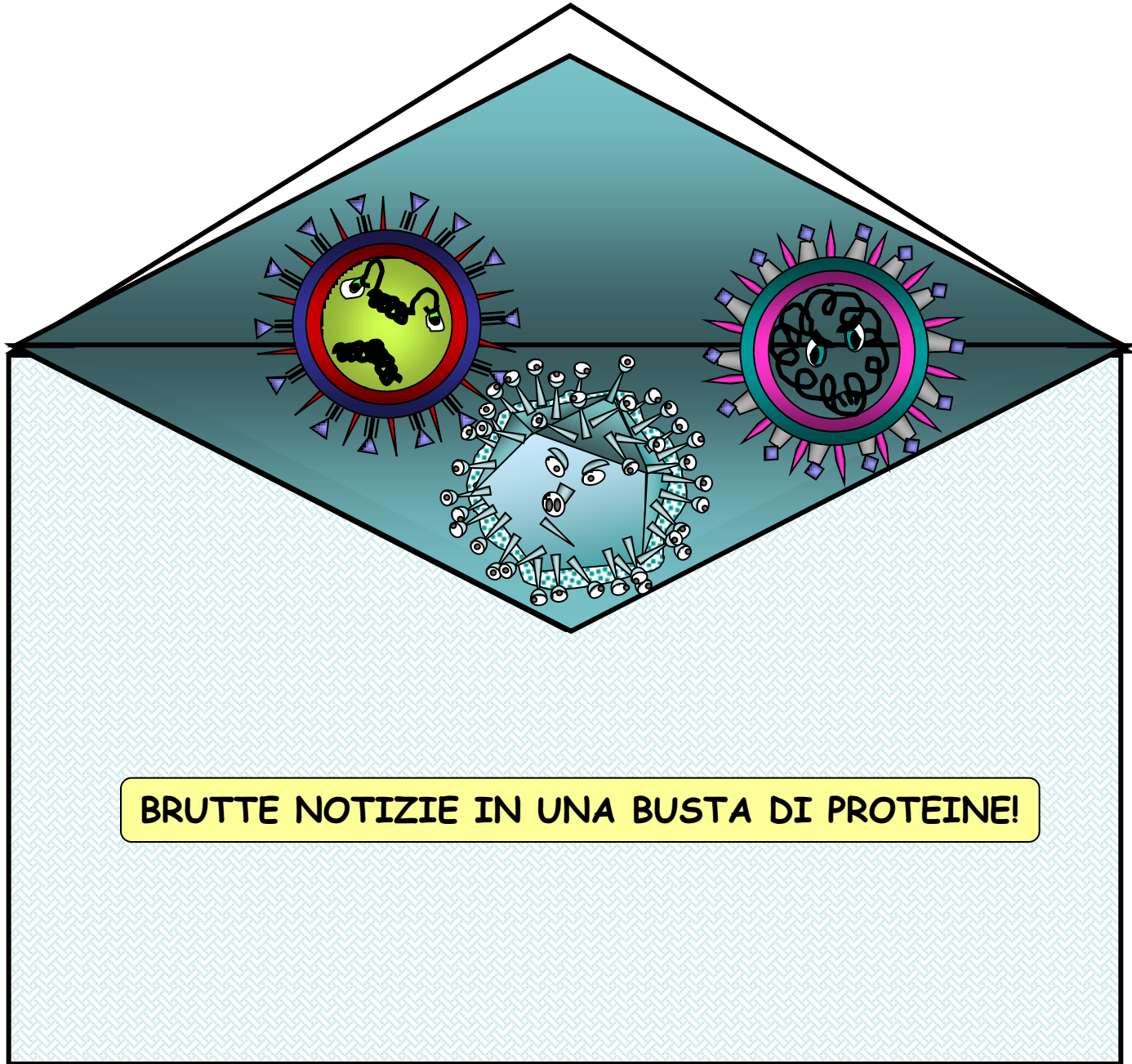




VIRUS

estremamente piccoli

parassiti intracellulare obbligati

struttura semplice non cellulare

un solo tipo di acido nucleico (DNA o RNA)

I componenti sono sintetizzati separatamente e
assemblati in seguito

agenti infettivi

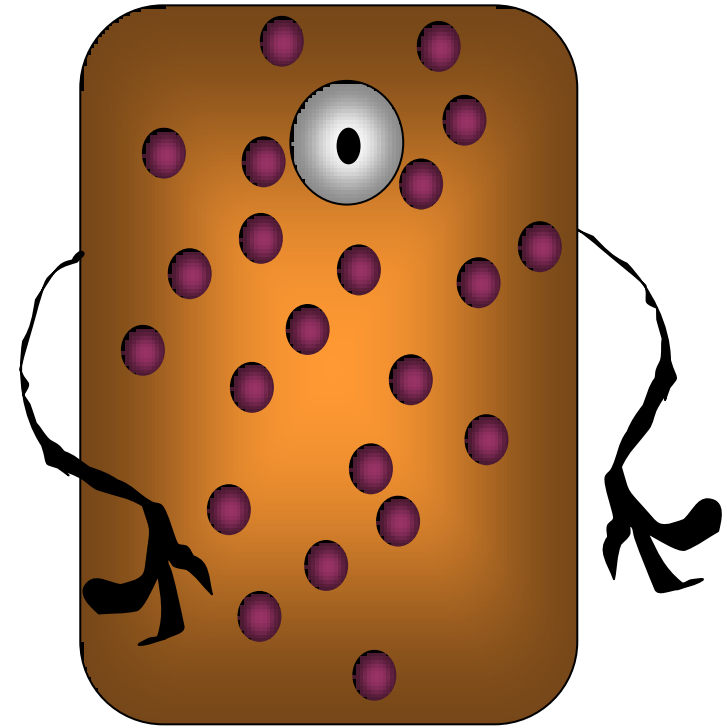
batteri

animali

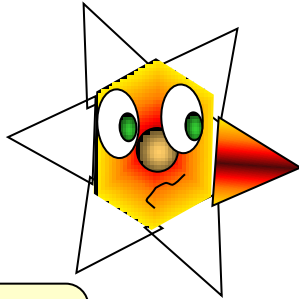
piante

Poxvirus (400x200 nm)

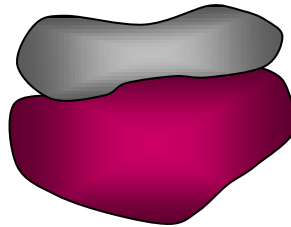
**Visibili al limite della
microscopia ottica**



Poliovirus (20 nm)



**La taglia di un
ribosoma**



Genoma: 5000 – 200.000 bp

Batteri più piccoli 600.000

EXTRACELLULARE

virione

**Particella che si trasmette
da una cellula all'altra**

**Acido
nucleico**

**Capside
(proteine)**

nucleocapside

**Envelope
(rivestimento membranoso)**



CAPSIDE

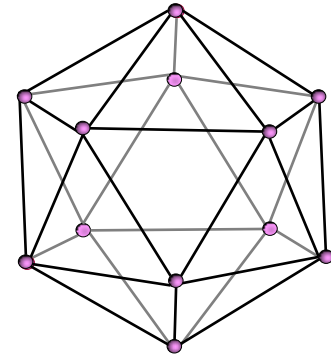
Il capsid è costituito da subunità ripetute (capsomeri)

Massima resa con un'informazione ridotta

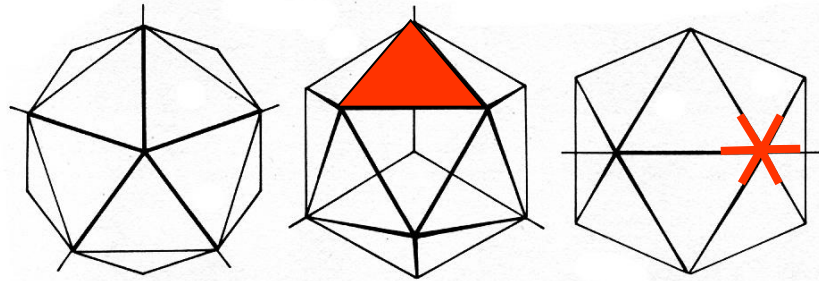
esposti alle opportune condizioni, i protomeri si associano spontaneamente a formare il capsid (AUTOASSEMBLAGGIO)

Protomeri e capsomeri sono legati con legami deboli non covalenti: i capsidi vuoti si dissociano facilmente

SIMMETRIA ICOSAEDRICA



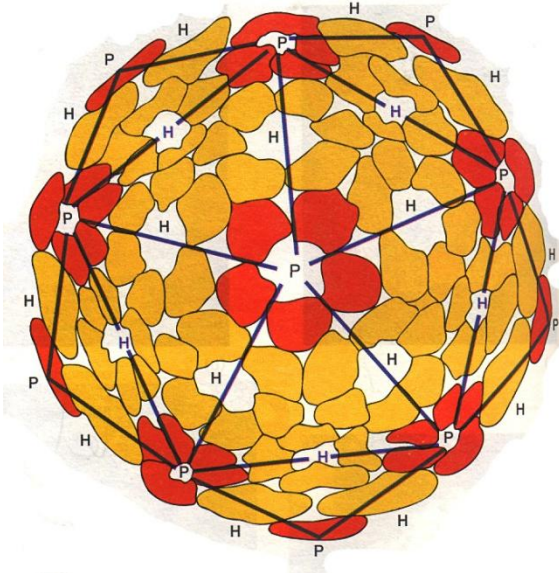
I capsomeri sono formati
da subunità (protomeri)



20 facce triangolari

12 vertici

I pentameri (5 subunità) si trovano ai vertici gli
esameri (6 subunità) formano le facce



**I protomeri
possono essere**

esameri = pentameri

pentameri $\neq$ esameri

**La struttura dei capsomeri segue le
leggi della cristallografia**

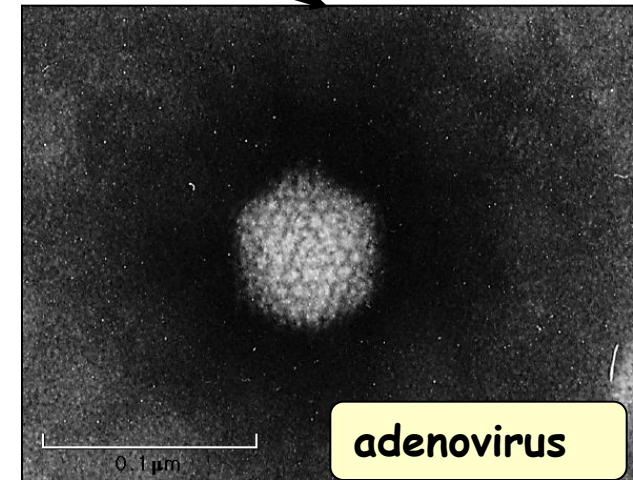
**Il numero di capsomeri può
assumere solo valori discreti**

12, 32, 42, 60, 72, 92, 162, 252 ...

parvovirus

poliovirus

**Papillomavirus
(HPV)**



adenovirus

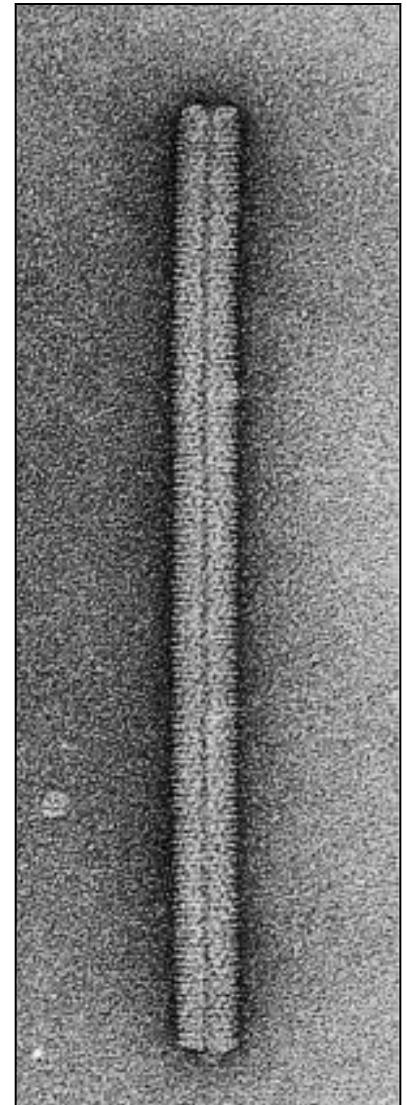
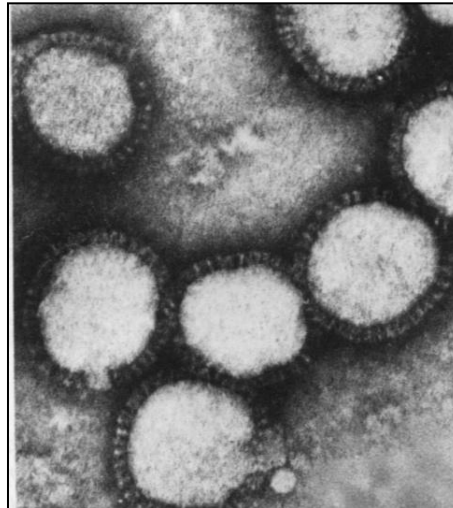
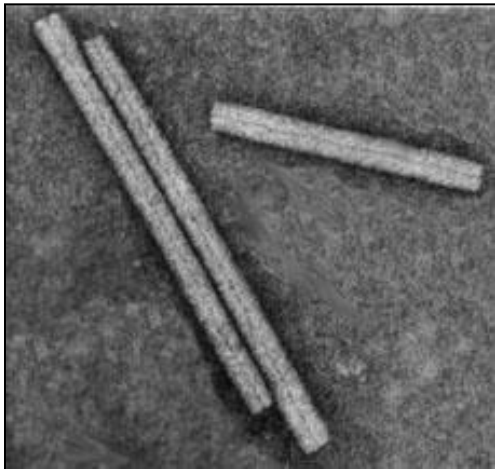
SIMMETRIA ELICOIDALE

forma cilindrica

Un solo tipo di
capsomero

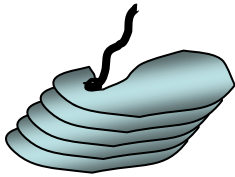
flessibili
(virus influenzali)

Rigidi
(mosaico del tabacco- M13)



I capsomeri si avvolgono a spirale attorno alla regione centrale cava

Il genoma è situato in un solco tra i protomeri

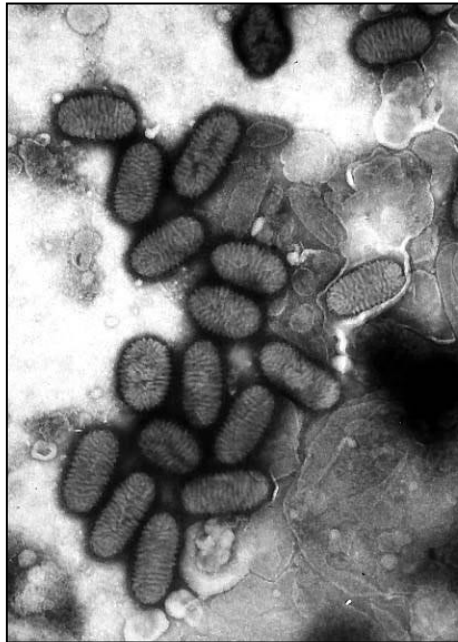


la ripetizione di una stessa proteina è spesso la sola possibilità di rivestire un acido nucleico di piccole dimensioni

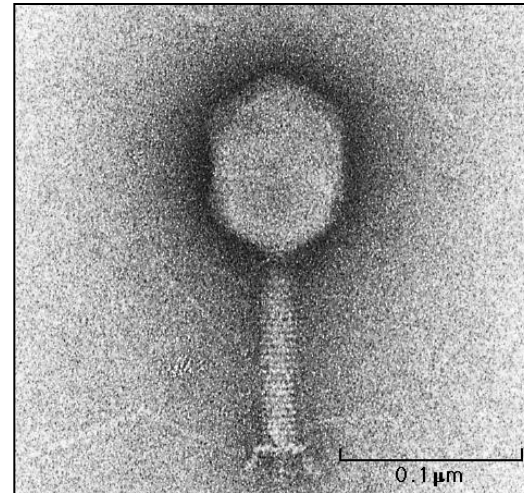


Hanno una struttura complessa non assimilabile né a quella elicoidale né a quella icosaedrica

POXVIRUS



GRANDI
BATTERIOFAGI

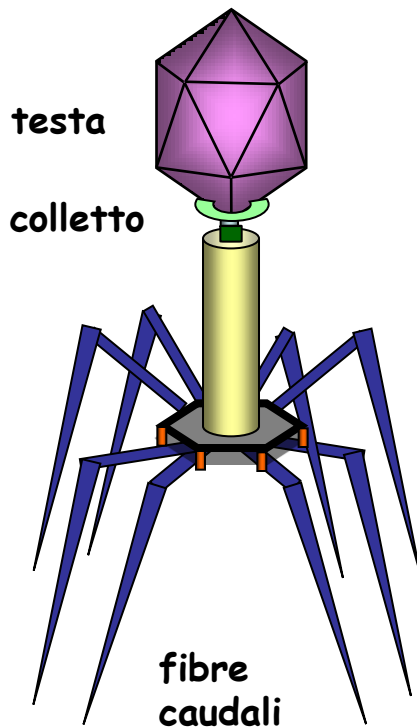


SIMMETRIA COMPLESSA

I batteriofagi della serie T pari (T4) hanno una struttura particolarmente complessa, in parte icosaedrica in parte elicoidale (ambivirus)

la "testa" esagonale è connessa per uno dei vertici a un'appendice tubulare (coda)

La coda è formata da un canale centrale rigido, circondato da una struttura contrattile



asse tubulare (cavo)

Guaina elicoidale

piastra basale
esagonale

spine

fibre
caudali

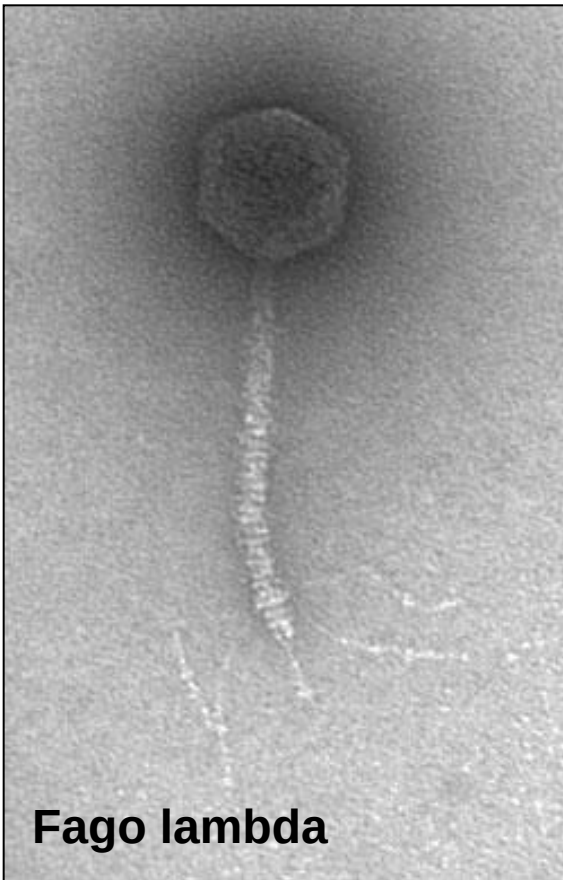
Una delle estremità della coda è unita alla testa da un collare (colletto)

l'altra estremità termina in una "piastra" basale munita di "spine" proteiche

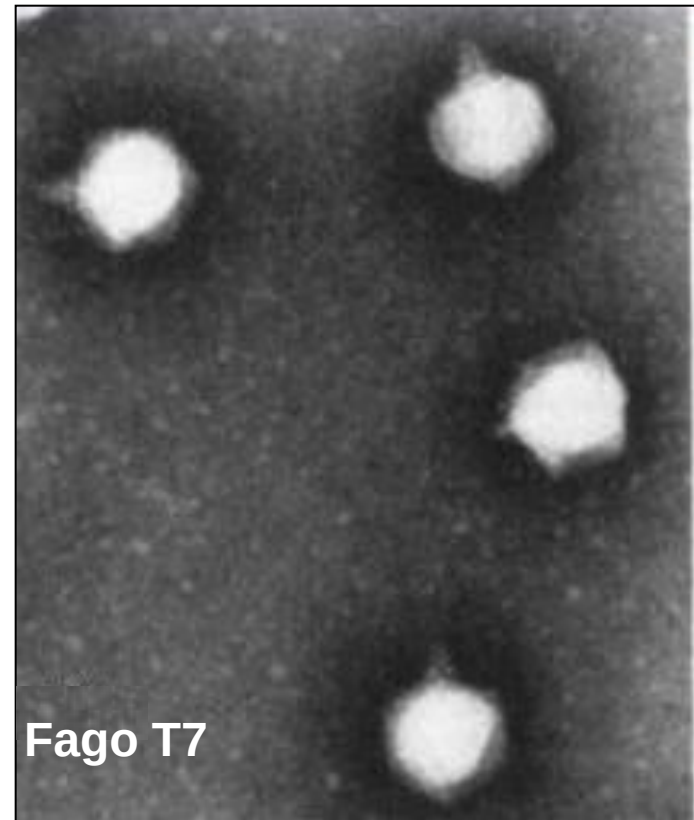
dalla piastra si dipartono alcune "fibre", destinate a facilitare l'attacco della piastra al recettore sulla cellula batterica

Variazioni di questa struttura si osservano in batteriofagi privi di apparato contrattile e con una coda

lunga e flessibile



O corta e rigida



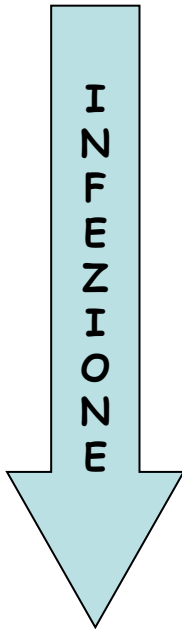
Le fibre caudali possono essere assenti

INTRACELLULARE

**Acido
nucleico**

**Induce la cellula ospite
a sintetizzare virioni**

**I
N
F
E
Z
I
O
N
E**



**Un virus non è
autosufficiente**

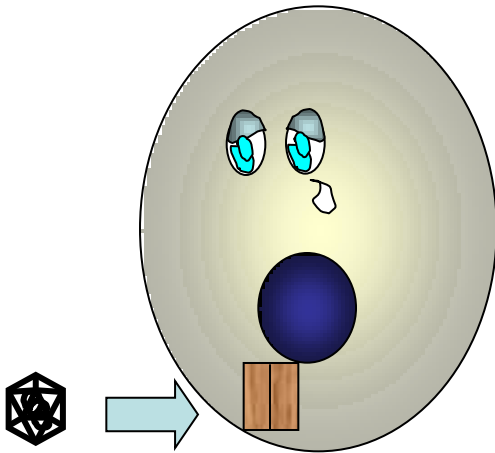
**può replicarsi solo se
infetta una cellula**

Il successo dell'infezione dipende sia dal virus che dalla cellula ospite

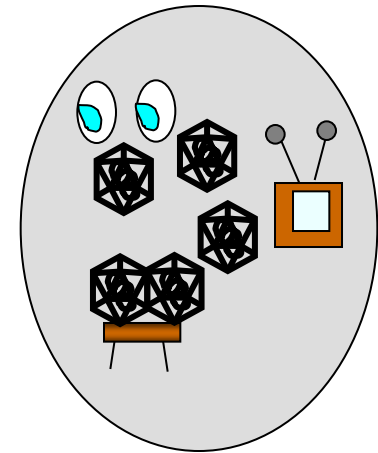
La cellula deve essere

PERMISSIVA

SENSIBILE



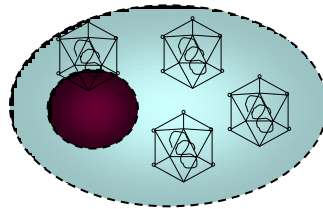
è possibile l'attacco e la penetrazione del virione



i suoi sistemi permettono la libera replicazione dei componenti virali

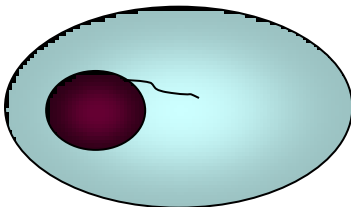
a seconda delle esigenze dell'agente infettante e delle proprietà della cellula sensibile, l'infezione può essere

Produttiva



**Garantisce la
riproduzione virale**

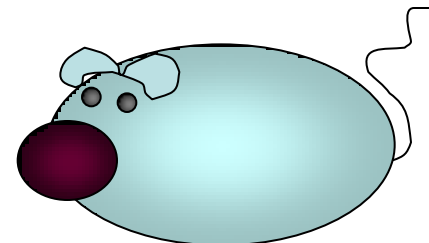
latente



**il DNA del virus
infettante si integra in
quello della cellula ospite**

Resta silente

**Conferisce nuove
caratteristiche alla cellula**

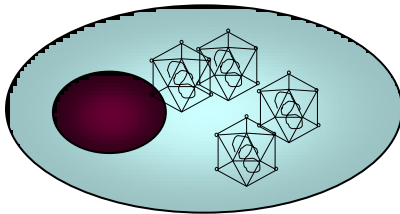


RESTRITTIVA

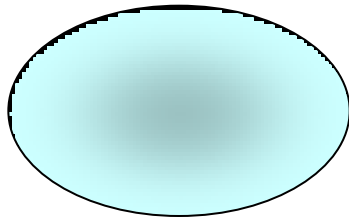
la cellula è sensibile ma la sua
permissività non è costante

**Es: il
parvovirus B19**

si manifesta solo in particolari
condizioni fisiologiche



infetta i precursori nucleati delle cellule
eritroidi

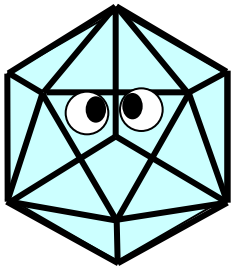


Ma non riesce a replicarsi
nelle cellule mature

ABORTIVA

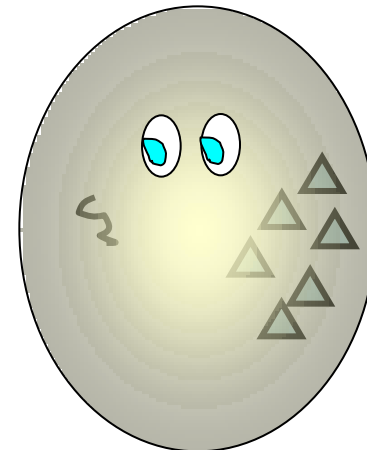
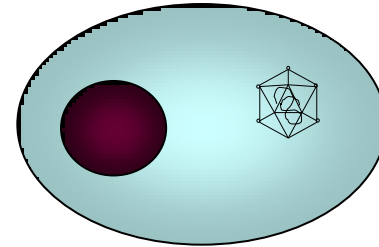
**L'infezione si arresta
precocemente**

Il virus è difettivo

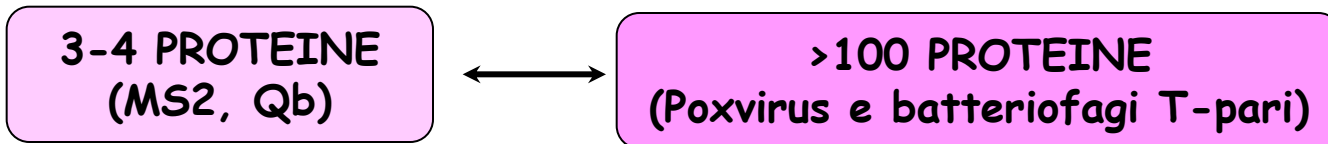
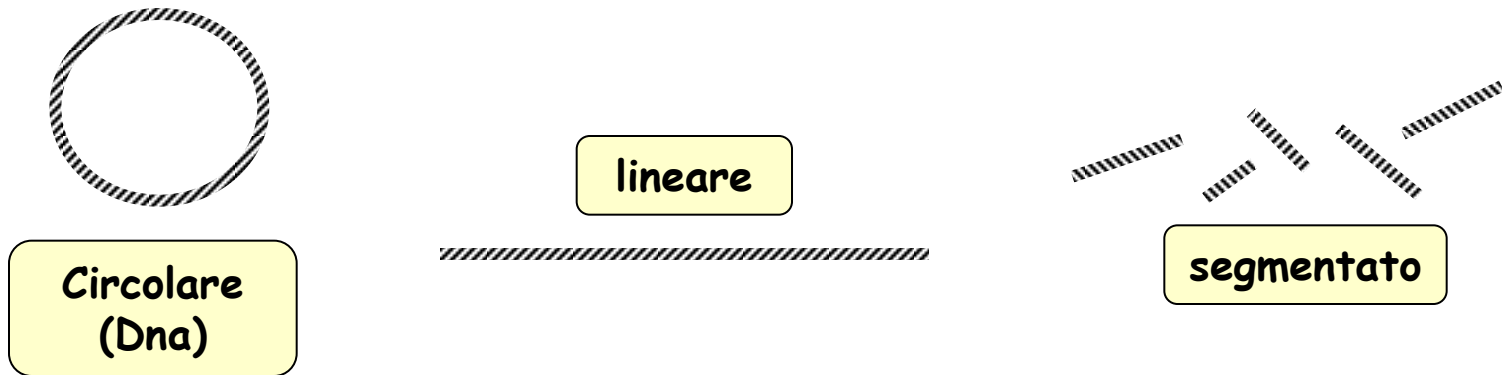
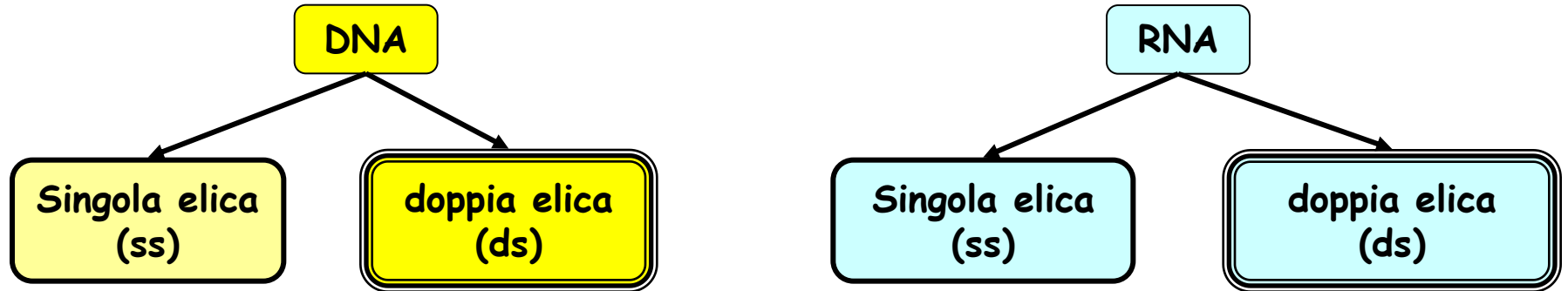


**A volte anche un'infezione abortiva può
danneggiare o "trasformare" la cellula**

**La cellula sensibile è permissiva solo
per alcune componenti virali**



I VIRUS CONTENGONO UN SOLO ACIDO NUCLEICO

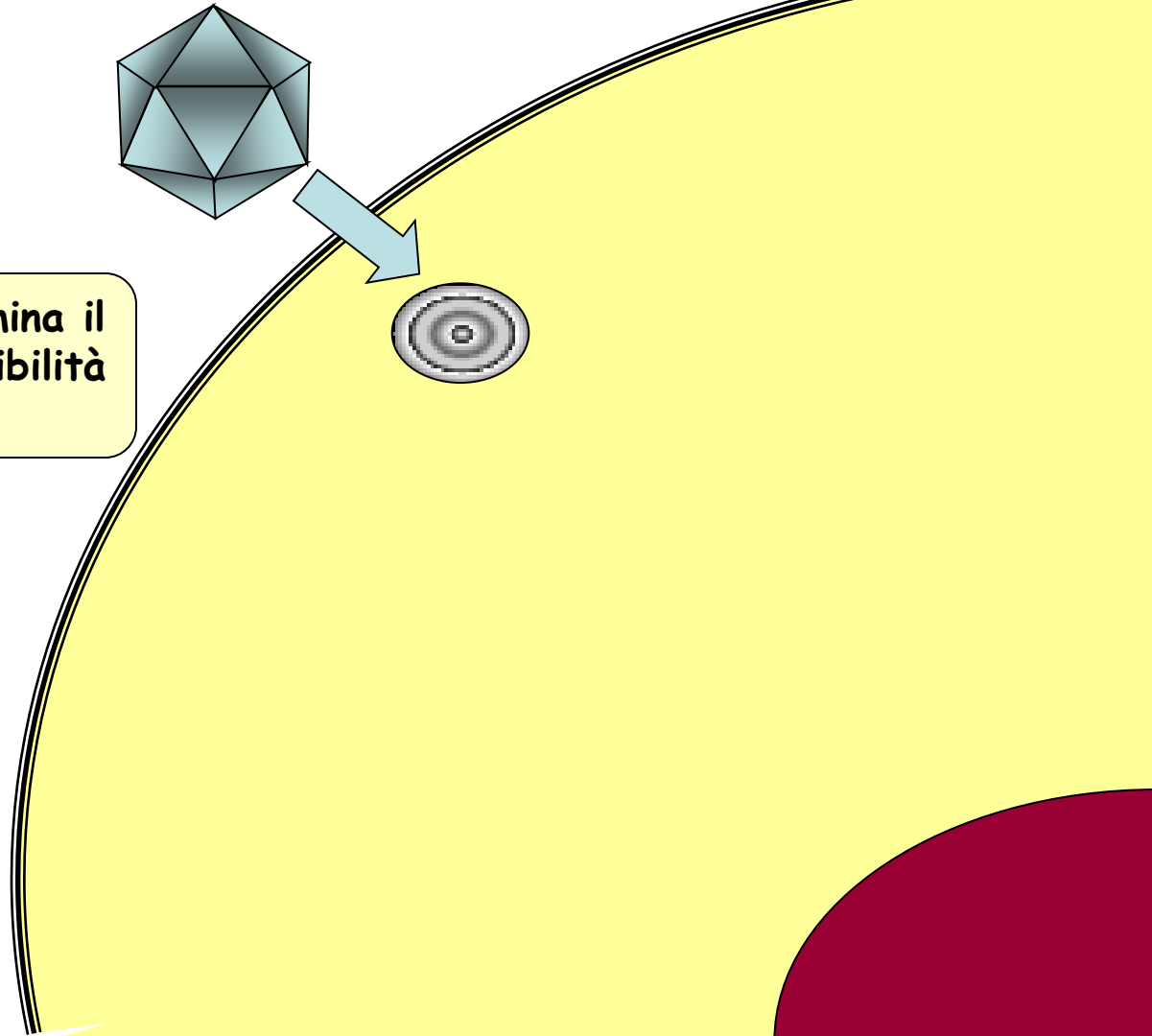


Fasi di replicazione

ATTACCO

Il virione riconosce i propri recettori

La natura dei recettori determina il tropismo del virus e la suscettibilità di diversi tipi cellulari

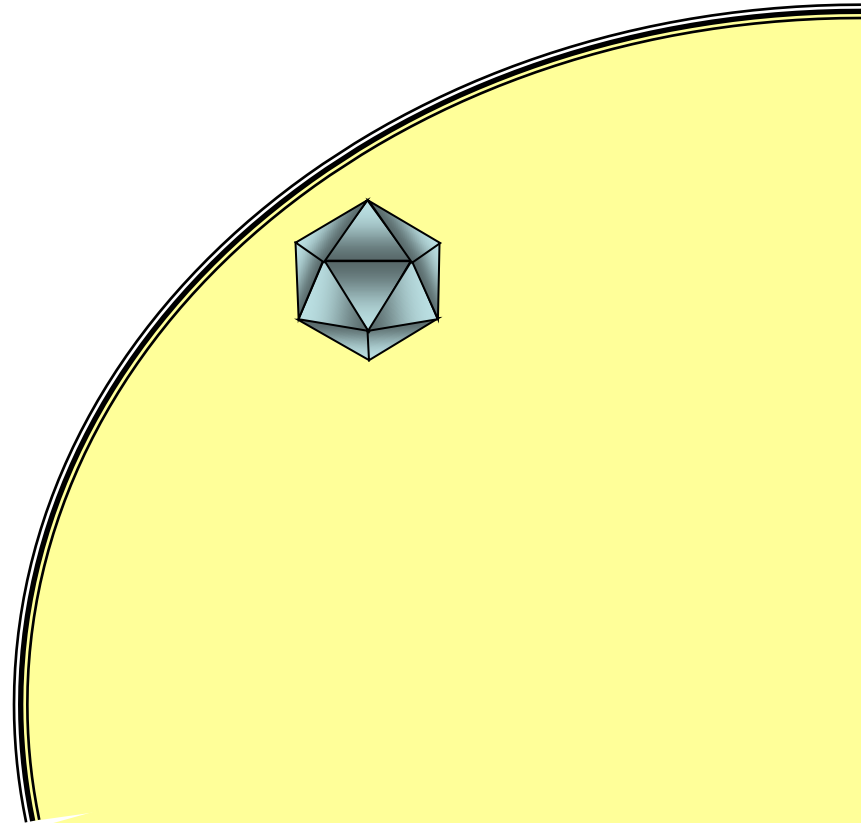
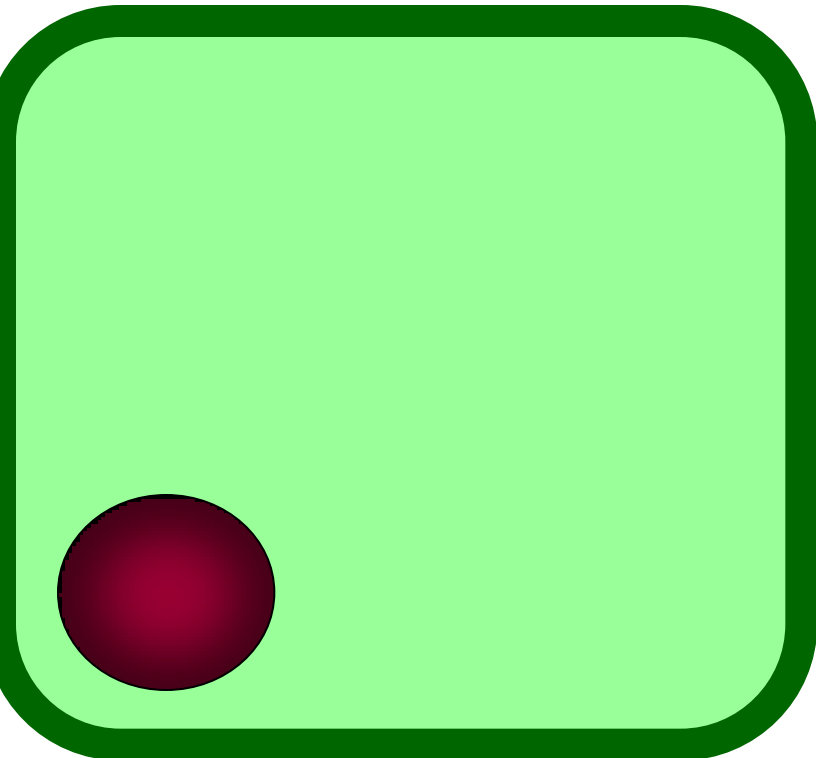


PENETRAZIONE

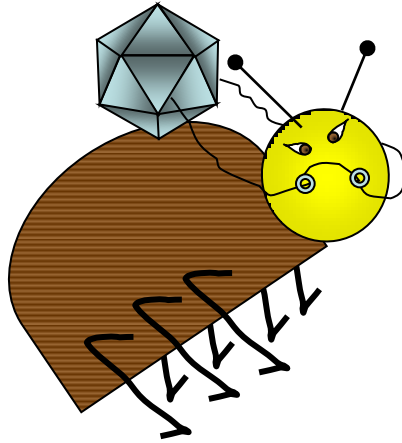
Batteriofagi- virus vegetali
devono attraversare la parete

Virus animali
Attraversano la membrana

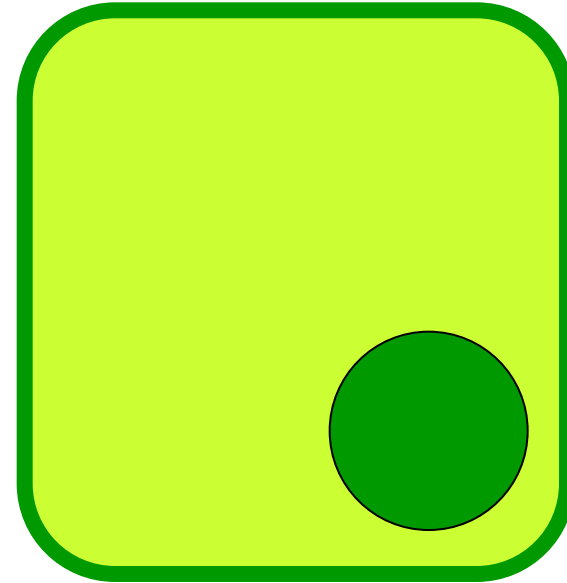
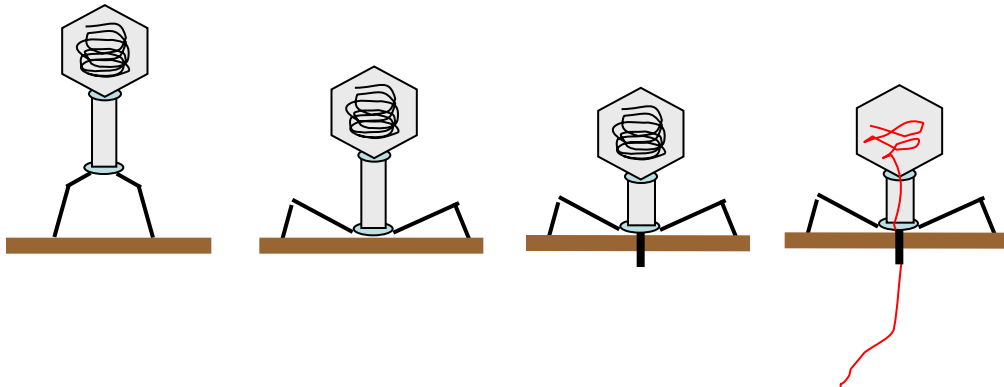
Influenza sulla struttura



I virus vegetali penetrano attraverso lesioni provocate da insetti, miceti o traumi



I grandi batteriofagi iniettano il proprio acido nucleico attraverso la coda contrattile

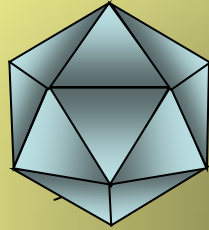


SINTESI DI ACIDO NUCLEICO E PROTEINE

L'acido nucleico esce dal capsid

E sintetizzare proteine

Il virus utilizza i sistemi della cellula



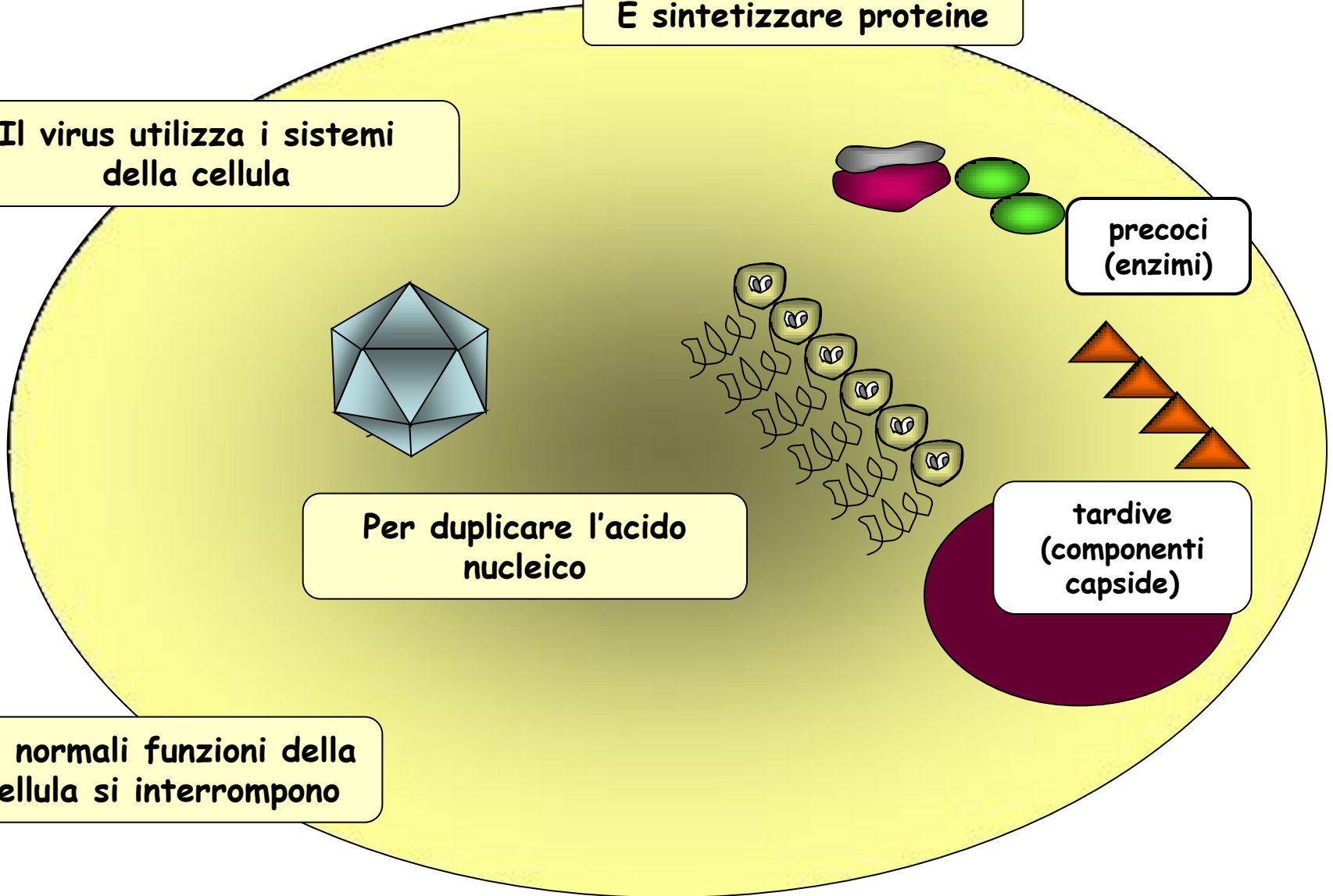
Per duplicare l'acido nucleico



precoci
(enzimi)

tardive
(componenti
capside)

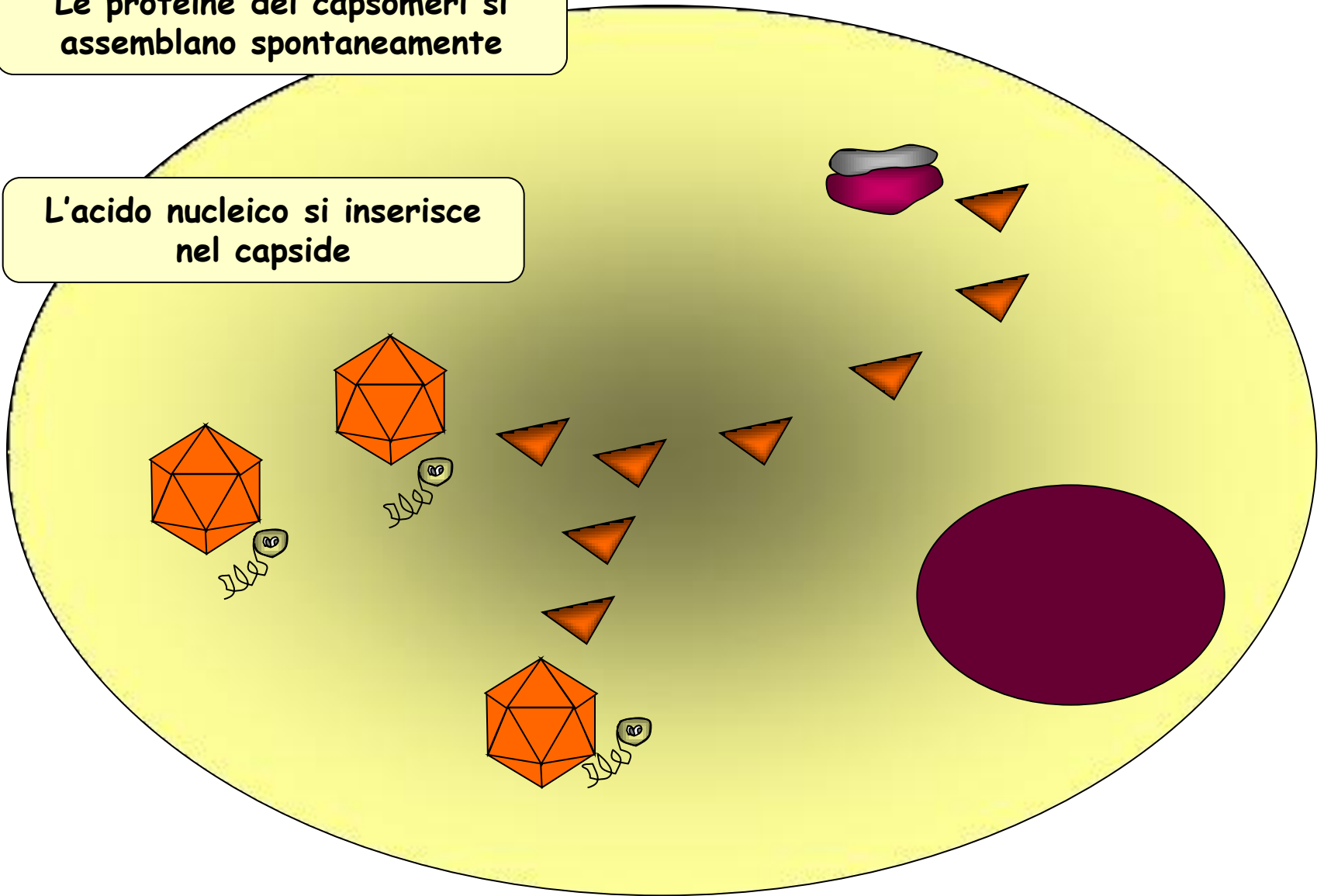
Le normali funzioni della cellula si interrompono



ASSEMBLAGGIO

Le proteine dei capsomeri si
assemblano spontaneamente

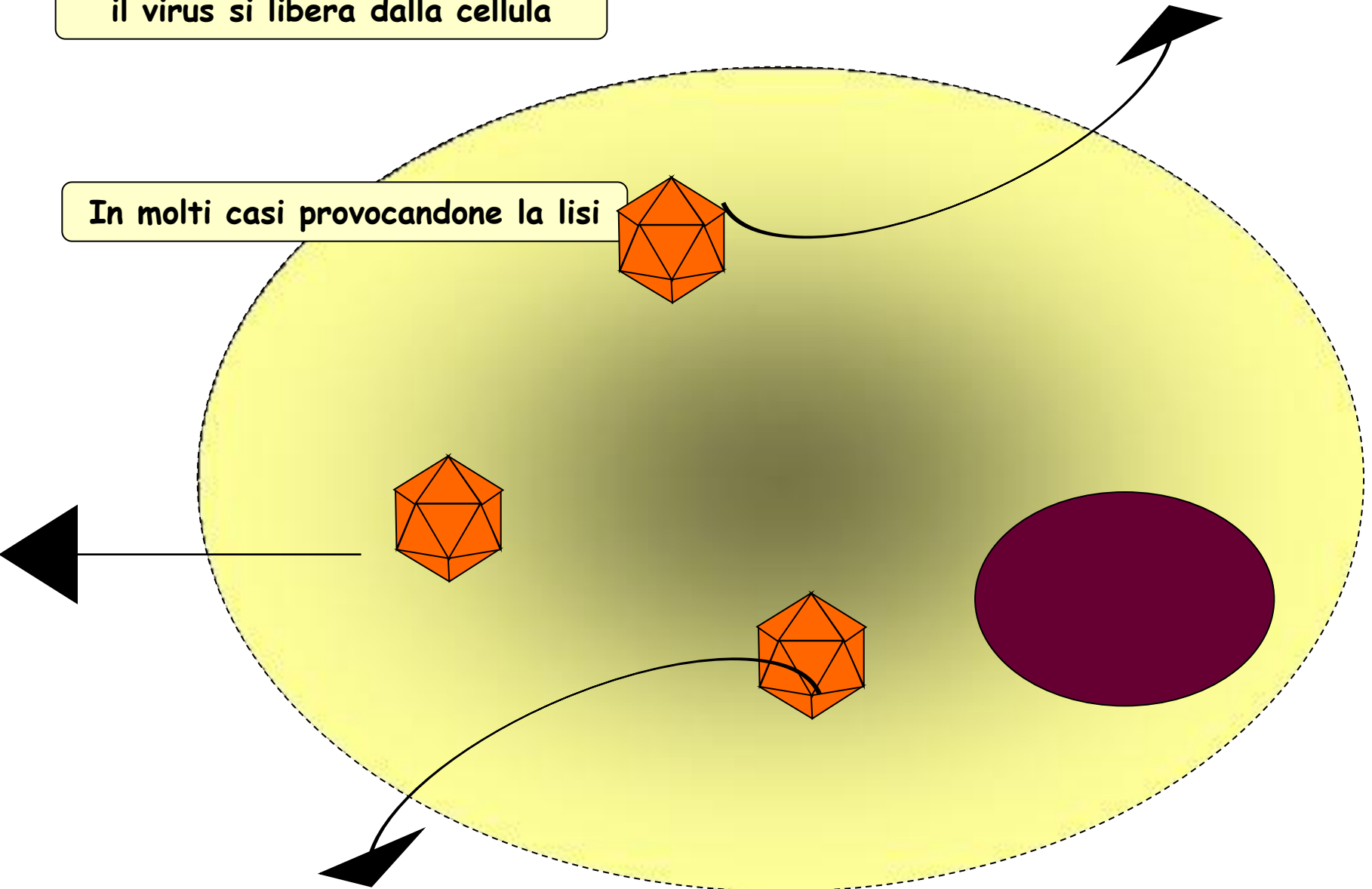
L'acido nucleico si inserisce
nel capsid



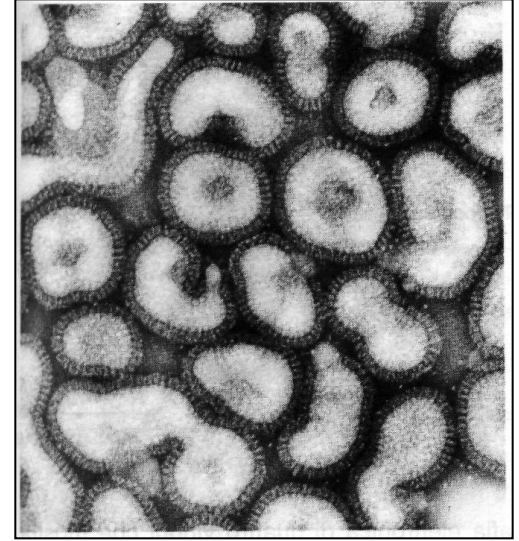
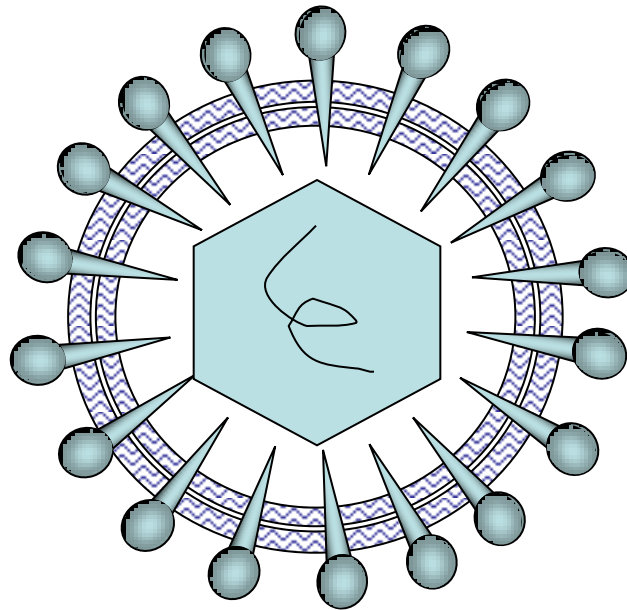
RILASCIO

il virus si libera dalla cellula

In molti casi provocandone la lisi

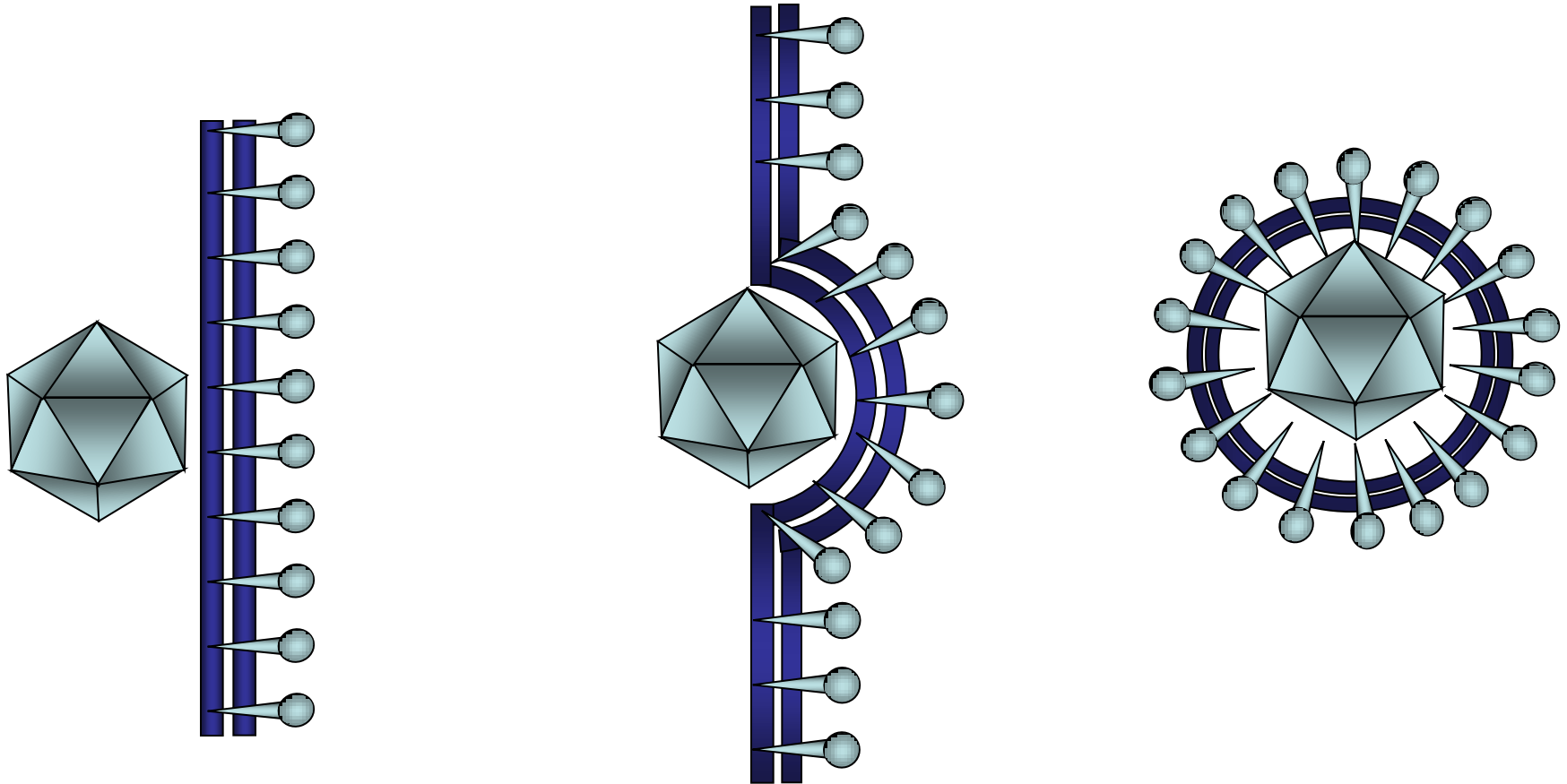


**Nel corso della la liberazione dei virioni
alcuni virus acquisiscono un envelope**

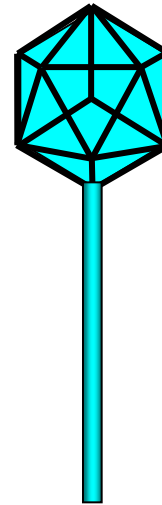
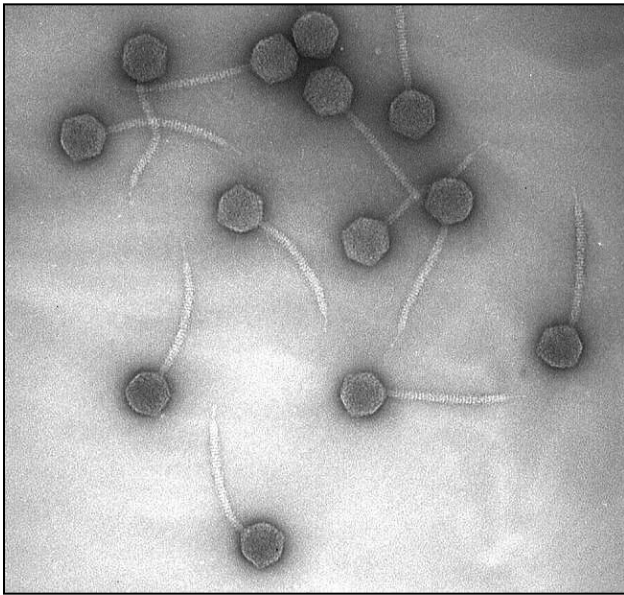


**costituito da un doppio strato lipidico, derivato dalla membrana della
cellula infettata, in cui sono inserite glicoproteine (spicole)**

Le spicole sono di origine virale e sono già inserite nella membrana della cellula ospite al momento della fuoriuscita dei virioni



UN BATTERIOFAGO TEMPERATO: LAMBDA



testa icosaedrica
64 nm

coda non contrattile
150 nm

GGGCGGCGACCT

5'

COS

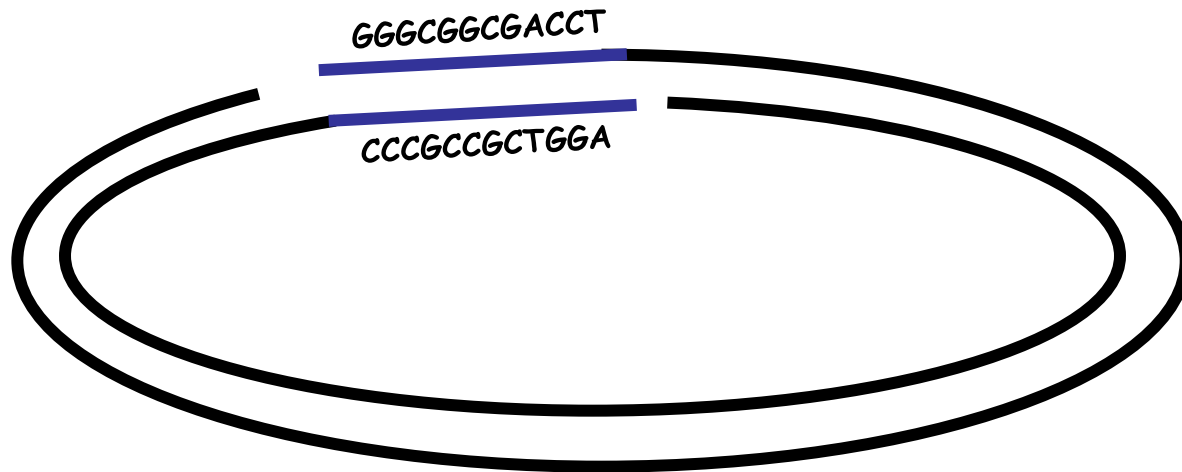
COS

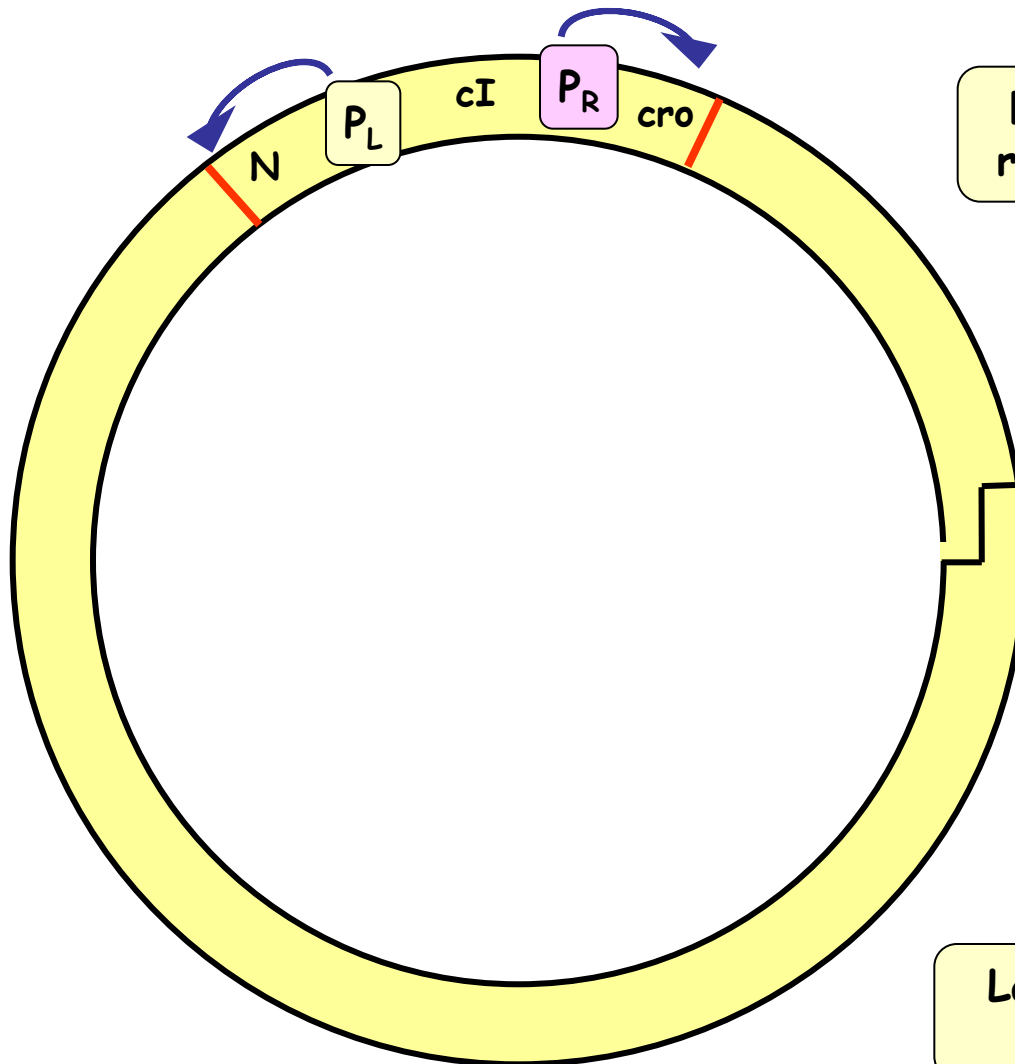
5'

CCCGCCGCTGGA

Nel virione, il genoma è lineare, con due regioni complementari a singolo filamento alle estremità

subito dopo l'ingresso nella cellula i siti cos si associano e il genoma fagico diventa circolare





la RNA-polimerasi batterica riconosce i promotori *PL* e *PR*

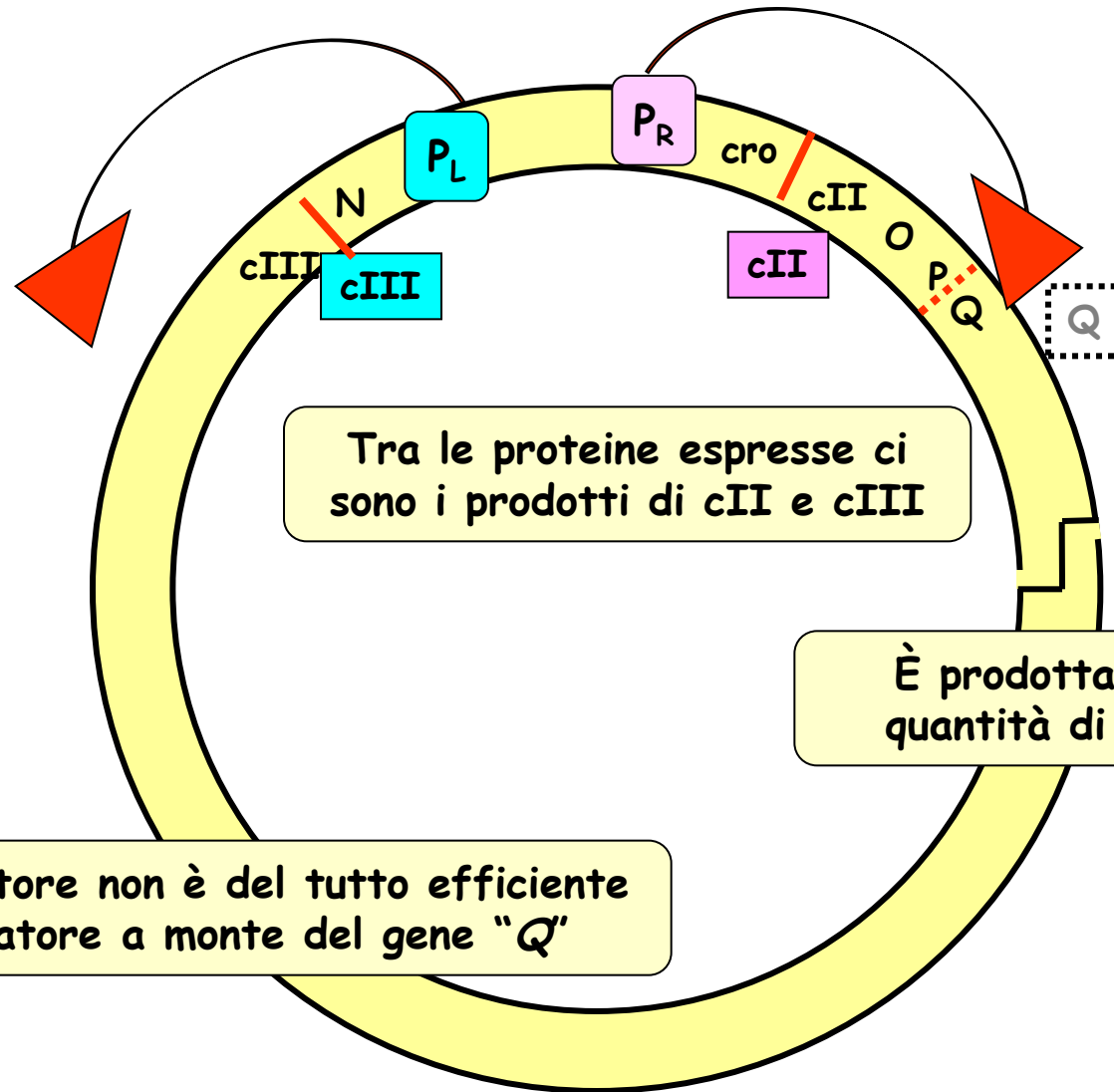
cos

i due geni trascritti sono "*Cro*" e "*N*"

La trascrizione termina con un meccanismo Rho-dipendente

FASE INTERMEDIA

Il prodotto di N (antiterminatore) annulla la terminazione Rho-dipendente e permette di ottenere trascritti più lunghi



Tra le proteine espresse ci sono i prodotti di *cII* e *cIII*

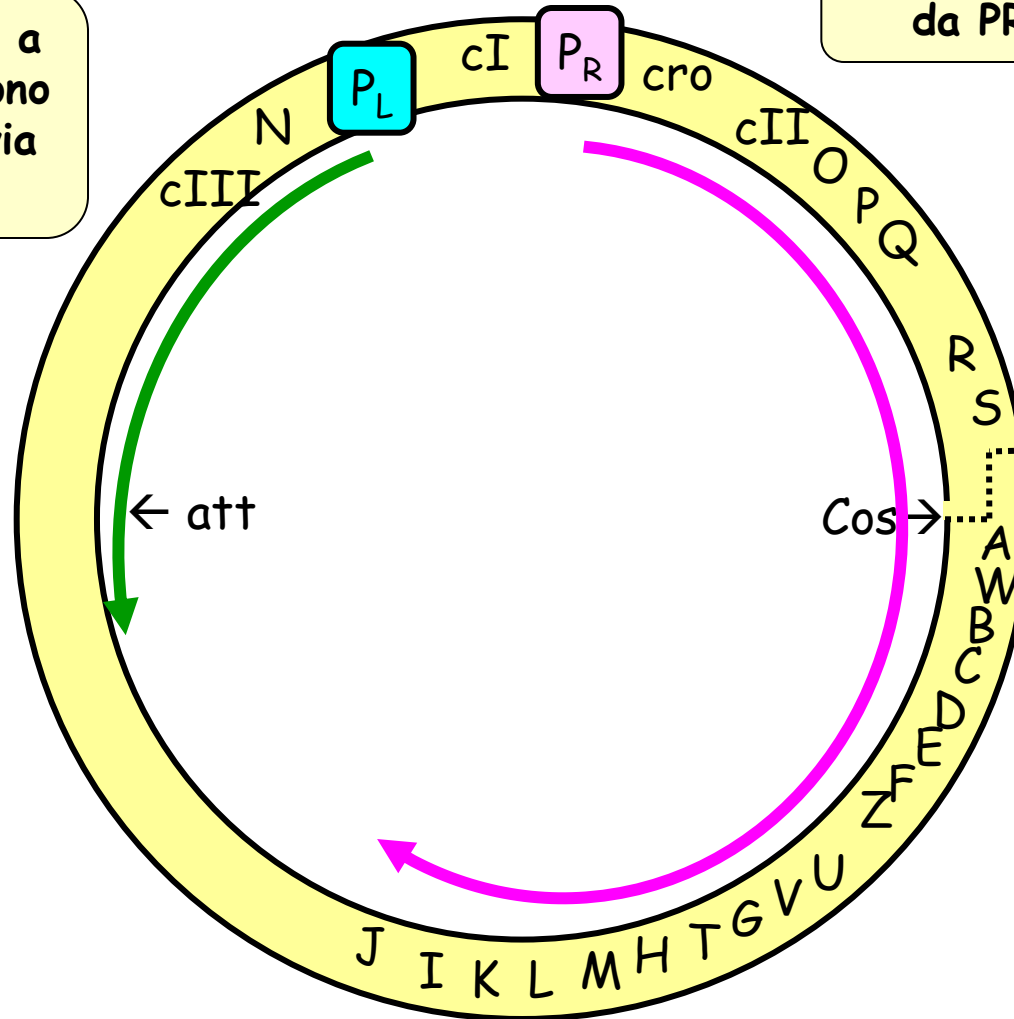
È prodotta una limitata quantità di proteina "Q"

L'antiterminatore non è del tutto efficiente sul terminatore a monte del gene "Q"

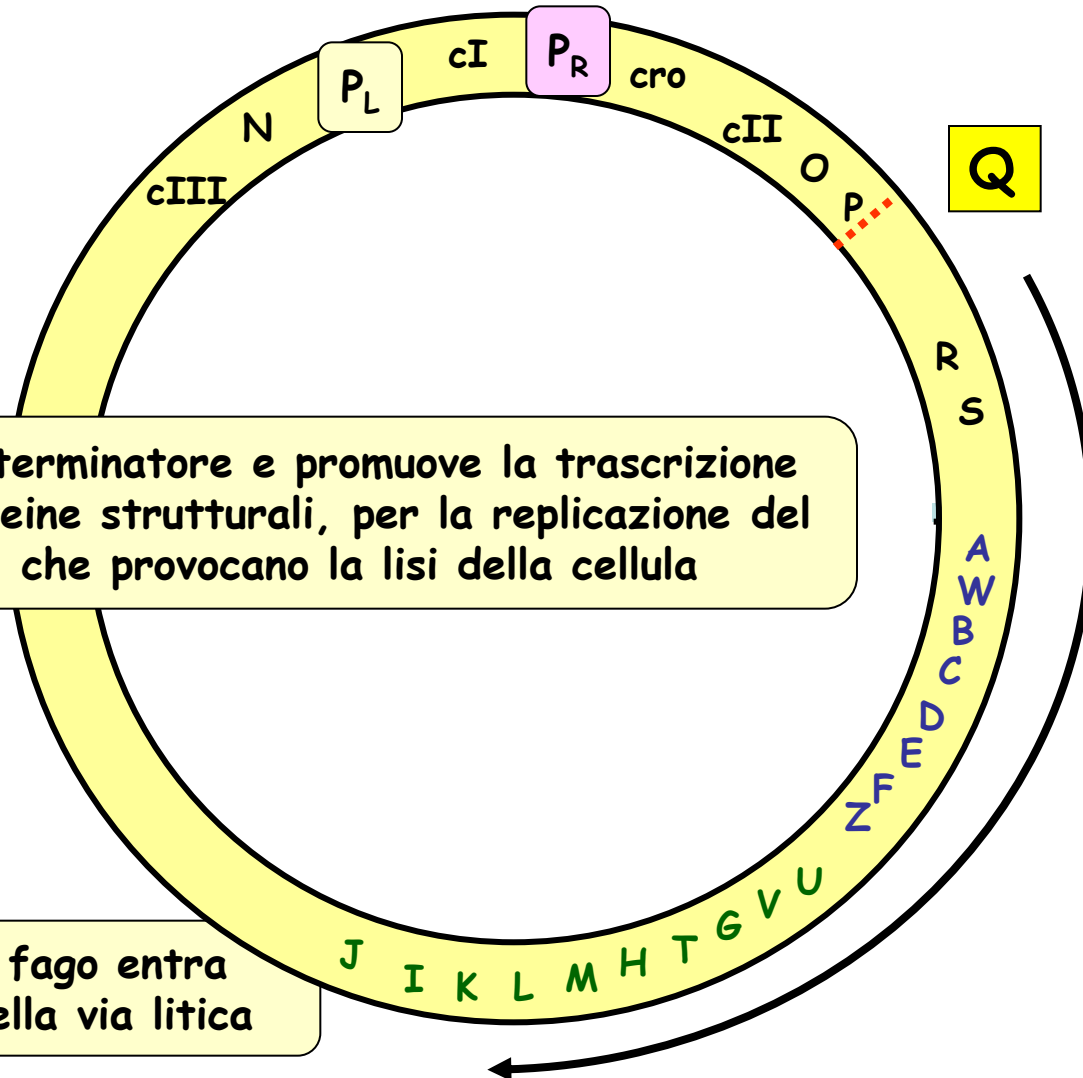
FASE INTERMEDIA

i geni trascritti a partire da PL sono implicati nella via lisogenica

quelli trascritti a partire da PR nella via litica



La scelta tra le due possibilità dipende da diversi fattori, tra cui il livello di espressione del prodotto di *Q*



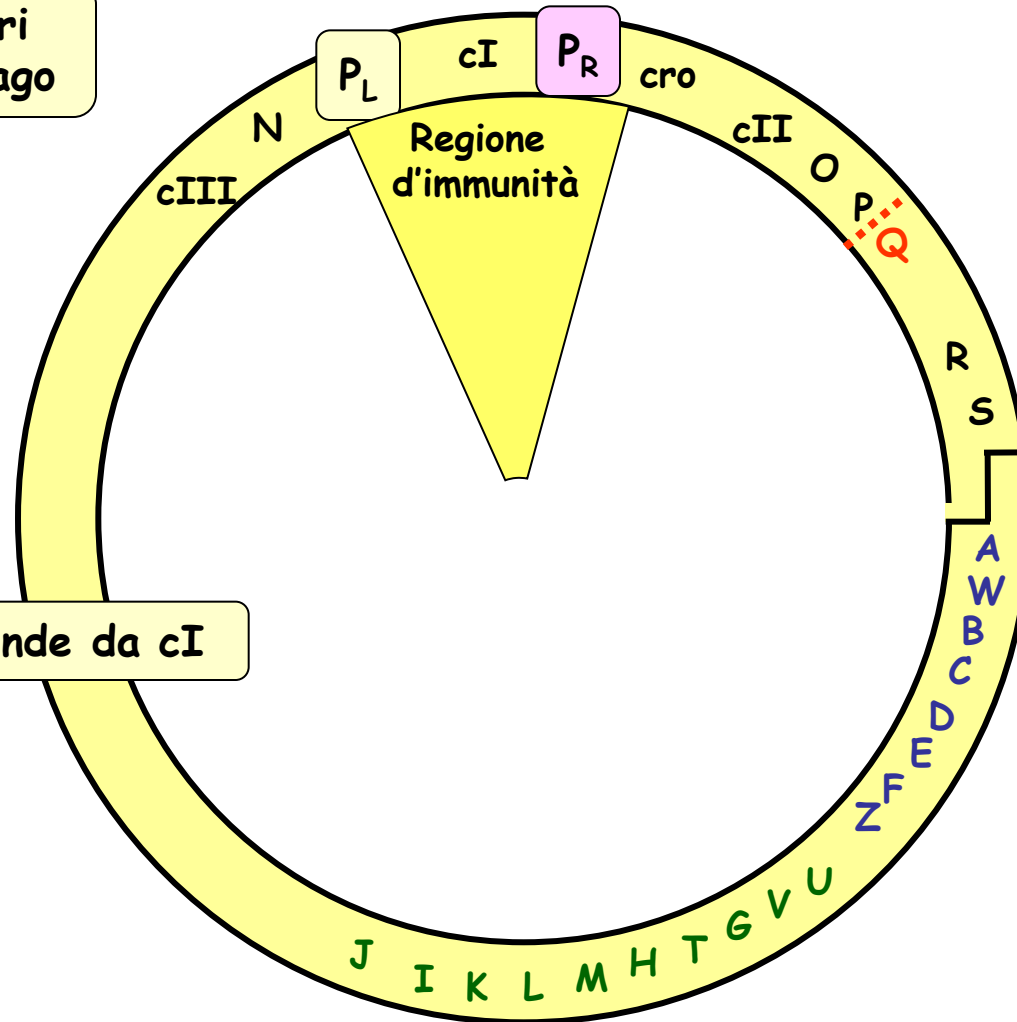
Anche *Q* è un antiterminatore e promuove la trascrizione dei geni per le proteine strutturali, per la replicazione del DNA, di quelli che provocano la lisi della cellula

In questo caso il fago entra ineluttabilmente nella via litica

L'infezione produttiva è il caso più comune, ma a volte lambda sceglie un'altra via: Quando?

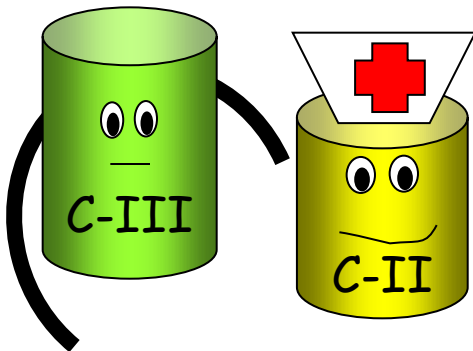
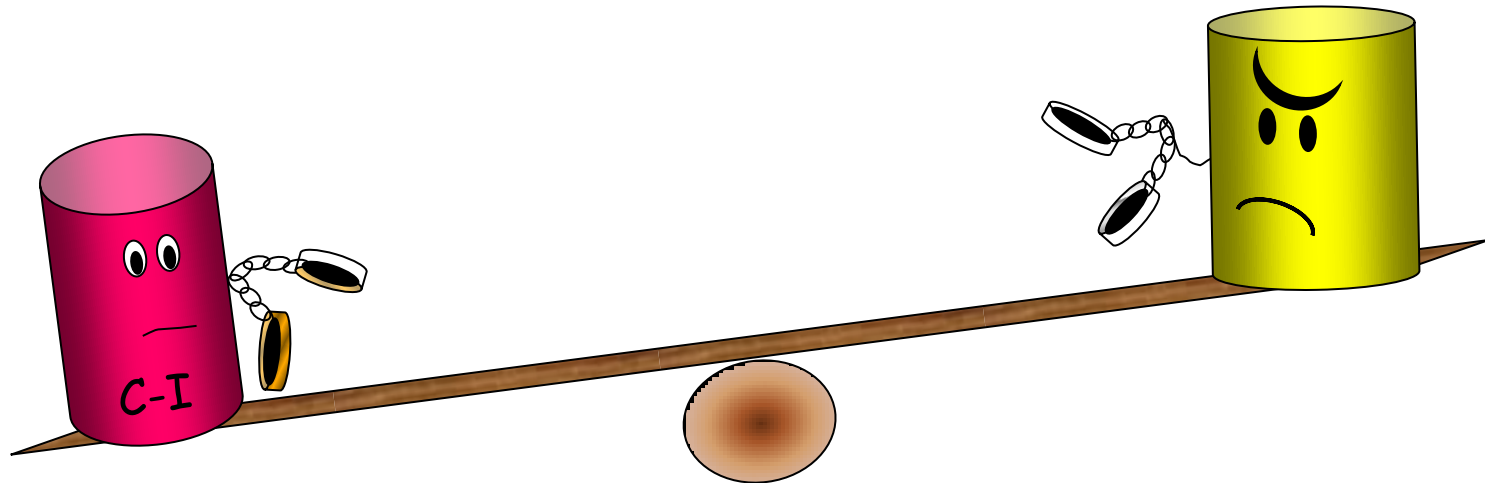
dipende da fattori
dell'ospite e del fago

In particolare dipende da cI



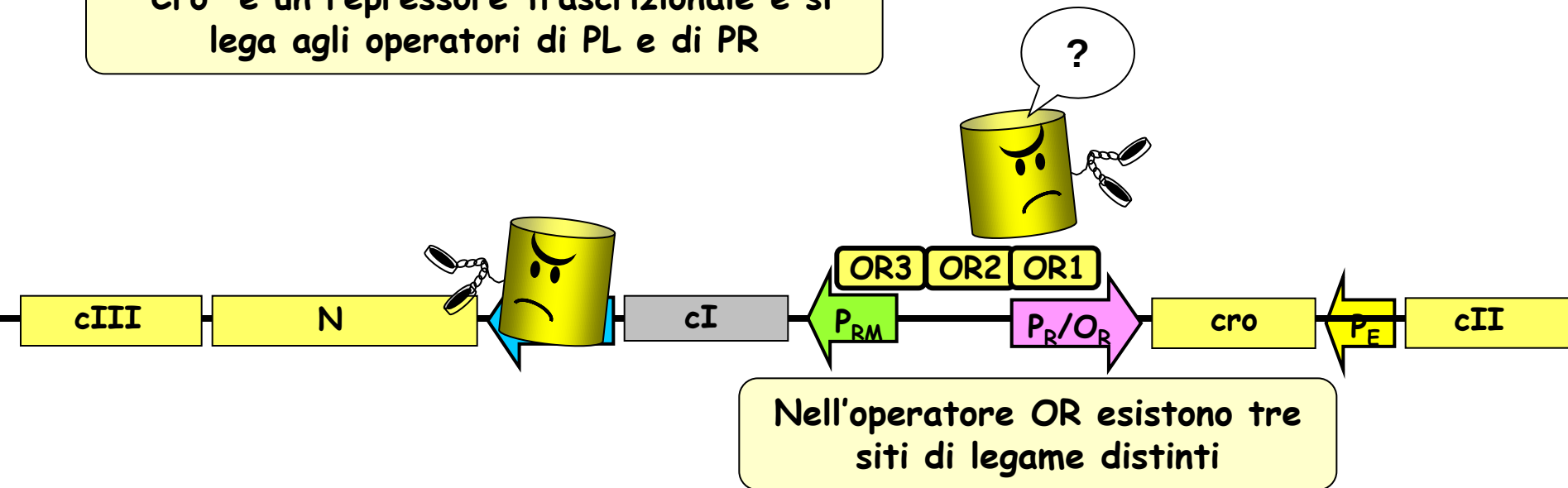
E dai suoi rapporti con Cro

C-I è il "repressore di Lambda" perché impedisce l'insorgere di una infezione produttiva



Ma ha bisogno della presenza di C-II e di C-III

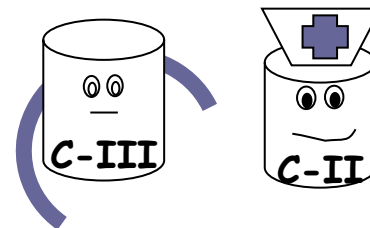
"Cro" è un repressore trascrizionale e si lega agli operatori di PL e di PR



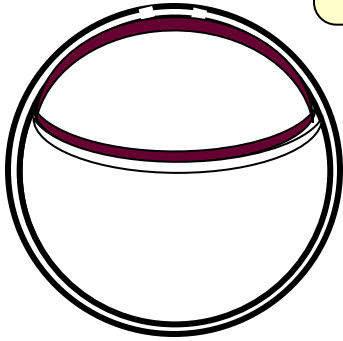
"Cro" ha affinità $3 > 2 > 1$ e si lega a **OR1** solo quando gli altri due siti sono saturati

Quando "Cro" lega **OR1**, anche **PR** è represso e non sono più trascritti **cIII** (da PL) e **cII** (da PR)

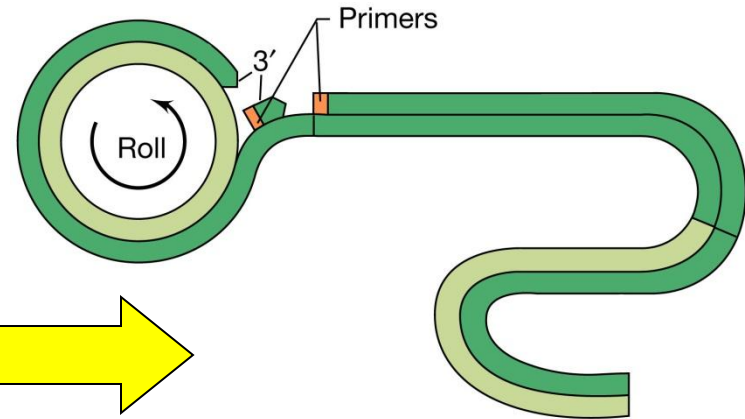
cIII e **cII** non sono più trascritti



Ad alte concentrazioni, Cro modifica il modo di duplicarsi del genoma di lambda



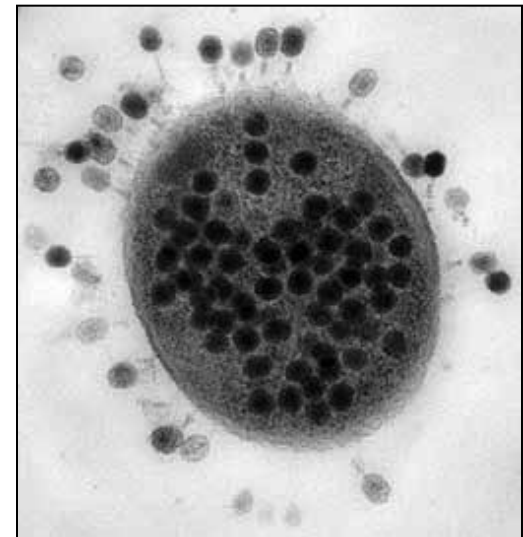
duplicazione bidirezionale



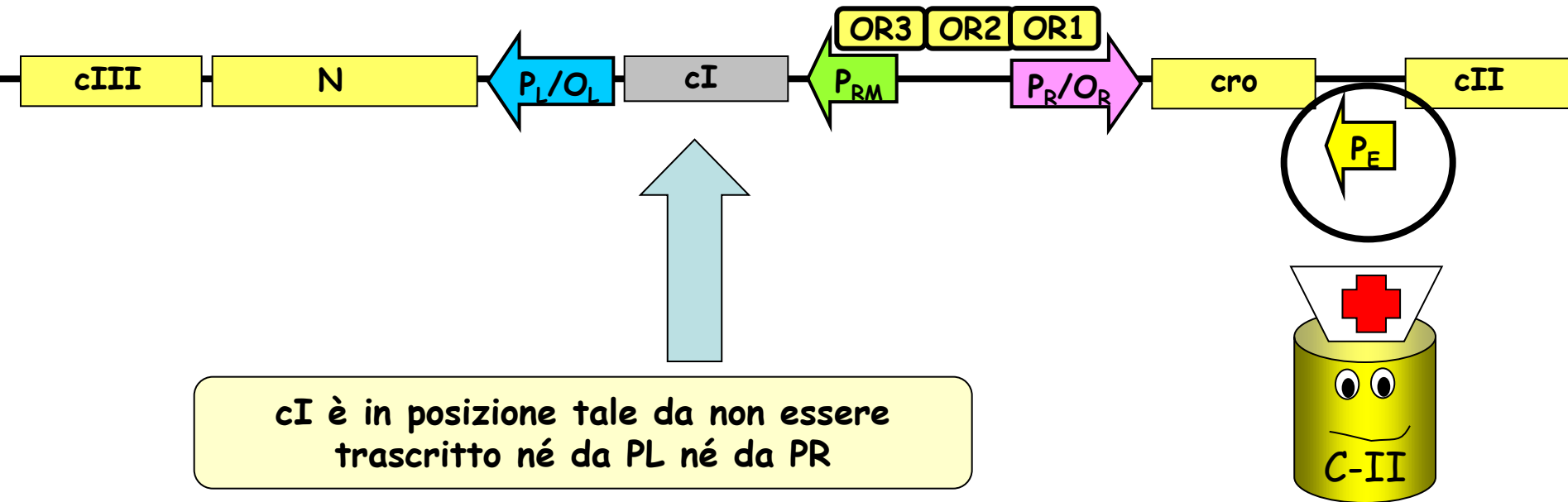
"cerchio rotante", molto efficiente e veloce, permette di ottenere rapidamente molte copie del genoma fagico

i concatenameri (serie successive di genomi) sono poi tagliati in corrispondenza dei siti cos e impaccati nella testa dei virioni

i batteriofagi escono dalla cellula, che lisa a causa dell'attività dei prodotti di R e S

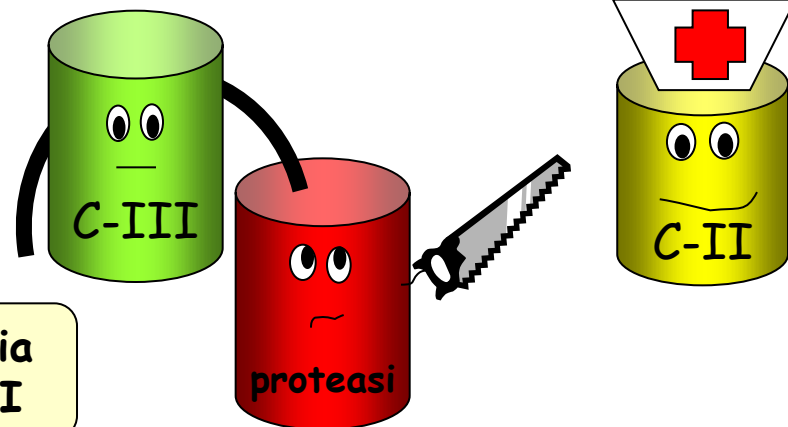
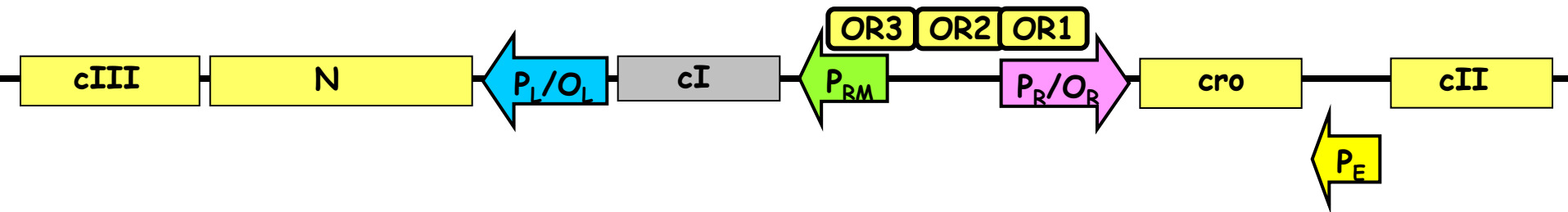


quando Cro reprime PR, cessa anche la propria trascrizione e libera OR1



cI è in posizione tale da non essere trascritto né da PL né da PR

Può essere trascritto da PE che però deve essere attivato da C-II

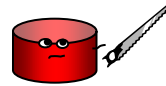


A meno che non sia
protetto da C-III

C-II è continuamente degradato
da proteasi batteriche

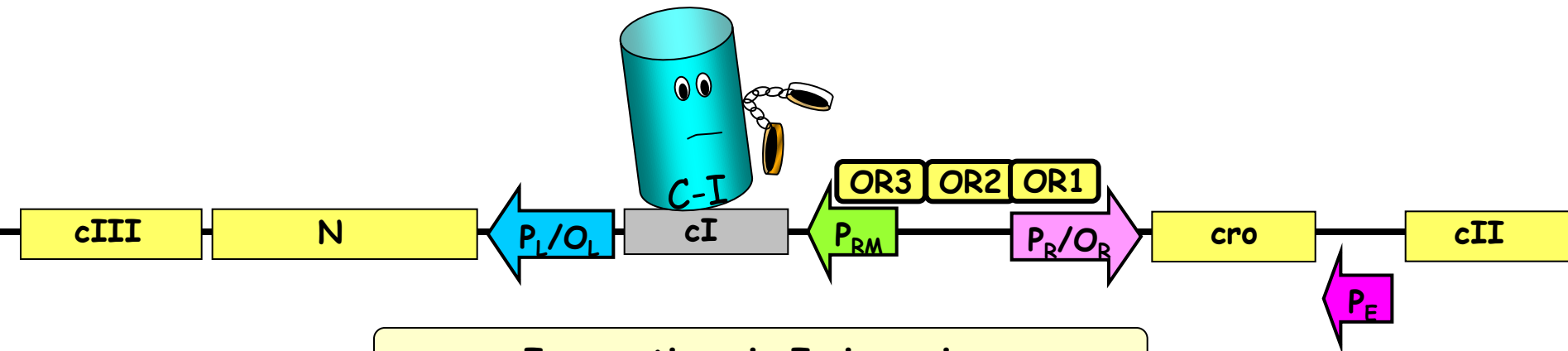
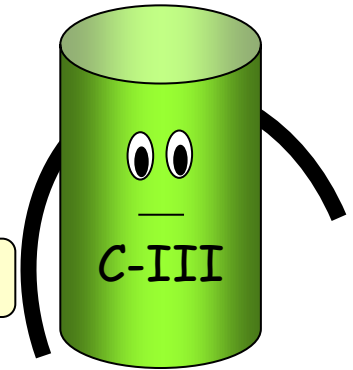
PE può essere attivato solo

se il livello della proteasi è basso



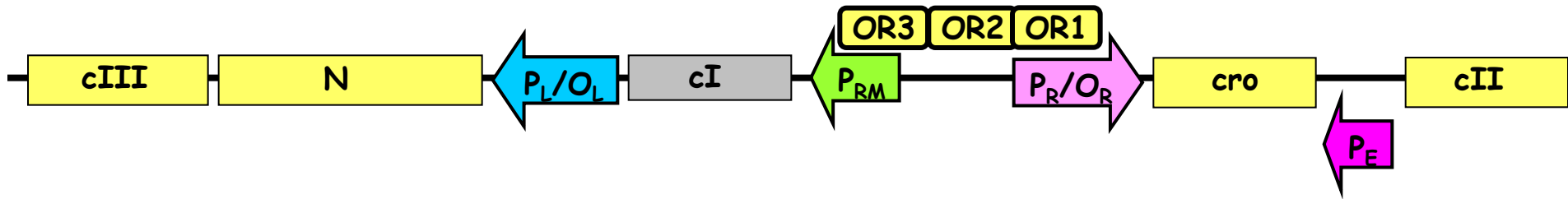
proteasi

O se è alto quello di C-III



In questi casi cI si esprime

il suo prodotto compete con CRO per i siti OR

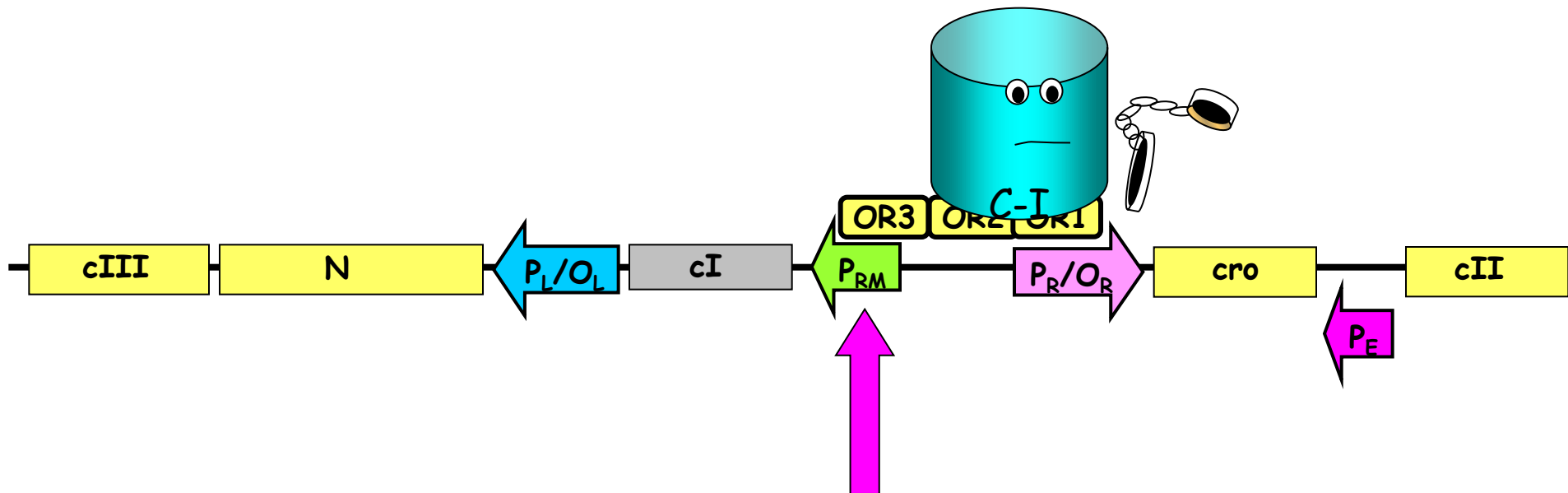


L'affinità di C-I è $OR1 > OR2 > OR3$

Sottrae quindi il sito OR1 a Cro

Quando C-I è legata a OR1 reprime completamente PR, bloccando e impedisce l'inizio della fase tardiva

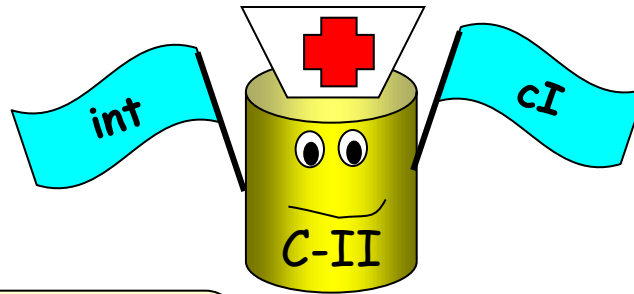
Impedisce anche la trascrizione di C-II e quindi l'attivazione di PE



Quando però si lega anche a OR2, attiva P_{RM} garantendo la propria trascrizione

Se C-I lega anche OR3 P_{RM} si blocca, il livello di C-I decresce, per aumentare nuovamente quando OR3 viene liberato

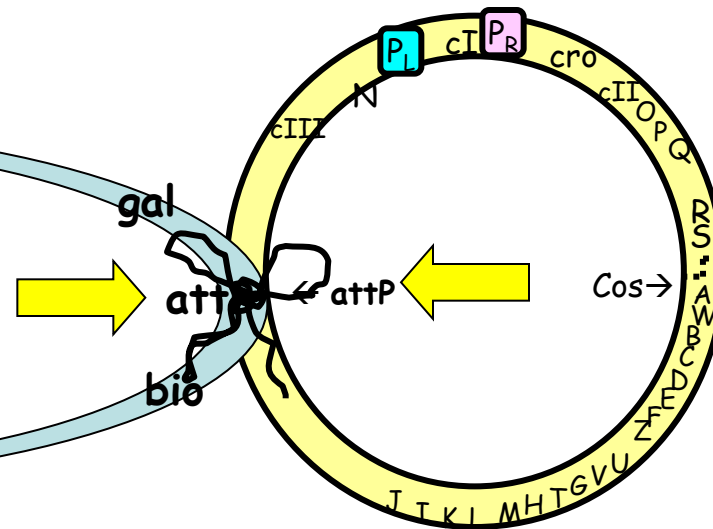
INTANTO..



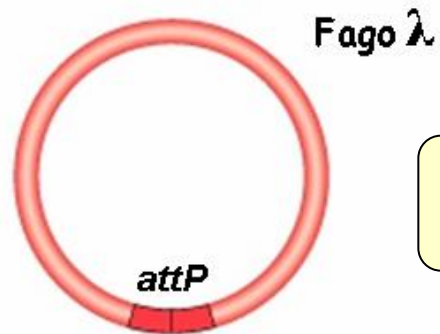
C-II attiva anche la trascrizione di *int*

Il prodotto di *int* (Integrasi) taglia il cromosoma batterico in un punto specifico (tra *gal* e *bio*)

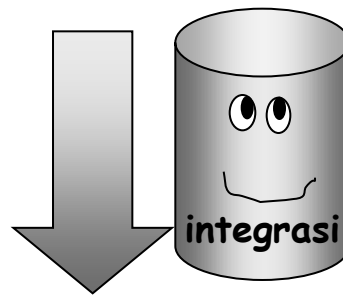
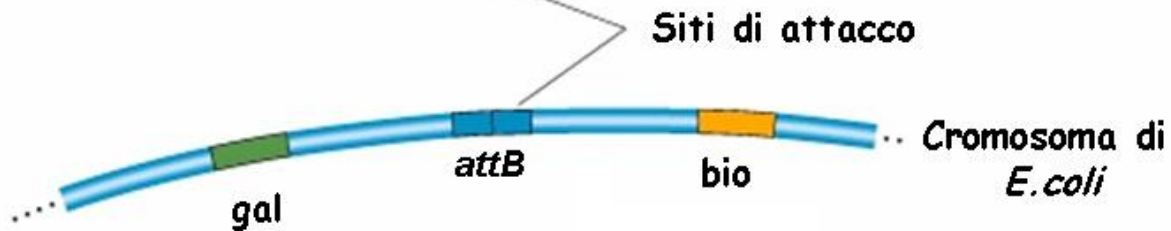
E il cromosoma di lambda in corrispondenza del sito att



e li lega insieme, integrando il genoma di lambda nel cromosoma batterico



Il genoma integrato si replica insieme a quello batterico conservando l'informazione del virus

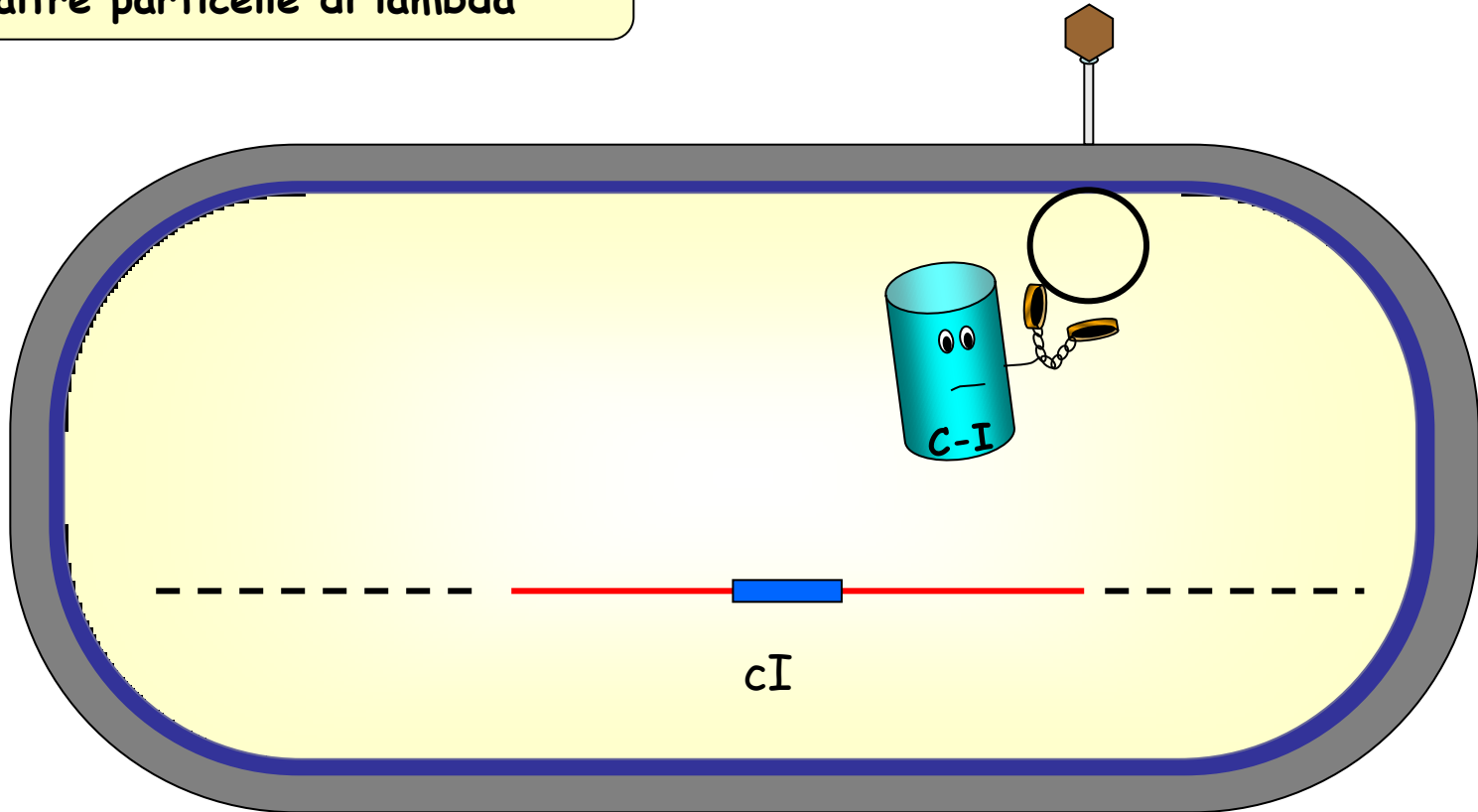


λ integrato nel cromosoma di *E. coli*



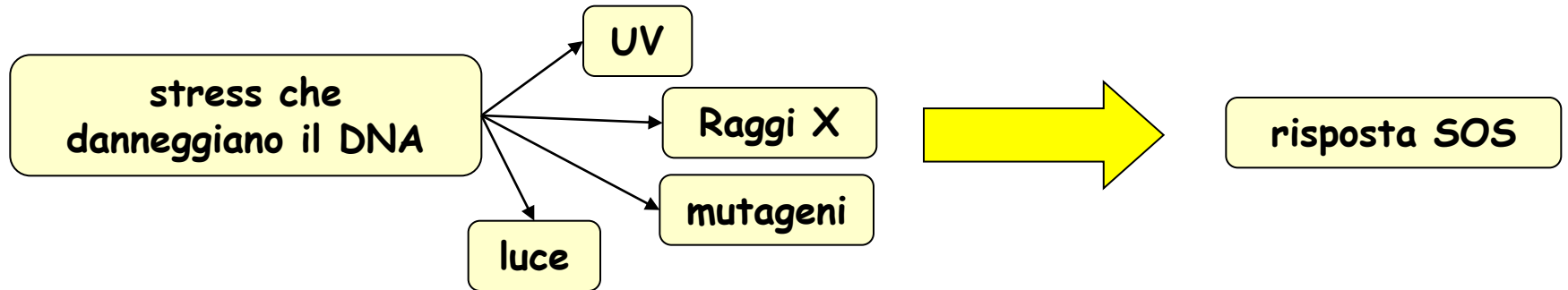
L'unico gene fagico che si esprime è cI

Che blocca l'eventuale attacco di altre particelle di lambda

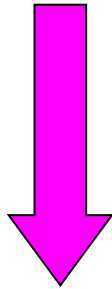


Reprimendone la trascrizione precoce

Induzione della fase litica

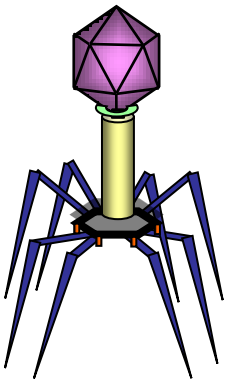


La proteina RecA è iperespressa e acquisisce un'attività proteasica



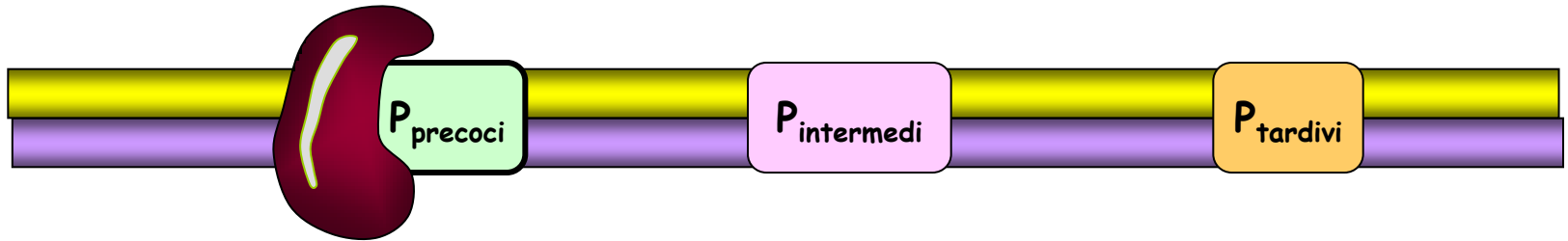
I prodotti di int e xis (escissionasi) liberano il genoma di lambda dal cromosoma

degrada C-I, sbloccando la trascrizione dei geni della fase tardiva



T4: un fago virulento

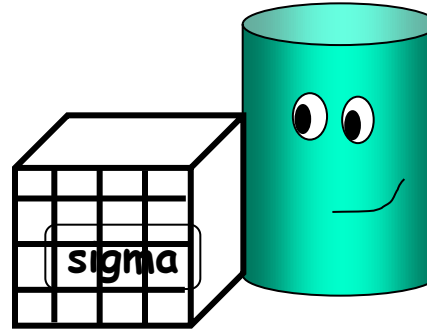
IL fago T4 utilizza la RNA-polimerasi dell'ospite



Che riconosce solo i promotori di fase precoce

le proteine precoci modificano la RNA-polimerasi in modo da far trascrivere anche i geni di fase intermedia

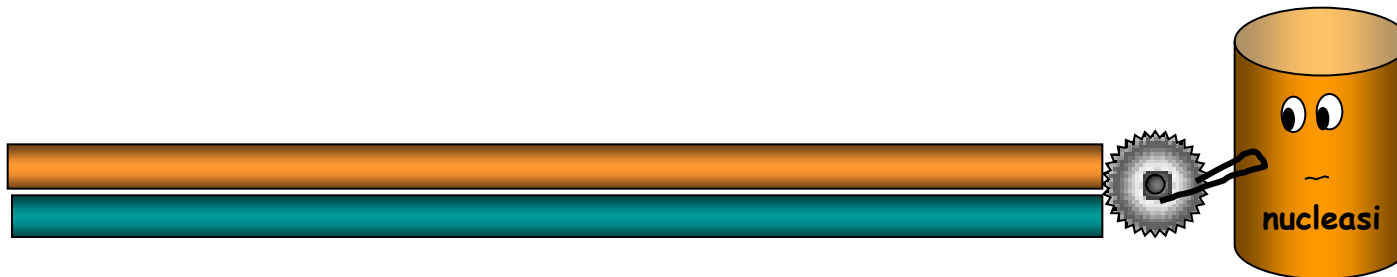
Uno dei prodotti blocca il
fattore sigma batterico



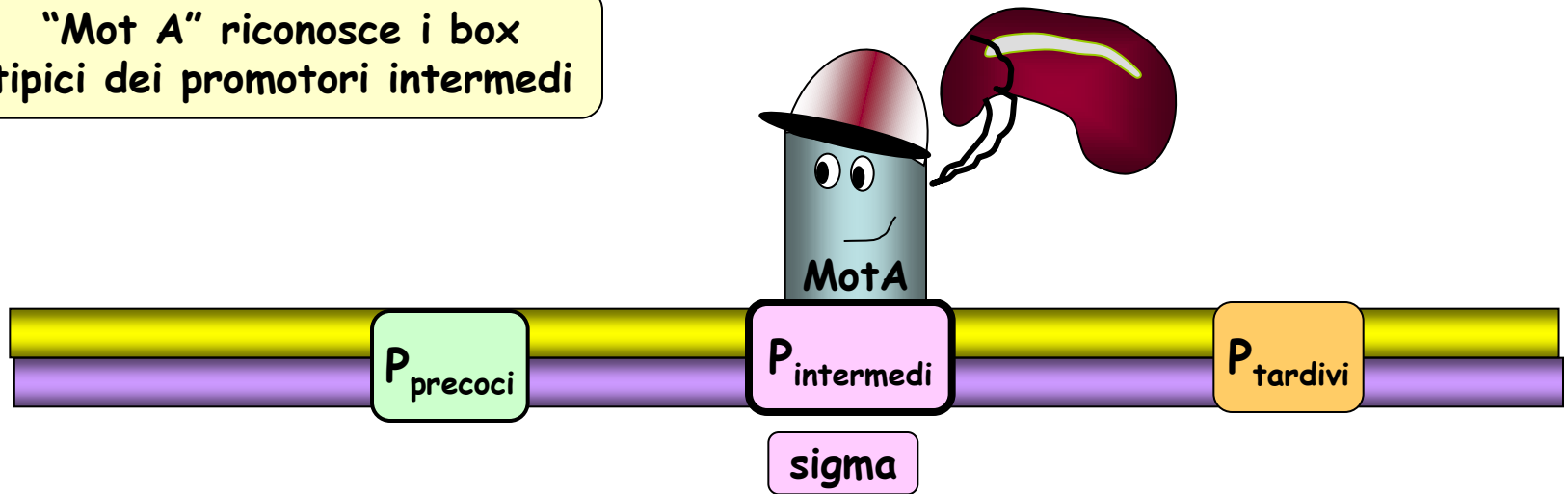
L'attività dell'ospite cessa

I geni precoci non sono più trascritti

una nucleasi virale degrada il DNA
batterico per recuperare nucleotidi

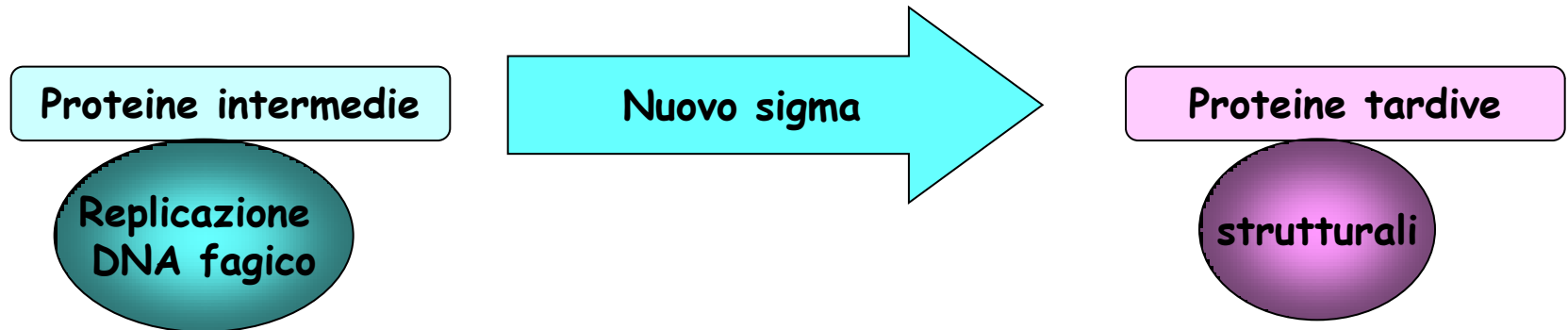
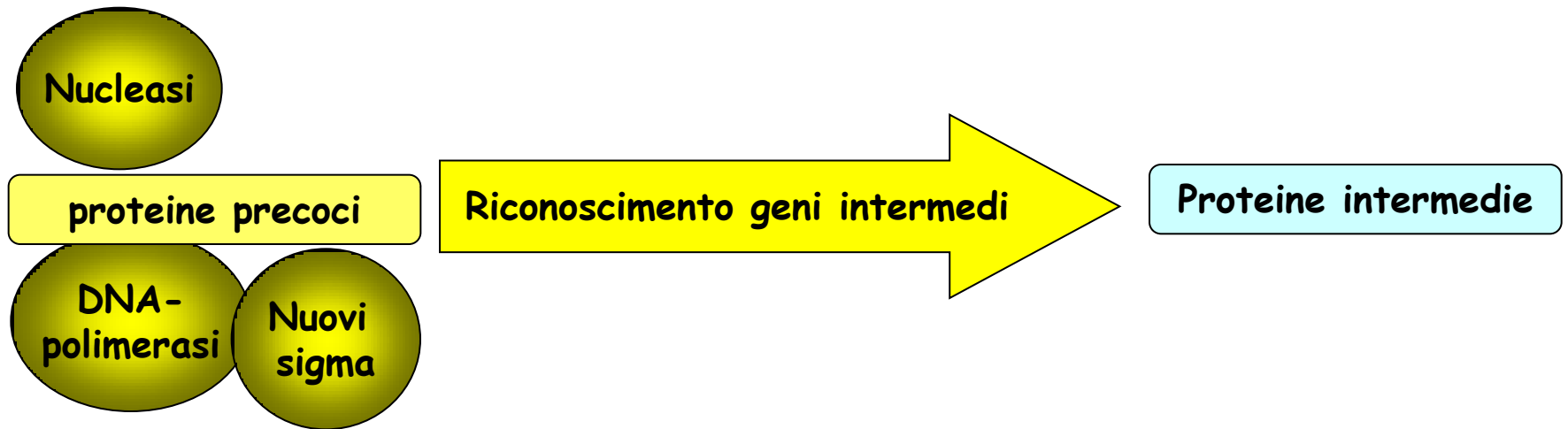


"Mot A" riconosce i box
tipici dei promotori intermedi



È prodotto un nuovo fattore sigma per
la trascrizione dei promotori tardivi

La modificazione sequenziale della RNA-polimerasi
batterica fa sì che siano trascritti solo i geni virali



Dopo 5 minuti dall'infezione inizia
la replicazione del DNA virale

il genoma di T4 (dsDNA) ha circa 200 geni, sempre
tutti presenti in ogni particella virale; le singole
particelle iniziano e finiscono con geni differenti

PERMUTAZIONE
CIRCOLARE

RIDONDANZA
TERMINALE

Permutazione
circolare

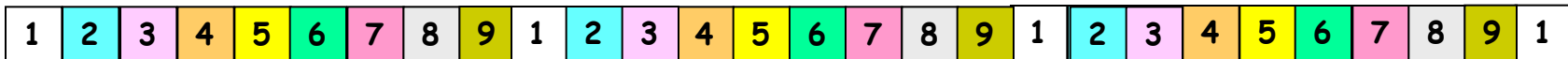
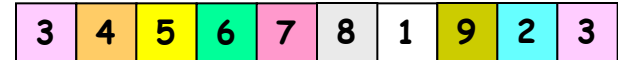
Ridondanza terminale
(geni ripetuti alle estremità)

1	2	3	4	5	6	7	8	9	1
2	3	4	5	6	7	8	9	1	2
3	4	5	6	7	8	9	1	2	3
4	5	6	7	8	9	1	2	3	4
5	6	7	8	9	1	2	3	4	5
6	7	8	9	1	2	3	4	5	6
7	8	9	1	2	3	4	5	6	7
8	9	1	2	3	4	5	6	7	8
9	1	2	3	4	5	6	7	8	9

Le unità genomiche sono duplicate singolarmente



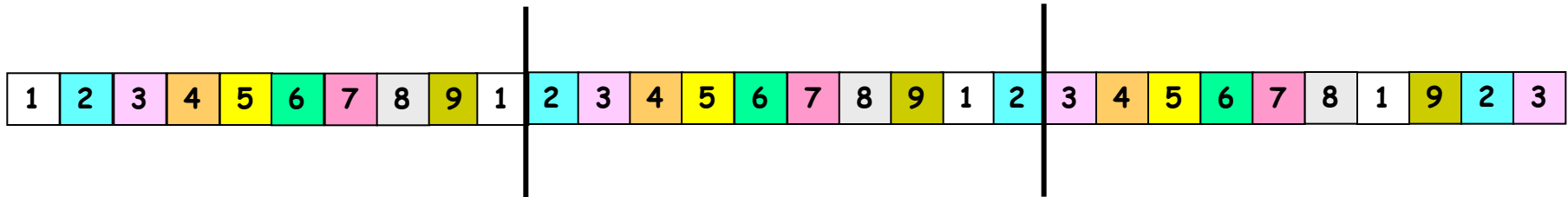
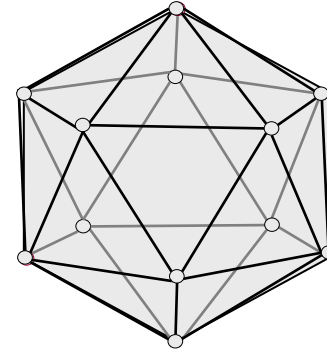
poi si ricombinano poi tra loro
formando concatenameri



la ripetizione garantisce che non ci sia il
rischio di perdita di informazione genetica

MECCANISMO A "TESTA PIENA"

I concatenomeri sono tagliati in pezzi uguali, lunghi abbastanza da riempire del tutto la testa



Nella testa del virione entra il 102% circa del genoma

La velocità con cui T4 si replica è facilitata anche dalla presenza di proteine precoci che influiscono sulla sintesi di nuovi tRNA.

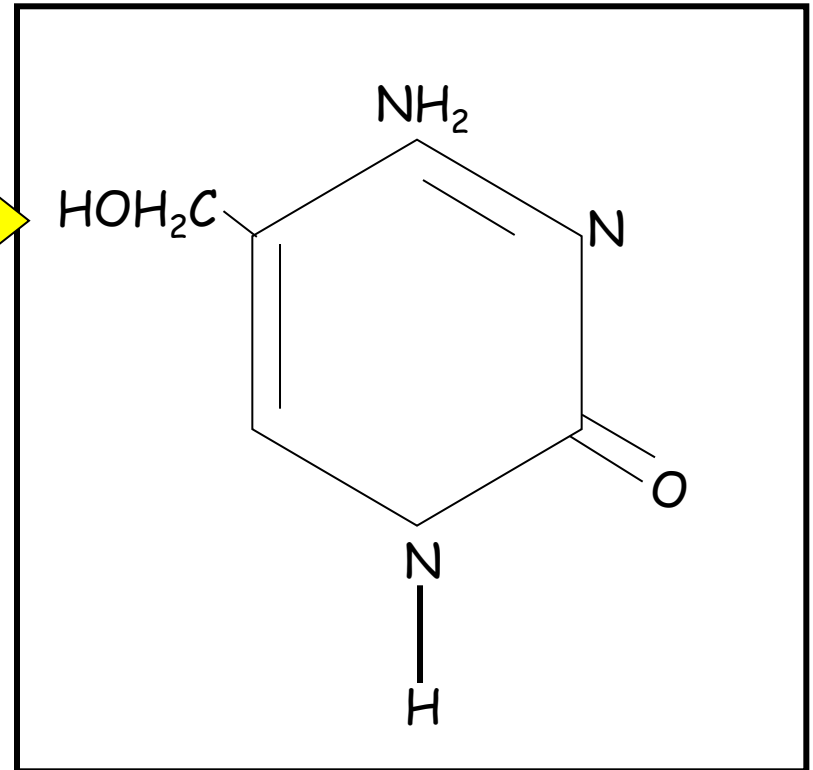
Nel DNA di T4 la timina è sostituita
dalla 5-idrossimetilcitosina

che viene poi ulteriormente
modificata

glicosilazione

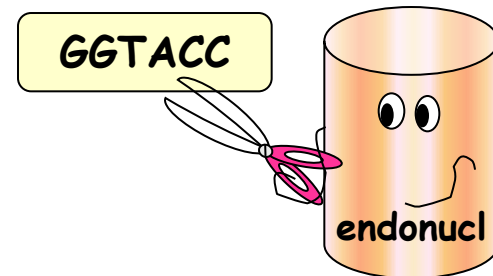
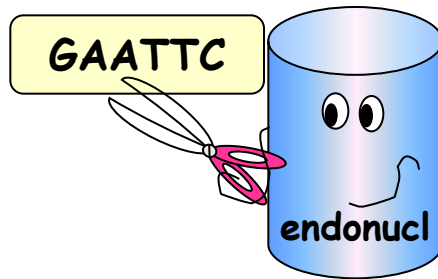
questa particolarità protegge il
DNA fagico dalla RESTRIZIONE

le cellule procariotiche possiedono
enzimi che tagliano il DNA estraneo



I sistemi di restrizione delle cellule procariotiche

insiemi di enzimi specie-specifici che tagliano il DNA in corrispondenza di brevi sequenze di riconoscimento



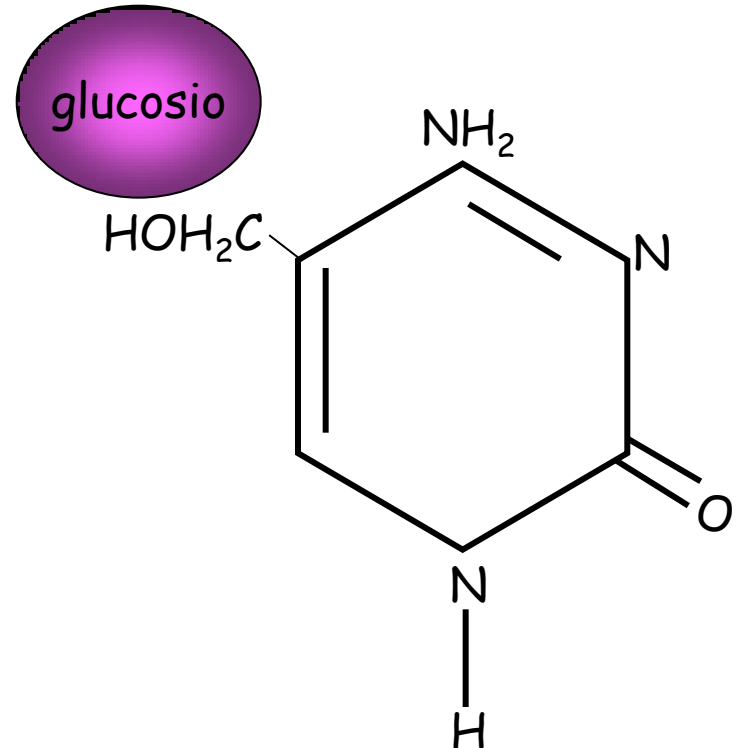
Alcune modificazioni del bersaglio (es. metilazioni) proteggono il DNA dalle endonucleasi di restrizione

Nel DNA di T4 la timina è sostituita
dalla 5-idrossimetilcitosina

che viene poi ulteriormente
modificata

glicosilazione

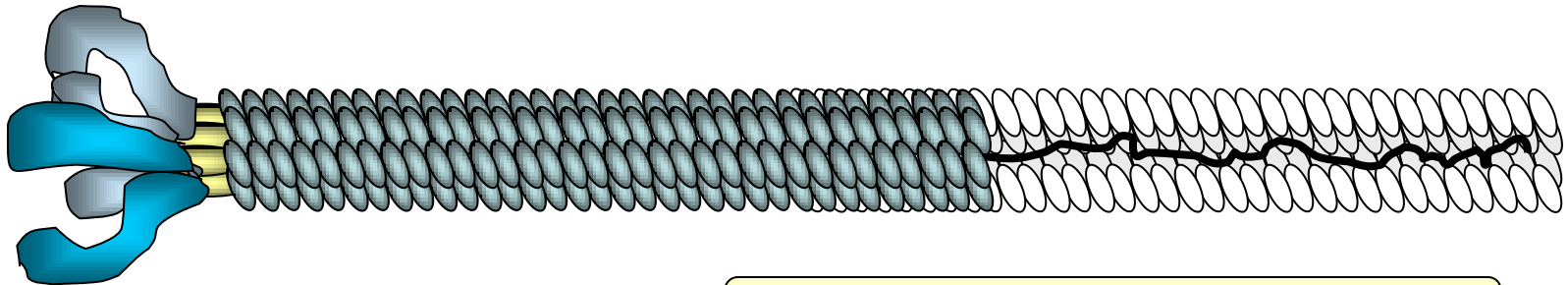
questa particolarità protegge il
DNA fagico dalla RESTRIZIONE



Un fago filamentoso: M13

La proteina VIII è la componente strutturale principale

si dispone intorno al genoma in una struttura tubulare
(circa 2700 subunità identiche)

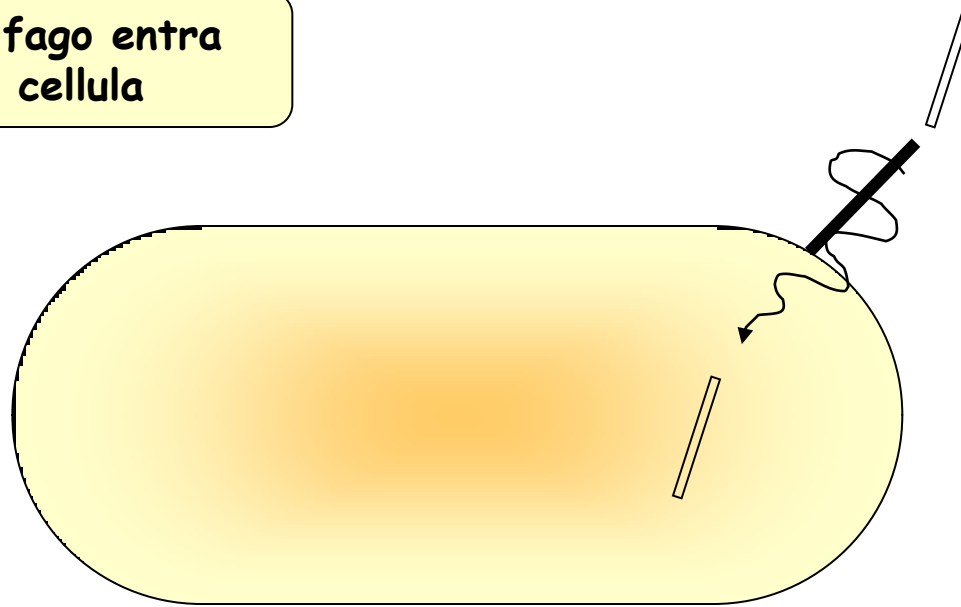


Il genoma è formato da ssDNA

La proteina III è la proteina minore presente in 5-8 copie, alle estremità del filamento

pIII si lega al pilo "F" (pilo sessuale di *E. coli*)

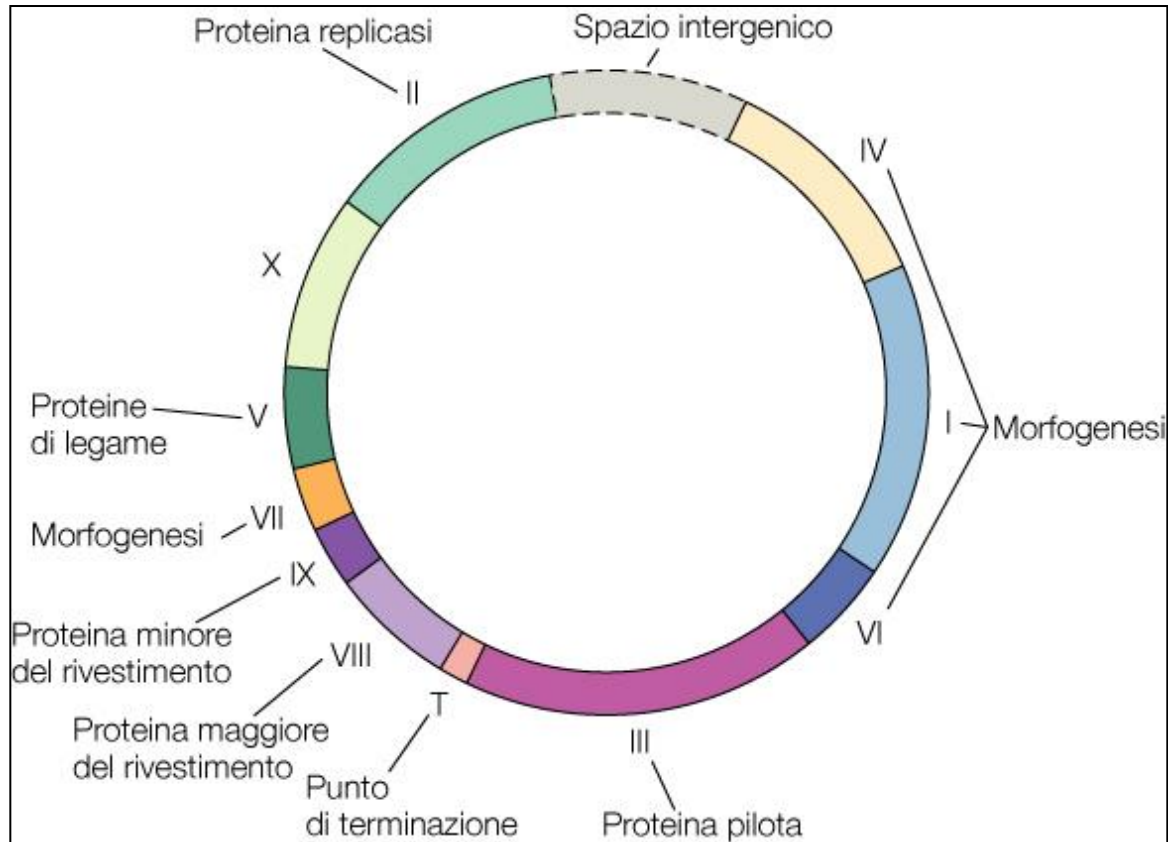
Tutto il fago entra
nella cellula



Solco proteico?

Depolimerizzazione di "F"?

ssDNA circolare- 10 proteine

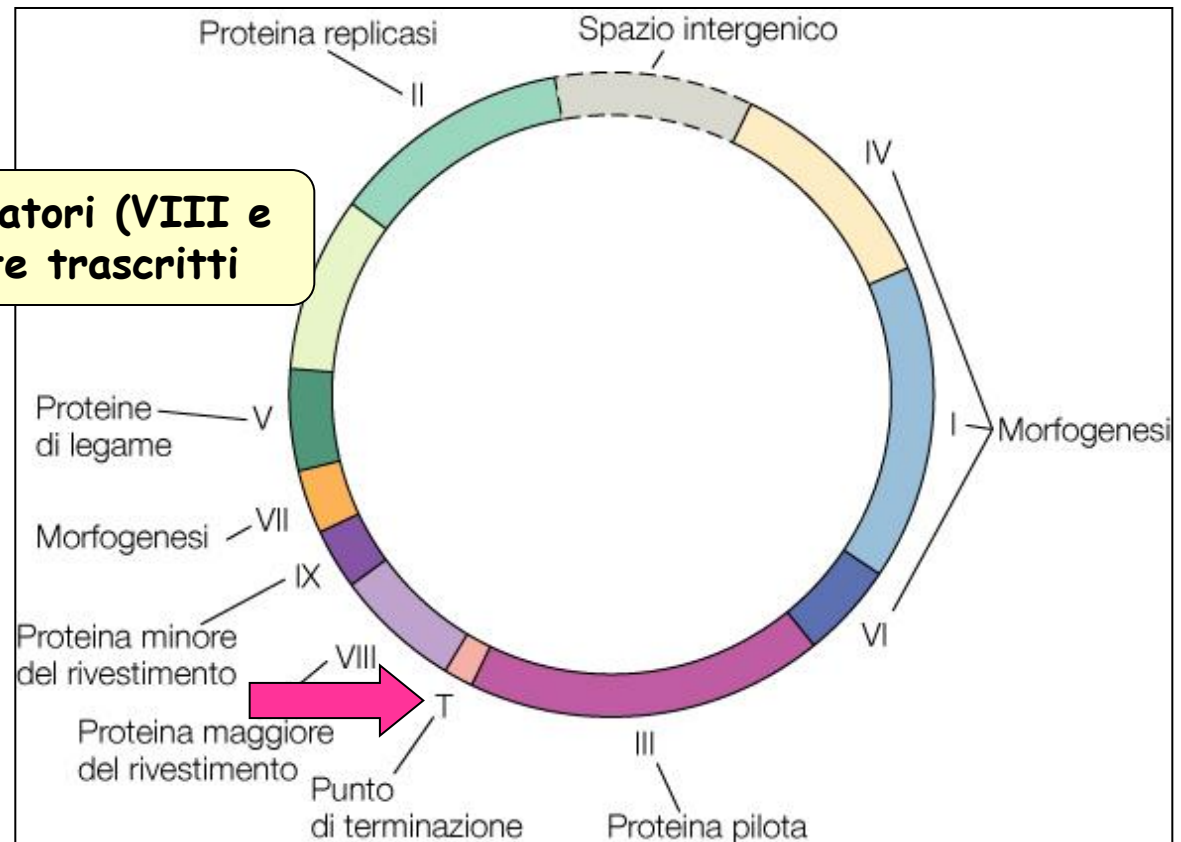


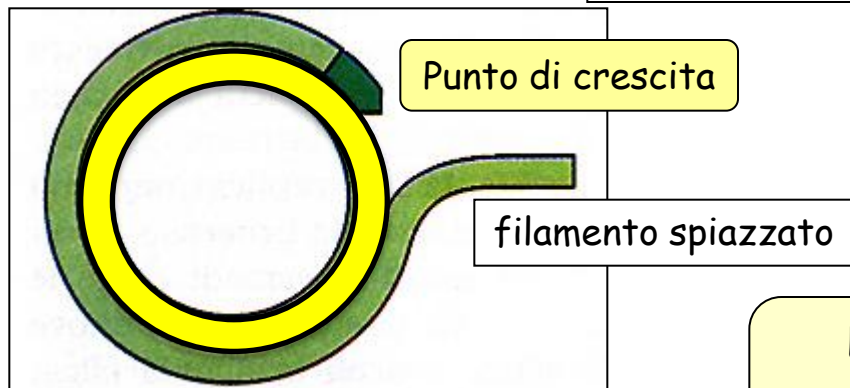
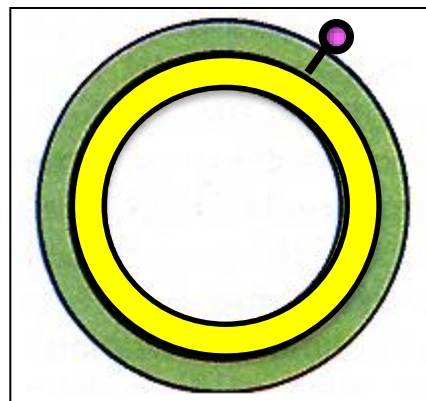
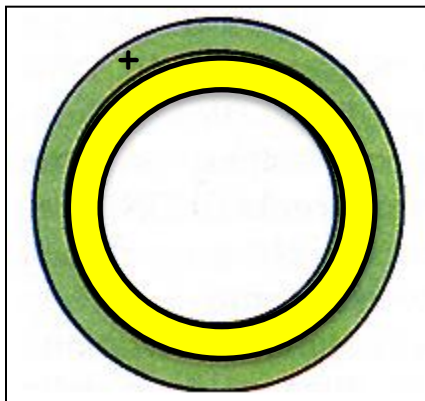
Una vasta zona intergenica permette di usare M13 come mezzo per biotecnologie

**pVIII è rimossa e pIII resta attaccata al
genoma**

**L'ospite converte il ssDNA(+) in una forma
replicativa dsDNA e la trascrizione ha inizio**

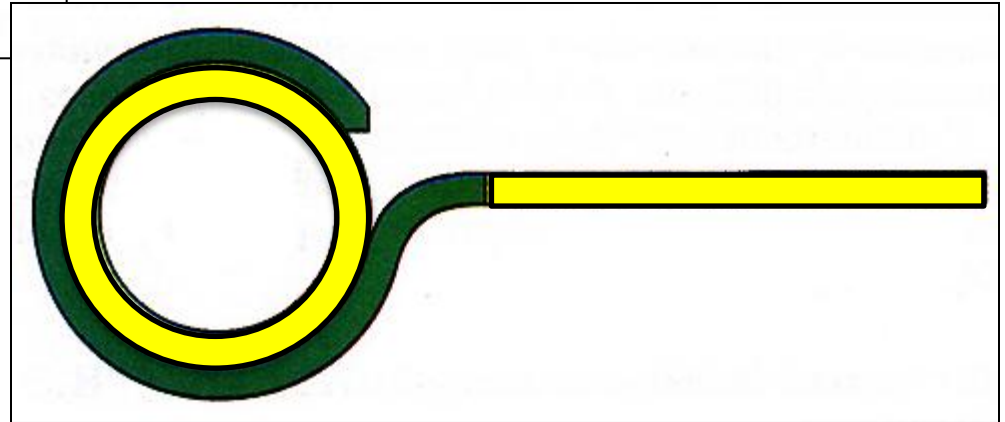
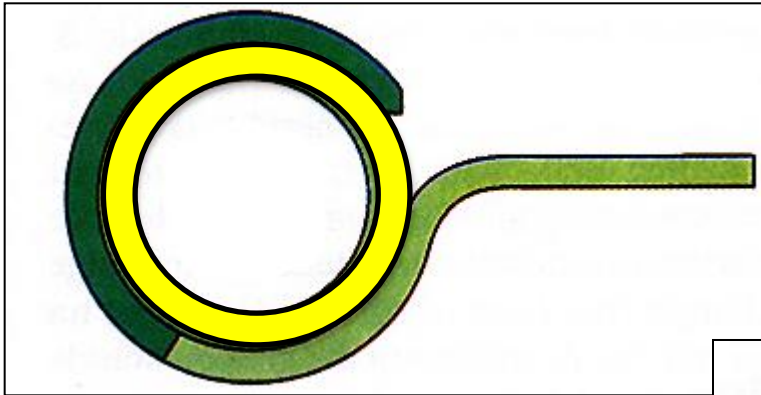
**I geni più vicini ai terminatori (VIII e
III) sono i maggiormente trascritti**





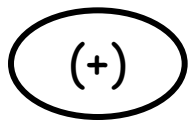
**pII (replicasi) introduce
una interruzione nel
filamento(+)**

**La polimerasi usa il filamento - come
stampo per replicare il genoma con il
modello a cerchio rotante**



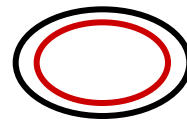
Dopo un giro intero, la replicasi introduce un'altra interruzione e libera una copia del genoma(+) che si circolarizza

pV (ssB-protein) si lega al genoma impedendo la formazione di ulteriori forme replicative

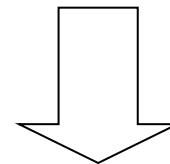


Forma infettante

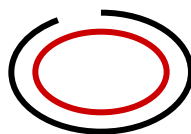
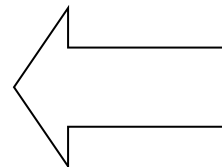
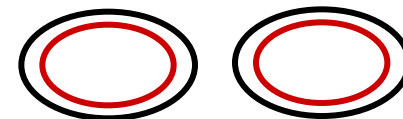
Enzimi dell'ospite



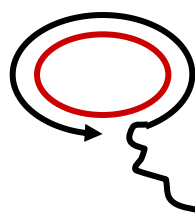
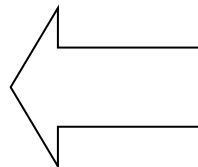
**Forma replicativa
dsDNA**



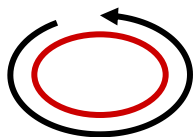
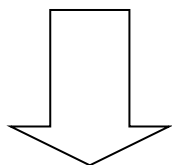
**Replicazione
bidirezionale**



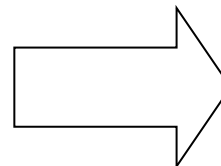
**pII crea
un'interruzione
nel filamento (+)**



**Si avvia la replicazione
a cerchio rotante**



**pII interrompe il
filamento (+) completato**



**Che si libera e
circularizza**

pIII guida il genoma verso la membrana

**pV lascia il posto a pVIII, già
presente nella membrana dell'ospite**

**La lunghezza del fago dipende da quella del
genoma (si possono introdurre frammenti
estranei fino a 7 volte la lunghezza del genoma)**

