

# VIROLOGIA

## Curs 2003-2004

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 diversitat vírica i el concepte "iceberg". La partícula vírica: dimensions, composició química, morfologia i nomenclatura. Funcions de la càpside. Composició química i organització del genoma víric: gens estructurals i no estructurals. La polaritat de l'àcid nucleic. 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. 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 i el risc de re-emergència. 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. Anàlisi de components vírics i aplicacions diagnòstiques. 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. Estudi arquitectònic de les partícules víriques: la microscòpia electrònica i les reconstruccions tridimensionals. La difracció de raig X: requisits cristal·logràfics 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 envoltures 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. Tipus de mutants. Recombinació, reorganització i mescla fenotípica. Tipus de mutants vírics. Virus defectius: genomes integrats, virus satèl·lits i partícules defectives interferents.

Complementació. El clon infecció. Expressió gènica en diferents tipus de virus; estratègies de regulació temporal. Principis de genètica inversa. Instruments vírics per a transferència genètica i teràpia gènica. Presentació de pèptids i antígens en virus recombinants. Clonació i expressió gènica amb vectors d'origen víric.

## **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. Salt d'hoste. Emergència i re-emergència vírica. Factors mediambientals, socials i tecnològics determinants. Importància dels vectors artròpodes. L'espècie humana com a hoste terminal. Nous virus i virus emergents humans. Les febres hemorràgiques. El virus Èbola i el virus de la immunodeficiència humana. Els nous virus hepàtics.

## **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. Efectes citopàtics. Sortida de partícules víriques amb i sense lisi. 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. El RNA interferent.

## **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 xarampió. El virus Epstein-Barr. Les hepatitis víriques. Infecció per HIV; els aspectes dinàmics de la persistència.

## **11. Resposta a les infeccions víriques**

Mecanismes antivírics inespecífics. Inducció i activitat dels interferons. Inducció i evolució de la resposta immune. Paper d'anticossos i cèl·lules T. 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. Antigenes i immunògens. Proteïnes recombinants i pèptids sintètics. Pseudo-càpsides vacunals. La vacuna contra la hepatitis B. Vacunació amb DNA.

## 12. Prions

Les proteïnes infeccioses: els prions. Desenvolupament del concepte de prió. L'amiloid. Síntesi i processat de PrP<sup>C</sup>. Formació de PrP<sup>Sc</sup> i propagació dels prions. Encefalopaties espongiformes: herència i contagi. Diversitat fenotípica dels prions; les soques. El "scrapie" i la encefalopatia espongiforme bovina. Barreres interespecífiques. Les encefalopaties espongiformes humanes: el Kuru, el síndrome de Creutzfeldt-Jakob i les malalties hereditàries. Els prions en llevats.

## 13. Bacteriòfags, virus vegetals i viroïds

Aspectes generals del cicle dels bacteriòfags. Morfologia i morfogènesi de les càpsides fàgiques: el fag T4. Els fags filamentosos. Utilització de bacteriòfags en genètica molecular i biotecnologia. El "phage display". Importància econòmica dels virus de plantes. Infecció vírica de plantes. Moviment de partícules víriques pel sistema vascular. Efectes sobre la planta. Sistemes de defensa de l'hoste. "Vacunació" en plantes. 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 de consulta**

- A. J. Cann. 2001. Principles of molecular virology. (3th Ed). Academic Press. London. (Versió electrònica: <http://servet.uab.es/avillaverde/www/Caan/START.htm>)
- 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.
- A. Granoff i R.G. Webster. 1999. Encyclopedia of virology (2on Ed.) Academic Press. London.  
(<http://apresslp.gvpi.net/apvirol/lpext.dll?f=templates&fn=main-h.htm>)

### **Pàgina Web**

Campus Virtual de la UAB. Hi podeu trobar tot el material docent necessari.

## **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). Del total, 70 preguntes cobriran els objectius docents esmentats més endavant i les 30 restants aspectes més avançats i de relació. La qualificació es farà de la següent manera: *Aprovat* a partir de 5; *Notable* a partir de 7; *Excel·lent* a partir de 8. Les Matrícules d'Honor s'adjudicaran segons el nombre de matriculats i d'acord el criteri del professor. Es durà a terme una auto-avaluació continuada durant tot el curs.

## **Responsable de l'assignatura**

Antoni Villaverde. Departament de Genètica i de Microbiologia. Universitat Autònoma de Barcelona. Tel 935812148; Fax 935812011; e-mail [Antoni.Villaverde@uab.es](mailto:Antoni.Villaverde@uab.es)

## **Professores de pràctiques**

Anna Arís (Tel 935812864; e-mail [anna.aris@uab.es](mailto:anna.aris@uab.es)) i Andrea Vera (Tel 935812864; e-mail [andrea.vera@uab.es](mailto:andrea.vera@uab.es)). Professora responsable. Anna Arís.

## Objectius docents.

Els objectius docents són el conjunt de conceptes bàsics i fonamentals que s'impartiran a l'assignatura i que, segons el criteri del professor, tot estudiant universitari de virologia en un àmbit no sanitari hauria de conèixer. La bona comprensió dels mateixos és necessària per a aprovar l'examen, mentre que l'obtenció de qualificacions superiors requereix la seva integració per a la resolució de problemes multifactorials, entre d'altres, d'acord als exemples específics que es treballin a classe. S'indiquen els textos i exercicis per a cada tema dirigits a consolidar les idees presentades a classe i es recomana la seva consulta i resolució respectivament.

**Tema 1.** Relacionar la diversitat vírica amb la dels seus hostes. Entendre el concepte de parasitisme estricte i identificar les funcions i elements cel·lulars parasitats. Entendre les etapes del cicle víric mecànica i enzimàticament. Relacionar cada etapa amb el compartiment cel·lular corresponent. Reconèixer les semblances i diferències entre virus i altres elements genètics mòbils. Identificar les diferències biològiques entre virus DNA, RNA i amb transcriptasa inversa des del punt de vista genòmic i biològic. Conèixer les diferents estratègies de multiplicació vírica i el paper de l'envolta en els virus que la tenen. Entendre el diferent paper dels tipus de gens vírics en el cicle biològic. Conèixer qualitativament la composició química de les partícules víriques i quantitativament, els marges de les seves dimensions. Entendre el significat biològic de la polaritat del genoma. Poder donar una definició precisa de virus.

**Llegir:** Caan. Lecture Notes: Chapter 1.

**Fer:** Caan. Chapter 1. Learning Exercises: Interactive Self Assessment Quiz.

**Tema 2.** Entendre la continuïtat reproductiva de la vida i dels sistemes biològics (incloent-hi els virus) *versus* la teoria de la generació espontània. Comprendre els postulats de Koch i poder explicar per què no es poden aplicar als virus. Entendre els criteris per a assignar agents etiològics vírics. Conèixer els tret més rellevants de la història de la Verola. Situar en un context temporal el descobriment dels virus i el reconeixement de les seves característiques morfològiques, químiques i genètiques.

**Llegir:** Caan. Appendix 3: The History of Virology

**Fer:** Caan. Chapter 1. Learning Exercises: A dose of the pox i The Panama Puzzle.

**Tema 3.** Conèixer les metodologies bàsiques d'obtenció de llisats vírics per bacteriòfags, virus vegetals i virus animals, i de purificació i d'observació microscòpica de virions. Conèixer els procediments analítics més importants per a determinar components vírics, incloent-hi la PCR, l'ús de sondes d'àcids nucleïcs i immunoassaigs, i saber quins d'ells s'apliquen al diagnòstic. Saber realitzar titolats, i conèixer els mètodes alternatius d'avaluació d'activitat biològica. Entendre la bioperillositat dels virus i conèixer les mesures de contenció en un laboratori de Virologia.

**Llegir:** Caan. Lecture Notes. Chapter 1; El guió de pràctiques de Virologia de la UAB.

**Fer:** Caan. Chapter 7. Learning Exercises: Rubella i Henrietta Lacks.

**Tema 4.** Conèixer els diferents tipus morfològics vírics i a quin d'ells pertanyen els principals patògens humans. Conèixer els trets fonamentals de la microscòpia electrònica, la difracció de raig X i els mètodes de reconstrucció d'imatges. Comprendre l'arquitectura molecular de la càpside en les simetries helicoidal i icosaèdrica i avaluar quantitativament els paràmetres rellevants (nombre de costats, capsòmers i subunitats) en la simetria isomètrica. Comprendre arquitectònicament la simetria rotacional, el valor de T i les seves excepcions arquitectòniques. Conèixer la neutralització i els conceptes associats d'immunologia vírica. Entendre el paper de la càpside en la interacció amb la cèl·lula hoste. Conèixer el paper i localització de les proteïnes de la matriu i de fusió.

**Llegir:** Caan. Chapter 2. Learning Exercises: The Symmetry Shop; Lecture notes: Chapter 2.

**Fer:** Caan. Chapter 2. Learning Exercises: Interactive Self Assessment Quiz.

**Tema 5.** Conèixer quantitativament els marges de complexitat dels genomes vírics i les diferències entre virus DNA i RNA. Conèixer les propietats dels genomes partits i segmentats i la organització gènica en virus RNA. Entendre els mecanismes de variabilitat genètica en virus i de la complementació. Entendre els mecanismes d'expressió gènica i el seu vincle amb la polaritat dels genomes. Conèixer els principis de la genètica inversa i en general, les estratègies de manipulació genètica de virus. Saber el tipus de genoma dels principals patògens humans.

**Llegir:** Caan. Lecture Notes. Chapter 3.

**Fer:** Caan. Chapter 3. Learning Exercises: Interactive Self Assessment Quiz.

**Tema 6.** Conèixer les bases biològiques de la classificació de Baltimore i les classes resultants. Saber quins són els criteris taxonòmics en Virologia i els taxons que en resulten. Conèixer les famílies víriques que contenen els principals patògens humans i animals, i saber-ne el tipus d'àcid nucleic i les característiques principals de la partícula vírica (presència o no d'envolta i tipus de simetria).

**Llegir:** Caan. Appendix 2: Classification of Sub-Cellular Infectious Agents.

**Fer:** Caan. Chapter 5. Learning Exercises: Virus Replication.

**Tema 7.** Conèixer les hipòtesis sobre l'origen i l'evolució global dels virus i tenir criteris per a avaluar-ne les possibilitats pels diferents grups de virus. Conèixer quantitativament els ordres de magnituds de les freqüències de mutació en els genomes vírics. Conèixer l'estructura, el tamany i el dinamisme de les poblacions víriques. Entendre la diferència entre freqüència de mutació i la proporció de

mutants. Entendre els principis de la fixació darwiniana i no darwiniana de mutacions i els fonaments de les pressions selectives sobre les poblacions víriques. Comprendre la diferència entre potencial evolutiu i evolució. Entendre els conceptes d'espai de seqüències, de seqüències *master* i consens i d'eficàcia replicativa.

**Llegir:** Encyclopedia of virology. Terme: *Quasispecies*.

**Tema 8.** Vincular la variabilitat genètica vírica amb la possible aparició de nous virus. Entendre el paper dels factors mediambientals determinants, com a oportunitats de contacte entre espècies. Saber la diferència biològica entre nous virus humans establerts i no establerts. Conèixer els principals virus humans nous, les famílies a les que pertanyen i el seu impacte en la salut humana. Comprendre la emergència vírica.

**Llegir:** Encyclopedia of virology. Terme: *Emerging viral diseases*.

**Tema 9.** Conèixer les diferents etapes del cicle de multiplicació vírica en infeccions productives. Saber el paper i naturalesa dels receptors vírics i els mecanismes de internalització cel·lular i escapament endosomal. Conèixer l'impacte de la multiplicació vírica sobre la biosíntesi cel·lular i els principals efectes citopàtics. Entendre la regulació temporal de l'expressió gènica en diferents virus. Conèixer els trets principals de la morfogènesi vírica i el paper de l'envolta en la formació dels virions. Saber els diferents mecanismes de la oncogènesi vírica i els tipus de virus oncogènics. Conèixer els antivírics més importants i les seves dianes. Comprendre la biologia de l'RNA interferent.

**Llegir:** Caan. Lecture Notes. Chapter 4.

**Llegir:** Caan. Lecture Notes. Chapter 5.

**Llegir:** Caan. Lecture Notes. Chapter 7.

**Fer:** Caan. Chapter 4. Learning Exercises: Interactive Self Assessment Quiz.

**Fer:** Caan. Chapter 5. Learning Exercises: Interactive Self Assessment Quiz.

**Fer:** Caan. Chapter 5. Learning Exercises: Virus Replication.

**Tema 10.** Saber el paper de les portes de entrada en les infeccions víriques. Distingir entre infeccions localitzades i sistèmiques. Conèixer els conceptes de tropisme, invasivitat i virulència-atenuació. Conèixer el tropisme dels principals virus humans i les seves vies de contagi. Entendre el paper biològic i epidemiològic dels reservoris i dels vectors. Entendre la dinàmica entre rentat i persistència i els diferents mecanismes de persistència. Coneixer els llocs de persistència en virus humans. Entendre la latència i la reactivació i saber-ne exemples.

**Llegir:** Caan. Lecture Notes. Chapter 6.

**Llegir:** Caan. Lecture Notes. Chapter 7.

**Fer:** Caan. Chapter 7. Learning Exercises: Interactive Self Assessment Quiz.

**Tema 11.** Conèixer els trets més rellevants de la resposta immune antivírica específica i el paper de la vessant humoral i cel·lular en el rentat i la prevenció de

la infecció. Valorar la importància de la immunitat mucosal a les portes d'entrada. Conèixer els trets més rellevants de la resposta immune no adaptativa i en particular dels interferons. Entendre les diferents estratègies vacunals convencionals i les diferències entre vacunes inactivades i atenuades. Conèixer els riscos biològics de la vacunació i les noves aproximacions vacunals.

**Llegir:** Caan. Lecture Notes. Chapter 6.

**Fer:** Caan. Chapter 6. Learning Exercises: Interactive Self Assessment Quiz.

**Tema 12.** Conèixer les malalties priòniques humanes i animals i les seves característiques clíniques i eiològiques més importants. Comprendre les bases moleculars de la teoria del prió i conèixer les formes conformacionals de la proteïna PrP. Saber de l'existència de prions no patògens en llevats.

**Llegir:** Caan. Chapter 8. Learning Exercises: How Now Mad Cow.

**Fer:** Caan. Chapter 8. Learning Exercises: Interactive Self Assessment Quiz.

**Tema 13.** Conèixer les morfologies dels bacteriòfags i els aspectes més importants de la morfogènesi en la simetria mixta i helicoidal. Saber els trets fonamentals de la lisi i la lisogènia. Entendre els principis biològics del "phage display" i saber-ne aplicacions. Conèixer la mecànica de la transmissió i la infecció vírica en plantes i els principis que governen el moviment dels virions en la planta. Conèixer la patogènia, els mecanismes de defensa i les maneres de promoure la seva activació en agricultura. Conèixer l'estructura molecular dels viroids i els virusoids i el tipus d'hostes que infecten.

**Llegir:** Caan. Lecture Notes. Chapter 6.

**Fer:** Caan. Chapter 6. Learning Exercises: Interactive Self Assessment Quiz.

**Fer:** Caan. Chapter 8. Learning Exercises: Interactive Self Assessment Quiz.