

Virus

I virus (dal latino “veleno”) sono parassiti endocellulari obbligati, entità molecolari che sono a metà strada tra il mondo dei viventi e dei non viventi. Per certi aspetti non sembrano appartenere ai domini dei viventi ma non si riscontrano nel mondo non vivente; quindi non appartengono a nessun dominio. Sono stati detti virus perché scoperti come agenti patogeni non batterici in grado di infettare le piante di tabacco. Furono scoperti con l’invenzione del microscopio elettronico, perché hanno dimensioni nell’ordine dei nanometri (da 10 a 400 nm), per cui non sono osservabili al microscopio ottico. Non sono formati da cellule e non hanno nucleo, organelli, citoplasma e membrana plasmatica propria. Sono in grado di riprodursi solamente se infettano un organismo ospite. Non presentano attività metabolica, quindi non sono in grado di trasformare energia; infatti producono solamente le proteine necessarie alla loro replicazione. Possiedono materiale genetico, DNA o RNA, ma non presentano il flusso del materiale genetico che rispecchia il dogma centrale della biologia (DNA → RNA → proteine). Quando infettano la cellula ospite acquistano la capacità dei viventi di riprodursi; sono anche in grado di evolversi, perché il loro materiale genetico è soggetto a variazione.

Origine

Esistono tre ipotesi per quanto riguarda l’origine dei virus:

- Ipotesi progressiva: si sarebbero evoluti da elementi genetici capaci di replicazione autonoma (plasmidi e trasposoni), che avrebbero acquisito proprietà infettive con l’evoluzione.
- Ipotesi regressiva: sarebbero forme degenerate di parassiti intracellulari. I loro genomi si sarebbero progressivamente ridotti in quanto la maggior parte delle funzioni utili alla riproduzione virale vengono fornite dalla cellula ospite. Quindi avrebbero mantenuto solamente gli elementi molecolari necessari per l’infezione, cioè le proteine e il materiale genetico.
- Ipotesi indipendente: si sarebbero evoluti parallelamente a procarioti ed eucarioti a partire da molecole di RNA in grado di auto-replicarsi, che si sarebbero trasformate in agenti infettivi.

Struttura

Sono formati da un involucro esterno di natura proteica, il capside, costituito da aggregati di proteine monomeriche, dette capsomeri. Gli agenti virali hanno forma variabile e ciò ne permette la classificazione. Oltre al rivestimento proteico alcuni possono presentare un involucro membranoso

che è un doppio strato fosfolipidico, detto pericapside. Se i virus presentano questo rivestimento sono detti rivestiti; se invece è assente sono detti nudi. Il rivestimento non è mai di origine virale ma deriva dalla cellula ospite nel momento in cui il virus esce da essa, solitamente per esocitosi. Nel doppio strato vanno ad inserirsi proteine di origine virale, come ad esempio glicoproteine di membrana che facilitano l'ingresso nella cellula ospite. All'interno del capsido (core) si trova il materiale genetico, RNA o DNA, a singolo o a doppio filamento, circolare o lineare. Alcuni virus possiedono enzimi associati necessari per l'infezione e la replicazione virale; sono presenti solitamente nei virus a RNA. Il genoma virale codifica per le proteine del capsido e del pericapside; inoltre codifica per gli enzimi che provocano la rottura della membrana della cellula infettata (se il rilascio non avviene per esocitosi) e per quelli utili a replicare l'RNA (contraddicendo il dogma centrale della biologia).

Classificazione dei virus

I virus si classificano in base a:

- Spettro d'ospite (animali, vegetali, batteri, funghi)
- Forma o simmetria (icosaedrica, elicoidale, complessa)
- Tipo di acido nucleico (DNA o RNA)

Solitamente la classificazione per materiale genetico è quella più utilizzata perché condiziona l'infezione dell'ospite. Tutte le cellule viventi possono essere infettate da virus, ma questi sono specie-specifici, quindi non solo riconoscono il tipo di cellula (vegetale, animale), ma anche il tipo di tessuto che andranno ad infettare. Pertanto si utilizza questa peculiarità come altro metodo di classificazione.

I virus quindi si possono distinguere in base all'organismo nel quale si riproducono in:

- batteriofagi (o fagi), che infettano i batteri; sono stati i primi ad essere studiati poiché l'interazione con i batteri, organismi unicellulari, è più semplice di quella con gli eucarioti.
- virus vegetali, che infettano le cellule delle piante (come il virus del mosaico del tabacco)
- virus animali, che infettano le cellule animali (come l'Herpes virus, che provoca la varicella)

Il virus riconosce la cellula che deve infettare legando il suo marker di superficie a un recettore presente sulla cellula (solitamente proteine transmembrana specifiche). In seguito il virus rilascia il materiale genetico all'interno della cellula o vi entra direttamente. Le aziende farmaceutiche

conducono ricerche sui marker di superficie virali per tentare di evitare il riconoscimento marker-recettore, così da scongiurare l'infezione.

I virus classificabili in base alla forma o simmetria presentano strutture diverse: quelli che infettano le cellule vegetali sono solitamente elicoidali, di forma cilindrica; per quelli animali la forma è solitamente icosaedrica, mentre i batteriofagi presentano una struttura più complessa: la testa è icosaedrica, e poggia su una porzione tubolare cava avvolta da una guaina contrattile. Questa è seguita da una piastra esagonale connessa con cinque o sei lunghe fibre, dette fimbrie, che permettono al batteriofago di aderire alla superficie del batterio.

Per quanto riguarda la classificazione in base al materiale genetico, il DNA o RNA virale può essere sia singolo che a doppio filamento. Anche la sua organizzazione può variare; infatti il DNA può essere circolare, lineare o frammentato, mentre invece l'RNA solamente lineare.

Batteriofagi

I batteriofagi sono divisi in virus batterici che danno vita ad un ciclo litico e virus batterici che danno vita ad un ciclo lisogeno.

Quelli del ciclo litico (fagi virulenti) danno origine ad un processo di replicazione virale che poi provoca la morte della cellula stessa. Il ciclo comincia con una fase di attacco, in cui il virus si lega al batterio. Tramite contrazione della guaina caudale il DNA virale viene inserito all'interno del batterio, degradando quello cellulare. Quindi il DNA virale, sfruttando il proprio apparato enzimatico assieme a quello enzimatico e metabolico della cellula ospite, si replica tramite la DNA polimerasi cellulare. Parte delle molecole di DNA neosintetizzate viene trascritta dall'RNA polimerasi per sintetizzare le proteine virali. In seguito vengono assemblati i nuovi fagi, pronti per andare ad infettare altre cellule. Il ciclo si conclude con la produzione di un lisozima che rompe il peptidoglicano del batterio, permettendo in tal modo l'ingresso del liquido extracellulare all'interno della cellula, che si rigonfia ed "esplode". Ciò provoca la fuoriuscita dei virus e la morte cellulare. Il DNA fagico è protetto da degradazione poiché contiene una forma modificata di citosina che non viene riconosciuta dall'enzima idrolitico.

Invece i virus del ciclo lisogeno, detti temperati, non provocano immediatamente la morte della cellula ospite ma prima integrano il proprio genoma in quello batterico tramite legami fosfodiesterici. In questa fase non avviene la formazione di nuovi elementi virali ed il DNA integrato viene detto profago, perché non produce nuovi fagi e non causa la morte della cellula, rimanendo silente. Infatti l'espressione del profago viene inibita da "repressori" della replicazione codificati dal genoma fagico. Nel momento in cui il batterio si replica accade lo stesso anche al profago, che viene

trasmesso alle cellule batteriche figlie. Quando le condizioni ambientali sono proibitive per il batterio il profago esce dal DNA dando via al ciclo litico; quindi avviene il rilascio dei fagi, che provoca un'infezione maggiorata. I virus possono compiere conversione lisogenica, per la quale il DNA virale integrato nel DNA batterico (che tendenzialmente è silente) può esprimere alcuni geni codificanti, esponendo le relative proteine che in genere sono tossine. È un meccanismo di regolazione dell'espressione genica; infatti il gene virale espresso conferisce proprietà particolari al batterio. Un esempio è quello del botulismo, in cui solo il batterio *Clostridium botulinum* che contiene un determinato profago produce la tossina responsabile dell'intossicazione alimentare. Lo stesso accade per l'*Enterobacteria* fago λ (lambda), fago temperato che infetta il batterio *E. coli* presente nella nostra flora intestinale.

Virus animali

I virus degli animali sono molto diversi tra loro. Alcuni sono semplici particelle formate da proteine avvolte attorno a una molecola di acido nucleico. Altri presentano una membrana, derivata dalla membrana plasmatica della cellula ospite precedentemente infettata (virus rivestiti). Di solito il genoma virale degli agenti virali animali è piccolo e codifica poche proteine. Dopo l'adesione i virus rivestiti entrano nella cellula tramite endocitosi mediata da recettore (come accade per il colesterolo) o fusione del pericapside con la membrana cellulare; quindi penetrano completamente all'interno della cellula. Possono realizzare il ciclo litico o quello lisogeno; in questo caso il genoma virale integrato in quello della cellula eucariota ospite prende il nome di provirus.

Il 70% dei virus animali sono a RNA. Per contrastare il virus a DNA i vaccini stimolano la produzione di una proteina che si oppone all'agente virale. Purtroppo ciò non è una soluzione contro i virus a RNA, che costituiscono la maggior parte dei virus animali, poiché mutano rapidamente a differenza di quelli a DNA. Questo perché l'RNA polimerasi, a differenza della DNA polimerasi, non presenta un sito di attività esonucleasica 3'--> 5' (detta di correzione di bozze o proofreading) e perciò le mutazioni sono più frequenti. Solitamente i virus animali vengono classificati in base al pericapside e al tipo di genoma.

Virus animali a DNA (doppio o singolo filamento)

Le classi di virus a DNA a singolo e a doppio filamento (lineare o circolare) ricalcano il dogma centrale della biologia. Affinché possano essere sintetizzate le nuove proteine virali è prima necessario che avvenga la sintesi di nuovi messaggeri virali. Quindi l'agente virale a doppio filamento, una volta entrato nella cellula, replica il proprio DNA tramite la DNA polimerasi della cellula ospite. Le molecole di acido nucleico neosintetizzate andranno a

costituire il genoma delle nuove particelle virali. Una parte di queste molecole viene utilizzata per compiere la trascrizione di molecole di mRNA tramite RNA polimerasi, allo scopo di sintetizzare le proteine necessarie ai nuovi virus. Ugualmente accade per quelli a singolo filamento, che prima di cominciare il processo di infezione replicano il filamento tramite DNA polimerasi, trasformandolo in una molecola a doppio filamento. La replicazione del DNA virale avviene nel nucleo cellulare con l'eccezione dei poxvirus: in questo caso ha luogo nel citoplasma grazie alla sintesi di una DNA polimerasi specifica. Spesso la trascrizione dei virus a DNA avviene ad opera della RNA polimerasi cellulare ma alcuni virus, come i poxvirus, possiedono una RNA polimerasi specifica, facente parte del patrimonio enzimatico virale.

I virus a DNA sono più semplici di quelli a RNA; compiono ciclo lisogeno o penetrano nella cellula ospite in forma quiescente, come il virus dell'Herpes simplex, formando una molecola di DNA circolare extracromosomica. In questo caso non avviene un'integrazione tra il DNA del virus e quello della cellula ospite (provirus), anche se il processo è simile al ciclo lisogeno. In determinate condizioni, come un periodo prolungato di stress, il DNA virale si riattiva e comincia il ciclo litico.

Virus animali a RNA

I virus animali a RNA possiedono RNA a singolo filamento + o -. Quelli a singolo filamento + possiedono una sola molecola di RNA che, una volta entrata nell'organismo da infettare, può fungere da mRNA e quindi essere usata direttamente per sintetizzare proteine. Sia nelle cellule eucariotiche che procariotiche sono presenti solo RNA polimerasi-DNA dipendenti (cioè che non possono usare RNA come stampo). Il filamento (+), oltre alle altre proteine necessarie, codifica anche la Replicasi (RNA polimerasi RNA dipendente), assente nei procarioti e negli eucarioti. Per cui la copia complementare - è riutilizzata per amplificare il filamento +. La Replicasi inizialmente sintetizza RNA negativi usando come stampo il filamento positivo del genoma, e poi li usa come stampi per produrre ulteriori molecole positive che costituiranno i genomi della progenie virale. Le proteine sintetizzate sono i capsomeri, i costituenti del capsido. Quest'ultimo, una volta riempito del materiale genetico, andrà a formare le nuove particelle virali.

I virus a ssRNA (single-strand RNA; RNA a singolo filamento) positivo presentano modificazioni tipiche dei messaggeri eucariotici: 7-metilguanosa (cap) al 5' e coda di poli-A al 3'.

Nella maggior parte dei virus a RNA la replicazione avviene nel citoplasma, a differenza di quella dei virus a DNA che passa per il nucleo.

Per i virus a RNA di tipo - invece l'RNA genomico non può funzionare come mRNA né le cellule ospiti hanno polimerasi capaci di trascrivere mRNA usando come stampo RNA. Quindi, per superare il problema, questi virus

portano nel loro capsida alcune molecole di Replicasi (RNA polimerasi RNA dipendente); questa inizialmente sintetizza RNA positivo, che funge da messaggero, e da esso in seguito sintetizzerà gli RNA negativi costituenti il genoma della progenie virale.

Retrovirus (HIV)

I retrovirus sono virus a singolo filamento di RNA + che differiscono da tutti gli altri poiché sintetizzano i propri mRNA e replicano il proprio genoma passando attraverso un intermedio a DNA. Sono peculiari anche per il fatto di essere "diploidi". Infatti, nel loro capsida sono presenti sempre due filamenti di RNA. Sono associati al genoma anche la trascrittasi inversa (DNA polimerasi-RNA dipendente) e tRNA di origine virale, il quale svolge la funzione di primer per la sintesi del DNA virale. Ciò accade per permettere l'integrazione del genoma virale in quello della cellula ospite (provirus). Un esempio è quello del virus HIV, che compie ciclo lisogenico; esso provoca la cosiddetta sindrome da immunodeficienza acquisita (AIDS), in quanto colpisce le cellule immunitarie (linfociti T). È formato da un pericapsida e un capsida, al cui interno è presente un genoma costituito da 2 molecole di RNA identiche, 2 trascrittasi inverse e 2 molecole di tRNA-primer. La trascrittasi inversa utilizza l'RNA come stampo ed il tRNA come primer per sintetizzare un primo filamento di DNA, funzionando quindi da DNA polimerasi RNA dipendente. Si crea quindi un ibrido DNA-RNA. L'enzima presenta anche attività esonucleasica, tramite la quale degrada l'RNA dell'ibrido, che sostituisce con una molecola di DNA neosintetizzata, funzionando quindi da DNA polimerasi DNA dipendente; quindi la trascrittasi inversa presenta tre siti catalitici. Poi il DNA virale si integra nel genoma dei linfociti t, e resta quiescente. In realtà non lo è totalmente, poiché qualche gene virale viene comunque espresso e i linfociti col tempo muoiono, riducendosi progressivamente. Infatti è stato riscontrato che i sieropositivi che si sottopongono alle cure prima che il virus si manifesti hanno un'aspettativa di vita più lunga. Quindi il dogma centrale della biologia è contemplato solamente dalle cellule eucariote e procariote e dagli enzimi DNA polimerasi DNA dipendente e RNA polimerasi DNA dipendente.

Viroidi e prioni (agenti infettivi subvirali)

Sono state scoperte molecole di RNA circolare privo di capsida che da sole sono in grado di causare alcune patologie; esse sono dette viroidi, agenti patogeni più piccoli e più semplici dei virus. Sono agenti infettivi molto resistenti grazie ad un forte impacchettamento del proprio RNA; inoltre sfruttano tutto il corredo enzimatico della cellula ospite. Per di più sono state riscontrate patologie neurodegenerative causate da agenti infettivi di natura proteica, detti prioni, che ad esempio provocano la BSE (Bovine Spongiform

Encephalopathy), nota come morbo della mucca pazza. Le proteine prioniche causano l'insorgenza di patologie neurodegenerative quando alterano la propria struttura nativa. La proteina prionica (il cui gene è presente nel genoma di tutti i mammiferi, tra cui l'uomo) quando viene prodotta in forma normale ha una struttura secondaria prevalente ad alfa elica; è presente soprattutto nei tessuti nervosi dove ha probabilmente un ruolo nel metabolismo del rame. La proteina modificata ha una struttura secondaria prevalente a foglietto beta; è nociva per l'organismo ed è di gran lunga più resistente alle proteasi, perciò è meno degradabile. Essa viene sintetizzata da chi ha mangiato carni infette ed interagisce con quella normale, facendole assumere la sua stessa conformazione. I prioni mal ripiegati quindi provocano un sistema a feed-back positivo: a causa della loro elevata resistenza alle proteasi si accumulano nei tessuti nervosi, poiché sono insolubili, e precipitano formando agglomerati, detti placche amiloidi, e provocando la morte cellulare per apoptosi. È questo il fenomeno che causa il tipico aspetto spongiforme del cervello. Le malattie prioniche sono difficilmente debellabili poiché distruggere queste proteine è estremamente complesso. Esse resistono al calore (quindi anche alla cottura), alle radiazioni e agli agenti chimici; possono essere eliminati solamente tramite metodi mortali per l'uomo. La malattia si manifesta dopo anni, ed è quindi impossibile determinarne l'origine. Solitamente passa alle mucche da altri carni infette, come ad esempio tramite farine di origine animale, e quindi compie salti di specie arrivando infine all'uomo.