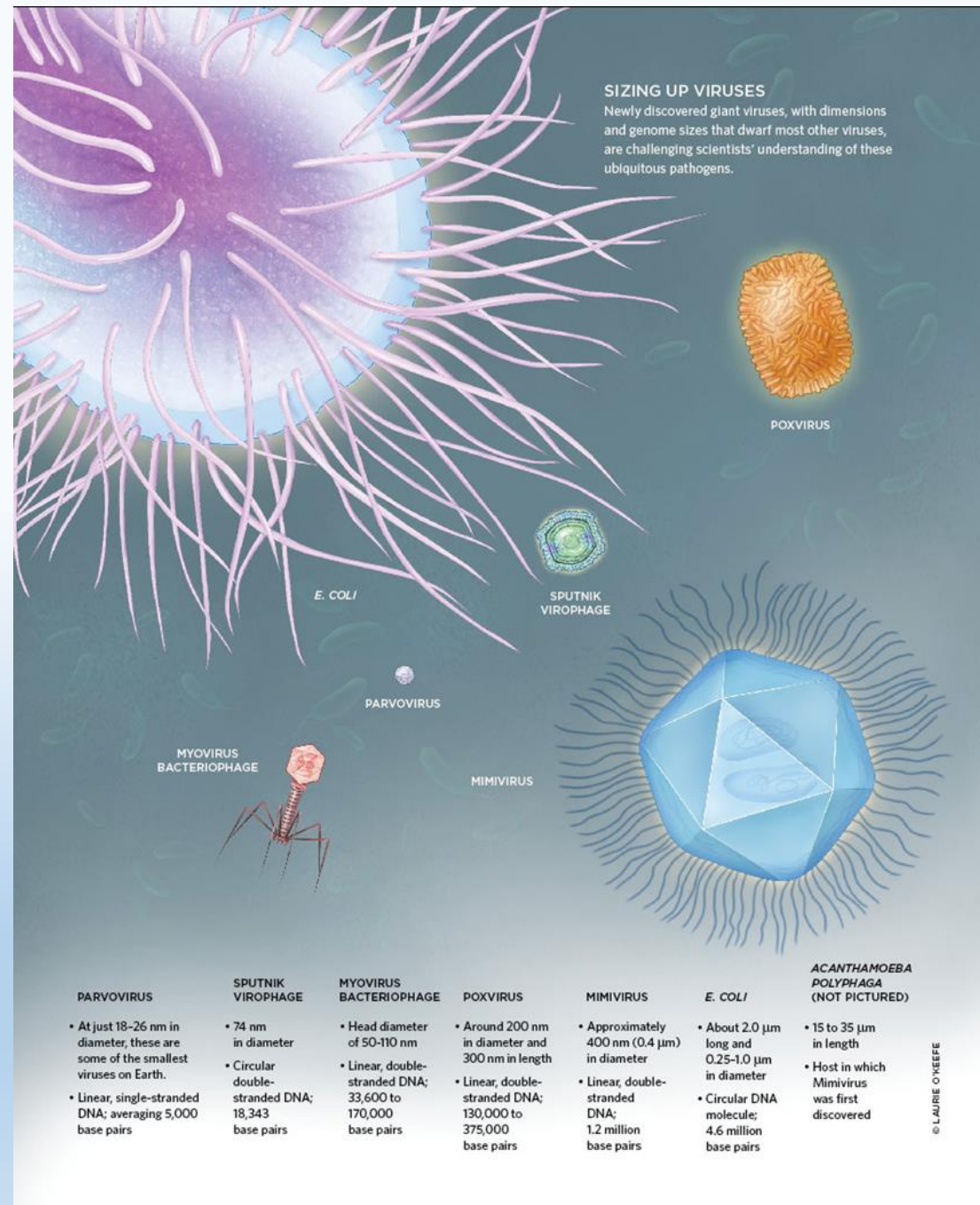


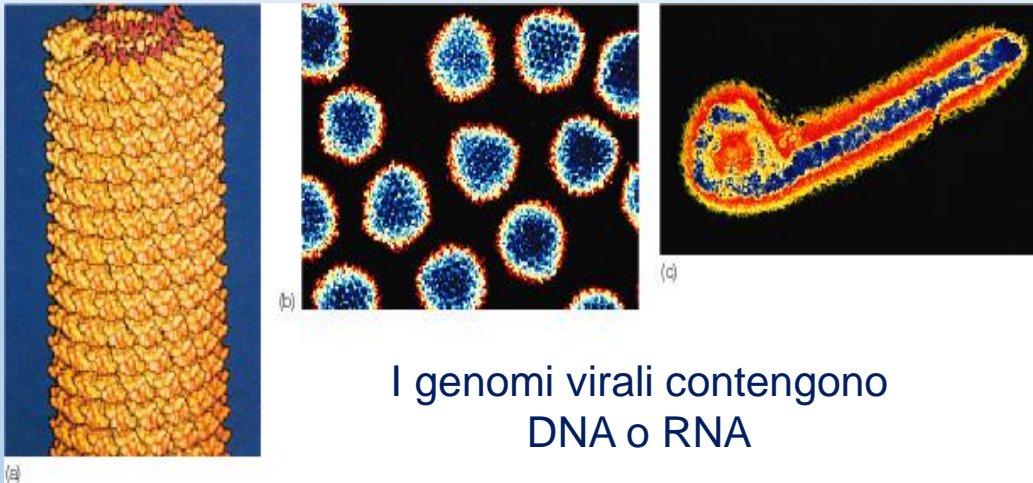
Virus GIGANTI

(nucleocytoplasmic large DNA virus, NCLDV)

Non una semplice curiosità biologica, ma un **nuovo ed inatteso capitolo** nello studio della vita sul pianeta



- I virus **NON** sono considerati **esseri viventi** e **NON** sono **costituiti da cellule**: sono **'macchine molecolari'**
- Per funzionare **devono introdursi all'interno di una cellula** (procariota o eucariota) e **sfruttarne i meccanismi di replicazione, trascrizione e sintesi proteica**
- Sono a volte definiti **"parassiti intracellulari obbligati"**, anche se in biologia il termine **"parassita"** dovrebbe essere riservato ad organismi viventi (Procarioti ed Eucarioti) che sfruttano uno o più ospiti



I genomi virali contengono
DNA o RNA

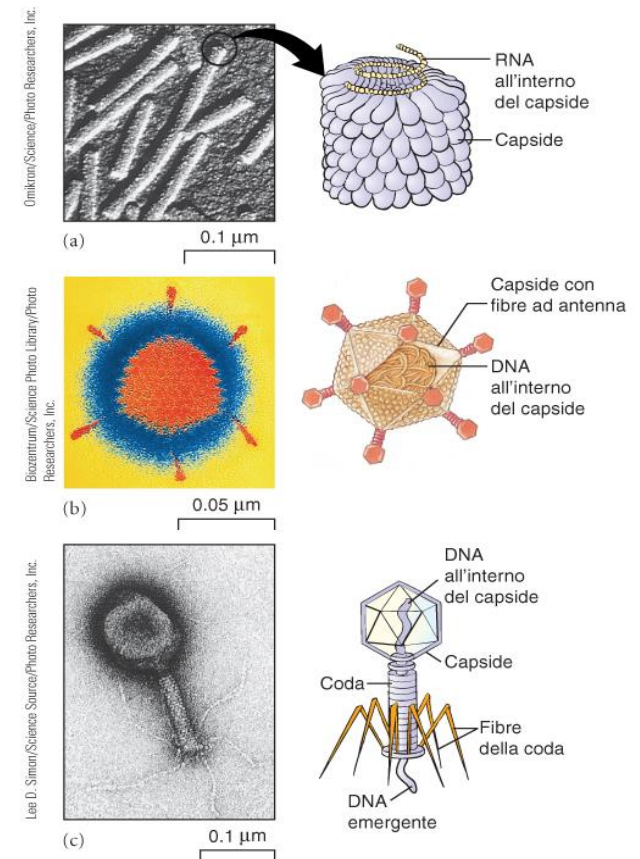
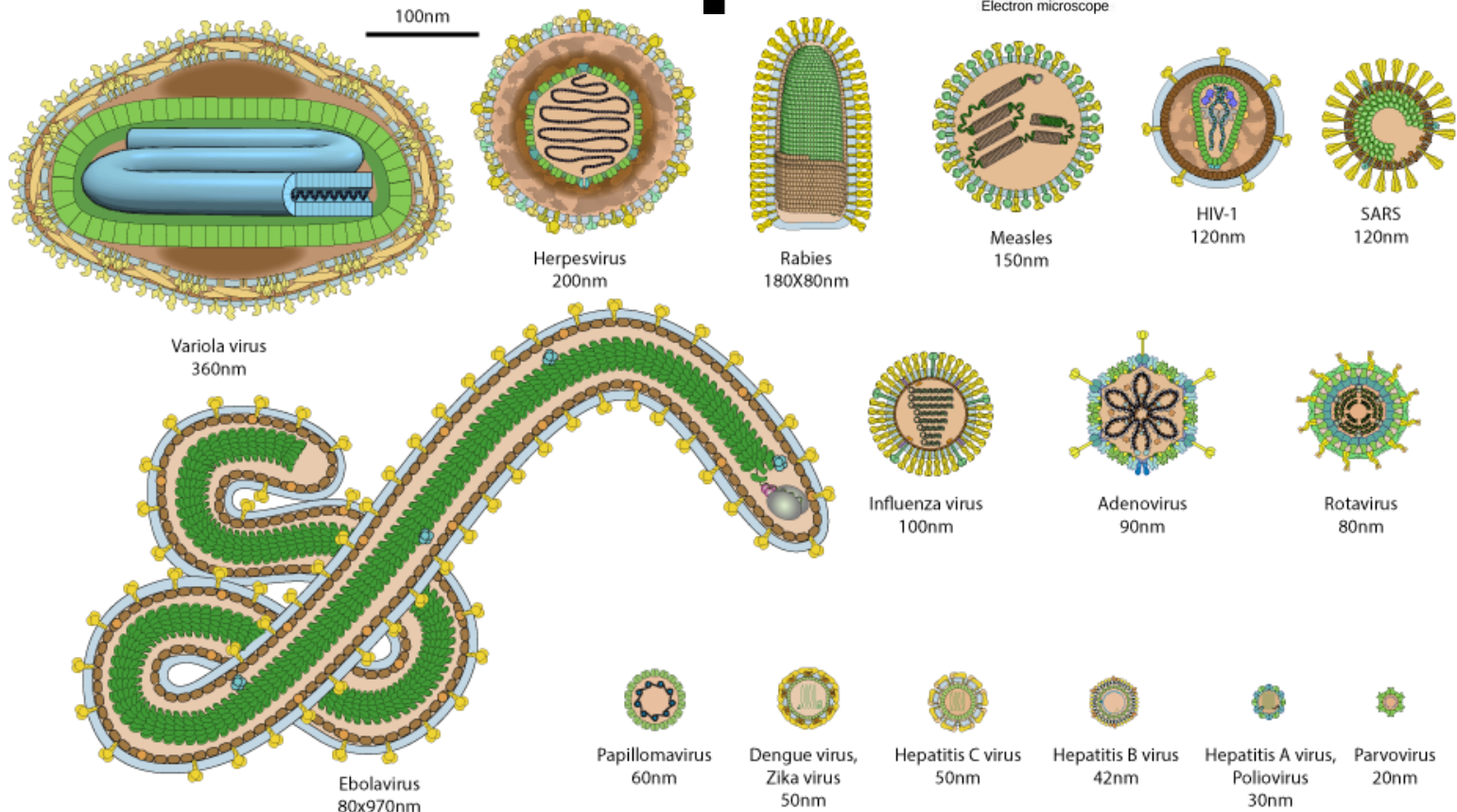
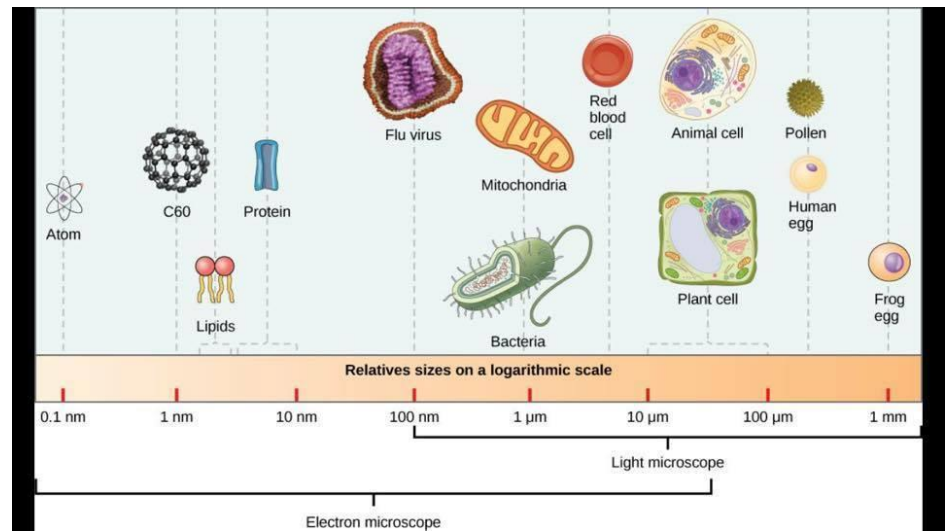


FIGURA 23-1 La struttura virale.

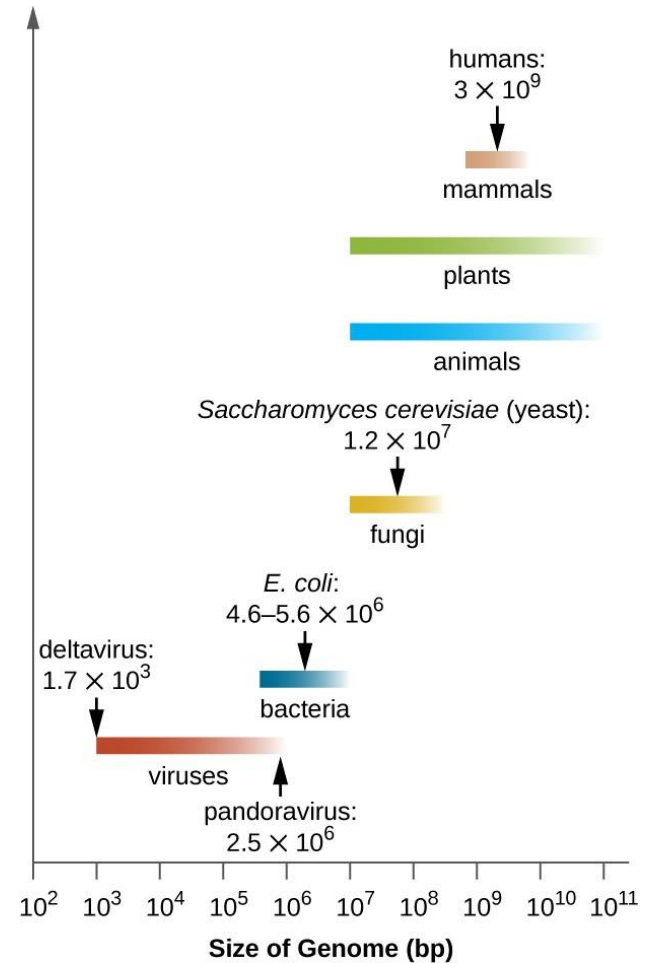
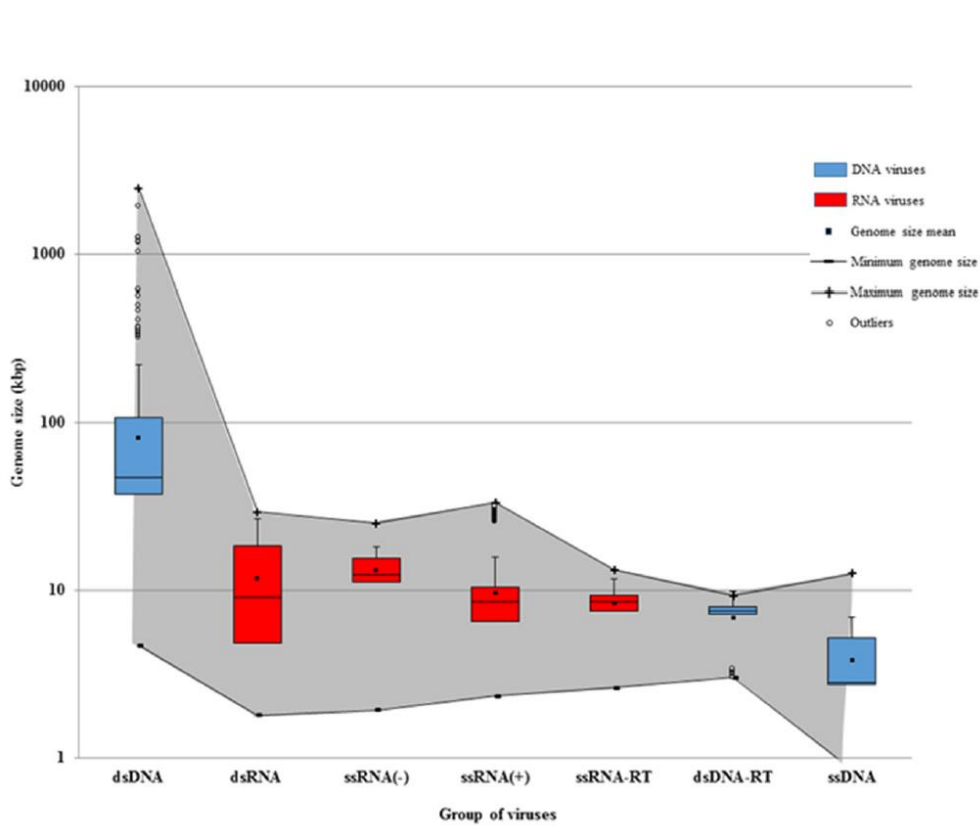
(a) Immagine MET del virus del mosaico del tabacco, un virus a forma di bastoncino con un'organizzazione elicoidale delle proteine capsidiche. (b) Immagine MET di un adenovirus, caratterizzato da un capsidico composto da 252 subunità (visibili come minuscoli ovali) disposte secondo un poliedro a 20 facce. Dodici subunità presentano spine proteiche proiettate verso l'esterno le quali permettono al virus di riconoscere la cellula ospite. (c) Immagine MET del batteriofago T4 con testa poliedrica e coda elicoidale.

Quali sono le “normali” dimensioni di un virus?

Dai 360 nm del virus del vaiolo ai piccolissimi virus della poliomielite e dell’epatite (30-40 nm)



Dimensioni del **genoma virale** (in migliaia di basi, Kbp)



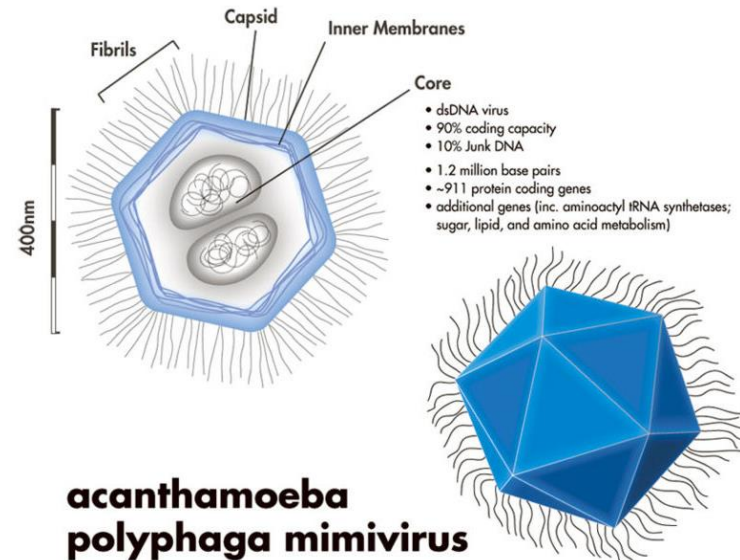
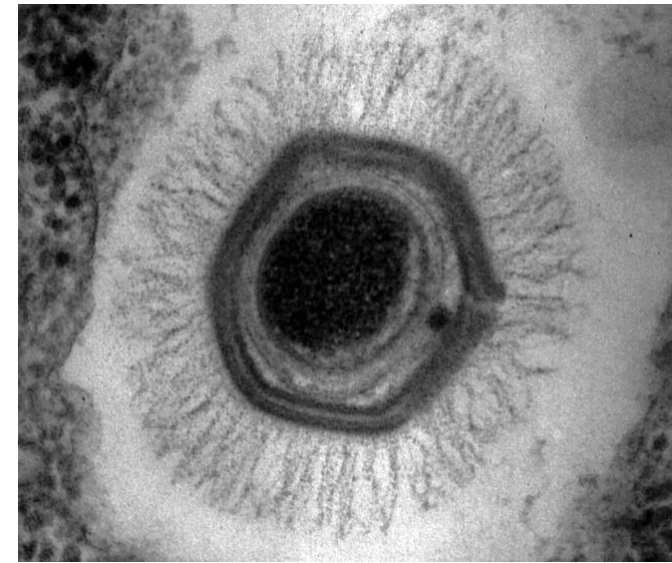
I virus a DNA (in blu) hanno una gamma di dimensioni del genoma molto superiore a quella dei virus a RNA, ma entrambi i tipi non superano di norma 100 Kbp

Recentemente sono stati scoperti **virus giganti** (sia per dimensioni sia per genoma) appartenenti a due famiglie, i Megavirus e i Mimivirus

Megavirus chilensis virus “quasi-cellulare”

- Un gruppo di ricercatori francesi ha scoperto nel 2011 un virus a DNA di dimensioni giganti (0.7 μm) e con un genoma (1.259.127 coppie di basi, cioè 1.25 Mb) **enorme** in paragone a quello di altri virus, **in grado di codificare 1120 proteine**, tra cui 7 aminoacil-tRNA sintetasi finora ritenute esclusive di Procarioti ed Eucarioti
- I comuni virus hanno in media solo 10 geni codificanti
- *Megavirus chilensis* è **parassita di amebe marine e d'acqua dolce** (*Acanthamoeba polyphaga*, Protista Sarcomastigophora) (Arslan et al., PNAS 2011)

Inizialmente è stata avanzata l'ipotesi che il genoma di questo e altri grandi virus scoperti a partire dal 2003 (famiglia *Mimiviridae*) fosse derivato da un genoma procariotico ancestrale, fortemente ridotto nel corso dell'evoluzione



Pandoraviridae

Lo stesso gruppo di ricerca francese ha scoperto nel 2013 **due specie di una nuova famiglia di megavirus** che infettano amebe, detti **Pandoraviridae** per la forma ad anfora che ricorda il famoso (e famigerato) “vaso di Pandora”

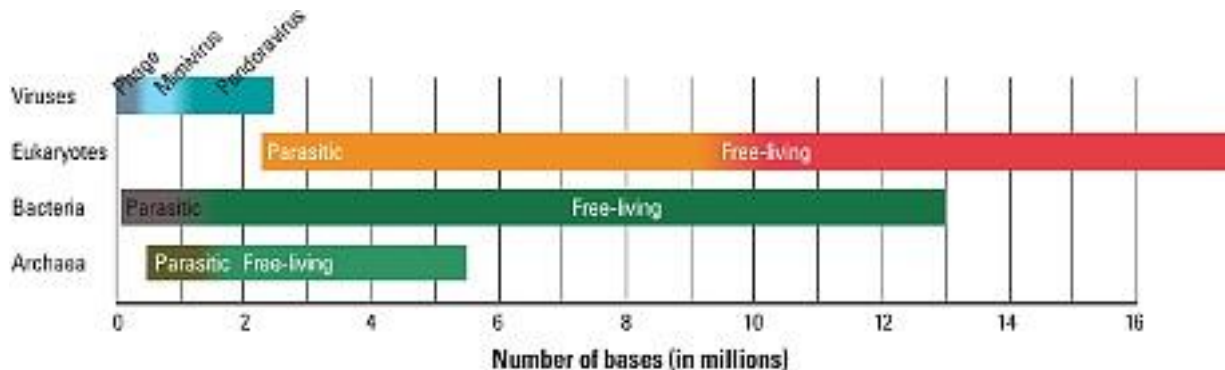
- *Pandoravirus salinus* è stato scoperto in Cile e *P. dulcis* in un lago australiano vicino a Melbourne
- I Pandoraviridae hanno genomi di dimensioni fino a 2.5 Mb, **più grandi di quelli di alcuni Eucarioti parassiti**



Pandoraviruses: Amoeba Viruses with Genomes Up to 2.5 Mb Reaching That of Parasitic Eukaryotes

Nadège Philippe,^{1,2*} Matthieu Legendre,^{1*} Gabriel Doutré,¹ Yohann Couté,³ Olivier Poirot,¹ Magali Lescot,¹ Defne Arslan,¹ Virginie Seltzer,¹ Lionel Bertaux,¹ Christophe Bruley,³ Jérôme Garin,³ Jean-Michel Claverie,^{1†} Chantal Abergel^{1†}

Ten years ago, the discovery of Mimivirus, a virus infecting *Acanthamoeba*, initiated a reappraisal of the upper limits of the viral world, both in terms of particle size (>0.7 micrometers) and genome complexity (>1000 genes), dimensions typical of parasitic bacteria. The diversity of these giant viruses (the Megaviridae) was assessed by sampling a variety of aquatic environments and their associated sediments worldwide. We report the isolation of two giant viruses, one off the coast of central Chile, the other from a freshwater pond near Melbourne (Australia), without morphological or genomic resemblance to any previously defined virus families. Their micrometer-sized ovoid particles contain DNA genomes of at least 2.5 and 1.9 megabases, respectively. These viruses are the first members of the proposed “Pandoravirus” genus, a term reflecting their lack of similarity with previously described microorganisms and the surprises expected from their future study.



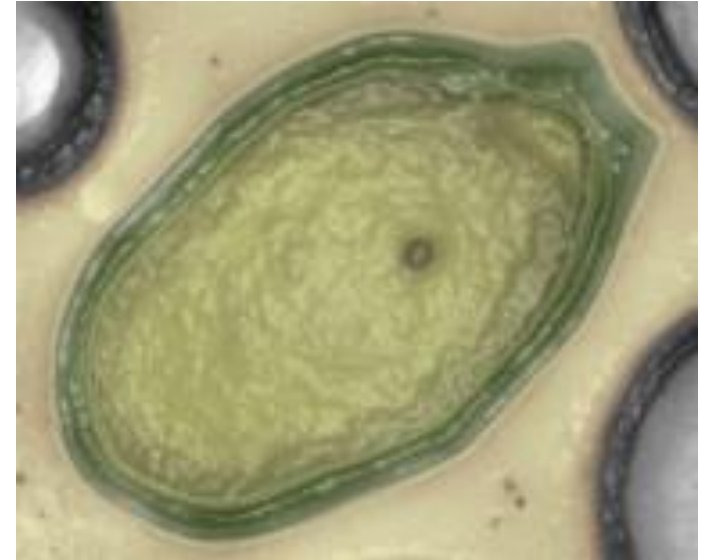
Fonte: Nadège et al., Science 341: 281-286, 2013

Pandoravirus, o **TRUC** (**T**hings **R**esisting in **U**ncomplete **C**lassification)

- I Pandoraviridae **non hanno geni codificanti per le proteine del capside**, struttura fondamentale presente in tutti i virus finora conosciuti (Nadège et al., Science 2013)
- Nel loro proteoma solo il solo il 6% delle proteine è simile a quelle di altri virus o di Procarioti ed Eucarioti, **ma il codice genetico usato è quello universale**

Per indicare questi virus gli autori hanno coniato l'acronimo "**TRUC**" (in inglese "cose che persistono in una classificazione incompleta"): la stessa parola significa in francese "cosa molto strana"

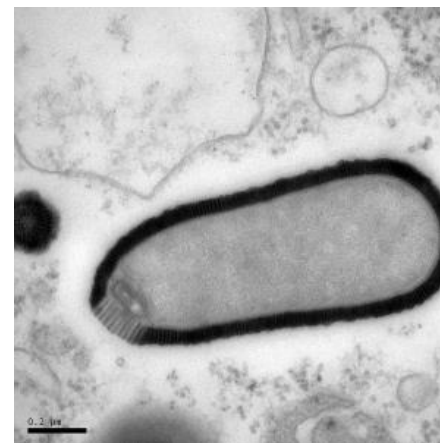
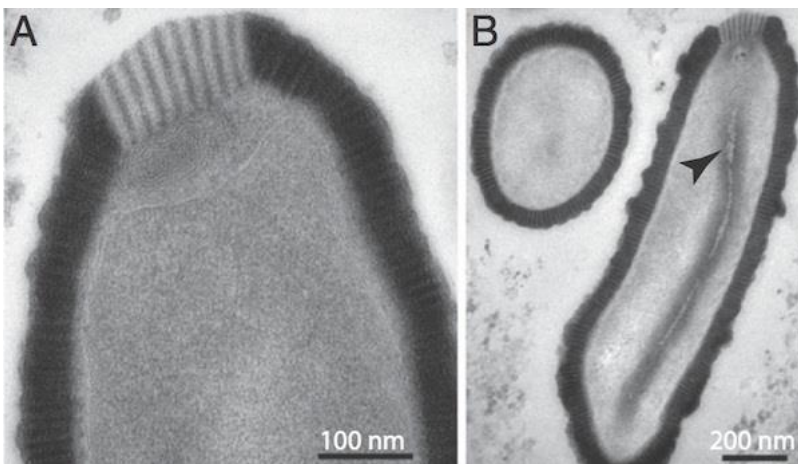
Tuttavia queste strane "megamacchine molecolari" sono **virus a tutti gli effetti**, perché **non hanno ribosomi, non trasducono energia e non si dividono**



Fonte: Nadège et al., Science 341: 281-286, 2013

Pithovirus sibericum (2014)

- Un nuovo virus gigante a DNA simile ai Pandoraviridae è stato scoperto in un campione di permafrost siberiano datato con il radiocarbonio ad oltre 30 000 anni (Legendre et al., PNAS 2014)
- Il virus scongelato ha ripreso a funzionare regolarmente, infettando amebe
- La sua riattivazione indica che il riscaldamento globale e lo sfruttamento delle regioni polari potrebbero provocare la ricomparsa di virus ancestrali patogeni per gli umani e per gli animali



Thirty-thousand-year-old distant relative of giant icosahedral DNA viruses with a pandoravirus morphology

Matthieu Legendre^{a,1}, Julia Bartoli^{a,1}, Lyubov Shmakova^b, Sandra Jeudy^c, Karine Labadie^c, Annie Adrait^d, Magali Lescot^e, Olivier Poirrot^f, Lionel Bertaux^g, Christophe Bruley^g, Yohann Couste^g, Elizaveta Rivkina^h, Chantal Abergel^{a,1}, and Jean-Michel Claverie^{a,1,2}

^aStructural and Genomic Information Laboratory, Unité Mixte de Recherche 7256 (Institut de Microbiologie de la Méditerranée) Centre National de la Recherche Scientifique, Aix-Marseille Université, 13288 Marseille Cedex 9, France; ^bInstitute of Physicochemical and Biological Problems in Soil Science, Russian Academy of Sciences, Pushchino 142290, Russia; ^cCommissariat à l'Énergie Atomique, Institut de Génétique, Centre National de Séquençage, 91057 Evry Cedex, France; ^dCommissariat à l'Énergie Atomique, Institut de Recherches en Technologies et Sciences pour le Vivant, Biologie à Grande Echelle, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Unité 1038, Université Joseph Fourier Grenoble 1, 38054 Grenoble, France; and ^eAssistance Publique - Hôpitaux de Marseille, 13385 Marseille, France

Edited by James L. Van Etten, University of Nebraska-Lincoln, Lincoln, NE, and approved January 30, 2014 (received for review November 7, 2013)

The largest known DNA viruses infect *Acanthamoeba* and belong to two markedly different families. The Megaviridae exhibit pseudo-icosahedral virions up to 0.7 μm in diameter and adenine-thymine (AT)-rich genomes of up to 1.25 Mb encoding a thousand proteins. Like their Mimivirus prototype discovered 10 y ago, they entirely replicate within cytoplasmic virion factories. In contrast, the recently discovered Pandoraviruses exhibit larger amphora-shaped virions 1 μm in length and guanine-cytosine-rich genomes up to 2.8 Mb long encoding up to 2,500 proteins. Their replication involves the host nucleus. Whereas the Megaviridae share some general features with the previously described icosahedral large DNA viruses, the Pandoraviruses appear unrelated to them. Here we report the discovery of a third type of giant virus combining an even larger pandoravirus-like particle 1.5 μm in length with a surprisingly smaller 600 kb A/T-rich genome, a gene content more similar to Iridoviruses and Marsellevirus, and a fully cytoplasmic replication reminiscent of the Megaviridae. This suggests that pandoravirus-like particles may be associated with a variety of virus families more diverse than previously envisioned. This giant virus, named *Pithovirus sibericum*, was isolated from a >30,000-y-old radiocarbon-dated sample when we initiated a survey of the virome of Siberian permafrost. The revival of such an ancestral amoeba-infecting virus used as a safe indicator of the possible presence of pathogenic DNA viruses, suggests that the thawing of permafrost either from global warming or industrial exploitation of circum-polar regions might not be exempt from future threats to human or animal health.

giant DNA virus | late Pleistocene | icosahedral capsid

Ten years ago, the discovery of *Acanthamoeba polyphaga* Mimivirus revealed the existence of giant DNA viruses with particles large enough to be visible under a light microscope (1, 2). Further sampling of various environments and geographical loca-

larger amphora-shaped virions 1–1.2 μm in length. Their guanine-cytosine (GC)-rich (>61%) genomes are up to 2.8 Mb long and encode up to 2,500 proteins sharing no resemblance with those of Megaviridae (9). Finally, Pandoravirus particles do not incorporate the transcription machinery that would allow them to entirely replicate in the host's cytoplasm. Known giant viruses infecting *Acanthamoeba* were thus thought to belong to two very dissimilar types in terms of particle structure, genome characteristics, and replication strategies. Here we describe a third type of giant virus named “Pithovirus” (from the Greek word *pithos* designating the kind of large amphora handed over by the gods to the legendary Pandora) propagating in an even larger pandoravirus-like particle, but exhibiting a replication cycle and genomic features reminiscent of those of large icosahedral nucleocytoplasmic DNA viruses. Giant viruses are thus much more diverse than initially assumed.

Significance

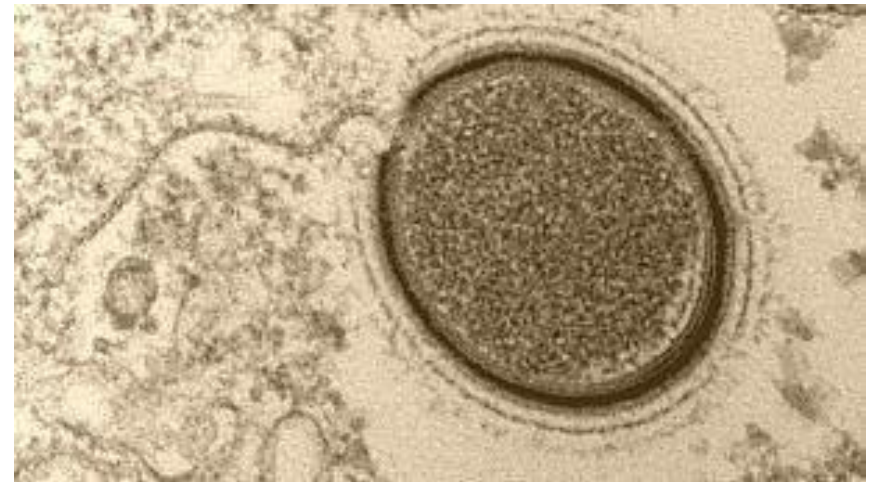
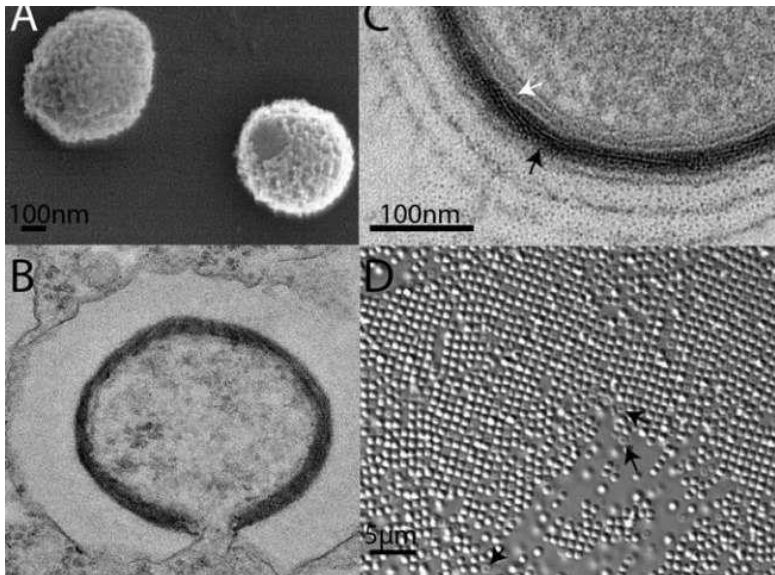
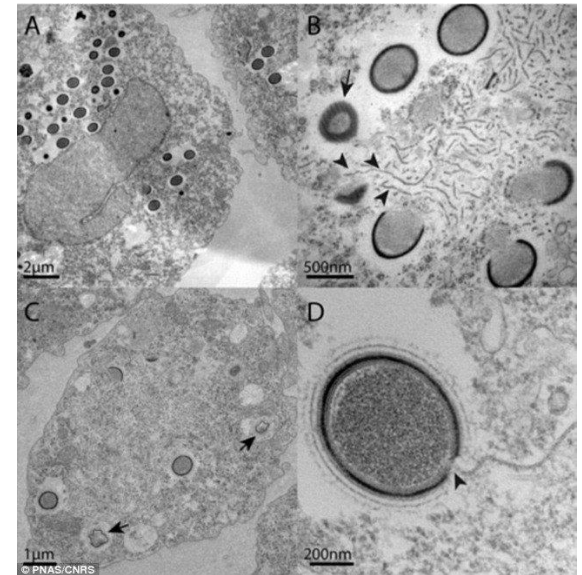
Giant DNA viruses are visible under a light microscope and their genomes encode more proteins than some bacteria or intracellular parasitic eukaryotes. There are two very distinct types and infect unicellular protists such as *Acanthamoeba*. On one hand, Megaviridae possess large pseudo-icosahedral capsids enclosing a megabase-sized adenine-thymine-rich genome, and on the other, the recently discovered Pandoraviruses exhibit micron-sized amphora-shaped particles and guanine-cytosine-rich genomes of up to 2.8 Mb. While initiating a survey of the Siberian permafrost, we isolated a third type of giant virus combining the Pandoravirus morphology with a gene content more similar to that of icosahedral DNA viruses. This suggests that pandoravirus-like particles may correspond to an unexplored diversity of unconventional DNA virus families.

Un altro megavirus isolato nel 2015

Dallo stesso campione di permafrost siberiano datato a 30 000 anni fa è stato isolato nel 2015 **un quarto tipo di virus gigante, *Mollivirus sibericum*** (Legendre et al., PNAS 112: 38, 2015)

La sua particella virale sferica (virione), con diametro 0.6 μm , racchiude un **genoma di 651 kb** che codifica per **523 proteine**, 16% delle quali omologhe a quelle dei Pandoravirus

Anche questo virus gigante, **scongelato dal permafrost, ha ripreso ad infettare regolarmente le amebe**



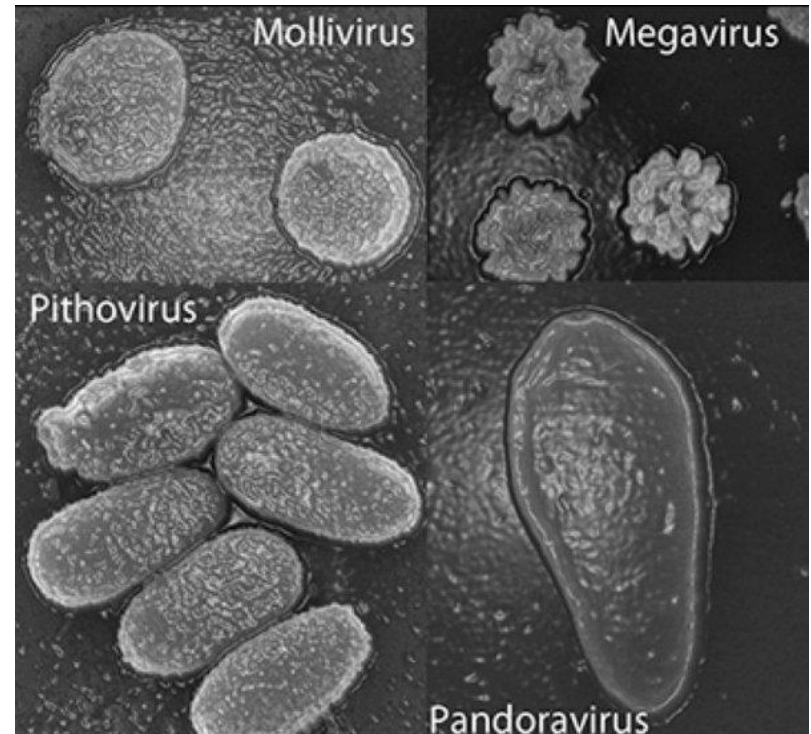
I virus giganti sono per il momento un interessante **enigma** biologico, ma potrebbero rivelarsi **pericolosi**

E' significativo (e forse preoccupante) il fatto che **due diversi tipi di virus giganti** (*Pithovirus* e *Mollivirus*) **abbiano mantenuto intatta la loro capacità infettiva** dopo una permanenza di 30000 anni nel permafrost

Il riscaldamento globale potrebbe quindi "risvegliare" virus ancora ignoti e potenzialmente patogeni (Legendre et al., PNAS 2015)

L'origine e la modalità di evoluzione dei virus giganti sono al centro di un intenso dibattito scientifico **ancora lontano dalla soluzione**

Fonte: Legendre et al., PNAS 2015



© IGS CNRS/AMU

Microscopie électronique à balayage des particules des 4 familles de virus géants désormais connues. Les plus grandes dimensions vont approximativement de 0,6 micron (Mollivirus) à 1,5 micron (Pandoravirus)

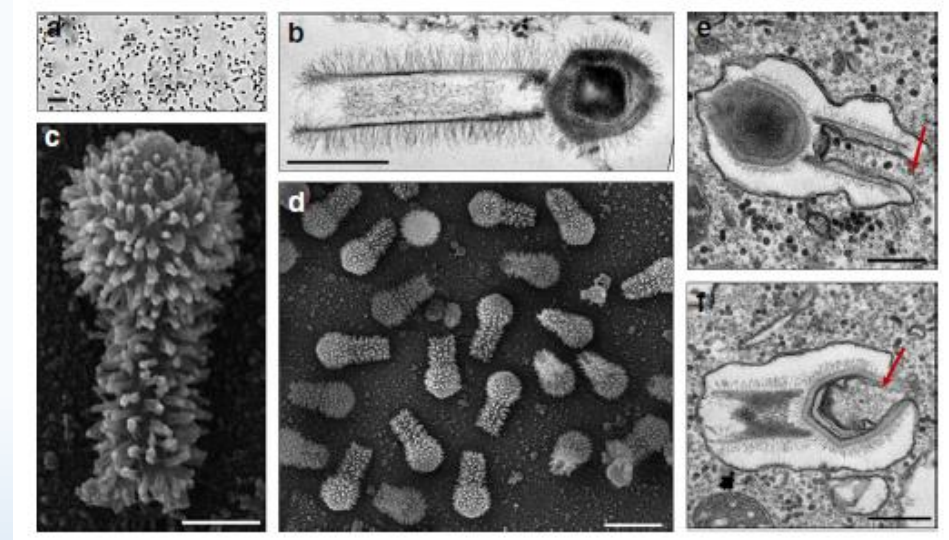
Tupanvirus

nuovi virus giganti scoperti in Brasile (2018)

Nel 2018 è stata annunciata la scoperta di **altri due virus giganti** (*Tupanvirus*) della famiglia Mimiviridae in amebe (*A. castellanii* e *Vermamoeba vermiformis*) isolate in **acquittrini ad alta salinità e pH del Pantanal (Brasile)** (Abrahao et al., Nature Communications 2018)

I Tupanvirus (lunghi 2.3 μm) hanno **grandi genomi** (1.44-1.51 Mb) codificanti per 1276-1425 proteine, ed una curiosa “**coda**” cilindrica, lunga 550 nm e larga 450 nm, attaccata alla base del capsid

Hanno il più grande apparato di traduzione di tutti i virus: **70 tRNA, 20 aminoacil-tRNA sintetasi e 11 fattori di traduzione**, compresi quelli correlati alla maturazione dei tRNA e mRNA e delle proteine ribosomiali



ARTICLE

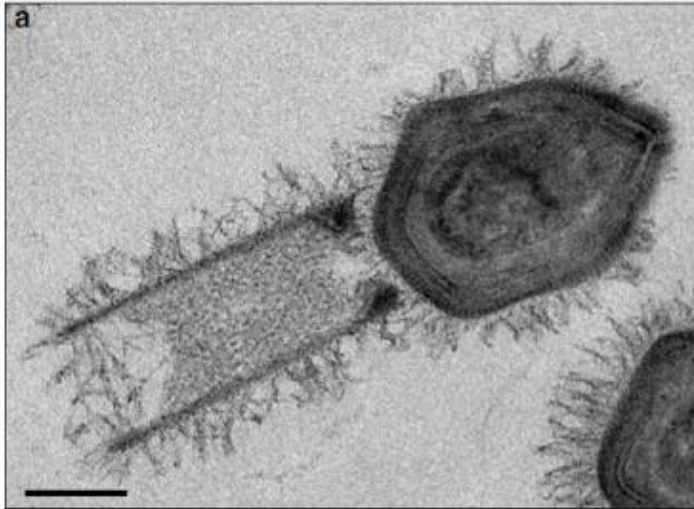
DOI: 10.1038/s41467-018-03168-1

OPEN

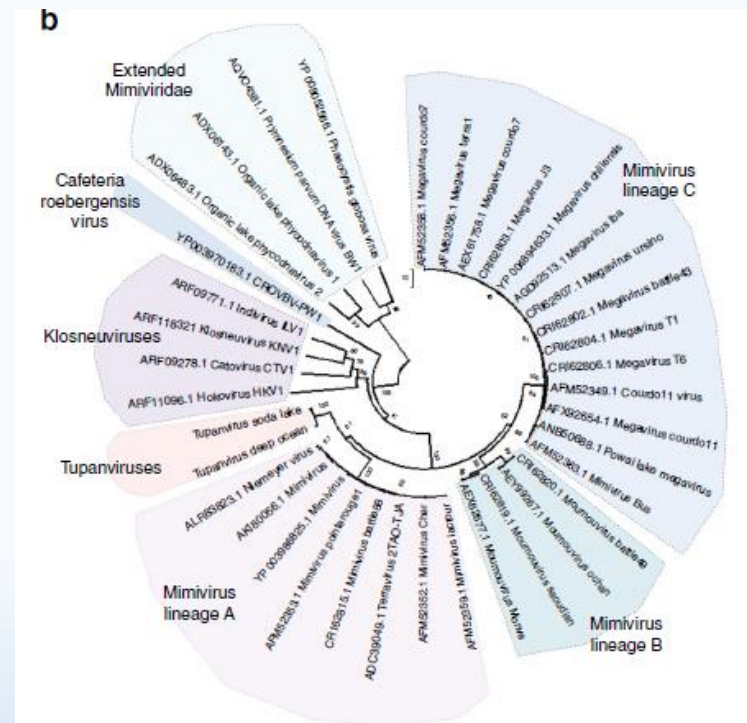
Tailed giant Tupanvirus possesses the most complete translational apparatus of the known virosphere

Jônatas Abrahão^{1,2}, Lorena Silva^{1,2}, Ludmila Santos Silva^{1,2}, Jacques Yaacoub Bou Khali³, Rodrigo Rodrigues², Thalita Arantes², Felipe Assis², Paulo Boratto², Miguel Andrade⁴, Erna Geessien Kroon², Bergmann Ribeiro⁴, Ivan Bergier⁵, Herve Seligmann¹, Eric Ghigo¹, Philippe Colson¹, Anthony Levasseur¹, Guido Kroemer^{6,7,8,9,10,11,12}, Didier Raoult¹ & Bernard La Scola¹

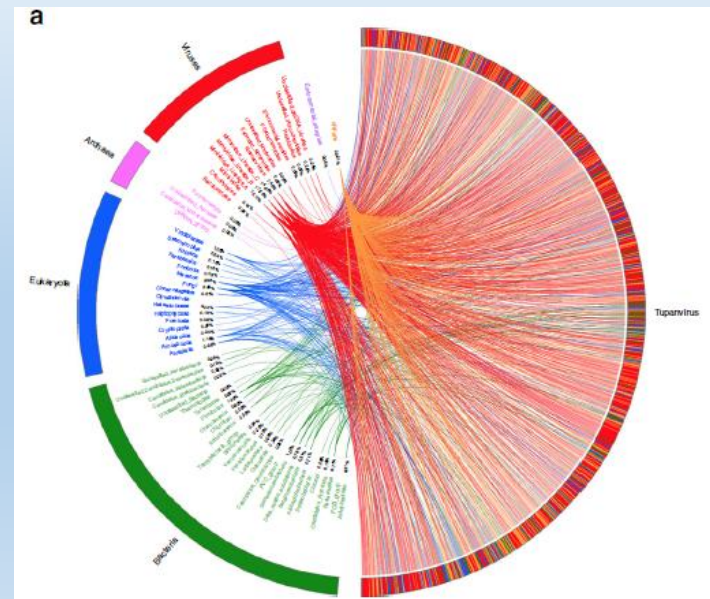
→ All'apparato di traduzione dei Tupanvirus **manca solo il ribosoma...**



Dettaglio del capside e della coda di *Tupanvirus soda-lake*



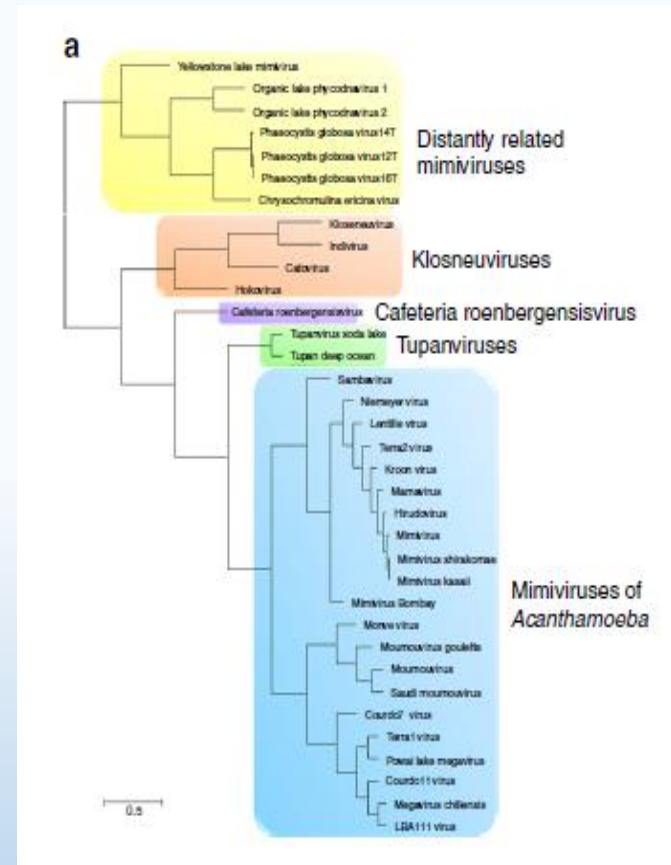
I genomi dei Tupanvirus mostrano affinità non solo con le sequenze genomiche di altri Mimiviridae, ma anche con sequenze di Archaea, Eubacteria ed Eucarioti



Fonte: Abrahao et al., Nature Communications 2018

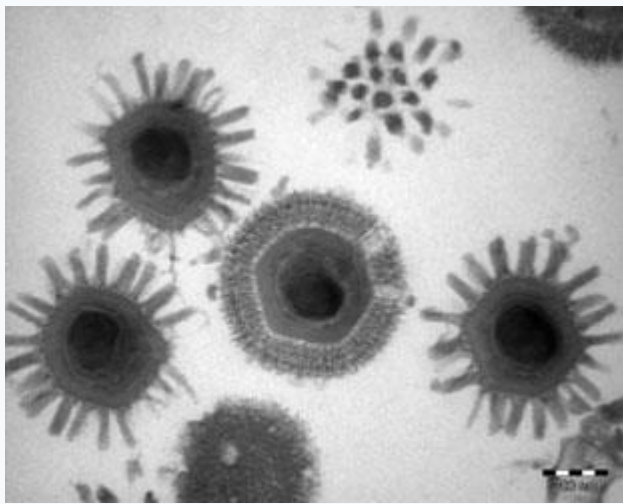
I virus giganti pongono **interessanti problemi** alle tradizionali classificazioni biologiche

- I virus giganti che infettano il genere *Acanthamoeba* ed altri Protisti appartengono a quattro famiglie virali (**Megaviridae, Mimiviridae, Pandoraviridae e Tupanviridae**)
- I Megaviridae hanno virioni grandi 0.7 μm , genomi di 1.25 Mb ricchi di A-T e, come i Mimivirus, si replicano usando le strutture citoplasmatiche dell'ospite
- I Pandoraviridae hanno virioni grandi 1 μm , genomi fino a 2.8 Mb ricchi di G-C e codificanti per 2500 proteine, e si replicano nel nucleo della cellula ospite
- *Pithovirus sibericum*, simile ai Pandoravirus, è ancora più grande (1.5 μm), ma il suo genoma è sorprendentemente piccolo (600 Kb), ricco di A-T e con replicazione simile a quella dei Megaviridae
- I Tupanvirus, con virioni lunghi fino a 2.3 μm , hanno l'apparato di traduzione più completo di tutti i virus giganti: **se avessero anche il ribosoma sarebbero "ufficialmente" dichiarati "Procarioti"...**



- Finora sono state scoperte oltre 60 specie di virus giganti in regioni distanti del globo, **quindi è possibile che ne esistano molte altre**: ci si chiede quindi **cosa siano esattamente i virus giganti, come si siano evoluti e quali relazioni abbiano con i Procarioti e gli Eucarioti**
- Attualmente si ritiene si siano evoluti da virus "normali" che hanno acquisito un numero elevato di geni dall'ospite durante lo sfruttamento parassitario (Schultz et al., Science, 2017), **ma non è certo...**

Archea, Eubatteri ed Eucarioti **potrebbero non essere i soli domini di forme di vita esistenti sul pianeta...**



...la “saga” dei virus giganti ci riserverà certamente **molte altre sorprese**

