

Aulas Práticas

- É proibido colar nas provas (pegar colando terá a nota da prova zero).
- Ler a apostila das aulas práticas antes de ir para a aula prática
- Teremos 6 aulas prtáticas (11/09 – 04/10)
- Antes do início das aulas práticas: **Ler as páginas 6-9 e entregar assinado a Declaração.**

“NOÇÕES ELEMENTARES DE SEGURANÇA PARA OS LABORATÓRIOS DIDÁTICOS DE MICROBIOLOGIA - DISCIPLINA BMM0160”

APRESENTAÇÃO

Este texto foi preparado pela CIPA (Comissão Interna de Prevenção de Acidentes) e alguns docentes dos cursos introdutórios de laboratório do Instituto de Química e adaptado para o Instituto de Ciências Biomédicas. Seu objetivo é prevenir a ocorrência de acidentes durante a realização de experimentos e esse objetivo somente será alcançado com sua colaboração.

Quando estamos no ICB, estamos expostos às mais variadas situações de risco, devido à própria natureza da atividade que se desenvolve aqui: diferentes micro-organismos com diferentes graus de periculosidade à saúde humana, substâncias corrosivas e tóxicas, materiais radioativos. O primeiro passo para se evitar um acidente é saber reconhecer as situações que podem desencadeá-lo. Em seguida, é preciso conhecer e aplicar uma série de regras básicas de proteção individual e coletiva. Nas páginas seguintes você encontrará um grande número dessas recomendações; segui-las não somente contribuirá para seu bem-estar pessoal como, também, para sua formação profissional.

NORMAS DE SEGURANÇA

Segurança é assunto de máxima importância e especial atenção deve ser dada às medidas de segurança pessoal e coletiva em laboratório. Embora não seja possível enumerar aqui todas as normas de segurança em laboratório, existem certos cuidados básicos, decorrentes do uso de bom senso e de conhecimento científico, que devem ser observados. As normas foram divididas em cinco grupos: as que se referem à parte física do laboratório, às atitudes que o laboratorista deve ter, a seu trabalho no laboratório, à limpeza do laboratório e do material e aos procedimentos em caso de acidente.

O laboratório

1. Conheça a localização da saída de emergência, do chuveiro de emergência, do lava-olhos, dos extintores de incêndio, dos registros de gás de cada bancada e das chaves gerais (elétricas). Saiba usar estes dispositivos.
2. Mantenha as janelas abertas para ventilar o laboratório.
3. Verifique se os cilindros de gás sob pressão estão presos com correntes ou cintas.
4. Ao se retirar do laboratório, verifique se não há torneiras (água ou gás) abertas. Desligue todos os aparelhos.

As atitudes

5. É expressamente proibido que os alunos subtraiam qualquer material biológico e químico (especialmente solventes), vidraria ou equipamento (micropipetas, eletrodos, balanças, etc.) dos laboratórios didáticos. Estes materiais podem ser utilizados somente para a execução de experiências em aulas práticas e os infratores desta norma estarão sujeitos às sanções disciplinares e legais previstas no regimento interno da USP.

6. Use **avental** devidamente fechado e de manga comprida.
7. Não use sandálias ou chinelos, que não protegem de respingos e de queda de objetos. Use somente **sapatos fechados**, de preferência de couro.
8. **Prenda seu cabelo** se for comprido. Pode pegar fogo.
9. Não fume, não coma e não tome nada no laboratório. Isto pode contaminar reagentes, comprometer aparelhos e provocar intoxicação.
10. Não coloque bolsas, malhas, livros, etc. sobre a bancada, mas apenas o caderno de anotações, caneta e calculadora.
11. Não brinque no laboratório. Esteja sempre atento ao experimento que está sendo realizado.
13. **Não trabalhe sozinho no laboratório. É preciso haver outra pessoa para ajudar em caso de emergência. O trabalho experimental no laboratório pode ser executado somente na presença do professor responsável.**
14. Não receba colegas no laboratório. Atenda-os no corredor. Apenas alunos da disciplina podem adentrar ao laboratório.
15. Siga rigorosamente as instruções fornecidas pelo professor.
16. Consulte o professor antes de fazer qualquer modificação no andamento da experiência e na quantidade de reagentes a serem usados.
17. Caso esteja usando um aparelho pela primeira vez, leia sempre o manual antes e consulte o professor.
18. Nunca teste um produto químico ou material biológico pelo sabor (por mais apetitoso que ele possa parecer).
19. Não teste um produto químico ou material biológico pelo odor.

O trabalho

20. Para pipetar, use seringa, **pêra** de borracha ou **pipetador** para aspirar o líquido. Nunca aspire líquidos com a boca.
21. Evite contato de qualquer substância com a pele.
22. Encare todos os produtos químicos e microbiológicos como potencialmente nocivos à saúde, enquanto não verificar sua inocuidade, consultando a literatura especializada.
23. Conheça as propriedades físicas, químicas e toxicológicas das substâncias assim como o nível de periculosidade dos micro-organismos com que vai lidar, bem como métodos de descarte dos resíduos gerados. Consulte a bibliografia.
24. Antes de usar qualquer reagente, leia cuidadosamente o rótulo do frasco para ter certeza de que aquele é o reagente desejado.

25. Conserve os rótulos dos frascos, pois contêm informação importante.
26. Não aqueça líquidos inflamáveis em chama direta.
27. Nunca deixe frascos contendo solventes inflamáveis (por exemplo: acetona, álcool, éter) próximo a uma chama.
28. Nunca deixe frascos contendo solventes inflamáveis expostos ao sol.
29. Não armazene substâncias oxidantes próximo a líquidos voláteis e inflamáveis.
30. Abra frascos o mais longe possível do rosto e evite aspirar ar naquele exato momento.
31. Nunca torne a colocar no frasco uma droga retirada em excesso e não usada. Ela pode ter sido contaminada.
32. Nunca aqueça o tubo de ensaio, apontando sua extremidade aberta para um colega ou para si mesmo.
33. Cuidado ao aquecer vidro em chama: o vidro quente tem exatamente a mesma aparência do frio.
34. **Não deixe bicos de Bunsen acesos à toa.**
35. Dedique especial atenção a qualquer operação que necessite aquecimento prolongado ou que libere grande quantidade de energia.
36. Use luva térmica para tirar material quente da estufa.
37. Use luva de pano ou simplesmente um pano para proteger a mão ao inserir um tubo de vidro ou um termômetro numa rolha.

A limpeza

38. Água ou outros produtos derramados e não contaminados no chão podem tornar o piso escorregadio. Providencie imediatamente a limpeza.
39. A bancada de trabalho deve ser mantida limpa e seca para evitar que se entre inadvertidamente em contato com uma substância tóxica, corrosiva ou biologicamente perigosa.
40. Não jogue papéis ou outros sólidos nas pias. Provocam entupimentos.
41. Não jogue cultura de micro-organismos, solventes ou reagentes nas pias. Eles contaminam/poluem o ambiente e solventes inflamáveis na tubulação de esgoto podem levar a sérias explosões. Despeje solventes em frascos apropriados. Em caso de dúvida, consulte o professor sobre o método adequado de descarte.
42. Não jogue vidro quebrado ou lixo de qualquer espécie nas caixas de areia.
43. **Ao se retirar do laboratório, lave sempre as mãos.**

Os acidentes

44. Em caso de acidente, procure imediatamente o professor, mesmo que não haja danos pessoais ou materiais.

45. Todo acidente, por menor que pareça, e qualquer ~~contato~~ contacto com reagentes químicos ou microbiológicos devem ser comunicado ao professor.

46. Caindo produto químico ou microbiológico nos olhos, na boca ou na pele, lave **abundantemente** com água a parte atingida. A seguir, avise o professor e procure o tratamento específico para cada caso.

47. Vidros quebrados devem ser descartados, depois de **limpos**, em depósitos para lixo de vidro. Nunca jogue vidros quebrados no lixo comum, onde podem causar cortes no pessoal de limpeza.

48. Em caso de derramamento de mercúrio, chame imediatamente o professor ou o técnico. Vapores de mercúrio são muito tóxicos.

Telefones Úteis:

Bombeiros	193
Serviço De Atendimento Móvel De Urgência (SAMU)	192
Hospital Universitário (HU)	3039-9200
Hospital das Clínicas (HC)	3067-6000
Segurança USP	3091-4222
Portaria do ICB-II	3091-7270

DECLARAÇÃO

DECLARO, QUE LI ATENTAMENTE O DOCUMENTO **"NOÇÕES ELEMENTARES DE SEGURANÇA PARA OS LABORATÓRIOS DIDÁTICOS DE MICROBIOLOGIA DA DISCIPLINA BMM0160 - ICB-USP"**.

COMPROMETO-ME A SEGUIR, INCONDICIONALMENTE, AS RECOMENDAÇÕES DO DOCUMENTO ACIMA E APRESENTAR-ME PARA QUALQUER ATIVIDADE DENTRO DOS RECINTOS LABORATORIAIS DESTE INSTITUTO, OBSERVANDO RIGOROSAMENTE TODOS OS ITENS DO DOCUMENTO ACIMA.

EM CASO DA NÃO OBSERVÂNCIA DOS ITENS **06, 07, 08 e 13** DO REFERIDO DOCUMENTO, ENTENDO QUE NÃO PODEREI PERMANECER NO RECINTO DOS EXPERIMENTOS.

NOME LEGÍVEL: _____

CÓDIGO USP: _____

E-MAIL: _____

São Paulo, ____ de _____ de _____.

ASSINATURA



Estrutura e Funções de Células Bacterianas

**BMM0160 – Microbiologia Básica para Farmácia
2018**

**Cristiane Rodrigues Guzzo
Gabriel Padilla**

Vamos Refletir!

- O que é uma Bactéria?
- Como você sabe o que é uma bactéria, o que é um vírus, uma célula eucariótica?

É um microrganismo

Caracteriza pelo tamanho?

Forma?

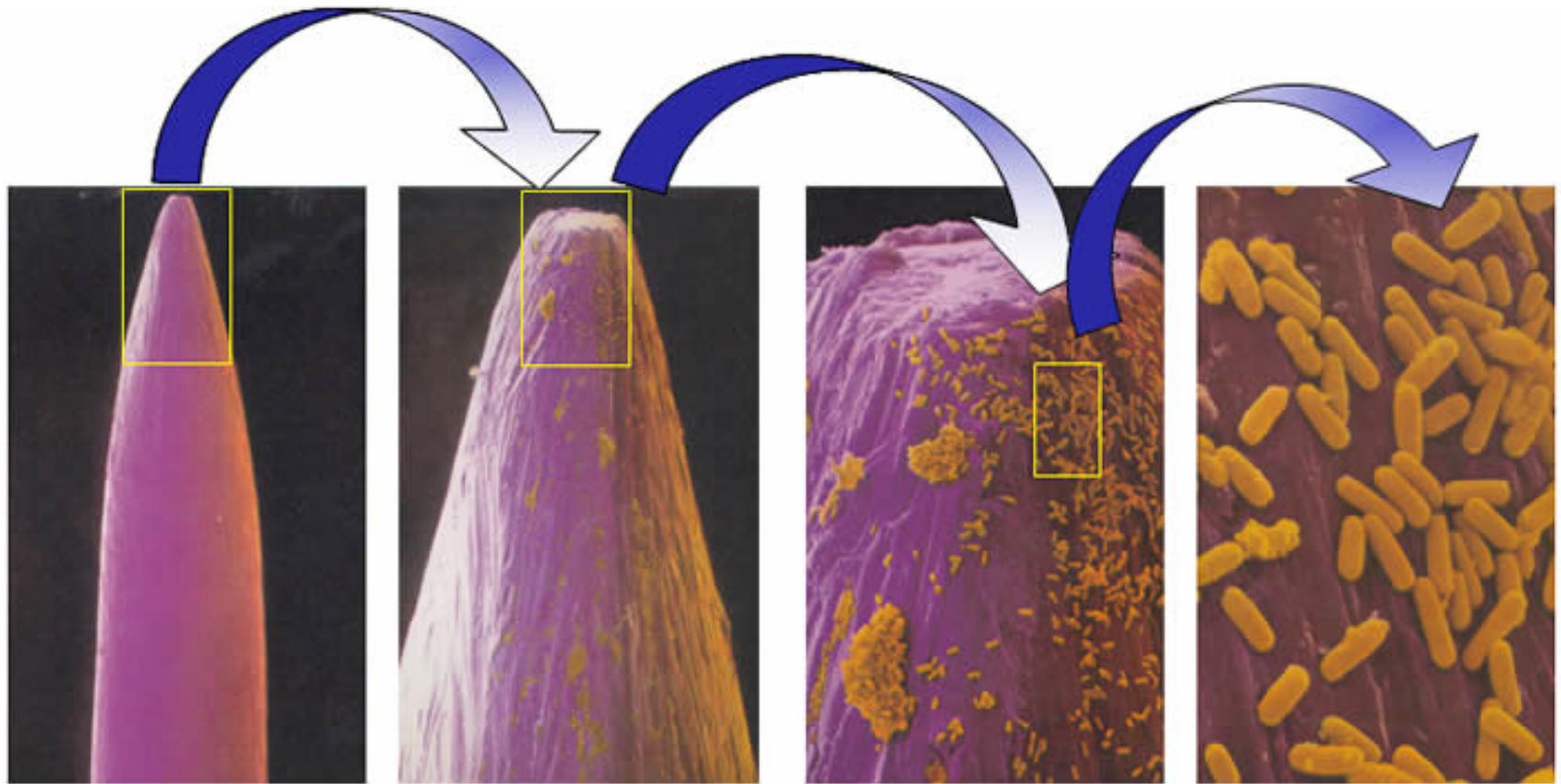
Composição?

Seu metabolismo?

- O que é um microrganismo?

Tamanho da célula bacteriana?

Na ponta de uma agulha...



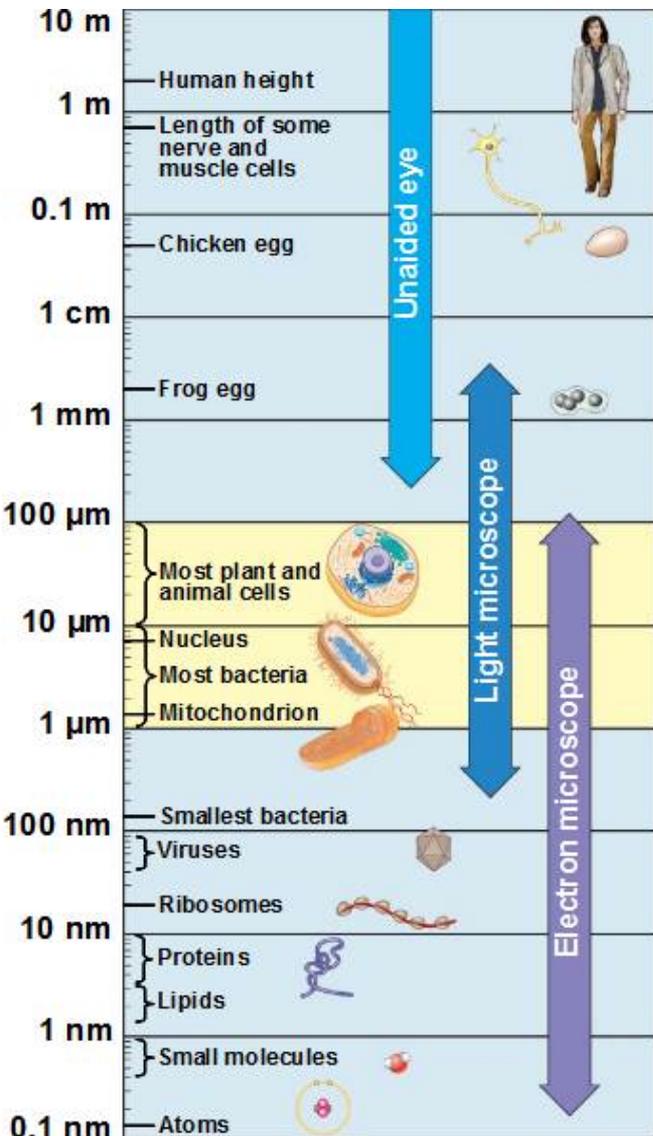
1
millimetre

1/5
millimetre

1/20
millimetre

1/100
millimetre

Tamanho da célula bacteriana?



Measurements:

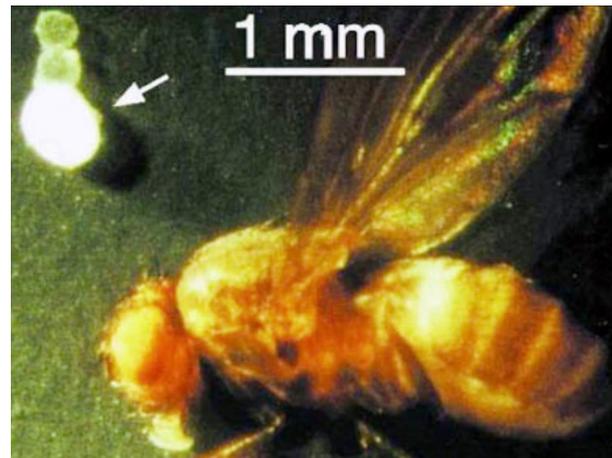
1 kilometer (km) = 1000 meter (m)

1 centimeter (cm) = 0.01 m

1 millimeter (mm) = 0.001 m

1 micrometer (µm) = 0.001 mm

1 nanometer (nm) = 0.001 µm



Thiomargarita Namibiensis is visible without supplementary magnification enhancement.

Maior bacteria descoberta

Oscillatoria (cianobactéria)
8 x 50 µm



Bacillus megaterium
1,5 x 4 µm

Escherichia coli
1 x 3 µm

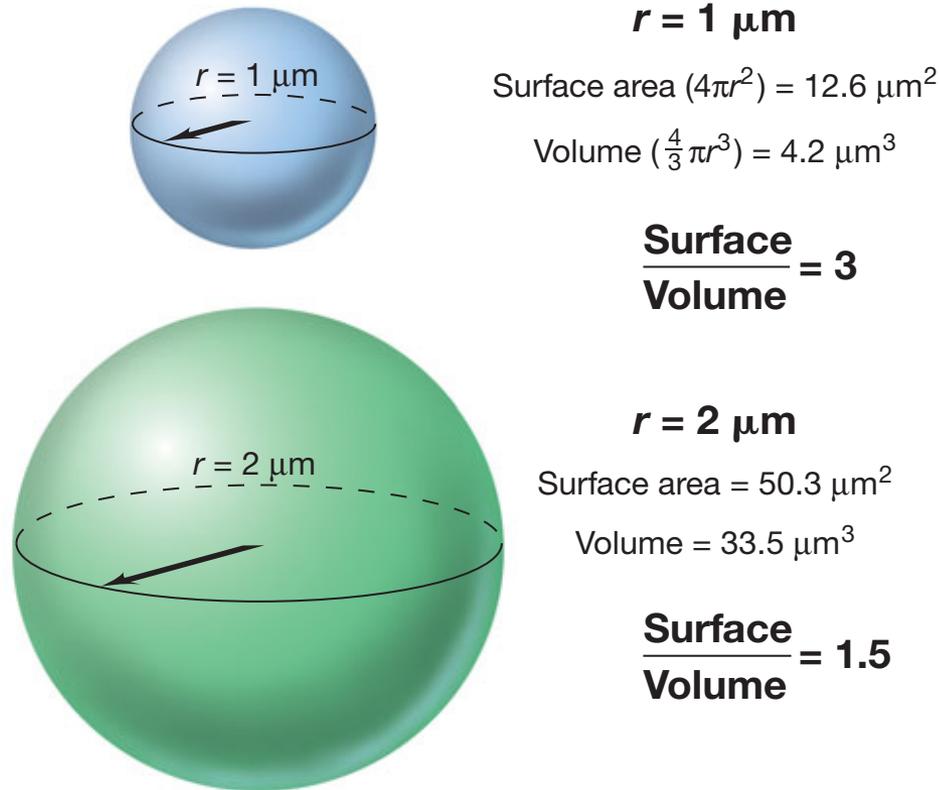
Streptococcus pneumoniae
0,8 µm de diâmetro

Haemophilus influenzae
0,25 x 1,2 µm

Porque bactérias tem taxa de mutação maior que células eucarióticas?

Isso é bom ou ruim?

As vantagens de ser pequeno



- Pequenas podem absorver mais nutrientes
 - Crescem mais rápido
 - Procariotos são haploides e os eucariotos são diploides (mutantes em haploide tem efeito imediato)
- Bactérias se adaptam mais rápido ao meio ambiente
 - Possuem grande diversidade metabólica

Figure 3.3 Surface area and volume relationships in cells. As a cell increases in size, its S/V ratio decreases.

A forma da bactéria está relacionada com seu metabolismo?

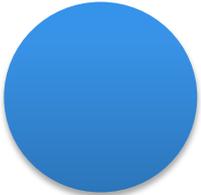
Com seu ambiente?

Com sua patogenicidade?

Quais são as formas das bactérias?

As formas comuns de Bactérias

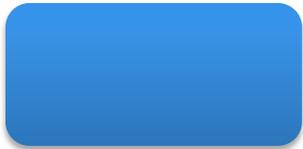
1- COCO = Esféricas



Variações:

- Ovais
- Alongadas
- Achatadas

2- bacilo = Cilíndrica



Cocobacio

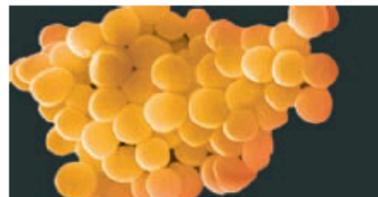
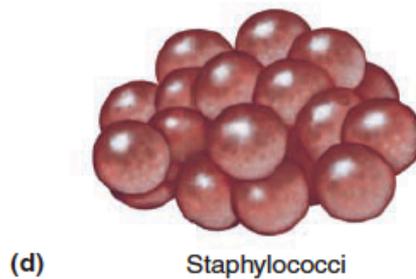
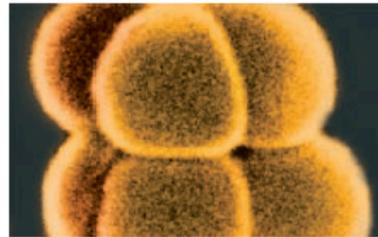
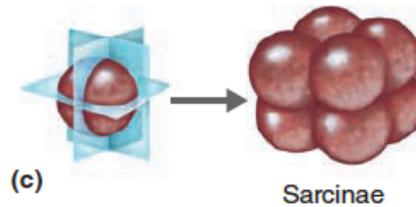
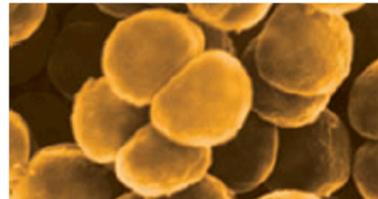
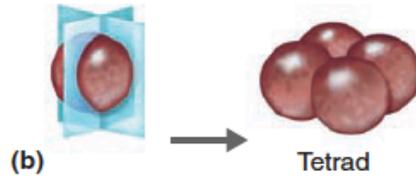
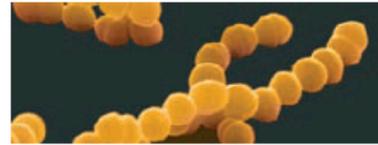
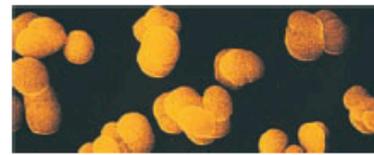
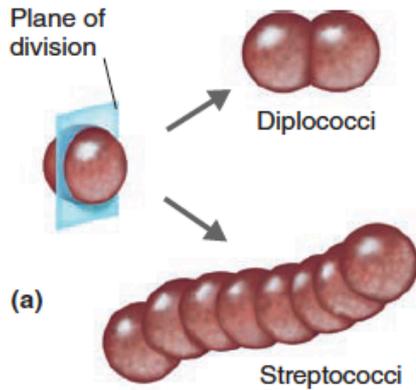
3- Espiral



A definição da forma pode ser imprecisa mas tende a ser característica de cada espécie

ARRANJO BACTERIANO

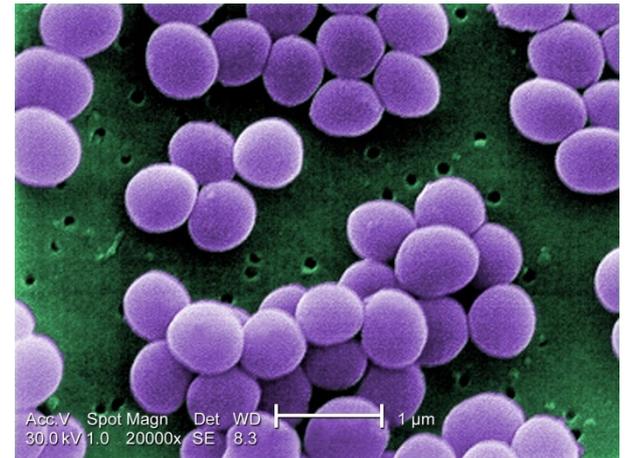
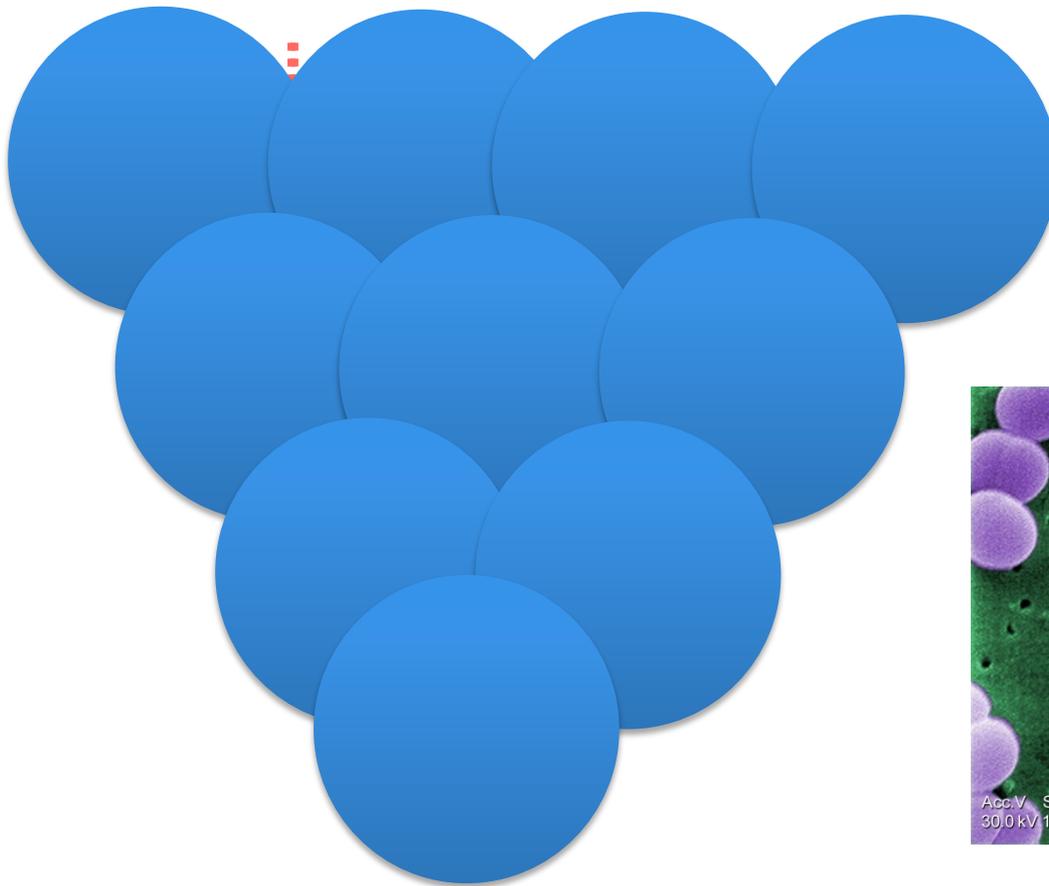
DICA: divisão só ocorre no menor eixo!!!!



ARRANJO BACTERIANO

DICA: divisão só ocorre no menor eixo!!!!

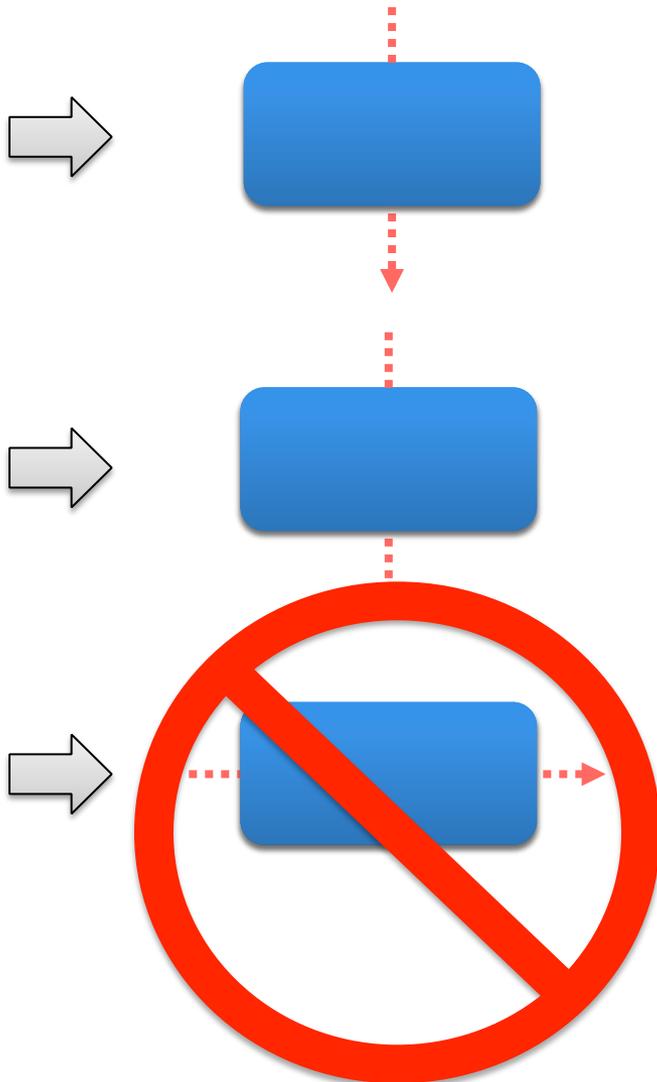
COCO



Cacho de uva = Estafilococo****

ARRANJO BACTERIANO

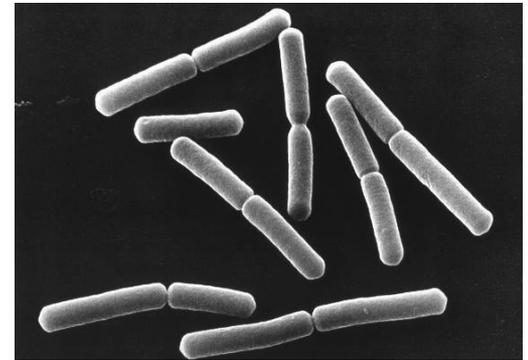
DICA: divisão só ocorre no menor eixo!!!!



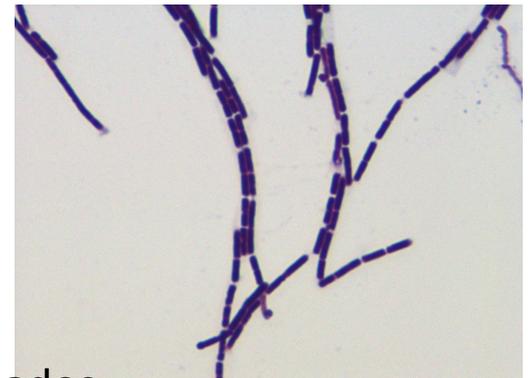
Bacilo
(isolado)



Diplobacilo



Estreptobacilo

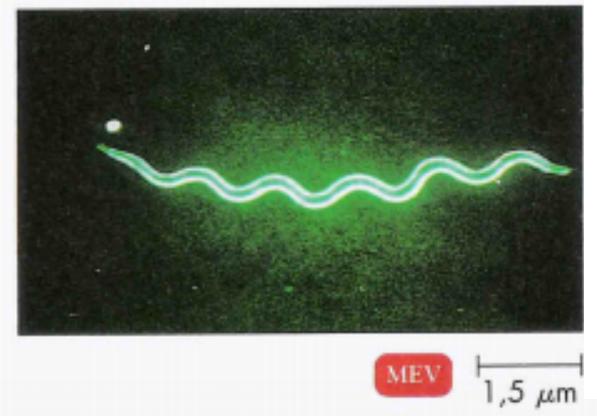


Agregação de bacilus alinhados

FORMA BACTERIANA



espiroqueta



- Mais espirais
- Flexível

espirilo



- Saca-rolha
- Rígido

vibrião



- Foice

FORMA/ARRANJO



A nomenclatura não deve ser confundida:

gênero vs. forma ou arranjo

Forma / Arranjo	Gênero
Diplococo	<i>Diplococcus</i> <i>Neisseria</i>
Estreptococo	<i>Streptococcus</i>
Bacilo	<i>Bacillus</i> <i>Escherichia</i>

FORMA/ARRANJO

WHY BACTERIA HAVE SHAPE 663

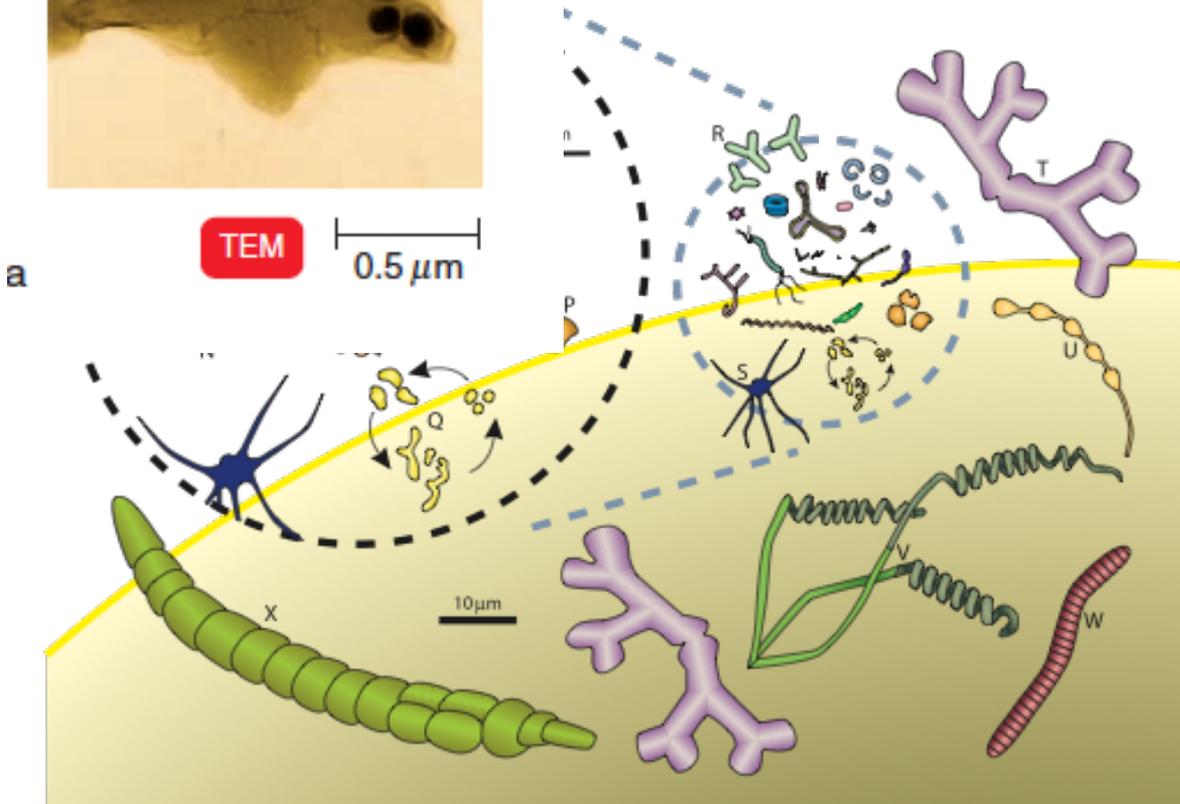
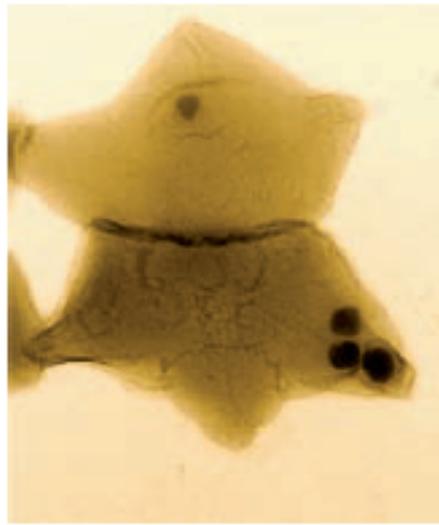


FIG. 1. Variety of prokaryotic shapes. This collage of different cells, unless otherwise stated, is constructed from descriptions and illustrations given by Starr et al. (313) or by Zinder and Dworkin (380). The cells are drawn to scale. Those in the dashed black circle are drawn relative to the 5- μm line. These same cells are included in smaller form in the dashed blue circle to compare their sizes to those of larger bacteria, which are drawn relative to the 10- μm line. (A) *Stella* strain IFAM1312 (380); (B) *Microcyclus* (a genus since renamed *Ancylobacter*) *flavus* (367); (C) *Bifidobacterium bifidum*; (D) *Clostridium coelestem*; (E) *Aquaspirillum autotrophicum*; (F) *Pyrodictum abyssi* (380); (G) *Escherichia coli*; (H) *Bifidobacterium* sp.; (I) transverse section of ratoon stunt-associated bacterium; (J) *Planctomyces* sp. (135); (K) *Nocardia opaca*; (L) Chain of ratoon stunt-associated bacteria; (M) *Caulobacter* sp. (380); (N) *Spirochaeta halophila*; (O) *Prostheco bacter fusciformis*; (P) *Methanogenium variaci*; (Q) *Arthrobacter globiformis* growth cycle; (R) gram-negative Alphaproteobacteria from marine sponges (240); (S) *Ancalomicrobium* sp. (380); (T) *Nevskia ramosa* (135); (U) *Rhodomicrobium vannielii*; (V) *Streptomyces* sp.; (W) *Caryophanon latum*; (X) *Caulothrix* sp. The yellow-lined background orb represents a slice of the giant bacterium *Thiomargarita namibiensis* (290), which is represented to scale with the other organisms.

- **Bacilos, cocos e espirilos** são tipos genéricos, **representativos** de um universo de variações. Exemplo: bacilos podem ser curtos, longos, finos, largos, etc.
- Esses três tipos são os **mais comuns** entre bactérias e arqueas mas existem espécies com células filamentosas, quadradas, triangulares, em forma de estrela, etc.

Young KD (2006) The Selective Value of Bacterial Shape. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 70(3):660. DOI: 10.1128/MMBR.00001-06.

Morfologia

Notas

- A **forma**, o **arranjo** e o **tamanho** de uma bactéria, embora profundamente afetadas pelo ambiente (temperatura, nutrientes, osmolaridade, agitação, etc.) são características **hereditárias** e
 - a maioria é **monomórfica** (uma forma)
 - mas algumas são **pleiomórficas** (muitas formas)
- **A morfologia das células evoluiu para otimizar a adaptação de uma bactéria ao seu ambiente**

A forma da bactéria está relacionada com seu metabolismo?

Não

Com seu ambiente?

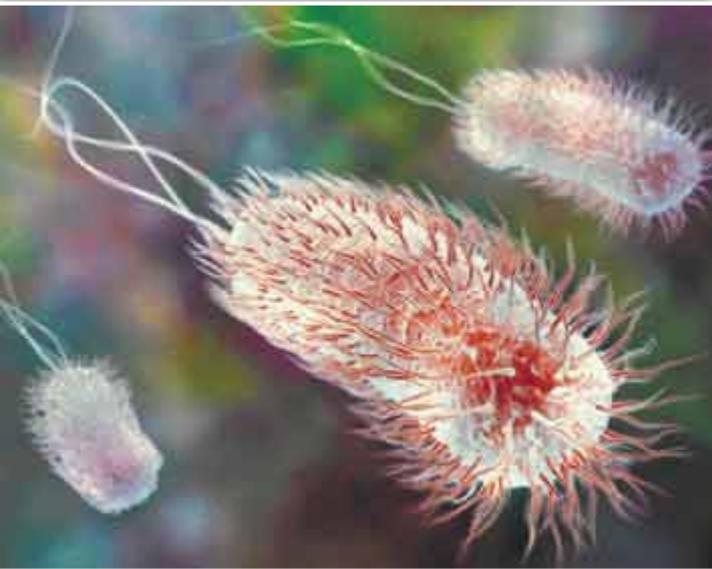
Sim, mas é um fator mais hereditário

Com sua patogenicidade?

Em alguns casos pode estar envolvido – *Leptospira interrogans*

Como as bactérias acumulam nutrientes, água, proteínas?

Como é seu compartimento celular??
Pois cada célula é uma fábrica.



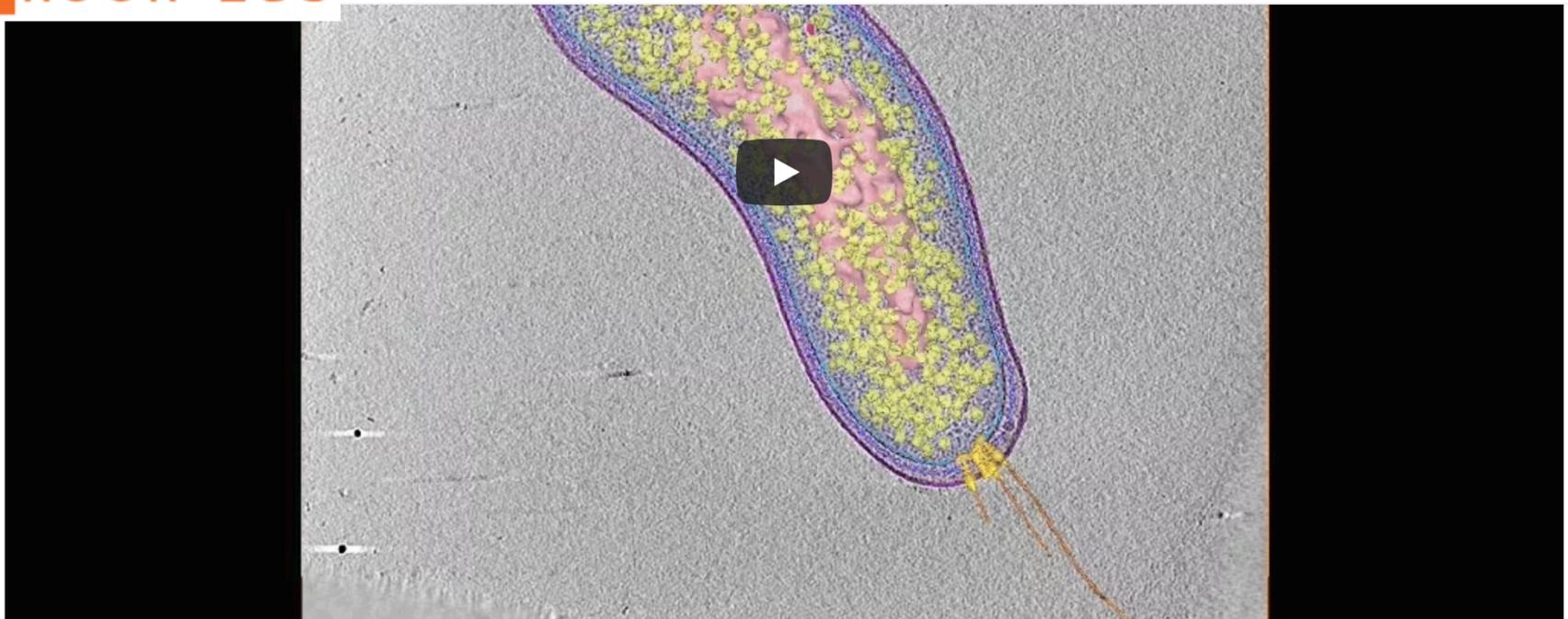
> Quais tipos de reações químicas ocorrem dentro da célula?

> Como as bactérias conseguem manter sua integridade (forma) populando diferentes ambientes, diferentes temperaturas, diferentes concentrações salinas e etc??



**Vamos olhar para o seu
envoluntário celular**

<https://jensenlab.caltech.edu/movies/>



ECT of *Bdellovibrio bacteriovorus*

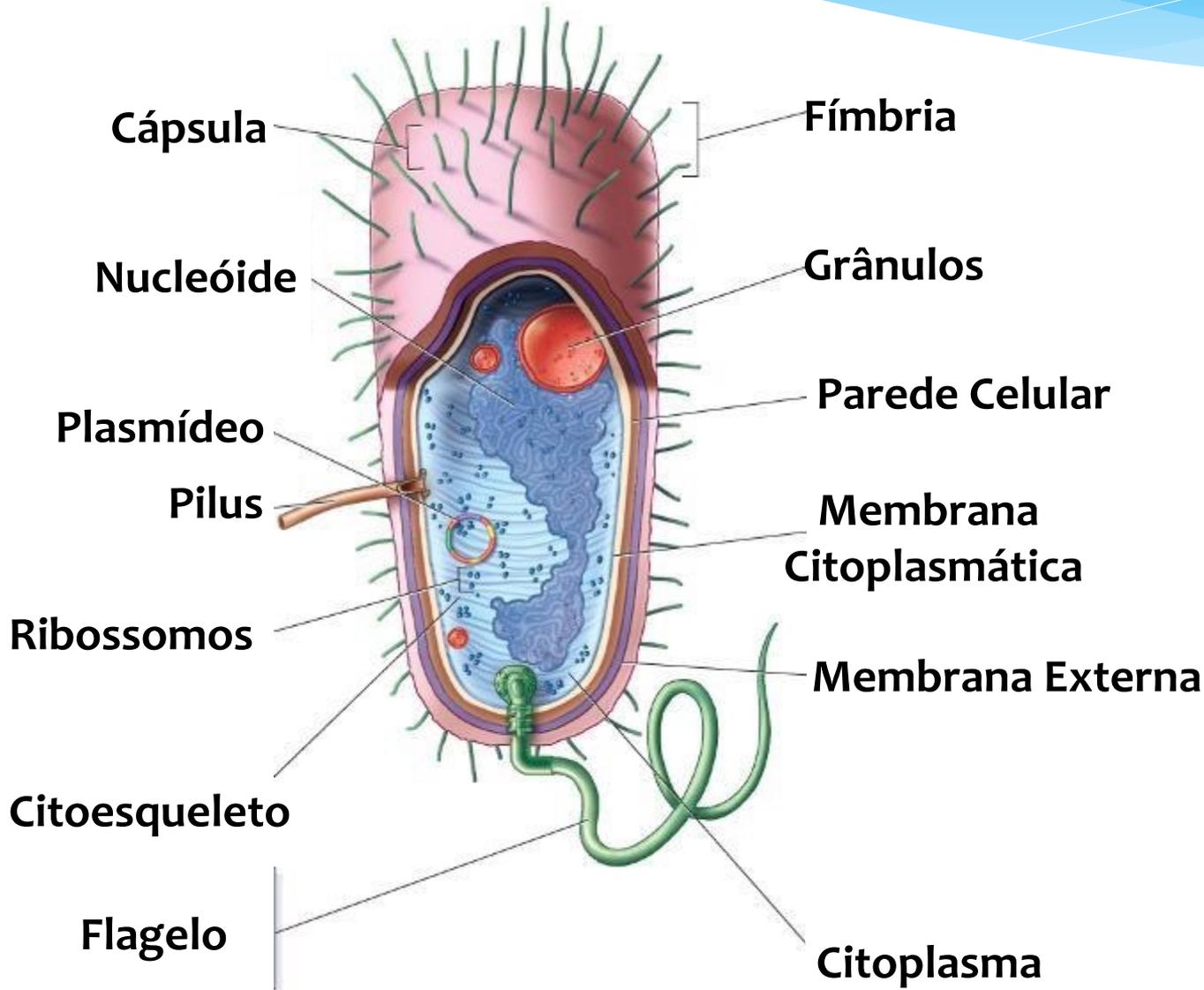
Electron cryotomography, 3D reconstruction, and segmentation of an intact bacterial cell highlighting cellular features and showing how, in a growing number of cases, atomic models can now be fit into their context within the cell

From the Publication:

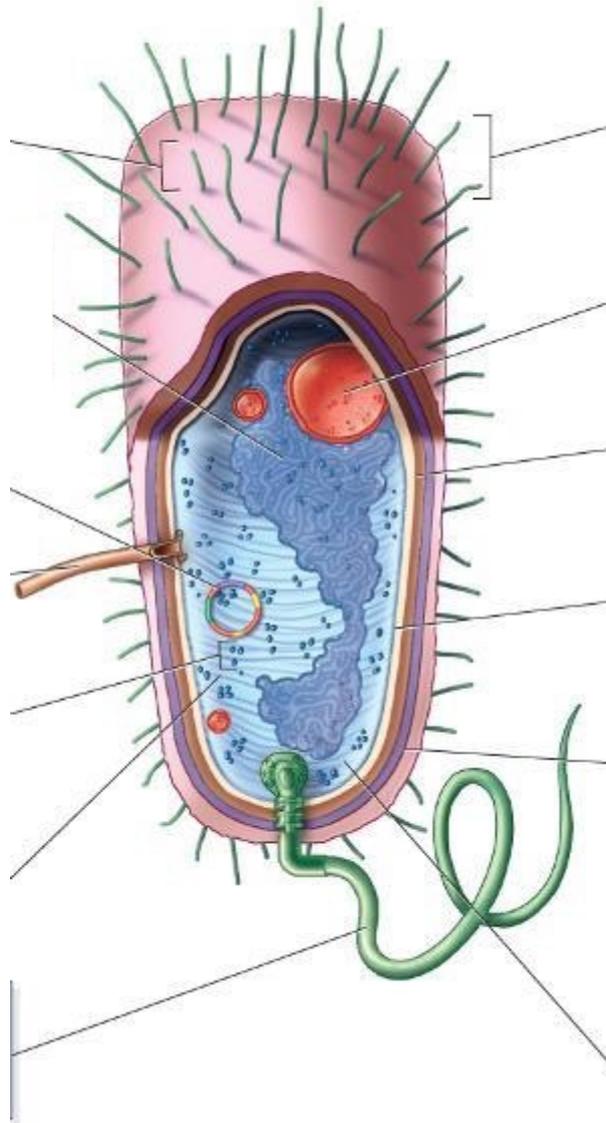
Oikonomou, C.M., and Jensen, G.J. (2016). A new view into prokaryotic cell biology from electron cryotomography. *Nature Reviews Microbiology*.

<http://www.nature.com/nrmicro/journal/vaop/ncurrent/full/nrmicro.2016.7.html>

Componentes Celulares



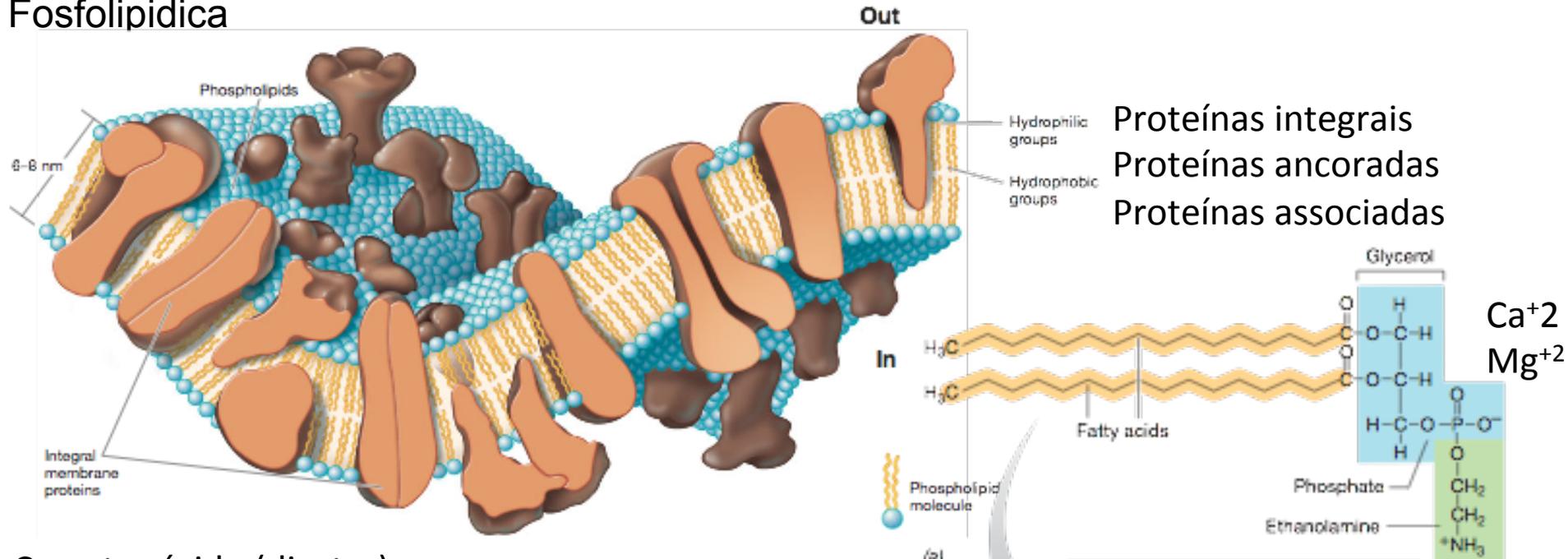
Membrana Citoplasmática ou Membrana Interna



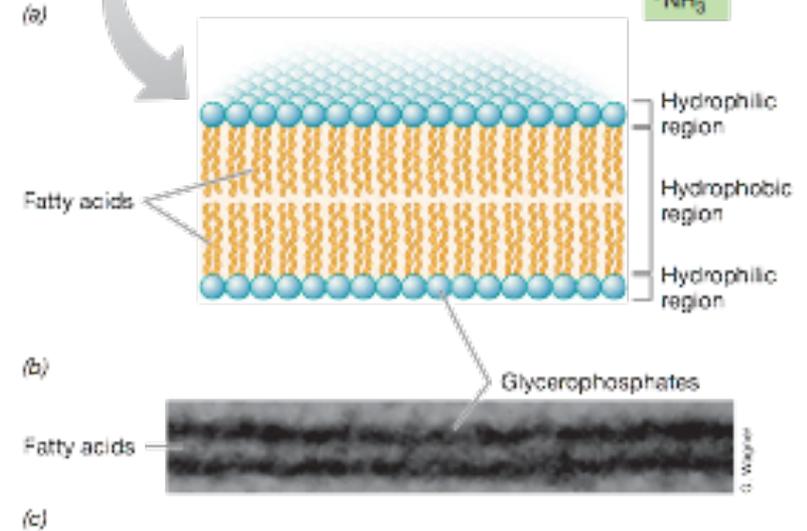
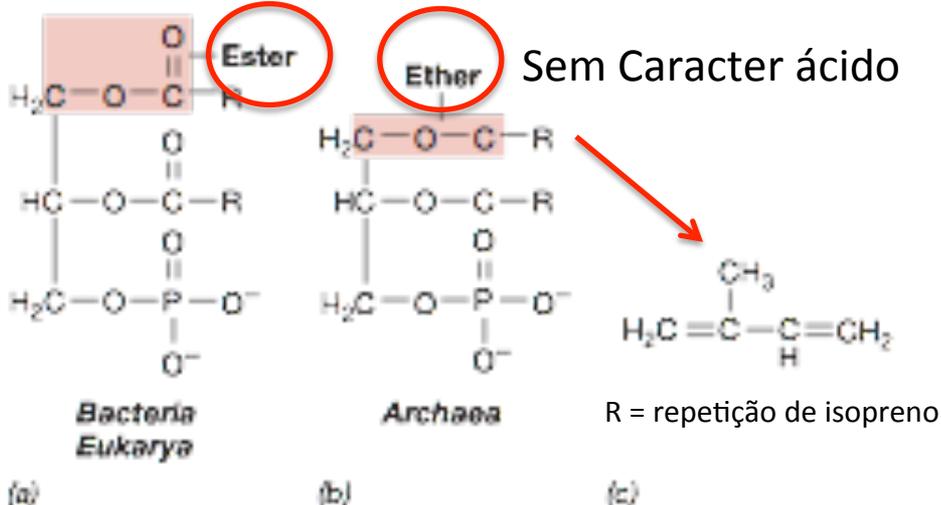
Membrana Citoplasmática

MEMBRANA CITOPLASMÁTICA

Principal componente da membrana plasmática: fosfolipídeos – Bicamada Fosfolipídica



Caracter ácido (diéster)



MI

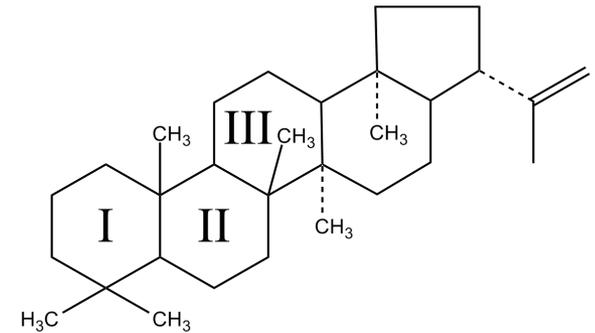
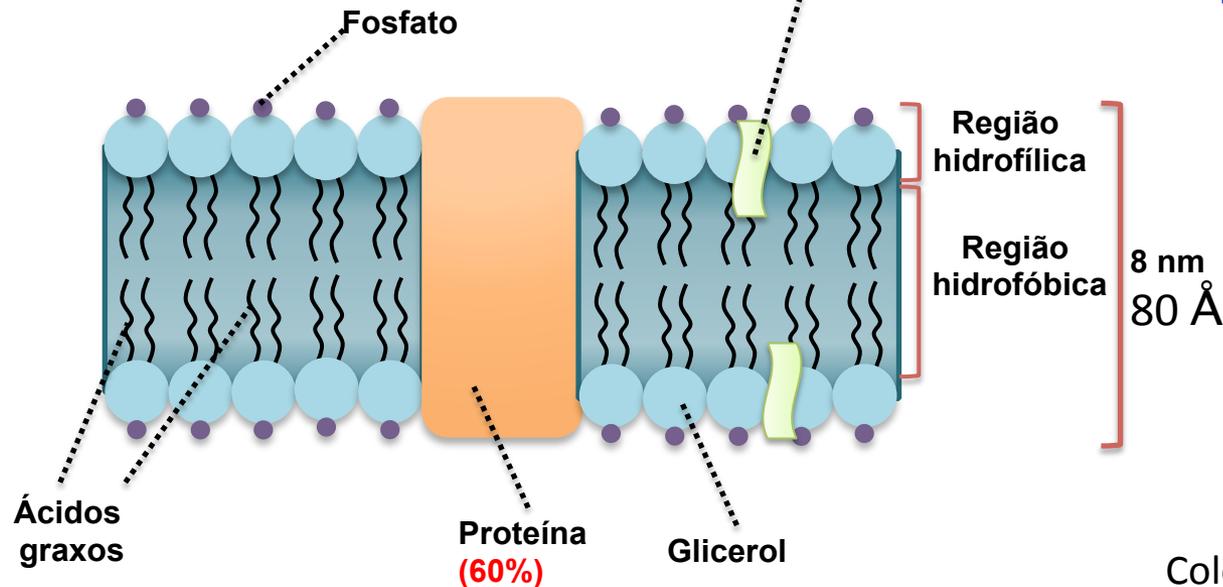
- Cria uma barreira hidrofóbica
- Transporte de íons e compostos é via porinas
- MI e ME é rica em proteínas sensoras

MEMBRANA CITOPLASMÁTICA

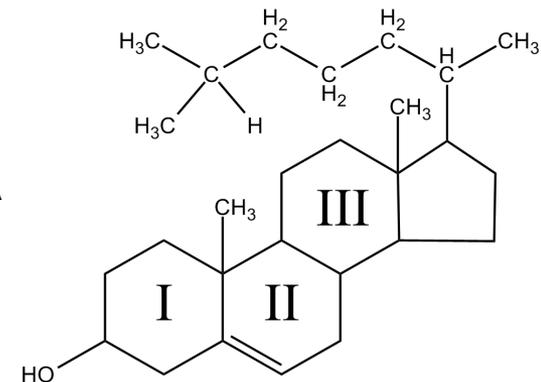
• Estrutura e Composição:

- Delgada → 8 nm;
- Vital → integridade celular;
- meio intracelular ↔ meio extracelular

Bicamada fosfolipídica (40%)



- Presentes em várias bactérias
- Regulam a permeabilidade da membrana
- **Rigidez**



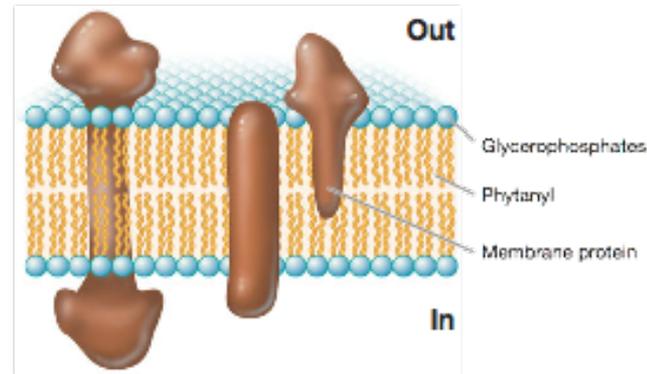
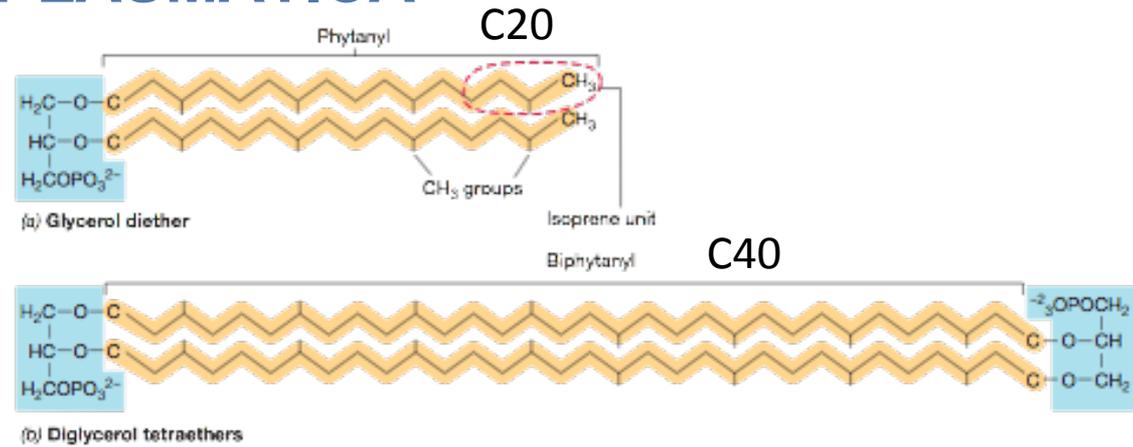
Colesterol: composto análogo presente na membrana citoplasmática de eucariotos
- Micoplasma tem colesterol

MEMBRANA CITOPLASMÁTICA

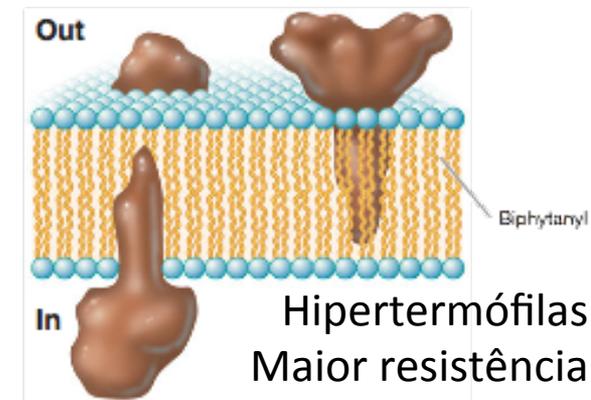
Arquea

- **Composição**
 - Fitanyl
 - Bifitanyl
 - Crenarqueol

- Em alguns grupos, a membrana citoplasmática é composta de uma **monocamada!** ou uma mistura de de mono e bi.



(d) Lipid bilayer



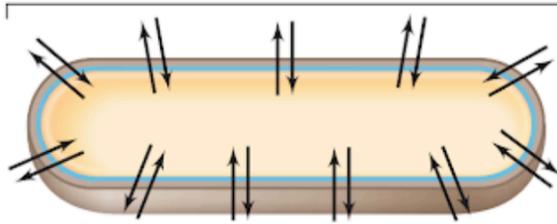
(e) Lipid monolayer

Figure 3.7 Major lipids of *Archaea* and the architecture of archaeal membranes. (a, b) Note that the hydrocarbon of the lipid is attached to the glycerol by an ether linkage in both cases. The hydrocarbon is phytanyl (C₂₀) in part a and biphytanyl (C₄₀) in part b. (c) A major lipid of *Crenarchaeota* is crenarchaeol, a lipid containing 5- and 6-carbon rings. (d, e) Membrane structure in *Archaea* may be bilayer or monolayer (or a mix of both).

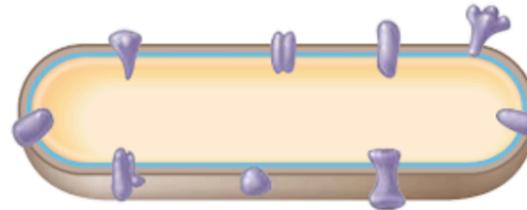
MEMBRANA CITOPLASMÁTICA

Quais são suas **FUNÇÕES**:

Funções da membrana citoplasmática

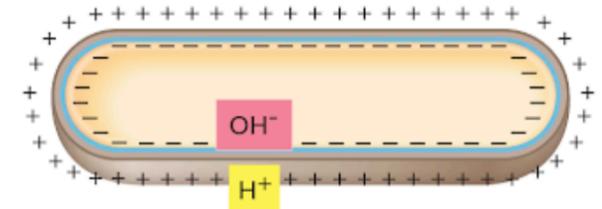


(a) **Barreira de permeabilidade:**
impede o extravasamento e atua como uma porta para o transporte de nutrientes para dentro e fora da célula.



(b) **Ancoragem de proteínas:**
sítio de muitas proteínas envolvidas no transporte, bioenergética e quimiotaxia.

FPM é usada transporte
Motilidade, biosíntese

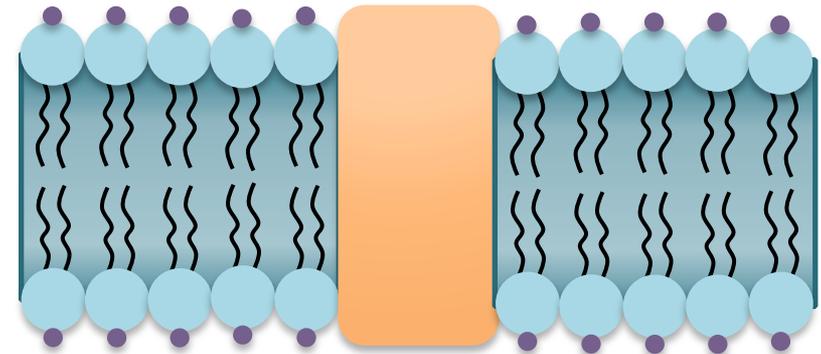


(c) **Conservação de energia:**
sítio de geração e dissipação da força próton-motiva.

1. BARREIRA DE PERMEABILIDADE:

- Hidrofobicidade → extravasamento;
 - Citoplasma: solução aquosa (sais, açúcares, aminoácidos, vitaminas e etc.);
- Moléculas hidrofóbicas → difusão simples;
- Moléculas carregadas ou hidrofílicas → NÃO ATRAVESSAM !!!
- Água → atravessa → acelerado (aquaporinas);

Extracelular



Intracelular

Tem que ter Mecanismos
para acumular nutrientes
contra o gradiente!
Vc sabe algum?

MEMBRANA CITOPLASMÁTICA

TIPOS DE SISTEMAS TRANSPORTE

1. Transporte simples – uma proteína TM

- Usa energia do gradiente de prótons
- Sem alteração química

2. Translocação de grupo - várias proteínas TM

- Gasto de energia
- Molécula é modificada por fosforilação
- Exemplos: Glicose, manose e frutose;

3. Sistema ABC (ATP Binding Cassete)

1. ATP é a fonte de energia
2. Sem alteração química (alócrito)
3. Alta afinidade pelo ligante

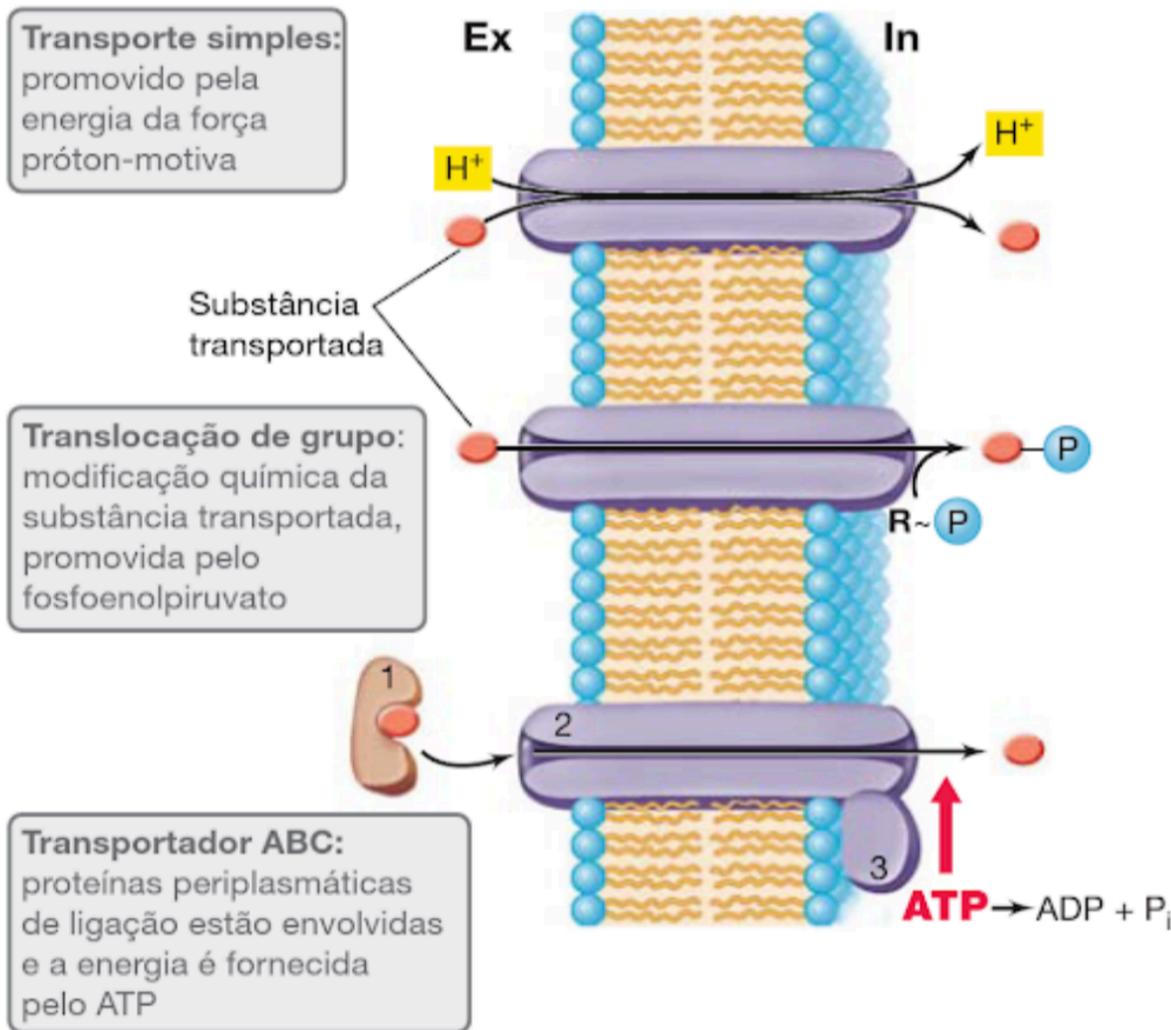
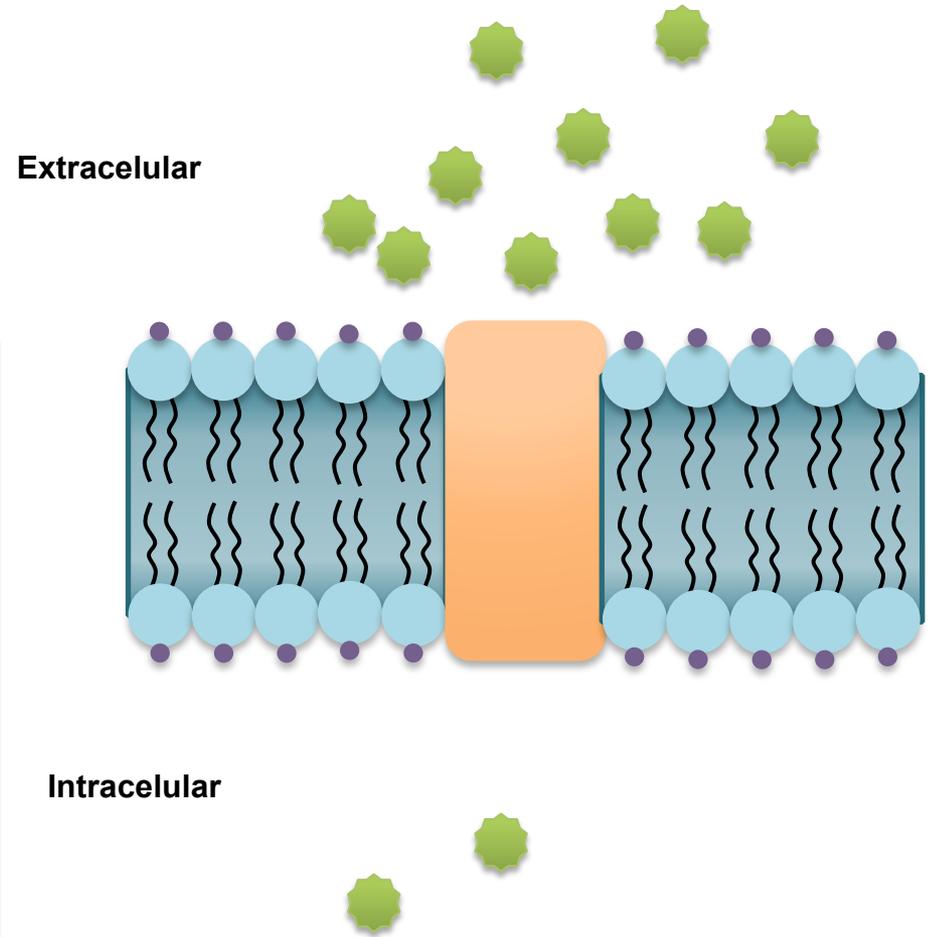
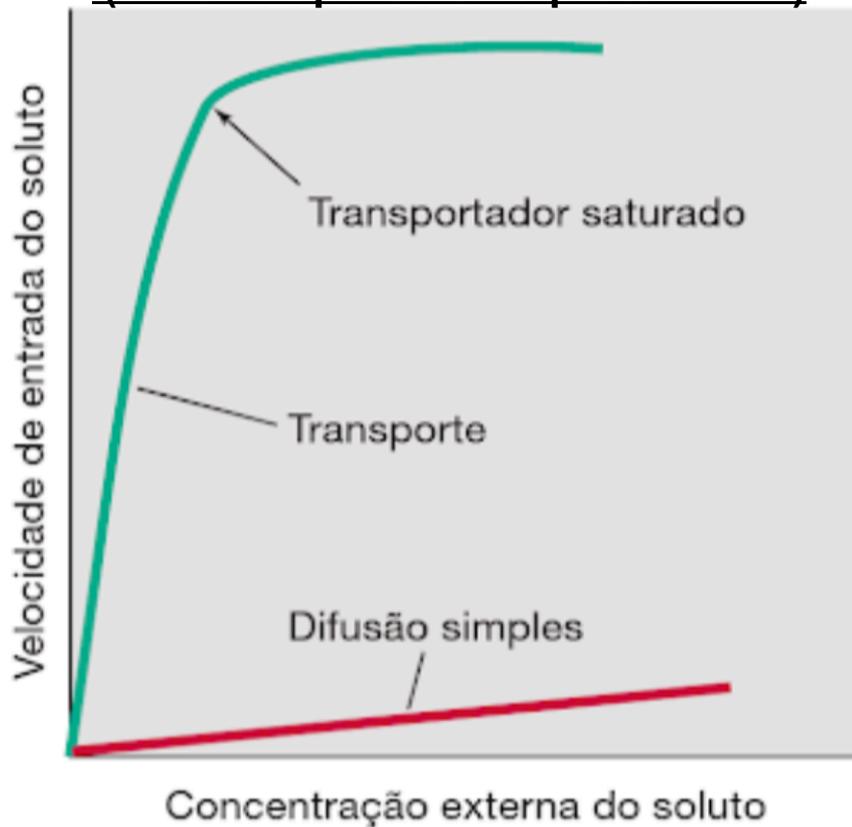


Figura 2.20 As três classes de sistemas transportadores. Observe como os transportadores simples e o sistema ABC transportam substâncias sem modificá-las quimicamente, enquanto a translocação de grupo resulta na modificação química (neste caso, a fosforilação) da substância transportada.

MEMBRANA CITOPLASMÁTICA

3. TRANSPORTE:

Transporte simples
(envolve apenas uma proteína TM)



MEMBRANA CITOPLASMÁTICA

Sistemas de transporte

Alta especificidade: sistemas de transporte são, em geral, específicos, ou seja, caracterizado pela alta afinidade por um único tipo ou classe de moléculas

Alvos	Denominação	Descrição
1	Uniportador	transportador especializado em um único composto
2	Simportador	Só há transporte quando dois compostos são carregados simultaneamente na mesma direção
2	Antiportador	Exige o transporte simultâneo de pelo menos dois compostos em direções opostas

Aspectos energéticos

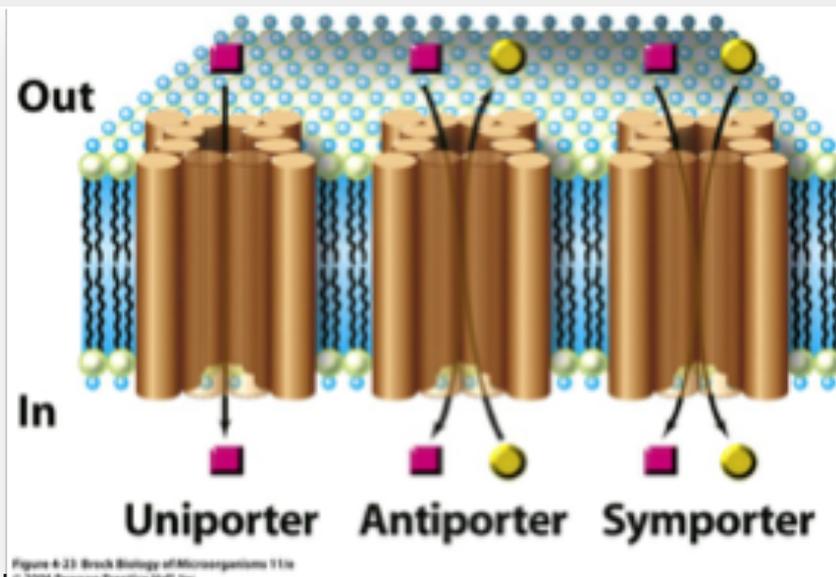
TRANSPORTE PASSIVO

Difusão simples

Sem gasto de energia
Gradiente de concentração
Exemplos: oxigênio, dióxido de carbono

TRANSPORTE ATIVO

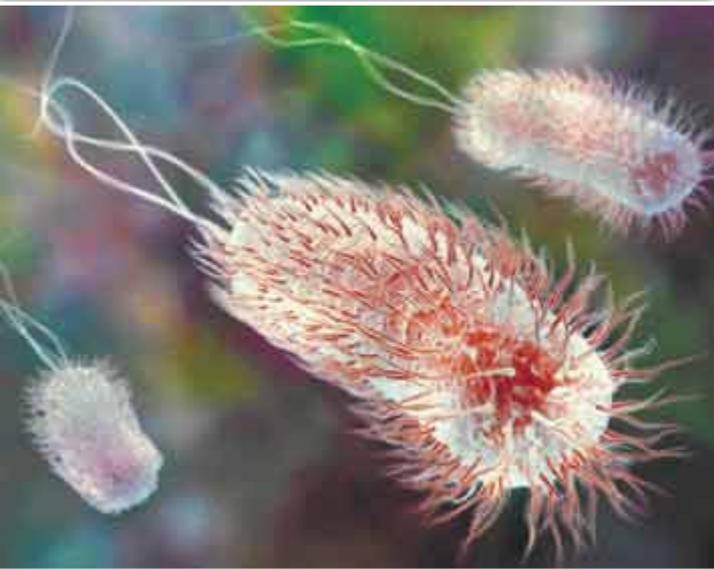
Gasto de energia
Gradiente de concentração (contra) → 1000 vezes!!!



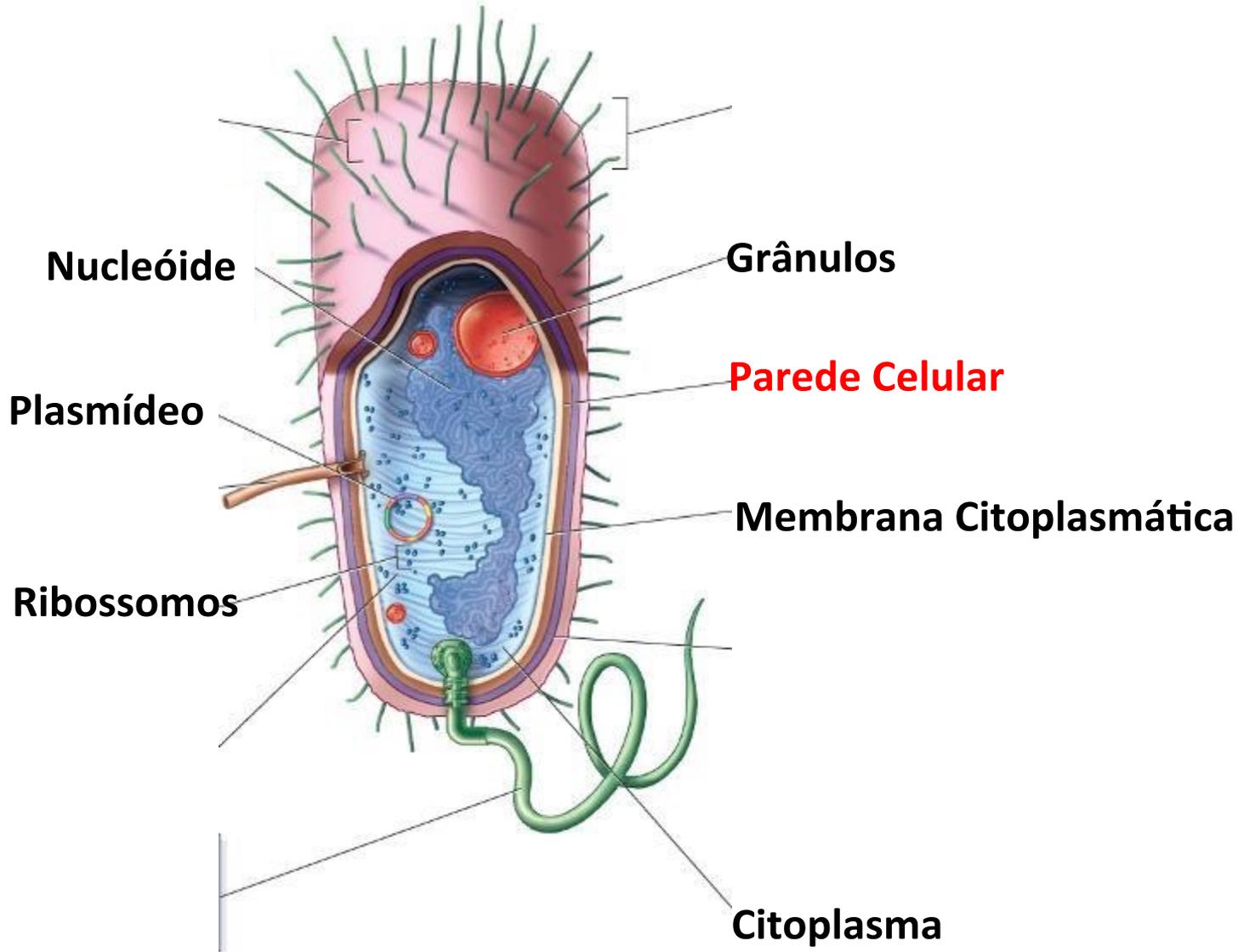
Questões

- Como a lac permease funciona?
- Bactérias G+ tem transportadores ABC?
- Qual a principal característica das proteínas periplasmáticas ligadores do sistema ABC para os organismos que vivem em ambientes pobres em nutrientes?

**A membrana citoplasmática
é suficiente para manter a
integridade da célula
procariótica?**



Parede Celular



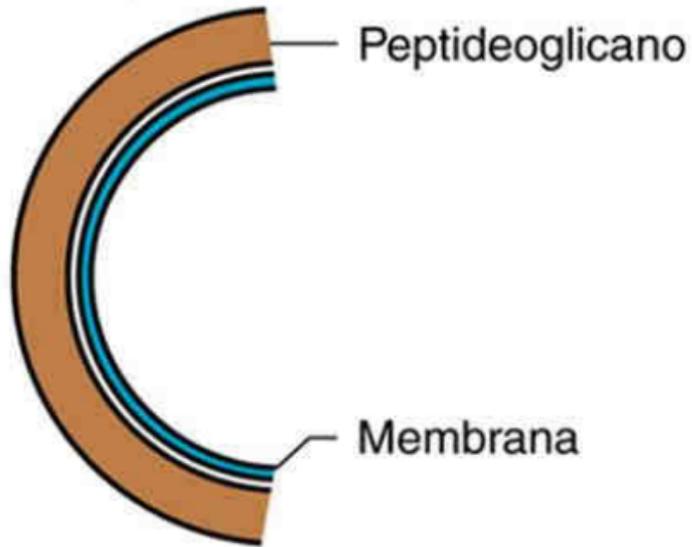
Cell wall

The plant cell wall is a complex matrix of linked polysaccharides such as cellulose and pectin, forming a thick semi-permeable rigid barrier outside the plasma membrane. It physically protects and constrains the cell, and its exact composition is highly variable depending on the species.

PAREDE CELULAR

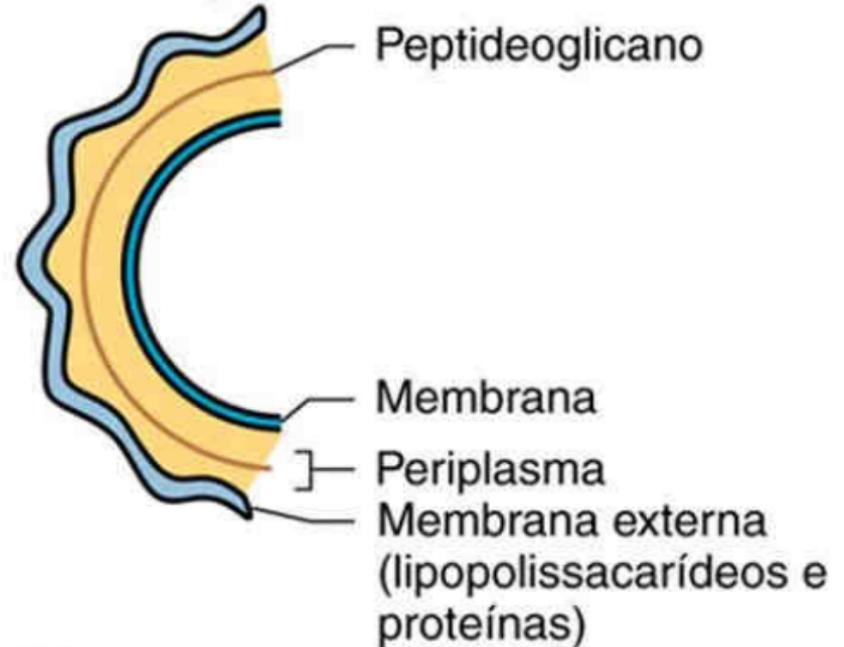
tipos principais

Gram-positivo



(a)

Gram-negativo



(b)

Membrana citoplasmática + Parede celular = **Envoltório bacteriano**

GRAM POSITIVAS

PAREDE CELULAR

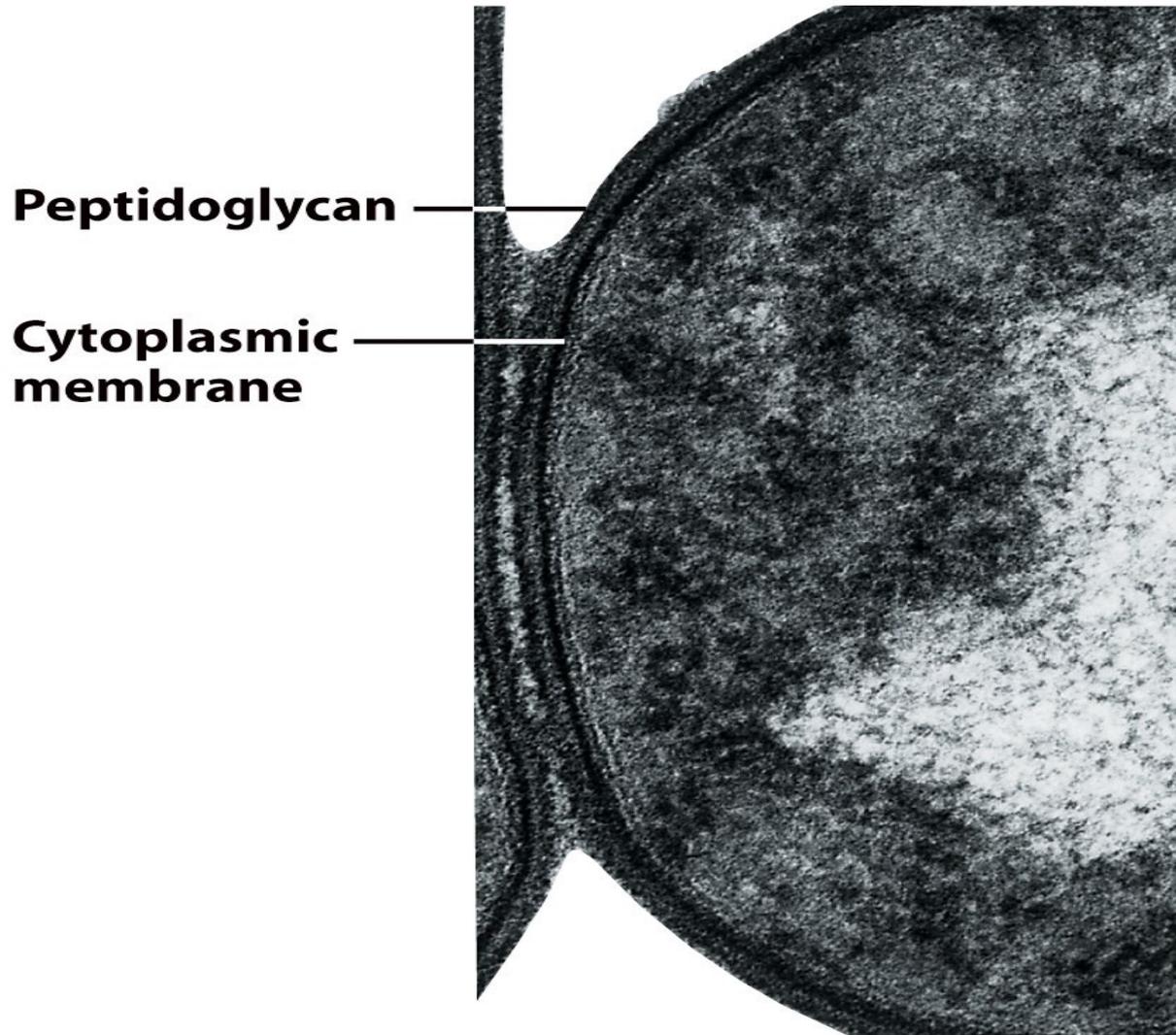


Figure 4-27c Brock Biology of Microorganisms 11/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

GRAM POSITIVAS

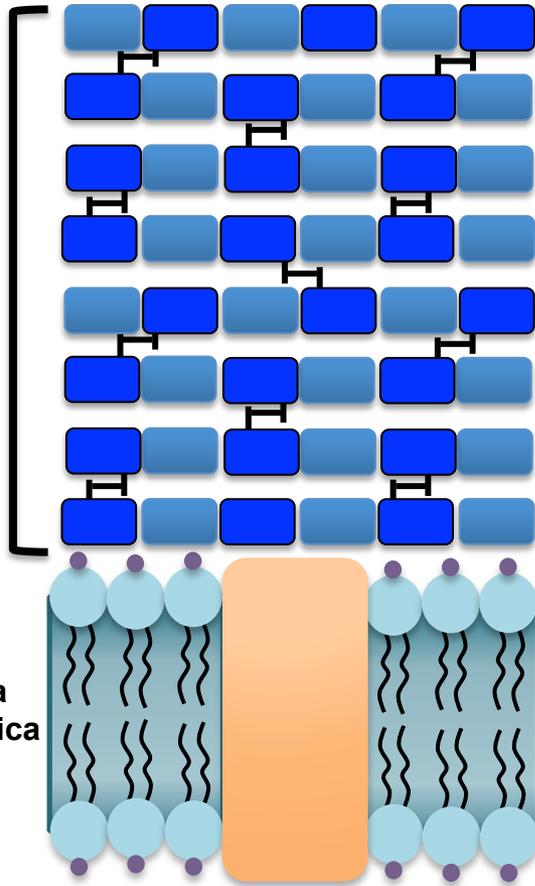
PAREDE CELULAR

Extracelular

Parede Celular

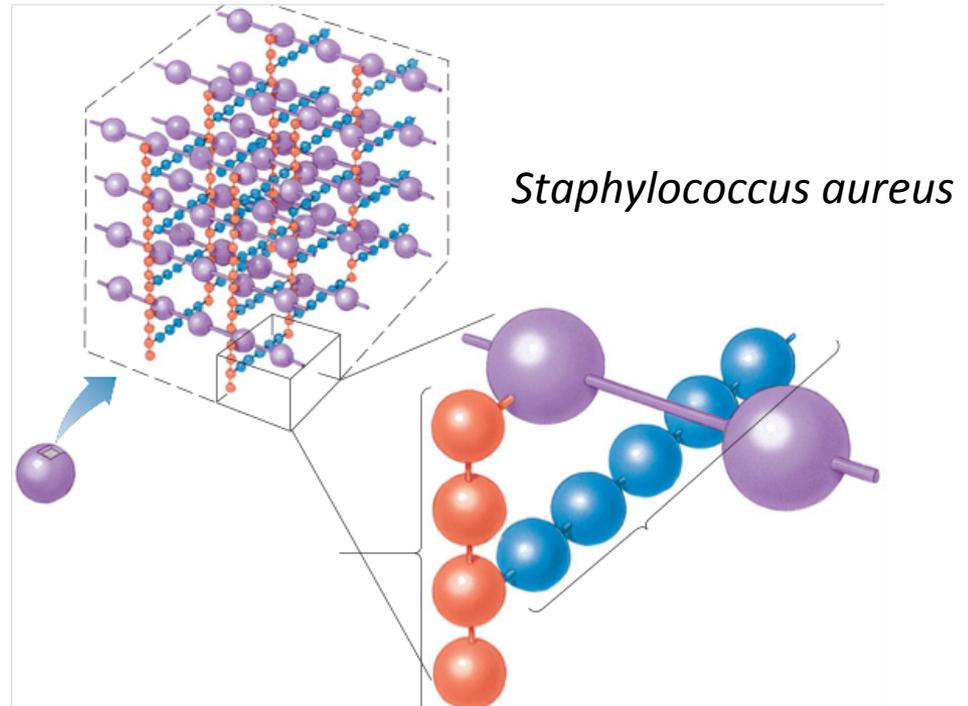
Membrana Citoplasmática

Intracelular



COMPOSIÇÃO E CARACTERÍSTICAS

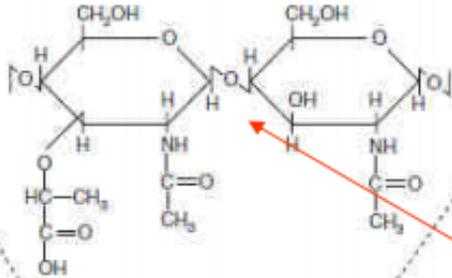
- Composição relativamente simples;
- Peptideoglicano ou mureína (70% - 90%)
- **Espessa**;



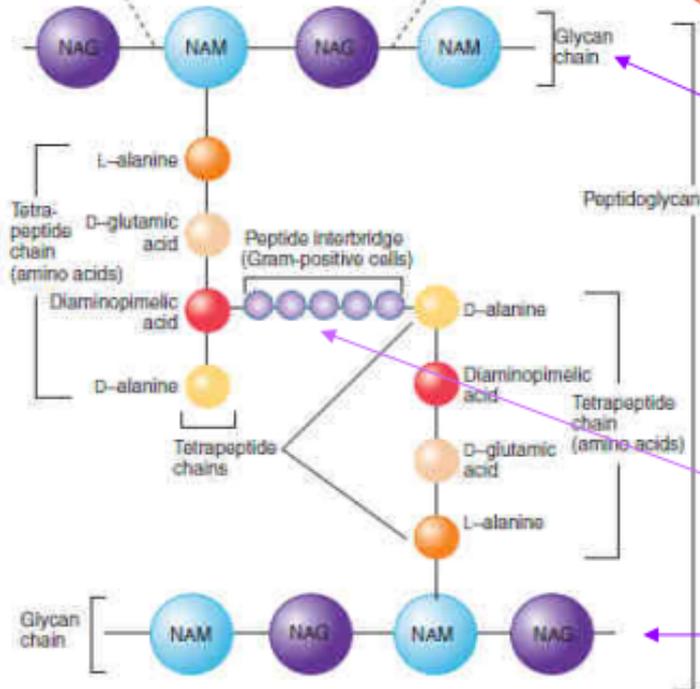
PAREDE CELULAR

N-acetilmurâmico
(NAM)

N-acetilglicosamina
(NAG)



- Peptideoglicano (ou mureína) – principal componente da camada rígida da parede (só encontrado em *Bacteria*).
- Unidades repetidas de um dissacarídeo unido por polipeptídeos.



Ligação β 1,4 \rightarrow sensível à lisozima!!

Cadeia de glicano (ligações covalentes)

Interligadas através da ligação cruzada de suas cadeias de tetrapeptídeos para formar peptideoglicano

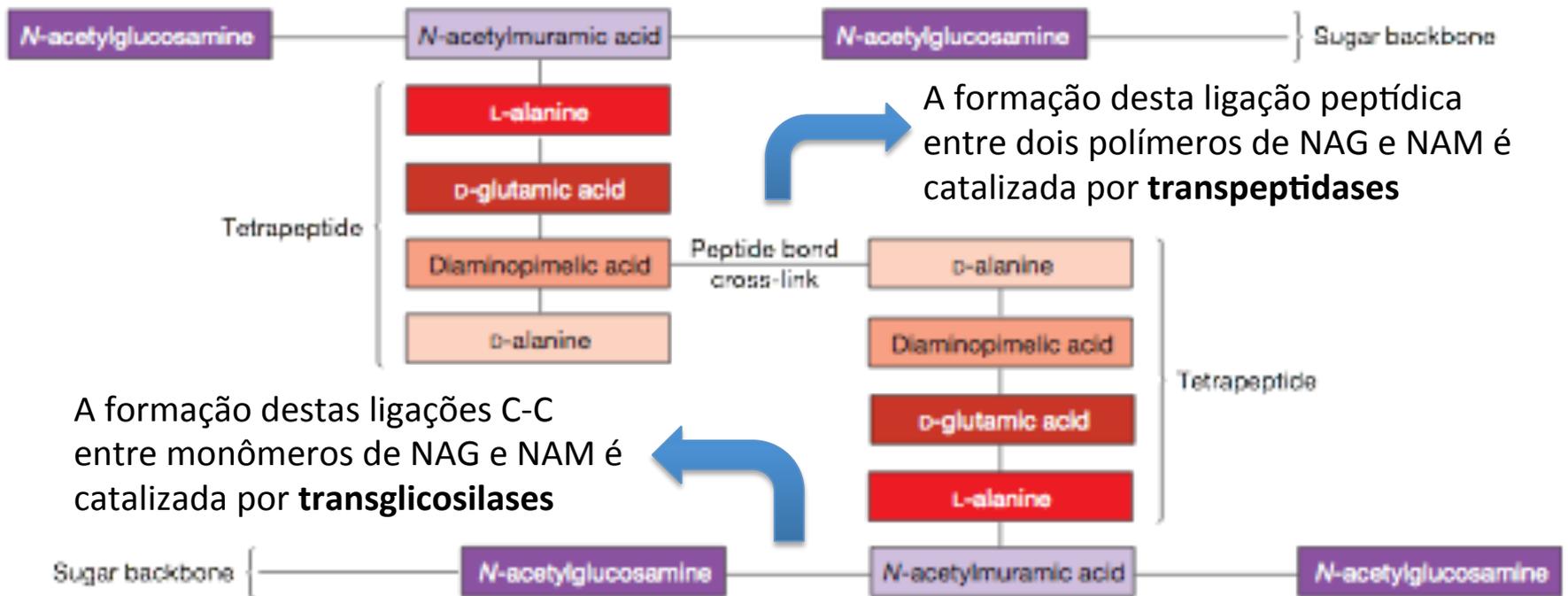
Ponte cruzada de peptídeos

Cadeia adjacente de glicano

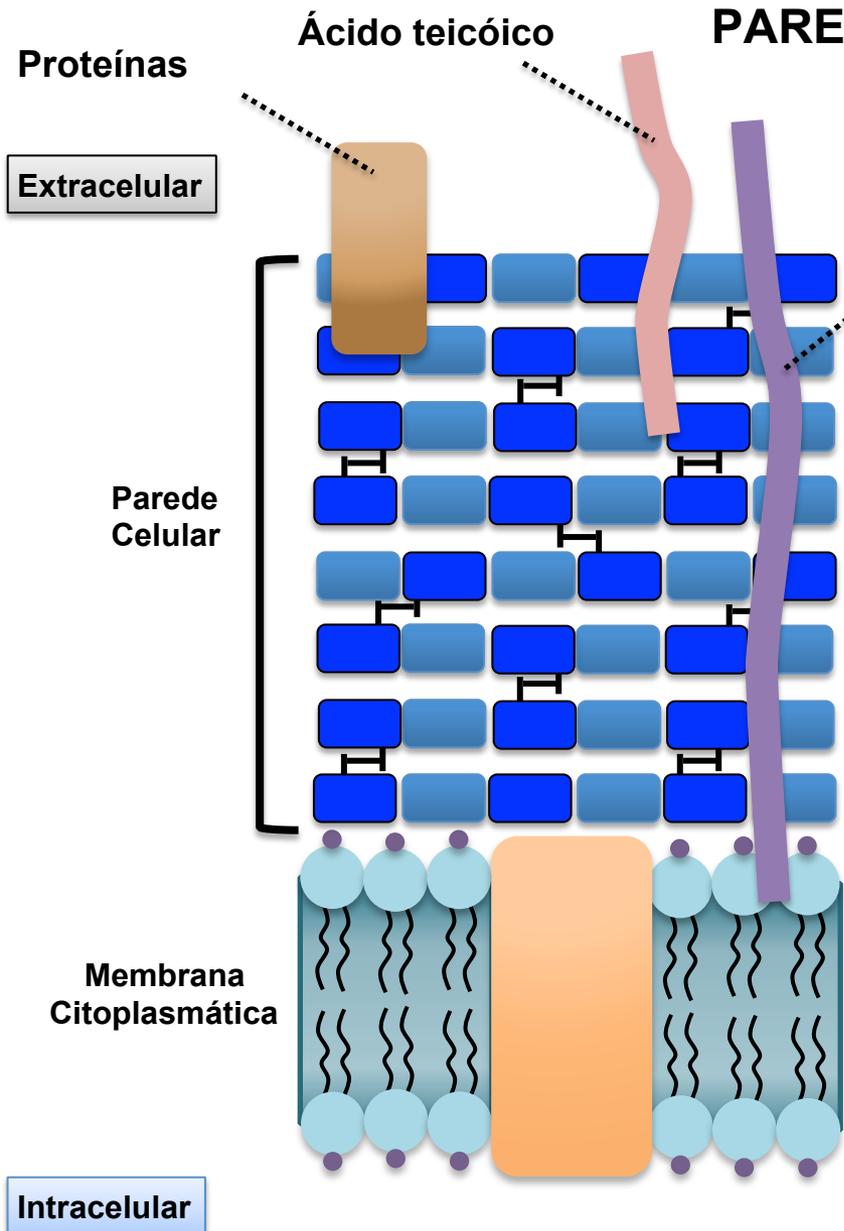
Existe diversidade

GRAM NEGATIVAS

PAREDE CELULAR



GRAM POSITIVAS



Atributos exclusivos de Gram positivas:

Glicerol fosfato ou ribitol fosfato

Membrana citoplasmática → Ác. Lipoteicóicos;

Parede celular → Ácidos teicóicos;

Função:

1. Facilitar e regular entrada e saída de cátions;
2. Receptor para bacteriófagos;
3. Ligação à receptores no hospedeiro;

Útil na identificação sorológica!!!!

QUAL É A PAREDE CELULAR DE ARCHAEAE?

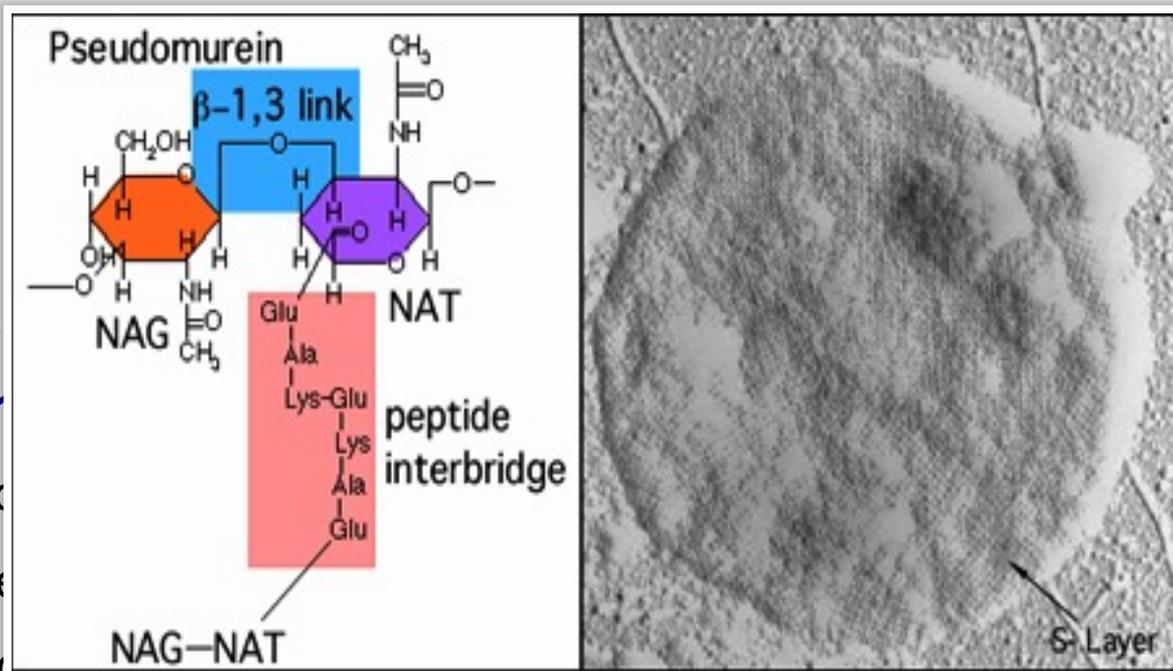
Archaea

Variedade de paredes celulares:

- Pseudopeptideoglicano
 - N-acetilglicosamina e ácido
 - Ligações glicosídicas (β -1,3)
 - Sem D-aminoácidos (todas as archaeae)

Algumas não possuem pseudopeptidoglicano

- Camada paracristalina (camada de glicoproteína) – possui simetria.
- Algumas archaeae apenas possui camada-S (forte)
- Polissacarídeos;
- Glicoproteínas;
- Proteínas.



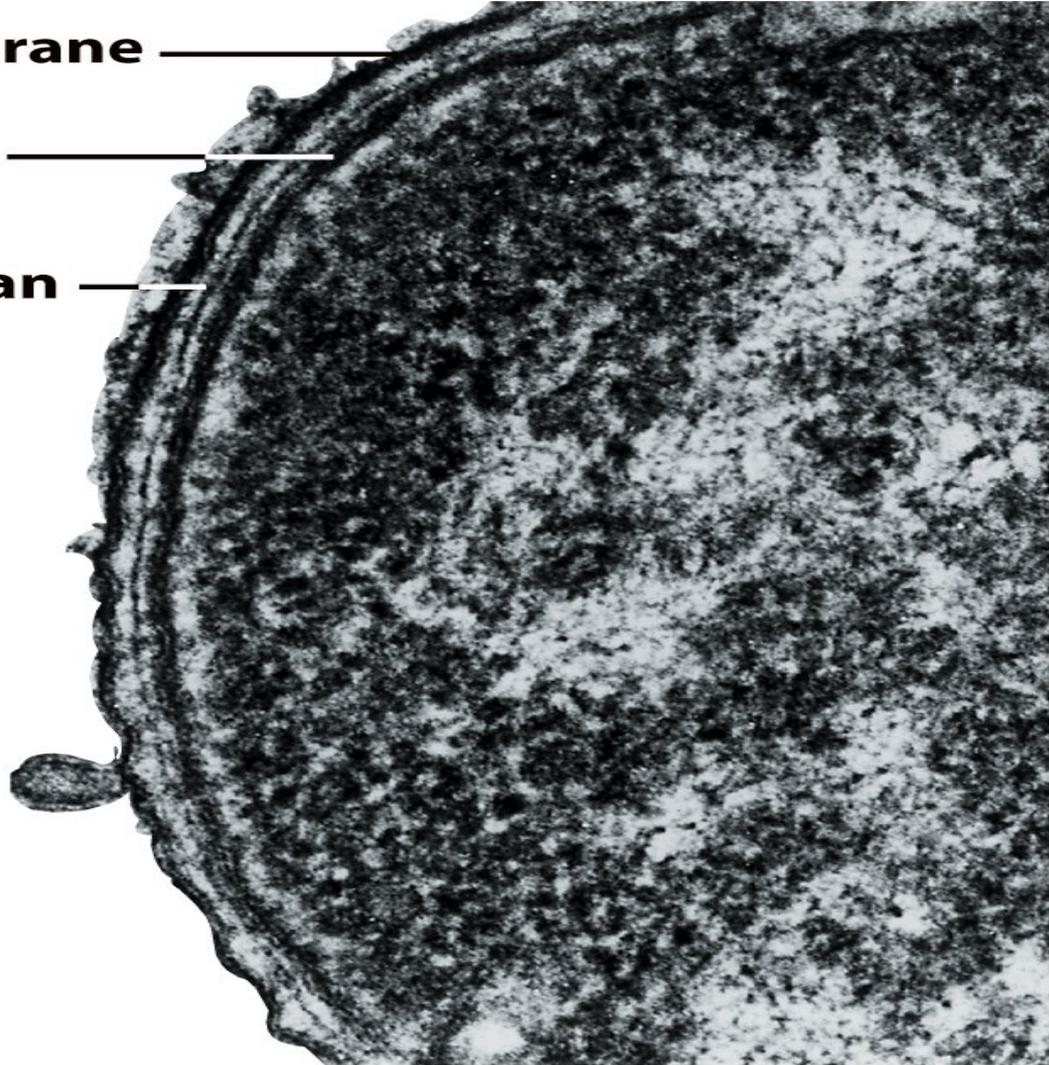
GRAM NEGATIVAS

PAREDE CELULAR

Outer membrane —

Cytoplasmic membrane —

Peptidoglycan —



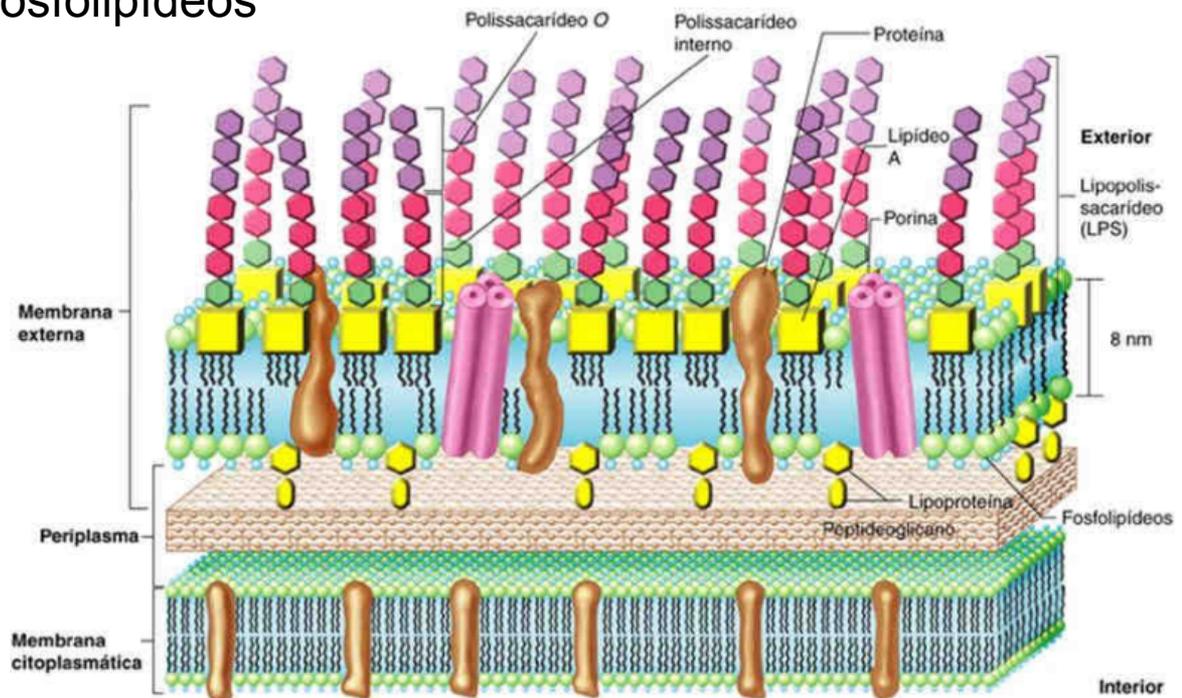
T. D. Brock and S. F. Conti

GRAM NEGATIVAS

Envoltório CELULAR

Mais **complexa**: composta por **três** camadas

- **Membrana externa**: contém lipopolissacarídeo (LPS)
- **Periplasma**: peptidoglicano
- **Membrana interna**: fosfolipídeos

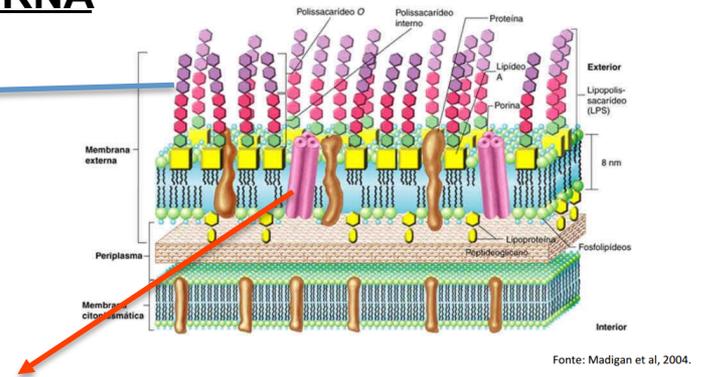


GRAM NEGATIVAS

MEMBRANA EXTERNA

LPS ou ENDOTOXINA

- **Composição**
 - Lipídeo A
 - Polissacarídeo interno
 - Polissacarídeo O
- **Relevância clínica**
 - O lipídeo A é **tóxico!!!**
 - Pirogênica
 - **Ativação do sistema imune**
 - Usada na sorotipagem



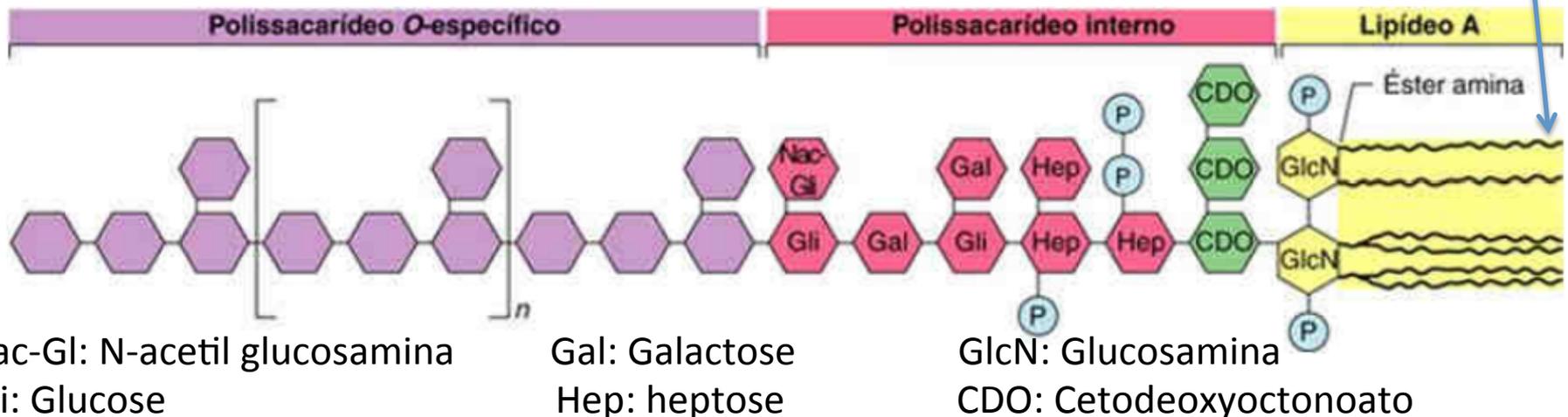
Proteínas envolvidas em transporte

Porinas específicas e não específicas

Proteínas de membrana externa (OMPs)

Ácido Graxo

Com diferentes quantidade de C



- O LPS de bactéria G- não patogênica tem o LPS tóxico?
- Quais são as principais diferenças entre as MI de bactéria e as de arquea?
- Quais são as principais diferenças entre a parede celular de G+, G- e arqueas?

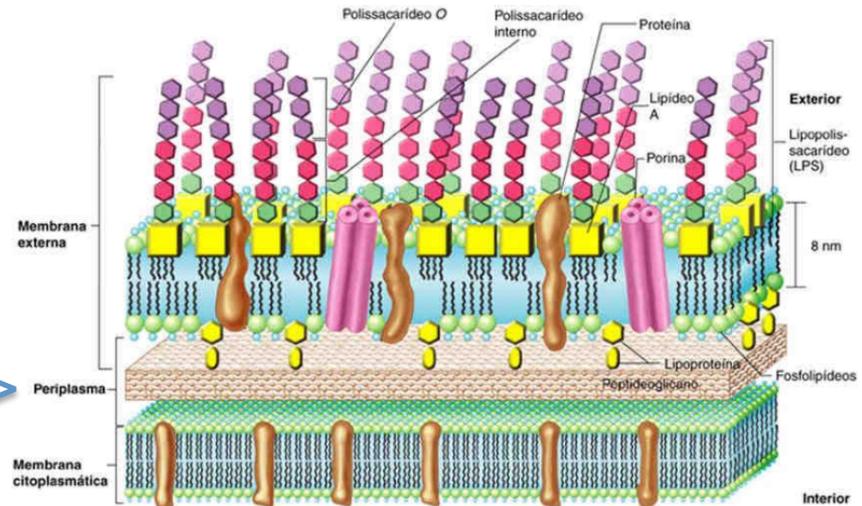
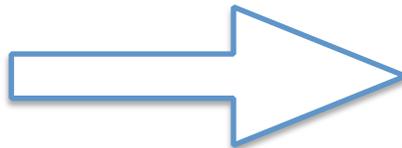
GRAM NEGATIVAS

PAREDE CELULAR

PERIPLASMA OU ESPAÇO PERIPLASMÁTICO

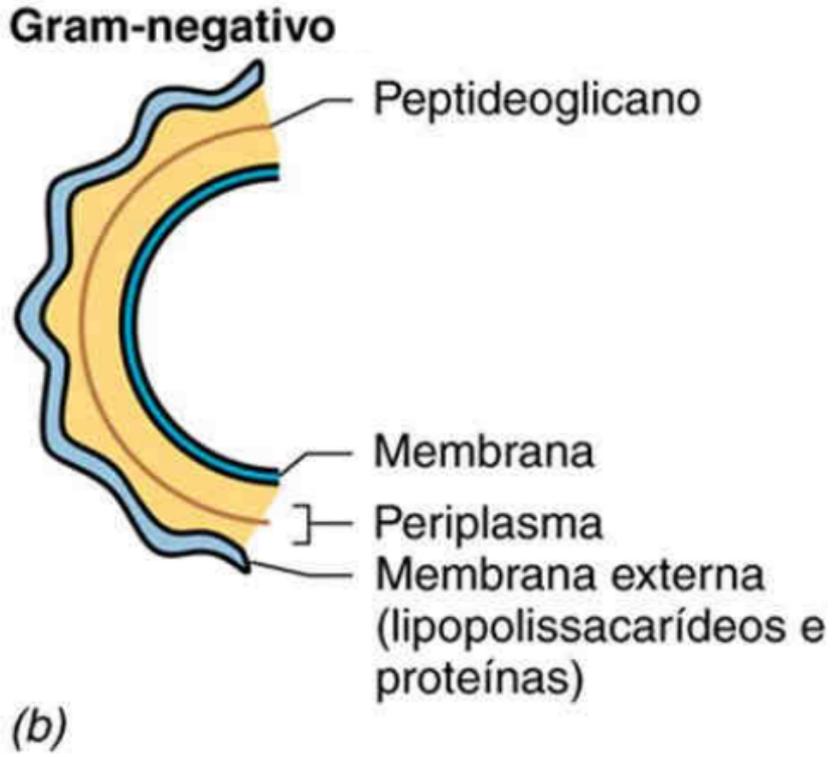
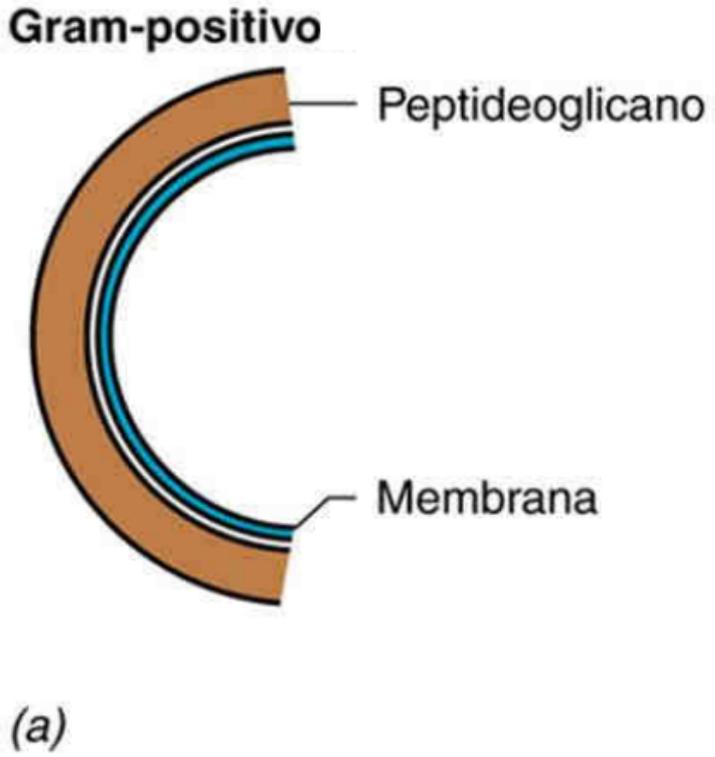
- Corresponde ao espaço entre a membrana citoplasmática e a membrana externa
- “Gel”, análogo ao citoplasma
- **Composição:**
 - **Peptideoglicano** → delgado (5%)
 - Enzimas:
 - Hidrolíticas (proteases, lipases, nucleases)
 - Inativadoras de drogas
 - Proteínas transportadoras

PERIPLASMA



Dia 11 de Setembro de 2018

Como poderíamos diferenciar G+ de G- ?



COLORAÇÃO GRAM

Hans Christian Gram (1853–1938)

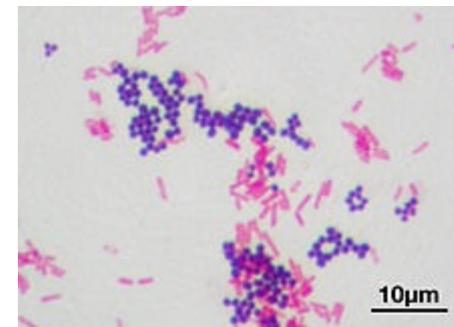
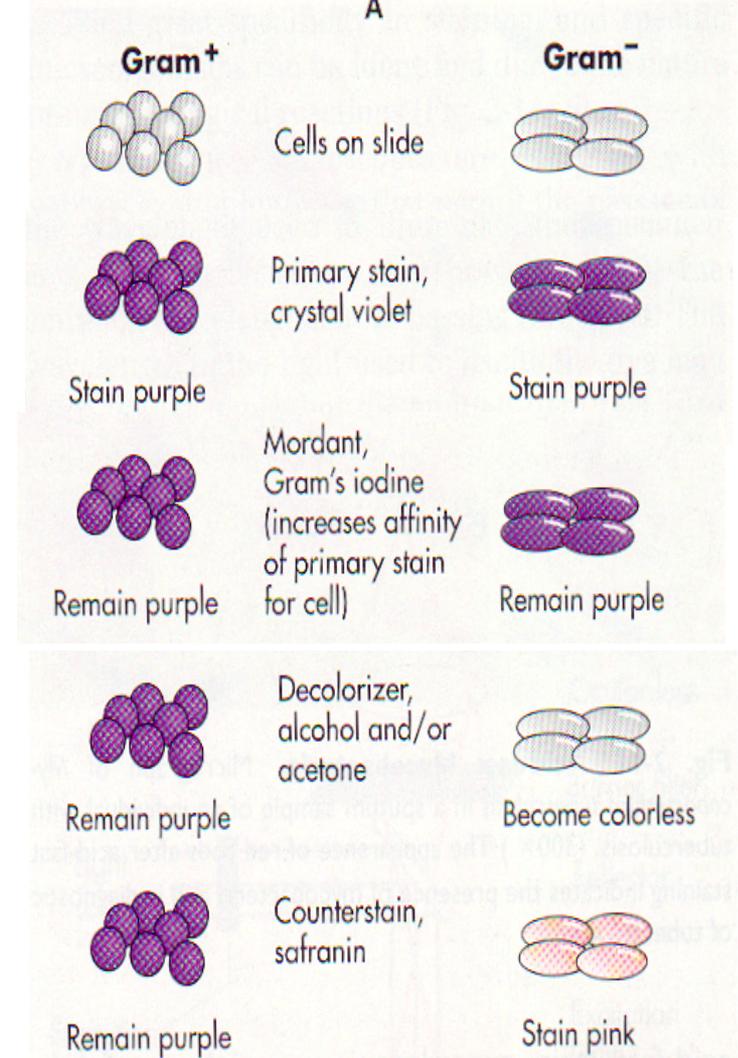
1884 → Método empírico ;

Dois grupos:

GRAM POSITIVOS

GRAM NEGATIVOS

Porque funciona???



Comparação – Gram positiva e Gram negativa

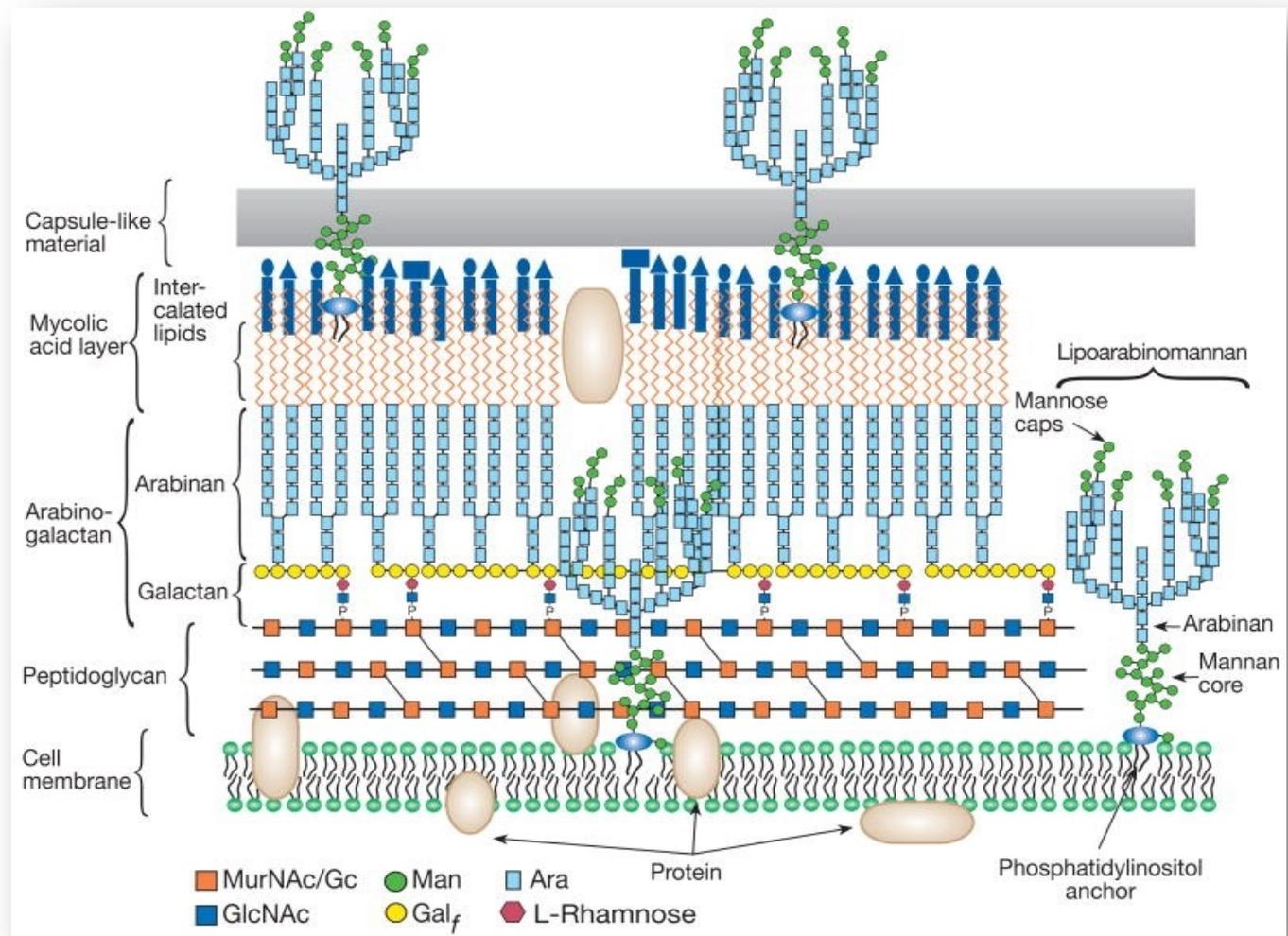
Monte a tabela.

Característica	Gram-positivo	Gram-negativo
Reação de Gram.		
Camada de peptidoglicano.		
Ácidos teicóicos.		
Espaço periplasmático.		
Membrana externa.		
Conteúdo de LPS.		
Conteúdo de lipídeos e lipoproteínas.		
Toxinas produzidas.		
Resistência à ruptura física.		
Ruptura da parede por lisozima.		

OUTROS PADRÕES DE ENVOLTÓRIO CELULAR

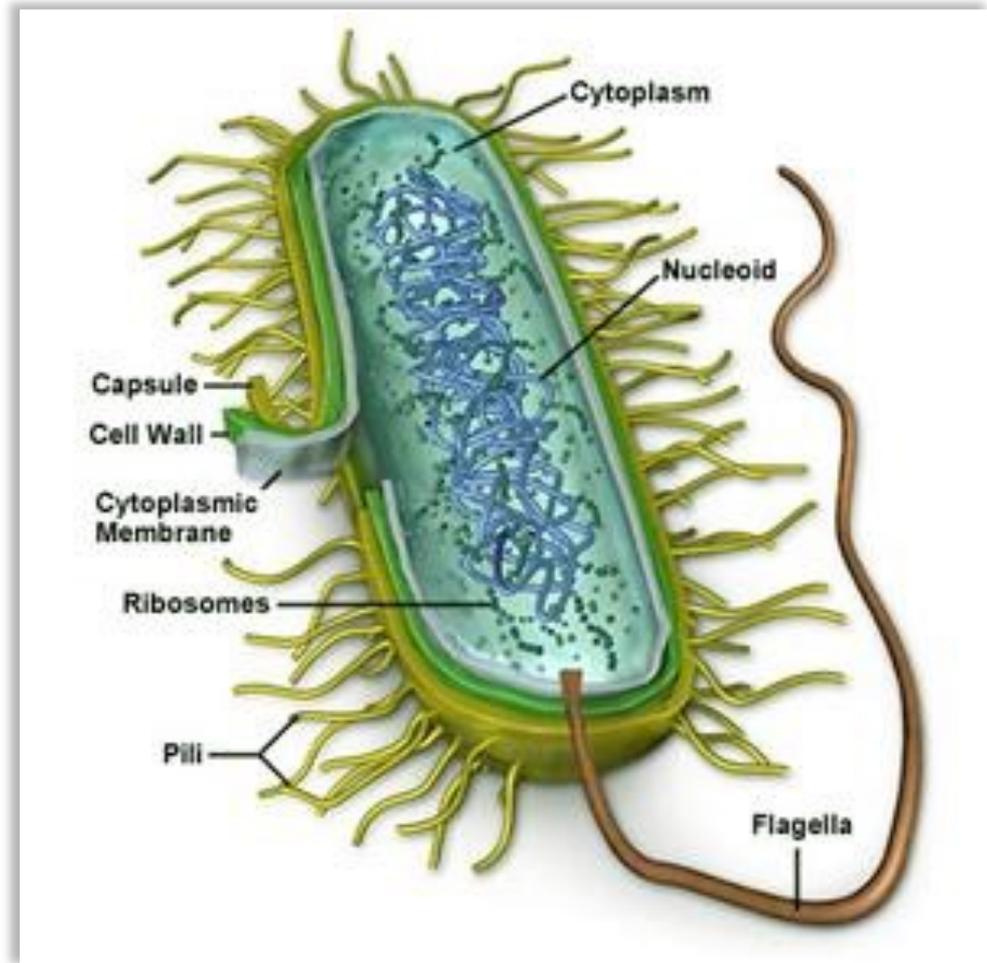
Micobactérias

Ziehl-Neelsen (bactérias álcool-ácido resistentes)



CITOPLASMA

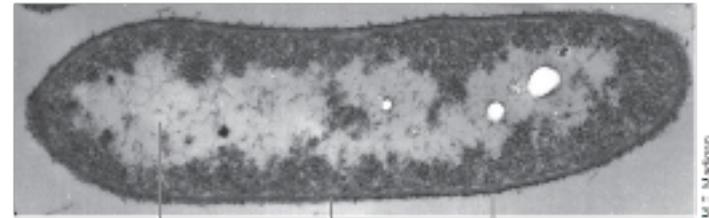
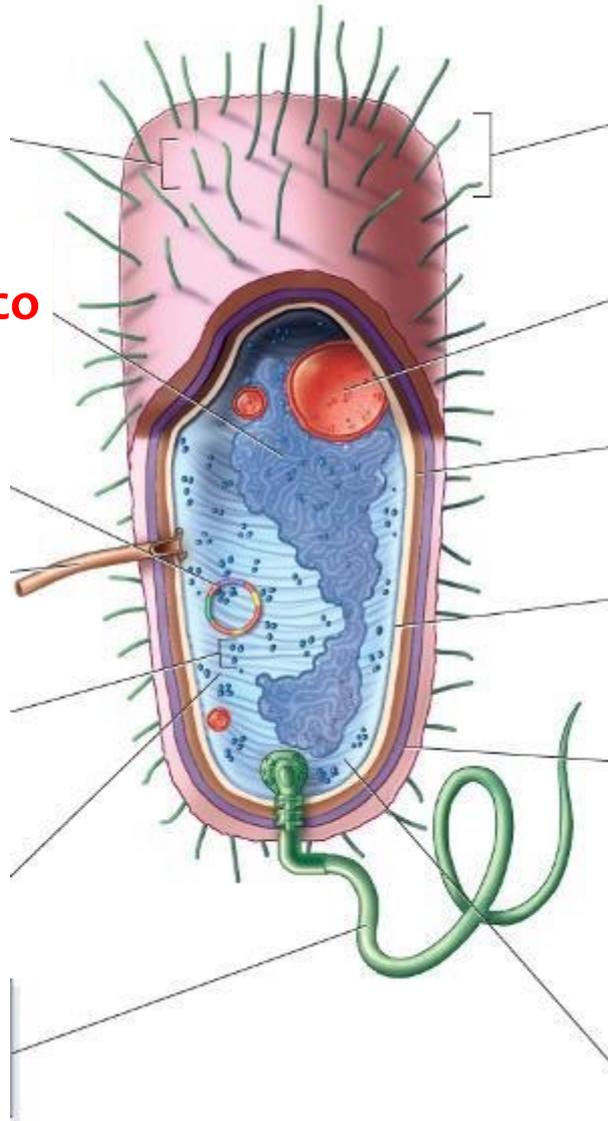
- Solução aquosa (70 – 80%);
- Membrana citoplasmática;
- Ribossomos;
- Nucleóide;
- Proteínas;
- Reações químicas;



DNA Genômico

DNA
cromossômico

Plasmideo



(c) Nucleoid Membrane Wall

Helicobacter modesticaldum

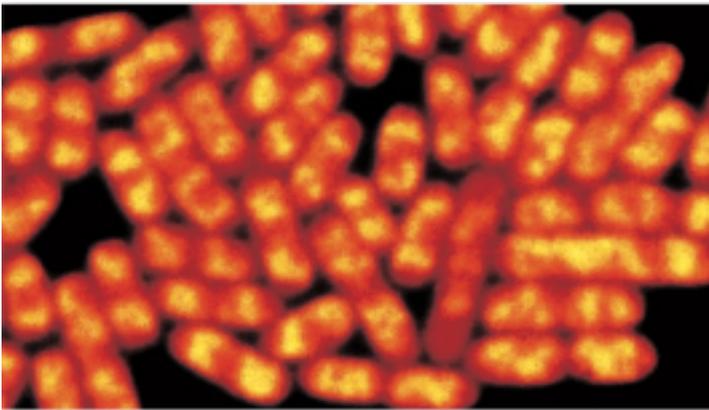
Citoplasma



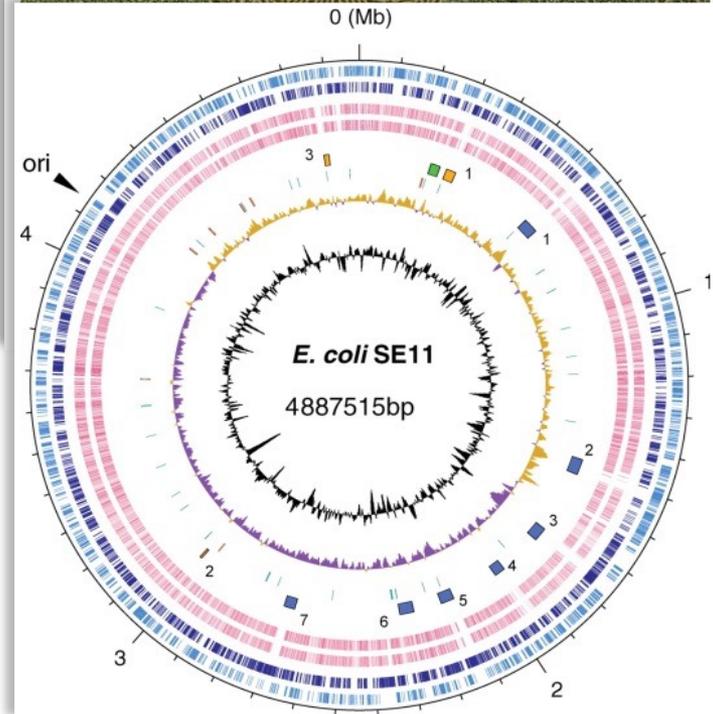
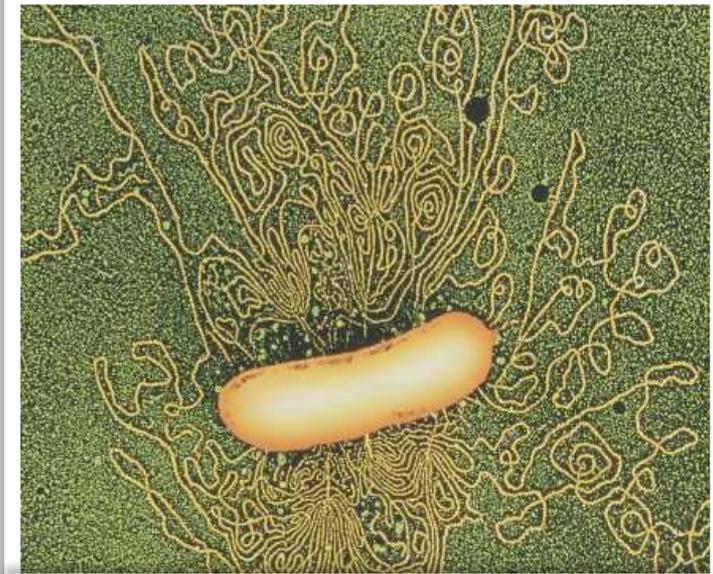
Qual a Diferença de DNA
Cromossômico do DNA Plasmidial?

DNA CROMOSSÓMICO OU NUCLEÓIDE BACTERIANO

- Fenotípicas e genotípicas → **ESSENCIAIS!**
- Não é delimitado por membrana;
- Dupla fita (hélice) → **1 mm de comprimento!!!**
 - Superenovelado;
- Circular (na maioria dos casos!)



Cromossomos marcados em amarelo

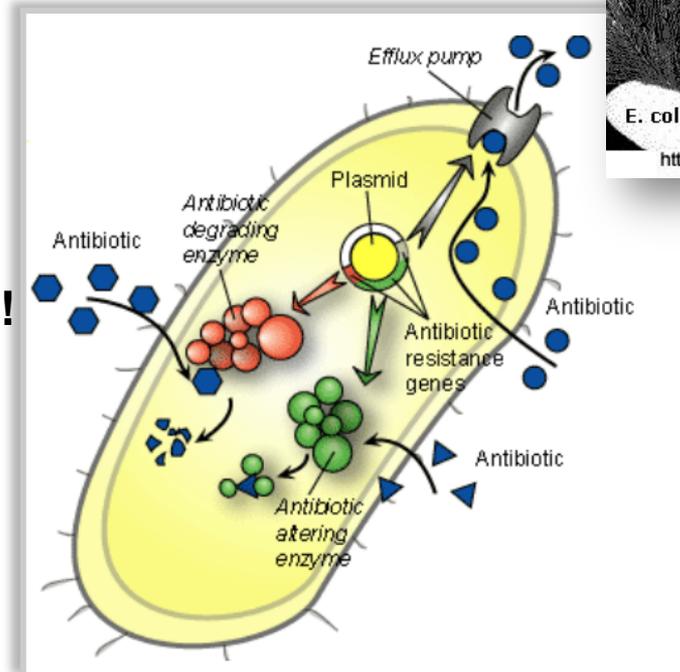
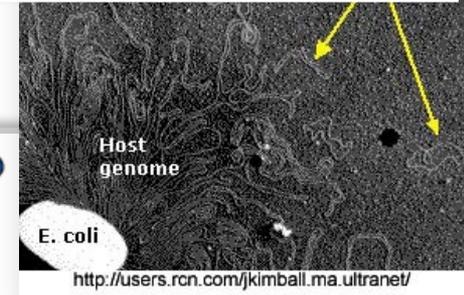
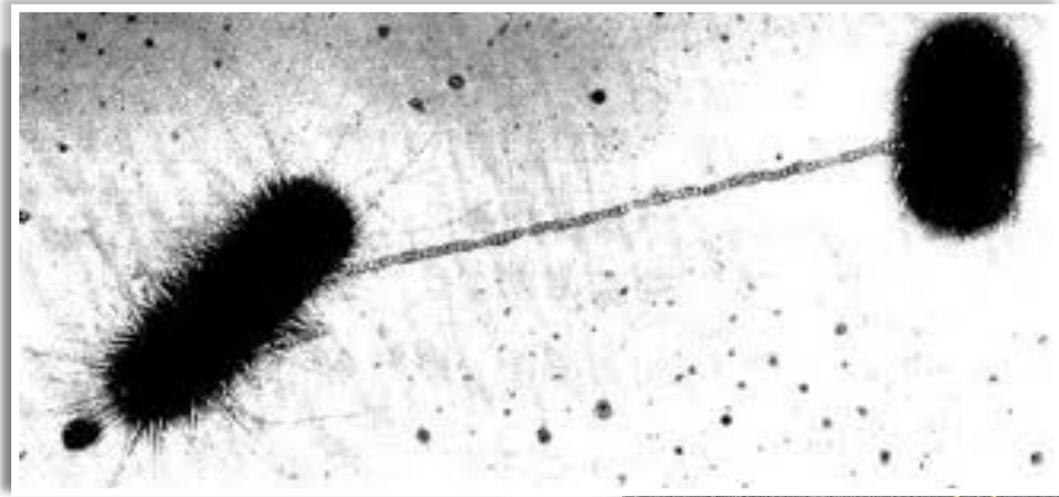


PLASMÍDEO

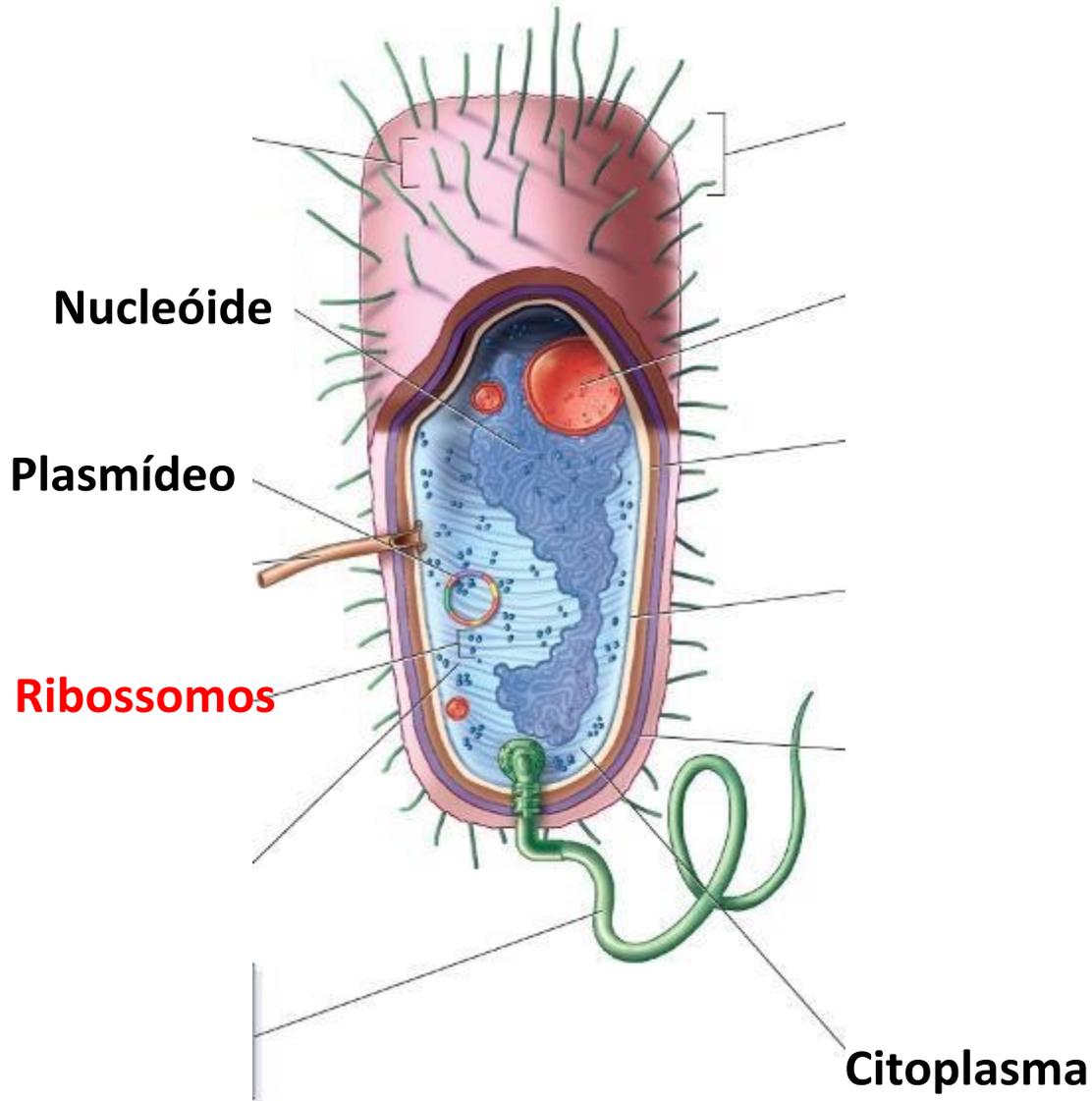
- Pequenos;
- Extra-cromossômico;
- Replica
- Segregação independente;
- A maioria é circular;
- Dupla fita;
- Número variável;

- Não é essencial → **VANTAGEM!**
 - Resistência à antibiótico;
 - Síntese de nutriente;

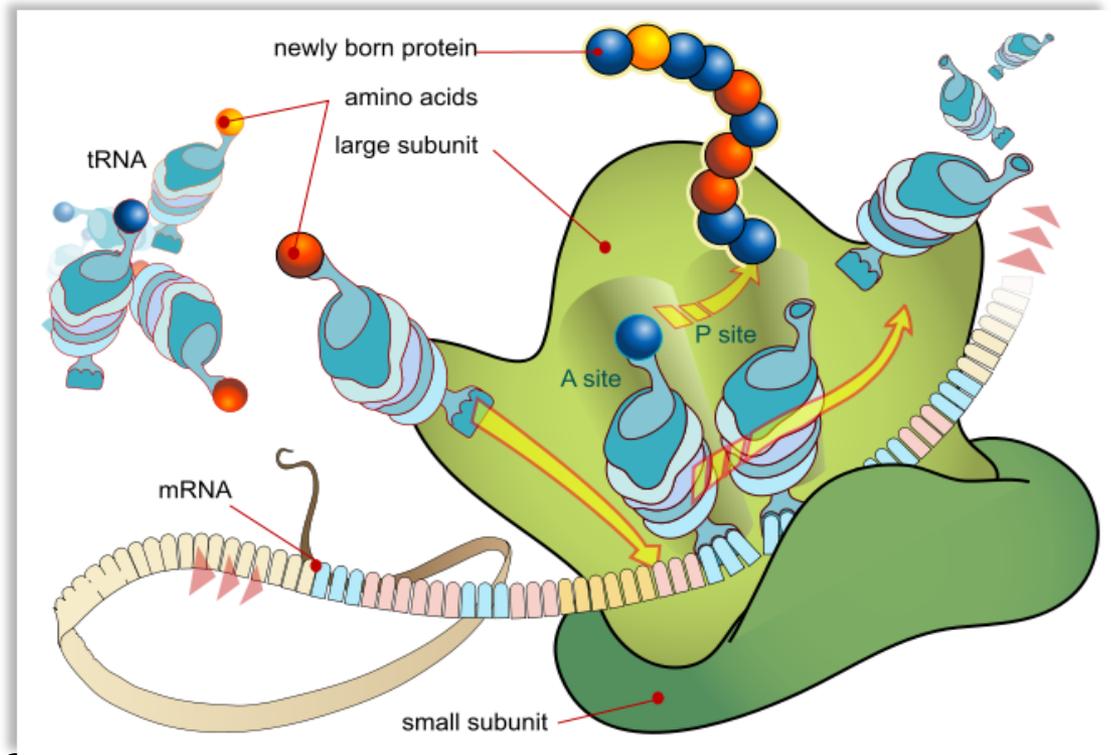
- Biotecnologia;



Estruturas



RIBOSSOMOS



- **Função: Síntese protéica**
- **Bactérias**
 - **Coeficiente de Sedimentação: 70S**
 - **Subunidades: 30S e 50S;**
- **Eucarioto: 80S:**
 - **Subunidades: 40S e 60S;**

Estruturas

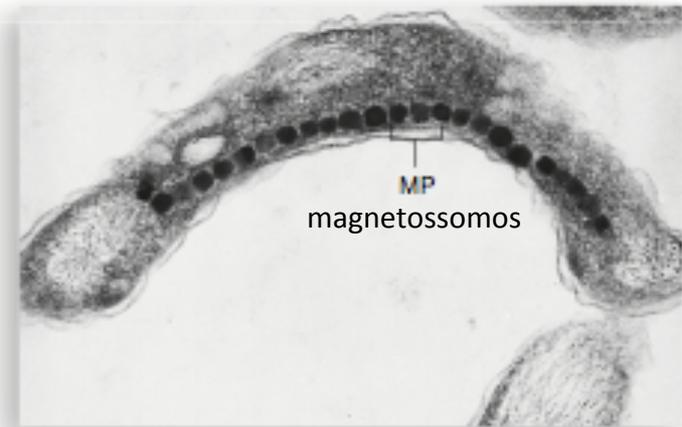
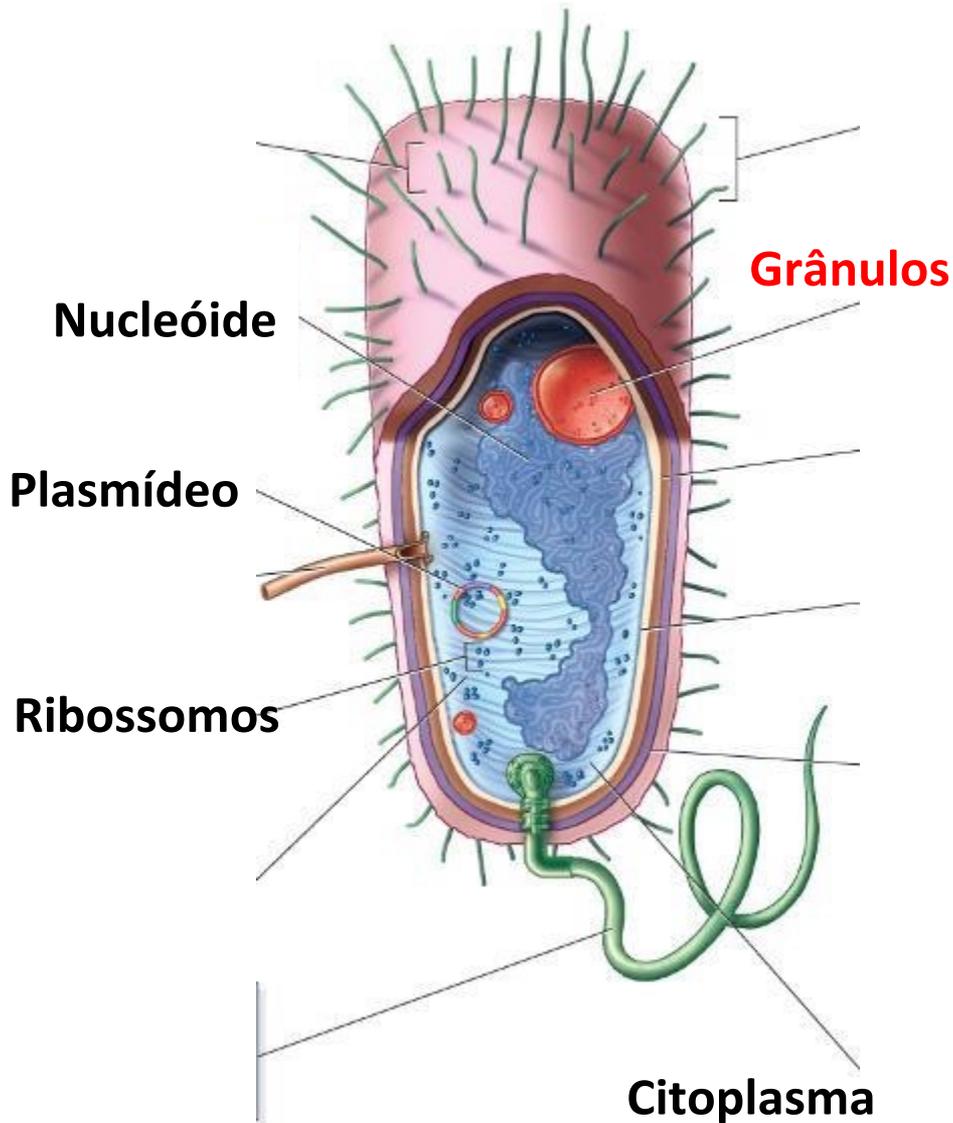
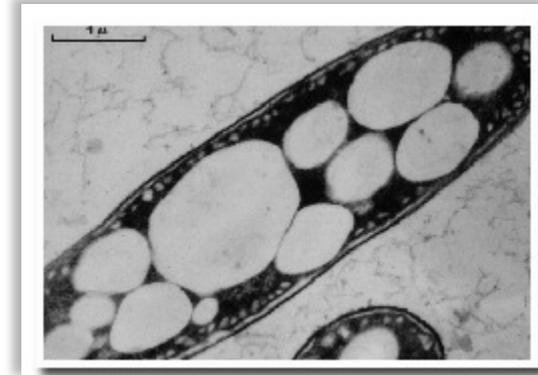


Figure 4.19 Bacterial inclusion bodies. (a) Large particles (pink) of polyhydroxybutyrate are deposited in a concentrated form that provides an ample long-term supply of that nutrient (32,500 \times). (b) A section through *Aquaspirillum* reveals a chain of tiny iron magnets (magnetosomes = MP). These unusual bacteria use these inclusions to

GRÂNULOS

- **Substâncias de reserva;**
 - Energia
- Subunidades para macromoléculas;
 - Exemplo: reservas de fosfato
- **Alguns são envoltos por uma membrana** → lipídeos em monocamada
- Outros são cristais de compostos inorgânicos
- Tipos:
 - **PHB (ácido poli-β-hidroxibutírico)**
 - Fonte de carbono/energia – sintetiza [C], e degrada em ausência
 - consistência de plástico → plástico biodegradável
 - **Glicogênio**
 - Fonte de carbono/energia
 - * Excesso de carbono*
- **INSOLÚVEIS**
 - Não elevam a pressão osmótica

Granulos de PHB



Fe_3O_4

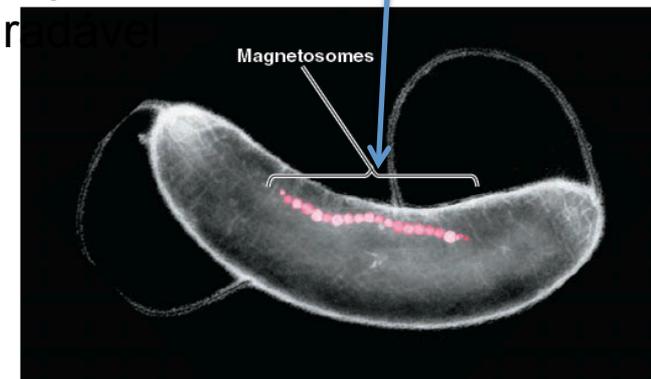
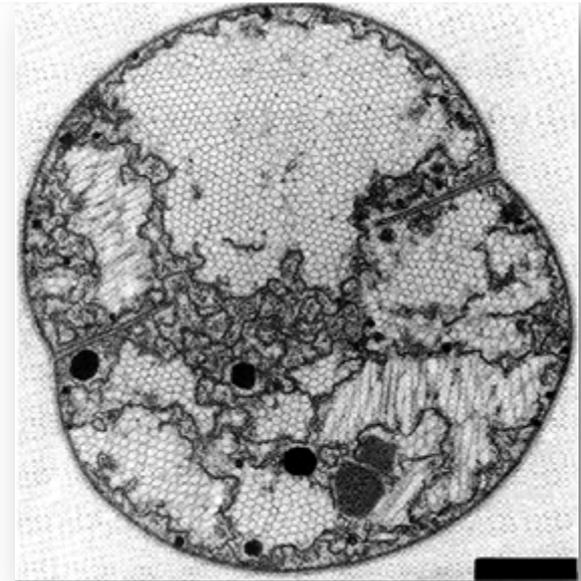


Figure 4.20 Magnetosomes. This micrograph of *Magnetospirillum magnetotacticum* shows a chain of magnetosomes. This bacterium is usually found in shallow freshwater mud.

VESÍCULAS DE GÁS

- Lagos ou mares;
 - exemplo: Cianobactérias
- **Função:**
 - Flutuabilidade;
 - “Motilidade” – mover em direção da luz (fotossínteses);
- **Características:**
 - Vesícula é **composta exclusivamente de proteínas!**
 - impermeável: água e solutos;
 - permeável: gases;
 - Diâmetro e número variável;
 - Poucas até centenas/célula;



Transverse section of a dividing cell of the cyanobacterium Microcystis sp. showing hexagonal stacking of the cylindrical gas vesicles. (Micrograph by H. S. Pankratz.) Magnification, x31,500. ([image 665x700](#))

OUTRAS ESTRUTURAS

NÃO ESTÃO PRESENTES EM TODAS AS BACTÉRIAS

MUITAS VEZES NÃO ESSENCIAIS PARA SOBREVIDA

Bactéria sem parede celular

Mycoplasma

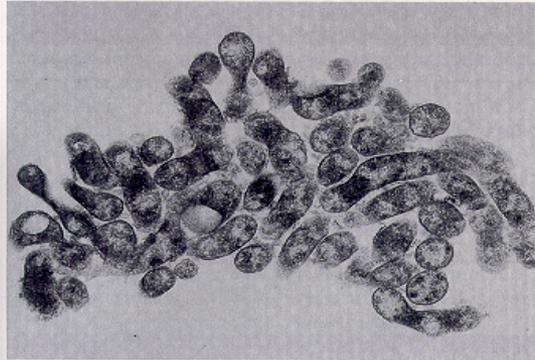
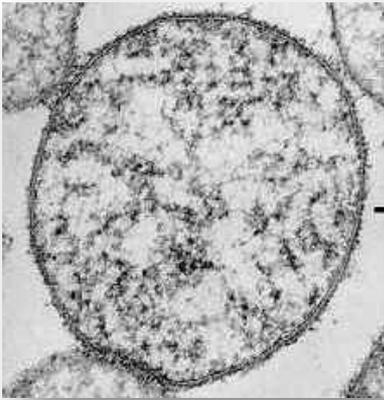
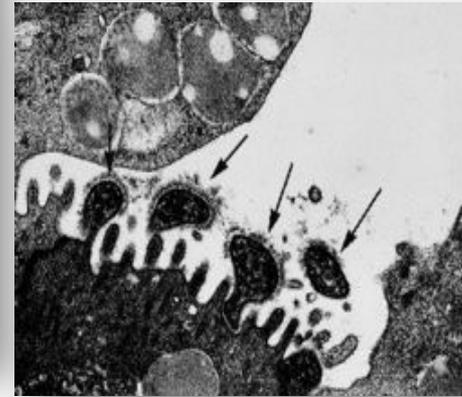
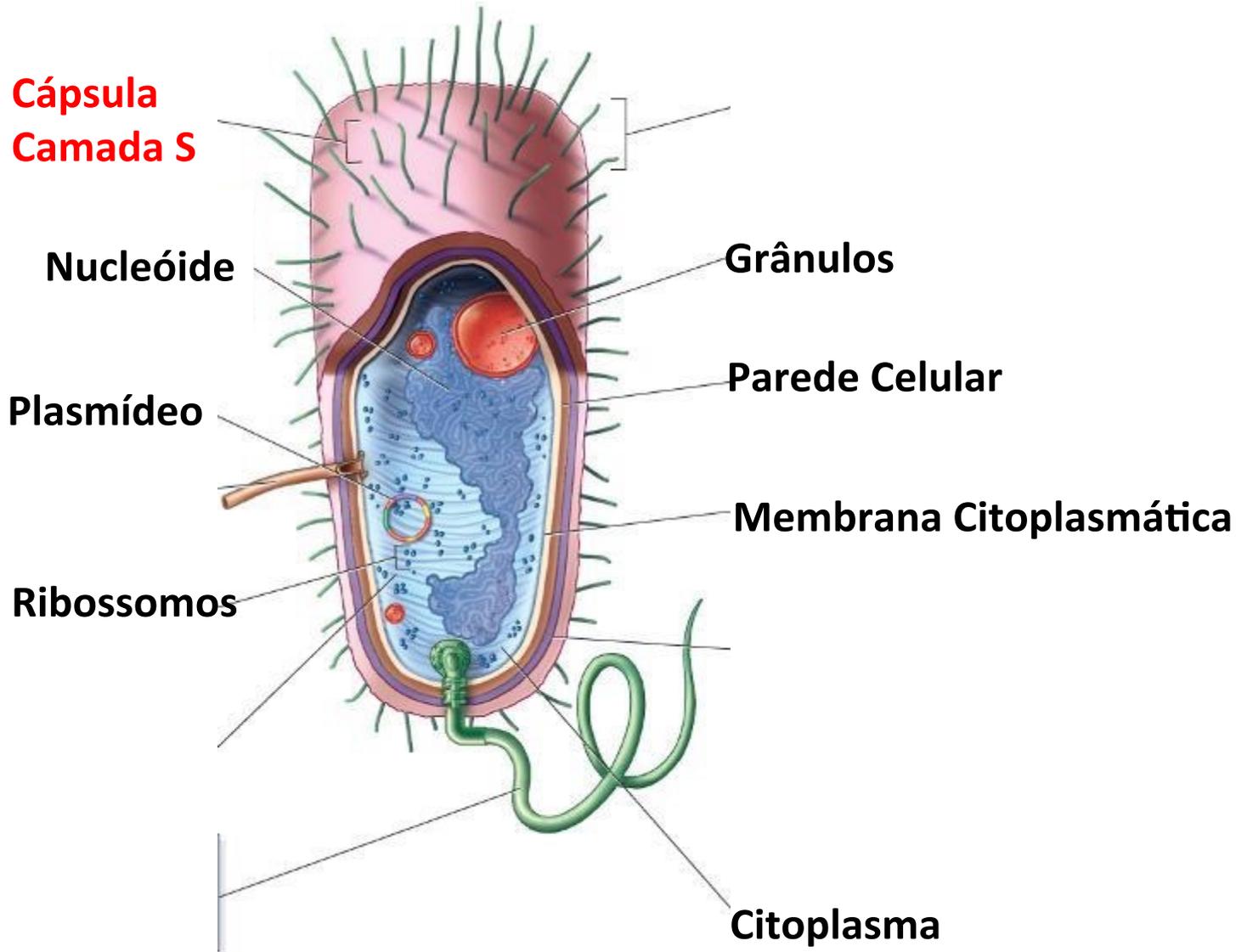


Fig. 17-83 *Mycoplasma*. Electron micrograph of *Mycoplasma pneumoniae*. The cell lacks a cell wall and is bounded by a cytoplasmic membrane that has a trilaminar structure.

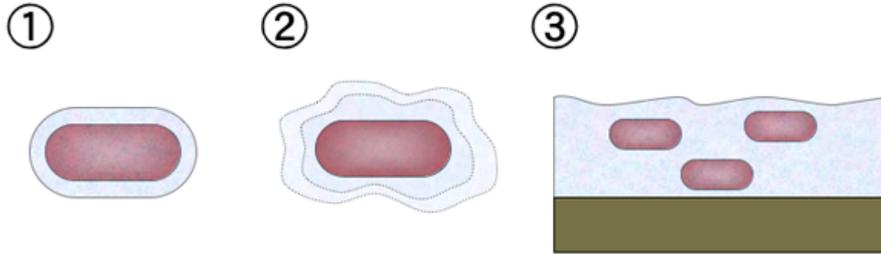


Como os eucariotos, contêm **esterol** na membrana (aumenta resistência)

Estruturas



Cápsula



Glicocálice: substâncias secretadas que envolvem a célula

(1) Cápsula

1. de fácil visualização
2. exclui partículas
3. adere à parede celular

(2) Camada limosa ou mucosa

1. Frouxa
2. Permeável
3. Menor rigidez

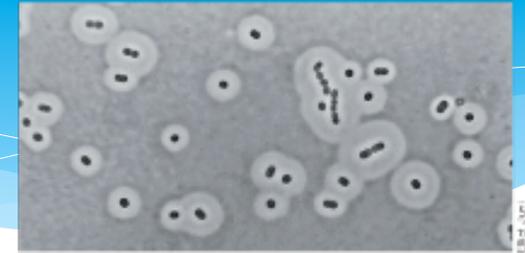
(3) A fusão das camadas limosas leva à formação de **biofilmes**

Cápsula polissacarídica

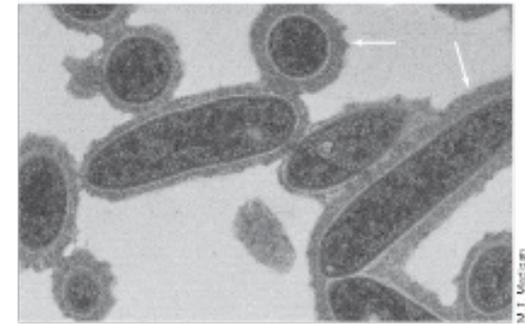
- Compacta
- Espessura variável
- Rigidez

Função:

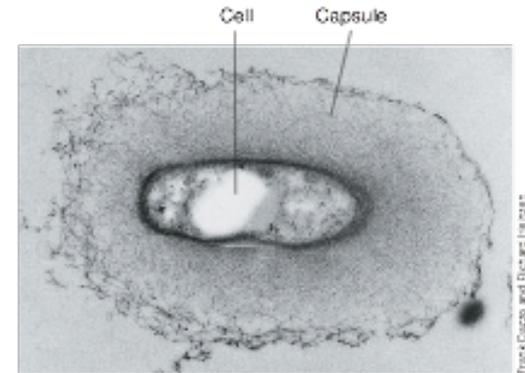
- Resistência à dessecação
- Anti-fagocítica
- Adesão;



(a)



(b)



(c)

Figure 3.23 Bacterial capsules. (a) Capsules of *Acinetobacter* species observed by phase-contrast microscopy after negative staining of cells with India ink. India ink does not penetrate the capsule and so the capsule appears as a light area surrounding the cell, which appears black. (b) Transmission electron micrograph of a thin section of cells of *Rhodospirillum rubrum* with capsules (arrows) clearly evident; capsules are about 0.9 μm wide. (c) Transmission electron micrograph of *Rhizobium trifolii* stained with ruthenium red to reveal the capsule. The cell is about 0.7 μm wide.

Camada S

Bacteria e Archaea (parede celular);

Subunidades : proteínas ou glicoproteínas;

Função:

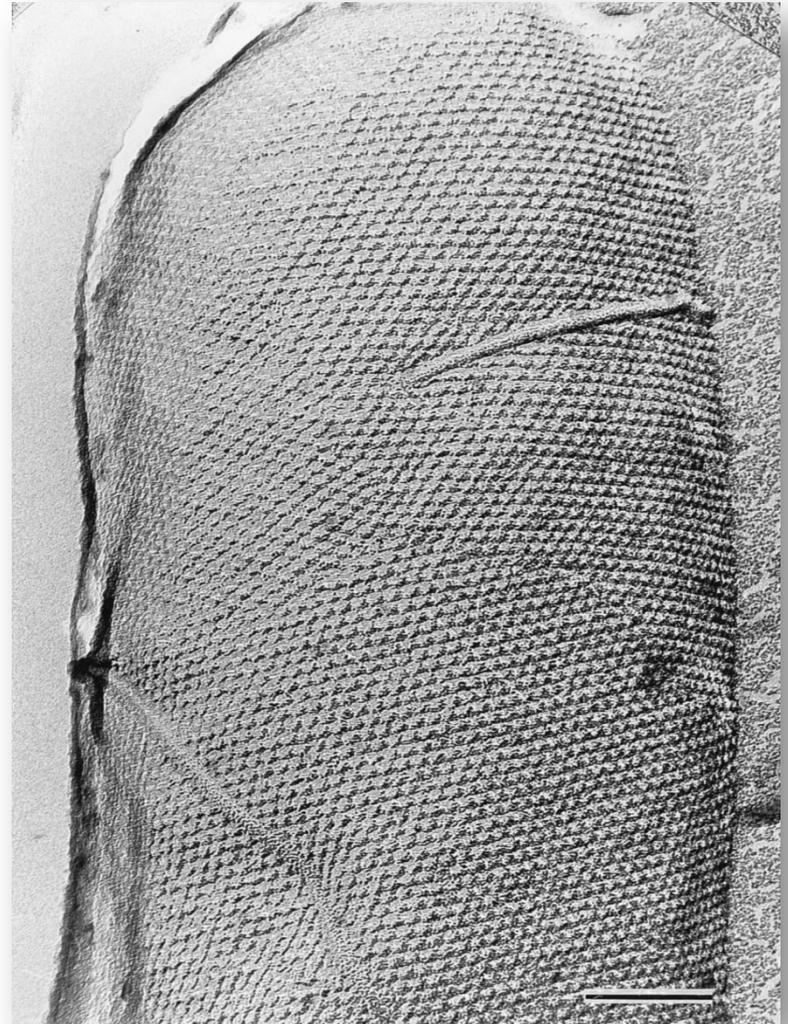
Desconhecida;

Permeabilidade;

Proteção;

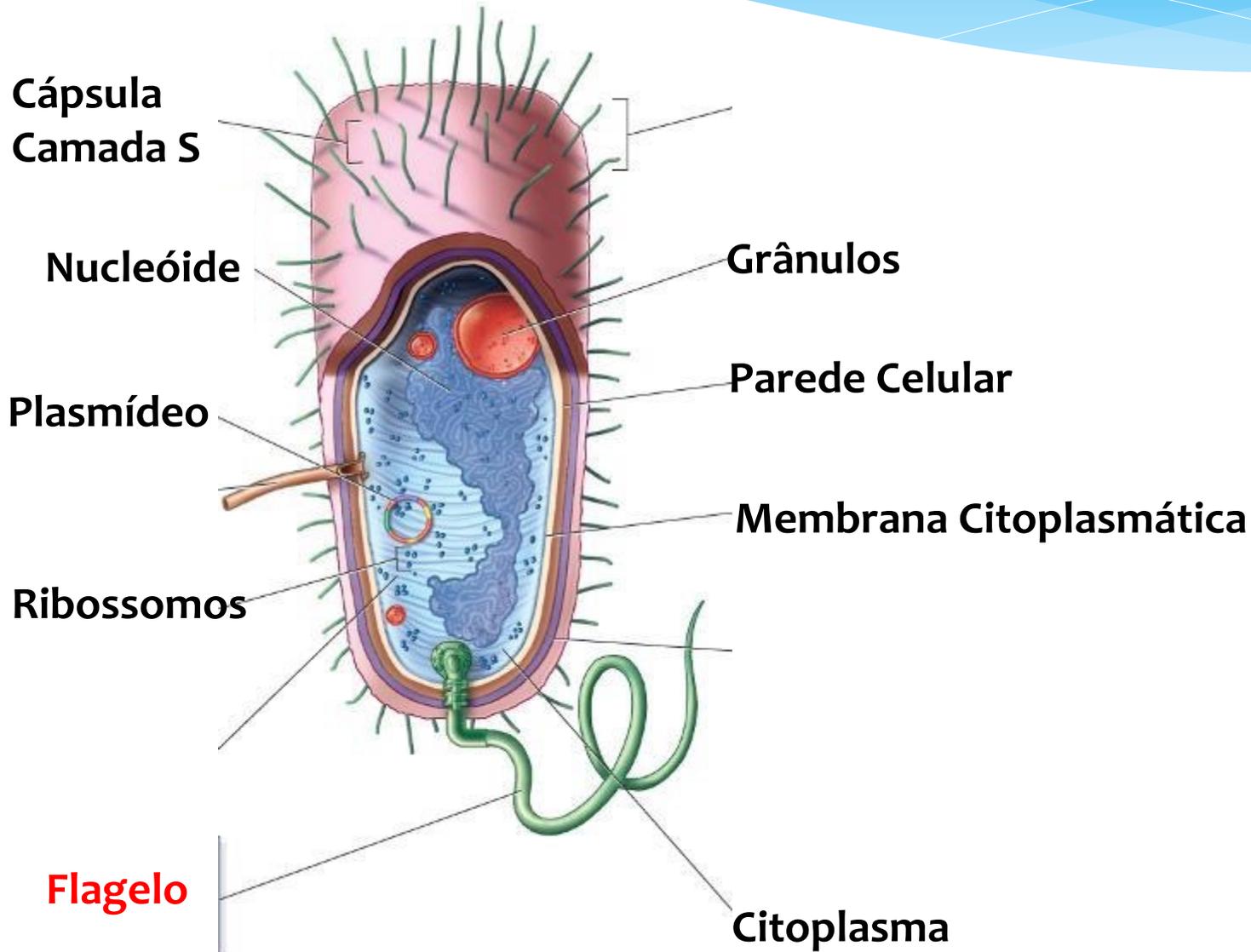
Adesão;

Biotecnológica;



Como as Bactérias se locomovem?

Estruturas



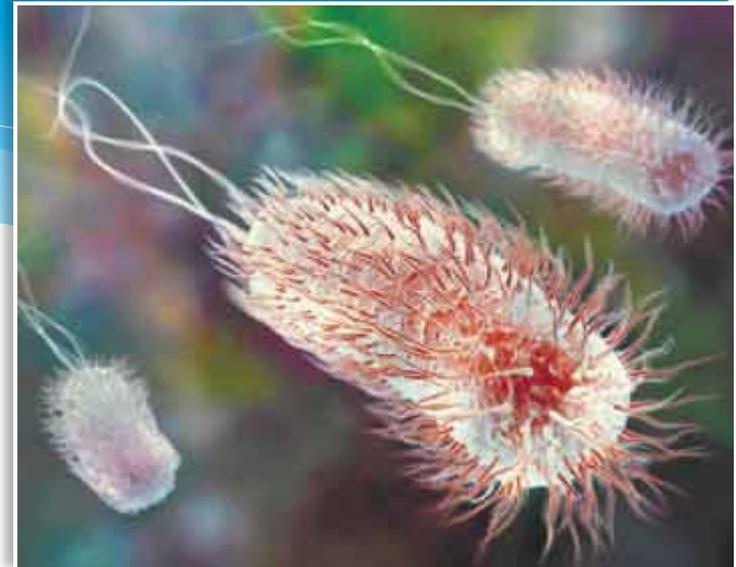
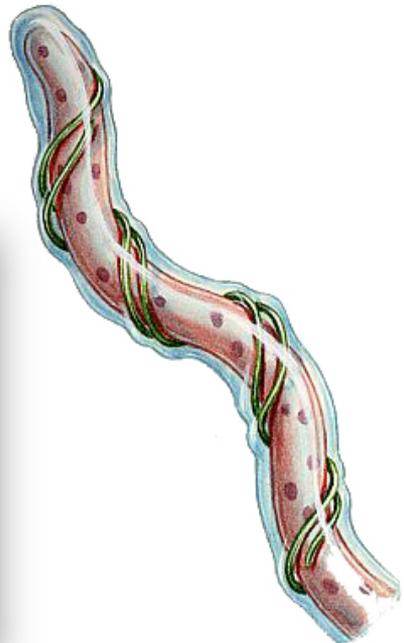
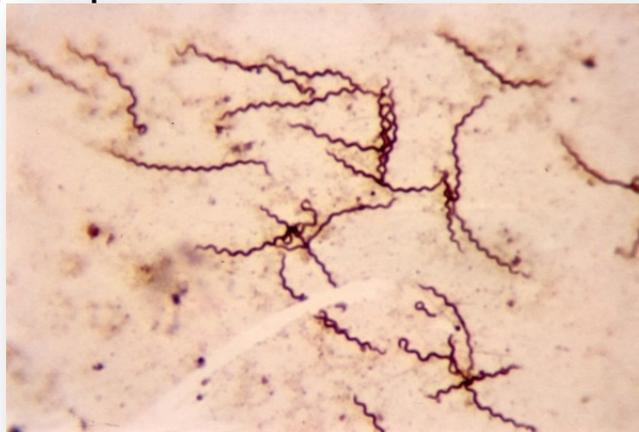
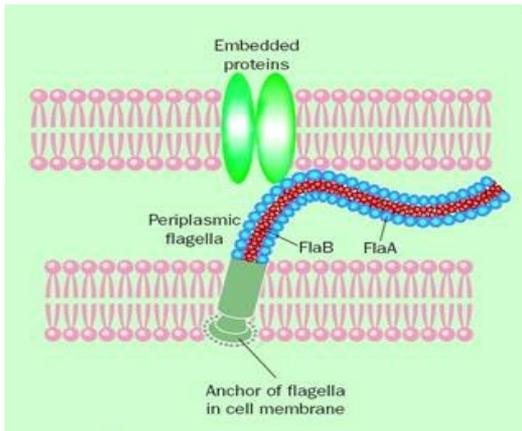
Flagelo

- Motilidade;
- Tipagem bacteriana
- Maior que a célula bacteriana

Comum: bacilo

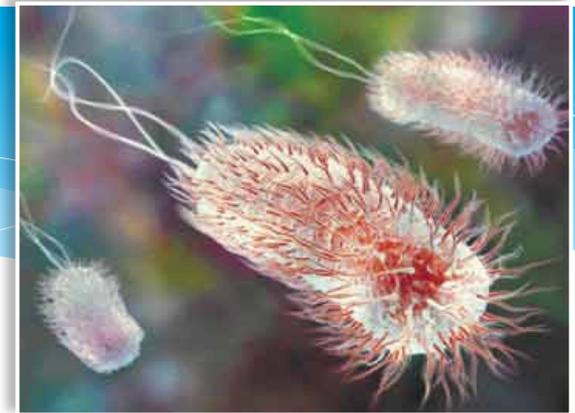
Raro: coco

- Filamento axial → espiroquetas



Flagelo

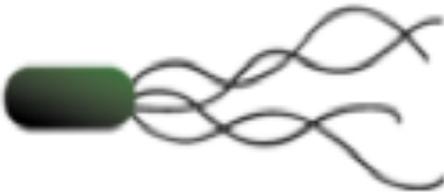
- ARRANJOS:



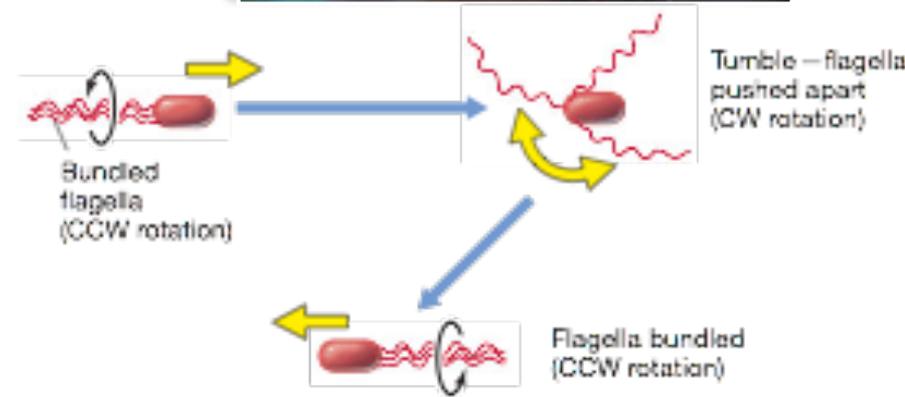
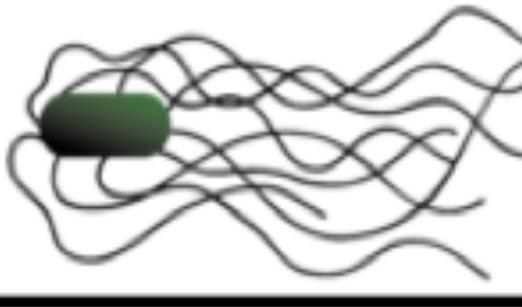
POLAR



LOFOTRÍQUIO



PERITRÍQUIO

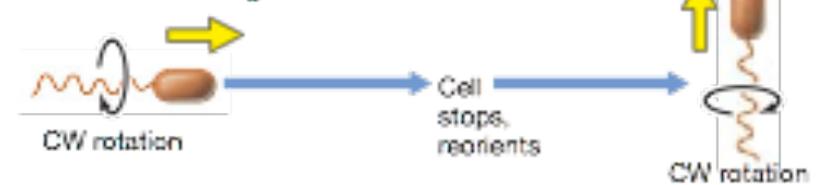


(a) Peritrichous

Reversible flagella

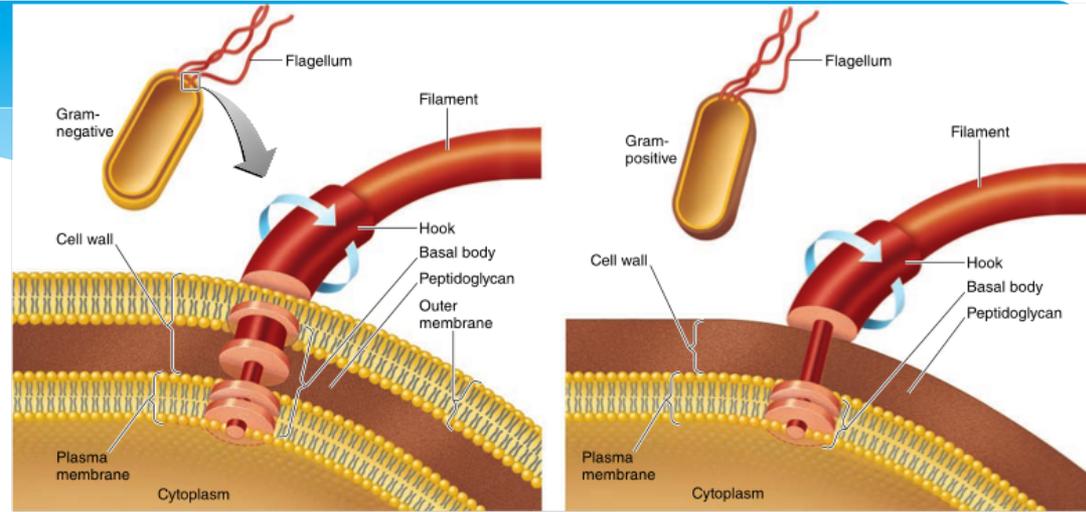
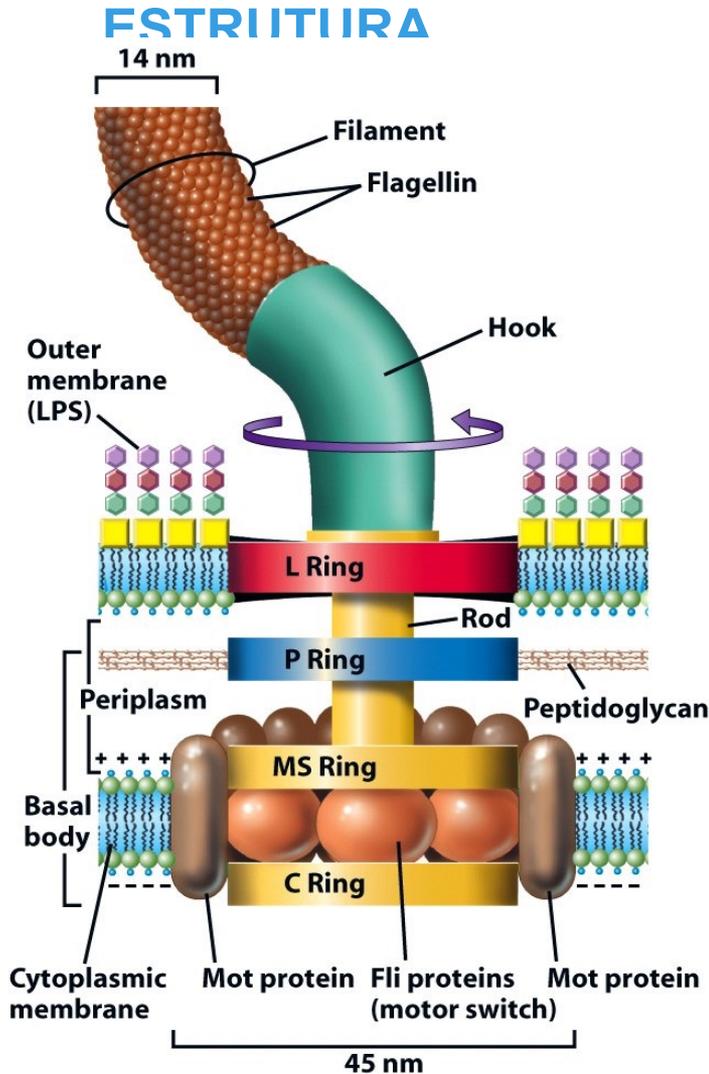


Unidirectional flagella



(b) Polar

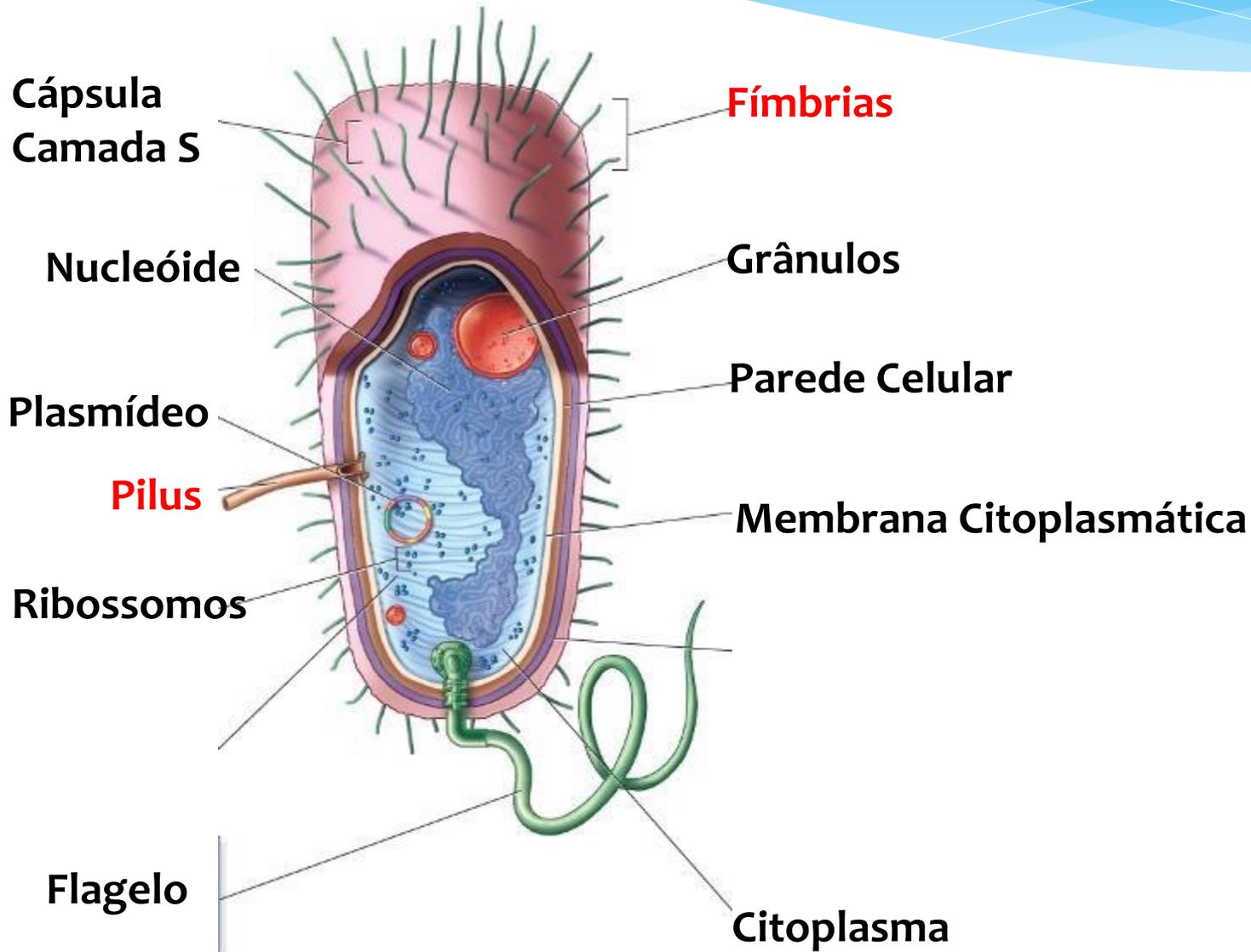
Flagelo



- Único rotor natural conhecido
- Proteína Mot ativada por gradiente de prótons

Como Quimiotaxia está relacionada com o Flagelo??

Estruturas



Fimbria e pili

Filamentos proteináceos mais finos e retos que os flagelos

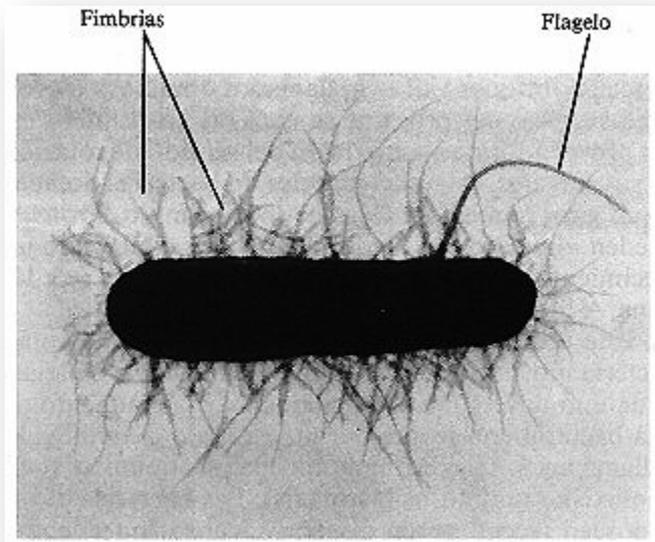
Fimbrias

Muito mais curtos que os flagelos

De poucos a centenas por célula

Função:

- Adesão



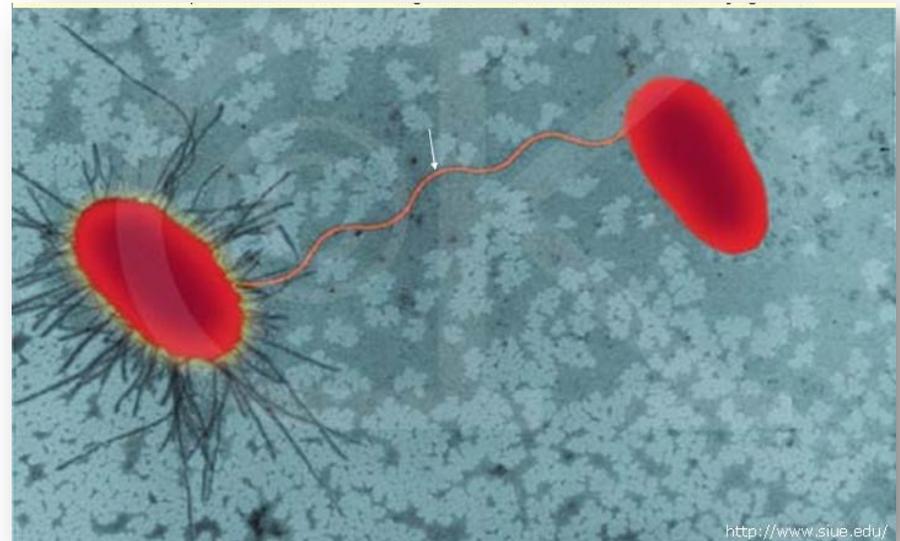
Pili

Mais longo que as fimbrias

Uma ou poucas cópias por célula

Função:

- Transferência de DNA (conjugação)
- Mobilidade – Twitching Motility



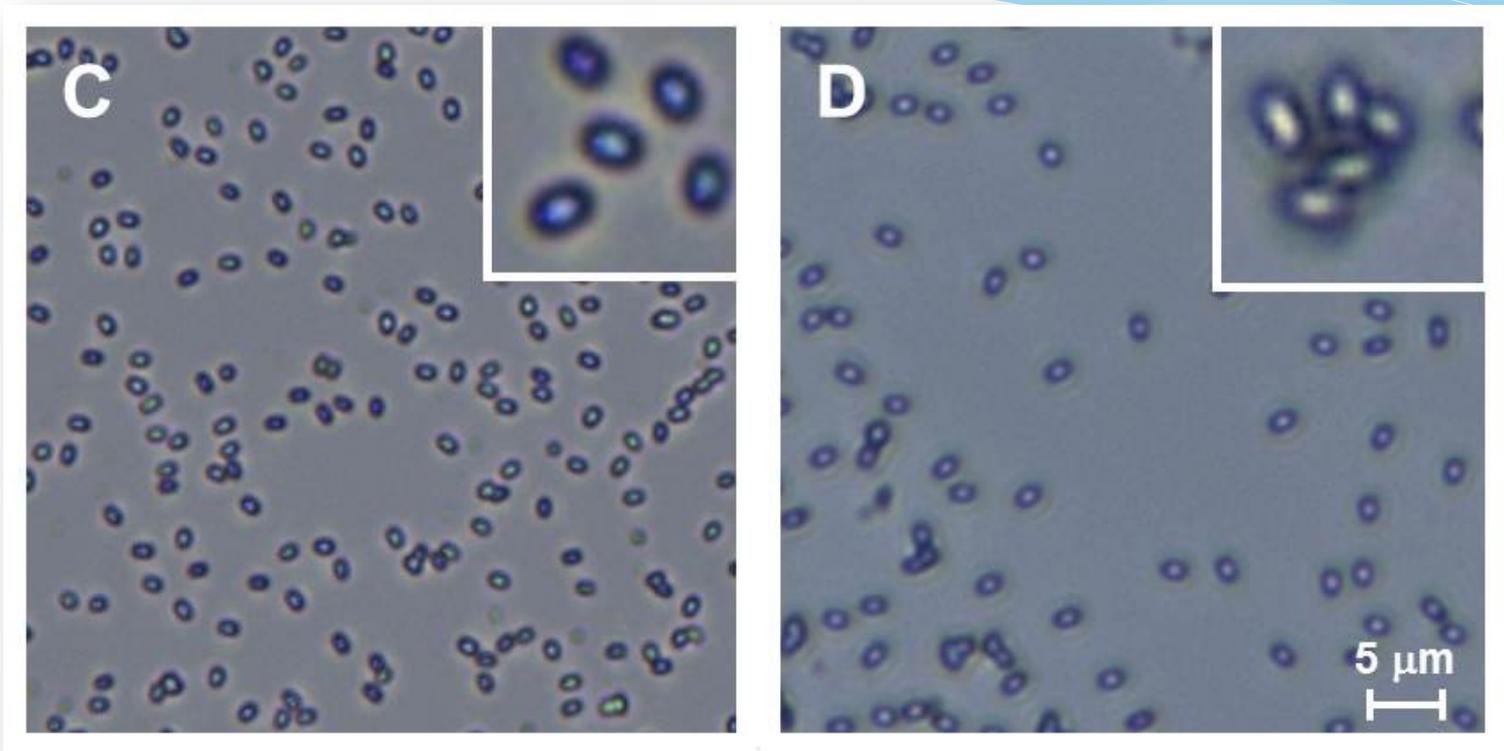
Movimento Bacteriano

Qual a importância destes movimentos para a célula?

Uma estrutura estranha, parece morta mas quando colocada para crescer em meio de cultura cresce.

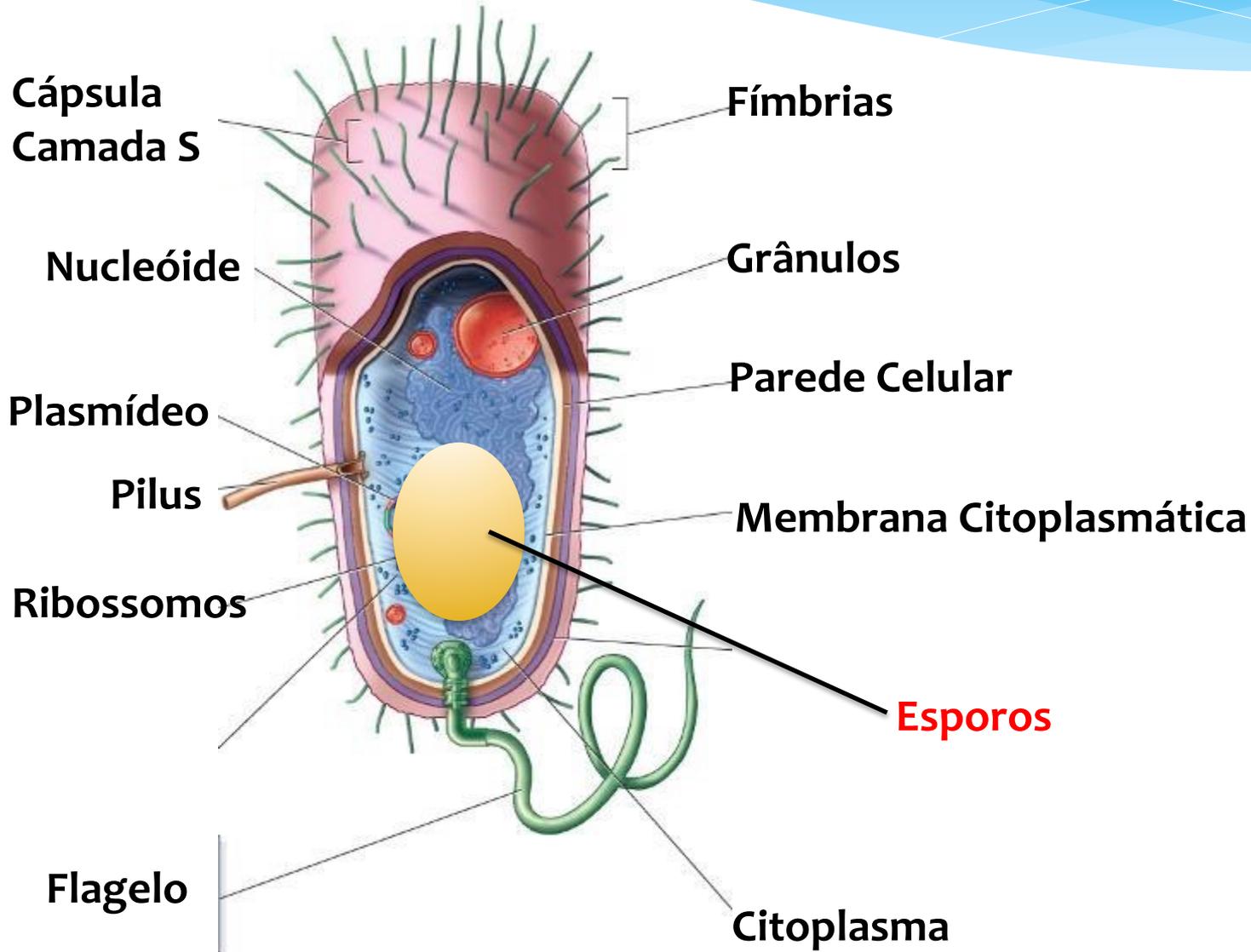
Como vc faria para caracterizá-lo?

Não Cora Fácil, Apenas com verde malaquita. O que é isso?



Posso ferver e não desaparece, e quando coloco para crescer cresce!!!

Estruturas



Esporos ou endósporos

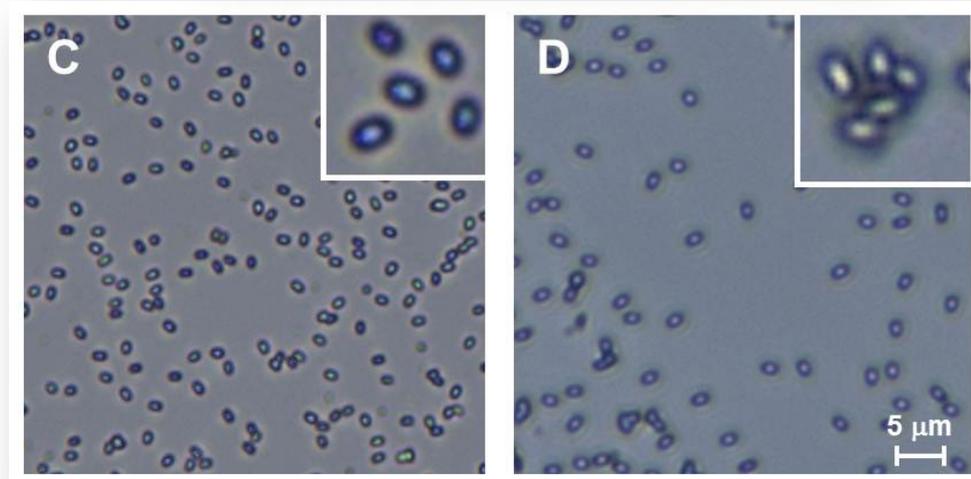


Estrutura de resistência;

Radiação;

Dessecação;

Químicos;



Esporos ou endósporos

= Forma dormente da célula

Gram positiva:

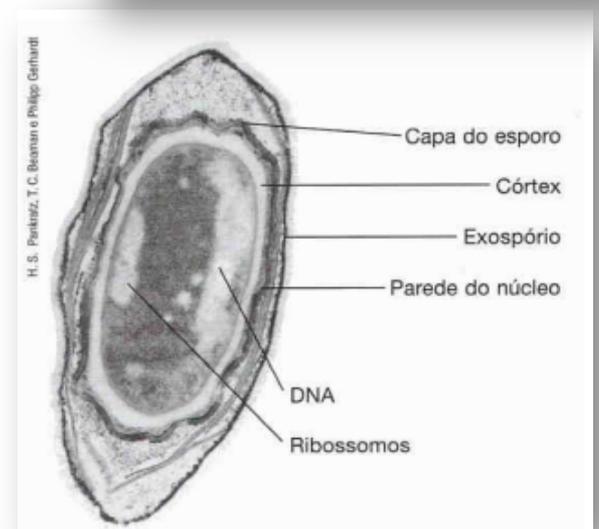
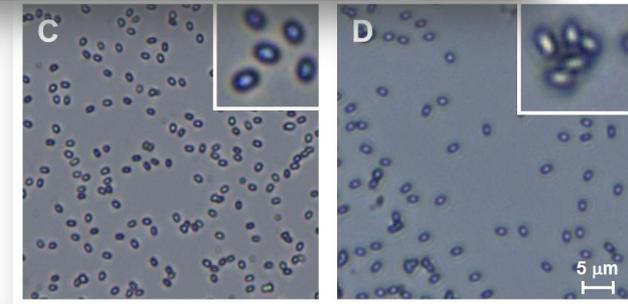
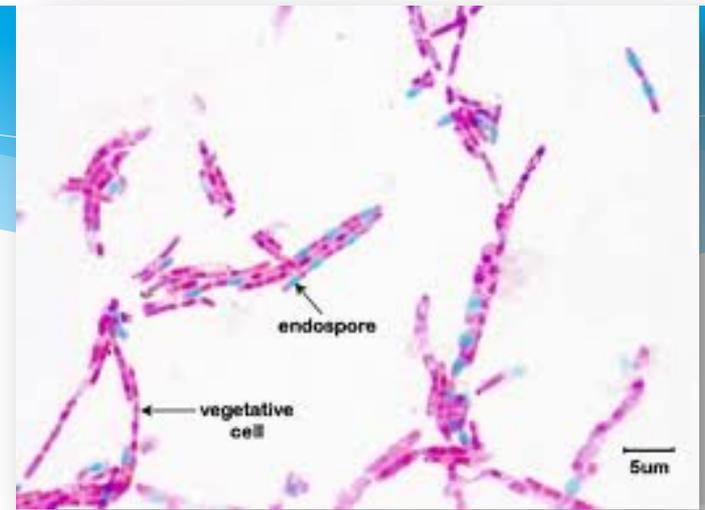
Gênero: *Bacillus* e *Clostridium*;

Bactérias de solo;

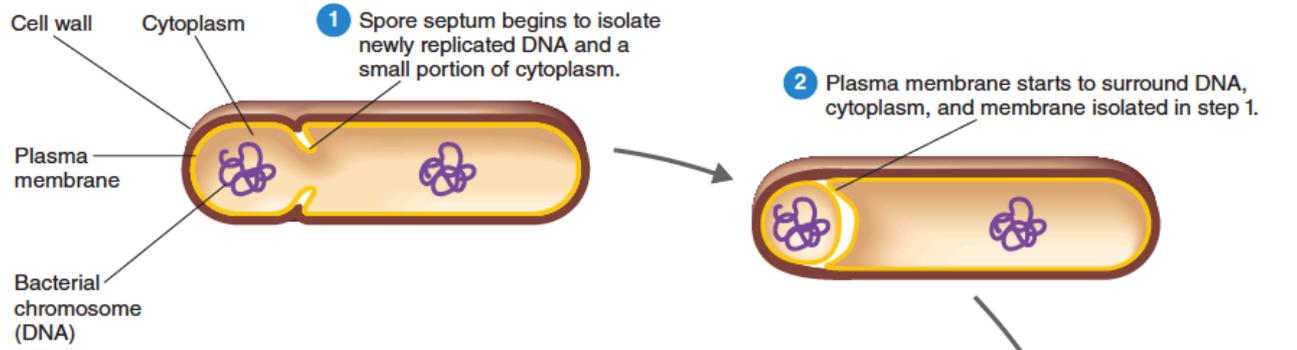
Carência nutricional;

Coloração Schaeffer-Fulton;

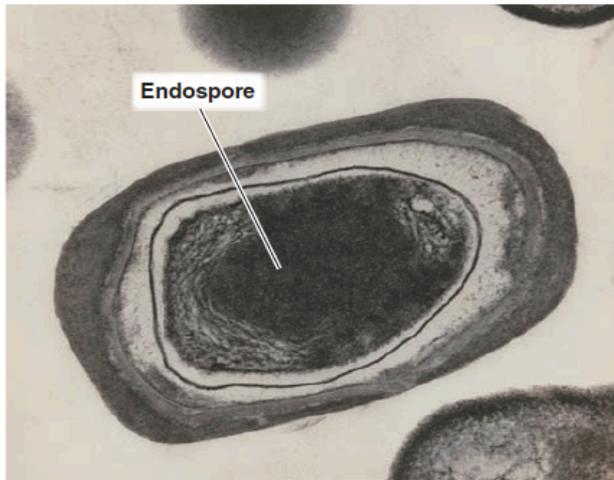
IMPORTÂNCIA → esterilização!!



Esporogênese ou esporulação

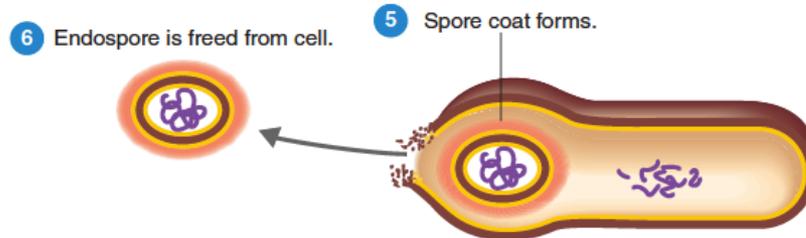
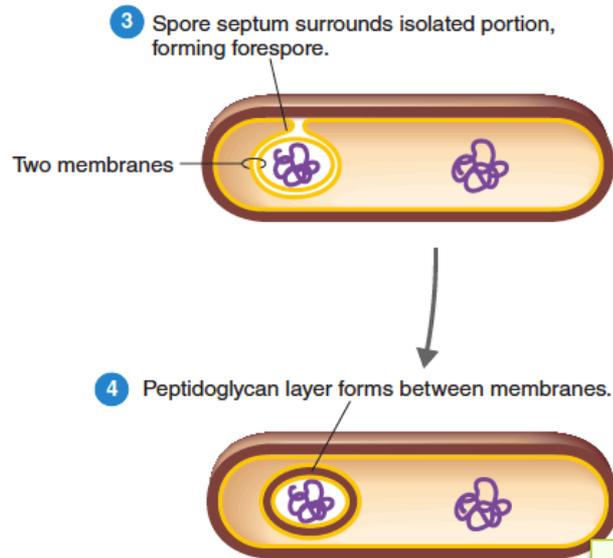


(a) Sporulation, the process of endospore formation



(b) An endospore of *Bacillus subtilis*

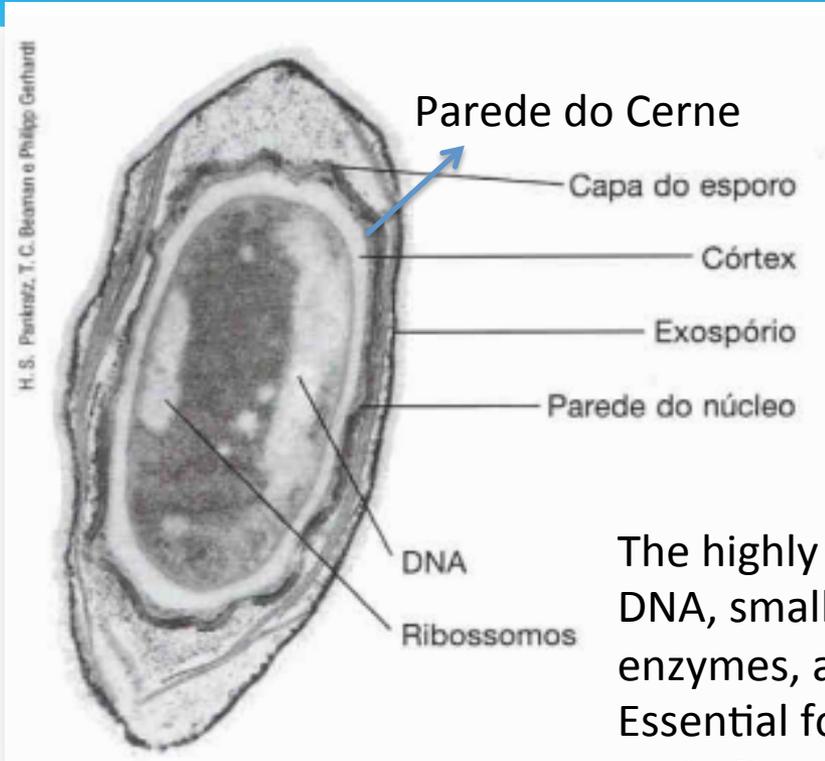
TEM | 0.5 μ m



- 8 horas;
- ~ 200 genes;
- Diferenciação celular;

Esporos

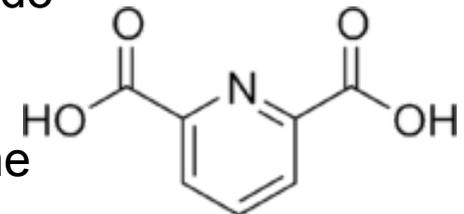
ESTRUTURA:



The highly dehydrated endospore core has: DNA, small amounts of RNA, ribosomes, enzymes, and a few important small molecules. Essential for resuming metabolism later.

Pode ficar por milhares de anos.

- Desidratação;
- Todos os endosporos tem **ácido dipicolínico ligado ao cálcio** (localiza principalmente no cerne) - auxilia na desidratação do esporo e estabilidade do DNA.
- Pequenas proteínas ácido solúveis (**PPAS**) também no cerne **protegem** o DNA de **danos de radiação**.



Germinação

Esporo (fase latente) → Célula vegetativa (crescimento normal);

Fases de transição de um esporo para uma célula vegetativa:

- Ativação;
- Germinação;
- Extrusão;

Referências

- Tortora et al. Microbiologia 10^a Ed. (2012).
 - Capítulo 4: Anatomia funcional da célula eucariótica e procariótica
- Madigan et al. Microbiologia de Brock. 13^a Ed. (2012).
 - Capítulo 3: Estrutura e Função Celular em Bactérias e Arqueas
- Black J.G. & Black L. Microbiologia – Princípios e Explorações, 8^a Ed. (2012).
 - Capítulo 4: Características das células eucarióticas e procarióticas
- Trabulsi et al. Microbiologia 5^a Ed. (2009).
 - Capítulos 1 e 2



Um estagiário de um laboratório recebeu uma placa de agar nutriente contendo uma bactéria desconhecida e a incumbência de realizar uma coloração de Gram a partir de uma colônia isolada desta cultura.

Durante o preparo, o estagiário descuidado esqueceu-se de utilizar a solução descorante e, após a análise da lâmina por microscopia óptica, identificou a bactéria como um bastonete Gram-positivo.

O resultado obtido é confiável? Justifique.

Dúvidas ?

Lista de exercícios

- * Olhe o video (<https://www.coursera.org/lecture/cryo-em/introduction-tomography-ojs9q>) e responda:
 - * Quais estruturas são descritas no video?
 - * Traga um video sobre estrutura bacteriana de 3-4 min que conte alguma informação suspeita. Traga também 2 questões sobre o vídeo para discutirmos.