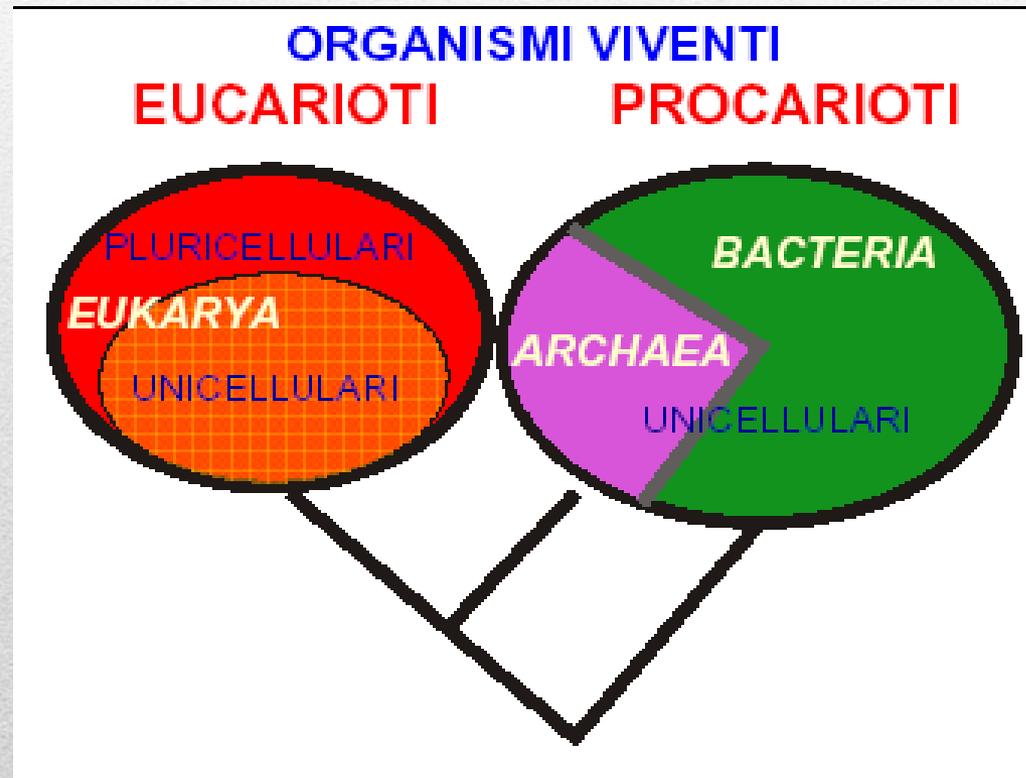


# TASSONOMIA E FILOGENESI



# La cellula improbabile

- ✧ L'Universo si muove verso una condizione di grande disordine, con molecole ed atomi che si dispongono in modo casuale.
  - ✧ Ma la vita non è casuale!
  - ✧ Essa è: **un sistema aperto, un sistema chimico**, le basi del funzionamento cellulare risiedono nella struttura stessa della cellula, da cellula si produce cellula, la prima cellula da dove è derivata?
  - ✧ La natura non casuale della cellula è dimostrata dalla sua composizione chimica: molto diversa dall'ambiente in cui le cellule inestricabilmente vivono.
-

# Evoluzione e filogenesi

✧ **EVOLUZIONE** rappresenta il cambiamento di una linea di discendenti che, nel tempo, porta alla formazione di nuove specie.

✧ **FILOGENESI**: studia le connessioni, i rapporti evolutivi tra le diverse forme viventi. Attualmente si parla di “studi di evoluzione molecolare”, poiché l'avvento della microbiologia molecolare ha consentito di fare filogenesi e tassonomia attraverso la comparazione delle sequenze di macromolecole fondamentali.

**ALBERI FILOGENETICI**: mostrano le distanze evolutive tra gli individui che si stanno confrontando

---

- Prima di costruire l'albero filogenetico universale, vennero fatti molti tentativi per collocare i microrganismi nei regni conosciuti
-

# Sistema a 2 regni (Darwin, 1800)

## **PIANTE**

Alghe (immobili,  
fotosintetiche)

Funghi (immobili,  
non fotosintetici)

## **ANIMALI**

Infusori (mobili)

Questi ultimi sono un  
gruppo molto  
eterogeneo

***Secondo la modalità che gli animali sono dotati di movimento e le piante di fotosintesi***

---

# Ultimo tentativo di collocare i microrganismi nei regni vegetale ed animale - 1860

<b>Piante</b>	<b>Gruppi contestati</b>	<b>Animali</b>
		<b>Piccoli metazoi</b> <b>Rotiferi</b> <b>Nematodi (alcuni)</b> <b>Artropodi (alcuni)</b>
<b>Alghe fotosintetiche</b>		<b>Protozoi</b> <b>Ciliati</b>
<b>Flagellati Forme immobili</b>	<b>Flagellati fotosintetici</b>	<b>Flagellati non fotosintetici</b>
<b>Veri funghi</b>	<b>Mixomiceti</b>	<b>Protozoi ameboidi</b>
<b>Batteri</b>		

# Sistema a 3 regni (Haeckel, 1860)

<b>Caratteristiche</b>	<b>Piante</b>	<b>Animali</b>	<b>Protisti</b>
Pluricellularità, estesa differenziazione di cellule e tessuti	Piante a semi Felci Muschi ed epatiche	Vertebrati ed invertebrati	
Unicellulari, cenocitici o pluricellulari con poca o nessuna differenziazione di cellule e tessuti			Alghe Protozoi Funghi Batteri

# Le ragioni per le quali è stato necessario ristrutturare la sistematica

- Abbiamo visto che l'introduzione dei Protisti è stato il primo passo alla chiarificazione sistematica
  - Nel 1959 Wittaker propone un **Sistema a 5 regni**: Animalia, Plantae, Fungi, Protista e Monera
  - Quale criterio ispiratore era comunque alla base di tutti questi criteri classificativi?
-

# Le ragioni per le quali è stato necessario ristrutturare la sistematica

Il concetto *procarioti/eucarioti* alla base di tutti questi **criteri classificativi**, era fondamentalmente **citologico** (tutto ciò che era negativo era procariote); solo secondariamente e per mezzo di prove concrete si stabilì il significato filogenetico.

---

# STUDI DI FILOGENESI: alla ricerca dei rapporti tra gli organismi viventi

- Pasteur e Darwin, pur vivendo nella stessa epoca, non mostrarono alcun interesse per il reciproco lavoro.
  - L'avvento della biochimica comparata cominciò ad abbattere le barriere: aminoacidi, cofattori metabolici e la stessa via glicolitica erano identici nel mondo microbico ed in quello visibile.
  - L'odierno, cioè le sequenze di DNA forniscono misure attendibilissime delle relazioni filogenetiche, comprese quelle fra diversi tipi di batteri e fra batteri e organismi superiori.
  - In realtà questi studi forniscono una prova molto più diretta della continuità evuzionistica che non il frammentario resto fossile.
-

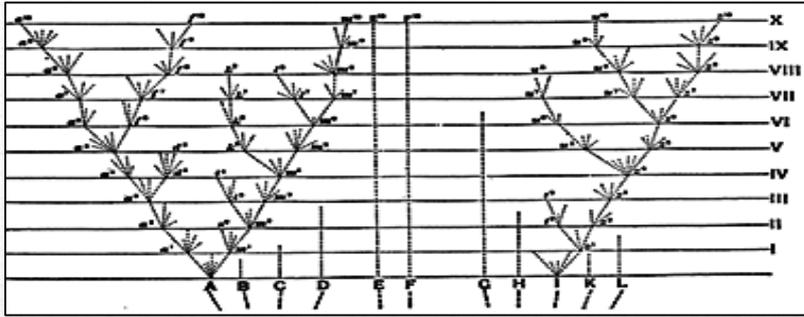
# La genetica molecolare

---

Ha avuto il merito di riunire le due principali correnti della biologia, quella che si occupa delle origini e quella che si occupa della struttura e della funzione.

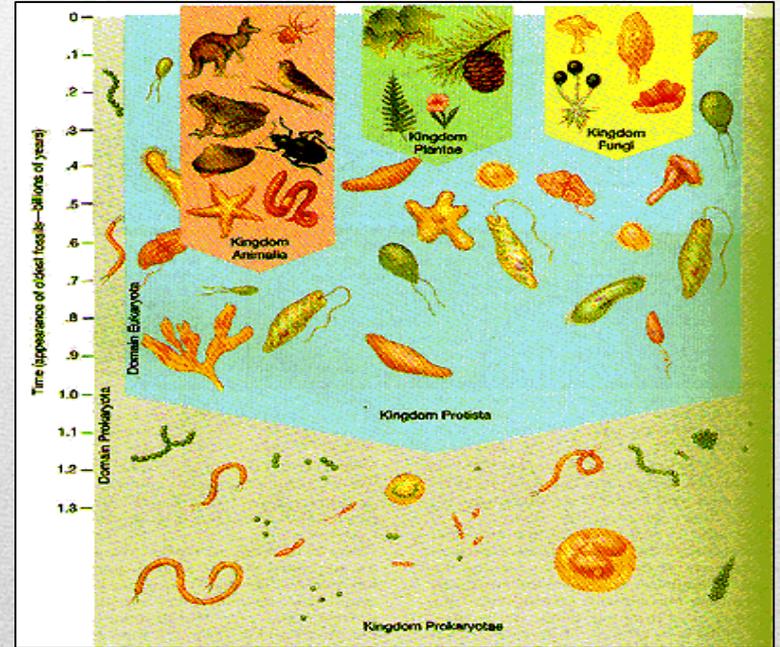
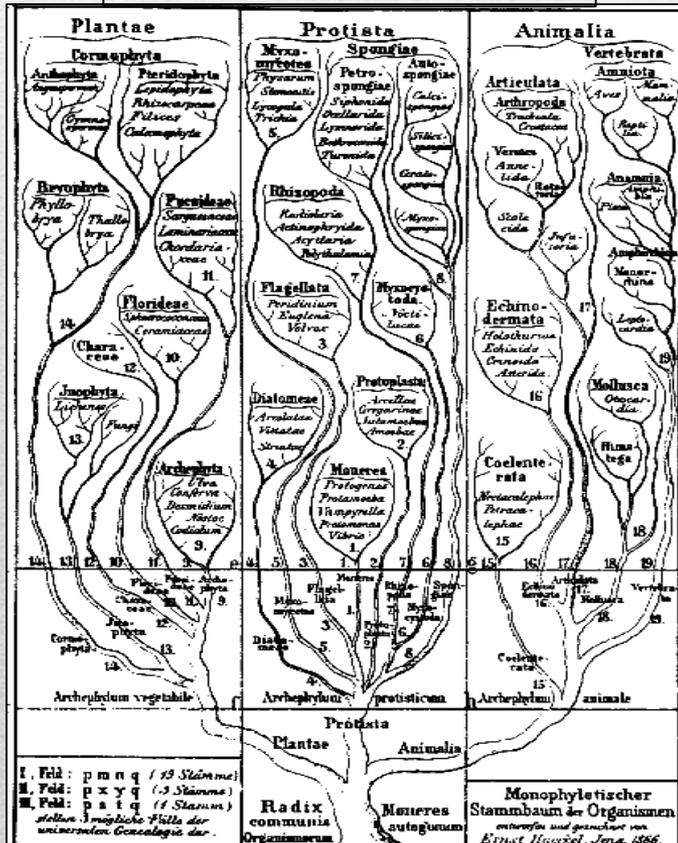
---

# Darwin: 2 regni

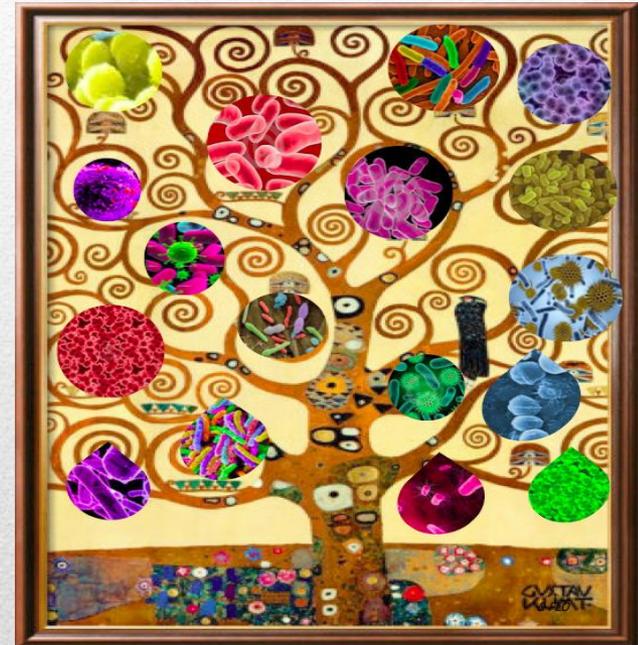


# Wittaker: 5 regni

# Haeckel: 3 regni



# Carl Woese 1928 - 2012



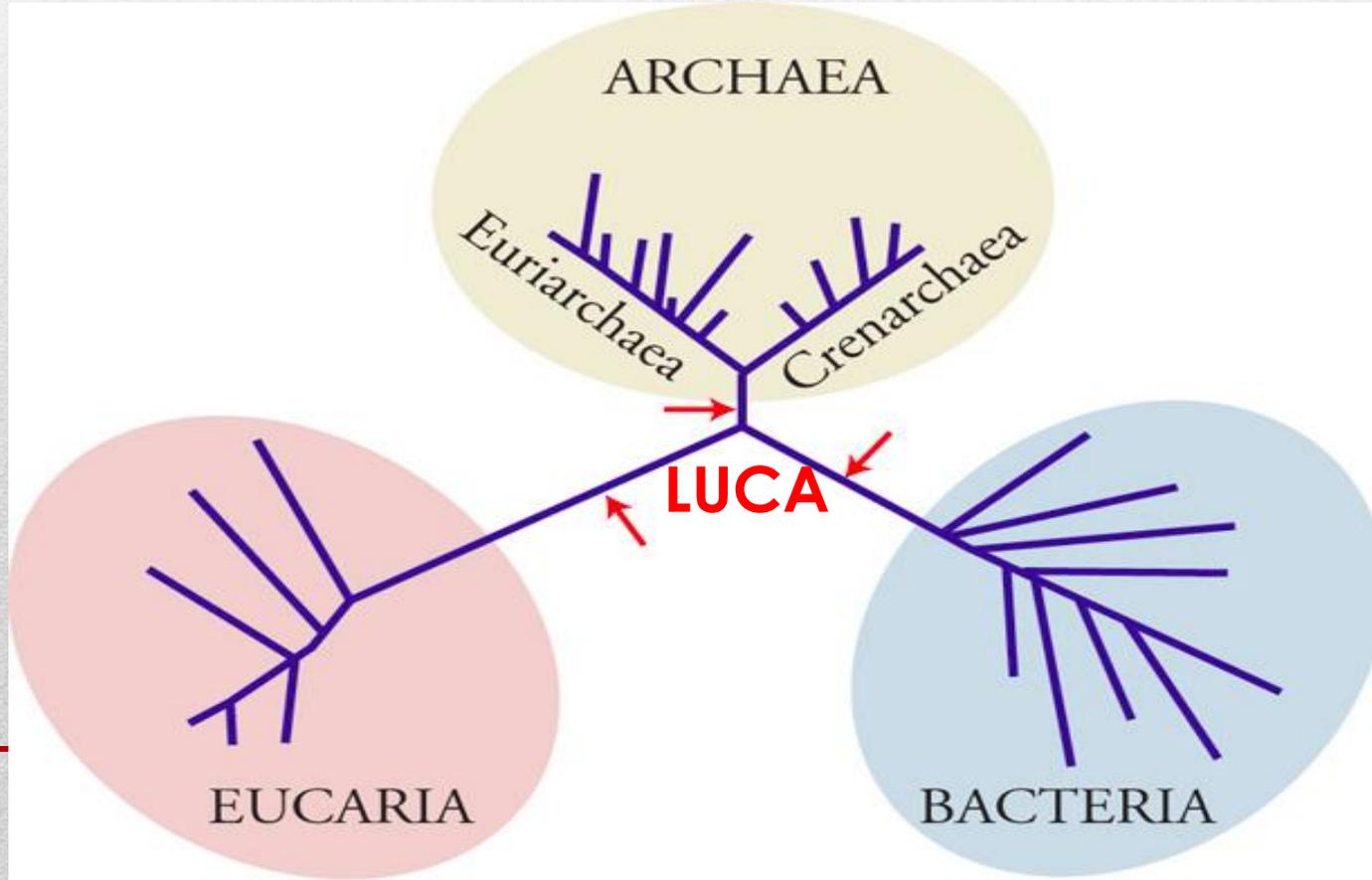
**Ridisegnò l'"albero della vita", proponendone prima uno schema a sei regni (1977) e successivamente, nel 1999, una versione in cui la massima organizzazione costituita da 3 domini: Batteri, Eucarioti ed Archea. Scoperta degli Archea.**

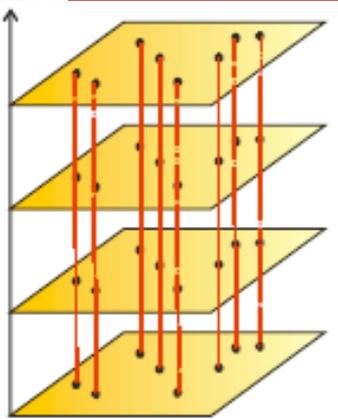
**La vera rivoluzione consisteva nel fatto che essa era basata non, sulle somiglianze morfologiche, ma sui rapporti genetici esistenti fra gli stessi.**

# Carl Woese: dai regni ai domini

Albero filogenetico universale: traccia “la mappa del percorso della vita sulla terra”.

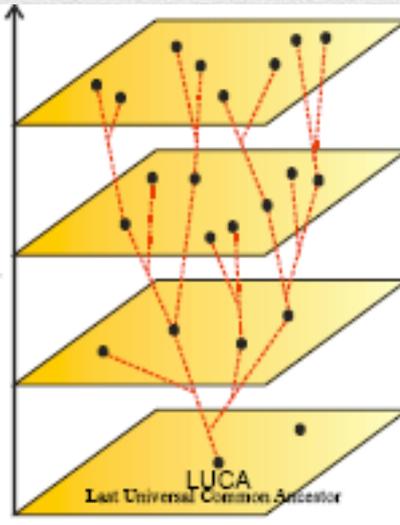
Costituito da 3 domini – batteri, archea ed eucarioti, che derivano da un antenato comune





Teorie fissiste, creazioniste (Darwin, Haeckel, Wittaker)

## Con Woese e la genetica molecolare:

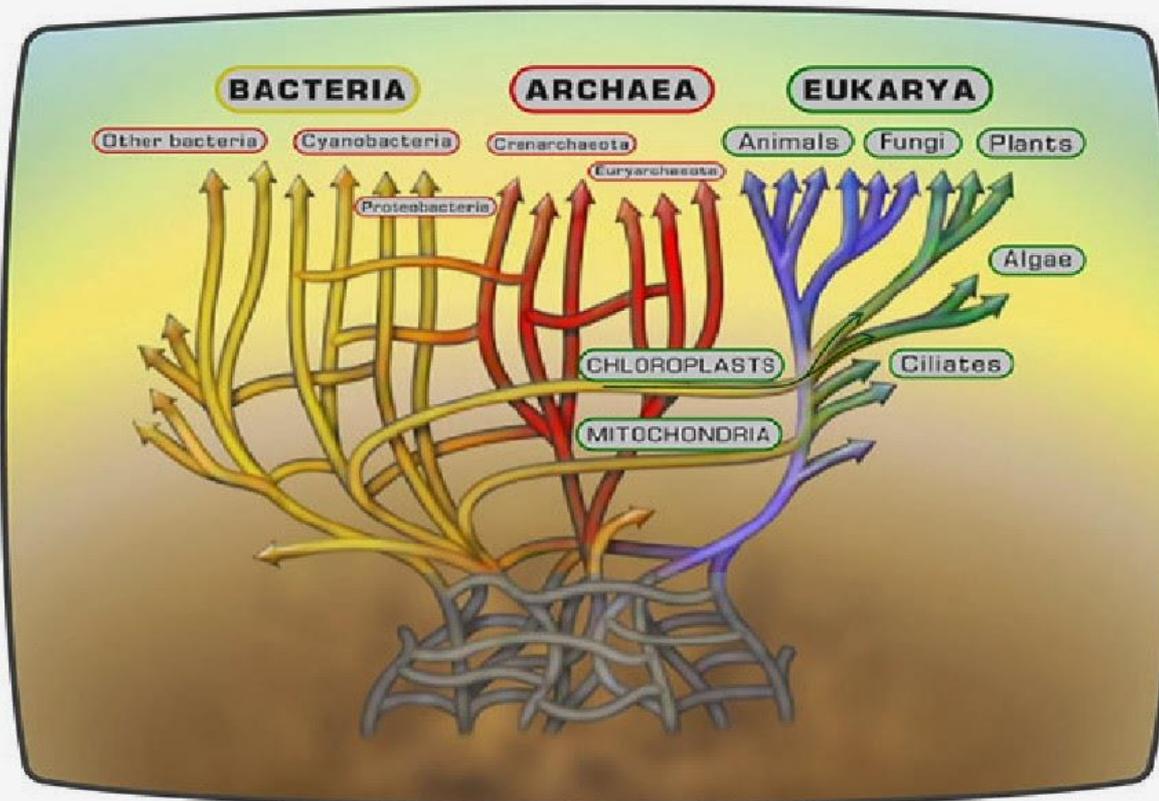


- Ogni organismo deriva da un altro
- Gli organismi attuali differiscono da quelli che esistevano prima
- Gli organismi attuali derivano da organismi diversi
- E' possibile ricostruire una filogenesi, che studia i rapporti evolutivi tra le forme viventi
- L'unitarietà del mondo vivente fa ritenere che tutti gli organismi attuali derivino da un antenato comune

**“LUCA”**: Last Universal Common Ancestor

# Woese e l'albero universale

Ricostruzione delle relazioni tra organismi viventi secondo le moderne misurazioni delle **variazioni** che insorgono nei geni che codificano **16S/18S rRNA** → **OROLOGIO MOLECOLARE o EVOLUTIVO**



# L'orologio molecolare

✧ L'evoluzione è un processo inevitabilmente divergente e il **numero di mutazioni che si accumulano nel tempo è direttamente proporzionale al tempo intercorso** dalla divergenza delle sequenze in analisi (1965, Zuckerkandl and Pauling).

✧ Se questo è vero, misurando una distanza genetica calcolata osservando le divergenze, è possibile ottenere il tempo trascorso dal momento in cui due sequenze hanno cominciato a divergere.

---

# molleolare/evolutivo: criteri di scelta

***Per determinare correttamente le relazioni evolutive tra le specie, occorre individuare la macromolecola più idonea. Essa deve essere:***

- 1. Distribuita universalmente nel gruppo in esame**
- 2. Funzionalmente omologa in ogni organismo**
- 3. Deve essere perfettamente allineabile in modo da potere confrontare le regioni di omologia di sequenza da quelle di eterogeneità**
- 4. La sequenza prescelta dovrebbe variare con una velocità commisurata alla distanza evolutiva da misurare, ovvero tanto maggiore è la distanza, tanto più lenta deve essere la velocità con la quale la sequenza cambia.**

# L'orologio molecolare/evolutivo

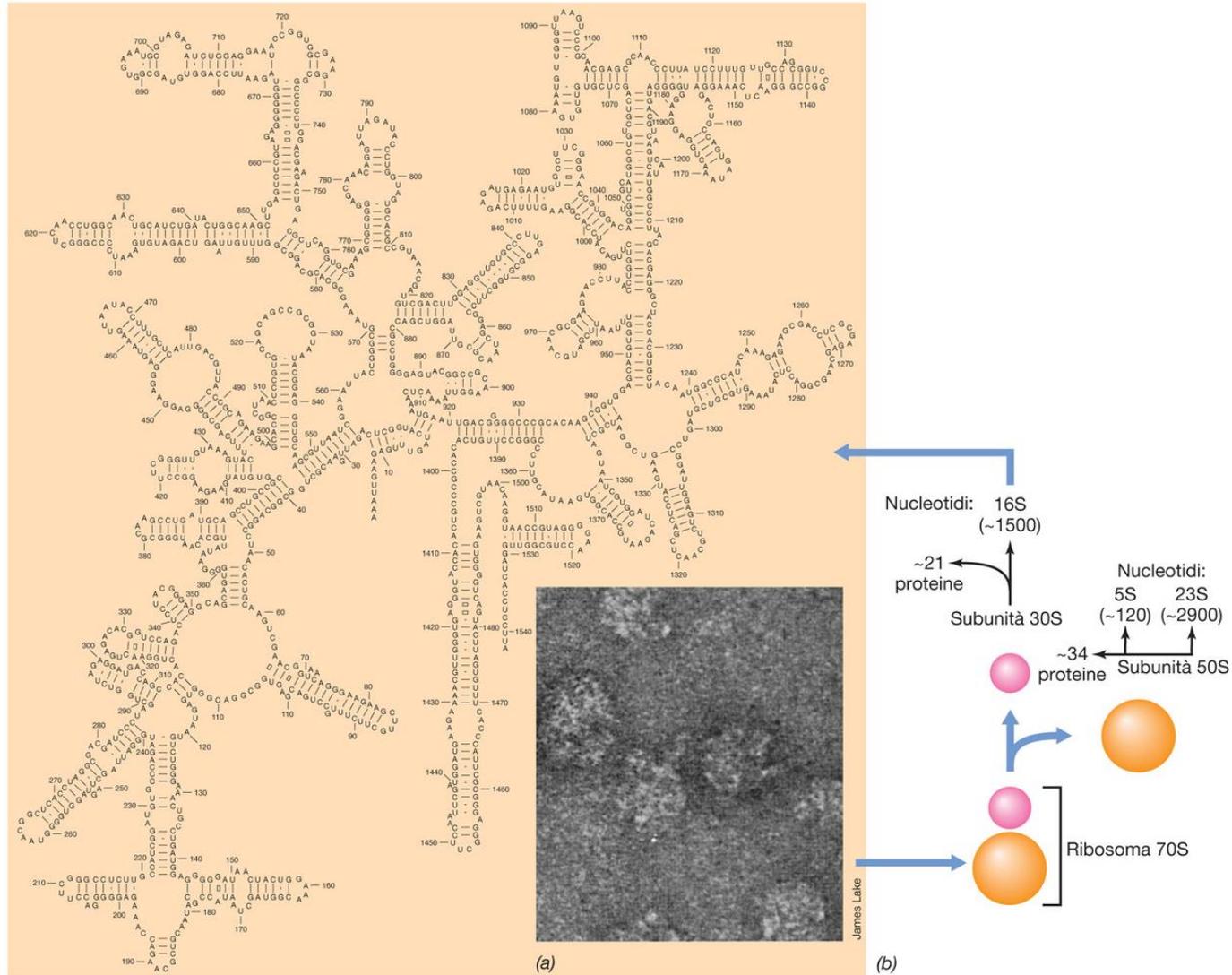
- ✧ E' evidente che **solo** alcune macromolecole cellulari possono servire come orologi dell'evoluzione, ovvero come misura delle variazioni genetiche.
  - ✧ La distanza evolutiva tra due specie può essere misurata tramite la differenza nella **sequenza nucleotidica o aminoacidica** di macromolecole *omologhe* presenti nelle specie in esame.
-

# Orologi molecolari/evolutivi

16S rRNA, 23S rRNA, rRNA *intergenic spacer (ITS)*, RNase P, *rpoB*, EFTu, *recA*

---

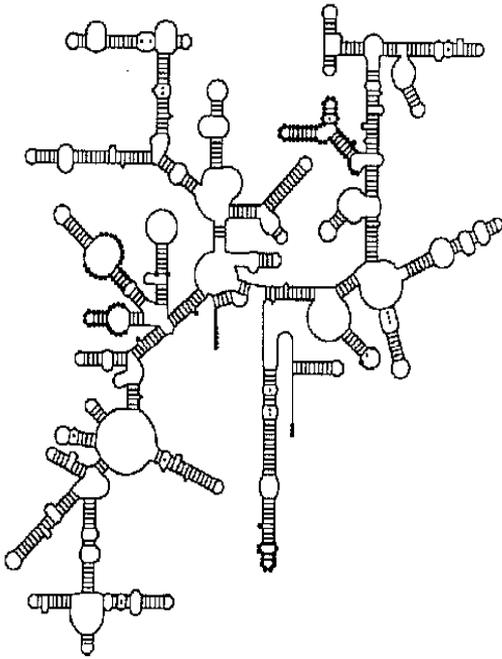
# Orologio molecolare più usato: 16/18 rRNA della SSU (Small Sub-Unit)



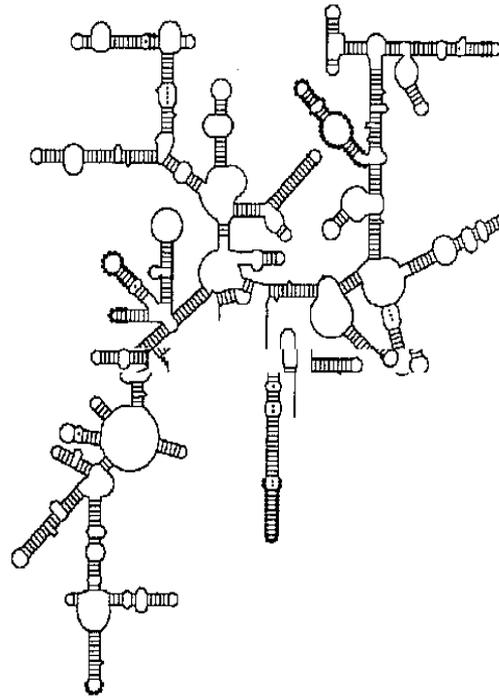
(a)

(b)

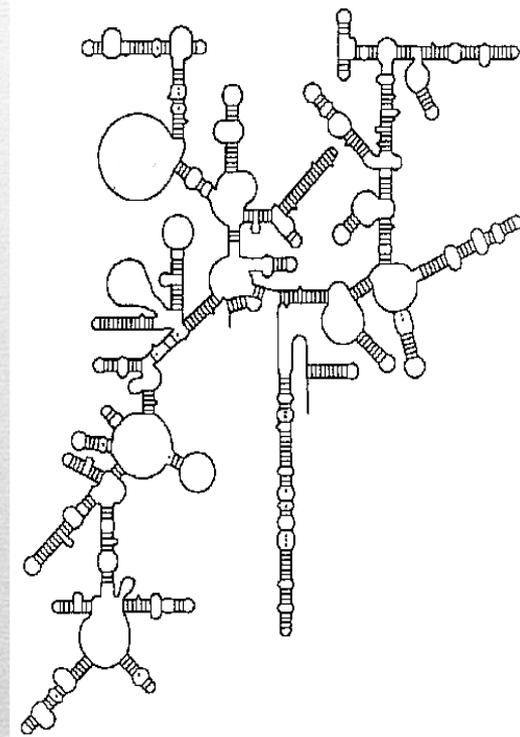
# Strutture secondarie dell'RNA ribosomiale 16/18S



*Escherichia coli*  
(Eubatterio)



*Methanococcus vannielii*  
(Archebatterio)



*Saccharomyces cerevisiae*  
(Eucariota)

# I GENI CHE CODIFICANO L'RNA RIBOSOMALE SONO ADATTI PER STUDI DI FILOGENESI

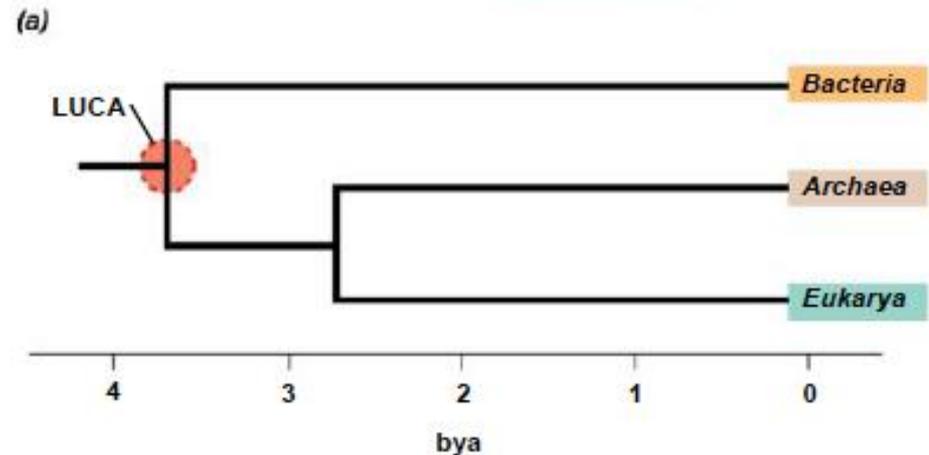
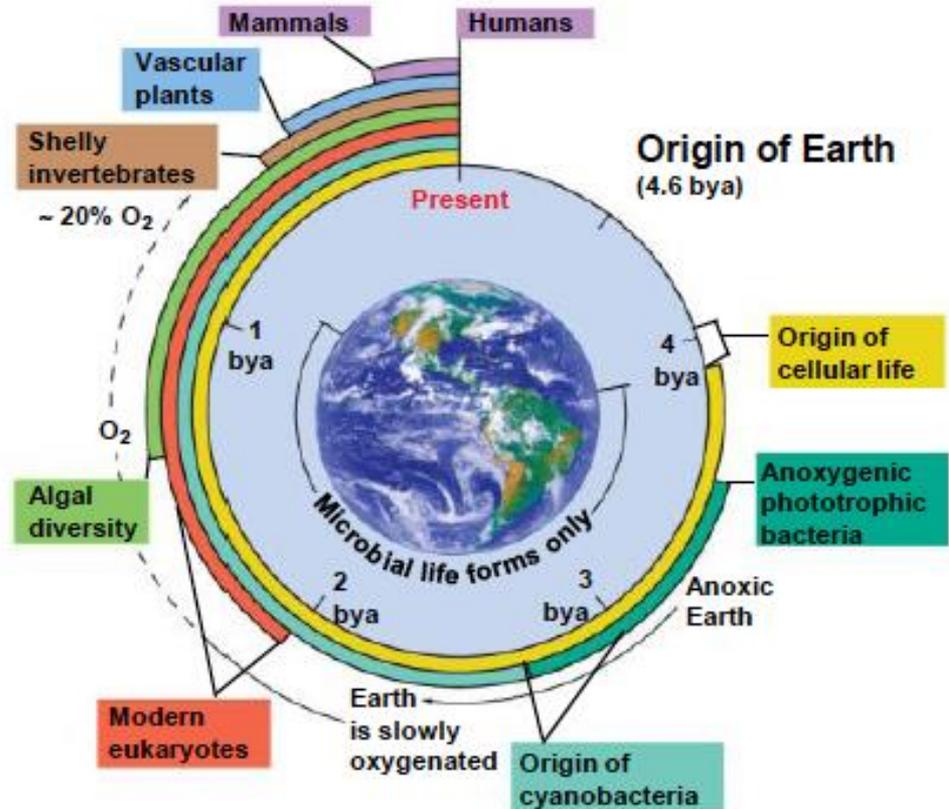
***Sono presenti in tutti gli organismi viventi***

***Adatti per fare alberi filogenetici universali***

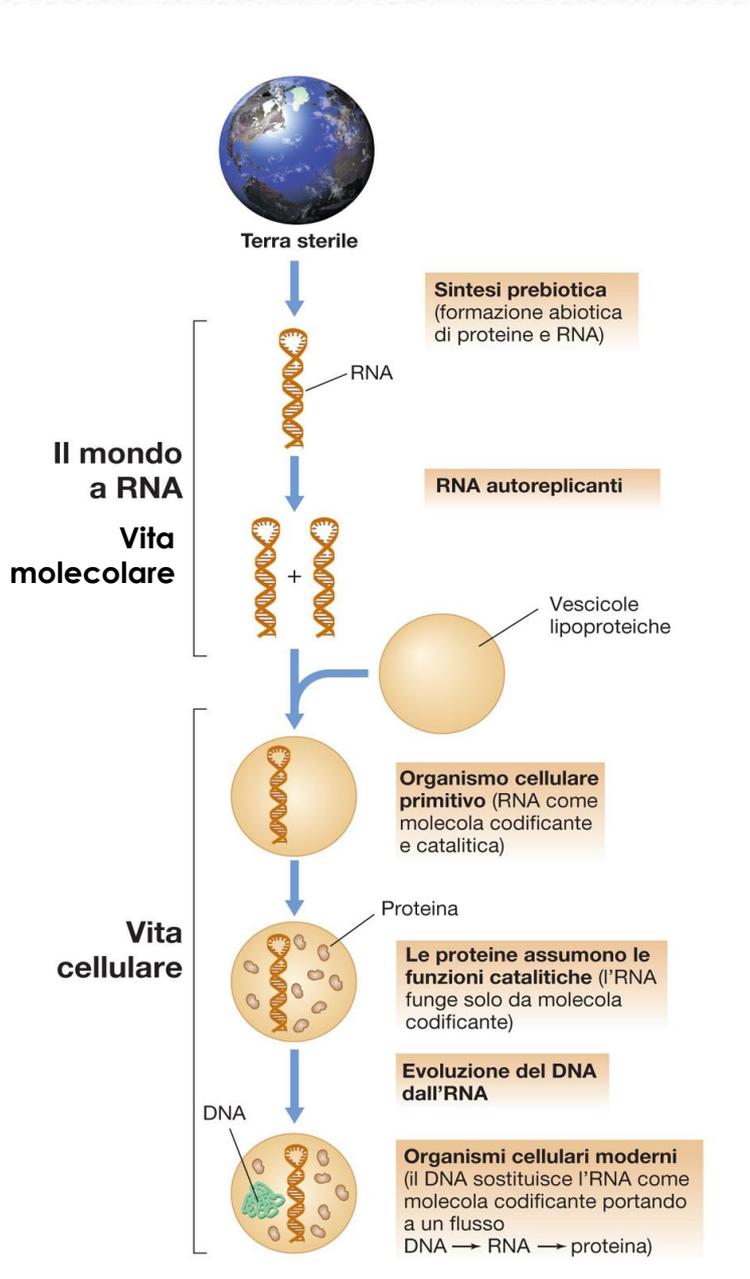
- ✧ Uno dei due geni (16S/18S) è **abbastanza piccolo\*** (ca. 1500/1900 nt), ma sufficientemente informativo
  - ✧ L'RNA ribosomale si può **facilmente isolare** e si può **sequenziare** direttamente
  - ✧ Alcune regioni **non tollerano sostituzioni**: adatte per allineare le diverse sequenze
  - ✧ Alcune regioni **cambiano poco frequentemente**: adatte per identificare diramazioni antiche
  - ✧ Alcune regioni **tollerano abbastanza bene variazioni**: adatte per identificare diramazioni recenti
  - ✧ La presenza di regioni conservate e variabili, con recenti tecniche di **amplificazione del DNA**, permettono approcci sperimentali rapidi ed efficaci
  - ✧ qualità generali
-

# CHI ERA "LUCA"?

Albero filogenetico universale: traccia "la mappa del percorso della vita sulla terra". Costituito da 3 domini – batteri, archea ed eucarioti, che derivano da un antenato comune



# TEORIA DELLA VITA PRIMITIVA AD RNA



Sistema ad 1 componente:  
**RNA**  
Depositario dell'informazione genica  
**Ribozima:** attività enzimatica per la duplicazione



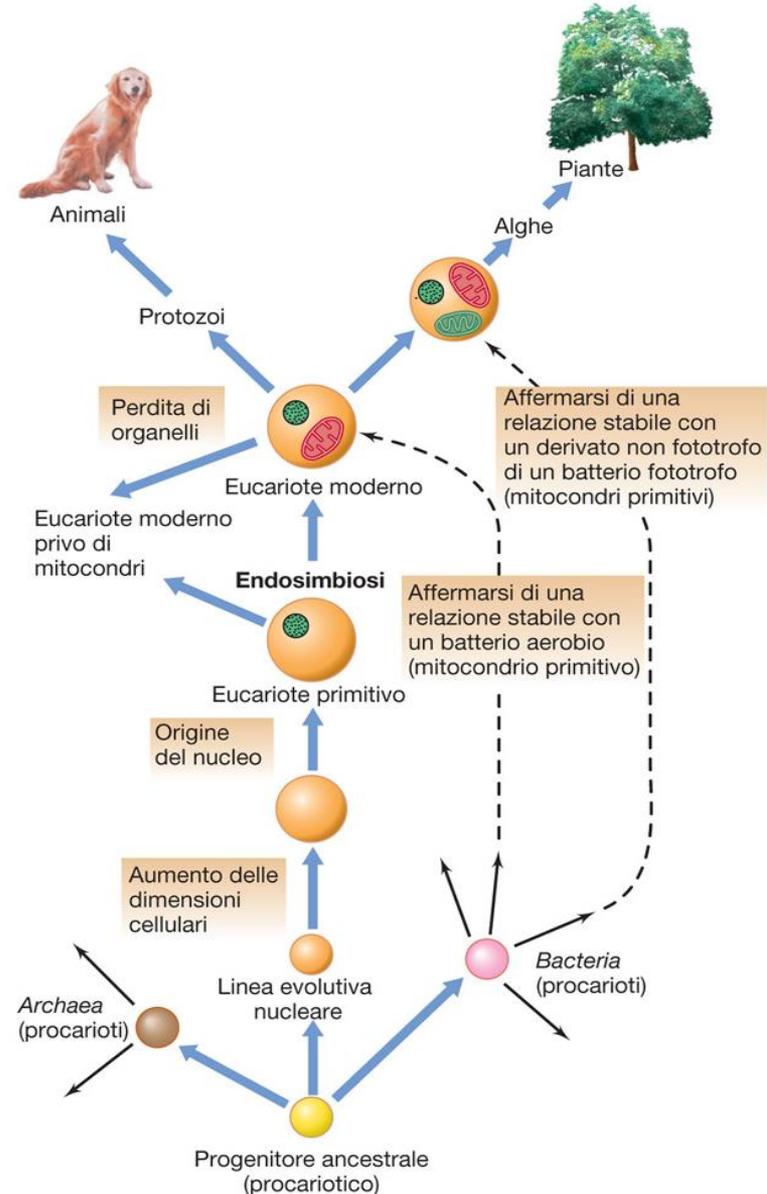
Sistema a 3 componenti:  
**DNA, RNA, proteine.**  
Soluzione migliore per consentire il FLUSSO DELL'INFORMAZIONE BIOLOGICA

# Teoria dell'Endosimbiosi

L'albero filogenetico universale, basato sulla sequenza dei RNA ribosomali, pone la base scientifica per il modello dell'endosimbiosi

Caratteristiche comuni tra batteri, mitocondri e cloroplasti che hanno permesso di avvalorare tale teoria:

1. Genoma: molecola DNA circolare
2. 16S rRNA altamente omologo
3. Inibizione dagli antibiotici



# Significato della terminologia:

**EVOLUZIONE:** cambiamento di una linea di discendenti che, nel tempo, porta alla formazione di nuove specie

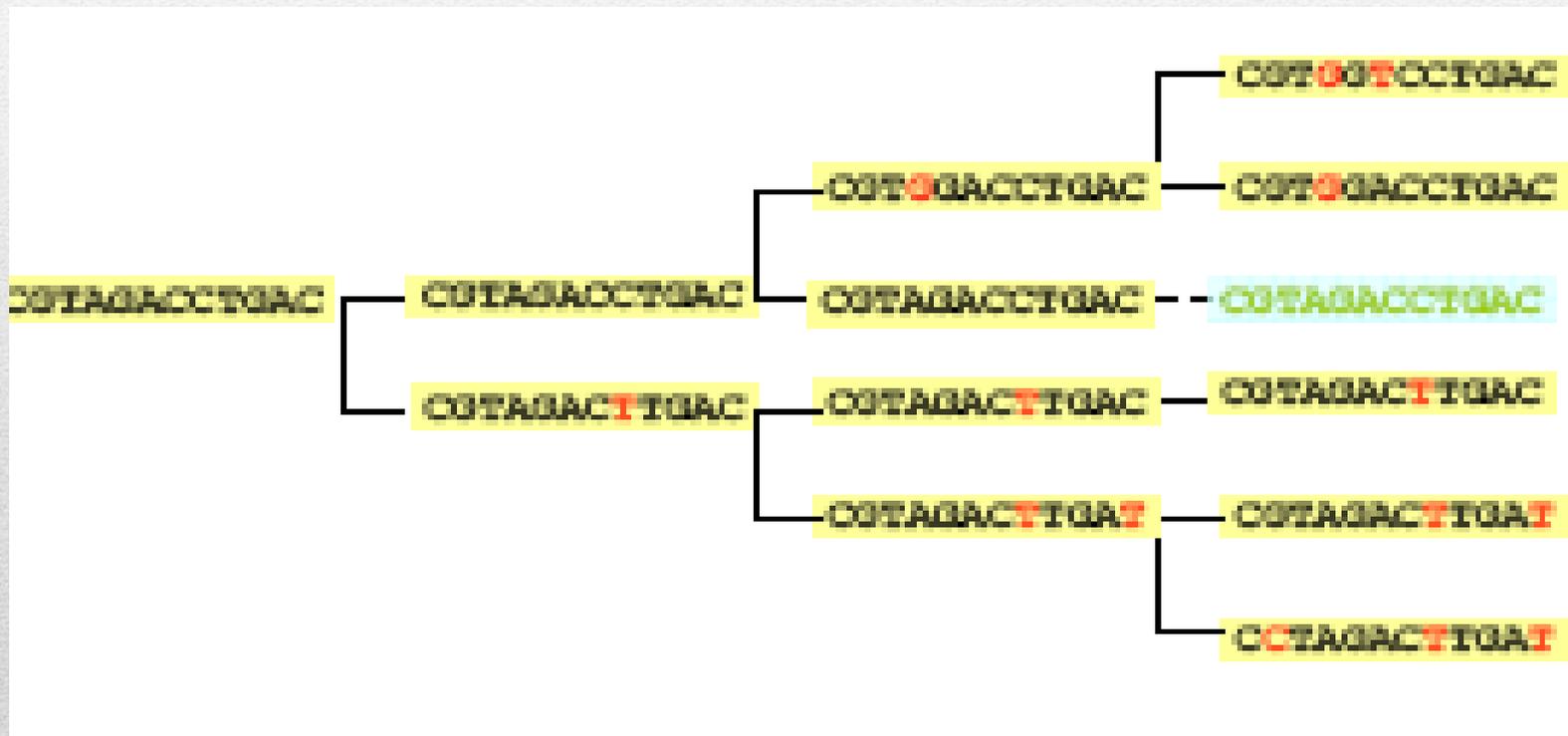
✓ **SISTEMATICA:** consente di stabilire le relazioni tra organismi viventi

✓ **FILOGENESI:** campo della sistematica che si basa sulle correlazioni “evolutive” tra organismi o tra “geni/proteine/genomi”

✓ **TASSONOMIA:** scienza che classifica, identifica e “nomina” gli organismi, indipendentemente dalla teoria evolutiva

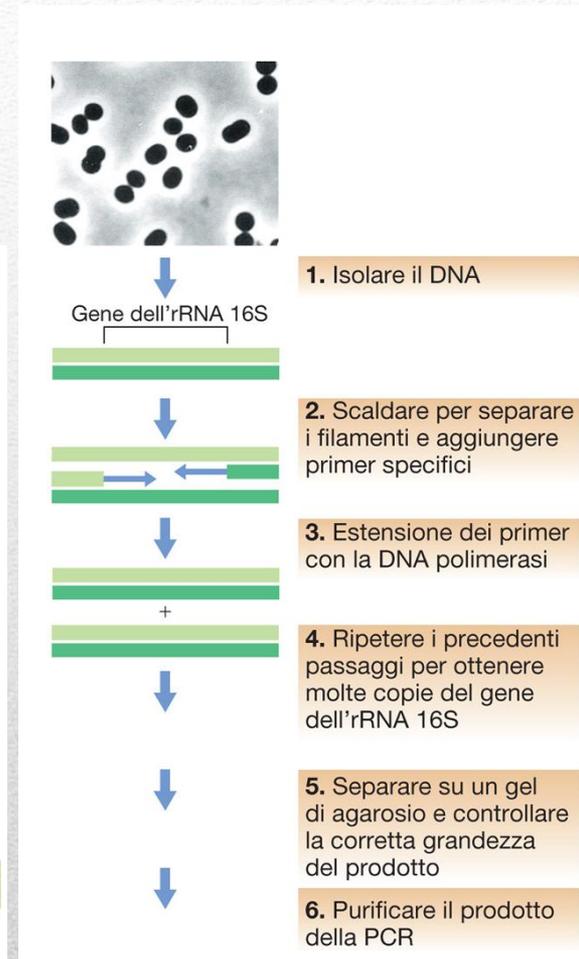
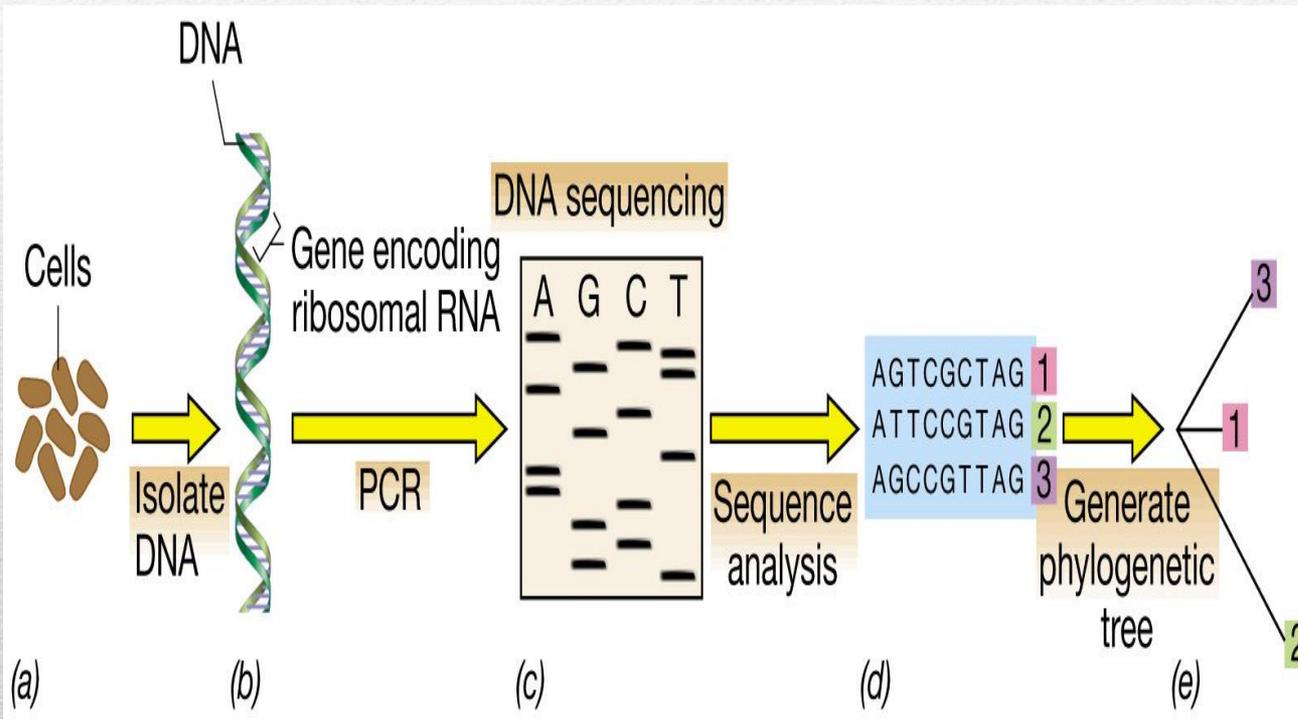
# STUDIO DELL'EVOLUZIONE MICROBICA

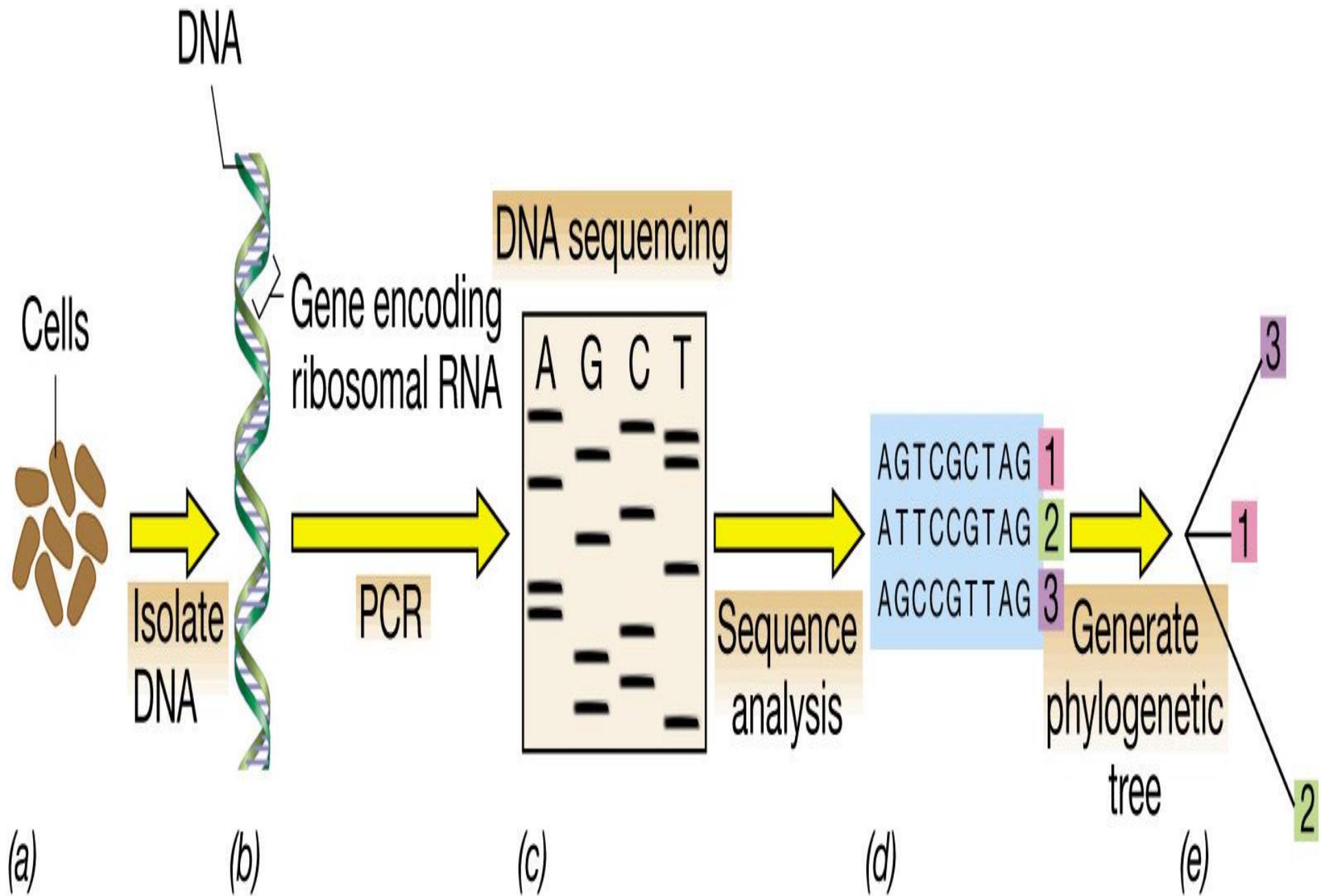
COME SI COSTRUISCE UN ALBERO  
FILOGENETICO DI DISTANZE GENETICHE?

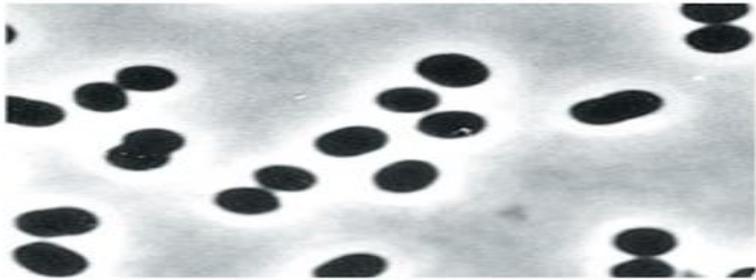


Le macromolecole informative (dna, rna, proteine) sono adatte per ricostruire alberi filogenetici

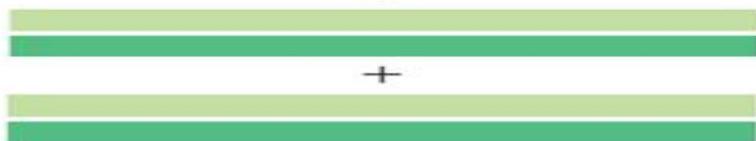
# CONQUISTE APPORTATE DAL SEQUENZIAMENTO GENICO AGLI STUDI SULL'EVOLUZIONE







Gene dell'rRNA 16S



**1. Isolare il DNA**

**2. Scaldare per separare i filamenti e aggiungere primer specifici**

**3. Estensione dei primer con la DNA polimerasi**

**4. Ripetere i precedenti passaggi per ottenere molte copie del gene dell'rRNA 16S**

**5. Separare su un gel di agarosio e controllare la corretta grandezza del prodotto**

**6. Purificare il prodotto della PCR**

# COSTRUZIONE DI ALBERI FILOGENETICI

## CLASSIFICAZIONI SU BASE GENETICO-MOLECOLARE

E' possibile utilizzare similitudini a livello genetico-molecolare per determinare i rapporti di parentela degli organismi viventi:

### 1 Allineamento e analisi

Organismo	Sequenza	Analisi
A	CIGUAGACCCUGAC	Per A → B, esistono tre differenze su un totale di dodici; quindi $\frac{3}{12} = 0,25$
B	CCUAGAGCUGGC	
C	CCAAGACGUGGC	
D	GCUAGAUGUGCC	

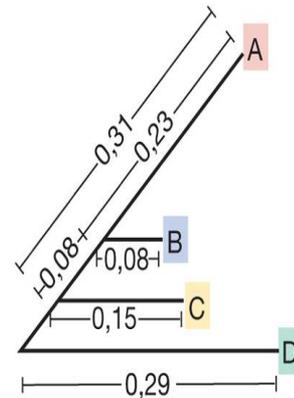
(a) Allineamento e analisi della sequenza

### 2 Calcolo della distanza evol.

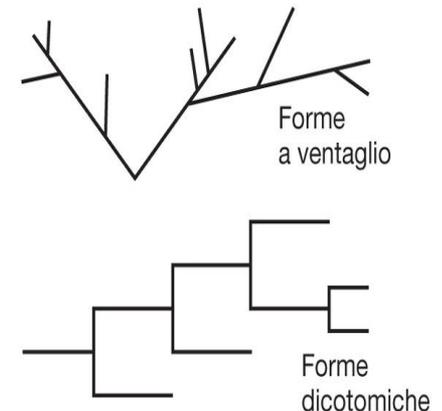
	Distanza evolutiva	Distanza evolutiva corretta
$E_D$ A → B	0,25	0,30
$E_D$ A → C	0,33	0,44
$E_D$ A → D	0,42	0,61
$E_D$ B → C	0,25	0,30
$E_D$ B → D	0,33	0,44
$E_D$ C → D	0,33	0,44

(b) Calcolo della distanza evolutiva

### 3 Rappresentazione grafica



(c) Albero filogenetico



(d) Topologie dell'albero

# L'allineamento delle sequenze

Esempio di allineamento di 5 sequenze di 25 nucleotidi ciascuna

Seq A AGATTCGTCTGTAGGTTTCCACCAA  
Seq B ACATTCGTGTATAGGTTTCCACTAA  
Seq C ACATTCGTGTAGAGGTTTCCACTAA  
Seq D AAGTTCGCTTGGAGGTTTCCACGAA  
Seq E ATCGTGAGATCCAGGTATCCACAAT

Il primo passo per la costruzione di un albero è la generazione di una matrice di DISTANZE GENETICHE (o di similarità) contando le basi diverse (o identiche) in ogni coppia di sequenze

Seq A AGATTCGTCTGTAGGTTTCCACCAA  
|X| | | | | |X|X| | | | | | | | |X| |  
Seq B ACATTCGTGTATAGGTTTCCACTAA

$$21/25 = 0.84 \text{ (84\%}$$

identità) coefficiente di similarità

$$4/25 = 0.16 \text{ (16\% distanza genetica)}$$

	A	B	C	D	E
A	1.00	-----	-----	-----	-----
B	0.84	-----	-----	-----	-----
C	0.80	0.96	-----	-----	-----
D	0.76	0.72	0.76	-----	-----
E	0.52	0.52	0.52	0.52	-----

# Alberi filogenetici

- Sono grafici costituiti da **NODI**, che rappresentano le unità tassonomiche, e da **RAMI** che uniscono i nodi, rappresentando le distanze tra i due.
  - Si definisce **TOPOLOGIA** la struttura generale di un albero.
  - Se ai rami **non** si dà la valenza di distanza evolutiva si parla di CLADOGRAMMA, altrimenti si parla di FILOGRAMMA.
-

# Alberi filogenetici

## ✧ **Alberi con radice (rooted)** –

Accetta come vera l'ipotesi dell'orologio molecolare ed i nodi stanno in un preciso ordine temporale.

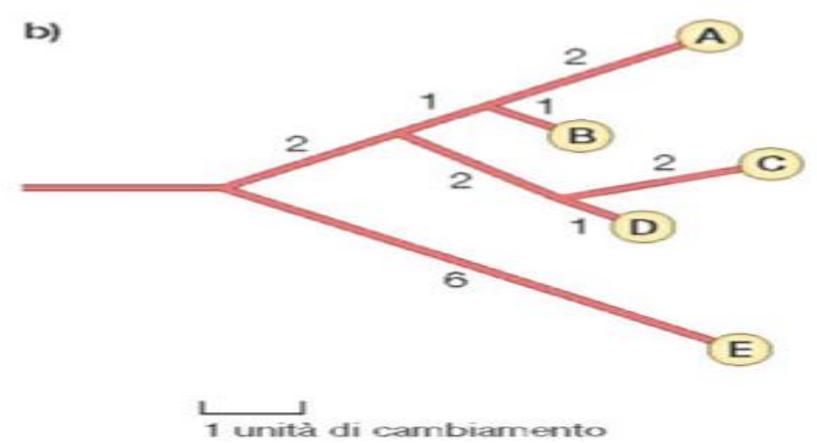
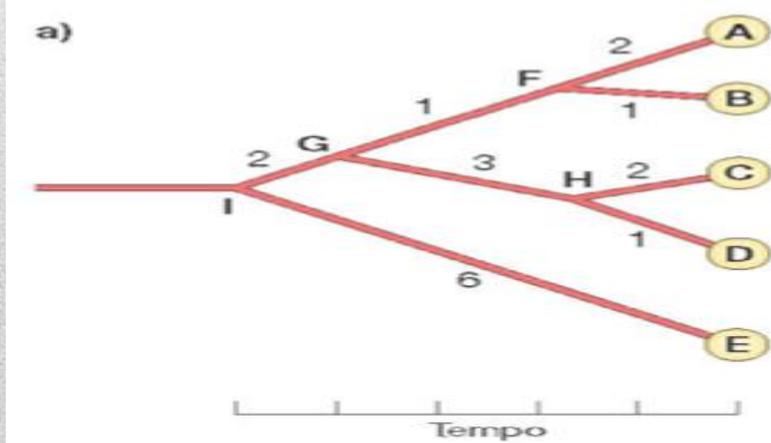
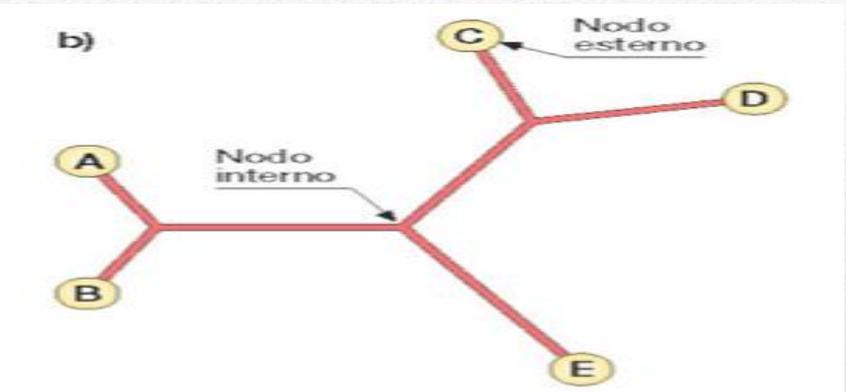
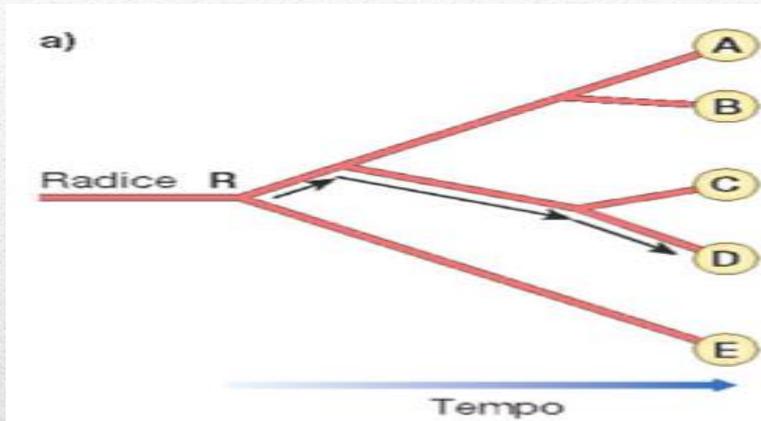
## ✧ **Alberi senza radice (unrooted)** – non prevedono significato evolutivo in termini temporali.

---

# Diversi alberi filogenetici

Rooted (con radice)

Un-rooted (senza radice)



Filogramma (con scala)

Cladogramma (senza scala)

# Dendrogramma

- Rappresentazione **grafica a pettine** semplice da interpretare
  - Risulta dall'elaborazione mediante software bioinformatici che comparano sequenze geniche o profili elettroforetici
  - Definisce il grado di similarità dei ceppi studiati
-



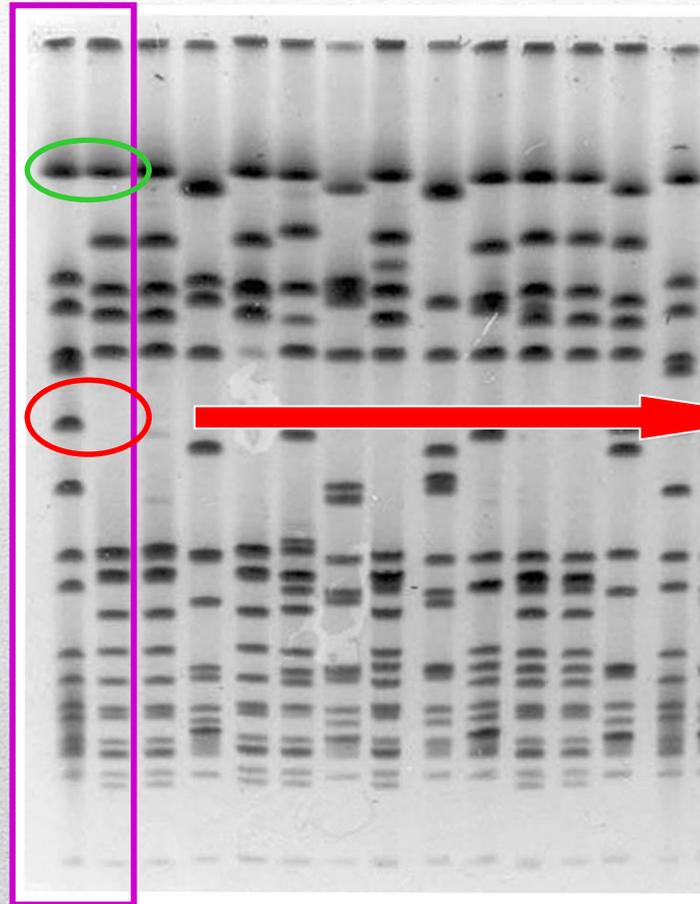
# Linguaggio binario

**1**: la banda nel ceppo A è presente anche nel ceppo B



1 - 1

**A B**



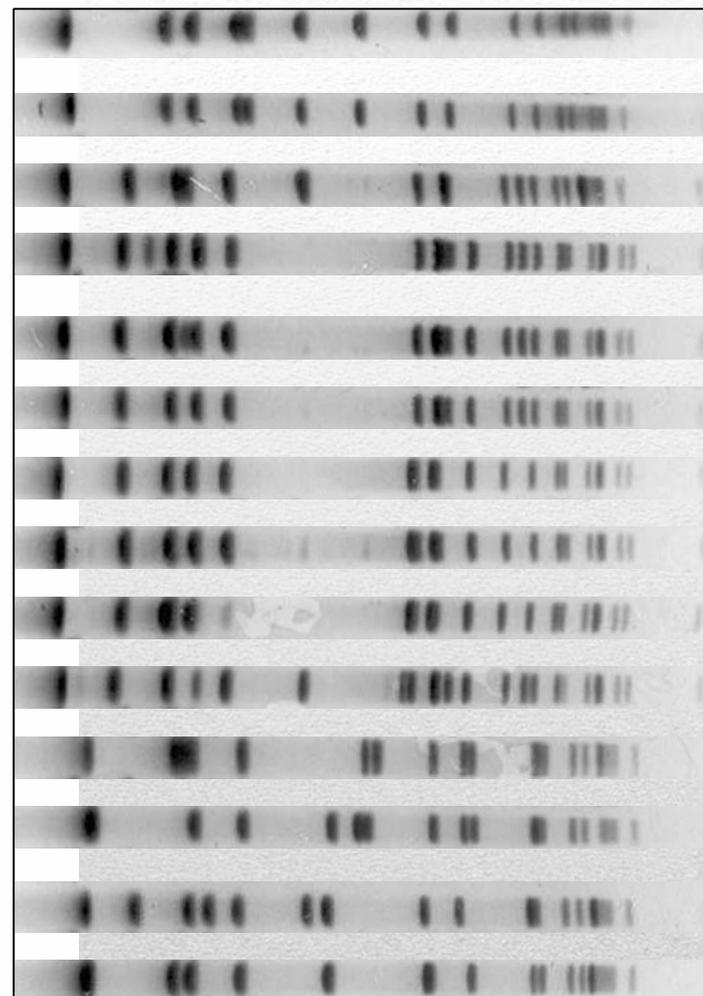
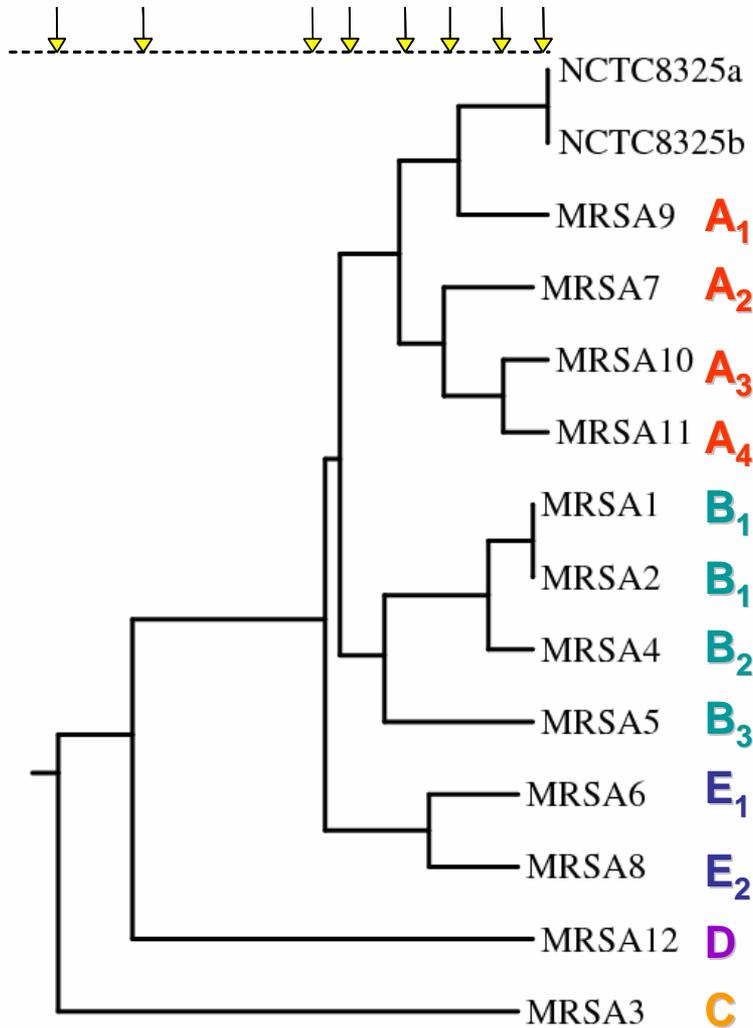
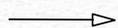
**0**: la banda nel ceppo A è assente nel ceppo B



1 - 0

% di similarità  
0.002 = 90%

5 10 50 55 70 80 95 100%



Sono stati discriminati 5 cloni di cui 2 (A e B)  
sono i più rappresentati

# Le unità tassonomiche

.....la specie

# TASSONOMIA MICROBICA

## Classificazione

Consente ai microbiologi di comprendere le relazioni tra i diversi microrganismi e di sviluppare procedure sistematiche per la loro nomenclatura

---

# Problematiche nella classificazione dei Procarioti

1. Piccole dimensioni
  2. Limitato numero di forme
  3. Scarsità di “organi” facilmente analizzabili
  4. Sostanziale mancanza di differenziamento e sviluppo (ma ci sono notevolissime eccezioni)
  - 5. Sistema di riproduzione asexuale.**
  - 6. Organismi aploidi**
-

# TASSONOMIA MICROBICA E SUO RAPPORTO CON LA FILOGENESI

## Il problema della “SPECIE” nei procarioti

E' più difficile sviluppare un sistema naturale di classificazione per i Procarioti rispetto a piante e animali, per i quali, il concetto di SPECIE è legato a due criteri fondamentali: 1) essere in grado di incrociarsi e di dare progenie fertile; 2) essere isolata, dal punto di vista riproduttivo, da altre popolazioni.

**CONCETTO NON VALIDO PER I PROCARIOTI**

---

## TASSONOMIA CLASSICA

Insieme di ceppi che mostrano un grado elevato di somiglianza fenotipica

Si distinguono da altri gruppi di ceppi correlati per un gran numero di caratteri indipendenti

**CEPPO:** popolazione discendente da un unico individuo o da un isolato in coltura pura

## TASSONOMIA MOLECOLARE

Insieme di ceppi con similarità DNA/DNA >70% (% ibridazione), RIBOTYPING, rRNA sequencing, Multilocus Sequence Typing (sequencing dei geni housekeeping), analisi dei lipidi.

---

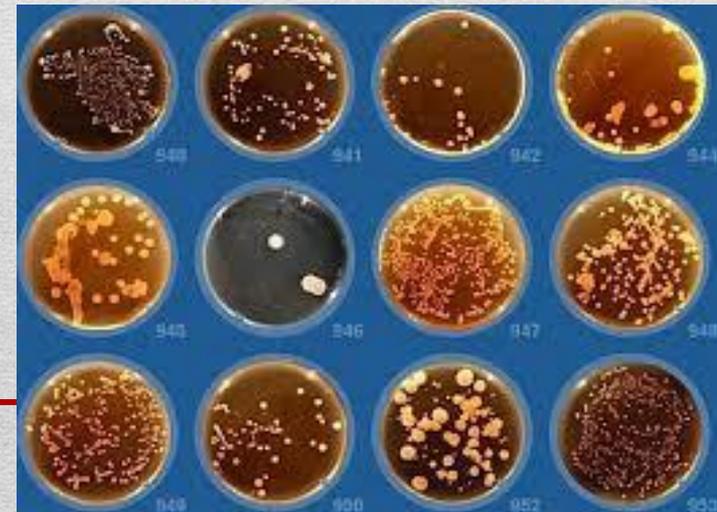
# TASSONOMIA BATTERICA CLASSICA

Classificazioni su base morfologica,  
funzionale e metabolica

L'approccio classico:

**ISOLARE** dall'ambiente, coltivare in laboratorio  
caratterizzare (morfologia-funzione, fisiologia,  
genetica, etc) ----- IDENTIFICAZIONE DEI CEPPI  
BATTERICI

**CLASSIFICARE >>>>NOMENCLATURA**



# CARATTERISTICHE GENERALMENTE UTILIZZATE PER LA CLASSIFICAZIONE DEI PROCARIOTI (forma e aggregazione, metabolismo, respirazione.....)

## I. Isolamento e microscopia

Isolamento



Coltura pura



Colorazione di Gram/morfologia

## II. Fisiologia generale

Bastoncello  
Gram-negativo



Facoltativo



Fermenta il lattosio, con produzione di acidi e gas

## III. Fisiologia dettagliata

Facoltativa fermentazione del lattosio



Esegue serie di prove biochimiche



Positivi:  
indolo, rosso metile e mucato  
Negativi:  
citrato, Voges-Proskauer, H<sub>2</sub>S

## IV. Conclusione



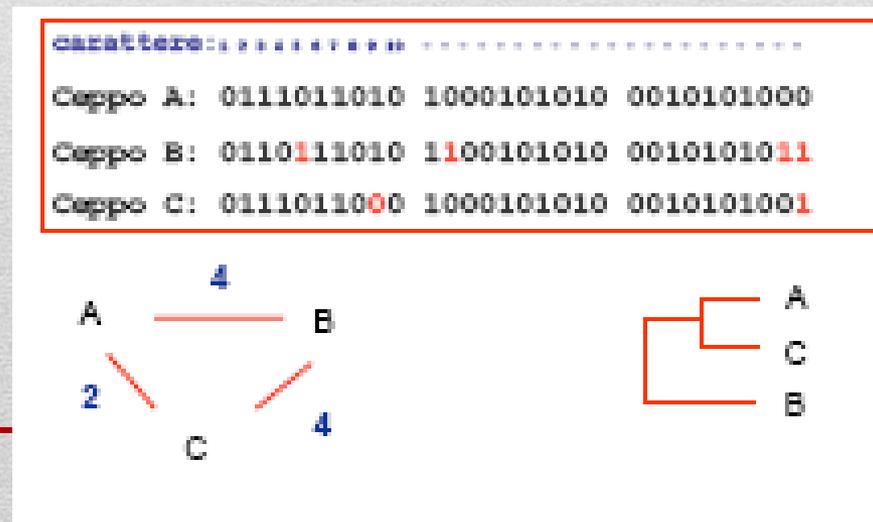
***Escherichia coli***

# TASSONOMIA NUMERICA (MOLECOLARE)

Considerare un numero elevato di caratteri alternativi

Caratterizzare i ceppi batterici rispetto a tutti i caratteri considerati

Confrontare i diversi ceppi e stabilire concordanze e divergenze: **SIMILARITA' E CORRELAZIONI GENETICHE**



# TASSONOMIA MICROBICA: I METODI MOLECOLARI

Il maggiore contributo delle moderne tecniche di biologia molecolare è a livello tassonomico, nella definizione di specie e di **unità tassonomiche**

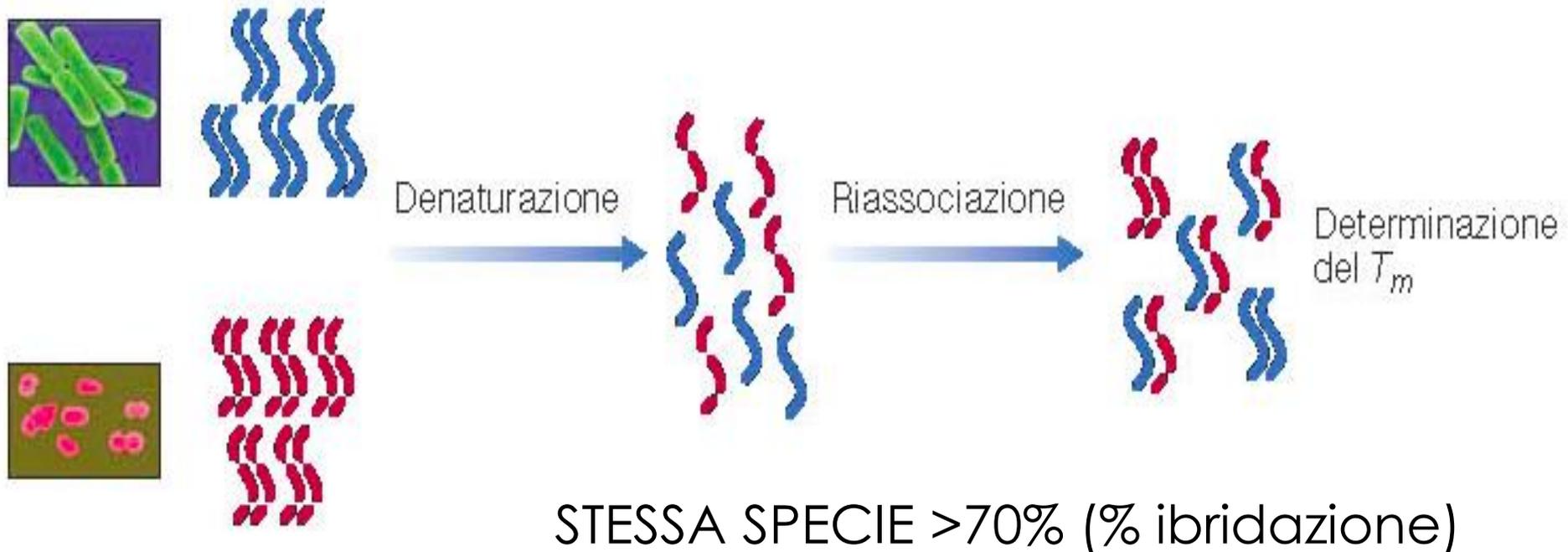
**Tabella 17.1 Metodi per filogenesi molecolare.** La tabella mostra alcuni dei metodi molecolari più usati per i microrganismi e il livello tassonomico per il quale consentono la caratterizzazione.

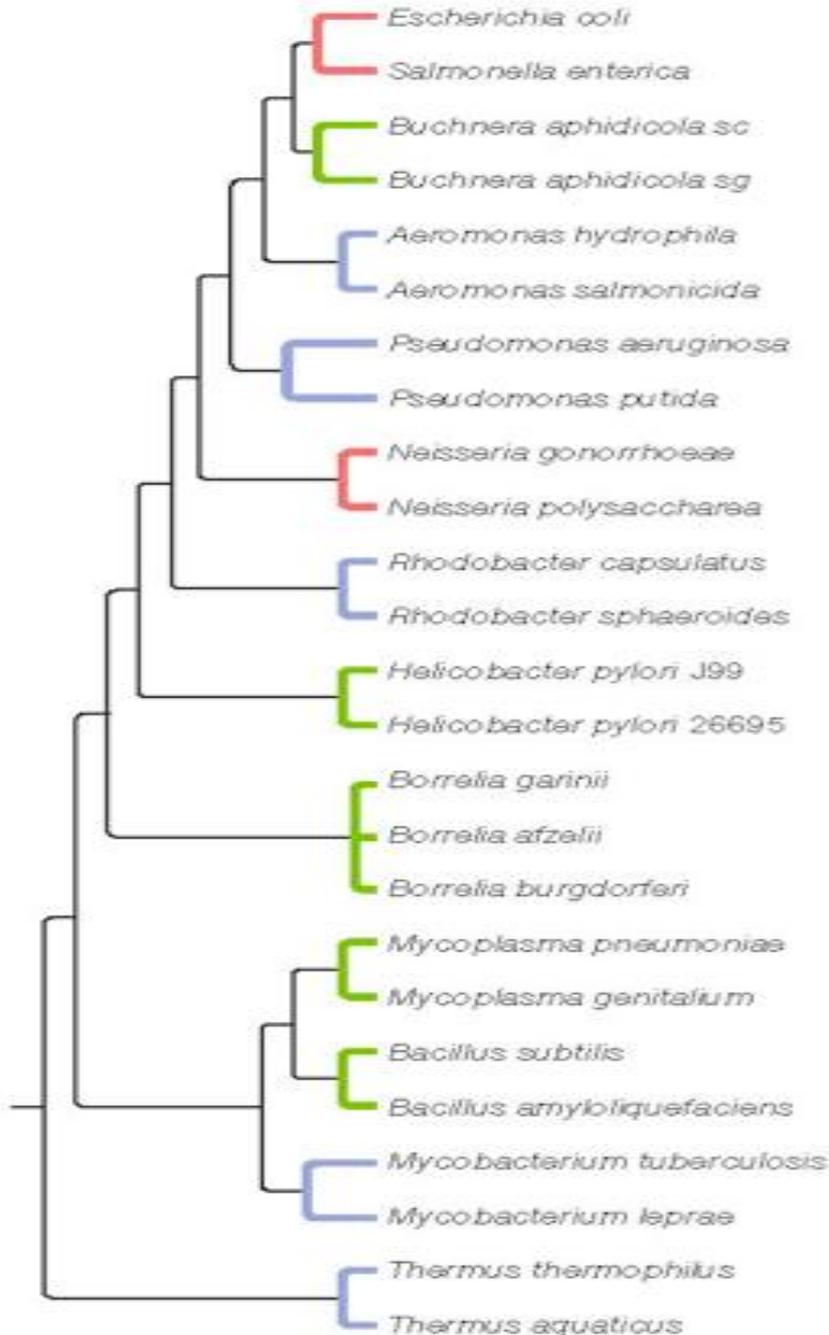
TECNICHE	LIVELLO TASSONOMICICO			
	FAMIGLIA	GENERE	SPECIE	CEPPO
Polimorfismo di frammenti di restrizione				
Ribotipizzazione (sequenza dell'RNA ribosomale)				
AFLP, ADP-PCR, REP-PCR, ERIC-PCR, RAPD, ARDRA-IGS				
ARDRA-16S				
Tipizzazione fagica				
Tecniche sierologiche				
Zimogramma (isoenzimi)				
Profilo proteico				
Ibridizzazione DNA/DNA				
% G+C				
Analisi degli acidi grassi				
Struttura della parete cellulare				
Analisi fenotipica (API, BIOLOG)				
Sequenziamento del DNA genomico				

# TASSONOMIA MOLECOLARE: ibridazione DNA/DNA

Il grado di riassociazione o ibridazione molecolare DNA/DNA rappresenta uno dei cardini su cui si basa la definizione di specie batterica.

Schema per la misurazione dell'omologia DNA/DNA tra due organismi: il DNA viene denaturato, lasciato riassociare. La  $T_m$  ( $T^\circ$  di fusione, denaturazione) del nuovo DNA ibrido da una stima in percentuale del grado di similarità tra i due genomi.





## TASSONOMIA MOLECOLARE: omologia di sequenza del 16S rRNA

Albero filogenetico costruito usando la sequenza dell' rRNA 16S

**16S rRNA < 97% identità nt = SPECIE DIVERSA!**

**\*Albero di specie batteriche appartenenti a gruppi tassonomici distanti (% G-C)**

Verde < 45% - Rosso 45-55% - Blu >55%

# BERGEY'S MANUAL OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY:

Anche i batteri sono stati classificati in “taxa” di ordine gerarchico crescente

## Dominio

(Regno)

Phylum

Classe

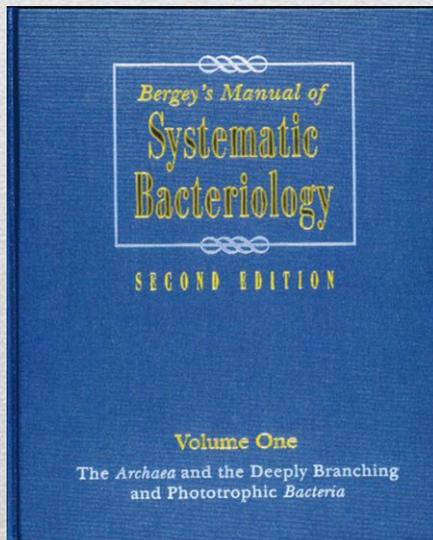
Ordine

Famiglia

Genere

*specie*

Un insieme di ceppi (isolati) che presentano caratteristiche comuni che **li differenziano da altri insiemi di ceppi**



# LA NOMENCLATURA E' CONTROLLATA DAL CODICE BATTERIOLOGICO

Per ogni specie descritta e validata dalla comunità scientifica internazionale viene messo a disposizione un ceppo di riferimento (o ceppo-type) che viene conservato in Collezioni Internazionali (ad esempio la **American Type Culture Collection = ATCC**) e che può essere richiesto e utilizzato negli studi comparativi.

ATCC: <http://www.lgcstandards-atcc.org/>

IJSEM: <http://ijs.sgmjournals.org/>

<http://141.150.157.117:8080/prokPUB/index.htm>

[www.bacterio.cict.fr](http://www.bacterio.cict.fr)

---

Siti web sui quali si può rintracciare il rapido evolversi delle informazioni relative alla tassonomia ed alla filogenesi dei batteri:

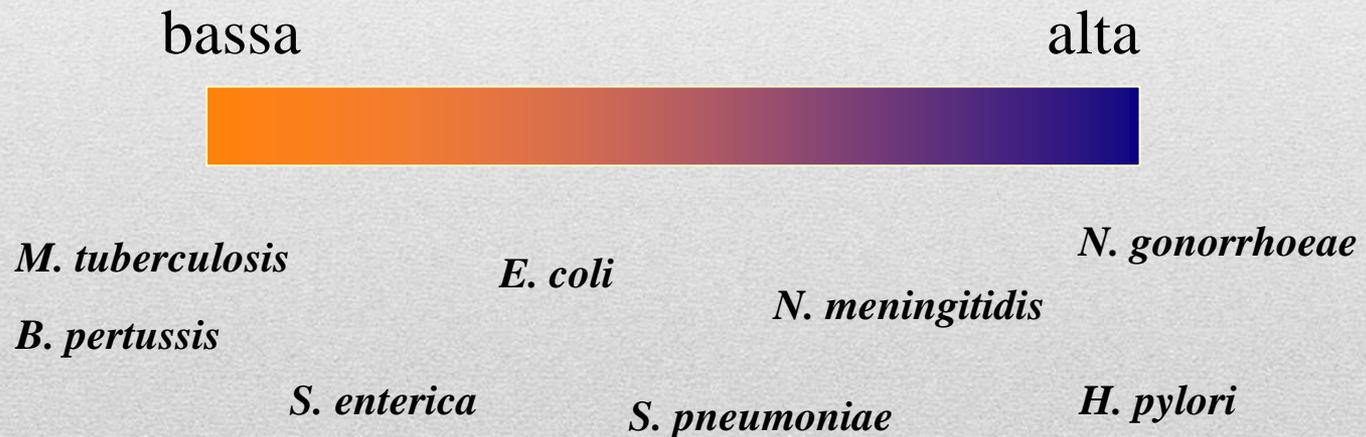
# Unità tassonomica: oltre la specie!

- Ciascuna colonia o coltura rappresenta un ceppo o clone individuale.
  - Es: *Escherichia coli* ceppo K12
  - Cloni diversi all'interno della specie, che differiscono fisiologicamente e come caratteristiche biochimiche: **biovar** –
  - Varietà sierologiche, che possiedono differenti caratteristiche antigeniche: **serovar** - es: *Escherichia coli* O157:H7
-

# Variabilità genetica di popolazioni batteriche

È influenzata principalmente da.....

- ✧ fattori genetici (predisposizione genetica)
- ✧ età della specie (specie giovani tendono a migliorarsi)
- ✧ Selezione (es: competizione in uno stesso habitat)



**Come si forma un nuova specie batterica?**

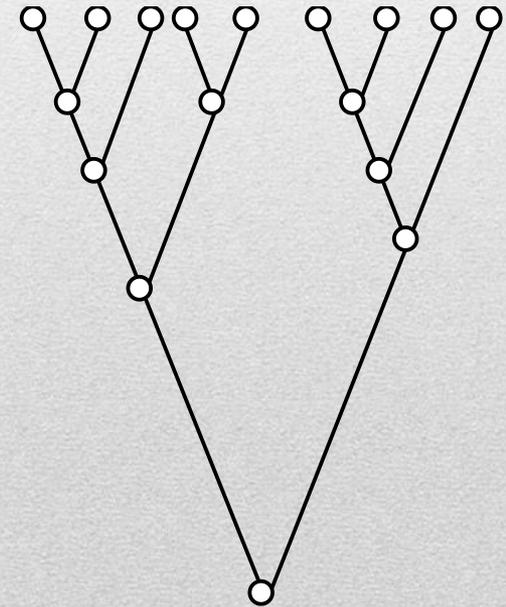
---

# Genetica di popolazione: popolazione batterica clonale

L'analisi e correlazione causale tra microrganismi e patologie/funzioni utilizza i parametri tassonomici per l'individuazione di una specie e delle sue varianti (cloni)

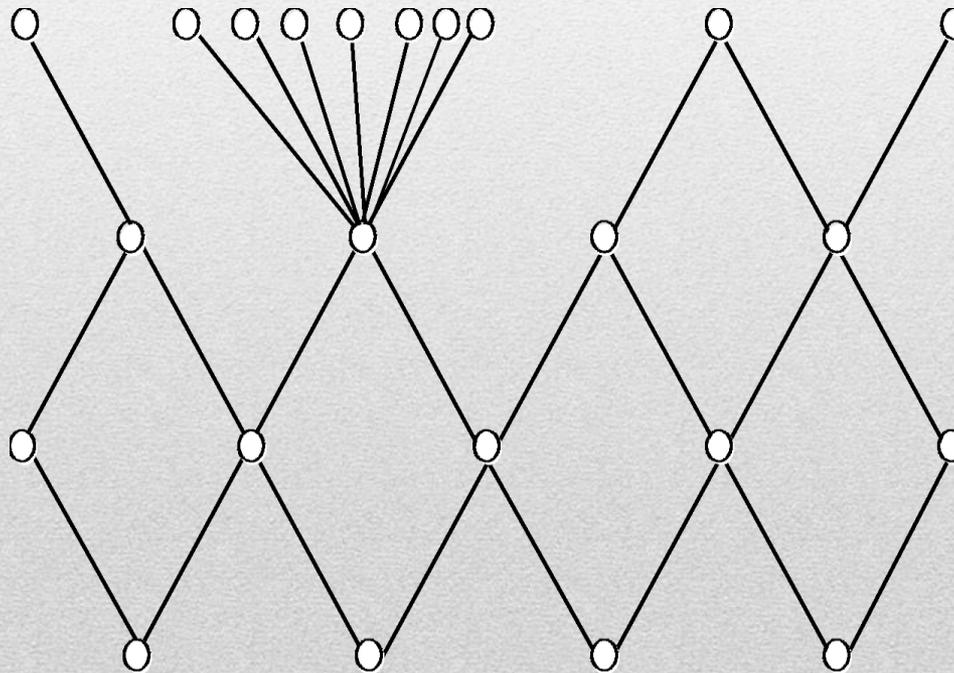
## Popolazione batterica clonale: trasferimento genetico verticale

non c'è ricombinazione tra diversi individui ma solo il costante accumulo di mutazioni casuali separa i diversi isolati

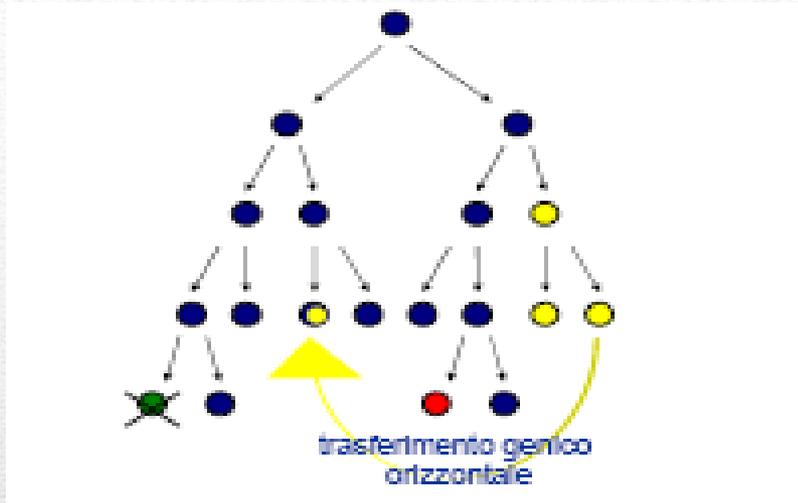


# Popolazione batterica sessuale

**Trasferimento genetico orizzontale:** la frequente ricombinazione tra diversi individui (trasformazione/coniugazione/trasduzione) rende impossibile una correlazione evolutiva data la predominanza di questi eventi sul lento divergere dei cloni causato da mutazioni.

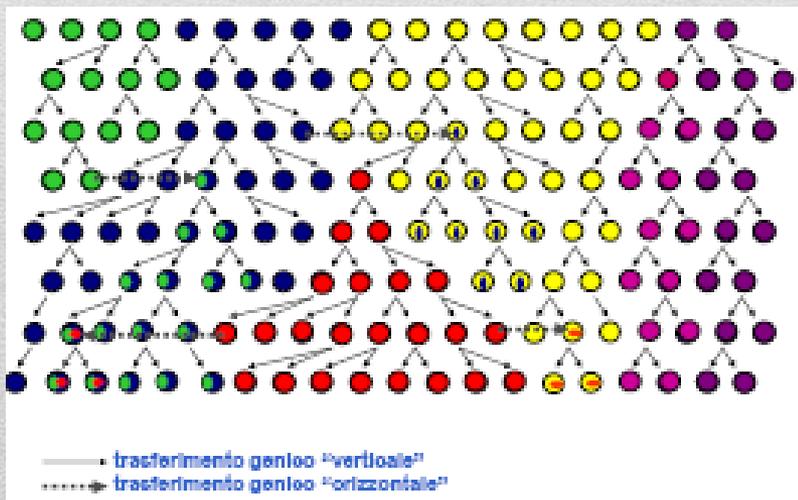


# Modello di formazione di una specie batterica



La varietà dei Procarioti attuali è il risultato di un processo evolutivo avvenuto per **mutazione, ricombinazione e selezione naturale**

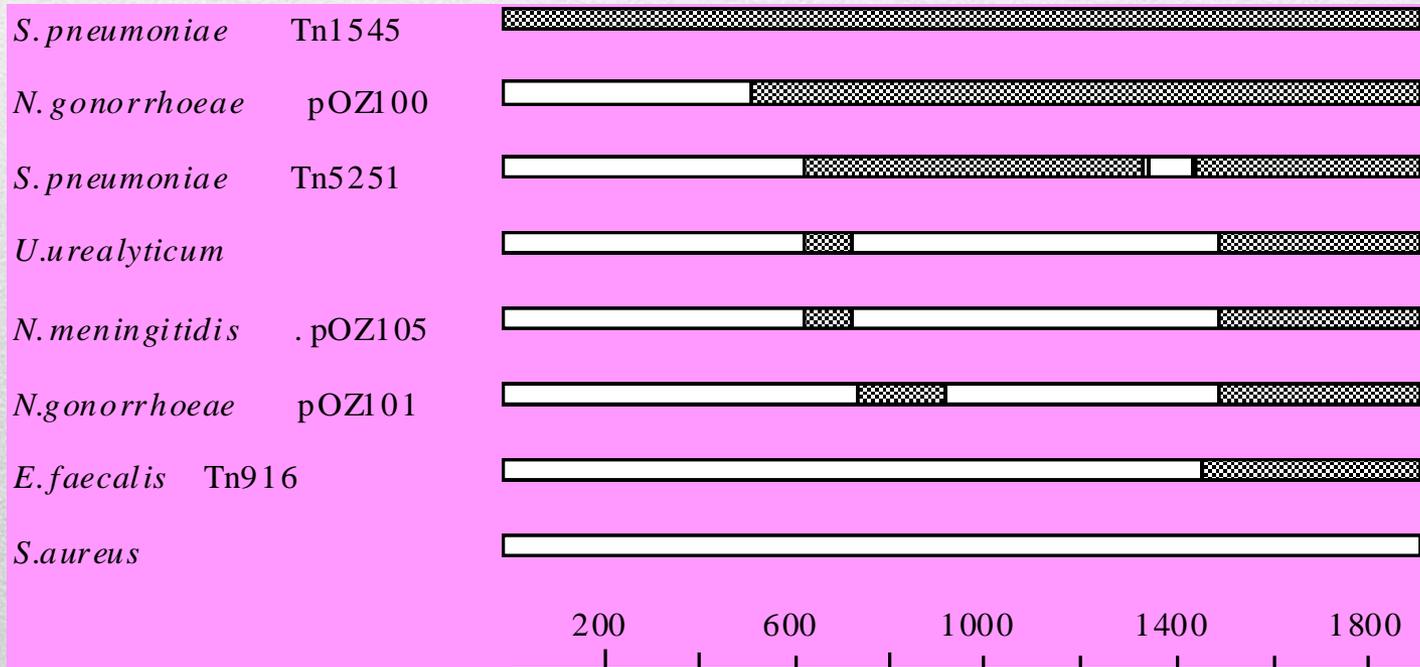
Ma secondo uno schema più realistico, dovuto a eventi di trasferimento genico orizzontale.....



I batteri sono "sessualmente" promiscui: scambio di materiale genetico anche tra linee filogeneticamente distanti per **coniugazione trasduzione, e trasformazione**

# Geni a mosaico

- Geni di diversa provenienza, a seguito di meccanismi di scambio genico frequente
- ricombinazione tra frammenti di DNA omologhi (es. gene della tetracicilino-resistenza *tetM*)



# I microrganismi sono metabolicamente.....

Variabilissimi!

Possono utilizzare una  
grandissima varietà di  
composti, sia organici che  
inorganici.

# Differenze tra Batteri ed Archaea

## Nicchie ecologiche

I due tipi di procarioti tendono a vivere in ambienti diversi:

✧ Gli **Archaea** prediligono ambienti ipertermofili ed anaerobici. In ogni caso hanno *selettività di nicchia*.

✧ I **Batteri** sono adattati a numerosissime nicchie, con diversi gradi di ossigenazione, di temperatura etc.

---

# Differenze tra Batteri ed Archaea

## *Versatilità metabolica*

✧ Gli **Archaea**, dal punto di vista metabolico, si possono definire “*monotoni*”, con pochissime variazioni all'interno dei diversi fenotipi.

✧ I **Batteri** sono metabolicamente *variabilissimi*.

---

# Differenze tra Batteri ed Archaea

## Tasso di evoluzione

I due domini procariotici hanno subito evoluzioni diverse, in ambienti diversi e, nonostante il lungo periodo di tempo di convivenza (bilioni di anni), non hanno mostrato **nessuna tendenza a convergere** in un fenotipo.

---

# Differenze tra Batteri ed Archaea

## Differenze citologiche, metaboliche e genetiche

All'interno della relativa "somiglianza" in quanto a struttura procariotica, più semplice rispetto agli eucarioti, esistono le seguenti differenze:

- 1) architettura cellulare (membrane contenenti diglicerol tetraeteri)
- 2) Struttura del cell-wall
- 3) capacità metaboliche (metanogenesi, metabolismo dello zolfo, del ferro)
- 4) sensibilità agli antibiotici
- 5) organizzazione del genoma (sequenze ripetute ed invertite, introni)

La diversità morfologica non  
rispecchia necessariamente la più  
grande diversità genetica



Batteri

Archea

---

# Differenze tra Batteri ed Archaea

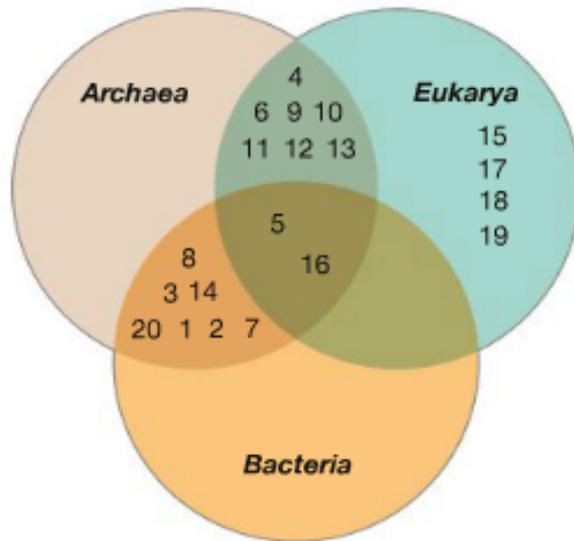
## Plasticità molecolare

Variazioni del disegno molecolare di una data funzione all'interno del gruppo:

- ✧ Struttura secondaria della 5S rRNA
  - ✧ Subunità della RNA-polimerasi
  - ✧ Modificazioni post-trascrizionali nell'rRNA e nei tRNA
  - ✧ Tipi di coenzimi
  - ✧ In tutti questi casi, gli Archaea presentano almeno due distinti tipi, molto spesso uno spettro diverso di tipi, mentre i Batteri presentano una uniformità sorprendente.
-

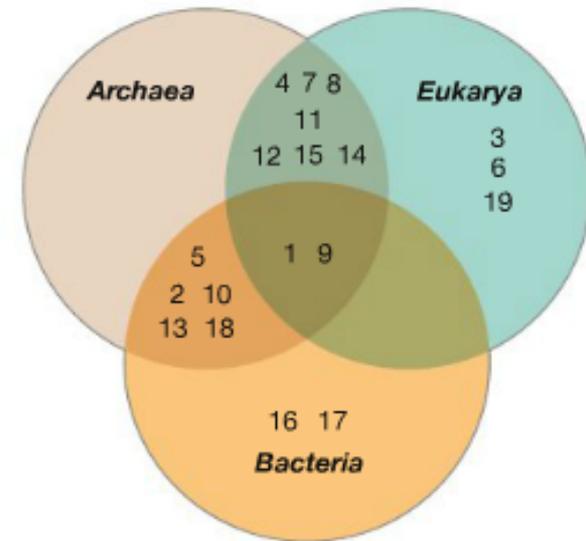
# Caratteristiche molecolari dei tre domini evolutivi

## Genoma



- |  |  |
|--|--|
| 1 Cromosoma circolare versus cromosoma lineare                       | 11 Elicasi di tipo eucariotico   |
| 2 Cromosoma singolo versus cromosomi multipli                        | 12 DNA polimerasi di tipo B come principale enzima di replicazione       |
| 3 Introni rari   | 13 DNA clamp (con replicazione "a pinza scorrevole") di tipo eucariotico |
| 4 Introni tipici degli <i>Archaea</i>                                | 14 Enzimi di restrizione   |
| 5 Inteine  | 15 RNAi (interferenza dell'RNA)  |
| 6 Istoni   | 16 Genoma a DNA a doppio filamento                                       |
| 7 DNA girasi   | 17 Retroelementi multipli nel genoma                                     |
| 8 Girasi inversa   | 18 Centromeri  |
| 9 Origine multipla del cromosoma                                     | 19 Telomeri e telomerasi   |
| 10 Complesso legato all'origine di replicazione, di tipo eucariotico | 20 Geni organizzati in operoni   |

## Trascrizione e traduzione



- |  |   |
|--|---|
| 1 RNA utilizzato come messaggero genetico                    | 11 Omologie di sequenza dell'RNA ribosomale                 |
| 2 mRNA policistronico  | 12 Omologie di sequenza delle proteine ribosomali           |
| 3 mRNA con "cap" e "coda" poliA                              | 13 Sequenze Shine-Dalgarno                                  |
| 4 Promotori con TATA box e sequenze BRE                      | 14 Fattori multipli di traduzione                           |
| 5 Repressori che si legano direttamente al DNA dei promotori | 15 Fattori di allungamento sensibili alla tossina difterica |
| 6 RNA polimerasi multiple                                    | 16 N-formilmietionina al posto di metionina                 |
| 7 RNA polimerasi II costituite da 8 o più subunità           | 17 tmRNA per il ripristino di ribosomi bloccati             |
| 8 Necessità di fattori multipli di trascrizione              | 18 rRNA 16S e 23S   |
| 9 Sintesi proteica a livello dei ribosomi                    | 19 rRNA 18S, 28S e 5,5S                                     |
| 10 Ribosomi 70S versus 80S                                   |   |

	<b>Batteri</b>	<b>Archaea</b>	<b>Eucarioti</b>
<b>Parete cellulare</b>	Peptidoglicano con acido muramico	Pseudopeptidoglicano o proteine. Assenza di acido muramico	Polisaccaridi (piante) Chitina (funghi)
<b>Nucleo delimitato</b>	Assente	Assente	Presente
<b>Membrana citoplasmatica</b>	Acidi grassi lineari legati al glicerolo mediante legami esterei	Catene ramificate di idrocarburi legati al glicerolo mediante legami eterei (non sono presenti acidi grassi nei lipidi degli Archaea)	Acidi grassi lineari legati al glicerolo mediante legami esterei
<b>Genoma</b>	Cromosoma circolare presenza di plasmidi	Cromosoma circolare presenza di plasmidi	Cromosomi multipli
<b>Genoma</b>		Presenza di proteine istoniche	Presenza di proteine istoniche

	<b>Batteri</b>	<b>Archaea</b>	<b>Eucarioti</b>
<b>Replicazione del DNA</b>		DNA polimerasi ha una sequenza proteica primaria simile agli Eucarioti e ai virus eucariotici	idem
<b>Trascrizione ed enzimi</b>	RNA polimerasi formata da 4 subunità e fattore sigma	RNA polimerasi è complessa come quella Eucariotica (14 subunità ed omologia di sequenza) Non inizia la trascrizione senza fattori di trascrizione. La sequenza promotore è una regione ricca in A-T e la sequenza consenso assomiglia al TATA box eucariotico.	idem

	<b>Batteri</b>	<b>Archaea</b>	<b>Eucarioti</b>
<b>Organizzazione genica</b>	<b>Geni correlati organizzati in operon</b>	<b>Geni correlati organizzati in operon</b>	<b>Sequenze introniche</b>
<b>Organizzazione genica</b>		<b>Sequenze introniche nei geni 23S, 16S e nei geni dei tRNA.</b>	<b>idem</b>
<b>tRNA d'inizio</b>	<b>Formilmetionina</b>	<b>Metionina</b>	<b>Metionina</b>
<b>Sensibilità dei ribosomi alla tossina difterica</b>	<b>No</b>	<b>Si</b>	<b>Si</b>
<b>Sensibilità al cloramfenicolo</b>	<b>Si</b>	<b>No</b>	<b>No</b>
<b>Metanogenesi</b>	<b>No</b>	<b>Si</b>	<b>No</b>
<b>Riduzione dello zolfo ad H<sub>2</sub>S</b>	<b>Si</b>	<b>Si</b>	<b>No</b>
<b>Fissazione dell'azoto</b>	<b>Si</b>	<b>Si</b>	<b>No</b>
<b>Fotosintesi clorofilliana</b>	<b>Si</b>	<b>No</b>	<b>Si</b>