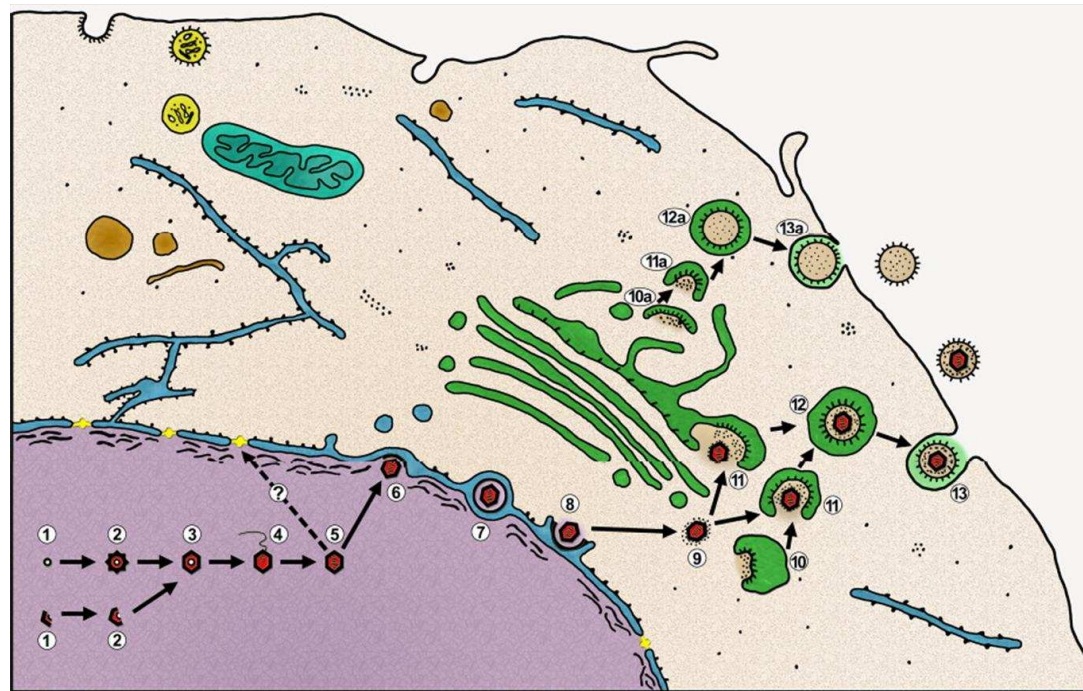




REPLICAÇÃO VIRAL



FABRÍCIO SOUZA CAMPOS*

*Mestrando do PPGMAA, bolsista CNPq

Introdução

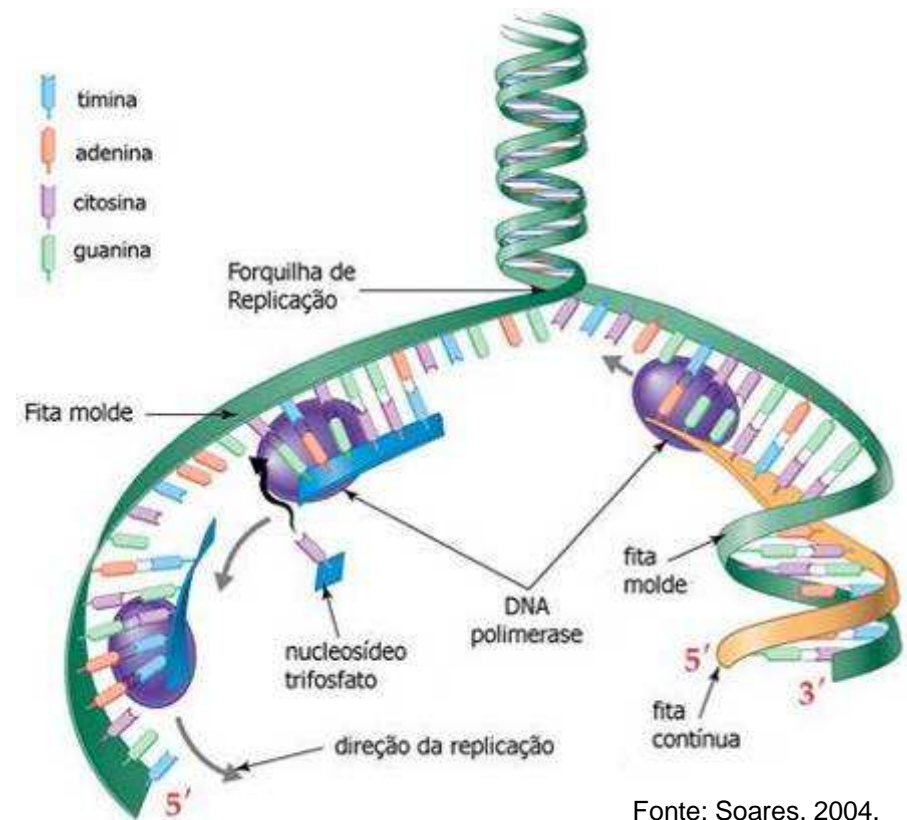
- Multiplicação dos vírus
 - Produzir progênie viável
- Conseqüências
 - Doença
 - Morte do hospedeiro
- Parasitas intracelulares obrigatórios
 - Atividade biológica dentro de células vivas
- Replicação?

Replicação

- Síntese de moléculas de ácidos nucleicos

X

- **Todo processo de multiplicação viral**



Alguns conceitos

- Infecção = “*infe*”: inserir, penetrar, introduzir
- Porém a penetração não assegura a produção de progênie viral
- Infecção = penetração = processo replicativo
- Então replicação é = a infecção que é = a ciclo replicativo?!

Alguns conceitos

- Infecção produtiva
 - Produção de progênie viral viável
- Infecção abortiva
 - Ciclo replicativo interrompido
- Susceptibilidade
 - Capacidade das células de serem infectadas
- Permissividade
 - Ocorrência de multiplicação viral

Alguns conceitos

- Células susceptíveis e permissivas
 - Suportam o ciclo replicativo completo
 - Penetração + etapas intracelulares
- Ou
 - Falta de receptores para adsorção e penetração
 - Não permissivas, semipermissivas
 - Exceção = transfecção (processo artificial)

Aplicação prática

Tabela 1 - Conseqüências da infecção de espécies de ruminantes com BoHV-1.

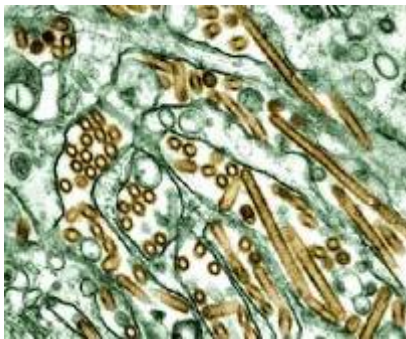
Table III. Consequences of infection of ruminant species with bovine herpesvirus 1.

Host	Primary infection	Serological response	Latency	Reactivation and reexcretion
Goat	+	+	+	+
Sheep	+	+	+	+
Red deer	+	-	-	-
Reindeer	+	-	-	-

Fonte: J. Thiry et al., 2006.

Outros conceitos

- Espectro de hospedeiro
 - Conjunto de espécies animais ou diferentes células
- Tropismo
 - Predileção por células, tecidos
 - Receptores virais
 - Ex.: H5N1

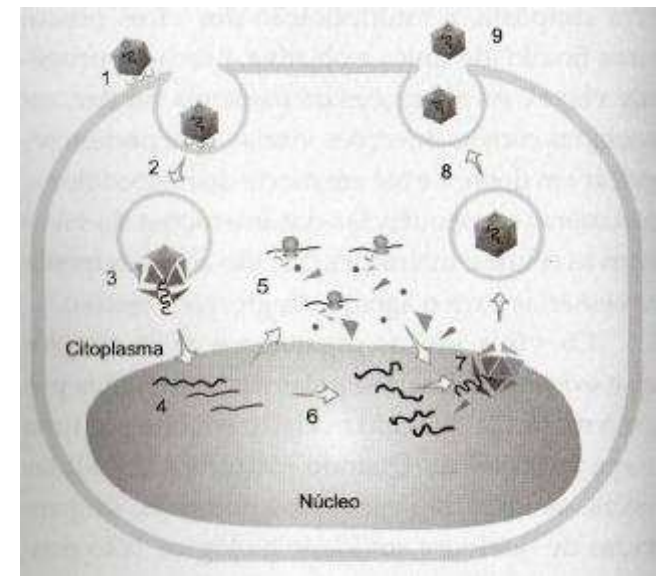


Partículas de vírus da gripe aviária (H5N1) cultivadas em MDCK (foto: CDC).

- » Em humanos: ácido siálico-galactose: ligações α -2,6
- » Em aves: ligações α -2,3
- » Suínos: ambos receptores

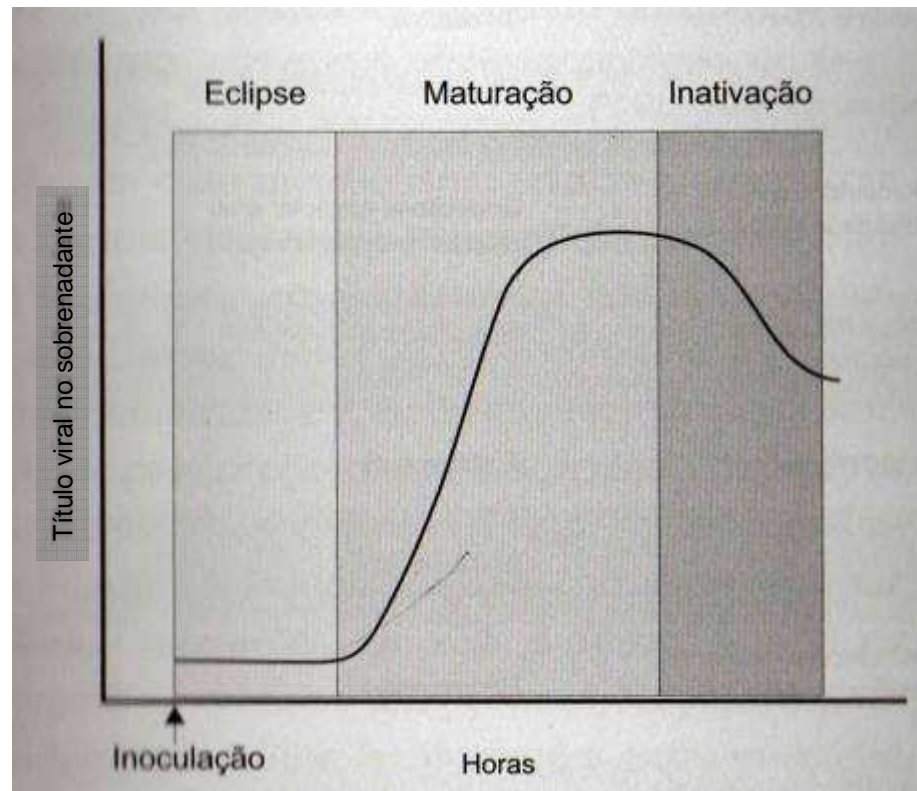
Etapas da replicação

1. Adsorção
2. Penetração
3. Desnudamento
4. Expressão gênica (transcrição e tradução)
5. Replicação do genoma
6. Morfogênese / maturação
7. Egresso



(Fases de infecção)

- Fases da infecção por vírus lítico



Fonte: Flores, 2007.

1. Adsorção

- Contato com a superfície celular
 - “Ligação específica das partículas víricas na superfície das células hospedeiras”
- Proteínas de superfície dos vírions (VAPs)
 - Proteínas do capsídeo (vírus nú)
 - Glicoproteínas (envelopados)
- Receptores celulares
 - Proteínas (glicoproteínas)
 - Carboidratos

1. Adsorção

- Receptores específicos
 - Rinovírus, poliovírus, FMDV
- Receptores alternativos
 - Herpesvírus, togavírus (rubéola)
 - Vantagem evolutiva
 - Maior espectro de hospedeiros e células
- Determinantes na patogenia das infecções
 - Tabela 2 e 3

1. Adsorção

Tabela 2 – Receptores celulares e mecanismos de penetração dos principais vírus DNA animais

Família	Vírus	Receptor viral	Forma/local de Penetração
<i>Herpesviridae</i>	Herpes simplex	Sulfato de heparina/receptor homólogo ao fator de necrose tumoral (TNF) e fator de crescimento Neuronal (NGF)	Fusão na membrana plasmática
	Pseudorraiva	Sulfato de heparan (HS), proteoglicanos (HSPG) e coreceptores	Fusão na membrana plasmática
<i>Adenoviridae</i>	Adenovírus 2	Receptor para adenovírus e vírus Coxsackie B (CAR)	Endocitose dependente de clatrina
<i>Poxviridae</i>	Vaccinia	Fator de crescimento epidermal (EGF)	Membrana plasmática e/ou macropinosomo
<i>Polyomaviridae</i>	SV-40	Moléculas do complexo maior de histocompatibilidade (MHC) classe I	Endocitose caveolar e/ou retículo endoplasmático
<i>Papillomaviridae</i>	Papilomavírus bovino	Integrina α -6 e moléculas semelhantes ao heparan	Endocitose dependente de clatrina
<i>Parvoviridae</i>	Parvovírus canino	Receptor da transferrina	Endossomos
<i>Asfarviridae</i>	Peste suína africana	nd ^b	Endossomos

Fonte: Flores, 2007.

1. Adsorção

Tabela 3 – Receptores celulares e mecanismos de penetração dos principais vírus RNA animais

Família	Vírus	Receptor viral	Forma/local de Penetração
<i>Arteriviridae</i>	Vírus elevador da desidrogenase láctica	Moléculas do complexo maior de histocompatibilidade (MHC) classe II	Endossomos
<i>Coronaviridae</i>	Vírus da Hepatite dos Murinos	Glicoproteína biliar dos murinos/ antígeno carcinoembriogénico	Endossomos
	Coronavírus humano Z29E	CD13 (Aminopeptidase)	Membrana plasmática
<i>Orthomyxoviridae</i>	Vírus da influenza	Ácido siálico	Endocitose dependente de clatrina
<i>Paramyxoviridae</i>	Vírus do sarampo	CD46	Membrana plasmática
<i>Togaviridae</i>	<i>Semliki Forest</i>	Moléculas do MHC classe II	Endocitose dependente de clatrina
<i>Flaviviridae</i>	Vírus da diarreia viral bovina	CD46 bovino	Endossomos
<i>Rhabdoviridae</i>	Vírus da raiva	Receptor da neurotropina (p75NTR)	Endocitose dependente de clatrina
<i>Filoviridae</i>	Vírus Ebola e Marburg	Receptor folato α (FR- α)	Caveola
<i>Retroviridae</i>	HIV-1	CD4 e receptor de citocinas	Membrana plasmática
<i>Bunyaviridae</i>	Vírus Hantaan	Integrinas (β_3)	Endocitose dependente de clatrina
<i>Picornaviridae</i>	Vírus da febre aftosa	Integrinas (α_n)	Endocitose
<i>Caliciviridae</i>	nd	nd	Endossomos
<i>Reoviridae</i>	Reovírus	Ácido siálico e molécula 1 de adesão juncional (JAM 1)	Endossomos
	Rotavírus	Integrinas $\alpha V\beta 3$ e proteínas cognatas do choque térmico (hscp70)	Membrana citoplasmática (<i>lipid rafts</i>)

Fonte: Flores, 2007.

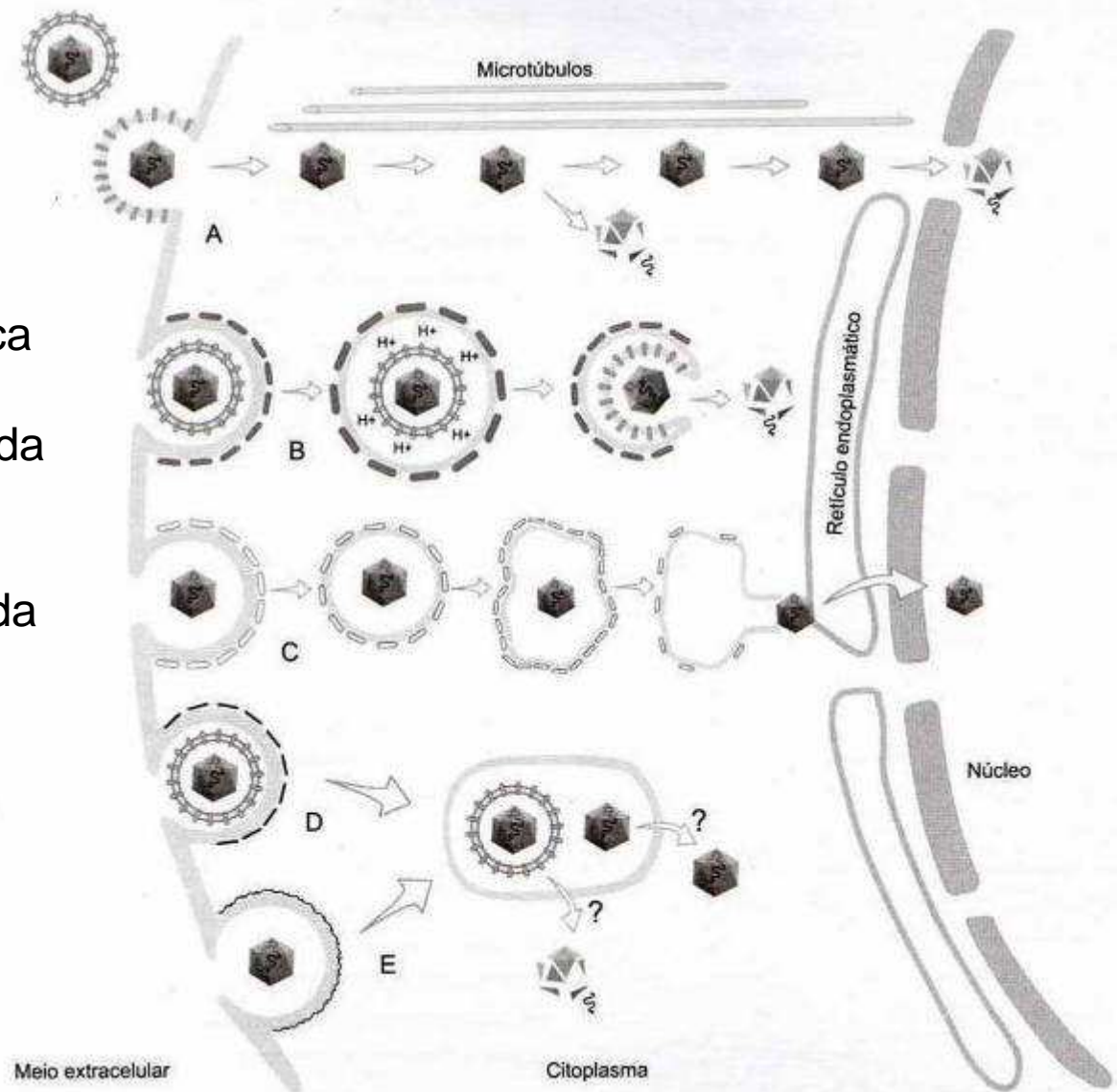
1. Adsorção

- Co-receptores: auxiliam na interação
 - HIV: Receptor: CD4
Co-receptor: receptor de citocina
 - HSV-1: Receptor gC – Sulfato de heparina
Co-receptor: gD

2. Penetração

Principais mecanismos de penetração dos vírus nas células hospedeiras:

- A) Fusão com a memb. plasmática
- B) Fusão após endocitose mediada por clatrina
- C) Fusão após endocitose mediada por caveolina
- D-E) Penetração após endocitose mediada por lipídios

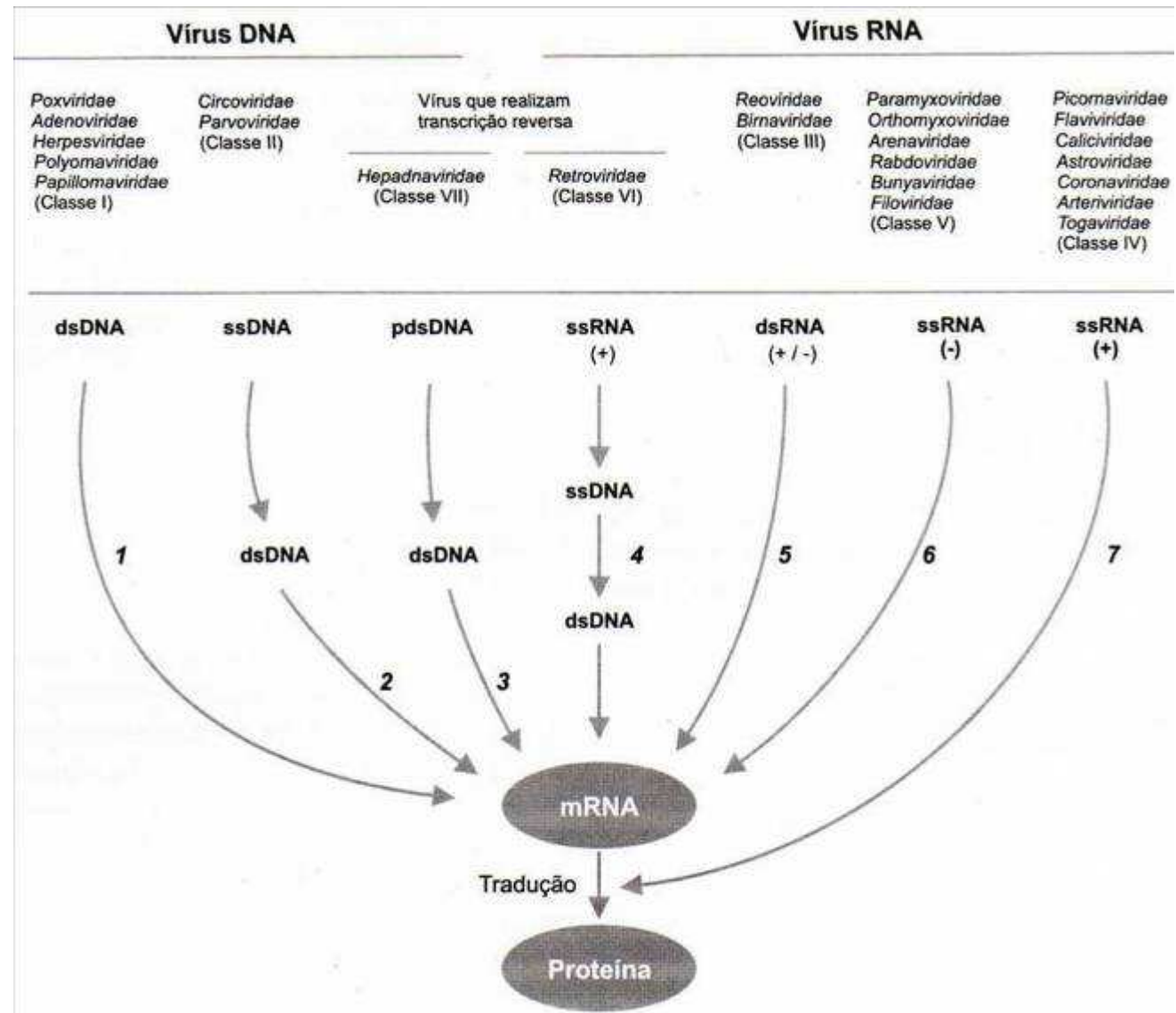


3. Desnudamento

- Série de eventos que ocorre após a penetração
- Exposição do genoma para transcrição / tradução
 - Estar acessível as enzimas
- Produto do desnudamento depende da estrutura do nucleocapsídeo
- Penetração do genoma nos poros nucleares (DNA)

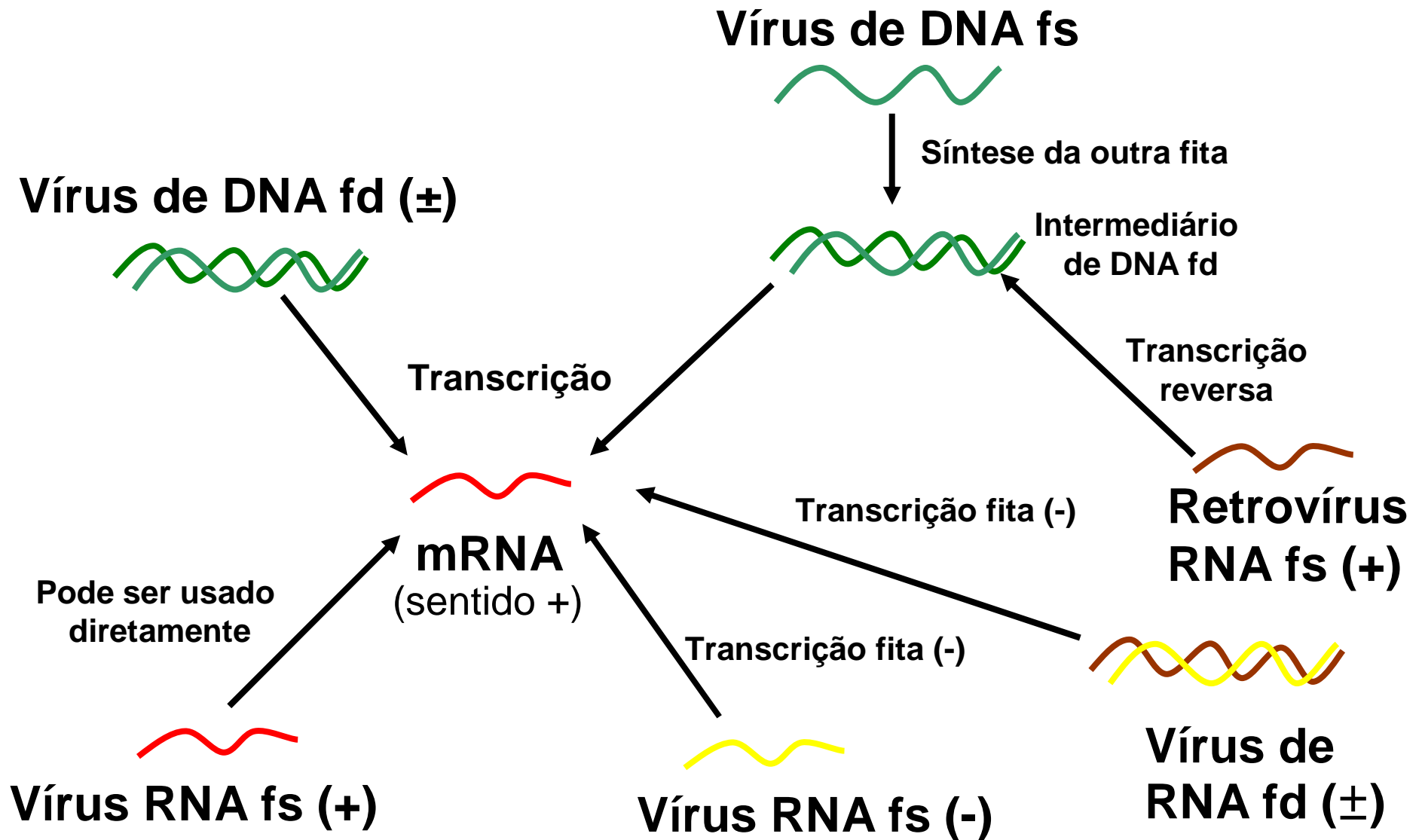
4. Expressão gênica

Estratégias de produção de mRNA e expressão gênica das diferentes classes de vírus:



GENOMAS VIRAIS

Classificação de Baltimore (1975)

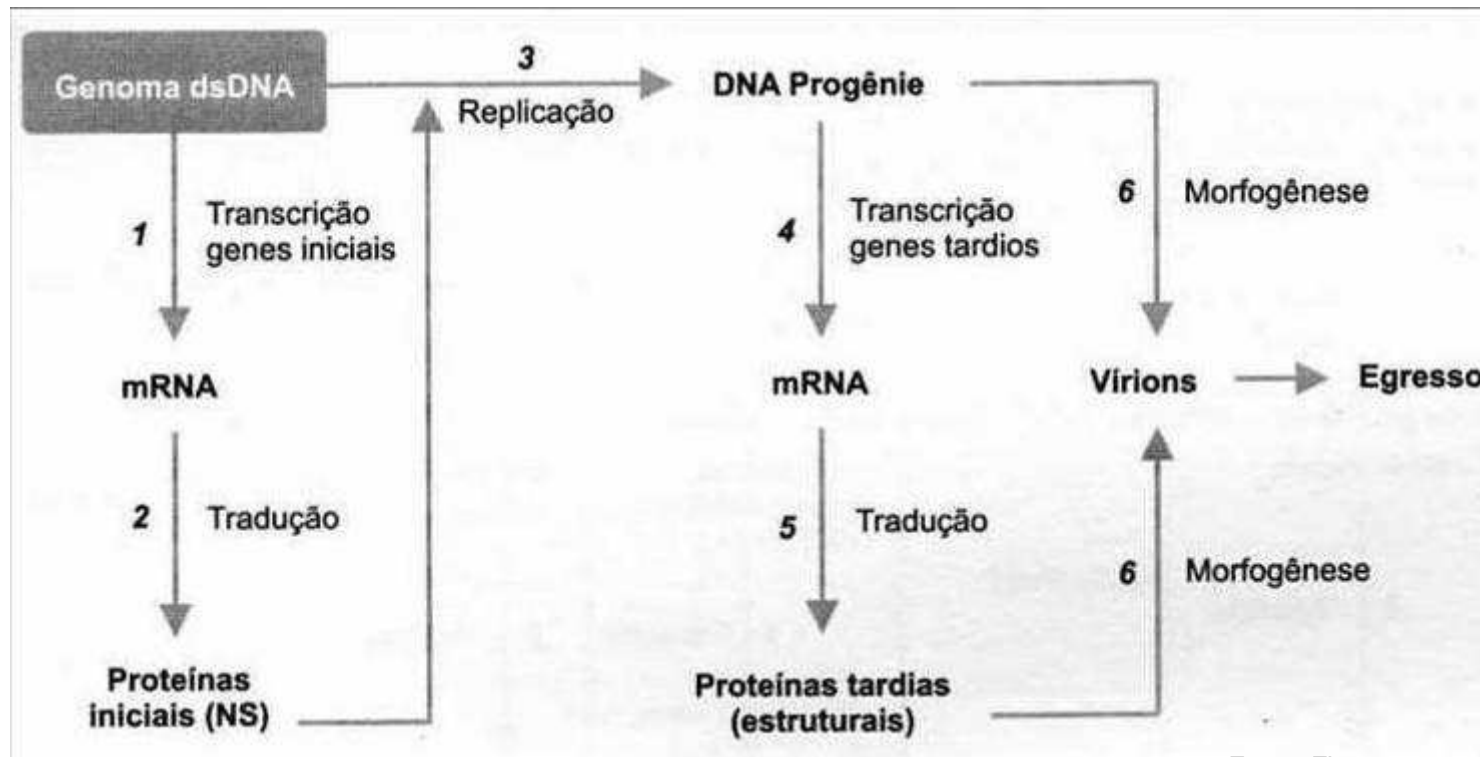


5. Replicação viral

Tabela 4 - Classificação dos vírus de acordo com o tipo de genoma, local de replicação e estratégia utilizada para produzir mRNAs.

Classe	Genoma	Local de replicação	Famílias
I	DNA de cadeia dupla	Ia. Núcleo	<i>Polyomaviridae</i> <i>Papillomaviridae</i> <i>Adenoviridae</i> <i>Herpesviridae</i>
		Ib. Citoplasma	<i>Poxviridae</i> <i>Asfarviridae</i>
II	DNA cadeia simples	Núcleo	<i>Parvoviridae</i> <i>Circoviridae</i>
III	RNA de cadeia dupla	Citoplasma	<i>Reoviridae</i> <i>Birnaviridae</i>
IV	RNA de cadeia simples, sentido positivo	IVa. Tradução integral do genoma	<i>Flaviviridae</i> <i>Picornaviridae</i>
		IVb. Tradução parcial do genoma; mRNAs subgenômicos	<i>Astroviridae</i> <i>Caliciviridae</i> <i>Togaviridae</i> <i>Coronaviridae</i> <i>Arteriviridae</i>
V	RNA de cadeia simples, sentido negativo	Va. Núcleo	<i>Orthomyxoviridae</i> <i>Bornaviridae</i>
		Vb. Citoplasma	<i>Bunyaviridae</i> <i>Arenaviridae</i> <i>Rabdoviridae</i> <i>Paramyxoviridae</i> <i>Filoviridae</i>
VI	RNA de cadeia simples e intermediário DNA	Citoplasma/núcleo	<i>Retroviridae</i>
VII	DNA de cadeia parcialmente dupla e intermediário RNA	Núcleo/citoplasma	<i>Hepadnaviridae</i>

Ciclo replicativo dos vírus da classe Ia - dsDNA



Fonte: Flores, 2007.

Genes “cedo”: codificam proteínas não estruturais relacionadas com a replicação
Genes “tardios”: codificam proteínas estruturais envolvidas na montagem

Ciclo replicativo dos vírus da classe Ib - dsDNA

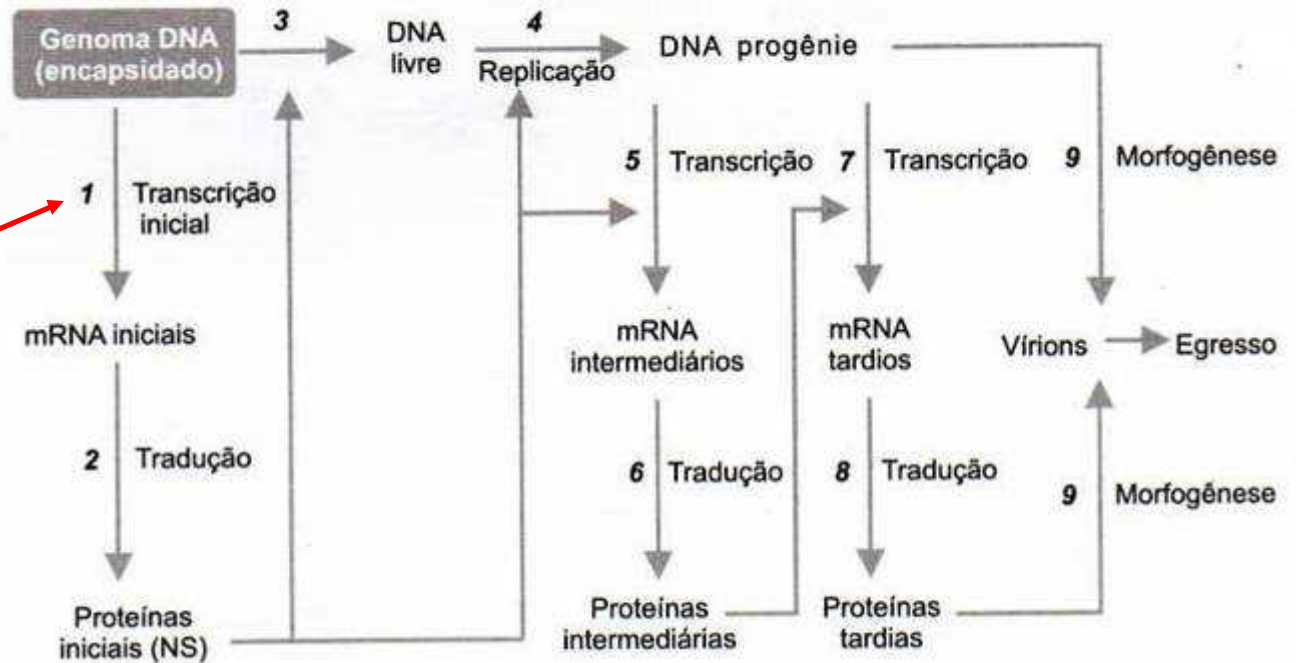
- Poxvírus e asfarvírus?

- Replicação no citoplasma

- RNA polimerase viral

- Expressão gênica:

- Inicial
- Intermediária
- Tardia

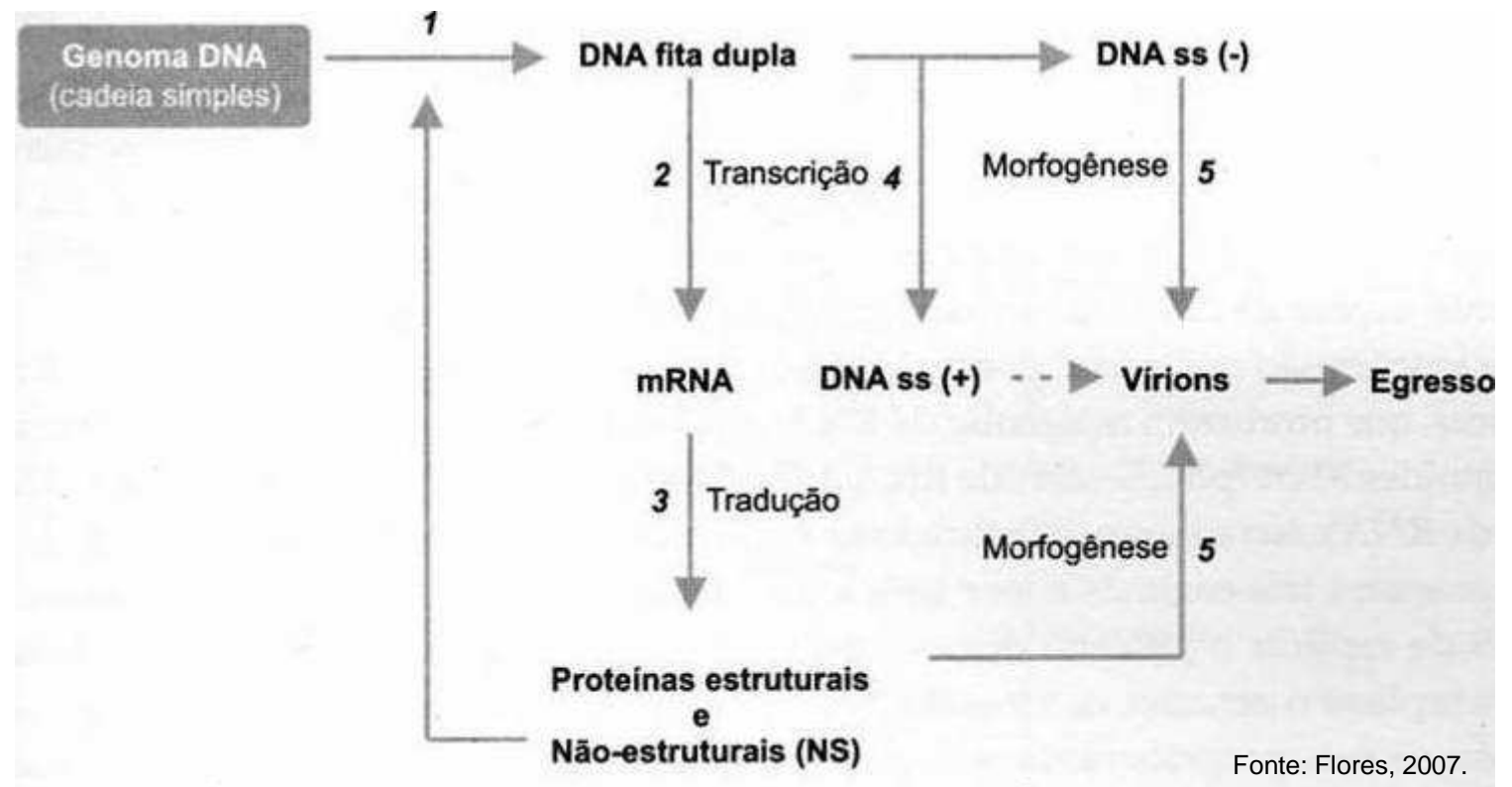


Fonte: Flores, 2007.

Ciclo replicativo dos vírus da classe II - ssDNA

Mais dependentes da maquinaria celular

- Circovírus (10Kb)
- Parvovírus [encapsidar cópias de DNA (-) e (+) ou ambas]



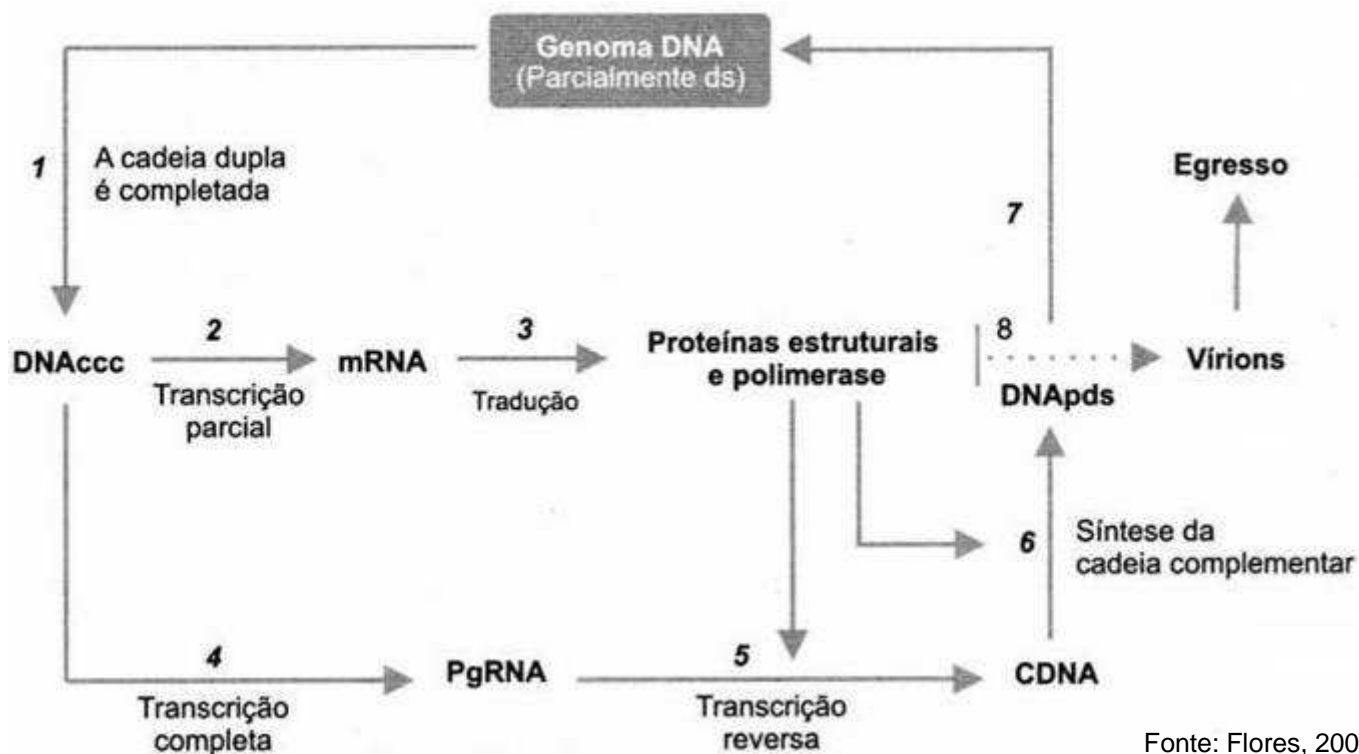
Ciclo replicativo dos vírus da classe VII - pdsDNA

Hepadnavírus: envolve RT; ocorre parte no núcleo e parte no citoplasma

- Polimerase viral = RT (transcriptase reversa)

- Molécula de DNA de fita parcialmente Dupla

- Quebra do dogma central da biologia



Fonte: Flores, 2007.

Replicação dos vírus RNA

- Síntese de moléculas de RNA de sentido antígenômico
 - Molde síntese de RNA de sentido genômico
- RNA polimerase viral
 - Transcriptases ou replicases
 - Dependente de RNA viral
 - Ausentes em células eucarióticas
- Vírus RNA (+): genoma “infeccioso”

Replicação dos vírus RNA

- Vírus RNA (-): não “infeccioso”
- Replicação do genoma em 2 etapas:
 - Síntese de RNA antígenômico ou intermediário replicativo
 - Síntese de RNA de sentido genômico
- Independem da maquinaria nuclear
 - Replicação no citoplasma
 - * Ortomixovírus: no núcleo

Ciclo replicativo dos vírus da classe IVa – ssRNA (+)

Genoma com ORF única e longa

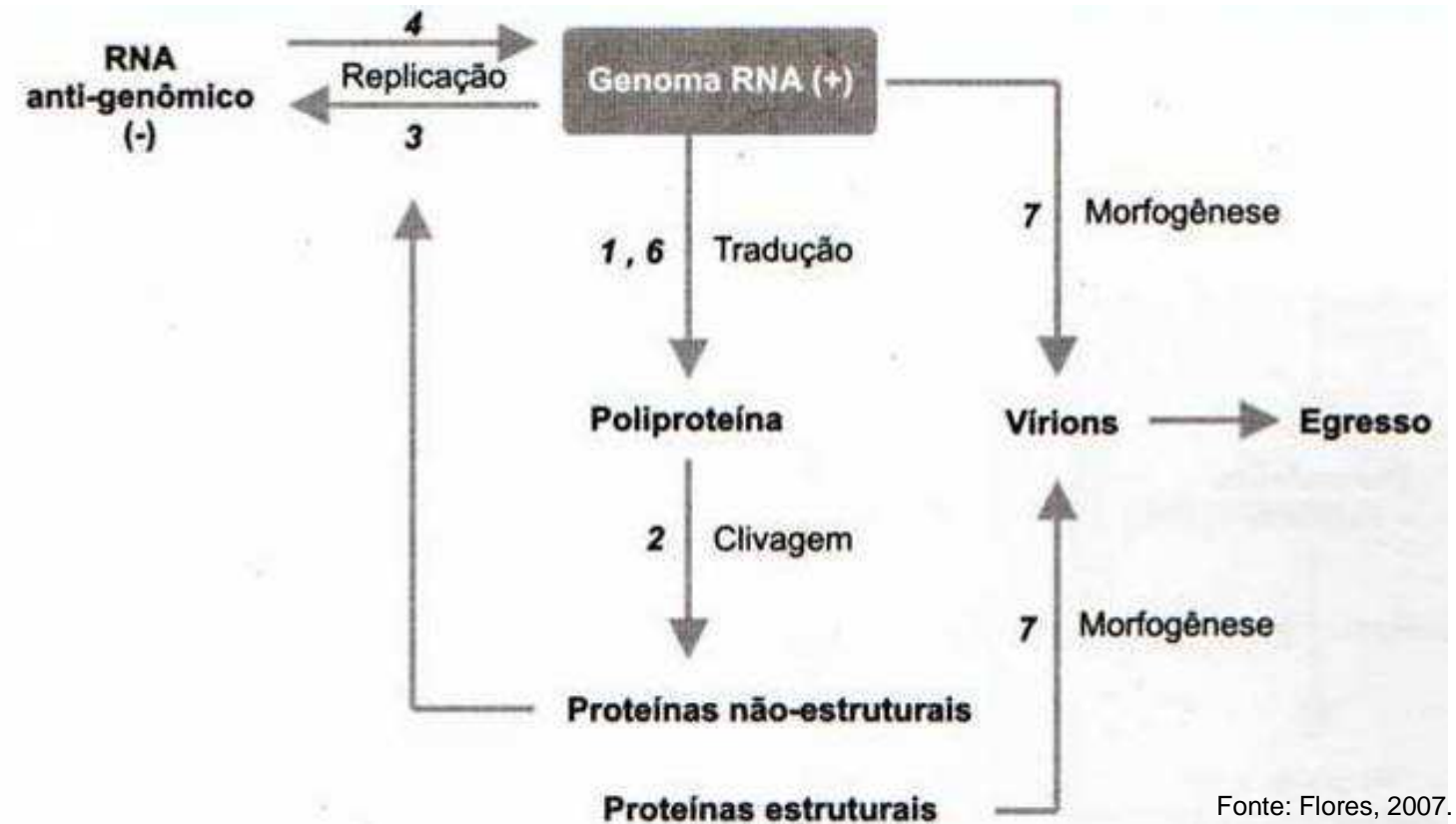
Terço 5': proteínas estruturais

Porção 3': NS

Poliproteínas

Caps

IRES

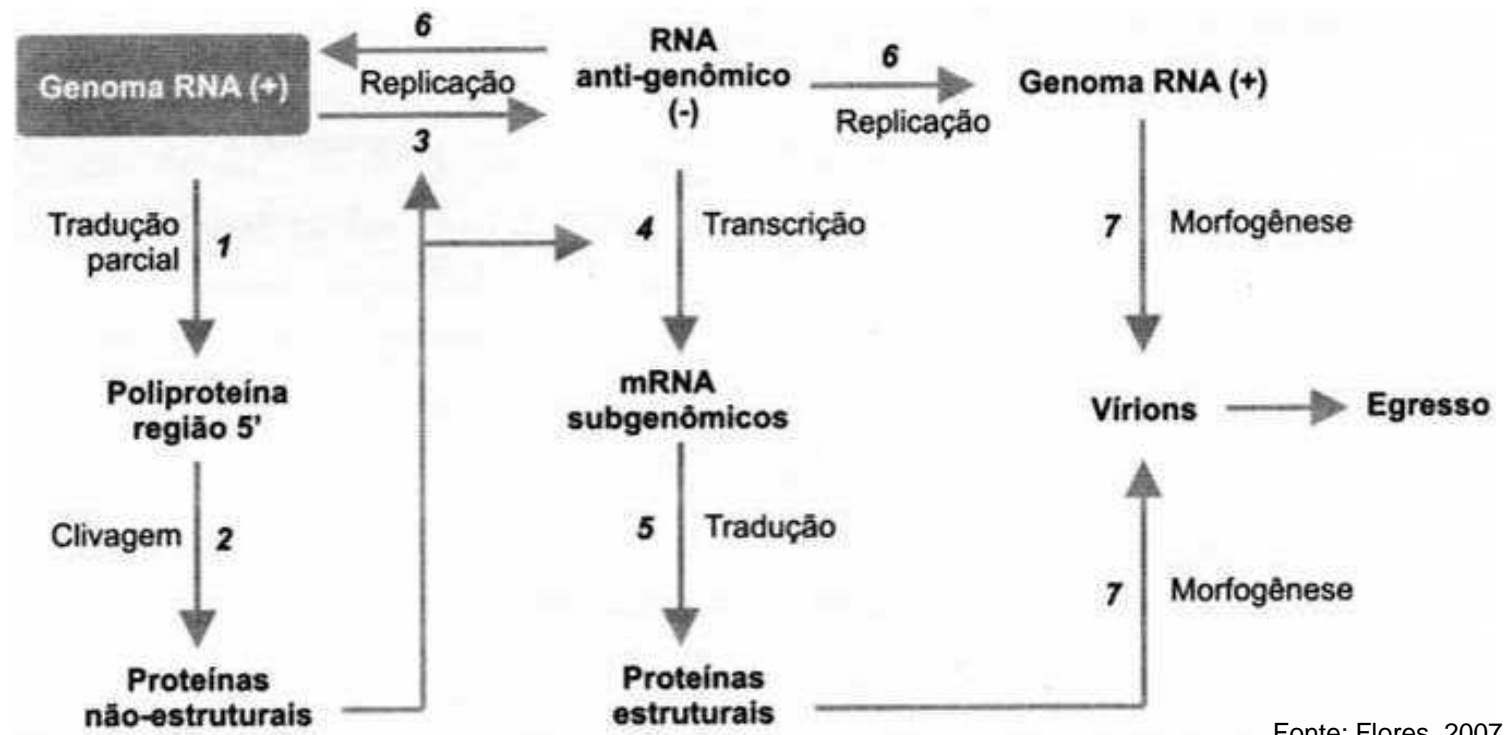


Fonte: Flores, 2007.

Ciclo replicativo dos vírus da classe IVb – ssRNA (+)

RNA (+) codifica somente as proteínas NS

mRNAs subgenômicos:
Codificam proteínas estruturais



Fonte: Flores, 2007.

Ciclo replicativo dos vírus da classe V – ssRNA (-)

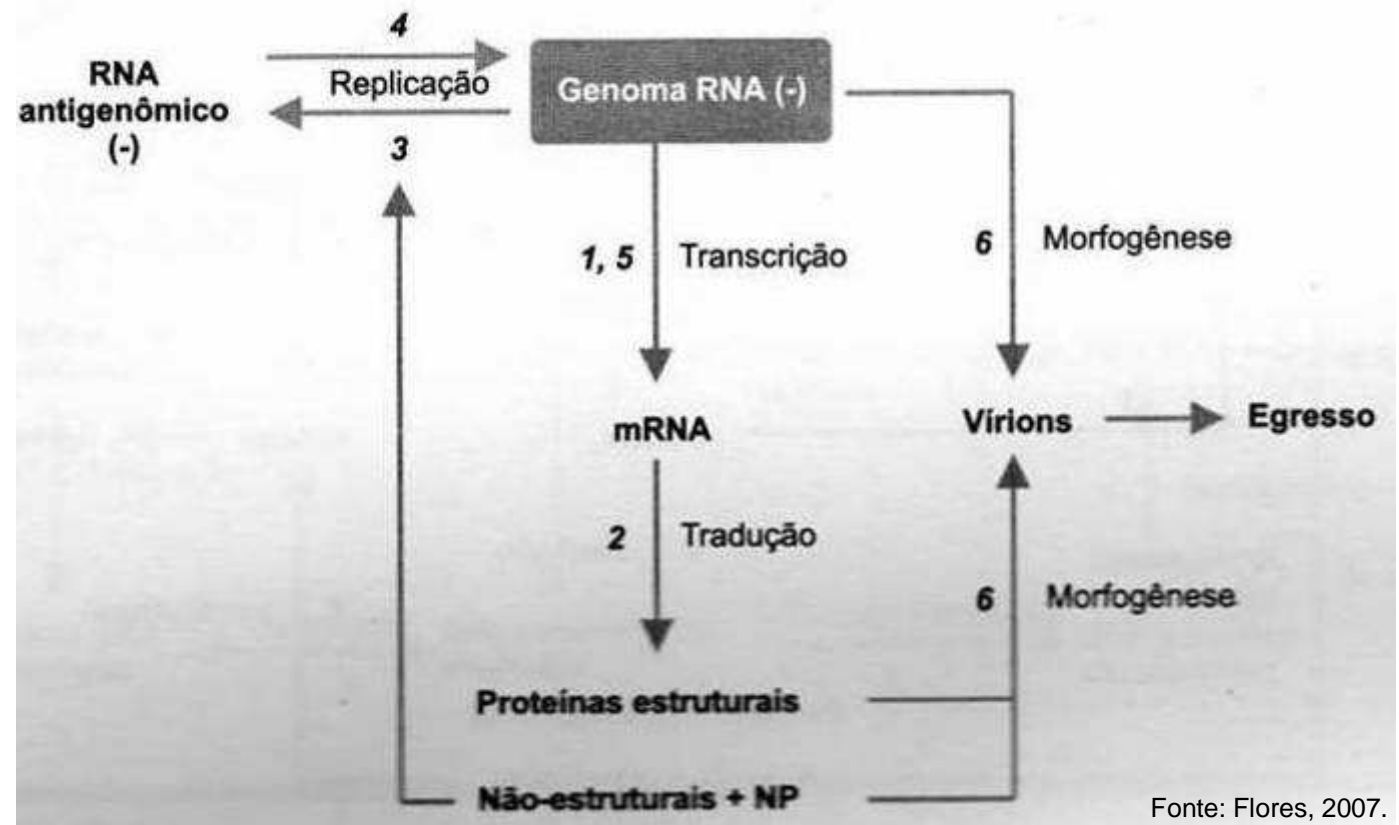
- Genomas não segmentados:
 - 2 mRNAs
 - Para tradução
 - Para replicação

- Segmentados:
 - 2 mRNAs
 - c/ cap e poli A
 - s/ cap e poli A

- Complexo Ribonucleoproteína

- Estratégia Ambissense:
 - Tradução com sentido (+) e (-)

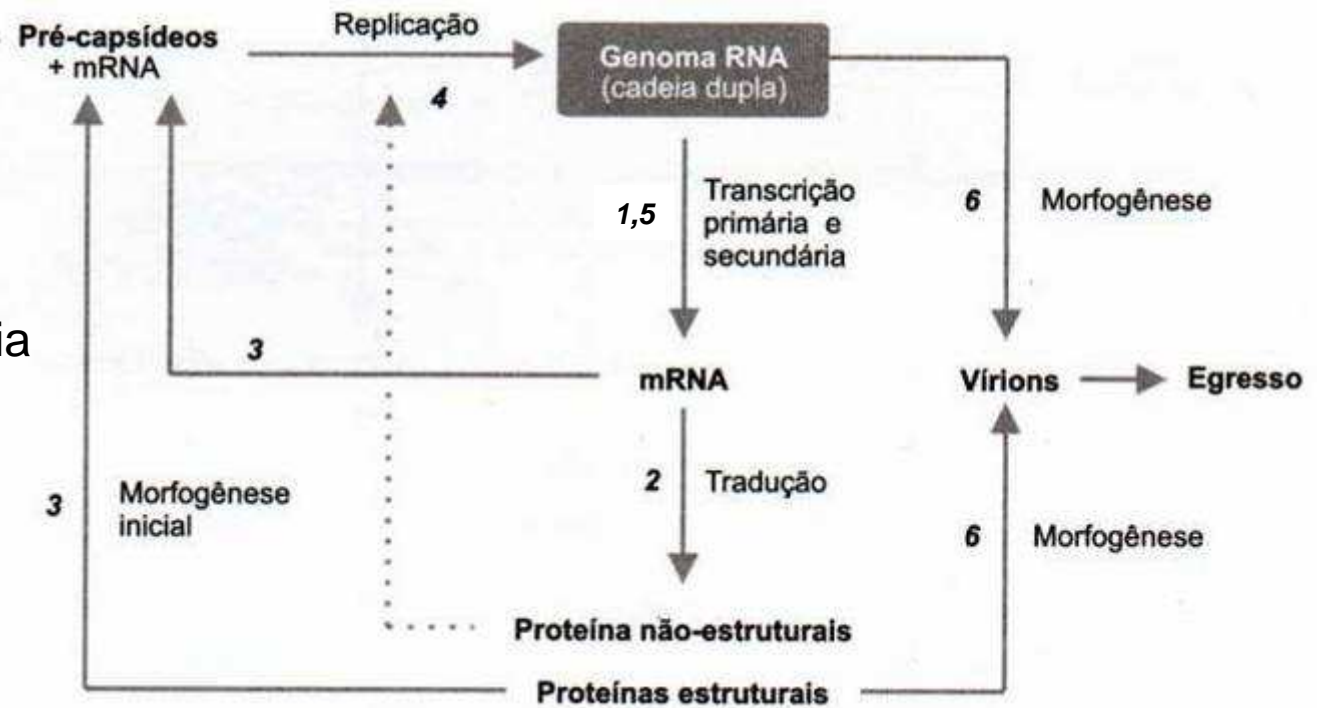
Trazem a replicase viral (RNA polimerase)



Ciclo replicativo dos vírus da classe III - dsRNA (+/-)

Vários segmentos; polimerase viral

- Transcrição primária
- proteínas iniciais
- Replicação
- Transcrição secundária
- proteínas tardias



Fonte: Flores, 2007.

Ciclo replicativo dos vírus da classe VI - ssRNA (+)

Retrovírus; local: citoplasma e núcleo

- RNA (+) não traduzido pelos ribossomos

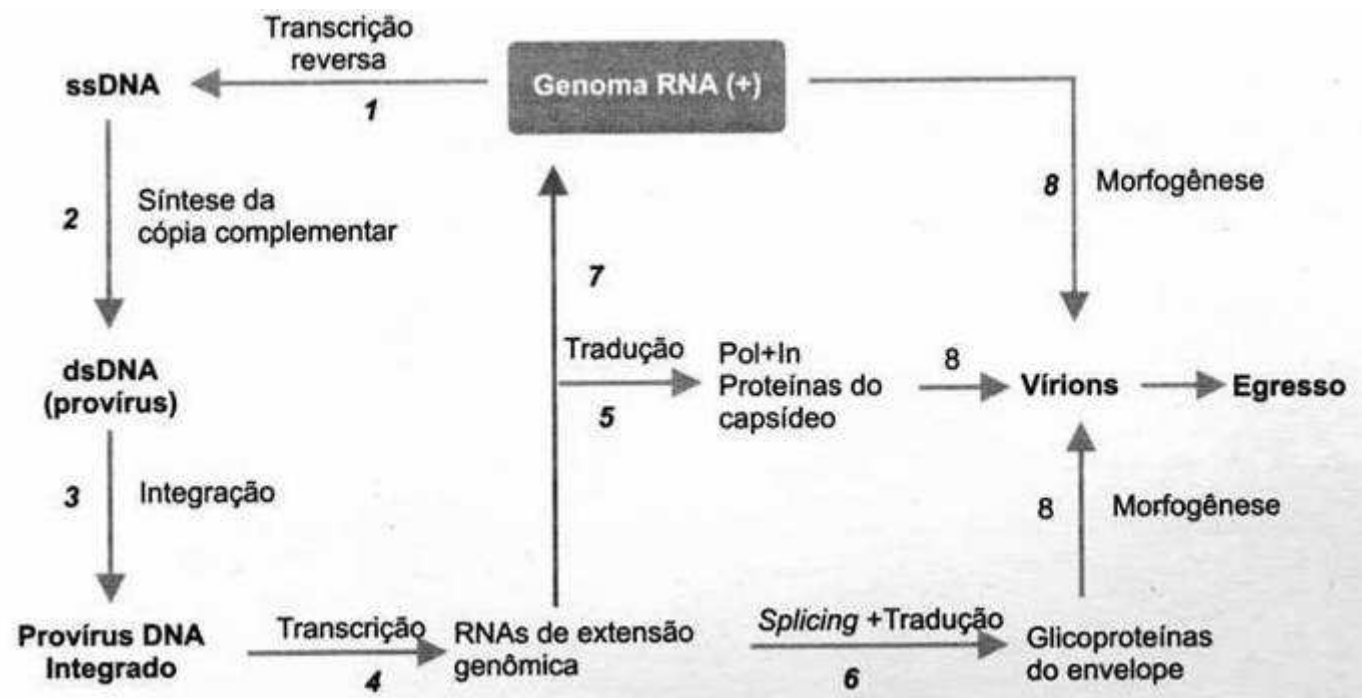
- RT: DNA polimerase dependente de RNA

- cDNA = provírus

- Integração genoma - Integrase

- mRNAs: splicing

- Único genoma viral a ser sintetizado exclusivamente por enzimas e fatores celulares



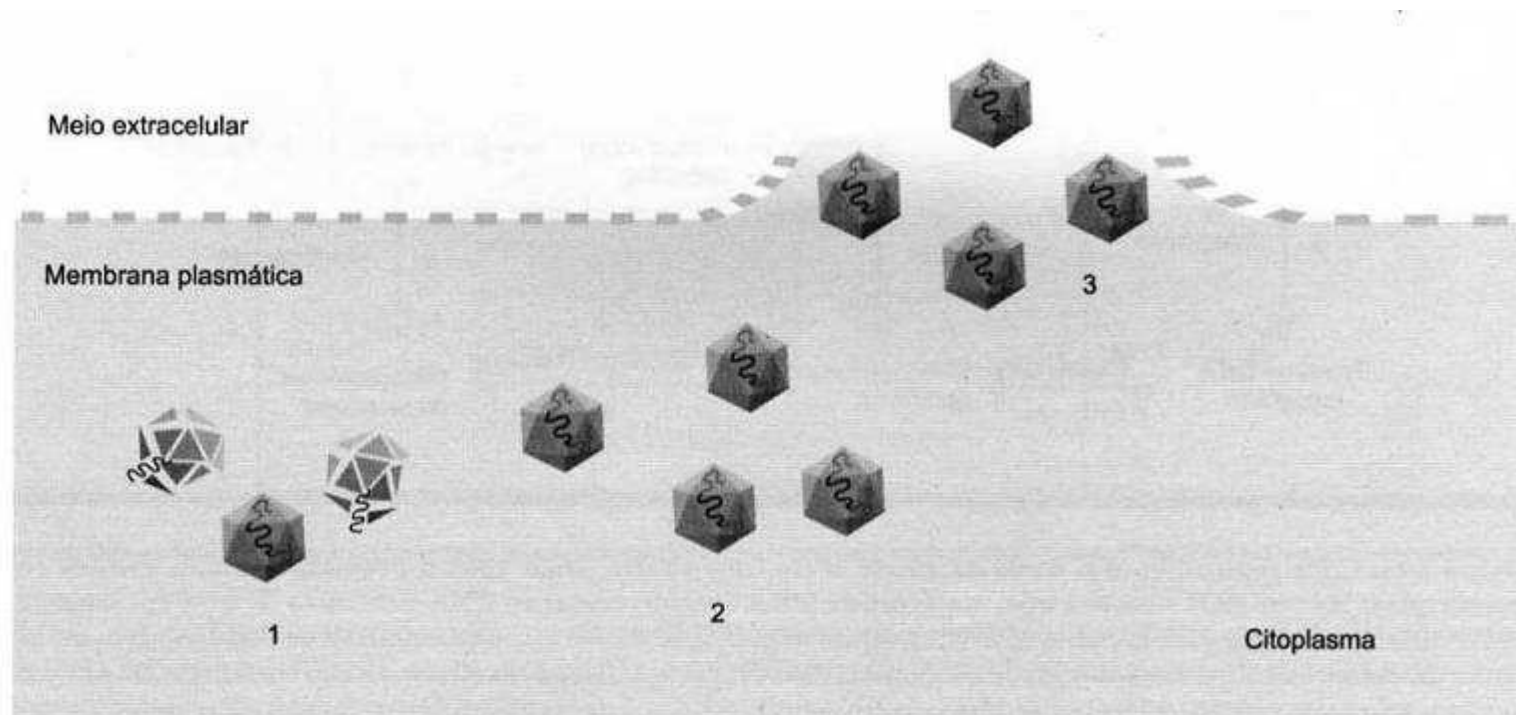
Fonte: Flores, 2007.

6. Morfogênese/maturação

- Morfogênese
 - Processo de montagem das partículas víricas
 - Ocorre no final do ciclo replicativo
- Maturação
 - Aquisição da capacidade infectiva (vírion)

7. Egresso

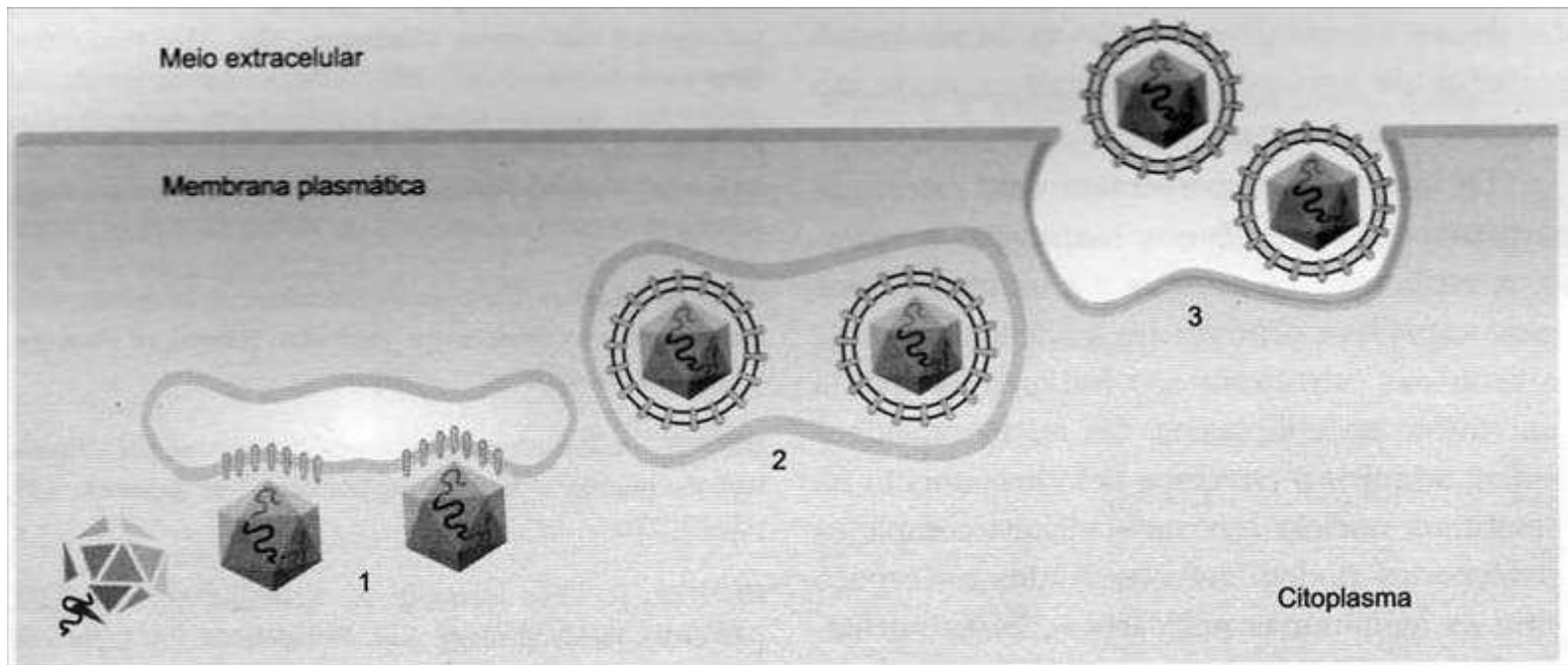
- Maturação intracelular e egresso dos vírus sem envelope
 - Vírus nú já sai pronto do citoplasma (RNA) ou núcleo (DNA) sendo liberados quando ocorre a destruição das células infectadas



Fonte: Flores, 2007.

Maturação por brotamento

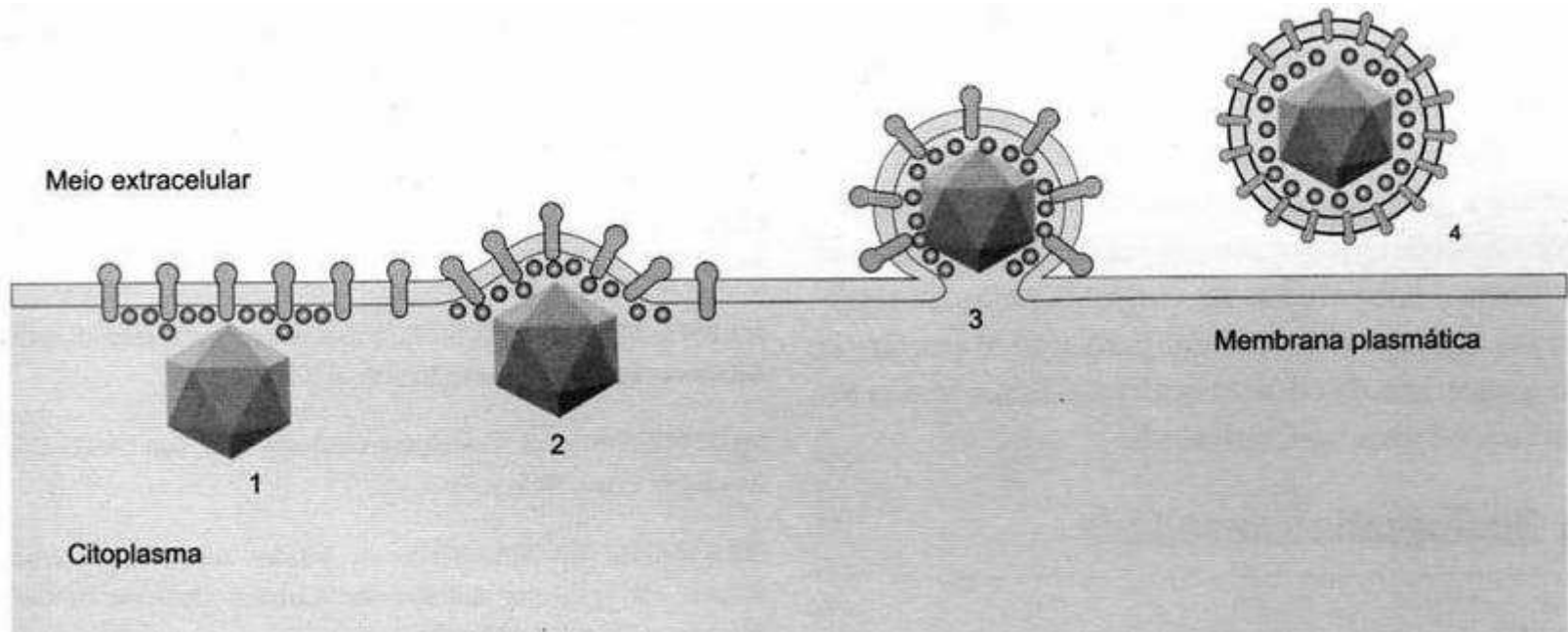
- Maturação intracitoplasmática de vírus envelopados por brotamento
 - Membranas celulares (RER, Golgi e MP) contendo as glicoproteínas virais inseridas darão origem ao envelope



Fonte: Flores, 2007.

Brotamento

- Processo de aquisição do envelope
 - Nucleocapsídeo brota para o interior das membranas celulares
 - Liberação por exocitose (sem lise celular)
 - Herpesvírus: **envelope da membrana nuclear**
 - Replicação leva a lise celular (ECP)

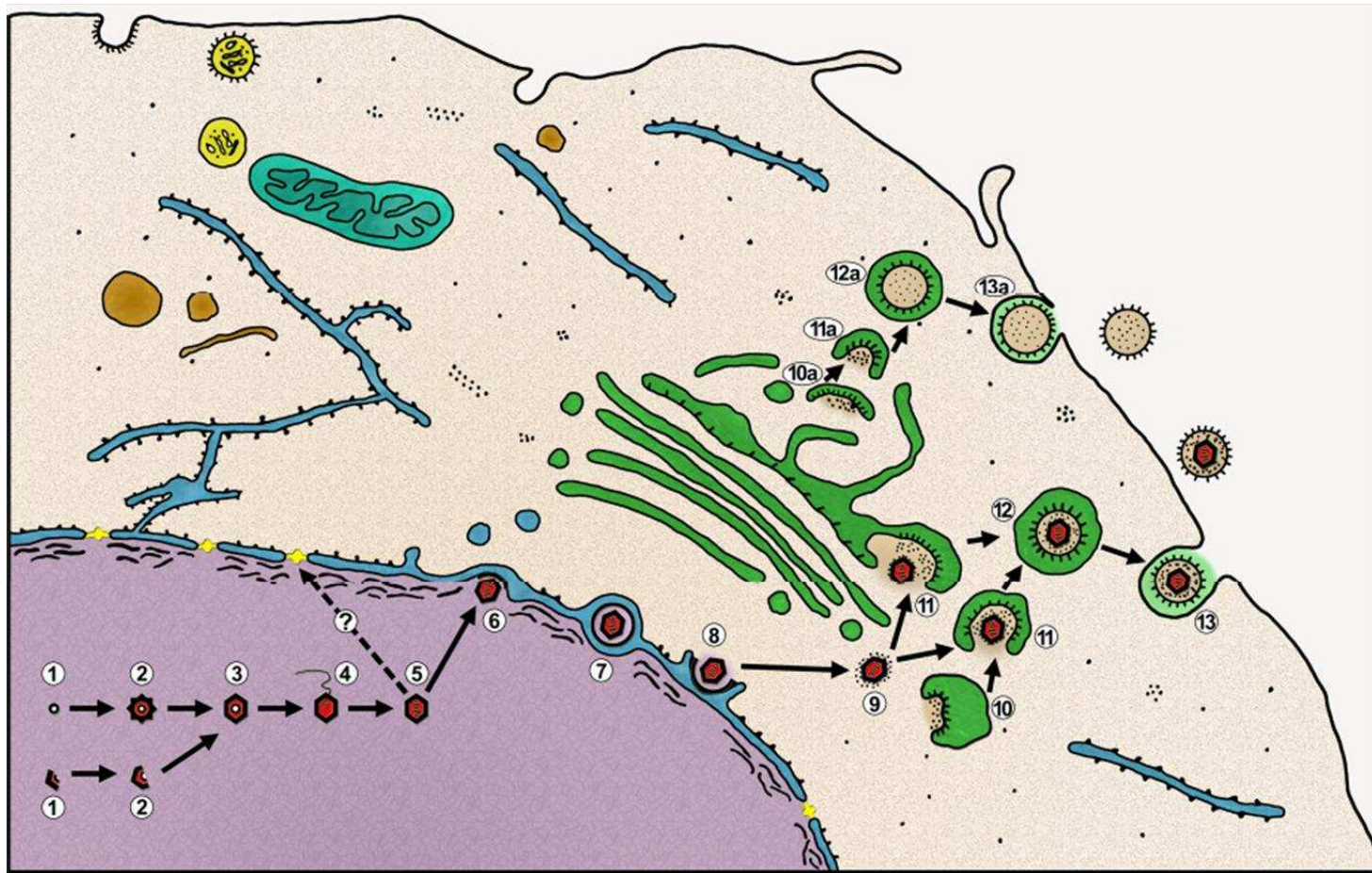


Fonte: Flores, 2007.

Sedimentação do aprendizado

1. Quais as etapas da replicação viral?
2. Qual genoma é considerado infeccioso?
3. O que os vírus que se replicam no citoplasma necessitam?
4. Cite a principal peculiaridade dos retrovírus?
5. Quais organelas podem dar origem ao envelope viral?
6. Qual o vírus da imagem a seguir?

Grato pela atenção!!!



camposvet@gmail.com