

IL METABOLISMO BATTERICO

L'energia utilizzata dalla cellula batterica nei **processi biosintetici**, è quella temporaneamente immagazzinata nei legami ad alto livello energetico dell'**ATP**. Durante le reazioni biosintetiche, l'energia necessaria è ottenuta dalla idrolisi di ATP in ADP. Per rifosforilare ADP in ATP è necessario un apporto esterno di energia. La cellula può ricavare questa energia o captando l'energia elettromagnetica della luce (**organismi fotosintetici**) o derivandola dalla demolizione di varie sostanze, in prodotti in minor livello energetico (**organismi chemiosintetici**). Nei processi catabolici a scopo energetico (**chemiosintetici**), la cellula può fosforilare ADP in ATP, fondamentalmente di 2 modi:

- mediante utilizzo diretto di energia, che si libera durante la trasformazione di una molecola organica, in un'altra di minor livello energetico (**fosfolirazione a livello del substrato**).
- Utilizzando l'energia che si libera durante il trasporto di elettroni, dal substrato, ad un accettore finale esterni (**fosfolirazione mediante trasporto di elettroni**).

La fosfolirazione a livello del substrato si verifica durante i processi di **fermentazione**, mentre la **fosfolirazione mediante trasporto di elettroni** si verifica durante i processi di **respirazione**. In ambedue i processi, comunque, l'energia utilizzabile nelle operazioni di fosforilazione dell'ADP in ATP è, fondamentalmente, quella che deriva da reazioni di **ossido-riduzione**.

FERMENTAZIONE BATTERICA

Nelle reazioni fermentative la fosforilazione avviene a livello del substrato e l'energia derivata dall'ossidazione del **NADH** non viene utilizzata per la produzione di ATP, ma è in genere dissipata sotto forma di calore. Il metabolita chiave del processo di fermentazione è l'**Acido piruvico** in cui vengono convertiti quasi tutti i composti a 6,5,4 atomi di C. Il **glucosio** è convertito in **acido piruvico**, fondamentalmente attraverso la **glicolisi**. Una molecola di **glc** viene fosforilato (con il consumo di 1 ATP) a **glucosio 6-P**; mediante **isomerizzazione** ed una ulteriore **fosforilazione** (che comporta il consumo di una seconda molecola di ATP) si passa a **fruttosio-1,6-disfosfato**, che viene quindi scisso in **2 molecole di fosfoglicerato**. A questo punto si ha la **deidrogenazione** della molecola di **fosfoglicerato**, con il trasferimento dell'idrogeno al **NAD** che viene ridotto ad **NADH**. L'energia liberata dalla reazione viene utilizzata per legare un **fosfato inorganico** alla **fosfogliceraldeide ridotta** che viene così trasformata in **acido 1,3-difosfoglicerato**. Le 2 molecole di **acido 1,3-difosfoglicerico** trasferiscono il radicale fosforico a 2 molecole di **ADP** formando **ATP** e trasformandosi in **acido 3-fosfoglicerico**. **È questa la reazione che si chiama di fosforilazione a livello del substrato**. L'**acido 3-fosfoglicerico** a sua volta si trasforma in **acido 2-fosfoglicerico** che, per perdita di una molecola d'acqua, dà luogo alla **forma enolica dell'acido fosfopiruvico**. Le due molecole di **acido fosfenolpiruvico** cedono a loro volta il radicale fosforico ad altre **2 molecole di ADP** formando **2 molecole di ATP** e trasformandosi in **acido piruvico**. L'acido piruvico poi funziona da accettore dell'idrogeno del **NADH**, riducendosi ad acido lattico. Quindi da una molecola di **glc** si ottengono 2 molecole di acido lattico e 4 di ATP. Poiché 2 molecole di ATP sono state consumate durante le varie tappe metaboliche, la resa netta è di 2 ATP. Questo tipo di fermentazione è nota come fermentazione omolattica. I batteri, comunque possono utilizzare altre vie metaboliche per arrivare ad acido piruvico e, in particolare, **lo shunt dei pentosi e la via di Entner-Doudoroff**. Queste vie sono caratterizzate dalla ossidazione **del glc-6-P ad acido 6-fosfogluconico** che nella **shunt** viene trasformato in un **pentoso (ribuloso)-fosfato** e quindi **acido piruvico** e nella **via E-D l'acido 6-fosfogluconico** viene trasformato ad **acido cheto-deossi-fosfogluconico** dal quale origina una molecola di **gliceraldeide** ed una molecola di **acido piruvico** il cui ulteriore destino metabolico è, rappresentato dalla fermentazione o dalla totale mineralizzazione attraverso il **ciclo di Krebs**. In alcuni batteri **aerobi obbligati** sono incapaci di fosforilare il **glc a glc-6-P** ed utilizzano il **glc** attraverso una iniziale ossidazione ad **acido gluconico**, che viene poi fosforilato ad **acido 6-fosfogluconico** e trasformato in **acido piruvico** attraverso lo **shunt o la via di E-D**. la proprietà di

produrre acidi da glc in coltura in presenza di ossigeno è caratteristica di alcune specie batteriche aerobiche, ed è alla base del **test ossidazione-fermentazione** che è usato nell'identificazione di alcuni batteri. I **batteri anaerobi obbligati** utilizzano solo la glicolisi, mentre **gli aerobi-anaerobi facoltativi** utilizzano entrambe le vie glicolisi e shunt, mentre i **batteri aerobi obbligati** sembrano i soli a poter utilizzare la **via E-D**. i vari prodotti terminali del processo fermentativo sono caratteristici delle diverse specie batteriche e sono utilizzati come marcatori per identificare i batteri. Un tipo di fermentazione caratteristico di **E-COLI** altri batteri, è rappresentata dalla **fermentazione con accumulo di acidi diversi** che consiste nella produzione oltre ci di acido lattico **anche di acido succinico, acido formico, acido acetico e alcool etilico**. Questo tipo di fermentazione si accompagna alla produzione di gas per la formazione di idrogeno e anidride carbonica gassosi a partire **dall'acido formico**.

RESPIRAZIONE BATTERICA

La respirazione attraverso il ciclo di krebs utilizza , ai fini della fosforilazione di ADP in ATP, gran parte dell'energia che si libera dalla riossidazione di NADH in NAD.

Aerobiosi ed anaerobiosi

I **batteri** si distinguono rispettivamente in **batteri aerobi e anaerobi**, a loro volta distinguibili in **aerobi obbligati, aerobi-anaerobi facoltativi e batteri anaerobi obbligati**.

Sono **aerobi obbligati** quei batteri che possono crescere solo in presenza di aria. Sono **aerobi-anaerobi facoltativi** quei batteri che possono vivere sia in presenza che in assenza di ossigeno libero. Sono **anaerobi obbligati** quei batteri che possono vivere solo in assenza di O₂. si tratta di batteri che utilizzano processi respiratori anaerobi o processi fermentativi.

SINTESI MACROMOLECOLARI

La replicazione del DNA

La replicazione del DNA avviene anche nei batteri con un meccanismo semiconservativo. Nei batteri sono presenti almeno 3 enzimi con proprietà **DNA-polimerasiche** denominati **DNA-polimerasi I, II e III**. L'enzima fondamentale è la **III**, caratterizzata dalla capacità di catalizzare l'addizione dei **deossiribonucleotidi trifosfato**, selezionati sulla base della complementarità, all'estremo libero **3-OH** di una catena polinucleotidica nascente. Ciò comporta che l'enzima non sia in grado di iniziare la neosintesi di DNA, se non partendo dall'estremo **3-OH** di un innesco (**primer**), formato a sua volta da una corta sequenza nucleotidica , e che la catena polinucleotidica possa crescere solo in **direzione 5'>3'**. L'innesco è rappresentato dall'attacco, sulla catena polinucleotidica della **molecola parentale**, e in corrispondenza **dell'origine della replicazione** (in cui le due catene polinucleotidiche possono essere separate ad opera di fattori proteici specializzati) di 2 corte **sequenza ribonucleotidiche** ad opera di peculiari **RNA-polimerasi** . La crescita di una catena polinucleotidica (**leading**) avviene, in modo continuo nella direzione corretta, la formazione della nuova catena polinucleotidica che si accresce apparentemente in direzione **3'>5'**, avviene in modo discontinuo e procede mediante successive giustapposizioni di frammenti di DNA, ognuno dei quali è sintetizzato in direzione **5'>3'** ad opera della **DNA-polimerasi III (frammenti di okazaki)**, i quali vengono successivamente saldati tra di loro ad opera della **DNA-polimerasi I**. Anche nei batteri ci sono enzimi con funzioni essenziali quali le **topoisomerasi** che, catalizzano la rottura e la riformazione dei **legami fosfodiesterici**. La **topoisomerasi I**, provoca una serie di **avvolgimenti positivi (destrorsi)** trasformando la molecola di DNA in una forma più rilassata, mentre la **topoisomerasi II** denominata anche **girasi** introduce nella molecola una serie di **avvolgimenti negativi (sinistrorsi)** causandone la superspiralizzazione. La **topoisomerasi IV** è ,

poi, l'enzima che inizia il processo di **decatenazione** attraverso il quale, al termine del processo replicativo, i 2 cromosomi neoformati sono separati l'uno dall'altro. Un'alternativa al meccanismo di duplicazione del DNA prima descritto è quella definita a **rolling circle**: in corrispondenza di una origine una delle due catene polinucleotidiche viene tagliata da un apposito enzima e la DNA-**polimerasi III** aggiunge all'estremità libera **3'-OH**, una serie di nucleotidi in base alla complementarietà con la catena polinucleotidica rimasta integra. Contemporaneamente la catena polinucleotidica interrotta si dipana progressivamente formando **una coda libera con estremità 5'**. Man mano che la neosintesi di DNA procede e con essa la rotazione della molecola, **la coda** formata dalla **catena polinucleotidica parentale** si allunga e quando la nuova catena polinucleotidica è completamente sintetizzata, la catena parentale ormai completamente dipanata si distacca e serve a sua volta da stampo per la sintesi di una catena complementare, con la formazione finale di una **seconda molecola doppioelicoidale** che può a sua volta **ricircolarizzarsi**.

Sintesi del peptidoglicano

Il processo di sintesi del **peptidoglicano** comincia con la sintesi dei precursori iniziali nel citoplasma, prosegue con il loro completamento durante il trasporto attraverso la membrana citoplasmatica e si conclude con il loro inserimento finale nella parete cellulare. Le fasi terminali del processo, sono caratterizzate da una serie di enzimi che presentano caratteristiche assolutamente peculiari di legare covalentemente la penicillina ed altri antibiotici e sono pertanto noti come proteine leganti la penicillina. Infatti la **penicillina** ed altri antibiotici devono appunto la loro azione antibatterica proprio alla capacità di legarsi a questi enzimi inibendo la sintesi di peptidoglicano. Nel citoplasma, una molecola di **N-acetilglucosamina-fosfato (NAG-P)** si lega ad una molecola di **uridina-trifosfato**, con la liberazione di un radicale fosforico, portando alla formazione di **UDP-NAG** alla quale si lega successivamente una molecola di **fosfo-enolpiruvato**, in una reazione che è inibita dall'antibiotico **fosfomicina** che è un analogo strutturale del fosfo-enolpiruvato, portando alla formazione di una molecola di **UDP-NAG-piruvato**. A questo punto il piruvato viene ridotto ad **acido lattico** con la formazione di una molecola di **acido muramico** (acido N-acetilmuramico o NAM) che, ancora legato all'**UDP-NAM**, funziona da accettore per alcuni aa che, nell'ordine di legame sono: **L-analina, acido D-glutamico, L-lisina** o un diimero della **D-analina**. A questo punto il **NAM-pentapeptide**, liberato dall'**UDP**, lascia il citosol legandosi ad un vettore lipidico della membrana citoplasmatica. Al **NAM-pentapeptide**, legato al vettore lipidico nella membrana citoplasmatica, viene aggiunta una molecola di **N-acetilglucosamina** con la formazione di una completa unità basale del peptidoglicano, a questo punto una serie di unità basali complete sono polimerizzate e legate trasversalmente tramite l'intervento delle **PBP 1A e 1B** che agiscono contemporaneamente sia da enzimi in grado di (legare le varie unità basali attraverso **legami beta 1,4 tra la N-acetilglucosamina** di una unità ed il residuo **N-acetilglucosaminico** dell'acido muramico adiacente), sia da enzimi in grado di stabilire **legami di traspeptidazione** tra i polimeri lineari di peptidoglicano adiacenti. A questo punto, i corti polimeri di peptidoglicano sono liberati dal vettore lipidico e trasferiti all'esterno della membrana cellulare dove viene staccata una molecola di **D-analina** e l'energia liberata viene utilizzata per l'inserimento ad opera di altre **PBP**, dei vari frammenti polimerici di peptidoglicano nei siti di allungamento della parete o di formazione dei setti. Tutte le operazioni terminali di polimerizzazione risultano bloccate dagli antibiotici **beta-lattamici** che agiscono legandosi alle proteine enzimatiche, e dagli antibiotici **glicopeptidici** che agiscono legandosi al substrato. **L'undecaprenil-difosfato** dai legami con i cori polimerici di peptidoglicano viene **defosforilato** ed è riciclato per il trasporto di un'altra molecola di precursore **peptidoglicanico**. Nel **batterio G-N** la neosintesi di peptidoglicano ha il compito di garantire l'allungamento della parete, o la formazione di setti. Nel **batterio G-P** ha anche il compito di assicurare il mantenimento di un adeguato spessore della parete cellulare mediante la costante giustapposizione di nuovi strati di peptidoglicano, per bilanciare la desquamazione degli strati più esterni, sottoposti all'usura del

contatto con l'ambiente esterno. I **farmaci antibatterici** che agiscono bloccando la sintesi della parete cellulare hanno un'azione diretta ed esclusiva a bloccare **la sintesi di peptidoglicano**.