

SCHEDA DELL' INSEGNAMENTO DI MICROBIOLOGIA MOLECOLARE

MOLECULAR MICROBIOLOGY

Corso di Studio
BIOLOGIA

Insegnamento

Laurea Magistrale

A.A. 2018/2019

Docente: Prof. Loredana Baccigalupi

☎ 081-679037

email: lorbacci@unina.it

SSD

CFU

Anno di corso (I, II, III)

Semestre (I, II e LMcu)

Insegnamenti propedeutici previsti: NESSUNO

RISULTATI DI APPRENDIMENTO ATTESI

Conoscenza e capacità di comprensione (max 4 righe, Arial 9)

Meccanismi di regolazione dell'espressione genica in Eubatteri ed Archea. Modalità di interazioni tra microrganismi patogeni e non, con organismi eucariotici, animali e vegetali.

Mechanisms of regulation of gene expression in Eubacteria and Archea. Modes of interaction between pathogens and symbiotic microorganisms with eukaryotic organisms, plants and animals.

Conoscenza e capacità di comprensione applicate (max 4 righe, Arial 9)

Metodologie biochimiche, biomolecolari e biotecnologiche. Competenze sulla fisiologia, biochimica, genetica e biologia molecolare dei procarioti. Valutazione, interpretazione di dati sperimentali di laboratorio, valutazione della didattica

Biochemical biomolecular and biotechnological methods. Competence on bacterial physiology, biochemistry, genetic and molecular biology. Evaluation, discussion of experimental data, evaluation of teaching.

Eventuali ulteriori risultati di apprendimento attesi, relativamente a:

- **Autonomia di giudizio:** Saranno forniti gli strumenti necessari per consentire agli studenti di analizzare in autonomia e di giudicare i dati di letteratura. Lo studente migliorerà inoltre le proprie capacità in merito alla valutazione della didattica.
- **Abilità comunicative:** Lo studente deve saper spiegare a persone non esperte le nozioni apprese. Deve saper presentare o riassumere in maniera completa ma concisa i risultati raggiunti utilizzando correttamente il linguaggio tecnico. Lo studente è stimolato a familiarizzare con i termini propri della disciplina, e a trasmettere a non esperti i principi, i contenuti e le possibilità applicative con correttezza e semplicità.

SCHEDA DELL' INSEGNAMENTO DI MICROBIOLOGIA MOLECOLARE

MOLECULAR MICROBIOLOGY

Corso di Studio
BIOLOGIA

Insegnamento

Laurea Magistrale

A.A. 2018/2019

- **Capacità di apprendimento:** *Lo studente deve essere in grado di aggiornarsi o ampliare le proprie conoscenze attingendo in maniera autonoma a testi, articoli scientifici propri del settore, e deve poter acquisire in maniera graduale la capacità di seguire seminari specialistici, conferenze, master ecc.*
- **Making judgements:** *Students will receive skills for the evaluation and interpretation of experimental data from the scientific literature. The student will in addition improve its skills in the field of teaching evaluation.*
- **Communication abilities:** *The student must be able to communicate his knowledge to non experts. He will learn how to present and summarize his results using the technical language.*
- **Knowledge ability:** *The student will acquire the ability to widen its knowledge on books and scientific papers, as well as by attending specialistic seminars, conferences, masters, etc.*

PROGRAMMA

|

SCHEDA DELL' INSEGNAMENTO DI MICROBIOLOGIA MOLECOLARE

MOLECULAR MICROBIOLOGY

Corso di Studio
BIOLOGIA

Insegnamento

Laurea Magistrale

A.A. 2018/2019

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. Sistemi di riparo. - 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. 0,5 CFU

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. Gli operoni catabolici (*lac*, *ara* e *gal*) e biosintetici (operone *trp*). Regolazione per attenuazione. Controllo mediante variazione di fase. - Regolazione traduzionale: il sistema *pyrC*; sRNA; regolazione mediante riboswitch; RNA termosensori; degradazione di RNA tronchi (tmRNA); regolazione mediante recoding. - Regolazione coordinata di più geni: repressione da cataboliti (CCR) in *E. coli* e *B. subtilis*; sistema SOS; controllo stringente; messaggeri secondari (c-di-GMP e c-di-AMP). Regolazione mediante fattori sigma alternativi: i fattori sigma 32, S ed E di *E. coli*. - Regolazione genica in risposta a stimoli ambientali: sistemi due componenti; risposta chemiotattica e movimento cellulare (struttura del flagello e movimento flagellare, movimento per scivolamento). Biofilm. 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. Contatti tra cellule: nanotubi. - Il fenomeno della bistabilità: esempi e significato evolutivo. 1 CFU

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 nucleotide 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 nucleotide). - Segregazione dei cromosomi: le proteine SMC, Mre e Par. - Citoscheletro batterico. 1 CFU

Esempi di differenziamento microbico - 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. - *Streptomyces*: ciclo, settazione del micelio aereo e substrato. - *Mixococcus*: ciclo, corpi fruttiferi, motilità A ed S, predazione. 0,5 CFU

Esempi di Virus batterici ed eucariotici. Ciclo litico e lisogenico del virus Lambda. Virus dell'epatite C (HCV) e Zika. 1 CFU

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. 1 CFU

Interazione tra batteri ed organismi animali - Commensalismo: microbiota intestinale; numero e tipi di batteri presenti; *Bacteroidetes* e *Firmicutes*; diversità microbica nell'apparato gastro-intestinale e fattori che la influenzano (scambi genici, dieta, ospite); funzione del microbiota intestinale; microbiota e salute dell'ospite; bilanciamento del microbiota: batteri probiotici; esempi di meccanismo d'azione di batteri probiotici (*Bifidobacterium longum*, *Bacillus subtilis*). Interazioni tra microflora intestinale e sistema nervoso centrale. - Meccanismi di adesione di cellule batteriche a cellule animali: pili dei batteri gram-negativi (Tipo 1, P, BFP e Tipo IV), gram-positivi ed Archea; acidi teicoici; biofilm. - Patogenicità: fattori di virulenza portati da plasmidi, virus o isole di patogenicità. Sistemi di secrezione di tipo 3 e 4. Eso- ed endotossine. Le tossine AB e tossine che agiscono sulla membrana plasmatica. Meccanismo di azione di tossine modello: colerica, difterica, esotossina A, tifoide, botulinica, tetanica, anthrax. - Induzione della virulenza in batteri normalmente presenti nell'ospite: *Streptococcus pneumoniae* e *Clostridium difficile*. - Patogeni extracellulari: *Helicobacter pylori*: ciclo infettivo; fattori di virulenza principali: le proteine CagA e VacA. *Escherichia coli*: i vari tipi di ceppi enterici (isola di patogenicità LEE, sistema di secrezione di tipo 3 e formazione del piedistallo) ed i ceppi uropatogenici (pilus di tipo 1, invasione, ciclo infettivo). *Vibrio cholerae*: ruolo della chemiotassi nella virulenza. - I batteri patogeni intracellulari: *Mycobacterium tuberculosis*. *Mycobacterium leprae*. *Legionella pneumophila*. *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. *Campylobacter*: tossina CTD e sopravvivenza nel vacuolo di fagocitosi. 2 CFU

Antibiotici Meccanismo d'azione di molecole che agiscono sulla parete cellulare (fosfomicina, bacitracina, vancomicina e beta-lattamici), sulla membrana (batteriocine), sulla sintesi proteica (tetracicline, eritromicina, cloramfenicolo, streptomina). Sintesi non ribosomale di antimicrobici peptidici. Meccanismi di resistenza agli antibiotici e di trasmissione della resistenza. 1 CFU

CONTENTS

SCHEDA DELL' INSEGNAMENTO DI MICROBIOLOGIA MOLECOLARE

MOLECULAR MICROBIOLOGY

Corso di Studio
BIOLOGIA

Insegnamento

Laurea Magistrale

A.A. 2018/2019

Introduction – DNA replication in Eubacteria and Archea: initiation, elongation and termination; features of the origin of replication; regulation of replication and enzymes involved (helicase, primase, polymerase, ligase); Okazaki fragments. Repair systems. DNA transcription in Eubacteria and Archea: initiation, elongation and termination; RNA polymerase; sigma factors; promoters and terminators. Protein synthesis: rRNA and tRNA structures; ribosomes; Initiation factors (formyl-methionine, Shine-Dalgarno sequence) and formation of the initiation complex; elongation factors; stop codons and termination factors. Translation of polycistronic mRNA and polar effect of non-sense mutations. 0,5 CFU

Regulation of gene expression in prokaryotes. Transcriptional regulation: positive and negative regulation; transcriptional regulation in Archea; complex promoters and regulation by different transcriptional regulators. Catabolic (*lac*, *ara* and *gal*) and biosynthetic (*trp*) operons. Attenuation. Control by phase variation. Translational regulation: *pyrC* system; sRNA; riboswitch; thermosensor RNA; role of tmRNA in the degradation of truncated mRNA; *recoding* mechanism. Coordinate regulation of several genes: catabolite repression system (CCR) in *E. coli* and *B. subtilis*; SOS system; stringent response; second messengers system (c-di-GMP and c-di-AMP). Regulation through alternative sigma factors: sigma32, sigmaS and sigmaE in *E. coli*. Regulation of gene expression by environmental stimuli: two-component systems. Chemotaxis and cellular movement (flagellum-dependent and flagellum-independent). Biofilm. Quorum sensing in Gram-negative bacteria: Lux system in *Vibrio fischeri*; Las and Rhl systems in *Pseudomonas aeruginosa*. Quorum sensing in Gram-positive bacteria: competence, bacteriocins production and secretion. Cell-cell communication: nanotubes. – Bistability: examples and significance. 1CFU

Cellular cycle in prokaryotes: - Sub-cellular localization of proteins: Sec system; Sec-independent secretion systems. Secretion systems in Gram-negative bacteria. Type VI secretion system. Bacterial nucleoid organization: role of HU and IHF. – Cell division: septum formation; role of FtsZ and Min proteins in the regulation of septum localization. Inhibition of septum formation (nucleoid occlusion) – Chromosome segregation: role of SMC, Mre and Par proteins – bacterial cytoskeleton. 1CFU

Microbial differentiation – Bacterial spore formers: *Bacillus subtilis*; spore structure; sporulation; alternative sigma factors controlling the spore formation (sigma F, E, G and K) and their regulation. - *Caulobacter*: cycle and asymmetric cell division - *Streptomyces*: cycle, septation in the aerial and substrate mycelium development. - *Mixococcus*: cycle, fruiting bodies, type A and type S motility, predation. 0,5 CFU

Bacterial and eukaryotic viruses: Lambda phage: lytic and lysogenic cycles. Influenza Virus. Hepatitis C virus. Zika.

Interaction between bacteria and plants – *Agrobacterium* infection: plasmids Ti and Ri; mobilization, transfer and integration of T-DNA in the eukaryotic chromosome; signal transduction; structure and synthesis of type IV secretion system. - *Rhizobium*-Legume Symbiosis: Nod factors; formation of infection threads and nodules; regulation of gene expression during bacteroids differentiation; nitrogen fixation and its regulation. 1CFU

Interaction between bacteria and animals. Commensalism: intestinal microbiota; number and type of bacteria: *Bacteroidetes* and *Firmicutes*; microbial diversity in the gastro-intestinal tract and factors affecting the microbial population (gene transfer, diet, host); functions of the intestinal microbiota; role of microbiota in health and disease. Probiotics. Examples of probiotic bacteria and their mechanism of action (*Bifidobacterium longum*, *Bacillus subtilis*). Interaction between the intestinal microflora and the central nervous system: gut-brain axis. Mechanisms of adhesion between bacterial and animal cells: Gram-negatives (type 1, type P, BFP and Tipo IV pili), gram-positives and Archea pili; teichoic acids; biofilm. **Pathogenicity:** virulence factors associated to plasmids, virus or pathogenicity islands. Type 3 and type 4 secretion systems. Esotoxins and endotoxins. Type AB toxins. Examples of toxins and their mechanism of action: Cholera, diphtheria, exotoxinA, typhoid, botulinic, tetanic, anthrax toxins. Virulence induction in commensal bacteria: *Streptococcus pneumoniae* and *Clostridium difficile*. Extracellular pathogens: *Helicobacter pylori*: cycle of infection; virulence factors: CagA and VacA toxins. *Escherichia coli*: pathogenic strains (pathogenicity island locus LEE, type-3 secretion system and pedestal formation) and uropathogenic strains (type 1 pilus, invasion, infection cycle). *Vibrio cholerae*: chemotaxis and virulence. Intracellular pathogens: *Mycobacterium tuberculosis*: infection, mechanisms evolved to survive and multiply inside the macrophages. *Mycobacterium leprae*: mechanism of infection of nervous cells. *Legionella pneumophila*: mechanisms evolved to survive and multiply inside the macrophages. Invasive pathogens: *zipper* and *trigger* mechanisms. Strategies to survive within eukaryotic vacuoles and cytoplasm. *Salmonella*: pathogenicity islands SPI-1 and SPI-2; surviving strategies within the vacuoles; *Listeria monocytogenes*: host specificity, regulation of *prfA* gene and role of the protein LLO; actin polymerization promoted by ActA. Bacterial movement inside the host cell and invasion of adjacent tissues. *Shigella*: virulence factors plasmid-dependent, production of effectors and translocation of effectors into the host cell; bacterial motility by the induction of actin synthesis. *Campylobacter*: CTD toxin and survival strategies inside the vacuoles. 2CFU

Antibiotics: Mechanisms of action of molecules acting on peptidoglycan synthesis (phosphomycin, bacitracin, vancomycin and beta-lactams), on membrane (bacteriocins), on protein synthesis (tetracycline, erythromycin, chloramphenicol, streptomycin). Non-ribosomal synthesis of peptide antibiotics. Mechanisms of antibiotic resistance and transmission. 1CFU

MATERIALE DIDATTICO

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

SCHEMA DELL' INSEGNAMENTO DI MICROBIOLOGIA MOLECOLARE

MOLECULAR MICROBIOLOGY

Corso di Studio
BIOLOGIA

Insegnamento

Laurea Magistrale

A.A. 2018/2019

- A) L'esame di fine corso mira a verificare e valutare il raggiungimento degli obiettivi didattici relativi agli argomenti riportati in grassetto nel programma.
- B) Durante la prova finale lo studente verrà interrogato sugli argomenti indicati nella sezione "domande di esame più frequenti". Sarà oggetto di valutazione il grado di completezza della risposta, il livello di integrazione tra i vari contenuti del corso e l'appropriatezza scientifica del linguaggio. Il raggiungimento da parte dello studente di una visione organica dei temi affrontati a lezione, congiunta alla loro utilizzazione critica, la capacità di fare collegamenti, la dimostrazione del possesso di una padronanza espressiva e di linguaggio specifico saranno valutati con voti di eccellenza. La frequenza assidua e la partecipazione alle attività in aula saranno considerati elementi positivi di valutazione.

PURPOSES AND MODALITIES OF LEARNING VERIFICATION

- A) The final exam is aimed to verify and evaluate the achieving of educational targets concerning the subjects that are highlighted in bold in the contents.
- B) During the final test the student will be asked about the subjects indicated in the section "frequently asked questions during exam". The degree of completeness of the answer, the level of integration between the different topics of the course and the scientific suitability of the speech will be assessed. The achievement of comprehensive view of themes mentioned during lessons, together with their critical utilization, the ability of making connection, the proof of possession of language skills, will be evaluated with excellent scores. The score will be given also taking into account the frequent attendance to the course and the participation in the classroom activities.

Modalità di esame:

L'esame si articola in prova	Scritta e orale	X	Solo scritta		Solo orale	
The exam will be:	Written and oral	X	Written		oral	

In caso di prova scritta i quesiti sono (*)	A risposta multipla	X	Risposta libera	X	Esercizi numerici	
Written exam will be based on:	Multiple choice test	X	Free answer	X	Numerical exercises	

DOMANDE D'ESAME PIU' FREQUENTI

- 1 o 2 domande sulla parte introduttiva del programma (per es. struttura/funzione dell'RNA polimerasi; inizio sintesi proteica; origine della replicazione del DNA nei batteri);
- meccanismi molecolari di regolazione dell'espressione genica (per es. attenuazione, riboswitch, sRNA, RNA termosensori, quorum sensing)
- interazioni batteri/animali (per es. meccanismo d'azione di tossine, fattori di virulenza, batteri invasivi, batteri probiotici) o piante (per es. patogeni vegetali ed interazioni simbiotiche)
- struttura dei virus ed esempi di virus batterici ed eucariotici

FREQUENTLY ASKED QUESTIONS DURING EXAM

- 1 or 2 questions about the first part of the program concerning the DNA replication, transcription and protein synthesis in bacteria.
- Molecular mechanisms at the base of regulation of gene expression (repressors and activators of gene expression, attenuation, riboswitch, sRNA, quorum sensing)
- interactions between bacteria and animal hosts (mechanisms of action of toxins, virulence factors, pathogenicity islands, mechanisms of invasion, probiotic bacteria) or plants (Rhizobium and Agrobacterium as examples of symbiotic and pathogenic interaction, respectively)
- structure and example of bacterial and eukaryotic viruses