

PROGRAMA DE VIROLOGIA

Curs 1994-95

TEORIA

1. Naturalesa dels virus.

Concepte de virus. Els virus i els éssers vius. Dimensions i composició química de les partícules víriques. Propietats fonamentals dels virus: transmissió, multiplicació i parasitisme estricte. Virus i altres elements genètics mòbils. 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. Estructura i funció de l'envolta vírica. Simetria de les partícules víriques: isomètrica, helicoïdal, mixta i complexa. El principi de quasiequivalència i el n^o de triangulació. Disposició de monòmers i capsòmers. Tipus de proteïnes estructurals.

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

Anàlisi d'imatges bidimensionals. La difracció de raig X: estructura de proteïnes i de càpsides víriques. Conservació de motius estructurals. Naturalesa i disposició dels interactors. Els picornavirus: la hipòtesi del canyó. Mètodes immunològics: el 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. Gens d'origen cel.lular. Estudi dels genomes vírics; la seqüenciació. El genòfor víric: estructura i tipus. Genomes segmentats i partits. Repeticions terminals i permutació cíclica. Mutació, recombinació i reorganització.

5. Classificació i nomenclatura dels virus.

Significat d'una taxonomia vírica. Criteris de classificació. Comitè Internacional de Taxonomia de Virus. Classificació de Bradley de bacteriòfags. Classificació de Baltimore de virus animals. Paper del mRNA en el flux d'informació genètica. La transcripció inversa.

6. Viroïds i prions.

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

7. Origen i evolució dels virus.

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

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. Concentració de partícules víriques. 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.

Quantificació de components virals: àcids nucleïcs i proteïnes. Recompte directe. Hemaglutinació. Assaigs d'infectivitat. Mètode de les calbes de lisi. Mètode de les pústules i altres lesions locals. Aplicacions al diagnòstic: la PCR. Mesura de la resposta antivírica.

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 i maduració dels virions i alliberament 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 λ .

13. Multiplicació de virus animals.

Adsorció i penetració dels virions. Receptors. Transport de l'àcid nucleïc. Síntesi de molècules víriques. Inhibició i estimulació de funcions cel.lulars. Estat antivíric. 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 nucleïc i síntesi de proteïnes. Transmissió propagativa i no propagativa. Encapsidació i disseminació dels virus vegetals. Virus amb transcriptasa inversa. Síntomes macroscòpics.

15. Transcripció, traducció i replicació en virus RNA.

Estratègies de replicació en virus RNA de cadena positiva. Presència de replicases en el virió. Localització cel.lular de la multiplicació. Regulació de l'expressió gènica. Regulació en retrovirus humans. Genomes de doble cadena i de cadena negativa. Funcions dels RNAs subgenòmics. Cicle de retrovirus i virus de la hepatitis B.

16. Transcripció, traducció i replicació en virus DNA.

Activació de la transcripció: antigens T i proteïna E1A. Successió de diferents transcrits en virus herpes: regulació de l'expressió gènica. Virus defectius en replicació: els parvovirus. Replicació fora de nucli: el virus de la verola.

17. Efectes citopàtics en la infecció vírica.

Fusió cel.lular: formació de sincitis. Expressió de nous antigens. Inclusions

citoplasmàtiques i nuclears. Polihedrosi. Pèrdua d'adherència. La lisi cel.lular. Producció de virions sense lisi. Efectes de la transformació cel.lular. Tamany d'explosió.

18. Multiplicació dels virus en mamífers.

Característiques de les infeccions víriques. Portes d'entrada, viremies i teixits diana. Infeccions agudes i persistents. Reactivació d'infeccions latents. Virosis oportunistes. La resposta immune. El contagi. La curació. El diagnòstic.

19. Multiplicació dels lentivirus.

Història natural del HIV. Viremia. Fase de finestra i resposta immune. Càrrega vírica. Eliminació i producció de virions. Alternància de soques virals. Variants antigènics i resistents a drogues. Mort cel.lular. Epidemiologia i transmissió. Altres retrovirus humans i animals.

20. 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 altres 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. Adsorció fàgica.
7. Inactivació de bacteriòfags per antígen somàtic.
8. Reassociació "in vitro" de càpsides víriques.
9. Inactivació de bacteriòfags per llum ultraviolada.
10. Inactivació de bacteriòfags per calor i pH.
11. Obtenció de mutants lítics de bacteriòfags.
12. Càlcul de freqüències de bacteriòfags mutants.
13. Obtenció de sèrums policlonals contra virus.
14. Estudi de la neutralització vírica per sèrums.
15. ELISA d'antígens vírics.

Bibliografia general.

A. J. Cann. 1993. Principles of molecular virology. Academic Press. London.

L. Collier i J. Oxford. 1993. Human virology. Oxford University Press. Oxford.

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.