

Para L. Mata
"con mis mejores recuerdos"
- Fco. Hdez.

LA DIFRACTOMETRIA OPTICA APLICADA A LA VIROLOGIA:
I. DESCRIPCION DE UN DIFRACTOMETRO OPTICO

F. J. SOLEY*
FRANCISCO HERNANDEZ**
YAMILET BRENES ***
JOSE BRENES *

RESUMEN

En el proceso de dilucidar la ultraestructura de viriones se presentan a menudo problemas en el análisis de las micrografías electrónicas. Dos ejemplos de estos problemas son un nivel de ruido que no permite distinguir detalles estructurales y la presencia de imágenes de diferentes planos de la misma partícula, que producen figuras de "moiré". Para obviar estos problemas se han utilizado con éxito algunos métodos de la Óptica de Fourier, que también permiten estudiar arreglos simétricos que pasan desapercibidos a simple vista. Con el objeto de aplicar estas técnicas al análisis ultraestructural de viriones, se diseñó y construyó un difractor óptico. Estos análisis se están aplicando al estudio ultraestructural de los rotavirus, el agente etiológico más importante en la diarrea del niño menor de dos años de edad, cuya ultraestructura no se ha dilucidado satisfactoriamente. En este artículo se describe el difractor y su método de operación.

Se describe la obtención de la transformada de Fourier utilizando una fuente de luz puntiforme y se obtienen expresiones para el aumento y posición, tanto de la transformada como de la imagen del objeto. También se analiza el intervalo dinámico del instrumento y se describe un método experimental para determinar la constante instru-

*Escuela de Física, Universidad de Costa Rica
**Instituto de Investigaciones en Salud (INISA), Universidad de Costa Rica
***Unidad de Microscopía Electrónica, Universidad de Costa Rica

mental. Además, se describe el difractómetro, un método de alineamiento y ajuste, y se presentan los patrones de difracción de objetos de geometría sencilla y de rotavirus.

ABSTRACT

During the process of elucidating the ultrastructure of viruses, often the analysis of the micrographs is hampered by high noise levels that tend to obscure the details, or by the presence of images of different planes of the same particle resulting in a moiré pattern. Fourier Optics methods have been successfully applied to solve these problems. Also, Fourier transforms of micrographs are helpful in revealing symmetries not easily observable with the naked eye. With the purpose of applying these techniques to the ultrastructural analysis of viruses, we designed and built an optical diffractometer. In particular, the diffractometer is presently used in analyzing rotavirus, whose ultrastructure is not known and because they are the most important cause of diarrhea in children less than two years old. In this paper we describe the diffractometer and its operation.

First we consider a semitransparent object illuminated by a point source and explore the relations between the size and position of the Fourier transform and the object's image as obtained with a lens. The dynamic range of the instrument is analyzed and an experimental method to determine its constant is described. Finally, the optical diffractometer and its alignment procedure are described, and

the diffraction patterns of simple geometries and of rotavirus are presented.

I. INTRODUCCION

Los virus esféricos miden de 20 a 200 nm de diámetro y están compuestos por un ácido nucleico encerrado dentro de una envoltura proteica denominada cápsida. La cápsida está integrada por unidades morfológicas o capsómeros, compuestos por unidades estructurales, las cuales a su vez están formadas por subunidades proteicas (1,2). El virión adopta una arquitectura icosaédrica (Fig. 1) por razones de estabilidad (2).

Algunas familias de virus presentan arreglos ultraestructurales que pueden identificarse por el índice de triangulación (T). Este índice corresponde al número de triángulos equiláteros en que está subdividida cada una de las facetas triangulares del icosaedro, lo que hace más apropiado referirse a simetrías icosaédricas (3).

La investigación ultraestructural de virus se ha realizado mediante microscopía electrónica, empleando principalmente métodos de tinción negativa con metales pesados. No obstante, la alta resolución que se logra con este método, las imágenes obtenidas corresponden a la superposición de la cara superior e inferior de la misma partícula. El patrón de "moiré" resultante hace que algunos viriones aparezcan confusos (4,5). Por esta razón, en el análisis ultraestructural se han empleado otros métodos, además de la microscopía electrónica. Entre esos métodos están la difracción de rayos X (6) y la difracción óptica (7).

La difracción óptica permite obtener el patrón de difracción de un virión a partir de una micrografía electrónica. Analizando ese patrón, se obtiene información para dilucidar el arreglo ultraestructural del virus. En ciertos casos, la difracción revela arreglos simétricos no aparentes a simple vista en las micrografías. Además, es posible filtrar el patrón de difracción y eliminar las frecuencias espaciales debidas

al ruido, para reconstruir imágenes más claras que la fotografía original. En el caso de superposición de imágenes, las técnicas de filtrado han permitido separar las caras anterior y posterior de una partícula (5).

La ultraestructura de los rotavirus, el agente etiológico más importante en la diarrea del niño menor de dos años de edad, ha sido estudiada mediante microscopía electrónica. Sin embargo, los informes son contradictorios, describiéndose cinco posibles modelos ultraestructurales diferentes (8-12). Posiblemente, algunas de esas contradicciones son debidas al efecto de "moiré", que tal vez puedan dilucidarse mediante el análisis difraccionométrico.

En este artículo se describe un difractor óptico y sus principios de operación, aplicados al análisis ultraestructural de viriones.

II. PRINCIPIOS DE OPERACION

En la figura 3, se ilustra el principio de operación de un difractor óptico que utiliza una fuente de luz monocromática, coherente y puntiforme. La fuente puntiforme FP se coloca a una distancia D de la lente L_1 de distancia focal f_1 , que formará una imagen de la fuente a una distancia D' . Si entre FP y L_1 se coloca un objeto semitransparente, a una distancia S_1 de L_1 , su imagen I_1 se formará a una distancia S_1' , y con un aumento lateral de $m_1 = S_1'/S_1$. Sea $t(x,y)$ el coeficiente de transmisión del objeto y $T(u,v)$ su transformada bidimensional de Fourier, definida de la forma usual:

$$T(u,v) = \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} t(x,y) \exp \left[-2\pi i u x - 2\pi i v y \right] dx dy \quad (1)$$

Entonces, suponiendo que la irradiancia I_0 sobre el objeto es constante, la irradiancia I en los planos perpendiculares al eje óptico a distancias D' y S_1' de L_1 , es

tará dada por las siguientes relaciones: (13)

$$I(x_t, y_t; D') = \frac{I_0}{K^2} \left[T\left(\frac{x_t}{K}, \frac{y_t}{K}\right) \right]^2 \quad (2)$$

$$I(x_i, y_i; S'_1) = \frac{I_0}{m_1^2} \left[t\left(\frac{x_i}{m_1}, \frac{y_i}{m_1}\right) \right]^2 \quad (3)$$

En la ecuación 2, K es la constante del instrumento y está definida por la siguiente relación:

$$K = \lambda(S'_1 - D') / m_1, \quad (4)$$

donde λ es la longitud de onda de la fuente.

La irradiancia $I(x_t, y_t; D')$ en el plano donde se forma la imagen de la fuente es proporcional a la densidad espectral de potencia (ecuación 2), por lo tanto este plano se denomina plano de la transformada. PT. Como en el plano PT las frecuencias espaciales ($u = x_t/K$, $v = y_t/K$) son inversamente proporcionales a la constante del instrumento K , el tamaño del patrón de difracción es directamente proporcional a K . Por otro lado, la ecuación 3, corresponde al resultado esperado donde la irradiancia en el plano de la imagen reproduce al objeto con el aumento lateral apropiado.

El filtrado de los patrones de difracción se realiza colocando en el plano de la transformada una pantalla de coeficiente de transmisión $p(x_t, y_t)$. Bajo estas condiciones la irradiancia en el plano de la imagen estará dada por: (13)

$$I(x_i, y_i; S') = \frac{I_0}{m_1^2} \left| \int_{-\infty}^{\infty} \int_{-\infty}^{\infty} T(u, v) p(ku, kv) \exp \left[2\pi i u \frac{x_i}{m_1} + 2\pi i v \frac{y_i}{m_1} \right] dudv \right|^2 \quad (5)$$

Nótese que si $p(x_t, y_t) = 1$, la relación anterior es la antitransformada de $t(x_i/m_1, y_i/m_1)$, por lo tanto se recupera la ecuación 3. En la mayoría de los casos el filtrado se realiza con una pantalla opaca con agujeros, que permite el paso de las frecuencias espaciales que llevan la información deseada y que bloquea las frecuencias espaciales.

III. CONSIDERACIONES DE DISEÑO

A. Aumento y posición de la imagen:

Usualmente las distancias de la fuente y del objeto se ajustan para obtener un valor de la constante K del difractor lo mayor posible, para que bajo esas condiciones la transformada del objeto se pueda observar a simple vista, y en el caso de filtrado, se facilite la colocación y alineamiento de la pantalla. De acuerdo a la ecuación (4), la constante K es inversamente proporcional al aumento m_1 , y por lo tanto, I_1 es usualmente una imagen muy reducida del objeto. Para remediar esta situación, se introduce una segunda lente L_2 a una distancia L del plano de la transformada (figura 3). El aumento lateral total M de la imagen I_2 y su posición están dadas por las siguientes relaciones:

$$M = f_1 f_2 / \left[(D' + L - f_1 - f_2) x_1 - f_1^2 \right] \quad (6)$$

$$x_2' = f_2^2 x_1 / \left[(D' + L - f_1 - f_2) x_1 - f_1^2 \right], \quad (7)$$

donde x_2' es la posición I_2 referida al punto focal secundario de L_2 y x_1 es la posición del objeto O referida al punto focal primario de L_1 .

En la mayoría de los casos $(D' + L - f_1 - f_2) > 0$ y por lo tanto se obtiene de la ecuación 6 que el valor absoluto de M aumenta conforme aumenta x_1 . Sin embargo, al acercar el objeto O a la fuente FP , disminuye la región iluminada y aumenta la variación de la irradiancia sobre el objeto. Por lo tanto se prefiere colocar el objeto adyacente a L_1 , en este caso: $x_1 = -f_1$ y M y x_2' obtienen valores independientes de f_1 :

$$M = - \frac{f_2}{D' + L - f_2}, \quad (6a)$$

$$x_2' = + \frac{f_2^2}{D' + L - f_2}. \quad (7a)$$

Tanto M como x_2' aumentan conforme la lente L_2 se acerca al plano de la transformada PT , o sea, conforme L disminuye. Una distancia conveniente en cuanto a la facilidad de ajuste es tomar $L = f_2$. Se obtiene entonces, que:

$$M = -f_2/D', \text{ y} \quad (6b)$$

$$x_2' = f_2^2/D'. \quad (7b)$$

Nótese que para reconstruir la imagen con un aumento M unitario, la distancia focal f_2 debe ser igual a D' . En la práctica esta distancia D' es usualmente de uno a tres metros.

B. Filtrado espacial del rayo láser

La fuente puntiforme se obtiene enfocando un rayo láser a través de una lente L_0 de distancia focal corta. (Véase la figura 6). Con una lente de alta calidad óptica, es posible obtener enfoques cercanos al límite impuesto por difracción. Si D es el diámetro de la abertura de la lente y f su distancia focal, entonces el primer mínimo del patrón de difracción característico de aberturas circulares aparecerá a una distancia R_B del eje óptico en el plano focal, donde (13).

$$R_B = \alpha_{11} \lambda f / \pi D, \quad (8)$$

y α_{11} es el primer cero de la función Bessel J_1 . Para una distancia focal $f = 16\text{mm}$ y una abertura $D = 5\text{mm}$, se obtiene que $R_B = 2.5$ micrómetros para una longitud de onda $\lambda = 0.6328$ micrómetros.

El rayo láser se filtra espacialmente colocando una abertura circular en el plano focal de la lente L_0 . Disminuyendo el radio R_A de la abertura se aumenta el intervalo de frecuencias filtradas pero a la vez se disminuye el flujo radiante del rayo. Una buena opción es escoger $R_A = 10$ micrómetros, ya que no disminuye apreciablemente el flujo y permite filtrar las frecuencias espaciales mayores de $w = R_A / \lambda f$, que en este caso corresponde a 1 mm^{-1} .

C. Frecuencias espaciales del objeto

El diámetro de la lente L_1 constituye una abertura circular que limita el campo de visión del objeto. Además, en la práctica es frecuente usar aberturas de diámetro menor, ya sea para limitar el área efectiva de la lente y eliminar aberraciones, o bien, para limitar el área que se desea analizar del objeto. En ambos casos se modifica el patrón de difracción del objeto, debido a que el patrón resultante en el plano de la transformada es la convolución de la transformada del objeto con la transformada de la abertura. El efecto de la convolución se puede minimizar si las frecuencias espaciales mínimas del objeto son mayores que las frecuencias espaciales correspondientes al primer o segundo mínimo de la transformada de la abertura. En el Cuadro 1, se muestran las frecuencias espaciales para el primer y segundo mínimo del patrón de difracción correspondientes a aberturas circulares de diferentes diámetros.

CUADRO 1

DIAMETRO	PRIMER MINIMO	SEGUNDO MINIMO
25.4 mm	0.048 mm ⁻¹	0.088 mm ⁻¹
19.0	0.064	0.12
12.7	0.096	0.18
6.4	0.19	0.35

La frecuencia espacial máxima del objeto está limitada por las dimensiones del negativo en el que se registra la transformada, o por las dimensiones de la lente L_2 que reconstruye la imagen. Como regla general se acepta que para reconstruir aceptablemente una imagen, por lo menos se debe mantener la información contenida

hasta el máximo del segundo orden. En el cuadro 2, se presentan las frecuencias espaciales máximas para varios valores de la constante K del instrumento bajo la condición que el primer o segundo orden ocurra a una distancia de 10 mm, que es aproximadamente la mitad de la dimensión menor de un negativo de 35 mm.

CUADRO 2

K	PRIMER ORDEN	SEGUNDO ORDEN
1 mm ²	10 mm ⁻¹	5 mm ⁻¹
2	5	2.5
3	3.3	1.7

En el caso que el objeto sea un negativo fotográfico, las frecuencias espaciales se pueden aumentar o disminuir, reduciendo o ampliando el negativo. La figura 4, muestra los patrones de difracción de una micrografía de rotavirus en tres tamaños mostrados en los insertos. Nótese que conforme se disminuye el tamaño del virus, el patrón de Airy se hace más evidente y la información correspondiente a la distancia entre subunidades o entre capsómeros se pierde paulatinamente.

CH. Determinación experimental de la constante K del difractor

Una manera expedita de determinar la constante instrumental K , es mediante el patrón de difracción de una abertura circular (patrón de Airy). El recuadro de la figura 5, muestra una fotografía ampliada dos veces del patrón de una abertura de diámetro $D = 3.18$ mm. Los diámetros de los mínimos D_m están relacionados linealmente con los ceros α_{1m} de la función Bessel J_1 , de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$DM = \left(\frac{2k}{\pi D} \right) \alpha_{1m} \quad (9)$$

La gráfica en la figura 5, corresponde a los diámetros de los mínimos medidos de una fotografía ampliada 10 veces. La línea recta de mejor ajuste para por el origen, lo que indica que el orden de los mínimos fue identificado correctamente. La pendiente medida del gráfico fue de 3.80 mm y por lo tanto la constante instrumental efectiva es de 19 mm². Este valor incluye la ampliación de la fotografía y entonces, la constante propia del instrumento es de aproximadamente 1.9 mm².

IV. DESCRIPCIÓN DEL DIFRACTOMETRO OPTICO

En la figura 6, se muestra un esquema del equipo utilizado. La fuente de luz coherente es un láser de He/Ne Phywe Modelo 08174.90 de 0.5 ó 1.0 m vatios. El láser está montado sobre un soporte que permite ajustar el plano de base sobre tres puntos. El sistema óptico de expansión y filtrado espacial del rayo, así como el portaobjetos y la lente transformadora L₁ están montados en un banco óptico cuyo plano de base también se puede ajustar sobre tres puntos. La lente que forma la fuente puntiforme es un objetivo de microscopio de 10 aumentos, montado en un mecanismo de traslación lineal en dos dirección mutuamente perpendiculares entre sí y al eje óptico. En el plano donde se forma la fuente puntiforme se coloca una abertura de microscopio electrónico de 20 micrómetros de diámetro, para filtrar espacialmente el rayo. La abertura está montada en un mecanismo de traslación lineal similar al de la lente L₀. La lente L₁ tiene una distancia focal de 300 mm y un diámetro de 38.1 mm. El portaobjetos permite colocar las micrografías adyacentes a

la lente L_1 . Las distancias típicas entre los elementos son las siguientes:

Entre el láser y L_0 : 120 cm.

Entre L_0 y L_1 : 40 cm.

Entre L_1 y PT : 350 cm.

Los patrones de difracción se fotografían con una cámara de 35 mm sin lente con película Panatomic Asa 32 o Plus X ASA 125. Los tiempos de exposición varían de 1/32 a 4 segundos. La posición de la cámara no es crítica, ya que desviaciones del negativo del plano de la transformada de hasta 1 cm no perjudican la definición de la imagen, debido a la gran distancia entre L_1 y la cámara.

En la reconstrucción de imágenes, solo se han hecho medidas preliminares. Se han observado imágenes de buena calidad óptica y de aumento unitario con una lente objetivo de telescopio colocado a 65 cm del plano de la transformada PT. Como la imagen se produce a 450 cm de la lente, es necesario colocar un espejo para doblar la dirección del rayo.

V. PROCEDIMIENTO PARA EL AJUSTE DEL DIFRACTOMETRO

A. Ajuste del láser y de la lente L_1

El soporte del láser permite ajustes de forma que el rayo sea paralelo a la mesa a una altura adecuada. Se marca el punto donde el rayo incide en una pared, aproximadamente a 6 m de distancia. Luego se coloca el banco óptico y la lente L_1 en un soporte. Los tres puntos de ajuste del banco óptico se varían hasta que la lente pueda recorrer toda la longitud del banco sin que la imagen del rayo en la pared se desvíe del punto marcado. La lente L_1 se coloca en su posición fi

nal cerca del extremo del banco más alejado del láser.

B. Ajuste de la lente L_0

Se coloca la lente L_0 en el banco, a una distancia de L_1 de acuerdo con el valor de la constante instrumental deseada. El centro de L_0 se hace coincidir con el eje óptico, mediante el mecanismo de traslación lineal y observando que la imagen del rayo en la pared, no se desplace.

C. Colocación de la abertura

La abertura se coloca en el eje óptico y en el plano de la fuente puntiforme, este es el paso más crítico. La manera más fácil de realizarlo es colocando la abertura en una posición posterior a la fuente puntiforme, donde el rayo empieza a expandirse. Esto permite un primer ajuste utilizando el mecanismo de traslación lineal y observando la intensidad del rayo que pasa por esta abertura. Luego se acerca la abertura al plano de la fuente y se observa que se empieza a formar el patrón de Airy característico. La posición de la abertura se vuelve a ajustar hasta que el centro del patrón coincida con el centro de L_1 . De nuevo se acerca la abertura a la fuente y se ajusta su posición. El procedimiento se repite hasta que el máximo central del patrón de Airy se haya extendido y llene toda la lente L_1 .

D. Instalación de la cámara fotográfica

La posición del plano de la transformada se puede determinar colocando un objeto de transformada conocida, como una ranura simple o doble o un patrón de N líneas delgadas, observando el plano donde el patrón de difrac-

ción tiene mejor definición, y en esa posición se coloca la cámara, de modo que el negativo coincida con la posición del plano de la transformada.

VI. RESULTADOS

La figura 7 muestra los patrones de difracción de una ranura doble, una ranura rectangular y un arreglo de círculos en disposición hexagonal. En el patrón de la ranura doble se observan los máximos de interferencia dentro del máximo principal de difracción. Los máximos restantes se extienden fuera del negativo debido al alto valor de la constante instrumental. El patrón de difracción de la ranura rectangular muestra la estructura típica de máximos más separados en la dirección paralela a la dimensión menor y de máximos menos separados en la dirección paralela a la dimensión mayor de la ranura. Nótese que la estructura debido a la altura de las ranuras es también evidente en el patrón de la doble ranura. El arreglo de círculos produce un patrón de difracción con la misma simetría hexagonal. Si la fotografía se observa a un ángulo rasante, es posible distinguir seis franjas que se extienden del centro hacia afuera.

El patrón de difracción de rotavirus se muestra en la figura 4. Nótese en la fotografía inferior la presencia de franjas similares a la del arreglo hexagonal de círculos de la figura 7. En la figura 3 se muestra el patrón de difracción de un fragmento de la cápsida de rotavirus, en el que pueden distinguirse dos hexámeros, uno en el centro y el otro en la parte inferior; en la estructura de la parte superior izquierda no se distingue claramente si los capsómeros forman un pentámero o un hexámero. Sin embargo, es evidente que el patrón de difracción tiene una simetría preponderantemente hexagonal.

VII. COMENTARIOS

El difractor óptico descrito fue diseñado y construido en el Laboratorio de Óptica y Espectroscopía de la Escuela de Física. Su constante instrumental de 2.0 mm^2 es igual o mayor que las informadas en trabajos previos (14). Además el diseño presenta la ventaja que la constante instrumental se puede variar dentro de un intervalo amplio, haciendo pequeños cambios en la distancia entre la fuente puntiforme y la lente transformadora. La principal desventaja del diseño son las grandes distancias entre los elementos ópticos, que exigen un espacio de trabajo de alrededor de cinco metros y la presencia de dos operadores.

Respecto al análisis de los patrones de difracción, es obvio que la interpretación correcta del patrón producido por una estructura compleja, como el rotavirus que aparece en la figura 4, no puede hacerse sin la ayuda de cálculos numéricos. Para tal efecto se están desarrollando programas de computación para obtener los patrones de difracción esperados de acuerdo con los modelos ultraestructurales propuestos para este virus. Los cálculos se harán utilizando la subrutina de la transformada discreta bidimensional de Fourier de la biblioteca IMSL.

AGRADECIMIENTO

Este estudio fue financiado por la Vicerrectoría de Investigación de la Universidad de Costa Rica, y también recibió apoyo del Departamento de Física de la Universidad Nacional, de la Unidad de Microscopía Electrónica y del Instituto de Investigaciones en Salud de la Universidad de Costa Rica. Además, queremos agradecer la colaboración y guía de los doctores Hiroshi Akahori y Yoshimichi Kozuka.

BIBLIOGRAFIA

1. Crick, F.H.C. y Watson, J.D., "Structure of Small Viruses.", Nature, 177:473-475, 1956.
2. Caspar, D.L.D. y Klug, A., "Physical Principles in the Construction of Regular Viruses." En Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, 27: 1-24, 1962.
3. Caspar, D.L.D. y Klug, A., "Structure and Assembly of Regular Virus Particles." En: Viruses, Nucleic Acids, and Cancer. Williams and Wilkins Co., Baltimore, p. 27-39, 1963.
4. Kellenberger, E. y Boy de la Tour, E., "Studies on the Morphopoiesis of the Head of Phage T-even. II Observations on the Fine Structure of Polyheads", J. Ultrastr. Res., 13: 343-358, 1965.
5. Klug, A. y De Rosier, D.J., "Optical Filtering of Electron Micrographs: Reconstruction of One-Sided Images". Nature, 212:29-32, 1966.
6. Finch, J. T. y Holmes K.C., "Structural Studies of Viruses". En: Methods in Virology, Maramorosch, K. y Koprowski, H. (editores), Vol. III, p. 351-474, 1967.
7. Markham, R., "The Optical Diffractometer". En: Methods in Virology, Maramorosch, K. y Koprowski, H. (editores), Vol. LV, p. 503-529, 1966.
8. Martin, M. L., Palmer, E.L. y Middleton, R.J., "Ultrastructure of Infantile Gastroenteritis Virus." Virology, 68: 146-153, 1975.
9. Stannard, L.M. y Schoub, B.D., "Observations on the Morphology of two Rotaviruses" J. Gen. Virol., 37:435-439, 1977.
10. Esparza, J. y Gil, F., "A study on the Ultrastructure of Human Rotavirus". Virology, 91: 141-150, 1978.
11. Kogasaka, R., Akihara, M., Horino, K., Chiba, S. y Nakao, T. "A Morphological Study of Human Rotavirus". Arch. Virol., 61:41-48, 1979.
12. Roseto, A., Escaig, J. Delain, E., Cohen, J. y Scherrer, R., "Structure of Rotavirus as Studied by the Freeze-Drying Technique." Virology, 98:471-475, 1979.
13. Klein, M.V., "Optics", Wiley, Nueva York, 1970.
14. De Rosier, D.J. y Klug, A., "Structure of the Tubular Variants of the Head of Bacteriophage T4 (Polyheads)." , J. Mol. Biol. 65:469-488, 1972.

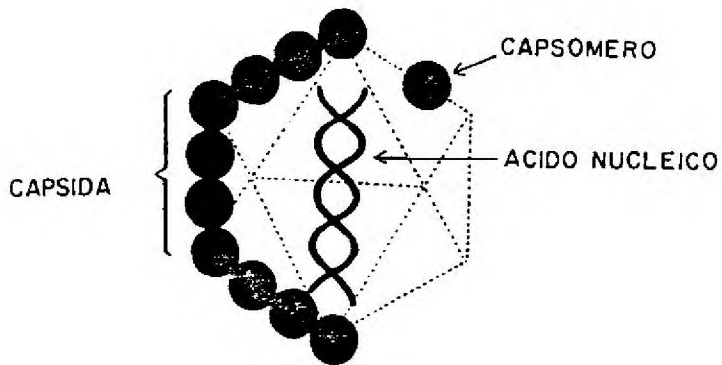


FIGURA 1. Esquema de un virus icosaédrico. La cápsida representa una envoltura para el ácido nucleico y está formada por unidades morfológicas denominadas capsómeros. En este caso la cápsida adopta un arreglo icosaédrico, o sea una figura compuesta por veinte caras triangulares equiláteras, que presenta un total de doce vértices.

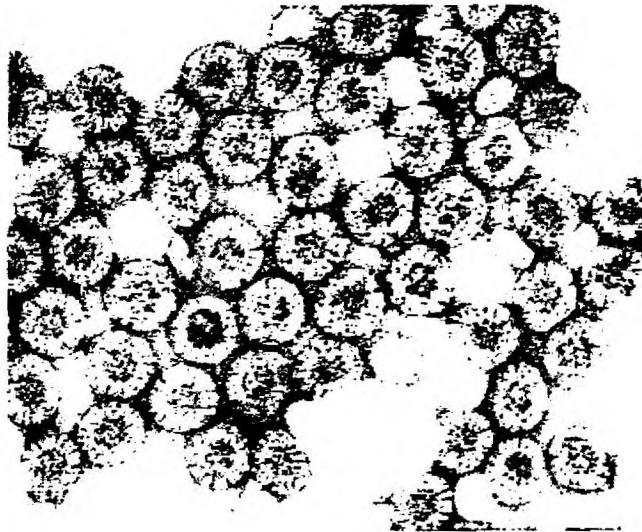


FIGURA 2. Grumo de rotavirus obtenido de una muestra de heces de un niño con diarrea. Nótese el aspecto esferoide de los virus en cuya superficie se aprecia una serie de agujeros redondeos. La flecha señala un virión vacío en el cual penetraron las soluciones de metales pesados con que se tiñó la preparación (ácido fosfotúngstico y acetato de uranilo). Obsérvese el aspecto de rueda que presentan estas partículas, de donde provino el término rotavirus. La barra indica 70nm, que es el diámetro aproximado de estos virus.

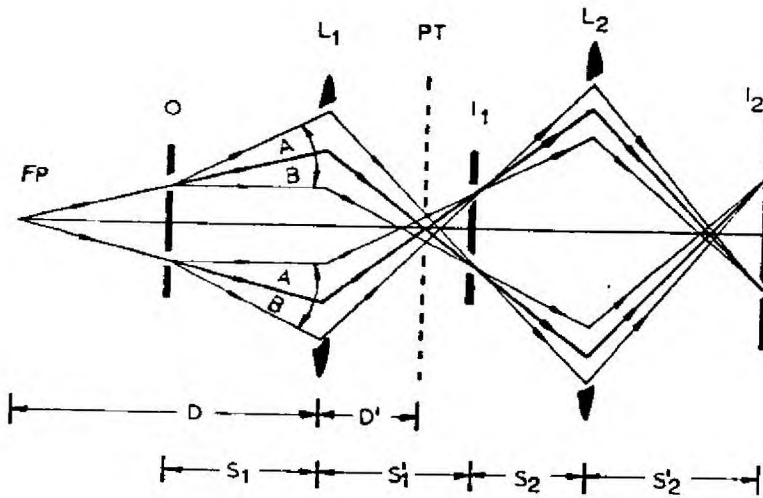


FIGURA 3. Principio de operación del difractor óptico de fuente de luz puntiforme. Para más detalles ver el texto.

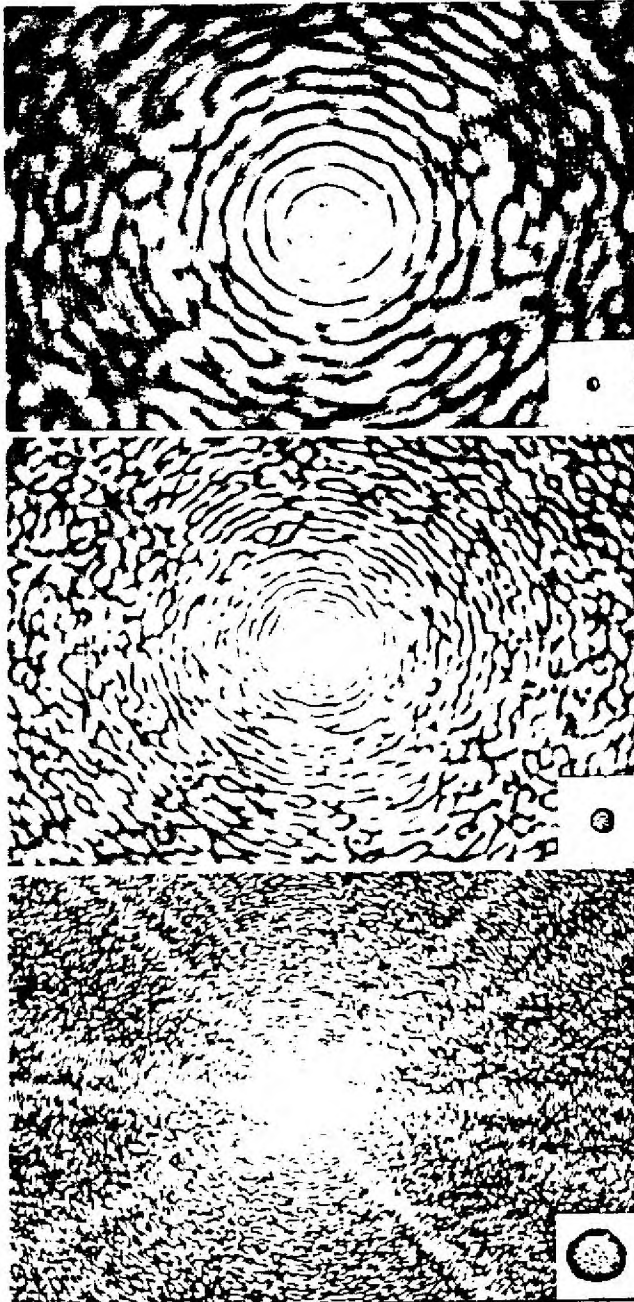


FIGURA 4. Patrones de difracción de una misma partícula de rotavirus a diferentes aumentos, según se indica en el recuadro de cada fotografía.

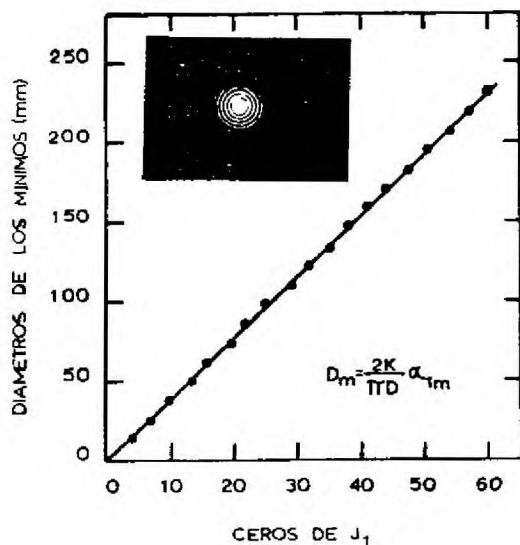


FIGURA 5. Obtención gráfica de la constante instrumental (K). En el recuadro aparece el patrón de Airy de una abertura de 3.18 mm de diámetro. Los diámetros de los mínimos se midieron a partir de una ampliación de ésta. Para mayor detalle consultar el texto.

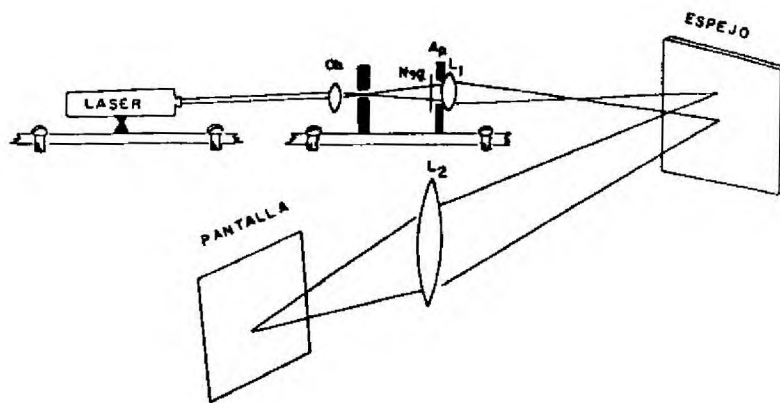


FIGURA 6. Esquema del difractor óptico.

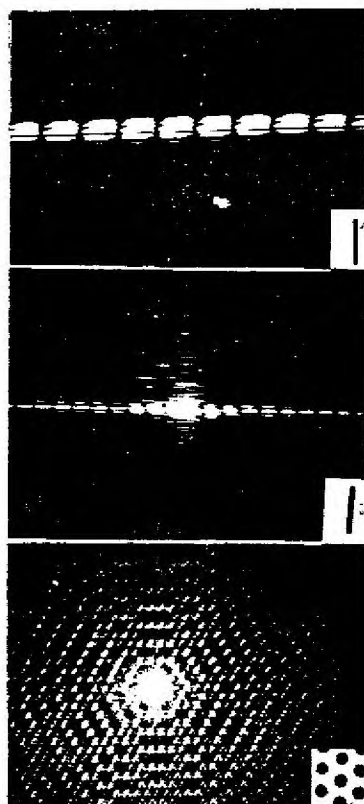


FIGURA 7. Patrones de difracción de una abertura doble (fotografía superior), abertura rectangular (fotografía central) y de círculos en arreglo hexagonal (fotografía inferior).

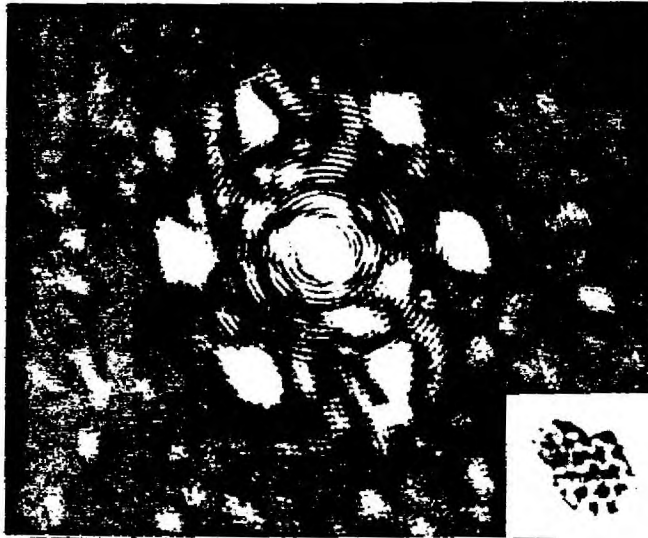


FIGURA 8. Patrón de difracción de un fragmento de la capsida de rotavirus (recuadro inferior). Nótese el arreglo hexagonal de los máximos principales.