



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΑΓΩΓΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ - ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

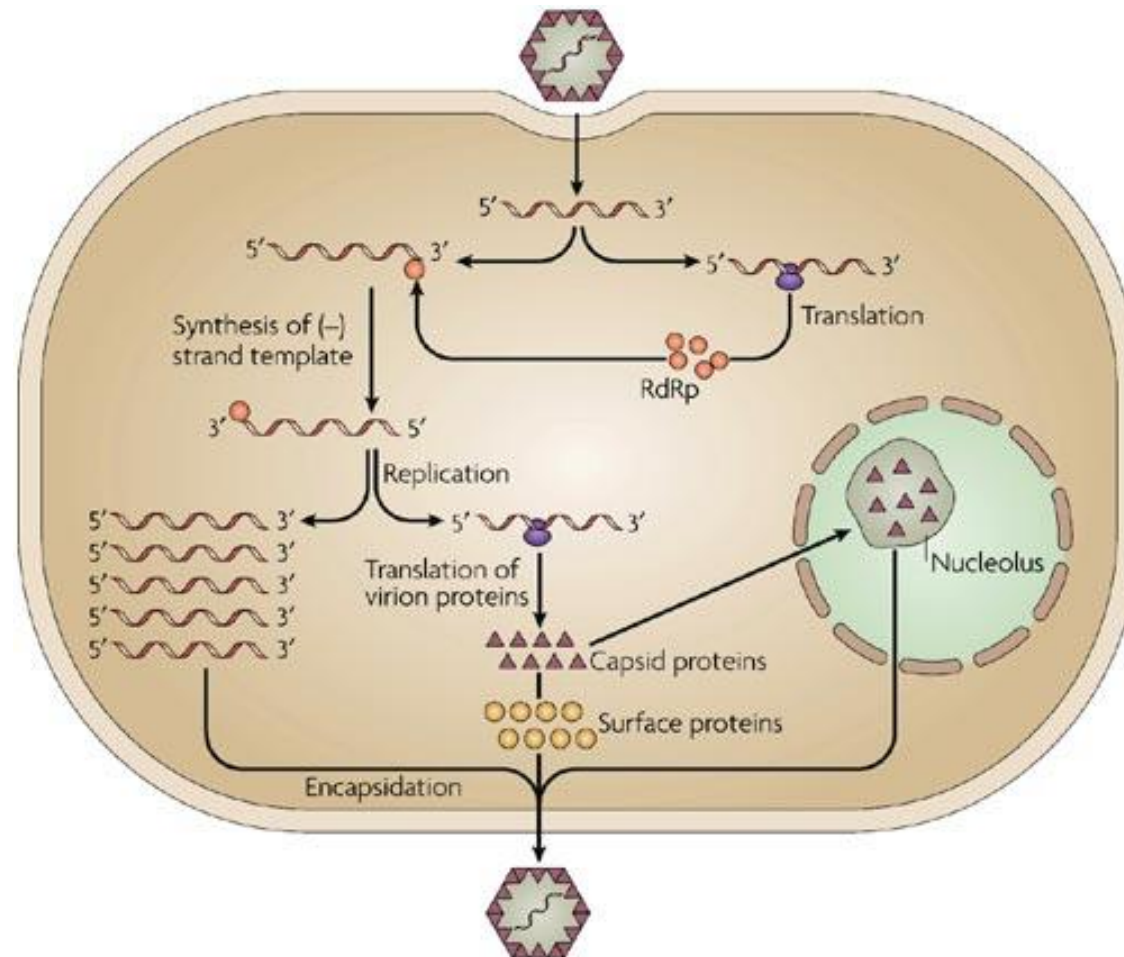
ΓΕΝΙΚΗ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑ

Μαντώ Κυριακού

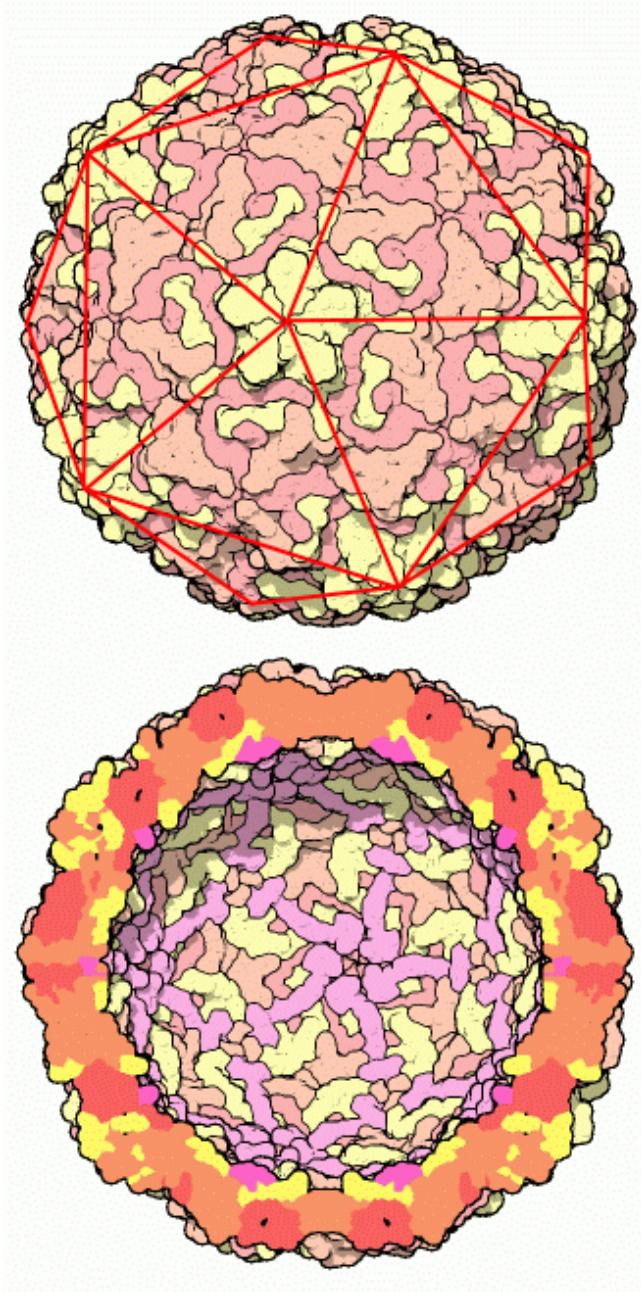
RNA ζωικοί ιοί + RNA ιοί

- Έχουν μονόκλωνο RNA, το οποίο μπορεί να λειτουργήσει κατευθείαν ως mRNA
- Στην ομάδα αυτή (picorna ιοί) ανήκουν ιοί που προσβάλλουν τους ανθρώπους όπως οι πολιο-ιοί (ιός της πολιομυελίτιδας), οι ιοί του κοινού κρυολογήματος, οι κορονοιοί και ο ιός της ηπατίτιδας A (picorna), ιός της ηπατίτιδας C (Flaviviridae)
- Η αντιγραφή του ιϊκού RNA ξεκινά λίγο μετά από την είσοδο στο κύτταρο ξενιστή και καταλύεται από το ένζυμο του ιού, την RNA-εξαρτώμενη RNA-πολυμεράση. Αυτή συνθέτει ένα -RNA κλώνο, που λειτουργεί ως καλούπι για την σύνθεση πολλών +RNA κλώνων

+ RNA 101



Picornavirus



Πολιομυελίτιδα

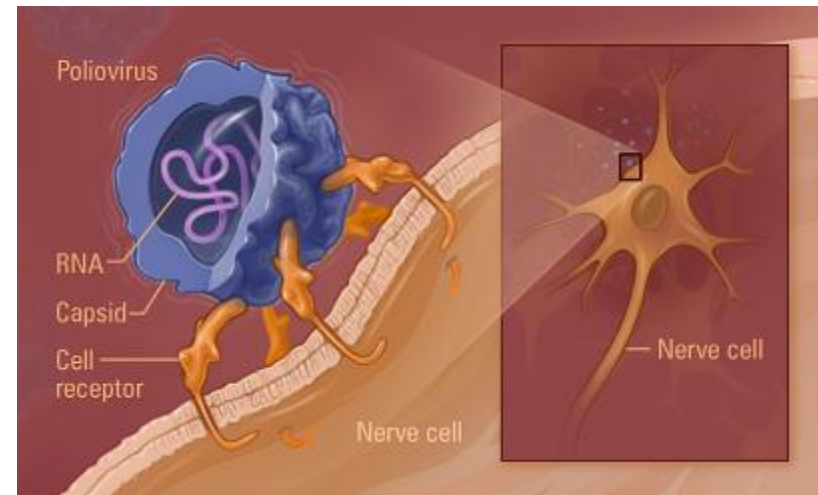
Η πολιομυελίτιδα υπήρξε πολύ σημαντική ασθένεια, αλλά έχει σχεδόν εξαλειφθεί μετά από την δημιουργία ενός αποτελεσματικού εμβολίου. Τελευταίες αναφορές το 2000 από ελάχιστα κρούσματα στην Ινδία και στην Αφρική



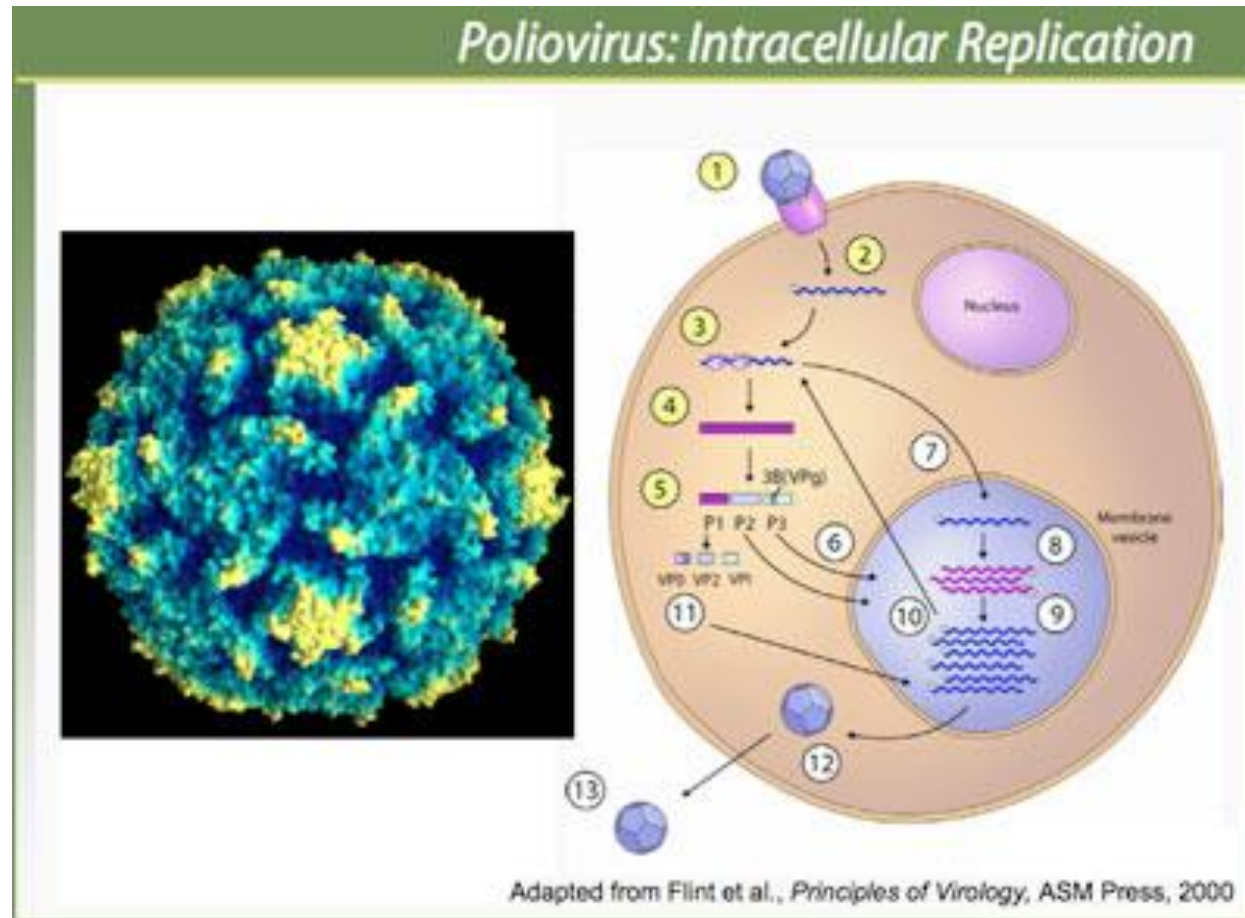
Πολιομυελίτιδα

Ο ιός εισέρχεται στο αίμα και σε 1% των περιπτώσεων ο ιός εισέρχεται στο ΚΝΣ, όπου μολύνει του κινητικούς νευρώνες οδηγώντας στη μυϊκή αδυναμία και οξεία παράλυση. Εμφάνιση μεγάλων επιδημιών μετά το 1880 στην Ευρώπη και συνέχεια στην Αμερική

Προσβολή νευρικών κυττάρων από πολιο-ιό



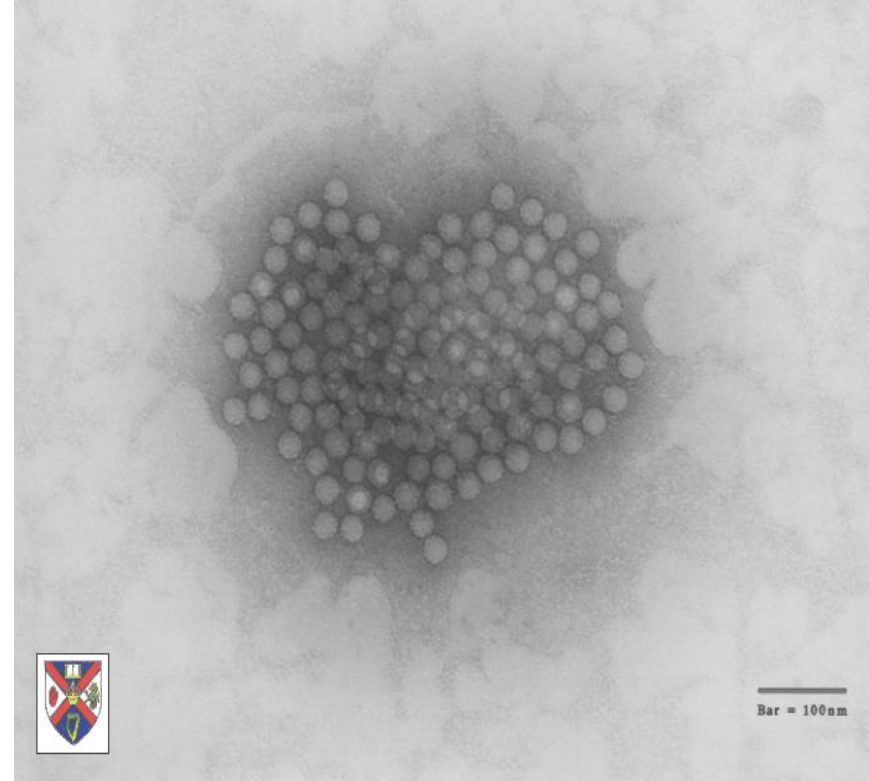
Ιός της πολιομυελίτιδας



Ίός του κοινού κρυολογήματος

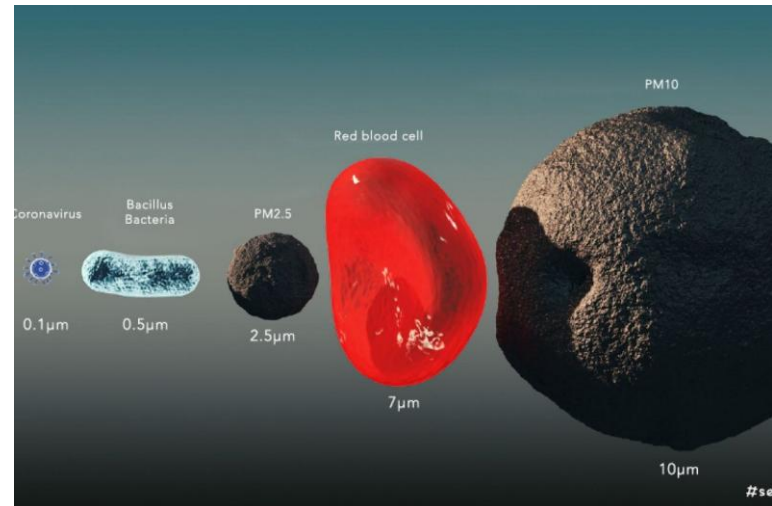
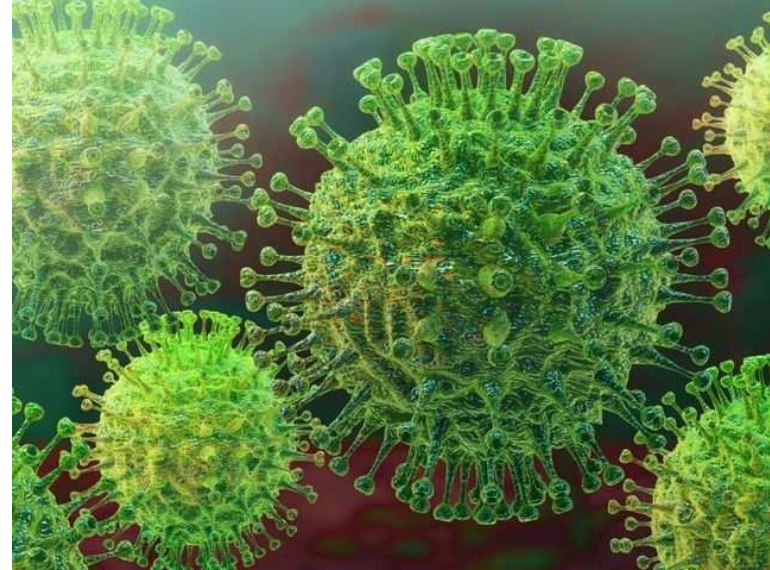
Ο ιός του κοινού κρυολογήματος ανήκει στους *Rhinoviruses*. Μεταδίδεται με τα σταγονίδια της αναπνοής. Έχουν ταυτοποιηθεί τουλάχιστον 115 διαφορετικοί ορότυποι.

Κάθε άτομο παθαίνει τουλάχιστον 3 κρυολογήματα κάθε χρόνο κατά τη διάρκεια της ζωής του



Κορονοϊοί

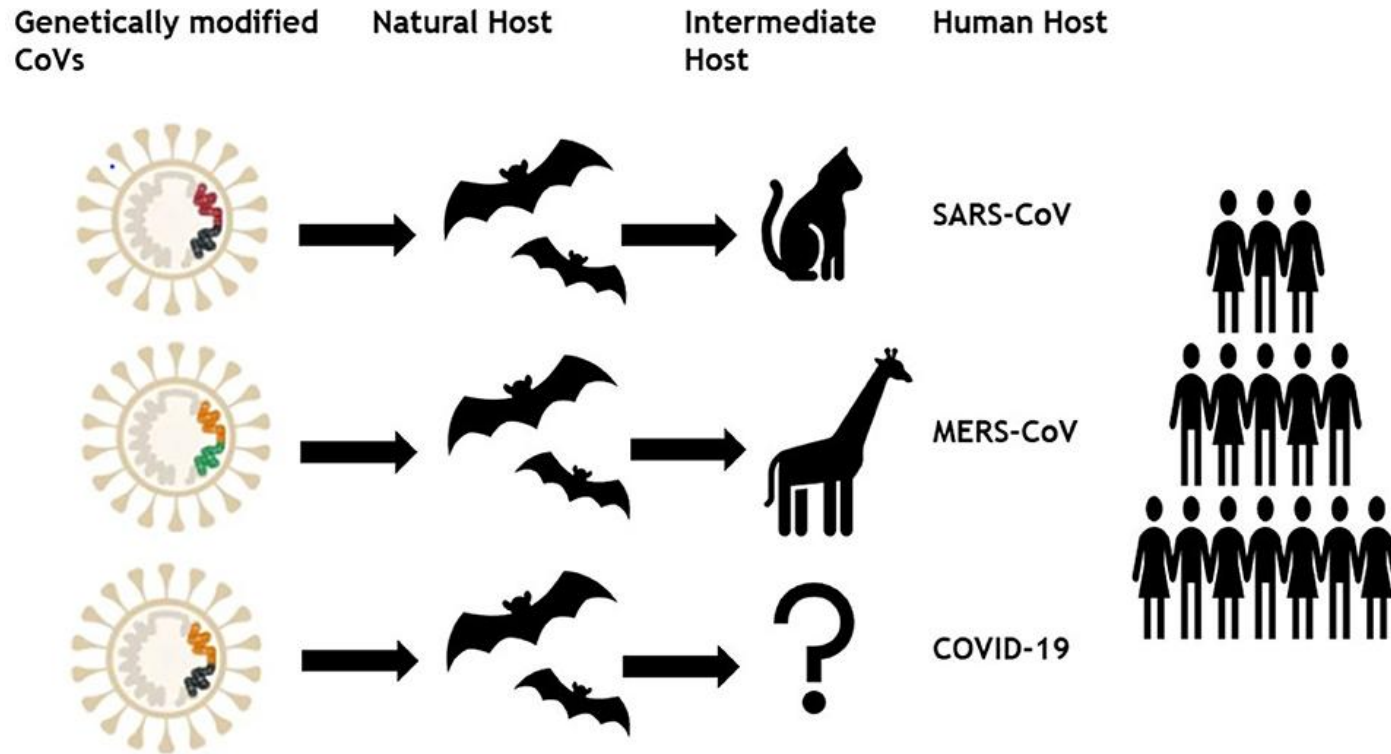
- ✓ Είναι RNA+ ιοί, που αντιγράφονται στο κυτταρόπλασμα όπως οι πολιοιοί
- ✓ Μεγαλύτερο μέγεθος
- ✓ Είναι επενδεδυμένοι και έχουν στην επιφάνειά τους γλυκοπρωτεϊνικές ακίδες σε σχήμα μαστουνιού (κορόνα)
- ✓ Μεγάλα γονιδιώματα (~30kB)



Πρόσφατες επιδημίες που οφείλονται σε κορονοϊούς

- ❑ SARS (Severe acute respiratory syndrome). Κίνα, 02-2002. Σε ένα χρόνο εξαπλώθηκε σε 28 χώρες
- ❑ Προέλευση από ζώα, είσοδος στην τροφική αλυσίδα. Πυροδότηση εκρηκτικής νόσου
- ❑ Ιδιαίτερα μολυσματικός, με σημαντική θνησιμότητα από τις 8.500 περιπτώσεις, 800 κατέληξαν
- ❑ MERS-CoV (Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus). Σαουδική Αραβία 2012
- ❑ Σεπτέμβριος 2012-Ιούνιος 2013: 58 κρούσματα, 33 θάνατοι
- ❑ SARS-CoV2 , Κίνα 2019

Πρόσφατες επιδημίες που οφείλονται σε κορονοϊούς



SARS-CoV2

Παγκόσμια:

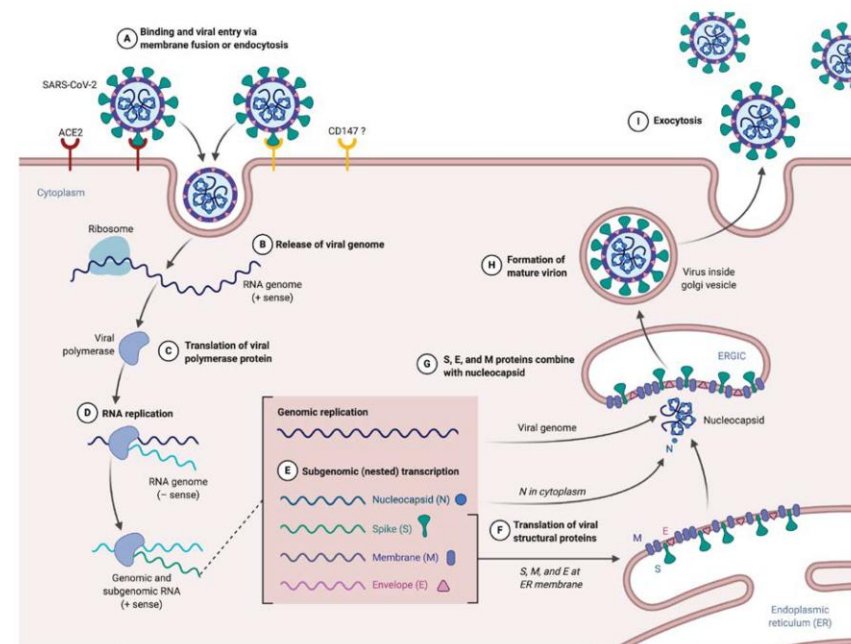
~289.000.000 κρούσματα

5.400.000 θάνατοι (12/2021)

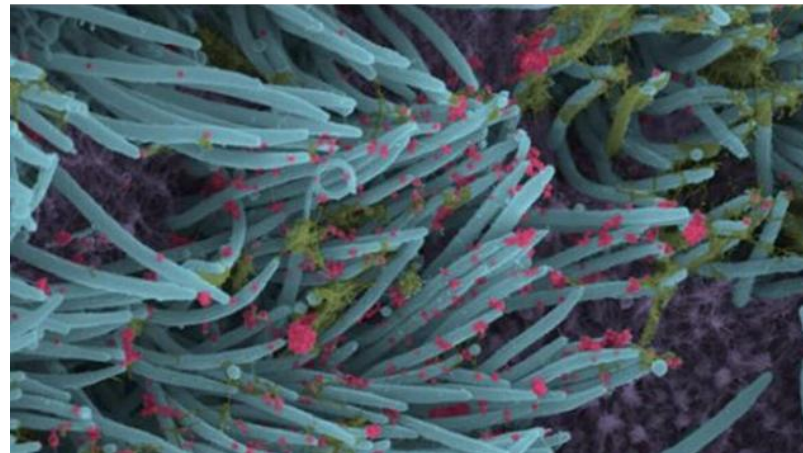
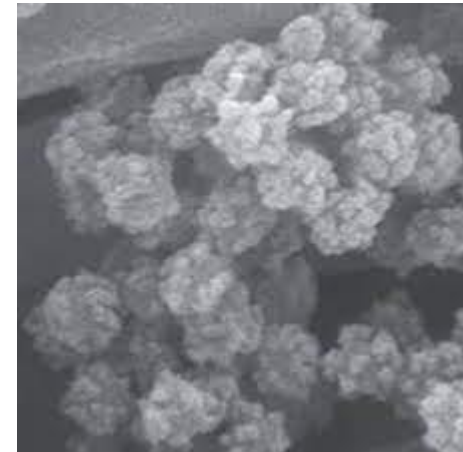
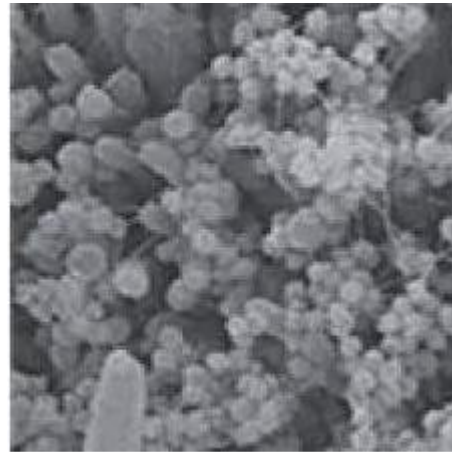
Υποεκτίμηση της κατάστασης:

Υπολογίζεται ότι ανέρχονται σε $14,83 \cdot 10^6$ θανάτους για την ίδια περίοδο

Msemburi et al., Nature 2023, 613: 130-137

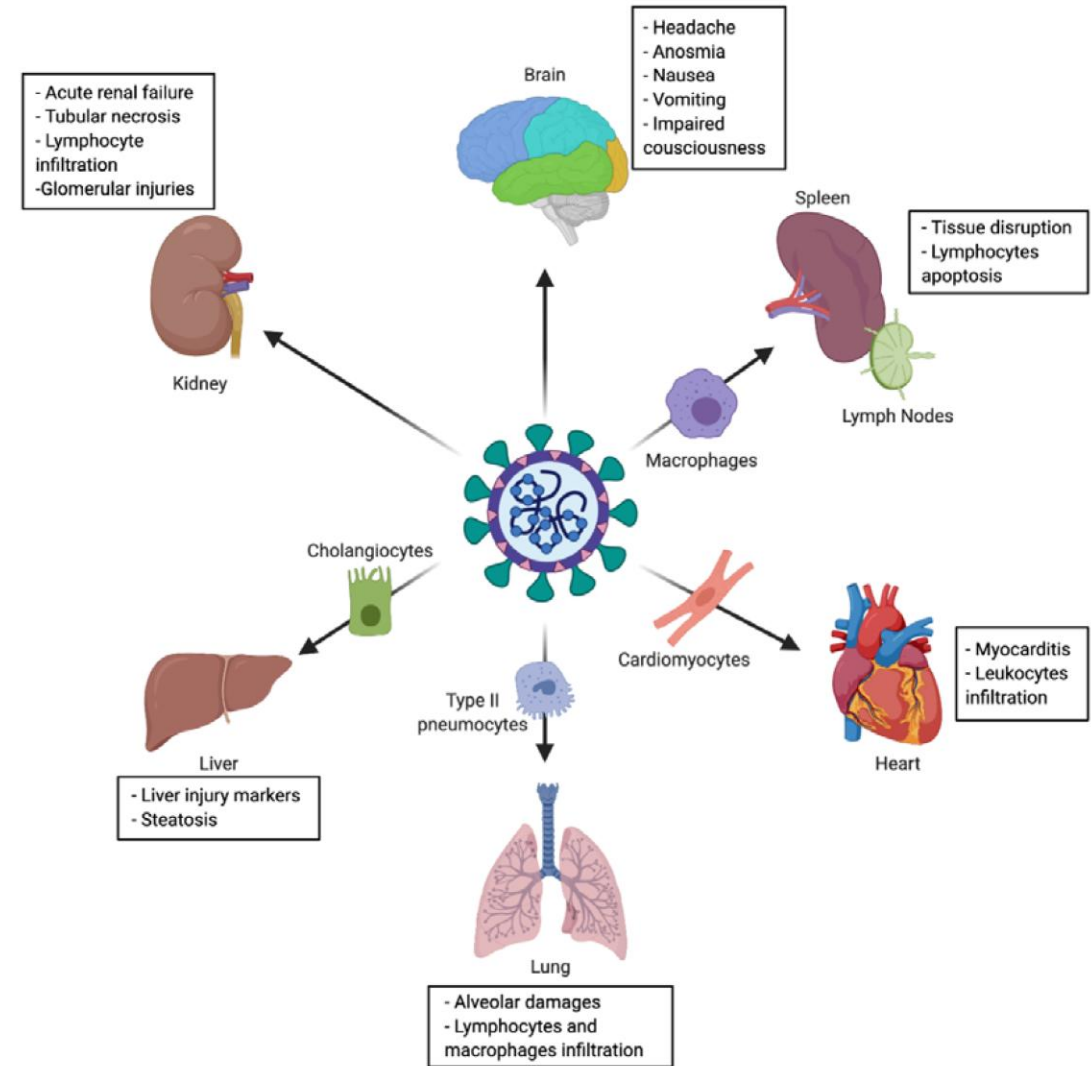


Εικόνες του SARS-CoV-2 να προσβάλλει τα κύτταρα του αναπνευστικού (Camille Ehre, Ph.D., University of North Carolina School of Medicine, Chapel Hill)



SARS-CoV2

Προβάλλει κυρίως κύτταρα του αναπνευστικού, αλλά και άλλα κύτταρα που έχουν τους υποδοχείς ACE2 (επιθηλιακά του εντέρου, ενδοθηλιακά, νεφρών και καρδιάς)

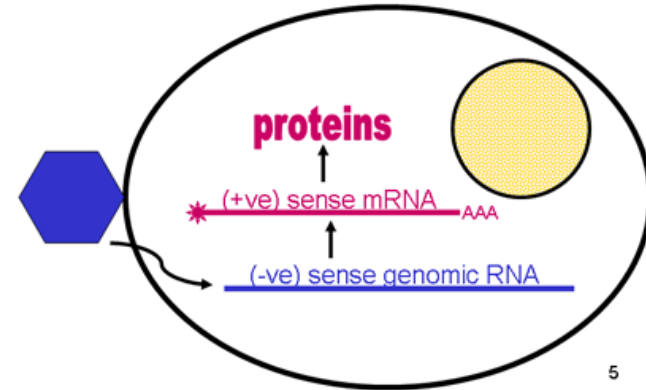


RNA ζωικοί ιοί - RNA ιοί

- Το μονόκλωνο RNA που διαθέτουν, δεν μπορεί να λειτουργήσει κατευθείαν ως mRNA, αλλά μεταγράφεται πρώτα στο συμπληρωματικό του (+RNA κλώνο), ο οποίος λειτουργεί ως mRNA.
- Σημαντικές κατηγορίες -RNA ιών: ραβδο-ιοί (rhabdoviruses) (ιός της λύσσας),
- ορθομυξο-ιοί (orthomyxoviruses) (ιός της γρίππης),
- ιός Ebola
- Χανταϊοί (Hantaviruses)

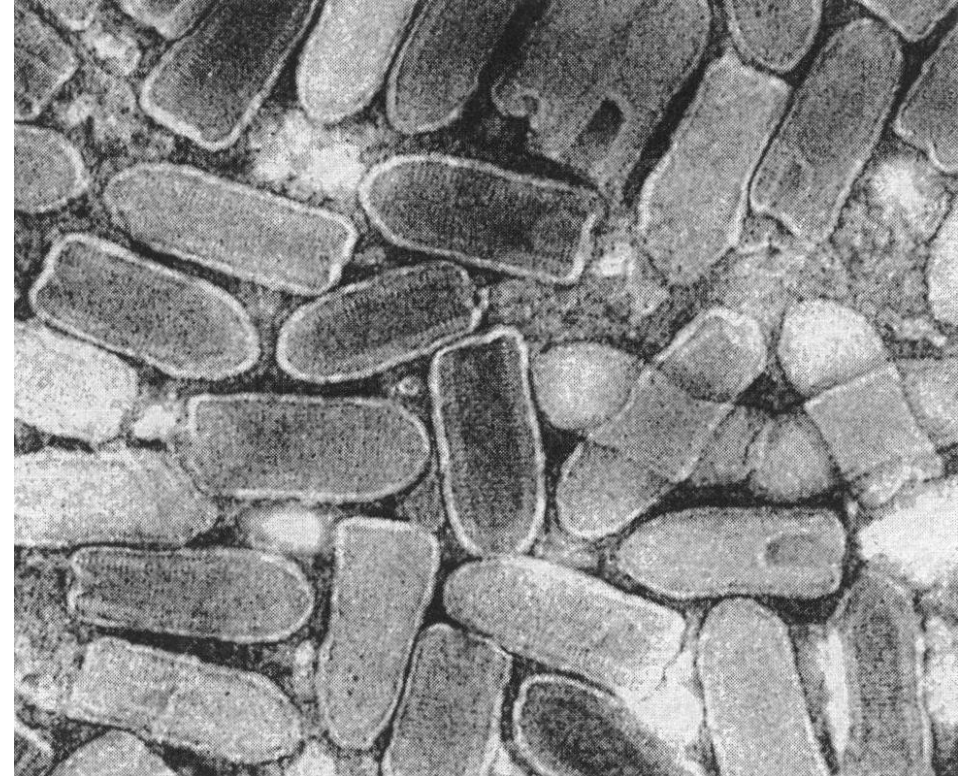
Need to make mRNA

MINUS (NEGATIVE) SENSE RNA GENOMES



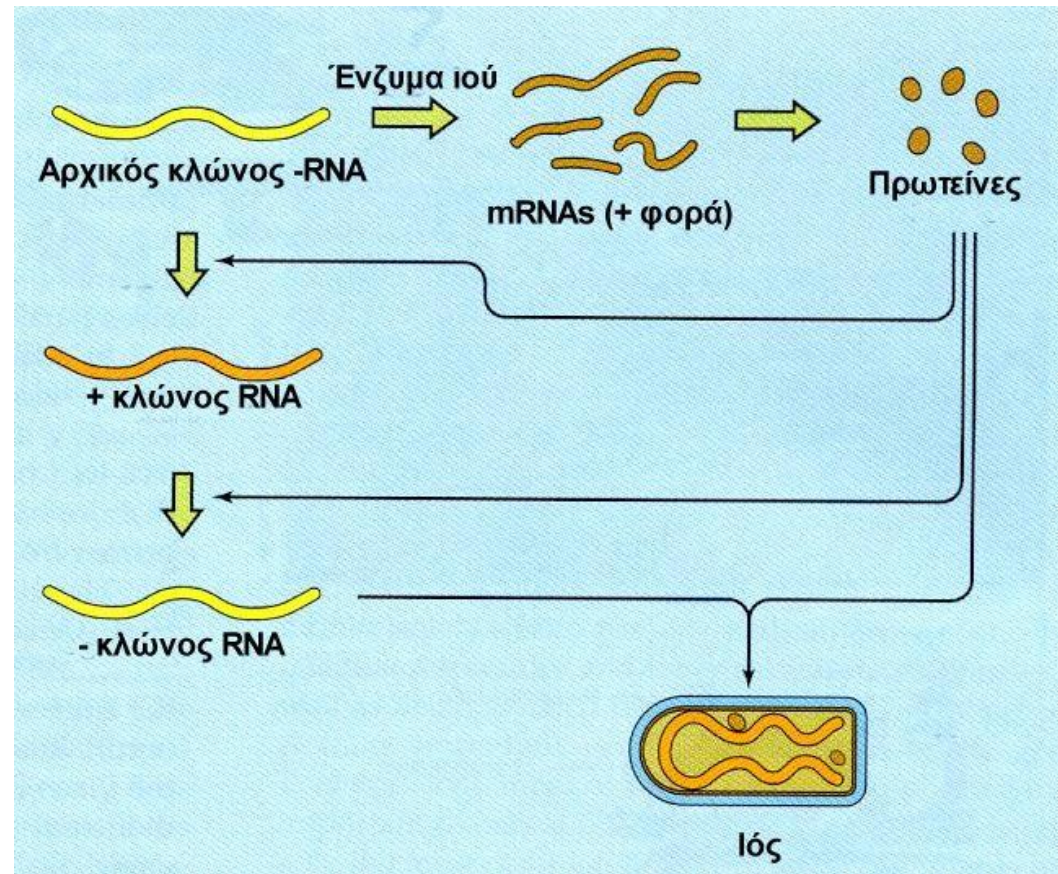
RNA ιοί (Ραβδο-ιοί)

- ✦ Οι ραβδο-ιοί πήραν το όνομά τους από το σχήμα τους (ραβδοειδές)
- ✦ Ιοί με παχύ και σύνθετο έλυτρο (λιπίδια)
- ✦ Το καψίδιο παρουσιάζει ελικοειδή συμμετρία και μαζί με το νουκλεϊκό οξύ του ιού φθάνει μόνο το 2-3% του βάρους του ιού



Ραβδο-ιοί

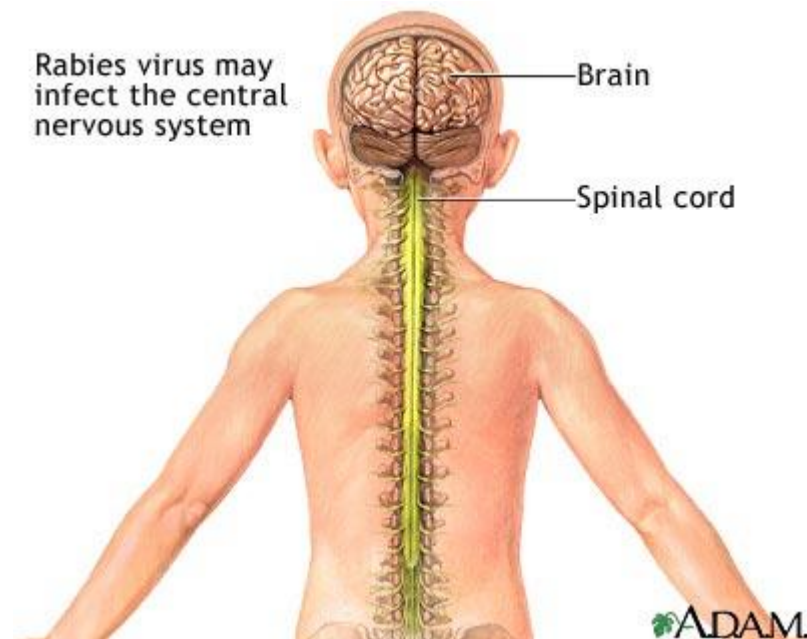
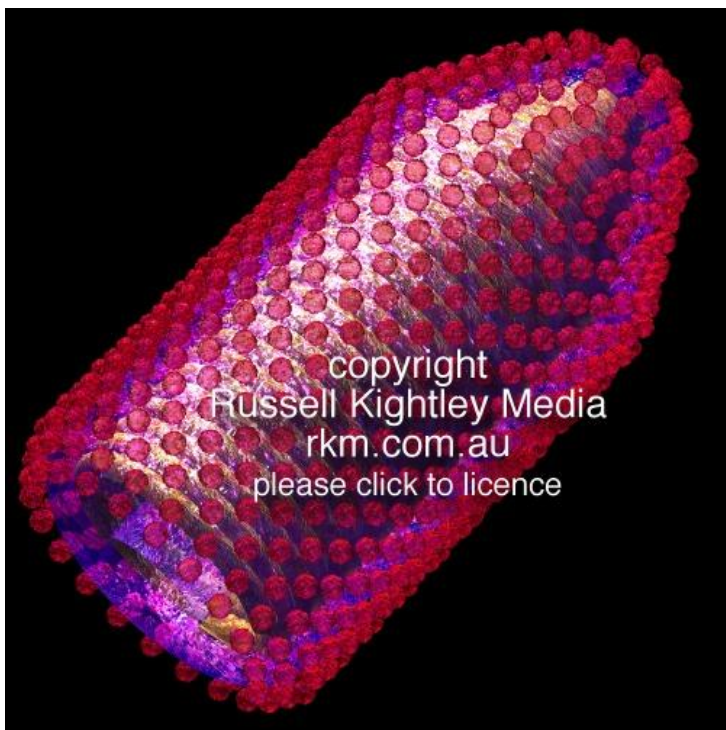
- ❖ Ένζυμα του ιού: RNA-εξαρτώμενη RNA-πολυμεράση, RNA μεθυλάση και κάποια ένζυμα που προσθέτουν το καπέλο μετά την μεταγραφή (μεταγραφική ωρίμανση)
- ❖ Το RNA μεταγράφεται στο κυτταρόπλασμα σε δύο διαφορετικά είδη RNA:
 - ➔ α) +RNAs, τα οποία λειτουργούν ως mRNAs και
 - ➔ β) - RNA, αντίγραφο όλου του ιϊκού γονιδιώματος ➔ λειτουργεί ως καλούπι για τη μετέπειτα σύνθεση του -RNA κλώνου



Ραβδο-ιοί

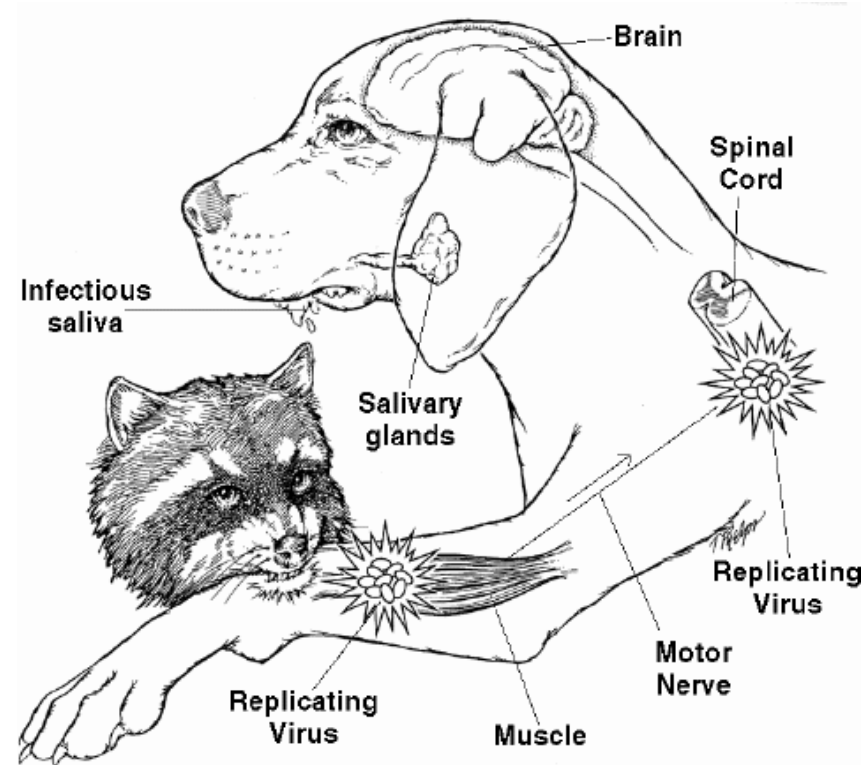
- ❑ Συντίθενται δύο ειδών πρωτεΐνες: πρωτεΐνες για το καψίδιο και πρωτεΐνες για το έλυτρο
- ❑ Πρώτα γίνεται η συγκέντρωση των πρωτεϊνών του καψιδίου (νουκλεοκαψίδιο), που η σύνθεσή τους γίνεται σε ριβοσώματα ελεύθερα στο κυτταρόπλασμα
- ❑ Η σύνθεση των πρωτεϊνών του ελύτρου γίνεται σε ριβοσώματα που είναι συνδεδεμένα με μεμβράνες και εκεί τους προστίθενται υδατανθρακικές αλυσίδες (δημιουργία γλυκοπρωτεϊνών)
- ❑ Οι πρωτεΐνες αυτές μοιάζουν με τις αντίστοιχες πρωτεΐνες που βρίσκονται στη κυτταροπλασματική μεμβράνη του κυττάρου ξενιστή. Μεταφέρονται στην κυτταροπλασματική μεμβράνη και αντικαθιστούν τις πρωτεΐνες της
- ❑ Όταν σχηματιστεί το νουκλεοκαψίδιο οδεύει προς τα σημεία εκείνα της μεμβράνης που βρίσκονται οι ιϊκές πρωτεΐνες και εξέρχεται από το κύτταρο με εκβλάστηση → αποκτώντας για έλυτρο το τμήμα εκείνο της κυτταροπλασματικής μεμβράνης που περιέχει τις ιϊκές πρωτεΐνες.

Ιός της λύσσας



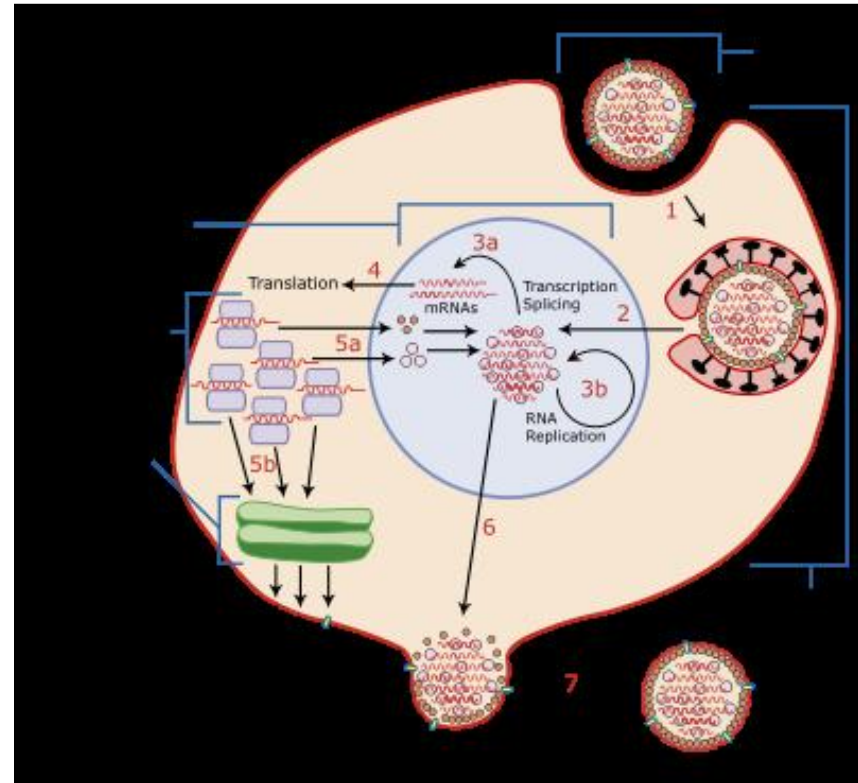
Ιός της λύσσας

- ✓ Μόλυνση από δάγκωμα μολυσμένου ζώου ή επαφή με πληγή στο δέρμα
- ✓ Είσοδος του ιού στο περιφερικό ΝΣ και ταξιδεύει κατά μήκος των νεύρων προς το ΚΝΣ (δεν ανιχνεύεται ακόμη)
- ✓ Στον εγκέφαλο προκαλεί ραγδαία εγκεφαλίτιδα (πρόδρομη φάση)
- ✓ Όταν ο ασθενής εκδηλώσει συμπτώματα η θεραπεία δεν είναι αποτελεσματική συνήθως και επέρχεται θάνατος (~100%)



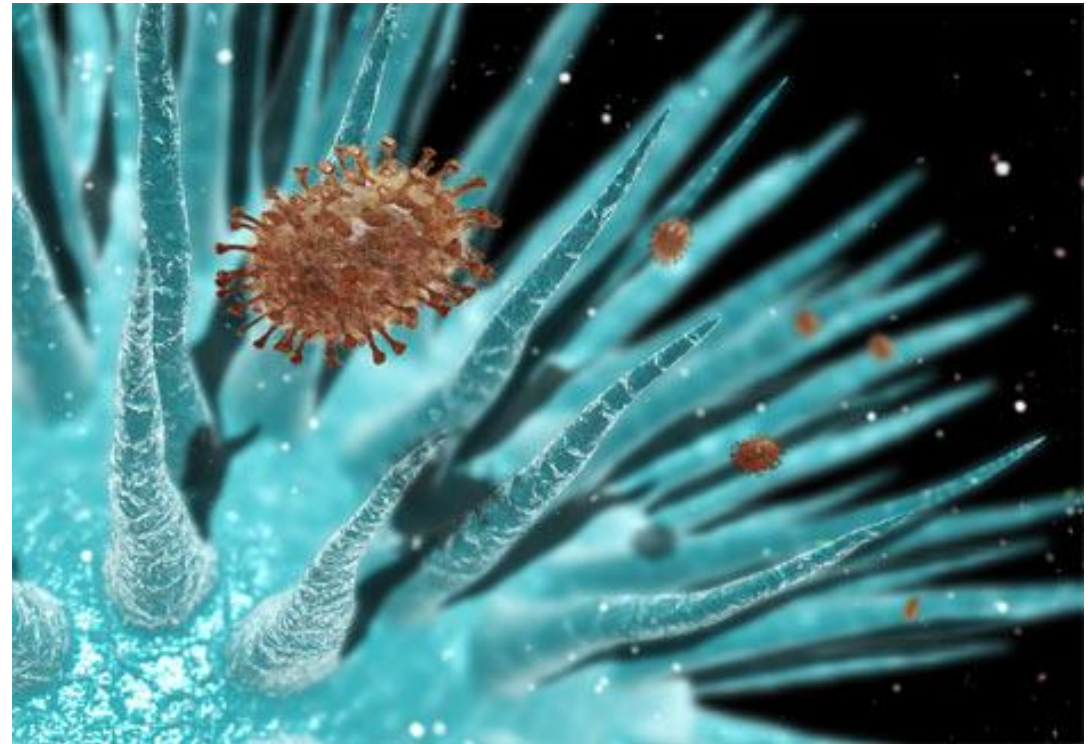
-RNA ιοί (ορθομυξο-ιοί)

- Αντιδρούν με τον βλεννογόνο που καλύπτει τις επιφάνειες των κυττάρων → ιός της γρίπης, αντιδρά με τον βλεννογόνο που καλύπτει την αναπνευστική οδό
- Το RNA τους αποτελείται από ευθύγραμμα τμήματα (ιός της γρίπης: 8 γραμμ. μόρια RNA)



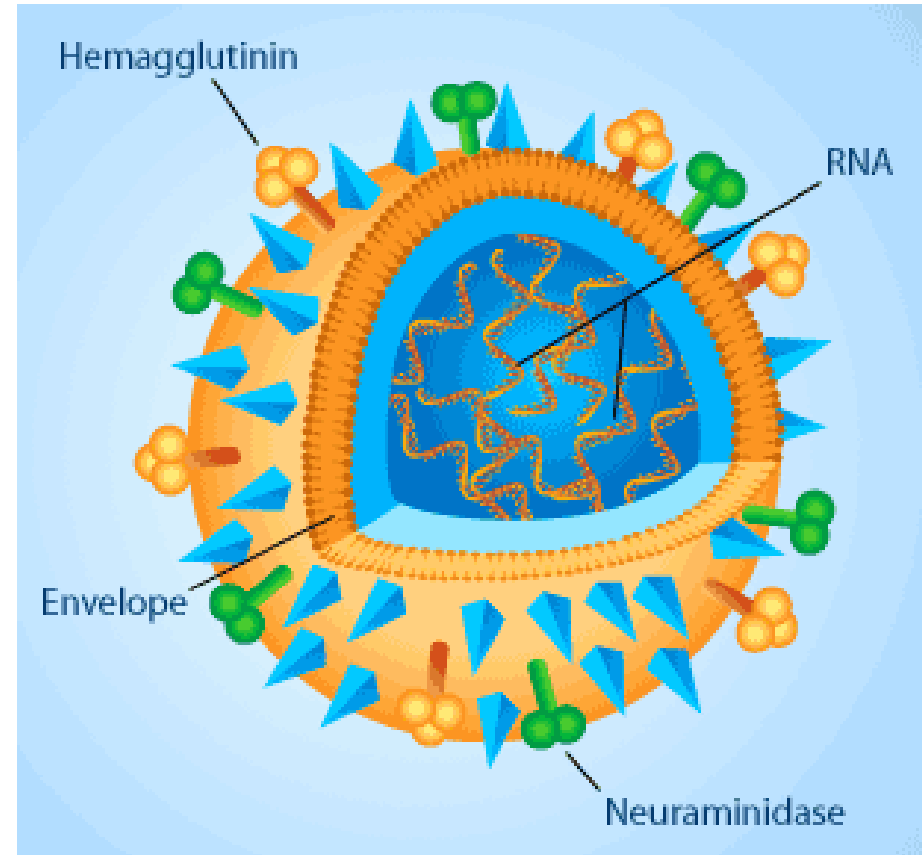
Ιός της γρίπης

- ☒ Νουκλεοκαψίδιο: ελικοειδούς συμμετρίας
- ☒ Μανδύας (έλυτρο): περιλαμβάνει ειδικές πρωτεΐνες του ιού και λιπίδια που προέρχονται από το κύτταρο ξενιστή
- ☒ Εξωτερικά του ελύτρου: πρωτεϊνικά ινίδια που αντιδρούν με την επιφάνεια του κυττάρου ξενιστή

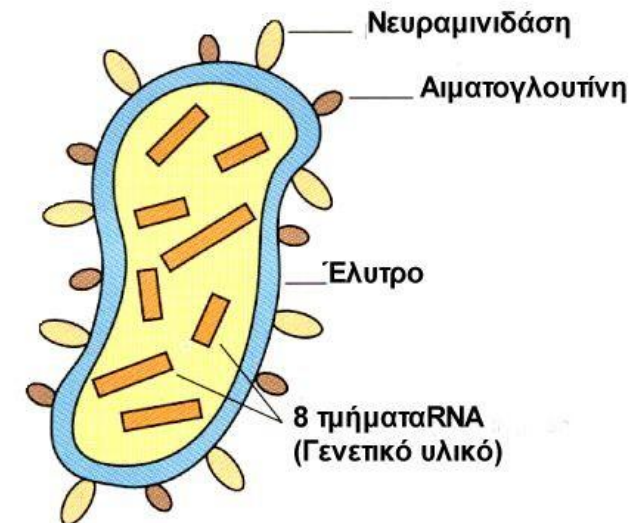
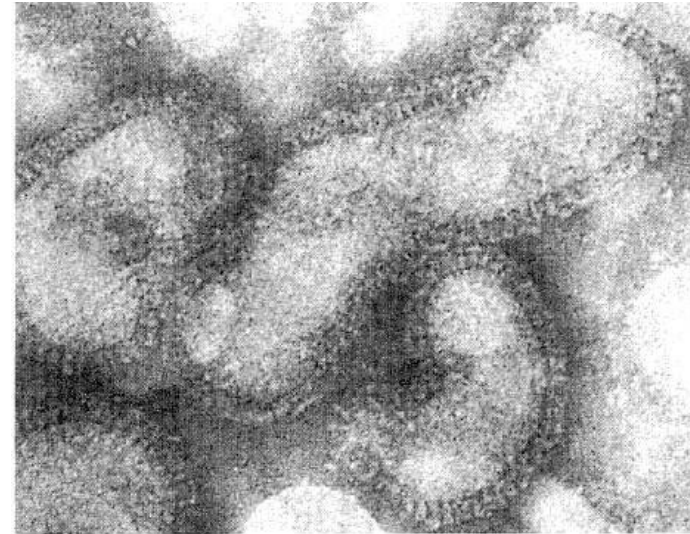


Ιός της γρίπης

- ❑ Αιμοσυγκολλητίνη: τα αντισώματα που δημιουργούνται εναντίον της αιμοσυγκολλητίνης εμποδίζουν την είσοδο του ιού στο κύτταρο και ουσιαστικά αδρανοποιούν τον ιό
- ❑ Νευραμινιδάση: διασπά το σιαλικό οξύ που είναι συστατικό της κυτταροπλασματικής μεμβράνης του ξενιστή → βοηθά την έξοδο του ιού από το κύτταρο, καταστρέφοντας την κυτταροπλασματική μεμβράνη



Ιός της γρίπης



Ιός της γρίπης

- ✓ Ο ιός εισέρχεται στο κύτταρο με τη διαδικασία της ενδοκύττωσης → αποχωρίζεται από το έλυτρο → κατευθύνεται προς τον πυρήνα
- ✓ Η «αντιγραφή» του RNA γίνεται στον πυρήνα
- ✓ Οι ιϊκές πρωτεΐνες συντίθενται στο κυτταρόπλασμα Στην συνέχεια μάλλον μεταφέρονται στον πυρήνα όπου σχηματίζονται τα νουκλοκαψίδια
- ✓ Τα νουκλεοκαψίδια προχωρούν εξειδικευμένα προς το μέρος της κυτταροπλασματικής μεμβράνης όπου ήδη βρίσκονται εκεί η αιμοσυγκολλητίνη και η νευραμινιδάση
- ✓ Το τελικό έλυτρο γίνεται από τμήματα της κυτταροπλασματικής μεμβράνης όπως και στους ραβδο-ιούς

Ιός της γρίπης - Αντιγονική μετατόπιση (antigenic shift)

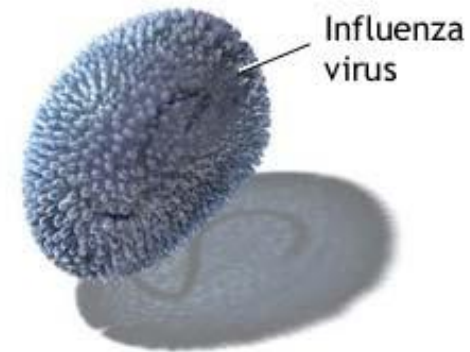
- ✓ Όταν δύο διαφορετικά στελέχη του ιού προσβάλλουν το ίδιο κύτταρο, είναι δυνατόν να ανταλλάξουν τμήματα του RNA γονιδιώματός τους → δημιουργούνται στην επιφάνεια του ελύτρου των ιϊκών σωματιδίων διαφορετικά αντιγόνα → γίνεται ο ιός ανθεκτικός στα αντισώματα που έχει ήδη δημιουργήσει ο οργανισμός
- ✓ Το φαινόμενο αυτό μπορεί να δημιουργήσει νέες επιδημίες γρίπης (antigenic shift)

Γρίπη

- Υπάρχουν 3 διαφορετικοί τύποι ιών γρίπης: Α, Β και Γ. Η γρίπη Α είναι η πλέον παθογόνος για τον άνθρωπο.
- Μεταδίδεται μέσω σταγονιδίων με τον αέρα. Προσβάλλει τους υμένες της ανώτερης αναπνευστικής οδού και περιστασιακά τους πνεύμονες

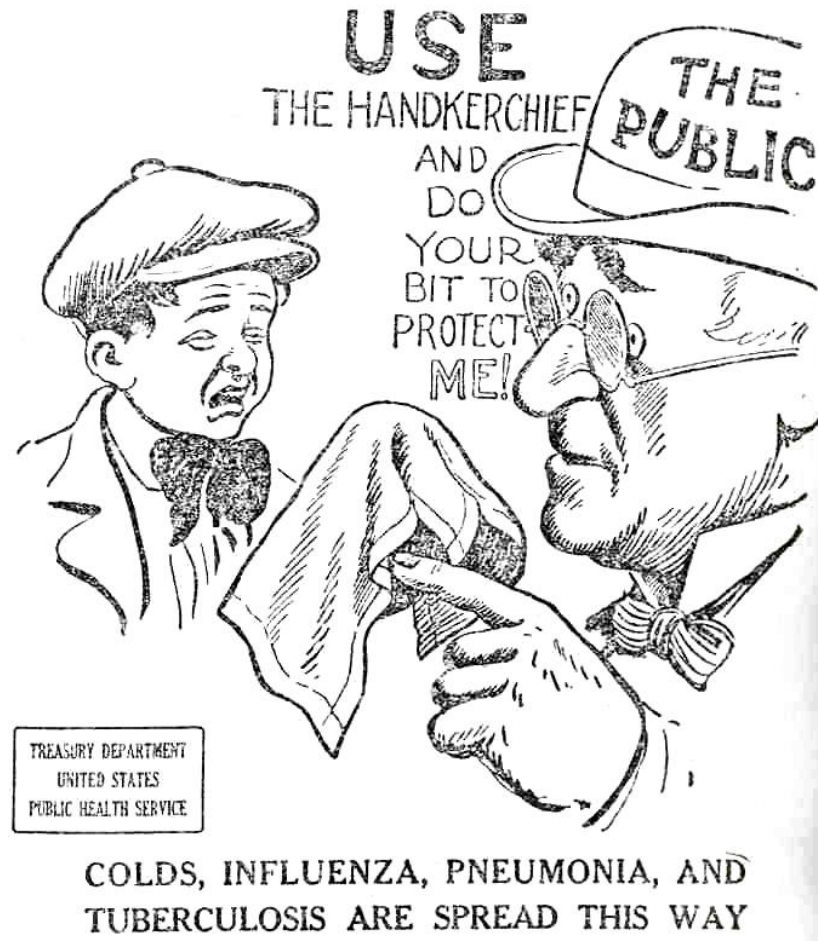


Influenza is a viral infection of the respiratory tract



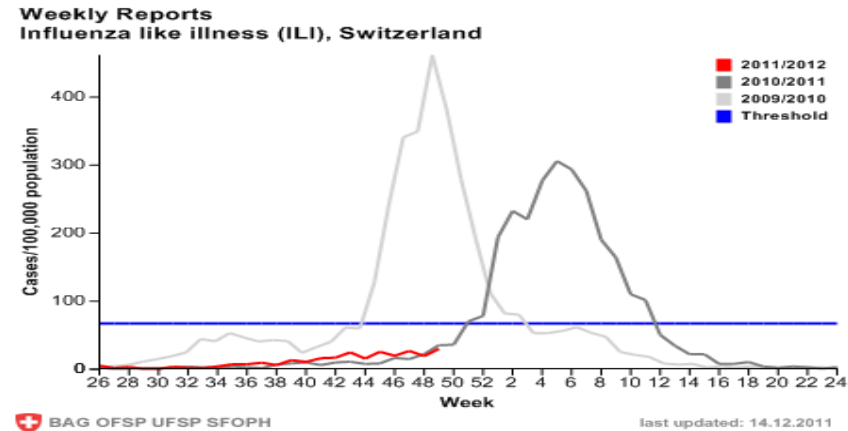
Γρίπη

- ❑ Συμπτώματα: πυρετός, ρίγη, κόπωση, πονοκέφαλος, γενικευμένο άλγος.
- ❑ Η ανάρρωση γίνεται αυθόρμητα. Επιπλοκές (πνευμονία) οφείλονται σε βακτηριακές δευτερογενείς λοιμώξεις

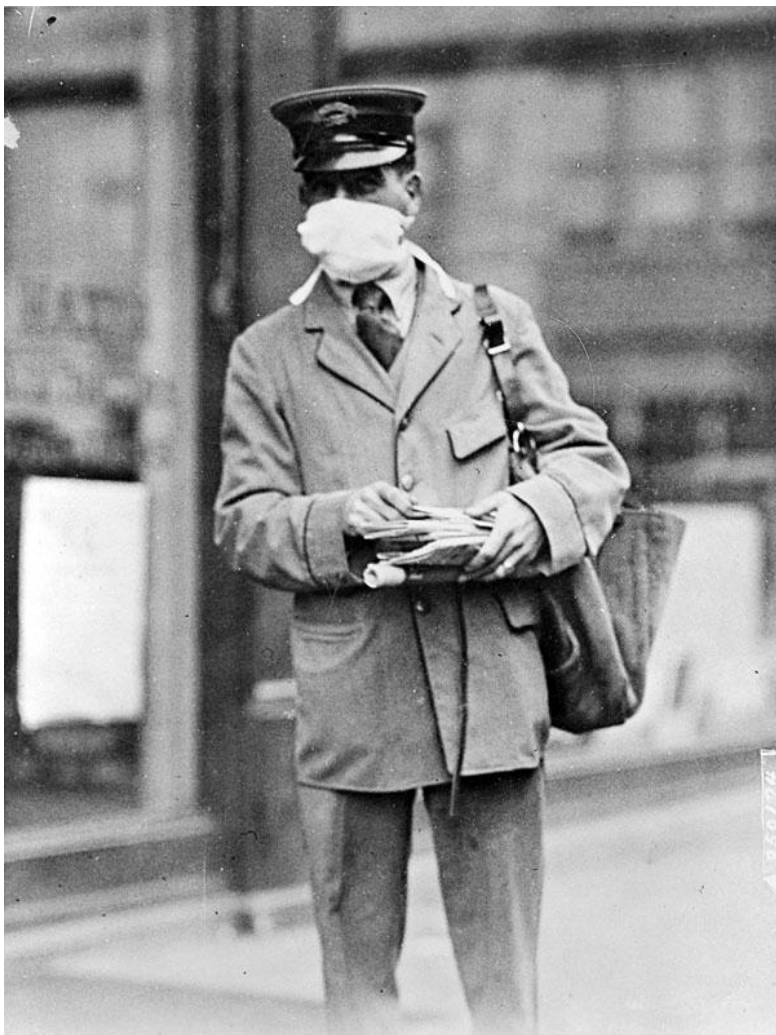


Γρίπη

- ❖ Ενδημική ιική νόσος: Εξάρσεις γρίπης εμφανίζονται κάθε χρόνο (τέλος φθινοπώρου-χειμώνα)
- ❖ Επιδημίες γρίπης: σοβαρές εξάρσεις κάθε 2-3 χρόνια
- ❖ Πανδημίες: κάθε 30-40 χρόνια (αντιγονική μετατόπιση). Ασιατική γρίπη (1957) 22×10^6 κρούσματα, ισπανική γρίπη (1918)



Πανδημία γρίπης ΗΠΑ 1918, Μ. Βρετανία 1957



Είναι κρυολόγημα ή γρίπη;

→ Συμπτώματα

- Πυρετός
- Πονοκέφαλος
- Γενικευμένη κακουχία
- Ρινικά εκκρίματα
- Πονόλαιμος
- Εμετός ή/και διάρροια

Κρυολόγημα Γρίπη

Σπάνιος	Συνήθης
Σπάνιος	Συνήθης
Ελαφρά	Έντονη
Άφθονα	πιο λίγα
Συνήθης	Σπάνιος
Σπάνια	Συνήθη

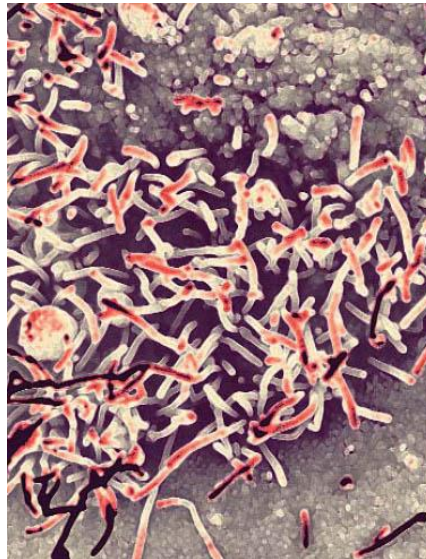
Ιός Ebola



A hemorrhagic rash appears over entire body



ADAM.



Χανταϊοί

- ❖ Ενδιάμεσος ξενιστής τα τρωκτικά (ποντίκια)
- ❖ Ο άνθρωπος μολύνεται μέσω της επαφής με εκκρίσεις ποντικών ή με δάγκωμα από ποντίκι
- ❖ Σπάνια μεταδίδεται από άνθρωπο σε άνθρωπο
- ❖ Εμφανίζεται πιο συχνά στη λατινική Αμερική
- ❖ Συμπτώματα: πυρετός, πονοκέφαλος, βήχας, δύσπνοια

RNA ζωικοί ιοί διπλής έλικας (Reo-viruses)

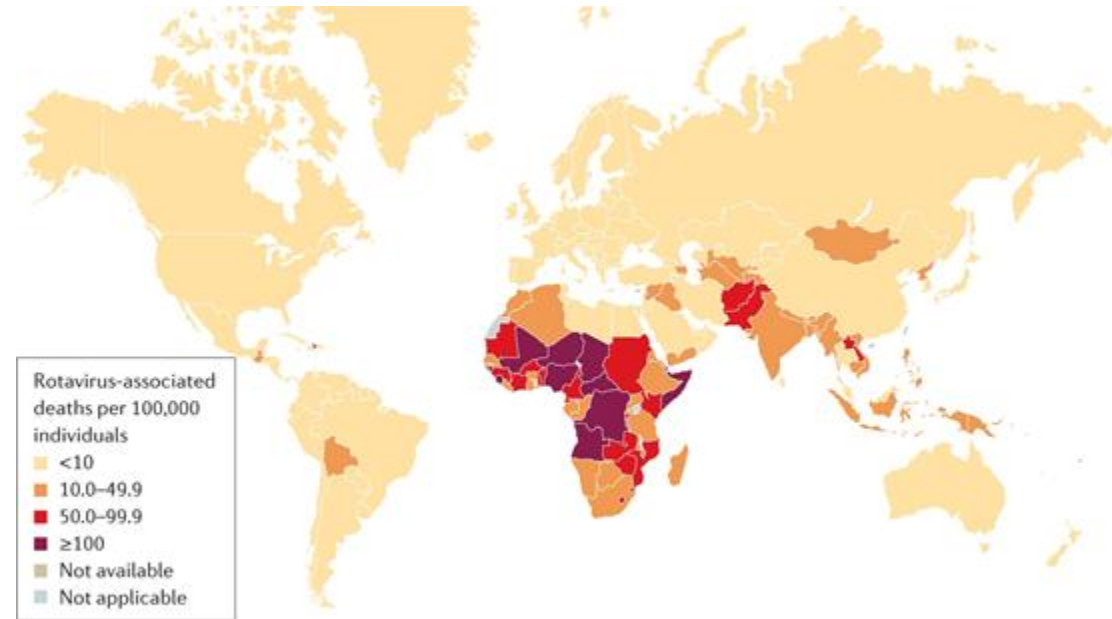
- respiratory, enteric, orphan.
- Προσβάλλουν αρκετά θηλαστικά, έντομα, φυτά.
- Δεν έχουν συνδεθεί με κάποιο ιδιαίτερο σύνδρομο του ανθρώπου αν και απομονώνονται από άτομα με αναπνευστικά ή/και γαστρεντερικά προβλήματα
- Ο ροτα-ιός (rotavirus) είναι ένας ιός που προκαλεί διάρροιες στα παιδιά ηλικίας 6-24 μηνών

Ροταϊός



Κατανομή της παιδικής θνησιμότητας λόγω του ροταϊού (2017)

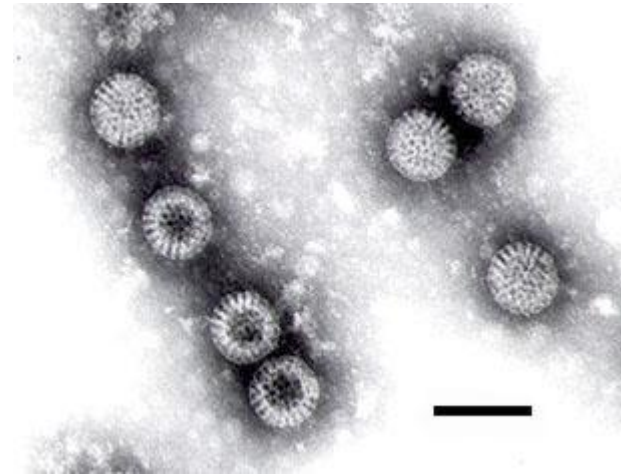
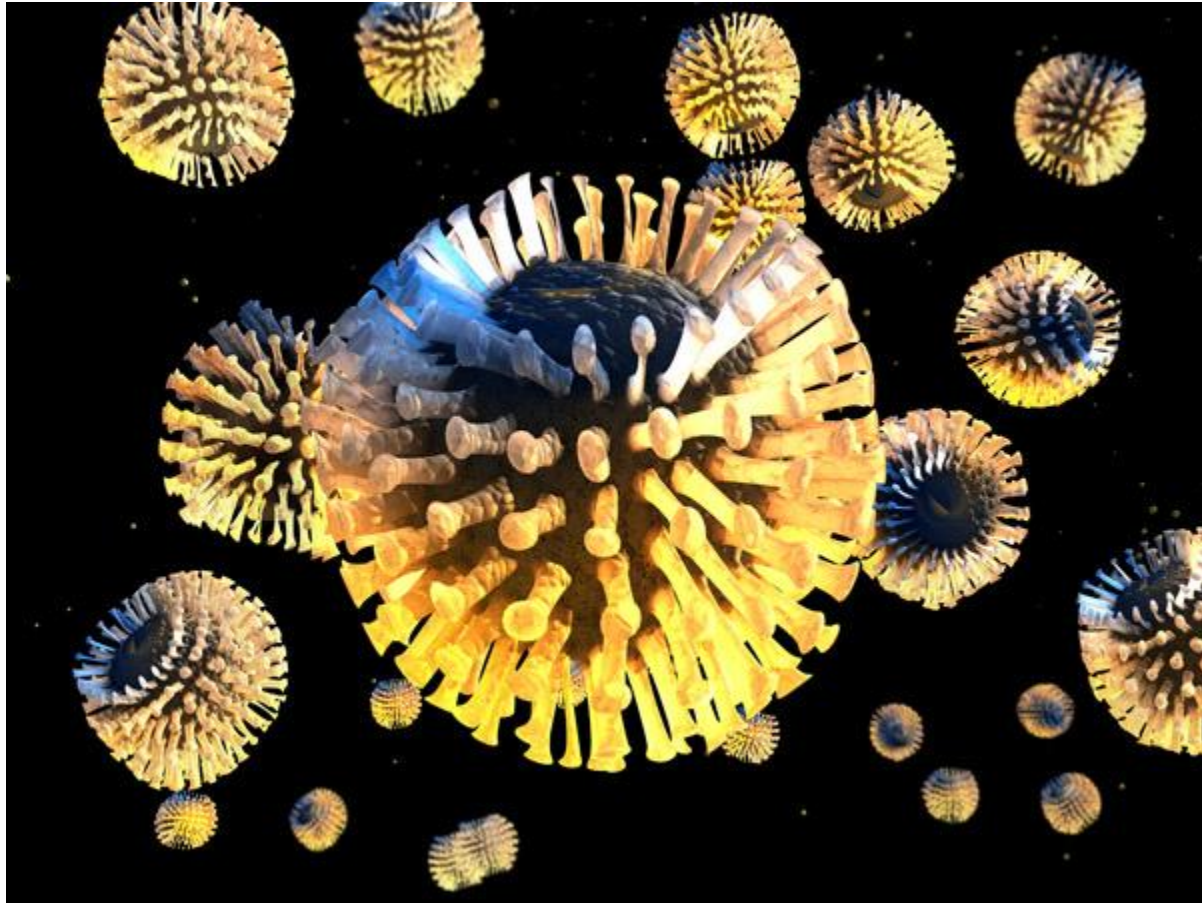
Crawford et al., 2017, Nature Reviews Disease Primers, 3, Article number: 17083



RNA ζωϊκοί ιοί διπλής έλικας (Reo-viruses)

- ο Νουκλεοκαψίδιο: εικοσαεδρικής συμμετρίας
- ο Δεν φέρουν έλυτρο
- ο 10-12 μόρια RNA διπλής έλικας (δύσκολο να ξετυλιχθεί διότι δεν υπάρχουν RNA-ελικάσες)
- ο Κάθε μόριο RNA κωδικοποιεί μία πρωτεΐνη
- ο Η «αντιγραφή» του RNA γίνεται στο κυτταρόπλασμα του κυττάρου ξενιστή
- ο Το RNA διπλής έλικας είναι ανενεργό ως mRNA → η μεταγραφή γίνεται χρησιμοποιώντας τον ένα κλώνο

Ροταϊός

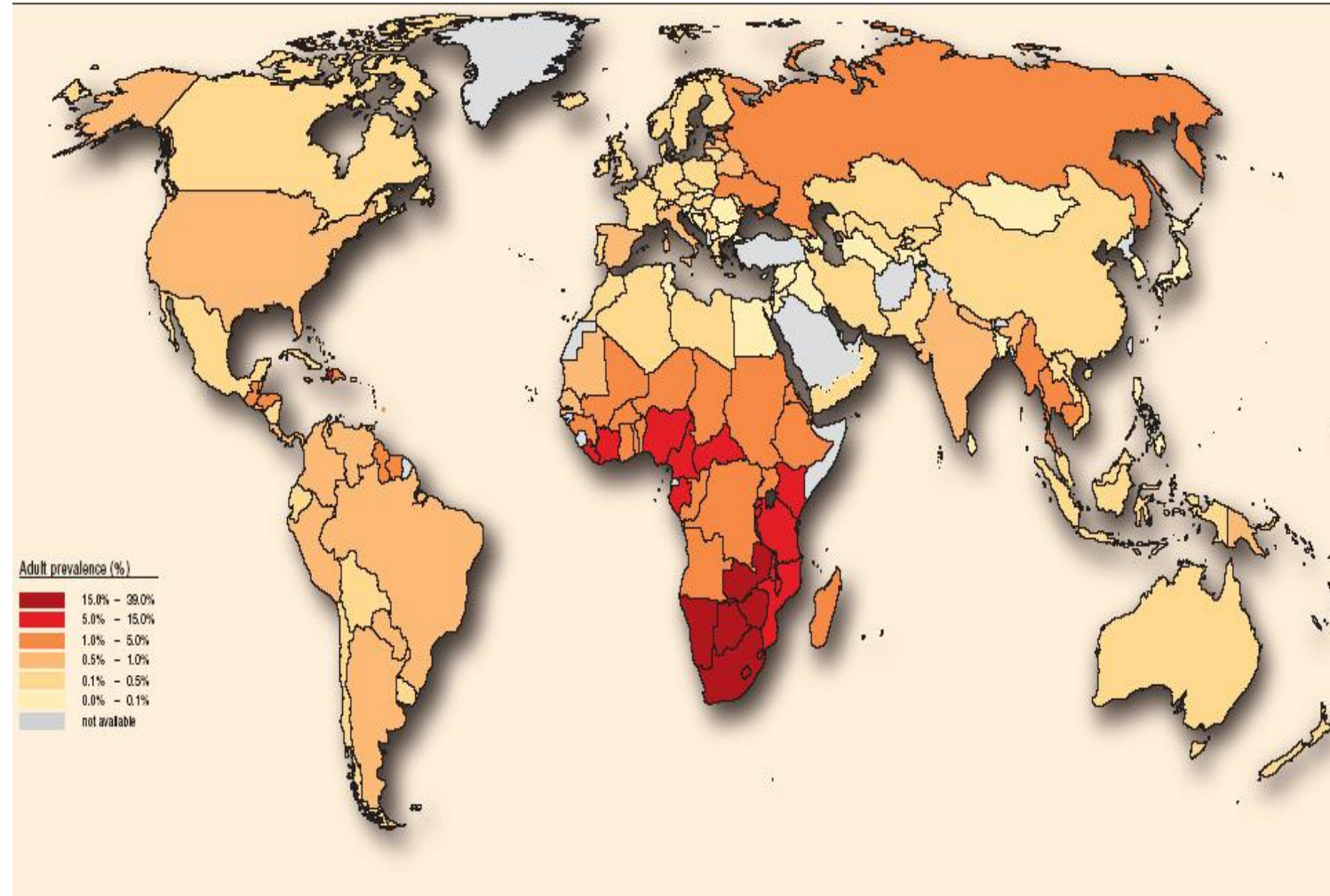


Ρετροϊοί (Retroviruses)

- ❖ retro-: αρχικά του ενζύμου που φέρουν (reverse transcriptase)
- ❖ RNA ιοί, αλλά αναπαράγονται σχηματίζοντας ένα ενδιάμεσο μόριο DNA
- ❖ Παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον διότι:
- ❖ μερικοί από αυτούς προκαλούν κάποιες μορφές καρκίνου
- ❖ ιός HIV, ο οποίος προκαλεί το AIDS
- ❖ το ενδιάμεσο μόριο του DNA που σχηματίζουν μέσα στο κύτταρο, ενσωματώνεται στο DNA του ξενιστή: διαδικασία που μελετάται για την είσοδο ξένων γονιδίων στα κύτταρα για λόγους θεραπευτικούς (γονιδιακή θεραπεία)
- ❖ αντίστροφη μεταγραφάση: αποτελεί πολύ σημαντικό εργαλείο για τη Γενετική Μηχανική

39.4 εκατομμύρια
άνθρωποι: τέλη 2004

HIV

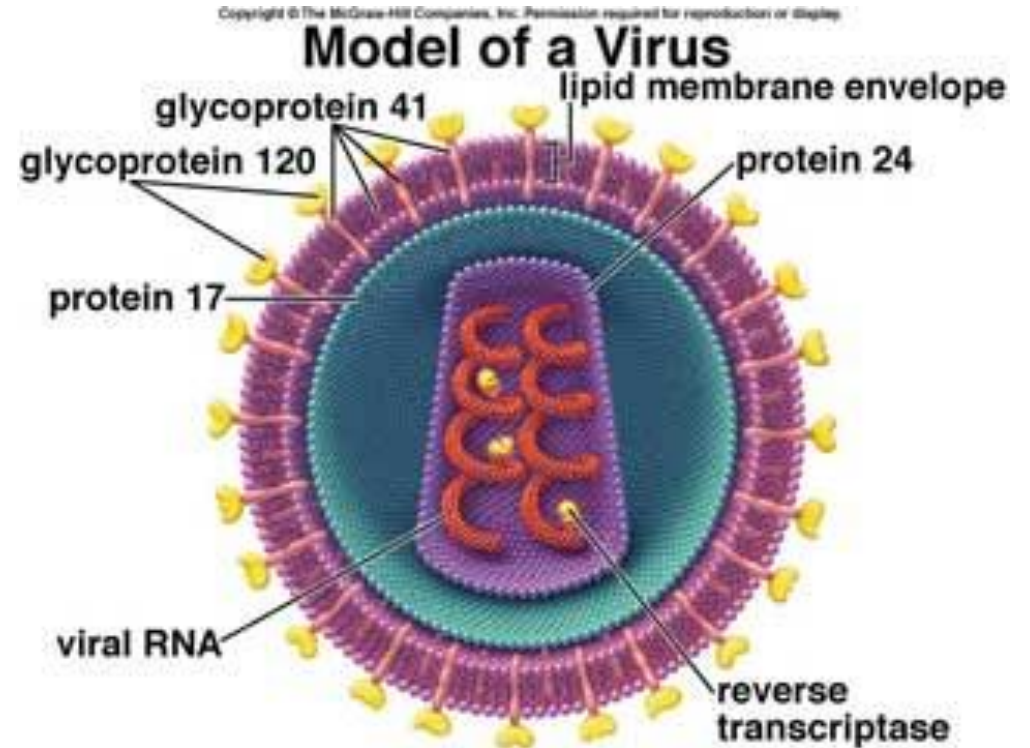


Ρετροϊοί (Retroviruses)

- ❖ Διαθέτουν χαρακτηριστικά των DNA και RNA ιών
- ❖ αντίστροφη μεταγραφάση: απαντάται και σε κάποιους άλλους ιούς (ιός της ηπατίτιδας Β). Οι ιοί αυτοί όμως περιέχουν μέσα στο καψίδιο DNA και όχι RNA
- ❖ Φέρουν έλυτρο, το οποίο περιέχει αρκετές πρωτεΐνες
- ❖ Στο εσωτερικό περιέχουν 7 πρωτεΐνες: 4 δομικές και 3 ένζυμα (αντίστροφη μεταγραφάση, DNA ενδονουκλουεάση, πρωτεάση)
- ❖ Περιέχουν κυτταρικής προέλευσης t-RNAs: τα χρησιμοποιούν για την αντιγραφή του δικού τους γονιδιώματος

Ρετροϊοί (Retroviruses)

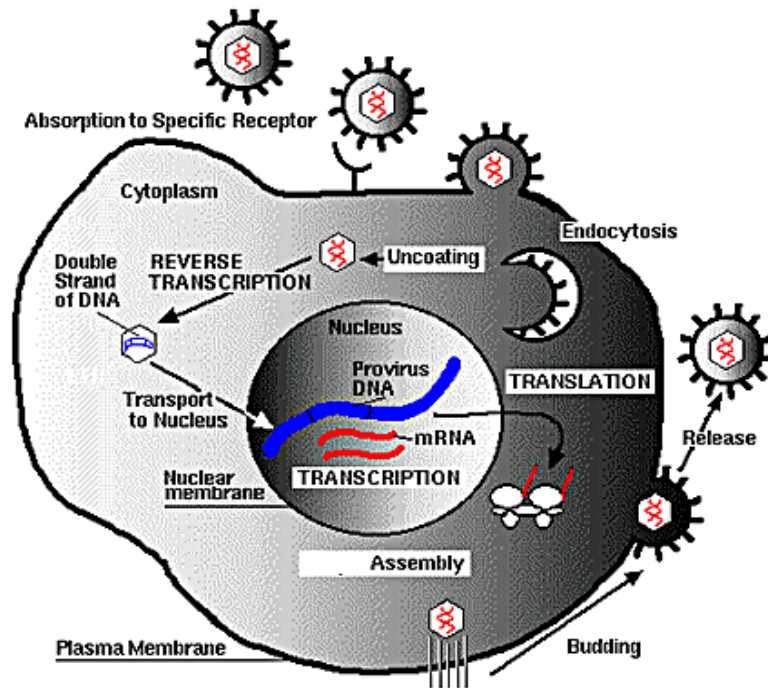
Γονιδίωμα μοναδικό: δύο όμοια μόρια +RNA μονόκλινα. Το 5'- άκρο φέρει το καπέλο και το 3'- άκρο φέρει μία polyA ουρά. Με αυτή τη μορφή το RNA θα μπορούσε να λειτουργήσει κατευθείαν ως mRNA, γεγονός όμως που δεν συμβαίνει



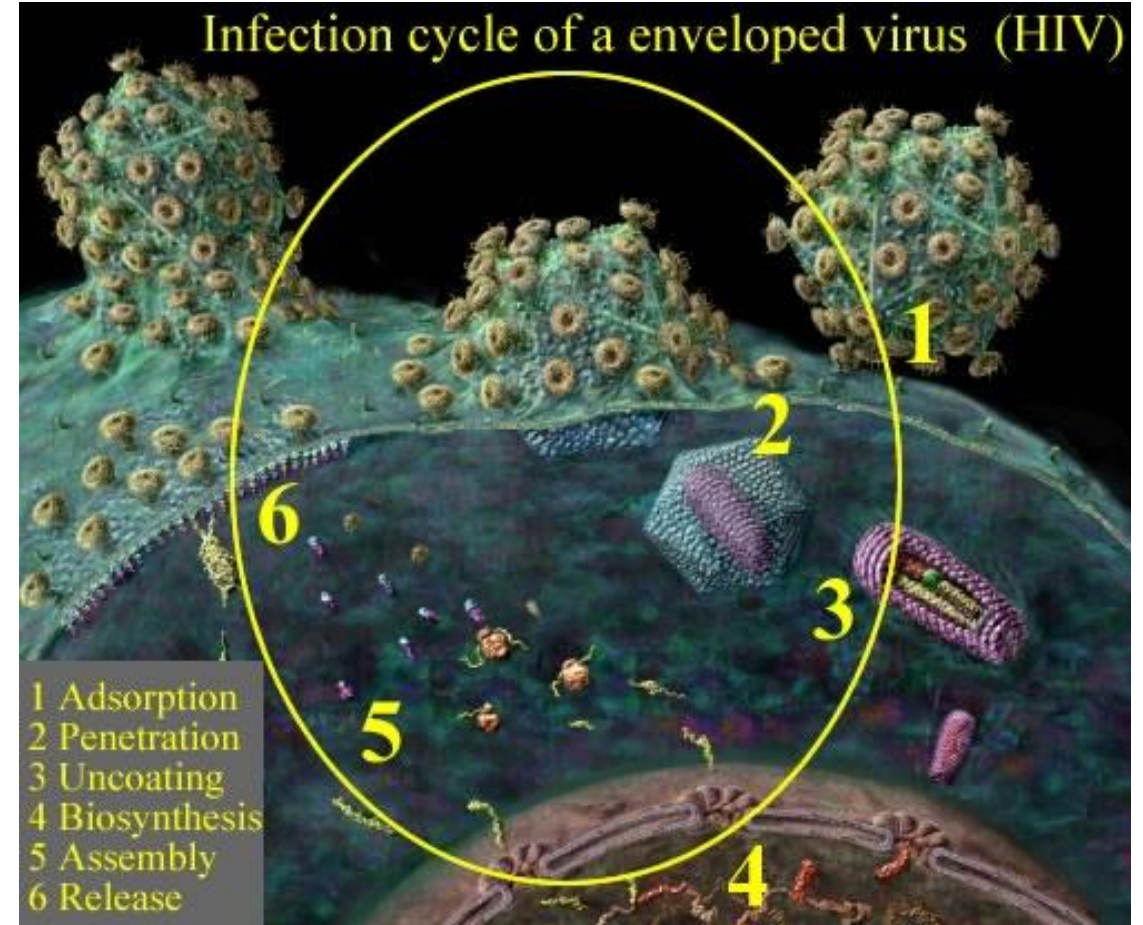
Αναπαραγωγή των ρετροϊών

- ⇒ Είσοδος του ιού στο κύτταρο - ξενιστή
- ⇒ Αντίστροφη μεταγραφή ενός από τα δύο μόρια RNA σε μονόκλωνο DNA
→ μετατρέπεται σε γραμμικό μόριο DNA διπλής έλικας (αντίστροφη μεταγραφάση), στο κυτταρόπλασμα
- ⇒ Ενσωμάτωση του DNA του ιού στο DNA του κυττάρου ξενιστή (πυρήνας)
- ⇒ Μεταγραφή του DNA του ιού σε mRNAs και σε ένα μεγάλο μόριο RNA του ιού
- ⇒ Δημιουργία του καψιδίου και ενσωμάτωση του RNA του ιού (κυτταρόπλασμα)
- ⇒ Έξοδος από τη κυτταροπλασματική μεμβράνη του ιού με εκβλάστηση και απόσπαση μέρους της κυτ. μεμβράνης για τη δημιουργία ελύτρου του ιού

Αναπαραγωγή των ρετροϊών



Retrovirus replication



Αντίστροφη μεταγραφάση

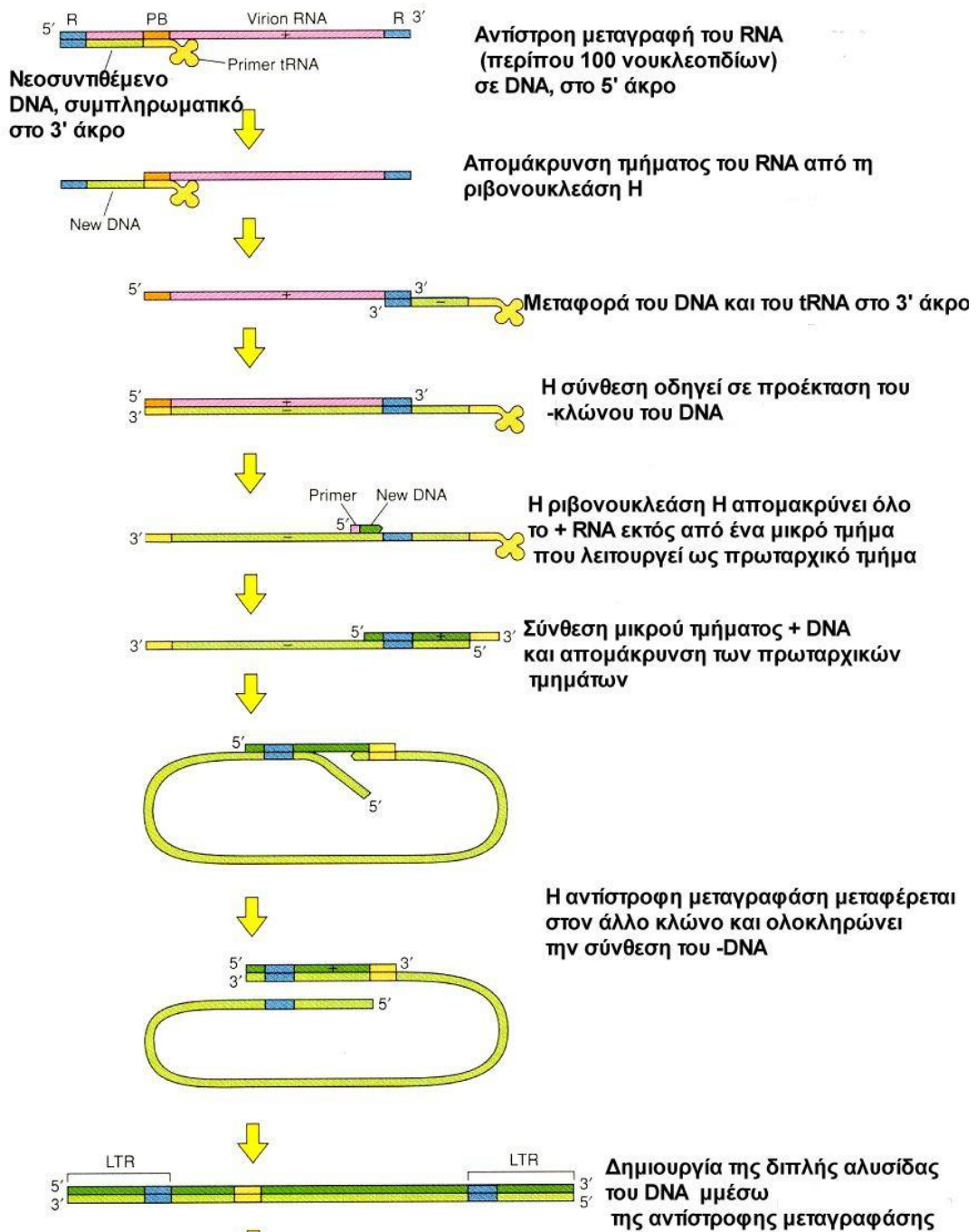
- ❖ DNA πολυμεράση η οποία έχει τις εξής ενζυμικές ιδιότητες:
 - ⇒ Σύνθεση DNA με καλούπι RNA
 - ⇒ Σύνθεση DNA με καλούπι DNA
 - ⇒ Διάσπαση του RNA, στο υβριδικό μόριο RNA:DNA (ριβονουκλεάση H)
- ❖ Πρωταρχικό τμήμα που χρησιμοποιεί για την σύνθεση του DNA: ειδικό μόριο t-RNA κυτταρικής προέλευσης
- ❖ Το μόριο t-RNA που θα χρησιμοποιήσει εξαρτάται από τον ιό, ο οποίος το έχει προμηθευτεί από το προηγούμενο κύτταρο-ξενιστή

Σύνθεση της διπλής αλυσίδας DNA

- ✓ Η αντίστροφη μεταγραφή (t-RNA πρωταρχικό τμήμα) συνθέτει τα πρώτα 100 περίπου νουκλεοτίδια του DNA (καλούπι: 5' άκρο RNA)
- ✓ Η αντίστροφη μεταγραφή (ριβονουκλεάση Η) απομακρύνει το τμήμα του RNA που έχει ήδη μεταγραφεί σε DNA → δημιουργείται μικρό τμήμα μονόκλωνου DNA (παρουσιάζει συμπληρωματικότητα με το άλλο άκρο του RNA)
- ✓ Λόγω της συμπληρωματικότητας αυτής το νεοσχηματισθέν τμήμα του DNA μεταφέρεται στο άλλο άκρο του RNA. Η αντίστροφη μεταγραφή του άλλου άκρου του RNA (3') συνεχίζεται με διαδοχική δράση της αντίστροφης μεταγραφάσης και ριβονουκλεάσης Η

Σύνθεση της διπλής αλυσίδας DNA

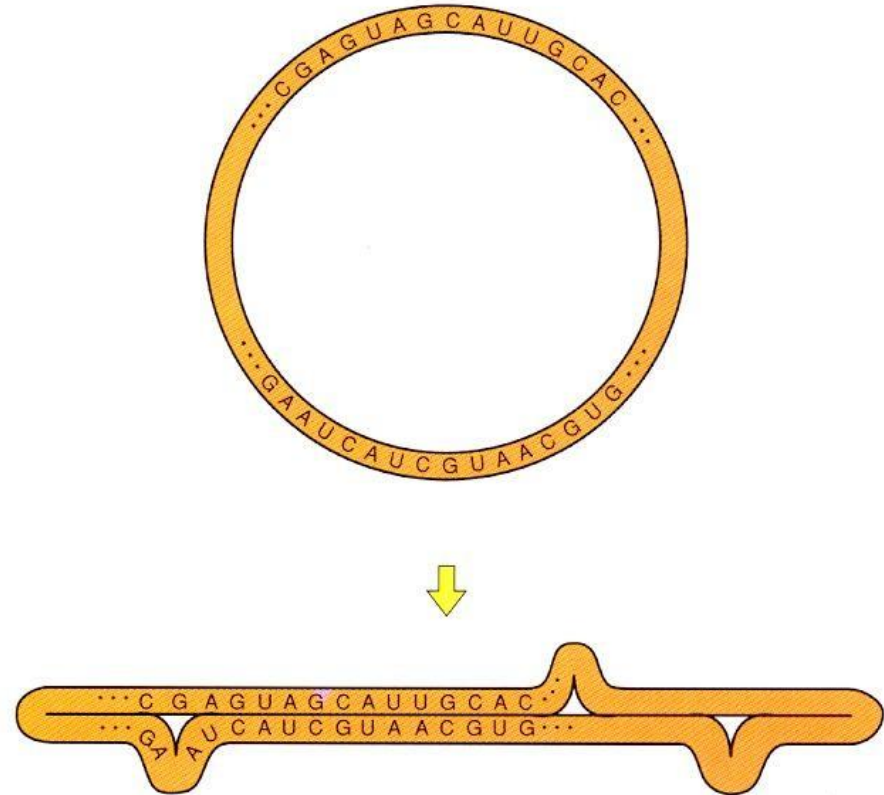
- ✓ Σύνθεση από το ίδιο ένζυμο της διπλής αλυσίδας DNA, χρησιμοποιώντας ως καλούπι την πρώτη αλυσίδα DNA και ως πρωταρχικό τμήμα ένα μικρό τμήμα RNA, που αφήνει ανέπαφο η ριβονουκλεάση H
- ✓ Το μόριο DNA που σχηματίζεται με αυτό τον τρόπο διαθέτει στα άκρα του μακριές επαναλαμβανόμενες αλληλουχίες (LTRs) (παίζουν σημαντικό ρόλο στην ενσωμάτωση του ιικού DNA, στο DNA του κυττάρου ξενιστή)



Ολοκλήρωση της διαδικασίας

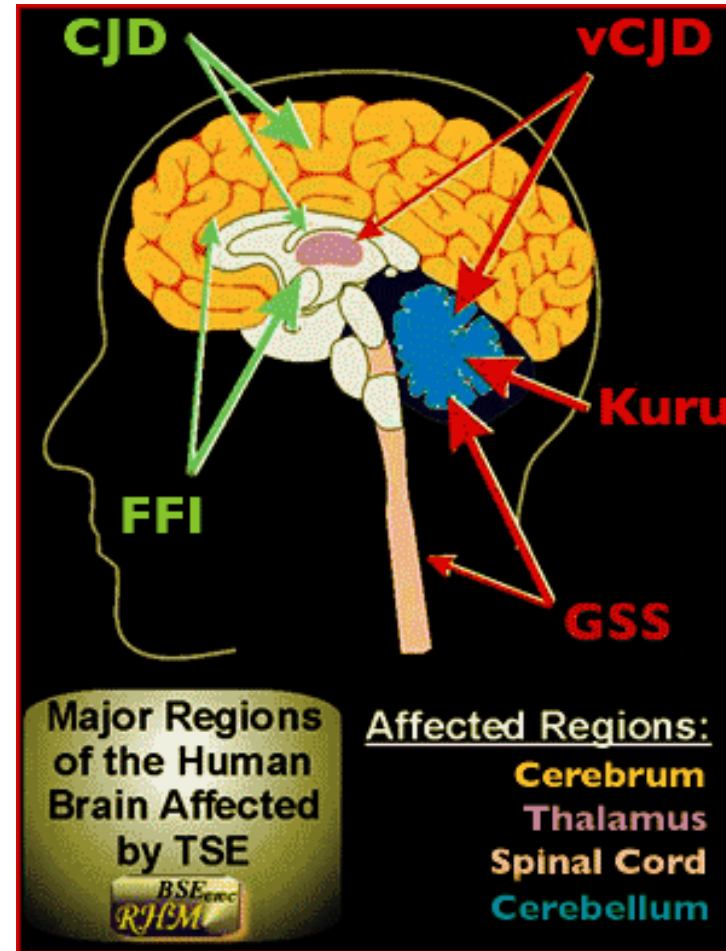
ΙΟΕΙΔΗ (VIROIDS)

- ✓ Μικρά κυκλικά μονόκλιωνα μόρια RNA
- ✓ προκαλούν κάποιες ασθένειες στα φυτά (θεωρούνται οι μικρότεροι παθογόνοι παράγοντες)
- ✓ Δεν είναι ιοί, ούτε πλασμίδια
- ✓ Δεν περιβάλλονται από καψίδιο και δεν κωδικοποιούν για κάποια πρωτεΐνη



PRIONS

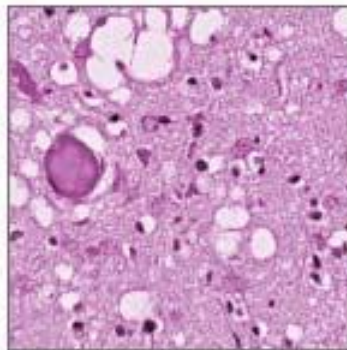
- Πρωτεϊνικά μόρια τα οποία φαίνεται ότι προκαλούν κάποιες ασθένειες στα ζώα και στον άνθρωπο όπως:
- scrapie στα πρόβατα,
- σπογγώδης εγκεφαλοπάθεια των βοοειδών (BSE),
- η ασθένεια Kuru στον άνθρωπο
- το σύνδρομο Creutzfeldt - Jacob





(CNN/FILE)

Brain shrinkage and deterioration occurs rapidly



Brain section showing spongiform pathology characteristic of Creutzfeldt-Jakob

Ευχαριστώ!!