

Parti del testo “Introduzione alla Virologia Moderna” da consultare per questa lezione

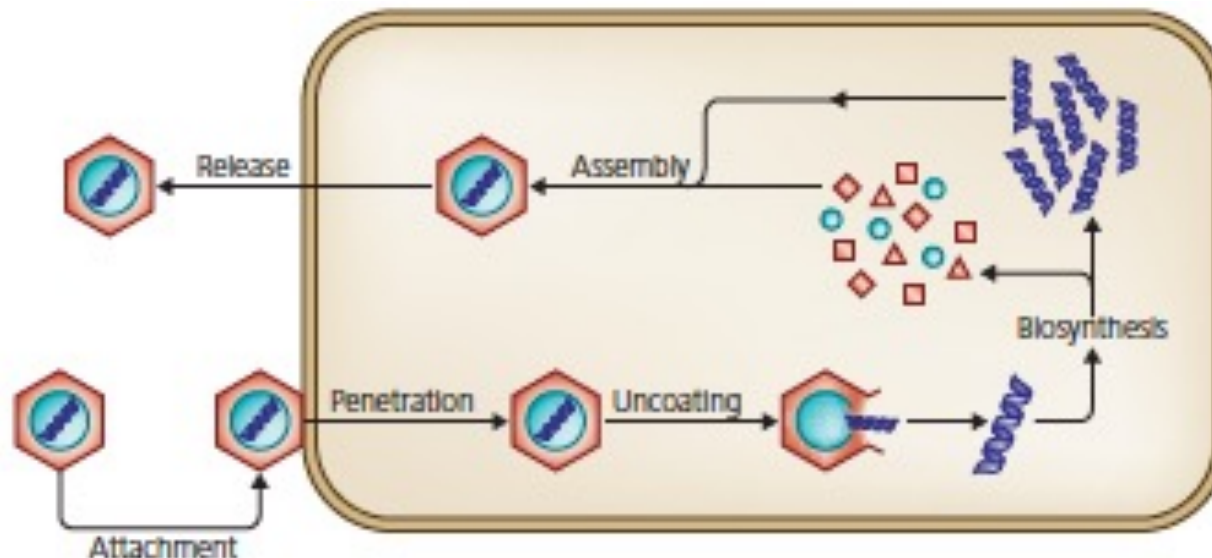
- **Capitolo 1 - par 1.2**
- **Capitolo 6**
- **Capitolo 26 – Box 26.1 e par. 26.1**
- **Capitolo 27 – par. 27.1, 27.3**

Virus Multiplication

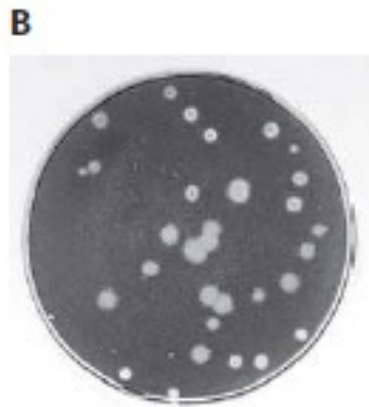
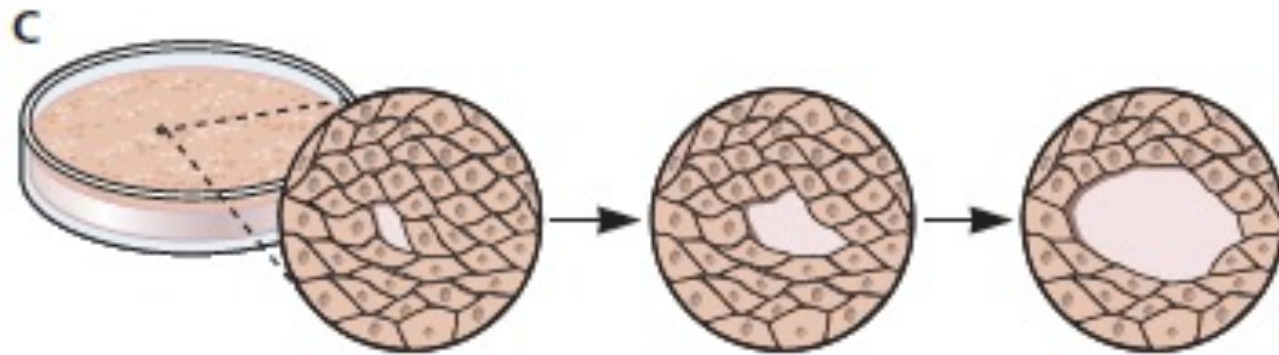
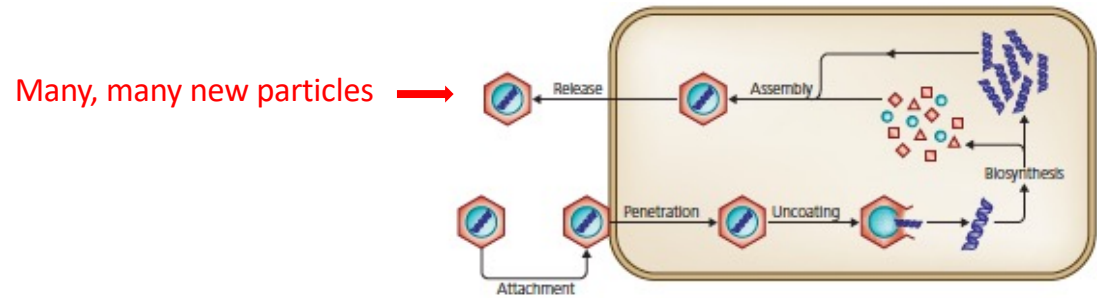
The efficiency of multiplication demonstrated by viruses is such that the infection of a single host can generate more new viruses than there are individuals in the host population. For example, a single human infected with influenza virus can shed sufficient virus particles to be theoretically capable of infecting the entire human population.

Virus Multiplication

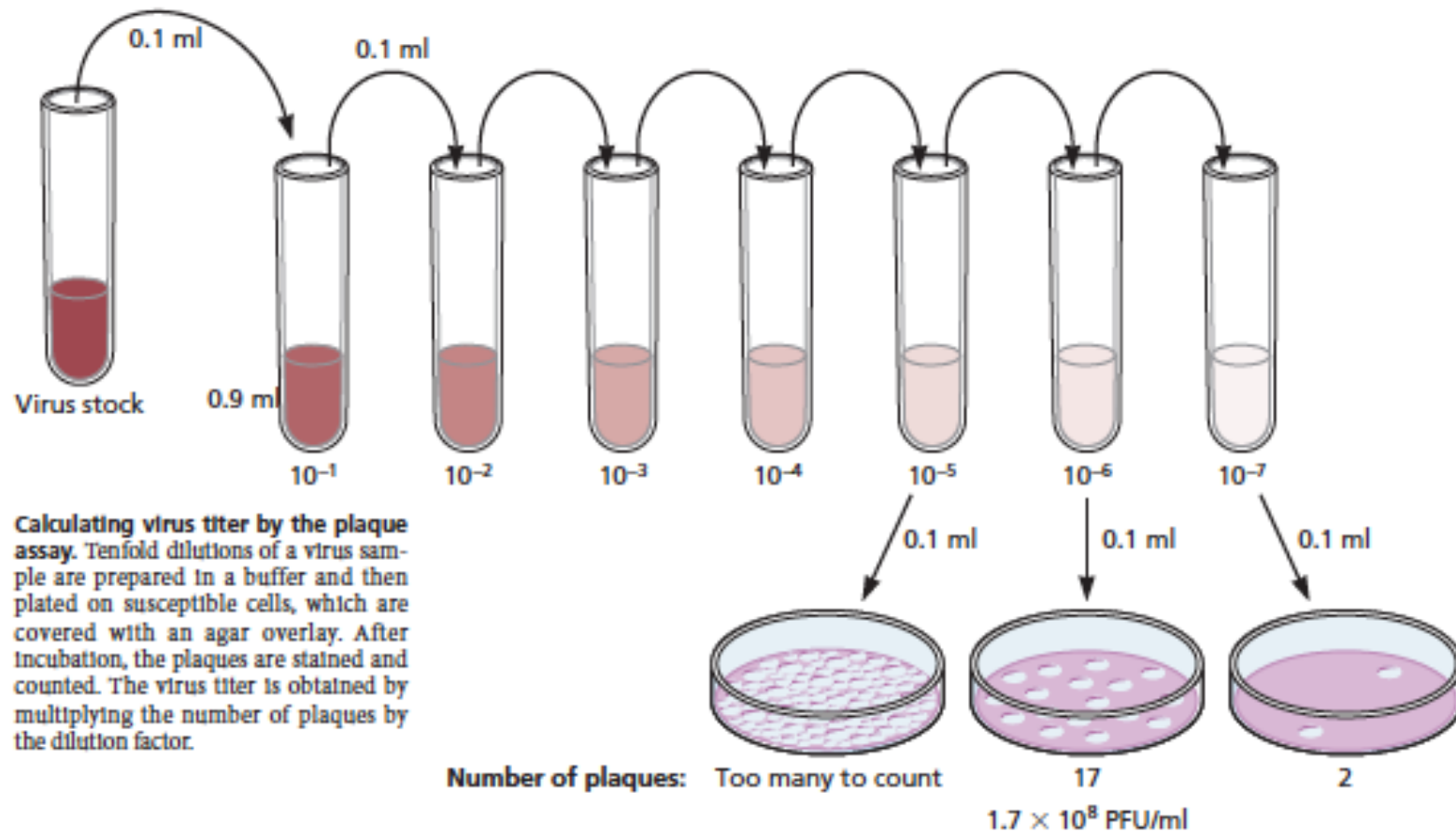
Viruses multiply by assembling many progeny particles from a pool of virus specified components, whereas cells multiply by binary fission.



Counting virus infectious particles by the plaque assay



Calculating virus titre by the plaque assay



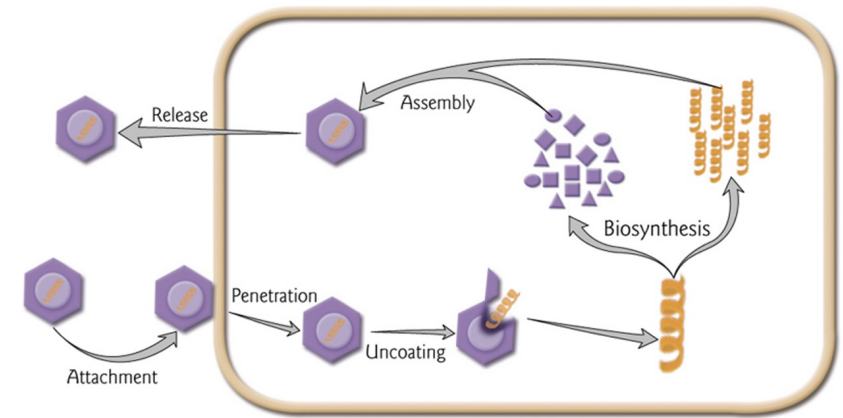
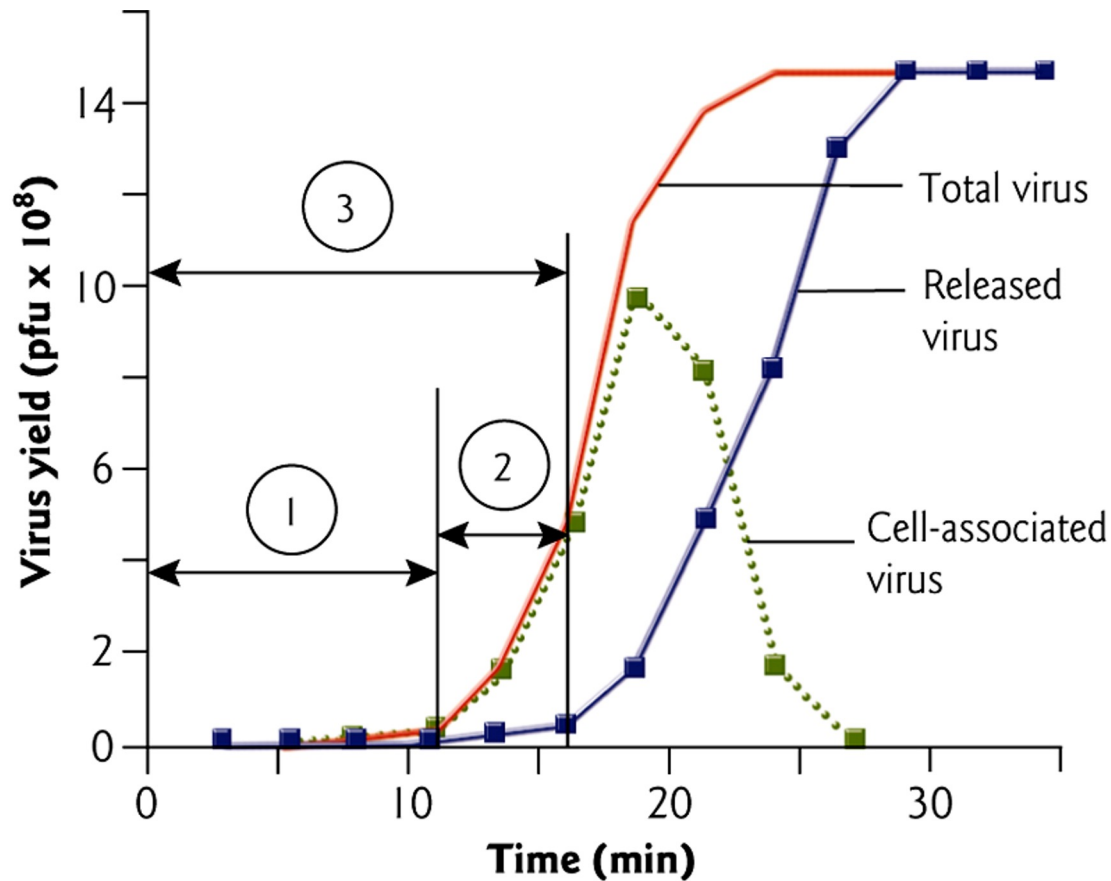
Ellis and Delbruck (1939)
The 'Single-Burst' Experiment or 'One-Step
Growth Curve'

L' esperimento mette in evidenza i tre momenti principali della replicazione virale

- Attacco, penetrazione, espressione e replicazione del genoma virale
- Assemblaggio delle nuove particelle virali
- Rilascio di virioni maturi dalla cellula infettata

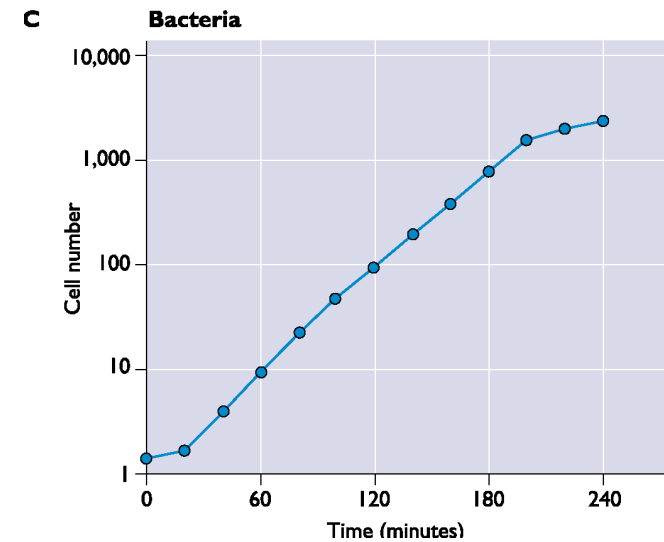
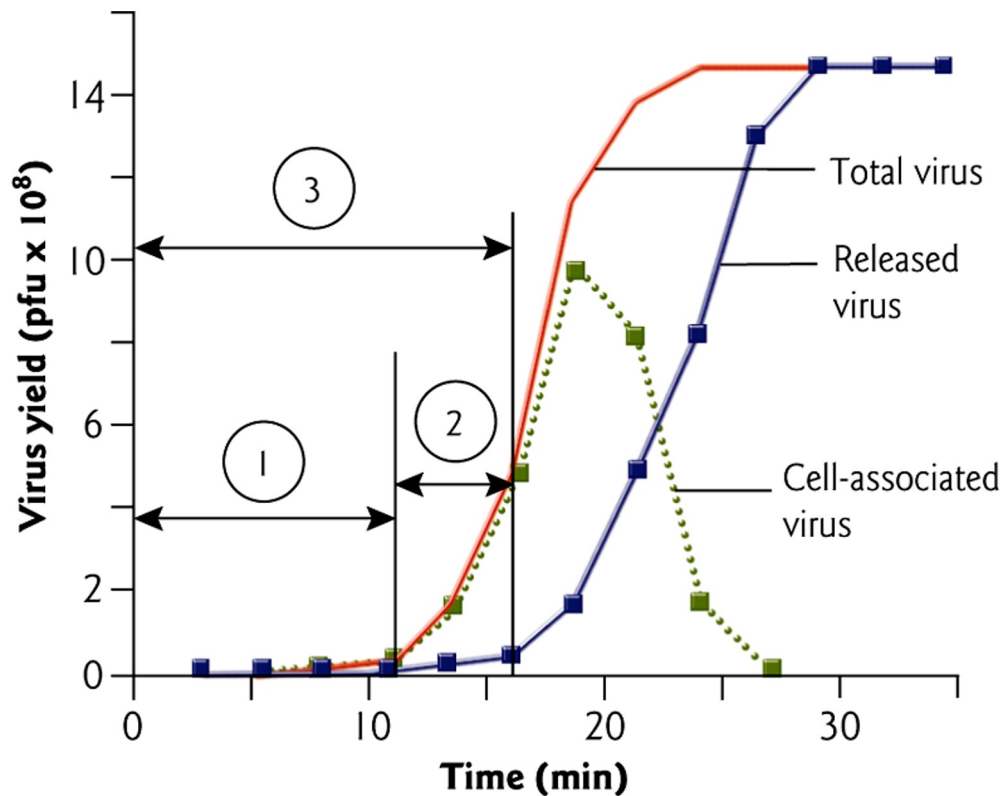
Ellis and Delbruck (1939)

The 'Single-Burst' Experiment or 'One-Step Growth Curve'



Viral genome drives the formation of new viral particles which are the result of viral component assembly

Ellis and Delbruck (1939) The 'Single-Burst' Experiment or 'One-Step Growth Curve'



Introduction to Modern Virology, Seventh Edition. N. J. Dimmock, A. J. Easton and K. N. Leppard.
© 2016 John Wiley & Sons, Ltd. Published 2016 by John Wiley & Sons, Ltd.

From Flint et al. *Principles of Virology* (2000), ASM Press

Ciclo replicativo

Curva di crescita a ciclo unico

- **Eclissi** (1) periodo in cui non sono presenti particelle infettive all'interno della cellula (spoliazione, espressione precoce, replicazione genoma, espressione tardiva)
- **Maturazione** (2) espressione tardiva e assemblaggio dei nuovi virioni all'interno della cellula.
- **Periodo di latenza** (3) che comprende il periodo di eclissi (1) e maturazione (2), in cui sono rilevabili nuovi virioni all'interno della cellula, ma non nell'ambiente extracellulare
- **Fase di scoppio** rilascio della progenie virale nell'ambiente extracellulare.
- **Dimensione dello scoppio (burst size)** media del numero di virioni prodotto dalla singola cellula (resa virale totale/numero di cellule infettate)

Fasi della moltiplicazione virale

Attacco (adsorbimento) del virione alla cellula ospite suscettibile

Interazione con lo specifico recettore

Penetrazione del virione o del suo genoma all'interno della cellula

Uncoating (spoliazione) del genoma virale ed esposizione al macchinario genetico/biosintetico della cellula ospite

Fase di espressione precoce del genoma virale, in cui il macchinario biosintetico della cellula ospite è modificato, come preludio alla sintesi di acidi nucleici virali. In questa fase vengono prodotti enzimi virus specifici, prima ondata di espressione del genoma virale

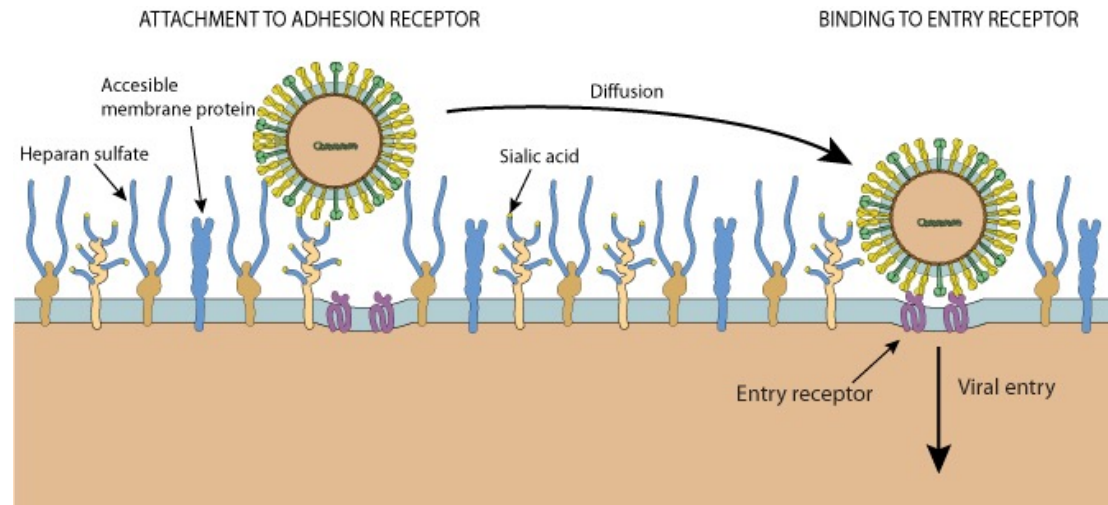
Replicazione del genoma virale

Sintesi delle componenti virioniche che includono le subunità proteiche del capsid e le proteine associate all'involucro pericapsidico

Assemblaggio delle subunità proteiche (e dei componenti di membrana per i virus rivestiti) e **impacchettamento** del genoma nelle nuove particelle virali

Rilascio dei virioni maturi dalla cellula

Attacco/Adsorbimento del virus alla cellula ospite



Recettori di adesione-permettono l'adesione del virus in maniera reversibile agli organi/cellule bersaglio. Non sono strettamente necessari per l'entrata del virus e da soli non permettono l'entrata del virus. Tuttavia, l'interazione con essi aumenta notevolmente l'infettività del virus aumentandone la concentrazione in prossimità del suo recettore specifico o permettendone l'attacco ad un organo nel quale sono presenti le sue cellule bersaglio.

Entry receptors-innescano l'entrata del virus attraverso endocitosi o inducendone la fusione/penetrazione. Il legame con questi recettori è irreversibile. L'accesso a questi recettori è spesso difficoltoso per il virus, il quale risolve il problema legandosi prima ai recettori di adesione aumentando la probabilità di interazione con il recettore specifico stesso.

Recettori-Antirecettori

- La proteina virale o anti-recettore si lega al recettore presente sulla superficie della cellula
- Virus dell' influenza: emoagglutinina (HA, si lega a glicoproteine contenenti residui di acido sialico); HIV: glicoproteina dell' envelope (gp120, si lega all'antigene CD4).
- L'espressione di specifici recettori sulla superficie cellulare determina il **tropismo** della maggior parte dei virus e la **suscettibilità** della cellula all'infezione di virus specifici

Ingresso del virus e spoliazione

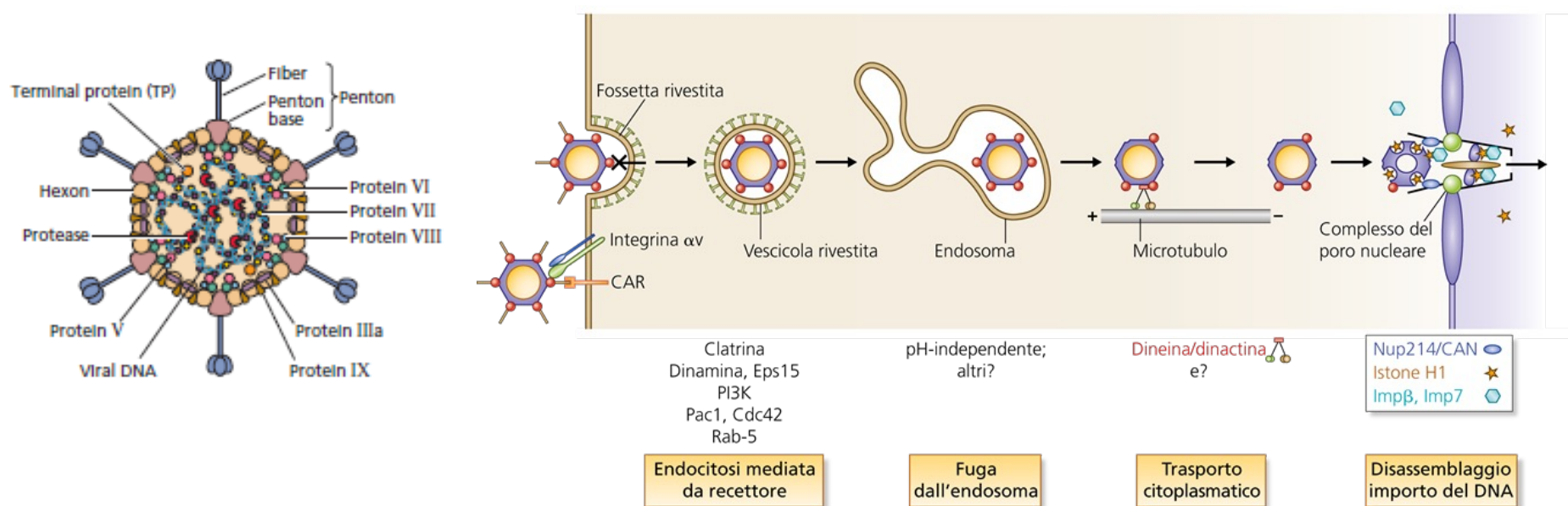
Dopo l'attacco allo specifico recettore il virus deve entrare nella cellula, cioè attraversare il doppio strato lipidico senza uccidere la cellula stessa.

All'interno della cellula il virus deve essere disassemblato affinché:

- Il suo materiale genetico e gli enzimi eventualmente associati rimangano integri
- Il genoma virale e gli enzimi associati siano indirizzati verso i giusti compartimenti cellulari (il nucleo nel caso di molti virus)

Virus nudi: Endocitosi mediata da recettore

Lisi dell' endosoma: **Adenovirus** - Una volta legato il suo recettore CAR, il virione lega il co-recettore (una integrina). A questo punto viene internalizzato mediante endocitosi con conseguente perdita delle fibre. L' acidificazione dell' endosoma porta ad un parziale disassemblaggio del capside con rimozione di alcune proteine capsidiche comprese le basi del pentone con esposizione di un dominio anfipatico della proteina interna VI che sembra promuovere la rottura della membrana endosomiale.

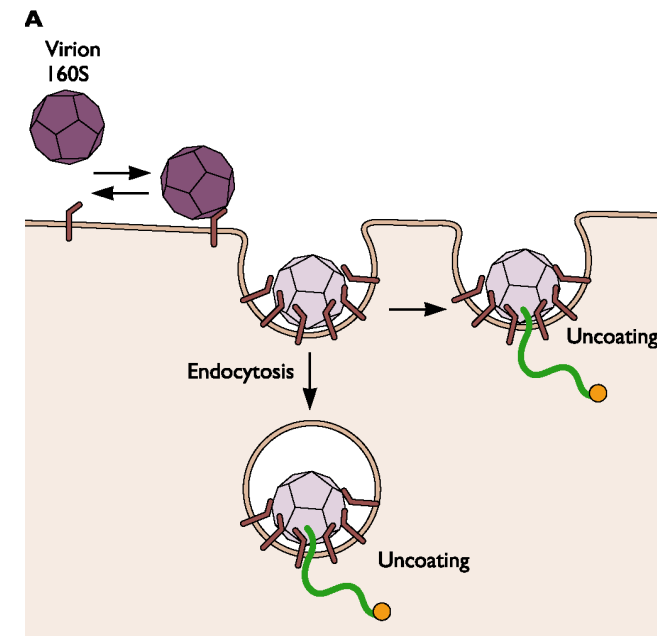
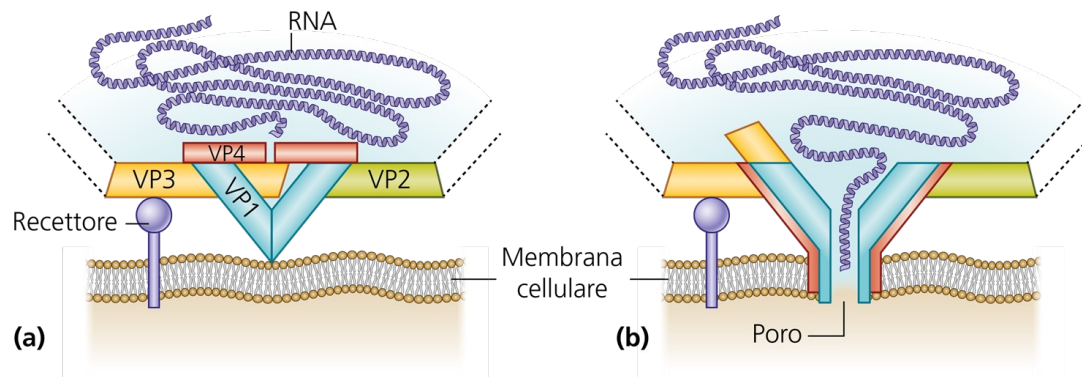


Virus nudi: rilascio del genoma a livello della membrana plasmatica

Poliovirus

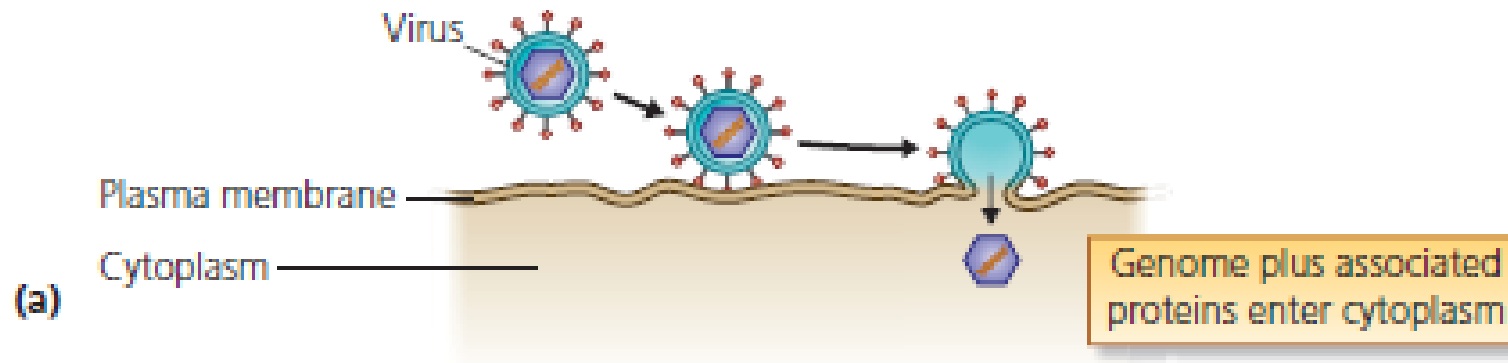
A: L'interazione recettore-antirecettore porta un vertice del capsid, formato da VP1 (turchese), vicino alla membrana della cellula bersaglio. La piccola proteina VP4 (in rosso), che possiede un N-terminale miristilato, è mantenuta nella superficie interna del virione

B: Una modificazione conformazionale indotta dal legame al recettore sposta la porzione di VP3 che nel virione assicura la chiusura del capsid e consente l'interazione di VP1 e dei gruppi miristilati di VP4 con la membrana. Si forma, così, un poro attraverso il quale l'RNA virale può entrare nella cellula.

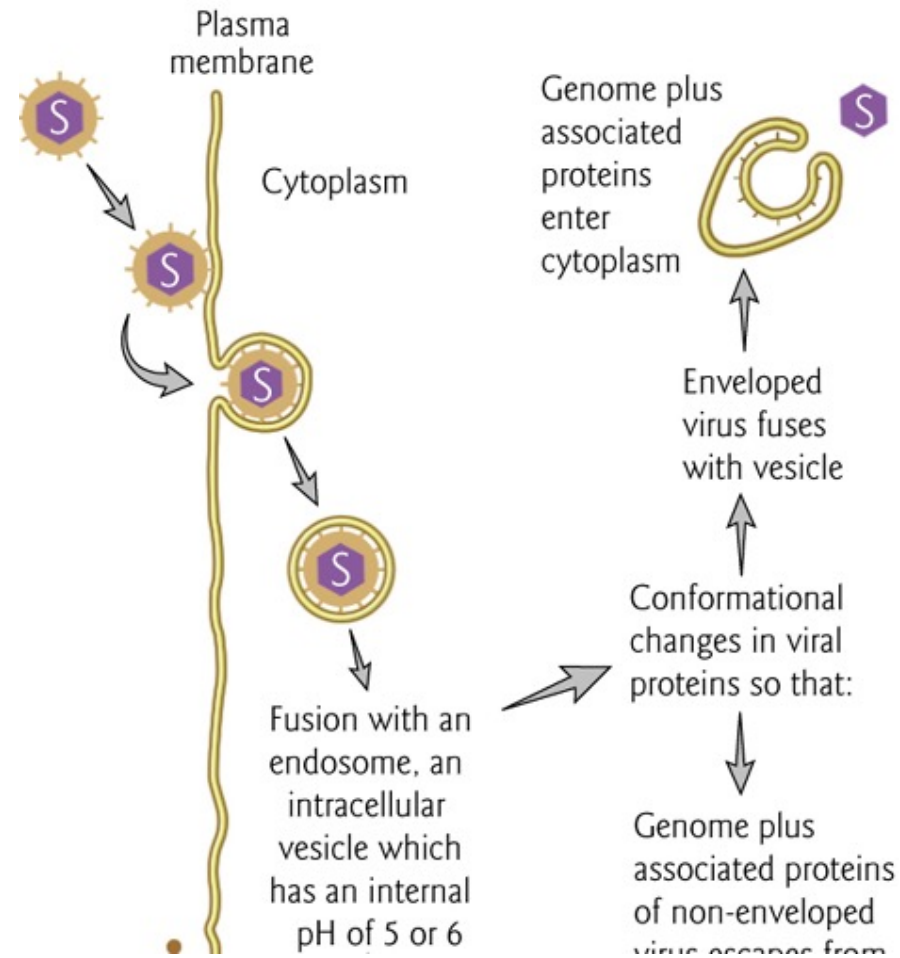


Flint et al. *Principles of Virology* (2000), ASM Press

Virus con envelope: Fusione con la membrana pH indipendente

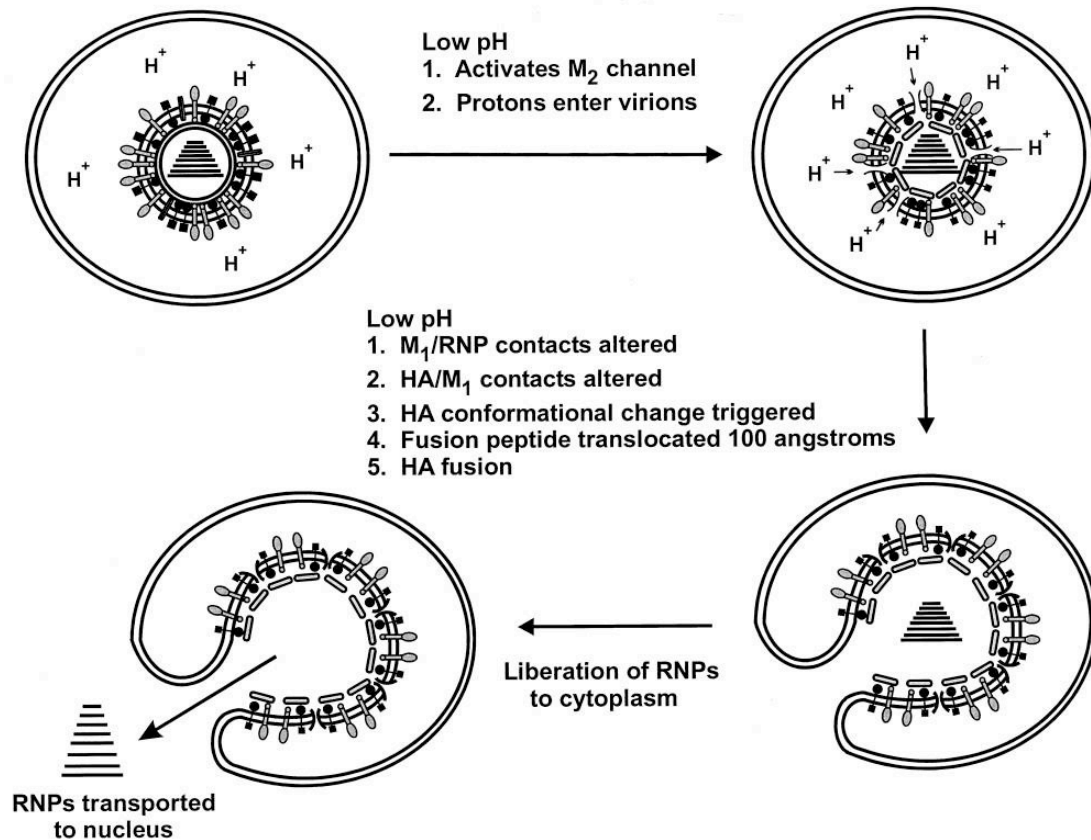
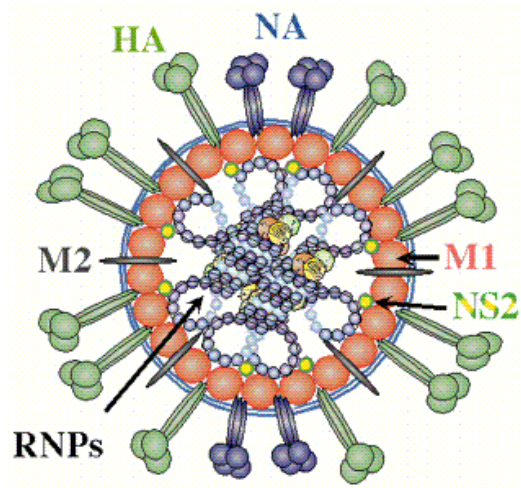


Virus con envelope: Endocitosi mediata da recettore e fusione delle membrane pH dipendente



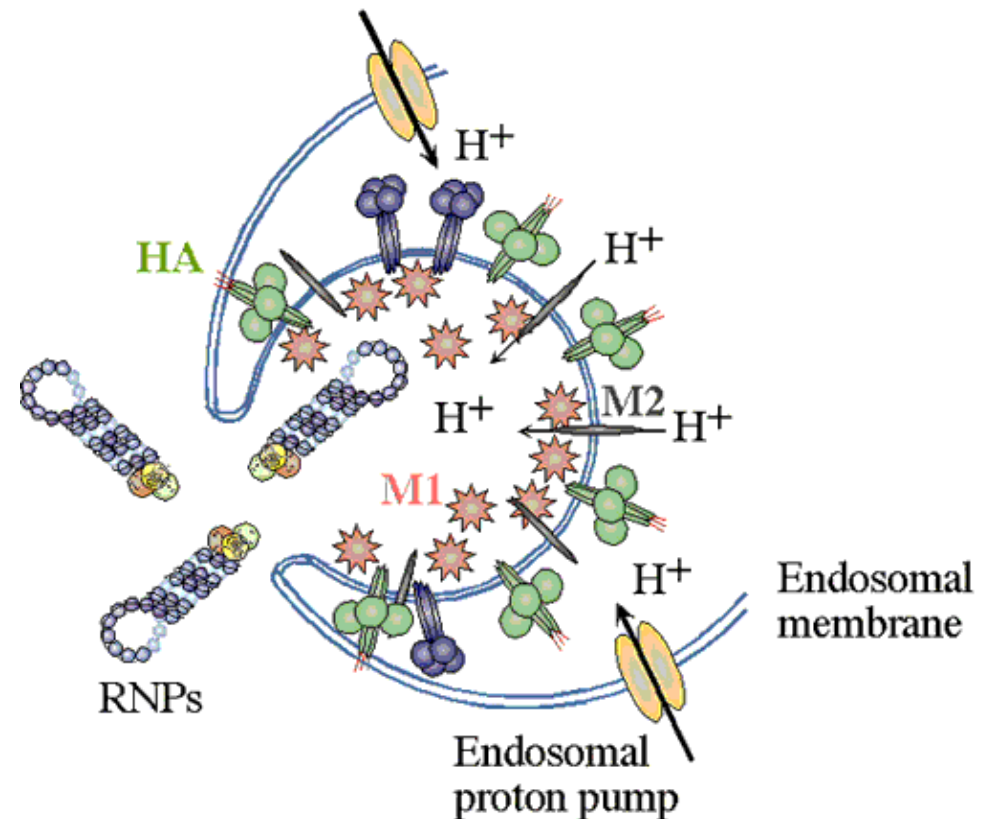
Ciclo replicativo: ingresso

Virus con envelope: Endocitosi mediata da recettoree fusione delle membrane pH dipendente

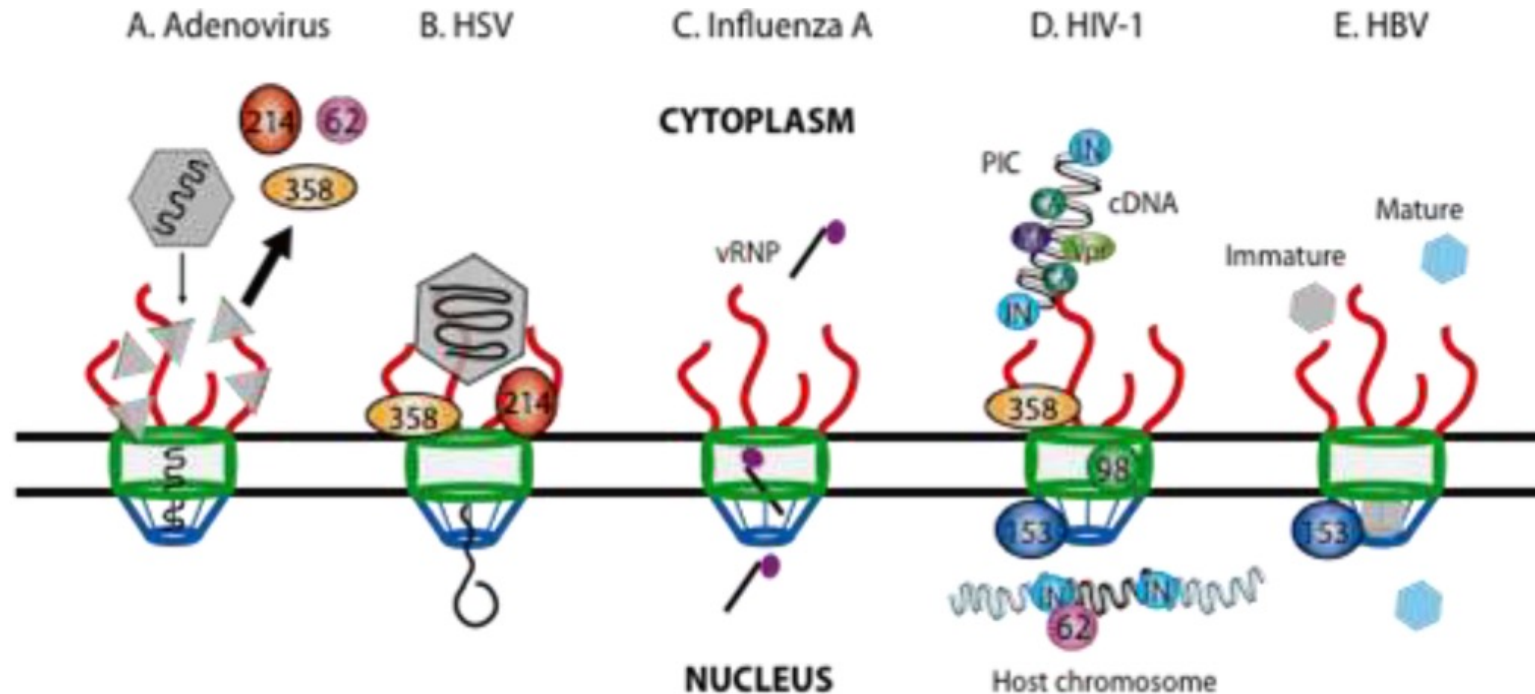


Virus con envelope: Endocitosi mediata da recettore e fusione delle membrane pH dipendente

Per riassumere: **M2**: canale ionico attivato a pH acido permette l'entrata di protoni all'interno del virione, l'ambiente acido distrugge le interazioni elettrostatiche tra la proteina **M1** della matrice e le ribonucleoproteine (RNP) così come le interazioni HA/M1; **HA**: modificazioni conformazionali indotte da pH acido, esposizione del peptide fusogenico, fusione envelope con membrana endosomiale; rilascio delle ribonucleoproteine nel citoplasma. Le RNP vengono poi importate nel nucleo attraverso i pori nucleari



Importo nucleare del genoma virale



Adenovirus: Il capside di adenovirus interagisce con le componenti del poro nucleare, ma viene disassemblato e il DNA con associate le proteine terminali entra nel nucleo.

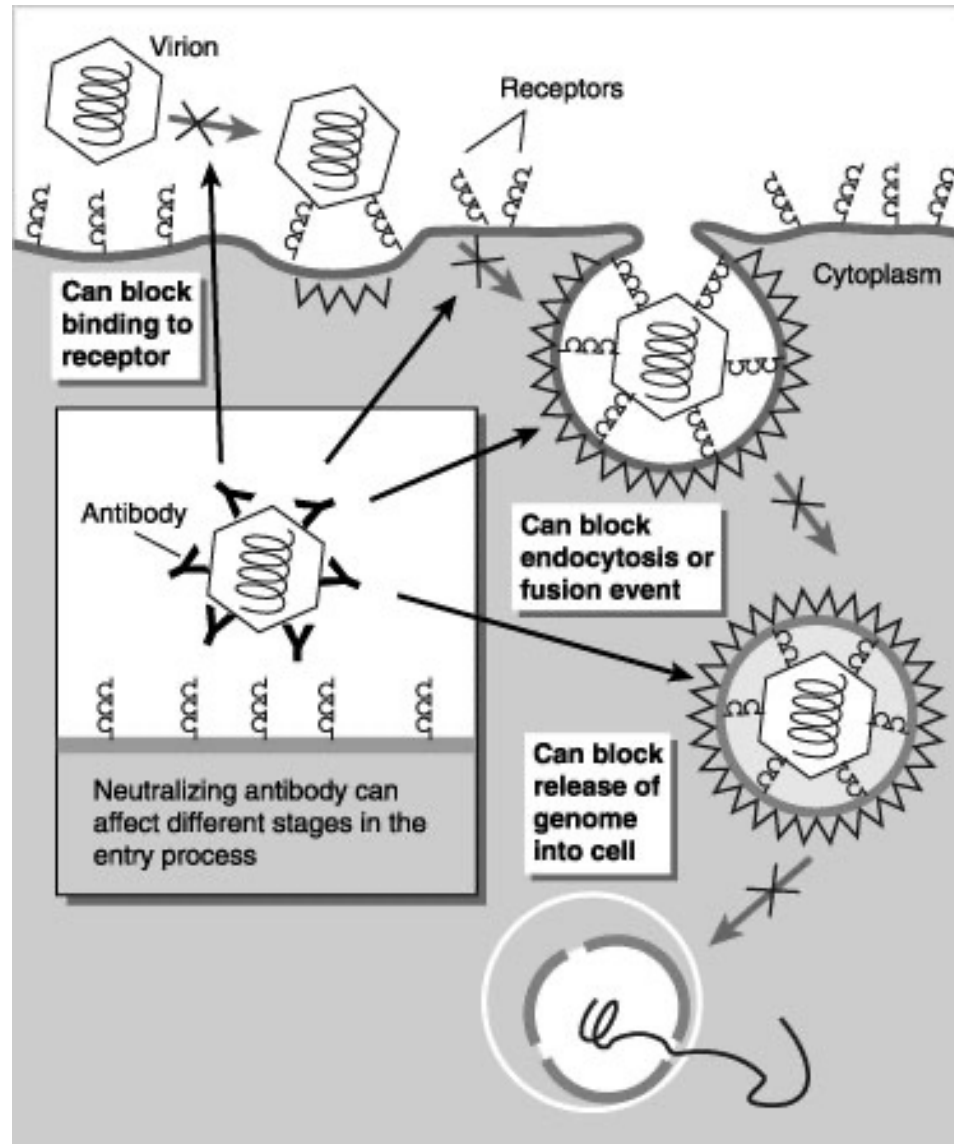
Herpesvirus: I capsidi di HSV-1 legano il poro nucleare, porzione citoplasmatica, un vertice del capside si apre e il DNA passa nel nucleo lasciando un capside praticamente intatto.

Virus dell'influenza: ribonucleoproteine interagiscono con le importine cellulari e traslocano nel nucleo anche grazie ad un segnale di localizzazione nucleare sulla NP.

HIV: Il PIC (complesso di pre-integrazione) interagisce con le importine cellulari ed è traslocato nel nucleo e successivamente integrato nel genoma dell'ospite

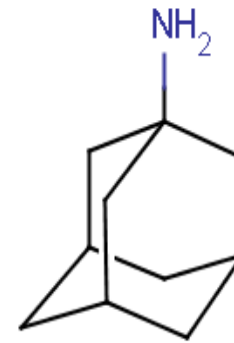
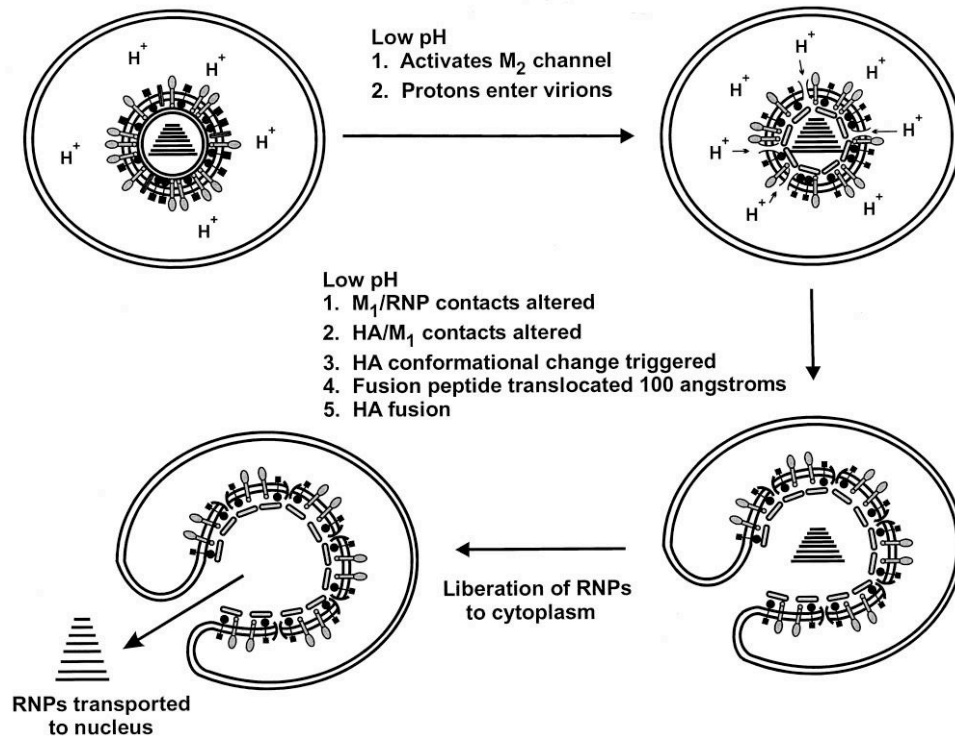
HBV: i loro capsidi sono abbastanza piccoli da passare attraverso il poro nucleare intatti. La spoliatura avviene probabilmente a livello della porzione nucleare del poro.

Anticorpi neutralizzanti

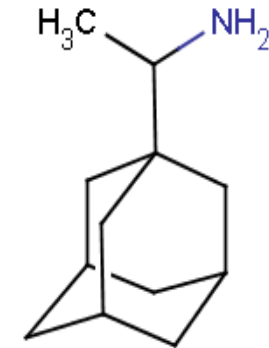


Terapia antivirale

Uncoating and Release



Amantadine



Rimantadine

