

# **„G i r y“ - nositelé nových virových vlastností**

**Vladislava Růžičková  
2017**

**„Giry“ jsou gigantické viry**



**CO JSOU VIRY?**

**Beijerinck M.W.** (1851 – 1931) – holandský botanik a mikrobiolog:

skvrnitá choroba listu tabáku je způsobena – tekutinou: existence submikroskopické formy života.

**Mayer E.** (1843 – 1942)

německý chemik: skvrnitá choroba tabáku je způsobena **enzymy**

**Ivanovsky D. J.** (1864 – 1920) – ruský fytopatolog:

skvrnitá choroba tabáku je způsobena **toxickou látkou** procházející bakteriologickým filtrem.

# CO JSOU VIRY?

1959 André Lwoff: Viry jsou .....

Viry = živé nebuněčné organismy

Vyznačují se nebuněčnou strukturou

**Virion je submikroskopická částice složená z nukleové kyseliny a proteinů, která je schopna infikovat buňku a v ní se reprodukovat**

# **Molekulární podstata buněčného parazitismu virů**

**K vlastní reprodukci využívají nukleoproteinový materiál a energetický zdroj hostitelské buňky**

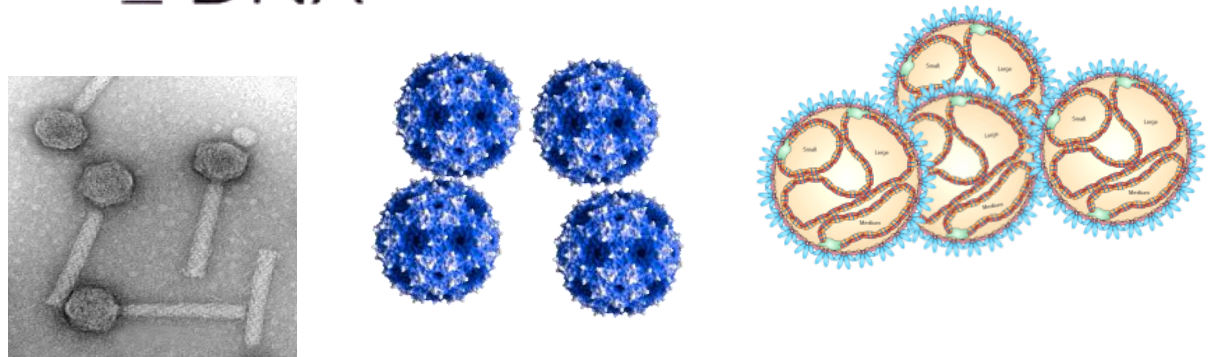
- ❖ neobsahují translační systém**
- ❖ nemají geny pro tRNA, rRNA a strukturní geny kódující ribozomové proteiny**
- ❖ není metabolická aktivita vně hostitelské buňky**

# Co je řadí k živým organismům?

1. Genom



2. Potomstvo

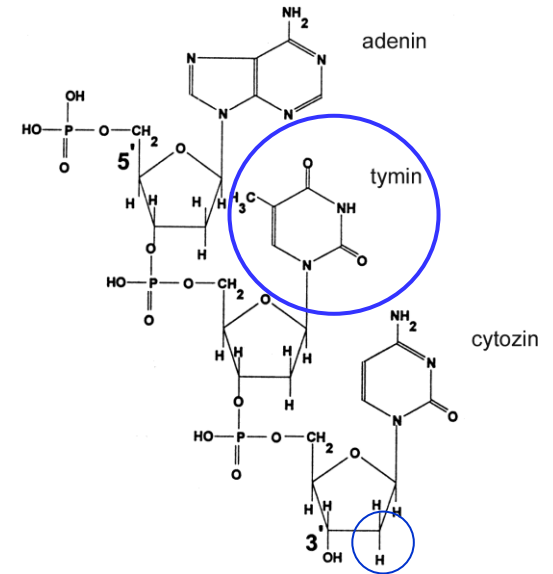
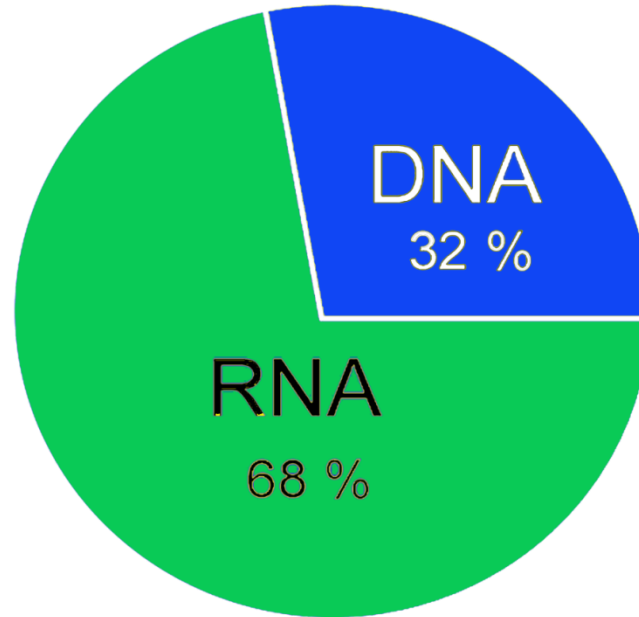
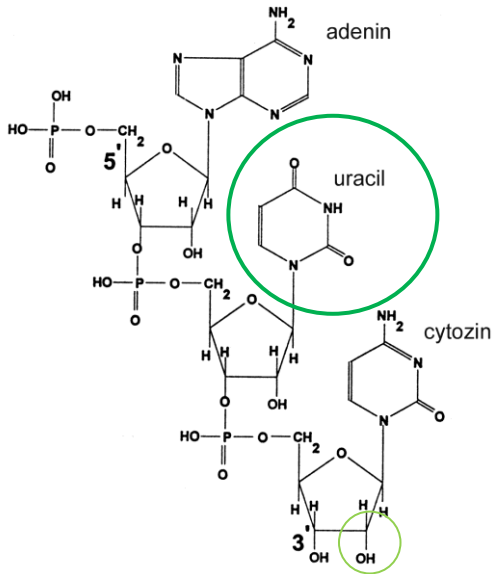


3. Adaptace na změny v prostředí a obranné mechanismy k přežití

4. Podléhají evoluci a hynou (Smrt)

5. některé obsahují parazity; syntetizují metabolické enzymy

# Genom viru = DNA nebo RNA



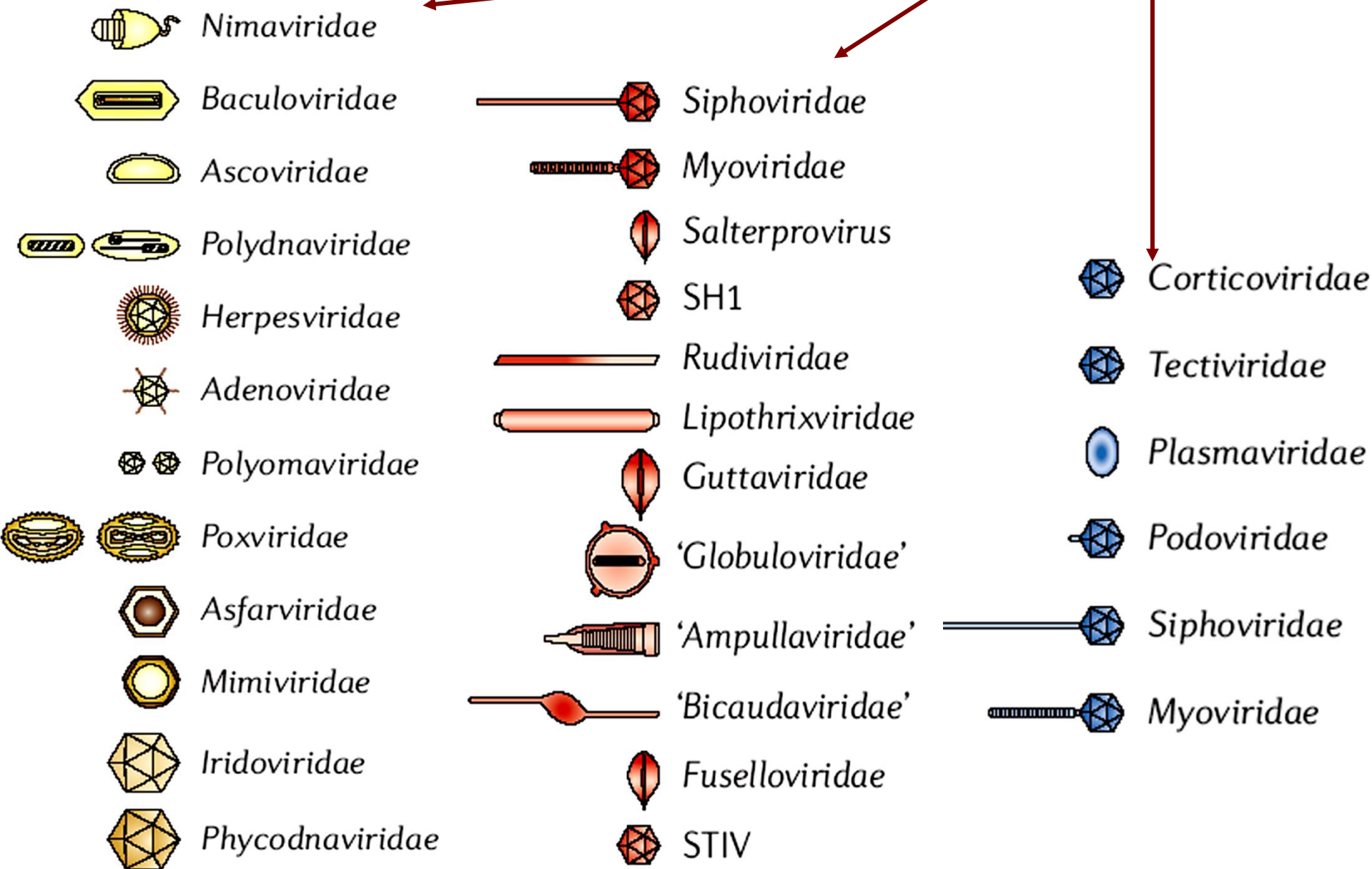
U bakterií DNA viry > RNA viry

U eukaryot RNA viry > DNA viry

Dle velikosti DNA viry > RNA viry

Giry jsou DNA viry

# Morfotypy ds DNA viru eukaryot, archeí a bakterií



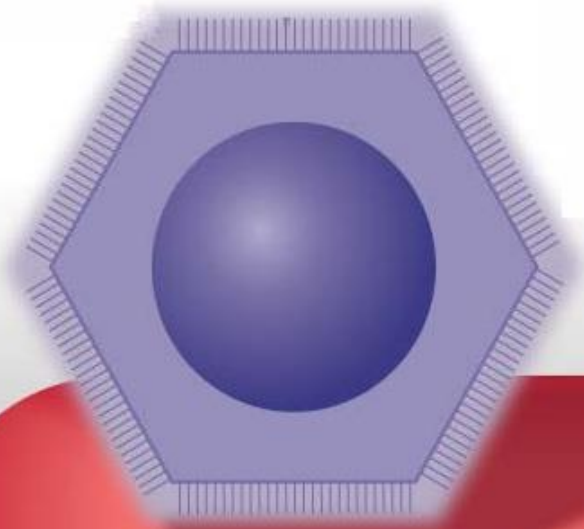


## Vlastnosti girů

1. **Velikost:** 200 až 1500 nm jsou zachyceny bakteriologickým filtrem a viditelné optickým mikroskopem
2. **Jsou komplexní mikroorganismy**, genom obsahuje 440 – 2 540 genů, kódují translační složky, tRNA
3. **Obsahují více než 100 proteinů**, metabolické enzymy
4. **Mají specifický mobilom** – virofágy, a provirofágy

# Gigantické viry - srovnání velikosti

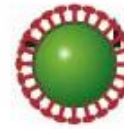
*MIMIVIRUS*



*MYCOPLASMA  
GENITALIUM*



*HIV*



*NANOARCHAEUM  
EQUITANS*



*E. COLI*



100 nm

# Výskyt – izolace girů

## Vodní ekosystém

Mimiviry - vodní nádrže – 1. objev v roce 1992 britští mikrobiologové v nitru měňavek *Acanthamoeba polyphaga* ve vzorku vody z nemocniční chladicí nádrže- v Bradfordu (Anglie)  
mořské vody, sedimenty, bahno, stolice člověka, pijavice

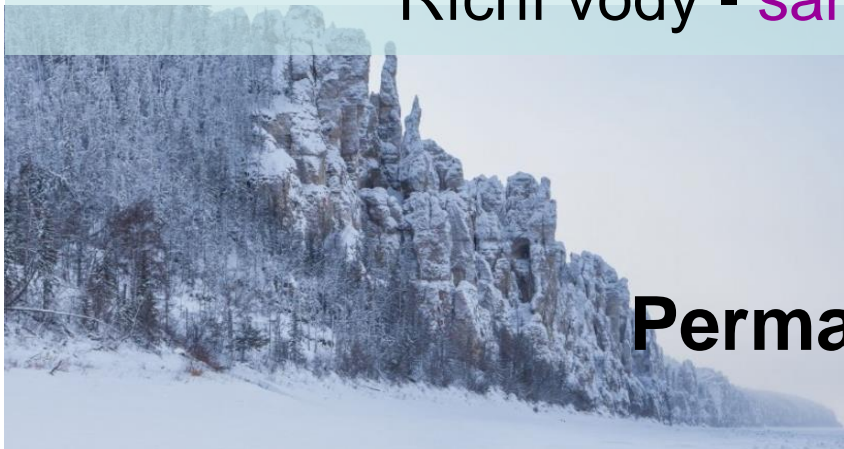
Pobřežní mořské vody - megaviry

- pandoraviry

Říční vody - sambaviry



Negro River, v Brazílii  
(Amazonie)



**Permafrost** (Sibiř) - pitoviry  
moliviry

# Hostitelé girů

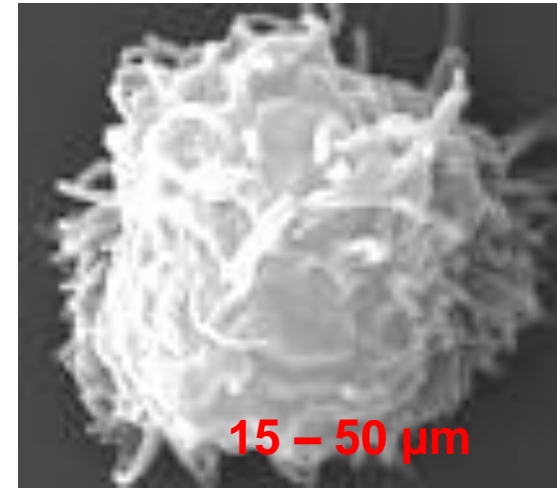
Rod: *Acanthamoeba*

*Acanthamoeba polyphaga*

*Acanthamoeba castelanii*

*Acanthamoeba griffin*

*Acanthamoeba lenticulata*



*Cafeteria roenbergensis*

(mořský bičíkovec)



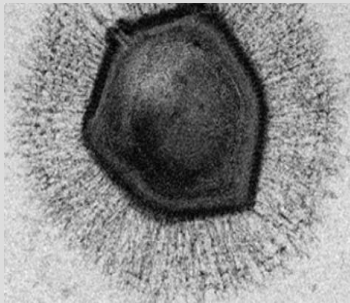
Izolace z lidské krve z makrofágů, myší z intrakardiální infekce a z larvy mouchy pestřenky.

# Čtyři skupiny gigantických virů

Viry izolované z vody a sedimentů

## Mimiviry

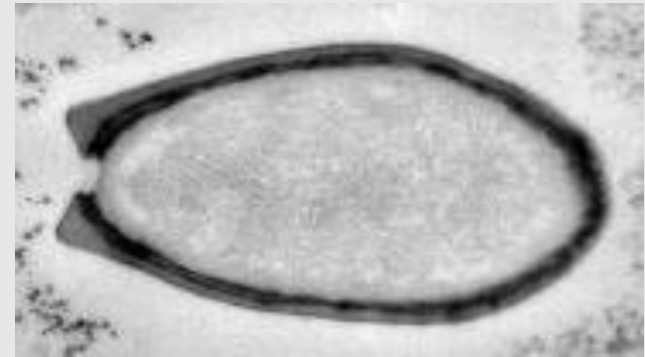
virion-**pseudoikozaedr**  
(600 nm)



LdsDNA genom  
70 % AT párů

## Pandoraviry

virion - **tvár ovoidní**  
(1000 nm)



LdsDNA genom  
65 % GC párů

# Viry izolované z permafrostu

## Pitoviry

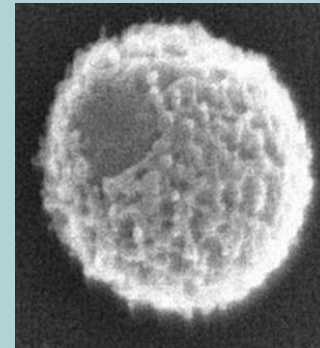
viriony - tvar **amfory**  
(1500 nm)



CdsDNA genom  
64% AT párů

## Moliviry

viriony - tvar **ovoidní**  
(600 nm)



LdsDNA genom  
65 %GC párů

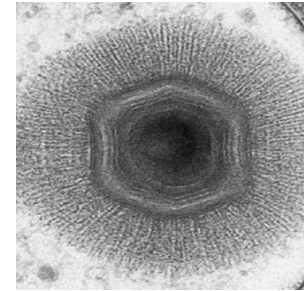
# Taxonomie: 1. třída: Řád: „*Megavirales*“

## Čeď: *Mimiviridae*

Rod: *Mimivirus*,

Druh: *Acanthamoeba polyphaga mimivirus* (APMV)

Druh: *Samba virus* (SMBV)



Rod: *Cafeteriavirus*,

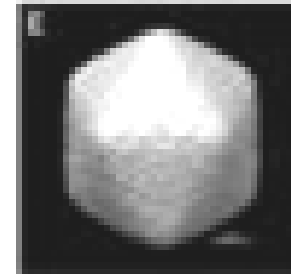
Druh: *Cafeteria roenbergensis virus*

## Čeď: *Marseilleviridae*

Rod: *Marseillevirus*

Druh: *Marseillevirus marseillevirus*

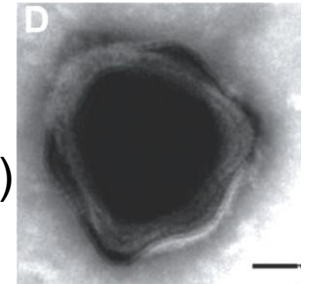
Druh: *Senegalvirus marseillevirus* (člověk, stolice)



Rod: *Nezařazeny*

Druh: *Acanthamoeba castellanii lausannevirus* (ACLaV)

Druh: *Tunisvirus*



Rod: *Megavirus*

Druh: *Megavirus chilensis*



# Taxonomie: pokračování

Čeled': „*Pandoraviridae*“

Rod: „*Pandoravirus*“

Druh: *Pandoravirus salinus*

Druh : *Pandoravirus dulcis*

Rod: *Nezařazeny*

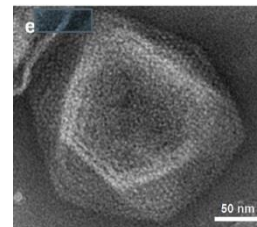
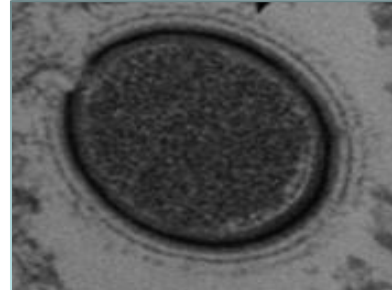
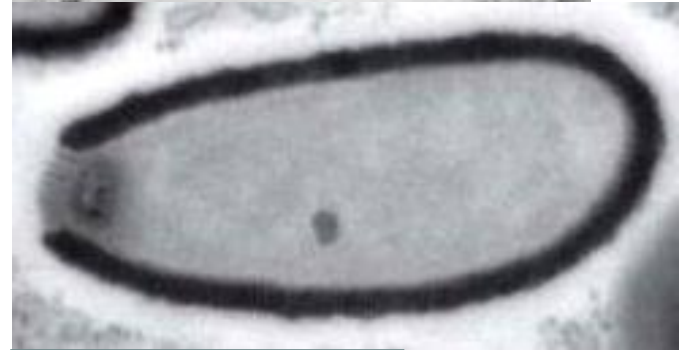
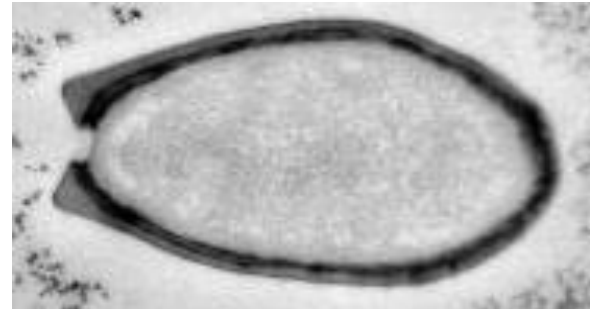
Druh: *Pithovirus sibericum*

Rod: *Nezařazeny*

Druh: *Mollivirus*

Rod: *Nezařazeny*

Druh: *Faustovirus*





# Popis gigantických virů v čase

Mimiviry



Virofágy



Marseileviry



Pandoraviry



Pitoviry

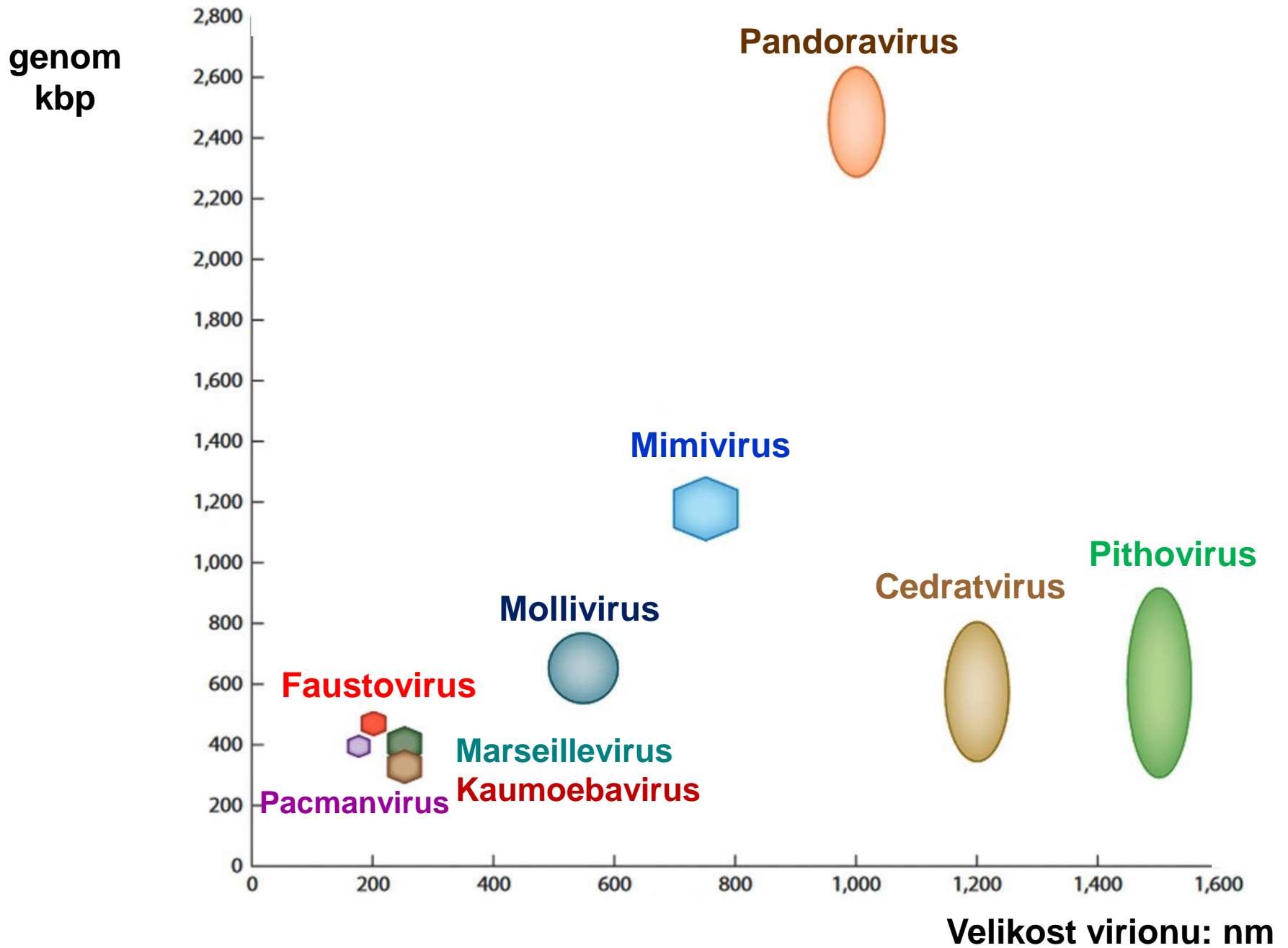


Faustoviry



Moliviry





# Charakteristika gigantických virů

<b>Virus</b>	<b>Velikost virionu (nm)</b>	<b>Velikost genomu (kbp)</b>	<b>Počet proteinů</b>
<i>Pandoravirus salinus</i>	<b>1 200</b>	<b>2774</b>	<b>2541</b>
<i>Megavirus chilensis</i>	<b>440</b>	<b>1259</b>	<b>1120</b>
<i>Mamavirus</i>	<b>800</b>	<b>1192</b>	<b>1023</b>
<i>Mimivirus</i>	<b>800</b>	<b>1181</b>	<b>979</b>
<i>Samba virus</i>	<b>574</b>	<b>1214</b>	<b>930</b>
<i>Moumouvirus</i>	<b>800</b>	<b>1021</b>	<b>894</b>
<i>Cafeteria roenbergensis virus</i>	<b>800</b>	<b>730</b>	<b>544</b>
<i>Pithovirus sibericum</i>	<b>1 500</b>	<b>610*</b>	<b>497</b>
<i>Mollivirus sibericum</i>	<b>600</b>	<b>650</b>	<b>523</b>
<i>Marseillevirus</i>	<b>250</b>	<b>368 - 700</b>	<b>428</b>
<i>Faustovirus</i>	<b>250</b>	<b>460*</b>	<b>?</b>

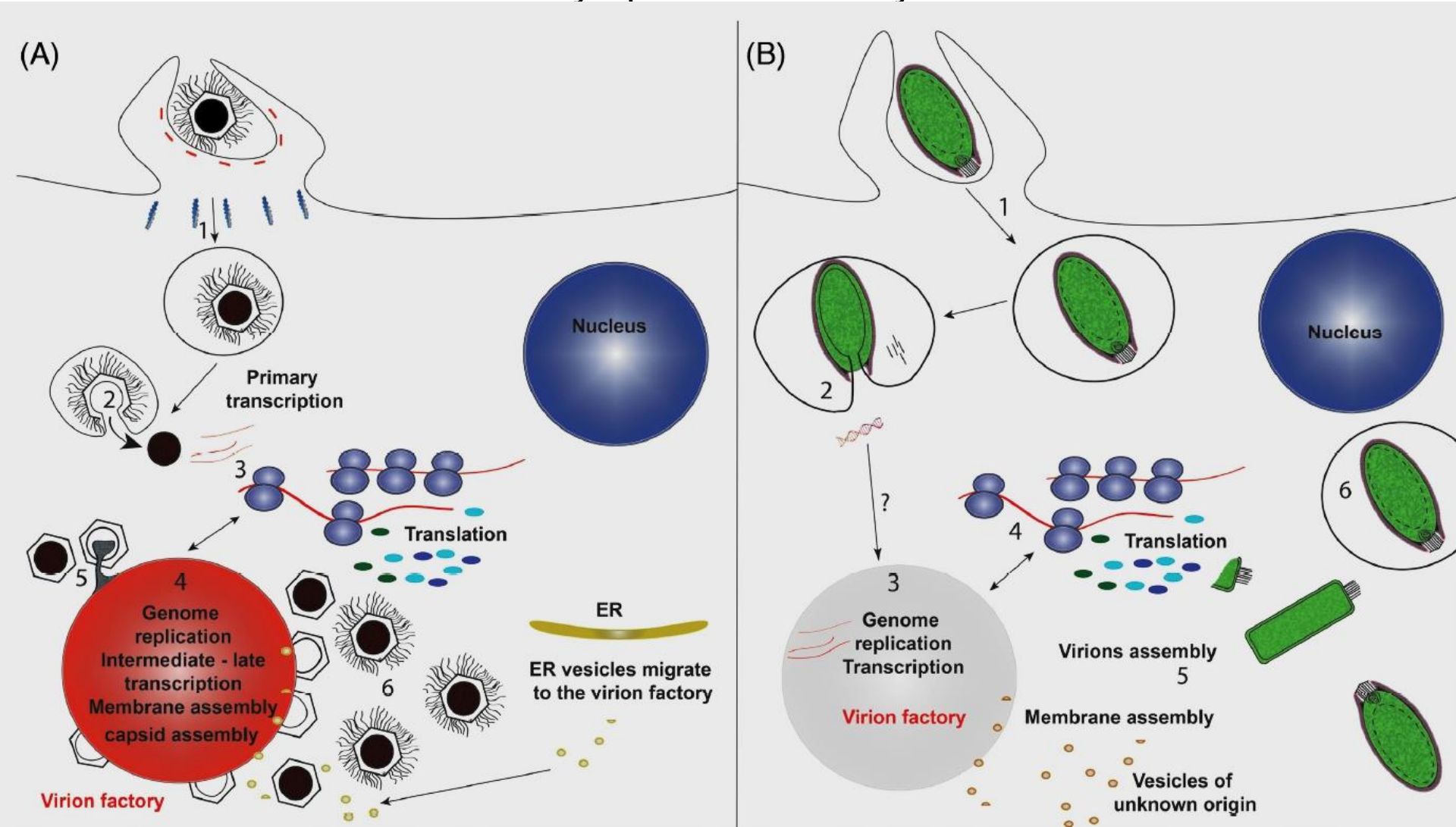
\* Cds DNA

# Životní cyklus

## Mimiviry

## cytoplasmatické viry

## Pitoviry

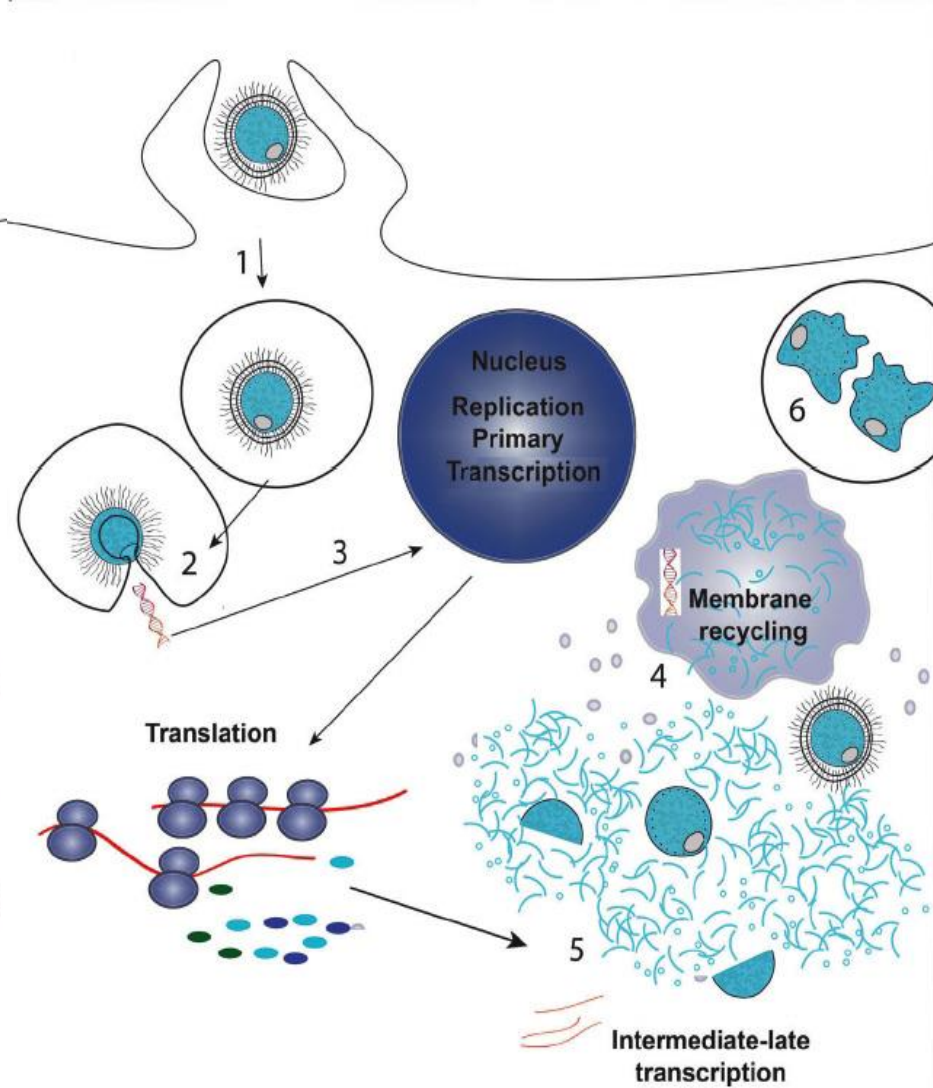
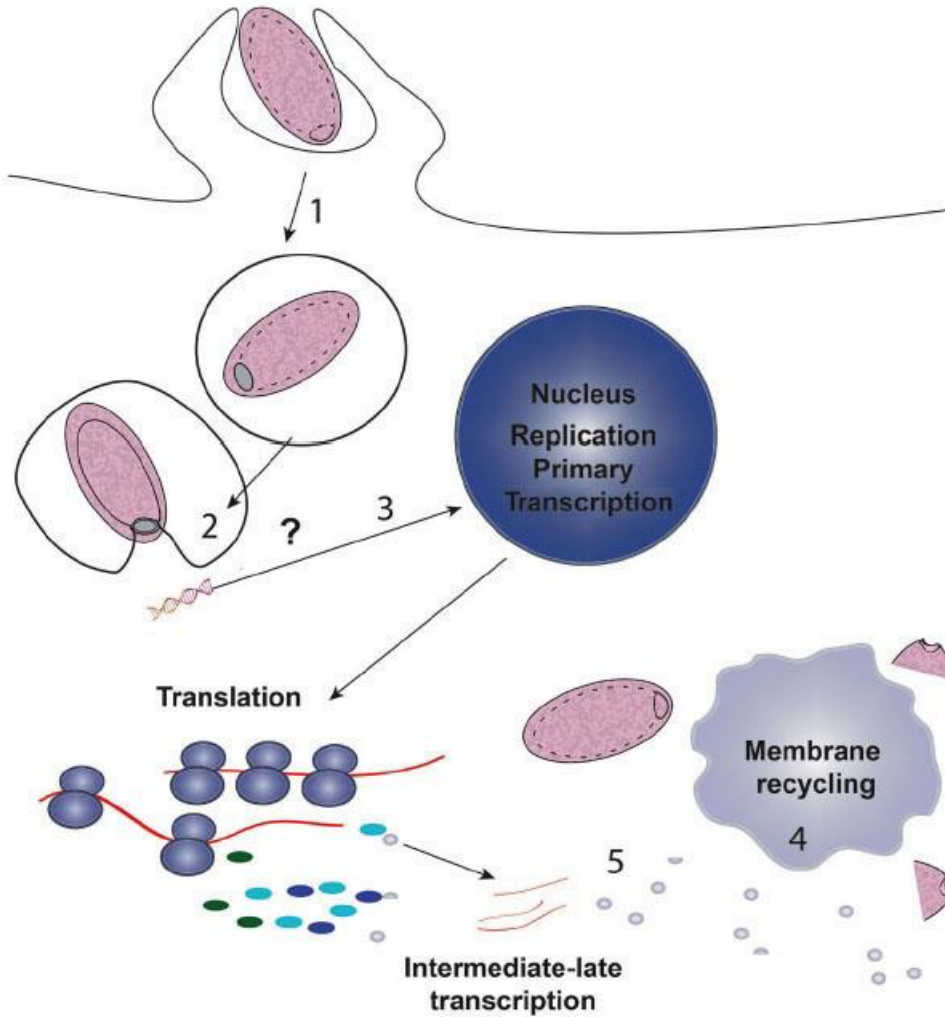


# Životní cyklus

## Pandoraviry

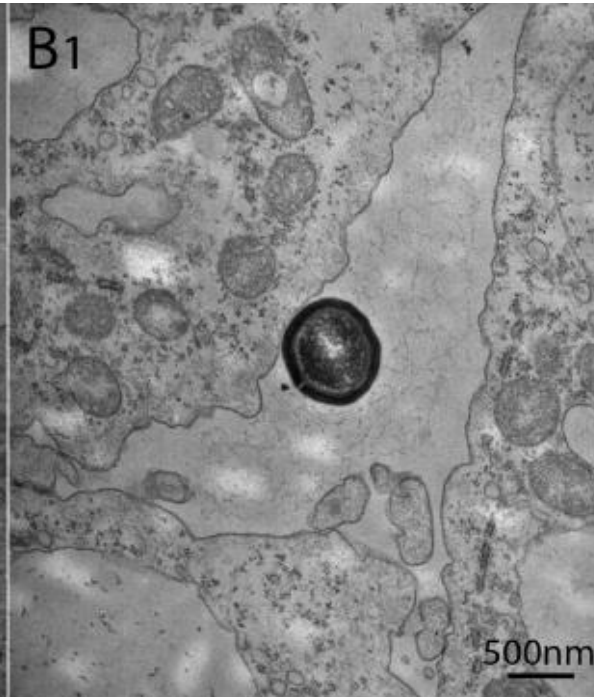
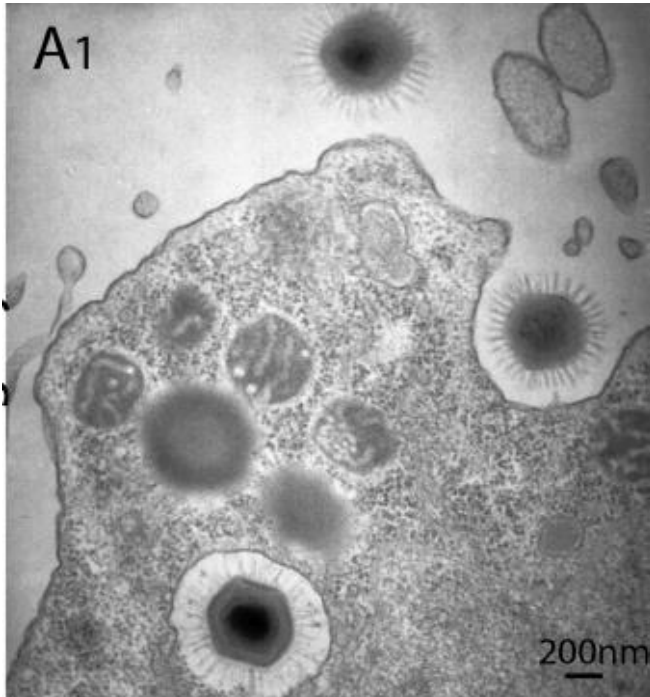
nukleocytoplasmatické viry

## Moliviry

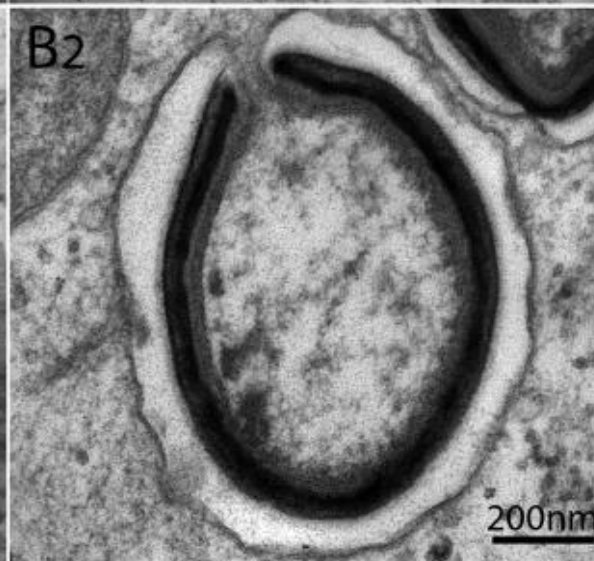
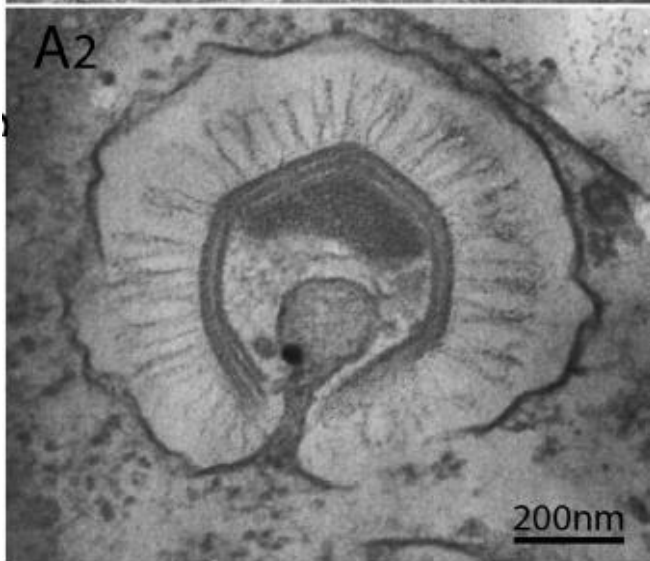


*Mimiviridae*

*Pandoraviridae*



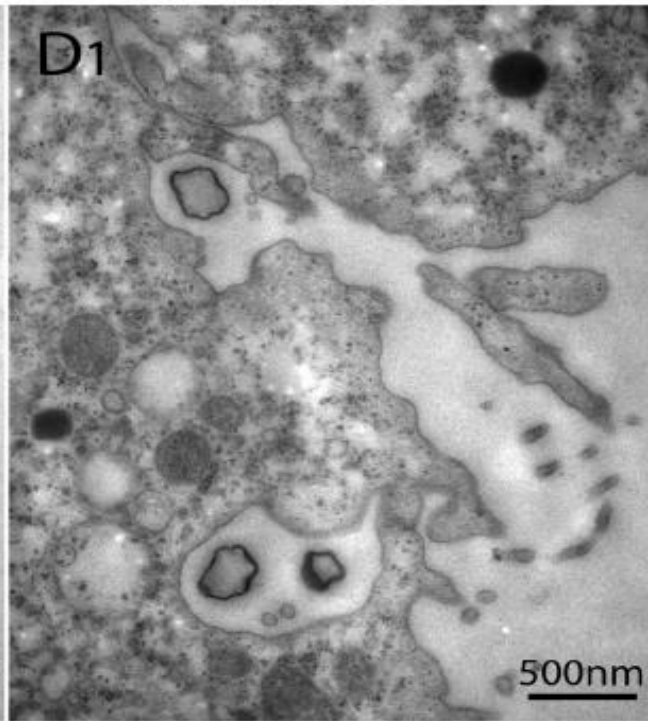
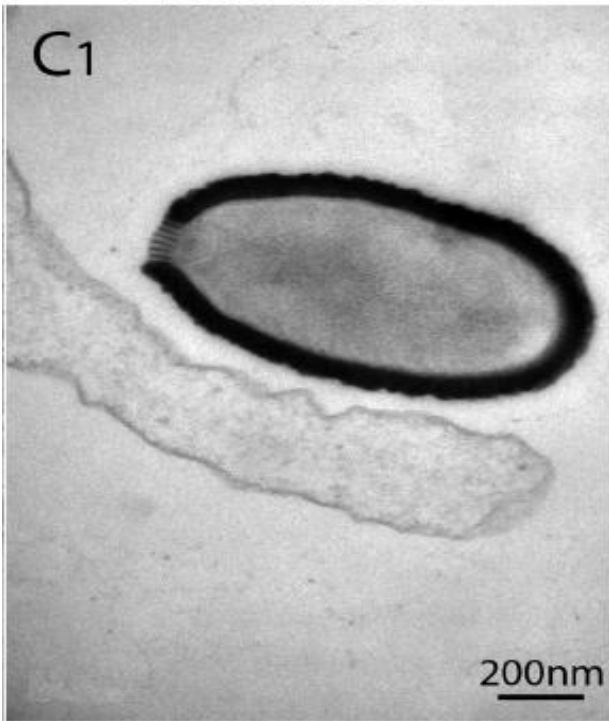
**fagocytóza**



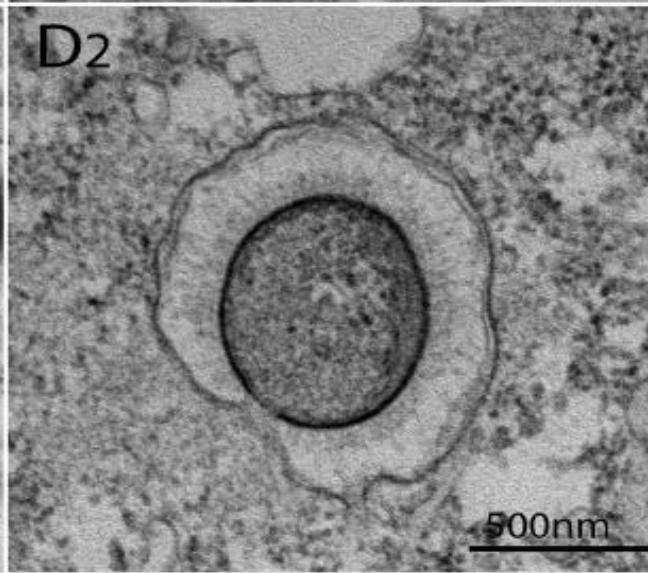
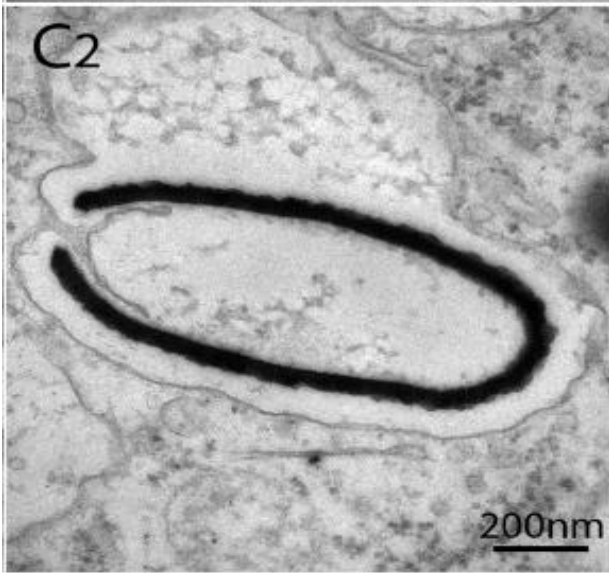
**Vypouštění DNA**

# Pithovirus

# Mollivirus

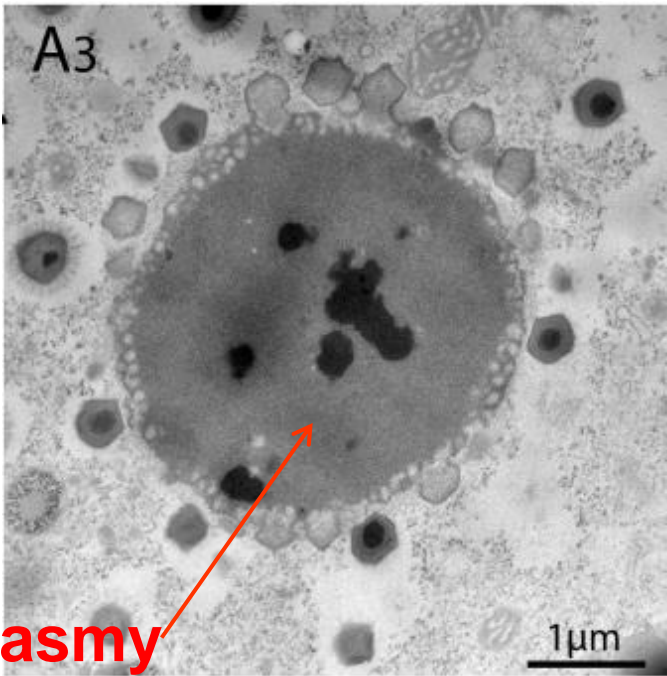


**fagocytóza**

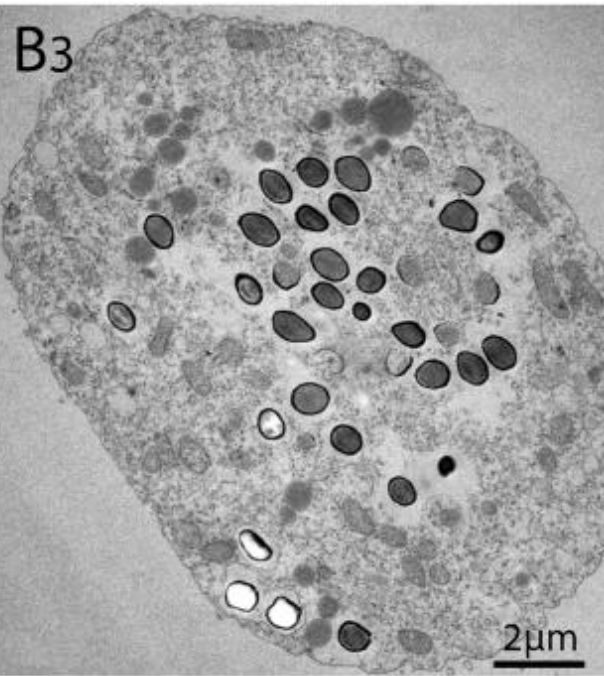


**vypouštění  
DNA**

Mimi

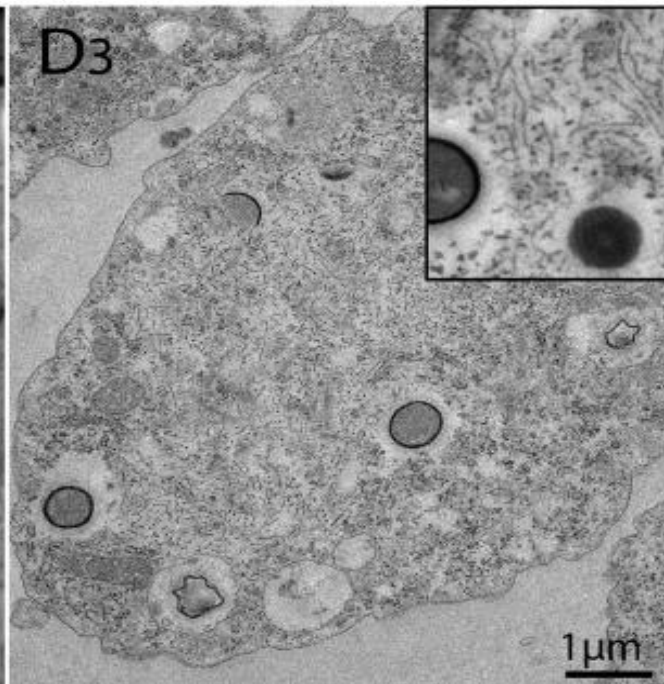
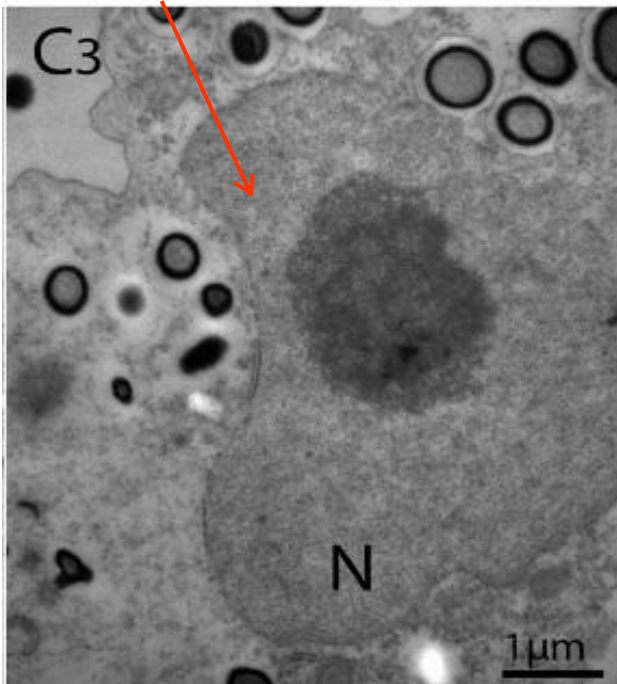


viroplasm



Pandora

Pitho



Molli

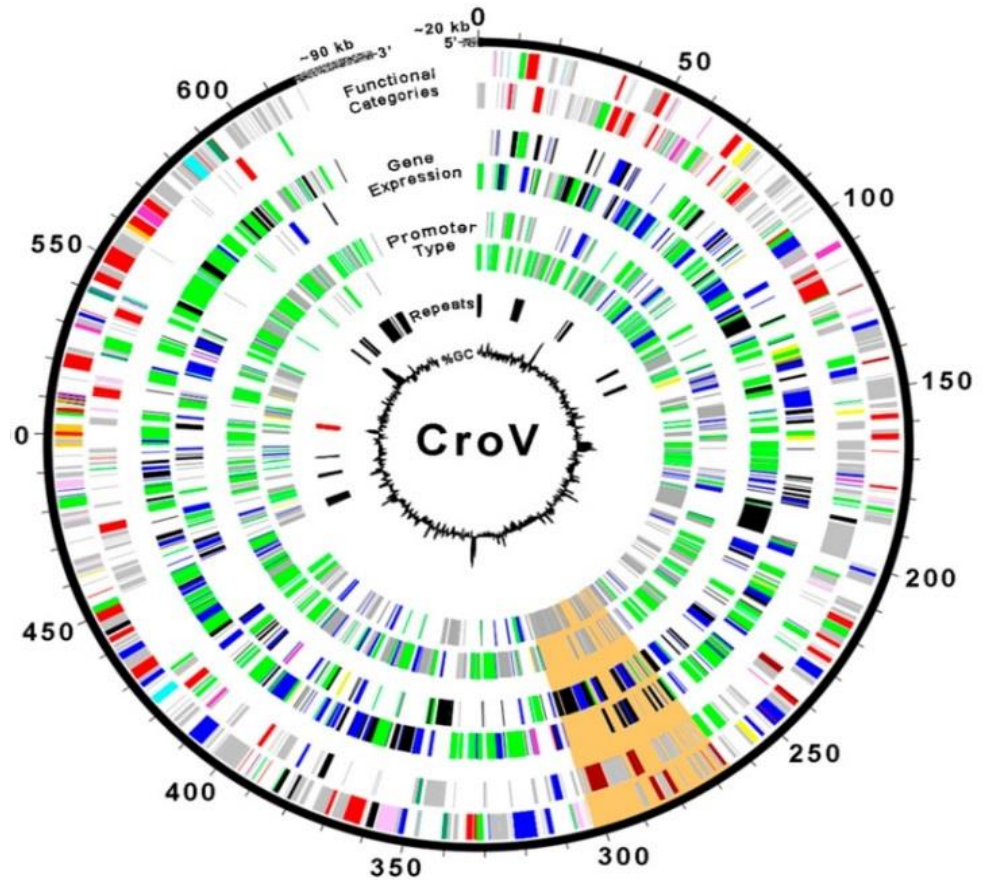


# Genomy girů

<b>Virus</b>	<b>Genom (kb)</b>	<b>G+C %</b>	<b>Geny počet</b>	<b>ORFans %</b>
<b><i>Pandoravirus</i></b>	2770	64	2556	84
<b><i>Mimivirus</i></b>	1182	28	1018	76
<b><i>Mollivirus</i></b>	651	60	523	65
<b><i>Pithovirus</i></b>	610	36	467	67
<b><i>Faustovirus</i></b>	466	36	495	66
<b><i>Marseillevirus</i></b>	368	45	457	70

# Genomová mapa mimiviru

- Replikace, rekombinace, opravy
- Transkripce
- Translace
- Signální mechanismy
- Sestavování,
- Ochranné mechanismy
- Modifikace proteinů
- Struktura, maturace
- Transport uhlohydrátů a metabolitů
- Transport aminokyselin a metabolitů
- Transport nukleotidů
- Metabolismus koenzymů
- Neznámé funkce
- Neznámé funkce

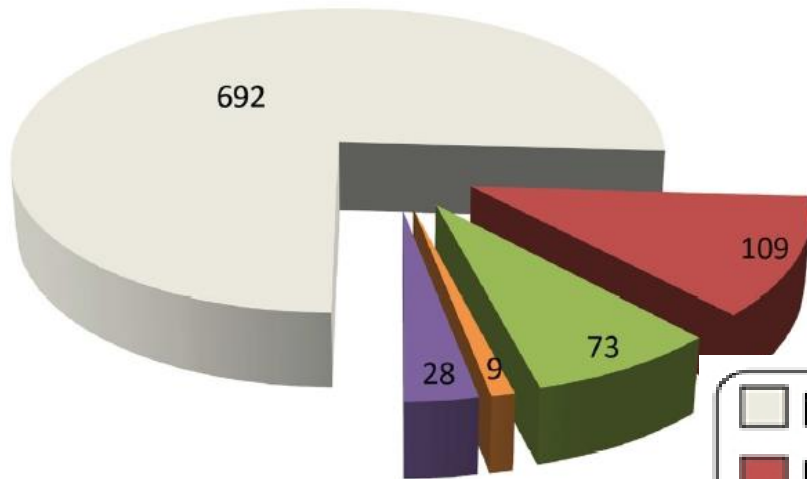


- Raná fáze exprese
- Pozdější fáze exprese
- Interakce s hostitelem
- Neznámá exprese
- Bez exprese

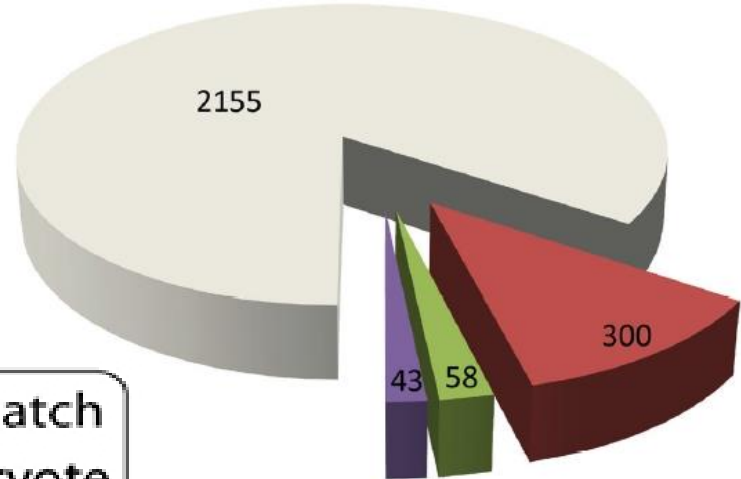
**Obsah genů pro tRNA**

# Proteiny girů – srovnání podobnosti s jinými organismy

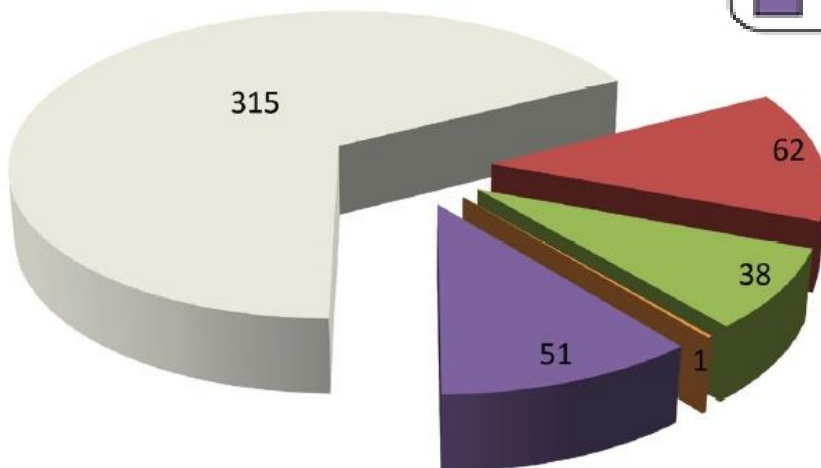
Mimivirus



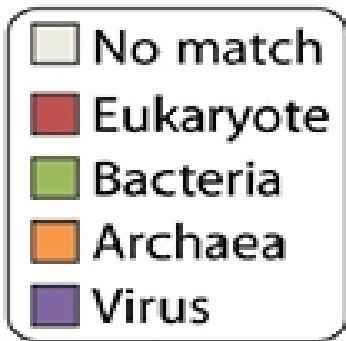
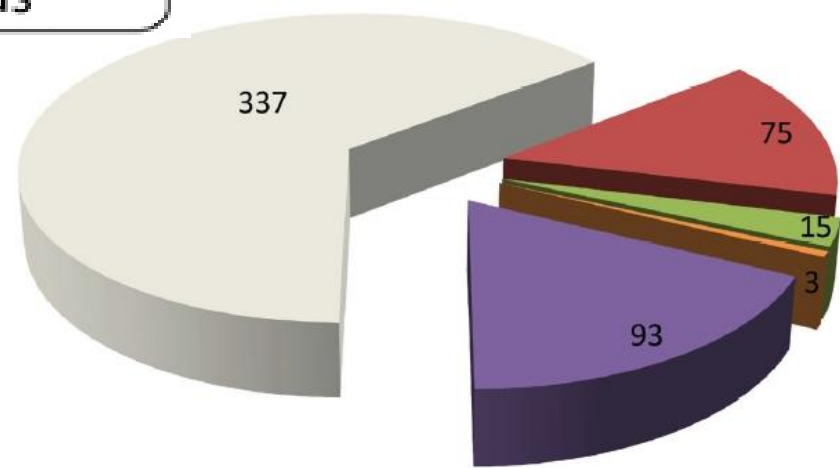
Pandoravirus



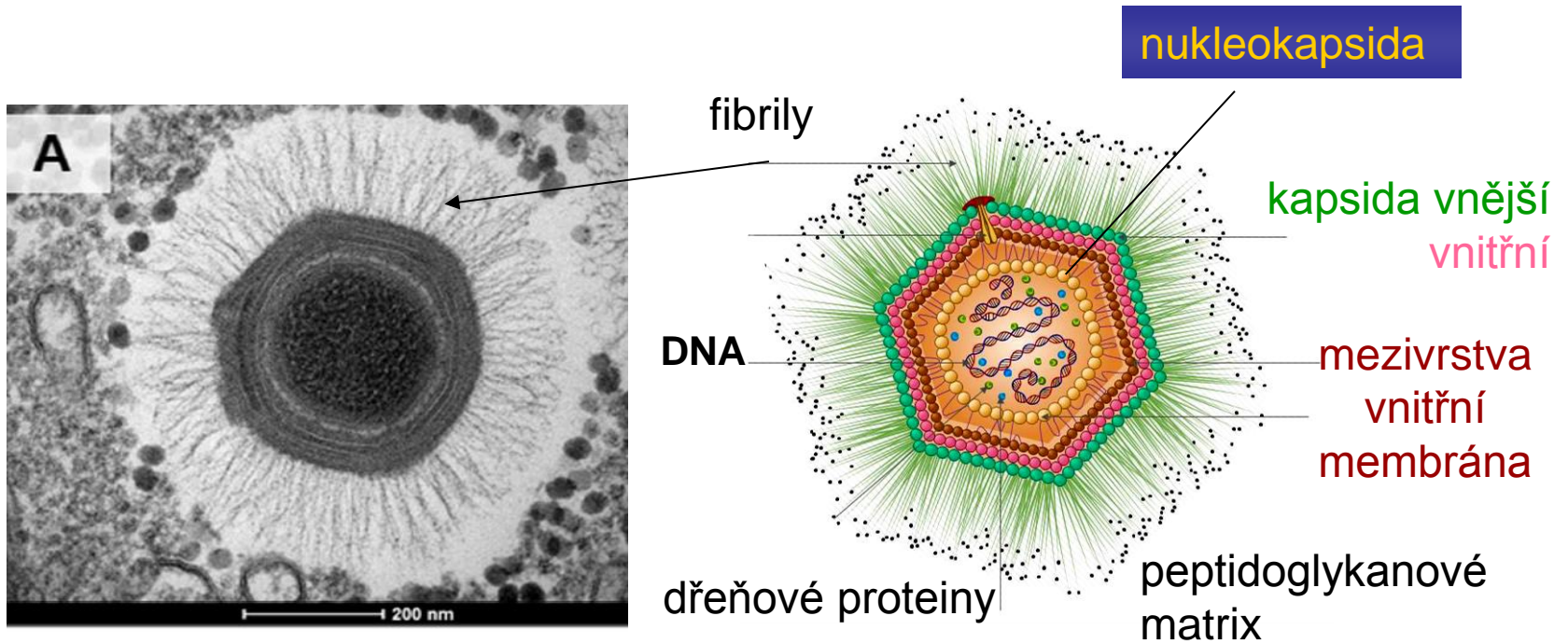
Pithovirus



Mollivirus



# *Acanthamoeba polyphaga* mimivirus (APMV)

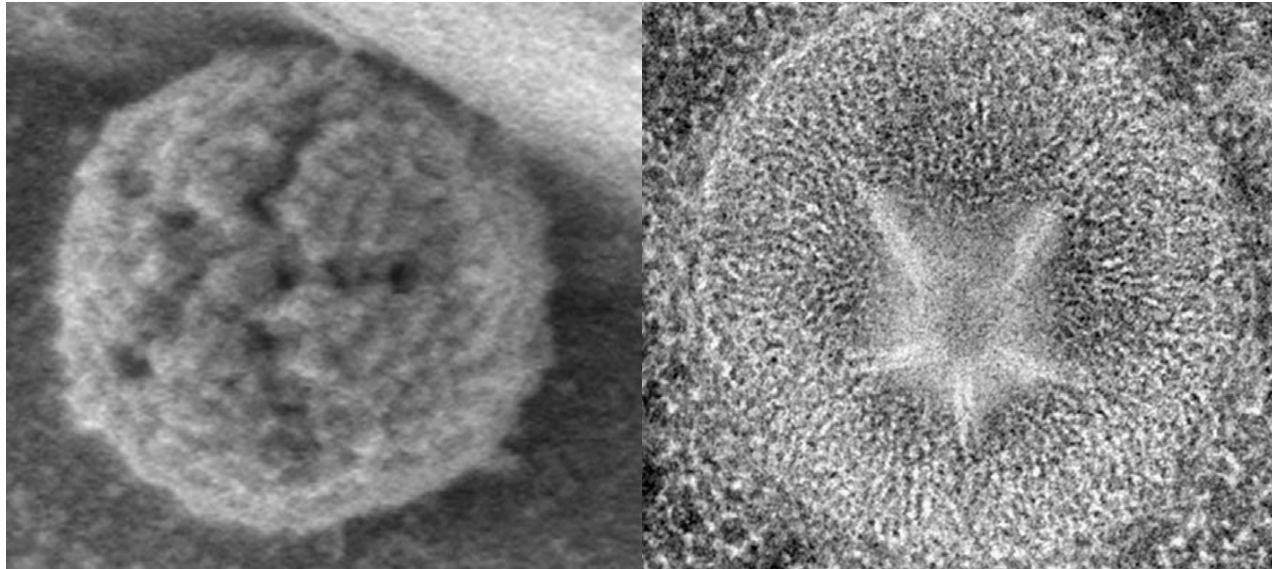


**Velikost kapsidy: 700 - 800 nm**

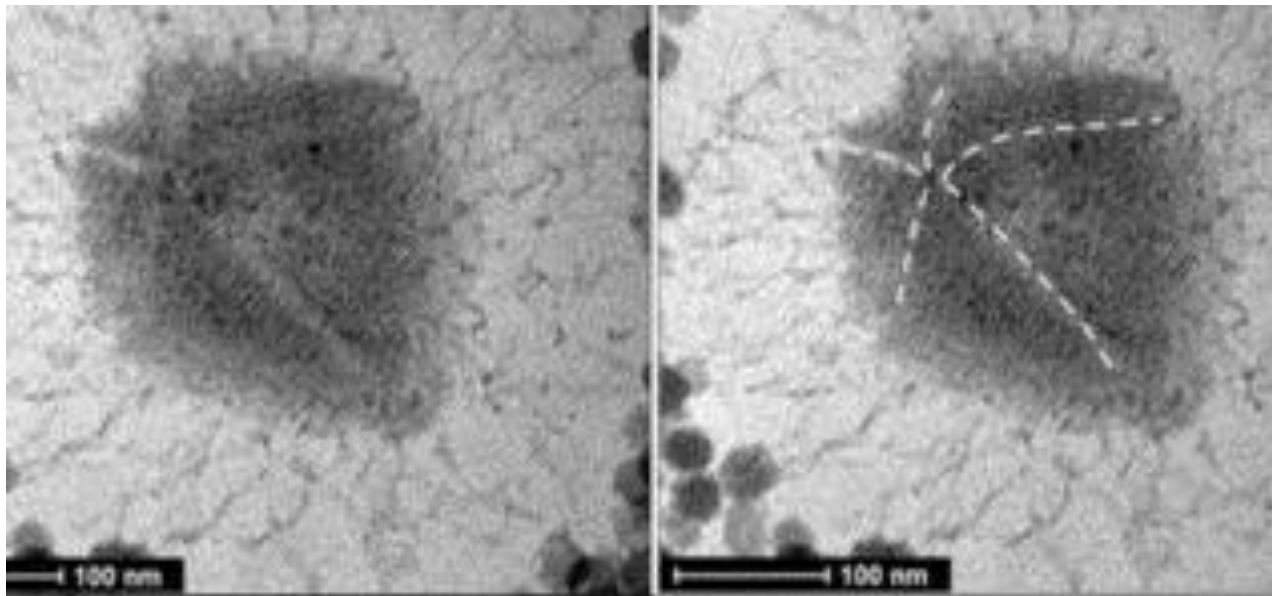
**Genom: LdsDNA: 1,2 Mbp**

# Struktura „star-gate“

AMPV



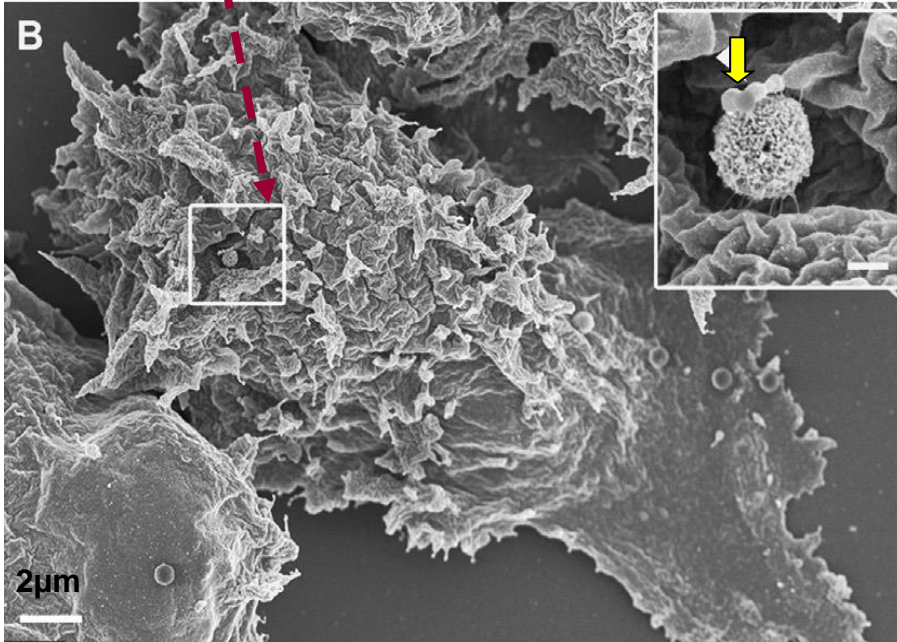
Samba  
virus



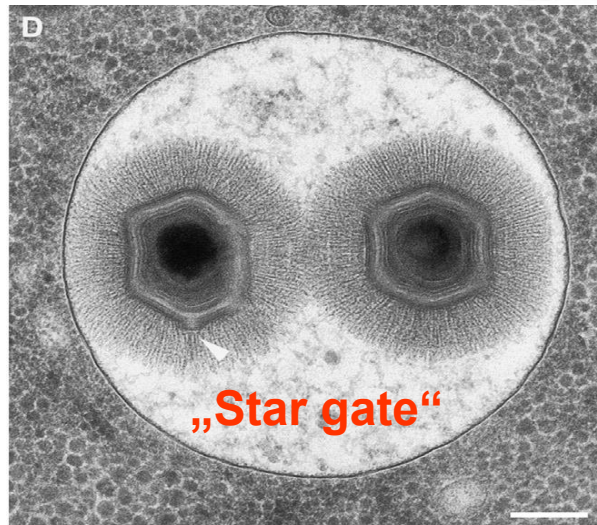
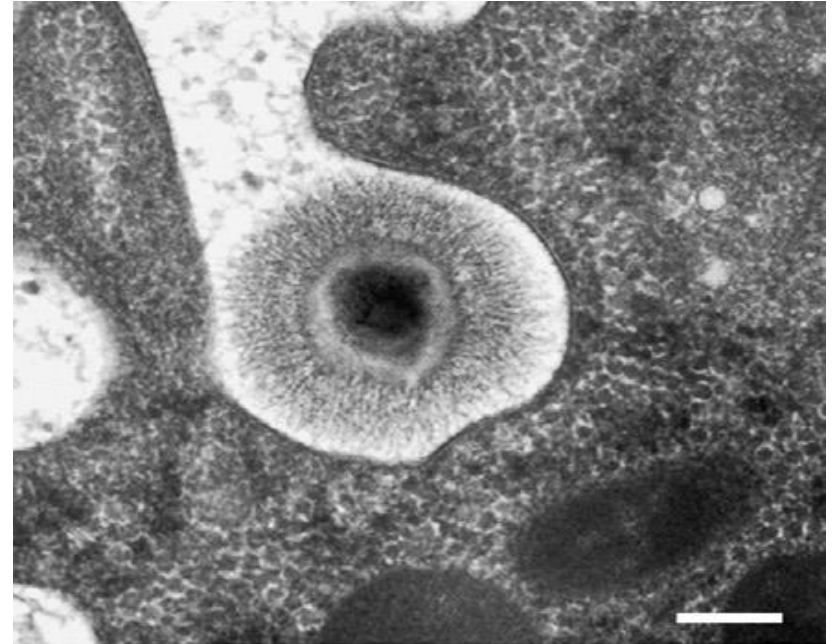
# Stadia infekce

## 1. Adsorpce

aktinové výčnělky

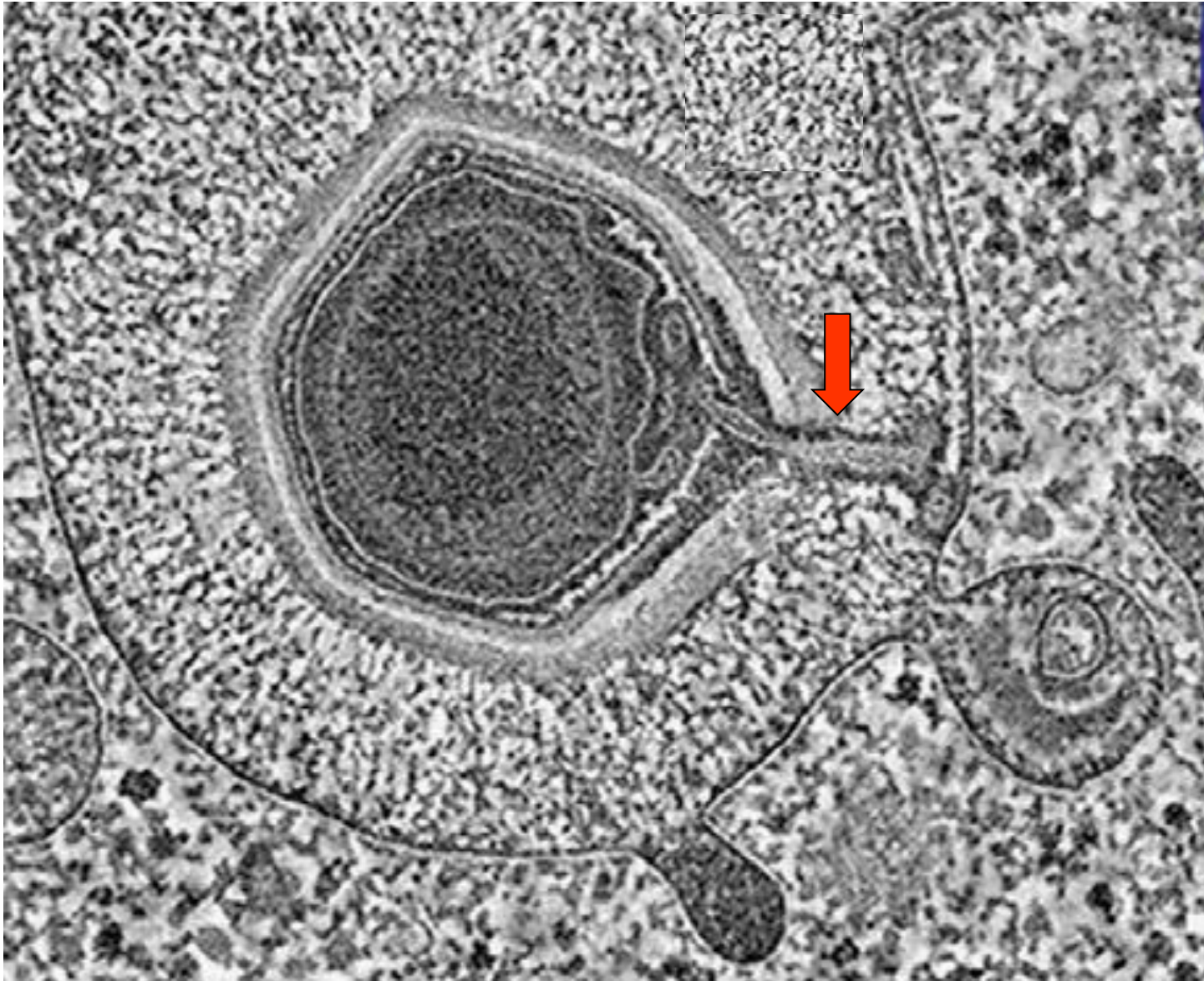


## 2. Fagocytóza



## 3. Virus ve fagosomu

## Uvolnění DNA ze subvirové částice do cytoplasmy



# LdsDNA genom mimiviru



vysoký obsah AT (70 %)

**90 % genů** má kódující funkci  
**10 %** jsou přídatné DNA sekvence.

Některé geny mají protějšky u bakterií, archeí, eukaryí a virů.

Asi **911** genů kóduje proteiny, mající funkci v reprodukci viru, opravě DNA, a funkci v metabolismu aminokyselin, cukrů a lipidů..

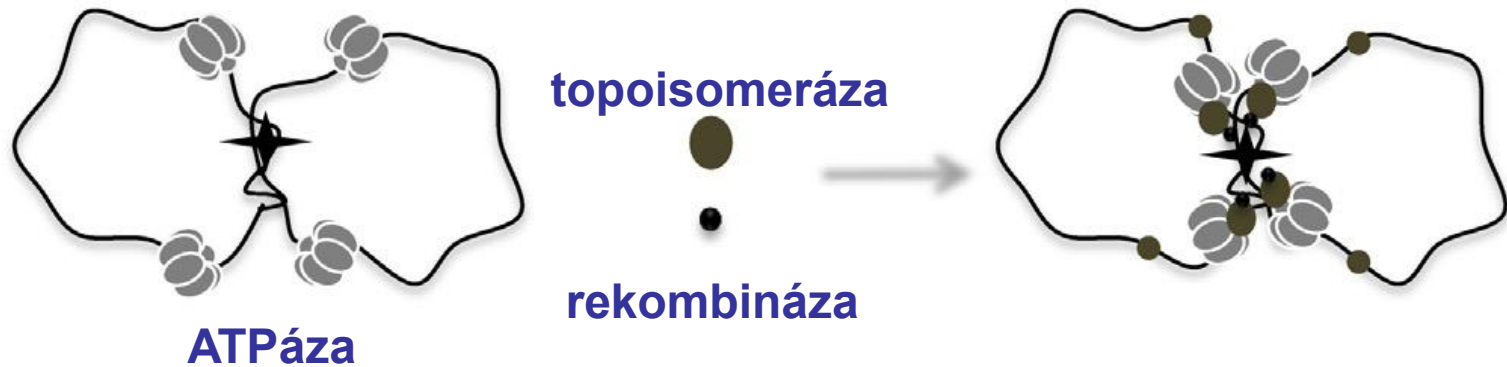
**Transkripce** probíhá ve třech fázích exprese:

- brzké rané fázi
- pozdější rané fázi
- pozdní fázi



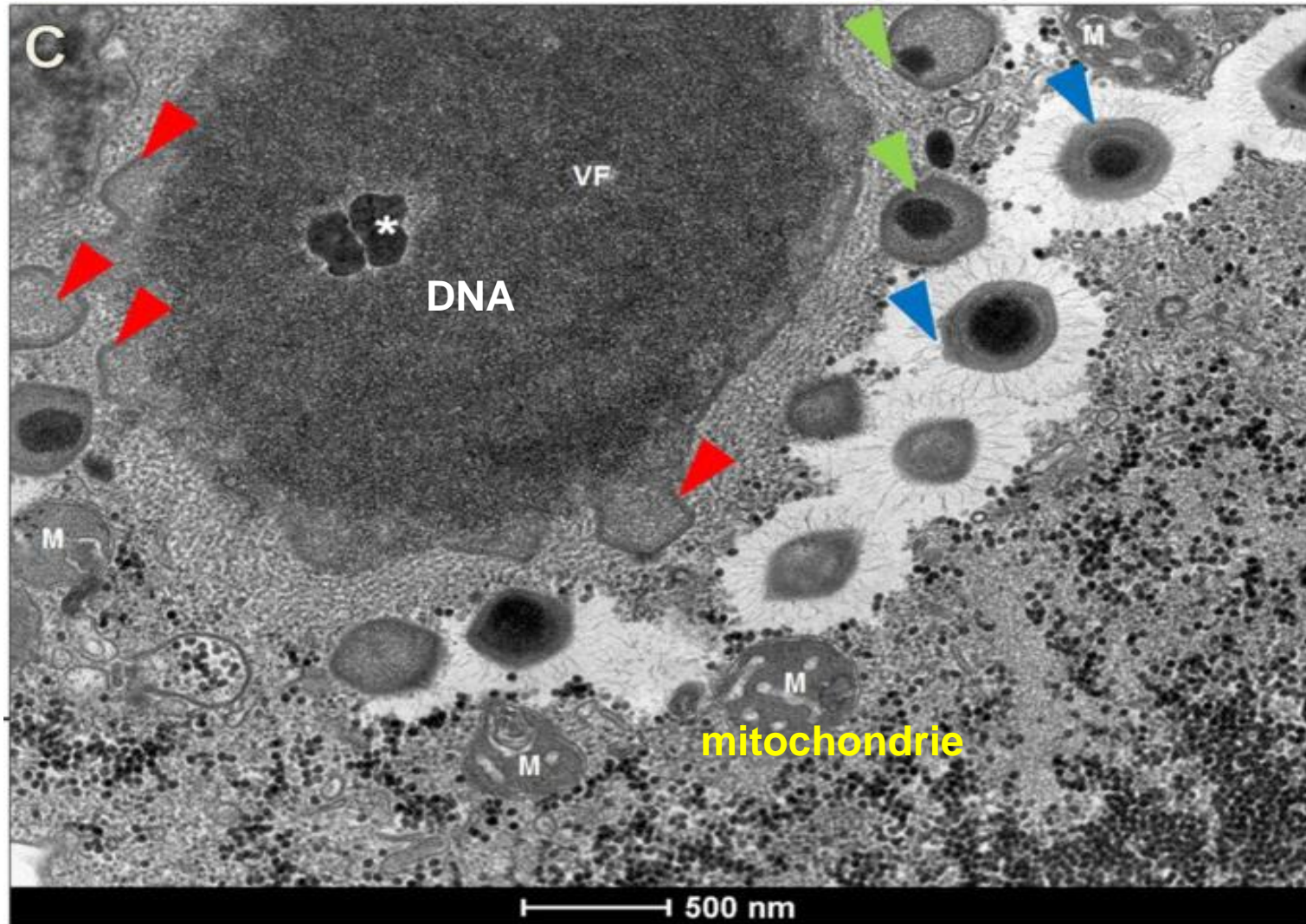
# Replikace genomu probíhá výlučně v cytoplasmě

*podobný mechanismus je u poxvirů*



# Replikační centrum

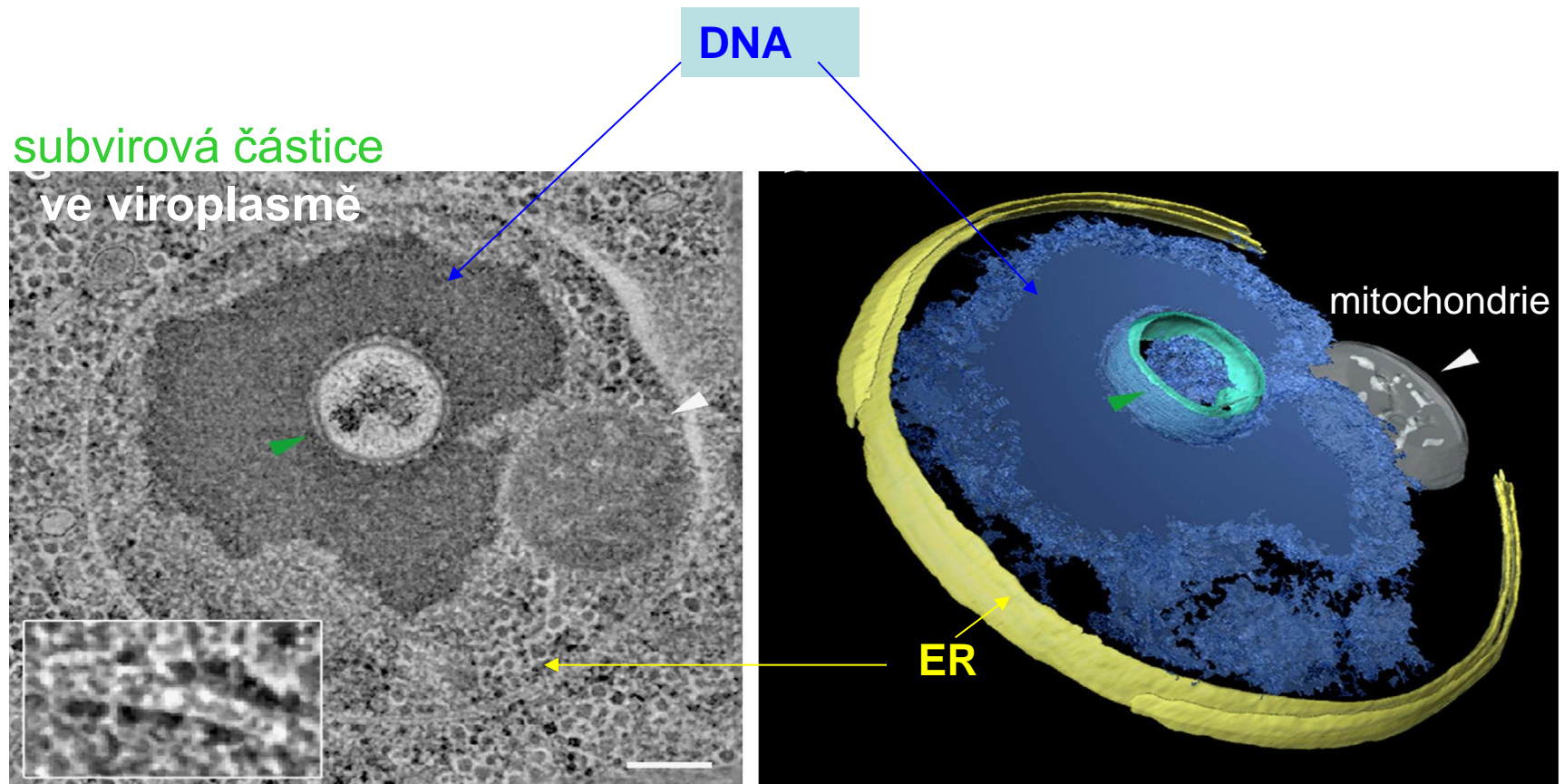
Viroplasma („virus factory“ (VF))



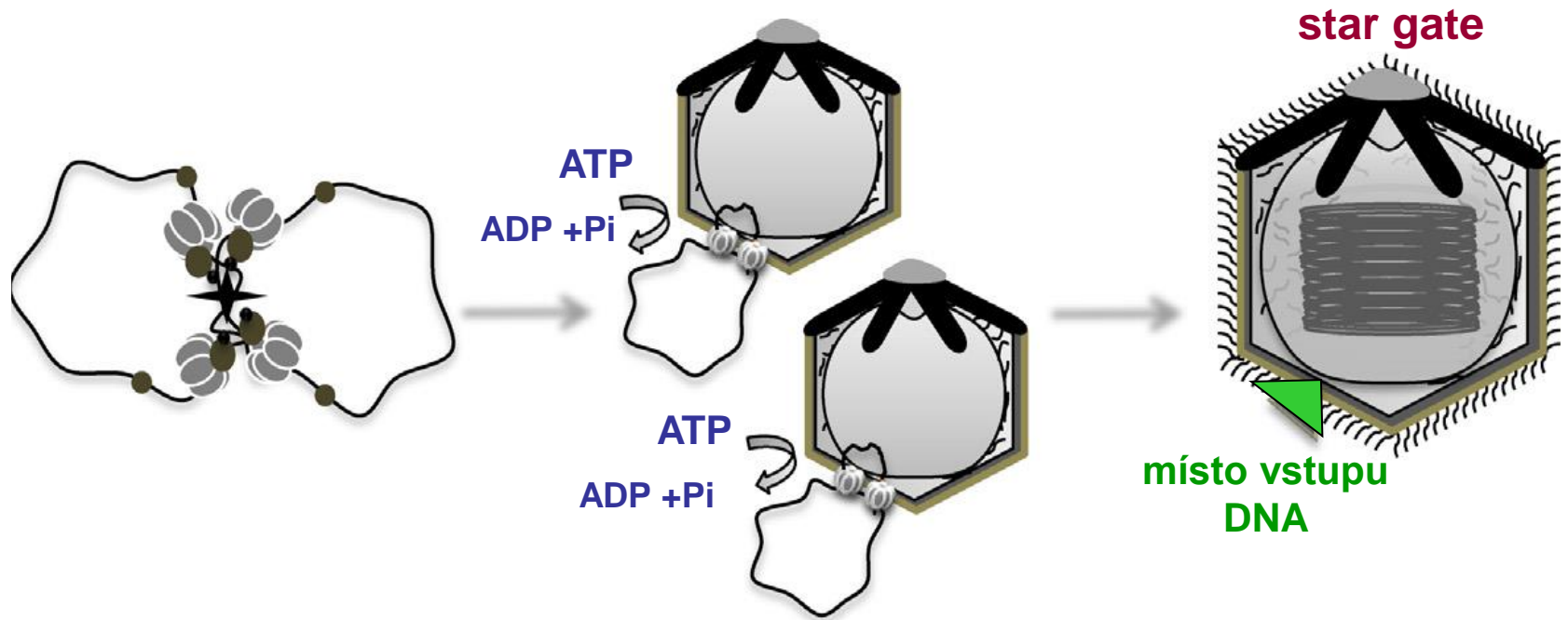
morfogeneze - **raná**; **pozdější raná**; **pozdní**

# Sestavování virionů

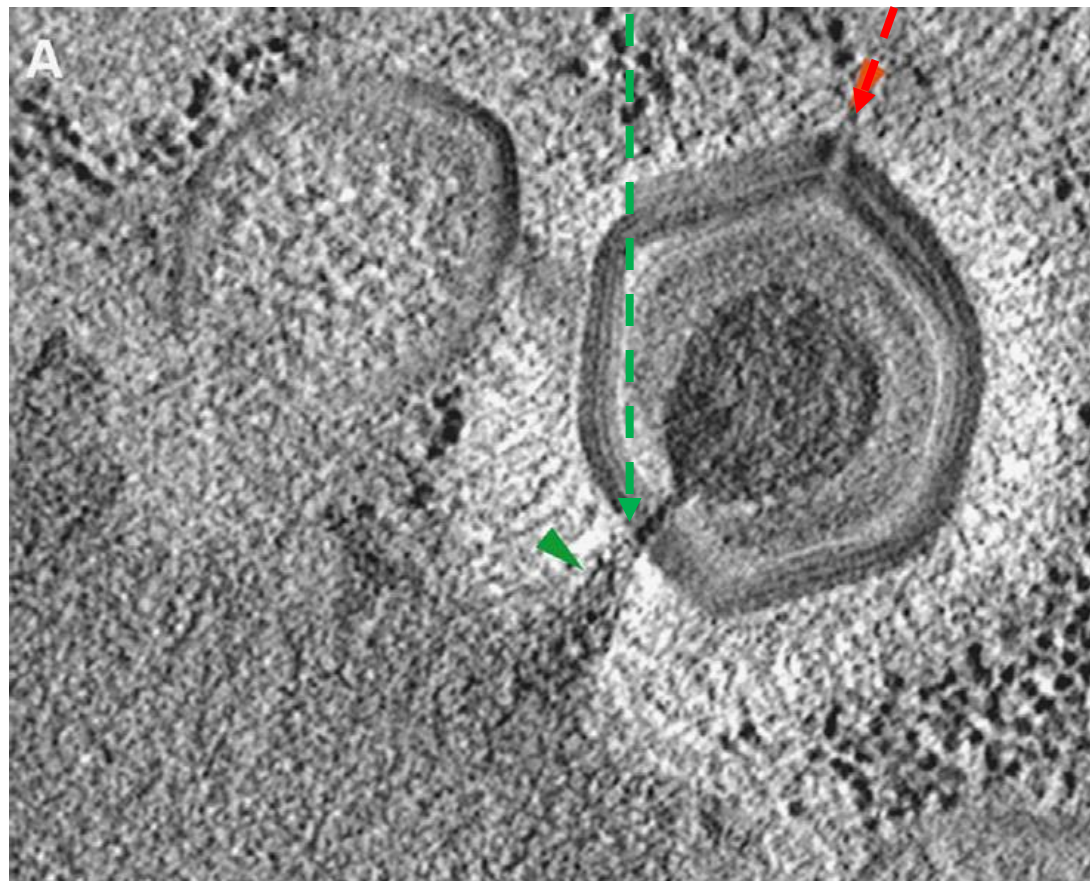
- drsné endoplasmatické retikulum –  
zdroj vnitřní membrány pod vrstvou kapsidového proteinu



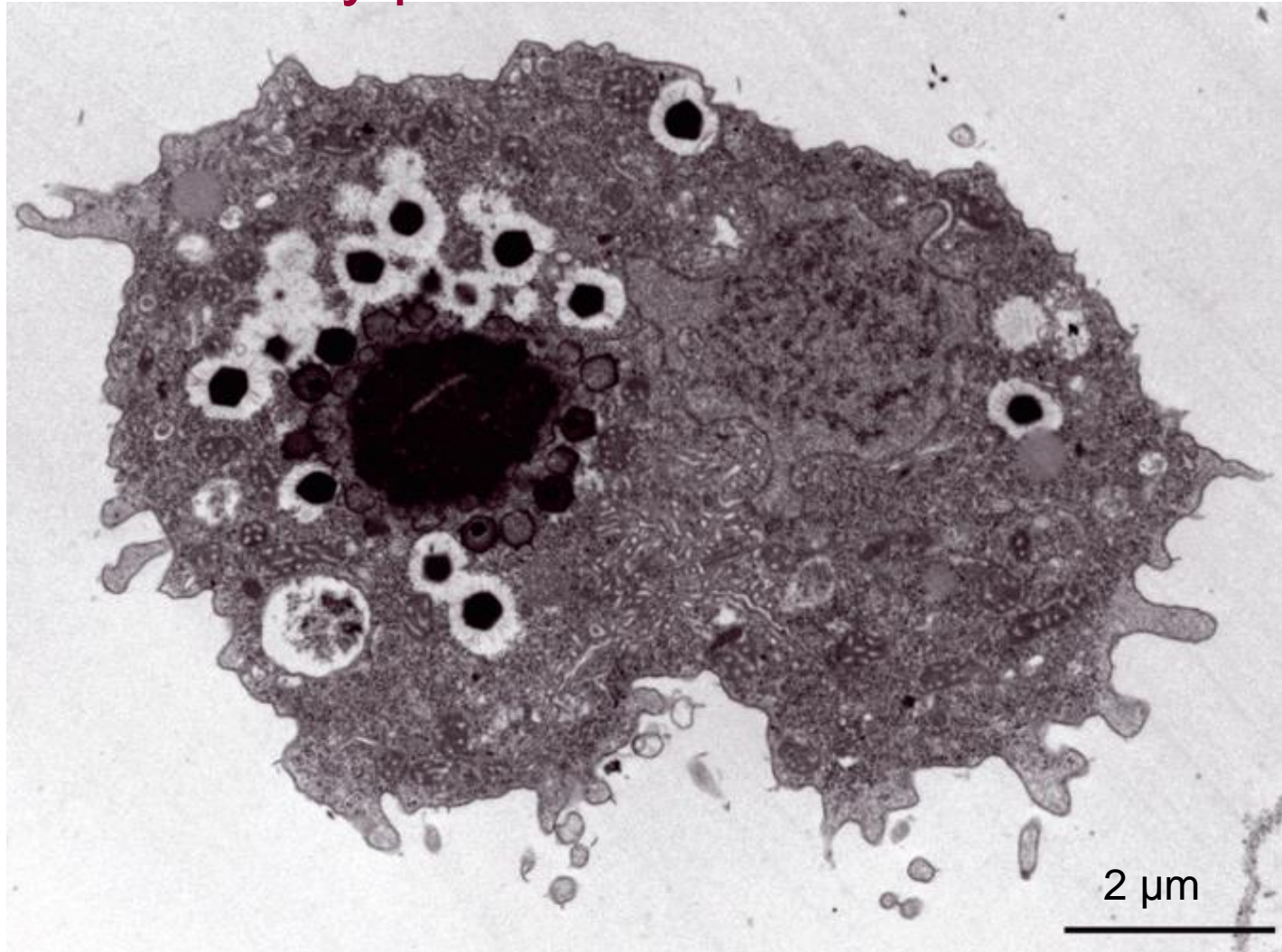
# Vstup DNA do virionů



Vstup DNA do virové částice – jiným otvorem než je „star gate“



## Viriony před uvolněním z hostitele



Titr je  $\sim 10^4$  virionů v 1 mL

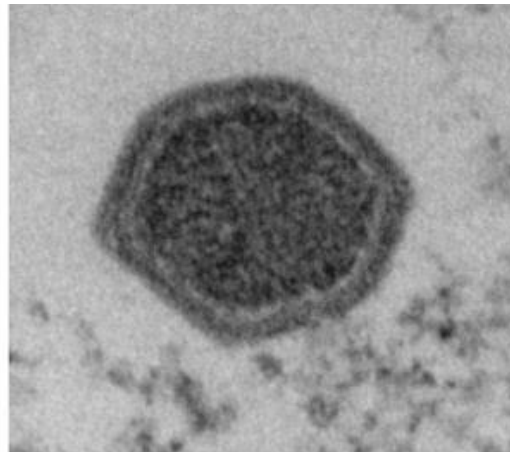
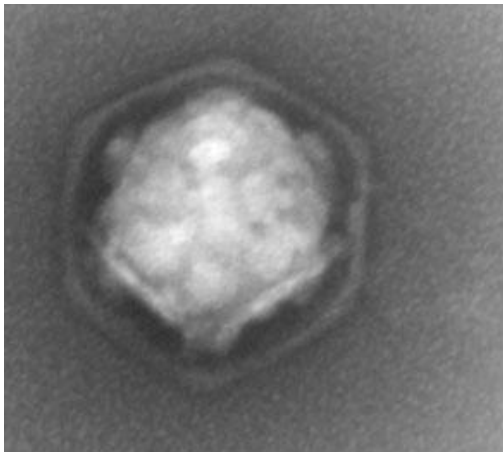
Čeľad': ***Marseilleviridae*** Rod: ***Marseillevirus***

Typový druh: *Marseillevirus marseillevirus*

Virion o průměru 250 nm

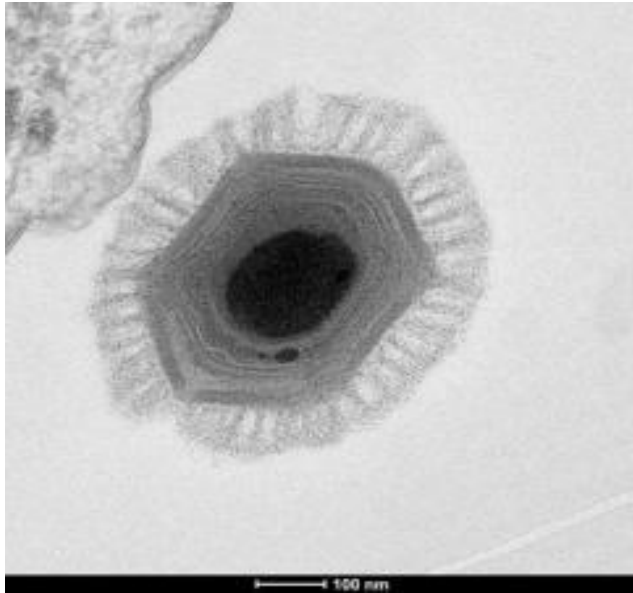
genom Lds DNA - 736 kbp

100 nm



*Acanthamoeba castellanii lausannevirus*

# *Megavirus chilensis*



Las Cruces – Chile v 2010

V 2010 nález v mořské vodě - kultivace v *Acanthamoeba*:

Genom: 1 259 kbp,

Kapsida: 440 nm s 1120 proteiny

258 genů megaviru nemá v genomu mimiviru žádné homology



# Pandoraviry

**Nález v  
mořském  
sedimentu  
v Chile**

**a v bahně  
řeky v  
Austrálii**



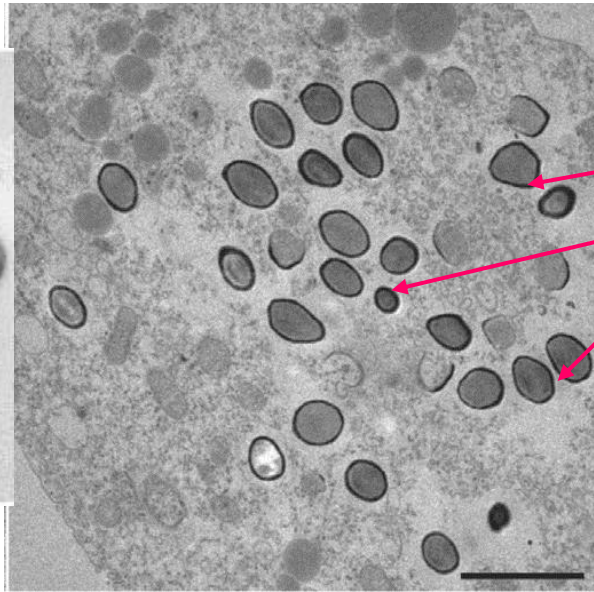
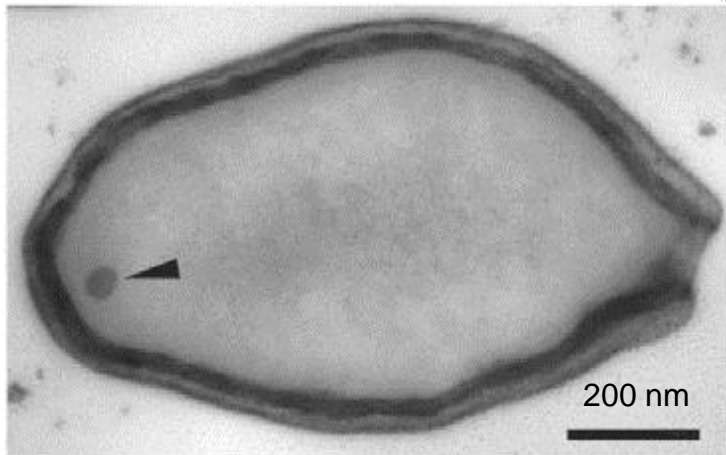
Jean Michel Claverie

***Původ pandoravirů - vznikly z buněčných struktur, které už neexistují***

Čeleď: ***Pandoraviridae***

Rod: ***Pandoravirus***

Typový druh: *Pandoravirus salinus*



Různá stadia  
maturace  
pandoraviru  
v  
***Acanthamoeba  
castellanii***

Druh: *Pandoravirus dulcis*

# *Pandoravirus salinus*



Velikost virionu: 1 000 nm

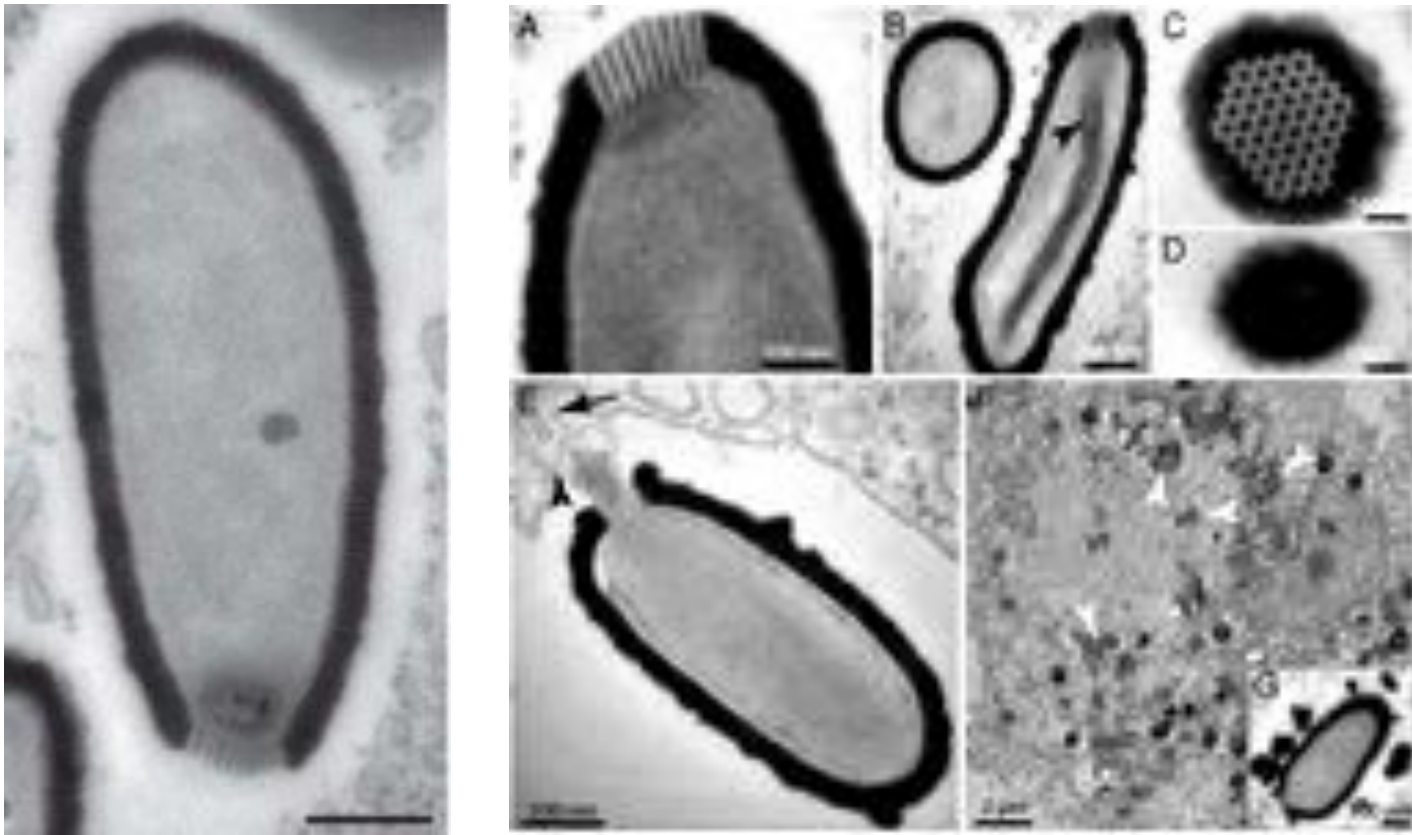
**Velikost LdsDNA genomu: 2,5 milionů párů bází**, obsahuje více než 2,5 tisíce genů kódujících proteiny

Pouhých 6 procent z 2 556 proteinových genů chilského pandoraviru má nějakou souvislost s geny z jiných známých organismů

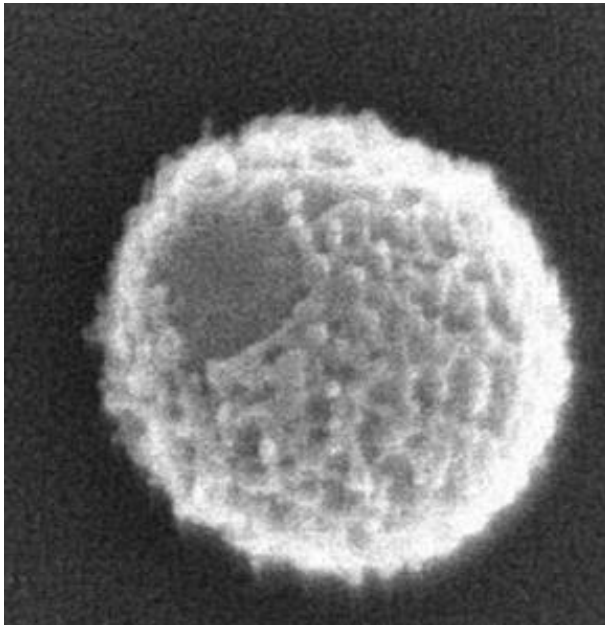
# *Pithovirus sibericum* (izolát z permafrostu)

Velikost virionu 1500 nm

Velikost Cds DNA genomu 600 kb



# *Mollivirus sibericum*



Izolace v permafrostu na Sibiři

Velikost: 500 nm

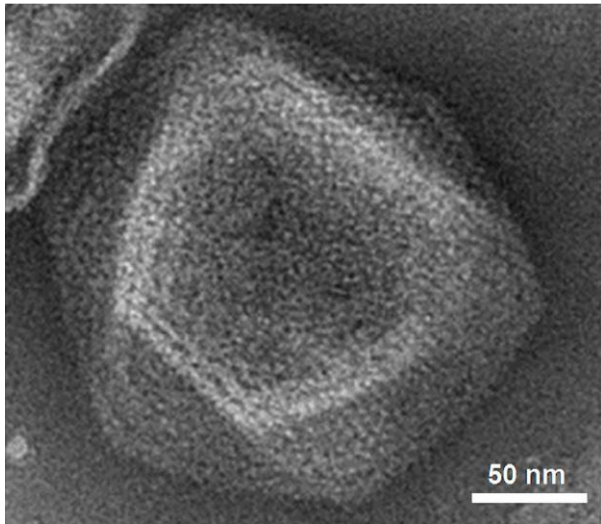
Genom: Lds DNA (652 kbp)

520 genů - 2/3 ORFanů

4 % genů má introny

230 proteinů je ve virionu

# *Faustovirus*



Popis v letech 2014 – 2015

Izolace v odpadních vodách v Marseille. Nález také ve stolici člověka.

Hostitel: *Vermamoeba vermiformis*

Velikost: 200 nm

CdsDNA genom (velikost: 466 kbp)

Fylogeneticky je příbuzný asfarvirům

# **Virofágy** - paraziti girů

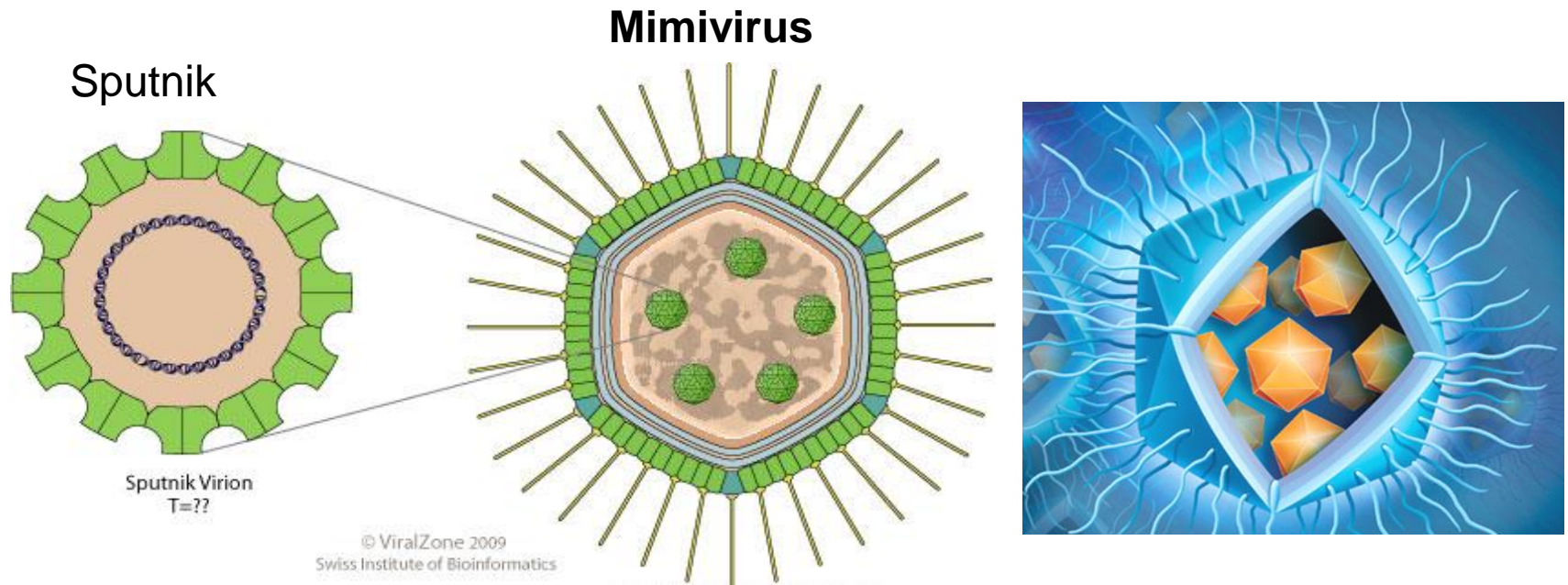
objev 2011 – 2015

velikost: 50 nm

Genom: 18 -20 Kbp

**20 druhů ve 4 vývojových  
liniích**

# Virofágy parazitující na velkých virech

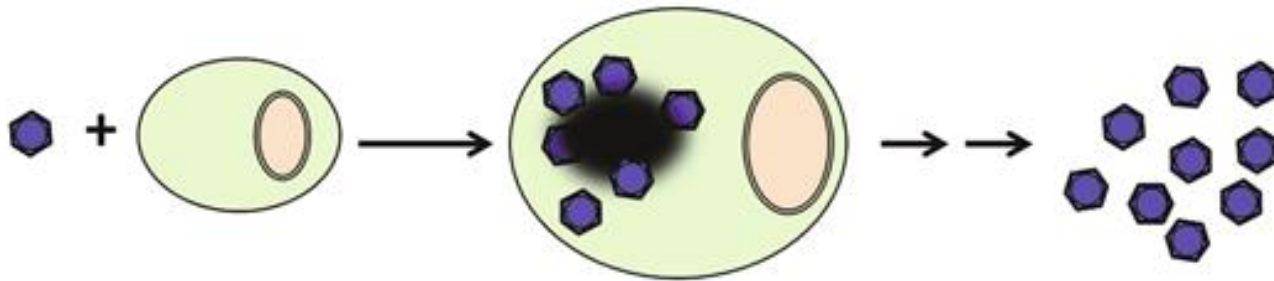


## Sputnik 1 v mimiviru

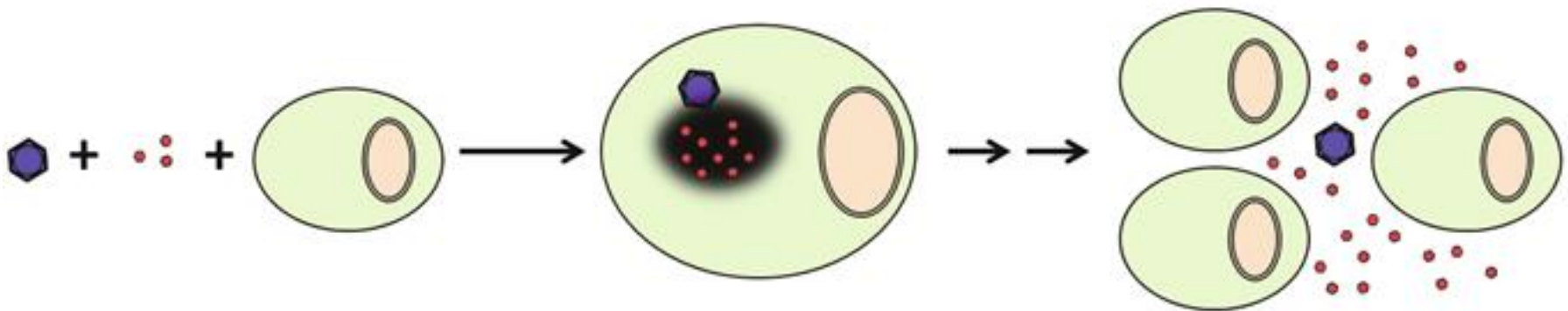
**Virofágy** parazitují na replikačním aparátu, zprostředkují horizontální přenos genů mezi viry, obdobně jako jiné viry mezi buňkami.



## Infekce měňavky mimivirem



## Společná infekce měňavky mimivirem a virofágem



## **Literatura:**

**Chantal Abergel et al. FEMS Microbiology Reviews, fuv037, 39, 2015, 779–796.**

**Sarah Aherfi1 et al.2016, Frontiers in Microbiology, Volume7, 349, pages 1 - 14.**

**Matthias G. Fischer et al. 2010.PNAS | November 9, 2010 | vol. 107 | no. 45, 19508–19513.**

**Colson et al. 2017. Annu. Rev. Virol. 4:21.1-21-25**