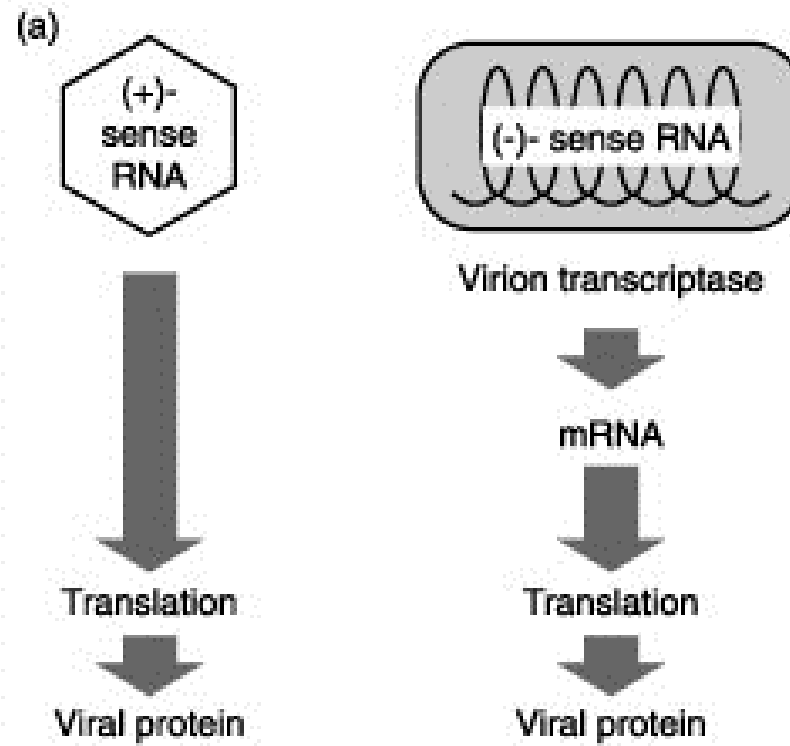


Parti del testo "Introduzione alla Virologia Moderna" da consultare per questa lezione

- **Capitolo 8 – par. 8.1, 8.4**
- **Capitolo 11 – par. 11.1, 11.3, 11.4, 11.5**

Virus Classe IV e V



Replicazione genomi ad RNA dei virus delle Classi IV e V

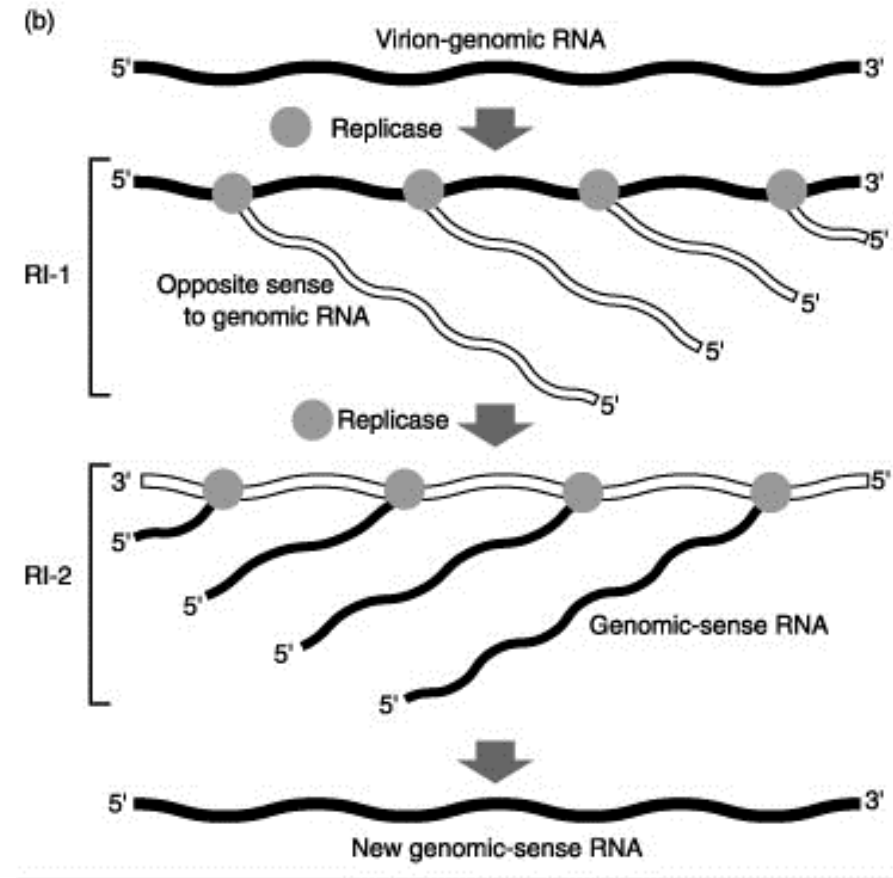
vRNA è lo stampo in RI-1

In RI-1 viene prodotto lo stampo di polarità opposta al vRNA (intermedio di replicazione)

L' RNA complementare al vRNA (o antigenoma) è lo stampo in RI-2

In RI-2 viene sintetizzato l' RNA della stessa polarità di quello presente nel virione (vRNA)

RI= Intermedio di Replicazione



Replicazione genomi ad RNA dei virus delle Classi IV e V

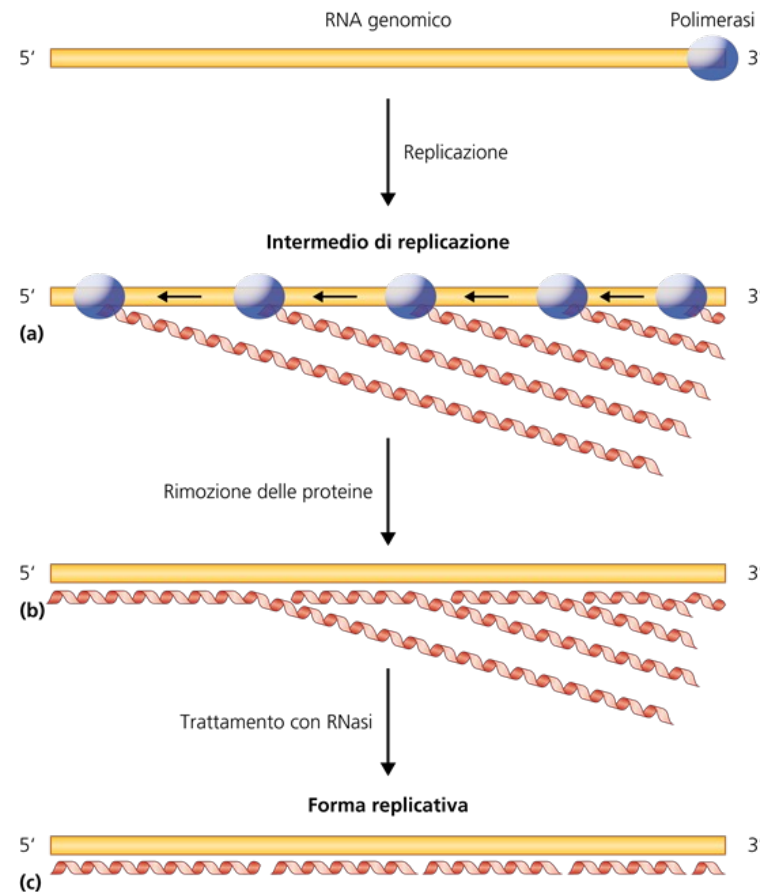


FIGURA 8.4 Replicazione del genoma a RNA dei picornavirus. La replicazione avviene utilizzando uno stampo che è mantenuto in una forma circolare grazie all'azione di tre proteine; qui, per semplicità, lo stampo è rappresentato in forma lineare. (a) Struttura proposta per una molecola di intermedio di replicazione (RI) prima della deproteinizzazione. (b) RI dopo deproteinizzazione. (c) Effetto del trattamento di RI deproteinizzato con RNasi per produrre una forma replicativa (RF) a RNA.

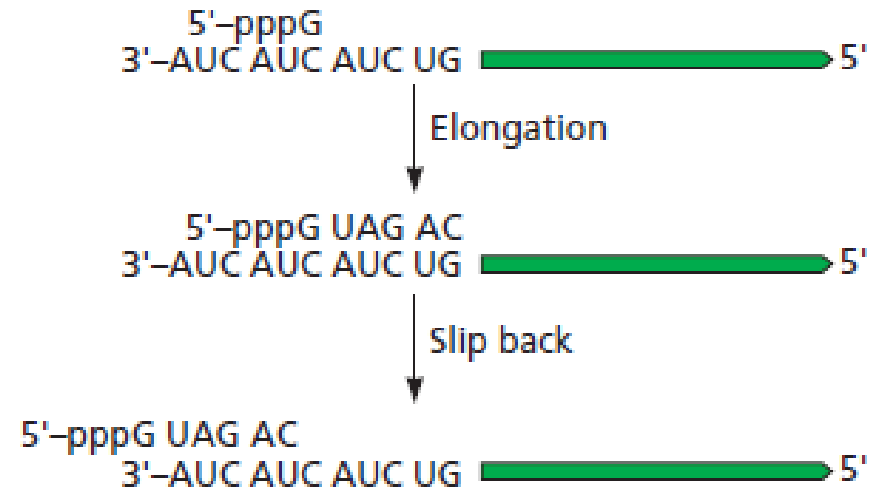
RNA polimerasi RNA-dipendente: meccanismi di inizio della sintesi di RNA

De novo initiation

3'-terminal initiation



Internal initiation



Primer-dependent initiation

Protein primer

Terminal protein



Capped primer



ssRNA(+) viruses (IV classe)

Il genoma nudo di questi virus è infettivo

Il primo evento nel ciclo infettivo di questi virus è la **traduzione** del vRNA nelle proteine virali.

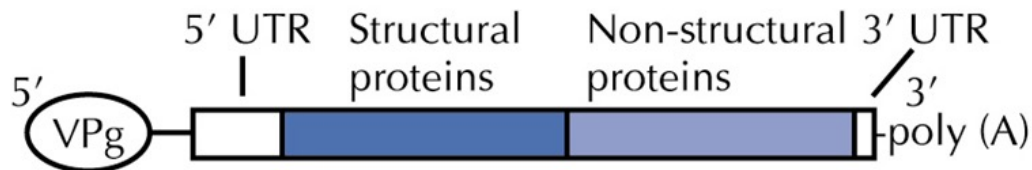
Se il genoma virale è trasfettato in una cellula, in assenza di ogni altra componente proteica virale, l'infezione può procedere e possono essere prodotte nuove particelle virali

Questi virus, quindi, non richiedono una fase di trascrizione che precede l'espressione delle proteine virale. Ne consegue che il nucleo della cellula eucariotica è superfluo, e l'infezione può procedere, più o meno efficientemente in una cellula priva di nucleo.

Gruppi diversi all'interno di questa classe di virus possono essere distinti sulla base del numero e della posizione delle ORF nel genoma virale. Queste differenze correlano con la complessità delle specie di mRNA espresse durante l'infezione.

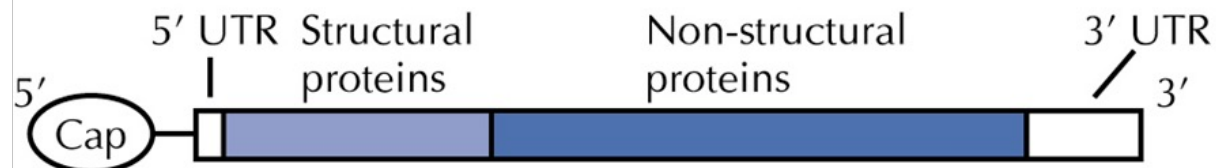
Genomi a RNA (+)

Picornaviruses:



da 7.2 a 8.5 kb

Flaviviruses:



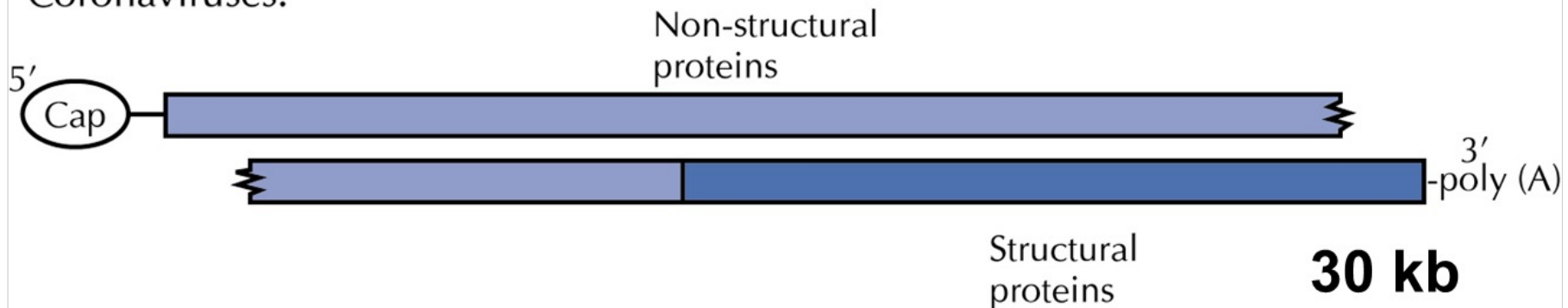
10.5 kb

Togaviruses:



11.7 kb

Coronaviruses:



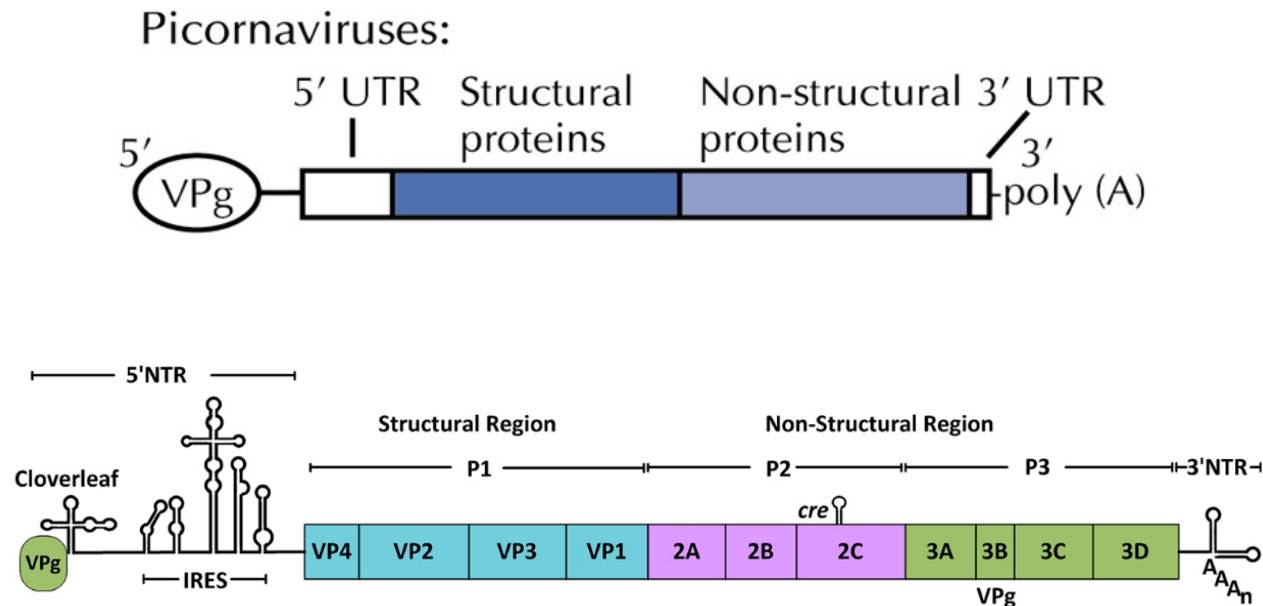
30 kb

ssRNA(+) viruses (IV classe) *Picornaviridae*

Dimensioni dalle 7.2 alle 8.5 kb, contiene una lunga UTR al 5' (600-1200nt) importante per la traduzione, sequenze IRES (Internal Ribosome Entry Site); UTR al 3' più corta (50-100 nt) importante per la sintesi del filamento (-)

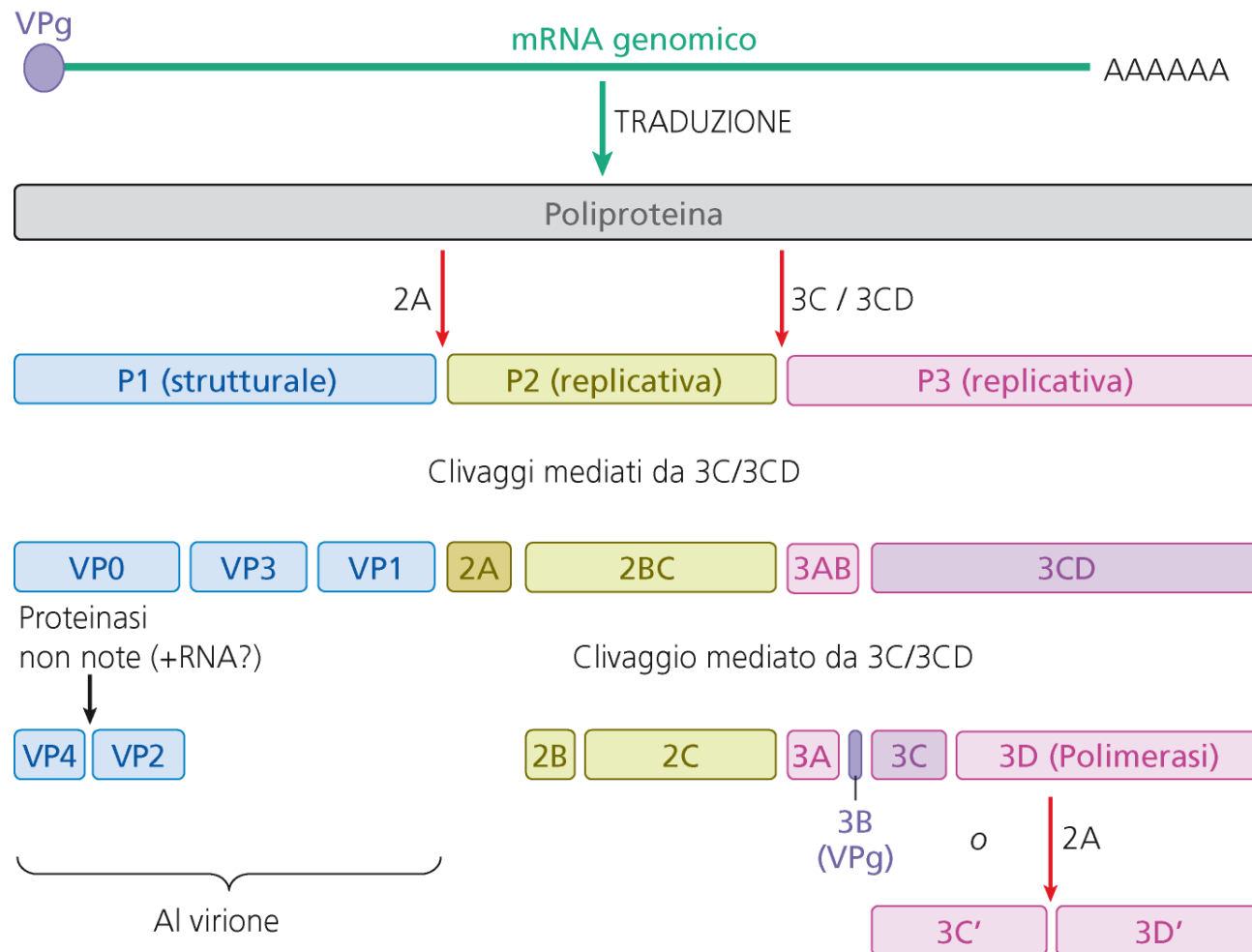
Codifica una unica poliproteina

Entrambe le estremità del genoma sono modificate: VPg al 5' e poliadenilazione al 3'



ssRNA(+) viruses (IV classe), *Picornaviridae*

Formazione di una poliproteina che a seguito di una reazione intramolecolare da origine a tre polipeptidi che vanno ulteriormente incontro a maturazione attraverso tagli proteolitici



Replicazione del genoma a RNA dei picornavirus

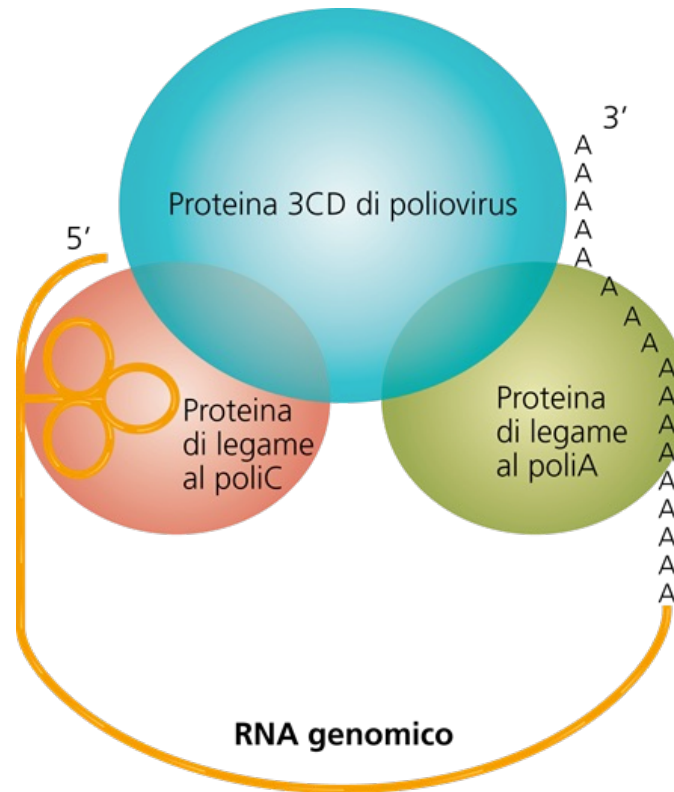


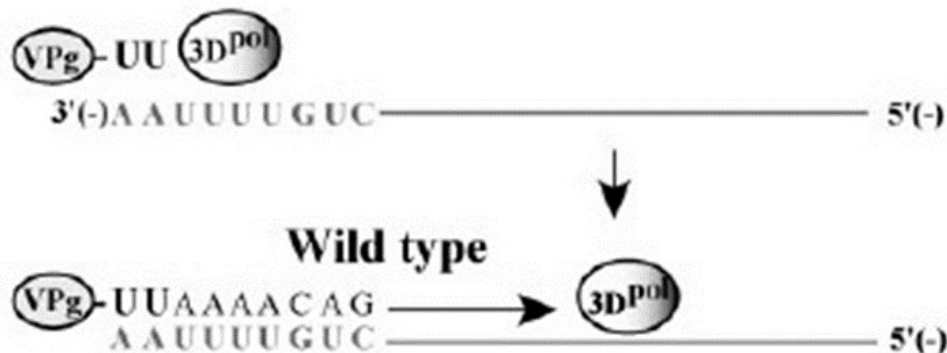
FIGURA 8.3. Circolarizzazione del genoma a RNA dei picornavirus nel complesso di replicazione.

Replicazione del genoma a RNA dei picornavirus, priming

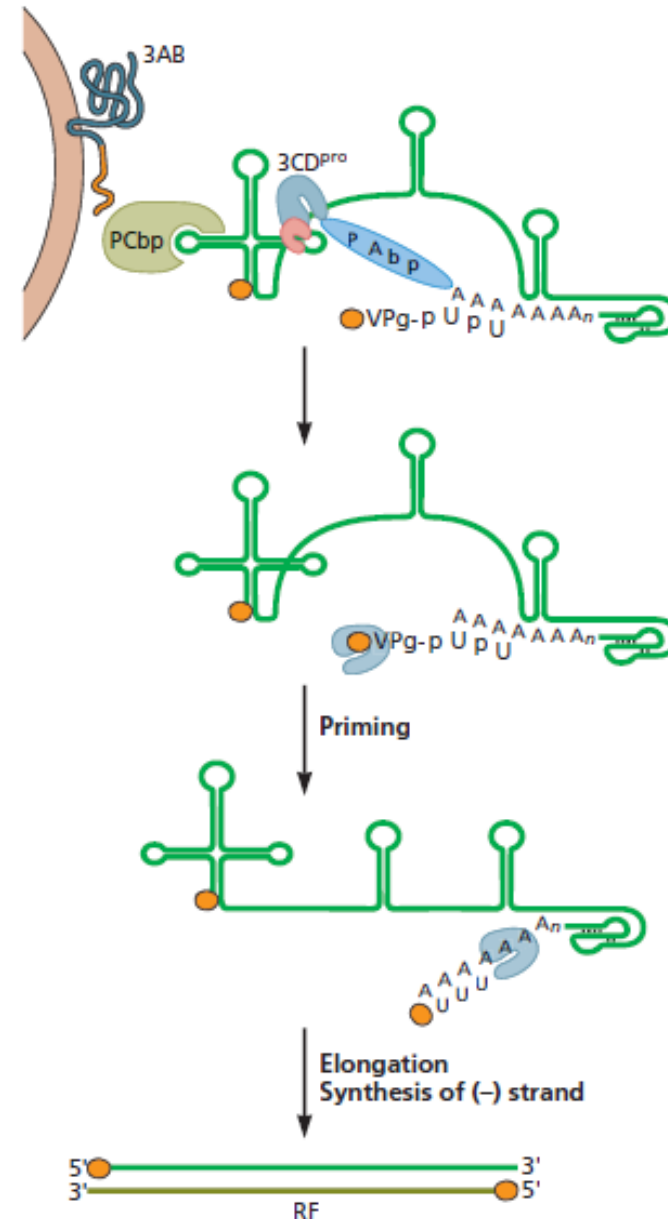
Uridilazione della VPg e sintesi RNA (-).

- 1 Sintesi RNA(-)
- 2 Sintesi RNA(+)

2

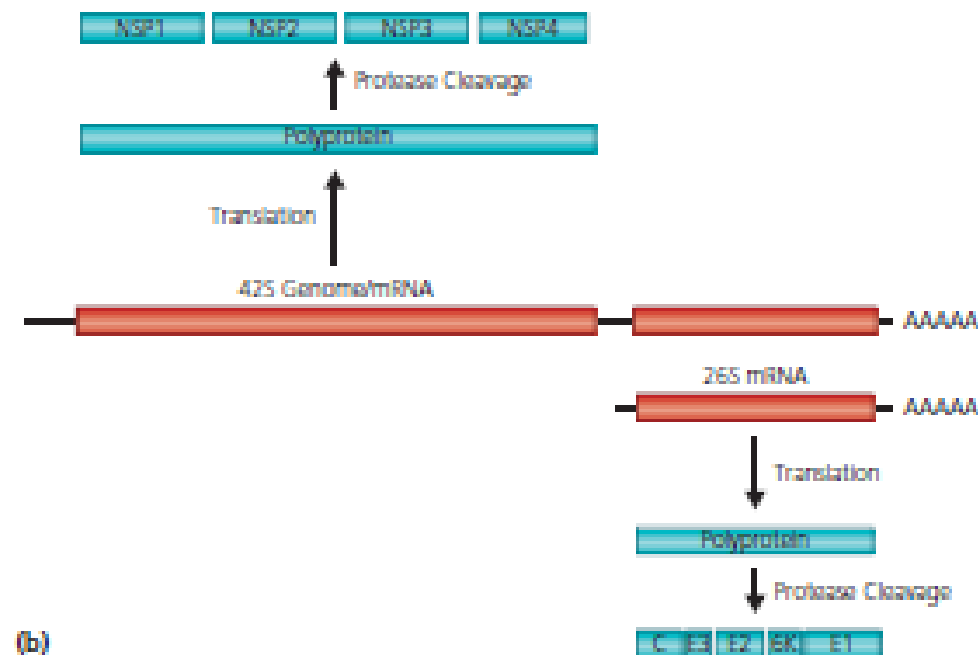


1



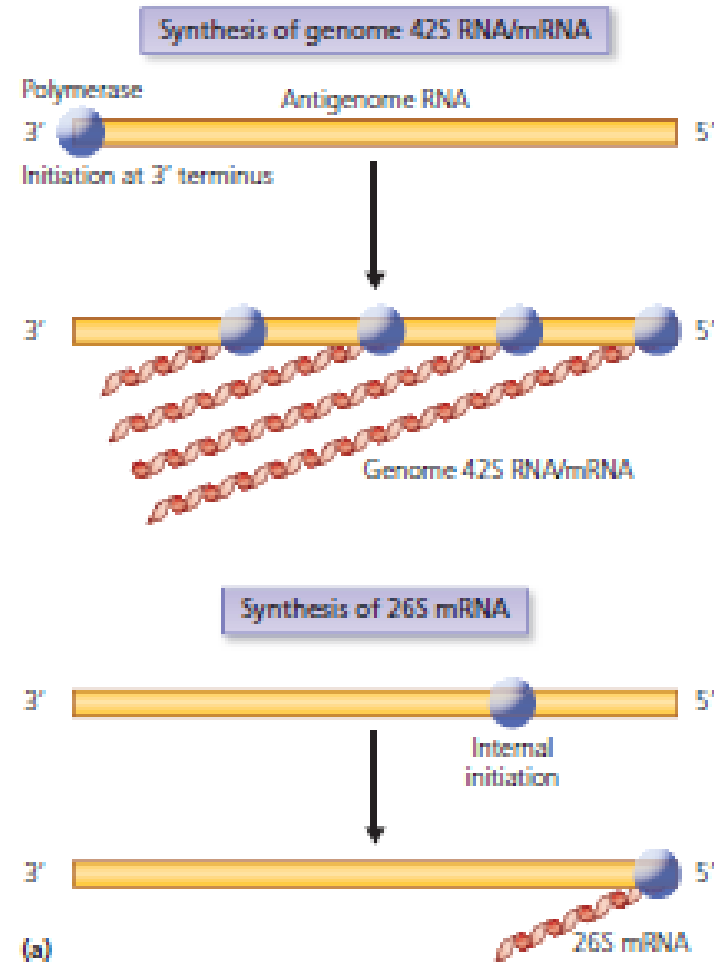
ssRNA (+) viruses: Togaviridae

Il genoma contiene due ORF. Soltanto quella al 5' è tradotta all'inizio dell'infezione. La seconda ORF è invece tradotta da un mRNA subgenomico



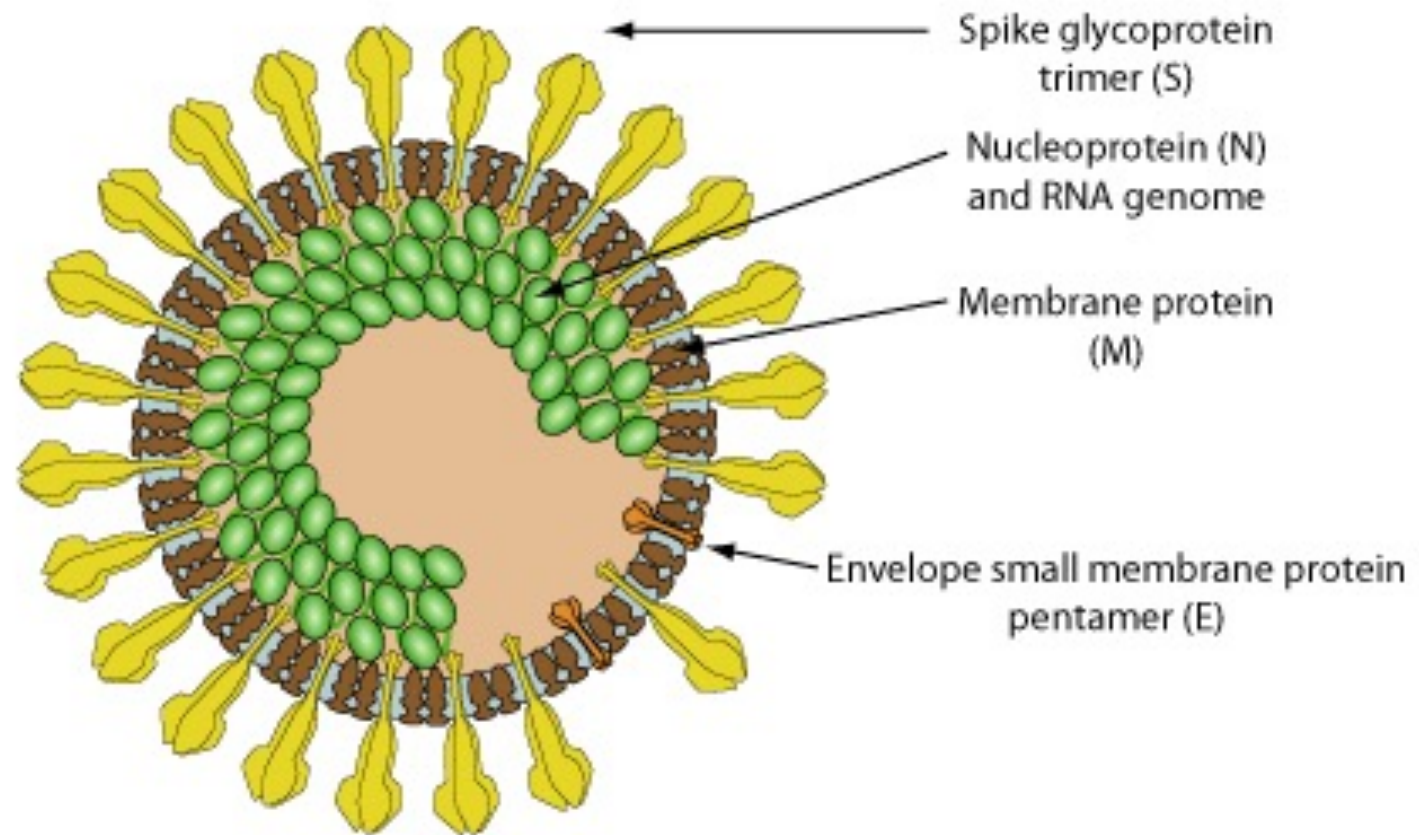
ssRNA (+) viruses: Togaviridae

Sintesi dell' RNA genomico e dell' RNA subgenomico

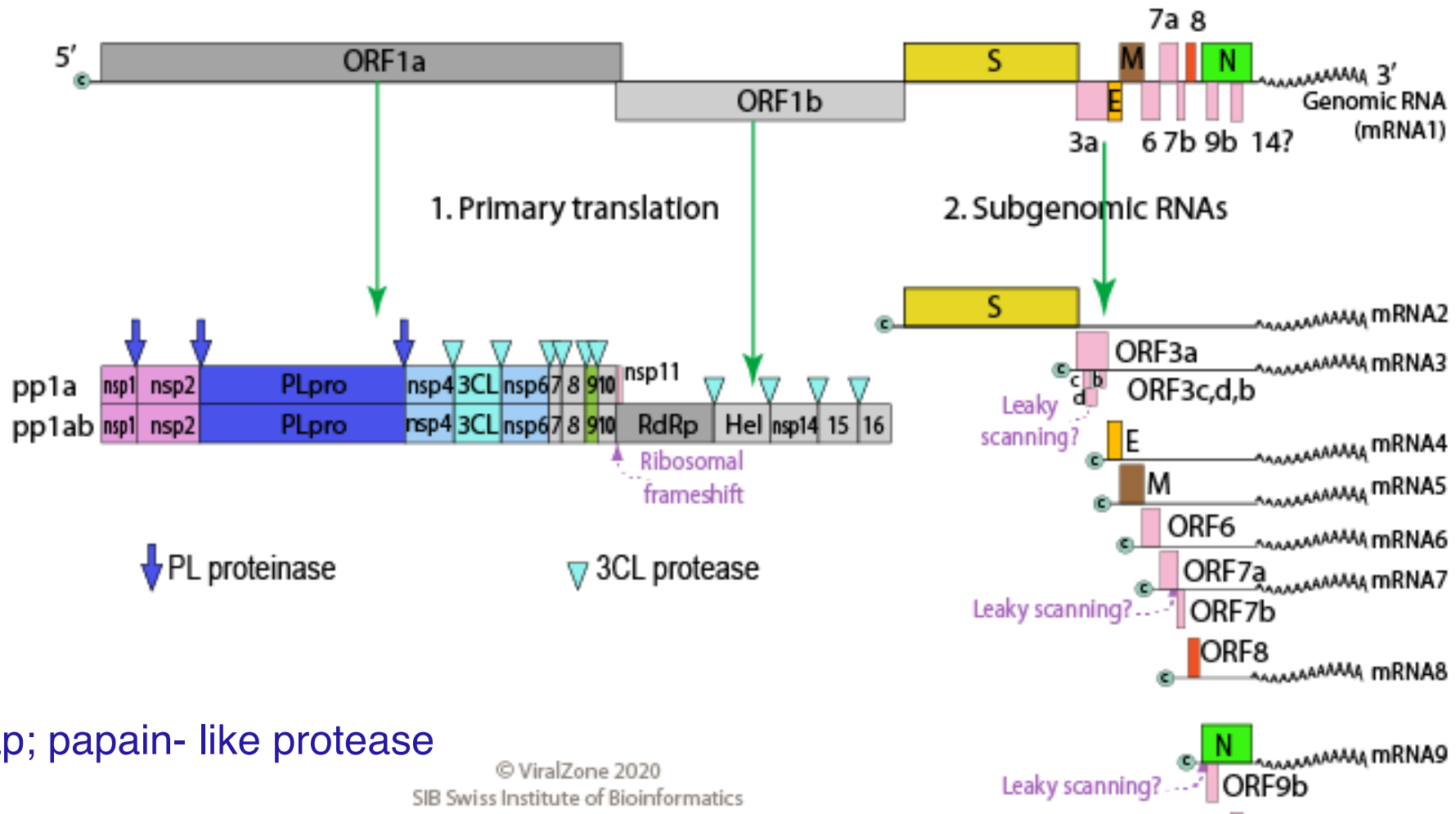


ssRNA (+) viruses: Coronaviridae

Coronavirus virion



SARS-CoV-2 genome

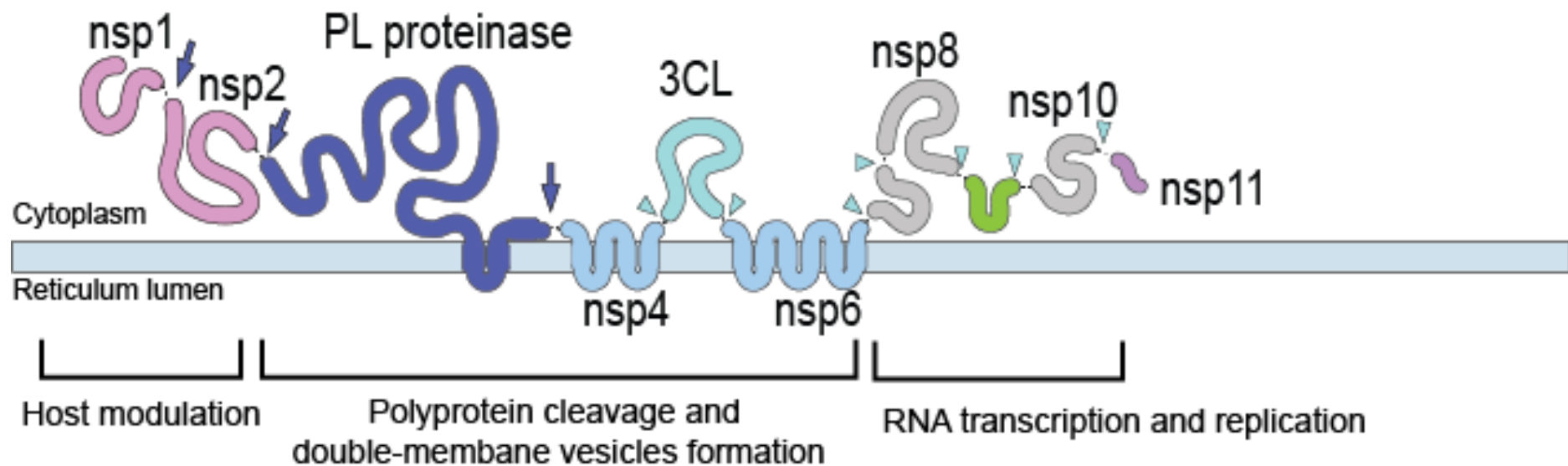


PLp; papain- like protease

3CLp; chymotrypsin- like protease
or Major (M^{pro}) protease

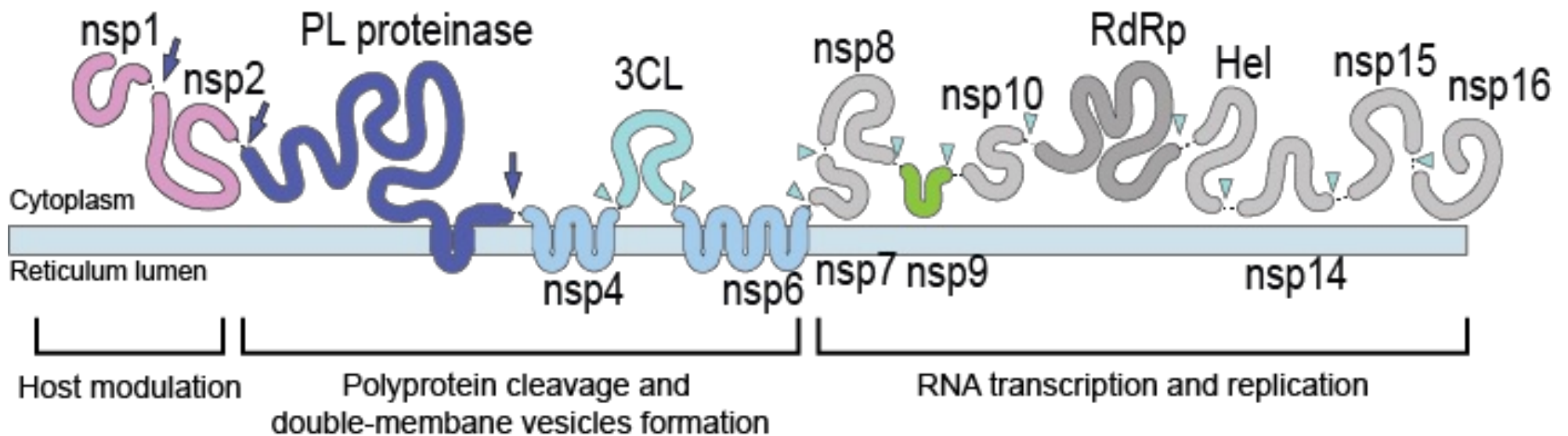
Polyprotein product expression

pp1a topology

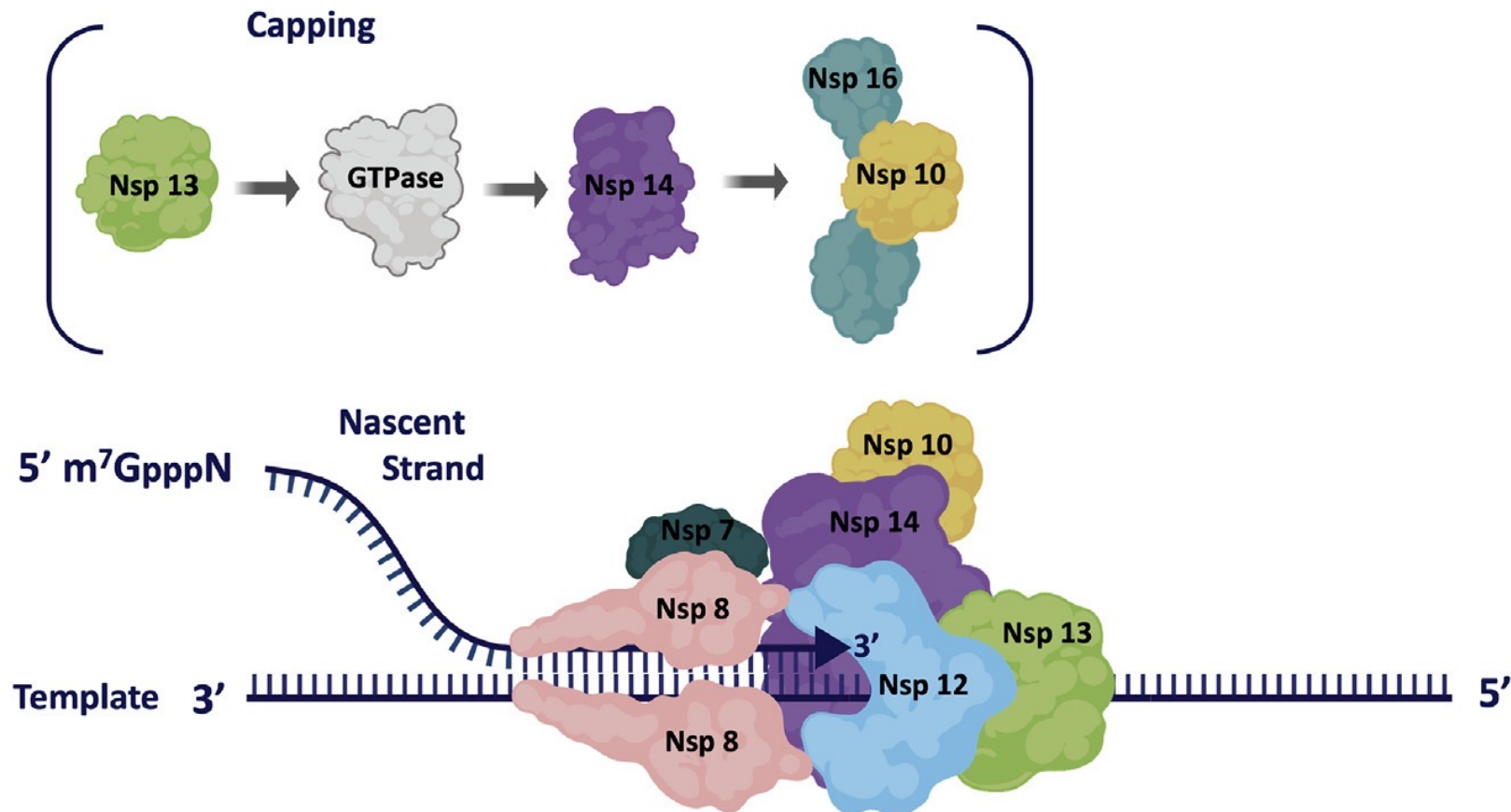


Polyprotein product expression

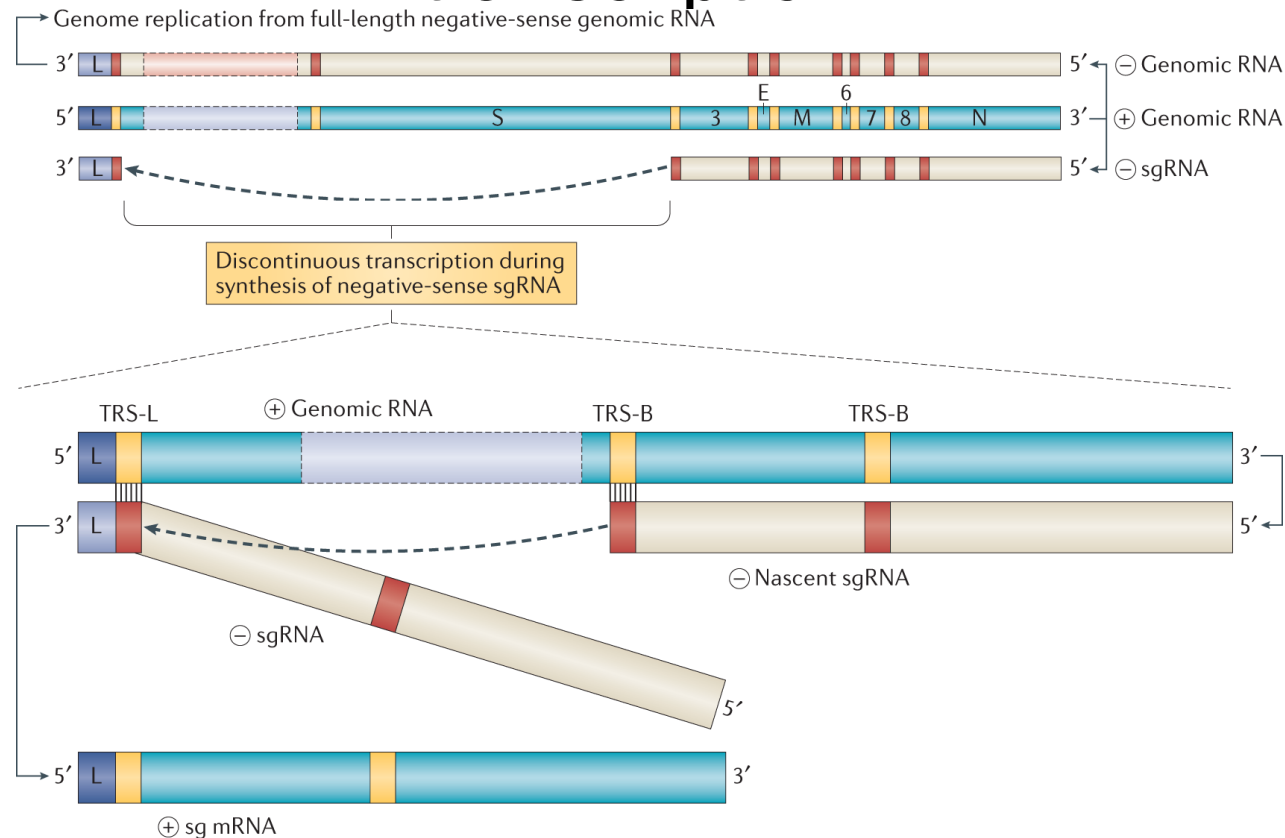
pp1ab topology



Model of the Core Replication and Proofreading Complex of SARS-CoV Nsp12-RdRp replicates and transcribes the genome and sgRNAs. Nsp7/nsp8 proteins confer processivity to the polymerase. Nsp13 unwinds dsRNA ahead of the polymerase. Nsp14-ExoN complexed with its co-factor nsp10 proofreads the nascent RNA strand and excises misincorporated nucleotides. Nsp13, an unknown GTPase, Nsp14- N7-methyltransferase, and the Nsp16-20-O-methyltransferase/Nsp10 complex are involved in the capping mechanism.

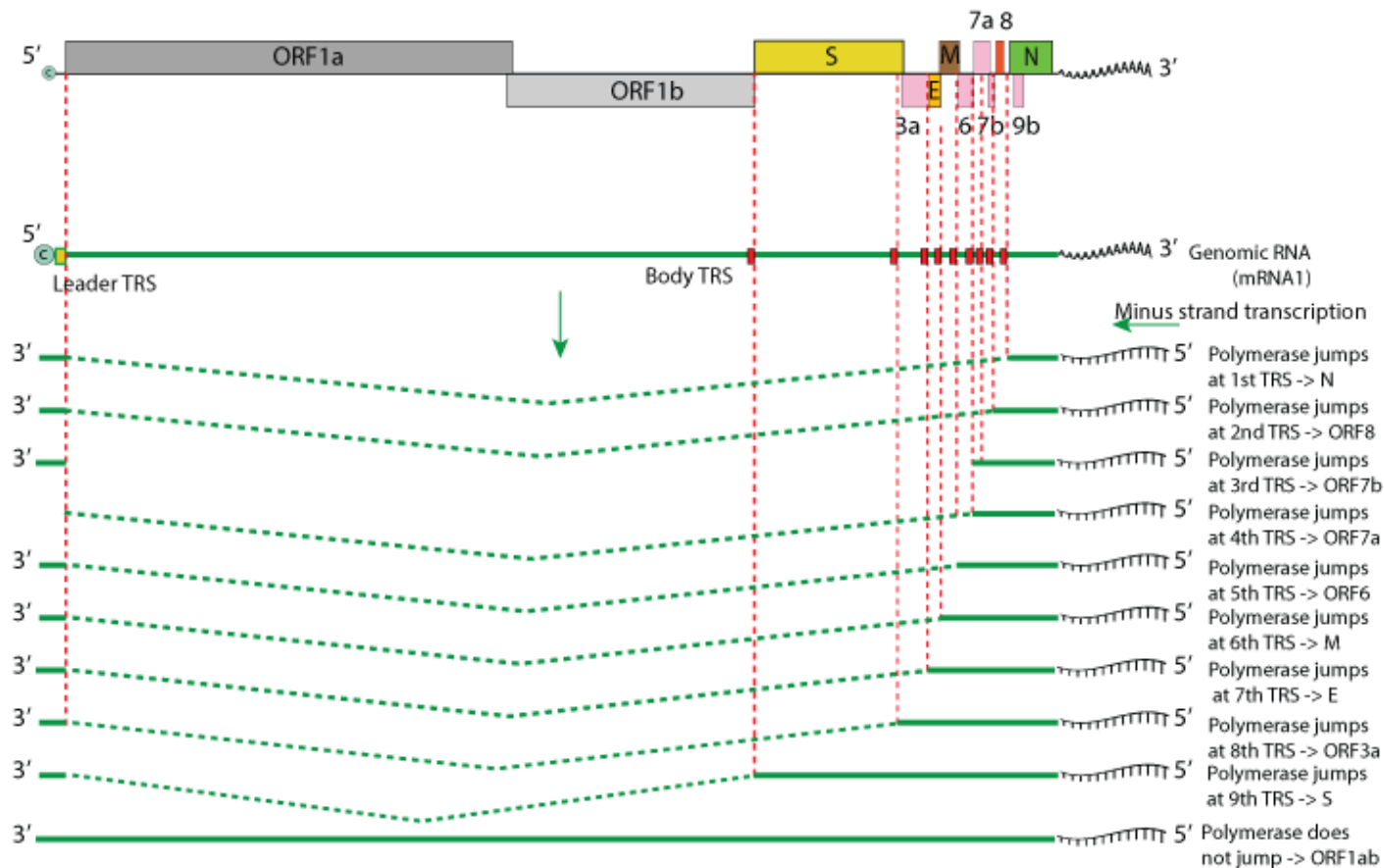


Coronavirus replication and discontinuous transcription.



Full-length positive-sense genomic RNA is used as a template to produce both full-length negative-sense copies for genome replication and subgenomic negative-sense RNAs (–sgRNA) to produce the subgenomic mRNAs (sg mRNA). The negative strand RNA synthesis involving a template switch from a body transcription regulatory sequence (TRS-B) to the leader TRS (TRS-L) is illustrated to produce one sg mRNA. This process can take place at any TRS-B and will collectively result in the production of the characteristic nested set of coronaviral mRNAs.

Discontinuous transcription



Subgenomic RNAs (sgRNAs) are created by discontinuous transcription. During transcription of minus strand RNA, the polymerase has chances to pause on **transcription-regulating sequences (TRS)** and jump to leader TRS, thereby creating a major deletion. This creates a set of 9 (-)RNAs that are subsequently replicated and translated. sgRNAs allow translation of all the structural proteins. The figure illustrates the discontinuous transcription leading into 10 different RNAs. Only mRNA1 is encapsidated and assembled in virions.

Coronavirus subgenomic mRNA products

Subgenomic mRNA are translated into four structural proteins: S, E, M and nucleocapsid (N) proteins and accessory proteins.

S (spike glycoprotein) is responsible for host cell receptor recognition and binding, and for fusion of virion envelope with endosomal membrane

E proteins are small integral membrane proteins with roles in virus morphogenesis, assembly and budding. In the absence of E proteins, virus release is inhibited completely or partially. The E protein also possesses ion channel activity, which is required for optimal virus replication.

M protein is the most abundant protein in the coronavirus virion. It is a multipass transmembrane protein. Homotypic interaction between M protein provides the scaffold for virion assembly, while heterotypic interaction recruits other structural protein and genomic RNA to the assembly site.

N protein is important for encapsidation of viral RNA and acts as an interferon (IFN) antagonist.

Accessory proteins are not required for virus replication in cultured cells.

However, they are conserved in virus species isolated at different times and locales (for example, for SARS-CoV), which suggests that these proteins have an important role in replication in the natural host. Several accessory proteins are virion-associated, although whether these proteins are truly structural is controversial.