

MICROBIOLOGIA

Le strutture ed il trasporto (2)

- Differenze con quella dei Batteri:
 - La chiralità del glicerolo
 - Il tipo di legame (estere o etere) tra il glicerolo e la catena alifatica
 - Il tipo di catena alifatica

**La membrana plasmatica degli
Archea**

- ***La chiralità del glicerolo***

Negli Archea il fosfato è legato al glicerolo in posizione C1 dando così luogo alla forma enantiomera del **L-GLICEROLO**

- ***Il tipo di legame (estere o etere) tra il glicerolo e la catena alifatica***

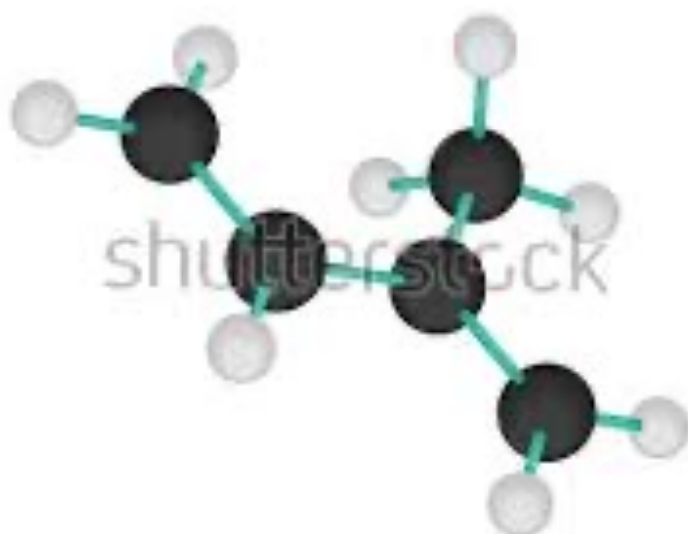
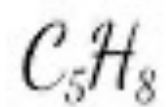
Negli Archea al posto delle catene di acidi grassi ci sono molecole di isoprenoidi il cui gruppo alcolico OH è legato all'L-glicerolo mediante un legame **ETERE** in C-2 o C-3.

- ***La natura chimica delle catene alifatiche***

I lipidi possono essere costituiti da:

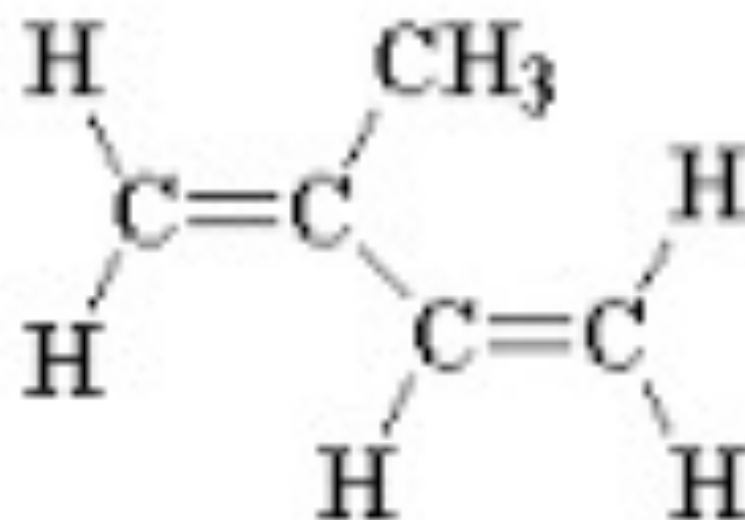
DIETERI DEL GLICEROLO (FINILE): formato da due catene alifatiche di 20 atomi di C legate ciascuna ad 1 glicerolo

TETRAETERI DEL GLICEROLO (DIFITANILE): formati da 2 catene alifatiche di 40 atomi di C ciascuna legata a 2 molecole di glicerolo (tipiche degli ipertermofili). Questa organizzazione garantisce una grande resistenza alle membrane.

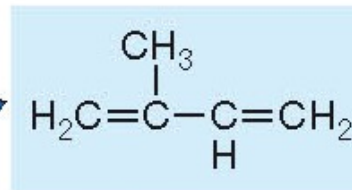


Isoprene

www.shutterstock.com · 391420141



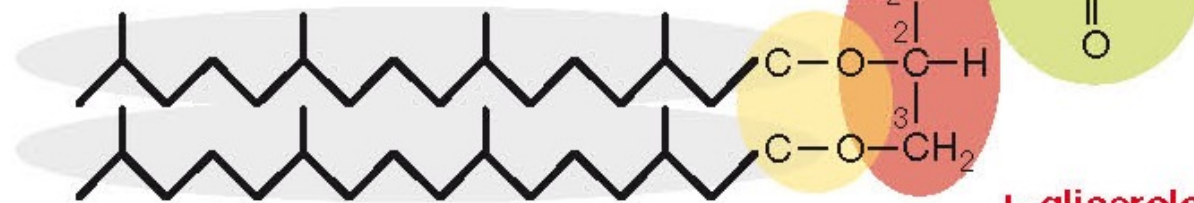
isoprene



Isoprene

Catene isopreniche

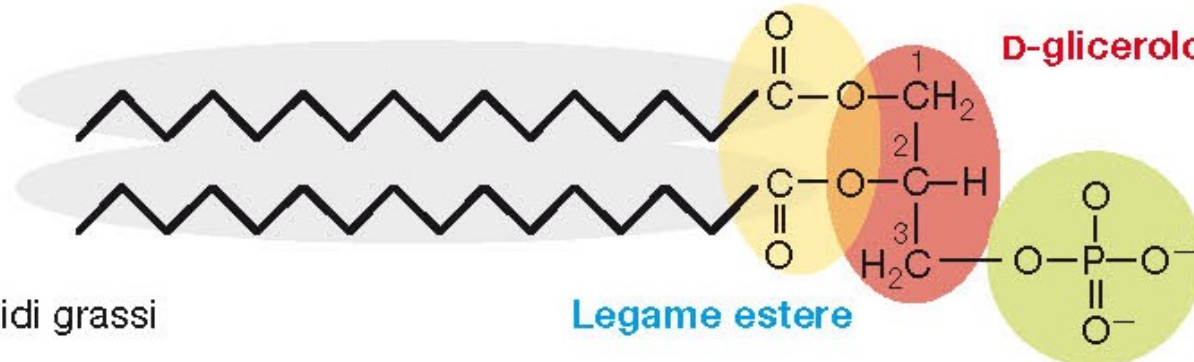
Legame etere



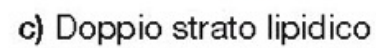
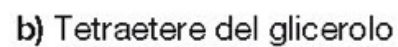
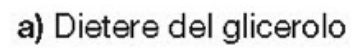
a)

Acidi grassi

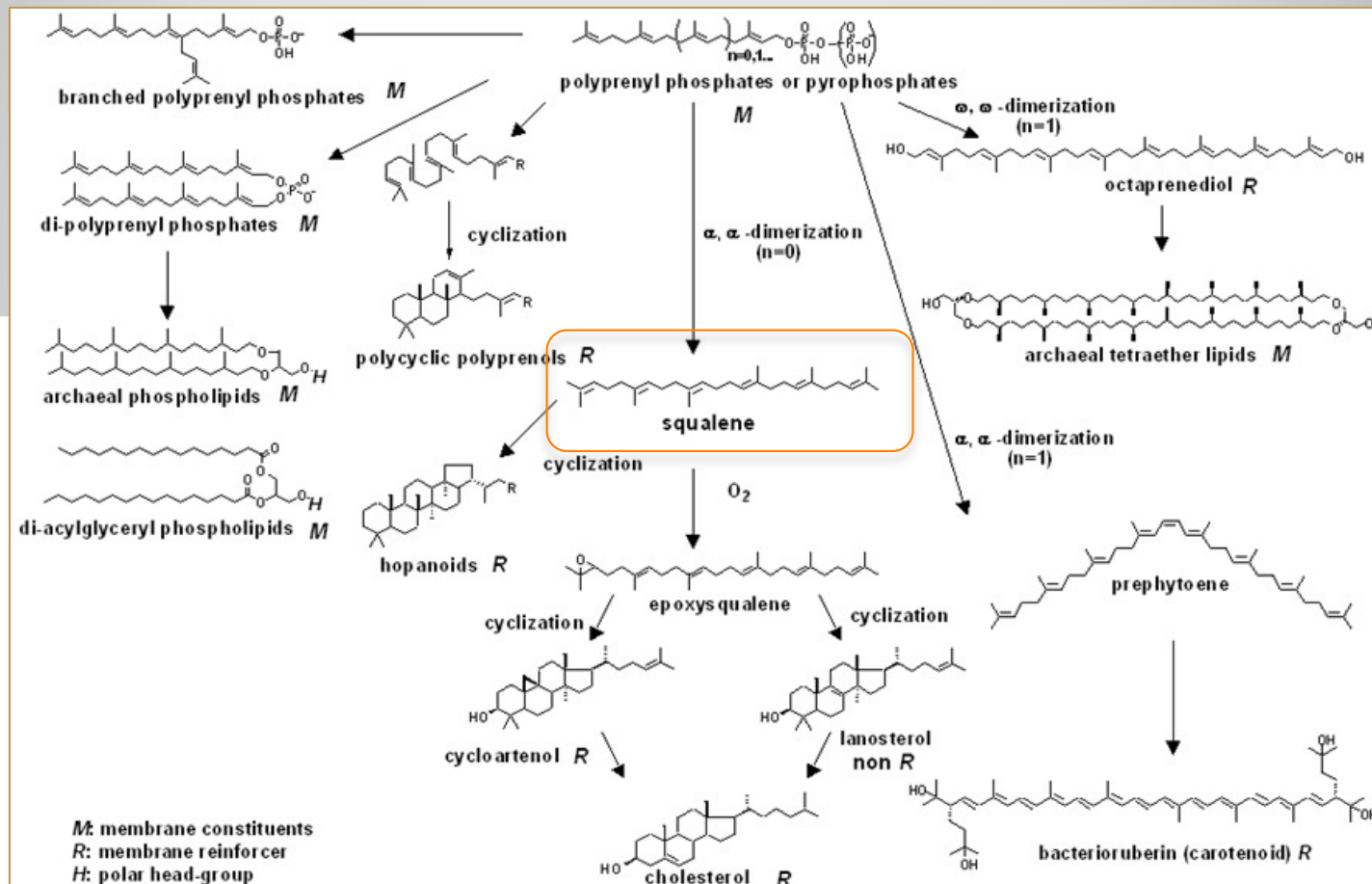
Legame estere



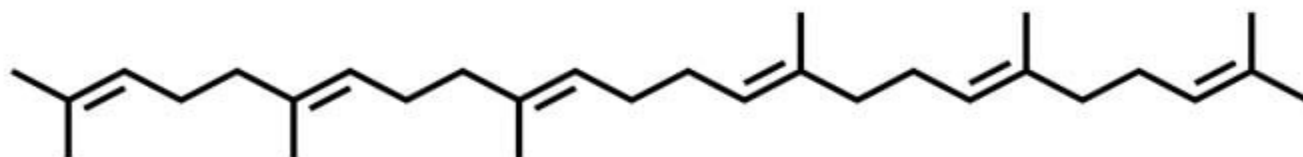
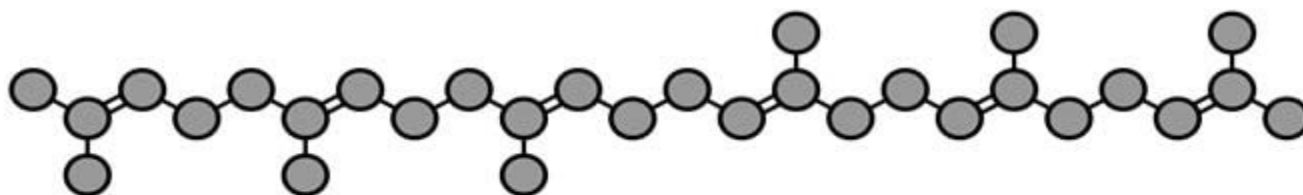
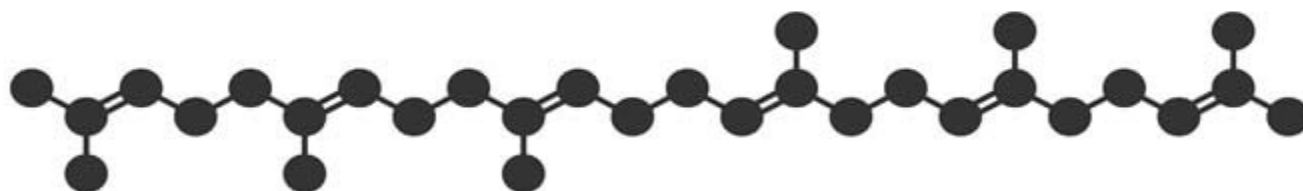
b)

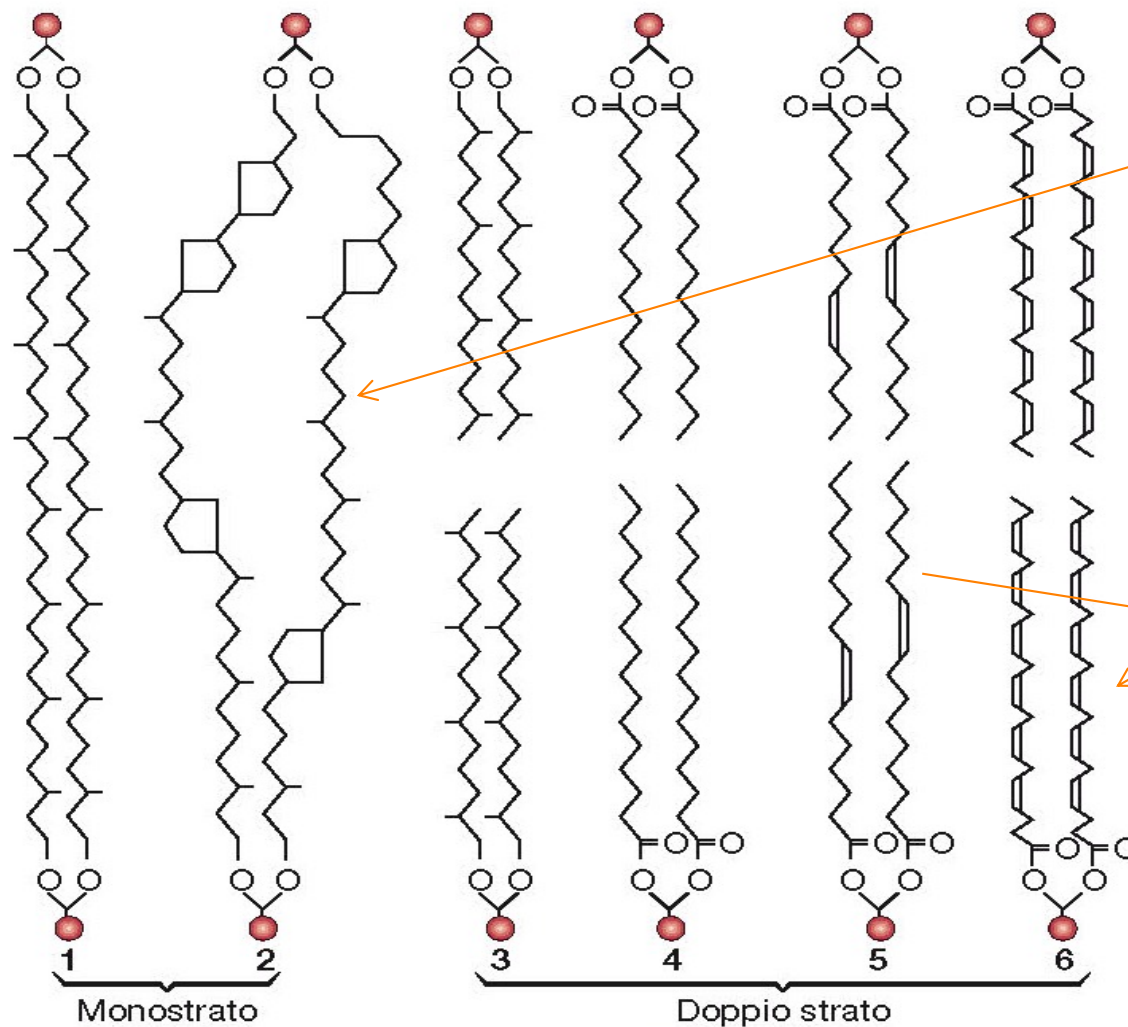


- La maggior parte dei lipidi degli Archea sono polari (70-93%) in quanto gruppi contenenti fosfato, zuccheri e solfato si possono unire ai C terziari dei di-o tetra-eteri rendendoli polari
- Il rimanente è invece apolare ed è costituito quasi esclusivamente dallo squalene e dai suoi derivati



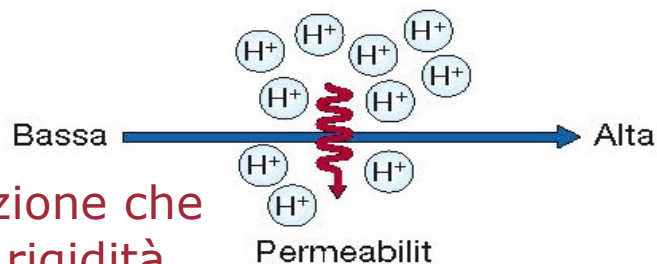
Squalene





Strutture cicliche a 5 atomi di C: anelli ciclopentanici. Il tipo 2 è tipico degli *Crenarcheota*, Archea marini presenti nelle acque fredde

Acidi grassi insaturi



Organizzazione che conferisce rigidità alla membrana

LA MEMBRANA CITOPLASMATICA SERVE COME..

Membrana selettiva:

Il doppio strato fosfolipidico consente la diffusione dell'acqua, di molecole di O₂ e CO₂ e di piccole molecole liposolubili (ammoniaca, urea e altre) ma risulta impermeabile a: Ioni, composti polari e molecole di grandi dimensioni che necessitano di specifici **sistemi di trasporto**.

Produzione di energia:

In questa sede avvengono le trasformazioni di energia, per esempio la respirazione e la fotosintesi, generando un gradiente ionico transmembrana, alla base della forza **proton-motrice**.

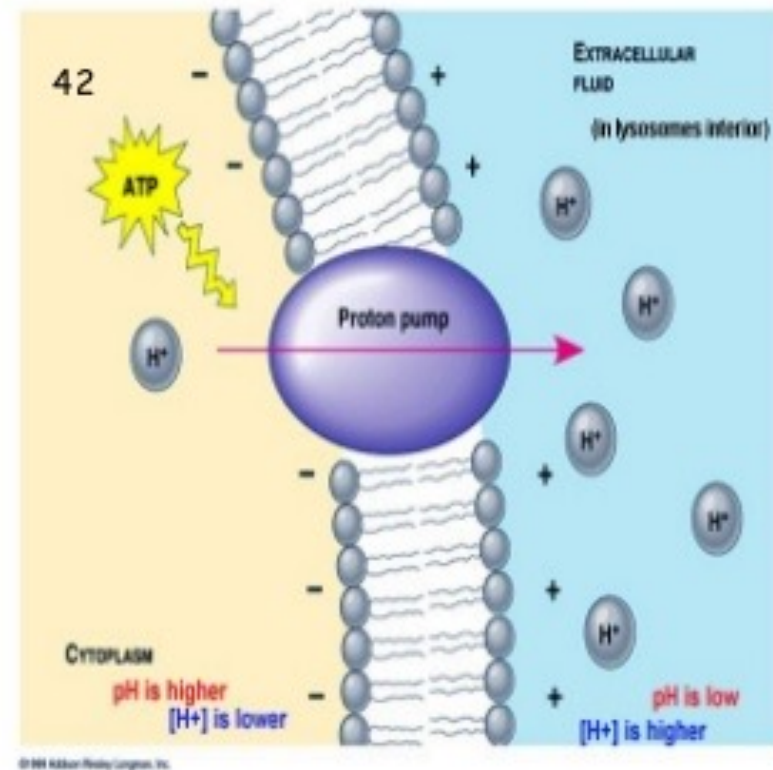
Sede della trasduzione del segnale:

In questa sede si trovano specifiche molecole proteiche, i sensori, in grado di recepire i segnali ambientali, ad esempio cambiamenti nella concentrazione di particolari ioni, aumento della osmolarità o del pH, e di mediare le risposte adattative dei batteri

Ancora...

- Barriera osmotica...
- Sito di sintesi della parete cellulare..
- Sito di innesto delle molecole del «citoscheletro»
- Barriera per il trasporto delle proteine dal citoplasma al periplasma ...

- The term proton-motive force (PMF), derived from the **electrochemical gradient** can be described as the measure of the potential energy stored as a combination of proton and voltage gradients across a membrane (differences in proton concentration and electrical potential). The electrical gradient is a consequence of the charge separation across the membrane (when the protons H^+ move without a counterion, such as chloride Cl^-).



IL TRASPORTO DI MEMBRANA

Si distinguono i seguenti tipi di trasporto:

- **TRASPORTO PASSIVO** (diffusione semplice o diffusione facilitata)
- **ATTIVO** (trasporto associato a ioni e trasporto ABC).
- **TRASLOCAZIONE DI GRUPPO** (il sistema della fosfotransferasi)

Un parametro associato al trasporto di membrana: **la velocità del trasporto**

Tabella 3.3 Permeabilità delle membrane ad alcune molecole, valori indicativi.

MOLECOLA	DIFFUSIBILITÀ RELATIVA
Acqua	1
Glicerolo	10^{-3}
Triptofano	10^{-5}
Glucosio	10^{-5}
Ione cloro (Cl^-)	10^{-8}
Ione potassio (K^+)	10^{-9}
Ione sodio (Na^+)	10^{-10}

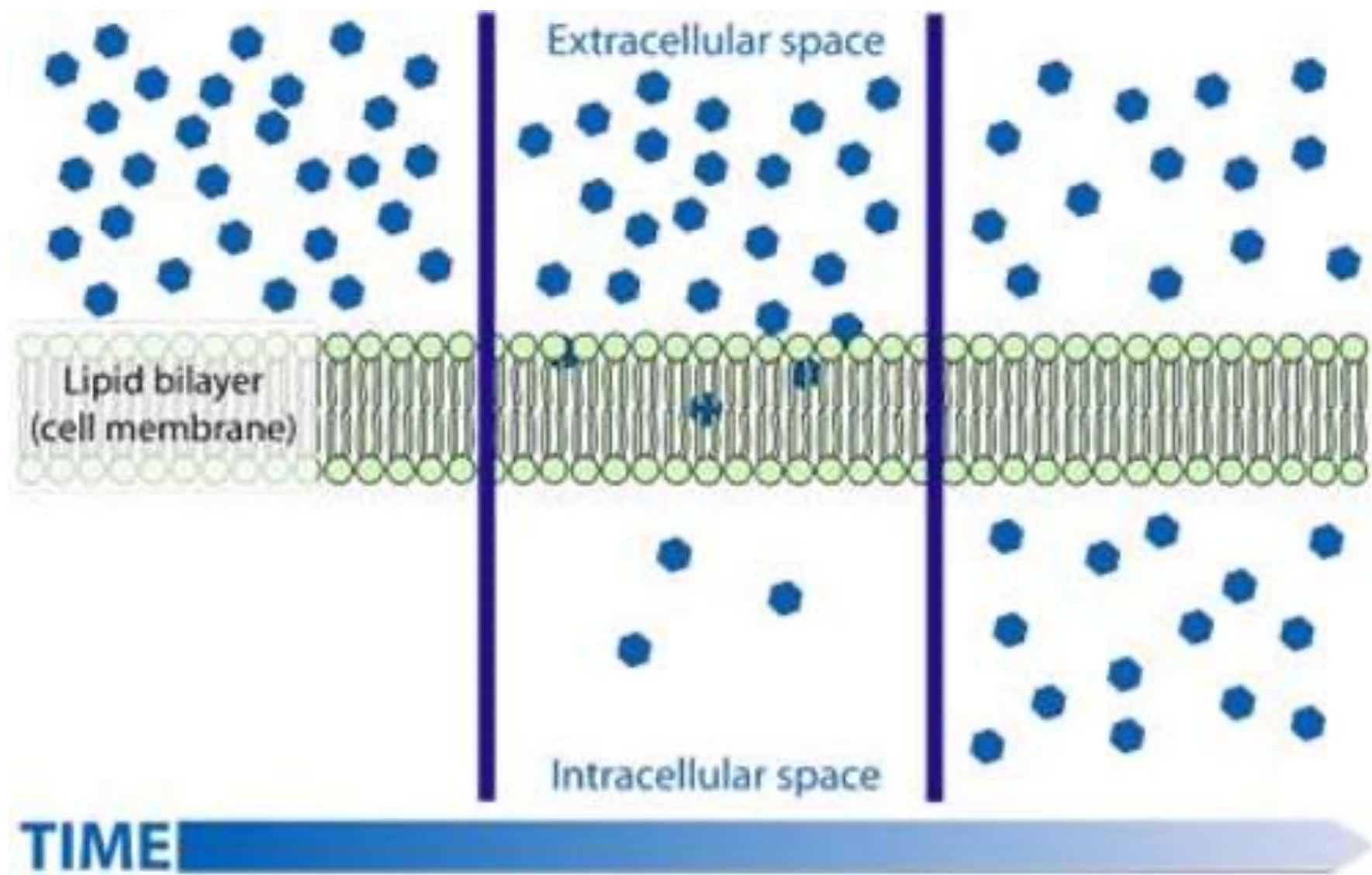
La scala è relativa alla permeabilità dell'acqua a cui è convenzionalmente assegnato il valore di 1.

- Solo molecole piccole e apolari o poco polari sono in grado di attraversare il doppio strato fosfolipidico della membrana.
- Se non esistessero meccanismi specifici di trasporto questa limitazione sarebbe incompatibile con la vita del microorganismo.

Un altro parametro associato al trasporto di membrana: la direzione della diffusione

- Il trasporto **secondo gradiente** prevede che il soluto passi dal compartimento a maggiore concentrazione a quello a concentrazione minore. L'energia in questo caso è fornita dal gradiente stesso di concentrazione.
- Il trasporto **contro gradiente** avviene quando la concentrazione del soluto è pari nei due compartimenti o è maggiore nel compartimento verso cui il trasporto deve avvenire. In questo caso è necessario fornire energia al sistema.





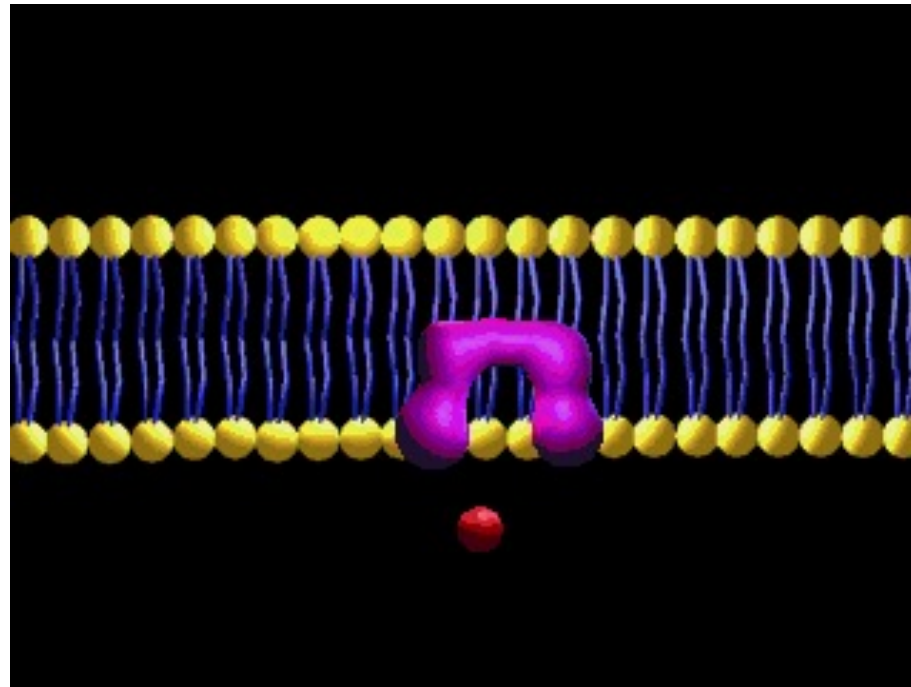
- Si indica come **trasporto passivo** (o diffusione) il passaggio o la diffusione che avviene quando il soluto viene trasportato da un gradiente di concentrazione e quindi non comporta un dispendio di energia.
- Nell'ambito del trasporto passivo il processo di **diffusione facilitata** è tipico di alcune molecole che potrebbero passare liberamente secondo il gradiente di concentrazione, ma che non possono perché la membrana è impermeabile. Questo processo è rilevante per gli eucarioti.

La diffusione facilitata

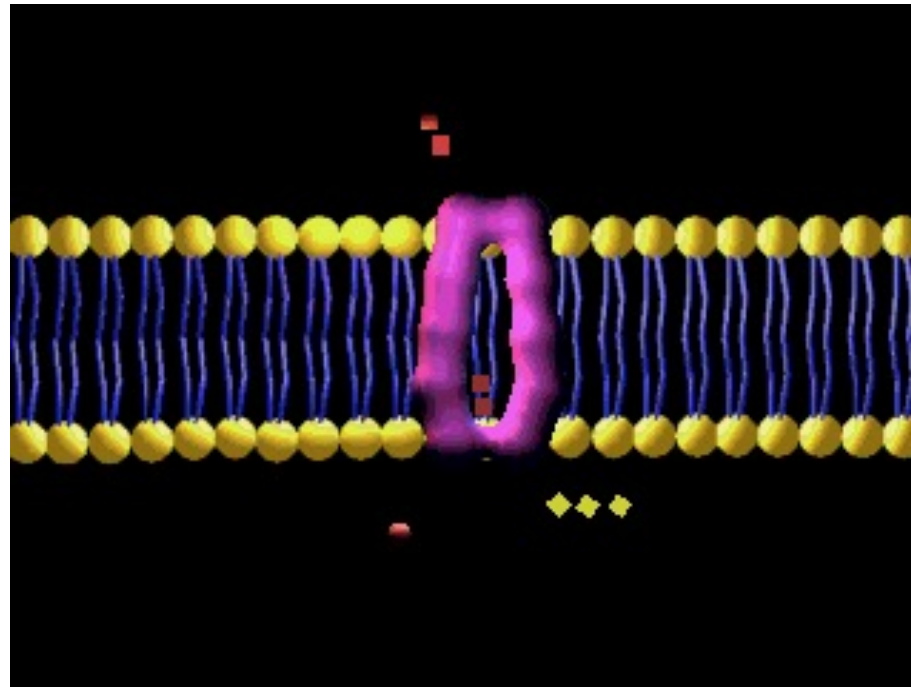
- Quei soluti che non riescono ad attraversare la membrana hanno bisogno dell'intervento di proteine membranari che ne facilitino il passaggio.
- Queste possono essere di due tipi:
integrali di membrana
carriers

- Le **PROTEINE CARRIERS**: quando il soluto non è presente le proteine carriers posseggono una struttura tridimensionale che consente loro di legare il soluto stesso. Una volta che il soluto si è legato alla proteina carrier, il legame determina un cambio conformazionale nella molecola proteica. A tale cambiamento nella conformazione consegue una diminuzione dell'affinità della proteina carrier verso il soluto; il soluto viene così rilasciato. In seguito al rilascio del soluto, la proteina torna alla conformazione iniziale.

- Il fenomeno della diffusione facilitata da carrier non è molto comune dei procarioti. Bisogna ricordare che in ogni caso questo trasporto avviene secondo un gradiente di concentrazione. Le molecole quindi non possono venire accumulate nel citoplasma batterico.
- In *E.coli* il glicerolo viene trasportato mediante questo meccanismo.



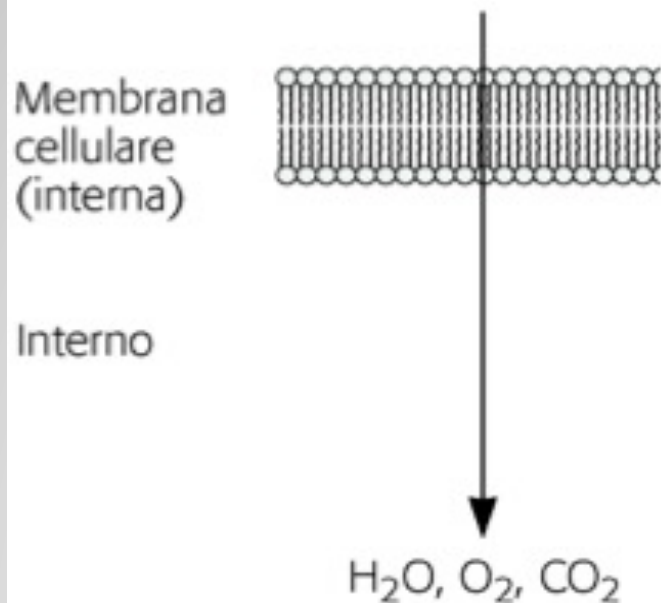
- Le **PROTEINE CANALE** costituiscono un canale che attraversa la membrana; questo canale possiede condizioni chimico-fisiche adatte al passaggio di specifici soluti



Riassumendo: il trasporto passivo include..

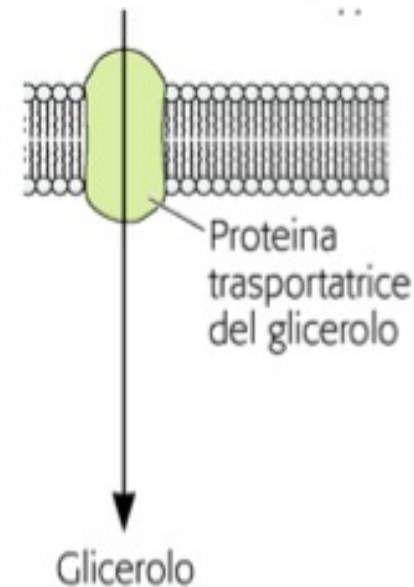
DIFFUSIONE SEMPLICE

O_2 ; CO_2 ; H_2O



DIFFUSIONE FACILITATA

X es. glicerolo in *E. coli* o glucosio in *Zymomonas* e *Streptococcus*

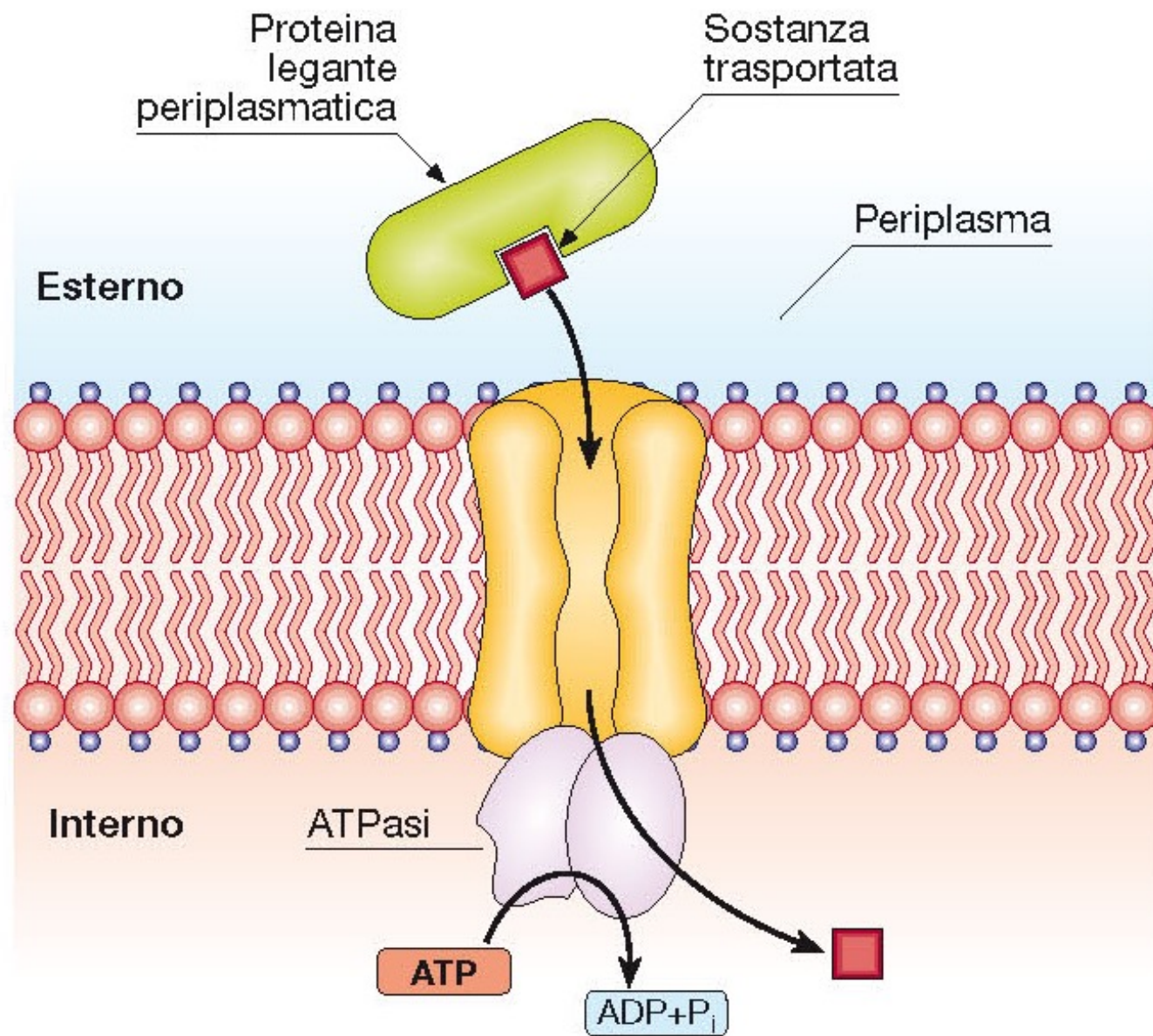


Il trasporto attivo, invece, avviene quando..

- Si accumulano nutrienti nel citoplasma.
- Si trasportano molecole all'interno contro un gradiente di concentrazione.
- Si sfrutta l'energia metabolica:
 - Idrolisi dell'ATP
 - Reazioni di ossido-riduzione
 - Energia fotochimica

Il trasporto primario (che fa parte del trasporto attivo) è spesso legato ai sistemi ABC

- Il trasporto primario è molto comune nei procarioti:
- Il trasporto dei soluti è legato al consumo di energia metabolica primaria, tipo l'idrolisi di ATP.
- Un esempio tipico è dato dai sistemi ABC
- I sistemi ABC sono composti da:
 - Una proteina che lega ed idrolizza l'ATP
 - Una proteina che funge da canale
 - Una proteina in superficie che lega il soluto e che nei Gram-negativi si trova nel periplasma
 - E nei Gram-+ si trova in superficie.

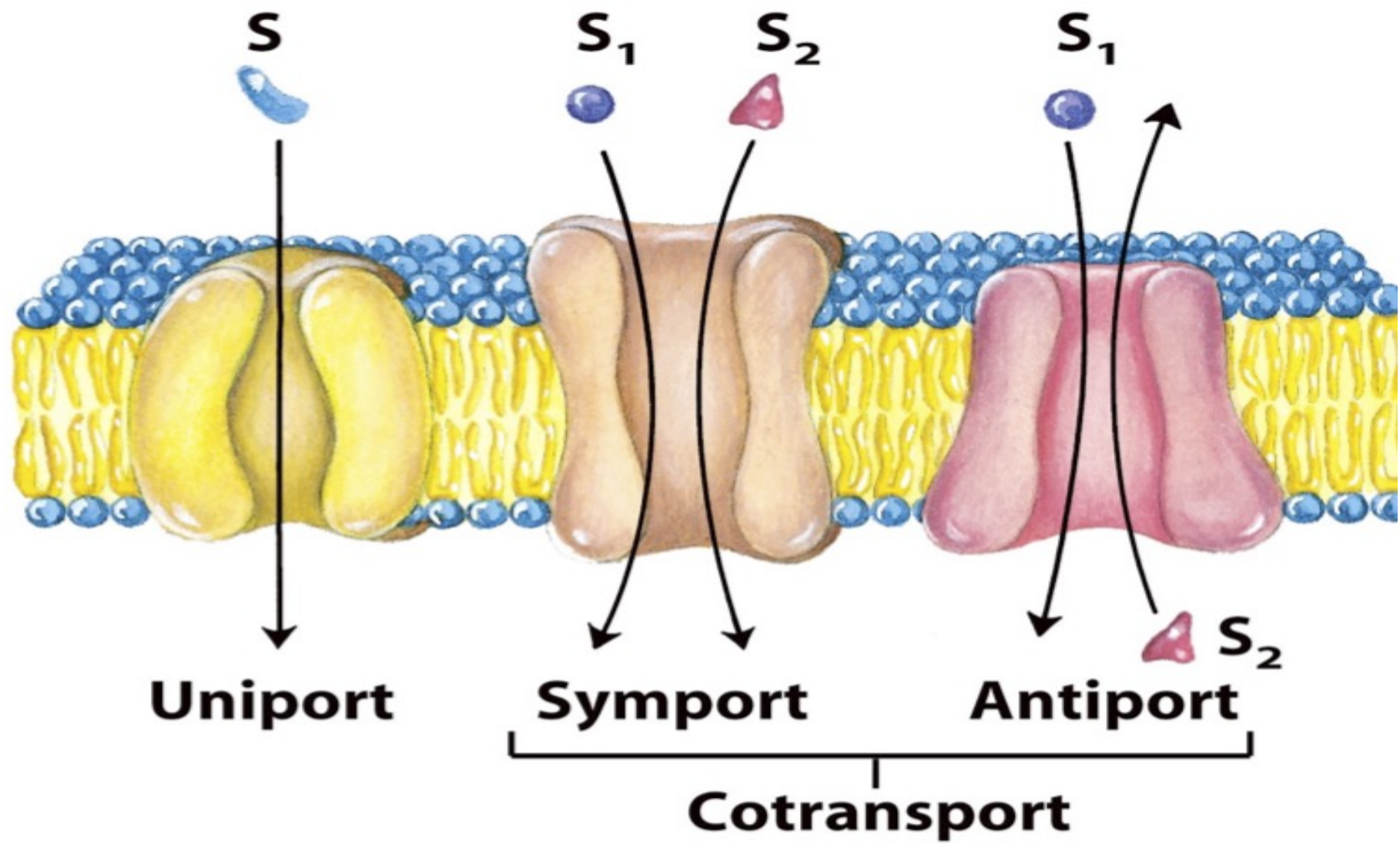


- È un sistema molto comune tra i batteri (circa la metà dei substrati sono trasportati in questo modo in *E. coli*)
- I batteri trasportano in questo modo oligosaccaridi, oligopeptidi, metalli (Mn^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+}), molecole complesse (vitamine)

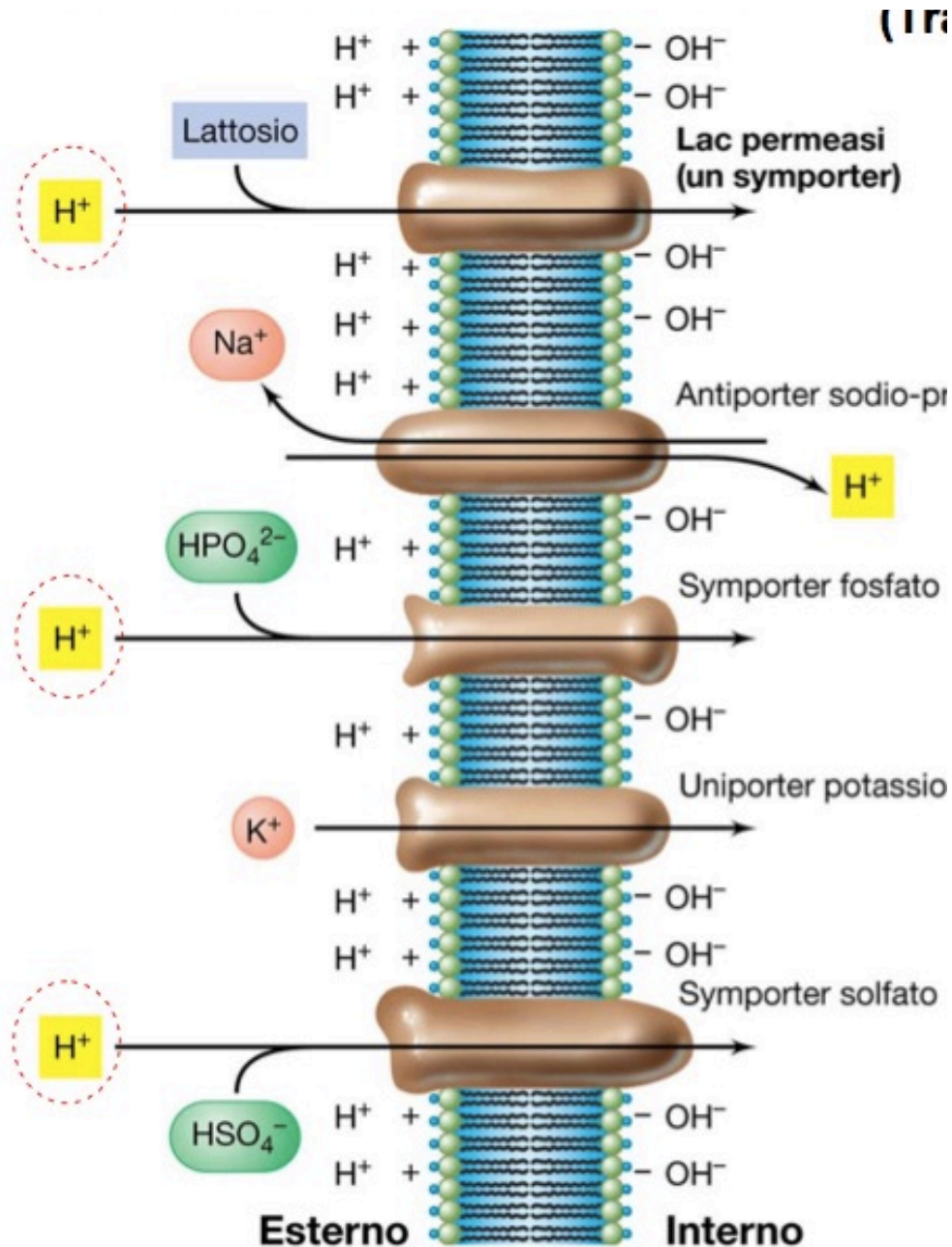
Il trasporto secondario (o trasporto associato a ioni) che fa parte del trasporto attivo..

- Il trasporto secondario sfrutta l'energia potenziale di un gradiente elettrochimico (H^+ , Na^+) sviluppato da un trasporto primario, per il trasporto attraverso la membrana, contro un gradiente di concentrazione e con velocità alta.
- I soluti verranno concentrati all'interno del citoplasma.
- Anche in questo caso intervengono molecole trasportatrici che riconoscono le molecole all'esterno e le trasportano nel citoplasma..

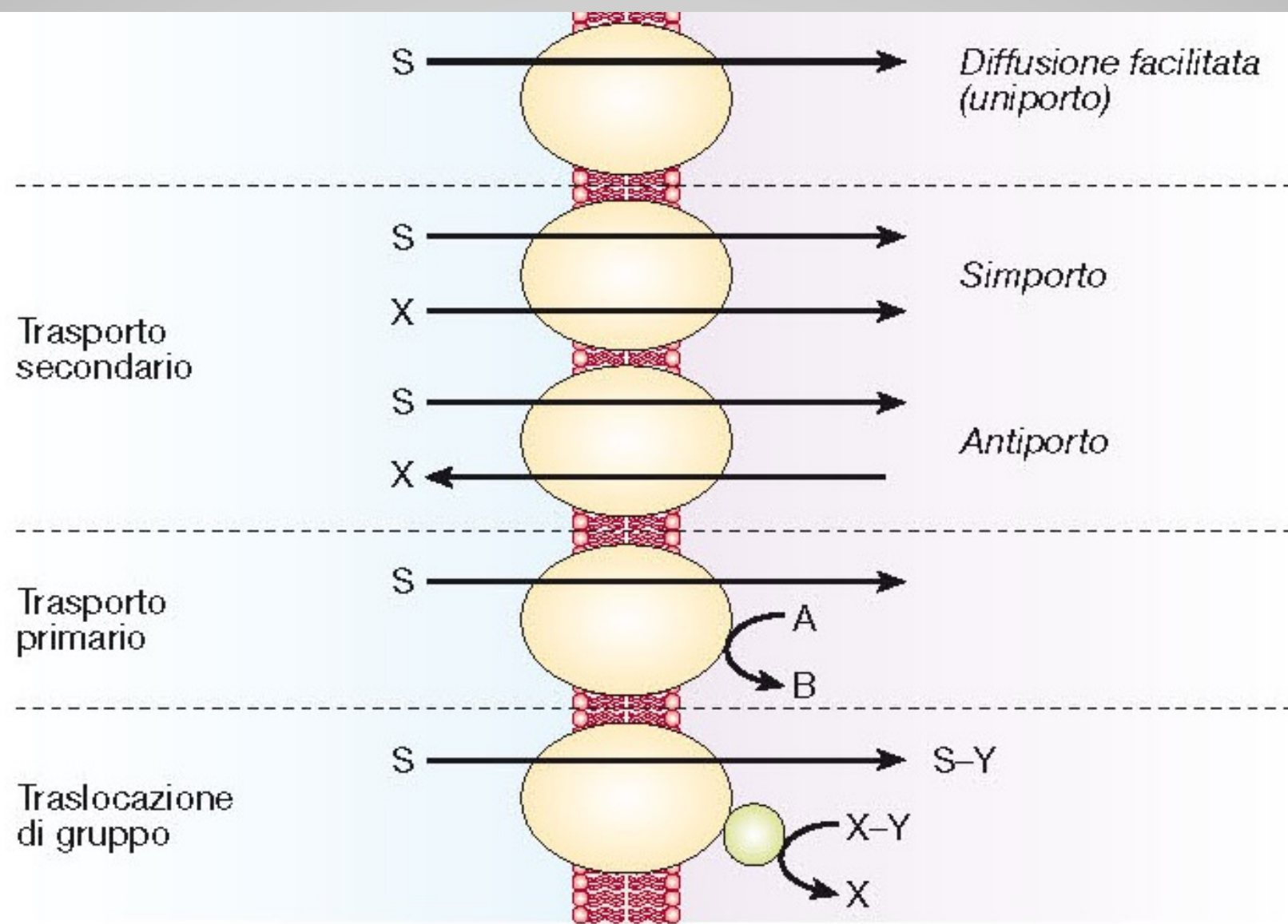
- A differenza del sistema del trasporto facilitato che coinvolge la mediazione di un trasportatore, nel trasporto secondario le molecole che legano specificamente il substrato da trasportare, possono agire contro il gradiente di concentrazione
- Questo sistema può trasportare le molecole (ad esempio gli aa) fino ad una concentrazione circa 10^6 maggiore nel citoplasma rispetto all'esterno.
- I sistemi di trasporto secondario si suddividono in
 - Uniporto
 - Simporto
 - antiporto



- Strutturalmente questi trasportatori spesso formano **12 alfa eliche** nello spessore della membrana a formare un canale di veicolo delle sostanze trasportate nelle cellula
- Si possono distinguere **trasportatori uniporter** che trasportano una sostanza unidirezionalmente da un lato all'altro della membrana
- **trasportatori symporter** che trasportano nella stessa direzione il soluto insieme allo ione che fornisce l'energia per il trasporto, in genere un protone (H^+)
- **trasportatori antiporter** che trasportano il soluto in una direzione e lo ione nella direzione opposta.



- I sistemi di uniporto, simporto ed antiporto sono guidati dalla FORZA PROTON MOTRICE che viene rigenerata attraverso le reazioni cataboliche cellulari.
- LA FORZA PROTON-MOTRICE si genera a livello della membrana durante la respirazione e attraverso il complesso della ATP sintasi (F1-Fo ATPasi) sia in batteri con metabolismo respiratorio che fermentativo



La traslocazione di gruppo

- Nel processo di traslocazione di gruppo una molecola viene trasportata all'interno della cellula ed allo stesso tempo viene modificata enzimaticamente.
- Questo è un processo esclusivo dei procarioti.
- E' molto comune e serve innanzitutto per il trasporto degli zuccheri che allo stesso tempo vengono fosforilati.
- In questo processo vengono coinvolti sia il trasportatore che gli enzimi-citoplasmatici-che modificano il substrato.

Da ricordare:

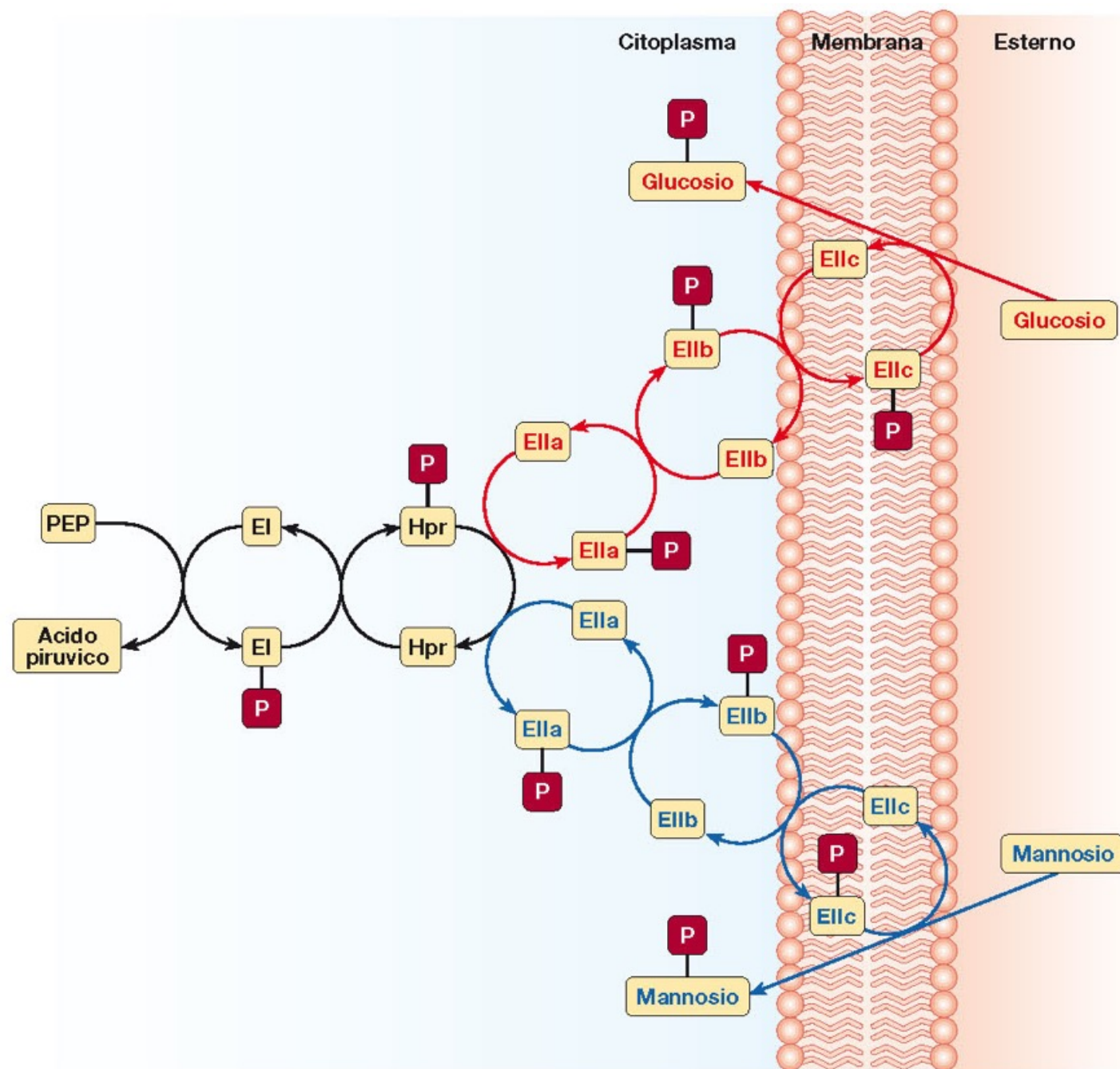
- La traslocazione di gruppo realizza il trasporto attraverso modificazioni chimiche del soluto
- In questo sistema l'energia viene spesa non per il processo di trasporto, ma per formare un derivato intracellulare che risulti impermeabile alla membrana e che quindi rimanga intrappolato nella cellula

L'esempio classico è il:

- **Sistema delle fosfotrasferasi (PTS)**,
che media il trasporto di zuccheri quali il glucosio, il mannosio e fruttosio.
- In *E.coli* il trasporto del glucosio richiede le proteine:
 - **EI** (cit)
 - **HPr** (cit)
 - **EIIa** (cit)
 - **EIIb** (cit)
 - **EIIc** (trasportatore)

- Le proteine vengono fosforilate e defosforilate.
- Generano un processo a cascata.
- La proteina EI**I**b è associata al trasportatore EI**I**c.
- EI**I**b si trova sulla faccia citoplasmatica della membrana.
- EI riceve il fosfato dal fosfoenolpiruvato (PEP, un intermedio della glicolisi).

- EI trasferisce il gruppo fosfato a HPr e così via..
- Quando anche il trasportatore EIIC viene fosforilato, può riconoscere il Glucosio all'esterno (nel periplasma) e trasportarlo nel citoplasma cedendogli poi il gruppo fosfato e trasformandolo in Glucosio-6-fosfato.
- Le proteine EI e HPr, cioè le prime coinvolte nel processo di traslocazione, sono proteine "aspecifiche" che possono intervenire anche nel trasporto di altri zuccheri

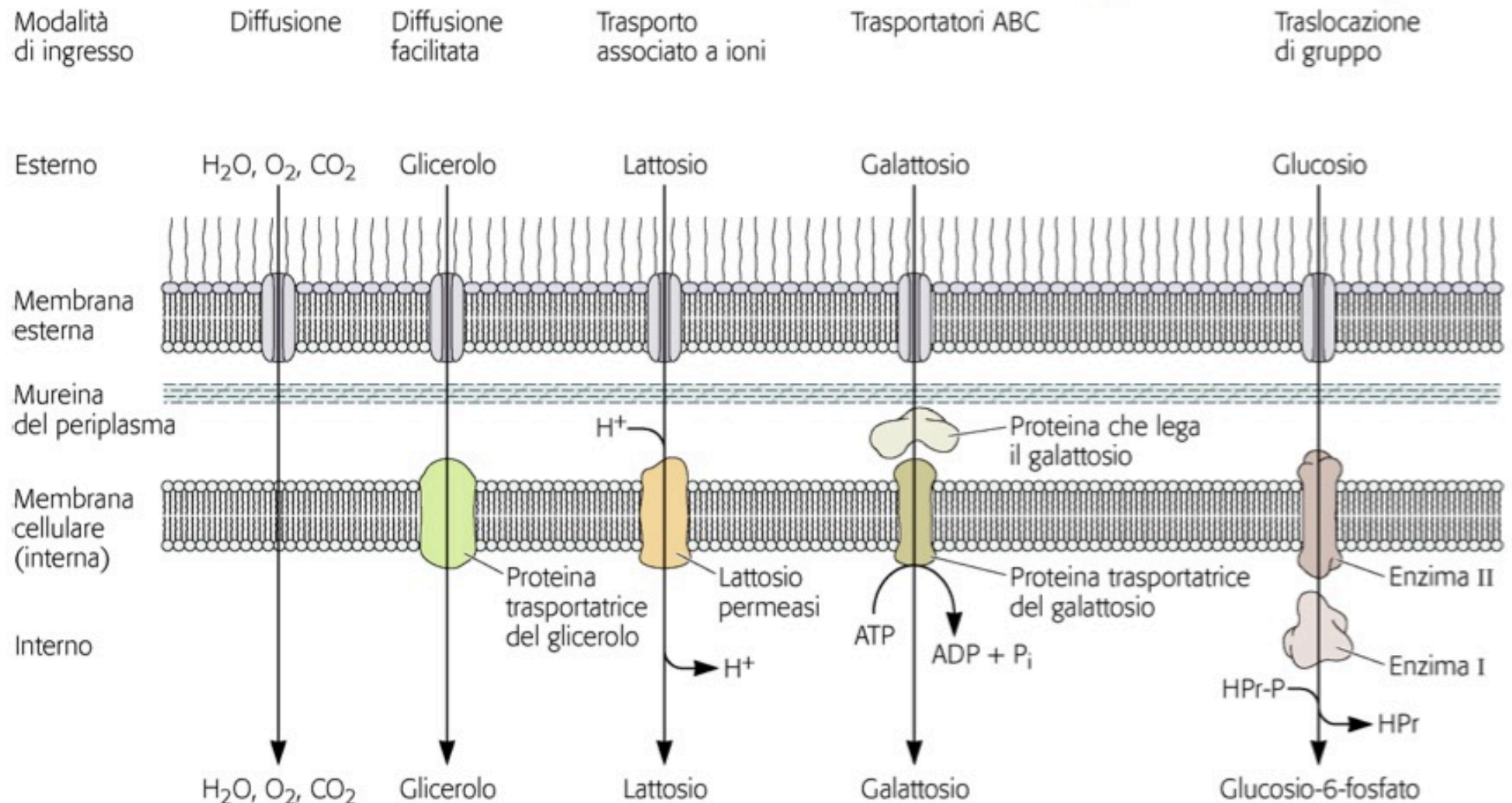


- Gli enzimi EII sono invece specifici per ogni zucchero e vengono designati con il nome dello zucchero come indicativo es. EIIa_{frut} etcc..
- A volte gli enzimi EIIa,b,c sono riuniti in un'unica molecola che presenta i 3 domini riuniti.
- Il sistema PTS è molto diffuso sia nei batteri Gram-positivi che Gram-negativi

DA RICORDARE..

- Spesso alcune “grandi molecole” del tipo degli zuccheri complessi, amido, cellulosa, o molecole cariche, come i nucleotidi, pur non potendo essere trasportate attraverso la membrana possono fungere da nutrienti per i batteri.
- In questo caso la degradazione in sostanze capaci di attraversare la membrana (es. monosaccaridi, nucleosidi, fosfato) avviene per mezzo di enzimi degradativi batterici che possono anch'essi attraversare la membrana (dall'interno all'esterno), mediante i sistemi di secrezione batterici

IL TRASPORTO DI MEMBRANA IN *E. coli* (riassuntivo)

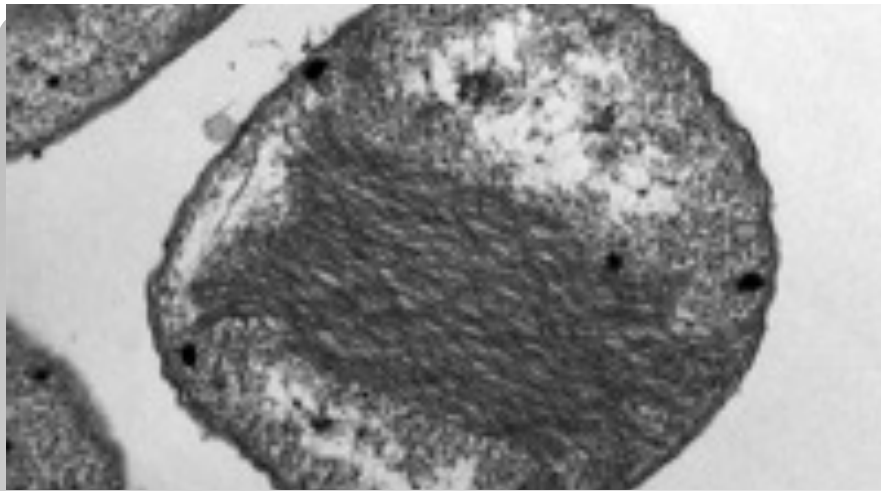


Esistono anche diversi altri sistemi di trasporto, che completano i sistemi principali, come il trasporto di Fe²⁺ mediato dal sideroforo di *E. coli* ENTEROCHELINA (è un potentissimo agente chelante del ferro)

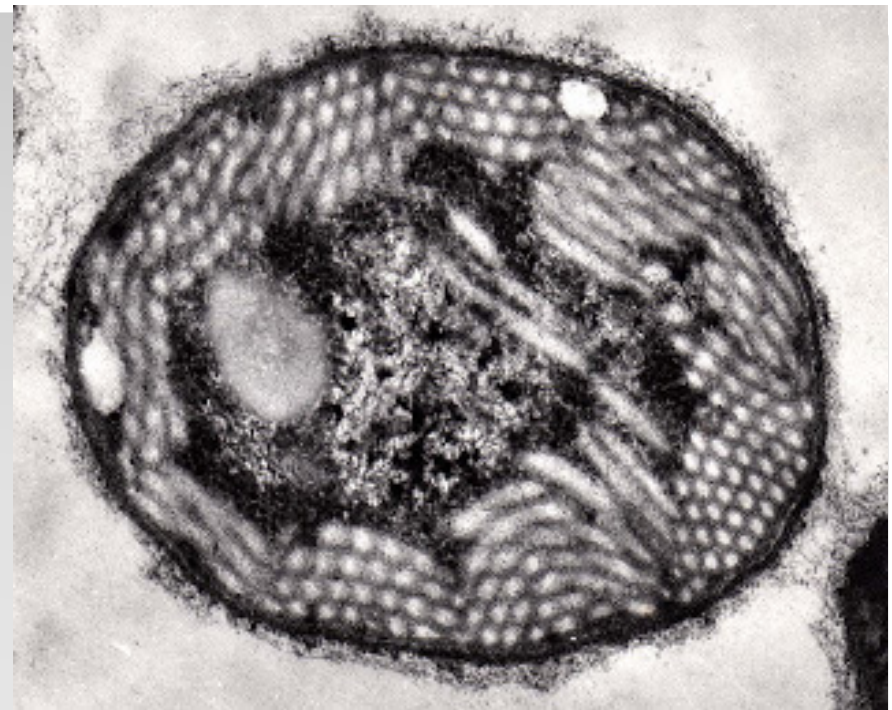
I MESOSOMI

- I mesosomi sono invaginazioni della membrana interna che formano vescicole, tubuli o lamelle.
- Sono maggiormente rappresentati nei batteri Gram-positivi
- Sembrano spesso associati ai setti nei processi di scissione binaria o direttamente ai cromosomi batterici
- E' stato prospettato un loro ruolo nella replicazione o nella suddivisione delle cellule figlie

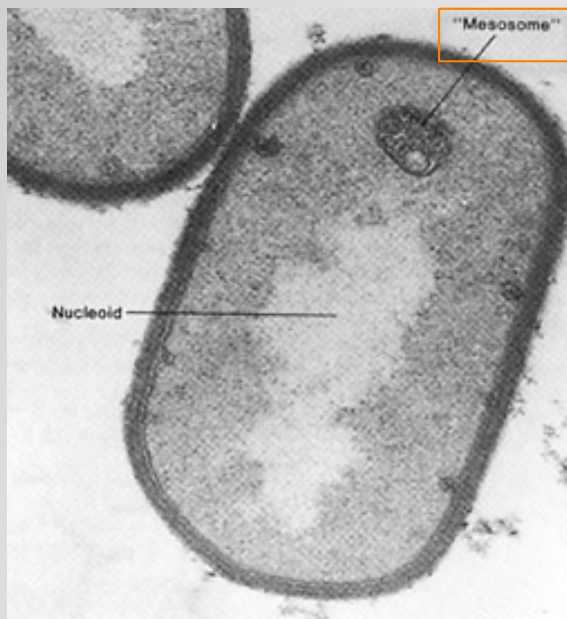
- Tuttavia alcuni autori ritengono i mesosomi degli artefatti tecnici (??)
- Altri batteri presentano membrane interne (es. ciano batteri, batteri porporini, batteri ad elevata attività respiratoria come quelli nitrificanti ecc) che hanno l'aspetto di vescicole o tasche. La loro funzione potrebbe essere quella di aumentare la superficie della membrana interna.



Nitrocystis oceanus



Ectothiorhodospira mobilis



Mesosomi