



I VIRUS

SCOPERTA DEI VIRUS

Verso la fine del 1800, i botanici stavano cercando la causa del mosaico del tabacco, una malattia in grado di arrestare la crescita della pianta del tabacco e di conferire alle foglie un aspetto punteggiato a mosaico (vedi foto dopo)

Il botanico olandese Beijerinck scoprì nel 1898 che l'agente che lo causava possedeva molte delle caratteristiche degli esseri viventi ma in grado di riprodursi solo all'interno di una cellula vivente

Lo denominarono virus (parola che in latino significa *veleno*)

Negli anni '30 il microscopio elettronico ha permesso di vedere i virus per la prima volta.

La maggior parte dei virus che infettano animali, piante e batteri sono stati identificati durante la II metà di XX secolo

FIGURA 24-5 I virus delle piante



(a) Virus della screziatura del tulipano. Il virus che provoca questa malattia, relativamente innocua, influenza la formazione del pigmento nei petali.



(b) Foglie di pepe infettate dal virus del mosaico del tabacco. La foglia è punteggiata in modo caratteristico da aree verde chiaro.



Le aree gialle corrispondono a cellule morte, uccise dal virus del mosaico.

I VIRUS SONO ORGANISMI AL LIMITE DELLA VITA

Gli organismi viventi sono classificati in 5 diversi regni Regni dall'ecologo H. Whitiaker nel 1969.

1. Monera (Batteri)
2. Protista (Protozoi , alghe e muffe)
3. Plantae (piante)
4. Fungi (funghi e lieviti)
5. Animalia (animali)

I virus non possono essere assegnati ad alcuno dei 5 regni degli organismi viventi in quanto differiscono da tutti in quanto necessitano di un altro organismo vivente per vivere

VIRUS- caratteristiche

- ✓ **I virus sono parassiti intracellulari obbligati , possono cioè sopravvivere solo usando le risorse di una cellula ospite**
- ✓ **I virus infettano ogni tipo di cellula inclusi batteri, archea, protisti, piante , funghi ed animali.**
- ✓ **I virus infettano i batteri sono detti batteriofagi (mangiatori di batteri) o fagi**
- ✓ **Lo studio dei virus è definito virologia e coloro che li studiano sono Virologi**
- ✓ **I virus sono i microrganismi più abbondanti sulla terra**
- ✓ **Costituiti da core di acido nucleico**
- ✓ **I virus sono piccole particelle infettive, visibili, solo al microscopio elettronico, hanno dimensioni tra i 20nm ed i 300 nm**

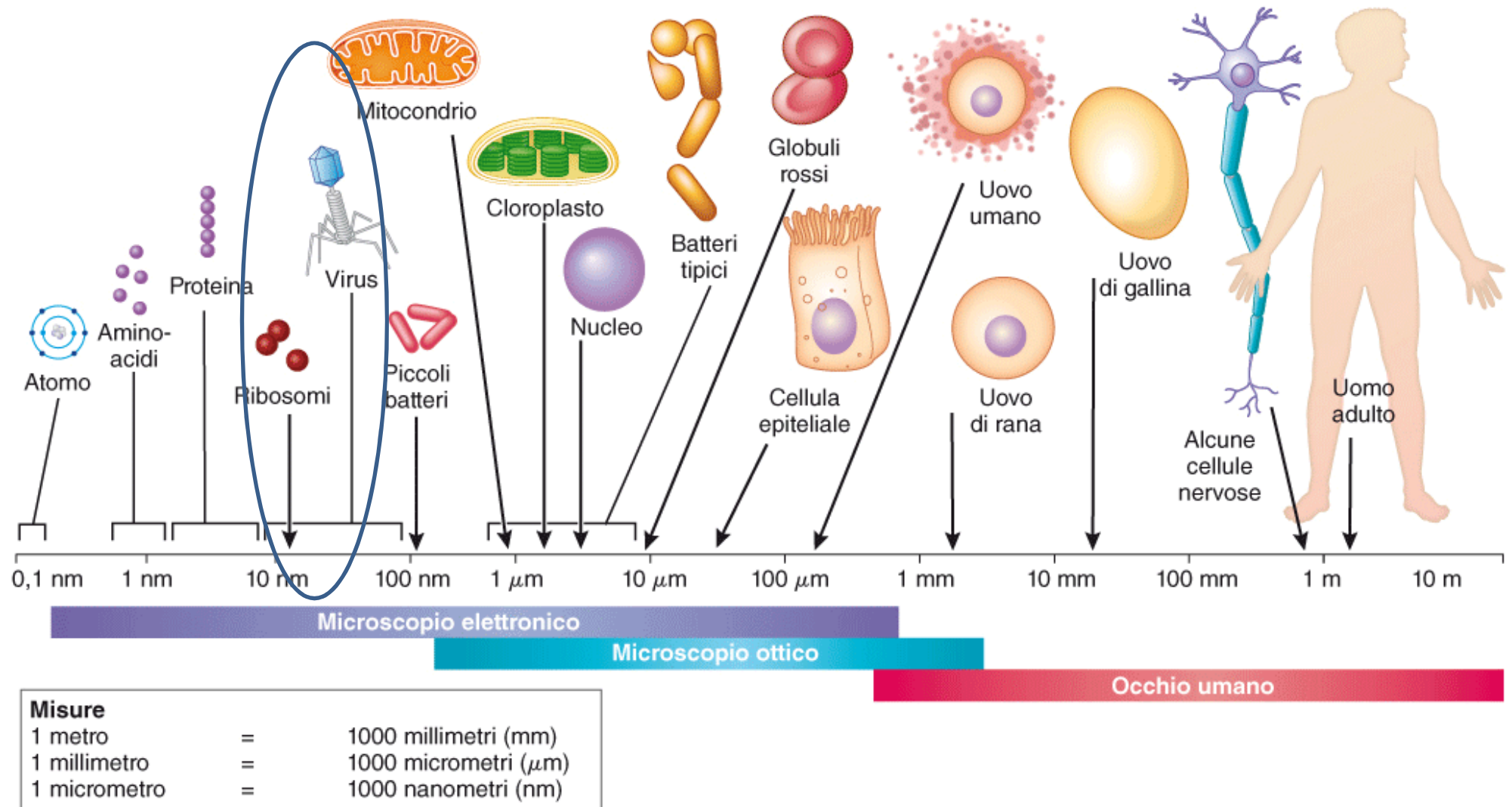


Figura 4-1 Dimensioni biologiche e diversità delle cellule

Le dimensioni relative dal livello chimico a quello di un intero organismo possono essere confrontate utilizzando una scala logaritmica (multipli di 10). Le cellule procariotiche dei batteri vanno tipicamente da 1 a 10 μm di lunghezza. Le cellule eucariotiche hanno tipicamente un diametro che va dai 10 ai 30 μm. I mitocondri hanno all'incirca le dimensioni di piccoli batteri, mentre i cloroplasti sono generalmente più grandi (circa 5 μm di lunghezza). Le cellule uovo sono tra le cellule più grandi. Anche se microscopiche, alcune cellule nervose sono molto lunghe. Le cellule qui rappresentate non sono disegnate in scala.

VIRUS- caratteristiche

- ✓ Un virus consiste di un CORE di acido nucleico
- ✓ Un virus contiene DNA o RNA
- ✓ I virus possiedono un CAPSIDE : rivestimento proteico formato da unità (Capsomeri) che circonda il CORE
- ✓ Alcuni possiedono un pericapside (envelope, involucro) è lo strato più esterno che ricopre alcuni tipi di virus. È posto esternamente al capsid ed è composto da un doppio strato di fosfolipidi, intervallati da numerose glicoproteine

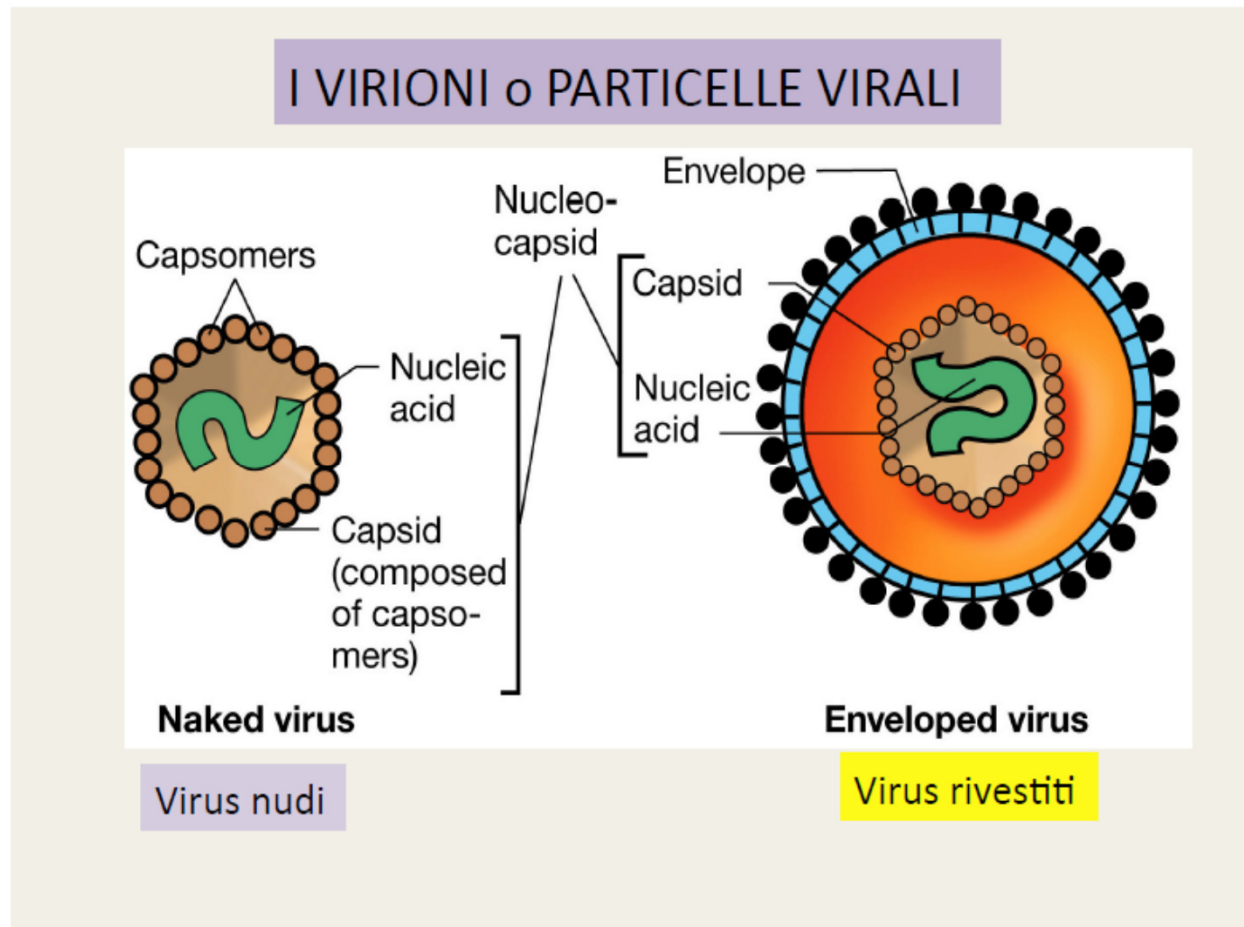
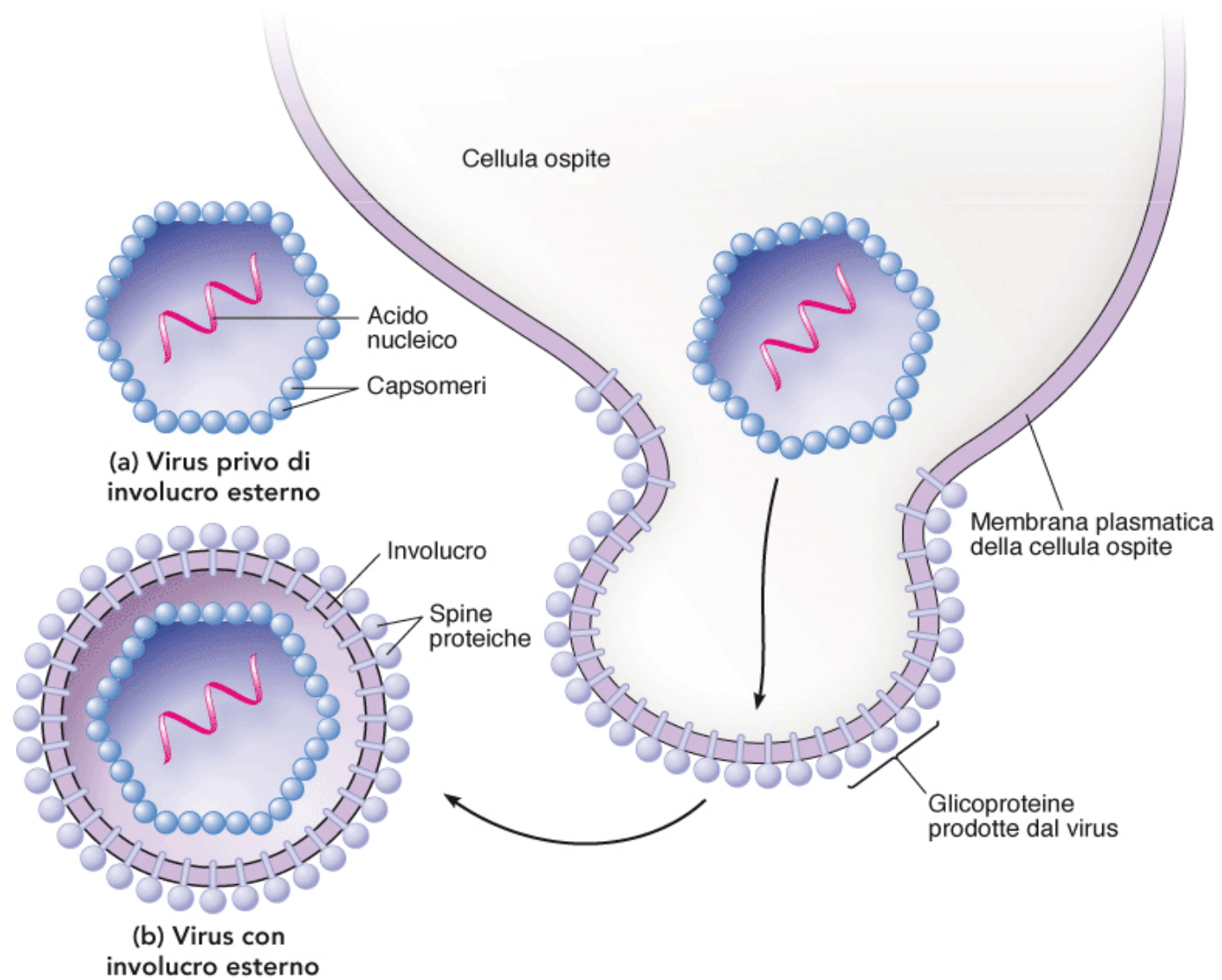
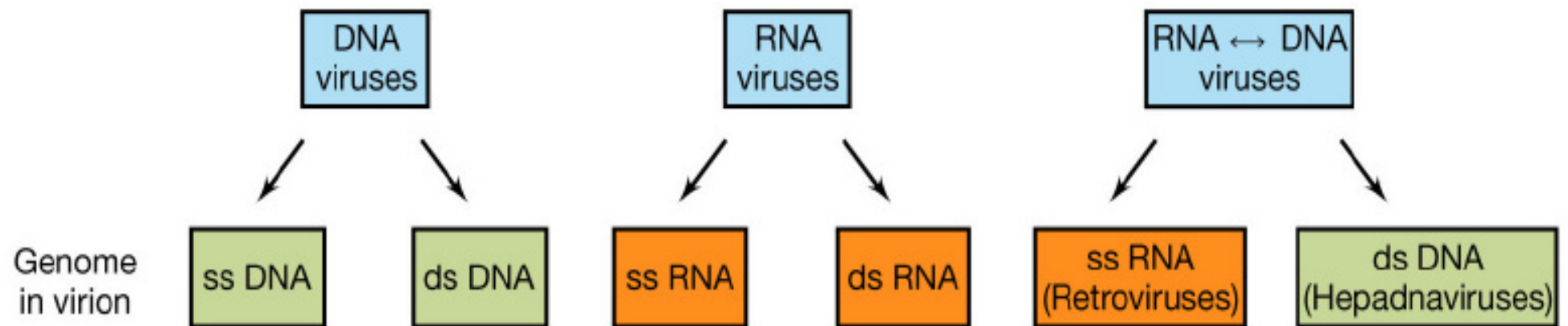


FIGURA 24-2 Confronto tra un virus con e senza involucro esterno.

Quando il virus abbandona la cellula ospite, la membrana plasmatica della cellula ospite avvolge il virus costituendo l'involucro esterno che contiene anche proteine prodotte dal virus.



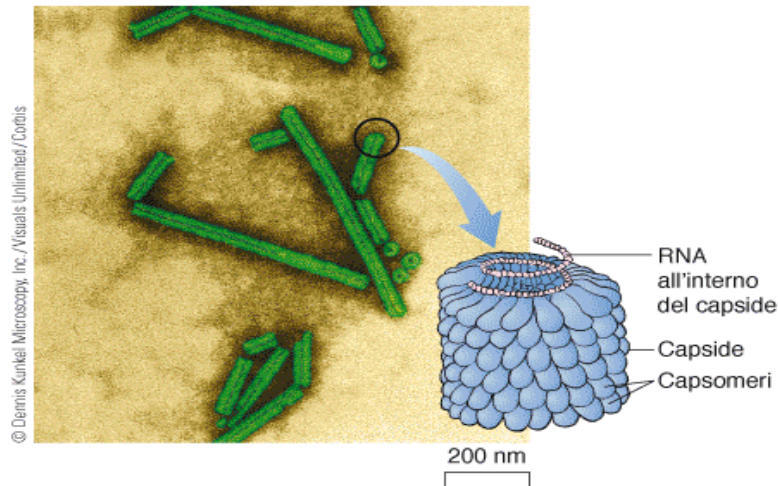
ss = single strands = filamento singolo
ds = double strand = filamento doppio



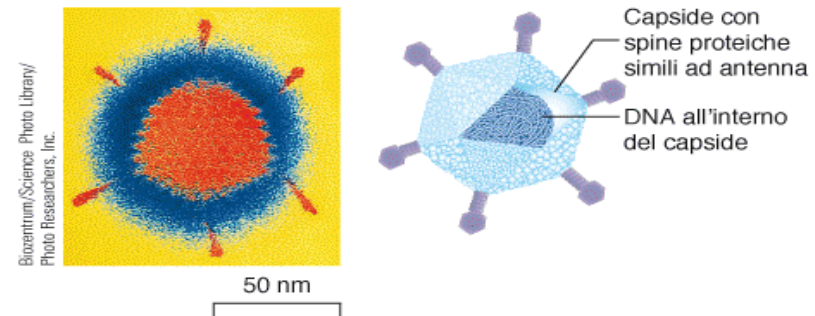
Il genoma più grande - batteriofago G - con $6,7 \cdot 10^5$ basi
simile a quello di batteri endocellulari

FIGURA 24-1 La struttura dei virus

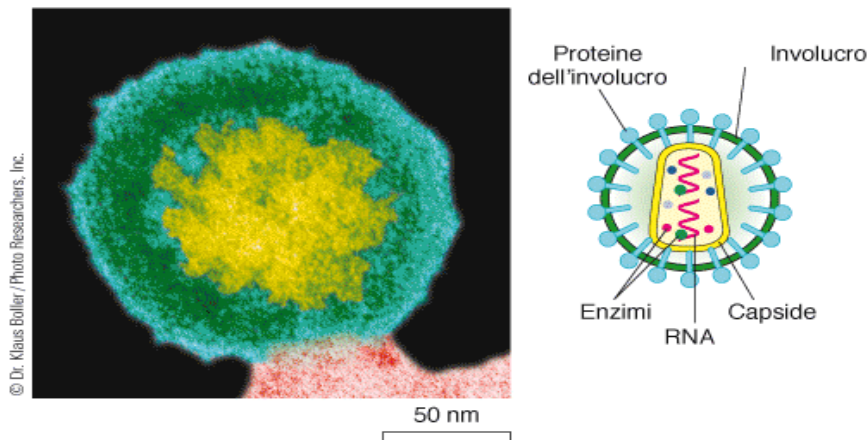
Un virus consiste di DNA o RNA circondato da un involucro proteico detto capside. Il capside è costituito da subunità proteiche dette capsomeri. Alcuni virus hanno un involucro membranoso esterno che circonda il capside.



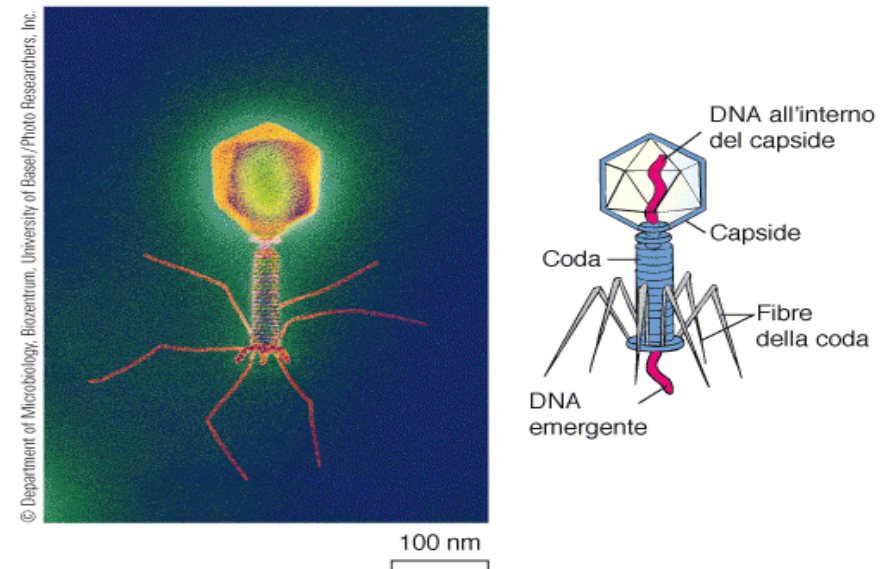
(a) Fotografia a colori al MET del virus del mosaico del tabacco. Un virus a forma di bastoncino con un'organizzazione elicoidale delle proteine capsidiche.



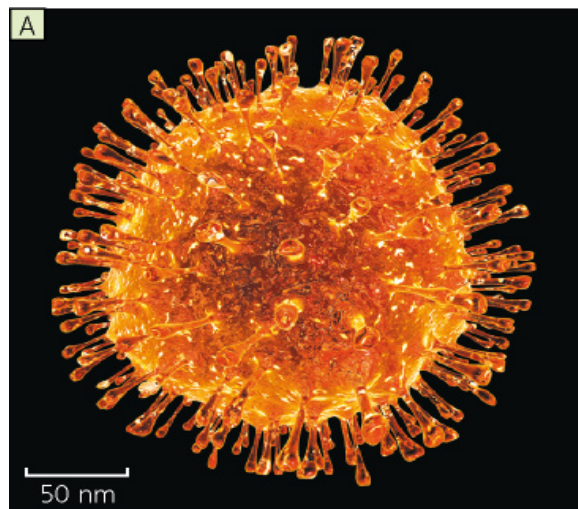
(b) Fotografia a colori al MET fatta al microscopio elettronico di un adenovirus. Capside composto da 252 subunità (visibili come minuscoli ovali) disposte secondo un poliedro a 20 facce. Dodici subunità presentano spine proteiche proiettate verso l'esterno che permettono al virus di riconoscere la cellula ospite.



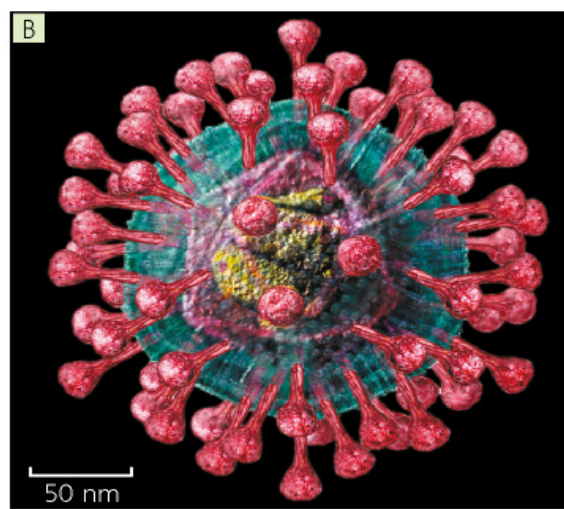
(c) Fotografia a colori fatta al microscopio elettronico di un virus HIV che causa l'AIDS. Il virus sta lasciando la cellula ospite (in rosa). Il virus è racchiuso nell'involucro (in verde) che è fatto dalla membrana plasmatica dell'ospite. Le proteine virali si proiettano all'esterno dell'involucro. Il capside virale è visibile in giallo.



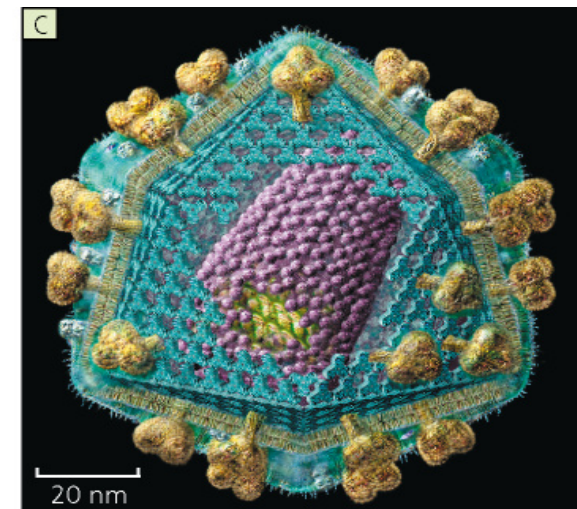
(d) Immagine a colori fatta al microscopio elettronico del batteriofago T4. Questo virus ha una testa e una coda poliedrica elicoidale. Il virus si attacca alla parete della cellula ospite batterico con le fibre della coda.



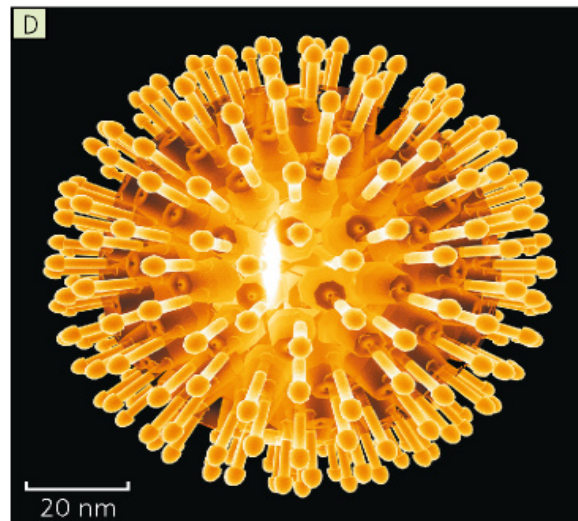
Un virus a filamento singolo di RNA antisenso: virus dell'influenza A, siglato H1N1, prevalente nel biennio 2009-2010; visto in superficie.



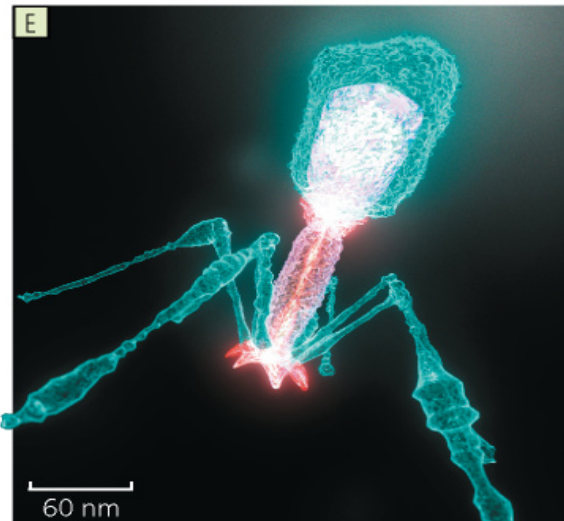
Un virus a filamento singolo di RNA a senso positivo: il coronavirus ritenuto responsabile della sindrome respiratoria acuta e severa (SARS); visto in superficie.



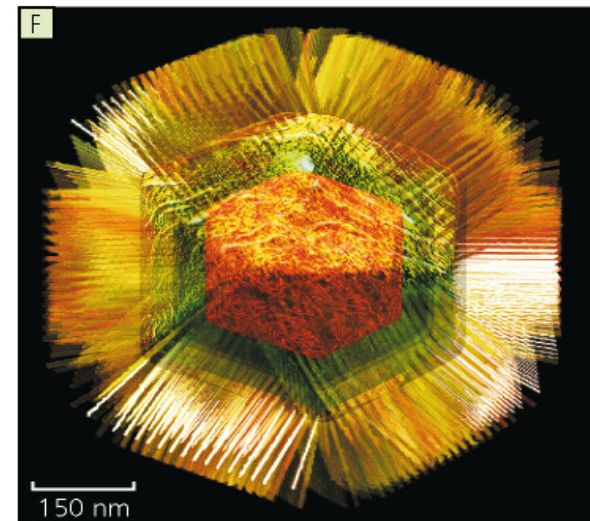
Un retrovirus a RNA: virus responsabile dell'immunodeficienza umana (HIV) che provoca l'AIDS; visto in sezione.



Un virus a doppio filamento di DNA: uno dei numerosi herpes virus (Herpesviridae). Nella nostra specie herpes virus differenti sono responsabili di molte infezioni cutanee, compresi varicella, herpes zoster, herpes labiale e herpes genitale (HSV1/2); visto in superficie.



Un virus a doppio filamento di DNA: il batteriofago T4. I virus che infettano i batteri vengono denominati batteriofagi (o semplicemente fagi). T4 si attacca con fibre filiformi simili a zampe all'esterno della cellula ospite e inietta il proprio DNA nel citoplasma attraverso la "coda" (la struttura rosa nell'immagine).



Un mimivirus a doppio filamento di DNA: *Acanthamoeba polyphaga* (APMV) possiede un diametro superiore a quello di tutti gli altri virus conosciuti e un genoma più grande di quello di alcuni procarioti; visto in sezione.

VIRUS

replicazione virale

I virus si riproducono solo all'interno delle cellule ospiti

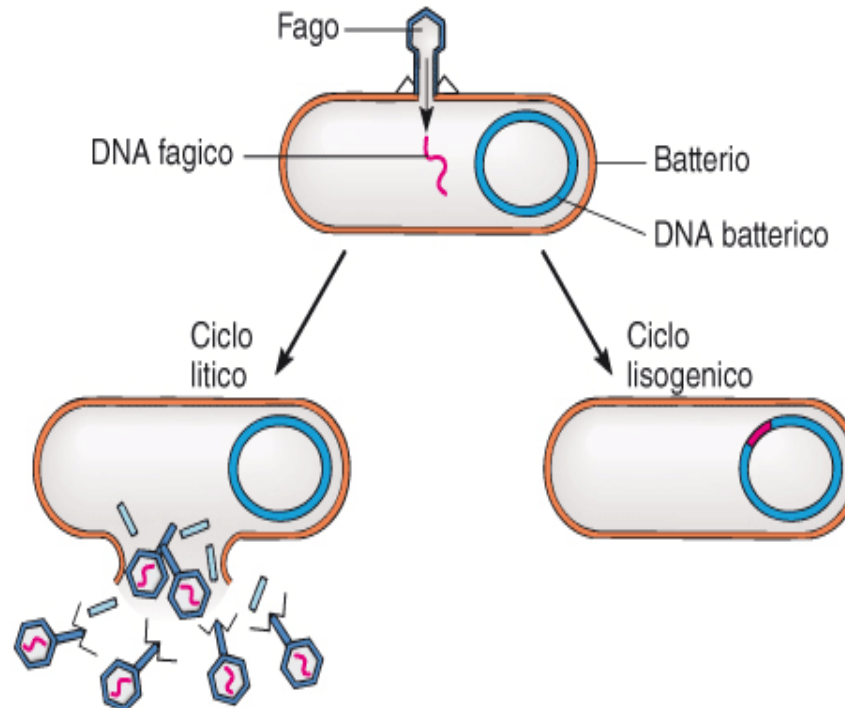
Infettano cellule batteriche, animali, o vegetali, in modo sostanzialmente simile

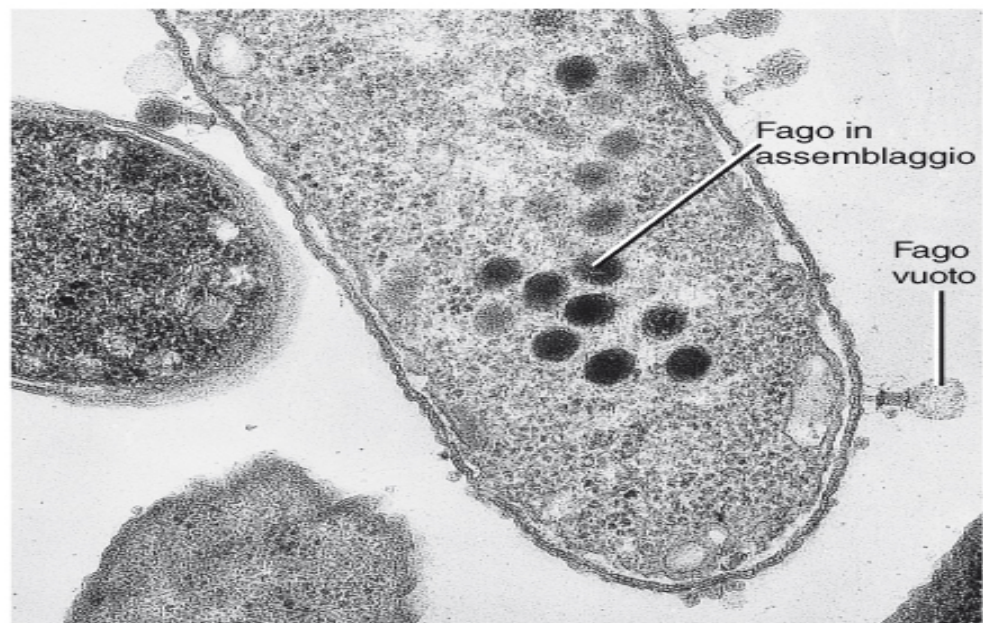
Il virus tipicamente si attacca alla superficie della cellula

L'acido nucleico virale deve entrare nella cellula ospite per effettuare la sintesi dei componenti virali

I componenti vengono assemblati ed i virus sono rilasciati dalla cellula

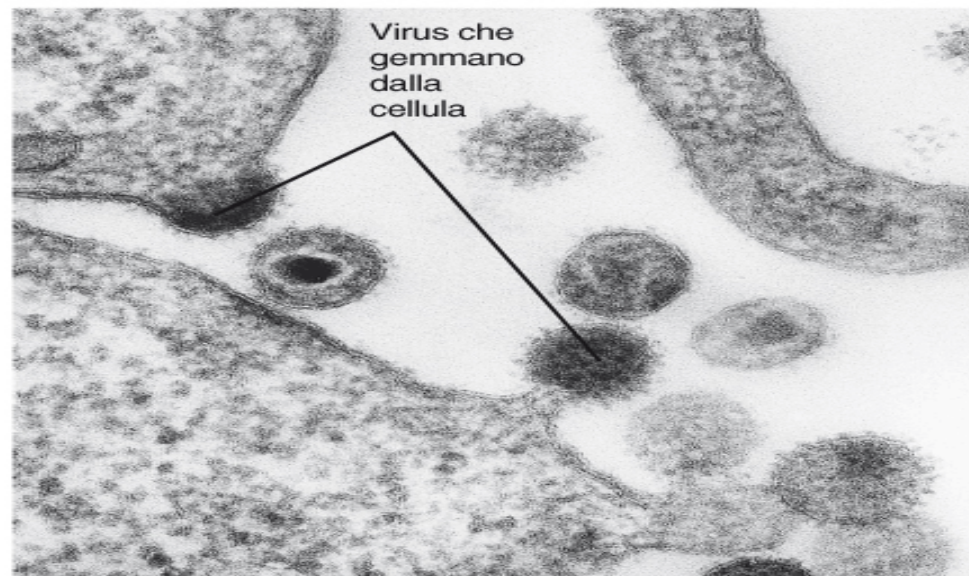
I 2 tipi di riproduzione sono il ciclo litico e ciclo lisogeno





(a)

0,2 μm

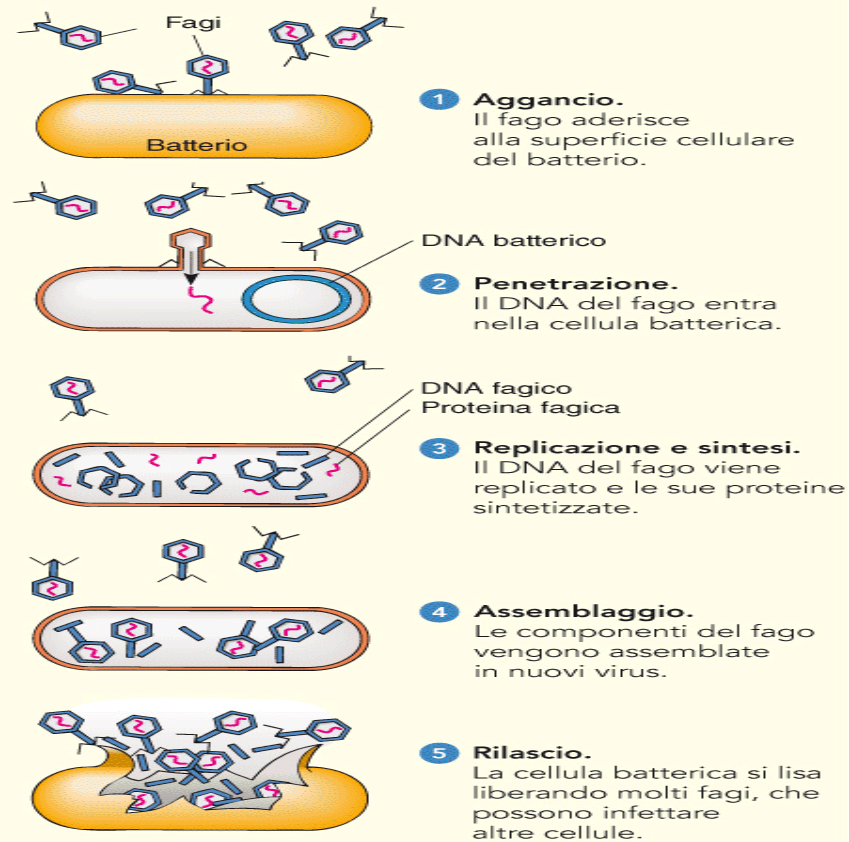


(b)

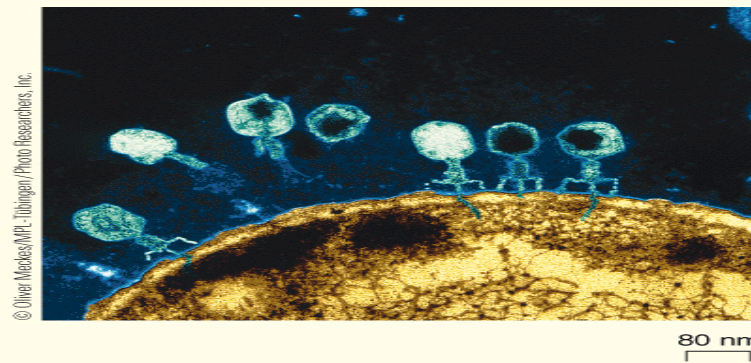
0,1 μm

Figura 1.23 Un'infezione virale. (a) Micrografia che mostra uno stadio avanzato dell'infezione di una cellula batterica da parte di un batteriofago. Le particelle virali sono in fase di assemblaggio all'interno della cellula e involucri vuoti del fago sono ancora presenti sulla sua superficie. (b) Micrografia che mostra particelle di HIV gemmanti da un linfocita umano infettato. (A: PER GENT. CONC. DI JONATHAN KING E ERIKA HARTWIG; B: PER GENT. CONC. DI HANS GELDERBLOM.)

IL CICLO LITICO



(a) La sequenza degli eventi in un'infezione litica.



(b) Immagine MET a colori intensificati di fagi che infettano un batterio, *Escherichia coli*.

IL CICLO LISOGENO

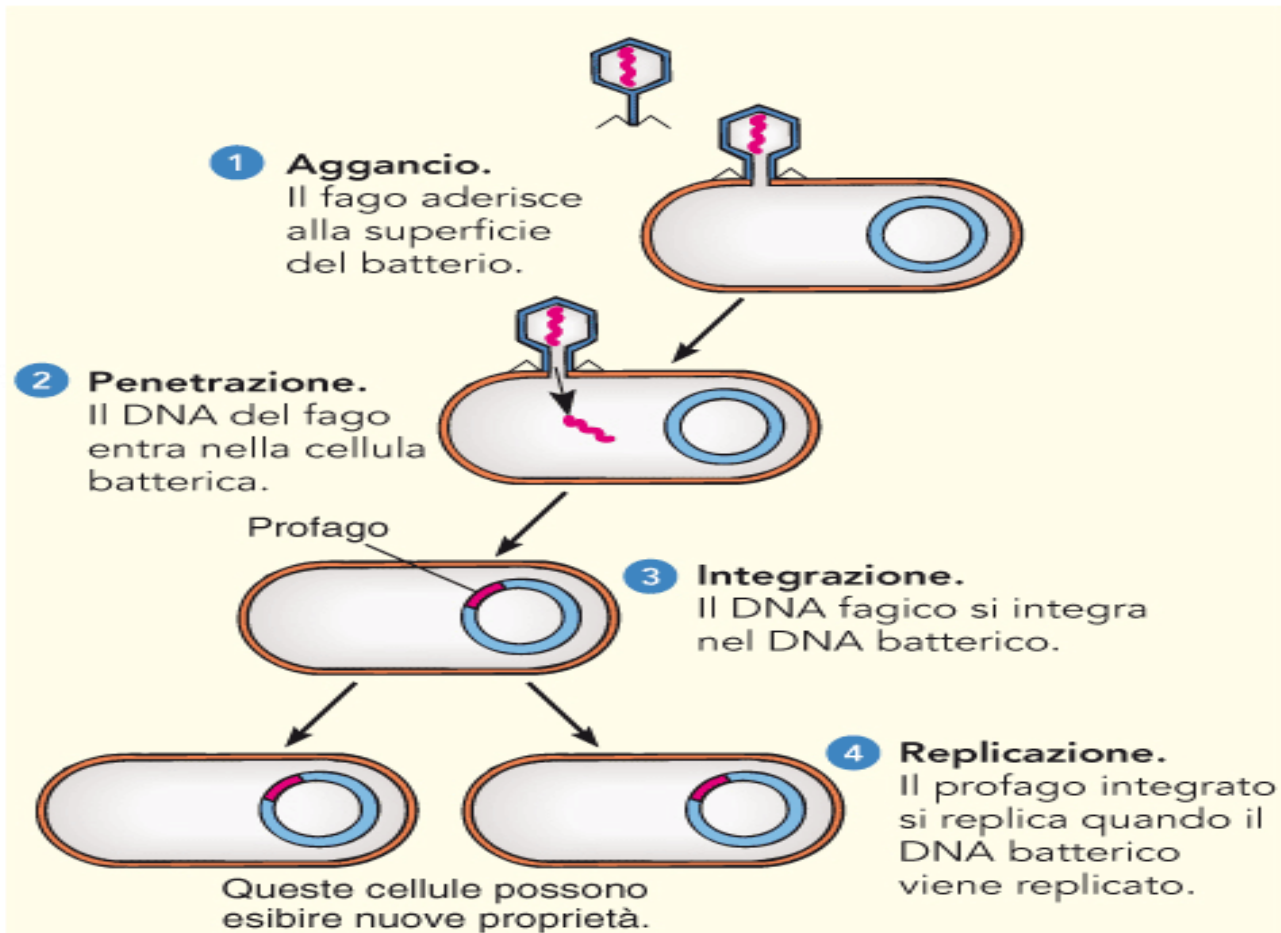


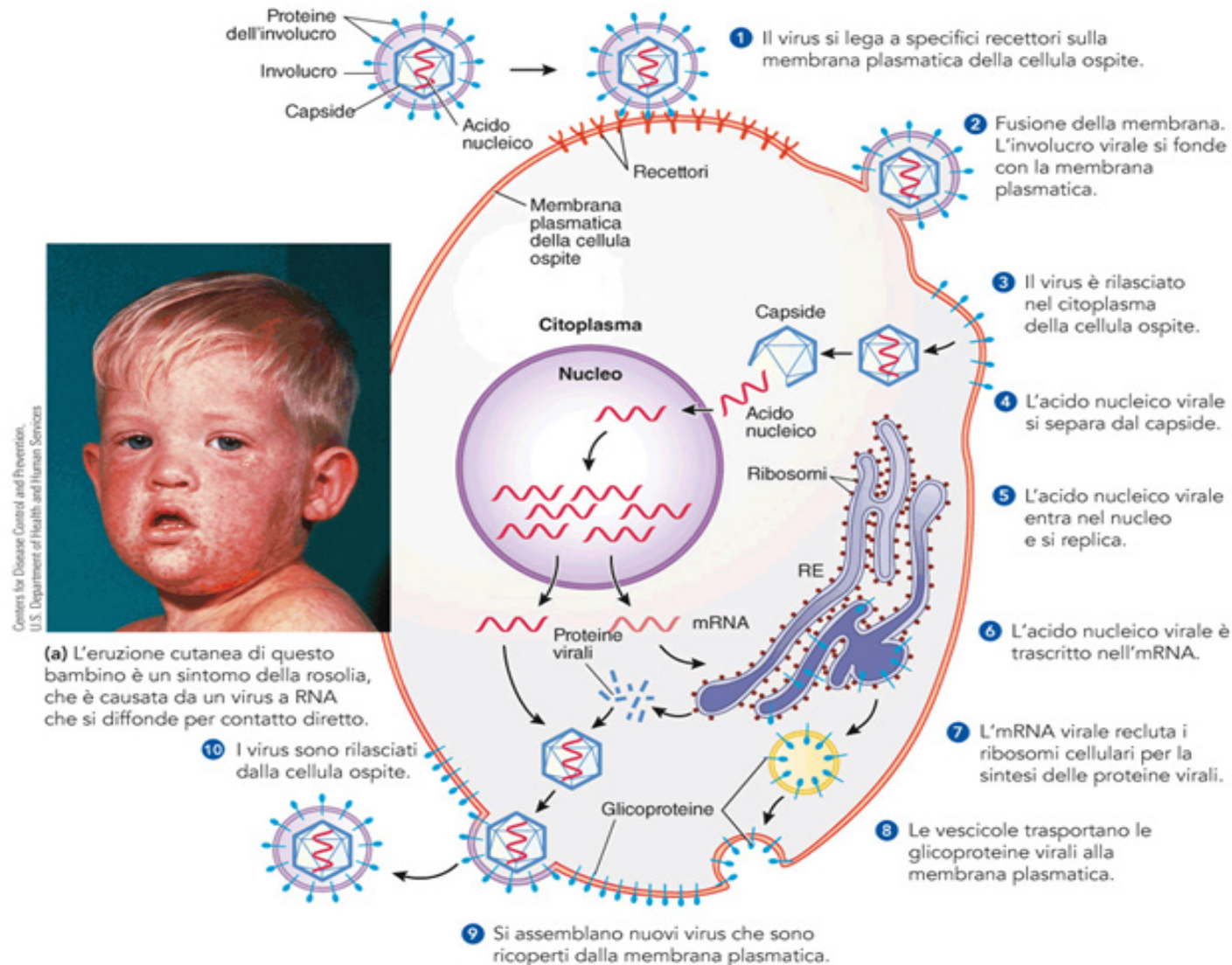
FIGURA 24-4 Il ciclo lisogenico

I fagi temperati integrano il loro acido nucleico nel DNA della cellula ospite, rendendola una cellula lisogenica.

Figura 19-6 I virus causano malattie negli animali

PUNTO CHIAVE

I virus si legano a specifiche proteine recettoriali nella membrana plasmatica della cellula animale. Poi l'involucro virale entra nella cellula attraverso la fusione con la membrana plasmatica.



Centers for Disease Control and Prevention, U.S. Department of Health and Human Services

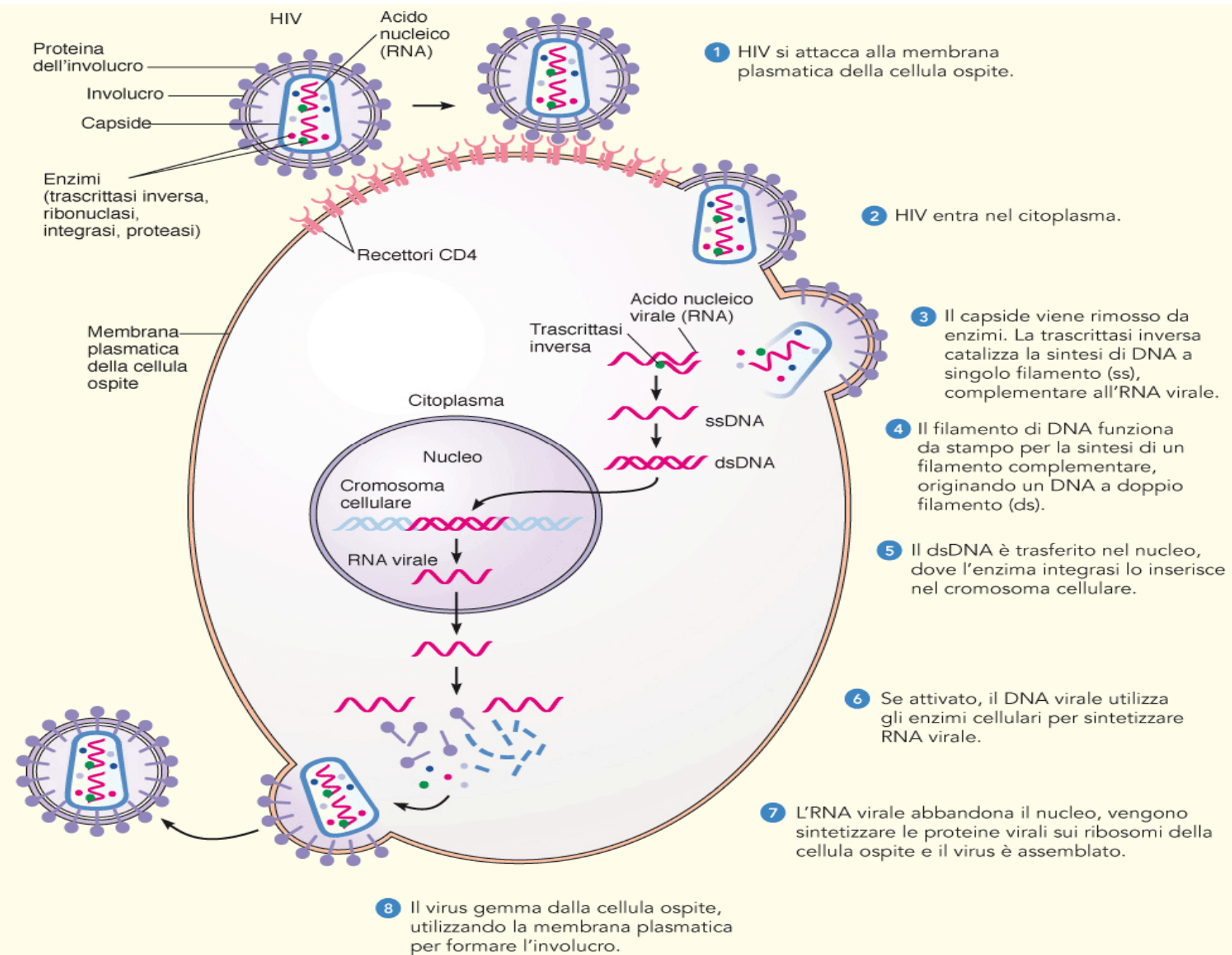
(a) L'eruzione cutanea di questo bambino è un sintomo della rosolia, che è causata da un virus a RNA che si diffonde per contatto diretto.

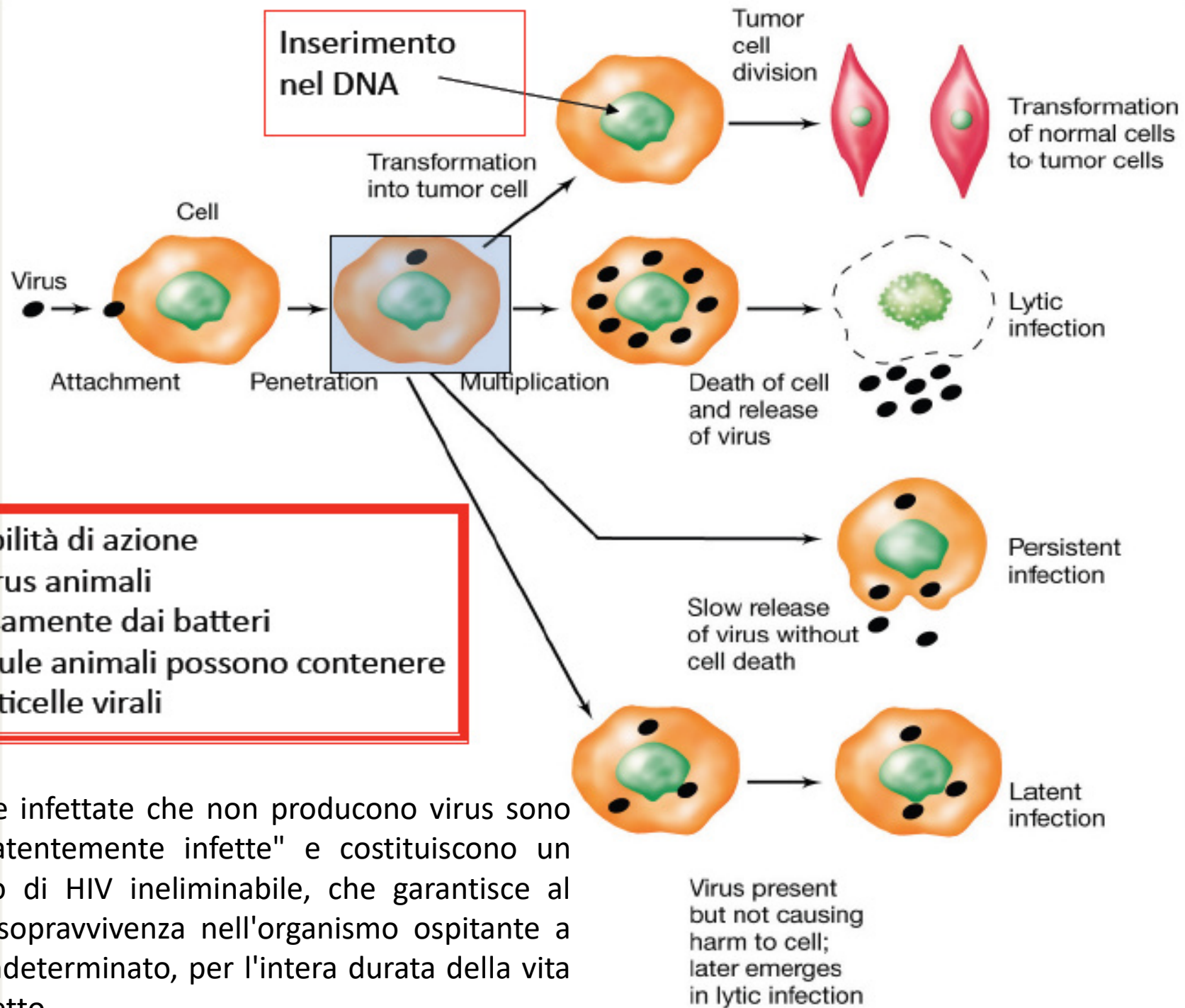
(b) Alcuni virus entrano nelle cellule animali per fusione delle membrane. Avviene la replicazione e vengono rilasciati i nuovi virus. I nuovi sono ricoperti dalla membrana plasmatica della cellula ospite.

IL VIRUS HIV AD RNA : CICLO LITICO E LISOGENO

PUNTO CHIAVE

I retrovirus utilizzano la trascrittasi inversa per trascrivere i loro RNA in DNA; il DNA virale si inserisce nel DNA dell'ospite. Quando viene attivato, il DNA virale utilizza enzimi dell'ospite per trascrivere l'RNA virale.





1

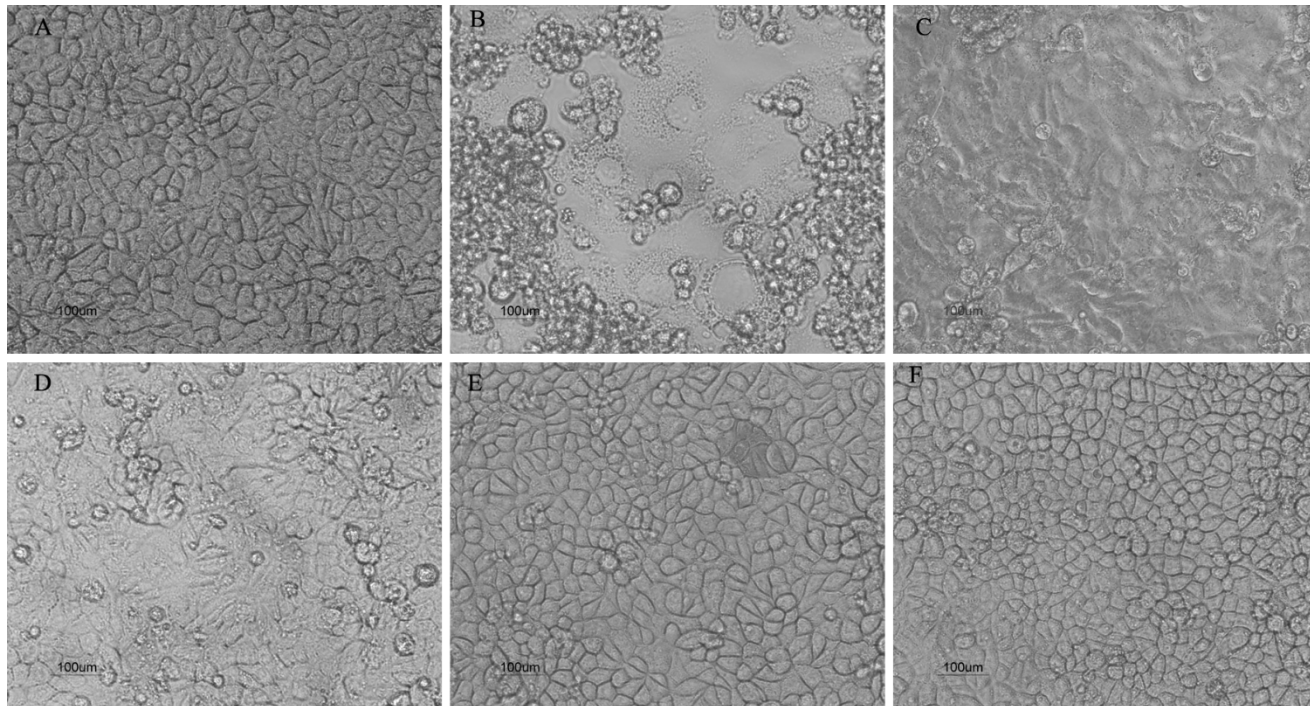
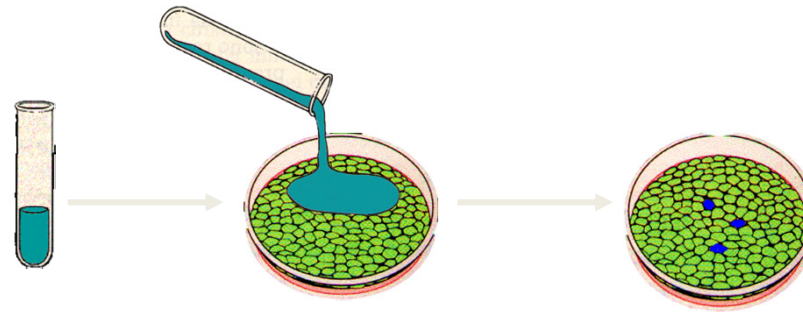
2

3

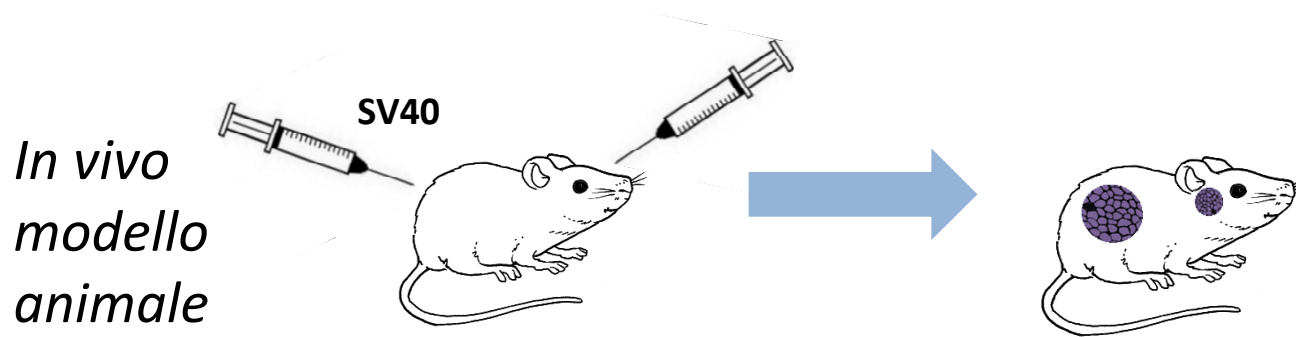
4

CICLO LITICO (SV40)

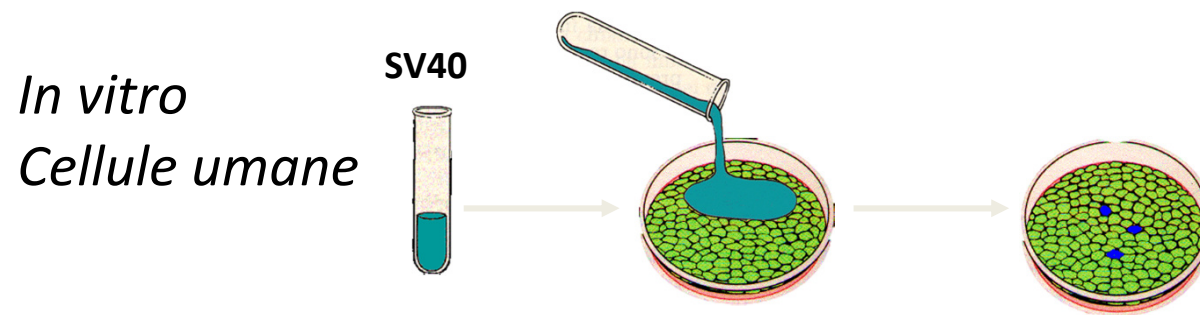
Le cellule di scimmia sono PERMISSIVE all'infezione virale
il virus compie l'intero ciclo litico con produzione di progenie virale



CICLO LISOGENO (SV40)



I roditori sono ospiti NON PERMISSIVI, si ha la genesi di tumori in base alla via di inoculazione (glioblastomi, mesoteliomi, osteosarcomi, linfomi)



Le cellule umane sono SEMIPERMISSIVE al virus, subiscono la trasformazione ma mostrano comportamenti diversi:

- Fibroblasti
- Cellule mesoteliali
- Linfociti

Il poliomavirus SV40



TABELLA 24-1 Alcuni virus che infettano i vertebrati

Gruppo	Malattia causata	Caratteristiche
Virus a DNA con involucro		
Poxvirus	Vaiolo, vaiolo bovino*, vaiolo delle scimmie, alcune malattie del pollame di rilevanza economica	dsDNA; virus grandi e complessi; si replicano nel citoplasma della cellula ospite
Herpesvirus	Herpes labiale (virus herpes simplex di tipo 1); herpes genitale, una malattia a trasmissione sessuale (virus herpes simplex di tipo 2); varicella e fuoco di S. Antonio (virus varicella-zoster); mononucleosi infettiva e linfoma di Burkitt (virus di Epstein-Barr)	dsDNA; virus da medi a grandi, dotati di involucro; si replicano nel nucleo della cellula ospite [†]
Virus a DNA senza involucro		
Adenovirus	Malattie del tratto respiratorio (es., mal di gola, tonsilliti), congiuntiviti e malattie gastrointestinali sono causate da oltre 40 tipi di adenovirus nell'uomo; altre varietà infettano altri animali	dsDNA; si replicano nel nucleo dell'ospite
Papovavirus [‡]	Verruche umane ed alcune malattie degenerative del cervello; alcuni causano il cancro, incluso quello della cervice	dsDNA
Parvovirus	Infezioni in cani, maiali, artropodi e roditori; gastroenteriti nell'uomo (trasmessi attraverso il consumo di molluschi infetti)	ssDNA; alcuni necessitano di un virus "helper" per moltiplicarsi
Virus a RNA con involucro		
Togavirus	Rosolia (Morbillo tedesco)	ssRNA che può fungere da mRNA; gruppo ampio e diversificato di virus di media grandezza dotati di involucro; molti sono trasmessi dagli artropodi
Orthomyxovirus	Influenza nell'uomo e negli altri animali	ssRNA che funge da stampo per la sintesi di mRNA; virus di media grandezza spesso dotati di spine che si estendono all'esterno
Paramyxovirus	Morbillo e parotite nell'uomo; cimurro nei cani	ssRNA; simili agli Orthomyxovirus, ma un po' più grandi
Rhabdovirus	Rabbia	ssRNA
Coronavirus	Infezioni alle alte vie respiratorie; SARS	ssRNA; i più grandi virus ad RNA noti
Flavivirus	Febbre gialla; virus di West Nile; epatite C (la causa più comune di trapianto di fegato negli Stati Uniti)	ssRNA
Filovirus	Febbre emorragica, inclusa quella causata dal virus Ebola	ssRNA
Bunyavirus	Encefalite di St. Louis; sindrome polmonare da hantavirus (causata dal virus Sin Nombre, un hantavirus)	ssRNA
Retrovirus	AIDS; alcuni tipi di cancro	ssRNA; virus dotati della trascrittasi inversa per trascrivere l'RNA genomico in DNA; due molecole identiche di ssRNA
Virus a RNA senza involucro		
Picornavirus	Poliomielite (poliovirus); epatite A (virus dell'epatite A); disturbi intestinali (enterovirus); raffreddore comune (rhinovirus); meningite asettica (coxsackievirus, echovirus)	ssRNA che può fungere da mRNA; gruppo diversificato di piccoli virus
Reovirus	Vomito e diarrea; encefalite	dsRNA

Viroidi e prioni sono particelle infettanti piu' semplici dei virus

I **viroidi** sono stati scoperti agli inizi degli anno'70.

Essi causavano malattie nelle piante.

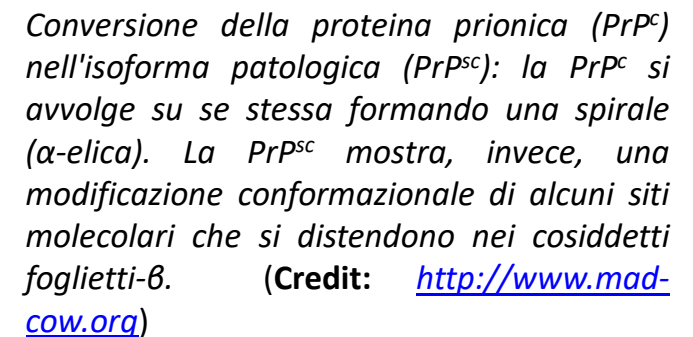
I viroidi sono Costituiti da RNA circolare da 200 a 400 basi che non codificano per proteine.

I **prioni** sono molecole proteiche normalmente presenti sulle cellule nervose.

La forma patogena della proteina sembra in grado di indurre la trasformazione della controparte causando encefalopatie spongiformi.

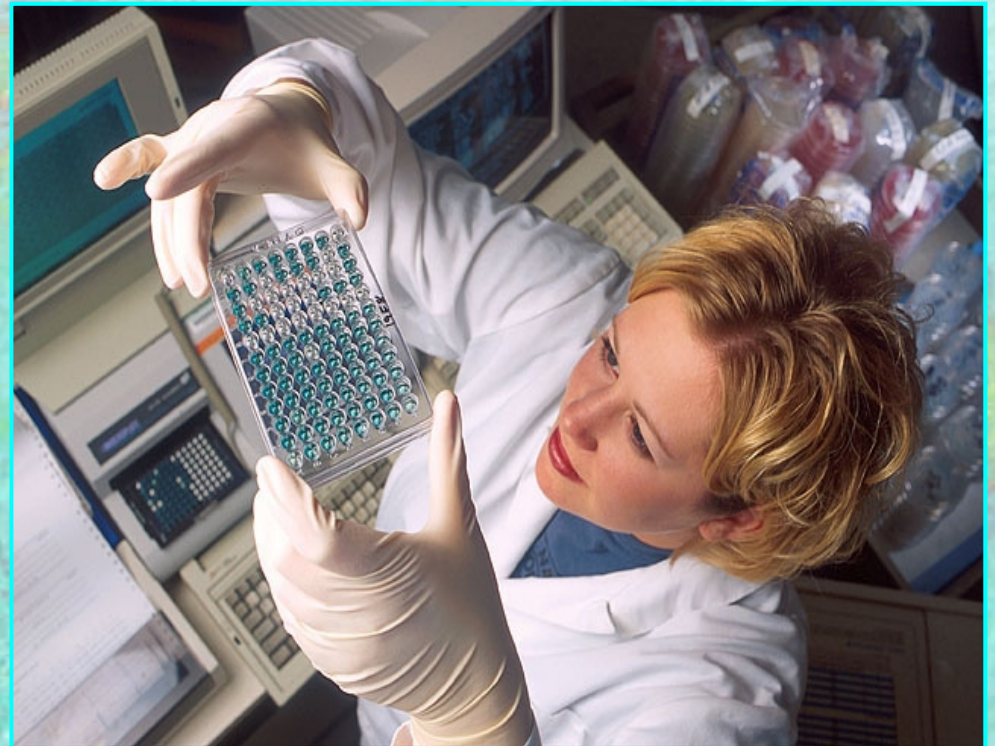
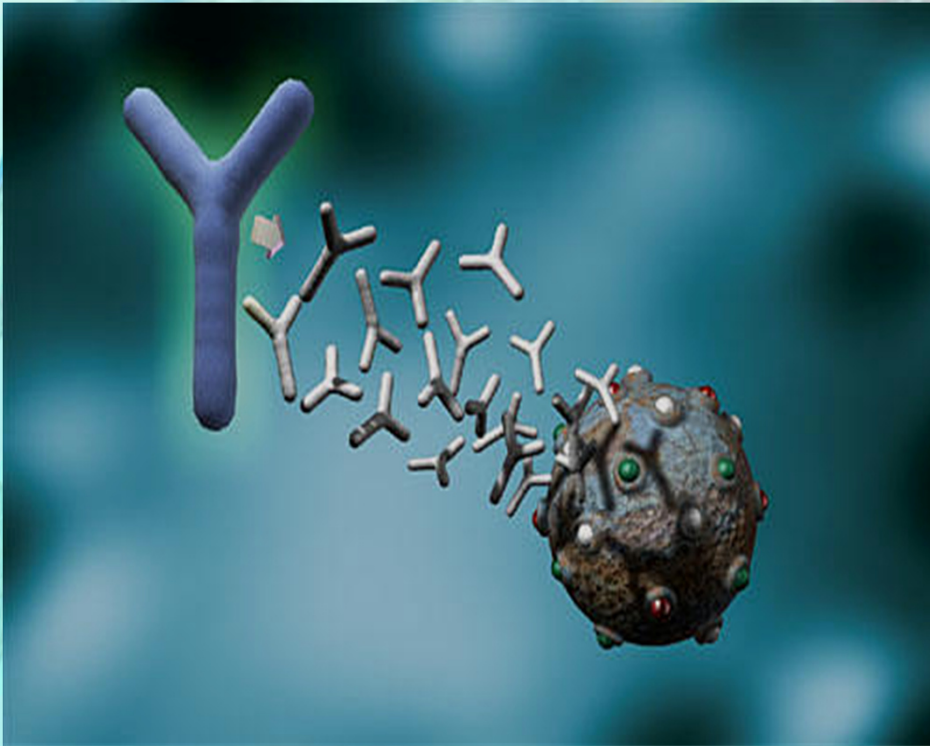
Cosi' un individuo sano si ammala quando in contatto con tessuto malato.

Alla fine degli anni '80 è comparsa l'encefalopatia bovina definita dai media «morbo della mucca pazza» dovuta ai prioni



ELISA è un acronimo *enzyme-linked immunosorbent assay*
(saggio immuno-assorbente legato ad un enzima)

**SAGGIO PER DOSARE GLI ANTICORPI CONTRO UN
PARTICOLARE VIRUS**



Saggi Immunologici ⁽¹⁾

I saggi immunologici sono un gruppo di tecniche analitiche basate su specifiche interazioni anticorpi/antigeni che producono un segnale misurabile che può essere riferito alla concentrazione di un composto in soluzione

c

c Gli anticorpi possono essere monoclonali o policlonali e possono essere diretti verso molecole molto specifiche o verso una intera classe di molecole

SAGGI ELISA INDIRETTI PER LA DETERMINAZIONE DEGLI ANTICORPI

- L'antigene viene purificato e legato alla piastra.
- Si aggiunge il siero/plasma da analizzare. Se presenti, le immunoglobuline specifiche per l'antigene formano il complesso antigene-anticorpo.
- Le molecole che non si sono legate vengono eliminate tramite lavaggi.
- Si aggiunge un secondo anticorpo marcato, che abbia specificità per le immunoglobuline della specie da cui il siero/plasma testati derivano. Il secondo anticorpo si lega al complesso antigene-anticorpo immobilizzato sulla piastra.
- La quantificazione avviene misurando la quantità di anticorpo secondario legato, grazie all'utilizzo di substrati colorimetrici.

Saggi Immunologici ⁽²⁾

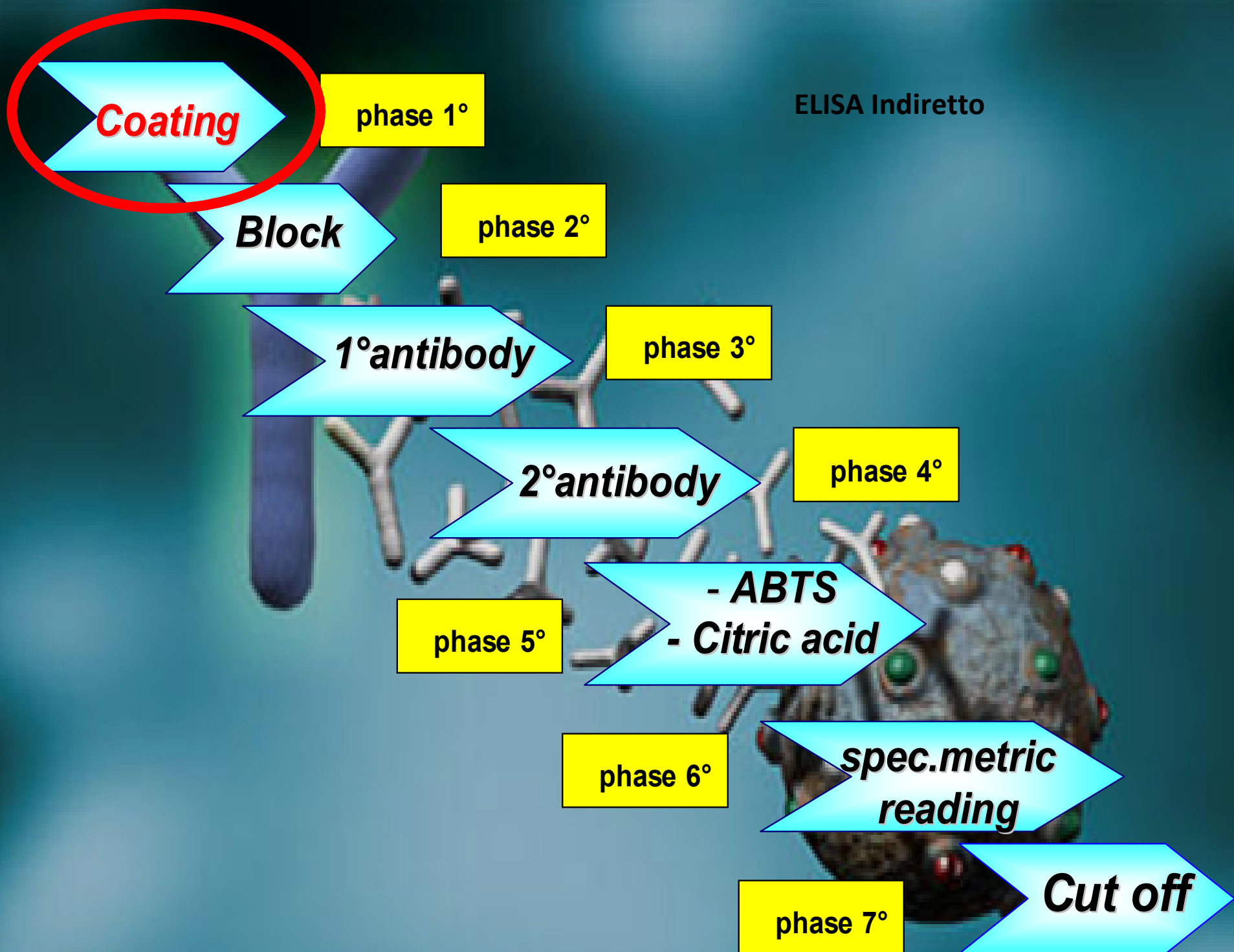
POTENZIALITA'

- Applicazione in tutte le aree del laboratorio
- Estrema specificità del riconoscimento biologico
- Buona sensibilità; larga gamma di prove
- Facilmente automatizzato con applicazioni su molte piattaforme di strumenti
- In molti casi non c'è bisogno di preparazione del campione
- Efficiente
- Economico

ELISA INDIRETTO



ELISA Indiretto



grazie!

