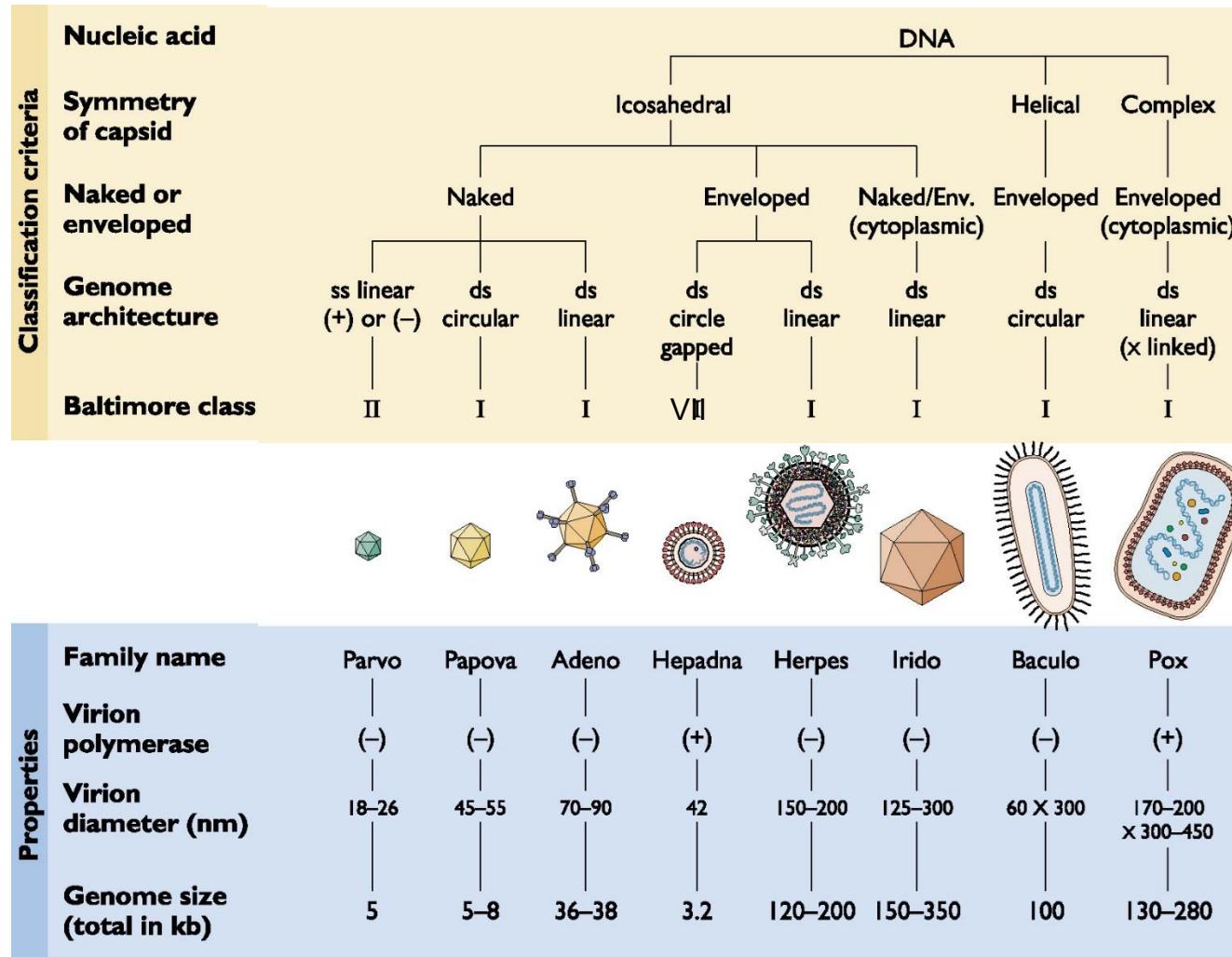


Parti del testo “Introduzione alla Virologia Moderna” da consultare per questa lezione

- **Capitolo 7**
- **Capitolo 10 – par. 10.1 a 10.7**

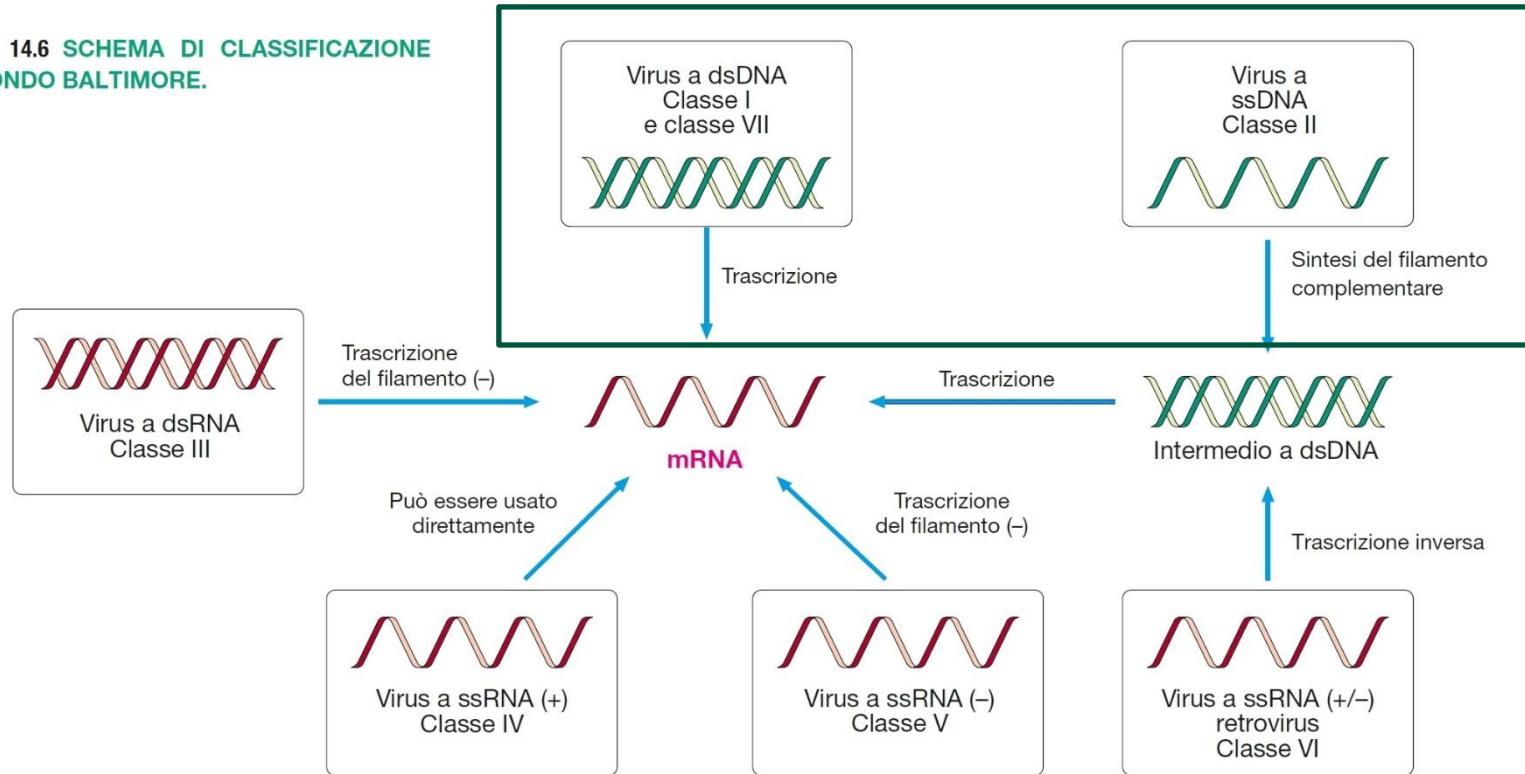
DNA viruses



The size of the genome reflects the complexity of the virus and its replication, which is more evident in DNA viruses than in RNA viruses.

Classificazione secondo Baltimore (suddivisione in classi di replicazione)

Figura 14.6 SCHEMA DI CLASSIFICAZIONE
SECONDO BALTIMORE.



I Virus a DNA

I virus a DNA seguono diverse strategie replicative e ricadono in 3 diverse classi di Baltimore (I: dsDNA; II: ssDNA; VII: dsDNA con intermedio ad RNA).

All'interno della I classe si individuano diverse famiglie virali che presentano strategie replicative differenti che possono essere raggruppate in due principali gruppi

1) herpesvirus, adenovirus, papillomavirus e polyoma virus

Questi virus hanno un genoma a DNA che migra nel **nucleo** della cellula ospite dove usano per la trascrizione le RNA polimerasi DNA-dipendenti della cellula (RNA polimerasi II).

Il genoma dei papovavirus viene trascritto in due tempi, quello degli herpesvirus e degli adenovirus in tre tempi, con produzione rispettivamente di due e tre distinti gruppi di mRNA, l'ultimo dei quali destinato alla produzione delle proteine strutturali del virione.

I Virus a DNA

2) **poxvirus**

In questi virus l'intero ciclo di replicazione si compie nel citoplasma pur essendo virus a DNA, utilizzano per la trascrizione una RNA-polimerasi DNA dipendente veicolata dal virione.

UNICI VIRUS A DNA CHE COMPIONO IL CICLO REPLICATIVO NEL CITOPLASMA!

I virus della classe II (es. parvovirus)

Possiedono un DNA monocatenario che per opera di enzimi cellulari dovrà dirigere la sintesi di una catena complementare di DNA e la trascrizione di mRNA.

Questi eventi si verificano nel nucleo della cellula.

I Virus a DNA

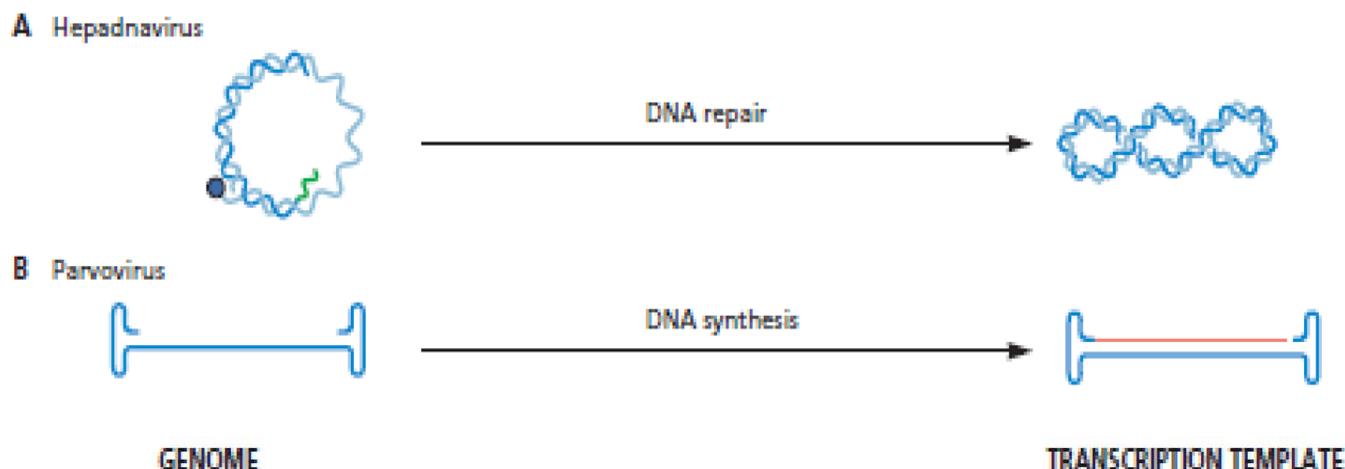
I virus della classe VII (Hepadnavirus): hanno un genoma a DNA a Doppio filamento parziale, circolare aperto, con associata la DNA polimerasi RNA-dipendente

Hepadnavirus: Dei quali l'unico patogeno per l'uomo è il virus dell'epatite B. Questi virus hanno un genoma circolare costituito da DNA bicanterario con un'interruzione nella catena a polarità positiva. Mediante **enzimi cellulari nucleari di riparo**, il tratto mancante viene sintetizzato con produzione di una molecola interamente bicanteraria che si superavvolge.

Successivamente, ad opera di **enzimi cellulari nucleari**, vengono trascritti una serie di mRNA subgenomici che codificano per le proteine strutturali e un RNA genomico che, incorporato nel nucleocapside, verrà **retrotrascritto in DNA dalla DNA-polimerasi RNA-dipendente virale, seguita dalla sintesi della catena DNA complementare**

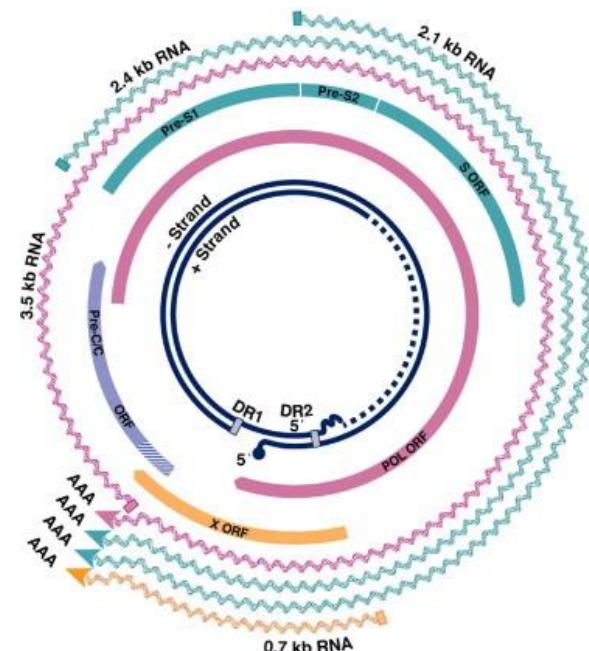
Stampo per la RNA pol II

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



Replicazione del genoma virale per i virus a DNA

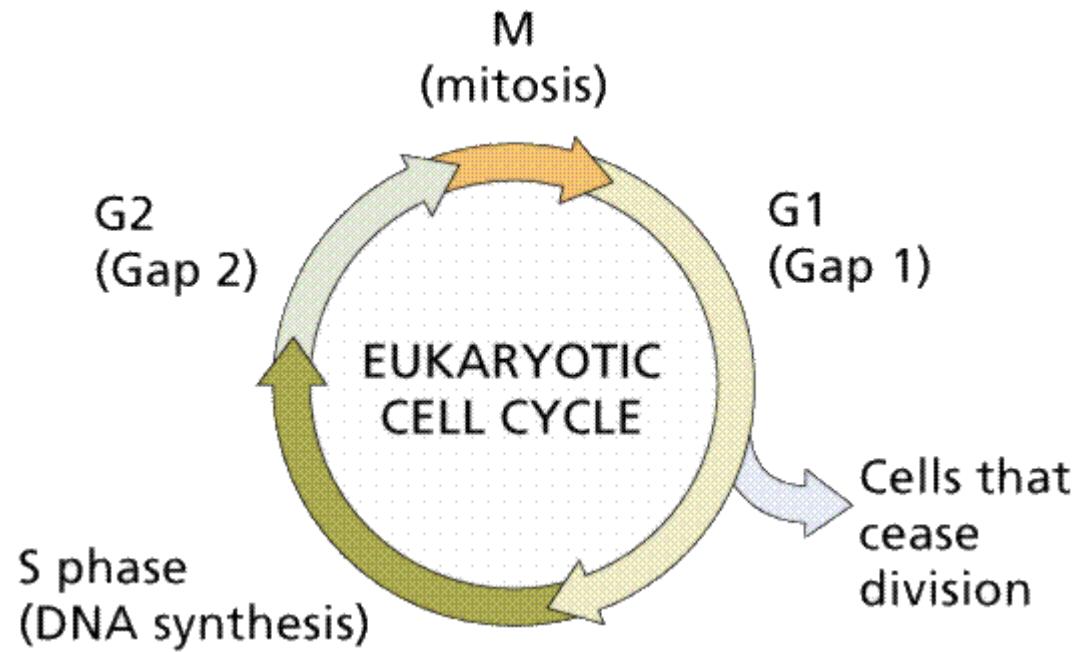
- Herpesvirus, adenovirus e poxvirus hanno la propria DNA polimerasi codificata dal genoma virale stesso.
- HBV utilizza una propria DNA-polimerasi RNA-dipendente (trascrittasi inversa)



Replicazione del genoma virale per i virus a DNA

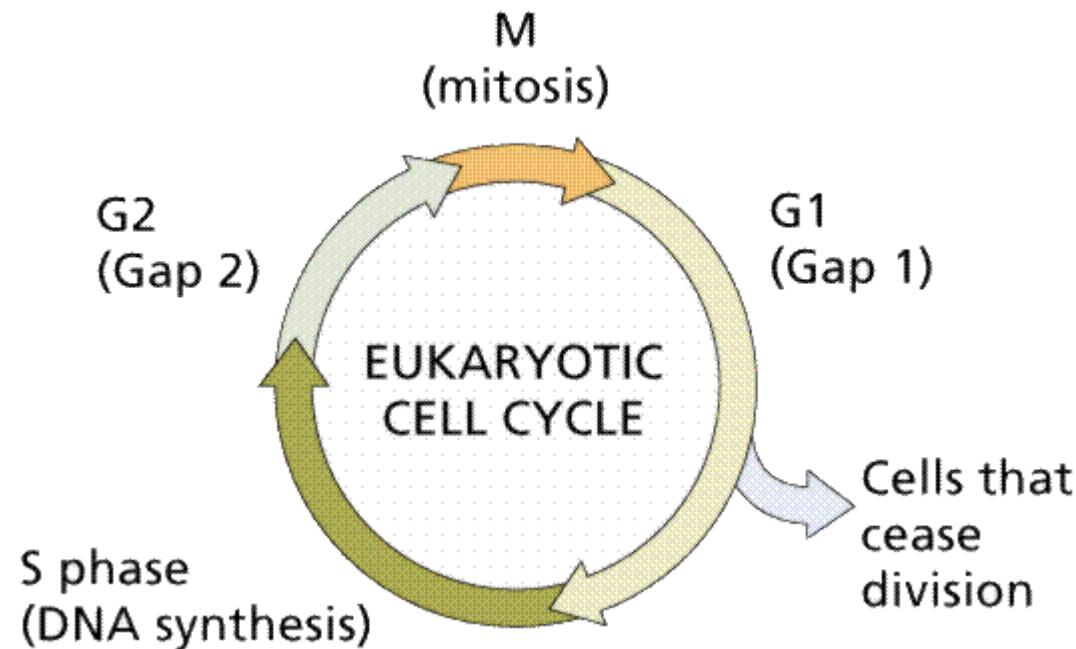
Parvovirus, e Papovavirus non hanno una propria DNA polimerasi, devono utilizzare la DNA polimerasi della cellula ospite.

La DNA polimerasi è prodotta in una fase specifica del ciclo cellulare: la fase S, e **si ritrova quindi solo nelle cellule in attiva replicazione**.



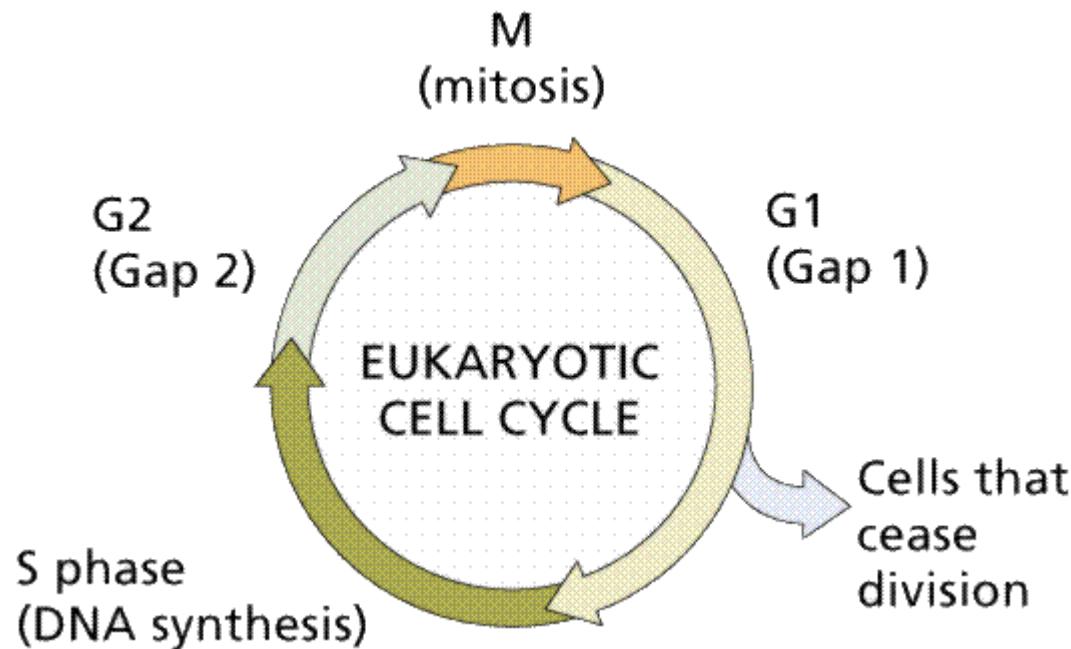
Replicazione del genoma virale per i virus a DNA

Per utilizzare la DNA polimerasi cellulare, i **Papovavirus** inducono la progressione del ciclo cellulare dalla fase G1 alla fase S. Ciò consente a questi virus di infettare anche cellule quiescenti.



Replicazione del genoma virale per i virus a DNA

Per utilizzare la DNA polimerasi, i Parvovirus replicano solo nelle cellule in attiva proliferazione: i progenitori dei globuli rossi (gli eritroblasti)



Virus di Classe I: dsDNA

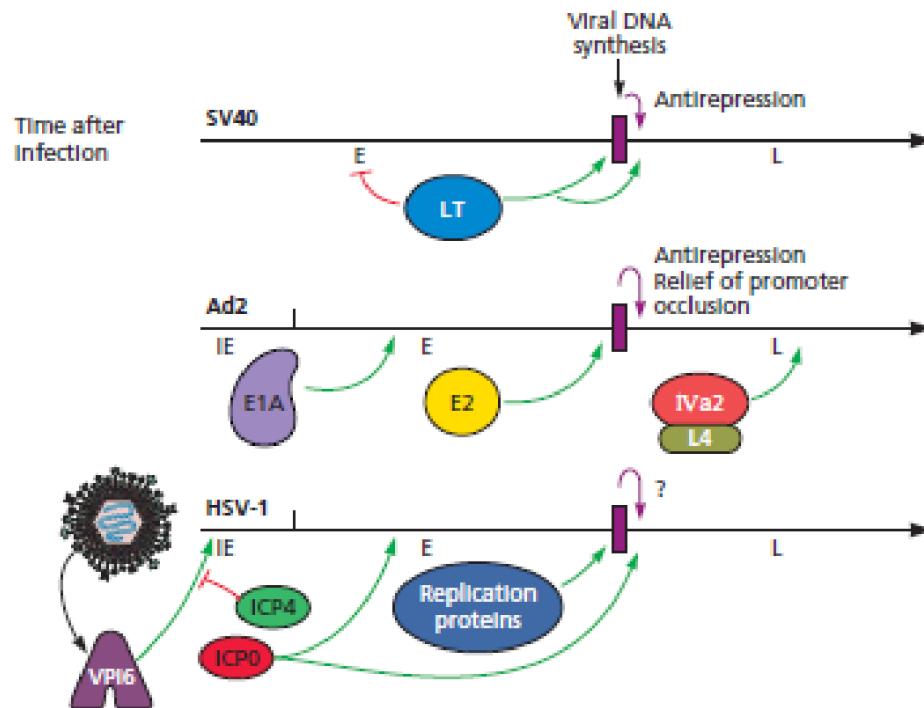
- Alcuni genomi di virus a DNA sono complessati ad istori cellulari a formare una struttura simile alla cromatina all'interno dei virioni. Una volta all'interno del nucleo della cellula ospite si comportano come cromosomi satellite in miniatura seguendo i dettami degli enzimi cellulari e del ciclo cellulare
- Lo studio di questi virus ha portato all'identificazione degli elementi che guidano la sintesi di pre-mRNA e mRNA (**promotori e enhancer; SV40**)
- I primi **mRNA poliadenilati** al 3' osservati sono stati quelli di **Vaccinia virus**
- Geni composti da **introni** non codificanti e **esoni** codificanti, così come spliced mRNA, sono stati scoperti per la prima volta in **Adenovirus** da Roberts & Sharp in 1977.

Virus di Classe I: dsDNA

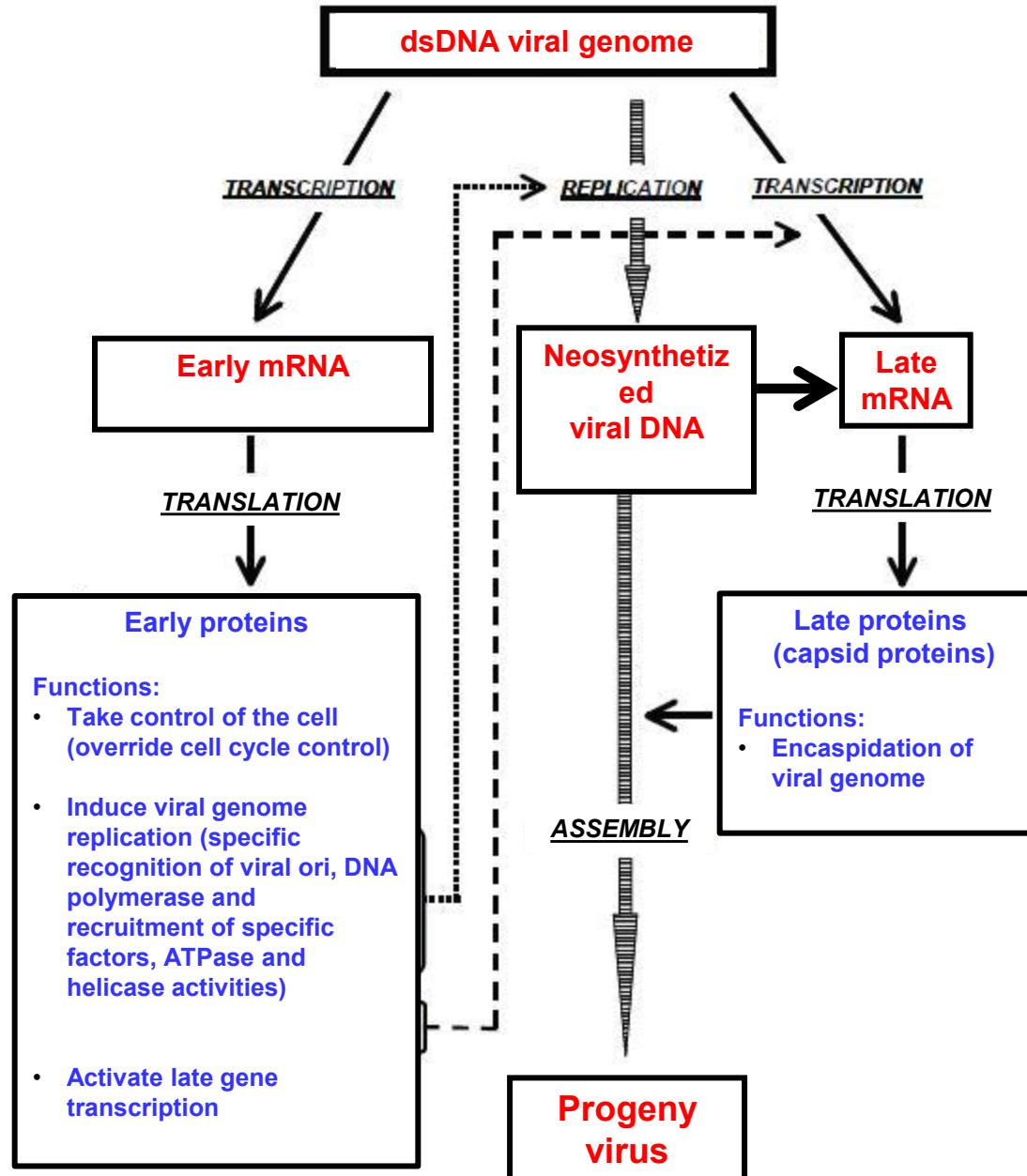
- Può essere suddivisa in due ulteriori gruppi
- Ciclo replicativo esclusivamente nucleare, replicazione del genoma relativamente dipendente da fattori cellulari, trascrizione tutto a carico della cellula NON CODIFICANO ALCUNA RNA POLIMERASI
- Replicazione citoplasmatica (Poxviridae). Questi virus sono provvisti di tutti i fattori necessari per la trascrizione e replicazione del loro genoma e sono largamente indipendenti dall'ospite per questi processi
- La trascrizione è la prima reazione biosintetica che si osserva in una cellula infettata da virus con genoma a dsDNA

Virus di Classe I: dsDNA

La trascrizione dei geni virali in periodi temporali distinti (fasi) è una caratteristica del ciclo riproduttivo di tutti i virus con genoma a DNA. La transizione da una fase all'altra dipende dall'attività di fattori virali e dalla sintesi dei genomi della progenie



EXPRESSION-REPLICATION of GR I VIRUSES



GR I virus EXPRESSION-REPLICATION

Viral genome transcription and replication in the host cell nucleus (except poxv.)

Expression-replicative cycle consists of 3 phases :

➤ Early phase of expression

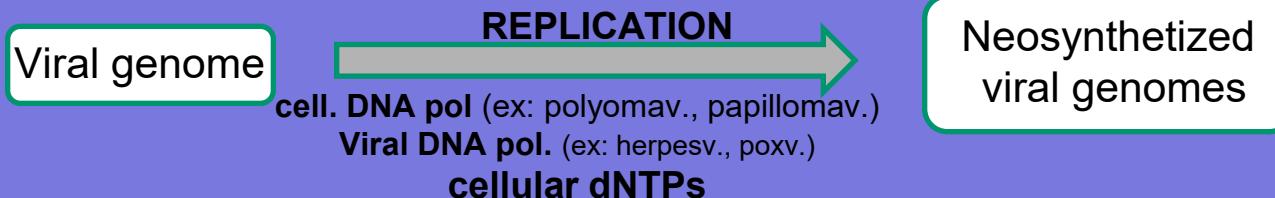


Roles : Initiate viral genome replication

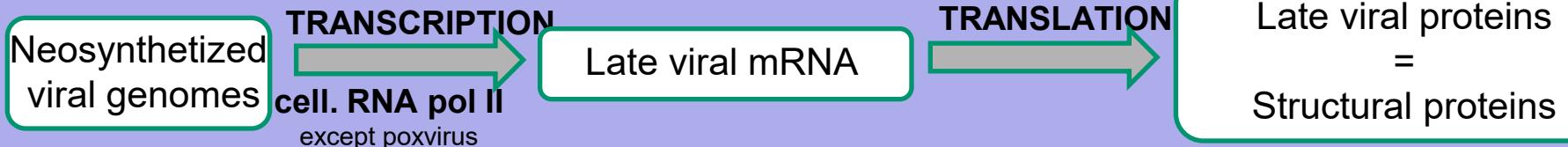
Induce expression of structural proteins

Take control of the host cell cycle to favor viral replication : S-phase induction

➤ Viral genome replication

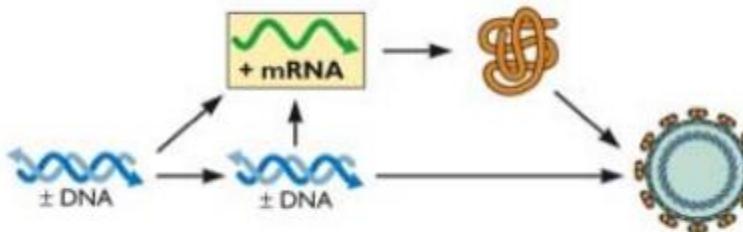


➤ Late phase of expression



➔ Assembly of viral particles in the nucleus

Double stranded DNA (dsDNA) genomes



Genomes use host DNA polymerase

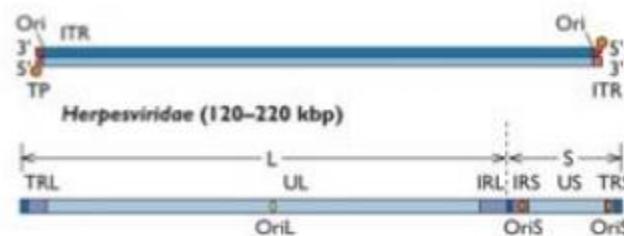
Polyomaviridae (5 kbp)



Papillomaviridae (8 kbp)

Genomes encode DNA polymerase

Adenoviridae (36–48 kbp)



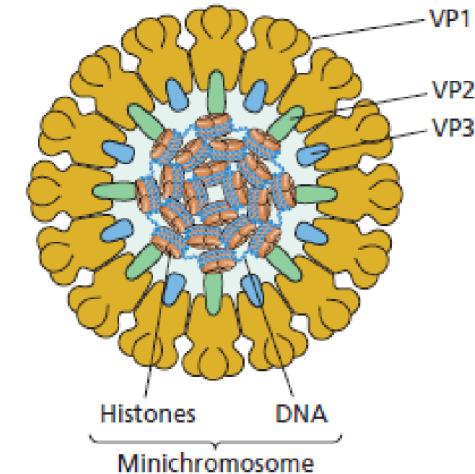
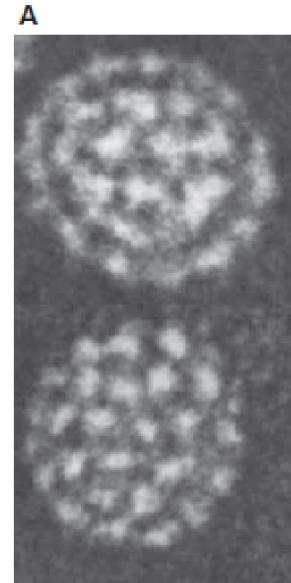
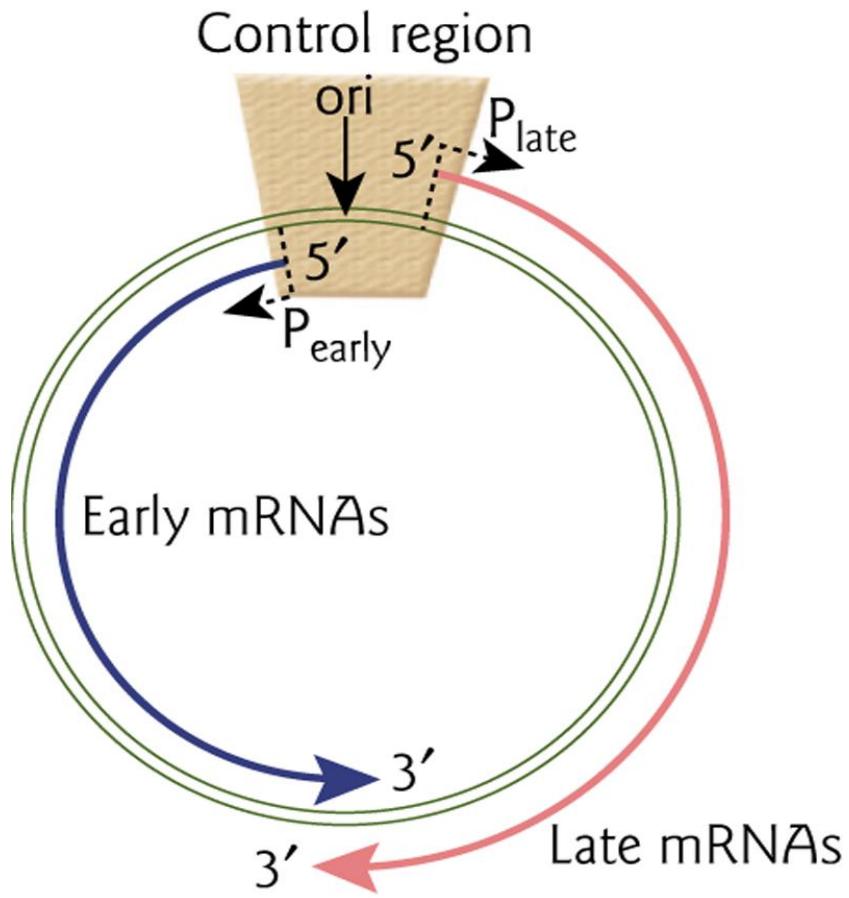
Herpesviridae (120–220 kbp)



Poxviridae (130–375 kbp)



Simian Virus 40 (SV40)



Il genoma virale è complessato agli istoni cellulari H2A, H2B, H3 e H4 a formare un minicromosoma

Contiene due unità trascrizionali: precoce e tardiva

Proteine precoci: Large T e small t

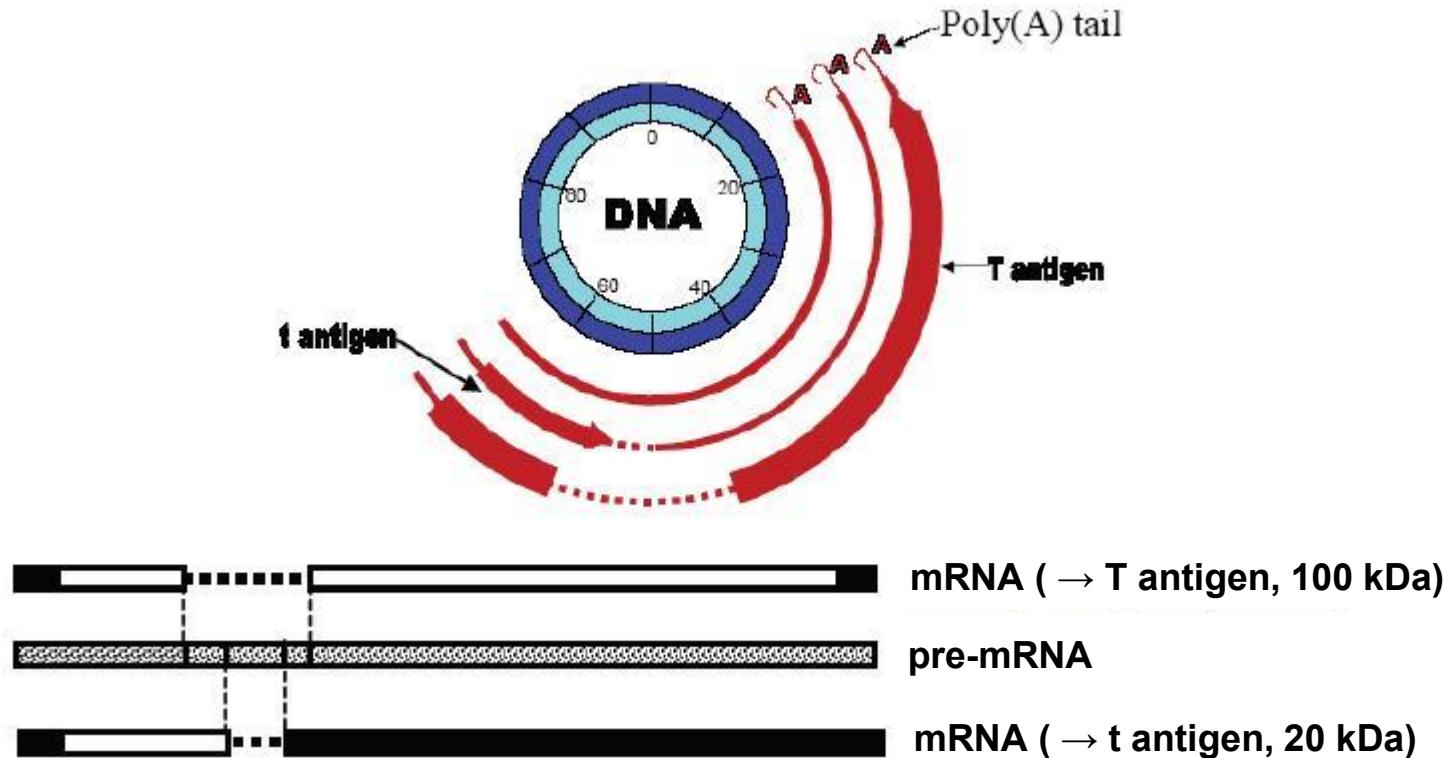
Replicazione del genoma

Proteine tardive: VP1, VP2, VP3 e Agnoproteina

SV40 virus

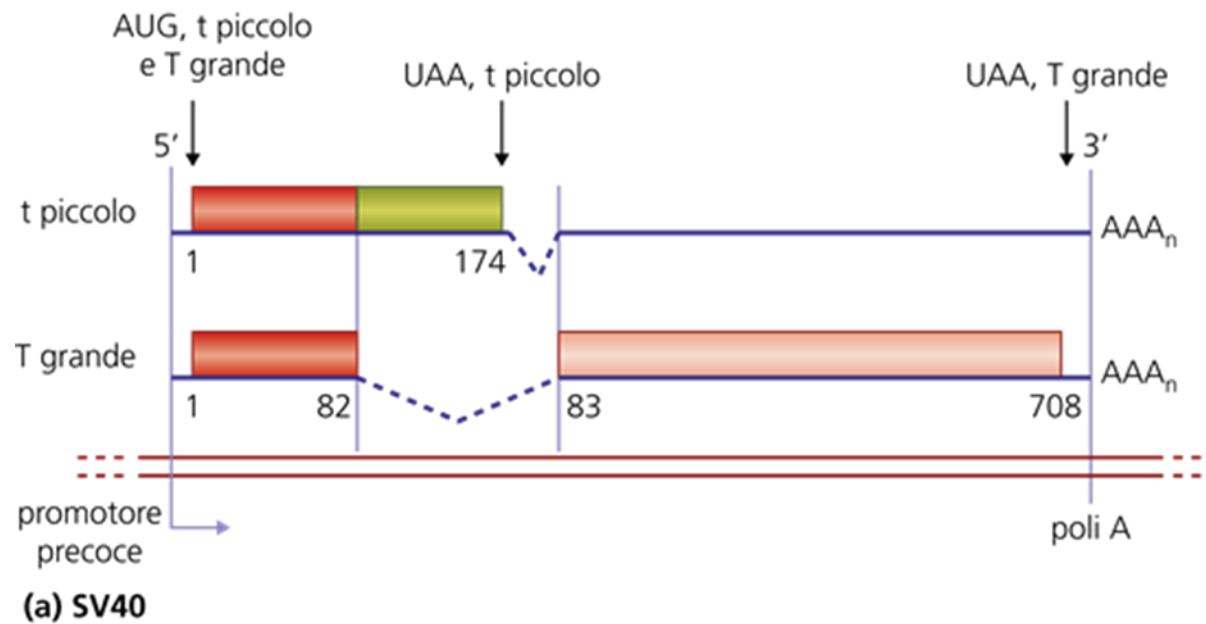
Poliomaviridae, Circular dsDNA genome, naked, icosahedral capsid

Early phase of SV40 : *Synthesis of mRNA encoding early proteins (T and t antigens)*

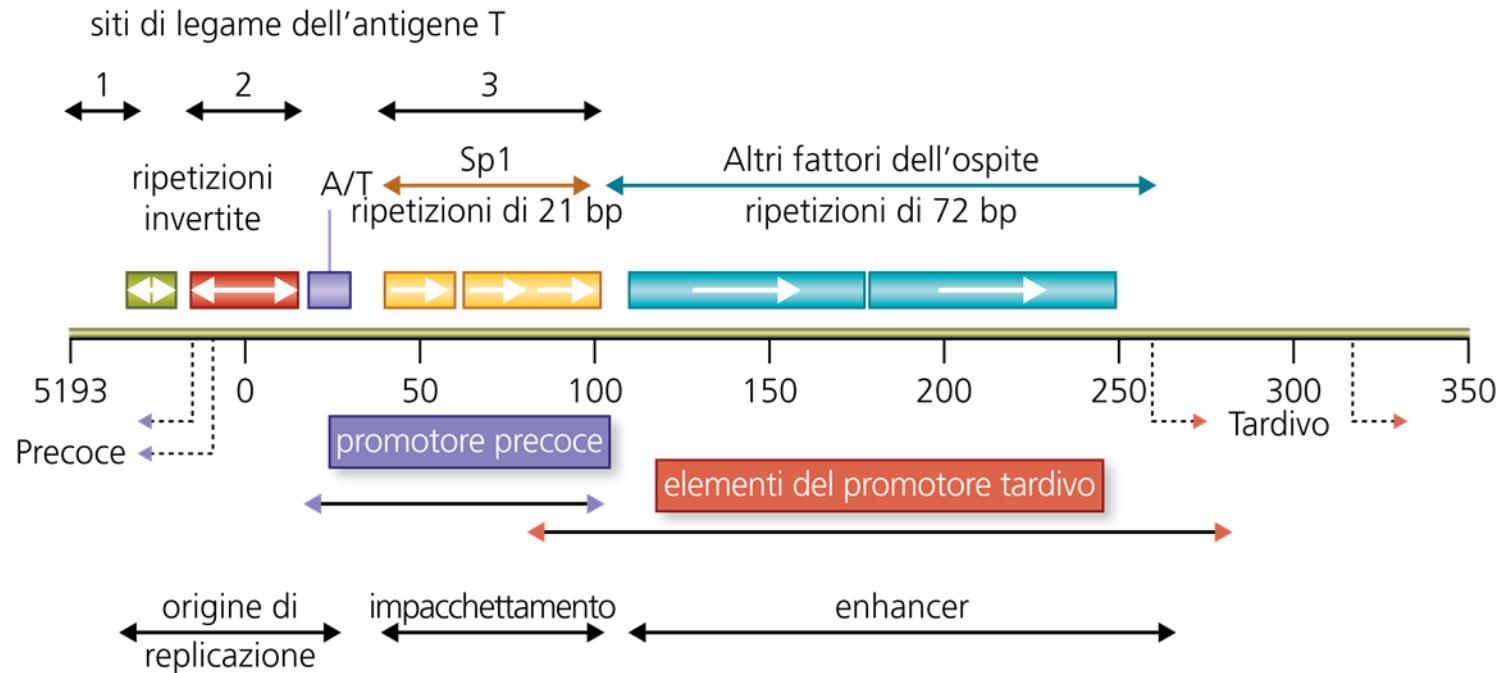


Alternative splicing \rightarrow 2 viral mRNA from 1 pre-mRNA

Espressione precoce in SV40



Espressione: SV40

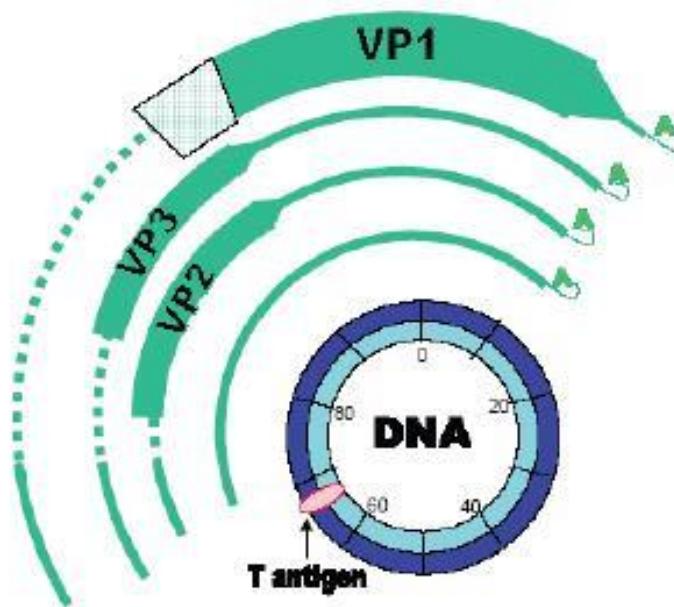


SV40 LT Ag

- Si lega a pRb e p53: attivazione sintesi DNA nell'ospite
- Blocco dell'apoptosi grazie all'interazione con p53
- Si lega ad ori per iniziare la sintesi del DNA virale (elicasi ATP dipendente)
- Spegne la trascrizione precoce legandosi al proprio promotore
- Attiva la trascrizione tardiva
- E' coinvolta nell'assemblaggio del virione

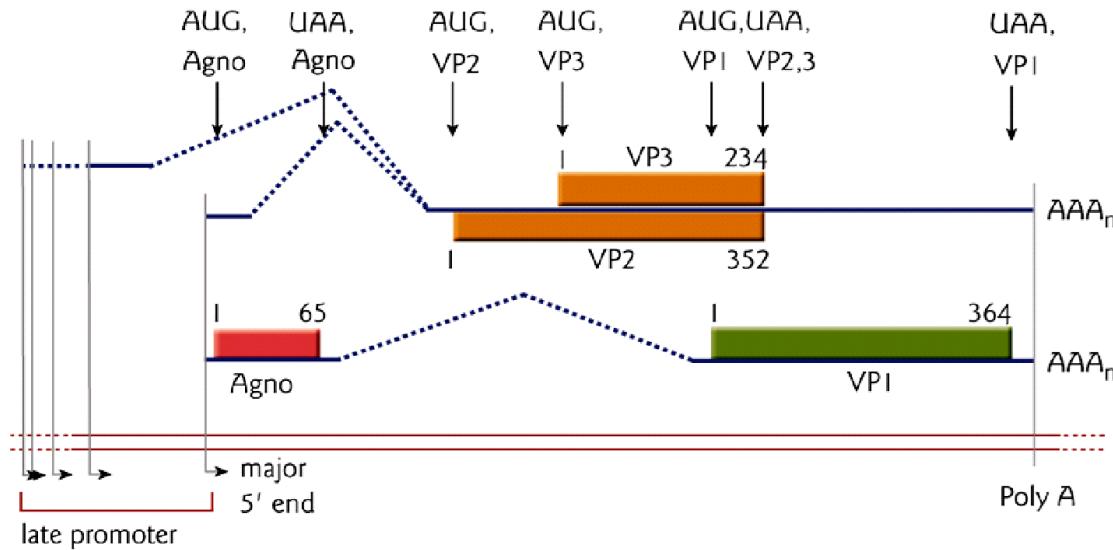
Fase tardiva

Late phase of SV40 : synthesis of late mRNA encoding structural viral proteins VP1, VP2 & VP3

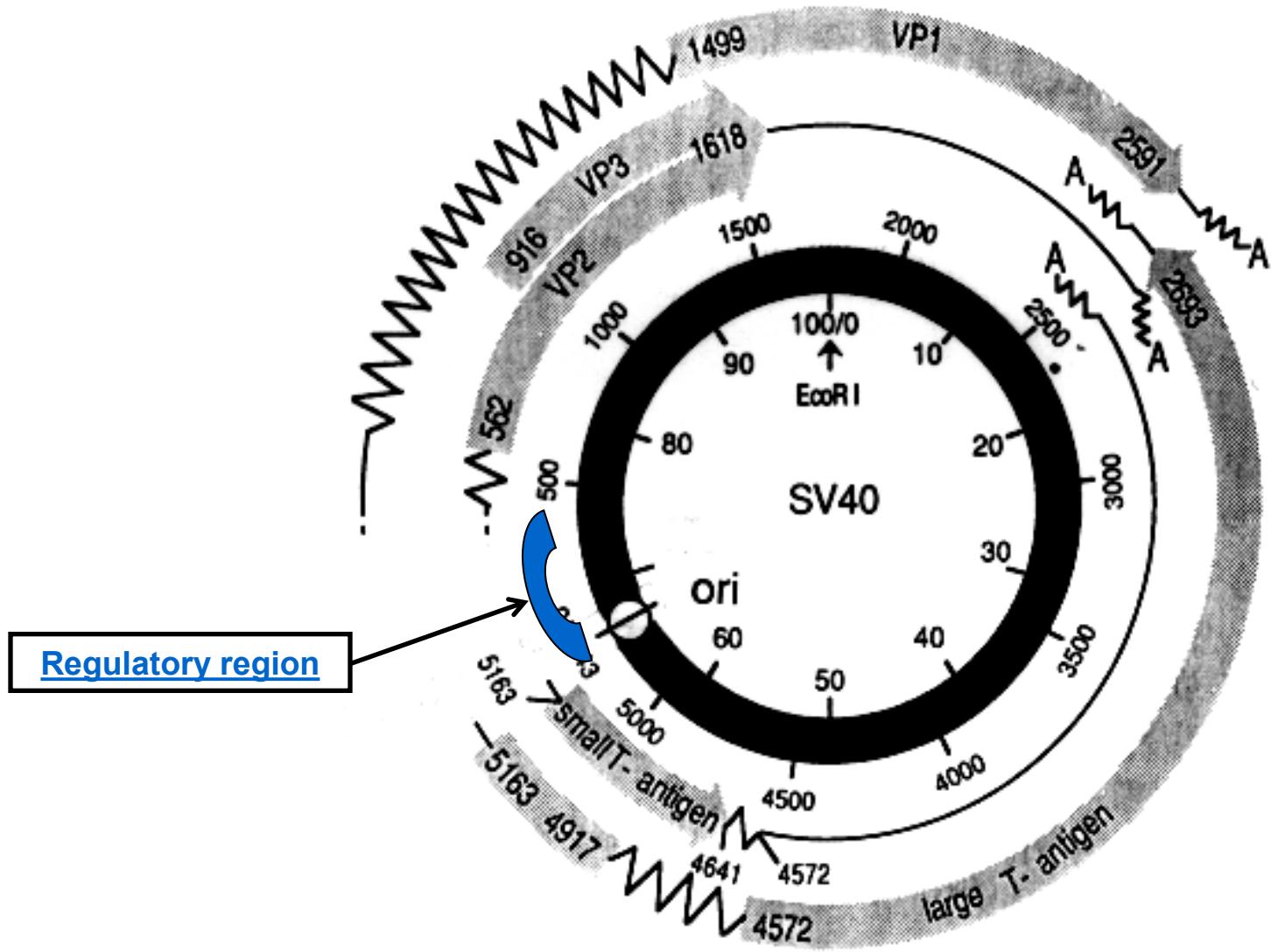


Alternative splicing → 3 viral mRNA from 1 pre-mRNA

Espressione tardiva di SV40

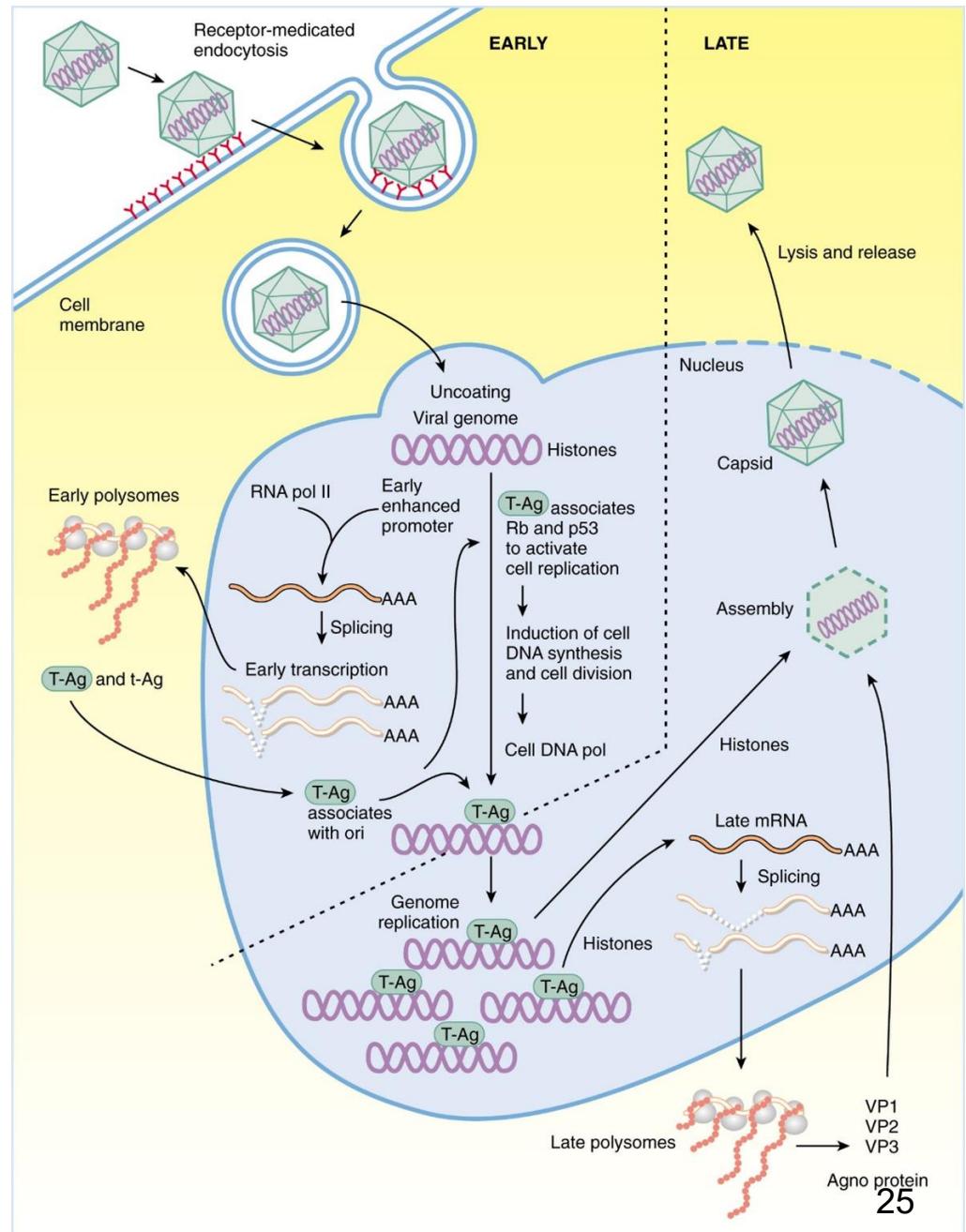


Gli mRNA tardivi contengono estremità 5' eterogenee dovute alla mancanza di una TATA box nel promotore tardivo, che serve normalmente a stabilire la posizione precisa dell'inizio della trascrizione.



Unique regulatory region : controls the expression of all viral genes.
 Both upstream of early genes and late genes.
 + unique origin of DNA replication

CICLO REPLICA TIVO DI SV40



CICLO REPLICATIVO DI SV40

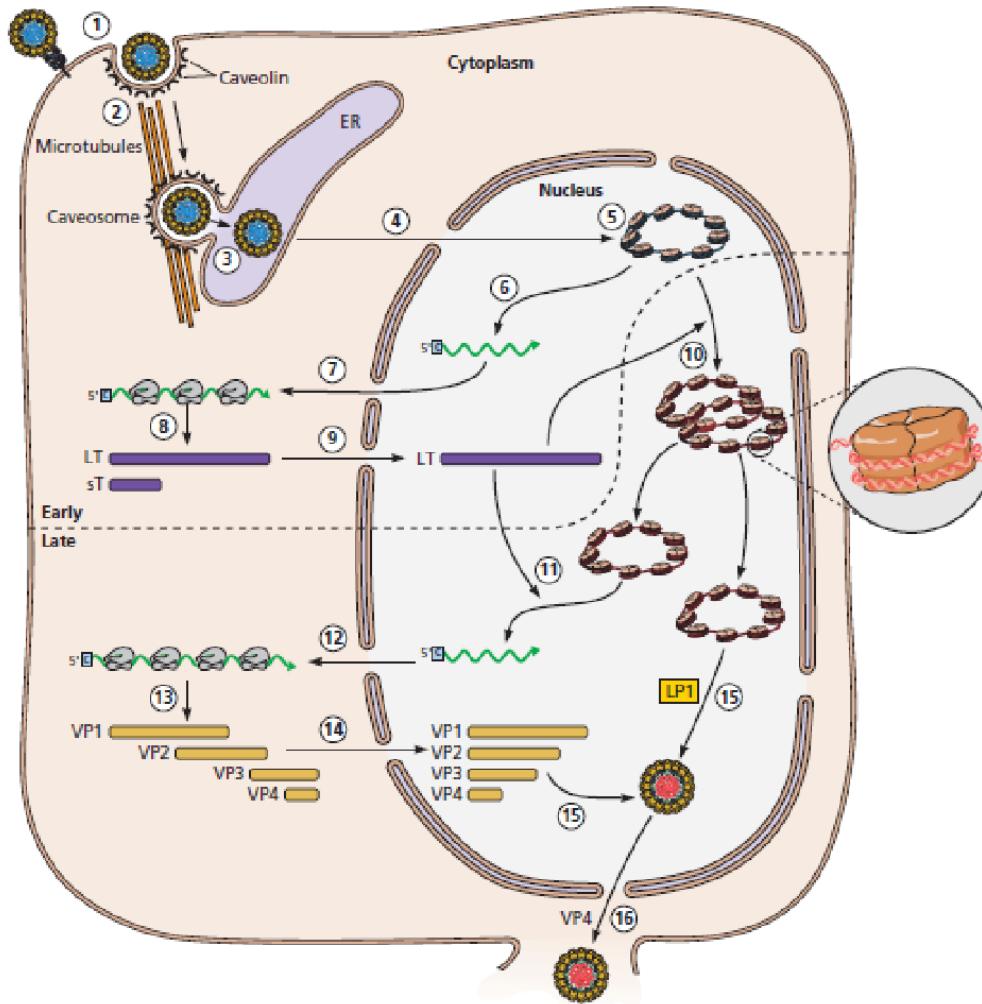


Figure 24 Single-cell reproductive cycle of simian virus

40. (1) The virus particle attaches to susceptible monkey cells upon binding of VP1 to the ganglioside Gm1 (a glycolipid) on the surface. (2) The particle is then endocytosed in caveolae, transported to the endoplasmic reticulum, and (3) enters that organelle. (4) Subsequently, it is transported to the nucleus and uncoated by unknown mechanisms. (5) The viral genome packaged by cellular nucleosomes is found within the nucleus. (6) The early transcription unit is transcribed by host cell RNA polymerase II. (7) After alternative splicing and export to the cytoplasm, (8) the early mRNAs are translated to produce the early proteins LT and sT. (9) The former is imported into the nucleus, (10) where it binds to the origin of replication to initiate DNA synthesis. Apart from LT, all components needed for viral DNA replication are provided by the host cell. As they are synthesized, daughter viral DNA molecules associate with cellular nucleosomes to form the viral nucleoproteins often called minichromosomes. (11) LT also stimulates transcription of the late gene from replicated viral DNA templates. (12) Processed late mRNAs are exported to the cytoplasm and (13) translated to produce the structural proteins VP1, VP2, and VP3, as well as VP4. (14) The structural proteins are imported into the nucleus and (15) assemble around viral minichromosomes to form virus particles. (16) Release of progeny virus particles is facilitated by VP4.

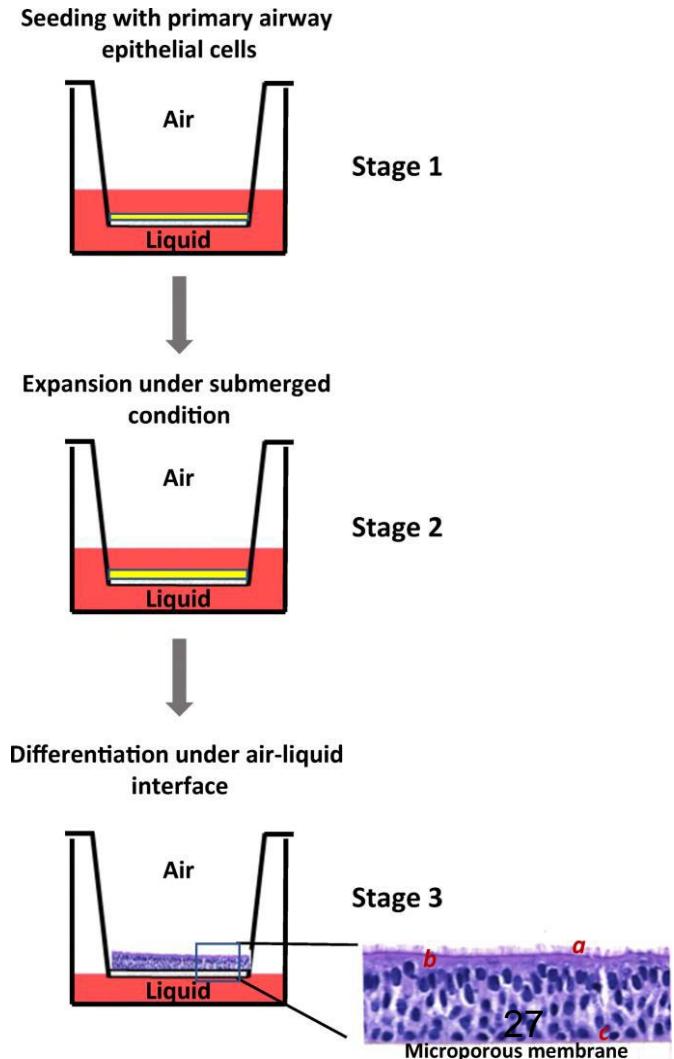
Papilloma virus

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 epitelii.

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 per la replicazione ed 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

I geni sono tutti organizzati nello stesso orientamento

Viene dunque trascritto un solo filamento. Codificano 8-9 proteine

La trascrizione può iniziare da almeno due promotori

Il primo è il promotore dei geni precoci e il secondo quello dei tardivi.

I trascritti precoci e tardivi sono terminati in siti di poliadenilazione (pAE e pAL) differenti

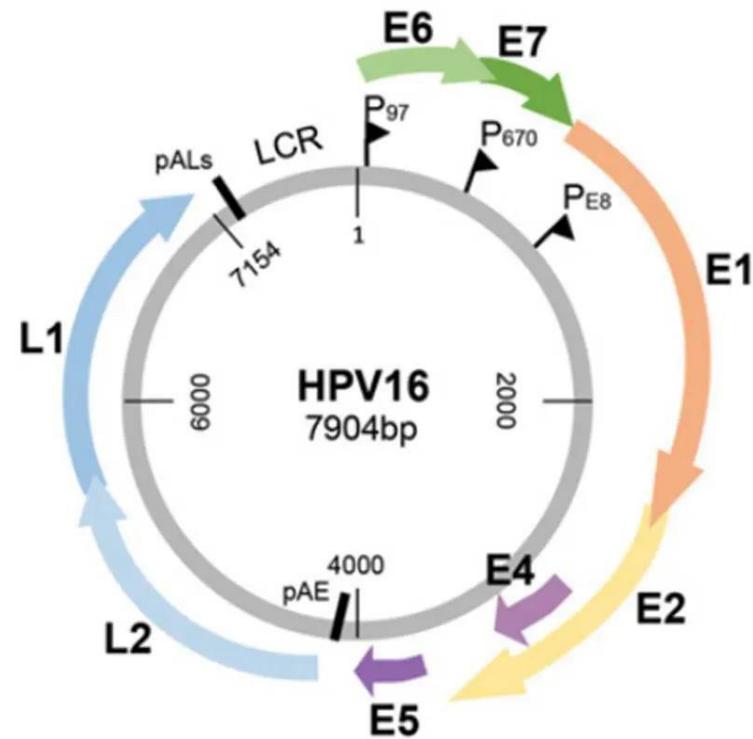
II trascritti:

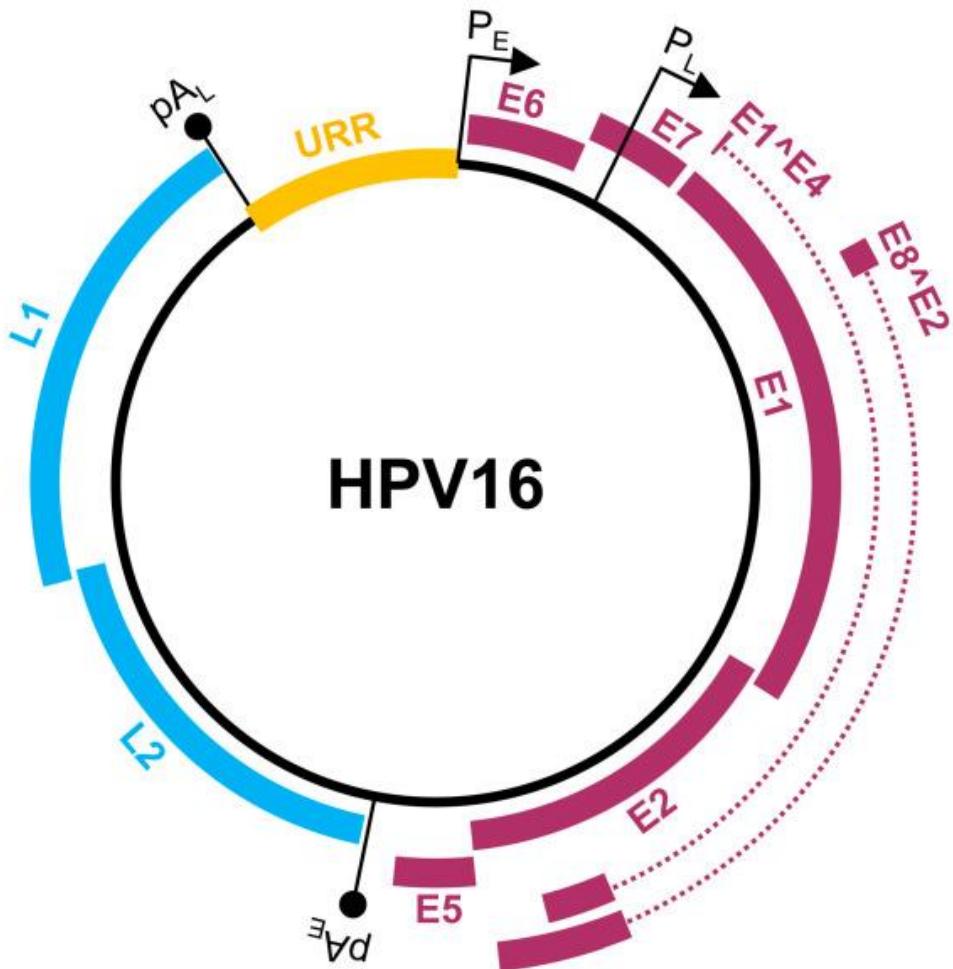
P₉₇-pAE porta allo splicing e sintesi delle proteine E6, 7, 1, 2 5.

P₆₇₀-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). Regola l'espressione di E6/E7 positivamente nella fase precoce negativamente nella tardiva





E1 is a viral Ori-binding DNA helicase, both E1 and E2 are essential for papillomavirus DNA replication.

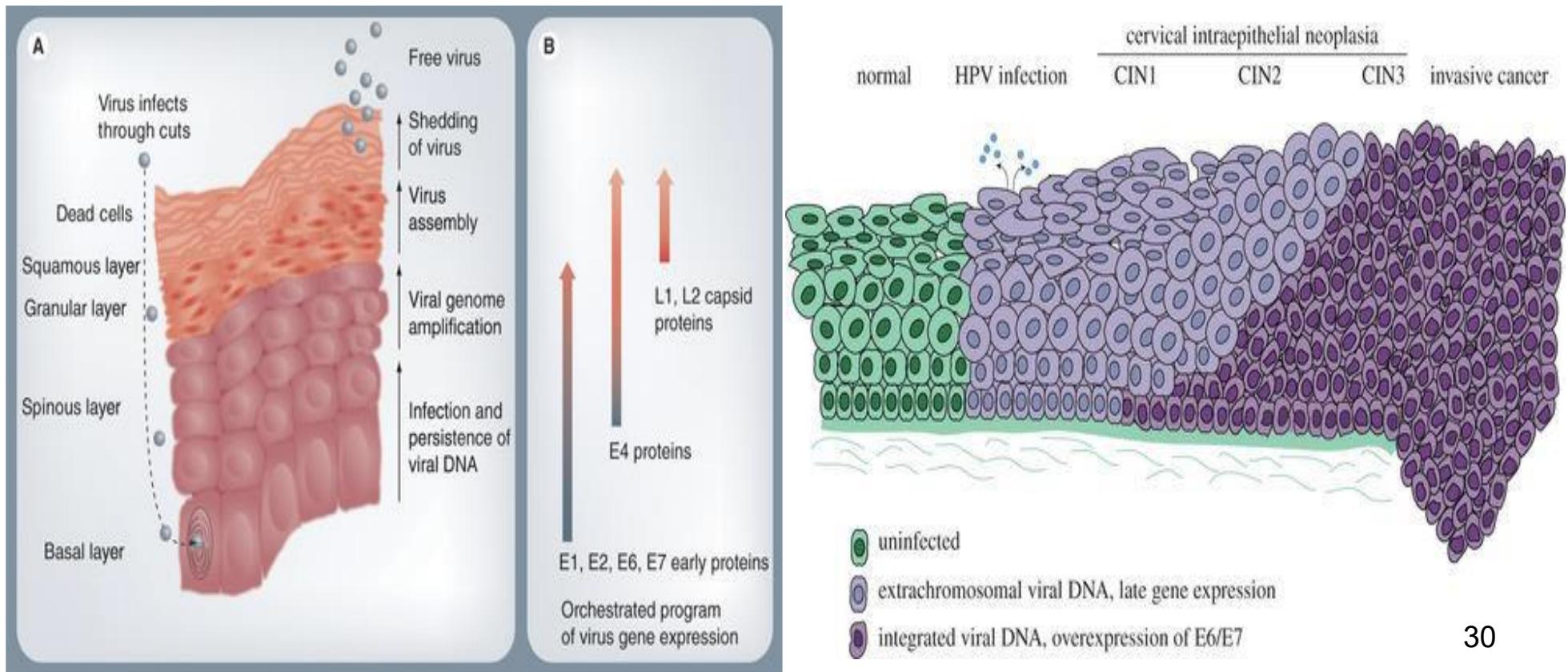
E2 also acts as a viral transcriptional activator or repressor, depending on where it binds, and participates in virus genome segregation during mitosis

E4 encoded from the viral early region is a viral non-structural late protein expressed in the late stage of infection to facilitate the virus egress by disrupting the host cytokeratin network

Papillomavirus

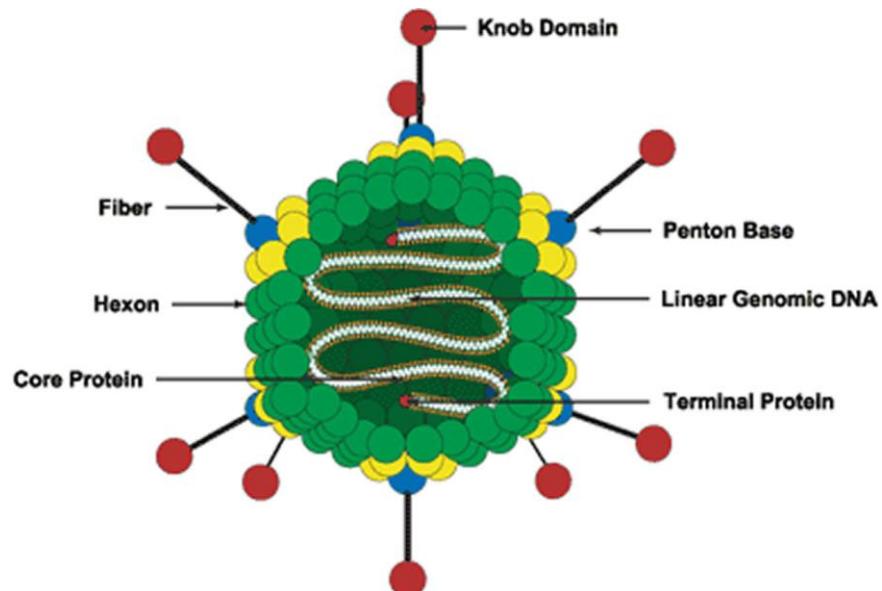
Le fasi di espressione dei geni sono correlate alla posizione delle cellule negli strati epiteliali o delle mucose.

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 oncosoppressori (p53 e Rb)



Adenoviridae

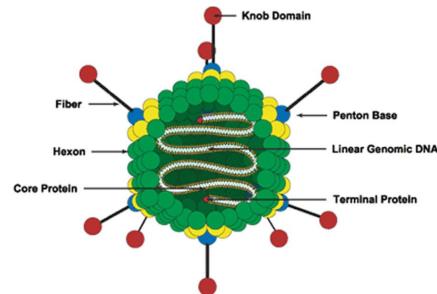
- Gli adenovirus sono stati isolati per la prima volta nel 1953 in una coltura cellulare adenoide umana. Da allora, sono stati riconosciuti circa 100 sierotipi, almeno 57 dei quali infettano l'uomo.
- Tutti i sierotipi umani sono inclusi in uno dei cinque generi della famiglia degli Adenoviridae: i **Mastadenovirus**.
- Esistono 7 sottogruppi per gli adenovirus umani (da A a G).
- Disturbi comuni causati dagli adenovirus includono infezione del tratto respiratorio, faringite, congiuntivite, cistite emorragica e gastroenterite.
- Gli Adenovirus vengono anche utilizzati come vettori genici per terapie geniche e vaccini e studiati per la terapia oncolitica.



Adenoviridae

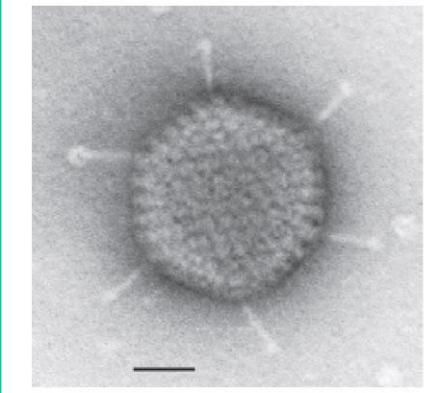
Group	Serotype	Associated Disease or Infections	References
A	12, 18, 31, 61	gastrointestinal, respiratory, urinary, cryptic enteric infection, linked to obesity, meningoencephalitis	[7,41–44]
B	3, 7, 11, 14, 16, 21, 34, 35, 50, 55, 66	conjunctivitis, gastrointestinal, respiratory, urinary, pneumonia, meningoencephalitis, cystitis	[7,41,42,44–47]
C	1, 2, 5, 6, 57	respiratory, gastrointestinal, obesity, pneumonia, hepatitis	[7,41,42,45]
D	8–10, 13, 15, 17, 19, 20, 22–30, 32, 33, 36–39, 42–49, 51, 53, 54, 56, 58–60, 63–67	conjunctivitis, gastrointestinal, linked to obesity, meningoencephalitis	[7,42,43,45,48]
E	4	conjunctivitis, respiratory, pneumonia	[7,41,47]
F	40, 41	gastrointestinal, infantile diarrhea	[7,42,49]
G	52	gastrointestinal	[7,42]

Brenetta et al, *Biomedicine* 2019



Gli adenovirus sono in grado di causare infezioni litiche (ad esempio nelle cellule mucoepiteliali), latenti (ad esempio nelle cellule linfoidi e nelle adenoidi) e trasformanti (cellule di criceto).

Adenoviridae



Doppio filamento lineare di 30-38 kbp, contenente 30-40 geni

La sequenza terminale di ciascun filamento è una ripetizione invertita di 100-150 bp (ITR), importante durante la replicazione. Le ITR contengono le origini di replicazione.

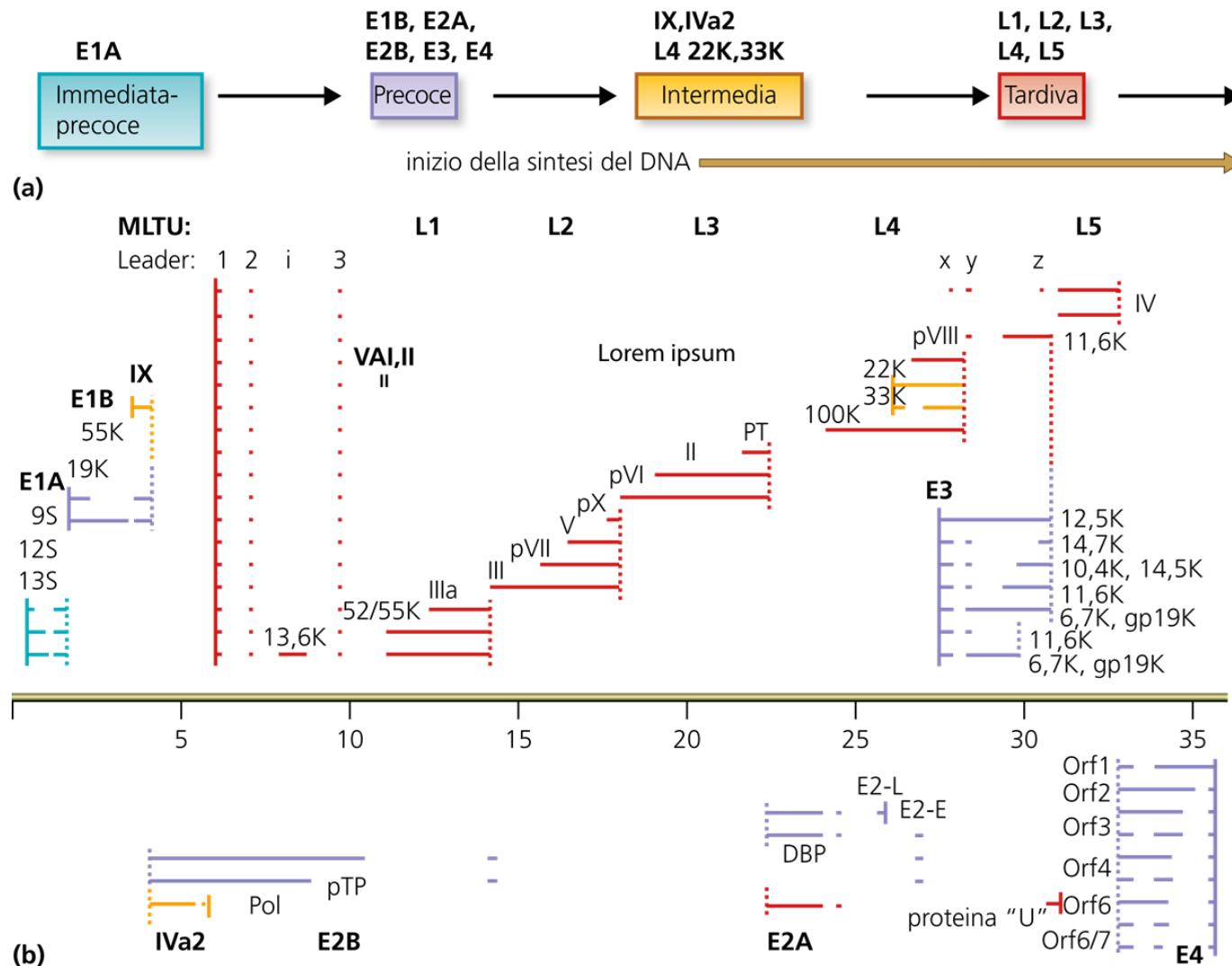
Al 5' di ogni filamento è associata una proteina di 55 kDa nota come proteina terminale (TP) I geni sono organizzati in cluster e sono espressi a partire da un ridotto numero di promotori; da ogni promotore sono espresse più proteine (splicing alternativo, poliadenilazione differenziale)

In questi virus sono trascritti entrambi i filamenti del genoma

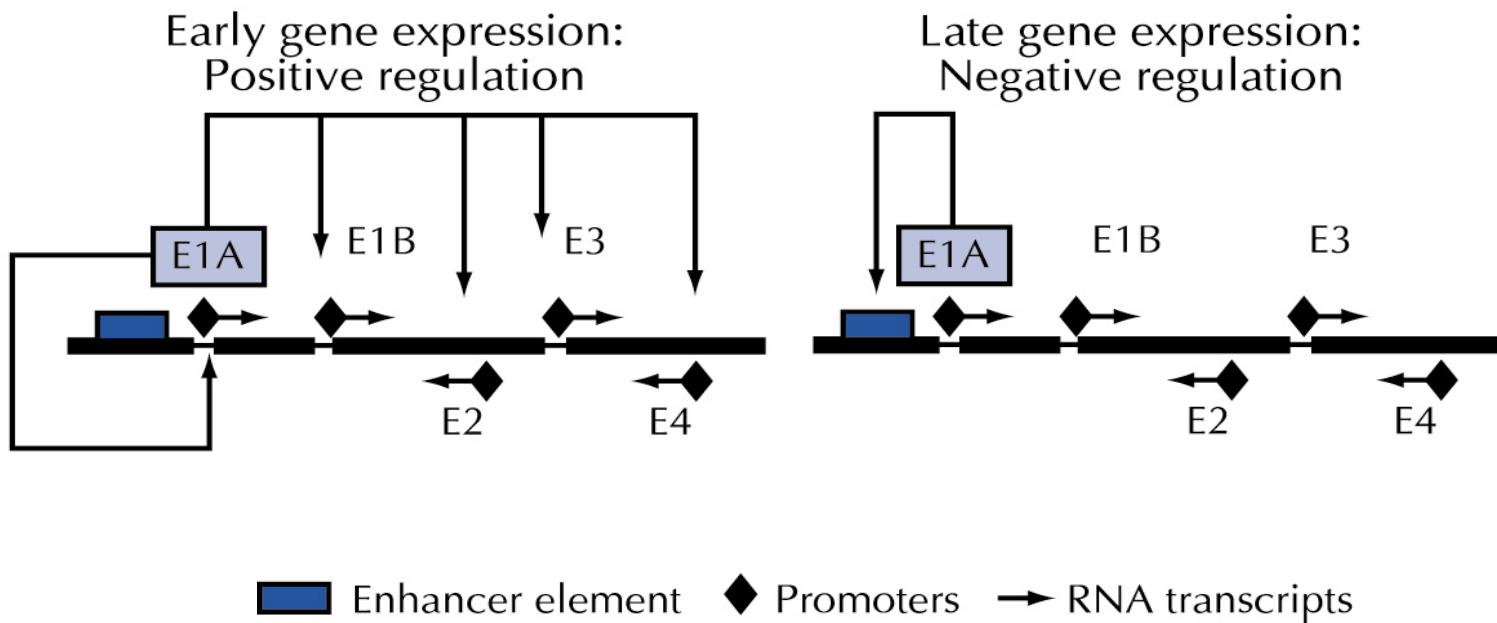
Tutti gli mRNA sono prodotti dalla RNAPol II, due piccoli ncRNA (VA RNAs) dalla RNAPol III

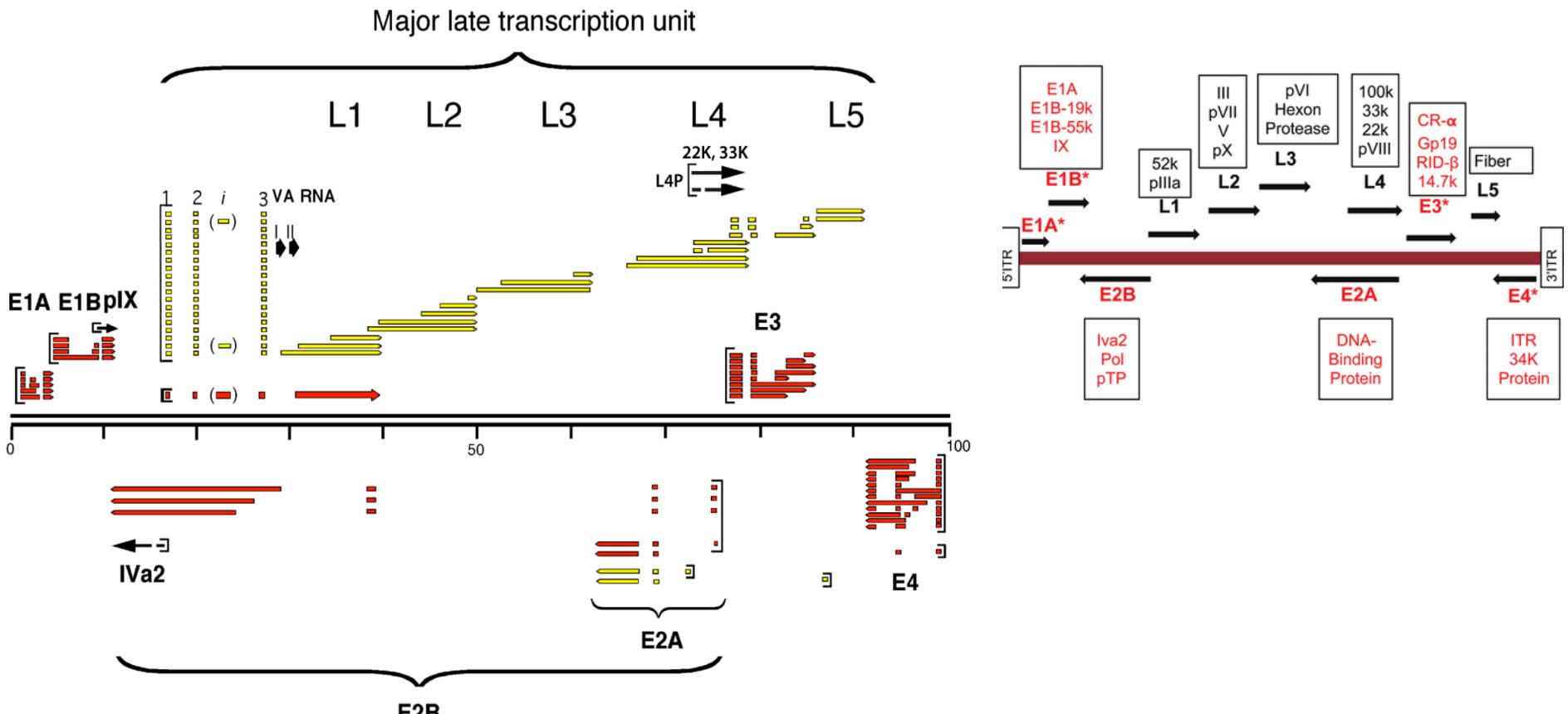


Espressione in Adenovirus



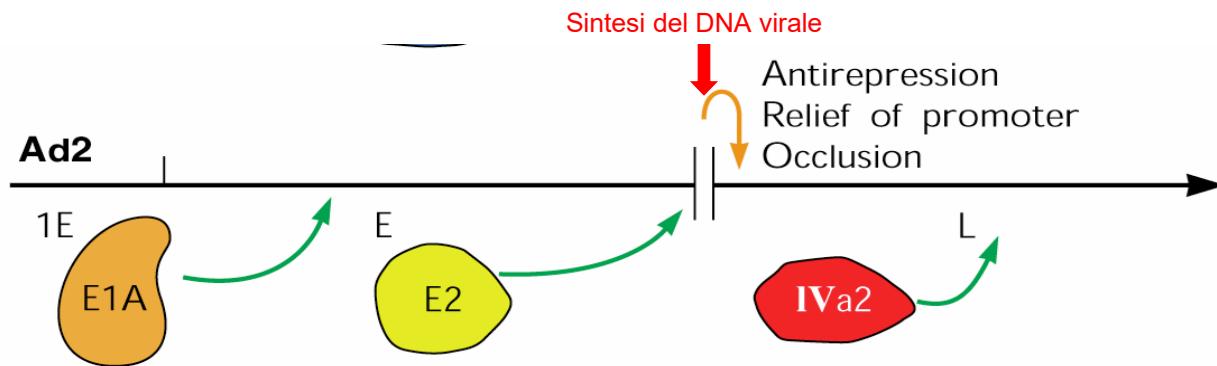
Espressione in Adenovirus





- E1A, fattore di trascrizione virale che attiva i geni precoci portando alla produzione dei prodotti di E1B
- È inoltre fondamentale per la riprogrammazione della cellula ospite (inibisce il repressori del ciclo cellulare pRb),
- E1B inibisce l'apoptosi (p53),
- E1A induce poi i geni della E2 che codificano per la DNAPol, la Proteina terminale Pte 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.

Sequenza temporale degli eventi in Adenovirus



Le Proteine immediato-precoci E1A, alle quali sono associate molteplici funzioni, sono necessarie per l'attivazione dell'espressione delle unità trascrizionali precoci.

Tra queste c'è la regione E2, che codifica proteine richieste per la sintesi del DNA virale. L'accumulo dei nuovi genomi virali a DNA porta alla de-repressione della trascrizione del gene che codifica la proteina di legame al DNA IVa 2 e conseguente attivazione della trascrizione a partire dal principale promotore tardivo. Questo promotore controlla la sintesi della maggior parte delle proteine strutturali.

Major Adenovirus Proteins

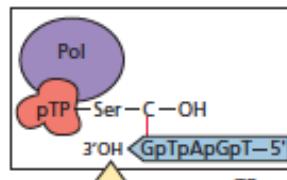
Gene	Number	Molecular Mass (kDa)	Functions of Proteins
<i>E1A*</i>			Activates viral gene transcription Binds cellular growth suppressor (p105RB) to promote cell growth and transformation Deregulates cell growth Inhibits activation of interferon response elements
<i>E1B</i>			Binds cellular growth suppressor (p53) to promote cell growth and transformation Blocks apoptosis
<i>E2</i>			Activates some promoters Terminal protein on DNA DNA polymerase
<i>E3</i>			Prevents TNF- α action; MHC I expression
<i>E4</i>			Limits viral cytopathologic effect
VA RNAs			Inhibits interferon response
Capsid	II	120	Contains family antigen and some serotyping antigens
	III	85	Penton base protein Toxic to tissue culture cells
	IV	62	Fiber Responsible for attachment; contains some serotyping antigens
	VI	24	Hexon-associated proteins
	VIII	13	Penton-associated proteins
	IX	12	“Capsid cement” nonessential
	IIIa	66	“Facilitates assembly”
Core	V	48	Core protein 1: DNA-binding protein
	VII	18	Core protein 2: DNA-binding protein

*Early genes encode several messenger RNAs and proteins by alternative splicing patterns.

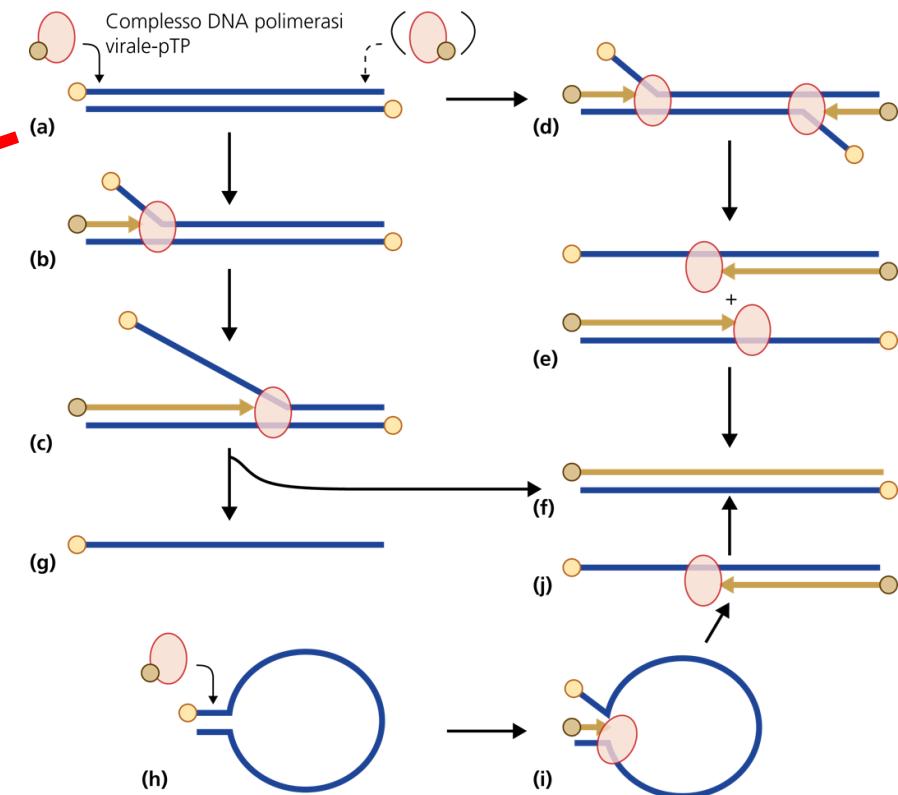
E, Early; *MHC I*, major histocompatibility complex I; *RB*, retinoblastoma gene product; *TNF- α* , tumor necrosis factor- α ; *VA*, virus-associated.

Replicazione genoma di Adenovirus

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 Polimerasi virale.



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



Repliсazione genoma di Adenovirus

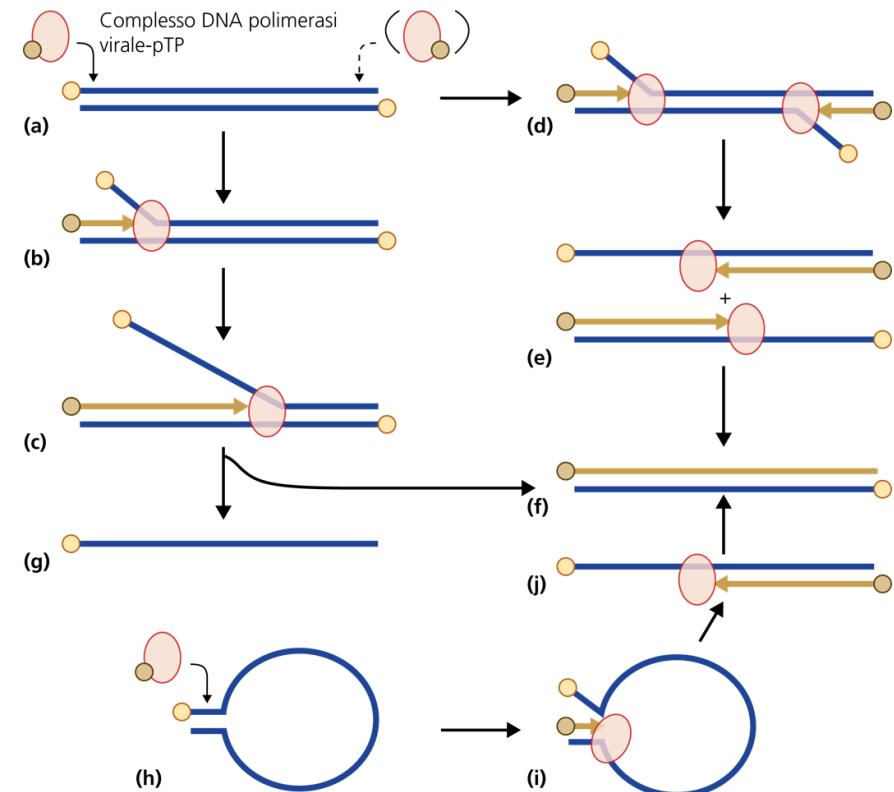
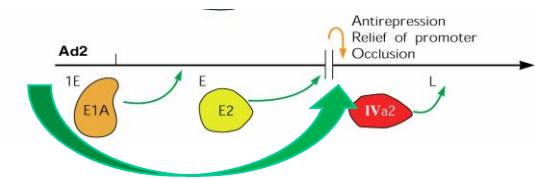
Il 3' OH fornito dal complesso pTP-dCMP innesca la sintesi continua del DNA virale.

La sintesi dunque procede in direzione 5'-3' scalzando il filamento non usato come templatо.

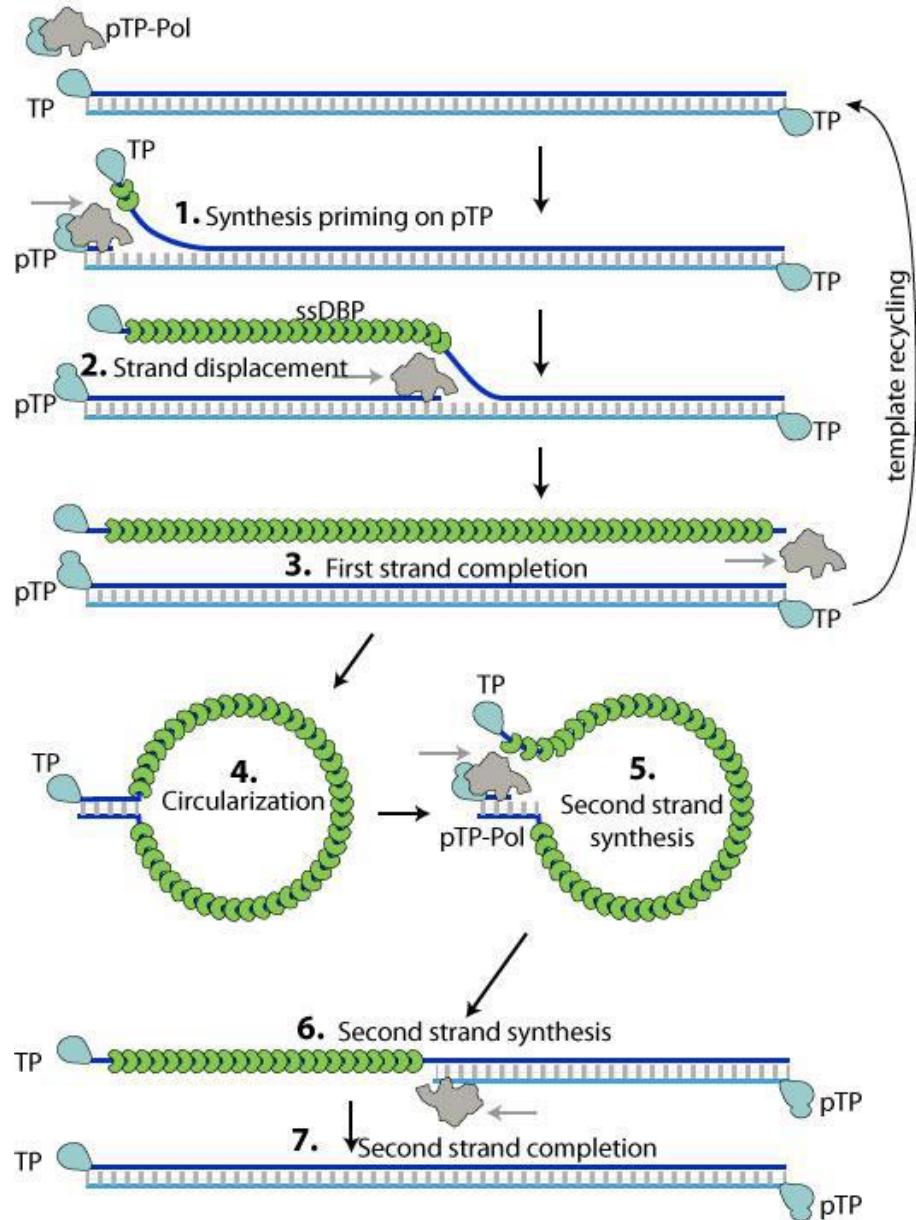
Questo processo puо cominciare su uno solo o contemporaneamente sui due filamenti

Quando un solo filamento viene replicato ad ogni round, il filamento scalzato, grazie alla presenza di sequenze ripetute invertite terminali puо formare per appaiamento un breve duplex terminale (manico di padella) e puо essere poi replicato con lo stesso meccanismo

Per intervento di una proteasi si formano cosi i nuovi genomi provvisti di una TP associata al 5' di ogni filamento

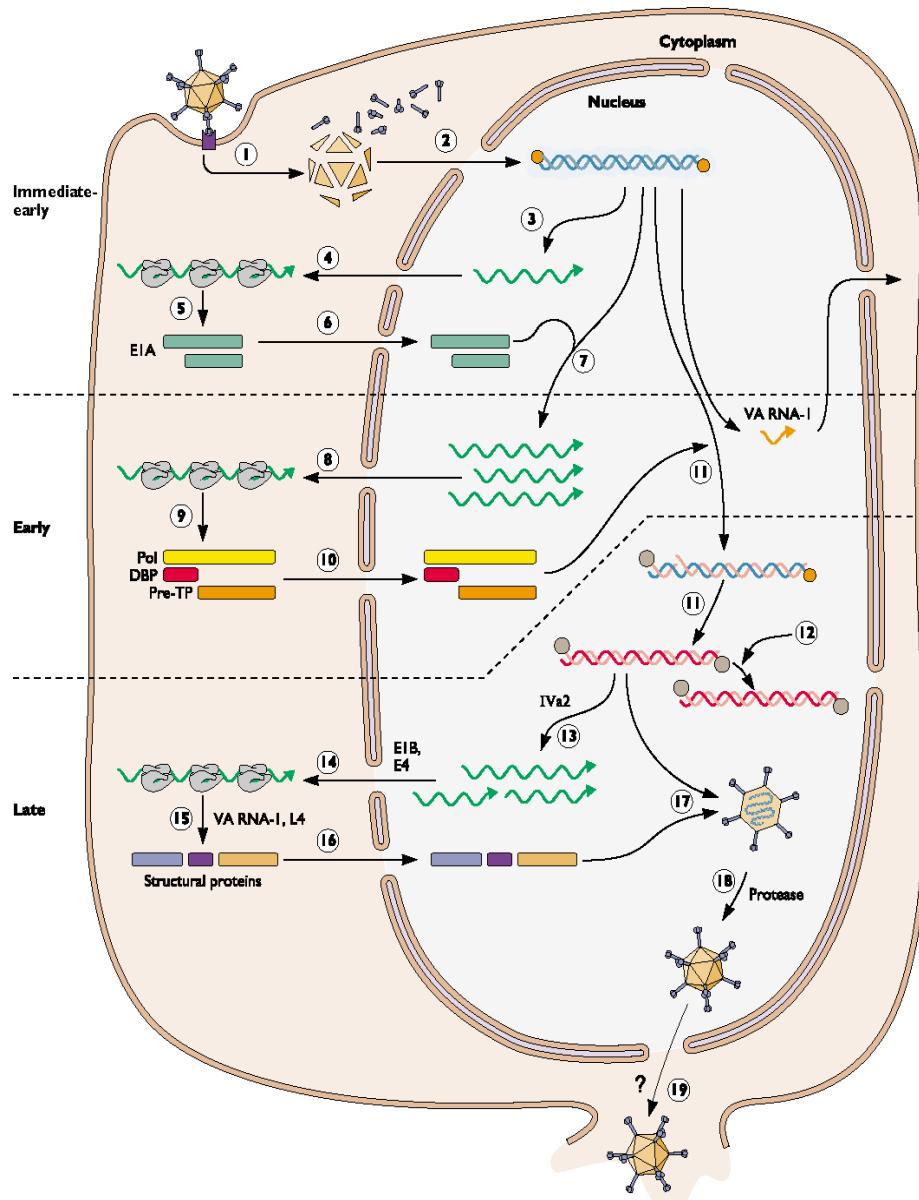


Adenovirus strand displacement replication



Replicazione del genoma di
Adenovirus

Adenovirus



- La replicazione del DNA virale avviene nel **nucleo** ed è mediata dalla **DNA polimerasi virale**
- La trascrizione dei geni tardivi inizia dopo la replicazione del DNA. La maggior parte dei singoli mRNA tardivi sono generati da un ampio (83% del genoma) trascritto primario che viene elaborato in singoli mRNA.
- Le proteine del capside vengono prodotte nel citoplasma e quindi trasportate nel nucleo per l'assemblaggio virale. I procapsidi vuoti prima si assemblano, quindi il DNA virale e le proteine del nucleo entrano nel capside attraverso un'apertura in uno dei vertici.
- I processi di replicazione e assemblaggio sono inefficienti e soggetti a errori, producendo solo un'unità infettiva per 2300 particelle. DNA, proteine e numerose particelle difettose si accumulano nei corpi di inclusione nucleare.
- Il virus rimane nella cellula e viene rilasciato quando la cellula degenera e lisa.

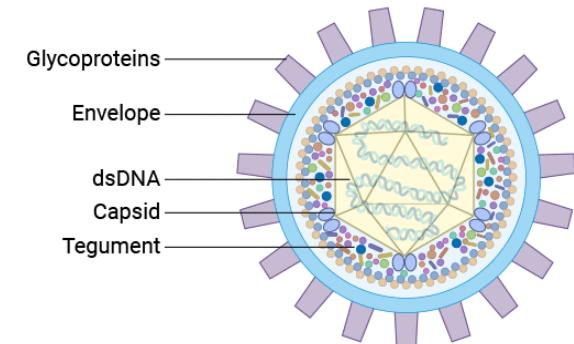
Herpesviridae

Classe di virus a **dsDNA**lineare (**immediatamente dopo l'infezione diventa circolare**) con un genoma di grandi dimensioni (130-240 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.

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)

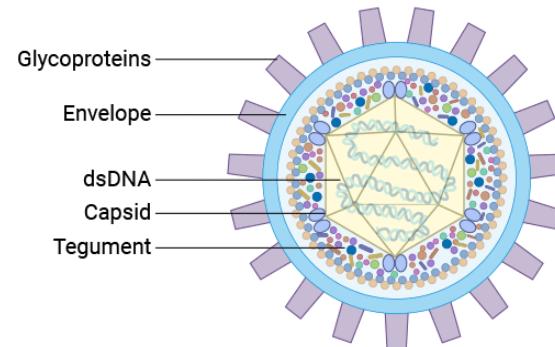


HHV, human herpesvirus.

Herpesviridae

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.



Properties Distinguishing the Herpesviruses

Subfamily	Virus	Primary Target Cell	Site of Latency	Means of Spread
Alphaherpesvirinae				
HHV-1	Herpes simplex type 1	Mucoepithelial cells	Neuron	Close contact (STD)
HHV-2	Herpes simplex type 2	Mucoepithelial cells	Neuron	Close contact (STD)
HHV-3	Varicella-zoster virus	Mucoepithelial and T cells	Neuron	Respiratory and close contact
Gammaherpesvirinae				
HHV-4	Epstein-Barr virus	B cells and epithelial cells	B cell	Saliva (kissing disease)
HHV-8	Kaposi sarcoma-related virus	Lymphocytes and other cells	B cell	Close contact (sexual), saliva?
Betaherpesvirinae				
HHV-5	Cytomegalovirus	Monocytes, granulocytes, lymphocytes, and epithelial cells	Monocyte, myeloid stem cell, and ?	Close contact (STD), transfusions, tissue transplant, and congenital
HHV-6	Herpes lymphotrophic virus	Lymphocytes and ?	T cell and ?	Saliva
HHV-7	HHV-7	Like HHV-6	T cell and ?	Saliva

HHV, Human herpesvirus; STD, sexually transmitted disease.

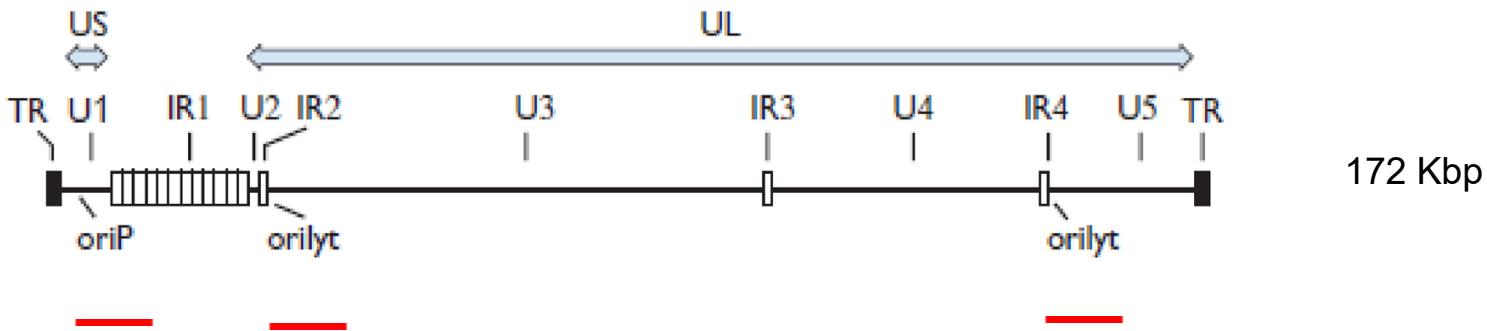
Herpesviridae

I vari membri sono piuttosto diversi in termini di sequenza genomica, ma condividono una struttura e organizzazione comune: il genoma (lungo da 130 kbp a 240 kbp) contiene due regioni uniche (UL e US) fiancheggiate da ripetizioni invertite (TR e IR)

HSV-1

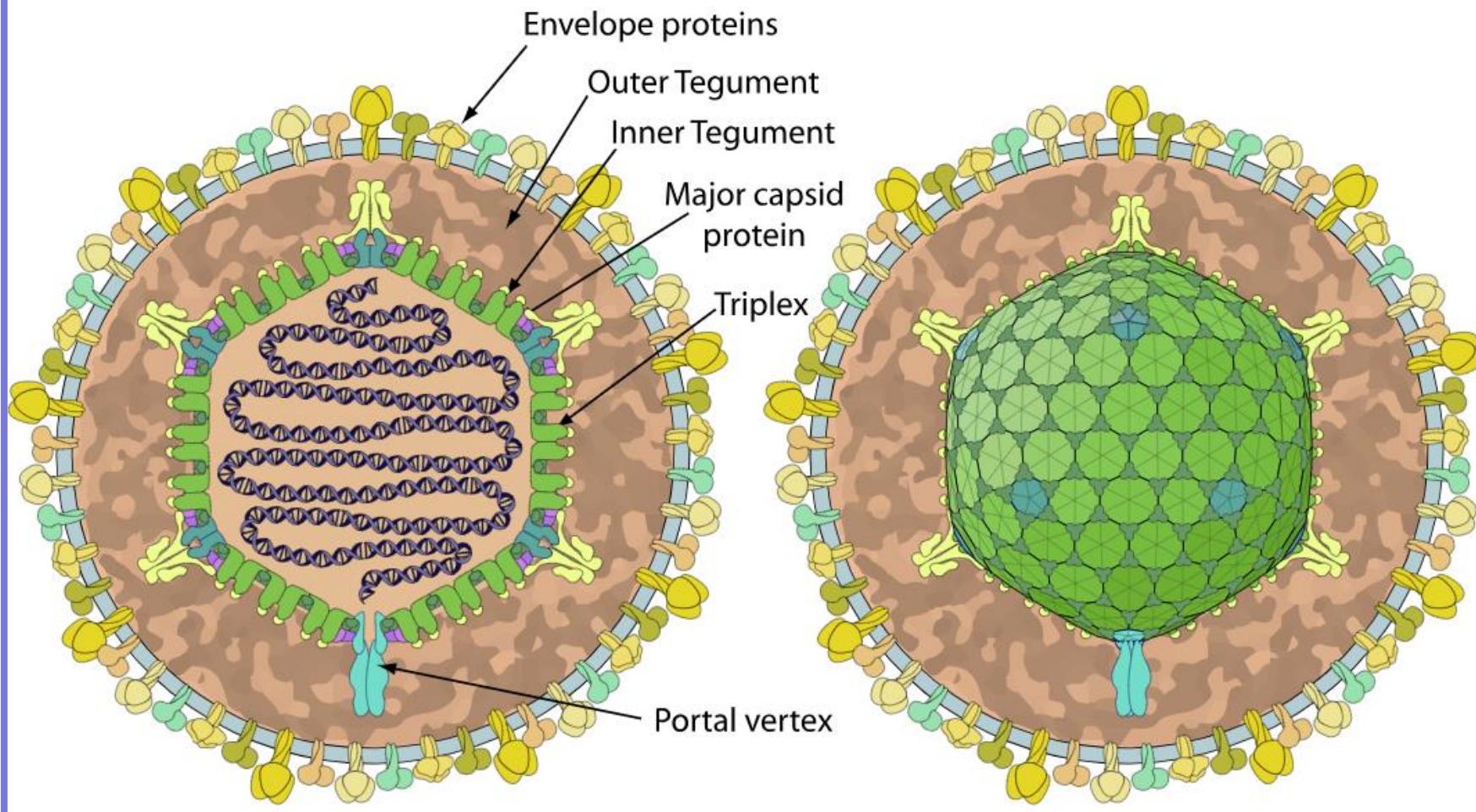


EBV



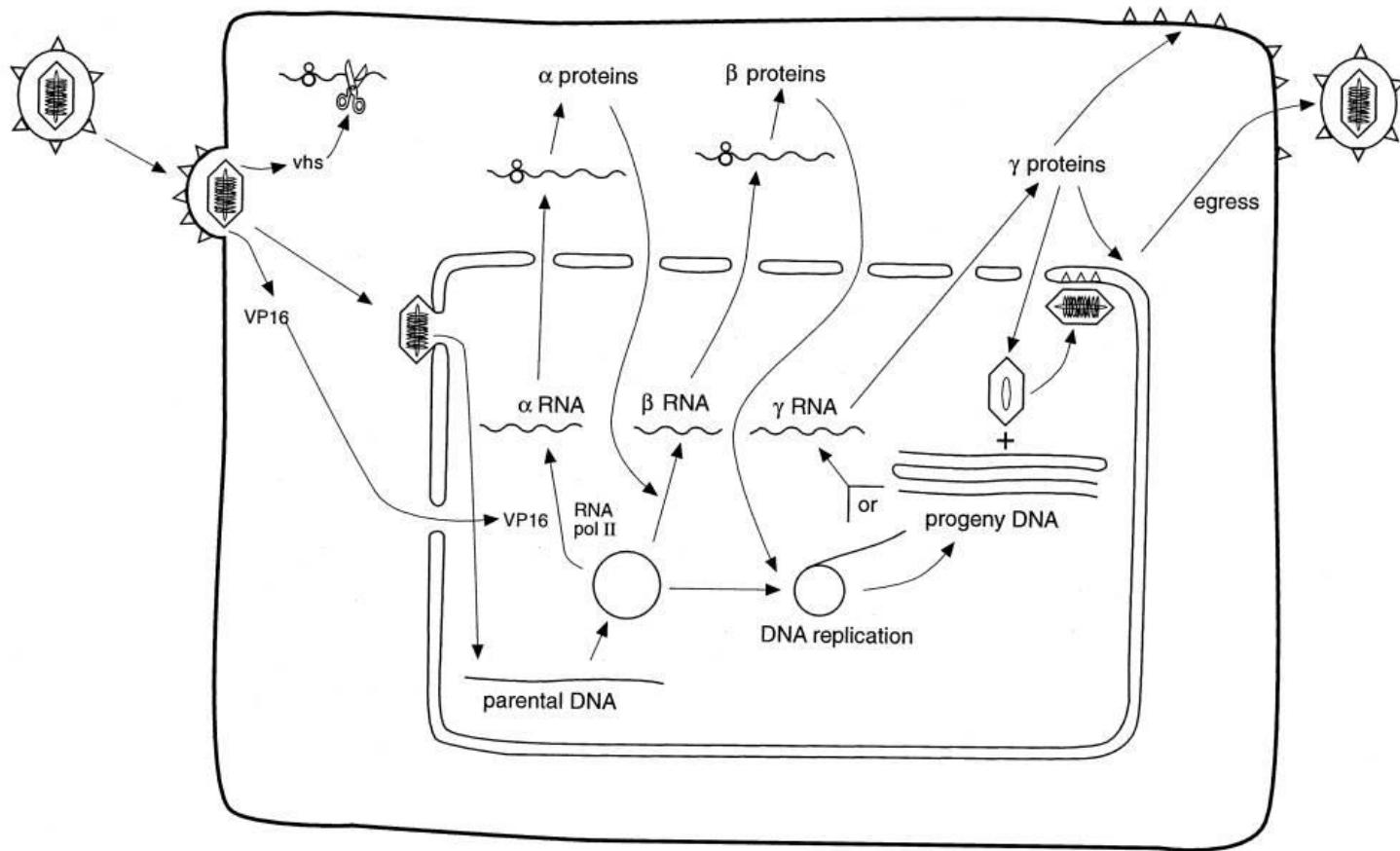
Contiene tra i 60 e i 120 geni, a questo corrispondono virioni complessi contenenti circa 35 proteine. Poiché tutti i virus appartenenti a questa famiglia condividono le funzioni base per una infezione produttiva, la diversità nella complessità dei genomi è dovuta alla presenza di geni "dispensabili" per la moltiplicazione, ma coinvolti in aspetti specifici della patogenesi di ciascun tipo di virus.

VIRION



T=16

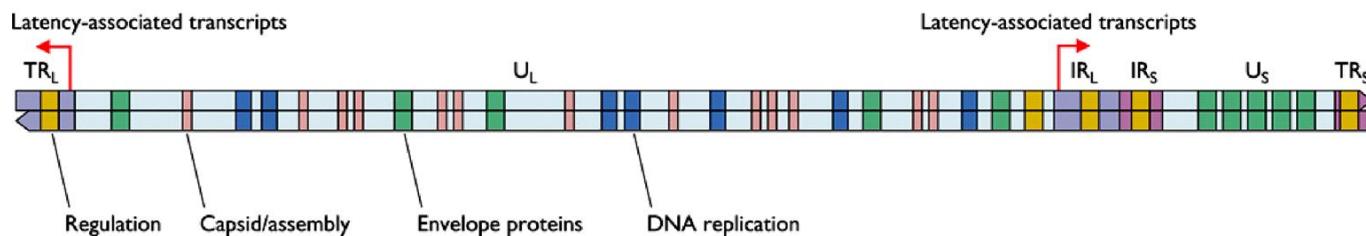
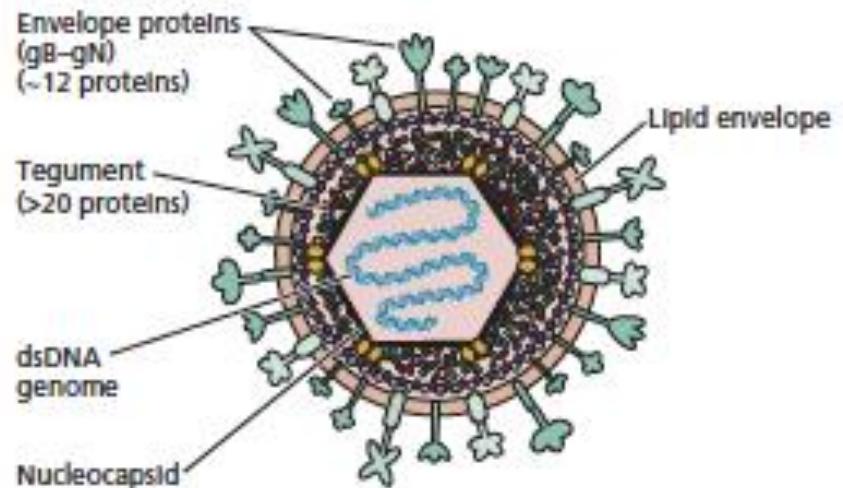
Herpesviridae



Espressione gerarchica in tre fasi temporali:
alpha (immediato precoce);
beta (precoce);
gamma (tardiva)

Herpesviridae

HSV1



HSV 1 – 152 Kbp circa, 84 ORF. E' indicata la localizzazione approssimativa dei geni e delle unità di trascrizione associate alla latenza. Geni codificanti funzioni simili sono evidenziati con lo stesso colore. Geni interspersi piuttosto che raggruppati come in Adenovirus. Assenza di splicing durante il ciclo litico.

Espressione del genoma di HSV 1

Espressione a cascata e regolazione circolare

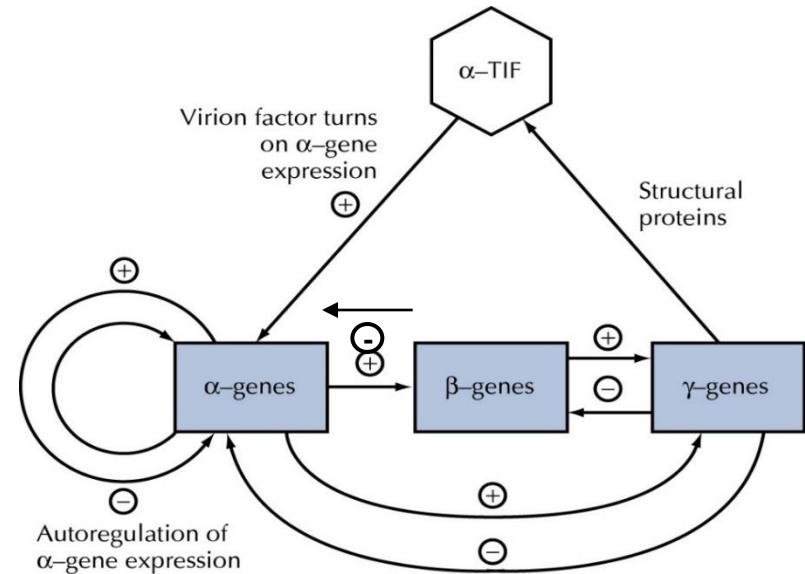
Geni α (immediati precoci) codificano 5 fattori coinvolti nella regolazione della trascrizione virale

Geni β (precoci) codificano proteine regolatrici per lo più coinvolte nella replicazione del genoma

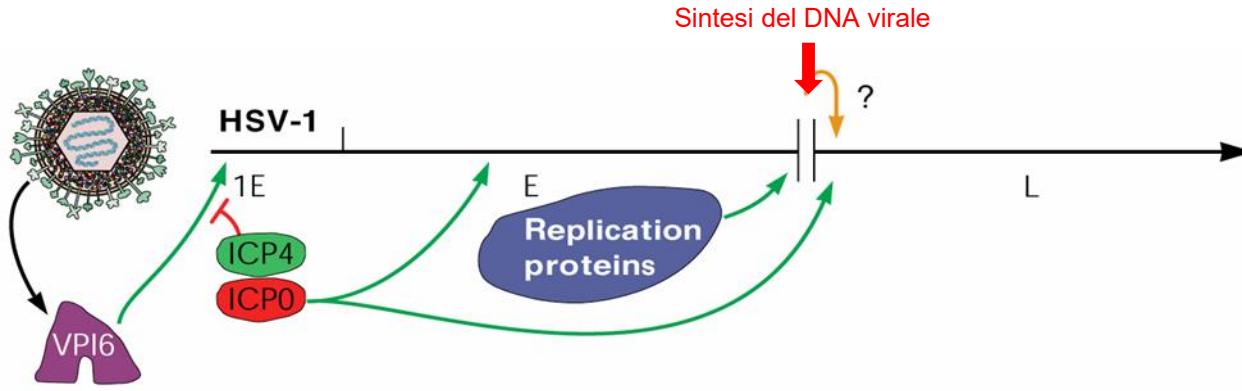
Geni γ (tardivi) codificano proteine strutturali ed il fattore α TIF (α transcription initiation factor) o VP16

I prodotti precoci inibiscono la trascrizione dei geni α e iniziano la replicazione del genoma

L'espressione dei geni immediato-precoci (α) dipende fortemente dal fattore virale VP16 (proteina del tegumento; funziona da attivatore dei geni α nell'infezione successiva)



Espressione del genoma di HSV 1



I prodotti dei geni immediati precoci (geni α) comprendono due regolatori trascrizionali, ICP4 e ICP0. Come E1A di Adenovirus, ICP4 è necessario per la progressione del ciclo infettivo oltre la fase immediato-precoce. Insieme a ICP0 è ritenuto essere il principale attivatore trascrizionale. Stimola la trascrizione sia dei geni precoci (geni β) che tardivi (geni γ) ed agisce anche come repressore dell'espressione immediato-precoce. ICP4 è un classico fattore di trascrizione che lega il DNA target mentre ICP0, sebbene anche lui sia un attivatore trascrizionale, non presenta domini di legame al DNA.

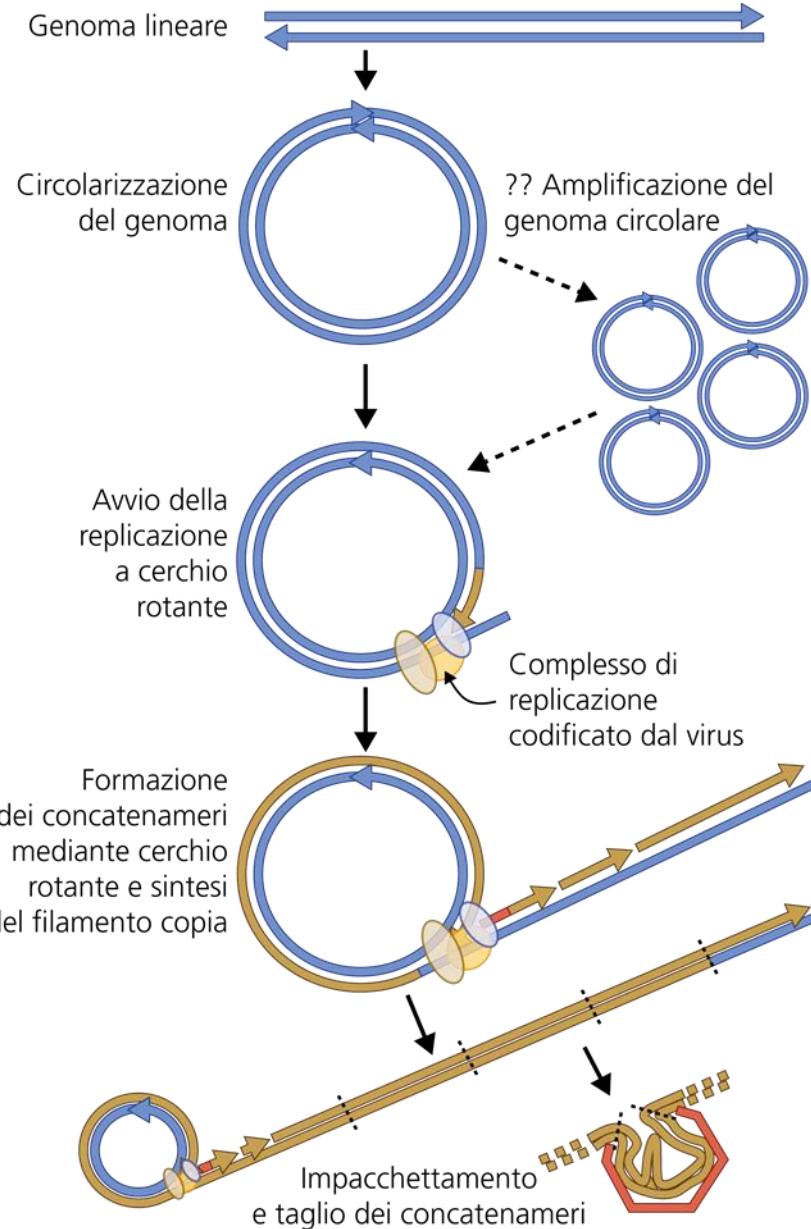
Replicazione genoma HSV-1

I genomi della progenie sono prodotti come **concatenameri** mediante il meccanismo di **replicazione a cerchio rotante** a partire da una molecola circolare

Diversi enzimi virali partecipano al processo (elicasi, ssDNABP, DNAPol, primasi, Ori binding proteins)

La toposimoerasi dell'ospite è coinvolta

I concatenameri vengono poi tagliati durante l'impacchettamento dei genomi nei virioni nascenti

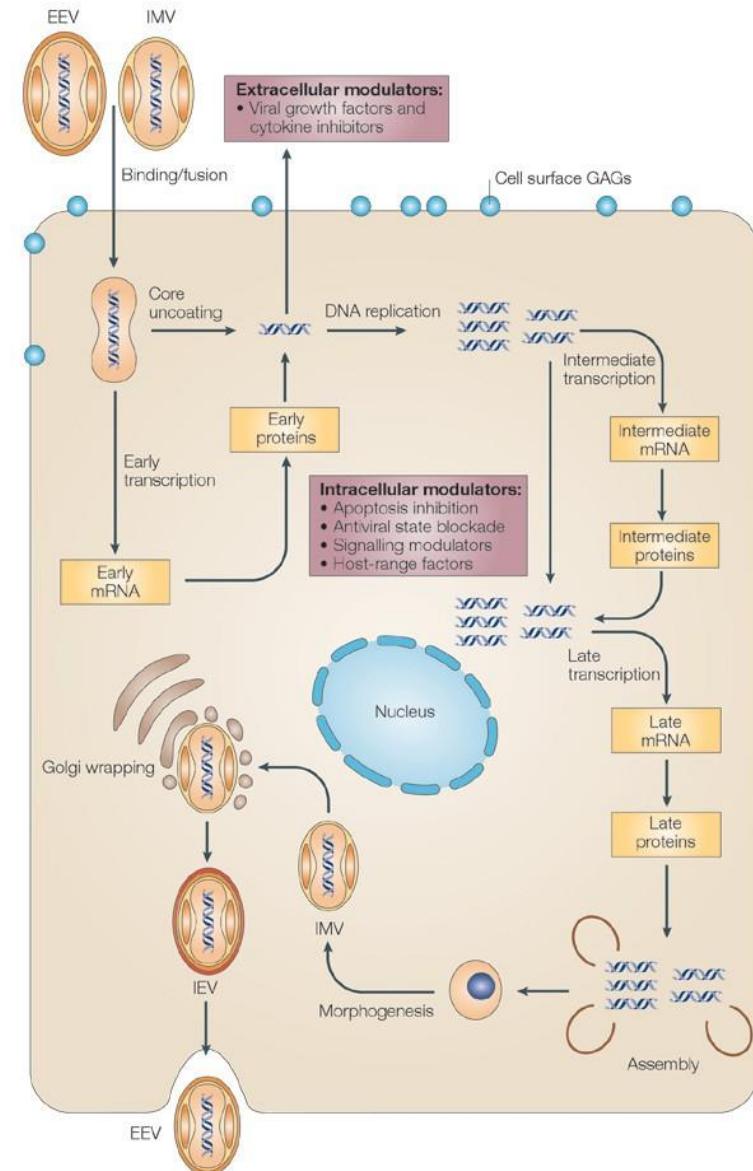


Poxvirus

Agenti eziologici del Vaiolo, del mollusco contagioso, del vaiolo delle scimmie (mpox) e di altre zoonosi (cowpox etc).

Nonché importanti agenti per la vaccinazione sia come *Vaccinia virus* sia come vettori virali

Questa classe di virus è caratterizzata da non avere una fase nucleare, tutto accade nel **citoplasma**



Poxvirus

Si distinguono due particelle virali:
il virus maturo (MV) e il virus rivestito (EV) entrambi dotati di envelope, ma il virus EV presenta uno strato di rivestimento esterno aggiuntivo che origina dal Golgi della cellula ospite e presenta le proteine di fusione

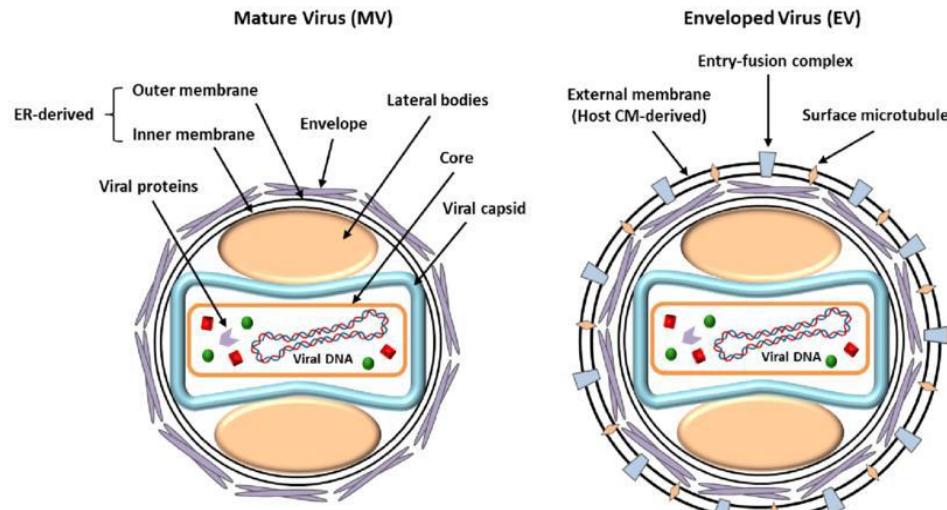
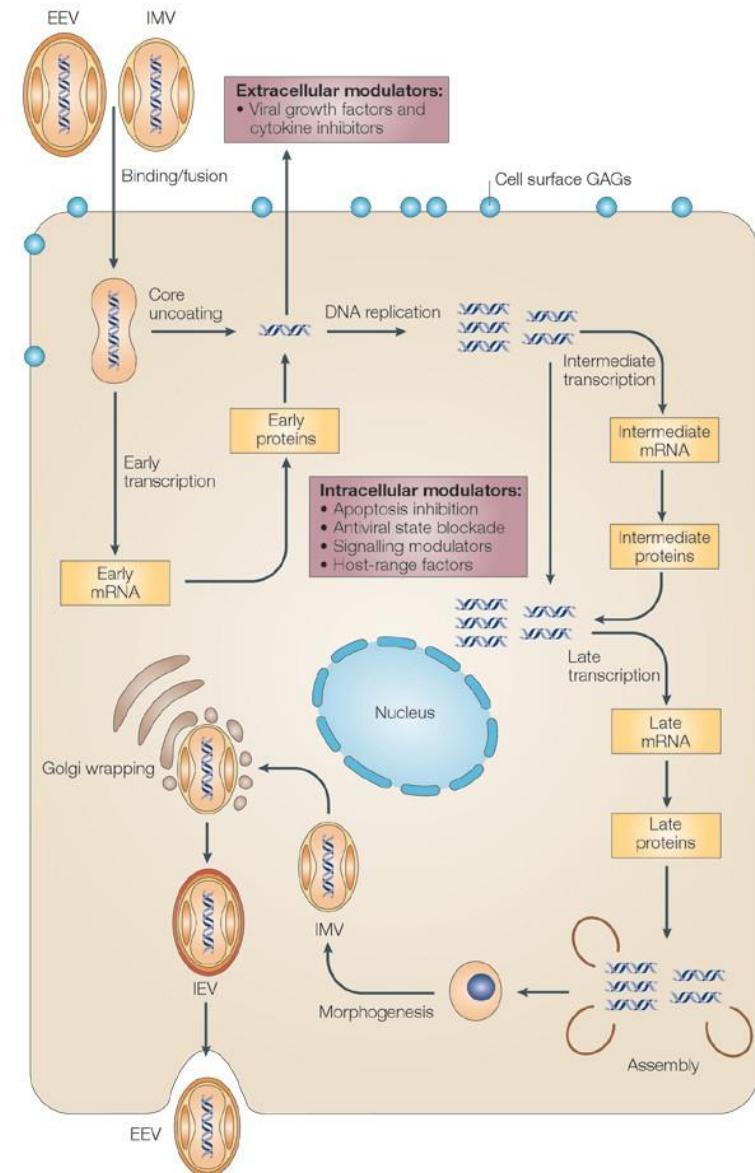


Figure 1

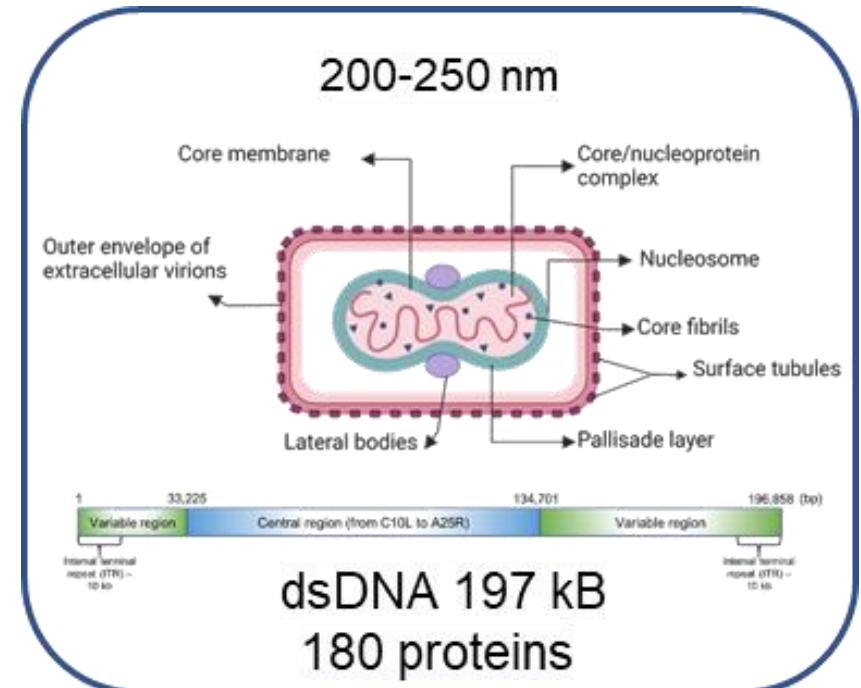
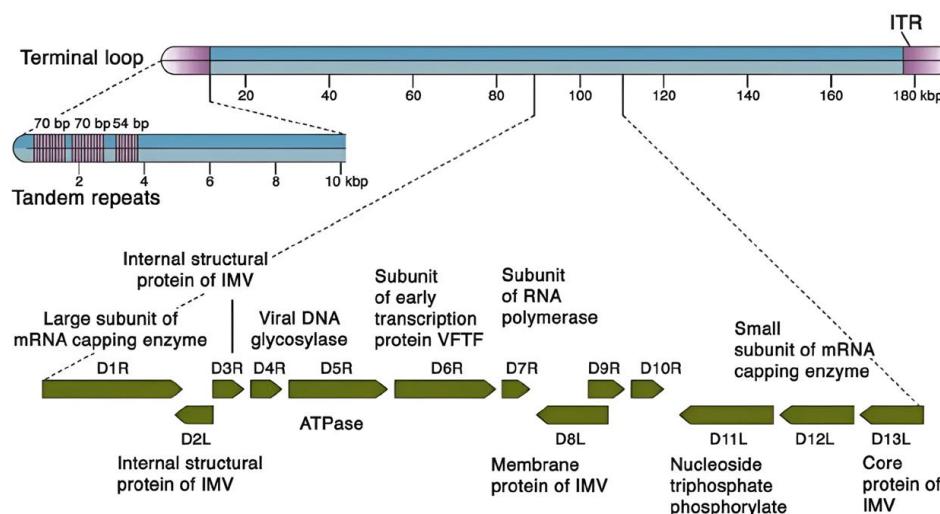


Poxvirus

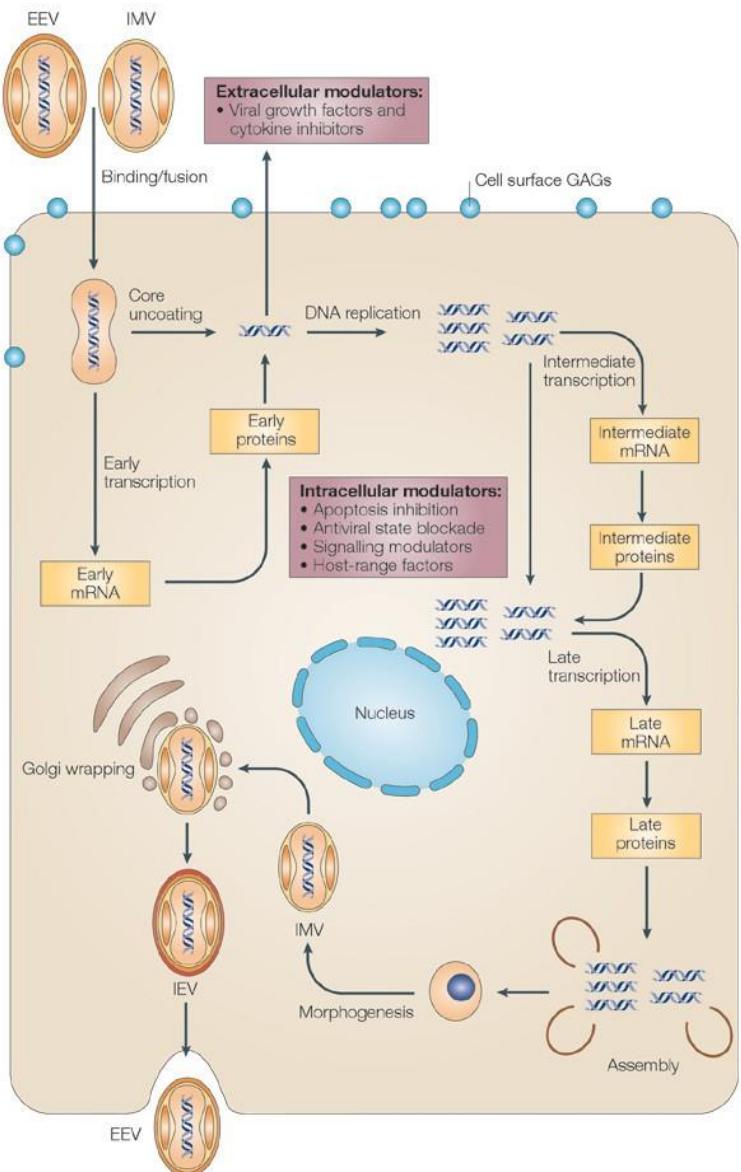
Virus dalla struttura complessa e di grandi dimensioni (fino a 300x200nm)

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



Poxvirus



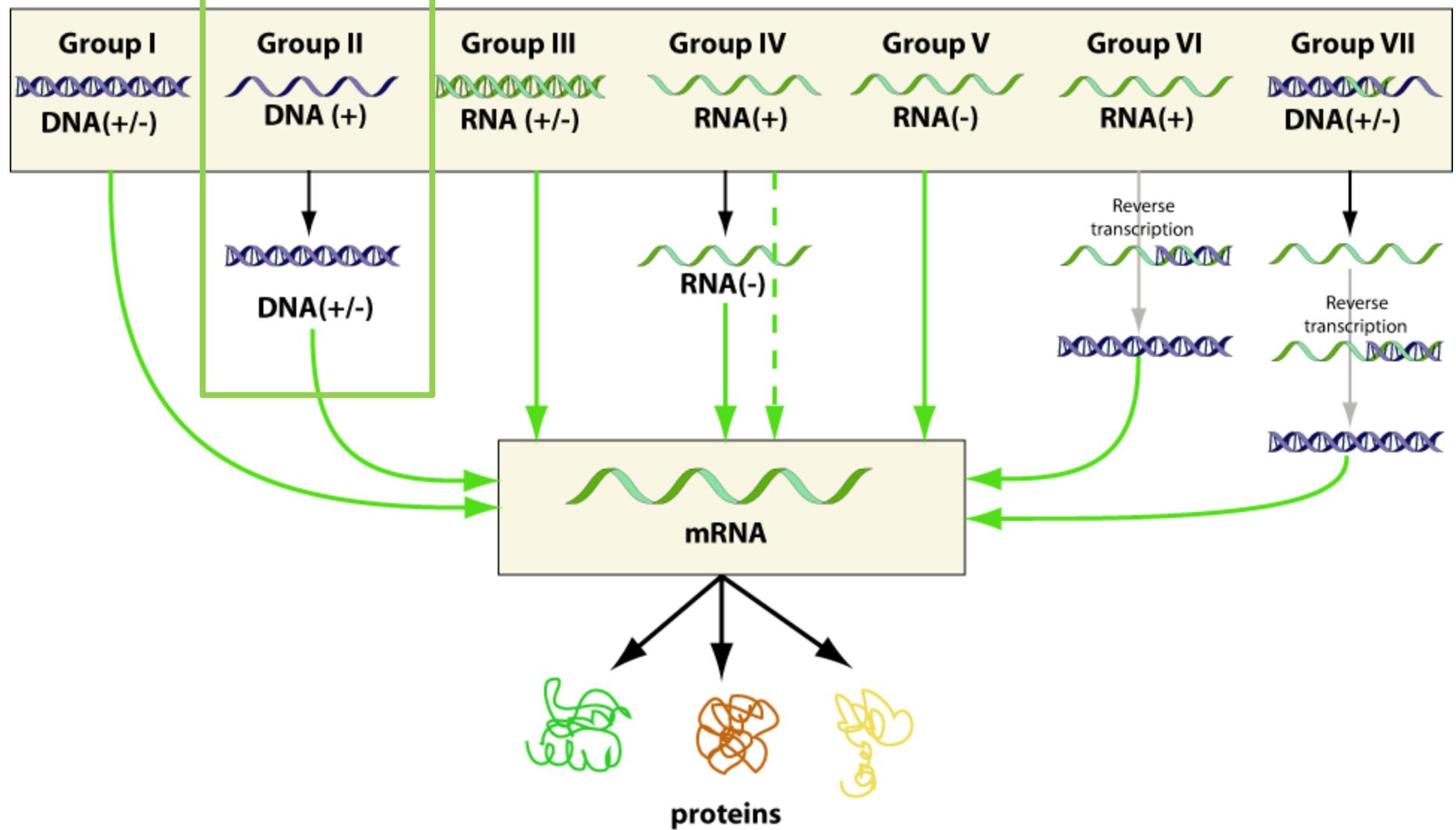
E' la famiglia di virus per i quali la dipendenza dall'ospite è tra le più limitate

Il fatto che l'intero ciclo avvenga nel citoplasma determina la necessità di portare nel virione le proteine necessarie ad iniziare il ciclo replicativo
E la necessità di codificare gli enzimi necessari alla loro espressione genica e replicazione

Anche nei Poxvirus riconosciamo una espressione gerarchica temporale dei prodotti genici suddivisi in geni
Immediato precoci (regolatori)
Precoci (trascrizione-replicazione)
Tardivi (strutturali)

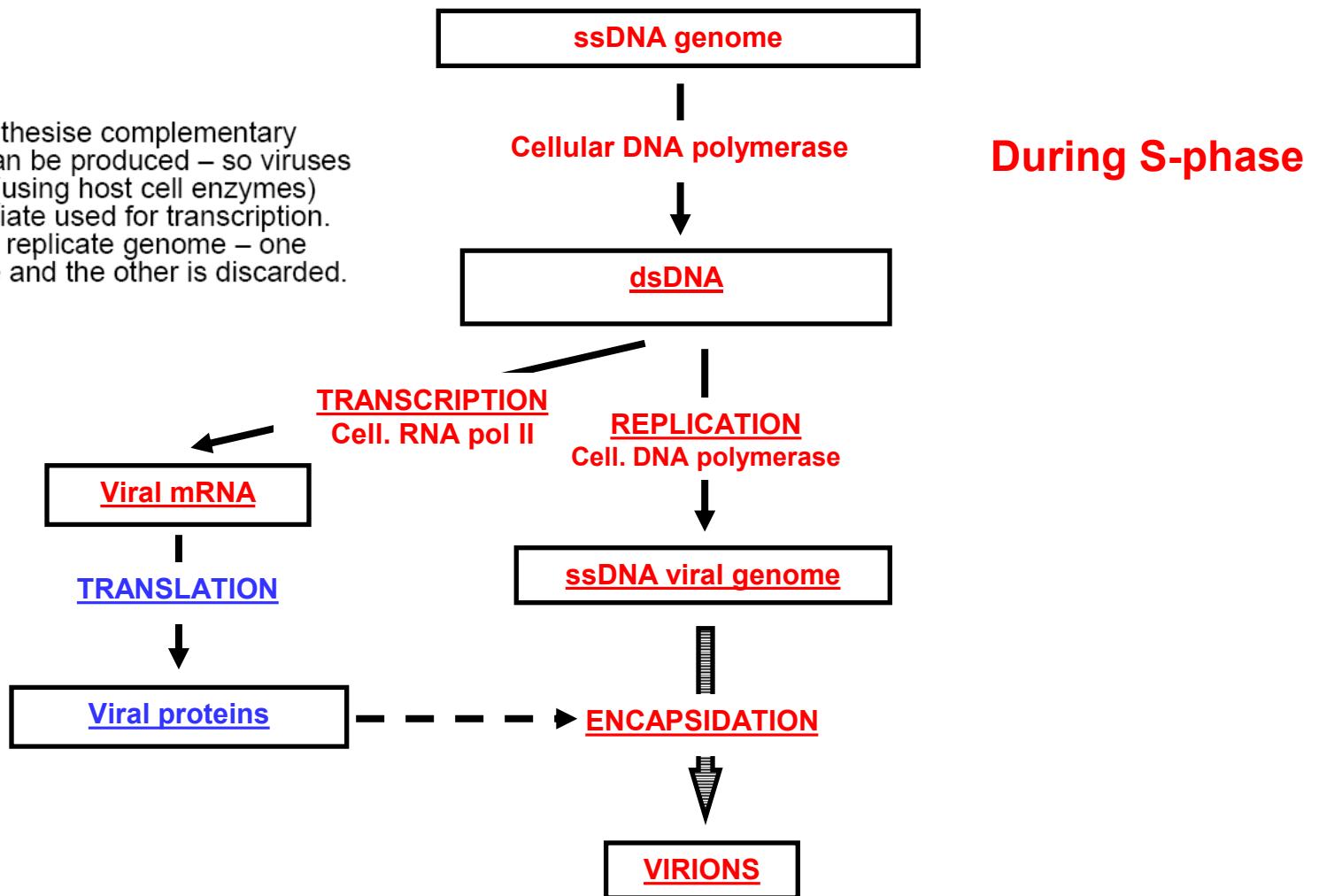
The genome includes:
a highly conserved central region, encoding for viral transcription, replication, and virion morphogenesis factors,
and two peripheral regions containing immune-modulating and virulence genes implicated in determining the host range and pathogenesis

Genetic material present in the virion



EXPRESSION-REPLICATION of GR II VIRUSES

Class II – ssDNA – must synthesise complementary DNA strand before mRNA can be produced – so viruses form a dsDNA intermediate (using host cell enzymes) during replication – intermediate used for transcription. ds-intermediate also used to replicate genome – one strand becomes the genome and the other is discarded.



	FAMILY
Animal viruses	PARVOVIRIDAE, CIRCOVIRIDAE
Plant viruses	GEMINIVIRIDAE
Bacteriophages	MICROVIRIDAE

I *Parvoviridae* sono i più piccoli virus a DNA. Le loro piccole dimensioni e il repertorio genetico limitato li rendono più dipendenti di qualsiasi altro virus a DNA dalla cellula ospite, oppure richiede la presenza di un virus helper per la loro replicazione.

La famiglia Parvoviridae comprende: Parvovirus B19, e i Dependovirus (virus satellite e adeno/herpes-associati)

B19 e *Bocavirus* sono gli unici parvovirus noti per causare malattie umane.

B19 normalmente causa eritema infettivo, o quinta malattia, una lieve malattia esantematica febbile che si verifica nei bambini.

Parvoviridae family

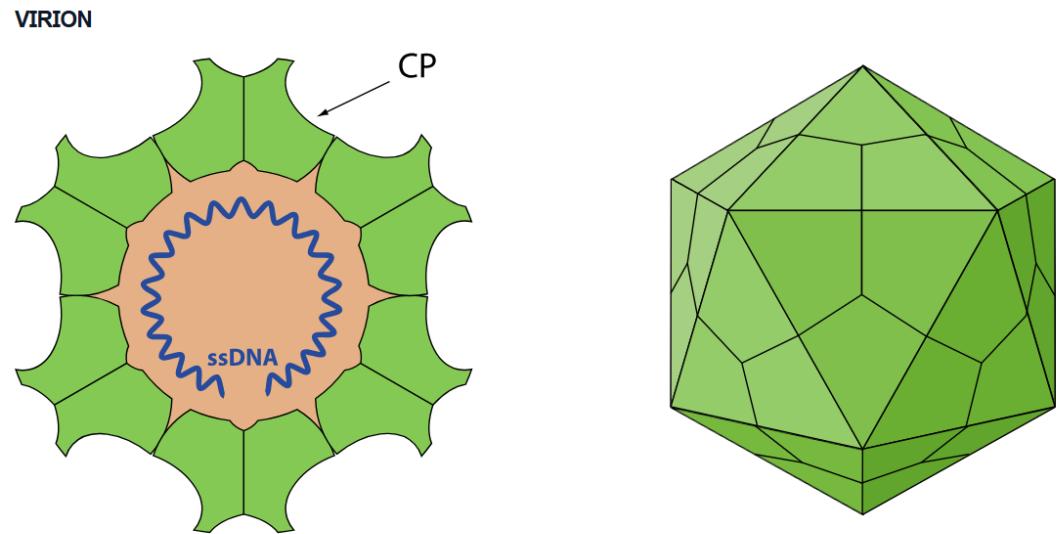
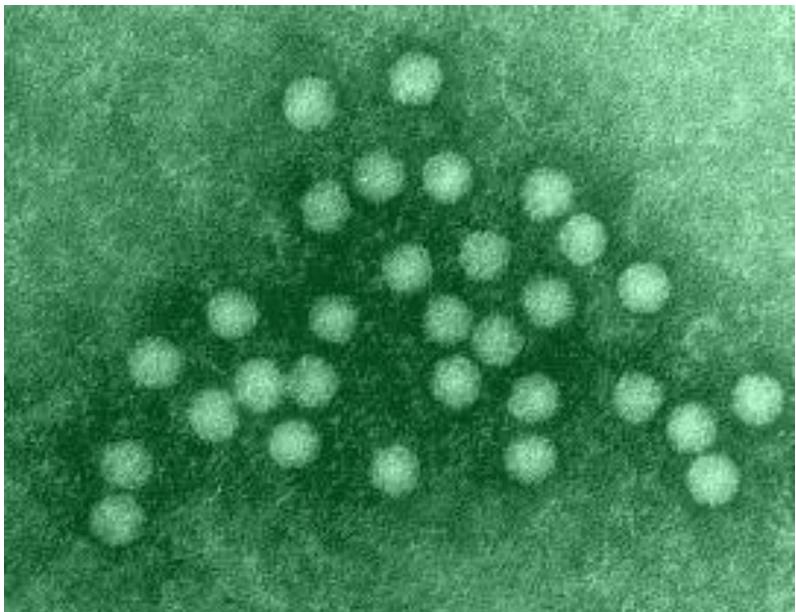
TAXONOMY

Group II: ssDNA viruses
 Realm: [Monodnaviria](#)
 Kingdom: [Shotokuvirae](#)
 Phylum: [Cossaviricota](#)
 Class: [Quintoviricetes](#)
 Order: [Piccovirales](#)
 Family: [Parvoviridae](#)
 Subfamily: [Parvovirinae](#)
 Genus: [Amdoparvovirus](#)
[Aveparvovirus](#)
[Bocaparvovirus](#)
[Copiparvovirus](#)
[Erythroparvovirus](#)
[Dependoparvovirus](#)
[Protoparvovirus](#)
[Tetraparvovirus](#)
 Subfamily: [Densovirinae](#)
 Genus: [Ambidensovirus](#)
[Iteravirus](#)
[Brevidensovirus](#)
[Hepandensovirus](#)
[Penstyldensovirus](#)
 Unassigned:
[Bombyx mori densovirus 3](#)

ETYMOLOGY

Parvo: from Latin, 'small'

Parvoviridae family



scroll to zoom and drag to pan, double-click to open in lightbox

T=1

[Download SVG](#)

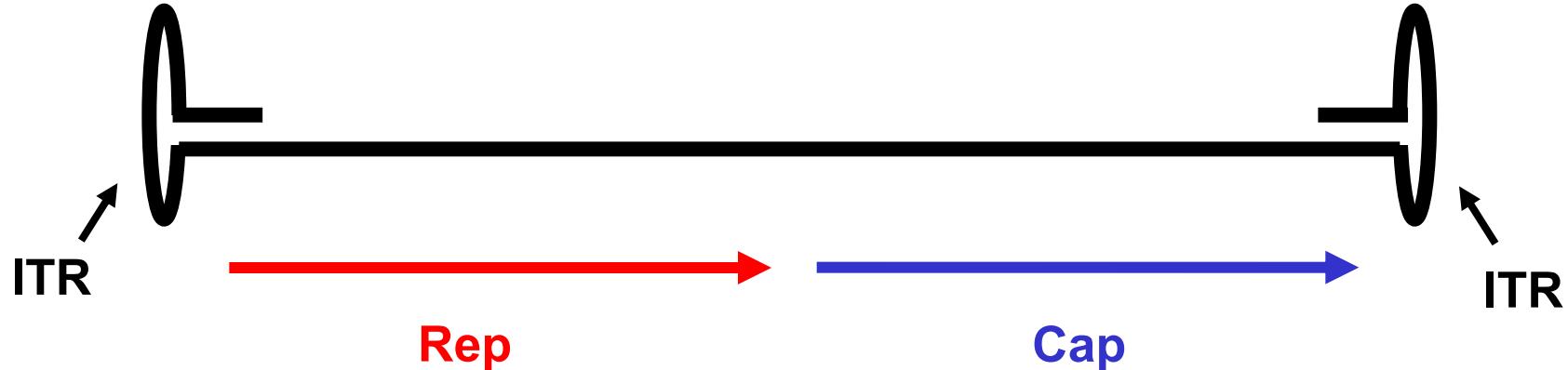
Non-enveloped, round, [T=1 icosahedral symmetry](#), 18-26 nm in diameter. The capsid consists of 60 copies of CP protein.

Non-enveloped icosahedral capsid (\varnothing 20 nm)

Sono eccezionalmente resistenti alle condizioni ambientali, spesso rimangono infettivi per mesi o anni.

A differenza dei virus a DNA più grandi, i parvovirus devono infettare le cellule mitoticamente attive perché non codificano per fattori in grado di stimolare la crescita cellulare o una polimerasi virale.

Parvovirus genome



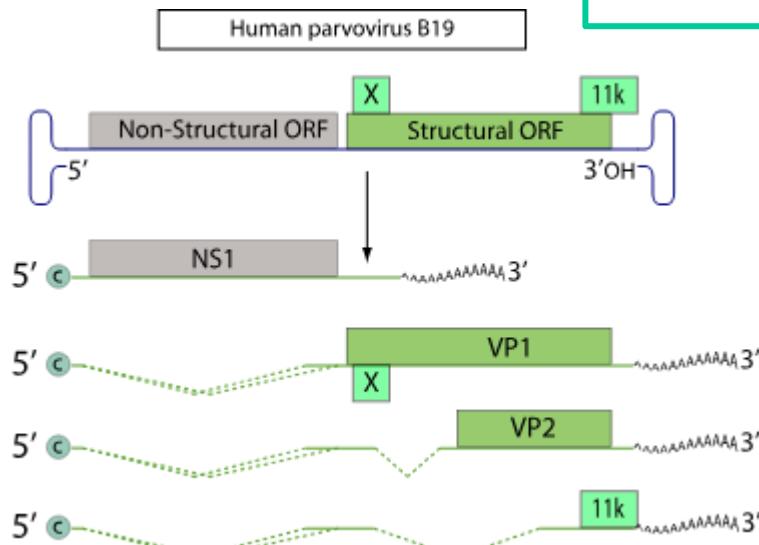
Linear 5 kb ssDNA genome

ITR (inverted terminal repeat) : ORI + role in establishment of transcription complexes and packaging

Rep region : necessary for replication + cellular DNA polymerase recruitment

Cap region : encodes capsid proteins

Parvovirus



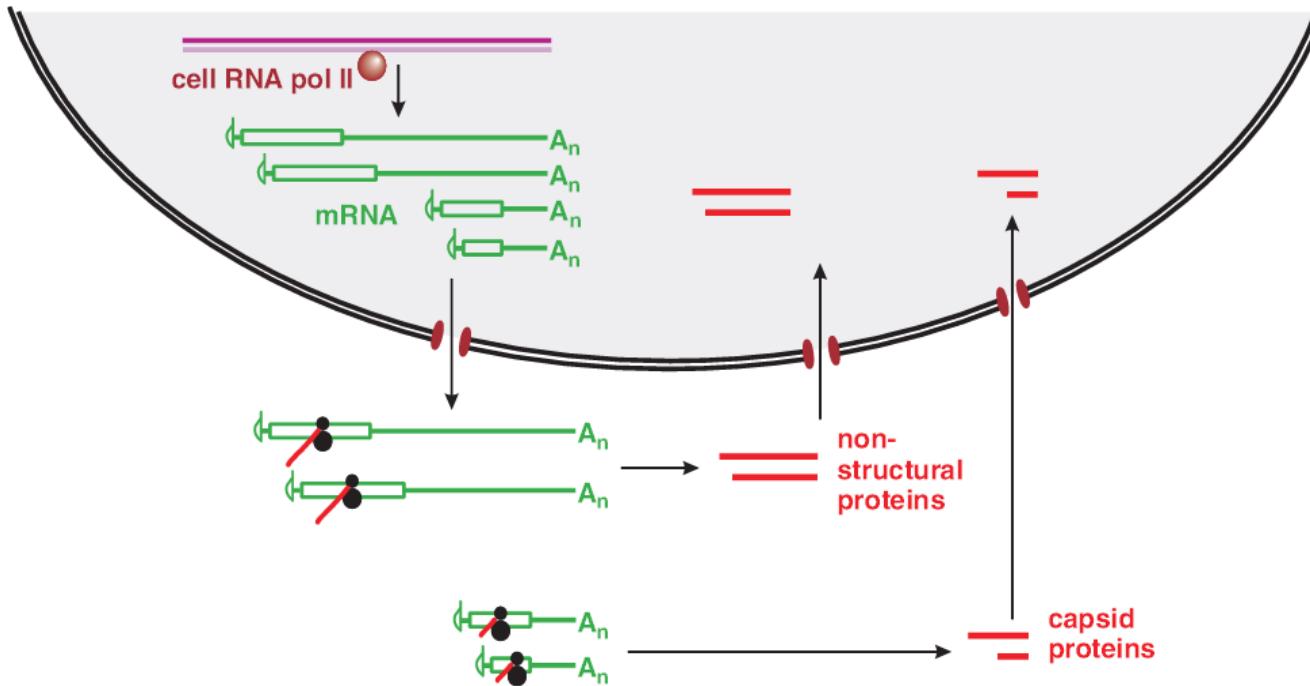
Depending on the virus there can be one (Erythrovirus and Iteravirus), two (Densovirus and Brevidensovirus) or three (Dependovirus) promoters for mRNA transcription. [Alternative splicing](#) allows expression of both structural and non-structural proteins. [Leaky scanning](#) is used as well by densoviruses.

Cellular RNA pol II transcribes genes and cellular transcription factor play key roles

1° transcript –various splicing events to make 2 classes based on size:

1. larger mRNAs –non-structural, phosphorylated and play role in control of gene expression and in DNA replication
2. smaller mRNAs –structural

Parvovirus



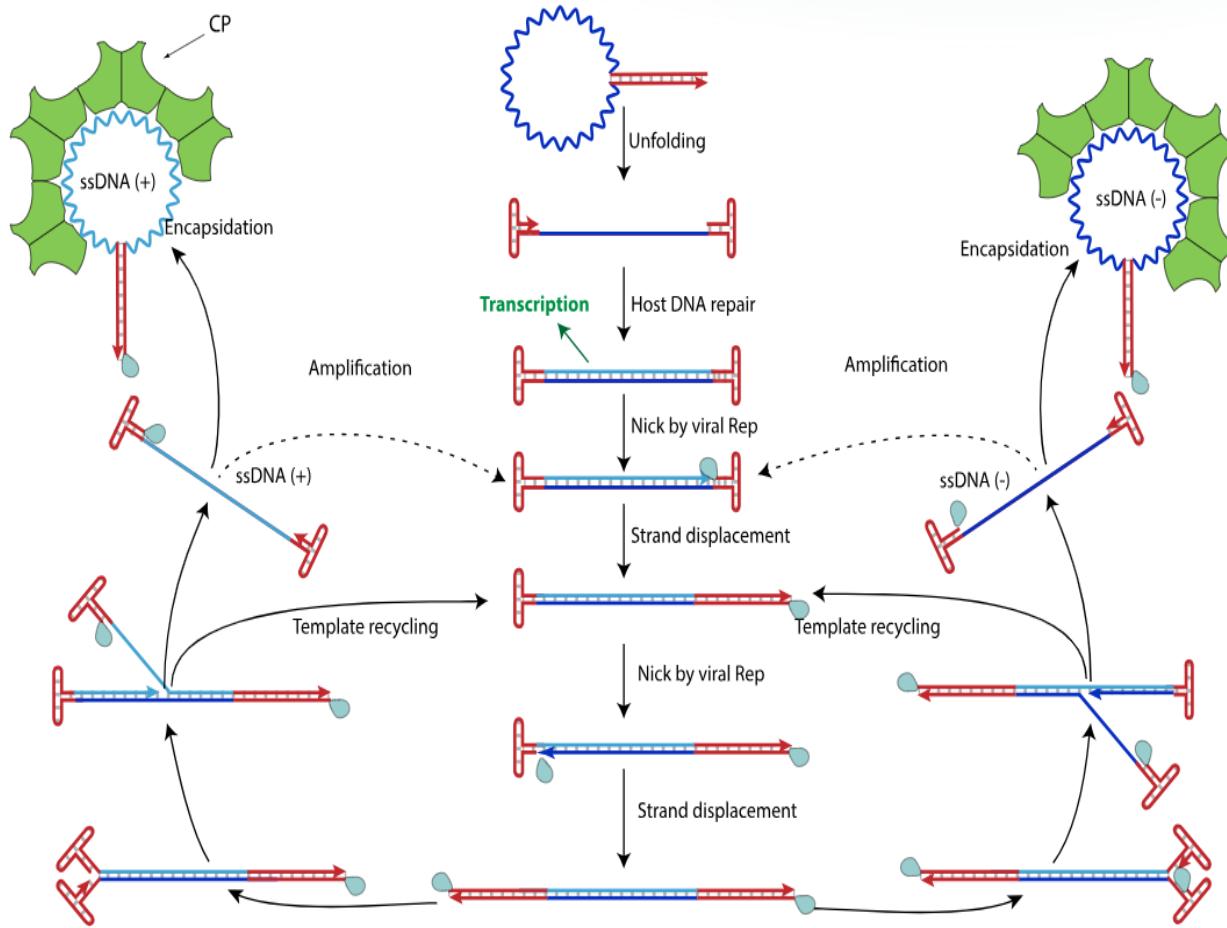
Cellular RNA pol II transcribes genes and cellular transcription factor play key roles

1° transcript –various splicing events to make 2 classes based on size:

1. larger mRNAs –non-structural, phosphorylated and play role in control of gene expression and in DNA replication
2. smaller mRNAs –structural

Parvovirus

Rolling hairpin Replication (AAV)



• **Inizio della replicazione:** Il DNA a singolo filamento (ssDNA) si dispiega e forma un intermedio a doppia elica tramite la riparazione del DNA dell'ospite o la trascrizione.

• **Amplificazione del genoma:** La proteina virale Rep introduce un taglio (nick) nel DNA, dando inizio allo spostamento del filamento e alla sintesi di nuovi filamenti di ssDNA, sia positivi (+) che negativi (-).

• **Riciclo del tempiato e incapsidamento:** I filamenti di ssDNA neo-sintetizzati possono essere riciclati come templati per ulteriore amplificazione o incapsidati in nuovi capsidi virali.

