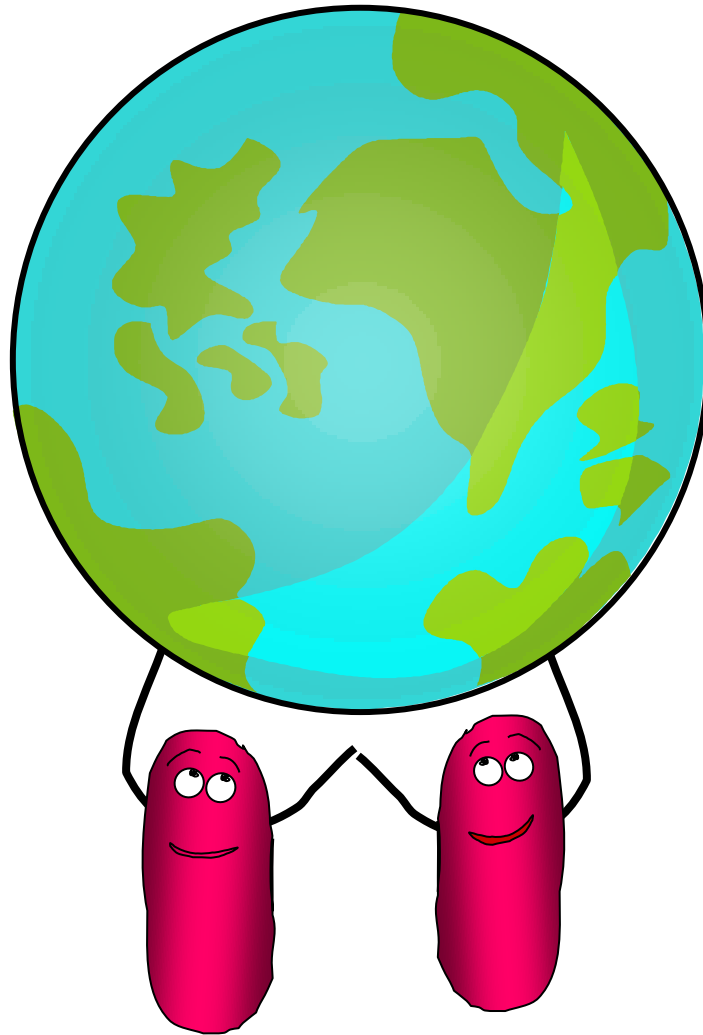


LA TERRA E' UN PIANETA..

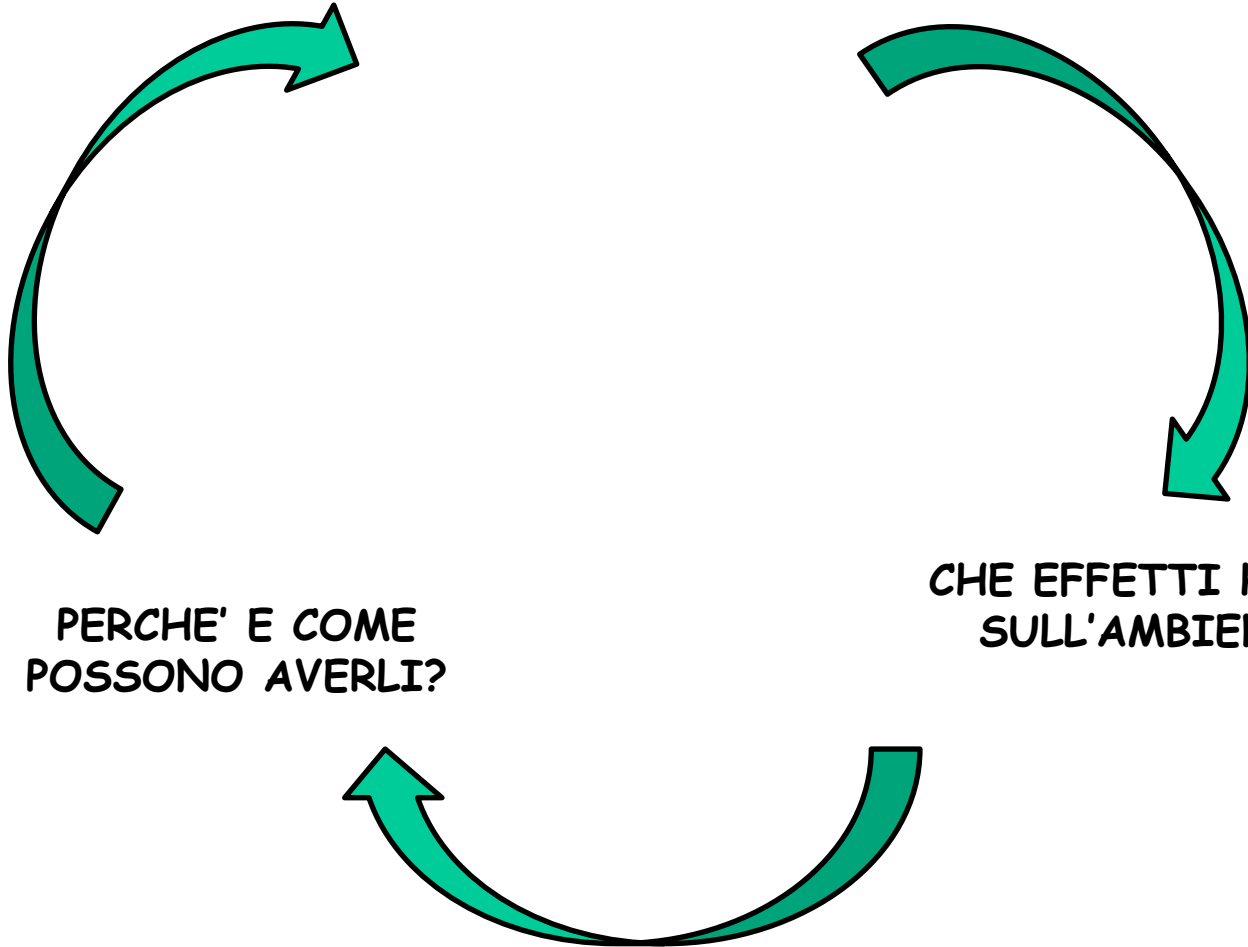


FONDATA SULLE ATTIVITA' MICROBICHE'

**CHI SONO I
MICRORGANISMI?**

**CHE EFFETTI HANNO
SULL'AMBIENTE?**

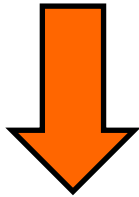
**PERCHE' E COME
POSSONO AVERLI?**



**I principali protagonisti, nel mondo
microbico, sono i batteri**

**le prime tracce certe della loro
esistenza risalgono al Precambriano**

Mancanza di fossili



**filogenesi procariotica:
tecniche molecolari**

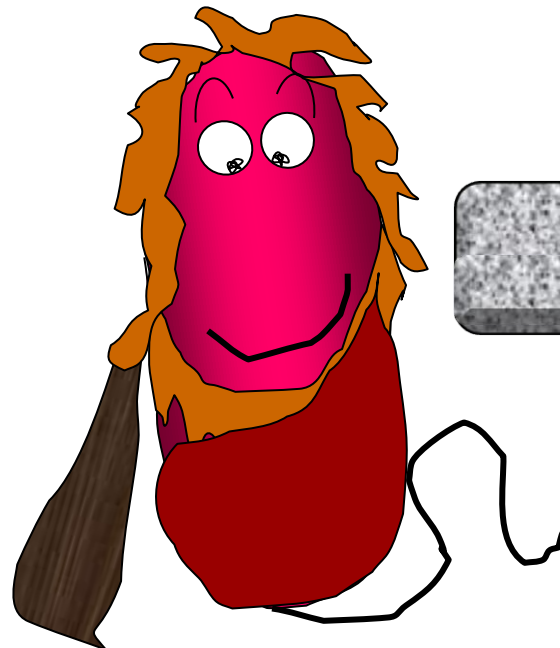


**dagli anni 50-60, la filogenesi microbica è
stata studiata con tecniche molecolari:**

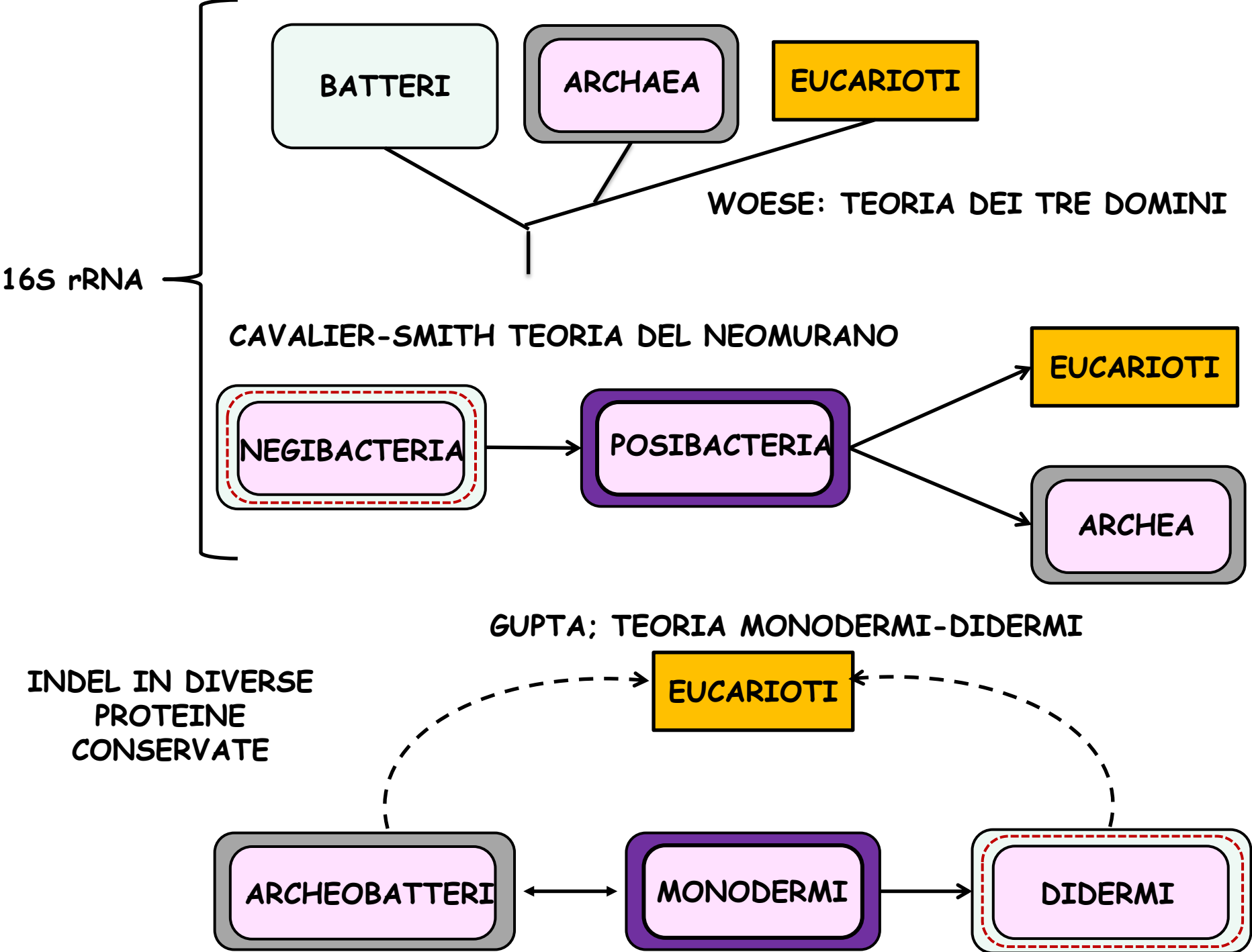


tutti gli organismi viventi condividono molte biomolecole comuni o correlate e strategie simili e complesse per la crescita e la propagazione

L'ipotesi che discendano da un antenato comune non è più oggetto di discussione



(LUCA)



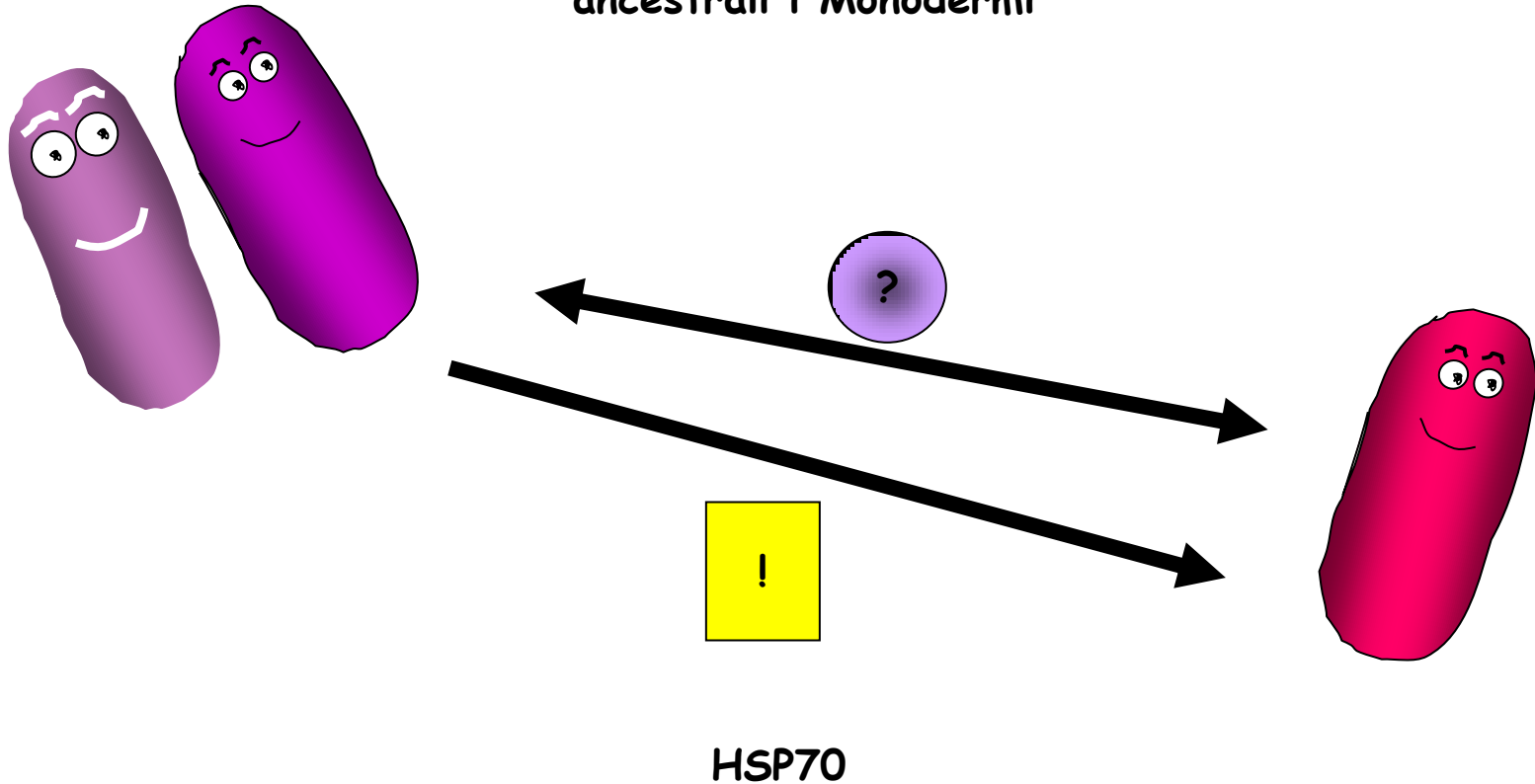
Un esempio di "indel" (HSP-70)

-VDR--RSV--H--		-W-VNLDG-D	-N-----V--L
-VDR--RSV--H--		--W-IDLDG-S	-N---M-----L
--N--MSI--H--		----VEIEG-D	Y---EV--I---HL
--N--ISV--H--		--H-VEAEG-Q	Y---EM--I---HL
--N-VISI--H--		----VEIEG-K	Y---E---I---YL
--NSAVSV--LI-		-GE-VTLEG-D	Y--EE---M--GYM
---N--SSI--H--		ES-TVDIQG-K	Y---E---M----L
--N--VSI--L--		-SN-VT-KNPD	GSTKEL--Q--SYL
--NVVQSI-S---		-TS-VNLEG-D	YS-E----E--RYM
--N--VSI--L--		-SN-V--TT--	LS-E-V--Q--SYL
--DK--ISI-----		-AE-VAID--N	Y---E---M----L
--DK--MSI--H--		----VNIDG-D	LS--E---M----L
--E--ISI-S---		-SE-VSANG--	Y---E---M---NL
--N-VQSI--H--		----VDIEG-S	Y---E---M---NL
---R--KSI-----		----VRID---	Y---E-----K-L
--QN-L--I--LI-	RRFQDEEVQRDVSIMPFKIIAAD	NG-AWVE-KGQK	MA-P----EV-L-M
--KN-L--I--LI-	---E----K--ID----A-TK--	NG-AWVE-KGEK	LA-P----EV-K-M
--KN-L--I--LI-	---ES-----IK----E-TR--	NG-AWVN-KGDK	LA-P----EV-K-M
--DN-F--I--LI-	-KYD-KA--E-IKKV-YAV-K--	NG-AWVATKG-K	MA-P-V--EV-R-M
--QN-L--I--LI-	-----Y---G--	NG-AWLD-KGQK	MA-P----EV-K-M
---N-L--I--LI-	---DE-V--K-I-VT-Y--VR--	NN-AWIEARGRK	IA-PEV--QV-I-M
---R-F--V--LI-	--YD-PM-EK-KGLV-Y--VK-S	NG-AWVEADG-T	YS-S-V-----M
--TN-V--V--LI-	--TT-A--EK-KKLV-YN-VDGG	NG-AWVE-RGEK	-S-A-V--V----M
---R-F--V--LI-	--YD-PM-EK-KKLV-Y--VK-S	NG-AWVEADGQT	YS-S-V-----M
--KN-L--V--LI-	---EEK---K-IGL--YS--K--	NG-AWVEGHGEK	MA-P-V--EAVR-M
---N-L--I--LI-	-T-E-PTT-K-KGMV-Y--VK--	NG-AWVEAHGTS	YS-S----M----M
--TN-L--V--LI-	--YE-PT-EK-KALV--E-VKG-	NG-AWV-AQ--N	YS-S----M----M
--TN-L--I--LI-	-TAS-PV-EK-KGMV-YRSSR-R	AG-AWV-AHG-D	YS--EV-----M
-----L--V--LL-	--YD-PM-TK-KDLV-Y--VKG-	NG-AWVE-HG-K	YS-S----M----M

Naturalmente va esclusa la possibilità che un indel sia stato
introdotta per trasferimento orizzontale

Se due gruppi di microrganismi sono distinti da un indel, non si può capire quale sia il gruppo ancestrale.

una vasta inserzione in Hsp70 però coincide con altri dati che indicano come ancestrali i Monodermi

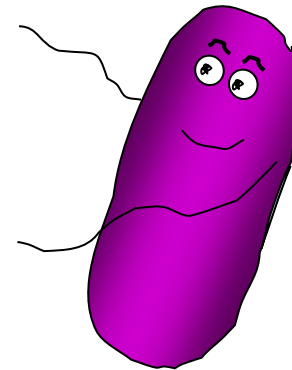
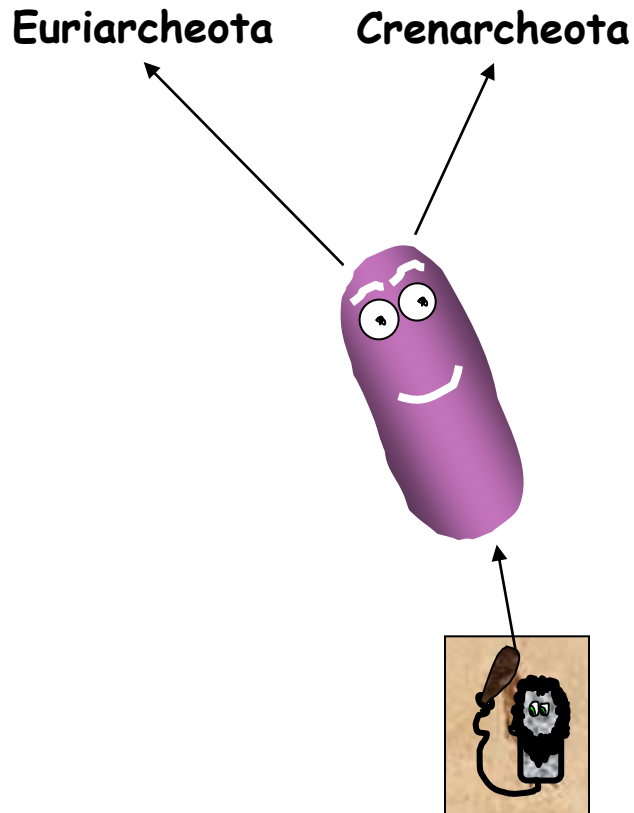


L'indel di Hsp70 è stato definito "indel dei didermi", perché segna il momento della comparsa dei batteri dotati della struttura a doppia membrana

Quali sono i rapporti tra archibatteri e batteri Gram-positivi, entrambi a struttura monodermica?

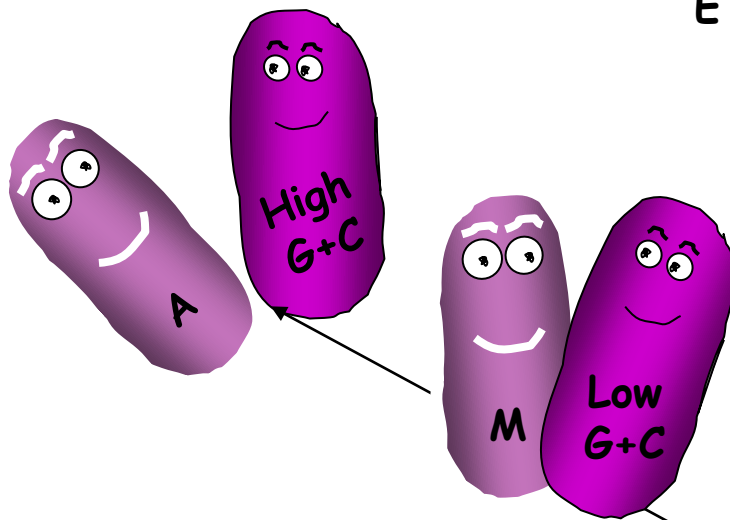
Alcuni geni e proteine sembrano indicare gli archibatteri come monofiletici

Ma l'analisi di altri indica una ramificazione polifiletica, con i batteri Gram-positivi



In particolare un gruppo di archibatteri (alofili e termoacidofili) ramifica con i batteri Gram-positivi con alto contenuto di G+C

E un altro (metanogeni) ramifica con i batteri Gram-positivi a basso contenuto di G+C



Come è possibile spiegare questi dati?



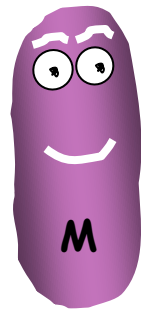
Solo con trasferimenti genici orizzontali, che possono essere avvenuti secondo due possibili "scenari"

A) Gli archibatteri sono davvero monofiletici,
completamente distinti dai batteri Gram-positivi
(ipotesi dei tre domini)

I dati si possono spiegare con il trasferimento
di geni house keeping:



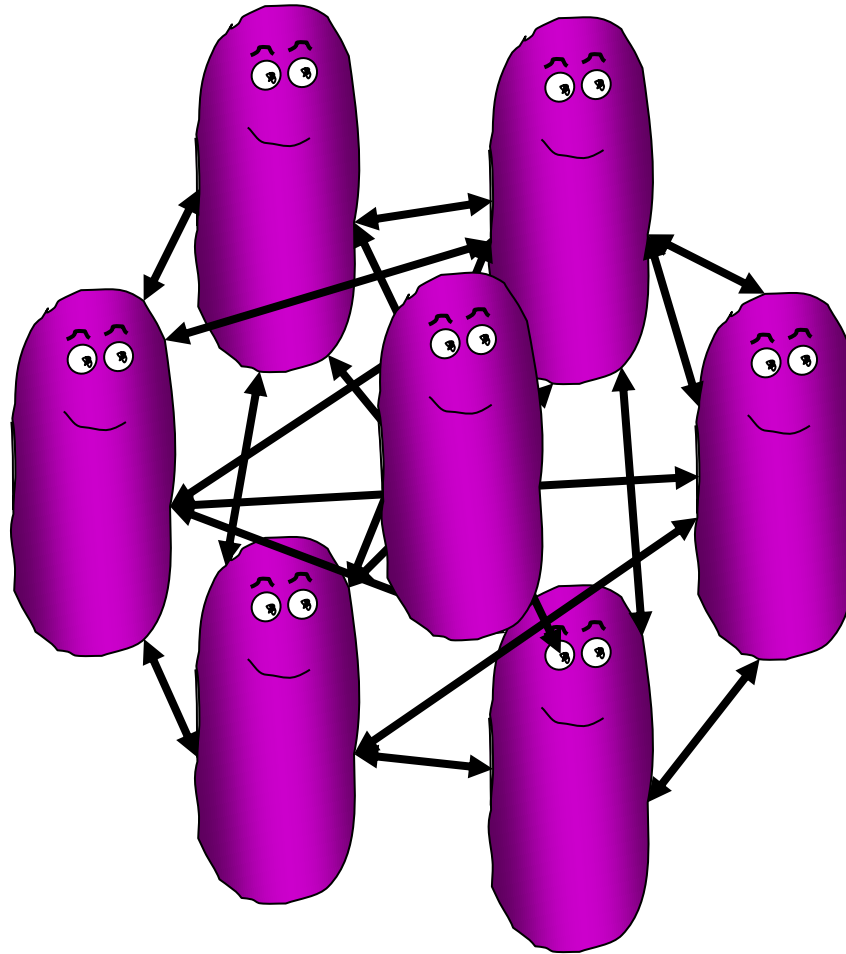
Dai Gram-positivi H-G+C
a un gruppo di
archibatteri



e dai Gram-positivi L-
G+C a un altro gruppo di
archibatteri

E la contemporanea perdita degli stessi geni nei due gruppi di archibatteri

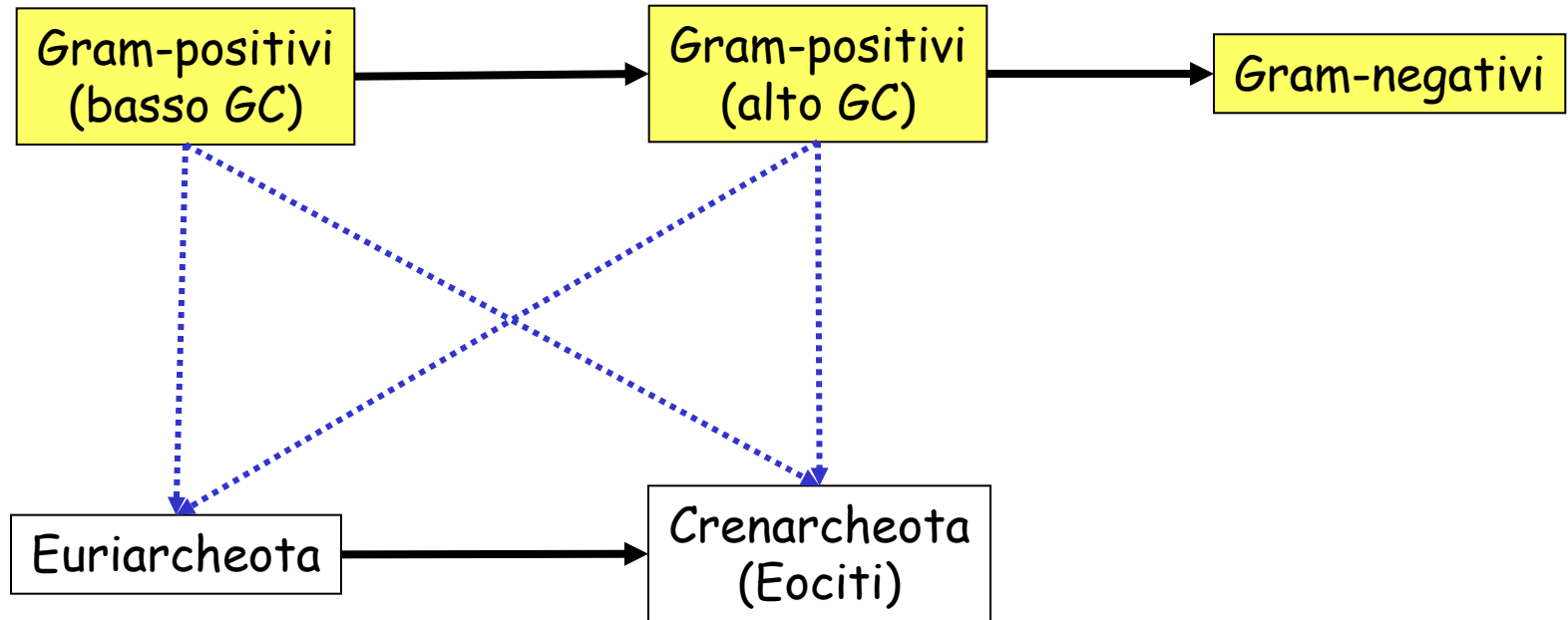
B) Gli archibatteri sono polifiletici e i geni sui quali è stata ipotizzata la loro diversità sono stati ottenuti per TGO da uno o più batteri Gram-positivi



gli archibatteri si sarebbero originati da Gram-positivi dopo un lungo periodo di ripetuti trasferimenti orizzontali (TGO) e sotto una forte pressione selettiva

A) secondo l'ipotesi dei tre domini

Trasferimenti orizzontali da Gram-positivi ad Archea

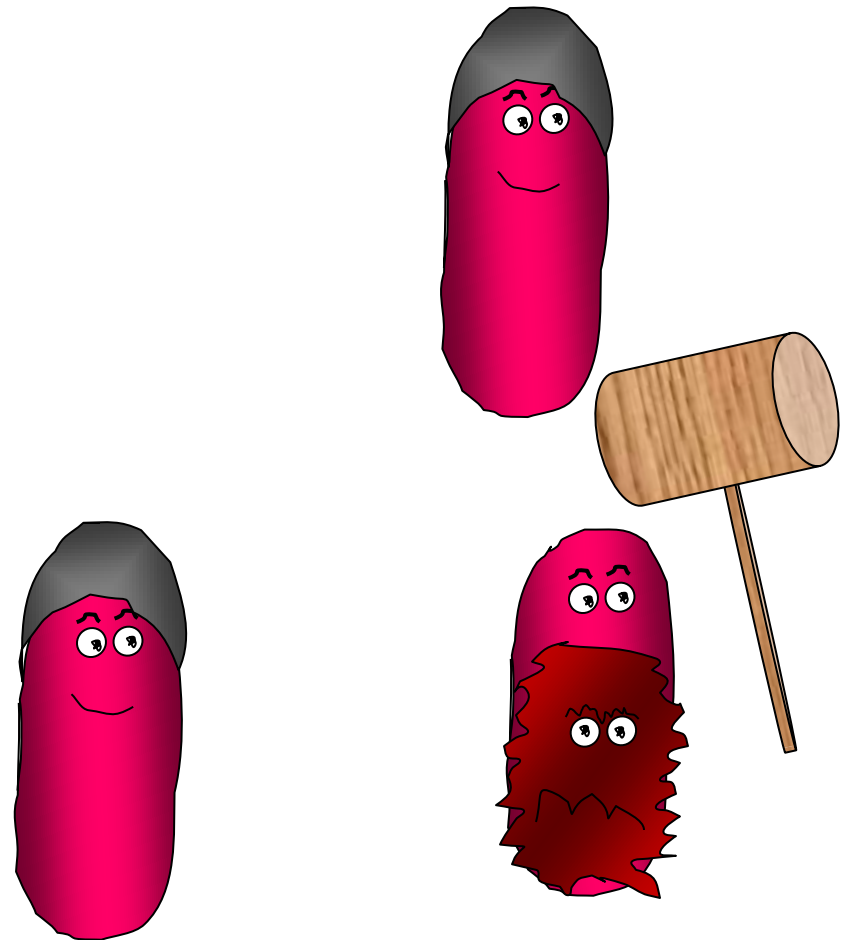


Se le cose fossero andate così, i geni trasferiti non sarebbero stati di alcuna utilità per i riceventi

Perché avvenga un TGO devono verificarsi due condizioni correlate.

il gene trasferito deve conferire
un vantaggio selettivo alla specie
che lo riceve

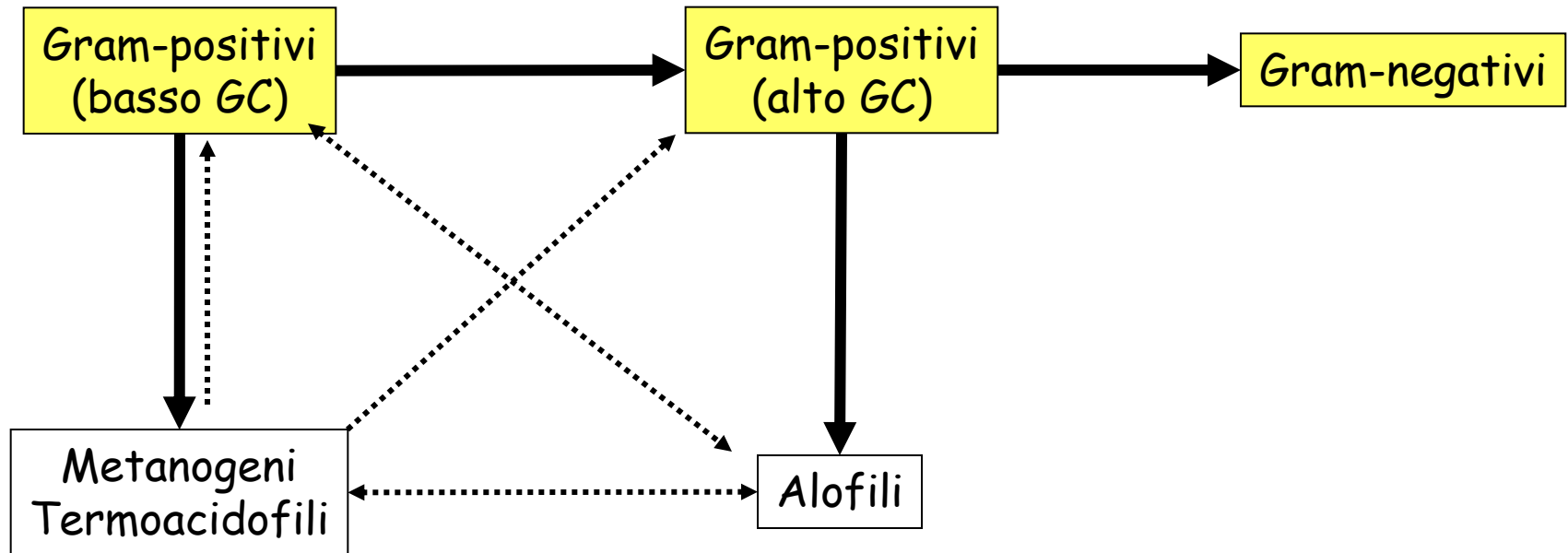
L' ambiente deve operare una selezione
forte in favore delle specie che
contengono il gene trasferito



il TGO ipotizzato dallo scenario "A" non avrebbe comportato alcun vantaggio

B) secondo l'ipotesi monodermi- didermi

Da Archea a gram-positivi

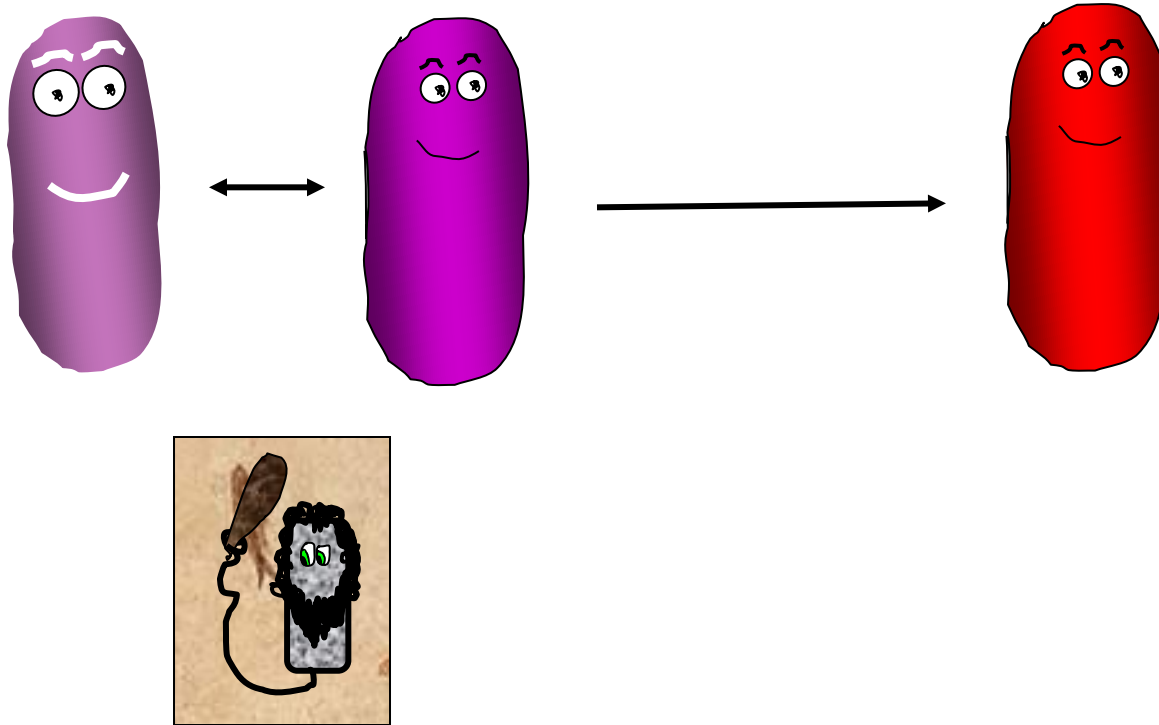


Eventi di trasferimento ripetuti all'origine dell'evoluzione batterica avrebbero portato un notevole beneficio: i geni trasferiti avrebbero conferito resistenze agli antibiotici

i geni trasferiti sarebbero quelli coinvolti nei processi-bersaglio per gli antibiotici più comuni, prodotti da diversi batteri Gram-positivi

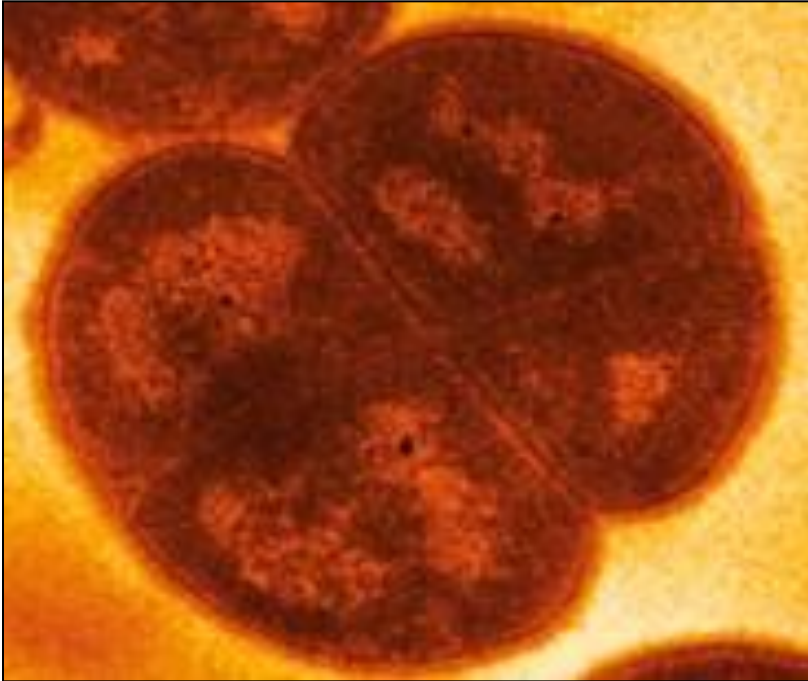
BERSAGLIO	ANTIBIOTICO	SPECIE PRODUTTRICE
sintesi proteica (30S)	Streptomicina Neomicina Tetracicline Spectinomicina Gentamicina Tobramicina Kanamicina	Streptomiceti (Monodermi con alto G+C)
sintesi proteica (50S)	Eritromicina Cloramfenicolo Lincomicina Streptogramine	Streptomiceti
Parete batterica	Bacitracina Vancomicina Cicloserina	Bacillus (monodermi, basso G+C) Streptomiceti
membrana citoplasmica	Polimixine Gramicidina S Tirotricina	Bacillus
sintesi o metabolismo degli acidi nucleici	Rifampicine Novobiocine	Streptomiceti

L'analisi con gli indel disegna un quadro diverso da quello dei "tre domini": non tre rami monofiletici ed indipendenti, ma l'evoluzione di un gruppo di Gram-positivi/Archea.



La radice dell'albero non andrebbe posta tra Archea e Bacteria ma tra Monodermata e Didermata. L'ordine filogenetico che scaturisce da questa analisi è coerente con i dati strutturali

**I Didermata si sarebbero evoluti in un secondo tempo dai monodermata,
il microrganismo di transizione è Deinococcus**

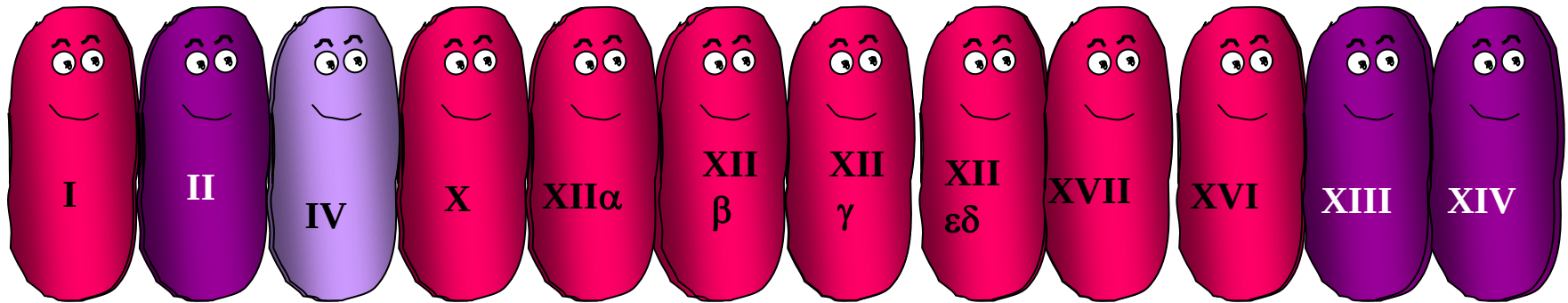


**che gli indel collocano tra i
monodermata e i didermata, e che
ha effettivamente la parete dei
monodermata ma già la doppia
membrana dei didermata**

**Come spesso accade nel corso di una evoluzione, infatti, la comparsa di un nuovo
carattere vantaggioso, precede la scomparsa di quello non più necessario**

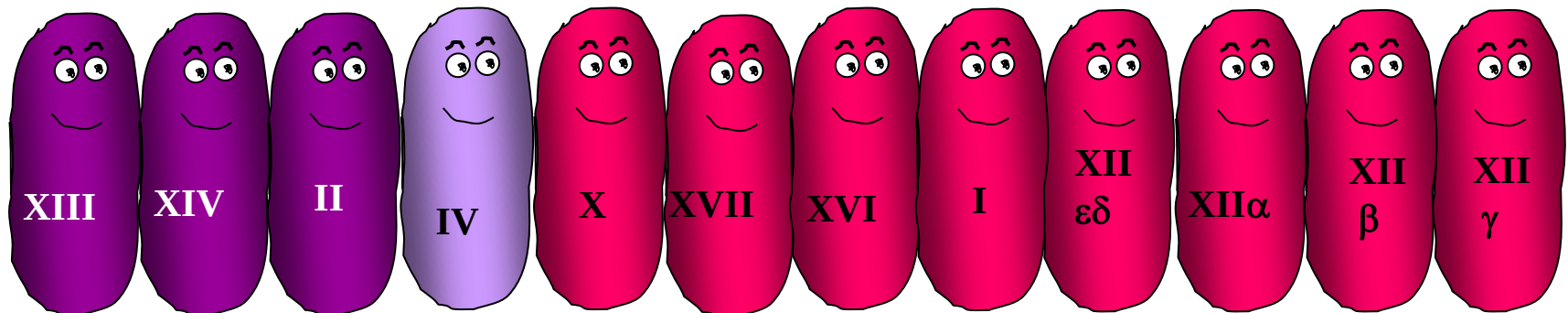
Confrontando i dati ottenuti con i due metodi, si nota che le definizioni dei gruppi sono coerenti, ma l'ordine presuntivo di apparizione cambia

TRE
DOMINI

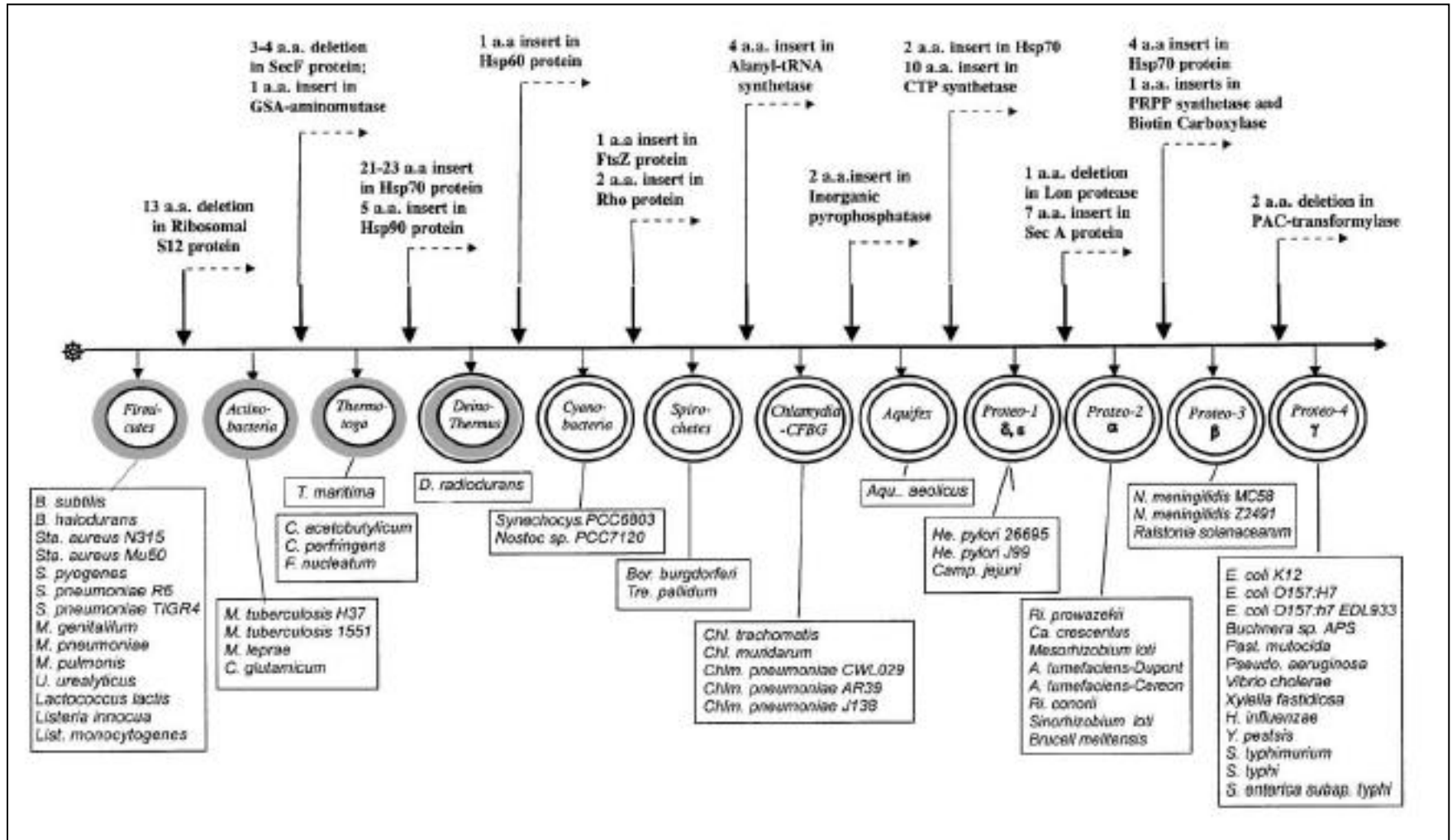


L'ordine gerarchico stabilito attraverso l'analisi degli indel è coerente con la struttura e la morfologia delle specie, mentre quello stabilito attraverso l'analisi dei 16S rRNA non lo è

MONODERMATA
DIDERMATA

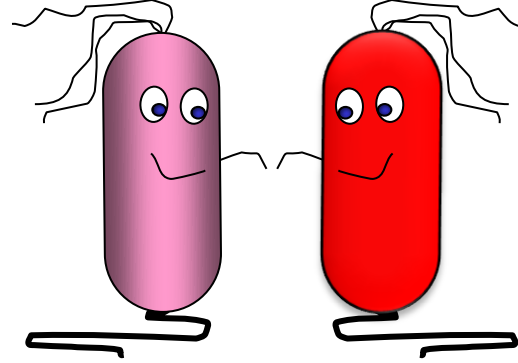


Ogni nuovo gruppo nasce dal gruppo dominante immediatamente precedente:
i batteri sono monofiletici



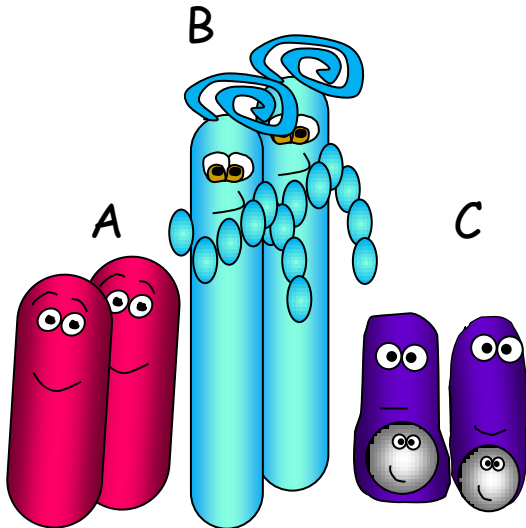
Come ti chiami??

CLASSIFICAZIONE



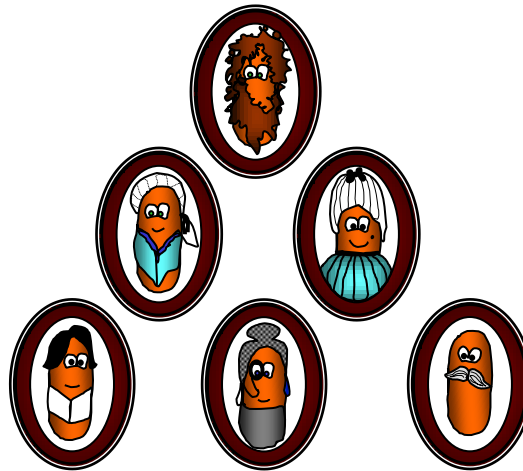
TASSONOMICA

Assegnazione a
un taxon



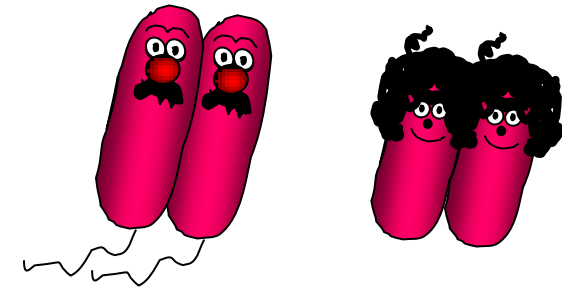
FILOGENETICA

somiglianza genetica e
correlazione evolutiva



FENETICA

caratteristiche
facili da
osservare



Phylum
Classe
Ordine
Famiglia
Genere
Specie

Genere

specie

raggruppa specie
simili tra loro

ceppo

Popolazione clonale originata
da una singola cellula

Ceppi differenti rappresentano la variabilità
genetica all'interno della specie

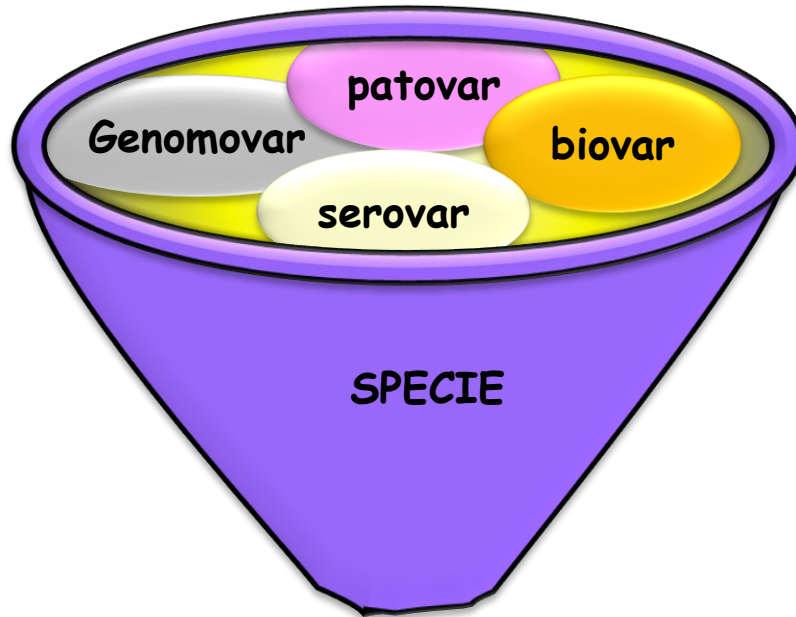
individui con alto grado di omologia in
molte caratteristiche indipendenti

MONOFILETICA

caratteristiche
fenotipiche
discriminanti

Biovar: ceppi che differiscono per caratteristiche fisiologiche

serovar: ceppi che differiscono per caratteristiche antigeniche



patovar: ceppi che differiscono per caratteri legati alla virulenza

genomovar: varietà genetiche non differenziabili con altri metodi

Morfologia di colonia
Forma e disposizione
Struttura della parete
(colorazione di Gram)
Strutture cellulari particolari
Caratteristiche biochimiche

Test sierologici

$$\text{Mol\% (G+C)} = \frac{G+C}{G+C+A+T} \times 100\%$$

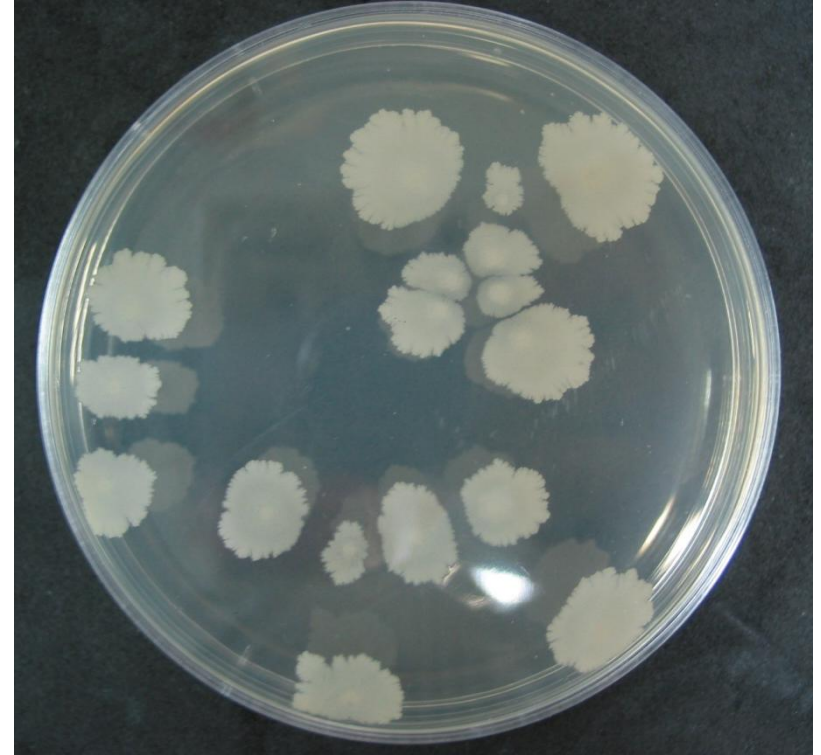
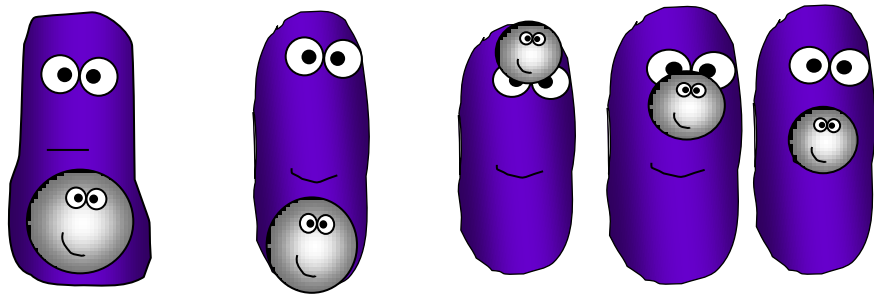
Calcolato con la T_m (Temperatura di fusione)

% omologia del genoma (Δ T_m dell'ibrido ssDNA)

Sequenziamento di geni conservati

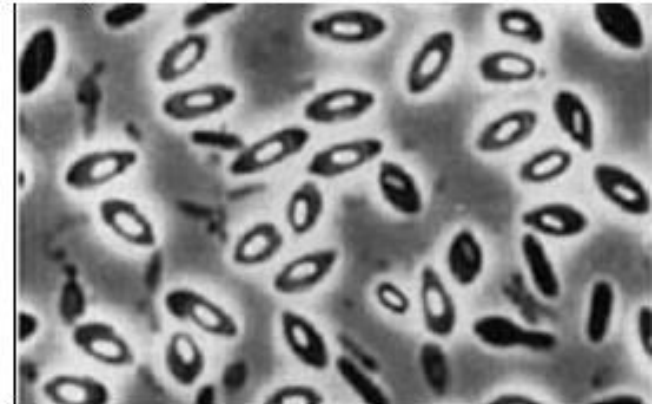
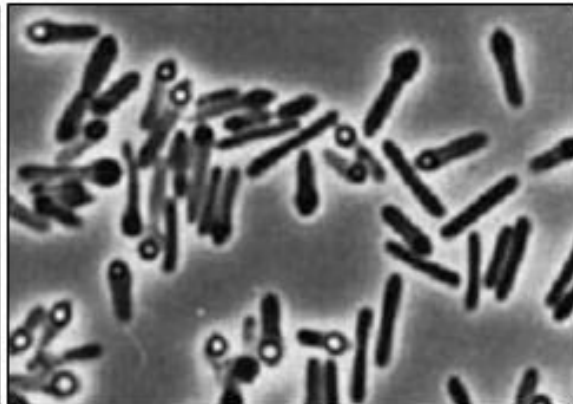
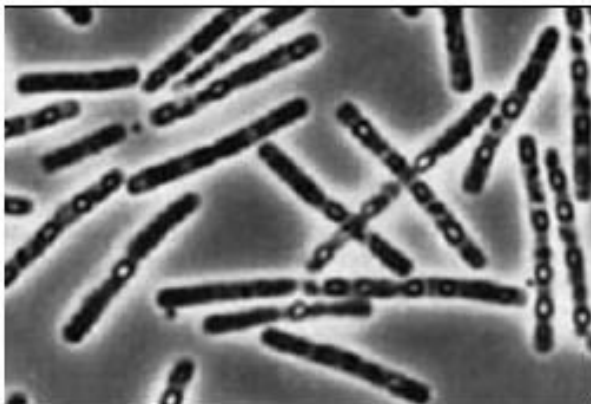
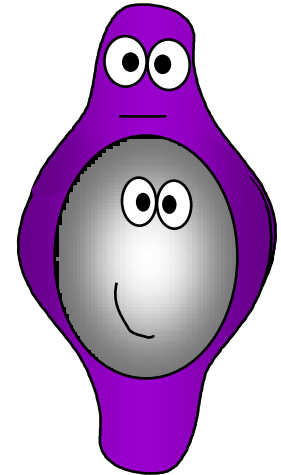
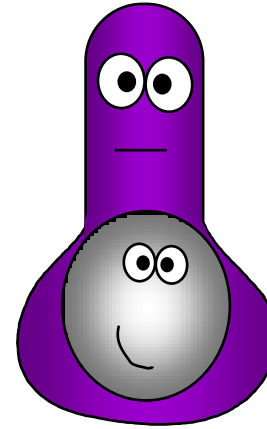
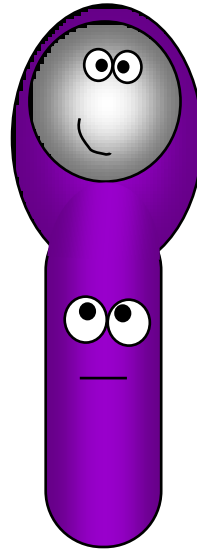
Monodermit L G+C

Bacillus



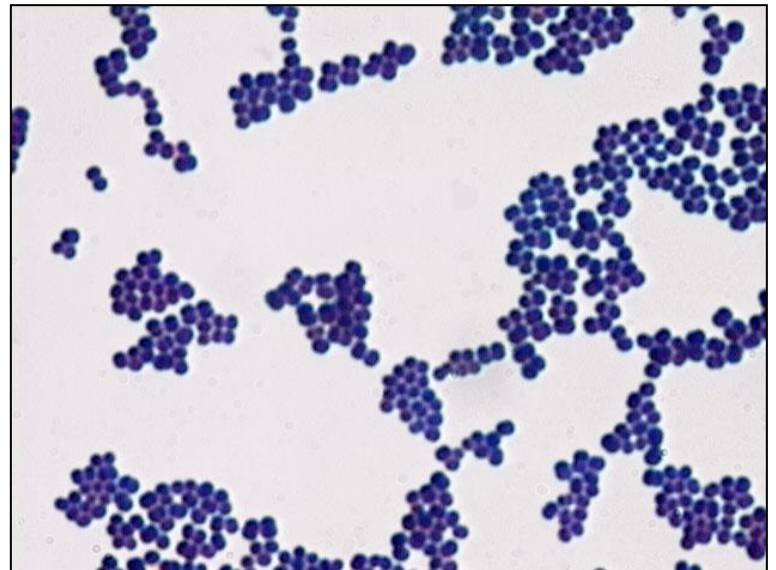
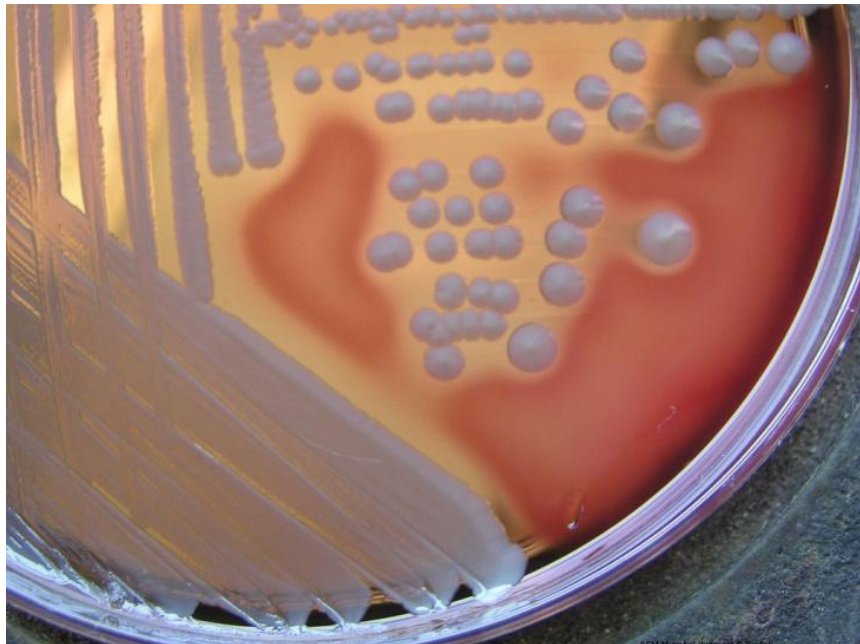
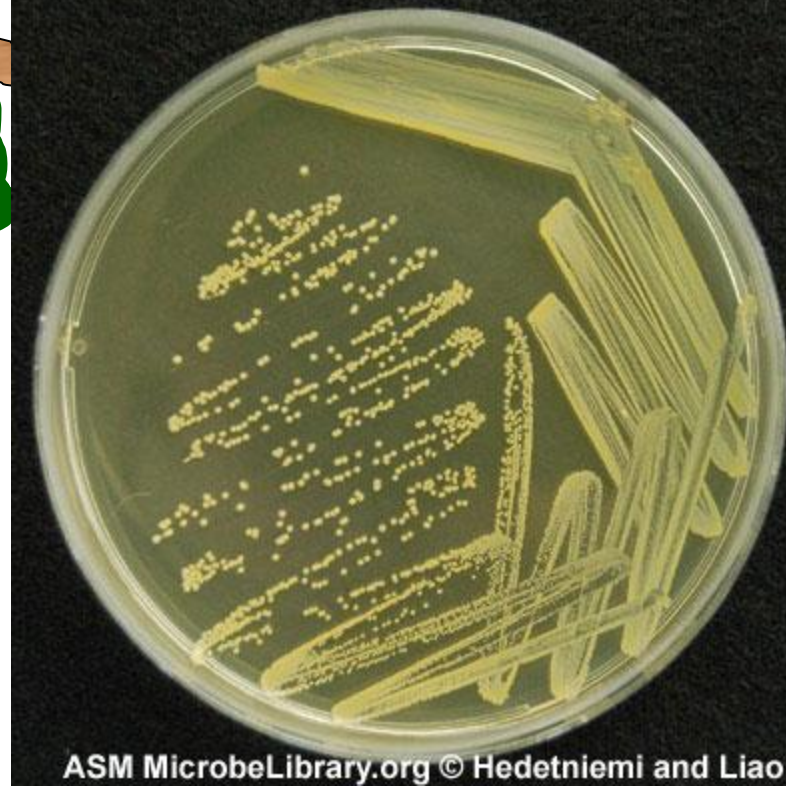
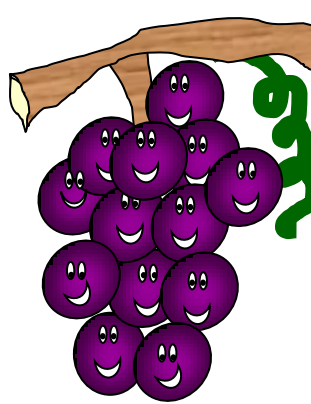
Firmicutes (Monodermi L G+C)

Clostridia - *Clostridium*



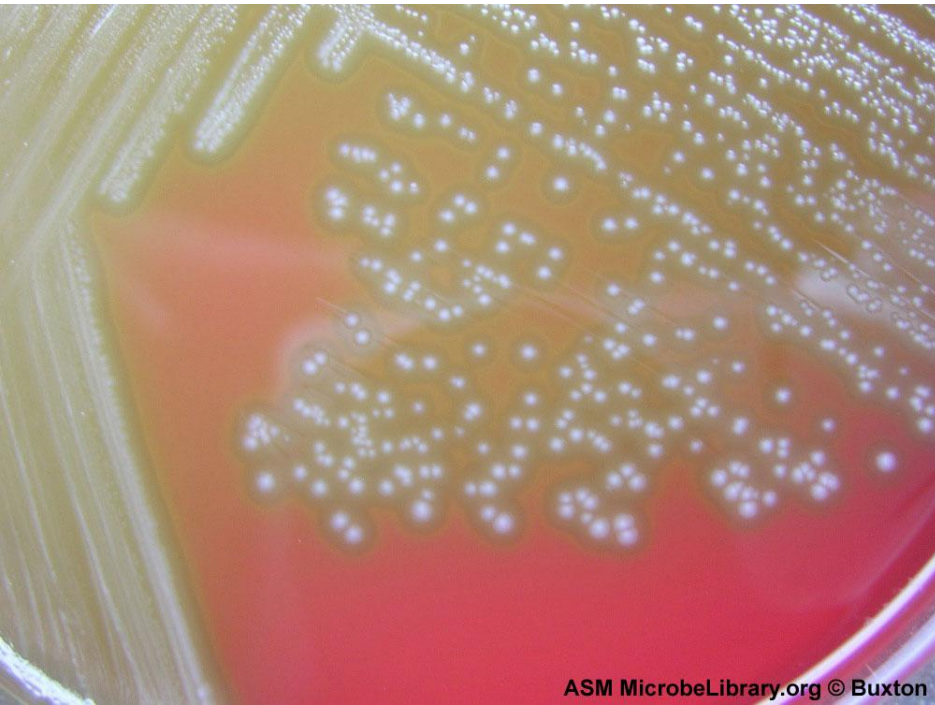
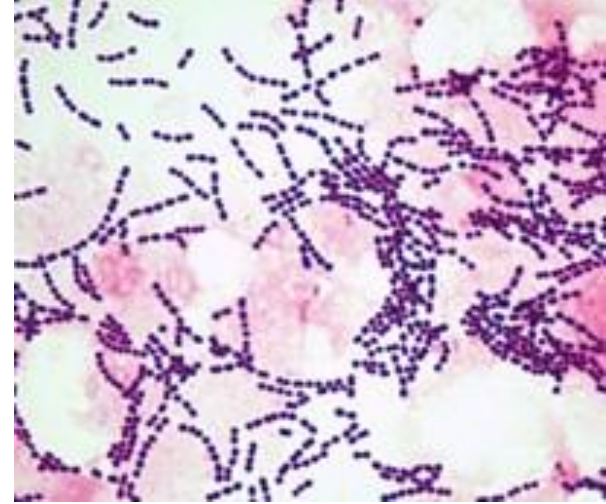
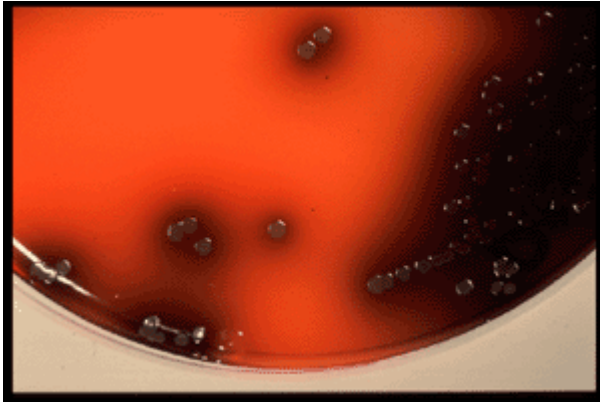
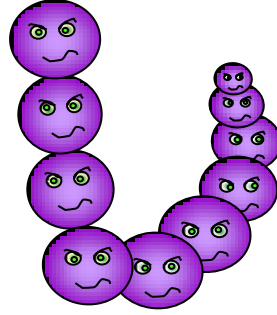
Firmicutes (Monodermi L G+C)

Staphylococcus



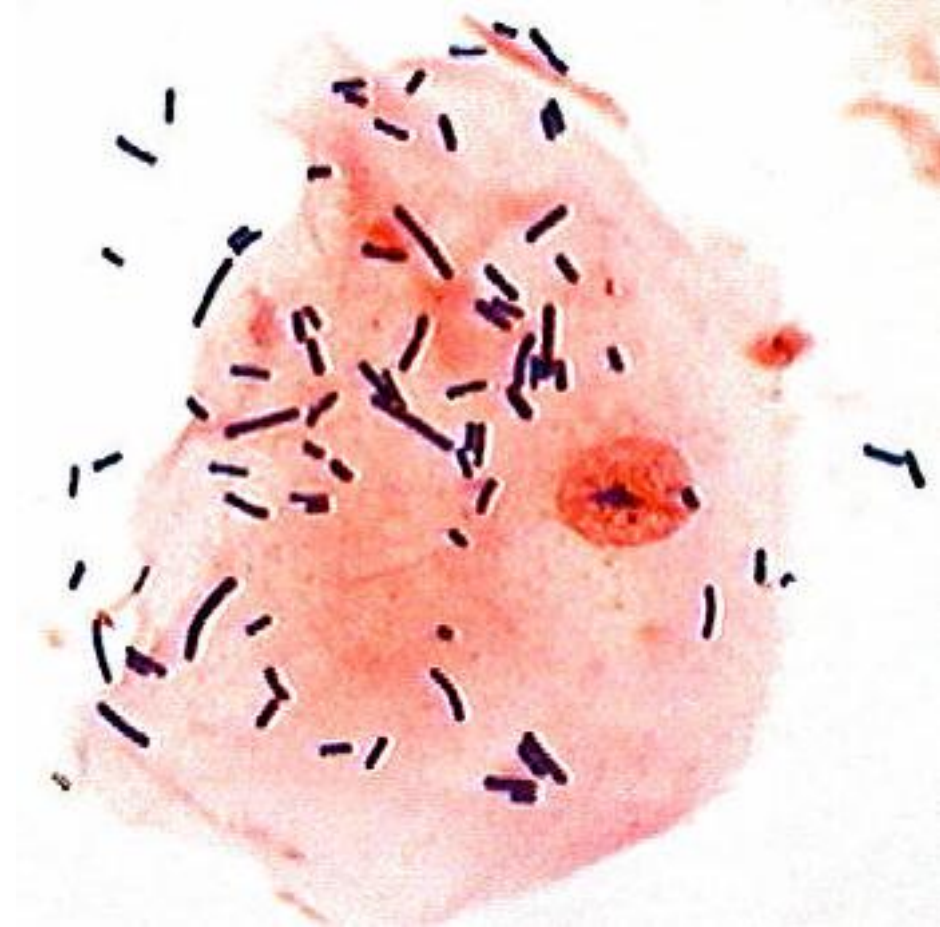
Firmicutes (Monodermi L G+C)

Streptococchi



Monoderma L G+C

Lactobacilli



Micoplasmata
Monodermis L G+C

