

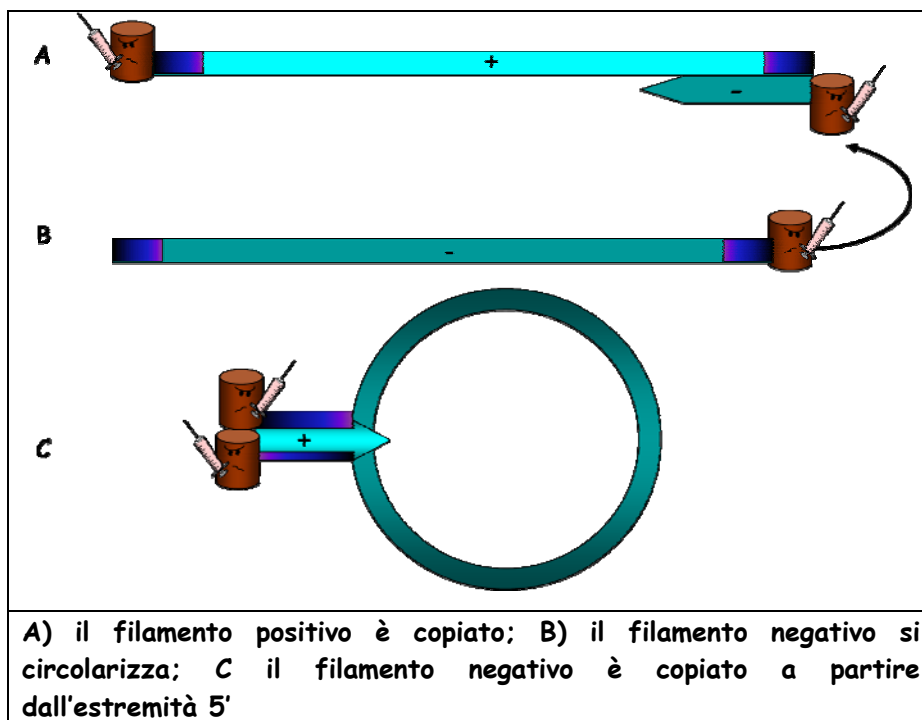
Classificazione dei virus

Sulla base del tipo di acido nucleico e delle modalità di trascrizione del mRNA, il virologo David Baltimore ha proposto una divisione che raggruppa i virus in 7 classi.

Classe I: virus con genoma formato da dsDNA. Nella maggior parte dei casi il dsDNA è lineare (es: Poxvirus, Herpesvirus Adenovirus) ma in alcuni gruppi (es. Poliovirus e Papillomavirus) è circolare.

I messaggeri virali sono sintetizzati dai sistemi cellulari nel nucleo della cellula ospite dove avvengono anche la replicazione del genoma virale e l'assemblaggio della progenie virale. L'unica eccezione a questa regola è rappresentata dai Poxvirus che possiedono una propria RNA-polimerasi DNA-dipendente e possono quindi svolgere il loro ciclo replicativo completamente all'interno del citoplasma, dove infatti formano inclusioni.

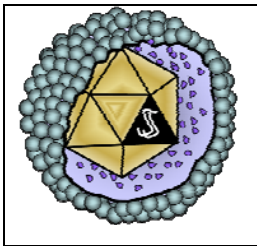
Adenovirus: (da "Adeno", ghiandola in latino) causano infezioni lievi a carico dell'apparato



respiratorio e sono spesso isolati da individui sani. Il loro genoma è dsDNA lineare e, all'estremità 5', è legata covalentemente una proteina necessaria all'infettività. Il DNA contiene ripetizioni terminali invertite (da 100 a 1800 bp a seconda del ceppo virale). Dopo

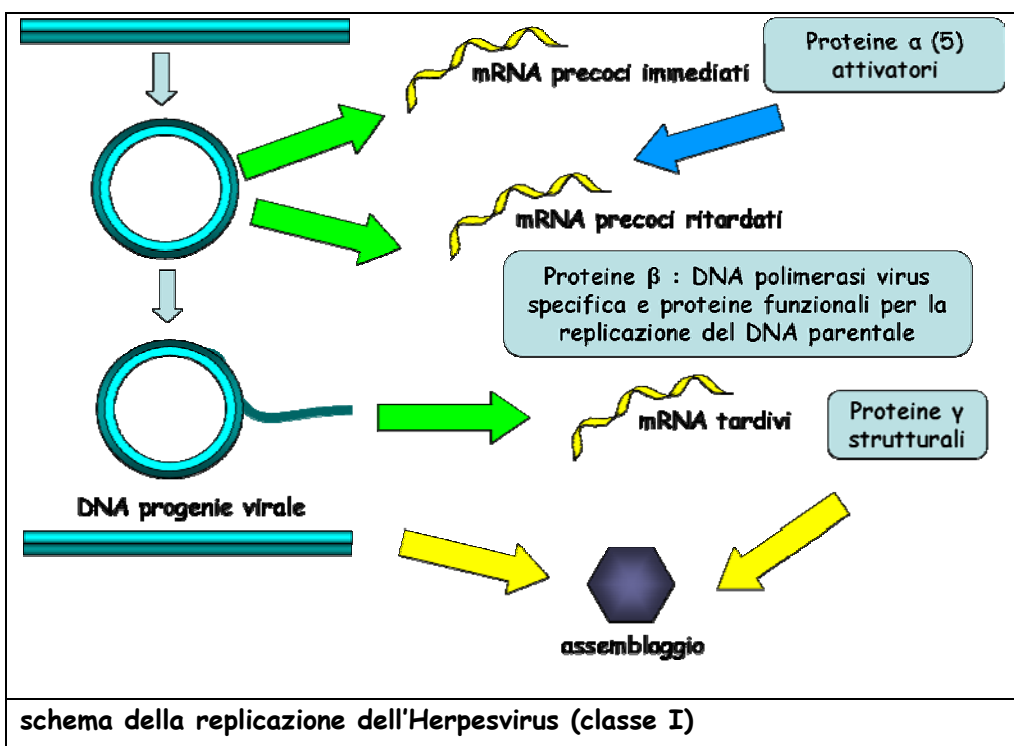
che la particella virale è stata trasportata nel nucleo, il "core" virale si libera e si complessa con istoni. Una RNA-polimerasi eucariotica inizia la trascrizione precoce e i trascritti precoci vengono modificati ("splicing", "capping" e poliadenilazione) ottenendo mRNA che possono essere tradotti dall'apparato eucariotico. Le proteine precoci regolano la replicazione del DNA virale; le tardive sono quelle strutturali. La replicazione del DNA virale utilizza un innesco proteico e una DNA polimerasi, entrambi codificati dal virus (proteine precoci).

La replicazione inizia in corrispondenza di una delle due estremità, indifferentemente; i filamenti sono replicati in modo asincrono e i prodotti di un ciclo di replicazione possono essere a doppio o singolo filamento. Quelli a singolo filamento diventano circolari grazie alle ripetizioni terminali, e il filamento complementare è sintetizzato a partire dall'estremità 5'. In questo modo la replicazione avviene senza formazione di frammenti discontinui.



Herpesvirus: si tratta di un vasto gruppo che provoca malattie diverse e in cui si riconoscono: Herpes simplex (di tipo 1 - erpete labiale o di tipo 2 - erpete genitale) Herpes varicellae zosteri, agente della varicella in persone suscettibili all'infezione e dell' "Herpes-zoster" in persone che hanno già avuto la varicella; Herpesvirus di Epstein-Barr (agente della mononucleosi infettiva); Cytomegalovirus, molto comuni, possono provocare infezioni asintomatiche o blande infezioni nell'adulto; se l'infezione è contratta in gravidanza si possono avere conseguenze a carico del bambino.

Una caratteristica peculiare degli Herpesvirus è la capacità di restare latenti nelle cellule epiteliali (Herpesvirus simplex) o nei neuroni dei gangli sensoriali (Herpesvirus varicellae-zosteri).

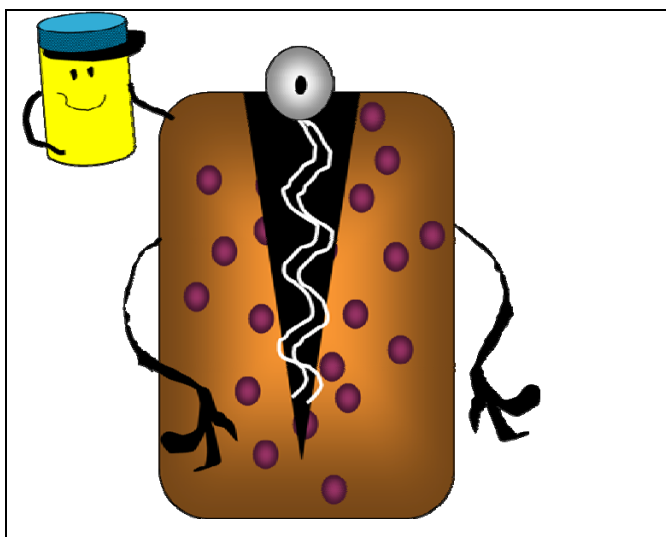


Alcuni Herpesvirus possono essere tumorigeni (es HHV Epstein-Barr: Linfoma di Burkitt). Il virione ha un pericapside in cui si trovano molte spicole. L'ingresso nella cellula avviene per adsorbimento in

corrispondenza dei recettori e per la successiva fusione tra l'involucro del virus e la membrana cellulare. I nucleocapsidi sono trasportati al nucleo della cellula, dove il DNA virale si dissocia dal capsido. I componenti della particella virale inibiscono la sintesi delle

macromolecole della cellula. Nel corso dell'infezione erpetica sono sintetizzate tre forme di mRNA: 1) alfa (precoci immediati), che codificano 5 proteine di regolazione che stimolano la sintesi delle proteine precoci ritardate; 2) precoci ritardati (beta) che codificano le proteine necessarie per replicare il DNA (tra cui timidina-chinasi, DNA-polimerasi e una proteina che lega il DNA) e 3) tardivi (gamma) che codificano proteine strutturali. La replicazione del DNA avviene nel nucleo con un modello a cerchio rotante (simile a quello di lambda) con la formazione di concatenameri che vengono processati nel corso dell'assemblaggio come avviene per i batteriofagi a DNA. L'involucro esterno viene acquisito durante la gemmazione attraverso la membrana nucleare e i virioni sono avviati verso l'esterno della cellula attraverso il R.E.

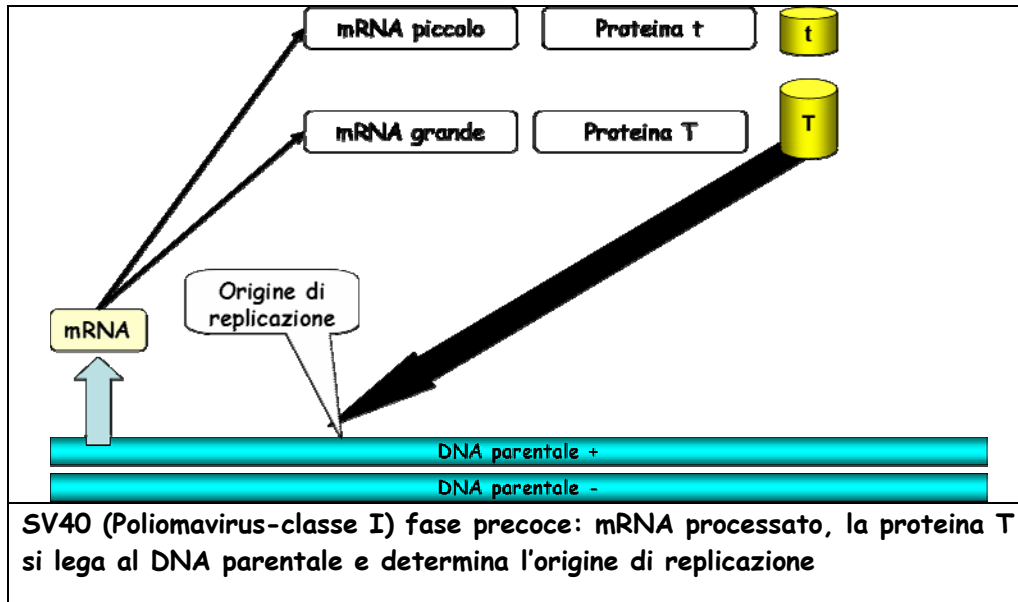
Poxvirus: Sono i virus più grandi, hanno una simmetria complessa. Di questo gruppo fanno parte il virus del vaiolo (*Poxvirus variolae*) e quello vaccinico (Vaiolo dei bovini); il virus del mollusco contagioso, che provoca la neoformazione di noduli benigni, è specifico della sola specie umana; il virus del mixoma del coniglio è stato impiegato in Australia per cercare di contenere la moltiplicazione incontrollata dei conigli selvatici. Il virus del vaiolo è stato dichiarato eradicato dal pianeta all'inizio degli anni '80. I Poxvirus sono gli unici virus a DNA che svolgono l'intero ciclo di replicazione nel citoplasma della cellula infettata, in cui entrano per fagocitosi.



Il "core" virale è liberato nel citoplasma grazie all'attività di una proteina sintetizzata subito dopo l'infezione, codificata dal genoma virale e trascritta da una RNA-polimerasi che è già presente all'interno della particella virale. La modificazione dei trascritti primari per ottenere mRNA traducibili dalla cellula eucariotica avviene direttamente all'interno del virus. Una volta completata la

"svestizione" ogni virione infettante determina la formazione, nel citoplasma, di un "corpo di inclusione" in cui avviene la trascrizione, la replicazione del DNA virale e l'assemblaggio dei virioni. I virioni escono dalla cellula quando questa muore e lisa.

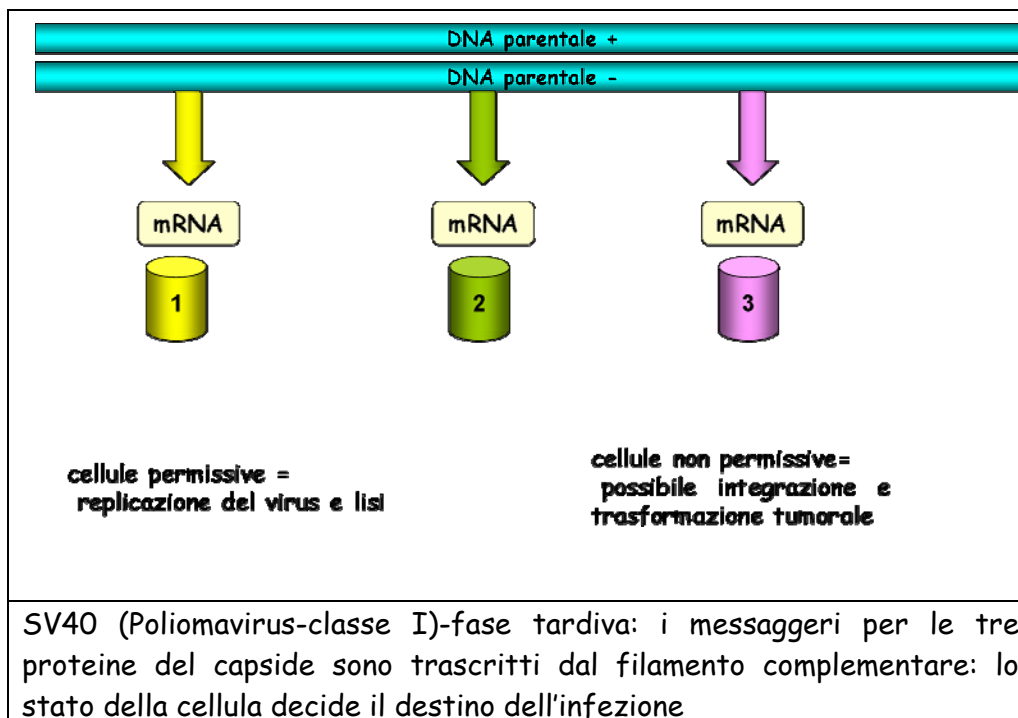
Papilloma-Polioma: il dsDNA è circolare. Alcuni membri di questa famiglia inducono tumori negli animali: uno di questi (isolato dalle scimmie) è denominato con la sigla SV40 (Simian Virus 40). SV40 è stato trasferito all'uomo con le vaccinazioni anti-polio di massa (vaccini Salk e



Sabin) eseguite durante il periodo 1955-63; i vaccini infatti erano allestiti da colture su cellule renali di scimmia. La presenza di SV40 è stata messa in relazione con gliomi (tumori del

tessuto nervoso) e mesoteliomi (tumori dell'epitelio delle pleure-particolarmente se l'infezione virale è concomitante all'inalazione di amianto).

Il virione ha simmetria icosaedrica molto semplice, e il DNA virale è complessato con proteine



istroniche derivate dall'ospite.

La replicazione del DNA avviene nel nucleo e la sintesi delle proteine nel citoplasma. La replicazione virale si svolge in due fasi: nella fase precoce è trascritta una

regione del virus (regione precoce) con la produzione di un solo mRNA che è poi processato in due forme (una grande e una piccola) che, nel citoplasma, sono tradotti in due proteine una

delle quali (proteina T) si lega al DNA parentale, definendo l'origine di replicazione. Gli mRNA tardivi codificano le tre proteine del capsido e sono trascritti dal filamento complementare a quello usato per gli mRNA precoci.

L'esito dell'infezione da Poliomavirus dipende dalla cellula: nelle cellule permissive si ha la replicazione del virus e la lisi della cellula ma, se la cellula infettata non è permissiva, in alcuni casi il DNA si integra nel genoma, causando la formazione di cellule geneticamente modificate (trasformate) che perde facilmente il controllo della crescita (diventa tumorale)

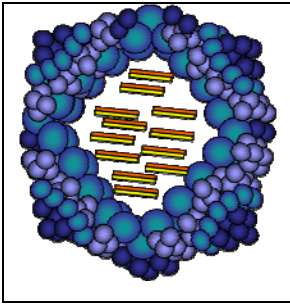
classe II: il genoma dei Parvovirus (i più piccoli virus a DNA) è formato da ssDNA lineare.

Il gruppo dei Parvovirus riunisce virus che infettano animali e insetti. Il gruppo può essere ulteriormente diviso in due: 1) i virus il cui ciclo di replicazione si svolge in cellule metabolicamente attive e in fase "S" (la fase in cui viene replicato il DNA cellulare) senza che sia necessaria la presenza di un altro virus (helper) e 2) quelli che hanno invece bisogno della presenza di un virus helper per completare il proprio ciclo di replicazione. A questo secondo gruppo ci si riferisce anche con il termine "Dependovirus". Uno dei virus "autonomi" (Parvovirus B19) infetta l'uomo provocando la "quinta malattia": una malattia esantematica benigna a risoluzione spontanea, in cui il virus si moltiplica nei precursori degli eritrociti (midollo) provocando un arresto transitorio dell'emopoiesi che, se l'infezione insorge in soggetti immunodepressi o nel corso della vita intrauterina può avere conseguenze gravi (crisi aplastiche). La molecola di ssDNA può avere polarità positiva o negativa e ha degli "inverted repeat" alle estremità, che ne permettono il ripiegamento a forcina. In alcuni gruppi si può trovare l'uno o l'altro tipo di elica nel virione; in quelli che infettano l'uomo il genoma ha in genere polarità (-) (complementare al messaggero). Dal momento che la polimerasi cellulare riconosce solo DNA a doppia elica, è necessario che nel corso della replicazione si formi un intermedio a doppia elica per la trascrizione dei messaggeri. Il filamento complementare a quello presente nel virione è sintetizzato da enzimi cellulari, anche se possono intervenire anche proteine virali.

I Dependovirus vanno incontro a una limitata replicazione, dopo la quale si integrano nel genoma cellulare, per riattivarsi quando un'infezione da virus helper crea le condizioni idonee nella cellula. La replicazione del Dependovirus interferisce con quella del virus helper.

Le classi da III a VI sono composte da "Ribovirus" il cui genoma è formato da RNA.

Classe III: ds RNA,



ne fanno parte i **Reovirus**, i soli dotati di un genoma di RNA bicatenario,, che è frammentato in 10-12 molecole; la frammentazione permette di superare i problemi di degradazione e di svolgimento dell'RNA. Il nome "Reovirus" deriva dall'acronimo "**R**espiratory **E**nteric **O**rphan" in quanto all'inizio questi virus erano stati isolati dai tratti respiratorio e

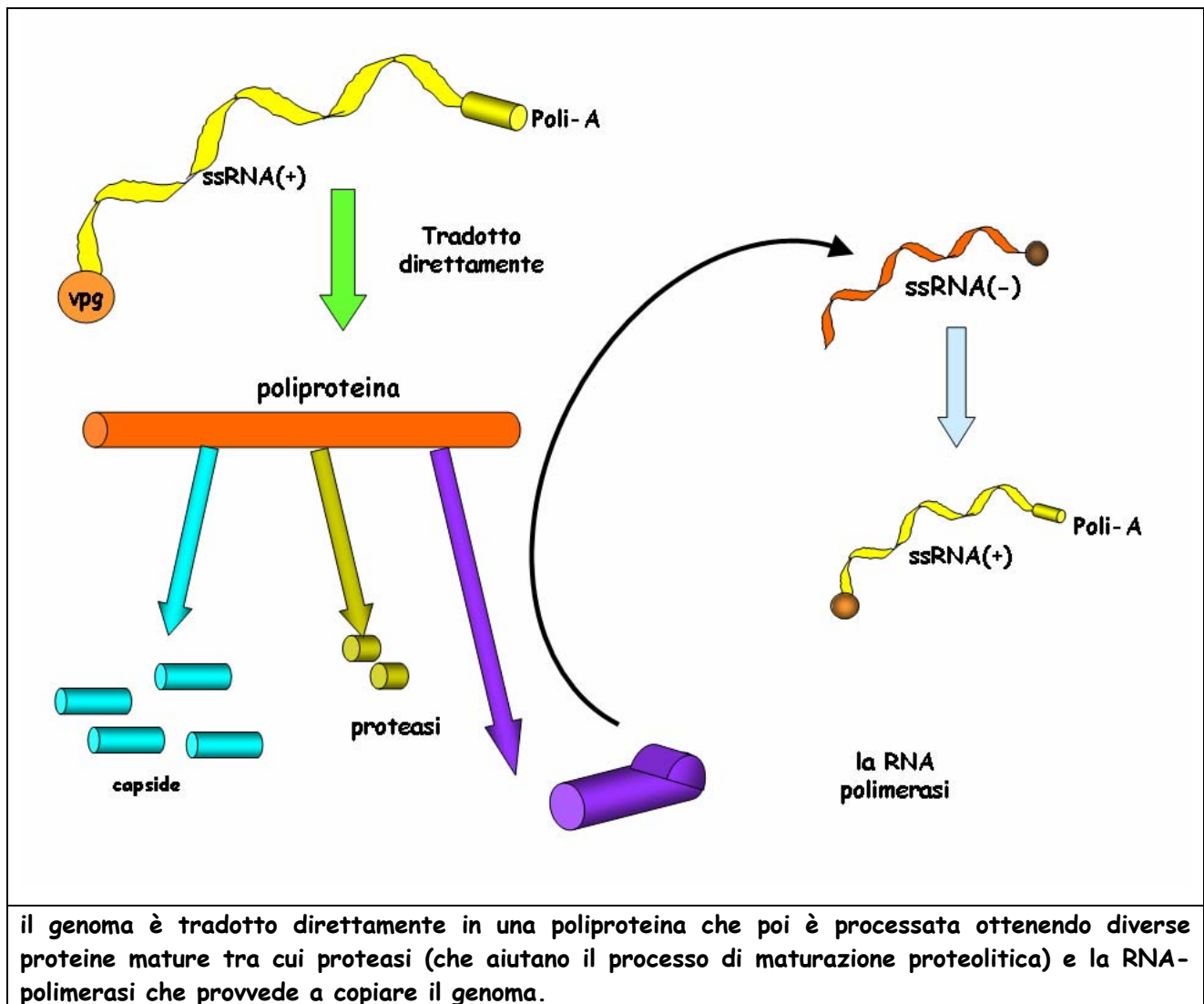
intestinale di individui sani, senza che fosse possibile associarli a qualche malattia.. Di questo gruppo fanno comunque parte i Rotavirus, la causa più comune di diarrea in bambini tra 6 e 24 mesi di età.

Tutto il ciclo di replicazione si svolge all'interno del citoplasma della cellula infettata. Per la formazione dei messaggeri è necessaria la trascrizione, dal filamento (-), operata da una trascrittasi virale. Ogni molecola di RNA genomico codifica per una sola proteina, ma due molecole possono essere tradotte in due proteine diverse, senza che l'RNA messaggero sia processato. I ribosomi cellulari, infatti, a volte non riconoscono il codone di inizio del primo gene e "saltano" direttamente al secondo.

Classe IV ssRNA(+)

Virus con polarità positiva [(+)RNA] Il loro genoma è formato da una molecola di ssRNA lineare, che ha la stessa polarità dell' mRNA e che, in effetti, agisce come tale subito dopo l'ingresso nella cellula ospite. La trascrizione del genoma virale come primo passo non è quindi necessaria e non sono presenti trascrittasi virali. Di questo gruppo fanno parte i Picornavirus (es. virus della poliomielite) i Togavirus (rosolia). La sintesi delle macromolecole e l'assemblaggio dei nucleocapsidi avvengono nel citoplasma

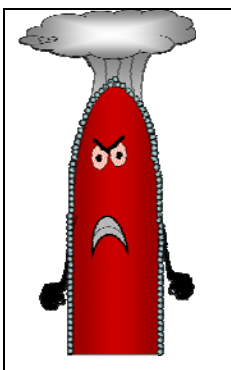
Lo schema di replicazione paradigmatico è quello dei **Poliovirus**. Il genoma si comporta direttamente da mRNA. Per quanto non sia dotato di cap, presenta all'estremità 5' una lunga regione che può assumere forme ansa-stelo con cui si lega al ribosoma. Il genoma è tradotto in una sola poliproteina che successivamente è tagliata nelle proteine finali (circa 20) tra cui le proteine del capsido e una RNA-polimerasi (replicasi). Il processo di replicazione avviene completamente nel citoplasma. la replicasi è necessaria per la sintesi del filamento (-) necessario come stampo per la replicazione del genoma(+) alcuni dei nuovi filamenti(+) sono trascritti dalla replicasi in altri filamenti stampo, aumentando la velocità di replicazione



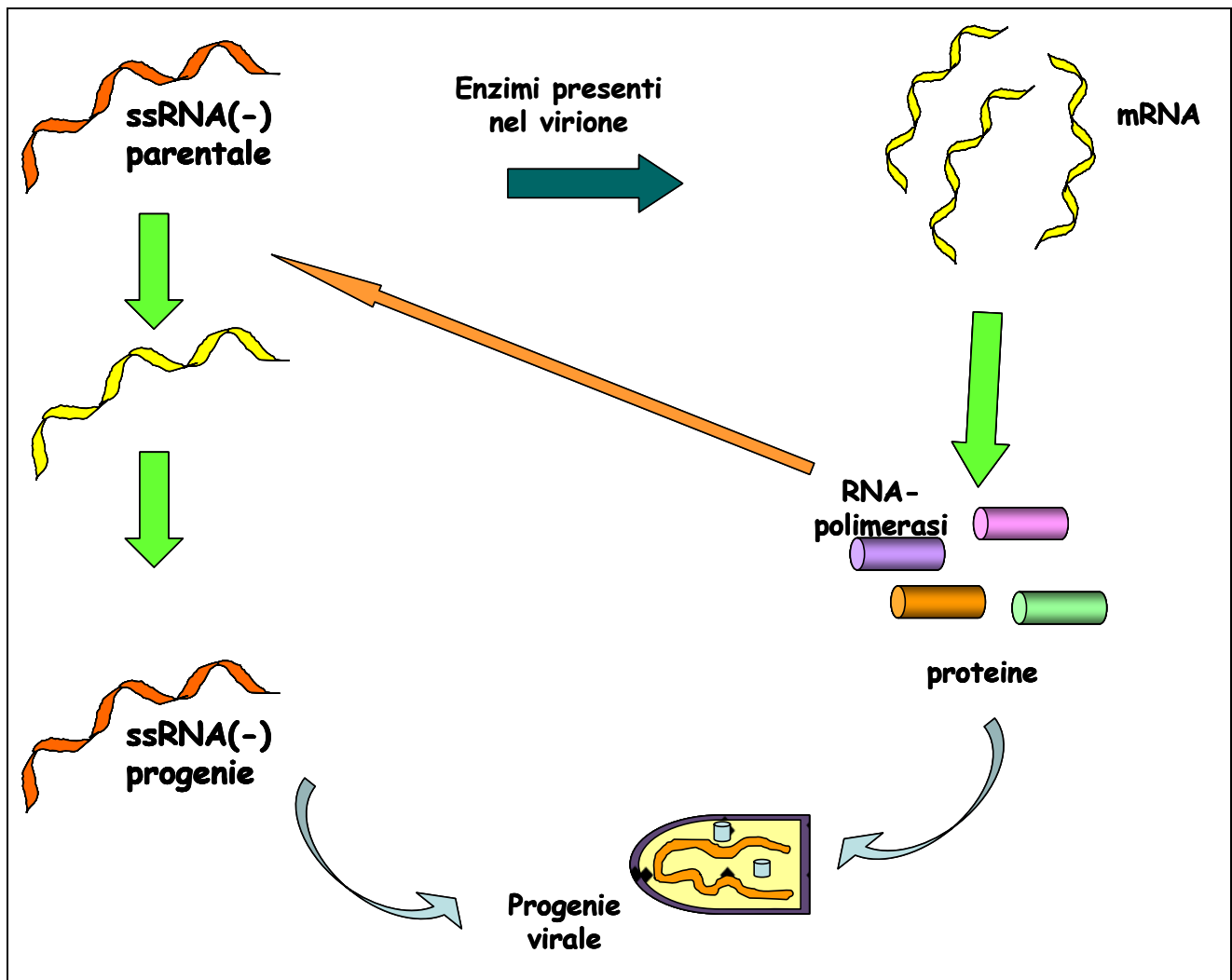
Classe V ssRNA(-)

Nei virus a RNA con polarità negativa il genoma può essere costituito da una sola molecola (come nel caso dei paramyxovirus (varicella, parotite) dei Rhabdovirus (rabbia) dei filovirus (Ebola) o da più molecole (es 7-8 nei virus influenzali-orthomyxovirus) di ssRNA lineare.

Il genoma deve essere trascritto e questo avviene per opera di una trascrittasi virale, nel citoplasma dove si ha anche la replicazione del genoma e l'assemblaggio dei nucleocapsidi.



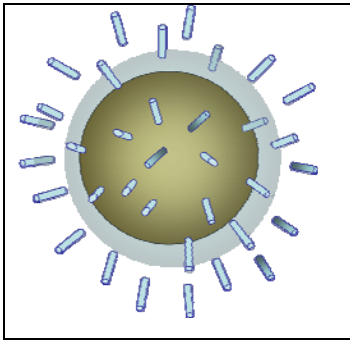
I **Rhabdovirus** hanno simmetria elicoidale e forma a bastoncino. La rabbia è una malattia che provoca una encefalite grave (mortale se non trattata). Il virus si moltiplica nel sito di inoculo e raggiunge l'encefalo dopo un periodo di incubazione variabile ma sufficientemente lungo (anche fino a 9 mesi) da permettere di intervenire con la vaccinazione anche dopo l'ingresso del virus nell'organismo (morso di animali). Il vaccino è preparato con "virus fisso"



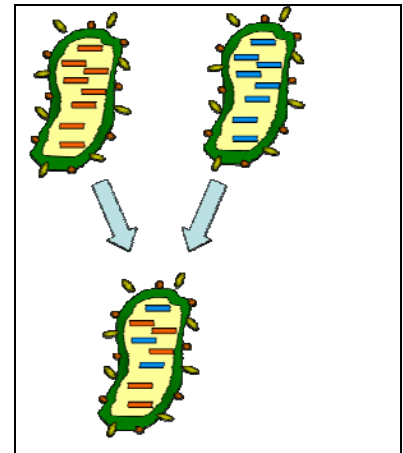
ucciso. Il virus fisso, ottenuto da Pasteur con ripetuti passaggi nel coniglio, è caratterizzato da un periodo di incubazione regolare, di 5 giorni. La rabbia può essere urbana (propagata da cani randagi) o silvestre trasmessa da animali selvatici, in particolar modo le volpi. In Italia la rabbia silvestre si è propagata nel 1977 attraverso volpi provenienti dall'Europa dell'est.

Il virione contiene una RNA-polimerasi RNA-dipendente necessaria per trascrivere il genoma (-) in mRNA(+). All'inizio vengono prodotti mRNA, poi l'intero genoma è trascritto in un filamento positivo che serve da stampo per la replicazione del genoma. Nella trascrizione primaria è prodotto il mRNA che codifica la RNA-polimerasi che, esprimendosi, porta alla formazione di molte molecole(+) che funzionano sia da stampo sia da messaggeri.

Il gruppo dei Paramyxovirus (Morbillo, parotite) si comporta essenzialmente come i Rhabdovirus.



Orthomyxovirus: sono virus a simmetria elicoidale e involucro lipidico, derivato dall'ospite, da cui protrudono diverse spicole (proteine virus specifiche) dotate di attività particolari. Una di queste proteine è la



il **genoma frammentato** degli Orthomyxovirus è alla base del **riassortimento genico**

emoagglutinina che riconosce l'acido sialico, presente sulla superficie degli eritrociti come su quella delle cellule epiteliali dell'apparato respiratorio (cellule bersaglio); la seconda proteina è la neuraminidasi che scinde l'acido sialico e ha probabilmente la funzione di eliminare l'acido sialico delle membrane dell'ospite

durante il processo di assemblaggio. L'uscita del virus avviene per gemmazione dalla cellula, con modalità che gli conferiscono una forma non ben definita (polimorfa). Il genoma è segmentato (8 frammenti nel virus di tipo A). I virioni possiedono una RNA-polimerasi RNA-dipendente e una ulteriore proteina

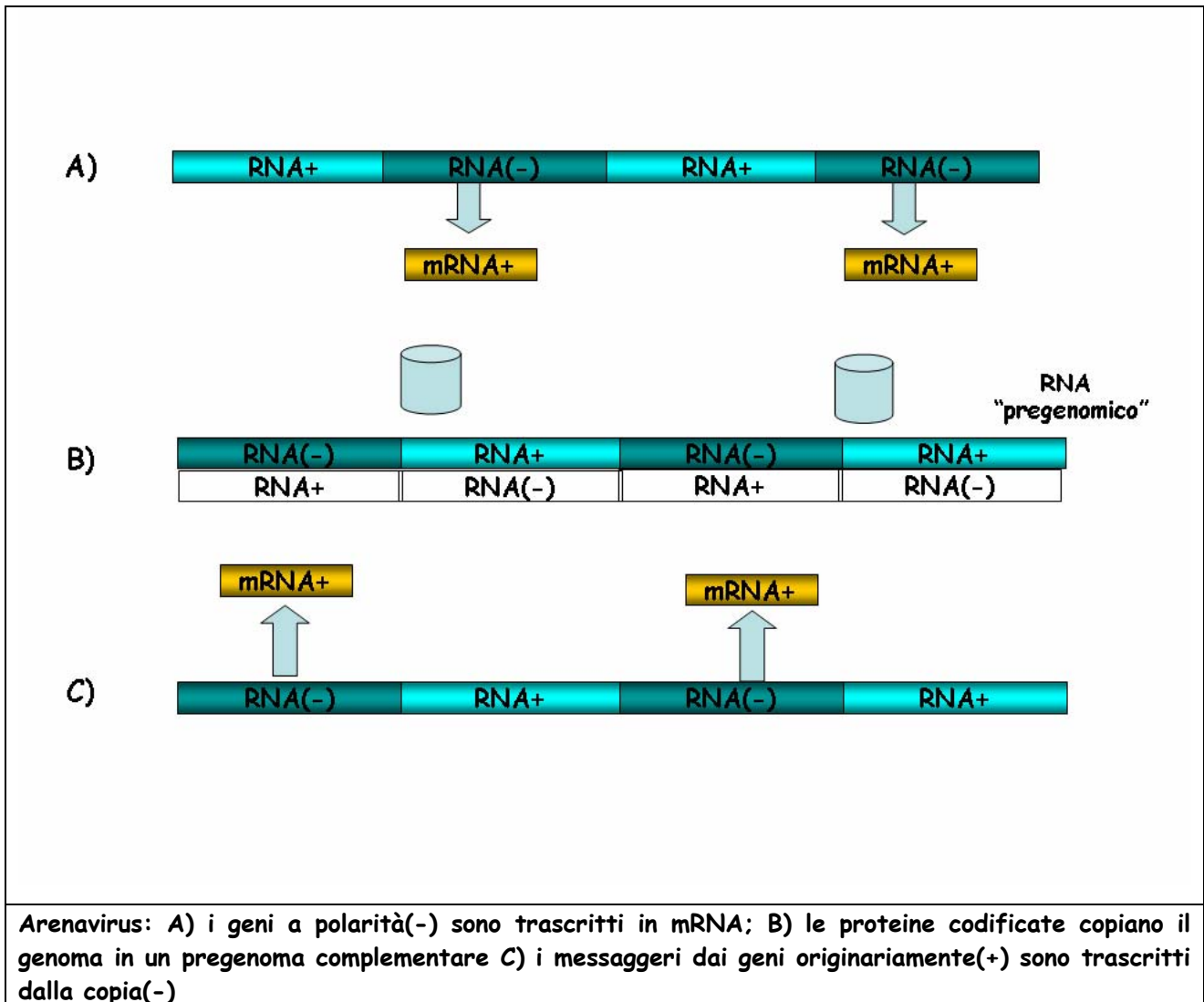
(endonucleasi) che taglia frammenti contenenti il cap dai messaggeri eucariotici usandoli come innesco per la trascrizione dei geni virali: in questo modo il mRNA virale potrà essere tradotto dall'apparato cellulare.

Gli mRNA trascritti da due dei frammenti codificano due proteine ciascuno ma l'apparato eucariotico non traduce mRNA policistronici e i messaggeri subiscono un processo di splicing che porta alla traduzione nella seconda proteina. La frammentazione del genoma comporta la facilità di riassorbimento genico (frammenti provenienti da virus diversi che hanno infettato la stessa cellula possono combinarsi in un nuovo ceppo) che spiega la variabilità intrinseca di questi virus.

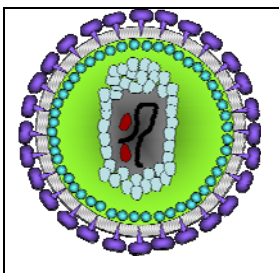
Un caso particolare è quello degli **Arenavirus** (es. Lassa-febbri emorragiche) che fanno parte di un gruppo particolare (Ambivirus). Hanno un genoma formato da due molecole di RNA monocatenario di forma circolare grazie a sequenze palindromiche alle estremità.

Nei segmenti del genoma virale sono presenti contemporaneamente geni con polarità (-) e geni con polarità (+). I geni (-) sono trascritti in mRNA e tradotti in proteine che provvedono poi alla sintesi dell'intera sequenza complementare di RNA "pregenomica" da cui sono trascritti i mRNA dei geni che hanno una polarità (+) nel genoma parentale.

Diversamente da quanto accade di solito, questi messaggeri sono uguali e non complementari al gene originario da cui sono trascritti



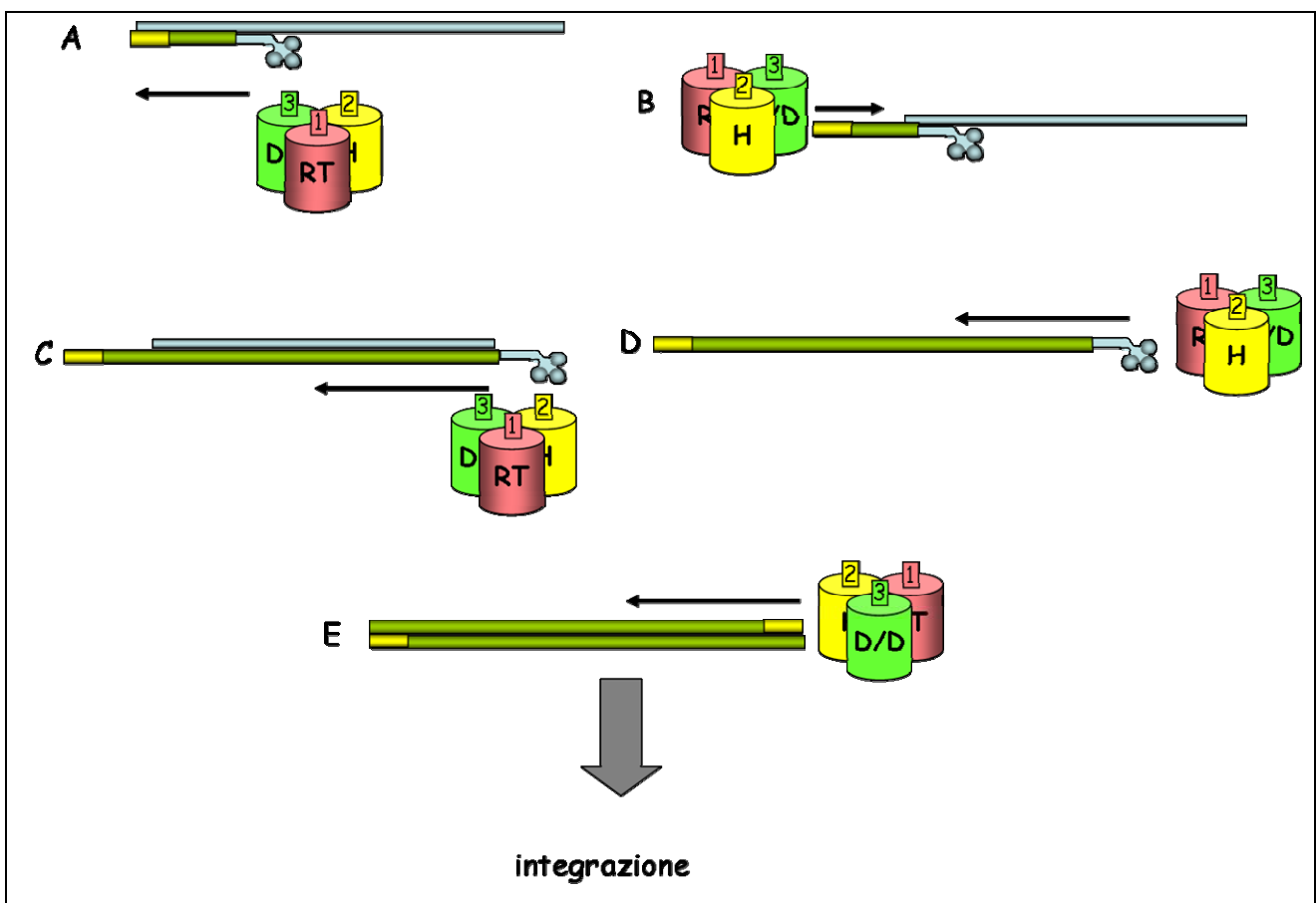
Classe VI Retrovirus ssRNA(+) con intermedio a DNA.



Retrovirus: il loro genoma è diploide, formato da due molecole identiche di ssRNA lineare. Per quanto si tratti di (+)RNA, dotato di cap e poliadenilato, non agisce come messaggero e deve essere trascritto. La trascrizione avviene nel nucleo, a partire da un intermedio di DNA sintetizzato nel citoplasma da una DNA-polimerasi RNA-dipendente (trascrittasi inversa) virale e integrato nel genoma dell'ospite.

degradati dopo che è stato sintetizzato un frammento di DNA(+). A questo punto la trascrittasi si trasferisce e completa il secondo filamento di DNA.

Nell'intermedio di dsDNA sono presenti lunghe ripetizione terminali (LTR) con promotori forti per la trascrizione. Il dsDNA si trasferisce nel nucleo e si integra in un qualunque punto del genoma dell'ospite, con un meccanismo simile a quello dei trasposoni batterici. Una volta integrato l'elemento genetico (provirus) è stabile e i suoi geni possono essere espressi o restare silenti (stato latente). Se vengono attivati i promotori della LTR di destra, una RNA polimerasi cellulare trascrive il DNA del provirus, formando mRNA dotati di cap e



poliadenilati, che possono essere tradotti o incapsidati a formare nuovi virioni.. Alcune proteine virali sono prodotte per maturazione proteolitica dalla poliproteina "gag"; altre sono il risultato di splicing differenziali e la trascrittasi inversa è sintetizzata quando un ribosoma oltrepassa la regione "gag" oppure quando la cornice di lettura è modificata dall'inserzione di un aminoacido nel codone di stop. L'assemblaggio dei nucleocapsidi avviene nel citoplasma

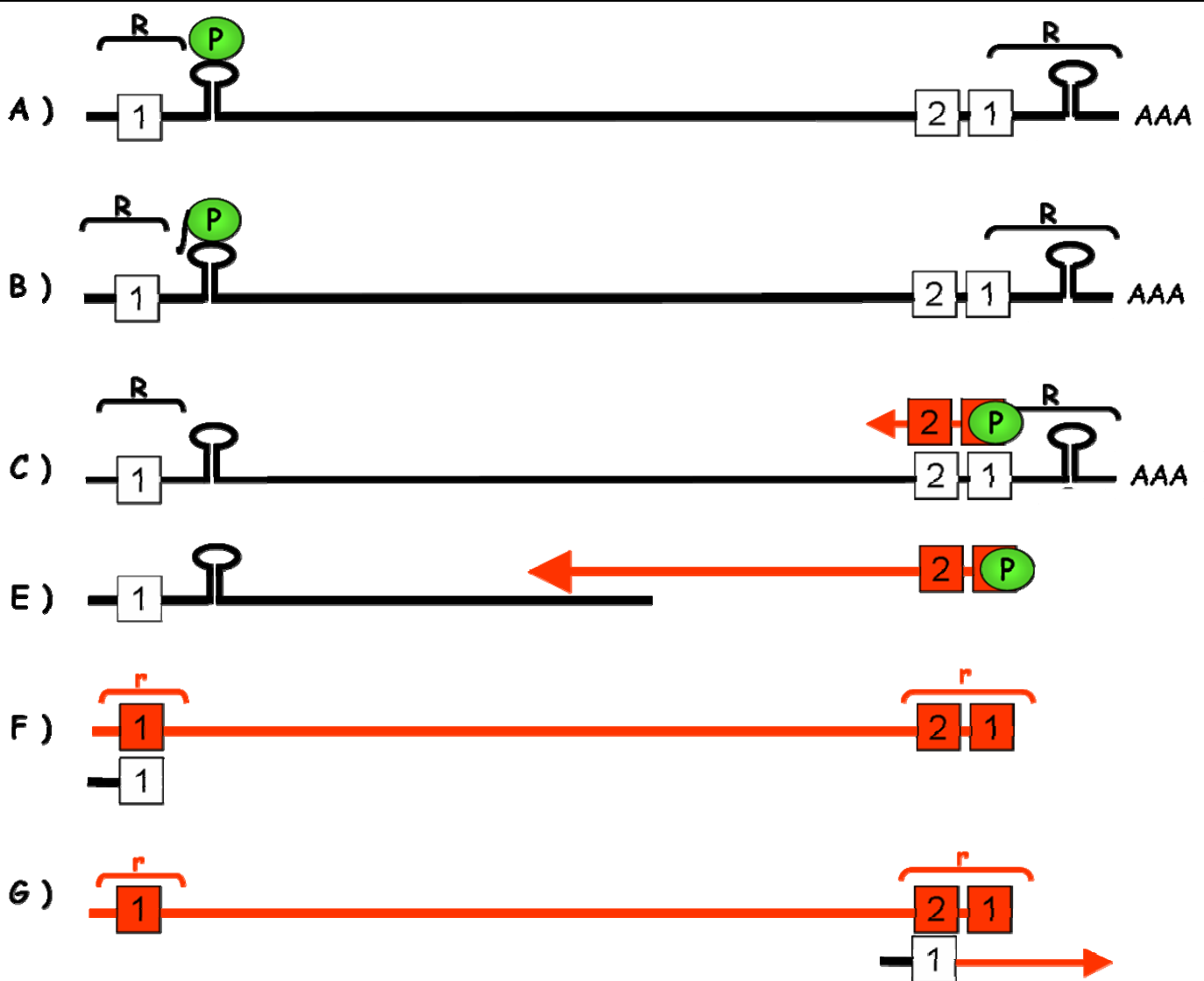
VII Hepadnavirus: DNA circolare, solo parzialmente bicatenario.

Il ciclo replicativo dei virus di questo gruppo (es. virus dell'epatite B -HBV) è particolarmente complesso e dipende dall'attività di una trascrittasi inversa. La situazione, tuttavia, è diametralmente opposta a quella che si osserva nei Retrovirus: in questo caso, infatti, il genoma è formato da DNA e l'intermedio di replicazione da RNA. Il DNA è organizzato in due filamenti, uno dei quali incompleto e interrotti entrambi in vari punti; la struttura bicatenaria è garantita da legami idrogeno. Il genoma di HBV ha una densità notevolissima: pur non essendoci alcuna sovrapposizione tra i geni, ogni base del genoma è parte di un ORF che codifica una proteina.

L'innesco per il filamento (-) è costituito dalla polimerasi stessa che è dotata anche di attività RNAsica (RNAsi H) e, una volta terminata la sintesi del filamento di DNA(-), degrada il pgRNA appena copiato lasciandone però integra la porzione con il cap al 5' (15-18 oligoribonucleotidi) che viene trasferita al 5' di DR2 e serve da innesco per la sintesi del filamento (+). I virioni maturi lasciano la cellula attraverso il RE.

Il virus HBV funziona da virus Helper nei confronti di un altro agente di epatite (agente "delta") un virus a ssRNA(-) circolare che ne richiede la presenza per la sintesi dei capsidi.

Dopo l'ingresso nella cellula, il DNA è trasferito nel nucleo, dove è riparato dando origine a una forma circolare, chiusa da legami covalenti (cccDNA); la riparazione comporta anche la rimozione delle strutture presenti al 5' del genoma parentale (la polimerasi e un innesco di RNA). In questa fase non interviene la polimerasi virale. Inizia poi la trascrizione nel corso della quale si formano i trascritti (corti e lunghi) che codificano le proteine virali e l'RNA pregenomico. L'RNA pregenomico (pgRNA) è un particolare trascritto "lungo", con ripetizioni terminali dirette (DR1-DR2) e privo del codone di inizio del gene per la proteina "e". Questa ultima caratteristica pare sia necessaria per l'impaccamento nei capsidi. La retrotrascrizione del pgRNA (duplicazione del DNA virale) inizia solo quando il pgRNA è impaccato nel capside.



A) "P" si lega al sito e in 5': inizia l'impaccamento; B) la retrotrascrizione, inizia, si genera un corto oligomero; C) "P" e l'oligomero si trasferiscono su DR1 al 3' (omologia di sequenza); D) Il DNA(-) si allunga e l'attività Rnasica di P degrada lo stampo; E) Il filamento (-)DNA si completa; RnaseH lascia un piccolo innesco (in corrispondenza del cap); F) L'innesco si trasferisce su DR2 e la polimerasi inizia a sintetizzare il filamento(+); le zone di omologia permettono la circolarizzazione del genoma e la completa sintesi del DNA(+)