

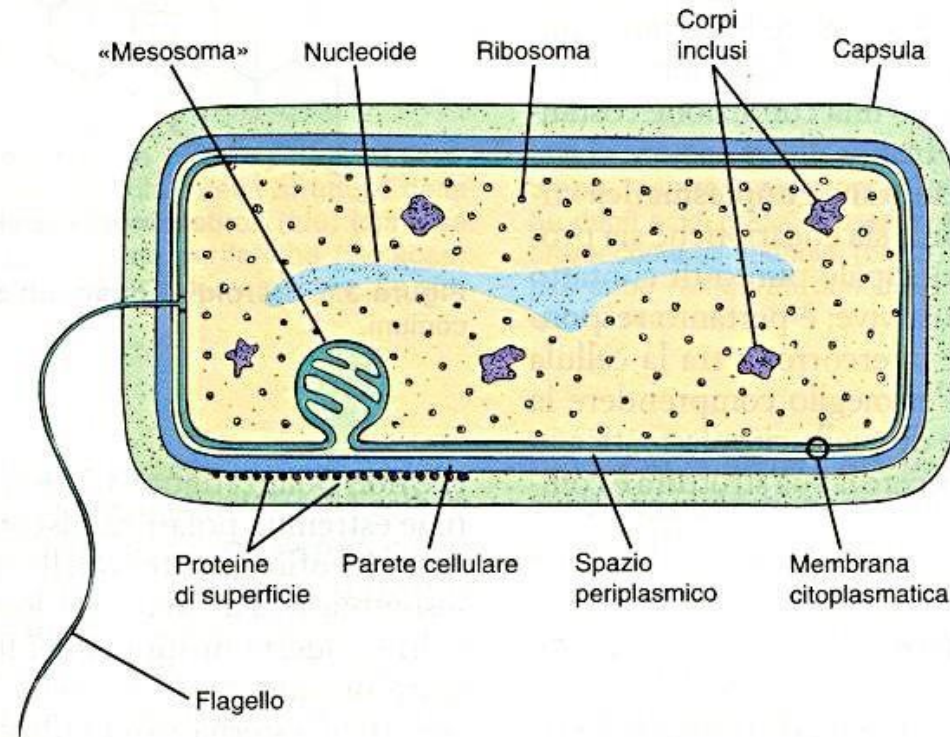
STRUTTURA DELLA CELLULA BATTERICA

RIVESTIMENTO CELLULARE: parete cellulare, membrana plasmatica

APPENDICI: flagelli; pili/fimbrie

REGIONE CITOPLASMATICA: DNA, ribosomi, inclusioni

SOSTANZE POLIMERICHE EXTRACELLULARI



Citoplasma

Nucleoide

Ribosomi

Mancano i mitocondri, i cloroplasti,
l'ergastoplasma ed un sistema vacuolare

Inclusioni: granuli di varia natura, costituiti da
sostanze di riserva

Inclusioni citoplasmatiche: **granuli**

granuli di **glicogeno**:

svolgono una funzione di **riserva di glucosio** (fino al 50% del peso della cellula); si formano in determinate condizioni ambientali (eccesso di carbonio, carenza di azoto)

granuli di **polifosfato**:

(granuli di **volutina o corpi di Babés-Ernest**): funzione di **riserva di fosfato**: si formano quando è inibita la sintesi degli acidi nucleici

Inclusioni citoplasmatiche: **granuli**

granuli di **poli-beta-idrossibutirrato** (PHB, poliestere dell'acido β -idrossibutirrico): **deposito** di **componenti di natura lipidica**; sono stati riscontrati nelle cellule in fase di sporulazione (in alcune specie di *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Spirillum*)

granuli di **zolfo**: funzione di riserva di **zolfo inorganico**, **riserva energetica** per la cellula batterica.

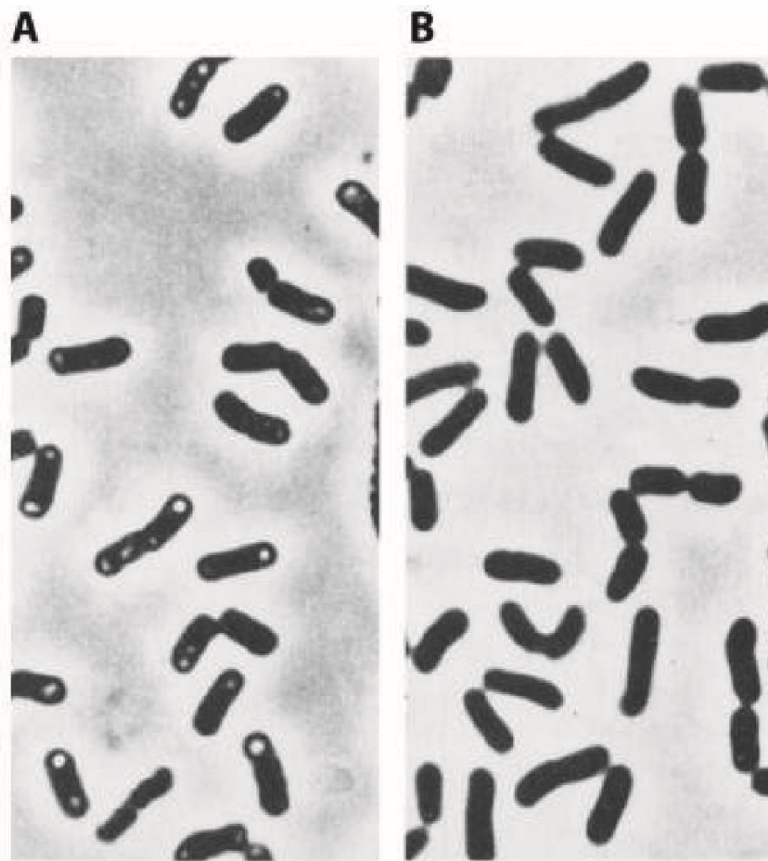


Fig. 2 Funzione dei granuli di riserva. Micrografie a contrasto di fase dei cellule di *Bacillus megaterium*. Le aree chiare all'interno sono granuli di PHB A) Cellule in fase di crescita su concentrazioni elevate di glucosio e acetato. B) cellule della stessa coltura dopo 24 h di incubazione in assenza di fonte di carbonio. Non sono più visibili i granuli perché le riserve sono state utilizzate.



F. R. Turner and M. T. Madigan

Proprietà fisiche: Ha un'elevata cristallinità, una temperatura di fusione di circa 175° C ed è insolubile in acqua.

Proprietà meccaniche: È caratterizzato da elevata rigidità, buona resistenza alla trazione e resistenza alle radiazioni UV.

È completamente biodegradabile, caratteristiche che lo rendono un materiale ecologico. Viene infatti utilizzato per **produrre bioplastiche**.

Il metodo più diffuso e industrialmente rilevante per la produzione di PHB rimane la **fermentazione batterica**. In questo processo, batteri come **Cupriavidus necator**, **Alcaligenes eutrophus** o **Bacillus megaterium** accumulano il PHB sotto forma di granuli intracellulari, che agiscono come riserva energetica e di carbonio.

All'interno delle cellule, i granuli di PHB hanno generalmente un diametro compreso tra 100 e 800 nm. La quantità, la dimensione dei granuli e il peso molecolare del polimero dipendono da diversi fattori, tra cui il ceppo batterico utilizzato, le condizioni di crescita (come disponibilità di nutrienti e temperatura) e il metodo di estrazione del polimero.

Il **PHB può essere isolato dalle cellule tramite processi chimici o meccanici** che ne preservano le caratteristiche fisiche e chimiche, rendendolo adatto a successive applicazioni industriali e biomediche.

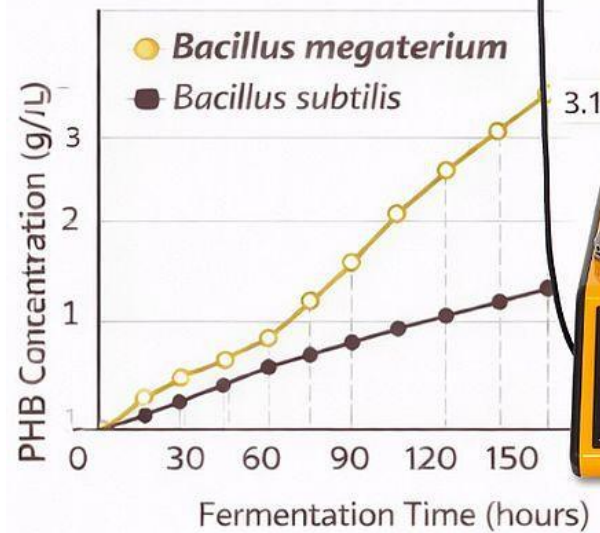
PHB Bioplastic Production

in the

LAMBDA Minifor Fermenter

Fed-Batch Fermentation

- Glycerol & Glucose
- High C:N Ratio
- Aerobic Conditions (30°C)



Bacillus megaterium

High PHB ~3.1 g/L



Bacillus subtilis

Moderate PHB



Trace Element
Limitation



Stationary Phase
PHB Accumulation



Sustainable Bioplastic Research

Nel **campo ambientale e industriale** è utilizzato per la produzione di **imballaggi ecologici, sacchetti, contenitori e pellicole**, ma anche per film agricoli destinati alla pacciamatura, che si degradano naturalmente nel suolo riducendo l'impatto ambientale dei rifiuti plastici.

In **ambito medico** il PHB ha applicazioni di particolare rilievo: viene sfruttato per realizzare **suture riassorbibili, dispositivi temporanei, supporti per la rigenerazione tissutale e sistemi di rilascio controllato di farmaci**, poiché si degrada gradualmente all'interno dell'organismo senza effetti tossici.

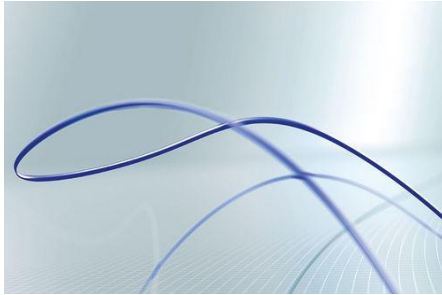
Sul **piano industriale** può sostituire il polipropilene in alcune lavorazioni, entrare nella produzione di componenti biodegradabili per l'elettronica o essere impiegato come rivestimento protettivo.

Infine, in **ambito di ricerca** il PHB viene utilizzato per ottenere **nanoparticelle** a scopo terapeutico o la produzione di copolimeri, come il PHBV, poliidrossibutirrato-co-valerato, che ne migliorano le proprietà meccaniche ed elastiche.



1. Imballaggi biodegradabili

Produzione di vaschette, contenitori, film e rivestimenti per imballaggi. Il PHB viene spesso miscelato con altri polimeri per migliorarne flessibilità e lavorabilità.



2. Applicazioni biomedicali

Studio e sviluppo di suture riassorbibili, scaffold per ingegneria tissutale e sistemi di rilascio controllato di farmaci. Molte applicazioni del PHB puro sono ancora in fase di ricerca o sviluppo.



3. Agricoltura

Film per pacciamatura, supporti biodegradabili e formulazioni per il rilascio graduale di sostanze attive. Le prestazioni dipendono dalla formulazione e dalle condizioni ambientali.



4. Stampa 3D e materiali tecnici

Sviluppo di filamenti e compositi biodegradabili. Il PHB puro è relativamente fragile e presenta una finestra di lavorazione termica limitata, perciò vengono spesso utilizzate miscele polimeriche.

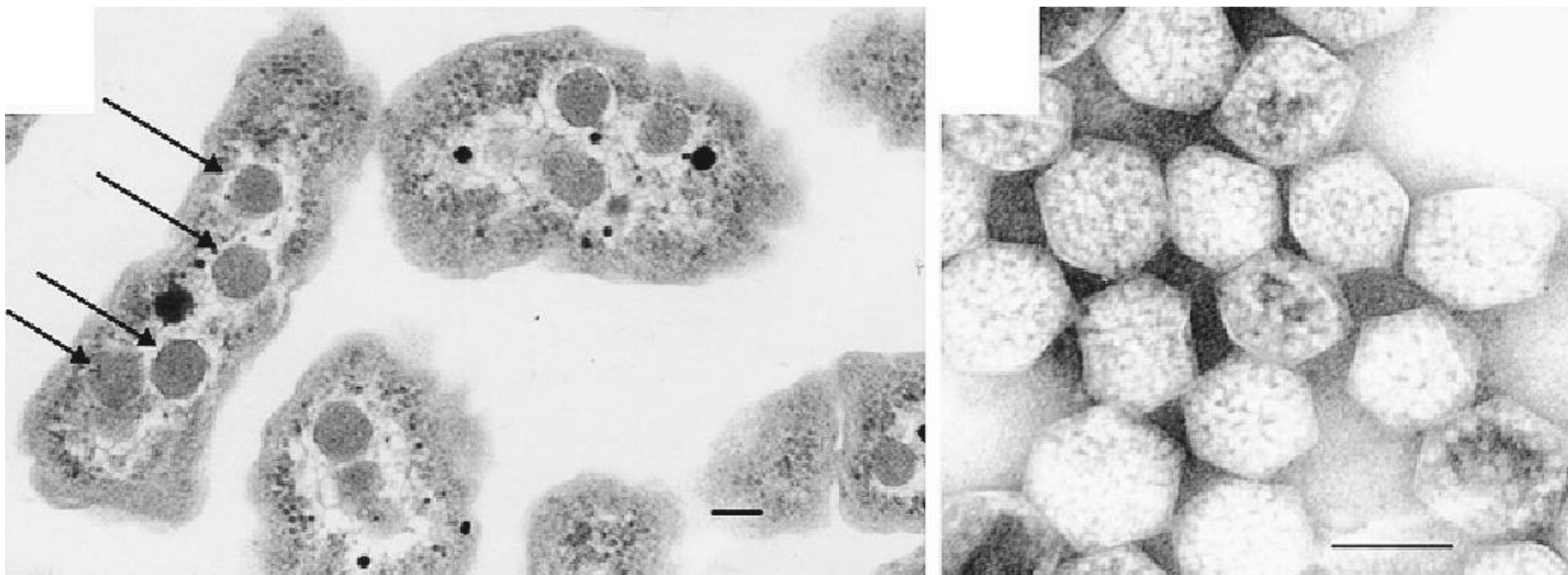


Figura 2.77 GRANULI DI ZOLFO.

“Organelli” procariotici

- vacuoli gassosi
- clorosomi
- carbossisomi
- magnetosomi

Sono avvolti da una **membrana atipica: monostratificata**, più sottile della membrana citoplasmatica, costituita da proteine

Vacuoli gassosi

Sono delle formazioni tubolari cave, caratterizzati da una membrana costituita da proteine (GVpA e GvpC) e permeabile ai gas (impermeabile ad acqua e soluti)

Sono presenti in molti **procarioti acquatici** privi di flagello (cianobatteri. batteri fotosintetici)

Garantiscono il **galleggiamento** (regolazione della profondità) della cellula microbica, permettendole di disporsi nei livelli d'acqua dove la **luce**, il **tenore d'ossigeno** ed i **nutrienti** consentono condizioni per il loro sviluppo

Clorosomi

Presenti nei batteri verdi fotosintetici:
contengono i pigmenti fotosintetici, le
batterioclorofille C, D, E

Vescicole strettamente associate alla
membrana citoplasmatica (faccia interna)
mediante una placca basale (**consentono di
distinguere i batteri verdi dagli altri batteri
fotosintetici**)

Carbossisomi

Sono strutture tipiche di alcuni batteri fotosintetici (cianobatteri e alcuni batteri rossi) e di batteri nitrificanti

caratterizzati dalla presenza di attività enzimatica (ribulosio 1,5-difosfato carbossilasi) (batteri che utilizzano CO_2 come unica fonte di C)

Vengono utilizzati per fissare l'anidride carbonica o, semplicemente, come sito di deposito per l'enzima carbossilasi

Magnetosomi

Presenti nei batteri **magnetotattici**: acquatici, Gram negativi, *mobili* e *microaerofili* (o anaerobi obbligati)

Sono ripieni di **cristalli di magnetite** (ossido di ferro, Fe_3O_4): **per orientare la cellula**. L'allineamento impartisce proprietà magnetiche, orientando le cellule lungo campi geomagnetici (linee di forze magnetiche) (poi è il flagello a imprimere la propulsione per il movimento)

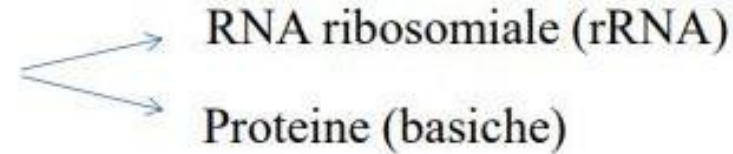
Inclusioni citoplasmatiche: **magnetosomi**



Ribosomi

Caratteristiche strutturali e funzionali del Ribosoma

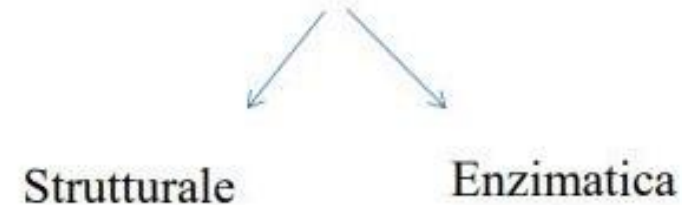
Natura ribonucleoproteica



Unità minore in blu, unità maggiore in giallo, r-RNA in rosso
<http://www.igmc.it/ricerca/struttura/>

rRNA ha una funzione di impalcatura
per le proteine ribosomiali

Le proteine hanno una duplice funzione



Premio Nobel per la Chimica 2009

"for studies of the structure and function of the ribosome"



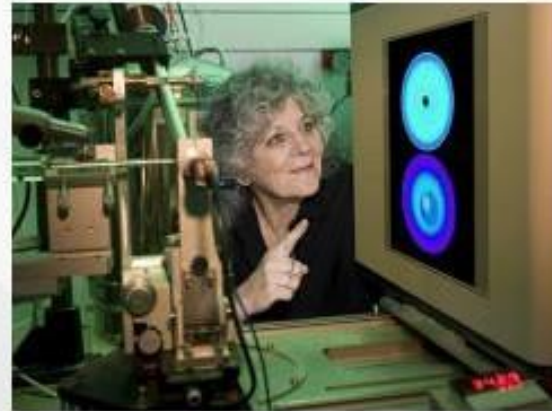
Venkatraman
Ramakrishnan

MRC Molecular Biology,
Cambridge, UK



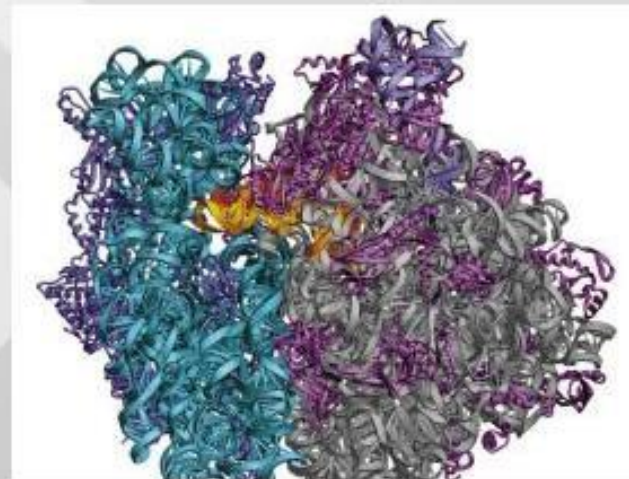
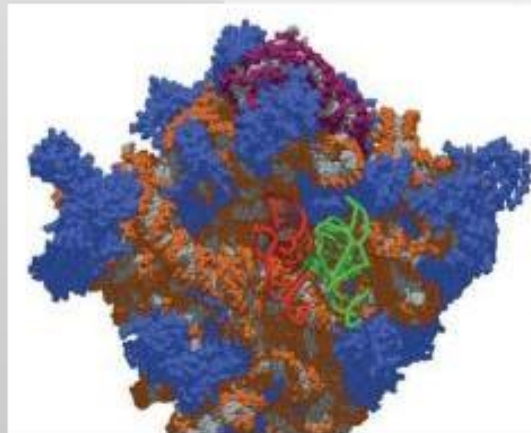
Thomas A. Steitz

Yale University, New Haven



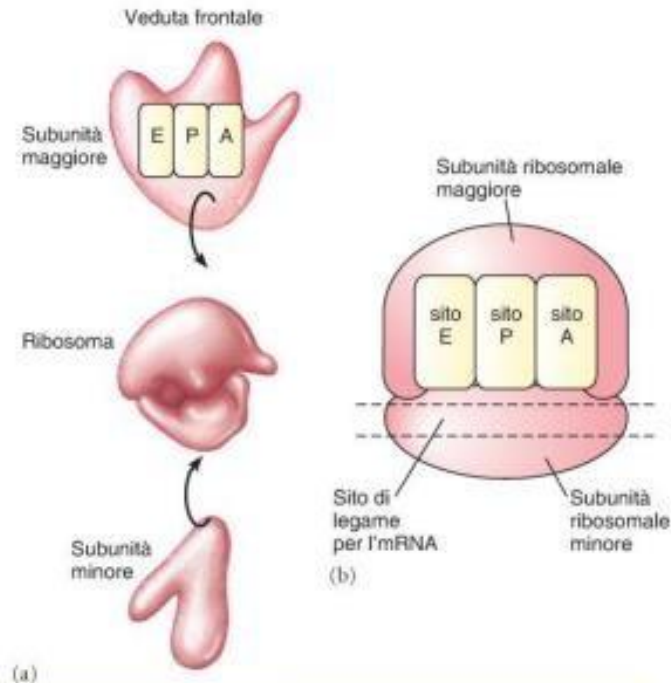
Ada E. Yonath

Weizmann Institute, Israel



Fonte:
<https://www.nobelprize.org>

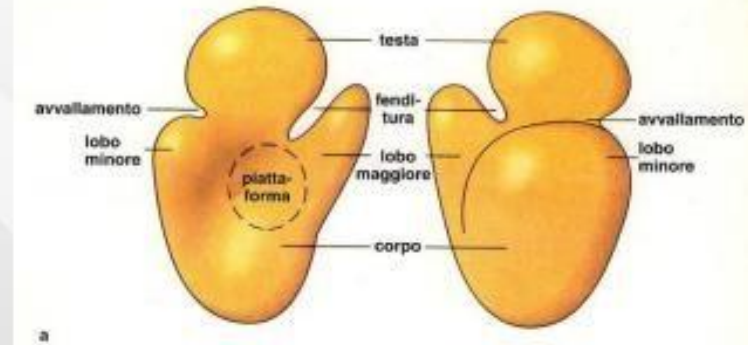
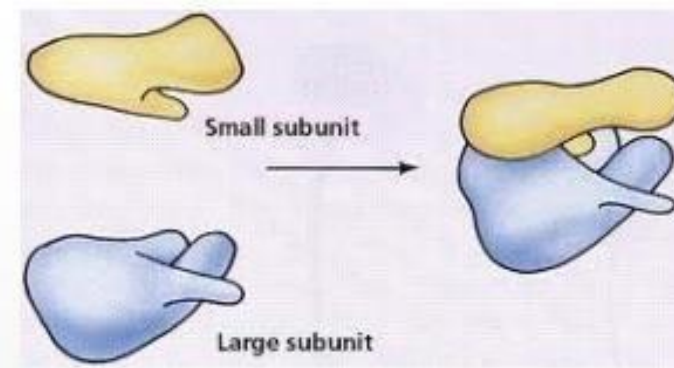
Il ribosoma, grande macchina molecolare per la sintesi proteica



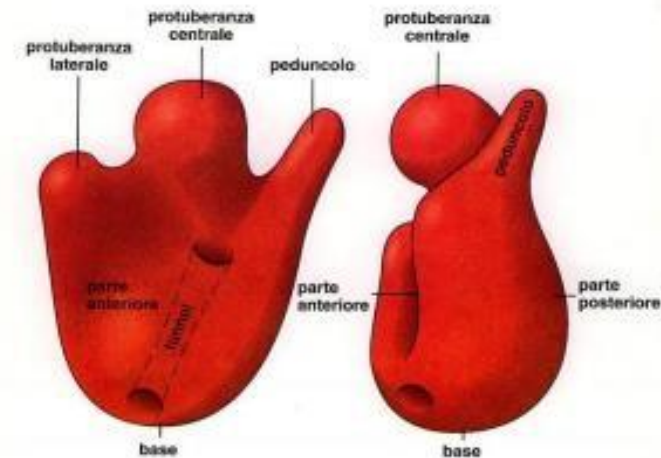
(a)

FIGURA 12-10 Struttura del ribosoma.

(a) Questo modello di ribosoma è basato su ricostruzioni tridimensionali di immagini al microscopio elettronico. Un ribosoma è formato da due subunità, una maggiore ed una minore. **(b)** L'mRNA passa attraverso uno spazio presente tra le due subunità ribosomali. Ciascun ribosoma contiene tre siti di legame (i siti A, P ed E) che hanno un ruolo importante nella sintesi proteica.



a

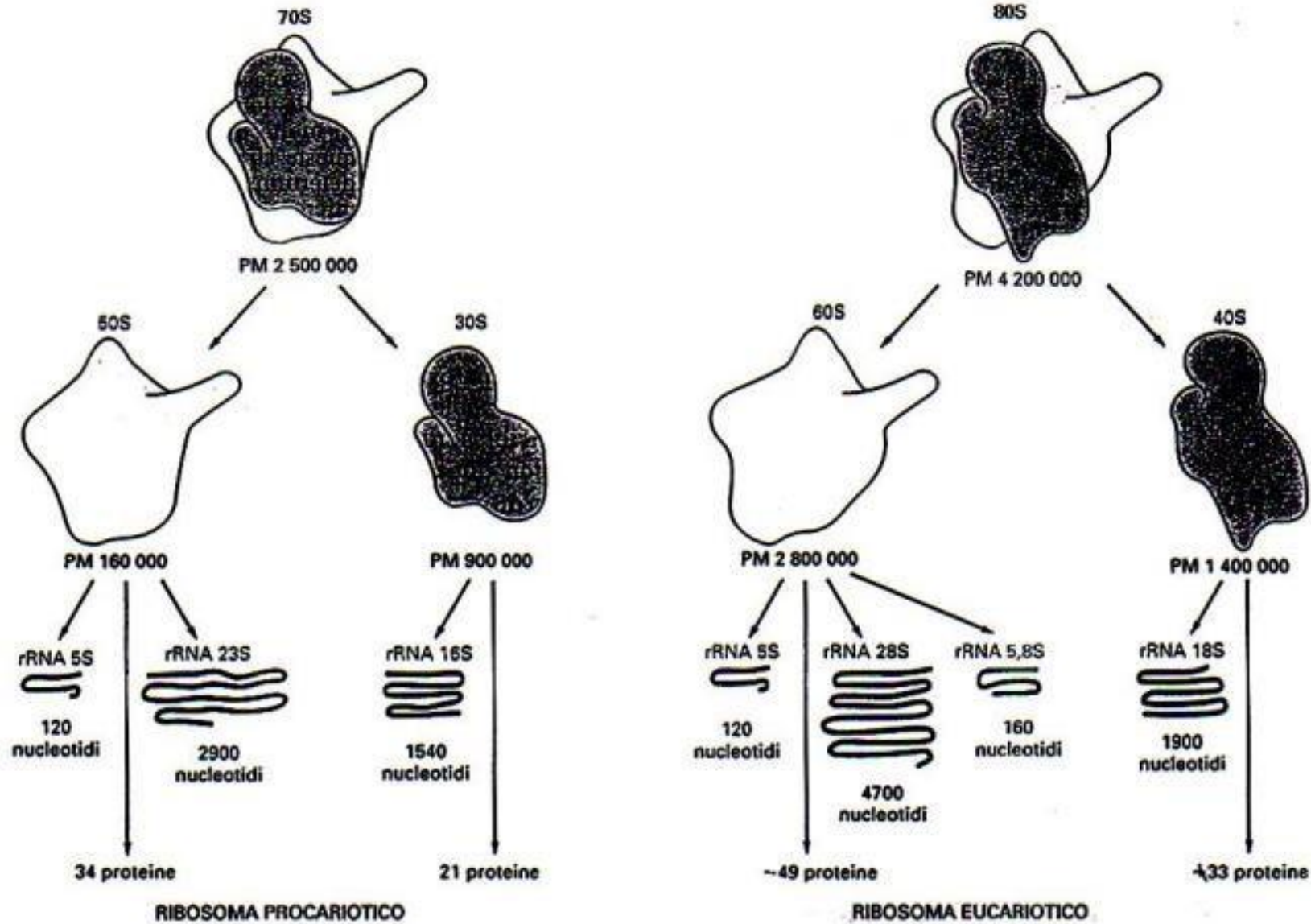


b

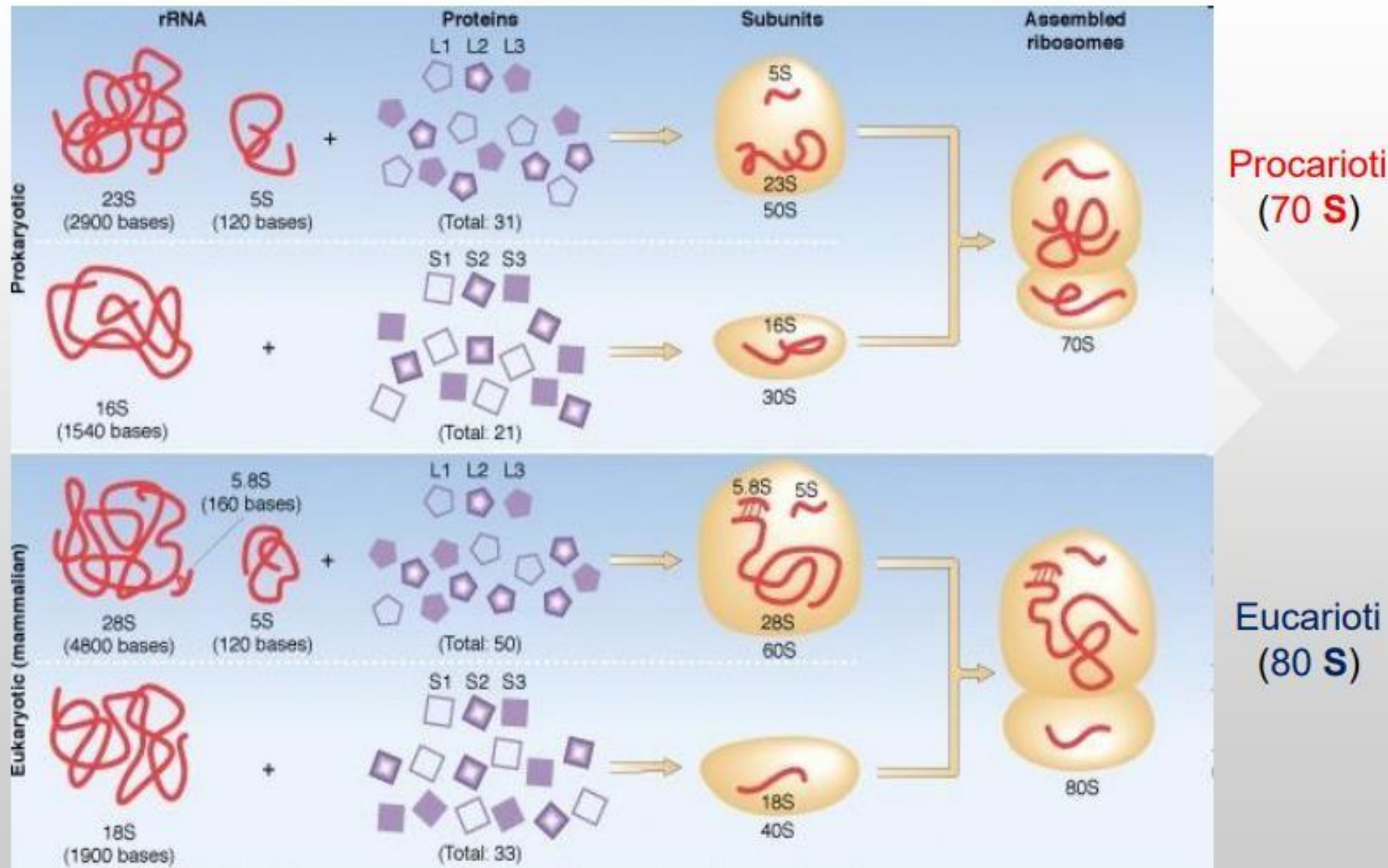
Fonti:

Sadava et al., 2014, 2019; Solomon et al., 2012

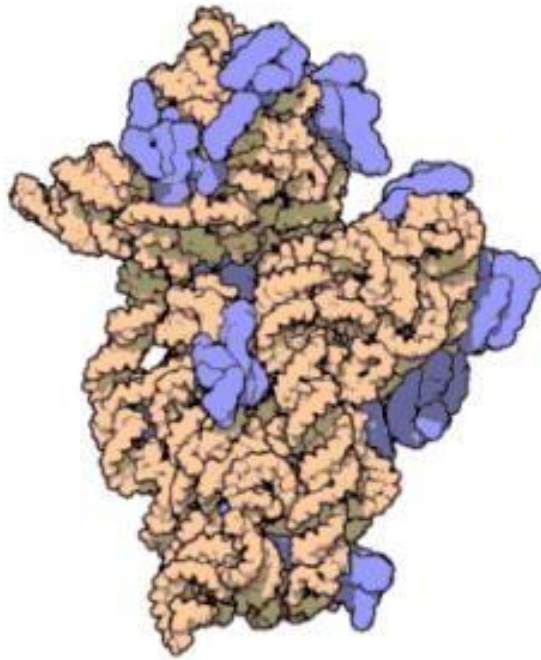
Ribosomi dei **Procarioti** (70 **S**) e degli **Eucarioti** (80 **S**)



Composizione dettagliata in rRNA e proteine dei ribosomi procariotici ed eucariotici

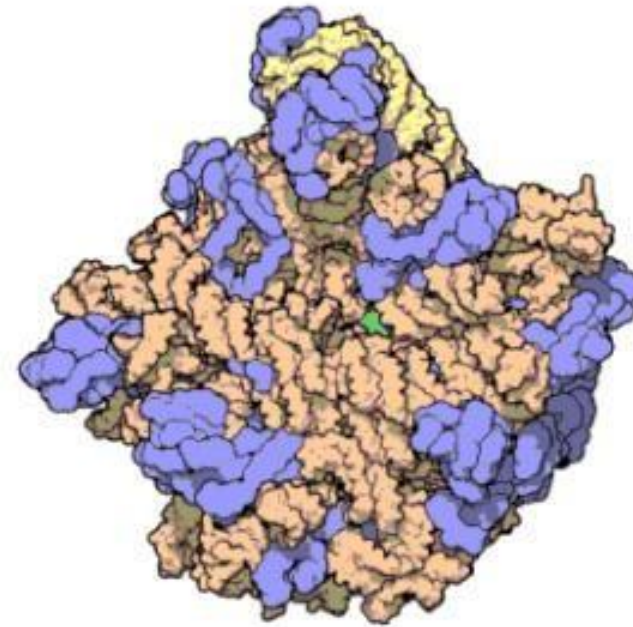


Relazioni tra rRNA e proteine nel ribosoma batterico 70 S:
gli **rRNA sono indicati in rosa**, le **proteine in blu** e il **sito attivo in verde**



Subunità 30S dell'archeobatterio
termofilo *Thermus thermophilus*

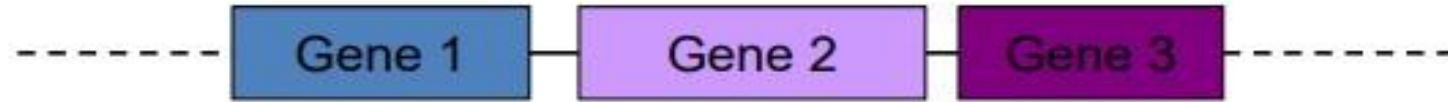
Fonte: Wimbley et al., Nature 407: 327-339, 2000



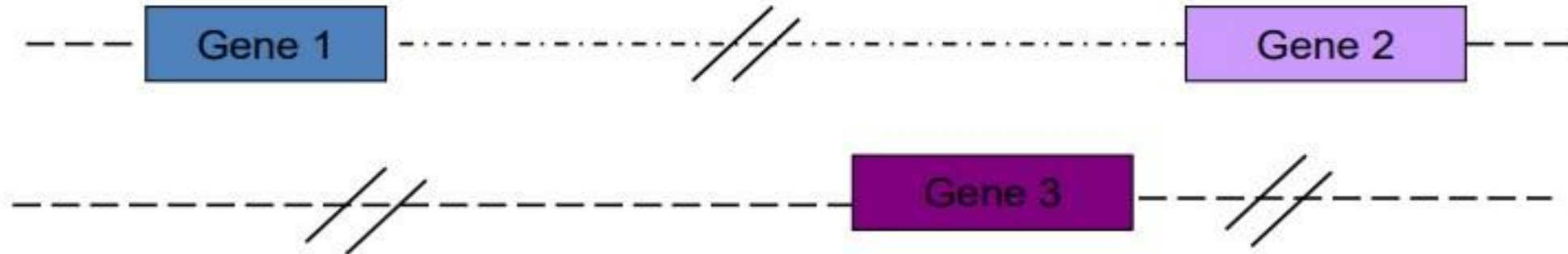
Subunità 50S dell'archeobatterio
iperalofofilo *Haloarcula marismortui*

Fonte: Ban et al., Science 289: 905-920, 2000

Nei procarioti i singoli geni sono separati da brevi sequenze non codificanti

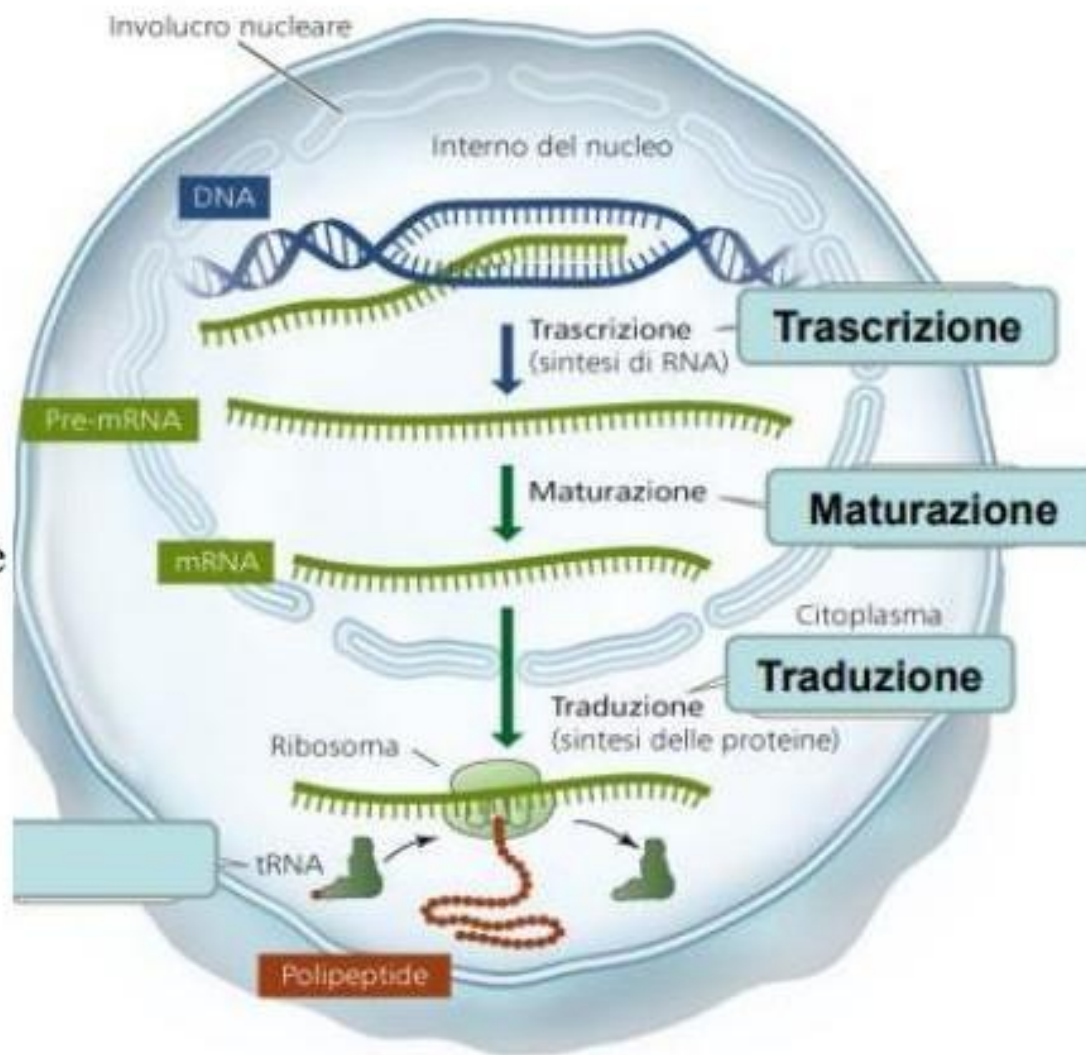


Negli eucarioti i singoli geni sono separati da lunghissime sequenze non codificanti

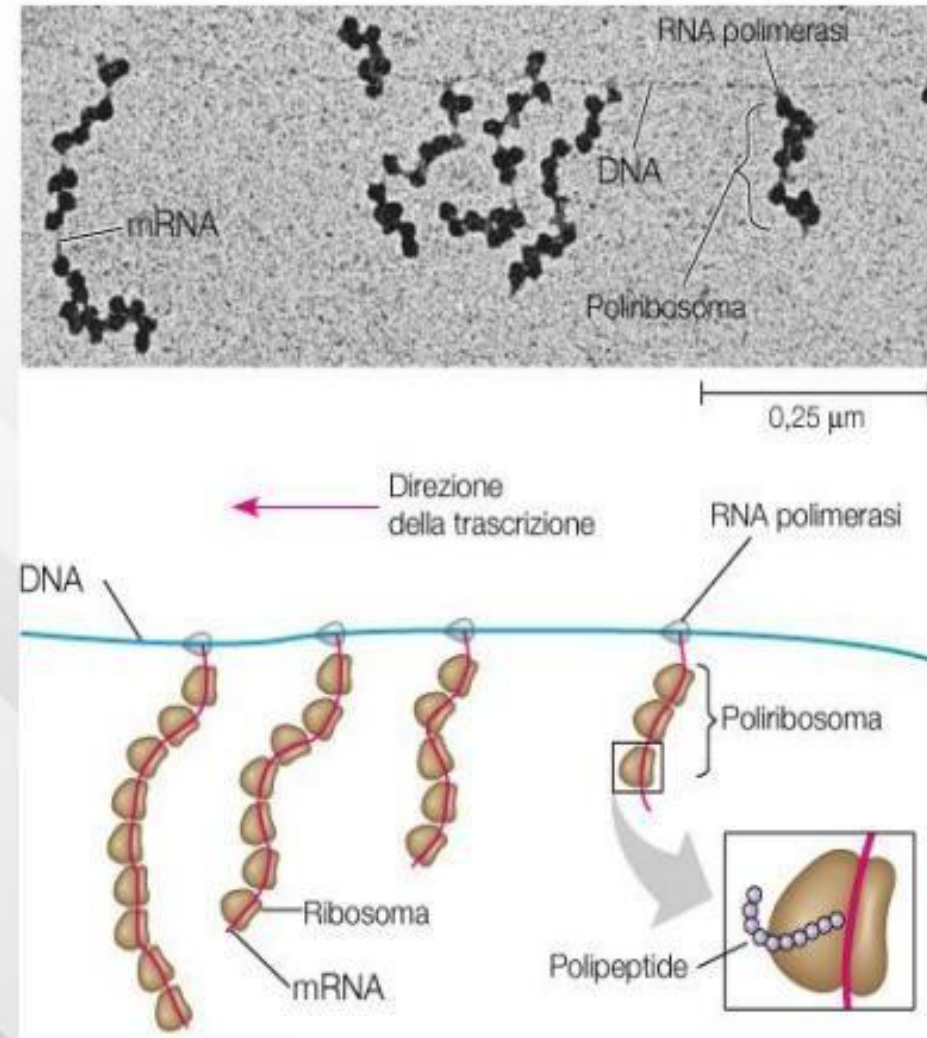
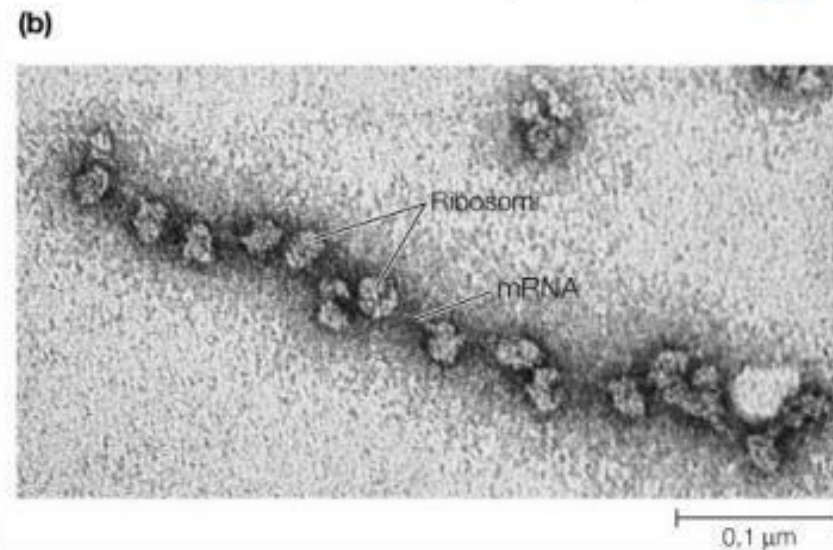
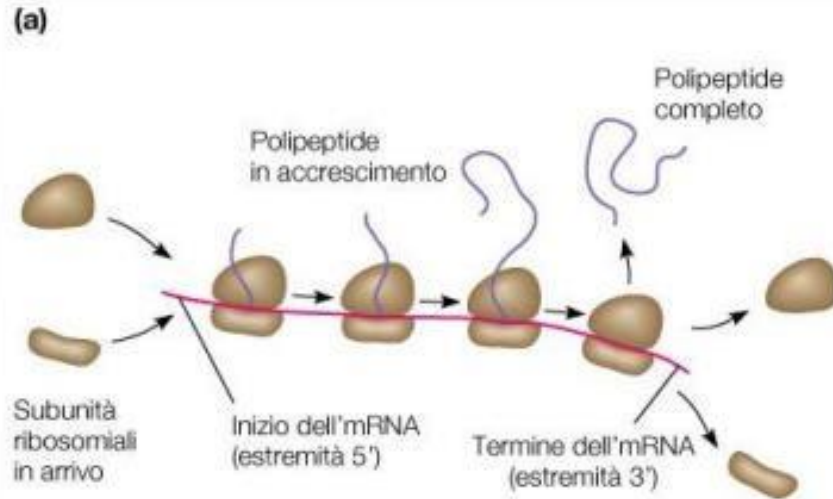


Trascrizione e traduzione

Dogma centrale
della biologia
molecolare: processo
con cui l'informazione
contenuta nel DNA
dirige la sintesi delle
proteine.



Il ribosoma procariotico al lavoro

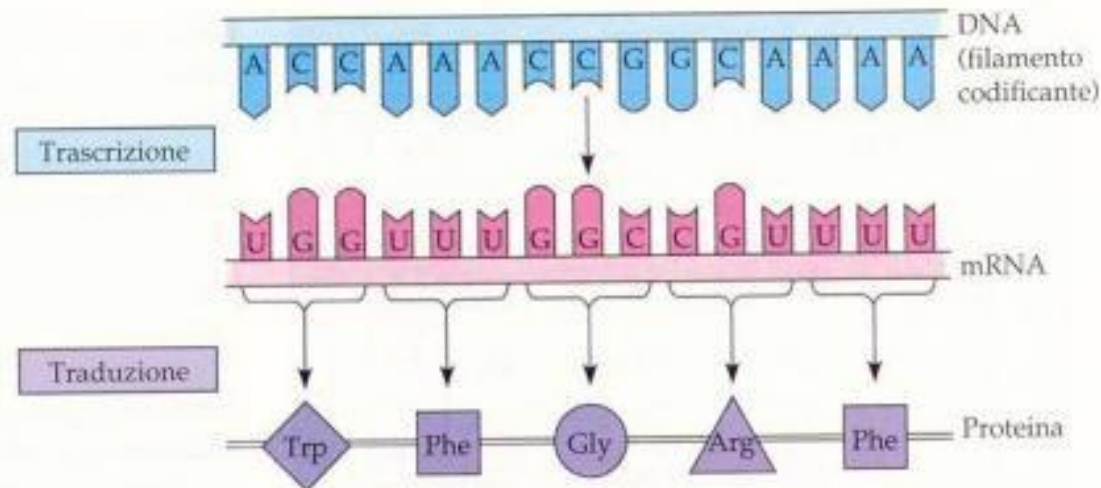
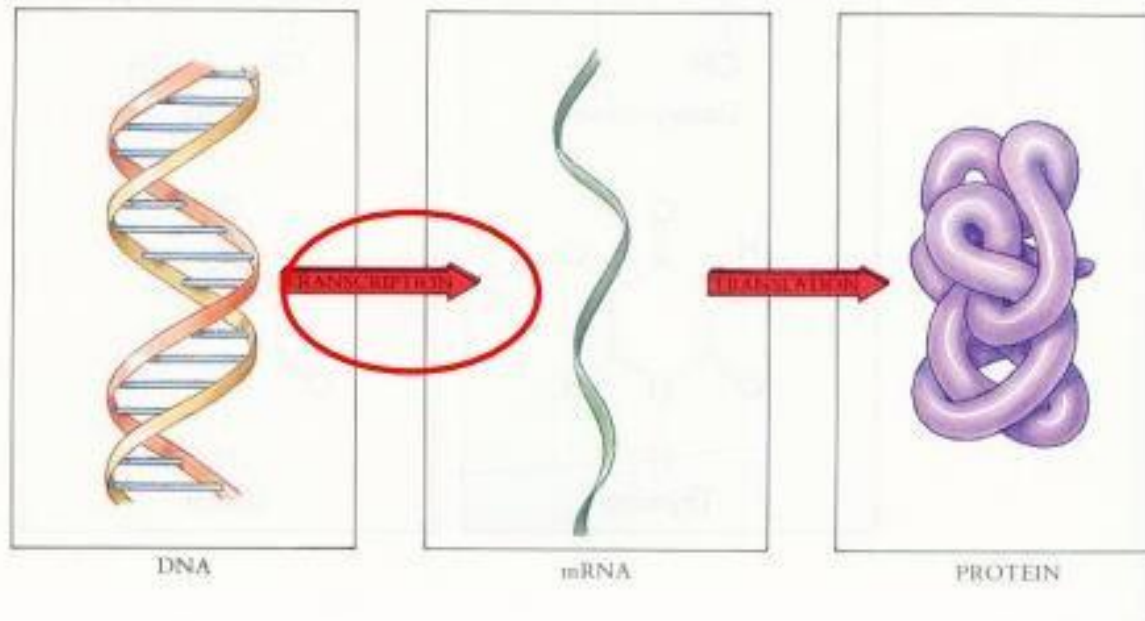


Nei Procarioti la trascrizione e la traduzione avvengono simultaneamente nel citoplasma

Fonti: Sadava et al., 2014, 2019; Alberts et al., 2002

Trascrizione

Processo mediante il quale l'informazione contenuta in una sequenza di DNA (gene) viene copiata in una sequenza complementare di RNA dall'enzima **RNA polimerasi**

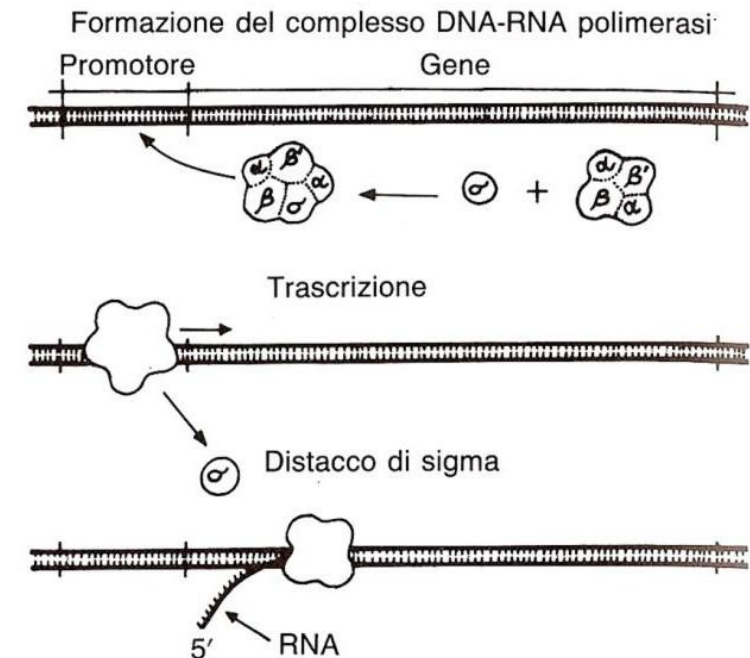


Trascrizione

Gli RNA messaggeri batterici sono

- a) frequentemente **policistronici**, con la possibilità di essere tradotti in poliproteine
- b) provvisti di segnali di iniziazione e arresto del processo di traduzione,**
- c) mancano della sequenza poliadenilica in 3' e del «capping» in 5'**
- d) mancando il nucleo si legano direttamente ai ribosomi che iniziano la traduzione prima che la sintesi di mRNA sia completata.

La **RNA-polimerasi** batterica è costituita da **5 diverse subunità proteiche** (α 2-alfa2, β -beta, ω -omega, σ -sigma). La subunità σ è legata all'enzima solo nella fase iniziale della trascrizione.

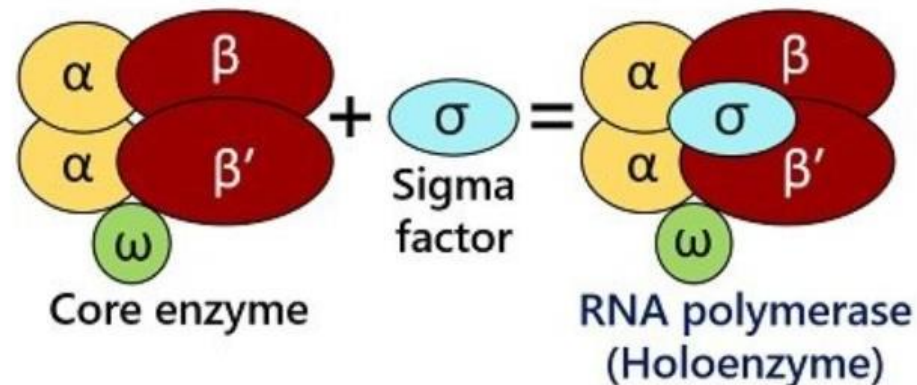


Where to Begin? Sigma factors and the selectivity of transcription initiation in Bacteria

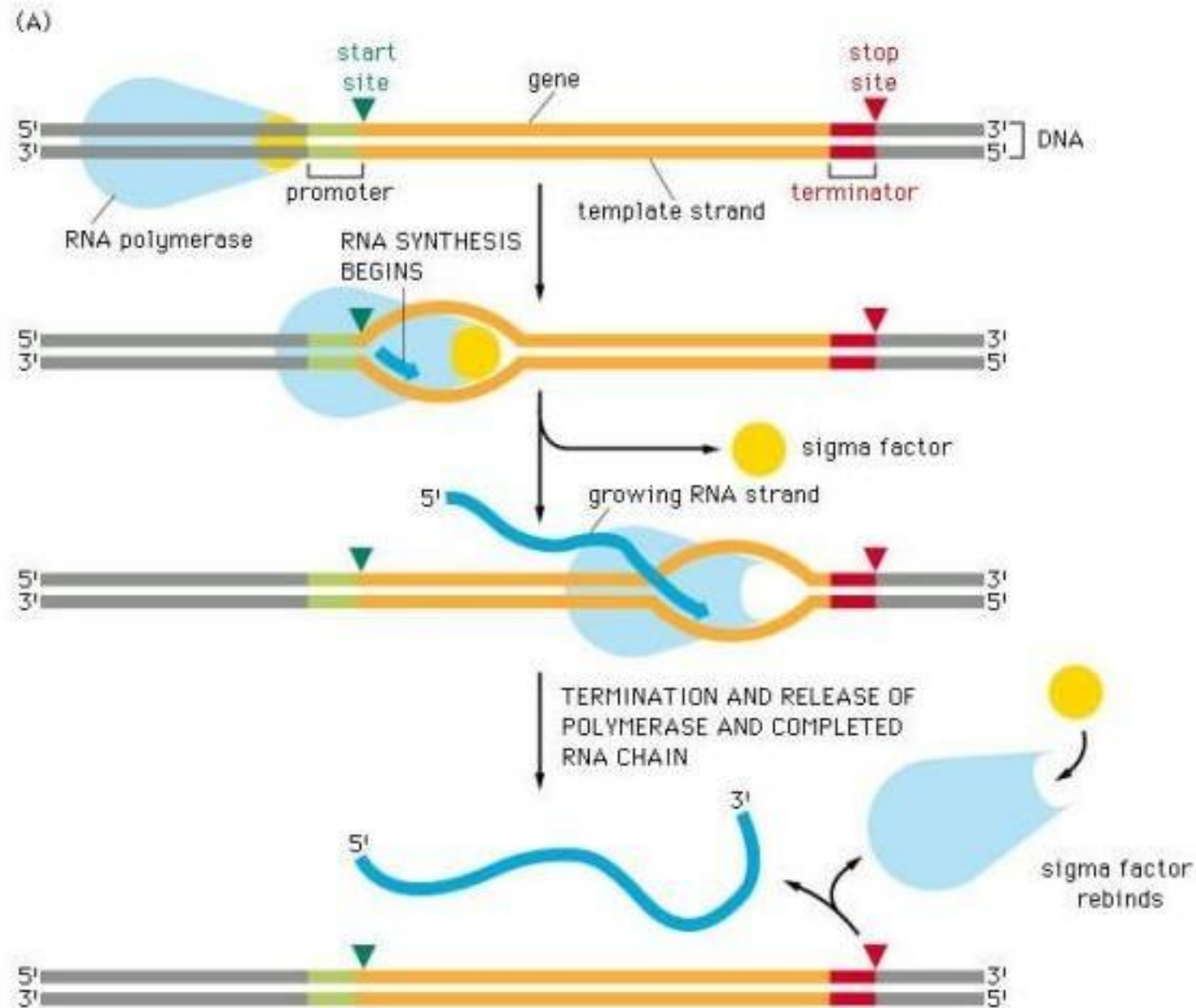
John D. Helmann^{1,*}

¹Department of Microbiology, Cornell University, Ithaca, NY 14853, US

- https://www.youtube.com/watch?app=desktop&v=4S9_c80WHik
 - Two α -subunits assemble the RNAP on the DNA.
 - β -subunit adheres with the ribonucleoside triphosphate of nascent mRNA.
 - β' -subunit attaches to the DNA template strand.
 - The function of the ω -subunit is not known.



Visione d'insieme della trascrizione



Regolazione genica nei procarioti

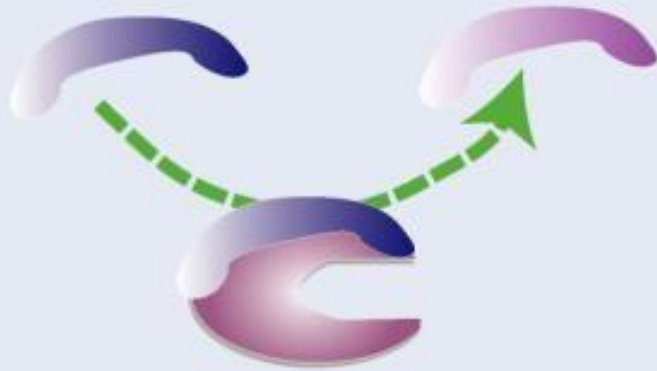
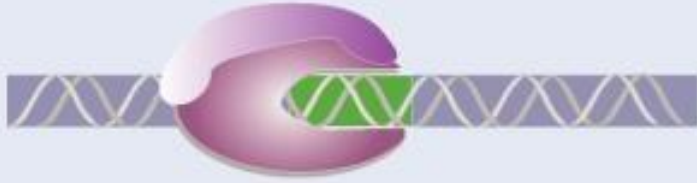
- **Geni costitutivi:** sono costantemente attivi (es. geni che codificano per gli enzimi della glicolisi)
- **Geni regolati:** la loro espressione è regolata in modo tale che la quantità del corrispondente prodotto (proteina o RNA) è controllata in relazione al fabbisogno cellulare (es. sintesi adattativa di enzimi)

Regolazione della trascrizione genica

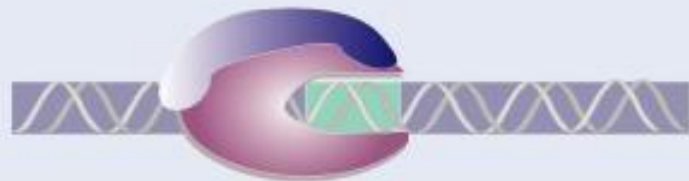
sigma diversi → promotori diversi → geni diversi

Sigma controlla il riconoscimento del promotore

L'oloenzima con σ^{70} riconosce una serie di promotori



La sostituzione del fattore sigma fa riconoscere all'enzima una serie diversa di promotori



E.coli ha sette sigma diversi

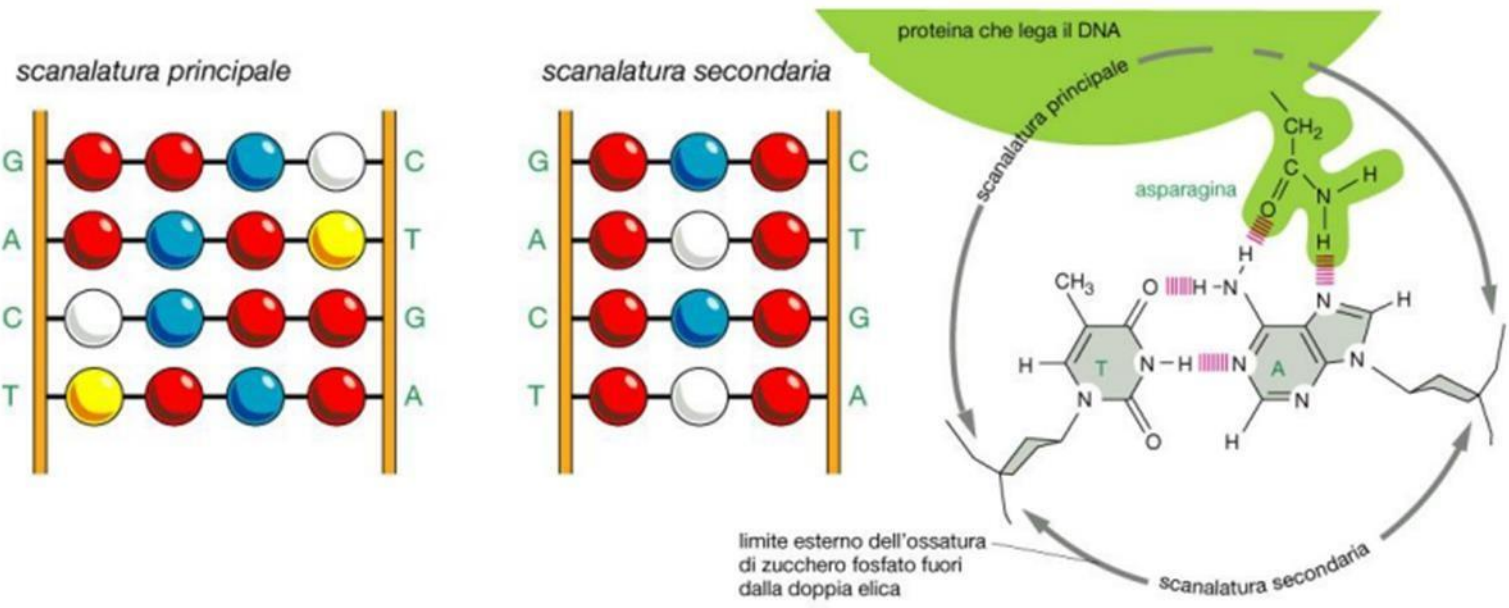
Gene	Factor	Use
<i>rpoD</i>	σ^{70}	most required functions
<i>rpoS</i>	σ^S	stationary phase/some stress responses
<i>rpoH</i>	σ^{32}	heat shock
<i>rpoE</i>	σ^E	periplasmic/extracellular proteins
<i>rpoN</i>	σ^{54}	nitrogen assimilation
<i>rpoF</i>	σ^F	flagellar synthesis/chemotaxis
<i>fecI</i>	σ^{fecI}	iron metabolism/transport

FIGURE 19.36 In addition to σ^{70} , *E. coli* has several sigma factors that are induced by particular environmental conditions. (A number in the name of a factor indicates its mass.)

UNA POLIMERASI CHE CONTIENE UN SIGMA SPECIFICO RICONOSCE LA PROPRIA SERIE DI PROMOTORI

QUINDI LA Tx DI UNA SERIE DI GENI ESCLUDE/SPEGNE IL VECCHIO PROGRAMMA E NE ACCENDE (transientemente) DI NUOVI.

Gene	Fattore	Sequenza -35	Separazione	Sequenza -10
<i>rpoD</i>	σ^{70}	TTGACA	16-18 bp	TATAAT
<i>rpoH</i>	σ^{32}	CCCTTGAA	13-15 bp	CCCGATNT
<i>rpoN</i>	σ^{54}	CTGGNA	6 bp	TTGCA



l'azione dei sigma alternativi deve essere regolata

❖ controllando la sua concentrazione

❖ sequestrando il fattore sigma

❖ sintetizzando sigma con affinità crescente
per core enzima

❖ producendo dei pro-sigma che vengono
attivati da taglio proteolitico

} cascade

Regolazione della trascrizione genica

Induzione o repressione

I batteri utilizzano strategie diverse per regolare la sintesi degli enzimi

- **Vie cataboliche** e induzione da substrato
- **Vie anaboliche** e repressione da prodotto finale

Gli enzimi che catalizzano queste vie sono spesso regolati in modo coordinato: la sintesi di tutti gli enzimi coinvolti in una particolare via viene attivata o repressa simultaneamente

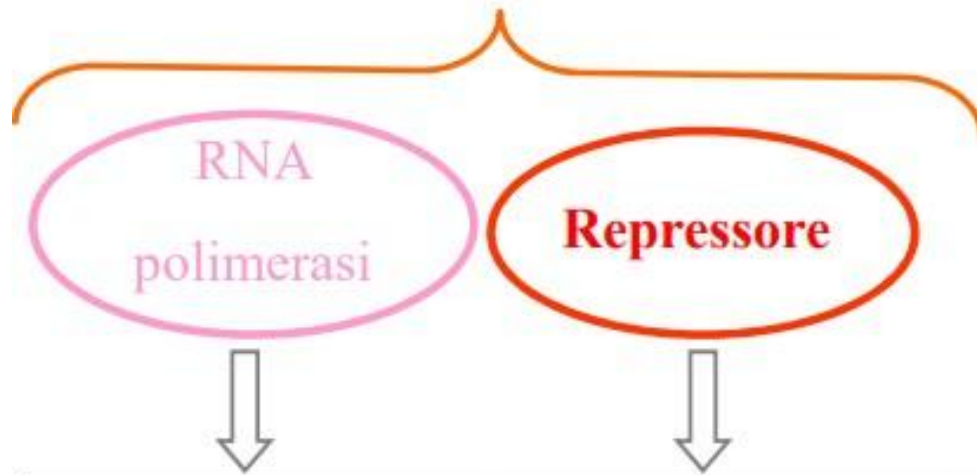
OPERONE

Unità di trascrizione descritta nel 1961 da François Jacob e Jacques Monod, che per questo furono insigniti del premio Nobel.

L'unità completa include:

- Geni strutturali: codificano per le proteine di interesse
- **Operatore:** Sito sul DNA riconosciuto dalla proteina repressore
- **Promotore:** Sito sul DNA cui si lega l'RNA polimerasi per iniziare la trascrizione dei geni situati a valle

Sono proteine

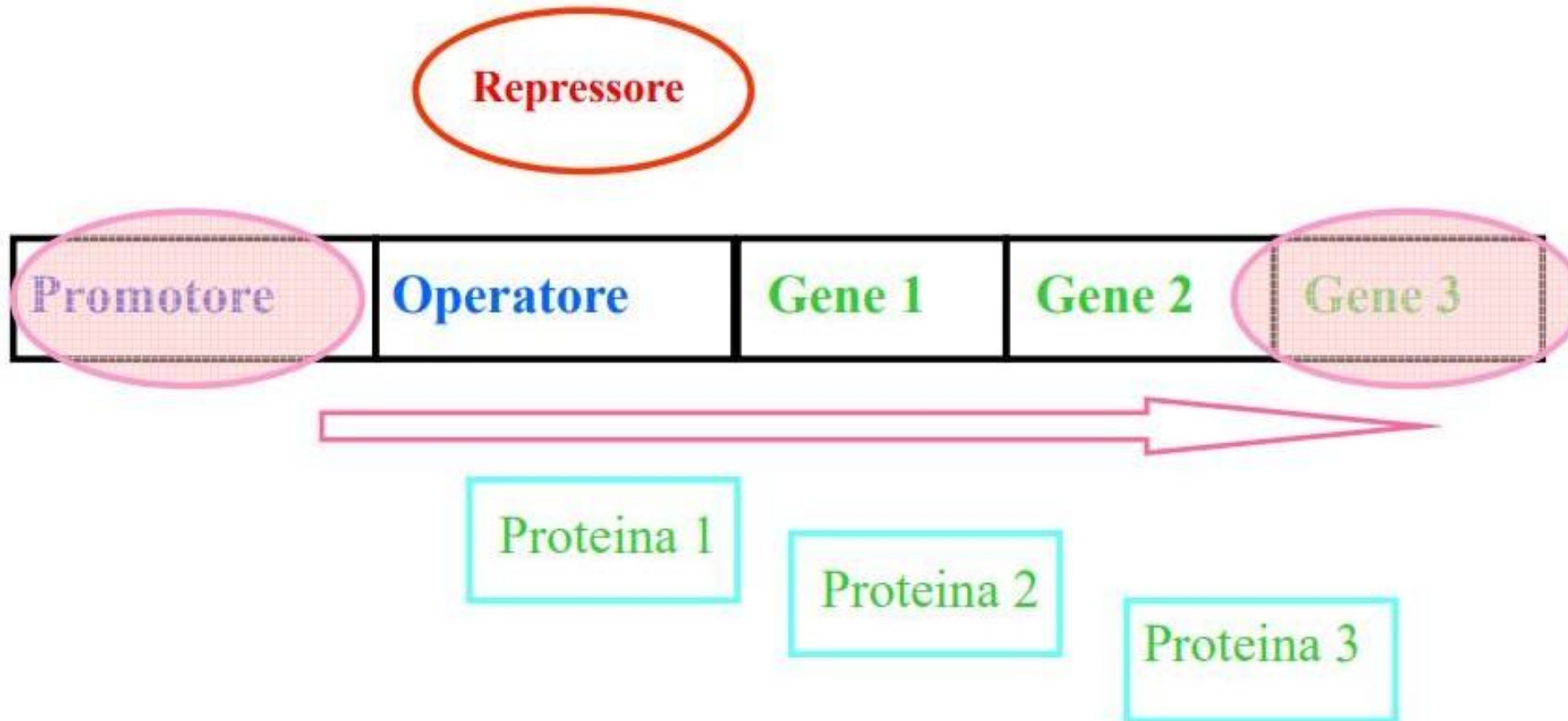


Sono sequenze di DNA

La capacità dell'RNA polimerasi di iniziare la trascrizione dipende dall'assenza di impedimenti a livello del promotore; possono essere presenti dei repressori che impediscono l'inizio della trascrizione.

Si parla di regolazione negativa

Il repressore inattivo non si lega all'operatore. La RNA polimerasi può eseguire la trascrizione.



N.B.: il sito operatore non viene trascritto e non codifica per nessuna proteina

Il repressore attivo si lega all'operatore. La RNA polimerasi NON può eseguire la trascrizione.



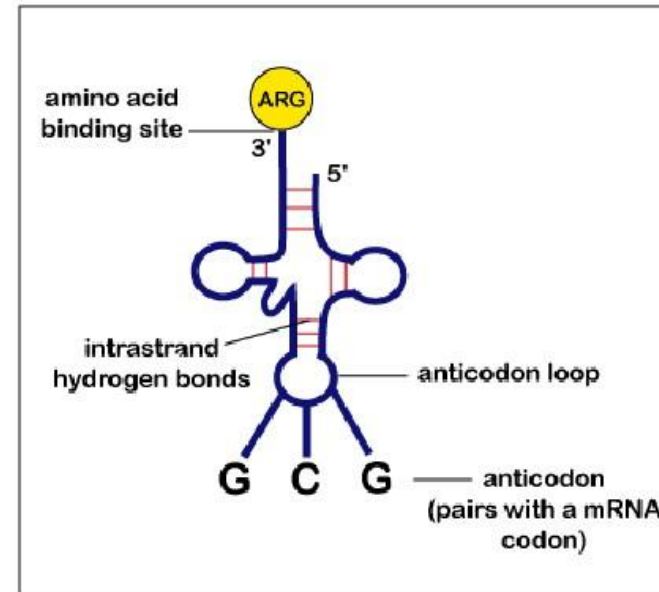
Sintesi proteica

Le sintesi proteiche nei batteri si svolgono come nella cellula eucariotica con la differenza che in circa il 40% delle proteine l'aminoacido iniziale è la metionina che viene formilata in **formil-metionina**.

Oltre ai ribosomi e all' mRNA....

tRNA o RNA transfert

- ad una specifica molecola di RNA (tripletta di basi) corrisponde una molecola di aa che viene legata dal tRNA nel citoplasma
- Il tRNA ha una corta catena di nucleotidi (anticodone) complementare a 1 amminoacido
- Il tRNA ha la forma di trifoglio la “foglia” centrale è formata da 3 nucleotidi →anticodone



La traduzione viene divisa in genere in tre fasi: inizio, allungamento e termine.

