

Biologia dei microrganismi

terza edizione

a cura di
Gianni Dehò e Enrica Galli

con la collaborazione di
Maria Lina Bernardini
Luciano Paolozzi
Anna Maria Puglia
Anna Maria Sanangelantoni



CASA EDITRICE AMBROSIANA

Biologia dei microrganismi

a cura di Gianni Dehò e Enrica Galli

con la collaborazione di

**Maria Lina Bernardini, Luciano Paolozzi,
Anna Maria Puglia, Anna Maria Sanangelantoni**

testi di

Pietro Alifano, Loredana Baccigalupi, Marco Bazzicalupo,
Maria Lina Bernardini, Gianni Dehò, Enrica Galli,
Giorgio Gribaudo, Paolo Landini, Giovanna Lucchini, Alessio Mengoni,
Luciano Paolozzi, Alessandra Polissi, Anna Maria Puglia, Paola Quatrini,
Ezio Ricca, Anna Maria Sanangelantoni, Margherita Sosio,
Stefania Stefani, Davide Zannoni



CASA EDITRICE AMBROSIANA

Autori

Pietro Alifano

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche ed Ambientali, Università del Salento

Loredana Baccigalupi

Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Napoli Federico II

Marco Bazzicalupo

Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Firenze

Maria Lina Bernardini

Dipartimento di Biologia e Biotecnologie "C. Darwin", Sapienza Università di Roma

Gianni Dehò

Università degli Studi di Milano

Enrica Galli

Università degli Studi di Milano

Giorgio Gribaudo

Dipartimento di Scienze della Vita e Biologia dei Sistemi, Università degli Studi di Torino

Paolo Landini

Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano

Giovanna Lucchini

Università degli Studi Milano Bicocca

Alessio Mengoni

Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Firenze

Luciano Paolozzi

Università di Roma "Tor Vergata"

Alessandra Polissi

Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano

Anna Maria Puglia

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche, Chimiche e Farmaceutiche, Università degli Studi di Palermo

Paola Quatrini

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche, Chimiche e Farmaceutiche, Università degli Studi di Palermo

Ezio Ricca

Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Napoli Federico II

Anna Maria Sanangelantoni

Dipartimento di Scienze Chimiche, della Vita e della Sostenibilità Ambientale, Università degli Studi di Parma

Margherita Sosio

Microbiology Director - Naicons, Milano

Stefania Stefani

Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche, Università degli Studi di Catania

Davide Zannoni

Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie (FaBiT), Alma Mater Studiorum, Università di Bologna

STRUMENTI DI LETTURA

I contenuti del volume sono suddivisi in **quattro Parti**:

PARTE A

Struttura e funzioni delle cellule procariote

PARTE B

Crescita microbica e metabolismo

PARTE C

Genetica batterica e biologia molecolare

PARTE D

Interazioni tra microrganismi e con altri organismi



SOMMARIO DEI CONTENUTI

All'inizio di ciascun capitolo è riportato il sommario dei contenuti per fornire una visione d'insieme degli argomenti trattati nei paragrafi e nelle schede. I contenuti sono identificati dai seguenti simboli:

- ◆ Paragrafo
- Scheda di approfondimento
- Esercitazione di laboratorio TestTube

3

NUTRIZIONE E CRESCITA MICROBICA

PRINCIPI DI NUTRIZIONE MICROBICA

◆ 3.1 **COMPOSIZIONE ELEMENTARE DELLE CELLULE**
I sei elementi che costituiscono le macromolecole biologiche

◆ 3.2 **CATEGORIE NUTRIZIONALI**
Fattori di crescita: prototrofia e auxotrofia

◆ 3.3 **ASSIMILAZIONE DEI NUTRIENTI: TRASPORTO DI MOLECOLE DALL'AMBIENTE**
Trasporto passivo
Trasporto attivo primario e secondario
Trasporto con traslocazione di gruppo
Idrolisi extracellulare di macromolecole e trasporto dei prodotti di degradazione

◆ 3.4 **TERRENI DI CULTURA**
Terreni minimi e complessi
Terreni solidi
Uso dei terreni solidi per l'isolamento di colture pure
Terreni arricchiti, selettivi e differenziali

CRESCITA DELLE POPOLAZIONI MICROBICHE

◆ 3.5 **COME SI DETERMINA LA CONCENTRAZIONE DI MICRORGANISMI IN UNA CULTURA**
Determinazione della biomassa: peso secco
Misurazione della torbidità di una coltura
Conta totale
Conta vitale
TestTube Conta totale
TestTube Conta vitale
TestTube Diluzioni seriali

◆ 3.6 **ANALISI DELLA CRESCITA MICROBICA**
Descrizione matematica della crescita
Rappresentazione grafica della crescita batterica
Analisi della curva di crescita di una popolazione microbica
Crescita diauxica
Crescita continua

● Scheda 3.1 Descrizione matematica della crescita esponenziale
■ TestTube Curva di crescita

◆ 3.7 **FATTORI CHE INFLUENZANO LA CRESCITA MICROBICA**
Temperatura
pH
Disponibilità di acqua
Disponibilità di ossigeno
Colture microbiche aerobiche e anaerobiche
Microrganismi "non (ancora) coltivabili"

CONTROLLO E INIBIZIONE DELLA CRESCITA MICROBICA

◆ 3.8 **METODI FISICI**
Calore
Radiazioni
Filtrazione

◆ 3.9 **METODI CHIMICI**

ANTIBIOTICI

◆ 3.10 **ANTIBIOTICI**
Effetti degli antibiotici sul microorganismo
Saggi di sensibilità agli antibiotici
Spettro d'azione, tolleranza intrinseca e resistenza acquisita
Meccanismi d'azione dei principali antibiotici
● Scheda 3.2 Il metabolismo secondario: ruolo fisiologico e interesse applicativo
● Scheda 3.3 Antibiotici: uso clinico e conseguenze ecologiche
■ TestTube Antibiogramma
■ TestTube MIC, minima concentrazione inibente

SCHEDE DI APPROFONDIMENTO

Ciascun capitolo è arricchito dalla presenza di Schede di approfondimento, fruibili anche separatamente dal testo.

Un codice colore permette di identificare il tema trattato:

- le schede viola propongono temi di **approfondimento generale**
- le schede verdi riguardano argomenti di **tassonomia**
- le schede rosse affrontano aspetti relativi agli **antibiotici**

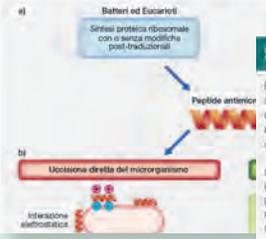
SCHEDA 2.2 ■ ANTIBIOTICI CHE AGISCONO SULLE MEMBRANE 1/4

La membrana plasmatica è sede di numerosi processi biologici essenziali per la cellula e costituisce un potenziale bersaglio su cui possono agire molecole che la danneggino o ne alterino le funzioni. Tuttavia l'organizzazione e la composizione molecolare di questa struttura è molto simile nei batteri e negli eucarioti, il che limita il numero di farmaci capaci di agire in modo differenziale sulle cellule batteriche senza danneggiare le cellule dell'ospite eucariota. Conoscendo sono note alcune classi di composti antimicrobici, tipicamente molecole emfatizzate di natura peptidica, lipopeptidica o polifenolica, che agiscono con una certa specificità sulle membrane dei batteri o

anche di funghi. Per un'introduzione generale sugli antibiotici si rimanda al [paragrafo 1.10](#).

Peptidi antimicrobici

La produzione di peptidi antimicrobici rappresenta un meccanismo di difesa diffuso in tutti gli organismi viventi con esempi riscontrabili nei batteri ma anche nelle piante e negli animali, dagli invertebrati ai vertebrati. Nel periodo compreso tra il 1920 e il 1950 sono stati identificati vari peptidi presenti nelle secrezioni, nel sangue e nei tessuti lesati di altri contro



SCHEDA 5.1 ■ I BATTERI LATTICI 1/2

Dal punto di vista filogenetico i **batteri lattici (LAB)**, cioè: acidobatteri sono batteri Gram positivi asporigeni con DNA a basso contenuto in G+C. In questo gruppo piuttosto vasto, che raggruppa i procari capaci di produrre acido lattico per fermentazione, sono inclusi i batteri dei generi *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus* ed *Enterococcus*. I batteri lattici sono caratterizzati da cellule a forma di cocco o bastoncello e un metabolismo obbligatoriamente fermentativo. Producono i composti ad alta energia solo per fosforilazione a livello del substrato perché non possiedono importanti componenti della catena di trasporto respiratorio come i citocromi; tuttavia, pur avendo un metabolismo tipicamente anaerobico, sono aerotolleranti. Infatti, contrariamente agli anaerobi obbligati, riescono a impedire, con meccanismi diversi, che le specie reattive dell'ossigeno come perossidi di idrogeno o radicali vari danneggino la cellula. [► per 1.7.4](#)

Illustra ora le caratteristiche di alcuni generi di batteri lattici.

Streptococcus

Nel genere *Streptococcus* troviamo ceppi commensali per lo più molto utili all'uomo, ma in alcuni casi patogeni per uomo e animali. Alcune specie sono capaci di produrre emolitine (streptolisina O o S) in grado di lacerare i globuli rossi, infatti, seminati su piastrina di agar sangue, questi ceppi producono un tipico alone verde alla base del globulo rosso (genotipi di tipo β). Altri ceppi, invece, non producono emolitina ma causano l'ossidazione del ferro dell'emoglobina, producendo un alone verdastro (genotipi di tipo α) (► [per 1.7.4](#)).

Un secondo schema di classificazione è basato sulle diverse proprietà antigeniche delle cellule dovute a particolari carbohydrate presenti sulla superficie del batterio.

La classificazione attuale, dovuta a Rebecca Lancefield, descrive numerose gruppi immunologici (da A a O). Tra i batteri del genere *Streptococcus* vi sono:

- ***Streptococcus thermophilus***: a dispetto del nome, è un batterio mesofilo (temperatura ottimale di crescita 35-42 °C), resiste però ai trattamenti di pastorizzazione. Si trova nel latte e nelle culture naturali per la produzione di vari tipi di formaggio fermentato, prosciutto, salame.

SCHEDA 14.5 ■ GRANDI VIRUS A DNA NUCLEOCITOPLAσμICO UN NUOVO ENIGMA O UNA TAPPA VERSO 1/2

I virus appartenenti al gruppo denominato grandi virus a DNA nucleocitoplasmatico (NCLDV, *nucleocytoplasmic large DNA virus*) sono piuttosto comuni in natura e comprendono diverse famiglie virali, tra cui i *Poxvirus*, gli *Herpesvirus*, i *Mimivirus*, i *Pandoravirus* e i *Phycodnavirus*. Questi virus hanno caratteristiche comuni, tra cui una struttura del virione simile, caratterizzata da uno strato lipidico interno al capside proteico, un'elevata omologia di sequenza della DNA polimerasi e la presenza, nel virione, di mRNA virali, inclusi quelli per la codifica di DNA polimerasi.

Nel gruppo NCLDV, uno dei virus di dimensioni maggiori fin qui scoperti è il **Mimivirus**: così chiamato per la sua apparente somiglianza a un batterio (*mimicking microbes*). Nel 1992, a seguito di una piccola epidemia di polmonite in Inghilterra, da amebe raccolte dall'impianto di condizionamento di un ospedale di Bradford venne isolato un nuovo patogeno in grado di infettare occasionalmente l'uomo. Inizialmente si pensò di aver isolato un piccolo cocco Gram positivo e soltanto con analisi al microscopio elettronico si comprese la natura virale del nuovo agente patogeno.

Il **Mimivirus** (► [per 1.7.4](#)) è un virus di circa 0,75 μm di diametro: ha un capside a simmetria icosaedrica con un diametro di 0,5 μm contenente

1,9 e 2,5 Mpb), con un gene per la sintesi di un poro localizzato su un lato del virione stesso. La duplicazione del DNA e la sintesi dei nuovi virioni avviene in modo simultaneo e, dopo 10-15 ore dall'infezione, avviene la lisi della cellula e il rilascio delle nuove particelle virali. Altre caratteristiche particolari riguardano la loro morfologia, con il virione racchiuso da un involucro a tre strati con un poro a un'estremità, e la scoperta che la maggior parte delle particelle virali presentano caratteristiche esclusive, mai riscontrate in precedenza.

Più recentemente, nel 2014, un nuovo virus gigante (circa 1,5 μm di lunghezza e genoma di 0,6 Mpb) è stato isolato da campioni biologici provenienti dal permafrost Siberiano da almeno 30 000 anni, associato ai sedimenti del Pleistocene. Questo nuovo virus gigante, denominato **Phytovirus siberi-**

alcuni batteri lattici anaerobi aerotolleranti come *Lactobacillus plantarum* sembra di entrare in contatto con l'ossigeno e sono in grado di vivere gli anaerobici grazie ad alta concentrazione intracellulare di ione Mn²⁺. *Streptococcus pyogenes* e altri batteri lattici producono anche una speciale flavoproteina **NADH ossidasi**, che catalizza la riduzione dell'ossigeno ad acqua:

$$2 \text{NADH} + 2 \text{H}^+ + \text{O}_2 \rightarrow 2 \text{NAD}^+ + 2 \text{H}_2\text{O}$$

Inoltre, in *Streptococcus mutans* la presenza di ossigeno induce anche la sintesi di superossido dismutasi (► [per 1.7.4](#)).

Alcuni batteri lattici anaerobi aerotolleranti come *Lactobacillus plantarum* sembra di entrare in contatto con l'ossigeno e sono in grado di vivere gli anaerobici grazie ad alta concentrazione intracellulare di ione Mn²⁺. *Streptococcus pyogenes* e altri batteri lattici producono anche una speciale flavoproteina **NADH ossidasi**, che catalizza la riduzione dell'ossigeno ad acqua:

$$2 \text{NADH} + 2 \text{H}^+ + \text{O}_2 \rightarrow 2 \text{NAD}^+ + 2 \text{H}_2\text{O}$$

Inoltre, in *Streptococcus mutans* la presenza di ossigeno induce anche la sintesi di superossido dismutasi (► [per 1.7.4](#)).

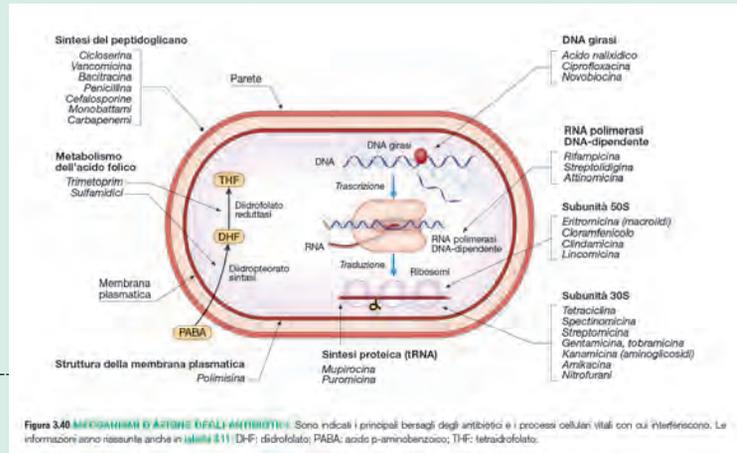


Figura 3.40 **MECCANISMI D'AZIONE DEGLI ANTIBIOTICI**. Sono indicati i principali bersagli degli antibiotici e i processi cellulari vitali con cui interferiscono. Le informazioni sono riassunte anche in [tabella 3.11](#). DHF: diidrofolato; PABA: acido p-aminobenzoico; THF: tetraidrofolato.

APPARATO ICONOGRAFICO

L'apparato iconografico è stato ampiamente rinnovato, uniformato e aggiornato alle più recenti scoperte della ricerca microbiologica.

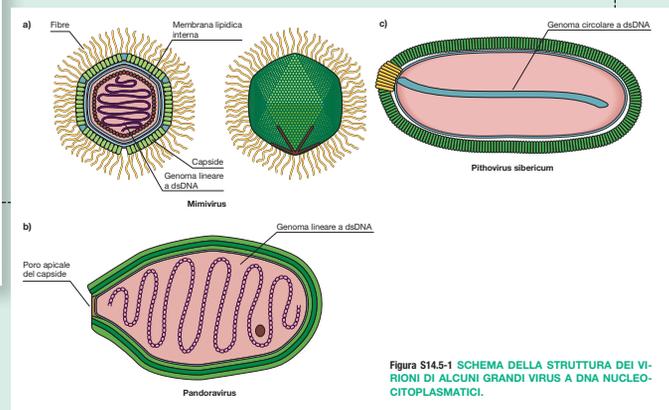


Figura S145-1 SCHEMA DELLA STRUTTURA DEI VIRIONI DI ALCUNI GRANDI VIRUS A DNA NUCLEOCITOPLAσμICO.

Tabella 3.11 PRINCIPALI ANTIBIOTICI/MIUNOVIRI IN BASE AL BERSAGLIO			
Bersaglio	Classe	Antibiotico	Mecanismi d'azione
Membrana plasmatica			
Lipopeptidi	Daptomicina		Causano la formazione di pori con perdita di ioni potassio e rapida morte cellulare. ► Scheda 2.2
Batteriocine	Batterioleive Nisina (antibiotico)		Agiscono contro recettori localizzati sulla membrana. ► Scheda 2.2
Membrana plasmatica e membrana esterna dei batteri Gram negativi			
Polimicine	Polimixina		Interagiscono con i fosfolipidi della membrana aumentando la permeabilità cellulare e alterando l'integrità osmotica. ► Scheda 2.2
Membrana plasmatica di procari ed eucarioti (funghi e parassiti)			
Peptidi antimicrobici	Piccoli peptidi anionici e cationici		Interagiscono con componenti della membrana formando pori che destabilizzano la membrana e alterano il metabolismo cellulare. ► Scheda 2.2
Membrana plasmatica delle cellule eucariote (mitofondri)			
Polieni	Anfotericina B		Formano complessi con gli steroli di membrana, in particolare l'ergosterolo, aumentando la permeabilità cellulare e la perdita di ioni potassio.

TABELLE

La grafica delle tabelle è stata migliorata e resa di più facile lettura.

MATERIALI ONLINE

Il materiale online illustrato in queste pagine è disponibile sul sito <http://online.universita.zanichelli.it/deho-3ed> cui potrai accedere seguendo le istruzioni riportate nella pagina di apertura del libro.

SCHEDE WEB

Il volume è arricchito da numerose Schede Web, richiamate nel testo e nell'indice generale.

Caratterizzate dallo stesso codice colore delle Schede di approfondimento riportate sul libro cartaceo, forniscono ulteriori dettagli su alcuni argomenti trattati nel volume.

Scheda Web 12.7 La resistenza al mercurio e l'attivazione del promotore <i>merT</i>	Altri sistemi che modulano l'espressione genica: i ribointerruttori sRNA; piccoli RNA con funzione regolatrice	379
Scheda Web 12.8 Sviluppo della competenza e trasformazione.	Scheda 12.2 La regolazione post-trascrizionale nei procarioti	380
	12.4 MODELLI DI REGOLAZIONE GLOBALE	381
	Risposta a stress da calore (heat shock)	382
	Regolazione del regulone σ^H in <i>Escherichia coli</i>	383
	Sistema SOS di <i>Escherichia coli</i>	384
	Risposta alla carenza di aminoacidi	384
	Scheda 12.3 La riattivazione W delle particelle latenti e la scoperta del sistema SOS	384
	12.5 CONTROLLO SPAZIO-TEMPORALE DELL'ESPRESSIONE GENICA: LA SPORULAZIONE, UN MODELLO DI DIFFERENZIAMENTO CELLULARE	387
	Geni della sporulazione	387
	Fosforesc.	388
	Cascata dei fattori σ e regolazione spazio-temporale	388
	13 Divisione cellulare e differenziamento	391
	Luciano Paolozzi	
Scheda Web 13.1 La complessa regolazione delle proteine di divisione	13.1 DIVISIONE DELLE CELLULE PROCARIOTE	391
Scheda Web 13.2 L'occlusione del nucleotide e le proteine antigliottina	Ciclo di crescita del batterio modello <i>Escherichia coli</i>	392
	Costruzione dell'apparato di citochinesi	393
	Dinamica e controllo della formazione dell'anello Z in <i>Escherichia coli</i>	397
	Ripartizione del DNA durante la citochinesi	398
	Ripartizione dei plasmidi	401
	Altri sistemi di divisione	402

200 TEST A RISPOSTA MULTIPLA

Per aiutare lo studente nella preparazione all'esame, sono disponibili oltre 200 test a risposta multipla sulla piattaforma ZTE, il sistema di somministrazione di test interattivi (raggiungibile anche dal sito zte.universita.zanichelli.it)



Gianni Dehò (a cura di), Enrica Galli (a cura di)
Biologia dei microrganismi
Allenamento

Scelta multipla

849983

DIFFICOLTÀ

Scegli la risposta che ritieni corretta, poi fai clic su Conferma.

Con il termine streptococchi si indicano

- batteri filamentosi
- batteri tondeggianti allungati
- batteri tondeggianti raggruppati in catenelle
- batteri tondeggianti raggruppati in masserelle irregolari
- batteri tondeggianti raggruppati in coppie

SCHEDE WEB 14.2 ■ APPLICAZIONI DELL'USO DEI BATTERIOFAGI
1/2

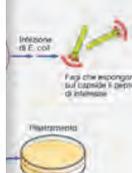
Phage display (esposizione su lago)

Il sistema del phage display (FD) è un metodo molto potente che permette di selezionare e ingegnerizzare polipeptidi che hanno specificità di legame con un substrato d'interesse (anticorpi, recettori, enzima, proteine di regolazione ecc.). Questo sistema trova applicazione in molte aree come l'immunologia, la biologia cellulare, la farmaceutica, la diagnostica molecolare e la produzione di nuovi farmaci.

Il metodo si basa sul concetto che, in un gene codificante per un polipeptide è fuso con quello codificante per una proteina del capsidico di un virus, la fusione genica può essere incorporata nella particella virale che esporti sulla sua superficie la proteina bersaglio. Questo sistema, infatti, stabilisce un legame tra il fagetto virale della particella virale di processi biologici fondamentali (► **Scheda Web 14.1 - Alla ricerca delle leggi "complementari" della fisica: la nascita del gruppo del fago e della biologia molecolare**) e strumenti di numerose applicazioni biotecnologiche (► **Scheda Web 14.2 - Applicazioni dell'uso dei batteriofagi**).

organizzazione e studio di fagi

Modello di alcuni fagi modello
(come del resto quelli degli altri virus) sono circondato da un involucro proteico, a struttura diversa (binaria, cubica e maggioranza (96%) delle oltre 5000 scritte presenta una struttura con similia un capsidico icosaedrico, detto testa, nucleico e da una struttura cilindrica, compressa tra 10 e 800 nm. Altri fagi,



TESTTUBE-LAB, LABORATORIO DI MICROBIOLOGIA SIMULATO

Per avvicinare lo studente all'applicazione pratica dei concetti appresi, è stato ideato testtube-Lab, un Laboratorio di Microbiologia simulato.

Al suo interno sono presenti numerose esercitazioni di laboratorio, ciascuna accuratamente descritta e suddivisa in più fasi interattive (dalla scelta dei materiali da utilizzare all'esecuzione dei singoli passaggi per concludere l'esercitazione).

Le singole esercitazioni sono richiamate nel testo e nei sommari di inizio capitolo.

Preparazione e fissazione del preparato 1/2



Deposizione della colonia sul vetrino.

Quadro 1/2

Deposita una goccia di acqua distillata (utilizzando il contagocce) su un vetrino copri oggetto. Preleva sterilmente con l'ansa parte di una colonia batterica ben isolata. Risospendi la colonia nella goccia d'acqua sino ad ottenere un leggero intorbidimento.

Perché è necessario risospendere i batteri in acqua?

008 - Colorazione delle spore

1 Descrizione



1ª fase. Descrizione:
A. Leggere attentamente le informazioni di questa pagina e dei protocolli collegati.
B. Annotarsi i materiali richiesti
C. Annotarsi le attività da svolgere e la loro sequenza.



Alcuni batteri Gram positivi, definiti sporigeni, producono all'interno delle loro cellule delle strutture molto resistenti a vari agenti esterni come il calore, l'assenza di acqua, radiazioni, sostanze acide ecc. Queste strutture prendono il nome di spore. Le normali colorazioni come quella di Gram non colorano le spore che restano incolori visibili all'interno delle cellule colorate di cristal violetto. Un metodo per colorare le spore è quello che prevede l'utilizzo di una soluzione di verde malachite, un colorante che riesce a penetrare all'interno della spora solo ad alta temperatura.

Obiettivo

Determinare se il batterio in esame è uno sporigeno.

Durata reale dell'esercitazione

60 minuti circa.

Materiali richiesti

Verde malachite

Piastra con colonie

Materiali aggiuntivi

Soluzione di safranina.

Olio per immersione

Strumenti

Microscopio ottico con obiettivo a immersione

Ansa sterile monouso

Vetrini portaoggetti

Becco bunsen

Vaschetta per colorazione

Contagocce

Spruzzetta con acqua distillata.

Bacchette di vetro

Pinza di legno

Prefazione alla III edizione

La terza edizione di questo libro nasce dall'esigenza di apportare ulteriori miglioramenti nella presentazione degli argomenti e i necessari aggiornamenti al testo originario. In particolare, Genetica microbica e Biologia molecolare, precedentemente affrontate in tre capitoli distinti, sono state riunite in un unico capitolo, il Capitolo 9, al fine di rendere più omogenea la trattazione e facilitare il compito degli studenti. Analogamente vengono trattati in unico capitolo, il Capitolo 14, i virus dei procarioti e i virus degli eucarioti. È stato inoltre condotto un accurato lavoro di aggiornamento sui testi e sulle figure ed è stata notevolmente ampliata e aggiornata la parte relativa agli antibiotici, anche con l'inserimento di nuove schede di approfondimento.

Un sentito ringraziamento va alla preziosa collaborazione dei numerosi Colleghi che, con le loro specifiche competenze, hanno reso possibile la realizzazione di questa nuova edizione. Ci auguriamo che il manuale possa incontrare un rinnovato interesse da parte dei Colleghi docenti di discipline microbiologiche e degli studenti.

*Gianni Dehò
Enrica Galli*

Prefazione alla I edizione

Nata come scienza circa un secolo e mezzo fa, la Microbiologia (Biologia dei microrganismi) ha conosciuto negli ultimi sessant'anni una spettacolare evoluzione che ha contribuito in modo determinante a sviluppare l'attuale visione globale del mondo vivente e la comprensione, specialmente a livello molecolare, di processi biologici fondamentali. Utilizzando microrganismi come principale modello di studio, sono state poste le basi di importanti discipline biologiche, quali la biochimica, la biologia molecolare e la genetica molecolare; è stata decifrata la natura di DNA, RNA e proteine e sono state sviluppate le tecnologie che stanno alla base dell'ingegneria genetica e delle biotecnologie molecolari. Tappa finale di questo percorso che ha attraversato quasi tutto il XX secolo e che ha aperto nuovi orizzonti alla ricerca biologica è stato il sequenziamento del DNA e lo sviluppo degli approcci genomici allo studio dei sistemi biologici.

La Microbiologia ha quindi via via assunto un ruolo sempre più rilevante tra le discipline biologiche, sia come disciplina specialistica, sia per la visione globale e unificante che riesce a fornire del mondo vivente.

Questo libro tratta fundamentalmente di microrganismi procarioti (batteri e archei), pur facendo continui richiami al mondo eucariote, e in particolare ai microrganismi eucarioti, per quanto riguarda le differenze nella struttura e nelle funzioni a livello cellulare, l'evoluzione molecolare e i rapporti filogenetici fra i tre gruppi di microrganismi. Il testo è stato pensato in particolare per gli studenti dei corsi di Laurea triennali e magistrali in Scienze Biologiche e Biotecnologie, avendo come riferimento gli insegnamenti di Microbiologia generale, Microbiologia cellulare e Microbiologia molecolare, ma la parte più generale del libro può essere utilizzabile anche da studenti di altri corsi di laurea scientifici.

Per venire incontro alle diverse esigenze didattiche, il testo è suddiviso in quattro parti di cui le prime due (Struttura e funzione della cellula procariote e Crescita microbica e metabolismo) rappresentano la parte di base della Microbiologia, mentre le altre due parti (Genetica batterica e biologia molecolare e Interazioni tra microrganismi e con altri organismi) affrontano aspetti propri della microbiologia molecolare e cellulare. Questo tipo di organizzazione vuole offrire al docente e allo studente la possibilità di conoscere il mondo dei microrganismi a livello strutturale e funzionale da un lato e cellulare-molecolare dall'altro. In questo modo il docente può scegliere gli argomenti più adatti agli insegnamenti della laurea triennale o magistrale, seguendo percorsi diversi a seconda del tipo e del livello di insegnamento.

Il testo si caratterizza inoltre anche per altri aspetti:

- il livello di aggiornamento e approfondimento dei vari aspetti della microbiologia al passo con i più recenti risultati delle ricerche microbiologiche, con un ampio materiale iconografico;
- la trattazione di argomenti più specifici in apposite schede di approfondimento. Per alleggerire il testo, alcune di queste schede sono disponibili in una sezione on line sul sito dedicato al libro che in futuro potrà essere aggiornata e ampliata.

La stesura del testo si è avvalsa del prezioso contributo di numerosi docenti di discipline microbiologiche, che hanno messo a disposizione la propria competenza nella trattazione dei vari aspetti della Microbiologia. A loro va un sentito ringraziamento per la proficua collaborazione.

Ai Colleghi docenti che sceglieranno di adottare questo testo e suggerirlo agli studenti come strumento di studio, chiediamo di farci avere commenti e suggerimenti che saranno utili in una futura revisione.

*Gianni Dehò
Enrica Galli*

Sommario

Parte A Struttura e funzioni delle cellule procariote

- Capitolo 1 **Alla scoperta del mondo microbico**
- Capitolo 2 **Struttura e funzioni delle cellule procariote**

Parte B Crescita microbica e metabolismo

- Capitolo 3 **Nutrizione e crescita microbica**
- Capitolo 4 **Metabolismo microbico**
- Capitolo 5 **Energia dalle trasformazioni chimiche: chemiotrofia**
- Capitolo 6 **Energia dalla luce: i procarioti fototrofi**
- Capitolo 7 **Assimilazione e biosintesi**

Parte C Genetica batterica e biologia molecolare

- Capitolo 8 **Genoma dei procarioti**
- Capitolo 9 **Trasmissione dell'informazione genetica**
- Capitolo 10 **Plasticità del genoma batterico: trasferimento genico orizzontale**
- Capitolo 11 **Trascrizione e traduzione**
- Capitolo 12 **Regolazione dell'espressione genica**
- Capitolo 13 **Divisione cellulare e differenziamento**
- Capitolo 14 **Eredità infettiva: i virus**
- Capitolo 15 **Analisi globale delle cellule microbiche**
- Capitolo 16 **Tassonomia, sistematica, filogenesi, evoluzione**

Parte D Interazioni tra microrganismi e con altri organismi

- Capitolo 17 **Interazioni tra batteri: strategie di cooperazione e competizione**
- Capitolo 18 **Interazioni con gli animali: il microbiota**
- Capitolo 19 **Interazioni con gli organismi animali: la patogenesi**
- Capitolo 20 **Meccanismi di difesa dell'ospite: immunità innata**
- Capitolo 21 **Meccanismi di difesa dell'ospite: immunità adattativa**
- Capitolo 22 **Interazioni dei microrganismi con gli organismi vegetali**

Indice

Parte A

Struttura e funzioni delle cellule procariote

A cura di Anna Maria Puglia

1	Alla scoperta del mondo microbico	3
	<i>Gianni Dehò e Enrica Galli</i>	
1.1	IL MONDO DEI MICRORGANISMI	3
	Cellula, organismo vivente, microrganismo	3
	Unità e diversità del mondo vivente	5
	Procarioti-eucarioti, <i>Bacteria-Archaea</i>	5
	Organismi modello e diversità microbica	5
1.2	COME SI COSTRUISCE UNA CELLULA	7
	Materia-energia-informazione	7
	Dalle molecole semplici alle strutture sopramolecolari	7
	Accrescimento e divisione	9
1.3	DALLA MICROBIOLOGIA INCONSAPEVOLE ALLA SCOPERTA DEI MICRORGANISMI	9
	Confutazione della teoria della generazione spontanea	10
	Sviluppo delle tecniche di base per lo studio dei microrganismi	12
1.4	DISTRIBUZIONE DEI MICRORGANISMI NELL'AMBIENTE	13
	Microrganismi come agenti di malattie e come produttori di farmaci antibatterici	14
1.5	MICRORGANISMI E TRASFORMAZIONE DELLA SOSTANZA ORGANICA	15
1.6	SVILUPPO DELLA MICROBIOLOGIA COME SCIENZA DI BASE E APPLICATA	16
	● Scheda 1.1 Alcuni eventi fondativi della microbiologia come scienza	17
1.7	AREE SPECIALISTICHE DELLA MICROBIOLOGIA	18
2	Struttura e funzioni delle cellule procariote	19
	<i>A cura di Anna Maria Puglia</i>	
	LA CELLULA	
2.1	LA CELLULA PROCARIOTA	20
	<i>Paola Quatrini</i>	
	Differenze e similitudini tra cellula procariota e cellula eucariota	20
	Differenze e similitudini tra batteri e archei	21
	Morfologia, dimensioni e organizzazione delle cellule procariote	21
	Morfogenesi delle cellule batteriche	22
	MEMBRANE E PARETI	
2.2	RIVESTIMENTO DELLE CELLULE PROCARIOTE	23
	<i>Alessandra Polissi</i>	


Scheda Web 2.1

 Biosintesi degli antibiotici
 Margherita Sosio

	Membrana plasmatica	24
	Funzioni della membrana plasmatica	28
	● Scheda 2.1 La colorazione di Gram	24
	● Scheda 2.2 Antibiotici che agiscono sulle membrane <i>Stefania Stefani e Margherita Sosio</i>	29
2.3	PARETE BATTERICA	33
	<i>Paola Quatrini</i>	
	Sacculo di mureina	33
	Peptidoglicano	33
	Biosintesi del peptidoglicano e accrescimento della parete mureinica	35
	Biogenesi della parete mureinica	39
	Parete dei batteri Gram positivi	39
	● Scheda 2.3 I batteri Gram positivi (monodermi) <i>Anna Maria Sanangelantoni</i>	40
	● Scheda 2.4 Antibiotici inibitori della sintesi del peptidoglicano <i>Stefania Stefani e Margherita Sosio</i>	42
2.4	PARETE DEI BATTERI GRAM NEGATIVI	50
	<i>Alessandra Polissi</i>	
	Periplasma	50
	Membrana esterna: struttura, composizione e funzioni	51
	Biogenesi della membrana esterna	52
	Trasporto delle proteine integrali della membrana esterna	53
	Trasporto delle lipoproteine	53
	Trasporto del lipopolisaccaride	54
	● Scheda 2.5 I micoplasmii: batteri Gram positivi senza parete <i>Anna Maria Sanangelantoni</i>	55
	● Scheda 2.6 Le clamidie: batteri Gram negativi senza parete mureinica <i>Anna Maria Sanangelantoni</i>	56
2.5	ALTRI TIPI DI PARETE NEI BACTERIA	56
	<i>Paola Quatrini</i>	
	● Scheda 2.7 I micobatteri <i>Anna Maria Sanangelantoni</i>	57
	● Scheda 2.8 La colorazione di Ziehl-Neelsen	58
	● Scheda 2.9 Monodermi e didermi <i>Alessandra Polissi</i>	59
2.6	PARETE CELLULARE NEGLI ARCHAEA	58
	<i>Anna Maria Sanangelantoni</i>	
2.7	CAPSULA E ALTRI RIVESTIMENTI ESTERNI	60
	<i>Anna Maria Puglia</i>	
	Strato S	60
	Capsule e polisaccaridi extracellulari	61

BIOGENESI DEI RIVESTIMENTI BATTERICI E SECREZIONE DI MACROMOLECOLE
Alessandra Polissi

2.8	SISTEMA DI SECREZIONE SEC E SUE DIRAMAZIONI SEC-DIPENDENTI	63
	Indirizzamento delle proteine alla membrana interna	64
	Indirizzamento delle proteine all'ambiente extracellulare	65
2.9	SISTEMI DI SECREZIONE INDIPENDENTI DA SEC	67
	Trasporto attraverso la membrana plasmatica di proteine ripiegate:	
	il sistema Tat	68
	Trasportatori ABC	69
	Sistema di secrezione di tipo III	70
	Sistema di secrezione di tipo IV	72
	Sistema di secrezione di tipo VI	73
	● Scheda 2.10 Le vescicole extracellulari	75

APPENDICI ESTERNE
Anna Maria Puglia

2.10	FLAGELLI	76
	Struttura del flagello	77
	Movimento dei flagelli	77
	Chemiotassi	78
	Biosintesi del flagello	80

	Endoflagelli delle spirochete	80
	Flagelli degli <i>Archaea</i>	81
2.11	PILI (FIMBRIE)	82
<hr/>		
	PROTOPLASTO	
	<i>Paola Quatrini e Anna Maria Puglia</i>	
2.12	CITOPLASMA	84
	Ribosomi	84
	Nucleoide	85
2.13	CORPI DI INCLUSIONE	85
	Granuli di riserva	85
	Microcompartimenti cellulari	86
	Magnetosomi	87
	Vescicole gassose	87
<hr/>		
	DIFFERENZIAMENTO CELLULARE NEI BATTERI	
	<i>Ezio Ricca</i>	
2.14	ENDOSPORE BATTERICHE	88
	Sporulazione	89
	Struttura della spora	92
	● Scheda 2.11 La colorazione delle spore	89
	● Scheda 2.12 Insetticidi e tossine entomopatogene di <i>Bacillus thuringiensis</i> <i>Anna Maria Sanangelantoni ed Ezio Ricca</i>	93
	● Scheda 2.13 Differenziamento e sviluppo batterico <i>Anna Maria Puglia</i>	95

Parte B

CRESCITA MICROBICA E METABOLISMO

A cura di Anna Maria Sanangelantoni

3	Nutrizione e crescita microbica	99
	<i>Ezio Ricca e Loredana Baccigalupi</i>	
<hr/>		
	PRINCIPI DI NUTRIZIONE MICROBICA	100
3.1	COMPOSIZIONE ELEMENTARE DELLE CELLULE	100
	I sei elementi che costituiscono le macromolecole biologiche	100
3.2	CATEGORIE NUTRIZIONALI	104
	Fattori di crescita: prototrofia e auxotrofia	104
3.3	ASSIMILAZIONE DEI NUTRIENTI: TRASPORTO DI MOLECOLE DALL'AMBIENTE	105
	Trasporto passivo	105
	Trasporto attivo primario e secondario	106
	Trasporto con traslocazione di gruppo	107
	Idrolisi extracellulare di macromolecole e trasporto dei prodotti di degradazione	108
3.4	TERRENI DI COLTURA	109
	Terreni minimi e complessi	109
	Terreni solidi	109
	Uso dei terreni solidi per l'isolamento di colture pure	110
	Terreni arricchiti, selettivi e differenziali	112
<hr/>		
	CRESCITA DELLE POPOLAZIONI MICROBICHE	
3.5	COME SI DETERMINA LA CONCENTRAZIONE DI MICRORGANISMI IN UNA COLTURA	114
	Determinazione della biomassa: peso secco	114
	Misurazione della torbidità di una coltura	114
	Conta totale	115
	Conta vitale	115
3.6	ANALISI DELLA CRESCITA MICROBICA	116
	Descrizione matematica della crescita	116
	Rappresentazione grafica della crescita batterica	118



	Analisi della curva di crescita di una popolazione microbica	118
	Crescita diauxica	120
	Crescita continua: il chemostato	121
	● Scheda 3.1 Descrizione matematica della crescita esponenziale	119
 TestTube	3.7 FATTORI CHE INFLUENZANO LA CRESCITA MICROBICA	122
■ Curva di crescita	Temperatura	122
	pH	123
	Disponibilità di acqua	124
	Disponibilità di ossigeno	125
	Culture microbiche aerobie e anaerobie	127
	Microorganismi “non (ancora) coltivabili”	127
	CONTROLLO E INIBIZIONE DELLA CRESCITA MICROBICA	
	3.8 METODI FISICI	129
	Calore	129
	Radiazioni	131
	Filtrazione	131
	3.9 METODI CHIMICI	133
	ANTIBIOTICI	
 Scheda Web 3.1	3.10 ANTIBIOTICI	134
Vie biosintetiche dei metaboliti secondari	<i>Stefania Stefani e Margherita Sosio</i>	
Margherita Sosio	Effetti degli antibiotici sul microorganismo	134
 Scheda Web 3.2	Saggi di sensibilità agli antibiotici	138
Alla ricerca di nuove molecole bioattive da microrganismi	Spettro d'azione, tolleranza intrinseca e resistenza acquisita	139
Margherita Sosio	Meccanismi d'azione dei principali antibiotici	139
	● Scheda 3.2 Il metabolismo secondario: ruolo fisiologico e interesse applicativo	135
	<i>Margherita Sosio</i>	
 TestTube	● Scheda 3.3 Antibiotici: uso clinico e conseguenze ecologiche	136
■ Antibiogramma	<i>Margherita Sosio</i>	
■ MIC, minima concentrazione inibente		
	4 Metabolismo microbico	142
	<i>Anna Maria Sanangelantoni</i>	
	4.1 PRINCIPALI FORME DI ENERGIA UTILE NELLE REAZIONI BIOLOGICHE	143
	Energia libera e potenziali di ossidoriduzione	143
	4.2 REAZIONI DI OSSIDORIDUZIONE BIOLOGICA	145
	Potenziali di riduzione	145
	Torre degli elettroni	147
	Trasportatori di elettroni	148
	● Scheda 4.1 Lo stato di ossidazione di un elemento	146
	● Scheda 4.2 Pirofosfato e polifosfati per la produzione di ATP	147
	4.3 ATP E ALTRI COMPOSTI AD ALTA ENERGIA	151
	4.4 SINTESI DI ATP	151
	Fosforilazione a livello del substrato	151
	Fosforilazione a livello di membrana	152
	● Scheda 4.3 Energia libera di Gibbs e calcolo del potenziale elettrico	153
	4.5 ATP SINTASI E SINTESI DI ATP A LIVELLO DI MEMBRANA	155
	5 Energia dalle trasformazioni chimiche: chemiotrofia	156
	<i>Anna Maria Sanangelantoni</i>	
	ENERGIA DALLA DEGRADAZIONE DI SOSTANZE ORGANICHE: I BATTERI CHEMIORGANOTROFI	
	5.1 METABOLISMO FERMENTATIVO	158
	Degradazione del glucosio ad acido piruvico	158
	Fermentazione lattica	162
	Fermentazione alcolica (lieviti e batteri)	166

	Fermentazione acido mista e 2,3-butandiolica degli enterobatteri	168
	Fermentazione propionica	171
	Fermentazione butirrica e aceton-butanolica dei clostridi e altre fermentazioni	173
	● Scheda 5.1 I batteri lattici	161
	● Scheda 5.2 I bifidobatteri	164
	● Scheda 5.3 <i>Zymomonas</i> e la fermentazione alcolica	167
	● Scheda 5.4 I batteri enterici	169
	● Scheda 5.5 I clostridi	175
	● Scheda 5.6 La fermentazione acetica: un'ossidazione incompleta	177
5.2	METABOLISMO RESPIRATORIO	176
	Respirazione aerobia dei batteri chemioeterotrofi	176
	Respirazione anaerobia dei batteri chemioeterotrofi	180
	● Scheda 5.7 Metanogenesi e acetogenesi	186
5.3	DIVERSITÀ DELLE FONTI ORGANICHE DI ENERGIA	189
	Catabolismo dei carboidrati	189
	Catabolismo dei lipidi	192
	Catabolismo di proteine e aminoacidi	192
	Energia da composti organici a un atomo di carbonio: metilotrofia	193
	Catabolismo degli idrocarburi e dei composti xenobiotici	196
	● Scheda 5.8 I batteri metofili	198
	● Scheda 5.9 <i>Pseudomonadaceae</i> e <i>Pseudomonas</i>	198

ENERGIA DA REAZIONI DI OSSIDAZIONE DI COMPOSTI INORGANICI RIDOTTI

5.4	MICROORGANISMI CHEMIOLITOTROFI	200
	<i> Davide Zannoni e Anna Maria Sanangelantoni</i>	
	Ossidazione dell'idrogeno molecolare: batteri H ₂ -ossidanti	200
	Ossidazione dei composti ridotti dello zolfo: batteri zolfo-ossidanti o solfobatteri	201
	Ossidazione del ferro (Fe ²⁺): batteri ferro-ossidanti	203
	Ossidazione dell'azoto: batteri nitrificanti	204
	Ossidazione anaerobia dell'azoto: batteri "anammox"	205

6 Energia dalla luce: i procarioti fototrofi 207

Davide Zannoni e Anna Maria Sanangelantoni

6.1	LUCE E VITA SULLA TERRA	207
6.2	DIVERSITÀ METABOLICA DEGLI ORGANISMI FOTOTROFI	207
6.3	DIVERSITÀ DEI SISTEMI FOTOSINTETICI	208
6.4	PIGMENTI FOTOSINTETICI E MEMBRANE FOTOSINTETICHE	209
6.5	FOTOTROFIA BASATA SU CLOROFILLA E BATTERIOCLOROFILLA: POMPE PROTONICHE "SECONDARIE"	212
6.6	FOTOSINTESI ANOSSIGENICA	214
	Ciclo fotosintetico "secondario", fotofosforilazione e sintesi di NADH	214
6.7	CIANOBATTERI E FOTOSINTESI OSSIGENICA	214
	Flusso di elettroni nella fotosintesi ossigenica	216
	Sintesi di ATP (flusso ciclico e non ciclico)	216
6.8	BATTERI FOTOSINTETICI	217
	Phylum <i>Cyanobacteria</i> (cianobatteri)	218
	Phylum <i>Proteobacteria</i>	223
	"Clade" dei batteri aerobi che contengono batterioclorofille	224
	Phylum <i>Chlorobi</i> (batteri verdi sulfurei)	224
	Phylum <i>Chloroflexi</i> (batteri verdi non sulfurei)	225
	Phylum <i>Firmicutes</i>	225
6.9	FOTOTROFIA BASATA SULLA BATTERIORODOPSINA: POMPE PROTONICHE "PRIMARIE"	226
	Fototrofia negli <i>Archaea</i>	226
	Rodopsine nei procarioti	226

 **Scheda Web 6.1**
Genetica della fotosintesi anossigenica
e risposta all'ossigeno e alla luce

7	Assimilazione e biosintesi	228
	<i>Anna Maria Sanangelantoni e Davide Zannoni</i>	
7.1	COME I PROCARIOTI SI PROCURANO IL CARBONIO: ETEROTROFIA	229
	Gluconeogenesi	229
7.2	COME I PROCARIOTI SI PROCURANO IL CARBONIO: AUTOTROFIA	229
	Ciclo di Calvin	229
	Ciclo riduttivo del TCA e ciclo dell'idrossipropionato	232
7.3	ASSIMILAZIONE DELL'AZOTO	234
	Assimilazione dell'ammoniaca	234
	Assimilazione del nitrato	235
	Fissazione dell'azoto	236
	● Scheda 7.1 L'azotofissazione	238
7.4	ASSIMILAZIONE DI ZOLFO E FOSFORO	239
	Zolfo	239
	Fosforo	240
7.5	STRATEGIE DELLE VIE BIOSINTETICHE	240
	Biosintesi degli aminoacidi e dei nucleotidi	240
	Sintesi dei lipidi	241
	Biosintesi delle sostanze di riserva del carbonio	243
	● Scheda 7.2 Sulfamidici e analoghi dell'acido folico	242
	<i>Margherita Sosio</i>	

Parte C

GENETICA BATTERICA E BIOLOGIA MOLECOLARE

A cura di Luciano Paolozzi e Gianni Dehò

8	Genoma dei procarioti	247
	<i>Luciano Paolozzi</i>	
8.1	NUCLEOIDE	248
	Struttura fisica del nucleoide	248
	Architettura del cromosoma batterico	251
	● Scheda 8.1 Lo stato topologico del DNA	252
	● Scheda 8.2 Il genoma di <i>Borrelia burgdorferi</i>	255
	● Scheda 8.3 Il repertorio del pool genico, uno specchio che riflette la fisiologia batterica	258
8.2	ELEMENTI GENETICI ACCESSORI	261
	Plasmidi	261
	Elementi genetici trasponibili: sequenze IS e trasposoni	266
	Elementi virali	271
	Integroni	271
	Retroelementi procarioti	272
	Ruolo degli elementi genetici accessori nell'evoluzione batterica	272
	● Scheda 8.4 La scoperta dei plasmidi che conferiscono resistenza ad antibiotici	262
	● Scheda 8.5 Metodi per identificare i plasmidi	263
	● Scheda 8.6 Architetture diverse dei genomi dei procarioti	265
	● Scheda 8.7 Esempi di plasmidi modello	269
	● Scheda 8.8 Un esperimento di trasposizione	270
8.3	MAPPE GENETICHE DEI PROCARIOTI	273
	● Scheda 8.9 La diversificazione dei genomi di <i>Escherichia coli</i> : ruolo degli elementi genetici accessori	274
8.4	GENOMA DEGLI ARCHAEA	274

9	Trasmissione dell'informazione genetica	276
	<i>Luciano Paolozzi</i>	

REPLICAZIONE DEL DNA

9.1	PROTEINE DELLA REPLICAZIONE	279
	● Scheda 9.1 Le DNA polimerasi	282



Scheda Web 8.1

La membrana nucleare del batterio *Gemmata obscuriglobus* e l'origine del nucleo degli eucarioti



Scheda Web 9.1

Pol I, l'enzima Eureka e le altre DNA polimerasi

	Significato biologico della competenza	328
	Competenza artificiale	328
	● Scheda 10.2 La scoperta della trasformazione: un esempio del carattere imprevedibile del percorso scientifico	329
	● Scheda 10.3 La competenza: uno stato fisiologico regolato e transiente delle cellule batteriche	330
10.4	TRASDUZIONE	331
	Trasduzione generalizzata	332
	Trasduzione specializzata	333
10.5	TRASFERIMENTO GENICO ORIZZONTALE IN NATURA	334
	Coniugazione	334
	Trasformazione	334
	Trasduzione	335
	Barriere contro il trasferimento genico orizzontale	335
	Integrazione di DNA estraneo nel genoma batterico	335
	Selezione naturale e destino dei geni trasferiti orizzontalmente	336
	Ruolo del trasferimento genico orizzontale nell'evoluzione	337

11 **Trascrizione e traduzione** 338

Luciano Paolozzi e Marco Bazzicalupo

11.1	TRASCRIZIONE NEI BATTERI	339
	Fasi della trascrizione	340
	RNA polimerasi batterica	344
	Segnali sul DNA che regolano l'inizio della trascrizione	347
	● Scheda 11.1 Associazione dei fattori σ alternativi con l'RNA polimerasi nelle risposte adattative	347
11.2	TRASCRIZIONE NEGLI ARCHAEA	349
	RNA polimerasi e apparato di trascrizione	349
	Regolatori della trascrizione	349
	● Scheda 11.2 Antibiotici inibitori della trascrizione	350
	<i>Stefania Stefani e Margherita Sosio</i>	
11.3	TRADUZIONE NEI BATTERI	351
	Inizio della traduzione	351
	Fase di elongazione	354
	Terminazione della traduzione	354
11.4	TRADUZIONE IN ARCHAEA ED EUCARIOTI	354
	● Scheda 11.3 Antibiotici inibitori della sintesi proteica	355
	<i>Stefania Stefani e Margherita Sosio</i>	

12 **Regolazione dell'espressione genica** 360

Luciano Paolozzi

12.1	ASPETTI GENERALI DELLA REGOLAZIONE GENICA	361
	Come i batteri "sentono" l'ambiente	361
	Sistemi di regolazione delle funzioni cellulari e livelli di regolazione	362
	Elementi del controllo dell'espressione genica	363
12.2	MODELLI DI REGOLAZIONE IN SISTEMI CATABOLICI	363
	Operone <i>lac</i> per l'utilizzazione del lattosio. Modello classico di regolazione negativa e controllo positivo di cAMP-CRP	364
	Regulone maltosio: esempio di regolazione positiva	367
	Operone arabinosio: regolazione positiva e negativa con una sola proteina (e l'aiuto di CRP)	368
	Utilizzazione del galattosio: un regulone complesso	369
	● Scheda 12.1 Il trasporto del lattosio nella cellula: il segnale intracellulare della presenza del lattosio	366
12.3	MODELLI DI REGOLAZIONE IN SISTEMI ANABOLICI: REGOLAZIONE DELLA BIOSINTESI DEGLI AMINOACIDI	372
	Regolazione feedback dell'attività enzimatica	372
	Regolazione della trascrizione di operoni	374
	Regolazione trascrizionale dell'operone <i>trp</i>	375



Scheda Web 12.1

Storia di una teoria scientifica: l'operone *lac*, il "sistema modello" di regolazione genica

	Diversità dei batteriofagi e modelli di studio	428
	Titolazione dei batteriofagi mediante il metodo delle placche	428
 Scheda Web 14.3	14.5 RIPRODUZIONE DEI BATTERIOFAGI	429
	Calcolo dei batteri infettati e molteplicità di infezioni	430
 Scheda Web 14.4	14.6 ANALISI GENETICA DEI FAGI	436
	L'adsorbimento del fago alla cellula ospite	436
 Scheda Web 14.5	14.7 ALCUNI ESEMPI DI BATTERIOFAGI UTILIZZATI COME MODELLO DI STUDIO	437
	Ciclo litico e ciclo lisogeno del batteriofago λ : la scelta tra due destini alternativi	437
 Scheda Web 14.6	Fagi della serie T	439
	Lisare o non lisare? Un problema aperto tra caso, genetica ed epigenetica	440
 Scheda Web 14.7	Fagi a ssDNA filamentosi e isometrici	442
	Il profago-plasmide lineare del batteriofago N15	446
 Scheda Web 14.8	Batteriofagi a RNA	446
	Il batteriofago-trasposone Mu	446
 Scheda Web 14.9	14.8 DIFESE BATTERICHE CONTRO L'INFEZIONE DEI BATTERIOFAGI	446
	Sistemi di antirestrizione, una lotta senza fine	447
	● Scheda 14.2 Modificazione e restrizione del DNA: il riconoscimento del "self" dal "non-self"	447
	● Scheda 14.3 CRISPR-Cas: un sistema adattativo di resistenza ai fagi guidato da piccoli RNA	448
<hr/>		
	VIRUS DEGLI EUCARIOTI	
	<i>Giorgio Gribaudo</i>	
	14.9 VIRUS DEGLI ANIMALI	452
	Modalità di studio dei virus animali	452
	Modelli di infezione	454
	Risposta dell'ospite all'infezione	457
	Modelli di virus animali	459
	● Scheda 14.4 Il virus Ebola e le caratteristiche di una recente epidemia	470
	14.10 VIRUS DEI VEGETALI	475
	Virus del mosaico del tabacco (TMV)	475
	Virus di <i>Chlorella</i>	475
	● Scheda 14.5 Grandi virus a DNA nucleocitoplasmatici (NCLDV): un nuovo enigma o una tappa verso nuove conoscenze?	476
	14.11 AGENTI SUB-VIRALI E PRIONI	477
	Viroidi	477
	Virus satelliti e virusoidi	478
	Elementi genetici mobili	478
	Prioni	478
	14.12 FARMACI ANTIVIRALI	478
	Inibizione dell'adsorbimento e della penetrazione del virus	479
	Inibizione della replicazione del genoma virale	479
	Inibizione dell'assemblaggio virale e della maturazione	480
 Scheda Web 15.1	15 Analisi globale delle cellule microbiche	481
	<i>Marco Bazzicalupo e Alessio Mengoni</i>	
	15.1 GENOMICA	482
	Sequenziamento di genomi procarioti	482
	Annotazione	483
	● Scheda 15.1 Il pangenoma	483
	15.2 METAGENOMICA	484
	15.3 GENOMICA FUNZIONALE	487
	Trascrittomica	487
	Proteomica	488
	● Scheda 15.2 Ibridazione su microgriglie a DNA	488
	● Scheda 15.3 L'esempio di <i>Caulobacter crescentus</i>	490
	15.4 METABOLOMICA E SCREENING AD ALTA PROCESSIVITÀ DI FENOTIPI	490
	15.5 VERSO LA BIOLOGIA DEI SISTEMI	491

16	Tassonomia, sistematica, filogenesi, evoluzione	492
	<i>Anna Maria Sanangelantoni, Giovanna Lucchini, Marco Bazzicalupo</i>	
16.1	TASSONOMIA	493
	Sistemi di classificazione	493
	● Scheda 16.1 Storia della Terra	493
	● Scheda 16.2 Storia della classificazione dei batteri	496
16.2	EVOLUZIONE	495
16.3	FILOGENESI MOLECOLARE DEI MICRORGANISMI	497
	Metodi molecolari	498
	Sequenze usate nella filogenesi molecolare	504
	TGO	509
16.4	GRUPPI TASSONOMICI	512
	<i>Bacteria</i>	512
	<i>Archaea</i>	512
	Microorganismi eucarioti	518

 **Scheda Web 16.1**
Costruire un albero

Parte D

INTERAZIONI TRA MICRORGANISMI E CON ALTRI ORGANISMI

A cura di Maria Lina Bernardini

17	Interazioni tra batteri: strategie di cooperazione e competizione	535
	<i>Paolo Landini</i>	
17.1	COMUNICAZIONE INTERCELLULARE: IL "QUORUM SENSING"	536
	Quorum sensing nei batteri Gram negativi	538
	Ruolo del quorum sensing nell'interazione batteri-organismi eucarioti	542
	Quorum sensing in batteri Gram positivi	543
	Quorum sensing e sua relazione con la produzione di agenti antimicrobici	545
	Altre molecole con funzione di autoinduttori	546
	● Scheda 17.1 Esempi di meccanismi di quorum sensing regolati da omoserin-lattoni: <i>Vibrio fischeri</i> e <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	537
	● Scheda 17.2 Quorum sensing: una dimostrazione del valore intrinseco della ricerca di base	538
17.2	ASSOCIAZIONI MICROBICHE: I BIOFILM	546
	Definizione generale	546
	Formazione del biofilm e sua architettura	547
	Macromolecole e strutture cellulari batteriche coinvolte nella formazione del biofilm	548
	Meccanismi di regolazione genica legati al biofilm	550
	Biofilm microbico nella prospettiva ecologica e nel contesto delle malattie infettive	552
	● Scheda 17.3 Di-GMP ciclico e suo ruolo nella produzione della cellulosa e nella formazione del biofilm	551
17.3	ANTIBIOTICI NELL'INTERAZIONE TRA MICRORGANISMI	554
18	Interazioni con gli animali: il microbiota	557
	<i>Maria Lina Bernardini</i>	
18.1	INTRODUZIONE ALLA MICROFLORA ENDOGENA: GLI ESSERI UMANI NON SONO MICROBIOLOGICAMENTE STERILI	558
18.2	MICROBIOTA DELLA PELLE E DEL NASO	559
18.3	MICROBIOTA DELLA CAVITÀ ORALE E DELL'OROFARINGE	559
	● Scheda 18.1 La placca dentale	561
18.4	MICROBIOTA DELLE VIE RESPIRATORIE	560
18.5	MICROBIOTA DELLE VIE UROGENITALI	562

18.6	MICROBIOTA DEL TRATTO GASTROINTESTINALE	563
	Il colon: un incubatore microbico naturale	564
	● Scheda 18.2 I patobionti, una nuova categoria di microrganismi	566
18.7	“MICROBIOMA”: UN CONCETTO INNOVATIVO CHE SVELA ALCUNE DELLE FUNZIONI DEL MICROBIOTA	565
	● Scheda 18.3 Il rapporto tra la flora batterica e l'obesità	567
	● Scheda 18.4 La microflora e il sistema immunitario: il ruolo negativo dell'igiene eccessiva, ovvero una revisione critica del concetto di igiene	568
18.8	BATTERI “BENEFICI” DEL COLON: INTRODUZIONE AI PROBIOTICI	566
18.9	SIMBIOSI MUTUALISTICHE FRA BATTERI E INSETTI	569

19 Interazioni con gli organismi animali: la patogenesi

Maria Lina Bernardini

19.1	PATOGENICITÀ E VIRULENZA BATTERICA: DUE CONCETTI DA DEFINIRE	572
19.2	BATTERI PATOGENI, POSTULATI DI KOCH E MISURA DELLA VIRULENZA	574
	● Scheda 19.1 <i>Helicobacter pylori</i> e l'epitelio gastrico	575
19.3	IMPORTANZA DEL DNA ALIENO: DAI COMMENSALI AI PATOGENI	576
	● Scheda 19.2 Le forme patogene di <i>Escherichia coli</i>	578
19.4	FENOTIPO DEI BATTERI PATOGENI: FATTORI DI VIRULENZA	580
19.5	FATTORI DI ADESIONE: MEDIATORI DI MOLTI FENOTIPI DI VIRULENZA	582
19.6	INVASIVITÀ, EFFETTORI BATTERICI E INVASINE	584
	Meccanismi molecolari dell'invasività batterica: trigger e zipper	585
19.7	STILI DI VITA DEI BATTERI INVASIVI	586
19.8	REGOLAZIONE GENICA: ARMA SEGRETA DEI BATTERI PATOGENI	589
	● Scheda 19.3 Come <i>Salmonella</i> divenne un batterio patogeno	592
	● Scheda 19.4: Eventi regolativi nella virulenza di <i>Salmonella enterica</i>	593
19.9	TOSSINE: “FRECCE” MOLECOLARI DEI BATTERI PATOGENI	589
	Tossine che agiscono dall'esterno della cellula	591
	Tossine solubili con bersagli intracellulari	596
	Neurotossine	598

20 Meccanismi di difesa dell'ospite: immunità innata

Maria Lina Bernardini

20.1	DIFESE FISICHE CONTRO I PATOGENI	602
	● Scheda 20.1: Le cellule M dell'intestino: il “tallone di Achille” dell'epitelio intestinale	605
20.2	IMMUNITÀ INNATA: UN SISTEMA DI DIFESA ANCESTRALE	606
	PAMP, <i>Pathogen-Associated Molecular Patterns</i> - Strutture batteriche	608
	PRR, <i>Pattern Recognition Receptors</i>	609
	PRR di membrana: i recettori <i>Toll-like</i>	611
	PRR citosolici: le proteine NLR	613
	● Scheda 20.2: Toll vs Imd: le armi molecolari di <i>Drosophila melanogaster</i>	609
	● Scheda 20.3: L'apoptosi o morte cellulare programmata: un suicidio cellulare	610
	● Scheda 20.4: Le malattie infiammatorie dell'intestino e le proteine NLR	615
20.3	CELLULE DEL SISTEMA IMMUNITARIO: LA POPOLAZIONE ETEROGENEA DEI LEUCOCITI	615
20.4	NEUTROFILI, UNA POPOLAZIONE CELLULARE SULLA PRIMA LINEA DI DIFESA	617
20.5	MACROFAGI (FAGOCITI MONONUCLEATI)	620
20.6	CELLULE NATURAL KILLER	620

20.7	SISTEMA DEL COMPLEMENTO	621
20.8	CITOCINE	624
	● Scheda 20.5: Shock settico e reazioni di Schwartzman	625
20.9	CHEMOCHINE	626
20.10	PROCESSO DI “EVASIONE IMMUNE” DEI BATTERI PATOGENI	626
	Difese “strutturali” dei microrganismi	626
	Evasione dalla difesa delle barriere della cellula ospite	626
	“Camuffamento”, strategia per diminuire il riconoscimento da parte del sistema immunitario innato	627
	Cambiamento delle strutture di superficie per imbrogliare il sistema immunitario dell’ospite	628
	Fagosoma: strategia di difesa	629

21 Meccanismi di difesa dell’ospite: immunità adattativa 631

Maria Lina Bernardini

21.1	EFFETTORI DELL’IMMUNITÀ ADATTATIVA: GLI ANTICORPI	632
21.2	TIPOLOGIA DEGLI ANTICORPI E LORO RUOLO	634
21.3	SELEZIONE E SVILUPPO DEGLI ANTICORPI	636
	Organizzazione dei loci genici delle immunoglobuline	637
	● Scheda 21.1 Il sistema immunitario delle mucose	637
21.4	MECCANISMI MOLECOLARI DELLA DIVERSITÀ IMMUNITARIA	638
	Ricombinazione somatica	638
	Altri meccanismi della variabilità anticorpale	639
21.5	LINFOCITI T E RICONOSCIMENTO DEGLI ANTIGENI	641
21.6	ORGANIZZAZIONE DEI LOCI GENICI DEL TcR	642
21.7	SELEZIONE DEI LINFOCITI T	642
21.8	MOLECOLE DEL COMPLESSO MAGGIORE DI ISTOCOMPATIBILITÀ (MHC)	643
	MHC di classe I	644
	MHC di classe I e presentazione degli antigeni	645
	MHC di classe II	645
21.9	CELLULE PRESENTANTI L’ANTIGENE (APC): CELLULE DENDRITICHE	647
	● Scheda 21.2 Le cellule dendritiche e la mucosa intestinale	651
21.10	LINFOCITI T EFFETTORI: LINFOCITI T HELPER E CITOTOSSICI (CTL)	650
21.11	LINFOCITI T HELPER E POLARIZZAZIONE DELLA RISPOSTA	653

22 Interazioni dei microrganismi con gli organismi vegetali 654

Pietro Alfano

22.1	RIZOSFERA E FILLOSFERA	654
	Modificazione della rizosfera da parte di batteri e funghi	655
	Micorrize	656
	Batteri azotofissatori endosimbionti	658
	Rizobi e leguminose	658
	● Scheda 22.1 Altri tipi di micorrize	657
22.2	CICLO DELL’AZOTO NEL SUOLO E NELLA RIZOSFERA: NITRIFICAZIONE E DENITRIFICAZIONE	662
22.3	RICONOSCIMENTO DEI BATTERI PATOGENI E MECCANISMI DI DIFESA DELLE PIANTE	664
	Immunità innata primaria: sistema MAMP-PRR nelle piante	664
	Immunità innata secondaria: geni di resistenza (R) delle piante e di avirulenza (<i>avr</i>) dei batteri	665
	Resistenza sistemica acquisita (SAR) e resistenza sistemica indotta (ISR)	666

22.4	AGROBACTERIUM E INDUZIONE DI TUMORI NELLE PIANTE	668
	Il genere <i>Agrobacterium</i> e le patologie tumorali vegetali indotte dalle specie virulente	668
	Processo di trasformazione tumorale: il plasmide Ti, il T-DNA e le interazioni batterio-pianta	668
22.5	UTILIZZO DEI MICRORGANISMI DELLA RIZOSFERA E DEI LORO PRODOTTI NELLE NUOVE TECNOLOGIE AGRARIE	669
	Crediti fotografici	673
	Indice analitico	674

PARTE A

**Struttura e funzioni
delle cellule procariote**

2

STRUTTURA E FUNZIONI DELLE CELLULE PROCARIOTE

LA CELLULA

2.1 LA CELLULA PROCARIOTA

Differenze e similitudini tra cellula procariota e cellula eucariota
Differenze e similitudini tra batteri e archei
Morfologia, dimensioni e organizzazione delle cellule procariote
Morfogenesi delle cellule batteriche

MEMBRANE E PARETI

2.2 RIVESTIMENTO DELLE CELLULE PROCARIOTE

Membrana plasmatica
Funzioni della membrana plasmatica

Scheda 2.1 La colorazione di Gram

Scheda 2.2 Antibiotici che agiscono sulle membrane

2.3 PARETE BATTERICA

Sacculo di mureina
Peptidoglicano
Biosintesi del peptidoglicano e accrescimento della parete mureinica
Biogenesi della parete mureinica
Parete dei batteri Gram positivi

Scheda 2.3 I batteri Gram positivi (monodermi)

Scheda 2.4 Antibiotici inibitori della sintesi del peptidoglicano

2.4 PARETE DEI BATTERI GRAM NEGATIVI

Periplasma
Membrana esterna: struttura, composizione e funzioni
Biogenesi della membrana esterna
Trasporto delle proteine integrali della membrana esterna
Trasporto delle lipoproteine
Trasporto del lipopolisaccaride

Scheda 2.5 I micoplasmi: batteri Gram positivi senza parete

Scheda 2.6 Le clamidie: batteri Gram negativi senza parete mureinica

2.5 ALTRI TIPI DI PARETE NEI BACTERIA

Scheda 2.7 I micobatteri

Scheda 2.8 La colorazione di Ziehl-Neelsen

Scheda 2.9 Monodermi e didermi

2.6 PARETE CELLULARE NEGLI ARCHAEA

2.7 CAPSULA E ALTRI RIVESTIMENTI ESTERNI

Strato S

Capsule e polisaccaridi extracellulari

BIOGENESI DEI RIVESTIMENTI BATTERICI E SECREZIONE DI MACROMOLECOLE

2.8 SISTEMA DI SECREZIONE SEC E SUE DIRAMAZIONI SEC-DIPENDENTI

Indirizzamento delle proteine alla membrana interna
Indirizzamento delle proteine all'ambiente extracellulare

2.9 SISTEMI DI SECREZIONE INDIPENDENTI DA SEC

Trasporto attraverso la membrana plasmatica di proteine ripiegate: il sistema Tat
Trasportatori ABC
Sistema di secrezione di tipo III
Sistema di secrezione di tipo IV
Sistema di secrezione di tipo VI

Scheda 2.10 Le vescicole extracellulari

APPENDICI ESTERNE

2.10 FLAGELLI

Struttura del flagello
Movimento dei flagelli
Chemiotassi
Biosintesi del flagello
Endoflagelli delle spirochete
Flagelli degli *Archaea*

2.11 PILI (FIMBRIE)

PROTOPLASTO

2.12 CITOPLASMA

Ribosomi
Nucleoide

2.13 CORPI DI INCLUSIONE

Granuli di riserva
Microcompartimenti cellulari
Magnetosomi
Vescicole gassose

DIFFERENZIAMENTO CELLULARE NEI BATTERI

2.14 ENDOSPORE BATTERICHE

Sporulazione
Struttura della spora

Scheda 2.11 La colorazione delle spore

Scheda 2.12 Insetticidi e tossine entomopatogene di *Bacillus thuringiensis*

Scheda 2.13 Differenziamento e sviluppo batterico

LA CELLULA

Nonostante la loro grande diversità, tutti gli organismi viventi sono costituiti da cellule, strutture unitarie di cui riconosciamo due tipi fondamentali: la cellula eucariota e la cellula procariota (fig. 2.1). Questo testo tratta principalmente di microrganismi procarioti e in questo capitolo saranno descritte le strutture e le funzioni delle cellule procariote.

2.1 La cellula procariota

2.1.1 Differenze e similitudini tra cellula procariota e cellula eucariota

La caratteristica primaria che distingue le cellule eucariote (dal greco *eu* = bene e *karyon* = nocciolo) da quelle procariote (*pro* = prima) è costituita dal nucleo. Mentre nella cellula eucariota i cromosomi sono contenuti in un nucleo delimitato da una membrana nucleare, nella cellula procariota la membrana nucleare è assente e il materiale genetico, costituito generalmente da un cromosoma, è a diretto contatto con il citoplasma e forma una struttura chiamata nucleotide. Inoltre le cellule eucariote presentano organelli cellulari delimitati da membrane

(mitocondri, reticolo endoplasmatico, complesso di Golgi, lisosomi e, nei vegetali, plastidi), assenti nelle cellule procariote. Oltre ad essere strutturalmente più complesse, le cellule eucariote hanno anche dimensioni maggiori di quelle procariote.

I due tipi cellulari presentano anche molte caratteristiche comuni, cui corrispondono funzioni comuni e indispensabili. Tutte le cellule sono dotate, ad esempio, di una membrana plasmatica che separa il contenuto citoplasmatico dall'esterno e regola il trasporto di nutrienti e sostanze di rifiuto. La composizione del citoplasma è simile tra i due tipi di cellule, così come entrambi contengono i ribosomi, benché diversi per dimensione e composizione, necessari per svolgere la sintesi proteica.

Come vedremo più avanti, le funzioni svolte nella cellula eucariota da mitocondri e cloroplasti (respirazione e fotosintesi), nella cellula procariota sono localizzate a livello della membrana plasmatica (► par. 2.2.2).

La divisione cellulare nei procarioti avviene in genere per **scissione binaria**. Durante questo processo il DNA viene replicato e ciascuna cellula figlia ne riceve una copia. La divisione cellulare negli eucarioti avviene per **mitosi**, un processo so-

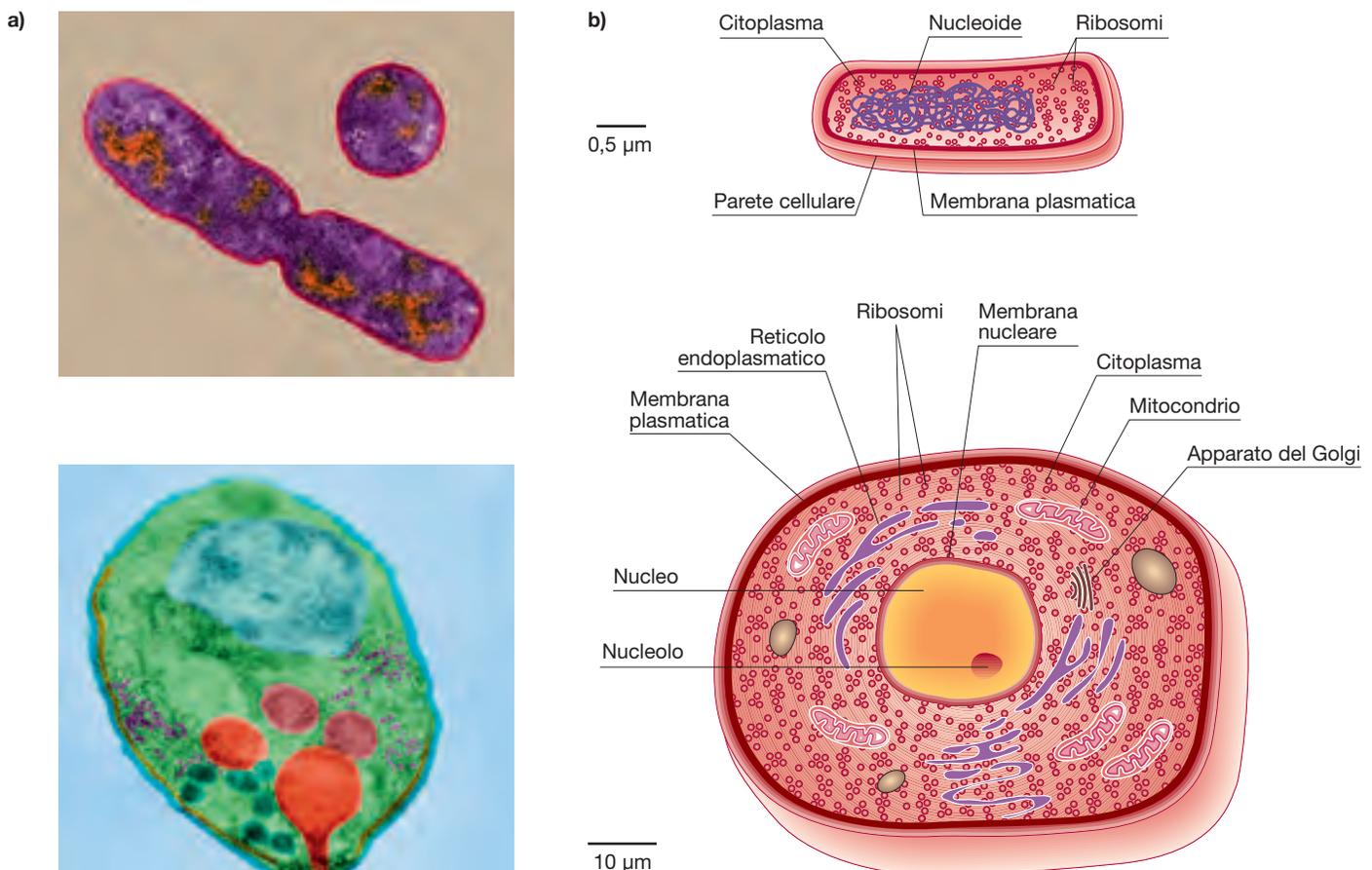


Figura 2.1 CELLULA PROCARIOTA E CELLULA EUCARIOTA. (a) Immagini rielaborate di microscopia elettronica a trasmissione di una cellula procariota (*in alto*) (batterio) e di una cellula eucariota (*in basso*) (lievito) e (b) rispettiva rappresentazione schematica.

Tabella 2.1 CARATTERISTICHE CHE DIFFERENZIANO BATTERI, ARCHEI ED EUCARIOTI.

Caratteristica ^a	Bacteria	Archaea	Eukarya	Capitolo
Dimensione di una cellula tipo (ordine di grandezza, μm)	1-2	1-2	10-20	► cap. 2
Membrana nucleare	– ^b	–	+	► cap. 2
DNA cromosomico circolare	+ ^c	+	–	► cap. 8
Operoni policistronici	+	+	–	► cap. 11
RNA polimerasi: tipi diversi sensibile a rifampicina	1 +	> 1 –	3 –	► cap. 11
Mureina nella parete cellulare	+	–	–	► cap. 2
Sensibilità ad antibiotici β -lattamici	+	–	–	► cap. 2
Lipidi di membrana: chiralità del glicerolo legame catena alifatica-glicerolo tipo di catena alifatica	D Etere Lineare insatura	L Etere Isoprenoide	D Etere Lineare insatura	► cap. 2
Ribosomi: tipo sensibili alla tossina difterica sensibili a cloramfenicolo, streptomina, kanamicina	70S – +	70S + –	80S + –	► cap. 11
tRNA di inizio traduzione	fMet	Met	Met	► cap. 11
Chemiolitotrofia con produzione di metano con ossidazione di ammonio	+ – +	+ + –	– – –	► cap. 5
Respirazione: con ossigeno come accettore di elettroni con altri accettori di elettroni	+ +	+ +	+ –	► cap. 5
Fissazione di azoto elementare	+	+	–	► cap. 7
Fotosintesi: senza produzione di O_2 con produzione di O_2	+ +	+ –	– +	► cap. 6
Capacità di crescere: a $T > 80^\circ\text{C}$ a $T > 100^\circ\text{C}$	+ –	+ +	– –	► cap. 3

^a + indica presenza della caratteristica in una parte o nella totalità dei componenti del raggruppamento; – indica che di norma la caratteristica è assente.

^b Nel phylum *Planctomycetes* più generi hanno il nucleotide avvolto da una o più membrane.

^c Diversi generi hanno un cromosoma lineare o possono avere più di un cromosoma.

stanzialmente analogo anche se meccanicisticamente più complesso. Un'altra importante differenza è che nei procarioti non sono note modalità di riproduzione sessuale con alternanza di fasi aploidi e diploidi e, conseguentemente, non sono presenti processi di **zigosi** e **meiosi**. Tuttavia anche nei procarioti sono presenti fenomeni sessuali, non legati però alla riproduzione (► cap. 10).

I microrganismi, tipicamente organismi unicellulari, possono essere sia eucarioti (alghe, funghi, protozoi) sia procarioti (batteri e archei) (fig. 1.18).

2.1.2 Differenze e similitudini tra batteri e archei

I procarioti, a differenza degli eucarioti, non costituiscono un gruppo filogeneticamente omogeneo (fig. 1.3; ► cap. 16). Al suo interno, infatti, si identificano due distinti domini, *Bacteria* ed *Archaea*. Nonostante le numerose similitudini tra batteri e archei sia di tipo morfologico-strutturale che metabolico, esistono importanti differenze genetiche, funzionali e strutturali che distinguono profondamente questi due gruppi. In tabella 2.1 sono riassunte alcune tra le più importanti caratteristiche che differenziano batteri, archei ed eucarioti e che avremo modo di approfondire in diverse occasioni in questo testo. Anticipiamo qui che analisi filogenetiche condotte confron-

tando le sequenze degli RNA ribosomali o quelle dei fattori di allungamento della sintesi proteica o di altre proteine che sono utilizzate come “orologi molecolari” per misurare i tempi evolutivi, suggeriscono che gli *Archaea* siano evolutivamente più vicini agli *Eukarya* che ai *Bacteria*.

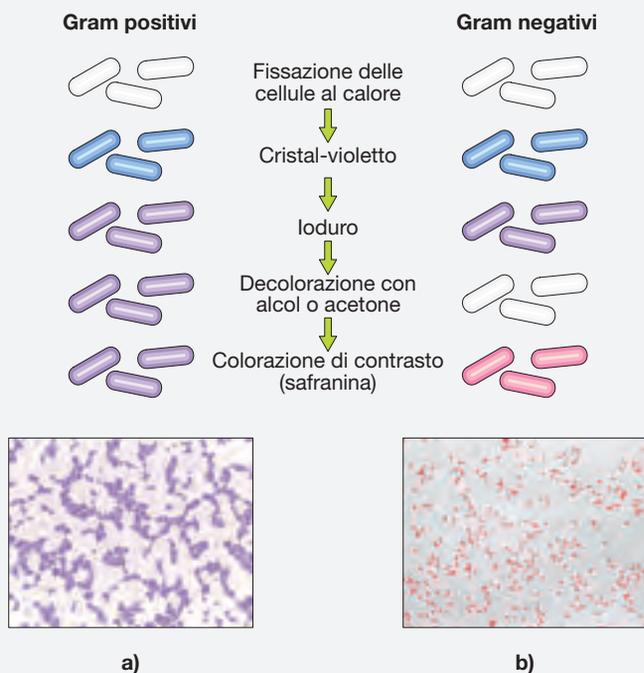
In questo capitolo descriveremo le più importanti differenze strutturali che si riscontrano tra gli organismi di questi due domini a livello degli strati superficiali e delle appendici esterne (membrana plasmatica, parete cellulare e flagelli).

2.1.3 Morfologia, dimensioni e organizzazione delle cellule procariote

I batteri sono invisibili a occhio nudo e hanno generalmente dimensioni lineari (lunghezza o diametro) nell'ordine del **micrometro** (μm , **micron**). A parte alcune eccezioni, la tipica dimensione dei batteri va da 0,2 a 2 μm . Questo fa sì che il rapporto superficie/volume delle cellule procariote sia in genere molto più elevato di quello delle cellule eucariote (dimensioni lineari tipiche nell'ordine delle decine di μm), con ovvie conseguenze sulla velocità con cui avvengono gli scambi molecolari tra cellula e ambiente, il trasporto di nutrienti, la crescita, la divisione cellulare e, di conseguenza, anche l'evoluzione.

SCHEDA 2.1 ■ LA COLORAZIONE DI GRAM

La colorazione di Gram, il più comune metodo di colorazione usato in microbiologia per l'osservazione di microrganismi al microscopio ottico, prende il suo nome dal medico danese **Hans Christian Gram**, che la mise a punto nel 1884. Essa permette di distinguere i batteri in due gruppi, Gram positivi e Gram negativi, in base alla diversa risposta al procedimento che consiste in una colorazione con cristalvioletto (cloruro di esametil-pararosanilina) e mordenzatura con ioduro di potassio, seguite da decolorazione con etanolo. Il cristalvioletto interagisce con lo ioduro in soluzione acquosa formando un complesso insolubile che precipita nel citoplasma della cellula. I batteri che dopo il lavaggio con alcol trattengono il complesso cristalvioletto-ioduro appaiono blu-viola al microscopio e vengono detti Gram positivi. In altri batteri, invece, detti Gram negativi, i ripetuti lavaggi con etanolo rimuovono il precipitato dalle cellule che così si decolorano. Per visualizzare al microscopio i batteri Gram negativi dopo la decolorazione con etanolo si ricorre a una successiva colorazione (detta di contrasto) con safranina (o altro colorante appropriato come carbol fucsina). Questa non altera la colorazione blu dei batteri Gram positivi e colora di rosso-rosa i Gram negativi (fig. S2.1-1).



La risposta alla colorazione di Gram ha acquisito un'importante significato tassonomico quando si osservò che molto frequentemente essa correleva con la struttura della parete batterica. Infatti i batteri che tipicamente si colorano con la procedura di Gram si distinguono dalla maggioranza degli altri gruppi batterici in quanto posseggono uno spesso strato di peptidoglicano e sono privi di membrana esterna. Questi costituiscono il **gruppo filogenetico dei batteri Gram positivi** (► Scheda 2.3), distinto dagli altri phyla batterici che costituiscono complessivamente il gruppo dei Gram negativi. Da notare che la designazione tassonomica trascende l'effettivo risultato della colorazione. Infatti sono classificati come Gram positivi anche batteri che risultano negativi alla colorazione di Gram ma che sono filogeneticamente correlati agli altri membri del phylum; tra questi, ad esempio, i batteri privi di parete appartenenti al genere *Mycoplasma* (► Scheda 2.5), con strato di peptidoglicano molto sottile appartenenti al genere *Butyrivibrio* o i batteri fototrofi del genere *Heliobacterium*. D'altra parte alcuni batteri Gram negativi (ossia che non appartengono al phylum dei Gram positivi) possono risultare positivi alla colorazione; questo può essere dovuto a particolari strutture del loro rivestimento (ad esempio uno spesso strato polisaccaridico all'esterno della cellula), a fasi di differenziamento (alcune cisti di *Azospirillum*), o anche a condizioni ambientali che possono interferire con l'esito della colorazione. Solo negli anni '80 del secolo scorso è stato chiarito che la risposta alla colorazione di Gram dipende sostanzialmente dallo spessore della **parete di mureina** e non da specifiche reazioni con componenti molecolari della parete come ritenuto in passato. Infatti la spessa parete di mureina dei Gram positivi riesce a trattenere il complesso cristalvioletto-ioduro precipitato nel citoplasma. Nei Gram negativi, al contrario, la membrana esterna è distrutta dall'etanolo e il sottile strato di mureina non è sufficiente per trattenere il precipitato colorato.

I procarioti appartenenti al dominio degli *Archaea* mancano del peptidoglicano e presentano una tale diversità nella struttura della loro parete da rendere inutilizzabile la colorazione di Gram come strumento di identificazione tassonomica.

Figura S2.1-1 COLORAZIONE DI GRAM. Procedimento della colorazione di Gram e immagini al microscopio ottico di batteri Gram positivi (a) e Gram negativi (b) dopo colorazione.

cellulare Gram positiva o negativa e risposta positiva o negativa alla colorazione di Gram non è assoluta ed esistono notevoli eccezioni. Oggi si preferisce indicare i batteri Gram negativi e Gram positivi rispettivamente con **didermi** (dotati di due membrane) e **monodermi** (dotati di una sola membrana) (► Scheda 2.9). Gli *Archaea* possiedono sistemi di rivestimento con struttura e composizione diverse da quelle dei *Bacteria*; essi saranno discussi nel ► paragrafo 2.6.

2.2.1 Membrana plasmatica

La membrana plasmatica delimita il contenuto cellulare in uno spazio definito e **separa** la cellula dal "resto del mondo"; essa è quindi fondamentale per conferire alla cellula la sua individualità e per regolamentare gli scambi tra cellula e ambiente esterno. Le cellule infatti interagiscono in modo complesso e selettivo con l'ambiente che le circonda, ivi incluso un ambiente costituito da altre cellule, come nel caso di or-

SCHEDA 2.3 ■ I BATTERI GRAM POSITIVI (MONODERMI)

1/2

Sulla base delle sequenze dell'rRNA 16S (e perciò in una classificazione di tipo filogenetico; ► par. 16.3.2) i batteri **Gram positivi** sono raggruppati in due phyla: il phylum dei *Firmicutes* o con basso contenuto G+C nel loro DNA (**Low GC**, ≤ 60% in moli) e il phylum degli *Actinobacteria* o con alto contenuto G+C (**High GC**, ≥ 70%).

Anche se non tutti i batteri raggruppati nel phylum Gram positivi danno risposta positiva alla specifica colorazione, la suddivisione su basi filo-

genetiche dei batteri Gram positivi rispecchia abbastanza fedelmente le suddivisioni classiche basate sulle caratteristiche cellulari e sulla capacità di formare spore ed endospore o di accrescersi in forma miceliare. In **tabella S2.3-1** è riportata la suddivisione in phyla sulla base delle sequenze dell'rRNA 16S. In **figura S2.3-1** è illustrato in forma di chiave dicotomica come sono raggruppati i diversi batteri Gram positivi, sulla base di caratteristiche morfologiche e fisiologiche.

Tabella S2.3-1 SUDDIVISIONE DEI BATTERI GRAM POSITIVI IN PHyla SULLA BASE DELLE SEQUENZE DELL'RRNA 16S.

Classe	Ordine	Famiglia
Phylum Firmicutes		
<i>Bacillus</i>	<i>Bacillales</i> <i>Lactobacillales</i>	<i>Alicyclobacillaceae</i> , <i>Bacillaceae</i> , <i>Listeriaceae</i> , <i>Paenibacillaceae</i> , <i>Pasteuriaceae</i> , <i>Planococcaceae</i> , <i>Sporolactobacillaceae</i> , <i>Staphylococcaceae</i> , <i>Thermoactinomycetaceae</i> <i>Aerococcaceae</i> , <i>Carnobacteriaceae</i> , <i>Enterococcaceae</i> , <i>Lactobacillaceae</i> , <i>Leuconostocaceae</i> , <i>Streptococcaceae</i>
<i>Clostridia</i>	<i>Clostridiales</i>	<i>Caldicoprobacteraceae</i> , <i>Catabacteriaceae</i> , <i>Clostridiaceae</i> , <i>Eubacteriaceae</i> , <i>Gracilibacteraceae</i> , <i>Heliobacteriaceae</i> , <i>Lachnospiraceae</i> , <i>Oscillospiraceae</i> , <i>Peptococcaceae</i> , <i>Peptostreptococcaceae</i> , <i>Ruminococcaceae</i> , <i>Syntrophomonadaceae</i> , <i>Veillonellaceae</i>
	<i>Halanaerobiales</i>	<i>Halanaerobiaceae</i> , <i>Halobacteroidaceae</i>
	<i>Natranaerobiales</i>	<i>Natranaerobiaceae</i>
	<i>Thermoanaerobacterales</i>	<i>Thermoanaerobacteraceae</i> , <i>Thermodesulfobiaceae</i>
<i>Erysipelotrichi</i>	<i>Erysipelotrichales</i>	<i>Erysipelotrichaceae</i>
<i>Thermolithobacteria</i>	<i>Thermolithobacteriales</i>	<i>Thermolithobacteriaceae</i>
Phylum Actinobacteria		
<i>Actinobacteria</i>	sottoclassi	Numerose famiglie per ogni ordine
	<i>Acidimicrobidae</i>	<i>Acidimicrobiales</i>
	<i>Actinobacteridae</i>	<i>Actinomycetales</i> <i>Bifidobacteriales</i> <i>Nitriliruptorales</i> <i>Actinobacteridae</i> non classificati
	<i>Coriobacteridae</i>	<i>Coriobacteriales</i>
	<i>Rubrobacteridae</i>	<i>Rubrobacterales</i> <i>Solirubrobacterales</i> <i>Thermoleophilales</i>
	<i>Actinobacteria</i> non classificati	
Phylum Tenericutes		
<i>Mollicutes</i>	<i>Acholeplasmatales</i>	<i>Acholeplasmataceae</i>
	<i>Anaeroplasmatales</i>	<i>Anaeroplasmataceae</i>
	<i>Entomoplasmatales</i>	<i>Entomoplasmataceae</i> <i>Spiroplasmataceae</i>
	<i>Haloplasmatales</i>	<i>Haloplasmataceae</i>
	<i>Mycoplasmatales</i>	<i>Mycoplasmataceae</i>

SCHEDA 2.3 ■ I BATTERI GRAM POSITIVI (MONODERMI)

2/2

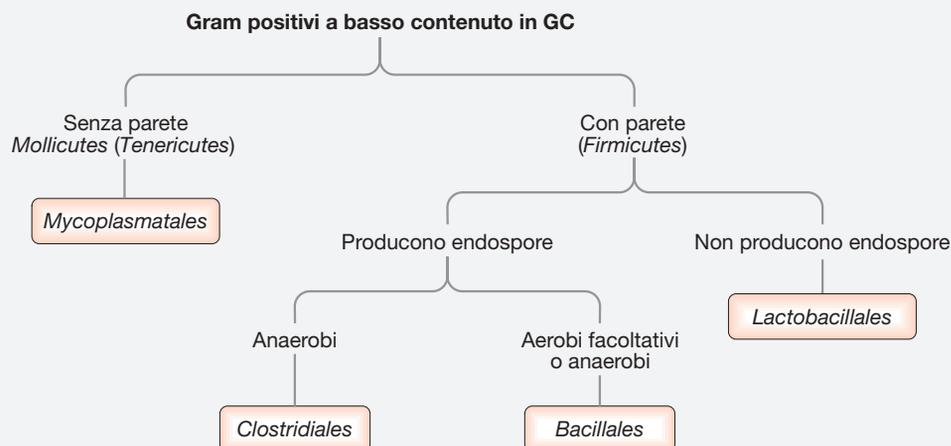
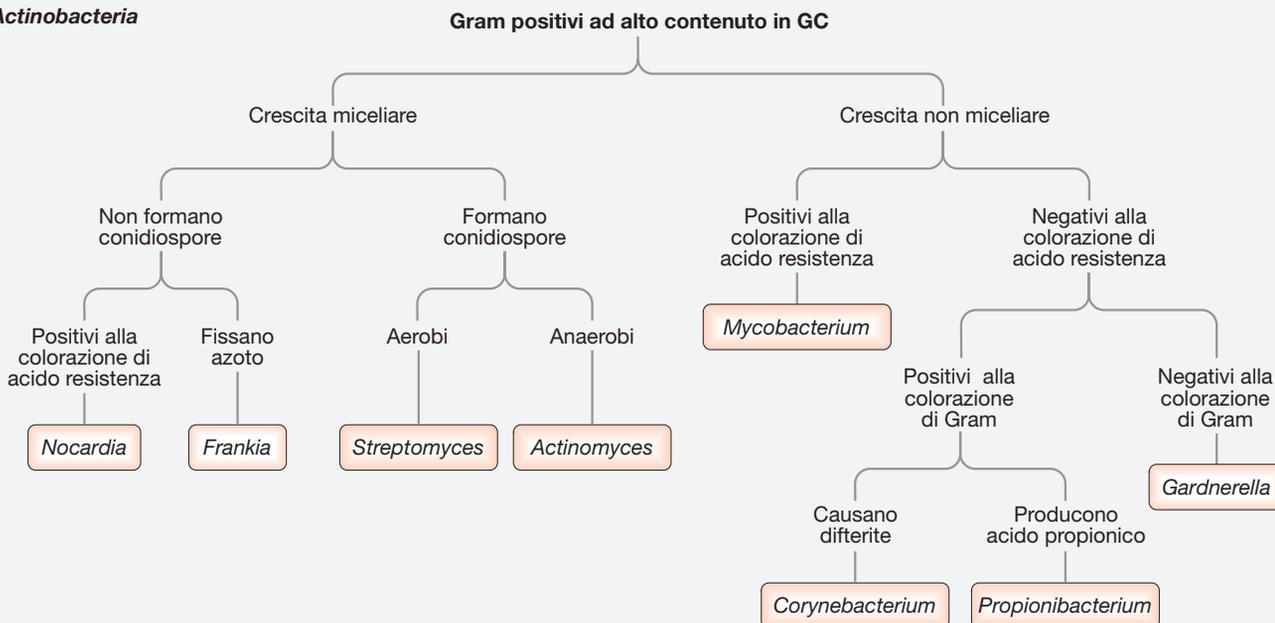
Firmicutes**Actinobacteria**

Figura S2.3-1 SCHEMA TASSONOMICO DEI PRINCIPALI GENERI DI BATTERI GRAM POSITIVI.

tidoglicano. Gli acidi lipoteicoici sono costituiti da catene di poli-glicerol-fosfato legate a un residuo glicolipidico tramite il quale sono ancorati alla membrana plasmatica (fig. 2.24a). Gli acidi teicoici costituiscono dal 30 al 60% della parete cellulare e sono ritenuti essenziali per il normale funzionamento della cellula. Gli acidi teicuronici, infine, sono polimeri privi di fosforo contenenti *N*-acetil-galattosamina e acido *D*-glucuronico in egual proporzioni (fig. 2.24c).

Questa complessa matrice polianionica, costituita da peptidoglicano, acidi teicoici e teicuronici:

- definisce le caratteristiche chimico-fisiche dell'involucro (porosità, elasticità, resistenza alla tensione);
- controlla il movimento degli ioni (in particolare l'assunzione di cationi metallici) e di altre molecole, antibiotici inclusi;
- regola il movimento e l'attività di proteine periplasmatiche (ad esempio autolisine e adesine) ed extracellulari;
- media l'adesione delle proteine di parete, il riconoscimento da parte di batteriofagi e le molteplici interazioni con l'ambiente esterno, inclusa la risposta immunitaria.

SCHEDA 11.2 ■ ANTIBIOTICI INIBITORI DELLA TRASCRIZIONE

1/2

Nonostante le notevoli differenze strutturali tra le RNA polimerasi di batteri ed eucarioti, sono note poche classi di molecole capaci di inibire selettivamente la trascrizione nei batteri (Fig. S11.2-1b). Le più note, utilizzate nella pratica clinica, sono le ansamicine e le lipiarmicine, entrambe con attività battericida.

Le **ansamicine**, isolate per la prima volta nel 1957 dall'attinomice *Amycolatopsis mediterranei*, sono così chiamate per la presenza di una catena alifatica che forma una sorta di ansa attorno a un residuo aromatico (naftalene o naftochinone) cui si lega con le due estremità. Appartengono alla famiglia delle ansamicine le **rifamicine**, con gli antibiotici commerciali **rifampicina** e **rifaximina**, derivati semisintetici della rifamicina B con migliori proprietà farmacologiche. Fin dal loro primo impiego clinico, sul finire degli anni '50, le rifamicine si sono dimostrate di grande rilevanza terapeutica come antibiotici ad ampio spettro nella cura di infezioni batteriche da Gram positivi e Gram negativi. Grazie alla loro natura lipofila, le rifamicine sono particolarmente indicate nel trattamento di infezioni sostenute da micobatteri e sono tuttora gli antibiotici di prima linea usati per il trattamento della tubercolosi.

Il bersaglio molecolare della rifampicina è la subunità β dell'RNA polimerasi; legandosi in un sito adiacente al sito attivo dell'enzima, l'antibiotico blocca per effetto sterico l'allungamento della catena di RNA nascente dopo la polimerizzazione dei primi 2-3 nucleotidi. Inoltre, è stato osservato che il legame della rifampicina determina anche cambiamenti conformazionali di tipo allosterico che indeboliscono il legame dell'RNAP con il fattore σ^{70} , limitando ulteriormente l'attività dell'enzima. Studi cristallografici hanno mostrato che l'interazione dell'antibiotico con l'enzima coinvolge 15 aminoacidi; la mutazione di

uno solo di questi può essere sufficiente per rendere il batterio resistente alla rifampicina.

La **lipiarmicina**, nota anche come fidaxomicina o difimicina, è un diglicoside macrocyclico. Fu isolata per la prima volta nel 1975 da *Actinoplanes deccanensis* come miscela di due congeneri A e B, e successivamente identificata anche in altri attinomyceti (*Catellatospora* sp., *Dactylosporangium aurantiacum*, *Micromonospora echinospora*). La fidaxomicina è stata approvata nel 2011 per il trattamento di infezioni da *Clostridium difficile*. Il farmaco, attivo contro batteri Gram positivi, non viene assorbito nel circolo sanguigno, per cui è biodisponibile in particolare nel tratto gastrointestinale. Per questo non è adatto per trattamenti a livello sistemico, ma viene usato per curare infezioni causate da squilibri nella flora intestinale.

La lipiarmicina interagisce sia con la subunità σ^{70} sia con la struttura a tenaglia della subunità β' dell'oloenzima RNA polimerasi (fig. 11.3). Questo dominio mobile funge da punto di attacco del fattore σ . Il legame della subunità σ all'RNA polimerasi determina un cambiamento conformazionale dell'enzima che porta alla denaturazione del DNA stampo e alla transizione da complesso binario chiuso a complesso aperto. Questo antibiotico, legandosi all'interfaccia tra la subunità β' e il fattore σ^{70} , impedisce allostericamente il cambiamento conformazionale bloccando il complesso binario nella conformazione chiusa.

Sono noti anche altri inibitori della RNA polimerasi. La **streptolidigina**, antibiotico composto da un acido tetramico di derivazione polichetidica prodotto da *Streptomyces griseoflavus*, inibisce in particolare la pirofosforolisi e l'elongazione della catena di RNA. Mostra una leggera resistenza incrociata con la rifampicina. La **mixopironina**, antibiotico composto da un α -pirone di derivazione polichetidica prodotto dal mixo-

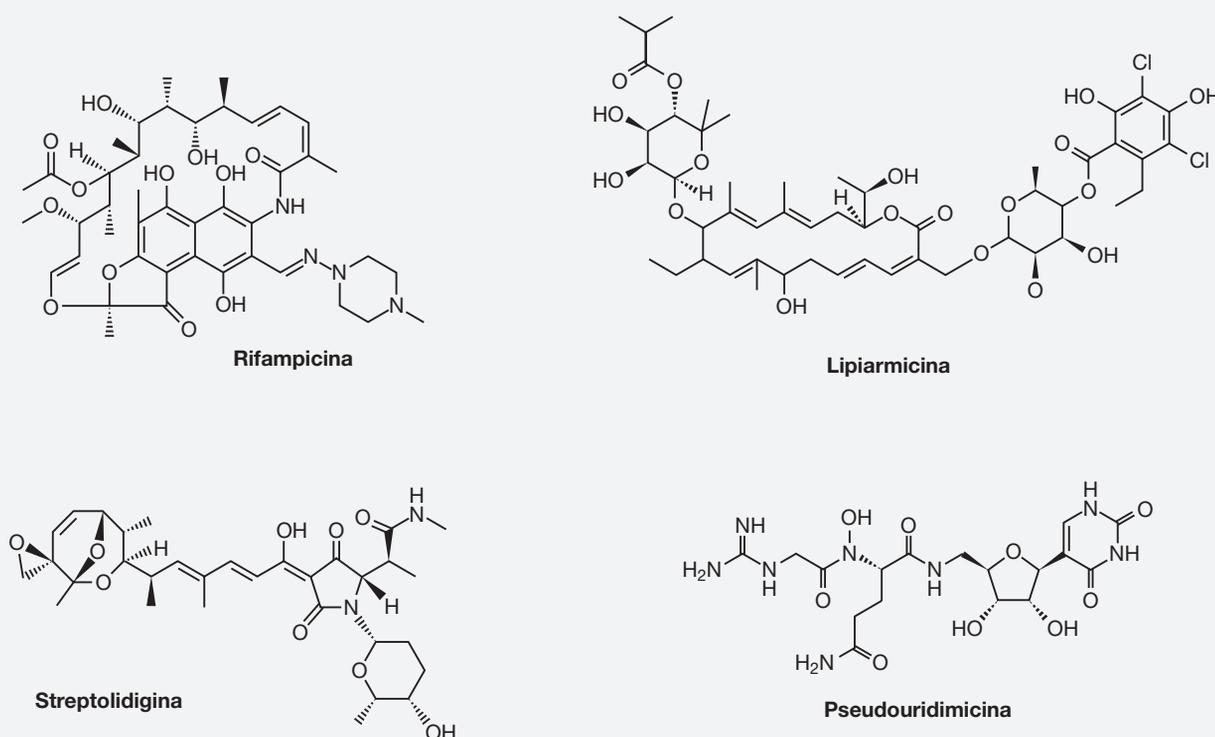


Figura S11.2-1 ALCUNI ANTIBIOTICI INIBITORI DELLA TRASCRIZIONE.

SCHEDA 11.2 ■ ANTIBIOTICI INIBITORI DELLA TRASCRIZIONE

2/2

batterio *Myxococcus fulvus*, inibisce l'inizio della trascrizione impedendo, come la lipiarmicina ma legandosi a un sito diverso, la transizione da complesso binario chiuso a complesso aperto. La **pseudouridimicina** è un inibitore analogo di nucleosidi (*nucleoside analogue inhibitor*, NAI; ► par. 14.12.2). Questo analogo strutturale dell'UTP compete con il ribonucleoside trifosfato per il legame al sito attivo dell'enzima bloccando l'elongazione del trascritto.

Le profonde differenze strutturali tra RNAP batterica e quelle degli archei ed eucarioti sono evidenziate dal fatto che queste ultime sono insen-

sibili agli antibiotici qui presentati. Al contrario, un noto inibitore specifico per la RNA polimerasi II degli eucarioti è il peptide ciclico α -amanitina, una tossina fungina.

Come visto per la rifampicina, anche per gli altri antibiotici la **resistenza** è dovuta principalmente a mutazioni nei geni che codificano per le subunità dell'RNA polimerasi. Queste mutazioni possono modificare i residui di contatto dell'enzima con l'antibiotico o residui fiancheggiati, che influiscono sulla conformazione del sito di legame e sull'affinità del legame con l'inibitore.

11.3 Traduzione nei batteri

La sintesi proteica, ossia la traduzione della sequenza di nucleotidi dell'mRNA in sequenza di aminoacidi nella proteina, avviene ad opera dei ribosomi. I ribosomi dei batteri sono particelle di dimensioni 70S (il coefficiente di sedimentazione S è un parametro relativo alla velocità di sedimentazione in un mezzo fluido di una particella sottoposta a forza centrifuga ed è funzione della massa e della geometria della particella stessa) composti da RNA e proteine. I ribosomi 70S sono formati dall'unione di due subunità: la subunità 30S, costituita da 21 proteine e dall'RNA ribosomiale 16S, e la subunità 50S, costituita da 31 proteine e dagli RNA ribosomali 23S e 5S (fig. 11.11). Gli *Archaea* hanno ribosomi simili a quelli batterici mentre più marcate sono le differenze strutturali dei ribosomi eucarioti, riassunte in figura 11.11a.

Nei procarioti, dove trascrizione e traduzione avvengono nello stesso comparto cellulare, i due processi si svolgono in modo accoppiato: mentre la RNA polimerasi sta sintetizzando l'mRNA, questo è riconosciuto dai ribosomi che iniziano la traduzione. Questo accoppiamento è molto importante in alcuni aspetti della regolazione dell'espressione genica, come vedremo in seguito. Negli eucarioti, invece, trascrizione e traduzione avvengono in comparti separati (rispettivamente nucleo e citoplasma).

Ricordiamo che la relazione tra sequenza di basi nel DNA o nell'RNA e sequenza di aminoacidi nelle proteine è definita da un insieme di "regole" (il cosiddetto **codice genetico**) che stabiliscono la corrispondenza univoca tra una tripletta di basi (detta **codone**) e un particolare aminoacido. Questa corrispondenza è assicurata da un "adattatore", il **tRNA**, che da una parte contiene l'**anticodone** (una tripletta complementare al codone) e dall'altra lega (grazie all'azione degli enzimi aminoacil-tRNA sintetasi) un aminoacido specifico per quel tRNA. Il codice genetico è universale (ossia è sostanzialmente invariato attraverso l'intero albero genetico); questa è una delle evidenze più stringenti circa l'unitarietà del mondo vivente.

Un modello generale che riassume il processo della traduzione nei batteri è riportato in figura 11.12 e qui brevemente illustrato.

11.3.1 Inizio della traduzione

L'avvio di un ciclo di traduzione di un messaggero è un processo complesso che richiede l'interazione iniziale di tre elementi: l'mRNA a livello della regione di inizio traduzione (TIR, *translation initiation region*); la subunità 30S del ribosoma (che in questa fase è dissociato dalla subunità 50S) e il

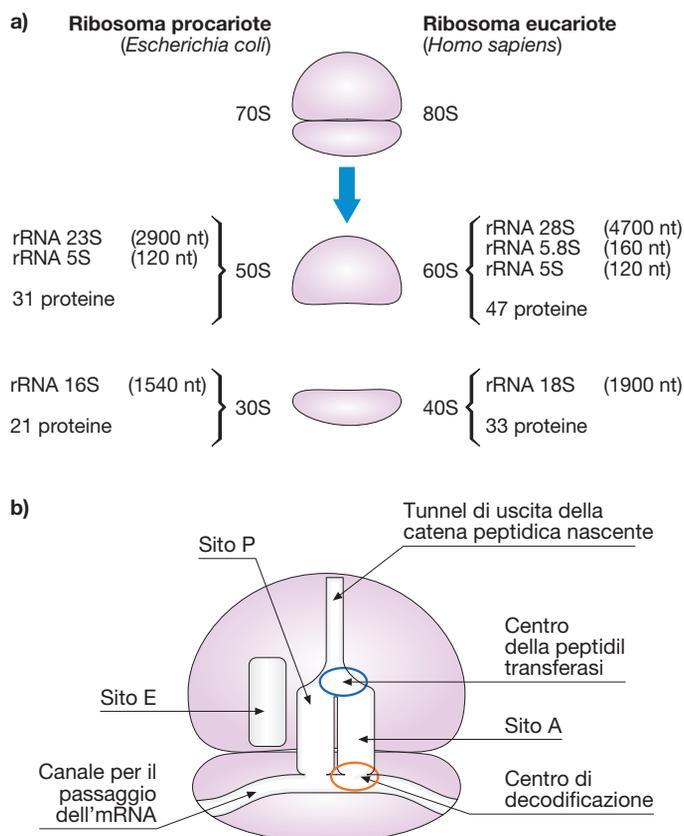


Figura 11.11 **RIBOSOMI PROCARIOTI ED EUCARIOTI.** (a) Composizione dei ribosomi 70S e 80S. (b) Struttura di un ribosoma batterico.

Biologia dei microrganismi

terza edizione

a cura di
Gianni Dehò e Enrica Galli

Risorse online

- Schede di approfondimento
- Tabelle tassonomiche
- Laboratorio simulato di Microbiologia
- Test di autovalutazione
- Ebook

nella sezione dedicata
a questo libro al sito
my.zanichelli.it
previa registrazione

Maggiori informazioni
nelle pagine interne

La terza edizione di *Biologia dei microrganismi* è stata ampiamente aggiornata e migliorata nell'articolazione – con particolare attenzione ai capitoli sulla cellula e le sue strutture e a quelli di genetica – ma conserva intatta quell'impostazione generale che ha determinato il successo delle precedenti edizioni, assai apprezzate nei Corsi di Studio di area biologica.

L'opera accompagna gli studenti ad affrontare in modo completo i programmi di studio degli insegnamenti di Microbiologia generale, e anche i corsi più specialistici di Microbiologia cellulare e Microbiologia molecolare.

La trattazione si concentra principalmente sui microrganismi procarioti (batteri e archei). Tuttavia, in questa nuova edizione aumenta lo spazio dedicato ai virus, così come si rafforzano i richiami alle cellule e ai microrganismi eucarioti per quanto riguarda le differenze nella struttura e nelle funzioni (livello cellulare e rapporti filogenetici). I capitoli dedicati alla genetica dei microrganismi sono stati riorganizzati attraverso numerose schede di approfondimento su temi particolari, disponibili online sul sito del libro.

Il testo è diviso in quattro parti: le prime due, *Struttura e funzioni delle cellule procariote* e *Crescita microbica e metabolismo*, costituiscono le basi della Microbiologia, mentre *Genetica batterica e biologia molecolare* e *Interazioni tra microrganismi e con altri organismi* affrontano aspetti propri della Microbiologia molecolare e cellulare.

Le risorse online sono costituite da: 40 schede, un laboratorio simulato di Microbiologia generale con 16 esercitazioni, centinaia di test di autovalutazione. Il testo è inoltre disponibile in formato elettronico.

DEHO*BIOLOGIA MICRORGANISMI 3ED(CEA

ISBN 978-88-08-18623-2



9 788808 186232

0 1 2 3 4 5 6 7 8 (64R)

Al pubblico € 79,00 •••

In caso di variazione Iva o cambiamento prezzo
consultare il sito o il catalogo dell'editore

www.zanichelli.it