CORSO DI MICROBIOLOGIA MOLECOLARE

Il corso di "Microbiologia molecolare" è costituito da 8 CFU di lezioni frontali.

OBIETTIVI FORMATIVI DA ACQUISIRE

Conoscenze:

Conoscenze della regolazione dell'espressione genica in Eubatteri ed Archea. Fornire competenze sulle interazioni tra microrganismi patogeni e non con organismi eucariotici, animali e vegetali.

Capacità:

Metodologie biochimiche, biomolecolari e biotecnologiche

Competenze sulla fisiologia, biochimica, genetica e biologia molecolare dei procarioti.

Comportamenti:

Valutazione, interpretazione di dati sperimentali di laboratorio, valutazione della didattica

PROPEDEUTICITA'

Nessuna

Prerequisiti:

Conoscenze di Microbiologia Generale, Chimica biologica, Genetica e Biologia Molecolare

PROGRAMMA

Introduzione

- La replicazione del DNA in Eubatteri ed Archea: inizio, allungamento e termine; origine della replicazione; regolazione dell'inizio della replicazione; enzimi coinvolti nella replicazione (elicasi, primasi, polimerasi, ligasi); replisoma; frammenti di Okazaki.
- La trascrizione del DNA in Eubatteri ed Archea: inizio, allungamento e termine; RNA polimerasi; subunità sigma; struttura del promotore e del terminatore.
- La sintesi proteica: struttura tRNA e rRNA; ribosomi; fattori di inizio (formil-metionina, sequenza Shine-Dalgarno) e formazione del complesso di inizio; fattori di allungamento; codoni non senso e fattori di termine. Traduzione di messaggeri policistronici e polarità.

Regolazione dell'espressione genica nei procarioti

- Regolazione trascrizionale: regolazione positiva e negativa; regolazione a distanza; regolazione trascrizionale negli Archea; promotori complessi e regolazione da più fattori trascrizionali. L'operone *lac*. Gli operoni catabolici (*ara* e *gal*) e biosintetici (operone *trp*). Regolazione per attenuazione. Controllo mediante variazione di fase.
- Regolazione traduzionale: regolazione mediante selezione del sito di inizio trascrizionale; sRNA; regolazione mediante riboswitch; regolazione mediante recoding.
- Regolazione coordinata di più geni: repressione da cataboliti (CCR) in *E. coli* e *B. subtilis*. Il controllo stringente. Il sistema SOS. Regolazione mediante fattori sigma alternativi dell'RNA polimerasi: i fattori sigma 32, S ed E di *E. coli*. Regolazione traduzionali di più geni.
- Regolazione genica in risposta a stimoli ambientali: sistemi due componenti; risposta chemiotattica e movimento cellulare (struttura del flagello e movimento flagellare, movimento per scivolamento). Meccanismo di *quorum-sensing*: il sistema Lux di *Vibrio fischeri*; i sistemi Las e Rhl di *Pseudomonas aeruginosa*. Quorum sensing in batteri Gram-positivi: la competenza; la produzione e secrezione di batteriocine. Esempi di batteriocine (lantibiotici). Sintesi non ribosomale di peptidi.
- Il fenomeno della bistabilità: esempi e significato evolutivo.

Ciclo cellulare nei procarioti.

- Localizzazione sub-cellulare delle proteine: il sistema Sec; sistemi Sec-indipendenti. Sistemi specifici di batteri gram-negativi. Sistema di secrezione di tipo VI.
- Organizzazione del nucleoide batterico: le proteine HU e IHF.
- Divisione cellulare: formazione del setto di divisione cellulare; la proteina FtsZ; ruolo delle proteine Min nel posizionamento del setto di divisione. Inibizione della formazione del setto (occlusione del nucleoide).

- Segregazione dei cromosomi: le proteine Mre e Par.
- Citoscheletro batterico e forma cellulare: le forme L.

Esempi di differenziamento microbico

- Batteriofago lambda: Ciclo litico e lisogenico; promotori divergenti; fasi precoci e tardive dell'infezione; decisione tra ciclo litico e lisogenico; immunità.
- Batteri sporigeni: *Bacillus subtilis*; struttura della spora; il ciclo di sporulazione; fattori sigma dell'RNA polimerasi alternativi (sigma F, E, G e K) e loro regolazione.
- Caulobacter: ciclo, dimorfismo ed asimmetria della divisione cellulare.
- Mixococcus: ciclo, corpi fruttiferi, motilità A ed S, predazione.
- Streptomyces: ciclo, micelio substrato ed aereo, settazione miceliare.

Interazione tra batteri ed organismi animali

- Meccanismi di adesione di cellule batteriche a cellule animali: pili dei batteri gram-negativi (Tipo 1, P, BFP e Tipo IV) e gram-positivi; acidi teicoici; biofilm.
- I fattori genetici di virulenza: plasmidi, virus ed isole di patogenicità.
- Induzione della virulenza in batteri normalmente presenti nell'ospite: *Streptococcus pneumoniae* e *Clostridium difficile*
- Patogeni extracellulari: eso- ed endotossine. Le tossine AB e tossine che agiscono sulla membrana plasmatica. Meccanismo di azione delle tossine: colerica difterica, botulinica, tetanica e Shiga-toxin. Le tossine di *Bacillus anthracis*. Sistemi di secrezione di tipo 3 e 4. *Helicobacter pylori*: ciclo infettivo; fattori di virulenza principali: le proteine CagA e VacA. *Escherichia coli*: ceppi enteropatogenici (isola di patogenicità LEE, sistema di secrezione di tipo 3 e formazione del piedistallo) ed uropatogenici (pilus di tipo 1, invasione, ciclo infettivo). *Vibrio cholerae*: ruolo della chemiotassi nella virulenza.
- I batteri patogeni intracellulari: *Mycobacterium tuberculosis*: ciclo infettivo, meccanismo di sopravvivenza e moltiplicazione nei macrofagi. *Mycobacterium leprae*: caratteristiche dell'infezione, meccanismo di infezione delle cellule nervose. *Legionella pneumophila*: meccanismo di sopravvivenza e moltiplicazione nei macrofagi.
- I batteri patogeni invasivi: i meccanismi *zipper* e *trigger* di invasione. Sopravvivenza nel vacuolo o nel citoplasma eucariotico. *Salmonella*: le isole di patogenicità SPI-1 e SPI-2; sopravvivenza nel vacuolo. *Listeria monocytogenes*: specificità d'ospite, regolazione del gene *prfA* e delle proteina LLO; polimerizzazione dell'actina mediata da ActA. Motilità batterica nel citoplasma eucariotico ed invasione di cellule adiacenti. *Shigella*: fattori di virulenza plasmidici, effettori traslocati nella cellula bersaglio, motilità per induzione della sintesi di actina, induzione dell'apoptosi nei macrofagi. *Campylobacter*: tossina CTD e sopravvivenza nel vacuolo di fagocitosi.
- I batteri non patogeni: L'ecosistema intestinale, il ruolo del sistema immunitario locale (GALT: Gut-Associated Lymphoid Tissue). Induzione della risposta immune. Meccanismi di riconoscimento di pattern molecolari (Pathogen-Associated Molecular Patterns) a livello extra-cellulare (Toll-like receptors) ed intra-cellulare (proteine Nod). Numero e tipi di commensali intestinali. Influenza dell'ospite e di fattori esterni sulla composizione della microflora intestinale. Ruolo della microflora intestinale sulla salute dell'ospite. Interazioni commensali-mucosa intestinale. Gli animali germ-free. Esempi di interazioni molecolari tra cellule epiteliali dell'intestino e batteri commensali: *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*; riduzione dell'adesione e dell'invasività di batteri patogeni e modulazione delle infiammazioni intestinali. Bacilli sporigeni: induzione di heat-shock nelle cellule epiteliali e stimolazione GALT.

Interazione tra batteri ed organismi vegetali

- Infezione di cellule vegetali da *Agrobacterium*: plasmidi Ti ed Ri; T-DNA: mobilizzazione, trasferimento ed integrazione sul cromosoma; ricezione e trasmissione del segnale; struttura e sintesi del sistema di secrezione di tipo IV.
- Simbiosi tra *Rhizobium* e piante leguminose: i fattori Nod; ricezione e trasmissione del segnale Nod; formazione del canale di infezione e del nodulo precoce; regolazione genica nel batteroide; fissazione dell'azoto; il segnale azoto.

MATERIALE DIDATTICO UTILIZZATO E CONSIGLIATO

- **** Dehò - Galli: **Biologia dei Microrganismi**. Casa Editrice Ambrosiana 2012
- ***** Maresca: **Microbiologia molecolare e cellulare**. McGraw-Hill 2013
- ***** Appunti delle lezioni forniti gratuitamente sul sito www.docenti.unina.it

MODALITA' VERIFICA E VALUTAZIONE DELL'APPRENDIMENTO

Esame orale.

La commissione d'esame, nominata dal CCS, accerterà e valuterà collegialmente la preparazione dello studente attribuendo il voto finale.

La frequenza assidua e la partecipazione alle attività in aula sono considerati elementi positivi di valutazione.

COMPOSIZIONE DELLA COMMISSIONE PER LA VERIFICA DELL'APPRENDIMENTO

Ezio Ricca (presidente), Maurilio De Felice, Mario Varcamonti, Loredana Baccigalupi, Giuseppina Cangiano, Rachele Isticato, Angelina Cordone.