



La membrana citoplasmatica

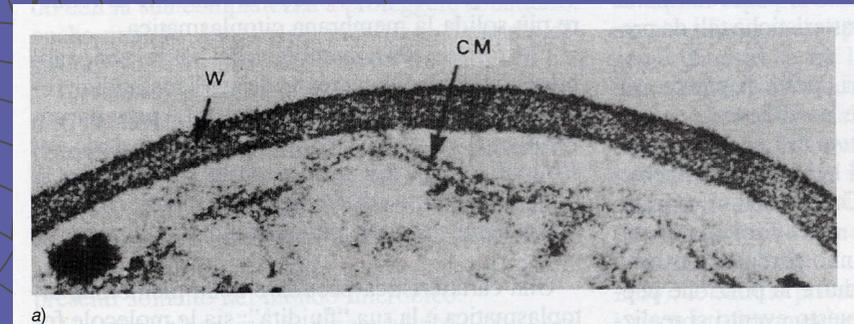
Prof. Vincenzo Cuteri
UNICAM

Introduzione

- ◆ Spessa soltanto **8 nm** è una **barriera altamente selettiva**.
- ◆ La struttura generale di molte membrane biologiche è costituita da un doppio strato di fosfolipidi.
- ◆ I fosfolipidi contengono sia una parte altamente idrofobica (acido grasso) che una relativamente idrofila (glicerolo); ne esistono molti tipi diversi, in funzione della varietà di acidi grassi esistenti in natura o dei gruppi fosfato legati al glicerolo.
- ◆ In acqua si aggregano a formare strutture a doppio strato, con gli acidi grassi rivolti verso l'interno a costituire un ambiente idrofobico e le porzioni idrofile esposte verso il mezzo esterno acquoso.

Introduzione

- ◆ Presenta una struttura bilaminare
 - Molto simile a quella delle cellule eucariote
 - Mancanza di steroli in quasi tutti i batteri
 - Presenza di Opanoidi in alcuni batteri
 - ◆ Rendono solida e stabile la membrana



Membrana cellulare

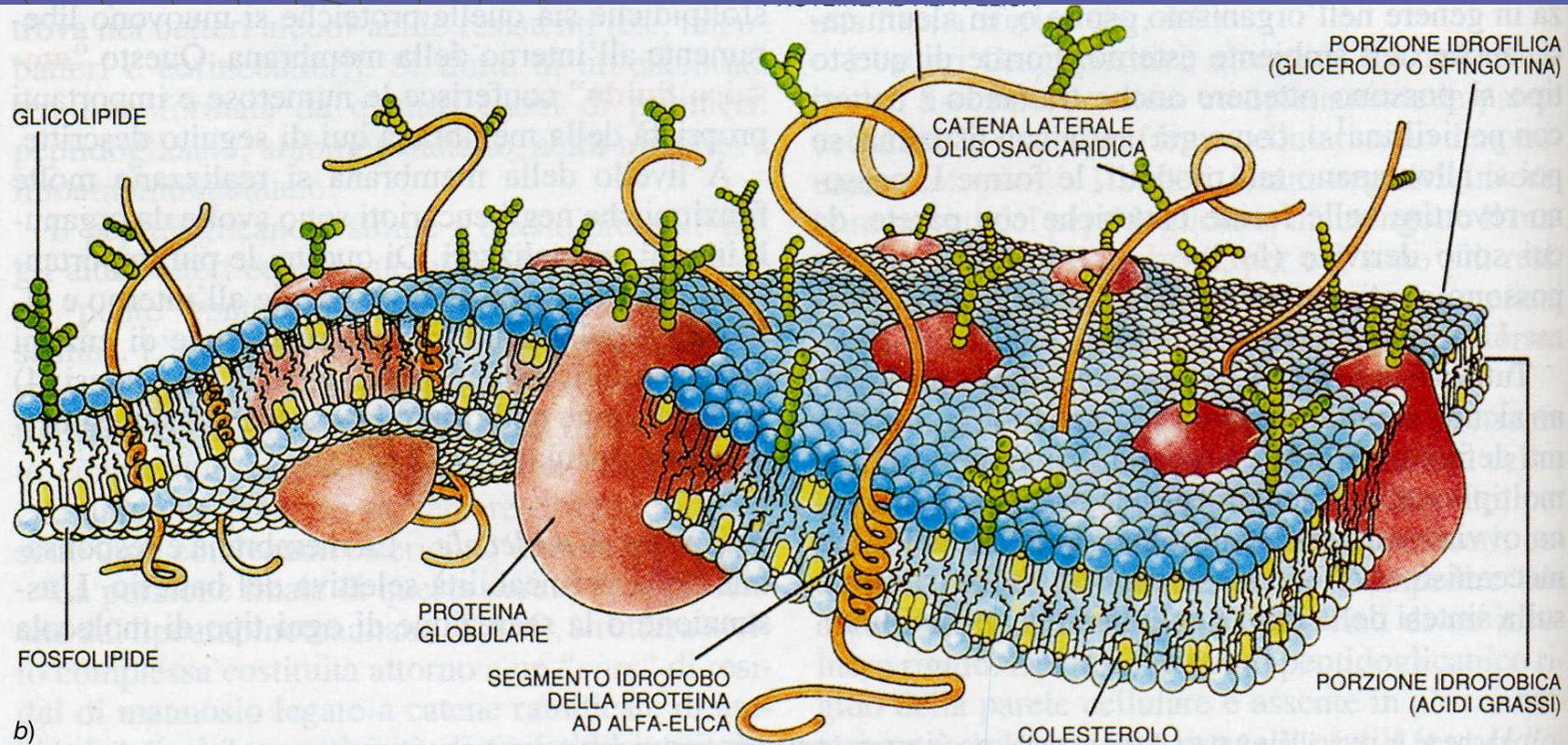


Figura 4-10 a) Microfotografia elettronica della membrana citoplasmatica (CM) di *Bacillus subtilis* (W = parete cellulare). b) rappresentazione schematica del doppio strato fosfolipidico che costituisce la membrana citoplasmatica. Questo è attraversato da due diversi tipi di proteina: una sotto forma di catena di aminoacidi avvolta ad α -elica (in arancione), l'altra con struttura globulare (in rosato). Le catene laterali glicidiche sono raffigurate in verde. La presenza di colesterolo è esclusiva delle cellule eucariote, mentre in alcuni batteri sono presenti molecole strutturalmente simili, denominate opanoidi.

Composizione

- ◆ Fosfolipidi di membrana
 - Acidi fosfatidici
 - ◆ Fosfatidil-glicerolo
 - ◆ Fosfatidil-serina
- ◆ Proteine
 - Si estendono attraverso lo strato fosfolipidico
 - ◆ Proteine transmembrana

Funzioni

- ◆ Trasporto di molecole all'interno del microrganismo
- ◆ Trasporto di molecole all'esterno del microrganismo
- ◆ Produzione di enzimi extracellulari
- ◆ Respirazione
- ◆ Regolazione della riproduzione
- ◆ Sintesi dei componenti la parete cellulare

Trasporto di molecole

- ◆ Permeabilità selettiva
- ◆ Presenza di specifici recettori
- ◆ Consumo di energia
 - Trasporto attivo
- ◆ Passaggio per semplice diffusione
 - Osmosi

Cosa sono gli ionofori?

- ◆ Sono piccole molecole idrofobiche che aboliscono la capacità di permeabilità selettiva della membrana solubilizzandosi nel doppio strato consentendo la diffusione passiva di sostanze ionizzate
- ◆ Alcuni antibiotici funzionano come ionofori
 - Valinomicina - Tirocidina
- ◆ Poiché l'esistenza di gradienti di concentrazione è indispensabile alle funzioni cellulari, gli ionofori sono ovviamente agenti letali

Produzione di enzimi

- ◆ Consento l'utilizzo di composti ad elevato peso molecolare
 - Demolizione in molecole proteiche o polisaccaridiche
 - Risultano amminoacidi o sub-unità zuccherine
 - Consentito passaggio ad opera di permeasi
 - Azione all'esterno o nello spazio periplasmico

Enzimi

- ◆ Strutturali o di costituzione
 - Elaborati costantemente ed indipendentemente dalle condizioni ambientali
- ◆ Di adattamento o di induzione
 - Il batterio possiede il codice genetico (represso) ma elaborati solo se necessario
 - Derepressione del gene solo in seguito ad induzione
 - ◆ Induzione da substrato

Enzimi

- ◆ Idrolasi
 - Situati sulla superficie esterna della MC
 - Scindono i grossi polimeri in precursori
- ◆ Permeasi o desmolasi
 - Associati alla MC
 - Introducono i precursori all'interno

Respirazione

- ◆ Trasporto di idrogeno

- Flavoproteine

- ◆ Contengono atomi di ferro coordinati ad atomi di zolfo (inorganico o cisteina)



- Citocromi

- ◆ Proteine coniugate del gruppo delle emoproteine nelle quali il ferro dell'eme è legato con il sesto legame coordinativo ad un residuo amminoacidico della catena proteica

Respirazione

- ◆ Organismi chemiosintetici
 - Capaci solo di utilizzare energia chimica
- ◆ Organismi fotosintetici
 - Capaci di utilizzare energia radiante convertendola in energia chimica

Respirazione

- ◆ Principale fonte di energia
 - Zucchero
 - Ottenuta attraverso una serie di processi ossidoriduttivi
- ◆ Respirazione completa
- ◆ Respirazione incompleta

Respirazione completa

- ◆ Lo zucchero viene completamente degradato con liberazione di energia utilizzata per produrre legami ad alta energia di idrolisi
- ◆ Accumulo di 38 molecole di ATP
- ◆ Residuo di CO_2 ed H_2O
- ◆ Idrogeno allontanato dal substrato legandosi ad O_2

Respirazione incompleta

- ◆ Non si ha formazione di CO_2 ed H_2O
- ◆ Si arresta allo stadio di acido Piruvico
- ◆ esita nella formazione di acido Lattico
- ◆ Produzione di 8 molecole di ATP

Fermentazione

- ◆ Rappresenta la prima fase della respirazione
- ◆ Cessione dell'idrogeno al substrato
- ◆ Stop per carenza di citocromi e flavoproteine

Respirazione

- ◆ **Aerobia**

- Accettore finale dell'idrogeno è l'ossigeno molecolare

- ◆ **Anaerobia**

- Accettore finale dell'idrogeno è l'ossigeno combinato



Respirazione aerobia

- ◆ Produzione di H_2O_2
 - $2H + O_2 = H_2O_2$
- ◆ Azione della Catalasi

◆ Catalasi POSITIVI
◆ Catalasi NEGATIVI

◆ Catalasi = Aggressina

- Produzione di H_2O_2 nel fagocita
- Attivazione del sistema della mieloperossidasi
- Trasformazione di Ioduri in Iodio
- Affinità per le proteine
- Attraversa la parete cellulare
- Blocco delle sintesi proteiche e del metabolismo respiratorio
- MORTE DEL MICRORGANISMO

RESPIRAZIONE

The background of the slide features a stylized globe with a grid of latitude and longitude lines. A satellite dish antenna is positioned on the right side of the globe, with lines radiating from its center towards the left, suggesting signal transmission or reception. The entire scene is set against a solid blue background.

- ◆ AEROBI STRETTI
- ◆ AEROBI – ANAEROBI FAOLTATIVI
- ◆ ANAEROBI STRETTI

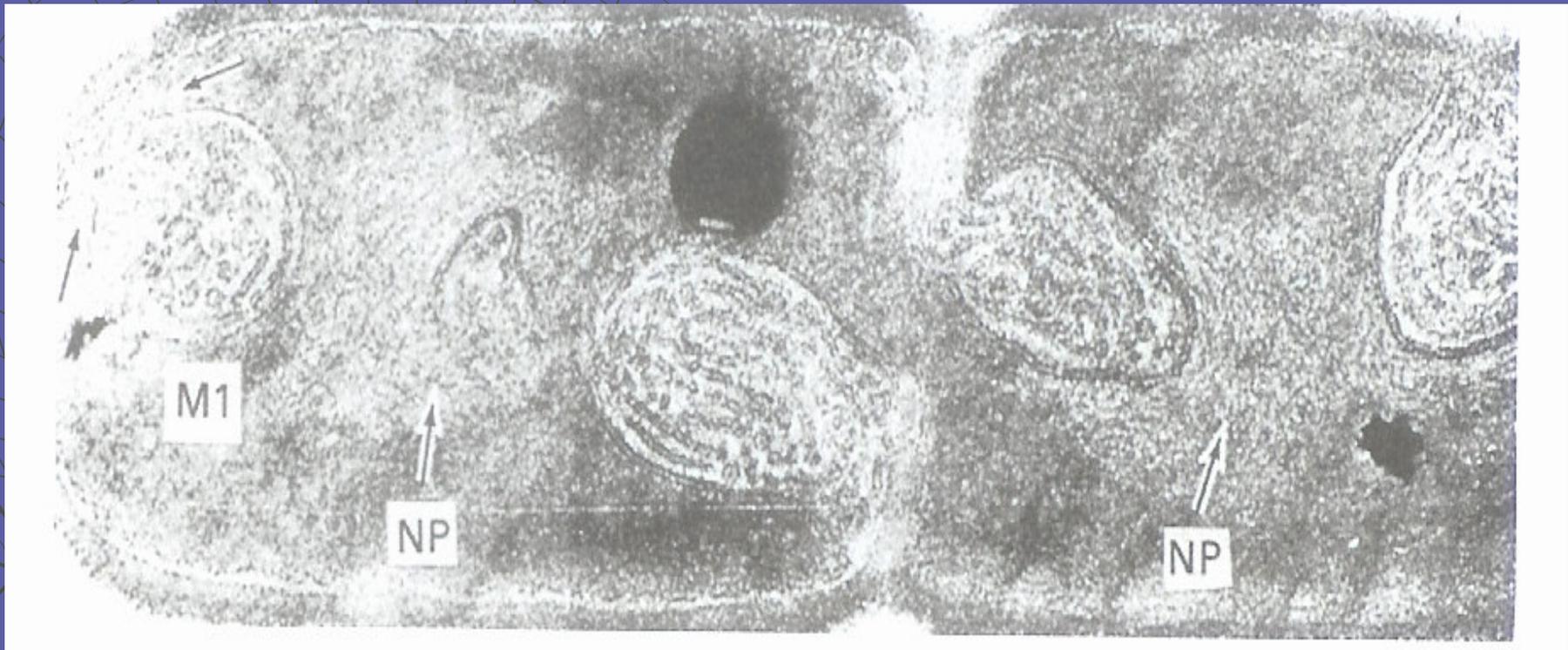
FONTE DI ENERGIA

- ◆ **Microrganismi CHEMIORGANOTROFI**
 - Ricavano il carbonio da composti di natura organica
 - Quasi tutti i parassiti
- ◆ **Microrganismi LITOTROFI**
 - Ricavano il carbonio da composti inorganici
 - Quasi tutti i saprofiti ed i parassiti facoltativi

RIPRODUZIONE

- ◆ In parte regolata dalla MC
- ◆ Proteine di membrana si legano al DNA e favoriscono la separazione dei due cromosomi neoformati
- ◆ Separazione del citoplasma
 - Intervento di un setto trasverso
 - Generato dalla MC o dai Mesosomi
 - ◆ "Mesosomi di setto"

I mesosomi



SINTESI DELLA PARETE CELLULARE

- ◆ SINTESI NEL CITOPLASMA delle molecole necessarie alla costruzione o riparazione della parete
- ◆ Trasporto al di fuori della cellula ad opera di proteine di membrana
- ◆ Assemblaggio delle stesse per la formazione della parete

ANTIGENICITA' DELLA MC

- ◆ MOLTO SCARSO
- ◆ COMPONENTI COMUNI A QUASI TUTTI I BATTERI
- ◆ COSTITUITA DA SOSTANZE NON PECULIARI DEI BATTERI

I ribosomi

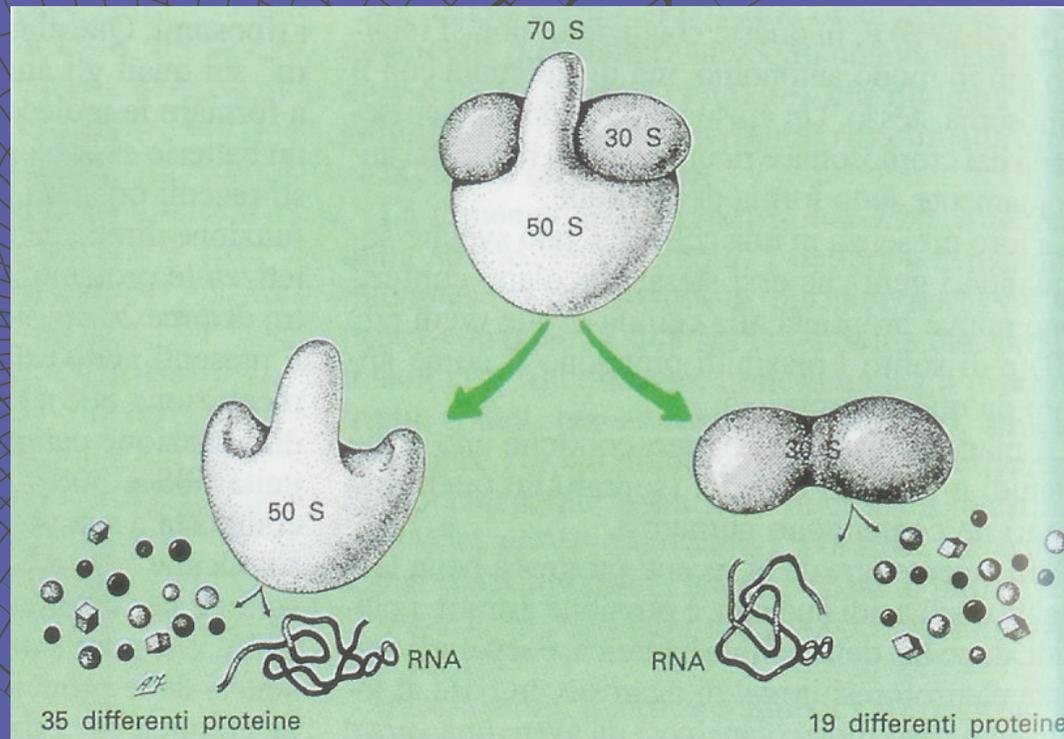
- ◆ Subunità 30S
 - 20 proteine
 - 1 classe di acido ribonucleico
 - ◆ Costante di sedimentazione 16S
 - "lettore del messaggio m-RNA"

I ribosomi

- ◆ Subunità 50S
 - 30-35 proteine
 - 2 classi di acido ribonucleico
 - ◆ Costante di sedimentazione 5S e 23S
 - Attiva le transferasi corrispondenti alla tripletta appena letta in modo da consentire al giusto amminoacido di costituire la catena polipeptidica – fino al codice di FINE MESSAGGIO

I Ribosomi

- ◆ Distacco delle 2 unità ribosomiali
 - Depolimerizzazione dell'm-RNA ad opera delle nucleasi lisosomiali



Le ciglia

- ◆ **Attributi non essenziali per i batteri**
 - Non tutti i batteri ne sono provvisti
- ◆ **Diverse da quelle presenti nella cellula eucariota**
 - Qualitativamente
 - Quantitativamente
- ◆ **Corresponsabili della mobilità di un germe**
 - Movimenti Browniani

Mobilità

- ◆ Un germe sospeso in un liquido isotónico e osservato al microscopio
 - Appare animato da movimenti oscillatori in situ
 - ◆ Immobile
 - Dotato di movimenti attivi compie spostamenti all'interno del campo microscopico da un punto A ad un punto B
 - ◆ Mobile
- ◆ Le ciglia sono corte e molto numerose

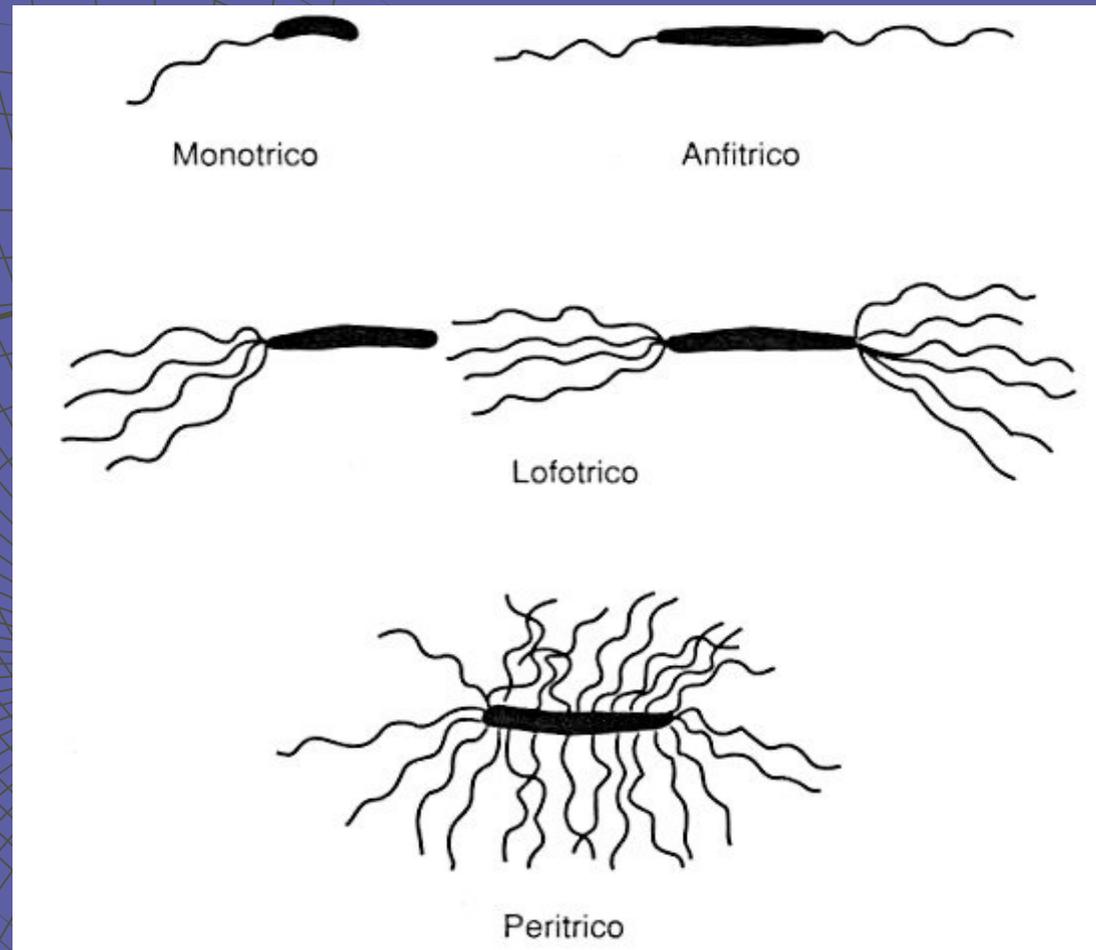
I flagelli

- ◆ Sono così sottili (circa **20 nm**) che un singolo flagello non può essere visualizzato al microscopio ottico se non dopo colorazione con coloranti specifici che ne aumentino il diametro
- ◆ Sono invece facilmente visibili al microscopio elettronico.
- ◆ Il tipo di disposizione dei flagelli è spesso usato come elemento distintivo nella classificazione dei batteri.

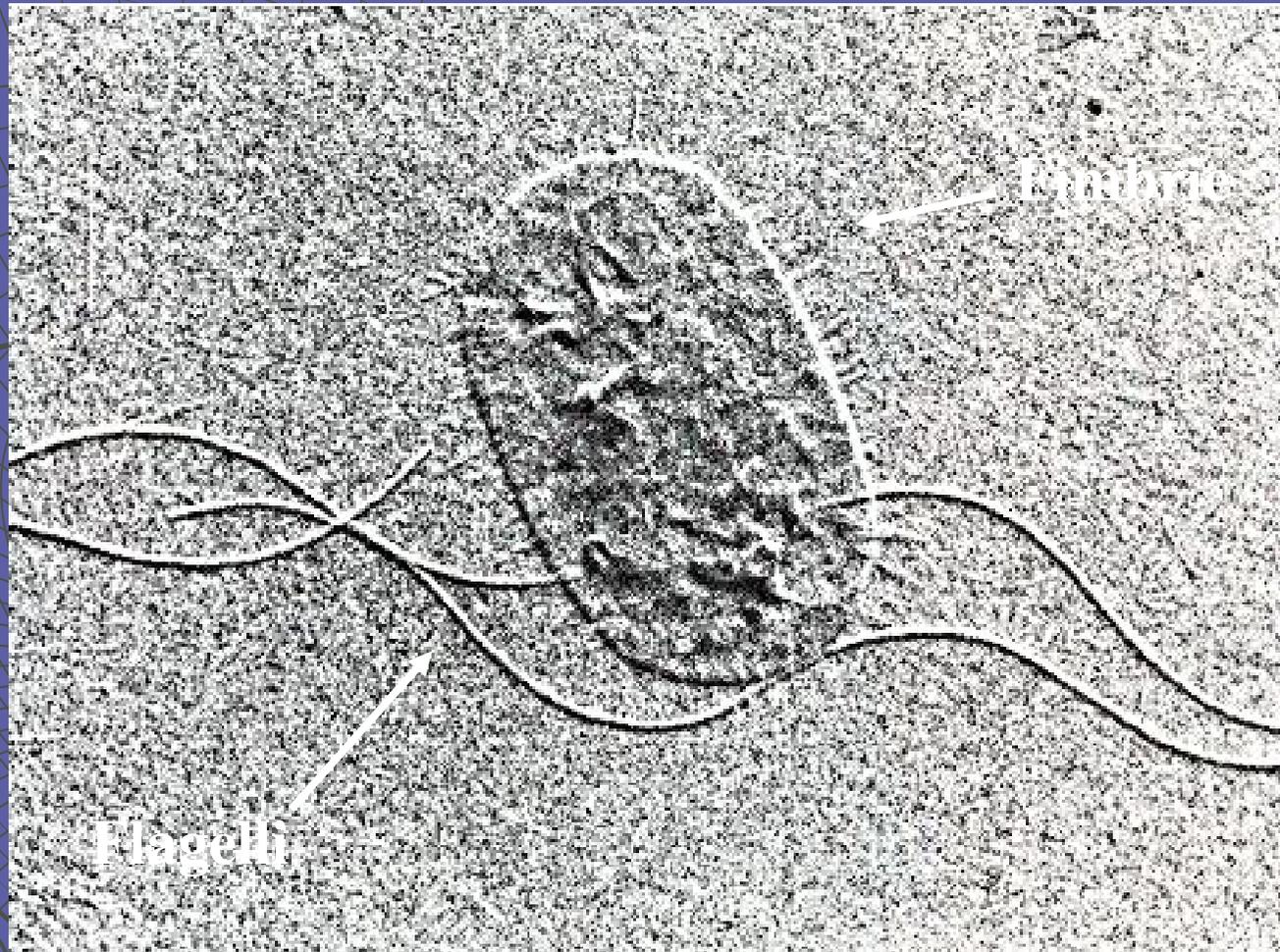
Flagelli (morfologia)

- Flagelli: caratterizzano i batteri e li fanno distinguere in monotrichi, anfitrichi, lofotrichi e peritrichi.

Dislocazione dei flagelli nelle cellule batteriche



Flagelli e pili in *Proteus vulgaris*



Flagelli (funzione)

- Flagelli: consentono la mobilità cellulare.



Flagelli (caratteri generali)

- I flagelli sono formati da tre parti: struttura basale, filamento ed uncino.
- Il filamento è costituito dalla proteina flagellina avvolta a spirale intorno ad un nucleo centrale cavo.

Flagellina

- ◆ I flagelli batterici sono costituiti da subunità proteiche: la proteina in questione è detta **flagellina**
 - Peso molecolare variabile da 30000 a 40000 Daltons
 - Si organizza in una struttura elicoidale caratterizzandosi per la presenza di
 - ◆ Diametro interno
 - ◆ Diametro esterno
 - ◆ Estrema flessibilità

Flagelli

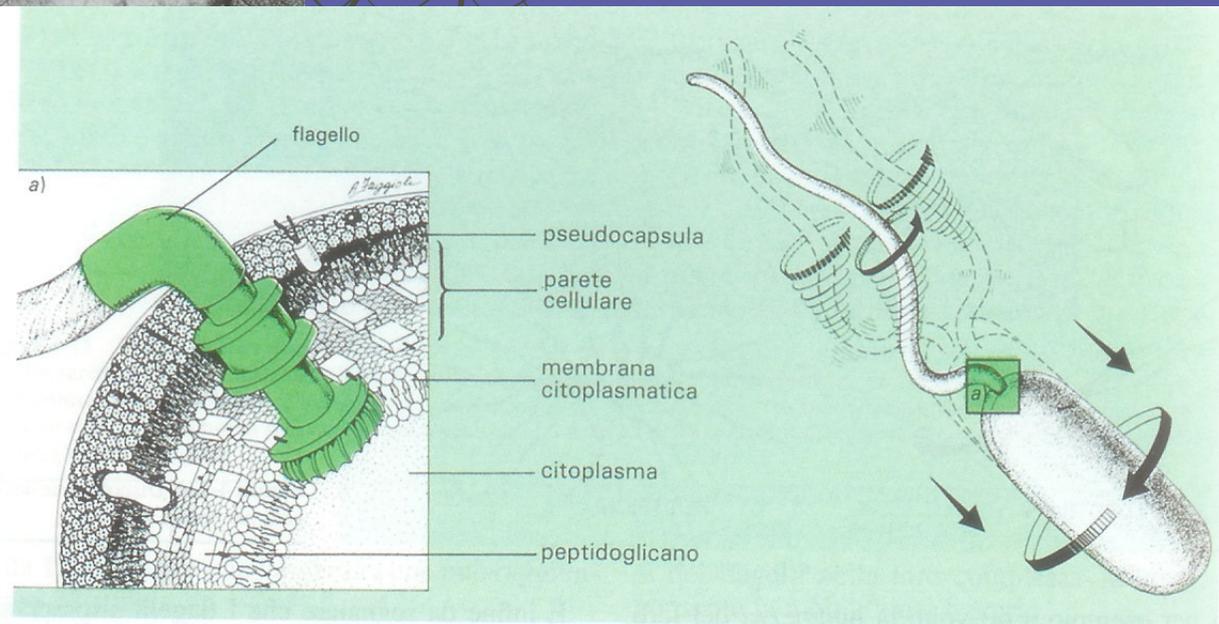
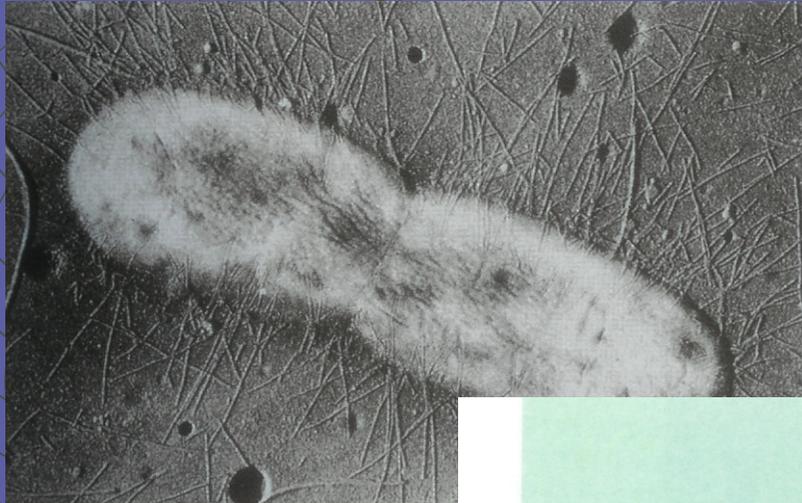


Figura 4-14 Rappresentazione schematica del movimento di un batterio per azione di un flagello polare (il flagello e la cellula ruotano in direzioni opposte). Nel particolare (a) è rappresentata l'inserzione, nel corpo batterico, del flagello con la sua struttura a "rotore".

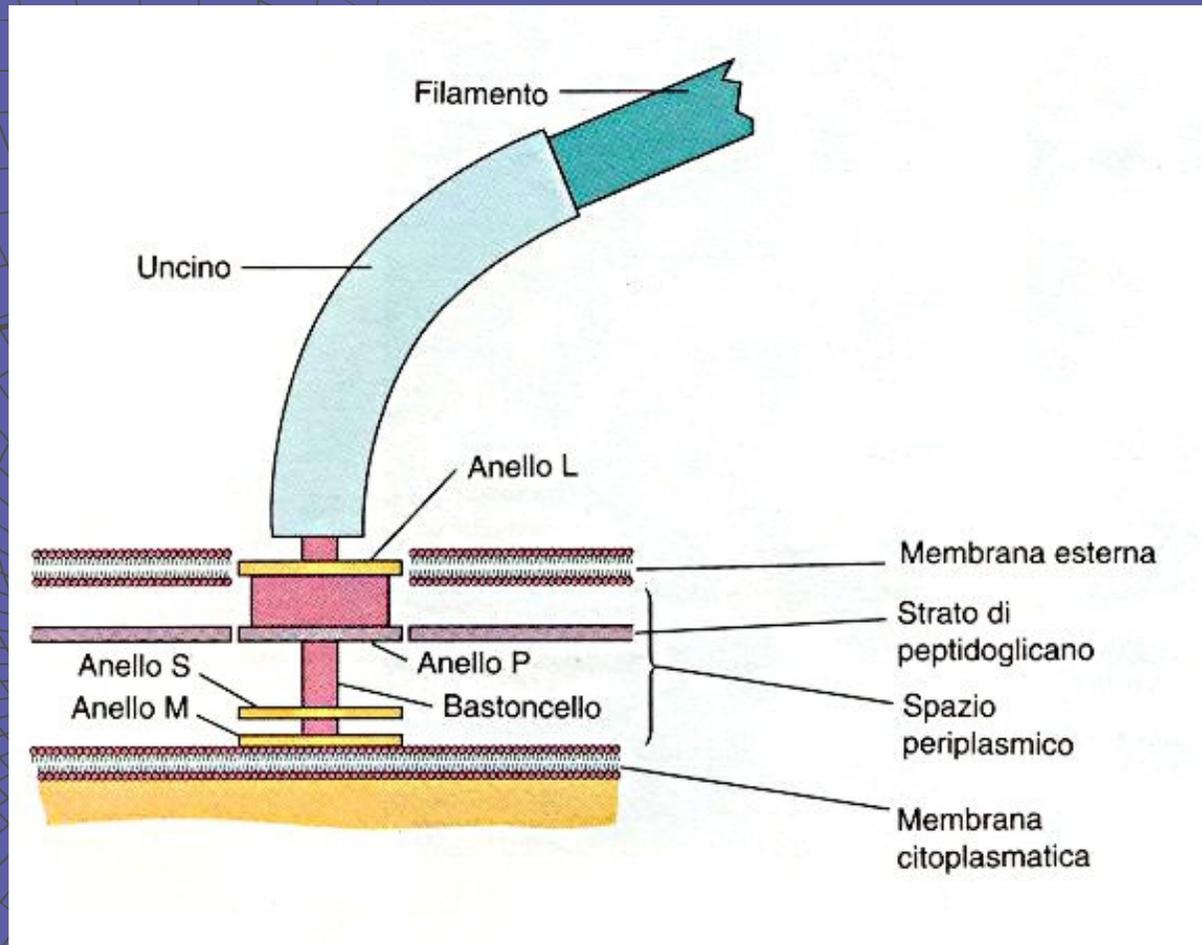
Flagello

- ◆ La regione basale del flagello ha una struttura diversa dal resto del flagello
 - **uncino**
- ◆ Adeso all'uncino c'è il **corpo basale**
 - la struttura motrice che collega l'apparato flagellare con l'involucro cellulare
 - L'uncino e il corpo basale sono costituiti da proteine diverse da quelle del flagello propriamente detto

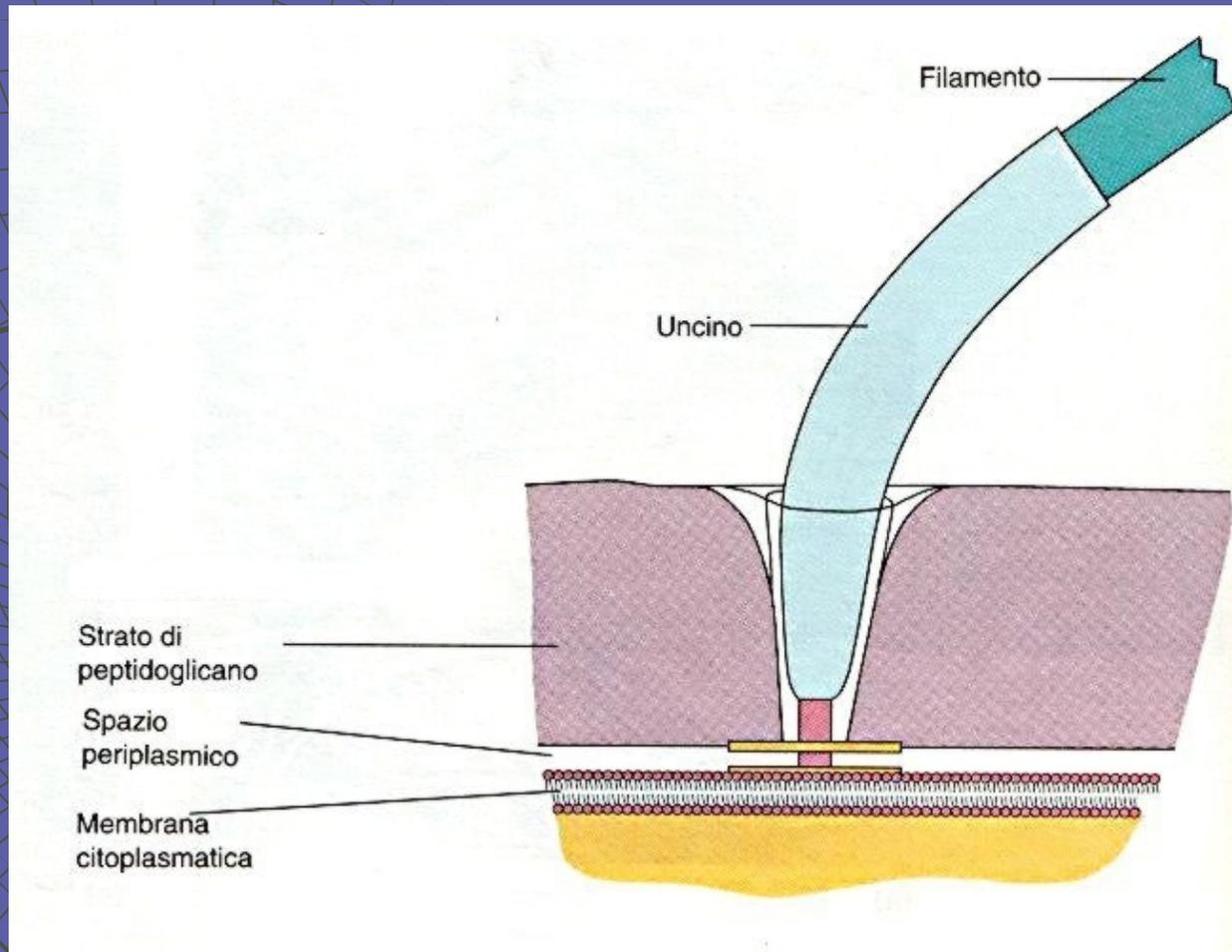
Flagello

- ◆ Il corpo basale è formato da una piccola struttura bastoncellare centrale che attraversa un sistema ad anelli
- ◆ Nei batteri Gram-negativi
 - la coppia esterna di anelli è associata agli strati di lipopolisaccaride e peptidoglicano della parete cellulare, mentre la coppia interna di anelli è localizzata all'interno o appena sopra la membrana citoplasmatica
- ◆ Nei batteri Gram-positivi
 - che sono privi dello strato lipopolisaccaridico esterno, è presente solo la coppia di anelli interni

Struttura dei flagelli nei GRAM-



Struttura dei flagelli nei GRAM+



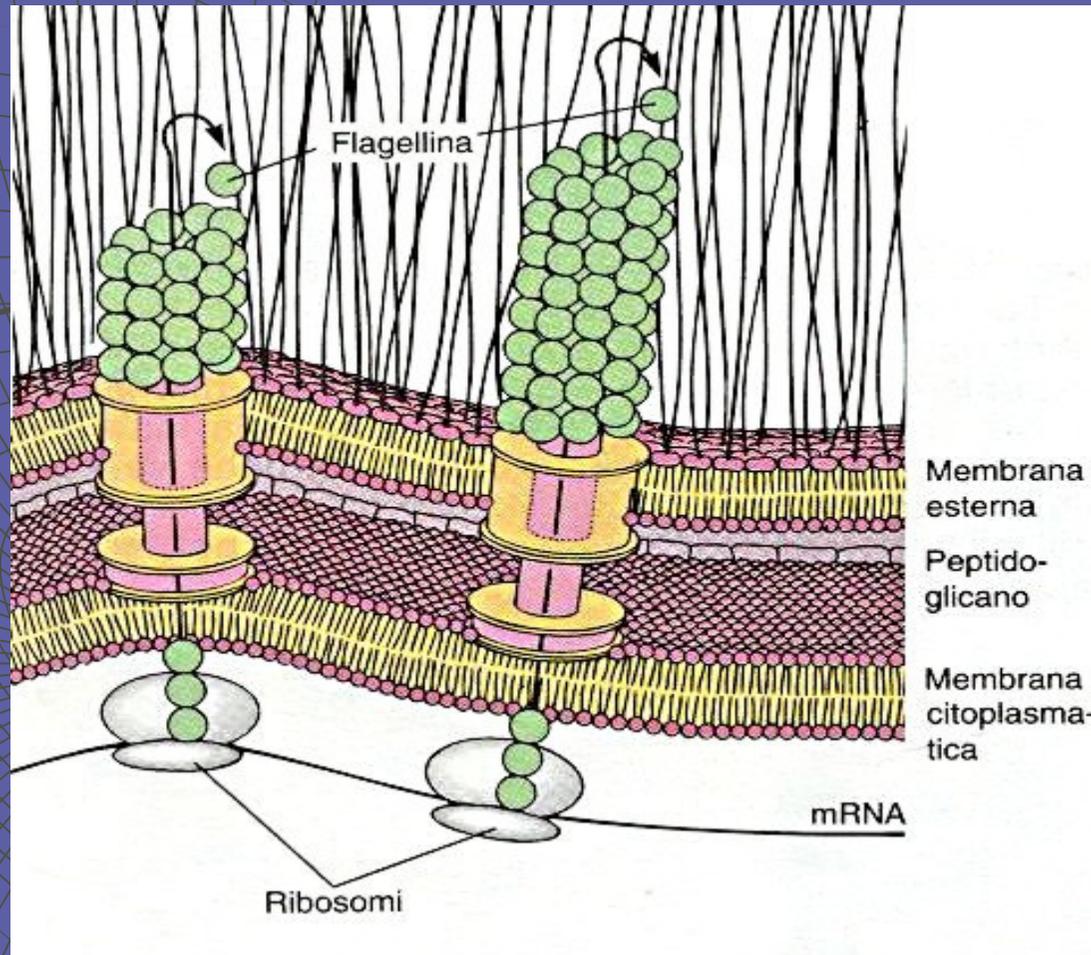
Crescita dei flagelli

- ◆ Il flagello **cresce non dalla base**, come nel caso dei peli animali, **ma dalla punta**.
- ◆ Le molecole di flagellina sintetizzate nella cellula risalgono attraverso la cavità interna del flagello e vengono aggiunte all'estremità terminale
- ◆ La sintesi del flagello a partire dalle molecole di flagellina avviene attraverso un **processo di autoassemblaggio**:
 - tutta l'informazione necessaria per la struttura completa del flagello è contenuta nelle stesse subunità proteiche.
- ◆ La crescita del flagello avviene in modo più o meno continuo finché non viene raggiunta la lunghezza massima:
 - **se una parte dell'estremità del flagello si rompe, viene rigenerata.**

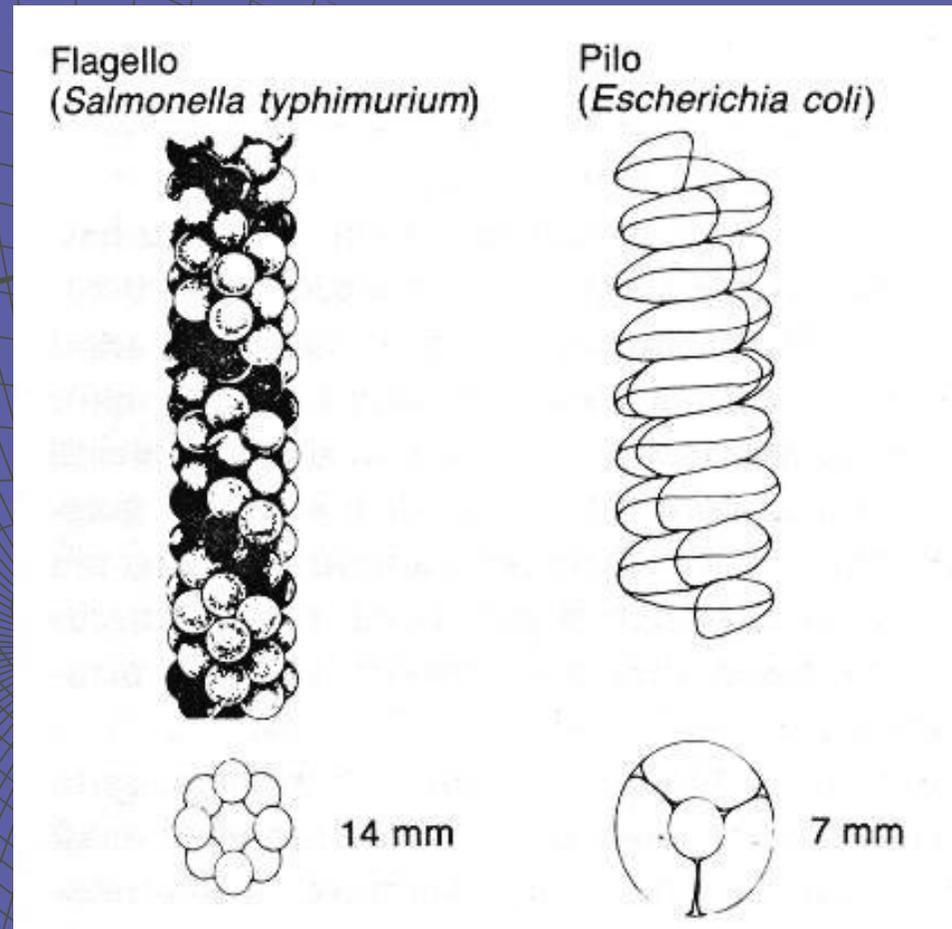
Crescita del flagello

- ◆ Quando una cellula si divide, le due cellule figlie devono ereditare un insieme completo di flagelli
- ◆ Il nuovo flagello si forma in corrispondenza del sito di divisione cellulare
- ◆ Nelle cellule con un solo flagello polare, i due poli della cellula probabilmente differiscono in misura tale che il flagello si forma solo ad una estremità della cellula e non all'altra

Crescita dei filamenti flagellari



Modello della probabile disposizione elicoidale delle subunità proteiche di un flagello



Antigenicità

◆ Antigene H

- La flagellina è una glicoproteina
 - ◆ Ottimo antigene
 - ◆ Estremamente variabile da germe a germe
- Possono esistere due realtà antigeniche
 - ◆ Antigene monofasico
 - Unico tipo di flagellina
 - ◆ Antigene bifasico
 - Due tipi diversi di flagellina

Metodi di osservazione

- ◆ Coltura giovane di 3-4 ore in acqua peptonata
- ◆ Vetrino a goccia pendente o di Koch
- ◆ Osservazione a 40X

Distacco dei flagelli

◆ Metodo meccanico

- Coltivare i batteri in terreno liquido
- Agitare la provetta
- Centrifugare
 - ◆ Soma batterico, pesante, nel sedimento
 - ◆ Ciglia e flagelli, leggeri, nel surnatante

◆ Metodo termico

- Sottoporre la coltura a 100° C a vapore fluente
- Raccogliere come in precedenza

Termosensibilità

- ◆ Antigene H
 - 100° C a vapore fluente X 30 minuti
- ◆ Antigene K
 - 100° C a vapore fluente X 60 minuti
- ◆ Antigene O
 - 100° C a vapore fluente X 2 ore

Fimbrie o Pili

- ◆ Sono simili ai flagelli dal punto di vista strutturale, ma non sono coinvolti nel movimento.
- ◆ Le **fimbrie** sono notevolmente più corte dei flagelli e molto più numerose.
 - Vi sono evidenze che suggeriscono che le fimbrie permettano ai microrganismi di aderire a superfici inerti o di formare pellicole o strati alla superficie di sostanze liquide.
- ◆ I **pili**, strutturalmente simili alle fimbrie sono in genere più lunghi e presenti sulla superficie della cellula solo in una o due copie.
 - Vi sono molti dati che indicano che i pili sono coinvolti nei processi di coniugazione dei batteri.
 - I pili prendono anche parte ai fenomeni di adesione ai tessuti da parte di microrganismi patogeni
 - ◆ colonizzazione

Fimbrie struttura

- ◆ Diametro variabile da 30 a 70 Angstrom
- ◆ Lunghezza fino a 800 Angstrom
- ◆ Presenti soprattutto nei Gram negativi
- ◆ Non rappresentano un carattere tassonomico
- ◆ Classificabili in 6 gruppi distinti

Fimbrie classificazione

- ◆ 6 classi diverse non sul piano morfologico ma antigenico
 - Classe I
 - Classe II
 - Classe III
 - Classe VI
 - Classe V
 - Classe F
- Massima antigenicità
- Minima antigenicità
-

Fimbrie costituzione

- ◆ La subunità fondamentale è definita
 - PILINA
 - ◆ Glicoproteina
 - ◆ Peso molecolare 15000/17000 Daltons
 - ◆ Organizzazione simile al flagello
 - Spirale
 - ◆ Diametro interno
 - 20-50 Å
 - ◆ Diametro esterno
 - 40-80 Å

Fimbria F

- ◆ Emagglutinina
 - Capacità di agglutinare le emazie
 - ◆ Emagglutinazione
 - ◆ Inibizione dell'emagglutinazione
- ◆ Importante nella ricombinazione genetica dei batteri
 - Coniugazione
 - ◆ Sex pilus

Coniugazione

