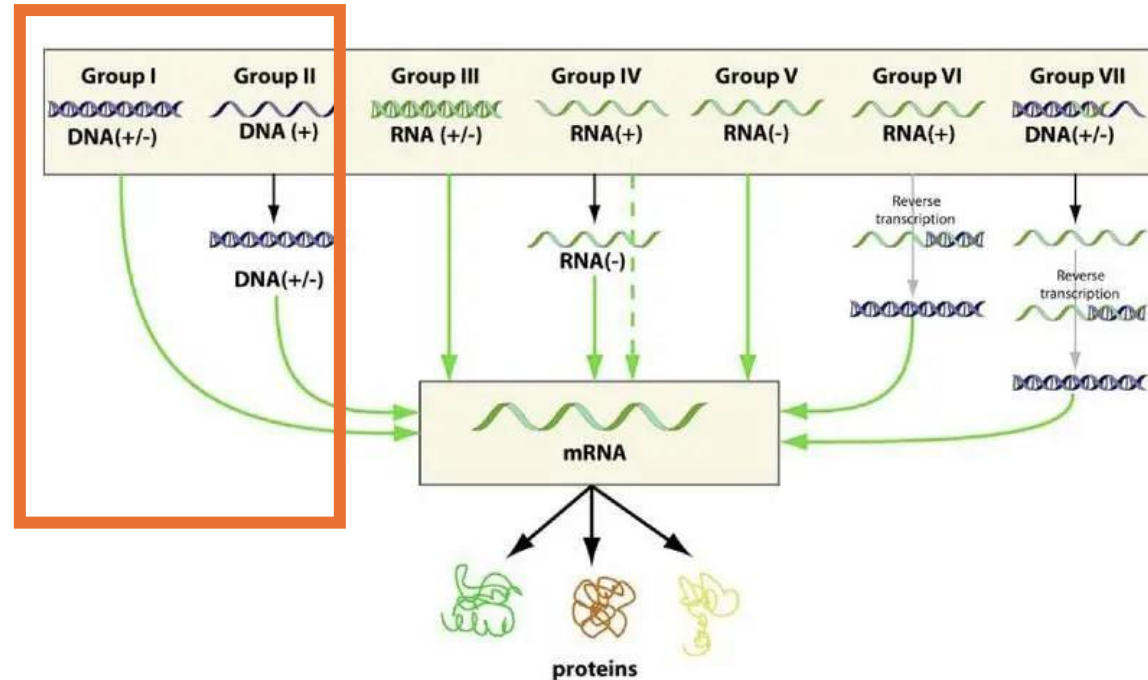


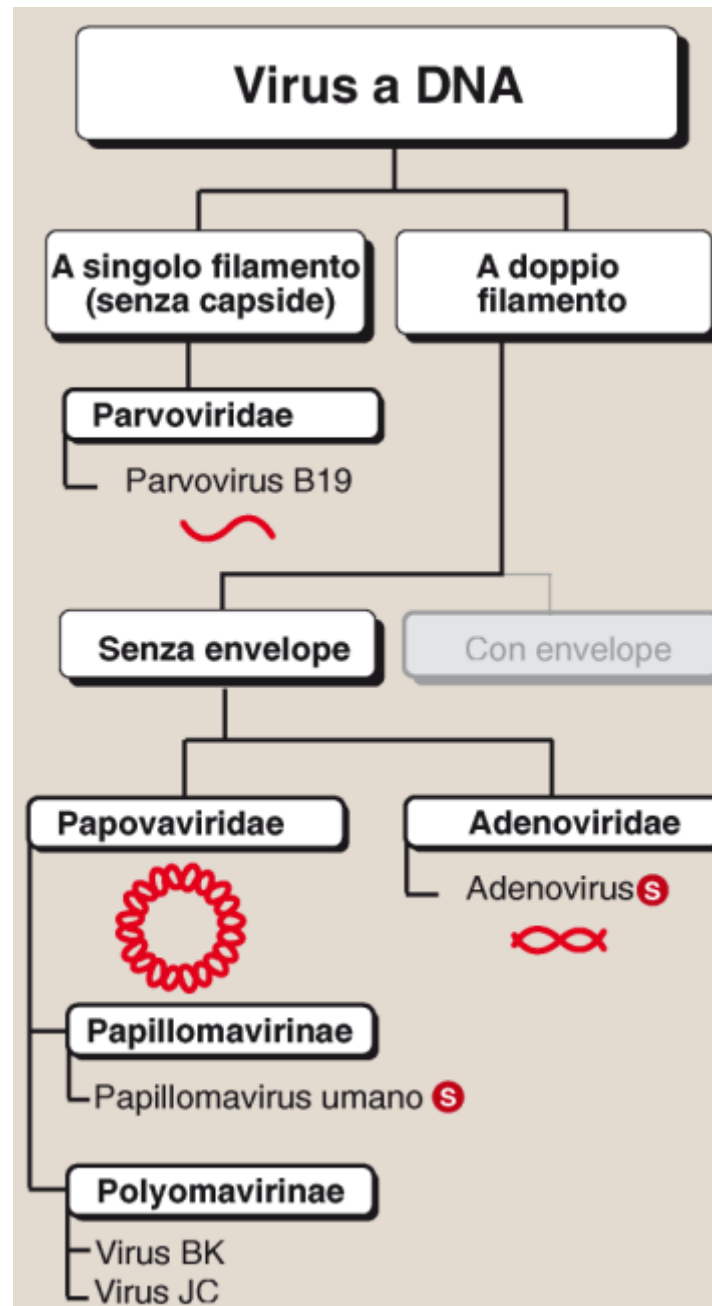
Virus a DNA (classi I e II di Baltimore)

Nonostante ci si aspetterebbe che i virus a DNA utilizzino schemi di replicazione simili tra loro e compatibili con quelli utilizzati dai loro ospiti, sappiamo che i genomi a DNA dei virus utilizzano variazioni dei meccanismi di replicazione, almeno quanti ne sono noti per i virus a RNA.



Tale varietà si riscontra anche nelle caratteristiche di questi virus, conosciamo virus a DNA :

- nudi e dotati di «envelope»
- a doppio e singolo filamento
- che replicano il loro genoma (e lo trascrivono) nel nucleo o nel citoplasma del loro ospite eucariotico.
- con genomi multipartitici (alcuni virus vegetali)



Papovavirus: (papilloma, polioma, vacualating)

Divisi in due famiglie distinte : i poliomasvirus e i papillomavirus

Si tratta di **virus specie specifici**, non dotati di pericapside (**nudi**) e con capsidi di circa 40-50 nm di diametro.

Questi sono a struttura icosaedrica (70 capsomeri di 5-7 proteine) e ospitano un DNA a doppio filamento circolare di 5-8 kb.

Il DNA nel capside è complessato con proteine istoniche dell'ospite

Il DNA si **replica nel nucleo** della cellula ospite.

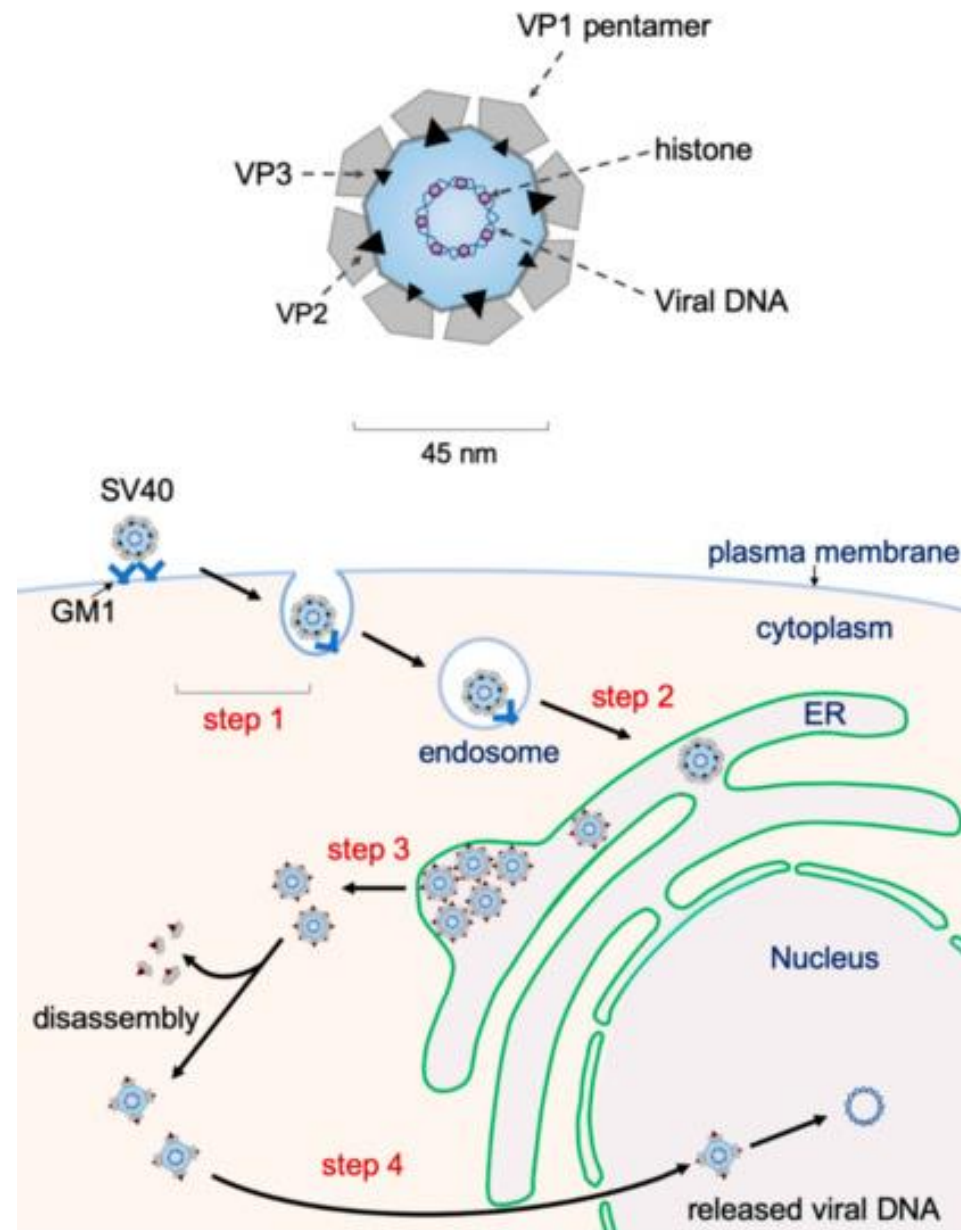
Sono solitamente **citocidi**.

- I poliomasvirus sono **potenzialmente concogeni** e si possono coltivare in vitro
- I papillomavirus non crescono in coltura e sono **oncogeni** negli ospiti naturali, incluso l'uomo.

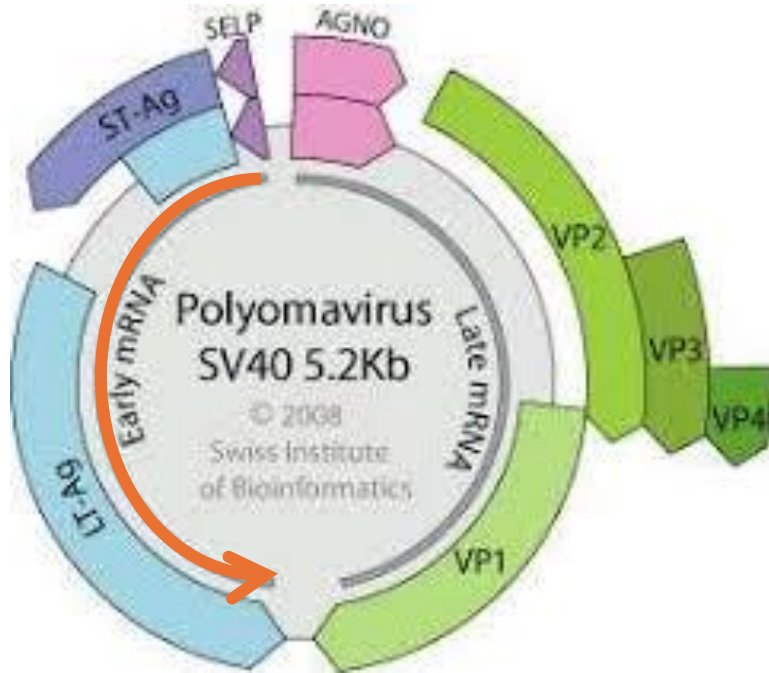
Poliomavirus:

- Py (murine polyomavirus)
- SV40 (simian vacuolating-agent)
- BK } Virus umani
- JC }

SV40: meccanismo di infezione



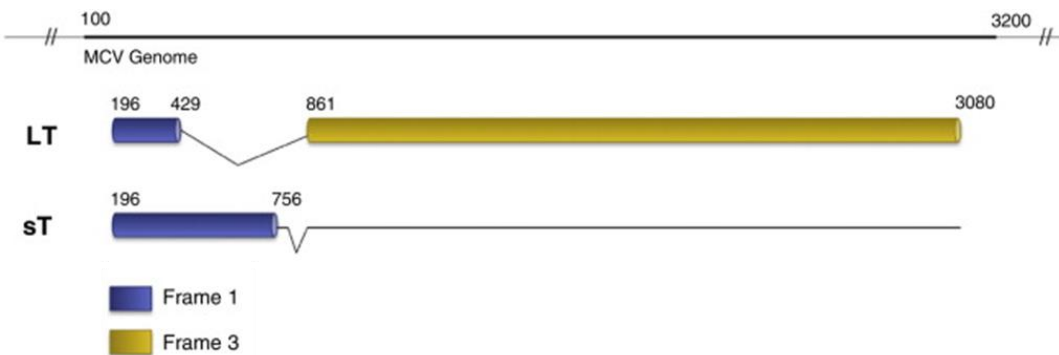
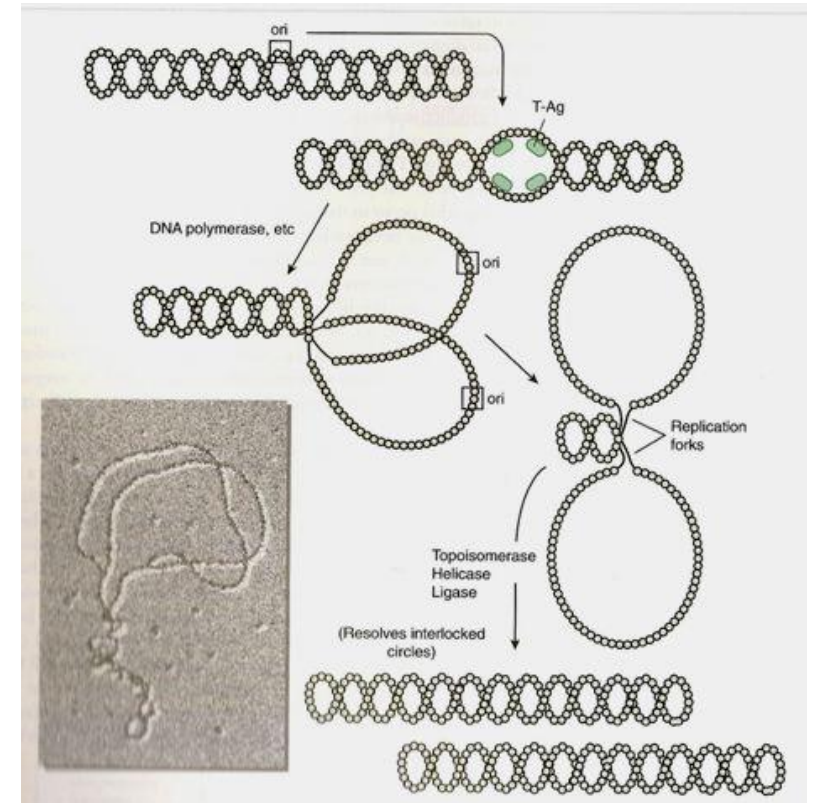
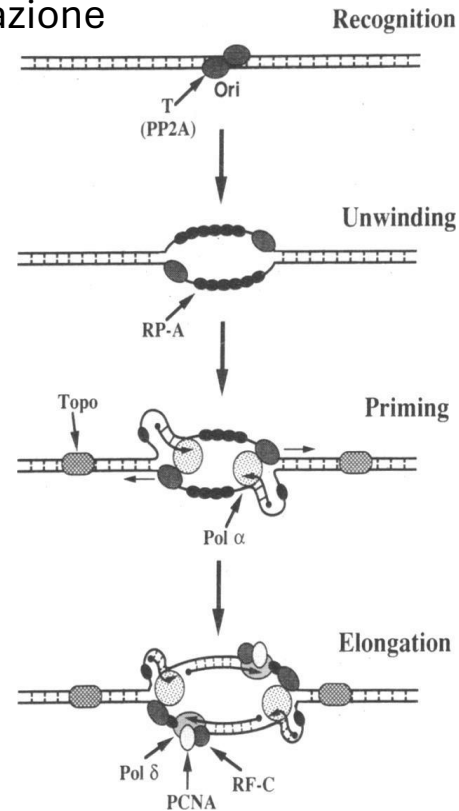
Immediatamente dopo l'arrivo nel nucleo, vengono trascritti gli mRNA dei geni precoci, questi trasportati nel citoplasma per la sintesi delle principali due proteine precoci : l'Antigene T piccolo (ST-Ag, Small T antigene) e l'Antigene T Grande (LT-Ag, Large T antigene)



LT-Ag si lega all'origine di replicazione di SV40 e, attraverso la sua **funzione elicastica**, innesca la replicazione



LT-Ag

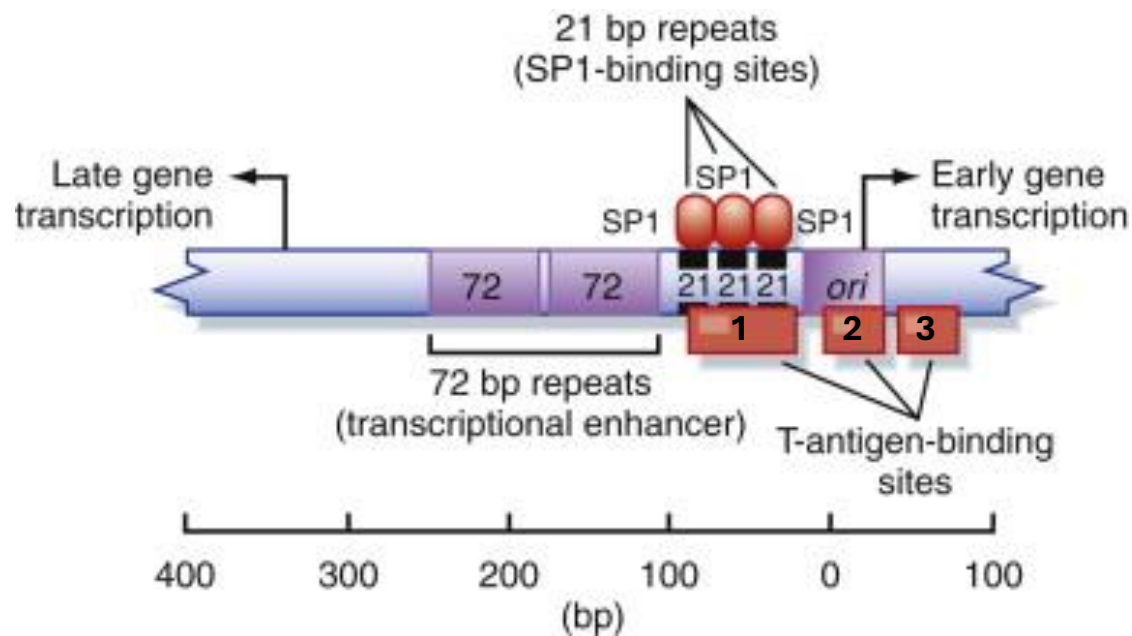


SV40: meccanismo di regolazione espressione genica

Quando, appena dopo l'entrata del genoma nel nucleo, i geni precoci sono trascritti in virtù dell'enhancer e del legame con fattori trascrizionali cellulari (SP1), si ha la sintesi dei primi livelli di LT-Ag che si lega all'origine (binding site 2) e la induce, contemporaneamente aumentando la trascrizione dal promotore precoce (iniziale effetto induttivo).

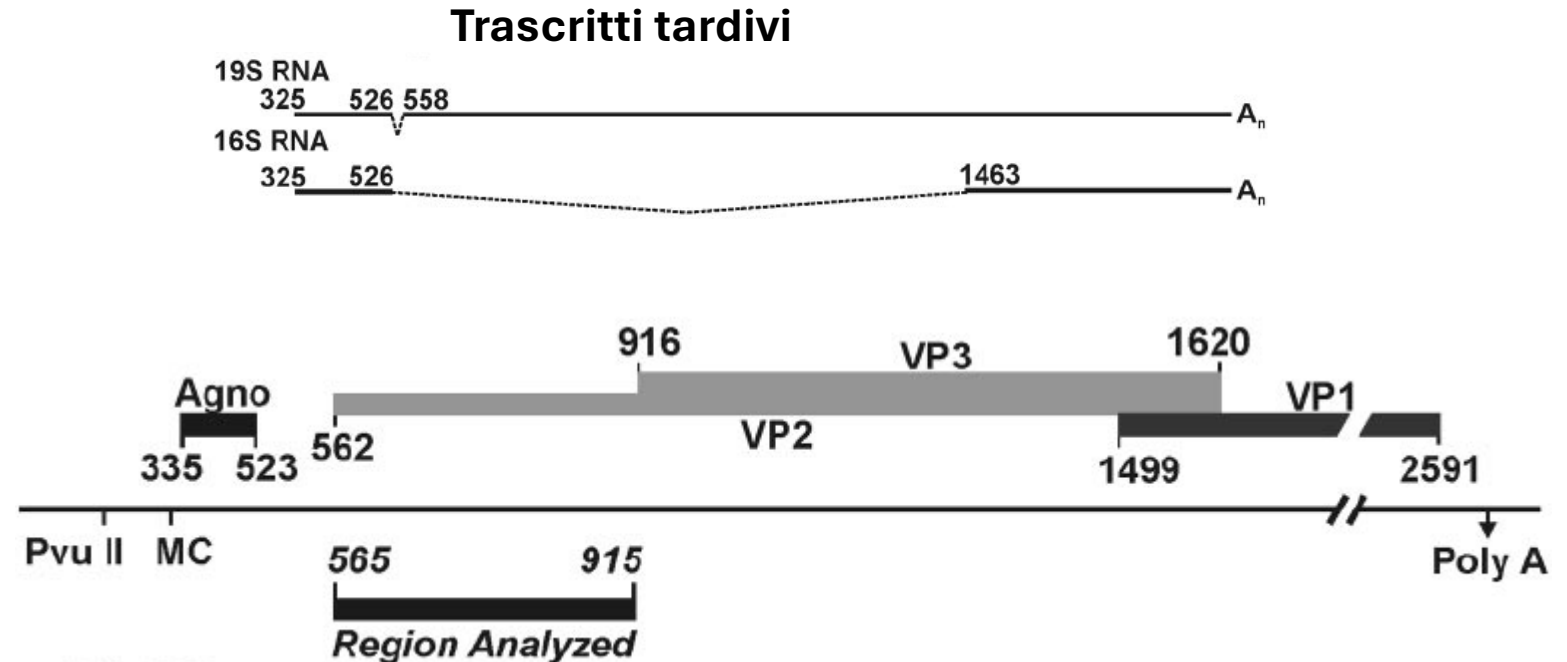
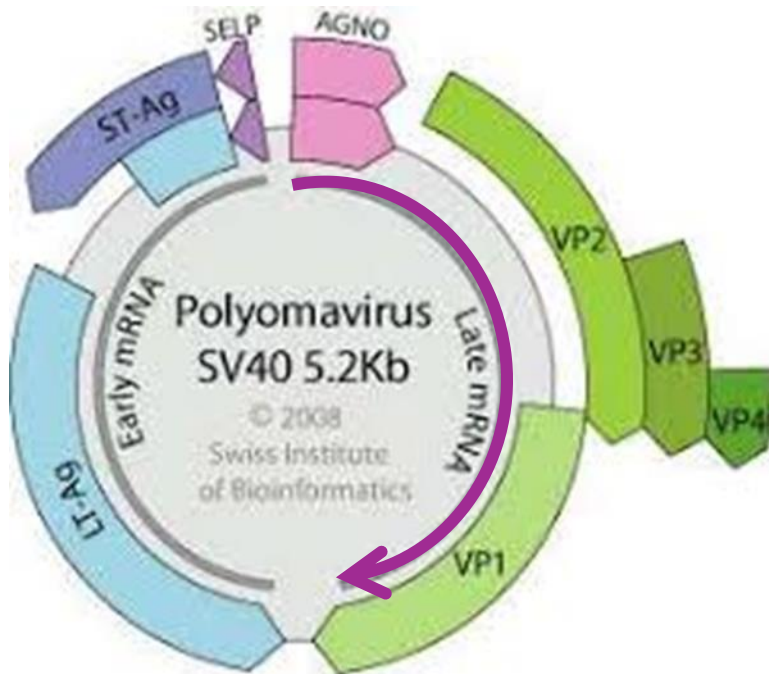
In seguito la concentrazione dell'LT-Ag aumenta e si lega ai siti 1 e 3 (oltre che 2) silenziando l'espressione dei geni precoci e inducendo quelli tardivi.

Si ha così la sintesi delle proteine del capsido (VP1, VP2 e VP3), che interagiscono formando i capsidi.



SV40: meccanismo di regolazione espressione genica

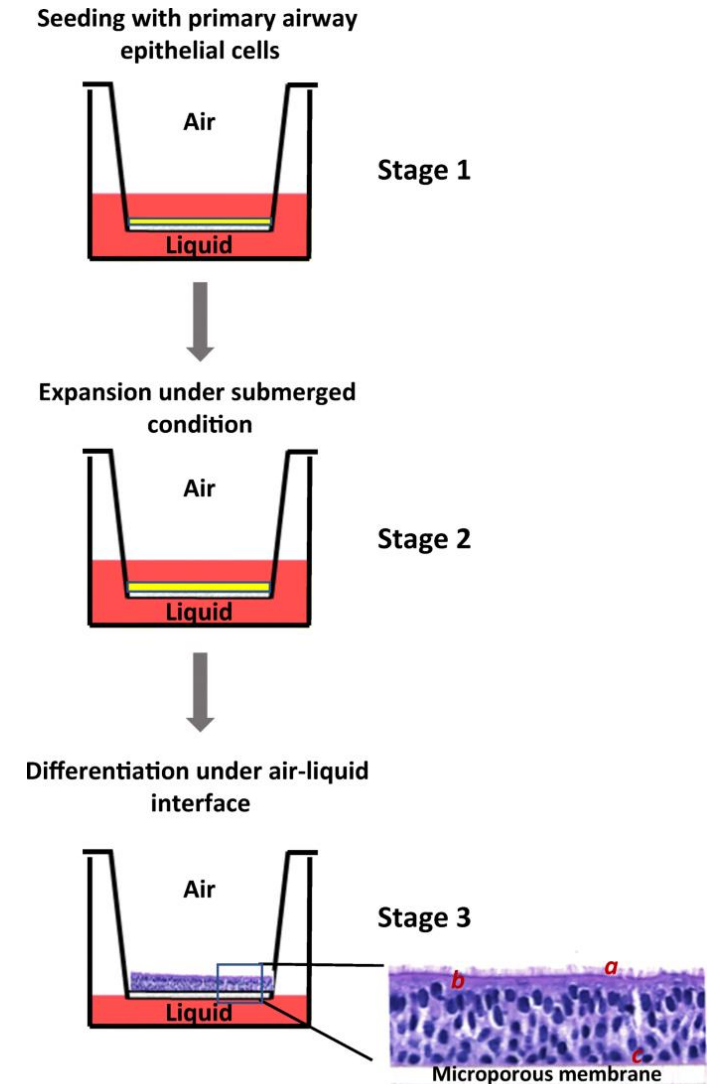
La sintesi delle proteine del capside (VP1,2,3) derivano da un processo splicing e traduzione differenziale



La parte terminale dell'RNA codificante VP1 contiene una sequenza sovrapponibile al 3' UTR del trascritto LT-Ag. Questo agisce da ncRNA e, interagendo con questo, induce la degradazione del mRNA dei geni precoci.

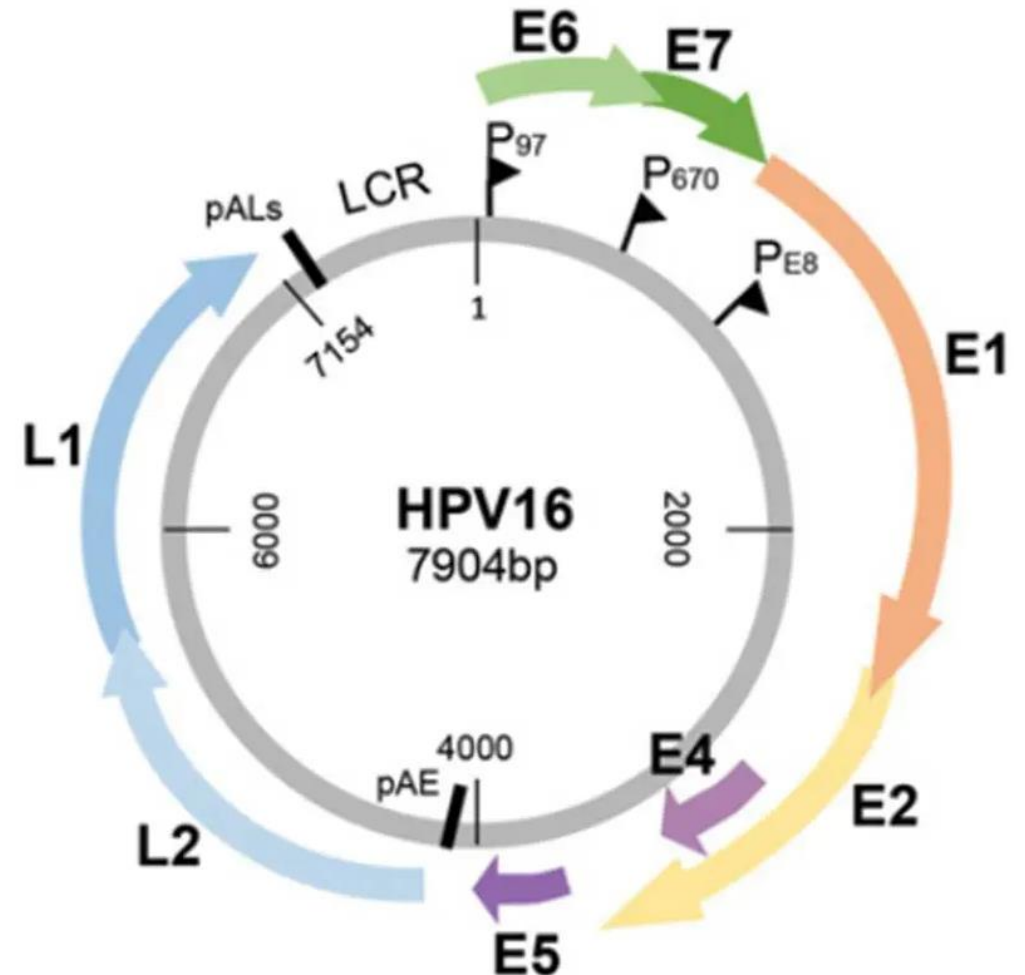
Papillomavirus

- I principali due esempi sono il papillomavirus bovino (BPV) e il papillomavirus umano (HPV) di cui si conoscono oltre 100 tipi (ad oggi 118 genotipi).
- Causa l'insorgenza di papillomi nelle mucose e verruche sugli epiteli.
- Nell'uomo, sono coinvolti in alcuni tipi di tumori (tumori di orofaringeo, anale, e della cervice uterina).
- Il meccanismo di replicazione riassume quello descritto per i poliomavirus, con le proteine E1 e E2 che svolgono la funzione di LT-Ag (sia per la replicazione sia per il controllo trascrizionale).
- Lo studio dei papillomavirus è stato limitato dall'impossibilità, nel passato, di coltivare questi virus in laboratorio. Oggi è possibile utilizzare delle particolari colture cellulari, le «epithelial raft cultures» che ne permettono una piccola produzione.



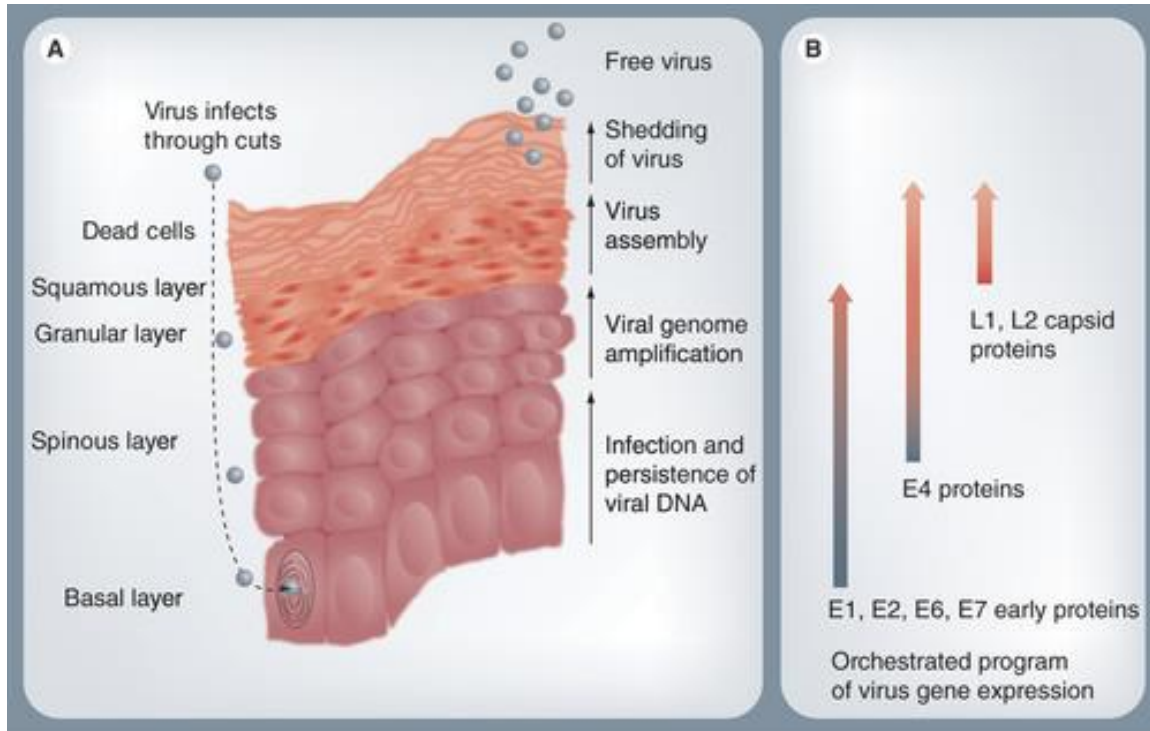
Genoma dei papillomavirus

- Genomi di circa 8 kbp
- Realizzano due trascritti nella stessa direzione dal cui splicing differenziale sono prodotte 8-9 proteine
- La trascrizione può iniziare da almeno due promotori (P_{97} , P_{670}). Il primo è il promotore dei geni precoci e il secondo quello dei tardivi.
- Trascritti dai differenti promotori utilizzano terminatori differenti (pAE)
- Il trascritto:
 - P_{97} -pAE porta allo splicing e sintesi delle proteine E6,7,1, 5.
 - P_{670} -pALs porta allo splicing e sintesi delle proteine E4, L1 e L2.
- La sequenza LCR (long control region) contiene gli enhancers associati ai promotori.
- La forma completa della proteina E2 ha ruolo di attivatore trascrizionale dei promotori (in particolare il precoce) e insieme a E1 induce la replicazione (in LCR).

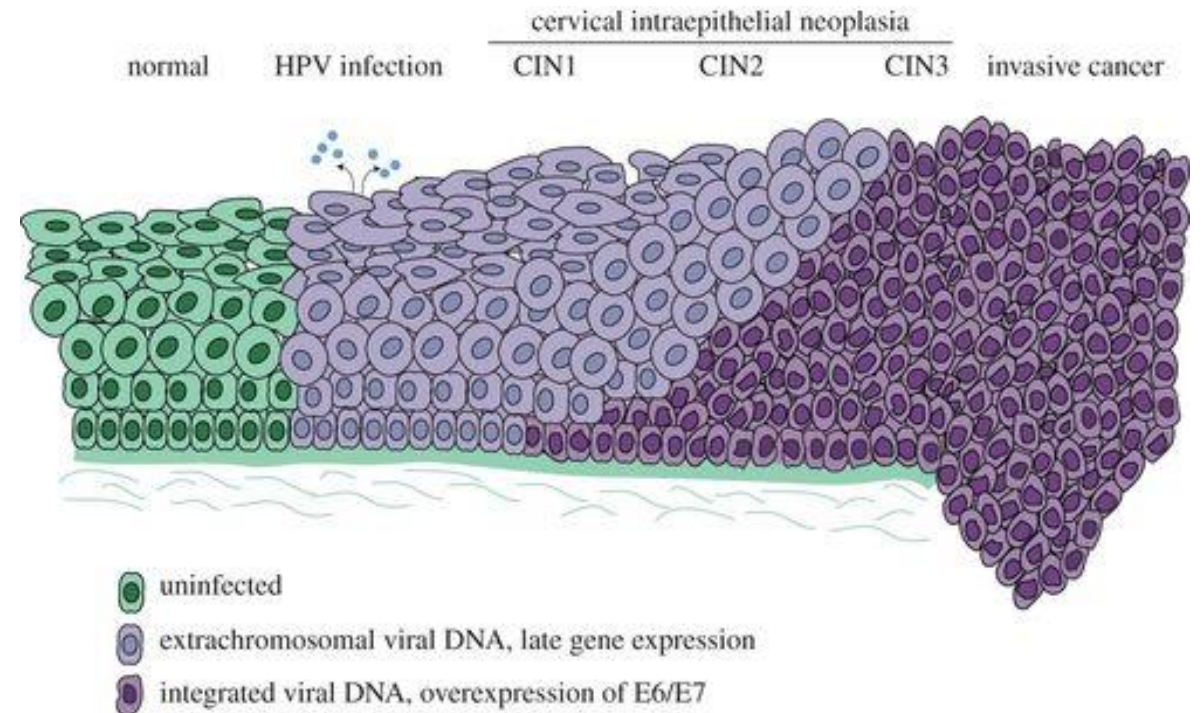


Papillomavirus

Le fasi di espressione dei geni sono correlate alla posizione delle cellule negli strati epiteliali o mucosi.

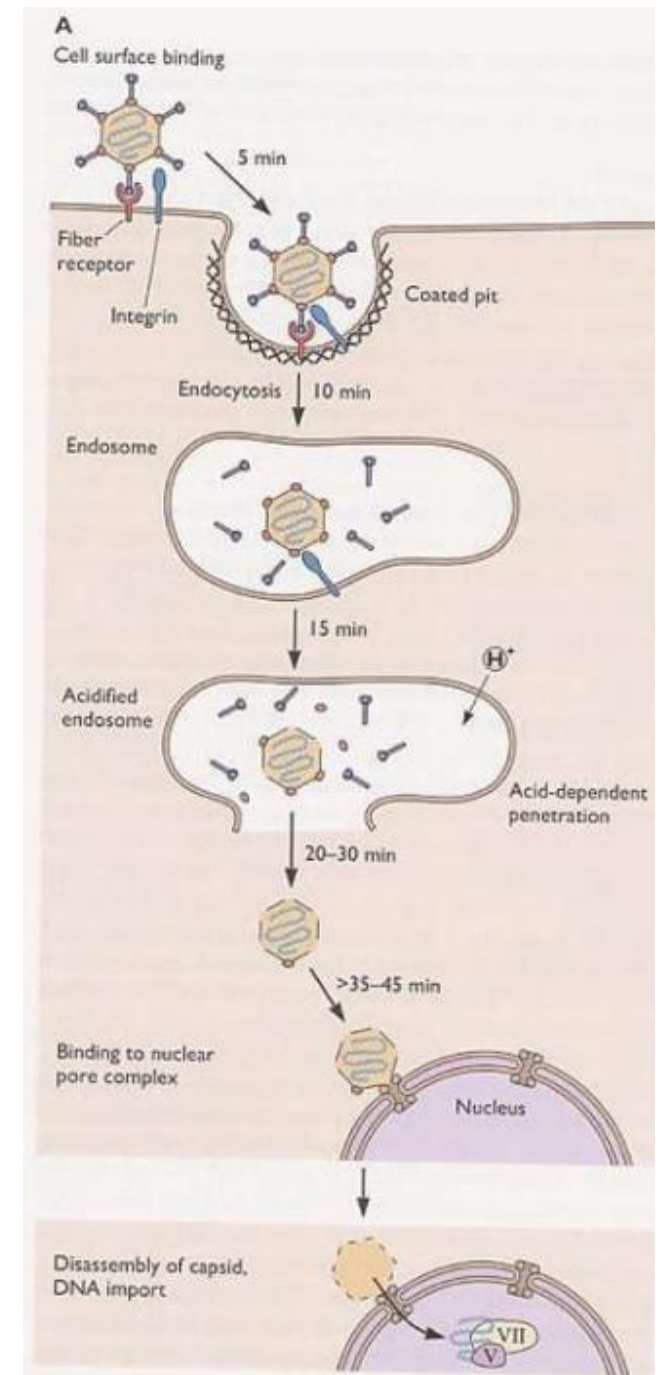
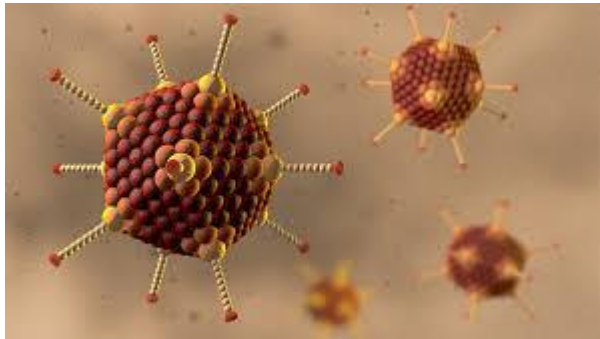


L'infezione può portare alla trasformazione delle cellule solitamente caratterizzate da una iper-espressione delle proteine E6/E7, normalmente coinvolti nell'alterazione del ciclo cellulare dell'ospite e interagiscono con i prodotti dei geni oncogeni (c-ras) e altri fattori cellulari (p53 e Rb)



Adenovirus

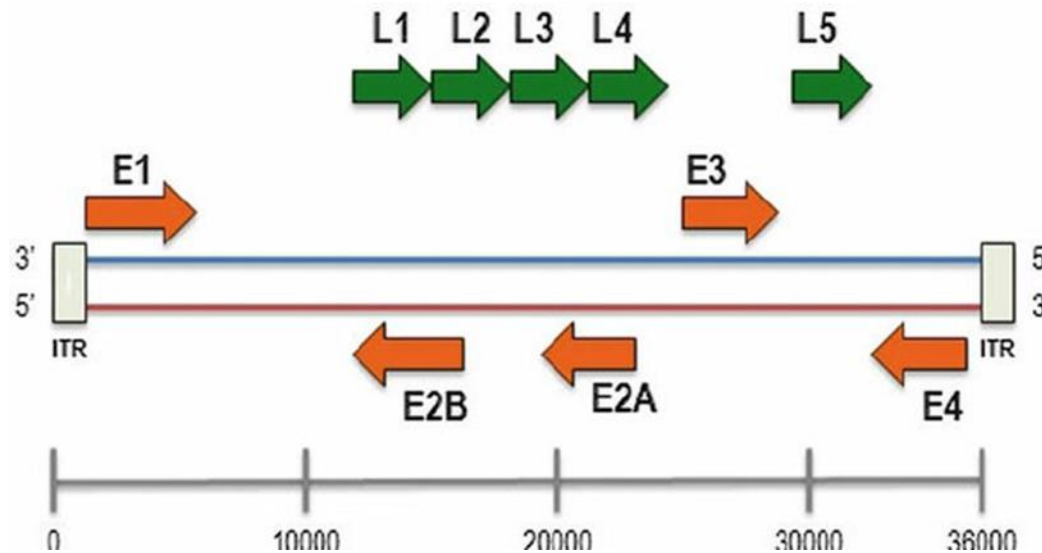
- Classe di virus dotati di un genoma a dsDNA lineare di circa 36 kb
- Più di 50 adenovirus umani noti suddivisi in sei gruppi/specie (denominate da A a F)
- Il process infettivo riassume quello dei poliovirus e dei papillomavirus.
- Le particelle mature sono caratterizzate da 12 lunghe "protein spike" che interagiscono con il recettore cellulare (CAR)
- Possono infettare il tratto respiratorio, l'occhio, il tratto gastrointestinale e la vescica. Spesso si tratta di infezioni subcliniche.



Adenovirus: Genoma



- Il genoma lineare presenta sequenze terminali per ciascun filamento costituite da una sequenza ripetuta invertita di 100-150 bp (ITR),
- Le ITR agiscono da origini di replicazione.
- Al 5' di ogni filamento è associata una proteina di 55 kDa nota come proteina terminale (TP)
- Geni codificanti 5 proteine precoci (E1-5)
- Geni codificanti 5 proteine tardive (L1-5)

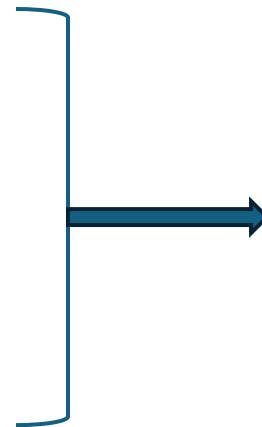
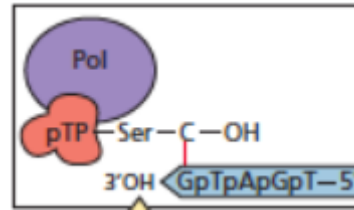


Adenovirus: replicazione del genoma

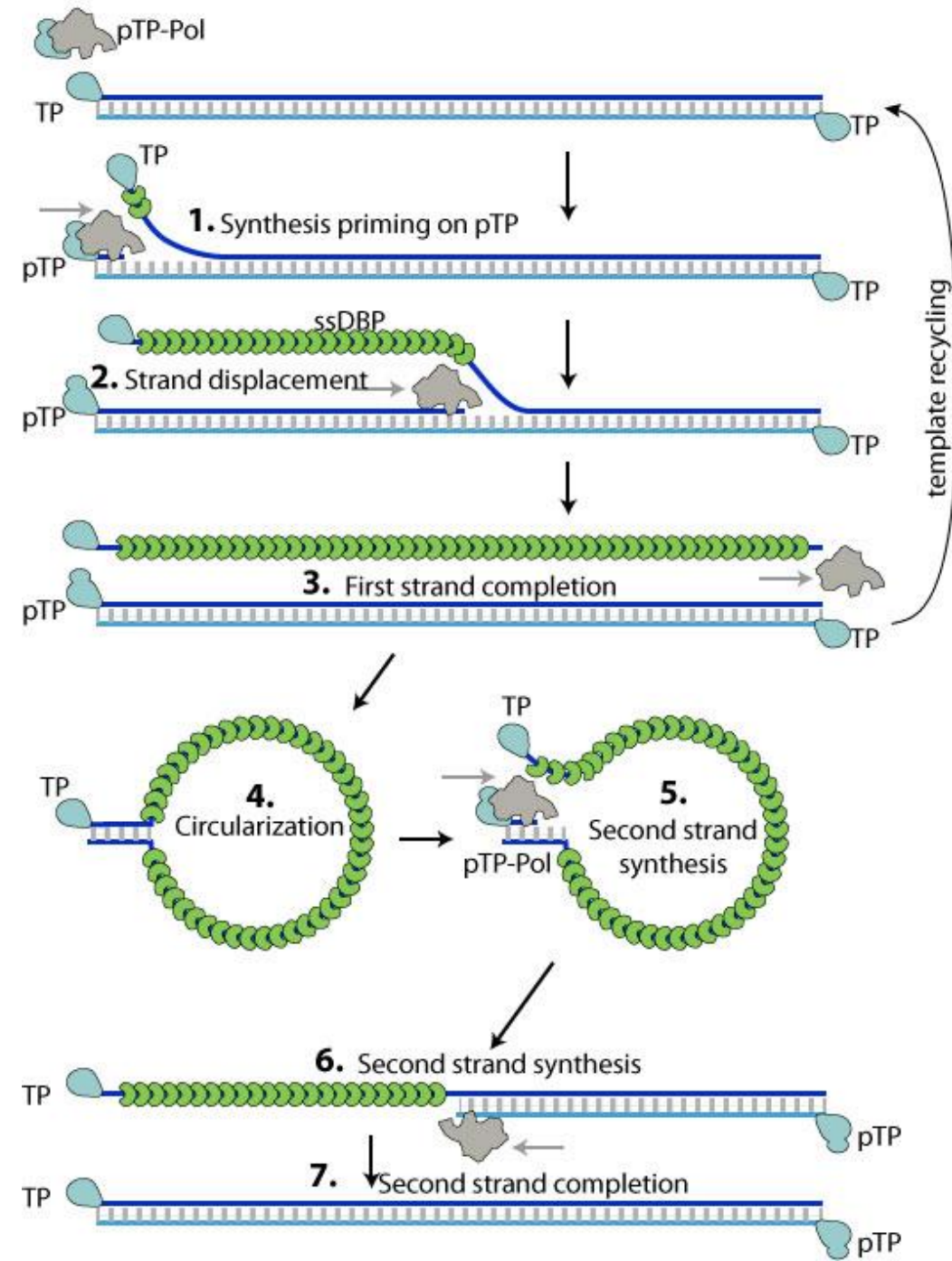
L'assemblaggio della DNA polimerasi (Pol) e della proteina preterminale (pTP) a livello dell'origine di replicazione è seguito dal legame covalente di dCMP (desossicitidina 5'-monofosfato) ad uno specifico residuo di serina di pTP catalizzato da Pol.

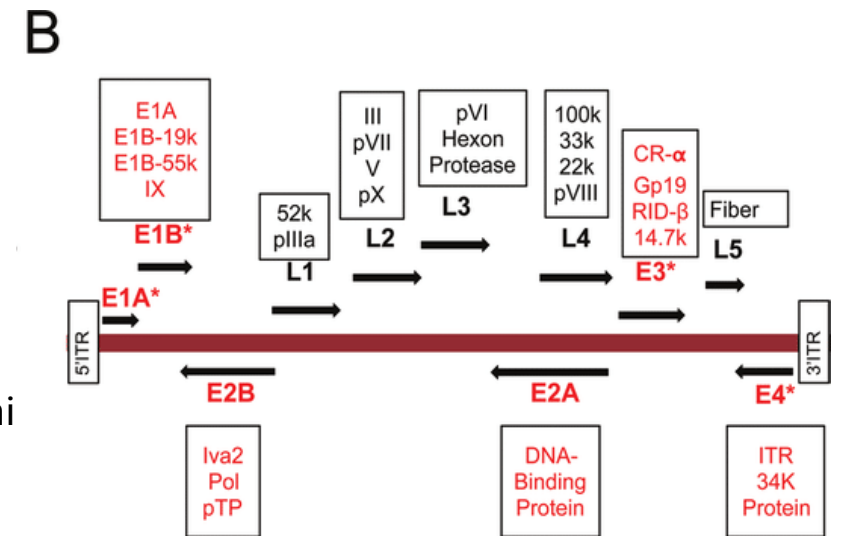
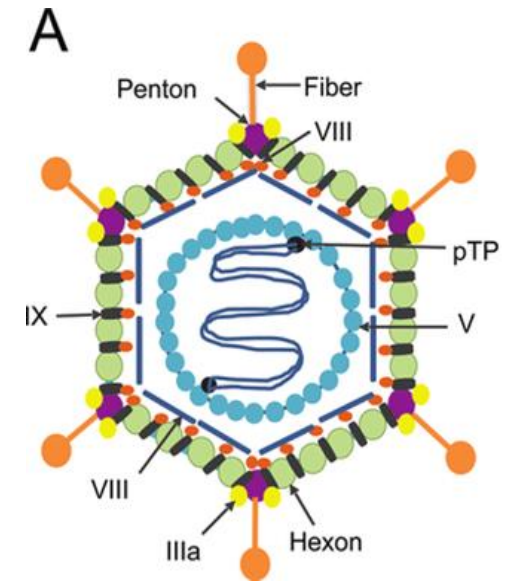
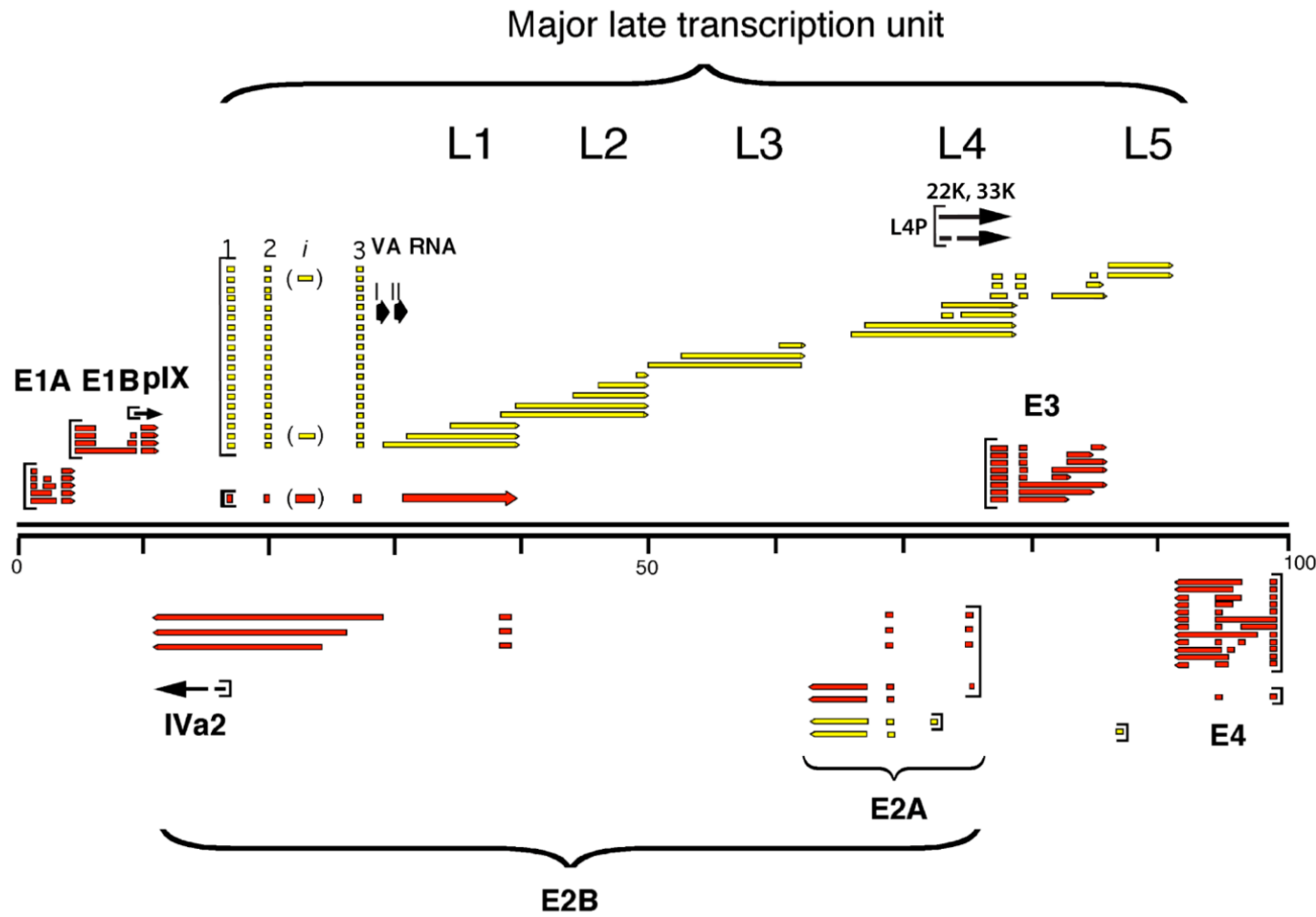
Il 3' OH fornito dal complesso pTP-dCMP agisce da innesco per la sintesi continua del DNA virale

Quando un solo filamento viene replicato ad ogni round, il filamento scalzato, grazie alla presenza di sequenze ripetute invertite terminali può formare per appaiamento un breve duplex terminale, identico all'estremità del genoma a doppio filamento e può essere replicato con lo stesso meccanismo



Adenovirus strand displacement replication

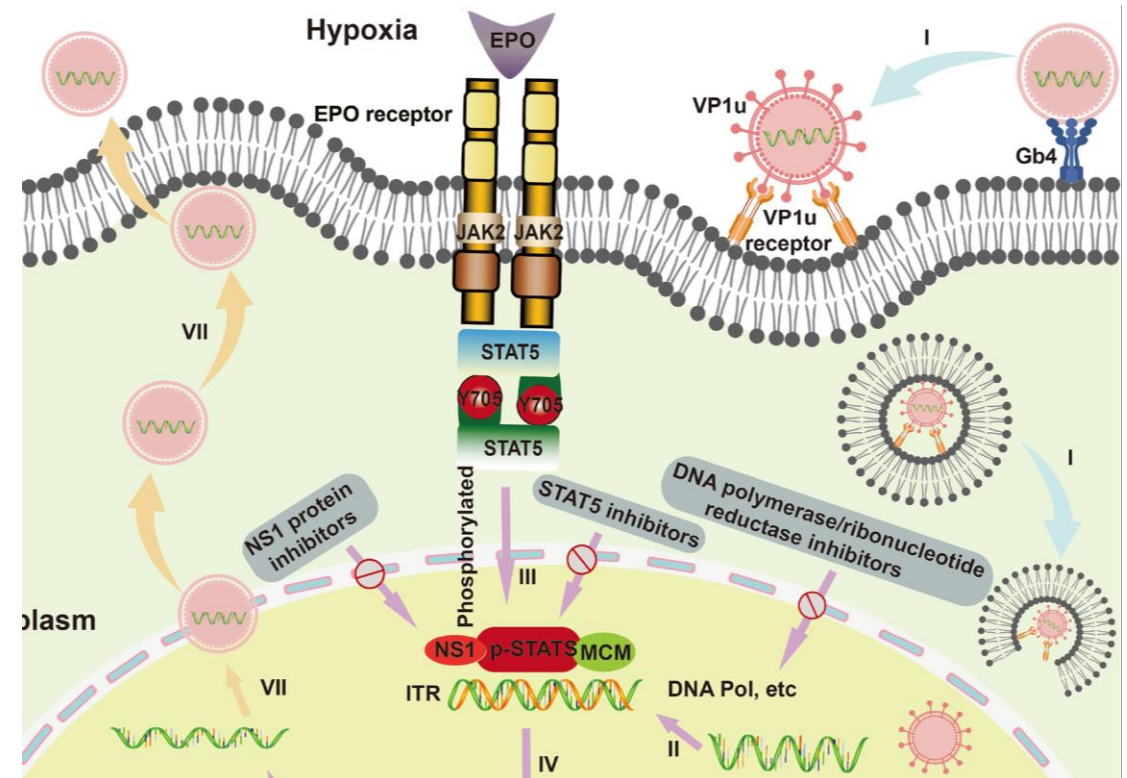
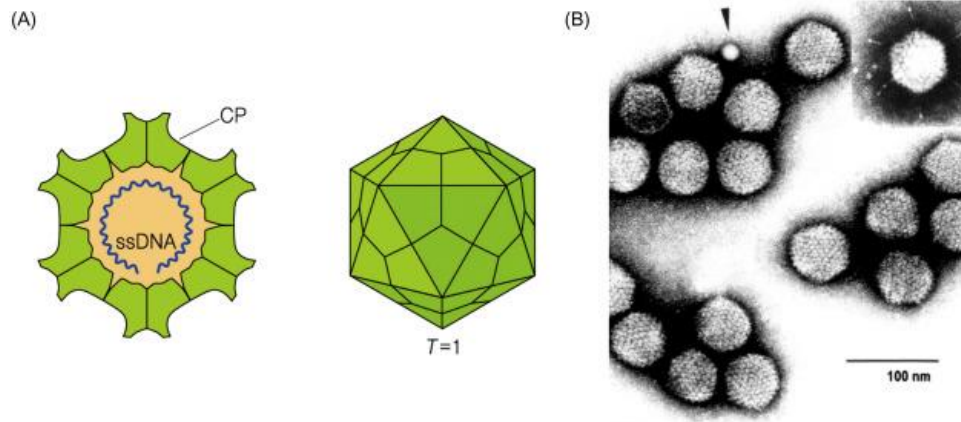




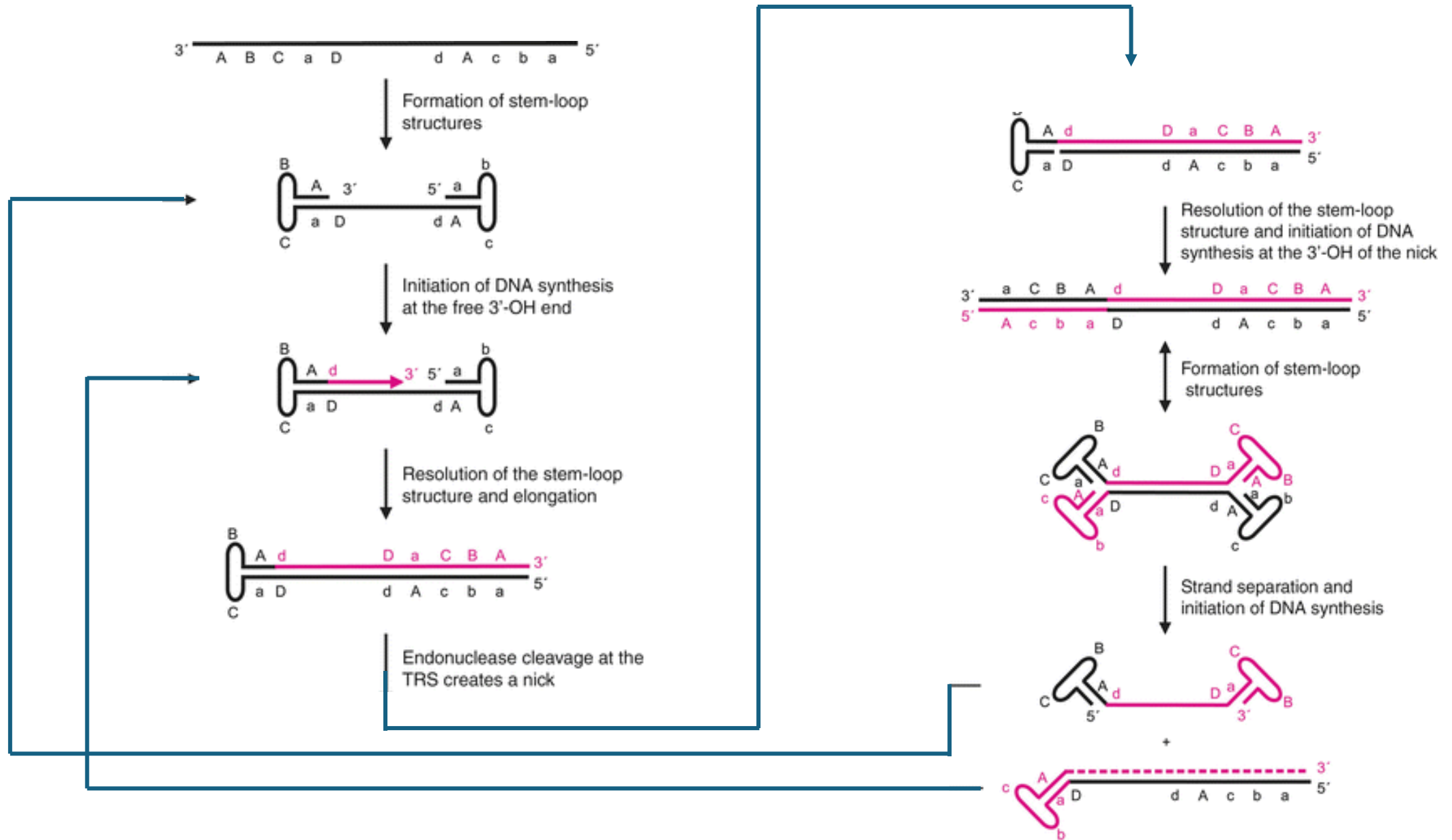
- E1A inibisce i repressori del ciclo cellulare (p53 e Rb), E1B inibisce l'apoptosi, i geni della E2 codificano per la DNAPol, la Pt e una DBP che, raggiunte elevate concentrazioni, reprime i geni della regione E2 ad eccezione del gene E2A (DBP).
- La proteina E4 interferisce con la funzione del sito di poliadenilazione a valle di L1, si trascrive un lungo mRNA che attraverso processi di splicing permette l'espressione delle L1-5.

Parvovirus

- Classe di virus dotati di un genoma a ssDNA lineare di circa 5 kb
- Dotati di un capsidico icosaedrico nudo di piccole dimensioni
- Il meglio studiato è il virus Adeno-associato (AAV)
- Infettano le cellule in maniera latente (a volte integrandosi nel genoma dell'ospite) e il loro ciclo virale viene attivato da un secondo virus (es. Adenovirus, Herpesvirus) che forniscono proteine di funzioni stimolanti il ciclo virale (es. E1A).
- Agenti eziologici della «Quinta malattia umana», parvovirosi canina.



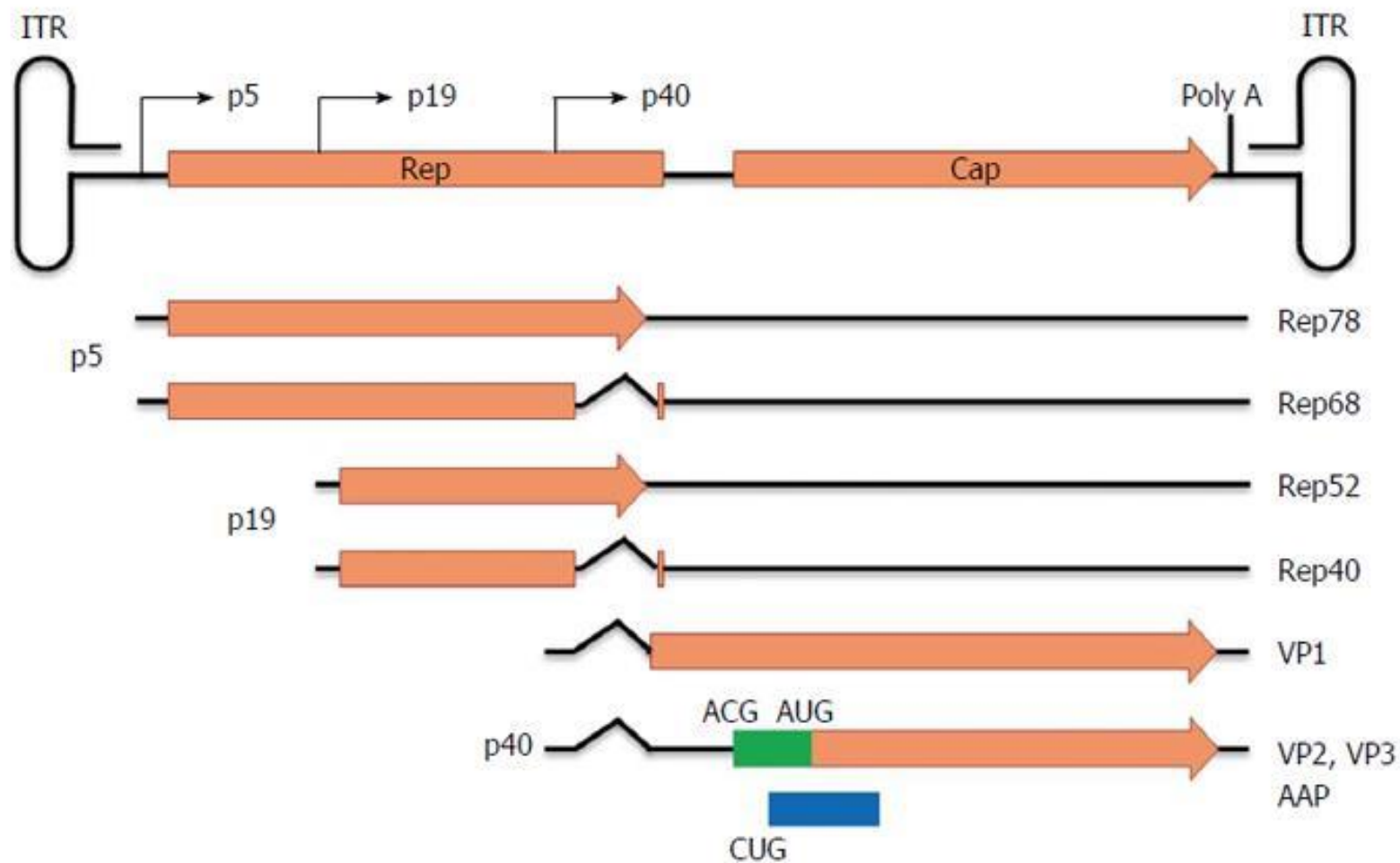
Parvovirus: replicazione



Parvovirus: espressione

Nella forma a dsDNA, i due promotori precoci p5 e p19 trascrivono gli mRNA che, seguiti da splicing, producono le quattro proteine precoci

Dal promotore tardivo p40, il trascritto, dopo uno splicing alternativo, permette la traduzione della proteina VP1 e, dal trascritto minore le proteine VP2 e VP3 tramite traduzione differenziale



Poxvirus

- Dotati di un genoma **lineare a dsDNA** di grandi dimensioni (135 to 360 kbp) con **estremità chiuse** e contenenti **sequenze ripetute e invertite**
- Il genoma codifica tutti gli enzimi necessari per la replicazione del DNA virale, trascrizione dei geni (intermedi e tardivi), regolazione e sintesi delle proteine strutturali del virus
- Questa classe di virus è caratterizzata da **non avere una fase nucleare**, tutto accade nel citoplasma.
- Agenti eziologici del Vaiolo
- Non producono infezioni silenti (un'infezione si conclude comunque con l'eliminazione del virus).
- Virus dalla struttura complessa e di grandi dimensioni (fino a 300x200nm)

Si distinguono due particelle virali:

il virus maturo (MV) e il virus rivestito (EV). Il primo solitamente intracellulare, il secondo extracellulare.

Il virus EV presenta uno strato di rivestimento esterno aggiuntivo che origina dal Golgi della cellula ospite e presenta le proteine di fusione

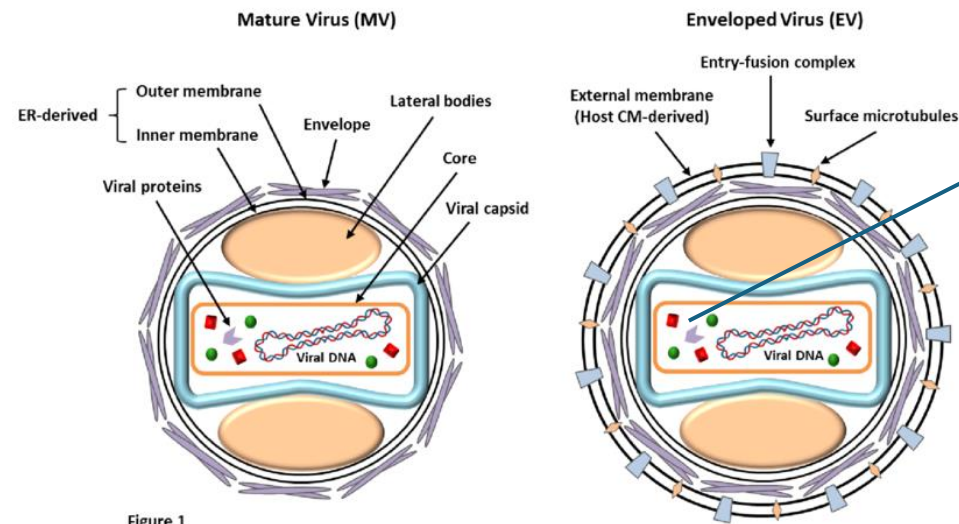
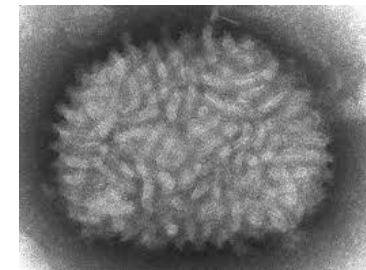


Figure 1

Enzimi per trascrizione (inclusa la RNA pol) + fattori trascrizionali

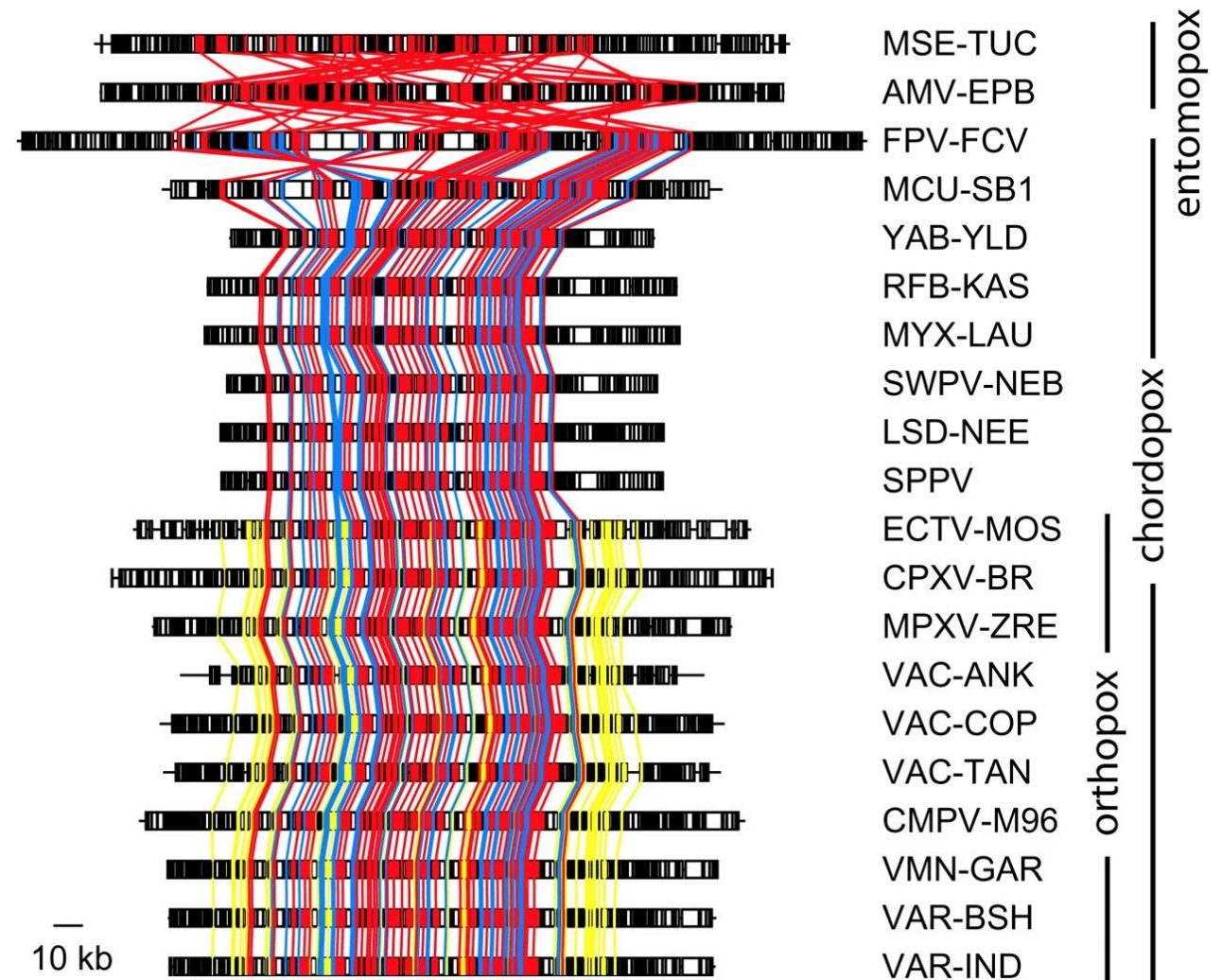


Poxvirus: genoma

Table 1 | **Examples of poxvirus host ranges**

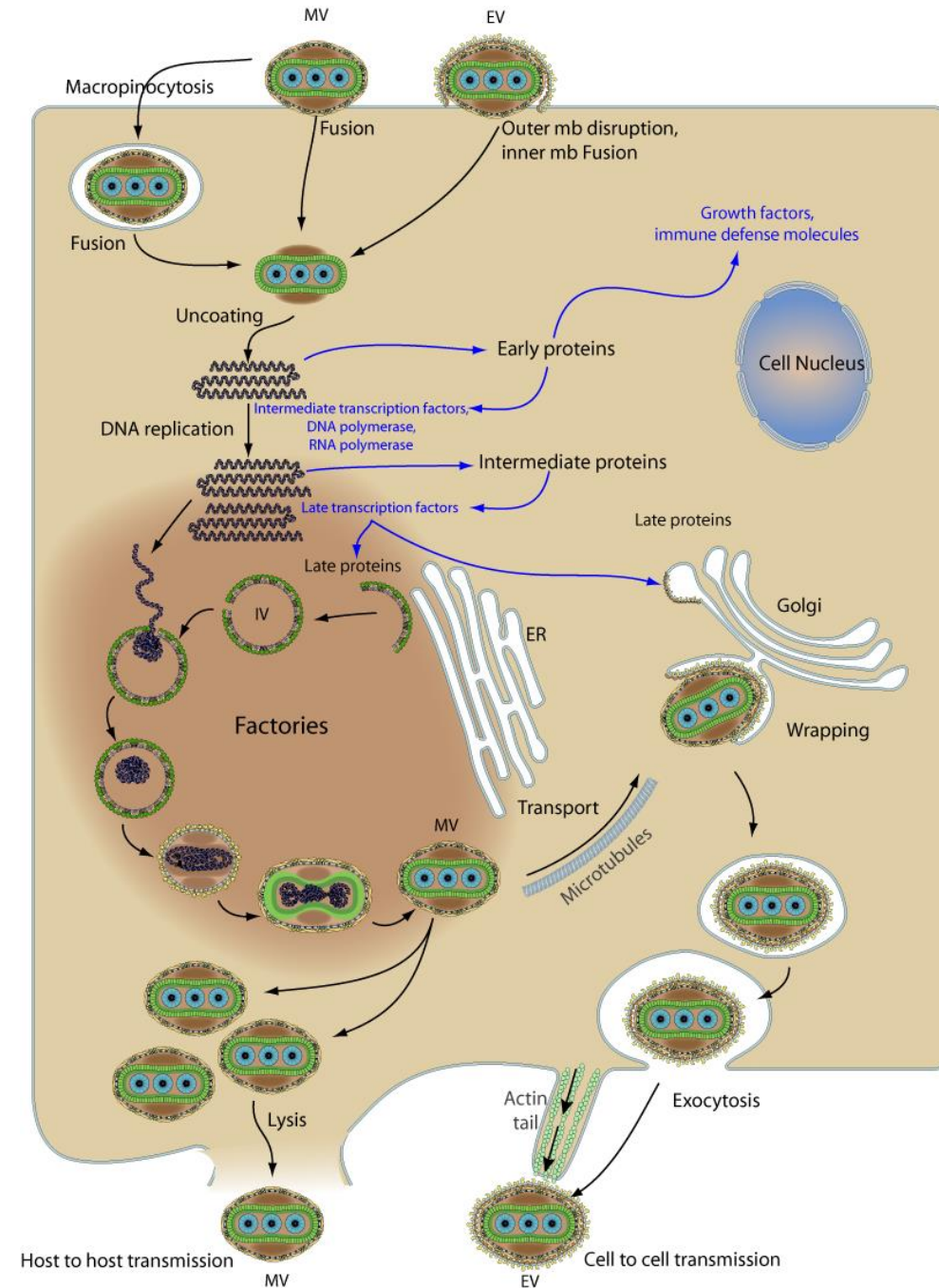
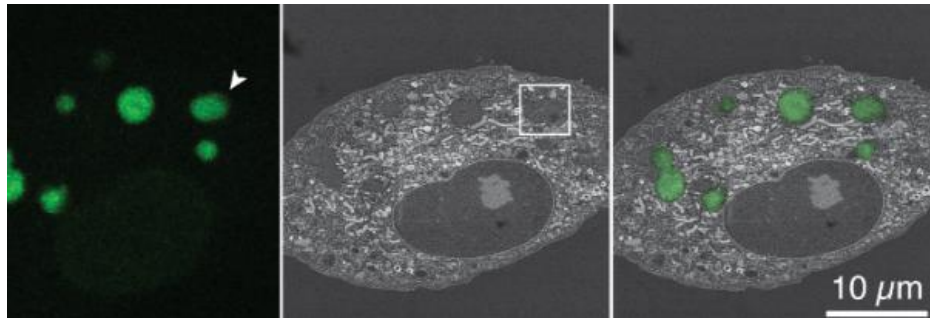
Poxvirus	Genus	Reservoir host	Zoonotic host
Variola	Orthopoxvirus	Human	None
Molluscum contagiosum	Molluscipoxvirus	Human	None
Monkeypox	Orthopoxvirus	Rodents, squirrels	Monkeys, humans
Cowpox	Orthopoxvirus	Rodents	Humans, cows, cats, foxes, zoo animals
Vaccinia*	Orthopoxvirus	Unknown	Wide range, including humans
Ectromelia	Orthopoxvirus	Rodents	Laboratory mice
Orf†	Parapoxvirus	Ungulates	Humans, cats
Tanapox	Yatapoxvirus	Rodents? Insects?	Humans, monkeys
Myxoma	Leporipoxvirus	Rabbit (brush)	Rabbit (European)

La varietà dei poxvirus si riscontra nell'organizzazione genomica. Si individua una regione centrale nel genoma di circa il 50% del totale, che è conservata e che permette la classificazione nelle varie famiglie. Le regioni terminali sono associate alla variabilità.

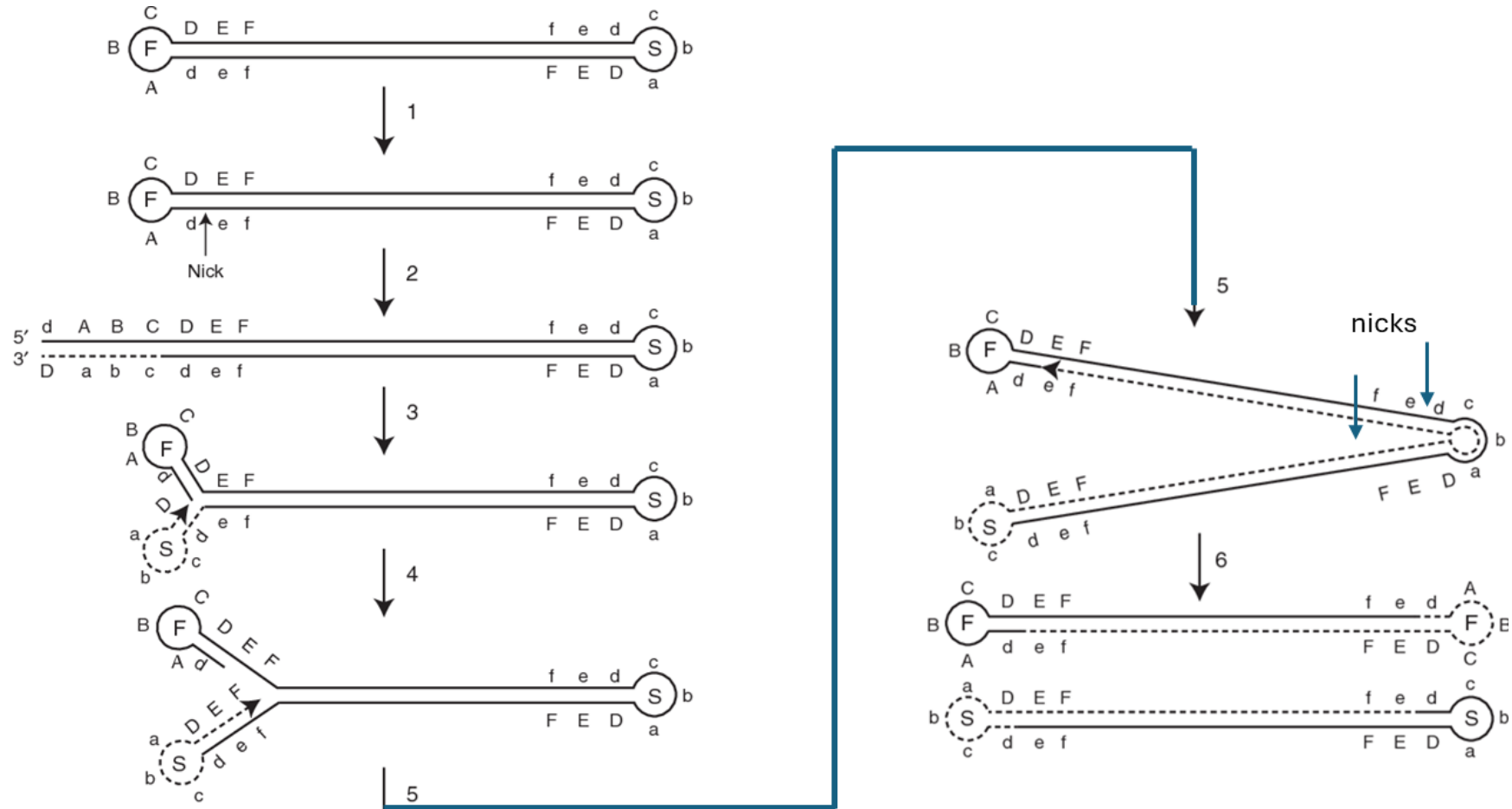


Poxvirus: ciclo infettivo

- Entrata tramite interazione col recettore *GAG* (glicosaminoglicano) e fusione con la membrana cellulare
- Parziale «uncoating» e rilascio enzimi associati (Rna pol, fattori trascr. etc). Ne consegue l'espressione di geni precoci.
- Induzione di geni intermedi (tra cui i codificanti della DNA pol e RNA pol) e replicazione del genoma.
- Espressione dei geni tardivi (sintesi di proteine capsidiche) e assemblaggio nelle «cell factories», sintesi di IV (virus immaturi).
- Rilascio dei MV (virus maturi) caratterizzati da una membrana derivata dal reticolo endocitoplasmatico.
- Wrapping della MV con una doppia membrana dal Golgi (WV)
- Rilascio per fusione di una delle due membrane esterne con la membrana cellulare delle EV (virus esterno)



Poxvirus: replicazione del genoma



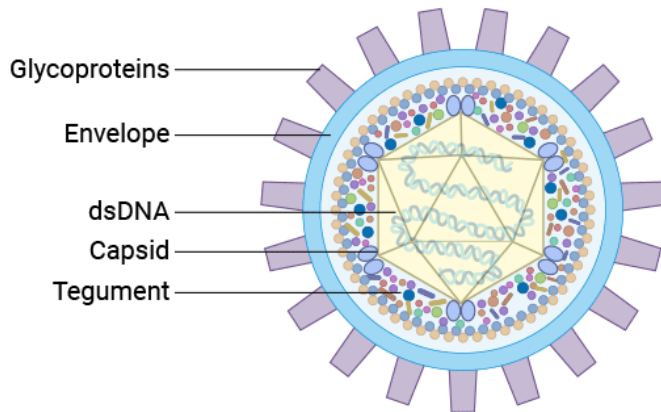
Herpesvirus

Classe di virus a **dsDNA lineare (immediatamente dopo l'infezione diventa circolare)** con un genoma di grandi dimensioni (80-240 Kb con 60-120 geni) e una particella virale dotata di pericapside.

La regione tra nucleocapside di tipo icosaedrico e rivestimento è detta «tegumento» e contiene da 15 a 20 proteine differenti.

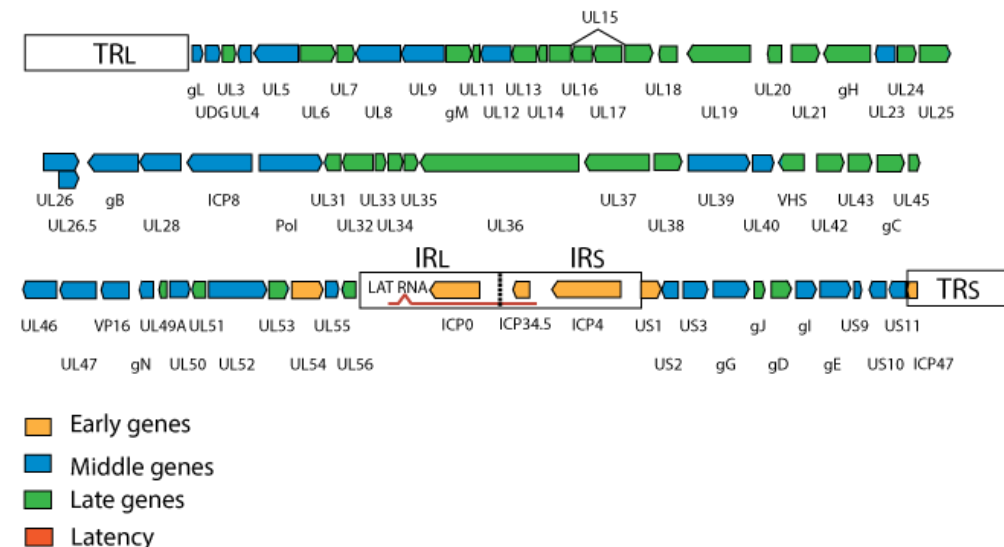
Tutti gli herpesvirus sono in grado di stabilire una infezione latente nei loro ospiti incluso l'uomo.

Alcuni Herpesvirus sono neutrofici (gruppo alfa), altri linfotrofici (alfa e beta). Infine, alcuni sono stati correlati con l'insorgenza di neoplasie (gruppo gamma).

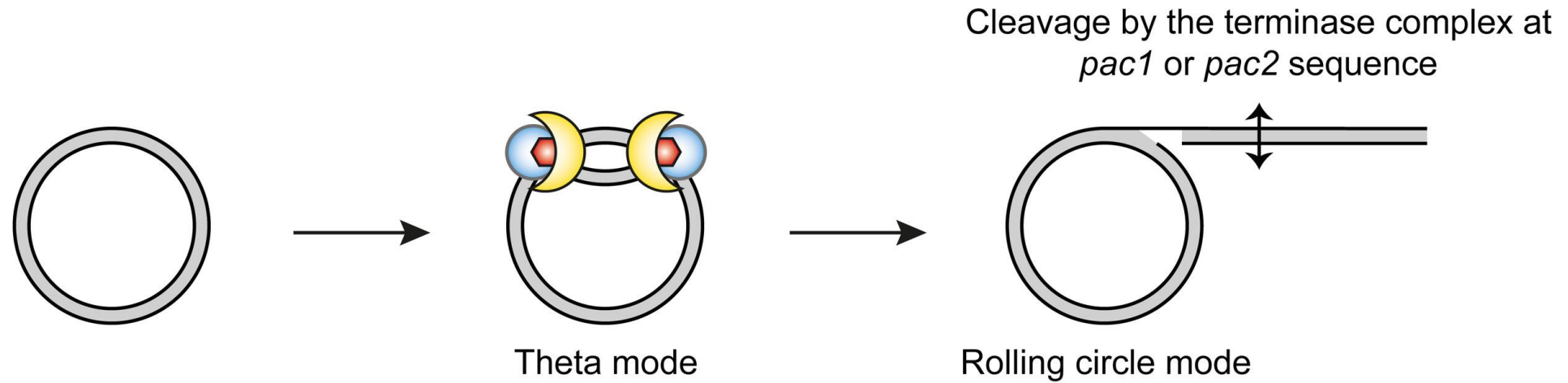






Subfamily	Taxonomic name	Common name
Alpha-herpesvirinae	HHV-1	Herpes simplex virus 1 (HSV-1)
	HHV-2	Herpes simplex virus 2 (HSV-2)
	HHV-3	Varicella-zoster virus (VZV)
Beta-herpesvirinae	HHV-5	Human cytomegalovirus (HCMV)
	HHV-6	HHV-6 variant A or B
	HHV-7	HHV-7
Gamma-herpesvirinae	HHV-4	Epstein-Barr virus (EBV)
	HHV-8	Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV)

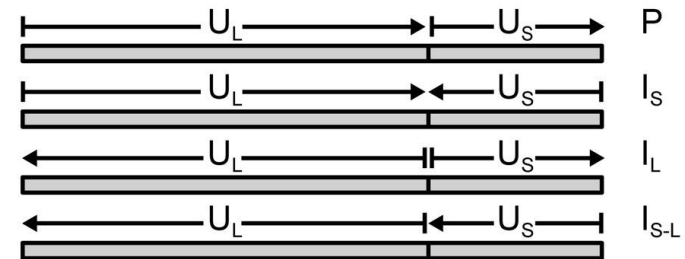
HHV, human herpesvirus.



Herpesvirus: replicazione del DNA



-  HSV: homodimer of UL9 and ICP8
 HCMV: UL84 associated to the heterodimer IE2-p86
-  HSV: helicase-primase complex (UL5, UL8, UL52)
 HCMV: helicase-primase complex (UL105, UL70, UL102)
-  HSV: UL30-UL42 complex
 HCMV: UL54-UL44 complex
-  HSV: terminase complex (UL15, UL28, UL33)
 HCMV: terminase complex (UL56, UL89, UL51)



Four viral isomers

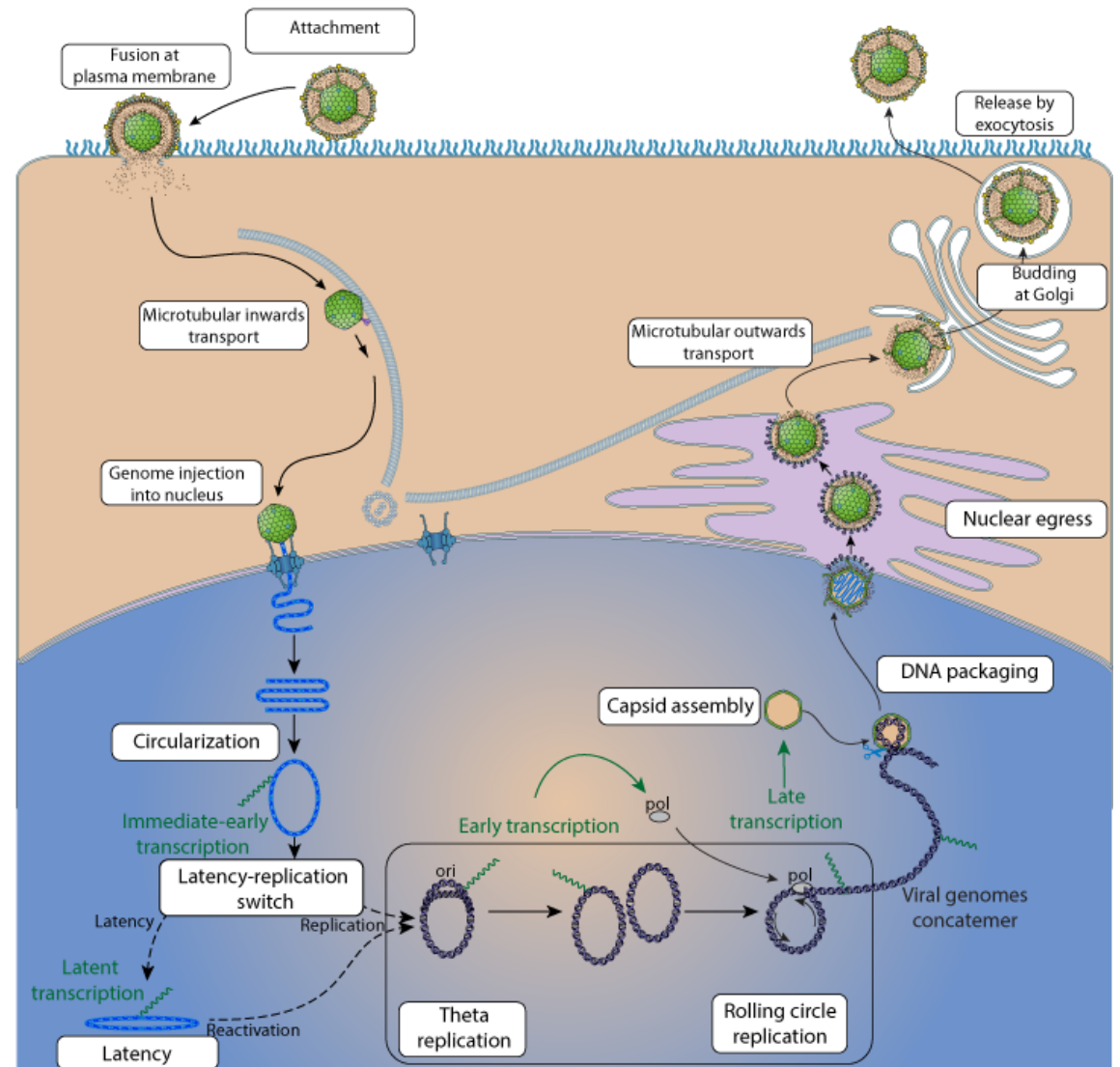
Herpesvirus: infezione cellulare

La proteina del tegumento α -TIF viene iniettata nel nucleo insieme al DNA virale che ciclizza. Qui, α -TIF interagisce col fattore trascrizionale cellulare Oct1, insieme attivano la trascrizione dei **geni immediati precoci**.

Tra questi i geni codificanti le proteine **$\alpha 0$, $\alpha 4$ e $\alpha 27$** .

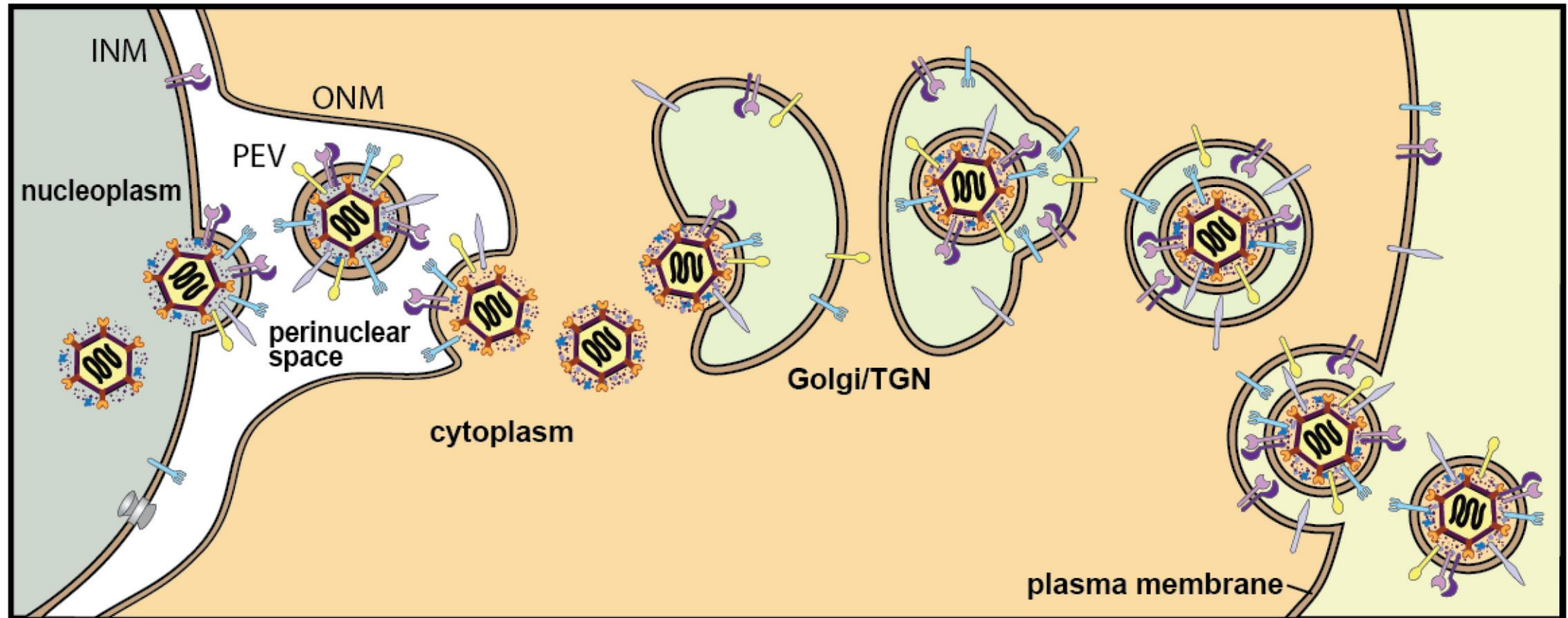
Le proteine **α** , contribuiscono all'induzione dei geni **β** , responsabili a loro volta dell'**induzione dei geni tardivi**, inclusi i geni codificanti le proteine del capsido.

Avviene quindi la maturazione del capsido con l'incapsidazione del DNA e la liberazione delle particelle attraverso le membrane nucleari e citoplasmatica.

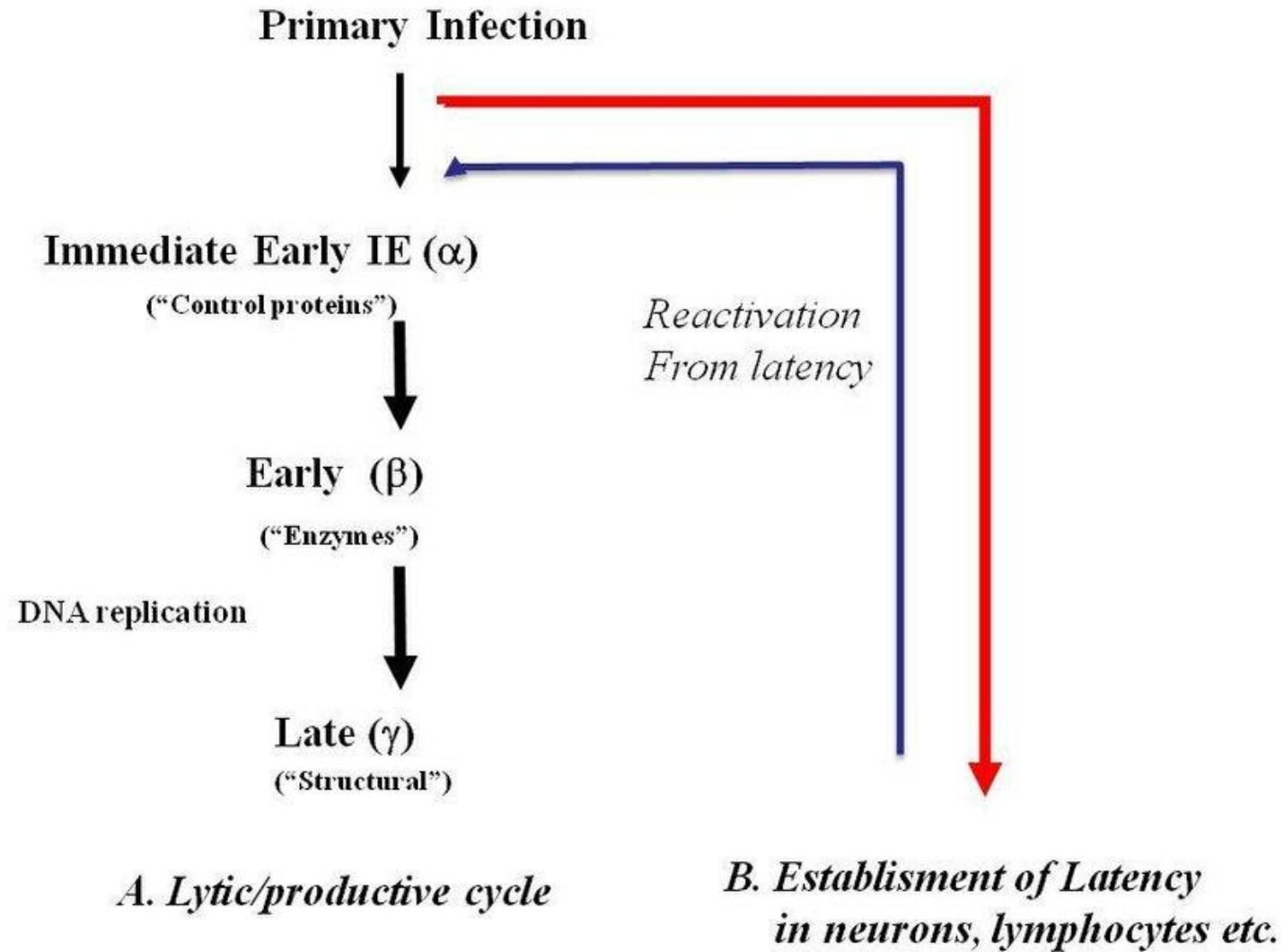


Herpesvirus: rilascio particelle virali

Il capsidone maturo attraversa le membrane nucleari: la prima riveste il virione, la stessa poi per fusione con la membrana nucleare esterna, libera il capsidone maturo (nudo) nel citoplasma. A questo punto, una vescicola exocitotica/complesso del Golgi «abbraccia» il capsidone avvolgendolo con una doppia membrana. La più esterna, fondendosi con la membrana citoplasmatica della cellula ospite, ne permette l'estrusione.



Herpesvirus: regolazione espressione genica



Herpesvirus: fase di latenza

Gli herpesvirus neurotrofici sono in grado, una volta rilasciati dalle cellule infettate, di accedere ai neuroni sensoriali, tipicamente il nervo trigemino (HSV1) e il nervo sciatico (HSV2) rispettivamente per l'herpes facciale e genitale. Le particelle virali risalgono quindi la terminazione assonale per giungere nel nucleo del neurone. Qui si complessa con gli istoni e rimane «silente» anche in virtù dell'assenza di specifici fattori trascrizionali necessari ma normalmente non espressi nei neuroni.

A seguito di uno stress cellulare, si esprimono tali fattori e si riattiva il ciclo virale nel neurone, Sono prodotte le particelle virali che ripercorrono l'assone per giungere nuovamente nel tessuto da cui sono originate, manifestando nuovamente l'infezione.

