

LA PARETE DEI GRAM-NEGATIVI

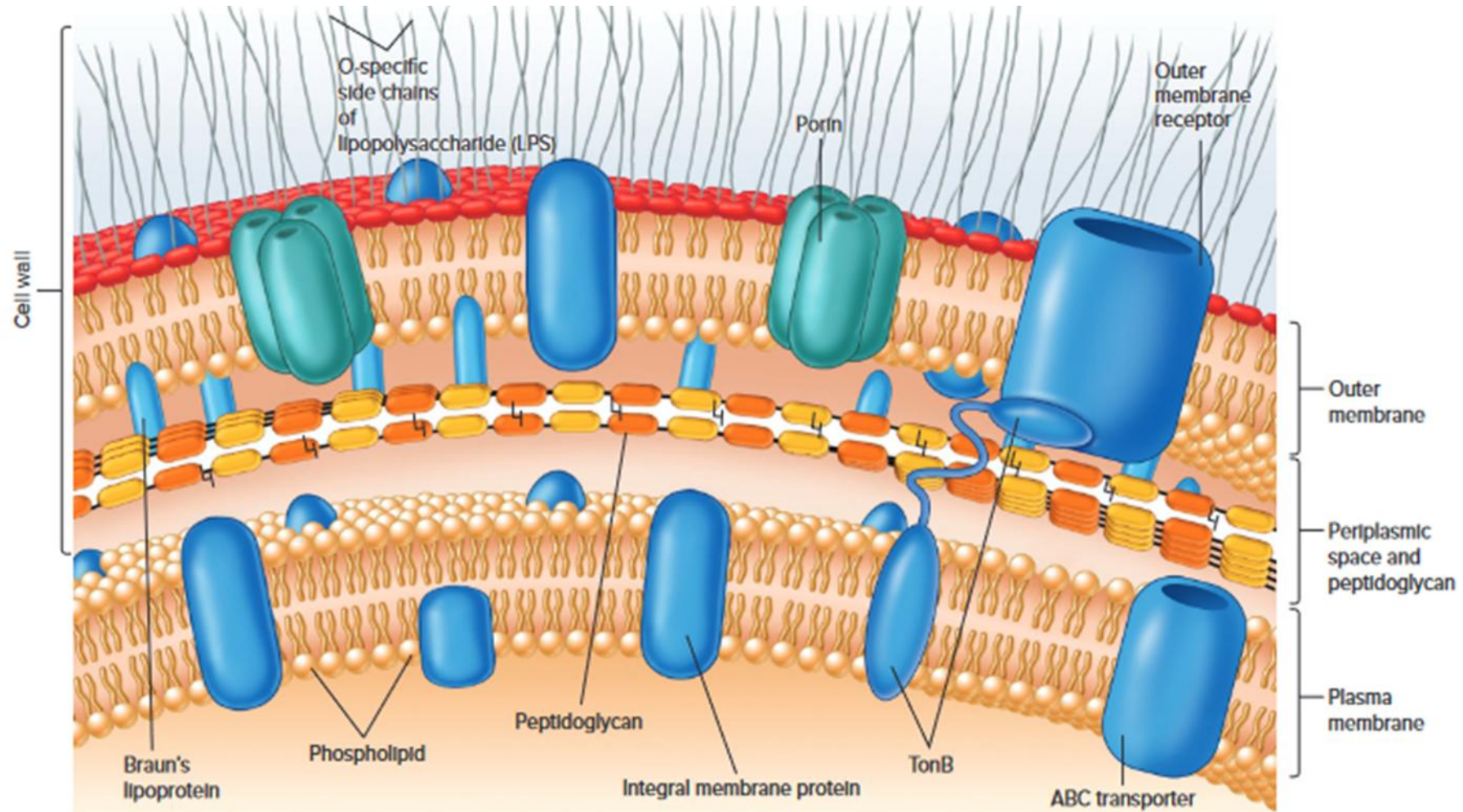
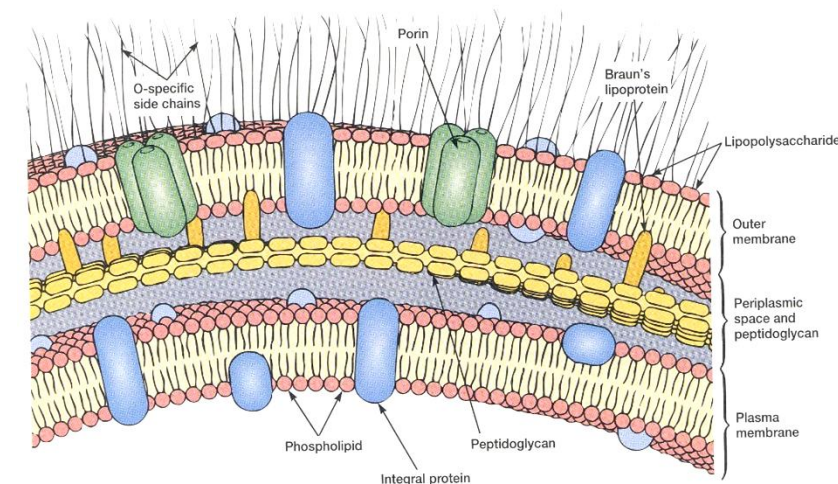


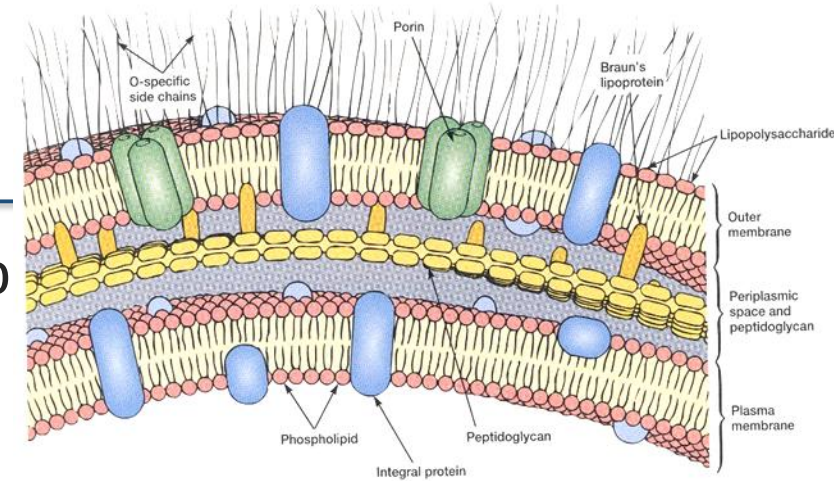
Figure 3.24 Typical Gram-Negative Cell Wall. Notice that these bacteria are bounded by two membranes, the plasma membrane and the outer membrane of the cell wall.

- parete più complessa di quella dei Gram+ (anche se meno spessa)
- costituente peculiare della membrana esterna è il lipopolisaccaride (LPS)
- membrana esterna è ricca di canali (porine)
- delimitazione di uno spazio periplasmico



SPAZIO PERIPLASMICO

- Gel periplasmico occupato da una rete di peptidoglicano
- Occupa il 20-40% dell'intero volume cellulare
- Enzimi:
 - favoriscono l'assunzione di nutrienti (proteasi, lipasi, fosfatasi)
 - *nei batteri patogeni: fattori litici di "virulenza" (collagenasi, beta-lattamasi, ialuronidasi, proteasi)*
- Proteine di trasporto
- Proteine chaperon periplasmatiche: corretto ripiegamento delle proteine presenti nel periplasma
- Proteine coinvolte nella biogenesi della membrana esterna e di altri rivestimenti (pili, fimbrie, ecc., se presenti)
- Proteine coinvolte nella degradazione di antibiotici o altre sostanze tossiche



LA MEMBRANA ESTERNA

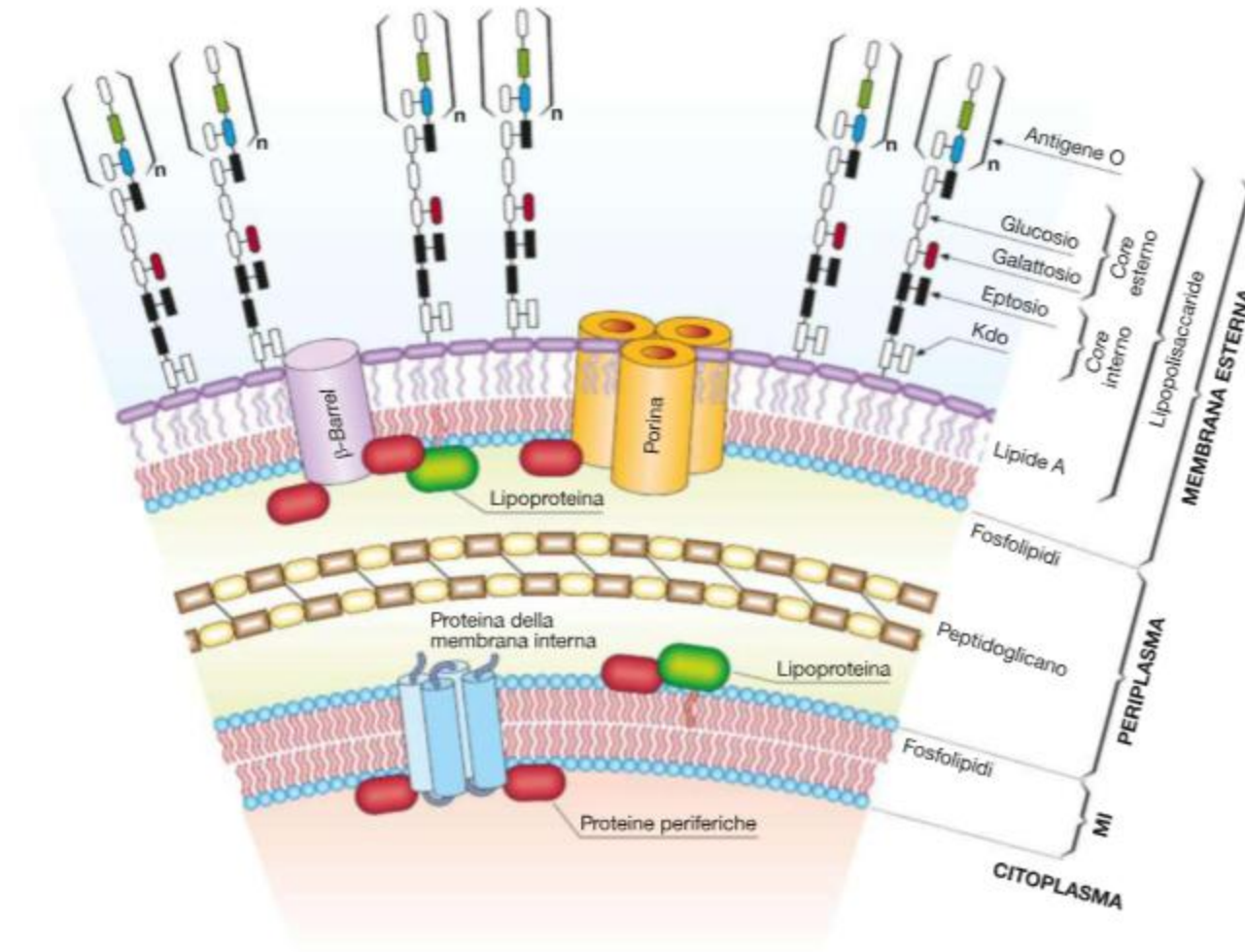


Figura 2.25 Schema generale della parete dei batteri Gram negativi. La struttura dell'involucro cellulare del batterio Gram negativo *Escherichia coli*. I diversi monosaccaridi sono rappresentati da piccoli rettangoli e ovali di colori differenti. L'antigene O è costituito da un lungo polimero di una subunità tetra- o pentasaccaridica di cui è rappresentato un esempio. MI: membrana interna; Kdo: 2-cheto-3-deossittonato.

LA MEMBRANA ESTERNA

- Struttura bilaminare **asimmetrica**:
 - foglietto interno: **fosfolipidi**
 - foglietto esterno: **lipo-polisaccaride (LPS)**
- I lipidi della membrana esterna non consentirebbero il passaggio di molecole idrofiliche, per cui sono presenti:
 - canali (**PORINE**) che consentono la diffusione passiva di piccole molecole: proteine **trimeriche**, pori per composti idrofilici di dimensioni **inferiori a 600-700 dalton** (porine specifiche e aspecifiche)
 - **proteine carrier** per molecole più grosse
- **Lipo-proteine di Braun**: ancorano covalentemente la membrana esterna al peptidoglicano (Lpp in E. coli, 58 aa). Si ancorano all'acido meso-diaminopimelico tramite una lys presente al C-terminale

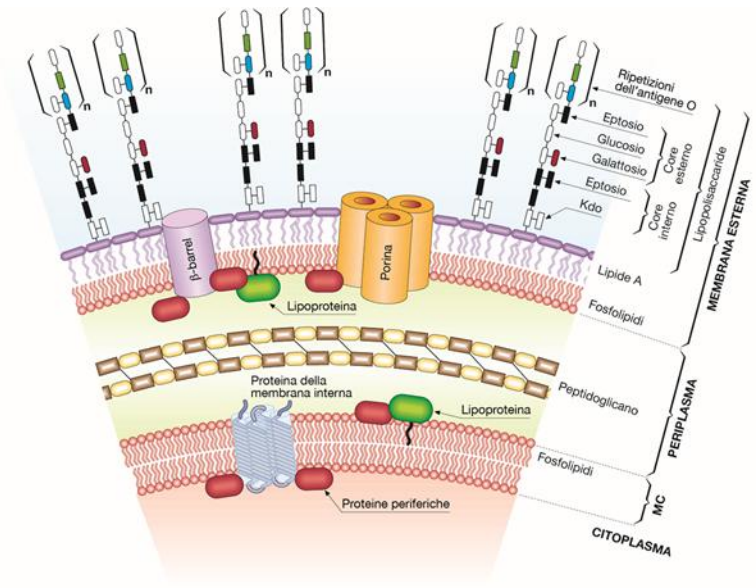
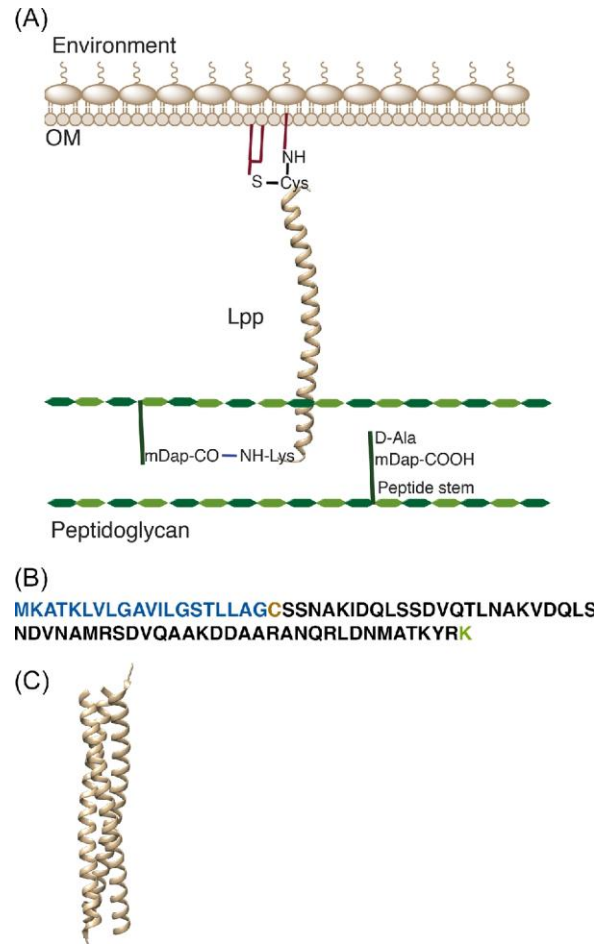


Figure 1. Structural features of Lpp. (A) The lipoprotein Lpp (drawn as a monomer) is anchored to the OM via a lipid ...



FUNZIONI LIPOPROTEINA

- Stabilizzazione delle strutture di superficie della cellula
- Trasporto
- Resistenza ad antibiotici
- Trasduzione del segnale

In assenza di Lpp la membrana esterna risulta destabilizzata e mostra difetti di permeabilità a detergenti e composti tossici

In alcuni batteri sono presenti anche sul lato esterno (Neisseria)

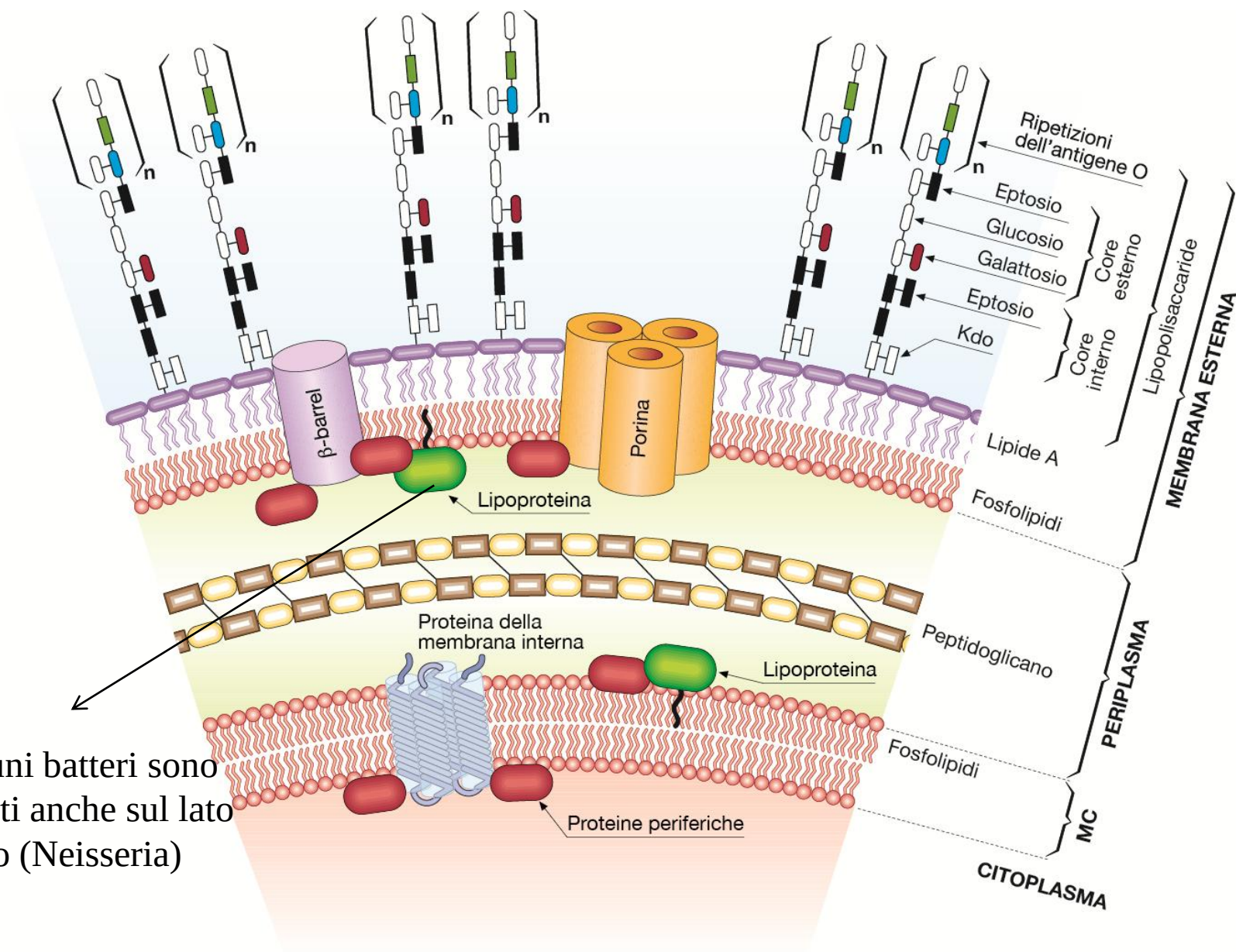
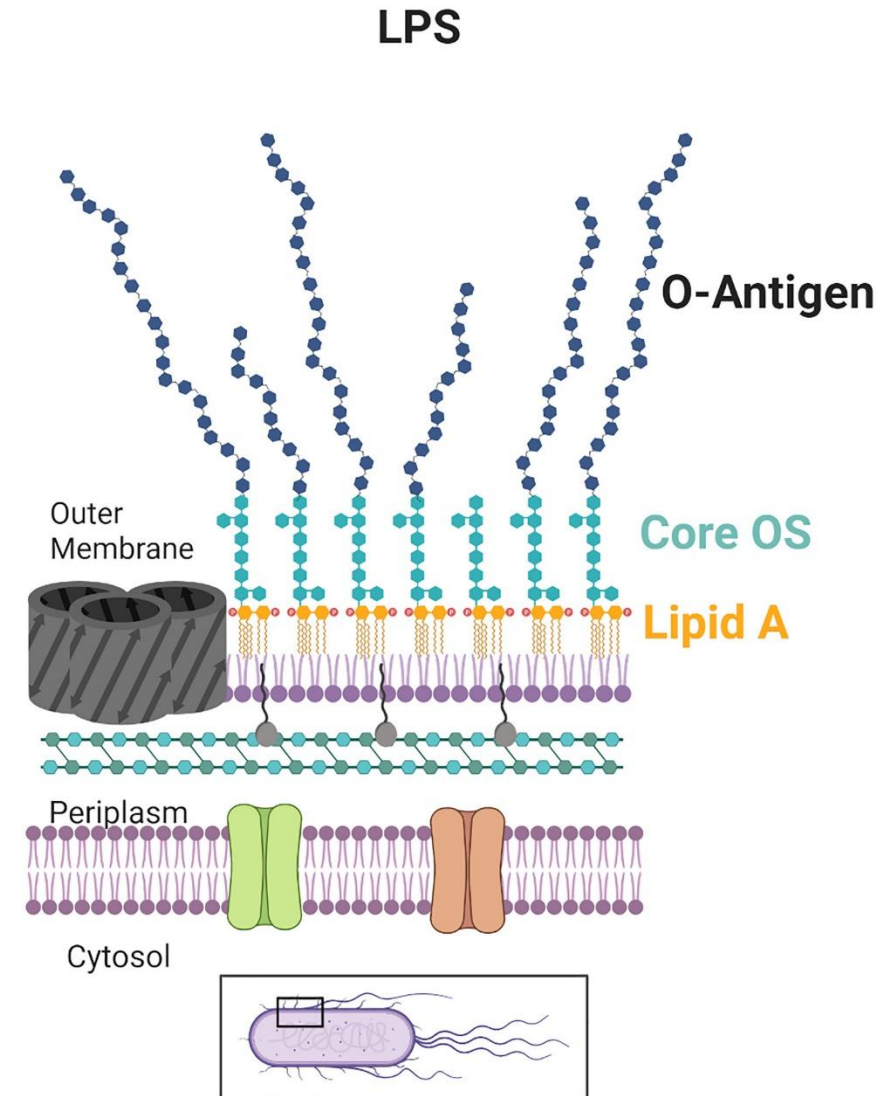


Figura 2.32 SCHEMA GENERALE DELLA PARETE DEI BATTERI GRAM NEGATIVI.

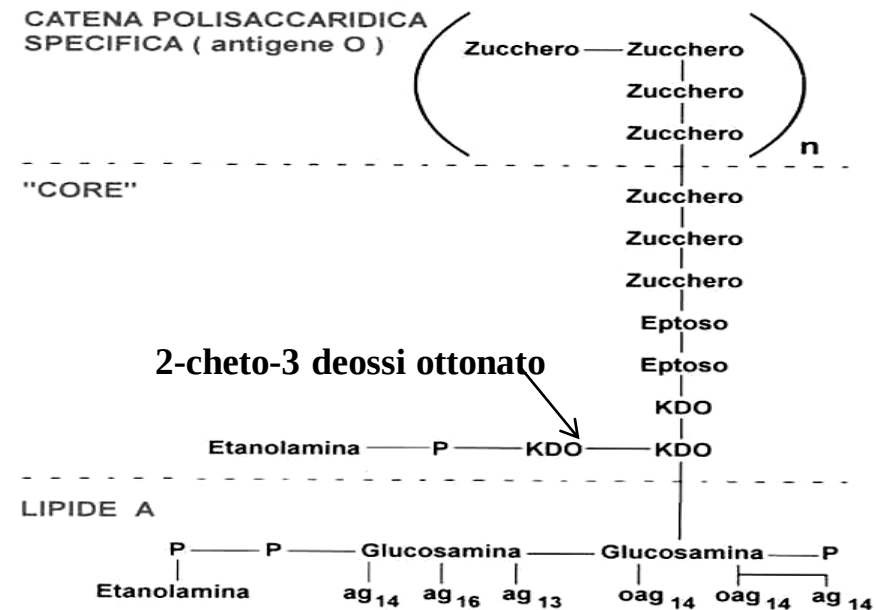
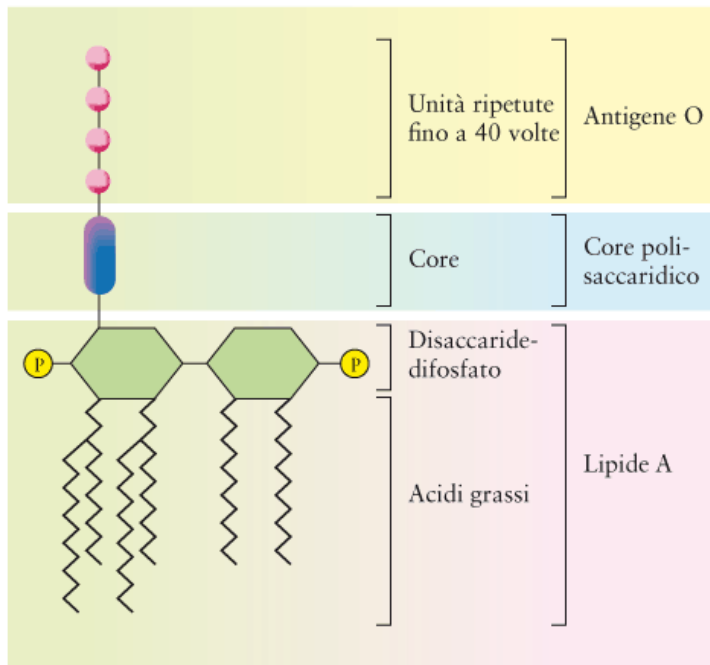
LIPOPOLISACCARIDE LPS

molecola ANFIPATICA
contenente
LIPIDI e RESIDUI SACCARIDICI

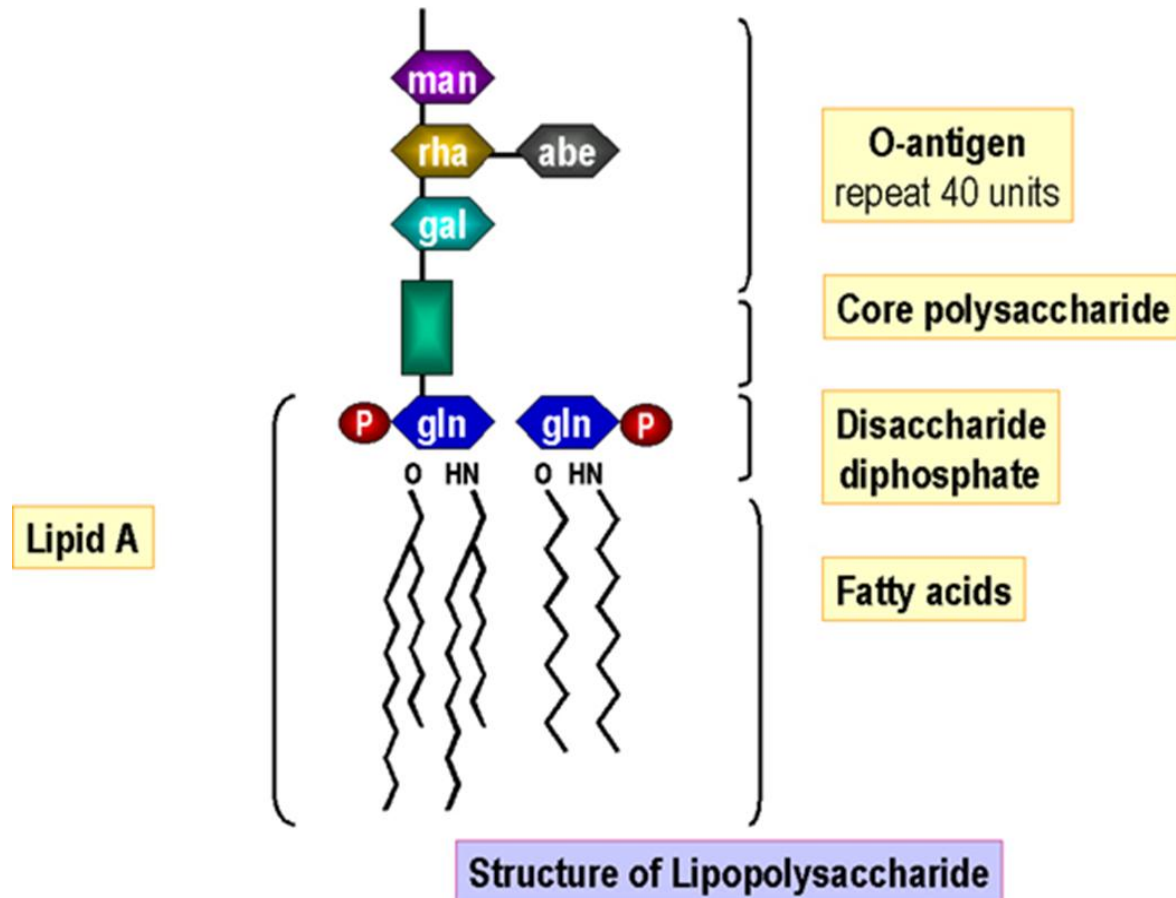


STRUTTURA DEL LIPOPOLISACCARIDE LPS (I)

- Una parte lipidica all'interno (**lipide A**)
- Una porzione polisaccaridica centrale (**core**)
- Una lunga catena polisaccaridica esterna (**Antigene O**)



STRUTTURA DEL LIPOPOLISACCARIDE LPS (II)

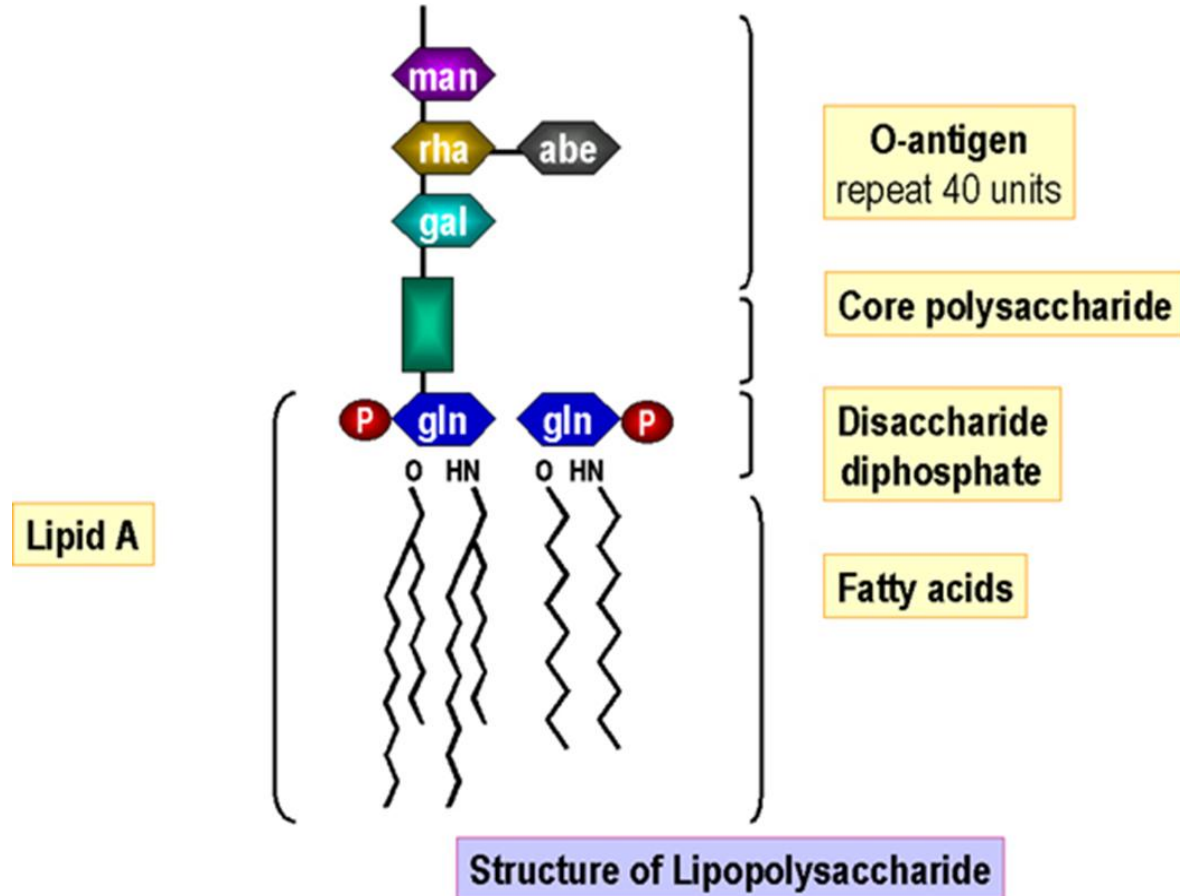


Antigene O: polisaccaride lineare formato da 50-100 unità saccaridiche, permette di distinguere tra sierotipi (ceppi) di una stessa specie batterica. Fornisce una notevole compattezza al batterio.

Il **cambiamento della sequenza degli zuccheri della "catena laterale O"** è un meccanismo efficiente di resistenza del batterio contro le difese immunitarie dell'ospite.

Lipide A possiede un'azione tossica e costituisce l'endotossina dei Gram-.

FUNZIONI DEL LIPOPOLISACCARIDE LPS



- contribuisce a formare una struttura estremamente stabile
- efficacia barriera di permeabilità in grado di impedire l'ingresso di sali biliari o altri composti tossici
- importante fattore di virulenza in grado di evadere le difese dell'ospite

TOSSICITA' LPS

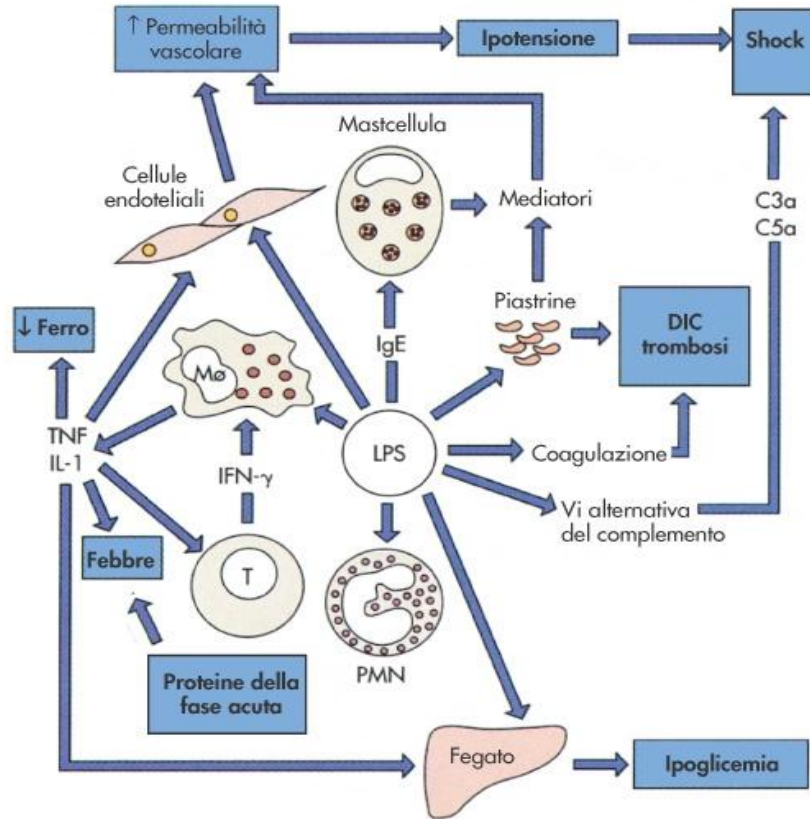
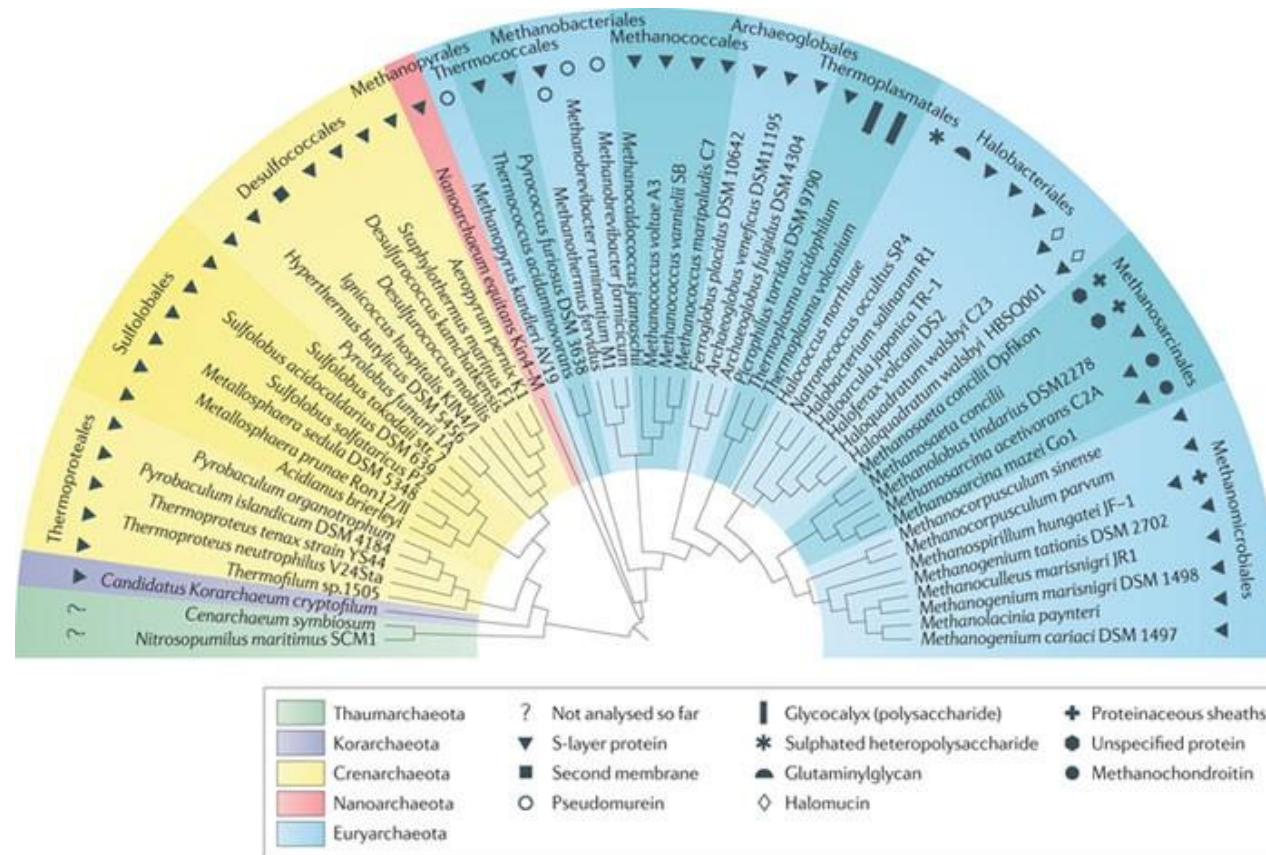


FIGURA 19-2. Le diverse attività del lipopolisaccaride (LPS). Questa endotossina batterica attiva quasi tutti i meccanismi di difesa del sistema immunitario così come il sistema della coagulazione, e ciò rende il lipopolisaccaride uno dei più potenti attivatori noti. DIC = Coagulazione intravascolare disseminata; IFN-γ = interferone gamma; IgE = immunoglobuline E; IL-1 = interleuchina-1; PMN = polimorfonucleati; TNF = fattore di necrosi tumorale. (Ridisegnato da Mims C et al: *Medical microbiology*, London, 1993, Mosby-Wolfe).

- Si libera con la lisi della cellula
- Il lipide A è il responsabile della sua attività tossica
- Rilascio di IL-1 e -6, TNF:
 - ✓ a bassa concentrazione: febbre, vasodilatazione e attiva la risposta immunitaria ed infiammatoria dell'ospite
 - ✓ quando la concentrazione di LPS rilasciato è molto alta, la risposta può essere eccessiva: febbre alta, necrosi tissutale, etc.

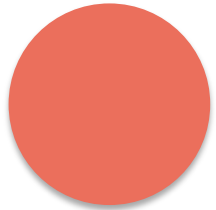
PARETE DEGLI ARCHAEA



Nature Reviews | Microbiology

Figure 1: Diversity of surface envelope types across the domain of Archaea. Nature Reviews Microbiology (2006)

HABITAT DEGLI ARCHAEA



Sorgenti calde

Acqua molto calda e ricca di minerali

CALORE



Laghi salati

Concentrazioni di sale elevatissime

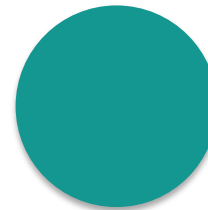
SALE



Fondali e sedimenti

Poco ossigeno e condizioni particolari

FONDALE



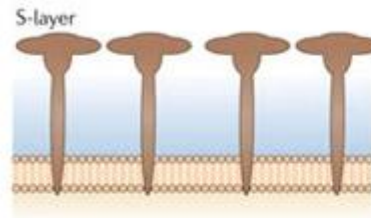
Suoli e oceani

Ambienti ordinari, spesso poco visibili

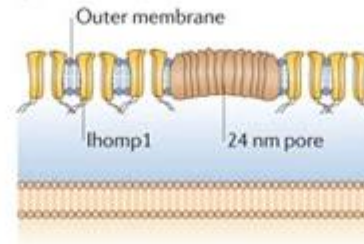
COMUNI

TIPOLOGIE DI PARETI ARCHAEA

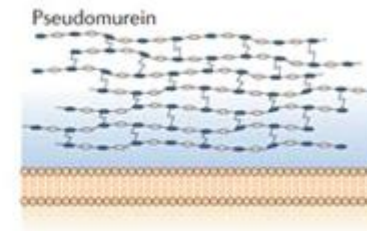
e *Sulfolobales*



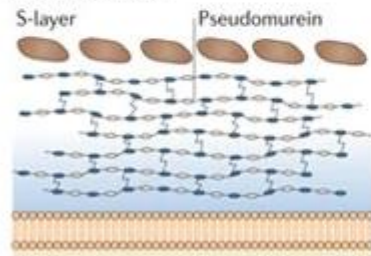
Ignicoccus hospitalis



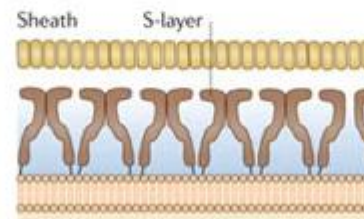
Methanosphaera



Methanothermus



Methanospirillum



Methanosarcina

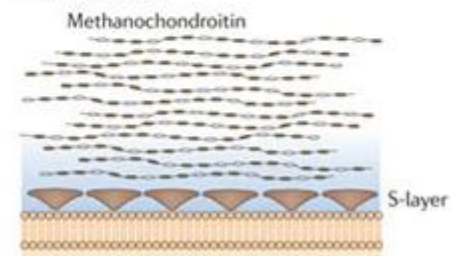


Tabella 2.3 LE PARETI CELLULARI DEGLI ARCHAEA.

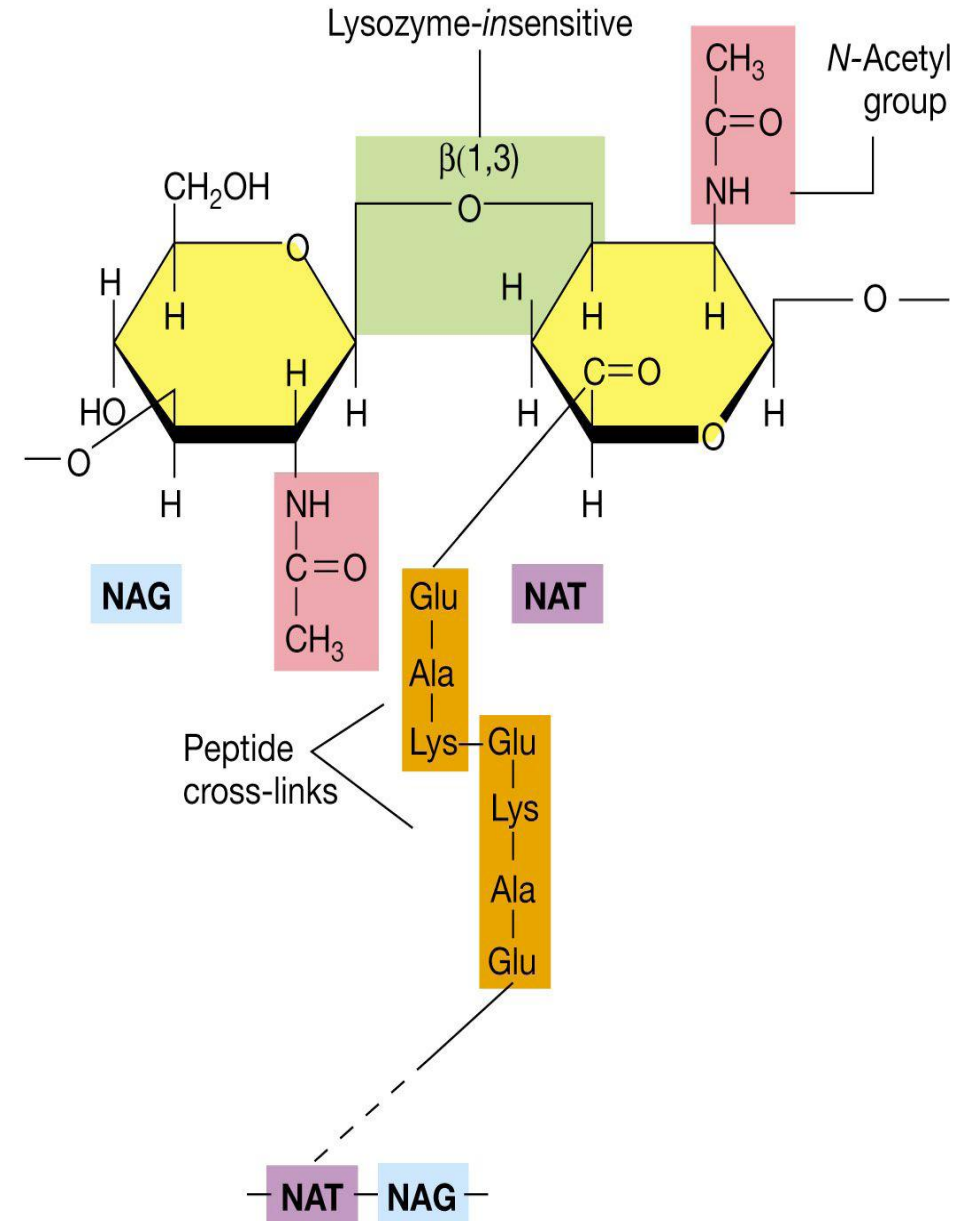
Tipologia di parete	Caratteristiche strutturali/funzionali	Generi caratteristici
Pseudopeptidoglicano	Ripetizione di subunità di <i>N</i> -acetil-glucosamina e acido <i>N</i> -acetil-talosaminuronico; legame glicosidico (β -1,3), resistenti a lisozima; aminoacidi in forma L	Metanogeni: <i>Methanobacterium</i> , <i>Methanobrevibacter</i> , <i>Methanotermus</i>
Polisaccaridi	Galattosamina, acido glucuronico, glucosio; assume colorazione Gram positiva	Metanogeni: <i>Methanosarcina</i>
Glicoproteine	Carboidrati: glucosio, glucosamina, galattosio, mannosio, ribosio, arabinosio; proteine acide (principalmente acido aspartico); bilanciano l'abbondanza di cariche positive dovute all'alta concentrazione di sodio nell'ambiente	Alofili estremi: <i>Halobacterium</i> Ipertermofili: <i>Pyrodictium abissi</i> Metanogeni: <i>Methanomicrobium</i> , <i>Methanosarcina</i>
Proteine	Parete costituita da una singola subunità proteica Parete costituita da varie proteine distinte	Metanogeni: <i>Methanospirillum</i> , <i>Methanococcus</i> , <i>Methanomicrobium</i> Ipertermofili: <i>Sulfolobus</i>
Senza una vera parete	La cellula è avvolta in una singola membrana a triplo strato, 5-10 nm di spessore che contiene lipoglicani tetraetere con catene isoprenoidi C ₄₀ legate a oligosaccaridi contenenti glucosio e mannosio	<i>Thermoplasma</i>

Tabella 2.3 LE PARETI CELLULARI DEGLI ARCHAEA.

PARETE DEGLI ARCHAEA

PSEUDO-PEPTIDOGLICANO:
NAM sostituito da NAT,
acido *N-acetil-talosaminuronico*

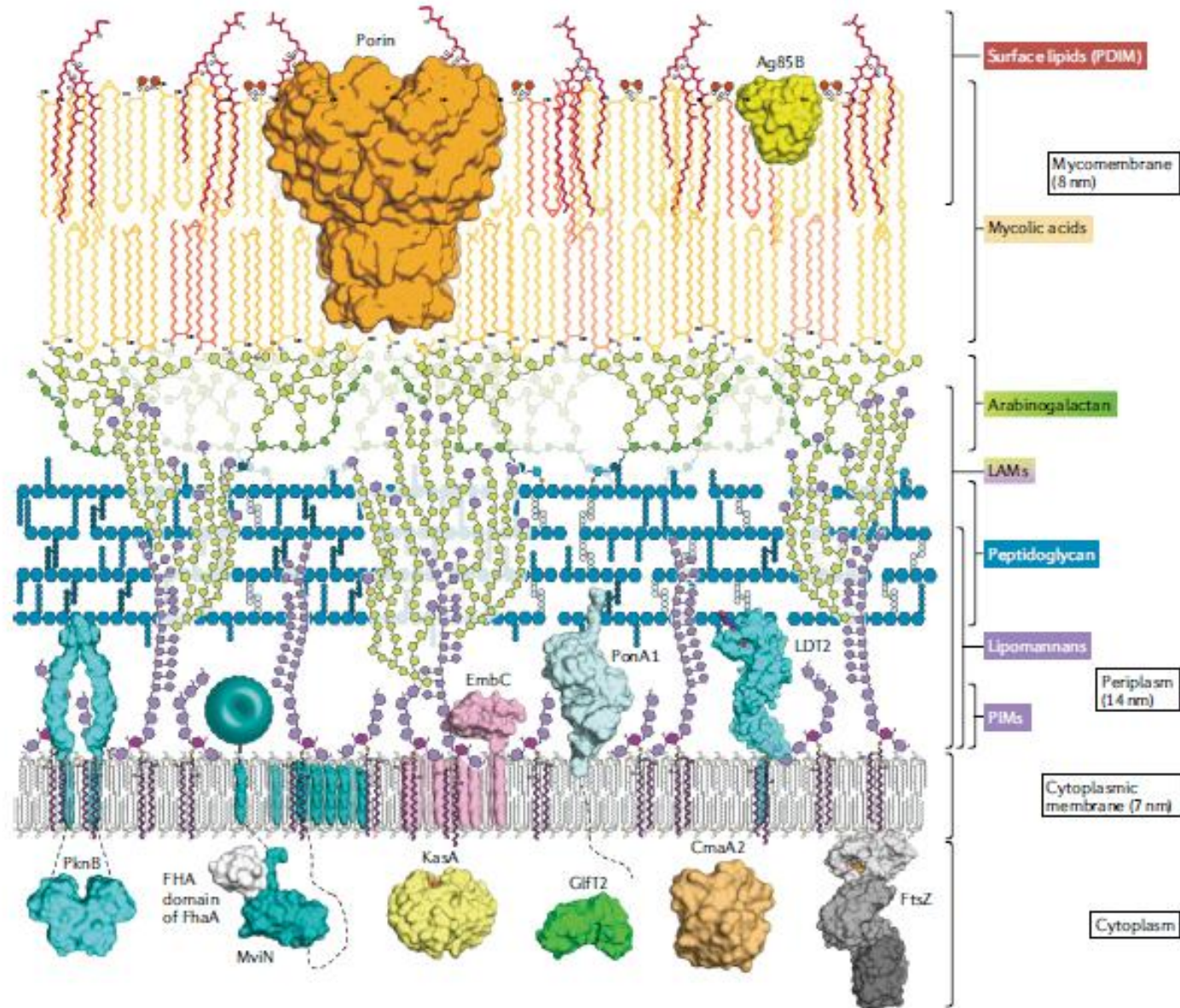
Legame β 1-3 ➡ resistenza al
lisozima e ai β lattamici

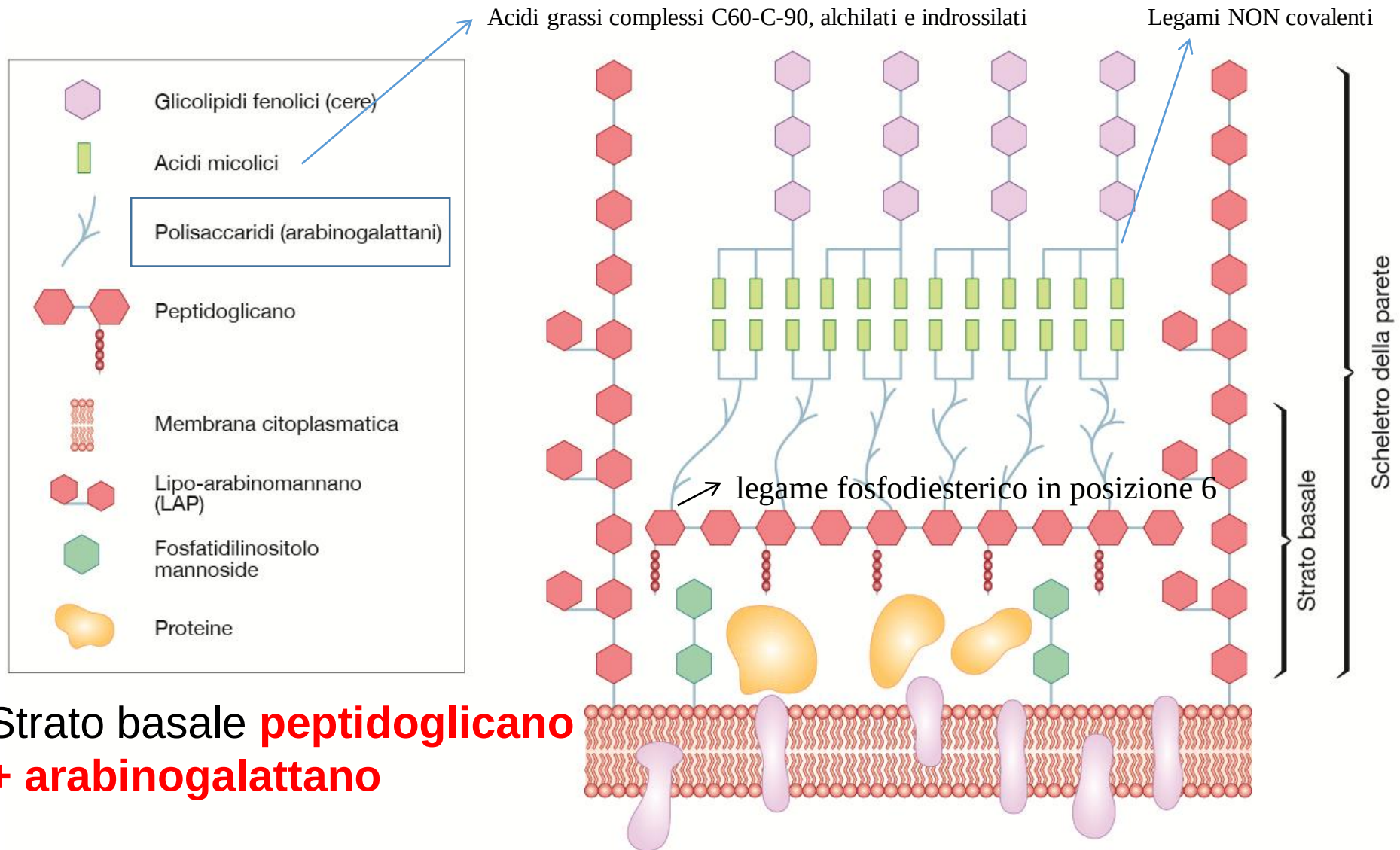


Micoplasmi

- dimensioni: 0.2-0.3 μm
- prevalentemente **parassiti intracellulari** isolabili da piante, animali e uomo
- mancando di parete, presentano cellule sferiche, pleomorfe e flessibili
- negativi alla colorazione di Gram
- dal punto di vista filogenetico (sequenza rRNA 16s) sono Gram positivi a basso contenuto di G/C
- nella membrana: **steroli** $\longrightarrow$ conferiscono una certa rigidità

PARETE dei MICOBATTERI





Strato basale **peptidoglicano**
+ **arabinogalattano**

Strato esterno bistratificato:
acidi micolici + cere (glicolipidi
fenolici)

SCARSA FLUIDITA'

Figura 2.40 **L'INVOLUCRO CELLULARE IN MYCOBACTERIUM.**

Colorazione di Ziehl-Neelsen (acido-resistenza)

Colorazione **differenziale** che permette di identificare i **micobatteri**

- I micobatteri sono trattati a caldo con una soluzione di **fucsina/fenolo in etanolo**
- In queste condizioni tutti i batteri vengono colorati, ma solo i **micobatteri trattengono la colorazione** quando **trattati con** un **decolorante** (3% HCl in etanolo) (batteri AAR: acido-alcool resistenti)
- Il campione è poi trattato con un colorante di contrasto (blu di metilene) per evidenziare eventuali altri batteri non acido resistenti

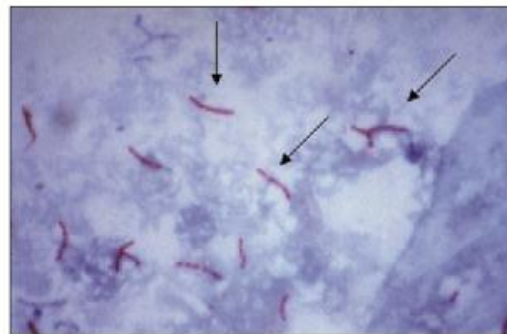
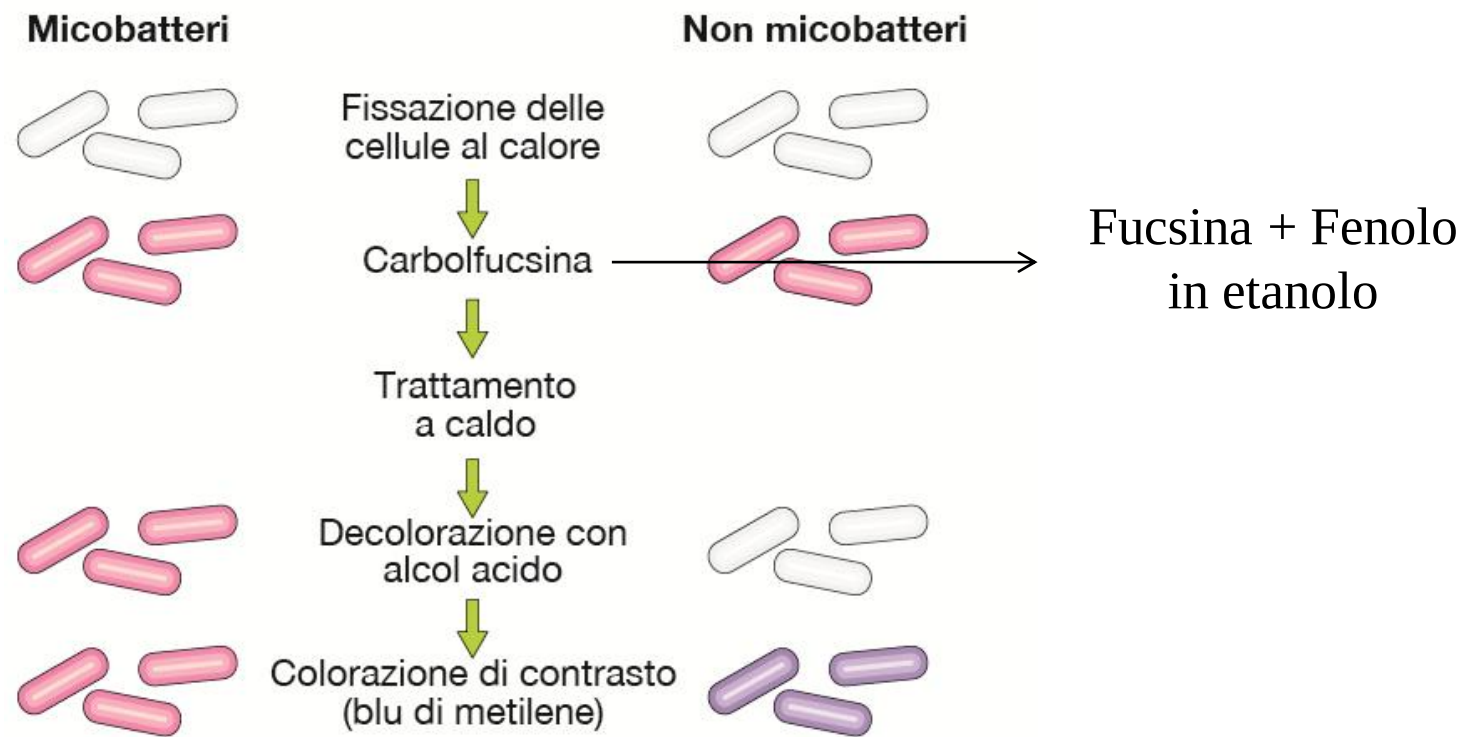
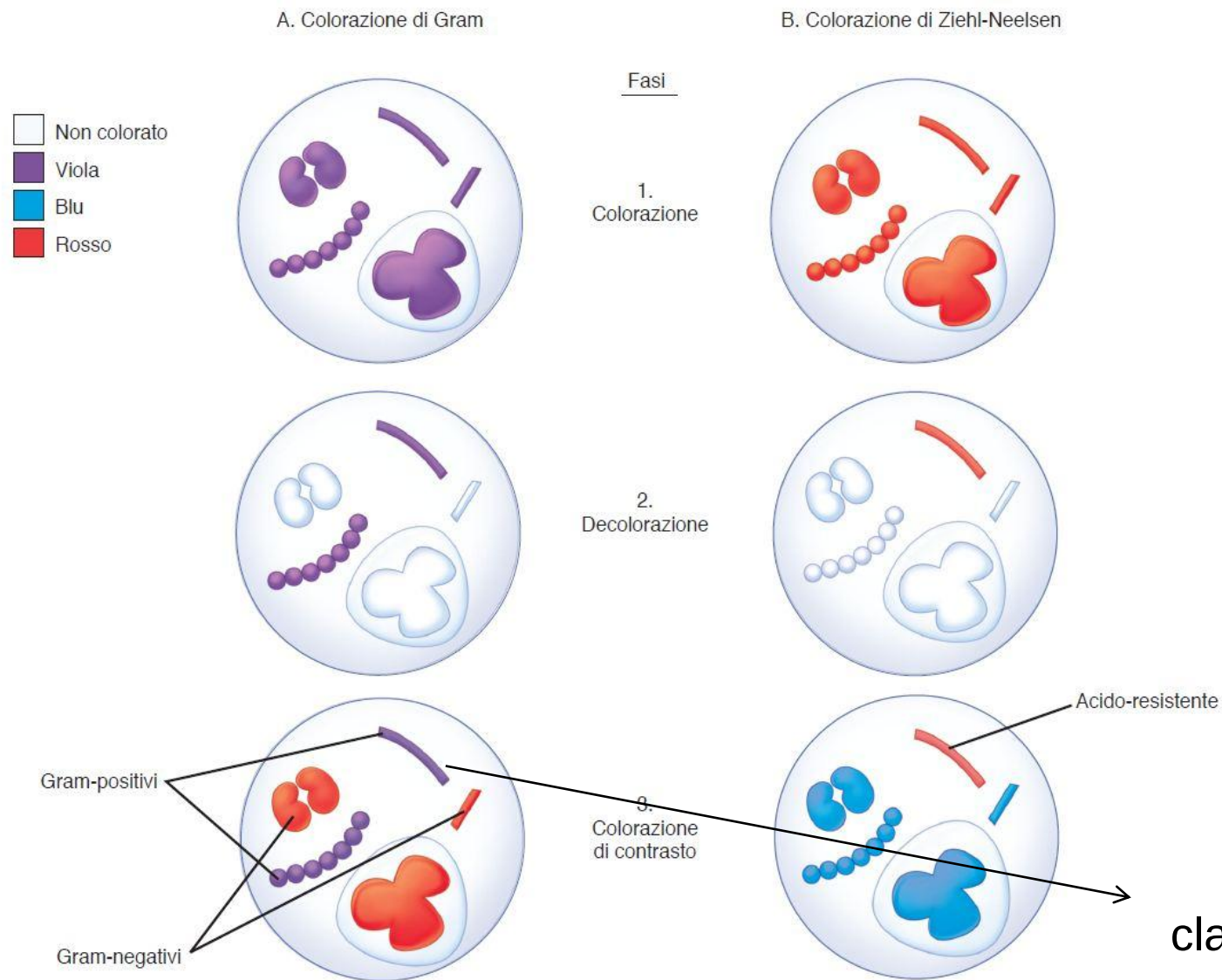
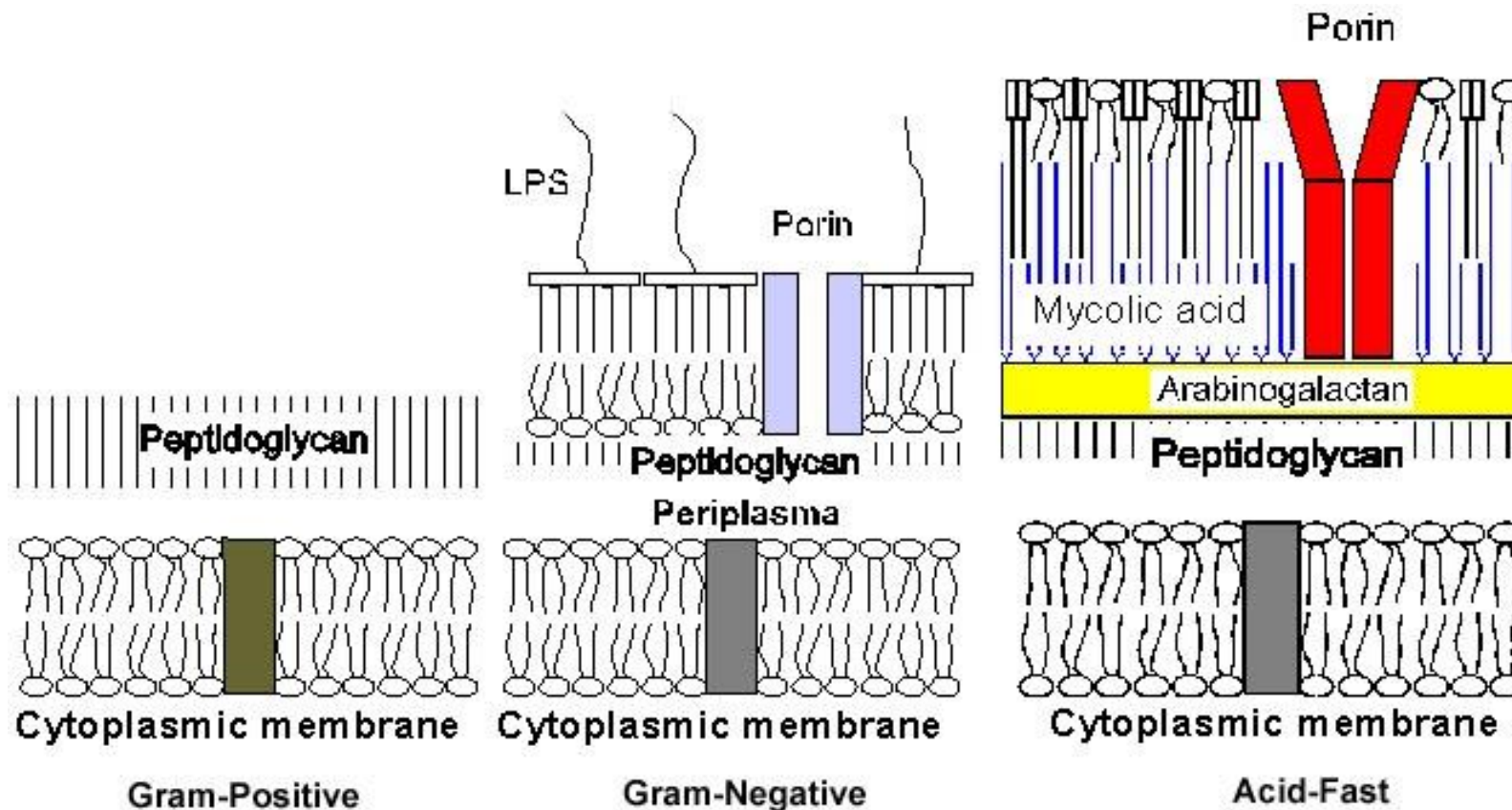


Figura 2.41 PROCEDIMENTO DELLA COLORAZIONE ZIEHL-NEELSEN.



In realtà sono
classificati tra i GRAM-

FIGURA 4-3. Colorazioni di Gram e di Ziehl-Neelsen. In ogni figura sono mostrati quattro batteri ed un neutrofilo polimorfonucleato. Inizialmente sono tutti colorati di viola mediante il cristal-violetto e lo iodio, nella colorazione di Gram (A1), e di rosso mediante la carbol-fucsina nella colorazione di Ziehl-Neelsen (B1). Dopo decolorazione, i batteri Gram positivi e quelli acido-resistenti conservano la loro colorazione originale, mentre gli altri si presentano incolori (A2, B2). La safranina, colorante di contrasto della colorazione di Gram, colora i batteri Gram-negativi in rosso (A3), mentre il blu di metilene li colora in blu per contrastare la colorazione rossa del batterio acido-resistente (B3).



from <http://wbtd15.biozentrum.uni-wuerzburg.de/homepage/Forschung/Theorie/Benz/Zellwand.html>

Micobatteri: in base alla struttura della PARETE, così complessa, una volta venivano considerati Gram positivi; recentemente (2008), “**classificati come Gram negativi**”: infatti è stata riscontrata la presenza di una membrana esterna:
foglietto esterno: molecole anfipatiche
foglietto interno: arabinogalattano/acidi micolici