

TESTI CONSIGLIATI

- MANUALE DI VIROLOGIA MEDICA
- di F. Dianzani
- III Edizione
- Casa Editrice Mc Graw Hill

I VIRUS

Esame orale sul programma del Corso:
Virologia generale, Virus influenzali, SARS-
CoV-2, Virus epatitici

CENNI STORICI

Geroglifico ritrovato a
Menfi (Egitto), datato ca
1400AC

Ritrae il sacerdote del
tempio Siptah con i tipici
segni di una poliomielite
paralitica



E' la prima testimonianza scritta di una infezione virale

IL CONCETTO DI VIRUS: ORIGINE DELLA VIROLOGIA

- Nel 1892, **Dmitri Ivanowski**, dimostrò che estratti di foglie di tabacco malate, passati attraverso un filtro di ceramica in grado di trattenere i batteri, potevano ancora trasmettere la malattia ad altre piante.
- Nel 1898, **Martinus Beijerinck** confermò ed estese i risultati di Ivanowski e sviluppò per primo il concetto di “**virus**” come **agente filtrabile infettante** (*contagium vivum fluidum*)
- INIZIA L'ERA DELLA VIROLOGIA MODERNA

Scoperta dei virus

- 1892 - Ivanovsky – scoprì il virus del mosaico del tabacco
- 1898 - Loeffler & Frosch – scoprirono che l' agente della sindrome "mani piedi" era filtrabile
- **concetto chiave: i virus sono agenti non solo piccoli ma si replicano solo nell' ospite, NON nel brodo di coltura**
- 1901 primo virus umano: il virus della febbre gialla (W. Reed)
- 1908 Rous sarcoma virus, poliovirus
- 1915 - batteriofagi
- 1933 - influenza virus
- il termine virus deriva dal latino "veleno".

Impatto dei virus sulle forme di vita

- Virus sono gli organismi viventi più abbondanti sul pianeta
- Studi di metagenomica di campioni ambientali amplificati e sequenziati mostrano che i geni virali costituiscono la maggior parte della geosfera
- Virus hanno un'importanza determinante, non diversa dai batteri, sulla evoluzione, anche sull'origine del DNA e dei mammiferi

Definizione di virus

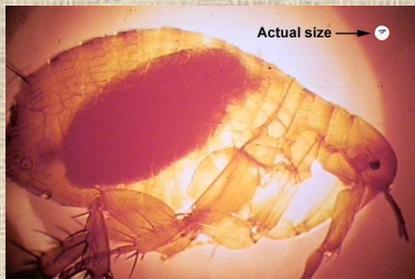
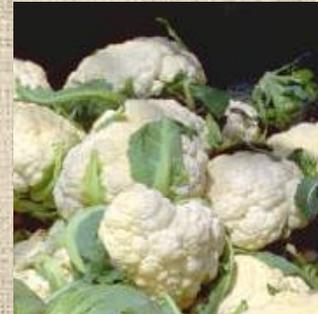
- Sono parassiti intracellulari obbligati
- Il loro genoma è costituito da DNA o RNA
- All'interno della cellula, il genoma virale si replica e dirige la sintesi di altre componenti virali, sfruttando il sistema cellulare
- La progenie virale, virioni, rappresenta il veicolo di trasmissione del genoma virale nelle cellule adiacenti, avviando un nuovo ciclo infettivo

Differenze tra virus ed organismi viventi

- Mancanza del sistema generatore di ATP
- Mancanza di attività metabolica
- Mancanza di membrane interne e ribosomi (ecc. Arenavirus)
- Un solo tipo di acido nucleico
(ecc. Poxvirus: virus a DNA, tracce di RNA
Retrovirus: virus a RNA, tracce di DNA)

Who gets them?

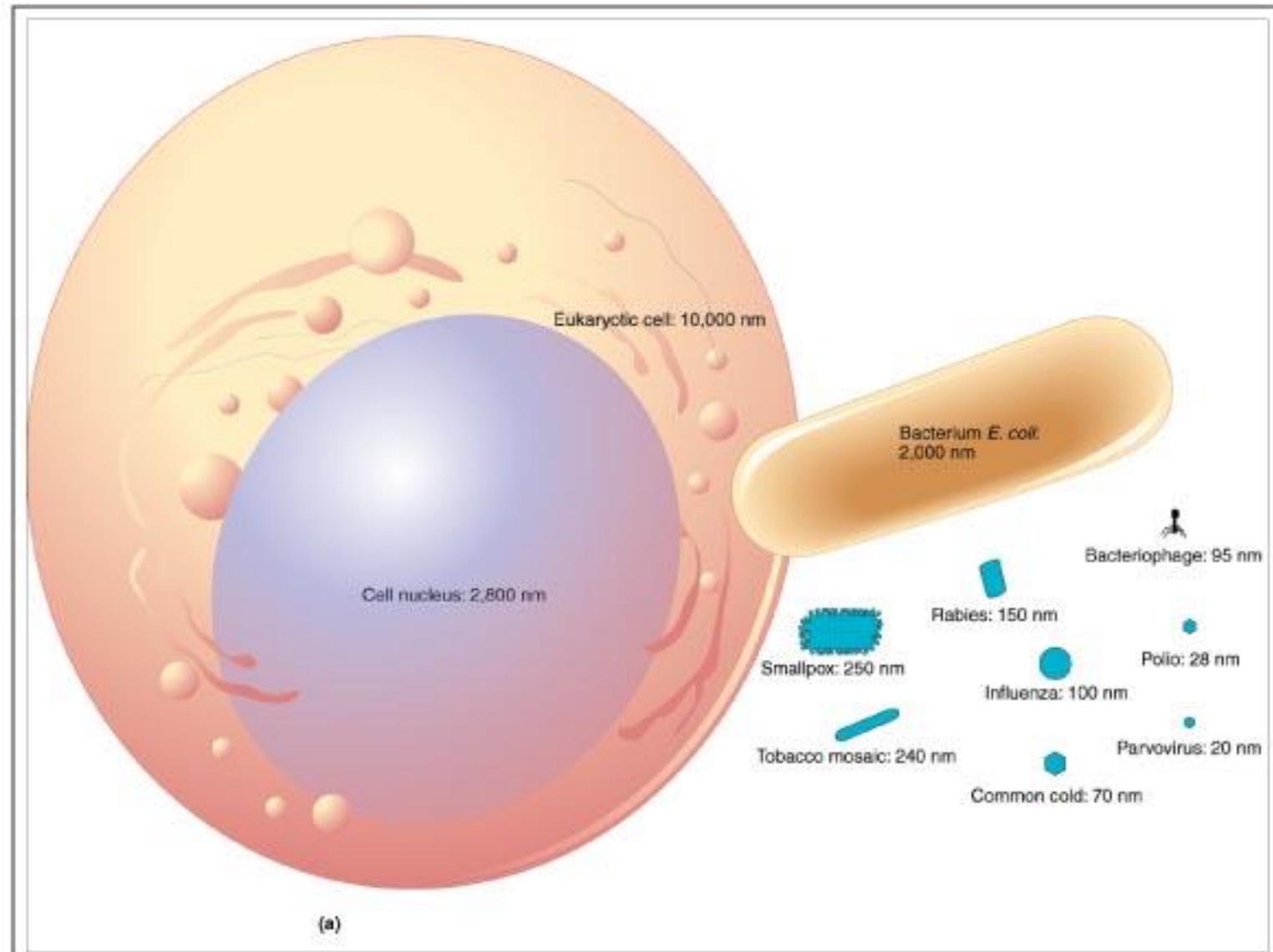
- Mammals and birds
- amphibians, reptiles and fish
- plants and fungi
- insects
- even bacteria are infected by viruses



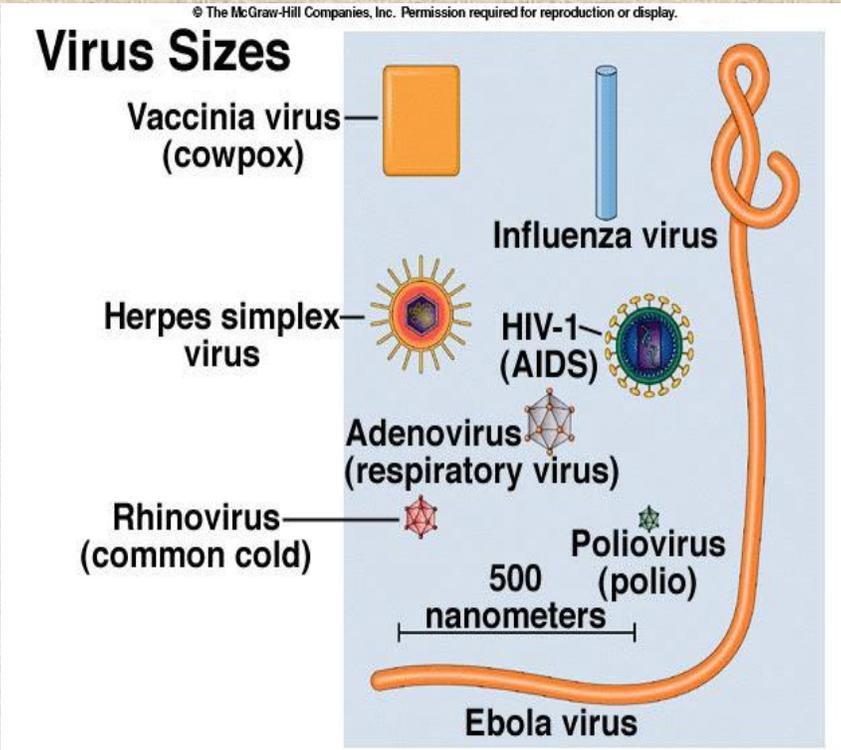
Sizes Relationships Among Microorganisms

Size Relationships Among Microorganisms

Figure 12.04



DIMENSIONI DEI VIRUS



RELATIVE SIZES OF SELECTED CELLS, VIRUSES, AND MOLECULES

Cells	Largest Diameter (nm)	
Herpes simplex	130	
Rabies	125	
Influenza	85	
Adenovirus	75	
T2 bacteriophage	65	
Poliomyelitis	27	
Yellow fever	22	
Foot-and-mouth	21	
Tobacco mosaic	15 (but 300 in length)	
Molecules		
Hemoglobin molecule	15	
Egg albumin molecule	10	

IL GENOMA VIRALE

I genomi virali variano in lunghezza da 3500 nt (fago MS2) a 280 Kbp (Cytomegalovirus) e a 1,2 Mb (mimivirus)

Comparison of Genome Size:

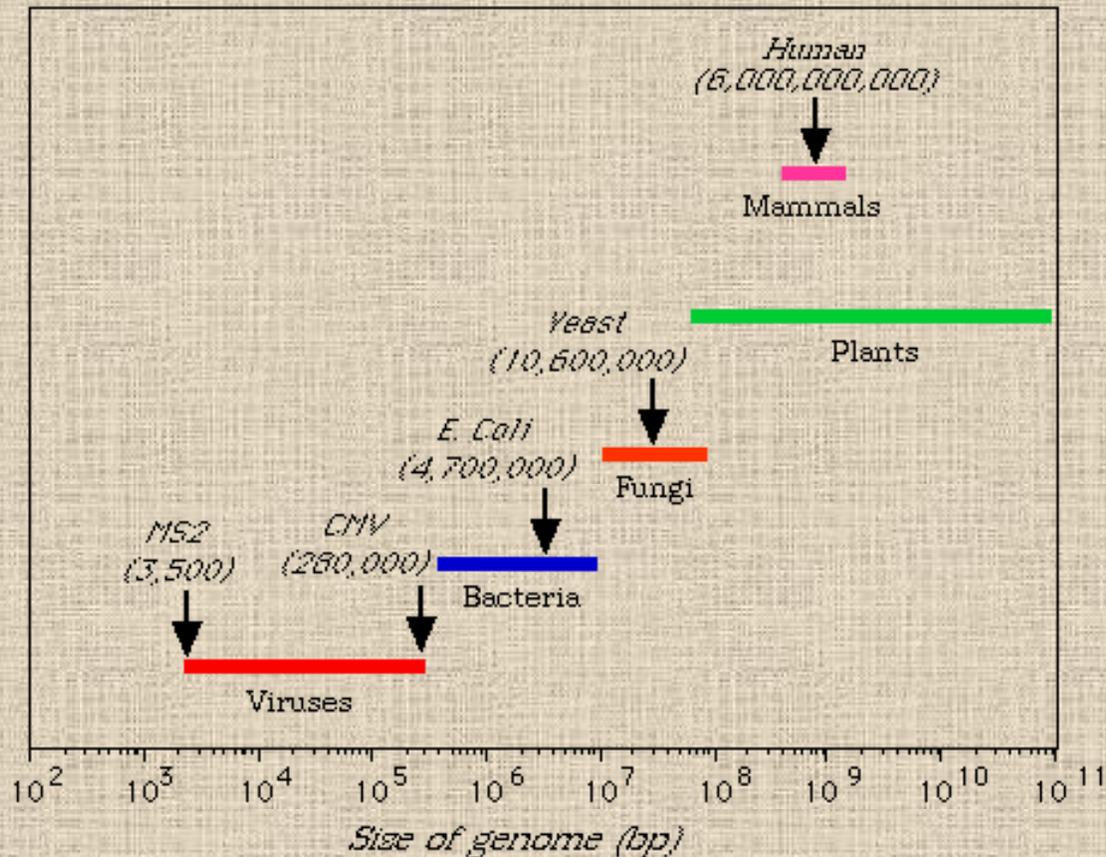
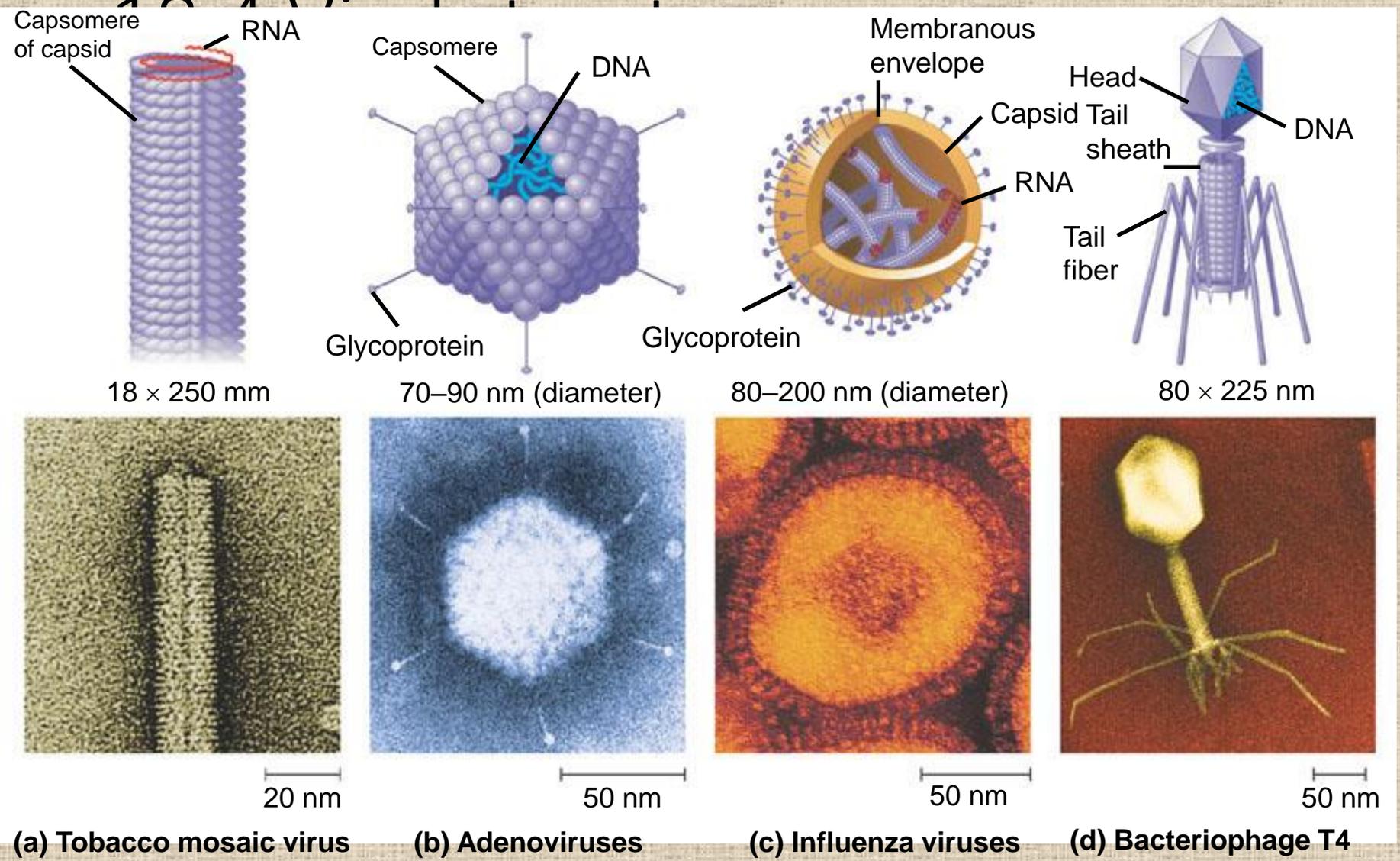


Figure 10.4 Virus Structure



(a) Tobacco mosaic virus

(b) Adenoviruses

(c) Influenza viruses

(d) Bacteriophage T4

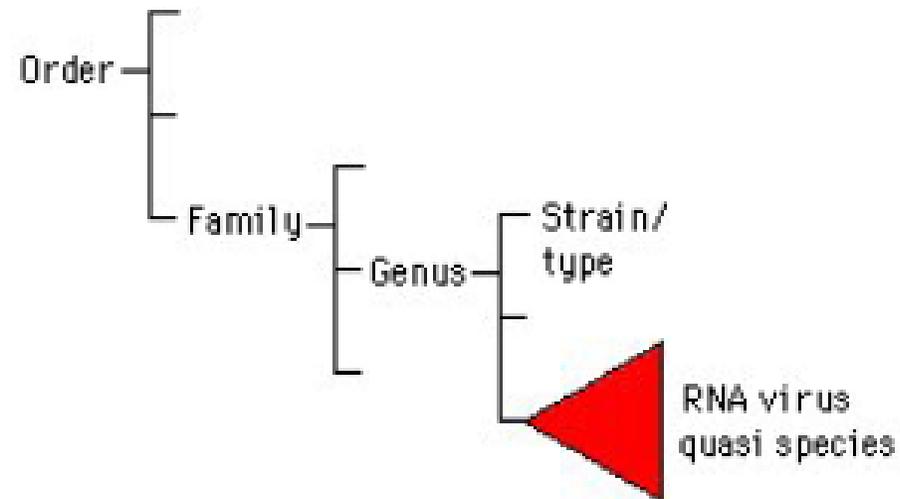
Classificazione virale in base a:

- natura del genoma nel virione
- simmetria del capside
- presenza di envelope o pericapside
- dimensione del virione & capside

CLASSIFICAZIONE VIRALE

La classificazione gerarchica dei virus prevede:

- Ordine
- Famiglia (indicata dal suffisso *viridae*)
- Sottofamiglia
- Genere (indicato dal suffisso *virus*)
- Specie *
- Ceppo/Tipo



ESEMPIO

Famiglia: *Picornaviridae* (picornavirus family)

Genere: *enterovirus*, *rhinovirus*, *aphthovirus*,
hepatovirus, *cardiovirus*

Gruppi del genere “*Enterovirus*”: poliovirus,
coxsackievirus A -B, echovirus, enterovirus

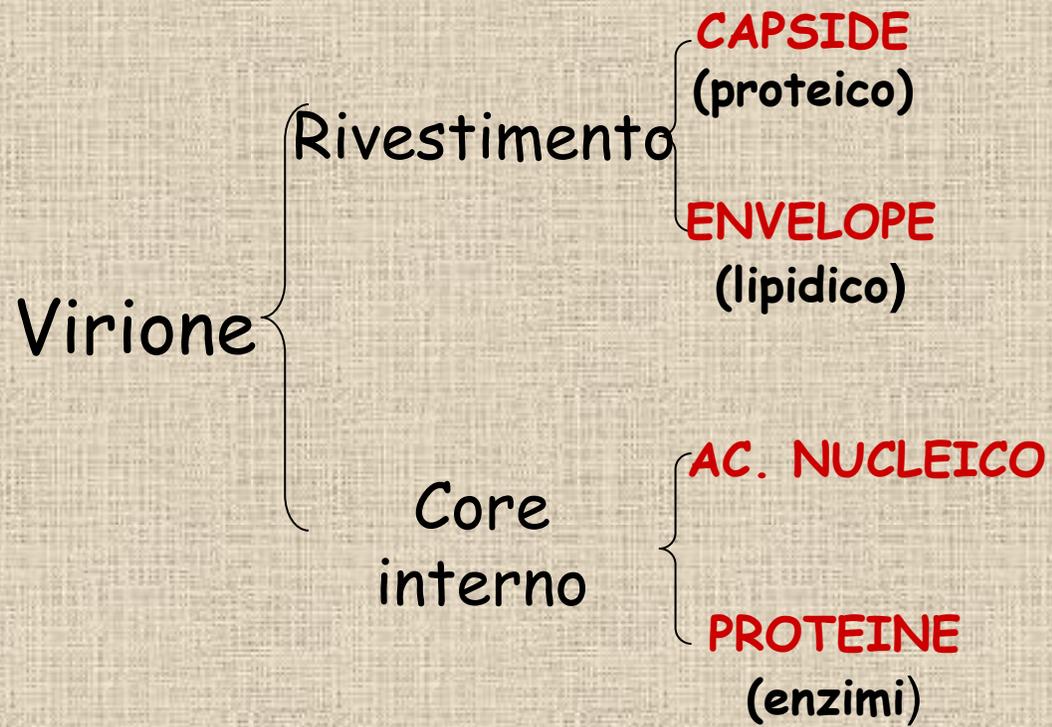
Componenti Virali

- **Proteine**
 - *Proteine strutturali*
 - *Proteine di membrana (riconoscimento del Recettore)*
 - *Enzimi*
- **Acido Nucleico genomico**
 - DNA
 - RNA
- **Envelope o pericapside presente solo in alcune famiglie virali**
 - Membrana plasmatica – es. Paramyxoviruses
 - Membrana Nucleare – es. Herpes viruses
 - Membrana del Golgi – es. Bunyaviruses

Proteine virali

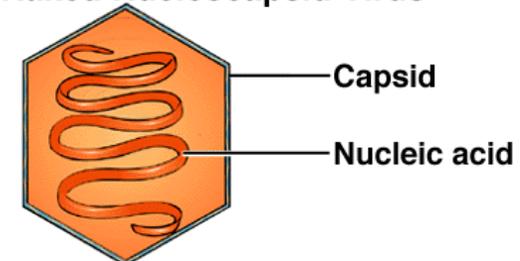
- **Proteine Strutturali** sono quelle che costituiscono la struttura del virione
- **Proteine non-strutturali** sono per lo più ad attività enzimatica ed hanno diverse funzioni

STRUTTURA DEI VIRUS

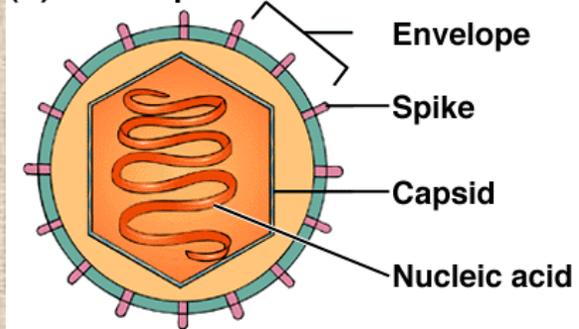


Kathleen Park Talaro and Arthur Talaro, *Foundations in Microbiology*, 3e Copyright © 1999 The McGraw-Hill Companies

(a) Naked Nucleocapsid Virus

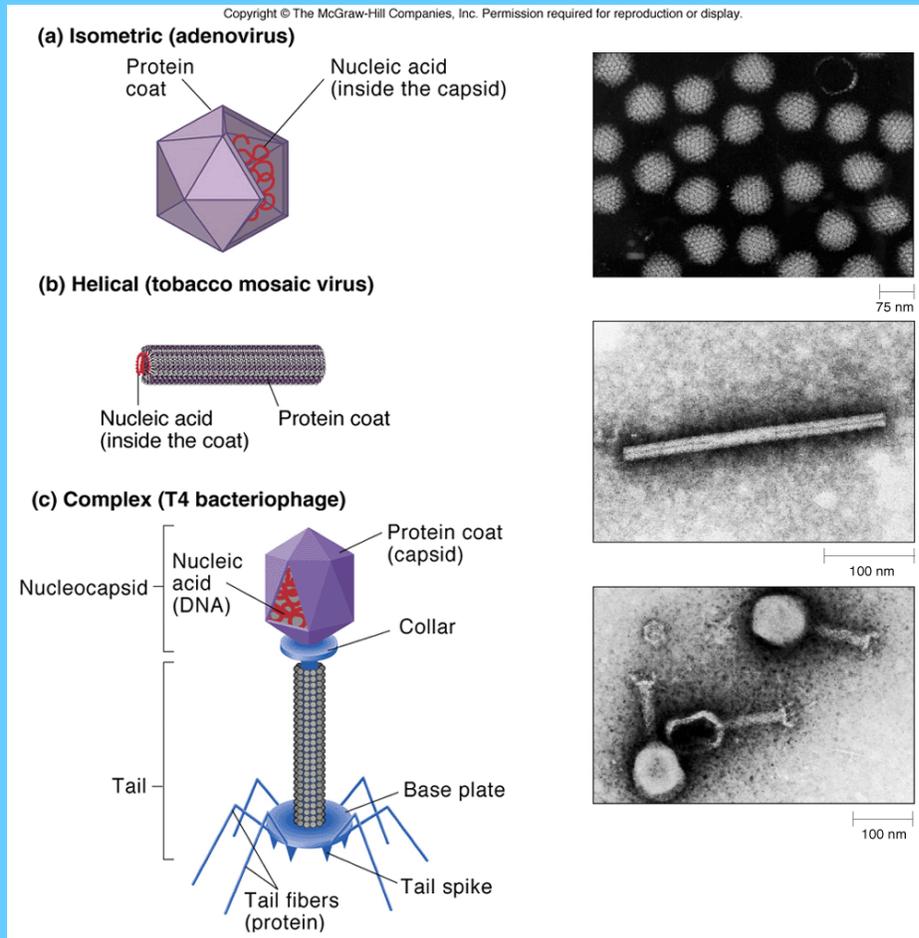


(b) Enveloped Virus

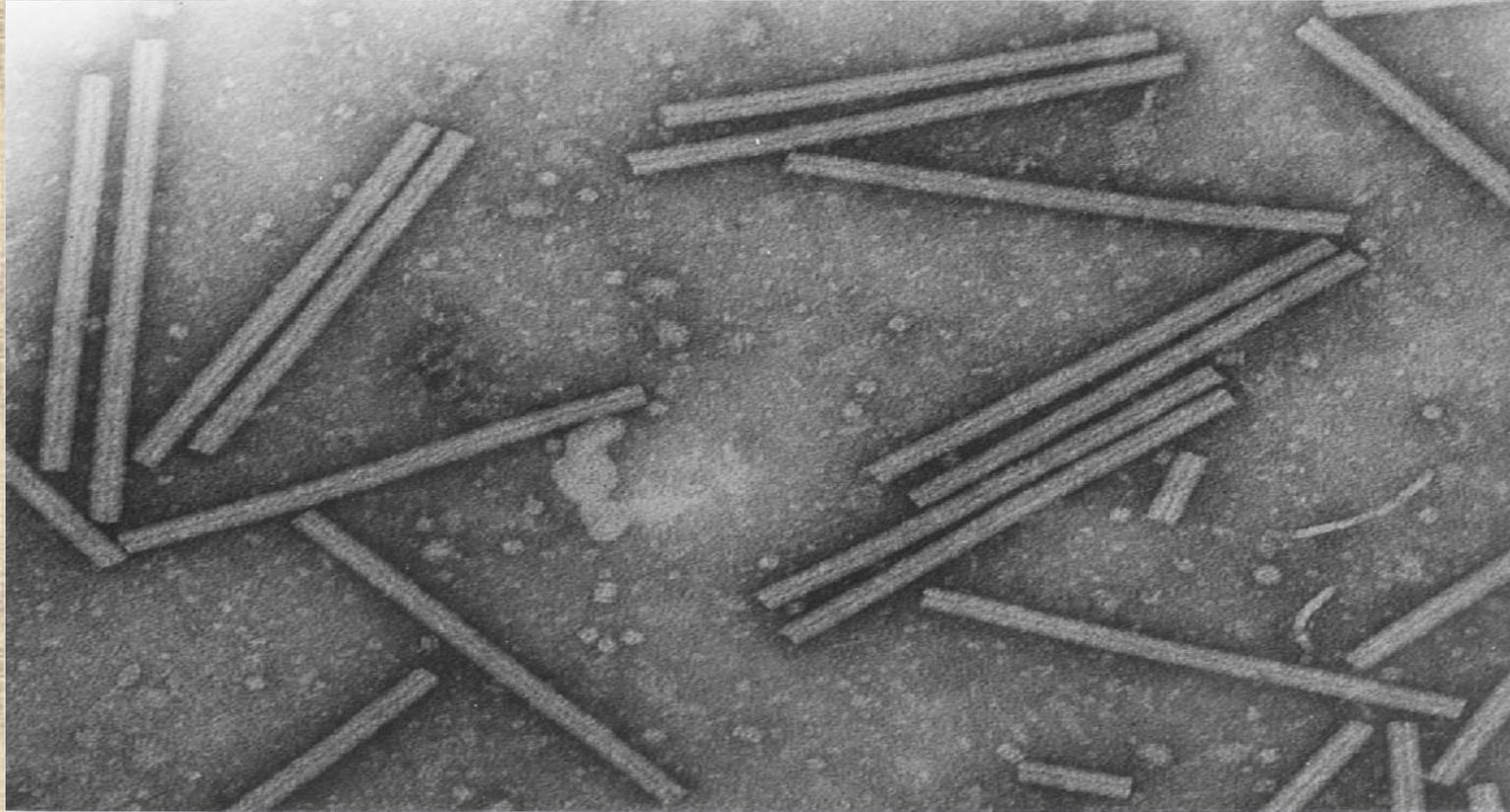


IL CAPSIDE

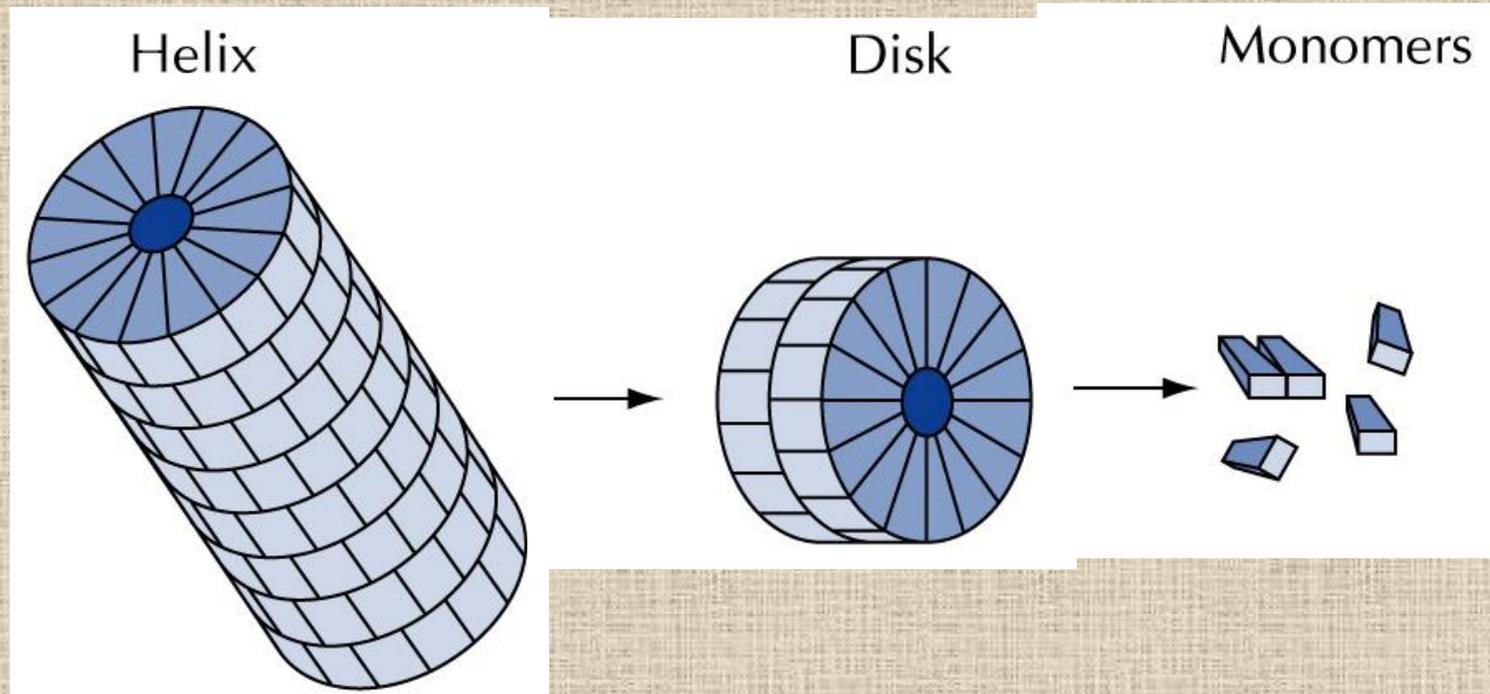
- **Funzione:** protezione, riconoscimento recettori, trasporta il genoma al nucleo
- **Struttura:** strutture regolari a partire da subunità irregolari
- **Economia di genoma:** due simmetrie per l'architettura del virione
- **Simmetria elicoidale :** TMV, Rhabdovirus
- **Simmetria icosaedrica:** adeno, herpes, picornavirus
- **Le forze** che legano insieme i protomeri sono **non covalenti**.
- **I virioni** sono dati dall'interazione proteina-proteina, proteina-ac.nucleico, proteina-lipidi



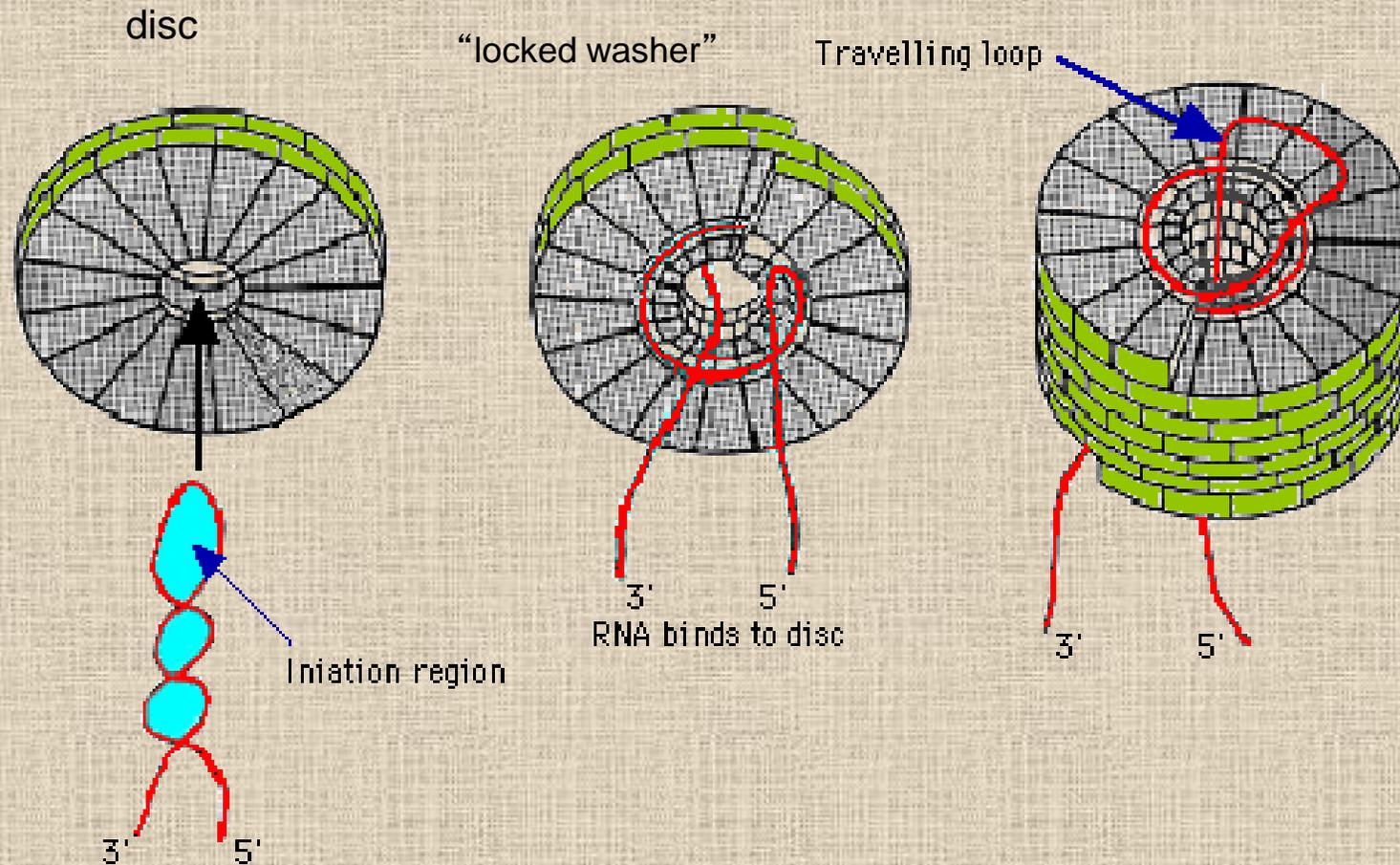
**CAPSIDI ELICOIDALI:
VIRUS DEL MOSAICO DEL TABACCO (TMV)**



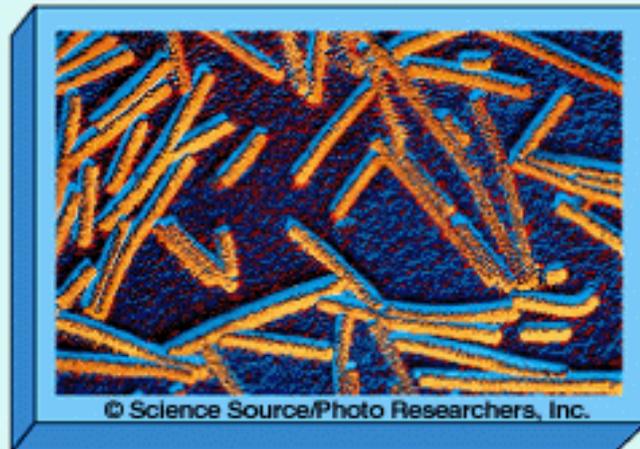
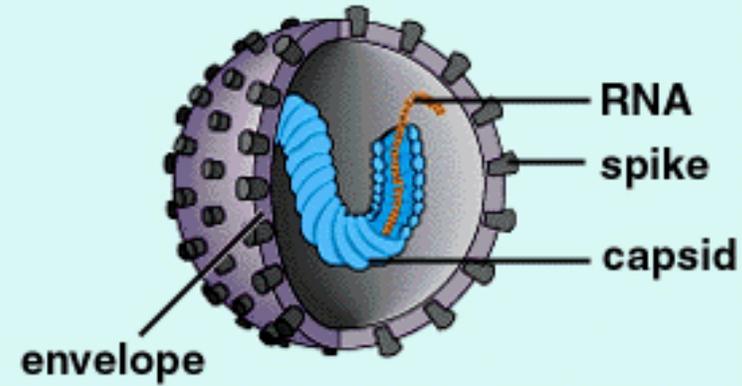
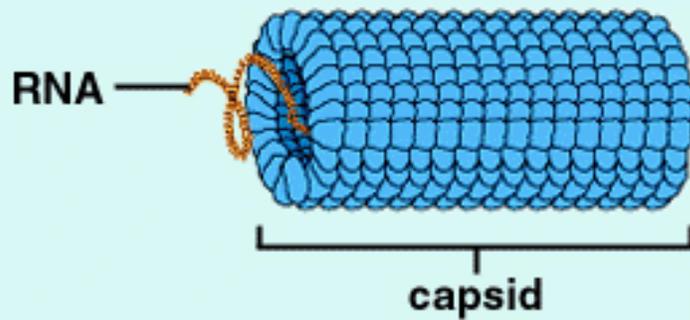
DENATURAZIONE DI TMV



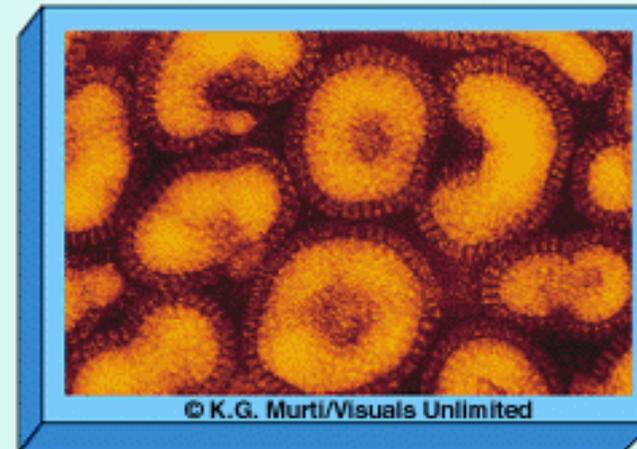
TMV - ASSEMBLAGGIO



I CAPSIDI ELICOIDALI DI VIRUS ANIMALI POSSONO ESSERE RIVESTITI DI ENVELOPE

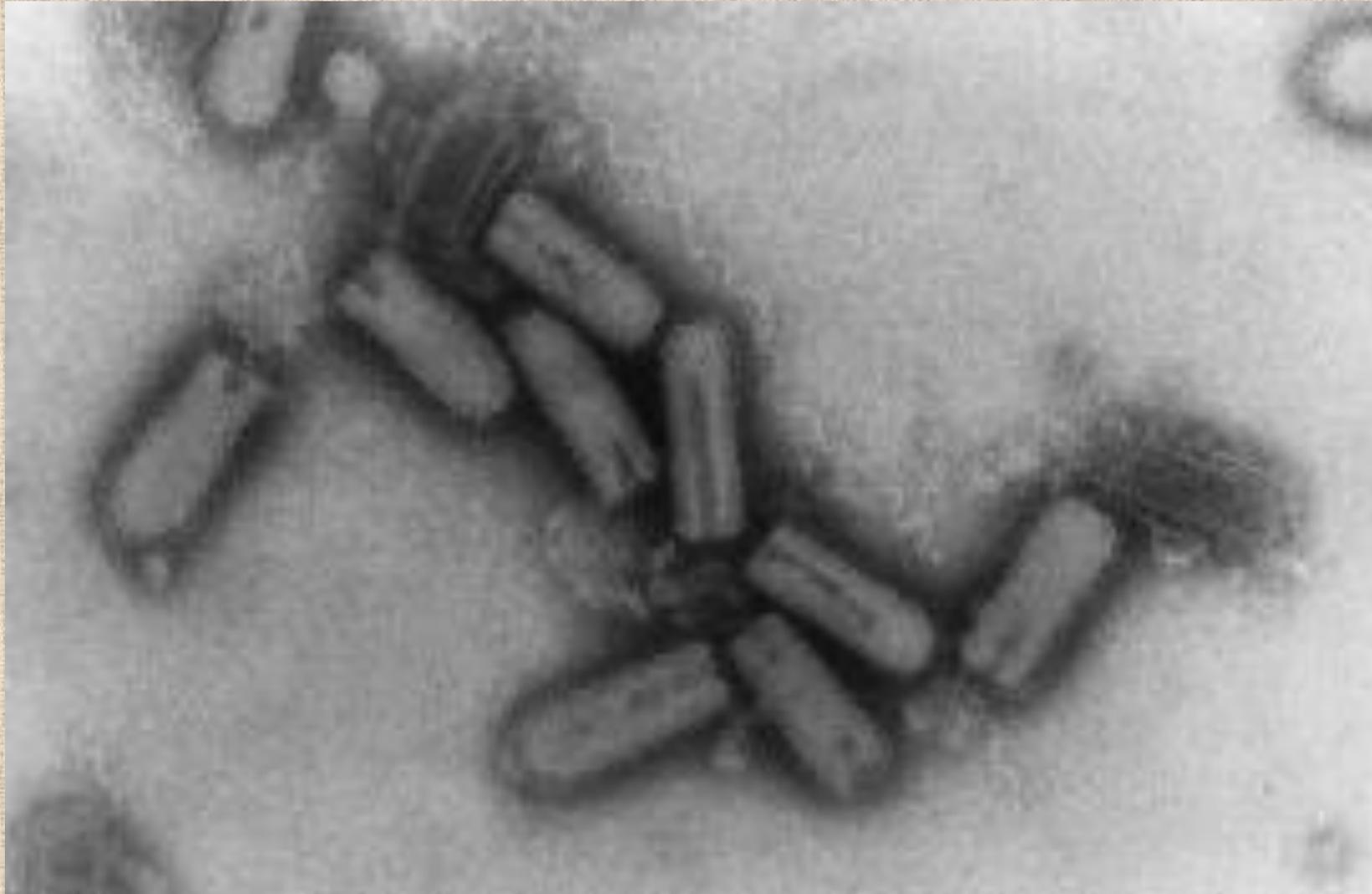


50 nm
c. Tobacco mosaic virus: An RNA virus with a helical capsid.



20 nm
d. Influenza virus: An RNA virus with a helical capsid surrounded by an envelope with spikes.

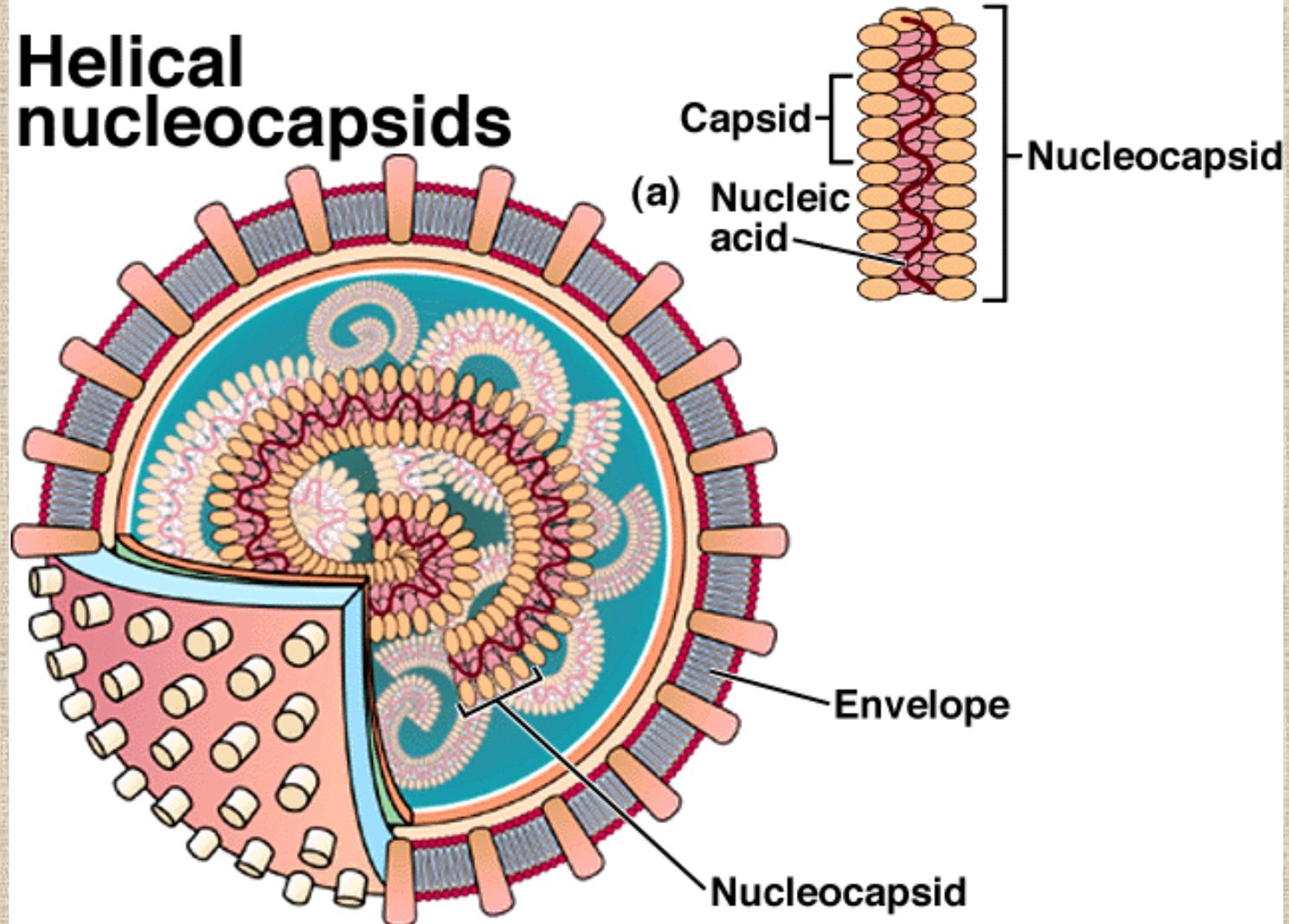
CAPSIDI ELICOIDALI: RHABDOVIRUS



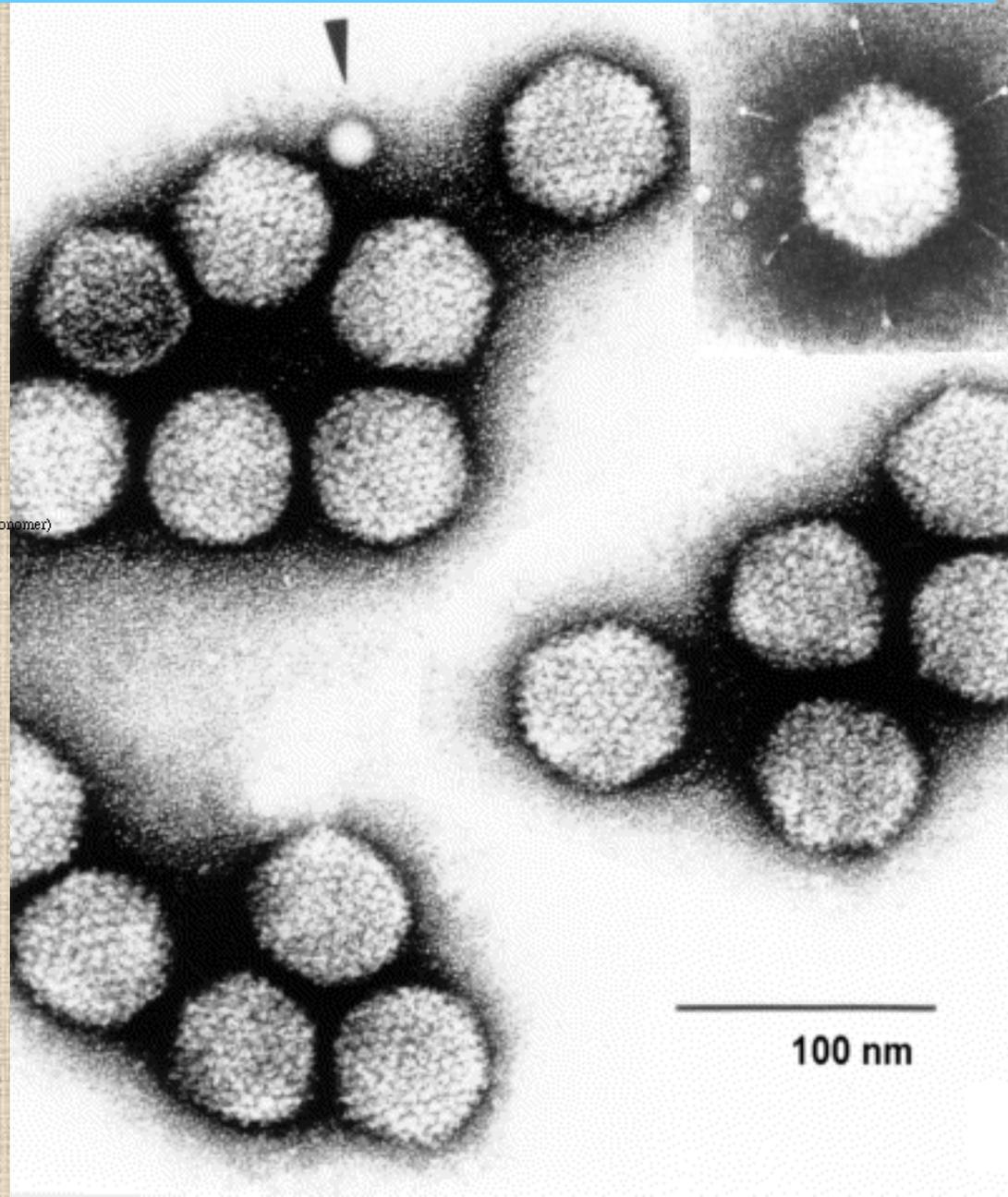
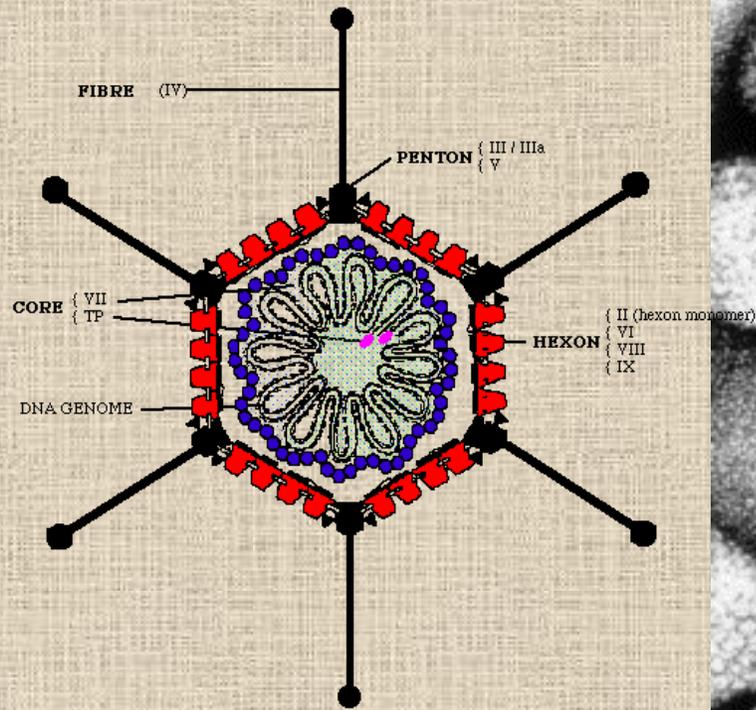
INFLUENZA VIRUS

Kathleen Park Talaro and Arthur Talaro, *Foundations in Microbiology*, 3e Copyright © 1999 The McGraw-Hill Companies, Inc. All rights reserved.

Helical nucleocapsids

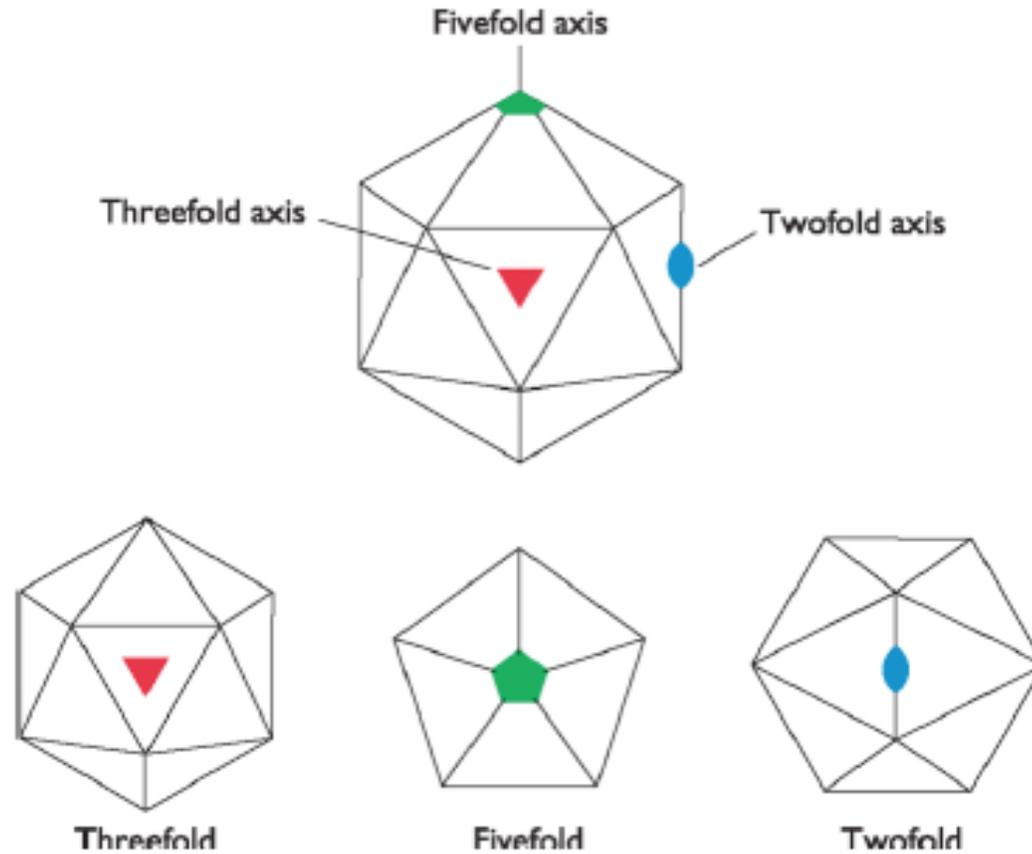


CAPSIDI ICOSAEDRICI: ADENOVIRUS

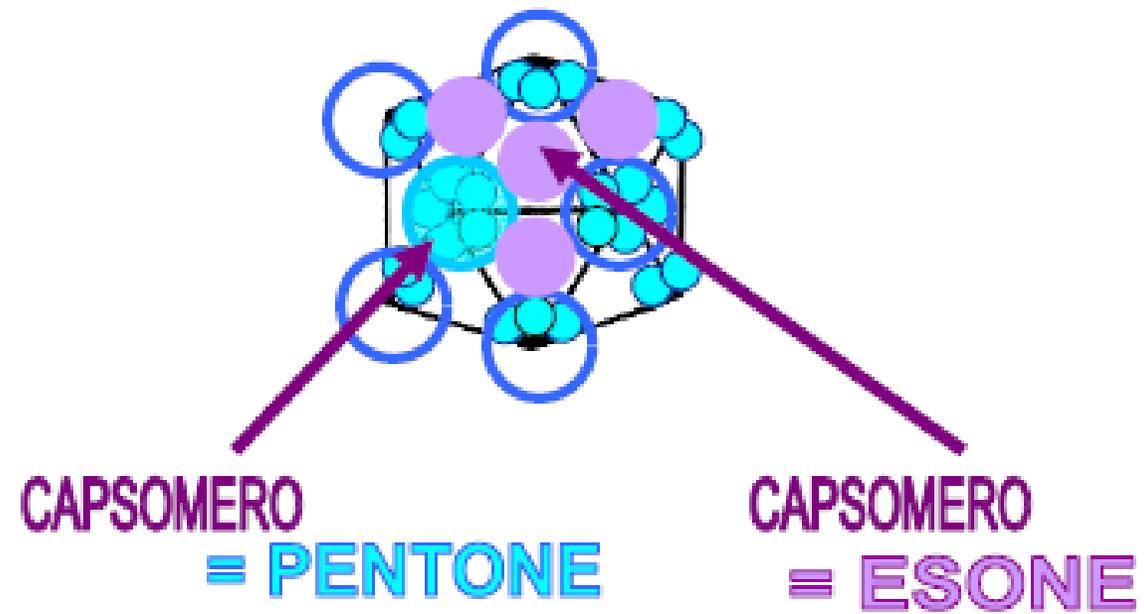


COS' E' UN ICOSAEDRO?

L'icosaedro è un poliedro regolare con 20 facce triangolari e 12 vertici



SIMMETRIA ICOSAEDRICA



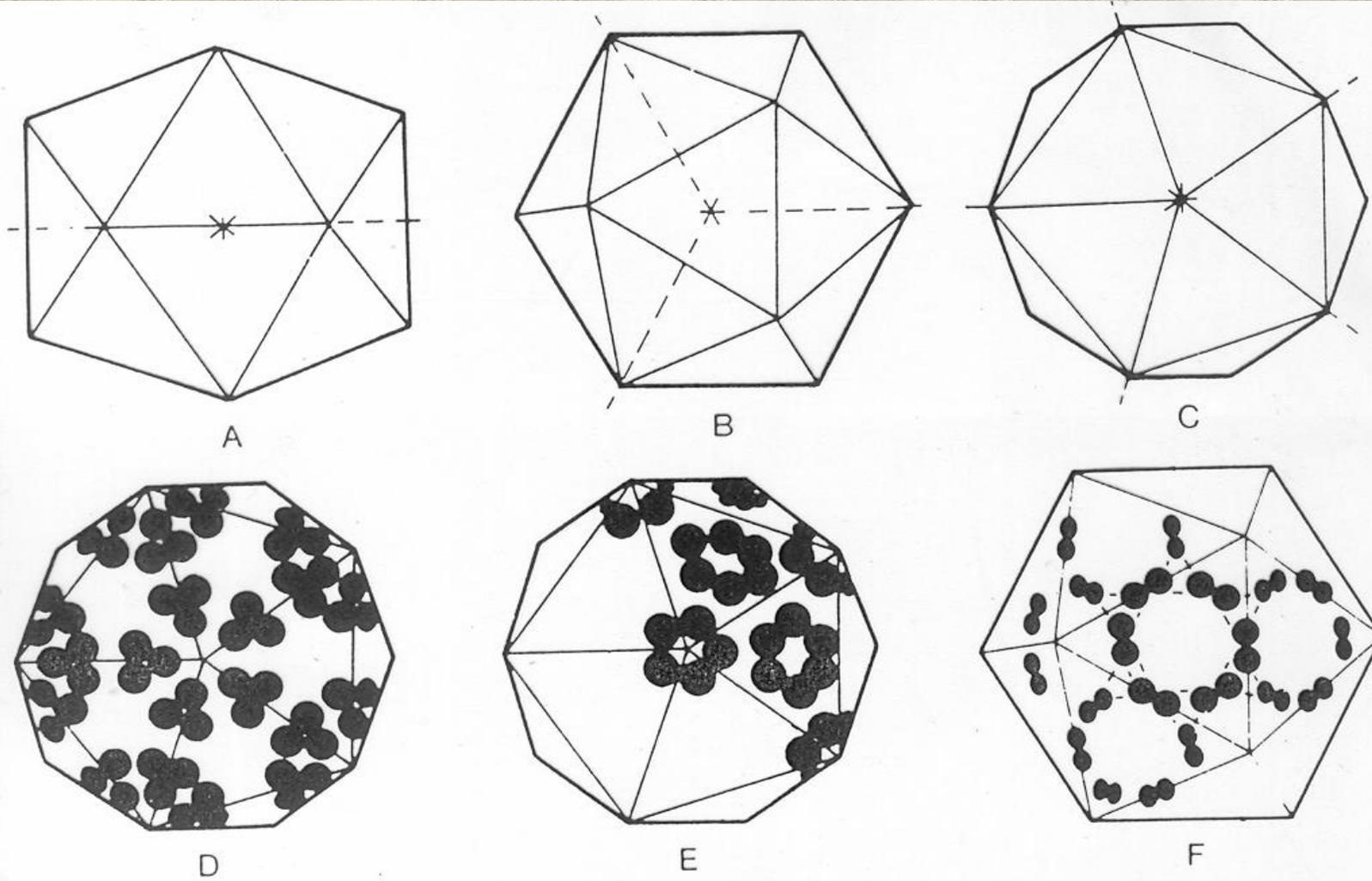
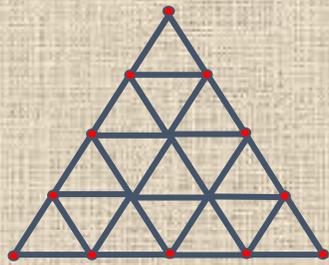


Fig. 1-3 (Top row) Icosahedron viewed along twofold (A), threefold (B), and fivefold (C) axes of symmetry. (Bottom row) Various clusterings of capsid polypeptides are responsible for the characteristic appearances of particular viruses as seen by negative contrast electron microscopy. For example, when capsid polypeptides are arranged as 60 trimers, capsomers themselves are difficult to define; this is the case with foot-and-mouth disease virus (D). When capsid polypeptides are grouped as 12 pentamers and 20 hexamers they form bulky capsomers as is the case with parvoviruses (E). When capsid polypeptides form dimers on the faces they produce ringlike features on the virion surface, as is the case with caliciviruses (F).

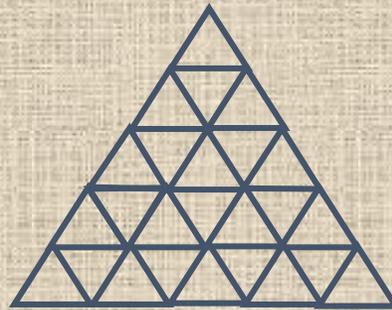
NUMERO DEI CAPSOMERI



. Calcolo del numero di triangolazione* = T



Herpesvirus 16



Adenovirus 25

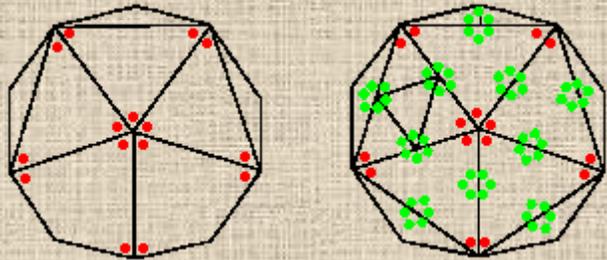
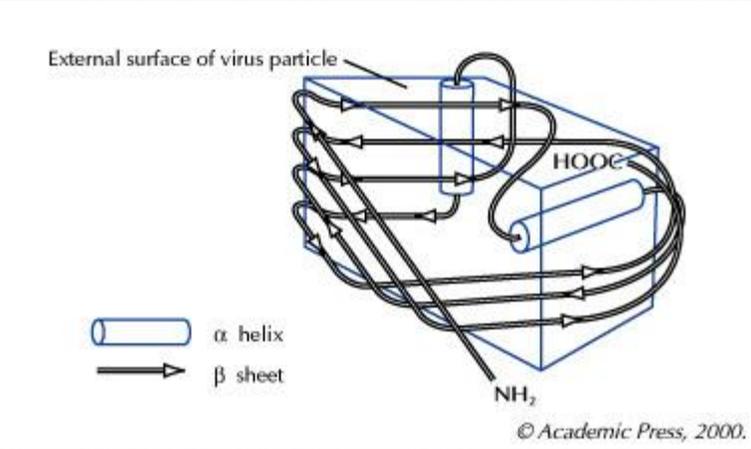
$$N = (10 \times T) + 2$$

(es. Adenovirus T = 25

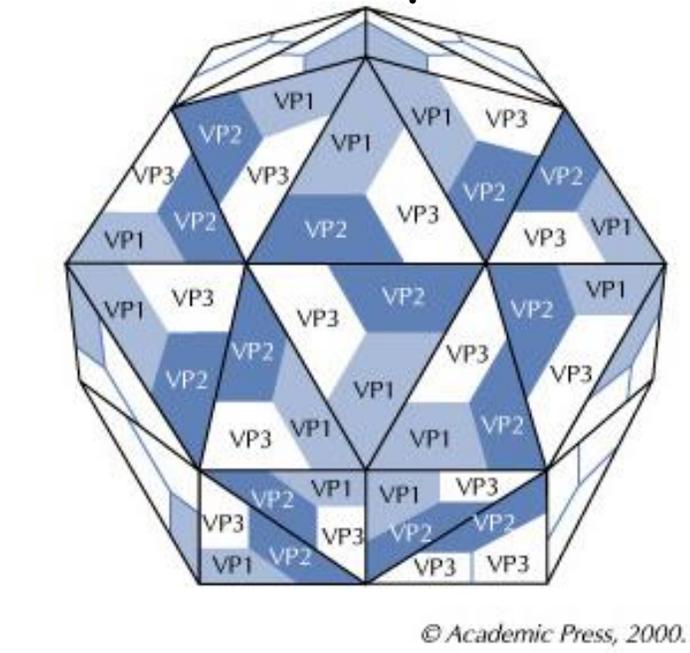
$$N = 252)$$

*tracciando delle rette che congiungono tutti i capsomeri adiacenti di una faccia

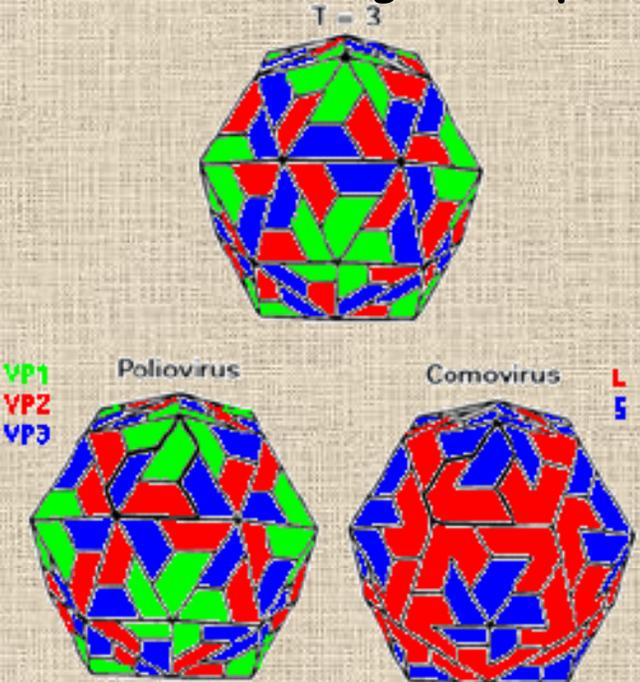
CAPSIDI ICOSAEDRICI: POLIOVIRUS



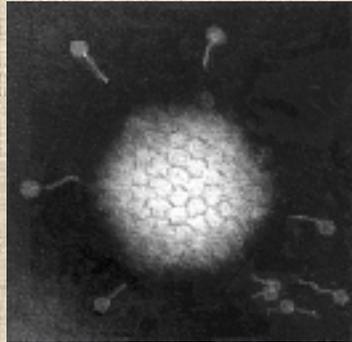
unità strutturali: protomeri



unità morfologica: capsomeri

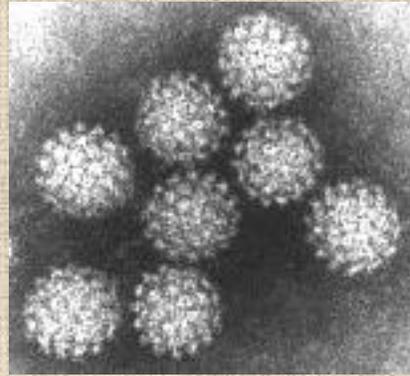


Morfologie virali

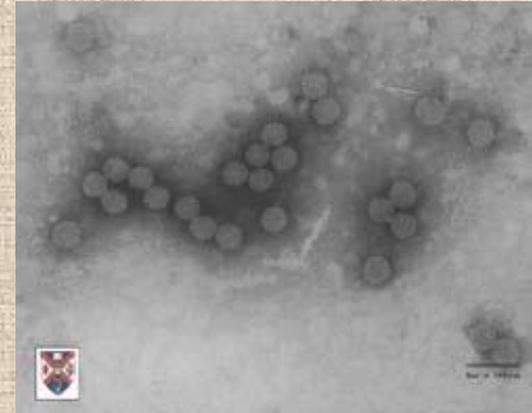


adenovirus

↔
100 nm



papillomavirus



parvovirus



morbillivirus

1 nm = 1 millionth of a mm
100 nm = 1 ten thousandth of a mm

1 nm = 1 millionth of a mm
100 nm = 1 ten thousandth of a mm

100 nm



herpesvirus

↔



parainfluenza
virus

poxvirus

↔

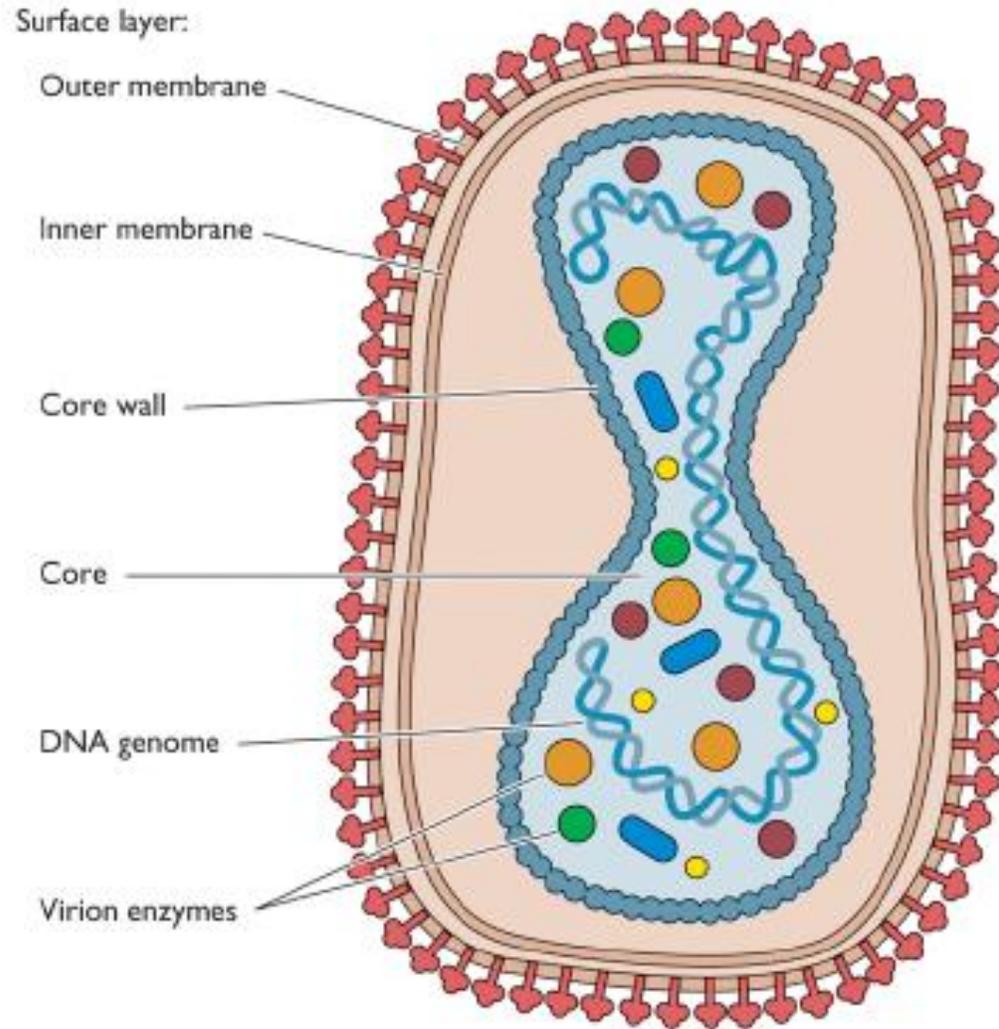
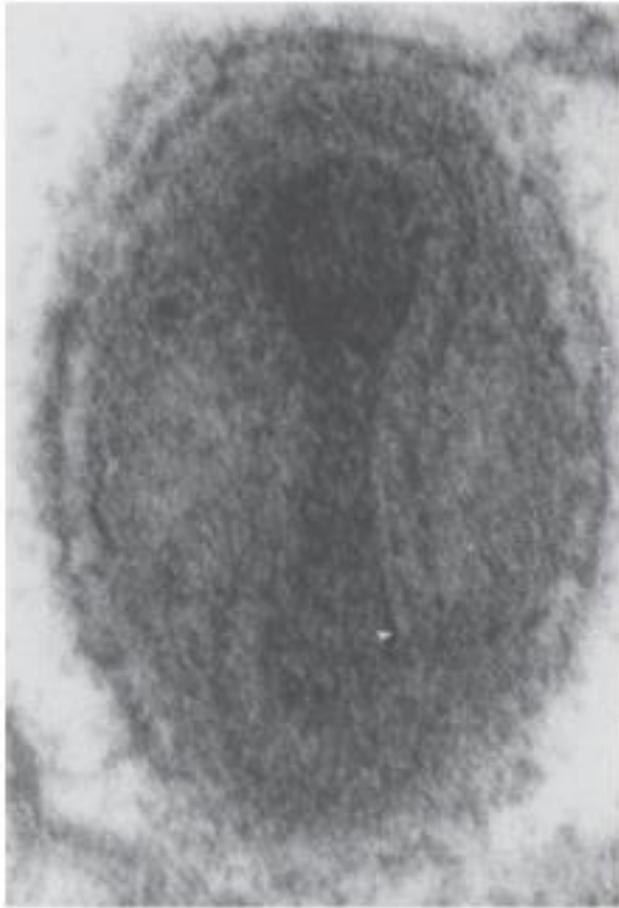


influenzavirus

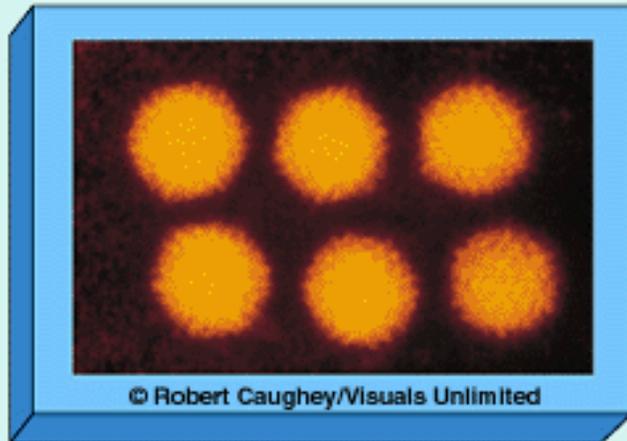
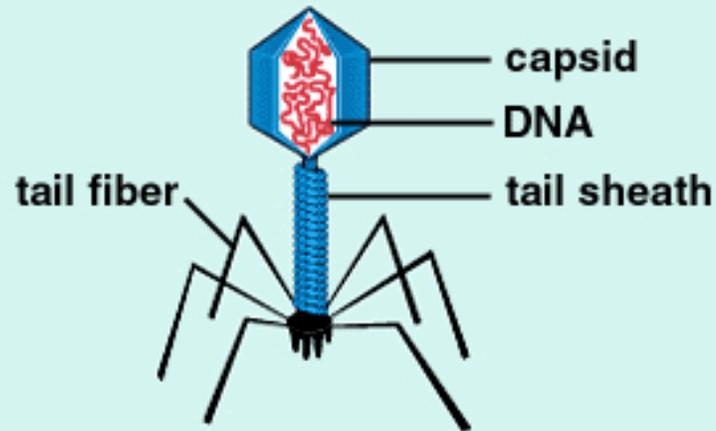
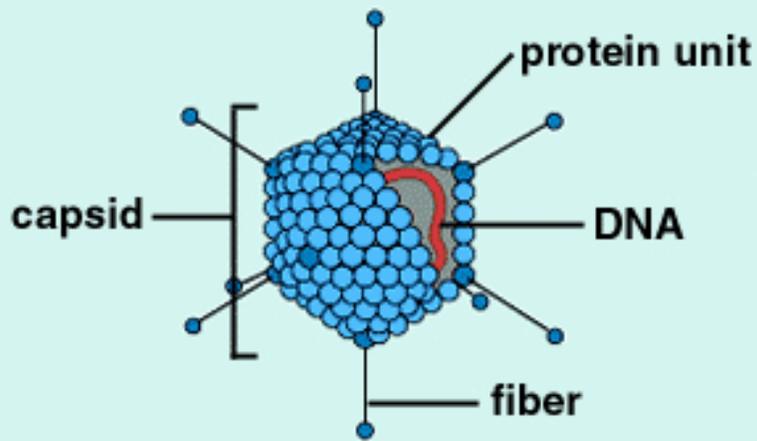
↔



Complex viruses: Vaccinia virus

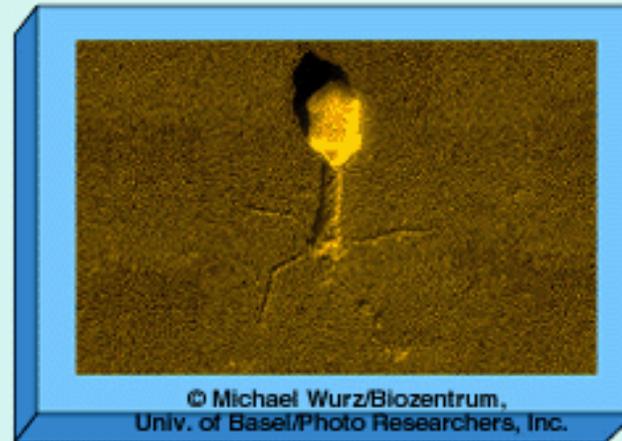


VIRUS COMPLESSI: I BATTERIOFAGI



20 nm

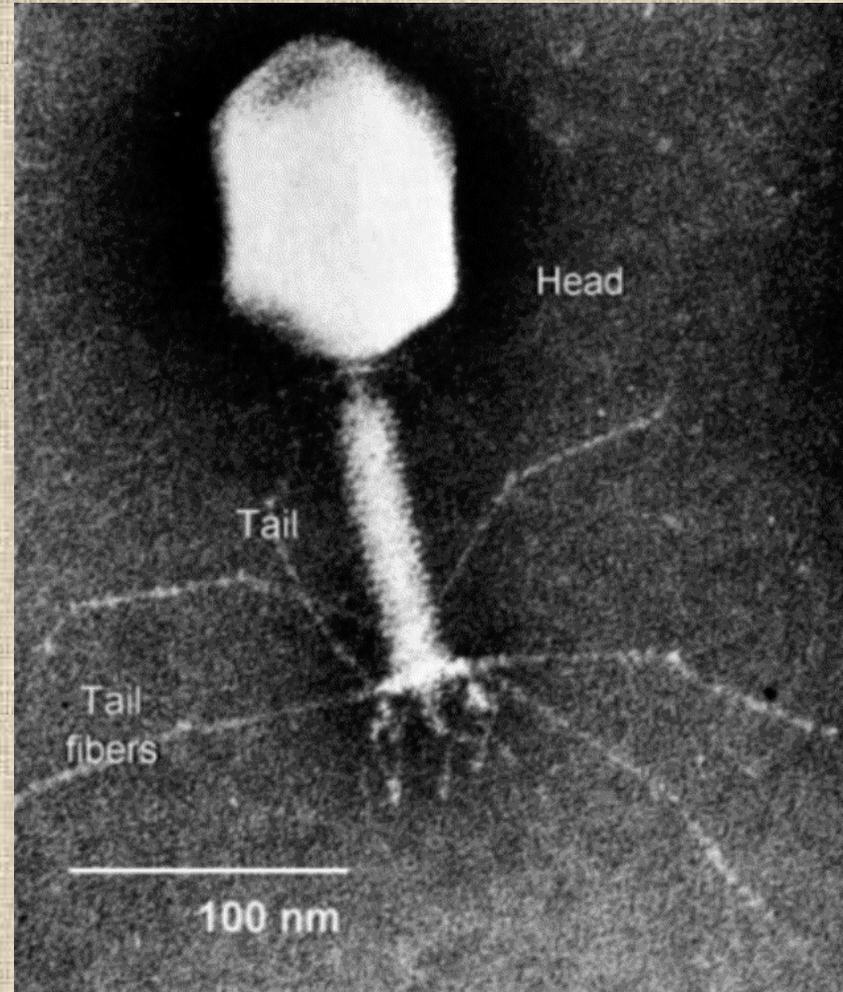
a. Adenovirus: A DNA virus with a polyhedral capsid and a fiber at each corner.



200 nm

b. T-even bacteriophage: A DNA virus with a polyhedral head and a helical tail.

IL BATTERIOFAGO T4



Proteine virali

- **Proteine Strutturali** sono quelle che costituiscono la struttura del virione
- **Proteine non-strutturali** sono per lo più ad attività enzimatica ed hanno diverse funzioni

IL GENOMA VIRALE: PROPRIETA'

DNA o RNA, singola e doppia elica, lineare e circolare, unico o frammentato

Strettamente impacchettato nel capsid
Associato a Ioni⁺ o a proteine basiche (virali o cellulari) per neutralizzare le cariche negative dei gruppi fosfato

Sequenze di riconoscimento per il packaging nella struttura primaria e secondaria

Necessità' di un innesco per la replicazione : Estremità ridondanti, ripetute o associate a varie proteine per l'innesco della duplicazione; tRNA come primers

Potenziale di informazione altamente compresso (geni sovrapposti), possibilità di splicing multipli e alternativi nell' mRNA

RNA genomico a polarità (+) o (-) rispetto al messaggero
genomi ambisenso (misto di + e -)

LE CARATTERISTICHE DEL GENOMA VIRALE DEFINISCONO LE DIVERSE STRATEGIE DI REPLICAZIONE

Classification criteria

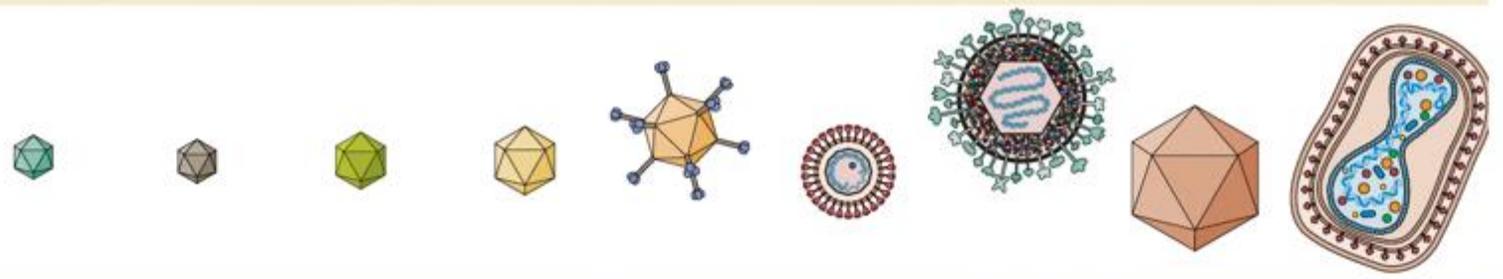
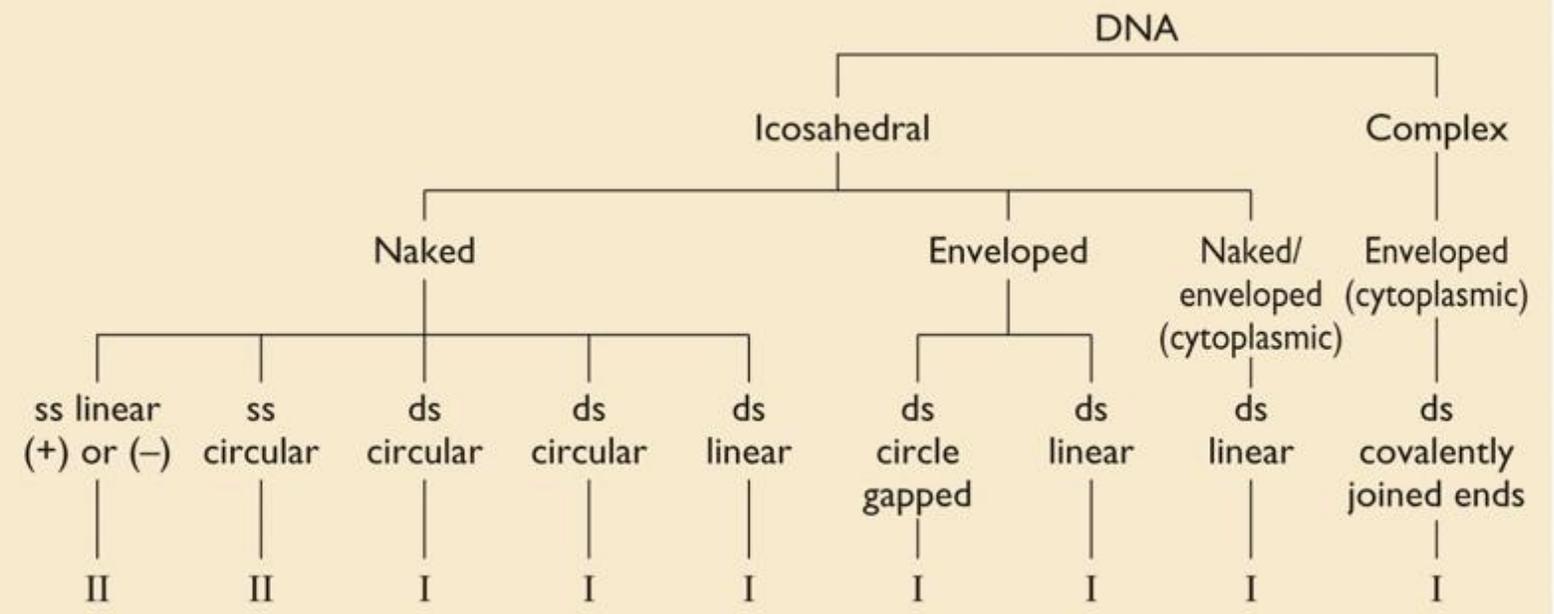
Nucleic acid

Symmetry of capsid

Naked or enveloped

Genome architecture

Baltimore class



Properties

Family name

Virion polymerase

Virion diameter (nm)

Parvo	Circo	Polyoma	Papilloma	Adeno	Hepadna	Herpes	Irido	Pox
(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(+)
18-26	12-26	40	55	70-90	42	150-200	125-300	170-200 x 300-450

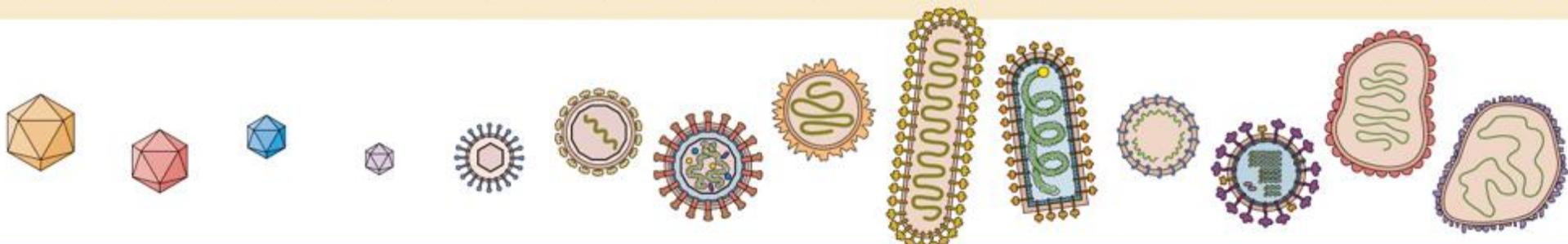
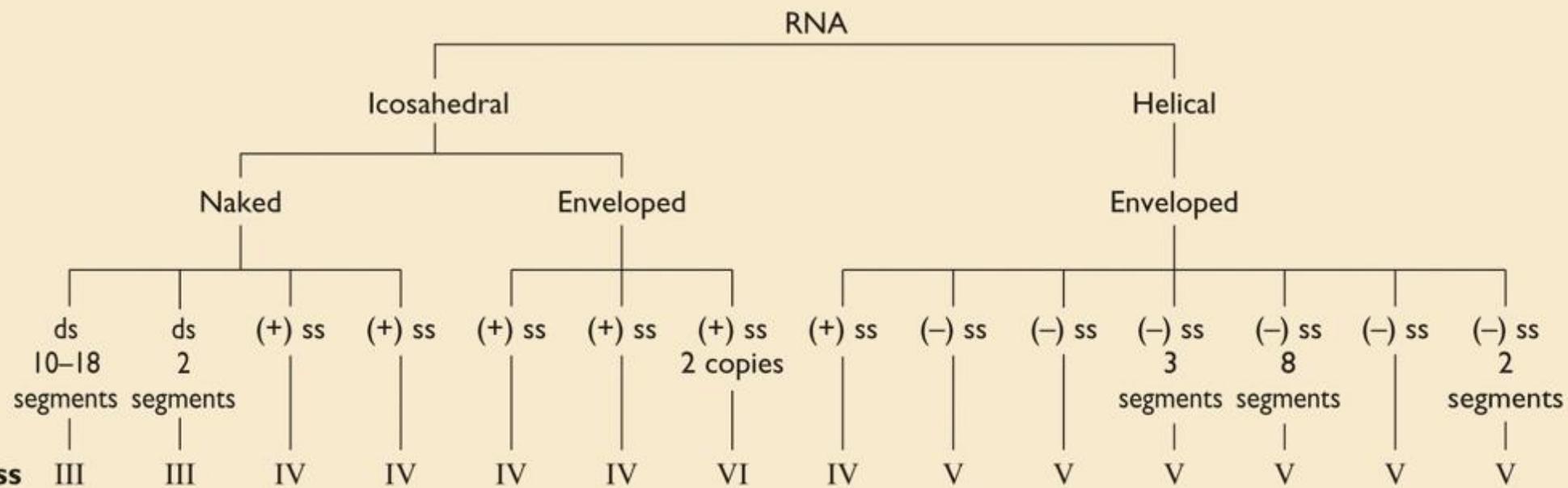
Nucleic acid

Symmetry of capsid

Naked or enveloped

Genome architecture

Baltimore class



Family name

Virion polymerase

Virion diameter (nm)

Genome size (total in kb)

Reo	Birna	Calici	Picorna	Flavi	Toga	Retro	Corona	Filo	Rhabdo	Bunya	Orthomyxo	Paramyxo	Arena
(+)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
60-80	60	35-40	28-30	40-50	60-70	80-130	80-160	80 x 790-14,000	70- 85 x 130-380	90-120	90-120	150-300	50-300
22-27	7	8	7.2-8.4	10	12	3.5-9	16-21	12.7	13-16	13.5-21	13.6	16-20	10-14

Fasi di replica virale

Adsorbimento

- Penetrazione

- Uncoating

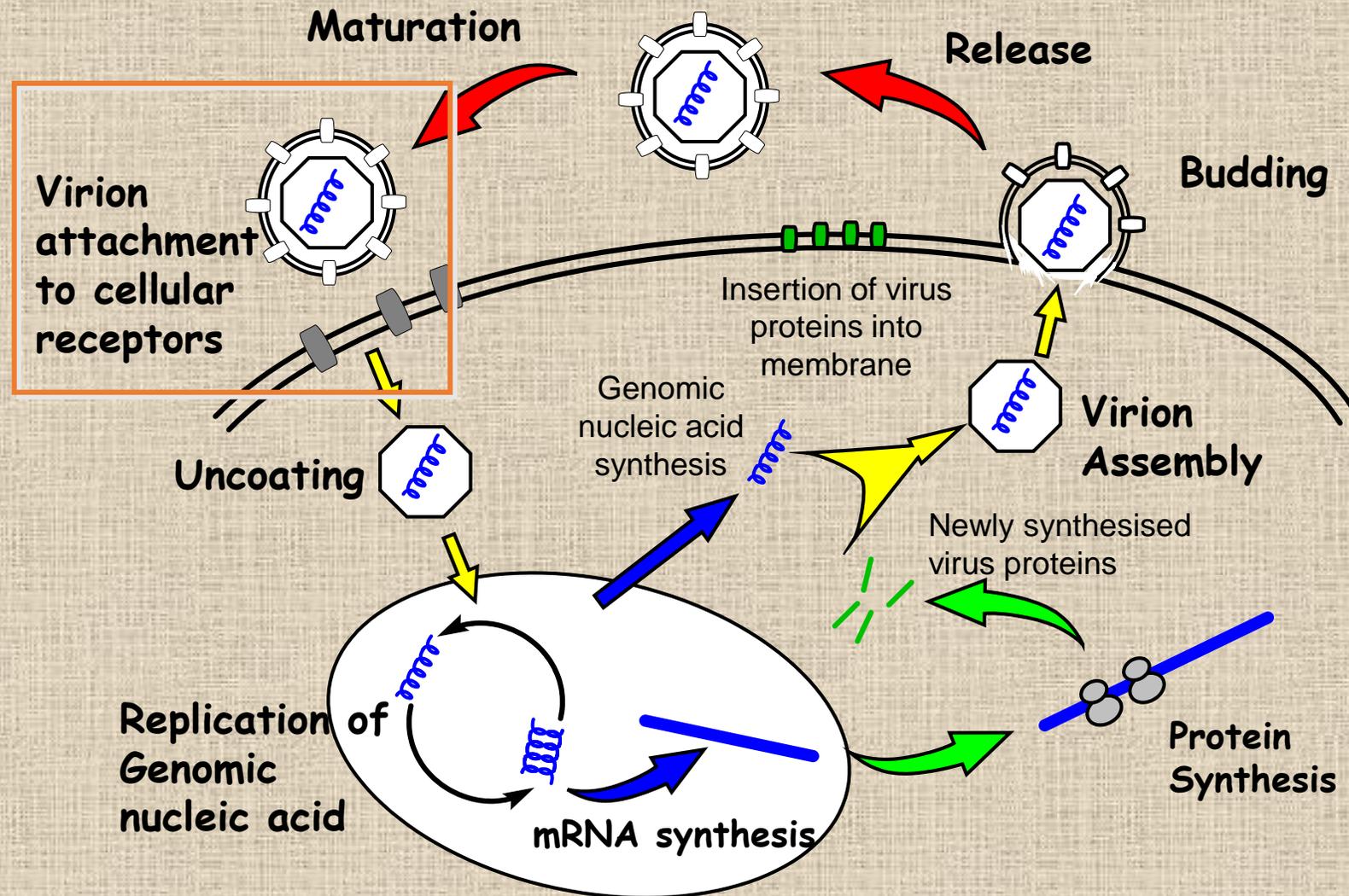
- Trascrizione, traduzione

- Replicazione del genoma

- Assemblaggio

- Rilascio

Virus replication



Attacco, Penetrazione, e “Uncoating”

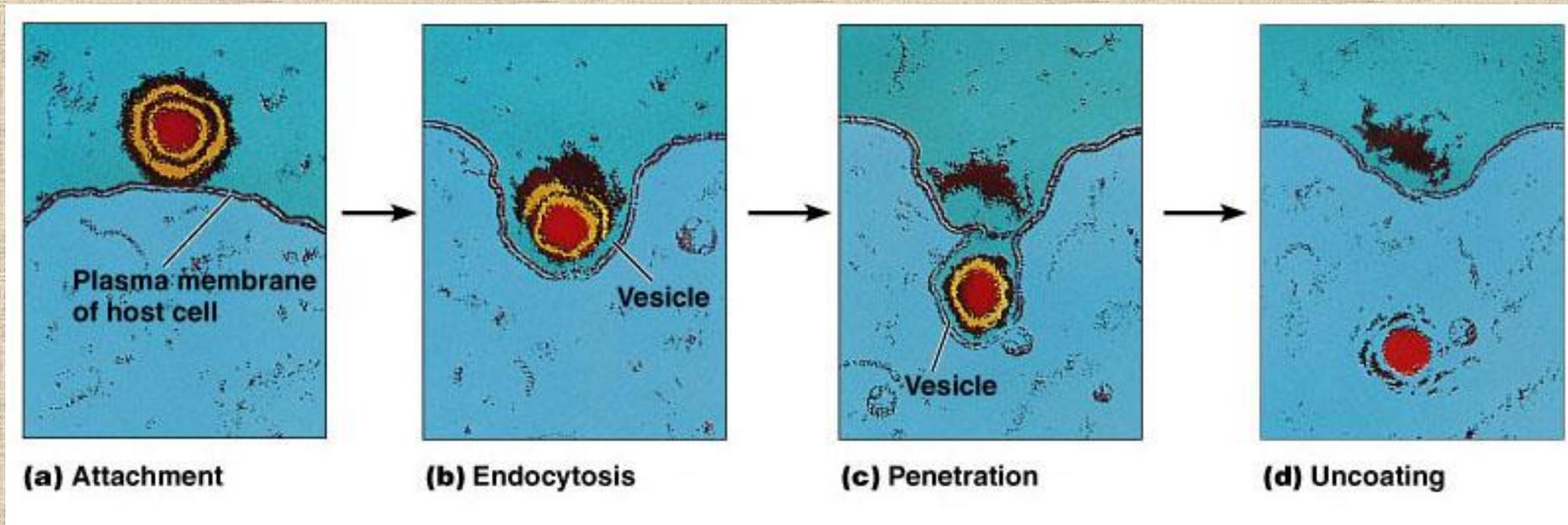
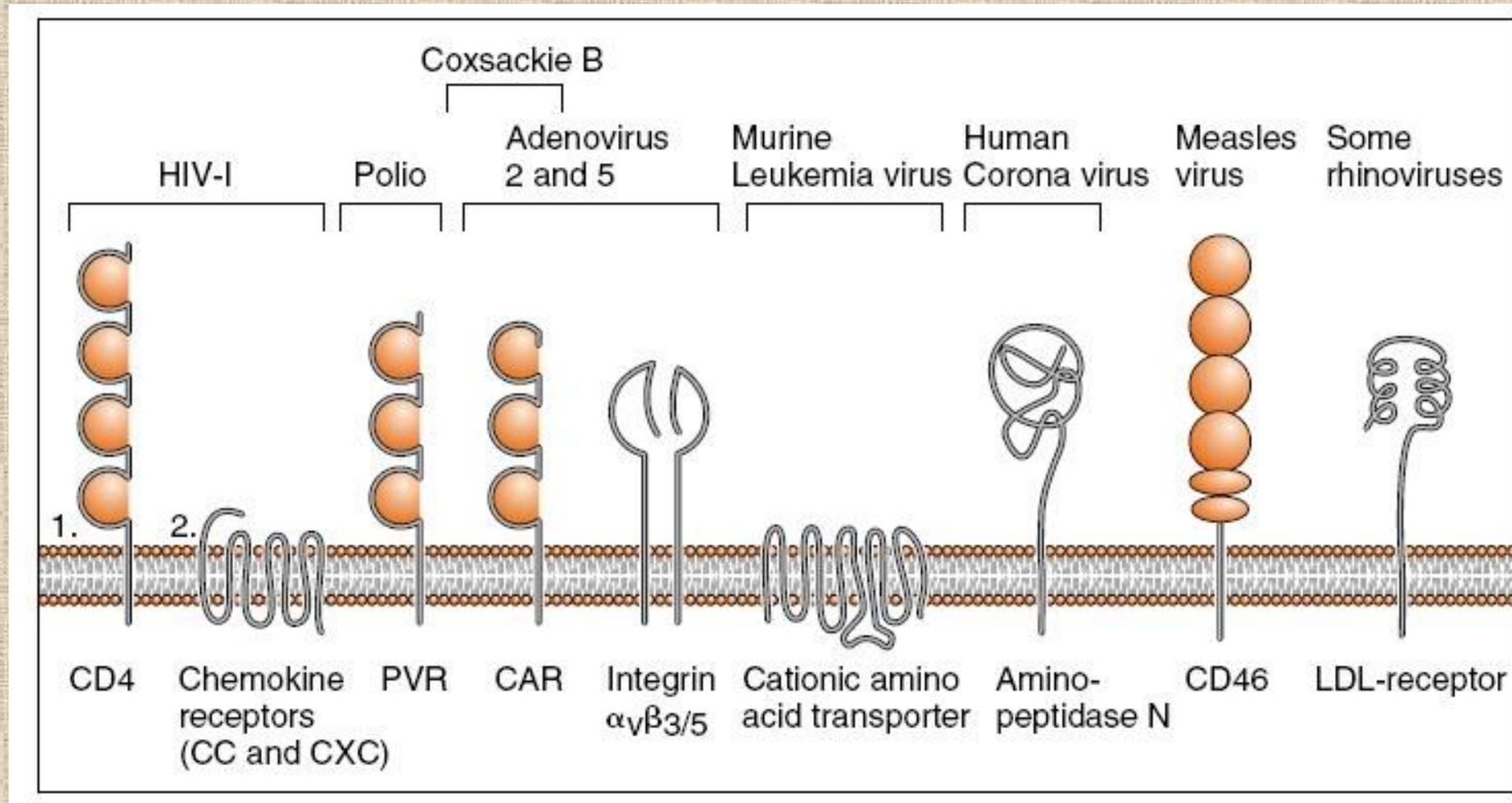


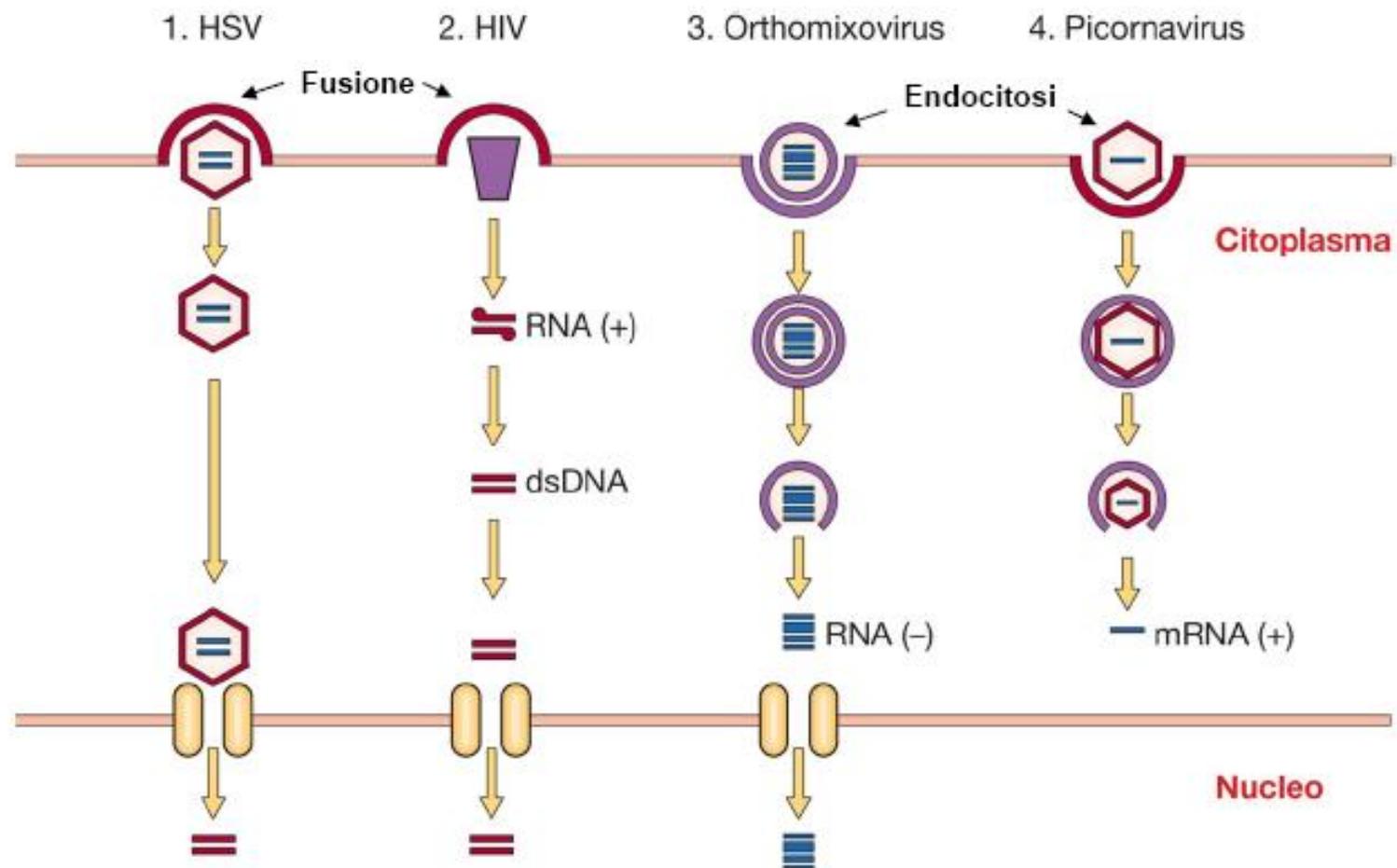
TABLE 6-6. Examples of Viral Receptors

Virus	Target Cell	Receptor*
Epstein-Barr virus	B cell	C3d complement receptor CR2 (CD21)
Human immuno- deficiency virus	Helper T cell	CD4 molecule and che- mokine co-receptor
Rhinovirus	Epithelial cells	ICAM-1 (immunoglobulin superfamily protein)
Poliovirus	Epithelial cells	Immunoglobulin super- family protein
Herpes simplex virus	Many cells	Immunoglobulin super- family protein
Rabies virus	Neuron	Acetylcholine receptor
Influenza A virus	Epithelial cells	Sialic acid
B19 parvovirus	Erythroid precursors	Erythrocyte P antigen (globoside)

*Other receptors for these viruses may also exist.
ICAM-1 = Intercellular adhesion molecule.

Recettori virali





G. Antonelli e M. Clementi

Principi di Virologia Medica

Copyright 2008 C.E.A. Casa Editrice Ambrosiana

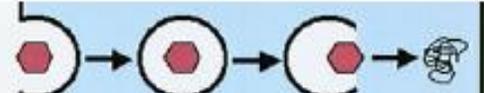
Meccanismi di entrata per diverse classi di virus

Penetrazione

Scapsidamento

Endocitosi

1. Poliovirus



Virus nudi a RNA

Fusione

2. Newcastle Disease Virus



Virus con envelope a RNA

Endocitosi

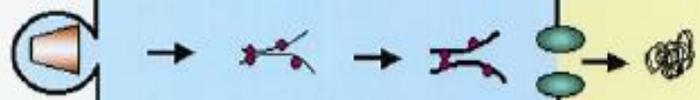
3. Influenza Virus



Virus con envelope a RNA

Fusione

4. HIV



Virus con envelope a RNA

Fusione

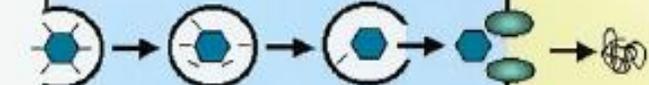
5. Vaccinia Virus



Virus con envelope a DNA

Endocitosi

6. Adenovirus



Virus nudi a DNA

Fusione

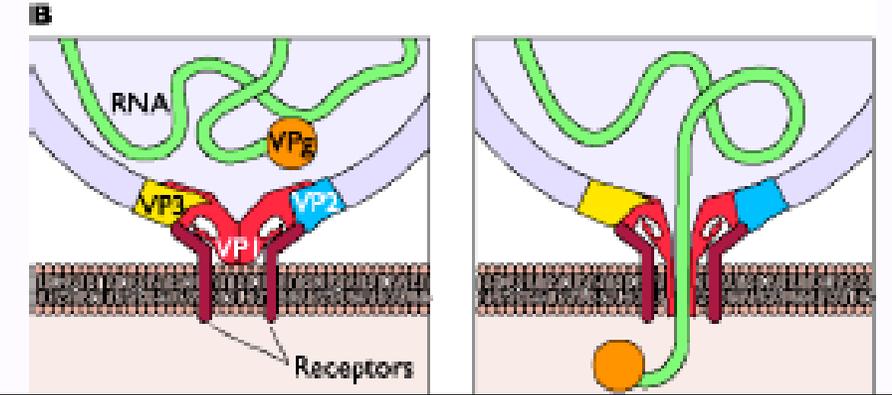
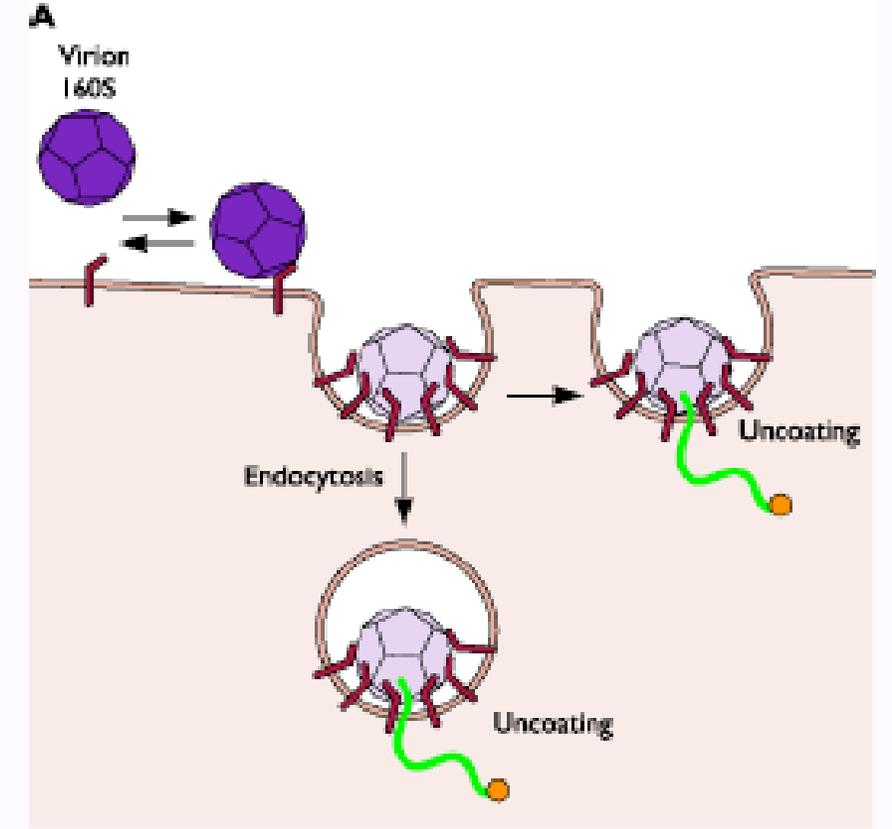
7. Herpes Virus



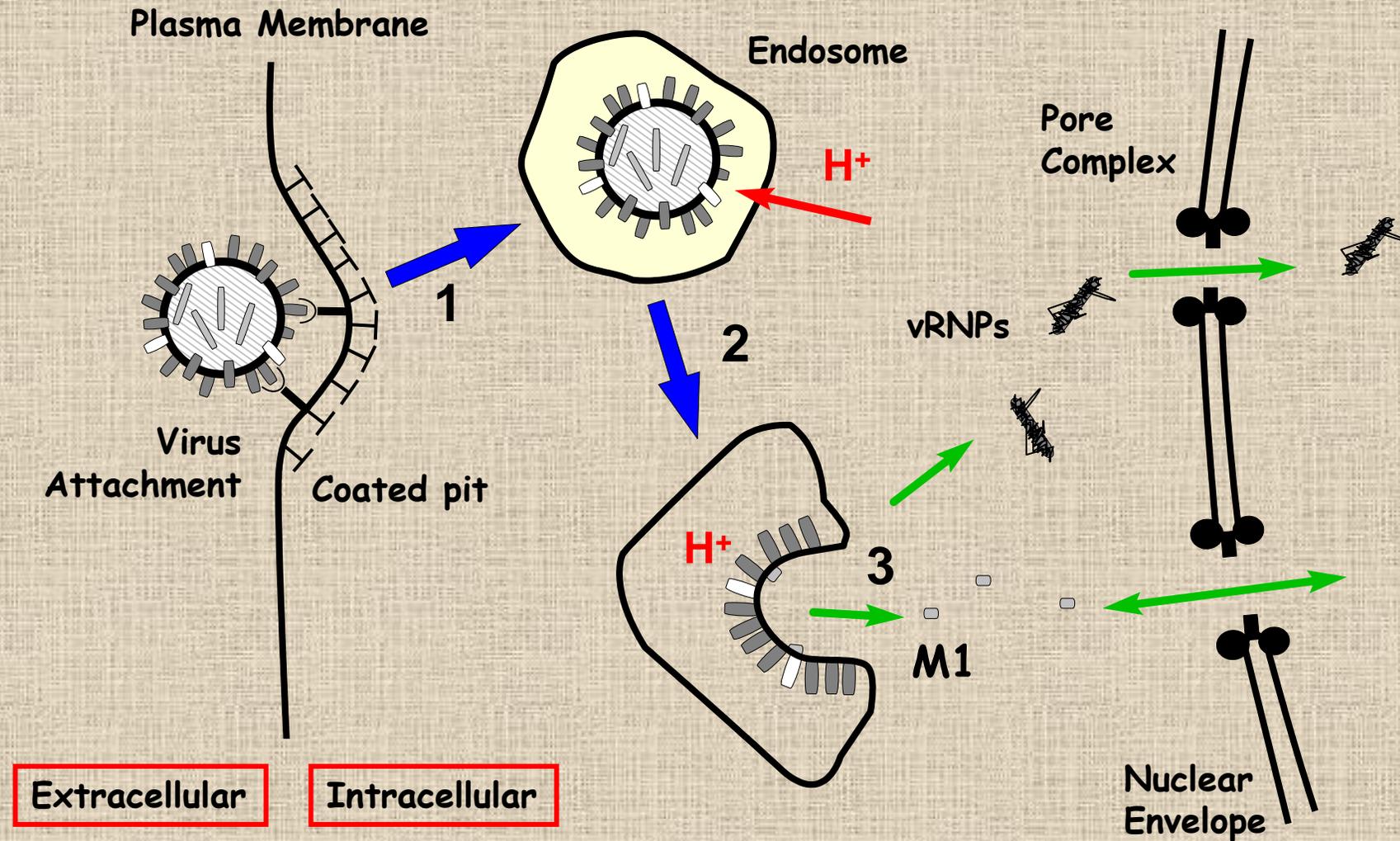
Virus con envelope a DNA

cytoplasm
nucleus

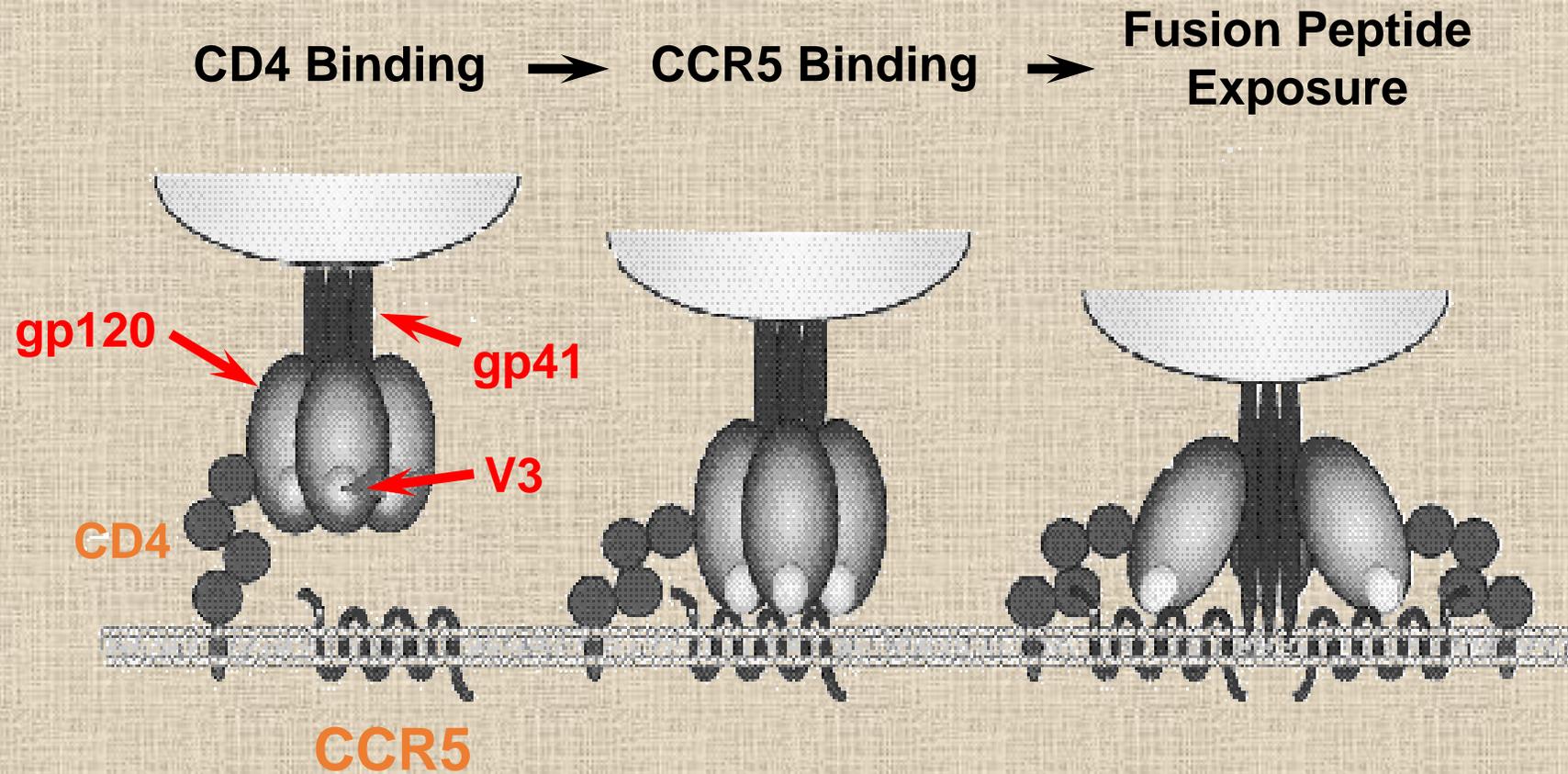
Modello di entrata di virus privo di pericapside: poliovirus



Influenza virus entry



HIV Receptor Interaction



Pericapside o envelope

Tipico dei virus **ANIMALI**.

Il mantello pericapsidico o envelope è costituito da **fosfolipidi e glicoproteine**

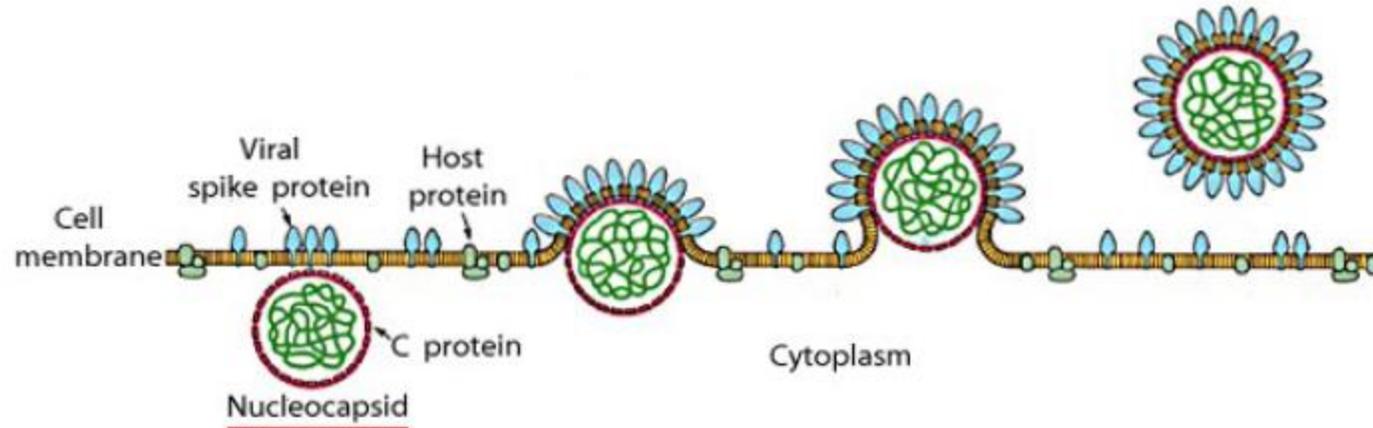
Deriva dalle membrane della cellula ospite per mezzo di un processo di **gemmazione** .

Le glicoproteine che formeranno le **spicole** sono codificate dal virus

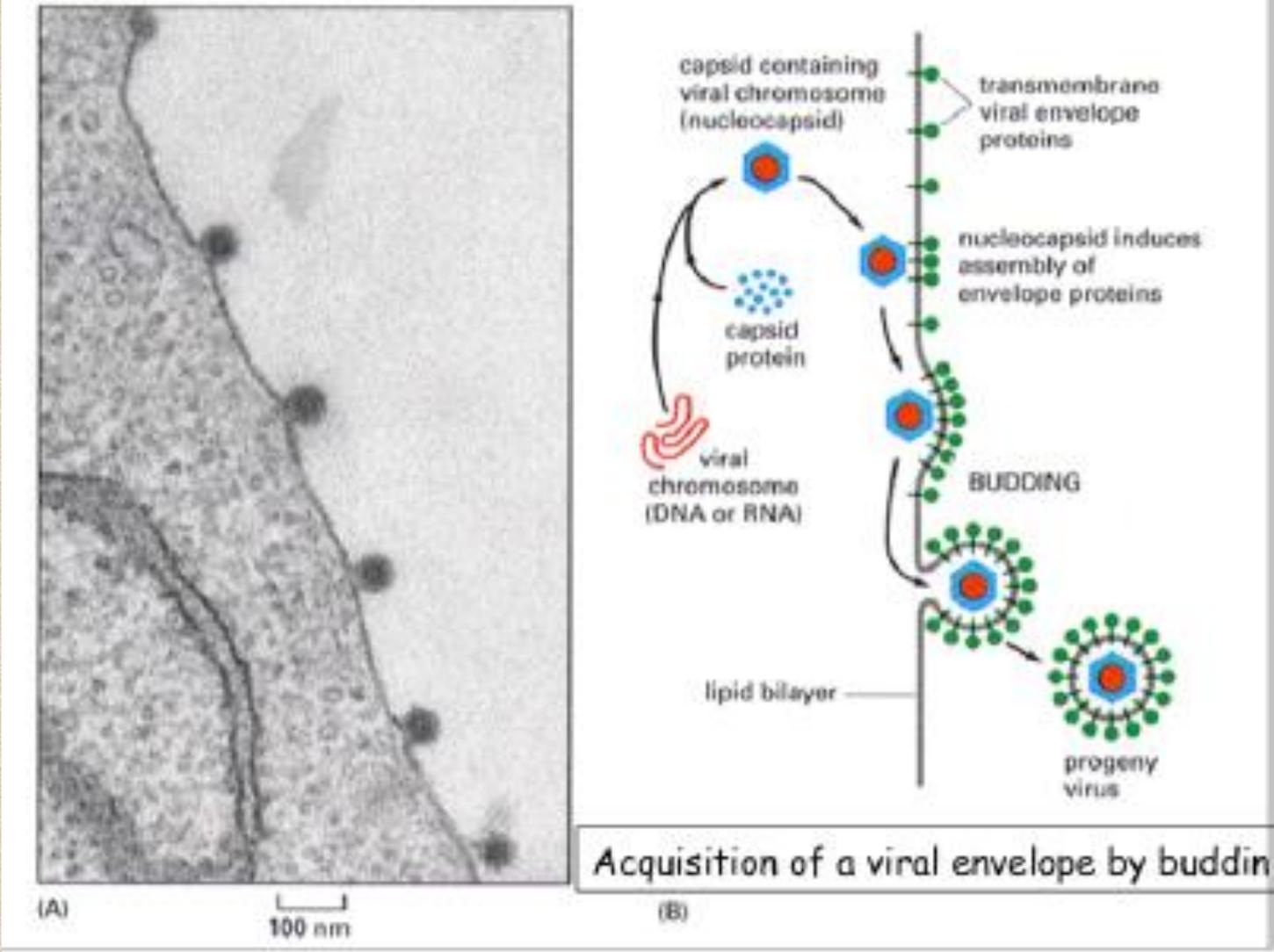
Queste strutture sono importanti nella fase d'attacco del ciclo replicativo virale

Membrane virus buds from cell membrane:

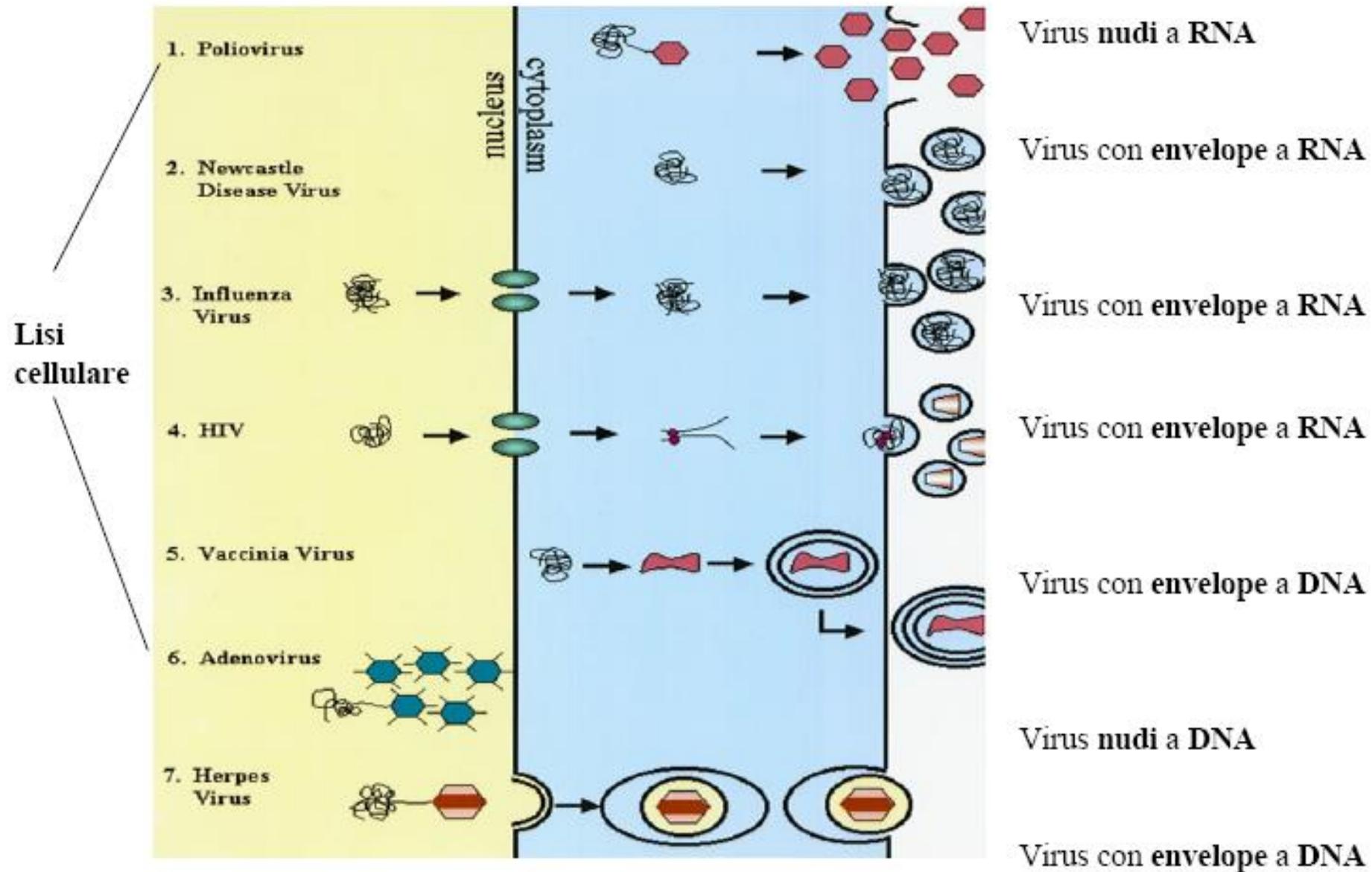
Creates new virus that has cell's membrane as a coat (containing virus proteins) and a nucleocapsid inside



Rilascio dei virioni dalla cellula



VIE DI USCITA PER DIFFERENTI CLASSI DI VIRUS



Batteriofagi

Ciclo litico vs ciclo lisogeno

- **Ciclo litico** (fago virulento)
- Rilascio del virus e uccisione della cellula
- **Ciclo lisogeno** (fago temperato)
 - Il DNA fagico si integra con il genoma cellulare
Viene espressa una proteina fagica che
previene la trascrizione di altri geni fagici
 - Può essere trasmesso alla cellula batterica sorella
 - Può iniziare un ciclo litico in risposta a segnali ambientali

CICLO LITICO E LISOGENO

I fagi si dividono in

LITICI

si moltiplicano e alla fine lisano sempre la cellula ospite.

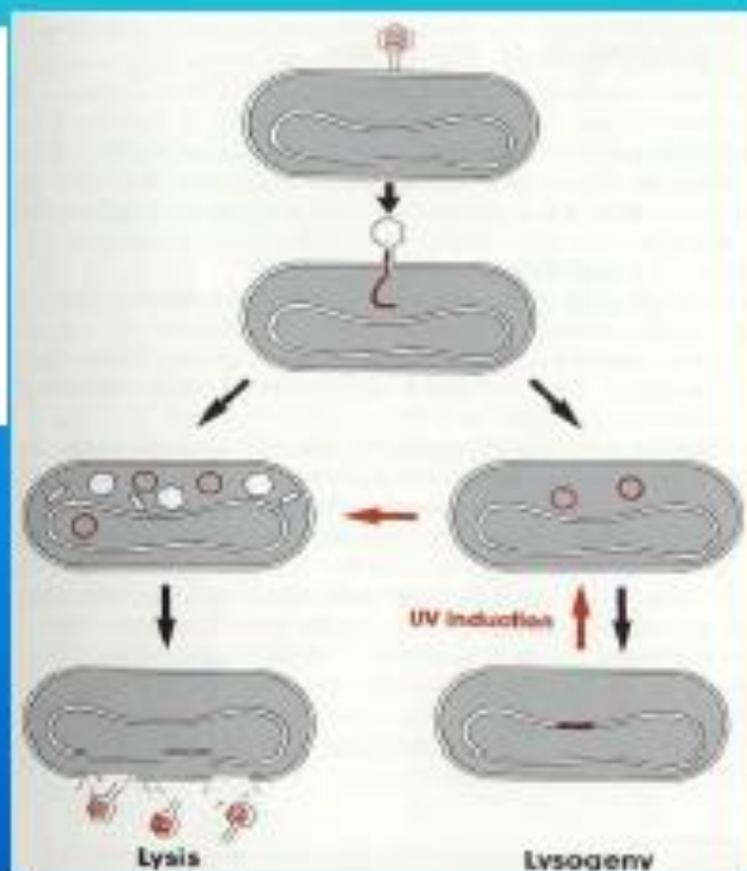
TEMPERATI

possono produrre il fenomeno della **LISOGENIA** oppure lisare la cellula come i litici.

Ciclo litico

Espressione dei geni:

- Immediati precoci
- Early o precoci
- Late o tardivi



Ciclo lisogenico

Inizialmente uguale all'altro

- Geni litici repressi da specifiche proteine fagiche precoci e attiva operon dell'immunità.
- Il genoma fagico si integra nel cromosoma

LISOGENIA

Fenomeno inizialmente identificato in colture batteriche che, pur contenendo basse quantità di fagi infettivi, non andavano incontro a lisi.

Capacità del DNA di alcuni fagi di integrarsi nel genoma del batterio e persistere indefinitamente senza essere trascritto.

Il DNA del fago lisogenico, all'interno della cellula (integrato o meno) viene detto **PROFAGO**:

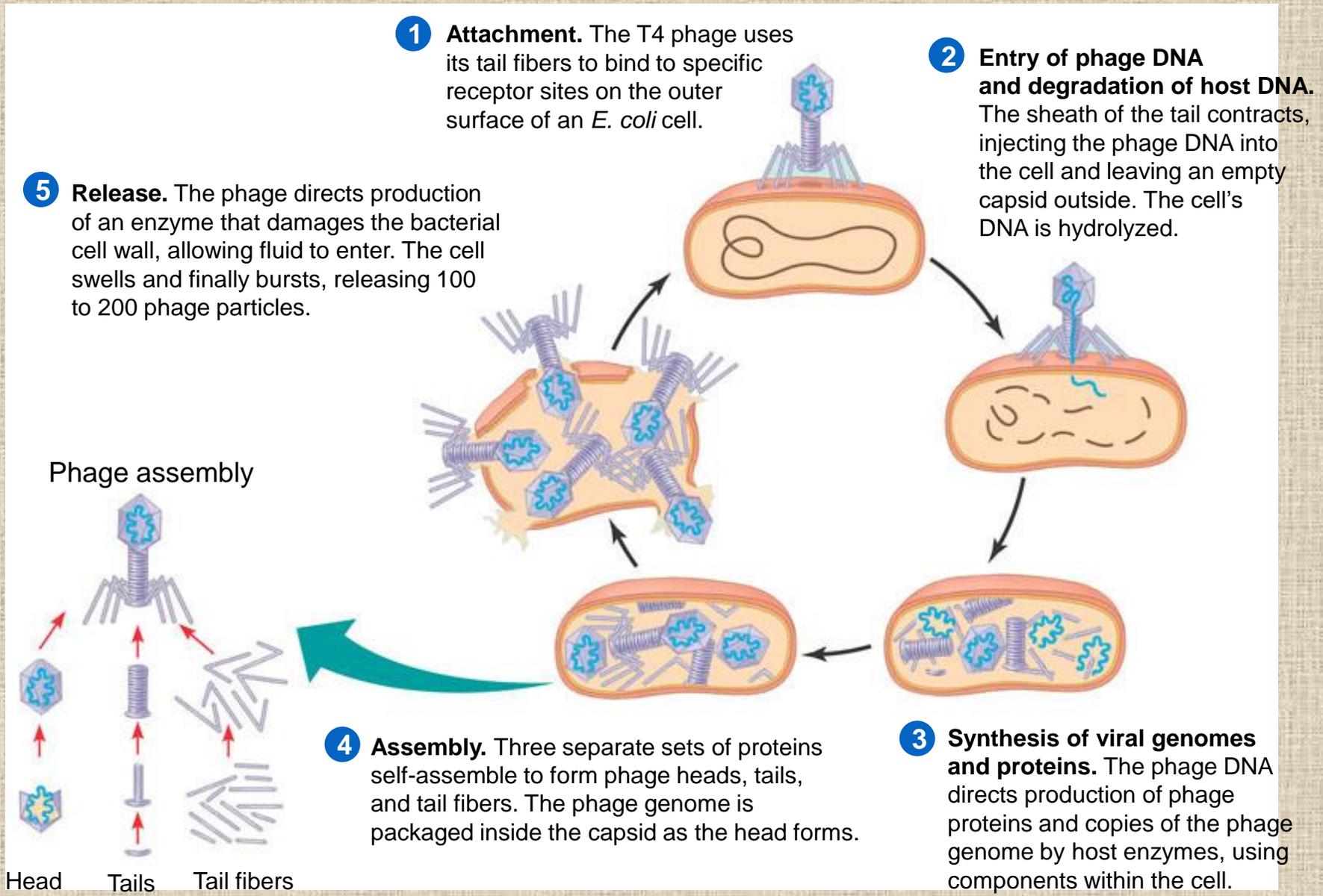
Si può integrare in posizioni a caso o in posizioni ben precise del cromosoma

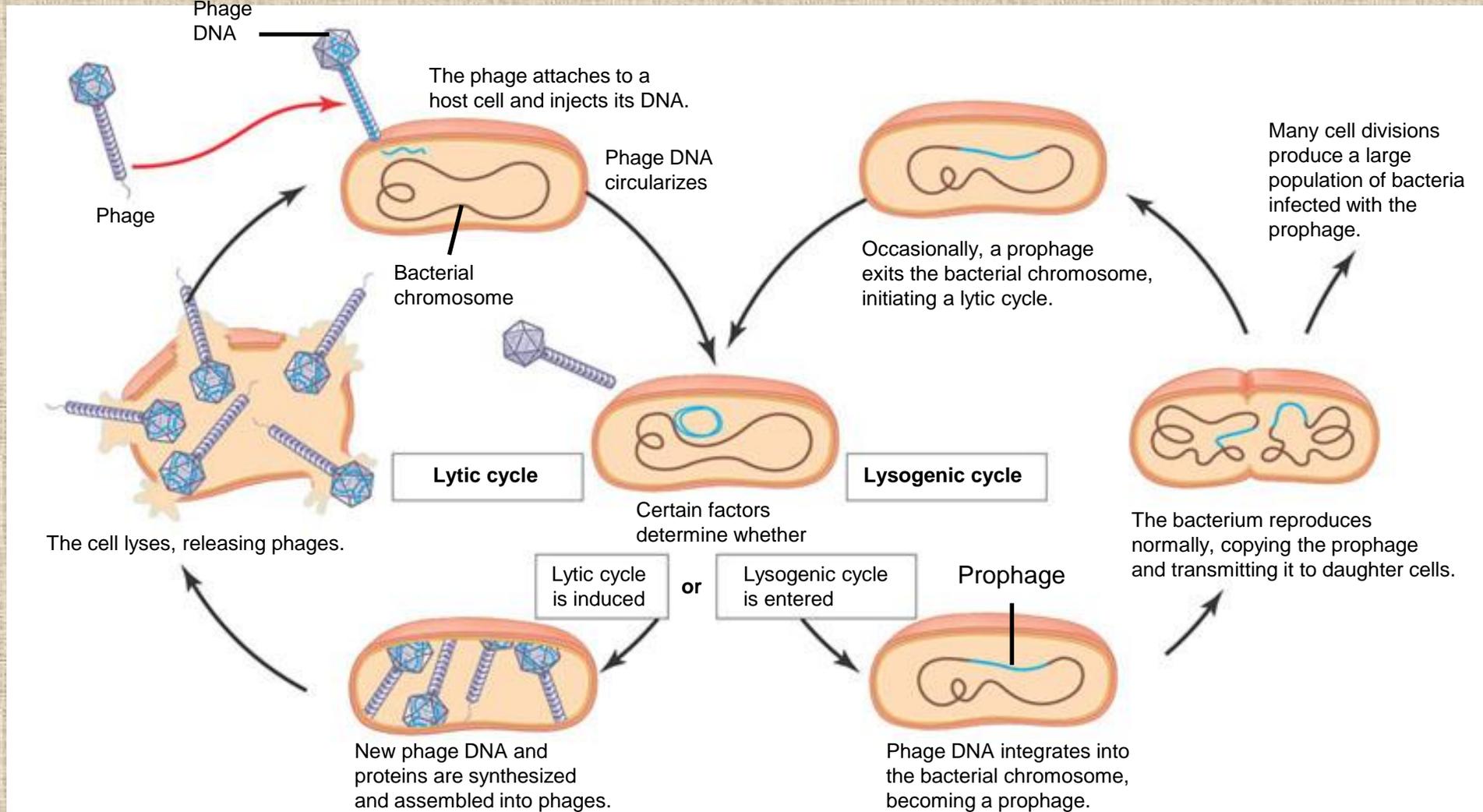
Si integra per cross over fra il genoma fagico circolarizzato e il genoma dell'ospite.

Si può escindere dopo induzione e andare incontro a ciclo litico.

CONVERSIONE FAGICA: effetti sul fenotipo del batterio.

Esempio: secrezione di tossine (difterica, eritrogenica, botulinica)

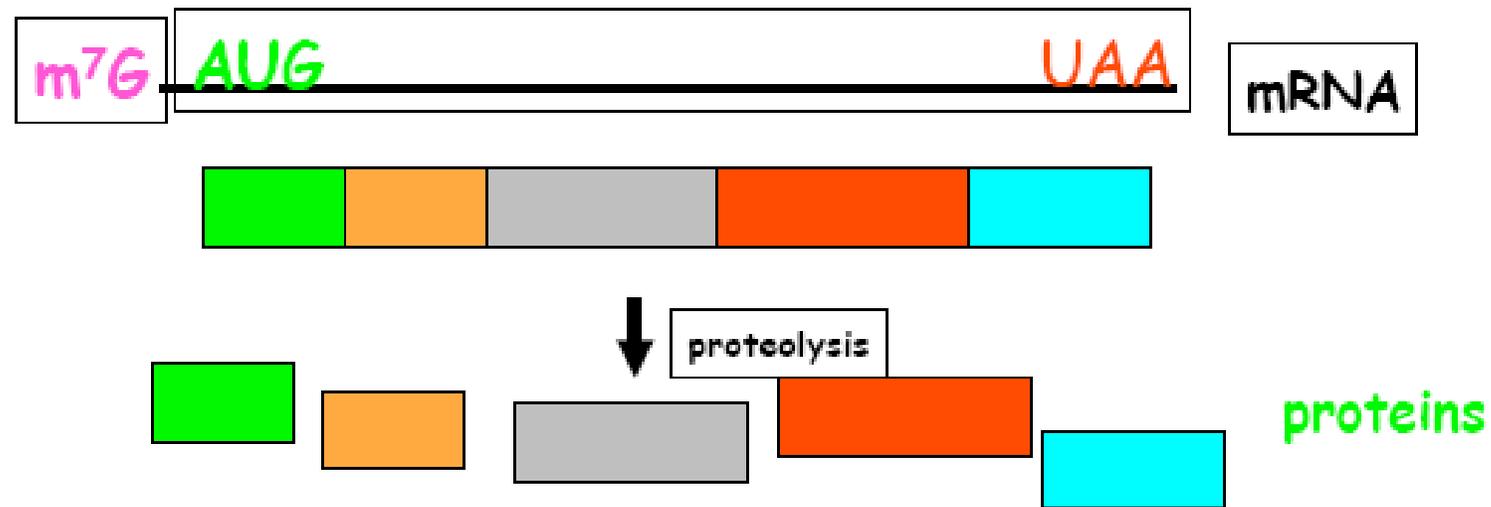




Viral mechanisms to maximize coding capacity

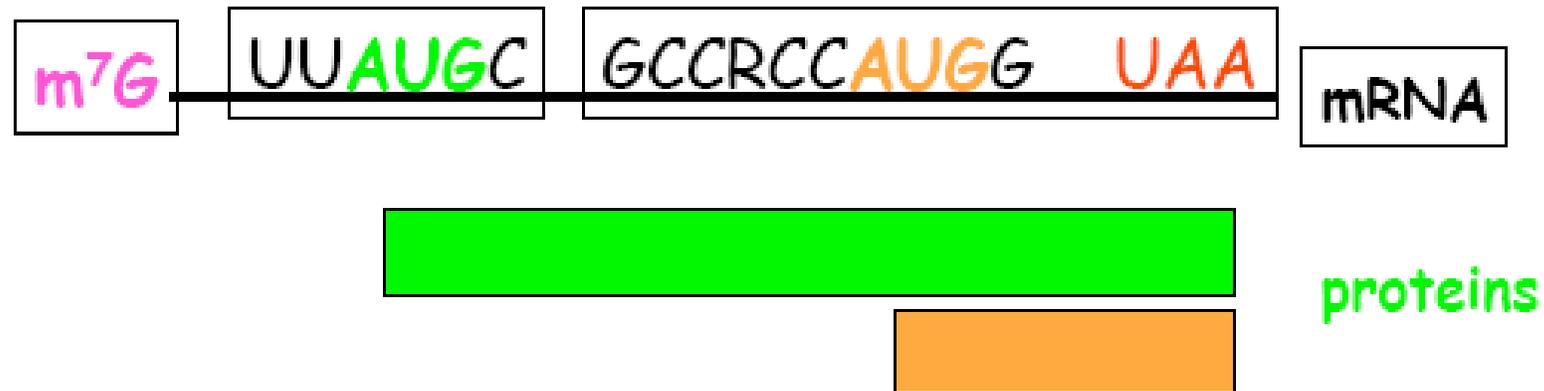
- ❖ polyproteins
- ❖ leaky scanning
- ❖ re-initiation
- ❖ suppression of termination
- ❖ ribosomal frameshifting

Viral mechanisms to maximize coding capacity: polyproteins



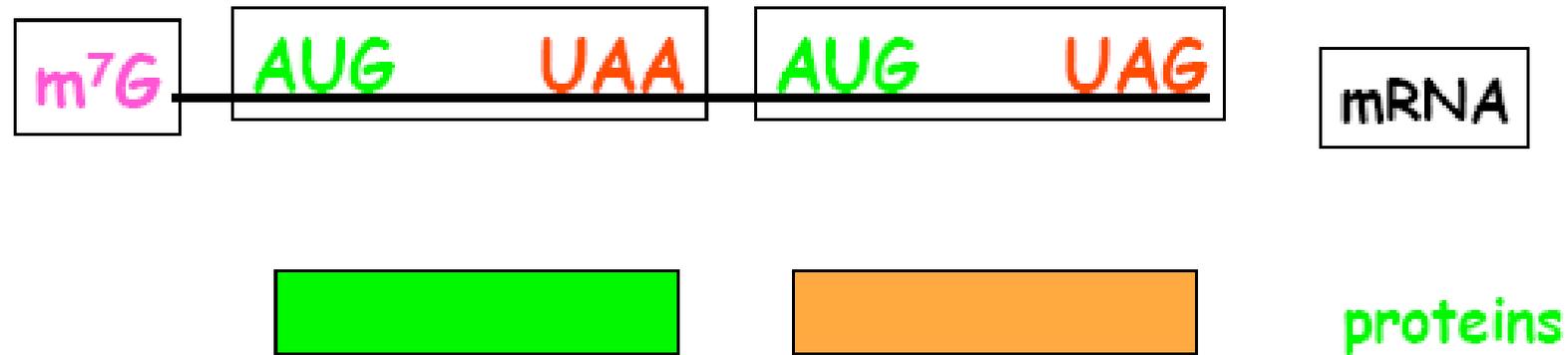
in: picornavirus, flavivirus, alphavirus and retrovirus

Viral mechanisms to maximize coding capacity: leaky scanning



in: sendai virus P/C mRNA, HIV type 1, simian virus

Viral mechanisms to maximize coding capacity: **Re-initiation**



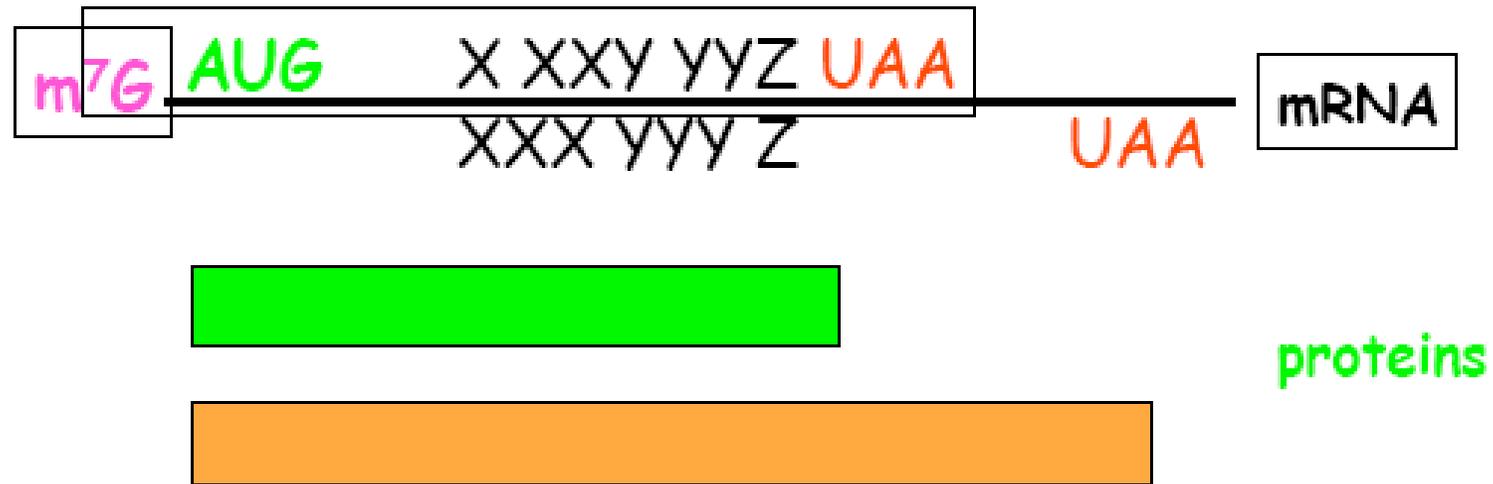
in: influenza B RNA 7, cytomegalovirus gp48

Viral mechanisms to maximize coding capacity: nonsense suppression



in: alphavirus nsP4, retrovirus Gag-Pol

Viral mechanisms to maximize coding capacity: **frameshifting**



in: coronavirus, human astrovirus, retroviral Gag-Pol