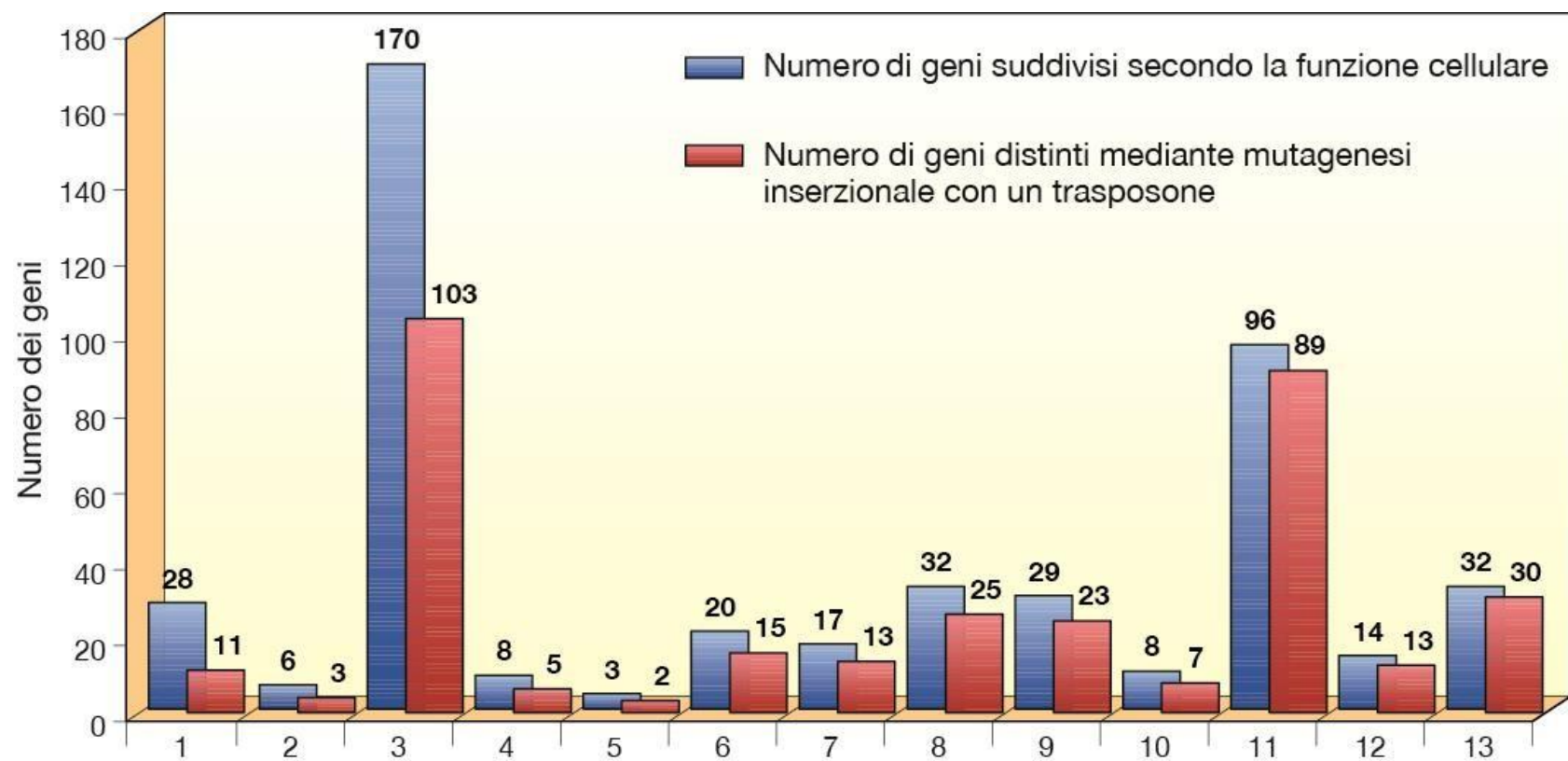


Il materiale genetico batterico :nucleoide o cromosoma

- 0,5-13 Mb (4,6 Mb *E. coli*)
- 1-2 copie/cellula, in genere circolare, raramente lineare
- Indispensabile

– Specie	bp
• <i>Haemophilus influenzae</i>	1,830,137
• <i>Campylobacter jejuni</i>	1,641,481
• <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	4,115,291
• <i>Neisseria meningitidis</i>	2,184,406
• <i>Escherichia coli</i>	4,639,221

Funzione: 20% metabolismo, 10% trasporto, 10% regolazione & replicazione, 5% funzione strutturale, 5% sintesi proteica, 50% finalizzata a meccanismi di resistenza e patogenicità (oppure ancora sconosciuta)



Funzioni cellulari delle classi dei geni

- | | |
|--|---|
| 1. Membrana | 8. Trasporto |
| 2. Regolazione | 9. Replicazione/ricombinazione/riparazione |
| 3. Sconosciuto | 10. Metabolismo degli acidi grassi e dei lipidi |
| 4. Metabolismo principale | 11. Traduzione |
| 5. Biosintesi di cofattori | 12. Processi cellulari |
| 6. Metabolismo delle purine e pirimidine | 13. Produzione di energia |
| 7. Trascrizione | |

Figura 8.14 GENI ESSENZIALI E GENI NON ESSENZIALI IN *MYCOPLASMA GENITALIUM*.

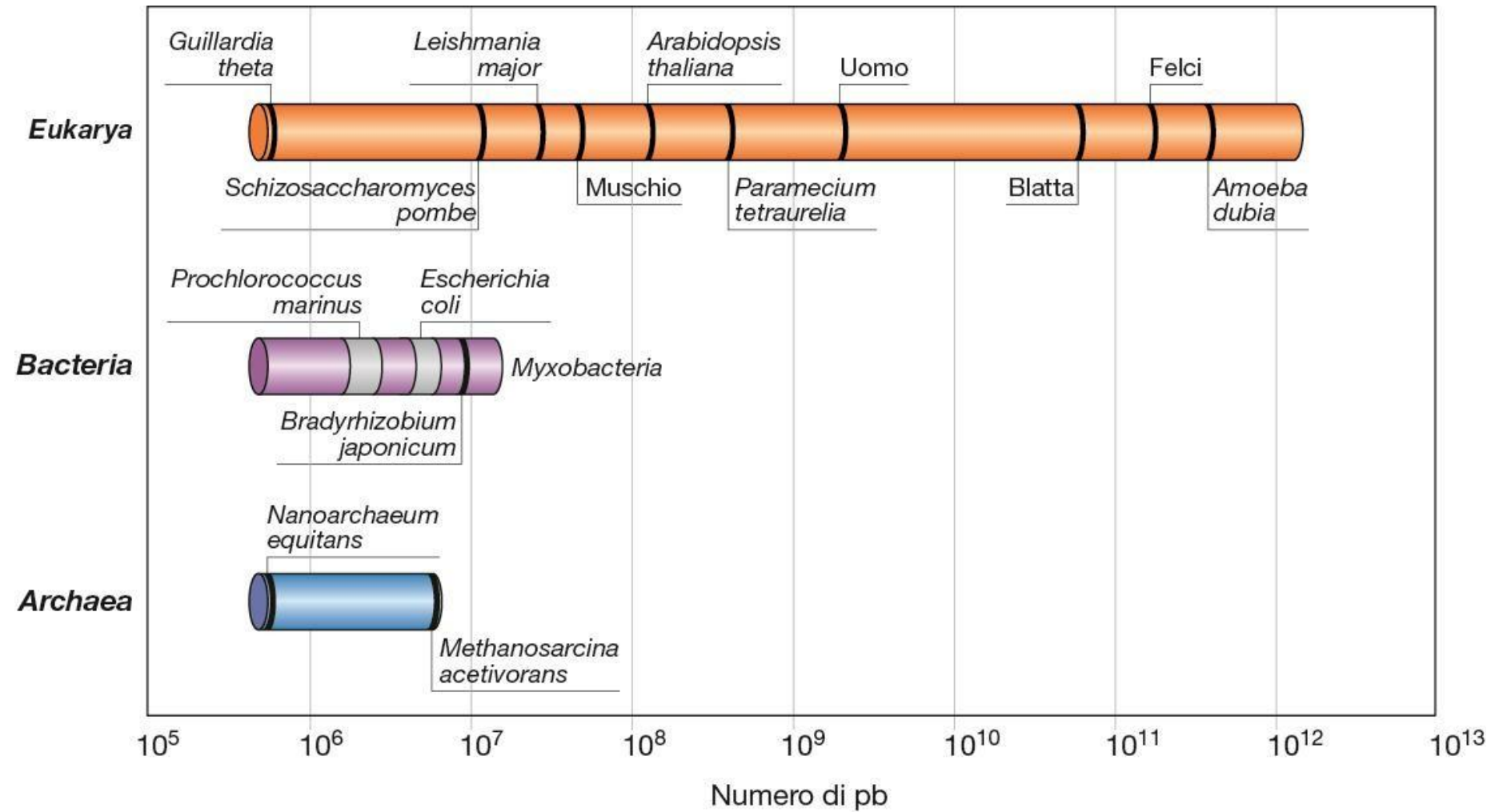


Figura 8.11 DIMENSIONI DEI GENOMI DI ARCHAEA, BACTERIA ED EUKARYA.

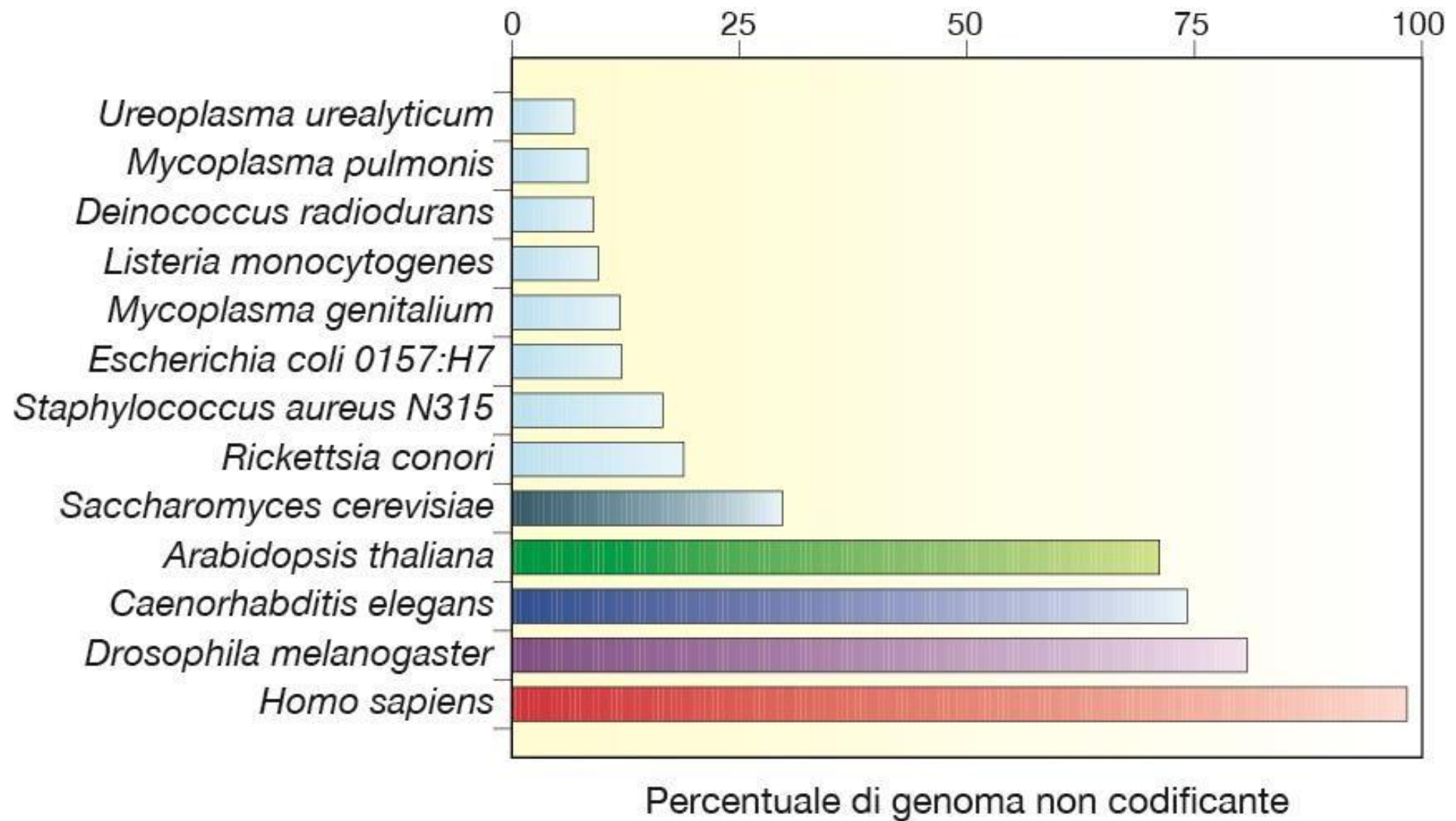


Figura 8.12 PERCENTUALE DI DNA NON CODIFICANTE IN ALCUNE SPECIE DI RIFERIMENTO.

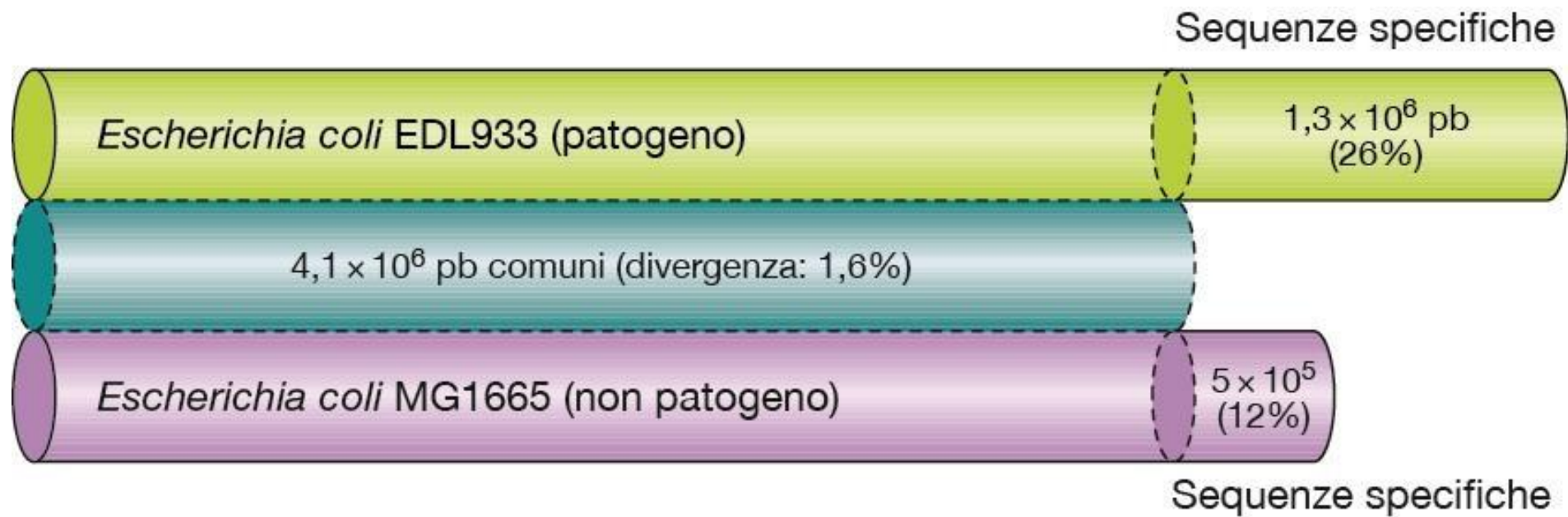


Figura 8.13 ESEMPIO DI POLIMORFISMO ALL'INTERNO DI UNA STESSA SPECIE DI BATTERI.

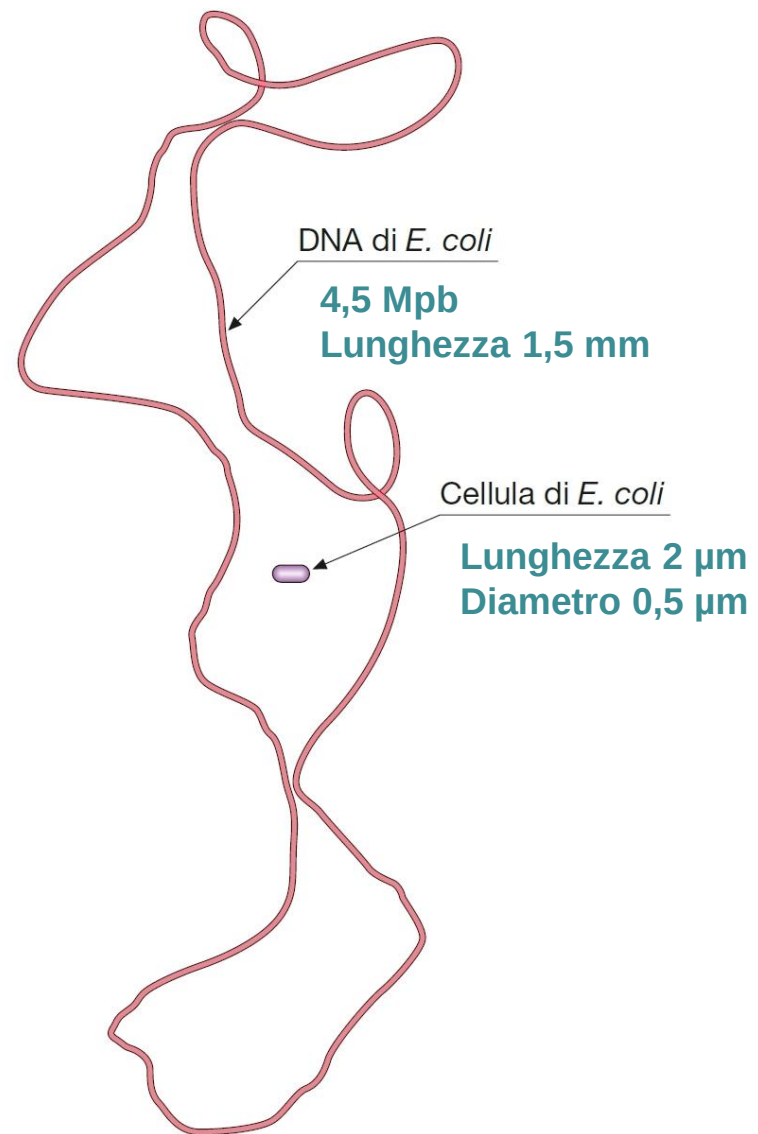
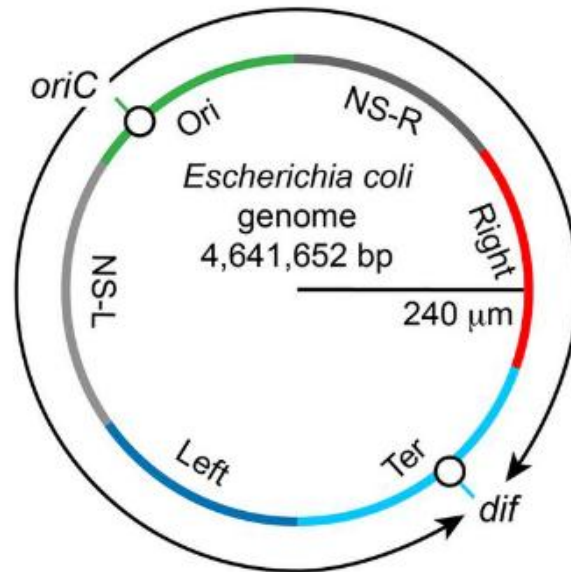


Figura 8.6 DIMENSIONI RELATIVE DEL DNA DI *ESCHERICHIA COLI*. La figura illustra in modo approssimativo la lunghezza del DNA non compattato rispetto alle dimensioni della cellula.

IL NUCLEOIDE

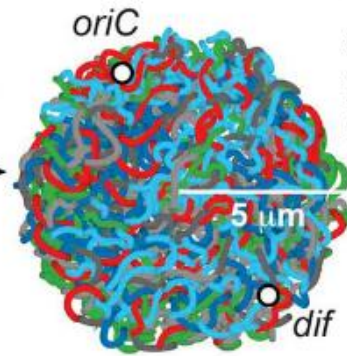
- la molecola di DNA cromosomico di E.coli è lunga circa 1.6mm
- è contenuta in una cellula di 2 μm di lunghezza e 1 μm di larghezza
- Un compattamento casuale della molecola determinerebbe un volume di circa 200mm³ circa 400 volte superiore al volume del nucleotide
- Il volume del nucleotide è di circa di E.coli 0.5 μm^3
- Il cromosoma è quindi estremamente organizzato in anse topologicamente indipendenti circa 100 da 50 kb

A. Circular *E. coli* genome



B. Random coil of the DNA

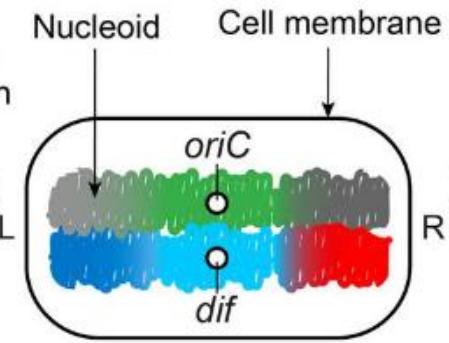
Inherent polymeric property



Random coil volume = $\sim 523 \mu\text{m}^3$

C. Genome organization *in vivo*

- 1) 1000-fold condensation
- 2) Spatial organization

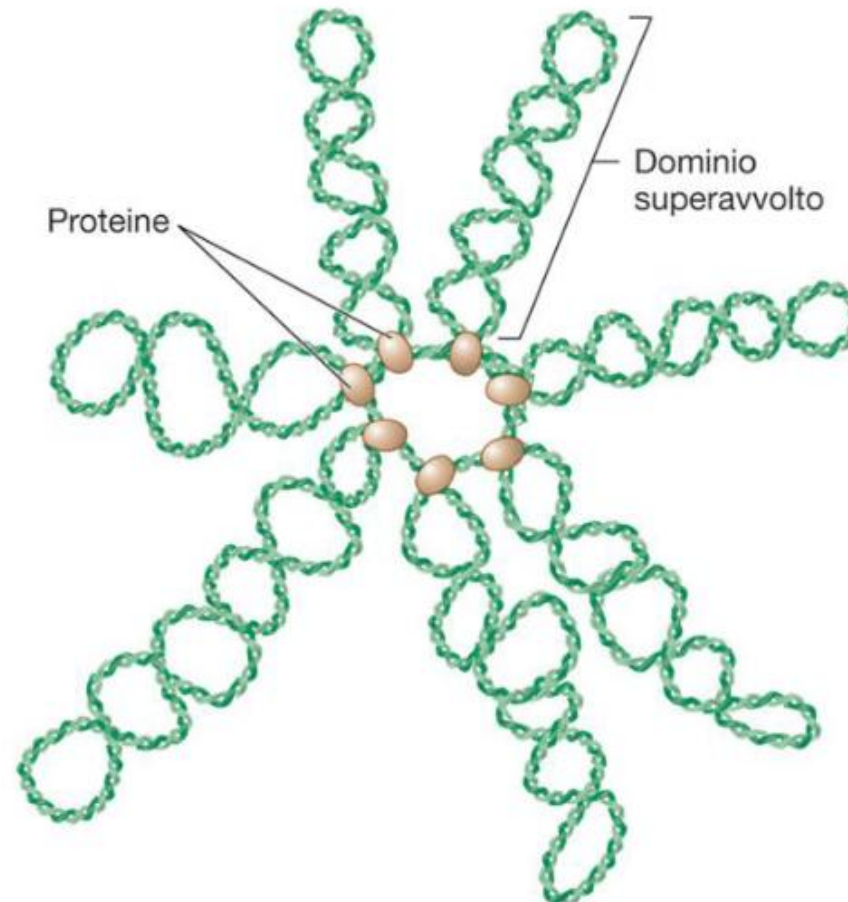


0.5 μm

Nucleoid volume < $1.0 \mu\text{m}^3$

Il cromosoma batterico è organizzato in numerosi domini superavvolti stabilizzati dal legame con proteine specifiche alla base dell'ansa.

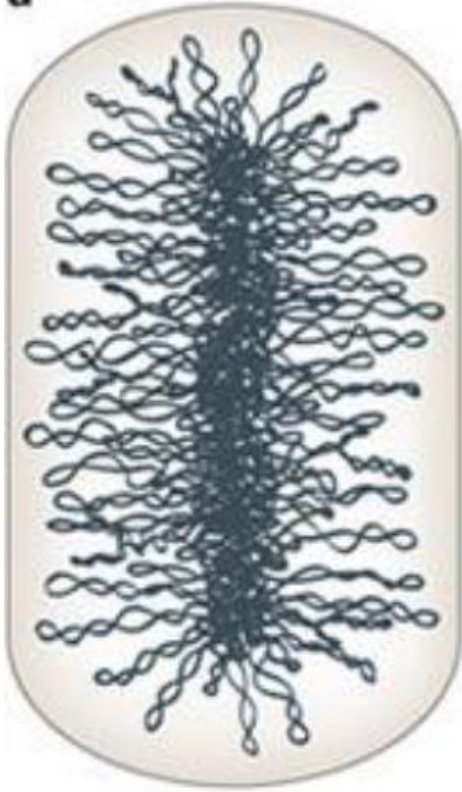
In *Escherichia coli* si calcolano circa 100 domini



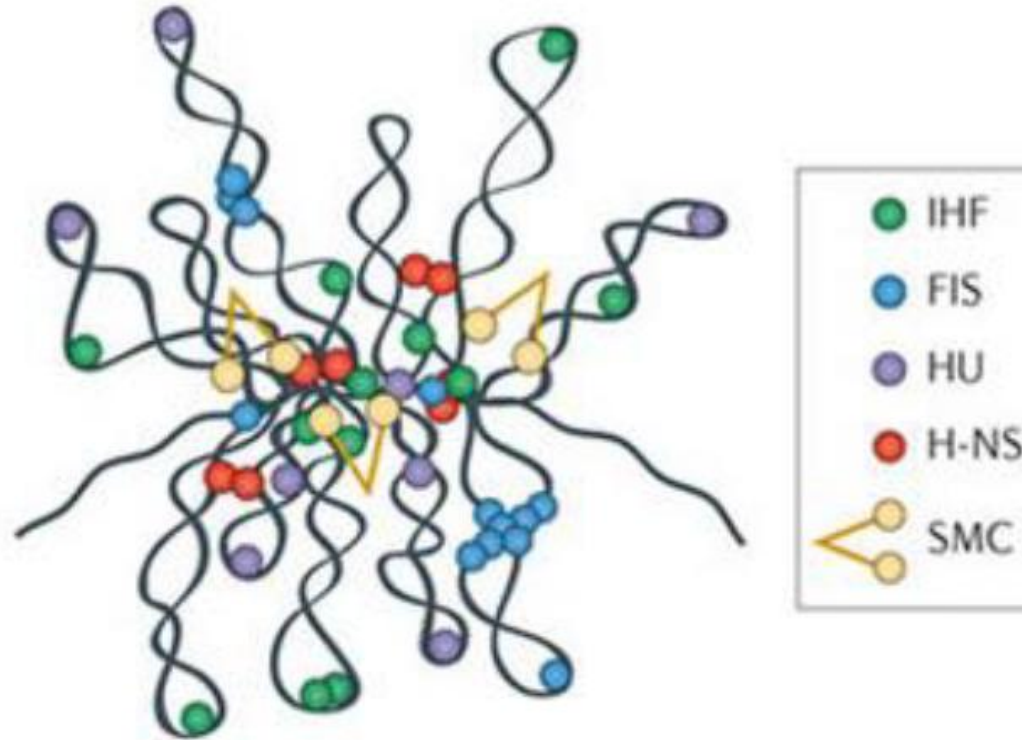
(d) Cromosoma con domini superavvolti

Organizzazione del nucleotide batterico: le principali proteine associate al nucleotide

a



b Nucleoid-associated proteins and SMC complexes



Proteine NAP (nucleoid associated proteins)

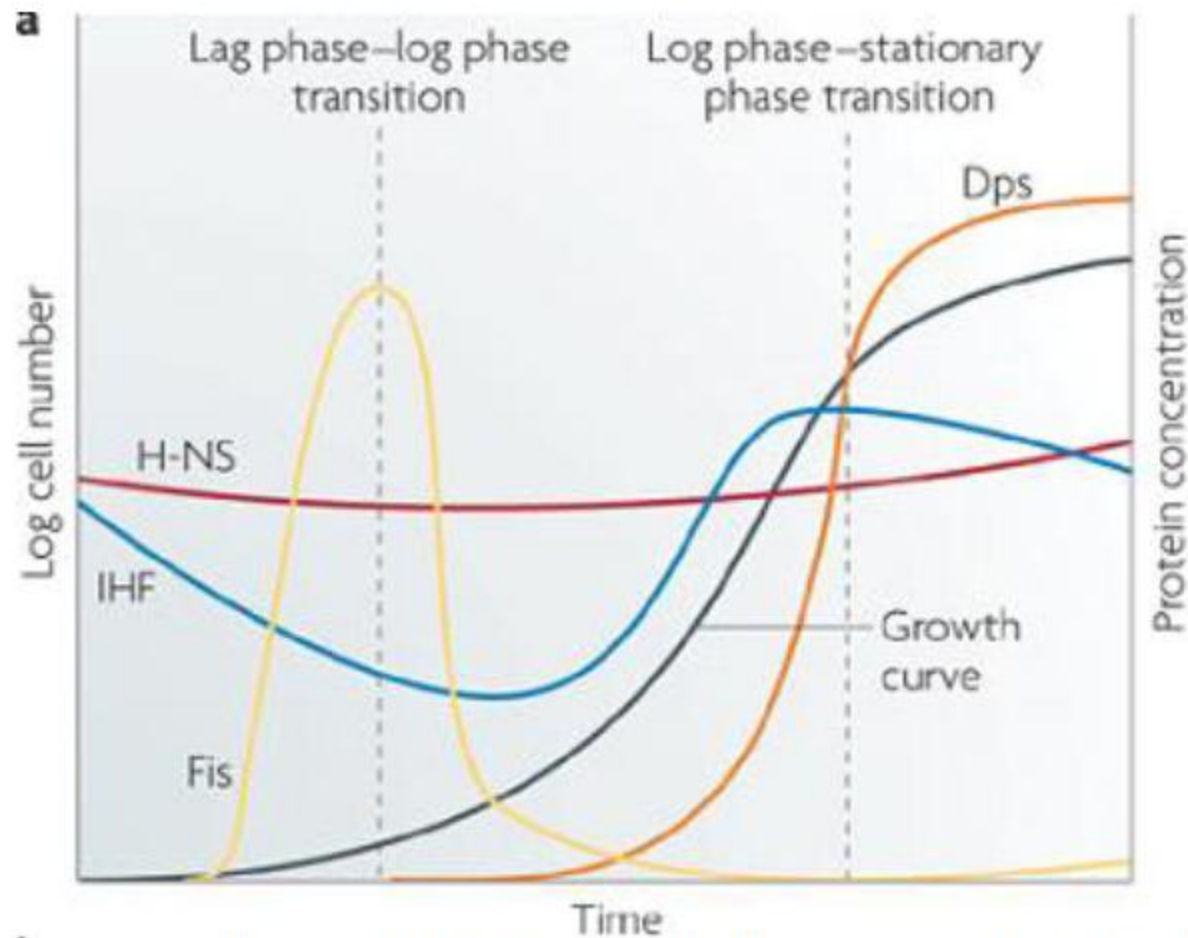
Tabella 8.1 STRUTTURA E PROPRIETÀ DELLE PRINCIPALI PROTEINE ASSOCIATE AL NUCLEOIDE.

Proteina	Struttura	Massa molecolare del monomero (kDa)	Copie per cellula	Commenti
Dps	α_{12}	19	20 000 ^a	Si lega al DNA a livello di sequenze non specifiche. Rende il DNA resistente allo stress ossidativo. La sua sintesi è indotta in fase stazionaria; è coinvolta nella sintesi di molte proteine della fase stazionaria.
Fis	α_2	11,2	100 ^a 10 000 ^b	Proteina multifunzionale (cofattore per l'interazione ed escissione del batteriofago λ , regolatore della trasposizione del fago Mu; fattore accessorio della trasposizione di alcuni trasposoni; coinvolto nell'inizio della replicazione a <i>oriC</i> ; attivatore o inibitore trascrizionale). Picchi di espressione in fase esponenziale precoce. È coinvolta nella formazione di domini strutturali del cromosoma.
H-NS	α_2 e oligomeri di ordine maggiore	15,4	20 000	Repressore globale della trascrizione di centinaia di geni. Regolatore della ricombinazione. I mutanti hanno effetto pleiotropico. È anche una RNA chaperone. Il livello di espressione è costante con piccolo incremento in fase stazionaria. Forma eteromeri con altre proteine di <i>E. coli</i> e con altri paraloghi e ortologhi. Lega in regioni del DNA ricche in A + T.
HU	$\alpha_2, \beta_2, \alpha\beta$	9,2 (α); 9,5 (β)	50 000 ^b 16 000 ^a	Cofattore di regolazione. Piega il DNA fino a 180°. La composizione varia a seconda della fase di crescita: esponenziale precoce (α_2), esponenziale intermedia ($\alpha\beta$), stazionaria (β_2).
IHF	$\alpha\beta$	11,2 (α); 10,7 (β)	15 000	Condensa e piega il DNA (fino a 180°); si lega a livello di sequenze scarsamente conservate; interviene nella ricombinazione sito-specifica, nella replicazione e nella trascrizione.
Lrp	$\alpha_2-\alpha_8$	19	3000	Regolatore globale dell'espressione genica (regola circa il 10% dei geni di <i>E. coli</i>). Si lega a livello di siti specifici del promotore.

^a In fase stazionaria.

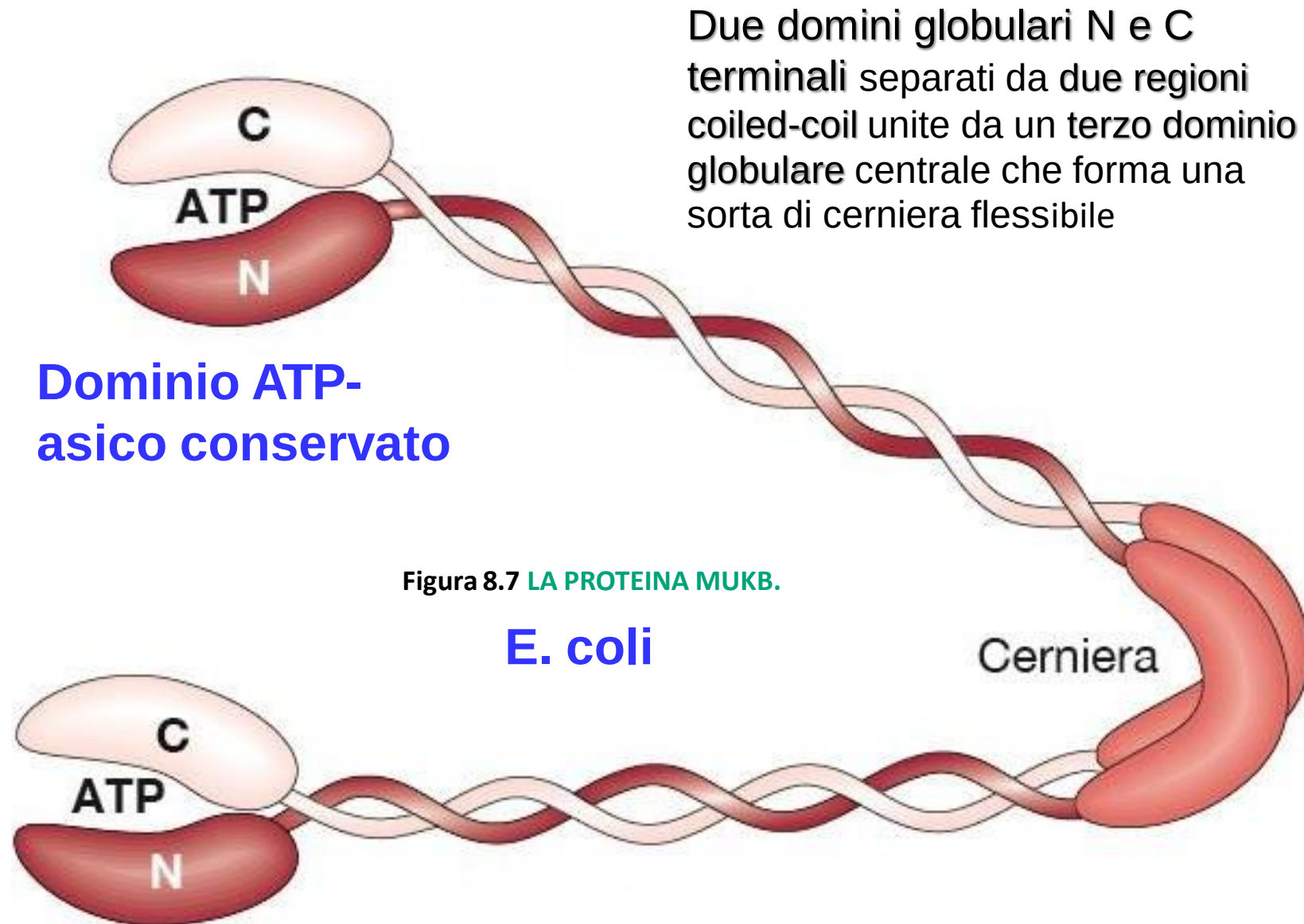
^b In fase esponenziale.

Tabella 8.1 STRUTTURA E PROPRIETÀ DELLE PRINCIPALI PROTEINE ASSOCIATE AL NUCLEOIDE.



The expression patterns of the four nucleoid-associated proteins (NAPs), DNA protection from starvation protein (Dps), factor for inversion stimulation (Fis), histone-like nucleoid-structuring protein (H-NS) and integration host factor (IHF). A typical bacterial growth curve is shown, with the lag phase-log phase and log phase-stationary phase transitions indicated

Proteine SMC (structural maintenance of chromosome)



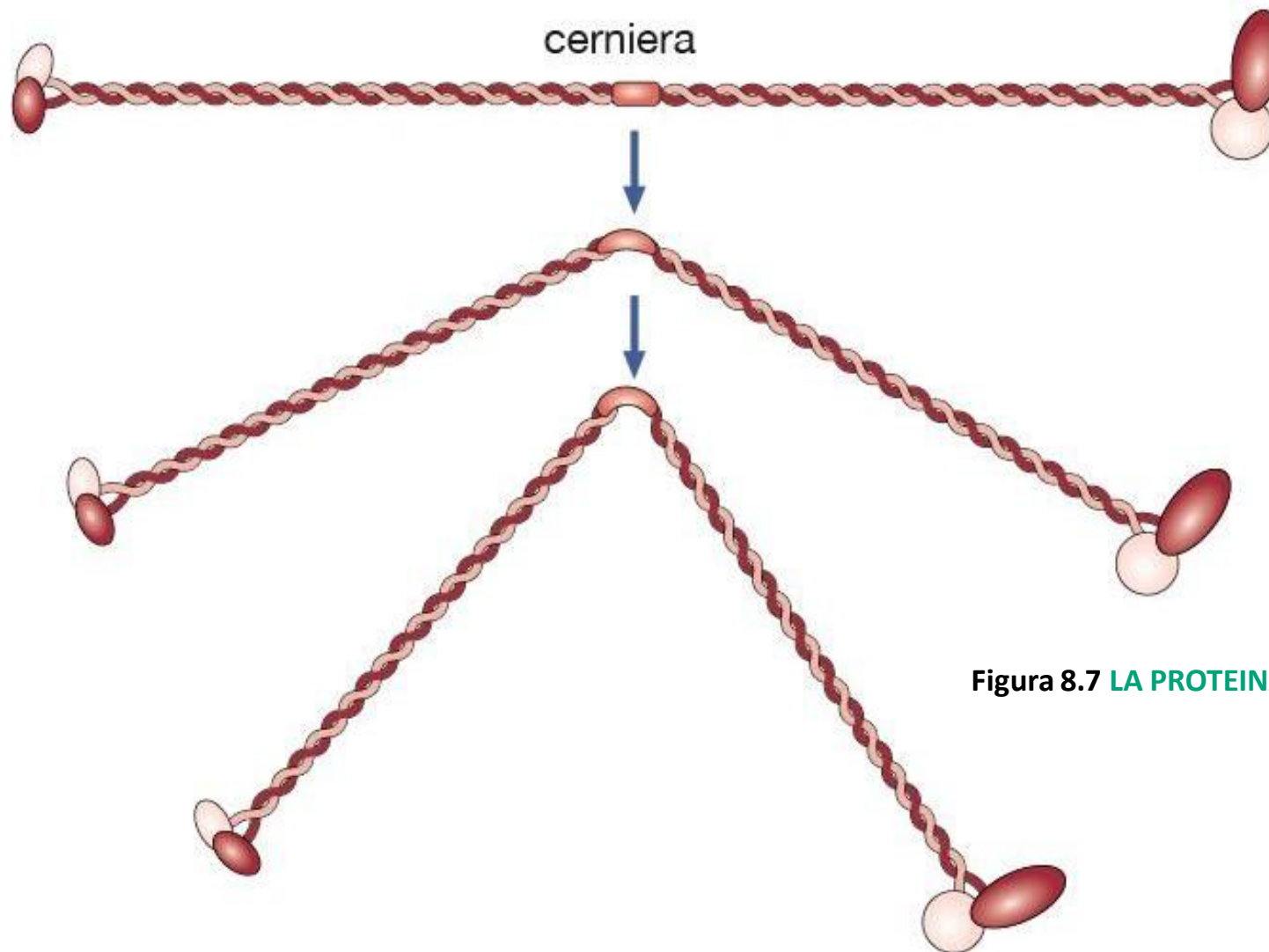


Figura 8.7 LA PROTEINA MUKB.

La cerniera (hinge) permette alla proteina di assumere varie conformazioni. La proteina funziona sotto forma di dimer e agisce come proteina del citoscheletro che muove il DNA. MukB è coinvolta nella segregazione e condensazione dei cromosomi. Si lega sia a FtsZ, sia al DNA

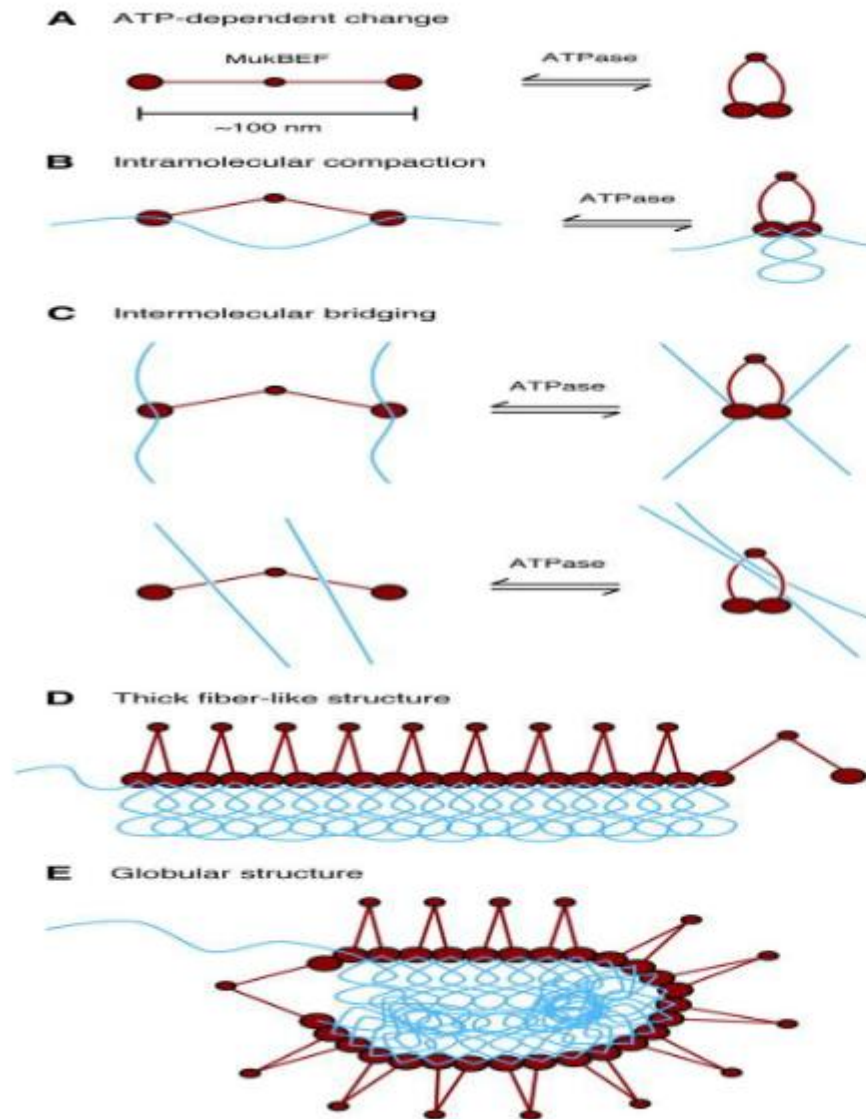
La proteina MukB una proteina SMC like

La proteina MukB è una proteina SMC like (Structural Maintenance of Chromosome) presente in molti batteri.

In assenza della proteina MukB i batteri diventano termosensibili e a temperatura permissiva hanno una crescita ridottissima : si osserva una decondensazione del DNA ed una perdita del nucleotide ad alta frequenza.

La proteina MukB svolge un ruolo importante anche nella segregazione dei cromosomi in seguito a divisione cellulare.

La perdita di MukB e della proteina del nucleotide HU è letale per la cellula.



Nella forma chiusa la proteina scorre sul DNA ed è in grado di indurlo il ripiegamento.

La proteina MukB potrebbe legare il DNA in due punti interagendo con i domini testa e poi grazie alla flessibilità della regione cerniera provocarne il ripiegamento e la condensazione

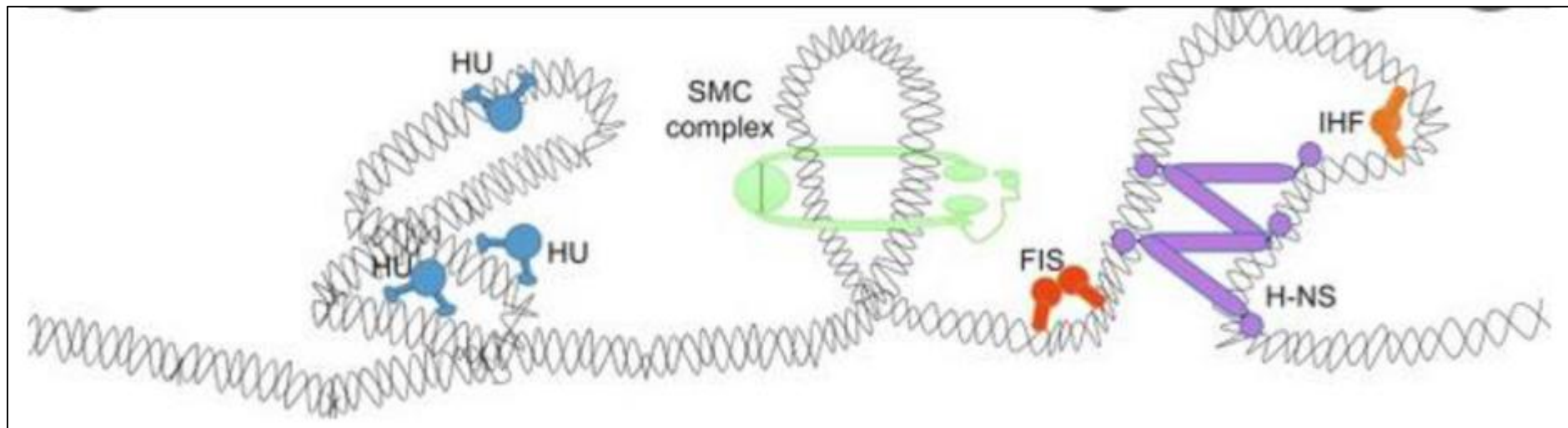
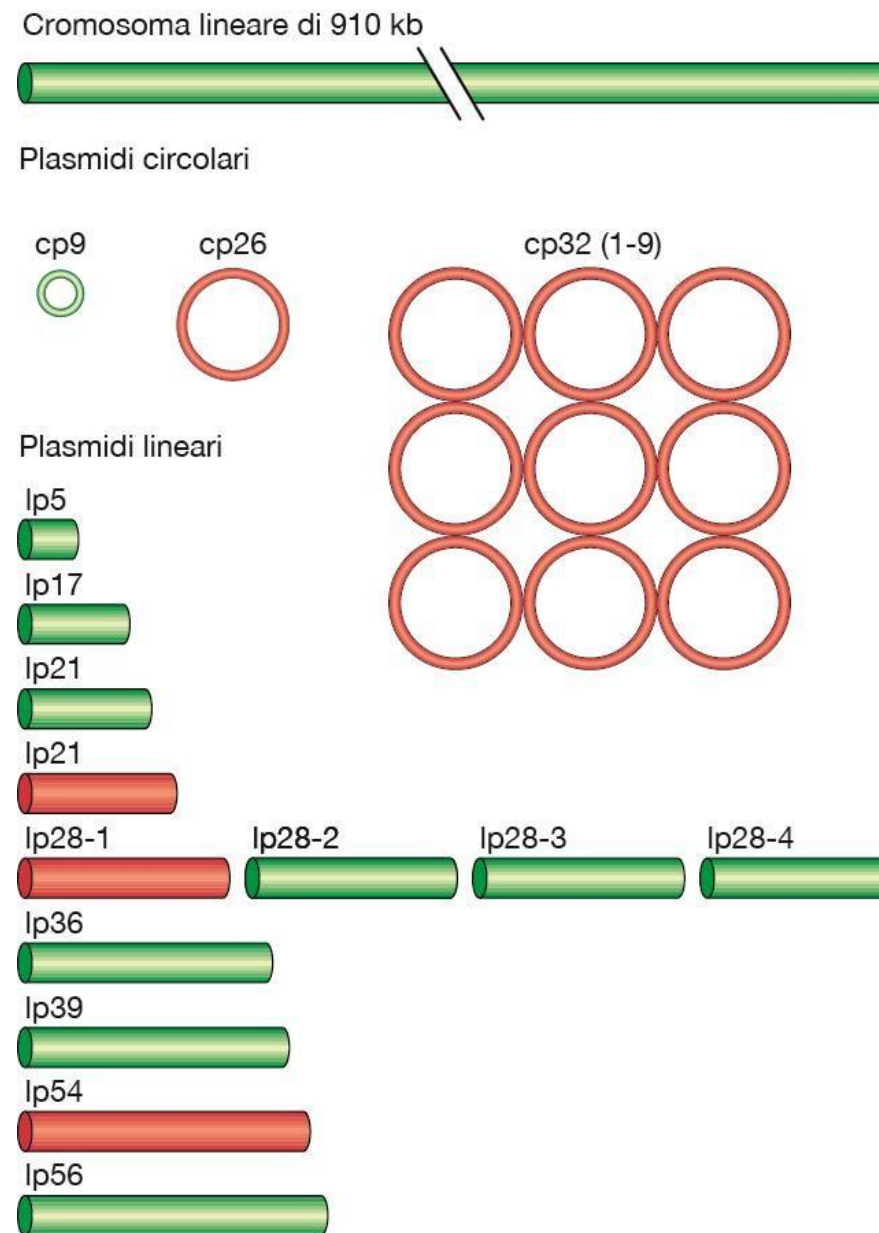


Tabella 8.2 DIMENSIONI, NUMERO E STRUTTURA DEI CROMOSOMI E DEI PLASMIDI IN CEPPI DI RIFERIMENTO DI ALCUNE SPECIE MICROBICHE.

Organismo	Cromosomi			Plasmidi		
	Dimensione (Mpb)	Numero	Struttura	Dimensione (kpb)	Numero	Struttura
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	2,1 + 3,0	2	Lineare + circolare	450 + 200	2	Circolare
<i>Bacillus subtilis</i>	4,2	1	Circolare			
<i>Bacillus thuringiensis</i>	5,7	1	Circolare	> 50 ognuno	6	
<i>Borrelia</i>	0,91	1	Lineare	5-200	Molteplici	Circolare + lineare
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	8,7	1	Circolare			
<i>Brucella melitensis</i>	2,1 + 1,2	2	Circolare			
<i>Brucella suis</i> biovars 1, 2, 4	1,0 + 2,0	2	Circolare			
<i>Brucella suis</i> biovar 3	3,1	1	Circolare			
<i>Buchnera</i> sp. ceppo APS	0,640	1	Circolare	< 7,8 ognuno	2	Circolare
<i>Deinococcus radiodurans</i>	2,6 + 0,4	2	Circolare	177 + 45	2	
<i>Escherichia coli</i> K12	4,6	1	Circolare			
<i>Leptospira interrogans</i>	4,7 + 0,35	2	Circolare			
<i>Paracoccus denitrificans</i>	2,0 + 1,1 + 0,64	3	Circolare			
<i>Rhizobacterium meliloti</i>	3,4 + 1,7	2	Circolare	1400	1	Circolare
<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	3,0 + 0,3	2	Circolare			
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1,75	1	Circolare			
<i>Vibrio cholerae</i>	2,9 + 1,1	2	Circolare			
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	3,2 + 1,9	2	Circolare			
<i>Xylella fastidiosa</i>	2,7	1	Circolare	5,1 + 1,3	2	Circolare



Tabella 8.2 DIMENSIONI, NUMERO E STRUTTURA DEI CROMOSOMI E DEI PLASMIDI IN CEPPI DI RIFERIMENTO DI ALCUNE SPECIE MICROBICHE.

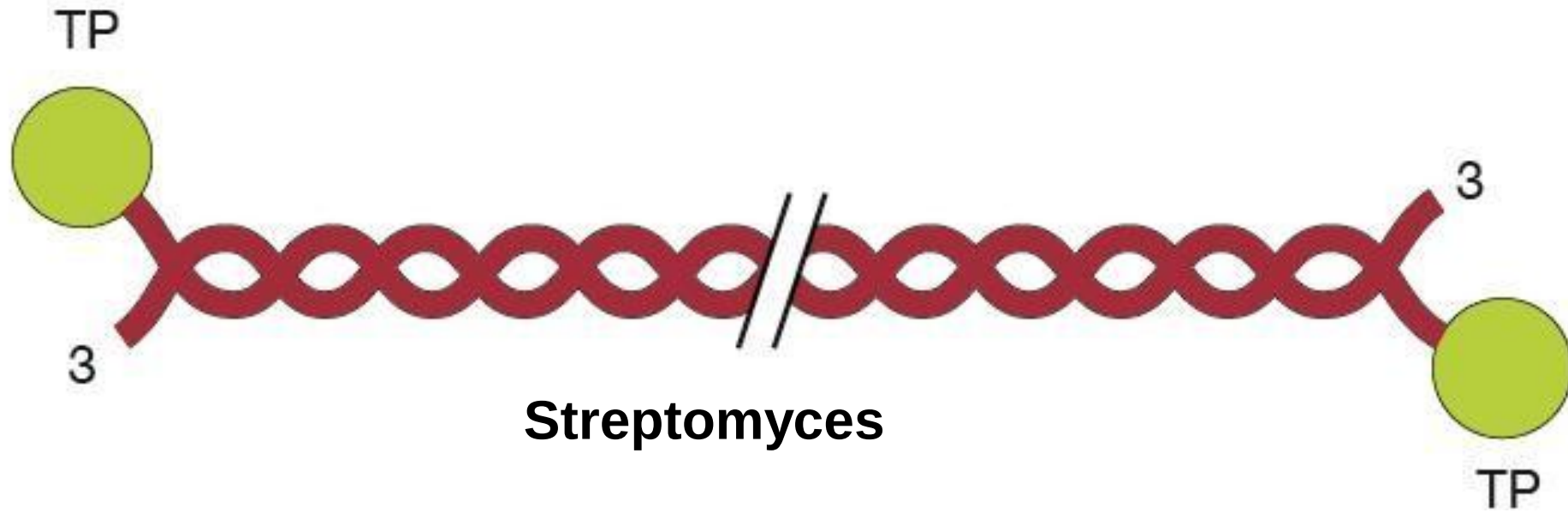


Spirochete

Figura 8.10 IL GENOMA DI *BORRELIA BURGDORFERI*.



Borrelia



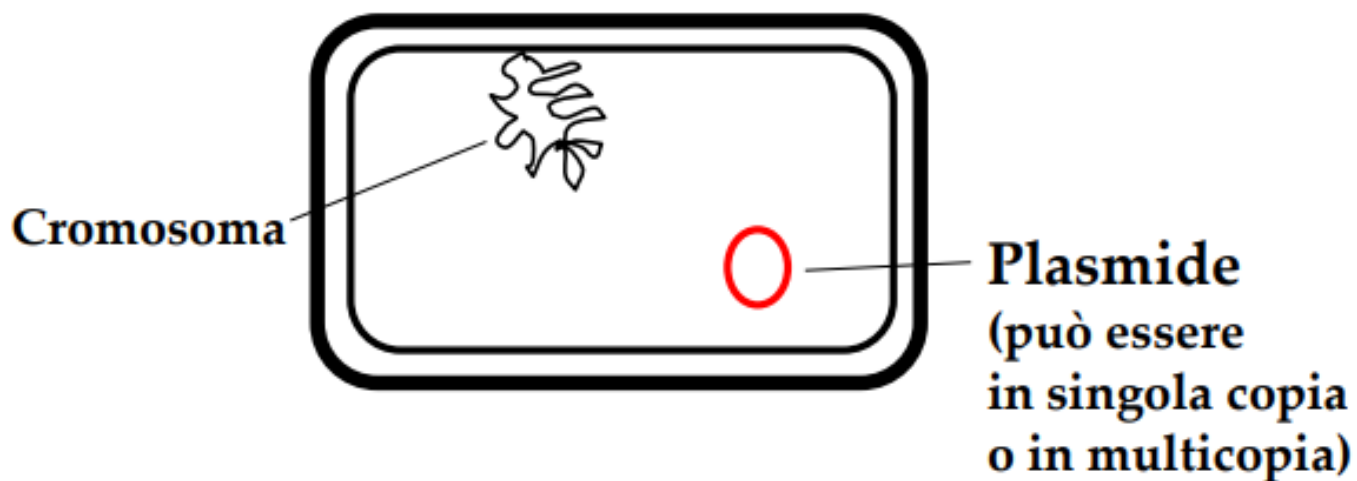
Streptomyces

Figura 8.20 DIVERSE TIPOLOGIE DI TELOMERI IN CROMOSOMI BATTERICI E PLASMIDI LINEARI.

I plasmidi

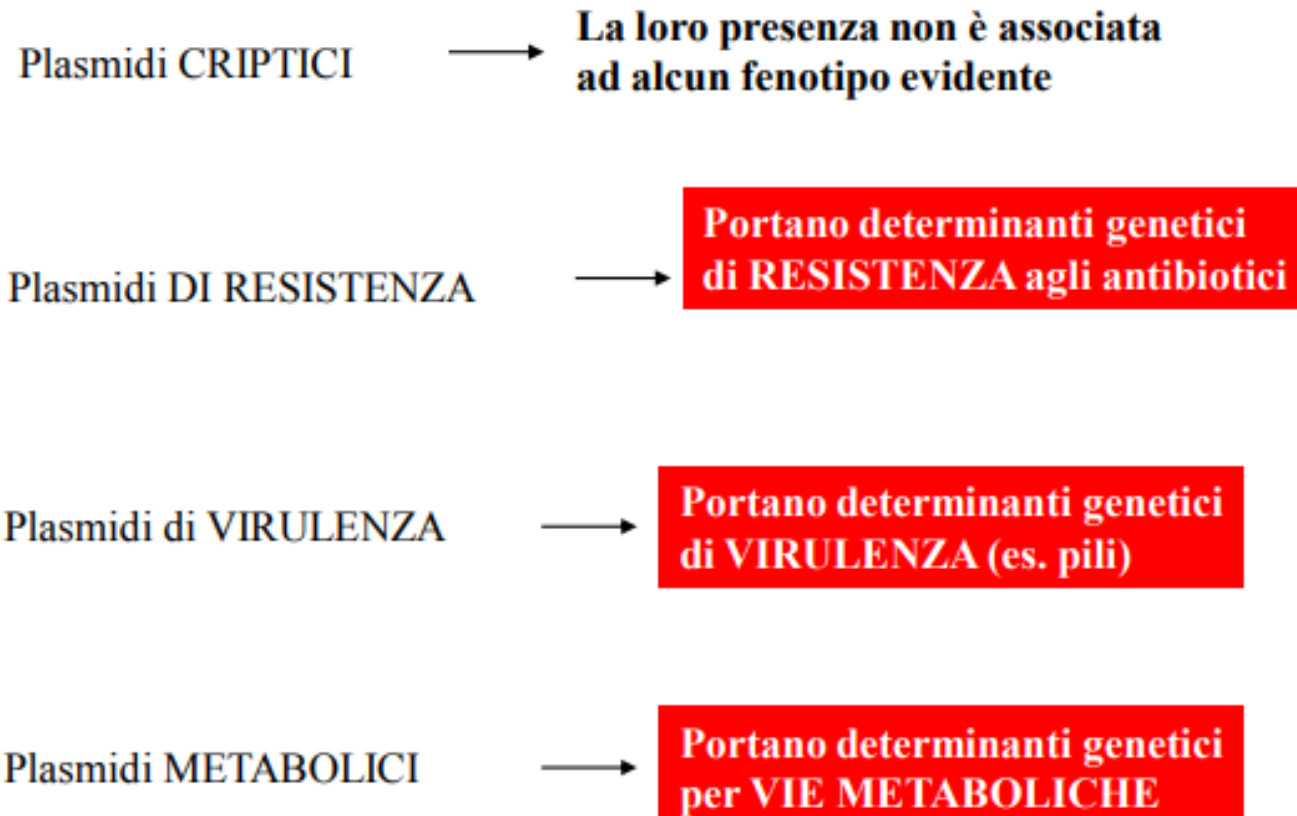
Elementi genetici extra-cromosomici

- Costituiti da DNA bcatenario circolare (raramente lineare)
- Si replicano in maniera autonoma dal cromosoma
- Più piccoli del cromosoma (da poche kbp a 100-200 kbp)

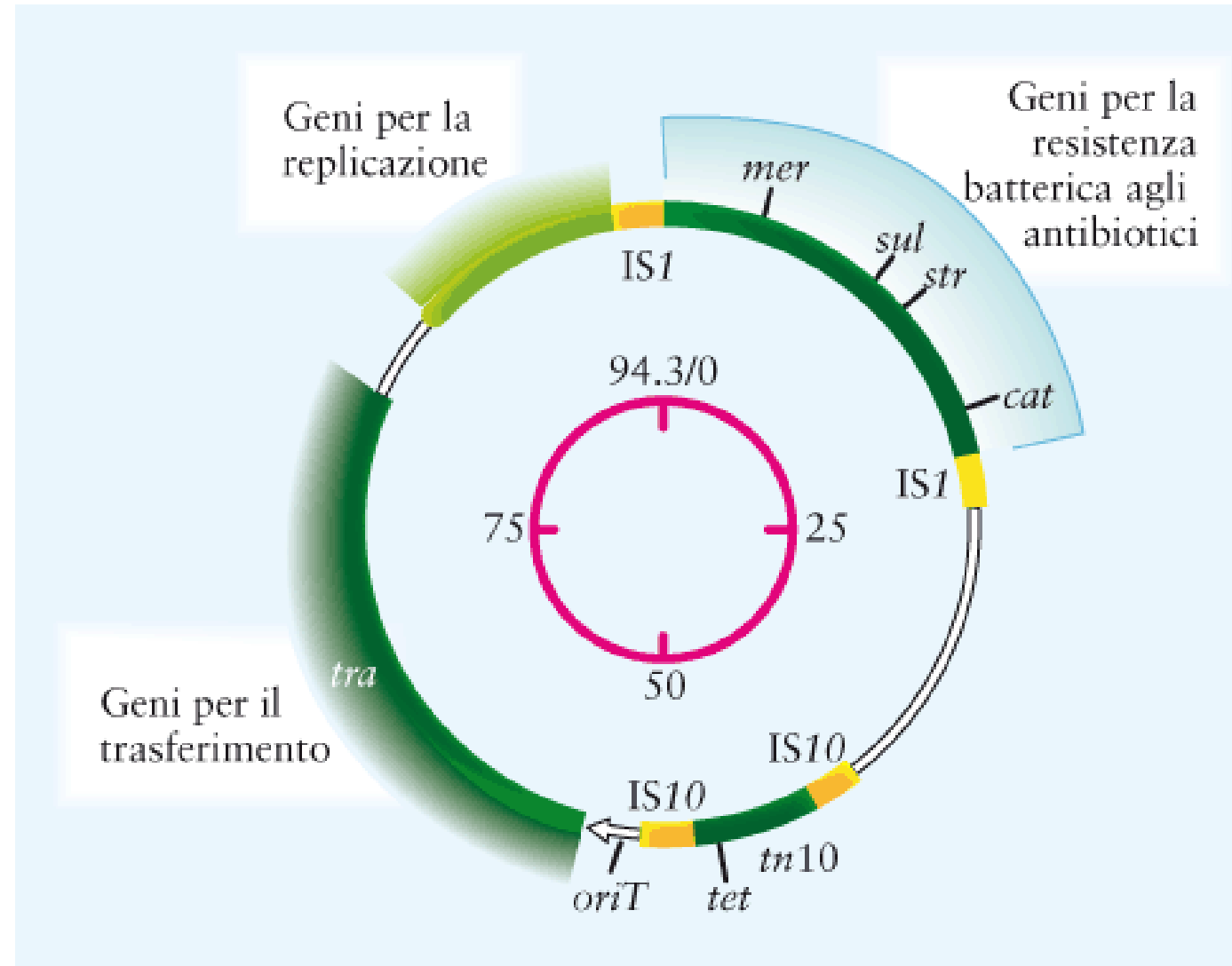


I plasmidi portano DETERMINANTI GENETICI ACCESSORI

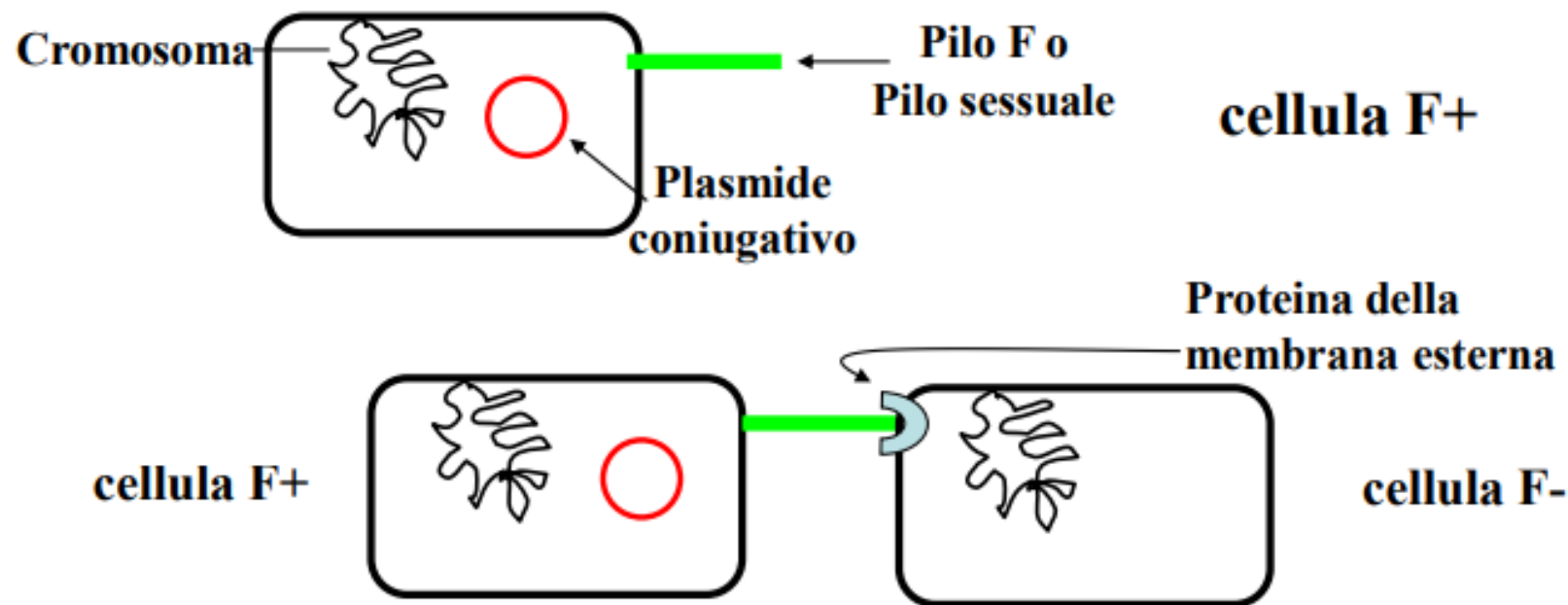
La loro informazione genetica non è essenziale per la cellula ospite ma può conferire un vantaggio selettivo in particolari condizioni



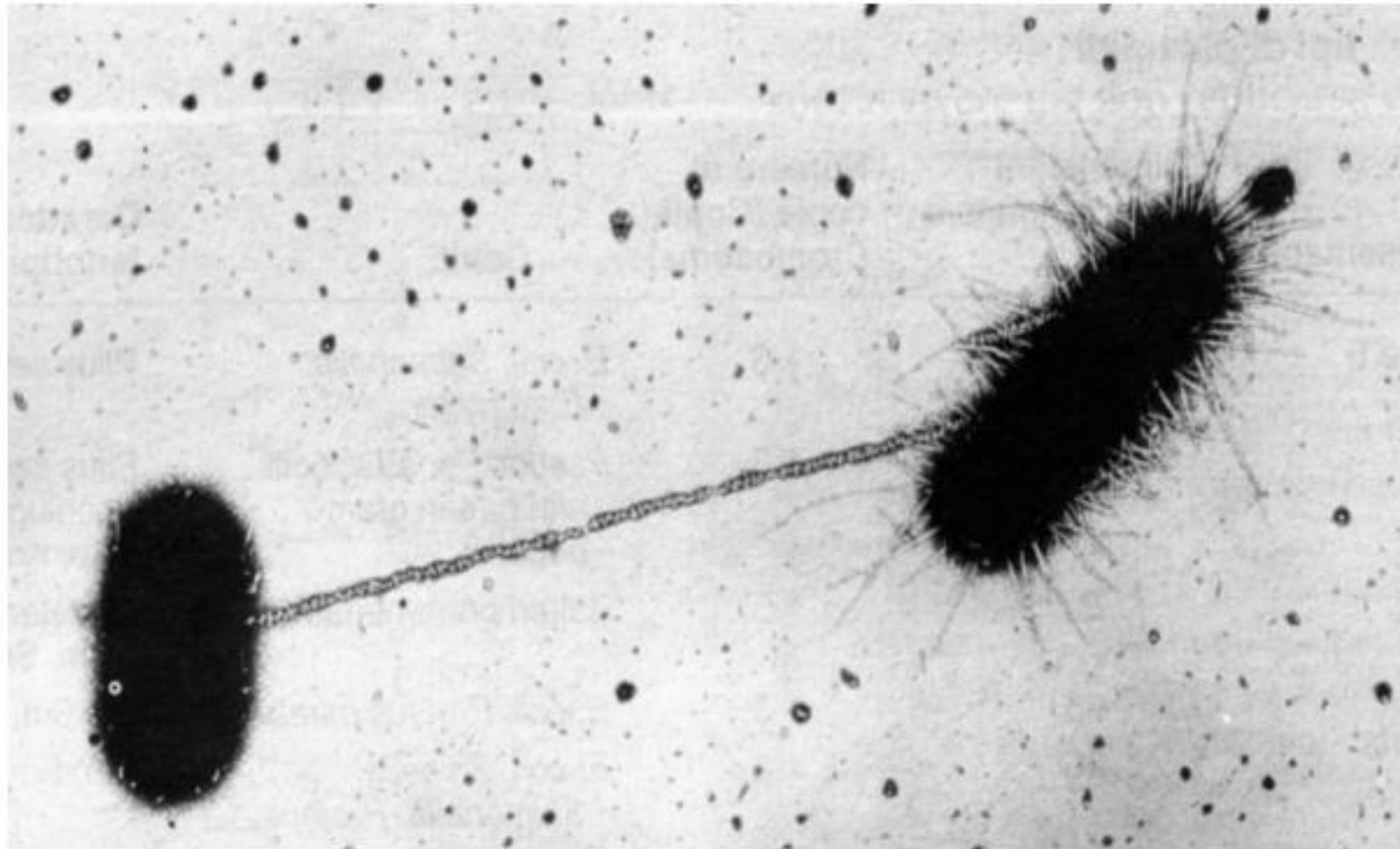
Plasmide R (resistenza agli antibiotici)



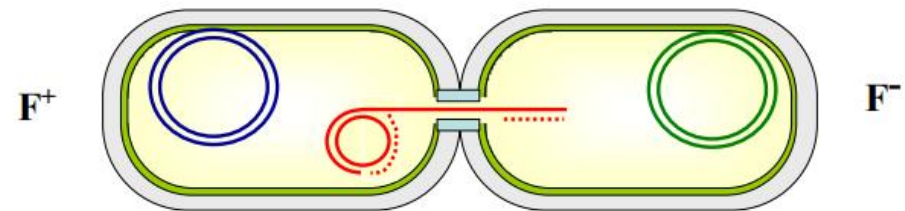
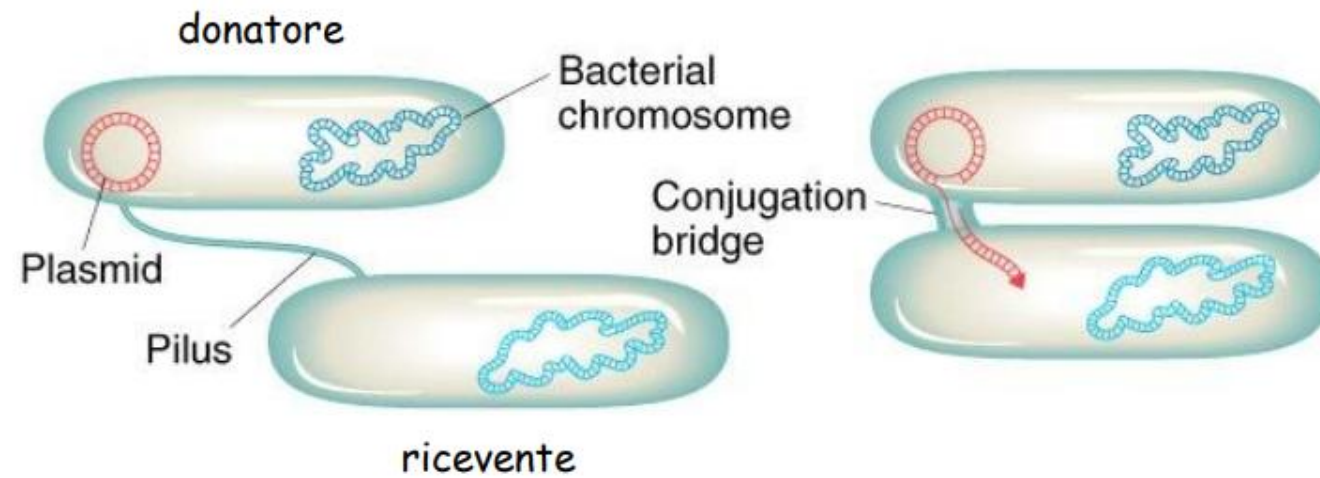
**Alcuni plasmidi (detti plasmidi CONIUGATIVI)
hanno la capacità di trasferirsi da una cellula batterica all'altra
attraverso un meccanismo specializzato di scambio genico
detto CONIUGAZIONE**



**La cellula portatrice del plasmide coniugativo (donatore)
riconosce una cellula che ne è priva (ricevente)
mediante il pilo F**



Pili F: presenti in numero di 1-10 per cellula, sono spessi 9-10 nm



Viene trasferito un filamento singolo di DNA del plasmide.
Nel ricevente e nel donatore vengono sintetizzati i filamenti complementari

Caratteristiche dei plasmidi coniugativi:

- **Possibilità di RAPIDA DIFFUSIONE in una popolazione batterica**
- **Trasferimento di materiale genetico tra specie anche molto diverse**
- **Ruolo molto importante nella DISSEMINAZIONE di DETERMINANTI GENETICI di RESISTENZA e VIRULENZA**

Coniugazione

- trasferimento di materiale genetico che presuppone il **contatto fisico tra** due cellule (**donatore** e **ricevente**)

Trasduzione

- trasferimento di materiale genetico veicolato da **batteriofagi**

Trasformazione

- introduzione all'interno della cellula batterica di **DNA libero** nell'ambiente esterno

