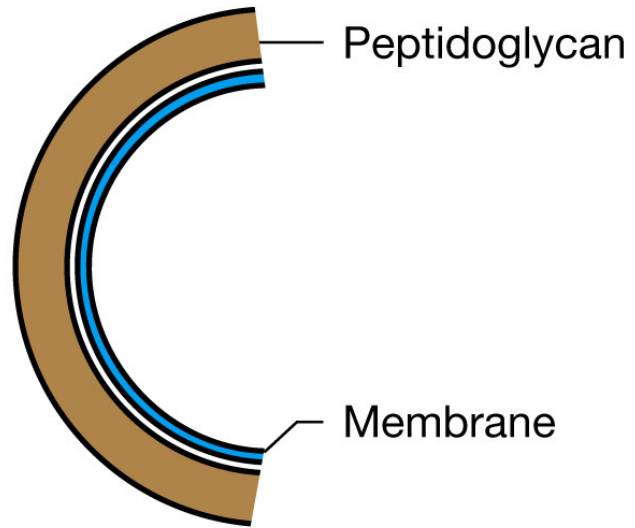


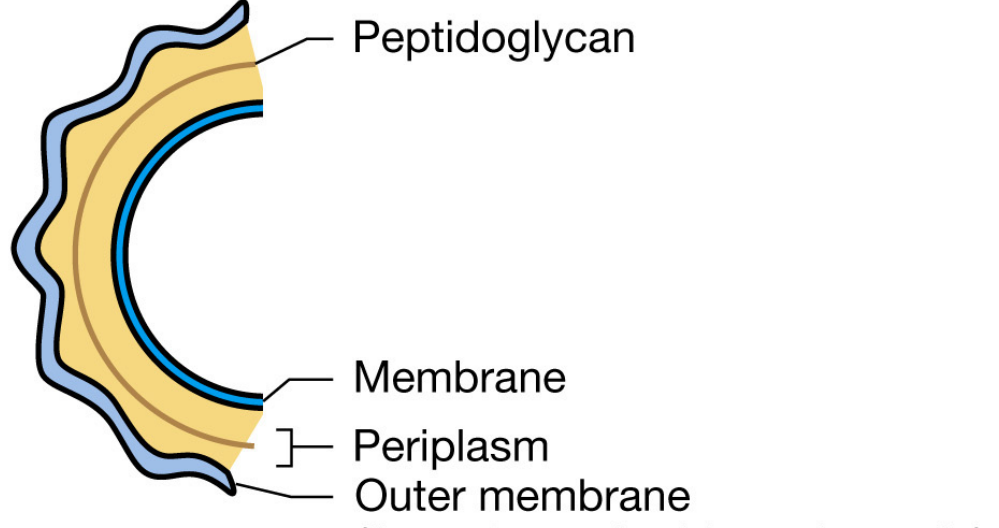
La struttura della parete cellulare nei Batteri

Gram-positive



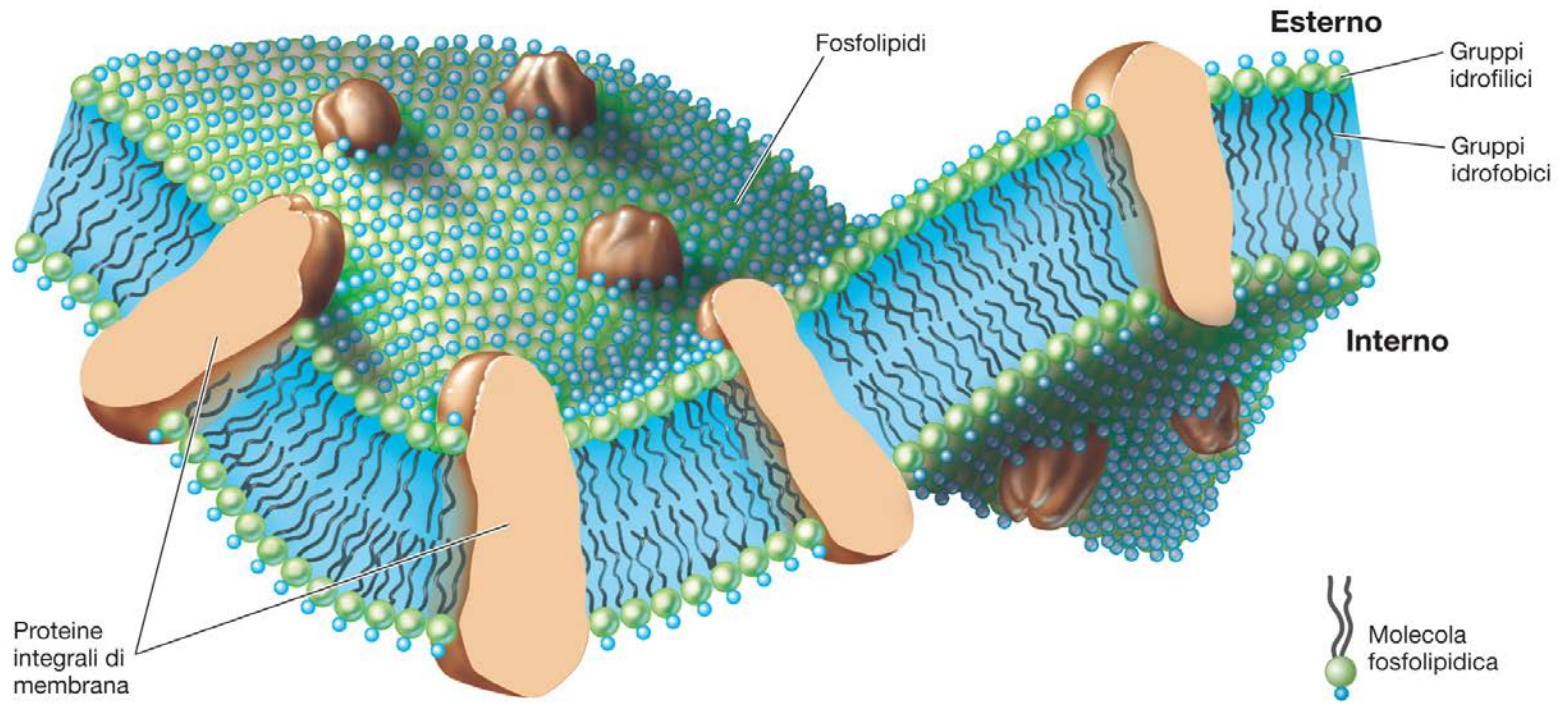
(a)

Gram-negative

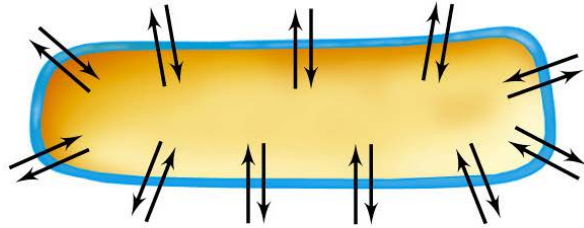


(b)

Struttura generale della membrana citoplasmatica

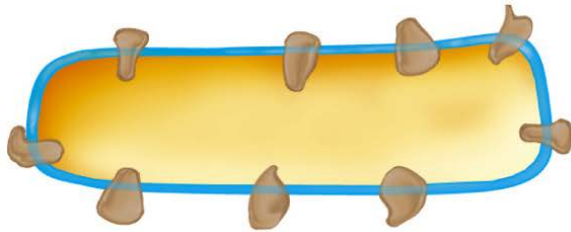


Principali funzioni della membrana citoplasmatica



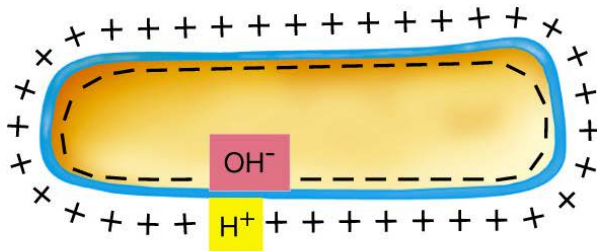
Permeability Barrier — Prevents leakage and functions as a gateway for transport of nutrients into and out of the cell

Barriera di Permeabilità



Protein Anchor — Site of many proteins involved in transport, bioenergetics, and chemotaxis

Ancoraggio per le proteine



Energy Conservation — Site of generation and use of the proton motive force

Conservazione dell'energia

La membrana citoplasmatica (Inner Membrane =IM) è costituita da LIPIDI e PROTEINE come tutte le membrane ma le proporzioni tra queste due componenti variano ampiamente

La IM dei batteri ha un contenuto maggiore in proteine rispetto alle cellule eucariotiche in quanto svolge funzioni diverse che negli eucarioti sono svolti da organelli .

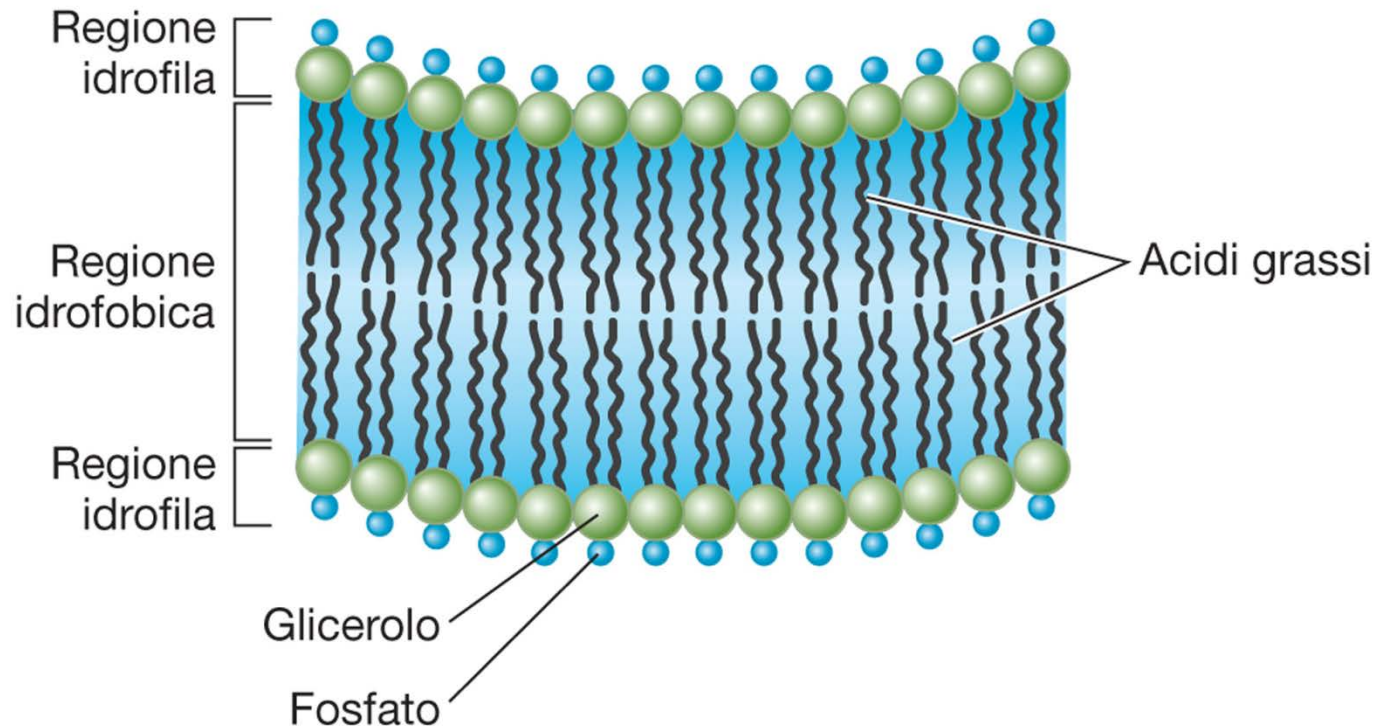
I LIPIDI della membrana hanno una struttura ASIMMETRICA con un'estremità polare (o testa) ed una estremità non polare (o coda) detti ANFIPATICI

Le estremità polari reagiscono con l' H_2O e sono dette IDROFILE

Quelle non polari sono insolubili in H_2O e IDROFOBICHE.

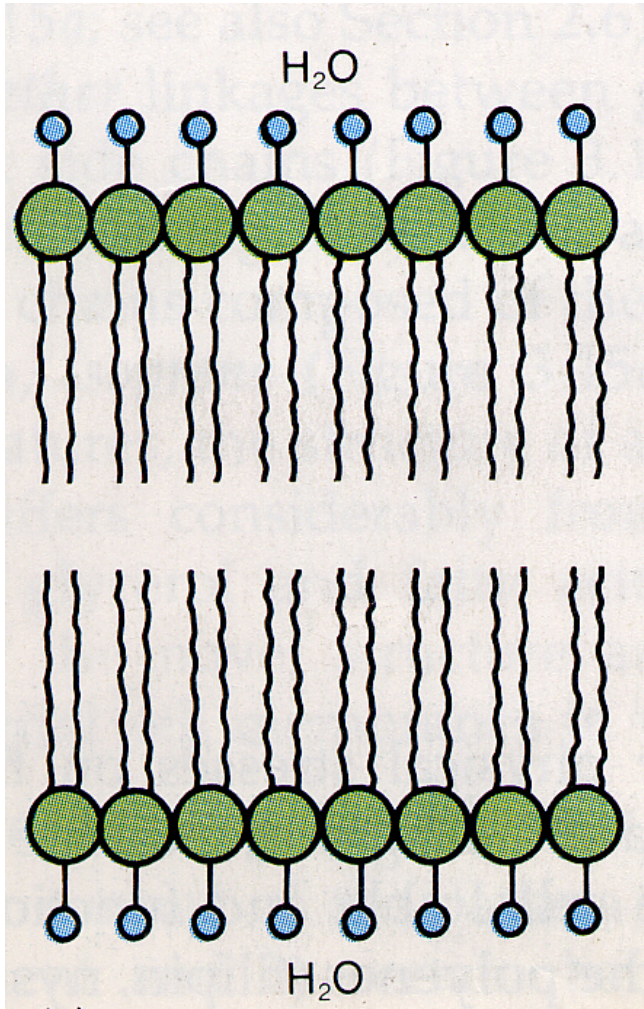
I lipidi di membrana sono in genere fosfolipidi

Struttura della membrana citoplasmatica

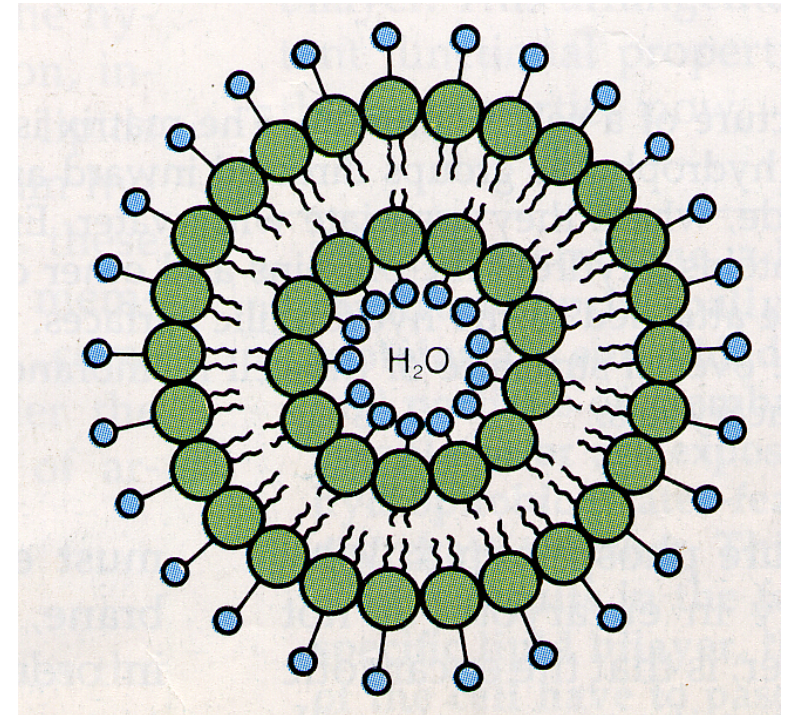


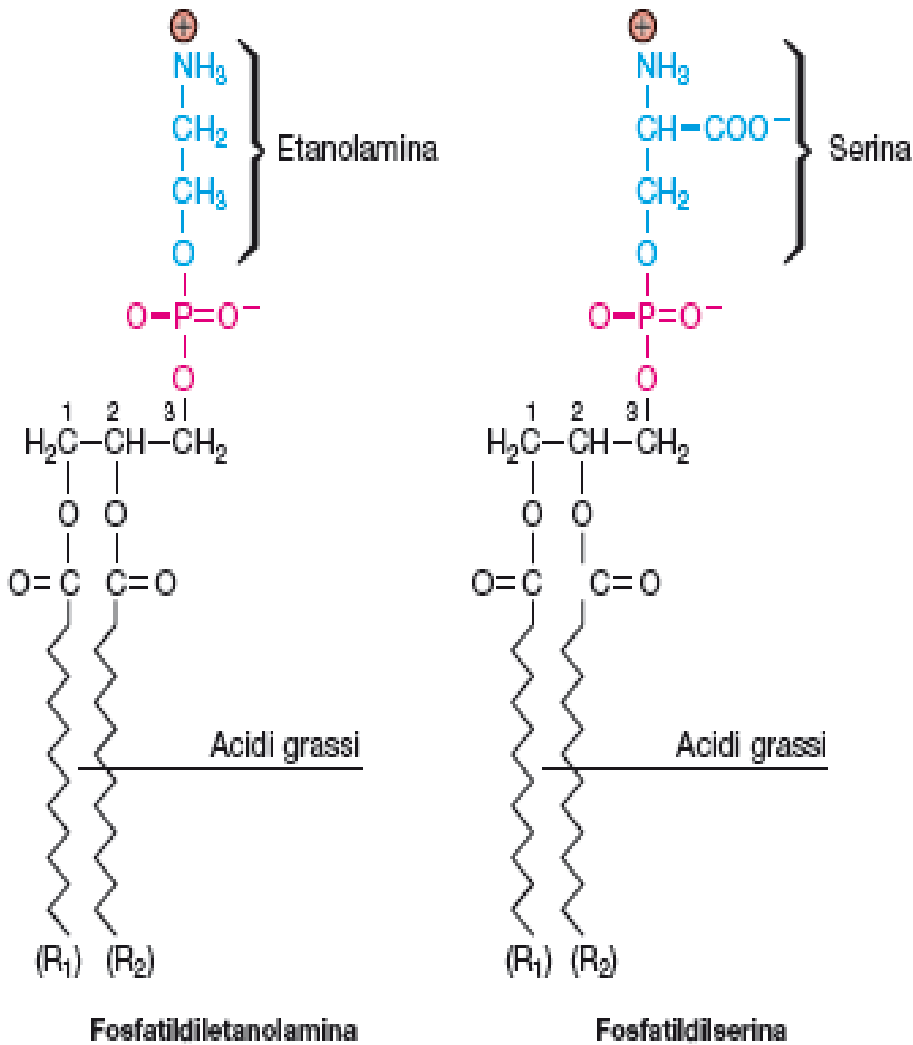
- stabilizzata da legami idrogeno e da interazioni idrofobiche
- cationi quali Mg^{2+} e Ca^{2+} contribuiscono a stabilizzarla grazie ad interazioni ioniche con le cariche negative dei fosfolipidi

Il doppio strato fosfolipidico della membrana rappresenta l'arrangiamento più stabile di molecole lipidiche in ambiente acquoso



Gruppo fosfato
Glicerolo
Acidi grassi

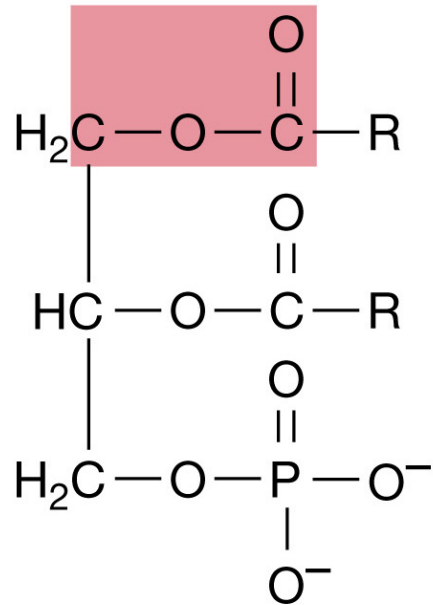




La membrana citoplasmatica degli Batteri ed Eucarioti è costituita da **fosfolipidi** in cui la testa polare è rappresentata da una molecola di **D-glicerolo3-fosfato** e la coda da due molecole di acidi grassi non ramificati esterificati al **C-1** e al **C-2** dello scheletro di **D-glicerolo**.

Al fosfato esterificato in **C-3** possono essere legati gruppi funzionali come la **fosfodiletanolamina** e **fosfatidilserina**

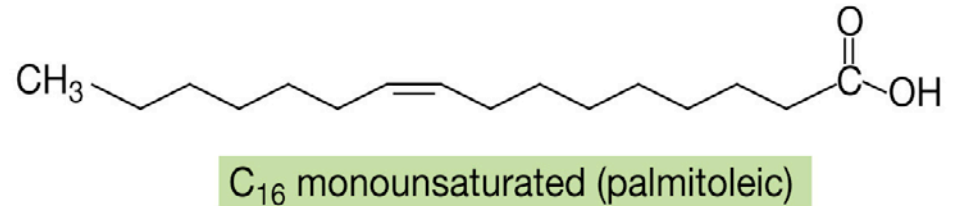
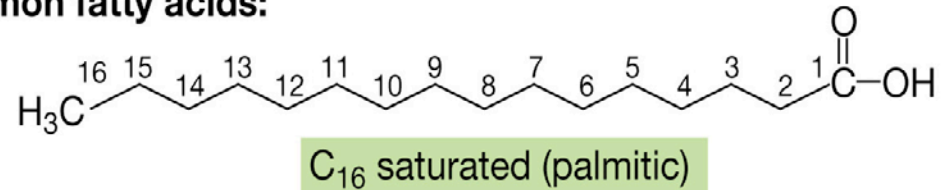
Struttura dei trigliceridi



(a)

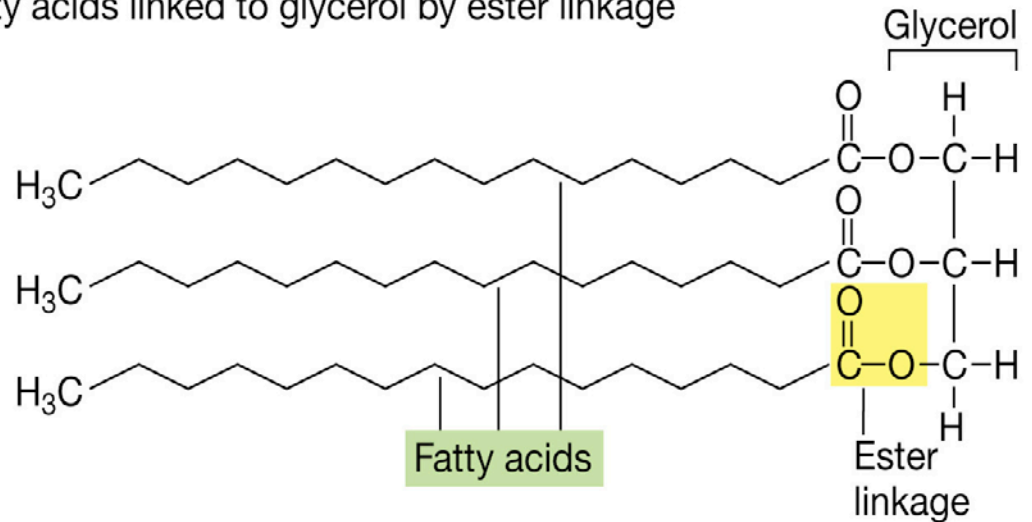
I lipidi semplici (trigliceridi) sono acidi grassi legati al glicerolo tramite legame **ESTERE**

Common fatty acids:



Simple lipids (triglycerides):

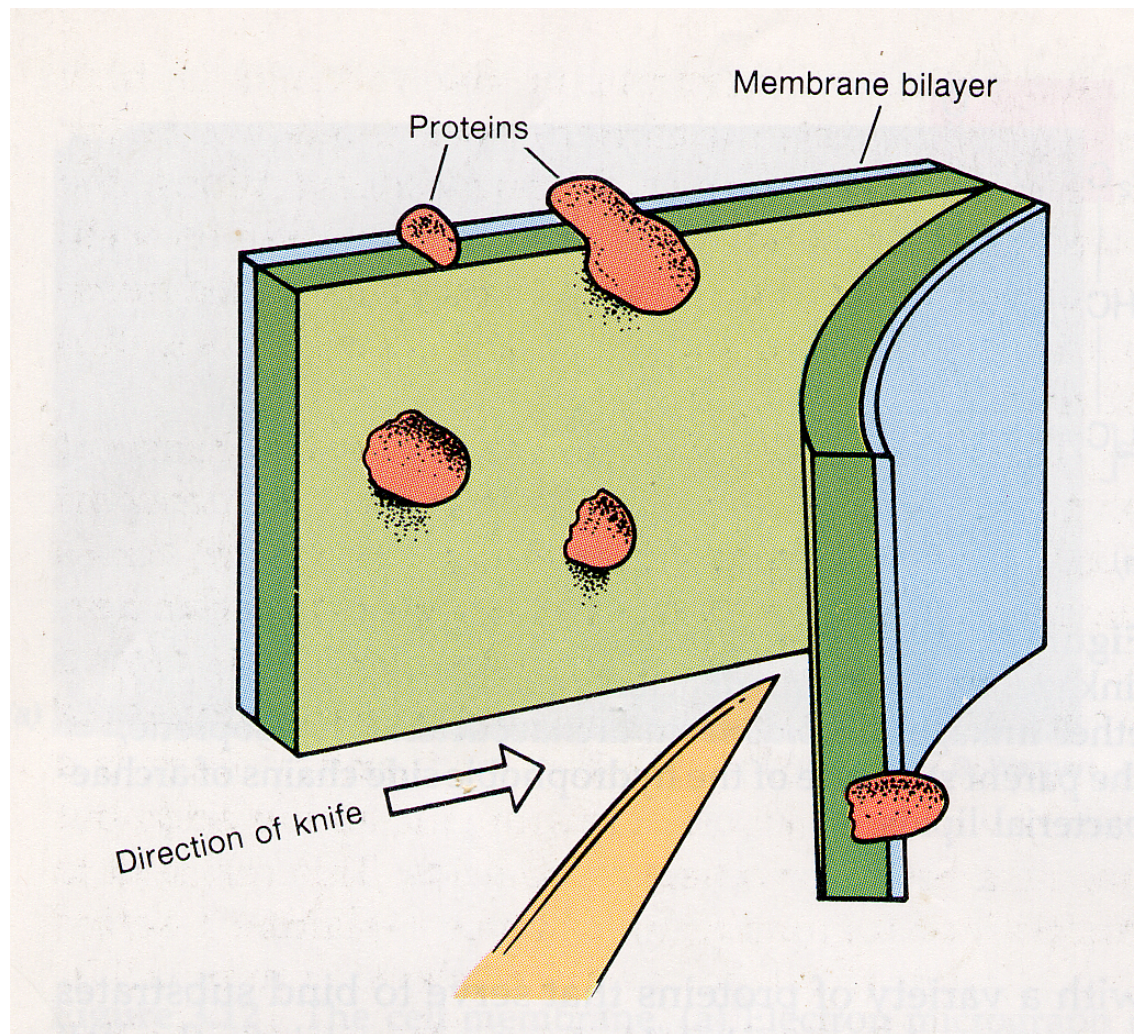
Fatty acids linked to glycerol by ester linkage



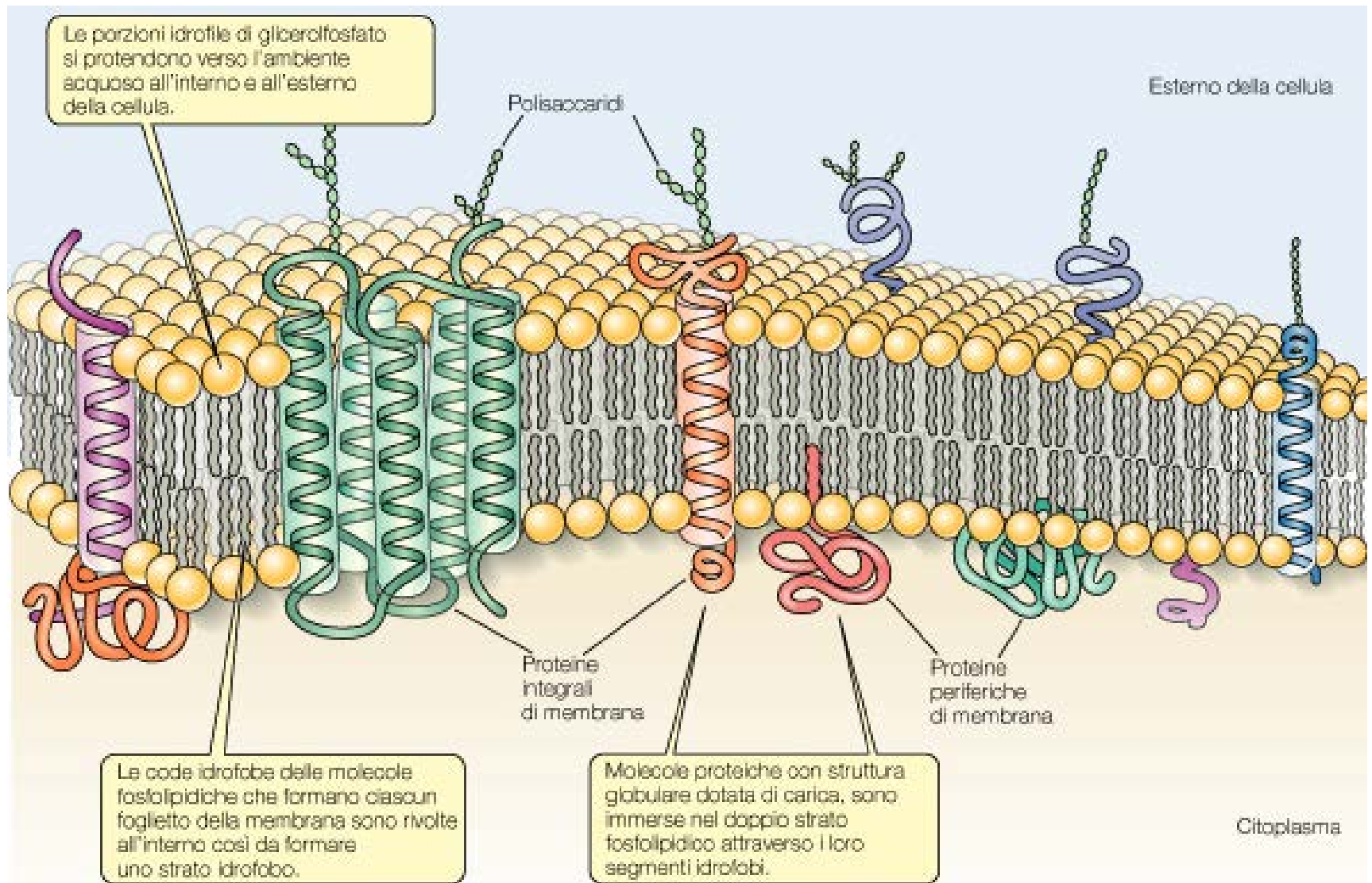
La composizione lipidica della membrana varia con la temperatura ambientale in modo che durante la crescita la membrana resti fluida.

I batteri che crescono a T più basse hanno come costituenti dei fosfolipidi della IM acidi grassi con un punto di fusione più basso.

Lo strato fosfolipidico può essere separato per studiare la localizzazione delle proteine di membrana mediante esperimenti di **CRIODECAPAGGIO**



La membrana citoplasmatica



Modello a mosaico fluido della membrana distingue due tipi di proteine

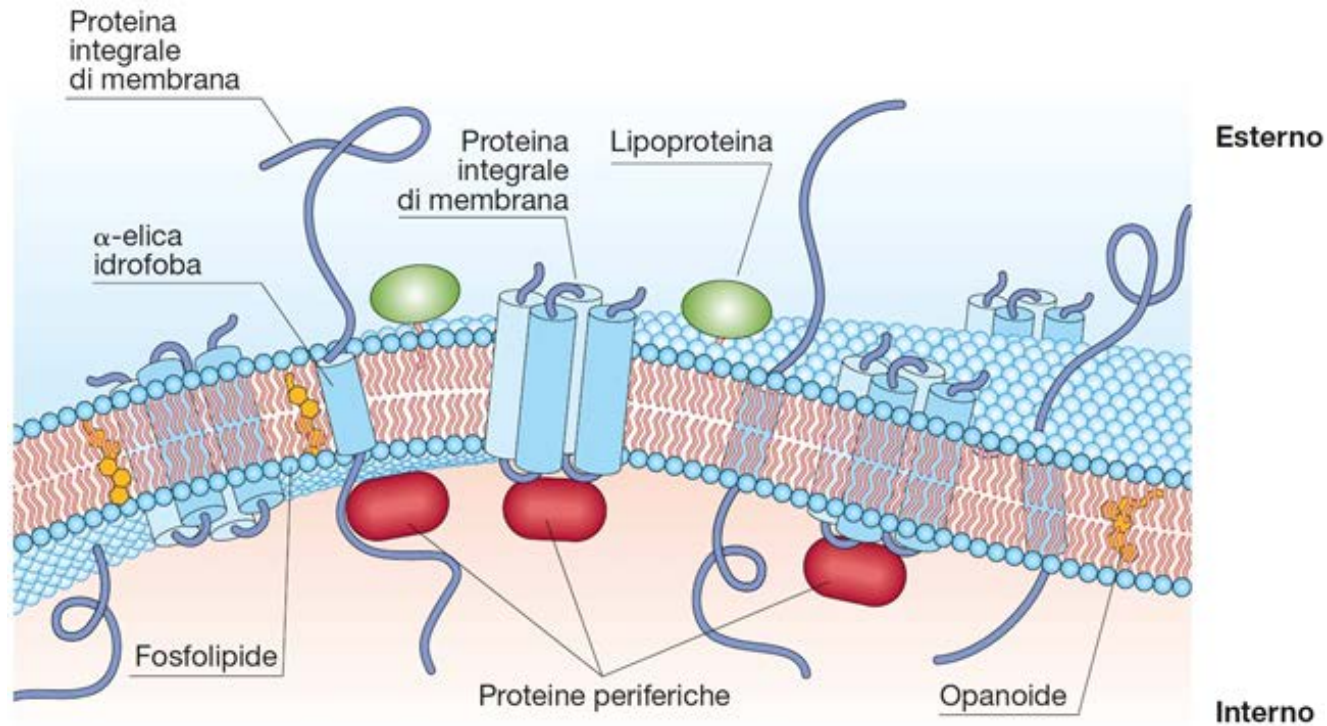
- Proteine periferiche sono unite alla membrana da legami deboli (20-30% de totale delle proteine)
- Proteine integrali (70-80% del totale delle proteine)

Come i lipidi della IM anche le proteine integrali sono anfipatiche : le loro regioni idrofobiche affondano negli strati lipidici mentre le parti idrofile sporgono all'esterno dalla superficie della IM.

Le proteine integrali possono diffondere lateralmente entro la superficie cambiando localizzazione ma non possono rovesciarsi o ruotare entro lo strato lipidico.

IM è un sistema altamente organizzato e asimmetrico e al tempo stesso flessibile e dinamico

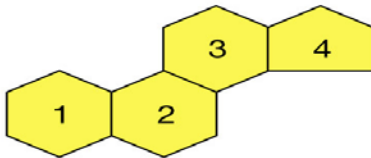
Le membrane dei procarioti non contengono steroli ad eccezione dei micoplasmi batteri privi di parete e dei metanogeni.



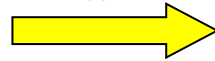
Gli steroli sono caratterizzati da 4 anelli e sono molecole planari e rigide, contribuiscono a stabilizzare la struttura e a renderla meno flessibile

Opanoidi, simili agli steroli sono presenti invece nella membrana di numerosi Batteri (assenti negli Archea) svolgono una funzione simile agli steroli

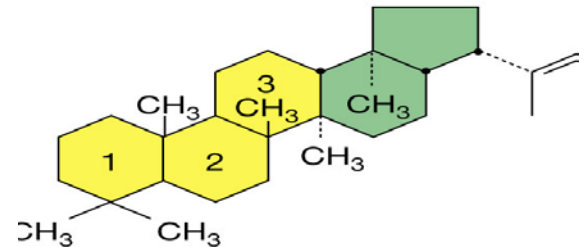
(a)



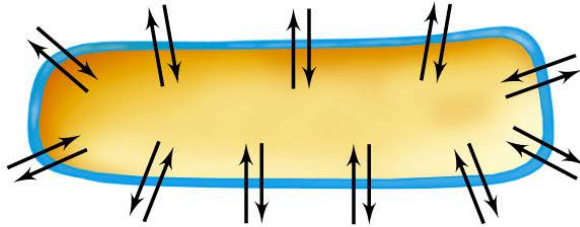
Struttura del diploptene, l'opanoide più diffuso a 30 atomi di C



(c)

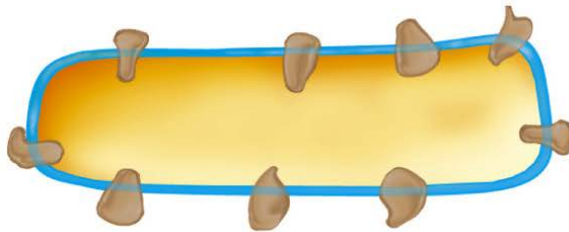


Principali funzioni della membrana citoplasmatica



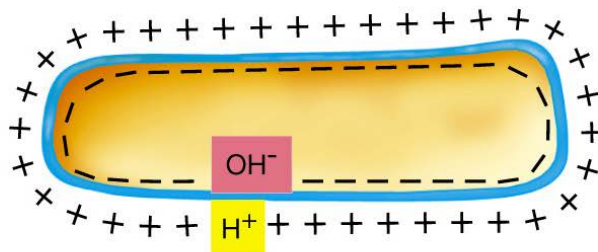
Permeability Barrier — Prevents leakage and functions as a gateway for transport of nutrients into and out of the cell

Barriera di Permeabilità



Protein Anchor — Site of many proteins involved in transport, bioenergetics, and chemotaxis

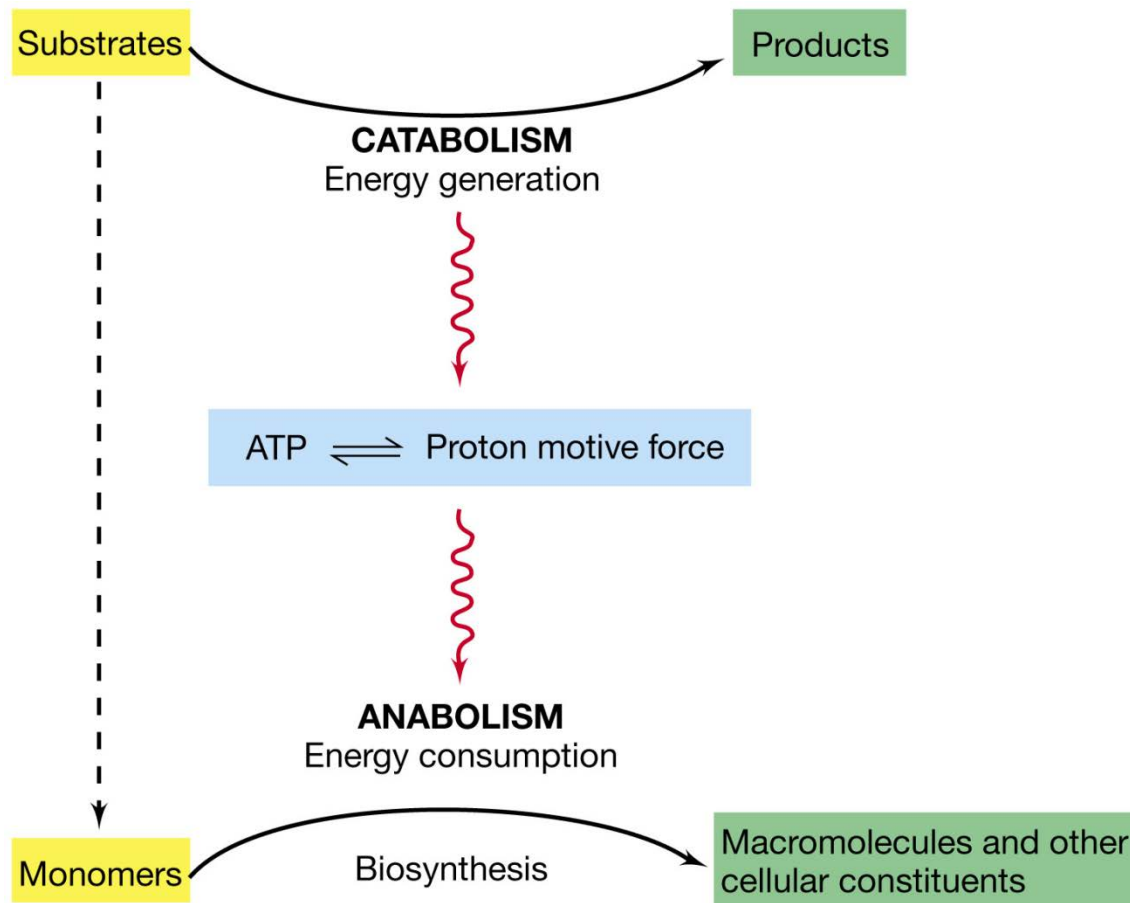
Ancoraggio per le proteine



Energy Conservation — Site of generation and use of the proton motive force

Conservazione dell'energia

La diversità metabolica nella respirazione e nella fotosintesi (ad eccezione della fermentazione) ruota intorno alla generazione della **forza proton motrice** che assieme alla **sintesi di ATP** sono l'elemento chiave nelle strategie bioenergetiche della cellula.



La chemiosmosi.

I trasportatori di elettroni sono orientati nella membrana citoplasmatica in modo che durante il processo di trasporto avvenga una **SEPARAZIONE** dei **PROTONI** dagli **ELETTRONI**

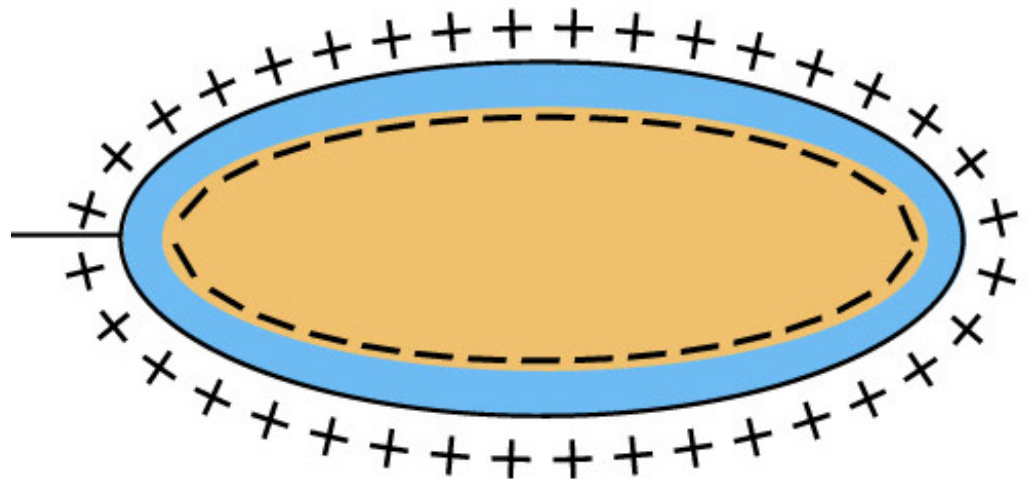
Gli atomi di idrogeno rimossi dai loro trasportatori sono separati in elettroni e protoni
Gli elettroni sono trasportati da specifici trasportatori mentre i protoni sono pompati fuori dalla cellula determinando un'acidificazione della superficie esterna della membrana.

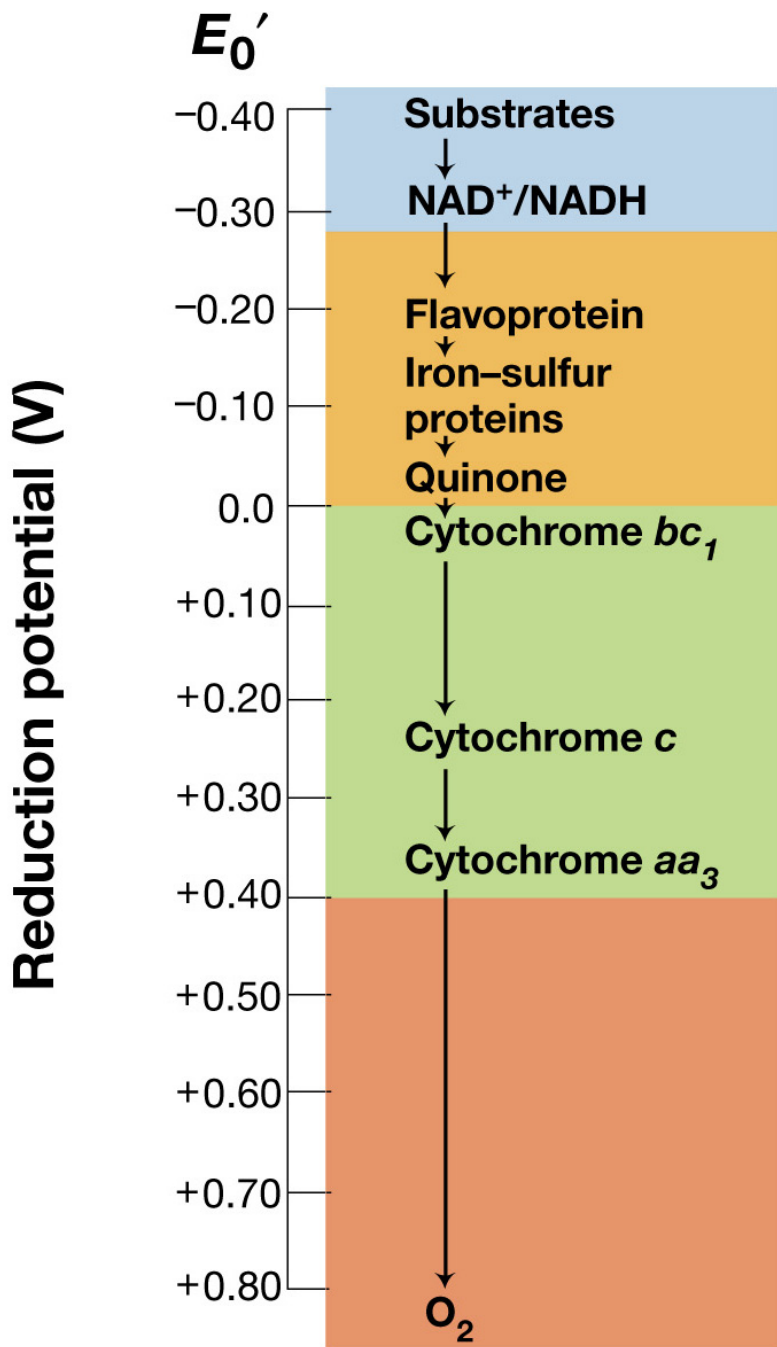
Al termine della catena di trasporto gli elettroni sono trasferiti all'accettore finale l'O₂ riducendolo

Per ridurre l' O_2 a H_2O vengono richiesti ioni H^+ dal citoplasma utilizzando i protoni che si sono generati dalla dissociazione di H_2O in H^+ e OH^- .
L'utilizzazione di ioni di H^+ per la riduzione dell' O_2 e l'estrusione di H^+ determinano un accumulo di **gruppi ionici OH^-** all'interno della membrana.

Nonostante la piccola dimensione ne H^+ e OH^- attraversano la membrana. Si genera quindi un gradiente di pH e un potenziale elettrochimico per cui

- l'interno del citoplasma è elettricamente negativo e alcalino
- l'esterno della membrana è elettricamente positivo e acido.

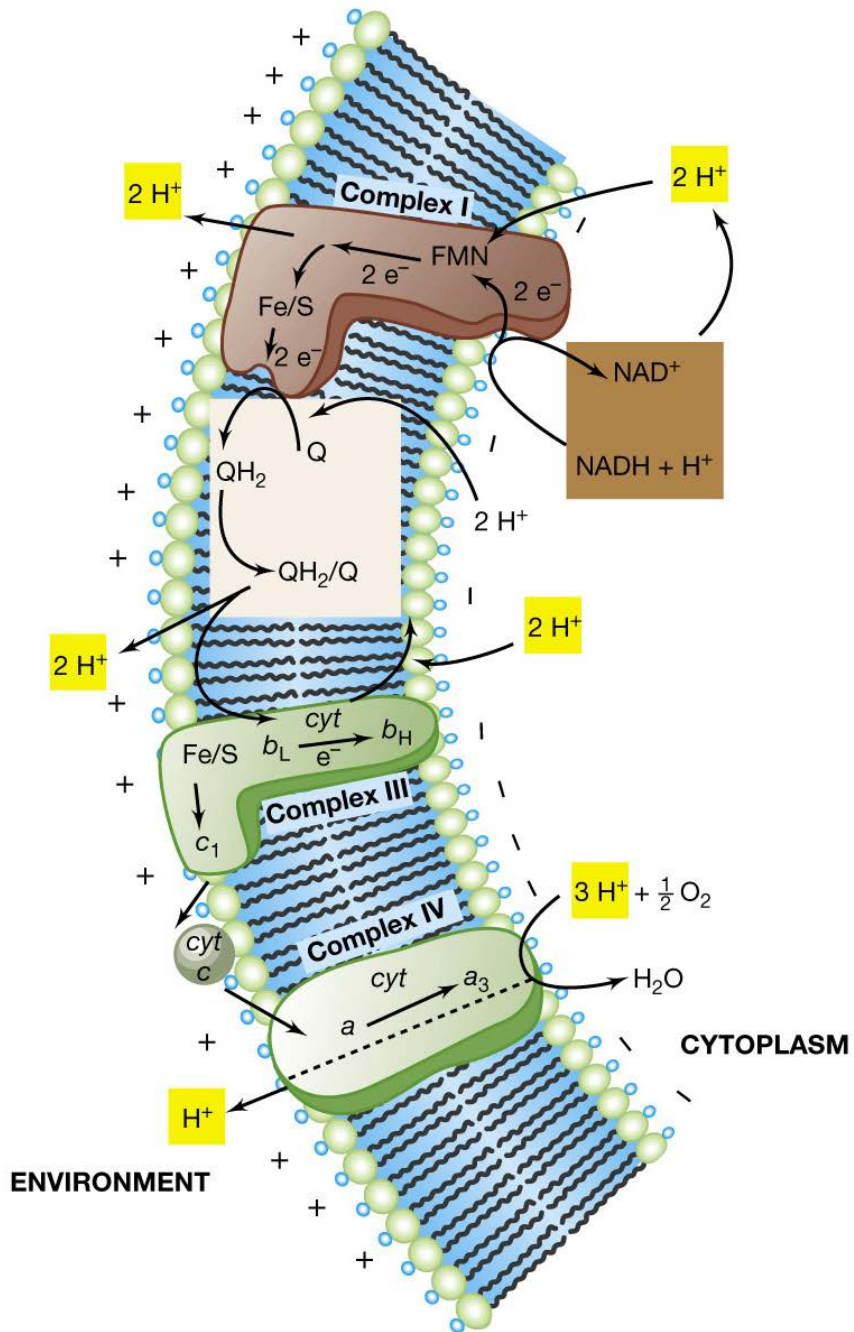




Catena di trasporto degli elettroni con trasferimento dal substrato a O₂.

Quello schematizzato è il processo tipico dei mitocondri e in alcuni Batteri

In *E.coli* mancano il citocromi c e aa₃ e quindi dal citocromo b si passa al citocromo o o d che è l'ossidasi terminale



Caratteristiche generali del trasporto di elettroni

- presenza di una serie di trasportatori di elettroni associati alla membrana disposti in modo crescente rispetto al potenziale di riduzione (dal + negativo al + positivo)
- alternanza tra trasportatori di soli elettroni e di soli atomi di idrogeno
- generazione di una forza proton motrice come risultato della separazione delle cariche acida esterno, alcalina interno.

Catena di trasporto degli elettroni

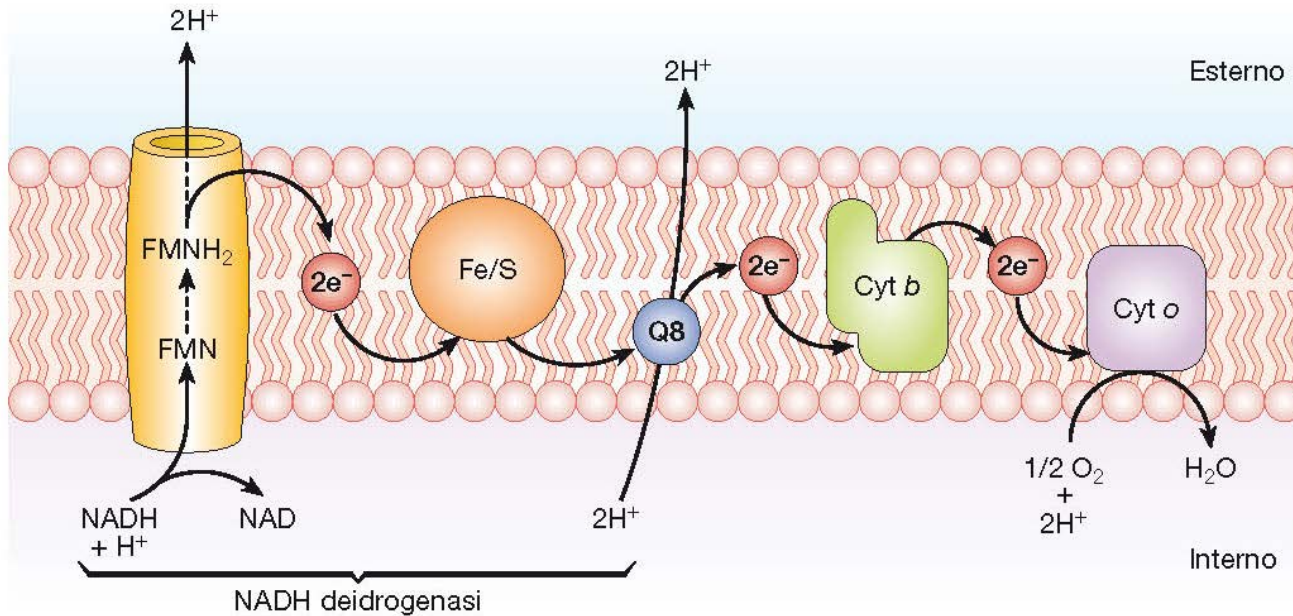
Le reazioni di ossidoriduzione che avvengono nella catena di trasporto degli elettroni sono diverse a seconda del trasportatore coinvolto.

I trasportatori sono costituiti da **flavoproteine, proteine ferro-zolfo, chinoni e citocromi** che hanno potenziali standard di riduzione crescenti e sono associati alla membrana citoplasmatica.

I componenti della catena di trasporto sono di natura proteica e non proteica

Le proteine contengono gruppi prostetici di vario tipo : gruppo eme nei vari citocromi, gruppi ferro-zolfo nelle proteine ferro zolfo, flavin mononucleotidi.

I componenti non proteici sono rappresentati dai **CHINONI**.

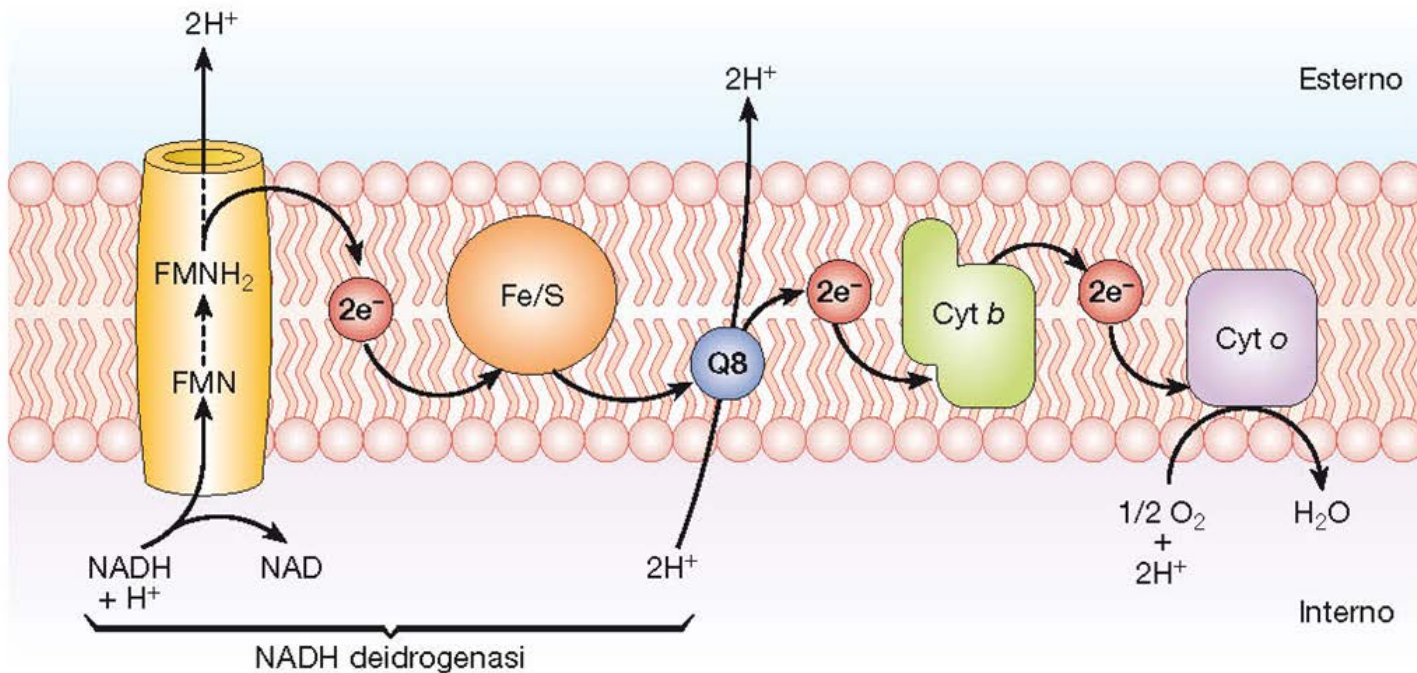


La riduzione delle flavoproteine e dei CHINONI richiede atomi di idrogeno mentre quella dei citocromi e delle proteine ferro-zolfo solo il trasferimento di elettroni.

La riduzione dei trasportatori contenenti Fe da parte di flavoproteine o chinoni implica rilascio di protoni

I trasportatori possono ridursi ricevendo solo elettroni che poi donano al composto successivo oppure ricevendo e cedendo elettroni e protoni (atomi di H^+).

Il processo determina un trasferimento di protoni dall'interno all'esterno attraverso la membrana citoplasmatica .



Gradiente elettrochimico protonico o forza protonmotrice (PMF)

Le reazioni di ossidoriduzione che avvengono nella catena di trasporto di elettroni determinano un trasferimento di **PROTONI** dall'interno verso l'esterno della cellula attraverso la membrana.

La membrana è **IMPERMEABILE** ai protoni quindi si genera un gradiente elettrochimico.

La sintesi di ATP quando avviene?

Quando i protoni che si sono accumulati all'esterno della membrana rientrano nella cellula per riequilibrare questa differenza sfruttando **ATP sintasi** (o **ATPasi**)

Il gradiente di pH ed il potenziale elettrochimico causano l'energizzazione della membrana.

Lo stato di energizzazione della membrana definita **FORZA PROTONMOTRICE** che può essere impiegata

- **Trasporto di ioni**
- **Trasporto di proteine**
- **Rotazione flagellare**
- **Formazione di legami fosfato ad alta energia**

Forza proton motrice e sintesi di ATP

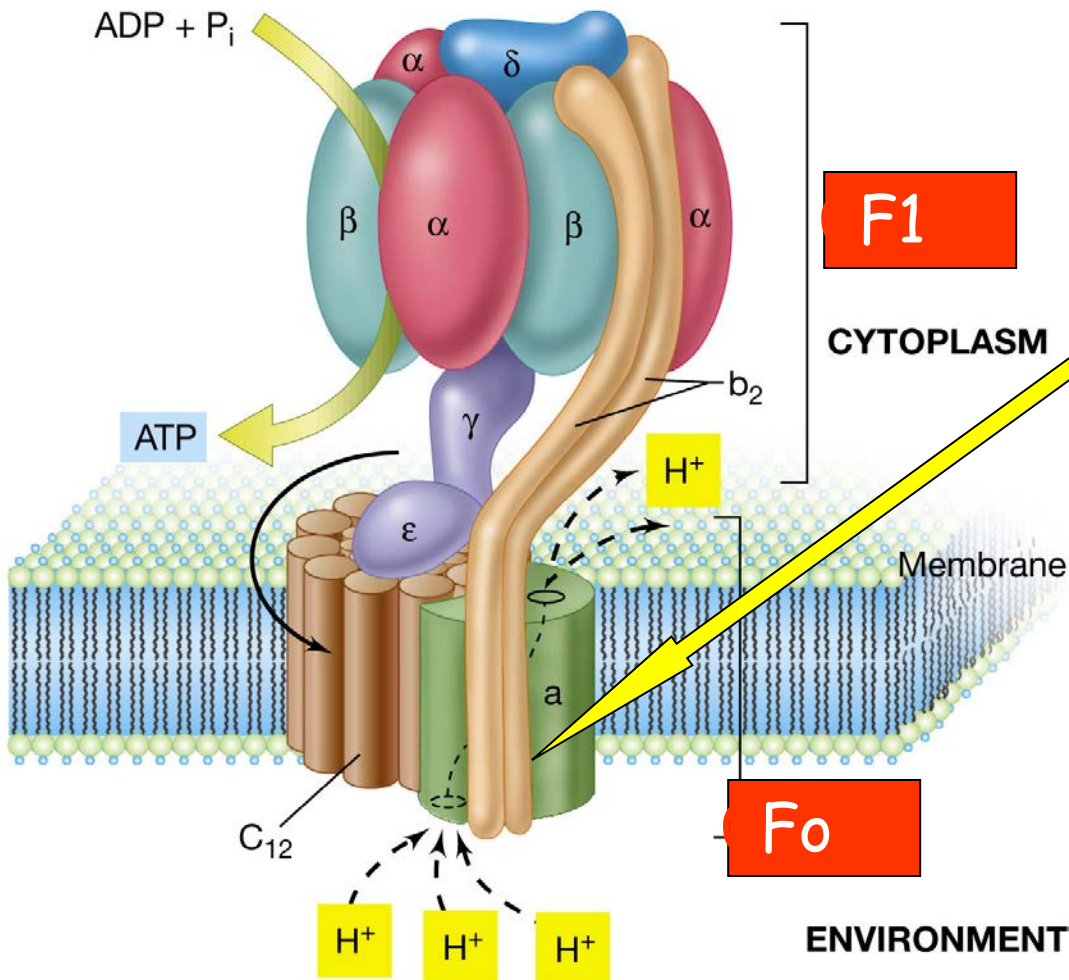
Il catalizzatore della conversione della forza proton motrice in ATP è un grande complesso enzimatico di membrana **ATP sintetasi**

ATPasi contiene due porzioni principali

- una testa con subunità multiple collocata nella porzione interna della membrana citoplasmatica (F1)
- un canale conduttore di protoni (F0) che attraversa la membrana costituito da tre polipeptidi.

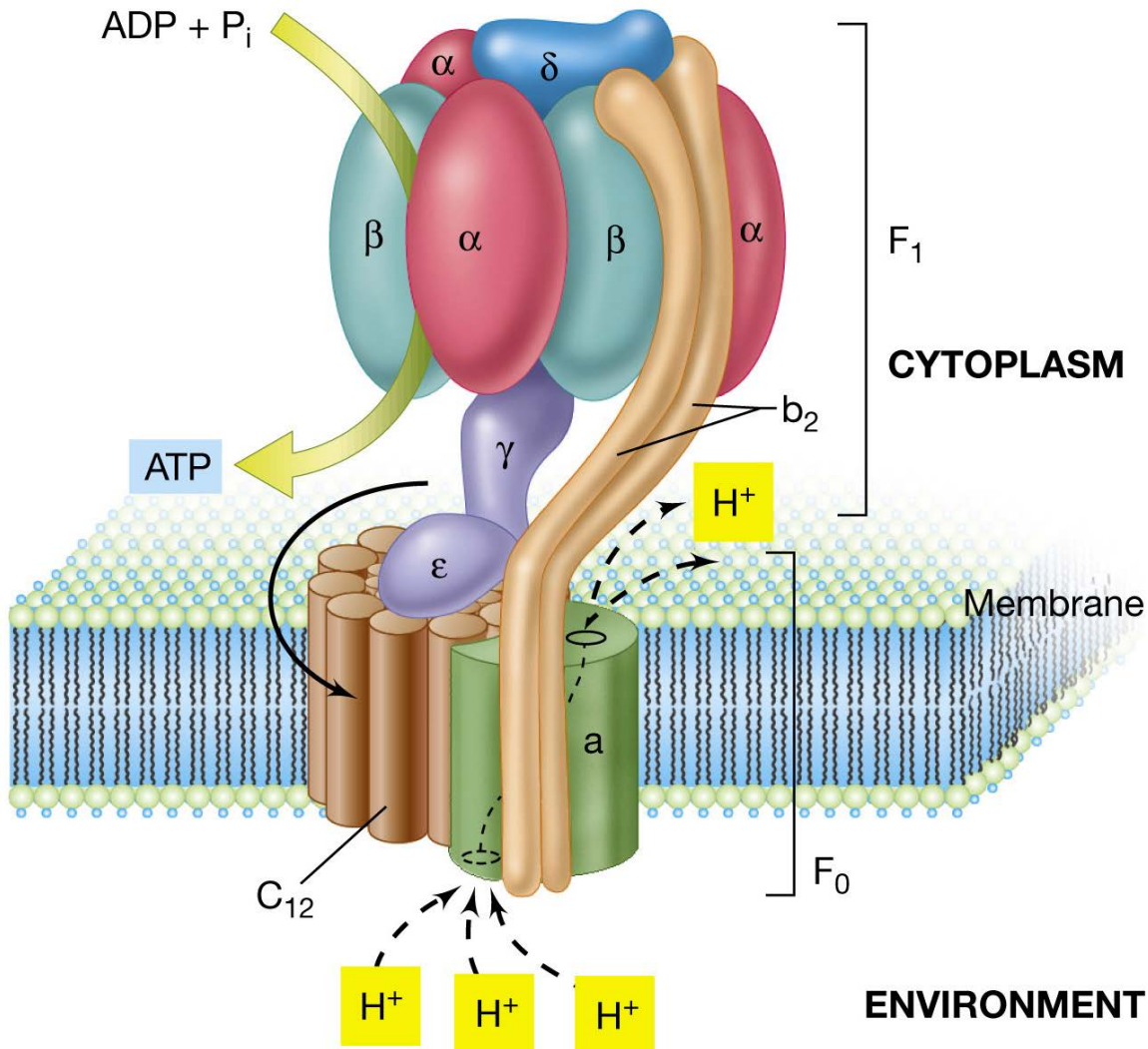
**Il complesso F1/FO catalizza una reazione reversibile
ATP e ADP + Pi**

L'ATPasi come motore biologico (1)



- Il movimento del protone attraverso **la subunità a** di F_o provoca la rotazione delle **proteine C** generando una torsione che viene trasmessa a F_1 per mezzo delle **subunità γ e ϵ**
- L'energia viene trasferita a F_1 attraverso una rotazione accoppiata delle **subunità γ e ϵ** determinando un cambiamento conformazionale delle **subunità β**

L'ATPasi come motore biologico (2)



I cambiamenti conformazionali delle **subunità β** permettono di legare ADP+ P_i che viene poi convertito in ATP quando le subunità β ritornano nella loro conformazione.

- Le subunità $b_2\delta$ fungono da statore impedendo alle subunità α e β di ruotare assieme a $\gamma\epsilon$

- La sintesi dell'ATP catalizzata dall'ATPasi va sotto il nome di **fosforilazione ossidativa** nei sistemi respiratori
- fotosforilazione negli organotrofi fototrofi

La conservazione dell'energia avviene per mezzo dell'attività dell'ATPasi tramite fosforilazione ossidativa (chemiorganotrofi e chemiolitotrofi)

I microrganismi sono dotati di un'enorme diversità di strategie bioenergetiche.

Come fonte di energia possono venir usati

- migliaia di composti organici
- molti composti inorganici
- luce

La diversità metabolica nella respirazione e nella fotosintesi ruota intorno alla generazione della forza proton-motrice.

Sia che gli elettroni derivino dall'ossidazione di sostanze chimiche organiche o inorganiche o da processi fototrofi, tutti generano forza proton motrice attraverso una catena di trasporto associata alla membrana.

La sintesi dell'ATP catalizzata dalla ATPasi può essere considerata

- una **fosforilazione ossidativa** nei sistemi respiratori
- una **fotosforilazione** negli organismi fototrofi

L'idrolisi della scorta di ATP costringe γ a ruotare in direzione opposta in modo che i protoni siano pompati dall'interno verso l'esterno creando, invece di dissipare, forza protonmotrice.

L'ATPasi di molti microrganismi fermentanti funziona in modo unidirezionale generando solamente forza protonmotrice.

Membrana come barriera di permeabilità

Poiché i microrganismi vivono in habitat poveri di nutrienti devono essere capaci di trasportare i nutrienti da soluzioni diluite all'interno della cellula contro il gradiente di concentrazione.

I nutrienti devono attraversare la membrana che essendo selettivamente permeabile non lascia passare liberamente la maggior parte delle sostanze.

Un numero ridotto di sostanze tra cui il glicerolo sono in grado di attraversare la IM per **diffusione semplice o passiva**.

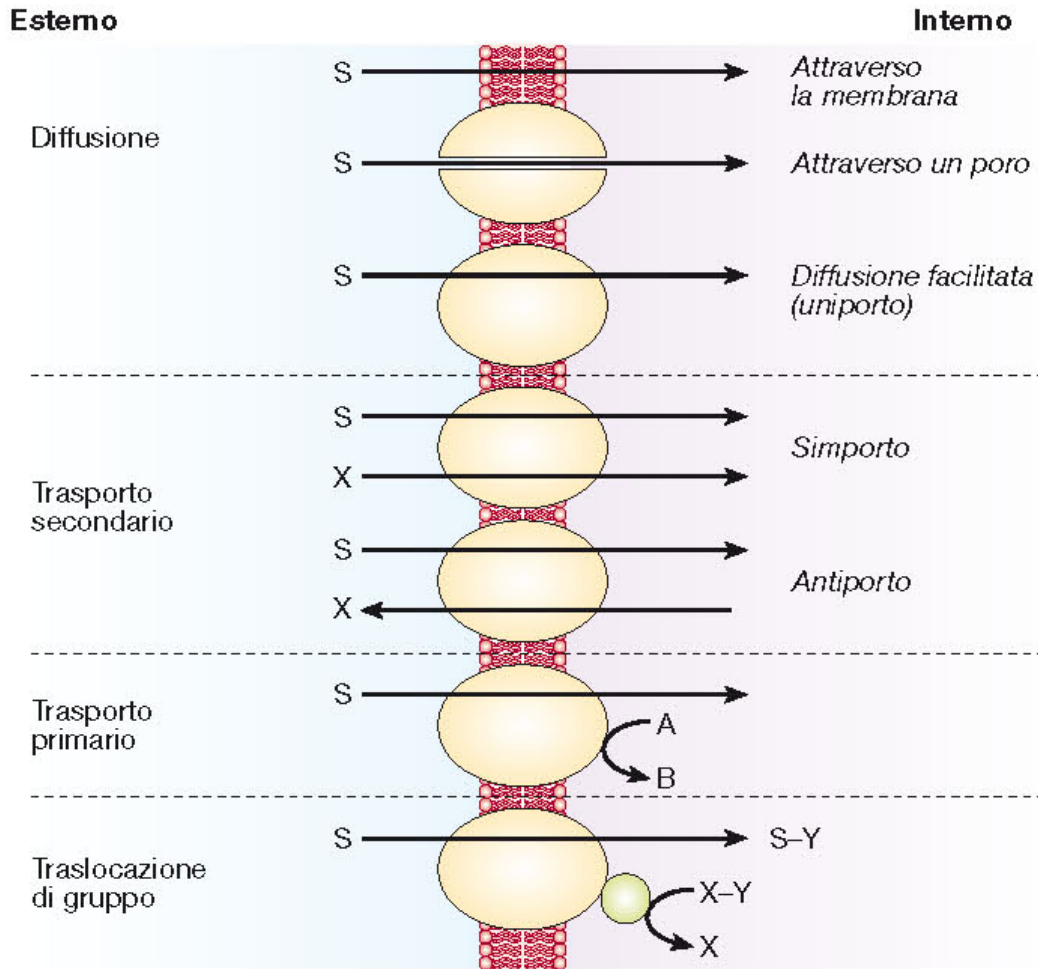
La **diffusione passiva** è il processo con cui le molecole si spostano da una regione ad alta concentrazione ad una regione in cui la loro concentrazione è minore e dipende dall'entità del gradiente tra interno e esterno.

La velocità di assunzione diminuisce all'aumentare della quantità di nutriente assorbito

Spesso le molecole capaci di attraversare IM sono molto piccole

H_2O, CO_2, O_2

Passaggio delle molecole attraverso la membrana citoplasmatica



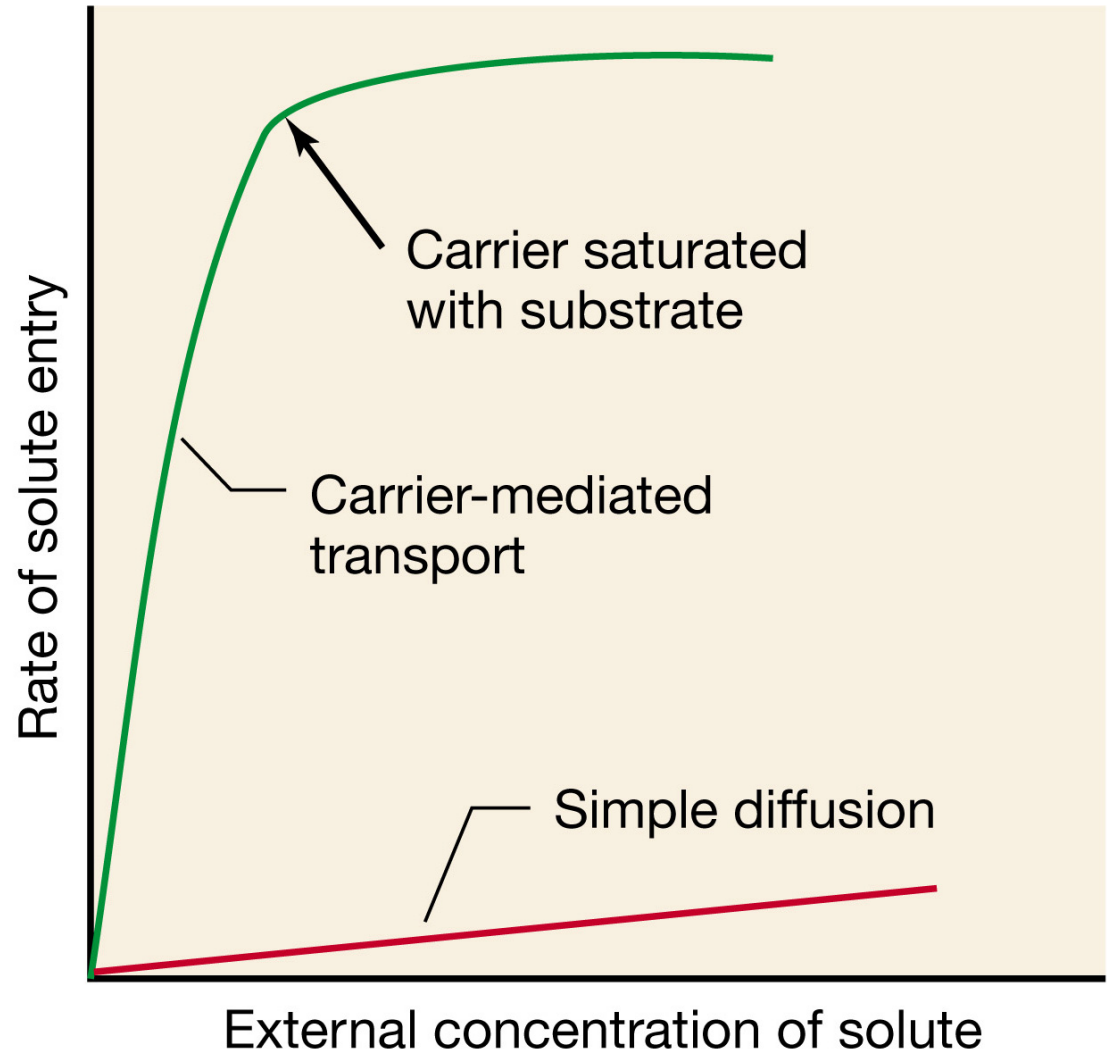
Senza consumo di energia

Contro gradiente con consumo di energia

Le proteine di trasporto permettono l'accumulo di soluti all'interno della cellula contro un gradiente di concentrazione

La velocità di assunzione raggiunge la saturazione a bassi valori di concentrazione esterna

La diffusione semplice non permetterebbe mai alla cellula di raggiungere una adeguata concentrazione di soluti per i processi cellulari



Permeabilità della membrana ad alcune molecole

Sostanza	Grado di permeabilità
H ₂ O	100
Glicerolo	10 ⁻¹
Triptofano, Glucosio	10 ⁻³
Ioni cloro (Cl ⁻)	10 ⁻⁶
Ioni potassio(K ⁺)	10 ⁻⁷
Ioni sodio (Na ⁺)	10 ⁻⁸

Nei processi di diffusione semplice:

la velocità di assunzione e la conseguente concentrazione cellulare sono proporzionali alla concentrazione esterna di un determinato soluto.

Nei processi di trasporto:

- trasferimento mediato da trasportatori mostra un effetto di saturazione
- se la concentrazione del substrato è sufficientemente elevata da saturare il trasportatore (questo avviene anche a basse concentrazioni) il tasso di captazione è massimo. Quindi rapidamente la cellula concentra sostanze all'interno del citoplasma

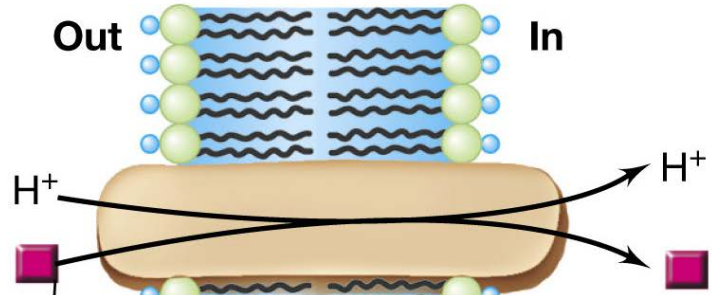
Il sistema di trasporto mediato da proteine è

altamente specifico : alcune proteine trasportano una sola molecola altre classi di molecole correlati tra loro (AA o zuccheri

regolato: la presenza dei trasportatori specifici è funzione del nutriente presente. I trasportatori sono sintetizzati da geni espressi in modo regolato (vedi sistemi lattosio, maltosio)

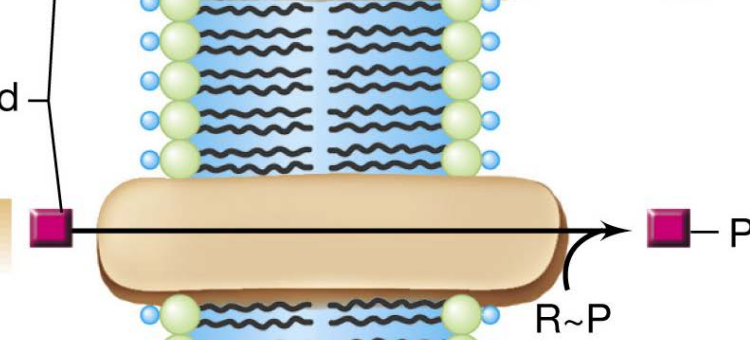
Sistemi di trasporto delle sostanze attraverso la membrana

Simple transport



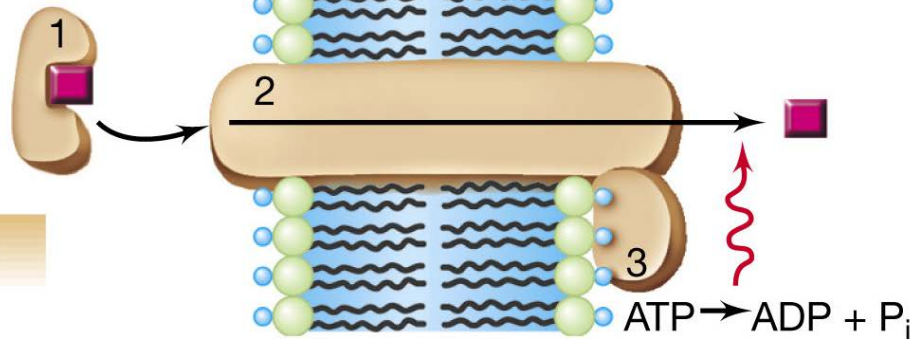
Energia associata alla forza protonmotrice

Group translocation



Modificazione chimica della sostanza. Energia rilasciata da fosfoenolpiruvato

The ABC system



Coinvolge proteine periplasmatiche. Energia fornita dall'ATP

Trasporto semplice coinvolge

- proteine di membrana

Traslocazione di gruppo coinvolge

- componenti di membrana
- proteine di legame periplamatiche

Sistema ABC coinvolge

- una proteina di legame al substrato,
- un trasportatore di membrana e
- una proteina di idrolisi ATP citoplasmatica

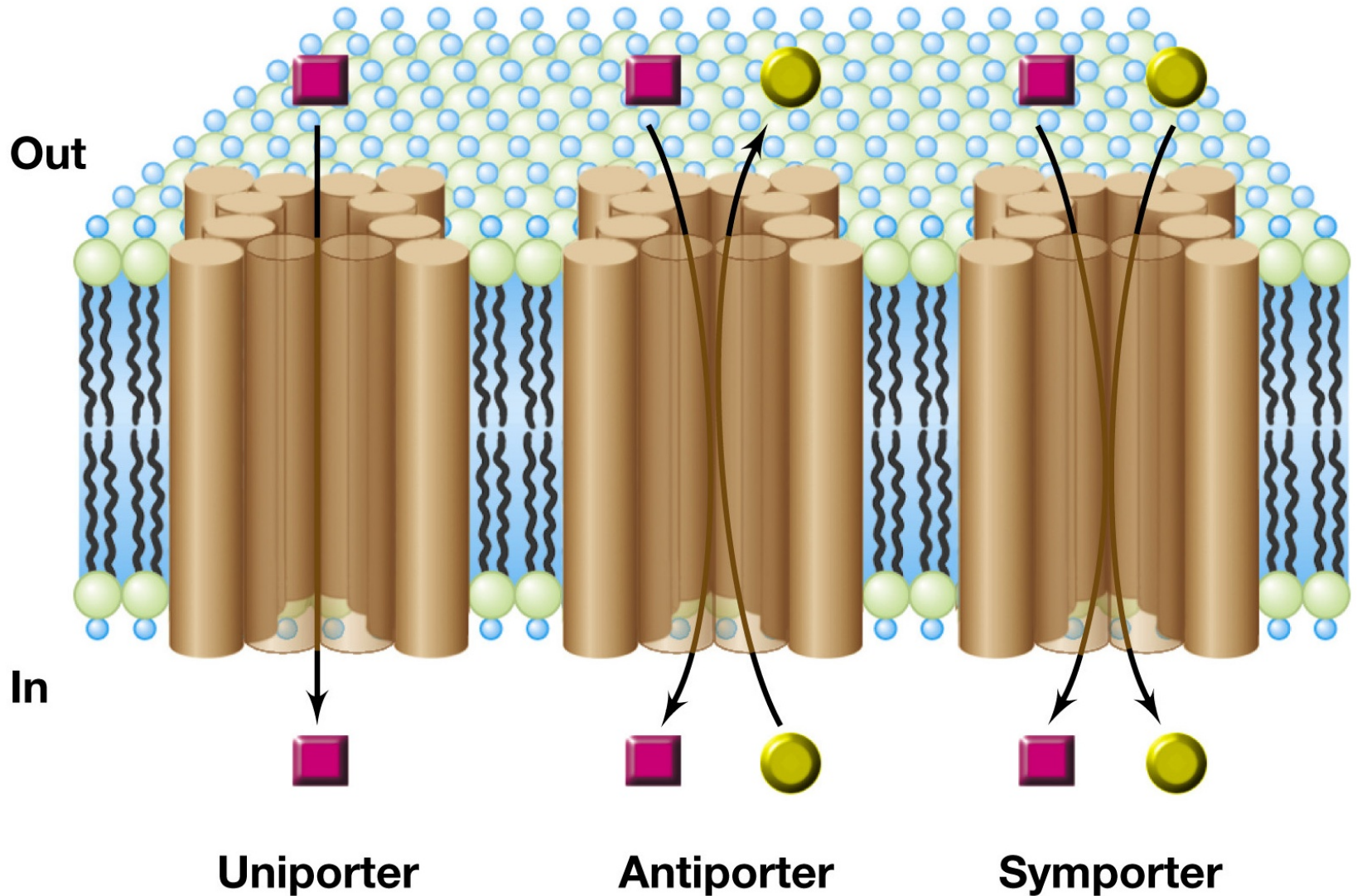
Caratteristiche dei trasportatori di membrana

- omologia significative nella struttura primaria e secondaria
- costituiti da 12 alfa eliche che attraversano la membrana per formare un canale
- Gli eventi di trasporto implicano dei cambiamenti conformazionali dovuti al legame e poi al rilascio del composto

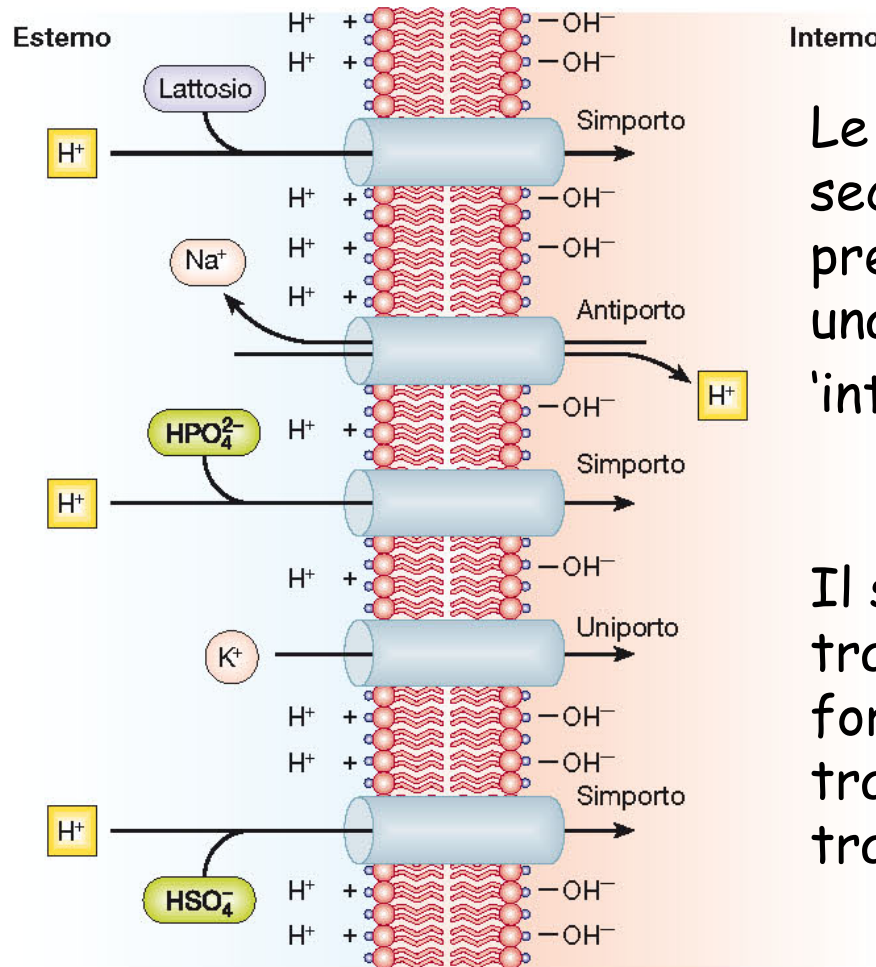
Vengono suddivise in

- **UNIPORTER** trasportano unidirezionalmente una sostanza
- **SYMPORTER** trasportano una sostanza assieme ad H^+
- **ANTIORTER** trasportano una sostanza in una direzione e l'altra in direzione opposta

Le tre classi di trasportatori generalmente costituite da 12 alfa eliche allineate in cerchio in modo da formare un poro



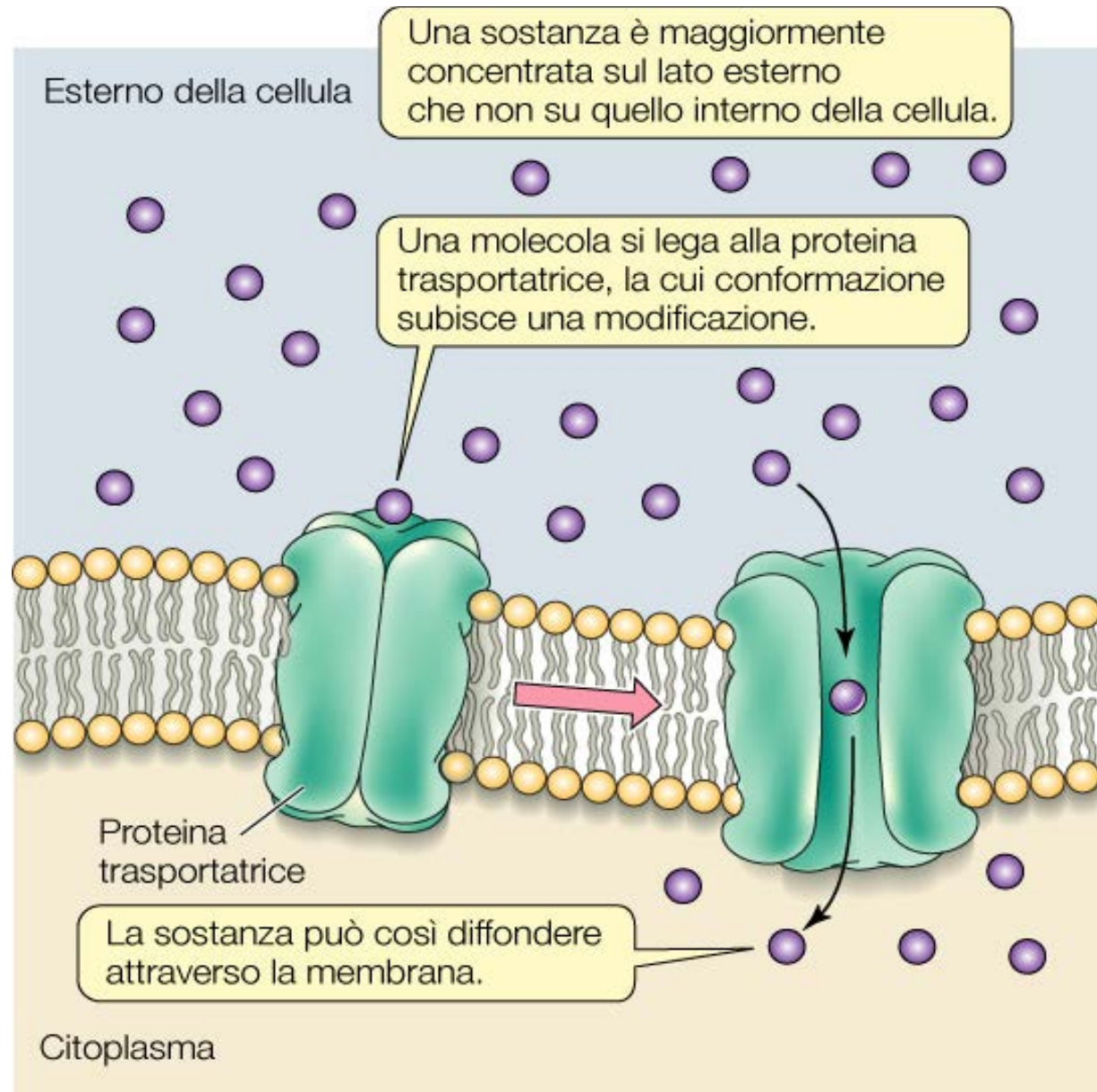
Nel trasporto secondario la cellula utilizza l'energia di un gradiente elettrochimico per trasportare le sostanze contro un gradiente di concentrazione e concentrare all'interno della cellula



Le proteine di trasporto secondario possono presentare specificità per una singola molecola o per un'intera classe di molecole.

Il soluto può essere co-trasportato con lo ione che fornisce l'energia di trasporto oppure trasportato in senso inverso

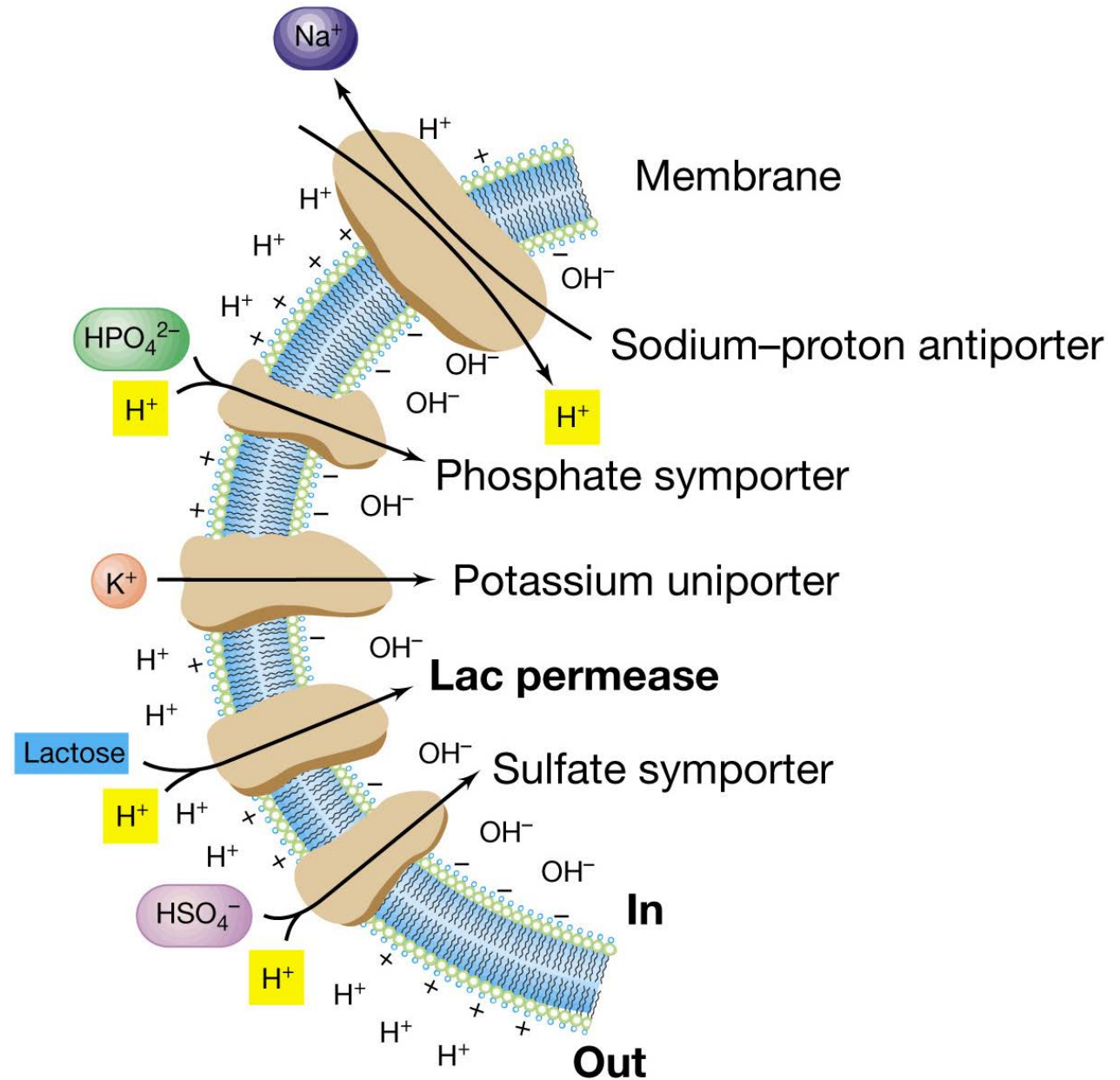
Il trasporto di una sostanza attraverso la membrana comporta un cambiamento conformazionale della proteina di trasporto



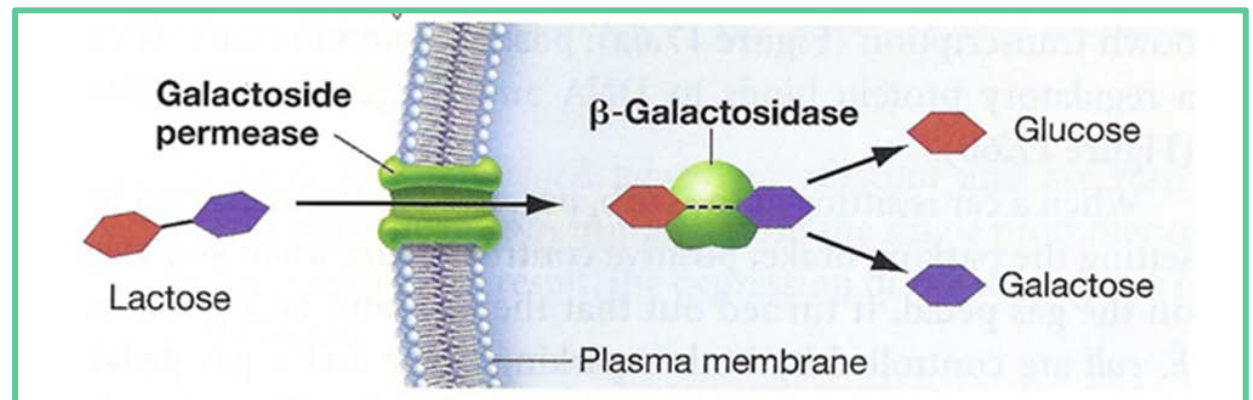
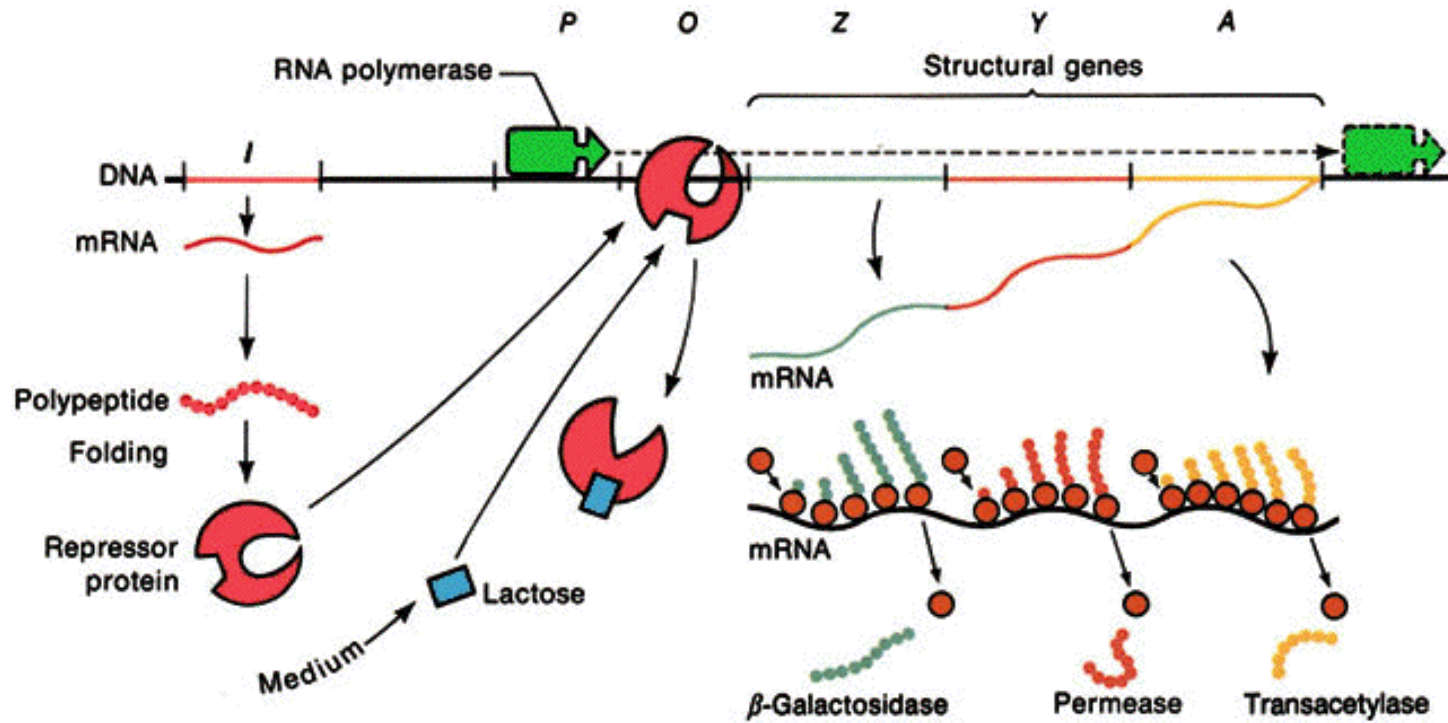
Il prodotto del gene *lacY* è la lattosio permeasi un symporter, che trasporta assieme al lattosio, protoni.

L'entrata di ioni H^+ riduce l'energia della forza proton motrice che viene poi ristabilita da reazioni che liberano energia.

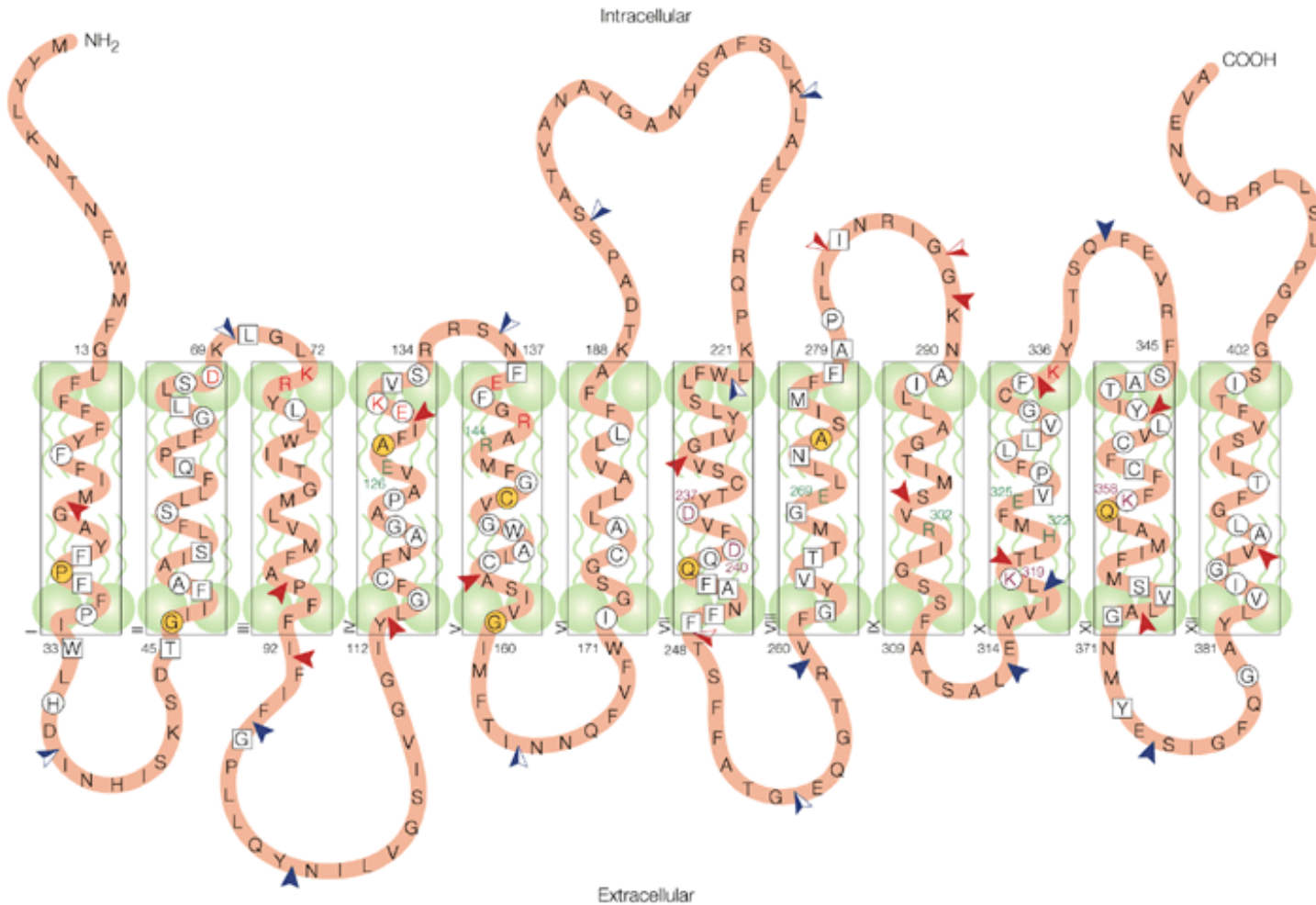
Il lattosio viene rapidamente consumato e la diffusione continua



L'operone Lac contiene il gene *lacY* che codifica la lattosio permeasi sotto controllo del repressore LacI



Struttura della LAC PERMEASI



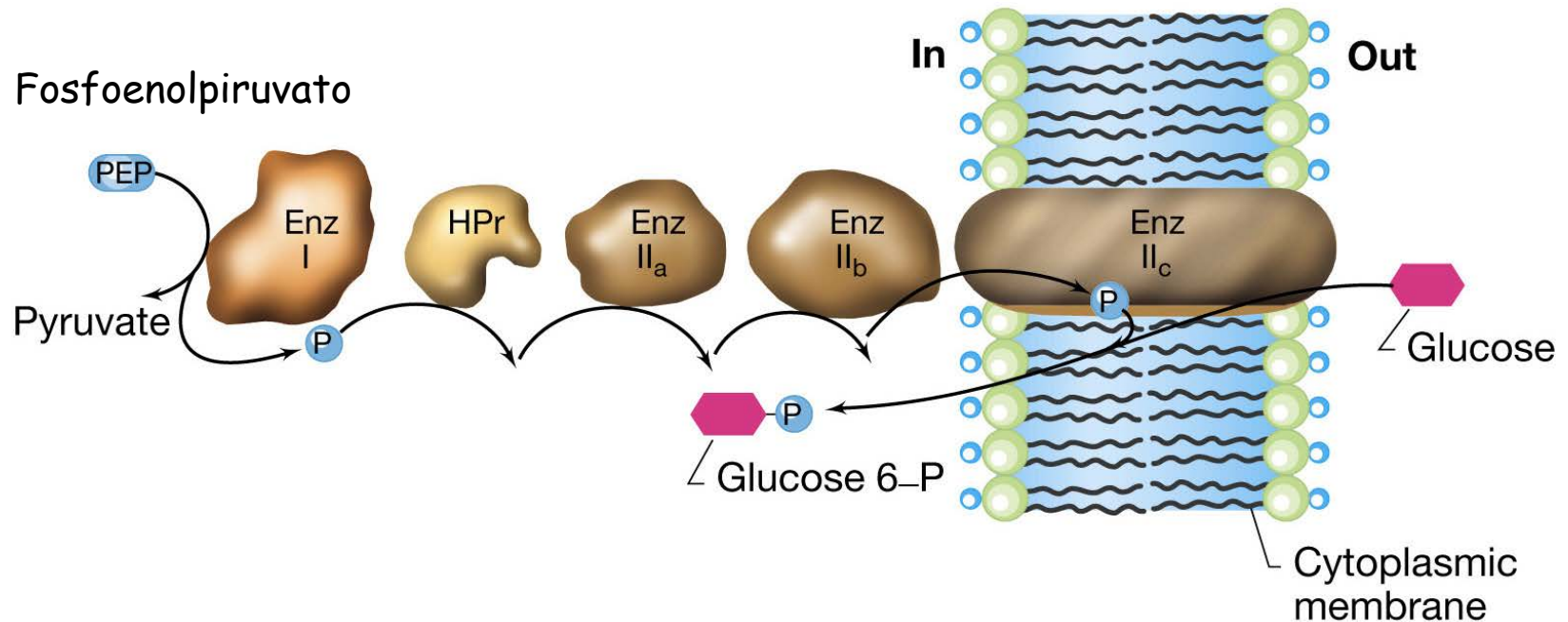
IN

OUT

Traslocazione di gruppo.

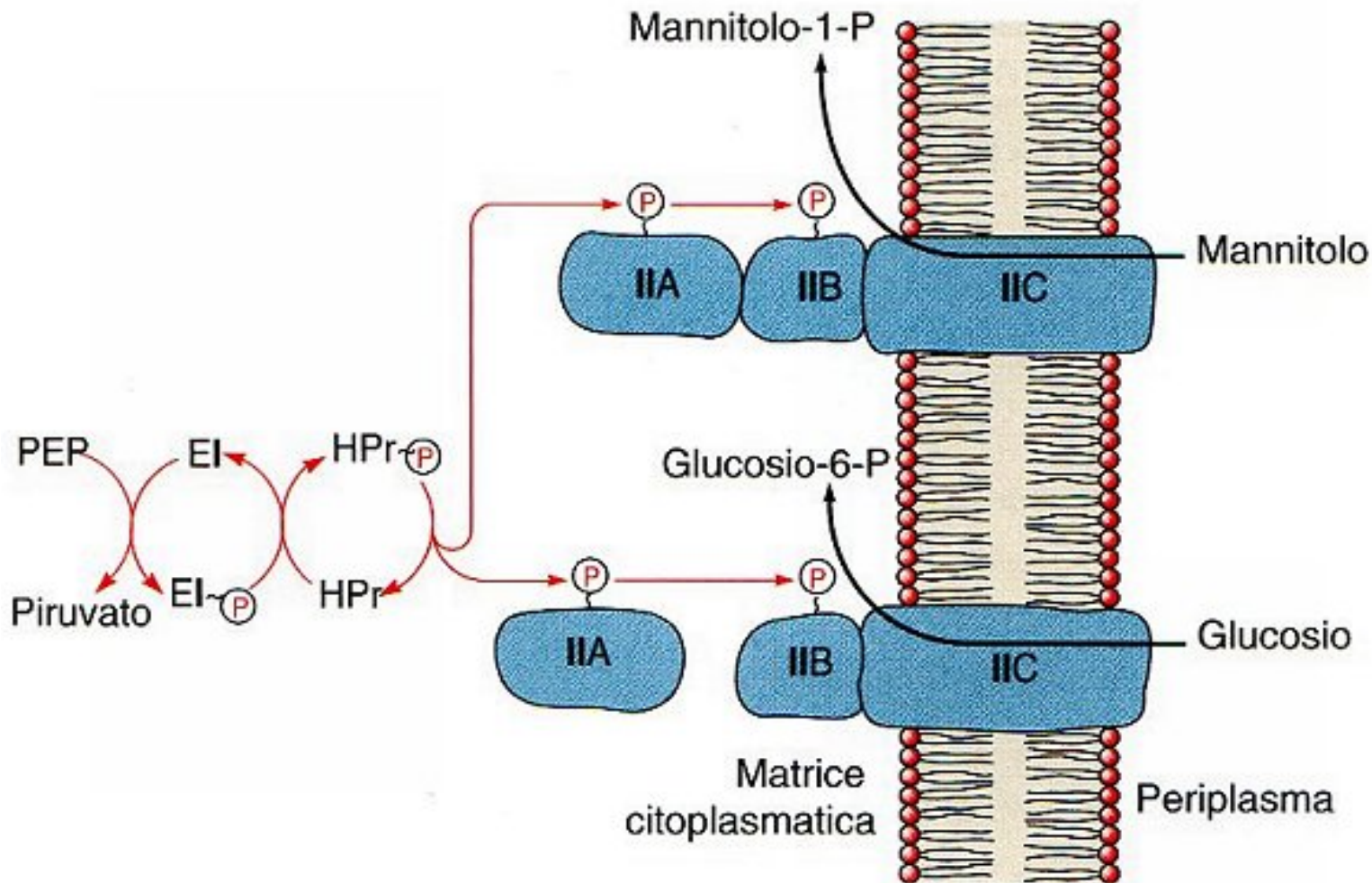
La sostanza viene modificata chimicamente durante l'attraversamento della membrana

Il sistema delle fosfotransferasi fosforila alcuni zuccheri quali glucosio, mannosio, fruttosio



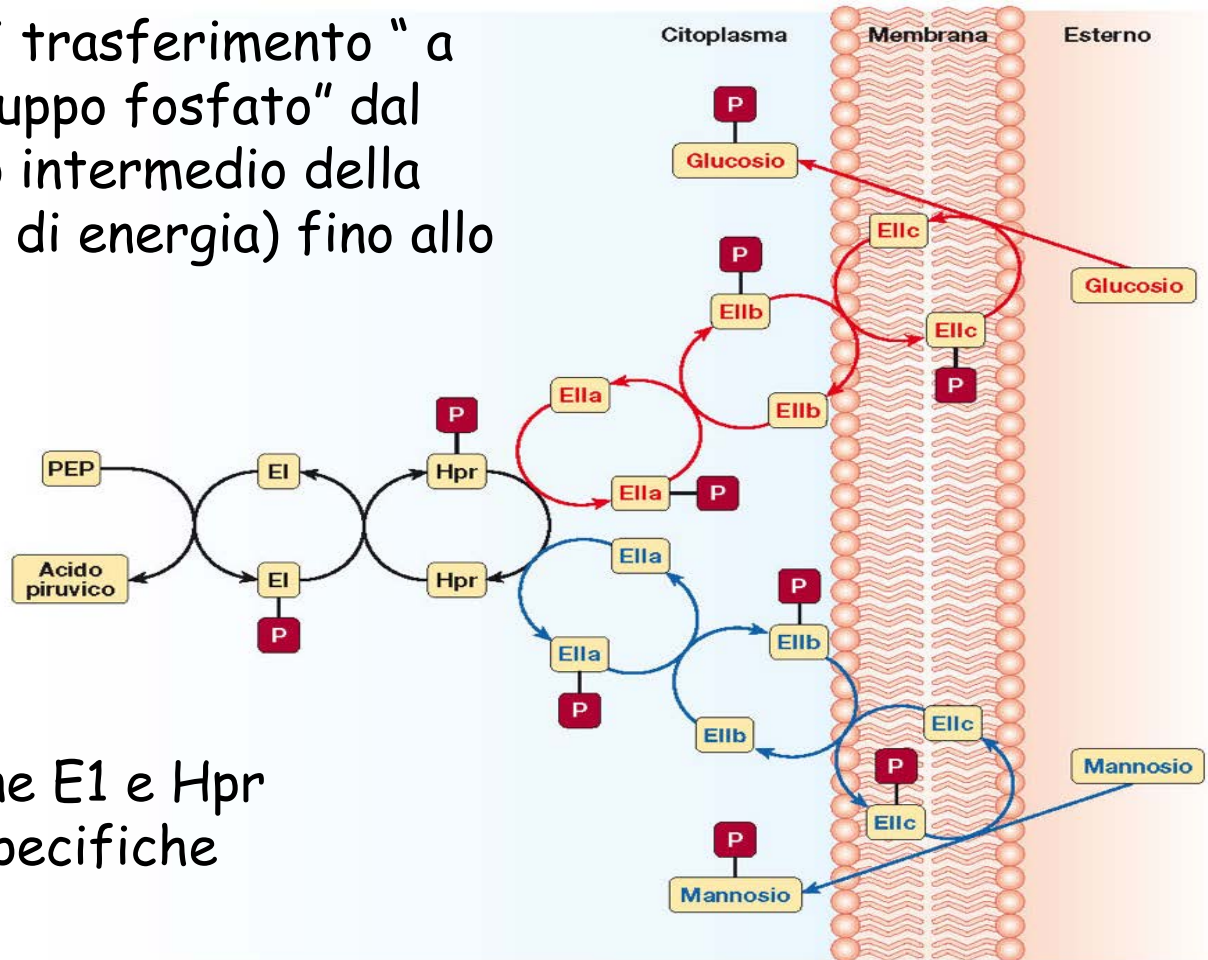
HPr e EI sono composti non specifici per lo zucchero
EII specifico per ogni zucchero

Le proteine EIIA e EIIB sono unite nel trasporto del mannitolo ma separate nel trasporto del glucosio



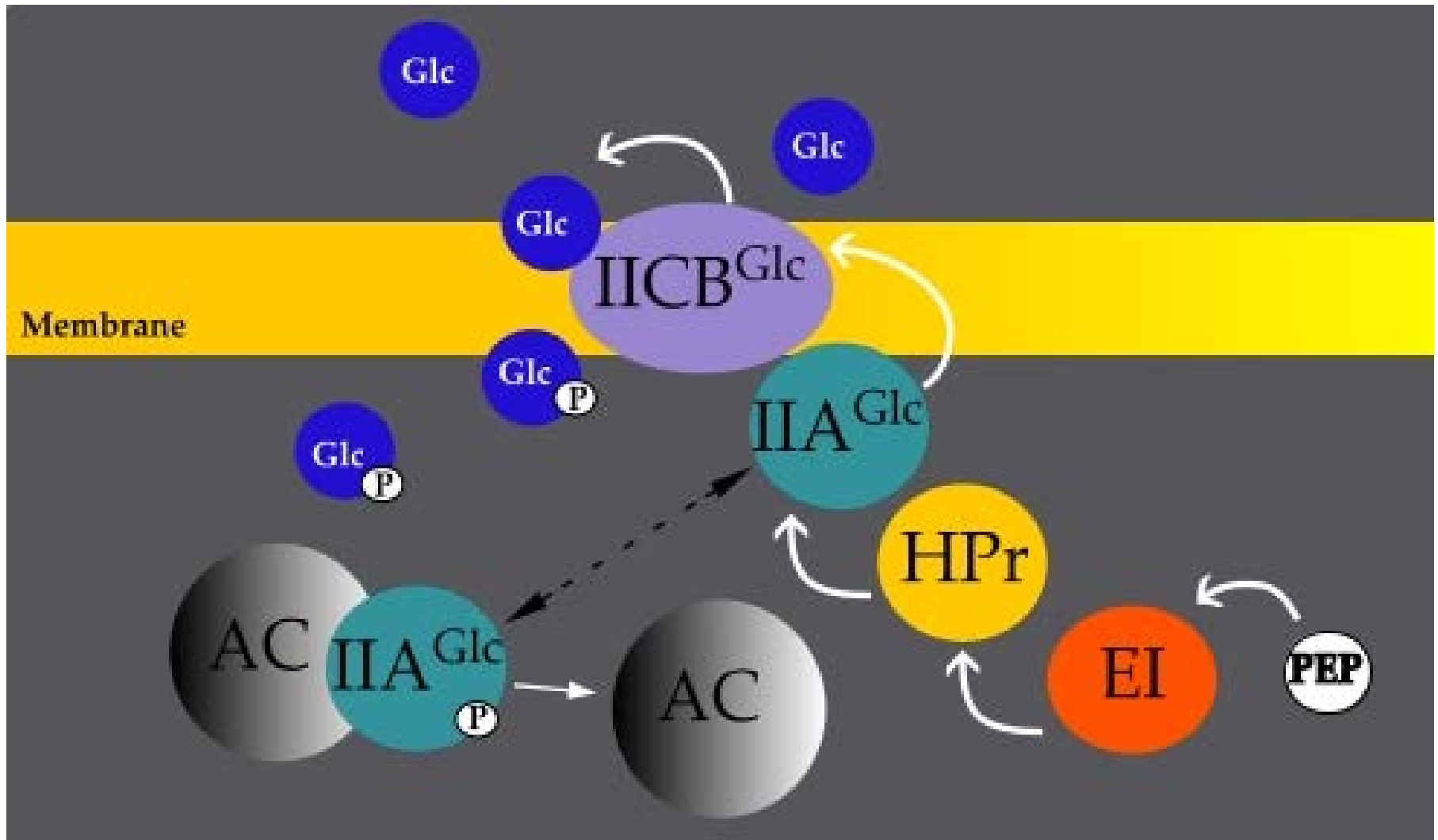
Traslocazione di gruppo :il sistema fosfotrasferasico o PTS

Meccanismo di trasferimento "a cascata del gruppo fosfato" dal PEP (composto intermedio della glicolisi , ricco di energia) fino allo zucchero.

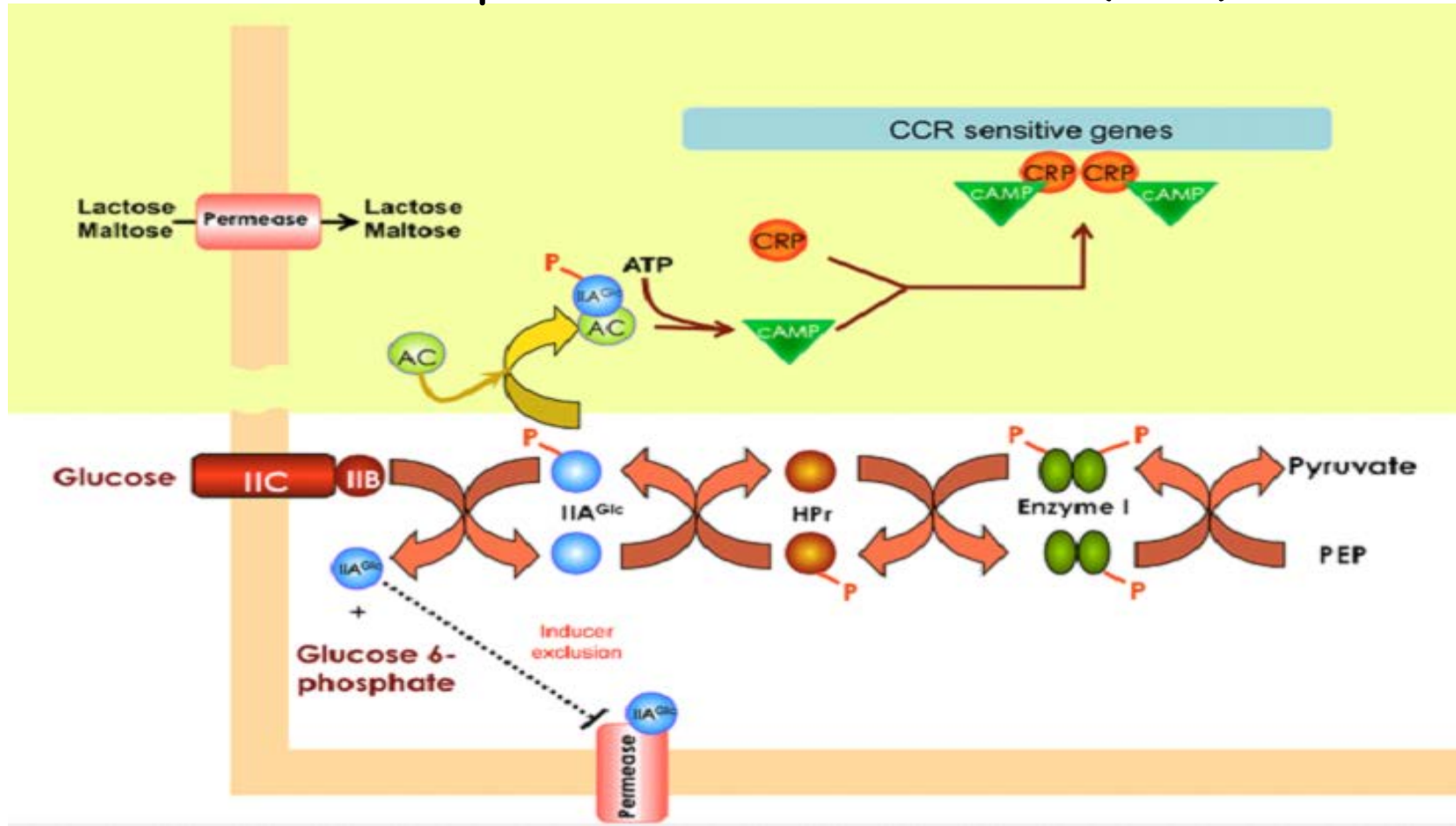


Le proteine E1 e Hpr non sono specifiche

Glucosio e adenilatociclasasi: il ruolo dell'enzima IIA

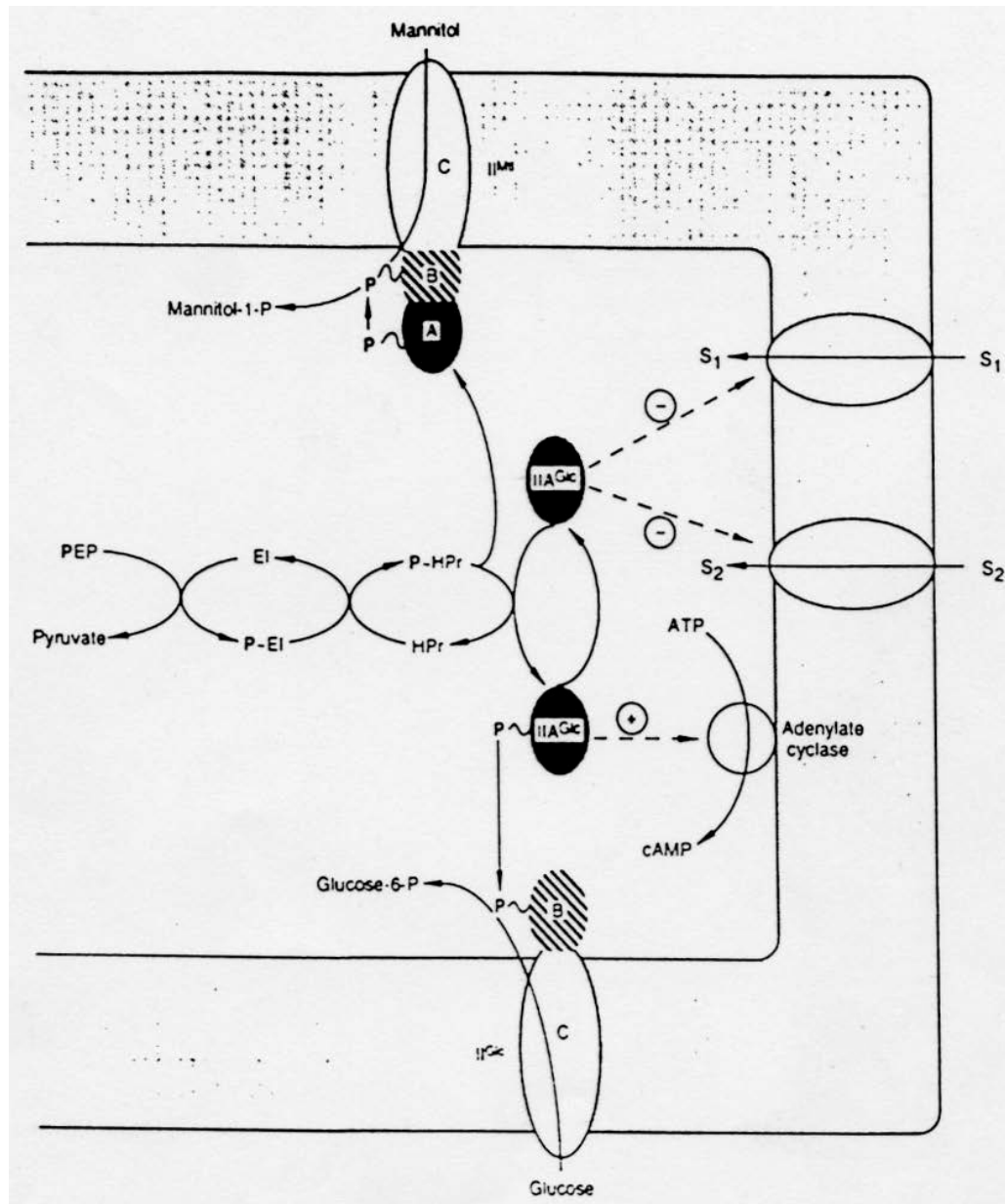


Modello della repressione da catabolita (CCR) in *E. coli*



In white background is shown a cell under repressing conditions and in light yellow under non-repressing conditions. The phosphotransferase system (PTS) comprising Enzyme I, HPr and IIAGlc phosphorylating enzymes, is the most important CCR mechanism in *E. coli*. In the presence of glucose, PTS internalizes and phosphorylates the sugar, rendering dephosphorylated IIAGlc, which in turn exerts inducer exclusion of other non- or less-repressing carbon sources. On the contrary, when glucose is absent, IIAGlc remains phosphorylated and activates the adenylate cyclase (AC). AC synthesizes cAMP, which binds to the cAMP receptor protein (CRP), activating the transcription of CCR-sensitive genes

Relazione tra il sistema di trasporto del glucosio e i livelli di AMPc



In presenza di glucosio

La proteina IIA-P è continuamente impegnata a fosforilare IIB e non fosforila la Adenilato-ciclastasi basso livello di AMPc

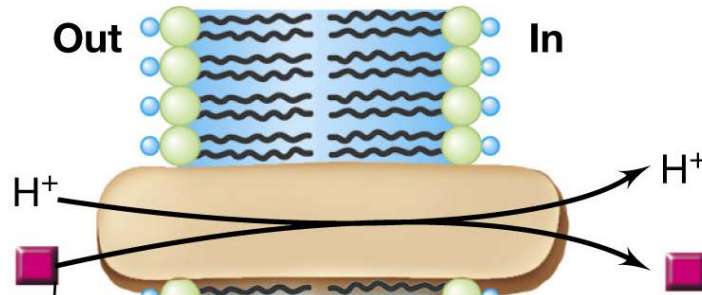
In assenza di glucosio

la proteina IIA-P non deve fosforilare continuamente IIB e può fosforilare Adenilato-ciclastasi

alto livello di AMPc

Sistemi di trasporto delle sostanze attraverso la membrana

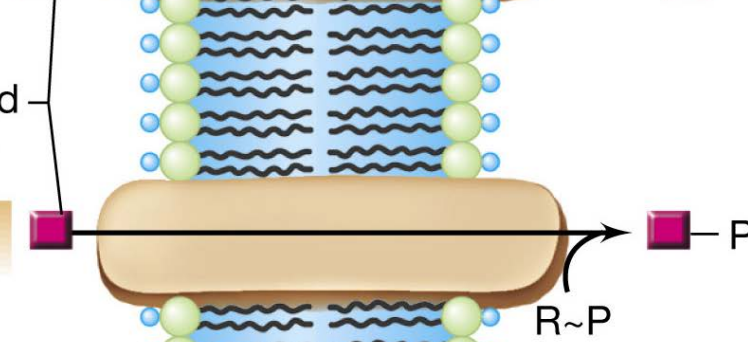
Simple transport



Energia associata alla forza protonmotrice

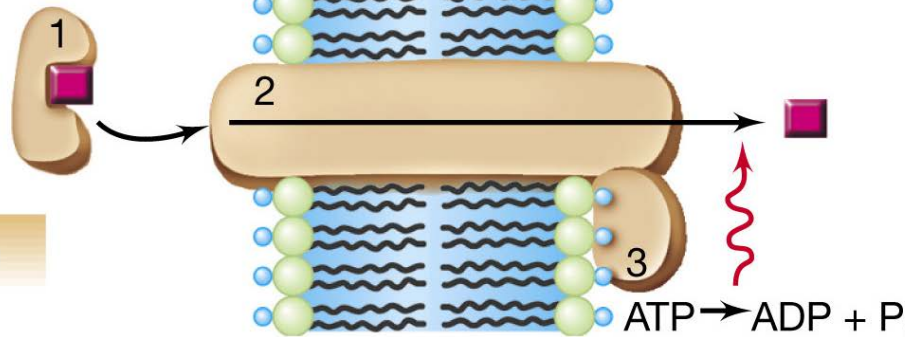
Group translocation

Transported substance



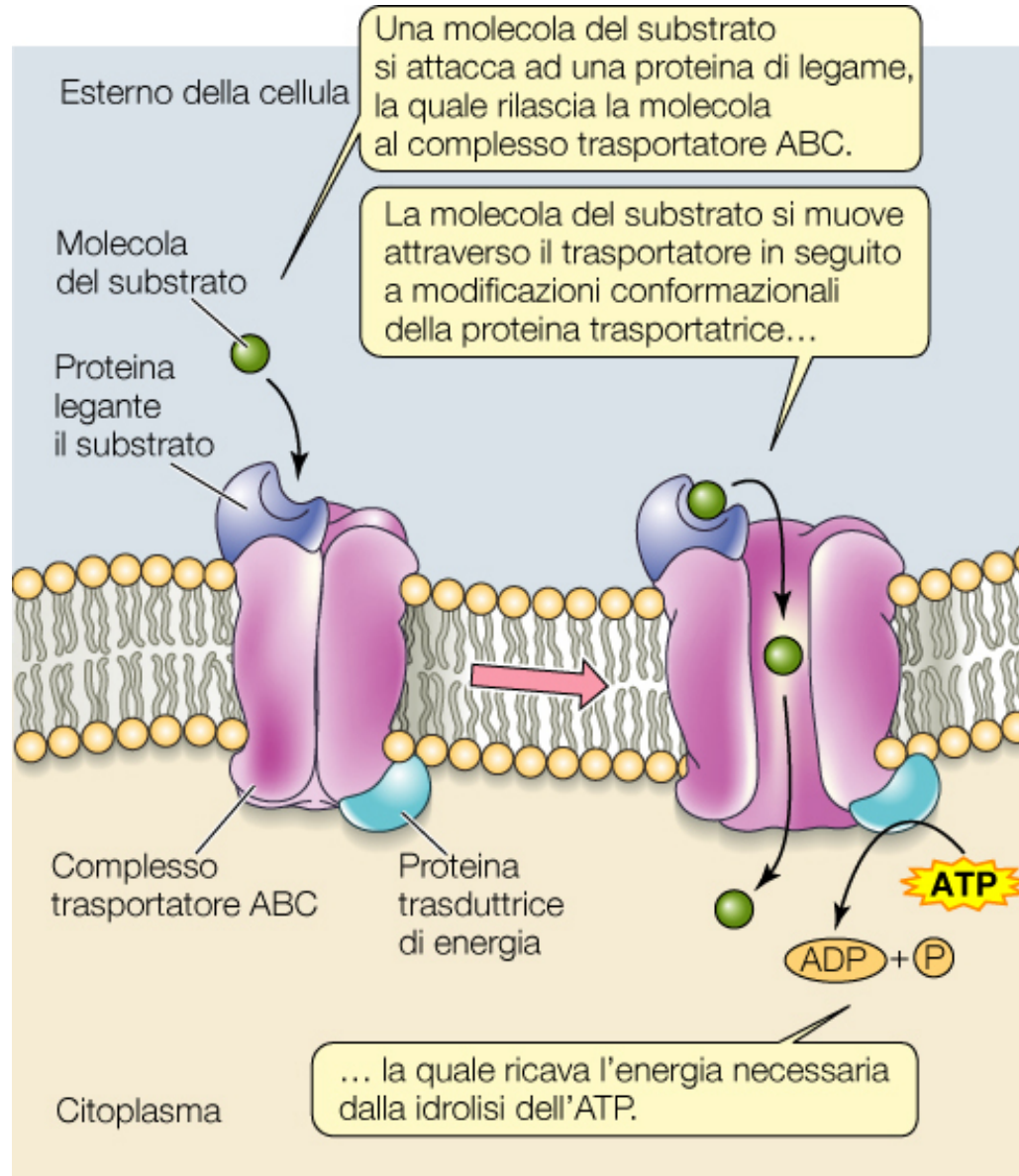
Modificazione chimica della sostanza. Energia rilasciata da fosfoenolpiruvato

The ABC system



Coinvolge proteine periplasmatiche
Energia fornita dall'ATP

Proteine di trasporto di tipo **ABC**: la sostanza viene legata da proteine ad alta affinità a localizzazione periplasmatica



**ATP
Binding
Cassette**

Periplasmic-binding protein

Transported substance

Periplasm

Out

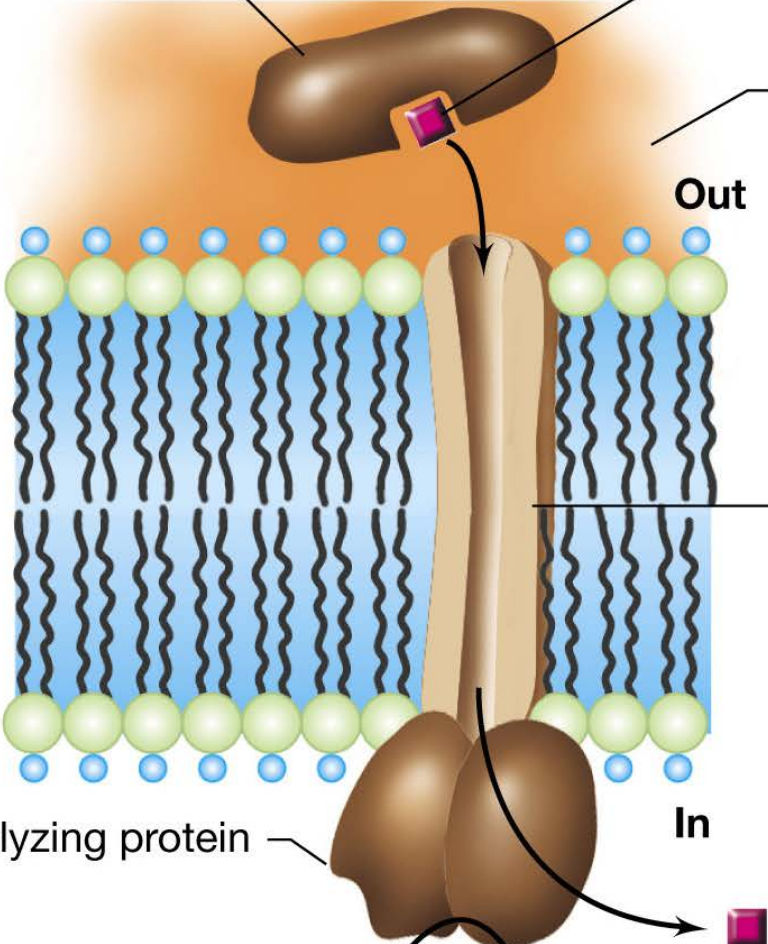
Membrane-spanning transporter

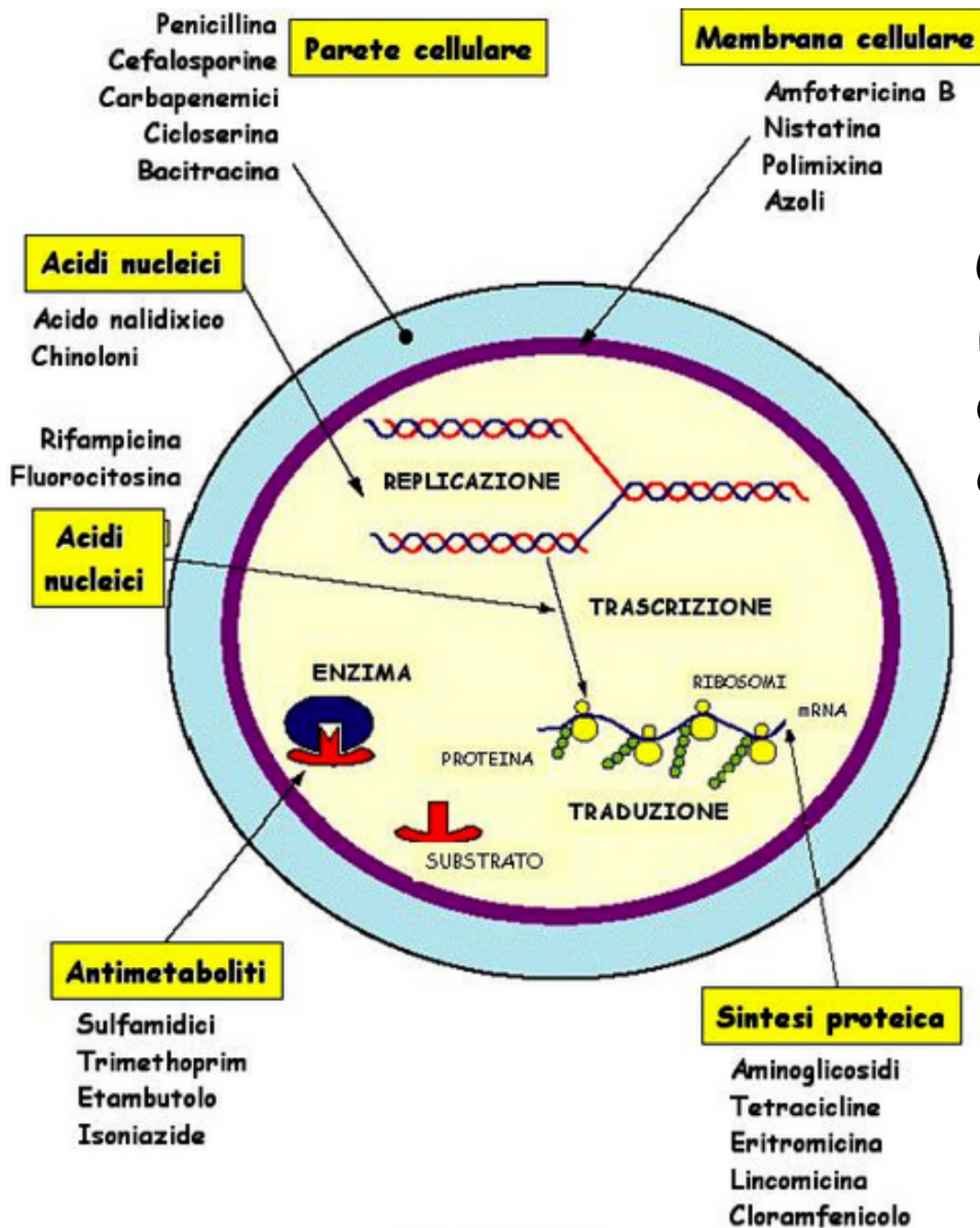
ATP-hydrolyzing protein

In

ATP

ADP+P_i

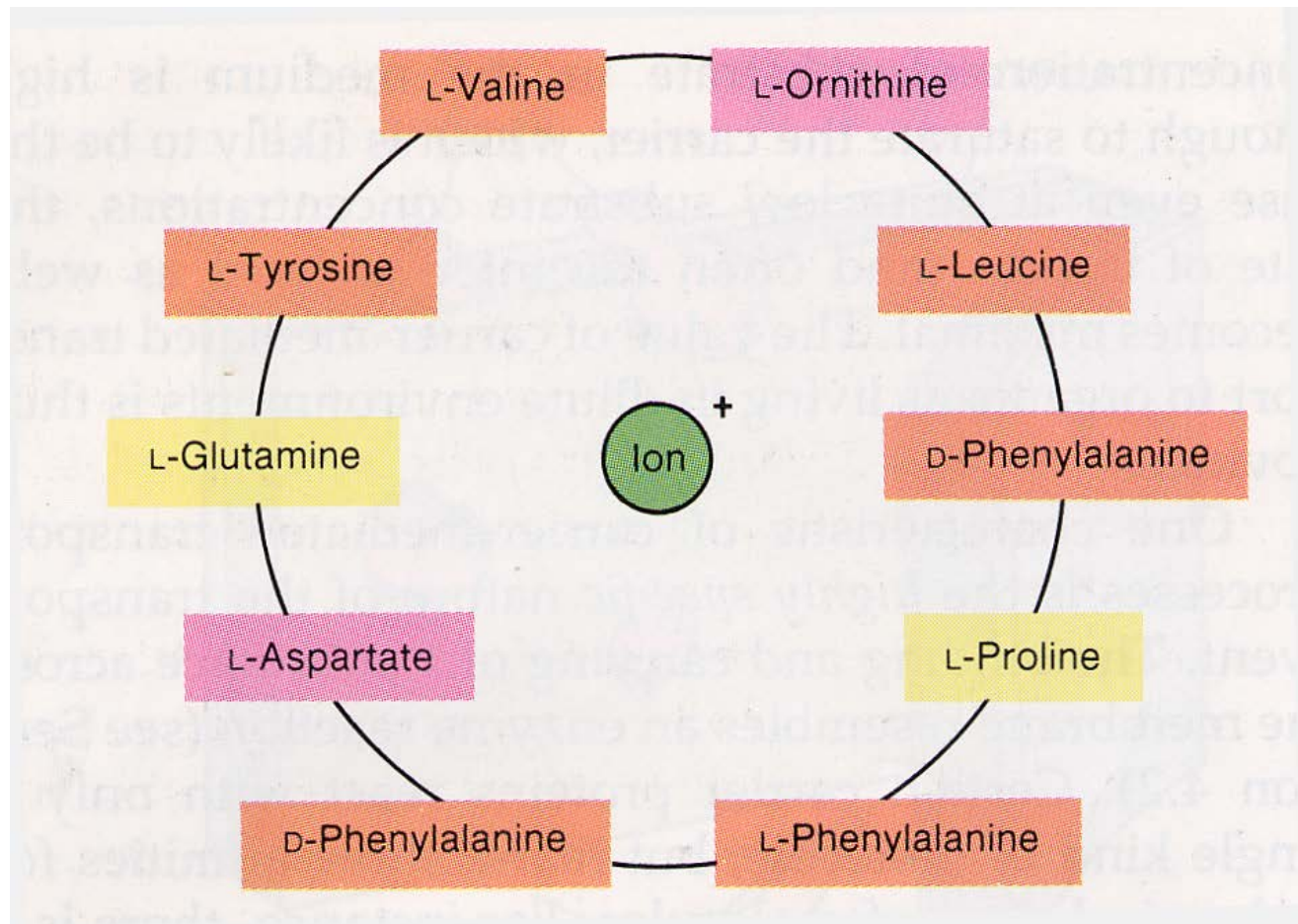


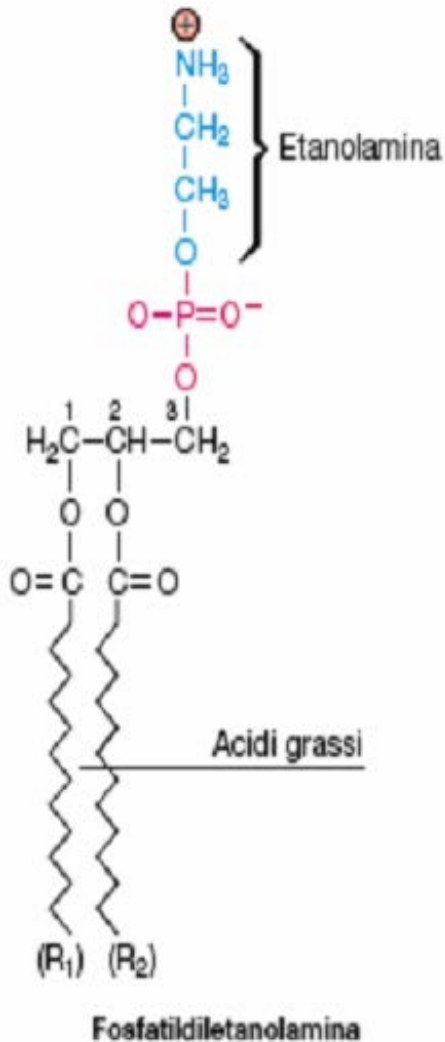


Gli antibiotici che inibiscono le funzioni della membrana cellulare

Struttura dell'antibiotico TIROCIDINA sintetizzata da *Bacillus brevis*

Questo composto ionoforo è un piccolo peptide costituito da AA aromatici e non polari che può inserirsi nella membrana e formare un canale permettendo la fuoriuscita massiva di ioni monovalenti.





Le polimixine sono lipopetidi ciclici costituiti prevalentemente da aminoacidi basici di origine naturale prodotte da *BACILLUS*.

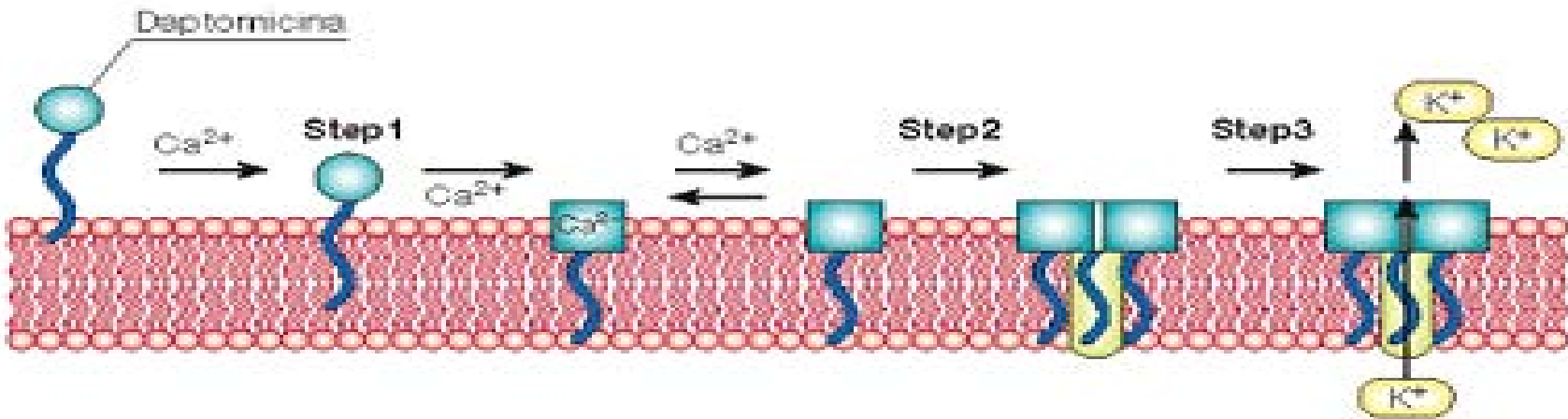
Sono molecole anfipatiche caratterizzate da un anello peptidico e da una coda lipofila

Il bersaglio è rappresentato da fosfodietanolamina della membrana abbondante nei batteri Gram-.

Agiscono come detergenti cationici aumentando la permeabilità

Daptomicina è un antibiotico con struttura di LIPOPEPTIDE prodotta da Streptomyces.

b)



agisce sulla membrana citoplasmatica.

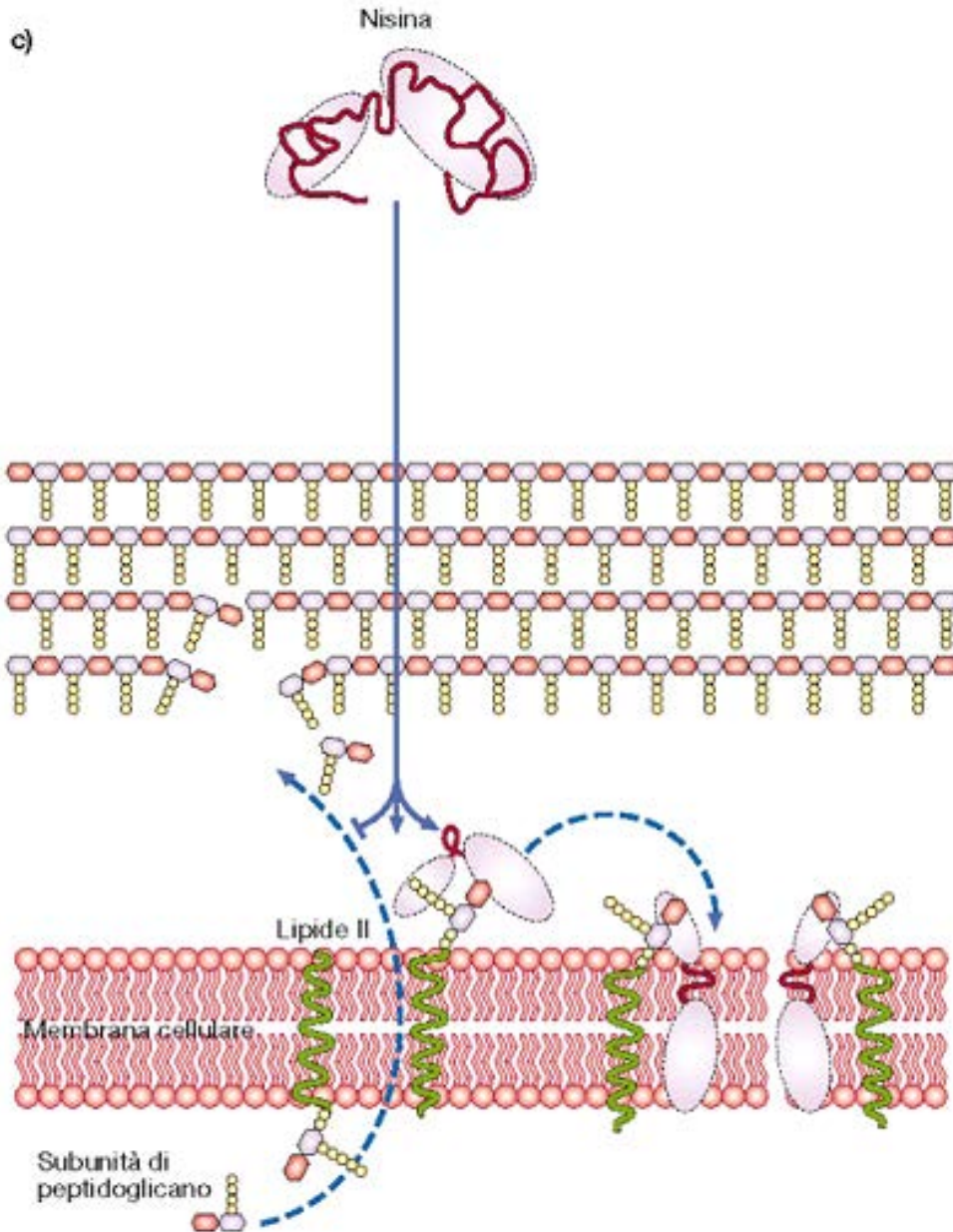
In presenza di ioni calcio forma aggregati (micelle) con carica + in grado di veicolare alte concentrazioni di antibiotico. La componente lipidica della daptomicina si inserisce nella membrana formando oligomeri e creando un poro che causa perdita di ioni K^+ e morte della cellula

LANTIBIOTICI

sono batteriocine di classe I che contengono un AA insolito la lantionina e che necessitano modificazioni post traduzionali.

La **NISINA** è un lantibiotico con una doppia modalità di azione

1. Forma un complesso con il lipide II bloccando la sintesi della parete
2. Il complesso lipide II-nisina si aggregano e formano un poro nella membrana



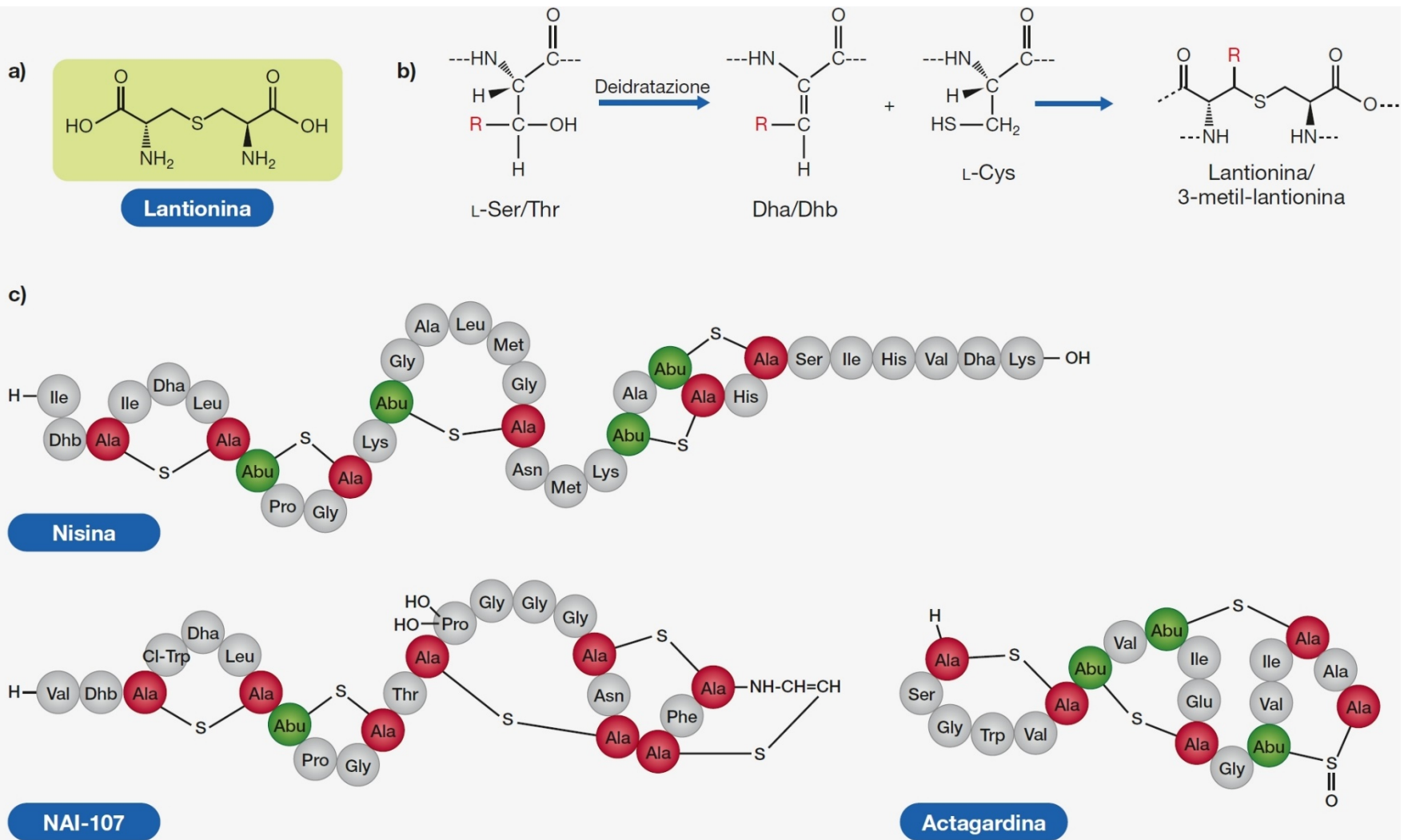


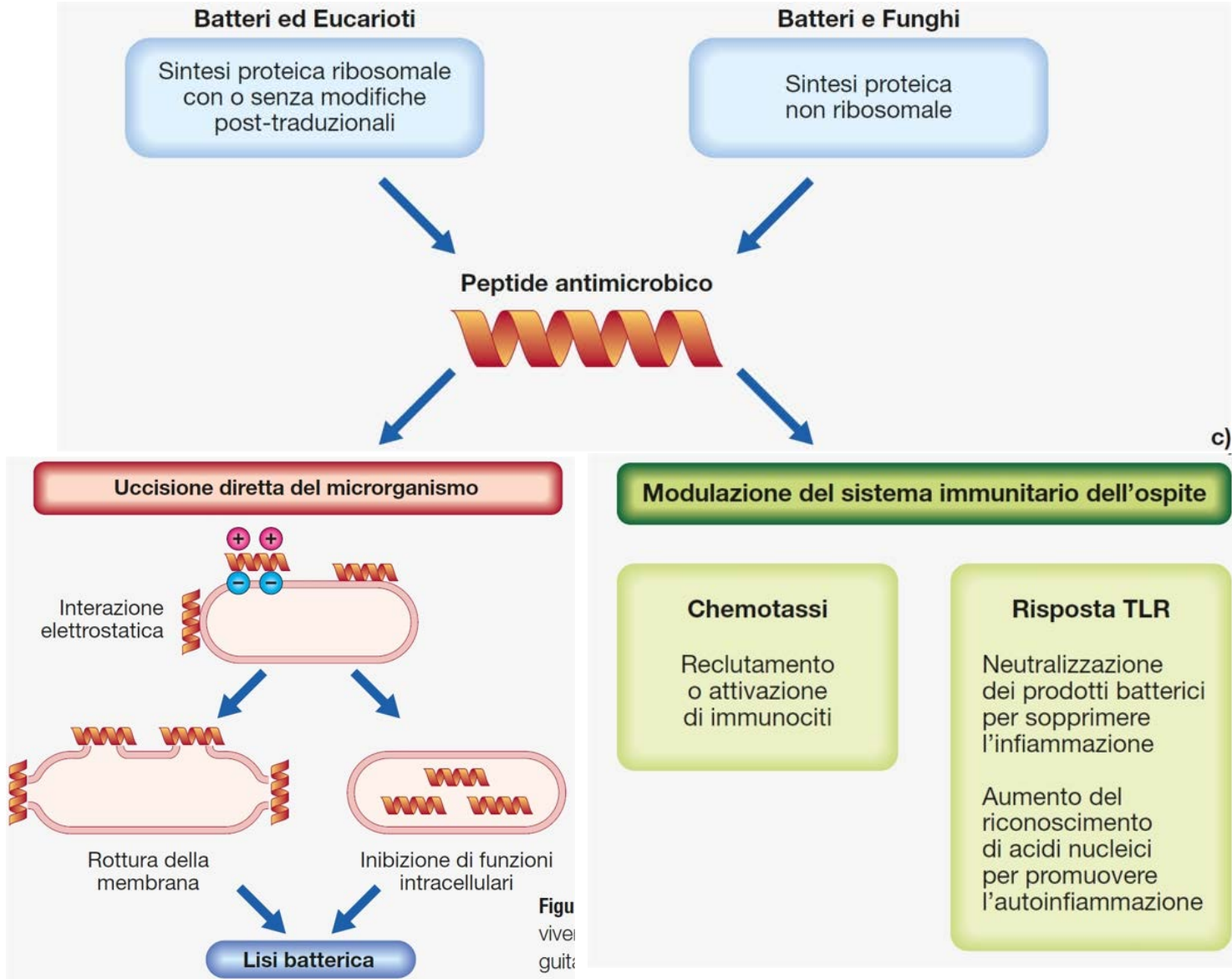
Figura S2.4-7 LANTIBIOTICI. (a) Struttura dell'aminoacido non proteinogenico lantionina. (b) Formazione di residui di lantionina e 3-metil-lantionina in un peptide. Dalla deidratazione della serina (R=H) e della treonina (R=CH₂) si ottengono, rispettivamente, deidroalanina (Dha) e deidrobutilirina (Dhb) da cui, in seguito ad attacco nucleofilo del gruppo SH di una cisteina, derivano lantionina (due residui di alanina uniti con legame tioetere) e 3-metil-lantionina (alanina e aminobutirrato, Abu, uniti con legame tioetere). (c) Rappresentazione schematica di alcuni lantibiotici. I residui Ala e Abu delle lantionine e 3-metil-lantionine sono colorati rispettivamente in rosso e verde.

Peptidi antimicrobici sono prodotti da tutti gli organismi in seguito a sintesi ribosomiale e successiva maturazione e modificazioni post-traduzionali. Nei Batteri e nei Funghi possono essere prodotti a anche per via non ribosomiale.

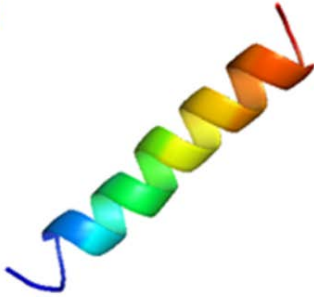
Meccanismo d'azione :

- possono uccidere le cellule batteriche disgregando l'unità delle membrane.
- possono anche penetrare nel citoplasma e bloccare funzioni essenziali
- possono avere un'azione indiretta modulando la risposta immunitaria

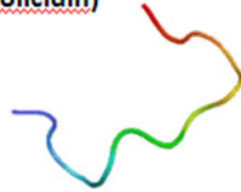
Peptidi antimicrobici



α -helical
(Magainin)



Extended
(Indolicidin)



For Educational Use Only
Mixed
(Protegrin-1)



For Educational Use Only
B-sheet
(defensin.human)

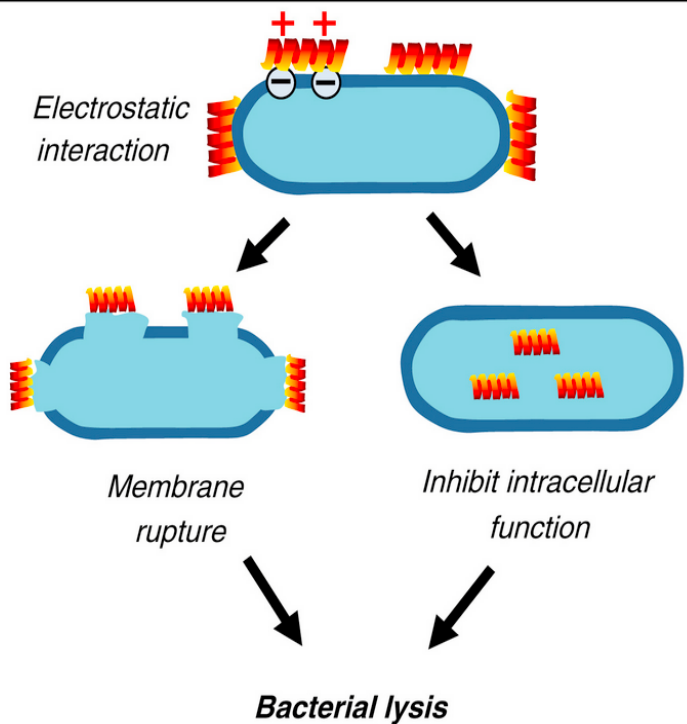


Da 12 a 50 AA
struttura variabile
 α -elica

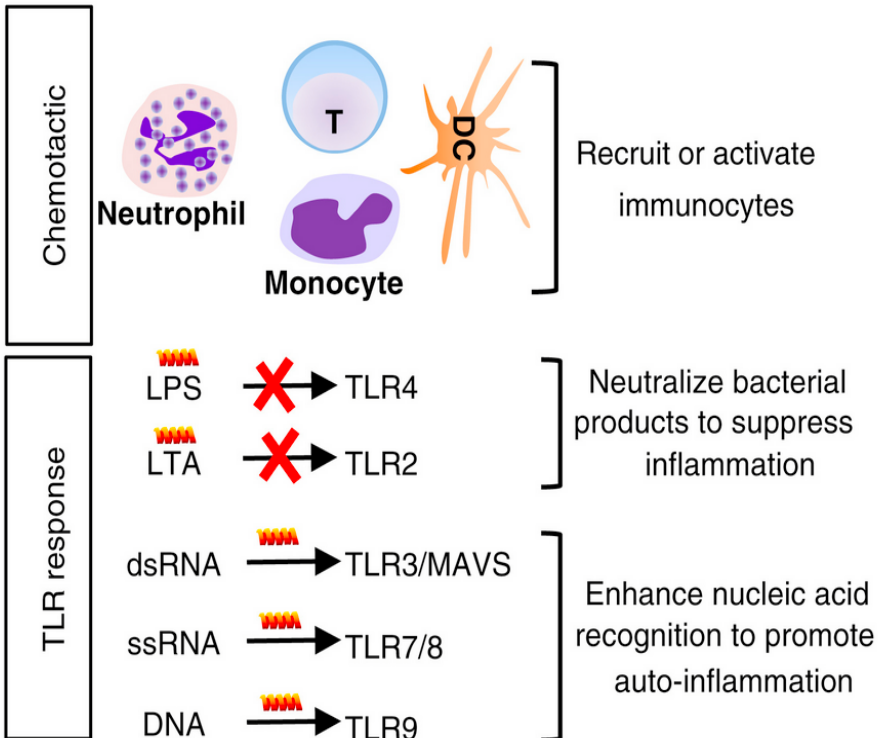
2 β sheet

Antimicrobial peptides

Directly kill microbes



Modulate host immunity



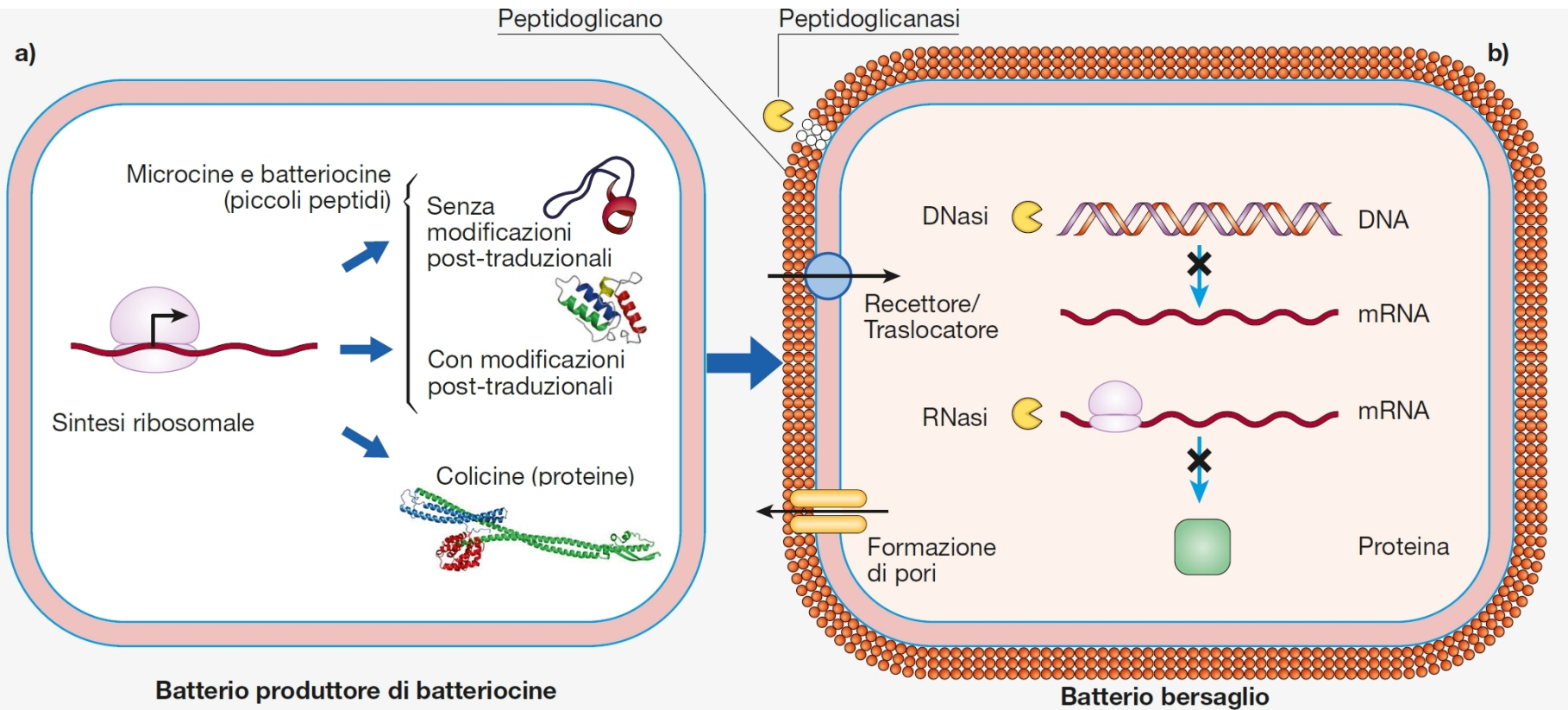
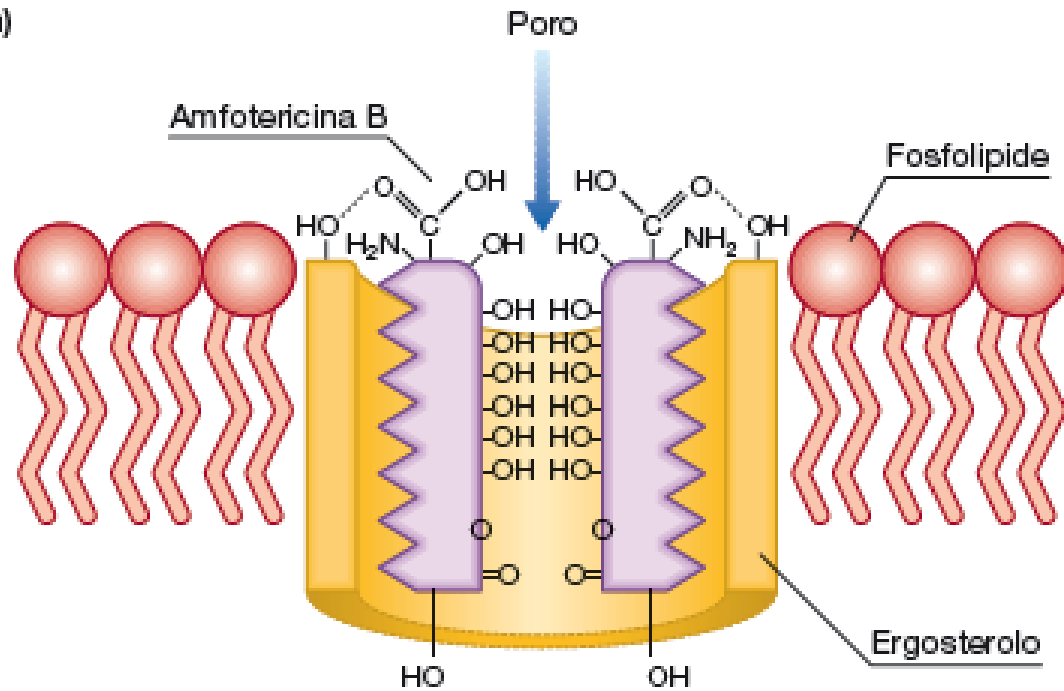


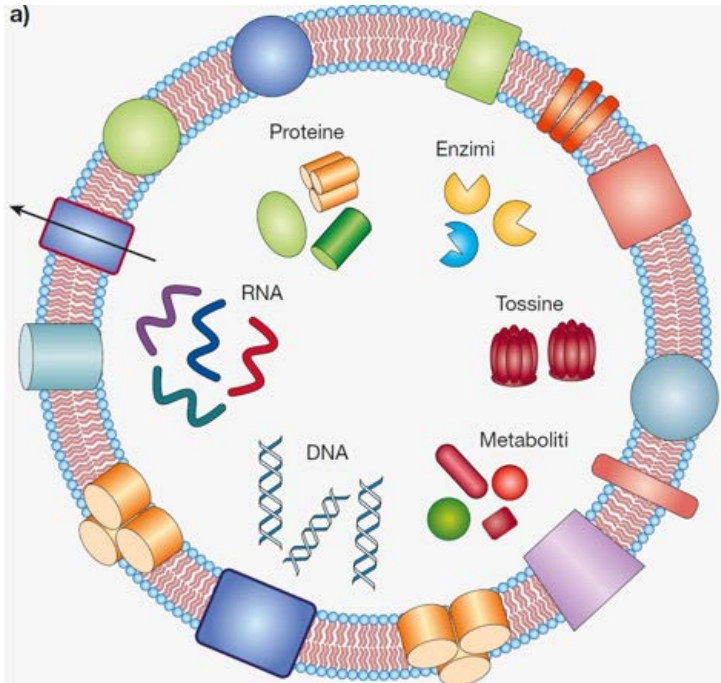
Figura S2.2-2 PRODUZIONE E MECCANISMO D'AZIONE DELLE BATTERIOCINE. (a) Le batteriocine sono polipeptidi prodotti mediante sintesi proteica ribosomale. Le colicine (proteine di peso molecolare > 40 kDa) sono prodotte da *Escherichia coli* e altre *Enterobacteriaceae*; le microcine (prodotte da batteri Gram negativi, peso molecolare < 10 kDa) e le batteriocine dei batteri Gram positivi (peso molecolare da < 5 a > 30 kDa) sono sintetizzate come peptidi precursori, maturate mediante rimozione del peptide leader, e possono subire diversi tipi di modificazioni post-traduzionali oppure non essere modificate. (b) Dopo la loro secrezione, esercitano la loro azione tossica contro le cellule bersaglio in diversi modi: formano pori nelle membrane alterandone la permeabilità; interferiscono con la sintesi della parete mureinica (es.: peptidoglicanasi); sono importate nel citoplasma dove inibiscono funzioni cellulari essenziali (trascrizione, traduzione).

a)



L'amfotericina B, un macrolide polienico, si dispone nel doppio strato lipidico delle membrane, legandosi con la propria sezione idrofoba a una molecola di ergosterolo mentre con la parte idrofila, ricca di gruppi OH, interagisce con la sezione, sempre idrofila, di una seconda molecola di amfotericina, legata ad un'altra molecola di ergosterolo. Si forma tra le due molecole di amfotericina B una sorta di "poro", un canale idrofilo che consente la fuoriuscita di ioni

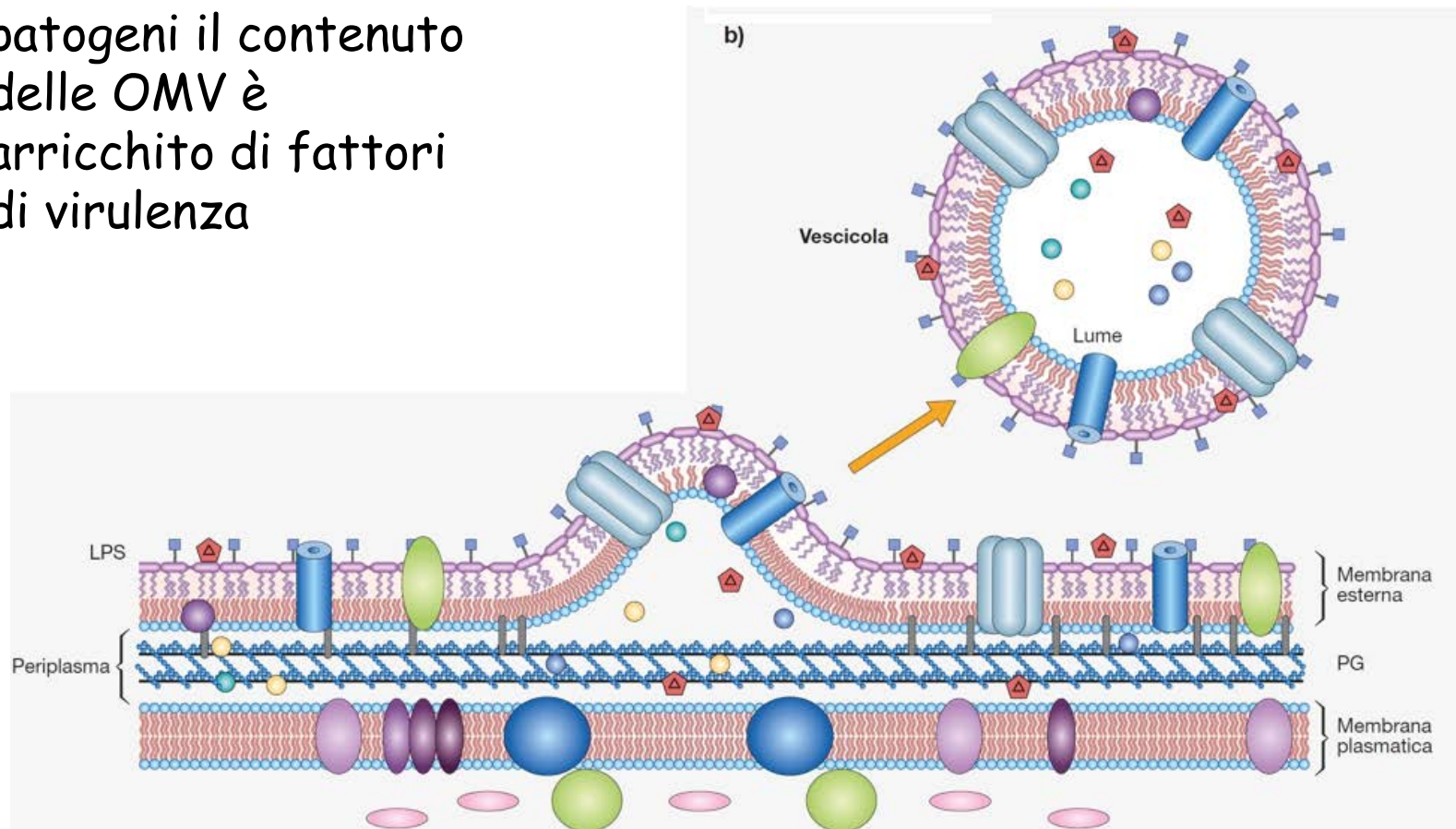
Vescicole della membrana esterna (OMV)

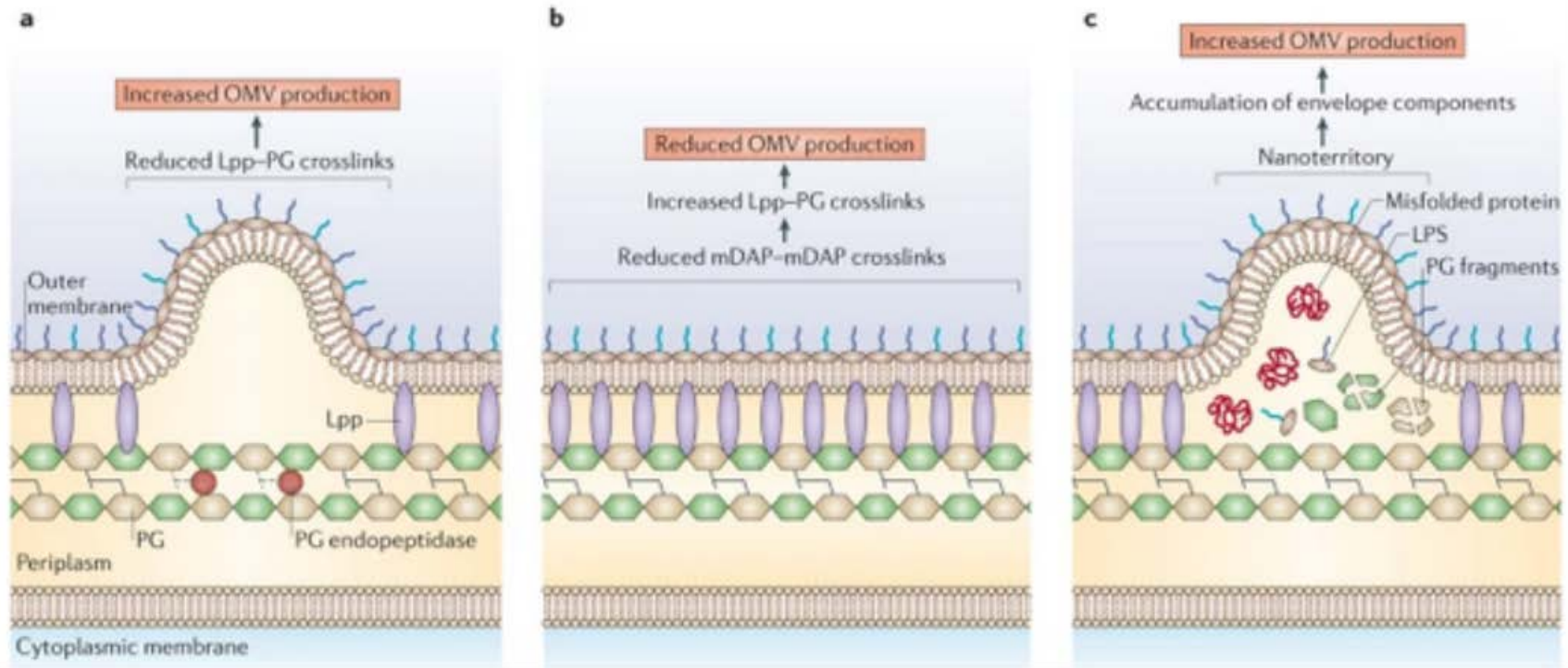


Le vescicole della membrana esterna sono delle strutture sferiche prodotte da tutti i batteri Gram negativi. Sono circondate dalla membrana esterna e contengono al loro interno proteine dello spazio periplasmatico, metaboliti da eliminare, frammenti di DNA e RNA

Si vengono a formare in seguito al ripiegamento della membrana esterna. La loro sintesi è estremamente regolata ed avviene in tutte quelle situazioni che possono destabilizzare la OM. Il loro contenuto è molto variabile e dipende non solo dalla specie ma anche da condizioni fisiologiche e d ambientali .

In alcuni batteri patogeni il contenuto delle OMV è arricchito di fattori di virulenza





Le peptidoglicano (PG) -endopeptidasi assieme ad altri enzimi che controllano la sintesi del Peptidoglicano (PG) sono responsabili anche della corretta formazione di legami tra la lipoproteina di Braun (Lpp) e il PG.

- La produzione di OMV è aumentata nelle zone in cui vi sono un ridotto numero di legami tra Lpp e il PG.
- I legami tra i residui di acido mesodiaminopimelico (mDAP) all'interno del PG controllano la formazione dei legami tra il PG e la membrana esterna. Nei siti del PG in cui non vi sono legami incrociati tra i residui di mDAP si osservano più legami tra Lpp e la membrana esterna. Questo determina la formazione di un minor numero di OMV.
- nelle zone in cui si accumulano proteine non ripiegate o frammenti di componenti della parete (PG), i legami tra PG e OM sono o spostati o eliminati promuovendo così l'estrusione di nano-zone della OM con conseguente aumento della produzione di OMV.

Numerose funzioni associate alle OMV nei GRAM-

- Virulenza *Shigella*, *Helicobacter pylori* *Neisseria meningitidis*
- Eliminazione di antibiotici che agiscono sulla parete
- -*Myxococcus xanthus*, batterio predatore, rilascia vescicole che sono in grado di lisare *E. coli* e poi grazie alla fosfatasi alcalina contenuta nelle vescicole rimuovono fosfato organico rendendolo disponibile per la crescita del batterio predatore

- **GRAM+**

- Nei Gram+ presenti delle MV ovvero vescicole di membrana citoplasmatica .
- In *Staphylococcus aureus* rilasciano β -lattamsi enzima che distrugge la penicillina rendendo l'ambiente antibiotic-free