



DEPARTAMENTO DE
MICroBiologia
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Estruturas bacterianas

Envoltório de bactérias Gram-negativas

Dra. Ana Carolina Ramos Moreno

carol@usp.br

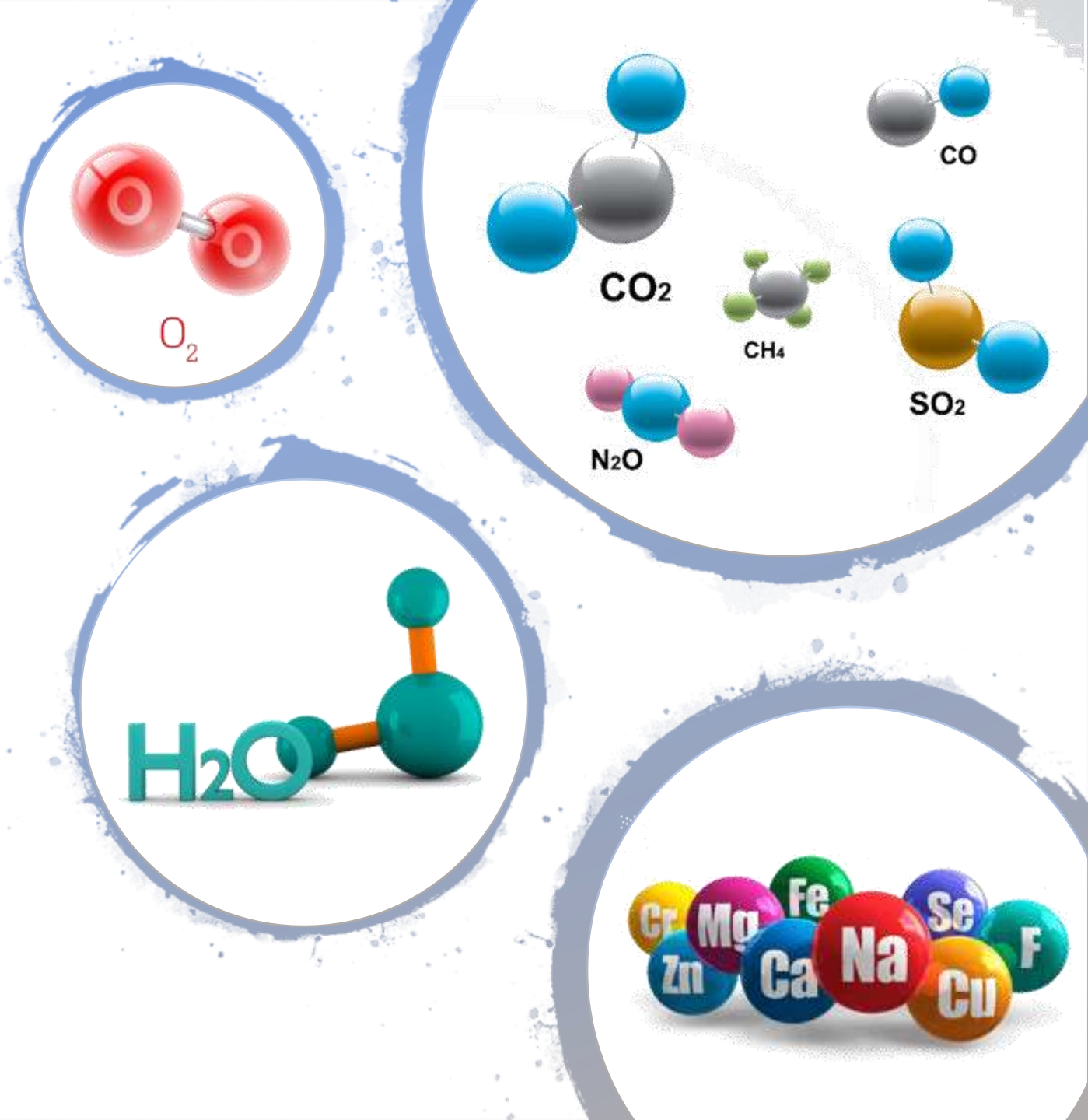
Etapas da aula

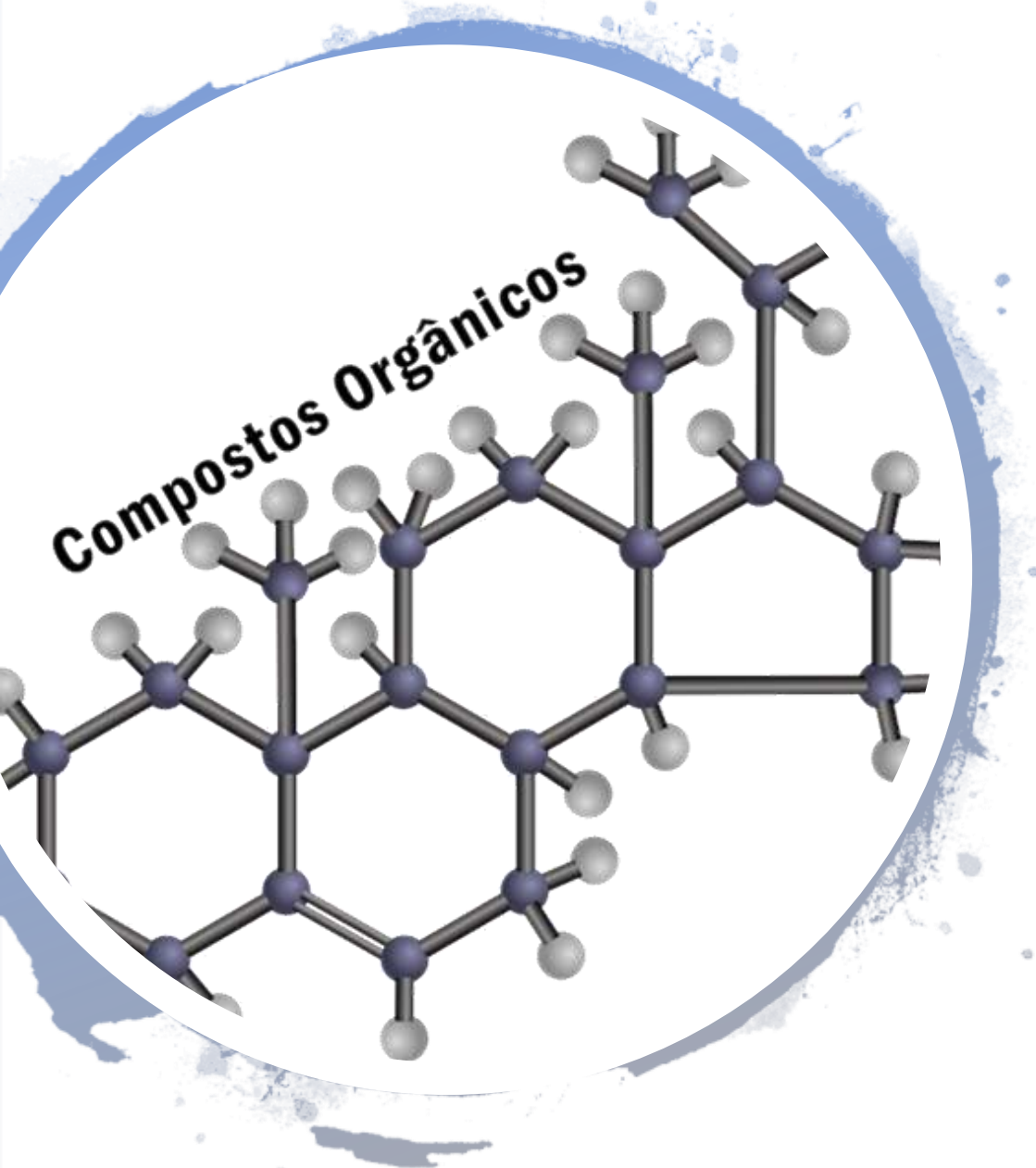
- 1. Revisão de química: Compostos orgânicos**
- 2. Estruturas básicas da célula bacteriana e suas funções**
- 3. O que é Envoltório bacteriano?**
- 4. Estrutura química e funções da membrana plasmática**
- 5. Parede celular de bactérias Gram-negativas**

1- Revisão de química: Compostos orgânicos

Compostos orgânicos X Compostos inorgânicos

- **Os compostos inorgânicos** → água, gases, ácidos, bases, sais...
- Excluindo-se a água, constituem cerca de 1 a 1,5% das células vivas.
- Não podem ser usados pelas células para realizar funções biológicas complexas.

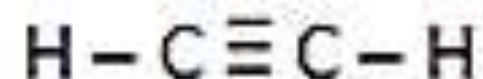
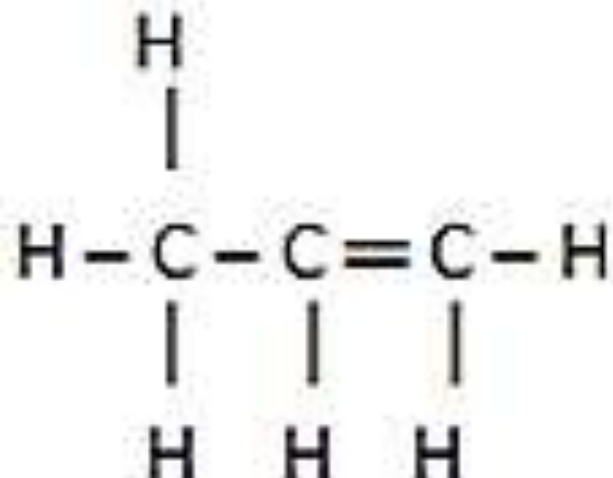
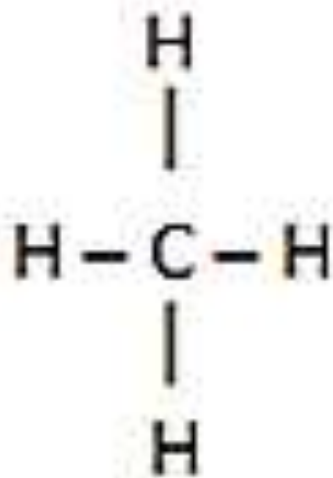




Compostos orgânicos X Compostos inorgânicos

- **Os compostos orgânicos** → sempre contêm carbono e hidrogênio e sua estrutura típica é complexa
- Átomos de carbono podem se combinar em uma enorme variedade de formas com outros átomos de carbono e com átomos de outros elementos.
- Podem ser usados pelas células para realizar funções biológicas complexas.

Compostos orgânicos – Esqueleto de carbono



Estruturas:

Grupos funcionais diferentes conferem propriedades diferentes às moléculas orgânicas

Tabela 3.1 Grupos funcionais de importância bioquímica

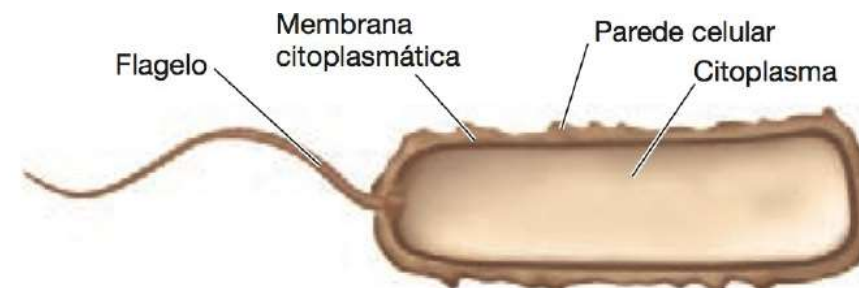
Grupo funcional	Estrutura ^a	Relevância biológica	Exemplo
Ácido carboxílico	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-\text{OH} \end{array}$	Ácidos orgânicos, aminoácidos, ácidos graxos; lipídeos; proteínas	Acetato ^b
Aldeído	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-\text{H} \end{array}$	Grupo funcional de açúcares redutores como glicose; aldeídos	Formaldeído
Álcool	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ -\text{C}-\text{OH} \\ \\ \text{H} \end{array}$	Lipídeos; carboidratos	Glicose
Ceto	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}- \end{array}$	Intermediários do ciclo do ácido cítrico	α -cetoglutarato
Éster	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{H} \\ \parallel \quad \\ -\text{C}-\text{O}-\text{C}- \\ \\ \text{H} \end{array}$	Triglicerídeos	Lipídeos de <i>Bacteria</i> e <i>Eukarya</i> ;
Éster fosfato	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{O}-\text{P}-\text{O}-\text{C}- \\ \\ \text{O} \end{array}$	Ácidos nucleicos	DNA, RNA
Tioéster	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{C}-\text{S}- \end{array}$	Metabolismo energético; biossíntese de ácidos graxos	Acetil-CoA
Éter	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \quad \\ -\text{C}-\text{O}-\text{C}- \\ \quad \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array}$	Certos tipos de lipídeos	Lipídeos de <i>Archaea</i>
Anidrido ácido	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{O} \\ \parallel \quad \parallel \\ -\text{C}-\text{O}-\text{P}=\text{O} \\ \\ \text{O} \end{array}$	Metabolismo energético	Acetil fosfato
Fosfoanidrido	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{O} \\ \parallel \quad \parallel \\ \text{O}-\text{P}-\text{O}-\text{P}-\text{O} \\ \quad \\ \text{O} \quad \text{O} \end{array}$	Metabolismo energético	Adenosina trifosfato (ATP)
Peptídeo	$\text{R}-\text{C}-\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{C} \end{array}-\text{N}-\text{C}-\text{R}$	Proteínas	Proteínas celulares

^aA ligação ondulada (-) indica uma ligação "rica em energia" (ver Seção 5.8)

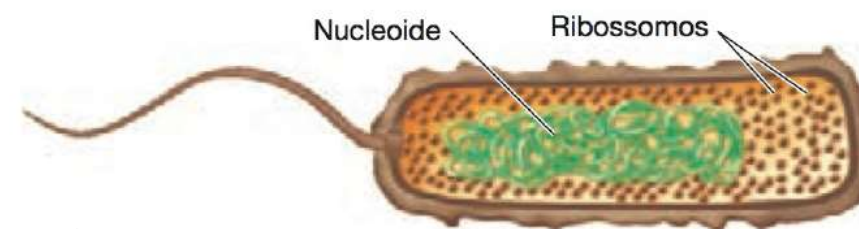
^bO acetato (H_3CCOO^-) é a forma ionizada do ácido acético (H_3CCOOH).

Tabela 3.2 Composição química de uma célula procariótica^a

Molécula	Porcentagem do peso seco^b	Moléculas por célula (diferentes tipos)
Macromoléculas totais	96	24.610.000 (~2.500)
Proteínas	55	2.350.000 (~1.850)
Polissacarídeos	5	4.300 (2) ^c
Lipídeos	9,1	22.000.000 (4) ^d
Lipopolissacarídeos	3,4	1.430.000 (1)
DNA	3,1	2,1 (1)
RNA	20,5	255.500 (~660)
Monômeros totais	3,0	— ^e (~350)
Aminoácidos e precursores	0,5	— (~100)
Açúcares e precursores	2	— (~50)
Nucleotídeos e precursores	0,5	— (~200)
Íons inorgânicos	1	— (18)
Total	100%	—



(a) **Proteínas**
marrom



(b) **Ácidos Nucleicos:** **DNA** **RNA**



(c) **Polissacarídeos**
amarelo

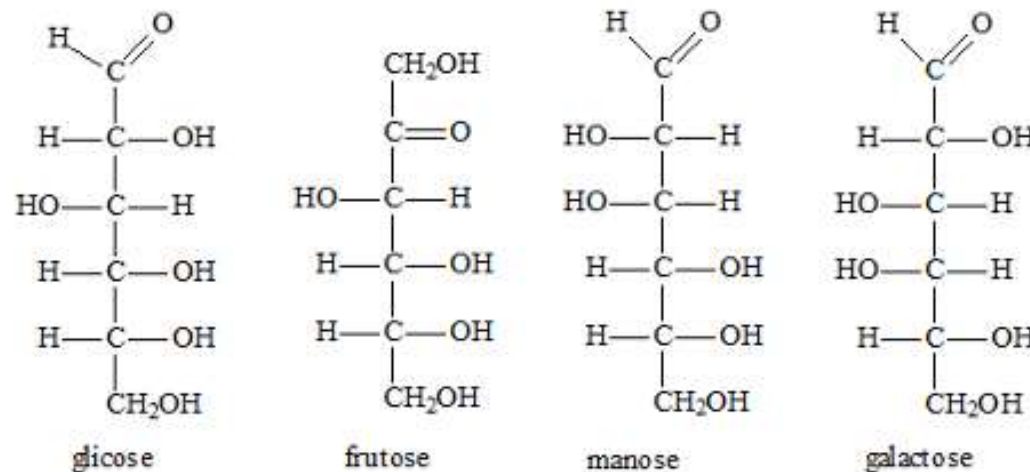


(d) **Lipídeos**
azul

Compostos orgânicos – Carboidratos

Átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio → açúcares

Relação 2:1 entre os átomos de hidrogênio e oxigênio



Os carboidratos simples são utilizados na síntese de aminoácidos e gorduras ou substâncias similares, que são **utilizadas para construir as membranas celulares** e outras estruturas.

Polissacarídeos – dezenas ou centenas de monossacarídeos (açúcares) unidos através de uma síntese por desidratação.

Compostos orgânicos – Lipídeo

- Se os lipídeos desaparecessem da Terra, todas as células vivas entrariam em colapso, se transformando em uma poça de líquido.

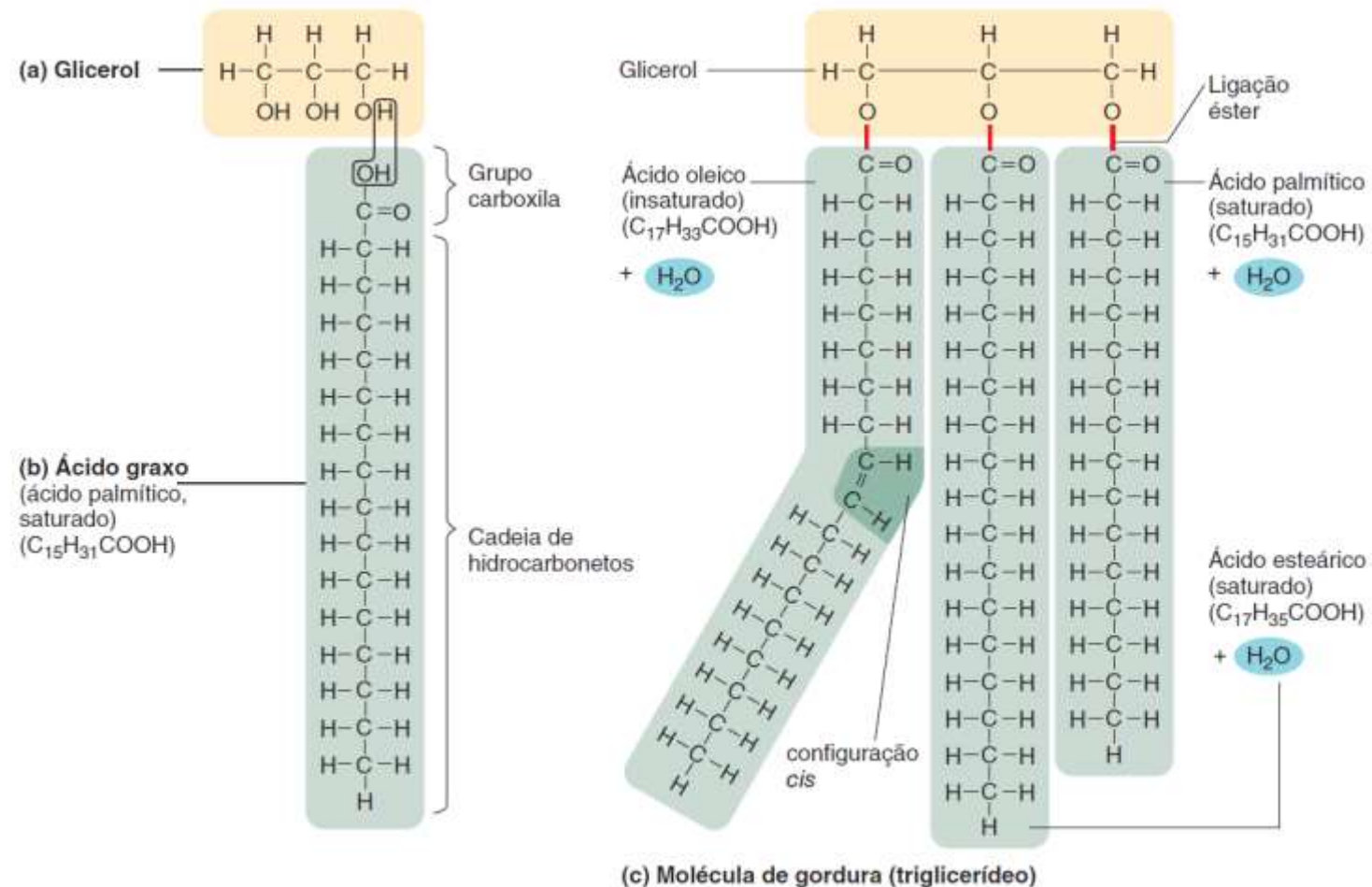


Essenciais para a estrutura e a função das membranas celulares.

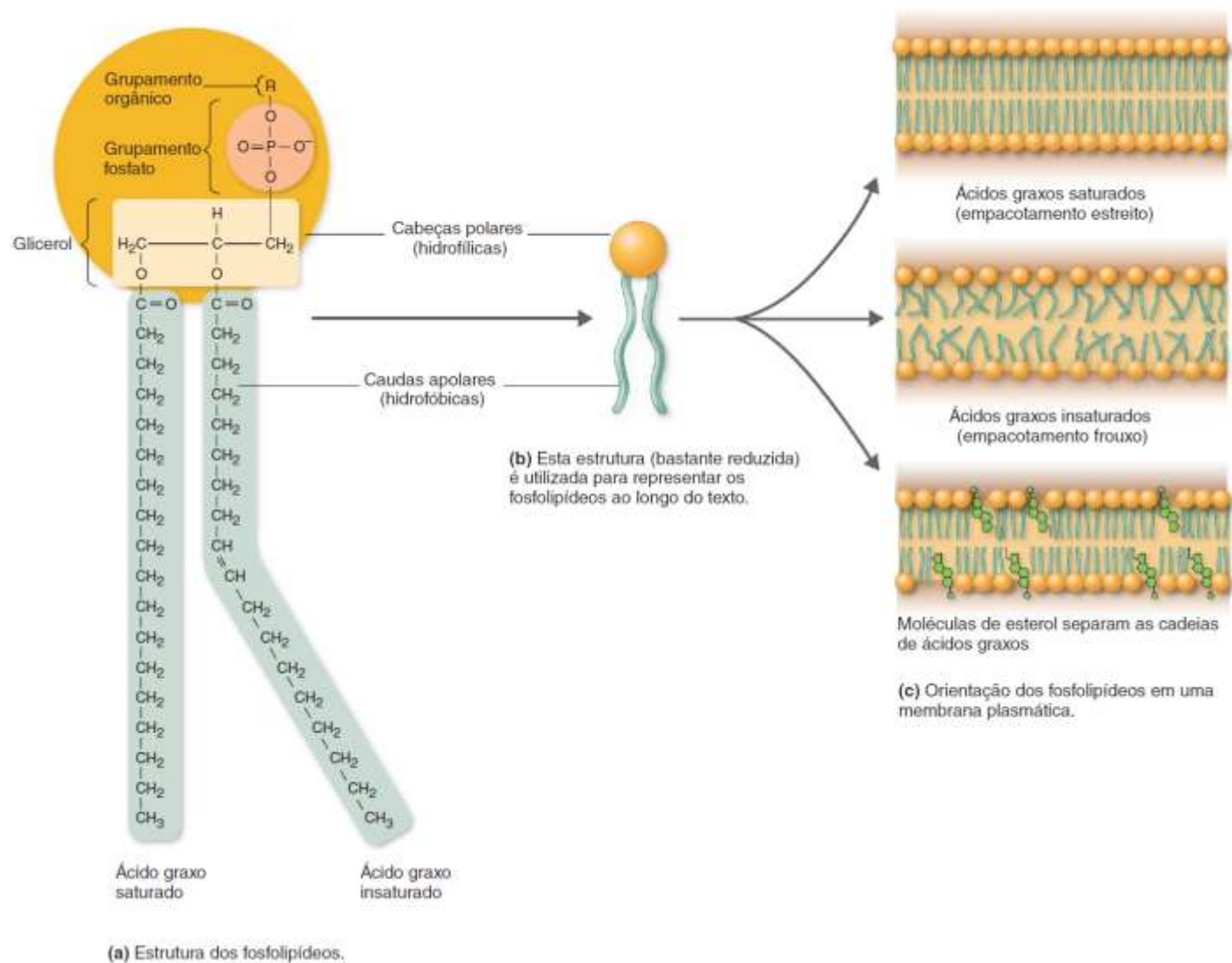
A função primária dos lipídeos é formar as membranas plasmáticas que recobrem as células.

Compostos orgânicos – Lipídeo

- Átomos de carbono, hidrogênio e oxigênio – gordura - Moléculas grandes e **APOLARES**
- **NÃO** apresenta relação 2:1 entre os átomos de hidrogênio e oxigênio



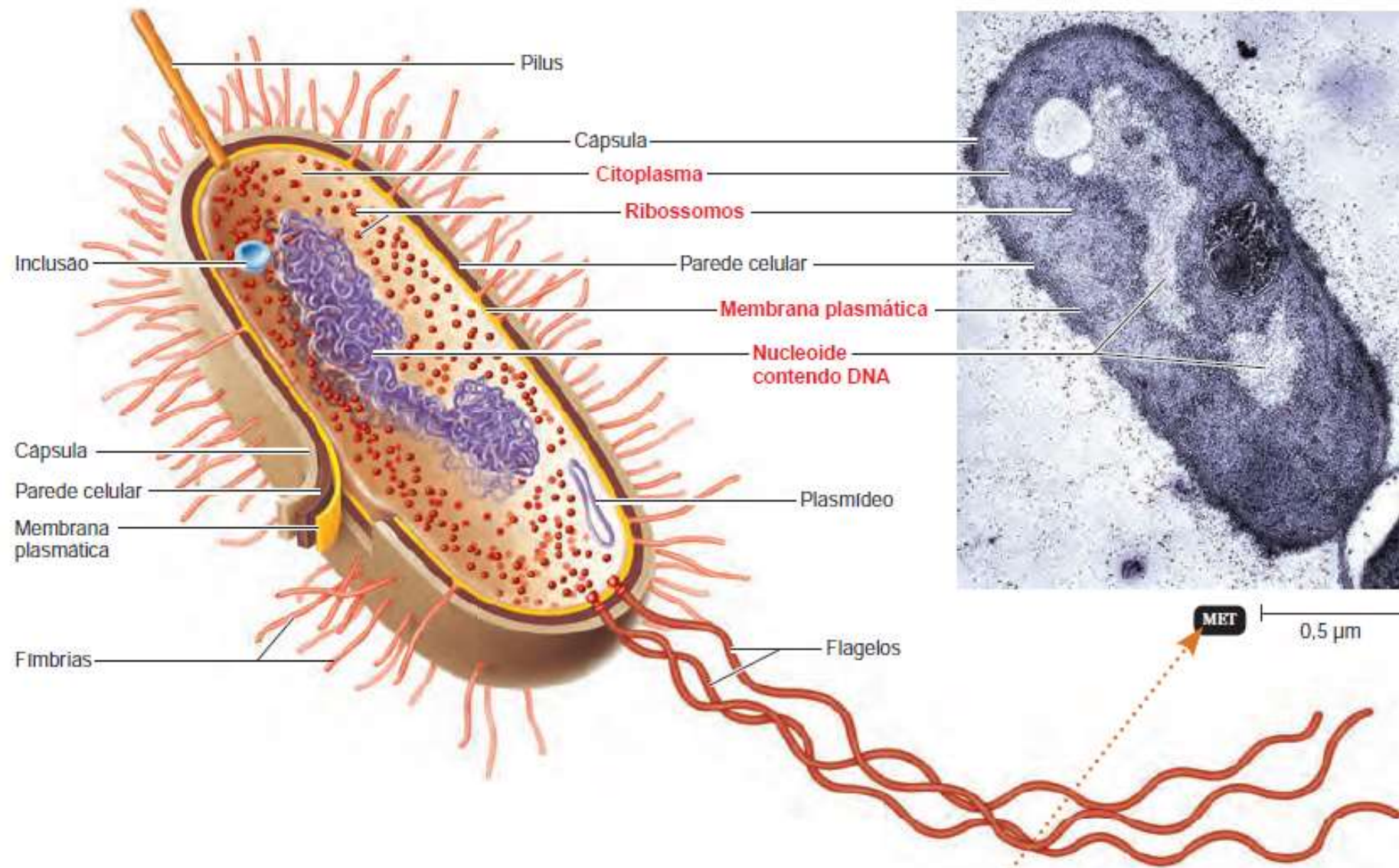
Compostos orgânicos – Fosfolipídeo



The background is a dark gradient transitioning from deep blue on the left to vibrant red on the right. It is filled with numerous out-of-focus light spots (bokeh) in shades of blue, purple, and red. A dense, horizontal band of fine, bright white and blue particles, resembling a starry nebula or a galaxy core, stretches across the middle of the frame.

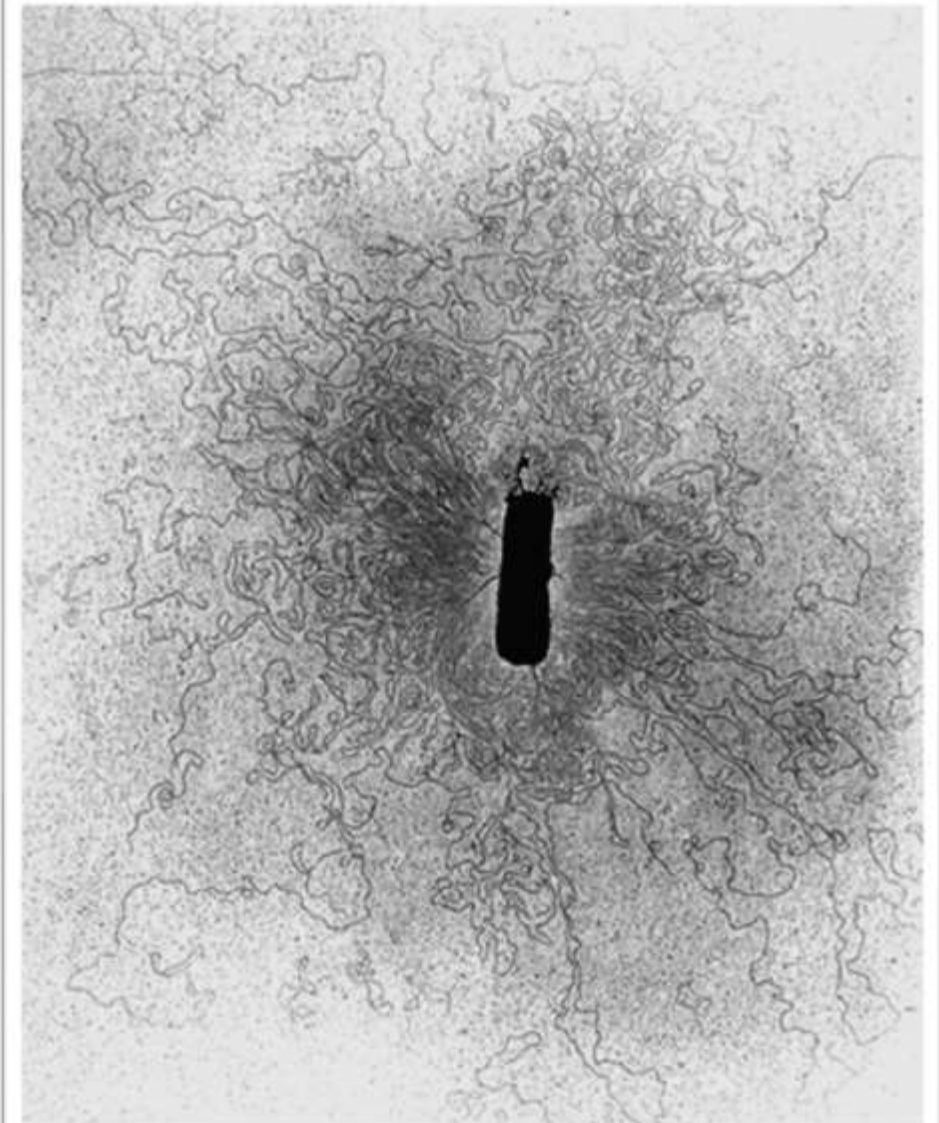
2- Estruturas básicas da célula bacteriana e suas funções

CÉLULA BACTERIANA



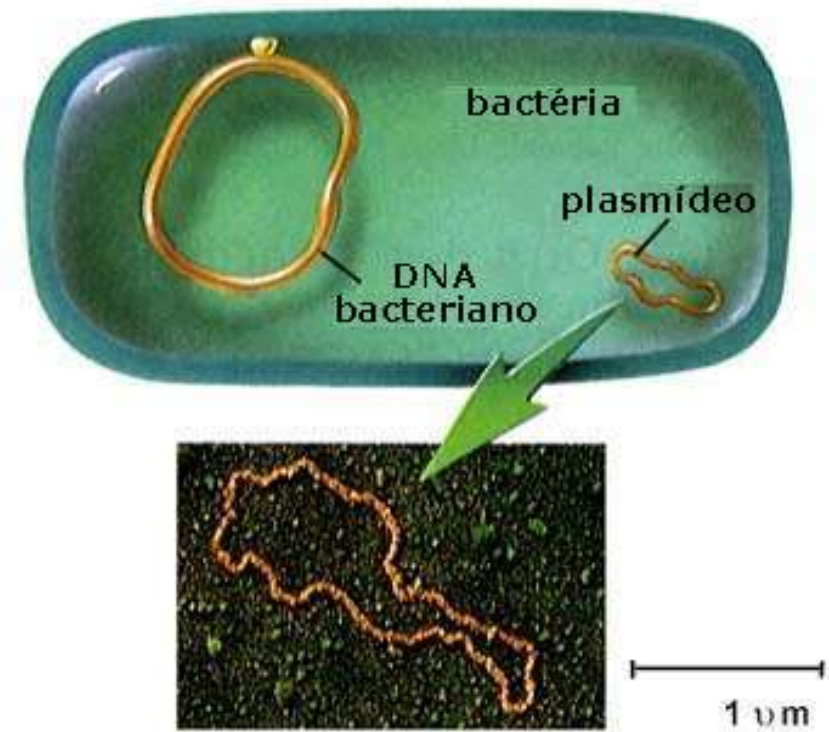
DNA OU NUCLEÓIDE BACTERIANO

- Uma única molécula
- Circular
- Fita dupla
 - Superenovelado
- Não é delimitado por membrana
- Características genotípicas e fenotípicas essenciais às bactérias



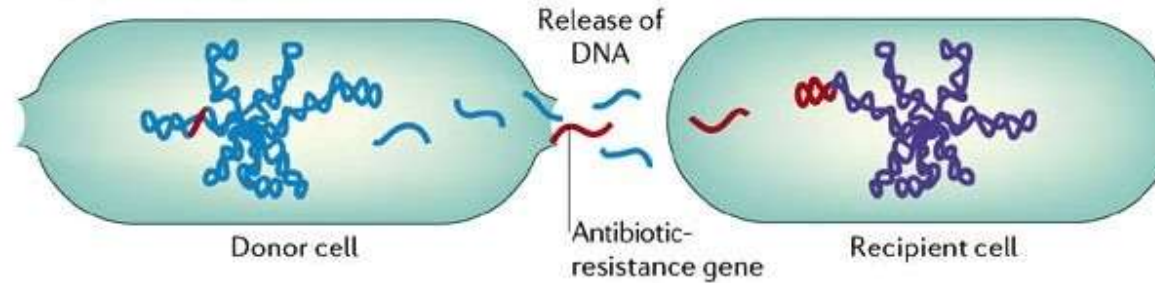
PLASMÍDEO

- Elemento genético extracromossomal
- Fita dupla * pequeno
- Replicação independente do nucleóide
- Número variável
- Contêm genes que conferem propriedades especiais às células:
 - Resistência a antimicrobianos
 - Proteínas efetoras
 - Síntese de nutrientes
 - Tolerância a metais tóxicos
- Não é essencial à vida bacteriana → VANTAGENS!!!
- Biotecnologia

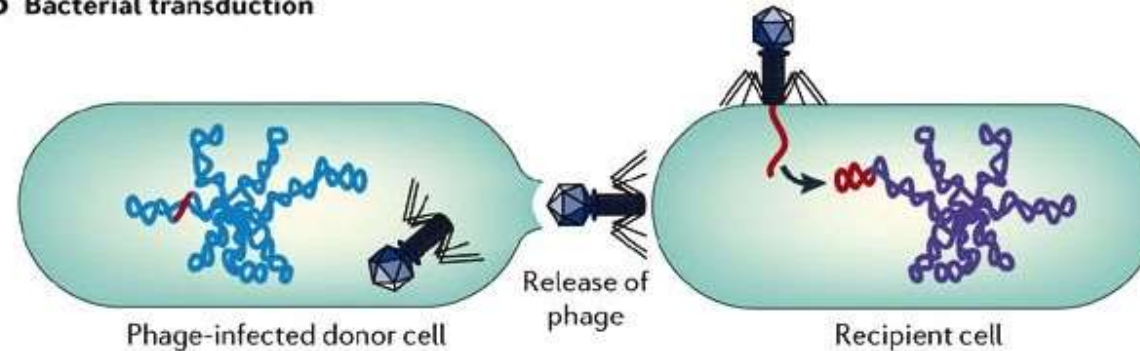


TRANSFERÊNCIA DE MATERIAL GENÉTICO

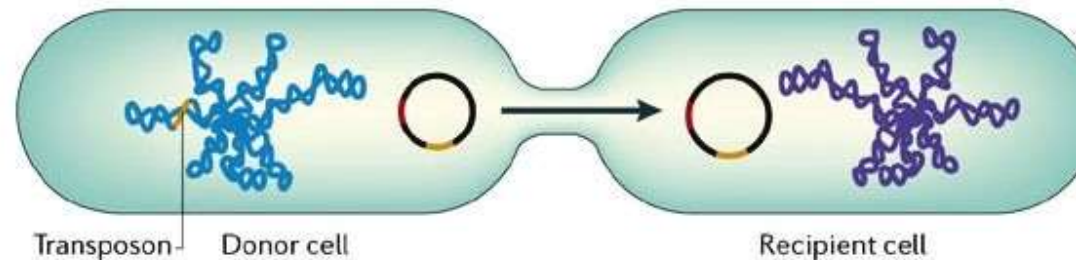
a Bacterial transformation



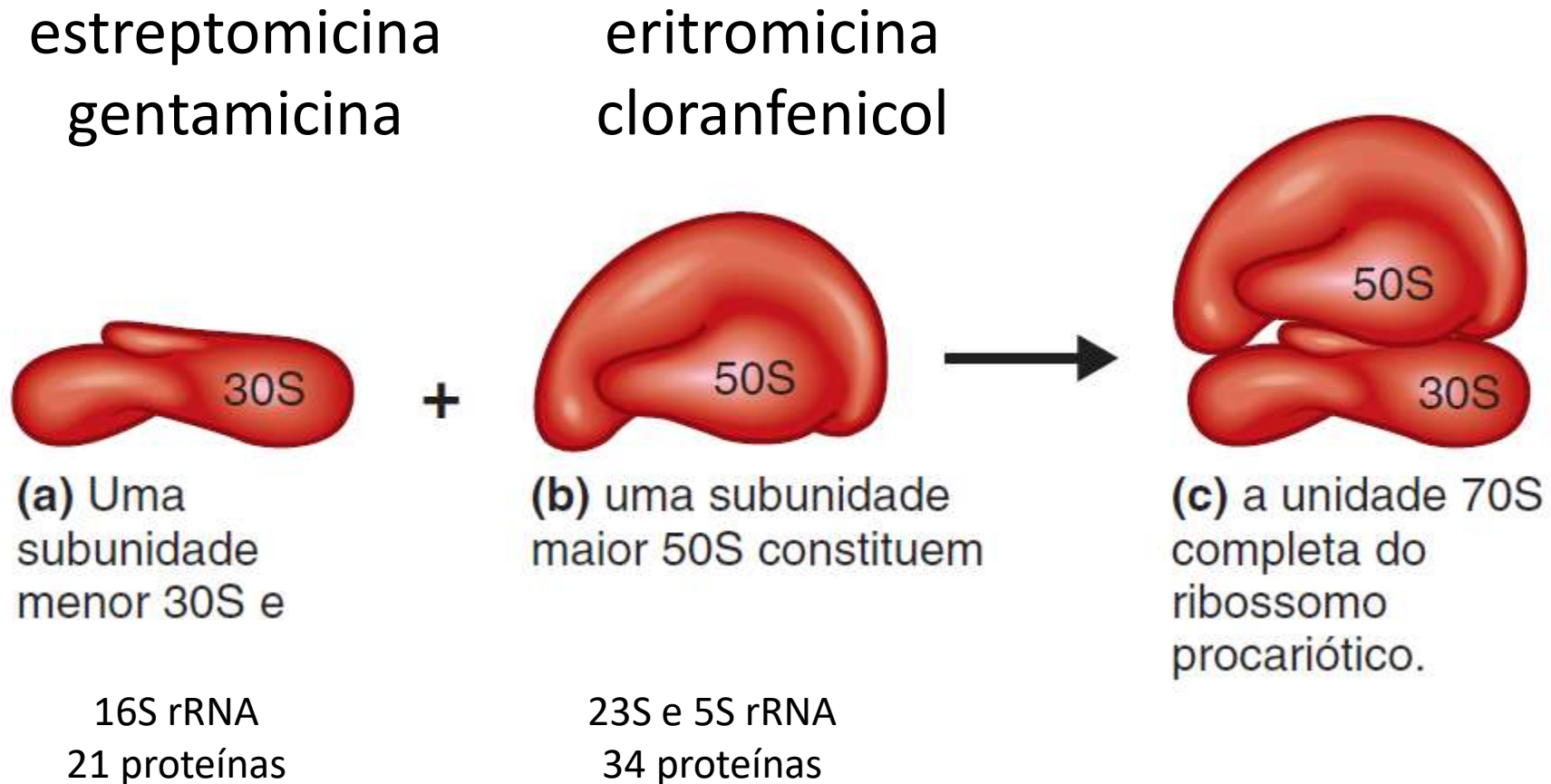
b Bacterial transduction



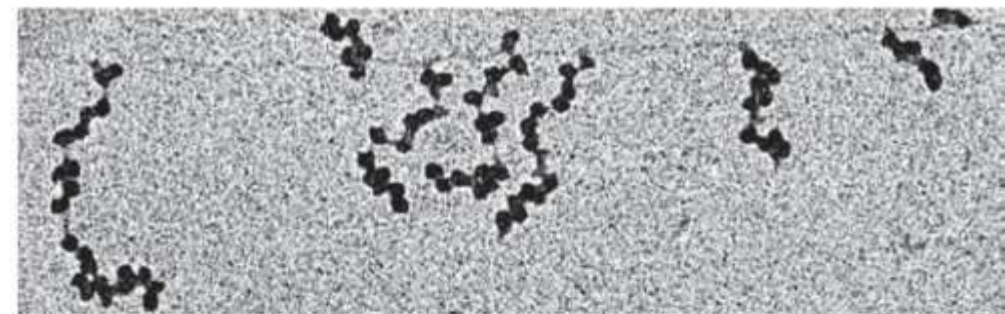
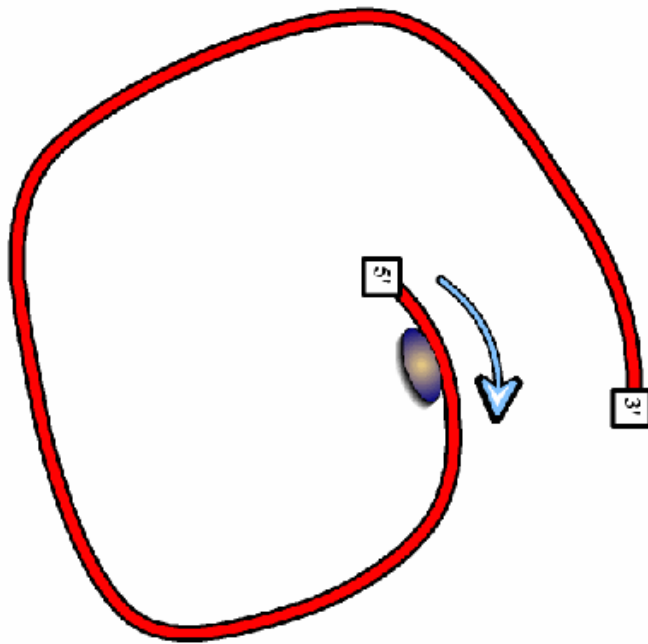
c Bacterial conjugation



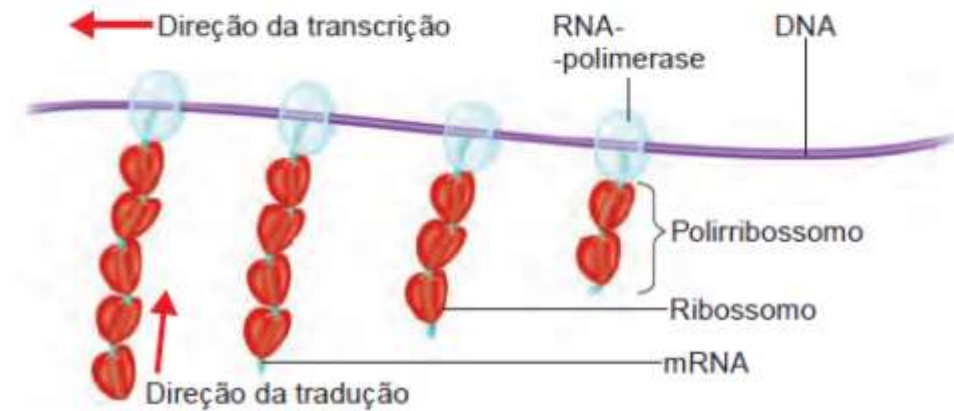
RIBOSSOMOS PROCARIOTOS



RIBOSSOMOS PROCARIOTOS



MET 300 nm



CITOPLASMA

- Solução aquosa
- Membrana citoplasmática
- Partículas insolúveis:
 - Ribossomos
 - Nucleóide
- Reações químicas

Água

Sais e íons inorgânicos

Açúcares

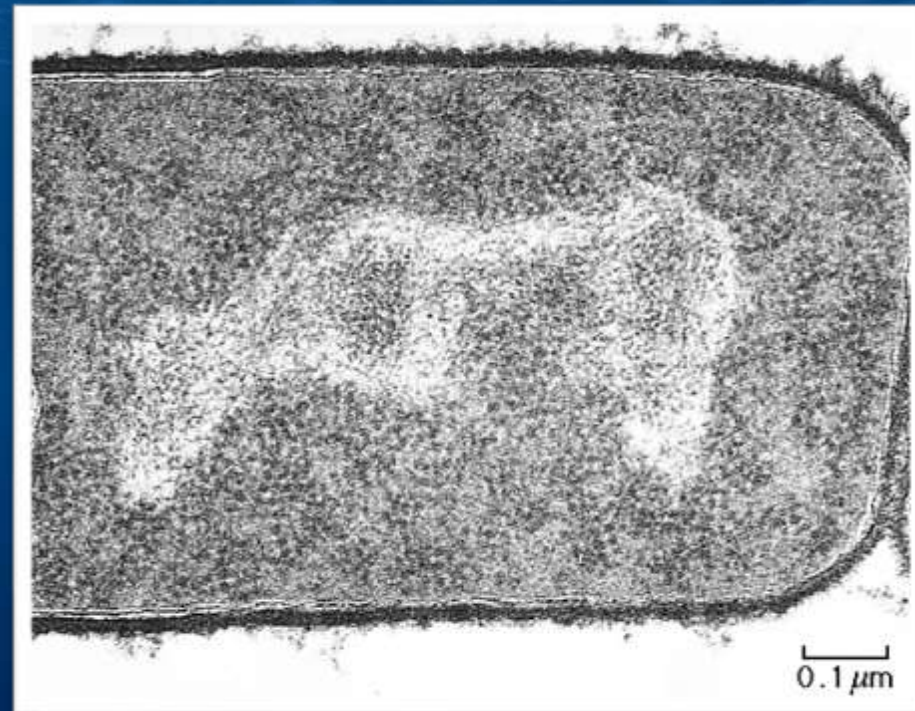
Aminoácidos Nucleotídeos

Vitaminas

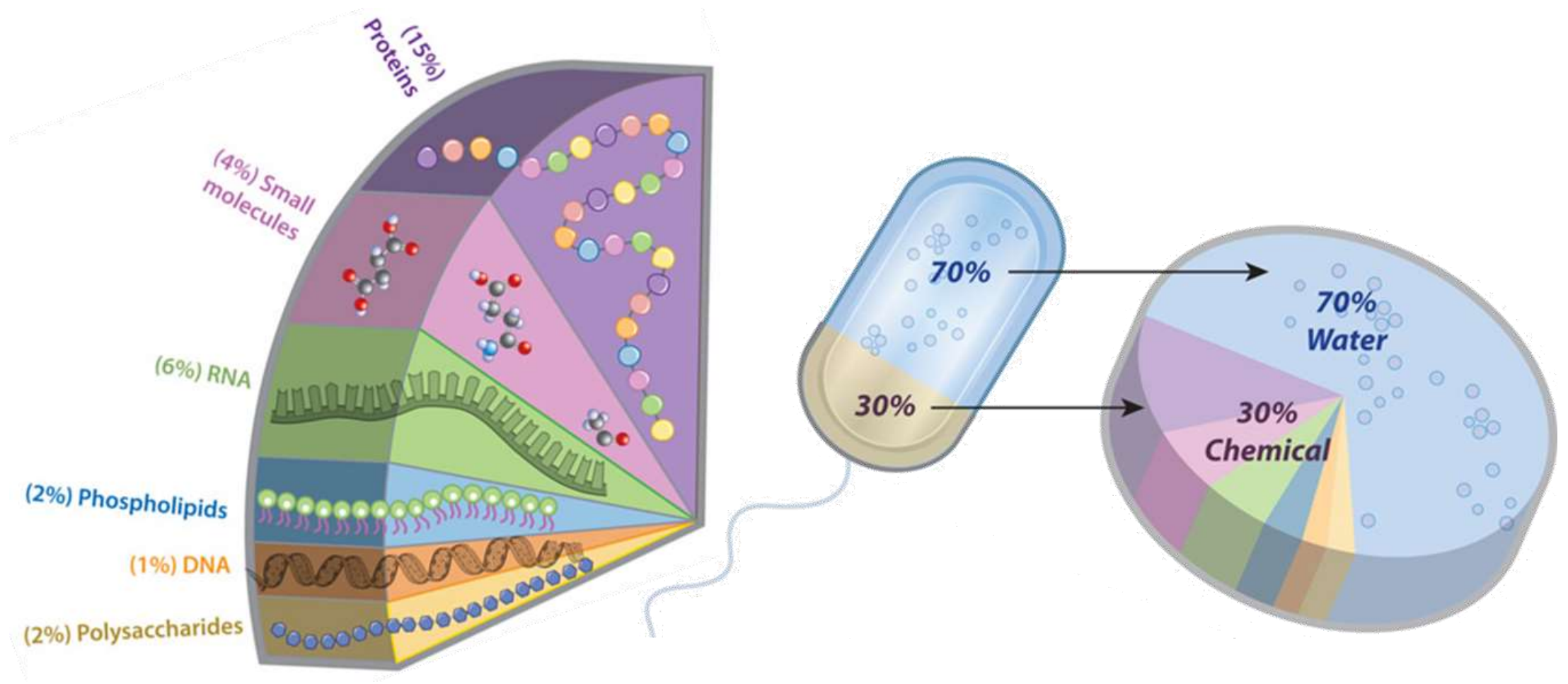
Coenzimas

Enzimas

Outros compostos solúveis



CITOPLASMA

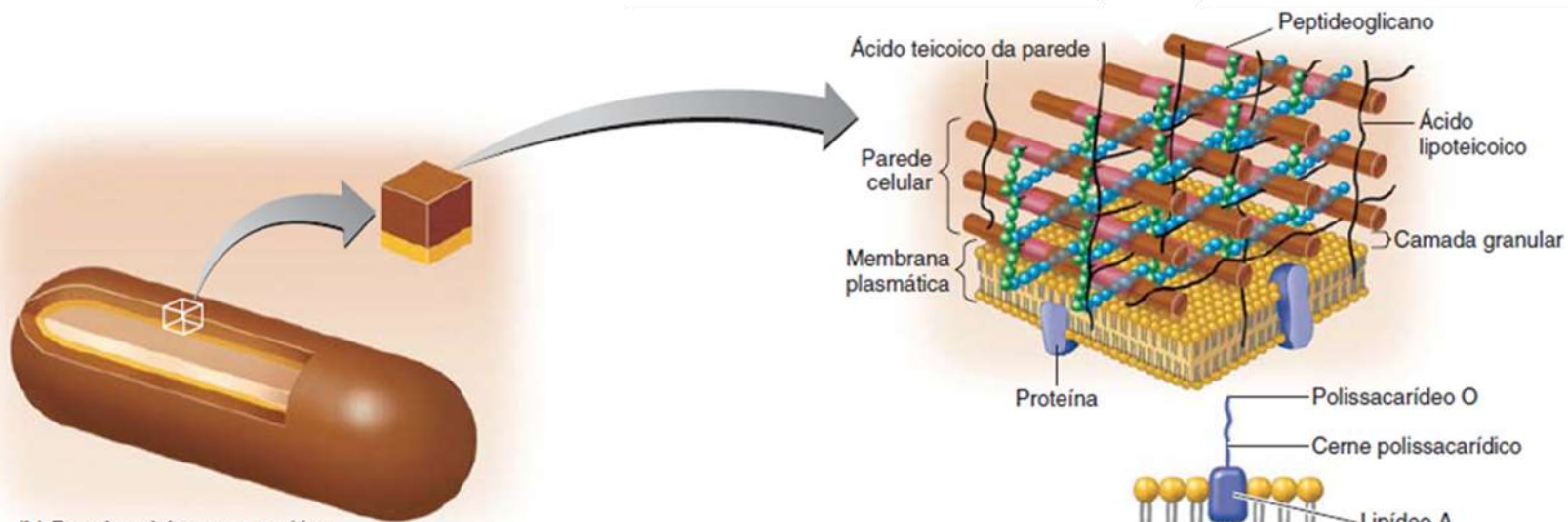




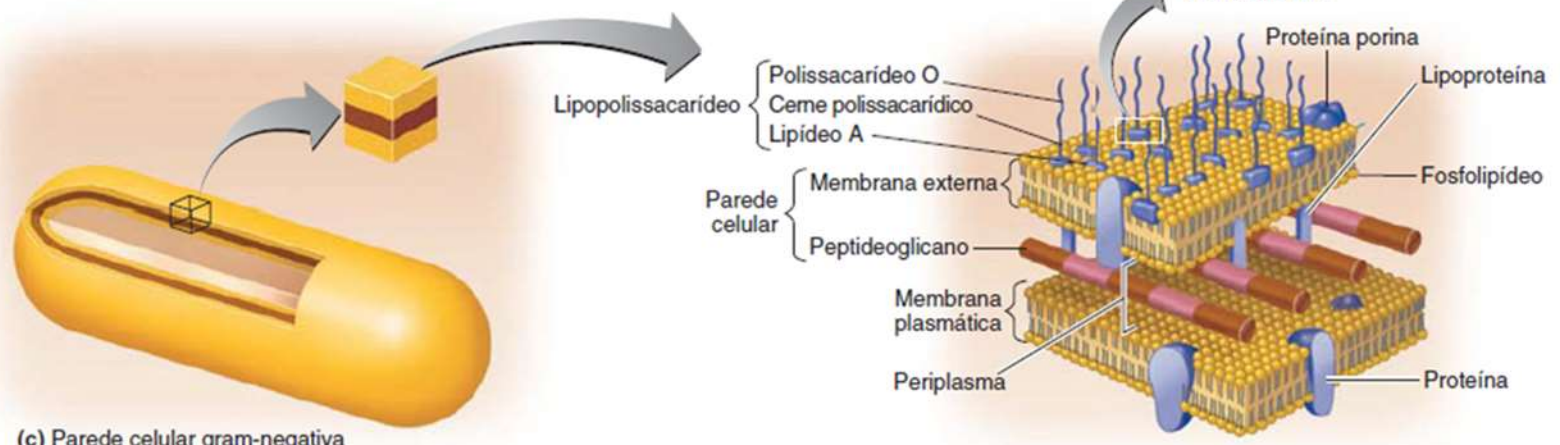
ENVOLTÓRIO BACTERIANO

ENVOLTÓRIO BACTERIANO

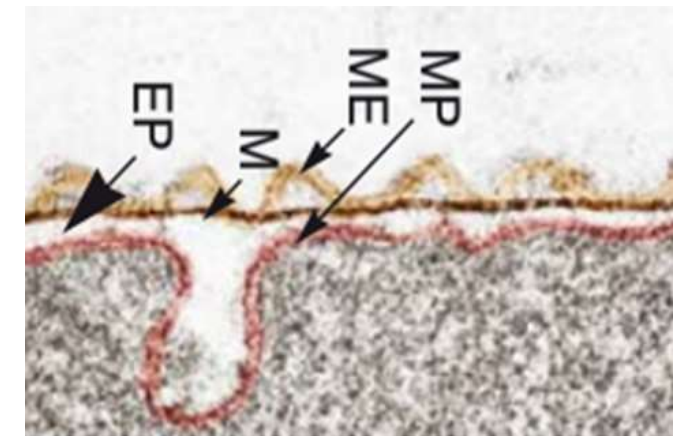
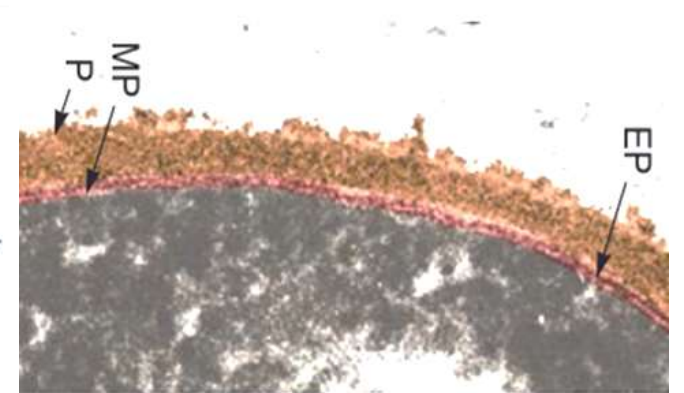
- Conjunto de membranas; estruturas macromoleculares; Delimitam o meio intracelular e o ambiente.



(b) Parede celular gram-positiva

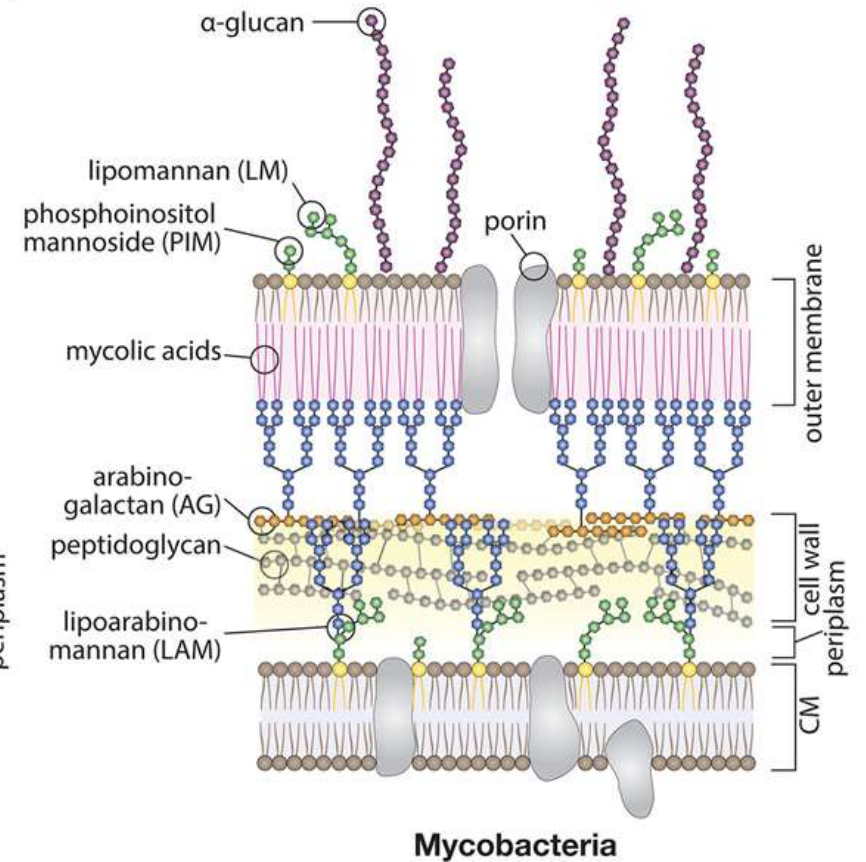
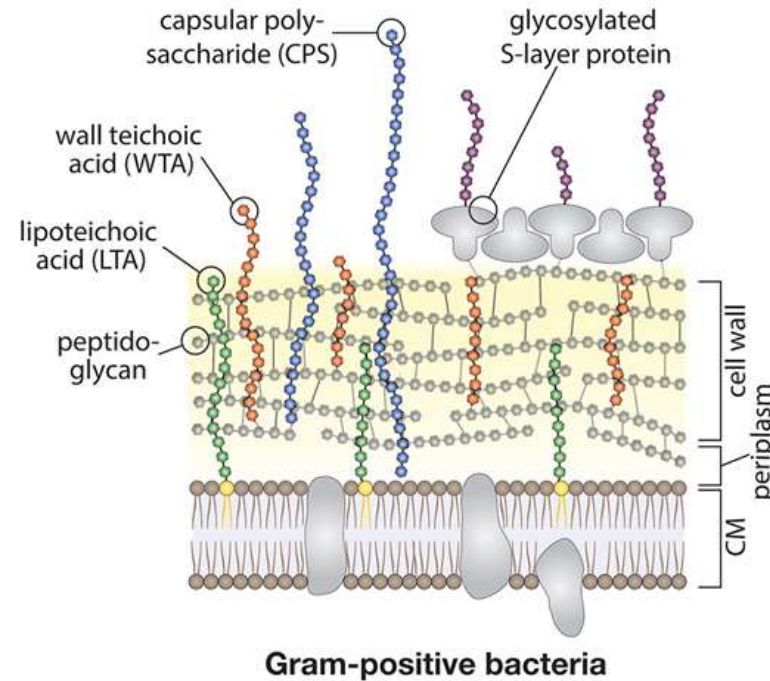
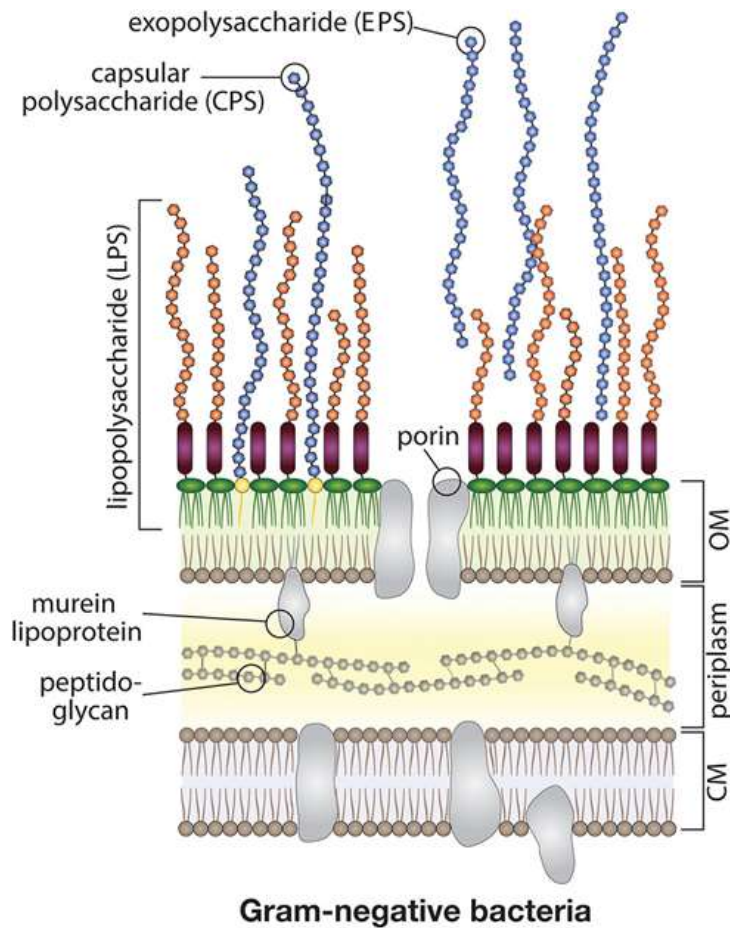


(c) Parede celular gram-negativa

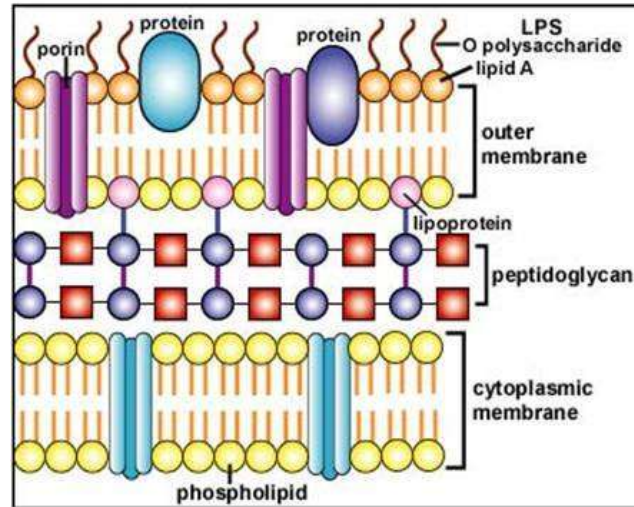


ENVOLTÓRIO BACTERIANO

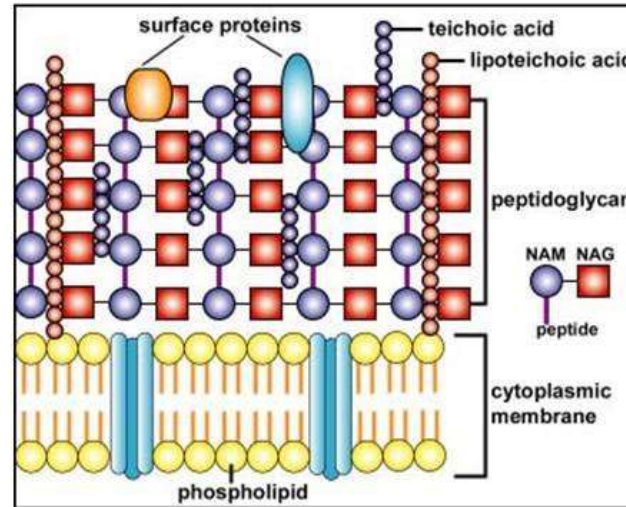
- Conjunto de membranas; estruturas macromoleculares; Delimitam o meio intracelular e o ambiente.



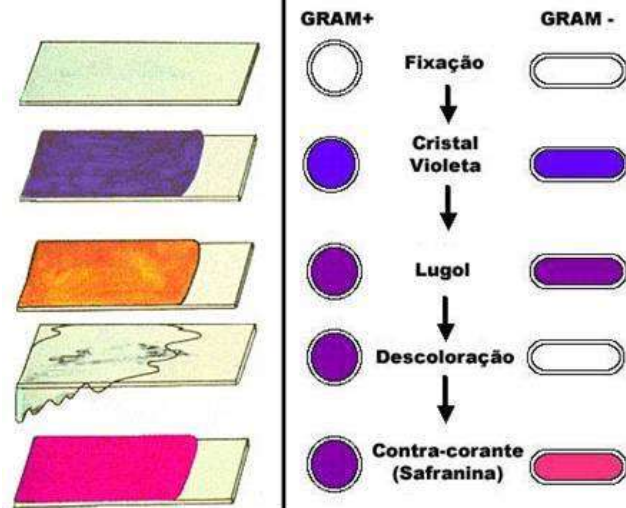
Bactéria Gram-negativa



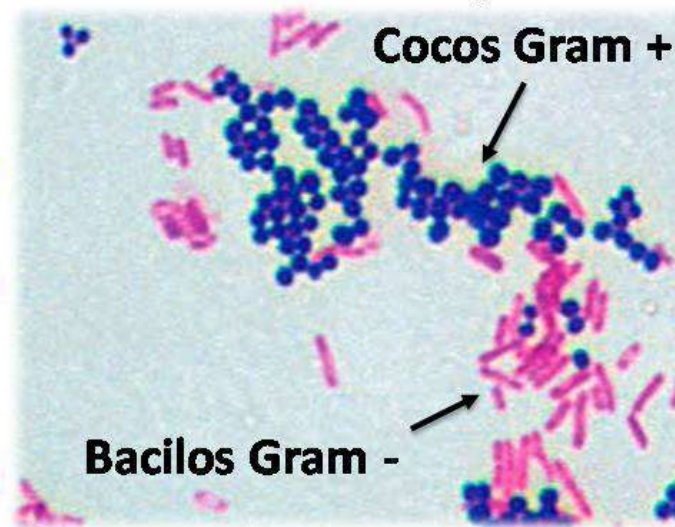
Bactéria Gram-positiva



Coloração de Gram

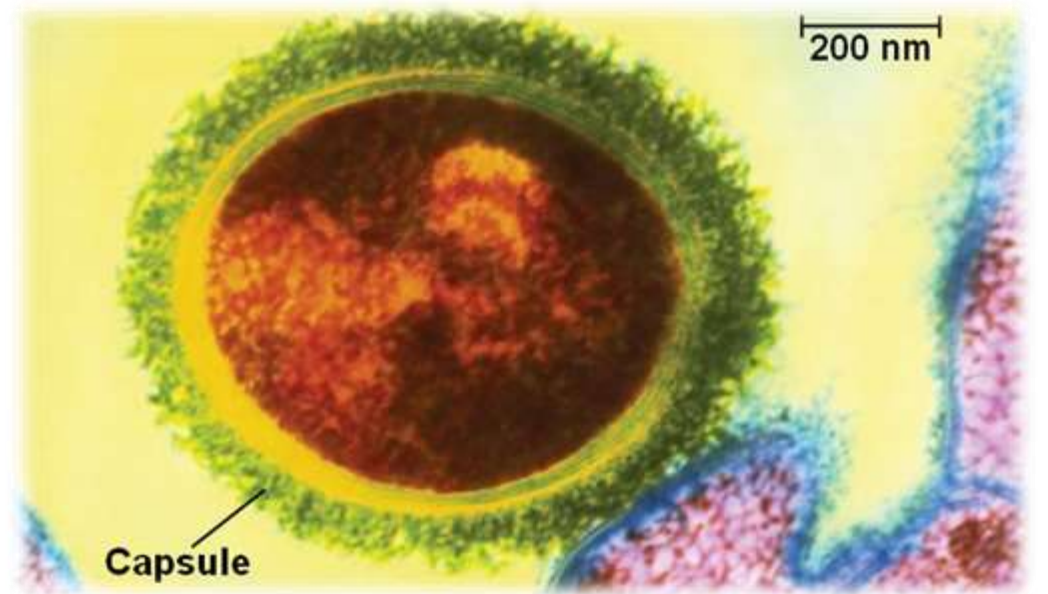
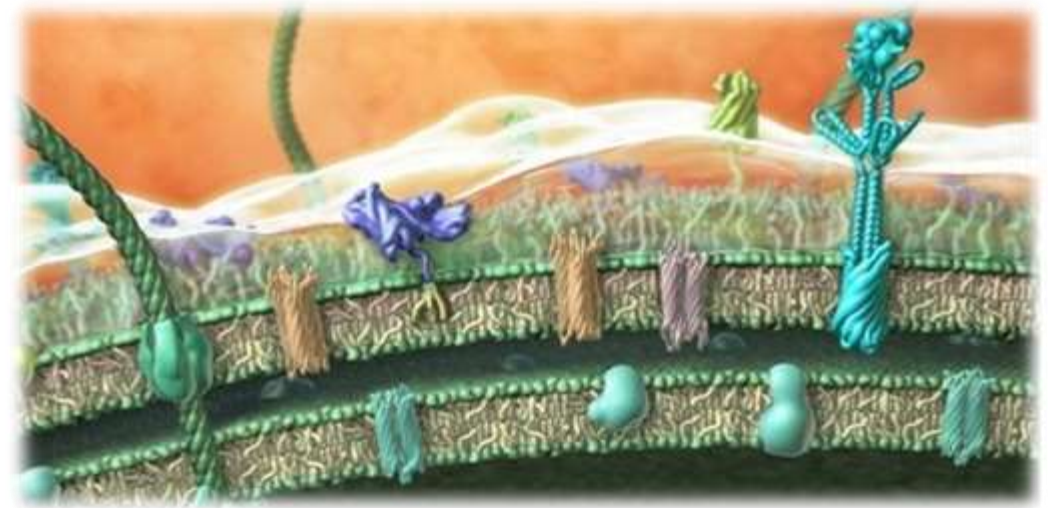


Bacterioscopia

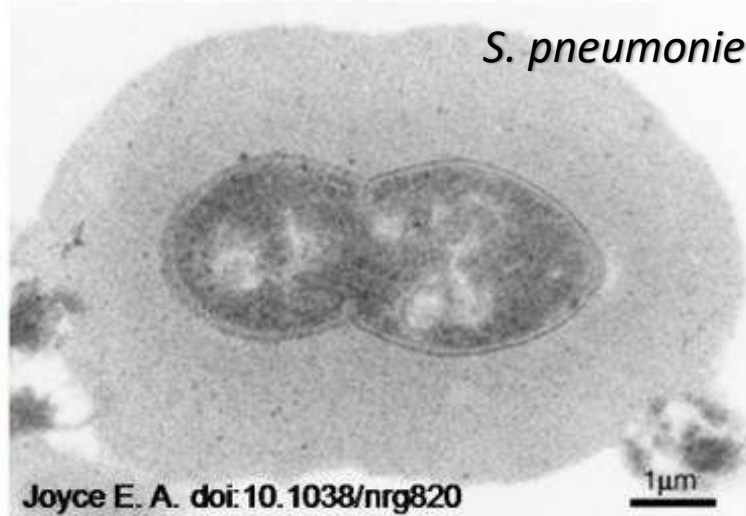
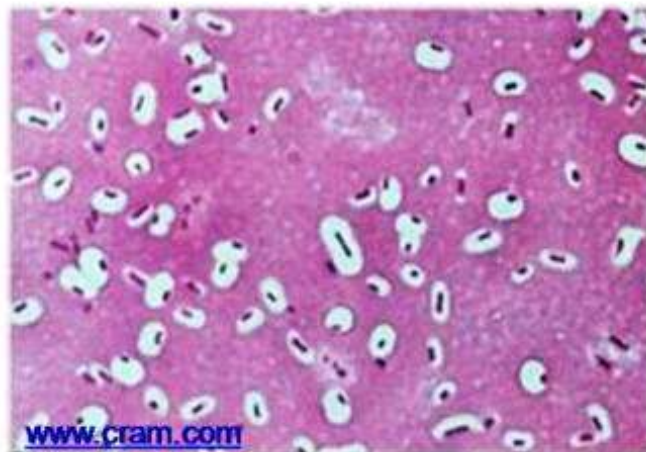
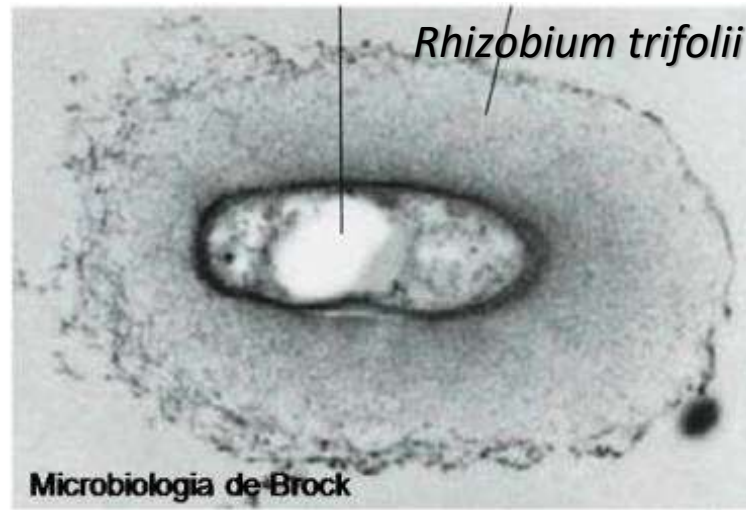
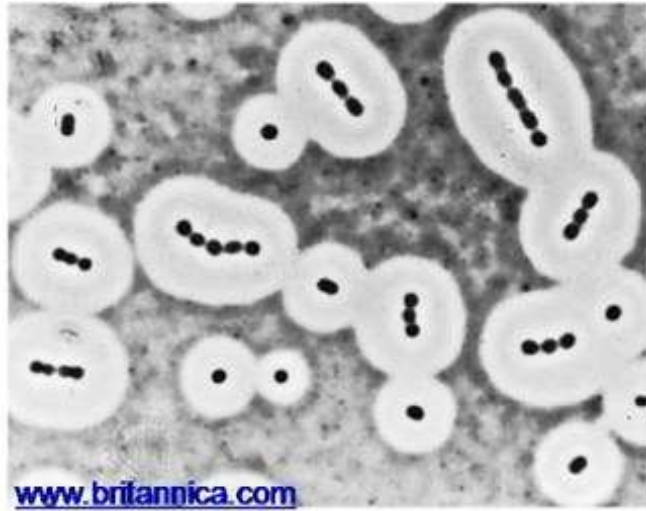


ESTRUTURAS DE SUPERÍCIE CELULAR - CÁPSULA

- Externa à parede celular
 - Polissacarídeo – glicocálice (açúcares organizados)
 - Protéica
- Polissacarídica:
 - Viscosidade
 - Compacta
 - Espessura variável
 - **Fortemente aderida à membrana celular**
 - **Cápsula**
 - **Fracamente aderida à membrana celular**
 - **Camada limosa**
- Função:
 - Resistência à dessecação – afinidade com H₂O
 - Fator de virulência – anti-fagocítica
 - Adesão celular – biótica ou abiótica



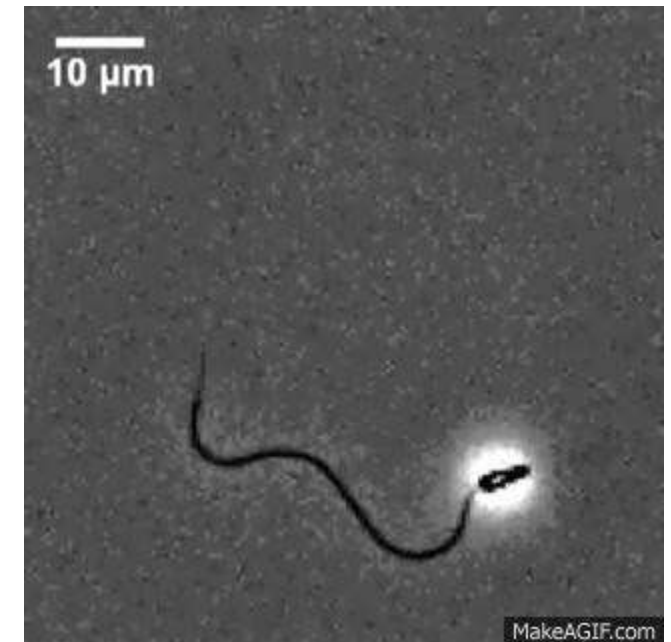
CÁPSULAS



ESTRUTURAS DE SUPERÍCIE CELULAR - FLAGELO

Longos apêndices filamentosos que realizam a propulsão da bactéria

- Estrutura helicoidal semi-rígida
- Ligados na membrana plasmática e na parede celular
- Motilidade
- Adesão bacteriana
- Biofilme
- Maior do que a célula
- Espiroquetas – filamento axial
- Tipagem bacteriana



ESTRUTURAS DE SUPERÍCIE CELULAR - FLAGELO

Flagelo polar - monotríqueo



J Bacteriol. 1966 Jan; 91(1): 414-421.

Flagelo polar - lofotríqueo



Clin Microbiol Rev. 2012 Jan; 25(1): 42-78.

Flagelo anfitríqueo



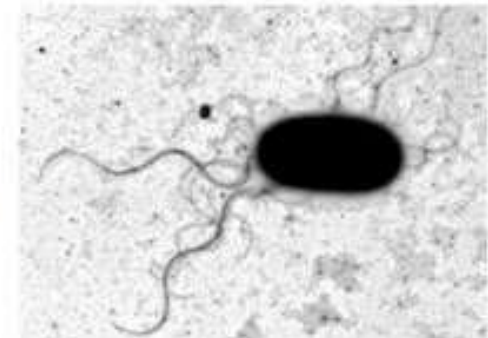
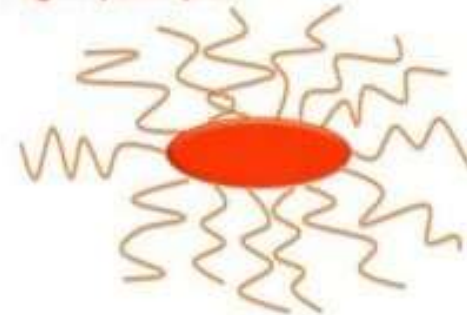
mBio. 2014 May-Jun; 5(3): e01349-14.

Flagelo anfitríqueo



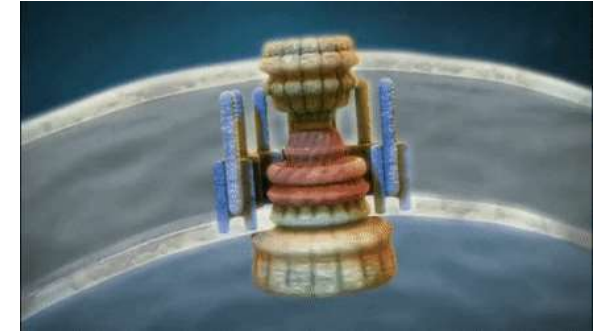
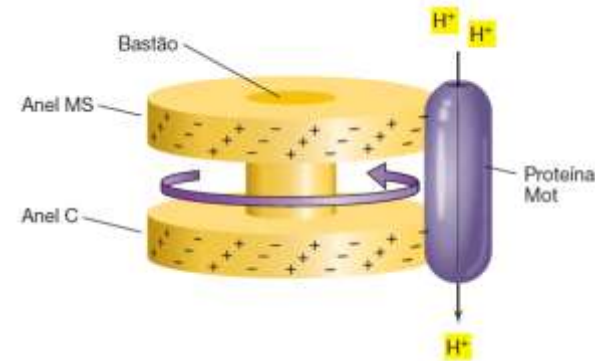
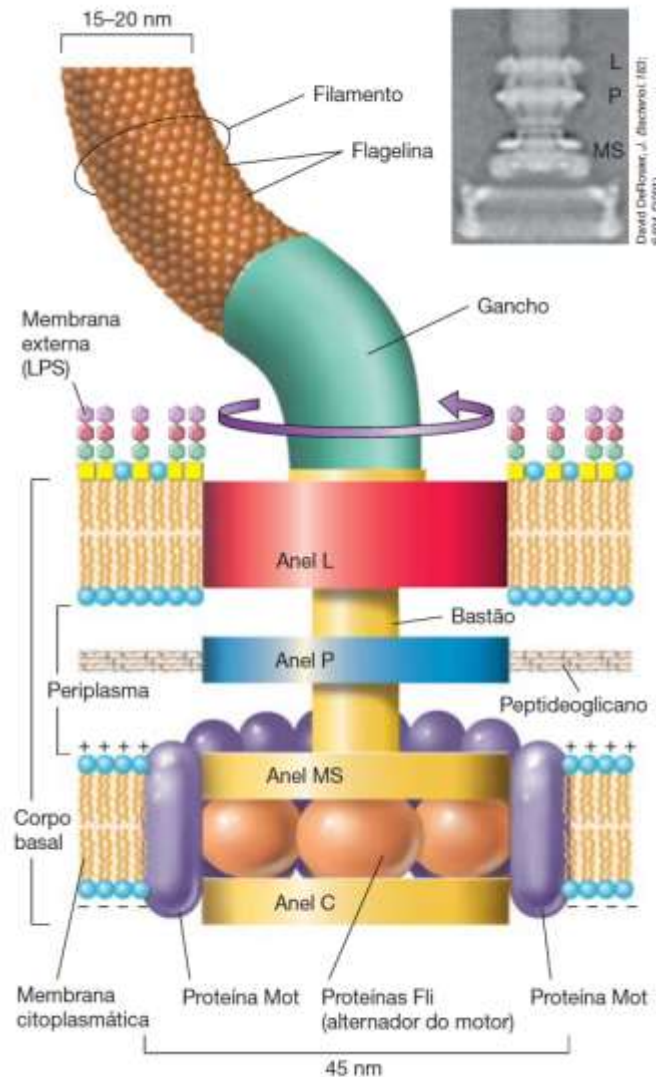
Proc Natl Acad Sci U S A. 1999 Sep 28; 96(20): 11584-11588.

Flagelo peritríqueo

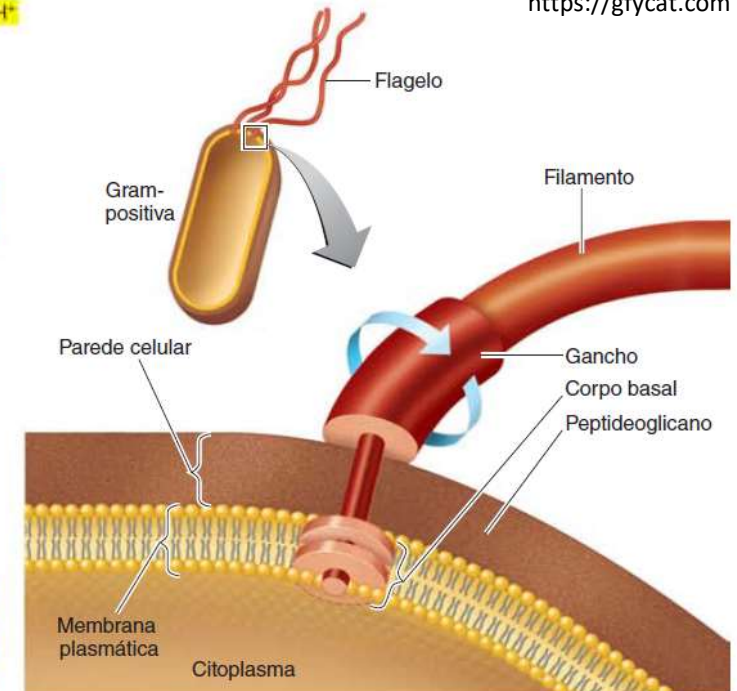
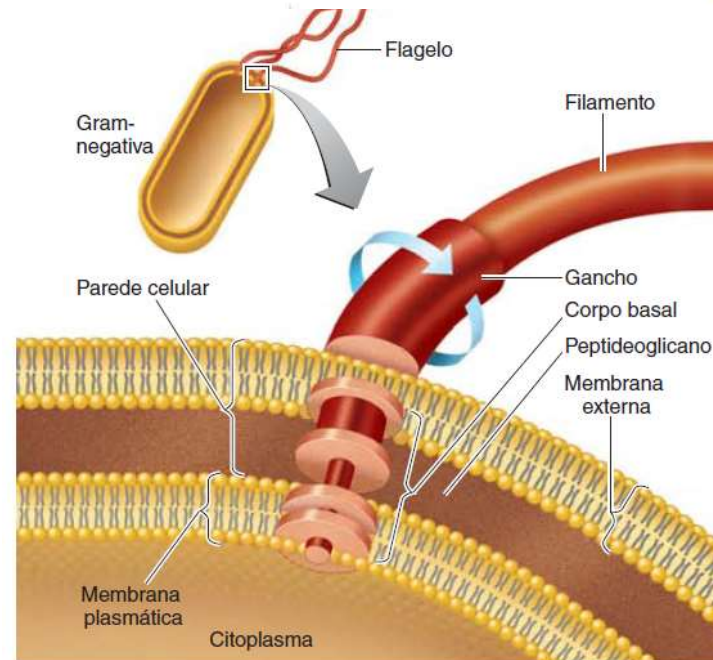


Appl Environ Microbiol. 2007 May; 73(9): 2963-2975.

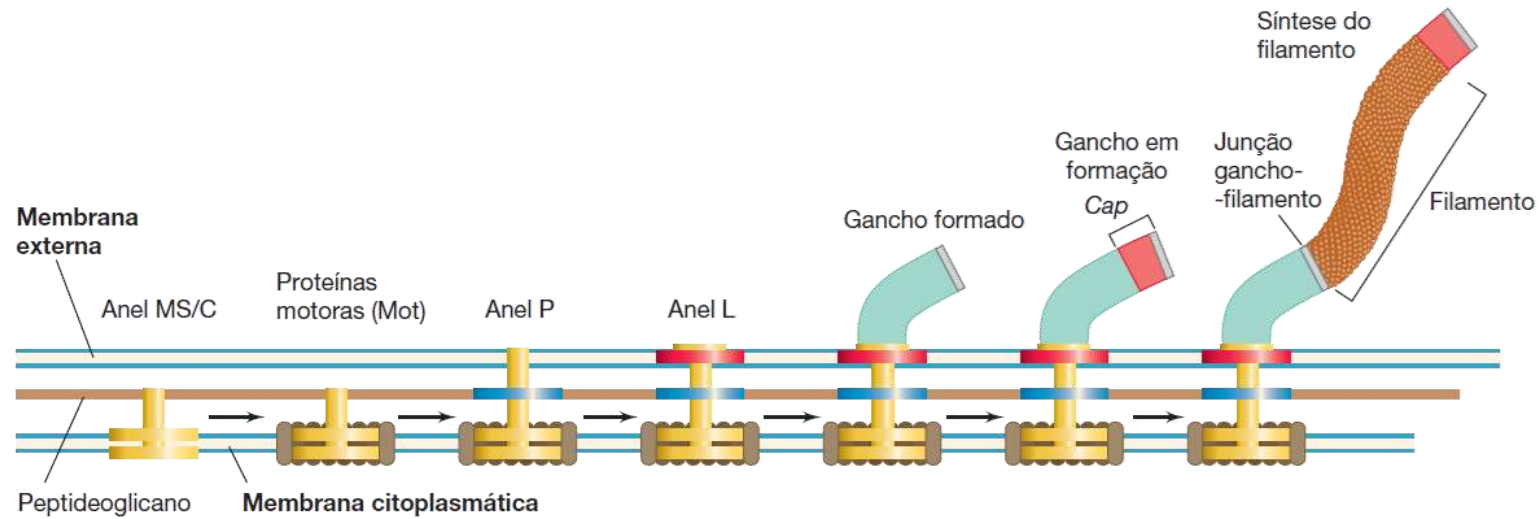
ESTRUTURA FLAGELAR – 3 regiões



<https://gfycat.com>

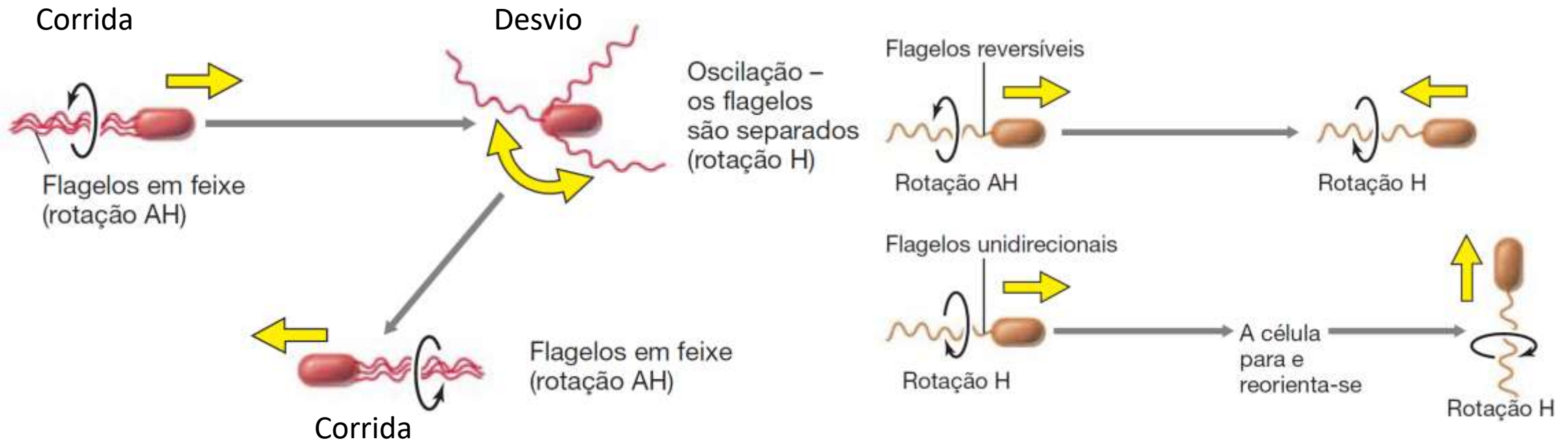


FLAGELO - BIOSÍNTESE



FLAGELO – PADRÕES DE MOTILIDADE

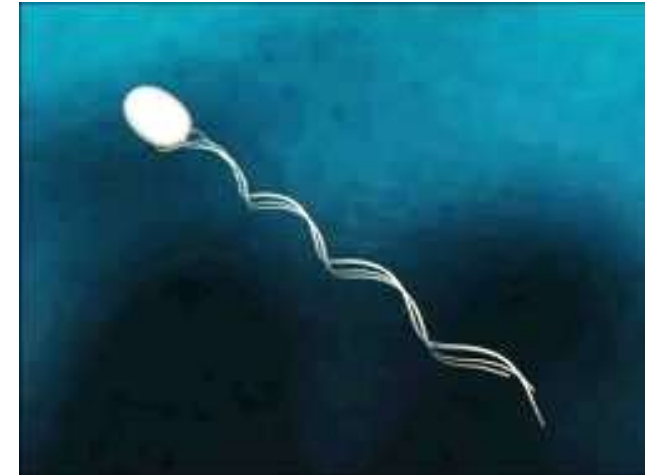
- Locomoção ao acaso
- Em direção a... em oposição a...
- Quimiotaxia
- A velocidade natatória é uma característica dirigida geneticamente



SWIMMING X SWARMING

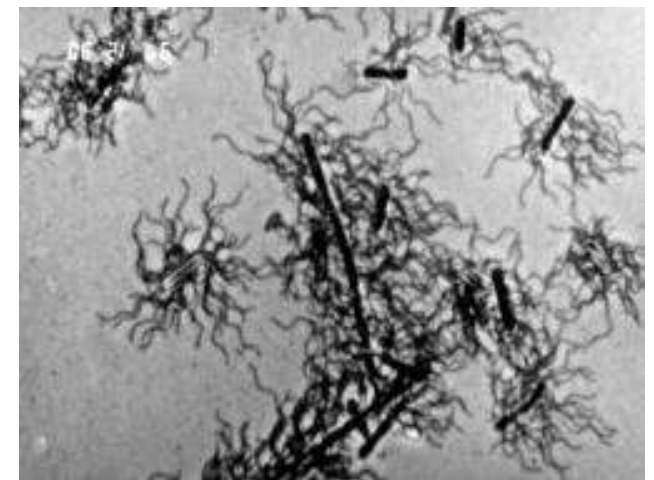
Swimming

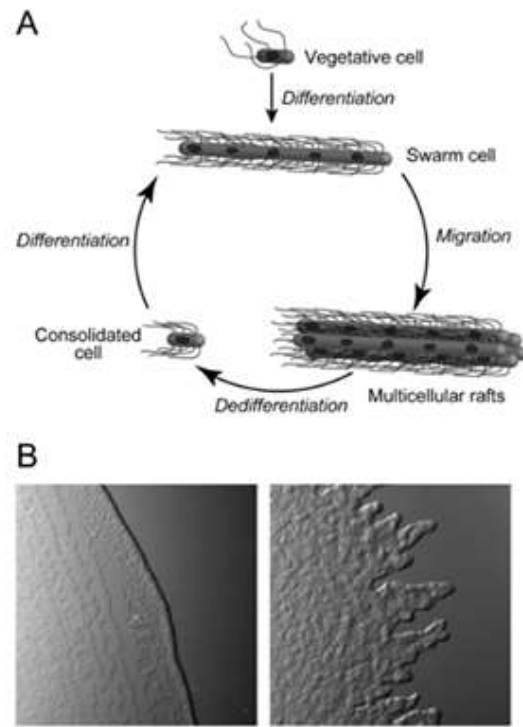
- Movimentação bacteriana
- Unidade (movimento da célula bacteriana)
- Meio aquoso



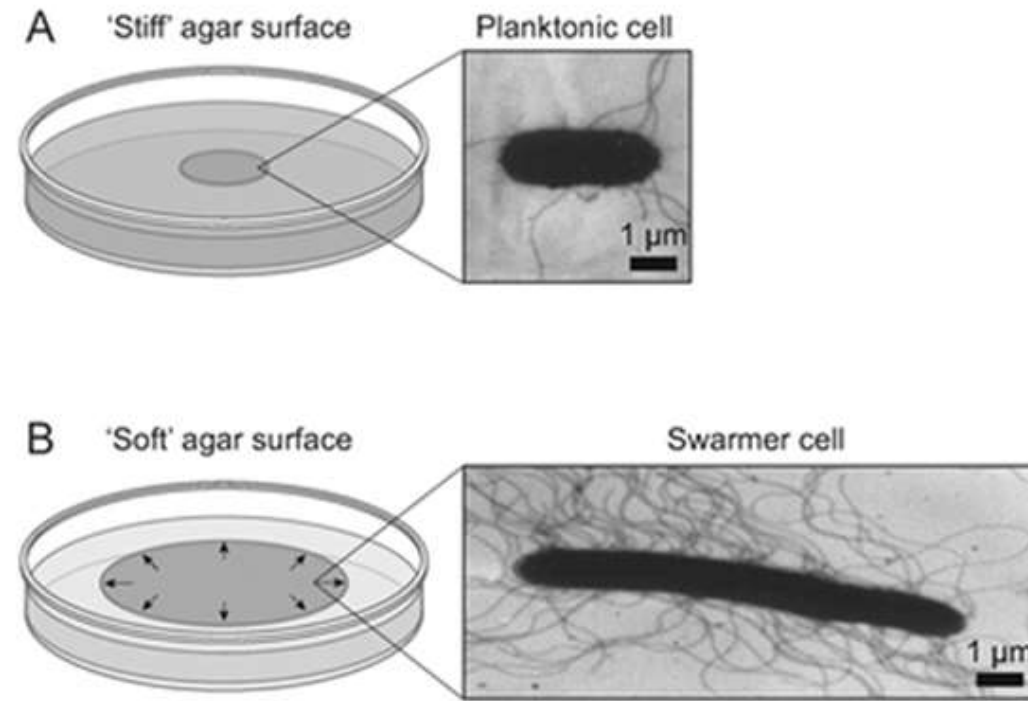
Swarming

- Fenômeno social
- Multicelularidade
- Movimentação de um conjunto bacteriano
- Superfícies

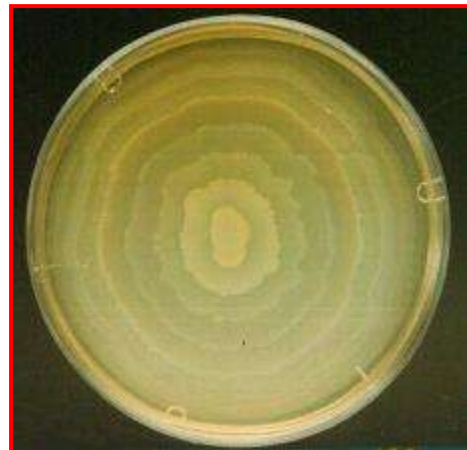




Hannah H. Tuson et al. J. Bacteriol. 2013;195:368-377



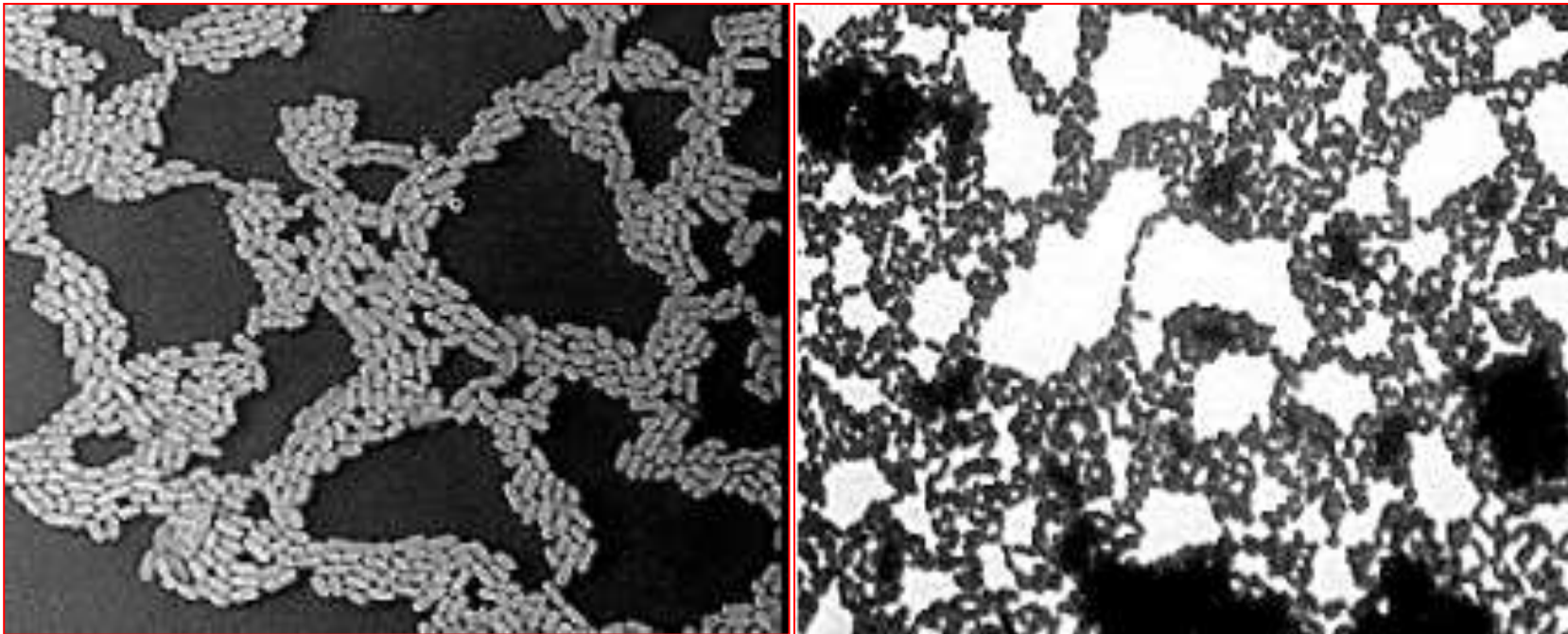
<http://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2009/sm/b812146j>



FLAGELO E BIOFILME

- adesão celular
- *swimming* e *swarming*
- colonização
- regulada por Quorum sensing

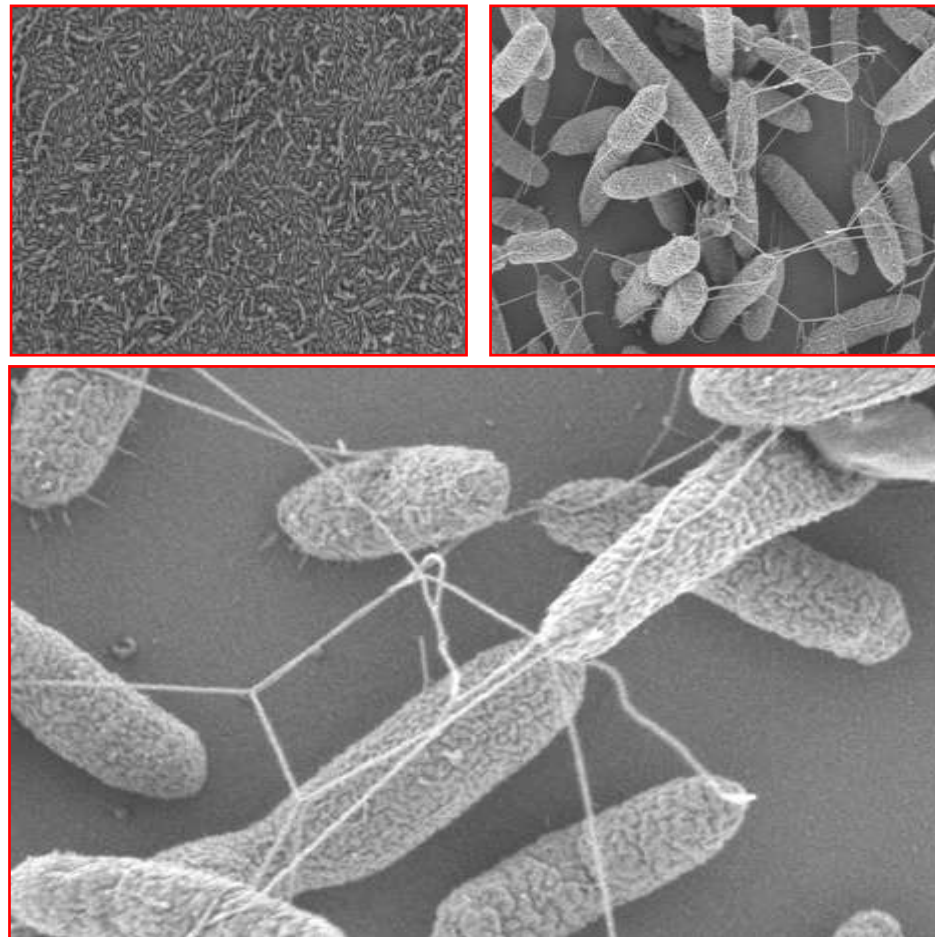
Biofilmes formados por *S. maltophilia*



(Garcia et al., 2001)

FLAGELO E BIOFILME

Análise ultraestrutural de biofilme de *S. maltophilia*



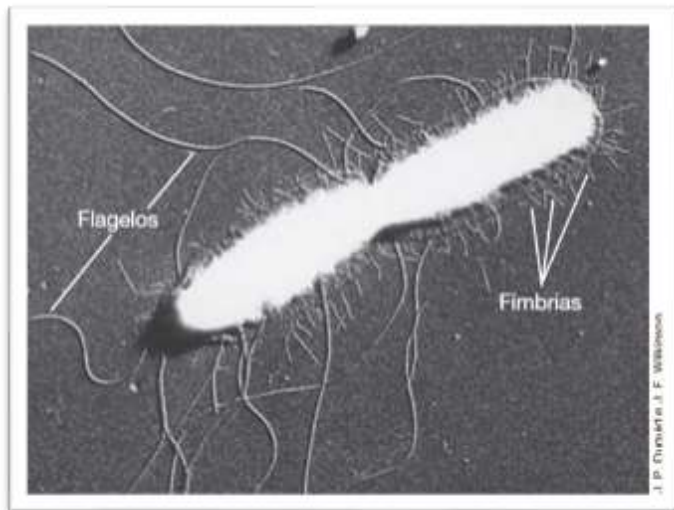
(Garcia et al., 2001)

ESTRUTURAS DE SUPERÍCIE CELULAR – FÍMBRIAS E PILI

Fímbrias e os pili → proteínas filamentosas que se projetam a partir da superfície de uma célula, e apresentam funções variadas.

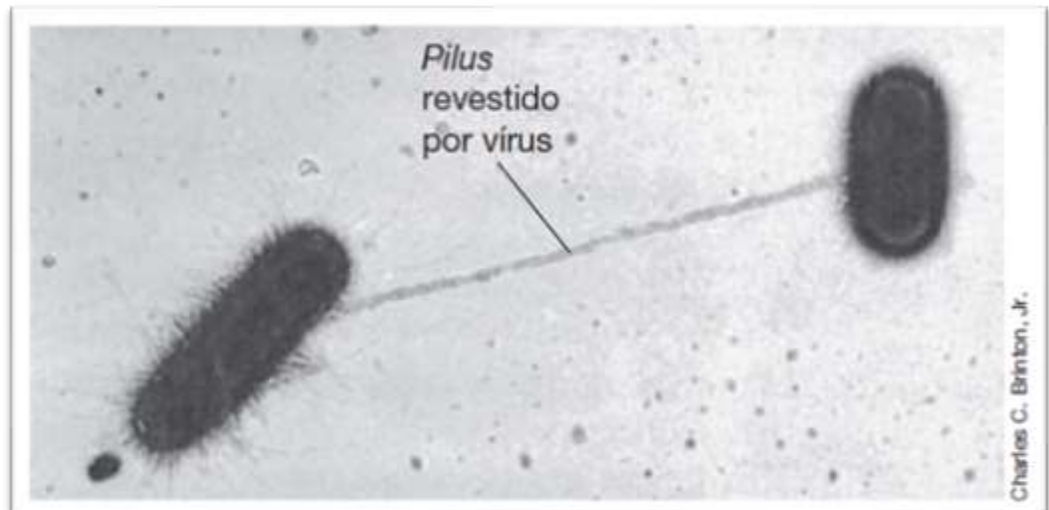
Fímbrias – muitas cópias nas células

- Curtas
- Adesão às superfícies bióticas e abióticas → Biofilme

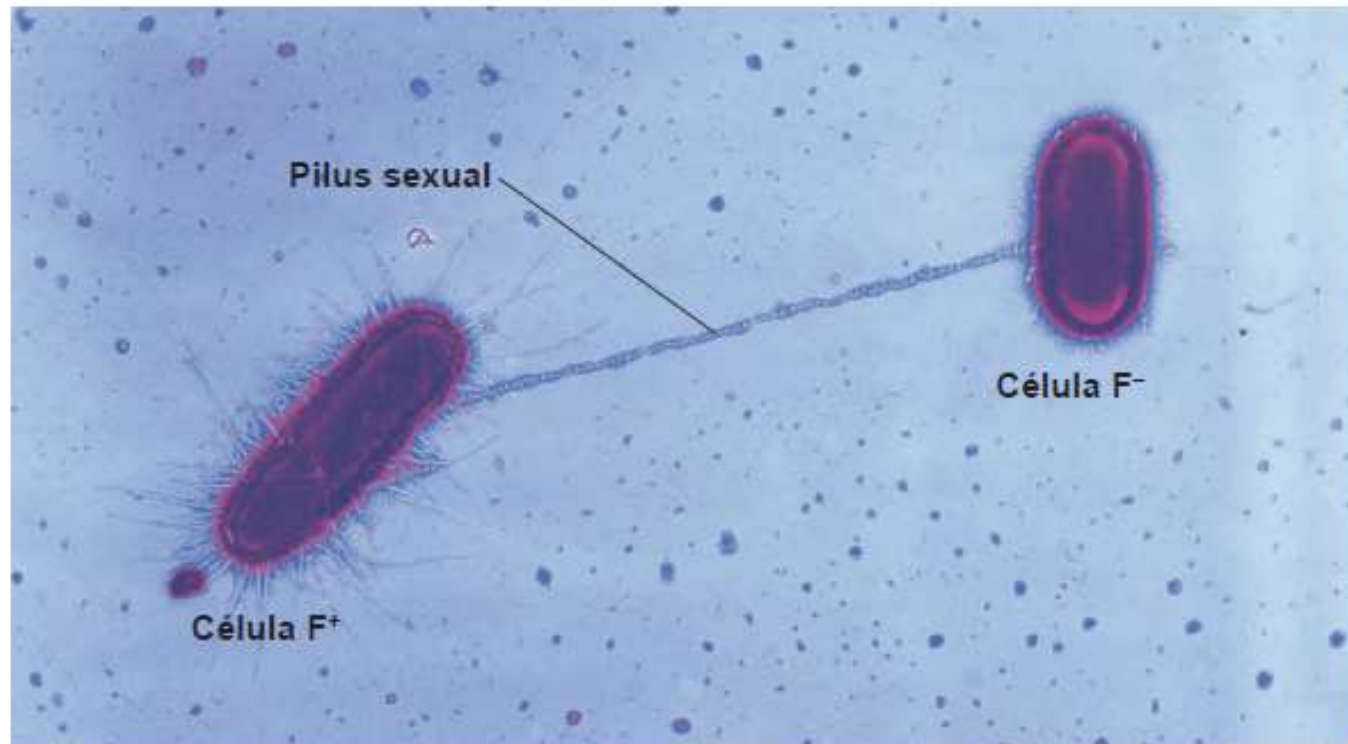


Pili – poucas cópias nas células

- Longo
- Várias classes
 - Pili sexual – conjugação bacteriana
 - Pili tipo IV – adesão e motilidade

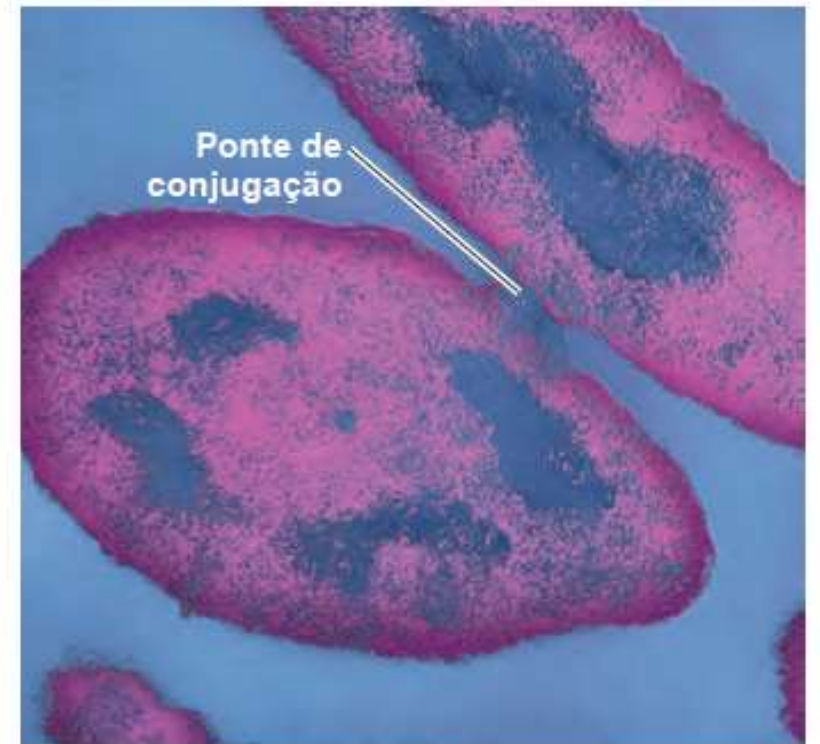


PILI SEXUAL



(a) Pilus sexual

MET 1 μm

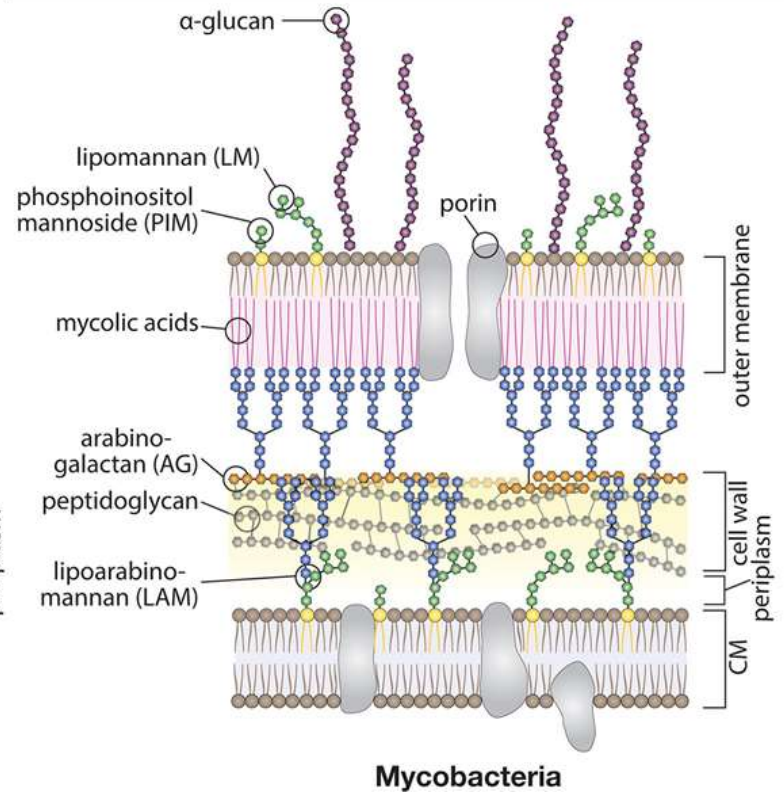
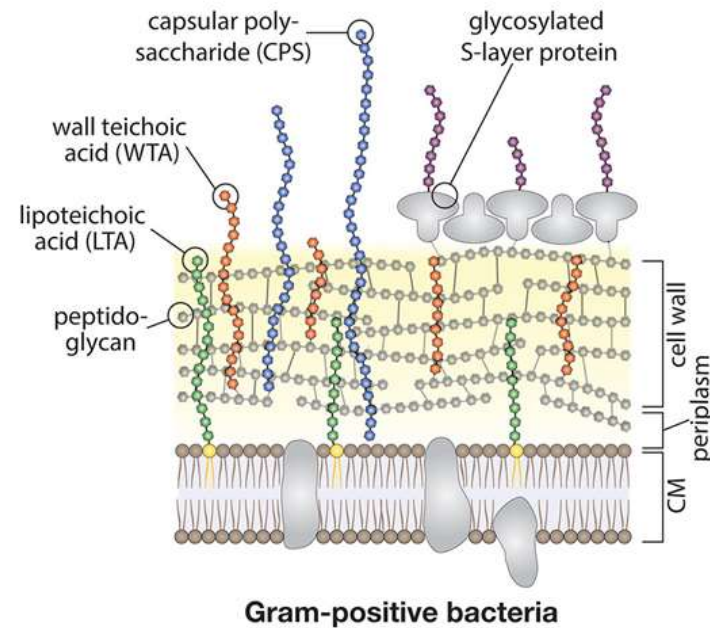
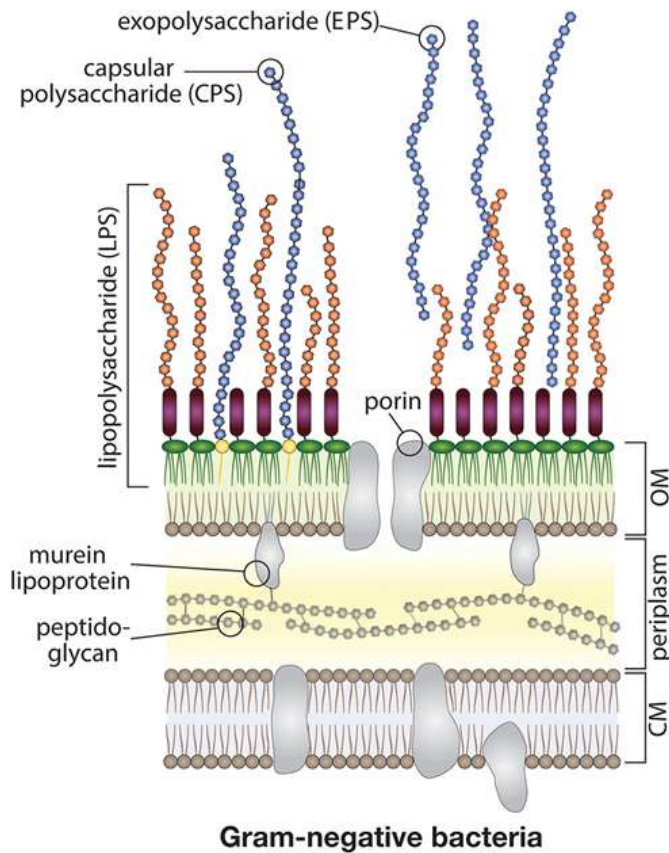


(b) Ponte de conjugação

MET 0,3 μm

3 - O que é Envoltório bacteriano?

Envoltório bacteriano



Estruturas do envoltório bacteriano

Membrana citoplasmática

- Fosfolipídeos
- Proteínas
 - Enzimas
 - Geração de energia
 - Potencial de membrana
 - Transporte de nutrientes

Parede celular

- **Peptideoglicano**
- Ácido teicóico
- Ácido lipoteicóico
- Proteínas
- **Membrana externa**
- Fosfolipídeos
- Proteínas
- Lipopolissacarídeo

Gram +
Gram -

Gram -

4 - Estrutura química e funções da membrana plasmática

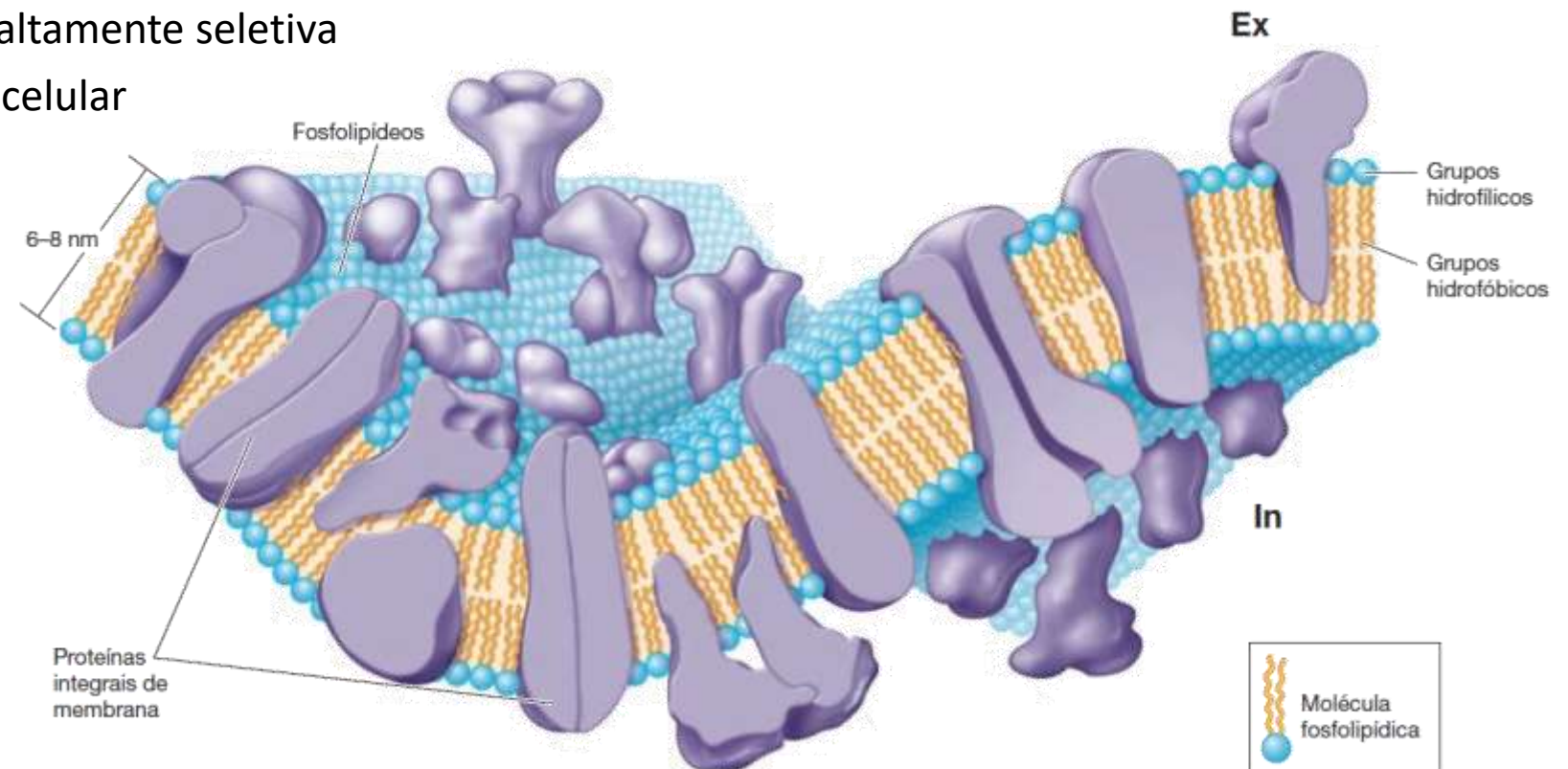
Membrana citoplasmática - modelo do mosaico fluido

Membrana plasmática ou membrana interna

- Delgada – bicamada fosfolipídica
- Fluida → óleo de baixa viscosidade
- Vital – integridade celular
- Barreira de permeabilidade altamente seletiva
- Citoplasma $\leftrightarrow$ meio extracelular

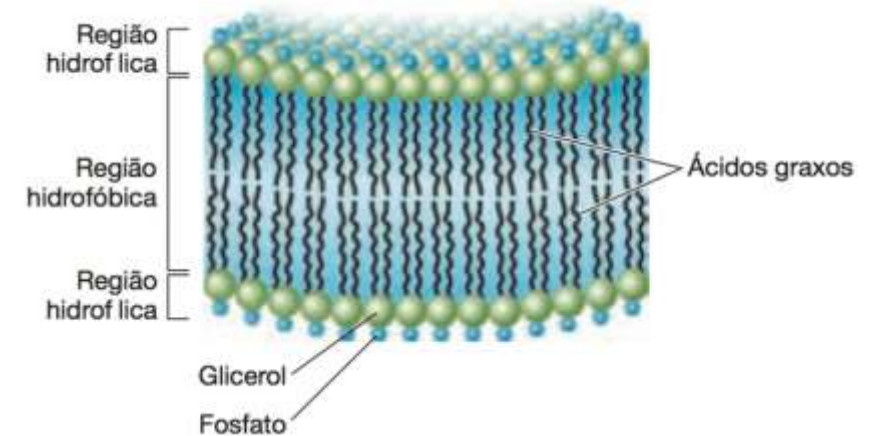
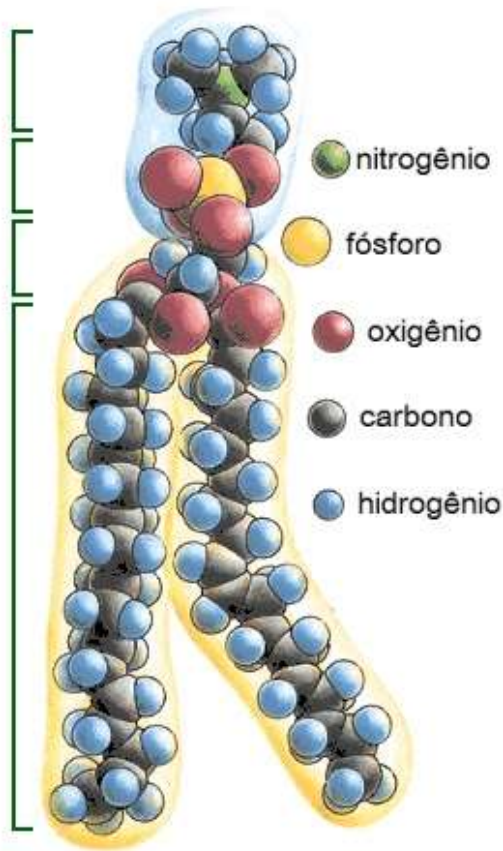
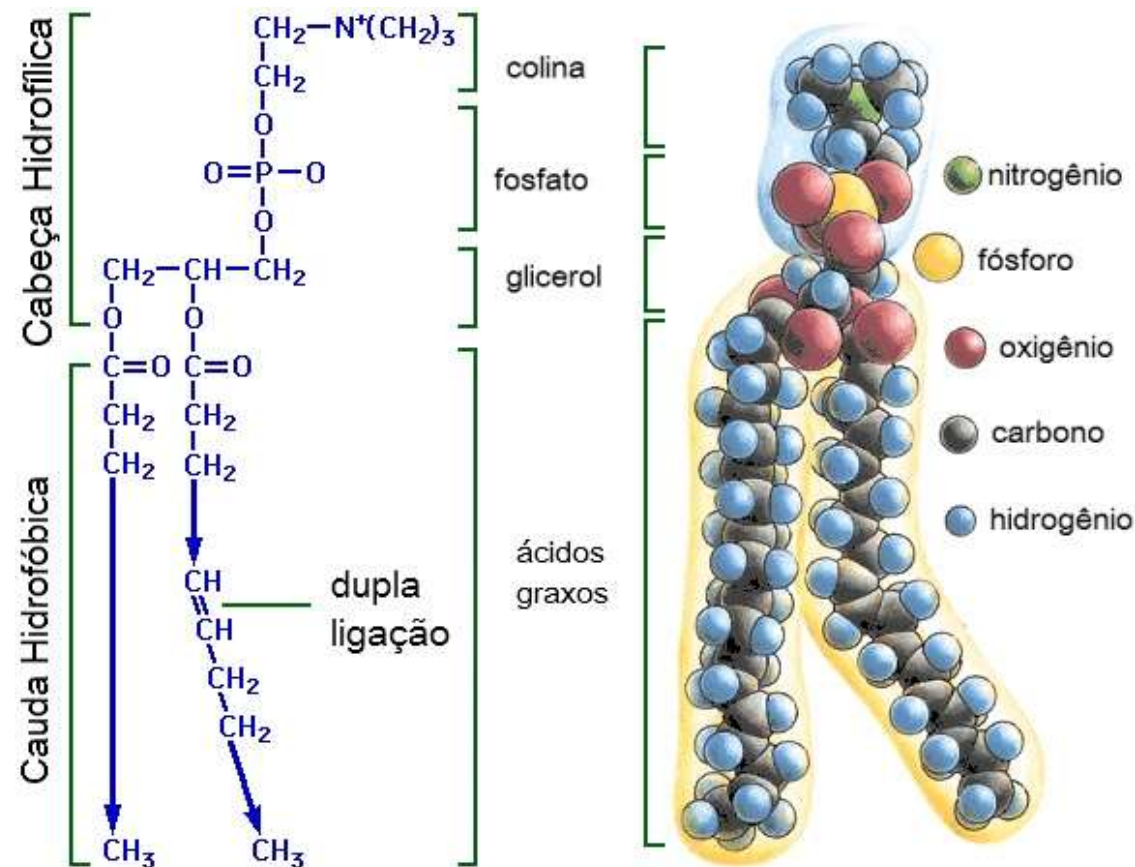
Constituição

- Fosfolipídeos
- Proteínas



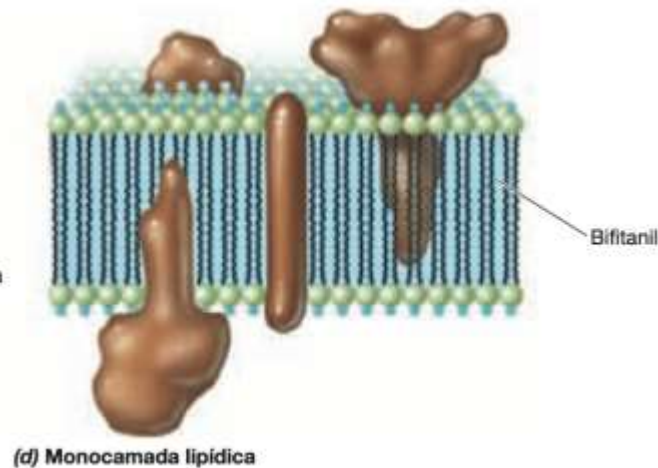
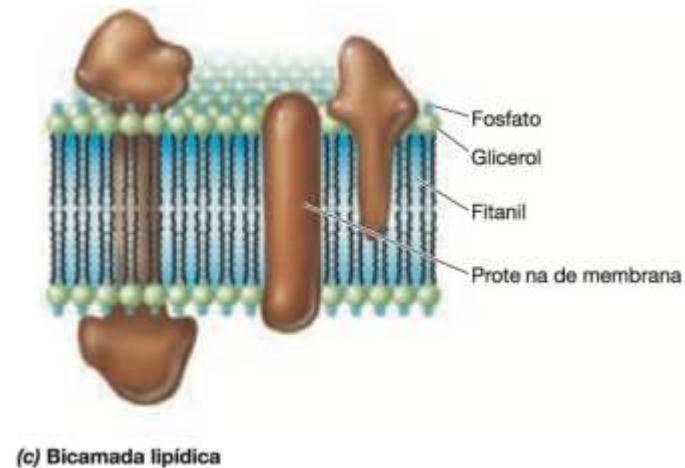
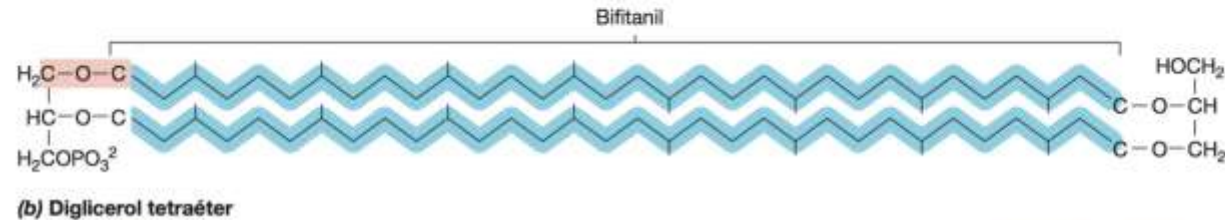
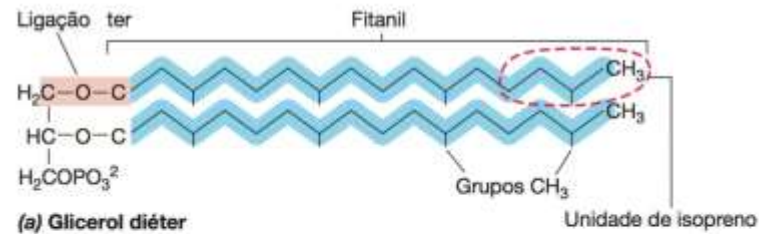
Membrana citoplasmática

- Fosfolipídeo – ligação éster → glicerol e ácido graxo



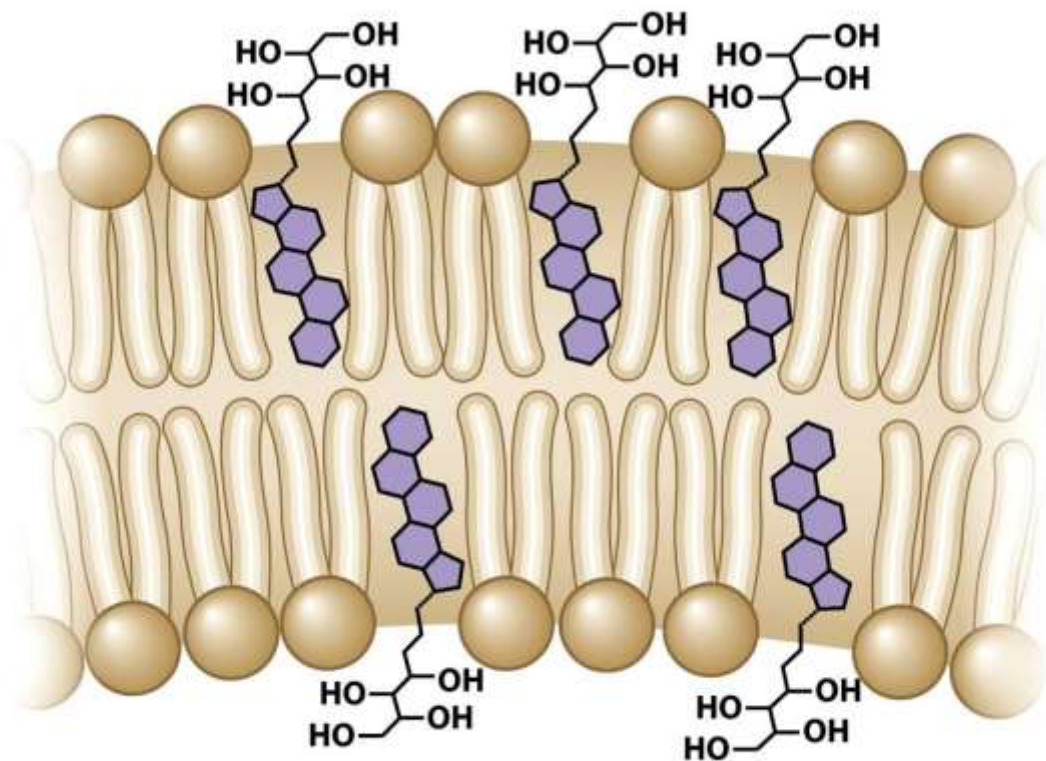
Membrana citoplasmática - Archaea

Fosfolipídeo – ligação éter → glicerol e unidades repetitivas de isopreno



Mycoplasma e Ureaplasma

Fosfolípídeo e esteróis



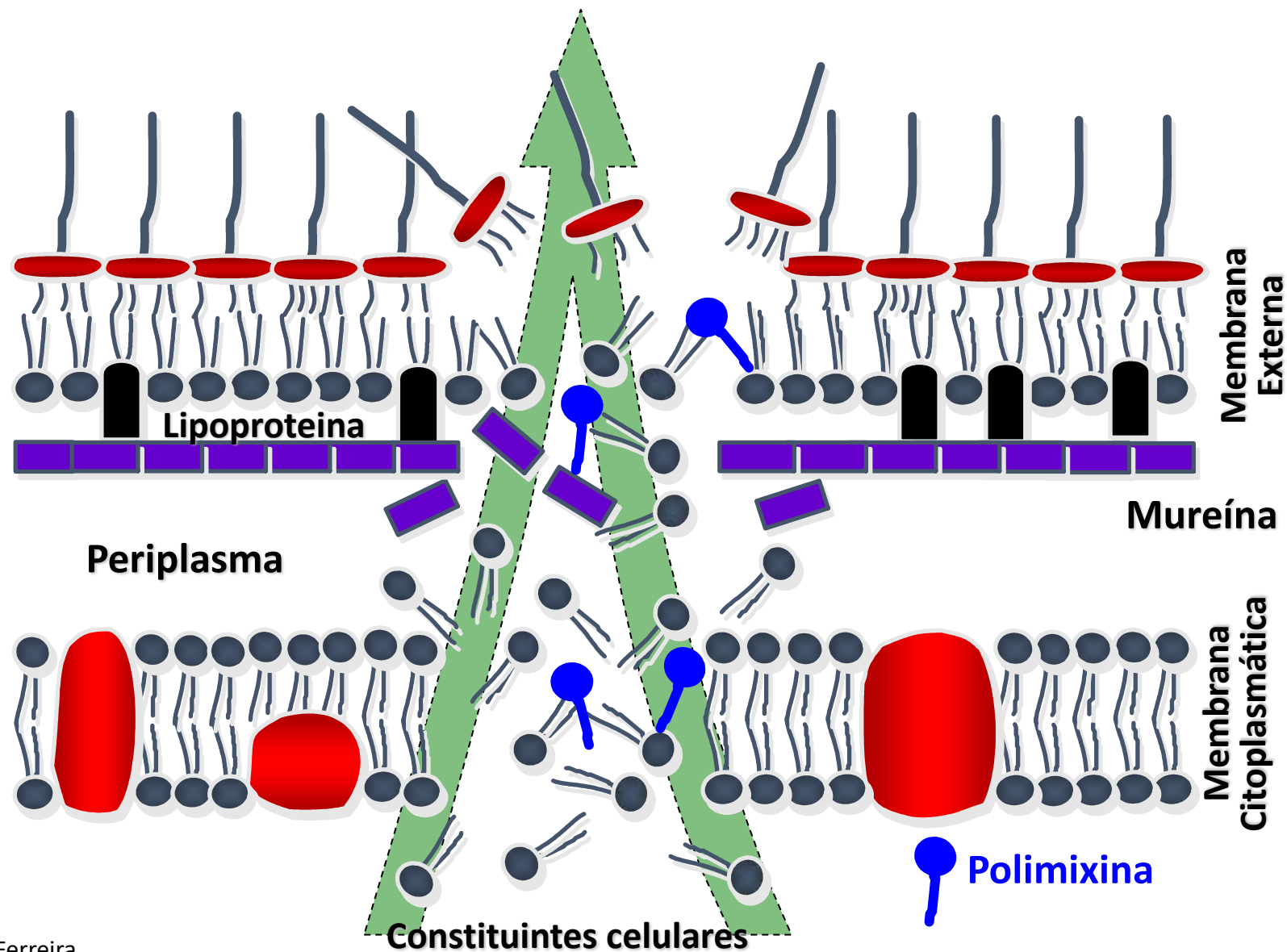
Esteróis

Moléculas planas e rígidas, enquanto que os ácidos graxos são flexíveis. A presença de esteróides na membrana confere resistência e estabilidade.

Resistência a antibióticos que agem na síntese da parede celular

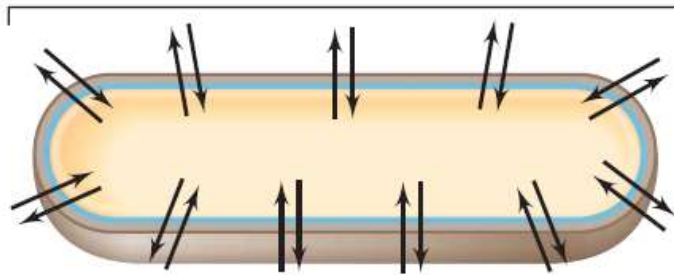
Penicilina
Cefalosporina
Vancomicina
Outros

Agentes antimicrobianos que interferem na estrutura da membrana citoplasmática: Polimixina B Álcool Quaternários de amônio

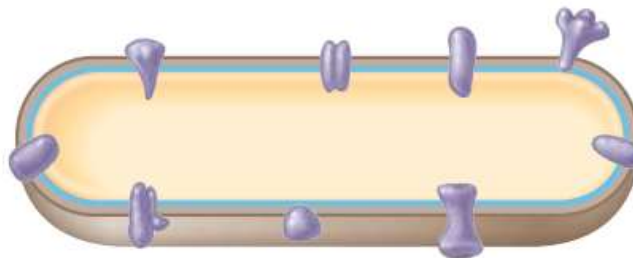


Membrana citoplasmática - funções

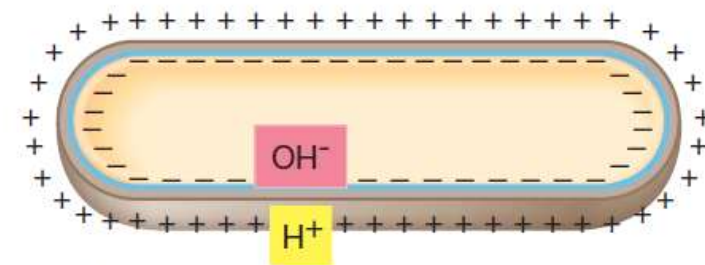
Funções da membrana citoplasmática



(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.

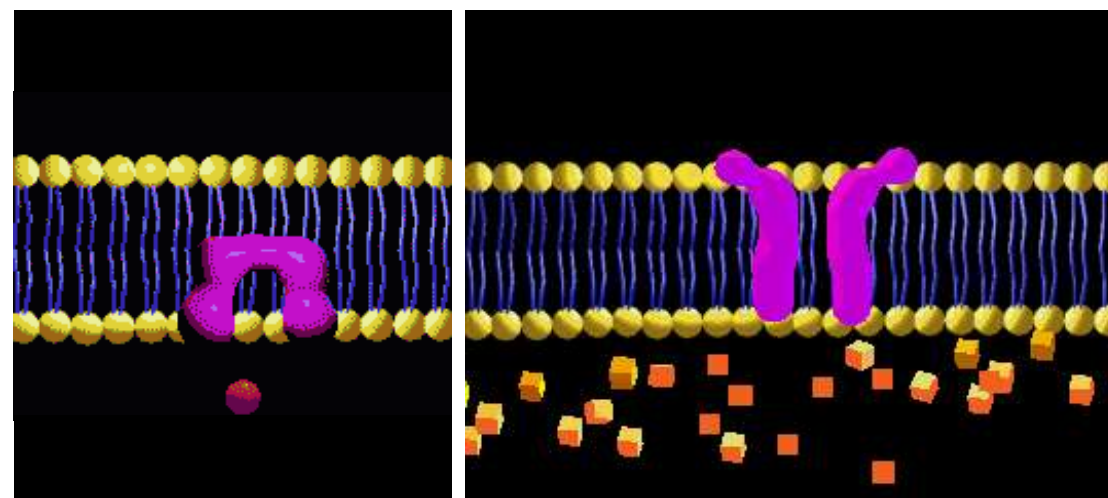
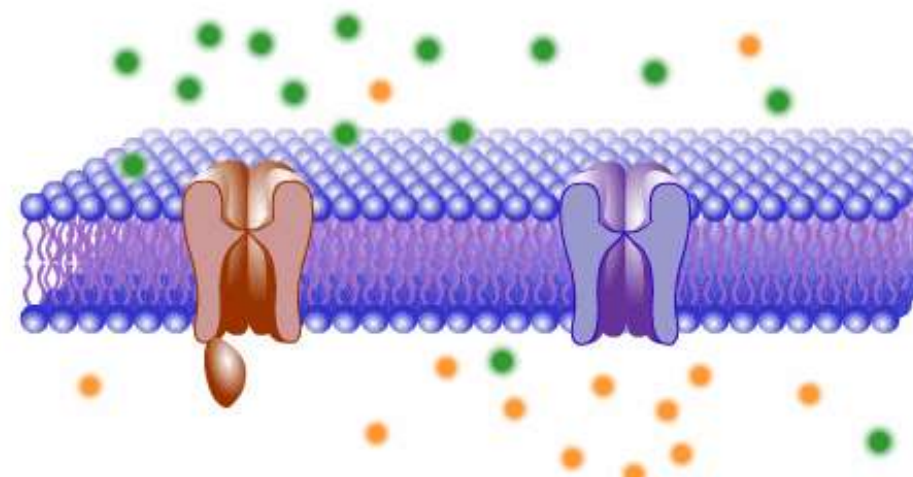


(c) **Conservação de energia:**
sítio de geração e dissipação da força próton-motiva.

- Produção de energia → citocromos, cadeia de transporte de elétrons
- Duplicação de DNA
- Secreção de moléculas → enzimas, toxinas, bacteriocinas...
- Biosíntese → lipídeos da membrana, peptidoglicano, LPS...

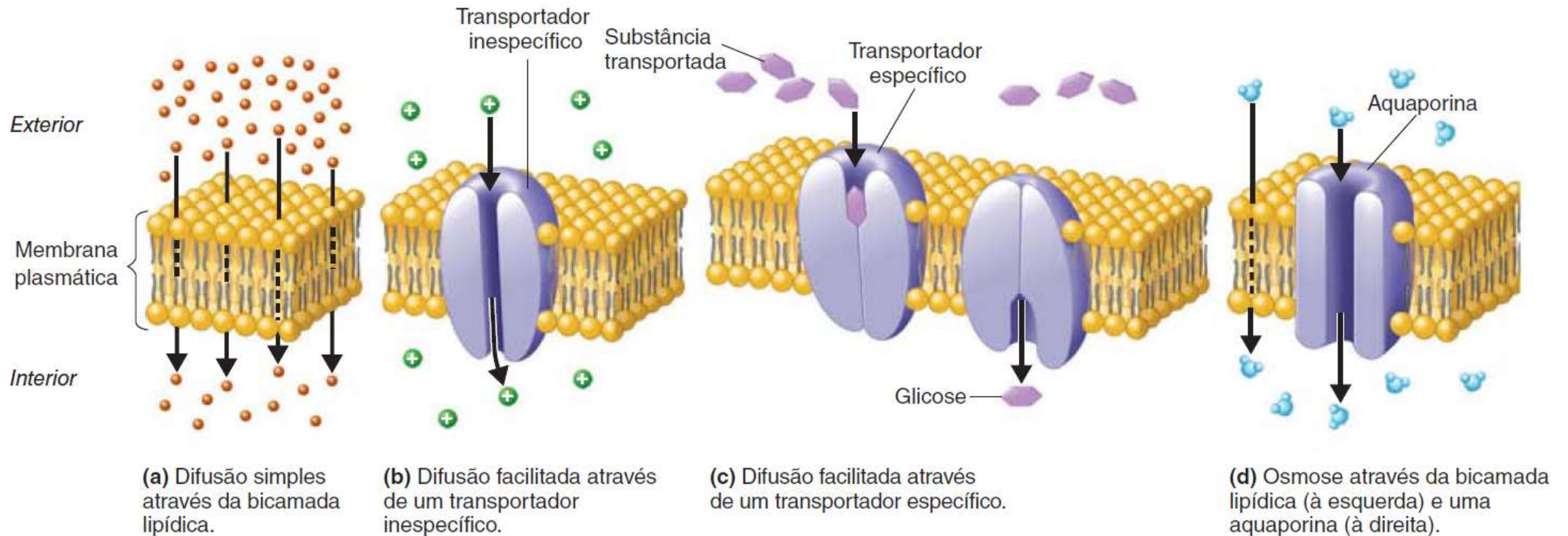
Barreira de permeabilidade

- Hidrofobicidade → evita extravasamento
- Citoplasma – solução aquosa
 - Sais, açúcares, aminoácidos, vitaminas, etc.
- Moléculas hidrofóbicas
 - Difusão simples
- Moléculas hidrofílicas
 - Não atravessam a membrana
 - Sistemas de transporte
- Água - aquaporinas



Processos passivos - sem gasto de energia

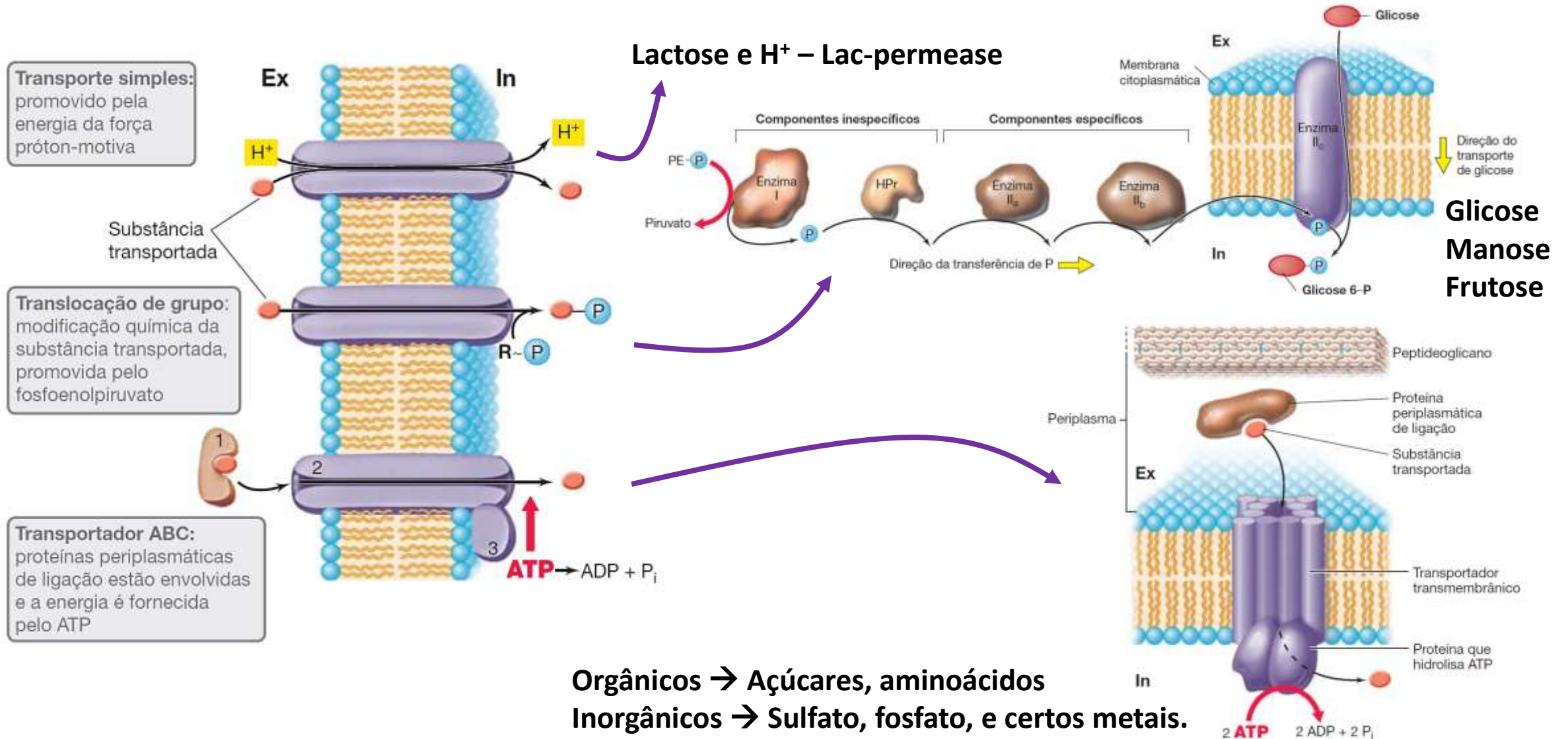
Alta concentração → baixa concentração



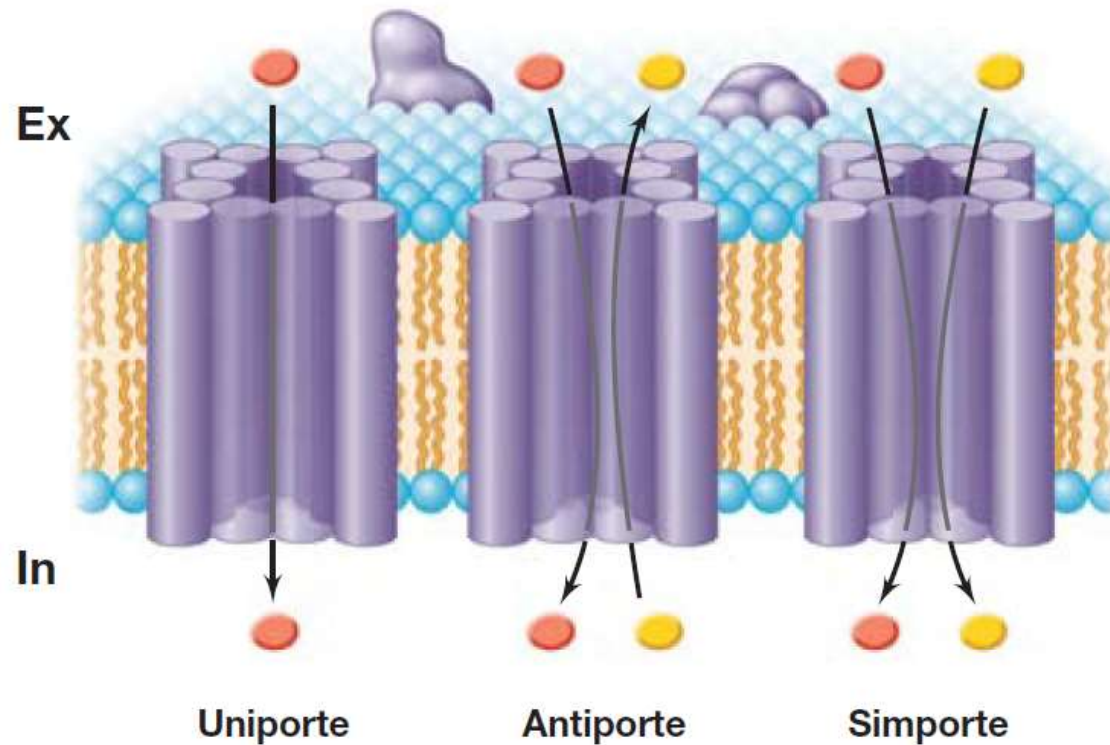
Proteínas transportadoras ou permeases

Processos ativos - gasto de energia

Baixa concentração → alta concentração



SISTEMAS DE TRANSPORTE

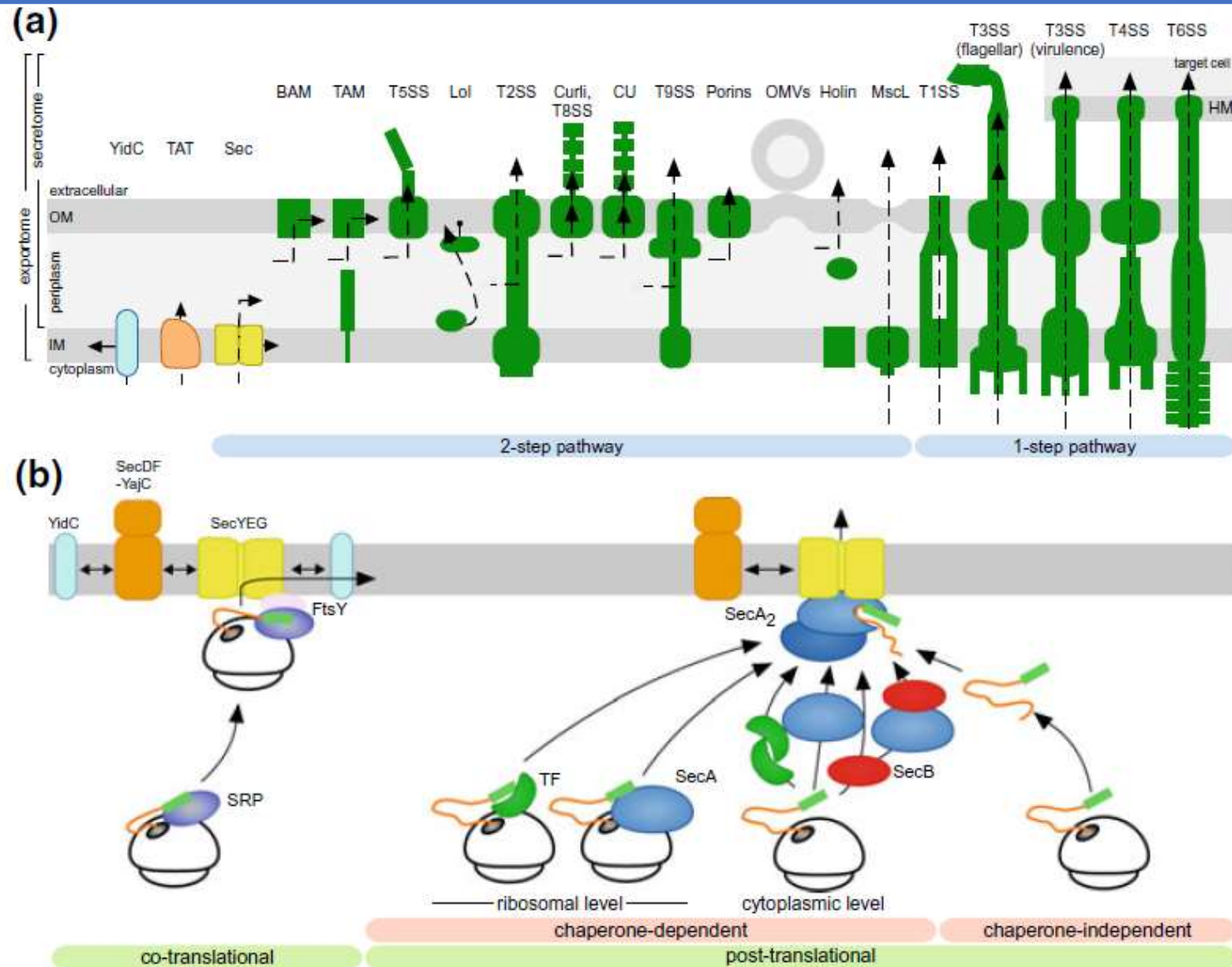


Unidirecional

Bidirecional

Co-transportadores

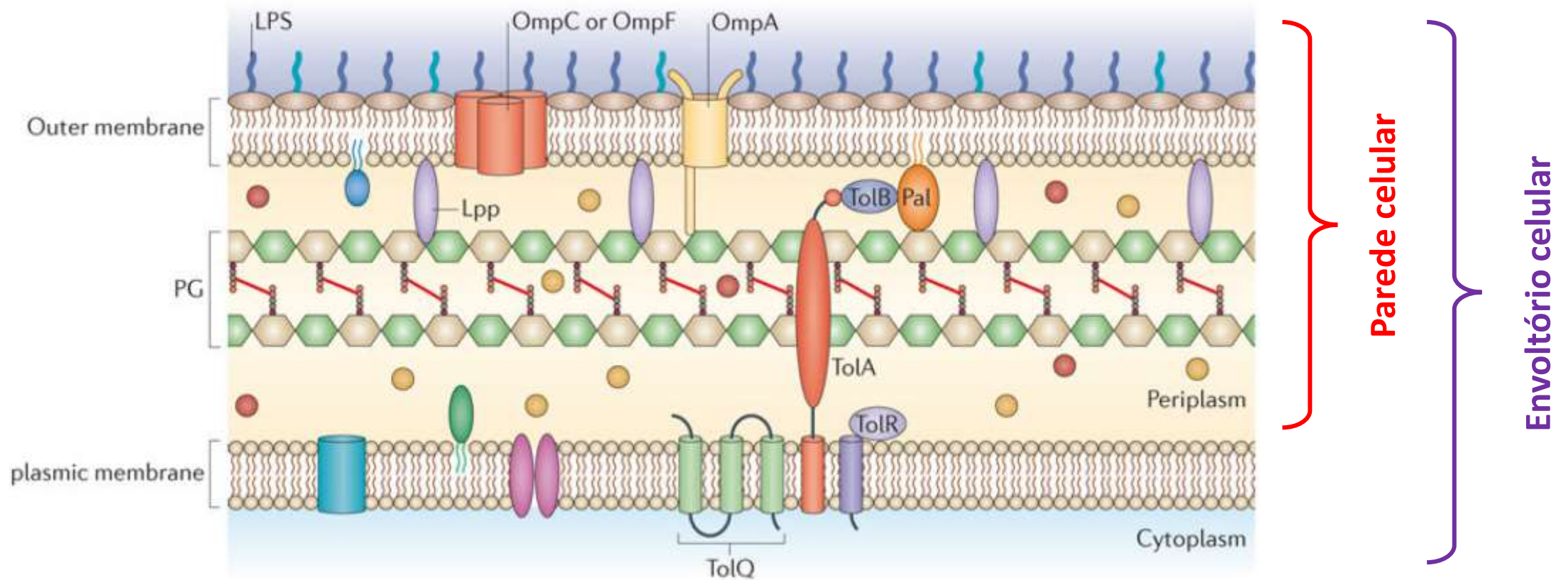
SISTEMAS DE TRANSPORTE



5- Parede celular de bactérias Gram-negativas

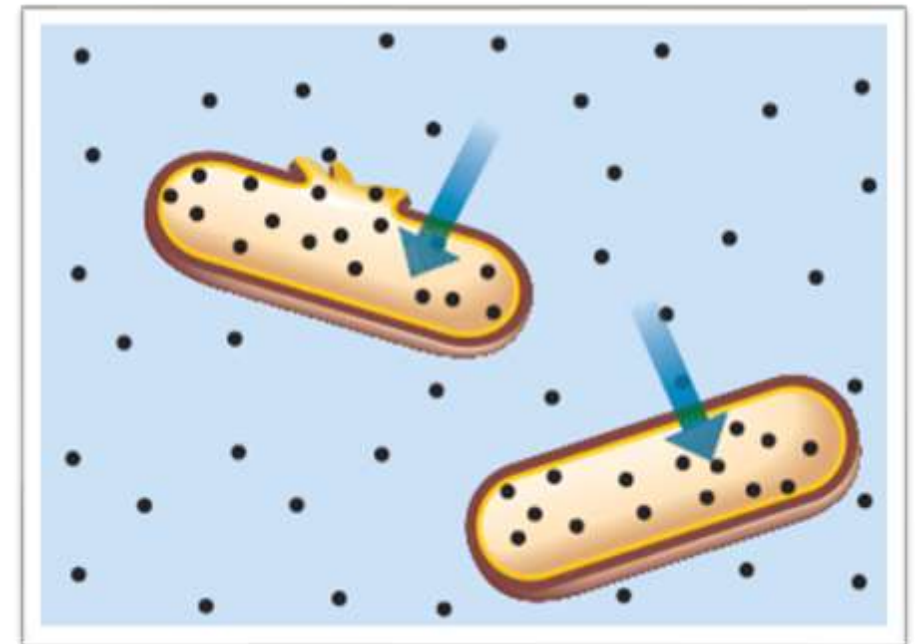


Parede celular de bactérias Gram-negativas



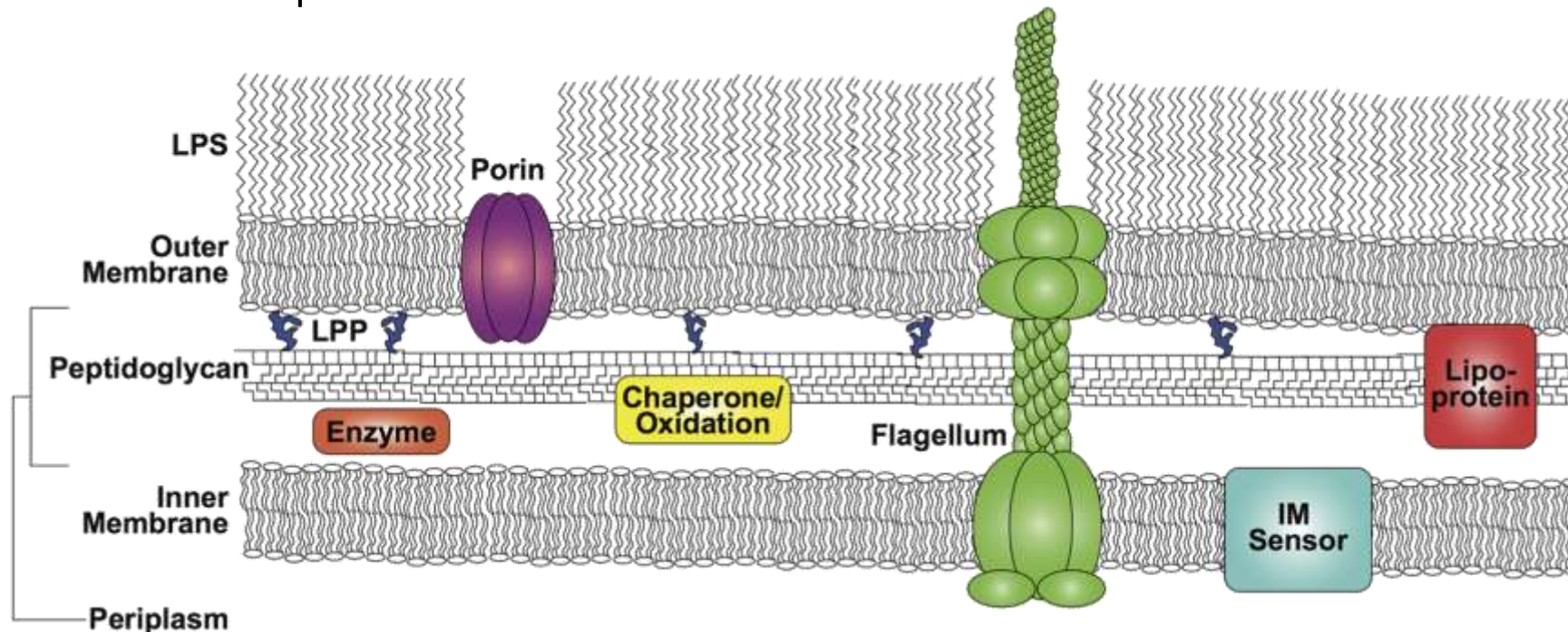
Parede celular de bactérias Gram-negativas

- Principal função → prevenir a ruptura das células bacterianas quando a pressão da água dentro da célula é maior que fora dela.
- Forma – morfologia microscópica
- Ancoragem de flagelo
- Ancoragem de proteínas
- Fatores de virulência
- Resposta imunológica



Gram-negativas – espaço periplasmático

- Região entre a membrana externa e a membrana plasmática
 - Peptideoglicano → delgado (5%)
 - Alta concentração de enzimas hidrolíticas (proteases, lipases, nucleases...)
 - Enzimas inativadoras de drogas
 - Proteínas transportadoras



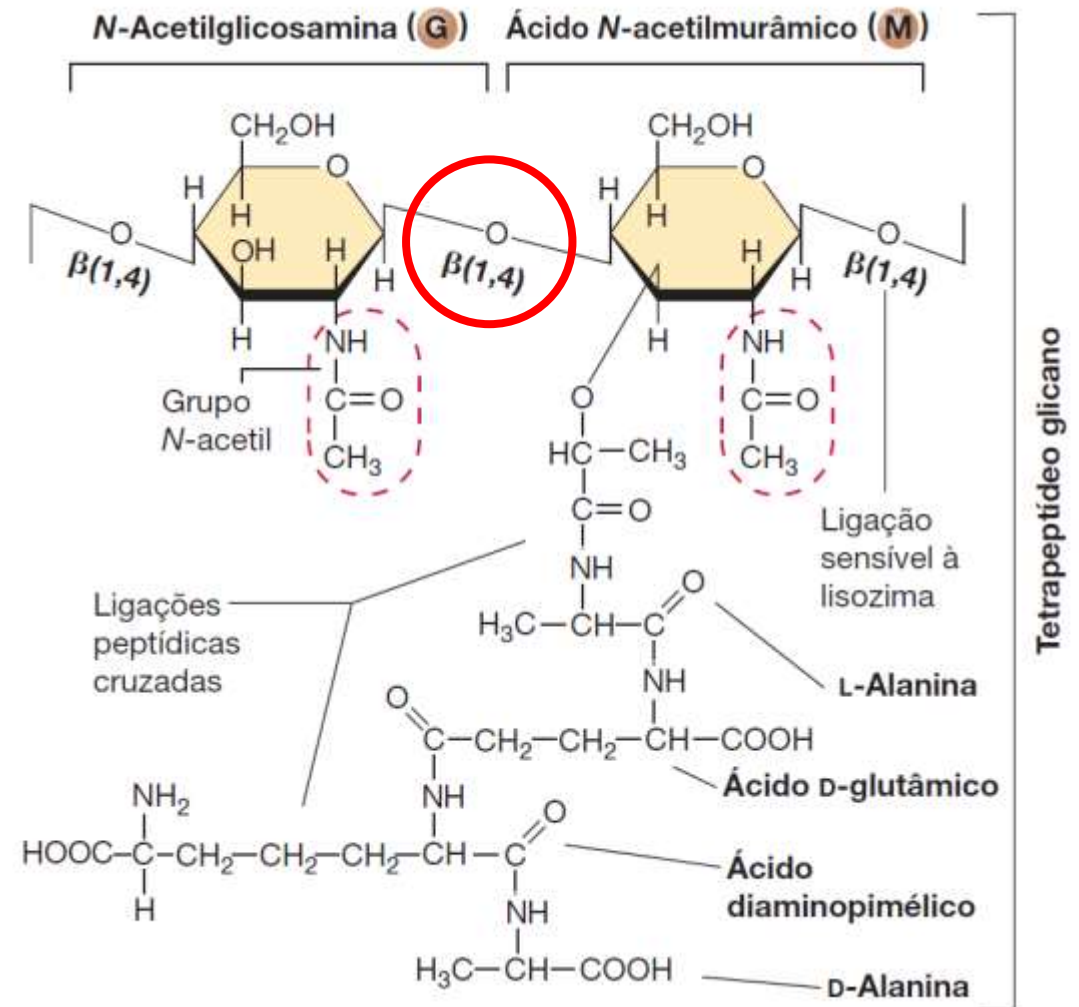
Gram-negativas – peptideoglicano - mureína

- **Polissacarídeo composto por dois açúcares (monossacarídeos) e aminoácidos**

- N-acetilglicosamina (G ou NAG)
- Ácido N-acetilmurâmico (N ou NAM)
 - L-Alanina
 - Ácido D-glutâmico
 - **Ácido diaminopimélico (DAP)**
 - D-Alanina

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

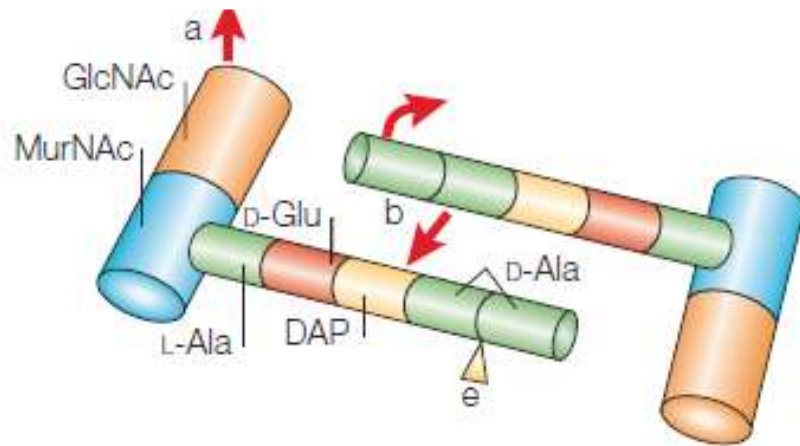
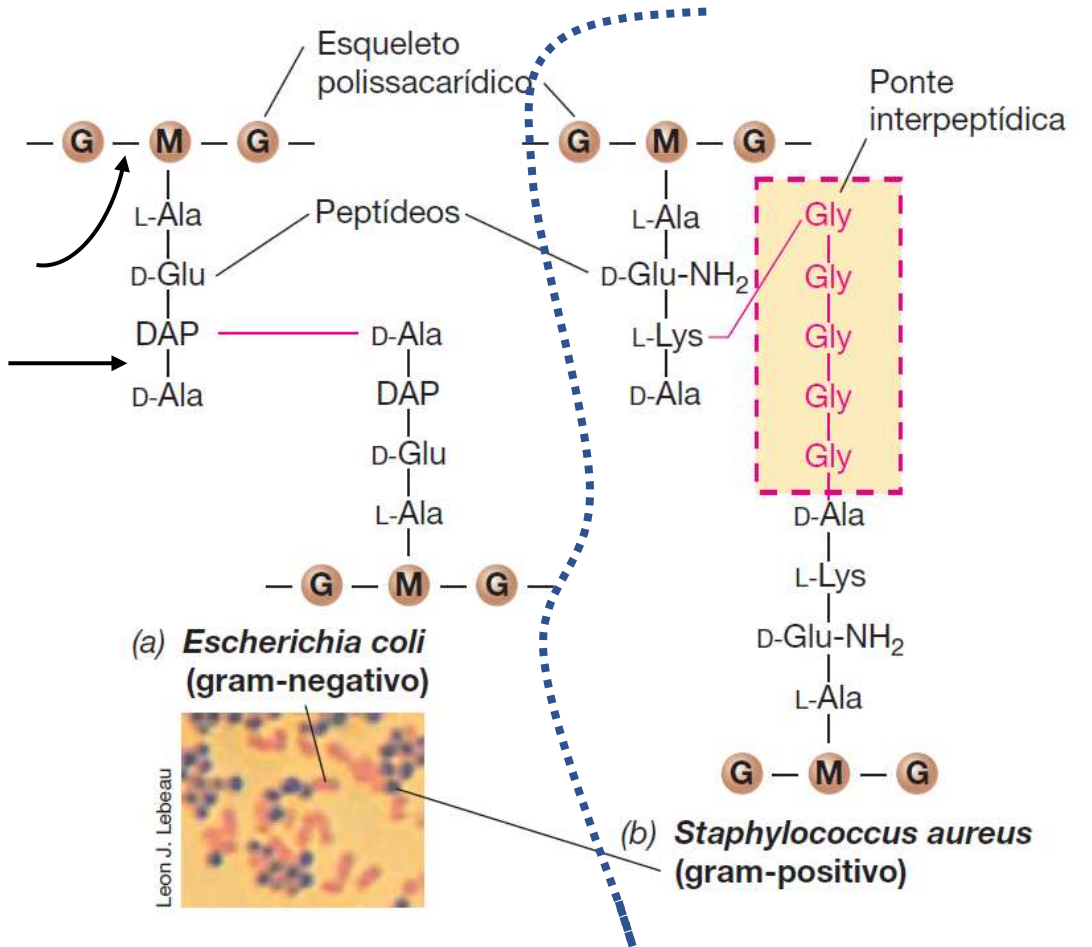
- Vários componentes do peptideoglicano se organizam, formando parte da parede celular das bactérias Gram-negativas



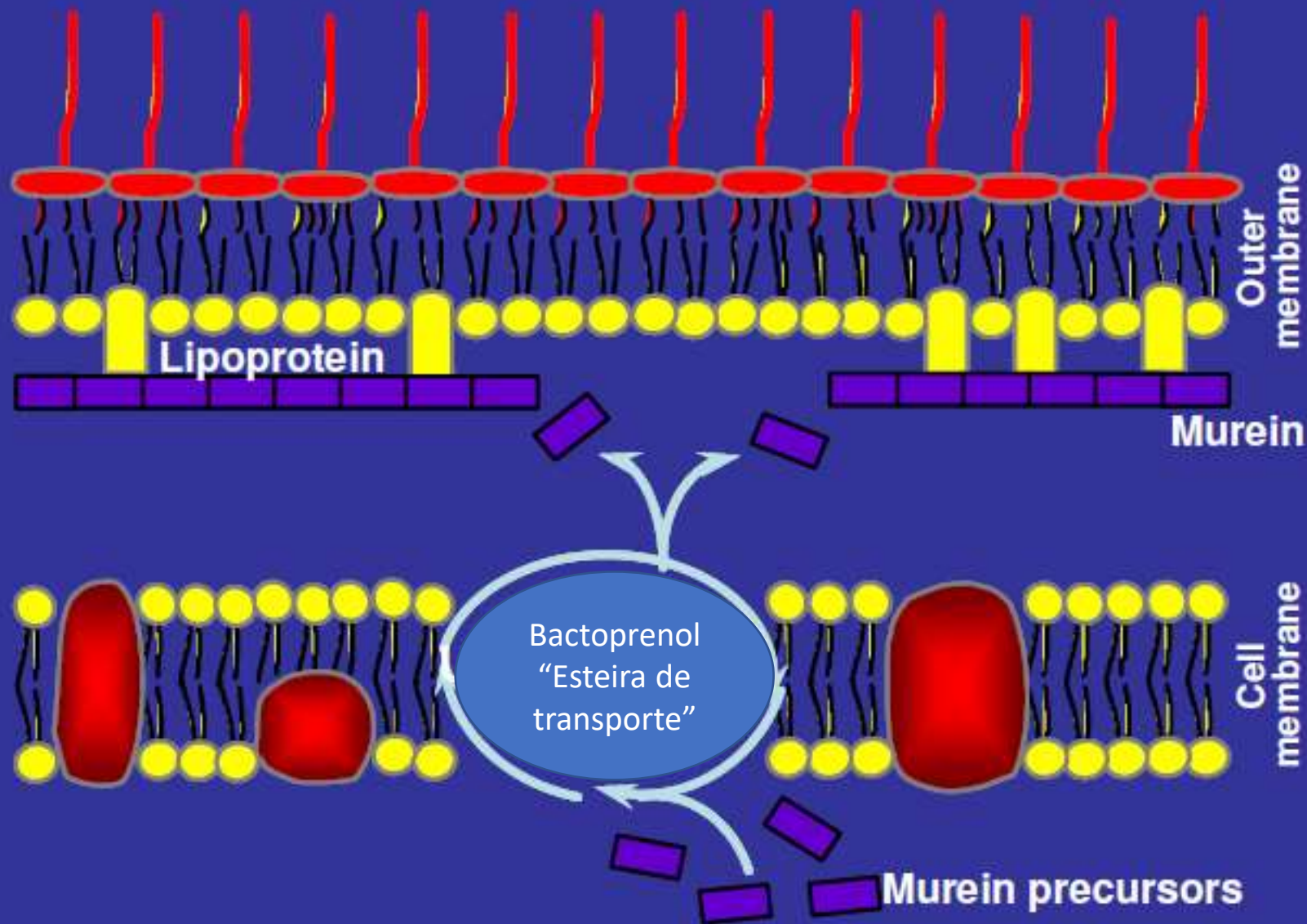
Camada de peptídeoglicano

Ligação glicosídica

Ligação peptídica



Etapas da Biossíntese da Parede Celular



Membrana externa– Gram negativo

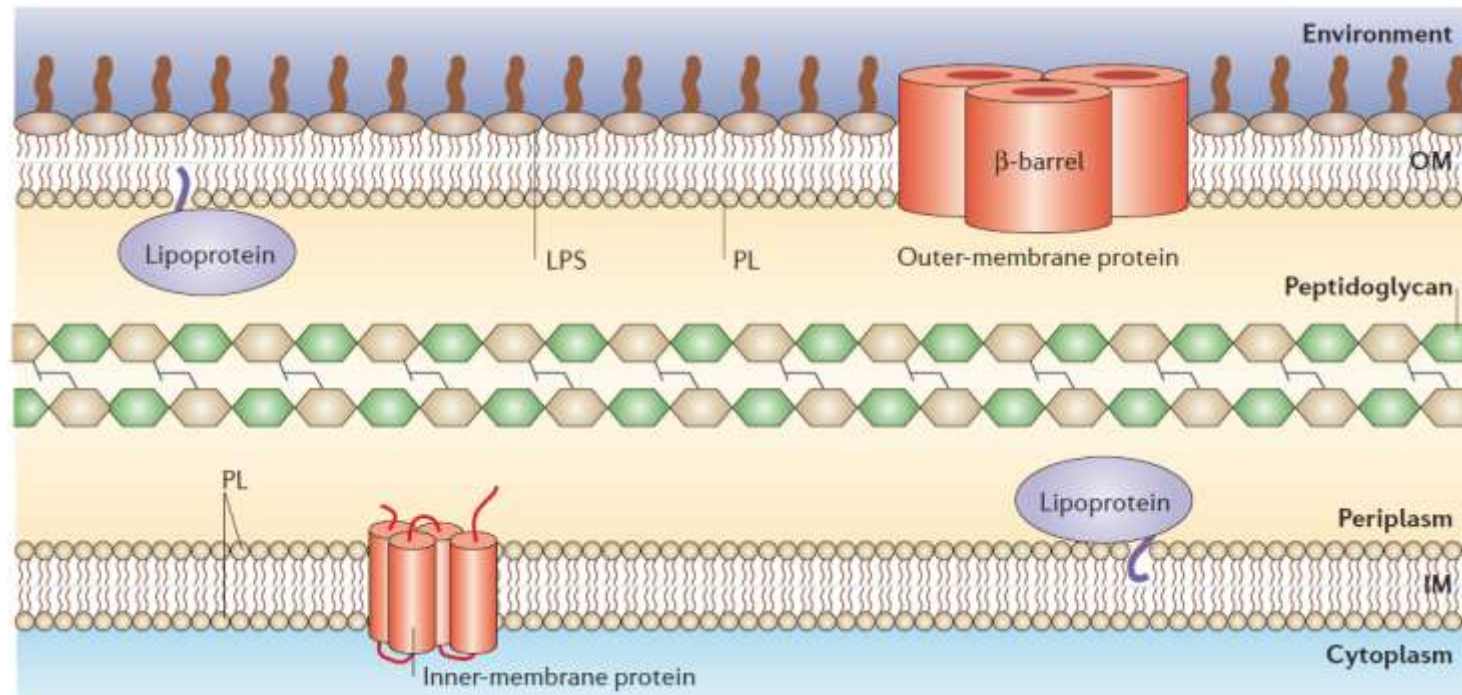
Camada bilipídica, assimétrica, associada a proteínas

Lipídica

- Fosfolipídeos
- Lipopolissacarídeo

Protéica

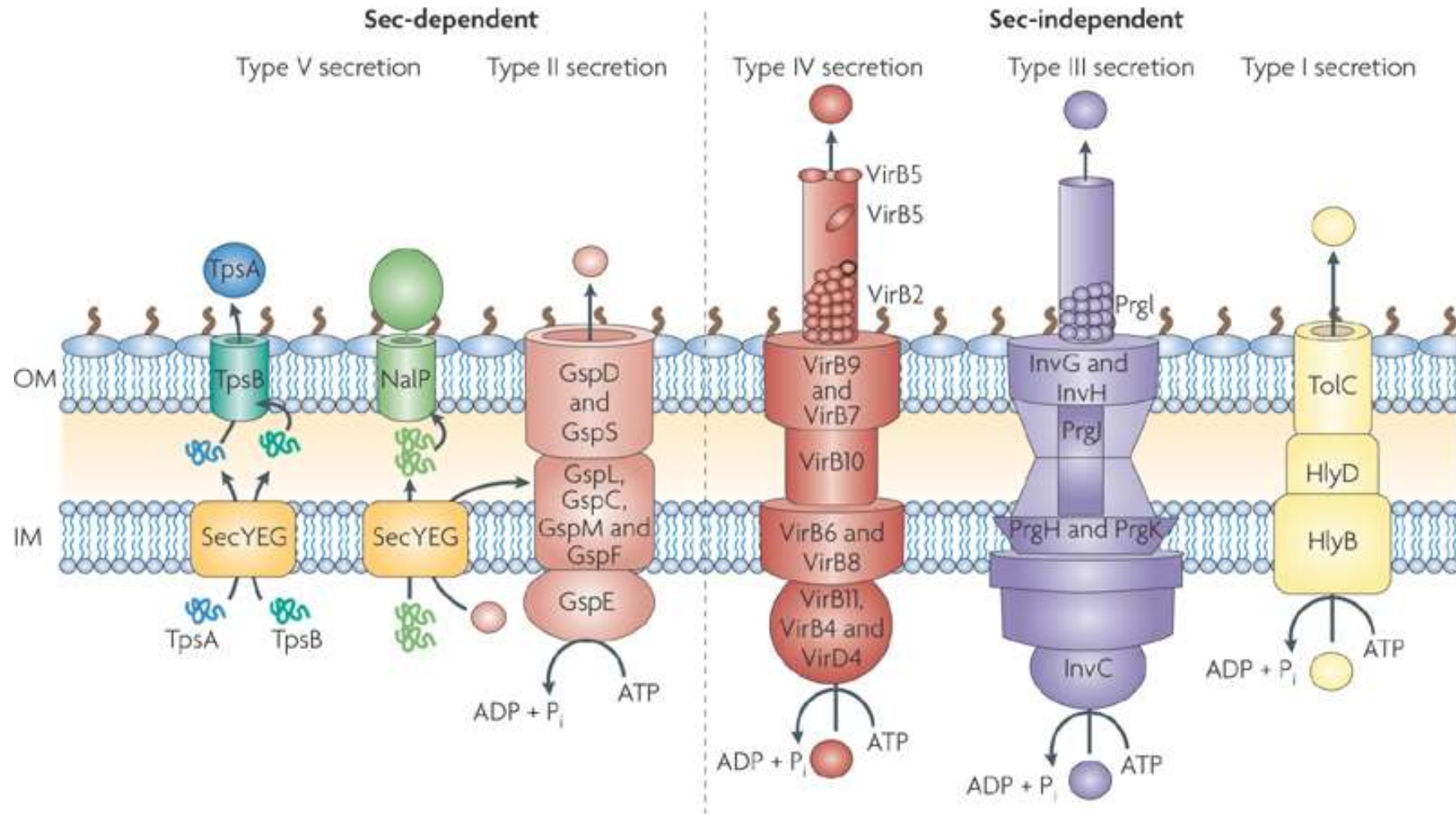
- Proteínas de membrana externa (OMPs)
- Lipoproteínas



Membrana externa – Gram negativo - funções

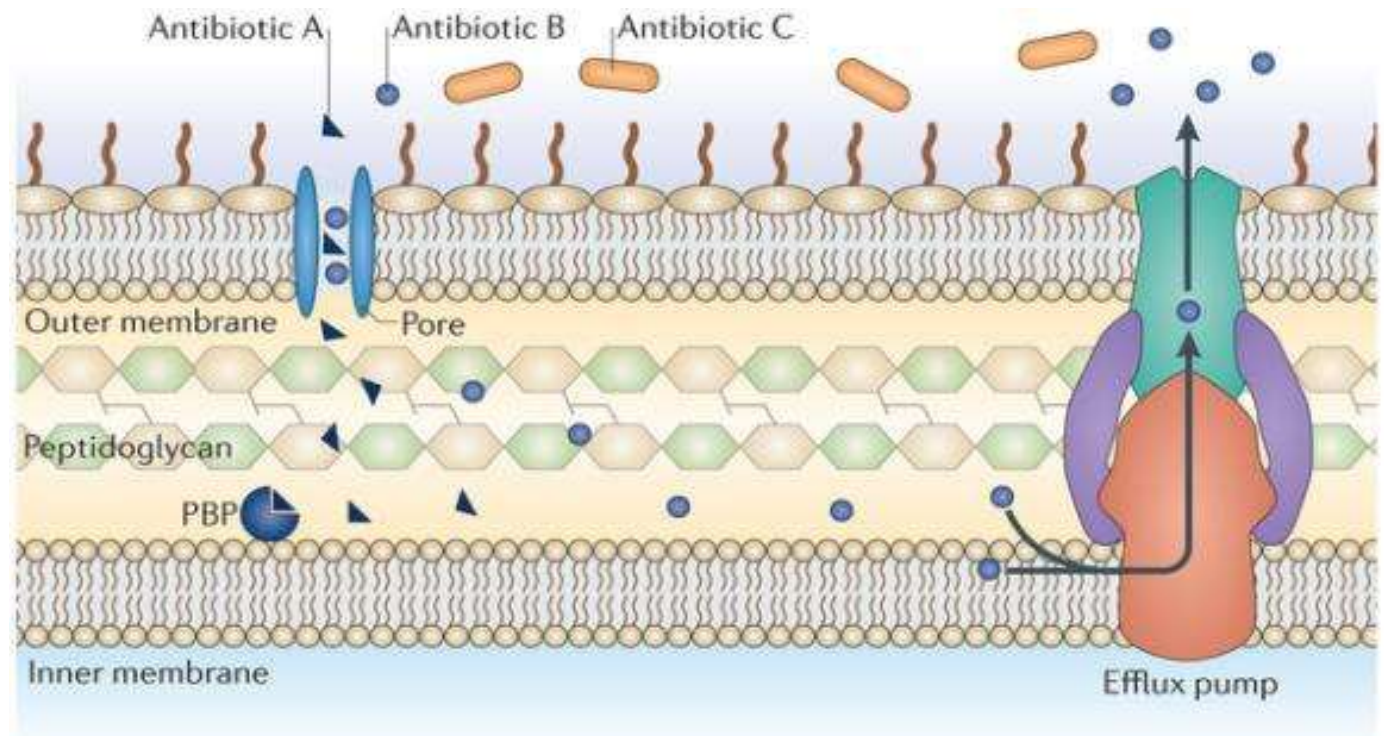
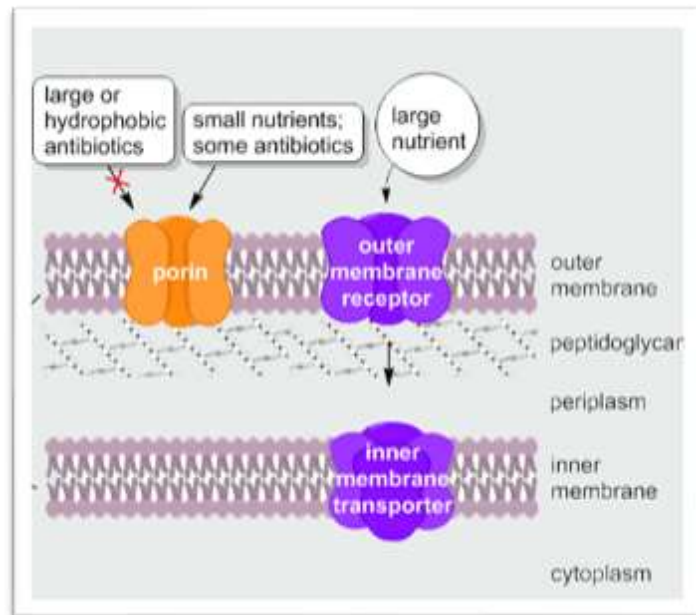
- Definição da forma da célula;
- Capacidade de resistência à variações osmóticas;
- Barreira semipermeável – controle de permeabilidade – porinas;
- Barreira contra a ação de detergentes, metais pesados, sais biliares, determinados corantes, antibióticos e enzimas digestórias, como a lisozima;
- Manutenção do equilíbrio iônico;
- Sensoriamento de fatores físicos e químicos do ambiente;
- Participação nos processos de divisão celular;
- Suporte para estruturas externas, como adesinas;
- Participação nos processos de secreção;
- Participação na motilidade celular;
- Resistência à desidratação;
- Proteção contra componentes do sistema imune inato;
- Altamente imunogênica.

Sistemas de secreção



Membrana externa – Componentes protéicos

- Proteínas envolvidas diretamente na exportação/ importação de proteínas e possivelmente drogas
- Canais de transporte específicos
- Receptores de alta afinidade
- Lipoproteínas
- Porinas clássicas



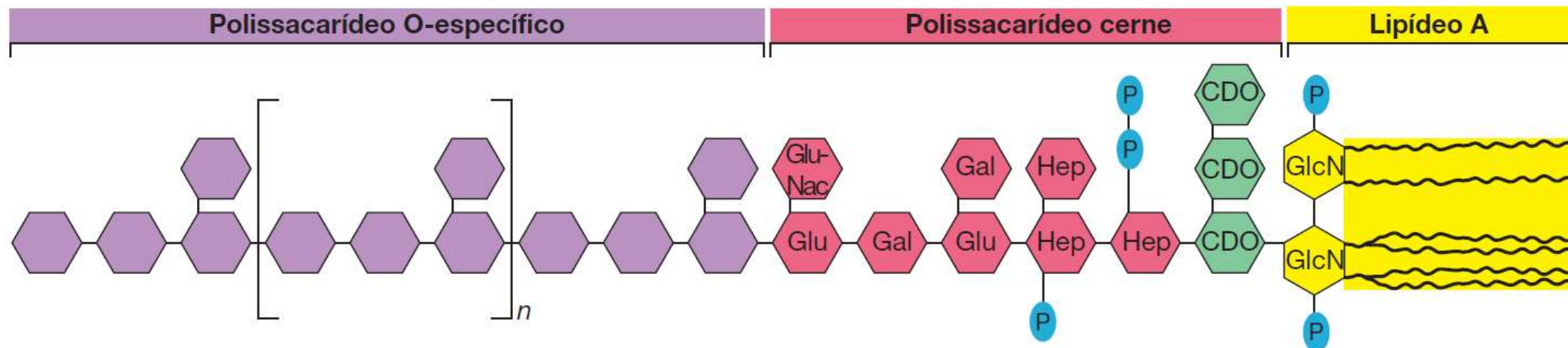
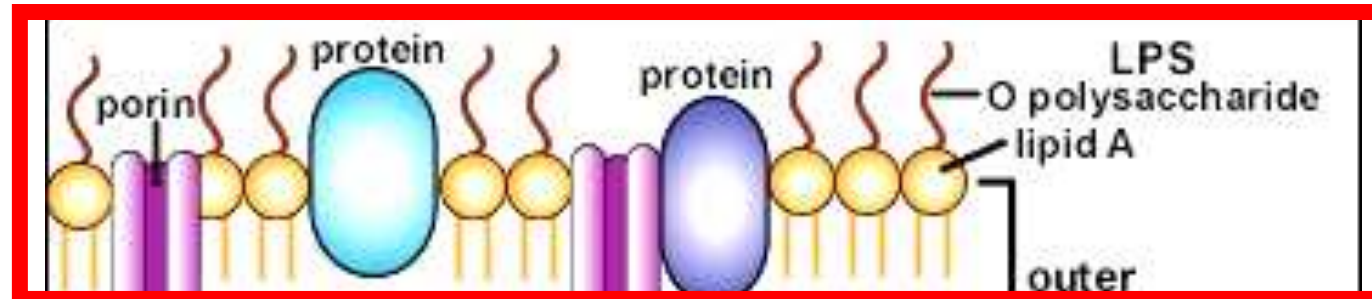


DEPARTAMENTO DE
MICroBiologia
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

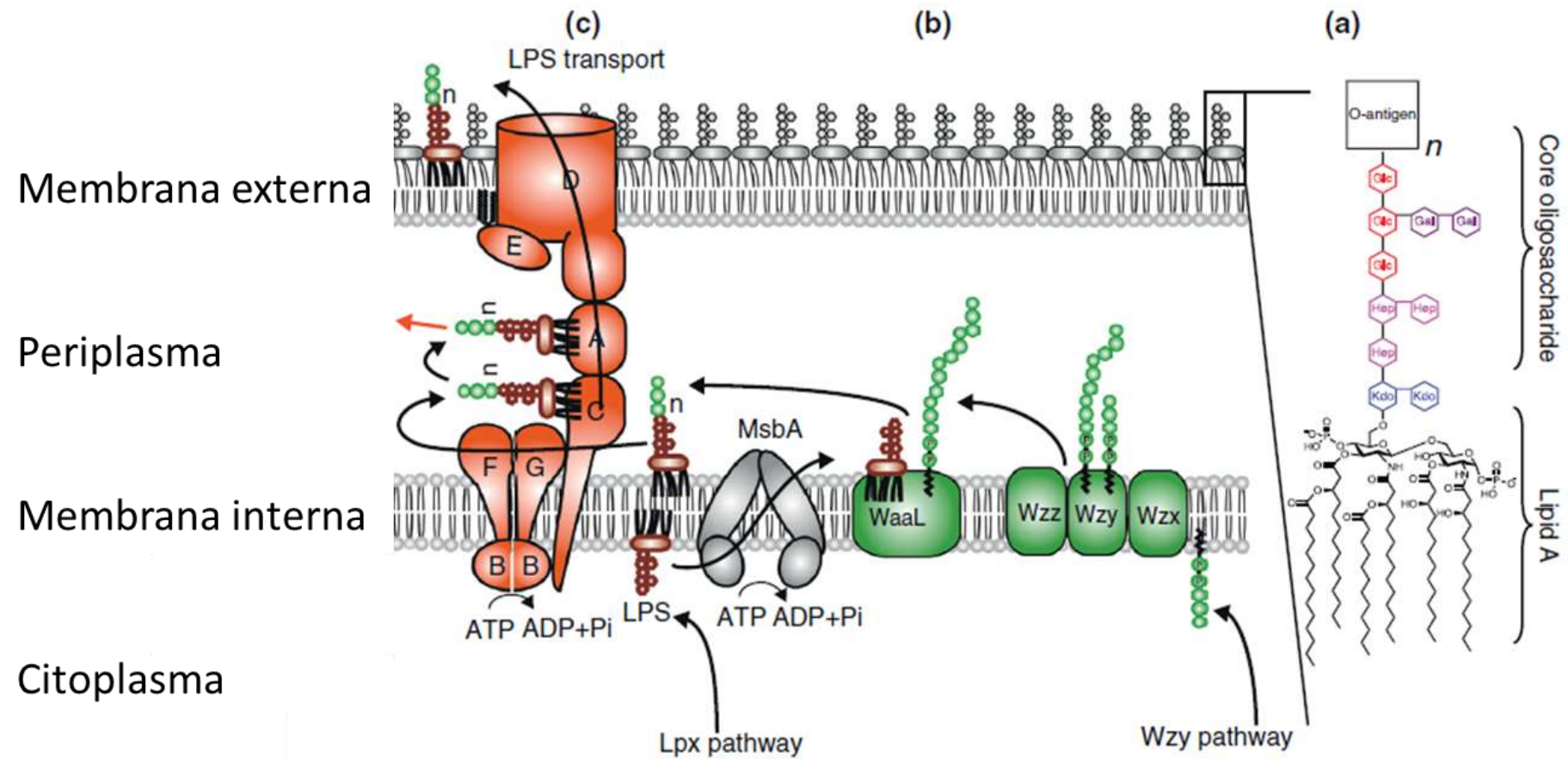
Lipopolissacarídeo

Dra. Ana Carolina Ramos Moreno
carol@usp.br

Localização do LPS na membrana externa

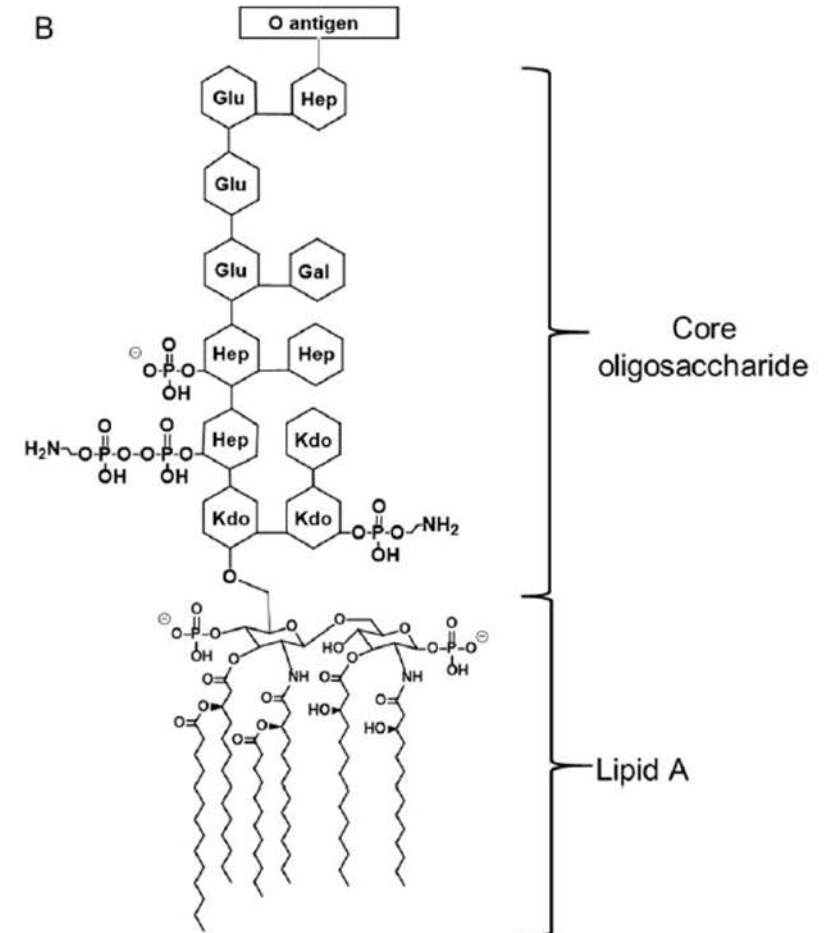
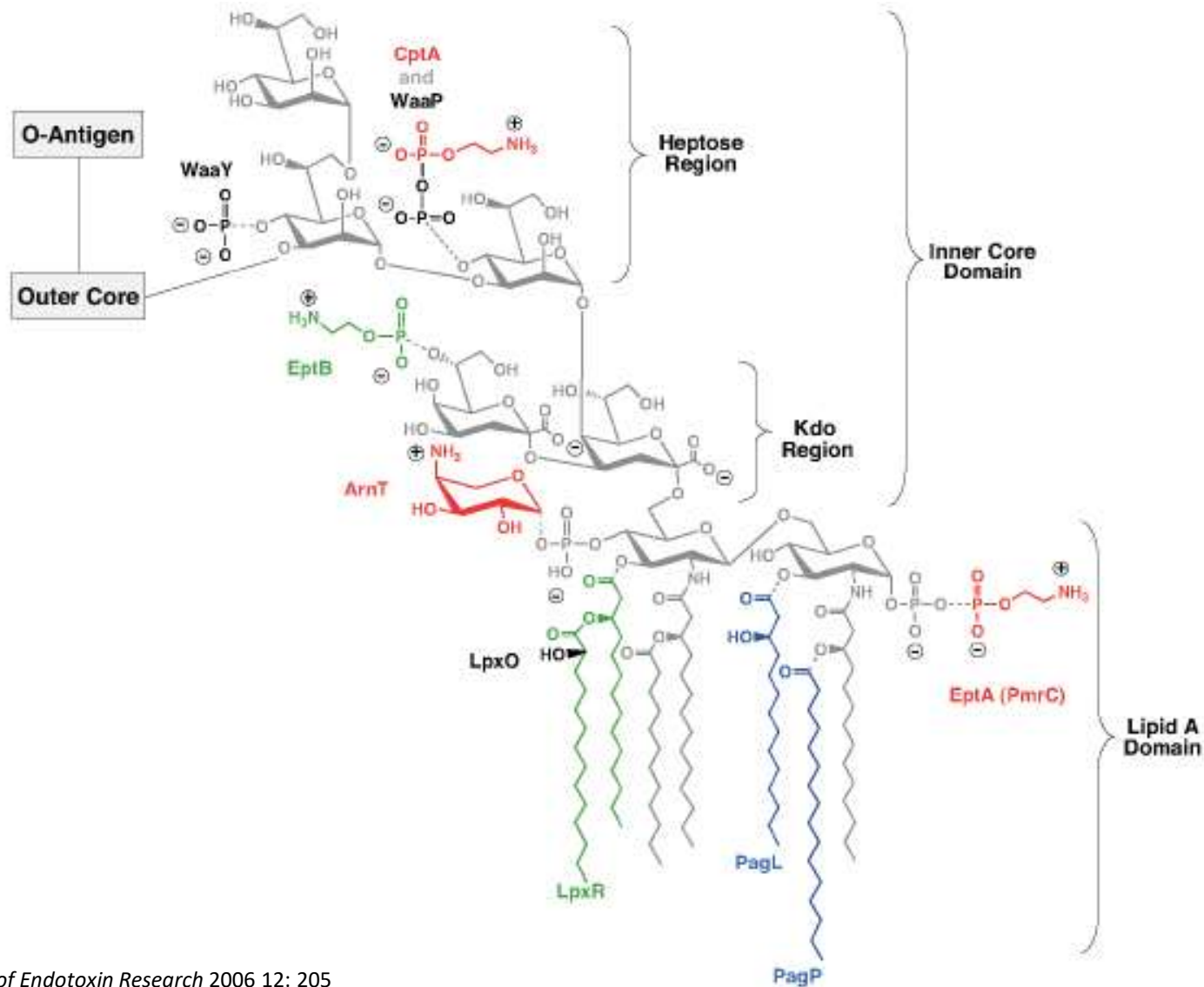


Biossíntese e transporte do LPS

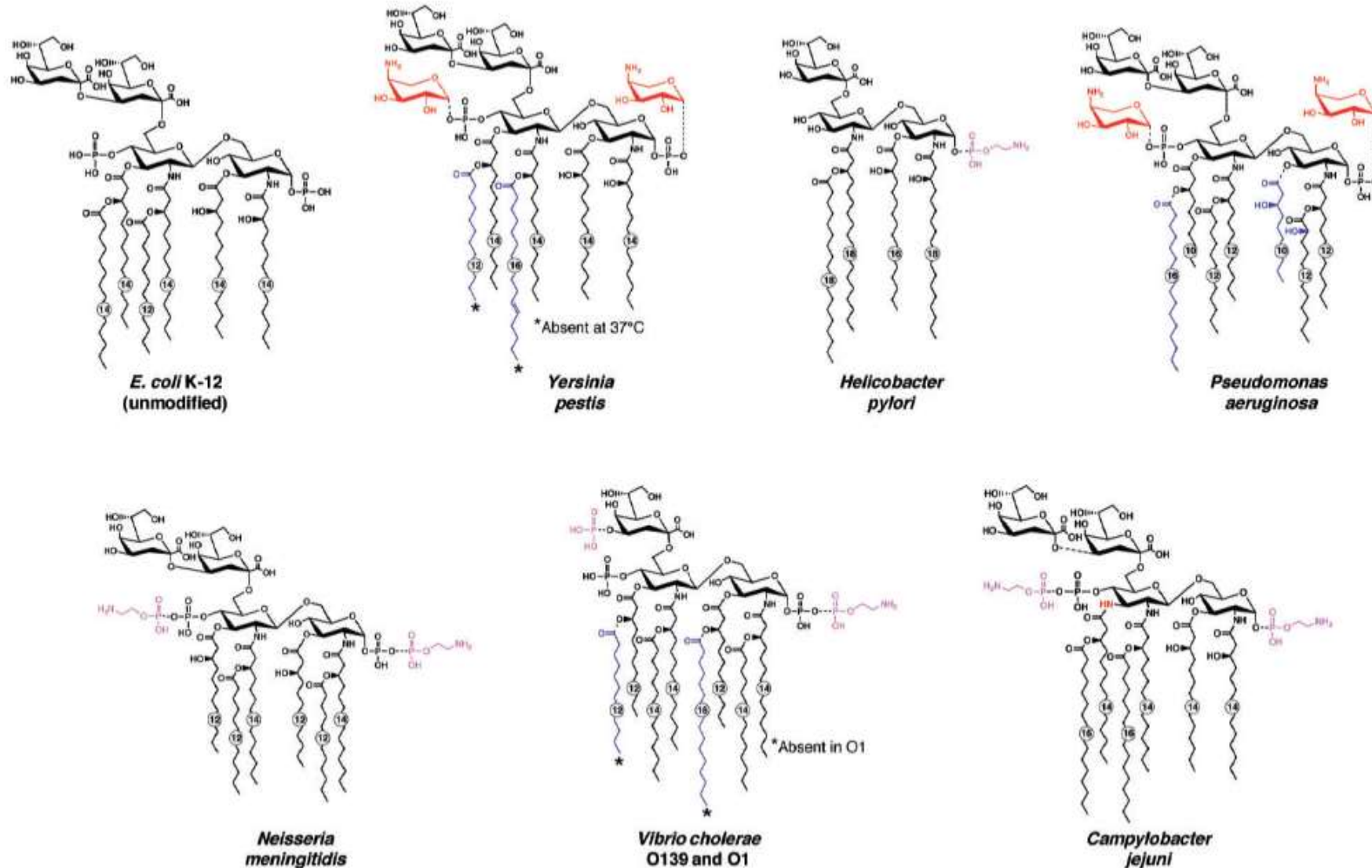


Current Opinion in Microbiology

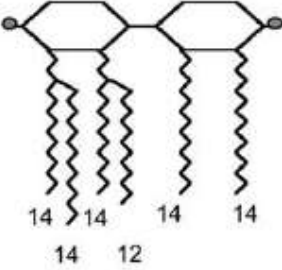
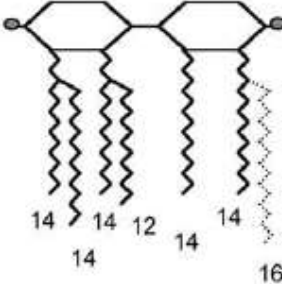
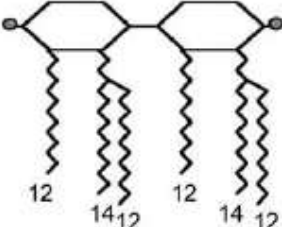
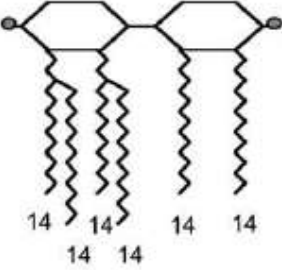
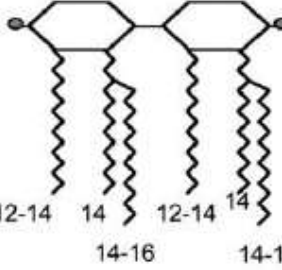
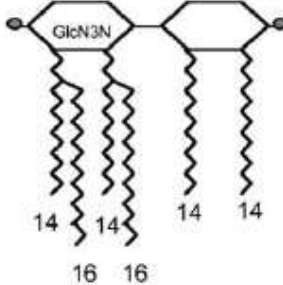
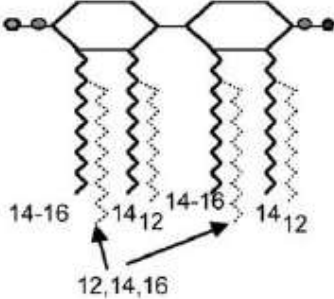
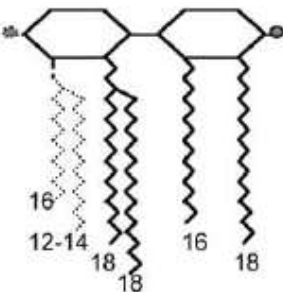
Estrutura do LSP



Diversidade estrutural dos LPS

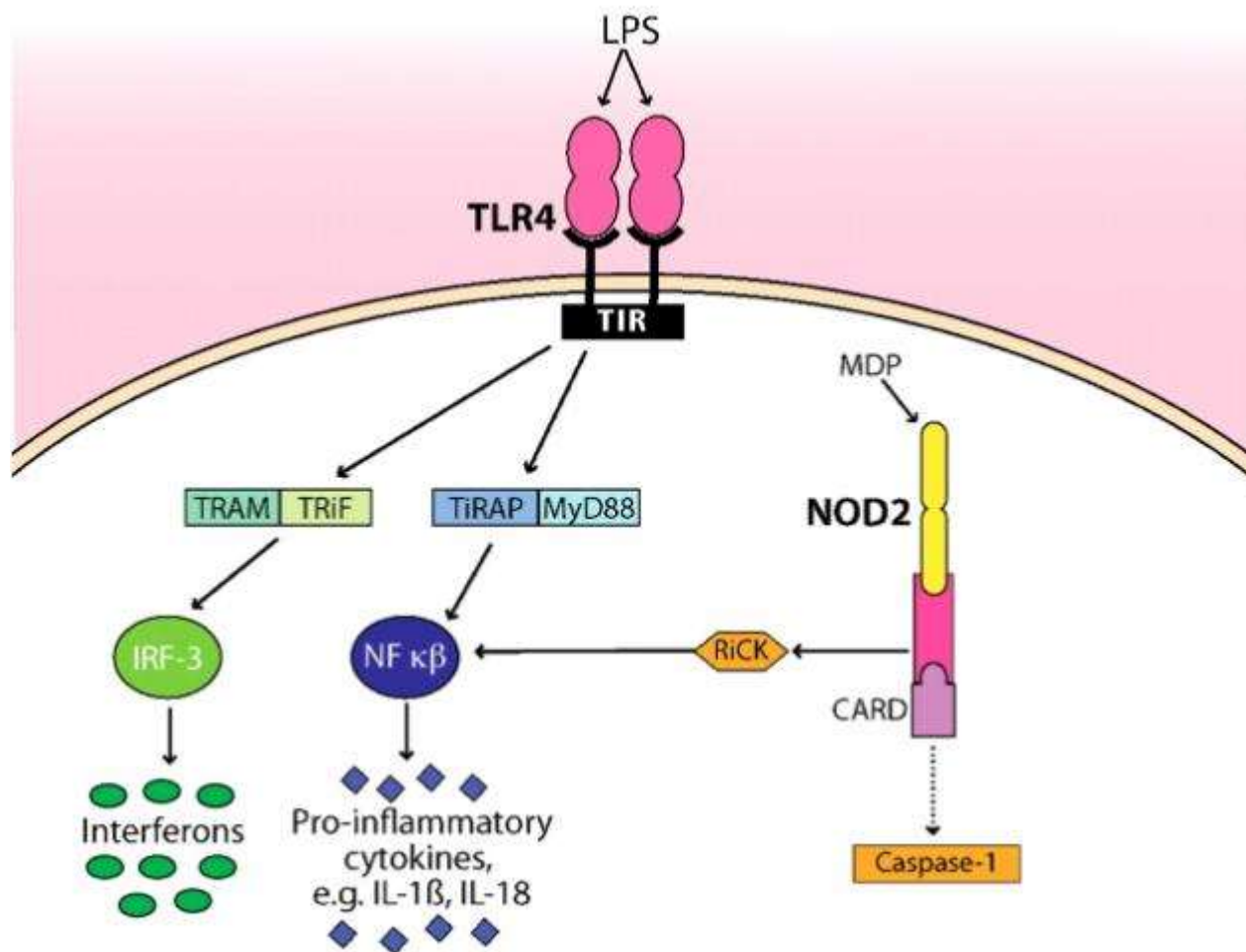


Diversidade estrutural do lipídeo A

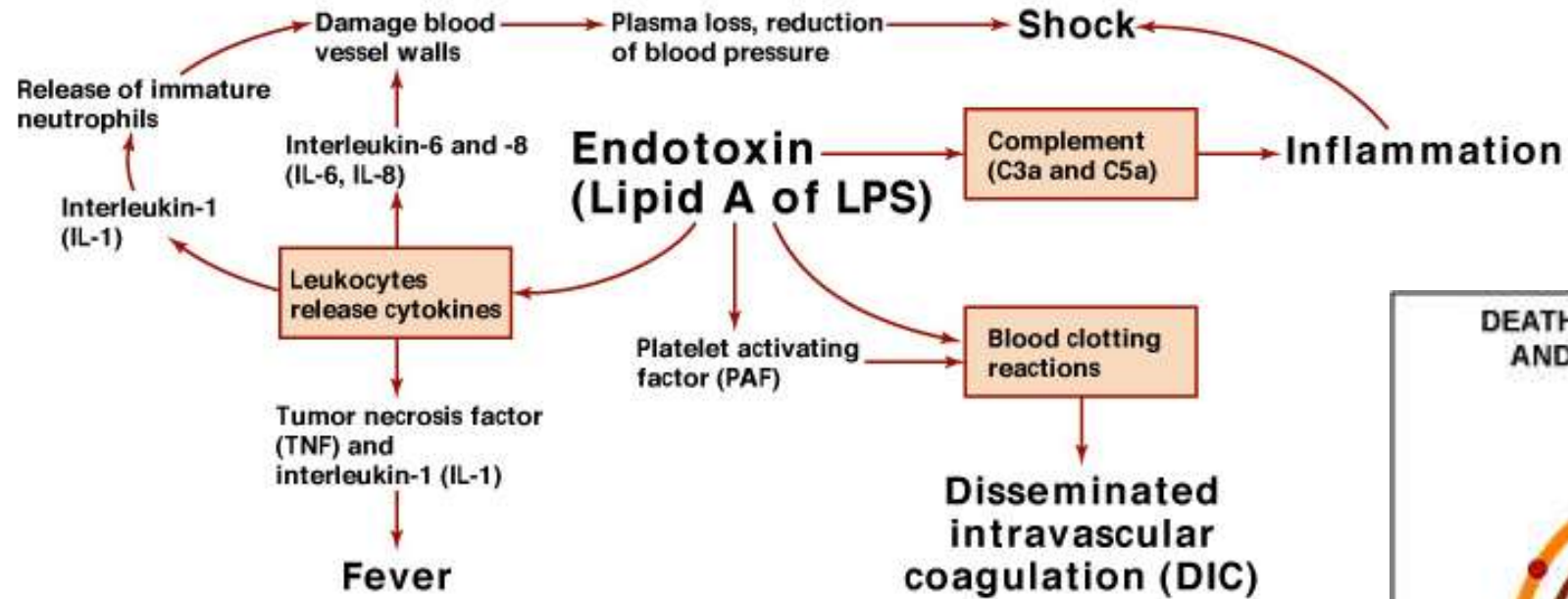
<u><i>E.coli</i> lipid A</u> 	<u><i>S.minnesota</i> lipid A</u> 	<u><i>N.meningitidis</i> lipid A</u> 	<u><i>H.influenzae</i> lipid A</u> 
Endotoxic Activity: +++	Endotoxic Activity: +++	Endotoxic Activity: +++	Endotoxic Activity: +++
<u><i>K.pneumoniae</i> lipid A</u> 	<u><i>C.jejuni</i> lipid A</u> 	<u><i>Y.pestis</i> lipid A</u> 	<u><i>H.pylori</i> lipid A</u> 
Endotoxic Activity: +++	Endotoxic Activity: ++	Endotoxic Activity: ++(?)	Endotoxic Activity: ++

Lipídeo A

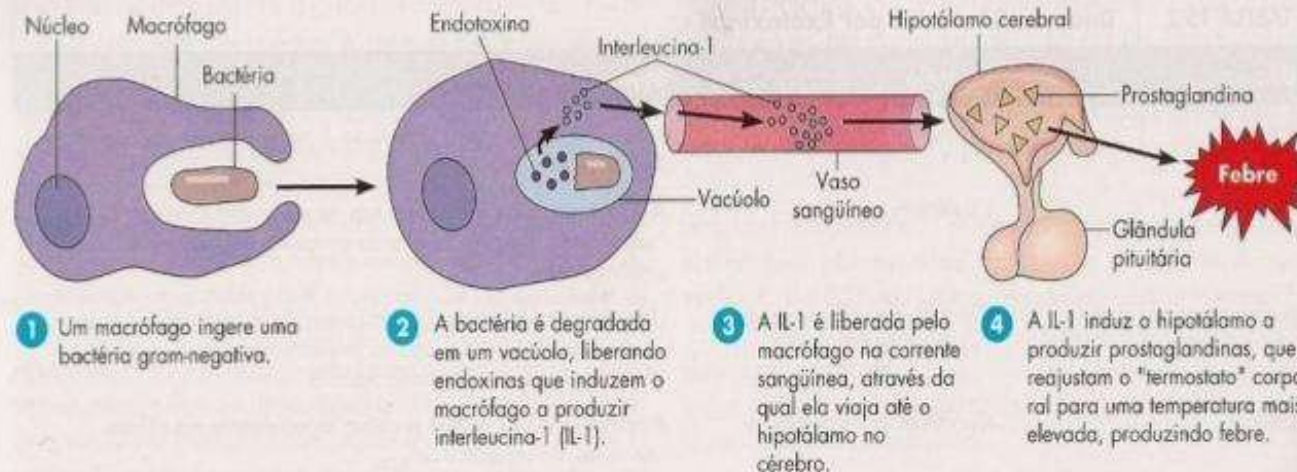
- Detectado em níveis de picomolar pelas células do sistema imune.



Choque endotóxico



DEATH OF GRAM-NEGATIVE BACTERIUM AND RELEASE OF LPS (ENDOTOXIN)

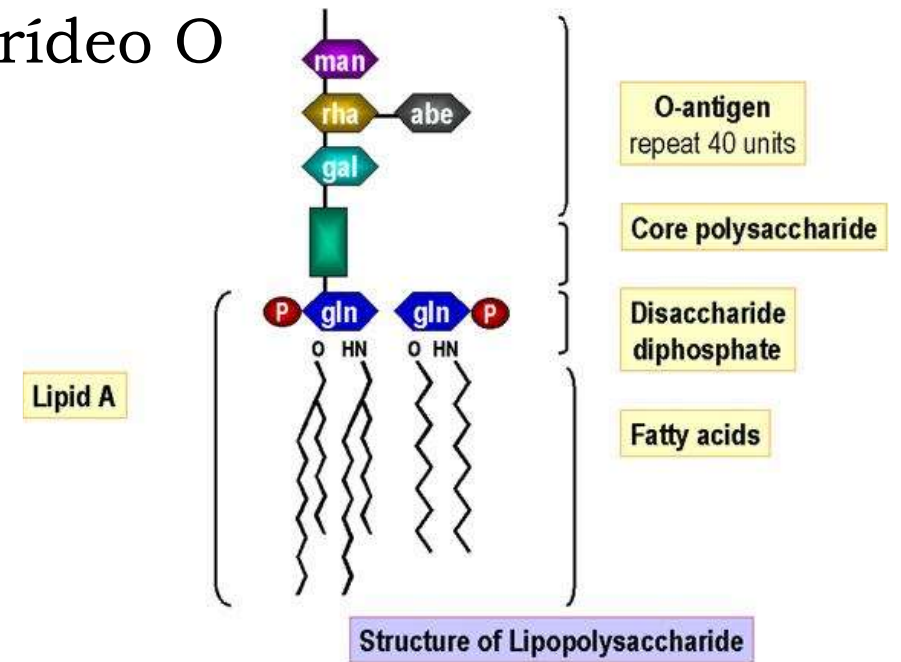


Antígeno O

- Polissacarídeo composto entre um e oito resíduos de glicosil que diferem entre as cepas por meio de açúcares, sequências, ligação química, substituição de anel, e formas utilizadas.
- A estrutura do polissacárido O define a especificidade sorológica do antígeno O em um organismo.
- Grande diversidade das estruturas do antígeno O dentro de uma espécie pode variar consideravelmente.
- MUITO antigênico - localização na membrana externa

LPS → Antígeno O

LPS: Lipídeo A, core e cadeia de polissacarídeo O



* diferencia as bactérias em sorogrupos (AgO)

- Ag O + Ag H = sorotipo **Ag O: O1- O173**

Ag H: H1- H60 (ex. *E.coli* O55:H6)

• Análise antigênica: em Laboratório Clínico é realizada apenas para :

E. coli (fezes)

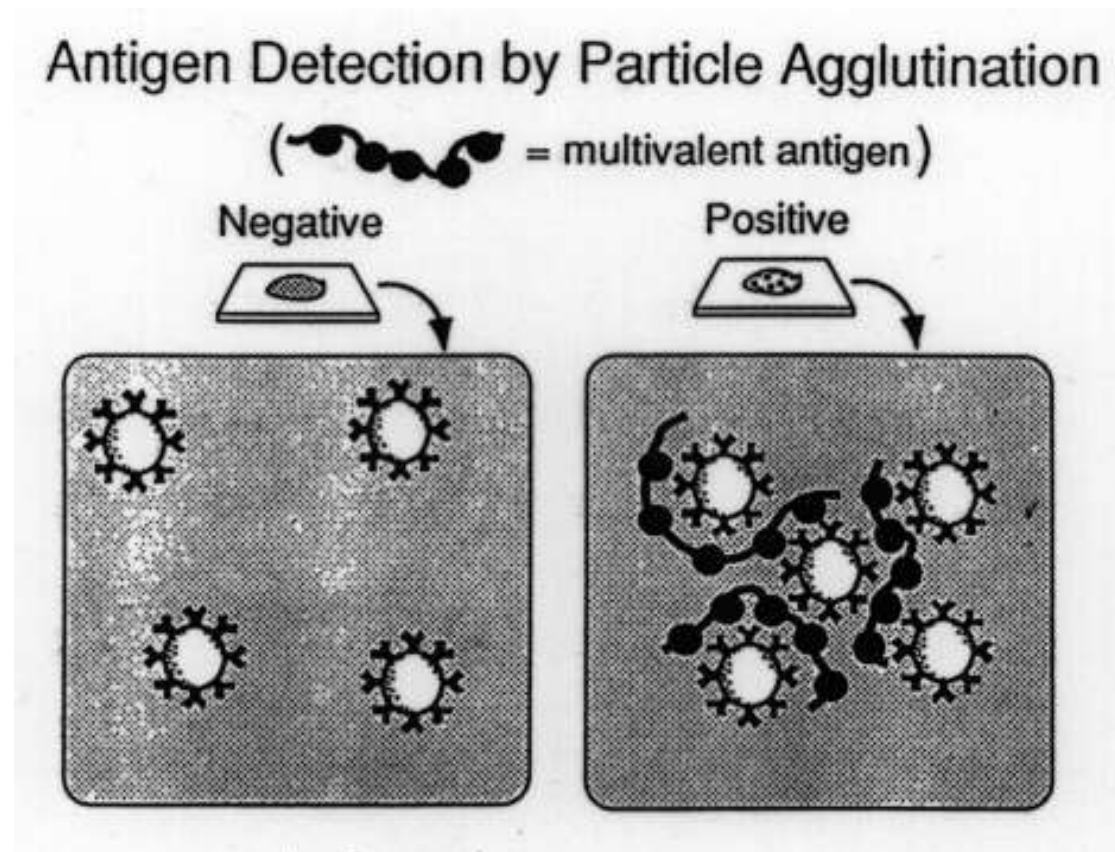
Salmonella sp

Shigella sp

Yersinia sp

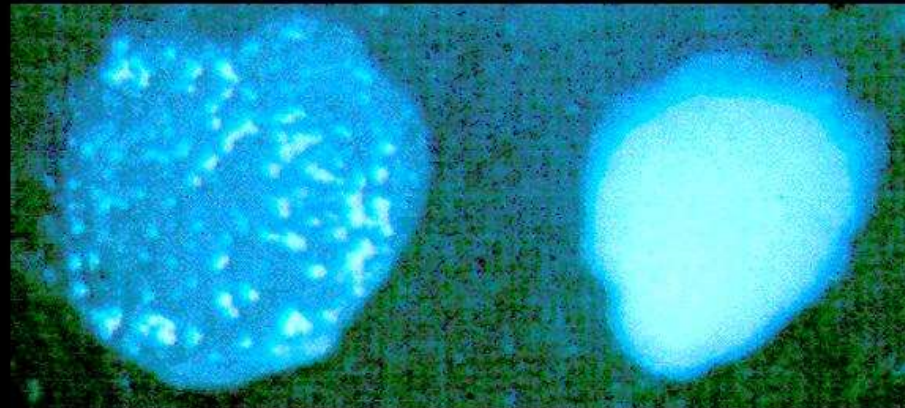
Antígeno O

- Muito utilizado para caracterização e tipagem de bactérias Gram-negativas → sorologia.



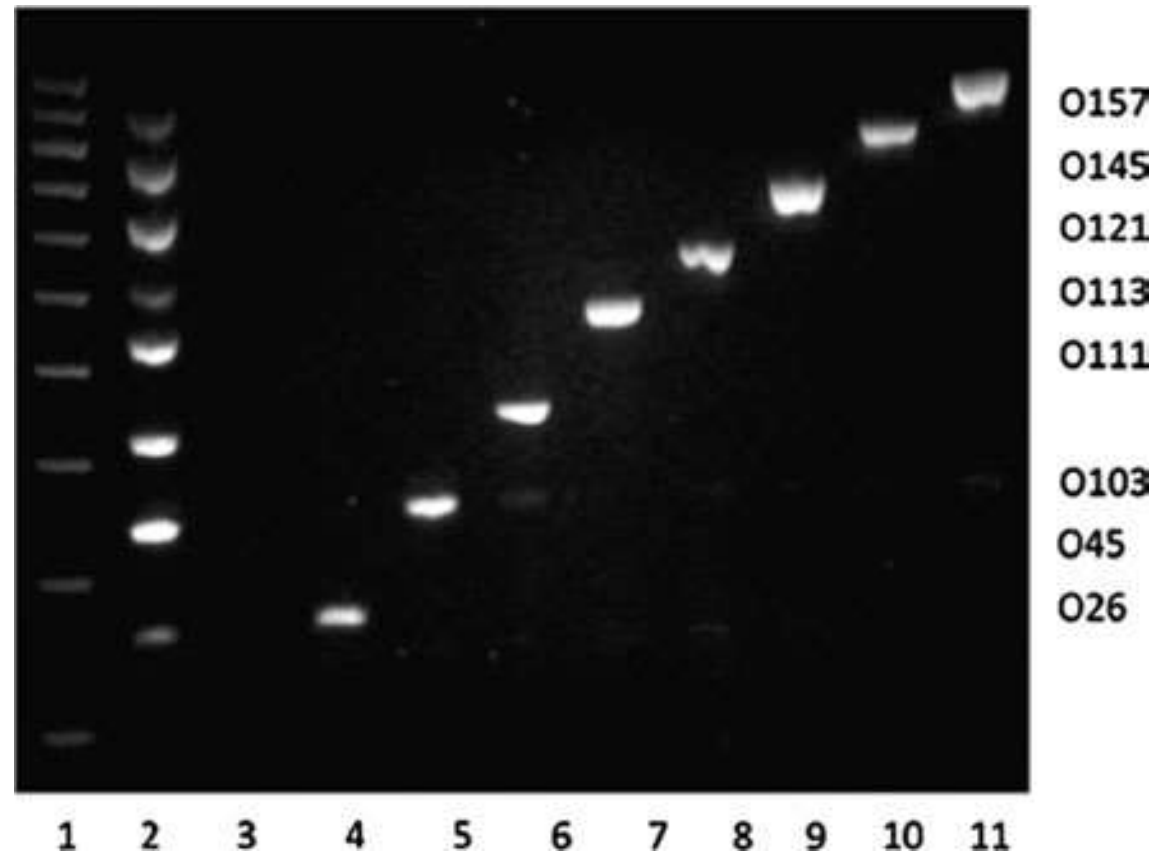
Antígeno O

Soroaglutinação



Teste de aglutinação em lâmina com anti-soros específicos para identificação de enteropatógenos

Antígeno O



O157
O145
O121
O113
O111
O103
O45
O26

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11

Bibliografia

Artigos científicos citados ao longo da apresentação

Microbiologia de Brock – 12º edição

Microbiologia – Tortora - 10º edição

Google: fotos e sites especializados

Esta apresentação contém imagens que se acreditam ser de domínio público, obtidas no Google. Caso alguma imagem tenha direito autoral, por favor, comunique o autor desta apresentação para que a imagem possa ser retirada imediatamente.