

# Università degli Studi di Milano CORSO DI LAUREA IN SCIENZE NATURALI

Corso di Biologia generale e ambientale con elementi di istologia

### Virus e batteri

## Citologia e Istologia – Capitolo 3





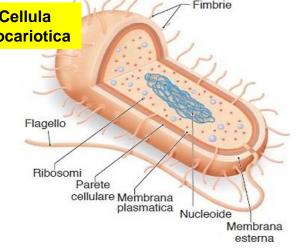
Anno accademico 2022-2023

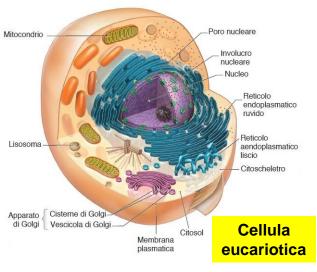
#### CELLULE PROCARIOTICHE ED EUCARIOTICHE

Caratteristiche	Bacteria	Eukarya
Involucro nucleare	Assente	Presente pro
Organelli delimitati da membrane	Assenti	Presenti
Cromosoma circolare	Presente (lineare in alcune specie)	Assente
Numero di cromosomi	Tipicamente uno (possono essere presenti anche plasmidi)	Tipicamente molti
Istoni associati al DNA	Assenti	Presenti
Peptidoglicano nella parete cellulare	Presente	Assente
Struttura dei lipidi di membrana	Acidi grassi a catena lineare legati al glicerolo attraverso legami esterei	Acidi grassi a catena lineare legati al glicerolo attraverso legami esterei
Dimensioni dei ribosomi	705	80S, a eccezione di quelli di mitocondri e cloroplasti
RNA polimerasi	Una sola	Diverse
Traduzione	Inizia con la formilmetionina	Inizia con la metionina

I PROCARIOTI sono organismi unicellulari <u>privi di ogni comparto</u> <u>cellulare</u> (es. involucro nucleare, organuli o altre suddivisioni interne).

Negli **EUCARIOTI** è presente un <u>nucleo</u> delimitato da un involucro nucleare, nel quale è racchiusa la maggior parte del materiale genetico.



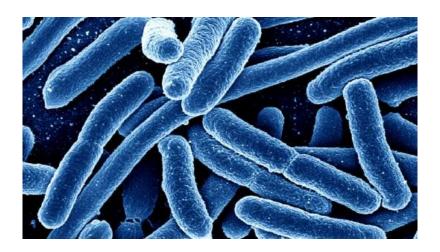


### **CLASSIFICAZIONE DEI PROCARIOTI**

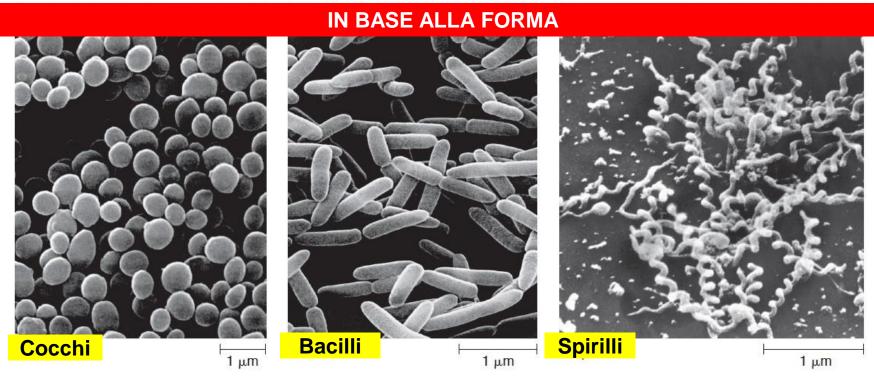
Quasi tutti i procarioti sono unicellulari, anche se alcuni formano colonie caratterizzate dalla presenza di cellule specializzate.

I procarioti possono essere classificati in base a cinque criteri principali:

- [1] forma
- [2] modalità di ottenimento dei nutrienti (carbonio) e dell'energia
- [3] condizioni ottimali alle quali possono crescere
- [4] loro relazione rispetto a un organismo ospite
- [5] caratteristiche di colorazione che riflettono il tipo di parete cellulare



#### CLASSIFICAZIONE DEI PROCARIOTI



I **cocchi** hanno forma sferica, sono unicellulari o in gruppi di cellule indipendenti. Se si dispongono in coppia si chiamano **diplococchi**, in lunghe catene **streptococchi**, a grappolo **stafilococchi**.

I bacilli hanno forma a bastoncino, sono unicellulari, ma possono essere disposti in catene (streptobacilli).

I batteri a forma di spirale comprendono gli **spirilli**, hanno forma di spirale rigida, i **vibrioni**, a forma di virgola, e le **spirochete**, a forma di cavatappi (spirale flessibile).

#### **CLASSIFICAZIONE DEI PROCARIOTI**

### IN BASE ALLA MODALITÀ DI OTTENIMENTO DEI NUTRIENTI (CARBONIO) E DELL'ENERGIA

Modalità di nutrimento	Fonte di energia	Fonte di carbonio
Autotrofi	Luce solare	CO
Fotoautotrofi		CO <sub>2</sub>
Chemioautotrofi	Composti inorganici (es., NH <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> S, Fe <sup>2+</sup> )	CO <sub>2</sub>
Eterotrofi		
Fotoeterotrofi	Luce solare	Composti organici
Chemioeterotrofi	Composti organici	Composti organici

I procarioti AUTOTROFI producono le molecole organiche utilizzando come fonte di carbonio la CO<sub>2</sub>. I procarioti ETEROTROFI ricavano atomi di carbonio dai composti organici di altri organismi.

Sulla base delle due principali modalità di cattura dell'energia, i procarioti sono classificati come **chemiotrofi**, che ottengono energia dai composti chimici mediante reazioni redox, o come **fototrofi**, che catturano l'energia luminosa per sintetizzare ATP e NADPH.

#### **CLASSIFICAZIONE DEI PROCARIOTI**

#### IN BASE ALLE CONDIZIONI OTTIMALI ALLE QUALI POSSONO CRESCERE

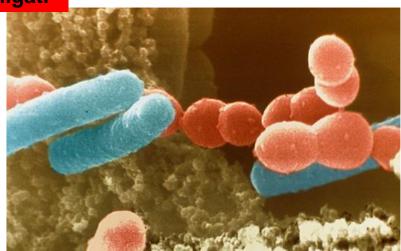
Procarioti	Condizioni di crescita ottimali	
Aerobi obbligati	Presenza di O <sub>2</sub>	presenza O <sub>2</sub>
Anaerobi obbligati	Assenza di O <sub>2</sub>	presenza O <sub>2</sub>
Anaerobi facoltativi	Respirazione aerobica o fermentazione	presenza O <sub>2</sub>
Alofili	Soluzioni sature di sali	Sali
Psicrofili	0-20°C	Temperatura
Mesofili	25-40°C	Temperatura
Termofili	50-110°C	Temperatura
Acidofili	pH < 5,4	рН
Neutrofili	pH 5,4-8,0	рН
Alcalofili	pH > 8,0	рН

#### **CLASSIFICAZIONE DEI PROCARIOTI**

#### IN BASE ALLA LORO RELAZIONE RISPETTO A UN ORGANISMO OSPITE

Tipo di simbiosi	Caratteristiche	Danni all'ospite	Esempi
Mutualistica	Benefici reciproci	Nessuno	Batteri che digeriscono la cellulosa nell'intestino dei bovini
Commensale	Un organismo trae beneficio; nessun effetto sull'altro organismo	Nessuno	I batteri nell'intestino umano, che vivono con le sostanze nutritive ingerite dall'ospite
Parassitica	Il microrganismo dipende dall'ospite per la sopravvivenza e può danneggiarlo	Alcuni	Staphylococcus aureus, responsabile di infezioni acute in diversi distretti dell'organismo
Patogena	Il microrganismo danneggia l'ospite	Importanti	Batteri come <i>Bacillus anthracis</i> (carbonchio) e <i>Yersinia pestis</i> (peste)

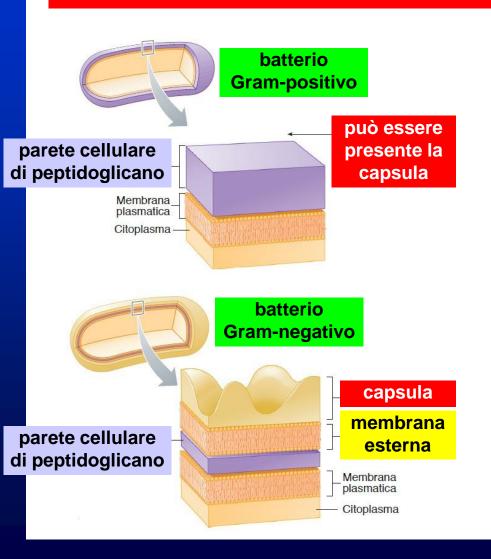
**SIMBIOSI MUTUALISTICA** = benefici reciproci



Batteri dello yogurt (SEM, colori artificiali): Streptococcus thermophilus (rosso) e Lactobacillus bulgaricus (blu)

#### **CLASSIFICAZIONE DEI BATTERI – PARETE CELLULARE**

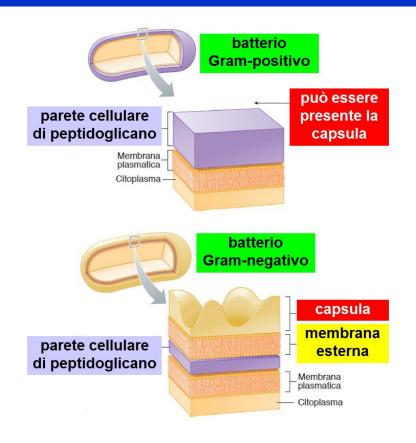
#### CARATTERISTICHE DI COLORAZIONE CHE RIFLETTONO IL TIPO DI PARETE CELLULARE



La maggior parte delle cellule batteriche ha la membrana plasmatica ricoperta da una PARETE CELLULARE RIGIDA che sostiene la cellula, ne mantiene la forma e ne previene l'esplosione per pressione osmotica (ambiente ipotonico). Tuttavia, la parete cellulare è di poco aiuto quando il batterio si trova in un ambiente ipertonico. Ecco perché la maggior parte dei batteri cresce male nelle conserve di frutta, nel pesce sotto sale e in altri cibi così conservati.

La PARETE CELLULARE dei batteri è costituita da **peptidoglicano** (o **mureina**), un polimero lineare di N-acetilglucosammina e acido N-acetilmuramico uniti da un legame  $\beta$ -1,4-glucosidico. La struttura risultante conferisce particolare rigidità alla parete cellulare.

#### **CLASSIFICAZIONE DEI PROCARIOTI – PARETE CELLULARE / COLORAZIONE**

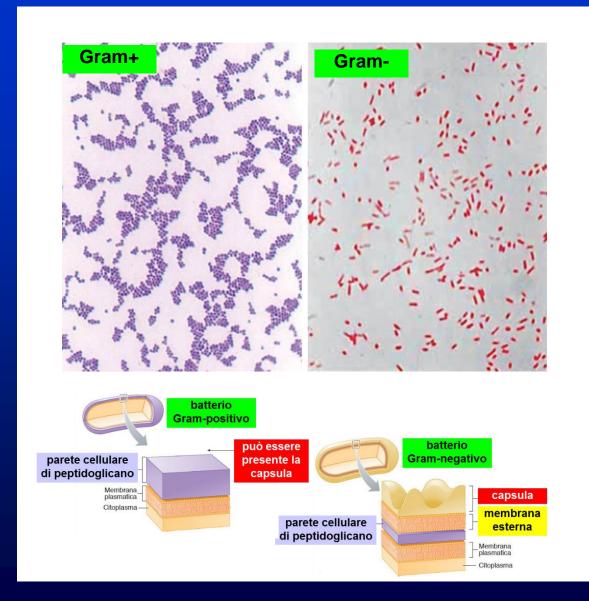


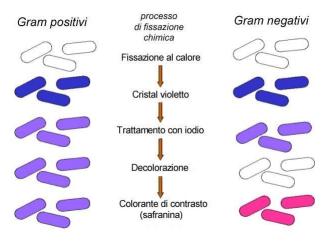
La parete dei batteri **Gram+** è molto spessa (20-80 nm), ha struttura semplice ed è formata principalmente da **peptidoglicano**.

La parete dei batteri **Gram-** è costituita da due strati: una sottile (2-3 nm) parete di **peptidoglicano** e una **membrana esterna** (7-8 nm) che ha una struttura bilaminare e asimmetrica: foglietto interno è formato da **fosfolipidi** (come la membrana plasmatica), il foglietto esterno, oltre che da fosfolipidi, è formato da uno strato di complesse molecole rappresentate dal **lipopolisaccaride** (LPS) batterico. l'LPS è l'endotossina = il fattore di virulenza che caratterizza l'azione patogena dei Gram-

Alcune specie sia Gram+ sia Gram- hanno una CAPSULA POLISACCARIDICA o PROTEICA, che circonda la parete cellulare. La capsula protegge il batterio dalla disidratazione, favorisce l'adesività ad altri batteri e alle superfici dei tessuti dell'ospite, funge da <u>barriera alla diffusione degli antibiotici</u> ed è responsabile della <u>resistenza alla fagocitosi</u>, impedendo il riconoscimento tra cellula fagocitaria e batterio.

#### **CLASSIFICAZIONE DEI PROCARIOTI – PARETE CELLULARE / COLORAZIONE**



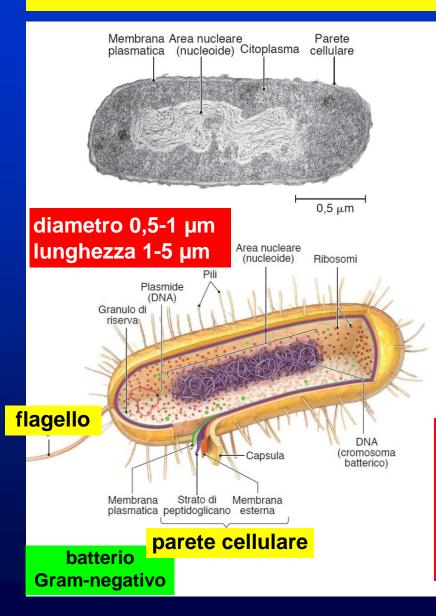


La diversa colorazione è dovuta alla diversa composizione e organizzazione della parete

Colorazione di Gram. Si pone nella piastra di coltura il colorante violetto di genziana.

- (1) Si lava con una soluzione acquosa di iodio e ioduro di potassio (detta *liquido di Lugol*) con lo scopo di fissare il violetto di genziana.
- (2) Si tratta con un decolorante (alcool etilico).
- (3) Il preparato è quindi trattato con un secondo colorante (safranina), che colora in rosso-rosa le cellule che non hanno fissato il primo colorante.

#### CARATTERISTICHE STRUTTURALI



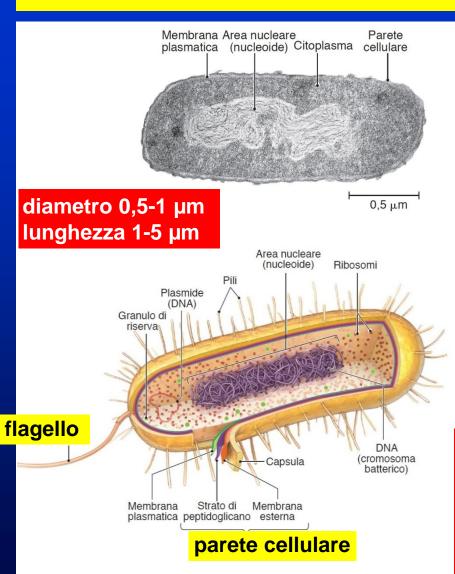
La cellula procariotica è **priva di nucleo** ma possiede un'area nucleare che contiene una <u>singola molecola di DNA circolare</u> a doppio filamento (o cromosoma batterico), che contiene 3000-6000 geni. Se srotolata questa molecola ha una lunghezza all'incirca 1000 µm. Il DNA è avvolto in anse, **non è legato a istoni** ed è complessato a **proteine acide**, da cui è facilmente dissociabile.

Oltre al DNA genomico, molti batteri presentano **PLASMIDI** (piccole molecole di DNA circolare) presenti in 1-20 copie, autonome rispetto al cromosoma batterico (quindi si replicano indipendentemente da esso) e trasmissibili da una cellula all'altra.

Alcuni plasmidi possono integrarsi nel cromosoma; in tal caso prendono il nome di **EPISOMI** e, in queste condizioni, si replicano con il cromosoma stesso.

►I PLASMIDI sono da 1/20 a 1/100 di un cromosoma batterico e contengono da 5 a 100 geni che codificano informazioni importanti ma non indispensabili alla sopravvivenza, ad esempio produzione di TOSSINE, pili, ENZIMI CHE CONFERISCONO RESISTENZA AGLI ANTIBIOTICI.

#### CARATTERISTICHE DELLE CELLULE BATTERICHE



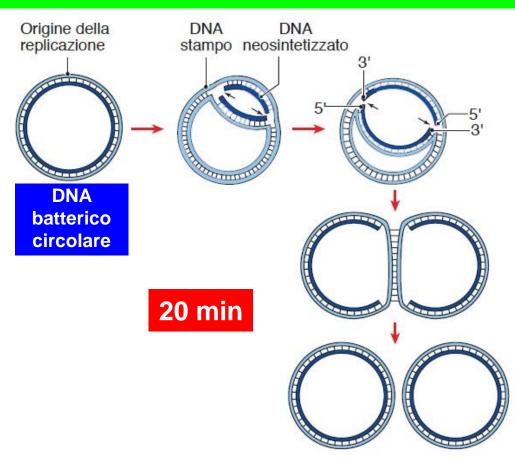
Il citoplasma della cellula procariotica contiene **ribosomi 70S** (più piccoli di quelli degli eucarioti) e diversi **granuli di riserva** contenenti glicogeno, amido, lipidi (polimeri dell'acido  $\beta$ -idrossibutirrico) o polifosfato; granuli di zolfo e di ferro sono presenti, rispettivamente, nei solfobatteri e nei ferrobatteri.

Gli enzimi necessari per le attività metaboliche possono trovarsi in forma solubile nel citoplasma oppure associati alla membrana plasmatica o alle sue introflessioni (mesosomi). I mesosomi sono invaginazioni del plasmalemma che intervengono in vari processi riproduttivi e metabolici della cellula procariotica e partecipano alla formazione di setti durante il processo di divisione della cellula.

▶I PLASMIDI sono da 1/20 a 1/100 di un cromosoma batterico e contengono da 5 a 100 geni che codificano informazioni importanti ma non indispensabili alla sopravvivenza, ad esempio produzione di TOSSINE, pili, ENZIMI CHE CONFERISCONO RESISTENZA AGLI ANTIBIOTICI.

#### RIPRODUZIONE ASESSUALE

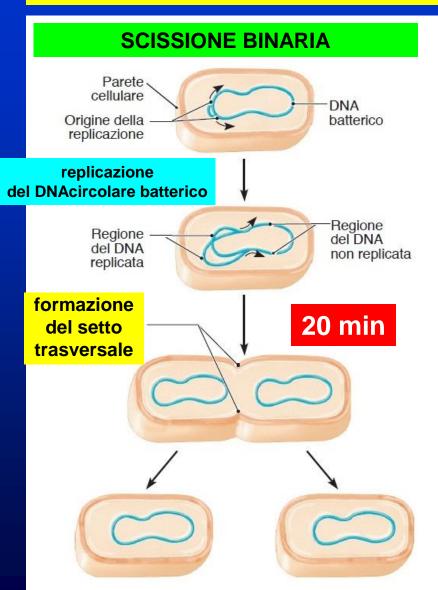
# REPLICAZIONE SEMICONSERVATIVA DEL DNA CIRCOLARE BATTERICO



I batteri hanno la capacità di <u>riprodursi</u> molto rapidamente mediante <u>riproduzione</u> asessuale.

Come prima cosa avviene la replicazione del DNA batterico circolare. La replicazione del DNA ha luogo nella regione centrale della cellula batterica, dove sono localizzati gli enzimi necessari. Il DNA circolare inizia a replicarsi in un singolo sito, detto punto di origine della replicazione (ori), e prosegue nelle due direzioni opposte con la formazione di due forcelle di replicazione, che percorrono il cerchio e infine si incontrano nel punto di arresto della replicazione.

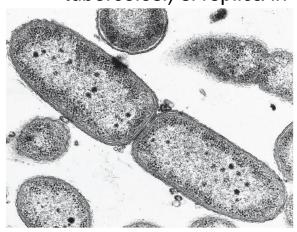
#### RIPRODUZIONE ASESSUALE NEI BATTERI



Quando la replicazione del DNA è completata, la cellula aumenta di volume e forma un **setto trasversale** fino alla scissione in due cellule figlie identiche.

Il tempo necessario al batterio per riprodursi è detto tempo di duplicazione e varia a seconda delle condizioni di crescita.

In condizioni ottimali (laboratorio) *Escherichia coli* ha un tempo di duplicazione di 20-30'; in questi casi bastano 12 ore per formare miliardi di batteri da una singola cellula. In condizioni naturali (intestino) *E. coli* impiega 12 ore per effettuare una divisione cellulare. *Mycobacterium tuberculosis* (l'agente eziologico della tubercolosi) si replica in 18 ore.



Nella scissione ineguale o gemmazione la cellula produce una protuberanza che cresce e si separa dalla cellula madre nel punto in cui in essa si genera una strozzatura.

#### TRASFERIMENTO DELL'INFORMAZIONE GENETICA

Nei batteri si può si osservare uno **scambio di materiale genetico o trasferimento genico** tra batteri, che porta alla <u>ricombinazione genetica</u>.

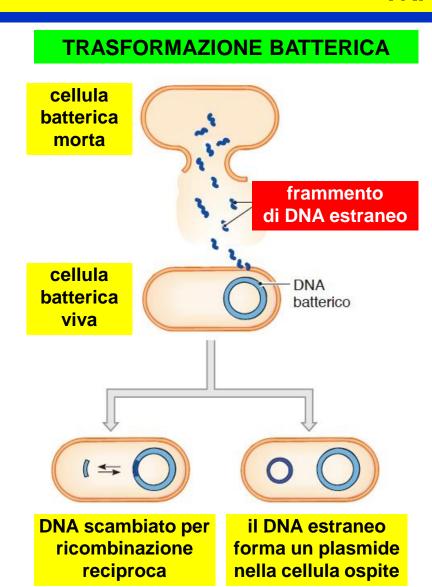
La ricombinazione genica è un processo mediante il quale una porzione di DNA è trasferita da un donatore a una cellula ricevente, che la integra nel suo cromosoma con acquisizione di nuove caratteristiche fenotipiche.

Le **mutazioni** casuali sono la fonte principale di variabilità genetica nei batteri, la ricombinazione genetica incrementa la **diversità genetica dei batteri**.

Il <u>trasferimento genico</u> tra due cellule batteriche = scambio di porzioni fra due molecole di DNA di due differenti batteri avviene con **3 meccanismi diversi**:

- TRASFORMAZIONE
- TRASDUZIONE
- CONIUGAZIONE

#### **TRASFORMAZIONE**



Il genotipo (e spesso anche il fenotipo) di una cellula procariotica sono alterati dall'assunzione di DNA estraneo.

Quando i batteri muoiono, rilasciano il loro DNA; nella trasformazione, i frammenti di DNA rilasciati da una cellula (DNA estraneo) sono assunti da un'altra cellula.

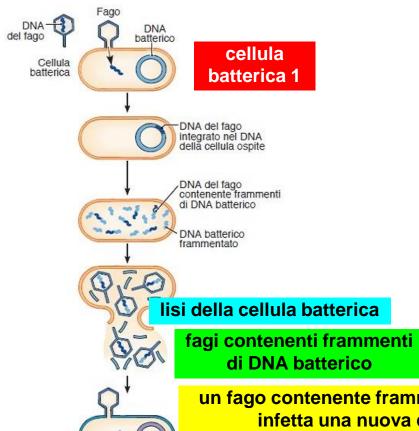
Il DNA estraneo si lega a proteine presenti sulla superficie del batterio, che ne permettano l'ingresso. La cellula è normalmente impermeabile al DNA, a meno che non si trovi in uno STATO DI COMPETENZA, con formazione di <u>pori transitori nella membrana</u>, che permettono il passaggio di frammenti di DNA

Una volta nella cellula batterica, uno dei due filamenti di DNA è degradato dalla nucleasi e l'altro filamento può:

- 1) essere incorporato nel genoma dell'ospite e, se presente una regione omologa avviene uno scambio di DNA tra il nuovo DNA e il cromosoma dell'ospite.
- Il DNA estraneo può anche essere incorporato in forma di plasmide e resta separato dal DNA circolare dell'ospite.

#### TRASDUZIONE

#### TRASDUZIONE BATTERICA



Nella **trasduzione**, i geni batterici sono trasportati da una cellula batterica a un'altra tramite un fago.

Normalmente, un fago contiene soltanto il proprio DNA. Tuttavia, talvolta esso incorpora parte del DNA batterico del suo ospite. Pertanto, quando il fago infetta un altro batterio, trasferisce quel DNA al nuovo ospite.

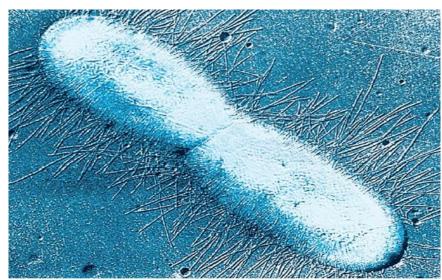
Il tratto di DNA trasferito può sostituire la regione omologa del DNA della cellula batterica infettata; in tal modo, il DNA della cellula batterica infettata diviene una combinazione del DNA derivato da due cellule, cioè avviene un processo ricombinazione genetica.

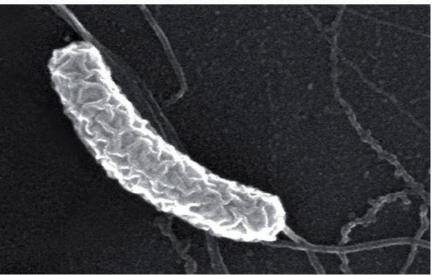
un fago contenente frammenti di DNA batterico infetta una nuova cellula batterica

cellula batterica 2

Il DNA batterico viene integrato nel DNA della cellula batterica infettata e replicato con esso

### PILI DI ADESIONE o FIMBRIE: CONIUGAZIONE





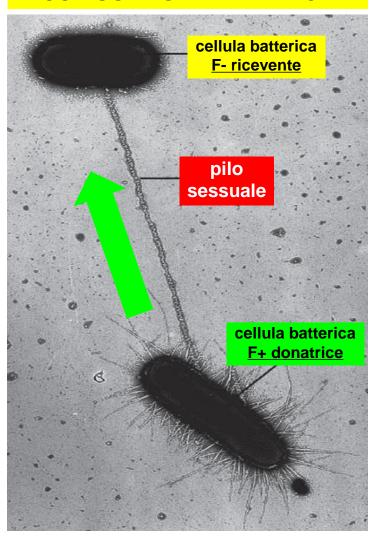
Alcuni batteri possiedono appendici pilifere, dette pili di adesione o fimbrie, sulla superficie della cellula.

I pili sono strutture proteiche rigide di forma cilindrica, presenti soprattutto nei Gram-, costituite dalla proteina pilina, che si organizza a elica formando il pilo tubulare o pilo di adesione.

I pili aiutano i batteri ad aderire tra loro o alle superfici, delle cellule che infettano. Alcuni pili più lunghi dei pili di adesione, detti pili sessuali o pili F, facilitano il trasferimento del DNA da una cellula batterica donatrice a una cellula batterica ricevente durante la coniugazione batterica.

#### CONIUGAZIONE

#### **CONIUGAZIONE BATTERICA**



Nella **coniugazione** due batteri si uniscono temporaneamente e il materiale genetico si trasferisce da una cellula all'altra. Diversamente dalla trasformazione e dalla trasduzione la coniugazione prevede il **contatto fisico tra due cellule batteriche**. Il batterio donatore utilizza **pili sessuali** o **pili F**, per unirsi al batterio ricevente.

In *E. coli* vi sono cellule donatrici o cellule F+ e cellule riceventi o cellule F-. Le cellule F+ hanno una sequenza di DNA (fattore F, F sta per fertilità) costituito da circa 25 geni che può trovarsi sia in forma di plasmide (plasmide F) sia come segmento del DNA del batterico. Alcuni geni del fattore F codificano enzimi essenziali per il trasferimento del DNA, altri codificano per i pili F che si proiettano dalla superficie cellulare. Il pilo lega i recettori presenti sulla superficie di una cellula F- e forma un ponte di coniugazione citoplasmatico tra le due cellule. Il plasmide F si replica e il DNA è trasferito dal batterio donatore a quello ricevente attraverso il ponte di coniugazione.