

Vírus e Viróides

Jorge A. M. Rezende

Vírus - histórico



Hieroglifo egípcio
3700 a.c.

Vacinas Sabin e Salks



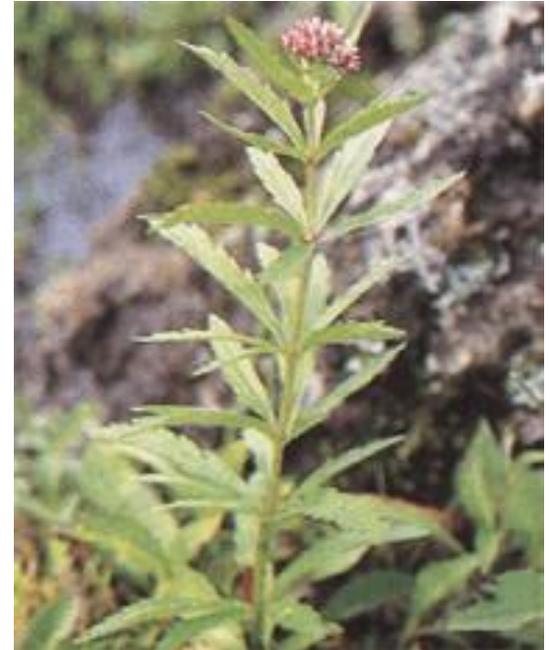
Rhamses V
Egito, 1146 a.c.

Evolução: 68.000 - 16.000 anos

Edward Jenner, 1789: primeira vacina
Erradicada em 1980



752: Poema amarelo do *Eupatorium lindleyanum*
"Tobacco leaf curl virus"



Asteraceae

1600 - 1660: "Tulipomania" na Holanda ("Tulip breaking virus", 1926)



Fig. 1. *Tulip Planting in Spring* by Pieter Brueghel, the Younger. Reproduced with permission from Scala/Art Resource, New York.

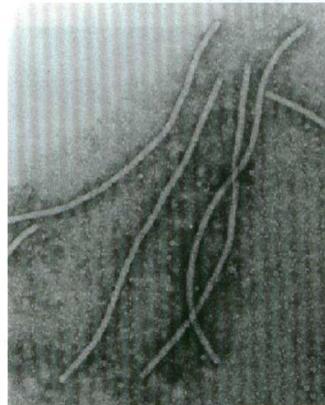


Fig. 9. Negatively stained virions of *Tulip breaking virus*. The particles are filamentous, usually flexuous, 750 to 775 nm long and 14 nm wide. Reproduced from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/Wintkey/images/a1.gif>



Fig. 10. Flower-breaking symptoms in *Tulip breaking virus*-infected tulips (Madame Spoor). Light and dark breaking symptoms can be observed. Reproduced from Brunt et al. (9).

VALORES DE MECADORIAS = TULIPA RARA (Semper Augustus) Panfleto de 1636

Guilders (Dutch florins)

8 porcos gordos	240
4 bois gordos	480
12 carneiros gordos	120
24 ton. de trigo	448
48 ton. de cevada	558
2 barris de vinho	70
4 barris de cerveja	32
2 ton. de manteiga	192
~500 Kg de queijo	120
Um copo de prata	60
Um “pacote” de roupas	80
Uma cama, colchão e roupa de cama	100
Um barco	500
TOTAL	3000

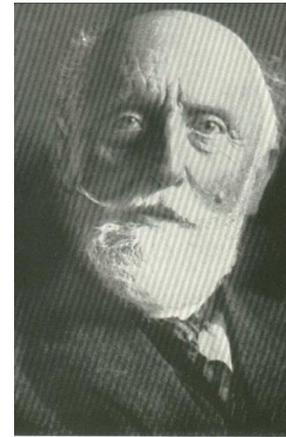
Lesnaw & Ghabrial, 2000

3000 Florins = US\$ 900.000,00

(Hull, R., 2009)

1886: ADOLF MAYER

Transmissão agente causal
mosaico do fumo por injeções

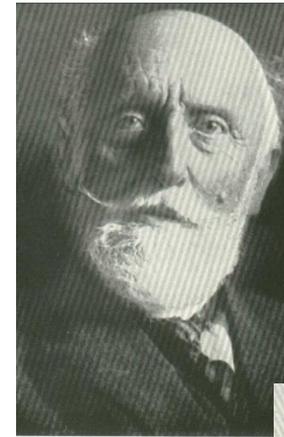


ADOLF MAYER



1886: ADOLF MAYER

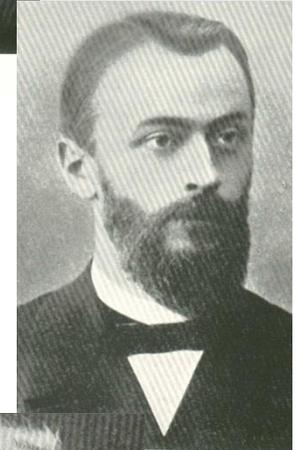
Transmissão agente causal
mosaico do fumo por injeções



ADOLF MAYER

1892: DMITRI IVANOWISKI

Agente do mosaico do fumo passa
por filtro que retém bactéria

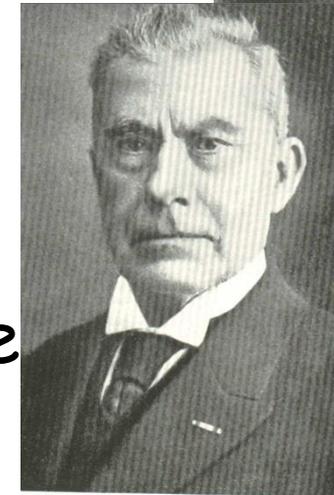


IVANOWSKI

1898: MARTINUS BEIJERINK

Repetiu testes. Agente difundiu-se
em gel de agar.

FLÚIDO VIVO CONTAGIOSO



MARTINUS WILLEM BEIJERINCK

1935: STANLEY

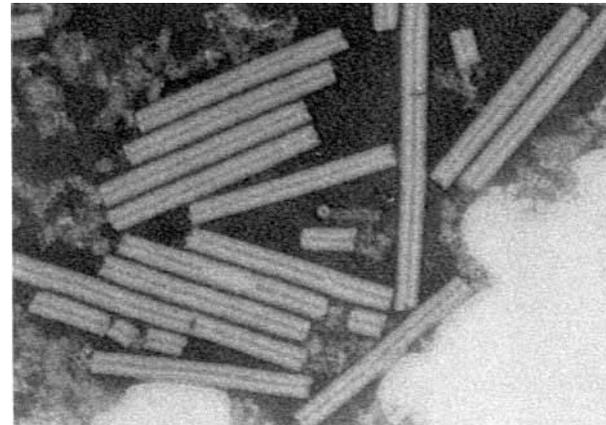
**Purificou TMV,
continha proteína
PRÊMIO NOBEL**



**1935: BAWDEN & PIRIE
TMV continha RNA**

**Na TV - 1960
Infeccioso**

**1939: KAUCHE ET AL
TMV no ME**



Vírus - importância

- Infectam:

- Vertebrados: homem e outros animais

- Invertebrados

- Bactérias, fungos, algas, leveduras e protozoários

- Plantas

NOMENCLATURA E CLASSIFICAÇÃO

SITUAÇÃO ATUAL DA TAXONOMIA DE VÍRUS

Ordem = 7

Famílias = 96

Sub-família = 22

Gênero = 420

Espécies = 2.618

VIRÓIDES

Famílias = 2

Gêneros = 8

Espécies = 32

NOMENCLATURA E CLASSIFICAÇÃO

A. CONCEITO DE ESPÉCIE PARA VÍRUS:

“População de genótipos virais, que através da replicação, mutação e seleção adaptativa para um nicho ecológico particular (vertebrado, invertebrado, planta, etc), resulta numa linhagem divergente da fonte original. Compartilha diversas características, mas nenhuma delas necessita ser comum a todos os membros”.

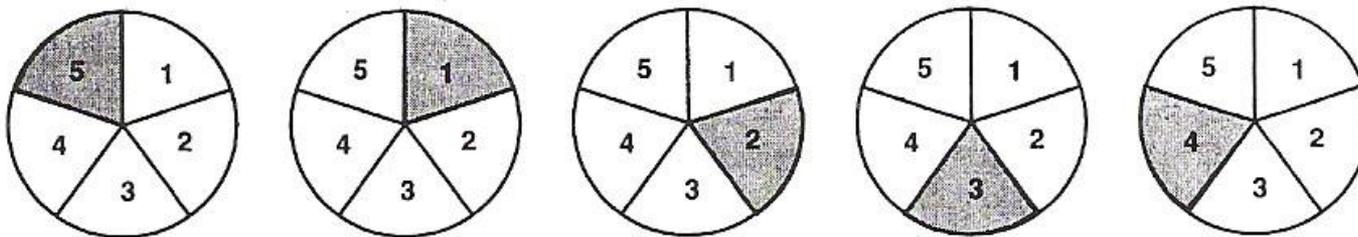


FIGURE 1

Schematic representation of five members of a polythetic class characterized by five properties, 1–5. Each member possesses several of these properties, but no single property is present in all the members of the class. This missing property in each case is represented by the gray sector.

B. CARACTERES UTILIZADOS PARA IDENTIFICAÇÃO DE FAMÍLIA E GÊNERO

Morfologia da partícula

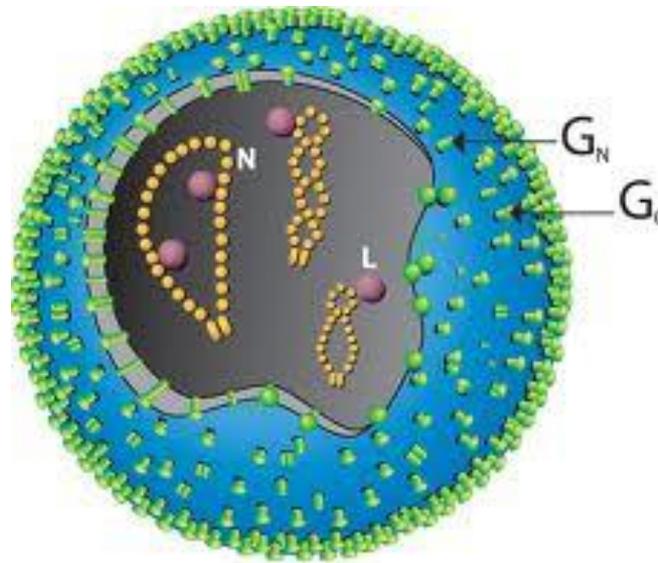
Organização do genoma

Método de replicação

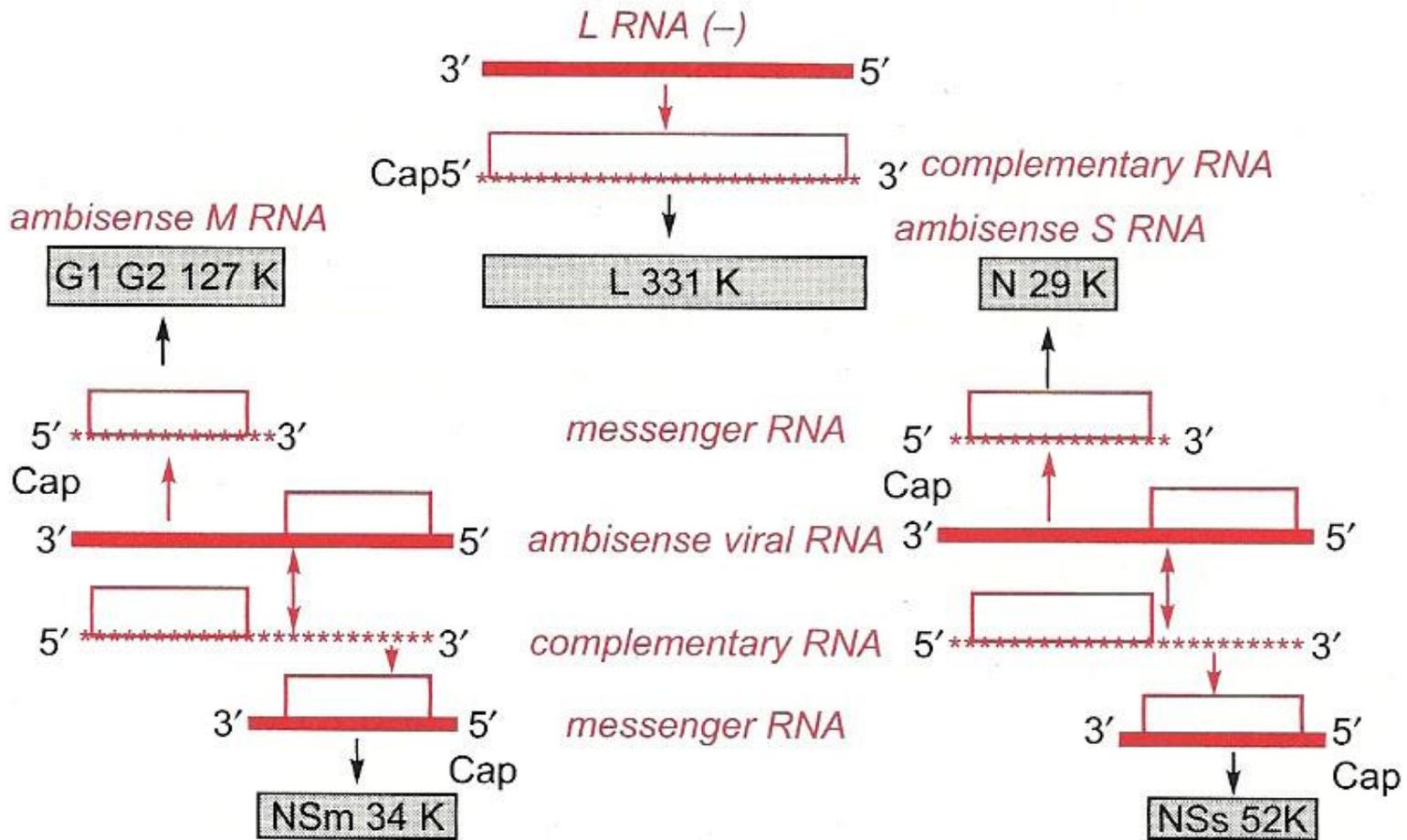
Número e tamanho das proteínas (estruturais e não estruturais)

Família *Bunyaviridae*

Compartilham: virion esférico ou pleomórfico, 80 – 120 nm de diâmetro, genoma constituído por três moléculas de RNA negativo ou ambisense, todos possuem 4 proteínas estruturais, projeções glicoproteicas, envelope proveniente do complexo de Golgi ou membrana celular, replicam-se no citoplasma.



GENOMA



GÊNEROS

Orthobunyavirus

Nairovirus

Phlebovirus

Replicam-se em vertebrados e artrópodes
Transmitidos por pernilongos, mosquitos
(Phebotominae), carrapatos

Hantavirus

Replicam-se em vertebrados, sem vetor
Hospedeiro primário roedores. Homem
sec. Transmitidos principalmente por
aerossol

Tospovirus

Replicam-se em plantas e tripes (inseto)
Transmitidos por tripes

C. CARACTERES UTILIZADOS PARA DISTINGUIR ESPÉCIES

Relacionamento da sequência do genoma

Círculo de hospedeiros naturais

Movimento na célula e tecidos

Patogenicidade e citopatologia

Modo de transmissão

Propriedades físico-químicas do virion

Propriedades antigênicas das proteínas

GÊNERO TOSPOVIRUS:

- Espécies \Rightarrow
- Sorologia/ Proteína N (nucleocapsídeo)
 - Sequência aa proteína N (<90% identidade)
 - Especificidade vetor
 - Circulo de hospedeiras

Ex: *Tomato spotted wilt virus*: Vira cabeça do tomateiro

GÊNERO HANTAVIRUS:

- Espécies \Rightarrow <93% de identidade aa gene glicoproteína e proteína N.
espécies não formam recombinantes

Ex: *Sin Nombre virus*: Síndrome pulmonar por hantavírus (mortal)

Peromyscus maniculatus



ORTOGRAFIA

BOX 1.5

EXAMPLE OF VIRUS CLASSIFICATION, NOMENCLATURE AND ORTHOGRAPHY

Taxa	Example	Suffix
Order	<i>Mononegavirales</i>	<i>-virales</i>
Family	<i>Rhabdoviridae</i>	<i>-viridae</i>
Subfamily		<i>-virinae</i>
Genus	<i>Nucleorhabdovirus</i>	<i>-virus</i>
Species	<i>Sonchus yellow net virus</i>	
Acronym	SYNV	

Picornavirales

Picornaviridae

Enterovirus

Human enterovirus C (poliovirus)

Vírus - o vírion

Vírion = partícula viral em sua forma extracelular

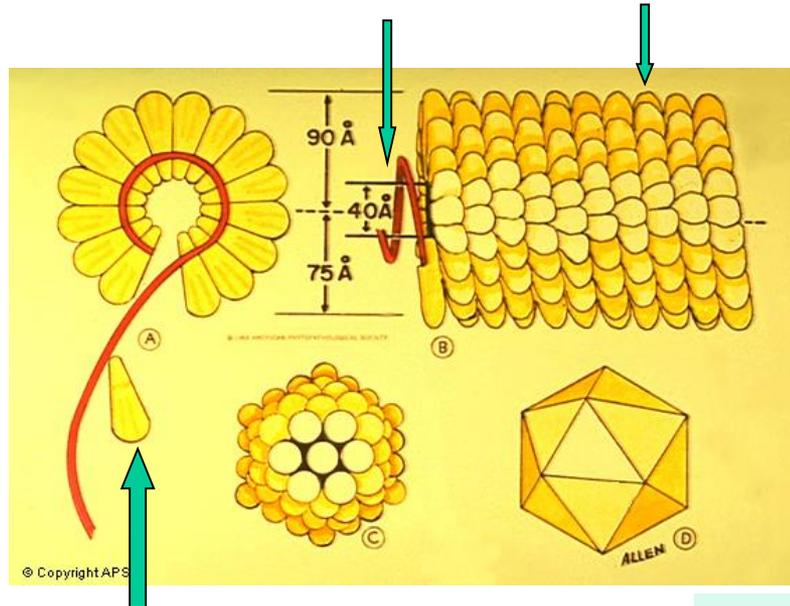
Ácido nucléico

RNA ou DNA

Fita simples

Fita dupla

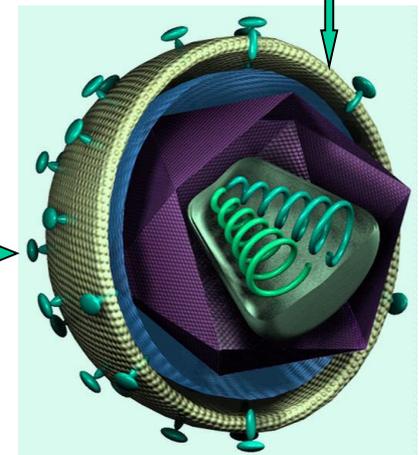
Ácido nucléico Capa protéica



Capsômero

Envelope

Espículas



- Capa protéica

- Envelope (alguns)

- Espículas (alguns)

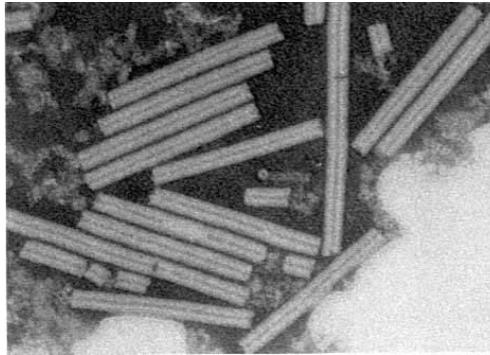
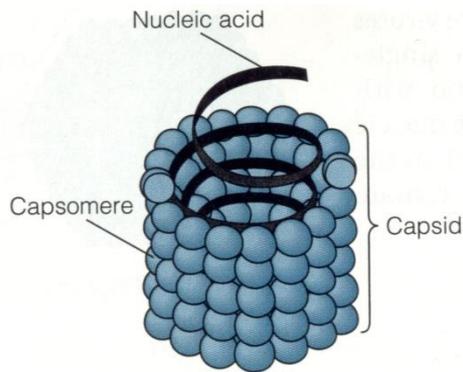
- Replicação na hospedeira

- Parasitas obrigatórios

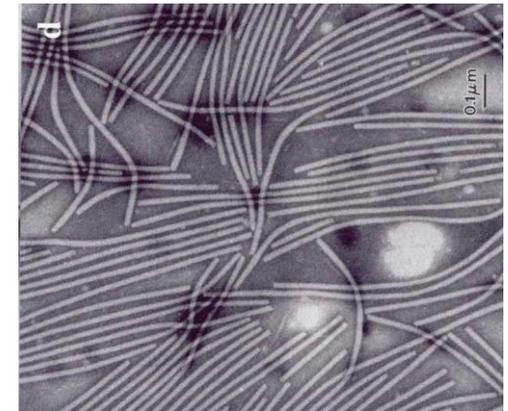
- Visualizados somente no microscópio eletrônico

Vírus - Formas Básicas

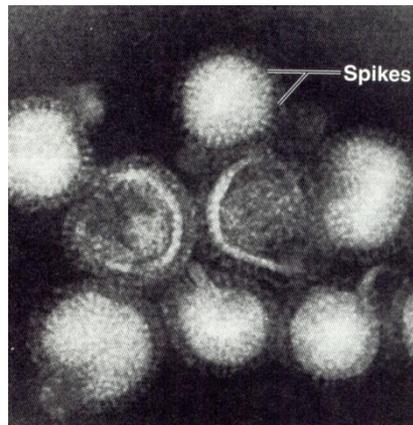
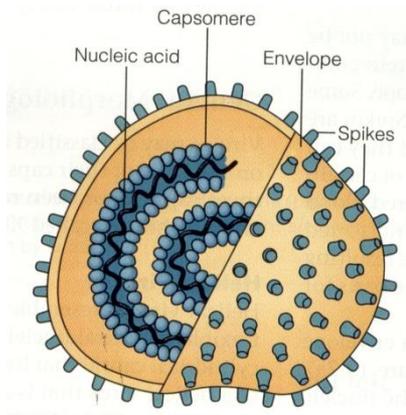
1. Helicoidal: rígido ou flexuoso com ou sem envelope



RÍGIDO (TMV)



FLEXUOSO

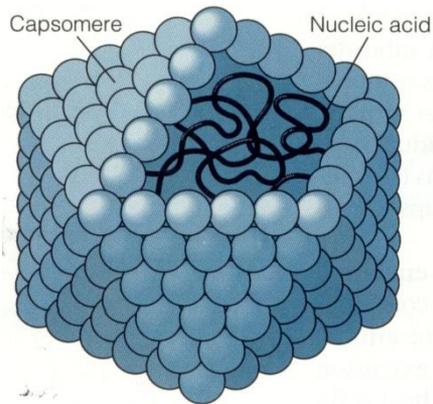


Influenzavirus

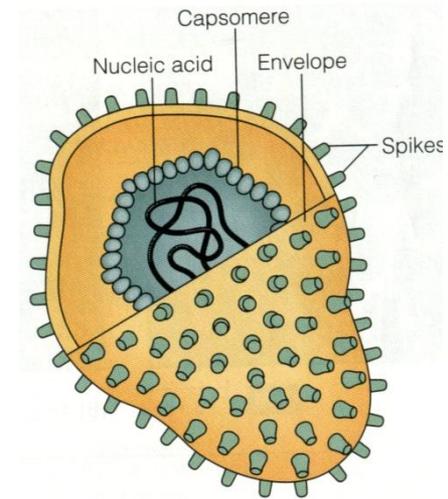
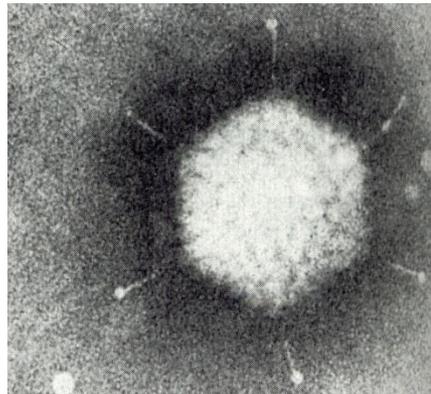
ISOMÉTRICO (Esférico)

Vírus - Formas Básicas

2. Poliédrico: Icosaédrico (maioria)

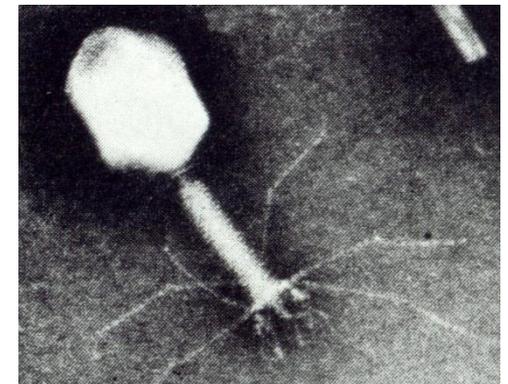
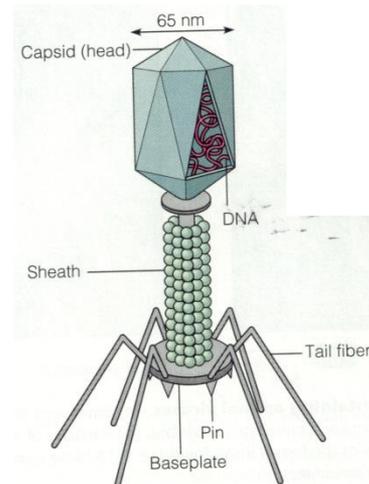


Sem envelope

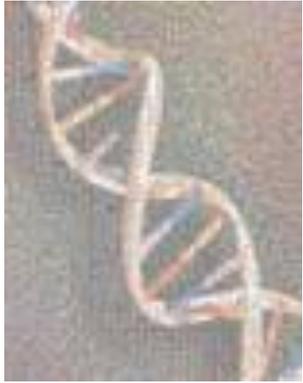


Com envelope

3. Complexa



Características do genoma



- o Ácido nucléico pode ser fita dupla ou simples
RNAs; RNAd; DNAs e DNAd
- o RNAs: positiva ou negativa
- o O ácido nucléico pode estar segmentado
- o Genoma pequeno
- o Genes codificam proteínas:
 - o Estruturais = capa protéica
 - o Não estruturais = RNA polimerase;
transcriptase reversa (HIV);
lisosima (bacteriófagos); etc

Características do genoma- Tamanho

Tobamovirus	RNA	6.395 nt
Poliovirus	RNA	7.433 nt
HIV	RNA	9.200 nt
Variola virus	DNA	150.000 nt

Vírus - entrada na célula

A. Vírus de animal

a) Adsorção: contacto com a célula

Proteínas ou glicoproteínas da partícula.

Receptores na superfície da célula.

(glicoproteínas ou lipoproteínas)

b) Penetração: entrada no citoplasma

- Vírus sem envelope: translocação por endocitose

- Vírus com envelope:

Endocitose: Partícula é presa numa invaginação da célula, e liberada dentro desta na forma de vesícula.

Fusão: envelope viral funde-se com a membrana e o virion passa diretamente para dentro.

Poliovirus

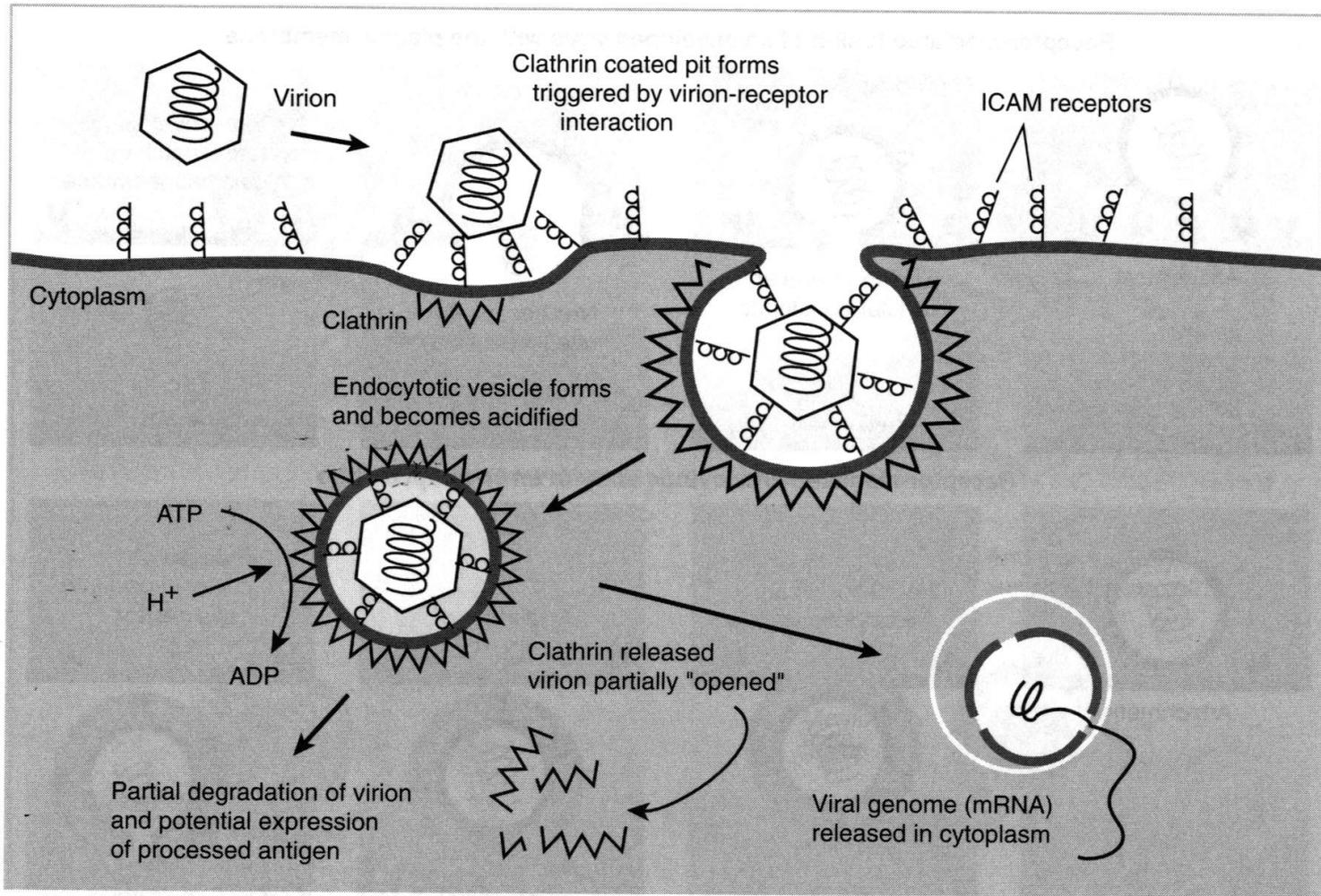


Fig. 6.2 Schematic of receptor-mediated endocytosis utilized by poliovirus for entry into the host cell. The endocytotic vesicle forms as a consequence of close association between the poliovirus-receptor complex and the plasma membrane.

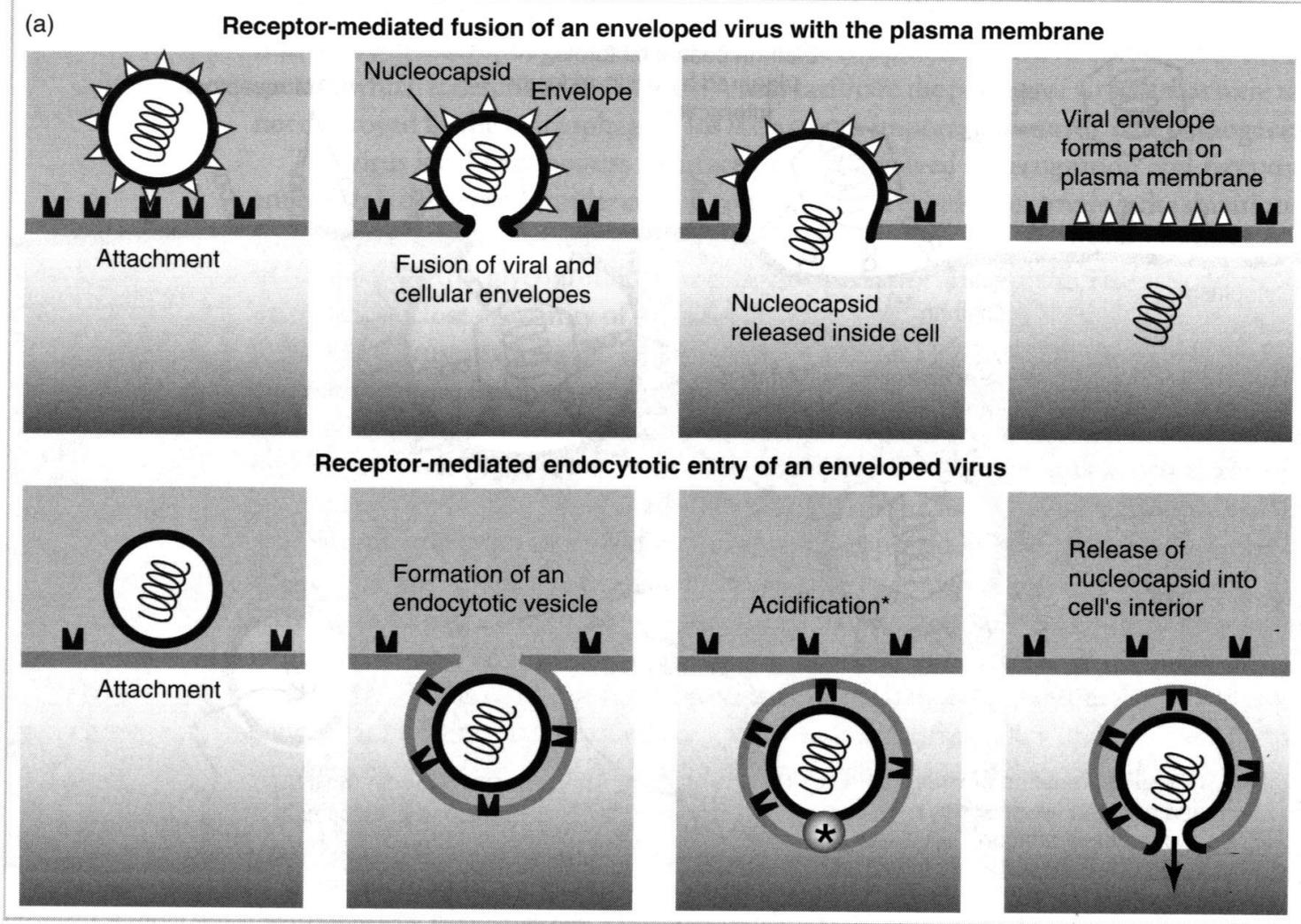


Fig. 6.3 *a.* The two basic modes of entry of an enveloped animal virus into the host cell. Membrane-associated viral glycoproteins either can interact with cellular receptors to initiate a fusion between the viral membrane and the cell plasma membrane, or can induce endocytosis. The fate of the input virus membrane differs in the two processes. *b.* The fusion of pseudorabies virus with the plasma membrane of an infected cultured cell is shown in this series of electron micrographs (the bars represent 150 nm). Although each electron micrograph represents a single event “frozen in time,” a logical progression from the initial association between viral envelope glycoproteins and the cellular receptor on the plasma membrane through the fusion event is shown. The final micrograph contains colloidal gold particles bound to antibodies against the viral envelope glycoproteins (dense dots). With them, the envelope can be seen clearly to remain at the surface of the infected cell. (Micrographs reprinted with the kind permission of the American Society for Microbiology from Granzow, H., Weiland, F., Jöns, A., Klupp, B., Karger, A., and Mettenleiter, T. Ultrastructural analysis of the replication cycle of pseudorabies virus in cell culture: a reassessment. *Journal of Virology* 1997;71:2072–82.)

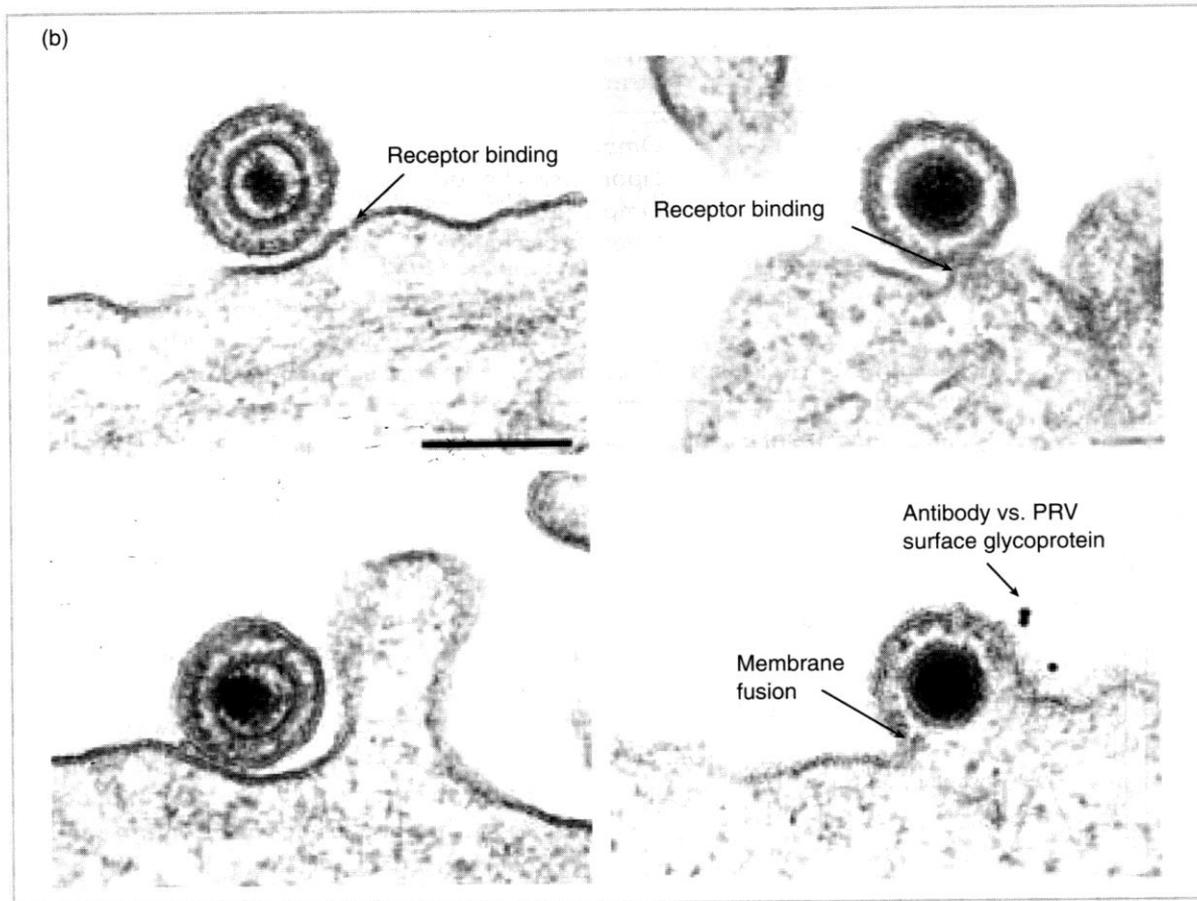


Fig. 6.3 *Continued*

Fig. 6.3 *a.* The two basic modes of entry of an enveloped animal virus into the host cell. Membrane-associated viral glycoproteins either can interact with cellular receptors to initiate a fusion between the viral membrane and the cell plasma membrane, or can induce endocytosis. The fate of the input virus membrane differs in the two processes. *b.* The fusion of pseudorabies virus with the plasma membrane of an infected cultured cell is shown in this series of electron micrographs (the bars represent 150 nm). Although each electron micrograph represents a single event “frozen in time,” a logical progression from the initial association between viral envelope glycoproteins and the cellular receptor on the plasma membrane through the fusion event is shown. The final micrograph contains colloidal gold particles bound to antibodies against the viral envelope glycoproteins (dense dots). With them, the envelope can be seen clearly to remain at the surface of the infected cell. (Micrographs reprinted with the kind permission of the American Society for Microbiology from Granzow, H., Weiland, F., Jöns, A., Klupp, B., Karger, A., and Mettenleiter, T. Ultrastructural analysis of the replication cycle of pseudorabies virus in cell culture: a reassessment. *Journal of Virology* 1997;71:2072–82.)

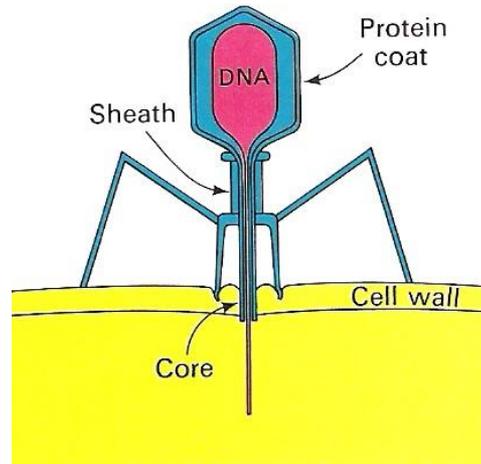
B. Vírus de bactéria (bacteriófagos)

a) Adsorção

Fibras longas: reconhecimento e aderência na célula.
Glicoproteínas, lipopolissacarídeos,

b) Penetração

c) Retirada da capa protéica



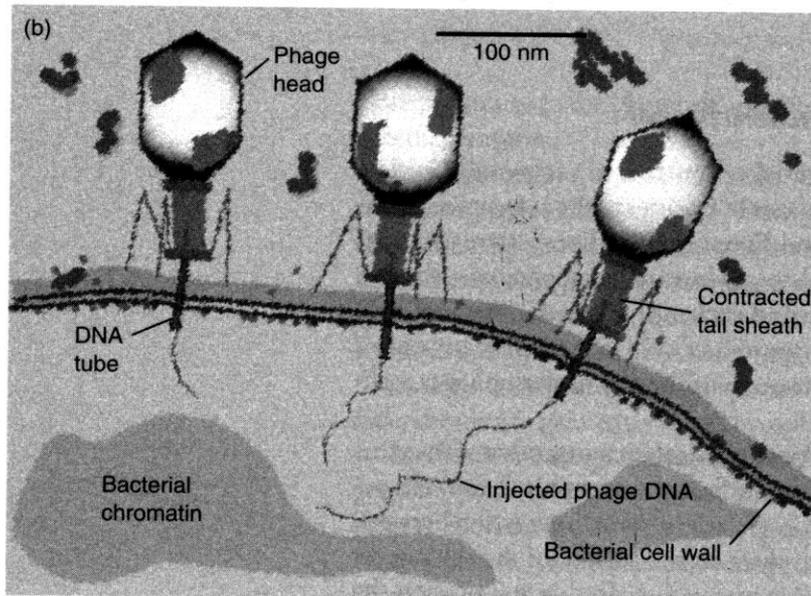
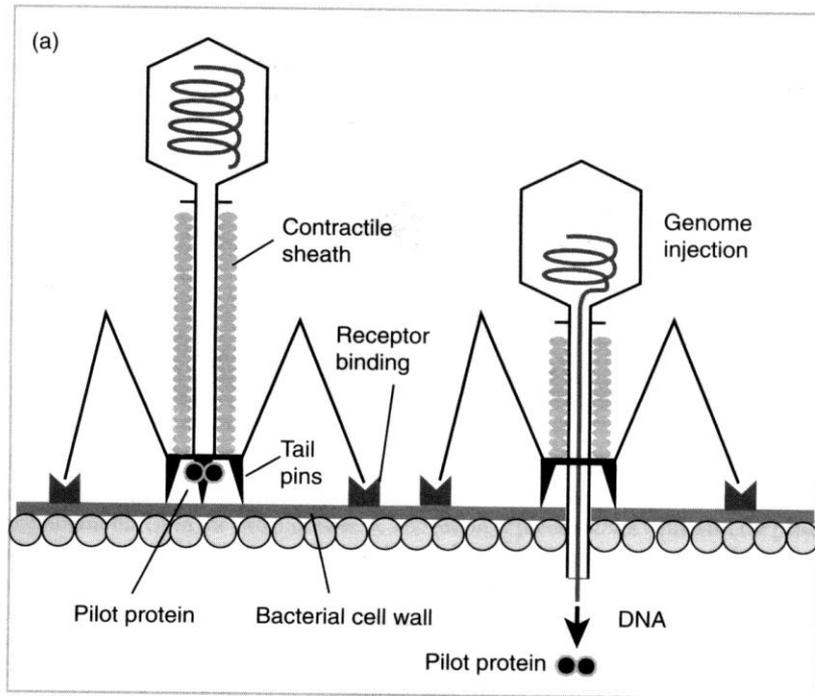


Fig. 6.4 Entry of T4 bacteriophage DNA into an *E. coli* cell. Initial attachment is between the fibers to the ompC lipopolysaccharide receptor on the bacterial cell wall (a). The binding of protein pins on the base plate to the cell wall leads to contraction of the tail fibers and sheath proteins, leading to insertion of the tail tube through the cell wall. As shown in the electron micrograph (b), phage pilot protein (arrow) allows the highly charged viral DNA genome to penetrate the bacterial plasma membrane and enter the cell. Phage DNA can be seen as shadowy lines emanating from the tail tube. (From Dimmock, N.J., and Primrose, S.B. *Introduction to Modern Virology*, 4th edn. Boston: Blackwell Science, 1994.)

C. Vírus de plantas : inoculação por ferimento

a) Adsorção

- Não há evidências de que a capa protéica tem função de reconhecimento ou adsorção.
- Não há evidências de que há receptores de vírus nas células da planta.

b) Penetração

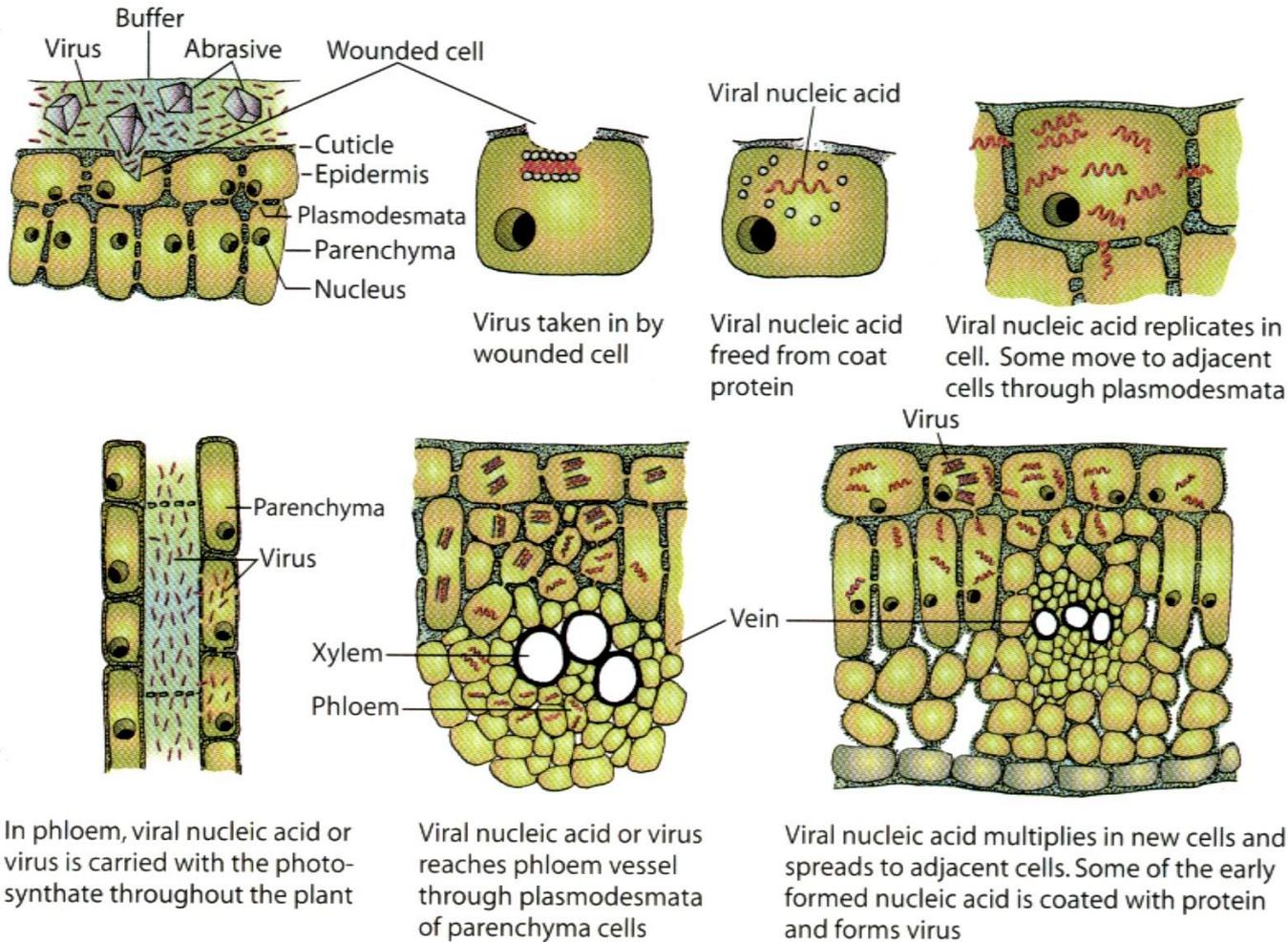
- Dano na parede celular: entrada direta.

c) Retirada da capa protéica

- Ácido nucleico é retirado da capa em alguns minutos.

INOCULAÇÃO POR FERIMENTO

Transmissão mecânica experimental

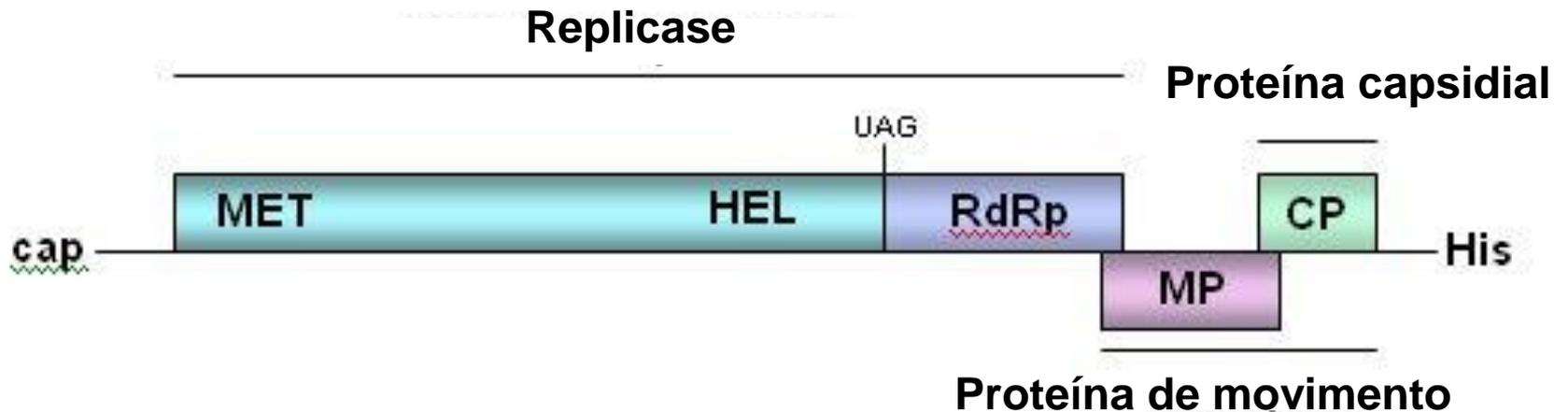


Vetor



Ciclo de uma partícula viral RNA fs(+)

Organização do genoma viral Modelo: *Tobacco mosaic virus* (TMV)



6.395 nt

ETAPAS DO CICLO DE REPLICAÇÃO DO TMV

1. O TMV entra na célula por ferimentos;
2. A capa protéica é retirada e ao mesmo tempo os ribossomos traduzem o RNA para síntese das replicases (RP);
3. As replicases transcrevem o RNA viral (fs+) produzindo cópias complementares (RNAfs-);
4. O RNAfs- serve de molde para gerar RNA viral (fs+);
5. Ao mesmo tempo o RNAfs- serve de molde para gerar RNAs sub-genômicos, que serão usados para sintetizar as proteínas de movimento (MP) e capsidial (CP);
6. Parte do RNA viral (fs+) é encapsulado pelas proteínas capsidias;
7. Parte do RNA viral é “protegido” pela proteína de movimento para mover-se para a célula vizinha e novo ciclo de replicação.

ROTAS PARA A EXPRESSÃO DE GENOMAS VIRAIS

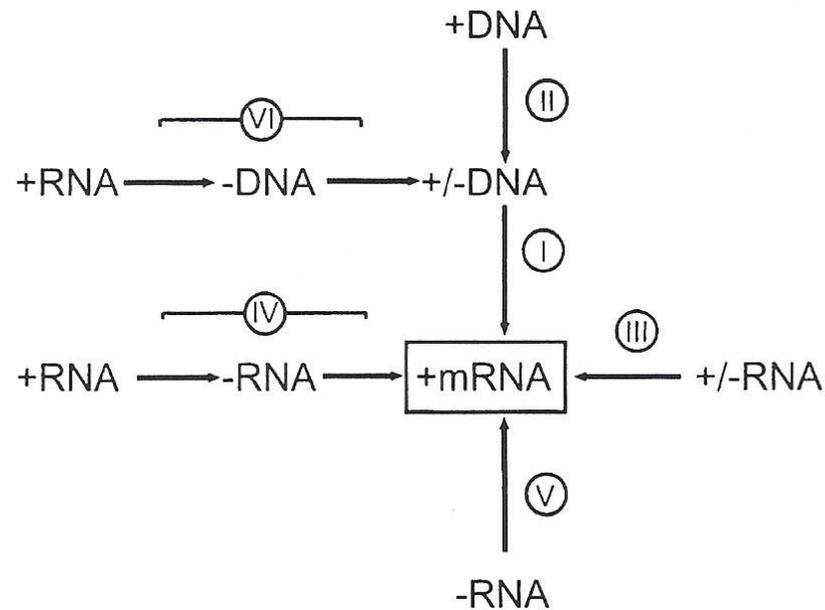


Fig. 7.1 Routing of viral genome expression through mRNA. Route I is transcription of dsDNA usually by host DNA-dependent RNA polymerase. Route II is the transcription of ssDNA to give the dsDNA template for I (e.g. geminiviruses). Route III is transcription of dsRNA, usually by virus-coded RdRp (e.g. reoviruses). Route IV is replication of (+)-strand RNA via a (-)-strand template by virus-coded RdRp—the viral (+) strand is often the template for early translation (the (+)-strand RNA viruses). Route V is transcription of (-)-strand virus genome by virus-coded RdRp (e.g. tospoviruses). Route VI is reverse transcription of RNA stage of retro- and pararetro-viruses leading to the dsDNA template for mRNA transcription. From Baltimore (1971), with permission.

ETAPAS DO CICLO DE REPLICAÇÃO DE OUTROS VÍRUS

Consulta extra-classe

A. Replicação de vírus animal: HIV

<http://www.youtube.com/watch?v=cXbKa1iBjt8>

B. Replicação de Bacteriófago Lambda e outros vírus

www.blackwellpublishing.com/wagner/animation.asp#

Vírus - disseminação

A. VÍRUS DE PLANTAS



Afídeos (pulgões)



Mosca branca



Tripes

Outros vetores: Ácaros; Cigarrinhas; Besouros; Fungos; Nematóides

- Sementes: 1/7 dos vírus, taxa variável
- Pólen
- Propagação vegetativa e enxertia
- Mecânica: operações culturais

Vírus - disseminação

B. VÍRUS DO HOMEM

VÍRUS	VETOR	HOSPEDEIRO
Poliovirus	Fezes humana (água/alimento)	Homem
HIV	Injeção direta no sangue	Homem
Catapora	Aerossol	Homem
Febre amarela	Mosquito	Macaco tropical
Dengue	Mosquito	Homem, mosquito, primata
Hepatite A	Fezes humana (água/alimento)	Homem
Hepatite B e C	Injeção direta no sangue	Homem
Raiva	Mordida animal infectado	Vertebrado
Rhinovirus (resfriados)	Aerossol	Homem

VIRÓIDES

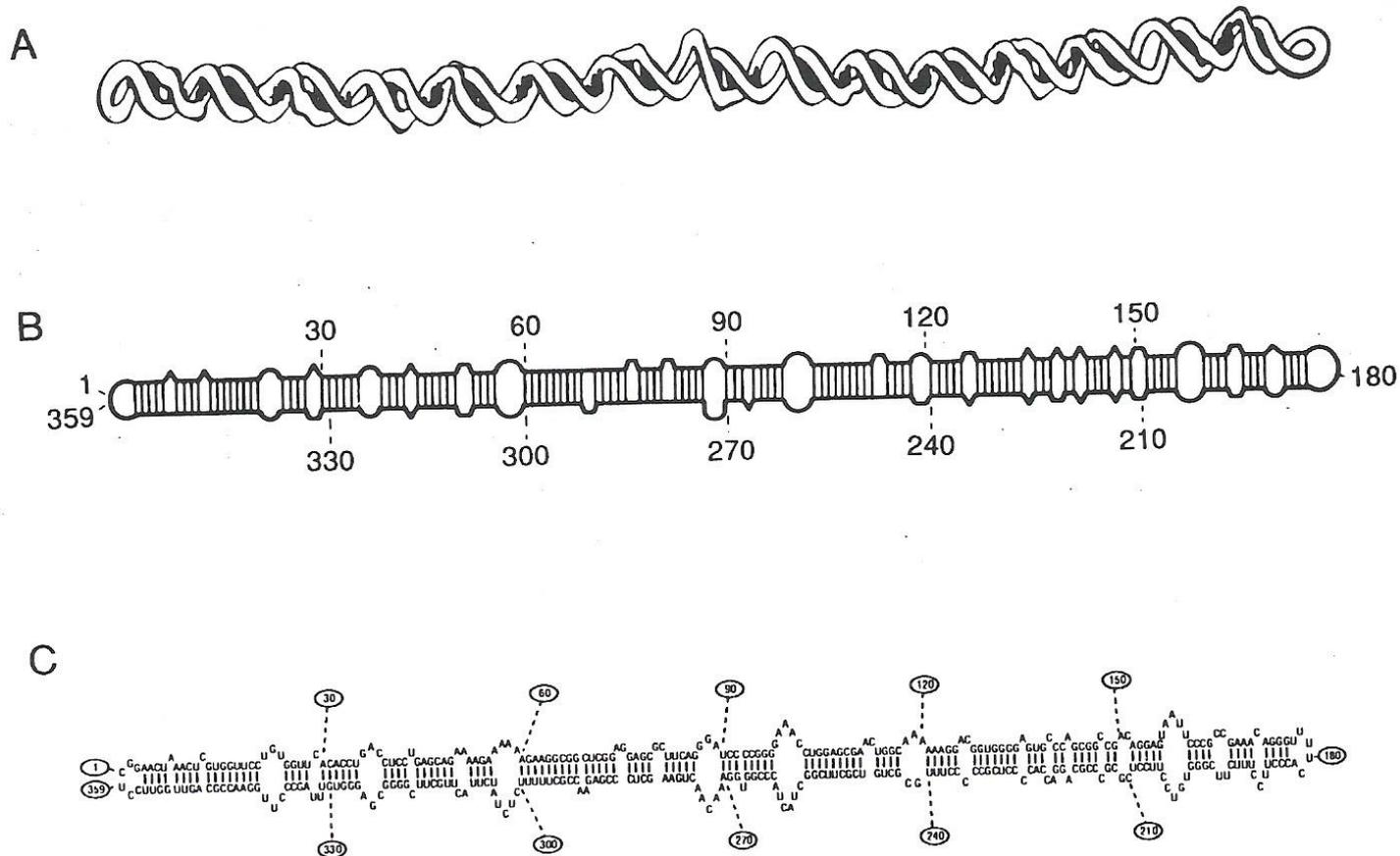
Menor agente infeccioso capaz de causar doença

Molécula de RNA circular: < 400 nt

Infecta somente plantas

Transmissão mecânica, pólen, semente e vetor (?)

VIRÓIDES



Potato spindle tuber viroid (PSTVd): A = representação tridimensional da molécula; B = estrutura secundária proposta e C = sequência de nucleotídeos (Matthews, 1991)