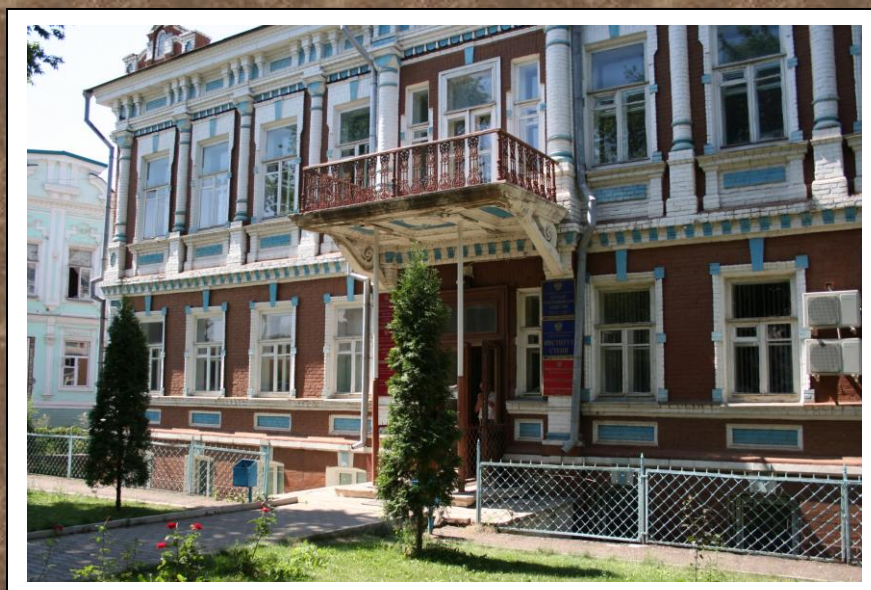


ISSN 2304-9081

Учредители:
Уральское отделение РАН
Оренбургский научный центр УрО РАН

Бюллетень
Оренбургского научного центра
УрО РАН
(электронный журнал)



2012 * № 2

On-line версия журнала на сайте
<http://www.elmag.uran.ru>

© В.В. Макаров, В.М. Бондаренко, 2012

УДК 578.8

В.В. Макаров¹, В.М. Бондаренко²

ГИРУСЫ

¹ Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

² НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия

Кратко обобщены новые открытия и концепции в области вирусологии, в частности, относительно *виросферы* и *гирусов* – группы крупных ядерно-цитоплазматических дезоксирибовирусов. В контексте новых представлений интерпретируются важнейшие таксономические признаки и патогенность вирусов, в том числе африканской чумы свиней.

Ключевые слова: виросфера, гирусы, крупные ядерно-цитоплазматические ДНК-содержащие вирусы, экология, таксономия, вирус африканской чумы свиней.

V.V.Makarov¹, V.M. Bondarenko²

GIRUSES

¹ Russian University of peoples friendship, Moscow, Russia

² Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

The new discoveries and conceptions in virology, in part, *virospher* and *giruses* as large nuclear cytoplasmic DNA genomic viruses are summered briefly. The main taxonomic features and pathogenicity of the viruses including African swine fever virus are interpreted in context of the new considerations.

Key words: virospher, giruses, large nuclear cytoplasmic DNA genomic viruses, ecology, taxonomy, African swine fever virus.

Введение.

К концу 20 века вирусология, в строгом значении, после столетия успешного развития существенно деградировала по ряду объективных причин. Прежде всего, поле ее деятельности в фундаментальном и идеологическом отношениях, определяющих самостоятельность любой «уважаемой» науки, оказалось исчерпанным (прионы, открытие которых в 1984 году оценено позднее нобелевской премией, вряд ли можно полностью отнести к компетенции вирусологии). Вторая причина – бурное развитие новых наук и направлений типа технологии рекомбинантных ДНК, геномики, биотехнологии

в целом, вследствие которого были размыты самостоятельность и своеобразие вирусологии в строгом значении; поистине революционизирующие инновации типа иммуноферментного, геномного анализа, ПЦР также имеют к вирусологии лишь частное отношение. Наконец, третья причина, для отечественной науки наиболее характерная, – прессинг прагматизма, отмечающий все, что не в интересах пресловутого выживания. Однако вирусология – наука не о болезнях, причиной которых служат вирусы, не о диагностикумах, «препаратиках» и «вакцинках», а о самих вирусах.

Виросфера.

Начало новым представлениям о вирусах положено недавно опубликованными сообщениями об обнаружении сотен тысяч новых вирусов в такой своеобразной и мало исследованной части Света, как Мировой океан. Например, вирусная фауна у западного побережья Канады насчитывала 129 000 различных вирусных генотипов.

Основой открытия послужило широкомасштабное применение метагеномного анализа, суть которого заключалась в изучении ДНК, тотально выделенной из фильтратов морской воды. Оказалось, что последовательности подавляющего большинства полученных геномных образцов неизвестны науке и отсутствуют в мировых базах данных. Морской вирусный метагеном (или *виром*) представляли преимущественно неизвестные ДНК-содержащие вирусы, главным образом, синезеленой водоросли *Prochlorococcus*, основного элемента фотосинтеза на Земле. При этом плотность вирусного населения в поверхностных слоях океана, по-видимому, измеряется сотнями миллионов вирусных частиц в литре воды [3].

Следовательно, вирусы оказываются самой многочисленной формой жизни на Земле, полноправно образующей специфическую общность живой материи самостоятельного типа, определяемого как *виросфера*: их расчетная суммарная численность может достигать 4×10^{30} частиц. По иному представляется роль вирусов в биосфере, в планетарном круговороте генов, вещества, энергии, в экономике природы в целом. Они обуславливают необыкновенное буйство жизни по меньшей мере в важной, если не важнейшей части планеты – Мировом океане, первичном источнике живой материи. В этих условиях детрит – продукты разрушения вирусами одноклеточных организмов, составляющих планктон, обеспечивает свыше трети органических ресурсов в водных экосистемах; формируется обходной, упрощающий и ускоряющий

жизненные процессы «вирусный шунт», дающий суммарный годичный выход углерода в ~ 0.5 гигатонн [9].

Полученные при исследовании новых элементов вирусологии данные фактически ликвидировали остаточную грань между вирусами и живыми организмами в каноническом понимании. Выдвинута гипотеза относительно роли вирогенеза в образовании клеточных форм жизни: структура и биохимия вновь открытых самых крупных мимивирусов имеет много общего с ядром эукариот и указывает на возможный вирусный эукариогенез по аналогии с вектором эндосимбиотического происхождения других важнейших клеточных органелл, в частности, «морские свободно живущие альфа-протеобактерии → митохондрии», «цианобактерии → хлоропласты грибов и растений» [4, 5].

Исходя из концепции виросферы, сформулирован новый принцип деления организмов на две основные группы – *рибосомальные* (бактерии, археи, эукариоты) и *капсидные* (вирусы), а для других самовоспроизводящихся структур предложено название *сиротские репликоны* (виroidы, плазмиды) [14, 17].

Мимивирусы.

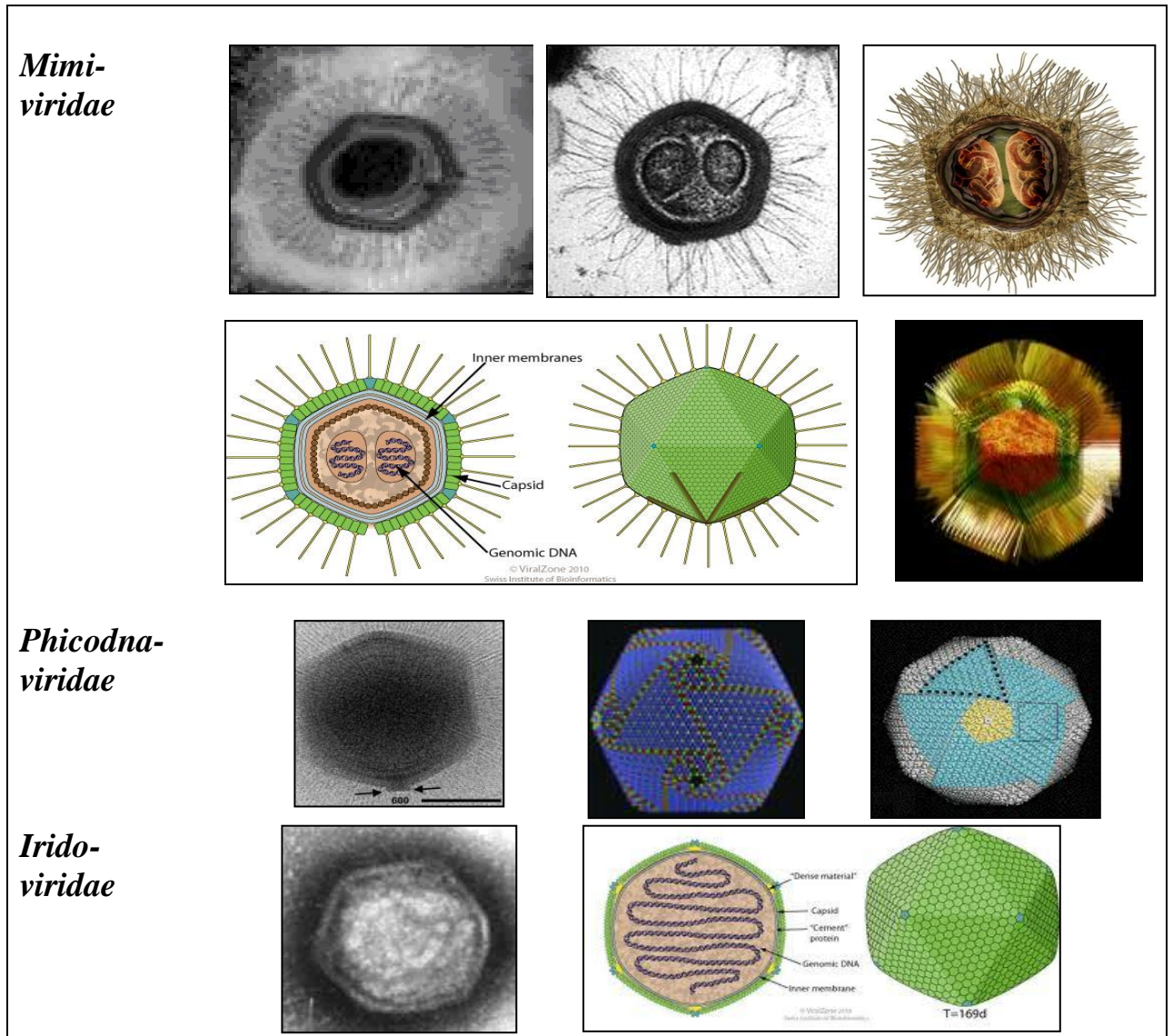
В числе прочих в океаническом метагеноме оказались последовательности ДНК эмерджентных вирусов необычно крупных размеров и своеобразного состава. Они получили название *мимивирусов* из-за сходства (мимикрии) с обнаруженным еще в 1992 году хорошо видимым в световом микроскопе коккоподобным микроорганизмом - внутриклеточным паразитом акантамеб (*Acanthamoeba polyphaga*), обитающих в воде местных градирен, принятым за этиологический агент локальной вспышки пневмонии водного происхождения (water associated infection, типа легионеллеза) в Бредфорде (Великобритания). Впоследствии, в 2003 году, именно этот микроорганизм охарактеризован как мимивирус [11].

Таблица. Основные характеристики гирусов и прокариот [по 5].

Организм	Размер организма, нм	Размер генома, тпо*	Преимущественные хозяева и восприимчивые группы
<i>E. coli</i>	400-800 x 1000-3000	4600-5600	Позвоночные
<i>Mimivirus</i>	400-800	1 200	Свободно живущие одноклеточные

<i>Rickettsia</i>	200-600 x 400-2000	1 100	Позвоночные, членистоногие
<i>Chlamydia</i>	250-1500	1 100	Позвоночные
<i>Treponema</i>	100-180 x 6000-20000	900-1 100	Позвоночные
<i>Mycoplasma</i>	125-300	600-950	Позвоночные
<i>Phicodnaviruses</i>	190-600	150-560	Фитопланктон
<i>Poxviruses</i>	200-400	130-350	Позвоночные
<i>Iridoviruses</i>	130-170	150-280	Насекомые, амфибии, рыбы
<i>Asfarvirus</i>	175-215	170-190	Suidae, Argasidae
<i>Herpesviruses</i>	120-300	150-160	Позвоночные

* На один ген приходится в среднем около 1 тпо.



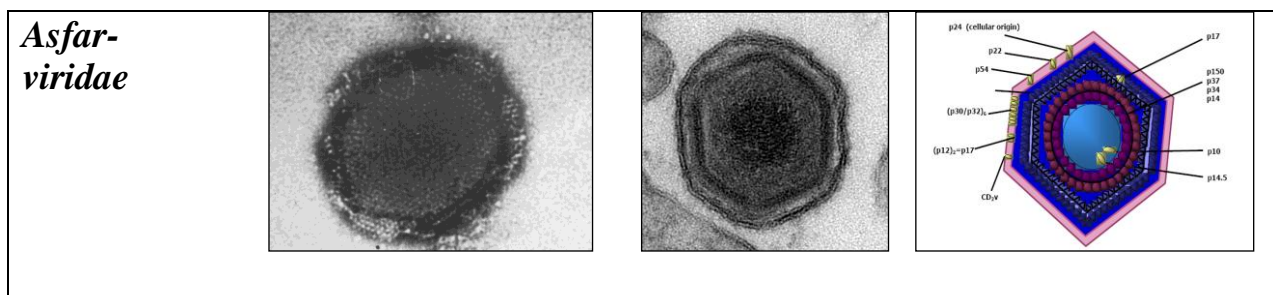


Рис. 1. Капсиды икосаэдральных дезоксирибовирусов [по images.yandex.ru].

Новый вирус имел структурные характеристики, существенно превосходящие таковые многих канонических представителей царства *Vira* и даже некоторых прокариот (табл.): размеры 750 нм, икосаэдральный белковый капсид размером 400 нм, покрытый фибриллами длиной 80 нм (рис. 1), геном около 1200 тпо, кодирующий более 900 полипептидов, многие из которых не имеют аналогов среди известных вирусов. В частности, кодируются четыре аминокил-тРНК-синтетазы – центральные компоненты аппарата трансляции [8, 14, 17].

В дальнейшем анализ метагеномов в окружающей среде показал, что нуклеотидные последовательности, сходные с генами мимивирусов, содержатся повсеместно, где обитает их хозяин-акантамебы - в воде, почве, выделяются из воздуха. В виду сходства с таковыми упомянутых выше представителей океанической вирофауны потенциальным хозяином мимивирусов могут быть одноклеточные водоросли, кораллы, губки.

На этом основании выделяемые из разных источников гигантские вирусы составили семейство *Mimiviridae*, у членов которого оказалось много общего с крупными дезоксирибовирусами: набор генов, вирусных ферментов, репродукция в цитоплазме и ядре чувствительной клетки, икосаэдральное строение капсида. Поскольку гигантские вирусы, родственные мимивирусу, широко распространены в Мировом океане, они также могут играть важную роль в глобальных геохимических круговоротах [8, 17].

Группа крупных ядерно-цитоплазматических дезоксирибовирусов.

С открытием мимивирусов во многом изменились представления в общей и частной вирусологии. Несмотря на уникальную общность царства *Vira*, из него явно выделяется по строению, физиологии и другим характеристикам своеобразная совокупность, включающая членов по меньшей мере пяти семейств – кроме *Mimiviridae* это *Phicodna*-, *Irido*-, *Asfar*- и *Poxviridae*

(табл., рис. 2). Этот комплекс крупных ядерно-цитоплазматических дезоксирибовирусов, инфицирующих представителей разных таксономических групп, от свободно живущих одноклеточных гетеротрофов и фитопланктона до млекопитающих, получил акронимическое название **гирусы** (**г**игантские + **и**рибовирусы) [6].

Гипотетически общий филогенез гирусов представляет регрессивную эволюцию от более сложных прокариотических организмов – микоплазм, риккетсий, хламидий. Для их геномов характерно большое количество гомологичных копий (дубликаций) одних и тех же последовательностей и избыточных генов, функционально дублирующих клеточные, оставшихся от периода автономного существования. Составы и комбинации в геномах собственных и хозяйских последовательностей могут указывать на их конкретного гипотетического предка. В структуре отдельных гирусов также много белков, гомологичных другим представителям группы, что говорит об их общем происхождении. Предполагается, что необычная величина геномов гирусов объясняется особенностями экологических ниш, накладывающих меньшие ограничения на размеры генома [6, 17].

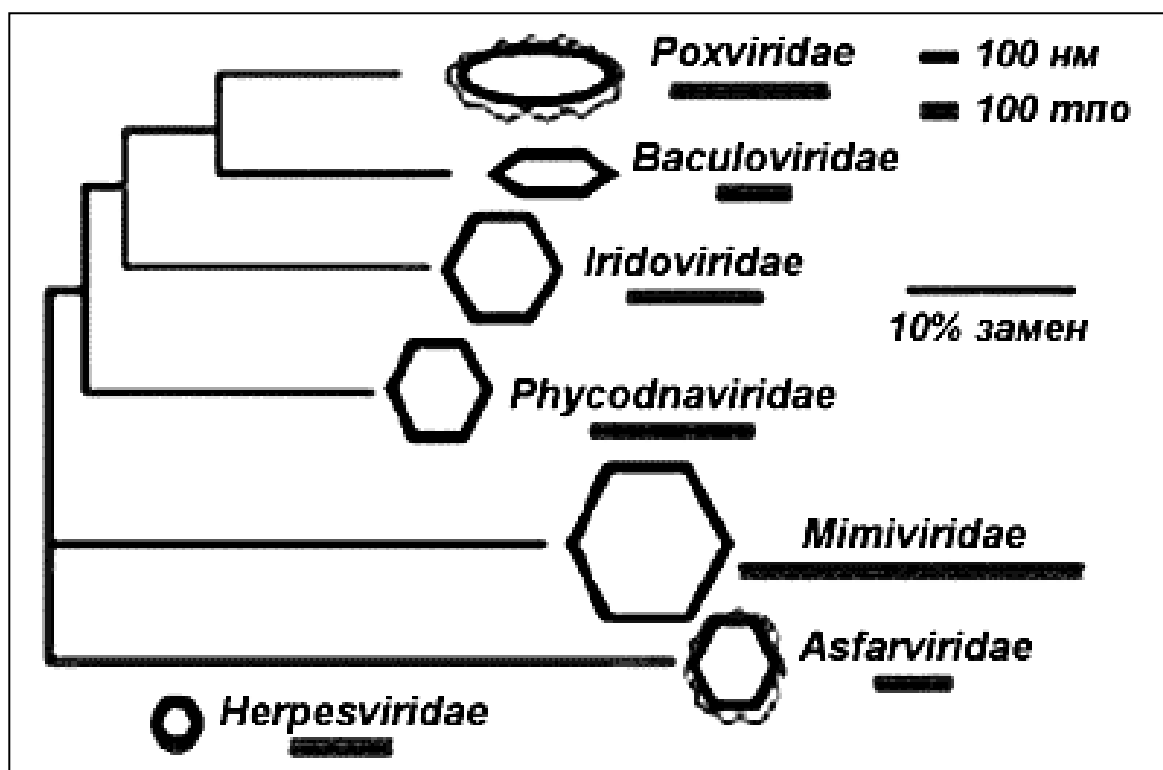


Рис. 2. Филогенетическое древо и сравнительная таксономия гирусов: структурный тип капсида, размеры частиц (нм) и ДНК (тпо – тысяч пар оснований), степень генетической близости (% замен). Для по-

ксвирусов и вируса АЧС показано наличие суперкапсидной оболочки [по <http://elementy.ru/>]. В правом верхнем углу приведены масштабы для сравнения размеров капсидов и геномов; длины ветвей древа соответствуют количеству замен в геноме.

Все это дает основание некоторым исследователям считать, что гирусы являются новым, четвертым доменом жизни наряду с *бактериями, археями и эукариотами* [5].

Капсиды гирусов.

За исключением поксвирусов, все гирусы имеют икосаэдральную симметрию капсидов (рис. 2). По-видимому, икосаэдральный принцип пространственной организации биологических структур как хранилищ генетического материала с многокомпонентной профилированной триангуляционной укладкой 1500-2000 и более составляющих с точки зрения экономики природы наиболее рационален, т.к. по физическим качествам обладает сравнительно высокой стерической, конфигурационной, «угловой» жесткостью по аналогии с упорядоченной жесткостью кристаллических решеток в физической химии. Не исключается, что в эволюции икосаэдральных капсидных организмов существенная роль принадлежит экологической нише в виде популяций свободно живущих одноклеточных гетеротрофов, включая системы «вирус АЧС-макрофаги» и «иридовирусы полиэдрозов-гемоциты беспозвоночных», где устойчивость ко всякого рода инактивирующим воздействиям и сохраняемость в заведомо неблагоприятных условиях являются экологически востребованными.

Также важным обобщающим признаком гировирусов является отсутствие какой-либо структурно-функциональной роли в составе вирусов и вообще необязательности суперкапсидной оболочки (рис. 3).

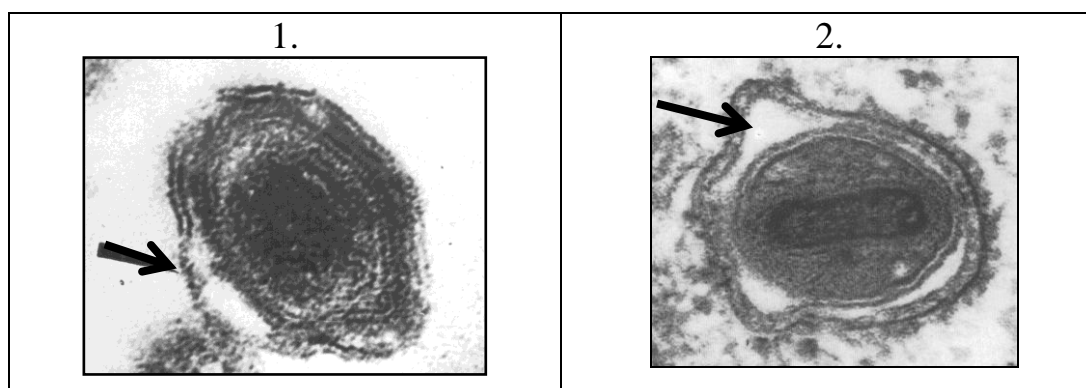


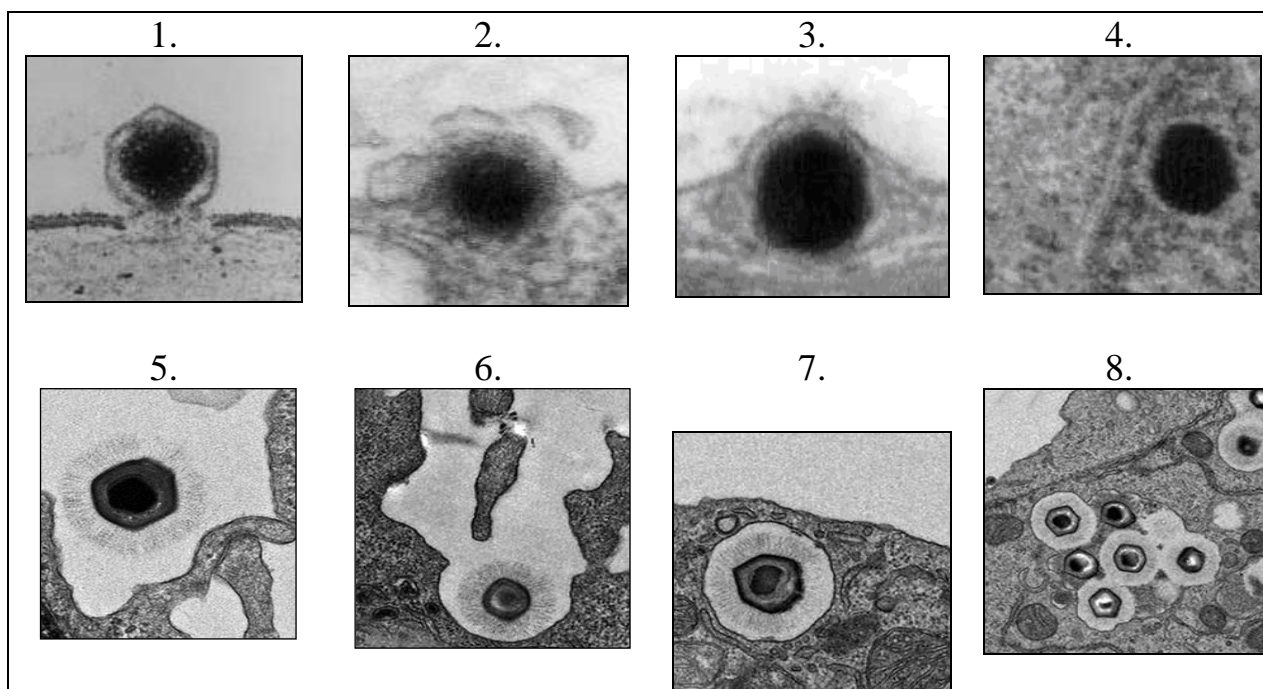
Рис. 3. Отсутствие связи суперкапсидной оболочки: 1 - с икосаэдром

вируса АЧС [Макаров В.В., 1995]; 2 - со сферической частицей поксвируса [Быковский А.Ф., 1970] (показано стрелками).

Лишенные такой оболочки вирусы АЧС и оспы остаются инфекционными [2].

Эндоцитоз и патогенность гировирусов.

Взаимоотношения гировирусов с чувствительными клетками в виду хозяйного многообразия различны. Иридовирусы-возбудители полиэдрозов беспозвоночных проникают в клетки путем свободного пиноцитоза, поксвирусы содержат «раздевающий фермент», облегчающий процесс интернализации, фикоднавирусы также используют собственный ферментативный аппарат слияния частиц с относительно прочной мембраной одноклеточных водорослей и проникновения по типу фаговой инфекции бактерий (рис.4/1-4). Однако наиболее важным представляется тривиальное рецепторнезависимое поглощение крупных частиц мимивирусов свободно живущими одноклеточными гетеротрофами с фагоцитарным типом питания и внутриклеточного пищеварения и вируса АЧС - макрофагами, которые в условиях организма хозяина в качестве эндосимбионтов ведут аналогичный свободный образ жизни, поведения, питания, сходный с одноклеточной фауной (рис. 4/5-8 и 1/9-12, соответственно).



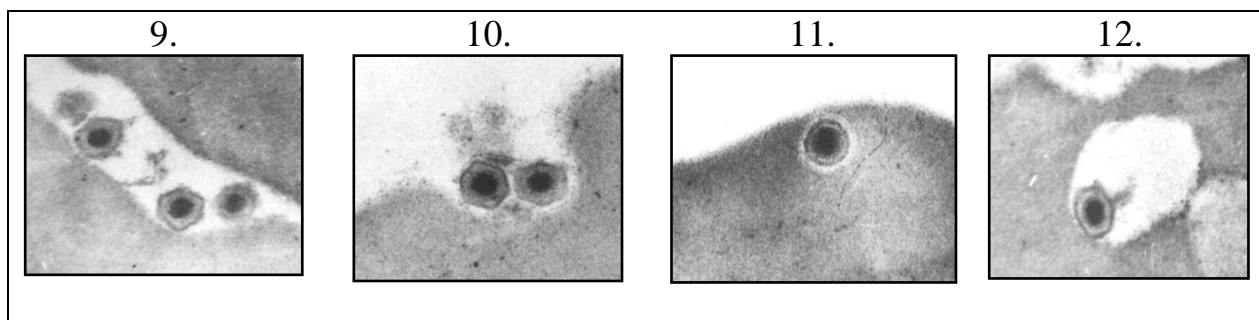


Рис. 4. Адсорбция и эндоцитоз гирусов: 1-4 - фикоднавирус EfasV-1 и водоросли *Ectocarpus fasciculatus*, слияние оболочек и последовательная интернализация нуклеопротеина [Van Etten, 2002]; 5-8 – мимивирус и *Acanthamoeba polyphaga* [Claverie et al., 2009]; вирус АЧС и макрофаги свиньи [Макаров В.В., 1995], последовательные стадии фагоцитоза.

Этот тип взаимоотношений с клетками мимивирусов, с учетом их размерного соответствия требованиям свободного фагоцитоза (от 200 нм) и устойчивости икосаэдральных капсидов к переваривающим механизмам фагоцитов, *a priori* открывает «перспективы» приобретения патогенности для теплокровных животных. Реальный вектор – переход от паразитирования в свободно живущих одноклеточных гетеротрофах к фагоцитирующим одноклеточным комменсалам или клеткам членистоногих и далее к макрофагам животных. Серьезной предпосылкой для реализации такого вектора является экологическая и эпидемиологическая сопряженность хозяев мимивирусов с теплокровными животными на примере амёб-комменсалов нескольких видов, которые продолжительно обитают в толстом отделе кишечника млекопитающих (кошки, собаки, приматы, человек) и питаются бактериями; в их числе дизентерийная *Entamoeba histolytica* – возбудитель колитов (амебиаз). Это можно интерпретировать также как тип последовательного гиперпаразитизма в системе «мимивирусы → амёбы → теплокровные организмы» по аналогии с бактериями-носителями трансмиссивных генетических факторов патогенности (транспозонов, плазмид, фагов).

Мимивирусы по результатам скрининга на основании серопозитивности уже ассоциируются со вспышками у людей пневмонии, связанной с бытовым водоснабжением по аналогии с легионеллезом. Легочные поражения также воспроизведены в эксперименте заражением мышей [10, 12, 15].

Вирофагия.

При исследовании мимивирусов было открыто уникальное явление - «вирус вируса», т.е. вирофаговая инфекция вирусом, получившим название

«спутника». В клетках зараженных мимивирусом амёб и нередко в частицах мимивируса обнаружен относительно мелкий икосаэдральный вирус диаметром 50 нм, паразитирующий на крупном (рис. 5/1). Вирус-«спутник» использует внутриклеточные мимивирусные компартменты сборки для воспроизводства и размножается значительно быстрее мимивируса-«хозяина» (одно из канонических условий паразитизма). Вирус-«спутник» наносит очевидный и существенный вред, который можно назвать «виropатогенным» действием – патологические изменения мимивируса заключаются в непропорциональном многократном утолщении суперкапсидной оболочки от 40 до 240 нм (рис. 5/2).

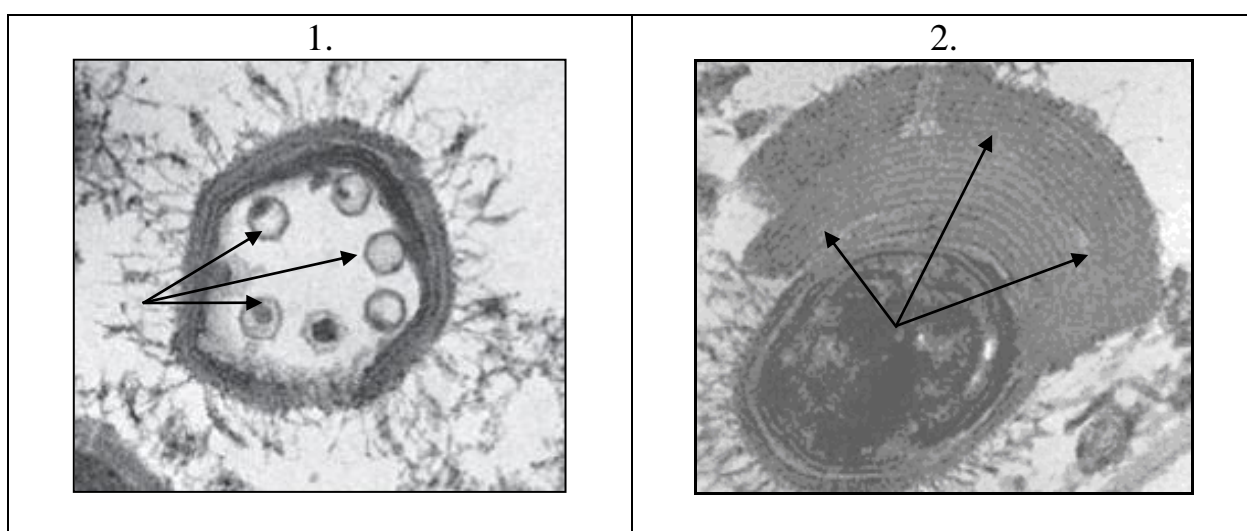


Рис. 5. Вирофаговая инфекция мимивируса вирусом-«спутником» (1) и «виropатогенное» действие последнего (2) (стрелки) [La Scola et al., 2008].

«Спутниковая» инфекция подавляет репродукцию мимивируса-«хозяина» на 70% и втрое снижает смертность в популяции зараженных амёб [7, 13, 16].

Заключение.

1. Вирусологические исследования биосферы последнего десятилетия, их фундаментальные и прикладные результаты становятся новым импульсом для развития этой науки о своеобразной форме жизни, живой материи на одном из исходных этапов ее возникновения и эволюции, объединенной в отдельное царство *Vira*. До этого вирусология ограничивалась преимущественно ее негативными эффектами, исходя из определения, данного Андре Львовым (1957) при формулировке им концепции вирусов как «строго внутриклеточных, потенциально патогенных агентов с инфекционной фазой развития, содержащих нуклеиновую кислоту только одного типа, репродуцирующихся

в форме генетического материала, неспособных к росту и бинарному делению и лишенных "системы Липмана" (одной из ферментных систем, участвующих в производстве энергии)» [1].

В современном представлении вирусы – это «капсидные организмы, состоящие из белков и нуклеиновых кислот, формирующие нуклеокапсиды путем самосборки, использующие для своего жизненного цикла рибосомальные организмы» [5, 8].

2. Объединяющие характеристики гирусов, в частности, икосаэдральный тип строения (вероятно, преимущественный признак нового домена жизни по аналогии с такими, как ядро или липидный бислой биомембраны эукариотов) и неструктурный характер мембранных протективных антигенов (геадсорбирующие антигены и гемагглютинины) проливают свет на экстраординарные свойства относящихся к этой категории важнейших с точки зрения реальной патологии вируса АЧС и поксвирусов – высокую устойчивость и отсутствие гуморальной защиты, и *a priori* определяют их.

3. Гирусы, особенно члены семейства *Mimiviridae*, представляют потенциальный источник происхождения эмерджентных патогенов. В эпидемиологии универсальны ситуации переходов паразитов на новых хозяев с формированием новых паразитарных систем и возникновением новых болезней на последних этапах их филогенеза как одного из ведущих факторов эмерджентности. Реальным примером вероятного «освоения» эукариотического мира могут служить данные о роли мимивируса в респираторной патологии.

В этом отношении вирус АЧС, согласно гипотезе «клещевой первичности» его происхождения [2], может рассматриваться как «первопроходец».

4. Чрезвычайный интерес для фундаментальной и, возможно, прикладной вирусологии представляет открытие вирофагии, гиперпаразитов и естественных «врагов» вирусов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лурия С., Дарнелл Дж. Общая вирусология. Пер. с англ. 1970. - М., 424 с.
2. Макаров В.В. Африканская чума свиней. - М., 2011. 269 с.
3. Angly F. et al. The marine viromes of four oceanic regions. PLoS Biol. 2006, 4(11), 2121-2131.
4. Bell P. The viral eukaryogenesis hypothesis: a key role for viruses in the emergence of eukaryotes from a prokaryotic world environment. Ann. NY Acad. Sci., 2009, 1178, 91-105.

5. Claverie J.-M. Viruses take center stage in cellular evolution. *Genome Biol.*, 2006, **7**, 110.
6. Claverie J.-M. et al. Mimivirus and the emerging concept of «giant» virus. *Virus Research*, 2006, **117**, 1, 133-144.
7. Claverie J.-M., Abergel C. Mimivirus and its virophage. *Ann. Rev. Genetics*, 2009, **43**, 49-66.
8. Claverie J.-M. et al. Mimivirus. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 2009, **328**, 89-121.
9. Donovaro R. et al. Major viral impact on the functioning of benthic deep-sea ecosystems. *Nature*, 2008, **454**, 1084-1087.
10. Khan M. et al. Pneumonia in mice inoculated experimentally with *Acanthamoeba polyphaga* Mimivirus. *Microb. Pathog.*, 2007, **42** (2-3), 56-61.
11. La Scola B. et al. A giant virus in amoebae. *Science*, 2003, **299**, 2033.
12. La Scola B. et al. Mimivirus in pneumonia patients. *Emerg. Infect. Dis.*, 2005, **11**, 3, 449-52.
13. La Scola B. et al. A virophage is a unique parasite of the giant Mimivirus. *Nature*, 2008, **455**, 100-105.
14. Raoult et al. The 1.2-megabase genome sequence of Mimivirus. *Science*, 2004, **306** (5700), 1344-1350.
15. Raoult D. et al. The discovery and characterization of Mmimivirus, the largest known virus and putative pneumonia agent. *Clin. Inf. Dis.-Emerg. Inf.*, 2007, **45**, 95-102.
16. Sun S. et al. Structural studies of the Sputnik virophage. *J. Virol.*, 2010, **84** (2), 894-897.
17. Suzan-Monti M. et al. Genomic and evolutionary aspects of Mimivirus. *Virus Res.*, 2006, **117** (1), 145-55.

Поступила 18.05.2012

Контактная информация:

Макаров Владимир Владимирович, д.б.н., профессор, E-mail: vvm-39@mail.ru;

Бондаренко Виктор Михайлович, д.м.н., профессор, E-mail: bvmz@yandex.ru.