

Corso integrato Microbiologia e Virologia
Modulo di Virologia, AA 2024/2025

Modulo di Virologia

Corso integrato Microbiologia e Virologia

Libro di testo:

Dimmock, A. J. Easton, K. N. Leppard
"Introduzione alla Virologia Moderna"
Casa Editrice Ambrosiana 2017



G. Dehò, E. Galli "Biologia dei microrganismi"
III Edizione Casa Editrice Ambrosiana 2019
Cap. 14.



Modalità esame del Modulo di Virologia

- L'esame è orale e sarà possibile sostenerlo nelle date di appello pubblicate su Infostud dai titolari del corso integrato Microbiologia e Virologia, prof Bianca Colonna per il canale 1 e prof Gianni Prosseda per il canale 2.
- Previsto un esonero a fine corso per gli studenti che hanno frequentato

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

- **Capitolo 1** (qui trovate anche illustrata la “Curva di crescita a ciclo unico” (par. 1.2) che verrà trattata nella III lezione.
- **Capitolo 2** fino a pg. 14 e paragrafi 2.4, 2.5, 2.6 e 2.7
- **Capitolo 3**

La storia della virologia

1892: il botanico Dimitri Iwanowski dimostrò che la causa della depigmentazione delle foglie di tabacco era dovuta ad un agente che passava la barriera dei filtri da batteriologia: infatti estratti di piante di tabacco ammalate potevano trasmettere la malattia ad altre piante anche dopo aver passato tali estratti attraverso filtri di ceramica abbastanza selettivi da poter trattenere anche il più piccolo batterio. Tuttavia non realizzò quanto era importante questa osservazione.



La storia della virologia

Martinus Beijerinck



He was a Dutch microbiologist & botanist who was one of the founders of virology.

He discovered VIRUSES, which he called Contagium vivum fluidum.

Clostridium beijerinckii is a gram positive, rod shaped, motile bacterium of the genus *Clostridium*.

It is named after Martinus Beijerinck.

1898 Martinus Beijerinck (1898) confermò ed estese i risultati di Iwanowski sul *Tobacco mosaic virus* e fu il primo a sviluppare il concetto di virus, a cui si riferì come “**contagium vivum fluidum**” (un agente vivente solubile)

La storia della virologia

- Freidrich Loeffler & Paul Frosch (1898) dimostrarono che un agente simile era responsabile dell'afta epizootica nel bestiame. La malattia si poteva tramettere da animale a animale con alte concentrazioni indicando che si poteva riprodurre negli animali (a differenza delle tossine).
- Il primo virus umano identificato, nel 1901, è stato quello responsabile della febbre gialla

La scoperta dei batteriofagi

➤ Frederick Twort (1915) & Felix d'Herelle (1917) sono stati i primi ad identificare i virus che infettano i batteri che d'Herelle chiamò batteriofagi (mangiatori di batteri)

Twort osservò come cambiavano morfologia le colonie di cocchi assumendo un aspetto trasparente. Una volta diventate trasparenti non erano più coltivabili e questa proprietà veniva trasmessa alle cellule con morfologia normale. Per spiegare questo fenomeno ipotizzò la presenza di virus batterici o di un enzima in grado di lisare le cellule produttrici.

D'Herelle utilizzò batteri che causavano dissenteria. E osservò che le feci dei pazienti una volta filtrate erano in grado di distruggere colture pure dei batteri precedentemente isolati

TERAPIA FAGICA o Phage therapy

La scoperta dei batteriofagi

Quindi i virus vennero identificati in termini negativi :

- non potevano essere visualizzati,
- non potevano essere coltivati in assenza di cellule vive ,
- non erano trattenuti da filtri

➤ Negli anni 1930s e nei decenni successivi, Salvador Luria, Max Delbruck e molti altri utilizzarono i batteriofagi come sistemi modello per studiare molti aspetti della virologia, comprendenti la struttura dei virus, la genetica, la replicazione etc.

➤ La storia della virologia è la storia dello sviluppo di sistemi e strumenti sperimentali che potevano permettere lo studio dei virus, attraverso il quale si sono aperte intere nuove aree della biologia.

Proprietà generali dei virus

- Parassiti intracellulari obbligati → Mancano di tutte, o la maggior parte delle informazioni genetiche che codificano l'apparato necessario per la produzione di energia metabolica e per la sintesi proteica
- Le particelle virali (**virioni**) sono formate da acido nucleico rivestito da un involucro proteico (**capside**). In alcuni virus è presente una membrana pericapsidica contenente lipidi e glicoproteine (**envelope**)
- Il genoma virale consiste di DNA o RNA, ma non di entrambi.
- Il genoma virale guida la sintesi delle componenti virali all'interno di una cellula ospite appropriata.

Proprietà generali dei virus

Le particelle virali sono prodotte come risultato dell'**assemblaggio** di componenti preformate:

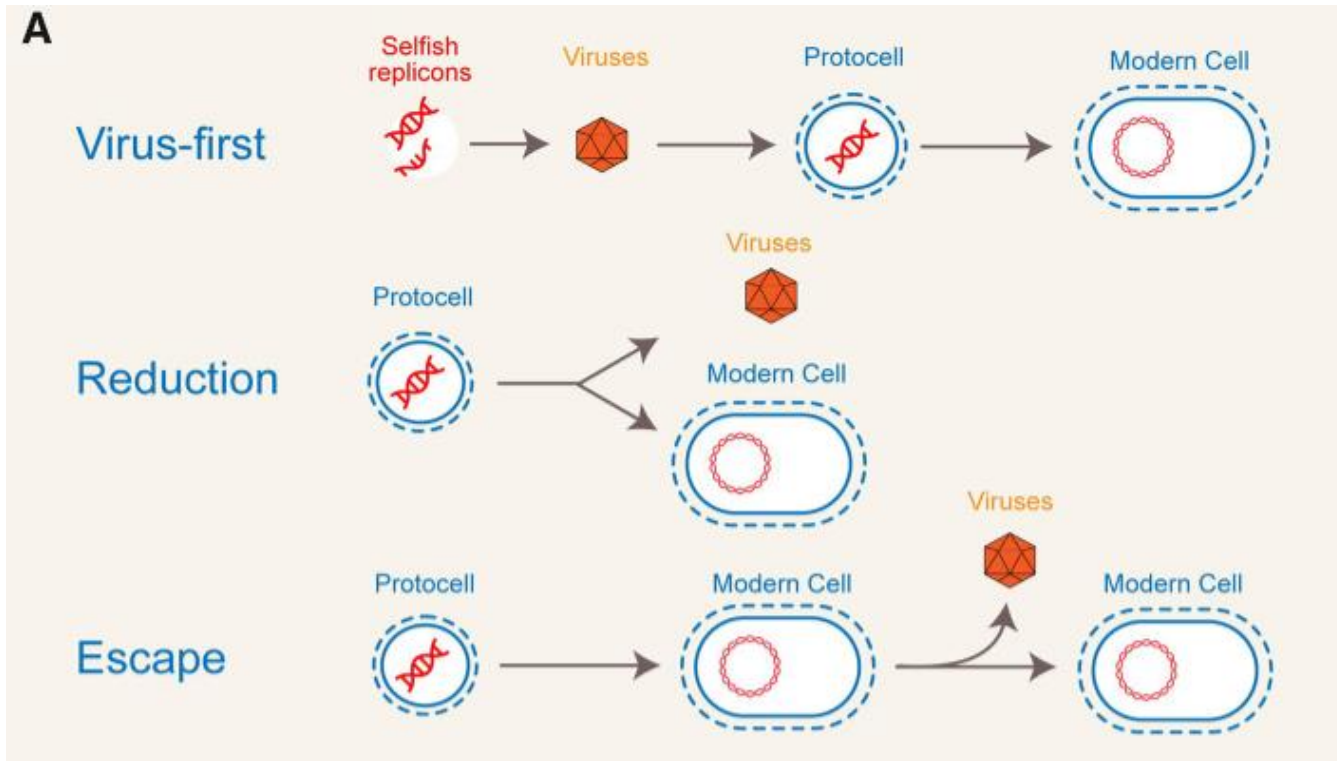
- Le cellule “crescono” grazie all’aumento controllato dei loro componenti e si moltiplicano mediante il processo di divisione.
- **I virioni non crescono e non vanno incontro a divisione.**

Da dove si originano i virus?

Le teorie più diffuse

1. Virus «per primi»: i virus preesistono alla cellula primordiale
2. Teoria degenerativa o riduttiva : i virus possono essere derivati da cellule procariote od eucariote che hanno perso le loro funzioni
3. Teoria della Escape (fuga) : alcune parti di acidi nucleici possono essere trasferiti accidentalmente in una cellula di una specie diversa ed invece di essere degradate possono catturare dei componenti cellulari ed aver cominciato a replicarsi

Le analisi di sequenziamento ci permettono di capire le relazioni tra virus differenti ma non riescono a chiarire sulle correttezza delle diverse teorie



Models of viral evolution. (A) Classic frameworks of viral evolution associate virus origins to the origin of the virion or its components.

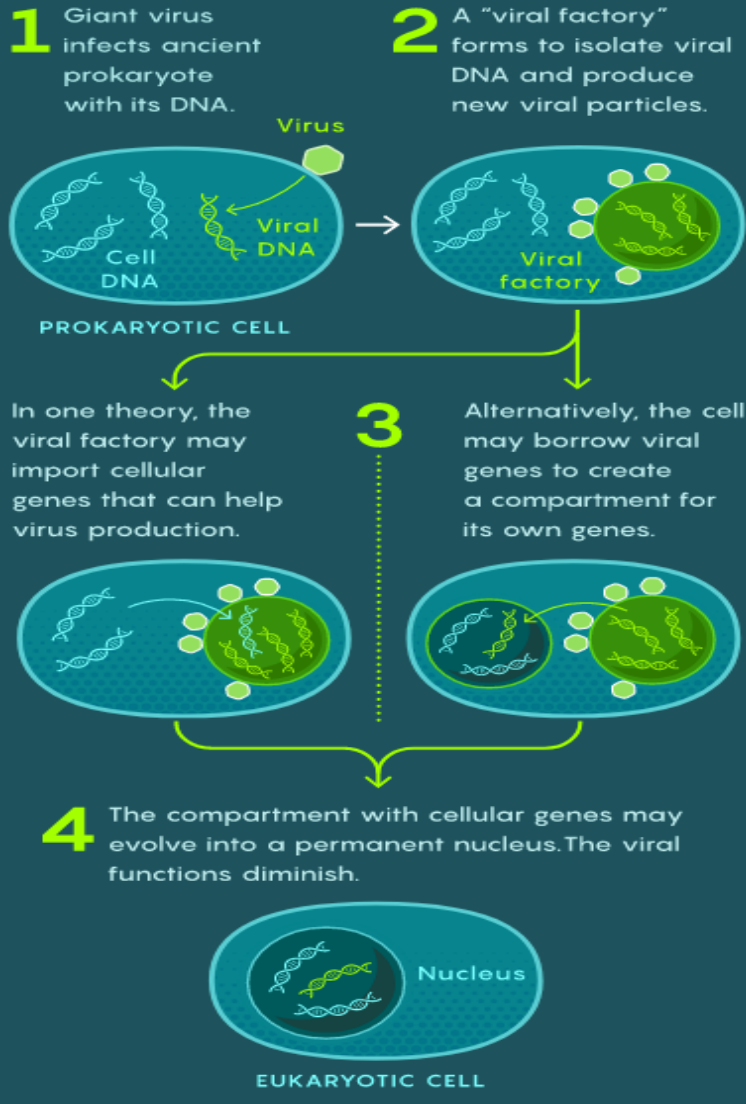
The *virus-first* hypothesis postulates ancient origins of viruses that preceded cellular life.

The *reduction* hypothesis suggests that the origin of cells preceded that of viruses, with DNA viruses evolving via reduction in their genomes.

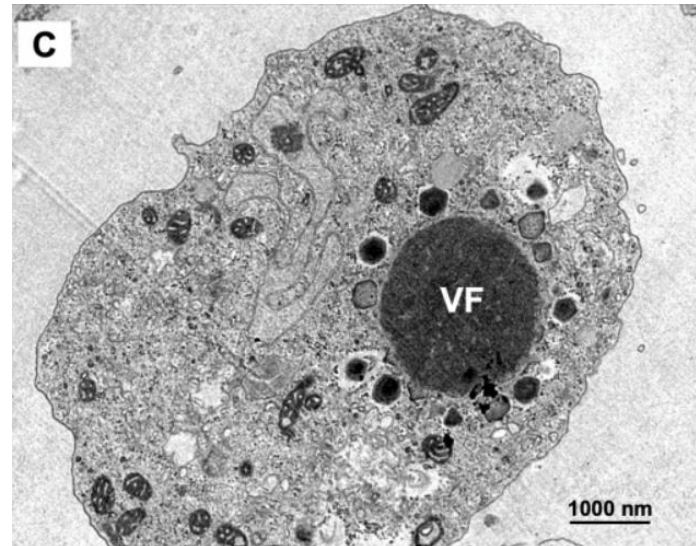
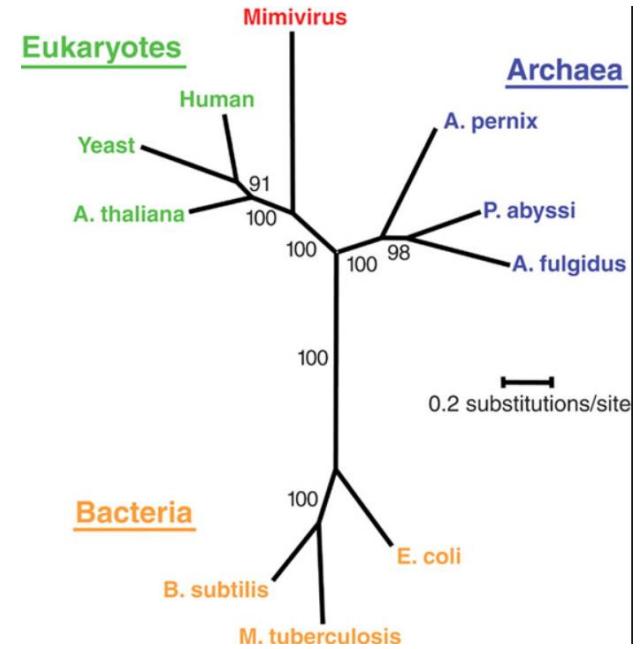
The *escape* hypothesis deems viruses as selfish genetic elements that escaped control of cellular machinery and 'pickpocketed' genes via HGT.

How Viruses Could Make a Nucleus

Some viruses create “viral factory” compartments inside cells. Scientists have imagined two ways in which viral factories might have given rise to a true eukaryotic nucleus.



e....se fosse stato un virus a creare il nucleo degli eucarioti?



VF Viral Factory

I virus sono elementi genetici infettivi capaci di esistere in due fasi diverse:
una fase intracellulare ed una fase extracellulare.

Fase intracellulare:

L'elemento genetico può moltiplicarsi utilizzando molte funzioni fornite dalla cellula ospite (metabolismo energetico, biosintetico biosintesi delle macromolecole quali DNA, RNA, proteine)

Fase extracellulare:

L'acido nucleico che contiene l'informazione virale è racchiuso in un involucro proteico che costituisce la particella virale definita **Virione**.

Il virione

- è in grado di sopravvivere ma non di moltiplicarsi nell'ambiente extracellulare e di infettare una nuova cellula.
- contiene un solo tipo di acido nucleico DNA o RNA
- rappresenta la forma di sopravvivenza con cui il virus si diffonde da una cellula all'altra

Fase di riproduzione avviene esclusivamente all'interno della cellule ospite con modalità diverse

VIRUS per riprodursi

- non vanno incontro a divisione binaria
- ne si accrescono
- si formano per assemblaggio di componenti preformati che sono sintetizzati de novo dalla cellula ospite in base all'informazione genetica del virus

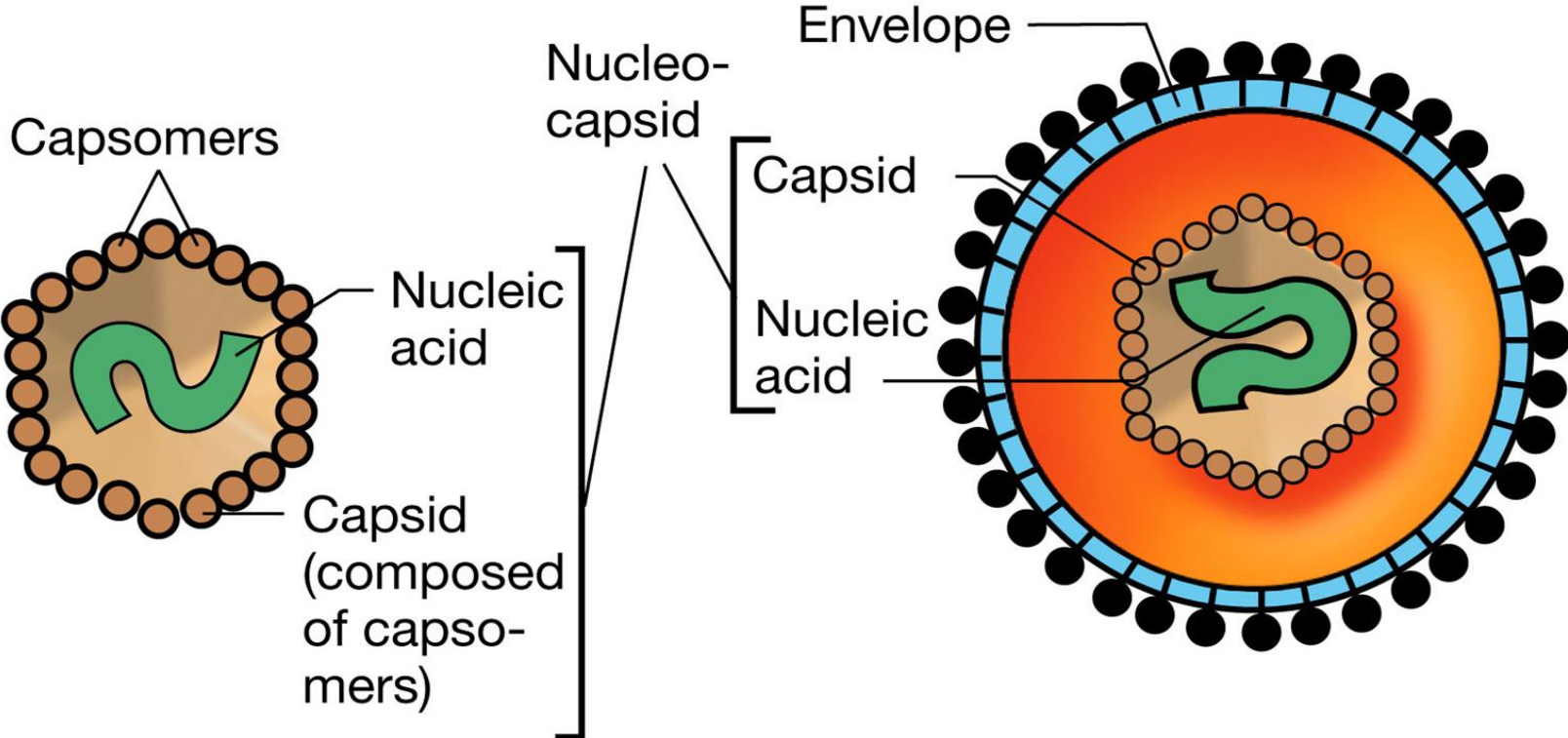
Le particelle neoformate sono i virioni che costituiscono la forma extracellulare che permette:

- la diffusione
- la trasmissione del genoma tra le cellule ospiti:

VIRIONE

costituito da genoma virale rivestito da un involucro protettivo definito un capside

Struttura del virione



Naked virus

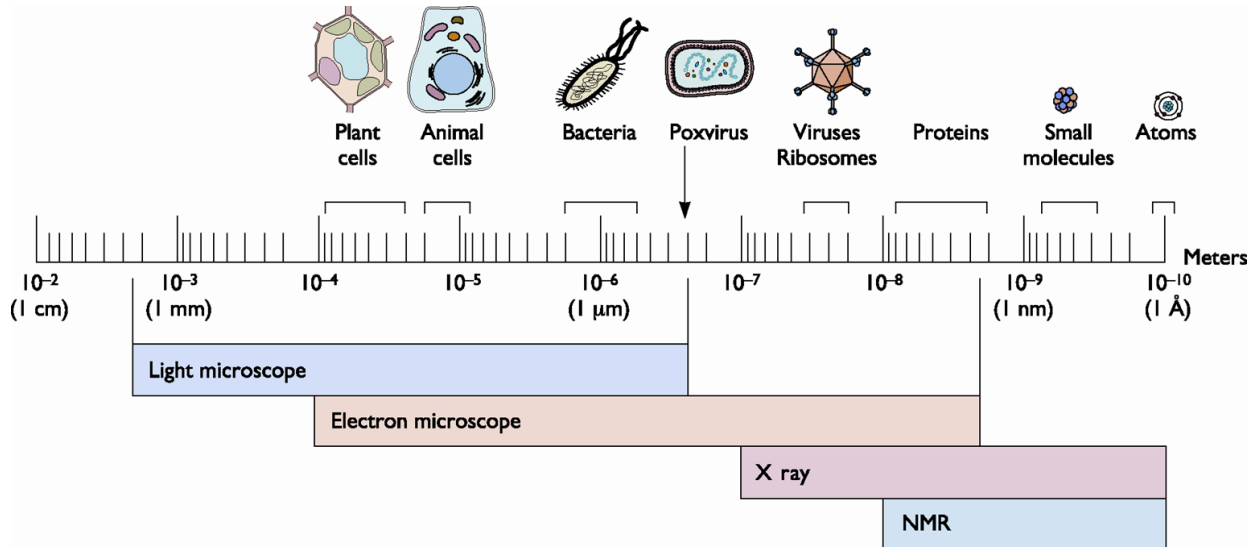
Enveloped virus

Virus nudi

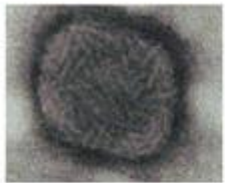
Virus con envelope

Dimensioni

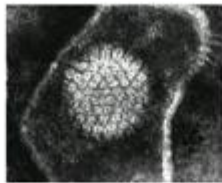
➤ Dimensioni sub-microscopiche 20-400 nm



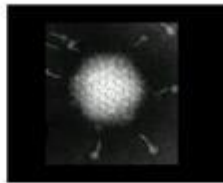
Forme



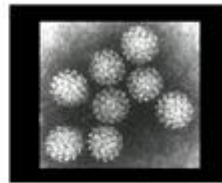
Poxviridae



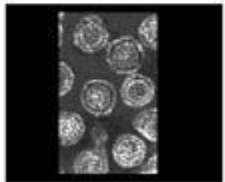
Herpesviridae



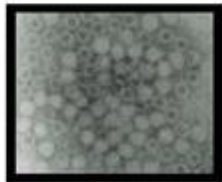
Adenoviridae



Papovaviridae
human papilloma



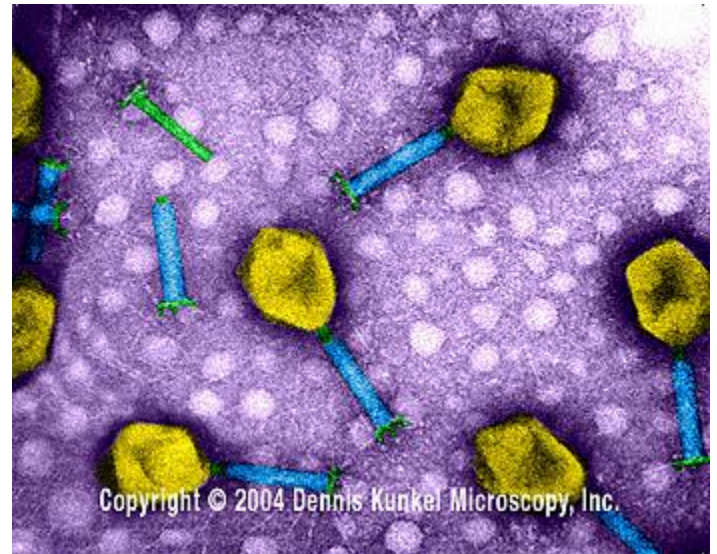
Hepadnaviridae



Parvoviridae

DNA Viruses

— 100 nanometers



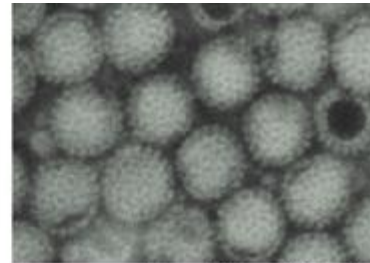
Forme



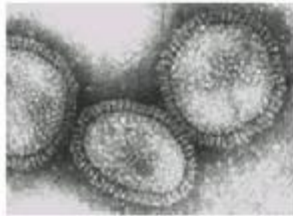
Paramyxoviridae (NS-)



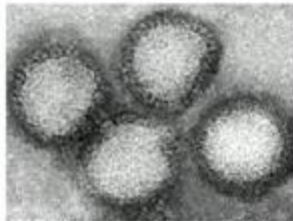
Rhabdoviridae (NS-)



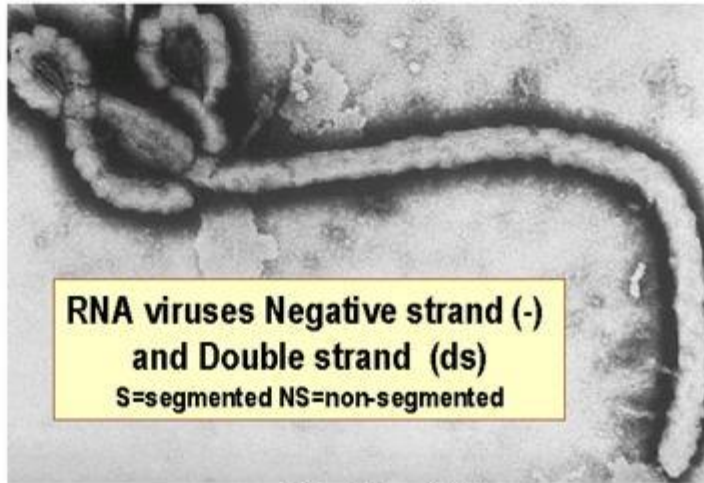
Reoviridae (S,ds)



Orthomyxoviridae (S-)



Bunyaviridae (S-)



100nm

**RNA viruses Negative strand (-)
and Double strand (ds)
S=segmented NS=non-segmented**

Filoviridae (NS-)

Come si classificano i virus?

Coesistono due sistemi di classificazione principali

Il **sistema classico** e il sistema di **classificazione di Baltimore**

Nel sistema classico i virus sono classificati in base a proprietà condivise correlate alla morfologia e acido nucleico del genoma quali:

- Natura dell'acido nucleico
- Simmetria del capsido
- Presenza o assenza di involucro pericapsidico
- Dimensioni del virione e del capsido

Criteri di classificazione

- Natura dell'acido nucleico
- Simmetria del rivestimento proteico
(capside)
- Presenza o assenza di involucro lipidico
(envelope)
- Configurazione del genoma

ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses)

Tramite ICTV sono state stabilite le regole di classificazione e la classificazione in livelli gerarchici

Ordine

Famiglia

Sottofamiglia

Genere

Specie

La **Specie** rappresenta il livello di classificazione primario costituita da virus con proprietà in comune che costituiscono una linea replicativa in un determinato habitat.

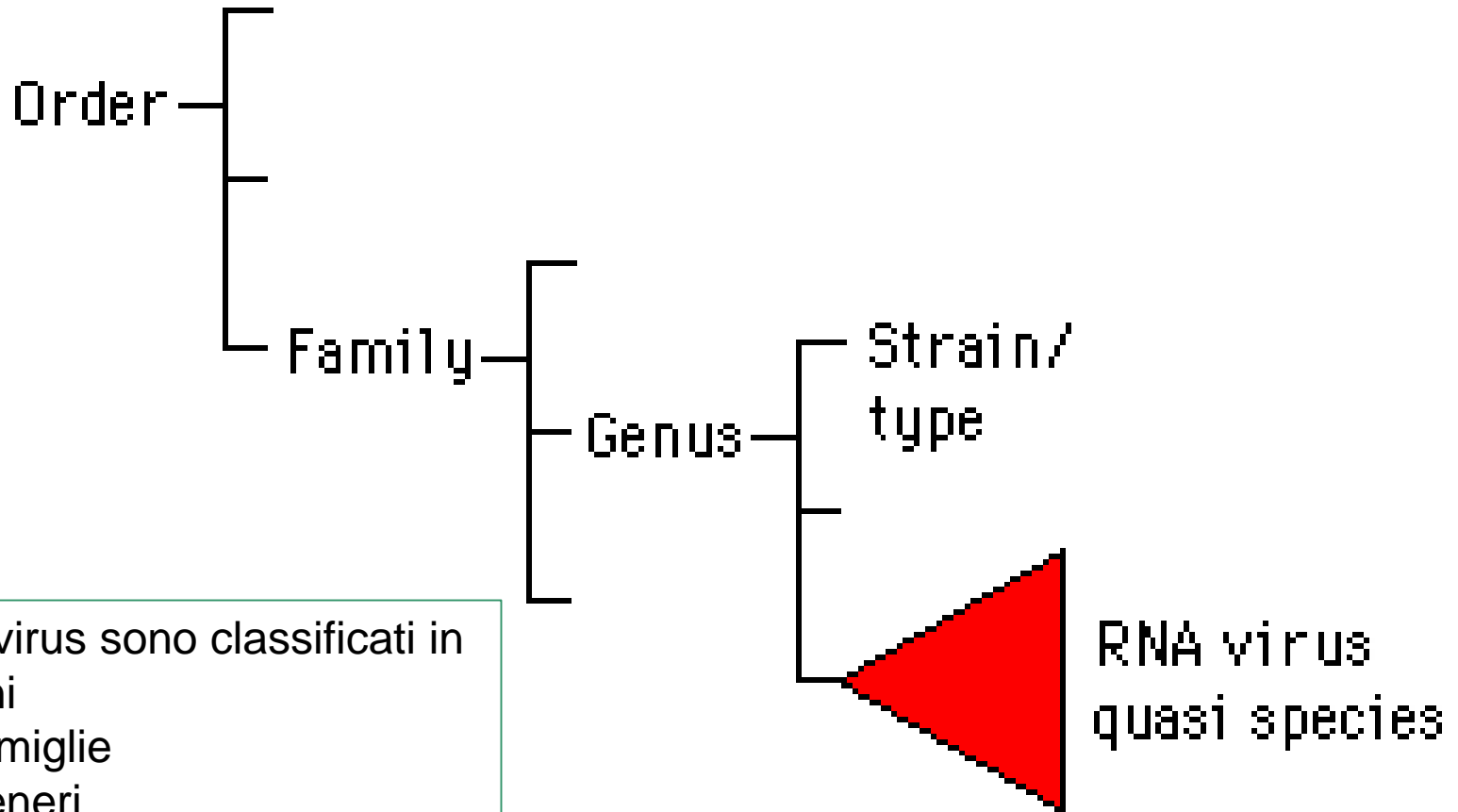
Le specie virali sono poi raggruppate in **Generi** che sono a loro volta inseriti in **Famiglie** e al disopra di tutto troviamo gli **Ordini**

Grazie alle tecniche di sequenziamento, la classificazione è variata negli ultimi anni permettendo di identificare nuove specie virali senza ricorrere all'isolamento ma solo con il sequenziamento. Il numero delle famiglie virali è incrementato del 30% !!

Classificazione tassonomica

(ICTV fondato fine anni '60)

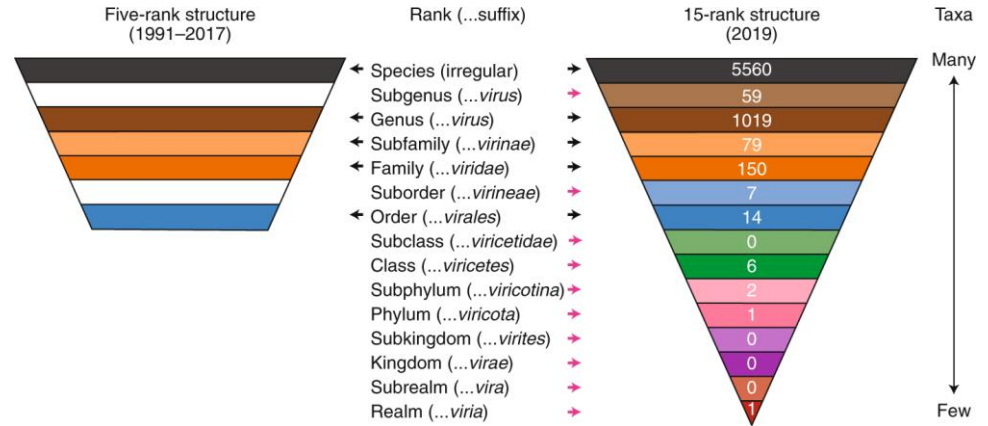
Gerarchia. L'ordine ha suffisso –virales. La famiglia ha suffisso -viridae. La sottofamiglia ha suffisso –virinae. Il genere ha suffisso virus. La specie?



Tutti i virus sono classificati in
8 ordini
125 famiglie
735 generi
4000 specie

A comparison of the ICTV (International Committee on Taxonomy of Viruses) taxonomic rank hierarchy in 1991–2017 and 2019

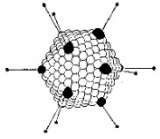
Taxonomic ranks are shown in relation to the distribution pattern of taxa. The number of taxa assigned to each rank (as recorded in the current ICTV Master Species List, release 2018b, MSL34) are shown in white font on the 15-rank structure. When the ranks are described as a hierarchy, the species rank is often referred to as the lowest rank and the realm rank as the highest rank. However, when the ranks are used as phylogenetic terms, the realm rank can be described as basal and the species rank as apical or terminal. Both conventions are used in this Consensus Statement. Black arrows, ranks common to the five- and 15-rank structure; pink arrows, ranks introduced in the 15-rank structure.



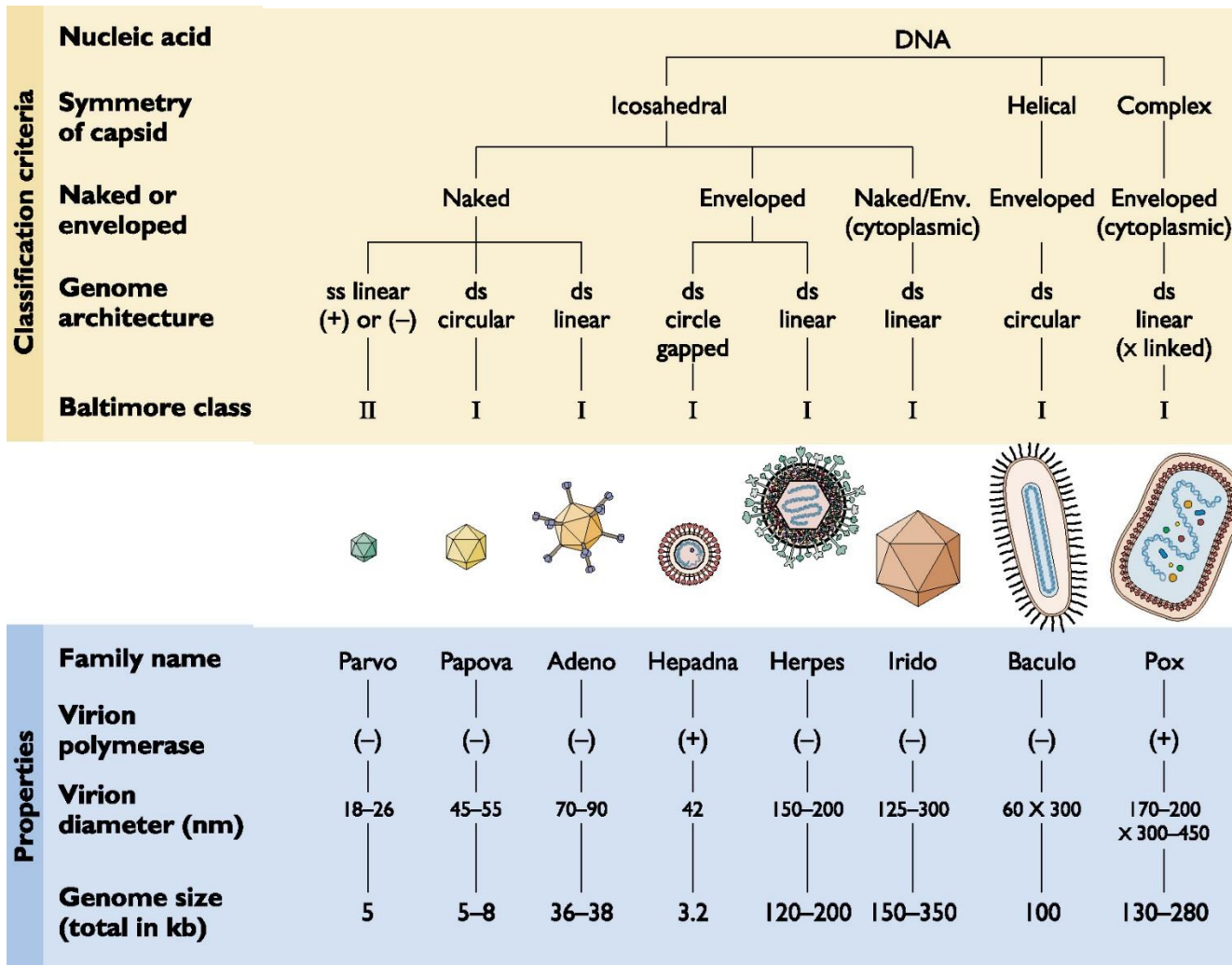
Confronto tra la classificazione usata fino al 2017 e quella più recente:

- inizialmente suddivisione solo in 5 categorie (Specie, Genere, Subfamiglie, Famiglie e Ordini).

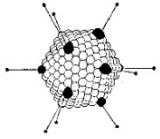
Successivamente aggiunti Dominio, Subdominio, Phylum, Classe, Subclasse, Sub ordine, sub genere...











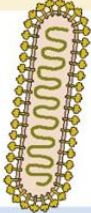
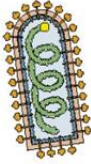


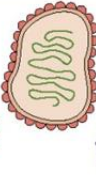

Forme e dimensioni dei virus a DNA



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



Forme e dimensioni dei virus a RNA

| Classification criteria | RNA | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------------|---|---|---|---|---|---|--|---|---|---|---|---|---|---|
| | Icosahedral | | | | | | | Helical | | | | | | |
| | Naked | | | | Enveloped | | | Enveloped | | | | | | |
| | ds 10-18 seg. | ds 2 seg. | (+) ss cont. | (+) ss cont. | (+) ss cont. | (+) ss cont. | (+) ss 2 copies | (+) ss cont. | (-) ss cont. | (-) ss cont. | (-) ss 3 seg. | (-) ss 8 seg. | (-) ss cont. | (-) ss 2 seg. |
| | III | III | IV | IV | IV | IV | VI | IV | V | V | V | V | V | V |
| |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Properties | Reo | Birna | Calici | Picorna | Flavi | Toga | Retro | Corona | Filo | Rhabdo | Bunya | Orthomyxo | Paramyxo | Arena |
| Virion polymerase | (+) | (+) | (-) | (-) | (-) | (-) | (+) | (-) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) | (+) |
| Virion diameter (nm) | 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 |
| Genome size (total in kb) | 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 |

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

Vi sono limiti alle dimensioni dei genomi

I virus a DNA presentano una maggiore variabilità vanno da 1.5-3 kb come nei Circoviridae (i virus a DNA ss sono più piccoli) fino a diverse centinaia di kb come nel caso dei Mimivirus che infettano alcuni protozoi e arrivano fino a 1200 kb.

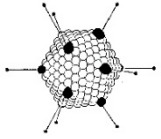
I genomi dei virus a RNA sono di piccole dimensione ed arrivano ad un massimo di 30Kb nei famosi Coronavirus.

Come è organizzato il genoma virale nel capsido ?

Generalmente i virus con genomi piccoli a RNA o a DNA liberano la molecola di acido nucleico come nuda. Con l' aumentare delle dimensioni dei genomi o con la frammentazione si osserva l'associazione con specifiche proteine virali in grado di legare gli acidi nucleici. Non si osserva la presenza di istoni complessati con gli acidi virali (ad eccezione dei Polyomaviridae).

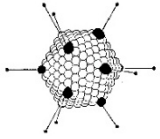
I genomi virali possono assumere delle configurazioni complesse per la loro capacità di ripiegarsi in strutture secondarie o terziarie.

La conformazione del genoma ha un ruolo rilevante in quanto le sequenze posizionate all'estremità e la loro struttura sono cruciali per la replicazione, sintesi mRNA, traduzione e impacchettamento nel capsido



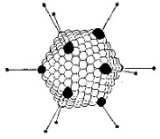
Genoma dei virus

Virus a DNA: tra questi, quasi tutti i virus animali contengono DNA a doppio filamento, con l'eccezione dei *Parvoviridae* (virus adeno-associati) e dei *Circoviridae*.



Genoma dei virus

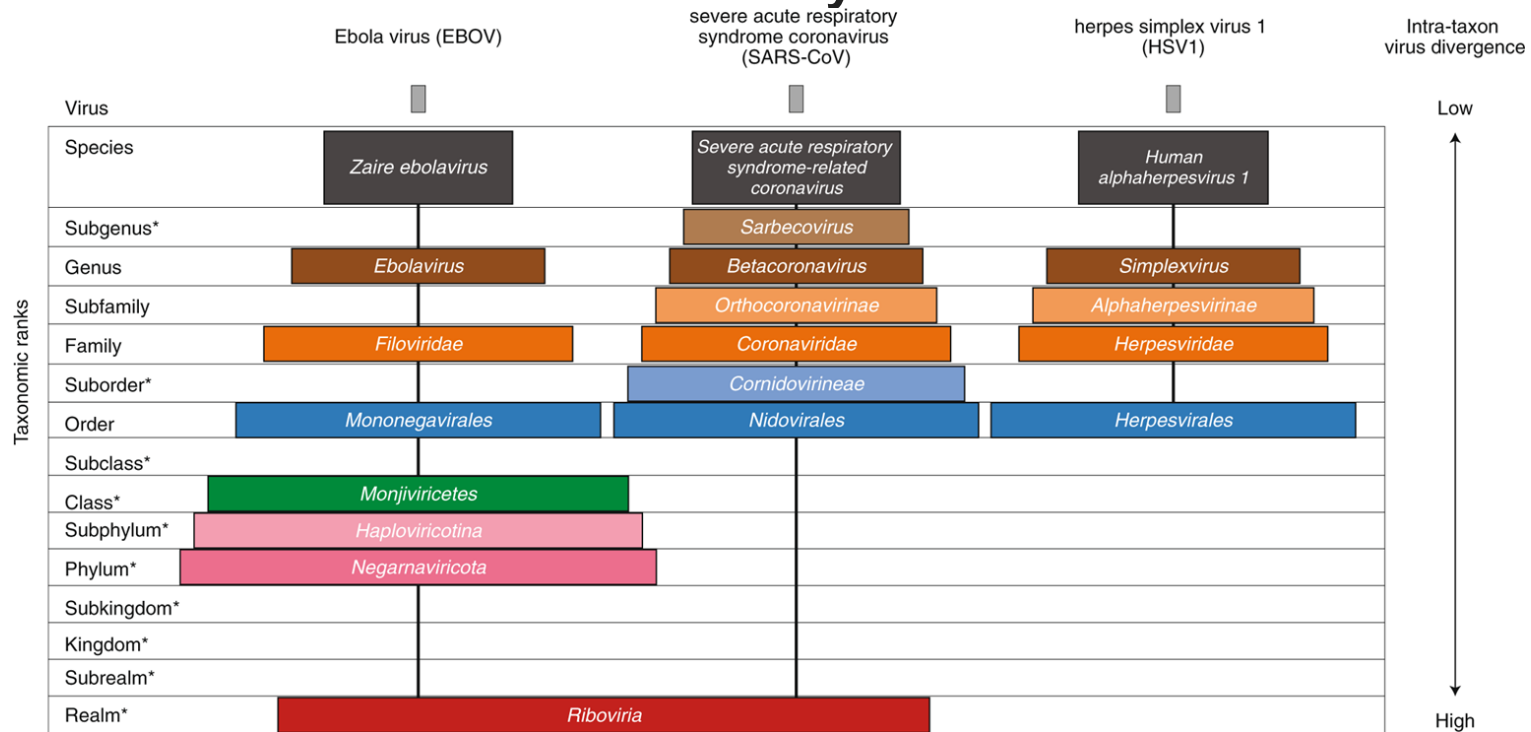
Virus a RNA: quasi tutti i virus a RNA contengono RNA a singolo filamento, con l'eccezione dei *Reoviridae* (p.e. *rotavirus*) che contengono RNA a doppio filamento. I virus ad RNA a singolo filamento sono ulteriormente suddivisi in:



Genoma dei virus

- **Virus con genoma a RNA a filamento positivo:** cioè genomi con la stessa polarità dell'RNA messaggero. I retrovirus contengono due copie di RNA+
- **Virus con genoma ad RNA a filamento negativo:** cioè genomi con polarità opposta a quella dell'RNA messaggero. Alcune famiglie hanno genoma **monopartito**, **ordine** dei ***Mononegavirales*** (*rhabdoviridae*, *paramixoviridae* e *filoviridae*); altre hanno un genoma segmentato (*orthomyxoviridae* con 8 o 7 segmenti, *arenaviridae* con 2 segmenti e *bunyaviridae* con 3 segmenti). Queste ultime due famiglie sono uniche in quanto possiedono un genoma definito **ambisenso** (cioè un genoma contenente RNA a polarità sia + che -)

Classification of EBOV, SARS-CoV and herpes simplex virus 1 in the 15-rank taxonomic hierarchy



Intra-cluster virus divergence, which increases from the virus to the species rank to the realm rank, is represented by the increasing width of the respective rectangles, which are not drawn to scale. EBOV is most closely related to, but distinct from, Bombali, Bundibugyo, Reston, Sudan and Tai Forest viruses, which belong to separate species included in the *Ebolavirus* genus. SARS-CoV is one of several closely related coronaviruses isolated from humans and animals, such as palm civets and bats, and are included in the species *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus*. Herpes simplex virus 1 is one of two human herpesviruses belonging to different species in the *Simplexvirus* genus. Ranks that were introduced with the extended rank structure are indicated by an asterisk.