

VIROLOGIA

Curs 2007-2008

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

TEORIA

1. Naturalesa i multiplicació dels virus

El món dels virus. Parasitisme estricte, multiplicació i transmissió. La malaltia vírica i el concepte "iceberg". La diversitat vírica. La partícula vírica: dimensions, composició química, morfologia i nomenclatura. Funcions de la càpsida; estabilitat i reconeixement. Composició química, estructura 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 seqüencial de gens vírics. Virus, elements genètics mòbils i éssers vius.

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'eradicació de la verola i el risc de re-emergència. Aspectes clínics i biotecnològics de la Virologia. Bioterrorisme.

3. Metodologia virològica

Obtenció de partícules víriques. El cultiu cel·lular. Cultius a petita i mitjana escala. Purificació. Anàlisi quantitatiu de partícules víriques. Detecció de components vírics i aplicacions en la metodologia diagnòstica. 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 raigs X: requisits cristal·logràfics i nivell de resolució. Arquitectura molecular en les simetries helicoidal i icosaèdrica. Proteïnes trans-membrana en les envoltures víriques. Llocs d'unió a receptors. Els antígens vírics i els epítops B i T. La neutralització i l'evasió de la neutralització. Variabilitat genètica i epitòpica.

5. Genètica i genomes vírics

Principi d'economia i complexitat dels genomes vírics; gens encavalcats. Genomes segmentats i partits. Seqüenciació de genomes vírics i predicció de funcions. Recombinació, reorganització i mescla fenotípica. Tipus de mutants vírics. Virus defectius: genomes integrats, virus satèl·lits i partícules defectives interferents. Complementació. El clon infeccios. 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 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.

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. Anàlisi de la filogènia vírica.

8. Noves malalties víriques i virus emergents

Aparició de noves malalties víriques. Salt d'hoste i reservoris vírics. 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. La re-emergència continua del virus de la grip i altres.

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. 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. Processat de proteïnes 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. El moviment en virus de plantes.

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 moleculars de l'atenuació. Vacunes de nova generació. Antígens i immunògens. Proteïnes recombinants i pèptids sintètics. Pseudo-càpsides vacunals. La vacuna contra l'hepatitis B. Vacunació amb DNA.

12. Prions i viroides

Les proteïnes infeccioses: els prions. Desenvolupament del concepte de prió. L'amiloide. Síntesi i processat de PrP^C. Formació de PrP^{Sc} i propagació dels prions. Encefalopaties espongiformes: herència i contagi. Diversitat fenotípica dels prions; les soques. El "scrapie" i l'encefalopatia espongiforme bovina. Barreres interespecífiques. Les encefalopaties espongiformes humanes: el Kuru, la síndrome de Creutzfeldt-Jakob i les malalties hereditàries. Els prions en llevats. Els viroides: estructura i constància de dominis. Possibles mecanismes de la patogènia. El virus de l'hepatitis delta.

13. Bacteriòfags

Utilització de bacteriòfags en genètica molecular i biotecnologia. El "phage display". La generació d'anticossos sense immunització i la recerca de nous lligands. Evolució molecular dirigida. Sistemes de selecció de fàrmacs antivírics: el cas dels inhibidors de proteases.

14. Els virus artificials

La teràpia gènica vírica; trets importants i riscos biològics. Virus artificials com a alternatives a la teràpia gènica vírica. Tipus de virus artificials i de biomolècules usades. Estratègies modulars. Selecció de dominis funcionals. Exemples i aplicacions dels virus artificials.

PRÀCTIQUES

1. Títol de suspensions víriques.
2. Obtenció de lisats fàgics a partir de cultius líquids.
3. ELISA d'antígens vírics.
4. Detecció i aïllament de bacteriòfags de mostres naturals.
5. Estudi de la neutralització vírica per sèrums.
6. Microscòpia electrònica de bacteriòfags.
7. Resolució d'un problema pràctic: Aplicació de la metodologia apresada.

Nota: El guió de pràctiques estarà disponible al servei de fotocòpies a partir del dia 20 de febrer i al Campus Virtual de la UAB. Trobareu també un annex de protocols de pràctiques de Virologia al Capus Virtual amb protocols suplementaris.

Per a la realització de les pràctiques cal que l'alumne hagi superat el test de seguretat de treball en laboratoris que trobarà a l'apartat d'Eines del Campus Virtual de l'assignatura. Així mateix, l'alumne ha de complir la normativa de treball en els laboratoris docents de Microbiologia.

Bibliografia

Textes de consulta

- A. Granoff i R.G. Webster. (Constantment actualitzada i ampliada). Encyclopedia of virology (on-line Ed.) Academic Press. London. (<http://www.sciencedirect.com/science/referenceworks/0122270304>)
- A. J. Cann. 2001. Principles of molecular virology. (3th Ed). Academic Press. London. (Versió electrònica): <http://servet.uab.es/avillaverde/Caan/START.htm>
- S. J. Flint i altres. 2000. Principles of virology: Molecular biology, pathogenesis and control. ASM Press. Washington.
- E. K. Wagner i M.J. Hewlett. 2004. Basic virology (2nd Ed). Blackwell Publishing. Oxford.
- B.N. Fields i altres (Ed.). 1996. Fundamental virology. Lippincott-Raven Pub. San Francisco.
- N.J. Dimmock, A.J. Easton i K.N. Leppard. 2007. Introduction to modern virology. (6th Ed). Blackwell Publishing. Oxford.
- L. Collier i J. Oxford. 2006. Human virology. (3rd Ed). Oxford University Press. Oxford.

Pàgina Web

Campus Virtual de la UAB. Hi podeu trobar tot el material docent complementari, que no es deixarà, en cap cas, al servei de fotocòpies.

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, d'acord a les indicacions de la Facultat, de la següent manera: *Aprovat* a partir de 5; *Notable* a partir de 7; *Excel·lent* a partir de 9. Les Matrícules d'Honor s'adjudicaran segons el nombre de matriculats i d'acord amb el criteri del professor. En cap cas, durant la revisió de l'examen, es discutirà la modificació d'aquestes notes de tall, globalment o personalment. La correcció automatitzada d'exàmens es farà demanant un decimal.

Responsable de l'assignatura

Antoni Villaverde. Departament de Genètica i de Microbiologia. Universitat Autònoma de Barcelona. Tel 935813086; e-mail Antoni.Villaverde@uab.cat
Altres professors: Dra. Neus Ferrer; Dra. Esther Vazquez.

Responsable de pràctiques

Neus Ferrer-Miralles (Tel 935812148; e-mail neus.ferrer@uab.cat).

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 la 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 perquè no es poden aplicar als virus. Entendre els criteris per a assignar agents etiològics vírics. Conèixer els trets 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 lisats 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 nucleics 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 raigs X i els mètodes de reconstrucció d'imatges. Comprendre l'arquitectura molecular de la càpsida 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 càpsida 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 l'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, la mida 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 mestres 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 l'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 d'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 l'oncogènesi vírica i els tipus de virus oncogènics. Conèixer els antivírics més importants i les seves dianes. Comprendre la biologia del 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 d'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. Conèixer els llocs de persistència en virus humans. Entendre la latència i la reactivació i saber-ne exemples. Conèixer la mecànica de la transmissió i la infecció vírica en plantes i els principis que governen el moviment dels virions en la planta.

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 epidemiològiques 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. Conèixer l'estructura molecular dels viroides i el tipus d'hostes que infecten.

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

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

Tema 13. Entendre els principis biològics del "phage display" i saber-ne aplicacions.

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.

Tema 14. Entendre les propietats víriques importants per a la teràpia gènica i com aquestes poden ser mimetitzades per complexes produïts artificialment. Estratègies de disseny i tipus de virus artificials i aplicacions.

Nota final: No hi ha bibliografia important sobre virus en cap de les llengües de l'estat Espanyol. Per tant, el correcte seguiment de l'assignatura requereix, necessàriament, un coneixement suficient de l'anglès escrit científic en els àmbits de la Microbiologia, i Biologia Cel·lular i Molecular.