



A cura di
Gianni Dehò Enrica Galli
Paolo Landini Marco Ventura

Biologia dei microrganismi

Quarta edizione



A cura di
Gianni Dehò Enrica Galli
Paolo Landini Marco Ventura

Biologia dei microrganismi

Quarta edizione

Se vuoi accedere alle risorse online riservate

1. Vai su **my.zanichelli.it**
2. Clicca su *Registrati*.
3. Scegli *Studente*.
4. Segui i passaggi richiesti per la registrazione.
5. Riceverai un'email: clicca sul link per completare la registrazione.
6. Cerca il tuo codice di attivazione stampato sull'etichetta in questa pagina.
7. Inseriscilo nella tua area personale su **my.zanichelli.it**

Se hai già effettuato la registrazione, per accedere ai contenuti riservati ti serve solo il codice di attivazione.

Le edizioni precedenti sono state curate da Gianni Deho ed Enrica Galli.

Diritti riservati

I diritti di pubblicazione, riproduzione, comunicazione, distribuzione, trascrizione, traduzione, noleggio, prestito, esecuzione, elaborazione in qualsiasi forma o opera, di memorizzazione anche digitale e di adattamento totale o parziale su supporti di qualsiasi tipo e con qualsiasi mezzo (comprese le copie digitali e fotostatiche), sono riservati per tutti i paesi. L'acquisto della presente copia dell'opera non implica il trasferimento dei suddetti diritti né li esaurisce.

Fotocopie e permessi di riproduzione

Le fotocopie per uso personale (cioè privato e individuale, con esclusione quindi di strumenti di uso collettivo) possono essere effettuate, nei limiti del 15% di ciascun volume, dietro pagamento alla S.I.A.E. del compenso previsto dall'art. 68, commi 4 e 5, della legge 22 aprile 1941 n. 633. Tali fotocopie possono essere effettuate negli esercizi commerciali convenzionati S.I.A.E. o con altre modalità indicate da S.I.A.E.

Per le riproduzioni ad uso non personale (ad esempio: professionale, economico, commerciale, strumenti di studio collettivi, come dispense e simili) l'editore potrà concedere a pagamento l'autorizzazione a riprodurre un numero di pagine non superiore al 15% delle pagine del presente volume.

Le richieste vanno inoltrate a:

Centro Licenze e Autorizzazioni per le Riproduzioni Editoriali (CLEARedi),
Corso di Porta Romana 108, 20122 Milano
e-mail: autorizzazioni@clearedi.org e sito web: www.clearedi.org

L'autorizzazione non è concessa per un limitato numero di opere di carattere didattico riprodotte nell'elenco che si trova all'indirizzo www.zanichelli.it/chi-siamo/fotocopie-e-permessi

L'editore, per quanto di propria spettanza, considera rare le opere fuori del proprio catalogo editoriale. La loro fotocopia per i soli esemplari esistenti nelle biblioteche è consentita, anche oltre il limite del 15%, non essendo concorrente all'opera. Non possono considerarsi rare le opere di cui esiste, nel catalogo dell'editore, una successiva edizione, né le opere presenti in cataloghi di altri editori o le opere antologiche. Nei contratti di cessione è esclusa, per biblioteche, istituti di istruzione, musei e archivi, la facoltà di cui all'art. 71-ter legge diritto d'autore.

Per permessi di riproduzione, diversi dalle fotocopie, rivolgersi a ufficiocontratti@zanichelli.it

Licenze per riassunto, citazione e riproduzione parziale a uso didattico con mezzi digitali

La citazione, la riproduzione e il riassunto, se fatti con mezzi digitali, sono consentiti (art. 70 bis legge sul diritto d'autore), limitatamente a brani o parti di opera, a) esclusivamente per finalità illustrative a uso didattico, nei limiti di quanto giustificato dallo scopo non commerciale perseguito. (La finalità illustrativa si consegue con esempi, chiarimenti, commenti, spiegazioni, domande, nel corso di una lezione); b) sotto la responsabilità di un istituto di istruzione, nei suoi locali o in altro luogo o in un ambiente elettronico sicuro, accessibili solo al personale docente di

Redazione e indice analitico: Gabriella Piazza

Impaginazione: Claudia Angela Capelli; Edistudio, Milano

Disegni: Giuseppe Maserati (derivati dalle precedenti edizioni), Daniele Gianni (nuovi)

Copertina:

- Progetto grafico: Falcinelli & Co., Roma
- Immagine di copertina: © P.A. McTurk, University of Leicester, & David Parker/Science Photo Library

Prima edizione: gennaio 2012

Seconda edizione: settembre 2014

Terza edizione: dicembre 2018

Quarta edizione: gennaio 2026

Ristampa: **prima tiratura**

5 4 3 2 1 2026 2027 2028 2029 2030

Realizzare un libro è un'operazione complessa, che richiede numerosi controlli: sul testo, sulle immagini e sulle relazioni che si stabiliscono tra essi.

L'esperienza suggerisce che è praticamente impossibile pubblicare un libro privo di errori. Saremo quindi grati ai lettori che vorranno segnalarceli.

Per segnalazioni o suggerimenti relativi a questo libro scrivere al seguente indirizzo:

Zanichelli editore S.p.A.
Via Irnerio 34
40126 Bologna
fax 051293322
e-mail: linea_universitaria@zanichelli.it
sito web: www.zanichelli.it

Prima di effettuare una segnalazione è possibile verificare se questa sia già stata inviata in precedenza, identificando il libro interessato all'interno del nostro catalogo online per l'Università.

Per comunicazioni di tipo commerciale: universita@zanichelli.it

Stampa:

per conto di Zanichelli editore S.p.A.
Via Irnerio 34, 40126 Bologna

tale istituto e agli alunni o studenti iscritti al corso di studi in cui le parti di opere sono utilizzate; c) a condizione che, per i materiali educativi, non siano disponibili sul mercato licenze volontarie che autorizzano tali usi.

Zanichelli offre al mercato due tipi di licenze di durata limitata all'anno accademico in cui le licenze sono concesse:

A) licenze gratuite per la riproduzione, citazione o riassunto di una parte di opera non superiore al 5%. Non è consentito superare tale limite del 5% attraverso una pluralità di licenze gratuite,

B) licenze a pagamento per la riproduzione, citazione, riassunto parziale ma superiore al 5% e comunque inferiore al 40% dell'opera. Per usufruire di tali licenze occorre seguire le istruzioni su www.zanichelli.it/licenzeeductive

L'autorizzazione è strettamente riservata all'istituto educativo licenziatario e non è trasferibile in alcun modo e a qualsiasi titolo.

Garanzie relative alle risorse digitali

Le risorse digitali di questo volume sono riservate a chi acquista un volume nuovo: vedi anche al sito www.zanichelli.it/contatti/acquisti-e-recesso le voci *Informazioni generali su risorse collegate a libri cartacei e Risorse digitali e libri non nuovi*.

Zanichelli garantisce direttamente all'acquirente la piena funzionalità di tali risorse.

In caso di malfunzionamento rivolgersi a assistenza@zanichelli.it

La garanzia di aggiornamento è limitata alla correzione degli errori e all'eliminazione di malfunzionamenti presenti al momento della creazione dell'opera. Zanichelli garantisce inoltre che le risorse digitali di questo volume sotto il suo controllo saranno accessibili, a partire dall'acquisto, per tutta la durata della normale utilizzazione didattica dell'opera. Passato questo periodo, alcune o tutte le risorse potrebbero non essere più accessibili o disponibili: per maggiori informazioni, leggi my.zanichelli.it/fuoricatalogo

Soluzioni degli esercizi e altri svolgimenti di compiti assegnati

Le soluzioni degli esercizi, compresi i passaggi che portano ai risultati e gli altri svolgimenti di compiti assegnati, sono tutelate dalla legge sul diritto d'autore in quanto elaborazioni di esercizi a loro volta considerati opere creative tutelate, e pertanto non possono essere diffuse, comunicate a terzi e/o utilizzate economicamente, se non a fini esclusivi di attività didattica.

Diritto di TDM

L'estrazione di dati da questa opera o da parti di essa e le attività connesse non sono consentite, salvi i casi di utilizzazioni libere ammesse dalla legge. L'editore può concedere una licenza. La richiesta va indirizzata a tdm@zanichelli.it

Intelligenza artificiale e copyright

Nessuna parte di questo libro, incluse le espansioni digitali, può essere immessa in sistemi di intelligenza artificiale (siano essi chatbot o piattaforme che utilizzano l'IA per la creazione di materiali didattici o di altro tipo) senza il consenso scritto dell'editore.

Indice sintetico

PARTE A

Struttura e funzioni delle cellule procariote

- Capitolo 1** Alla scoperta del mondo microbico
- Capitolo 2** La cellula

PARTE B

Crescita microbica e metabolismo

- Capitolo 3** Nutrizione e crescita microbica
- Capitolo 4** Metabolismo microbico
- Capitolo 5** Energia dalle trasformazioni chimiche: chemiotrofia
- Capitolo 6** Energia dalla luce: procarioti fototrofi
- Capitolo 7** Assimilazione, biosintesi e cicli biogeochimici degli elementi

PARTE C

Genetica batterica e biologia molecolare

- Capitolo 8** Genoma dei procarioti
- Capitolo 9** Trasmissione dell'informazione genetica
- Capitolo 10** Plasticità del genoma batterico: trasferimento genico orizzontale
- Capitolo 11** Trascrizione e traduzione
- Capitolo 12** Regolazione dell'espressione genica
- Capitolo 13** Divisione cellulare e differenziamento

PARTE D

Eredità infettiva: i virus

- Capitolo 14** Che cosa sono i virus
- Capitolo 15** Batteriofagi, i virus dei batteri
- Capitolo 16** I virus degli eucarioti

PARTE E

Genomica e sistematica

- Capitolo 17** Analisi globale delle cellule microbiche: le discipline omiche
- Capitolo 18** Sistematica e filogenesi dei microrganismi

PARTE F

Microrganismi in ambienti naturali e interazioni con altri organismi

- Capitolo 19** Microbiologia ambientale ed ecologia microbica
- Capitolo 20** Interazioni tra batteri: strategie di cooperazione e competizione
- Capitolo 21** Interazioni dei microrganismi con gli organismi vegetali
- Capitolo 22** Il microbiota
- Capitolo 23** Interazioni con gli organismi animali: la patogenesi

PARTE G

Meccanismi di difesa dell'ospite **DISPONIBILE IN DIGITALE**

- Capitolo 24** Immunità innata
- Capitolo 25** Immunità adattativa

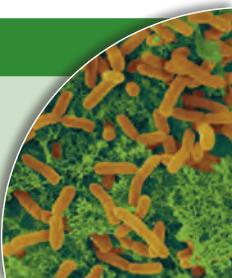
Indice generale

Strumenti di lettura e digitali	XX	1.4.1 Microrganismi come agenti di malattie e come produttori di farmaci antibatterici	14
Prefazioni	XXII	1.5 Microrganismi e trasformazione della sostanza organica	15
Autrici e autori	XXV	1.6 Sviluppo della microbiologia come scienza di base e applicata	16
PARTE A		1.7 Aree specialistiche della microbiologia	18
Struttura e funzioni delle cellule procariote		Scheda 1.1 I postulati di Koch	15
		Scheda 1.2 Alcune tappe significative nella storia della microbiologia	17
1 Alla scoperta del mondo microbico	2	2 La cellula	19
di Gianni Dehò ed Enrica Galli		di Paola Quatrini, Alessandra Polissi, Anna Maria Puglia, Anna Maria Sanangelantoni ed Ezio Ricca	
1.1 Il mondo dei microrganismi	3	LA CELLULA	
1.1.1 Cellula, organismo vivente, microrganismo	3	2.1 La cellula procariote [di Paola Quatrini]	20
1.1.2 Limiti della crescita e riciclo della materia	4	2.1.1 Differenze e similitudini tra cellula procariote e cellula eucariote	20
1.1.3 Unità e diversità del mondo vivente	4	2.1.2 Differenze e similitudini tra batteri e archei	21
1.1.4 Procarioti-eucarioti, Bacteria-Archaea	5	2.1.3 Morfologia, dimensioni e organizzazione delle cellule procariote	21
1.1.5 Organismi modello e diversità micobica	6	2.1.4 Morfogenesi delle cellule batteriche	22
1.2 Come si costruisce una cellula	6	MEMBRANE E PARETI	
1.2.1 Materia-energia-informatione	6	2.2 Rivestimento delle cellule procariote	23
1.2.2 Dalle molecole semplici alle strutture sopramolecolari	7	[di Alessandra Polissi]	
• Approvvigionamento di energia		2.2.1 Membrana plasmatica	25
• Approvvigionamento di carbonio		• Composizione e struttura della membrana plasmatica nei batteri • Membrana plasmatica negli Archaea	
• Approvvigionamento di azoto		2.2.2 Funzioni della membrana plasmatica	29
1.2.3 Accrescimento e divisione	9	• Barriera selettiva • Produzione di energia • Trasduzione del segnale • Biosintesi di componenti cellulari	
1.3 Dalla microbiologia inconsapevole alla scoperta dei microrganismi	9	2.3 Parete batterica [di Paola Quatrini]	34
1.3.1 Confutazione della teoria della generazione spontanea	10	2.3.1 Sacculo di mureina	34
1.3.2 Sviluppo delle tecniche di base per lo studio dei microrganismi	12		
1.4 Microrganismi e ambiente	13		

2.3.2	Peptidoglicano	36	2.10.5	Endoflagelli delle spirochete	84	
2.3.3	Biosintesi del peptidoglicano e accrescimento della parete mureinica • 1° stadio • 2° stadio • 3° stadio	37	2.10.6	Flagelli degli Archaea	84	
2.3.4	Biogenesi della parete mureinica	48	2.11	Pili (fimbrie)	85	
2.3.5	Parete dei batteri Gram positivi	49	CITOPLASMA E SUOI COMPONENTI			
2.4	Parete dei batteri Gram negativi	51	[di Paola Quatrini e Anna Maria Puglia]			
2.4.1	Periplasma	51	2.12	Citoplasma	87	
2.4.2	Membrana esterna: struttura, composizione e funzioni	52	2.12.1	Ribosomi	88	
2.4.3	Biogenesi della membrana esterna	54	2.12.2	Nucleoide	88	
2.4.4	Trasporto delle proteine integrali della membrana esterna	54	2.13	Corpi di inclusione	88	
2.4.5	Trasporto delle lipoproteine	55	2.13.1	Granuli di riserva	88	
2.4.6	Trasporto del lipopolisaccaride	56	2.13.2	Microcomparti cellulari	89	
2.5	Altri tipi di parete nei Bacteria [di Paola Quatrini]	57	2.13.3	Magnetosomi	90	
2.6	Parete cellulare negli Archaea	62	2.13.4	Vescicole gassose	90	
[di Anna Maria Sanangelantoni]			DIFFERENZIAMENTO CELLULARE NEI BATTERI			
2.7	Capsula e altri rivestimenti esterni	63	[di Ezio Ricca]			
[di Anna Maria Puglia]			2.14	Endospore batteriche	91	
2.7.1	Strato S	63	2.14.1	Sporulazione	94	
2.7.2	Capsule e polisaccaridi extracellulari	64		• Induzione della sporulazione • Formazione del setto di divisione asimmetrico		
						• Inglobamento della prespora • Formazione della corteccia • Formazione del rivestimento esterno • Maturazione e rilascio della spora • Germinazione
BIOGENESI DEI RIVESTIMENTI BATTERICI E SECREZIONE DI MACROMOLECOLE						
[di Alessandra Polissi]			2.14.2	Struttura della spora	97	
2.8	Sistema di secrezione Sec e sue diramazioni Sec-dipendenti	66	Scheda 2.1	<i>La colorazione di Gram</i>	24	
2.8.1	Indirizzamento delle proteine alla membrana interna	67	Scheda 2.2	<i>Monodermi e didermi</i>	25	
2.8.2	Indirizzamento delle proteine all'ambiente extracellulare • Sistema di secrezione di tipo II • Sistema di secrezione a due partner • Sistema dell'autotrasporto (sistema di secrezione di tipo V) • Secrezione attraverso la via chaperon/uscire	68	Scheda 2.3	<i>Antibiotici che agiscono sulle membrane</i> [di Stefania Stefani e Margherita Sosio]	30	
2.9	Sistemi di secrezione indipendenti da Sec	71	Scheda 2.4	<i>Antibiotici inibitori della sintesi del peptidoglicano</i> [di Stefania Stefani e Margherita Sosio]	40	
2.9.1	Trasporto attraverso la membrana plasmatica di proteine ripiegate: il sistema Tat	71	Scheda 2.5	<i>I batteri Gram positivi (monodermi)</i> [di Anna Maria Sanangelantoni]	50	
2.9.2	Trasportatori ABC	71	Scheda 2.6	<i>I micobatteri</i> [di Anna Maria Sanangelantoni]	57	
2.9.3	Sistema di secrezione di tipo III	73	Scheda 2.7	<i>La colorazione di Ziehl-Neelsen (acido-resistenza)</i>	59	
2.9.4	Sistema di secrezione di tipo IV	75	Scheda 2.8	<i>Antibiotici antimicobatterici per il trattamento della tubercolosi</i> [di Margherita Sosio]	59	
2.9.5	Sistema di secrezione di tipo VI	76	Scheda 2.9	<i>I micoplasmi: batteri Gram positivi senza parete</i> [di Anna Maria Sanangelantoni]	61	
APPENDICI ESTERNE [di Anna Maria Puglia]						
2.10	Flagelli	79	Scheda 2.10	<i>Le clamidie: batteri Gram negativi senza parete mureinica</i> [di Anna Maria Sanangelantoni]	62	
2.10.1	Struttura del flagello	80	Scheda 2.11	<i>Le vescicole extracellulari</i>	78	
2.10.2	Movimento dei flagelli	80	Scheda 2.12	<i>Differenziamento e sviluppo batterico</i>	92	
2.10.3	Chemiotassi	81	Scheda 2.13	<i>La colorazione delle spore (metodo di Schaeffer-Fulton o verde malachite)</i>	94	
2.10.4	Biosintesi del flagello	83	Scheda 2.14	<i>Insetticidi e tossine entomopatogene di <i>Bacillus thuringiensis</i></i> [di Anna Maria Sanangelantoni ed Ezio Ricca]	97	

PARTE B

Crescita microbica e metabolismo



3 Nutrizione e crescita microbica 100

di Ezio Ricca, Loredana Baccigalupi,
Stefania Stefani e Margherita Sosio

PRINCIPI DI NUTRIZIONE MICROBICA

[di Ezio Ricca e Loredana Baccigalupi]

3.1 Composizione elementare delle cellule 101

- 3.1.1 I sei elementi che costituiscono le macromolecole biologiche
 - Carbonio • Ossigeno e idrogeno • Azoto
 - Fosforo • Zolfo • Selenio • Altri elementi

3.2 Categorie nutrizionali 105

- 3.2.1 Fattori di crescita: prototrofia e auxotrofia 106

3.3 Assimilazione dei nutrienti: trasporto di molecole dall'ambiente 106

- 3.3.1 Trasporto passivo 107
- 3.3.2 Trasporto attivo primario e secondario 108
- 3.3.3 Trasporto con traslocazione di gruppo 109
- 3.3.4 Idrolisi extracellulare di macromolecole e trasporto dei prodotti di degradazione 110

3.4 Terreni di coltura 110

- 3.4.1 Terreni minimi e complessi 110
- 3.4.2 Terreni solidi 111
- 3.4.3 Uso dei terreni solidi per l'isolamento di colture pure 112
- 3.4.4 Terreni arricchiti, selettivi e differenziali 114

CRESCITA DELLE POPOLAZIONI MICROBICHE

3.5 Come si determina la concentrazione di microrganismi in una coltura 116

- 3.5.1 Determinazione della biomassa: peso secco 116
- 3.5.2 Misurazione della torbidità di una coltura 116
- 3.5.3 Conta totale 117
- 3.5.4 Conta vitale 117

3.6 Analisi della crescita microbica 119

- 3.6.1 Descrizione matematica della crescita per divisione binaria 119
- 3.6.2 Rappresentazione grafica della crescita batterica 120

- 3.6.3 Analisi della curva di crescita di una popolazione microbica
 - Fase di latenza • Fase di crescita esponenziale • Fase stazionaria • Fase di morte
- 3.6.4 Crescita diauxica 122
- 3.6.5 Crescita continua: il chemostato 123

3.7 Fattori che influenzano la crescita microbica

- 3.7.1 Temperatura 124
- 3.7.2 pH 126
- 3.7.3 Disponibilità di acqua
 - Alofilia e alotolleranza
- 3.7.4 Disponibilità di ossigeno 128
- 3.7.5 Colture microbiche aerobie e anaerobie 129
- 3.7.6 Microrganismi "non (ancora) coltivabili" 130

CONTROLLO E INIBIZIONE DELLA CRESCITA MICROBICA [di Ezio Ricca e Loredana Baccigalupi]

- 3.8 Metodi fisici 131
 - 3.8.1 Calore 131
 - 3.8.2 Radiazioni 133
 - 3.8.3 Filtrazione 133

3.9 Metodi chimici 134

ANTIBIOTICI [di Stefania Stefani e Margherita Sosio]

- 3.10 Antibiotici 136
 - 3.10.1 Effetti degli antibiotici sul microrganismo 136
 - 3.10.2 Saggi di sensibilità agli antibiotici 138
 - Metodo di diffusione in agar • Metodo delle diluizioni in brodo: stima della MIC
 - 3.10.3 Spettro d'azione, tolleranza intrinseca e resistenza acquisita 139
 - 3.10.4 Meccanismi d'azione dei principali antibiotici 139

- **Scheda 3.1** Descrizione matematica della crescita esponenziale 121
- **Scheda 3.2** Il metabolismo secondario: ruolo fisiologico e interesse applicativo 137
- **Scheda 3.3** Antibiotici: uso clinico e conseguenze ecologiche 142

Scheda Web 3.1 Vie biosintetiche dei metaboliti secondari

Scheda Web 3.2 Alla ricerca di nuove molecole bioattive da microrganismi

4 Metabolismo microbico 144

di Anna Maria Sanangelantoni e Davide Zannoni

- 4.1 Principali forme di energia utile nelle reazioni biologiche 145
 - 4.1.1 Energia libera e potenziali di ossidoriduzione 145

4.2 Reazioni di ossidoriduzione biologica	147	5.2.2 Respirazione anaerobia dei batteri chemioeterotrofi	180
4.2.1 Potenziali di riduzione	147	• Nitrato come accettore finale di elettroni	
4.2.2 Scala dei potenziali redox	149	• Solfato come accettore finale di elettroni (riduzione dissimilativa del sulfato) • Fe ³⁺	
4.2.3 Trasportatori di elettroni	149	e altri possibili accettori di elettroni organici e inorganici • Metanogenesi e acetogenesi	
4.3 ATP e altri composti ad alta energia	152		
4.4 Sintesi di ATP	152	5.3 Diversità delle fonti organiche di energia	185
4.4.1 Fosforilazione a livello del substrato	152	5.3.1 Catabolismo dei carboidrati	189
4.4.2 Fosforilazione a livello di membrana	153	5.3.2 Catabolismo dei lipidi	190
• Catena di trasporto di elettroni dei batteri chemioeterotrofi		5.3.3 Catabolismo di proteine e amminoacidi	190
• Catena di trasporto di elettroni nella fotofosforilazione		5.3.4 Energia da composti organici a un atomo	
		di carbonio: metilotrofia	191
4.5 ATP sintasi e sintesi di ATP a livello di membrana	156	5.3.5 Catabolismo degli idrocarburi	
		e dei composti xenobiotici	196

Scheda Web 4.1 Lo stato di ossidazione di un elemento**Scheda Web 4.2** Energia libera di Gibbs e calcolo del potenziale elettrico**Scheda Web 4.3** Pirofosfati e polifosfati per la produzione di ATP

5 Energia dalle trasformazioni chimiche: chemiotrofia 157

di Anna Maria Sanangelantoni e Davide Zannoni

ENERGIA DALLA DEGRADAZIONE DI SOSTANZE ORGANICHE: I BATTERI CHEMIORGANOTROFI

5.1 Metabolismo fermentativo	159
5.1.1 Degradazione del glucosio ad acido piruvico	160
• Glicolisi • Via di Entner-Doudoroff	
• Ossidazione del glucosio attraverso la via del pentoso fosfato • Riossidazione del NADH e riduzione del piruvato	
5.1.2 Fermentazione lattica	162
• Fermentazione omolattica	
• Fermentazione eterolattica	
• Fermentazione dei bifidobatteri	
5.1.3 Fermentazione alcolica (lieviti e batteri)	167
5.1.4 Fermentazione acido-mista e 2,3-butandiolica degli enterobatteri	169
5.1.5 Fermentazione propionica	173
5.1.6 Fermentazione butirrica e acetonbutanolica dei clostridi e altre fermentazioni	173
• Fermentazione omoacetica dei clostridi	
• Fermentazione degli aminoacidi	
5.2 Metabolismo respiratorio	178
5.2.1 Respirazione aerobia dei batteri chemioeterotrofi	178
• Ciclo degli acidi tricarbossilici	
• Vie anaplerotiche	

ENERGIA DA REAZIONI DI OSSIDAZIONE DI COMPOSTI INORGANICI

5.4 Microrganismi chemiolitotrofici	199
5.4.1 Ossidazione dell'idrogeno molecolare: batteri H₂-ossidanti	199
5.4.2 Ossidazione dei composti ridotti dello zolfo: batteri zolfo-ossidanti o solfabatteri	200
5.4.3 Ossidazione del ferro (Fe²⁺): batteri ferro-ossidanti	202
5.4.4 Ossidazione dell'azoto: batteri nitrificanti	203
5.4.5 Batteri "comammox": <i>Nitrospira inopinata</i>, un chemiolitoautotrofo che ossida l'ammonio a nitrato	204
5.4.6 Ossidazione anaerobia dell'azoto: batteri "anammox"	205

Scheda 5.1 I batteri lattici	164
Scheda 5.2 I bifidobatteri	165
Scheda 5.3 Zymomonas e la fermentazione alcolica	169
Scheda 5.4 I batteri enterici	170
Scheda 5.5 I clostridi	176
Scheda 5.6 La fermentazione acetica: un'ossidazione incompleta	176
Scheda 5.7 Metanogenesi e acetogenesi	186
Scheda 5.8 I batteri metofili	193
Scheda 5.9 Pseudomonadaceae e Pseudomonas	197

6 Energia dalla luce: procarioti fototrofi 207

di Davide Zannoni e Anna Maria Sanangelantoni

6.1 Luce e vita sulla Terra	207
6.2 Diversità metabolica degli organismi fototrofi	208
6.3 Diversità dei sistemi fotosintetici	209

6.4	Pigmenti fotosintetici e membrane fotosintetiche	210	7.3	Assimilazione dell'azoto	236
6.5	Fototrofia basata su clorofilla e batterioclorofilla: pompe protoniche secondarie	212	7.3.1	Assimilazione dell'ammoniaca	236
6.6	Fotosintesi anossigenica	214	7.3.2	Assimilazione del nitrato	238
6.6.1	Ciclo fotosintetico secondario, fotofosforilazione e sintesi di NADH	214	7.3.3	Fissazione dell'azoto	238
6.7	Cianobatteri e fotosintesi ossigenica	216	7.4	Assimilazione di zolfo, fosforo e ferro	241
6.7.1	Flusso di elettroni nella fotosintesi ossigenica	216	7.4.1	Zolfo	241
6.7.2	Sintesi di ATP (flusso ciclico e non ciclico)	217	7.4.2	Fosforo	242
6.8	Aspetti tassonomici e fisiologici dei batteri fotosintetici	218	7.4.3	Ferro	242
6.8.1	Phylum Cyanobacteriota (cianobatteri)	218	7.5	Strategie delle vie biosintetiche	243
6.8.1.1	• Strutture cellulari e differenziamento		7.5.1	Biosintesi degli amminoacidi e dei nucleotidi	243
6.8.1.2	• Fisiologia e metabolismo • Ecologia dei cianobatteri		7.5.2	Sintesi dei lipidi	245
6.8.2	Phylum Pseudomonadota	223	7.5.3	Biosintesi delle sostanze di riserva del carbonio	246
6.8.3	Clado dei batteri aerobi che contengono batterioclorofile	225	7.6	Cicli biogeochimici: carbonio, azoto, zolfo, fosforo e ferro	246
6.8.4	Phylum Chlorobiota (batteri verdi sulfurei)	225	7.6.1	Il ciclo del carbonio	247
6.8.5	Phylum Chloroflexota (batteri verdi non sulfurei)	226	7.6.2	Il ciclo dell'azoto	248
6.8.6	Phylum Bacillota	226	7.6.2.1	• 1. Fissazione dell'azoto • 2. Riduzione dissimilativa del nitrato ad ammonio (DNRA)	
6.8.7	Phylum Acidobacteriota	226	7.6.2.2	• 3. Mineralizzazione della materia organica con liberazione di ammoniaca	
6.8.8	Phylum Gemmatimonadota	227	7.6.2.3	• 4. Nitrificazione • 5. Ossidazione completa dell'ammoniaca a nitrato (comammox)	
6.9	Fototrofia basata sulla batteriorodopsina: pompe protoniche primarie	227	7.6.2.4	• 6. Denitrificazione aerobia e/o anaerobica	
6.9.1	Fototrofia negli archei	227	7.6.2.5	• 7. Riduzione dei nitriti con ossidazione anaerobia dell'ammonio (anammox)	
6.9.2	Rodopsine nei procarioti	227	7.6.3	Il ciclo dello zolfo	252
6.10	Microrganismi con doppia fototrofia: coesistenza di RC-BR e RC-Bchl	228	7.6.4	Il ciclo del fosforo	254
Scheda Web 6.1	Genetica della fotosintesi anossigenica e risposta all'ossigeno e alla luce		7.6.5	Il ciclo del ferro	254
■ Scheda 7.1	L'azotofissazione	239	■ Scheda 7.2	Sulfamidici e analoghi dell'acido folico [di Margherita Sosio]	244

7 Assimilazione, biosintesi e cicli biogeochimici degli elementi

230

di Anna Maria Sanangelantoni e Davide Zannoni

7.1	Come i procarioti si procurano il carbonio: eterotrofia	232
7.1.1	Gluconeogenesi	232
7.2	Come i procarioti si procurano il carbonio: autotrofia	232
7.2.1	Ciclo di Calvin	233
7.2.2	Ciclo riduttivo del TCA e ciclo dell'idrossipropionato	235

PARTE C

Genetica batterica e biologia molecolare



8 Genoma dei procarioti

258

di Luciano Paolozzi

8.1	Nucleoide	259
8.1.1	Struttura fisica del nucleoide	259
8.1.1.1	• Proprietà topologiche del DNA	
8.1.2	Architettura del cromosoma batterico	262
8.1.2.1	• Numero, struttura e dimensioni dei cromosomi batterici • Organizzazione genetica del cromosoma • Caratteristiche dell'organizzazione del cromosoma	

8.2 Elementi genetici accessori	270	9.4 Terminazione e risoluzione (separazione) dei nuovi cromosomi	293
8.2.1 Plasmidi	270	9.5 Replicazione negli Archaea	294
• Replicone plasmidico: gruppi di incompatibilità, esclusione e spettro d'ospite			
8.2.2 Elementi genetici trasponibili: sequenze IS e trasposoni	276		
• Elementi IS • Trasposoni compositi e trasposoni semplici • Altri elementi trasponibili			
8.2.3 Elementi virali	278	RICOMBINAZIONE	
8.2.4 Integroni	278	9.6 Ricombinazione omologa	297
8.2.5 Retroelementi procarioti	279	9.7 Ricombinazione negli Archaea	298
8.2.6 Ruolo degli elementi genetici accessori nell'evoluzione batterica	279	9.8 Ricombinazione non omologa	298
8.3 Mappe genetiche dei procarioti	280	9.8.1 Ricombinazione sito-specifica	298
8.4 Genoma degli Archaea	282	• Enzimi e bersagli della ricombinazione sito-specifica • Ricombinazione additiva del DNA dei batteriofagi temperati e altri elementi genetici • Inversione programmata di sequenze di DNA e regolazione dell'espressione genica a livello di popolazione	
Scheda 8.1 Lo stato topologico del DNA	261	9.8.2 Trasposizione	303
Scheda 8.2 Il genoma di Borrelia burgdorferi	264	• Caratteristiche generali della trasposizione • Meccanismo molecolare della trasposizione nei procarioti	
Scheda 8.3 Corrispondenza tra complessità metabolica e dimensioni del genoma	266	INTEGRITÀ DELL'INFORMAZIONE GENETICA E GENERAZIONE DI MUTAZIONI	
Scheda 8.4 La scoperta dei plasmidi che conferiscono resistenza agli antibiotici	271		
Scheda 8.5 Architetture diverse dei genomi dei procarioti	273	9.9 Mutanti batterici	305
Scheda 8.6 Esempi di plasmidi modello	274	9.10 Natura delle mutazioni ed eventi che ne provocano l'insorgenza	307
Scheda Web 8.1 La membrana nucleare del batterio Gemmata obscuriglobus e l'origine del nucleo degli eucarioti		9.10.1 Errori di replicazione e mutazioni dirette	308
Scheda Web 8.2 Proteine strutturali NAP e SMC e condensazione del DNA		9.10.2 Mutazioni che derivano da danni al DNA	309
Scheda Web 8.3 Metodi per identificare i plasmidi			
Scheda Web 8.4 Un esperimento di trasposizione		9.11 Meccanismi di riparazione che mantengono l'integrità dell'informazione genetica	310
		9.11.1 Rettifica di misappaiamenti	310
		9.11.2 Riparazione dei danni del DNA	311
		• Coordinamento dei sistemi di riparazione dei danni al DNA: il sistema SOS	
9 Trasmissione dell'informazione genetica	283	9.12 Frequenza delle mutazioni spontanee	311
di Luciano Paolozzi		9.12.1 Controllo della fedeltà nella trasmissione dell'informazione genetica	313
		9.12.2 Ipermutazione	314
REPLICAZIONE DEL DNA		9.13 Mutazioni, selezione e adattamento batterico	314
9.1 Proteine della replicazione	286	9.13.1 Test di fluttuazione di Luria e Delbrück (1943)	315
9.2 Inizio della replicazione	286	9.14 Mutazioni post-adattative	318
9.2.1 Origine di replicazione di Escherichia coli	288		
• Proteina DnaA		Scheda 9.1 Le DNA polimerasi	287
9.2.2 Inizio e meccanismi di controllo della replicazione	290	Scheda 9.2 La regolazione dell'inizio della replicazione nei batteri	290
9.3 Innesco della sintesi e allungamento del DNA	291	Scheda 9.3 Antibiotici inibitori della replicazione del DNA [di Stefania Stefani e Margherita Sosio]	294
• Replisoma • Attività congiunta della DNA elicasi e della primasi • Progressione del replisoma lungo il DNA • Fedeltà della replicazione durante l'allungamento			

Scheda 9.4	Inversione geneticamente programmata di segmenti genomici come meccanismo di regolazione genica	301	10.3.5	Significato biologico della competenza	336
Scheda 9.5	Strategie di sopravvivenza al danno del DNA in <i>Deinococcus radiodurans</i>	312	10.3.6	Competenza artificiale	336
Scheda 9.6	<i>I batteri e la sconfitta della roccaforte del lamarckismo</i>	315	10.4	Trasduzione	336
Scheda Web 9.1	<i>Pol I, l'enzima Eureka e le altre DNA polimerasi</i>		10.4.1	Trasduzione generalizzata	337
Scheda Web 9.2	<i>Altre proteine necessarie per la replicazione</i>		10.4.2	Trasduzione specializzata	338
Scheda Web 9.3	<i>Il primosoma nei batteri</i>		10.5	Trasferimento genico orizzontale in natura	339
Scheda Web 9.4	<i>L'inizio della replicazione nei batteri con più cromosomi</i>		10.5.1	Coniugazione	339
Scheda Web 9.5	<i>L'assemblaggio ciclico della primasi e DNA polimerasi III sul lagging strand e sintesi dei frammenti di Okazaki</i>		10.5.2	Trasformazione	340
Scheda Web 9.6	<i>La replicazione dei cromosomi lineari</i>		10.5.3	Trasduzione	340
Scheda Web 9.7	<i>La replicazione degli elementi extracromosomali e il suo controllo</i>		10.5.4	Barriere contro il trasferimento genico orizzontale	341
Scheda Web 9.8	<i>Modelli e meccanica della ricombinazione omologa</i>		10.5.5	Integrazione di DNA estraneo nel genoma batterico	341
Scheda Web 9.9	<i>L'evoluzione dei modelli di ricombinazione: dalla "scelta della copia" alla "rottura a doppia elica"</i>		10.5.6	Ruolo del trasferimento genico orizzontale nell'evoluzione	342
Scheda Web 9.10	<i>L'integrazione di λ</i>		Scheda 10.1	<i>La scoperta della coniugazione e della ricombinazione nei batteri</i>	323
Scheda Web 9.11	<i>Meccanismi di trasposizione nei procarioti</i>		Scheda 10.2	<i>La scoperta della trasformazione: un esempio del carattere imprevedibile del percorso scientifico</i>	332
Scheda Web 9.12	<i>Agenti mutageni</i>		Scheda 10.3	<i>La competenza: uno stato fisiologico regolato e transiente nelle cellule batteriche</i>	335
Scheda Web 9.13	<i>Meccanismi di riparazione dei danni al DNA</i>			Scheda Web 10.1 <i>I meccanismi della coniugazione</i>	
Scheda Web 9.14	<i>Selezione indiretta di mutazioni adattative</i>			Scheda Web 10.2 <i>La traslocazione del DNA nei processi coniugativi</i>	

10 Plasticità del genoma batterico: trasferimento genico orizzontale 319

di Luciano Paolozzi

10.1	Meccanismi del trasferimento genico orizzontale (TGO)	321
10.2	Coniugazione	322
10.2.1	Plasmide coniugativo F • Struttura fisica e organizzazione genetica e funzionale	326
10.2.2	Trasferimento di marcatori cromosomalni mediante coniugazione e F-duzione	328
10.2.3	Plasmidi coniugativi in altri batteri Gram negativi e nei Gram positivi • Coniugazione interspecie	330
10.3	Trasformazione batterica	331
10.3.1	Natura del DNA trasformante	331
10.3.2	Competenza e apparati di trasformazione	332
10.3.3	Destino del DNA trasformante	335
10.3.4	Meccanismi e condizioni per la traslocazione del DNA trasformante	335

11	Trascrizione e traduzione	344
<i>di Luciano Paolozzi e Marco Bazzicalupo</i>		
11.1	Trascrizione nei batteri	345
11.1.1	RNA polimerasi batterica • Nucleo catalitico dell'RNA polimerasi	347
11.1.2	Fasi della trascrizione • Riconoscimento del promotore e inizio della trascrizione • Fase di polimerizzazione (allungamento del trascritto) • Fattori σ e varie forme di oloenzimi • Terminazione della trascrizione	348
11.1.3	Segnali sul DNA che regolano l'inizio della trascrizione • Sequenze dei promotori e regioni di regolazione • Elementi di controllo positivo e negativo dell'inizio della trascrizione • Espressione dei geni e fattori che regolano la trascrizione	353
11.2	Trascrizione negli Archaea	355
11.2.1	RNA polimerasi e apparato di trascrizione	355
11.2.2	Regolatori della trascrizione	356
11.3	Traduzione nei batteri	357
11.3.1	Inizio della traduzione	358

<p>11.3.2 Fase di elongazione 365</p> <p>11.3.3 Terminazione della traduzione 366</p> <p>11.4 Traduzione in Archaea ed eucarioti 366</p> <p>Scheda 11.1 Associazione dei fattori σ alternativi con l'RNA polimerasi nelle risposte adattive [di Stefania Stefani e Margherita Sosio] 351</p> <p>Scheda 11.2 Antibiotici inibitori della trascrizione [di Stefania Stefani e Margherita Sosio] 356</p> <p>Scheda 11.3 Antibiotici inibitori della sintesi proteica 360</p> <p>Scheda Web 11.1 Meccanismi di capping e di poliadenilazione nei Bacteria</p>	<p>12.4.3 Risposta stringente: un meccanismo di regolazione della fisiologia batterica in risposta alla carenza di amminoacidi • Meccanismo e conseguenze dell'induzione della sintesi di (p)ppGpp 386</p> <p>12.5 Modelli di regolazione globale 389</p> <p>12.5.1 Risposta a stress da calore 389</p> <p>12.5.2 Regolazione del regulone σ^H in <i>Escherichia coli</i> 390</p> <p>12.5.3 Sistema SOS di <i>Escherichia coli</i> 390</p> <p>12.6 Altri sistemi di regolazione genica 391</p> <p>12.6.1 Regolazione genica mediante "interruttori a RNA" (riboswitch) 391</p> <p>12.6.2 RNA con funzione regolatrice 393</p> <p>12.7 Controllo spazio-temporale dell'espressione genica: la sporulazione, un modello di differenziamento cellulare 396</p> <p>12.7.1 Geni della sporulazione 396</p> <p>12.7.2 Fosforelè 396</p> <p>12.7.3 Cascata dei fattori σ e regolazione spazio-temporale 397</p> <p>Scheda 12.1 Il trasporto del lattosio nella cellula: il segnale intracellulare della presenza del lattosio 372</p> <p>Scheda 12.2 La regolazione post-trascrizionale nei procarioti 394</p> <p>Scheda Web 12.1 Storia di una teoria scientifica: l'operone lac, il sistema modello di regolazione genica</p> <p>Scheda Web 12.2 La resistenza al mercurio e l'attivazione del promotore merT</p> <p>Scheda Web 12.3 Regolazione trascrizionale dei meccanismi di competenza</p> <p>Scheda Web 12.4 La riattivazione W delle particelle fagiche e la scoperta del sistema SOS</p>
<p>12.1 Aspetti generali della regolazione genica 368</p> <p>12.1.1 Sistemi di regolazione delle funzioni cellulari e livelli di regolazione 368</p> <p>12.1.2 Elementi del controllo dell'espressione genica 369</p> <p>12.2 Primi modelli di regolazione: gli operoni catabolici degli zuccheri 370</p> <p>12.2.1 Operone lac per l'utilizzazione del lattosio. Modello classico di regolazione negativa e controllo positivo di cAMP-CRP • Repressione da catabolita e diauxia 371</p> <p>12.2.2 Regulone maltosio: esempio di regolazione positiva • Il prodotto del gene regolatore <i>malT</i> è un attivatore trascrizionale 374</p> <p>12.2.3 Operone arabinosio: regolazione positiva e negativa con una sola proteina (e l'aiuto di CRP) 375</p> <p>12.2.4 Utilizzazione del galattosio: un regulone complesso • Significato della presenza dei due promotori nell'operone gal 376</p> <p>12.3 Trasduzione del segnale: sistemi di regolazione a due componenti 378</p> <p>12.4 Modelli di regolazione della biosintesi degli aminoacidi 380</p> <p>12.4.1 Regolazione feedback dell'attività enzimatica 380</p> <p>12.4.2 Regolazione trascrizionale dell'operone <i>trp</i> • Repressione • Attenuazione in <i>Escherichia coli</i> • Attenuazione in <i>Bacillus subtilis</i> 382</p>	<p>13 Divisione cellulare e differenziamento 399</p> <p>13.1 Divisione cellulare nei procarioti 399</p> <p>13.1.1 Divisione cellulare nel batterio modello <i>Escherichia coli</i> 400</p> <p>13.1.2 Assemblaggio dell'apparato di divisione cellulare (divisoma) 402</p> <ul style="list-style-type: none"> • Coordinamento della divisione cellulare con l'accrescimento laterale • Coordinamento della divisione cellulare con la replicazione del DNA • Coordinamento tra tempo di generazione e tempo di replicazione del DNA durante il ciclo cellulare

13.1.3	Controllo spaziale e temporale della formazione del setto di divisione cellulare in <i>Escherichia coli</i>	407
13.1.4	Segregazione del DNA durante il ciclo cellulare	408
	• Segregazione del nucleoide	
	• Segregazione dei plasmidi	
	• Altri meccanismi di controllo della stabilità plasmidica	
13.1.5	Divisione cellulare in <i>Bacillus subtilis</i>	411
13.1.6	Divisione cellulare nei batteri modello di forma sferica o sferico-ovoidale	413
13.2	<i>Caulobacter crescentus</i>: un modello di divisione cellulare asimmetrica	413
13.2.1	Ciclo cellulare di <i>Caulobacter crescentus</i>	414
	• Rete di regolazione a cascata e controllo delle sintesi macromolecolari	
	• Controllo spaziale della distribuzione cellulare di CtrA • Controllo temporale di CtrA • Controllo della replicazione del DNA e della segregazione del nucleoide	
13.2.2	Modalità alternative di divisione cellulare	419
	• Divisione per scissioni multiple	
	• Gemmazione nei batteri prostecati	
13.3	Differenziamento cellulare nei procarioti	420
Scheda 13.1	L'anello Z dei plastidi e l'origine degli eucarioti	401

Scheda Web 13.1 La complessa regolazione delle proteine di divisione

Scheda Web 13.2 L'occlusione del nucleoide e le proteine anti-ghigliottina

Scheda Web 13.3 Le proteine del citoscheletro batterico nei processi di divisione e differenziamento

PARTE D Eredità infettiva: i virus

14	Che cosa sono i virus	424
	di Giorgio Gribaldo	
14.1	Struttura e organizzazione dei virioni	425
14.1.1	Diversità dei genomi virali	425
14.1.2	Capside	427
14.1.3	Involucro pericapsidico (envelope)	429
14.2	Classificazione dei virus	430

14.2.1	Sistema classico (ICTV)	430
14.2.2	Sistema secondo Baltimore	430
14.3	Ciclo replicativo dei virus	431
14.3.1	Riconoscimento e adsorbimento	431
14.3.2	Penetrazione	432
14.3.3	Decapsidazione (<i>uncoating</i>)	433
14.3.4	Espressione genica e replicazione del genoma virale	433
14.3.5	Assemblaggio	435
14.3.6	Maturazione	436
14.3.7	Liberazione dei virioni	436

Scheda Web 14.1 La scoperta dei virus

15 Batteriofagi, i virus dei batteri

437

15.1	Struttura, organizzazione e studio dei batteriofagi	437
15.1.1	Involucro proteico di alcuni batteriofagi modello	437
	• Virione del batteriofago T4 • Virione del batteriofago λ • Capside dei fagi filamentosi	
15.1.2	Genomi dei batteriofagi	439
15.1.3	Diversità dei batteriofagi e modelli di studio	439
15.1.4	Titolazione dei batteriofagi mediante il saggio di placca	440

15.2	Riproduzione dei batteriofagi	441
15.2.1	Ciclo litico	442

- L'esperimento "singolo ciclo di crescita"
- Adsorbimento • Penetrazione dell'acido nucleico nel batterio ospite • Trascrizione dei genomi fagici • Replicazione dei genomi fagici • Morfogenesi virale: assemblaggio dei componenti e impacchettamento del DNA • Rilascio e disseminazione

15.2.2	Ciclo lisogeno dei fagi temperati	448
---------------	-----------------------------------	-----

15.3	Analisi genetica dei fagi	448
-------------	----------------------------------	-----

15.4	Alcuni esempi di batteriofagi utilizzati come modello di studio	449
-------------	--	-----

- 15.4.1** I fagi della serie T
 - Batteriofago T4, modello dei fagi litici
 - Trascrizione di T4 • Replicazione del batteriofago T4 • Inizio della replicazione
- 15.4.2** I batteriofagi a RNA
 - Batteriofagi a ssRNA • Batteriofagi a dsRNA
- 15.4.3** I fagi a ssDNA filamentosi e isometrici
 -

15.4.4 Il batteriofago λ : l'elemento genetico più finemente caratterizzato	454	16.1.4 Modelli di virus animali	477
• Genoma di λ • Trascrizione a cascata del batteriofago λ • Replicazione di λ e ciclo litico • Maturazione del batteriofago λ		• Classe I – Virus a dsDNA: herpesvirus, adenovirus, poxvirus	
• Ciclo lisogeno del batteriofago λ		• Classe II – Virus a ssDNA: parvovirus	
15.4.5 Il profago-plasmide del batteriofago trasducente P1	457	• Classe III – Virus a dsRNA: reovirus	
15.4.6 Altri sistemi modello	458	• Classe IV – Virus a (+)ssRNA: picornavirus (polio), flavivirus, coronavirus	
15.5 Difese batteriche contro l'infezione dei batteriofagi	459	• Classe V – Virus a (-)ssRNA: rhabdovirus, paramyxovirus, orthomyxovirus, virus Ebola	
15.6 Batteriofagi contro le infezioni batteriche: la terapia fagica	464	• Classe VI – Virus a (+)ssRNA con retrotrascrizione: retrovirus	
15.7 Virus degli Archaea	465	• Classe VII – Virus parzialmente a dsDNA con retrotrascrizione: hepadnavirus	
Scheda 15.1 Modificazione e restrizione del DNA: il riconoscimento del "self" dal "non self"	458	16.2 I virus dei vegetali	503
Scheda 15.2 CRISPR-Cas: un sistema adattivo di resistenza ai fagi guidato da piccoli RNA	460	16.2.1 Virus del mosaico del tabacco (TMV)	503
Scheda Web 15.1 Alla ricerca delle leggi "complementari" della fisica: la nascita del gruppo del fago e della biologia molecolare		16.2.2 Virus di Chlorella	503
Scheda Web 15.2 Applicazioni dell'uso dei batteriofagi		16.3 Agenti subvirali e prioni	504
Scheda Web 15.3 Calcolo delle cellule infettate da un virus e molteplicità di infezione		16.3.1 Viroidi	504
Scheda Web 15.4 L'adsorbimento del fago alla cellula ospite		16.3.2 Virus satelliti e virusoidi	504
Scheda Web 15.5 Ciclo litico e ciclo lisogeno del batteriofago λ : la scelta tra due destini alternativi		16.3.3 Elementi genetici mobili	505
Scheda Web 15.6 Lisis o non lisis? Un problema aperto tra caso, genetica ed epigenetica		16.3.4 Prioni	505
Scheda Web 15.7 Il profago-plasmide lineare del batteriofago N15		16.4 Farmaci antivirali	505
Scheda Web 15.8 Il batteriofago-trasposone Mu		16.4.1 Inibizione dell'adsorbimento e della penetrazione del virus	506
Scheda Web 15.9 Sistemi di antirestrizione, una lotta senza fine		16.4.2 Inibizione della replicazione del genoma virale	507
		16.4.3 Inibizione dell'assemblaggio virale e della maturazione	507
		Scheda 16.1 Grandi virus a DNA nucleocitoplasmatici (NCLDV): un nuovo enigma o una tappa verso nuove conoscenze?	479
		Scheda 16.2 Peste suina africana: una malattia virale riemergente	484
		Scheda 16.3 La pandemia di COVID-19 e l'evoluzione di SARS-CoV-2 in tempo reale	489
		Scheda 16.4 Il virus Ebola e le caratteristiche di recenti epidemie di un virus emorragico	494

16 I virus degli eucarioti 469

di Giorgio Gribaldo

16.1 I virus degli animali	469
16.1.1 Modalità di studio dei virus animali	469
• Sistemi ospite: animali, uova, colture cellulari • Effetto citopatico • Analisi quantitativa: metodo delle placche	
16.1.2 Modelli di infezione	472
• Infezione litica • Infezione persistente di tipo cronico • Infezione persistente di tipo latente • Infezione cronica di tipo trasformante (virus oncogeni);	
16.1.3 Risposta dell'ospite all'infezione	475
• Immunopatologia • Evasione della risposta immunitaria	



17 Analisi globale delle cellule微生物: le discipline omiche 510

di Marco Rinaldo Oggioni, Marco Bazzicalupo e Alessio Mengoni

17.1 Genomica	511
17.1.1 Sequenziamento di genomi procarioti	511

17.1.2	Annotazione	512	Scheda 18.3	Storia della classificazione e della nomenclatura dei batteri	524
17.1.3	Genoma condiviso, genoma accessorio e pangenoma	514	Scheda 18.4	La tassonomia numerica e la similarità dei microrganismi	528
17.1.4	Analisi genomica comparativa	514	Scheda 18.5	Costruire un albero filogenetico	538
17.2	Metagenomica	515			
17.3	Genomica funzionale	516	Scheda Web 18.1	Funghi	
17.3.1	Trascrittomico	516	Scheda Web 18.2	Saccharomyces cerevisiae: un microrganismo eucariote modello [di Giovanna Lucchini]	
17.3.2	Proteomica	518	Scheda Web 18.3	Alghe	
17.4	Metabolomica e screening fenotipico	518	Scheda Web 18.4	Protozoi	
17.5	Biologia dei sistemi	519			
Scheda 17.1	Trascrittomico tramite sequenziamento dell'RNA	517			
Scheda Web 17.1	Analisi proteomica mediante spettrometria di massa				

18 Sistematica e filogenesi dei microrganismi

520

di Giovanna Felis, Gabriele Andrea Lugli, Anna Maria Sanangelantoni e Marco Bazzicalupo

18.1	Concetti base di sistematica microbica	521
18.1.1	Ceppi, specie e coltivabilità	521
18.1.2	Classificazione	522
18.1.3	Identificazione	522
18.1.4	Nomenclatura	524
18.1.5	Importanza delle tecniche di indagine nella classificazione e caratterizzazione dei microrganismi	526
18.2	Filogenesi molecolare	530
18.2.1	Evoluzione e filogenesi	530
18.2.2	Sequenze usate nella filogenesi molecolare di procarioti ed eucarioti	530
18.2.3	Uso delle sequenze genomiche per la classificazione e l'identificazione microbica	537
18.3	Identificazione e classificazione della biodiversità non coltivabile	541
18.3.1	Microrganismi non coltivabili e microbiomi	542
18.3.2	Approcci alla nomenclatura delle sequenze	545
18.4	Gruppi tassonomici	546
18.4.1	Bacteria	547
18.4.2	Archaea	553
18.4.3	Microrganismi eucarioti	555
	• Funghi e lieviti • Alghe • Protozoi	
Scheda 18.1	Eventi rilevanti nella storia della Terra	521
Scheda 18.2	Risorse disponibili per la sistematica dei microrganismi procarioti	523

PARTE F

Microrganismi in ambienti naturali e interazioni con altri organismi



19 Microbiologia ambientale ed ecologia microbica

560

di Andrea Franzetti

19.1	Dalla popolazione all'ecosistema microbico	561
19.2	Processi ecologici	564
19.2.1	Comunità microbiche versus comunità di macrorganismi	564
19.2.2	Sintesi concettuale dell'ecologia delle comunità microbiche	565
	• Selezione • Dispersione	
	• Diversificazione (speciazione)	
	• Deriva ecologica	
19.3	Habitat microbici terrestri	566
19.3.1	Microbioma del suolo	566
19.3.2	Effetto del microbioma sulla struttura e proprietà del suolo	567
19.3.3	Legame tra struttura e funzioni nel microbioma del suolo	568
19.4	Habitat microbici marini	568
19.4.1	Zona pelagica	569
	• Composizione delle comunità microbiche nella zona pelagica	
19.4.2	Oceano profondo	571
	• Diversità filogenetica e funzionale	
19.4.3	Sedimenti marini	572
19.4.4	Microhabitat marini: la neve marina e la ficosfera	573
	• Neve marina • Ficosfera	

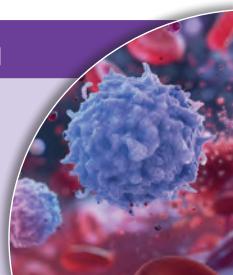
19.5 Habitat estremi	573	20.2.5 Biofilm microbico nella prospettiva ecologica e nel contesto delle malattie infettive	604
19.5.1 Sorgenti geotermali terrestri	576		
19.5.2 Sorgenti idrotermali marine profonde	576		
19.5.3 Criosfera	577		
19.5.4 Ambienti ipersalini	578		
19.5.5 Drenaggio acido delle miniere	578		
19.5.6 Altri ambienti estremi	578		
19.6 Habitat antropizzati e costruiti	579	20.3 Antibiotici nell'interazione tra microrganismi	606
19.6.1 Habitat microbici urbani	579	■ Scheda 20.1 Vibrio fischeri: <i>il primo modello di quorum sensing regolato da omoserin-lattoni</i>	587
• Sistemi di trasporto urbano			
• Microbiomi dell'aria			
19.6.2 Microbiologia applicata all'ambiente e alla transizione energetica	581	■ Scheda 20.2 <i>Il quorum sensing come dimostrazione del valore intrinseco della ricerca di base</i>	589
• Biorisanamento • Utilizzo dei microrganismi per il recupero di materiali e produzione di energia dagli scarti		■ Scheda 20.3 <i>cGMP ciclico e suo ruolo nella produzione della cellulosa e nella formazione del biofilm</i>	603
■ Scheda 19.1 <i>Un approccio operativo per descrivere le comunità microbiche</i>	562		
■ Scheda 19.2 <i>I batteri ubiquitari Synechococcus, Prochlorococcus e SAR11</i>	571		
■ Scheda 19.3 <i>Limi chimico-fisici della vita microbica sulla Terra e proiezione su altri pianeti</i>	575		
■ Scheda 19.4 <i>La biogeocalbedo</i>	577		
20 Interazioni tra batteri: strategie di cooperazione e competizione	584	21 Interazioni dei microrganismi con gli organismi vegetali	609
di Paolo Landini		di Pietro Alifano	
20.1 Comunicazione intercellulare: il "quorum sensing"	586	21.1 Rizosfera e fillosfera	609
20.1.1 Quorum sensing nei batteri Gram negativi	587	21.1.1 Modificazione della rizosfera da parte di batteri e funghi	610
20.1.2 Ruolo del quorum sensing nell'interazione batteri-organismi eucarioti e come bersaglio di nuovi antimicrobici	592	21.1.2 Micorrize • Ectomicorrize • Endomicorrize	611
20.1.3 Quorum sensing in batteri Gram positivi	593	21.1.3 Batteri azotofissatori endosimbionti	613
20.1.4 Quorum sensing e sua relazione con la produzione di agenti antimicrobici	595	21.1.4 Rizobi e leguminose	614
20.1.5 Altre molecole con funzione di autoinduttori	596		
20.2 Associazioni microbiche: i biofilm	596	21.2 Riconoscimento dei batteri patogeni e meccanismi di difesa delle piante	617
20.2.1 Definizione generale	597	21.2.1 Immunità innata primaria: il sistema MAMP-PRR nelle piante	617
20.2.2 Formazione del biofilm e sua architettura	597	21.2.2 Immunità innata secondaria: geni di resistenza (R) delle piante e di avirulenza (avr) dei batteri	618
20.2.3 Macromolecole e strutture cellulari batteriche coinvolte nella formazione del biofilm	599	21.2.3 Resistenza sistemica acquisita (SAR) e resistenza sistemica indotta (ISR)	620
20.2.4 Meccanismi di regolazione genica legati al biofilm	600		
• Fattori ambientali e sistemi di regolazione a due componenti • Ruolo del quorum sensing nel biofilm • Molecole segnale derivate da nucleotidi		21.3 Agrobacterium e induzione di tumori nelle piante	621
		21.3.1 Genere <i>Agrobacterium</i> e patologie tumorali vegetali indotte dalle specie virulente	621
		21.3.2 Processo di trasformazione tumorale: il plasmide Ti, il T-DNA e le interazioni batterio-pianta	622
		21.4 Utilizzo dei microrganismi della rizosfera e dei loro prodotti nelle nuove tecnologie agrarie	624
		■ Scheda 21.1 <i>Altri tipi di micorrize</i>	612
22 Il microbiota	626		
di Marco Ventura e Francesca Turroni			
22.1 Popolazioni microbiche sulla Terra	626		

22.2	Microbiota e microbioma dell'essere umano	627	23.7	Stili di vita dei batteri invasivi	659
22.3	Il concetto di olobionte e olobioma	629	23.8	Tossine: "frecce" molecolari dei batteri patogeni	660
22.4	Il microbiota umano nelle diverse fasi della vita	629	23.8.1	Tossine che agiscono dall'esterno della cellula • Superantigeni: le tossine degli streptococchi e degli stafilococchi • Tossine che formano pori sulla superficie cellulare	661
22.5	Eubiosi e disbiosi microbiche e loro impatto sulla salute dell'essere umano	631	23.8.2	Tossine solubili con bersagli intracellulari • Struttura A/B delle tossine • Tossine ad attività ADP-ribosilante	662
22.6	Fattori coinvolti nel modulare la composizione del microbiota	632	23.8.3	Neurotossine	664
22.7	Funzioni svolte dal microbiota umano	632	23.9	Regolazione dei geni di virulenza, un aspetto essenziale della patogenicità microbica: il modello di <i>Vibrio cholerae</i>	667
22.8	Correlazioni microbiota e malattie: i nuovi marcatori microbici	634	23.9.1	Ciclo infettivo di <i>Vibrio cholerae</i>	667
22.9	La "batterioterapia" come nuovo approccio terapeutico	636	23.9.2	Regolazione dei geni di virulenza di <i>Vibrio cholerae</i>	668
22.10	Il microbiota nei diversi distretti del corpo umano	636	Scheda 23.1	Helicobacter pylori e l'epitelio gastrico	644
22.10.1	Microbiota della cute	636	Scheda 23.2	Modelli controllati di infezione umana	646
22.10.2	Microbiota orale	638	Scheda 23.3	Come Salmonella divenne un batterio patogeno	648
22.10.3	Microbiota polmonare	638	Scheda 23.4	Le forme patogene di Escherichia coli	650
22.10.4	Microbiota intestinale	638			
22.10.5	Microbiota vaginale	640	Scheda Web 23.1	Eventi regolativi nella virulenza di Salmonella enterica	
22.11	Ruolo del microbiota intestinale negli animali da allevamento e da compagnia	641			
Scheda 22.1	Gli oligosaccaridi del latte materno	631			
Scheda 22.2	Asse intestino-cervello	634			
Scheda 22.3	Microbiota e obesità	635			
Scheda 22.4	Fecal Microbiota Transplantation (FMT)	637			
Scheda 22.5	Farmacomicobiomica	639			
23	Interazioni con gli organismi animali: la patogenesi	642			
<i>di Maria Lina Bernardini e Marco Oggioni</i>					
23.1	Patogenicità e virulenza batterica: due concetti da definire	642			
23.2	Batteri patogeni, postulati di Koch e misura della virulenza	643			
23.3	Importanza del DNA acquisito mediante trasferimento genico orizzontale	645			
23.4	Fattori di virulenza dei batteri patogeni	652			
23.5	Fattori di adesione come mediatori della virulenza batterica	654			
23.6	Invasività, effettori batterici e invasine	656			
23.6.1	Meccanismi molecolari dell'invasività batterica: trigger e zipper	656			

PARTE G

Meccanismi di difesa dell'ospite

DISPONIBILE IN DIGITALE



24 Immunità innata

di Maria Lina Bernardini

24.1 Difese fisiche contro i patogeni

672

24.2 Immunità innata: un sistema di difesa ancestrale

677

24.2.1 PAMP, Pathogen-Associated Molecular Patterns – Strutture batteriche

678

24.2.2 PRR, Pattern Recognition Receptors

680

24.2.3 PRR di membrana: i recettori Toll-like

681

24.2.4 PRR citosolici: le proteine NLR

683

24.3 Cellule del sistema immunitario: la popolazione eterogenea dei leucociti

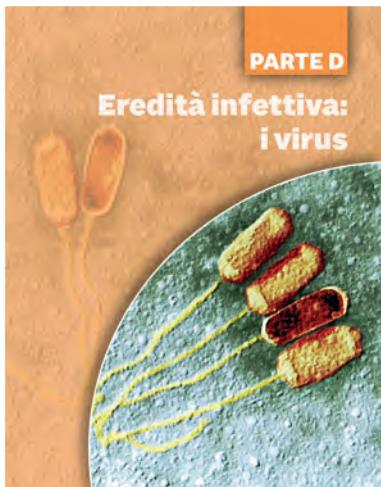
687

24.4 Neutrofili, una popolazione cellulare sulla prima linea di difesa	688	25.4.1 Ricombinazione somatica	711
24.5 Macrofagi (fagociti mononucleati)	691	25.4.2 Altri meccanismi della variabilità anticorpale	712
24.6 Cellule natural killer	692	25.5 Linfociti T e riconoscimento degli antigeni	713
24.7 Sistema del complemento	692	25.6 Organizzazione dei loci genici del TcR	714
24.8 Citochine	694	25.7 Selezione dei linfociti T	714
24.9 Chemochine	696	25.8 Molecole del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC)	716
24.10 Processo di "evasione immune" dei batteri patogeni	696	25.8.1 MHC di classe I	716
24.10.1 Difese "strutturali" dei microrganismi	697	25.8.2 MHC di classe I e presentazione degli antigeni	717
24.10.2 Evasione dalla difesa delle barriere della cellula ospite	698	25.8.3 MHC di classe II	718
24.10.3 "Camuffamento", strategia per diminuire il riconoscimento da parte del sistema immunitario innato	699	25.9 Cellule presentanti l'antigene (APC): cellule dendritiche	718
24.10.4 Cambiamento delle strutture di superficie per imbrogliare il sistema immunitario dell'ospite	699	25.10 Linfociti T effettori: linfociti T helper e citotossici (CTL)	723
24.10.5 Fagosoma: strategia di difesa	700	25.11 Linfociti T helper e polarizzazione della risposta	724
■ Scheda 24.1 Le cellule M dell'intestino: il "tallone di Achille" dell'epitelio intestinale	675	■ Scheda 25.1 Il sistema immunitario delle mucose	709
■ Scheda 24.2 Toll vs Imd: le armi molecolari di Drosophila melanogaster	679	■ Scheda 25.2 Le cellule dendritiche e la mucosa intestinale	722
■ Scheda 24.3 L'apoptosi o morte cellulare programmata: un suicidio cellulare	681		
■ Scheda 24.4 Le malattie infiammatorie dell'intestino e le proteine NLR	686		
■ Scheda 24.5 Shock settico e reazioni di Schwartzman	697		
25 Immunità adattativa	703	Crediti fotografici	A1
<i>di Maria Lina Bernardini</i>		Indice analitico	A3
25.1 Effettori dell'immunità adattativa: gli anticorpi	704	Le risorse digitali	
25.2 Tipologia degli anticorpi e loro ruolo	706	A questo indirizzo sono disponibili le risorse digitali di complemento al libro: universita.zanichelli.it/deho4e	
25.3 Selezione e sviluppo degli anticorpi	709	Per accedere alla risorse protette è necessario registrarsi su my.zanichelli.it inserendo il codice di attivazione personale che si trova sull'etichetta adesiva nella prima pagina del libro.	
25.3.1 Organizzazione dei loci genici delle immunoglobuline	710	Dal sito del libro è possibile:	
25.4 Meccanismi molecolari della diversità immunitaria	710	<ul style="list-style-type: none"> • leggere le Schede web di approfondimento; • esercitarsi con 16 Laboratori interattivi; • trovare i link per i test interattivi di autovalutazione; • accedere direttamente alla versione Ebook, contenenti tutti i capitoli dell'edizione a stampa e, in più, i Capitoli 24 e 25. 	
		Le risorse digitali sono disponibili per chi acquista il libro nuovo. L'accesso all'Ebook e alle risorse digitali protette è personale, non condivisibile e non cedibile, né autonomamente né con la cessione del libro cartaceo.	

Strumenti di lettura e digitali

Le parti del libro

I contenuti del libro sono organizzati in sette parti contraddistinte da un colore e da una fotografia.



Disponibile in digitale

L'Ebook

Il testo è disponibile anche in versione **Ebook**, fruibile online e offline, mediante l'applicazione **laZ Ebook**, che permette di scegliere, in qualsiasi momento dello studio, se fruire il testo nella versione con impaginazione fissa, analoga al libro stampato, oppure in quella liquida con modalità immersiva. Quest'ultima consente, tra le altre cose, di **ingrandire e**

variare le font per una lettura più confortevole e di ascoltare il testo mediante la funzione del **lettore vocale**. Entrambe le versioni permettono di **evidenziare il testo**, prendere **appunti**, creare mappe concettuali e mettere **segnalibri**. Per accedere all'Ebook e agli altri contenuti digitali, seguire le istruzioni fornite nella prima pagina del libro.

Le schede di approfondimento

Oltre 130 schede di approfondimento, in parte nel libro e in parte in digitale (*Schede Web*), arricchiscono lo studio.

Le schede rosse
sviluppano il tema
degli antibiotici,
un argomento
ricorrente
e trasversale
a tutta l'opera

2.8 ANTIBIOTICI ANTIMICOBATTERICI PER IL TRATTAMENTO DELLA TUBERCOLOSI

SCHEDA

La tubercolosi (TB), nota anche come tubercolosi polmonare o tubercolosi pulmonare è un'infiammazione cronica del parenchima polmonare causata da ed è l'unica delle empatogeni batterici che possono infettare il Paese di cui si parla.

L'agente patologico responsabile è *Mycobacterium tuberculosis*, che infetta alle persone con i primi abbondanti sintomi, mentre nei casi circa 100 milioni di anni fa, il suo primo ospite era probabilmente il camosci della Reichenbach, scoperto dall'agente canadese del servizio sanitario militare che ha acciuffato di Koch (scoperto nel 1882) con le forme mafose, forse assai simili a quelle attuali, della malattia. Allo scoppio della guerra mondiale il numero di morti per la tubercolosi è stimato in circa 1,3 milioni di decessi. Oggi, dopo la guerra mondiale, è sopravvissuto nel Commonwealth, con circa 10 milioni di casi per anno e 2 miliardi di portatori del micetoma in forma latente.

Il trattamento della tubercolosi è basato sulla terapia con le *Macrolide e Actinomiceti* e sulle *Antibiotiche*. La terapia con le macrolide cura circa 250 geno-mutanti.

Il trattamento classico, che produceva risultati buoni, ma non sempre sicuri, in grado di ridurre la permanenza dell'infiammazione polmonare, è stato sostituito dalla terapia di prima linea, che riduce la permanenza dell'infiammazione polmonare.

Nelle infiammazioni, le cellule di M. tuberculosis sono attivati da un gran numero degli anticorpi, che sono attivati dalles- sibili polimero e si installano nel lago- naggio. I polimero attivano la cellula di M. tuberculosis e la fissa con il lisosoma. Il polimero è ferito bersaglio in cui il patologico può essere attivato e quindi iniziare il periodo di latenza. La TB può permanere al di là dello stato latente, dove, se il pa- trato è infettato da qualcosa di mortale, la cellula di M. tuberculosis può essere attivata.

Se poi sono infettati la base permanente, la cellula di M. tuberculosis può essere attivata e la struttura conica con attivazione cellulare diffusa.

I latenti, infatti, mentre una certa infiammazione polmonare è stata ridotta, per oltre la guarigione, la cellula di M. tuberculosis può aver attivato le cellule di M. tuberculosis.

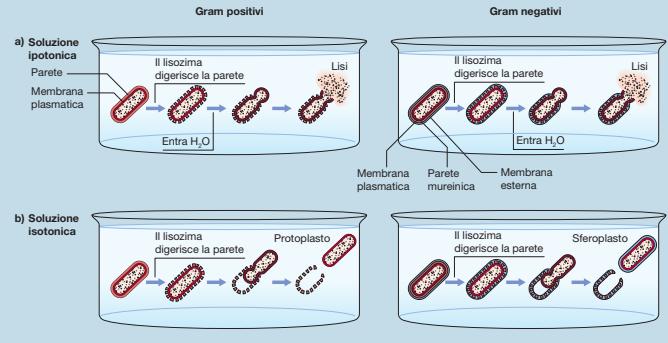
Nella infiammazione, le cellule di M. tuberculosis sono attivati da un gran numero degli anticorpi, che sono attivati dalles- sibili polimero e si installano nel lago- naggio. I polimero attivano la cellula di M. tuberculosis e la fissa con il lisosoma. Il polimero è ferito bersaglio in cui il patologico può essere attivato e quindi iniziare il periodo di latenza. La TB può permanere al di là dello stato latente, dove, se il pa-

Le schede verdi
aiutano
a capire
e imparare
la sistematica
dei microrganismi

Le **schede viola** permettono di approfondire argomenti specifici e tecniche

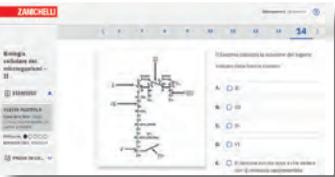
Un ricco apparato iconografico

Rinnovato e ampliato per questa edizione, l'apparato iconografico costituisce un secondo livello di lettura del libro, che facilita la comprensione degli argomenti e dei processi più complessi.



I test interattivi di autovalutazione

Dal sito del libro è possibile accedere a test interattivi di autovalutazione che permettono di ripassare in modo attivo e di verificare la comprensione dei concetti studiati.



Laboratori interattivi

Completano il progetto **16 laboratori interattivi** per simulare gli esperimenti più comuni che si svolgono nei laboratori di microbiologia, mettendo alla prova la propria capacità di risolvere questioni di laboratorio e permettendo di approfondire la conoscenza di strumenti e metodi.

Elenco dei laboratori disponibili

1. Preparazione di una soluzione fisiologica
 2. Diluizioni seriali
 3. Antibiogramma
 4. Calcolo della Minima Concentrazione Inibente di un antibiotico
 5. Curva di crescita
 6. Curva di crescita con aggiunta di antibiotico
 7. Osservazione di batteri al microscopio ottico a contrasto di fase
 8. Colorazione delle spore
 9. Colorazione di Gram
 10. Elettroforesi su gel d'agarosio
 11. Identificazione di una specie batterica mediante amplificazione per PCR del gene 16S
 12. Preparazione di cellule competenti per elettroporazione
 13. Elettroporazione batterica
 14. Preparazione di cellule competenti per shock termico
 15. Trasformazione per shock termico
 16. Coniugazione batterica



Prefazione alla IV edizione

Il libro *Biologia dei microrganismi*, pubblicato nella sua prima edizione nel gennaio 2012, venne alla luce grazie alla visione della professoressa Enrica Galli di realizzare un manuale che comprendesse tutti gli aspetti fondamentali della microbiologia, distinguendosi al tempo stesso dai pur ottimi testi già presenti sul mercato. *Biologia dei microrganismi* non nasce, infatti, come traduzione dall'inglese, ma è un testo redatto *ab origine* in italiano, con il contributo di docenti direttamente impegnati nell'insegnamento della microbiologia negli Atenei del nostro Paese, e quindi vicini alla sensibilità dei singoli corsi di laurea e alle esigenze dei nostri studenti e studentesse. La scrittura del libro si avvalse da subito dell'apporto collettivo e integrato di un significativo numero di autrici e autori, in base alle loro specifiche competenze scientifiche. Queste due prerogative, vale a dire attinenza alla realtà accademica italiana e coinvolgimento di ricercatrici e ricercatori esperti nei vari campi della microbiologia, sono rimaste una costante nei successivi aggiornamenti e revisioni del testo, e restano un asse portante di questa nuova edizione del libro, così come l'organizzazione del testo, le numerose schede di approfondimento di tematiche specifiche e l'ampia dotatione di materiale in digitale.

A più di dieci anni dalla prima edizione, a fronte dei significativi progressi in alcuni ambiti della microbiologia, quale lo studio delle comunità microbiche e della complessità delle loro interazioni con gli animali e l'ambiente, e alla luce delle emergenze microbiologiche emerse con la pandemia da SARS-CoV-2 del 2020-2021, si è ritenuto di mettere mano a una revisione più organica ed estesa del libro, includendo i professori Paolo Landini e Marco Ventura come curatori e allargando i contributi specifici fino a comprendere un totale di 26 autori. La nuova edizione di *Biologia dei microrganismi* è ora suddivisa in sei parti, più una settima disponibile solo in digitale, invece delle quattro dell'edizione precedente. La riorganizzazione in due nuove parti, *Eredità infettiva: i virus e Genomica e sistematica*, è finalizzata a dare un maggior rilievo alla virologia e agli approcci genomici nella microbiologia, aggiornando inoltre la sistematica dei microrganismi in base alle scoperte più recenti e alle nuove indicazioni internazionali. Inoltre, sono stati riorganizzati e maggiormente approfonditi i contenuti di microbiologia ambientale, e rivisti ed espansi temi cruciali come i cicli biogeochimici, i sistemi di comunicazione batterica, i meccanismi di virulenza e le strategie di adattamento.

Ringraziamo per la loro preziosa collaborazione tutti i nostri colleghi e colleghes che hanno messo a disposizione le loro specifiche competenze e ci auguriamo che la nuova edizione di *Biologia dei microrganismi* continui a incontrare l'interesse e l'apprezzamento di docenti, studenti e studentesse di Microbiologia.

Gianni Dehò

Enrica Galli

Paolo Landini

Marco Ventura

Prefazione alla III edizione

La terza edizione di questo libro nasce dall'esigenza di apportare ulteriori miglioramenti nella presentazione degli argomenti e i necessari aggiornamenti al testo originario. In particolare, Genetica micribia e Biologia molecolare, precedentemente affrontate in tre capitoli distinti, sono state riunite in un unico capitolo, il Capitolo 9, al fine di rendere più omogenea la trattazione e facilitare il compito degli studenti. Analogamente vengono trattati in unico capitolo, il Capitolo 14, i virus dei procarioti e i virus degli eucarioti. È stato inoltre condotto un accurato lavoro di aggiornamento sui testi e sulle figure ed è stata notevolmente ampliata e aggiornata la parte relativa agli antibiotici, anche con l'inserimento di nuove schede di approfondimento.

Un sentito ringraziamento va alla preziosa collaborazione dei numerosi colleghi che, con le loro specifiche competenze, hanno reso possibile la realizzazione di questa nuova edizione. Ci auguriamo che il manuale possa incontrare un rinnovato interesse da parte dei colleghi docenti di discipline microbiologiche e degli studenti.

*Gianni Dehò
Enrica Galli*

Prefazione alla I edizione

Nata come scienza circa un secolo e mezzo fa, la Microbiologia (Biologia dei microrganismi) ha conosciuto negli ultimi sessant'anni una spettacolare evoluzione che ha contribuito in modo determinante a sviluppare l'attuale visione globale del mondo vivente e la comprensione, specialmente a livello molecolare, di processi biologici fondamentali. Utilizzando microrganismi come principale modello di studio, sono state poste le basi di importanti discipline biologiche, quali la biochimica, la biologia molecolare e la genetica molecolare; è stata decifrata la natura di DNA, RNA e proteine e sono state sviluppate le tecnologie che stanno alla base dell'ingegneria genetica e delle biotecnologie molecolari. Tappa finale di questo percorso che ha attraversato quasi tutto il XX secolo e che ha aperto nuovi orizzonti alla ricerca biologica è stato il sequenziamento del DNA e lo sviluppo degli approcci genomici allo studio dei sistemi biologici.

La Microbiologia ha quindi via via assunto un ruolo sempre più rilevante tra le discipline biologiche, sia come disciplina specialistica, sia per la visione globale e unificante che riesce a fornire del mondo vivente.

Questo libro tratta fondamentalmente di microrganismi procarioti (batteri e archei), pur facendo continui richiami al mondo eucariote, e in particolare ai microrganismi eucarioti, per quanto riguarda le differenze nella struttura e nelle funzioni a livello cellulare, l'evoluzione molecolare e i rapporti filogenetici fra i tre gruppi di microrganismi. Il testo è stato pensato in particolare per gli studenti dei corsi di Laurea triennali e magistrali in Scienze biologiche e Biotecnologie, aven-

do come riferimento gli insegnamenti di Microbiologia generale, Microbiologia cellulare e Microbiologia molecolare, ma la parte più generale del libro è utilizzabile anche da studenti di altri corsi di laurea scientifici.

Per venire incontro alle diverse esigenze didattiche, il testo è suddiviso in quattro parti di cui le prime due (*Struttura e funzione della cellula procariote* e *Crescita microbica e metabolismo*) rappresentano la parte di base della Microbiologia, mentre le altre due parti (*Genetica batterica e biologia molecolare* e *Interazioni tra microrganismi e con altri organismi*) affrontano aspetti propri della microbiologia molecolare e cellulare. Questo tipo di organizzazione vuole offrire al docente e allo studente la possibilità di conoscere il mondo dei microrganismi a livello strutturale e funzionale da un lato e cellulare-molecolare dall'altro. In questo modo il docente può scegliere gli argomenti più adatti agli insegnamenti della laurea triennale o magistrale, seguendo percorsi diversi a seconda del tipo e del livello di insegnamento.

Il testo si caratterizza inoltre anche per altri aspetti:

- il livello di aggiornamento e approfondimento dei vari aspetti della microbiologia al passo con i più recenti risultati delle ricerche microbiologiche, con un ampio materiale iconografico;
- la trattazione di argomenti più specifici in apposite schede di approfondimento. Per alleggerire il testo, alcune di queste schede sono disponibili in una sezione online sul sito dedicato al libro che in futuro potrà essere aggiornata e ampliata.

La stesura del testo si è avvalsa del prezioso contributo di numerosi docenti di discipline microbiologiche, che hanno messo a disposizione la propria competenza nella trattazione dei vari aspetti della Microbiologia. A loro va un sentito ringraziamento per la proficua collaborazione.

Ai colleghi docenti che sceglieranno di adottare questo testo e suggerirlo agli studenti come strumento di studio, chiediamo di farci avere commenti e suggerimenti che saranno utili in una futura revisione.

*Gianni Dehò
Enrica Galli*

Autrici e autori

Pietro Alifano, Dipartimento di Medicina sperimentale, Università del Salento

Loredana Baccigalupi, Dipartimento di Medicina molecolare e Biotecnologie mediche, Università degli Studi di Napoli “Federico II”

Marco Bazzicalupo, Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Firenze

Maria Lina Bernardini, Dipartimento di Biologia e Biotecnologie “Charles Darwin”, Sapienza Università di Roma

Gianni Dehò, Università degli Studi di Milano

Giovanna Felis, Dipartimento di Biotecnologie, Università di Verona

Andrea Franzetti, Dipartimento di Scienze dell’Ambiente e della Terra, Università degli Studi di Milano-Bicocca

Enrica Galli, Università degli Studi di Milano

Giorgio Gribaudo, Dipartimento di Scienze della Vita e Biologia dei Sistemi, Università di Torino

Paolo Landini, Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano

Giovanna Lucchini, Dipartimento di Biotecnologie e Bioscienze, Università degli Studi di Milano-Bicocca

Gabriele Andrea Lugli, Dipartimento di Scienze chimiche, della Vita e della Sostenibilità ambientale, Centro Interdipartimentale “Microbiome Research Hub”, Università degli Studi di Parma

Orietta Massidda, Centro Interdipartimentale di Scienze mediche - CISMED, Università di Trento

Alessio Mengoni, Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Firenze

Marco Rinaldo Oggioni, Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie, *Alma Mater Studiorum* Università di Bologna

Luciano Paolozzi, Dipartimento di Scienze matematiche, fisiche e naturali, Università di Roma “Tor Vergata”

Alessandra Polissi, Dipartimento di Scienze farmacologiche e biomolecolari “Rodolfo Paoletti”, Università degli Studi di Milano

Anna Maria Puglia, Consorzio Italbiotec, Milano

Paola Quatrini, Dipartimento di Scienze della Terra e del Mare (DiSTeM), Università degli Studi di Palermo

Ezio Ricca, Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Napoli “Federico II”

Anna Maria Sanangelantoni, Dipartimento di Scienze chimiche, della Vita e della Sostenibilità ambientale, Università degli Studi di Parma

Margherita Sosio, Naicons, Saronno (VA)

Stefania Stefani, Dipartimento di Scienze biomediche e Biotecnologiche, Università di Catania

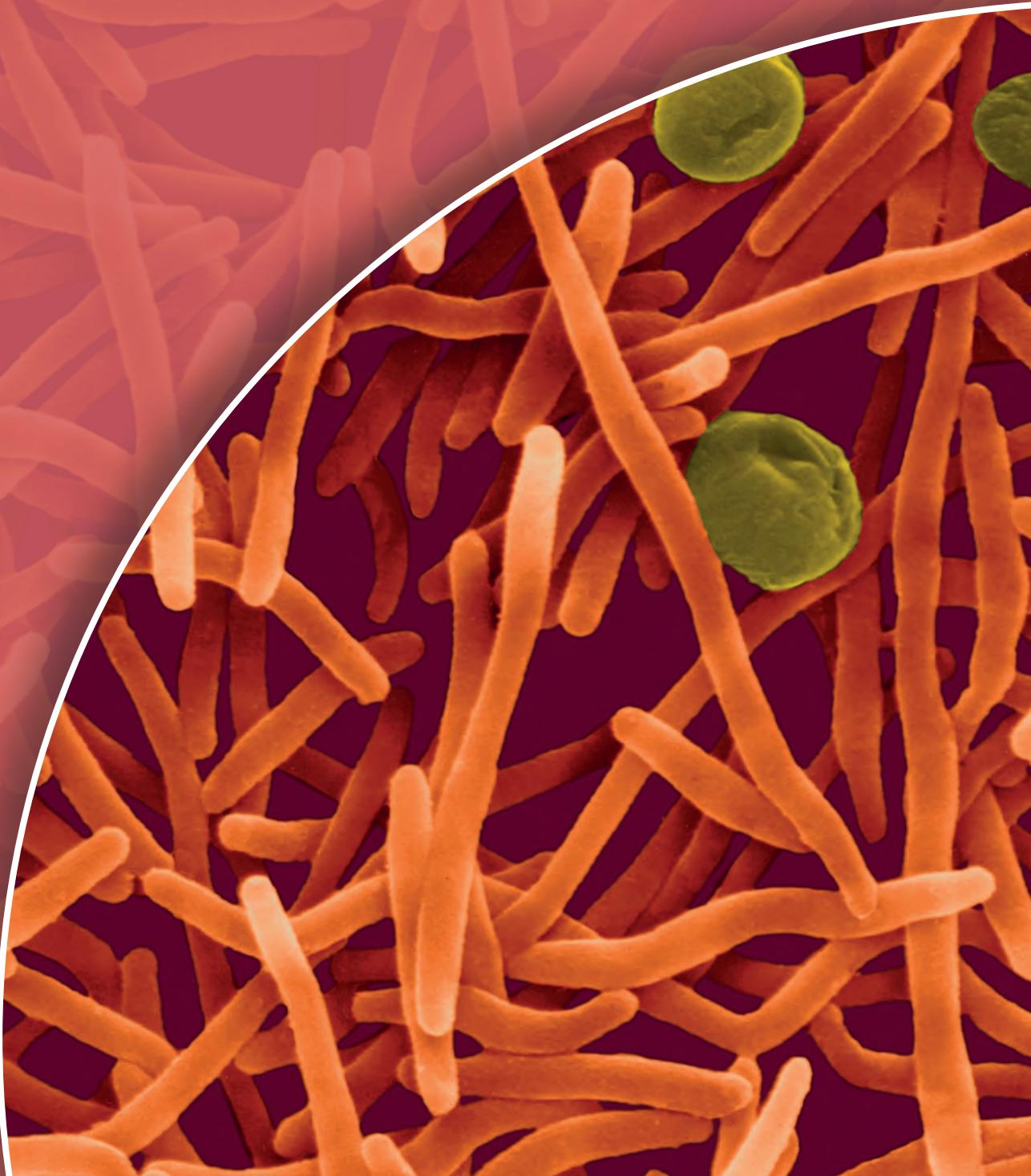
Francesca Turroni, Dipartimento di Scienze chimiche, della Vita e della Sostenibilità ambientale, Centro Interdipartimentale “Microbiome Research Hub”, Università degli Studi di Parma

Marco Ventura, Dipartimento di Scienze chimiche, della Vita e della Sostenibilità ambientale, Centro Interdipartimentale “Microbiome Research Hub”, Università degli Studi di Parma

Davide Zannoni, Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie, *Alma Mater Studiorum* Università di Bologna

PARTE A

Struttura e funzioni delle cellule procariote



1

ALLA SCOPERTA DEL MONDO MICROBICO

▶ 1.1 IL MONDO DEI MICRORGANISMI

Cellula, organismo vivente, microrganismo
Limiti della crescita e riciclo della materia
Unità e diversità del mondo vivente
Prokarioti-eucarioti, Bacteria-Archaea
Organismi modello e diversità microbica

▶ 1.2 COME SI COSTRUISCE UNA CELLULA

Materia-energia-informatione
Dalle molecole semplici alle strutture sopramolecolari
Accrescimento e divisione

▶ 1.3 DALLA MICROBIOLOGIA INCONSAPEVOLE ALLA SCOPERTA DEI MICRORGANISMI

Confutazione della teoria della generazione spontanea
Sviluppo delle tecniche di base per lo studio dei microrganismi

▶ 1.4 MICRORGANISMI E AMBIENTE

Microrganismi come agenti di malattie e come produttori di farmaci antibatterici

- **Scheda 1.1** *I postulati di Koch*

▶ 1.5 MICRORGANISMI E TRASFORMAZIONE DELLA SOSTANZA ORGANICA

▶ 1.6 SVILUPPO DELLA MICROBIOLOGIA COME SCIENZA DI BASE E APPLICATA

- **Scheda 1.2** *Alcune tappe significative nella storia della microbiologia*

▶ 1.7 AREE SPECIALISTICHE DELLA MICROBIOLOGIA

1.1 Il mondo dei microrganismi

Che cos'è la vita? Difficile fornire una definizione sintetica ed esaustiva allo stesso tempo, data la complessità di questo fenomeno. Un essere vivente può essere definito come "un sistema in disequilibrio termodinamico con l'ambiente esterno, capace di mantenersi, di riprodursi e di evolvere". Questo sistema è realizzato attraverso strutture, funzioni e proprietà che accomunano tutto ciò che consideriamo organismo vivente. In questo capitolo introduttivo forniremo un quadro sintetico delle specificità strutturali e funzionali che caratterizzano gli organismi viventi e di come la scoperta e lo studio dei microrganismi abbiano contribuito alla comprensione del fenomeno biologico.

1.1.1 Cellula, organismo vivente, microrganismo

Tutti gli organismi viventi sono costituiti da **cellule**, le unità strutturali elementari cui possiamo attribuire le proprietà essenziali del vivente. Alcuni organismi sono costituiti da una sola cellula (**organismi unicellulari**), altri da più cellule solitamente differenziate in tipi diversi (**organismi pluricellulari**). La maggior parte degli organismi viventi sulla Terra (sia come numero assoluto sia, presumibilmente, come numero di specie) sono unicellulari. Questi, insieme ad alcune classi di organismi pluricellulari, rappresentano i **microrganismi**. Il nome deriva dal fatto che normalmente questi organismi non sono visibili a occhio nudo. Per osservarne quindi forma e struttura è necessario ricorrere al **microscopio ottico**.

Già a livello morfologico possiamo apprezzare la grande diversità tra cellule: si confronti una cellula dell'epidermide umana con una dell'apice radicale di una pianta, un neurone, un paramecchio, un'ifa fungina, una spirocheta (**Figura 1.1**), solo per citare alcune delle tante tipologie. Ancora più grande può essere la diversificazione funzionale o la collocazione ecologica. Ma per capire "che cos'è la vita" occorre capire ciò che accomuna tutte queste forme prima di considerarne le differenze.

Le cellule hanno innanzitutto una loro **identità** (**Figura 1.2**) garantita da un rivestimento, la **membrana plasmatica**, che le delimita e le isola e allo stesso tempo le mette in comunicazione con l'ambiente esterno. Attraverso la membrana, infatti, la cellula è capace di scambiare molecole con l'esterno in modo selettivo, di percepire le variazioni dell'ambiente circostante e di mettere in atto processi di adattamento che le consentono di mantenere la propria integrità (**omeostasi**). Tuttavia, nel lungo periodo il mantenimento di una specie cellulare è garantito solo dal fatto che le cellule sono capaci di riprodursi, generando a ogni ciclo due cellule virtualmente identiche alla cellula parentale. Secondo l'assioma di Rudolph Virchow (1858), ogni cellula esistente deriva dalla divisione di un'altra cellula. Una cellula incapace di riprodursi è destinata a scomparire, non fosse altro a causa di eventi accidentali che possono danneggiarne irreparabilmente l'integrità.

L'omeostasi e, a maggior ragione, la riproduzione cellulare richiedono che materiale non cellulare venga importato dall'ambiente esterno nella cellula, elaborato e trasformato in strutture cellulari e infine in nuove cellule. Tutto questo im-

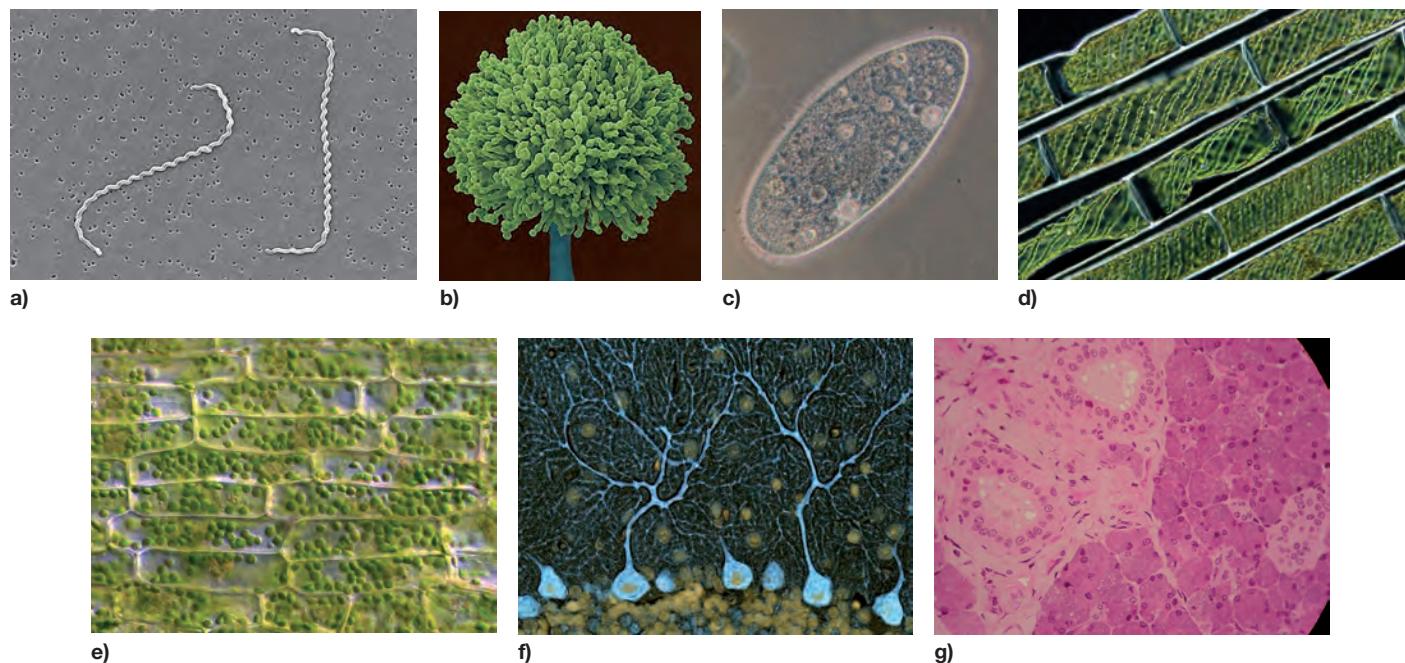


Figura 1.1 Confronto tra cellule di specie e di tessuti diversi. (a) *Leptospira interrogans* (batterio). (b) *Aspergillus flavus* (muffa verde). (c) *Paramecium aurelia*, protozo ciliato. Le bolle all'interno della cellula sono vacuoli. L'intera superficie è coperta di ciglia che risultano sfocate a causa del loro rapido movimento. (d) *Spirogyra* (alga verde) con cloroplasti avvolti (600x). (e) Cellule della foglia di *Elodea canadensis*; ben visibili i cloroplasti. (40x). (f) Cellule di Purkinje (cervello di ratto; 40x). (g) Epitelio stratificato cuboidale/colonare visibile in un dotto circondato da tessuto connettivo nella ghiandola parotide. (a), (b), microscopia elettronica a scansione; (c), (f), (g), microscopia ottica; (d), (e), microscopia ottica a contrasto di interferenza differenziale.

2.3 Parete batterica

La maggior parte dei batteri, esternamente alla membrana plasmatica, possiede una parete. Nonostante la diversa architettura, sia la parete di tipo Gram positivo sia quella di tipo Gram negativo posseggono un'unica enorme molecola polimerica detta **sacculo di mureina** che avvolge completamente la cellula formando una sorta di esoscheletro cellulare (**Figura 2.12**).

2.3.1 Sacculo di mureina

Il sacculo conferisce alla cellula rigidità e forma, ne protegge l'integrità contrastando la pressione osmotica interna ed è capace di restringere ed espandere il suo volume fino a tre volte senza rompersi sotto una pressione osmotica che può raggiungere a volte le 20 atmosfere. Questa struttura cellulare è essenzialmente costituita da **peptidoglicano** (detto anche **mureina**).

Come già accennato (» par. 2.2), nella parete dei batteri Gram positivi è presente unico spesso strato di peptidoglicano, mentre quella dei Gram negativi presenta una struttura pluristratificata e più complessa che comprende solo un sottile strato di peptidoglicano.

Il peptidoglicano ha una struttura reticolare formata da catene glicaniche costituite da due amminozuccheri alternati, l'*N*-acetil-glucosammina (NAG) e l'acido *N*-acetil-muramico (NAM). Al NAM è legato uno stelo tetrapeptidico tramite il quale le catene glicaniche si legano tra loro covalentemente (**Figure 2.13** e **2.14**) formando un'enorme molecola che avvolge la cellula.

La parete mureinica può essere indebolita o rimossa mediante trattamento con antibiotici che inibiscono la sintesi del peptidoglicano (» **Scheda 2.4**) o con enzimi specifici che lo degradano, come il lisozima, che catalizza l'idrolisi del legame β -1,4-glicosidico tra gli amminozuccheri del peptidoglicano.

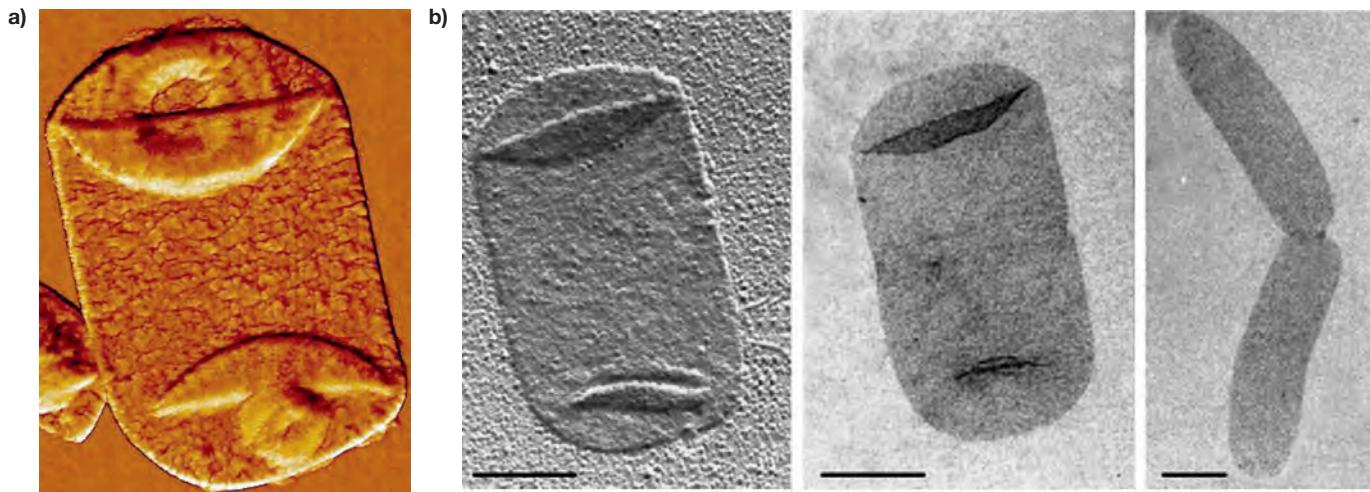


Figura 2.12 Sacculi batterici purificati osservati al microscopio elettronico. Sacculi di *Escherichia coli* (a) e del termofilo estremo *Thermus thermophilus* (b). Si notino alle regioni polari le pieghe che si formano quando la struttura cilindrica collappa sulla superficie piatta.

Questi trattamenti possono portare alla **lisì osmotica** delle cellule se si trovano in un ambiente ipotonico; tuttavia, se le cellule si trovano in un ambiente isotonico (per esempio in una soluzione 0,25 M di saccarosio che, non essendo in grado di entrare nella cellula, bilancia la pressione osmotica intracellulare) si possono ottenere cellule prive di parete dette **protoplasti** nei batteri Gram positivi o **sferoplasti**, dotati di membrana esterna, nel caso dei Gram negativi (**Figura 2.15**). Se i protoplasti e gli sferoplasti sono trasferiti in ambiente ipotonico, questi si rigonfiano per ingresso del solvente fino a lisare. Questi semplici esperimenti evidenziano il ruolo essenziale della parete nel contrastare la pressione osmotica intracellulare e conferire forma e rigidità alla cellula batterica.

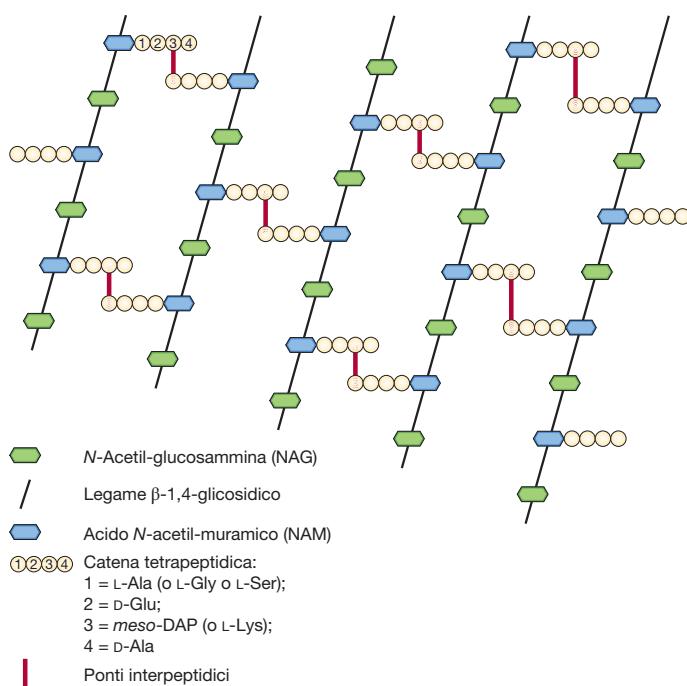


Figura 2.13 Rappresentazione schematica generale della struttura del peptidoglicano.

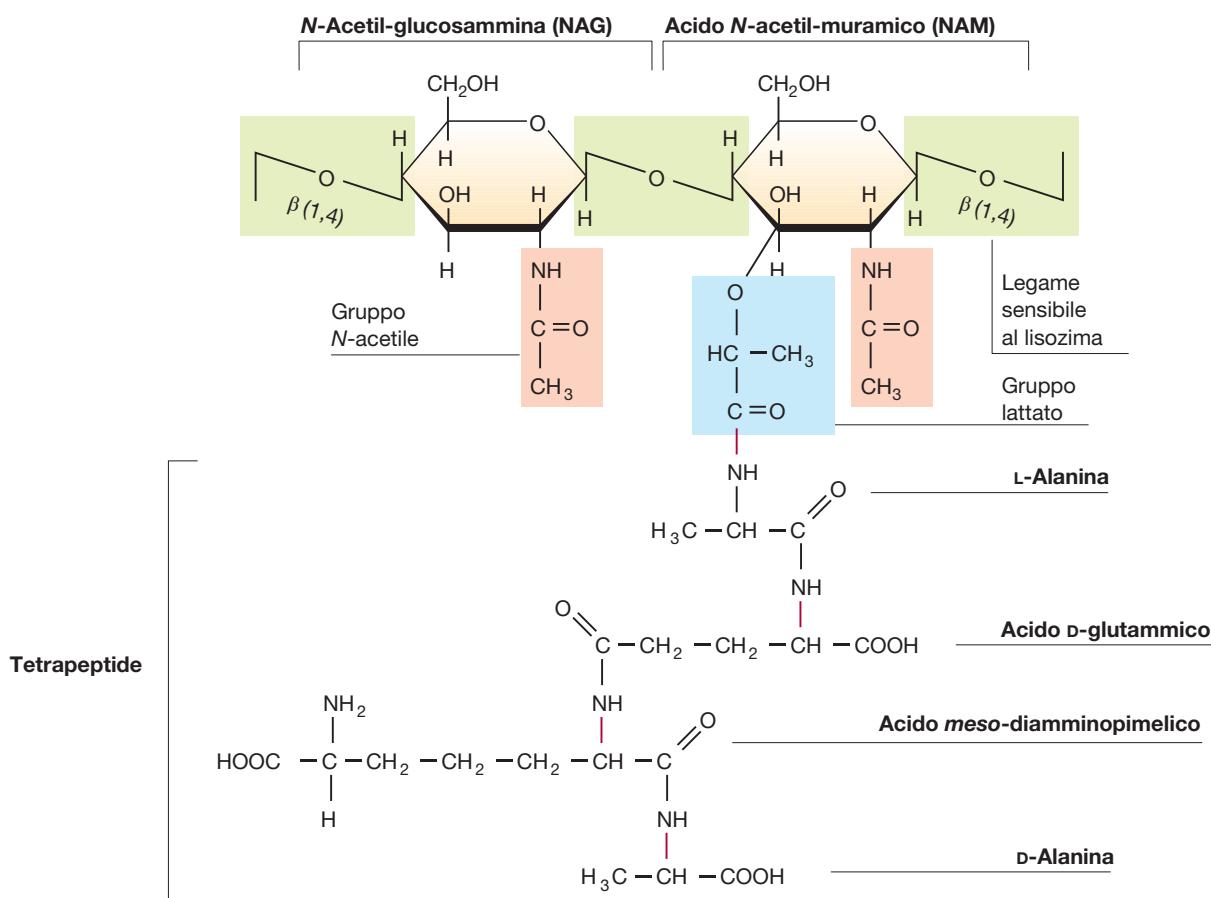


Figura 2.14 Struttura del glicano tetrapeptide di *Escherichia coli*, unità ripetuta del peptidoglicano. La struttura è comune a quella di altri batteri Gram negativi, in cui possono essere presenti amminoacidi diversi da quelli mostrati in figura. Il filamento glicanico è costituito da NAM e NAG alternati, legati da legami β -1,4-glicosidici.

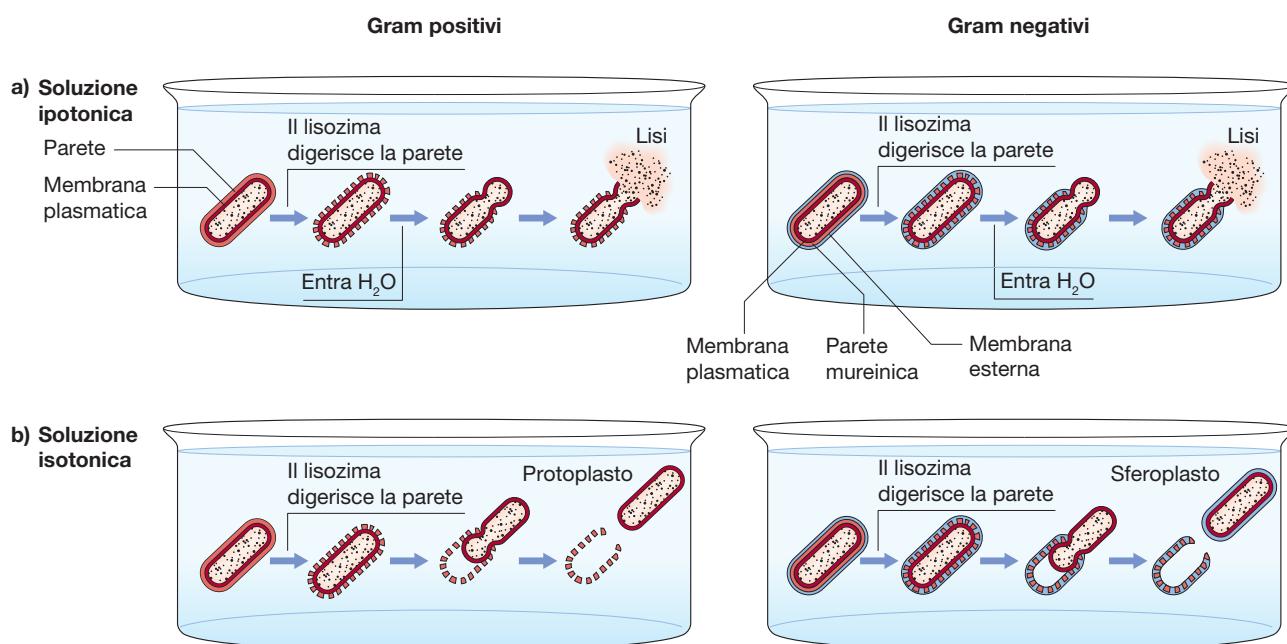


Figura 2.15 Effetto della distruzione della parete batterica a opera del lisozima. Il lisozima idrolizza il legame β -1,4-glicosidico indebolendo la parete batterica. **(a)** In una soluzione ipotonica le molecole d'acqua entrano nel citoplasma attraverso la membrana plasmatica semipermeabile. La parete danneggiata non riesce più a contrastare la pressione di turgore causando la lisi cellulare dei batteri sia Gram positivi sia Gram negativi. **(b)** In una soluzione isotonica, invece, protoplasti e sferoplasti restano intatti e vitali.

I batteri appartenenti al genere *Mycobacterium* sono caratterizzati dalla presenza di una parete cellulare assolutamente peculiare, insolitamente spessa, ricca di componenti cereose che formano uno spesso strato impermeabile. Ciò rende inutilizzabili le normali colorazioni a base di composti idrofili (inclusa la colorazione di Gram); la colorazione di Ziehl-Neelsen (► Scheda 2.7) permette di colorare in modo differenziale questo importante gruppo di batteri.

La parete dei micobatteri ha una struttura abbastanza complessa (Figura 2.31) che può essere divisa in due strati: lo **strato basale (core)** costituito da peptidoglicano e arabinogalattano, e una **struttura più esterna bistratificata** costituita da uno strato di acidi micolici e uno di cere (glicolipidi fenolici).

La disposizione di acidi micolici e cere è tale da formare una vera e propria **membrana esterna**, strutturalmente e funzionalmente analoga alla membrana esterna dei batteri Gram negativi ma di composizione molto diversa. Anche nella membrana esterna micobatterica sono inserite proteine di diversi tipi e funzioni, tra cui porine che mediano il passaggio di soluti.

Lo strato basale è costituito da un **copolimero** di peptidoglicano e arabinogalattano. L'**arabinogalattano**, che rappresenta il maggior polisaccaride di parete, è un polisaccaride ramificato complesso, dove i residui di zuccheri (arabinosio e galattosio) che lo compongono sono presenti in forma furanosica (struttura dell'anello a cinque atomi di

carbonio) anziché in forma piranosica (a sei atomi di carbonio). Arabinogalattano e peptidoglicano sono uniti tramite legame fosfodiesterico in posizione 6 in circa il 10–12% dei residui di acido muramico.

Gli **acidi micolici**, che fanno parte del foglietto interno della membrana esterna micobatterica, sono acidi grassi complessi a catena lunga (C₆₀–C₉₀), alchilati e idrossilati. Gli acidi micolici sono ancorati covalentemente alla parete dei batteri (Figura 2.31), contribuendo alla scarsa fluidità della membrana esterna micobatterica.

Nel foglietto esterno troviamo le **cere**, glicolipidi complessi caratterizzati da catene carboniose molto lunghe e ramificate che interagiscono con gli acidi micolici legandosi a essi in modo non covalente attraverso le porzioni lipidiche. Nella membrana esterna sono presenti anche fosfolipidi.

Questa parete cellulare così complessa, impermeabile e poco fluida, costituisce una barriera protettiva formidabile e rende i micobatteri completamente impermeabili a molte sostanze utilizzate nella terapia medica, compresi molti antibiotici.

Tra gli antibiotici efficaci verso i micobatteri troviamo la rifampicina (► Scheda 11.2), alcuni derivati dell'isoniazide e i benzotiazinoni (► Scheda 2.8).

Da ricordare infine due gruppi di batteri privi di parete mureinica: i micoplasmi, filogeneticamente appartenenti ai Gram positivi (► Scheda 2.9), e le clamidie, appartenenti ai Gram negativi (► Scheda 2.10).

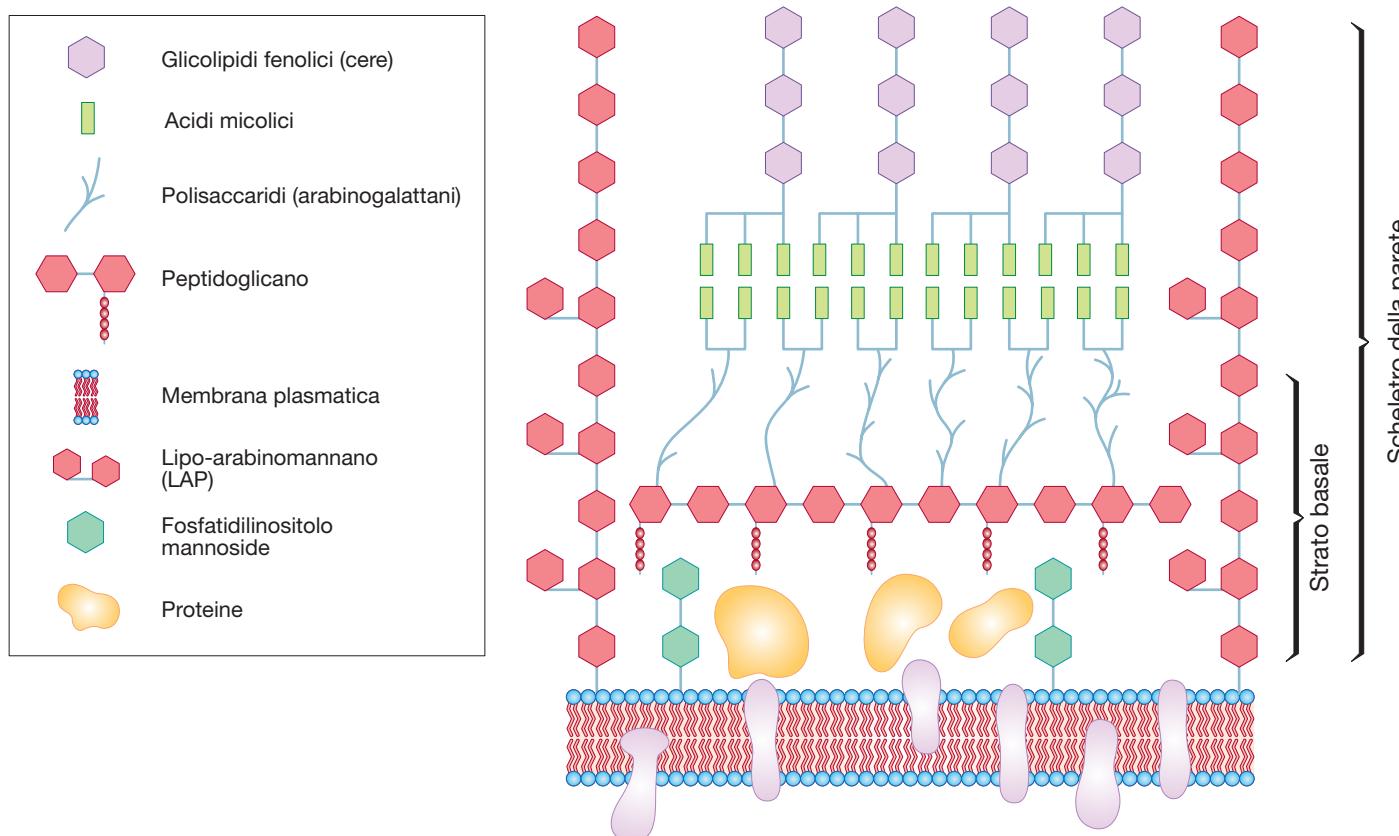


Figura 2.31 Involucro cellulare in *Mycobacterium*.

SCHEDA

2.7

LA COLORAZIONE DI ZIEHL-NEELSEN (ACIDO-RESISTENZA)

La particolare struttura della parete cellulare conferisce ai batteri del genere *Mycobacterium* una caratteristica importante per la loro identificazione in microscopia ottica, detta acido-resistenza.

I micobatteri infatti sono estremamente difficili da colorare con le consuete tecniche, poiché i coloranti tradizionali, come quelli utilizzati per la colorazione di Gram, non riescono a oltrepassare la barriera impermeabile della loro parete cellulare; d'altra parte, se in condizioni e con coloranti particolari si riesce a imbibire le cellule con un colorante, queste risultano resistenti alla decolorazione.

Verso la fine del secolo XIX **Franz Ziehl** e **Friedrich Neelsen** misero a punto un procedimento (noto come colorazione di Ziehl-Neelsen o acido resistente; **Figura S2.7-1**) con cui colorare in modo irreversibile i micobatteri. Questa colorazione differenziale prevede, in primo luogo, dopo la fissazione al calore del campione su un vetrino da microscopio, un trattamento a caldo dei batteri con una soluzione di fucsina e fenolo in etanolo (detta anche **carbolfucsina**): a temperatura elevata questo colorante è solubile nei lipidi di parete dei micobatteri e può così penetrare nel citoplasma. Si procede poi con una decolorazione con alcol acido (al 3%) a temperatura ambiente. Questo trattamento non ha effetto sui micobatteri, ma decolora tutti gli altri batteri presenti sul vetrino. Infine si effettua una colorazione di contrasto con **blu di metilene**, che non viene assorbito dai micobatteri ma colora gli altri batteri presenti nel preparato.

Sul vetrino così colorato i micobatteri appaiono come bastoncini rossi (perché non hanno perso la colorazione iniziale della fucsina), mentre altri batteri eventualmente presenti sono colorati in blu.

Micobatteri



Fissazione delle cellule al calore

Carbolfucsina

Trattamento a caldo

Decolorazione con alcol acido

Colorazione di contrasto (blu di metilene)

Non micobatteri

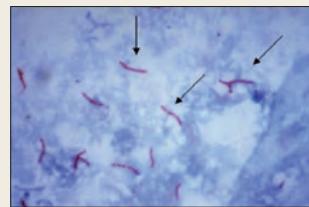


Figura S2.7-1 Procedimento della colorazione Ziehl-Neelsen. I batteri acido-resistenti appaiono rossi. Le frecce indicano cellule di *Mycobacterium tuberculosis* dopo la colorazione.

SCHEDA

2.8

ANTIBIOTICI ANTIMICOBATTERICI PER IL TRATTAMENTO DELLA TUBERCOLOSI

La tubercolosi (TB), nota anche come piaga bianca o *white plague*, ha rappresentato per millenni una delle principali cause di morte ed è tuttora una delle emergenze sanitarie più importanti soprattutto nei Paesi in via di sviluppo.

L'agente patogeno responsabile è *Mycobacterium tuberculosis*, passato dagli animali alle persone con i primi allevamenti circa 10 000 anni fa. Il picco d'infezione fu raggiunto a cavallo tra il XVIII e il XIX secolo: Robert Koch, scopritore dell'agente causale della malattia (per questo denominato anche **bacillo di Koch**) scriveva nel 1882 di come la malattia fosse responsabile, ai suoi tempi, di almeno un decesso su sette. Attualmente la mortalità della tubercolosi è stimata in circa 1,3 milioni di decessi l'anno (circa il 16% dei decessi totali), soprattutto nei Paesi emergenti, con circa 10

milioni di nuovi casi per anno e 2 miliardi di portatori del micobatterio in forma latente. *M. tuberculosis* appartiene alla famiglia delle Mycobacteriaceae e all'ordine Actinomycetales. Ha una complessa parete cellulare cerosa con circa 250 geni dedicati al metabolismo lipidico, con produzione di lunghe catene di acidi micosici ramificati in grado di ridurne la permeabilità: questo ostacola la penetrazione delle molecole esogene, antibiotici compresi (► par. 2.5). Nelle infezioni umane, le cellule di *M. tuberculosis* sono trasmesse per via aerea, vengono fagocitate dai macrofagi degli alveoli polmonari e si installano nel fagosoma primario, dove iniziano a replicare avendo inibito la fusione con il lisosoma. Il polmone è l'organo bersaglio in cui il patogeno risiede durante l'infezione e durante il periodo di latenza. La TB può permane-

re allo stato latente per decenni, ma si può riattivare in qualsiasi momento. La micro-aerofilia della popolazione di *M. tuberculosis* nei polmoni infettati e la bassa permeabilità di questo microrganismo rendono la terapia curativa con antibiotici difficile e lenta. Infatti, mentre una comune infezione batterica richiede dai 10 ai 14 giorni per ottenere la guarigione, la cura della TB può arrivare a 18 mesi. Attualmente una "cura breve" prevede una **terapia combinata** di almeno 6 mesi; una cura più breve o monoterapica potrebbe portare al fallimento del farmaco e all'insorgenza di batteri resistenti. Per aumentare le possibilità di successo è di fondamentale importanza un'appropriata terapia antibiotica. I pazienti hanno buone probabilità di guarire, tuttavia l'uso dei farmaci antitubercolari, se da un lato riduce la mortalità, dall'altro può

SCHEDA

2.8 ANTIBIOTICI ANTIMICOBATTERICI PER IL TRATTAMENTO DELLA TUBERCOLOSI

determinare, se applicato in modo improprio, l'aumento dei casi cronici e soprattutto la comparsa di ceppi resistenti.

Diversi sono i farmaci considerati di prima scelta per il trattamento della tubercolosi: rifamicine, isoniazide, pirazinamide, etambutolo, streptomicina, piridomicina e benzotiazinoni. La terapia prevalente prevede l'utilizzo di 4 farmaci (isoniazide, rifamicina pirazinamide ed etambutolo) per 4 mesi e successivamente 2 farmaci (isoniazide e rifamicina) per altri 2 mesi: tale protocollo in presenza di micobatteri sensibili permette il raggiungimento di un tasso di guarigione di circa il 97%.

Le prime **rifamicine** naturali sono state isolate nel 1958 da brodi di fermentazioni di *Amycolatopsis mediterranei* come miscela di più componenti. Tra questi, la **rifamicina B**, attiva su batteri Gram positivi e sui micobatteri, è stata la più studiata: si è osservato infatti che in soluzioni diluite la sua attività aumentava nel tempo, probabilmente a causa di trasformazioni in prodotti più attivi; ciò ha dato inizio a un vasto programma di preparazione e ottimizzazione di rifamicine semisintetiche. La rifamicina e i suoi derivati semisintetici agiscono come inibitori della trascrizione legandosi alla RNA polimerasi batterica. Altri de-

rivati come la **rifabutina** si sono dimostrati attivi su ceppi resistenti alla rifampicina (**Scheda 11.2**).

Gli antibiotici isoniazide, pirazinamide, etambutolo e benzotiazinoni sono di origine sintetica (**Figura S2.8-1**).

L'**isoniazide** (INH, *Isonicotinic Acid Hydrazide*) è stata usata per decenni prima che diversi studi ne rivelassero il meccanismo d'azione come farmaco anti-TB; è un **pro-farmaco** (*prodrug*), ossia una molecola farmacologicamente inattiva che *in vivo* viene trasformata in un prodotto attivo. Infatti l'isoniazide deve essere attivata dall'enzima catalasi perossidasi KatG, che, accoppiando il radicale dell'acido isonicotinico in forma esterificata con il NADH, forma un complesso acile-NADH. Questo complesso lega saldamente la enoil-ACP reduttasi, InhA, bloccando di fatto l'azione dell'acido grasso sintasi. Questo processo inibisce la sintesi di acido micolico, necessario per la parete cellulare dei micobatteri.

I **benzotiazinoni** (BTZ) rappresentano una nuova classe molto promettente di agenti antimicobatterici, capaci di agire anche verso i batteri multiresistenti. Hanno un meccanismo di azione differente da rifampicina e isoniazide. Infatti, legando-

si all'enzima decaprenilfosforil- β -D-ribosio ossidasi (DprE1), coinvolto nella sintesi di arabino-galattano, impediscono la formazione della parete cellulare di *M. tuberculosis*. **BTZ043** è un composto di questa classe che ha dimostrato efficacia su modelli animali *in vitro* e *in vivo* e si trova attualmente nella fase 2 della ricerca clinica. I BTZ in combinazione con rifampicina o isoniazide mostrano un interessante effetto additivo.

Pirazinamide ed **etambutolo** sono *pro-drug* impiegati in associazione con rifampicina e isoniazide. In genere vengono utilizzati nei primi mesi di terapia.

Tra gli antibiotici antimicobatterici troviamo anche la **piridomicina**, un prodotto naturale descritto nel 1953 come agente antitubercolare con una limitata attività verso altri batteri patogeni. È un ciclodepsipeptide contenente residui di 3-(3-piridil)-L-alanina e acido 2-idrossi-3-metilpent-2-enoico. Studi genetici e biochimici hanno dimostrato che agisce inibendo specificamente l'enoil-ACP reduttasi NADH-dipendente InhA, come bersaglio principale. Anche la piridomicina, come l'isoniazide, inibisce la sintesi degli acidi micolici in *M. tuberculosis*.

I ceppi di *M. tuberculosis* resistenti ai singoli farmaci prendono origine da mutazioni spontanee puntiformi nel genoma del micobatterio che si verificano con frequenze basse e prevedibili. Dal momento che non vi è resistenza crociata tra i farmaci comunemente usati, la probabilità che un ceppo sia resistente a due farmaci è bassa, essendo il risultato del prodotto della probabilità di resistenza a ognuno dei farmaci considerati. Ciò nonostante, oltre a ceppi resistenti ai singoli antibiotici come (**RR-TB**) (*Rifampicin Resistant Tuberculosis*), resistenti a rifampicina, sono emersi anche ceppi con resistenze multiple, come (**MDR-TB**) (*MultiDrug-Resistant*), resistenti a rifampicina e isoniazide, e (**XDR-TB**) (*Extensively Drug-Resistant*, estensivamente resistenti), così chiamati perché, oltre a essere (MDR)-TB, hanno sviluppato un'ulteriore resistenza ai fluorochinoloni o ad altri farmaci come amminoglicosidi, amikacina, kanamicina o capreomicina.

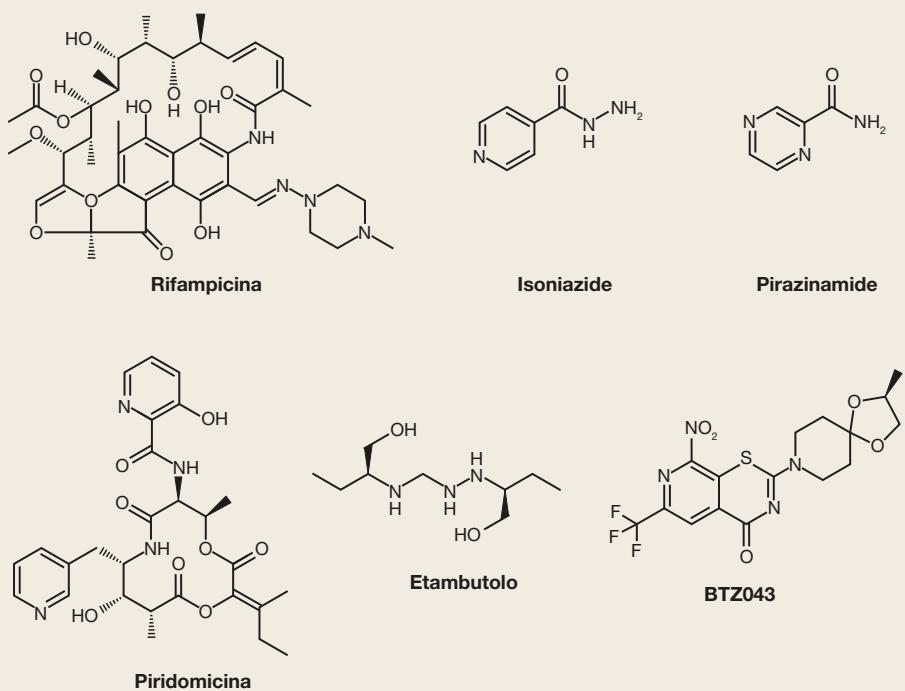


Figura S2.8.1 Struttura chimica dei principali farmaci contro la tubercolosi.

SCHEDA

2.9 I MICOPLASMI: BATTERI GRAM POSITIVI SENZA PARETE

I micoplasmi sono batteri appartenenti alla classe Mollicutes, phylum Tenericutes, e sono divisi in tre ordini: Anaeroplasmatales (generi *Anaeroplasma*, *Asteroleplasma*), Acholeplasmatales (genere *Acholeplasma*), Mycoplasmatales (generi *Mycoplasma*, *Ureaplasma*, *Spiroplasma*).

Questo particolare gruppo di batteri è incapace di sintetizzare il peptidoglicano ed è pertanto privo di parete. Le cellule dei micoplasmi, quindi, sono racchiuse esclusivamente dalla membrana plasmatica e ricordano molto da vicino i protoplasti. La loro membrana è peculiare: è lipoproteica e ricca di steroli, caso unico fra le cellule batteriche. Queste caratteristiche della membrana rendono i micoplasmi resistenti alla lisi osmotica. Alcuni micoplasmi contengono lipoglicani che sono legati alla membrana e facilitano l'adesione dei batteri alle cellule animali.

Le cellule dei micoplasmi sono pleomorfe: possono essere anche molto piccole, filtrabili attraverso membrane con porosità 0,2–0,3 µm, o avere forme filamentose, e si riproducono per gemmazione, frammentazione, scissione binaria. Solitamente sono immobili, tranne alcune specie che possono spostarsi sulle superfici per scivolamento. Molti micoplasmi formano, su terreno agarizzato, colonie piccole e molto particolari che penetrano nell'agar assumendo la classica forma a "uovo fritto" (**Figura S2.9-1a-c**). Per la crescita richiedono terreni ricchi complessi e necessitano, tra l'altro, di colesterolo e acidi grassi a lunga catena oltre che vitamine, precursori di acidi nucleici e aminoacidi. Essendo prive di parete, le cellule risultano negative alla colorazione di Gram; tuttavia filogeneticamente, in base alla sequenza dell'RNA ribosomale 16S, questi batteri risultano essere Gram positivi a basso contenuto G+C (23–46%). Il genoma dei micoplasmi è molto piccolo; ciò è in accordo con le loro elevate richieste nutrizionali, essendo privi di numerose vie biosintetiche. Nel genere *Mycoplasma* le dimensioni del genoma sono comprese tra 580 e 1350 kb, leggermente maggiori in altri micoplasmi (da 750 a 2200 kb).

I micoplasmi sono tutti commensali, parassiti o patogeni che provocano infezioni croniche e spesso difficili da diagnosticare. Nell'essere umano causano patologie localizzate soprattutto all'apparato respiratorio o genitale, dove si moltiplicano sulla superficie delle mucose. Essendo privi di parete cellulare non sono soggetti all'azione di antibiotici che inibiscono la sintesi del peptidoglicano, come i β-lattamici (penicilline e cefalosporine) e ciò rende più difficile la loro eradicazione.

Il maggior responsabile di patologie respiratorie è ***Mycoplasma pneumoniae***, una delle principali cause della polmonite atipica primaria, forma più grave e frequente di polmonite dopo quella causata da *Streptococcus pneumoniae* che, a causa della mancanza del peptidoglicano, non può essere trattata con gli antibiotici β-lattamici. Sono commensali *M. salivarium*, *M. oralis*, *M. buccale*, *M. faecium* e

M. lipophilum. Tra i micoplasmi che danno patologie a livello genitale e urinario si trovano con maggior frequenza *M. hominis* e, più raramente, *M. genitalium*, *M. fermentans*, *M. spermatophilum* e *M. pri-matum*.

Si conosce anche un gruppo di micoplasmi opportunisti che manifestano la loro patogenicità a livello genitale su individui affetti da HIV come *M. penetrans*, che ha la caratteristica di penetrare nell'epitelio mucoso (diversamente dagli altri) e moltiplicarsi.

Altri generi inclusi nell'ordine Mycoplasmatales sono ***Spiroplasma*** (**Figura S2.9-1d**), dalla caratteristica forma a cavatappi (comprese specie patogene per piante e insetti), e ***Ureaplasma***, tra cui *U. urealyticum*, il cui nome deriva dalla sua capacità di scindere, per via enzimatica, l'urea (a volte associato a infezioni del tratto urinario).

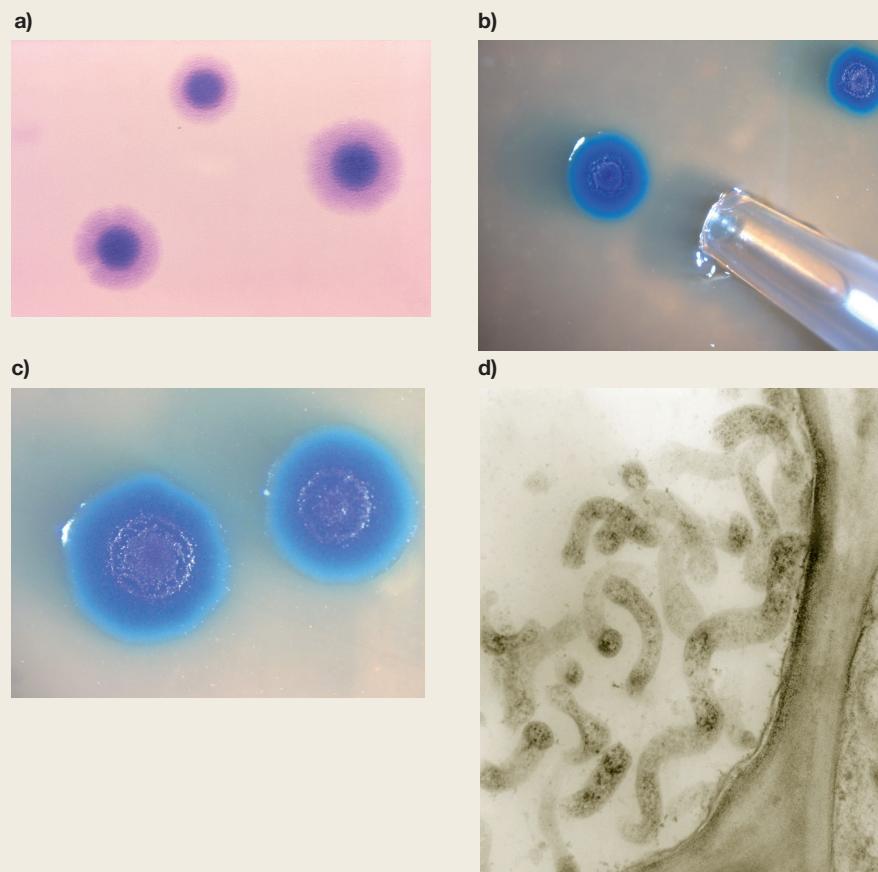
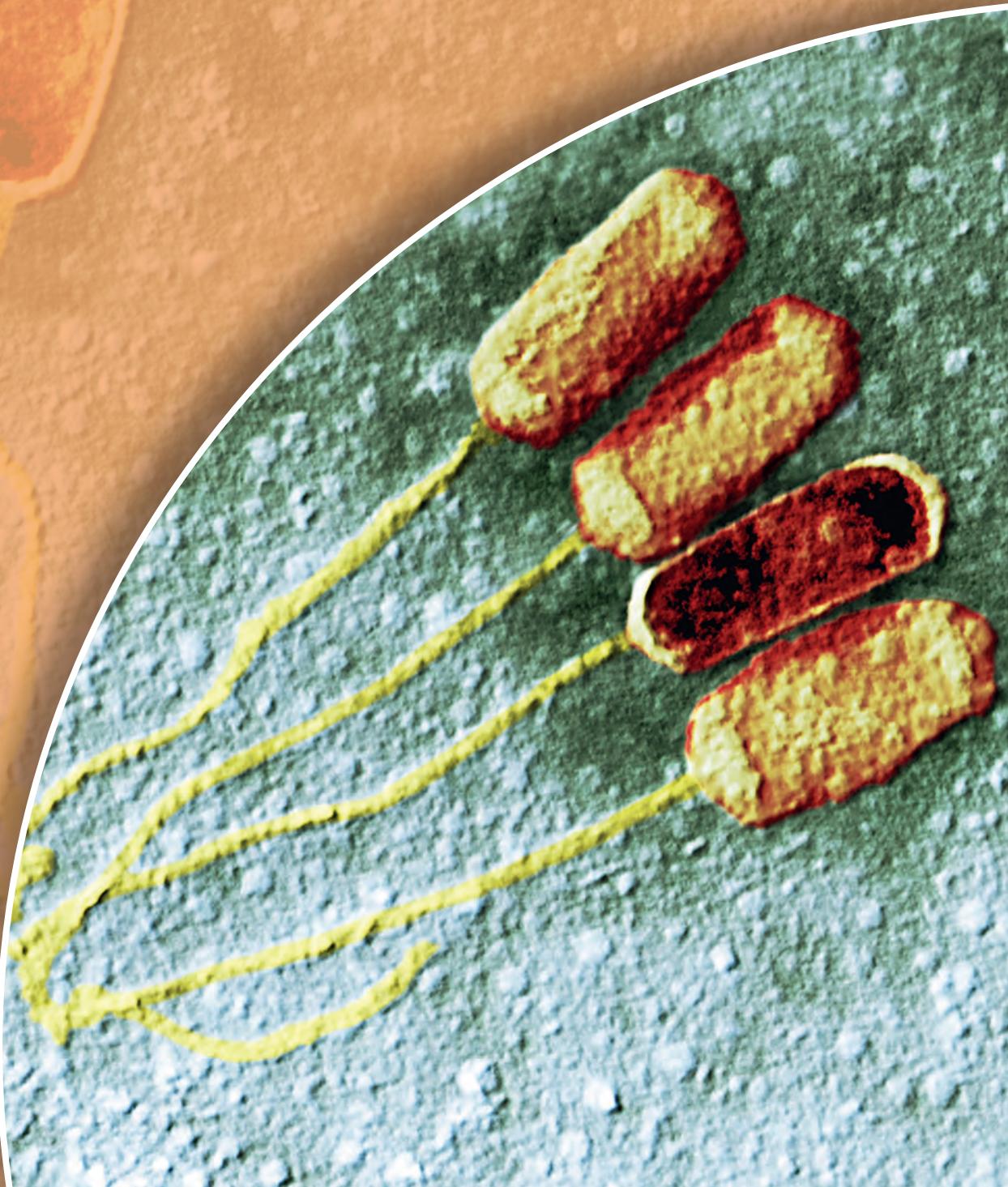


Figura S2.9-1 Micoplasmi. (a) Colonia di *Mycoplasma hominis*. (b-c) Colonia di *Mycoplasma mycoides*. (d) Cellule di *Spiroplasma* nel floema di una pianta di grano infettata. La colorazione blu è dovuta all'attività della β-galattosidasi sul substrato cromogeno presente nell'agar.

PARTE D

Eredità infettiva: i virus



14

CHE COSA SONO I VIRUS

► 14.1 STRUTTURA E ORGANIZZAZIONE DEI VIRIONI

- Diversità dei genomi virali
- Capside
- Involucro pericapsidico (envelope)

► 14.2 CLASSIFICAZIONE DEI VIRUS

- Sistema classico (ICTV)
- Sistema secondo Baltimore

► 14.3 CICLO REPLICATIVO DEI VIRUS

- Riconoscimento e adsorbimento
- Penetrazione
- Decapsidazione (*uncoating*)
- Espressione genica e replicazione del genoma virale
- Assemblaggio
- Maturazione
- Liberazione dei virioni

I virus sono elementi genetici infettivi che possono esistere in due fasi diverse: una fase intracellulare e una fase extracellulare.

Nella prima, l'elemento genetico può moltiplicarsi utilizzando molte funzioni fornite da una cellula ospite vivente (in particolare il metabolismo energetico e biosintetico e gli apparati per le biosintesi macromolecolari); nella fase extracellulare, l'acido nucleico virale che contiene l'informazione genetica dell'elemento è racchiuso in un involucro più o meno complesso e costituisce una particella nucleoproteica detta **virione**, capace di permanere (ma non di replicarsi) nell'ambiente extracellulare e di infettare una nuova cellula. Il virione, che contiene un solo tipo di acido nucleico (DNA o RNA), rappresenta quindi la forma di sopravvivenza con cui il virus si diffonde da una cellula a un'altra, mentre la fase riproduttiva avviene esclusivamente all'interno di cellule ospiti secondo modalità diverse.

Spesso, specie nel linguaggio comune, il termine "virus" evoca il "virione", ma ciò che caratterizza e dà un senso biologico a questi elementi genetici infettivi è la fase intracellulare, quando esprimono l'informazione genetica e si moltiplicano. Un virus potrebbe essere paragonato a un plasmide ([► par. 8.2.1](#)) capace di trasferirsi da una cellula a un'altra non tramite coniugazione o trasformazione, bensì costruendo "navicelle" infettive extracellulari che si diffondono nell'ambiente fino a che non incontreranno una nuova cellula.

Una caratteristica essenziale che riguarda le modalità di riproduzione distingue i virus dagli organismi cellulari. Infatti, a differenza di questi ultimi, le particelle virali per riprodursi non si accrescono né vanno incontro a divisione binaria, ma si formano per assemblaggio di componenti preformati che sono sintetizzati *de novo* dalla cellula ospite in base all'informazione genetica del virus. Le particelle così prodotte, i virioni, rappresentano la forma extracellulare che permette, nel ciclo infettivo, la diffusione e la trasmissione del genoma virale tra gli ospiti.

Virtualmente tutti gli organismi viventi, Bacteria, Archaea ed Eukarya, possono essere ospiti di virus specifici. I virus che infettano gli Archaea, i virus batterici (detti anche **batteriofagi o fagi**; [► Capitolo 15](#)) e i virus che infettano eucarioti unicellulari rivestono un ruolo ecologico importante nel controllo dell'abbondanza dei microrganismi in natura, nella composizione delle comunità microbiche e nella diversità genetica di queste; i virus che infettano organismi eucarioti ([► Capitolo 16](#)), sono responsabili di importanti patologie negli animali, esseri umani compresi, e nelle piante.

In questa sezione analizzeremo le caratteristiche generali che accomunano i virus prima di passare in rassegna i virus dei batteri e degli eucarioti. Le tappe fondamentali che hanno portato all'identificazione e definizione dei virus come nuovi agenti infettivi sono riassunte nella [► Scheda Web 14.1 - La scoperta dei virus](#).

14.1 Struttura e organizzazione dei virioni

Il virione è la forma extracellulare della particella virale completa, dotata di capacità infettiva. Questa particella è costituita dal genoma circondato da un involucro proteico protettivo, il **capside**.

L'osservazione al microscopio elettronico evidenzia l'ampia diversità di forme e strutture dei virioni: dai più semplici, che comprendono una singola molecola di acido nucleico e un solo tipo di proteina strutturale, fino ai più complessi, formati da molte proteine diverse e da altri componenti (Figura 14.1). Le loro dimensioni variano, di norma, tra i 20 e i 400 nm. In alcuni di essi il **nucleocapside**, ovvero l'insieme del genoma e delle proteine del capsid, è contenuto all'interno di un ulteriore involucro, detto **pericapsid o envelope**. I virus con envelope sono detti **virus rivestiti**, mentre i virus che non lo presentano sono anche chiamati **virus nudi** (Figura 14.2).

14.1.1 Diversità dei genomi viral

I genomi viral sono decisamente più diversificati, per composizione, struttura, dimensione e potere codificante, di quelli degli organismi cellulari procarioti ed eucarioti. In pratica, nei virus è possibile riscontrare qualsiasi configurazione molecolare in grado di codificare informazioni in un acido nucleico. Infatti, il genoma virale può essere costituito da DNA, RNA, oppure DNA con piccoli segmenti di RNA, e l'acido nucleico può a volte essere legato in modo covalente a proteine.

L'acido nucleico virale può essere a doppia elica (dsDNA, dsRNA), parzialmente a doppia elica (*gapped*), oppure a singola elica (ssDNA, ssRNA), con polarità positiva (+), ossia costituito dall'elica codificante, con polarità negativa (-), ossia costituito dall'elica complementare, oppure con polarità diversa in tratti genomici diversi. Il genoma virale, infine, può essere lineare o circolare, costituito da un'unica molecola o

suddiviso in più molecole (segmentato). Il numero di geni codificati da un genoma virale varia da meno di una decina fino a diverse centinaia.

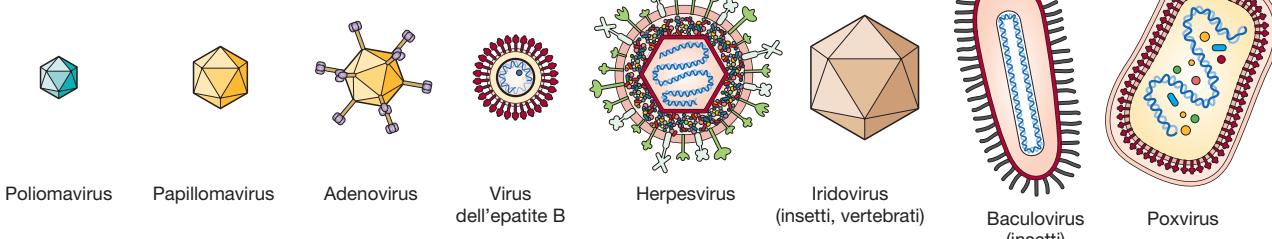
Questa **grande diversità** può permettere alcune considerazioni. Innanzitutto, quale significato può avere? Sebbene sia evidente che la natura di un genoma si riflette sulle strategie replicate dei virus, si hanno pochi elementi su eventuali vantaggi selettivi di un tipo di genoma rispetto a un altro.

Perché esistono **virus con genoma a DNA e virus con genoma a RNA**? Anche in questo caso non vi sono risposte certe, anche se si ritiene che i genomi di alcuni virus a RNA possano essere reliquie molecolari di un mondo antico in cui l'RNA era l'unica molecola depositaria dell'informazione genetica che, contemporaneamente, possedeva attività catalitica (*RNA world*). A quel tempo, miliardi di anni fa, sarebbero co-evoluti i primi organismi cellulari, con genoma a RNA, e virus a RNA. In seguito, l'evoluzione della vita cellulare verso una forma con materiale genetico a DNA si sarebbe accompagnata all'evoluzione dei virus a DNA. I virus con genomi a RNA che si sono dimostrati più competitivi dal punto di vista evolutivo avrebbero continuato a co-evolvere con i loro ospiti fino a oggi.

Esiste inoltre una qualche **relazione tra tipo di genoma e specificità di ospite**? Anche per questo aspetto non vi sono regole definitive. In generale, i genomi a RNA sono più diffusi tra i virus vegetali, sebbene si conoscano diversi virus delle piante a DNA, per esempio i *Geminiviridae* e i *Caulimoviridae*. Negli animali, molti virus a RNA tendono a diffondersi e passare a ospiti di specie diverse compiendo il cosiddetto "salto di specie", come si è osservato per i coronavirus, mentre i virus animali a DNA tendono a essere più specie-specifici per gli ospiti in cui si replicano.

Non vi sono invece dubbi sul fatto che l'assetto biosintetico delle cellule ospiti, basato su sistemi genetici a DNA, condiziona le strategie molecolari che virus con genoma a DNA o

a) Virus a DNA



b) Virus a RNA

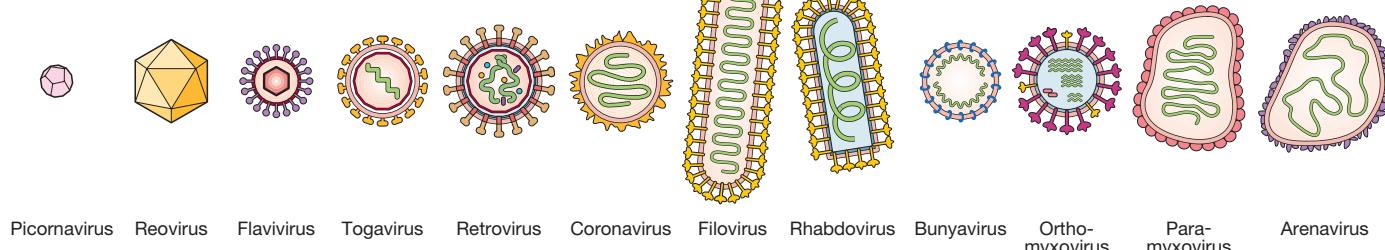


Figura 14.1 Diversità di forme e dimensioni dei virus animali.

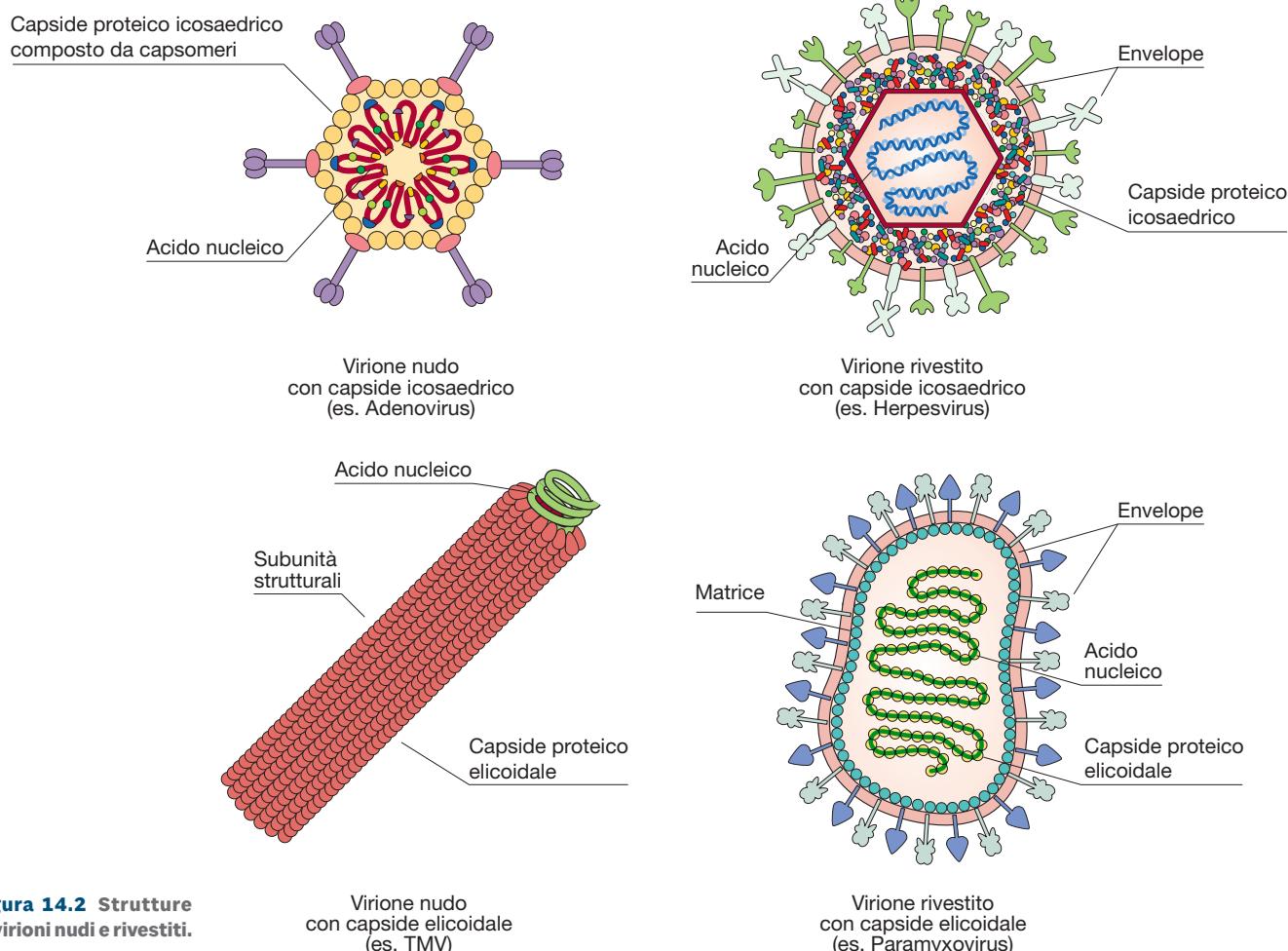


Figura 14.2 Strutture di virioni nudi e rivestiti.

a RNA hanno sviluppato per l'espressione e la replicazione del proprio genoma. Per i virus a DNA, queste sintesi possono, a prima vista, apparire facilitate dalla presenza di sistemi enzimatici evoluti per la trascrizione e duplicazione del DNA cellulare, che quindi possono essere semplicemente utilizzati dal virus. Al contrario, le cellule ospiti, siano esse vegetali o animali, non hanno RNA polimerasi RNA-dipendenti in grado di replicare i genomi dei virus a RNA o di sintetizzare un mRNA impiegando come stampo un altro RNA. Queste funzioni devono quindi essere espletate da RNA polimerasi RNA-dipendenti codificate dagli stessi virus. L'mRNA prodotto può così essere tradotto dai ribosomi dell'ospite. Un'importante eccezione a questa regola è rappresentata dai retrovirus, virus a ssRNA che producono mRNA a partire da una forma intermedia del loro ciclo replicativo costituita da dsDNA, il cosiddetto **provirus**, che viene trascritto dall'RNA polimerasi II dell'ospite.

In che forma i **genomi viral**i sono contenuti nei **capsidi**? Generalmente, virus con piccoli genomi, sia a RNA sia a DNA, liberano nella cellula infettata il loro acido nucleico come molecola nuda; con l'aumentare delle dimensioni dei genomi, o con la loro segmentazione, si osserva l'associazione con specifiche proteine virali in grado di interagire e legare gli acidi nucleici. Tuttavia, nonostante la presenza di proteine virali associate con il genoma, non si osserva mai, tranne nel caso

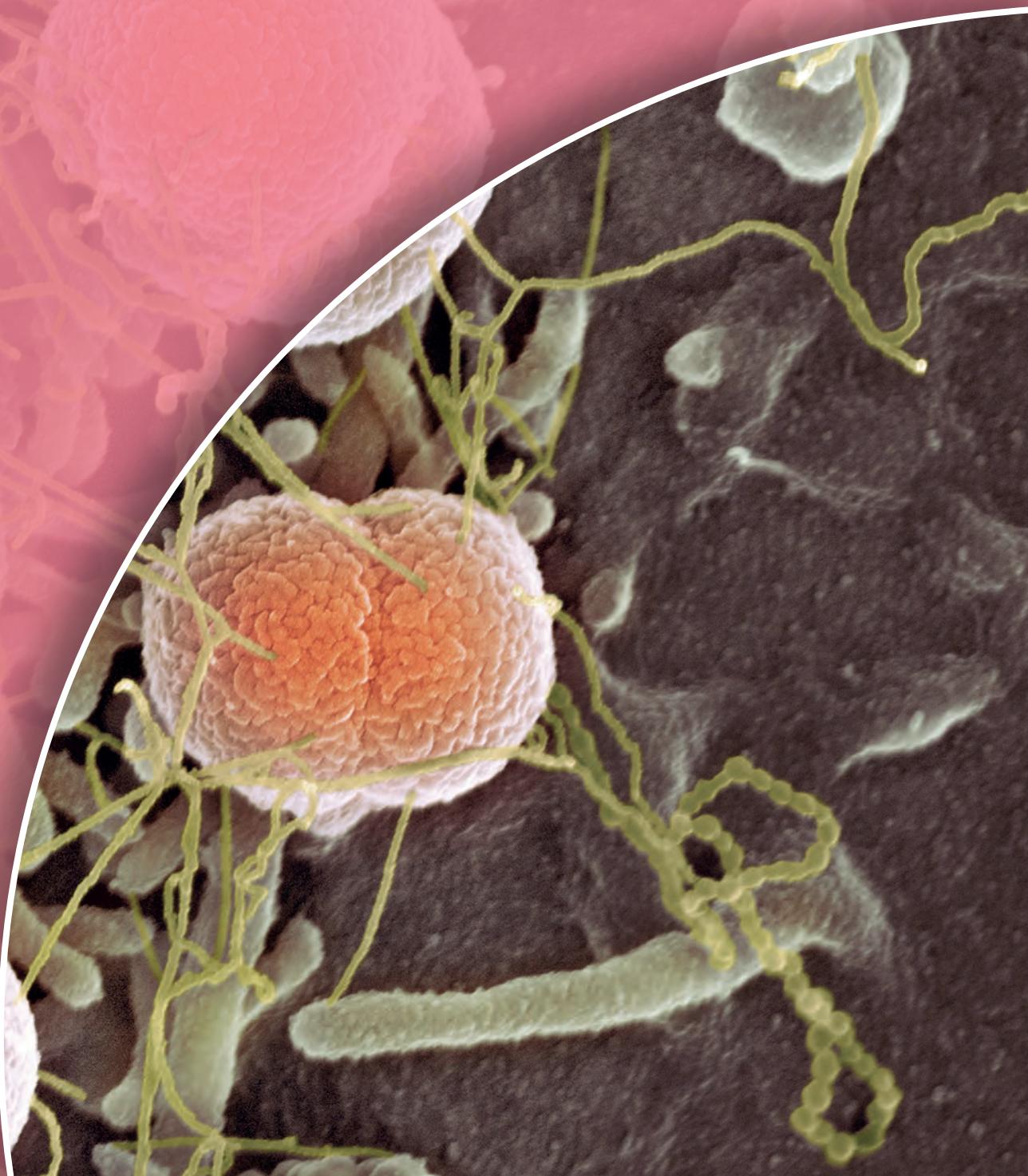
dei *Polyomaviridae*, la presenza di istoni complessati con gli acidi nucleici virali. La configurazione dei genomi virali può poi essere molto complessa per la loro capacità di ripiegarsi in strutture secondarie e terziarie alquanto caratteristiche e funzionalmente importanti; infatti, le sequenze e le strutture presenti alle estremità di alcuni genomi virali spesso sono indispensabili per le fasi di replicazione, di sintesi degli mRNA, di traduzione delle proteine e di impaccamento degli acidi nucleici nei virioni.

Infine, vi sono limiti alle **dimensioni dei genomi viral**i? In genere, i virus a DNA presentano una maggiore variabilità nelle dimensioni con limiti che variano da poche kb (come nel caso del genoma circolare a singola elica di DNA di 1,7–2,3 kb dei *Circoviridae*) fino a diverse centinaia di kb (come nel caso dei *Mimivirus* che infettano alcuni protozoi e che hanno un genoma di 1200 kb). Al contrario, i genomi dei virus a RNA sono piuttosto piccoli, con dimensioni massime intorno a 30 kb, per esempio il genoma dei coronavirus umani, tra cui SARS-CoV-2.

Da quanto detto sulla diversità dei genomi virali, è evidente che i virus costituiscono un raggruppamento eterogeneo dal punto di vista evolutivo di elementi genetici accumulati solo dalla capacità di codificare proteine che permettono la costruzione di strutture extracellulari in grado di consentirne la propagazione mediante l'infezione di nuove cellule.

PARTE E

Genomica e sistematica



17

ANALISI GLOBALE DELLE CELLULE MICROBICHE: LE DISCIPLINE OMICHE

► 17.1 GENOMICA

Sequenziamento di genomi procarioti
Annotazione
Genoma condiviso, genoma accessorio e pangenoma
Analisi genomica comparativa

► 17.2 METAGENOMICA

► 17.3 GENOMICA FUNZIONALE

Trascrittomico

Proteomica

• **Scheda 17.1** Trascrittomico tramite sequenziamento dell'RNA

► 17.4 METABOLOMICA E SCREENING FENOTIPICO

► 17.5 BIOLOGIA DEI SISTEMI

“La genomica diverrà centrale alla microbiologia del futuro. Potrebbe sembrare ora che l'obiettivo principale sia sequenziare il genoma umano, ma non fatevi ingannare. La vera giustificazione a lungo termine è la genomica microbica.”

Carl Woese, 1999

Lo sviluppo tecnologico compiuto negli ultimi vent'anni dalle tecniche di analisi genetica e chimica degli organismi ha permesso di analizzarne con sempre maggior dettaglio e molto più rapidamente i diversi componenti molecolari. In particolare, abbiamo assistito a una rapidissima evoluzione (o, meglio, a diverse rivoluzioni) delle metodologie per il sequenziamento degli acidi nucleici, l'identificazione delle proteine, l'analisi delle interazioni tra macromolecole. L'aumento esponenziale delle informazioni ottenute con questi metodi ha anche imposto nuovi modi di analizzarle e interpretarle, avvalendosi dell'enorme capacità computazionale dei moderni calcolatori e sviluppando programmi informatici e bioinformatici dedicati.

In questo contesto la **genomica** è emersa come quel campo interdisciplinare delle scienze della vita che studia la struttura, la funzione, l'evoluzione dell'intero genoma (l'insieme dei geni) di un organismo e consente di interpretarne le proprietà biologiche. Associata alla genomica vi sono altre discipline **omiche** che permettono analisi di tipo globale degli organismi, quali la trascrittomico (l'insieme dei trascritti), la proteomica (l'insieme delle proteine) e la metabolomica (l'in-

sieme dei metaboliti). Si è poi sviluppato un approccio interdisciplinare, noto come **biologia dei sistemi**, per la descrizione della biologia di un organismo e la predizione delle sue caratteristiche fisiologiche mediante modelli matematici che si avvalgono dei dati derivanti dalle tecnologie omiche e dalla loro analisi globale. Le scienze omiche sono quindi alla base di questa nuova disciplina che, elaborando con metodi computazionali le informazioni relative ai singoli elementi, genera modelli del funzionamento di sistemi biologici complessi. Infine, in particolare nell'ambito dell'ecologia microbica, si sono sviluppati approcci omici, quali la metagenomica e la metatrascrittomica, per l'analisi globale, rispettivamente, di tutto il DNA (in termini di geni e genomi presenti) e l'RNA (in termini di geni espressi) all'interno delle comunità microbiche presenti in un ambiente.

Il percorso necessario per la comprensione del funzionamento dei singoli organismi come delle comunità di organismi è molto lungo e le scienze omiche sono ancora lontane dal fornire i risultati promessi, tuttavia i progressi realizzati finora nella direzione di una visione olistica della biologia sono notevoli e in continuo sviluppo.

17.1 Genomica

Un lavoro pubblicato sulla rivista *Science* nel 1995 ha inaugurato un nuovo modo di studiare i microrganismi, soprattutto i procarioti. L'articolo riportava per la prima volta la sequenza nucleotidica dell'intero genoma di un organismo cellulare, il batterio *Haemophilus influenzae* (Figura 17.1). Da allora il numero di ceppi microbici i cui genomi sono stati interamente sequenziati è aumentato in modo esponenziale, grazie agli sforzi sempre maggiori da parte dei gruppi di ricerca interessati e allo sviluppo di tecniche di sequenziamento e di analisi delle sequenze sempre più potenti (Figura 17.2).

L'alto numero di genomi microbici sequenziati ha portato a importanti nuove interpretazioni dell'evoluzione e del concetto di specie nei procarioti (► Capitoli 8 e 18). Per esempio, la genomica ci ha permesso di capire come ceppi all'interno della stessa specie possano differire notevolmente tra loro per una parte del loro contenuto genico e come queste differenze possano spiegare la loro diversa natura (per esempio ceppi patogeni e non patogeni della stessa specie). Per tener conto di queste differenze è stato introdotto un nuovo concetto, quello di **pangenoma**, a cui appartengono i geni condivisi all'in-

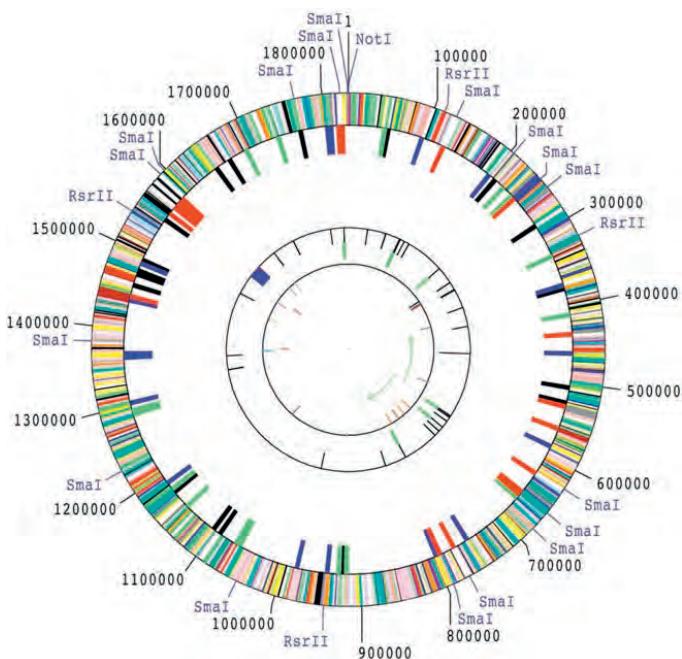


Figura 17.1 Mappa della sequenza completa del genoma di *Haemophilus influenzae* ceppo Rd. La figura, apparsa sulla copertina della rivista *Science* nel luglio del 1995, mostra la localizzazione delle 1737 ORF predette sul genoma circolare composto da 1 830 137 coppie di basi. Sul perimetro esterno sono riportate le coordinate (in pdb) della sequenza e la posizione dei siti di riconoscimento di tre enzimi di restrizione (*NotI*, *RsrII* e *SmaI*). Il cerchio esterno indica le regioni codificanti per ORF, colorate in base alla loro funzione. Il secondo cerchio indica con colori diversi le regioni con alto e basso contenuto in G+C (rispettivamente rosse e blu) e le regioni ricche in A+T (rispettivamente nere e verdi). Il terzo cerchio indica la posizione dei sei operoni ribosomali (in verde), dei tRNA (in nero) e di un profago (in blu). Il quarto cerchio indica la posizione delle ripetizioni in tandem. L'origine di replicazione è evidenziata da due frecce in verde divergenti da un punto vicino alla base 603 000. Due presunti siti di terminazione della replicazione sono indicati dall'altra parte del cerchio in rosso.

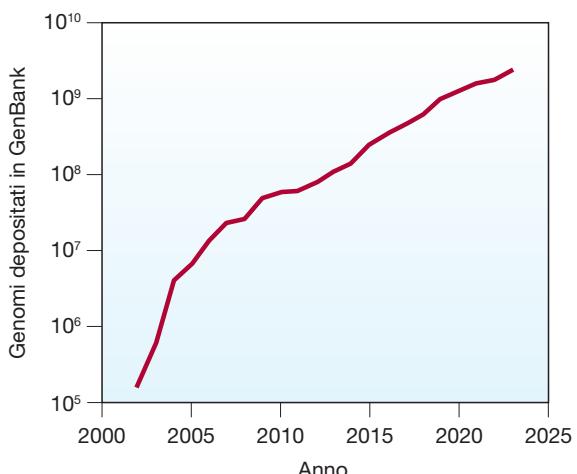


Figura 17.2 Sequenze genomiche depositate nella banca dati GenBank.

La banca dati pubblica GenBank contiene attualmente 2,3 miliardi di sequenze genomiche con un aumento esponenziale negli anni di sequenze depositate. Se le sequenze batteriche hanno rappresentato per molti anni il numero maggiore di sequenze genomiche depositate, negli ultimi anni, grazie alle moderne metodiche di sequenziamento, il maggior incremento è rappresentato da sequenze animali, incluse sequenze umane. Negli anni 2020-2023 l'incremento maggiore è stato rappresentato da sequenze virali durante l'epidemia di virus SARS-CoV-2 con 1,5 milioni di genomi virali integrati depositati.

terno di una stessa specie (**genoma condiviso** o **core genome**), mentre le sequenze e i geni che si ritrovano solo in una frazione dei ceppi di una stessa specie prendono il nome di **genoma accessorio** o **accessory genome** (► par. 17.1.3).

17.1.1 Sequenziamento di genomi procarioti

Il sequenziamento di interi genomi di procarioti (Figura 17.2) è diventato un obiettivo relativamente facile da conseguire, specialmente dopo lo sviluppo di tecnologie di sequenziamento del DNA estremamente potenti, ad alta resa e completamente automatiche, avvenuto negli ultimi dieci anni. Attualmente, la mera decifrazione dell'intera sequenza nucleotidica di un genoma batterico di media grandezza può essere realizzata, in un laboratorio opportunamente attrezzato, in poche ore con costi relativamente contenuti.

I sequenziatori di DNA di nuova generazione, infatti, applicando tecnologie di miniaturizzazione e di robotizzazione altamente sofisticate, hanno apportato una nuova rivoluzione nei progetti di sequenziamento genomico. L'uso di queste macchine ha infatti ridotto in modo impressionante i tempi e i costi del sequenziamento. Nella Tabella 17.1 sono riassunte alcune delle caratteristiche di tre piattaforme di **sequenziamento di nuova generazione** (il cosiddetto *Next Generation Sequencing*, NGS).

Come si vede chiaramente dai dati riportati, il sequenziamento con macchine di ultima generazione può produrre frammenti di sequenza sia molto corti sia molto lunghi (per esempio con le tecnologie Pacific Biosciences e Oxford Nanopore), con i quali è virtualmente possibile assemblare in modo automatico un intero genoma procariote, cioè ricostruire l'intera sequenza completa del cromosoma e degli even-

Tabella 17.1 Alcune delle tecnologie di sequenziamento di nuova generazione.

Piattaforma	Lunghezza media del frammento sequenziato (basi)	Basi sequenziate per processo (giga basi)	Accuratezza	Costo per genoma batterico (euro)	Vantaggi
Illumina (strumentazione MiSeq)	300	15	99%	100	Alta accuratezza; versatilità per pochi campioni
Ilumina (strumentazione NextSeq)	150	300	> 99%	75	Alta accuratezza; elevato numero di basi sequenziate
Pacific Bioscience (strumento Revio)	20000	90	> 99%	80	Sequenze lunghe di singole molecole
Oxford Nanopore (strumentazione MinION)	10000	20	> 99%	50	Sequenze lunghe; piccolo strumento portatile

tuali elementi plasmidici accessori. Va anche ricordato che lo sviluppo tecnologico in questo campo è così rapido da far prevedere che, nel giro di pochi anni, gli strumenti disponibili renderanno sempre più veloce e accessibile il sequenziamento di interi genomi.

Qualsiasi sia la tecnica utilizzata per il sequenziamento di un intero genoma, la sua qualità è definita da alcuni importanti **parametri**. In particolare:

1. la **completezza**, cioè l'assenza di parti non sequenziate. Questo parametro è più facilmente rispettato per i procarionti che per gli eucarioti, date le dimensioni più piccole dei loro genomi e la ridotta presenza di sequenze ripetute;
2. l'**accuratezza**, un parametro statistico che stima quanto la sequenza di DNA ottenuta sia prossima a quella reale. Questa dipende da diversi fattori, come la qualità dei sequenziatori, il numero di "lettura" ottenute per ogni tratto di sequenza, il numero di sequenze ambigue (basi non assegnate con certezza);
3. la **corrispondenza della struttura ricostruita** montando in modo ordinato i blocchi contigui di sequenze (*contig*) con la struttura effettiva del cromosoma. La corrispondenza può essere validata confrontando la sequenza ricostruita con la struttura cromosomica ottenuta con altri mezzi, quali le mappe genetiche e le mappe di restrizione.

I genomi sequenziati sono in generale di pubblico dominio e sono accessibili tramite Internet in alcune banche dati, quali la statunitense *Genbank*, l'*European Nucleotide Archive* (ENA) e la *DNA Data Bank of Japan* (DDBJ). Queste banche dati sincronizzano giornalmente tra loro tutte le sequenze depositate per garantire un accesso stabile e globale ai dati raccolti. Visto l'esponenziale incremento delle informazioni genetiche e genomiche disponibili, le interfacce telematiche e bioinformatiche tra gli utenti e queste banche sono in continuo sviluppo.

17.1.2 Annotazione

Una sequenza di basi azotate anche breve non ha senso immediato se non viene interpretata, e quindi l'intera sequenza genomica di un microrganismo per essere utilizzata deve anche essere "annotata". "Annotare un genoma" significa identificare i singoli pezzi di sequenza che hanno una funzione e attribuire a essi la funzione stessa. In particolare si identifi-

cano: sequenze che possono potenzialmente codificare per le proteine (ORF, *Open Reading Frame*), sequenze codificantili gli RNA (messaggeri, ribosomali, transfer, RNA non codificantili), sequenze regolatorie e sequenze ripetute. La parte più facile dell'annotazione è rappresentata dall'assegnazione di una funzione ai geni che codificano per proteine. Questo processo viene effettuato in modo automatico da vari programmi accessibili online. Sulla base delle conoscenze acquisite, soprattutto sulla funzione di geni conservati e/o caratterizzati in organismi modello, il processo è in grado di assegnare una funzione a più del 70% dei geni codificantili proteine di un genoma batterico, mentre i geni rimanenti vengono annotati come "*hypothetical protein*", cioè geni codificantili proteine ma con funzione non attribuibile. L'integrazione di informazioni provenienti da centinaia di migliaia di genomi sta contribuendo a migliorare molto la qualità dell'annotazione automatizzata, riducendo sempre di più il numero di geni annotati come "*hypothetical protein*". È più difficile l'identificazione delle regioni regolatorie e dei geni non codificantili proteine, come gli RNA non codificantili (ncRNA, *noncoding RNA*). Questo lavoro richiede spesso l'integrazione di dati sperimentali per verificare l'effettiva presenza di RNA individuata tramite sequenziamento dell'RNA. Anche dopo aver identificato sperimentalmente trascritti verosimilmente non codificantili per proteine (ncRNA, RNA con codoni di stop in tutti i *reading frame*), la loro funzione specifica rimane spesso incerta.

L'assegnazione di una funzione a una potenziale proteina, quando questa non fosse già nota da studi precedenti, parte sempre dalla ricerca di sequenze simili (omologhe) già identificate in genomi di altri organismi. La bioinformatica ha sviluppato numerosi programmi molto sofisticati per l'analisi delle somiglianze tra le sequenze geniche. Senza entrare in dettagli che esulano dagli scopi di questo capitolo, bisogna ricordare che tutte le sequenze di DNA e di proteine conosciute e depositate nelle banche dati pubbliche sono confrontabili tra loro per verificarne la similarità. Quest'analisi può essere effettuata mediante uno strumento informatico liberamente accessibile su Internet denominato *BLAST* (*Basic Local Alignment Search Tool*, www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST). In pratica questo programma individua tutte le sequenze che presentano una similarità con una sequenza di "interrogazione" (*query sequence*) proposta dall'utente (**Figura 17.3**).

PARTE F

Microrganismi in ambienti naturali e interazioni con altri organismi



19

MICROBIOLOGIA AMBIENTALE ED ECOLOGIA MICROBICA

» 19.1 DALLA POPOLAZIONE ALL'ECOSISTEMA MICROBICO

- **Scheda 19.1** Un approccio operativo per descrivere le comunità microbiche

» 19.2 PROCESSI ECOLOGICI

Comunità microbiche versus comunità di macrorganismi
Sintesi concettuale dell'ecologia delle comunità microbiche

» 19.3 HABITAT MICROBICI TERRESTRIS

Microbioma del suolo
Effetto del microbioma sulla struttura e proprietà del suolo
Legame tra struttura e funzioni nel microbioma del suolo

» 19.4 HABITAT MICROBICI MARINI

Zona pelagica
Oceano profondo
Sedimenti marini

Microhabitat marini: la neve marina e la ficosfera

- **Scheda 19.2** I batteri ubiquitari *Synechococcus*, *Prochlorococcus* e *SAR11*

» 19.5 HABITAT ESTREMI

Sorgenti geotermali terrestri
Sorgenti idrotermali marine profonde
Criosfera
Ambienti ipersalini
Drenaggio acido delle miniere
Altri ambienti estremi

- **Scheda 19.3** Limiti chimico-fisici della vita microbica sulla Terra e proiezione su altri pianeti

- **Scheda 19.4** La biogeoalbedo

» 19.6 HABITAT ANTROPIZZATI E COSTRUITI

Habitat microbici urbani
Microbiologia applicata all'ambiente e alla transizione energetica

I microrganismi sono ampiamente stati studiati come entità isolate, utilizzando la coltura pura per analizzarne le proprietà specifiche. Questo metodo ha permesso di comprendere molte caratteristiche fondamentali dei singoli microrganismi, ma offre una visione limitata della loro complessità.

In questa sezione del testo sposteremo la nostra attenzione sull'analisi dei microrganismi nel loro ambiente naturale. Questo approccio non considera solo il microrganismo in sé ma anche le sue interazioni con l'ambiente abiotico e con altri microrganismi. Tali interazioni, come la competizione, la simbiosi o la formazione di comunità complesse, sono essenziali per capire il comportamento e il ruolo ecologico dei microrganismi. Studiarli nel loro contesto naturale offre una comprensione più completa delle loro dinamiche e del loro impatto sugli ecosistemi. I termini "microbiologia ambientale" ed "ecologia microbica" vengono spesso utilizzati come sinonimi. Essi

presentano infatti connotazioni comuni, anche se sottendono concetti con alcune lievi differenze. La **microbiologia ambientale** studia i processi ambientali mediati dai microrganismi e, conseguentemente, considera aspetti sia generali, legati al funzionamento degli ecosistemi e ai cicli biogeochimici, sia di tipo applicativo, quali quelli legati al trattamento delle acque reflue o al biorisanamento di ambienti contaminati. L'**ecologia microbica** approfondisce le tematiche relative ai processi che definiscono la struttura e le funzioni delle comunità microbiche negli ambienti, naturali o artificiali, e in associazione con macrorganismi. Essa studia quindi le reciproche interazioni tra i microrganismi e il resto della componente biotica e l'ambiente, e come queste interazioni definiscono la composizione delle comunità e le funzioni ecosistemiche, ovvero l'insieme dei processi e delle attività svolti dagli organismi che contribuiscono al mantenimento e alla regolazione del funzionamento

dell'ecosistema. L'ecologia microbica cerca di sviluppare modelli ecologici predittivi che descrivano la struttura e le funzioni delle comunità microbiche, il loro adattamento alle condizioni ambientali e la loro evoluzione nel tempo. In questo capitolo verranno presentati alcuni principi generali di ecologia microbica e verranno descritte le caratteristiche di ecosistemi e habitat microbici, integrando aspetti di ecologia microbica e microbiologia ambientale.

19.1 Dalla popolazione all'ecosistema microbico

Il concetto di "popolazione" è centrale nei campi dell'ecologia, della biologia evolutiva e della biologia della conservazione, e in letteratura si possono trovare numerose definizioni. In genere, queste si basano su descrizioni qualitative come «un gruppo di organismi della stessa specie che occupa uno spazio in un tempo definito». Per i microrganismi il termine "popolazione" è particolarmente complesso da definire a causa dell'assenza di un concetto di specie biologicamente significativo per i procarioti. Per ovviare alla genericità della definizione di popolazione microbica quale rappresentante locale di una specie e renderla operativa negli studi di ecologia microbica e microbiologia ambientale, si utilizzano unità tassonomiche arbitrarie per misurare la composizione delle comunità. Queste unità, approfondate nella > **Scheda 19.1**, si basano principalmente sull'analisi delle sequenze di geni marcatori della filogenesi, quali i geni codificanti per le subunità piccole del ribosoma (SSU, *Small SubUnit*) (> **Capitolo 18**), e degli spaziatori trascritti interni (ITS, *Internal Transcribed Spacer*), e sono quindi anche identificate come filotipi. In alcuni studi il concetto di popolazione microbica si estende anche all'aspetto funzionale (per esempio popolazione di metanotrofi).

Organismi appartenenti alla medesima popolazione dividono caratteristiche genetiche simili e interagiscono tra loro in vari modi, tra cui la competizione per le risorse e la cooperazione per la sopravvivenza. La dimensione di una popolazione microbica può variare enormemente in base a fattori ambientali come disponibilità di nutrienti, condizioni di temperatura e pH, e presenza di sostanze tossiche o di altri microrganismi.

Le dinamiche di una popolazione microbica possono essere influenzate dai tassi di duplicazione, morte e trasferimento spaziale, oltre che da mutazioni e scambi genetici.

Una **comunità microbica** è un insieme complesso di diverse popolazioni microbiche che coesistono in uno stesso ambiente. Queste comunità possono essere estremamente variabili, da quelle semplici composte da poche popolazioni a quelle molto complesse con migliaia di popolazioni diverse. La composizione di una comunità microbica è influenzata non solo dalle condizioni ambientali ma anche dalle interazioni tra le popolazioni, che possono includere competizione, preda-zione, simbiosi e mutualismo. Tra i parametri che descrivono

le caratteristiche di una popolazione, distinguiamo tra l'**abbondanza assoluta** di individui che la compongono, espressa come numero di individui o un suo equivalente rispetto al peso o al volume della matrice ambientale (per esempio ufc/mL, g di biomassa/L, numero di copie di geni/g di suolo) e l'**abbondanza relativa** di una popolazione microbica, definita come proporzione della popolazione rispetto al totale della comunità. La struttura di una comunità microbica si definisce in base alla presenza e all'abbondanza relativa delle popolazioni microbiche o delle unità tassonomiche considerate che la compongono. Anche la struttura è influenzata da una varietà di fattori, tra cui risorse disponibili, condizioni ambientali e interazioni tra taxa microbici. La comprensione della struttura di una comunità microbica è fondamentale per prevedere come le comunità rispondano ai cambiamenti ambientali e per capire il loro ruolo nei cicli biogeochimici. Un aspetto chiave che caratterizza una comunità microbica è la diversità, che si declina principalmente in diversità α e β .

La **diversità α** considera la diversità delle popolazioni all'interno di una comunità microbica. Essa si articola in due componenti principali: la ricchezza in popolazioni e l'uniformità di distribuzione delle loro abbondanze. La **ricchezza in popolazioni** microbiche si riferisce al numero totale di popolazioni diverse presenti nella comunità. Una maggiore ricchezza di questo tipo indica una varietà più ampia di organismi e può essere un indicatore della salute di un ecosistema. Come si vedrà successivamente, in un habitat che contiene diversi microambienti, un'elevata ricchezza può supportare un'alta resilienza e stabilità dell'ecosistema. Tuttavia, la ricchezza da sola non fornisce un quadro completo della diversità α , poiché non tiene conto dell'abbondanza relativa delle diverse popolazioni.

L'**uniformità (evenness)** descrive come le abbondanze delle diverse popolazioni sono distribuite all'interno della comunità. L'uniformità di una comunità è elevata quando le diverse popolazioni sono presenti in proporzioni simili, nessuna popolazione è dominante e c'è un bilanciamento tra quelle presenti. Al contrario, una condizione di bassa uniformità si verifica quando una o poche popolazioni sono molto più abbondanti delle altre, indicando potenzialmente condizioni ambientali che favoriscono queste rispetto ad altre. Per la misura e la stima della diversità α si veda la > **Scheda 19.1**.

La **diversità β** descrive il grado di differenza tra le strutture di comunità microbiche in due o più ambienti diversi o habitat. Essa è una misura della variazione nella composizione tra comunità e può essere analizzata in termini di presenza/assenza delle unità tassonomiche considerate e delle loro abbondanze relative o assolute. Questo concetto è fondamentale per comprendere come i microrganismi si distribuiscono nei diversi ambienti e come rispondono ai cambiamenti ambientali. La diversità β può essere definita in funzione unicamente della presenza/assenza delle unità tassonomiche considerate nelle comunità che si prendono in esame. Se due comunità condividono molte unità tassonomiche, la loro diversità β è bassa. Al contrario, se hanno poche o nessuna unità tassono-

A cura di
Gianni Dehò Enrica Galli
Paolo Landini Marco Ventura

Biologia dei microrganismi

Quarta edizione

Inquadra
e scopri
i contenuti



Le risorse digitali universita.zanichelli.it/deho4e

A questo indirizzo sono disponibili le risorse digitali di complemento al libro. Per accedere alle risorse protette è necessario registrarsi su my.zanichelli.it inserendo il codice di attivazione personale contenuto nel libro.

Libro con Ebook

Chi acquista il libro nuovo può accedere gratuitamente all'Ebook, seguendo le istruzioni presenti nel sito.

L'accesso all'Ebook e alle risorse digitali protette è personale, non condivisibile e non cedibile, né autonomamente né con la cessione del libro cartaceo.

Biologia dei microrganismi illustra struttura, funzione ed evoluzione dei microrganismi approfondendo i meccanismi molecolari, genetici ed ecologici che ne governano la vita nei diversi ambienti. È un testo in grado di connettere aspetti teorici e applicativi, che spaziano dalla biologia cellulare alla genomica, dalla microbiologia ambientale alla patogenesi batterica. Utilizzando un linguaggio scientifico rigoroso e con il supporto di esempi concreti, affronta sia temi cruciali, come i cicli biogeochimici, i sistemi di comunicazione batterica, i meccanismi di virulenza e le strategie di adattamento, sia ambiti innovativi, come le tecnologie omiche avanzate, le reti regolative complesse quali il quorum sensing, la formazione di biofilm, i meccanismi di comunicazione intercellulare, lo studio del microbiota e le applicazioni biotecnologiche nel biorisanamento ambientale. Il tema degli antibiotici e della resistenza antibiotica è trattato in modo diffuso e approfondito, collegando aspetti molecolari a implicazioni cliniche; inoltre, trovano ampio spazio anche altri temi di interesse per la salute umana, come le interazioni ospite-patogeno e i meccanismi di virulenza.

Le principali novità di questa edizione sono:

- ampliamento della **virologia**, che occupa un'intera sezione (*Parte D - Eredità infettiva: i virus*)
- trattazione più organica di **genomica, metabolomica, biologia dei sistemi**
- più attenzione per la **microbiologia ambientale**, con un capitolo interamente nuovo (*Capitolo 19 - Microbiologia ambientale ed ecologia microbica*)
- aggiornamento di **sistematica e filogenesi** in seguito alle recenti scoperte e alle nuove indicazioni internazionali

Numerose schede di approfondimento sono dedicate agli antibiotici, alla sistematica e ad altri argomenti di rilievo. Nel sito del libro sono inoltre disponibili altri approfondimenti, test interattivi e il **Laboratorio interattivo**.

Autori e autrici

Pietro Alifano, Loredana Baccigalupi, Marco Bazzicalupo, Maria Lina Bernardini, Gianni Dehò, Giovanna Felis, Andrea Franzetti, Enrica Galli, Giorgio Gribaudo, Paolo Landini, Giovanna Lucchini, Gabriele Andrea Lugli, Orietta Massidda, Alessio Mengoni, Marco Rinaldo Oggioni, Luciano Paolozzi, Alessandra Polissi, Anna Maria Puglia, Paola Quatrini, Ezio Ricca, Anna Maria Sanangelantoni, Margherita Sosio, Stefania Stefani, Francesca Turroni, Marco Ventura, Davide Zannoni

DEHO*BIOL MICRORGANISMI 4ED(CEA LUMKQ

ISBN 978-88-08-69956-5



9 788808 699565

7 89012345 (64R)