

Microbiologia

- Biologia degli organismi non visibili a occhio nudo:
- Protozoi, funghi, alghe, batteri, cianobatteri, virus
- Nel 1866 viene proposto il regno dei protisti

Piante e Animali

- Pluricellulari con forte differenziazione delle cellule e dei tessuti

Protisti

- Pluricellulari, unicellulari o cenocitici; i pluricellulari sono a bassa o nulla differenziazione delle cellule e dei tessuti

Protisti:

Alghe

Protozoi

Funghi

Batteri

Studi al M.E. evidenziano differenze



Struttura complessa

Eucariotica

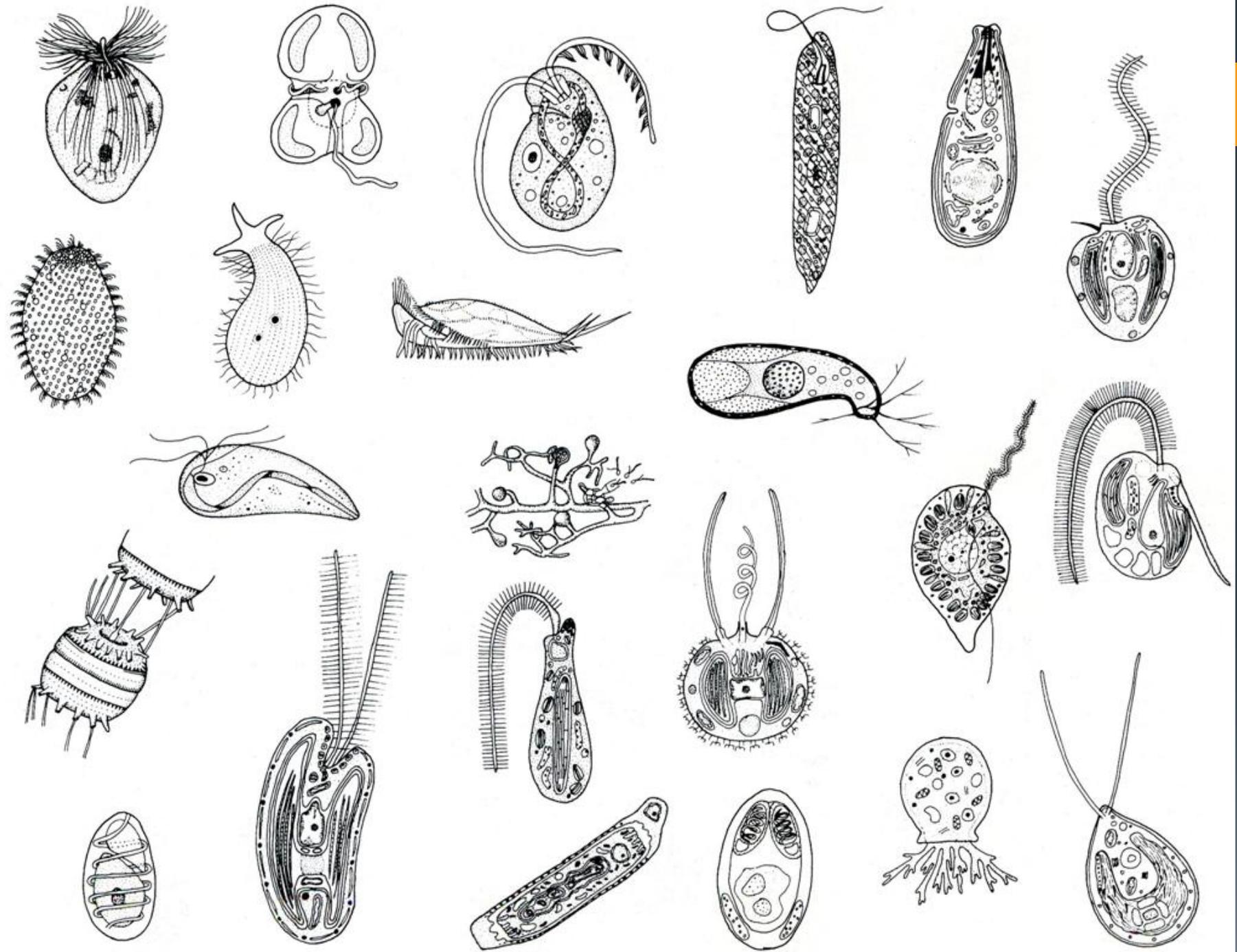
Alghe, Protozoi, Funghi



Struttura semplice

Procariotica

Batteri



Component group of the three kingdoms of organisms proposed by Haeckel (1866)

A3

Properties	Plants	Animals
Multicellular; extensive differentiation of cell and tissues	Seed plants Ferns Mosses and liverworts	Vertebrates Invertebrates

Protists	
Unicellular, co nocytic, or multicellular, latter with little or no differentiation of cells and tissues	Algae Protozoa Fungi Bacteria

Primary subdivisions of cellular organisms that are now recognized

A3 bis

Group	Cell structure	Properties	Constituent groups
Eucaryotes	Eucaryotic	Multicellular; extensive differentiation of cells and tissues Unicellular, coenocytic or mycelial; little or no tissue differentiation	Plants (seed plants, ferns, mosses) Animals (vertebrates, invertebrates) Protists (algae, fungi, protozoa)
Eubacteria	Procaryotic	Cell chemistry similar to eucaryotes	Micobacteria
Archaeobacteria	Procaryotic	Distinctive cell chemistry	

Eucarioti e Procarioti a confronto

A4

Caratteristiche cellulari	Eucarioti (vero nucleo)	Procarioti (nucleoide)
Dimensione di una cellula (diametro)	2-25 μm	0,3-2 μm
Regione nucleare		
Membrana nucleare	+	-
Nucleolo	+	-
Numero di cromosomi	>1	1
Presenza di istoni	+	-
Divisione nucleare per mitosi	+	-
Strutture citoplasmatiche		
<i>Flussi citoplasm. e movimenti ameboidi</i>	+	-
<i>Mitocondri</i>	+	-
<i>Reticolo endoplasmatico</i>	+	-
<i>Apparato di Golgi</i>	+	-
<i>Lisosomi, vacuoli, cloroplasti</i>	+	-
<i>Ribosomi</i>	80S	70S
<i>Mesosomi</i>	-	+
Strutture di superficie		
<i>Membrana citoplasmatica</i>	+	+
<i>Steroli nella membrana</i>	+	- (raram. +)
<i>Peptidoglicano nella parete cellulare</i>	-	+
<i>Flagelli, se presenti</i>	Con microtubuli	Composti di flagellina

Protisti (Eucarioti)

- Alghe
- Protozoi
- Funghi

Protisti (Procarioti)

- Eubatteri
- Archibatteri
- Cianobatteri (alghe blu-verdi)

Tra gli Eubatteri sono incluse:

- Chlamydiae
- Rickettsiae
- Sono più piccole (0,2-0,5mm) degli altri batteri
- Sono parassiti intracellulari obbligati

Misure in microscopia

mm

Millimetro: 10^{-3} m

mm

Micrometro: 10^{-6} m, 10^{-3} mm

nm

Nanometro: 10^{-9} m, 10^{-6} mm, 10^{-3}

Å

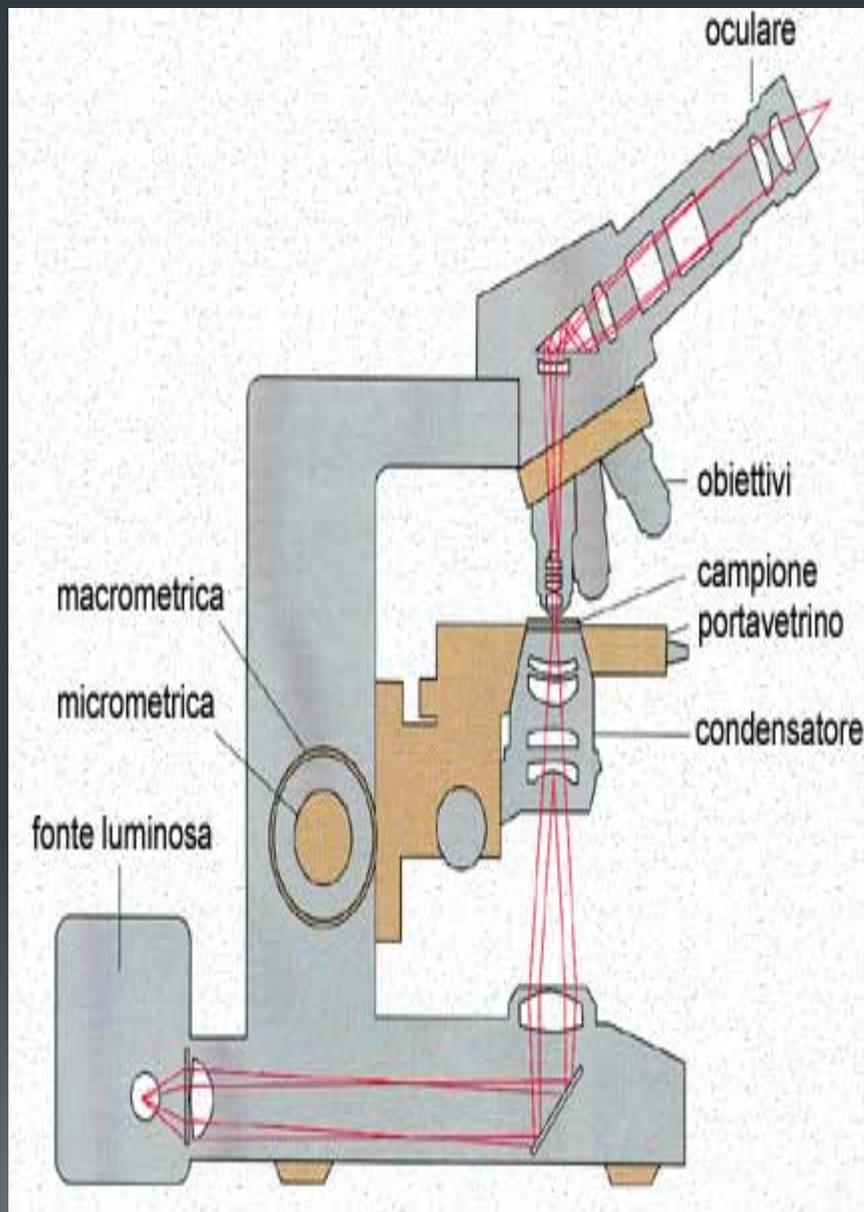
Angstrom: 10^{-10} m, 10^{-7} mm, 10^{-4} mm, 10^{-1} nm

Potere di risoluzione

La più piccola distanza alla quale si possono avvicinare due punti perché diano ancora immagini distinte

Occhio umano = 0,1mm

Microscopio ottico = 0,2mm



Microscopia in campo chiaro (1)



colorazioni

Microscopia in campo oscuro (2)



la luce non entra direttamente nell'obiettivo, ma solo se deviata dal preparato

Immagine con contorni luminosi su fondo scuro

Studi per la mobilità

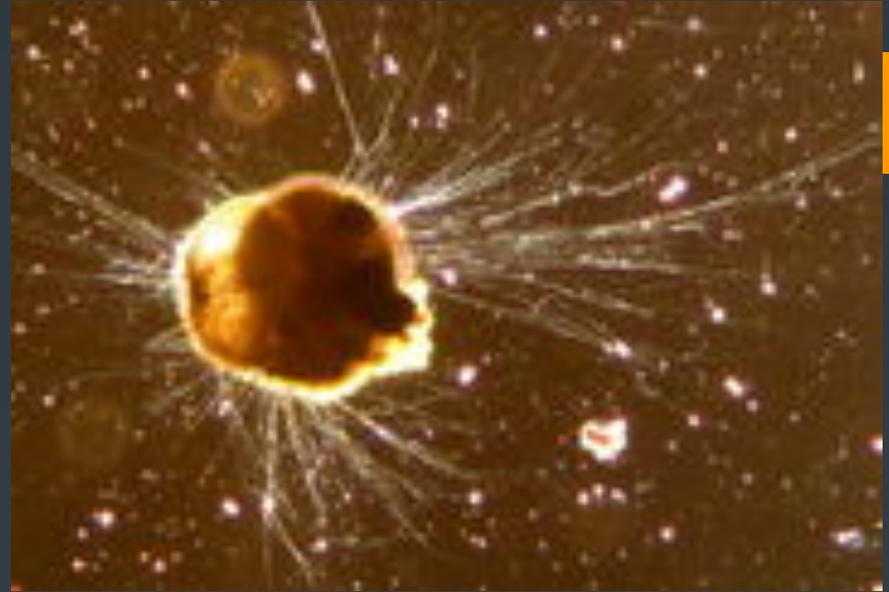
Microscopia a contrasto di fase (3)



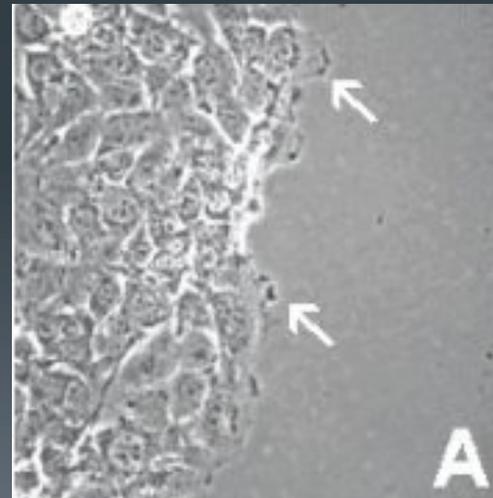
Diverse densità del preparato
Diverse velocità dei raggi luminosi
Diverse intensità luminose



(1)



(2)



(3)

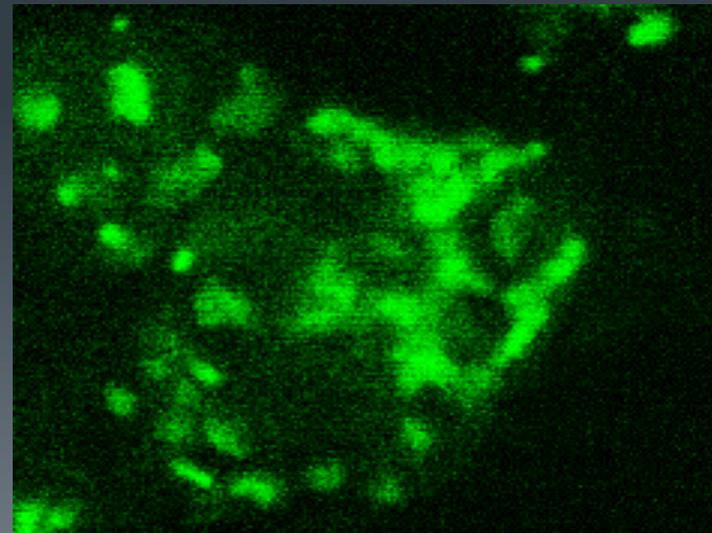
Microscopia a fluorescenza

Luce ultravioletta (L.O. $\frac{1}{2}$ luce bianca)

Aumenta il potere di risoluzione

Non è percepita dall'occhio umano

Impiego di fluorocromi



Microscopia Elettronica

Utilizza un fascio di elettroni al posto della luce

Si può raggiungere $1'000'000 \times$ (0,1nm)

La messa a fuoco avviene tramite elettromagneti

L'interno è sotto vuoto spinto per evitare interferenze sul fascio elettronico



M.E. a trasmissione

Colorazione positiva:

-sali di metalli pesanti (Pb,U,W) aumentano contrasto del campione

- gli elettroni attraversano il campione

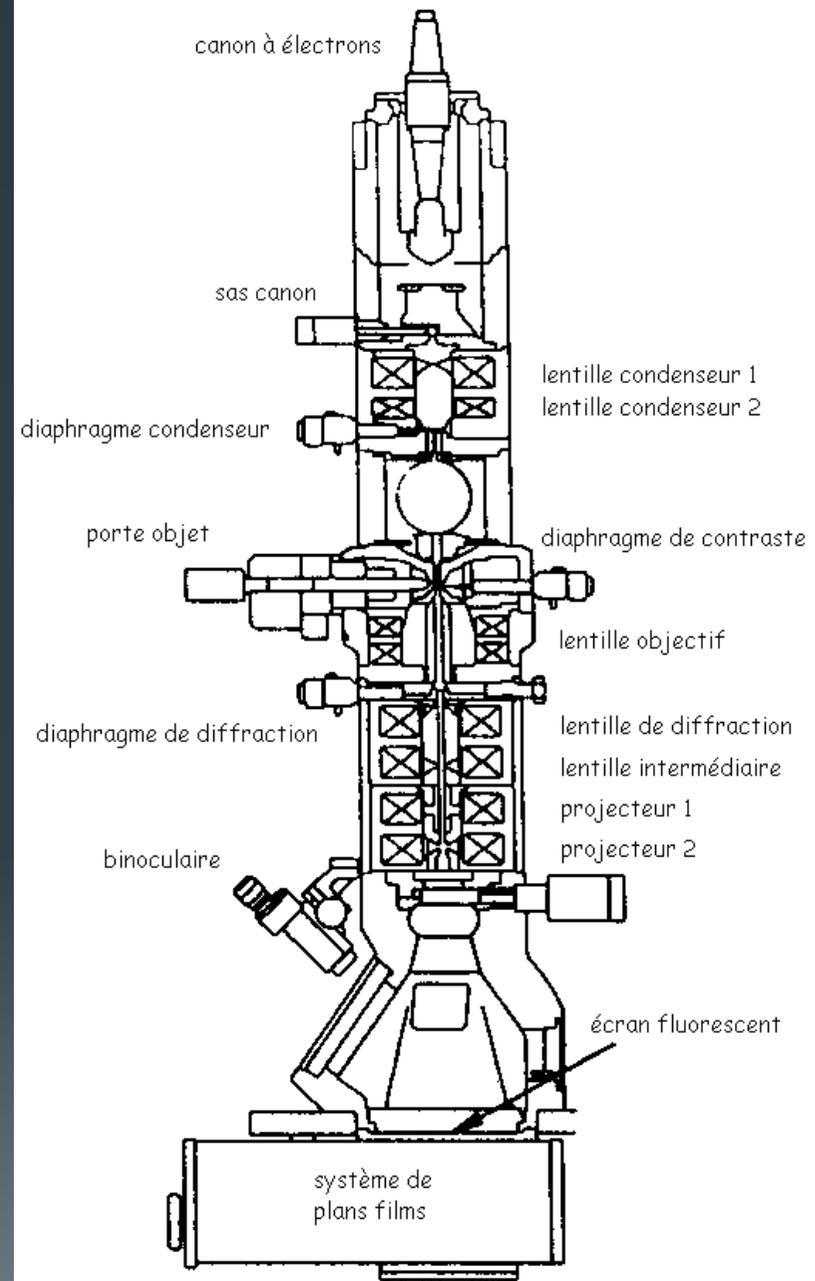
Colorazione negativa:

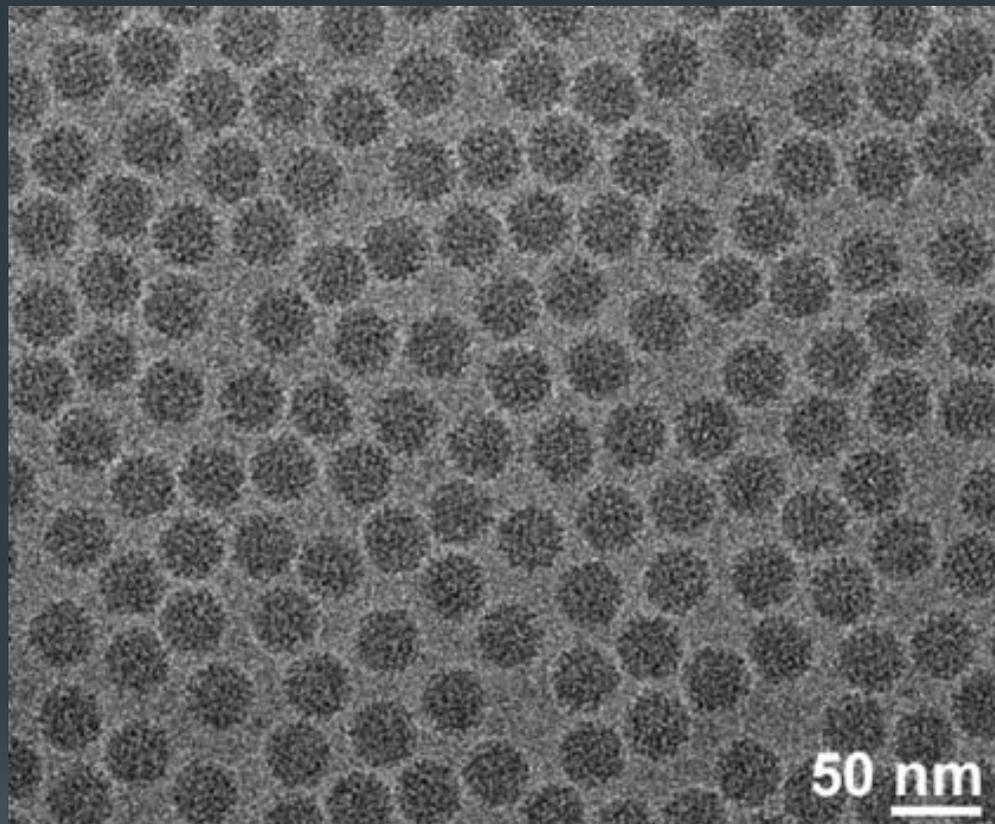
-Ac. fosforico (PTA) e acetato di uranile a pH acido non si legano al campione,ma scur zone circostanti



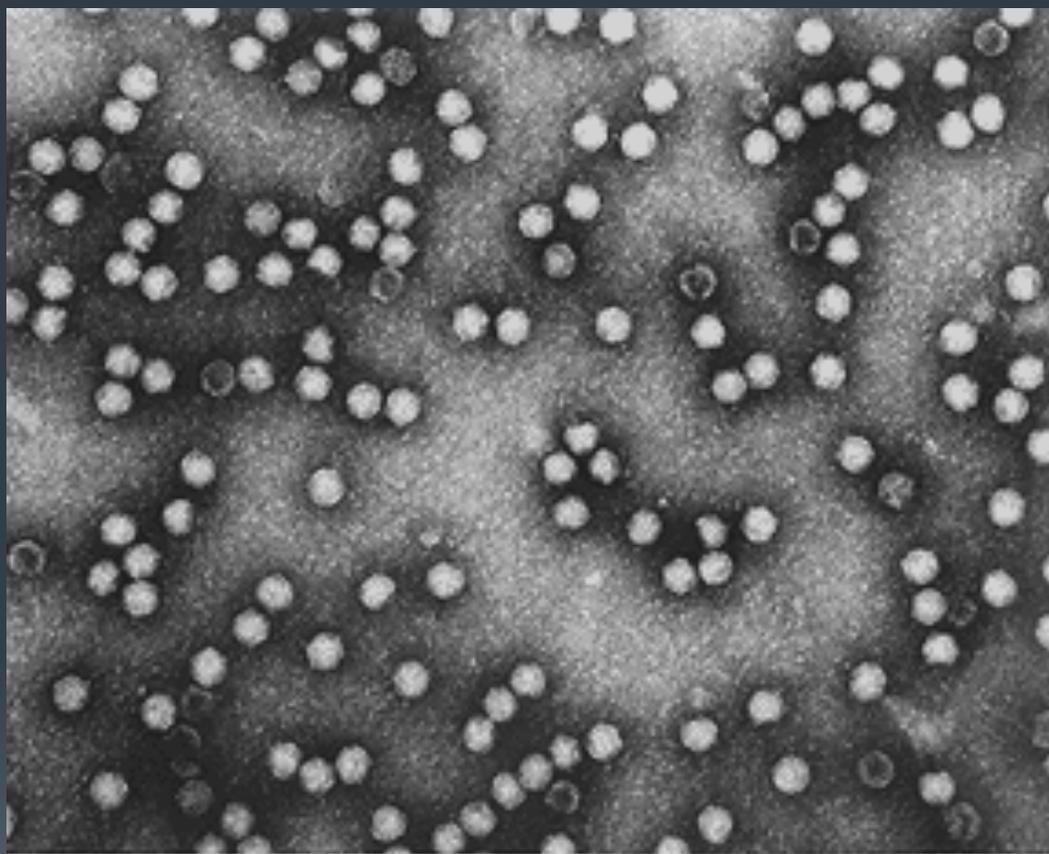
Siemens Elmiskop I.
Transmission
Electron Microscop
(circa 1964)





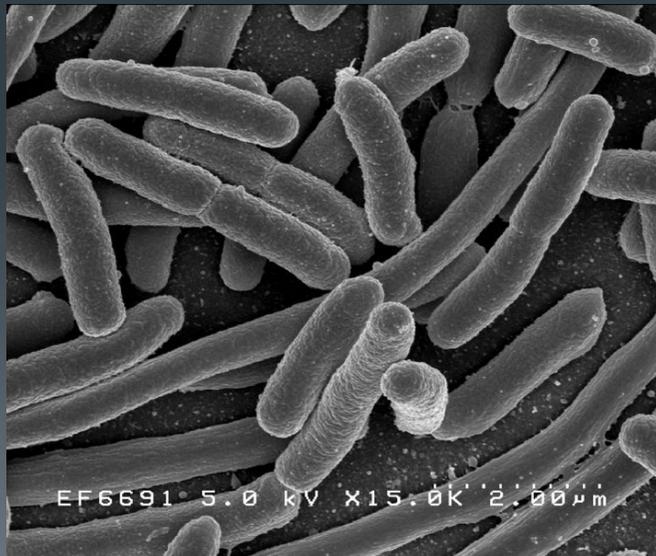


A 14

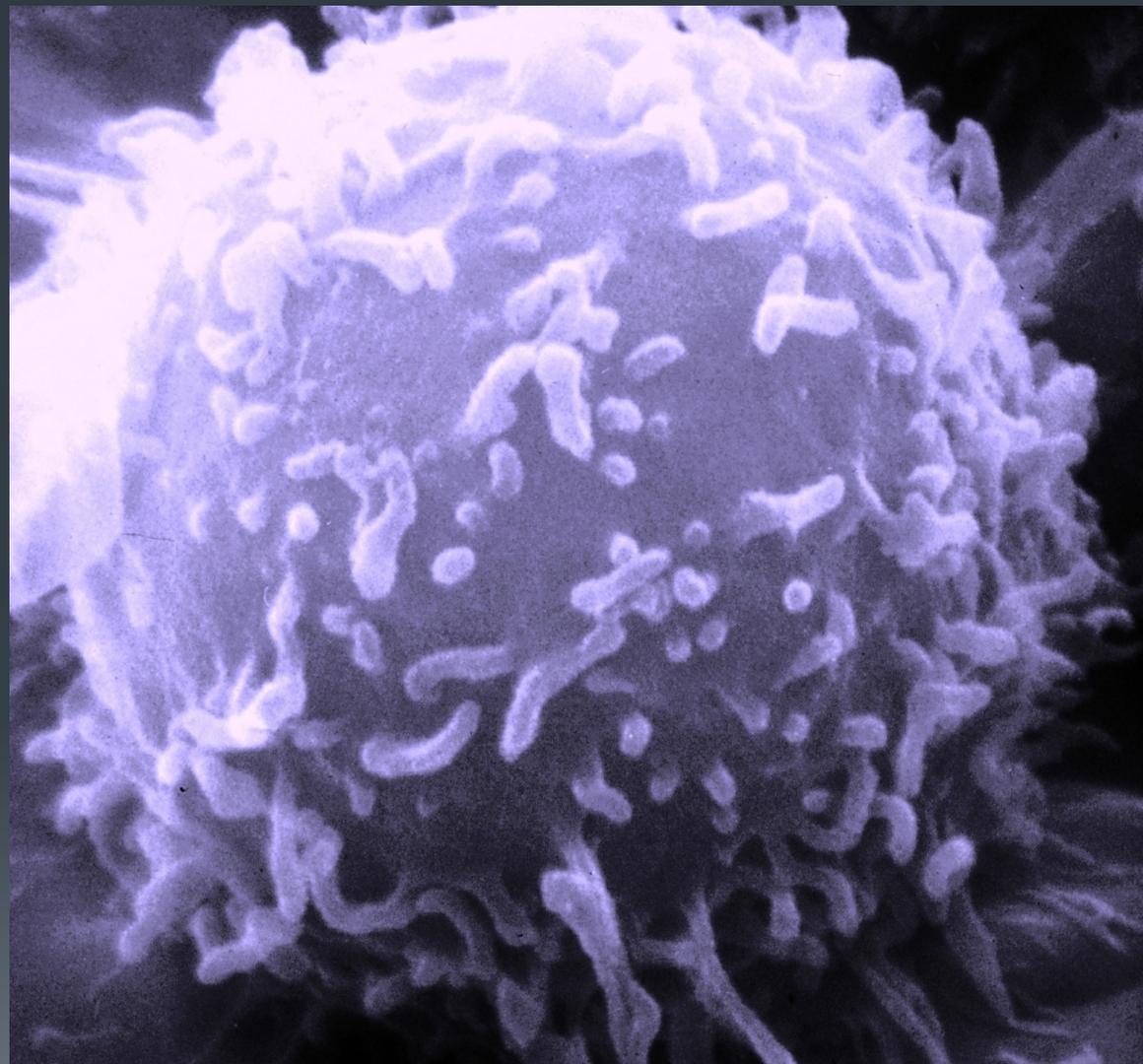


M.E. a scansione

- Visione tridimensionale
- Campione ricoperto da un metallo pesante (oro)
- Dal preparato vengono emessi elettroni secondari (riflessi) che vengono raccolti su un monitor)



E. coli: foto microscopio a scansione



Limiti di visibilità

Dimensioni

Tipo di campione

Microscopio ottico

Microscopio elettronico a scansione

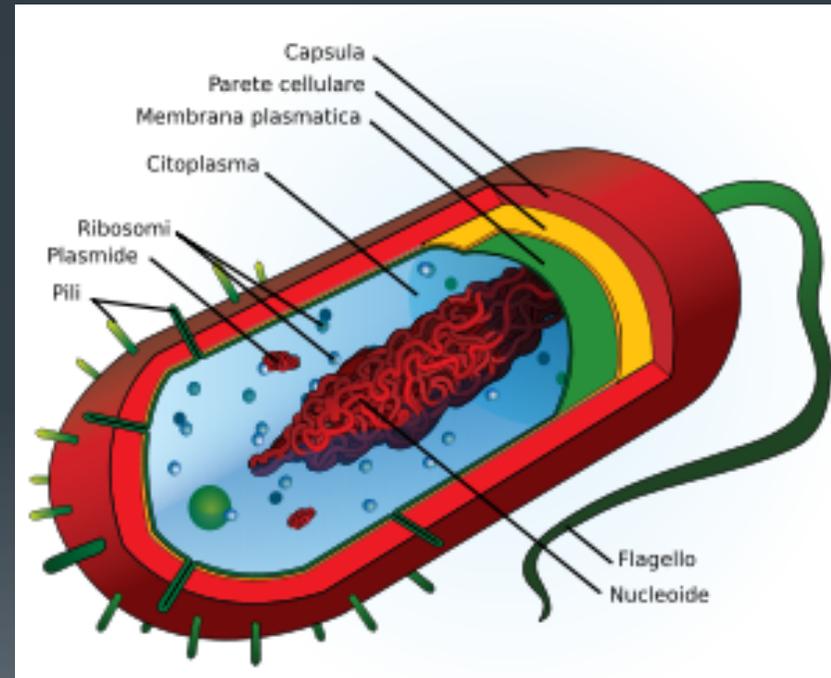
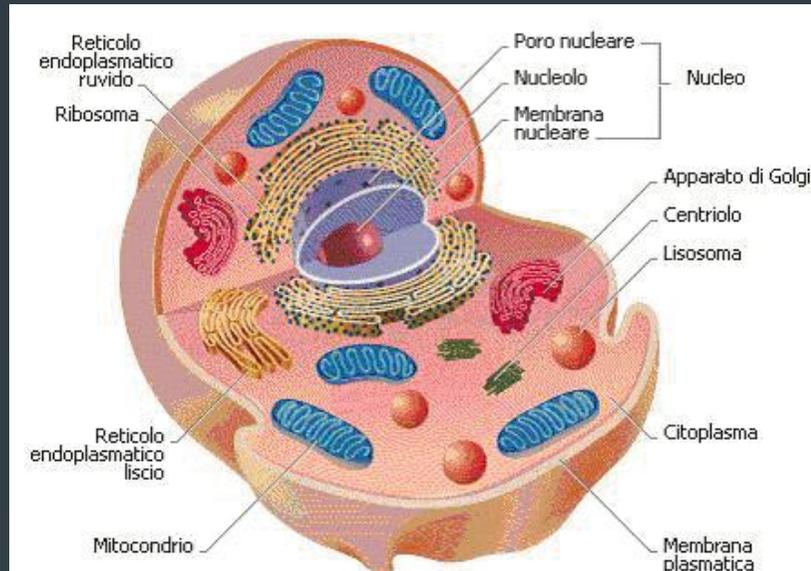
Microscopio elettronico a trasmissione



Tipo di microscopio	Massimo ingrandimento	Utilizzazione	Vantaggi	Svantaggi
Ottico in campo illuminato	1000X	Osservazione preparati colorati. Conta microbica.	Facile uso, poco costoso, permette di distinguere i microrganismi dopo colorazione differenziale	No contrasto, no visibili virus e batteri molto piccoli. La maggior parte strutture colorata x essere visibile. Artefatti a seguito colorazioni
Ottico in campo oscuro	1000X	Osservaz. Microrg. Vivi, non colorati e con strutture morfologiche difficilmente visibili in campo illuminato	Osservazione organismi viventi, no colorazione dunque no artefatti	Non è possibile valutare preparati colorati. Particolari subcellulari no facilmente individuabili
Ottico in contrasto di fase	1000X	Osservaz. Microrg. Vivi, non colorati e di strutture intracellulari	Strutture intracellulari visibili ed evidenziazione dettagli	No valutazione preparati colorati

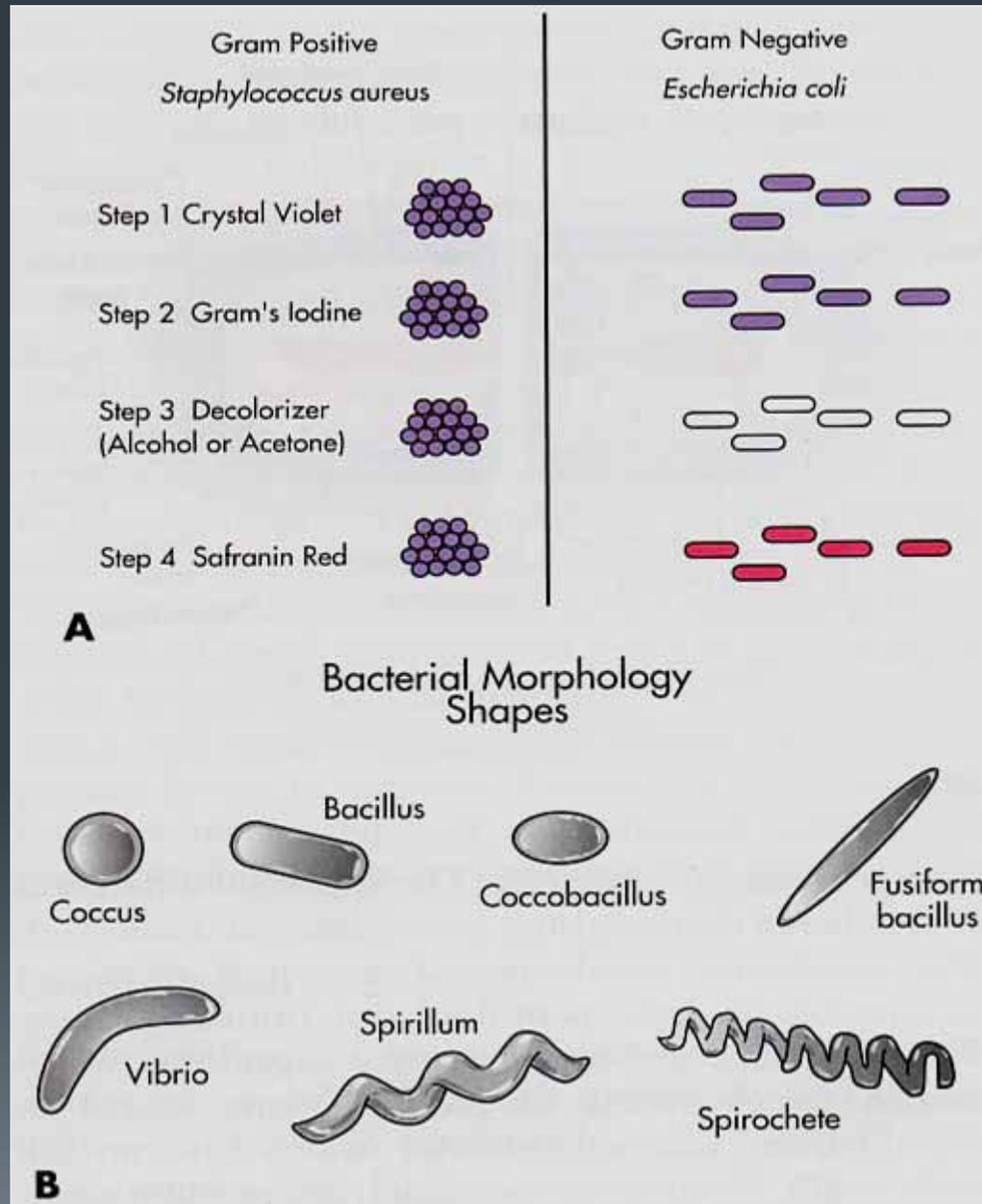
Tipo di microscopio	Massimo ingrandimento	Utilizzazione	Vantaggi	Svantaggi
Ottico a fluorescenza	1000X	Usato in procedure diagnostiche, impiegando reagenti fluorescenti, per identificare microorganismi e svelare reazioni immunologiche	Rapida identificazione agenti infettivi	Osservazione solo di preparati naturalmente fluorescenti o marcati con sostanze fluorescenti
Elettronico a trasmissione (TEM)	1.000.000X	Osservaz. Ultrastruttura microorganismi, virus compresi. Diagnosi malattie virali. Osservazione macromolecole	Osservazione microorganismi e strutture invisibili al microscopio ottico	Costoso. Osservaz. Microorganismi uccisi, fissati, disidratati e "colorati". Problema ARTEFATTI! Preparati 50-20nm spessore
Elettronico a scansione (SEM)	300.000X	Conservaz. Dettagliata struttura superficiale microorganismi. Immagini tridimensionali	Visione tridimensionale realistica. Permette agevolmente variare ingrandimento campione da 1 a 40.000X	Costoso. Consente osservare solo strutture superficie. Ingrandimento massimo inferiore a TEM

Struttura delle cellule Procariote



La cellula procariotica è più semplice di quella eucariotica CON L' ECCEZIONE delle strutture DI RIVESTIMENTO CELLULARE

Forme e disposizioni delle cellule batteriche



Nucleo

- La membrana nucleare è assente (Nucleoide)
- Può essere considerato un unico cromosoma
- La cellula batterica è aploide
- Dimensione genoma *E. coli* $4 \cdot 10^6 \text{bp}$ \rightarrow $3 \cdot 10^3$ proteine codificabili
- Il nucleoide è addossato ad una invaginazione della membrana

Mesosoma

Citoplasma

-Assenza di mitocondri

Contiene:

- plasmidi
- ribosomi 70s 2 subunità da 50 e 30s
(streptomicina)
- materiali di riserva sotto forma di granuli

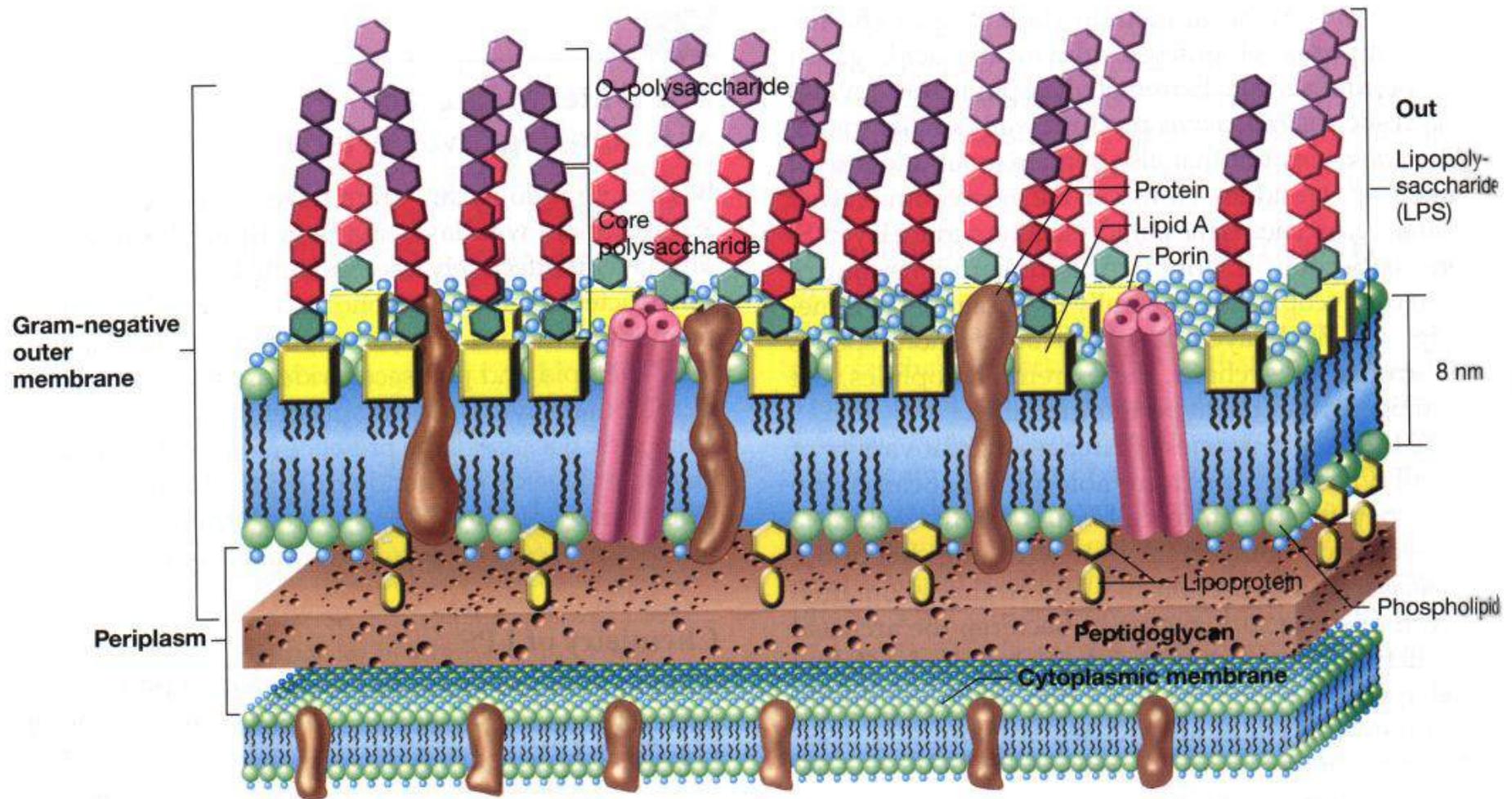
C → glicogeno e amido

P inorganico → polifosfati (Volutin o metacromatici)

Lipidi → micobatteri

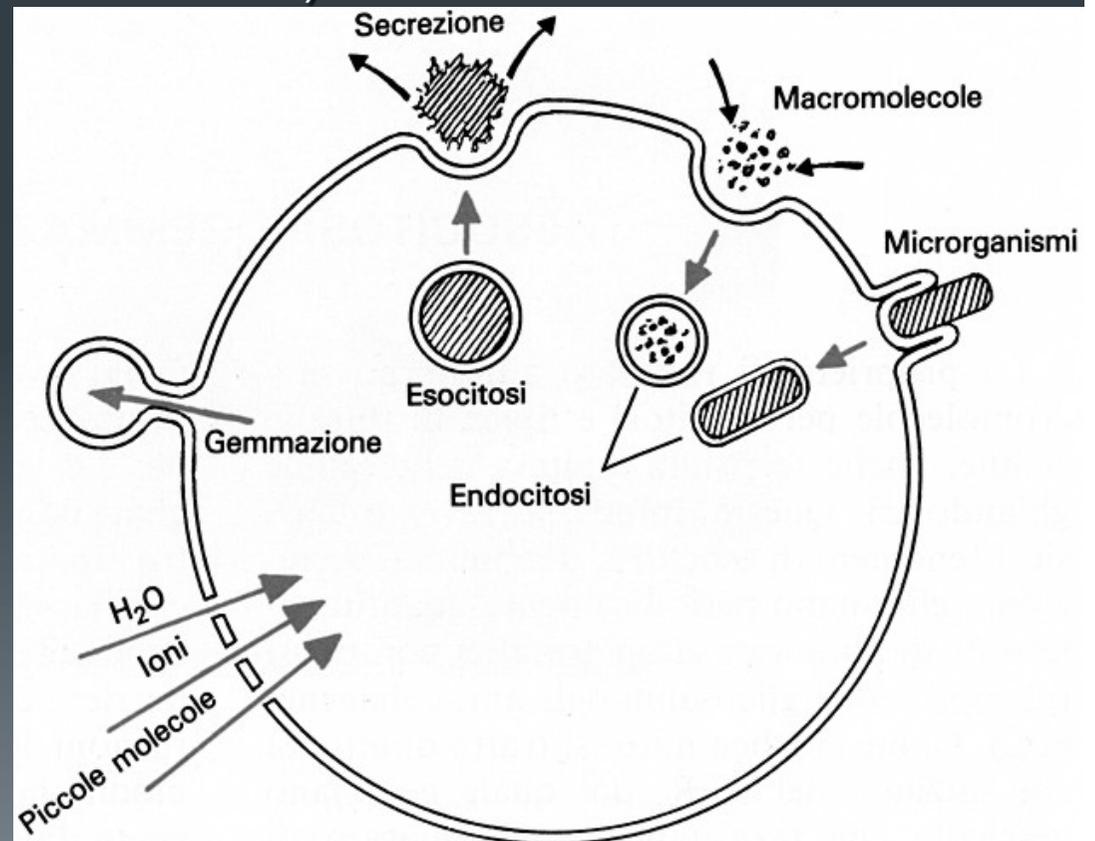
Membrana citoplasmatica

- È una tipica “unità di membrana”
Fosfolipidi + Proteine
- Mancano gli steroli (tranne che nei Mycoplasmi)
- Mesosomi: invaginazioni della membrana cellulare
 - Settali: partecipano alla divisione cellulare
 - Laterali



Funzioni della membrana citoplasmatica

- 1) Permeabilità selettiva (trasporto dei soluti)
- 2) Trasporto di elettroni (fosforilazione ossidativa)
- 3) Escrezione enzimi idrolitici
- 4) Funzioni biosintetiche
- 5) Sistemi di chemiotassi



1) Permeabilità e trasporto

- Funzione di barriera per alcune sostanze
- Facilita la diffusione di altre sostanze mediante permeasi
- La diffusione di sostanze può avvenire

Senza consumo di
energia (osmosi)

Con consumo di energia

2) Trasporto elettroni e fosforilazione ossidativa

La membrana cellulare ha funzione analoga a quella dei mitocondri

Presenza di citocromi ed enzimi della catena respiratoria

3) Escrezione enzimi idrolitici

La degradazione di sostanze polimeriche avviene fuori la struttura batterica
(G+) o nello spazio periplasmatico (G-)

4) Funzioni biosintetiche

- Assemblaggio subunità della parete batterica

- Enzimi per sintesi di fosfolipidi

- Ruolo nella replicazione batterica

5) Sistema chemiotattico

- Specifici chemiorecettori di attrazione

