

# SUBVIRUSNI PATOGENI

## „Neobični“ infektivni agensi



Koja je minimalna veličina genoma nekog patogena???  
Postoje li patogeni bez genoma???

Silvija Černi  
05.04.2024.

### VIROIDI

- gole RNA molekule
- ne kodiraju proteine
- isključivo biljni patogeni

### SATELITI

- uglavnom RNA molekule
- uglavnom kodiraju 1-2 strukturalna proteina
- replikacija samo uz prisutnost virusa pomagača
- uglavnom biljni patogeni

hepatitis delta virus??

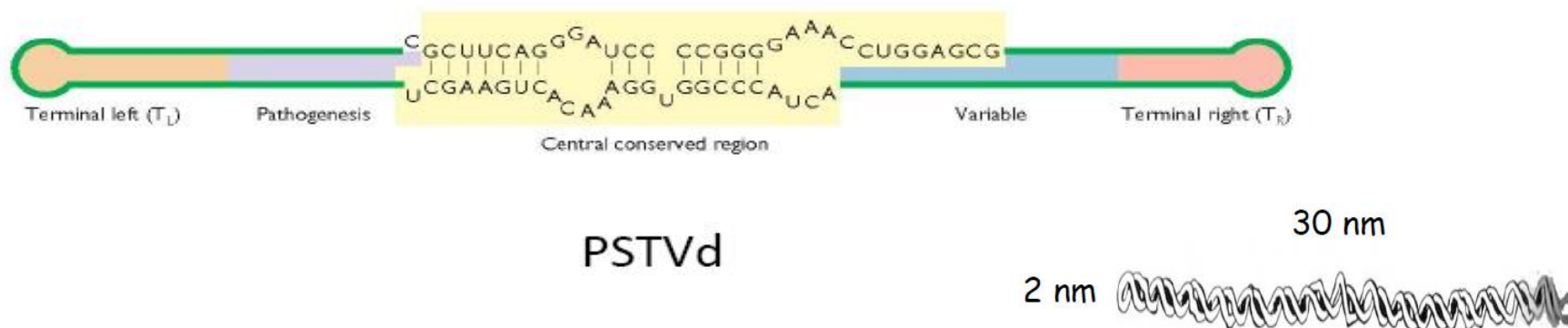
virofagi??

### PRIONI

- infektivni proteini
- ne posjeduju genom
- uzročnici fatalnih bolesti u ljudi i životinja

## VIROIDI

- nekodirajuće jednolančane kružne RNA (246-467 nt)
- visok stupanj sparenosti nukleotida (štapićast izgled)
- za razliku od virusa, nemaju proteinsku ovojnicu (kapsidu)
- replikacija u biljnoj stanici, nema prepoznavanja receptora



- danas poznato više od 1700 viroidnih sekvenci
- 2 porodice:
  - Avsunviroidae* – replikacija u kloroplastima
  - Pospiviroidae* – replikacija u jezgri

- viroidi - paraziti stanične transkripcijske mašinerije (virusi paraziti stanične translacijske mašinerije)
- replikacijom nastaju multimerne strukture (RNA-konkatemeri)
- neki viroidi konkatamere cijepaju vlastitom ribozimskom aktivnošću (*Avsunviroidae*)

relikt RNA-svijeta?



- biljni patogeni
- rasprostranjivanje horizontalno (mehaničkim prijenosom) i vertikalno (polenom), a unutar domaćina plazmodezmijama

**PSTVd** (*Potato spindle tuber viroid*) - prvi opisani viroid (1967.)



simptomi na gomoljima inficiranog krumpira (zašiljeni oblik)

**Theodor Diener**



## VIROIDI

*Cadang-cadang viroid* (CCCVd)  
zaražava kokosove palme (smrt biljke)



*Apple scar skin viroid* (ASSVd)

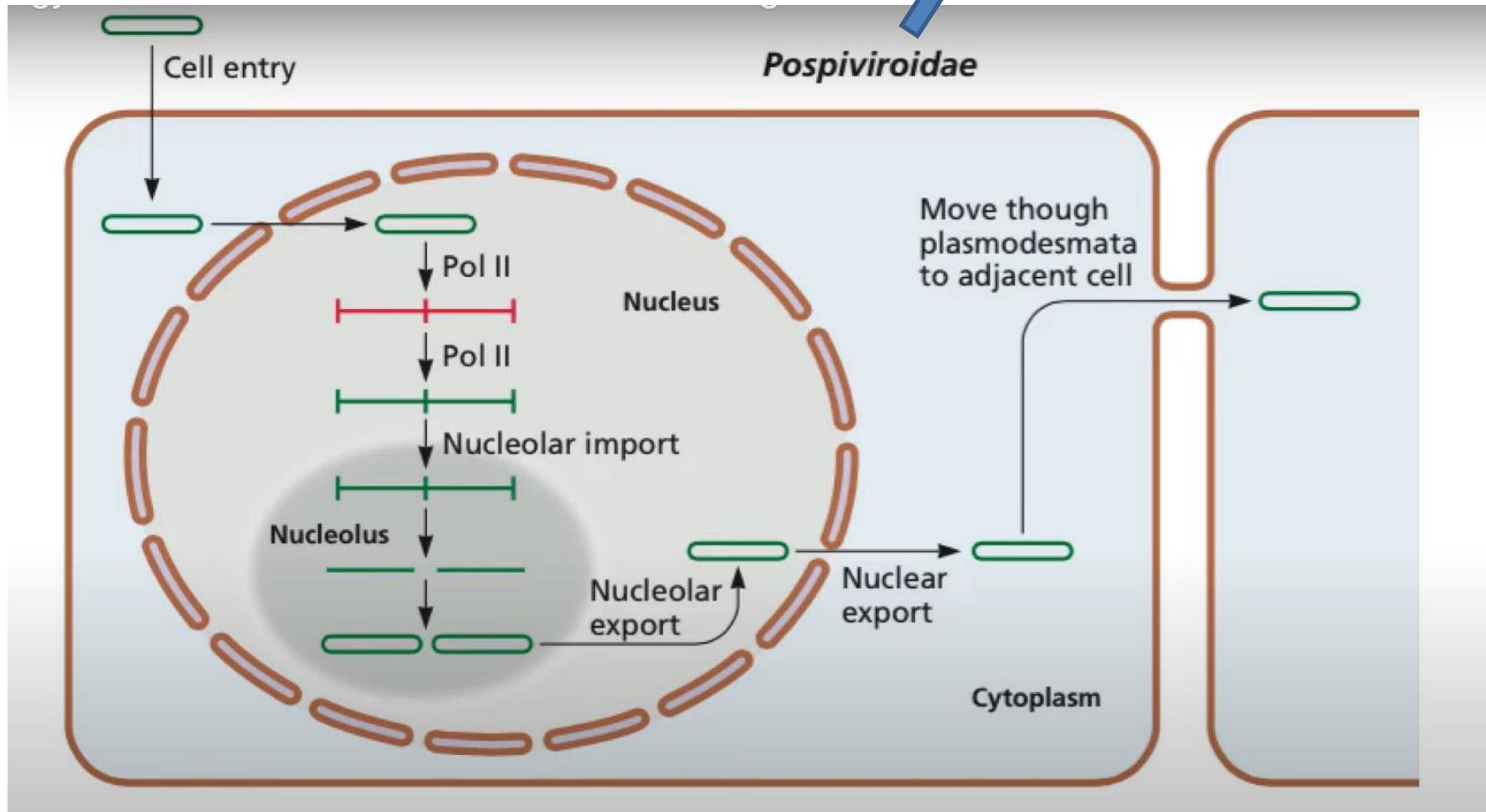
*Hop latent viroid* (HLDVd)  
zaražava hmelj  
(utjecaj na metabolizam)

**“the COVID of cannabis”**



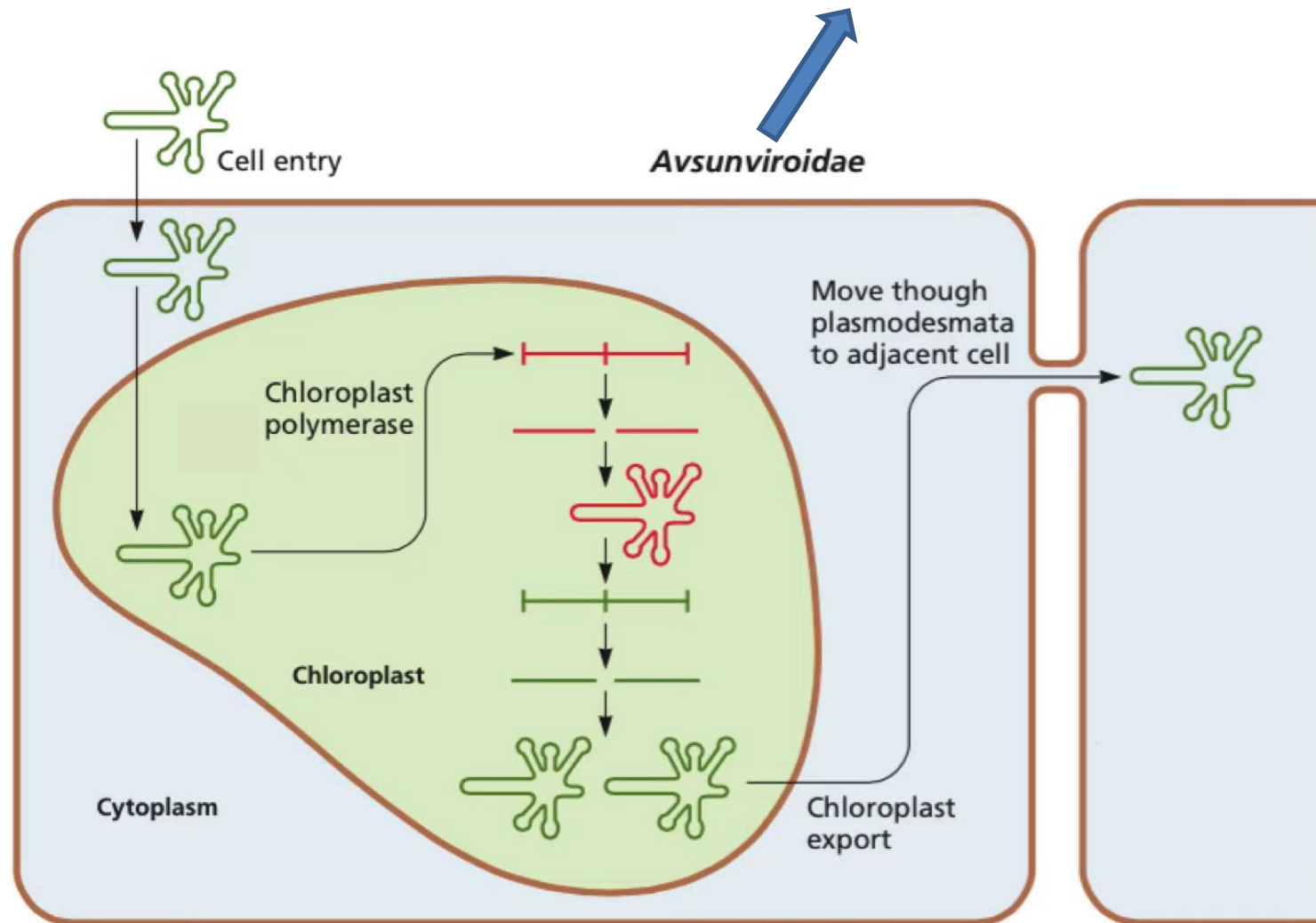
# Replikacija viroida

koriste stanične enzime



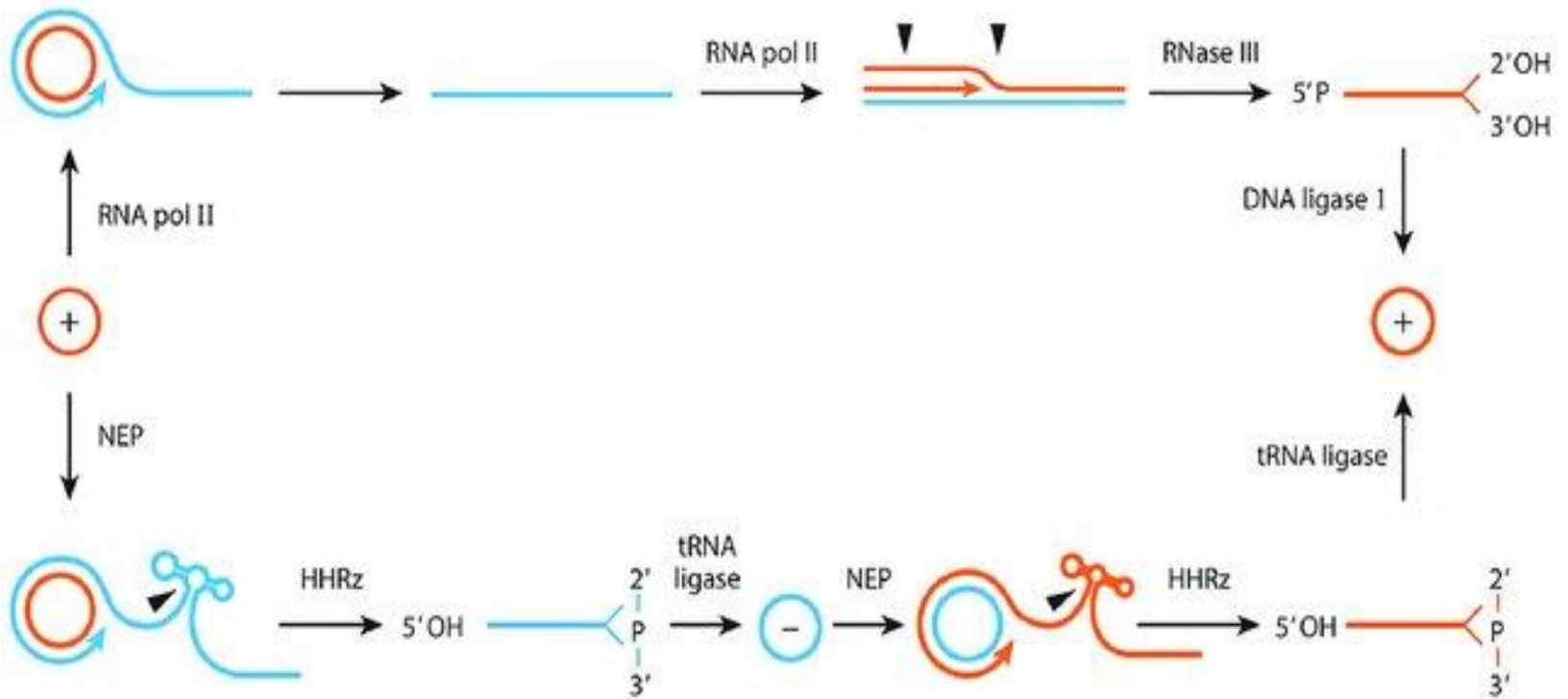
# Replikacija viroida

*hammerhead* ribozimi





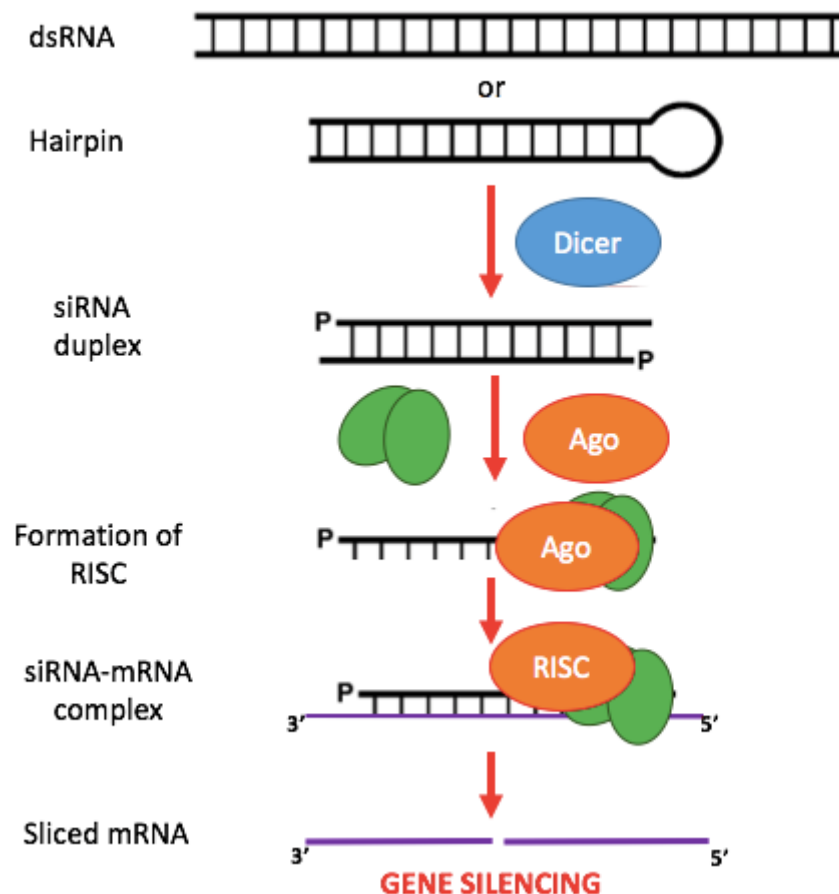
Asymmetric variant (family *Pospiviroidae*)



Symmetric variant (family *Avsunviroidae*)

# Kako viroidi uzrokuju bolesti?

siRNA molekule (21-24 nt) „slučajno“ moduliraju aktivnost nekih domaćinskih gena djelujući na staničnu mRNA



## SUBVIRUSNI PATOGENI

### VIROIDI

- gole RNA molekule
- ne kodiraju proteine
- isključivo biljni patogeni

Delta agens hepatitisisa??

### SATELITI

- Uglavnom RNA molekule
- uglavnom kodiraju 1-2 strukturalna proteina
- replikacija samo uz prisutnost virusa pomagača
- uglavnom biljni patogeni

virofagi??

### PRIONI

- infektivni proteini
- ne posjeduju genom
- uzročnici fatalnih bolesti u ljudi i životinja

- jednolančane linearne ili kružne RNA\* (500-2000nt)
- uglavnom kodiraju 1-2 strukturalna proteina
- ne kodiraju replikacijske enzime

2 kategorije satelita:

satelitni virusi (kodiraju vlastitu kapsidu\*\*)

satelitne nukleinske kiseline (mogu i ne moraju kodirati proteine, ali ne kapsidu)

- obje kategorije su ovisne o virusu pomagaču (*helper virus*)
- kod satelitnih nk i enkapsidacija ovisna o virusu pomagaču
- uglavnom biljni patogeni (promjena simptoma u odnosu na infekciju čistim virusom pomagačem)

\* izuzetak novootkrivene ssDNA satelitne nukleinske kiseline i satelitni ssDNA virusi roda *Dependovirus* te dsDNA satelitni virus - virofag

\*\* satelitni virusi nisu defektni virusi nastali od pomagača (nema nukleotidne homologije)

### **Class 1 Satellite RNAs**



Linear RNA, 220–1,500 bases  
One ORF encoding nonstructural protein

### **Class 2 Satellite RNAs**



Linear RNA, <700 bases  
Do not encode protein

### **Class 3 Satellite RNAs**

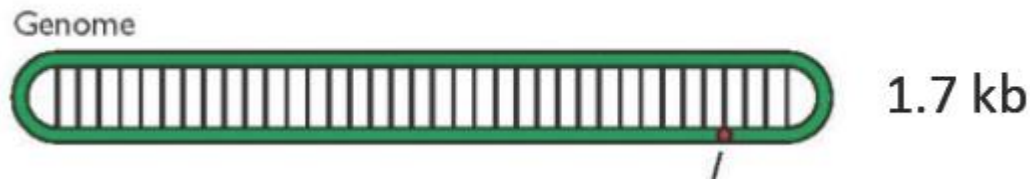


Circular RNA, 350–400 bases  
Do not encode protein

„DELTA AGENS HEPATITISA” = virus hepatitisa D (HDV)

Karakteristike **satelitnog virusa** i **viroida**:

- **virus pomagač** – virus hepatitisa B (samo za rasprostranjivanje)
- genom - jednolančana kružna RNA (**1.7 kb**)



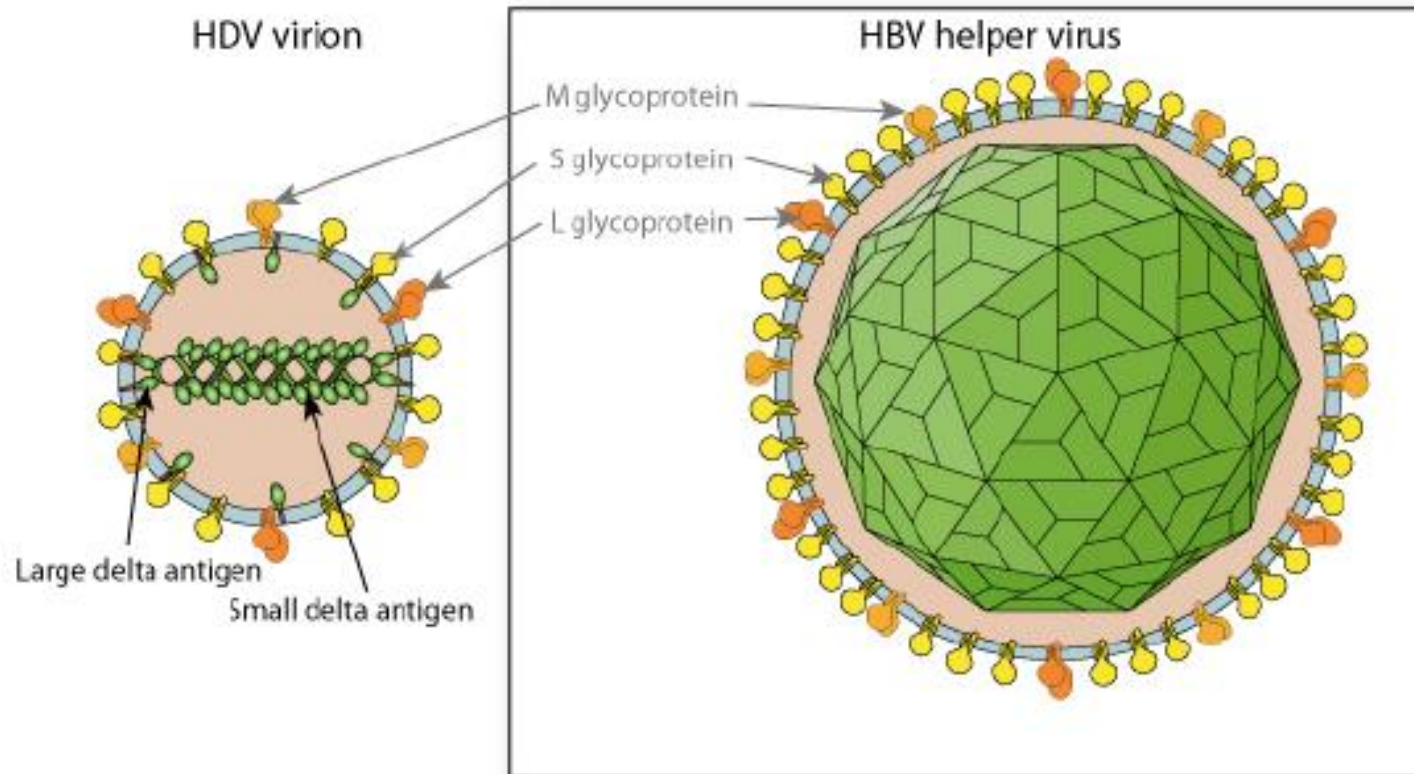
- **sparenost nukleotida 70%** (štapićasti oblik)
- **ribozimska aktivnost**
- **replikacija pomoću staničnih enzima**
- **kodira 1 kapsidni protein** (tzv. delta – protein, L i S-forma)

**18 milijuna inficiranih u svijetu (5% HBV-inficirane populacije)!!!**

Smatra se da pojačava simptome infekcije virusom hepatitisa B

# HEPATITIS DELTA VIRUS

## HBV- 3 tipa površinskih antigena



- **vlastita nukleokapsida**
- **površinski antigeni HDV- viriona podrijetlom od HBV-a i HDV-a (L delta antigen)**

- satelitni virusi
- kružni dsDNA virusi (17-29 kb), ikozaedralna simetrija
- repliciraju se isključivo uz prisutnost virusa pomagača (gigantski virusi)

## Posebnosti:

- veličina genoma, dsDNA
- inhibiraju replikaciju virusa pomagača

Virophage	Location	Host		Genome	
		Virus	Eukaryote	Size (bp)	No. of ORFs
Sputnik	A cooling tower in Paris, France	<i>Acanthamoeba polyphaga</i> mimivirus	<i>A. polyphaga</i>	18,343	21
Mavirus	Coastal waters of Texas	<i>Cafeteria roenbergensis</i> virus	Marine phagotrophic flagellate ( <i>C. roenbergensis</i> )	19,063	20
OLV	Organic Lake, a hypersaline meromictic lake in Antarctica	Large DNA viruses	Prasinophytes (phototrophic algae)	26,421	26
Sputnik 2	Contact lens fluid of a patient with keratitis, France	Lentille virus	<i>A. polyphaga</i>	18,338	20
YSLV1	Yellowstone Lake	Phycodna- or mimiviruses?	Microalgae?	27,849	26
YSLV2	Yellowstone Lake	Phycodna- or mimiviruses?	Microalgae?	23,184	21
YSLV3	Yellowstone Lake	Phycodna- or mimiviruses?	Microalgae?	27,050	23
YSLV4	Yellowstone Lake	Phycodna- or mimiviruses?	Microalgae?	28,306	34
ALM	Ace Lake in Antarctica	mimiviruses?	Phagotrophic protozoan?	17,767	22



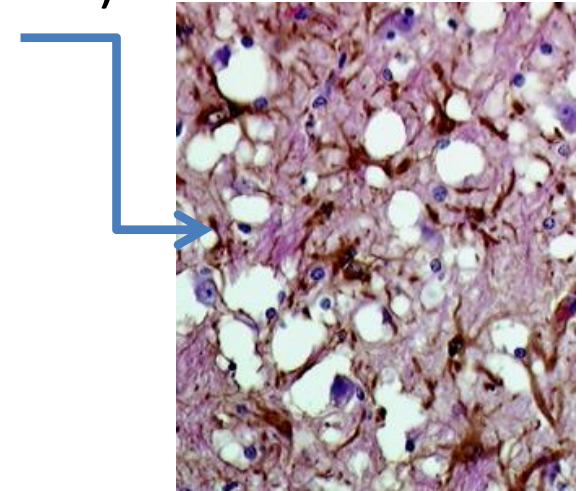
Infektivni  
agensi bez  
genoma???

DA

**PRIONI**

**PRIONI** – uzročnici skupine bolesti zajedničkog naziva *transmissible spongiform encephalopathies (TSEs)*

- rijetke bolesti, uvijek s fatalnim ishodom
- javljaju se u ljudi i životinja
- uzrokuju neurodegenerativne poremećaje
- oko **1%** svih TSE-a je posljedica infekcije



“spužvasti” izgled preparata inficiranog mozga



**2002. - 120 ljudi oboljelo od varijante Creutzfeld-Jakobove bolesti (vCJD)**

- TSE diseases of animals
  - *Bovine spongiform encephalopathy (BSE) (“mad cow disease”)*
  - *Chronic wasting disease (CWD) (deer, elk, moose)*
  - *Exotic ungulate encephalopathy (EUE) (nyala and greater kudu)*
  - *Feline spongiform encephalopathy (FSE) (domestic and great cats)*
  - *Scrapie in sheep and goats*
  - *Transmissible mink encephalopathy (TME)*
- TSE diseases of humans
  - *Creutzfeldt-Jakob disease (CJD)*
  - *Fatal familial insomnia (FFI)*
  - *Gerstmann-Sträussler syndrome (GSS)*
  - *Kuru*
  - *Variant CJD disease (vCJD)*

Pojam **PRION** - Stanley Prusiner 1982.  
1997. – Nobelova nagrada za medicinu

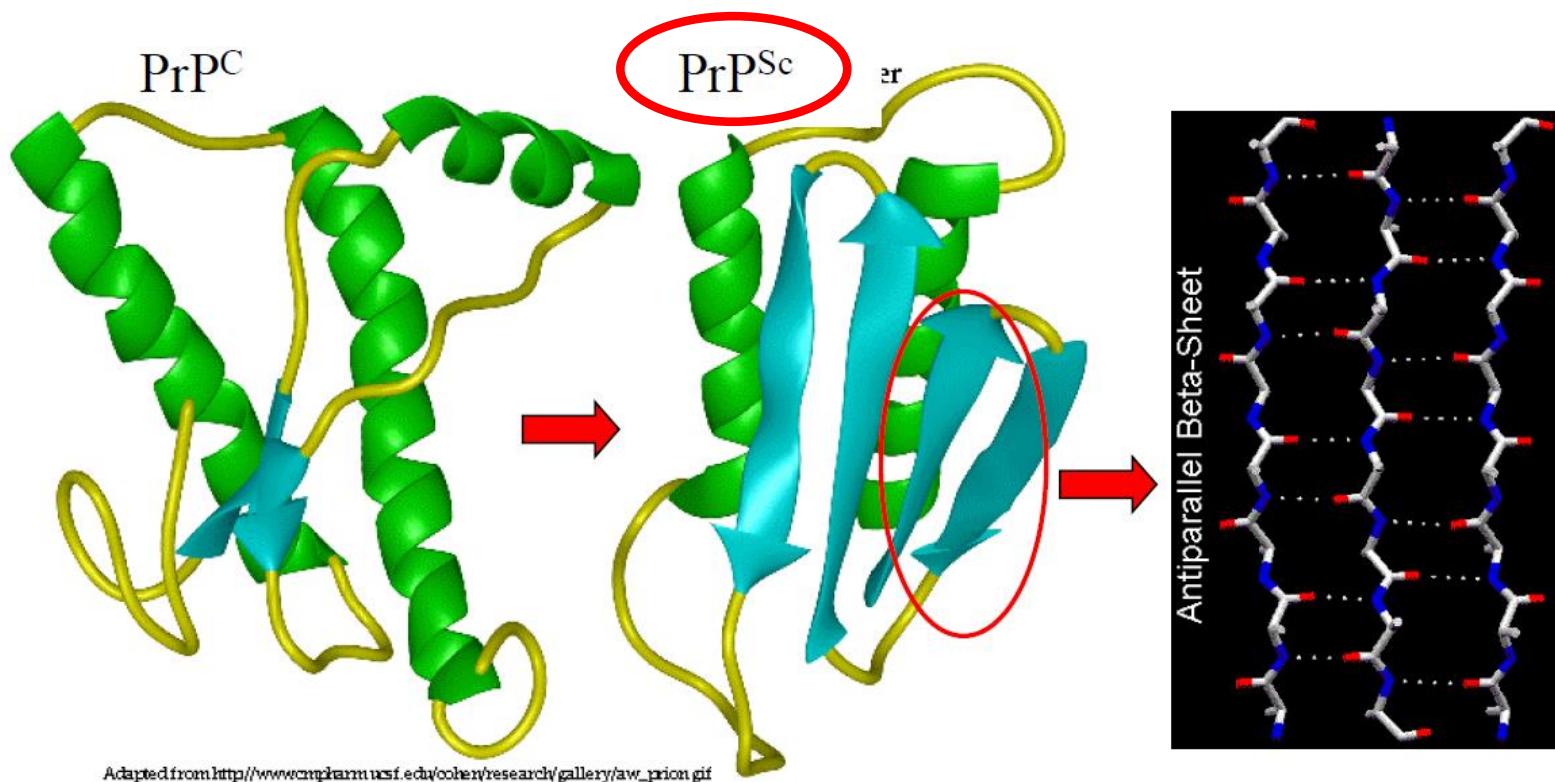


- uzročnika izolirao iz oboljelih ovaca (*scrapie*)
- u laboratorijskim uvjetima prenosiv na primata, koze i glodavce
- ne pronalazi nikakvu povezanu s bolešću (uzročnik otporan na razgradnju nukleazama)

**Prion** = eng. proteinaceous infectious particle.

## KARAKTERISTIKE PRIONA:

Prion – konformacijski izomer normalnog staničnog proteina  $\text{PrP}^{\text{C}}$



**Miševi kojima nedostaje gen za  $\text{PrP}^{\text{C}}$  ne razvijaju bolest!**

## PrP<sup>c</sup> protein (PrP – prion protein; c- cell):

- vjerojatna funkcija – adhezija stanice i zaštita od oksidativnog stresa
- 3 oblika glikozilacije
- lokalizacija – vanjska membrana više tipova stanica (osobito neurona)
- prevladava  $\alpha$ -heliks

## PrP<sup>sc</sup> protein (PrP – prion protein; sc- scrapie):

- $\alpha$ -heliksi zamjenjuju se  $\beta$ -nabranim pločama
- manja osjetljivost na proteinaze
- manja topljivost u neionskim deterdžentima
- izuzetna otpornost na visoke temperature (autoklaviranje)
- izuzetna otpornost na zračenje i kemijske tretmane

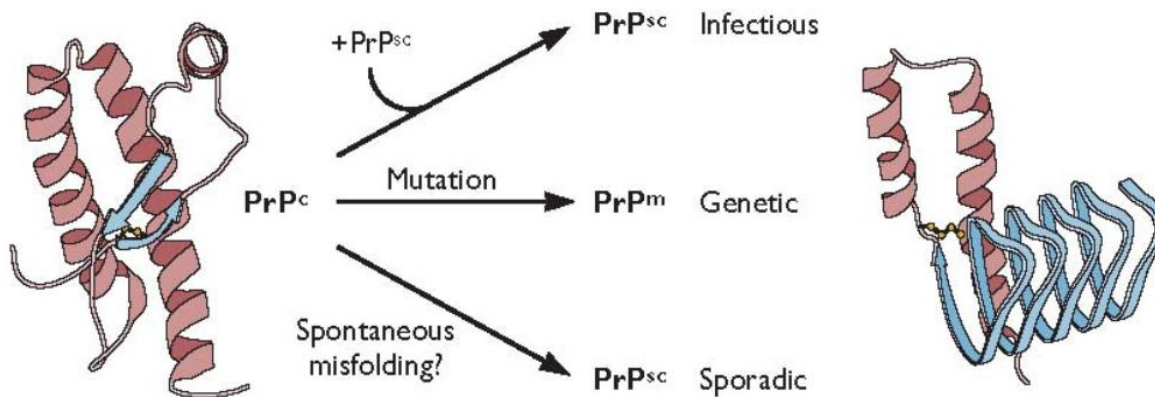
**Nakon unosa u organizam, abnormalna forma proteina (prion) uzrokuje konformacijsku promjenu normalnog proteina PrP<sup>c</sup> u patogenu formu mehanizmom koji nije potpuno razjašnjen!**

**PrP<sup>sc</sup> protein može nastati kao posljedica infekcije, ali i spontano ili mutacijama u genu za PrP<sup>c</sup>!**

**Mišji prionski protein proizveden u rekombinantnim bakterijama uzrokuje bolest nakon unosa u miša!**

## 3 tipa TSE-a:

- infektivni TSE (unos infekta u organizam)
- obiteljski TSE (genetička predispozicija)
- sporadični TSE



**Sva tri tipa TSE-a eksperimentalno su prenosivi na životinje inokulacijom inficiranog tkiva!**



## TSE u životinja:

### Bolest scrapie

prva opisana TSE (javila se prije više od 250 godina)  
zahvaća ovce i koze  
vanjski simptomi posljedica češanja  
smrt 4-6 tjedana nakon infekcije

### Bovine spongiform encephalopathy (BSE)

zahvaća goveda, ali i druge životinje  
opisana 1986.  
zaraza stočnom hranom (koštano brašno)

## TSE u ljudi:

### Bolest "kuru"

kanibalska plemena na Novoj Gvineji  
konzumacija mozga inficiranih pokojnika  
inkubacija 30 godina

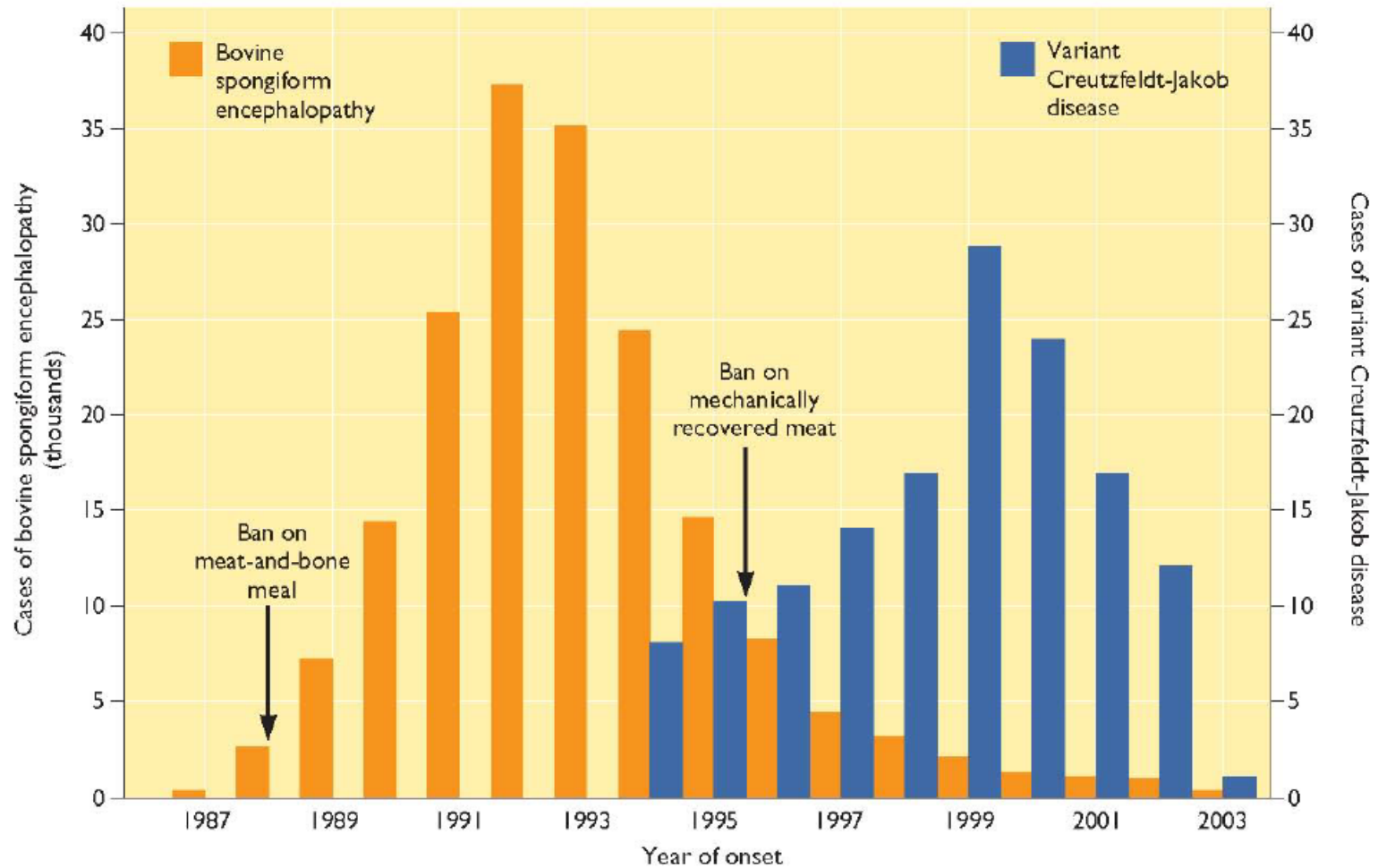
### Varijanta Creutzfeldt-Jacobove bolesti (vCJD)

konzumacija mesa oboljelih goveda (BSE)  
prva pojava 1995. UK  
zahvaća mlađu populaciju (za razliku od klasične CJD)  
kratak tijek bolesti

**Obje bolesti su infektivne etiologije!**

# 1-2 million cattle were infected with prions

Incubation time 5 yr, slaughtered 2-3 yr



## TSE u ljudi:

### Creutzfeldt-Jacobova bolesti(CJD)

sporadični nastanak

< 1 milijun oboljelih u svijetu


manifestira se u starosnoj dobi 50-70 godina


mogućnost prijenosa (npr. transplantacija)


### Obiteljska spongiformna encefalopatija

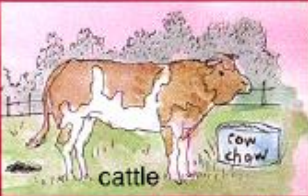
nasljedna mutacija u genu za PrP<sup>c</sup>

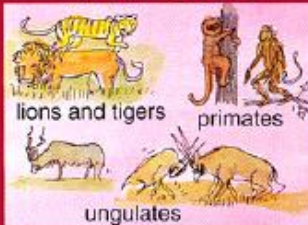
**1960s**  
 deer and elk  
  
 chronic wasting disease


**1720**  
  
 sheep and goats  
 scrapie


**1980s–1990s**  
  
 other cattle  
 BSE

**1947**  
  
 mink  
 transmissible mink encephalopathy

**1986**  
  
 cattle  
 bovine spongiform encephalopathy (BSE)

**1980s–1990s**  
  
 lions and tigers  
 primates  
 ungulates  
 various transmissible spongiform encephalopathies


**1920**  
  
 humans  
 sporadic Creutzfeldt-Jakob disease

**1994**  
  
 humans  
 variant Creutzfeldt-Jakob disease

**1980s–1990s**  
  
 domestic cats  
 feline spongiform encephalopathy

**2003**  
  
 humans  
 iatrogenic Creutzfeldt-Jakob disease



naturally occurring disease 

artificially occurring disease 