RIDAA
Repositorio Institucional
Digital de Acceso Abierto de la
Universidad Nacional de Quilmes

Universidad
Nacional
de Quilmes

Castello, Alejandro Andrés

Virología aplicada

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Argentina.
Atribución - No Comercial - Compartir Igual 2.5
https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/ar/

Documento descargado de RIDAA-UNQ Repositorio Institucional Digital de Acceso Abierto de la Universidad Nacional de Quilmes de la Universidad Nacional de Quilmes

Cita recomendada:
Castello, A. A, Mandile, M. (2024). Virología aplicada. (Programa). Bernal, Argentina: Universidad Nacional de Quilmes. Disponible en RIDAA-UNQ Repositorio Institucional Digital de Acceso Abierto de la Universidad Nacional de Quilmes http://ridaa.unq.edu.ar/handle/20.500.11807/6246

Puede encontrar éste y otros documentos en: https://ridaa.unq.edu.ar

Universidad
Nacional
de Quilmes
Roque Sáenz Peña 352 // Bernal
Buenos Aires // Argentina
t.: (+41 11) 4365 7100
f.: (+54 11) 4365 7101
info@unq.edu.ar

Programa de VIROLOGÍA APLICADA

Carrera/s: *Licenciatura en Biotecnología*

Asignatura: *Virología Aplicada*

Núcleo al que pertenece: *Complementario Electivo (Ciclo Superior de la Orientación en Genética Molecular); Complementario Adicional (Ciclo Superior de la Orientación en Bioprocesos)*[1]

Profesores: *Alejandro Andrés Castello; Marcelo Mandile*

Correlatividades previas: *Inmunología, Ingeniería Genética I*

Objetivos:

Objetivos generales: La asignatura se propone impartir una serie de conocimientos sobre los mecanismos moleculares que rigen el ciclo replicativo de los distintos tipos virales para, en una segunda parte poner en práctica estos conceptos en la comprensión de la patogénesis, evolución y emergencia de agentes virales y para comprender en profundidad las estrategias para el diagnóstico de patologías de origen viral, el desarrollo de vacunas antivirales y la utilización de los virus como herramientas biotecnológicas.

En cuanto a las competencias que se intenta desarrollar en las/os estudiantes, las mismas pueden agruparse en actitudinales y sociales, procedimentales y cognitivas como se describe a continuación.

Competencias actitudinales y sociales:

- *Que las/os estudiantes desarrollen la inquietud de búsqueda de nuevos conocimientos y la capacidad para aplicarlos.*
- *Que las/os estudiantes se interesen por los avances científicos alcanzados en las disciplinas relacionadas y analicen, de forma crítica, su importancia relativa.*
- *Que las/os estudiantes desarrollen las capacidades de trabajo y colaboración en equipos multidisciplinares.*
- *Que las/os estudiantes asuman principios éticos reflejados en conductas consecuentes, como norma de convivencia social.*

Competencias procedimentales:

[1] En plan vigente, Res CS N° 125/19. Para el plan Res CS N° 277/11, pertenece al Núcleo de Orientación.

- *Que las/os estudiantes desarrollen capacidades de análisis, razonamiento y autoaprendizaje.*
- *Que las/os estudiantes conozcan y manejen diversas fuentes de información relacionadas con los conocimientos de esta asignatura.*
- *Que las/os estudiantes logren integrar los conocimientos teóricos con la práctica a través de clases teóricas con discusión generalizada, prácticas y seminarios.*
- *Que las/os estudiantes se expresen de manera efectiva, a través del lenguaje oral y escrito, con el objetivo de comunicar con exactitud la información relevante.*

Competencias cognitivas:

- *Que las/os estudiantes comprendan el rol de la asignatura en relación con otras disciplinas del ciclo superior, en particular, con los conocimientos adquiridos en Biología Celular y Molecular, Ingeniería Genética e Inmunología.*
- *Que las/os estudiantes conozcan las estructuras y ciclos replicativos de las principales familias virales de interés.*
- *Que las/os estudiantes conozcan los detalles de la interacción de los virus con sus huéspedes, sus consecuencias patogénicas y respuesta inmune.*
- *Que las/os estudiantes conozcan aspectos de la interacción virus-huésped a nivel poblacional y sus consecuencias en cuanto a evolución, emergencia y epidemiología.*
- *Que las/os estudiantes comprendan y relacionen los conocimientos mencionados arriba con la patogénesis, respuesta inmune y con las estrategias para el diagnóstico y desarrollo de metodología para el mismo.*
- *Que las/os estudiantes comprendan y relacionen los conocimientos mencionados arriba con las estrategias para el desarrollo de vacunas clásicas y de nueva generación e implementación de planes de vacunación.*
- *Que las/os estudiantes comprendan y relacionen los conocimientos mencionados arriba con las estrategias para el desarrollo y uso de vectores virales en terapia génica, producción de proteínas recombinantes y vacunas.*

Contenidos mínimos:

Biología molecular de virus: estructura viral y entrada a la célula de virus animales, bacterianos y de vegetales; estrategias de transcripción y replicación en virus con genomas de ARN y ADN; ensamblado y salida de la célula. Patogénesis y respuesta inmune a las infecciones virales. Relación entre poblaciones virales y sus hospedadores: epidemiología y evolución viral. Metodología general utilizada en virología, cultivo, microscopía, técnicas de detección y caracterización inmunológicas y moleculares. Diagnóstico viral, metodologías en uso y estrategias para el desarrollo de técnicas inmunológicas

y moleculares de detección, caracterización y cuantificación. Vacunas contra agentes virales en uso e implementación de planes de vacunación, estrategias para el desarrollo de vacunas clásicas y de nueva generación. Vectores virales, usos en terapia génica, producción de biológicos y vacunas. Estrategias para la construcción de vectores de distintos tipos.

Carga horaria semanal:
6 (seis) horas.

Programa analítico:

PRIMERA PARTE: BIOLOGÍA MOLECULAR de los VIRUS, PATOGÉNESIS, INMUNIDAD y EPIDEMIOLOGÍA VIRAL

Unidad 1. Clasificación, Genomas Virales, Estrategias de Replicación (clasificación de Baltimore modificada). Estructura viral, Virus y estructuras subvirales que responden a simetrías simples. Estructuras complejas.

Unidad 2. Ciclos replicativos virales I. Adhesión y entrada a la célula huésped, interacción con receptores celulares, entrada y desnudamiento, transporte intracelular. Replicación y producción de mRNA en virus con genoma de RNA. Mecanismos de síntesis de RNA viral. Producción de mRNA y síntesis de RNA genómico. Orígenes de la diversidad de los virus de RNA.

Unidad 3. Ciclos replicativos virales II. Transcripción reversa e integración. Transcripción reversa en familia Retroviridae. Integración del DNA viral. Transcripción reversa en la familia Hepadnaviridae. Estrategias de transcripción en virus con genoma a DNA. Propiedades de los sistemas de transcripción celular y viral. Transcripción del DNA viral, regulación, loops autocatalíticos y cascadas transcripcionales. Inhibición de la maquinaria de transcripción celular en células infectadas.

Unidad 4. Ciclos replicativos virales III. Estrategias de replicación en virus de DNA. Mecanismos de síntesis de DNA viral, replicación exponencial y controlada del genoma viral. Procesamiento del mRNA, modificaciones covalentes, exportación desde el núcleo, regulación post-transcripcional de la expresión génica.

Unidad 5. Ciclos replicativos virales IV. Control traduccional de la expresión génica viral. Diversidad en las estrategias de traducción viral. Regulación de la traducción durante la infección viral. Transporte intracelular de componentes virales, ensamblado, salida y maduración de la progenie viral. Adquisición de la envoltura. Liberación de partículas virales. Maduración de la progenie viral.

Unidad 6. Patogénesis y defensas contra las infecciones virales. Virulencia, daño inducido por los virus e inmunopatología, susceptibilidad del huésped, patrones de infección: infecciones agudas, persistentes, latentes y lentas. Diseminación en el huésped. Defensas del huésped, respuesta inmune innata y adaptativa contra los virus.

Unidad 7. Epidemiología, Evolución y Emergencia Viral. Transmisión, diseminación entre huéspedes. Infección de poblaciones y factores que la afectan. Epidemiología viral. Evolución de virus a DNA, evolución de virus a RNA. Mutaciones, recombinaciones, reasociación de segmentos. Cuasiespecies. Plasticidad estructural y estrategias evolutivas. Relaciones huésped-virus, estables, en evolución y de "callejón sin salida".

SEGUNDA PARTE: DIAGNÓSTICO, CONTROL Y APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS DE LOS VIRUS

Unidad 8. Diagnóstico de la patología viral aguda. Diagnóstico viral, técnicas clásicas y de nueva generación. Serología, seroepidemiología. Diseño de estrategias de acuerdo al patrón de infección, localización y otras variables. Técnicas de detección inmunológica versus molecular, criterios de aplicación de técnicas rápidas, retrospectivas y de alta sensibilidad.

Unidad 9. Diagnóstico de la patología viral en virosis persistentes. Patogénesis de HIV y de las Hepatitis virales crónicas. Familia Herpesviridae, importancia en patología humana de las Infecciones latentes. Técnicas moleculares de detección, caracterización y cuantificación (carga viral). Uso, diseño y criterios para el uso de técnicas rápidas, de detección de antigenos/anticuerpos y genoma. Seguimiento de la infección crónica y monitoreo de tratamientos.

Unidad 10. Prevención y control de las infecciones virales I. Vacunas, criterios para su uso, poblaciones a proteger. Preparación de vacunas clásicas y de nueva generación. Vacunas a virus vivo e inactivado. Vacunas a subunidad. Drogas antivirales. Investigación y desarrollo de antivirales. Actividad específica, usos. Combinación de drogas.

Unidad 11. Prevención y control de las infecciones virales II. Nuevas tecnologías aplicadas al desarrollo de vacunas. Nuevas estrategias de delivery antigénico. Adyuvantes clásicos y de nueva generación.

Unidad 12. Vectores virales I. Uso de virus como vectores para la expresión in vivo de proteínas foráneas en forma estable o transiente. Criterios para la selección de acuerdo con la aplicación. Usos de los virus como vectores en terapia génica. Familias de virus y sus modificaciones para convertirlos en

vectores. Vectores basados en retrovirus, adenovirus, poxvirus, agentes adeno asociados y Herpesvirus. Vectores de tipo amplicón. Criterios para la selección del vector adecuado de acuerdo con su uso.

Unidad 13. Vectores virales II. Uso de vectores virales para la inducción o modulación de la respuesta inmune. Vectores virales como vacunas. Inducción o disminución de respuestas inmunes por la expresión in vivo de antígenos codificadas en virus modificados. Vectores basados en retrovirus, adenovirus, poxvirus, agentes adeno asociados y Herpesvirus. Vectores de tipo amplicón. Criterios para la selección del vector adecuado de acuerdo a su uso. Uso de vectores virales en terapias contra el cáncer. Vectores oncolíticos e inductores de respuestas antitumorales.

Trabajos prácticos de Laboratorio

TP1. • Título: *Cultivo Celular*
• Objetivo: Familiarizarse con el manejo de un cultivo de células eucariotas adherentes, el uso del microscopio invertido y del trabajo en un gabinete de flujo laminar de tipo 2. Obtención del sustrato para una infección viral. • Descripción: Visualización de una monocapa de células eucariotas adherentes creciendo en frascos T. Conceptos básicos y terminología referente al cultivo. Pasaje de células mediante tratamiento enzimático. Conteo de células. Cálculos de cantidad de células en función del tiempo de crecimiento.
TP2. • Título: *Preparación de stock viral en cultivo celular*
• Objetivo: Adquirir los conocimientos necesarios de un virus en para realizar la infección de una monocapa celular. Precauciones del manejo de una suspensión viral. • Descripción: Breve introducción a la biología de los rotavirus del grupo A. Conceptos para tener en cuenta a la hora de infectar una monocapa celular y cuidados en su manipulación.
TP3 y 4. • Título: *Titulación de rotavirus por dilución terminal y por plaqueo*.
• Objetivo: Aprender a utilizar la visualización de los efectos citopáticos clásicos que genera rotavirus con la finalidad de estimar la cantidad de partículas virales infectivas, de manera semicuantitativa y cuantitativa. • Descripción: Infección de monocapas de células crecidas en placas multipocillos con distintas diluciones de una suspensión viral para luego de la aparición de efectos citopáticos estimar la dilución de dicha suspensión viral que provoca la infección de la mitad de las réplicas ensayadas (TCID50) o la cantidad de unidades formadoras de placas (PFU).
TP5. • Título: *Concentración viral*.
• Objetivo: Aprender conceptos básicos sobre velocidades de sedimentación. Familiarizarse con la utilización de una ultracentrífuga. Aprender conceptos básicos sobre la utilización de polímeros y sales para provocar la precipitación de partículas virales. • Descripción: Cálculos sobre velocidades de sedimentación. Centrifugación de una suspensión viral mediante la utilización de una ultracentrífuga y conservación de la integridad de las partículas virales. Utilización de polietilenglicol y NaCl para precipitar partículas virales de una suspensión.

TP6. • Título: *Purificación viral*.
• Objetivo: Aprender conceptos sobre centrifugación en gradiente isopícnico con la finalidad de purificar partículas virales. • Descripción: Utilización de una solución de sílica coloidal que forma gradiente in situ al centrifugar para poder separar partículas virales de sus contaminantes mediante la densidad particular de cada componente de una mezcla.
TP7. • Título: *Evaluación de la purificación*
• Objetivo: Aprender conceptos básicos de métodos inmunológicos de detección de antígenos y utilizar uno de ellos (ELISA) para evaluar las distintas fracciones del gradiente isopícnico del TP6 con el objetivo de determinar en cuál de ellas se ubican las partículas virales purificadas. • Descripción: Llevar a cabo un ELISA de tipo sándwich para la detección de rotavirus.
TP8. • Título: *Detección y genotipificación de rotavirus del grupo A*.
• Objetivo: Adquirir los conocimientos de biología molecular necesarios para realizar una PCR (reacción en cadena de la polimerasa) con la finalidad de utilizar este método para la detección y tipificación de rotavirus. • Descripción: Llevar a cabo una PCR con múltiples cebadores y del tipo semianidada sobre distintas muestras incógnitas de rotavirus para poder determinar el genotipo de cada una.

Bibliografía *(obligatoria y de consulta):*

1. Obligatoria

- *Principles of Virology (2 Volúmenes). Tercera Edición. S. Jane Flint, L. W. Enquist, Vincent R. Racaniello. ASM Press, Washington, D.C., USA, 2009.*
- *Principles of Virology: 2 Vol. Cuarta Edición. S. Jane Flint, Lynn W. Enquist, Vincent R. Racaniello, Glenn F. Rall, Anna-Marie Skalka. ASM Press, Washington, D.C., USA, 2015*
- *Principles of molecular virology. 6ta Ed. Autor: Alan Cann. ISBN: 9780128019559. Academic Press, 2015*
- *Viral vectors for gene therapy. Methods and protocols. Curtis A. Machida Ed. Humana Press. Totowa, New Jersey. 2010.*
- *Diagnostic Virology Protocols. 2da Edición. J Stephenson, A. Warnes, Eds. Humana Press. 2011.*
- *Fields Virology, 6th Edition. Knipe, David M.; Howley, Peter M. Lippincott Williams & Wilkins, 2013*
- *Introduction to Modern Virology. 6ta Edición. Nigel Dimmock, Andrew Easton, Keith Leppard. Blackwell Publishing, 2007.*
- *Virus Culture: A Practical Approach (Practical Approach Series) 1st Edition by Alan J. Cann (Editor)Practical Approach Series (Book 208) Paperback: 272 pages. Publisher: Oxford University Press; 1999*

2. de consulta

- *Molecular Microbiology: Diagnostic Principles and Practice, Second Edition 2nd Edition by David H. Persing, Fred C. Tenove. ASM Press, Washington, DC. USA, 2011.*
- *Clinical Virology. 3ra Edición. D. Richman, R. Whitley, F, Hayden Eds. ASM Press, Washington, DC. USA, 2009.*
- *Principles of Virology: Molecular Biology, Pathogenesis and Control. Segunda edición. S.J. Flint, L.W. Enquist, R.M., Racaniello, A.M. Skalka. ASM Press, Washington, D.C., USA, 2004.*
- *Virology. 4th Edition. B.N. Fields, D.M. Knipe, P.M. Howley. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, USA, 2001.*
- *Fundamentals of Molecular Virology. Primera edición, 2006. Nicholas H. Acheson. John Wiley & Sons, Inc.*
- *Viral Pathogenesis. N. Nathanson. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, USA, 1997.*
- *Molecular Biology of Plant Viruses. C.L. Mandahar. Kluwer Academic Publishers, Massachusetts, USA, 1999.*
- *Veterinary Virology. F.A. Murphy; E.P.J. Gibbs; M.C. Horzinek; M.J. Studdert. Academic, San Diego, USA, 1999.*
- *Virology methods manual. B.W. Mahy; H.O. Kangro. Academic, London, UK, 1996.*
- *Molecular methods for virus detection. D.L. Wiedbrauk; D.H. Farkas, Academic, California, USA, 1995.*
- *Virology. J.A. Levy; H. Fraenkel-Conrat; R.A. Owens. Prentice Hall, Nueva Jersey, USA, 1983.*

La bibliografía que no se encuentra en la Biblioteca de la UNQ es suministrada por los docentes, ya sea porque se dispone de las versiones electrónicas y/o se dispone del ejemplar en el grupo de investigación asociado.

Organización de las clases:
Las clases serán de tres tipos: teóricas, de seminarios y de trabajos prácticos (TPs). Típicamente se dan unas 13 ó 14 clases teóricas, 6 de seminarios y 8 clases de TPs. Los teóricos constituyen presentaciones de los temas específicos con discusión de casos concretos siempre que sea relevante. Durante la segunda parte, en que se tratan grupos de aplicaciones en virología, cada clase teórica es seguida por una clase de discusión de publicaciones de interés específico del tema: actualizaciones o *papers* de gran impacto. Estas publicaciones son preparadas y expuestas por grupos de no más de tres alumnas/os y seguidamente discutidas en conjunto con los profesores y el resto de la clase. Los trabajos prácticos constituyen la puesta en ejecución de técnicas virológicas básicas y aplicaciones de técnicas para el aislamiento, purificación, detección, cuantificación y caracterización viral. Estas prácticas son introducidas

gradualmente a medida que se van presentando los temas que permiten su interpretación en clases teóricas y de seminarios.

Modalidad de evaluación:

La evaluación se realizará mediante tres parciales obligatorios (dos referidos a los temas de las clases teóricas y uno a los temas desarrollados en los trabajos prácticos) con sus respectivos recuperatorios y un examen integrador en el caso de no alcanzarse la promoción según el criterio expuesto más abajo. Las clases de seminarios permiten también hacer una evaluación preliminar de la incorporación de conceptos teóricos y de la capacidad de utilizarlos en casos concretos. Cada parcial tiene una única instancia de recuperación y la nota de aprobación es de 4 puntos.

Aprobación de la asignatura según Régimen de Estudios vigente de la Universidad Nacional de Quilmes:

La aprobación de la materia bajo el régimen de regularidad requerirá: Una asistencia no inferior al 75 % en las clases presenciales previstas, y cumplir con al menos una de las siguientes posibilidades:

(a) la obtención de un promedio mínimo de 7 puntos en las instancias parciales de evaluación y de un mínimo de 6 puntos en cada una de ellas.

(b) la obtención de un mínimo de 4 puntos en cada instancia parcial de evaluación y en el examen integrador, el que será obligatorio en estos casos. Este examen se tomará dentro de los plazos del curso.

Los/as alumno/as que obtuvieron un mínimo de 4 puntos en cada una de las instancias parciales de evaluación y no hubieran aprobado el examen integrador mencionado en el Inc. b), deberán rendir un examen integrador, o en su reemplazo la estrategia de evaluación integradora final que el programa del curso establezca, que el cuerpo docente administrará en los lapsos estipulados por la UNQ.

Modalidad de evaluación exámenes libres:

En la modalidad de libre, se evaluarán los contenidos de la asignatura con un examen escrito, un examen oral e instancias de evaluación similares a las realizadas en la modalidad presencial. Los contenidos a evaluar serán los especificados anteriormente incluyendo demostraciones teóricas, laboratorios y problemas de aplicación.

CRONOGRAMA TENTATIVO

Semana	Tema/unidad	Actividad*			Evaluación
		Teórico	Práctico		
			Lab.	Seminario	
1	Introducción. Clasificación. Genomas. Estructura viral/Unidad 1	X			
1	Ciclos replicativos virales I. Adhesión y Entrada, Virus con genoma de RNA: producción de mensajeros y replicación/Unidad 2	X			
2	Ciclos replicativos virales II. Transcripción, Transcripción reversa e integración/Unidad 3	X			
2	Ciclos replicativos virales III. Replicación de V. a DNA, Procesamiento del mRNA, regulación post-transcripcional de la expresión génica viral/Unidad 4	X			
3	Ciclos replicativos virales IV. Traducción, control traduccional de la expresión génica. Empaque y Salida. Maduración viral/ Unidad 5	X			
3	Patogénesis y Defensas contra la infección viral/Unidad 6	X			
4	Trabajo Práctico Nº 1 Cultivo celular		X		
4	Trabajo Práctico Nº 2 Infección viral		X		
5	Epidemiología Viral. Evolución y Emergencia viral/Unidad 7	X			
5	Diagnóstico viral I. Patogénesis, diagnóstico y seguimiento de Virosis Agudas. Estrategias para el diseño de metodología diagnóstica/Unidad 8	X			
6	Diagnóstico Viral II. Patogénesis, diagnóstico y seguimiento de Virosis Persistentes. Estrategias para el diseño de metodología diagnóstica/Unidad 9	X			
6	**PRIMER PARCIAL TEORICO (hasta Epid. y Evolución)**				X
7	Trabajo Práctico Nº 3 Titulación I		X		
7	Seminario patogénesis y diagnóstico viral I	X			
8	Trabajo Práctico Nº 4 Titulación II		X		
8	Seminario patogénesis diagnóstico viral II	X			

9	Prevención y control de las infecciones virales. Vacunas I/Unidad 10	X	
9	Prevención y control de las infecciones virales. Vacunas II/Unidad 11	X	
10	**Recuperatorio PRIMER PARCIAL TEORICO (hasta Epid. y Evolución)**		X
10	Trabajo Práctico Nº 5 Concentración	X	
11	Seminario Vacunas I	X	
11	Vectores virales. Usos en vacunas y terapia génica I/Unidad 12	X	
12	Seminario Vacunas II	X	
12	Vectores virales. Usos en vacunas y terapia génica II/Unidad 13	X	
13	Trabajo Práctico Nº 6 Titulación por FFU y seroneutralización	X	
13	Seminario Vectores virales I	X	
14	Trabajo Práctico Nº 7 Caracterización I ELISA	X	
14	Seminario Vectores virales II	X	
15	Trabajo Práctico Nº 8 Caracterización II RT-PCR de detección y para genotipado	X	
15	Consulta	-	
16	**SEGUNDO PARCIAL TEORICO**		X
16	**PARCIAL PRACTICO**		X
17	**REC. SEGUNDO PARCIAL TEORICO**		X
17	**REC. PARCIAL PRACTICO**		X
18	**INTEGRADOR**		X
18	Cierre de cuatrimestre		

*INDIQUE CON UNA CRUZ LA MODALIDAD