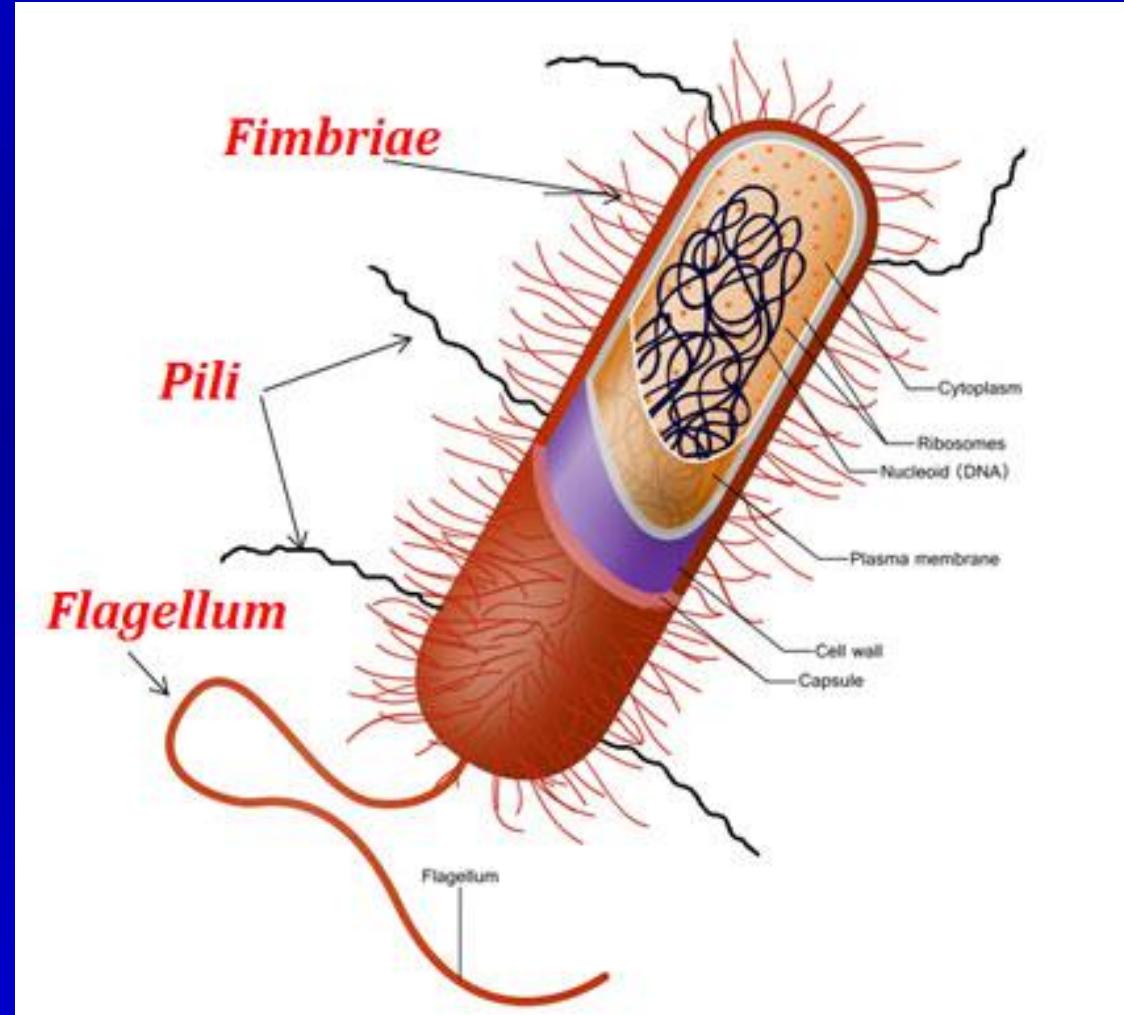
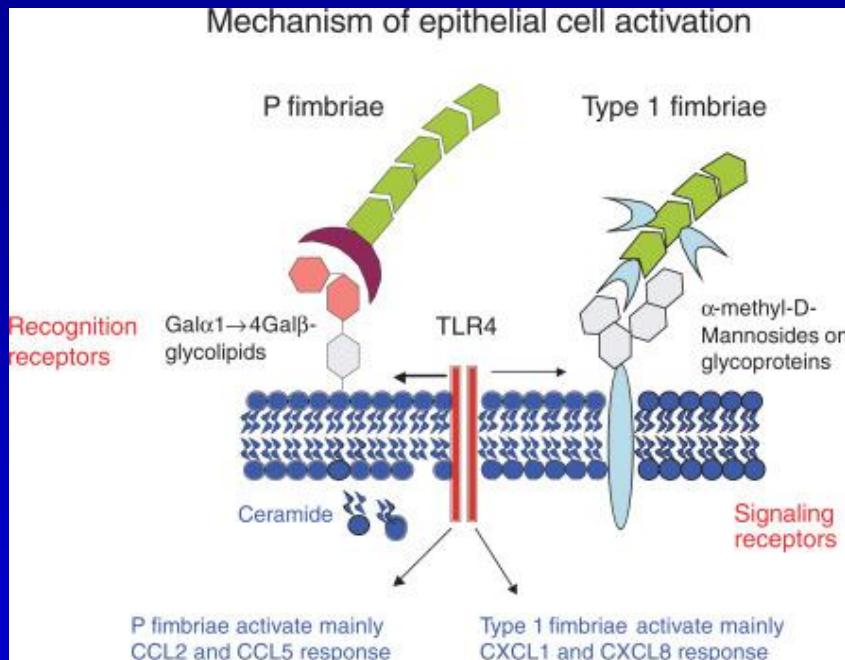


# Appendici esterne della cellula batterica



# Pili e Fimbriae

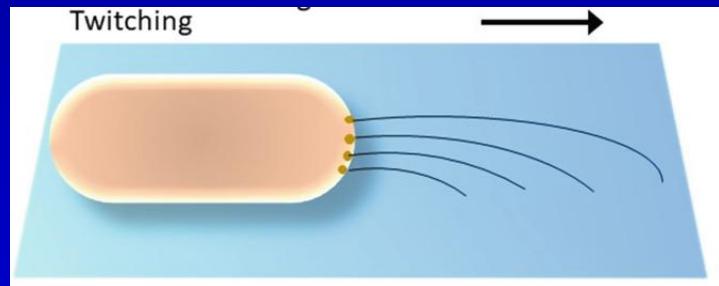
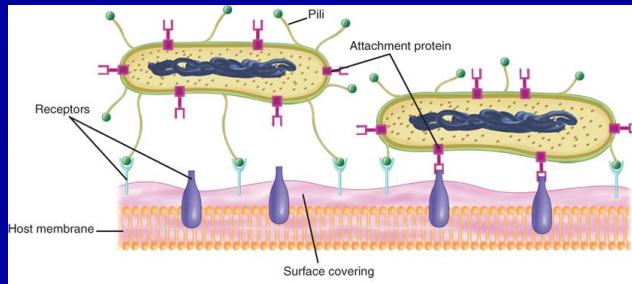
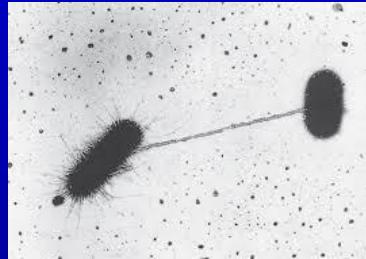
- Le Fimbriae e i pili sono sottili (0,2-10 nm in diametro) strutture proteiche tubulari che originano dalla membrana plasmatica delle cellule batteriche.
- I Pili sono tipicamente più lunghi e in numero minore mentre le fimbriae sono di solito corte e numerose
- I Pili e le Fimbriae possono mediare l'adesione dei batteri alle superfici in modo da favorire la colonizzazione e la resistenza al lavaggio.



Le fimbriae e i pili sono costituiti da una singola proteina. In alcuni casi, principalmente nei batteri patogeni, all'estremità della struttura è presente un elemento adesivo in grado di riconoscere specificamente un recettore sulla superficie di una cellula ospite, solitamente una glicoproteina o un glicolipide.

# Funzione dei Pili

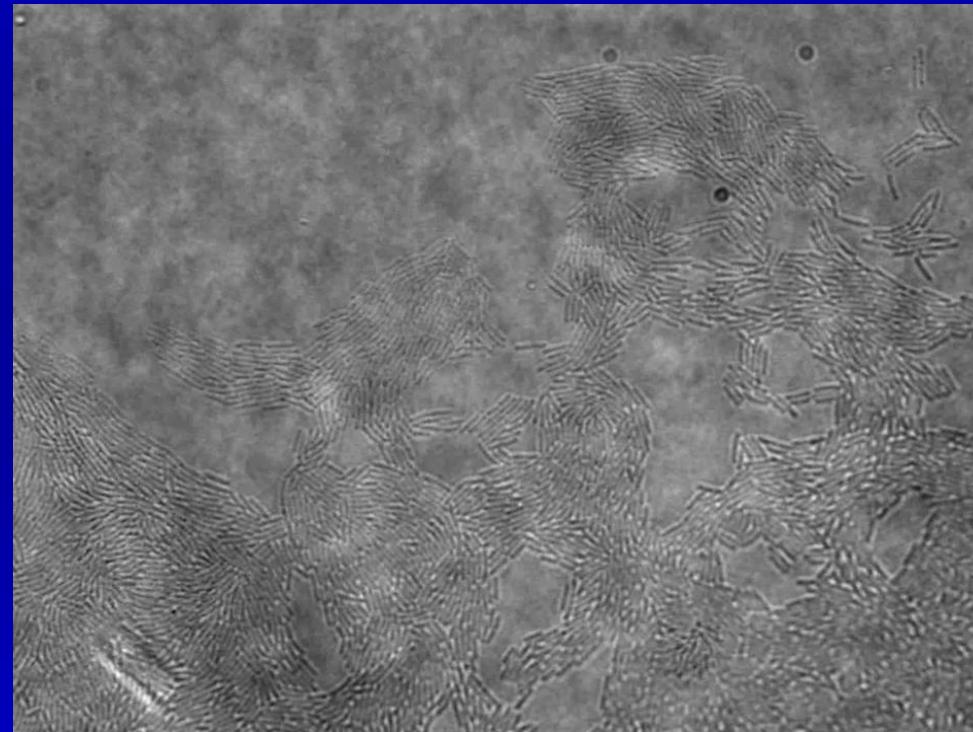
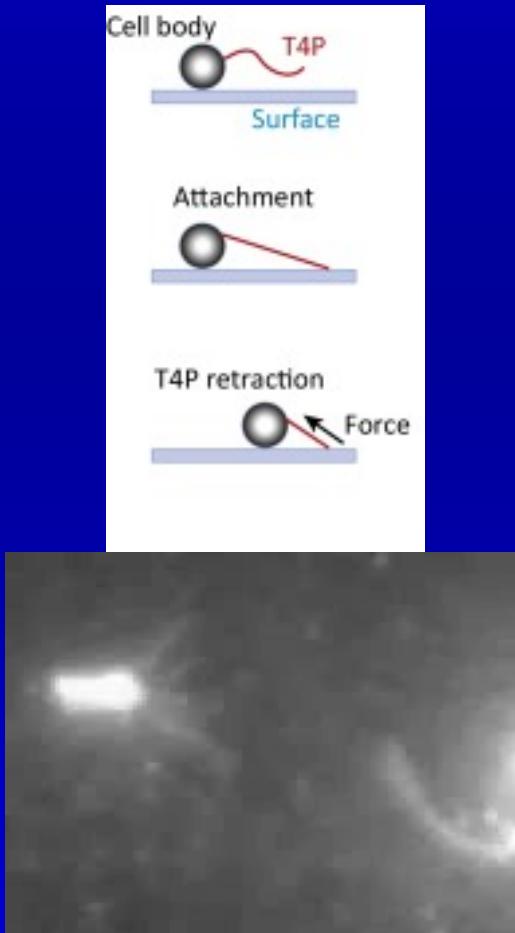
- **Scambio genico:** il pilo sessuale è implicato nella coniugazione (es. il pilo F)
- **Pathogenicità:** alcuni Pili sono coinvolti nell'adesione su specifici tessuti dell'ospite favorendone l'invasione (es Pili di tipo IV) o la formazione di biofilm.
- **Movimento:** alcuni Pili sono responsabili di alcuni tipi di movimento : twitching (Type IV Pilus).



*Myxococcus xanthus* (speed: 2-4  $\mu\text{m}/\text{min}$ )

# Twitching

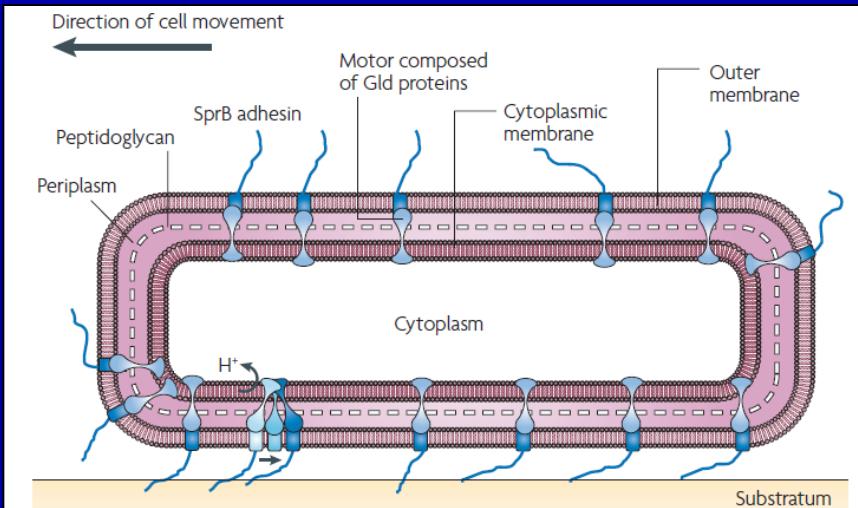
Twitching motility depends on a specific type of pili (**type IV pilus**)  
Speed: 0,05–1  $\mu\text{m/sec}$



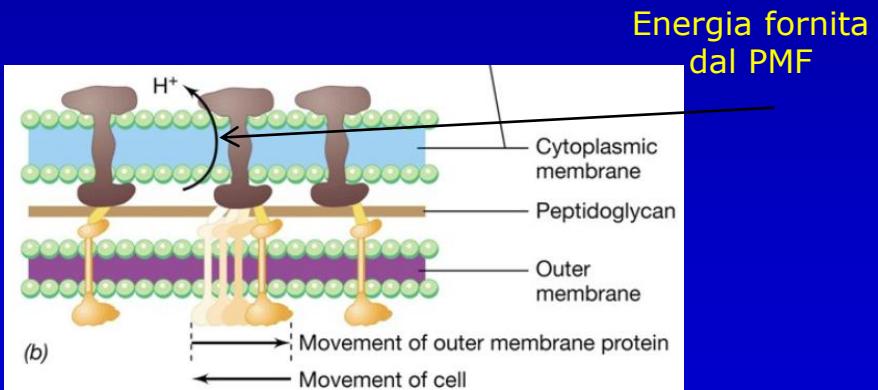
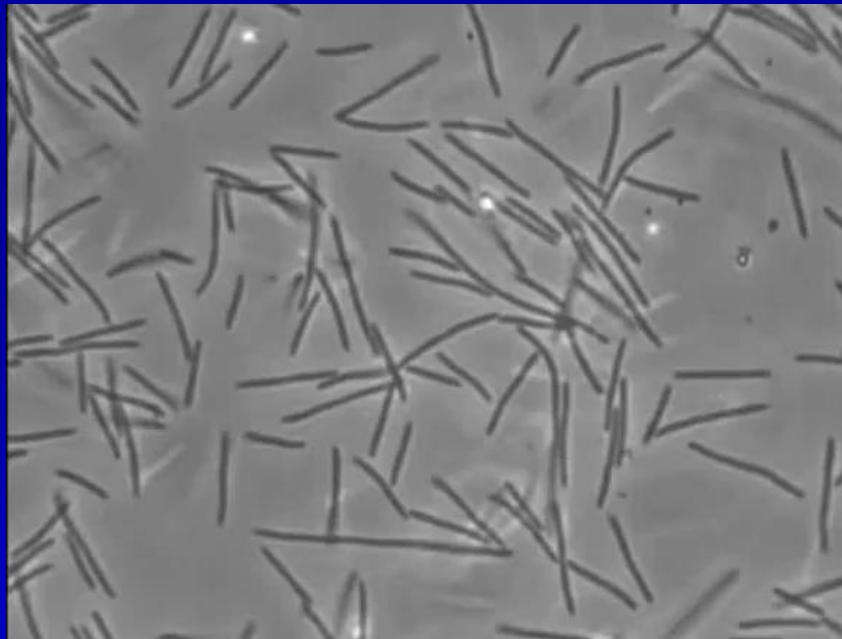
Twitching occurs by the **extension**, attachment, and then **retraction** of type IV pili

# Gliding

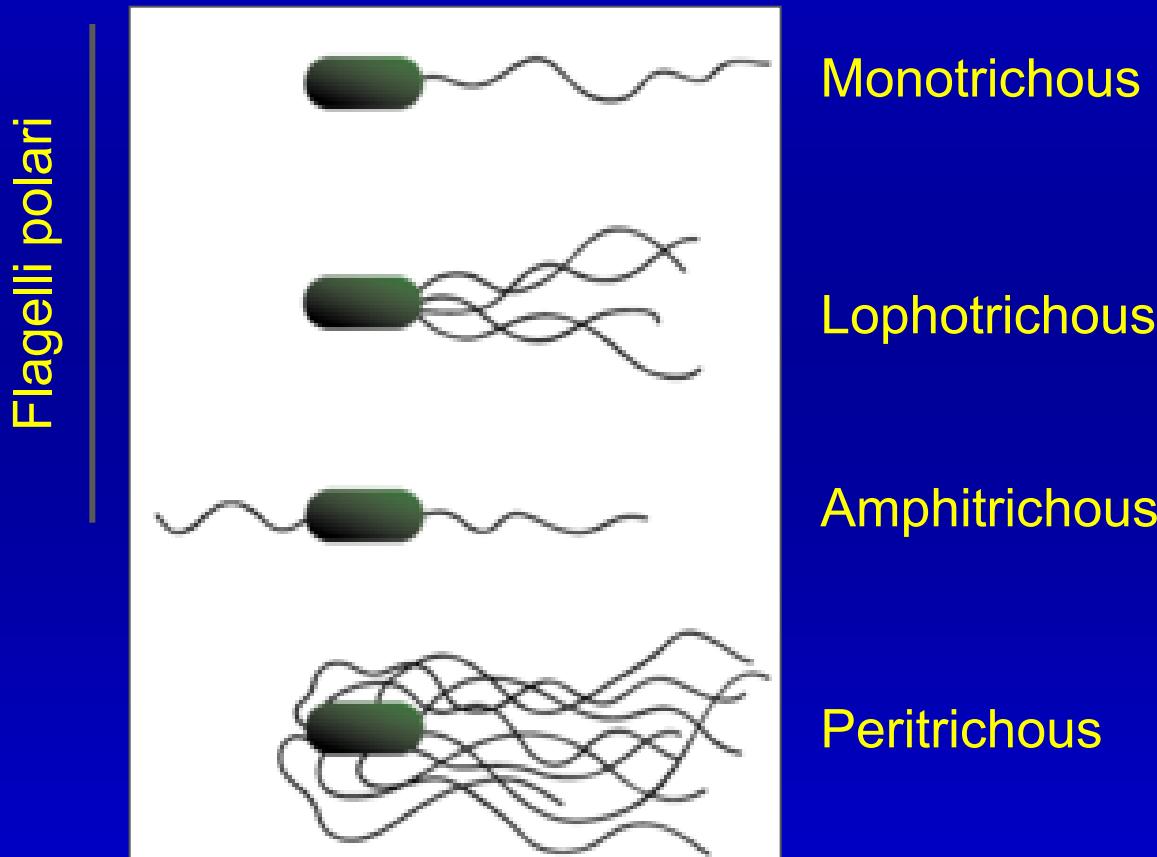
Il Gliding consiste in un movimento indipendente da flagelli e pili



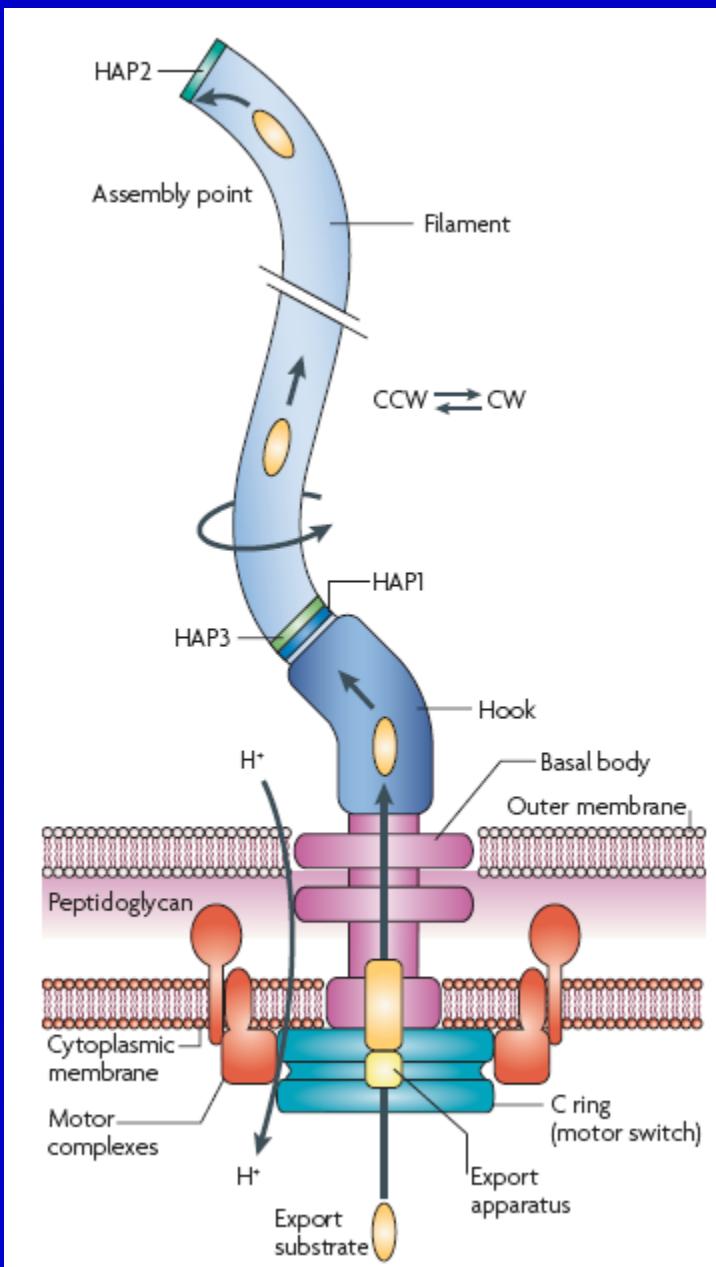
*Flavobacterium spp.* (speed: 2-4  $\mu\text{m/sec}$ )



# Numero e localizzazione dei flagelli



# Struttura del flagello



Flagello

Uncino

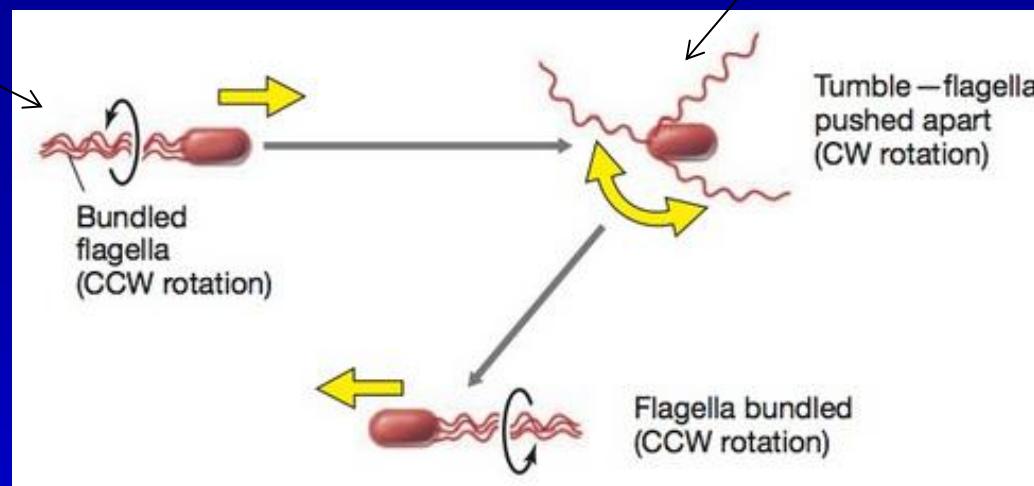
Corpo  
Basale

# Motilità flagello dipendente (swimming)

(e.g. *Escherichia coli*, batteri peritricchi)

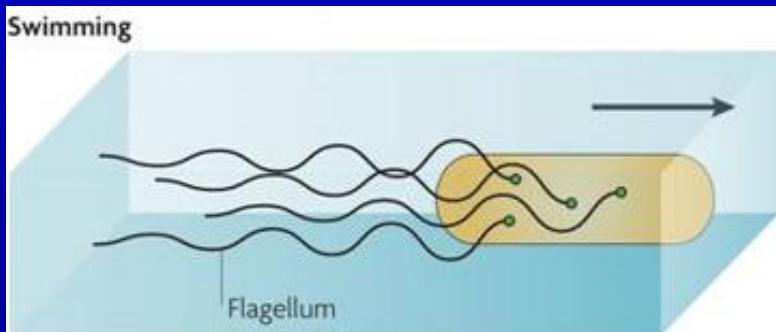
In *E. coli*, i flagelli sono sinistrorsi, il che determina un effetto elica solo quando ruotano in senso antiorario

La rotazione in senso orario produce un ribaltamento (TUMBLE)

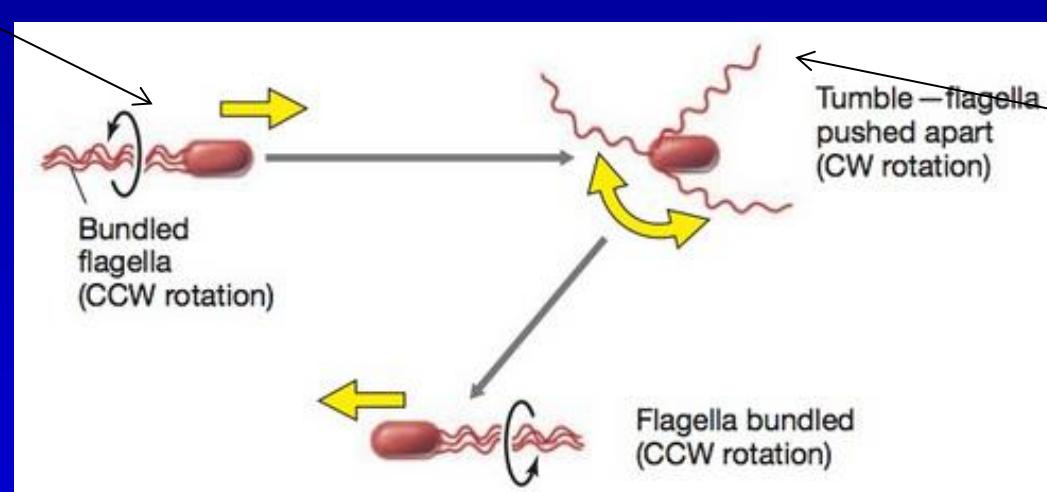


# Motilità flagello dipendente (swimming)

(e.g. *Escherichia coli*, batteri peritricchi)



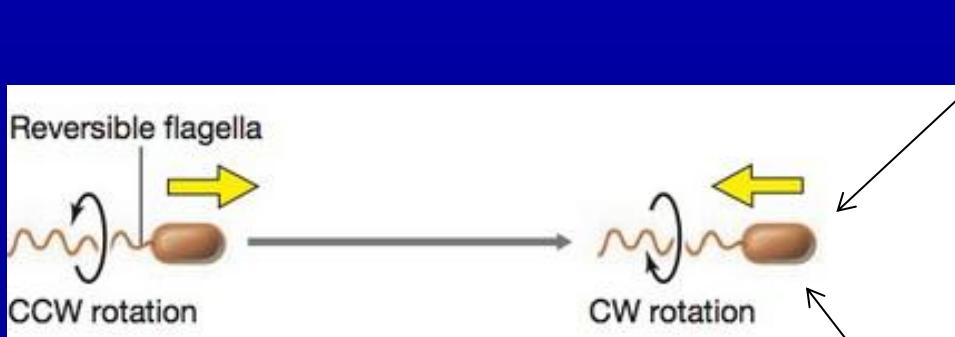
In *E. coli*, i flagelli sono sinistrorsi, il che determina un effetto elica solo quando ruotano in senso antiorario



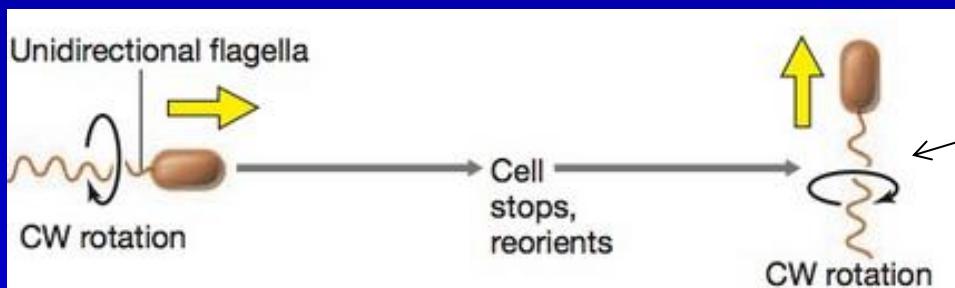
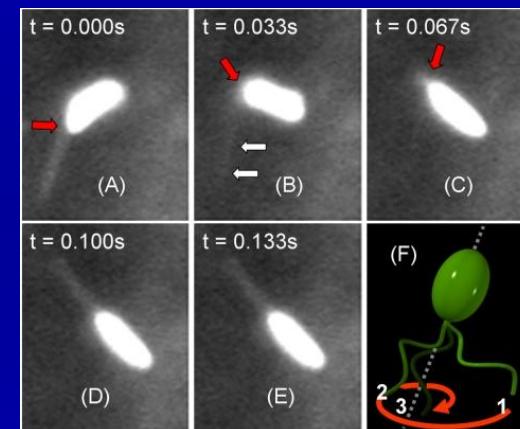
La rotazione in senso orario produce un ribaltamento (TUMBLE)

# Motilità flagella dipendente (swimming)

## Flagello singolo polare (monotrico)



La variazione della rotazione del flagella determina un brusco arresto e una rorazione per inerzia



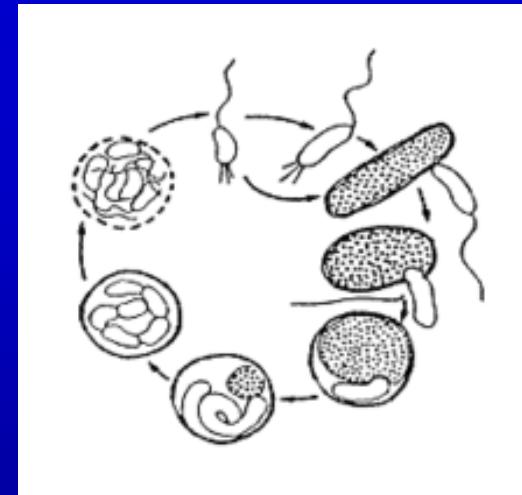
Il cambio nella direzione del movimento è dovuto al moto Browniano



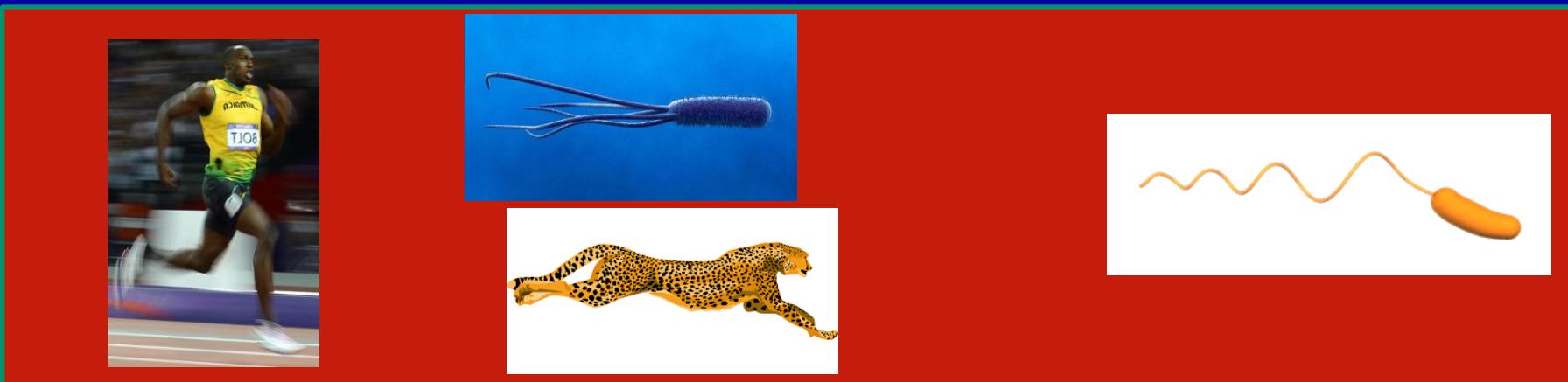
# Swimming: velocità

*Escherichia coli* ~ 30  $\mu\text{m/sec}$

*Bdellovibrio bacteriovorus* ~ 160  $\mu\text{m/sec}$



Relative speed of some organisms		
Organism	Km/h	No. lengths/sec
Ghepardo	115	~ 21
Uomo (U. Bolt)	44.17	~ 6.4
<i>E. coli</i>	~ 0.00011	~ 20
<i>B. bacteriovorus</i>	~ 0.0006	~ 100



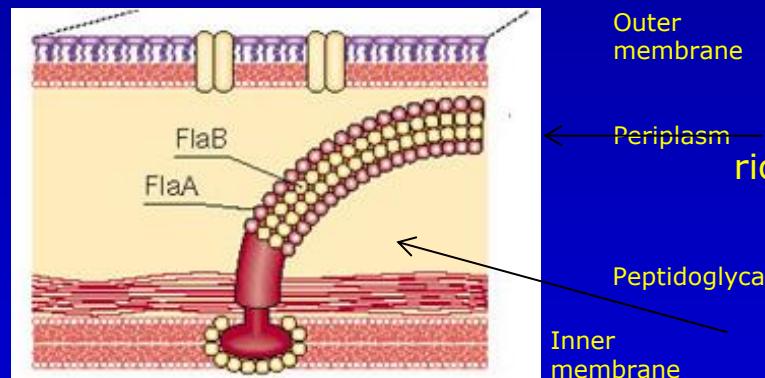
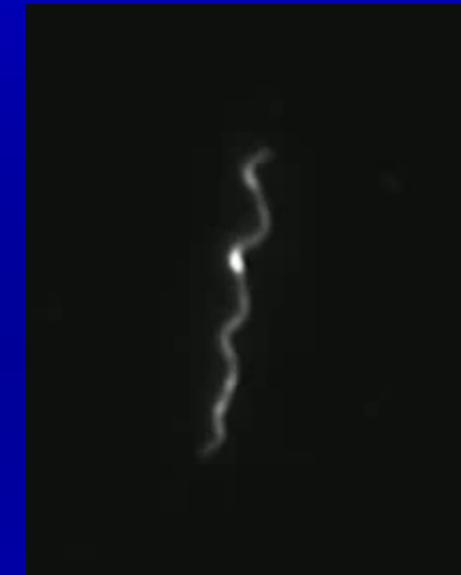
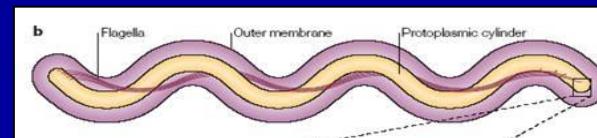
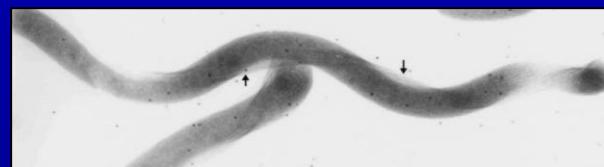
# Endoflagelli degli spirochetti

Le Spirochete hanno flagelli polari che sono localizzati nello SPAZIO PERIPLASMATICO (variano in numero e dimensioni)

I flagelli periplasmatici interagiscono sia con la membrana esterna sia con il peptidoglicano

I flagelli in poli opposti, ruotano in direzioni differenti, permettendo la formazione di un unico fascio di flagelli che fa ruotare la cellula come una vite

I flagelli delle spirochete sono considerati anche componenti del "citoscheletro periplasmatico" (ceppi mutant privi di flagelli hanno unamorfologia a bastoncello)



Outer membrane  
Periplasm  
FlaB  
FlaA  
Peptidoglycan  
Inner membrane

In alcune specie la fòagellina (FlaB) è ricoperta da una guaina proteica (FlaA)

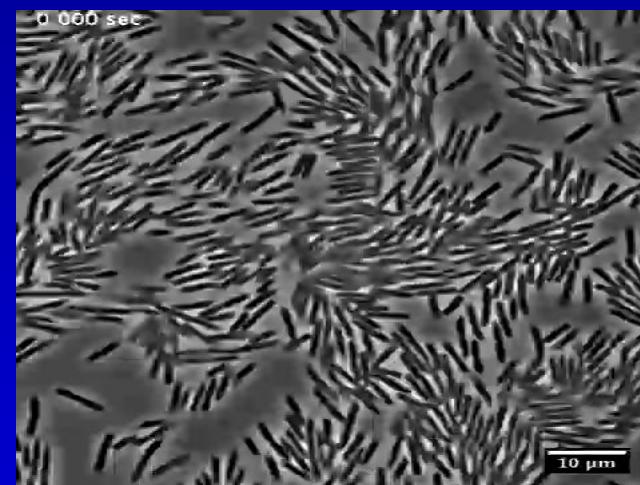
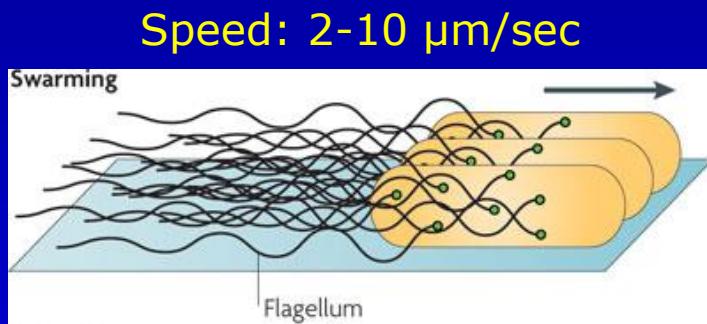
Il corpo basale è privo dell'anello L e P

# Swarming

Lo swarming dipende dalla presenza dei flagelli, e spesso richiede la produzione di surfattanti (molecole anfipatiche che riducono la tensione di superficie tra le cellule batteriche e le superfici)

In alcune specie batteriche, le cellule sono "Iper-flagellate"

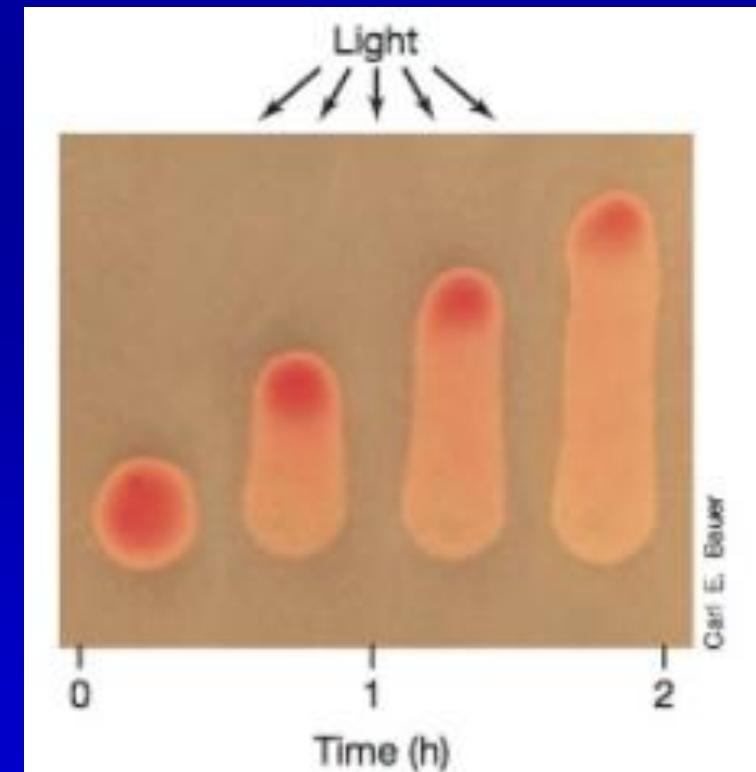
Lo swarming è spesso chiamata "social motility"  
(e la produzione dei surfattanti è spesso regolata dal quorum sensing)



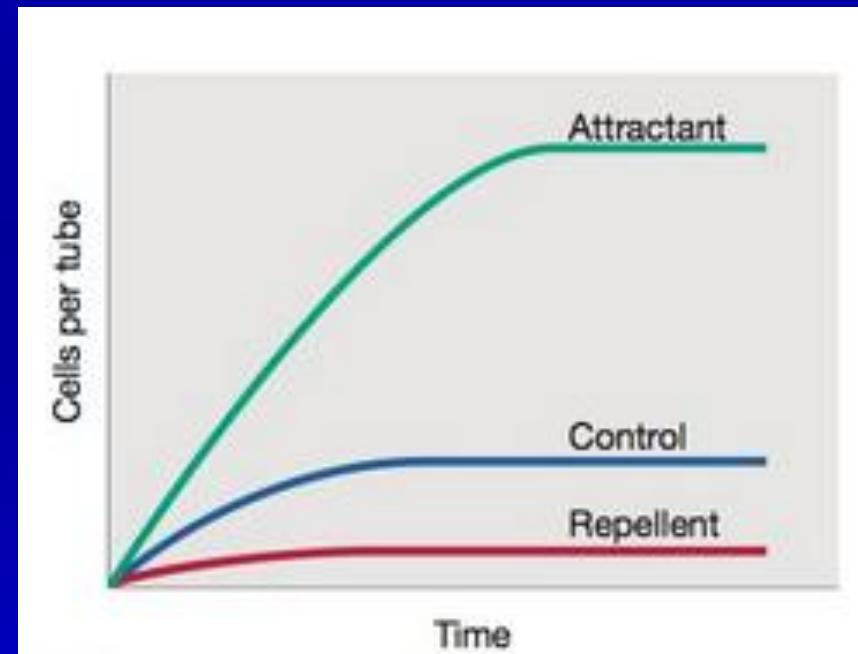
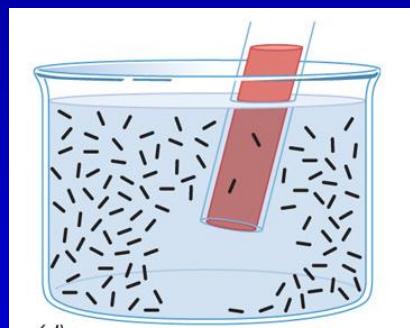
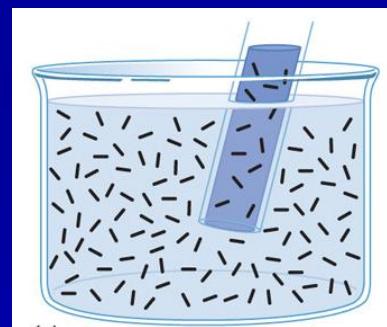
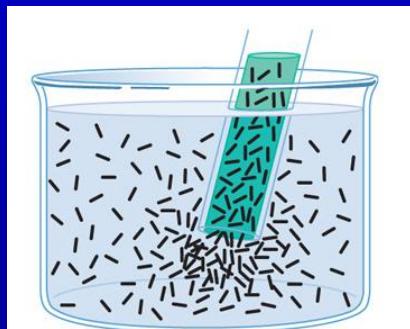
# Tassia microbica

Tassia: movimento direzionale in risposta a stimuli chimici, fisici ambientali

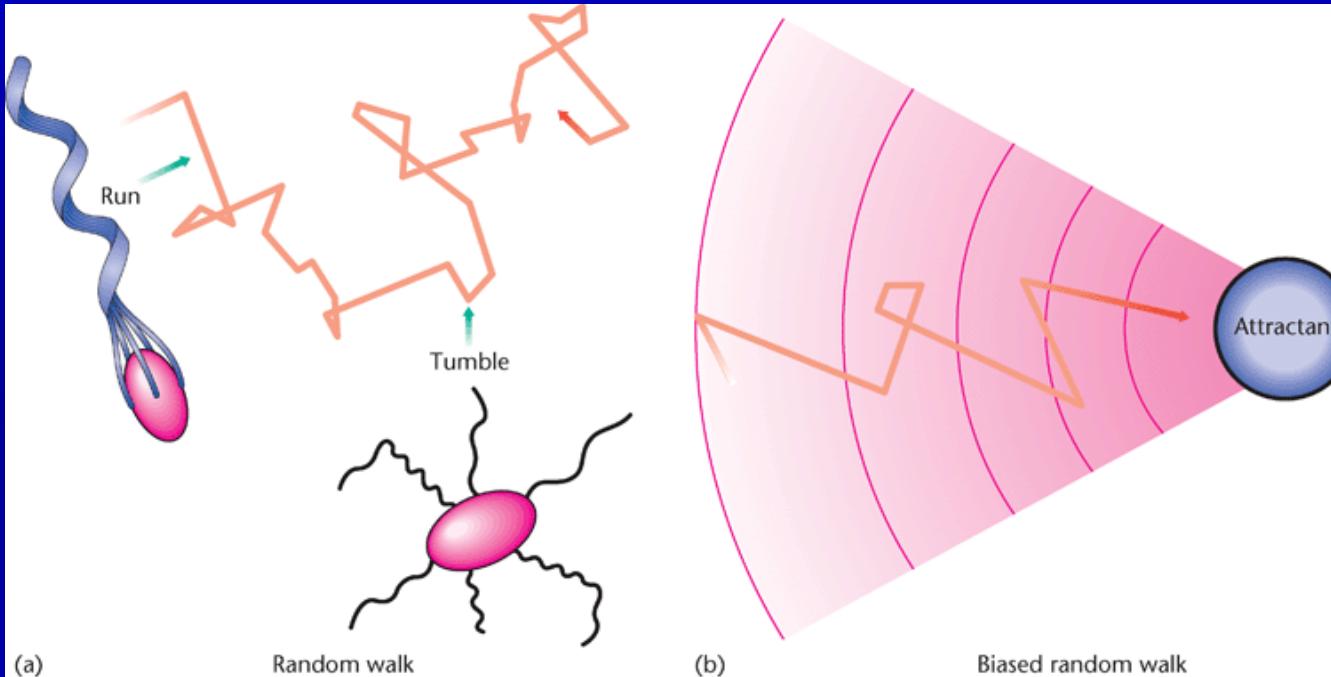
- Chemotassi: risposta a composti chimici
- Fototassi: risposta alla luce
- Aerotassi: risposta all'ossigeno
- Idrotassi: risposta all'acqua
- Osmotassi: risposta alla forza ionica



# Chemiotaxis

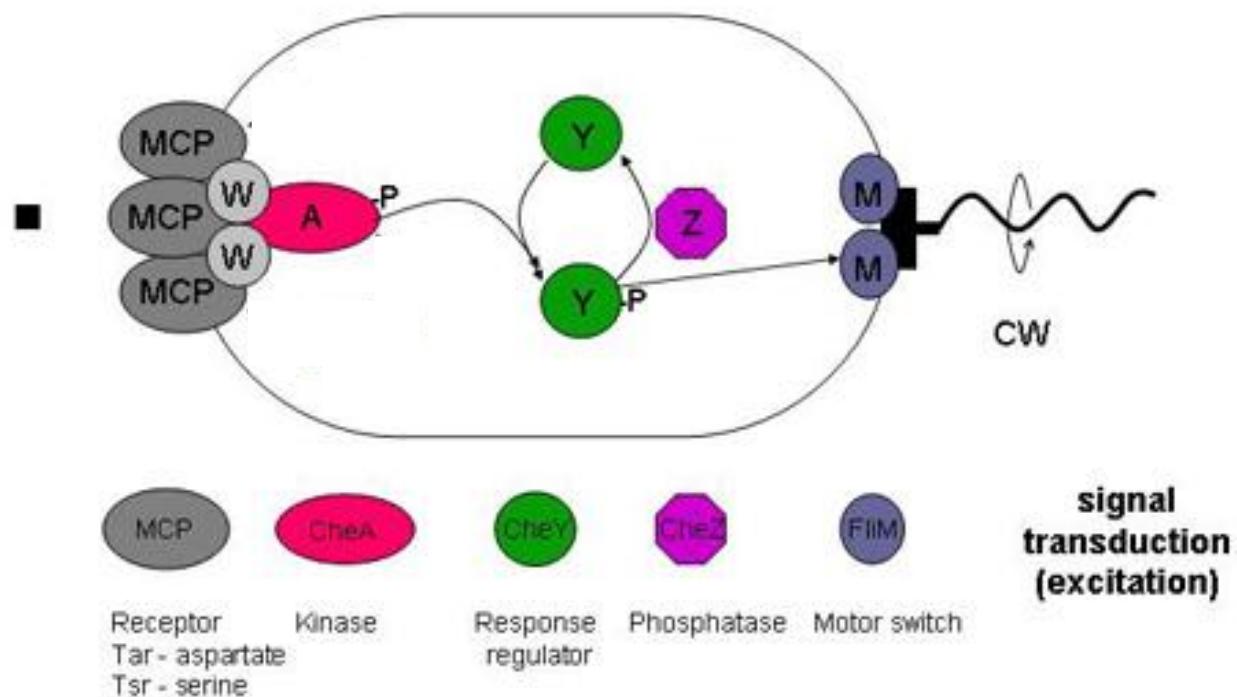


**L'alternarsi tra le fasi di rotazione antiorarie ed orarie e la loro frequenza determina un orientamento generale del movimento**

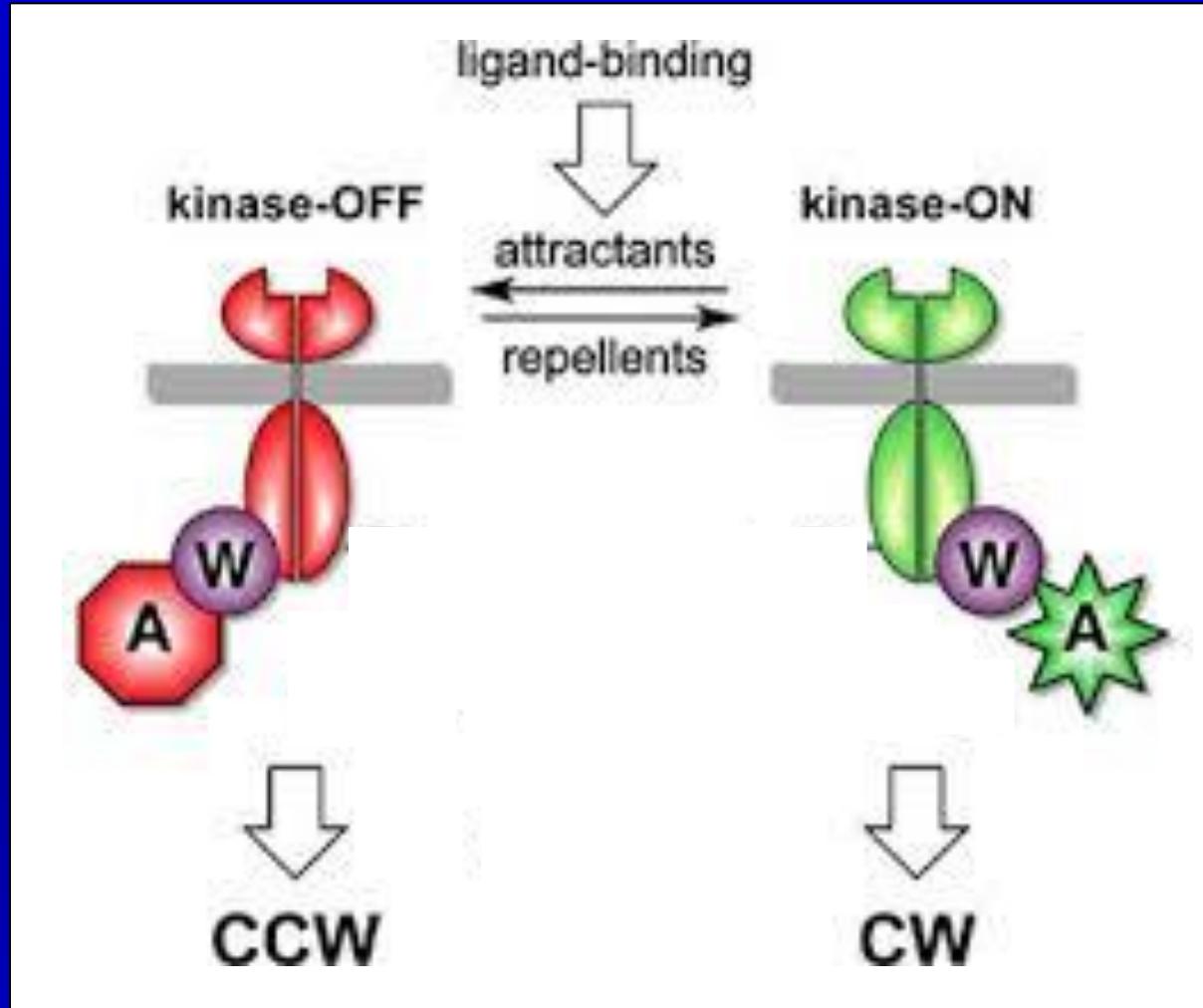


**Nella chemiotassi si osserva come un batterio dotato di flagelli “proceda” in risposta a gradienti di molecole attraenti o molecole repellenti.**

# Meccanismo di traduzione del segnale nella chemiotassi di *E. coli*

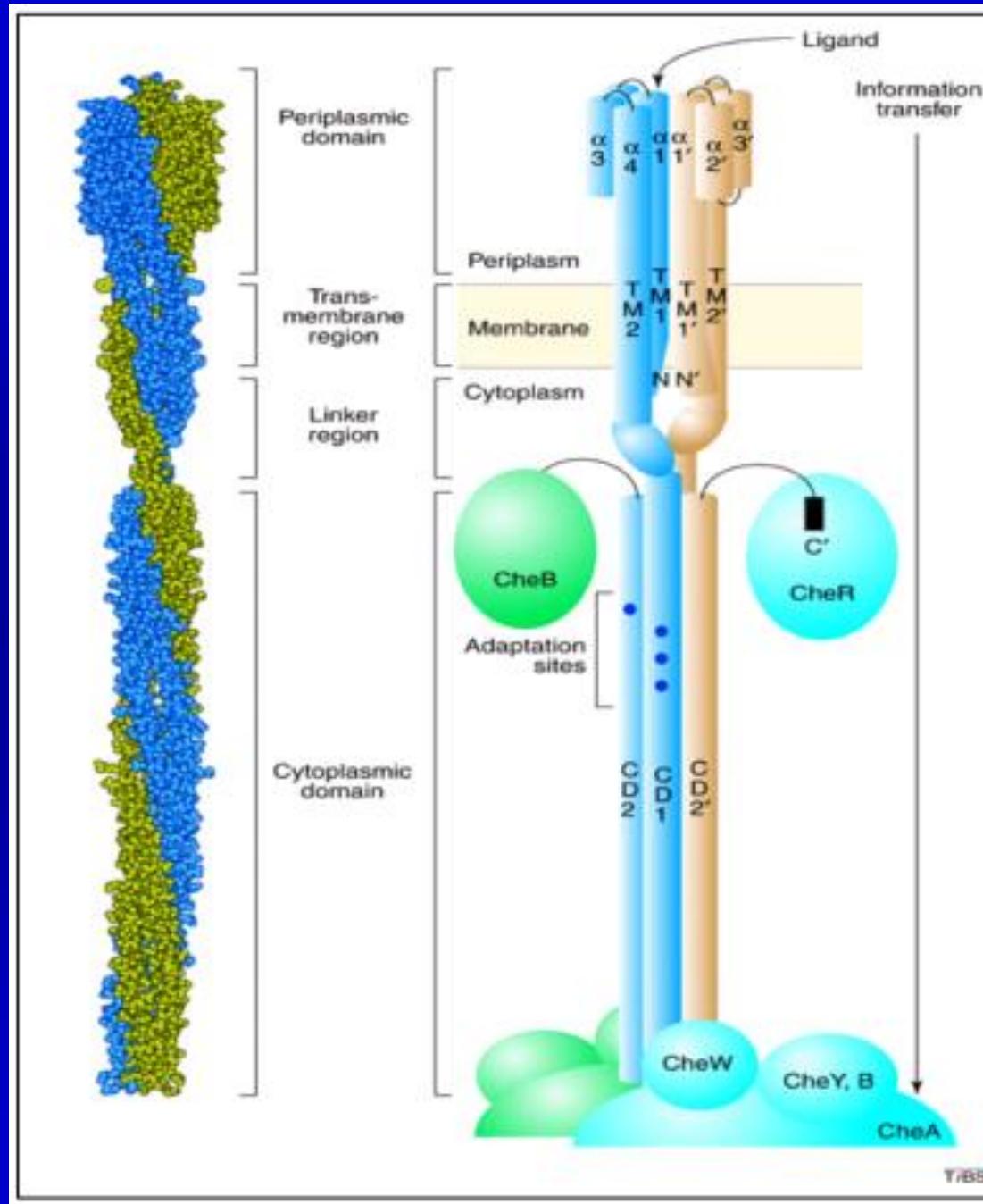


# Meccanismo di regolazione della chemiotassi



↑ CheY-P = prevalenza dei ribaltamenti

↓ CheY-P = prevalenza del movimento rettilineo



Le MCP (Methyl-accepting protein) sono suddivise in 4 gruppi e presentano probabilmente oltre 2000 differenti proteine per gruppo.

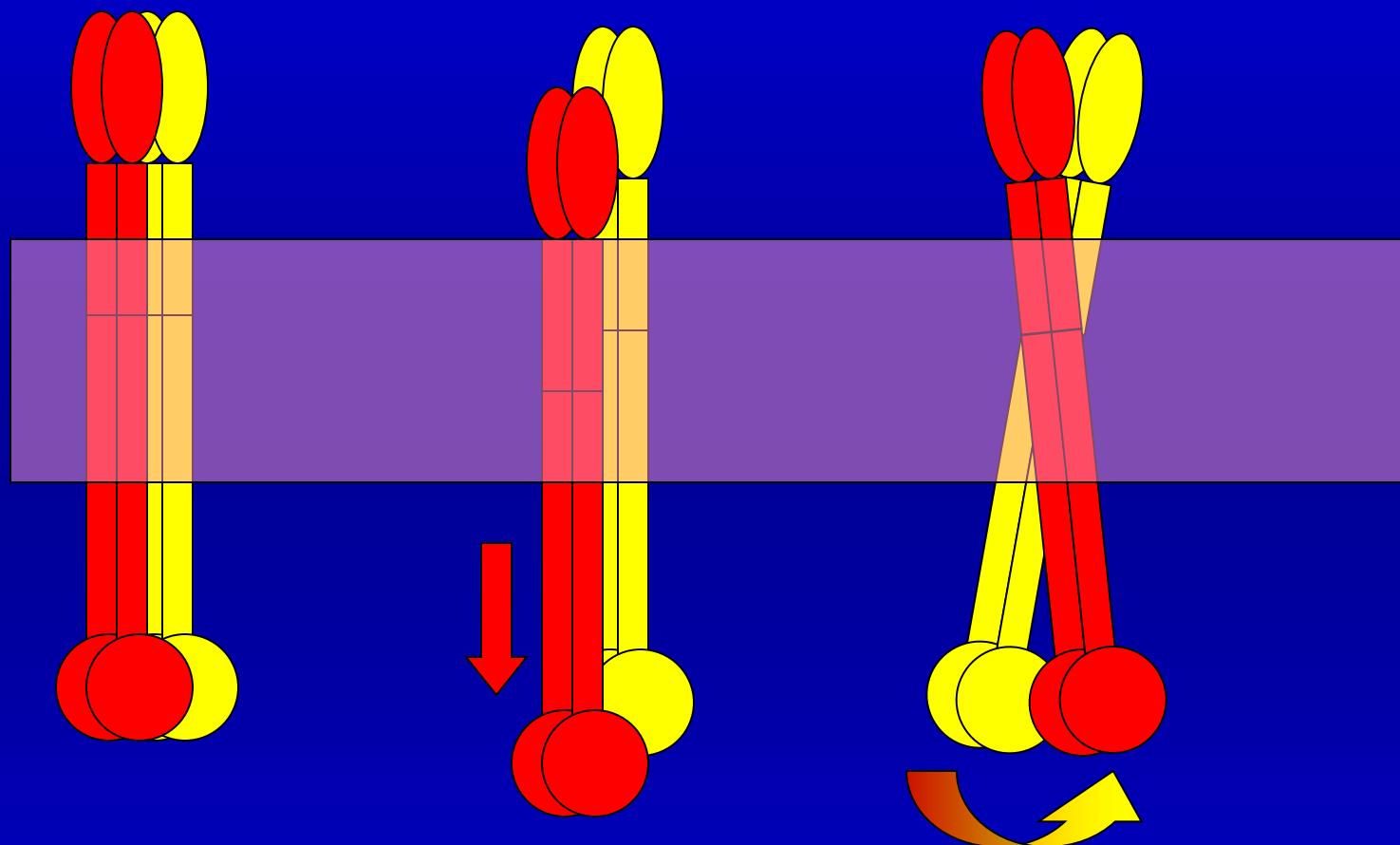
**Tipo I:** serina ed alcuni repellenti

**Il tipo II:** maltosio aspartato e alcuni repellenti

**Tipo III:** galattosio e ribosio

**Tipo IV:** alcuni dipeptidi

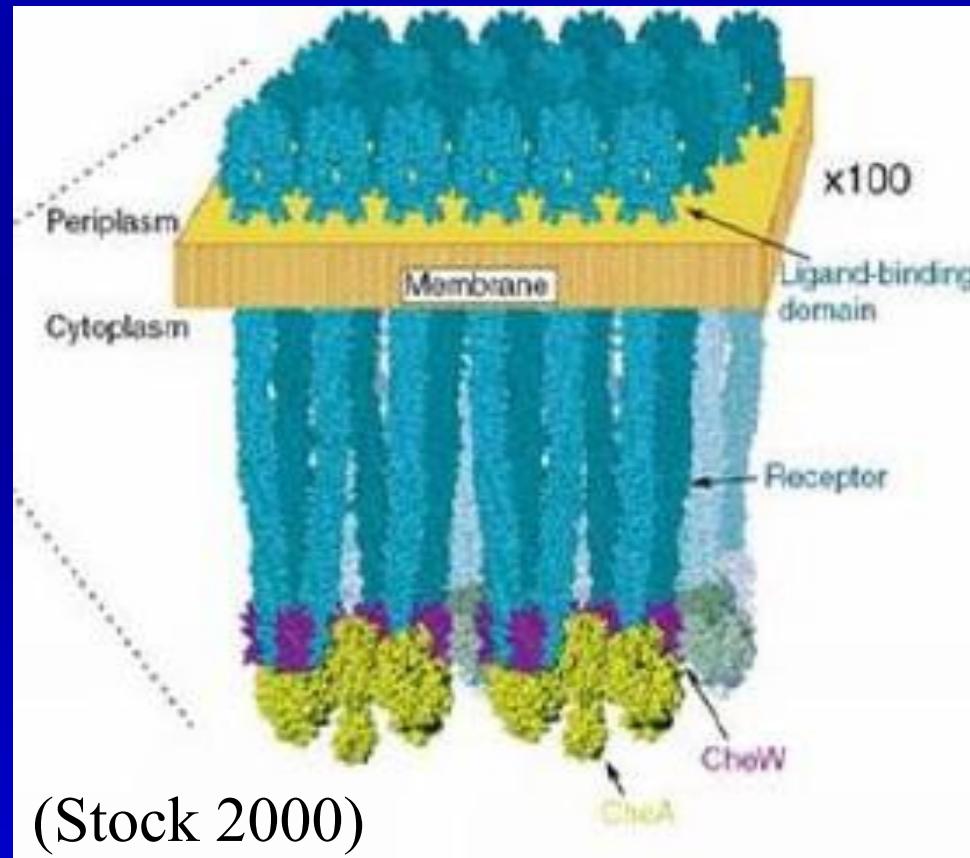
# Modelli della variazione strutturale delle MCP



Modello a  
pistone

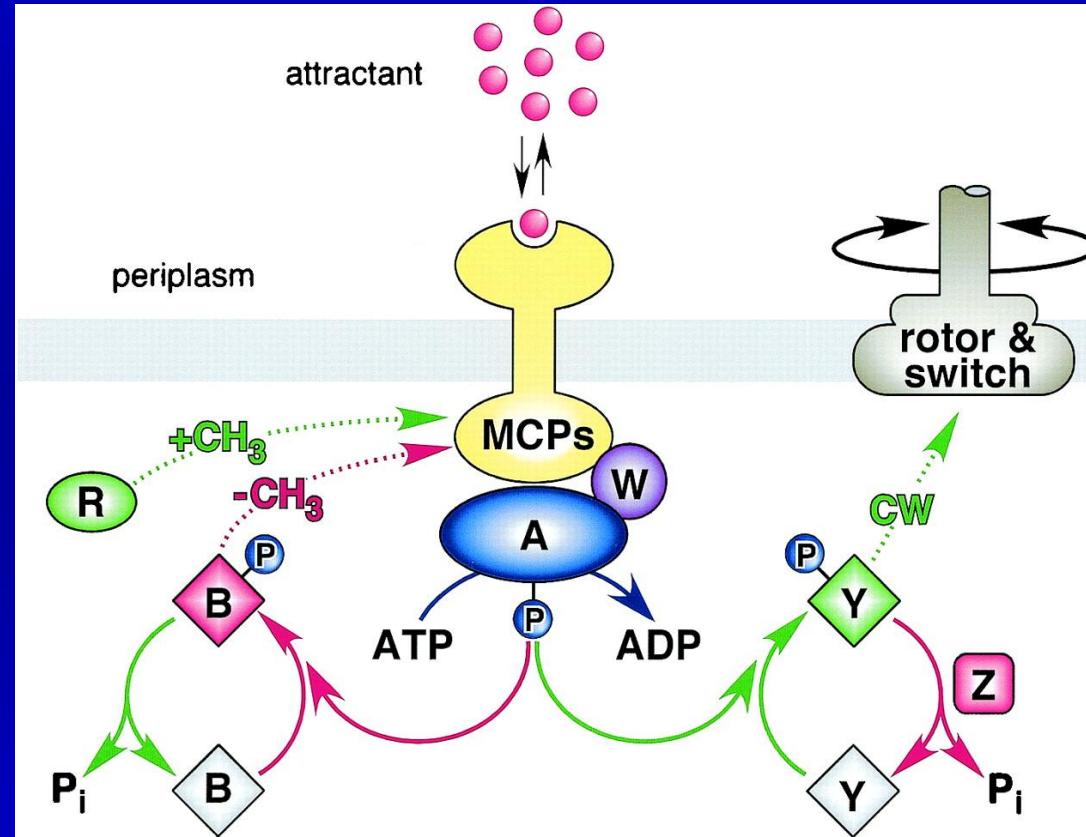
Modello a  
forbice

# Le MCP protein presentano spesso una distribuzione polare



## ADATTAMENTO

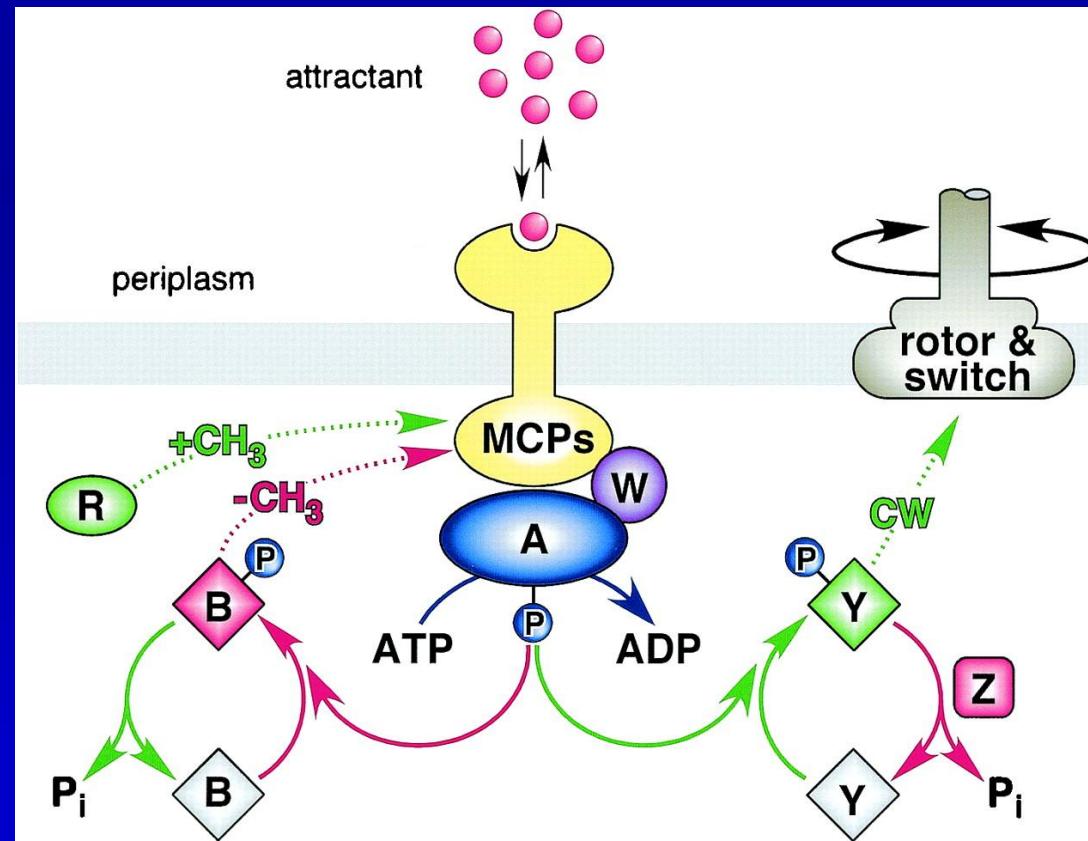
Le MCP sono costantemente metilate da CheR. La metilazione ha un effetto positivo sull'attività di autofosforilazione di CheA e riduce l'affinità di legame delle MCP con le molecole attrattanti.



CheA-P fosforila anche la proteina CheB (più lentamente di CheY), una metilasi che, una volta fosforilata (CheB-P), riduce il grado di metilazione delle MCP.

## ADATTAMENTO

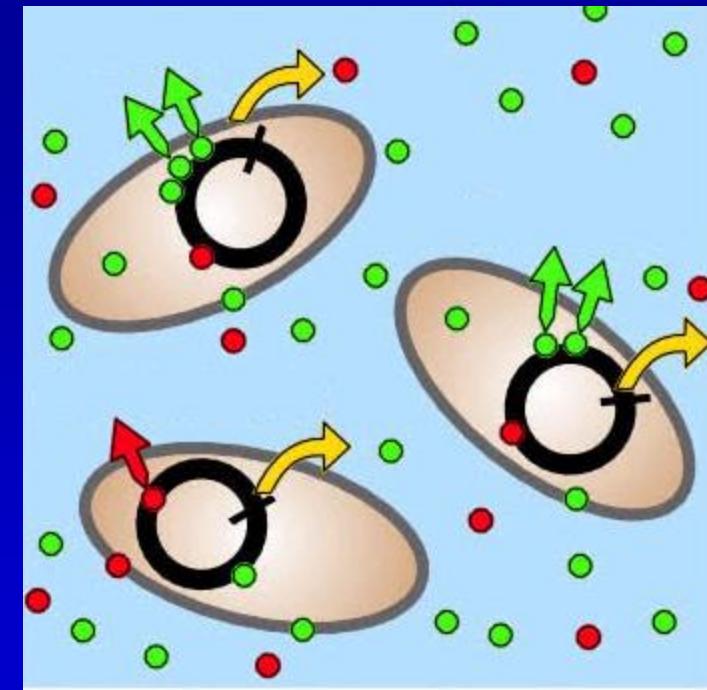
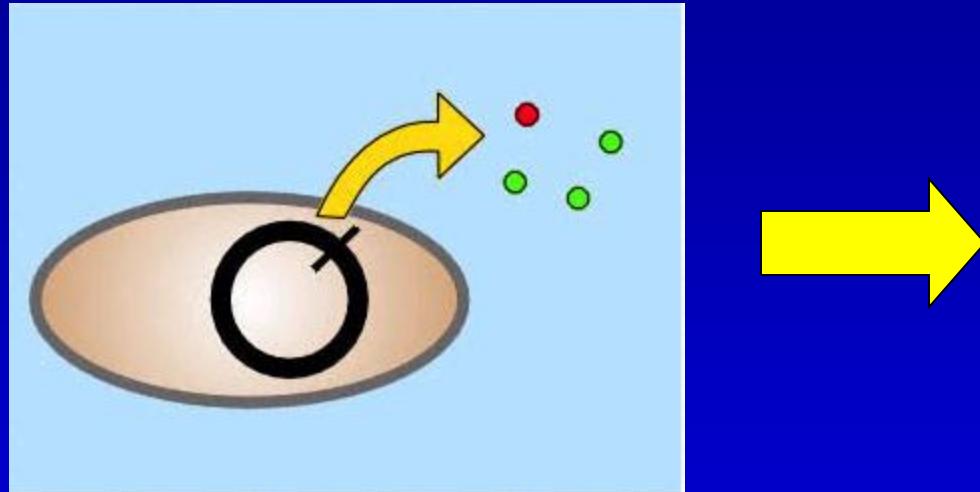
Il meccanismo di adattamento permette alle MCP di percepire ogni possibile concentrazione di uno specifico substrato dal momento che ci sono 8 siti di metilazione a carico di ogni dimerico di MCP e quindi 8 livelli differenti di “sensibilità” agli attrattati.



# QUORUM SENSING

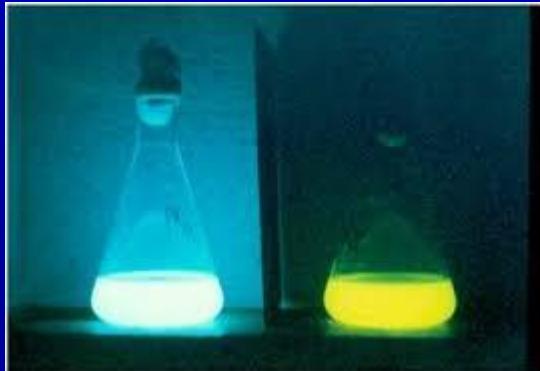
Nel quorum sensing la molecola segnale viene sintetizzata dal batterio stesso che dispone anche del sensore

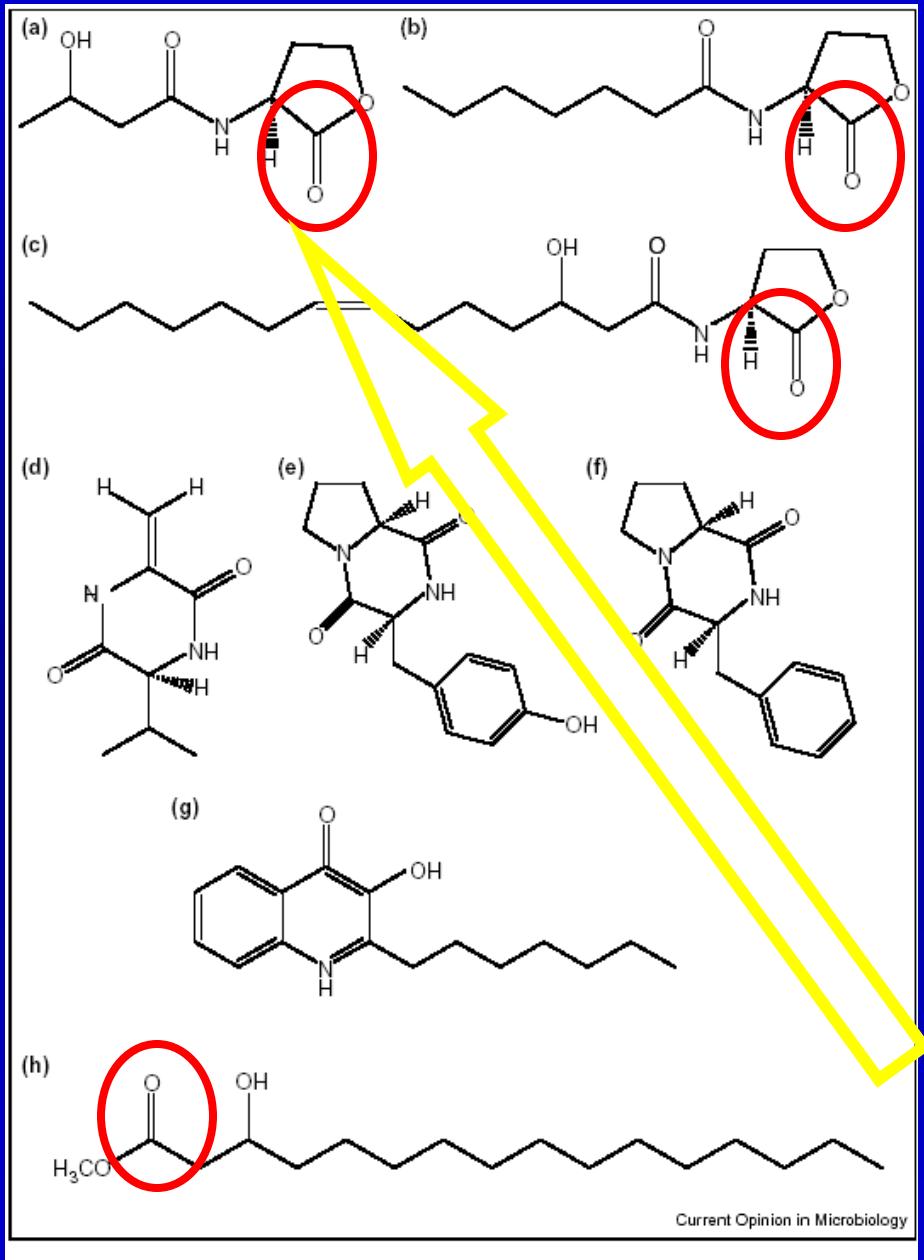
La secrezione della molecola segnale fa sì che questa raggiunga una concentrazione funzionale solo quando la densità cellulare raggiunge elevati livelli.



# Bioluminescenza

*Vibrio fischeri – Photorabdus spp*



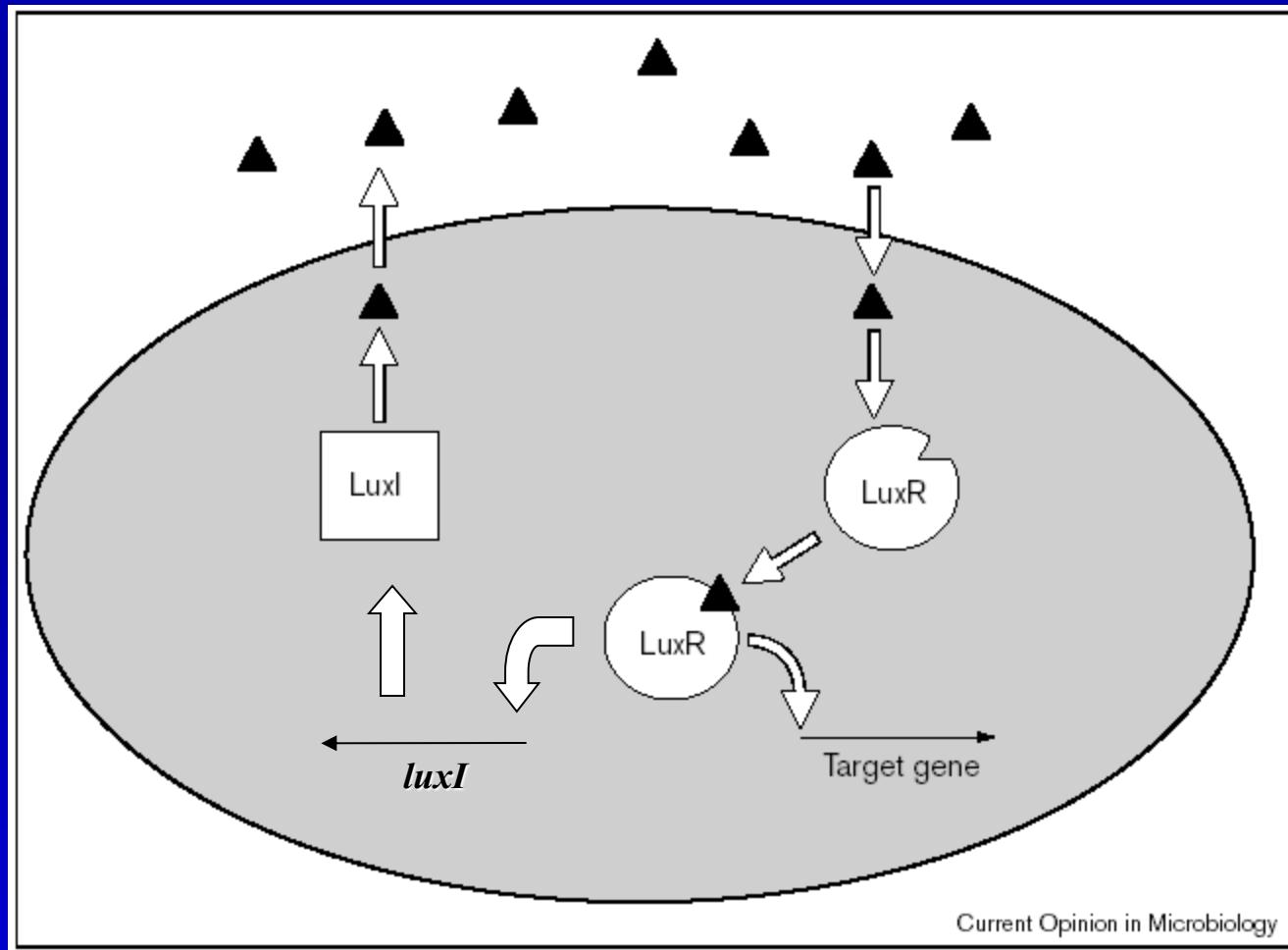


**Le molecole segnale tipiche dei gram negativi (*Vibrio fischeri* e *harveyi*) sono molecole organiche caratterizzate spesso da uno o più gruppi lattonici.**

**La più famosa è la HSL (omoserina-lattone)**

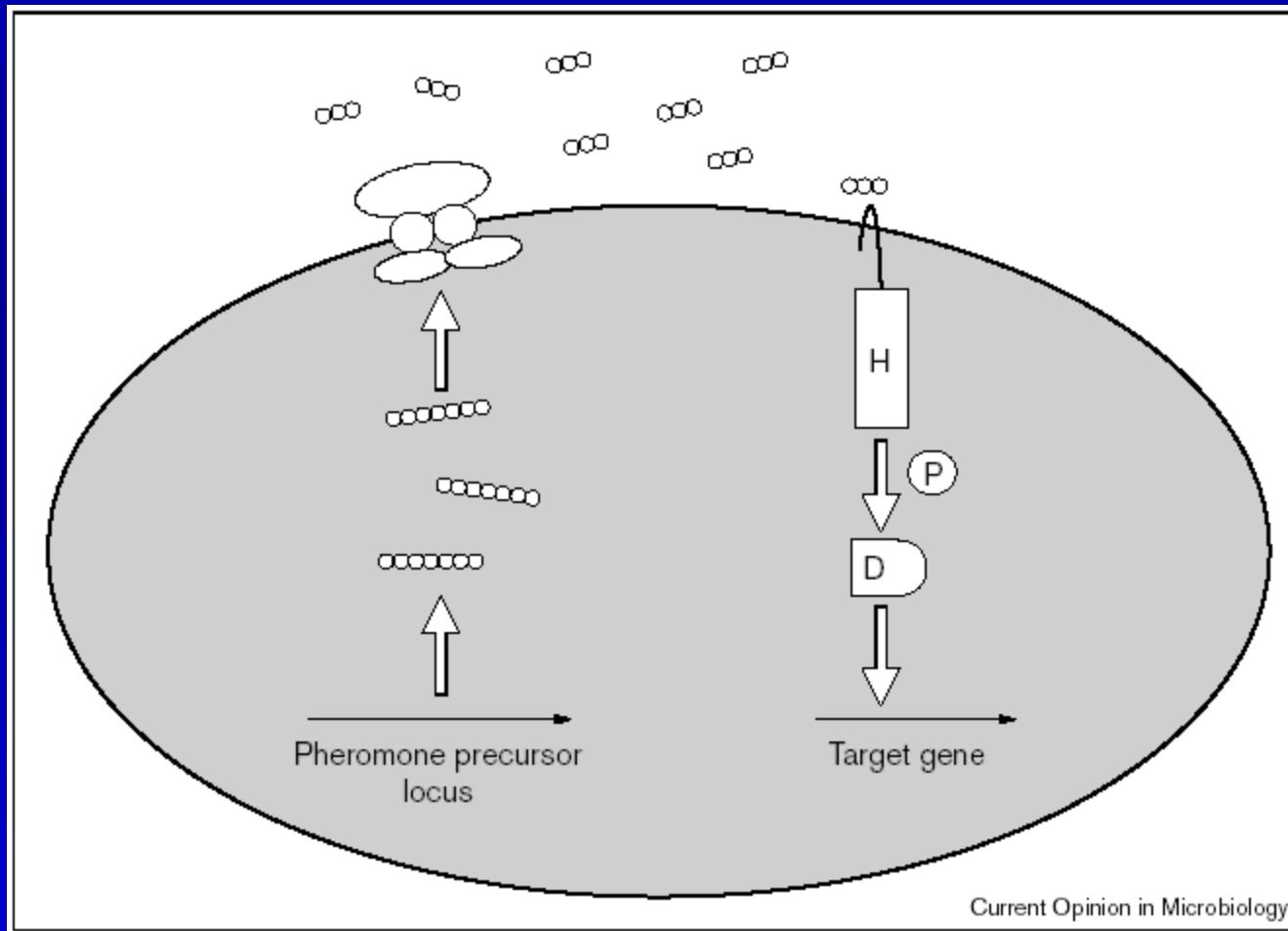
# Sistema di quorum sensing in *Vibrio fischeri*

LuxI è un enzima che è coinvolto nella sintesi della HSL mentre LuxR è il regolatore attivato dalla interazione con HSL

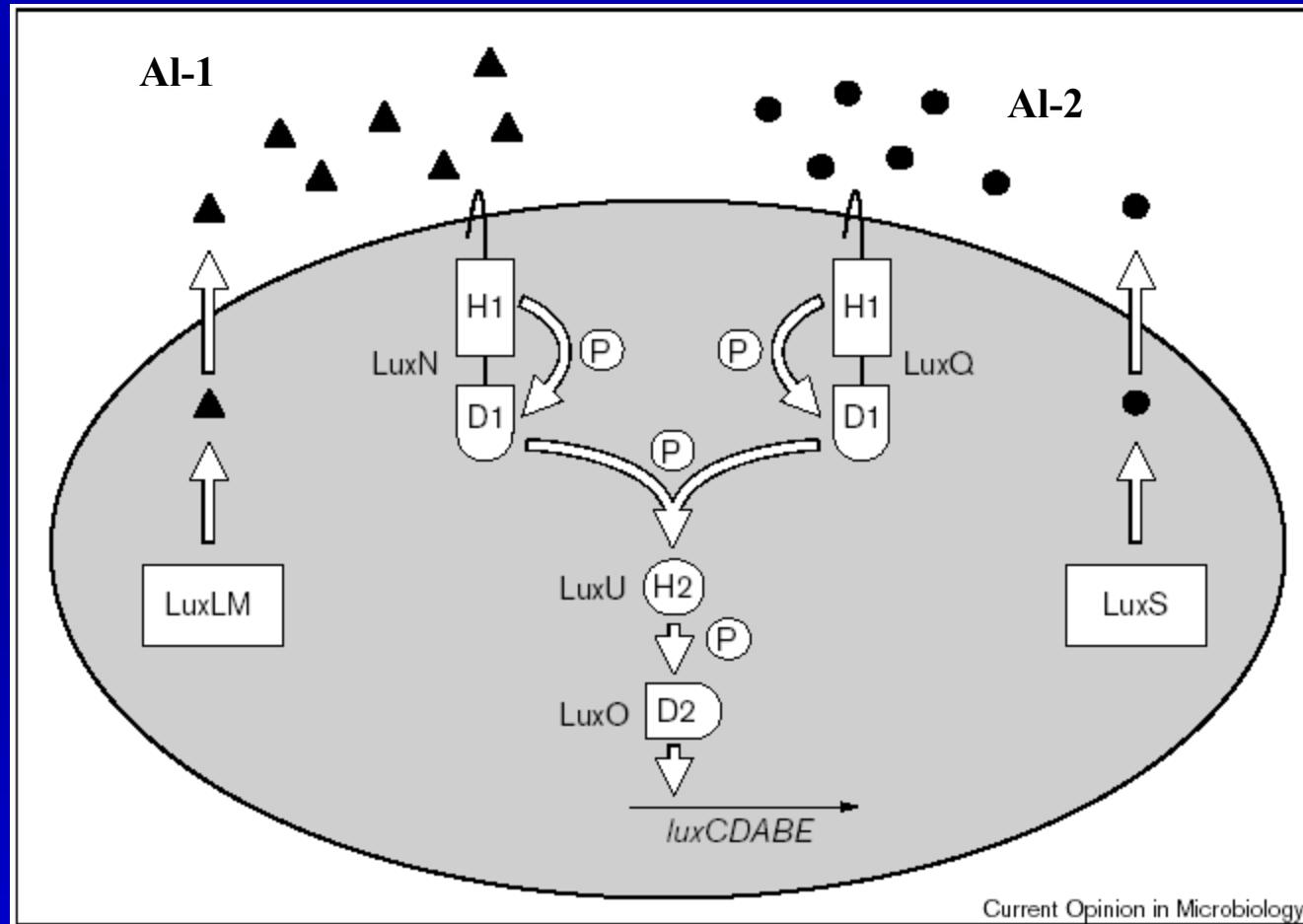


# Quorum sensing nei gram positivi

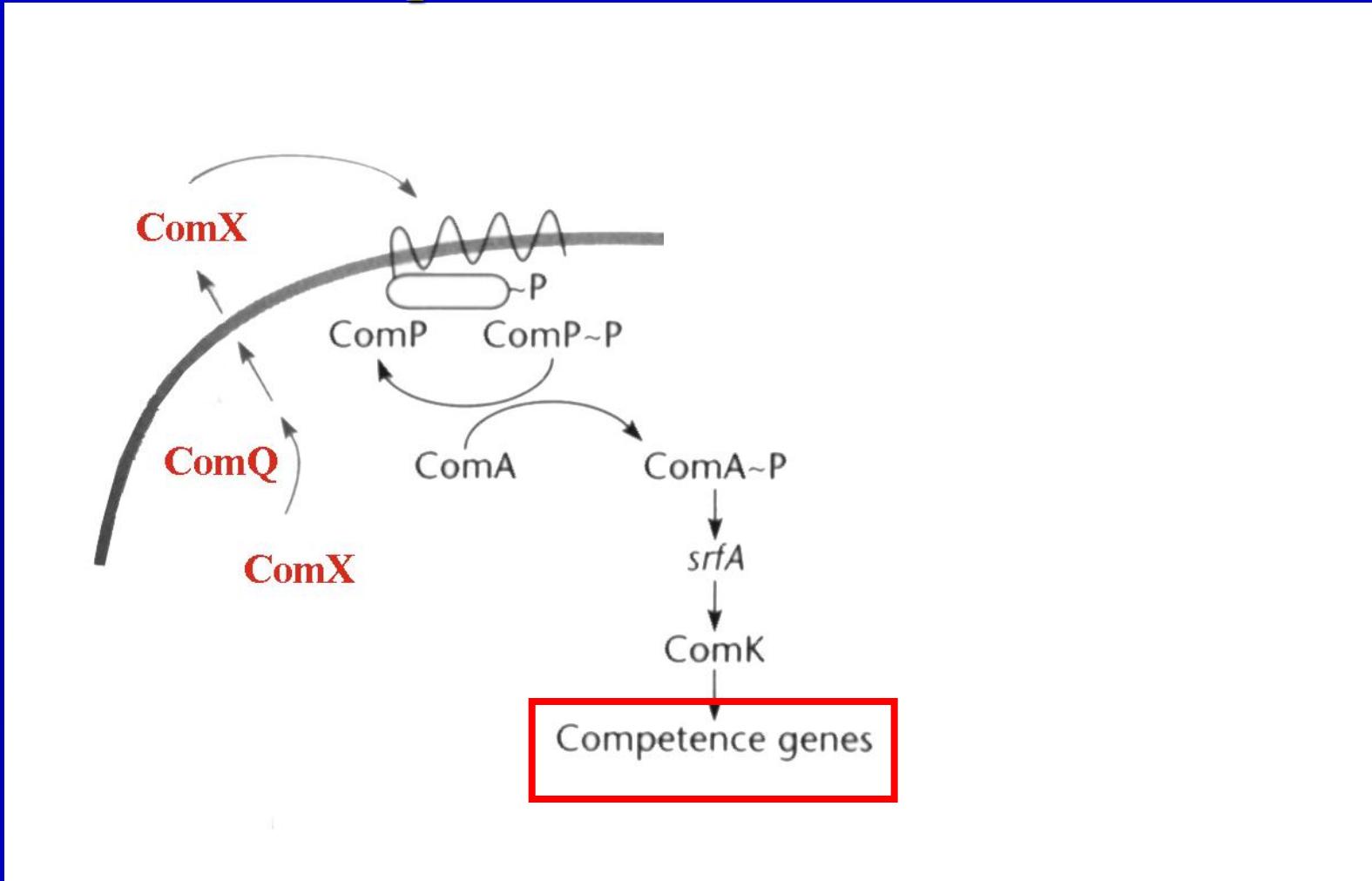
Molto spesso la molecola segnale è costituita da un piccolo peptide secreto e processato da un trasportatore di tipo ABC. Il peptide attivo funziona da stimolo per un sistema a due componenti



In *Vibrio harveyi* esistono due sistemi “ibridi” che controllano l'espressione di un unico operone ....



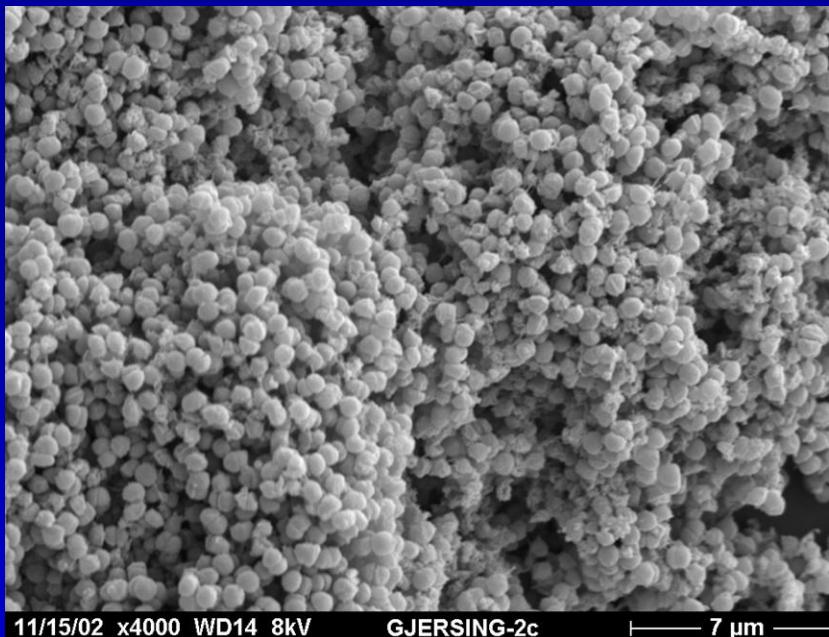
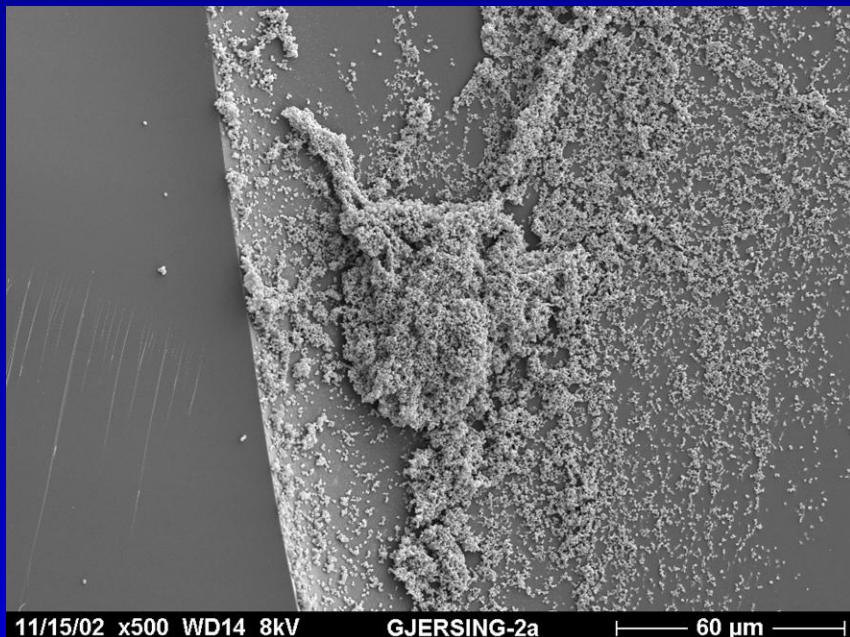
# Quorum sensing ed induzione della competenza in *Bacillus subtilis*



RapC è attivato dal legame con CSF e titola ComA sia nella forma fosforilata che in quella non fosforilata

# Che cos'è un biofilm?

Un BIOFILM è una COMUNITÀ Microbica costituita da microrganismi adesi ad una superficie ed immersi in una matrice organica



# **Costituenti di un biofilm**

**Non si può parlare di una composizione unitaria in quanto  
vi è eterogeneità sia nella struttura che nella composizione  
chimica a seconda dell'habitat in cui si crea  
ma i costituenti fondamentali sono**

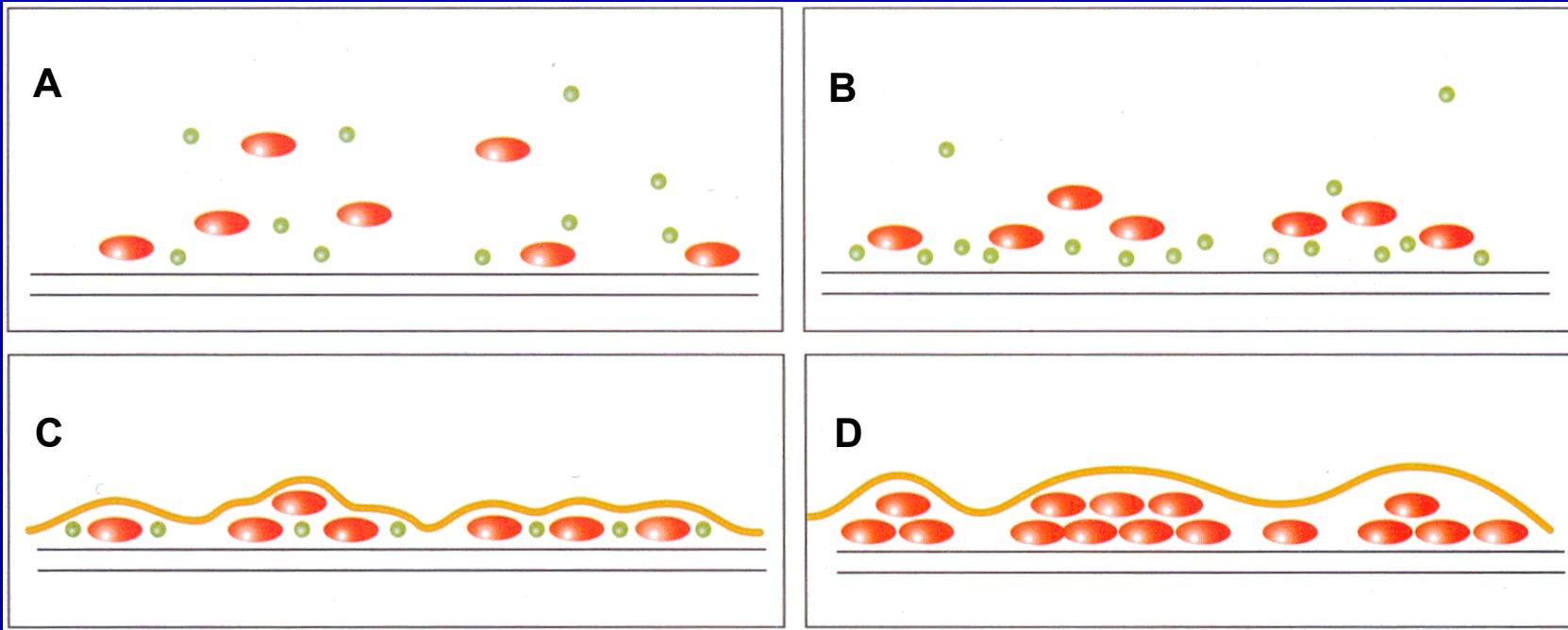
- i microrganismi che formano microcolonie**
- le sostanze organiche (glicoproteine e polisaccaridi)  
definite EPS (Extracellular polymeric substances) nelle  
quali sono immersi i batteri**
- l'acqua che forma canali tra le microcolonie favorendo la  
circolazione di nutrienti**

I biofilm sono prodotti da numerosi microrganismi sia di tipo gram negativo che positivo. Ne sono alcuni esempi *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *fluorescens*, *Vibrio cholerae*, *Aeromonas hydrophila* e *Serratia liquefaciens*

L'enorme interesse che stanno stimolando è determinato dal fatto che i biofilm sono coinvolti in molti fenomeni come alcune infezioni (in particolare si insediano in protesi come le valvole cardiache o nei tubi dei cateteri), rappresentano un problema negli impianti per il trattamento delle acque o in quelli per la produzione di alimenti.

Possono però avere anche un ruolo positivo come nel caso del loro possibile sfruttamento nei processi di bioremediation o nella formazione di simbiosi con le radici di alcune leguminose (*Rizobium*)

# Nascita di un biofilm



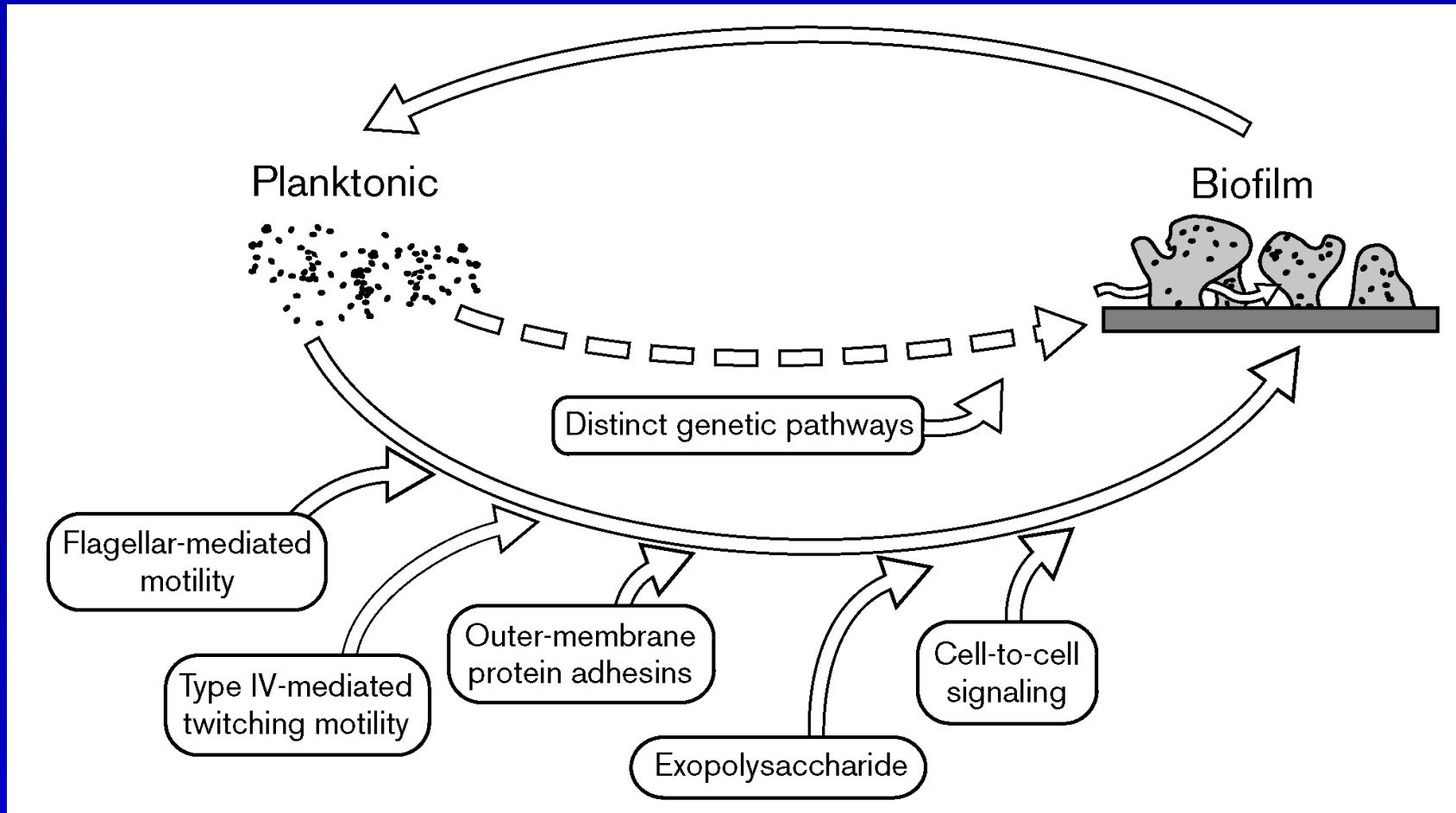
**A - Cellule batteriche (in rosso) e materiale particolato (in verde) in sospensione sopra la superficie che verrà colonizzata**

**B - Accumulo sulla superficie**

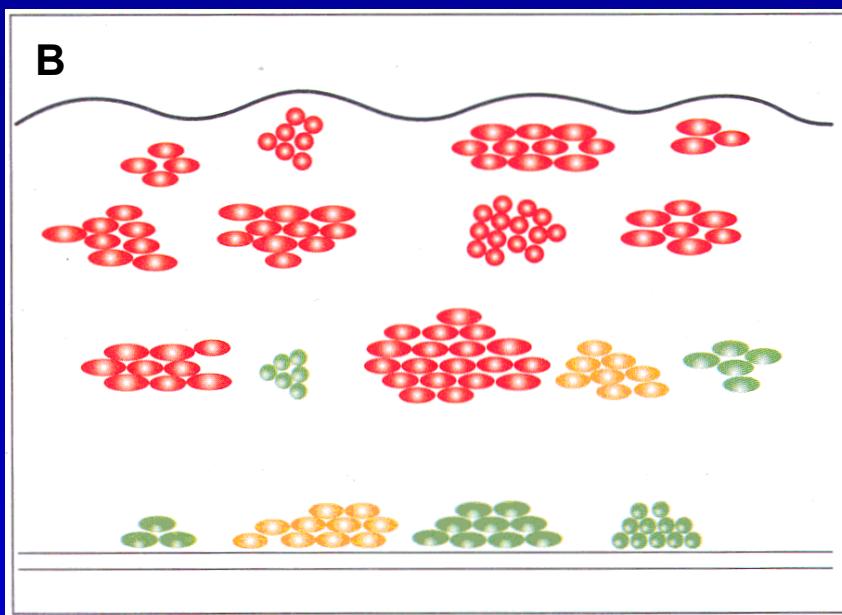
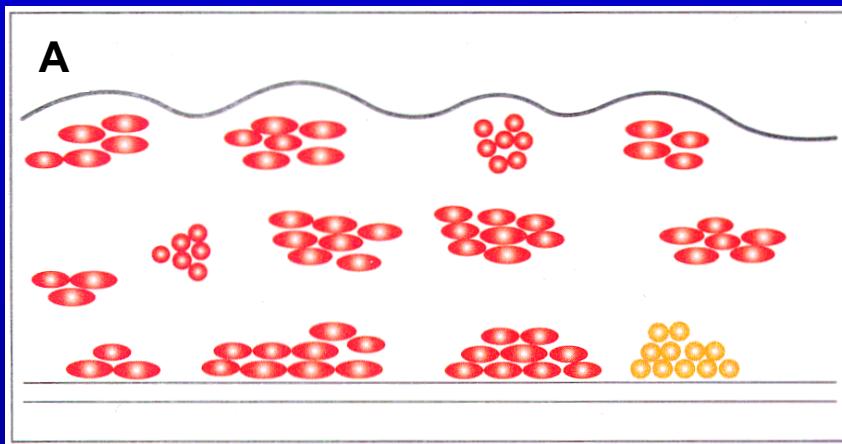
**C - Biofilm iniziale**

**D - Col procedere della crescita cellulare il biofilm si ispessisce sino a desquamare dal substrato di crescita**

# Fattori genetici coinvolti nella formazione di un biofilm

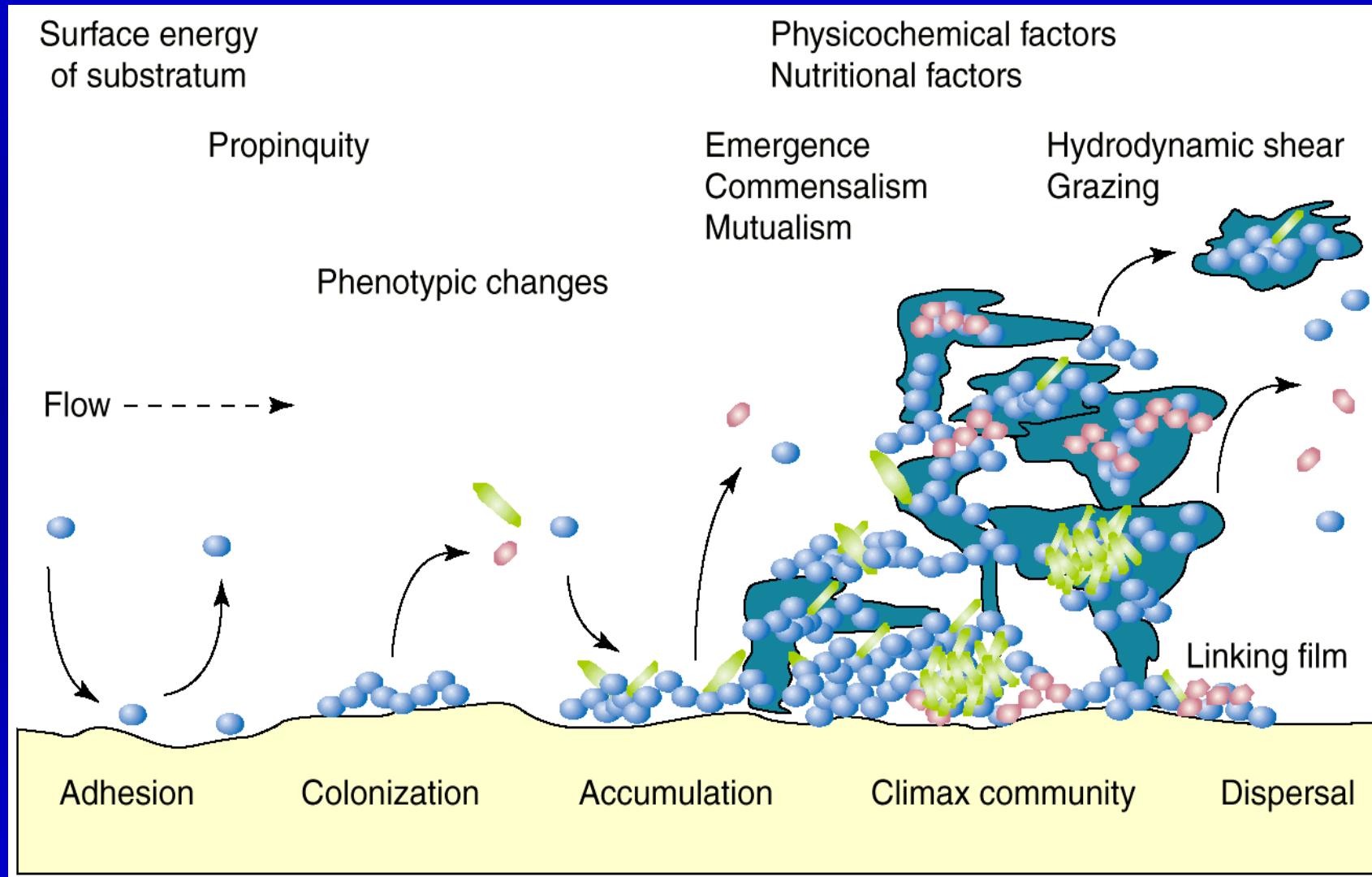


# Crescita di un biofilm



- A - In un biofilm neoformato alcune colonie batteriche diventano quiescenti (in giallo)
- B - Con l'aumentare dello spessore del biofilm alcune colonie muoiono (in verde)

# Ciclo di sviluppo di un biofilm



# **Perché la vita in un biofilm è vantaggiosa per un microrganismo?**

- è protetto da radiazioni U.V. e dal calore
- minimizza gli effetti di cambiamenti di pH
- è protetto da sostanze inibitorie
- essendo immerso in una matrice acquosa è protetto dalla disidratazione
- è meno sensibile all'attacco di virus batterici (batteriofagi)
- è meno esposto all'attacco di microrganismi predatori