



CELLULA BATTERICA

Seconda parte

Prof.ssa Vivian Tullio

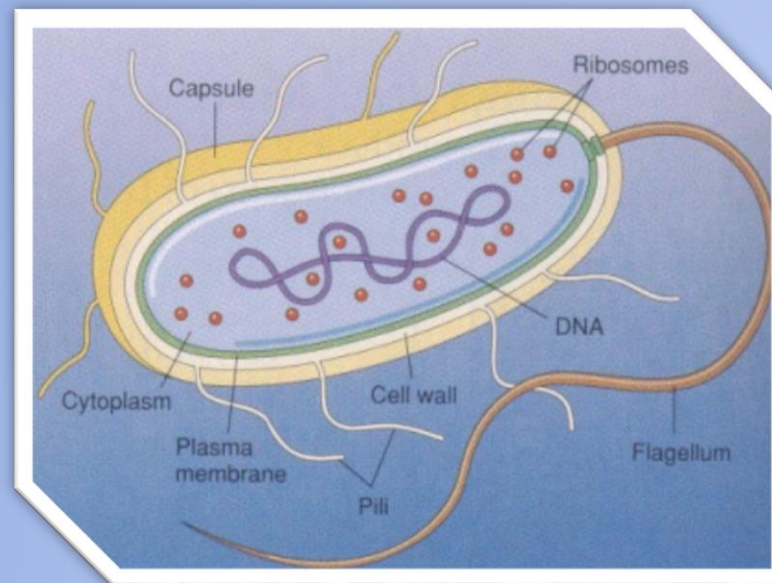


PARETE CELLULARE

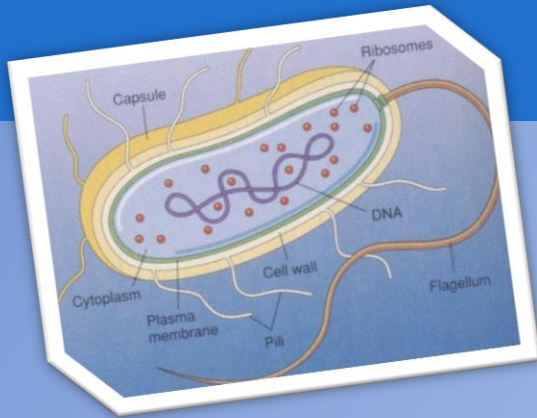
Funzione primaria

assicurare forma al batterio e proteggerlo dall'alta pressione osmotica intracitoplasmatica

Corsetto rigido



PARETE CELLULARE



➤ Come è formata?

Al microscopio elettronico sono state individuate 2 tipologie di parete (una per i Gram positivi, e l'altra per i Gram negativi).

➤ G+

uno strato spesso + m.citoplasmatica

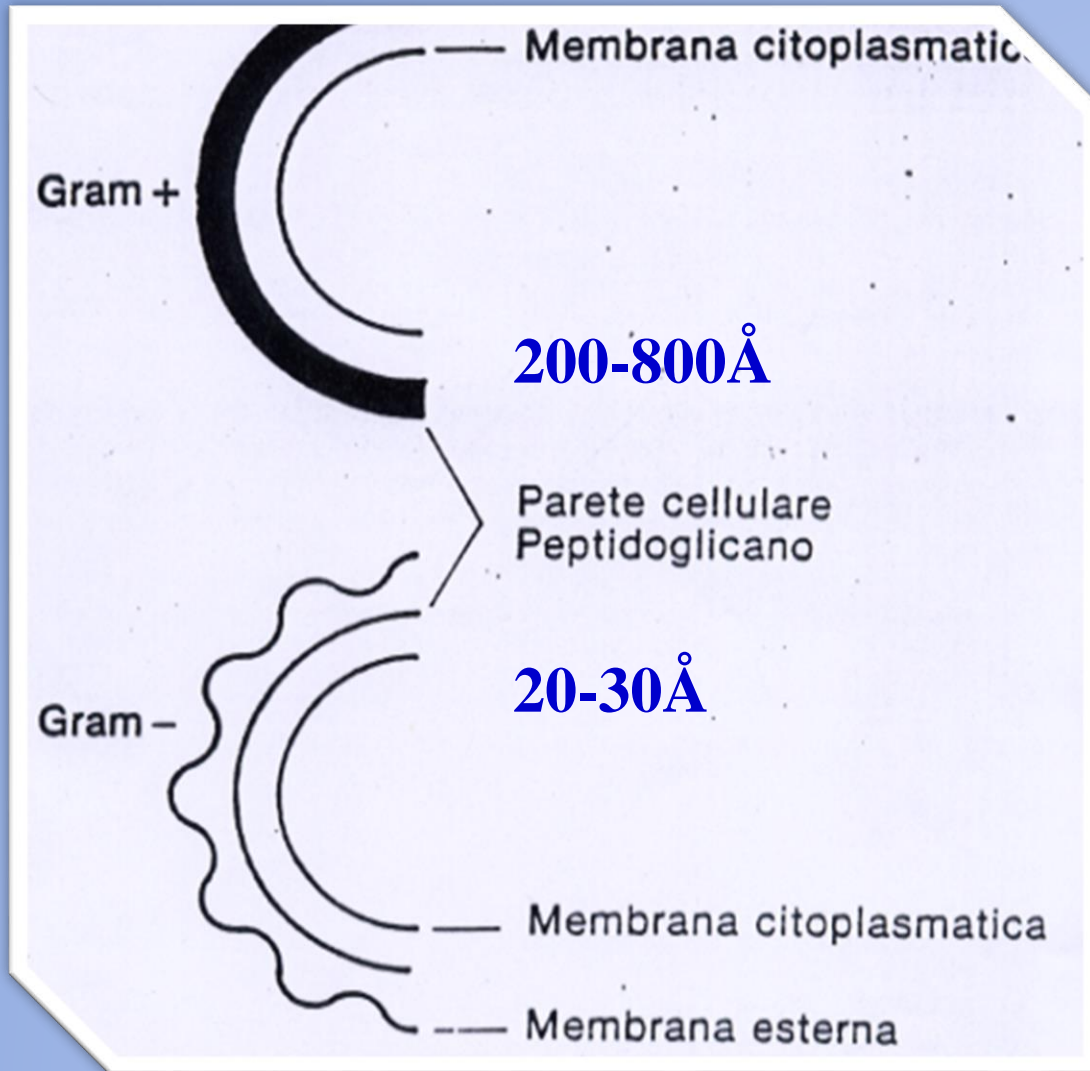
➤ G-

due strati + m.citoplasmatica

Componente in comune a tutte e due le pareti è il

PEPTIDOGLICANO

PARETE CELLULARE



PEPTIDOGLICANO o MUREINA

Costituente fondamentale e caratteristico della parete cellulare di tutti i batteri che non si ritrova in nessun altro organismo vivente (**cellule fungine = chitina, cellule vegetali = cellulosa, cellule animali non hanno parete**)

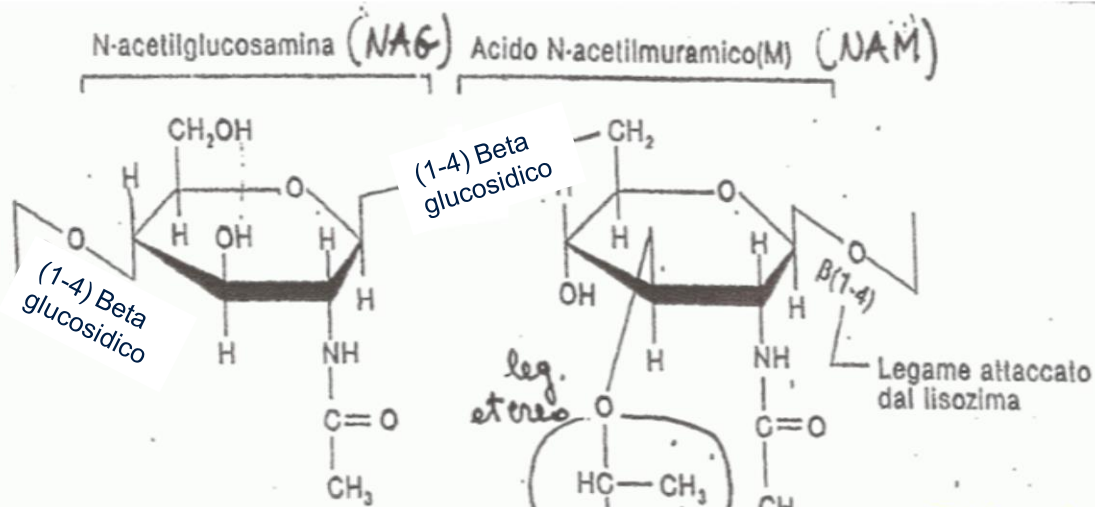
Ad esso si accompagnano altri polimeri di diversa natura chimica, organizzati e distribuiti in maniera così selettivamente diversa da definire due grandi categorie di batteri



Gram+ e Gram-

UNITA' STRUTTURALE PEPTIDOGLICANO

t
e
t
r
a
p
e
p
t
i
d
e



ac.D-lattico

1) L-alanina

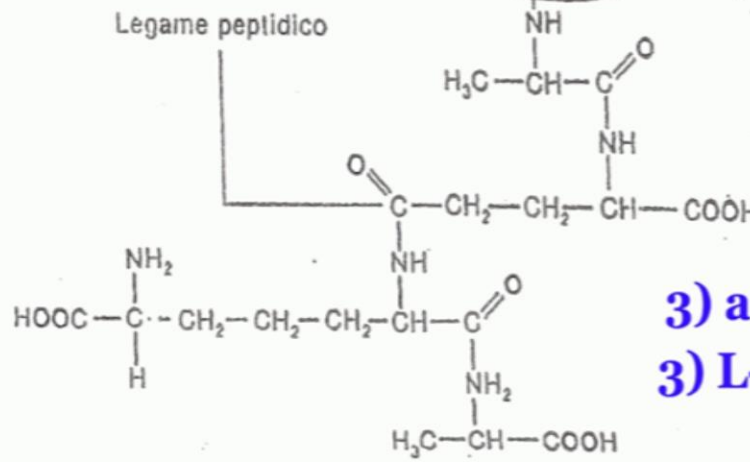
2) ac. D-glutamico

3) ac. meso-diaminopimelico (G-)

3) L-lisina (G+)

4) D-alanina

(+ D-alanina)



UNITA' STRUTTURALE PEPTIDOGLICANO

1) COMPONENTE GLICIDICA

È una catena lineare di (n) unità di disaccaride costituito da N-acetilglucosamina (**NAG**) e acido N-acetilmuramico (**NAM**) tra loro uniti dal legame β -1,4-glicosidico.

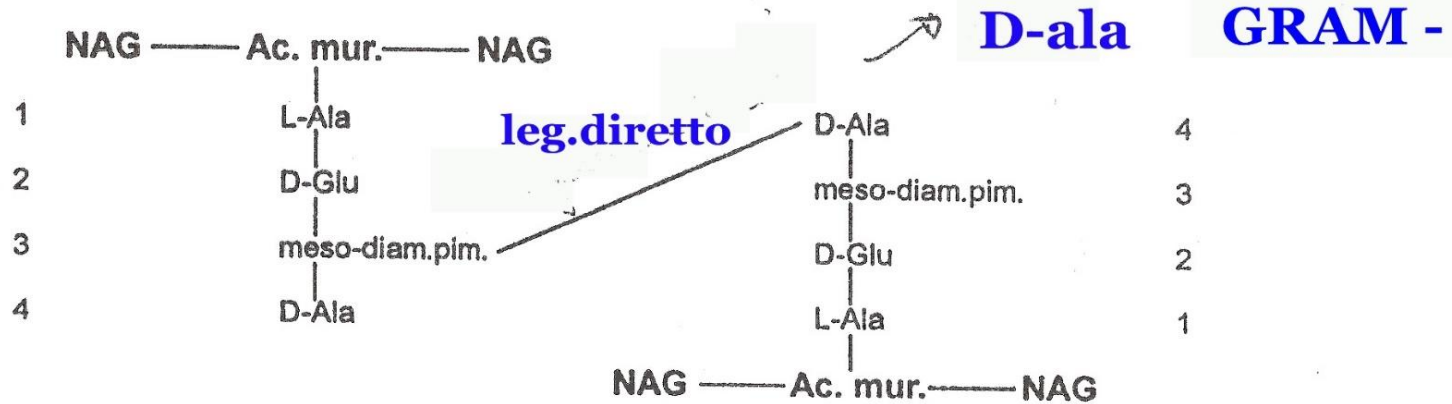
Il legame è scisso da fattori di difesa aspecifici del nostro organismo (**lisozima** nelle lacrime, saliva, ecc...)

Al NAM tramite legame etero si lega ac.D-lattico

2) COMPONENTE PEPTIDICA

- ❑ È costituita da un tetrapeptide unito alla parte glicidica da un legame amidico tra il carbossile (COOH) del NAM e il gruppo amminico (NH₂) del primo aa del tetrapeptide (in genere L-alanina). Legato al 3° aa (lisina nei G+, ac.diaminopimelico nei G-) vi è una 2a catena peptidica formata da 5aa tutti uguali (es.glicina).
- ❑ Il **legame crociato** (o **di transpeptidizzazione**) avviene tra il terzo aminoacido e il dimero D-alanina.
È bersaglio di antibiotici.

LEGAME CROCIATO O TRANSPEPTIDIZZAZIONE



A



TRANSPEPTIDIZZAZIONE

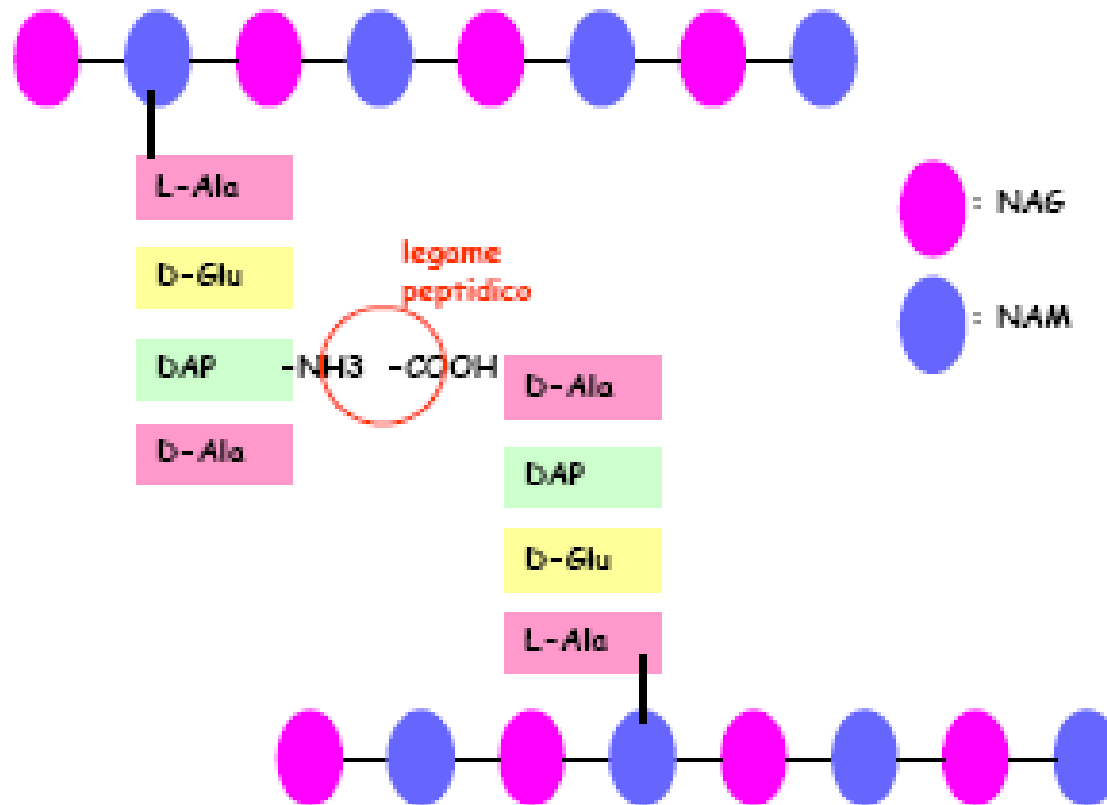
B

LEGAME CROCIATO O TRANSPEPTIDIZZAZIONE

I tetrapeptidi legati al NAM si legano tra di loro con due modalità principali:

1) DIRETTAMENTE (nei Gram negativi es' *E. coli*)

Tramite un legame peptidico tra il gruppo aminico dell'aminoacido bibasico di un tetrapeptide ed il gruppo carbossilico dell'aminoacido terminale di un altro tetrapeptide (D-Ala)

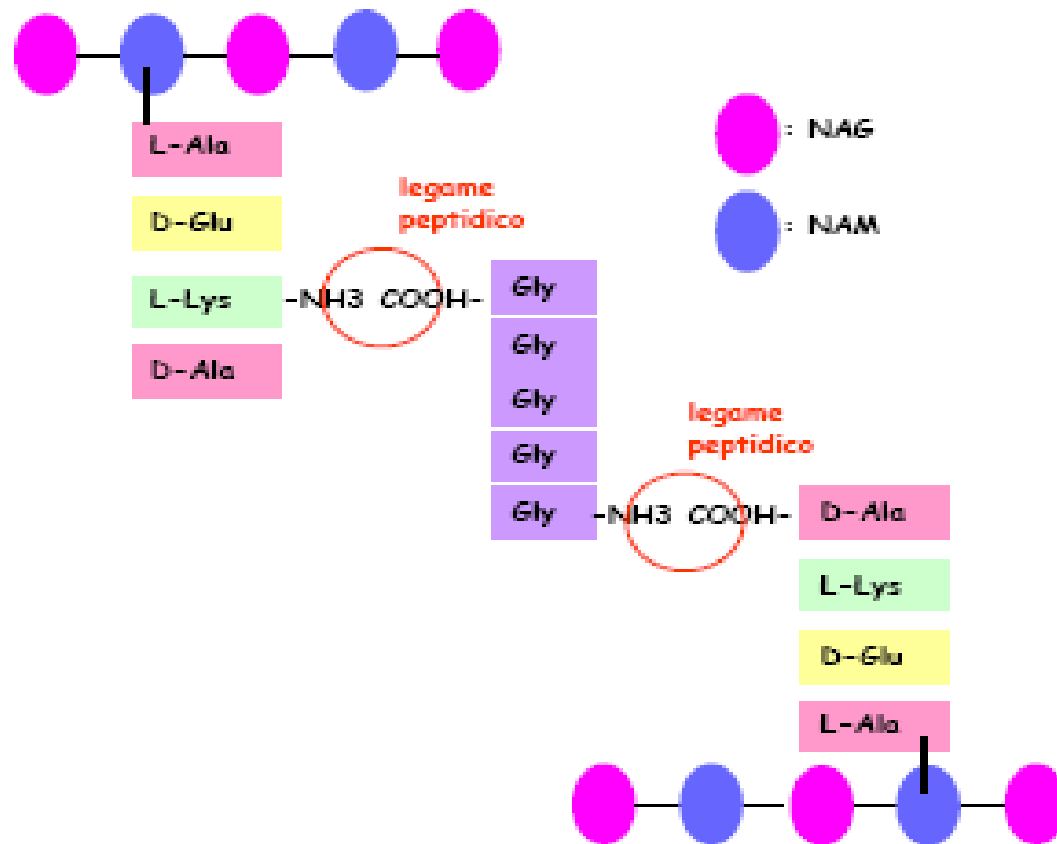


LEGAME CROCIATO O TRANSPEPTIDIZZAZIONE

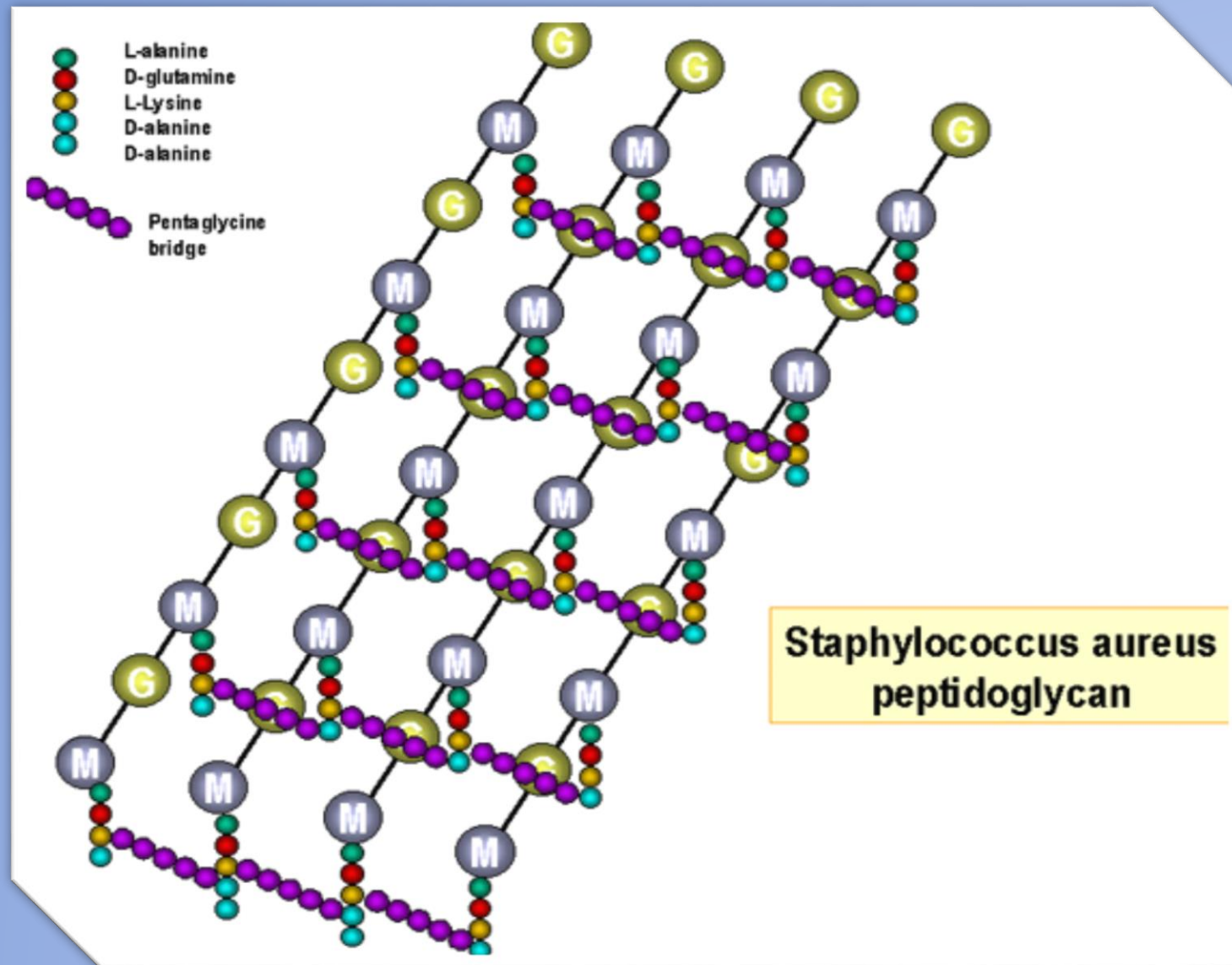
2) INDIRETTAMENTE (nei Gram positivi es. *S. aureus*)

Tramite un ponte di PENTAGLICINA

- il gruppo aminico dell'aminoacido bibasico di un tetrapeptide forma un legame peptidico con il gruppo carbossilico della pentaglicina.
- il gruppo aminico della pentaglicina forma un legame peptidico con il gruppo carbossilico dell'ultimo aminoacido del tetrapeptide (D-Ala)



LEGAME CROCIATO O TRANSPEPTIDIZZAZIONE



PARETE BATTERICA

GRAM POSITIVI

- ✓ Strato unico
- ✓ Strato spesso di **mureina** con molti legami crociati
 - nel contesto proteine, **ac teicoici, ac lipoteicoici**
- ✓ Sensibili a lisozima
- ✓ Resistenti a Complemento

GRAM NEGATIVI

- ✓ Strato doppio
- ✓ Strato più sottile di **mureina** con meno legami crociati
- ✓ al di sopra **membrana esterna**
 - proteine, lipidi, lipoproteine, lipopolisaccaridi
- ✓ Più Resistenti a lisozima
- ✓ Sensibili a Complemento

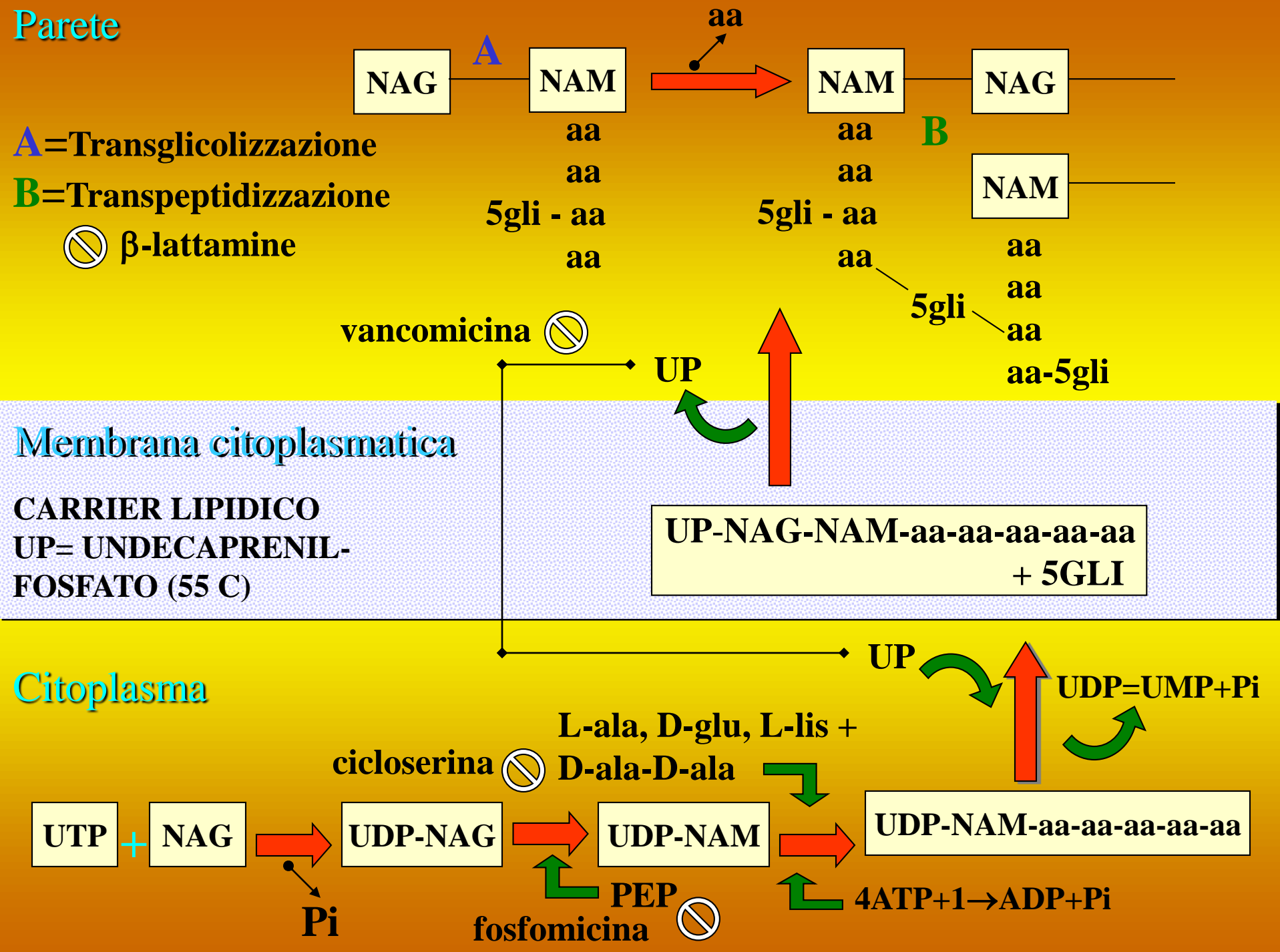
PARETE BATTERICA

La parete batterica nella sua componente del peptidoglicano costituisce il bersaglio di molti antibiotici

Tali antibiotici agiscono impedendo la sintesi del peptidoglicano

Antibiotici diversi agiscono su momenti diversi del processo sintetico

- sintesi del monomero
- passaggio trans-membrana
- assemblaggio finale → transpeptidizzazione



SINTESI PEPTIDOGLICANO

Avviene in 10 fasi: le prime 7 fasi avvengono nel citoplasma a spese di una quindicina di ATP

- 1) Ad un NAG formato nel citoplasma si lega ATP, formando UDP-NAG con perdita di un fosfato P
- 2) A UDP-NAG si lega il PEP (ac.fosfoenolpiruvico) che trasforma il NAG in UDP-NAM (ac. N-acetilmuramico)
- 3) Al gruppo COOH dell'UDP-NAM si legano in sequenza gli aminoacidi L-alanina, D-glutammico, L-lisina nei Gram+ oppure ac.meso-diaminopimelico (DAP) nei Gram-
- 4) Ai 3 aa si legano 2 aa D-alanina-D-alanina (precedentem.legati insieme)
- 5) Alla L-lisina si legano altri aminoacidi (ad es. negli stafilococchi sono 5 glicine)
- 6) Al complesso UDP-NAM-penta-aminoacido-5 glicine si unisce un NAG a formare unità strutturale di base (NAM-NAG) che si sposta verso la faccia interna della m.citoplasmatica e si lega ad un trasportatore di membrana (BACTOPRENOLO o ac. Undecaprenilfosfato UP, una molecola lineare liposolubile a 55 atomi di C).

SINTESI PEPTIDOGLICANO

- 7) UP ha una estremità polare che aggancia l'unità di base e la trasporta verso la faccia esterna della m.citopl. legandosi ad essa tramite l'estremità non polare. L'UDP si stacca e libera UMP + Pi. Pi si lega all'UP che diventa UPdifosfato
- 8) Il gruppo fosforico dell'UP giunto alla faccia esterna della m.citoplasmatica si stacca, l'UP rilascia l'unità di base e ritorna verso la faccia interna della m.citopl. per ricominciare un nuovo ciclo
- 9) Legame di **transglicolizzazione** ad opera degli enzimi transglicolasi situati sulle PBP che polimerizzano il peptidoglicano in un filamento
- 10) I singoli filamenti di peptidoglicano vengono legati tra loro tramite legame di **transpeptidizzazione** ad opera delle transpeptidasi (PBP).

Questo legame avviene tra: la 4 D-ala di un'unità strutturale (polimero) e il 3 aminoacido (DAP) di un polimero vicino (G-; legame diretto). Nei Gram+ il legame avviene tra la 4 D-ala e la Lisina con interposizione del ponte pentaglicinico

AAA Poiché siamo all'esterno della cellula, l'ATP per fornire l'energia di legame non è disponibile e l'energia viene ottenuta dal distacco della 5° D-ala

INIBIZIONE SINTESI PEPTIDOGLICANO

Alcune tappe della sintesi del peptidoglicano rappresentano bersagli per gli antibiotici che ne inibiscono o bloccano le tappe:

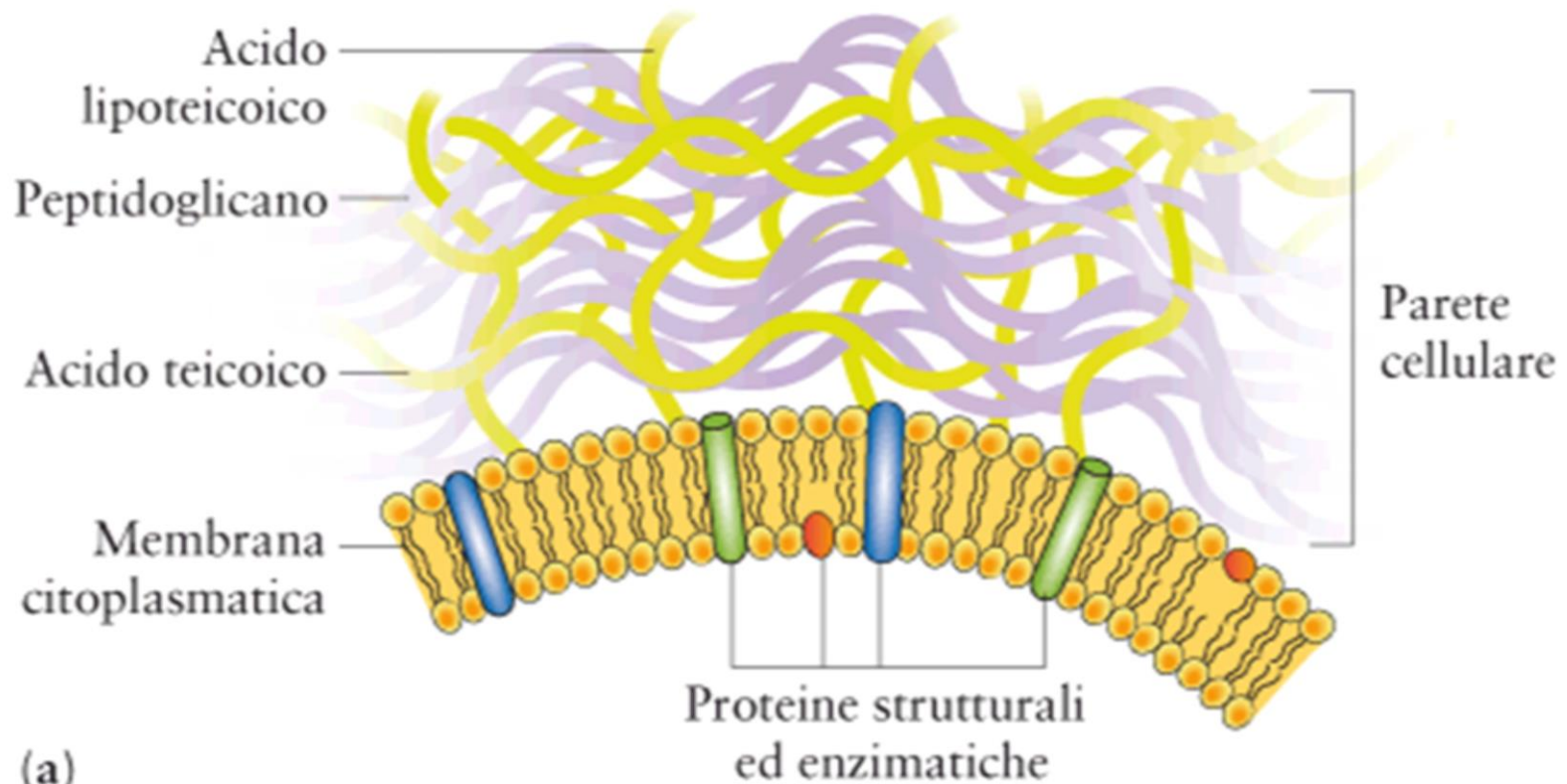
FOSFOMICINE inibiscono il PEP. Questi farmaci sono simili al fosfoenolpiruvato e lo sostituiscono. La sintesi viene bloccata

CICLOSERINA analogo della D-alanina. Impedisce la formazione del dimero D-ala D-ala

VANCOMICINA E TEICOPLANINA (glicopeptidi) inibiscono la transglicosilazione impedendo l'allungamento della catena di peptidoglicano

BETA-LATTAMINE inibiscono la transpeptidizzazione impedendo i legami crociati tra i diversi filamenti di peptidoglicano

PARETE CELLULARE GRAM POSITIVI



PARETE GRAM POSITIVI

I G^+ al di sopra della m.c. presentano uno spesso strato di peptidoglicano.

Inoltre, ci sono altre molecole frammiste alle maglie del peptidoglicano (**acidi teicoici**)

I G^+ sono più sensibili al lisozima perché la loro parete è costituita da 20-50 strati di peptidoglicano che offrono tanti legami β 1-4 glicosidici, cioè tanti bersagli.

ACIDI TEICOICI



Legati al peptidoglicano rappresentano quasi il 50% della parete batterica, ma non sono indispensabili ai fini della sua rigidità

Contribuiscono alle proprietà generali (forza ed elasticità) del peptidoglicano.

Sono **polimeri di alcoli polivalenti** (glicerolo e ribitolo) esterificati con acido fosforico, a cui si possono legare monosaccaridi e aminoacidi

Funzione immunogena sono fortemente antigenici cioè innescano una risposta immunitaria nell'ospite; e presentano una notevole diversità di composizione; protezione della parete (non attaccati dal lisozima)

La spessa parete dei G⁺ è una struttura **altamente polare** grazie alla presenza degli zuccheri e aminoacidi (aa) della mureina e dei radicali P degli acidi teicoici.

ACIDI TEICOICI



Impedisce passaggio molecole idrofobiche ma è permeabile alle molecole idrofile (zuccheri e aa possono attraversarla raggiungendo la m.c.)

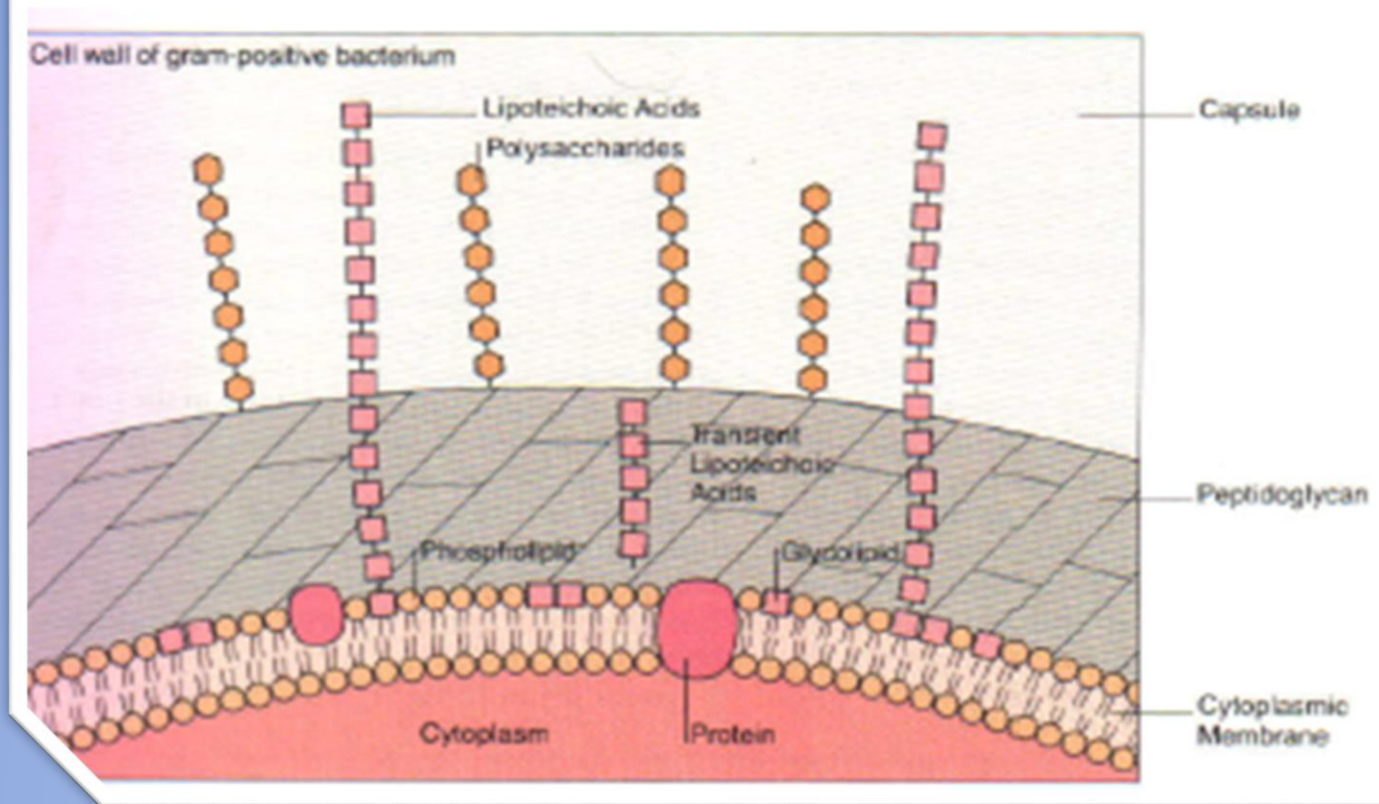
Polarità → **legame a cationi** (che garantiscono ambiente ionico adeguato al funzionamento degli enzimi della m.c)

Cationi → i **G+** **tollerano concentrazioni saline** > dei **G-** (v. terreni con NaCl) [MAR MORTO]

Struttura rigida della parete → **sopravvivenza in ambiente ipotonico**

PARETE CELLULARE GRAM POSITIVI

Superficie di Gram-positivo



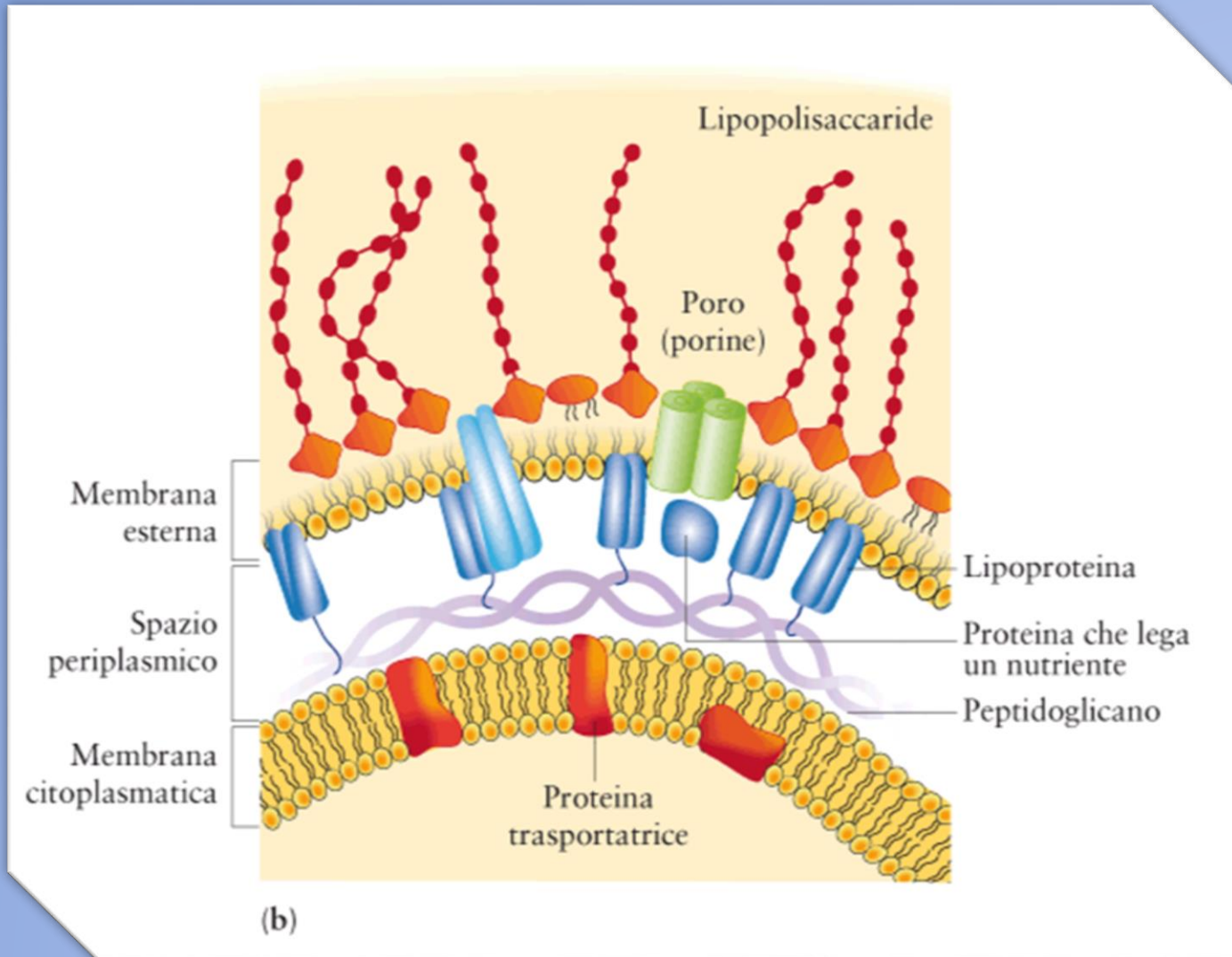
PARETE CELLULARE GRAM NEGATIVI

Al di sopra della m.c. hanno un sottile strato di peptidoglicano (non è garantito transito controllato molecole idrofobiche).

Quindi per proteggere membrana citopl. al di sopra vi è una struttura → membrana esterna, assente nei G+.

La membrana esterna è costituita da proteine, fosfolipidi e lipopolisaccaride (LPS), costituente fondamentale

PARETE CELLULARE GRAM NEGATIVI



PARETE CELLULARE GRAM NEGATIVI

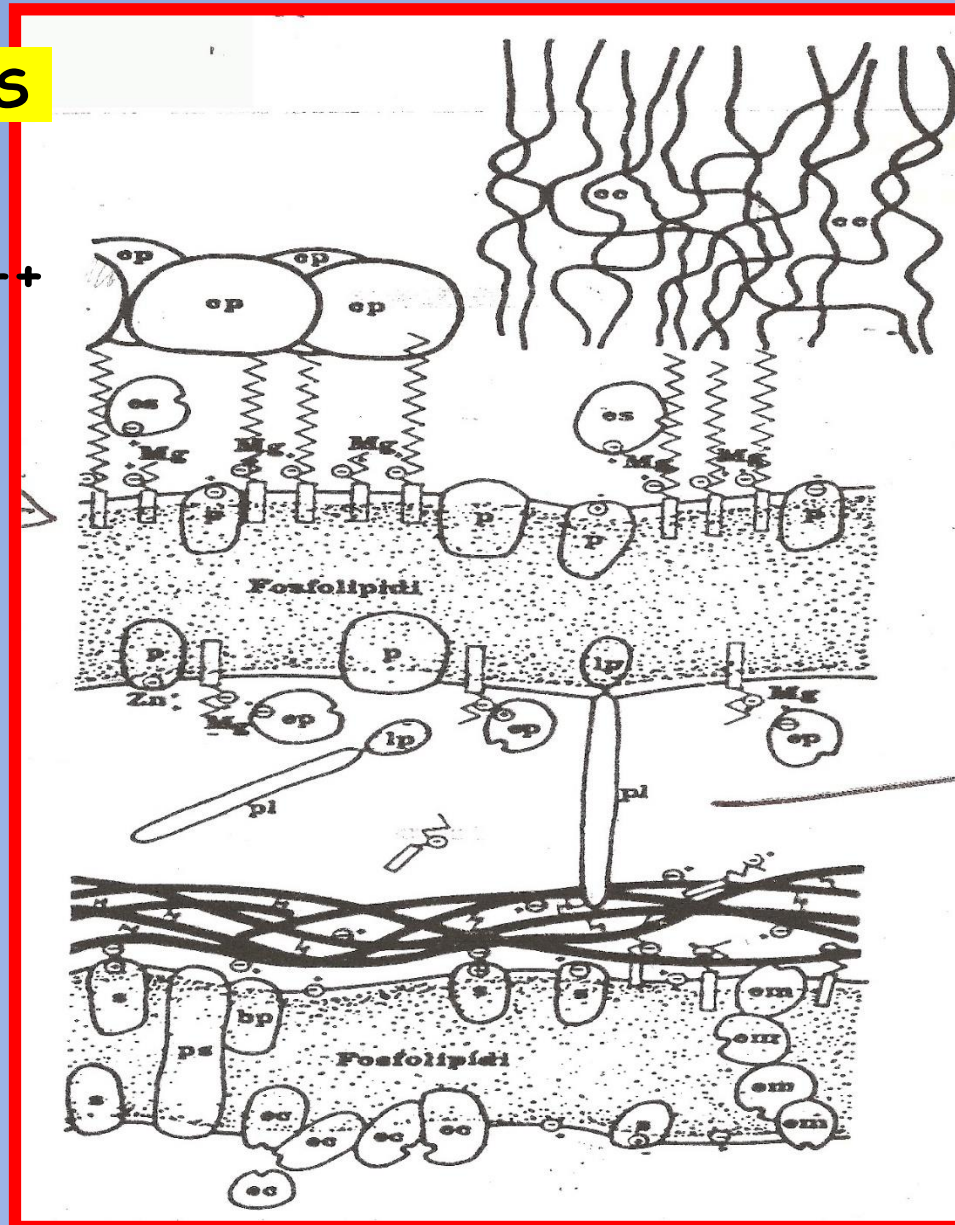
PS+lipideA =LPS

Legame ioni Mg^{++}

Membrana
esterna

Spazio
periplasmico

Membrana
citoplasm



Polisaccaridi (PS)
=antigene O

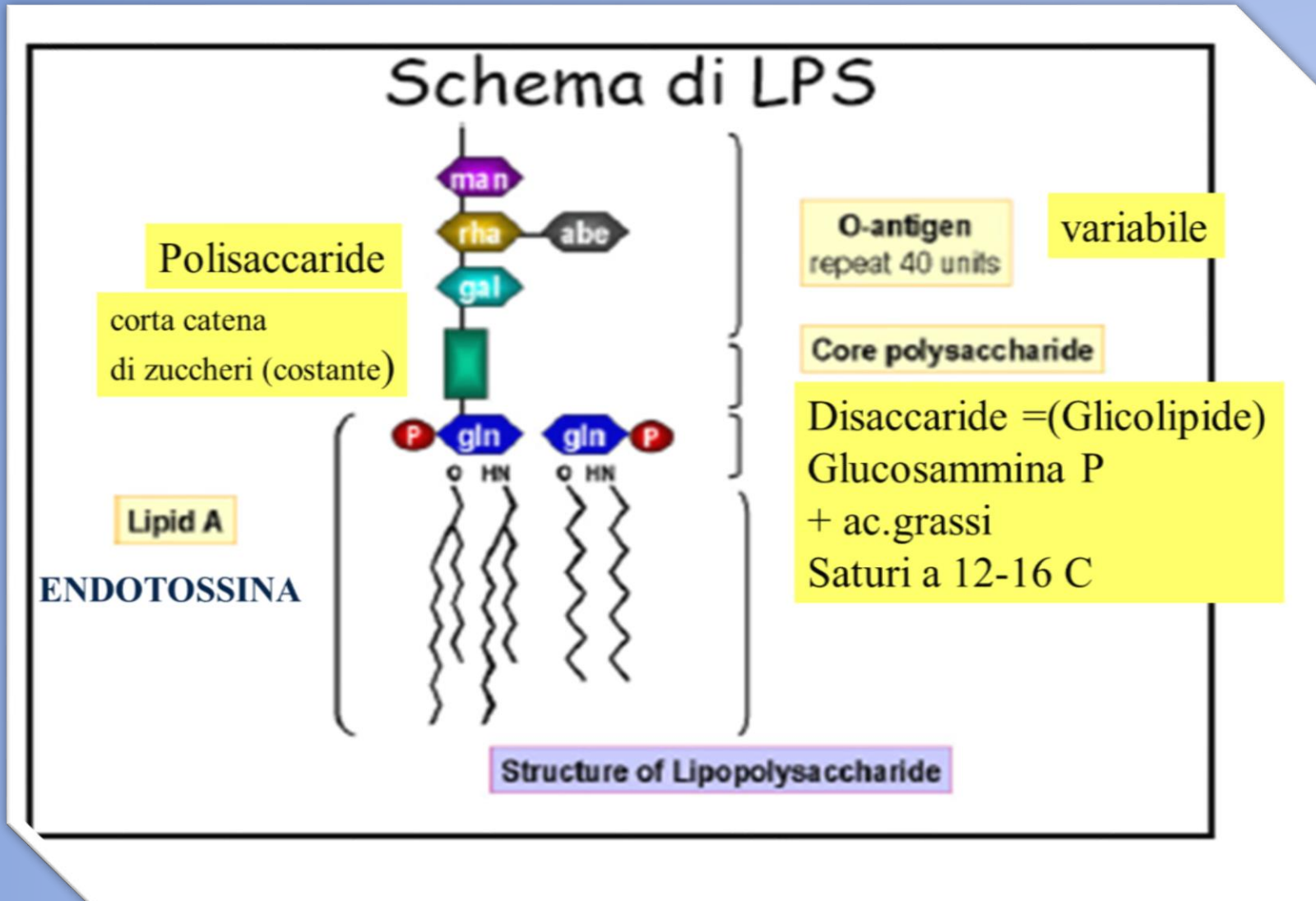
Lipide A
endotossina

Lipoproteine

Peptidoglicano

PARETE CELLULARE GRAM NEGATIVI

Azione pirogena



LPS

Formato da:



Porzione glicolipidica:
glicofosfolipide (lipide A) che si
identifica con l'**endotossina** dei G-,
fattore tossico costitutivo.

È tossico quando viene liberato dal batterio morto
che si lisa. Stimola i fagociti (macrofagi e PMN) a
produrre le citochine. Il lipide A è costituito da 2
zuccheri di cui R1 e R2 possono variare poco.

La variabilità è data dalla

Porzione polisaccaridica: porzione più esterna.

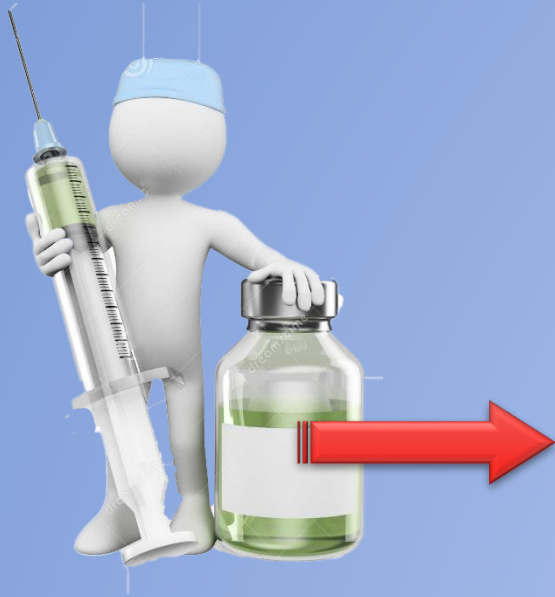
La sequenza di zuccheri è estremamente variabile
anche nell'ambito della stessa specie.

Rappresenta la porzione immunogena della parete.

Le catene di zuccheri sono tenute unite dagli ioni Mg^{++}

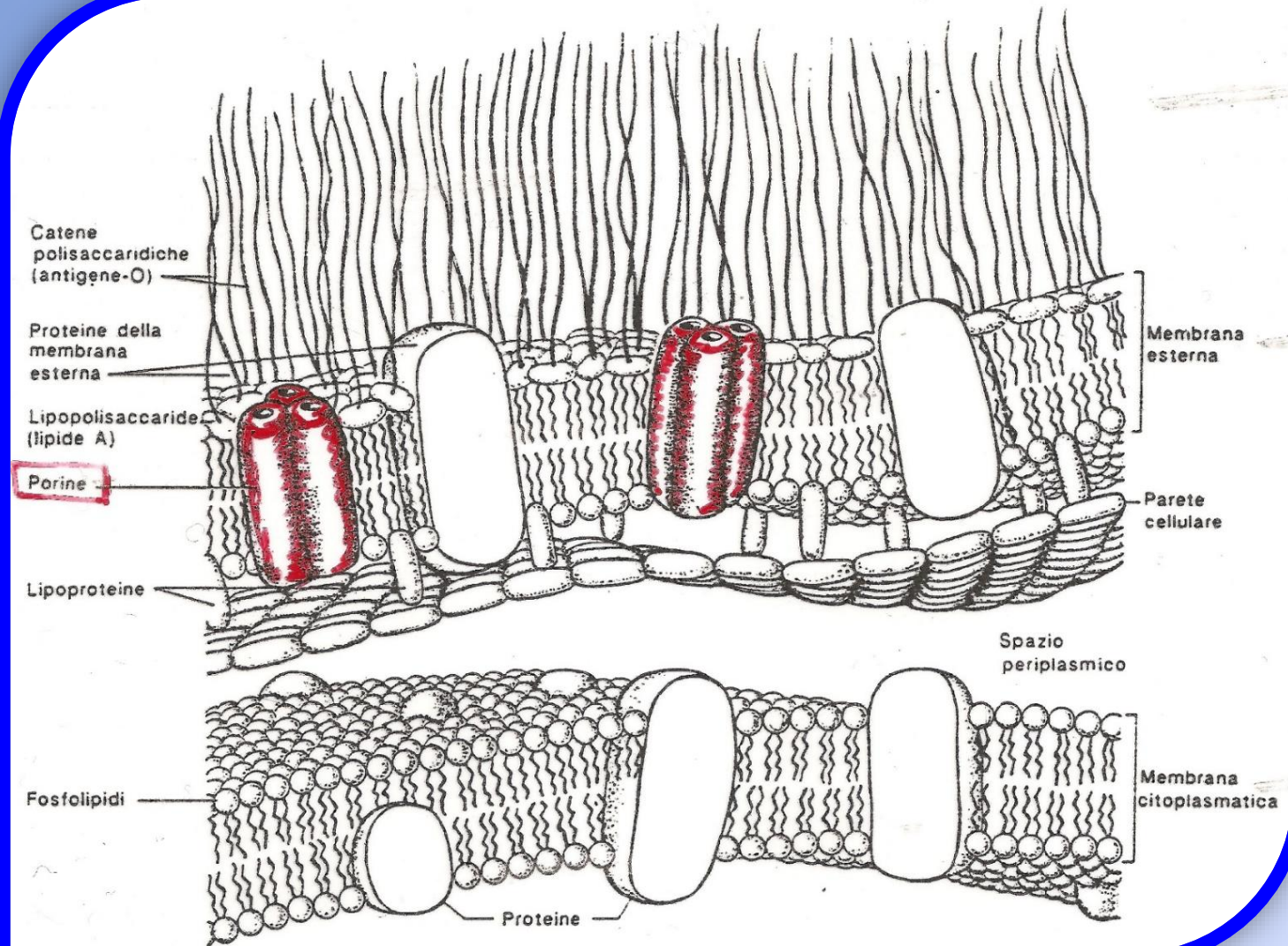
LPS

Formato da:



Core: unisce la parte polisaccaridica al lipide A. E' costituito da zuccheri, di cui l'ultimo è il glucosio, legato dall'acido KDO (ac.cheto-deossi-octonico) allo zucchero del disaccaride (glucosamina) del lipide A.

PORINE GRAM NEGATIVI



PORINE

- ➔ proteine che attraversano la m.e. fino ad arrivare al peptidoglicano
- ➔ formate da tre monomeri uniti a formare un trimero
- ➔ canali che svolgono funzione di permeazione della m.e.
- ➔ proprie esclusivamente dei batteri
- ➔ Si distinguono in:
 - ➔ porine aspecifiche = permettono il passaggio di numerose sostanze
 - ➔ porine specifiche = permettono il passaggio solo di determinate sostanze o fattori (plasmidi, fattori genetici, sostanze nutritive)
- ➔ il poro è di 700 dalton (passano solo antibiotici di semisintesi con PM <, non gli atb naturali con PM >; oppure atb grandi ma flessibili, ad. es. aminoglicosidi)
- ➔ rappresentano anche i meccanismi di resistenza ai farmaci (es. *Pseudomonas aeruginosa* possiede porine mutate → multiresistenza)

SPAZIO PERIPLASMICO



All'esterno della membrana citoplasmatica, ma interno all'organizzazione della cellula. 20-40% volume cellulare



Contiene una sorta di gel di proteine con varie funzioni:



proteine in grado di legare molecole idrofile di basso peso molecolare (zuccheri, aa, ioni) → diffusione passiva



enzimi (*fosfatasi, proteasi, nucleasi*) in grado di degradare le grosse molecole introdotte attraverso i sistemi di trasporto attivo



enzimi in grado di inattivare alcuni farmaci antibatterici (*endo-beta-lattamasi*)

FUNZIONI DELLA PARETE CELLULARE

- **PROTEZIONE MECCANICA** - Attraverso il peptidoglicano
- **PROTEZIONE CHIMICA** – peptidoglicano ed ac.teicoici nei G+; Peptidoglicano e LPS nei G-
- **PROTEZIONE OSMOTICA** – attraverso peptidoglicano
- **CONFERIMENTO DELLA FORMA** specifica attraverso peptidoglicano
- **TRASPORTO** di sostanze specifiche e non, attraverso porine dei G- e maglie peptidoglicano nei G+
- **FUNZIONE IMMUNITARIA** – sulla superficie ci sono molecole di riconoscimento (es. Antigene O, ac. teicoici)

FUNZIONI DELLA PARETE CELLULARE

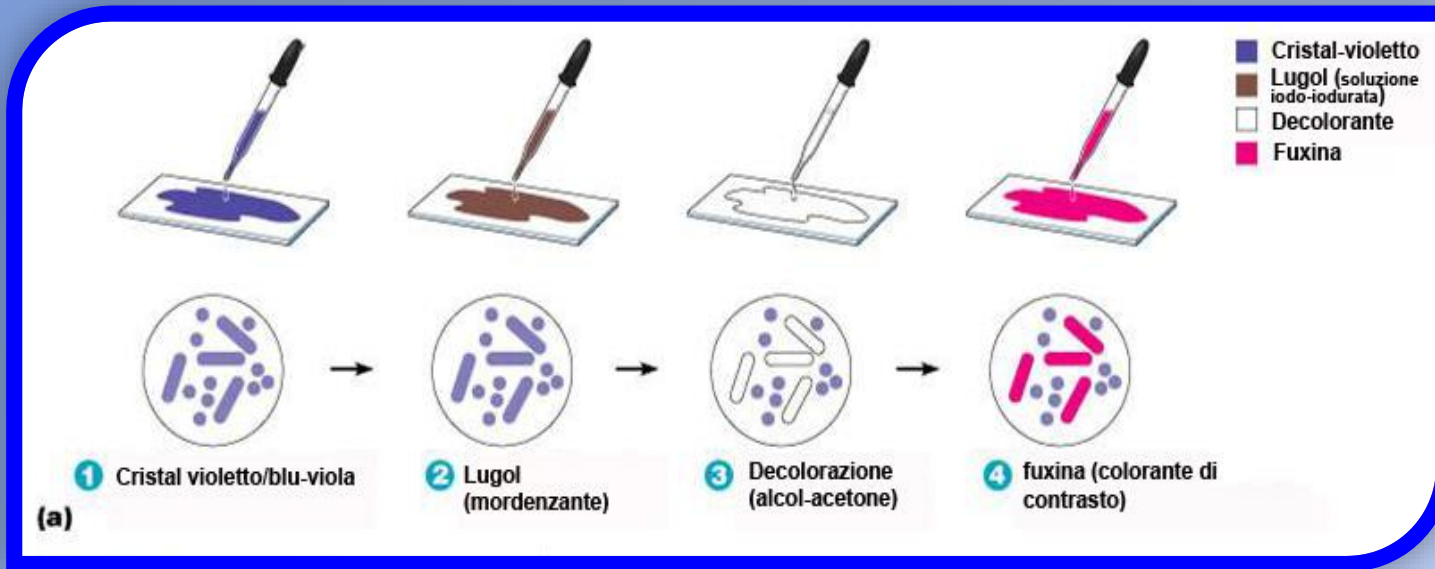
- **FUNZIONE DI VIRULENZA** – tramite LPS dei G-
- **FUNZIONE DI ANCORAGGIO** – flagelli, (adesione:pili, fimbrie)
- **FUNZIONI METABOLICHE** in cui ioni Ca^{++} e Mg^{+} giocano un ruolo fondamentale (G-)
- **RESPONSABILE COLORAZIONE DI GRAM**

COLORAZIONE DI GRAM

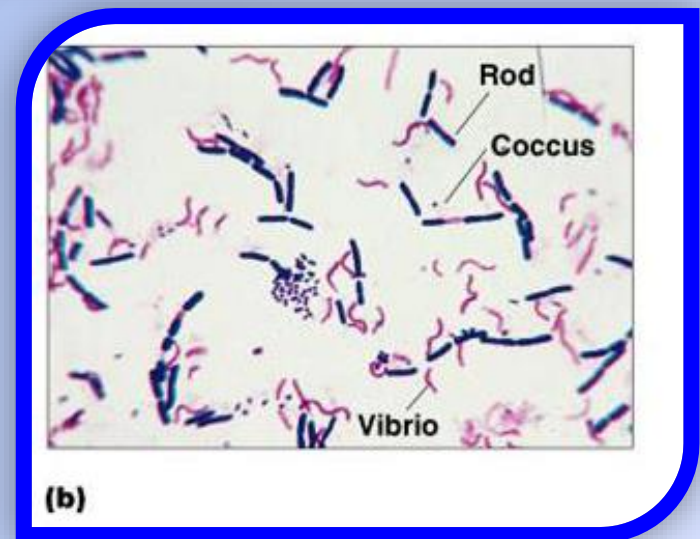
GRAM STAIN



COLORAZIONE DI GRAM



Cristal-violetto e iodio della soluzione di Lugol entrano grazie alla loro idrofilia. Il complesso colorante+iodio è idrofobico e non riesce a riattraversare la parete anche in presenza dei solventi come alcol e acetone



Fasi nella colorazione di Gram

Gram Positive



Gram Negative



Fixation

Crystal violet

Iodine treatment

Decolorization

Counter stain
safranin



Grampositivi

Gramnegativi



*Per qualunque domanda o problema
puoi contattarmi al*

- Tel: **3386428032**
- e-mail: vivian.tullio@unito.it