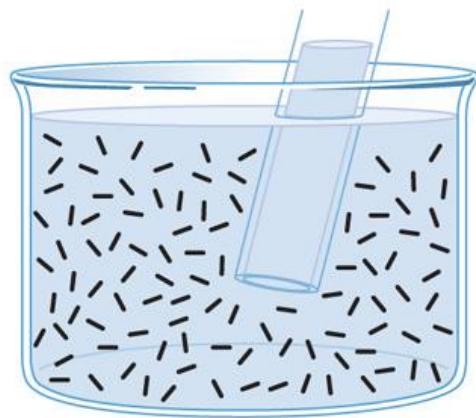
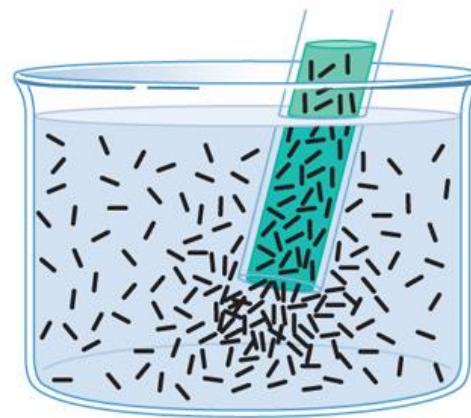


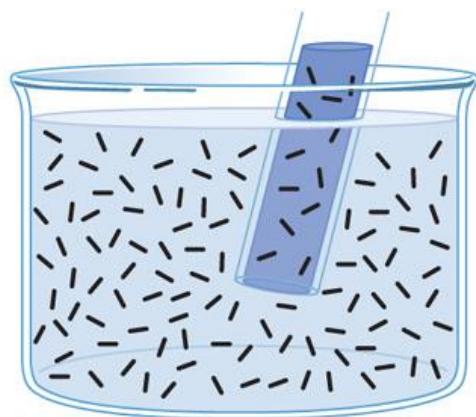
Il processo di CHEMIOTASSI



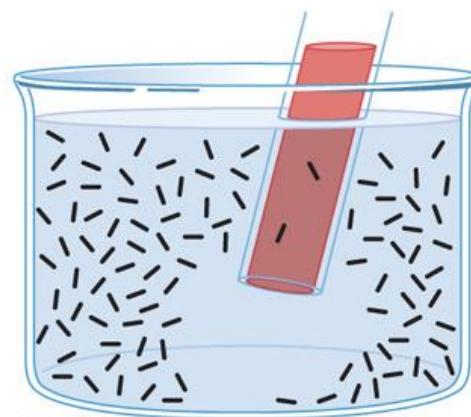
(a)



(b)

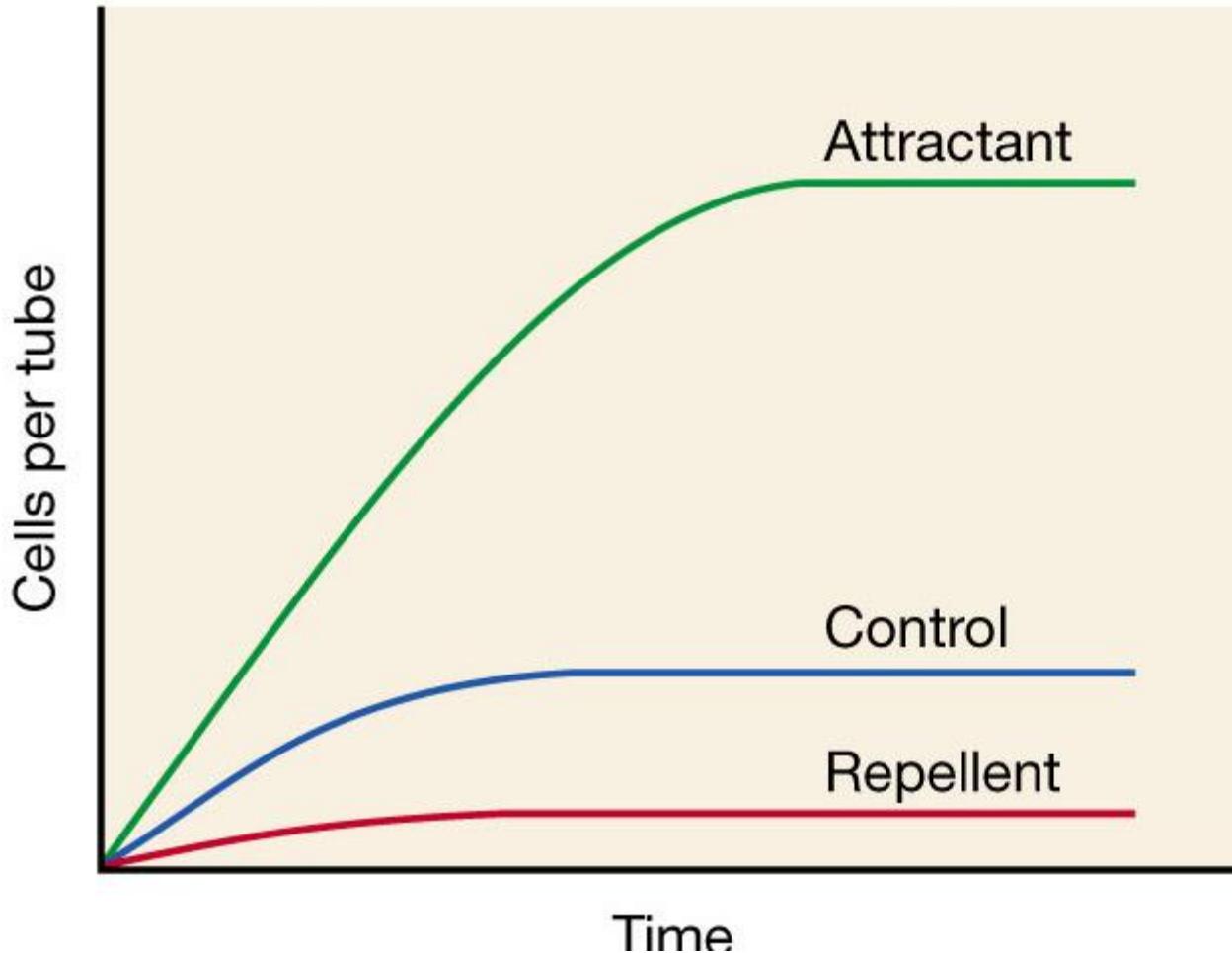


(c)



(d)

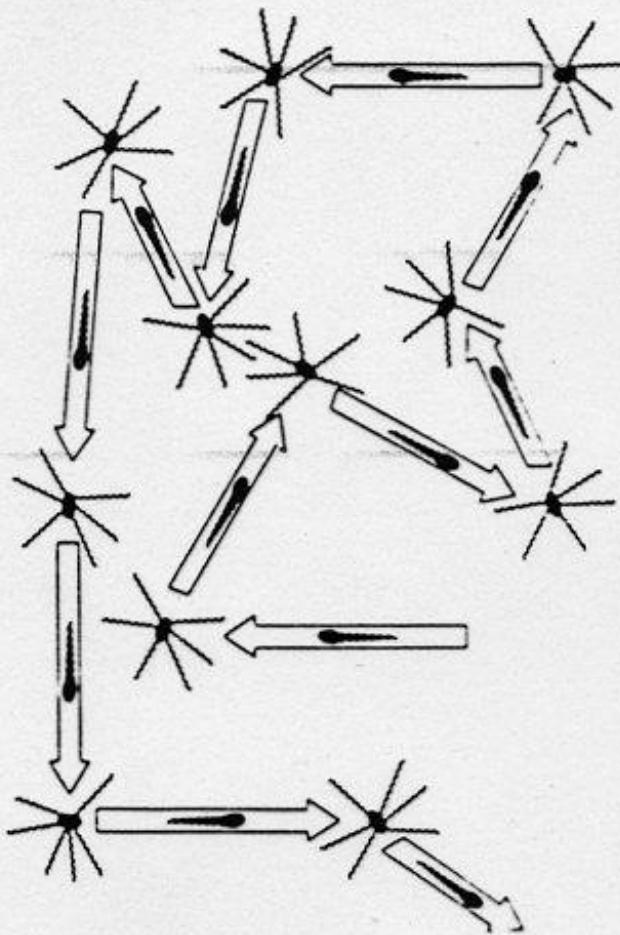
Variazione della concentrazione di microrganismi in un capillare in presenza di attrattore o repellente



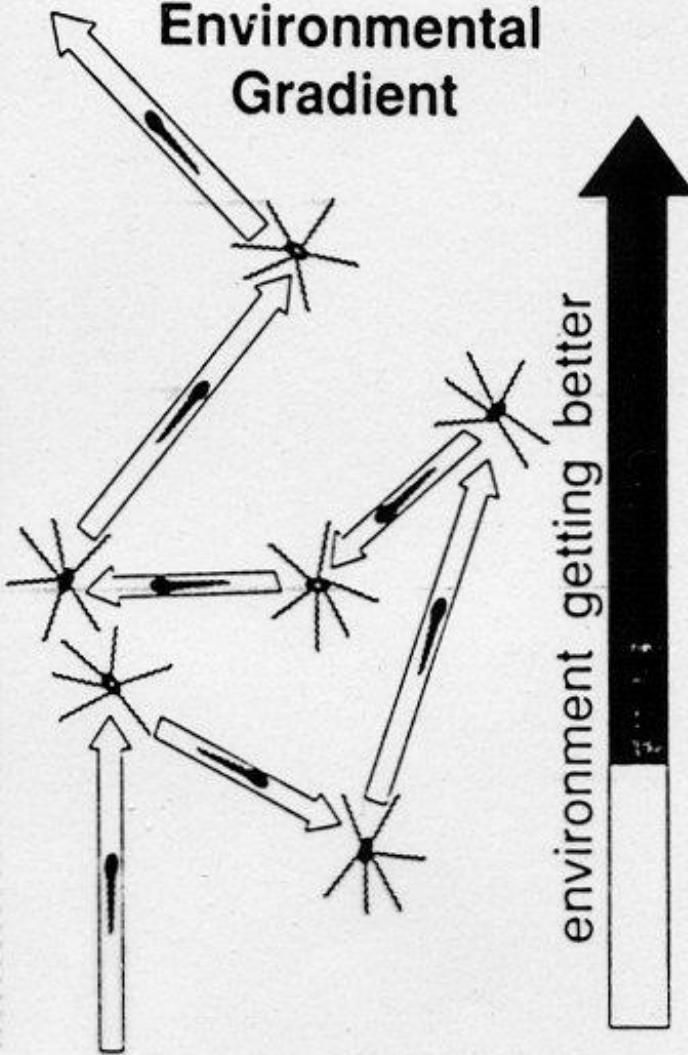
Movimento dei microrganismi verso un alga unicellulare che produce per fotosintesi ossigeno sostanza attraente per questi batteri



Homogeneous Environment

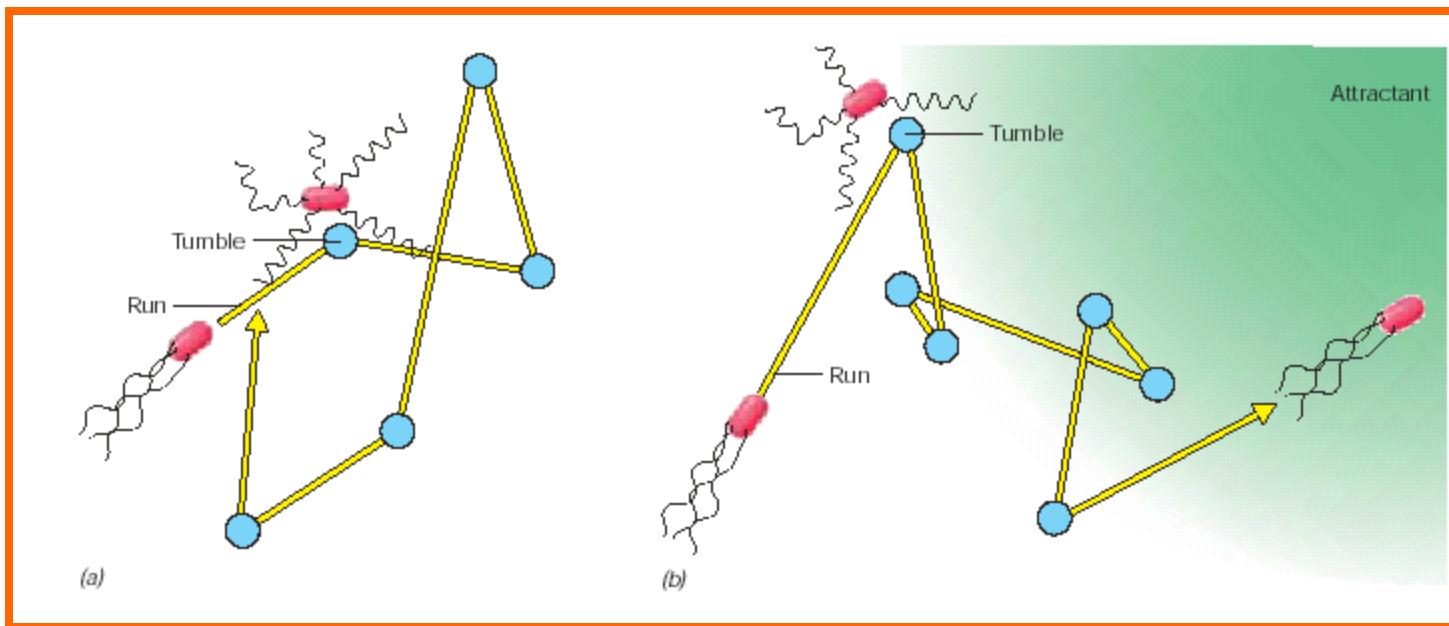


Environmental Gradient



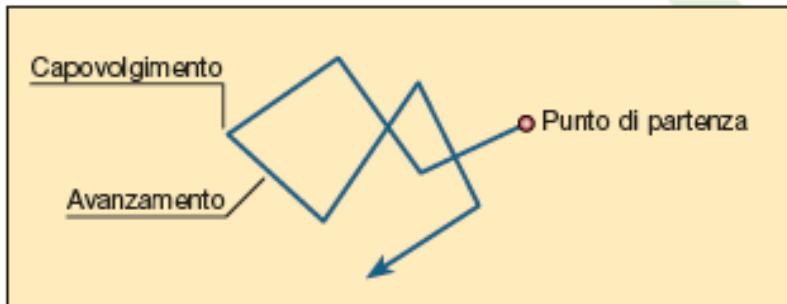
environment getting better

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

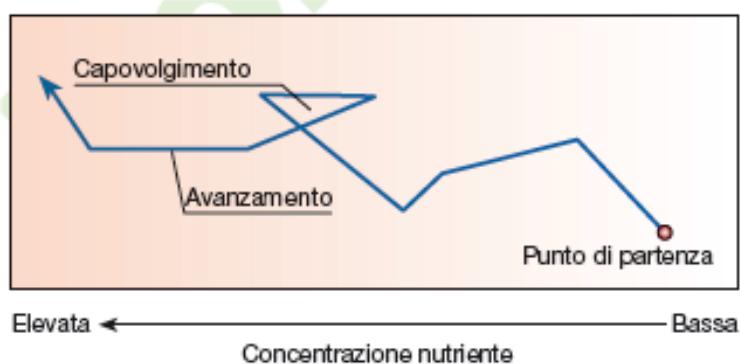


Il movimento dei batteri

Il batterio risponde ad un gradiente temporale registrando la concentrazione precedente e comparandola con l'attuale

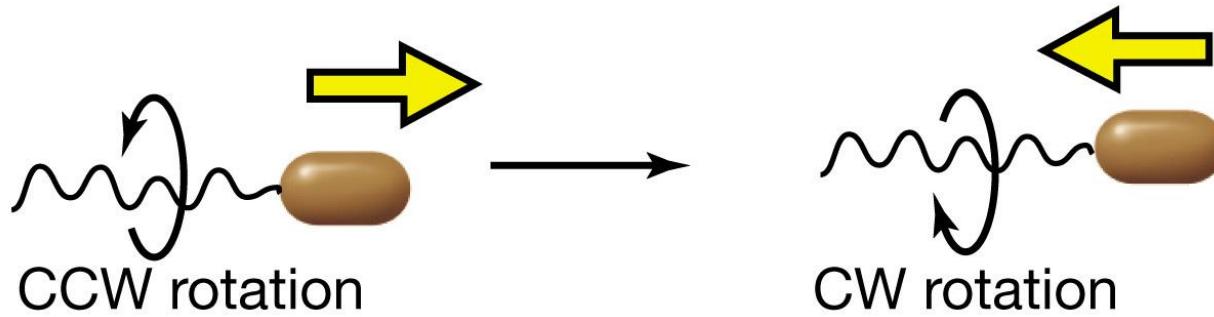


In assenza di un nutriente chemio-attraente i movimenti sono causali.

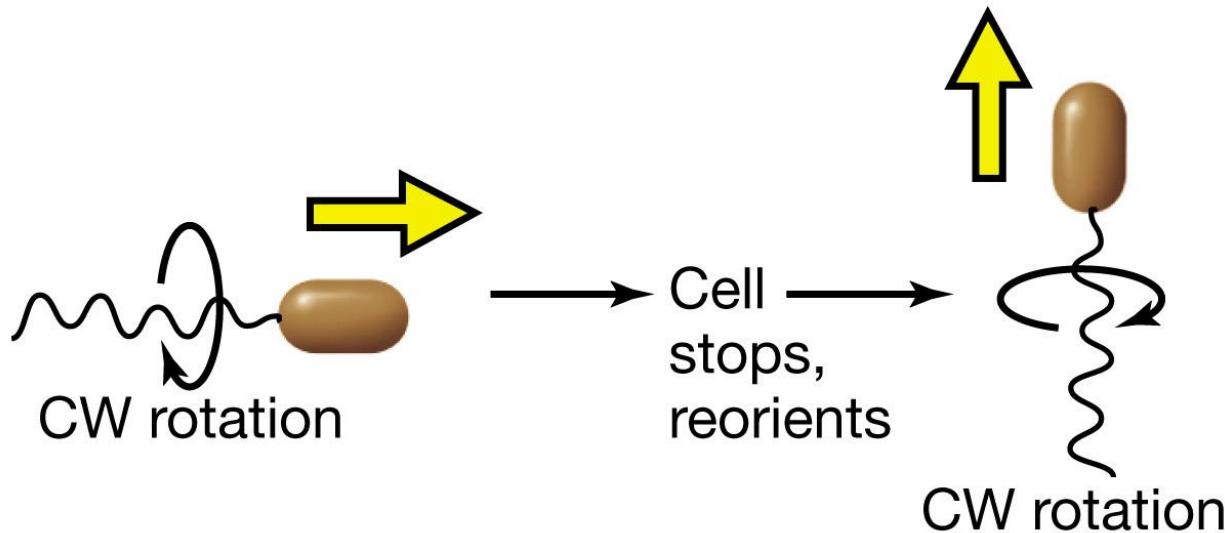


In presenza di un nutriente chemio-attraente le cellule si orientano nella direzione del gradiente aumentando i movimenti lineari

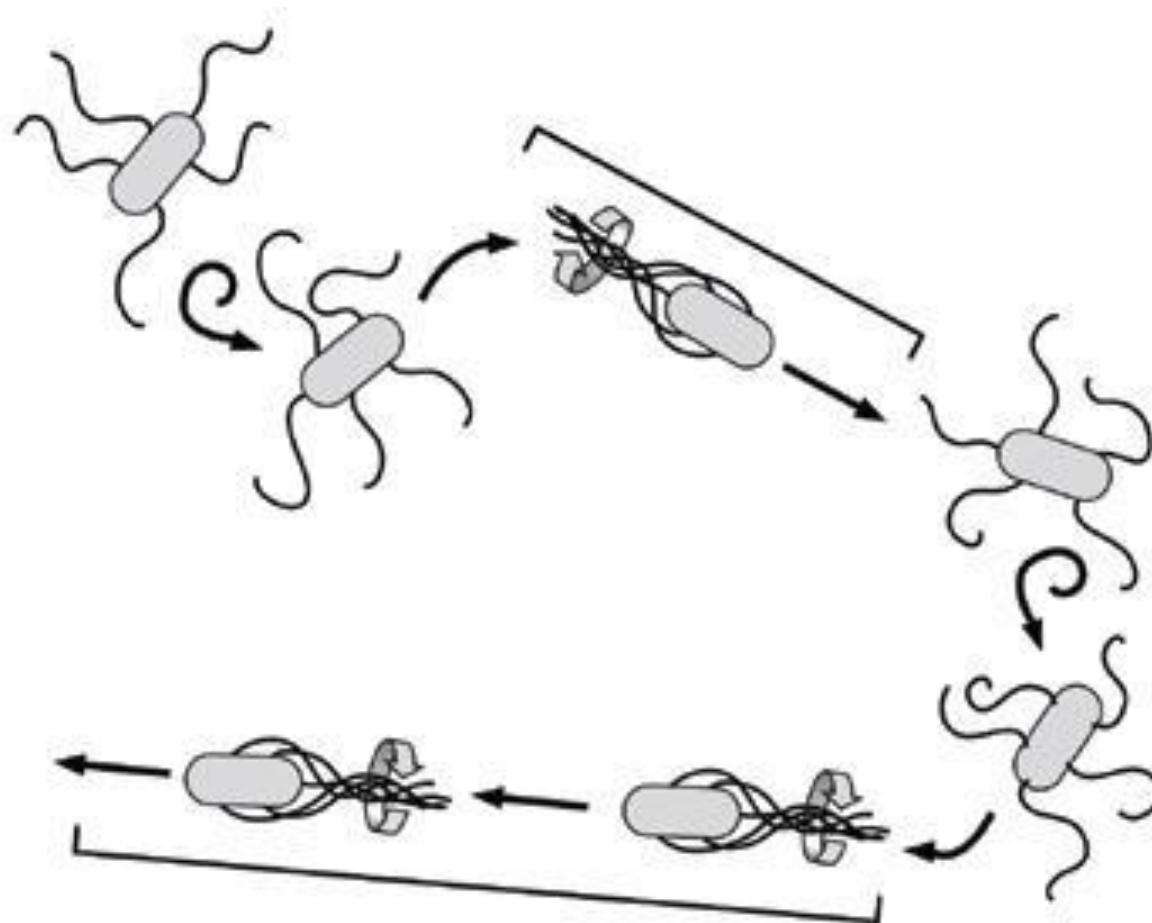
(b) Polar: reversible flagella



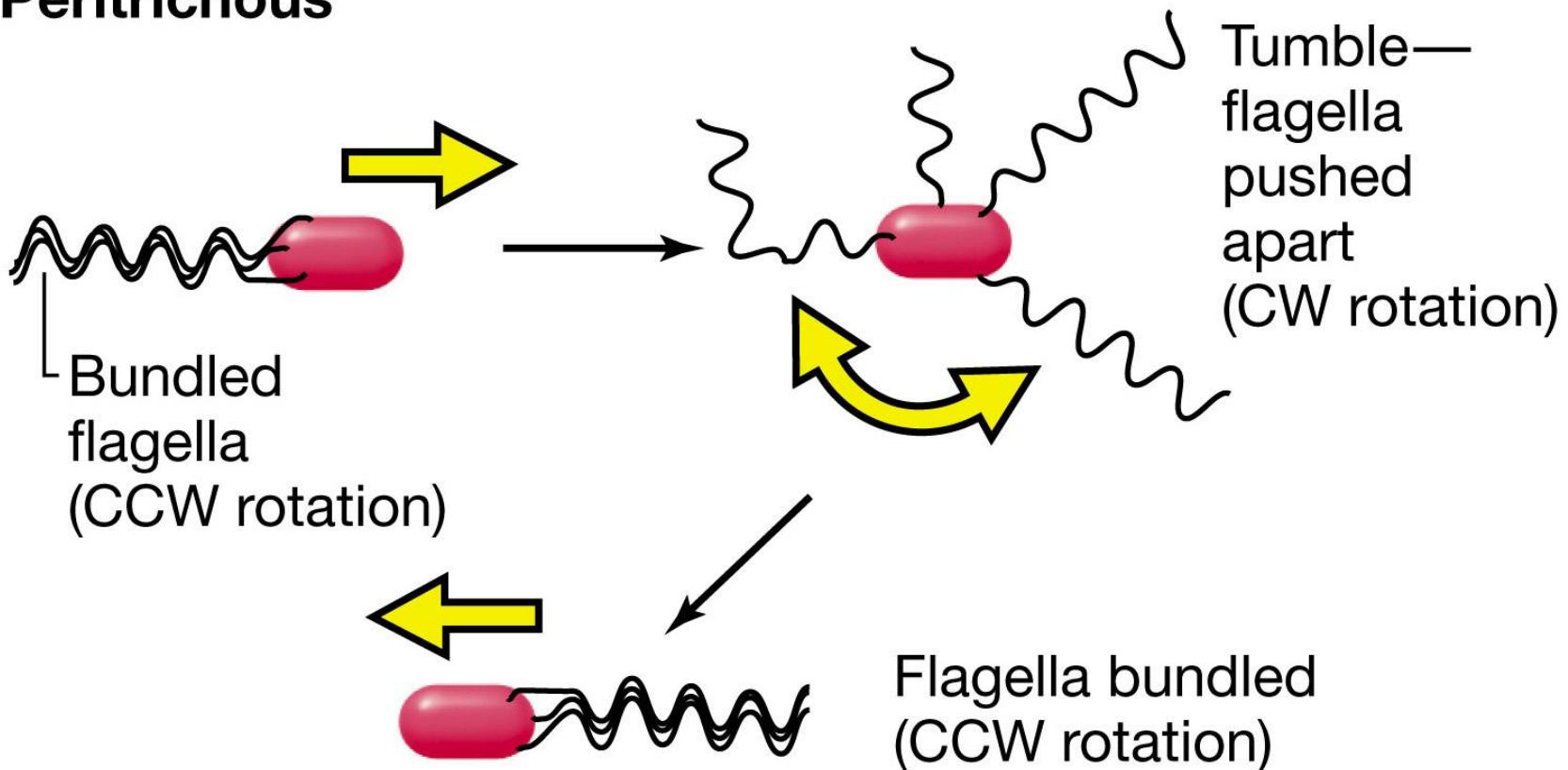
Polar: unidirectional flagella

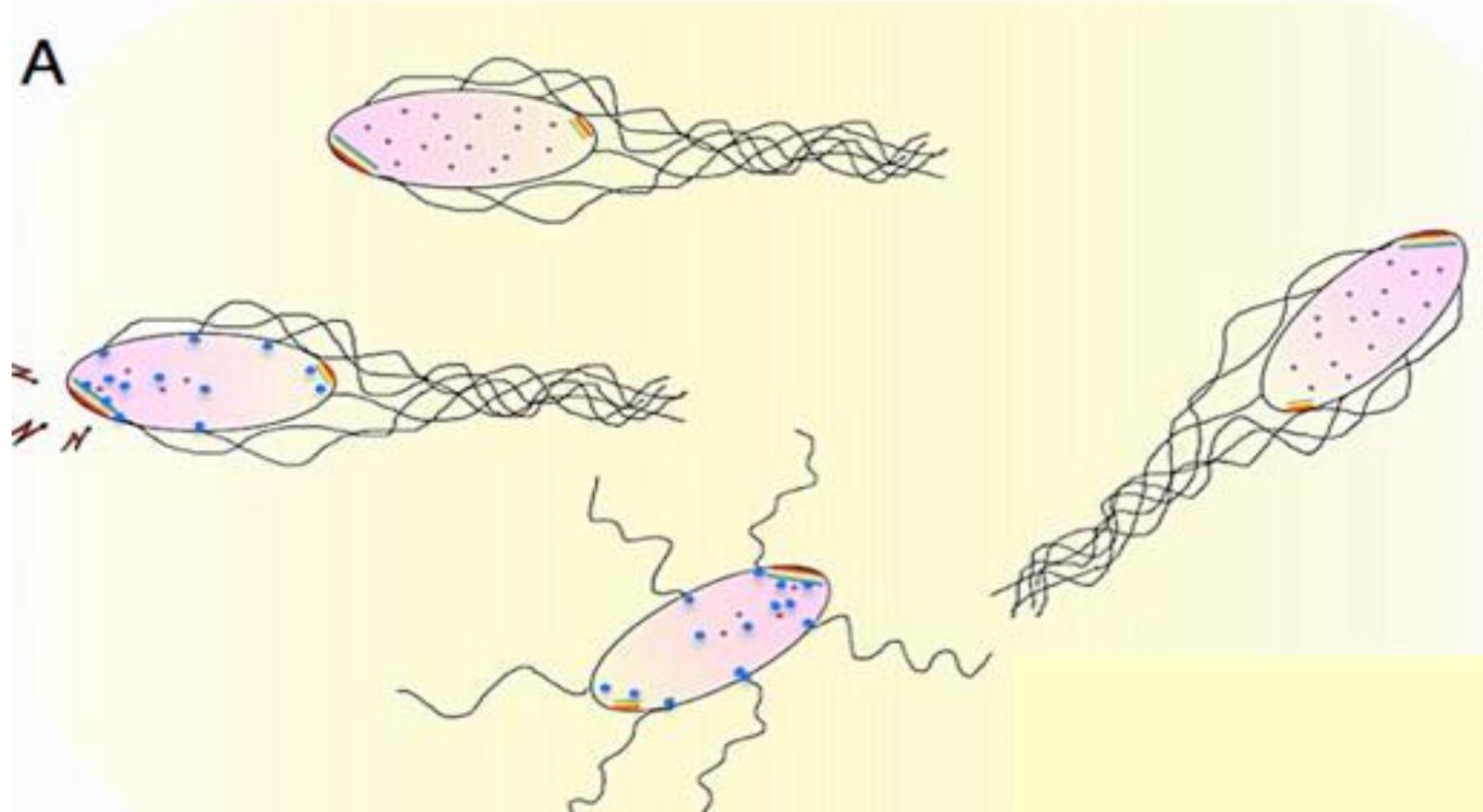


Moto rettilineo e capriole o tumble



(a) Peritrichous



A

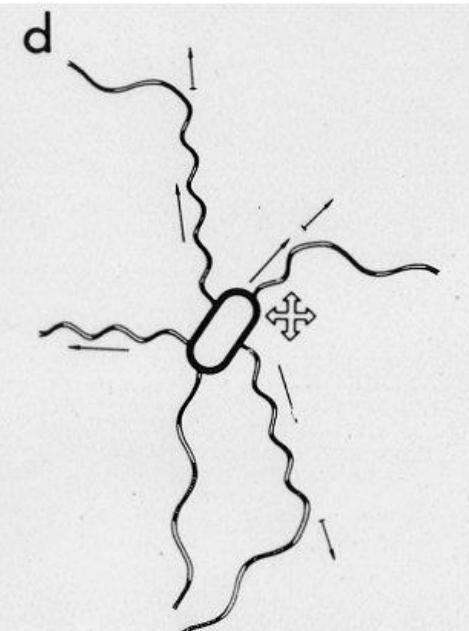
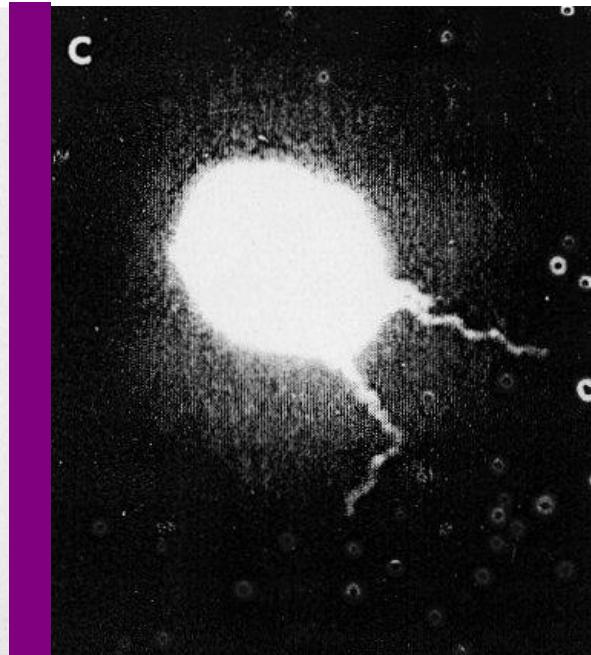
Schematic representation of an *E. coli* cell swimming in a direction and responding to an increasing concentration of a chemical with a tumbling and a consequent change of direction. Tumbling is stimulated by a temporary accumulation of CheY-P molecules (blue); (unphosphorylated CheY are represented in purple), which communicate to the perithrichious flagellar motors to switch the sense of rotation.

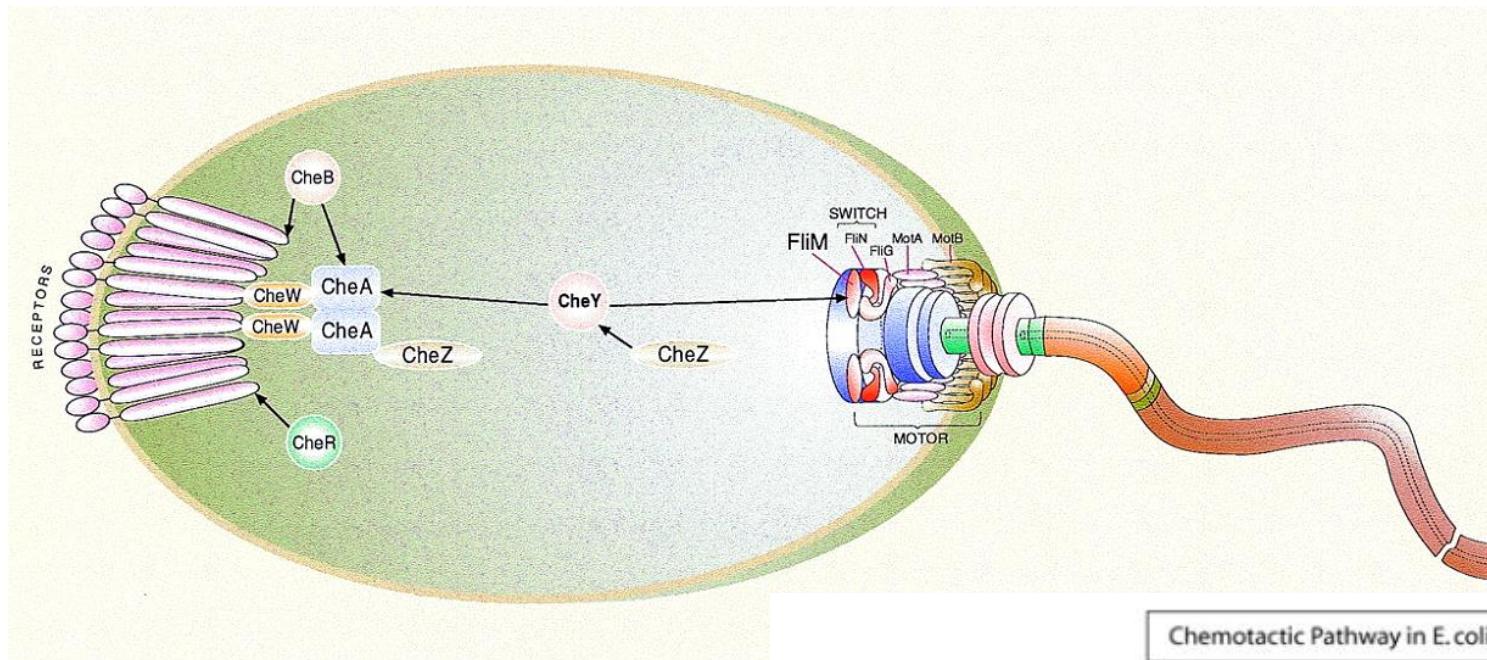
Flagelli ruotano in
senso antiorario

Movimento rettilineo

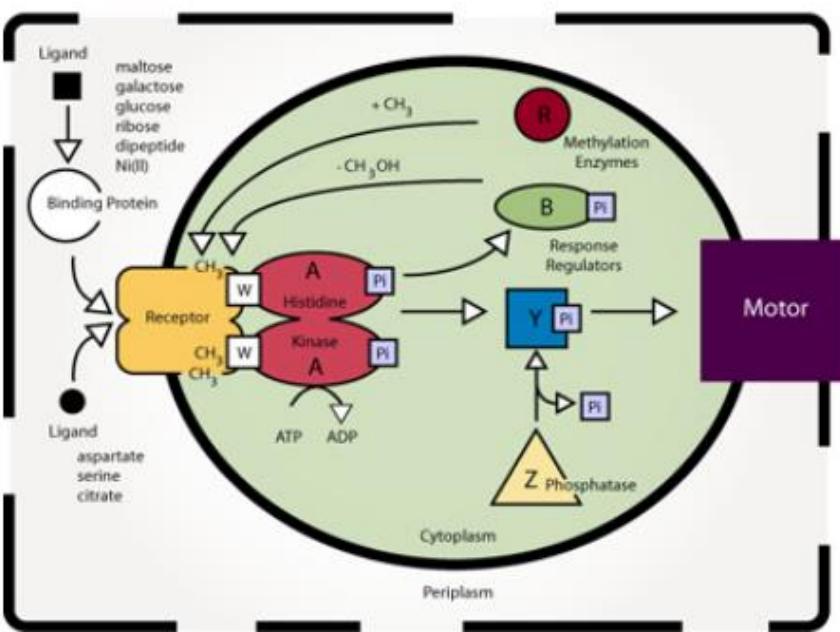
Flagelli ruotano in
senso orario

CAPRIOLA
(thumble)





Chemotactic Pathway in *E. coli*.



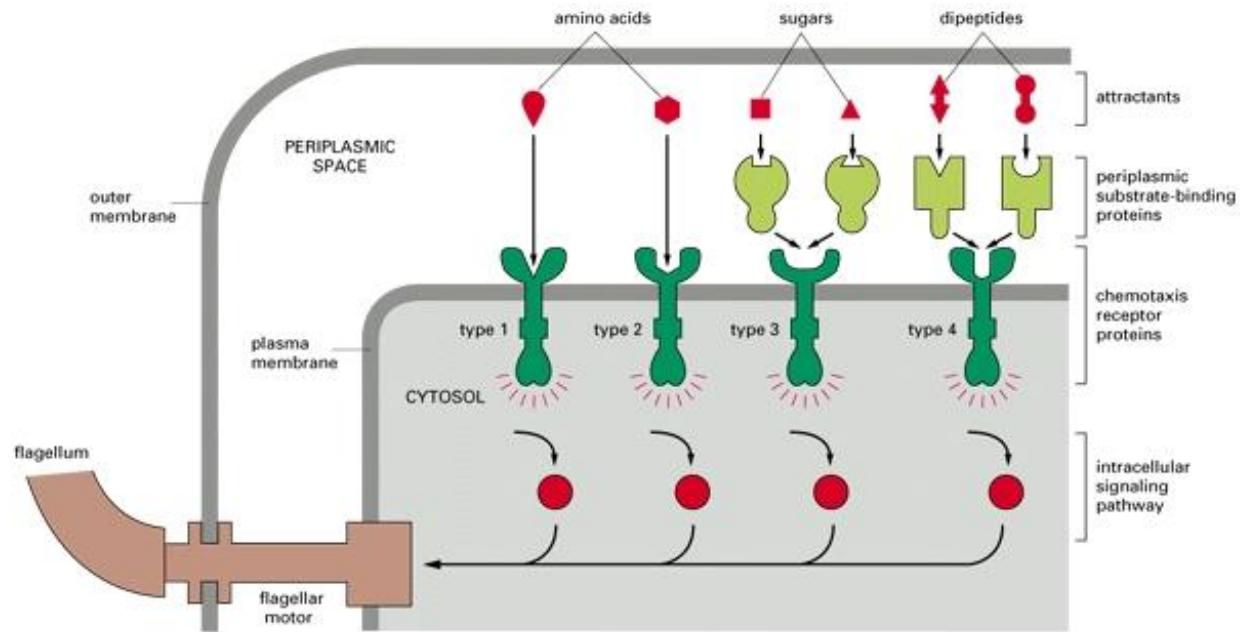
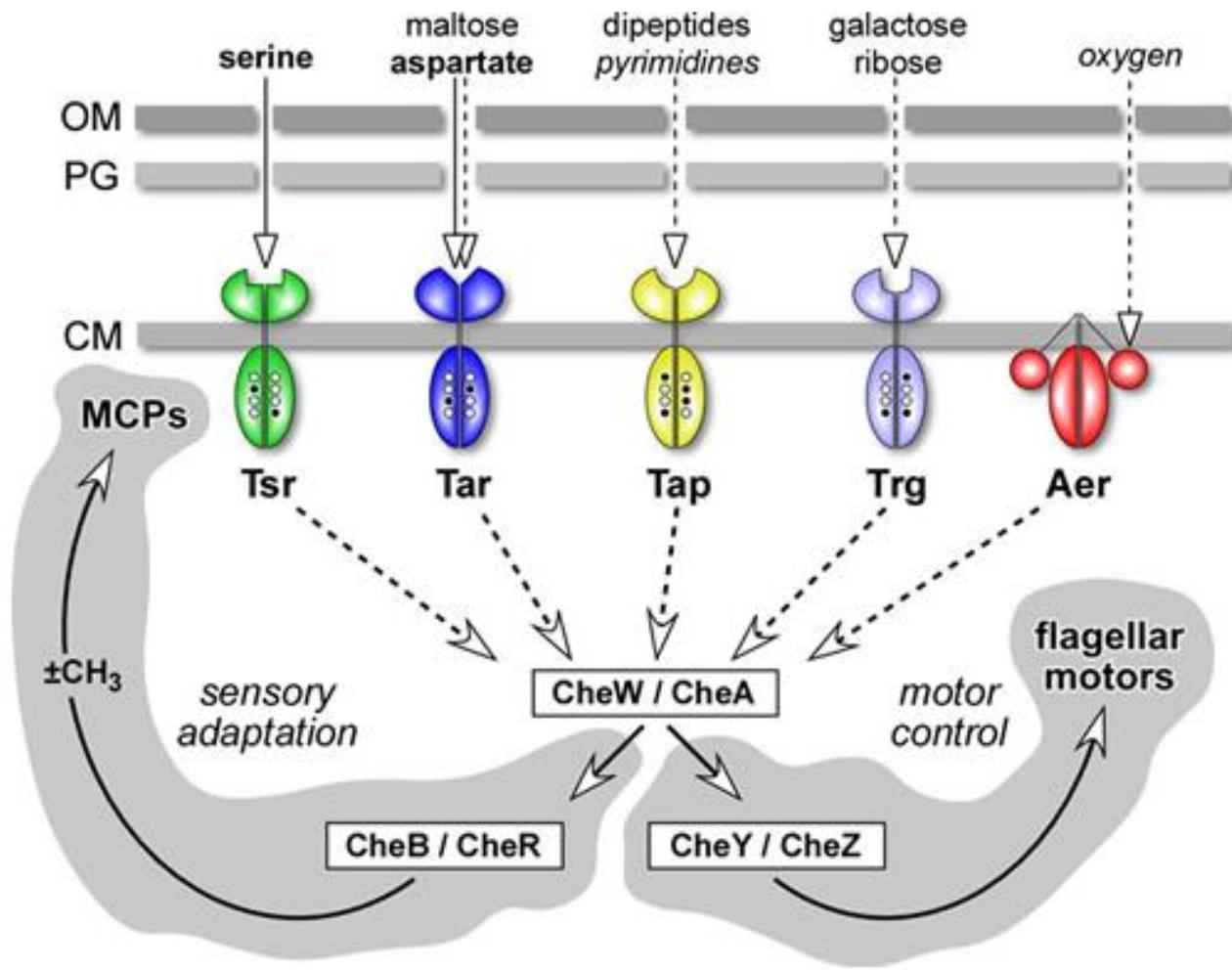


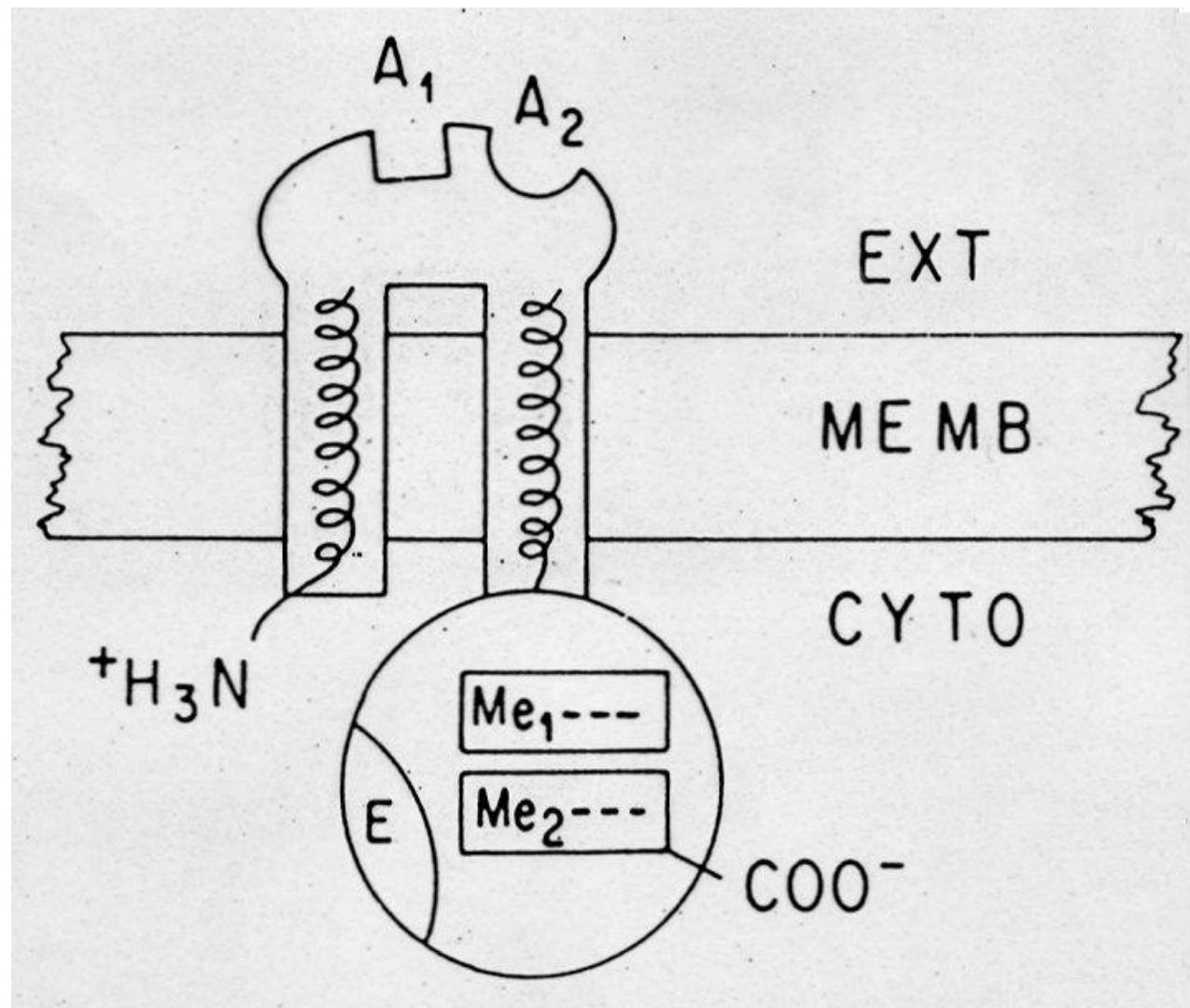
Figure 15-65.

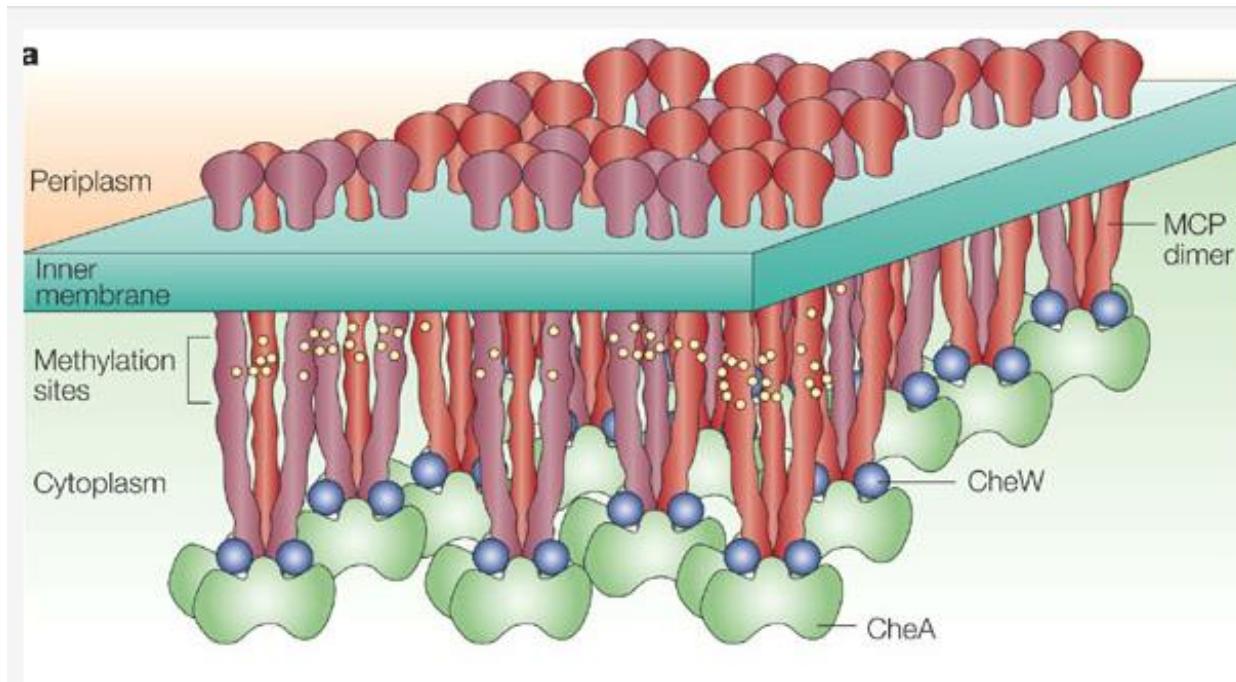
The different types of chemotaxis receptors

Le principali classi di MCP proteins

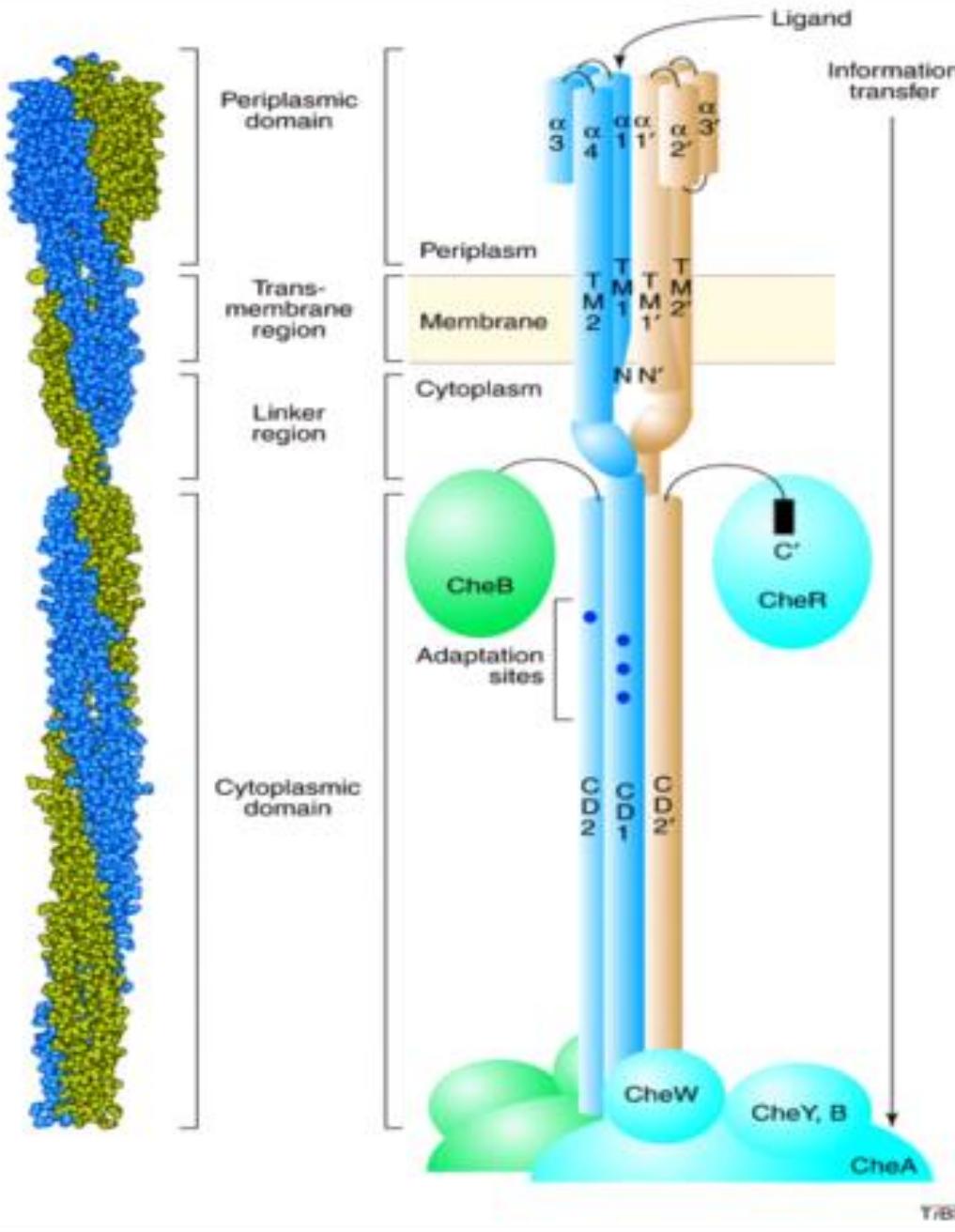


Struttura delle proteine MCP (metil -accepting proteins for chemotaxis)





Le MCP sono proteine della **membrana INTERNA** con un dominio rivolto verso lo spazio periplasmatico



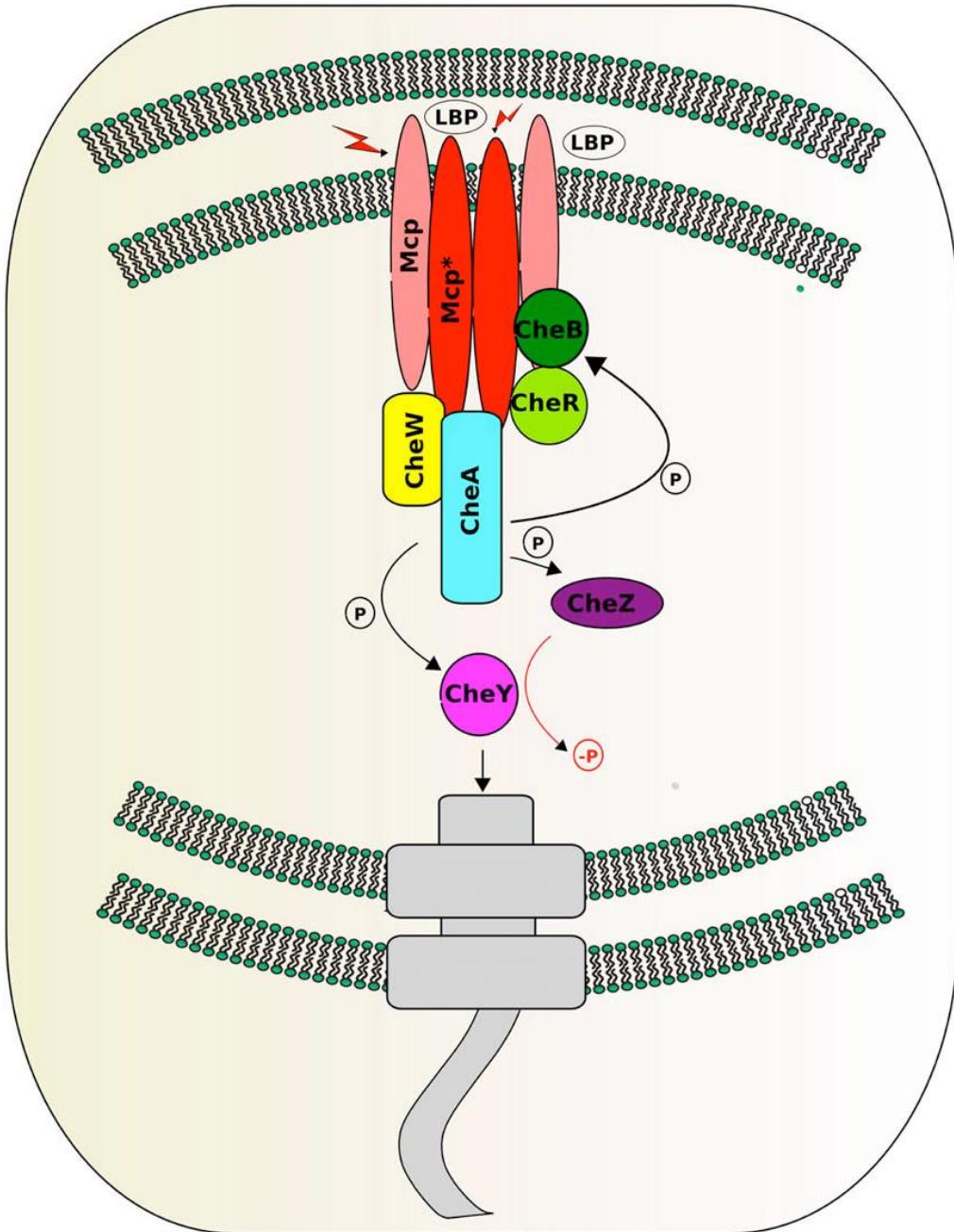
Le MCP (Methyl-accepting protein) sono suddivise in 4 gruppi e presentano probabilmente oltre 2000 differenti proteine per gruppo.

Tipo I: serina ed alcuni repellenti

Il tipo II: maltosio aspartato e alcuni repellenti

Tipo III: galattosio e ribosio

Tipo IV: alcuni dipeptidi

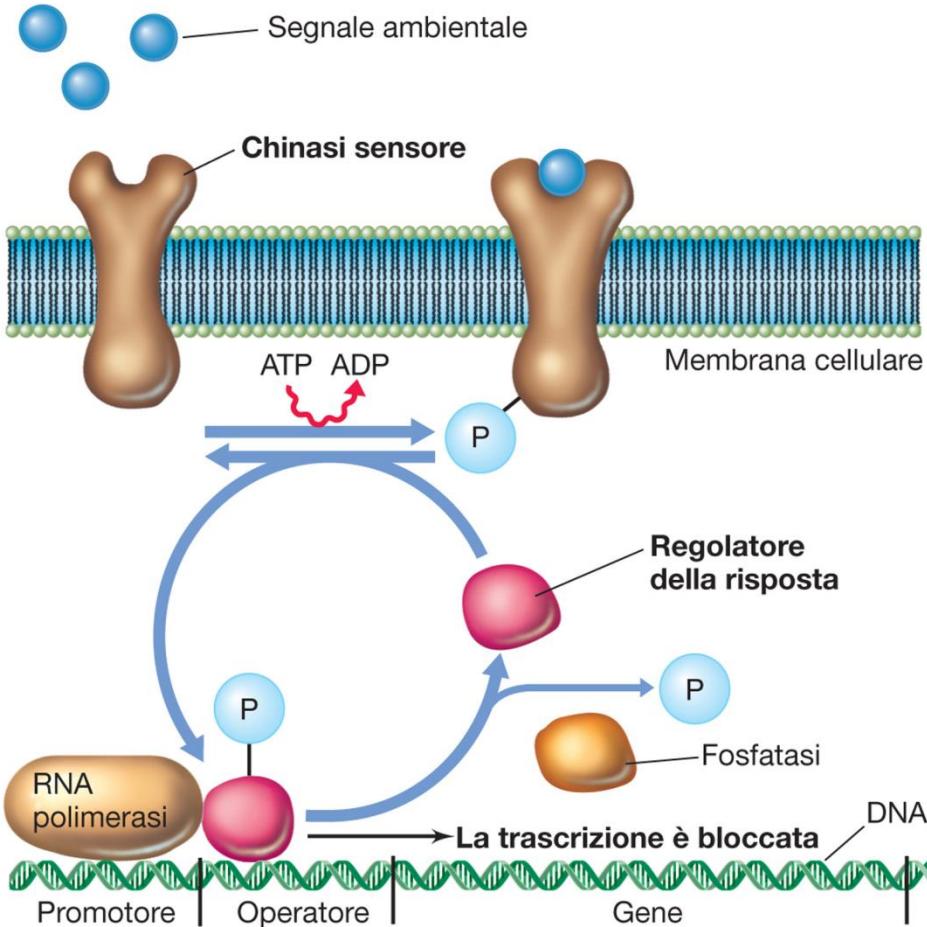


Schematic representation of the *E. coli* chemosensory system. Transmembrane receptors (Mcp) perceive signals directly (red flash) or via ligand binding proteins (LBP). CheR and CheB proteins (light or dark green) add to or remove from Mcps methyl groups.

L'esempio meglio studiato e compreso di trasduzione del segnale e risposta cellulare è quello della chemiotassi.

Nella chemiotassi si osserva come un batterio dotato di flagelli “proceda” in risposta a gradienti di molecole attraenti o molecole repellenti modificando la natura del movimento del flagello.

Il flagello che ruota in senso antiorario determina un andamento rettilineo, il flagello che ruota in senso orario provoca invece il ribaltamento della cellula.

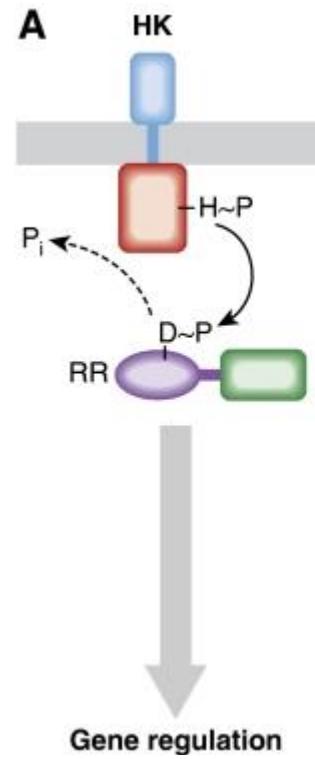


Il segnale, di tipo chimico, viene trasdotto attraverso la membrana, dal sensore e tradotto in segnale chimico come fosforilazione

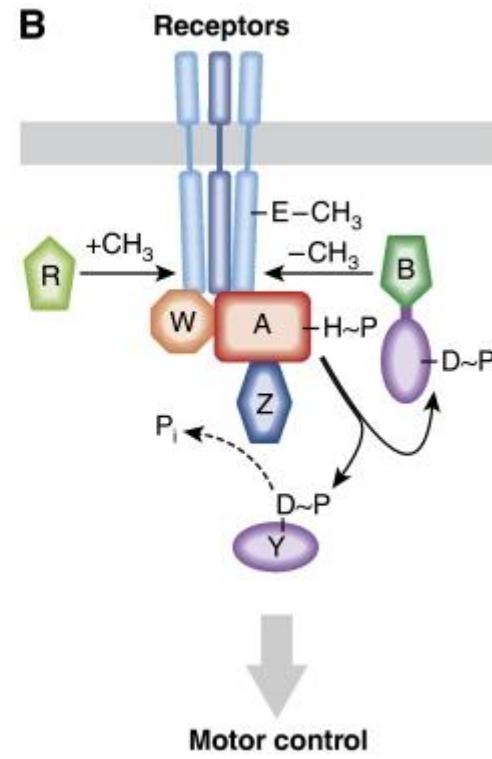
Il segnale, sottoforma di fosforilazione, viene trasferito al regolatore che, modificato strutturalmente esercita il suo ruolo

La trasduzione del segnale nei batteri

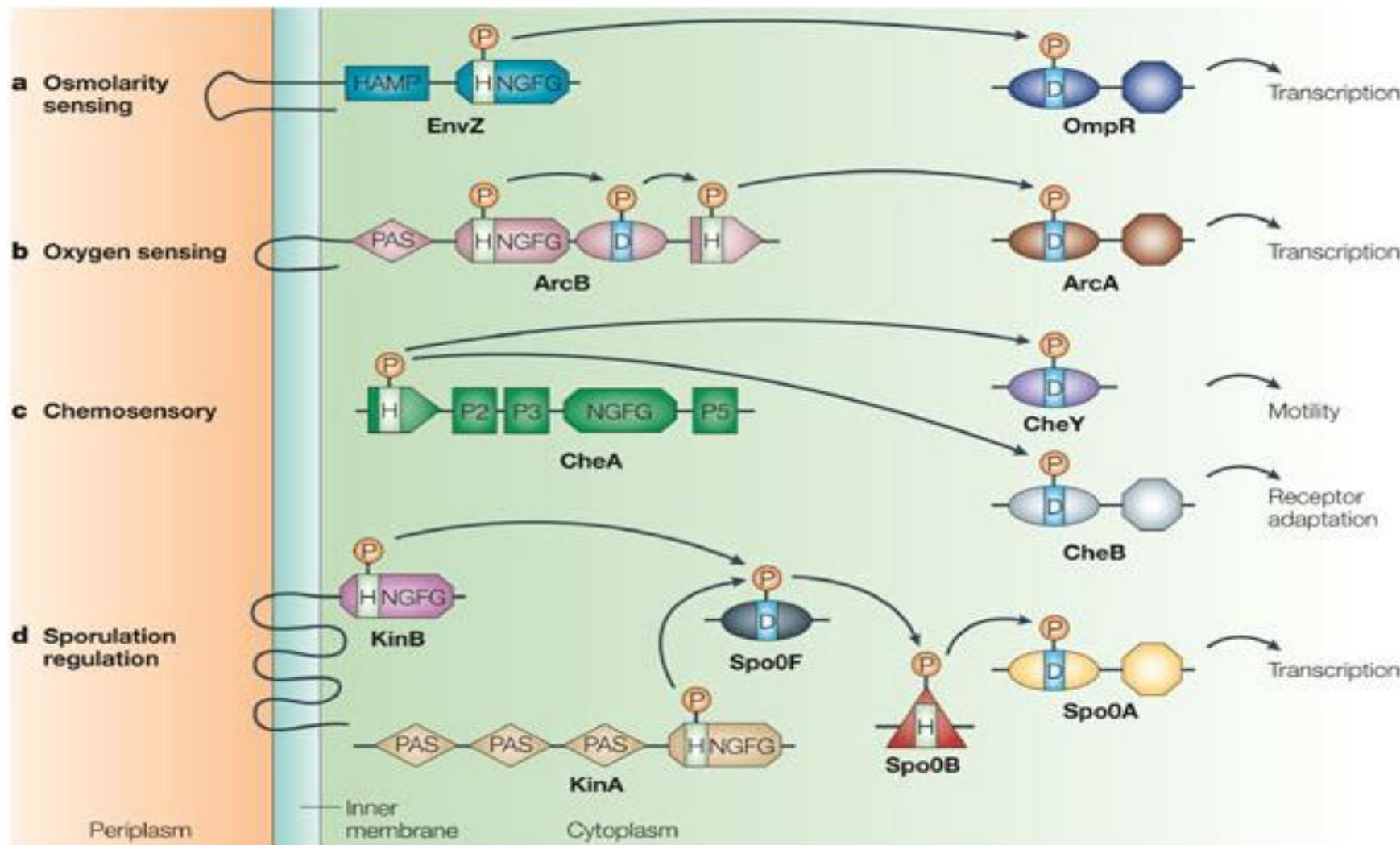
Il sistema a due componenti

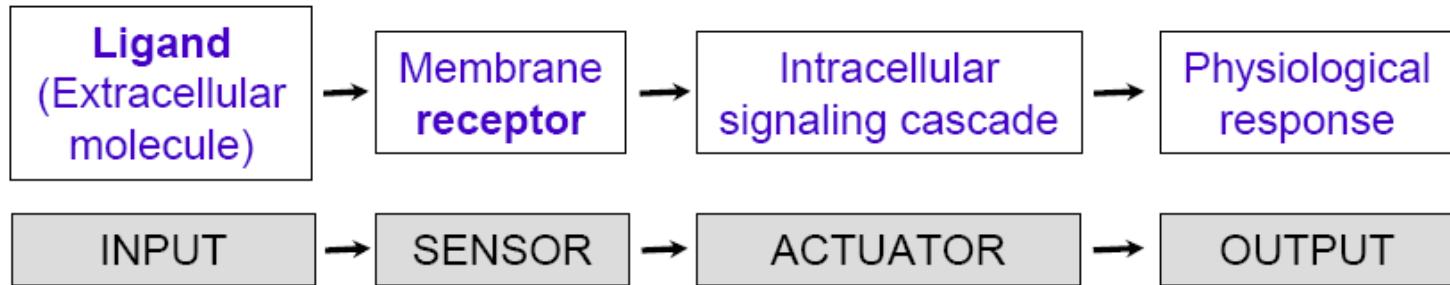


Percezione dello stimolo e movimento



Ruolo delle istidin protein chinasi (HPK) e dei regolatori della risposta con dominio aspartato (RR) nel sistema di trasduzione del segnale basato sul fosforilazione istidina aspartato (HAP)





Rivediamo la cascata di regolazione che porterà al movimento come un circuito che riceve un segnale (input) e genera una risposta (output) tramite un sensore (MCP) ed un attuatore (la fosforilazione CheA mediata)

La proteina citoplasmatica **CheR** continua lentamente ad aggiungere gruppi metilici alle MCP utilizzando la S-adenilmetosina come donatore di metili. Il livello di metilazione delle MCP influenza la loro conformazione e controlla l'adattamento a un determinato segnale.

Se il livello di attrante si mantiene elevato il livello di fosforilazione di CheA si manterrà basso e la cellula manterrà il moto di avanzamento regolare.

Il livello di metilazione delle MCP aumenterà perché vi è poca CheA-P (e quindi poco CheY-P e CheB-P)

I trasduttori **MCP** sono a contatto con le proteine citoplasmatiche CheW e CheA.

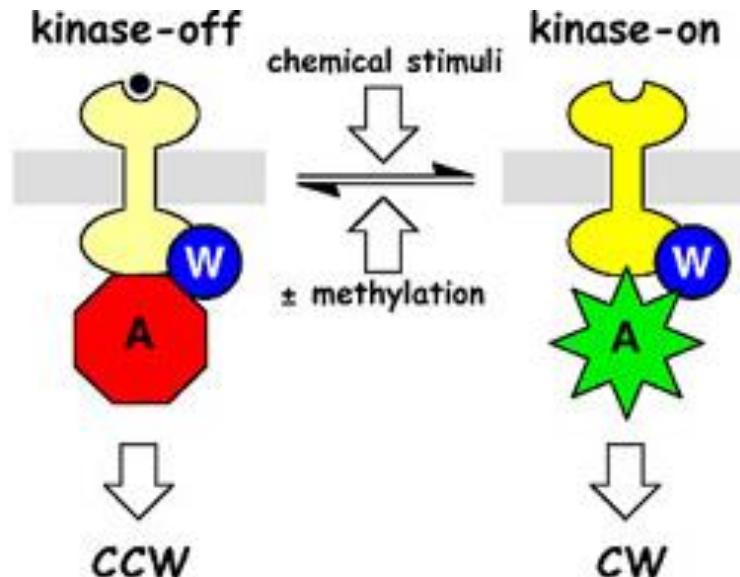
Le MCP però ad un certo punto saranno completamente metilate e questo determina un cambiamento conformazionale che si ripercuote sulla **fosforilazione di CheA (CheA-P)**.

CheA è una chinasi sensore che cambia conformazione coadiuvata da CheW quando il trasduttore si lega ad un attraente.

Che-A si autofosforila CheA-P

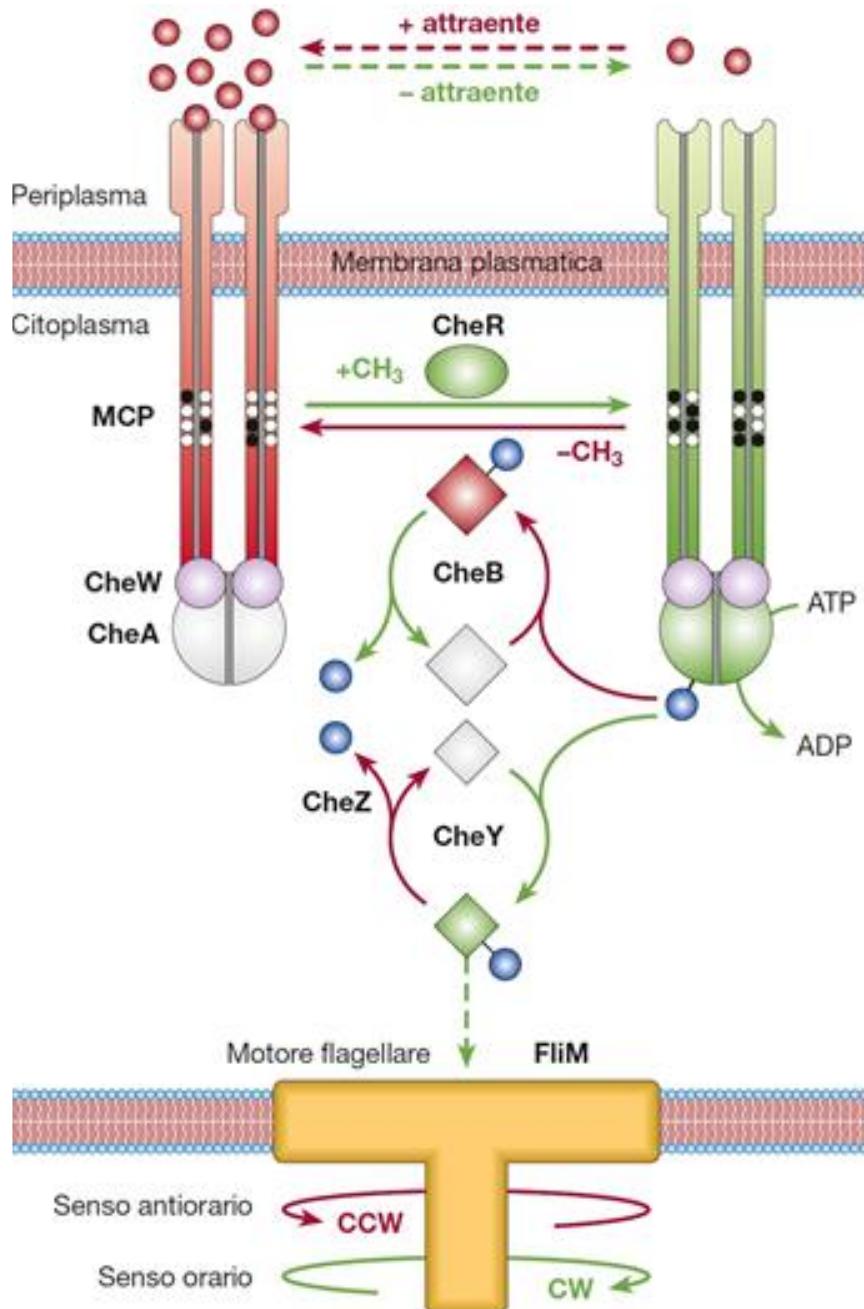
CheA è una chinasi

- in grado di autofosforilarsi
- in grado di fosforilare CheY - CheY-P
- in grado di fosforilare CheB - CheB-P
(demetilasi)



CheA-P può fosforilare CheY (CheY-P)
regolatore della risposta che interagisce con il
motore del flagello solo se fosforilato
determinando la rotazione in senso orario.

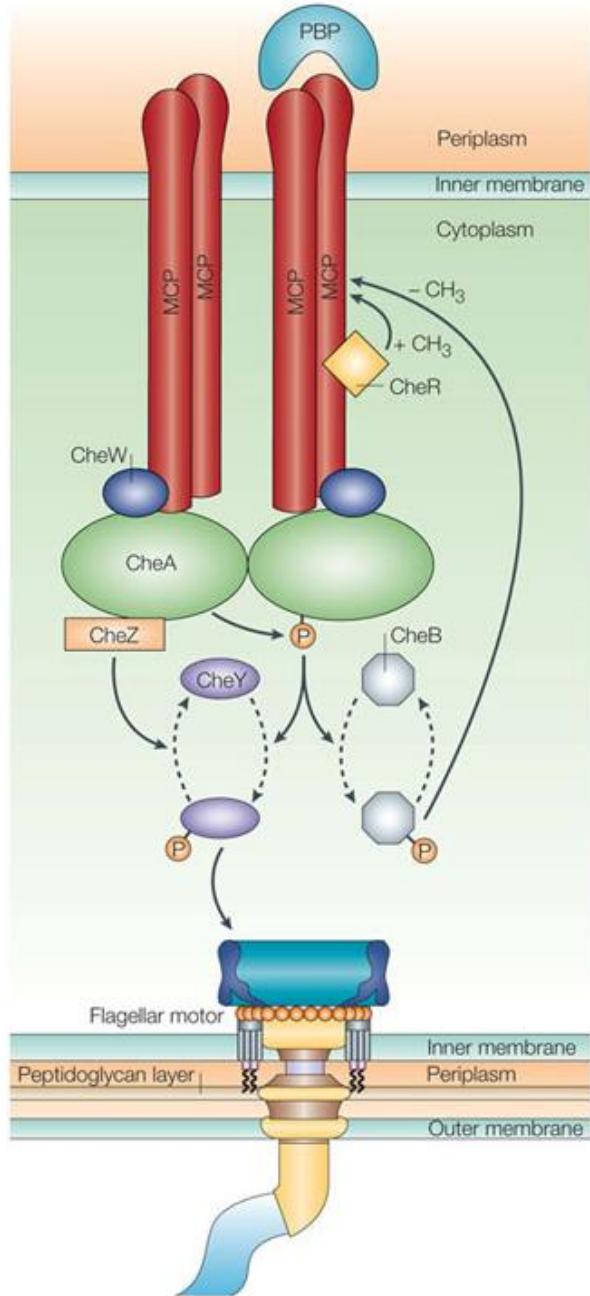
CheZ può defosforilare CheY-P (CheY) e quindi il
movimento può procedere perché il flagello
ruoterà in senso antiorario



CheR è una metil transferasi in grado di metilare le MCP nei residui di glutammato aumentando così l'attività chinasica di CheA.

Il livello di metilazione della MCP fornisce al batterio una misura del passato gradiente in quanto la metilazione avviene solo se vi è legame tra MCP e molecola attraente.

Seguendo il pathway verde si arriva al movimento orario (capriola) mentre il rosso indica movimento antiorario (lineare)



CheA fosforilata CheA-P
fosforila CheY che si lega al
motore del flagello

Alcuni dei principali esempi di sistemi a due componenti con una histidin-chinasi (HPK) e un regolatore della risposta che contiene un residuo di aspartato definiti histidin-aspartato phosphorelay (HAP).

- a | Il sistema EnvZ/OmpR of Escherichia coli, è coinvolto nel regolare l'espressione di due porine della membra na esterna OmpF and OmpC. EnvZ il sensore con attività istidin chinasi (HPK) legato alla membrana controlla l'attività del Regolatore della risposta (RR) costituito dalla proteina OmpR in risposta a cambi di osmolarità..
- b | Il sistema ArcB-AcrA , un altro sistema HAP di *E.coli*. Il sensore di membrana HPK ArcB percepisce i cambi nello stato redox dei componenti della catena di trasporto degli elettroni attraverso i suoi specifici domini PAS (PER, ARNT, SIM). Il gruppo fosfato è poi passato dall'His conservata nel dominio kinasi di ArcB a diversi domini interni del sensore fino all'aspartato del RR ArcA. ArcA poi regola l'espressione dei geni specifici per la microaerofilia.
- c | Il sistema chemio sensoriale di *E. coli*. La proteina citoplasmatica HPK per la chemiotassi (CheA ha cinque domini definiti P1–P5. CheA percepisce i cambiamenti tramite chemiorecettori transmembrana (MCP), che possono indurre la autofosforilazione del dimero di CheA sul residuo di His del dominio HPt. Due regolatori della risposta competono per la fosforilazione : CheY, un aproteina a singolo dominio capace di legarsi al motore del flagello determinando l'inversione , and CheB,che controlla l'adattamento rimuovendo i gruppi metilici .
- d | Parte del complesso sistema che regola la sporulazione in *Bacillus subtilis*., Il regolatore della risposta Spo0F, è può essere fosforilato da almeno due chinasi HPKs, una delle quali ha numerosi domini transmembrana (KinB) mentre l'altra è solubile e ha numerosi domini (KinA). Spo0F fosforila indirettamente RR Spo0A che è una DNA binding protein , tramite fosforilazioni successive che coinvolgono Spo0B.

CheA-P può fosforilare anche la proteina CheB

CheB-P svolge un ruolo di demetilasi sulle MCP cruciale per il fenomeno dell'adattamento.

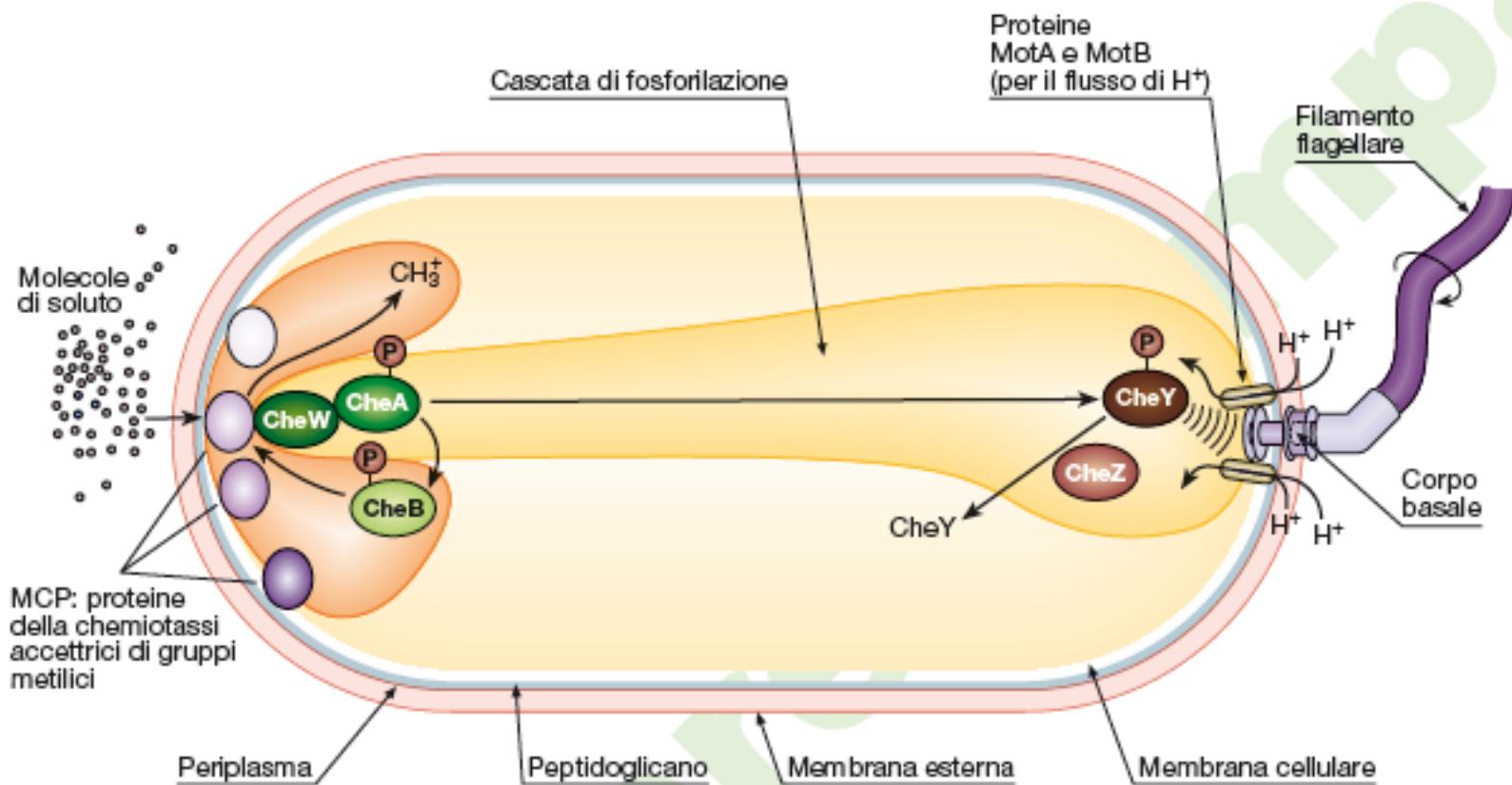
A questo punto la fosforilazione di CheB-P riporta le MCP al loro livello iniziale di metilazione (molto basso) e quindi può riprendere il movimento rettilineo.

I repellenti aumentano il livello di CheY fosforilata e quindi provocano il susseguirsi di capriole

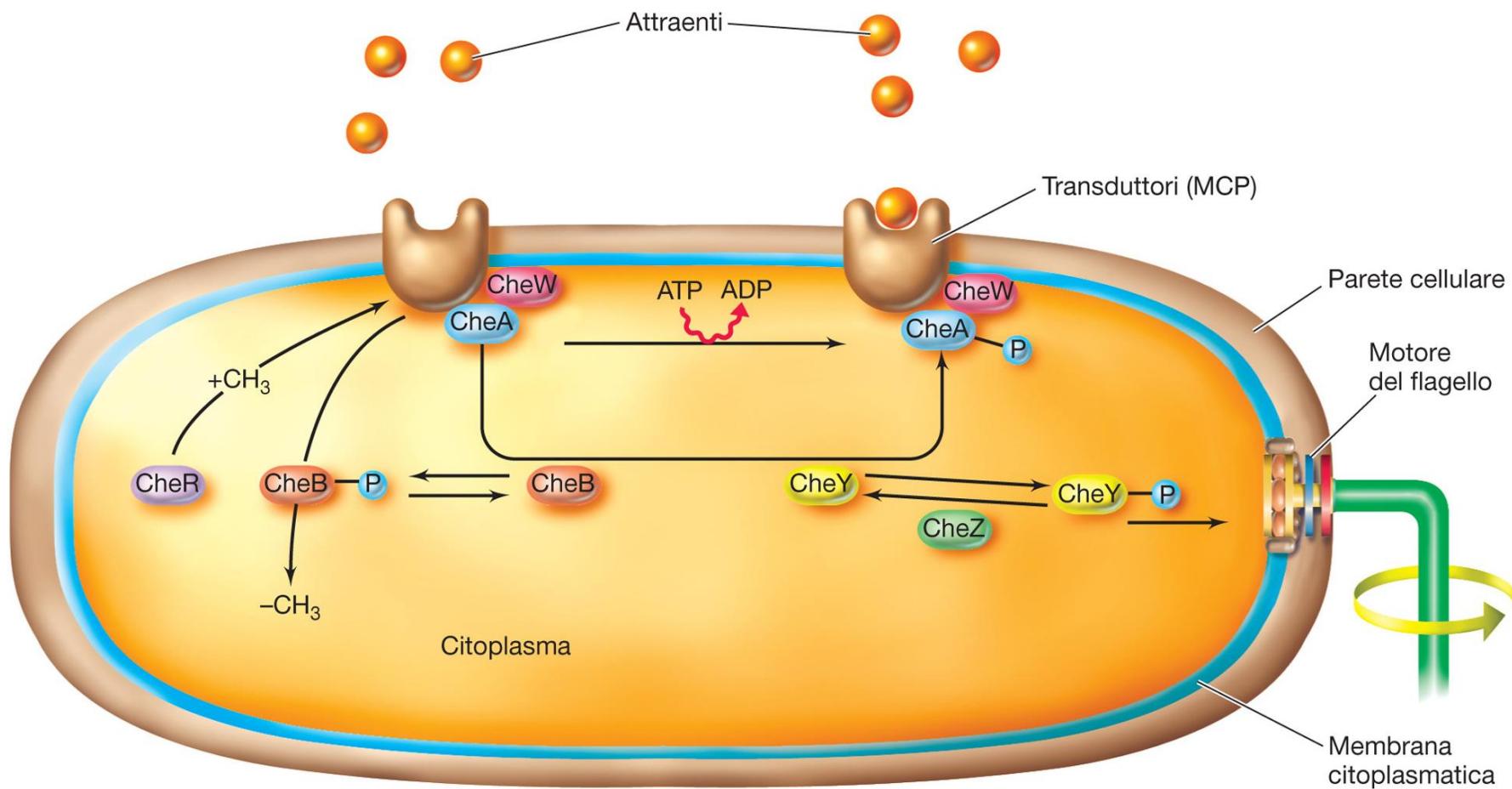
ADATTAMENTO

Quando il batterio si trova in concentrazioni elevate di attraiente può saturare le MCP. In questo caso tali proteine non sarebbero in grado di indicare ulteriori variazioni delle concentrazioni delle molecole nell'ambiente. Questo fenomeno è impedito dall'adattamento.

Quando un attraiente si lega ad una MCP ne determina una alterazione strutturale. La proteina CheB-P, demetilando le MCP le riporta alla struttura originaria adattandola alle nuove concentrazioni di attraiente

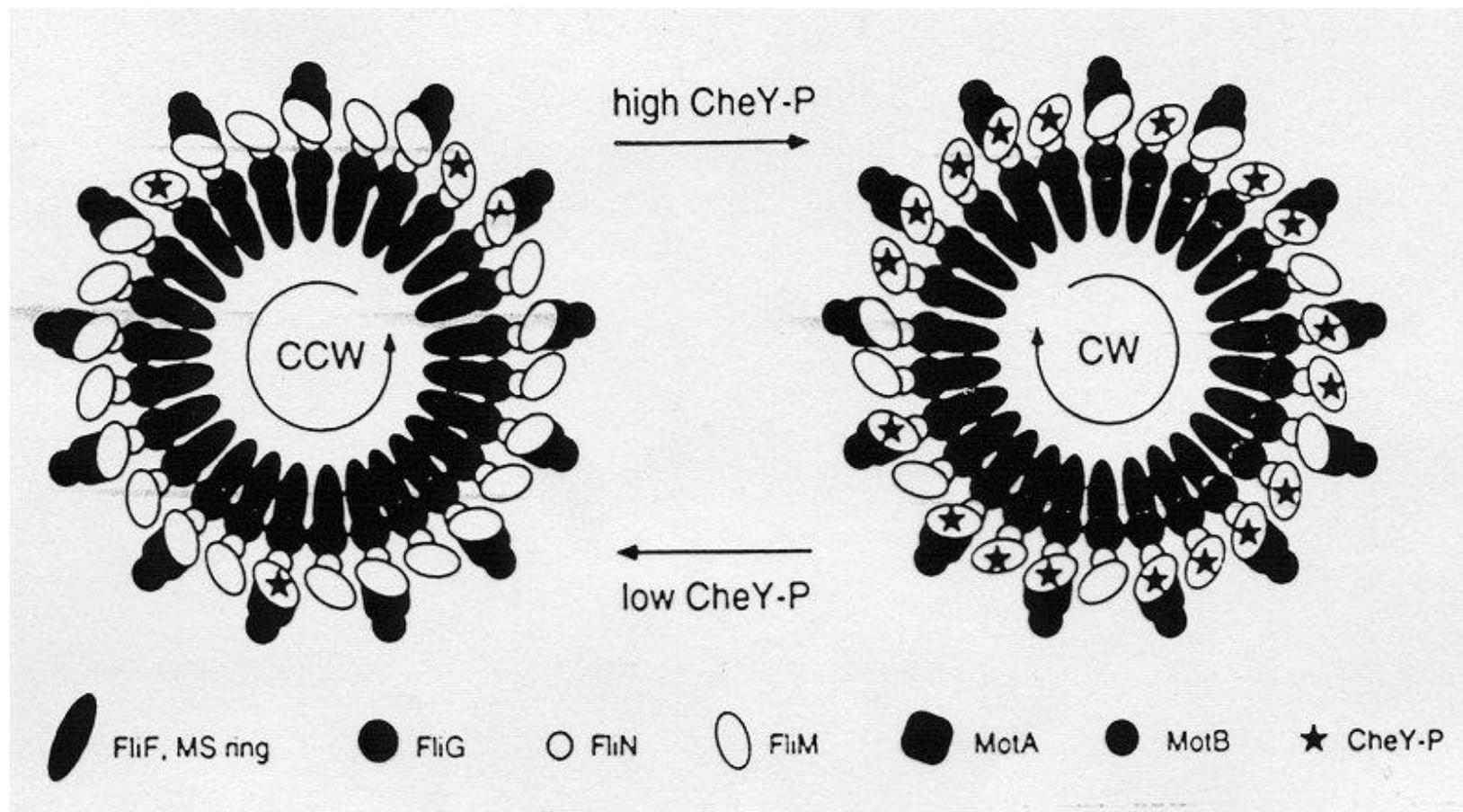


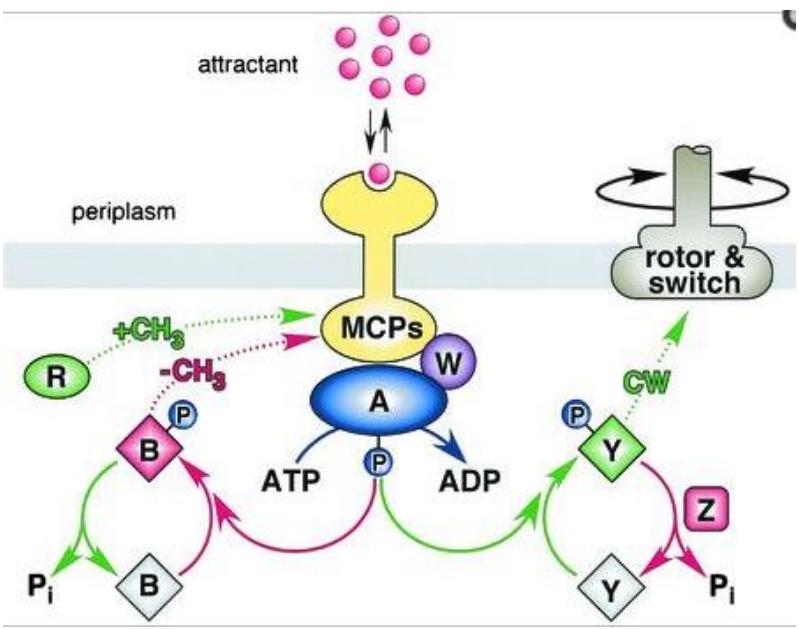
Modello generale della regolazione della chemiotassi



Il motore del flagello visto dall'interno della cellula

CheY-P si lega a FliM provocando la rotazione in senso orario (capriola)





Come vengono defosforilate CheY-P e CheB-P?

CheY-P e CheB-P vengono defosforilate rapidamente in modo da ripristinare le forme CheY e CheB.

Entrambe questi regolatori della risposta (RR) sono soggetti ad una defosforilazione spontanea ed in particolare CheB-P ha un emivita più breve di CheY-P.

Per compensare questa emivita più lunga di CheY-P interviene CheZ che accellerà la defosforilazione di CheY.

Ma CheZ è una fosfatasi? In realtà legandosi a CheY-P ne provoca un cambiamento conformazionale che ne accellerà la defosforilazione. Recentemente però si è visto che può anche se in misura minore contribuire direttamente alla defosforilazione di CheY.