

Materia optativa: **Introducción a la Virología**

UNIDAD 1: ¿Qué es un virus?

- La evolución del concepto de virus. Relación evolutiva entre los virus de RNA y DNA. Límites entre los linajes celular y viral.
- Clasificación de los virus- Esquema de Baltimore.
- Tamaño celular y escalas. Estudio de estructura proteica e inferencias evolutivas.
- Pandoravirus: lo más grande y distinto que se ha visto.

UNIDAD 2: Ciclo Infeccioso.

- Pasos generales de un ciclo infeccioso.
- Ciclos citoplasmáticos y nucleares (virus a RNA, DNA, ss, ds)

UNIDAD 3: Genoma y Genética Viral.

- Composición molecular y organización.
- Propiedades generales de los genomas: tipos de ácidos nucleicos, regiones codificantes y no codificantes. Estructuras de los genomas. Estrategias de replicación y expresión génica.

UNIDAD 4: Estructura viral.

- Concepto de virión. Simetría. Cápsides. Envolturas.
- Ensamblaje. Participación de proteínas celulares y virales.
- Métodos para estudiar la estructura viral (cristalografía de rayos X, Cryo-EM, etc.).

UNIDAD 5: Unión virus-célula y entrada.

- Arquitectura de la superficie celular. Receptores celulares. Membrana, Endosomas.
- Fagocitosis y Endocitosis. Fusión de membranas.
- *Uncoating*, dependencia con la naturaleza del genoma y el mecanismo de transcripción.

UNIDAD 6: Síntesis de RNA mediada por RNA.

- RNA polimerasa dependiente de RNA. RNA molde. Iniciación y Elongación.
- *Switching* de la síntesis de mRNA a síntesis de RNA genómico. Regulación de la iniciación. Especificidades y fidelidad de las polimerasas.
- Virus a RNA: influenza, TMV

UNIDAD 7: Replicación viral.

- Factores virales y celulares involucrados en la replicación. Sitios de replicación. Coordinación de eventos replicativos.
- Estrategias generales de virus RNA (+). Algunos ejemplos.
- Estrategias generales de virus RNA (-). Algunos ejemplos.
- Estrategias generales de virus a DNA. Algunos ejemplos.

UNIDAD 8: Transcripción y procesamiento del RNA.

- Mecanismos de transcripción de virus a DNA.
- Maquinaria celular y viral. Regulación por proteínas virales.
- Modificaciones covalentes. *Splicing* de pre-mRNAs. *Viral editing*.

UNIDAD 9: Transcripción reversa e integración.

- Transcripción en retrovirus y hepadnavirus.
- Integración y latencia.

UNIDAD 10: Traducción y control de la expresión viral.

- Estrategias de traducción. Poliproteínas, reiniciación, *frameshifting*.
- Regulación de la traducción.

UNIDAD 11: Ensamblaje.

- Formación de unidades estructurales. Ensamblaje de la cápside y nucleocápside.
- Empaquetamiento selectivo del genoma viral.
- Virus no envueltos. Picornavirus como ejemplo.
- Virus envueltos: Tospovirus como ejemplo.

UNIDAD 12: Bases de la infección y mecanismos de patogénesis.

- Vías de Entrada.
- Movimiento viral, propagación por los tejidos y transmisión.
- Virulencia. Genes de virulencia.
- Sintomatología y rango de huésped.

UNIDAD 13: Técnicas de laboratorio en Virología.

- Inoculación. Infección. Cultivo: Virus que replican en cultivo celular. Virus con ciclo replicativo en plantas y animales.
- Aislamiento y titulación: Aislamiento de virus de muestras biológicas. Titulación por dilución terminal o por plaqueo. Virometría de flujo.
- Concentración y purificación: Métodos de ultracentrifugación diferencial con o sin gradiente. Inmunoprecipitación.
- Detección y signos de infección en cultivo celular: Efecto citopático. Detección de antígenos virales en cultivo celular.

TRABAJO PRÁCTICO 1 (Incluye dos clases): Infección y titulación.

Infección de células de insecto *High Five* con diferentes baculovirus AcMNPV (*Autographa californica multiple nucleopolyhedrovirus*) recombinantes y titulación viral: Se utilizarán los baculovirus Ac-LacZ (expresa la enzima β -galactosidasa), Ac-dTomato (expresa la proteína fluorescente roja dTomato) y Ac-VSVG-EGFP (expresa la glicoproteína de superficie del virus de la estomatitis vesicular fusionada a la proteína fluorescente verde EGFP). Se pondrán en práctica las técnicas elementales de manipulación de inóculos virales y de infección en células en monocapa. Haciendo uso del baculovirus Ac-LacZ se realizarán titulaciones por dilución terminal y por plaqueo con metilcelulosa para comparar ambos procedimientos y discutir ventajas y desventajas de cada uno.

UNIDAD 14: Defensas intrínseca e innata.

- Animales: respuestas inflamatorias antivirales.
- Plantas: Respuesta innata. Respuesta hipersensible (HR).

UNIDAD 15: Respuestas adaptativas.

- Animales: inmunoglobulinas e inmunidad celular.
- Plantas: Silenciamiento génico.

UNIDAD 16: Detección y diagnóstico viral.

- Diagnóstico molecular. Detección de ácidos nucleicos virales. PCR, sondas marcadas.
- Diagnóstico serológico. Detección de Antígenos. Inmunofluorescencia (IF), ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*), Test de Aglutinación.
- Diagnóstico clínico y sintomatológico. Detección de anticuerpos específicos antivirales por técnicas inmunológicas (EIA, IFI, WB, etc.)

TRABAJO PRÁCTICO 2 (incluye dos clases):

Métodos de detección viral. A. VIRUS ANIMALES: Evaluación del efecto citopático mediante microscopía: observación de estroma virogénico, formación de poliedros y otros signos de infección característicos de los baculovirus. Tinción nuclear con DAPI. Expresión de proteínas recombinantes mediante microscopía de epifluorescencia: Diferenciación de localización citoplasmática, nuclear y superficial (membrana plasmática) mediante la observación de las infecciones realizadas en el TP1 con los baculovirus Ac-dTomato y Ac-VSVG-EGFP. **B. VIRUS VEGETALES:** Evaluación de sintomatología en hojas de plantas de naranjo dulce infectadas con el virus de la psorosis de los cítricos (CPsV). Extracción del RNA y detección del virus por RT-PCR.

UNIDAD 17: Origen y Evolución viral- Virus emergentes.

- Ciclos silvestres: vectores y hospedadores intermedios
- Enfermedad emergente.
- Epidemia, endemia y pandemia
- SARS-CoV-2 y Covid-19

UNIDAD 18: Virus como herramientas biotecnológicas.

- Vectores de transducción y expresión de genes.
- Control biológico y terapias

Roles de los docentes:

Dra. Prof. Carina Andrea Reyes Martínez: Dictado de clases Teóricas. El área de *expertise* de la Dra. Reyes es la Virología Vegetal con particular énfasis en los mecanismos de interacción entre los virus y sus huéspedes y respuestas de defensa y contra-defensa. Su visión aportará a la comparación de las lógicas que rigen los procesos generales de infección entre familias de virus vegetales y animales. Además lleva adelante varias líneas de investigación que incluyen trabajos de detección y caracterización viral por métodos moleculares, aportando con esto al abordaje de las metodologías que se presentarán en el curso.

Dr. Matías Pidre: El Dr. Pidre es experto en biotecnología viral y desarrolla varias líneas de investigación relacionadas a la generación de vacunas de segunda generación, la terapia génica mediada por vectores virales y el estudio de RNA pequeños en procesos relevantes de la infección viral y su uso como herramientas biotecnológicas. Se encontrará a cargo del dictado de clases y preparación y desarrollo de Trabajos Prácticos.

Disertantes Invitados:

Dra. Leticia Ferrelli. (IBBM-CCT- La Plata –CONICET-UNLP). Experta en las áreas de Genómica y Evolución de virus animales. Charla sobre mecanismos evolutivos virales.

Dr. Humberto Debat (Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (IPAVE-CIAP-INTA, Cordoba, Argentina). Miembro del Proyecto PAIS (Proyecto Argentino Interinstitucional de genómica de SARS-CoV-2). Charla sobre Descubrimiento de virus a gran escala: explorando los confines de la virósfera mediante tecnologías avanzadas de secuenciación.

Bibliografía básica:

- **Principles of Virology** (5th Edition)
Jane Flint, Vincent R. Racaniello, Glenn F. Rall, Theodora Hatzioannou, Anna Marie Skalka [ISBN: 978-1-683-67358-3]
- **Plant Virology** (5th Edition)
Roger Hull [ISBN: 9780123848710]

Bibliografía complementaria:

- Knipe, D.M., Howley, P., 2013. **Fields Virology** (Knipe, Fields Virology)-2 Volume Set. LWW Philadelphia, PA, USA.
- Weaver S.C., Denison M., Roosinck M., Vignuzzi M., editors. 2016. **Virus Evolution, Current Research and Future Directions**. Academic Press; Caister.
- Cann, A.J., 2015. **Principles of Molecular Virology**: Sixth Edition.
- Rest, J.S., 2008. **Virology: Principles and Applications**. By John Carter and, Venetia Saunders. Chichester (United Kingdom) and Hoboken (New Jersey): John Wiley & Sons.