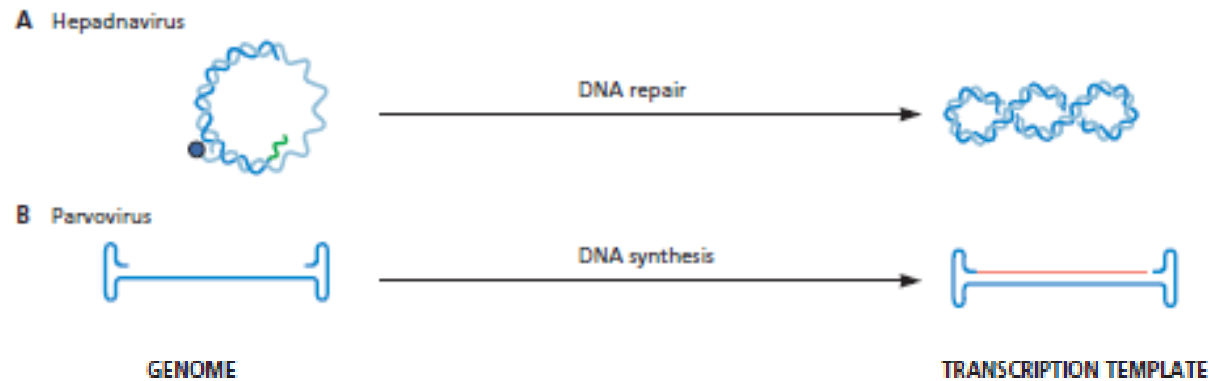


Parti del testo “Introduzione alla Virologia Moderna” da consultare per questa lezione

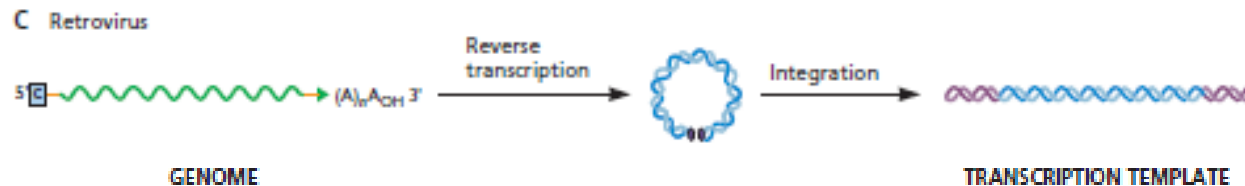
- **Capitolo 9**
- **Capitolo 10 – par. 10.8, 10.9**

Stampo per la RNA pol II

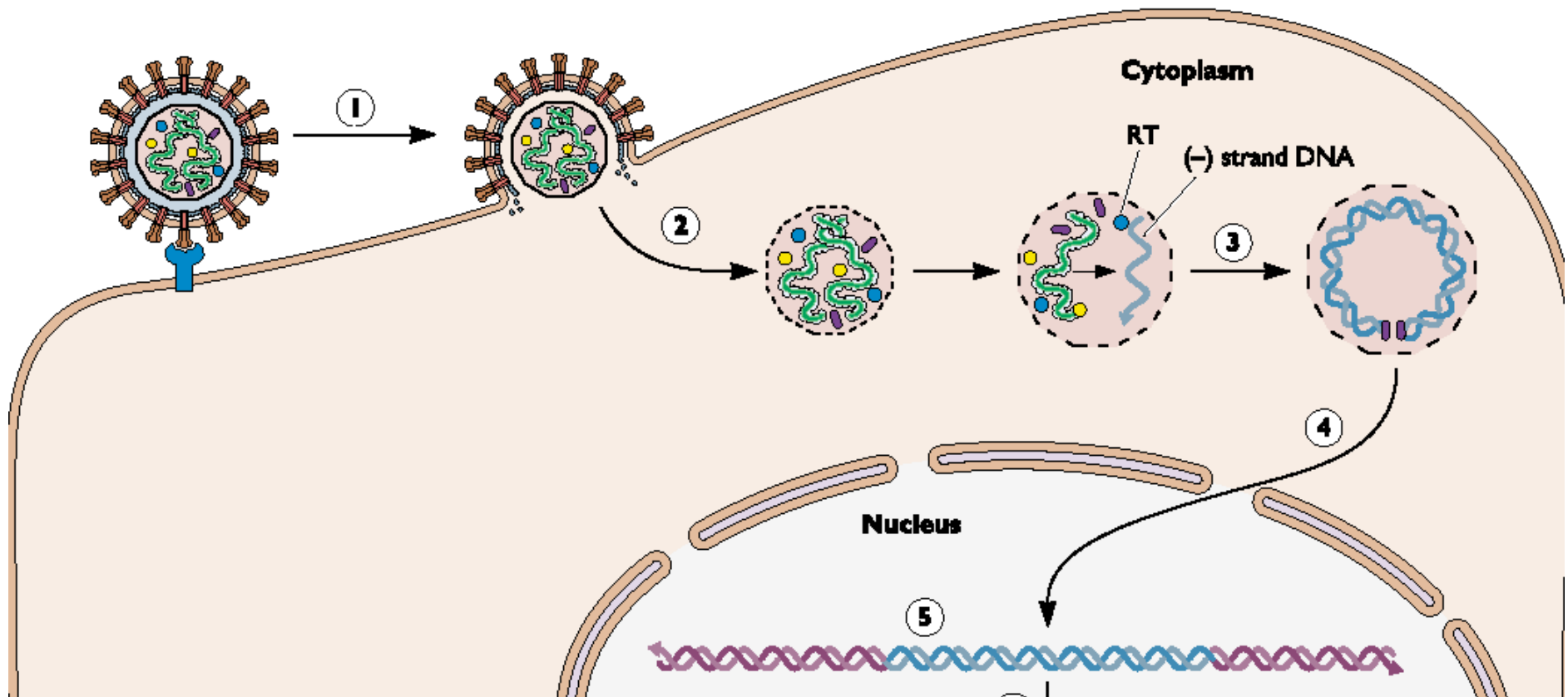
Per formare uno stampo adatto alla trascrizione, i genomi a DNA a doppio filamento incompleto o a singolo filamento sono convertiti in molecole di dsDNA da parte degli enzimi cellulari



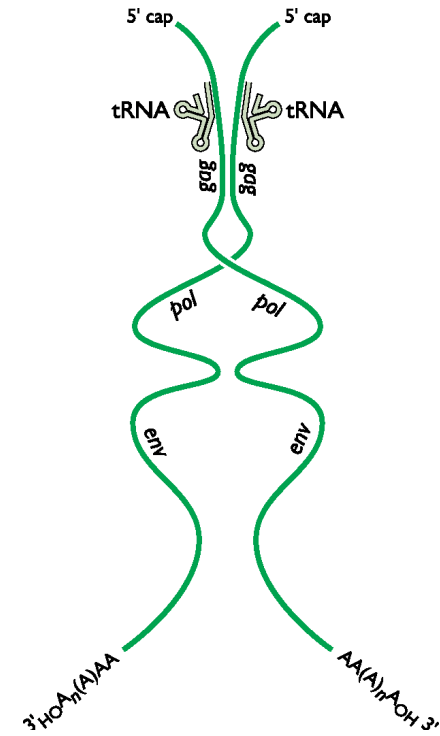
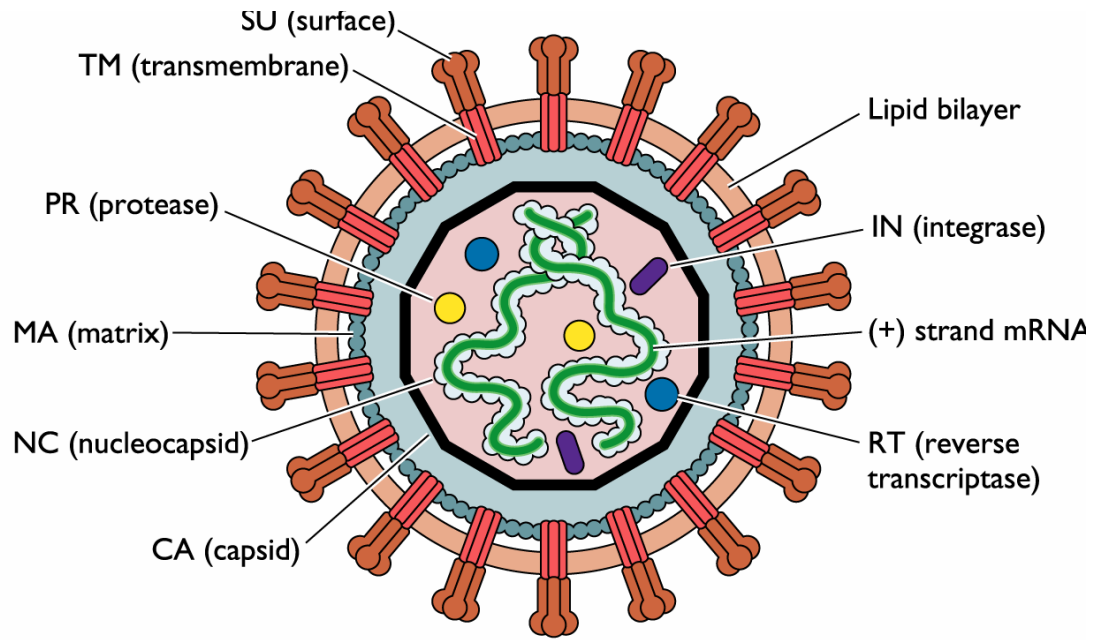
Il genoma a RNA dei retrovirus è convertito in una molecola di dsDNA provirale e integrato nel genoma della cellula infettata da enzimi virali



Classe VI: Retroviridae



Retroviridae



Genoma dei retrovirus

R è una corta sequenza che forma ripetizioni dirette ad entrambe le estremità del genoma, importante durante il processo di replicazione, segnale di poliadenilazione

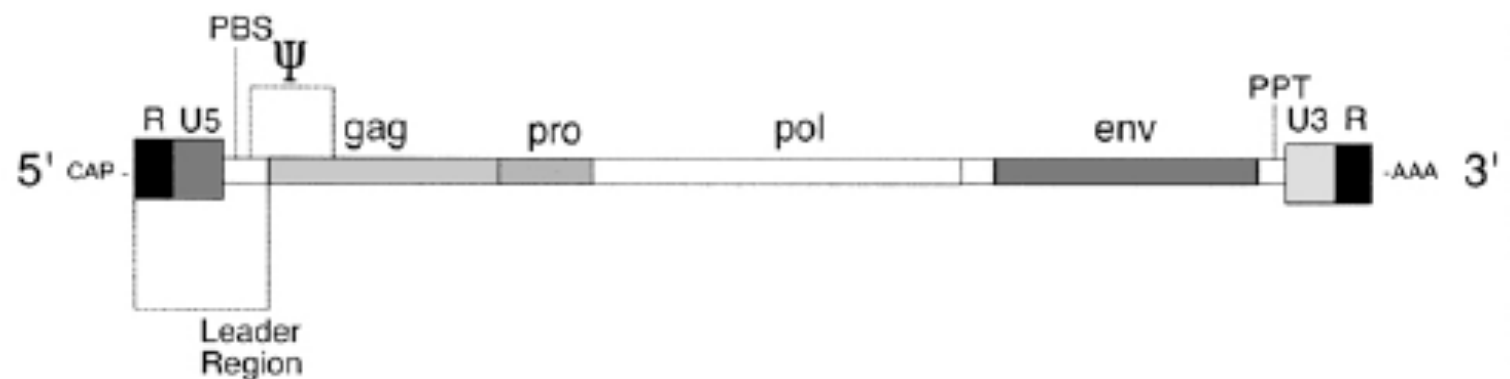
U5 sequenza unica non codificante, prima parte del genoma ad essere retrotrascritta, sito importante per l'integrazione

PBS 18nt complementari al 3' del tRNA

Leader (90-500nt) non tradotta, contiene SD e ψ site

PPT (c.a. 10nt) sito di inizio del filamento + di DNA

U3 regione unica non codificante (200-1200nt) contenente elementi promoter ed enhancer

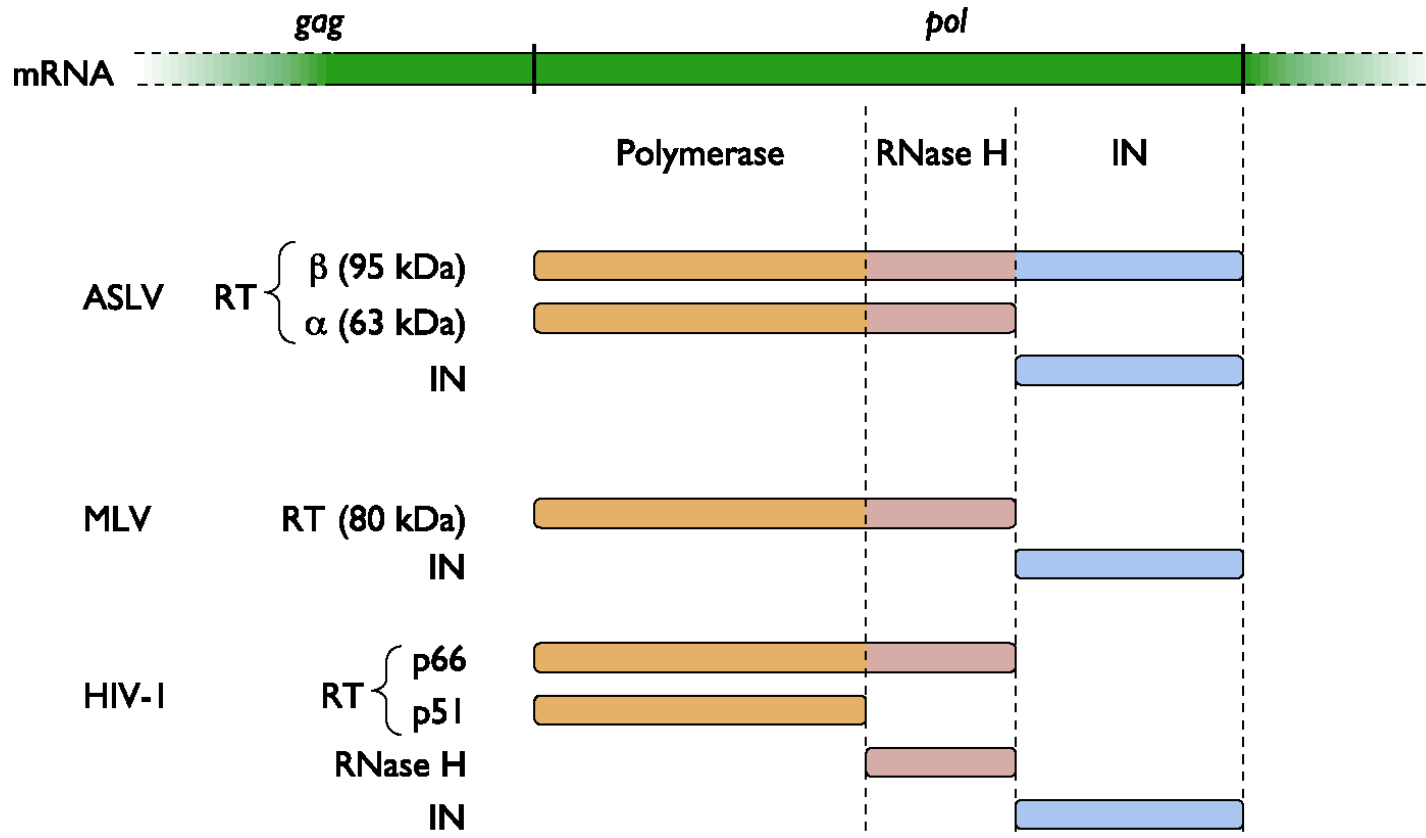


Retroviridae

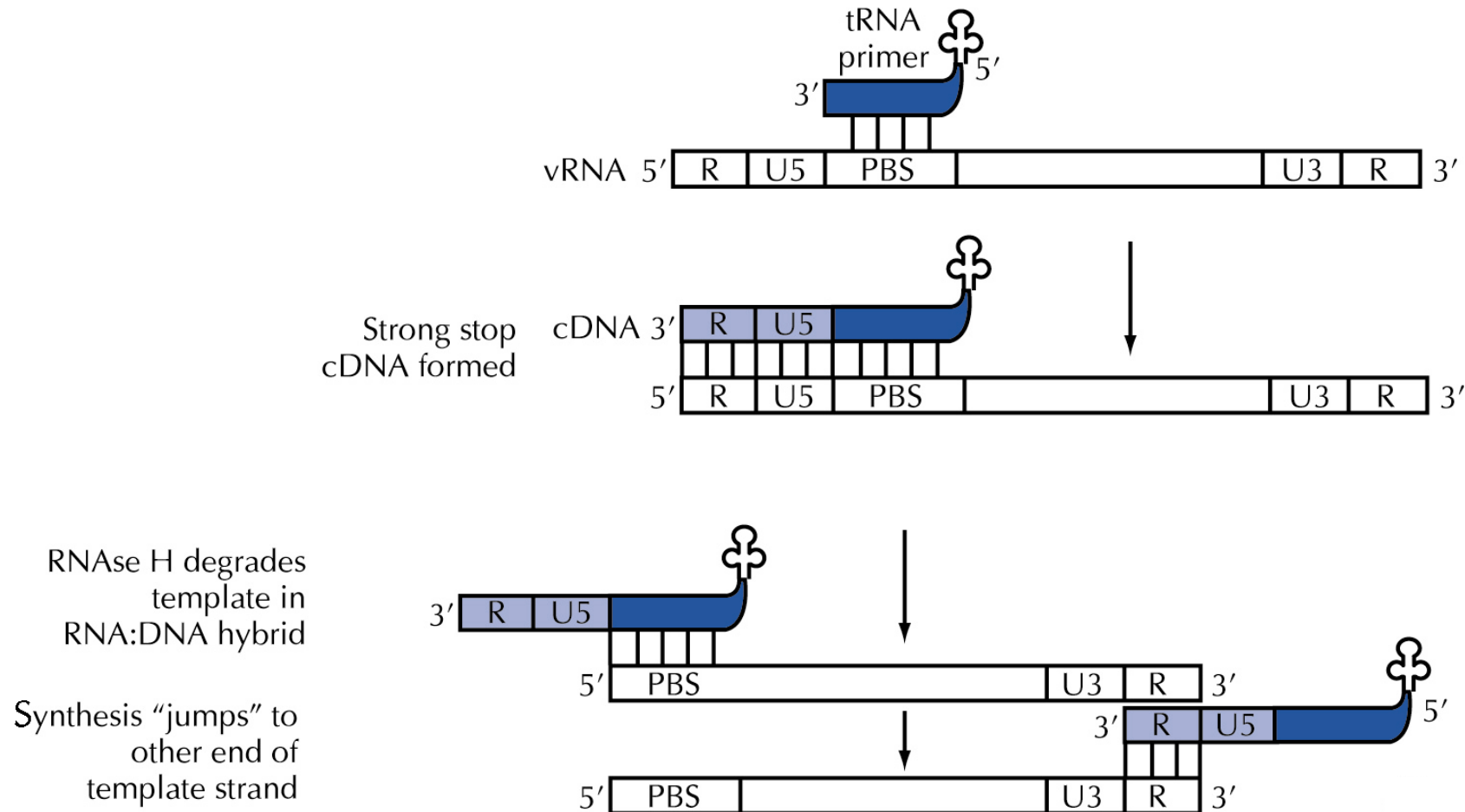
Trascrittasi inversa

- DNA polimerasi RNA-dipendente
- DNA polimerasi DNA-dipendente
- Attività elicastica
- RNAasi H: degrada RNA quando presente sottoforma di ibrido RNA-DNA

Trascrittasi inversa



Trascrizione inversa (1)

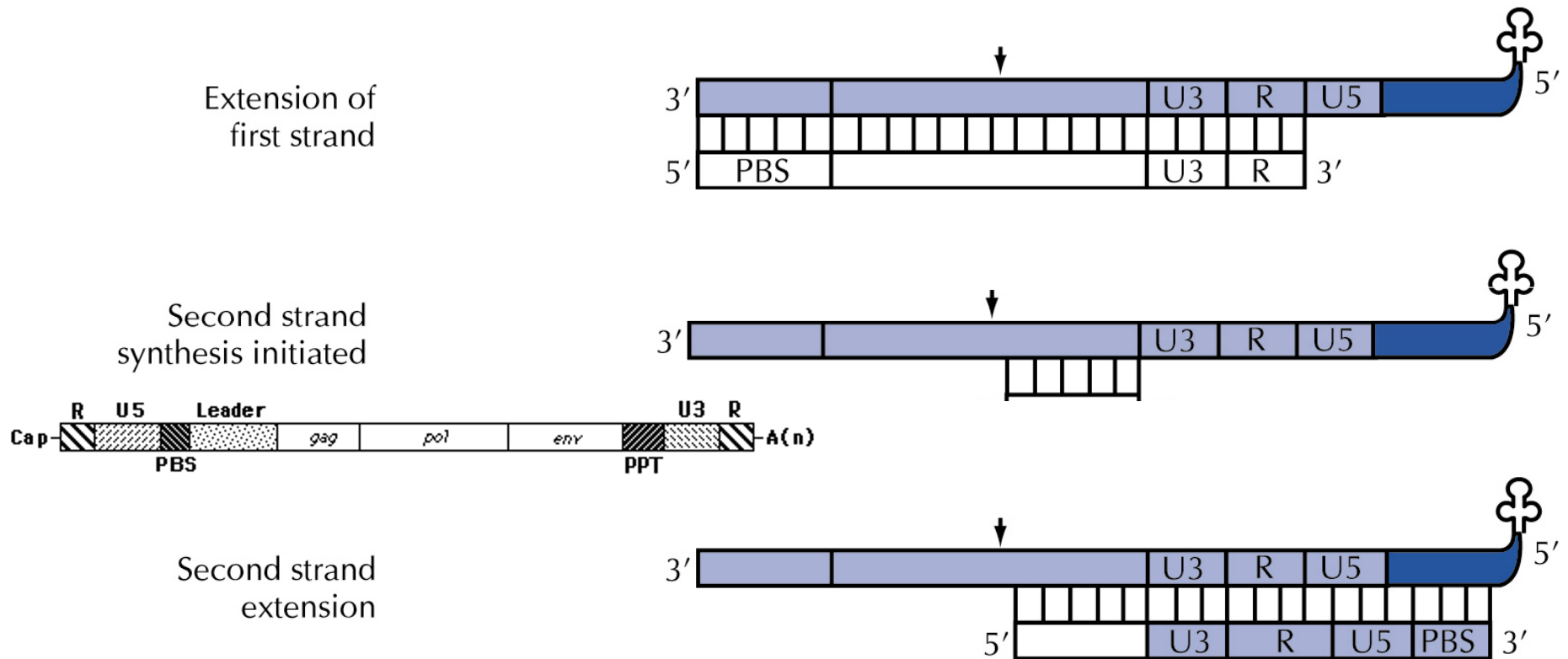


Key

□ Virus RNA

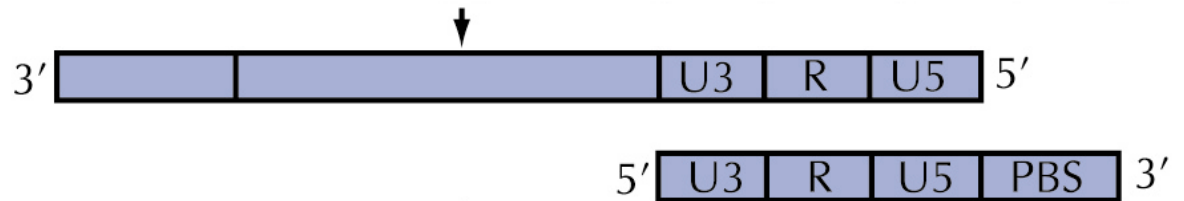
■ Newly synthesized cDNA

Trascrizione inversa (2)

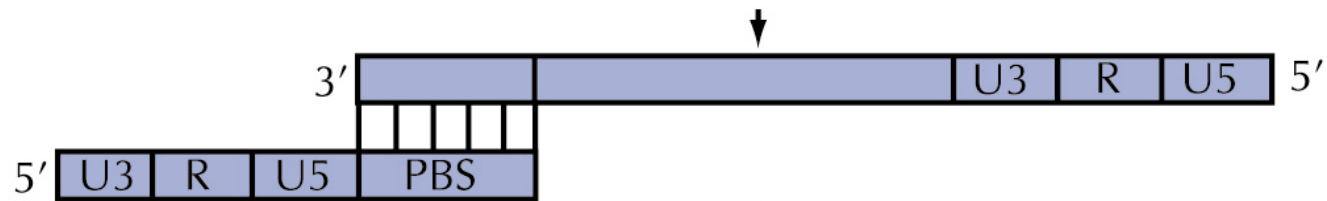


Trascrizione inversa (3)

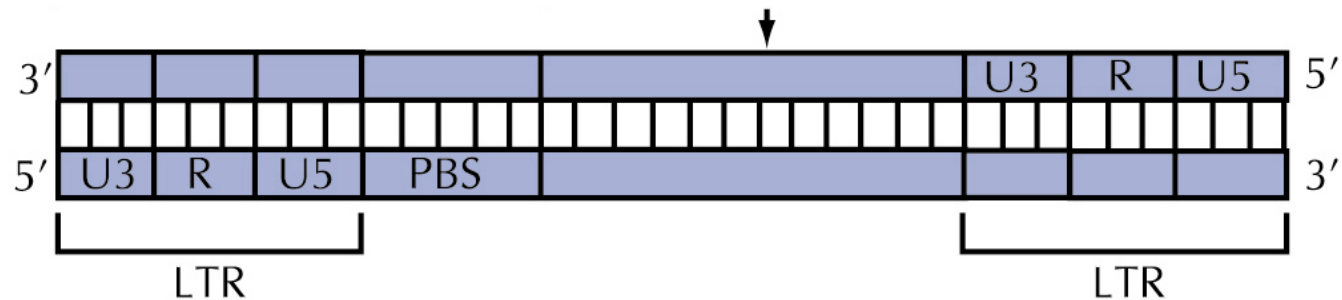
RNAse H degrades
tRNA primer



Second strand
synthesis continues
after “jump” to other
end of first strand



Synthesis of both
strands completed



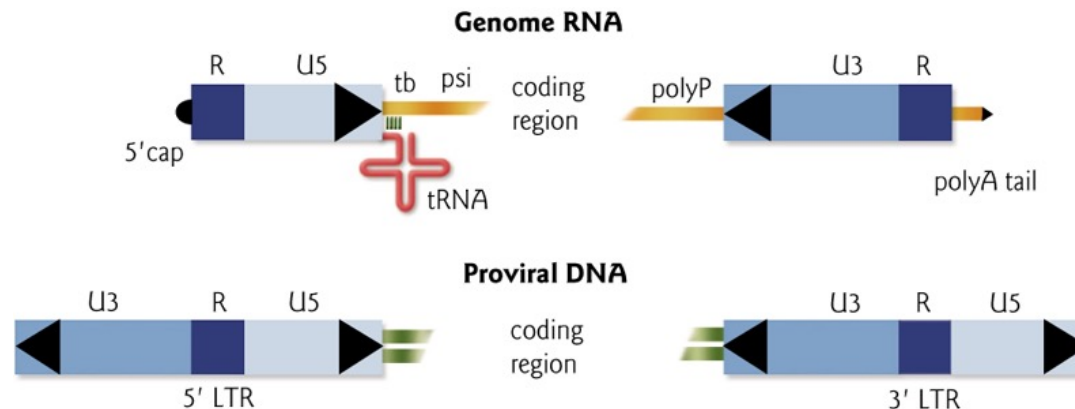
Key

□ Virus RNA

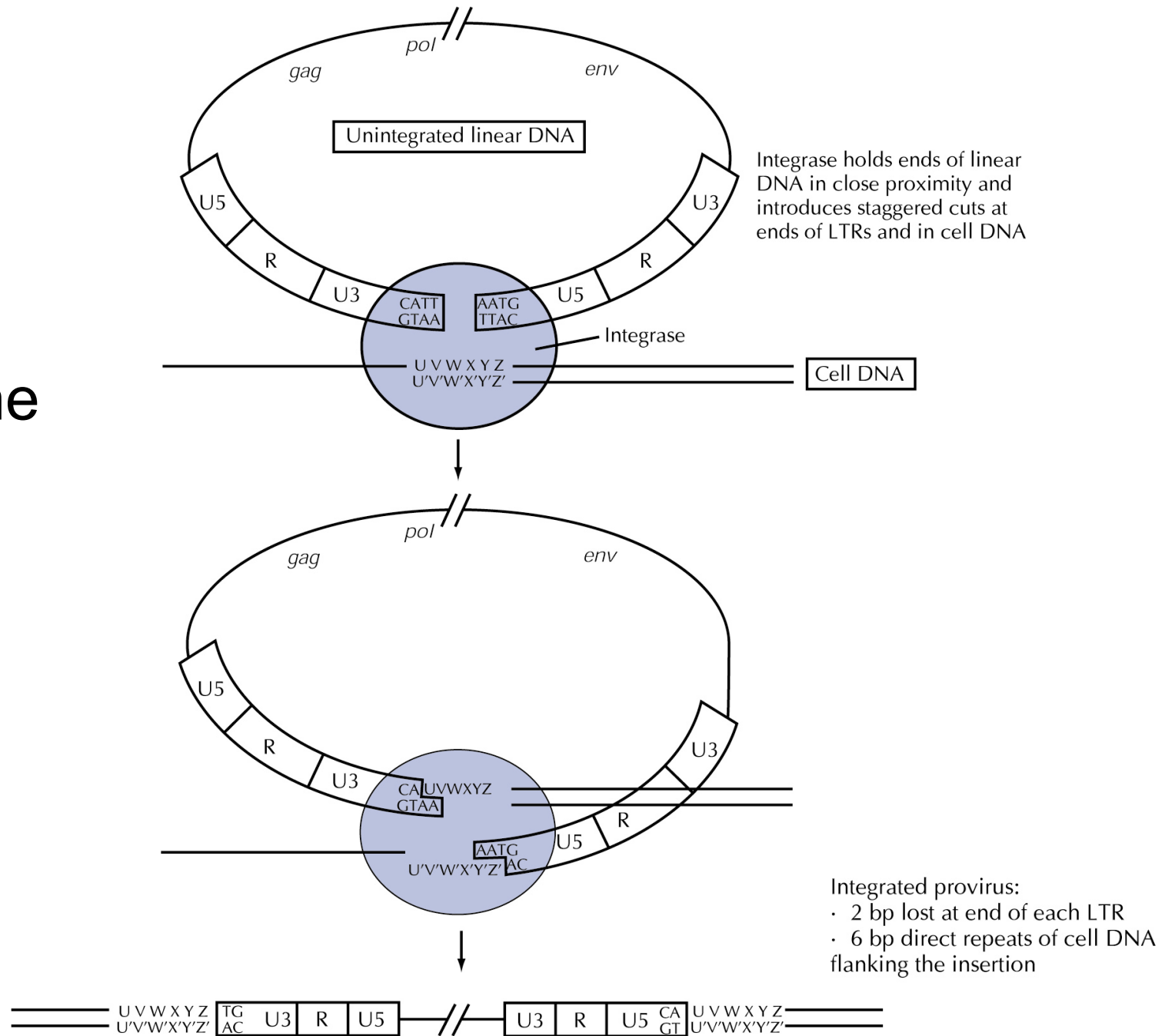
■ Newly synthesized cDNA

Trascrizione inversa

- Il DNA a doppio filamento che si forma attraverso questa reazione è noto come **DNA provirale** o **provirus** e risulta essere più lungo del vRNA poiché ha una copia in più delle regioni U3 e U5. Quindi nel DNA provirale, ad ogni estremità, c'è una ripetizione diretta della sequenza U3-R-U5. Questa sequenza è nota come **LTR** (Long Terminal Repeat)

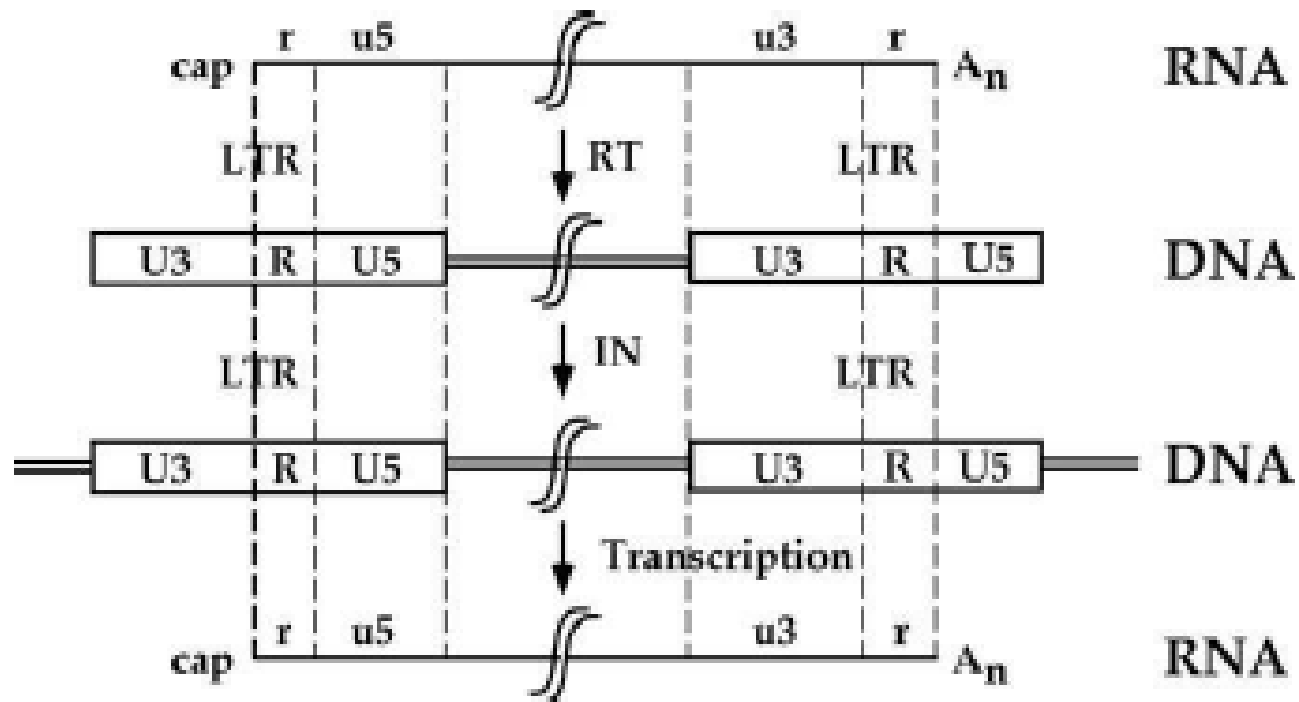


Integrazione

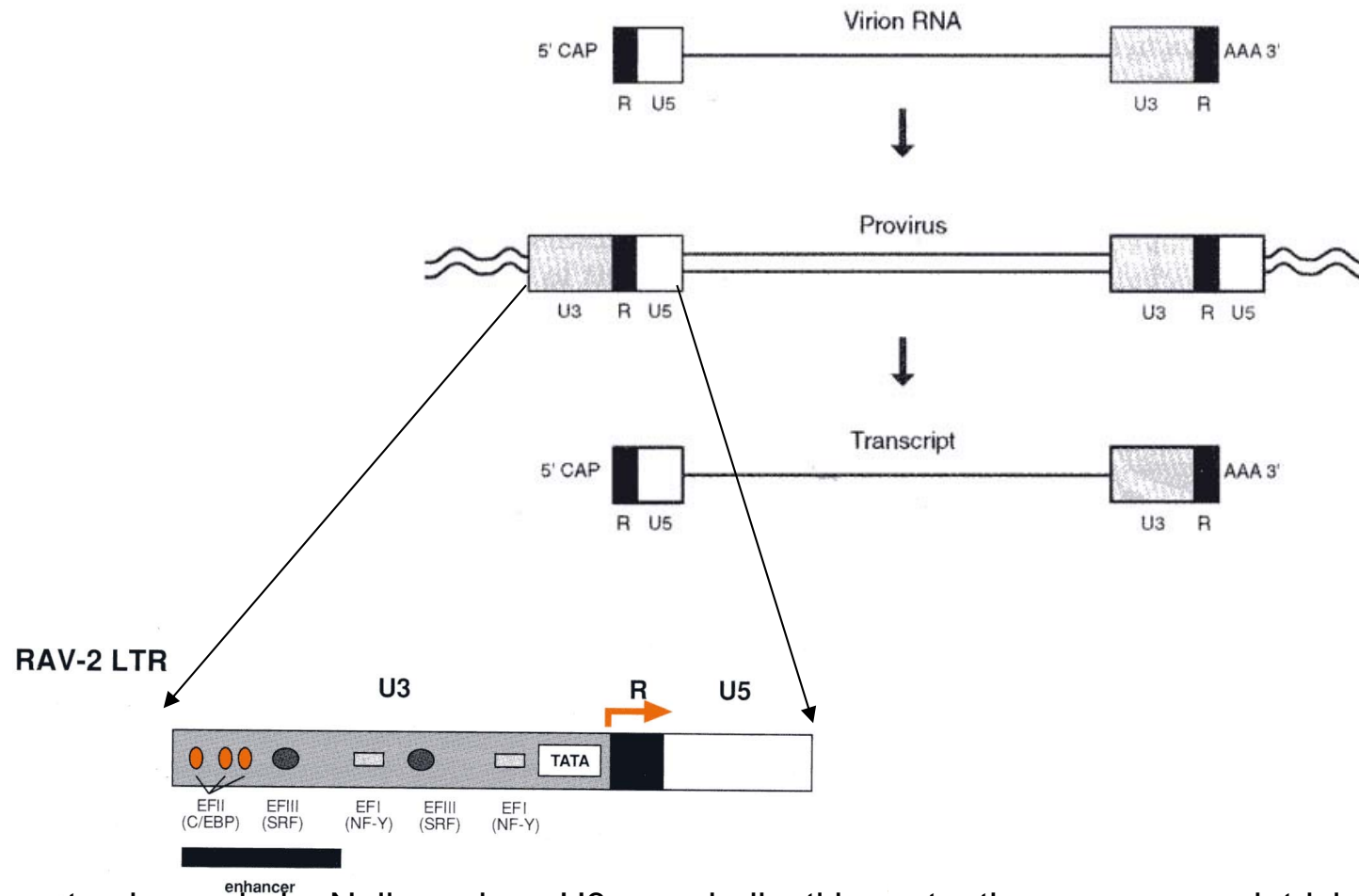


From *Cann Principles of molecular virology* (2001). Academic Press

Strutture alle estremità dell'RNA virale e del DNA provirale

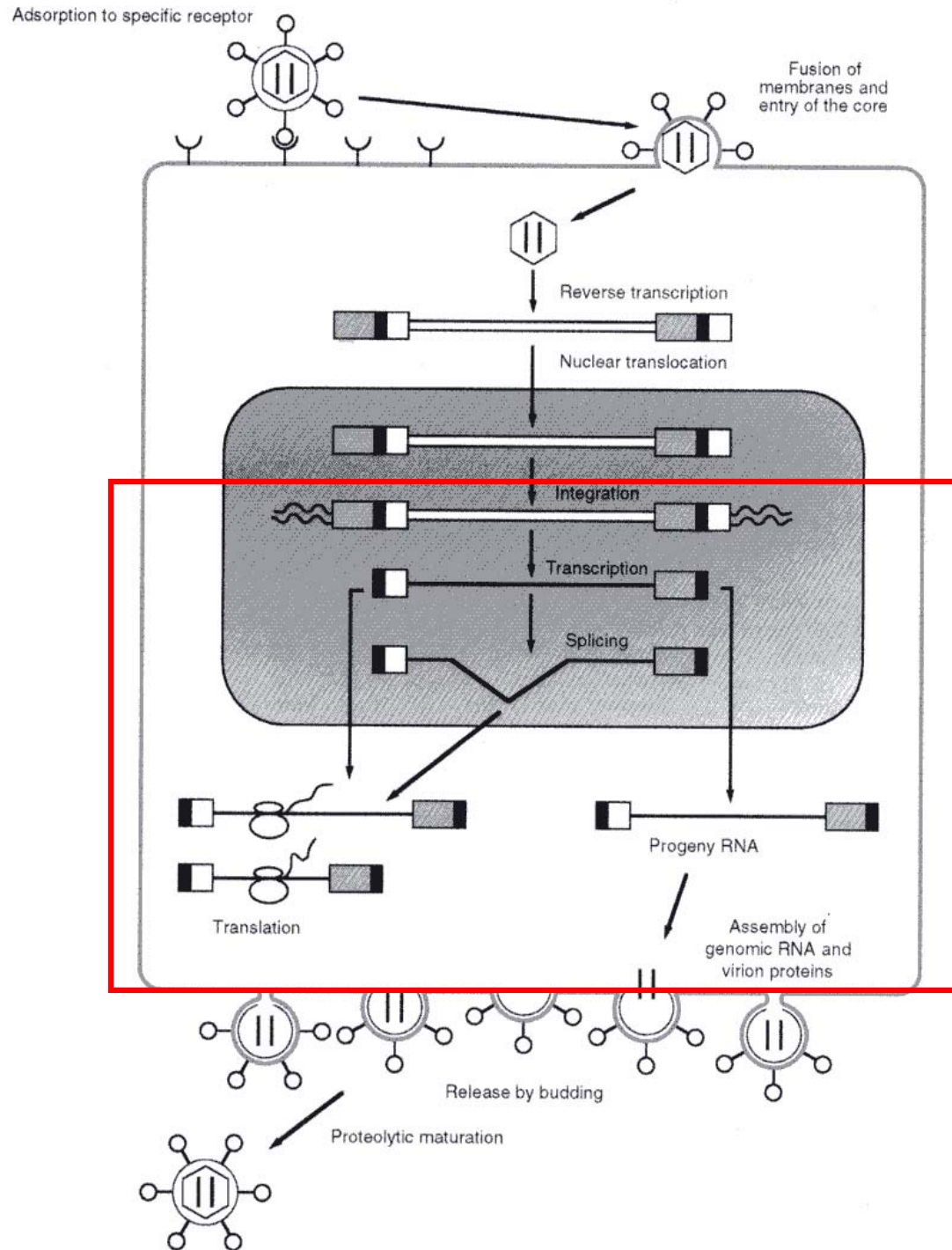


Espressione retrovirus

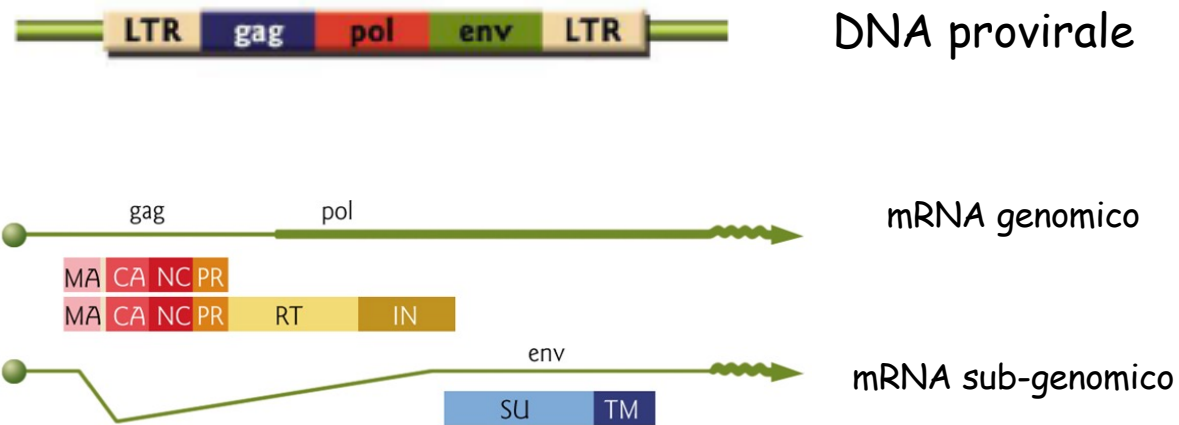


LTR di un retrovirus aviario. Nella regione U3 sono indicati importanti sequenze regolatrici e siti specifici per fattori di trascrizione cellulari. Il legame di tali fattori è determinante per l'attivazione della trascrizione del DNA provirale. Questi fattori sono sia ubiquitari che tessuto-specifici, così che il repertorio di fattori di trascrizione usati da un particolare retrovirus rappresenta un ulteriore grado di specificità per un determinato tipo cellulare.

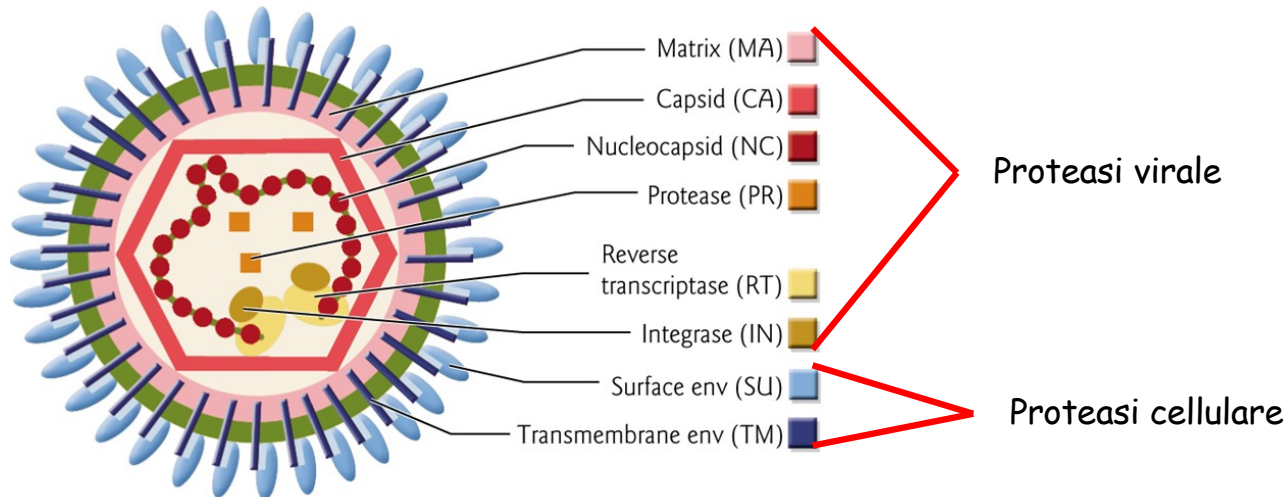
Trascrizione del DNA Provirale



Espressione retrovirus



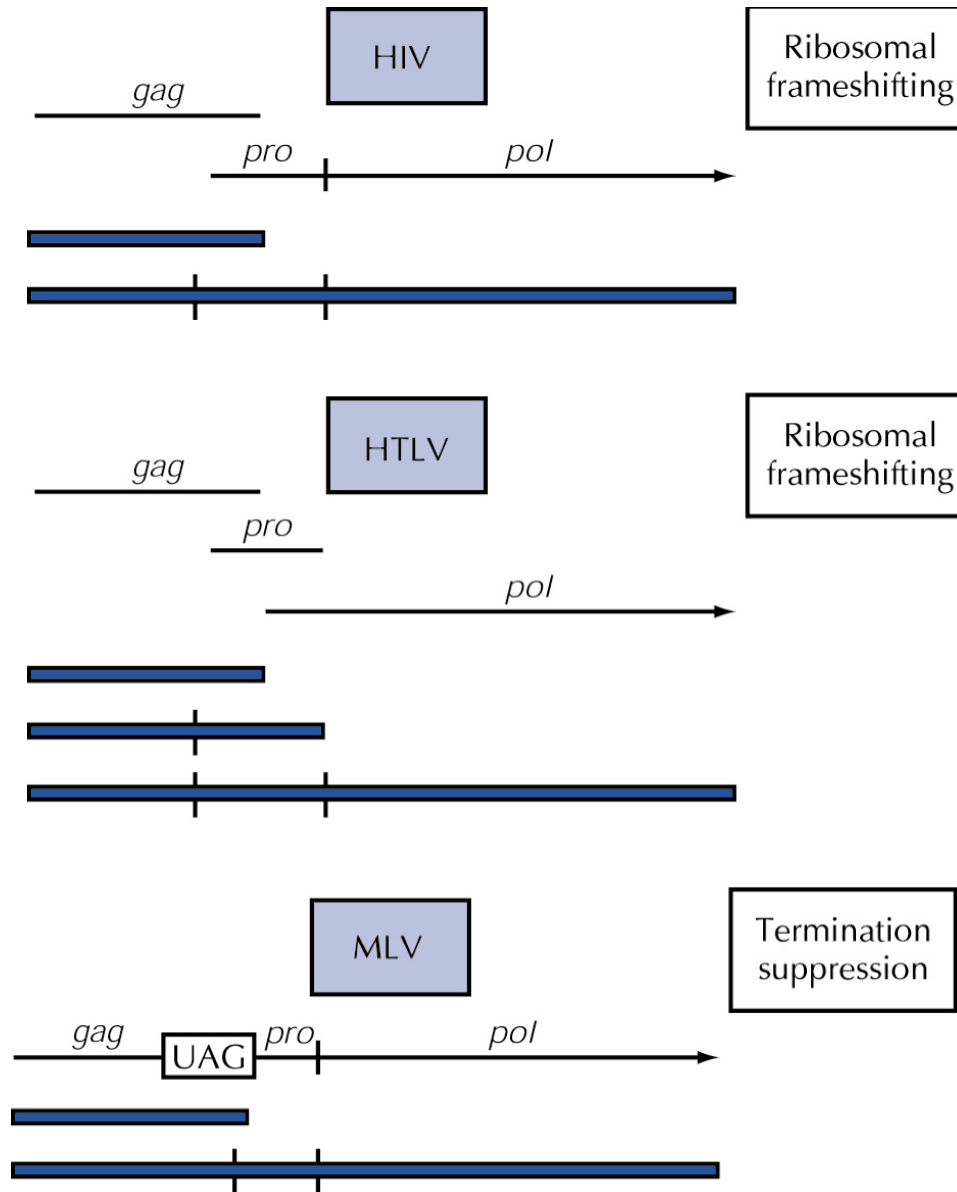
(a)



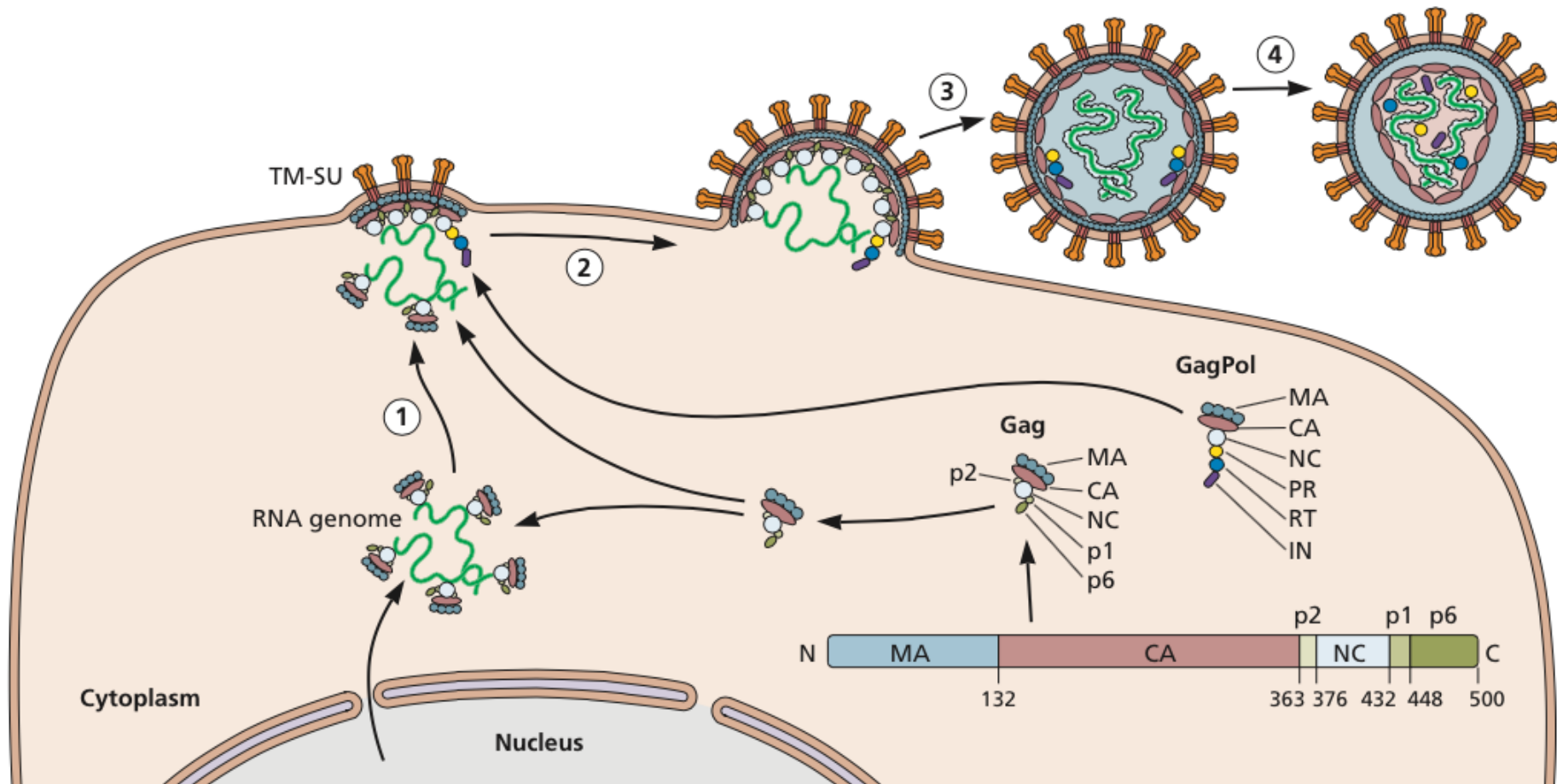
(b)

Traduzione RNA genomico

UUUAAAC
slippery sequence



Assembly and release



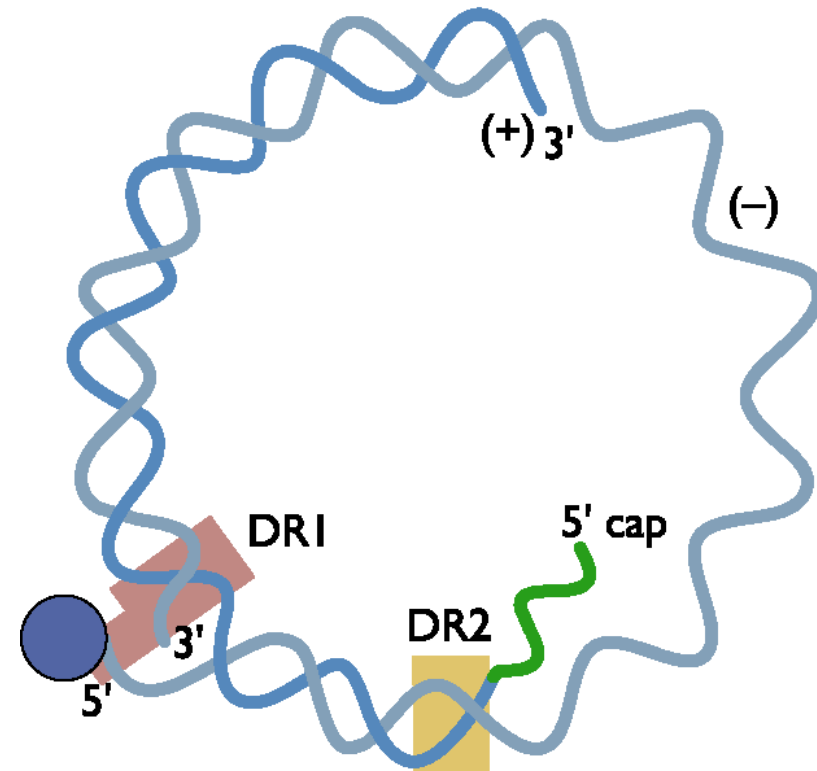
Classe VII, Hepadnaviridae (HBV): dsDNA con intermedio a RNA

Doppio filamento parziale, circolare aperto, con associata la DNA polimerasi RNA-dipendente (trascrittasi inversa) al 5' del filamento (-)

Filamento (-) circa 3.2 kb, filamento (+) variabile nelle diverse particelle, 1.7-2.8 kb

Il filamento (+) presenta un RNA con cap al 5'

Alle terminazioni 5' sono presenti delle corte sequenze ripetute (DR1 e DR2), importanti durante la retrotrascrizione

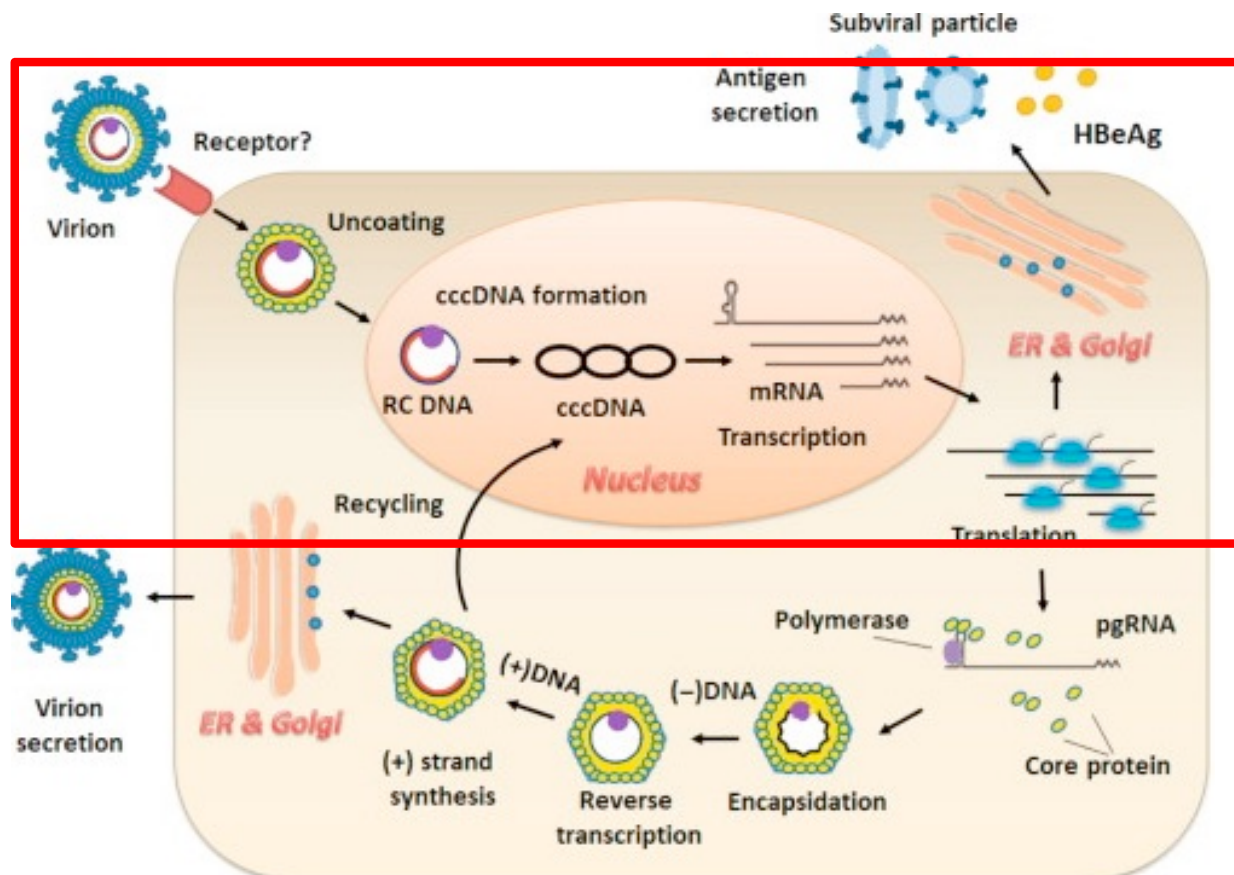


Espressione-Replicazione Classe VII: dsDNA con intermedio a RNA (HBV)

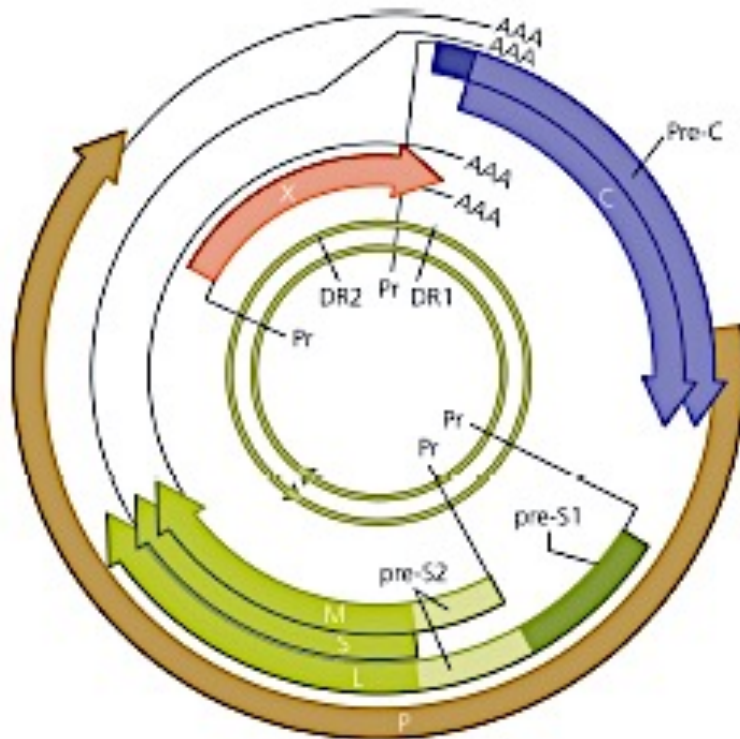
Anche questo gruppo di virus utilizza la trascrittasi inversa

Al contrario dei retrovirus la retrotrascrizione avviene all'interno della particella in maturazione

All'inizio dell'infezione il primo evento è il completamento della sintesi del filamento incompleto (RC-DNA) con formazione del cccDNA.



Classe VII, Hepadnaviridae (HBV): Espressione

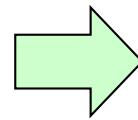


- Stampo: **cccDNA** (covalently closed circular DNA)
- RNA polimerasi: **cellulare** (RNA pol II)
- Trascritti **senza introni**
- Stesso sito di poli-adenilazione **per tutti gli RNA virali**
- **Quattro classi** di trascritti:
 - 3.5 kb
 - 2.4 kb
 - 2.1 kb
 - 0.7 kb

Traduzione degli mRNA

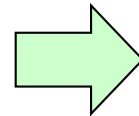
Traduzione degli mRNA nell'ospite: meccanismo di 5' scanning (ribosomi iniziano dal primo AUG che incontrano)

HBsAg (L, M, S)
HBcAg (C)
HBeAg
X



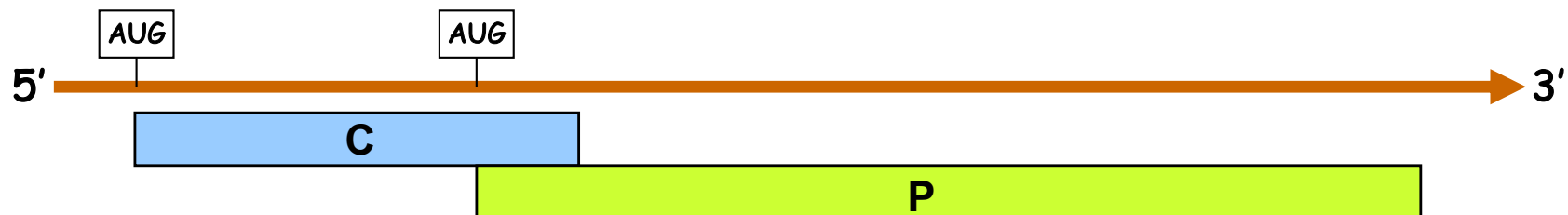
traduzione dal 1°
AUG

Eccezione:



Polimerasi

traduzione con modalità ignote da AUG interno del pgRNA



Espressione-Replicazione Classe VII: dsDNA con intermedio a RNA (HBV)

Anche questo gruppo di virus utilizza la trascrittasi inversa

Al contrario dei retrovirus la retrotrascrizione avviene all'interno della particella in maturazione

All'inizio dell'infezione il primo evento è il completamento della sintesi del filamento incompleto (RC-DNA) con formazione del cccDNA.

