

Je čas začít přepisovat učebnice virologie? Viry a symbióza

Viry byly dlouho považovány pouze za parazity více či méně škodlivé pro své hostitele. Převratné objevy posledních let ukázaly, že všudypřítomnost virů, jejich množství, genetická rozmanitost a dynamické symbiotické vztahy s hostiteli je staví do centra vývoje života na Zemi. Většina má patrně s hostiteli komenzální vztahy. Mohou však být „zásobárnou“ sekvencí (a nových funkcí) pro hostitele v případě stresů vyžadujících rychlé změny. Viry v antagonistickém vztahu k hostiteli se nyní zdají být spíše zvláštností. Podílely se a podílejí na vývoji imunitních systémů hostitelů, ovlivňují jejich populace a ekologické vztahy. Viry s mutualistickým vztahem s hostiteli jsou důležité pro přežívání a symbiogenetické viry zanechávají v genomu hostitelů své sekvenční využitelné pro případné další vývojové inovace.

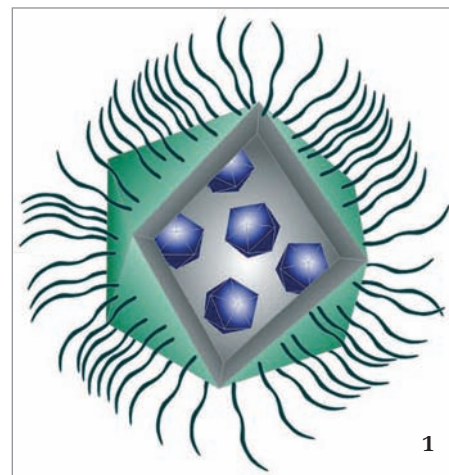
Viry představují obrovskou diverzitu morfologií, velikostí virových částic, strategií infekce hostitelů a způsobů replikace, povahy a velikosti nukleové kyseliny tvořící jejich genom – jednovláknová RNA v kódujícím plus nebo komplementárním minus smyslu, dvouvláknová RNA, jedno- nebo dvouvláknová DNA, kruhová nebo lineární molekula, či soubor segmentů nukleové kyseliny. Pohled na viry se od jejich objevu na konci 19. stol. jako infekčních agens procházejících filtry s malými póry, na rozdíl od buněčných patogenů, vyvíjel s rozvojem technik poznání.

Mnoho úsilí bylo věnováno především studiu virů jako patogenů působících nejrozličnější, často i smrtelné nemoci lidí, zvířat a rostlin. S pokrokem mikroskopických metod a metod molekulární biologie se dařilo poznávat strukturu izolovaných virů, sekvenovat jejich genomy a studovat replikační strategie, interakce s hostitelskými buňkami i mechanismy jejich patogeneze převážně v kultivovaných buňkách a strukturách. Vytvořil se tak obraz virů jako obligátních buněčných parazitů, jejichž jednoduchá struktura je tvořena podle podobných principů (helikální a ikosaedrální symetrie kapsid) a kteří vyvolávají občasná epidemie a působí újmy svým hostitelům. Nástup využití sekvenování nové generace (NGS) – levného a hlavně velmi rychlého sekvenování DNA, dovolil nejen analyzovat úplné sekvenční genomu jednotlivých organismů, ale dal vzniknout metagenomice umožňující číst genomy více organismů najednou a analyzovat genomy všech organismů vyskytujících se v daném vzorku odebraném přímo z různých ekosystémů – tedy genomiku společenstev mikroorganismů v půdách, vodách moří, oceánů, řek i jezer, ve společenstvech rostlin nebo v organismech živočichů. Získávání virových metagenomů zvaných viromy přináší stále více nových informací o početnosti, diverzitě a evoluci virů.

Objev obřích virů

Na začátku tohoto tisíciletí byly objeveny gigantické viry, které se vymykaly výše uvedenému dogmatu z 19. stol., že viry jsou malé, podobně jako nízkomolekulární chemické sloučeniny – jedy (latinsky virus = jed). První z nich, zástupce rodu *Mimivirus*, byl objeven v r. 2003. Identifikace a charakterizace gigantických virů (giant viruses), jako jsou mimiviry, megaviry nebo pandoraviry, množících se v měňavkách – amébách, prolomily definice klasických virů a spustily intenzivní debaty o původu, podstatě virů i o nových konceptech evoluce. K jejich objevu došlo tak pozdě právě proto, že při pátrání po nových virech byly používány filtry pro oddělení virů od bakterií a jiných jednobuněčných organismů. Tím se ale odstranily i tyto dosud neznámé gigantické viry. Nicméně od r. 2003 již bylo popsáno tolik velkých virů zařazovaných do různých nových čeledí, že je pro ně již navržen i řád (*Megavirales*). Společně mají to, že se replikují v cytoplasmě, nebo zčásti v cytoplasmě, a pouze část jejich replikačního cyklu probíhá v jádře, přestože jejich genomem je DNA. Proto se jim říká jaderně-cytoplazmatické velké DNA viry (Nucleocytoplasmic Large DNA Viruses, NCLDV). Zajímavé je, že k takovým virům se řadí dlouho známé poxviry, mezi něž patří variola, neblaze proslulý lidský virus černých neštovic (obr. 3). Ty bývaly svou strukturou i strategií replikace považovány mezi viry spíše za výjimku. Některé z obřích virů viditelných ve světelném mikroskopu mají genomovou DNA větší než některé buněčné mikroby (*Pandoravirus salinus* – 2,47 milionu nukleotidových párů kódujících více než 2 500 genů). Velké množství z genetické informace nalezené v obřích virech nemá žádnou podobnost se známými sekvencemi uloženými v databázích.

Dalším překvapením, které objev gigantických virů přinesl, se stalo zjištění, že i viry mohou být infikovány jinými, menšími viry – virofágy (obr. 1). Podrobná ana-



lyza genomů obřích virů naznačila, že genom virofágů se může začlenit (integrovat) do hostitelského genomu jako provirofág a že v genomu gigantických virů se nachází i nový typ transpozónů – transpovirony. Jde o lineární klastry DNA, které se replikují spolu s DNA gigantických virů, hromadí se jak v cytoplasmě améb, tak ve virových částicích gigantických virů i jejich virofágů a mohou se rovněž integrovat do různých míst genomu obřích virů. Zajímavé bylo také zjištění, že některé kmeny mimivirů nejsou oproti jiným rezistentní k virofágu nazvanému Zamilon (jeho taxonomie se teprve ustavuje). U mimiviru odolného k virofágu Zamilon byl nalezen úsek DNA (skupina genů pro klastr) obsahující integrované opakované repetitivní sekvenční z genomu virofágu Zamilon a několik genů. Autoři ho pojmenovali MIMIVIRE (Mimivirus Virophage Resistance Element). Podrobnější analýza ukázala, že tento lokus připomínající bakteriální obranný systém proti cizím sekvencím CRISPR-Cas (viz dále) nese i geny kódující nukleázu a helikázu – enzymy potřebné pro degradaci cizí DNA, a je skutečně odpovědný za odolnost mimiviru k infekci virofágem. Ze všech výzkumů vyplývá, že obří viry prošly patrně podobnou evolucí jako buněčné mikroorganismy. Zabudovaly sekvenční virových parazitů a mobilních elementů do svého genomu a vyvinuly vlastní imunitní obranu namířenou proti DNA napadajících virů.

Antagonistická symbióza parazitických virů a hostitelů

Viry a jejich hostitelé procházejí neustálým dynamickým vývojem vzájemných interakcí. Mnoho virů je v buňkách hostitelů replikováno za vzniku nových virových částic (virionů), které horizontálně přenášejí virové genomy na další hostitele (o horizontálním přenosu viz seriál v Živě 2006, 1–6). Přitom mohou viry zvolit v zásadě dvě různé strategie – buď lytickou vedoucí k replikaci viru, smrti hostitelské buňky a uvolnění nových virionů pro další infekci, nebo latentní nákazu hostitele (v případě bakteriálních virů hovoříme o lyzogenní infekci navozené temperátními bakteriofágy). Při latentní infekci dochází k integraci virových sekvencí do genomu hostitele (případně genomu viru přetrvává ve formě extrachromozomální kruhové DNA – episomu) a může být za určitých okolností aktivován k lytické replikaci později. Obě strategie mohou být antagonistické, poškozují hosti-

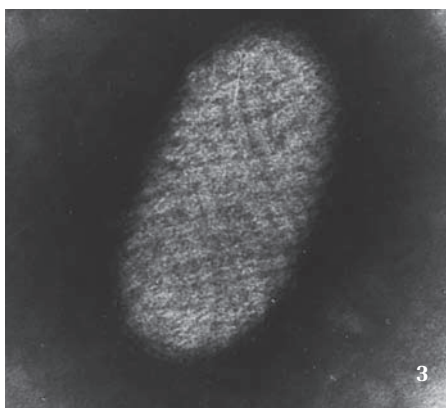
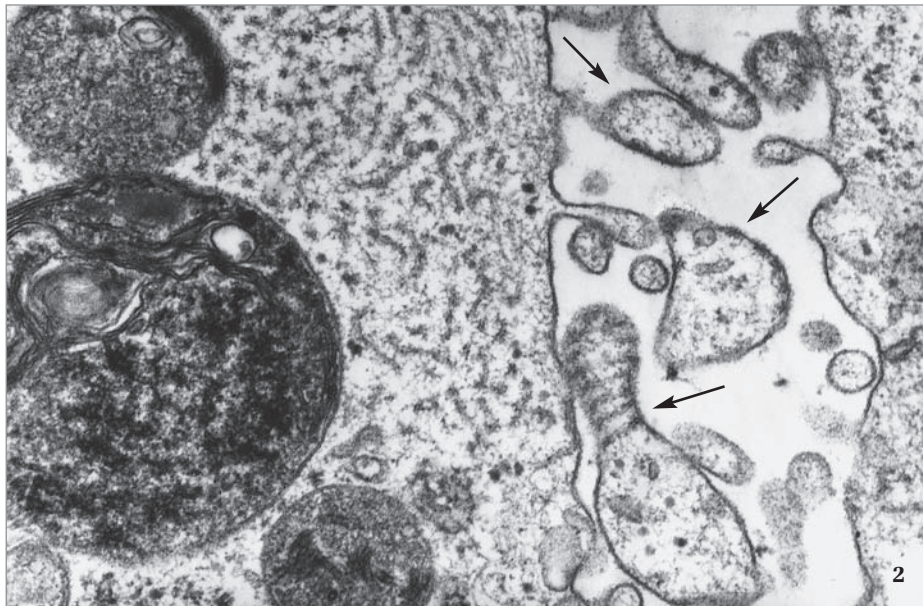
telské buňky a začlenění virových sekvencí může poškodit také hostitelský genom.

Virové genomy, mobilní elementy integrované do hostitelských genomů, jsou díky svému potenciálu měnit se, replikovat se, editovat a přenášet genetickou informaci zdrojem diverzity a také hybnou silou evoluce. Pokud by ale probíhaly invaze virů a integrace elementů do hostitelských genomů zcela nekontrolovaně, byly by pro hostitele zničující. Schopnost pozastavit útoky virů a jiných genetických patogenů je nezbytnou podmínkou evolučního přežití hostitelů. Např. po objevení Ameriky zavlekli Evropané do Ameriky virus černých neštovic a další choroby, proti kterým původní indiánští obyvatelé nebyli imunní, a odhaduje se, že téměř 95 % jejich tehdejší populace tímto nemocem podlehl. Hostitelé vyvíjeli během koevoluce s viry adaptace vedoucí k rezistenci vůči virovým sekvencím, zatímco na straně virových parazitů probíhala selekce přizpůsobení ve prospěch dalšího šíření (transmise).

Jedním z patrně časných způsobů obrany u prokaryot (bakterií i archeí) je syntéza „antisense“ RNA – malých RNA více či méně komplementárních k sekvencím plazmidů, profágů nebo transpozonů, negativně kontrolujících jejich pomnožení a genovou expresi. Proti invazím bakteriofágů se dále vyvinul restriktivní modifikační systém ze specifických (restriktivních) nukleáz štěpících malé palindromatické sekvence cizích DNA a metyláz značujících metylaci nukleotidové báze vlastní DNA, která je tak chráněna před štěpením.

Další systémy bakteriální ochrany před mobilními elementy kombinují akce malých RNA a proteinů. Příkladem je Ago-systém obrany založený na rodině nukleáz zvaných Argonaut, které se vážou s malými úseky DNA nebo RNA a štěpí komplementární sekvence mobilních elementů bakterií.

Sofistikovanějším obranným systémem prokaryot je adaptivní imunitní systém CRISPR-Cas (podrobně viz Živa 2017, 2: 70–72 a XLVII–XLIX). Zakládá se na elementu DNA zvaném CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats), který byl nalezen prozatím u 84 % zkoumaných archeí a 45 % bakterií. Tvoří ho oblasti krátkých repetitivních sekvencí oddělených úseky unikátních sekvencí odvozených od virových či plazmidových DNA. Tyto unikátní úseky „ukořistěné“ z genomu infikujících virů jsou pak rozpoznávaným prvkem shodných částí genomů virů. Jsou prepisovány a vzniklá RNA spolu s dalšími složkami systému CRISPR-Cas zprostředkovávají štěpení genomů opakovaně infikujících bakteriofágů. K funkci CRISPR-Cas je zapotřebí účinku proteinů (nukleázy a helikázy) kódovaných geny *cas* (CRISPR-associated) vyskytujícími se často v blízkosti CRISPR. Integraci nových unikátních úseků do lokusu CRISPR mohou být rozpoznány a ničeny nové viry. Mechanismus obrany prokaryot systémem CRISPR-Cas lze rozdělit do tří částí. V první, adaptivní fázi se do lokusu CRISPR vkládají nové úseky virových DNA (mezerníky – spacers). Ve druhé fázi dochází k expresi genů *cas* a k transkripci CRISPR elementu do dlouhé prekurzorové RNA, která je následně upravena do finální formy crRNA (cr – CRISPR). Ve třetí fázi interference je



- 1 Schematické zobrazení mimiviru napadeného virofágem
- 2 Paramyxoviry (šipky) jsou patogenní viry obratlovců, jejichž genomem je jednovláknová RNA v minus smyslu. Patří k nim např. virus spalniček nebo příušnic.
- 3 Virion poxviru. Příbuzný poxvirus – virus pravých neštovic (*Variola*) je těžký lidský patogen, který patrně pochází z Asie, odkud se postupně dostal na všechny kontinenty a má na svědomí smrt stamilionů lidí. Díky systematickému očkování byl vymýcen. Poxviry se zdály být strukturou, velikostí i replikační strategií výjimkou mezi viry. Nyní je jejich čeleď *Poxviridae* řazena k velkému množství různých, nedávno objevených velkých virů seskupených prozatím do čeledí *Ascoviridae*, *Asfarviridae*, *Iridoviridae*, *Marseilleviridae*, *Megaviridae*, *Pandoraviridae*, *Phycodnaviridae*, *Pithoviridae* a *Poxviridae*. Je pro ně navržen řád *Megavirales*.

rozpoznána cílová (virová) nukleová kyselina a degradována spojenými účinky crRNA a Cas proteinů.

Zajímavé je, že v antagonistické symbióze mohou existovat i viry s viry – větší viry s jejich patogeny (virofágy). Jak je uvedeno výše, i hostitelské viry mohou vyvinout obranný mechanismus (MIMIVIRE).

Z výše zmíněného obranného systému prokaryot – Ago – vznikla pravděpodobně účinná obrana eukaryot – RNA interference (Živa 2017, 2: 70–72 a XLVII–XLIX). Je založena na úpravách dvouvláknové RNA nebo RNA s výraznou sekundární strukturu,

prováděných nukleázou zvanou Dicer. Vzniknou asi 20nukleotidové dvouvláknové RNA, jejichž vlákna jsou poté oddělena. Jedno vlákno je degradováno a tzv. vedoucí vlákno je zabudováno do umlčovacího komplexu RISC (RNA-Induced Silencing Complex). K umlčení genu dochází tím, že vedoucí řetězec RNA vytvoří vodíkové můstky s komplementární sekvencí mediátorové RNA (mRNA) a indukuje její štěpení nukleázou Argonaute 2 (Ago 2) komplexu RISC. Eukaryota vyvinula systém podobný interferujícímu RNA, který má zřejmě původ v ancestrálním protivirovém systému – tzv. mikro RNA, jejichž funkce buňky využívají k regulaci exprese vlastních genů, spočívající v inhibici translace nebo v destabilizaci mRNA.

Konečně u mnohobuněčných živočichů vznikly komplexní imunitní systémy, v nichž je angažováno množství buněčných proteinů i specializovaných buněk. Ty zajišťují nejprve rychlou nespecifickou vrozenou imunitní obranu zahrnující např. receptory rozpoznávající určité strukturální rysy patogenů (Pathogen-Associated Molecular Patterns, PAMPs) a hlavní regulační buněčné obrany – interferony a jiné cytokiny. Posléze také specifickou adaptivní imunitní odpověď – buněčnou, zprostředkovanou u obratlovců T lymfocyty, a protilátkovou (humorální), zprostředkovanou B lymfocyty (např. Živa 2018, 1: 32–34).

Zároveň s vývojem protivirové obrany hostitelů se viry neustále adaptovaly, aby obešly nebo zneškodnily obranu hostitele. Prakticky neexistuje mechanismus imunitního systému, proti kterému by viry nevyvinuly protiobranu nebo strategii úniku. Třeba virus chřipky obchází i zneškodňuje obranu hostitele více způsoby. Uniká před protilátkami hostitelů mechanismy jako antigenní drift (mutace působící změny aminokyselin v epitopech virových proteinů, proti nimž jsou namířeny protilátky) a antigenní shift (rekombinace genomových segmentů RNA např. mezi lidským a ptačím virem, pokud se oba dostanou do jedné buňky).

Tento neustálý evoluční zápas mezi viry a jejich hostiteli – „závod ve zbrojení“ (arm race) – je bojem k zachování poměrně konstantní hladiny zdatnosti obou entit.

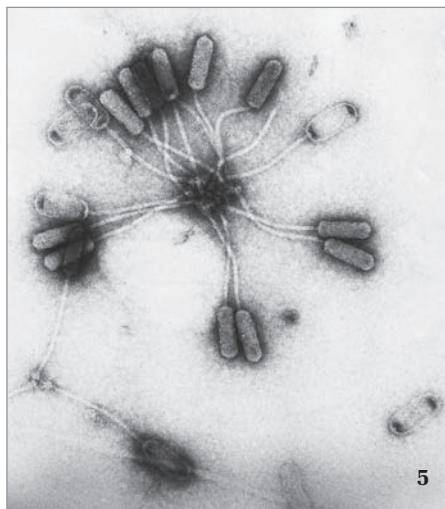
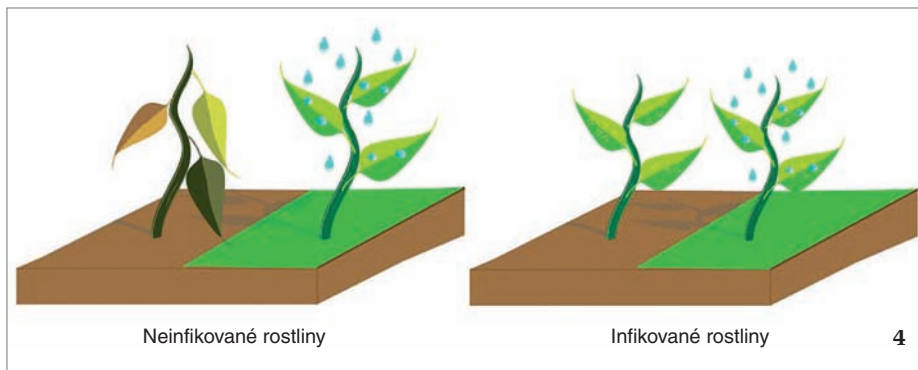
Komenzální vztahy virů a jejich hostitelů

Metagenomické analýzy ukázaly, že viry jsou nejpočetnější a nejdiferzifikovanější formou života. Jenom množství virů prokaryot (počet virových částic bakteriofágů) na Zemi se odhaduje na $4,8 \times 10^{31}$. Metagenomika umožňuje zkoumat mikrobiální ekologii v mnohem větší míře i v podrobnostech než dříve. Viry byly nalezeny v obrovských množstvích ve všech zkoumaných ekosystémech (v oceánech, půdách) a organismech, včetně těla člověka, ostatních obratlovců i hmyzu nebo v pletivech rostlin. Zajímavé je, že přes ohromující počty různých virů nalezených v různých společenstvech, hostitelských populacích či jednotlivých organismech jejich hostitelé neumírají, ba ani nejeví známky onemocnění. Existuje tedy hypotéza, že antagonistický vztah viru a hostitele může být relativně slabou evoluční strategií pro přežití viru a že většina virů je proto v komenzálních vztazích s hostiteli – těží ze soužití s hostitelem, ale nepůsobí mu žádnou újmu. V případech agresivní antagonistické symbiózy často nejde o přirozeného hostitele viru, ale spíše o náhodný přenos z nějakého jiného hostitele (např. viru ptačí chřipky na člověka nebo přenosy hmyzem z jiných zvířecích rezervuárů).

Bylo např. zjištěno, že ve vzorcích odebraných z lidského střeva se nachází množství různých virů – bakteriofágů infikujících střevní bakterie, ale také eukaryotických virů. Virom složený z virů eukaryot i bakteriální mikrobiom jsme schopni zjistit již u novorozenců a jeho složení se v časných fázích života mění, zatímco u dospělých jedinců bývá ustálenější. Většina nalezených virů se nezdá být spojena s jakýmkoli onemocněním. Rovněž třeba na kůži lidí byla objevena řada DNA virů, převážně z čeledi *Papillomaviridae*, *Polyomaviridae* nebo *Circoviridae*, aniž by byly pozorovány nějaké příznaky infekce. V rostlinách či houbách existuje a vertikálně se šíří mnoho perzistentních virů (trvale přítomných) s genomem dvouvláknové RNA, bez negativního efektu na rostlinného hostitele (Roossincková 2015).

Ačkoli viromů detekovaných v jednotlivých organismech nebo ekosystémech rychle přibývá, prozatím nemáme k dispozici dostatek informací, zda tyto viry nejsou pro hostitele nějakým způsobem užitečné, a tedy jestli jejich symbióza není spíše mutualistická než komenzální. Příklady prokázané mutualistické symbiózy virů a jejich hostitelů existují a s rozvojem technických možností studia patrně budou odhaleny další.

Kromě dále uvedených už poměrně pokročilých symbióz virů a hostitelů lze za výhodné soužití považovat i případ, kdy virus koluje v populaci jednoho druhu, aniž by způsoboval zjevné onemocnění, ale je silně patogenní pro některé potravní konkurenty daného druhu. Tak např. virus *Herpes saimiri* vyskytující se u kotuly veverovitého (*Saimiri sciureus*) v amazonském deštném pralese je pro kotuly takřka neškodný, ale u opic z rodu kosmanů (*Callithrix*), kteří jsou jejich potravními konkurenty, způsobuje vysokou mortalitu. Tím jsou kotulové úspěšnější v boji o potravní niku.



4 Infekce rostlin viry může prodloužit přežití rostlin při stresu ze sucha.

Upraveno podle: M. J. Roossincková a E. R. Bazán (2017)

5 Bakteriofágy theta napadající *Bacillus licheniformis*. Bakteriofágy jsou schopny přežít v bakteriích jako profág, kdy se jejich dvouvláknová DNA integruje do hostitelského genomu. Profág uděluje bakteriím imunitu k infekci příbuzným fágem. Při stresových podmínkách se virový genom může vyštěpit a bakteriofág projde lytickým cyklem za vzniku nových virových částic. Blíže v textu. Foto J. Štokrová

6 Densovirus indukuje vývoj křídel u hostitelských mšic – díky tomu jsou schopné létat a virus tak může kolonizovat nové rostliny.

7 Expresí genomu polydnavirů (*Polydnaviridae*) ve vaječnících parazitoidních vosiček. Virový genom je začleněn do genomu vosiček (znázorněného modrou dvoušroubovicí) ve dvou vzdálených klastrech (na obr. oddělených dvojčistou černou čarou). 1 – geny pro virulenci (tmavě modrá, světle modrá a žlutá) jsou replikovány, pomocí elementů zajišťujících excizi vyštěpovány a pomocí repetitivních sekvencí uzavřeny do formy plazmidové kruhové DNA (červené šipky); 2 – geny kódující proteiny potřebné pro tvorbu virových částic (šedě) jsou přepřepisovány do mediátorové RNA (mRNA) a translatovány; 3 – virion polydnaviru. Do kapsid jsou začleněny plazmidy obsahující geny virulence a kapsidy obalené lipidickým obalem.

8 Životní cyklus parazitoidních vosiček. Žlutě – jejich vaječnících, kde ve specializovaných buňkách (calyx) probíhá replikace polydnavirů. Samice injikují vajíčka spolu s virem do housenek motýlů, kde se vylíhnou a vyvíjejí larvy. Geny virulence polydnavirů se exprimují v buňkách housenek a virové proteiny zajistí vývoj larv. Larvy pak opouštějí housenky, aby se zakuklily a dospěly. Housenky uhynou. Všechny orig.: M. Fraiberk

rezistentní, bakterie bez profágu jsou zničeny. Integrovaný profág jim tak poskytuje systém pro likvidaci konkurenčních bakterií v jejich teritoriu.

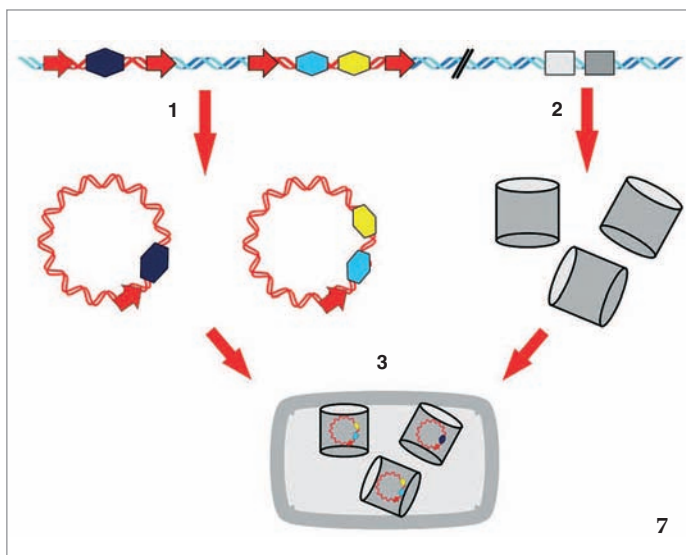
Profágy mohou také pomoci vzniku bakteriálních biofilmů. V nich tvoří bakteriální buňky souvislý povrch, jsou vzájemně propojeny polysacharidovou extrabuněčnou matrix (blíže viz Živa 2012, 3, 5 a 6). Představují tak komunitu, ve které jejich hustota a ochranné prostředí filmu dovoluje různě interagovat a spolupracovat, což

Mutualistická symbióza virů a hostitelů ● Prospěch bakterií z přítomnosti profágů

Bakterie a jejich viry (bakteriofágy, obr. 5) byly tradičně vnímány pouze jako antagonisté. Avšak temperátní bakteriofágy, jejichž genom je integrován do bakteriálního genomu ve formě profágu, poskytují lyzogenním bakteriím geny, které jsou pro ně užitečné – mohou např. rozšířit metabolické možnosti bakterií, ochránit lyzogenní bakterie před infekcí podobným fágem, posílit virulenci bakterií nebo posloužit jako zbraň k likvidaci jiných, konkurenčních mikroorganismů.

Genom temperátních bakteriofágů může být za určitých okolností vyštěpen z hostitelského genomu a bakteriofág projde lytickým cyklem. Bakteriální buňka, v níž k přepnutí na lytický cyklus dojde, je obětována ve prospěch zbylé lyzogenní bakteriální populace. Uvolněné bakteriofágy napadají a ničí konkurenční nelyzogenní bakterie, zatímco lyzogenní bakterie s integrovaným profágem jsou vůči infekci imunní. Tak mohou bakterie okupovat nová teritoria.

Některé temperátní bakteriofágy mají genom kódující toxiny – jedovaté proteiny, které bakterie uvolňuje do okolí. Hostitelské bakterie jsou vůči těmto toxinům



zvyšuje odolnost bakteriální populace. Během tvorby biofilmu z lyzogenních bakterií jsou profágy některých buněk uvolněny z bakteriálního genomu a projdou lytickým cyklem. Indukce lyze může nastat např. nedostatkem živin při vysoké hustotě buněk nebo nahromaděním oxidantů – reaktivních forem kyslíku (Reactive Oxygen Species, ROS). Lyze v důsledku tvorby virových částic je sice fatální pro několik jednotlivých buněk, pro celou populaci je však výhodná. Fágy pomohou vytvářet dutiny (průduchy) uvnitř biofilmu a zajistit z obětovaných buněk a uvolněných bakteriofágů živiny pro okolní buňky.

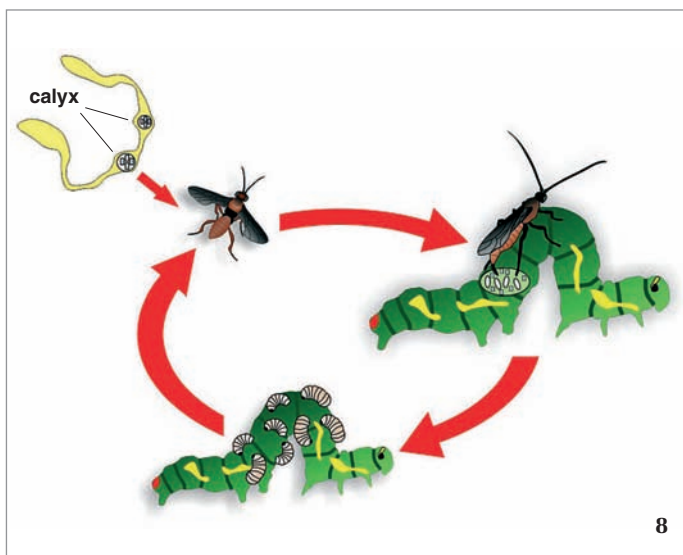
● Podmíněná mutualistická symbióza rostlin a virů

Zatímco infekce některými viry při optimálních podmínkách pro růst rostliny navodí antagonistickou symbiózu, ve stresových podmínkách se vztah rostlina–virus může změnit v mutualistický.

Ukázalo se, že infekce rostlin mnohými viry dokáže prodloužit jejich přežití při abiotickém stresu. Americký vědecký tým vedený Marilyn J. Roossinckovou infikoval různé rostlinné druhy čtyřmi viry, virem infikujícím trávy (Brome Mosaic Virus, BMV), mozaiky okurek (Cucumber Mosaic Virus, CMV), tabákové mozaiky (Tobacco Mosaic Virus, TMV) a virem chřastění tabáku (Tobacco Rattle Virus, TRV). Rostliny vystavili stresu sucha. Ve všech případech byly infikované rostliny k suchu odolnější než kontrolní neinfikované. U všech infikovaných rostlin se symptomy sucha projeví později než u kontrolních (obr. 4). Řepa infikovaná virem CMV byla navíc odolnější k mrazu. Analýza metabolitů v nakažených rostlinách ukázala zvýšení osmoprotektivních látek a antioxidantů oproti kontrole.

● Trojnásobná symbióza – virus v houbě, houba v rostlině

Několik rostlin dokáže růst při vysokých teplotách geotermálních půd v americkém národním parku Yellowstone. Zvláště zde najdeme druh *Dichanthelium lanuginosum* (lipnicovitě – *Poaceae*). Tato tráva je kolonizována symbiontem – vrčkovýtrusnou houbou *Curvularia protuberata* (zdrovkovitě – *Pleosporaceae*), která jí umožňuje růst při tak vysoké teplotě. Laboratorní pokusy ukázaly, že pokud kořeny vystavíme



teplotě 65 °C, nesymbiotické rostliny hynou, zatímco symbiotické jsou odolné a přežívají. Když oba symbiotické organismy pěstujeme odděleně, ani jeden z nich nevydrží teplotu nad 38 °C. Pracovníci laboratoře M. J. Roossinckové nedávno prokázali (Márquez a kol. 2007), že v houbě přežívá virus s genomem ve formě fragmentů dvouvláknové RNA. A je to právě virus, který uděluje houbě (a symbiotické rostlině) vlastnosti rezistence k vysoké teplotě. Pokud je virus zničen, houba ztrácí schopnost zajistit travě tepelnou odolnost. Mechanismus této tripartitní symbiózy není zatím zcela objasněn.

● Mutualistická symbióza hmyzu a virů

Příkladem jsou mšice jitrocelová (*Dysaphis plantaginea*) a densovirus (*Dysaphis plantaginea densovirus*, DplDNV). Tento malý virus s genomem tvořeným jednovláknovou lineární DNA patří do čeledi *Parvoviridae*. Životní cyklus mšice zahrnuje sexuální potomstvo a také asexuální generace. Nepohlavně se množící klony geneticky identických mšic mohou být buď bez křídel, nebo okřídlené (obr. 6).

Eugene V. Ryabov se spolupracovníky (2009) laboratorními pokusy zjistili, že tvorba okřídlených forem u nepohlavních klonů závisí na infekci densovirem. Ukázali, že neinfikované mšice nebo infikované nepřítbuzným RNA virem za stejných podmínek okřídlené formy netvoří. Densovirus sice oslabuje rychlost reprodukce mšic, ale indukuje vývoj křídel, které mšicím umožní létat a kolonizovat nové rostliny.

Octomilka *Drosophila melanogaster* může být infikována mimo jiné picornavirem DCV (*Drosophila C virus*, *Picornaviridae*). Virus se přenáší horizontálně kontaktem nebo pozřením. Michèle Thomas-Orillardová ukázala již v r. 1988, že tento virus je užitečný pro hostitele – ovlivňuje morfogenezi vaječnic, zvyšuje plodnost a zkracuje interval vývoje octomilek. Zajímavé je, že symbióza tohoto viru může být považována zároveň za antagonistickou i mutualistickou; antagonistickou u prematurovaných forem – DCV zvyšuje úmrtnost nedospělých jedinců (ve stadiu larvy a kukly), a mutualistickou pak u dospělců – zvyšuje jejich reprodukční kapacitu.

Symbiogeneze virů a hostitelů

Mutualistická symbióza může vést k symbiogenezi. Ta nastává, když se virová DNA integruje do zárodečných buněk, a může se tak dědit v populaci hostitelů. Většina endogenních virových sekvencí pochází z retrovirů (viz níže), ale v genomech hostitelů nacházíme i řadu sekvencí ostatních DNA a dokonce i RNA virů replikujících se v cytoplasmě.

● Polydnaviry a parazitoidní vosičky

Polydnaviry (PDV, čeleď *Polydnaviridae*) spojené specifickým způsobem s parazitoidními vosičkami mají řadu typických znaků charakteristických pro mnoho dalších virů, ale v hostiteli přetrvávají v podobě endogenních virových elementů. Tyto elementy procházejí mutacemi, řada z nich tak ztratí původní funkci. Některé však mohou být hostiteli využity k vytvoření nových funkcí prospěšných pro jeho vývoj. Polydnaviry mají vlastnosti, které je řadí na rozhraní mezi klasickými (parazitickými) živočišnými viry a endogenními virovými elementy.

Do čeledi *Polydnaviridae* bylo k dnešku zařazeno více než 50 druhů tvořících dva rody – *Ichnovirus* a *Bracovirus* – pojmenovaných podle hostitelských vosiček, lumků a lumčičků. Genom těchto virů je tvořen segmenty dvouvláknové DNA uloženými v proteinových kapsidách a obalenými jednou nebo dvěma vrstvami lipidového obalu. Sekvence genomů ichtnovirů a bracovirů se od sebe výrazně liší, což vypovídá o nezávislém vývoji obou rodů.

Polydnaviry jsou součástí biologického systému skládajícího se kromě virů z jejich hostitelů, tedy parazitoidních vosiček, a také housenek motýlů a můr (Lepidoptera), v nichž se larvy parazitoidů vyvíjejí. Polydnavirus je injikován samicí parazitoida spolu s vajíčkou do tělní dutiny housenek a infikuje jejich buňky. Infekce nevede k replikaci nových virů, ale ovlivňuje imunitní systém housenek. Bez přítomnosti viru jsou vajíčka nebo vylíhlé larvy parazitoida likvidovány imunitním systémem housenek (fagocytickými buňkami a fenoloxidázovou kaskádou). Virus však parazitoidy ochrání a umožní larvám se v housenkách plně vyvinout.

Genomy polydnavirů vykazují mezi známými viry unikátní organizační a funkční

rysy. DNA polydnaviru rodu *Bracovirus* je integrována do genomu parazitoidů, kde je pak přítomna ve dvou oddělených klas- trech. Jeden úsek obsahuje geny virulence, jejichž produkty inhibují imunitní systém housenek, na kterých lumci a lumčící pa- razitují, a umožní tak vajíčkům a larvám přetrvat; zároveň ovlivňují růst housenek a posléze jejich smrt tak, aby se v nich mohly vyvinout larvy vosiček. Druhý klastr genů, tzv. core, obsahuje geny potřebné pro replikaci virů – tvorbu virionů. Genom pře- trvává jak v zárodečné linii, tak v tělních (somatických) buňkách. Jeho replikace ale probíhá pouze u samic ve stadiu kukly nebo dospělé, v jádrech specializovaných buněk (calyx) vaječníku. Tyto buňky se rozpadají a uvolňují viriony do vnitřního prostoru (lumen) vaječníku, kde jsou uchová- vána vajíčka. Replikace polydnavirů začí- ná koordinovanou expresí polydnavirových genů (integrovaných v genomu vosiček) během stadia kukly a pokračuje až do sta- dia dospělců. Zároveň probíhá replikace a vystřížení (excize) integrovaných genů virulence, jejichž cirkularizace (uzavření do kruhové formy) a zabalení (enkapsida- ce) do virionů (obr. 7).

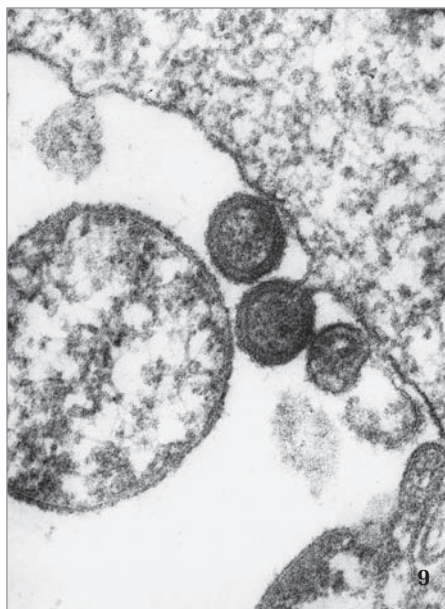
Parazitické vosičky pak injikují vajíčka spolu s viriony polydnavirů do housenek motýlů (životní cyklus na obr. 8). Virová DNA se v jádrech buněk housenek expri- muje. Transkribují a translatují se geny vi- rulence, jejichž produkty jsou nezbytné pro dokončení vývoje larev parazitoidea i pro uhynutí housenek.

Řada výzkumů naznačuje, že se polydna- viry rodu *Bracovirus* vyvinuly z ancestrál- ních, tedy od předků získaných, nudivirů (*Nudiviridae*), hmyzích obalených virů s genomem tvořeným jednou velkou dvou- vláknovou DNA, podobných bakulovirům (*Baculoviridae*). To byly patrně „normál- ní“ parazitické viry. Řada nudivirů vy- volává lytickou infekci u hmyzu, některé však mohou selektivně infikovat repro- dukční orgány hostitele a ustavit latentní infekci integrací svého genomu do hosti- tele. Sekvenováním DNA parazitických vosiček byla zjištěna řada genů jevících podobnost s geny nudivirů.

Otázka je, dají-li se polydnaviry nazývat ještě viry. Genetická informace přítomná ve virionech totiž neobsahuje sekvence kódující strukturní proteiny – proteiny vi- rových částic. Ty jsou syntetizovány pou- ze ve vaječnicích vosiček z genů tvořících součást genomu vosiček, nové viriony se tu- díž v housenkách tvoří. Na polydnaviry lze nahlížet jako na defektní viry, přená- šené vertikálně s genomem vosiček. Není tedy jasné, zda můžeme virus a vosičku považovat ještě za oddělené entity. Jejich symbióza je na rozhraní symbiózy mutua- listické a symbiogenetické.

● Endogenní retroviry a symbiogeneze

Retroviry (čeleď *Retroviridae*) jsou obalené viry, jejichž virová částice má kromě pro- teinové kapsidy ještě lipidickou membrá- nu – obal odvozený z membrán hostitelské buňky, do kterého jsou inkorporovány vi- rem kódované obalové proteiny (např. Živa 2006, 1: 6–8; 2007, 5: 236–237; 2015, 3: 101–106). V genomu jednoduchého retro- viru se nacházejí tři kódující oblasti – *gag*, *pol* a *env*. Oblast *gag* kóduje proteiny



9 Virus lidské imunodeficiency (HIV). Lipidický obal získávají retroviry puče- ním z infikované hostitelské buňky. Do cytoplazmatické membrány jsou inkorporovány virem kódované proteiny (produkty genové oblasti *env*), které vyčnívají z buněčné (a po vypuštění z virové) lipidické dvojvrstvy. Snímky H. M. Lairdové, pokud není uvedeno jinak

tvořící virovou částici, oblast *pol* potřebné enzymy – reverzní transkriptázu, integrázu, proteázu, a *env* kóduje obalové proteiny, odpovědné za rozpoznání receptoru na povrchu buňky a za zprostředkování fúze virového obalu s buněčnou membránou při vstupu viru do hostitelské buňky. Ge- nom infekčních retrovirů tvoří jednovlákn- ová RNA, která je po uvolnění virové kapsidy v cytoplasmě hostitelské buňky přepisována do dvouvláknové DNA reverzní transkriptázou přítomnou ve virové částici. Tato (provirová) DNA je v jádře vložena do hostitelského genomu virovým enzymem – integrázou. Provirová DNA je pak transkribována za vzniku nových RNA genomů, které zároveň slouží jako mRNA pro syntézu virových proteinů. Provirová DNA se také replikuje jako součást hosti- telského genomu. Pokud se začleněný retro- virový genom dostane do zárodečné linie, začne se šířit vertikálně a stane se součástí hostitelského genomu. Inzerce provirových sekvencí do zárodečných buněk má dlou- hou historii a v genomech obratlovců se jich nachází velké množství (4–10 %). V lid- ském genomu má 8 % sekvencí retrovirový původ. Množství sekvencí endogenních provirů a různých jejich pozůstatků (např. retrotranspozonů) ukazuje na významnou roli virové symbiogeneze v evoluci života.

Sekvence endogenních retrovirů prochá- zejí v hostitelských genomech mutacemi, rekombinacemi, dochází k posunu čtecích rámců (Open Reading Frame, ORF) genů, nebo vytváření předčasných terminačních kodonů (stop kodonů) jejich translace. To vše má za následek vznik nefunkčních pseudogenů a jiných defektních virových fragmentů napříč hostitelským genomem. Promotory a zesilovače transkripcie, jež se nacházejí v koncových sekvencích lemujíc-

cích kódující část retrovirových genomů – Long Terminal Repeats (LTR), představují velký zdroj regulačních elementů, rozptýle- ných v hojně míře v hostitelské DNA. V ge- nomech některých druhů savců přetrváva- jí plně funkční proviry. Takové endogenní retroviry mohou být znovu aktivovány, pře- psány do nových genomových RNA a dát vzniknout virovým částicím, jež mohou být horizontálně předávány. Mohou pak opětovně nakazit hostitele. Pokud přitom znovu infikují zárodečné buňky, jejich provirová DNA může být fixována v nové pozici hostitelského genomu. Hostitel pak může použít některé z těchto sekvencí k vlastním evolučním inovacím, které mu poskytnou selekční výhodu. Může se stát, že některý z genů endogenních provirů zůstane konzervován po miliony let evo- luce, zatímco zbytek virových sekvencí degeneruje nebo se homologní rekombi- nací LTR sekvencí ztratí. Udržení se funk- čních retrovirových genů u celých skupin živočišných druhů naznačuje, že by tyto geny skutečně mohly představovat selek- ční výhodu pro hostitele.

Příkladem jsou geny kódující retrovirové obalové proteiny (*env*). V savcích si pro- dukty genů *env* udržely některé ze svých funkcí, včetně schopnosti fúzovat mem- brány, rozpoznávat specifické receptory a také potlačovat imunitní odpovědi. Z ta- kových ancestrálních *env* genů retrovirů pocházejí syncytiny, glykoproteiny nutné pro tvorbu placenty – důležitého orgánu, jehož hlavní funkcí je tvořit rozhraní mezi matkou a plodem. Geny pro syncytiny jsou exprimovány v placentě. Syncytiny se zřej- mě podílejí na fúzi trofoblastů, a tedy na tvorbě placentálního mnohobuněčného syn- cytiotrofoblastu. Ten se nachází na vnějším povrchu placenty a zodpovídá za metabo- lickou výměnu mezi plodem a matčím tělem – transport kyslíku, výživy, odpad- ních produktů, produkci hormonů, a také za imunotoleranci. Existuje hypotéza, že pla- centace vznikla u savčích předků získáním retrovirového genu *env*, který byl v průbě- hu evoluce a diverzifikace savců nahrazo- ván genem *env* jiných retrovirů. Fylogene- tické analýzy ukazují, že gen pro syncytin se stal součástí hostitelského genomu a byl „domestikován“ v průběhu vývoje různých savčích linií nejméně čtyřikrát. To vysvětlu- je rozmanitost genů pro syncytin u savců. Mnohé retroviry obalové proteiny mohou zprostředkovávat potlačení imunitní odpo- vědi. Za tuto schopnost je odpovědná sek- vence v délce 25 aminokyselin umístěná v doméně obalového proteinu, která vyční- vá z virového obalu nebo povrchu infiko- vané buňky. Tato sekvence byla zjištěna rovněž v syncytinu. Výrazná exprese syn- cytinu v placentálních syncytiotrofoblas- tech tak patrně přispívá k imunotoleranci vyvíjejícího se plodu.

Ačkoli existují další příklady role virů ve vývoji současných organismů, jsme v po- znání, do jaké míry a jakými mechanis- my viry ovlivňovaly a stále ovlivňují evo- luci organismů, včetně člověka, dosud na počátku. Nepochybně nás čekají mnohá překvapení. Nicméně již nyní se nabízí otázka: Čím bychom byli bez virů?

Hlavní citace uvádíme na webov- é stránce Živa.