

8.GAIA: BIRUSEN OROKORTASUNAK

1. Aurkezpena

2. Birusen egoera desberdinak

3. Birioien egitura

4. Birusak ikasteko metodologia

4.1. Zenbaketa zuzenak

4.2. Zenbaketa ez-zuzenak

1. BIRUSEN OROKORTASUNAK

- Mikroorganismo azelularrak
- Bizidunak? Bizigabeak?
- Egituran azelularrak, konposaketan az.nukleiko mota bakarra eta ugalketan ez hazi eta ez zatitu.
- Derrigorrezko bizkarroiak: ugaltzeko ostalariaren tresneria erabili behar
- Ostalariaren arabera: animalia birusak, landare-birusak eta bakterio-birusak.

OSAGAIAK:

- Azido nukleiko bakarra (DNA edo RNA)
- Proteinazko estalkia (az.nukleikoaen inguruan)
- Batzuetan lipoproteinazko kanpo geruza (azala, bilgarria)
- Batzuetan entzimak
- Bi jokaera desberdin:
 - Ostalariarentzat ondorio txakarrak ekarri: lisia
 - Ostalariaren aldaketa genetiko heredagarriak eragin

2. BIRUSEN EGOERA DESBERDINAK

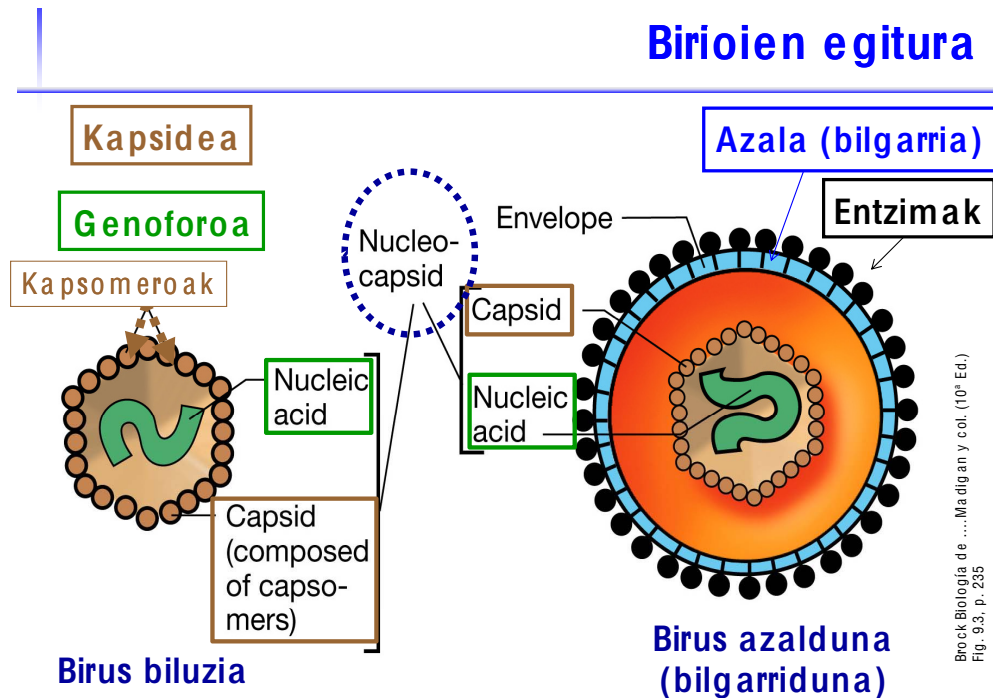
Fase extrazelularra: "birioia"

- Ostalariaren bila: fase infektagarria
- Inerteak: Arnasketarik ez, biosintesirik ez
- Funtzioa: az.nukleikoaren babesa eta garraioa

Fase intrazelularra: "virusa"

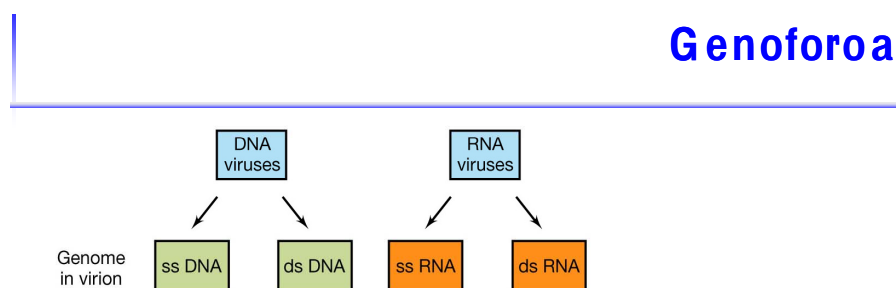
- Zelula ostaliaren barruan eman
- Birioiak osotasuna galdu
- Azido nukleiko erreplikatu eta proteinak sintetizatu (energía, aitzindariak eta tresneria: ostalaritik)

3. BIRIOIEN EGITURA



- Kapsidaren barruan (barestuta)
- Azido nukleiko mota bakarra: DNA birusak/RNA birusak
- RNA: lineala
- DNA: lineal edo borobila
- Genoforoa kapside barruan tolestuta: proteina basikoek tolestura lagundu

a)Genoforoa



- Kate bikoitzeko DNA (ds DNA: \pm DNA)
- Kate bakarreko DNA (ss DNA: +DNA)
- Kate bikoitzeko RNA (ds RNA: \pm RNA)
- Kate bakarreko RNA (ss RNA). Bi motatakoak
 - +RNA birusak
 - -RNA birusak

- Kate bikoitzeko DNA (ds DNA. \pm DNA)
- Kate bakarreko DNA (ss DNA: + DNA)
- Kate bikoitzeko RNA (ds RNA: \pm RNA)
- Kate bakarreko RNA (ss RNA). Bi motatakoak
 - (+ RNA): kate kodetzailea. Ostalariaren erribosometan itzultzen den harizpia
 - (- RNA): kate osagarria. Erribosomek ezin dute genoformo hau zuzenean itzuli

Kapsidea: genoformo (inguratzen duen proteinazko estalkia)

Genoformo + kapsidea = Nukleokapsidea

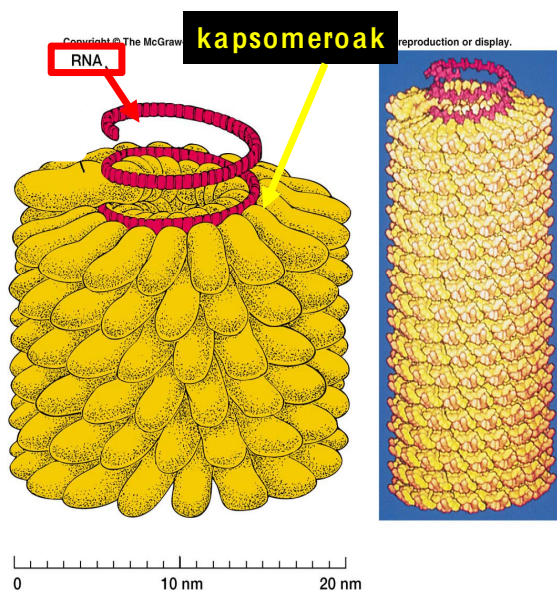
b)Kapsidea

- Helikoidalki kokatzen dira kapsomeroak:
 - Birusen morfologia: makila itxurakak
 - Kapsomeroek azido nukleikoaren inguruan helikoidalki kokatuta daude
 - Adb.: VMt(tabako mosaikoaren birusa)

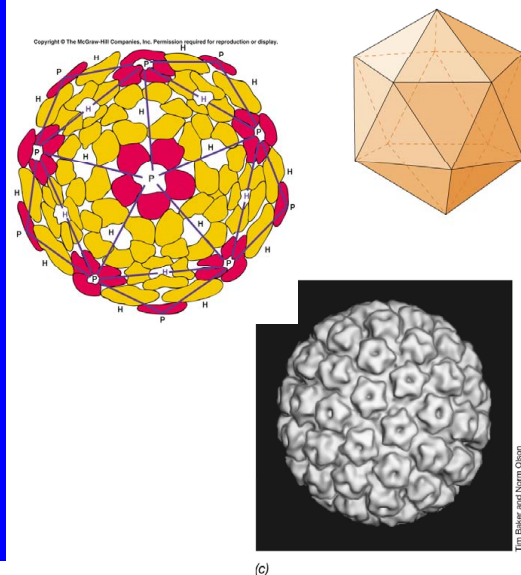
Kapsidearen simetria mota desberdinak

Microbiología. Prescott y col. (5ª Ed.). Fig. 16.11, p. 399

HELIKOIDALA



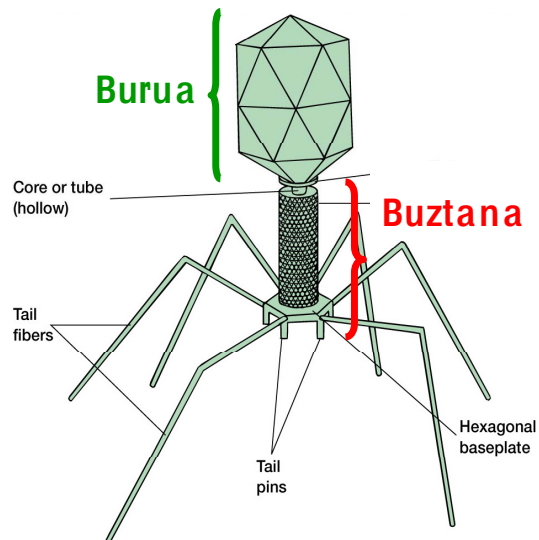
POLIEDRIKO A



-Konplexua edo bitarra:

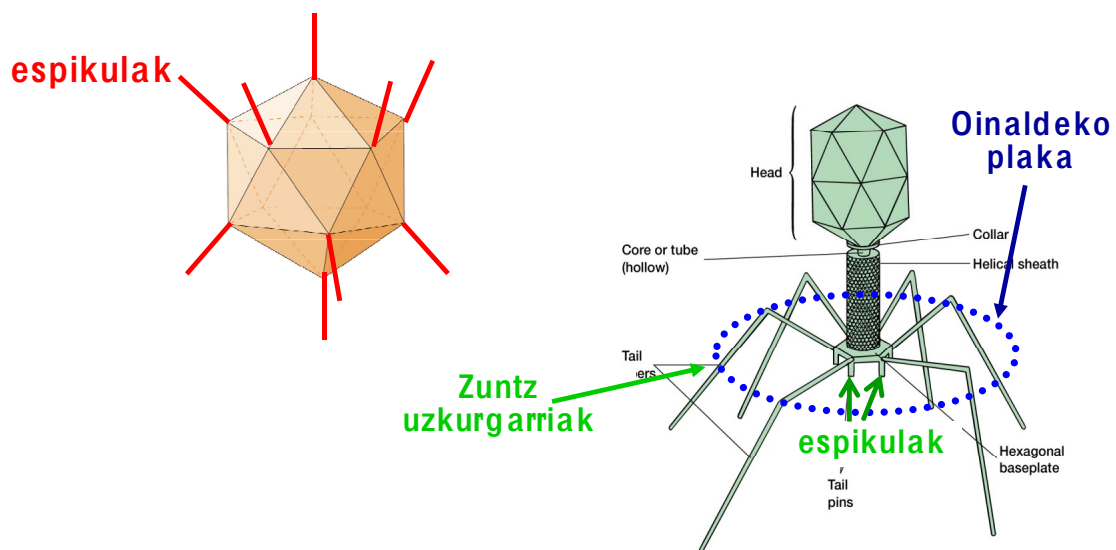
- Aurreko biak batera agertu. **Bi zati**: Burua(poliedrikoa) eta buztana (helikoidala)
- Bakteriofagoetan soilik
- Adibidea: *E.coli*-ren T-4 fagoa

KONPLEXUA edo BITARRA



-Kapside batzuetan egitura gehigarriak ager daitezke:

- Proteina itsasgarriak (espikulak, oinaldeko plaka...)
- Proteina uzkurgarriak



c) Azala (bilgarria)

-Bigeruza lipidikoa da.

- Proteinak birusaren genoformoak kodetutakoak:

- o Espikulak (ostalariari lotzeko)
- o Entzimak

- Lipidoak zelula ostalaritik eratorriak

-Barruan kapside helikoidala edo ikosaedrikoa egon daiteke

-Batez ere animalia-birusetan

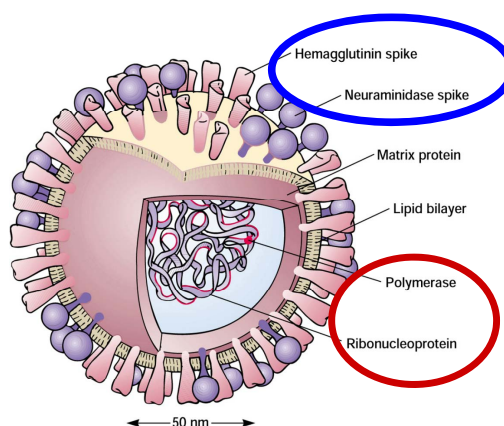
d) Entzimak

Nukleokapsidearen barruan zein kanpoan agertzen dira.

- Kanpokoak barneratzeko edo ostalaritik **askatzeko** (neuraminidase, lisoizima..)
- Barrukoak erreplikazioan jokatu (RNA edo DNA polimerasa, alderantzizko transkriptasa)

Batzuetan entzimak

Nukleokapsidearen
barruan zein kanpoan



Gripea eragiten duen birusa

4. BIRUSAK IKASTEKO METODOLOGIA

4.1. ZENBAKETA ZUZENA

Derrigorrezko bizkarroiak direnez:

-Kultibo pururik EZ dute.

-Zelula ostalarien barruan hazi behar dira.

-Birusen ostalari sentikorrak:

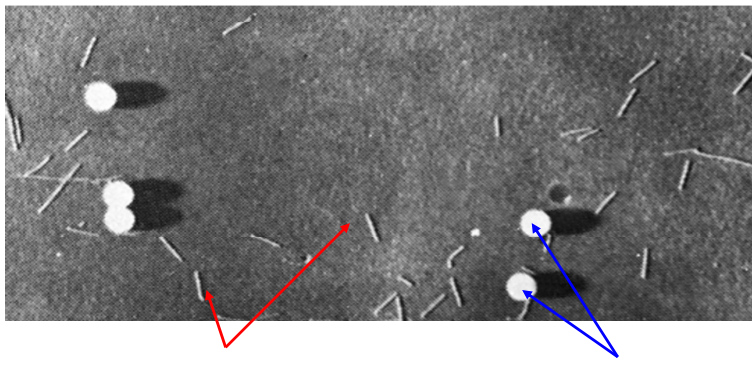
- Bakteriofagoak: bakterioak
- Eukariotoen birusak: zelula kultiboak, animalia infektatuak, landare infektatuak..

a) Mikroskopia elektronikoaren bidezko zenbaketa zuzena:

- Birioiak dituen lagina eta latexezko bolatxoak dituen esekidura (kontzentrazio ezaguna) nahastu (bolumen berdinak).
- Birioiak eta bolatxoak mikroskopian zenbatu (n= 30-60 eremu)
- Emaitzak kalkulatu proportzioak kontuan hartuta.

Mikroskopia elektronikoaren bidezkoa

Microbiología, Prescott y col. (5ª Ed.) Fig. 16.8, p. 397



[bolatxoak] = $1 \cdot 10^3$ /ml

5 bolatxo
30 birioi



$6 \cdot 10^3$ birioi/ml

Tabako-mosaikoaren birusa

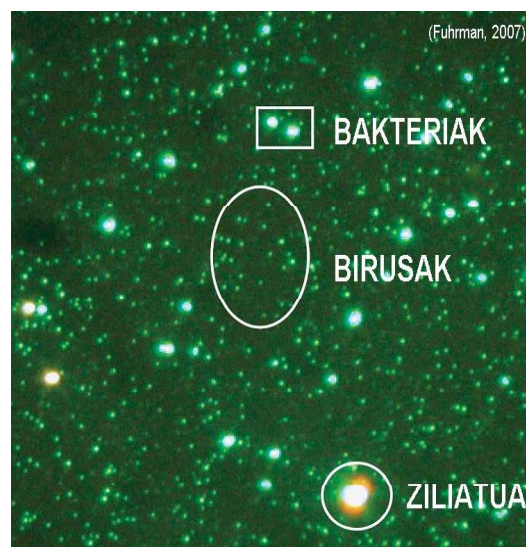
Latexezko bolatxoak

b) Epifluoreszentzia mikroskopiaaren bidezko zenbaketa zuzena:

- Lagina diluitu eta tindatzaile fluorokromo batez tindatu
- Iragaztean mikroorganismo guztiak iragazkian geratu
- Epifluoreszentzia mikroskopioan birioiak zenbatu
- Diluzioan dagoen kopurua

Virus/ eremu x Eremu/ iragazki x Iragazki/bolumena (mL)

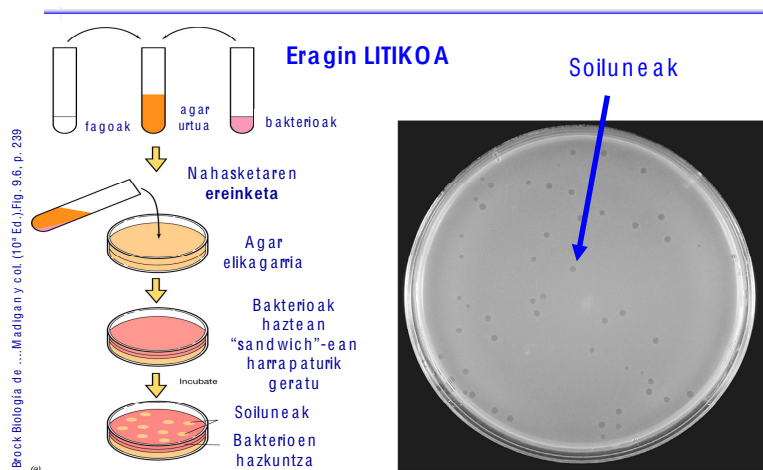
**Epifluoreszentzia
mikroskopiaaren
bidezkoa**



4.2 ZENBAKETA EZ-ZUZENA

ERAGIN LITIKOA: Zelula ostalarien sortutako eraginaren detekzioa

- Bakteriofagoak zenbatzeko
- Zelula ostalariak haztean geruza uherra eratu
- Birusak zikloa bukatutakoan bakterioa lisatu eta birioi berriak askatu
- Zaldura alboko zeluletara zabaldu, baina hedapena mugatua dago
- Sortutako SOILUNEAK zenbatu: lisi-guneak (bakterioak ez) SUS/ml



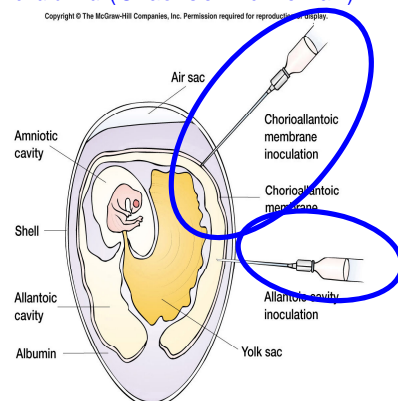
ERAGIN EZ-LITIKOA:

- Ostalaria hil (lisatu gabe): tindatzaile espezifikoak, zelula biziak eta hildakoak bereizteko
- Ostalaria hil EZ baina zelulen eraldaketa sortu (gehiegizko hazkuntza: zelula pilatuta)
- Batziek ez dute ostalarien eraginik sortzen: agerian jarri antigorputz fluoreszenteen bidez. Antigorputzak eta birusen antígenoak lortzean: fluoreszentzia.

a) Infektatutako animaliak erabilia (Oilaskoen kumekiak):

- Arrautzean zule txikia zabaldu
- Laginaren diluzioak arrautzaren mintz batean ziztatu. Azala itxi.
- Haztean birus bakoitzak mintzean zauri edo orban bat eragingo du.
- Inkubatu ondoren azala kendu eta orbanak zenbatu.

Infektatutako animaliak erabilia (Oilaskoen kumekiak)



Infektatutako landareak
erabiltza



b) Infektatutako landareak erabiltza:

- Laginaren diluzioak hostoetan inokulatu.
- Konposatu urragarria gehitu landare-zelulen hormak apurtzeko.
- Infekzio-gunean lesioak, kolore- edo forma-aldaketak agertu.

c) Infektatutako animaliak edo landareak erabiltza: dosi hilgarria (DL_{50}):

- Birusak dituen laguna diluitu: $10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}$..
- Diluzio bakoitzetik azpilaginak hartu animalia sentikorrak infektatzeko (10-ale adb.)
- Inkubazio aldia bukatu ondoren, diluzio bakoitzean, animalia biziak eta hil direnak zenbatu.
- DL_{50} parametroa kalkulatu: diluzio honetan infektatutako animalia kopuruaren erdia hil egiten da.

(DL_{50}) parametroaren kalkulua

Infektatutako animaliak
edo landareak erabiltza:
dosi hilgarria (DL_{50})

