Virologia generale

e molecolare

Virologia generale

Introduzione

I virus sono una scoperta piuttosto recente, anche se già nell'800 si sapeva che alcuni agenti potevano trasmette malattie, agenti che venivano chiamati "filtrabili" perché risultavano incapaci di essere trattenuti da filtri che invece non permettevano il passaggio dei batteri. Negli ultimi mille anni i virus hanno forgiato il mondo attuale, non solo a causa di epidemie di peste, ma ad esempio il vaiolo e morbillo hanno causato la decimazione della popolazione autoctona nel corso della conquista del Sud America da parte degli spagnoli. Negli ultimi 100 anni ci sono stati molte epidemie virali, soprattutto di influenza, ebola, SARS, ma anche il virus dell'HIV che negli ultimi 20 anni ha causato circa 40 milioni di morti.

I virus sono stati studiati solo recentemente perché la loro scoperta è stata difficoltosa, soprattutto a causa delle dimensioni molto ridotte, ad esempio Parvovirus che ha circa le dimensioni di un anticorpo. I virus sono troppo piccoli per essere apprezzati al microscopio ottico, ma devono essere osservati al microscopio elettronico, infatti hanno dimensioni nell'ordine dei micrometri.

1911: Peyton Rous osserva che alcune galline in un pollaio sviluppano sarcomi con un'incidenza elevata mentre in pollai vicini non si osservano soggetti con questi sarcomi; preleva del materiale e filtrandolo osserva che il filtrato, inoculato in una gallina di un altro pollaio, causa la diffusione del sarcoma.

Un virus è un organismo acellulare con un acido nucleico e replica obbligatoriamente in una cellula grazie al macchinario metabolico della cellula stessa. Dalla replicazione si originano particelle virali dette virioni.

I virus hanno un solo tipo di acido nucleico, DNA o RNA, che può essere a singolo o a doppio filamento; non contiene enzimi che producono energia e che servono per la sintesi proteica (perché sono elementi che trova nella cellula che va a infettare).

Il virione è la particella virale vera e propria che dall'interno all'esterno ha un core, ovvero l'acido nucleico contenuto nella particella virale legato a nucleo-proteine virali che permettono al genoma di essere inserito in una struttura proteica che è il capside, struttura formata da diversi elementi proteici codificati dal genoma virale detti capsomeri; i virus così strutturati sono detti nudi, per distinguerli da quelli rivestiti, che hanno un doppio strato lipidico che va a circondare il capside. Il virus ha una struttura proteica detta antirecettore che interagisce sulla cellula con il corrispondente recettore facendo così iniziare il processo di ingresso virale nella cellula e quindi di replicazione: i virus rivestiti presentano protrusioni dette anche spike all'esterno, i virus nudi presentano gli antirecettori direttamente sul capside.

Il rivestimento lipidico o envelope o mantello deriva dal doppio strato lipidico della cellula infettata.

I virus hanno morfologie diverse, anche a seconda della presenza o meno di envelope; il capside può avere una struttura poliedrica o elicoidale: la diversa struttura dipende dal fatto che il virus ha necessità di poter sintetizzare il capside in maniera facile e veloce durante il processo replicativo per poter produrre più copie possibili di sé stesso

In un capside elicoidale l'acido nucleico si dispone con andamento elicoidale e su esso si vanno a disporre i capsomeri per formare il capside (es. virus dell'influenza, in cui il capside poi si ripiega ulteriormente su sé stesso per essere rivestito dall'envelope); in molti casi i virus non si trovano in un ambiente in cui si trovano tutti gli enzimi necessari alla loro replicazione, per cui la particella che dà inizio al processo infettivo deve avere nel capside anche alcuni enzimi, oltre all'acido nucleico: in questi casi serve una struttura più spaziosa rispetto al

capside elicoidale, in particolare sarebbe ottimale una struttura sferica, che però risulta più difficile da costruire in quanto ogni capsomero dovrebbe assumere un'orientazione diversa, motivo per cui la struttura del capside è a simmetria icosaedrica, in cui troviamo più facce triangolari che si vanno ad assemblare, simile a una sfera ma più facile da produrre, dato che bastano due tipi di capsomeri, quelli per le facce e quelli che uniscono le facce tra loro a livello dei vertici. L'acido nucleico nel capside icosaedrico risulta ordinato e circondato da altre proteine: è importante che l'acido nucleico sia disposto in maniera ordinata perché altrimenti risulterebbe difficile da tradurre velocemente nel processo replicativo, soprattutto nel momento in cui il virus perde il capside e quindi il genoma risulta più esposto ai danni (quindi più velocemente si replica minore è la possibilità che subisca danni in questo punto critico del processo replicativo).

I virus rivestiti presentano tra capside e involucro esterno un'intelaiatura proteica (detta matrice) su cui si posa l'envelope.

I virus nudi sono più resistenti agli agenti chimico-fisici (es. etere, cloroformio, alcol che sono solventi dei lipidi), ma di fatto hanno minore capacità di sopravvivenza, perché nell'uscita i virus nudi sono rilasciati per lisi, mentre quelli con involucro esterno escono con un meccanismo compatibile con la sopravvivenza cellulare, cosa che consente al virus di parassitare la cellula e persistere nell'individuo anche per tutta la vita (i virus nudi entrano nella cellula per endocitosi, quelli con envelope mediante fusione delle membrane).

Il genoma virale ha una lunghezza tra le 280.000 bp di Citomegalovirus alle 3500 bp di MS2 (batteriofago). Di solito contiene circa una decina di geni; non sono presenti introni, in molti casi si trascrive un solo mRNA che viene tradotto in una poliproteina che verrà tagliata per costituire le singole proteine necessarie al virus (es. virus dell'epatite C), oppure a seconda dello splicing a cui viene sottoposto il trascritto vengono tradotto proteine diverse (es. HIV), oppure nel virus dell'epatite B lo stresso frammento di DNA viene letto con cornici di lettura diverse che codificano per diverse proteine: in generale i virus tendono quindi a concentrare più geni nello spazio limitato che hanno a disposizione per ridurre le dimensioni del genoma.

Per quanto riguarda la nomenclatura, alcuni virus sono stati nominati in base al tipo di malattia che provocano (epatite, HIV, morbillo), in base al tipo di danno cellulare che causano (Citomegalovirus), in base al sito da cui sono stati isolati (come enterovirus), in base al nome del loro scopritore o del luogo in cui sono stati scoperti (come il virus Epstein-Barr), in base alle loro caratteristiche biochimiche. Alcuni criteri classificativi causano però dei fraintendimenti, ad esempio, i virus dell'epatite (6 diversi virus) causano una malattia molto simile, ma in realtà sono diversi dal punto di vista strutturale e di modalità di trasmissione, oppure i virus erpetici sono tra loro indistinguibili morfologicamente ma causano malattie completamente diverse. Ad oggi, la classificazione dei virus si basa su ordini, famiglie, generi, isolati o tipi e poi all'interno dell'individuo si evolveranno le quasi specie a causa delle pressioni selettive a cui il virus è sottoposto; i virus sono organizzati in famiglie, identificate dal suffisso -viridae.

Genera have the suffix virus, e.g.:
within the *Picornaviridae* there are 5 genera:
Enterovirus (alimentary tract), species e.g. Poliovirus 1, 2, 3
Cardiovirus (neurotropic), species e.g. Mengovirus
Rhinovirus (nasopharyngeal region), species e.g. Rhinovirus 1a
Apthovirus (cloven footed animals), species e.g. FMDV-C
Hepatovirus (liver), species e.g. Hepatitis A virus

master COPY LUPISTERIA

Famiglie complesse come Paramyxoviridae possono essere suddivise in sottofamiglie con suffisso -virinae (Paramyxovirinae e Pneumovirinae).

Ciclo replicativo virale

Il ciclo di replicazione del virus è caratterizzato da diverse fasi: l'attacco, la penetrazione, la scapsidizzazione e la liberazione del genoma virale, a cui segue la replicazione del genoma stesso e contemporaneamente la produzione delle proteine virali, l'assemblaggio delle nuove particelle virali e poi il rilascio e la maturazione, che avviene al di fuori della cellula.

La fase precoce si conclude con la disgregazione del capside, a cui segue una fase detta di eclissi, in cui non è osservabile nessuna particella virale, dopo cui si ha la fase tardiva che ha inizio con la sintesi degli elementi strutturali del virus per assemblare nuove particelle virali e termina con il rilascio e la maturazione. Le nuove particelle virali vengono prodotte con un andamento esponenziale, quindi molto velocemente, tuttavia gran parte di queste particelle risulteranno non infettanti proprio per il fatto che producendole molto velocemente si presentano spesso errori; virus più grandi e complessi replicano più lentamente (anche 24 ore) e quindi verranno prodotte meno particelle quasi tutte infettanti.

La fase di attacco o adsorbimento è la fase in cui l'antirecettore riconosce e lega sulla superficie cellulare il proprio recettore mediando l'ingresso del virus stesso nella cellula. Recettore e antirecettore sono generalmente proteine glicosilate o glicoproteine; normalmente un virus usa uno specifico recettore presente sulla cellula, rari i casi in cui uno stesso recettore viene riconosciuto da più antirecettori; inoltre, un virus ha generalmente un solo tipo di antirecettore, ma ci sono eccezioni come i poxvirus o gli herpesvirus (5 tipi di antirecettore, a seconda del recettore con cui interagiscono possono entrare in cellule diverse). Alcuni virus possono entrare nella cellula come immunocomplessi, quindi se sono legati ad anticorpi possono entrare in cellule che fagocitano questo complesso grazie a un recettore per l'Fc delle Ig.

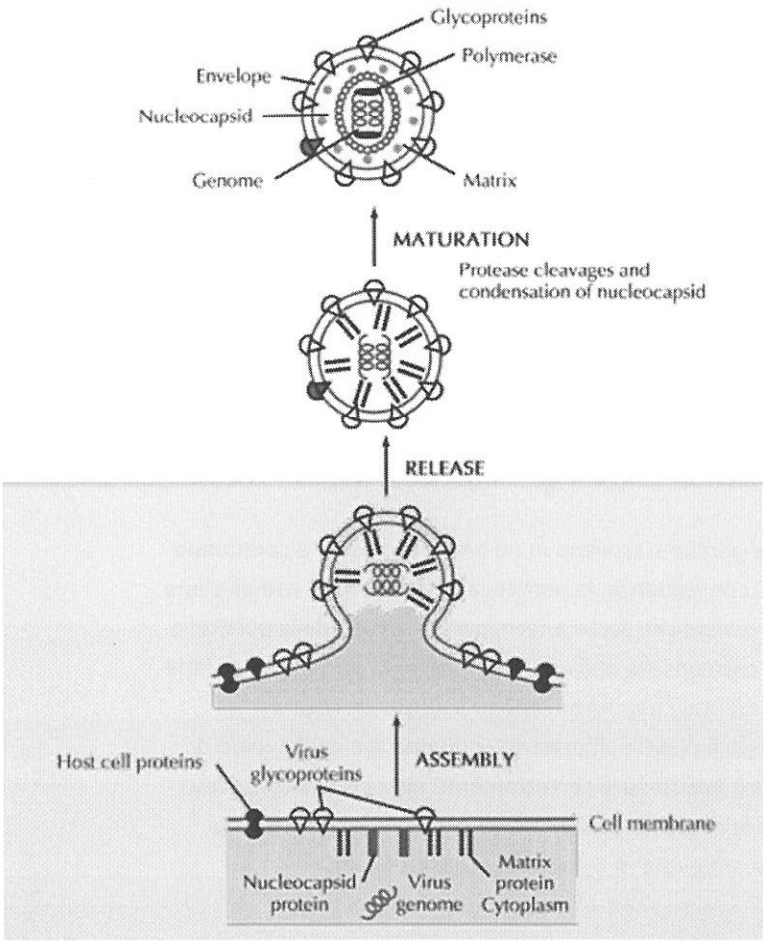
I recettori virali possono essere di vari tipi, ad esempio proteine usate per ancorarsi alle superfici, oppure nel caso di HIV vengono usati CD4 (antigene dei T helper) o CCR5. Molto spesso vengono legate piccole porzioni riconosciute della proteina con un meccanismo rapido che fa sì che il virus possa essere internalizzato. L'interazione con il recettore è un punto critico del ciclo replicativo virale, su cui l'organismo può agire per difendersi perché il virus risulta essere più vulnerabile, in quanto l'organismo può difendersi producendo anticorpi che possano bloccare il legame con il recettore legandosi a un punto specifico dell'antirecettore, in particolare nel punto che il virus usa per legarsi alla cellula (anticorpi neutralizzanti); alcuni virus nudi, come il poliovirus, ha un antirecettore non esposto all'esterno ma in una sorta di concavità (o canyon) ed è il recettore sulla cellula ad entrare nel canyon per permettere la formazione del legame: questo è un meccanismo utilizzato per evitare il riconoscimento dell'antirecettore da parte degli anticorpi; HIV ha un antirecettore costituito da due proteine che sono GP41 e GP120 associate a trimero, in cui GP120 è l'antirecettore vero e proprio capace di legarsi a CD4, il legame fa sì che la proteine cambi conformazione permettendo il legame a un corecettore sulla cellula: questa doppia interazione provoca il distacco GP120 permettendo che GP41 ancori la MP del virus e, ripiegandosi su sé stessa, avvicini la MP del virus e della cellula causando la fusione delle membrane (ovviamente è più difficile produrre anticorpi neutralizzanti per bloccare i vari punti a cui HIV si può legare sulla cellula, inoltre GP40 e GP120 non sono in superfici ma si "scoprono" solo quando l'antirecettore è vicino al proprio recettore, inoltre il virus può cambiare alcuni aa di GP20 destabilizzando la produzione di anticorpi da parte dell'organismo).

La fase di penetrazione è diversa a seconda del tipo di virus: i virus nudi entrano per endocitosi dopo il legame con il recettore, quindi si forma un lisosoma da cui si libera il genoma virale; i virus rivestiti entrano per fusione; ci sono alcune eccezioni, come i virus influenzali che pur essendo rivestiti entrano per endocitosi perché hanno la necessità di disgregare il capside per acidificazione dell'ambiente.

La sede in cui il virus si trova una volta entrato nella cellula dipende dall'acido nucleico che costituisce il genoma: l'RNA viene rilasciato a livello del citosol, mentre il DNA viene trasportato nel nucleo, questo perché il genoma a DNA necessita di deossinucleotidi per sintetizzare nuove copie del genoma, invece i ribonucleotidi possono trovarsi anche nel citosol. Alcuni virus a DNA hanno la necessità di far pervenire il genoma nel nucleo, quindi sfruttando corridoi di tubulina fanno sì che il capside attraversi il citosol fino a portarsi ai pori della membrana nucleare; i retrovirus hanno un genoma a RNA che viene convertito in DNA, poi portato nel nucleo per integrarsi al genoma nell'ospite; il virus influenzale ha genoma a RNA ma ha ugualmente la necessità di entrare nel nucleo.

Dopo che il genoma ha raggiunto la propria sede, abbiamo l'espressione delle proteine virali mediante un meccanismo che ha una temporalità ben precisa, ovvero prima vengono espresse le proteine precoci hanno la funzione di andare a bloccare dei sistemi di difesa della cellulare, poi le proteine intermedie, cioè molecole ed enzimi non presenti nella cellula che il virus utilizza per alcune fasi del ciclo replicativo, e infine le proteine tardive o strutturali che serviranno per sintetizzare la particella virale. La fase di rilascio del genoma è molto delicata perché la cellula potrebbe riconoscere il materiale genetico estraneo.

L'assemblaggio del virus prevede che tutti i componenti virali, come i capsomeri o le proteine che si associano al genoma, si associno tra loro: il capside si forma con una sorta di assemblaggio spontaneo e sarà inizialmente vuoto e non ancora chiuso; la modalità di incapsidamento è diversa, in generale il genoma ha una sequenza specifica (che talvolta assume una conformazione caratteristica) che lo rende diverso dagli altri acidi nucleici della cellula e che permette il riconoscimento del genoma virale, questa sequenza prende il nome di packaging site e viene riconosciuta da specifiche proteine del capside; spesso il genoma viene sintetizzato in concatameri: ogni concatamero viene "scansionato" per identificare ciascun sito di incapsidamento, a livello di cui avviene il taglio, permettendo l'ingresso del genoma in maniera ordinata nel capside. Durante la gemmazione, le glicoproteine si inseriscono tutte in uno spazio della membrana e allontanano le proteine cellulari per far sì che l'involucro virali non presenti proteine della cellula: questo avviene perché le proteine dell'individuo possono indurre una risposta immunitaria in un altro individuo, e questo porterebbe a danno della particella virale durante l'infezione.



Per quanto riguarda il rilascio, i virus nudi, come il poliovirus, hanno un ciclo replicativo che prevede che le particelle vengano rilasciate per lisi, i virus con envelope hanno un meccanismo di uscita più complesso, infatti fuoriescono senza lisi cellulare (quindi la cellula rimane vitale e continua a rilasciare virus, per cui è persistentemente infettata e in alcuni casi se si replica può dare origine a nuove cellule infettate): in particolare, nel processo di fuoriuscita per virus con envelope è detto gemmazione o budding, e avviene nel momento in cui nella MP si inseriscono gli antirecettori e altre proteine virali (assemblate nel RE, spesso nel RER perché sono glicoproteine) e iniziano a costruire la particella virale