



Microbiology

Subject :

Lec no : 30

Done By : Dana Khalaf & Tabark Aldaboubi 🎀💕

وَقُلْ رَبِّ زِدْنِي عِلْمًا



Viral Genetics

Virology Lecture 5

Ashraf Khasawneh

Faculty of Medicine

The Hashemite University

VIRAL GENETICS

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

الشرح هون اوضح...

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 بتعتمد 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 10000-2000 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

GENETIC CHANGE

- MUTATION 
- RECOMBINATION

ORIGIN OF MUTATIONS

- **SPONTANEOUS**

- **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**

ORIGIN OF MUTATIONS

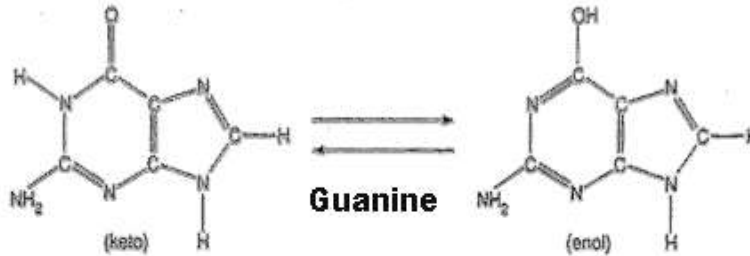
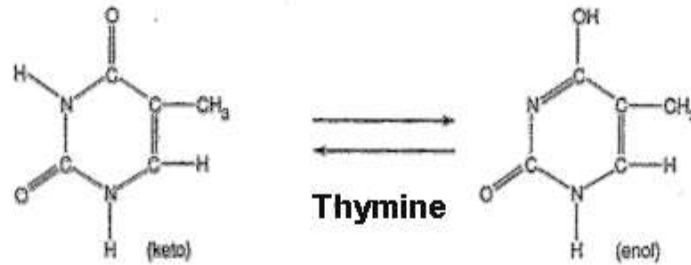
راح نحكي بالاول عن الطفرات و عنا ال polymerase errors اللي حكينا عنها فوق انه نقص ال proofreading في ال RNA viruses

- **SPONTANEOUS**

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

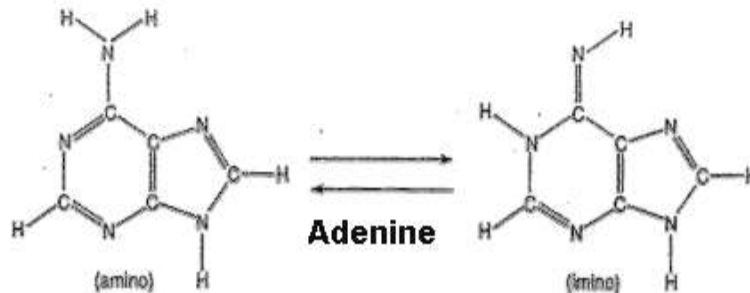
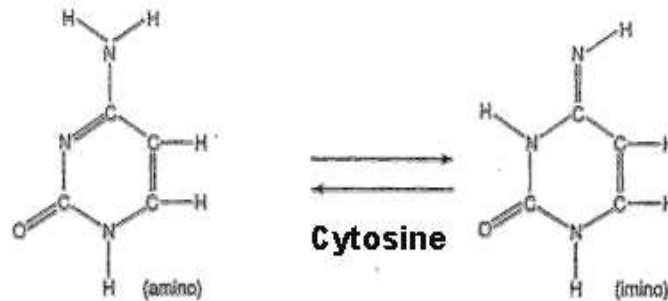
Tautomeric forms of bases

Minor changes in
chemical
structures of
the bases



most of time

rarely



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 NH_2OH
 - Alkylating agents

Types of mutations

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

- Three types

بالعادة التغير هون يكون

- **Silent**

بس تغير الكودون و يترجم لنفس الحمض الاميني

amino acid بالعادة يكونو الة المتزن كودون => 1 2 3

يمكن يصير البروتين nonfunctional او تتغير الوظيفة

- **Missense**

بس تغير الكودون و يترجم لحمض اميني مختلف

1 2 3

التغير بواحد منهم

- **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

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
- **DRUG RESISTANCE**
 - important in the development of antiviral agents
- **ENZYME-DEFICIENT MUTANTS**
 - some genes can be ‘optional’ in certain circumstances
- **ATTENUATED MUTANTS**
 - milder (or no) symptoms
 - vaccine development

PHENOTYPE

PHENOTYPE

- the observed properties of an organism

antibiotics عننا زي ما عنا antiviral drugs عننا
بال antibiotics شرط تعطي الجرعة MIC او اعلى
نفس الاشئ 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**

ال wild type بنمو بكل البيئات لكن اذا صار طفرة ممكن يبطل ينمو
في بيئة معينة و ممكن يبطل infectious

- may show altered pathogenicity

ال pathogenicity قدرة انه يسبب مرض ممكن تزيد و ممكن تقل

- **DRUG RESISTANCE**

- important in the development of antiviral agents

- **ENZYME-DEFICIENT MUTANTS**

ممكن تساعد الفيروس انه يعمل resistance لل drugs

- some genes can be 'optional' in certain circumstances

- **ATTENUATED MUTANTS**

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

- milder (or no) symptoms

الطفرة ممكن تسبب تضعيف للفيروس
و بقدر استفيد منها بأنه اعمل vaccine

- vaccine development

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 بسمجلي 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 بالطريقة
ال vaccines اللي اخذناهم كانوا بطرق مختلفة زي sinopharm vaccine كان يستخدم killed virus
ال pfizer vaccine كان يستخدم mRNA و لازم تحفظه بدرجات منخفضة
فكرة ال pfizer 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 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 بوخذه 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

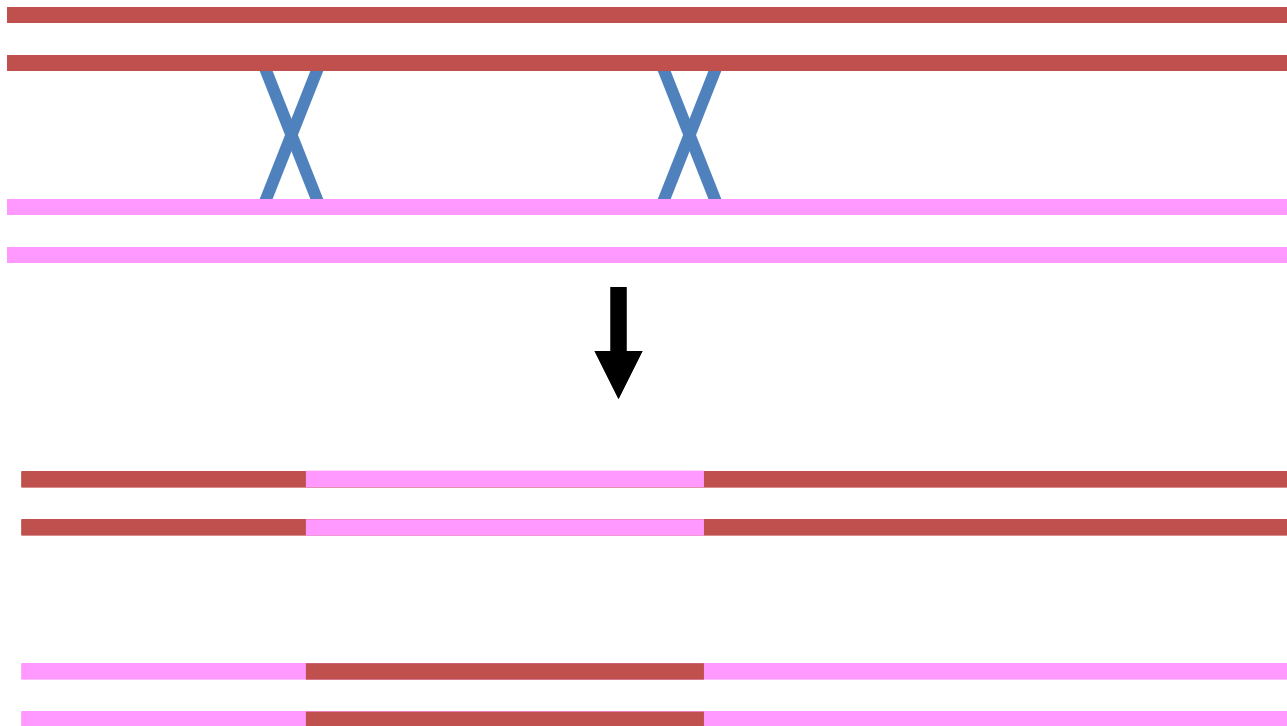
Exchange of information between two
genomes

RECOMBINATION

'classic' recombination

common in DNA viruses

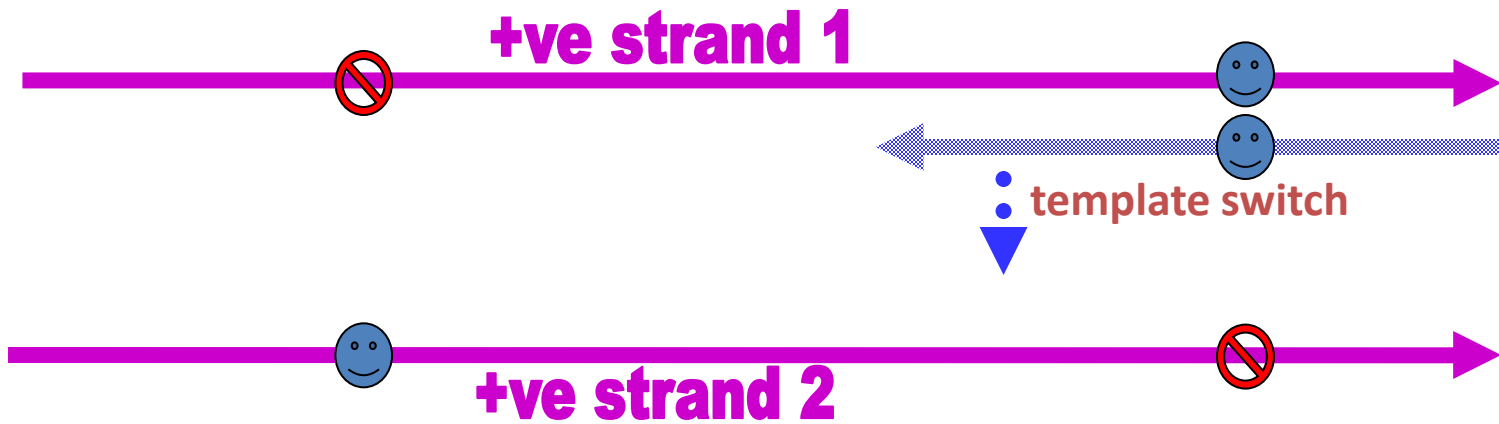
Segment from DNA1 is exchange to the segment in DNA2



تهجين: taking characteristics of to different genome

COPY CHOICE RECOMBINATION

The ability of the RNA dependent RNA polymerase from one strand to another
Can be negative or positive ✓



RNA dependent RNA polymerase going to start on 1 from the beginning on 2 then ال
RNA dependent RNA polymeras is going to dissociate from 1 and jump to 2 and continue
وبالتالي اخذ ال complementary تبع الجزء الاول فوق وكمل ع strand 2 ووصلهم مع بعض فبالتالي صار عنا 2
different genome

لما يبيلش على ستراند 1 ويكمل على ستراند 2 ستراندات :

1 ← احتمال
يرجع على ستراند 2 فذا الاول ويكمل للاخر (بمعيير اطول فذا الوضوح الطبيعي).

2 ← انه يجيب على المكان الي توك فيه ويرجع يكمل والطول يكون نفسه
من عند smile face

3 ← يرجع على اخر ريج او بالنص ويكمل .

Do the gen going to meseng or not !!

احتمال 1 ← فاذ اي meseng gen سبب لما يمنع بروتين كي البروتينات موجوده
is Viral replication efficient process ?! (is going to produce infection virus !!)

الارقام 3 ← خلتيه produce
للنوضيح
non ← 60 !! infection
infection ← 40

ال
out comes
تلمعة الاحتمالات
فوق

احتمال 2 ← all the gene are present there

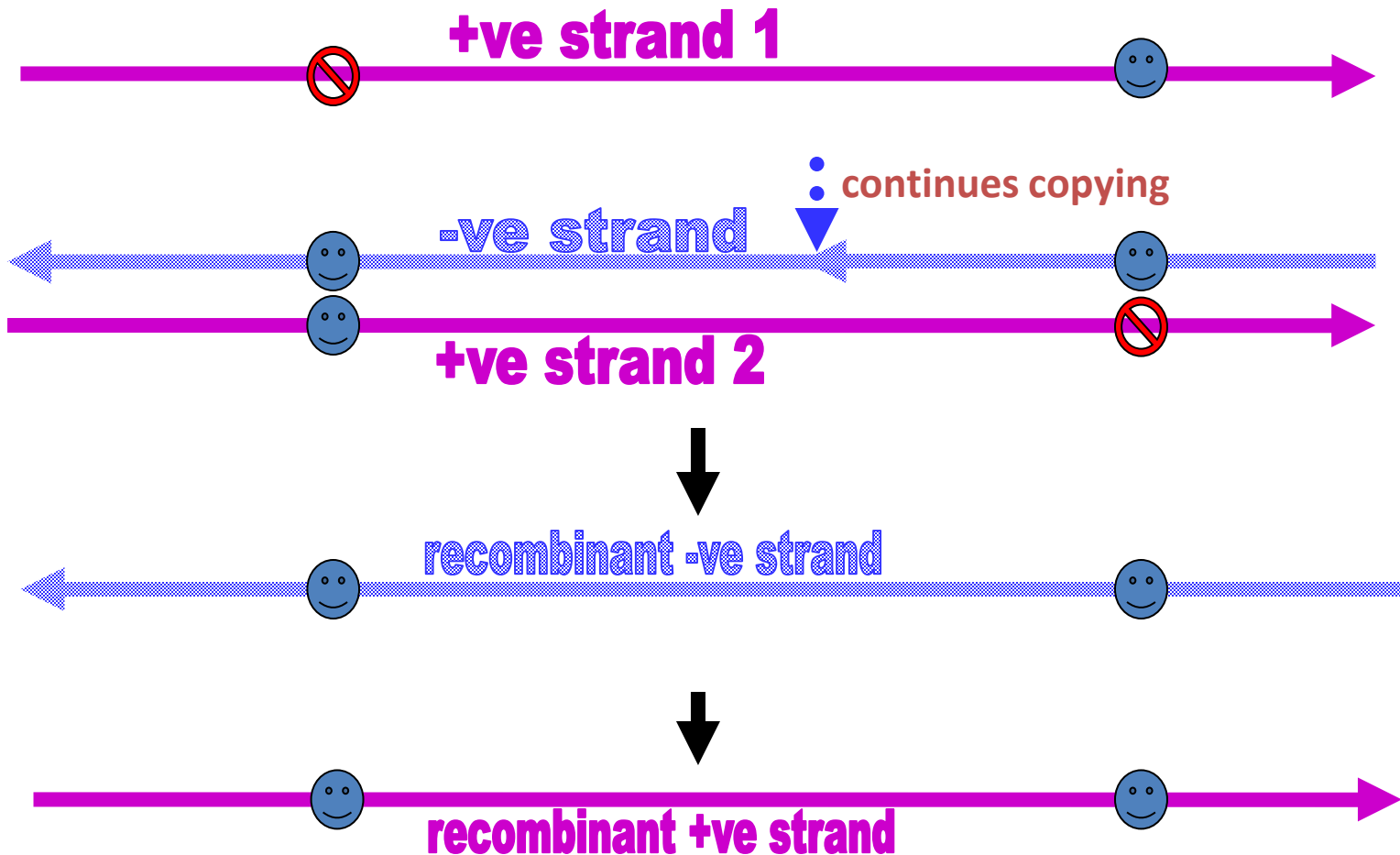
non ← 60
infection ← 40

←
have meseng gene

This virus by difenition is defected.

↓
non infection

COPY CHOICE RECOMBINATION



REASSORTMENT

For reassortment to occur more than one type of influenza

Influnza

Antigenic Shift

Reassortment

influnza or Rota → gen (segmented) //
 infect human و H1N1 و طيور و A, B, و C

human influenza with swine influenza

RNA يتدخل وتبيلش او Polymeras
 سيقفل عليها 6م بال human !! 8

going to replicate genome of human segment and the genome of swine segment

asymple for تمسيري الخريطة اذا صار
 anew virus → Mixture of segment from human and swine are going to semble to one new virus

Antigenic drift

glycoprotein
 قاعه بتغير

dramatic change in shape of glycoprotein

Lead to → glycoprotein تعرفنا

Antibody لا Neutralized
 efficacy of Neutralized لا
 to Antibody which result of this change (بتقل)

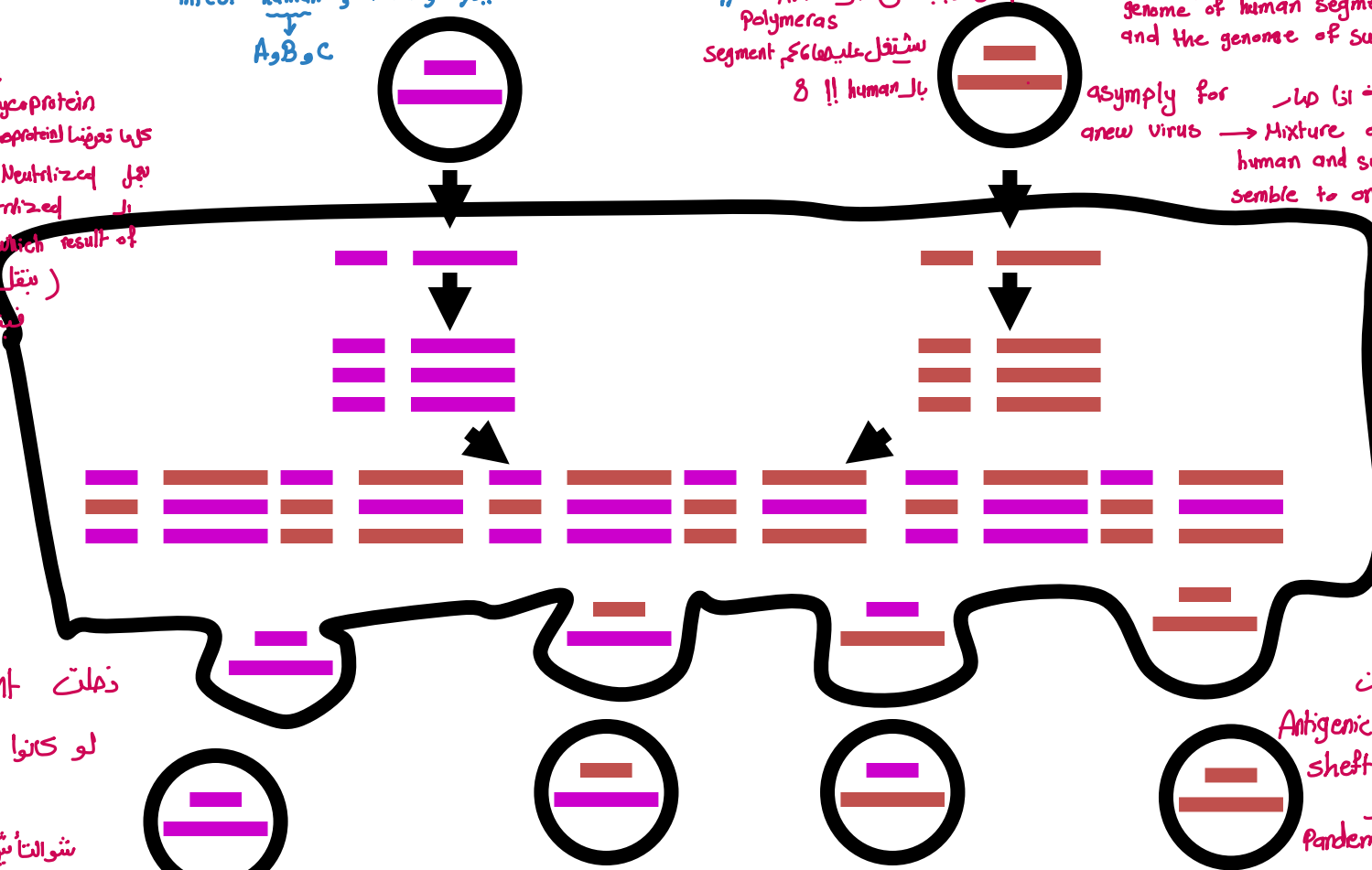
فبتزيد عدد الحالات

ذملت 8 Segment

4 human لو كانوا و 4 swine

شوالتاثير !! صاعرتوب Mix

وعينا 4 segment 4 glycoprotein
 because the outer part of the virus, expose in immune system

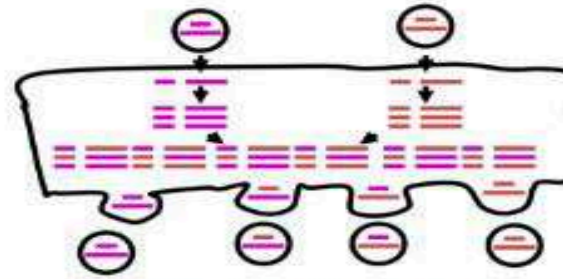


increased the ← number of Antigenic drift (epidemic بدو) سنوت 2-5

1-10 سنوات
 بجميع عنا
 Antigenic shift
 بالتالي بصير
 Pandemic

REASSORTMENT

تألف نوع ال reassortment و اللي بتتصير بال segmented genome
مثل الانفلونزا و اللي ممكن تصيب اي نوع من الكائنات
و اللي بسميها antigenic shift
لنفرض انه هاي خلية human influenza و ال swine influenza عمللوا للخلية infection بنفس الوقت
الفيروسين راح بصيرلهم replication هسه لما يتجمع ال genome ممكن يتجمع اما من واحد منهم او مكس بين
التنين
عندك مثال عليه ال H1N1 اللي هي عبارة عن تهجين بين ال human influenza and pig



5

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 بوخذ اي segments حتى لو كبر منهم

يعني ممكن بوخذ ال 8 عبارة عن glycoprotein segments

بس هيك راح يكون defective

طيب لو كان infectious و قدر يجمع كل ال segments من ال human

ال ال glycoprotein اخذه من ال pig هذا راح بسبب مشكلة

لانه انت ما عندك ال antibodies تاغت 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 بتغير شكله بشكل بسيط هذا التغيير بسبب ال عدوى الموسمية و بخلينا نغير المطاعيم

و اللي بيصير سنوات و بتسبب epidemic

اما ال shift لما بتغير هذا ال glycoprotein من مثلث لدائرة هون يكون صار reassortment و اللي بسبب pandemic و

بيصير كل ال 7 ل 10 سنوات

REASSORTMENT

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

علية التمتع وخصوصًا لل Killed Virus Vaccine

لقد على ايشن !! ليس لازم احداث الطعم كل فترة !!

It's need produce a new Vaccine

بطلع على نتائج السنة

الماضية هل فيه new

Strain !!

وقد كما بطوروا Vaccine

اذا فيه لبيشوا يقارنوا بيحصل اذا كانت higher epidemic mortality rate

* ال Vaccine فيه 4 Strain 2a, 2b ونوع فيه 3

↓

2a

1b

more virulent , more number of cases are seen with A

* human Influenza → A
B

C → associated infection going to mild infection

propagation

ويعملهم 2 a وبعملهم 2 b ← 4 different type J Segment بجيب

على 33 °C وبعدها بنزلها 24-25 حرصت فيروس على 4 انواع ونا

glycoprotein وناعت.



لا بد من الإنسان أن يمر بفترة صعبه من المستحيل ان يكون الشخص بحاله واحده بعض الأحيان حزين وبعض الأحيان سعيد لهذا بكل الحالات قل الحمد لله كلمة بسيطه كهذه تحدث فارق كبير ربما لاتتصوره العبره ان لاتنسى ذكر الله مهما قست عليك الحياه تذكر ان الله ارحم بك من نفسك وما يخرج المؤمن من كربته هو فقط الله

REASSORTMENT

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

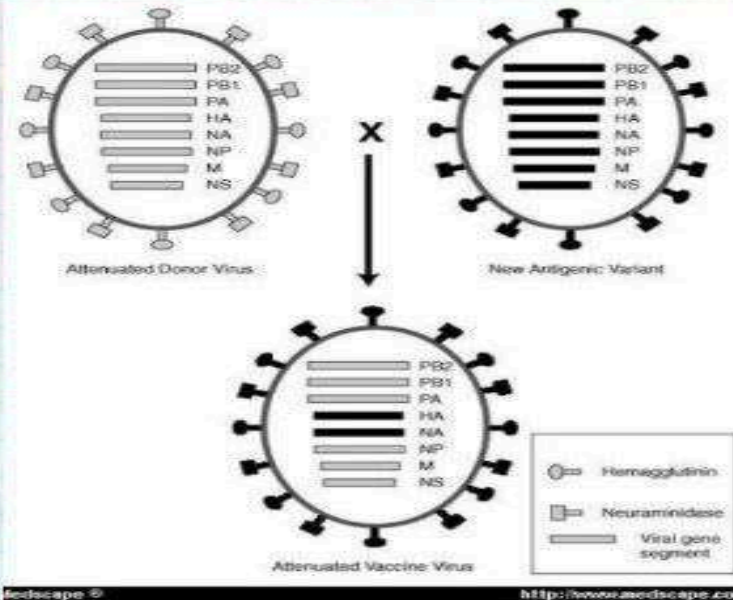
اكثر segment بسبب مشكلة انه يصير له mixing هو ال spike هسه مشان نوضح هالفكرة الانفلونزا فيه 8 segments و طبعا ممكن بوخذ اي segments حتى لو كثر منهم يعني ممكن بوخذ ال 8 عبارة عن glycoprotein segments بس هيك راح يكون defective طيب لو كان infectious و قدر يجمع كل ال segments من ال human الا ال glycoprotein اخذه من ال pig هذا راح بسبب مشكلة لانه انت ما عندك ال antibodies تاخذ 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 ال عدوى الموسمية و بخلينا تغير المطاعيم و اللي بيصير سنووات و بتسبب epidemic اما ال shift لما يتغير هذا ال glycoprotein من مثلث لدائرة هون يكون صار reassortment و اللي بسبب pandemic و بيصير كل ال 10 سنووات

INFLUENZA VIRUS

الانفلونزا بيصير لها growth بال eggs ولكن في cultures مختلفة جديدة

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



adapted from Treanor JJ Infect. Med. 15:714

17

كيف بنصنع ال vaccine for influenza ؟؟

هسه ال vaccine ممكن يكون فيه trivalent يكون فيه نوعين A و نوع B او quadrivalent يكون فيه نوعين A و نوعين B مثلا خلينا نحكي عن ال quadrivalent بنجيب اربع بيضات و بنحط بالاولى A1 و الثانية A2 و الثالثة B1 و الرابعة B2 بنعملها growth بعد كم من يوم بنقيس 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

INFLUENZA VIRUS

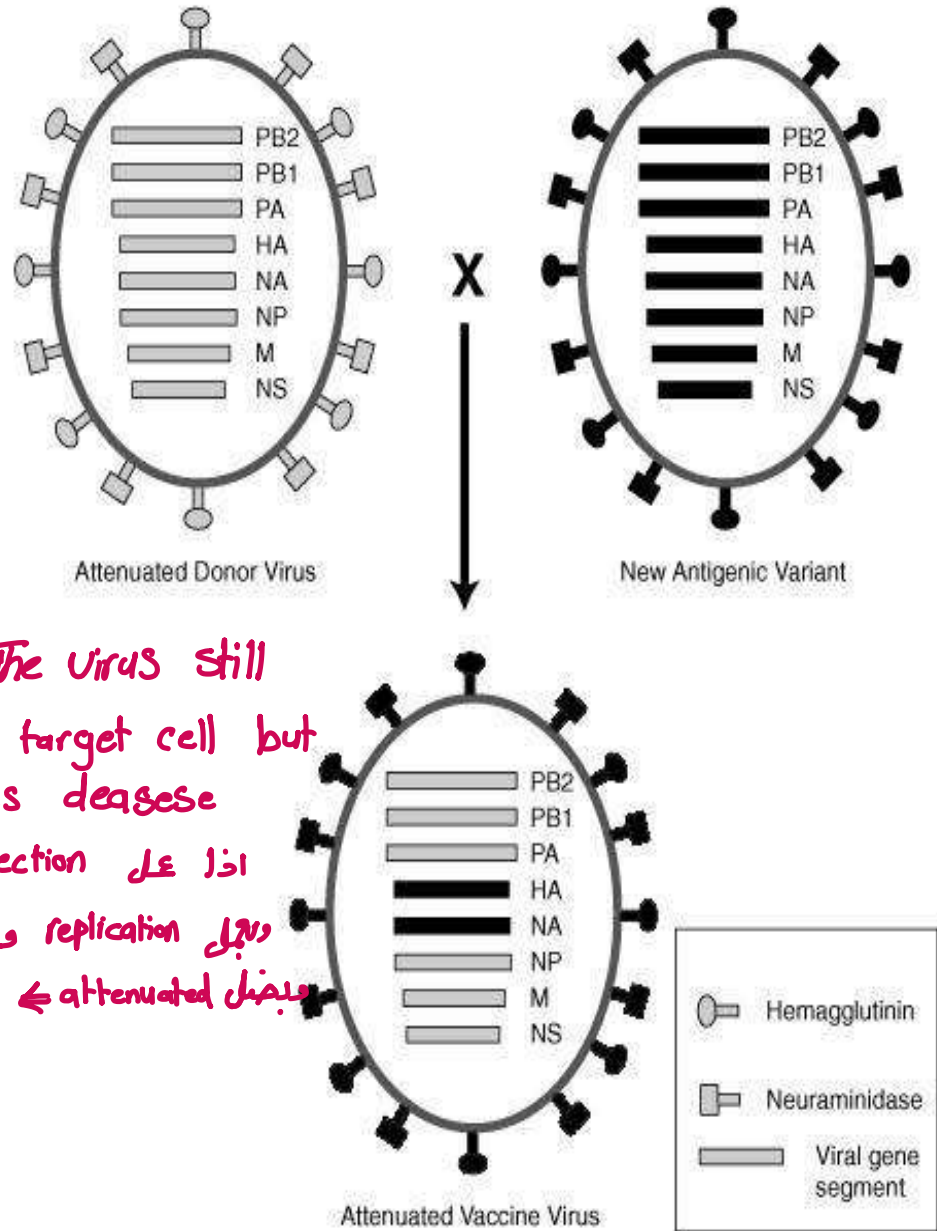
- cold adapted
- temperature-sensitive

- attenuated *(مضعف) The virus still of infect target cell but not causes disease*

- live vaccine *اذا على infection يدخل وبعده replication و يتلع منها*

مبضعف attenuated ← بوطيها لل immune system وبتول فناعة

- intranasal delivery



Influnza لل يعطى

intra nasal approved 2003

live attenuated → بوطي المعطوم بنفس route الي انصاب بسببها

rotavirus vaccine (Rotateq)

- human-bovine reassortants
- live
- oral

↓
as a back bone
segment ال دعامين زيبا

تاعن ال human

↓ → development of immunity
بجل

rotavirus vaccine (Rotarix)

- attenuated human rotavirus
- live
- oral

NON-SEGMENTED NEGATIVE STRAND RNA VIRUSES

chances يعني negative sense RNA viruses they are genetically stain يعني
اقل of development of mutation

- no classical recombination
 - no copy choice
 - no reassortment
- least ability to exchange genetic material

Defective Viruses

Defective viruses: *Genome* مستوى

are genetically deficient and incapable of producing infectious progeny virions.

Helper virus: *Non-defective virus*

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

لما يدخل helper مع defective بالوضع الطبيعي يتكون ٦٠ ب ٤٠ هون بتصير ٨٠ ب ٢٠ لانو ال defective شو ما طلع رح يضل defective

The number of infectious viruses ب low MOI اكثر من high MOI

اما تكون MOI low عدد الفايروسات قليل ف بالتالي نسبة انو يروح عندي فايروس واحد لخلية وحدة عالية، اما لو كان العدد كبير ف الخلية ممكن تصاب باكثر من فايروس، ب low MOI الفيروسات رح تدخل اما defective or infectious لو defective مافي إنتاج للفايروس، اما لو infectious بتعطينا ٦٠ defective, ٤٠ infectious ب high MOI دخلنا ع فكرة ال defective, helper بتكون chances of production of defective viruses بتكون عالية كتير

$$MOI = \frac{\text{نسبة عدد الفايروسات}}{\text{عدد الخلايا}}$$

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.

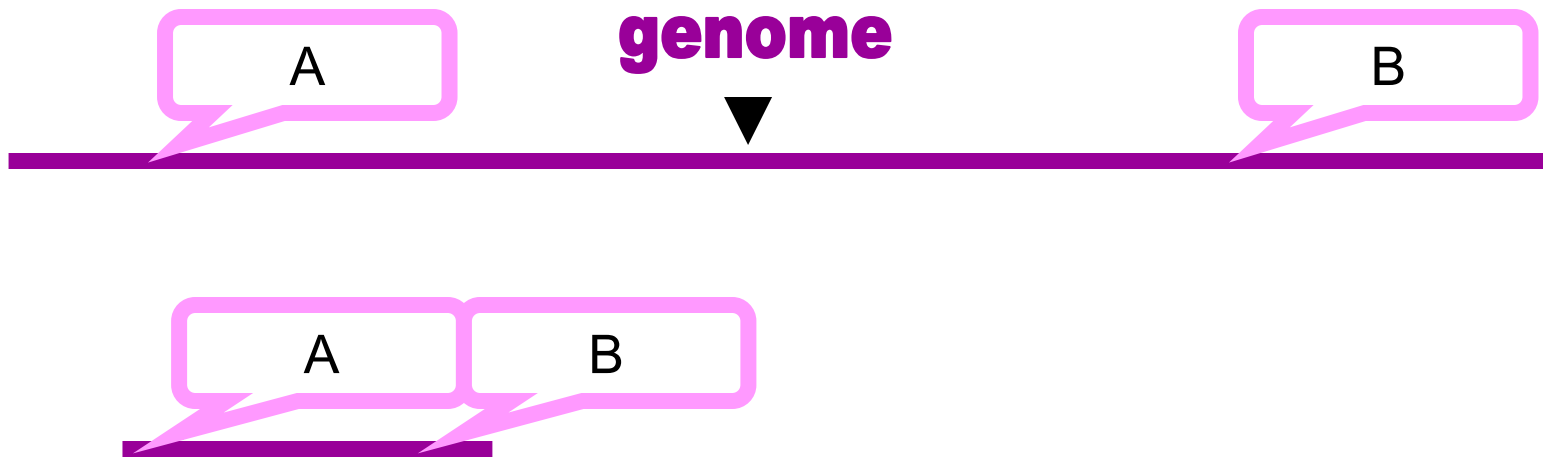
لنفرض انه دخل ع الجسم فيروس defective بقدر يزيد عدده و يكثر حاله طيب هو كيف بطلع ؟ لانه معه helper اللي بيصير يشوف اي اشي ناقص عند ال defective و يعطيه اياه يعني ال defective بنافس ال infectious بالوضع الطبيعي لو فات فيروس و صار 100 قلنا فوق انه حيعطيك 60 defective و 40 infectious طيب ع فرض فاتوا اثنين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

50 راح يكتوان 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

- Defective Viruses lack gene(s) necessary for a complete infectious cycle
- *proteins* *عز مسؤوب* 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).

Competing with the infectious viruses

من تفریح. برجس -

اذا متذكرين ال ال MOI حكيينا 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

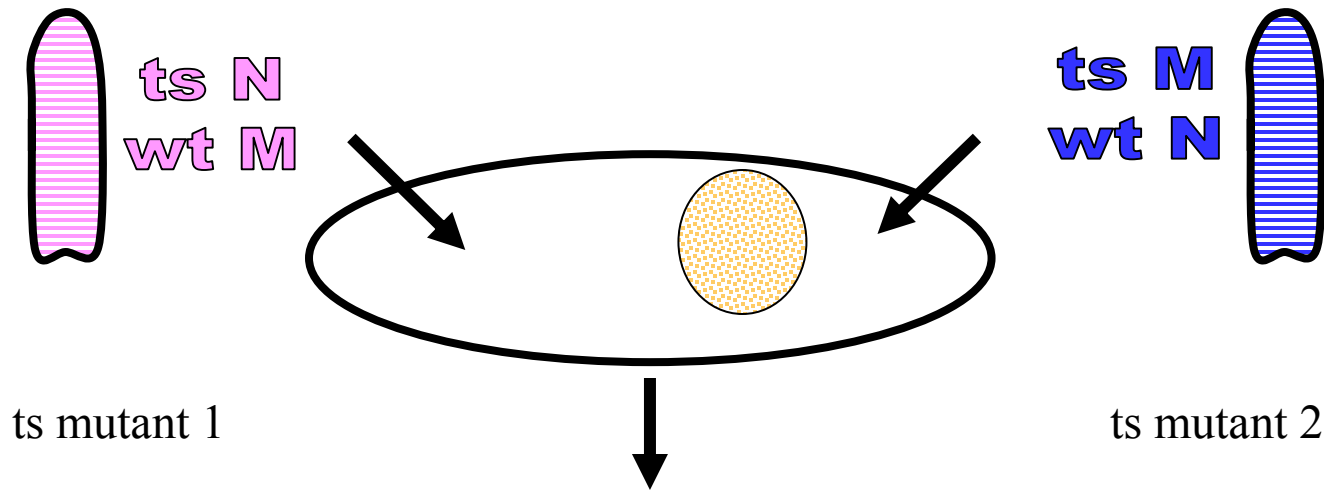
انه لو دخل فيروس واحد للخيلة و انسخ ل 100 راح ينتجلك 40 فيروس infectious
اما لو دخلوا 4 ممكن يكون 3 منهم defectives و اللي يقللوا ال infectious ل 10

التكامل بين

helper &
defective

COMPLEMENTATION

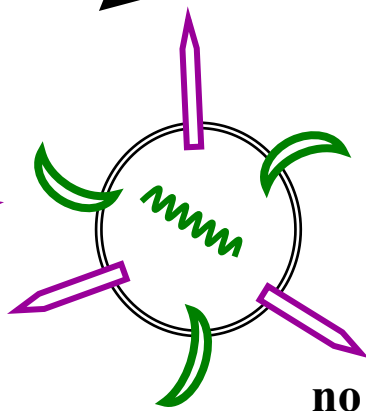
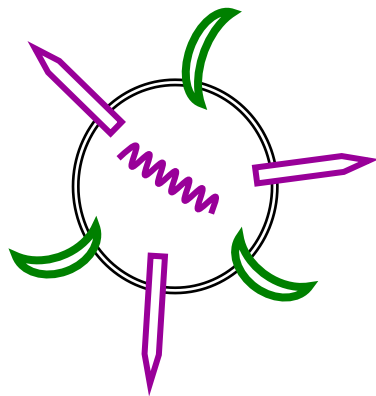
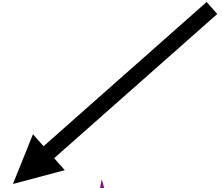
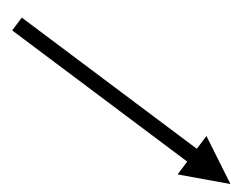
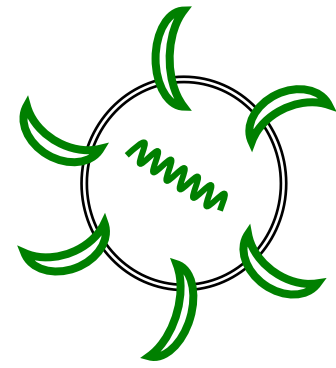
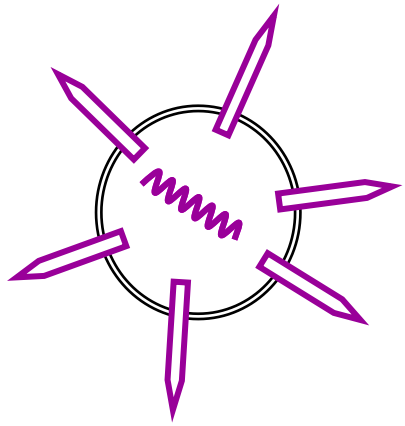
Interaction at the functional level, NOT the nucleic acid level



Progeny virus assembled using **wt N** and **wt M** proteins
Genomes in progeny are either **ts M** or **ts N**

بالتوفيق ..

dano



no changes in genome

possibly altered host range

possibly resistant to antibody neutralization