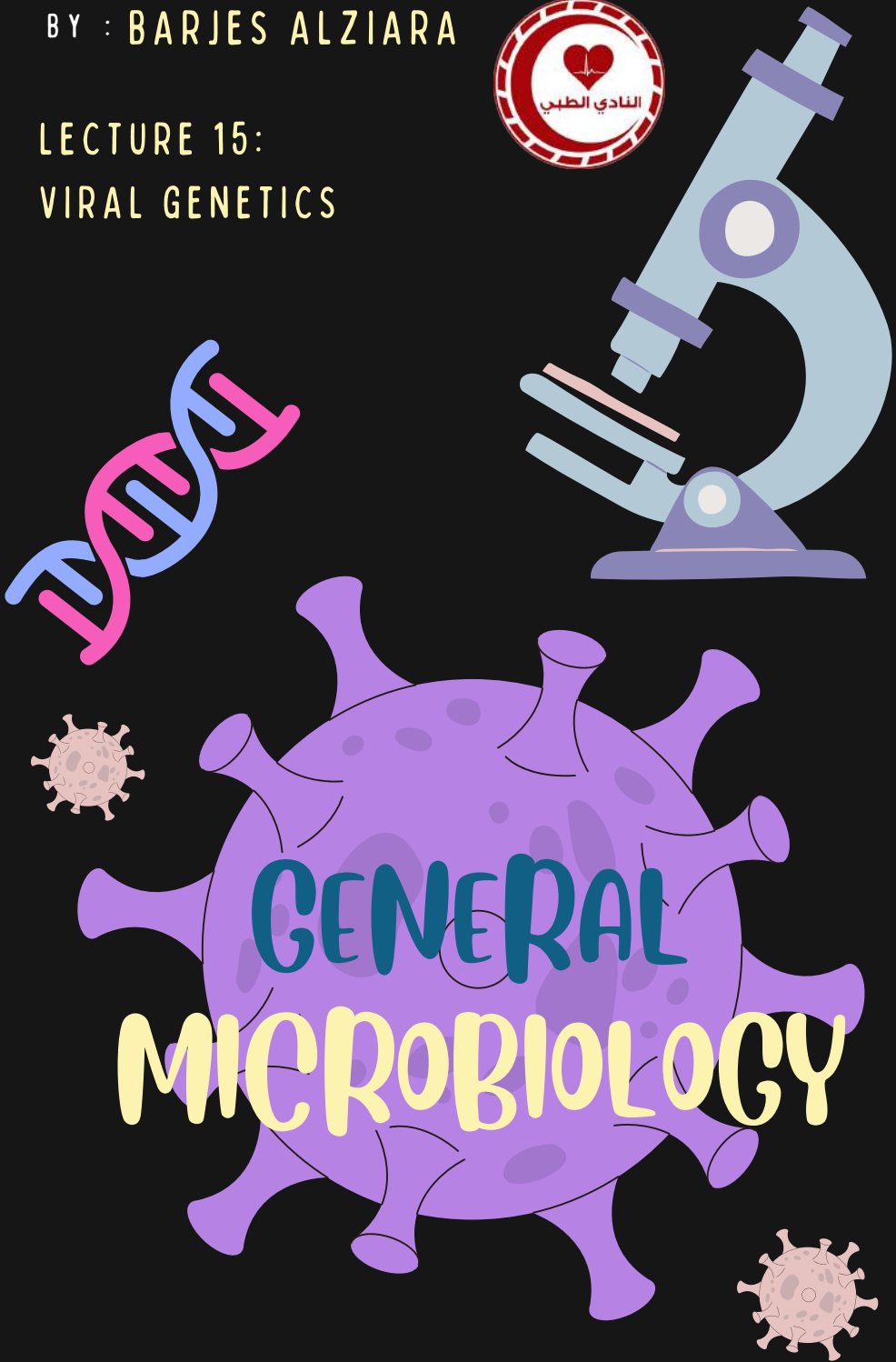
BY : BARJES ALZIARA

LECTURE 15:
VIRAL GENETICS



GENERAL MICROBIOLOGY

VIRAL GENETICS

- **VIRUSES GROW RAPIDLY**

سرعة نمو الفيروس بتعتمد على النوع الفيروس مثلا ال hepatitis C
سريع في تكوين النسخ

- **A SINGLE PARTICLE PRODUCES A LOT OF PROGENY**
- **DNA VIRUSES SEEM TO HAVE ACCESS TO PROOF READING, RNA VIRUSES DO NOT SEEM TO**

فيروس واحد ممكن يصنع الاف النسخ
ال DNA viruses بعتمد على ال proofreading تبع الخلية و مشان هيك ال mutation عندهم اخف من ال RNA viruses
اللي بجيب انزيماته معه و هذا بسبب ال lack of proofreading
زي ما قلنا بالمحاضرة اللي قبل كل 2000-10000 بيصير mutation في ال RNA viruses
مثل فيروس كورونا لما ضل يتحور
الوضع الطبيعي للفيروس بكون مرتاح بعملش اعراض خطيرة فلما يضل يتحور بشكل مش طبيعي بكون دخل بحالة high energy state و بده يرجع للمرحلة اللي كان فيها مرتاح مشان هيك الفيروس اذا كان خطير بضل يعمل mutations لحد ما يرجع زي ما كان و مثال عليه الكورونا اللي اعراضه كانت common cold

NATURE OF GENOMES

- **RNA or DNA**
- **SEGMENTED OR NON-SEGMENTED**

segmented viruses only rota and influenza

GENETIC CHANGE

- **MUTATION**
- **GENETIC CHANGE**

ORIGIN OF MUTATIONS

راح نحكي بالاول عن الطفرات و عنا ال polymerase errors االي حكينا عنها فوق انه نقص ال proofreading في ال RNA viruses

- **SPONTANEOUS**

عنا ال tautomeric form اللي بنغير فيه مكان h atom و اللي بسبب حدوث مشكلة في ال base pairing

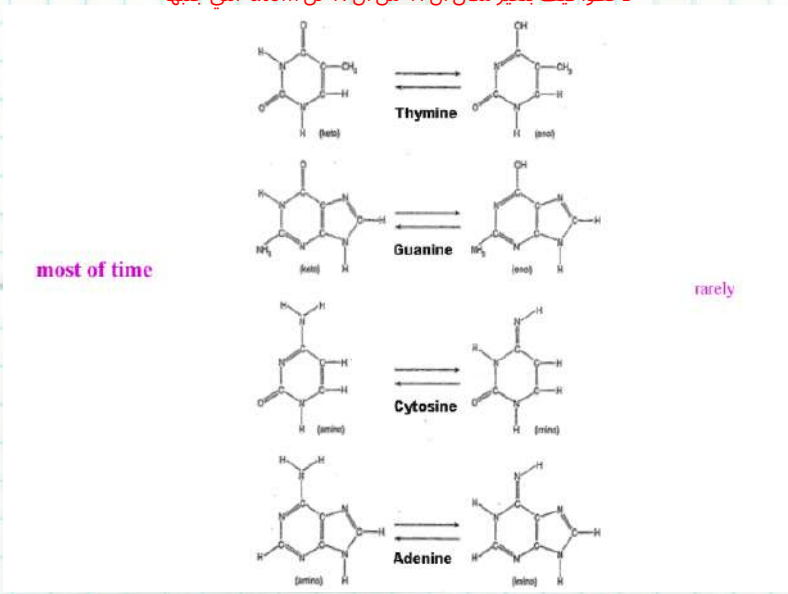
– **tautomeric form of bases**

- **A base is changed by the repositioning of a hydrogen atom, altering the hydrogen bonding pattern of that base resulting in incorrect base pairing during replication**

– **polymerase errors**

Tautomeric forms of bases

لاحظوا كيف بنغير مكان ال H من ال N لل atom اللي جنبها



ORIGIN OF MUTATIONS

- **SPONTANEOUS**
  - **tautomeric form of bases**
  - **polymerase errors**
  - **mutation rates usually higher in RNA viruses (lack of proof reading)**

- **PHYSICALLY INDUCED**
  - **UV light , especially problem if no access to repair**
  - **X-rays**
- **CHEMICALLY INDUCED**
  - **Hydroxylamine NH2OH**
  - **Alkylating agents**

Types of mutations

- **POINT: Caused by chemicals or malfunction of DNA replication, exchange a single nucleotide for another**

انواع ال mutation حكينا عنهم اكثر من مرة
ال point انك تغير nucleotide واحد

- **Three types**
  - **Silent**
    - بس تغير الكودون و يترجم لنفس الحمض الاميني
  - **Missense**
    - بس تغير الكودون و يترجم لحمض اميني مختلف
  - **Nonsense**
    - بس تغير الكودون و يترجم لحمض اميني يسبب وقف الترجمة
- **INSERTION**
- **Frame shift**
- **DELETION**
- **Alter the reading frame**

PHENOTYPE

PHENOTYPE

– **the observed properties of an organism**

عنا antiviral drugs زي ما عنا antibiotics
بال antibiotics شرط تعطي الجرعة MIC او اعلى نفس الاشي بال antiviral
مثلا طفل بده 5 ml لو اعطيته 2ml انت بتضره لانه بتعطي مجال للميكروب يعمل resistance

PHENOTYPIC CHANGES

- **CONDITIONAL LETHAL - multiply under some conditions but not others - wild-type (wt) grows under both sets of conditions**
- **PLAQUE SIZE**
  - **may show altered pathogenicity**

ال wild type بنمو بكل البيئات لكن اذا صار طفرة ممكن يبطل ينمو في بيئة معينة و ممكن يبطل infectious
ال pathogenicity قدرة انه يسبب مرض ممكن تزيد و ممكن تقل

- **DRUG RESISTANCE**
  - **important in the development of antiviral agents**

ممكن تساعد الفيروس انه يعمل resistance لل drugs

- **ENZYME-DEFICIENT MUTANTS**
  - **some genes can be 'optional' in certain circumstances**
- **ATTENUATED MUTANTS**
  - **milder (or no) symptoms**
  - **vaccine development**

attenuated يعني الفيروس لساته عايش لكنه تم تضعيفه
inactivated يعني الفيروس killed

الطفرة ممكن تسبب تضعيف للفيروس
و بقدر استفيد منها بأنه اعمل vaccine
يحيث انه ال vaccine هو attenuated virus
مثلا اذا في فيروس بفضل يعيش بحرارة معينة بقللوا الحرارة عليه و اللي بسبب حدوث طفرة بتضعف الفيروس و اللي بسمحلي استخدمه في ال vaccines

هسه الكورونا نوع المطعوم تبعه ما كان attenuated virus لانه لسا فيروس جديد ما كنا فاهمينه فما بزبط نغامر و نعطيه بالهطريقة ال vaccines اللي اخذناهم كانوا بطرق مختلفة زي sinopharm vaccine كان يستخدم killed virus
ال pfizer vaccine كان بستخدم mRNA و لازم تحفظه بدرجات منخفضة
فكرة الpfizer انه لما تعطي ال MRNA بروح بصنع البروتين تبع الفيروس بالذات ال spike لانه هو ال antigen وبالتالي يتعرف عليه جهاز المناعة و يعمل antibodies
نقطة مهمة لما احكي عن ال live attenuated vaccine ال route of administration لل vaccine راح يكون نفس ال route تبع الفيروس فمثلا عنا vaccine لل influenza راح يكون inhalation
برضو ال rota بوخذوه oral drops للاطفال
فهذول الفيروسين بنعتبرهم attenuated بما انه مش ميت بقدر يعمل infection و replication لكن ما بسبب مرض

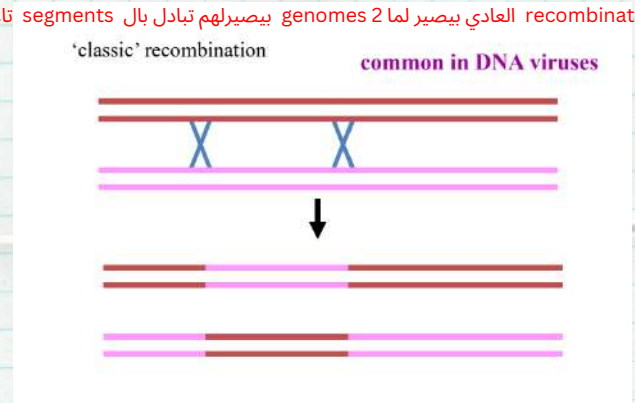
GENETIC CHANGE

- **MUTATION**
- **RECOMBINATION**

RECOMBINATION

Exchange of information between two genomes

ال recombination العادي بيصير لما genomes 2 بيصيرلهم تبادل بال segments تاعتهم



فكرة ال copy choice صعب شرحها كتابة ارجعوا لفيدوا اثر مشان تفهموها احسن

COPY CHOICE RECOMBINATION

ال copy choice بكون موجود بال RNA Viruses و ال reverse transcriptase viruses
و الانزيم تاعت ال RNA عنها نقص بال proofreading
طيب الصورة هاي مربوطة بالصور ة اللي ع الصفحة اللي بعدها

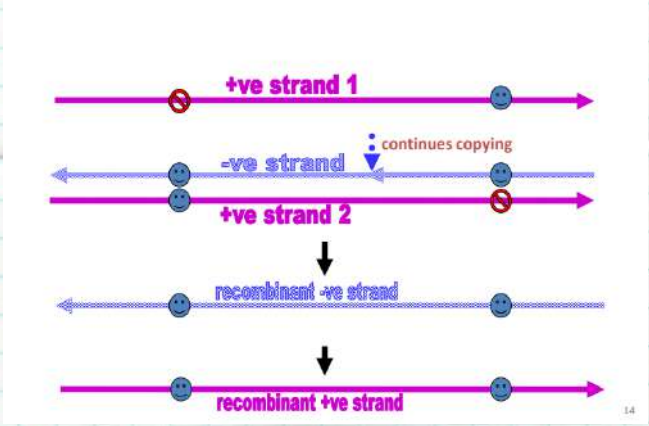
في ميزة بالانزيمات تاعت ال RNA انها بتقدر تنتقل من strand ل other strand

الانزيم راح يبلش يقرأ من بداية الstrand حتى وقف عن ال stop sign
بعدها راح ينفصل و يوخذ ال template اللي كونها معه

الخطوة االلي بعدها عالصفحة الجاي

COPY CHOICE RECOMBINATION

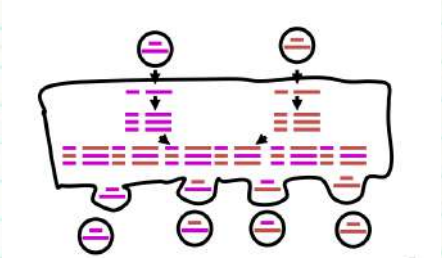
راح ينط عن ال strand 1 و يروح على strand 2
هسه ب strand 2 ممكن يبلش من اول ال strand 2 او من مكان ما وقف بال strand القديمة او من قدام المكان اللي وقف عنده هسه المكان اللي راح يبلش منه راح يحدد طوله اذا راح يكون اطول او اقصر او مساوي لل strand 1
و برضو هو هيك راح يحمل bases من ال strand 1 و من strand 2



فمثلا ال strand كانت base 100 و ال RNA بلش من اول strand 1 و وقف عند القاعدة 25
و بعدها انفصل و راح عند strand 2 اللي برضو عندها base 100
لو بلش من البداية راح يكون عنده base 125 لو بلش من محل ما وقف راح يكون عند 100
لو بلش من القاعدة 25 عند strand2 راح يكون عنده base 50
تمام لنفرض انت دخل ع جسمك فيروس و طلع 100 فيروس جديد
قديش في فيروس منهم defective و قديش منهم infectious ؟؟
راح يكونوا 60 % defective و 40% infectious
طيب لنفرض انه عندك فيروس واحد جوا الخلية كيف بده يصير تهجين للفيروس
راح تصير زي عملية تشاركية بين ال mutation و ال recombination بحيث انه بزيد عدد ال mutation بنفس الوقت راح تعمل ال genetic material ال recombination
ال mutation اللي بتصير بال influenza اسمها influenza drifts

REASSORTMENT

ثالث نوع ال reassortment و اللي بتصير بال segmented genome
مثل الانفلونزا و اللي ممكن تصيب اي نوع من الكائنات
و اللي بسميها antigenic shift
لنفرض انه هاي خلية upper respiratory tract cell of a pig
اذا ال human influenza و ال swine influenza عمللوا للخلية infection بنفس الوقت
الفيروسين راح يصيرلهم replication هسه لما يتجمع ال genome ممكن يتجمع اما من واحد منهم او مكس بين الثنين
عندك مثال عليه ال H1N1 اللي هي عبارة عن تهجين بين ال human influenza and pig



REASSORTMENT

- **form of recombination (non classical)**
- **very efficient**
- **segmented viruses only**
  - **can occur naturally**
- **used in some newer vaccines**
  - **eg for influenza and rotaviruses**

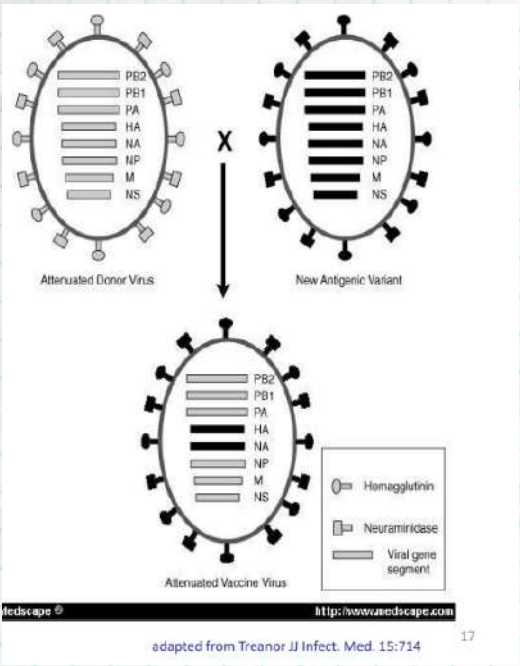
اكثر segment بسبب مشكلة انه يصير له mixing هو ال spike
هسه مشان نوضح هالفكرة الانفلونزا فيه 8 segments
و طبعا ممكن يوخذ اي segemnts حتى لو كرر منهم
يعني ممكن يوخذ ال 8 عبارة عن glycoprotein segments
بس هيك راح يكون defective
طيب لو كان infectious و قدر يجمع كل ال segments من الhuman
الا ال glycoprotein اخذه من ال pig هذا راح يسبب ممشكلة
لانه انت ما عندك ال antibodies تاعت ال glycoprotein الجديد

مشان نعرف الفرق بين ال antigenic drift و ال shift تخيلوا معي عنا glycoprotein ع شكل مثلث
بال drift اللي هو mutation عادي راح يتغير شكله بشكل بسيط هذا التغير بسبب العدوى الموسمية و بخلينا نغير المطاعيم
و اللي بيصير سنوات وبتسبب epidemic
اما ال shift لما يتغير هذا ال glycoprotein من مثلث لدائرة هون بكون صار reassortment و اللي بسبب pandemic و بيصير كل 7ل 10 سنوات

INFLUENZA VIRUS

الانفلونزا بيصيرلها growth بال eggs ولكن في cultures مختلفة جديدة

- **cold adapted**
- **temperature-sensitive**
- **attenuated**
- **live vaccine**
- **intranasal delivery**
- **approved 2003**



كيف بنصنع ال vaccine for influenza ؟؟
هسه ال vaccine ممكن يكون فيه trivalent بكون فيه نوعين A و نوع B او quadrivalent بكون فيه نوعين A و نوعين B
مثلا خلينا نحكي عن ال quadrivalent بنجيب اربع بيضات و بنحط بالاولى A1 و الثانية A2 و الثالثة B1و الرابعة B2
بنعملها growth بعد كم من يوم بنقس البيضات بصحن واحد بعدين بنحطهم تحت heat source مشان نقتلهم
هيك صار معك mix من A1 ,A2 ,B1,B2
في طريقة ثانية انه استغل ال REASSORTMENT
بحيث اجيب الفيروس و احط فيه ال segment للاربع انواع و هيك بيصير عندي نوع جديد من الفيروس فيه ال 4 spikes

rotavirus vaccine (Rotateq)

- **human-bovine reassortants**
- **live**
- **oral**

rotavirus vaccine (Rotarix)

- **attenuated human rotavirus**
- **live**
- **oral**

NON-SEGMENTED NEGATIVE STRAND RNA VIRUSES

- **no classical recombination**
- **no copy choice**
- **no reassortment**

– **least ability to exchange genetic material**

they are considered the most stable

Defective Viruses

Defective viruses: المشكلة فيه بتكون ع مستوى الجنوم تبعه

are genetically deficient and incapable of producing infectious progeny virions.

Helper virus: ال helper ما بقدر يعدل ع الجينوم الخربان ف شو بروح يعمل

can supplement the genetic deficiency and make defective viruses replicate progeny virions when they simultaneously infect host cell with defective viruses.

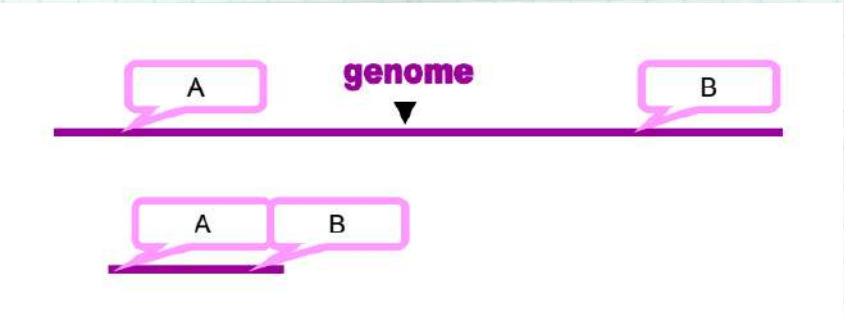
لنفرض انه دخل ع الجسم فيروس defective بقدر يزيد عدده و يكثر حاله
طيب هو كيف بطلع ؟ لانه معه helper اللي بيصير يشوف اي اشي ناقص عند ال defective و يعطيه اياه
يعني ال defective بنافس ال infectious
بالوضع الطبيعي لو فات فيروس و صار 100 قلنا فوق انه حيعطيك 60 defective و 40 infectious
طيب ع فرض فاتوا اثنين واحد infectious و الثاني defective
الثنين راح يعطوك 100

50 راح يكنوان اصلا من ال defective الاصلي فكلهم حيكونوا defective

50 راح يتقسموا 60 % ب 40 %و ال 40% من ال 50 هي 20 شايفين كيف قلت الفيروسات من 40 ل 20 لما صار في منافسة

- **Defective Viruses lack gene(s) necessary for a complete infectious cycle**

- **helper viruses provide missing functions**



Defective interfering particles (DIP)

DIP:

• Defective viruses which can occupy the cell machinery necessary for normal virus replication to prevent virus production, are called "defective interfering particles" (DIP).

اذا متذكرين ال MOI حكينا عن النسبة بين الفيروسات و الخلايا
يعني مثلا عندي 1000 فيروس و 1000 خلية كل خلية الها فيروس
10000 فيروس و 1000 خلية كل خلية الها 10 فيروسات
تمام في عالم كان يبحث اكتشف انه كل ما زادت ال MOI بتقل نسبة ال infectious viruses و العكس صحيح
الفكرة نفس الحكي اللي فوق تبع التنافس
انه لو دخل فيروس واحد للخيلة و انسسخ ل100 راح ينتجلك 40 فيروس infectious
اما لو دخلوا 4 ممكن يكون 3 منهم defectives واللي راح يقللوا ال infectious ل 10

COMPLEMENTATION

Interaction at the functional level, NOT the nucleic acid level