

VIROLOGIA

Curs 2001-2002

Unitat de Microbiologia. Departament de Genètica i de Microbiologia. Universitat Autònoma de Barcelona.

TEORIA

1. Naturalesa i multiplicació dels virus

El món dels virus. Virus, elements genètics mòbils i éssers vius. Parasitisme estricte, multiplicació i transmissió. La partícula vírica: dimensions, composició química i morfologia. Paper de la càpside en la transmissió. Composició química i funcions del genoma víric: gens estructurals i no estructurals. La polaritat de l'àcid nucleïc. El cicle víric: fases extra- i intracel·lulars. Multiplicació vírica: infeccions productives i no productives. Expressió temporal de gens vírics. La malaltia vírica.

2. La Virologia i els seus orígens

Les hipòtesis sobre el manteniment de la vida i la generació espontània. Els treballs d'en Pasteur. Agents infecciosos microscòpics i els postulats de Koch. El segle XIX: el descobriment dels virus. Els treballs de Mayer, Ivanofsky i Beijerinck sobre el mosaic del tabac: el concepte de verí filtrable. Descobriments dels virus animals. El segle XX: caracterització química, estructural i genètica dels virus. Fets rellevants en la història de la Virologia. L'erradicació de la verola. Aspectes clínics i biotecnològics de la Virologia.

3. Metodologia virològica

Obtenció de partícules víriques. El cultiu cel·lular. Cultius a petita i mitjana escala. Purificació. Quantificació de partícules víriques i anàlisi de components vírics. El laboratori de Virologia: àrees i distribució. La seguretat biològica. Nivells de contenció: P1 a P4. Tractament d'aire. Tractament d'efluents. Les fàbriques de vacunes: producció a escala industrial de partícules víriques.

4. Estructura de les partícules víriques

Morfologia de les partícules víriques. Elements estructurals: subunitat, càpside, nucleocàpside i envolta. Estudi de les partícules víriques: la microscòpia electrònica i les reconstruccions tridimensionals. La difracció de raig X: requisits cristalogràfics i nivell de resolució. Arquitectura molecular en les simetries helicoïdal i icosaèdrica. El principi de quasiequivalència de Caspar i Klug. Proteïnes trans-membrana en les envoltes víriques. Llocs d'unió a receptors. La neutralització.

5. Genètica i genomes vírics

Principi d'economia i complexitat dels genomes vírics. Estructura genòmica. Genomes segmentats i partits. Seqüenciació de genomes vírics i predicció de funcions. Mutació espontània i mutagènesi. El clon infeccios. Recombinació, reorganització i mescla fenotípica. Tipus de mutants vírics. Virus defectius: genomes integrats, virus satèl·lits i partícules defectives interferents. Complementació. Instruments virals per a transferència genètica i teràpia gènica. Presentació de pèptids i antígens en virus recombinants. Clonació i expressió

gènica amb vectors vírics.

6. Principis de taxonomia vírica

Primeres classificacions de virus: classificació de Bradley de bacteriòfags i de Baltimore de virus animals. El Comitè Internacional de Taxonomia de Virus i el sistema de classificació. Propietats víriques usades en taxonomia. Famílies de virus animals i virus no classificats. Els principals patògens humans i les seves malalties. Virus de plantes, invertebrats, bacteris i fongs.

7. Origen i evolució dels virus

Origen dels virus; teories regressives i a favor d'un origen cel·lular. Mecanismes de generació de diversitat. Freqüències de mutació i abundància relativa de mutants. Fixació de mutacions. Replicases víriques i fidelitat de còpia. Variabilitat i evolució en virus RNA i retrovirus. Les quasiespècies víriques. Evolució i potencial evolutiu. Selecció darwiniana i no darwiniana de mutacions. Efectes fundacionals i colls d'ampolla. Divergència genètica i antigènica; el virus de la grip. Filogènia vírica.

8. Noves malalties víriques i virus emergents

Aparició de noves malalties víriques. Canvi d'hoste i de tropisme. Emergència i reemergència vírica. Factors mediambientals, culturals, i tecnològics determinants. Nous virus i virus emergents humans. Les febres hemorràgiques humanes: el virus Ébola i els Hantavirus. El virus de la immunodeficiència humana. Virus hepàtics. Nous virus animals.

9. Multiplicació vírica

Reconeixement cel·lular. Naturalesa i funció dels receptors. Internalització. Decapsidació. Aturada de la biosíntesi cel·lular. Estimulació de funcions cel·lulars: papovavirus i adenovirus. Síntesi de RNA, DNA i proteïnes víriques: seqüències temporals. Processat de proteïnes víriques. Factories víriques i inclusions cel·lulars. Efectes citopàtics. Sortida de partícules víriques amb i sense lisi. Infectivitat dels virions. Apoptosi. Transformació cel·lular en virus RNA: oncogens cel·lulars; activació i transducció. Transformació cel·lular en virus DNA: oncogens i oncoproteïnes víriques. Dianes de fàrmacs antivírics.

10. Patogènia de les infeccions víriques

Característiques de les infeccions víriques. Portes d'entrada. Infeccions localitzades i sistèmiques. Invasivitat. Virèmia. Transmissió nerviosa. Teixits diana: tropisme. Virulència. Paper de la resposta orgànica en la patogènia. El contagi: vies de transmissió. Vectors i reservoris. Les infeccions víriques persistents; mecanismes de persistència. El virus del xarrampió. El virus Epstein-Barr. Les hepatitis víriques. Infecció per HIV; els aspectes dinàmics de la persistència. El diagnòstic de les infeccions víriques.

11. Resposta a les infeccions víriques

Mecanismes antivírics inespecífics. Inducció i activitat dels interferons. Inducció i evolució de la resposta immune. Paper d'anticòs i cèl·lules T. Processat i presentació d'antígens. Evasió vírica de la resposta immune. Profilaxi de les infeccions víriques: la vacunació. Tipus de vacunes; atenuades i inactivades. Les vacunes de la pòlio. Bases molecular de l'atenuació. Vacunes de nova generació.

Antigens i immunògens. Proteïnes recombinants i pèptids sintètics. Pseudo-càpsides vacunals. La vacuna de la hepatitis B. Vacunació amb DNA.

12. Prions

Les proteïnes infeccioses: els prions. Història i desenvolupament del concepte de prió. L'amiloïd. Síntesi i processat de PrP^c. Formació de PrP^{sc} i propagació dels prions. Malalties priòniques: herència i contagi. Les proteïnes X i Y. Diversitat dels prions. El 'scrapie'. L'encefalitis espongiforme bovina. Barreres interespecífiques. Les malalties priòniques humanes: el Kuru, el síndrome de Creutzfeldt-Jakob i malalties hereditàries. Els polimorfismes del gen PrP.

13. Bacteriòfags

Breu història; el descobriment i els treballs posteriors de Luria i Delbrück. Morfologies de les càpsides. Els fags virulents. El T4: morfogènesi, genètica i regulació de l'expressió gènica. La lisi cel·lular. Els fags filamentosos. Els fags atemperats. El fag lambda: morfologia i organització genètica. Regulació de l'expressió gènica en lisi i lisogènia. El repressor CI i el sistema SOS. Altres fags d'interès: Mu, P1, T7, MS2, Q β i P22. Utilització de promotors i altres elements genètics de bacteriòfags en genètica molecular. Abundància i distribució de bacteriòfags. Mecanismes de resistència.

14. Virus vegetals i viroïds

Importància dels virus de plantes. Transmissió. Infecció vírica de plantes. Moviment de partícules víriques pel sistema vascular. Efectes sobre la planta. Sistemes de defensa de l'hoste. Inducció de la protecció. "Vacunació" en plantes. Principals virus de plantes. Virus DNA i virus RNA. Virus amb genoma partit. Els viroïds: estructura i constància de dominis. Possibles mecanismes de la patogènia. El virus de la hepatitis delta.

PRÀCTIQUES

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 antigen 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.
16. Microscòpia electrònica de bacteriòfags.

Bibliografia

Textes bàsics

- A. J. Cann. 2001. Principles of molecular virology. (3th Ed). Academic Press. London.
- S. J. Flint i altres. 2000. Principles of virology: Molecular biology, pathogenesis and control.. ASM Press. Washington.
- E. Wagner i M. Helwett. 1999. Basic virology. Blackwell Science. London.
- B.N. Fields i altres (Ed.). 1996. Fundamental virology. Lippincott-Raven Pub. San Francisco.
- J. E. Craighead. 2000. Pathology and pathogenesis of human viral disease. Academic Press, London.
- L. Collier i J. Oxford. 2000. Human virology. (2on Ed). Oxford University Press. Oxford.

Textes de consulta

- B.N. Fields i altres (Ed.). 1996. Fields Virology (3th Ed). Lippincott-Raven Pub. San Francisco.
- A. Granoff i R.G. Webster. 1999. Encyclopedia of virology (2on Ed.) Academic Press. London

Pàgina Web

<http://servet.uab.es/avillaverde/virologia.html>

Avaluació de l'assignatura

Examen final tipus test d'elecció múltiple amb una part de teoria (unes 90 preguntes) i una part de pràctiques (unes 10 preguntes). Aprovat a partir de 5; Notable a partir de 7; Excel.lent a partir de 8. Auto-avaluació continuada.

Responsable de l'assignatura

Antoni Villaverde. Unitat de Microbiologia. Departament de Genètica i de Microbiologia. Universitat Autònoma de Barcelona. Bellaterra, 08193 Barcelona. Tel. 935812148; Fax. 935812011; e.mail. Antoni.Villaverde@uab.es