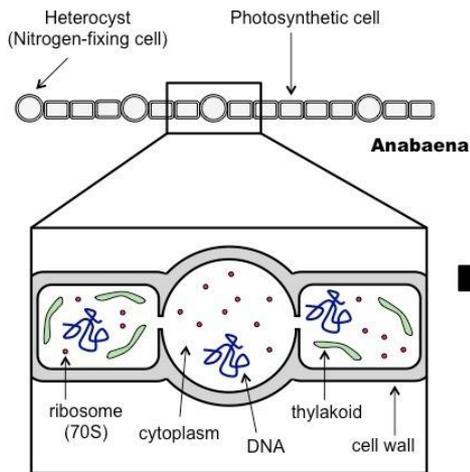
Simplified Equation For Nitrogen Fixation



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

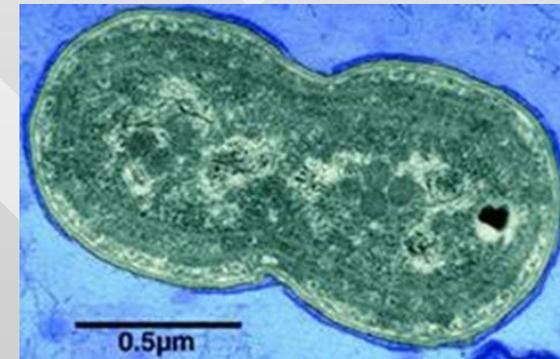
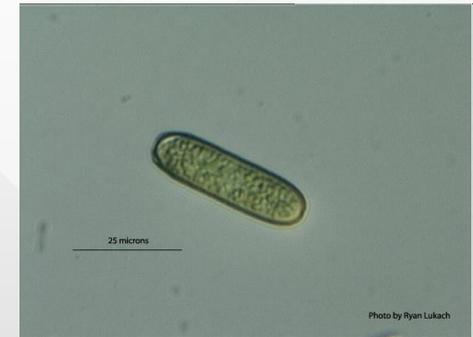
Il genoma circolare di tipo procariotico
contiene 2.7 Mb e 2662 geni codificanti

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

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

KEGG Genome
CyanoBase

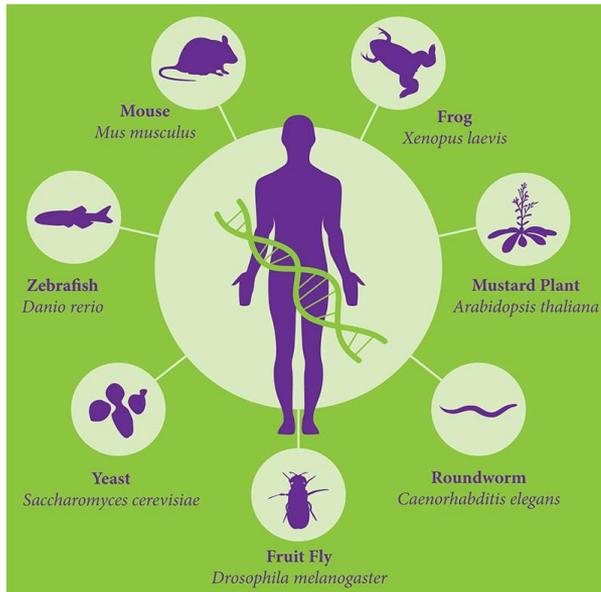
<http://genome.microbedb.jp/cyanobase/>



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

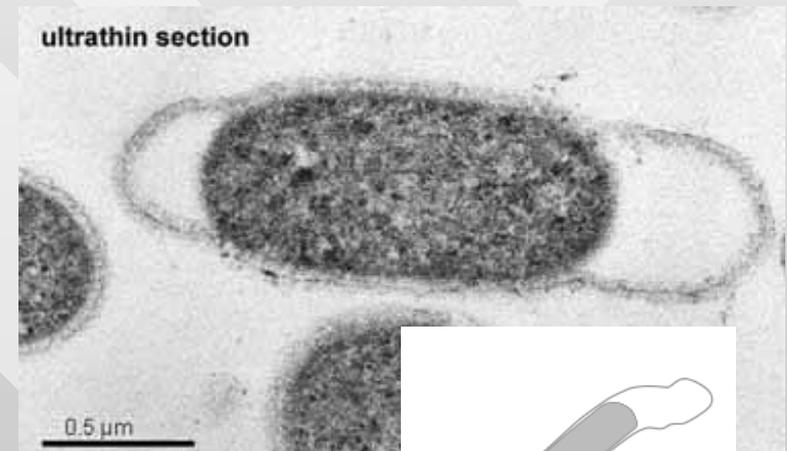
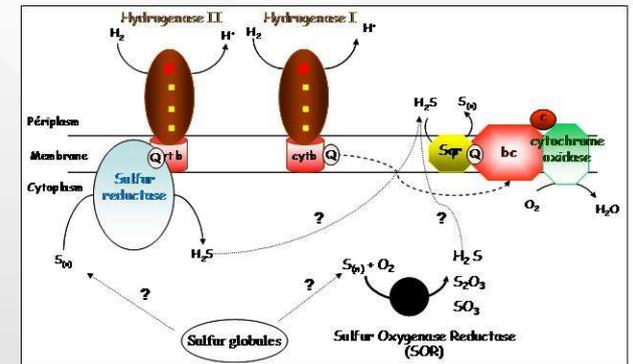
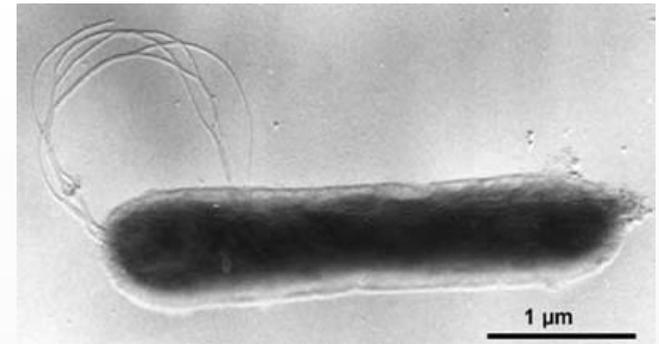
Ad esempio, *Aquifex aeolicus*, un batterio scoperto nel 1992 in una sorgente termale delle Isole Eolie) **vive senza problemi alla temperatura di 95 °C**

- *A. aeolicus* è di grande interesse biotecnologico per gli **enzimi termoresistenti** che produce (solforeduttasi 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

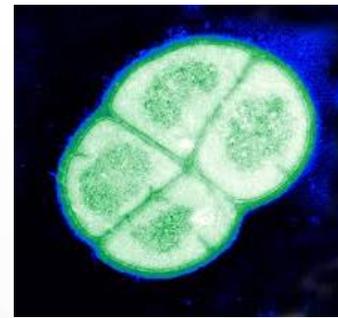


Adobatteri

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

Thermus aquaticus, chemiotrofo isolato nel 1969 nella Geyser 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*

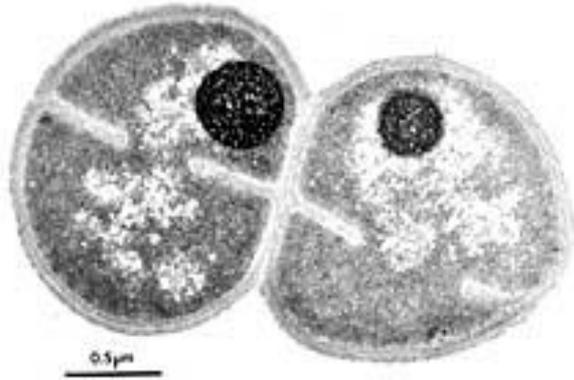
ALICE CHIEN, DAVID B. EDGAR, AND JOHN M. TRELA*

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 62,000 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**”)

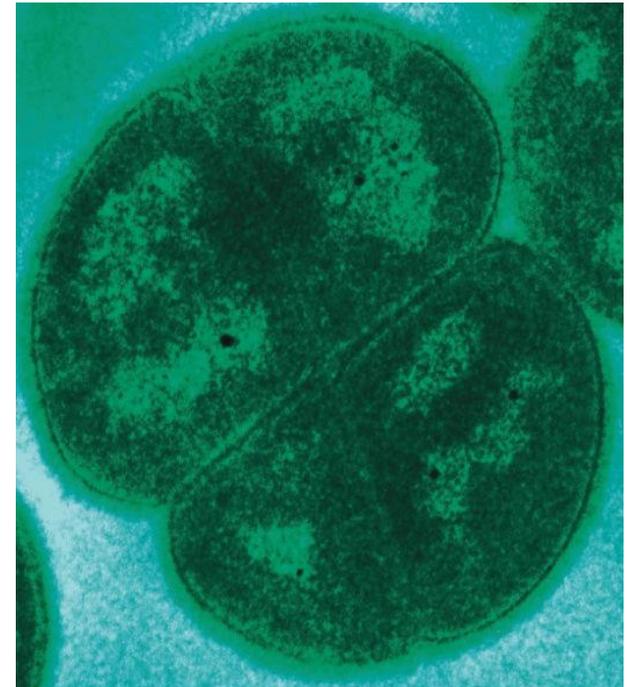


Eubatterio aerobio e chemiorganotrofo
a colorazione di **Gram ambigua**
(ufficialmente Gram-negativo, ma spesso indicato
anche come Gram-positivo)

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)

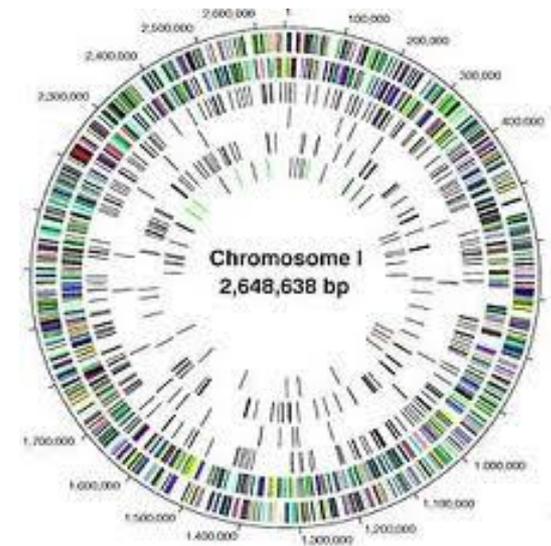
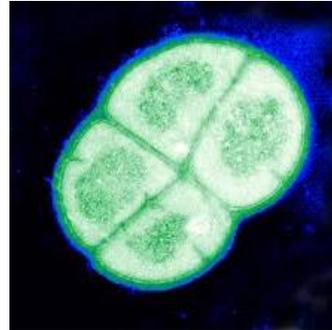
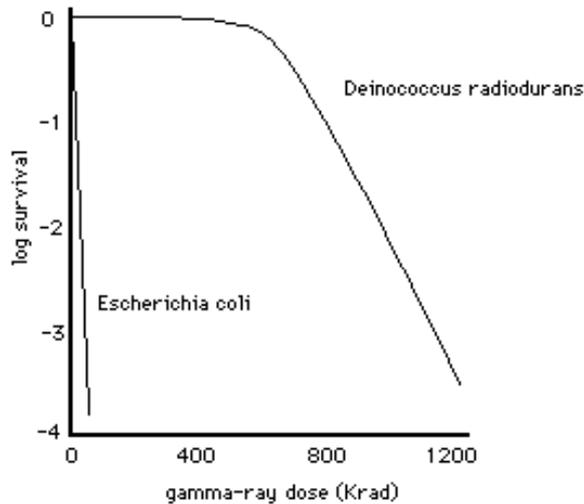
Il **rischio biologico** (cioè la possibilità che la salute di una persona o di un altro essere vivente sia compromessa dall'esposizione a radiazioni) si misura in **rem** o in **Sv**

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

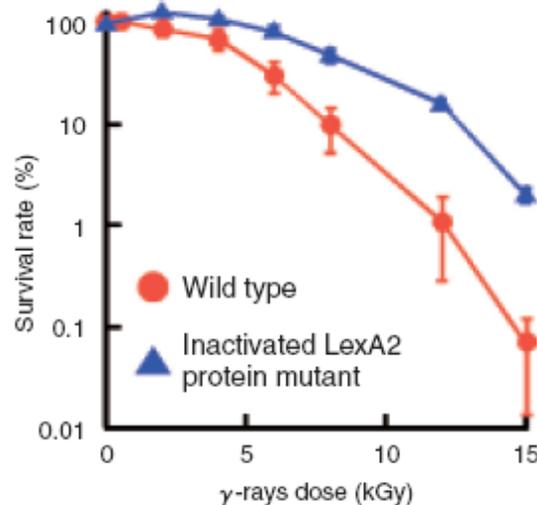
Resistenza di *D. radiodurans* alle radiazioni



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

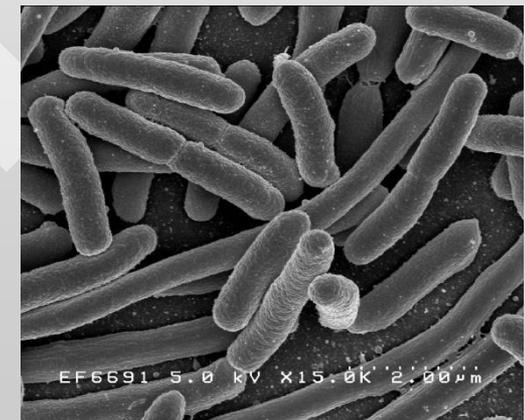
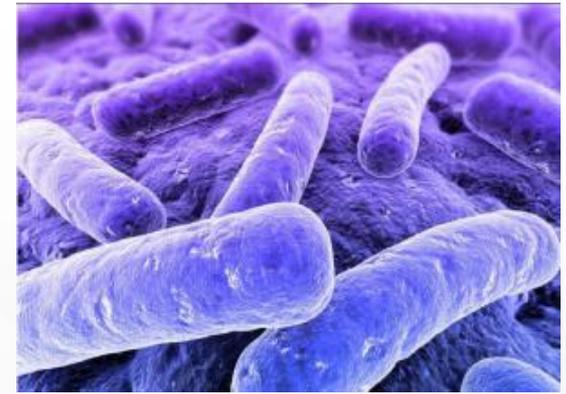
→ La sua resistenza alla radioattività si sarebbe quindi evoluta come “**effetto secondario**” dell’estrema resistenza al disseccamento

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

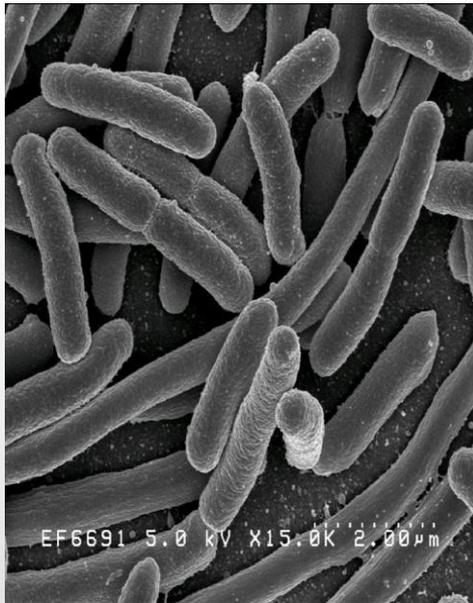
I Proteobatteri (Gram-negativi)

- 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**

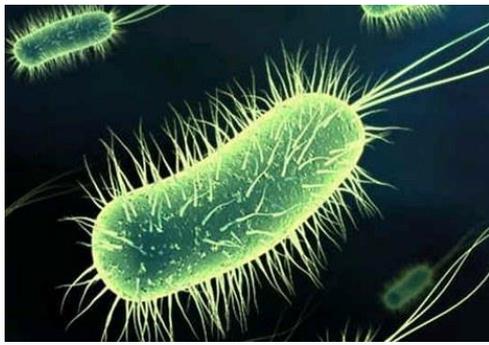


Ha un **ruolo fondamentale** negli studi sul **DNA ricombinante**, in **bioingegneria** e in **microbiologia industriale**

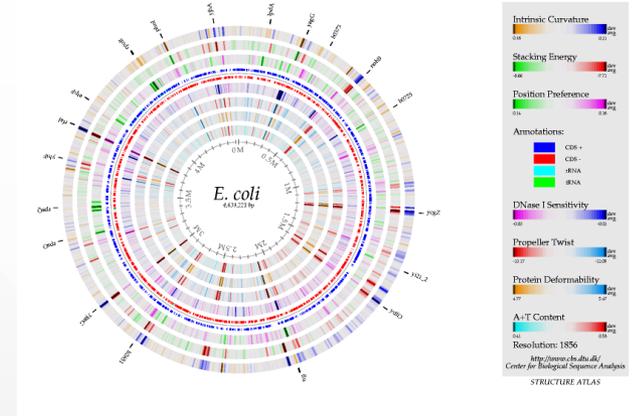
*“Once we understand the biology of *E. coli*, we will understand the biology of an elephant”*

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

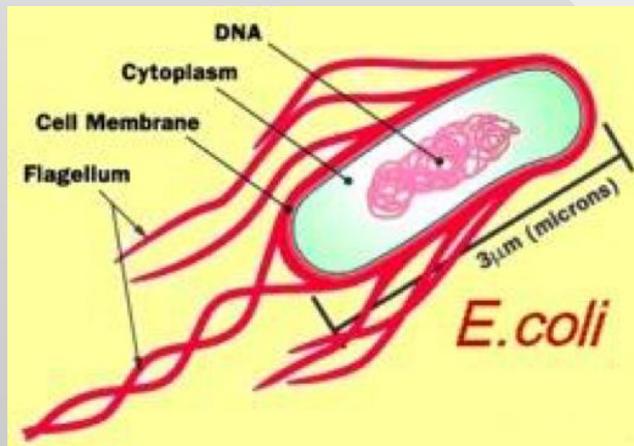
Anche il proteoma (insieme di tutte le proteine) di *E. coli* è stato completato (Hu et al., PLoS Biol. 7, 96, 2009)

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/>

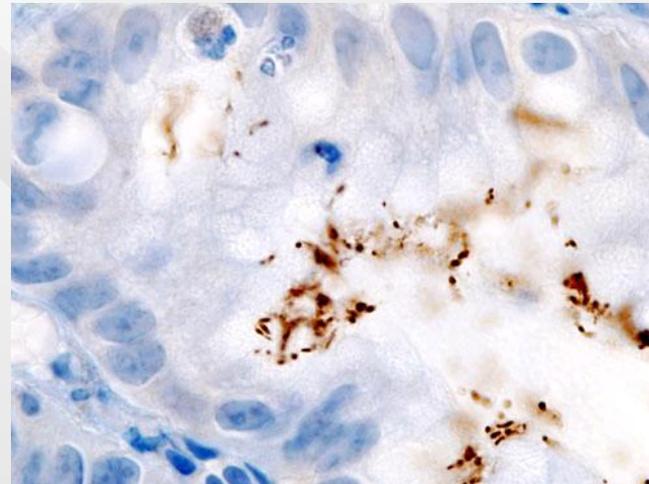
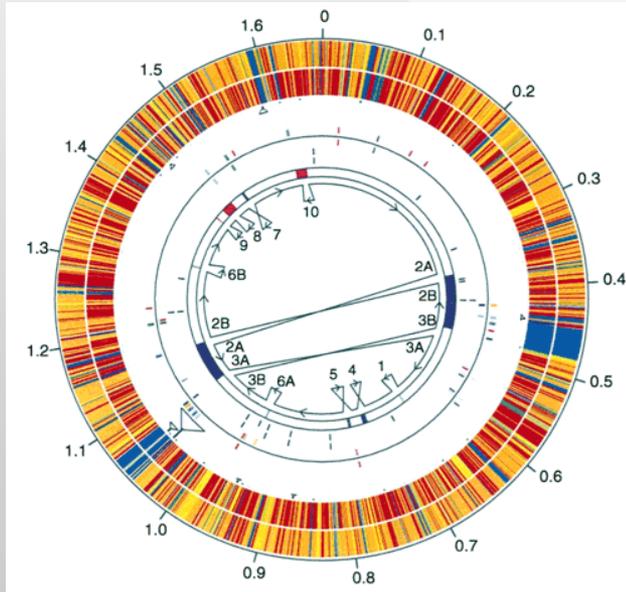
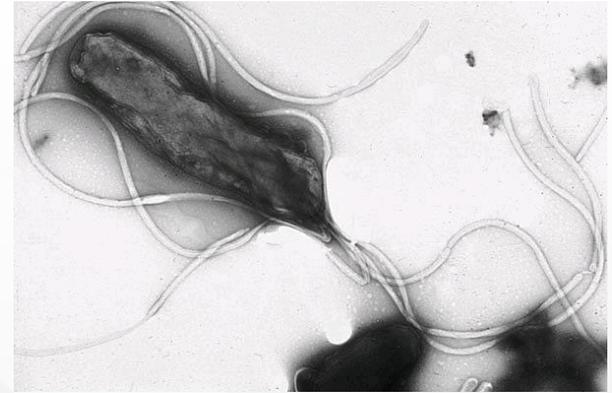


Helicobacter pylori (Proteobacteriaceae)

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*

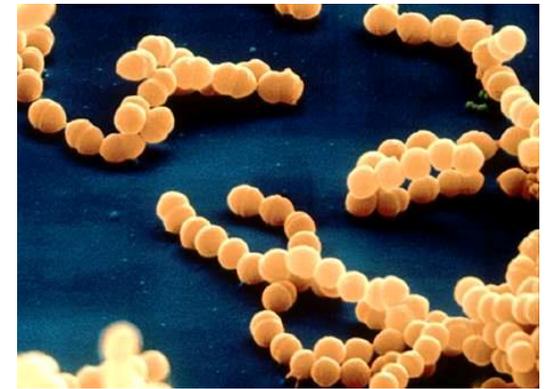
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK2429/>

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

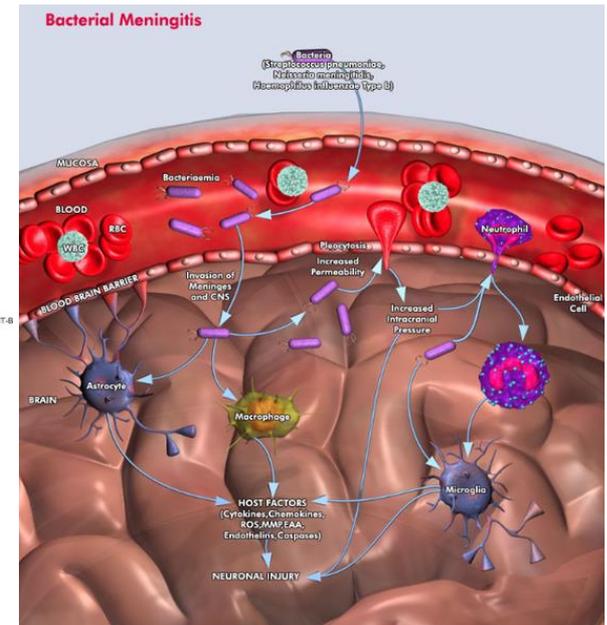
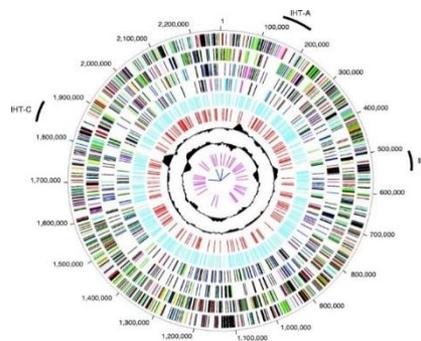
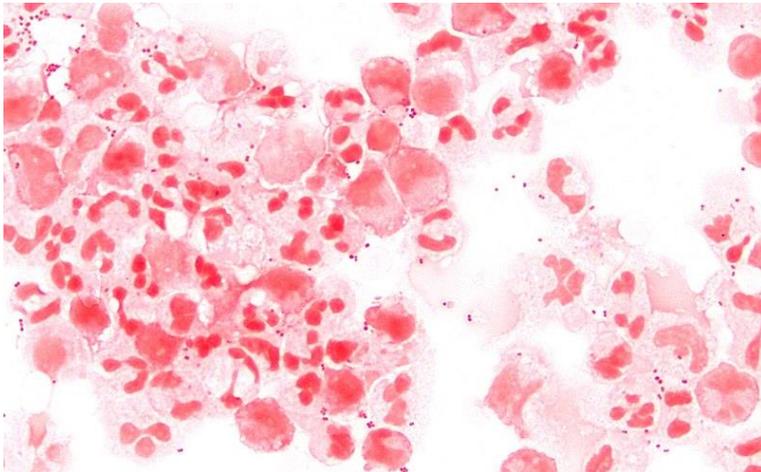


Neisseria meningitidis (Proteobacteria, Neisseriaceae)

“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)



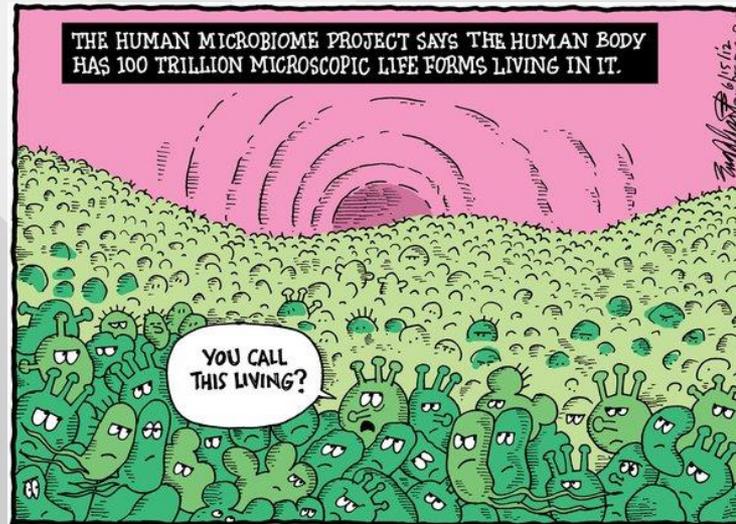
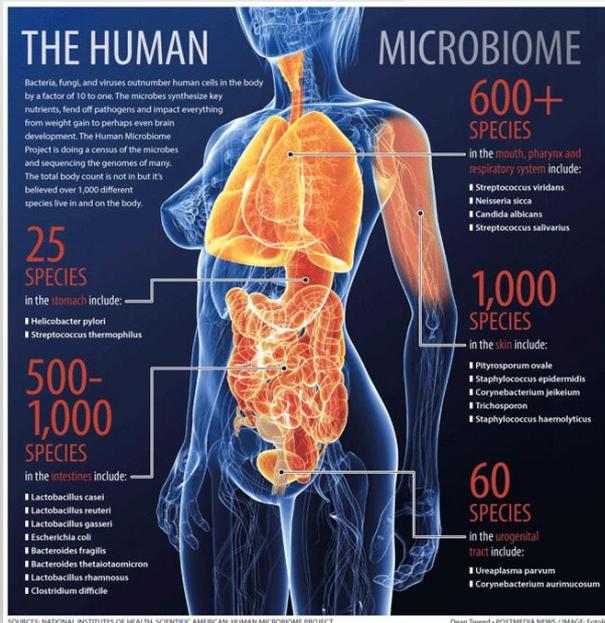
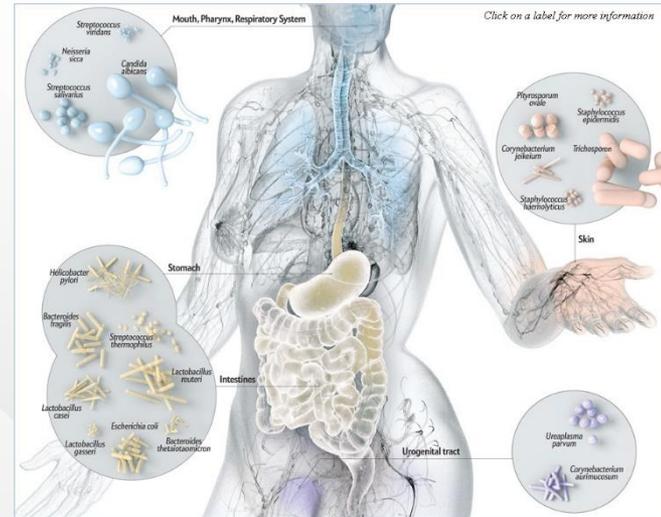
Il genoma del meningococco (ceppo MC58, 2.27 Mb) è stato interamente sequenziato dal gruppo di J. Craig Venter nel 2000 (Tettelin et al., Science 2000): contiene 2225 geni codificanti per 2063 proteine

Il microbioma

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



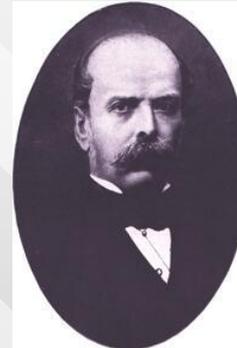
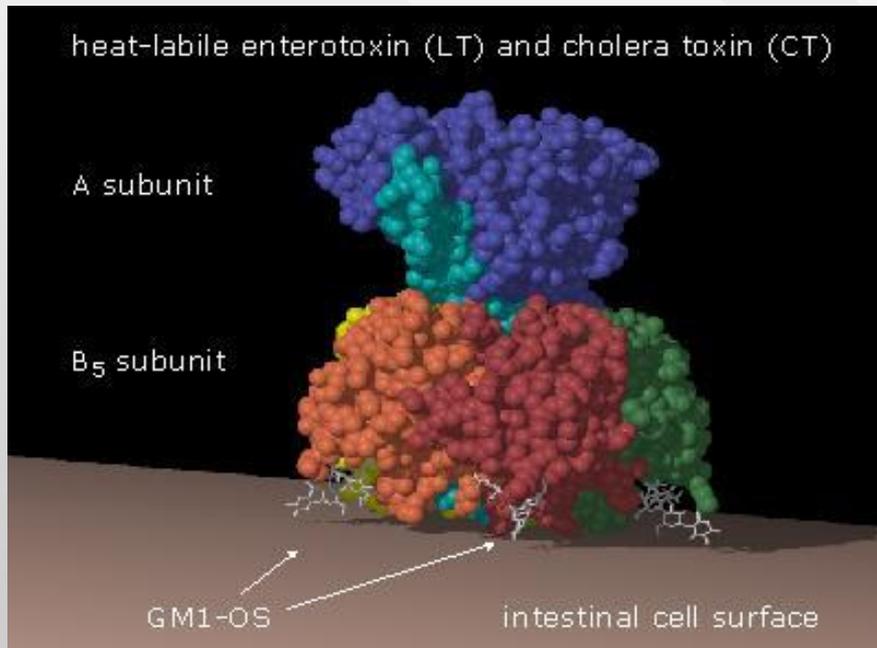
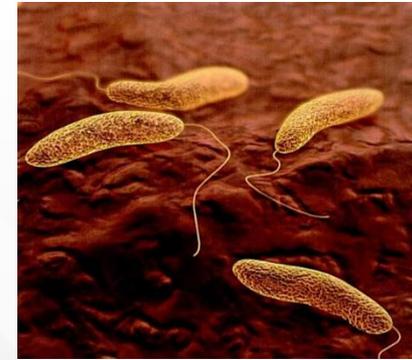
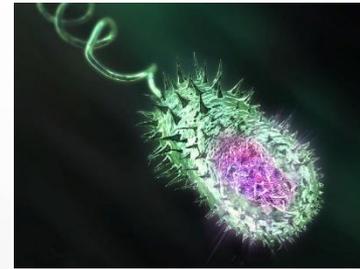
L'Human Microbiome Project (HMP) ha lo scopo di identificare e caratterizzare tutti i microorganismi associati alla fisiologia e alle patologie umane



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

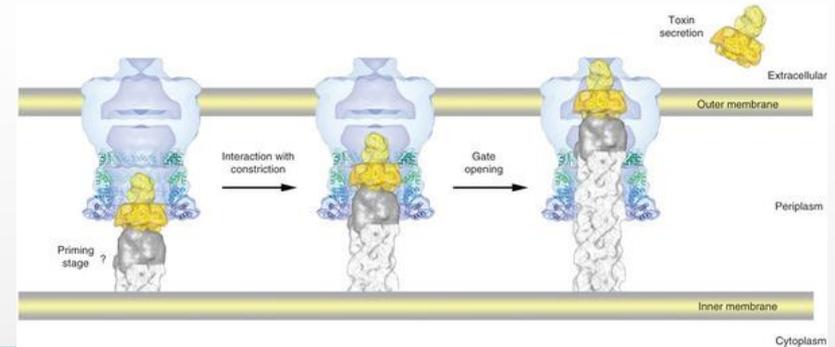


Vetrino contenente vibrioni del colera preparato nel 1854 dall'anatomista fiorentino Filippo Pacini, che isolò e descrisse il batterio durante la pandemia di colera asiatico del 1846-1863

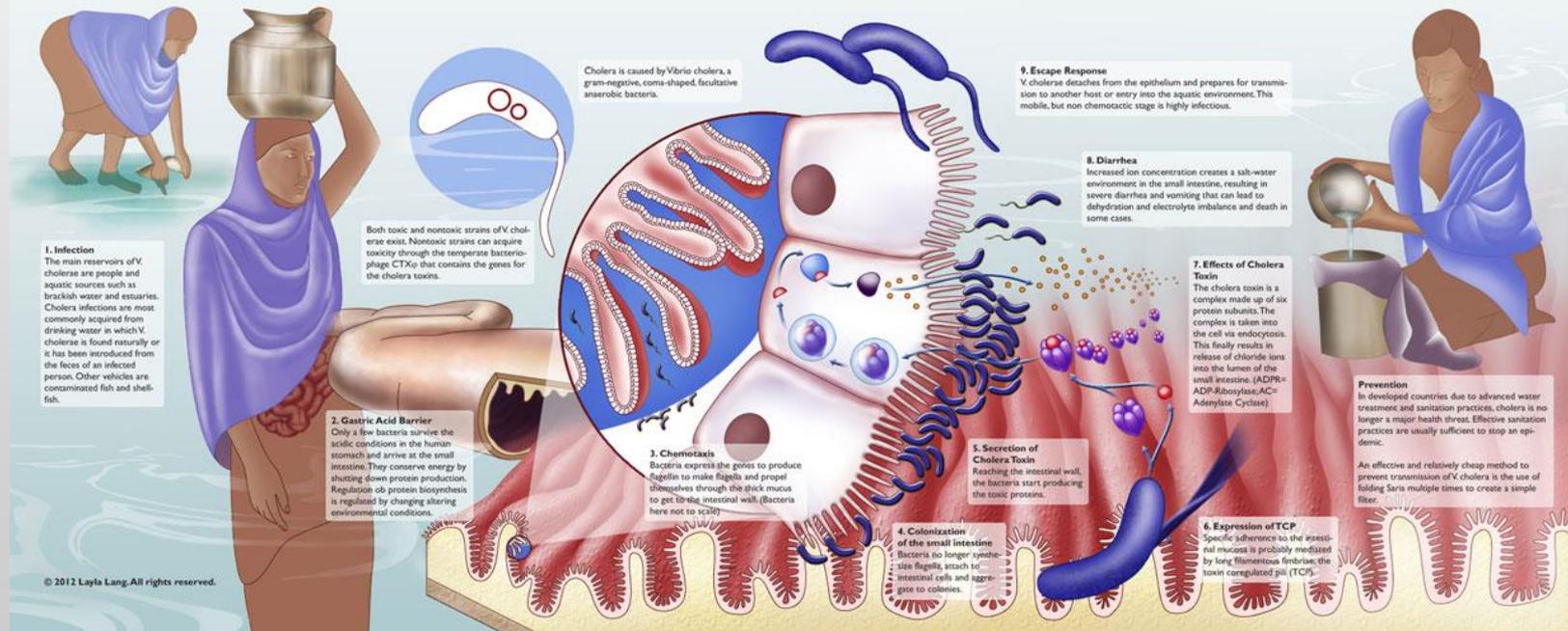
Fonte: <http://www.who.int>

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*



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

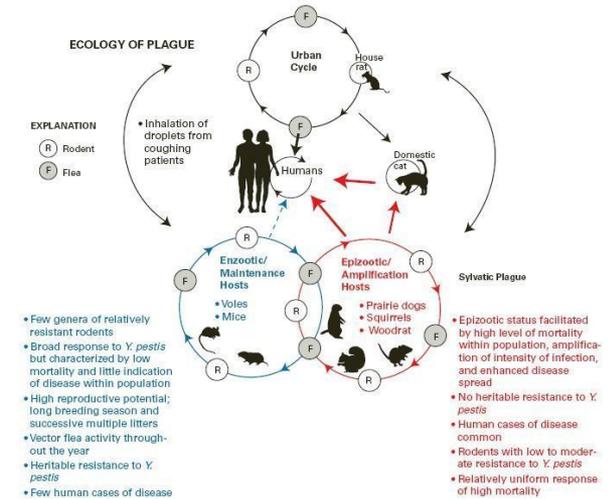
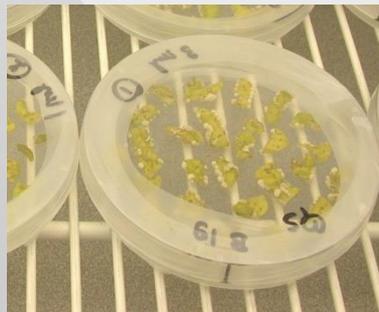
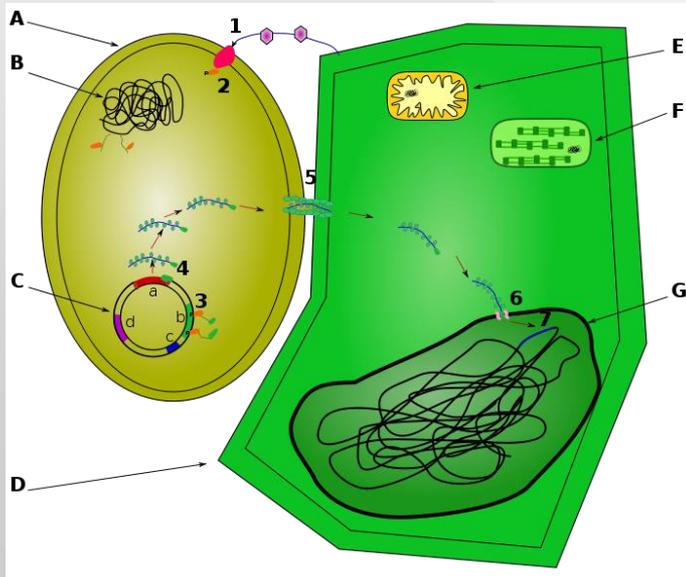
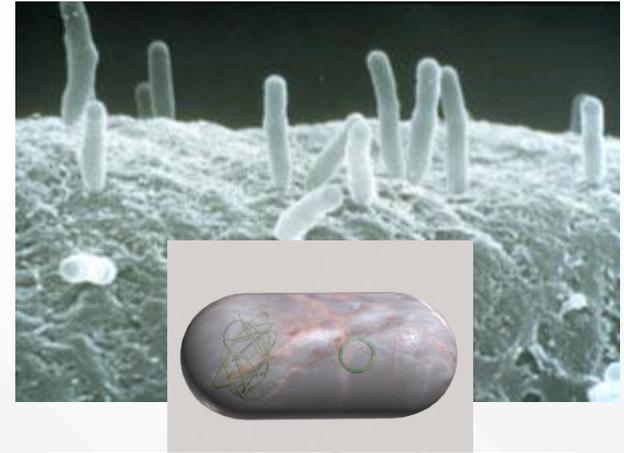


Figure 6.2 General ecology of plague (*Yersinia pestis*). (Developed from Butler,²⁰⁶ Gasper and Watson²⁰⁹.)
Friend, Milton, 2006, Disease Emergence and Resurgence: The Wildlife-Human Connection: Reston, Va., U.S. Geological Survey, Circular 1285, 235 p.

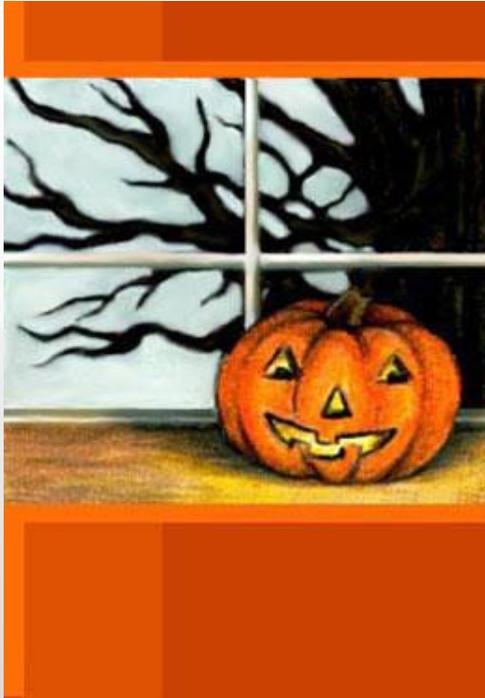


Agrobacterium tumefaciens (Proteobacteria, Rhizobiaceae)

- 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 !

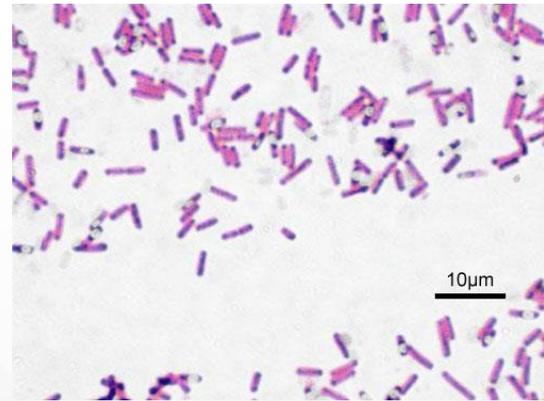


Beato Angelico (Fra Giovanni da Fiesole)

“Gaudio dei Santi”, predella della Pala di Fiesole

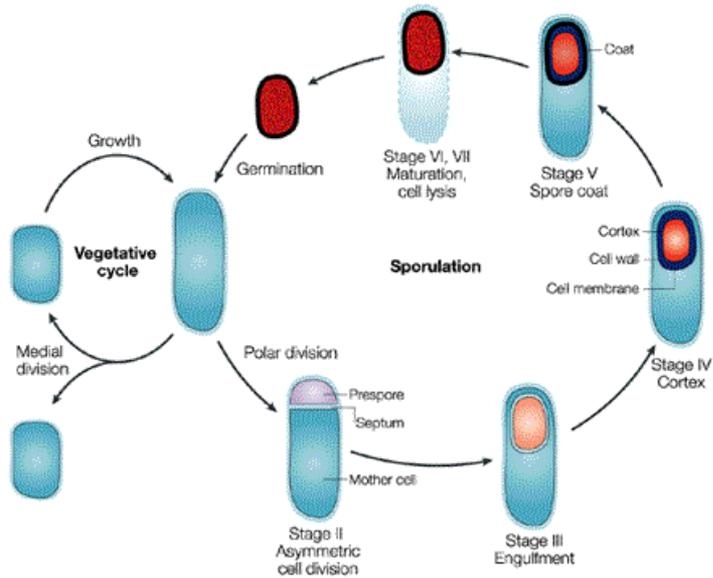
(tempera su tavola, 1424 -1425)

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 **micoplasmi**, **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

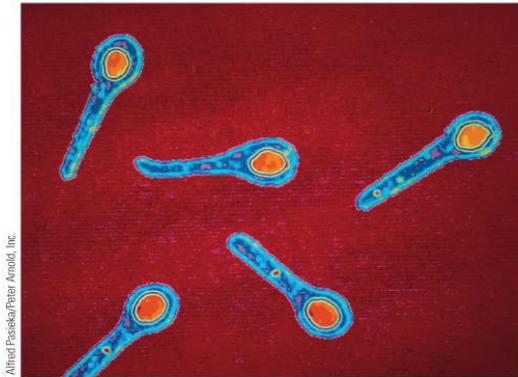


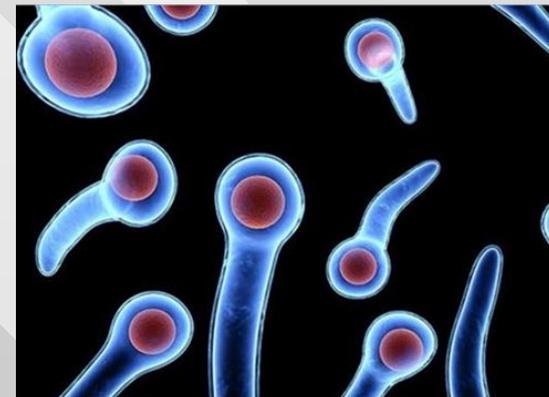
FIGURA 23-13 Le endospore.

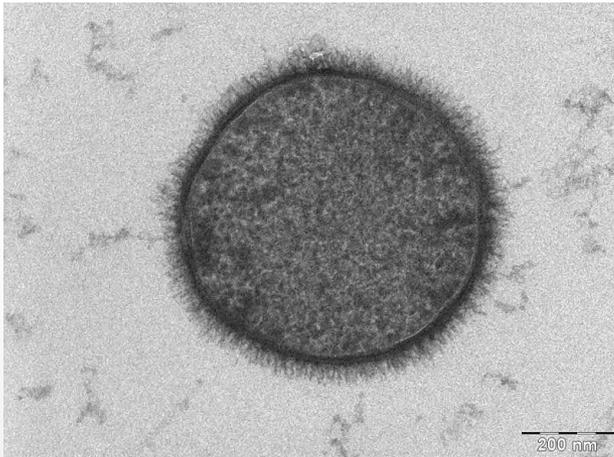
Immagine MET a colori di *Clostridium tetani*, il batterio che causa il tetano. Ogni cellula batterica (blu) contiene una sola endospora (arancio), una cellula disidratata e resistente che si forma all'interno della cellula originaria.

Endospore di *Clostridium tetani*

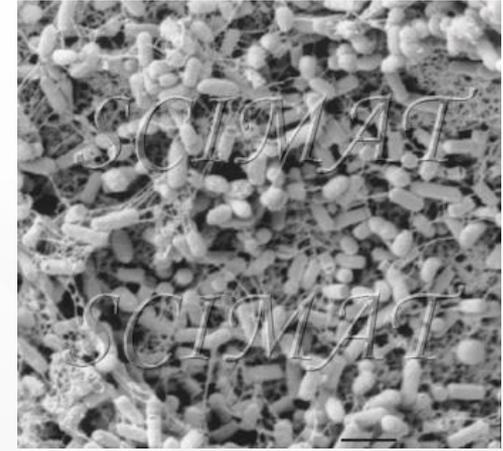
Le endospore sono **forme quiescenti** (“dormienti”) **e non riproduttive**, che consentono **la sopravvivenza dei Firmicutes in condizioni difficili** come la siccità, il calore, il gelo l’esposizione a radiazioni ultraviolette e ad agenti chimici

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

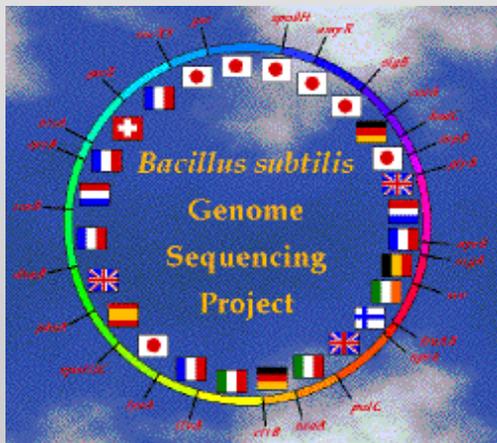




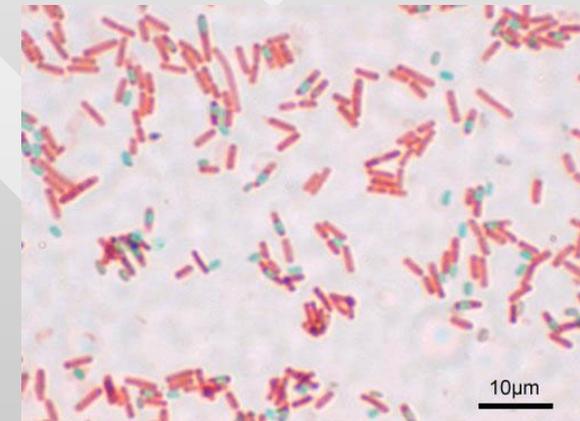
Bacillus subtilis
(Firmicutes Bacillaceae)



- **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



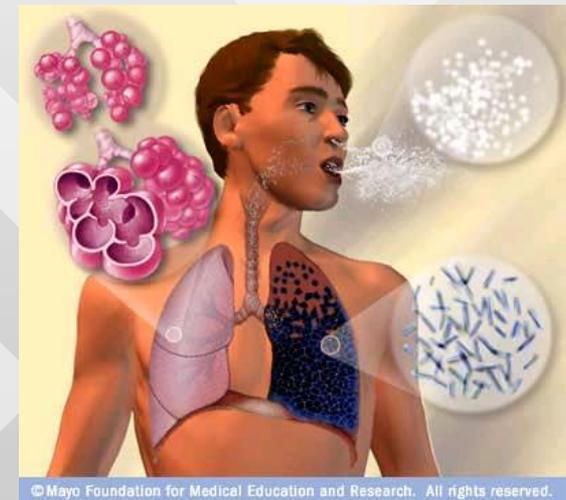
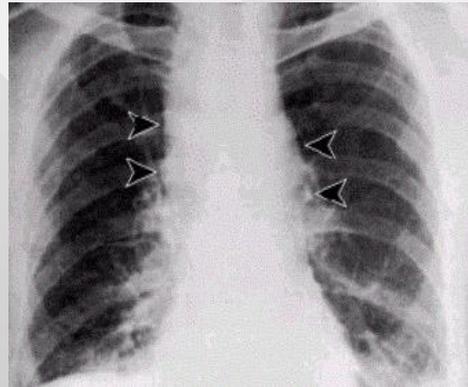
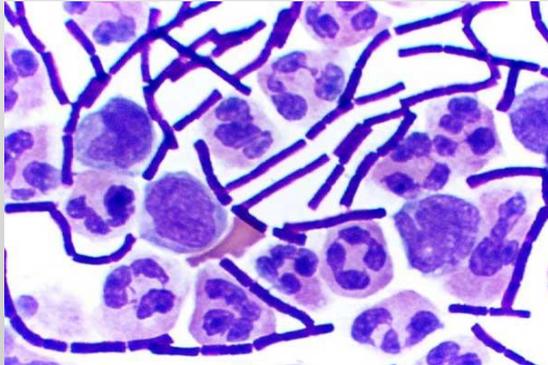
Banche dati dedicate a *B. subtilis*
<http://bacillus.genome.jp/>
<http://genolist.pasteur.fr/SubtiList/>



Bacillus anthracis

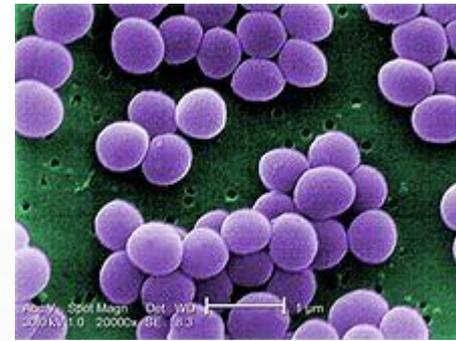
endosporigeno che causa il **carbonchio** (o “antrace”)

- *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%**)

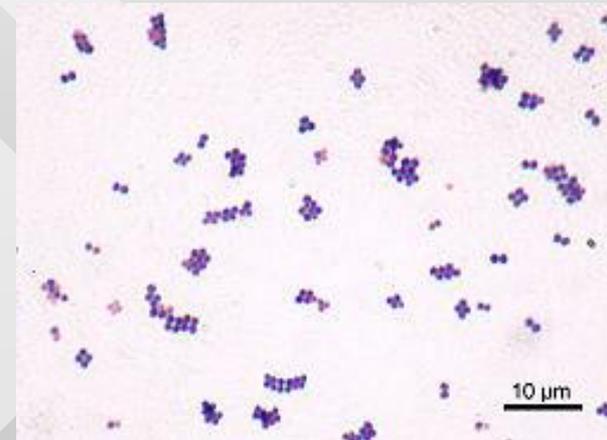


Stafilococchi, i principali “piogeni”

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*)

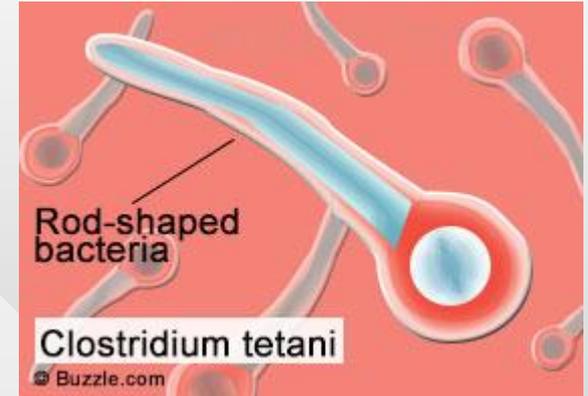
La dose letale per *H. sapiens* è **2 ng / Kg** (175 ng/70 Kg)

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**

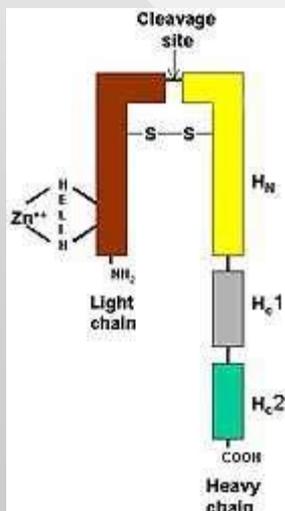
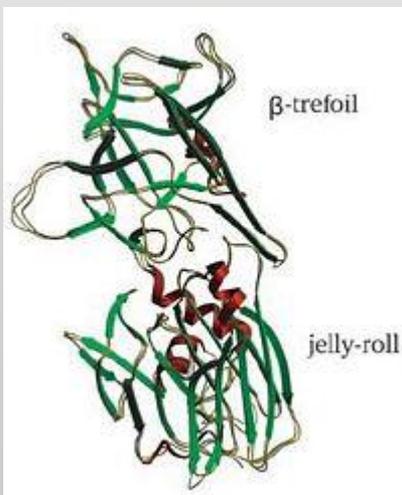
L’immunizzazione tramite un derivato della tossina (“toxoide”) **non è permanente** e deve essere ripetuta ogni 10 anni



“Lockjaw” e spasmo opistotonico



Opistotono in paziente tetanico, dipinto da Charles Bell nel 1809

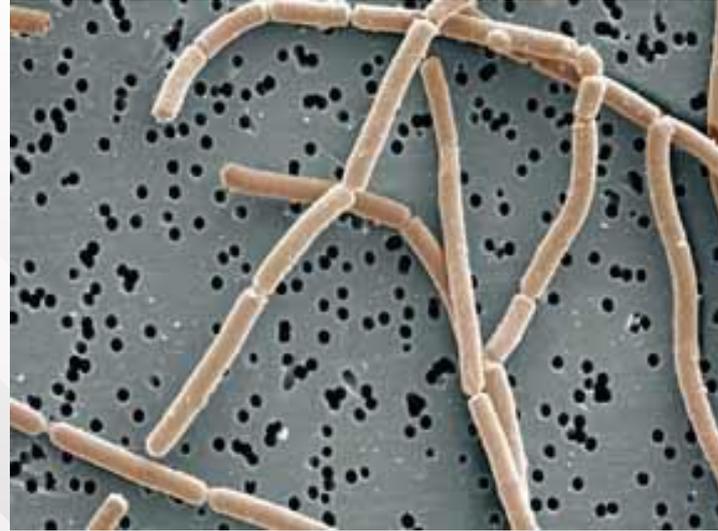


■ Sintomi del Tetano:

<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