

Departament de Genètica
i de Microbiologia
Unitat de Microbiologia



Edifici C
08193 Bellaterra (Barcelona), Spain
Tel.: (3) 581 14 76
Fax: (3) 581 20 03
Tèlex: 52040 EDUCI E
E-mail: IBMIO@CCUAB1.UABES

PROGRAMA DE VIROLOGIA

Curs 1993-94

Professor: A. Villaverde

Objectius: L'estudi de la naturalesa dels virus, de les tècniques i mètodes pel seu estudi, i de l'efecte de les seves infeccions, tant a nivell cel.lular com d'organisme.

Avaluació: Exàmen teòric i exàmen sobre les classes pràctiques.

PROGRAMA DE VIROLOGIA

Curs 1993-94

TEORIA

1. Naturalesa dels virus.

Concepte de virus. Dimensions i composició química. Transmissió i multiplicació. Parasitisme estricte. Els virus i els éssers vius. Virus, plasmidis i transposons. Descobriment dels virus i història de la Virologia.

2. Morfologia de les partícules víriques.

Mètodes d'estudi de la morfologia vírica: microscòpia electrònica i difracció de raig X. L'envolta vírica. Simetria de les partícules víriques: isomètrica, helicoidal, mixta i complexa. El principi de quasiequivalència. Disposició dels monòmers i capsòmers.

3. Estudi de l'estructura de les partícules víriques.

Estructura tridimensional per processat d'imatges bidimensionals: el coll del fag f29. La difracció de raig X: els picornavirus. La hipòtesi del canyó. Mètodes immunològics: els mapeig d'epítops.

4. Constitució genètica dels virus.

El principi d'economia i la complexitat dels genomes vírics. El contingut genètic dels virus: gens estructurals i no estructurals. Estudi dels genomes vírics; la seqüenciació. El genòfor víric: estructura i tipus. Repeticions terminals i permutació cíclica. Mapes físics i genètics. Mutació, recombinació i reorganització.

5. Classificació i nomenclatura dels virus.

Significat d'una taxonomia vírica. Criteris de classificació. Comité Internacional de Taxonomia de Virus. Classificació de Bradley de bacteriòfags. Classificació de Baltimore de virus animals. Paper del mRNA i fluxe d'informació genètica. Els retrovirus.

6. Viroïds i prions.

Malalties vegetals causades per viroïds. Estructura i constància de dominis. Mecanismes de patogenicitat. Hepatitis delta. Les proteïnes infeccioses: els prions. Malalties nervioses degeneratives: herència i contagi. La multiplicació dels prions: hipòtesis.

7. Origen i evolució dels virus.

Teories sobre l'origen dels virus. Freqüències de mutació. Evolució ràpida dels virus RNA. Les "quásiespècies" víriques i el seu potencial evolutiu. Selecció darwiniana i no darwiniana de virus. Recombinació i reorganització de genomes segmentats. Teories modulars. Filogènies virals i epidemiologia molecular.

8. El laboratori de Virologia.

El laboratori de cultius cel·lulars: equipament i àrees. Nivells de seguretat biològica. Els laboratoris de contenció: distribució i mesures de seguretat. La pressió negativa. Conservació i manipulació de soques virals.

9. Purificació i concentració de virus.

Tractament de mostres naturals. Aïllament i identificació de virus: microscòpia electrònica i proves immunològiques. Producció de virus en el laboratori: eliminació de restes cel·lulars i tècniques de purificació. Criteris de puresa.

10. Anàlisi quantitativa dels virus.

Determinacions físico-químiques. Quantificació de components virals. Recompte directe. Hemaglutinació. Assaigs d'infectivitat. Mètode de les calbes de lisi. Mètode de les pústules i altres lesions locals. Mètode del punt final. Aplicacions al diagnòstic: la PCR.

11. Multiplicació vírica.

Esquema del cicle víric. Etapes intracel·lulars i extracel·lulars. Adsorció i entrada de virions. Destí de l'àcid nucleïc. Biosíntesi en virus DNA. Biosíntesi en virus RNA. Infeccions productives i no productives. Transformació cel·lular. Cinètiques d'aparició de macromolècules víriques. Morfogènesi dels virions i lliberament al medi.

12. Multiplicació de bacteriòfags.

"One step growth". Adsorció a la paret bacteriana. Receptors. Mutacions que confereixen resistència als fags. Acció enzimàtica dels virions. Ejecció i injecció de l'àcid nucleïc. Regulació de l'expressió gènica en T₄ i lambda.

13. Multiplicació de virus animals.

Adsorció i penetració dels virions. Transport de l'àcid nucleic. Síntesi de molècules víriques. Inhibició i estimulació de funcions cel·lulars. Estat antiviral. Producció d'interferó. Partícules víriques defectives. Oncogènesi vírica.

14. Multiplicació dels virus vegetals.

Entrada del virió. Lesions en la paret cel·lular. Replicació de l'àcid nucleic i síntesi de proteïnes. Encapsidació i disseminació dels virus vegetals. Presència de transcriptasa inversa.

15. Transcripció, traducció i replicació en virus RNA.

Estratègies de replicació en virus RNA de cadena positiva: picornavirus, calicivirus i retrovirus. Replicases en el virió. Regulació de la transcripció: arenavirus. Regulació en retrovirus humans. Virus de doble cadena i cadena negativa.

16. Transcripció, traducció i replicació en virus DNA.

Les classes I i II de la classificació de Baltimore. Parvovirus, adenovirus, herpesvirus i poxvirus. Els hepadnavirus; transcripció inversa. Els activadors i la regulació de la transcripció.

17. Efectes citopàtics en la infecció vírica.

Fusió cel·lular: formació de sincitis. Inclusions citoplasmàtiques i nuclears. Polihedrosi. Pèrdua d'adherència. La lisi cel·lular. Producció de virions sense lisi. Els ascovirus.

18. Multiplicació dels virus en l'organisme.

Característiques de les infeccions víriques. Portes d'entrada i viremies. Infeccions agudes i persistents. Virosis oportunistes. El sistema immune. El contagi. La curació. El diagnòstic. Multiplicació de virus en teixits vegetals.

19. Vacunació i tractament de les malalties víriques.

Les vacunes clàssiques. Virions inactivats o virus atenuats. Reversió de les mutacions atenuants. Vacunes de nova generació: la hepatitis B. Substàncies antivíriques. Els RNA antisentit. Dianes d'antivírics; proteases i enzims vírics.

PRACTIQUES

1. Obtenció de llisats fàgics.
2. Títol de suspensions víriques.
3. Aïllament de bacteriòfags de mostres naturals.
4. Multiplicació de bacteriòfags: "one-step-growth".
5. Reactivació "Weigle" de bacteriòfags.
6. Inducció de profags.
7. Adsorció fàgica.
8. Inactivació de bacteriòfags per antígen somàtic.
9. Reassociació "in vitro" de càpsides víriques.
10. Obtenció de soques lisogèniques.
11. Aïllament de mutants bacterians resistents a bacteriòfags.
12. Lisi "from without".
13. Inactivació de bacteriòfags per llum ultraviolada.
14. Inactivació de bacteriòfags per calor i pH.
15. Obtenció de mutants lítics de bacteriòfags.
16. Càlcul de freqüències de bacteriòfags mutants.
17. Concentració de bacteriòfags.
18. Extracció i anàlisi electroforètic de DNA i RNA víric.
19. Obtenció de sèrums policlonals contra virus.
20. Estudi de la neutralització vírica per sèrums.
21. Electroforesi de proteïnes víriques: "Western blot".
22. ELISA d'antígens vírics.

D'aquestes pràctiques es realitzaran les apropiades al nombre de grups i d'alumnes.

Bibliografia general.

R. Dulbecco i H. S. Ginsberg. 1988. Virology (2^{ona} Ed.). J.B. Lippincott Co. Philadelphia.

H. Fraenkel-Conrat, P. C. Kimball i J. A. Levy. 1988. Virology (2^{ona} Ed.). Prentice-Hall Int. Ed. NJ.

A. Scott. 1990. Piratas de la célula. Labor SA. Barcelona.