

Diverzita virů

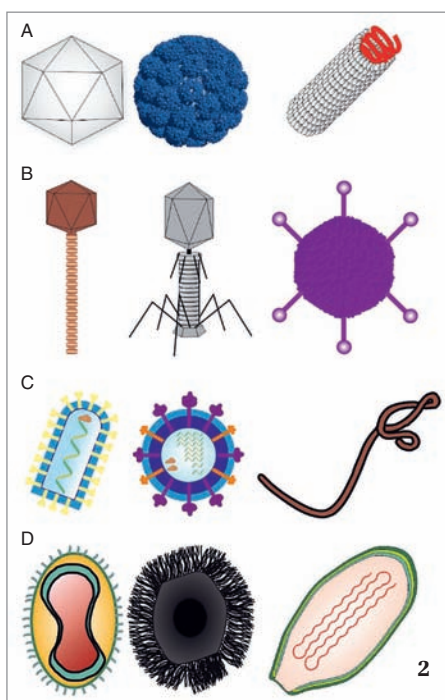
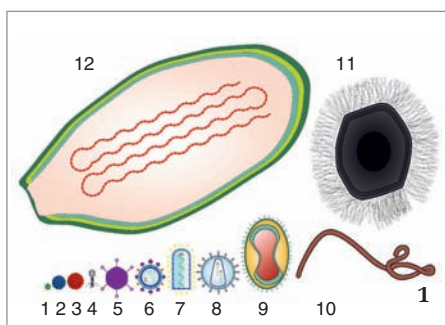
Hovoříme-li o kvantitě a diverzitě biologických entit na Zemi, těžko se najdou nějaké, které by v tomto ohledu konkurovaly virům. Viry infikující buňky hostitelů jsou přítomny téměř ve všech ekosystémech. Nevznikly ze společného ancestrálního předka, což nedovoluje konstruovat jejich fylogenetický strom života.

První virus byl objeven na konci 19. století jako infekční agens tak malý, že na rozdíl od bakterií projde hustým filtrem. Od té doby, s vývojem technických vymožeností, bylo získáno obrovské množství poznatků o struktuře, podstatě genetické informace, replikačních strategiích řady virů, o jejich patogenezí a interakcích s hostitelskými organismy. Viry – infekční částice replikované uvnitř buněk hostitele, se mimo hostitele chovají jako více či méně složité inertní komplexy makromolekul (proteinů, nukleových kyselin, případně lipidů). Součástí každého viru je nukleová kyselina – virový genom, v němž je uložena genetická informace (virové geny), podle které jsou viry s pomocí buněčných funkcí replikovány. Genetická informace virů je schopná mutovat a vyvíjet se. Čím větší genom virus vlastní, tím méně buněčných funkcí musí využívat. Z definice virů virové genomy nekódují na rozdíl od genomů jiných vnitrobuněčných parazitů svůj kompletní translační aparát (ribozomy), takže i ty největší viry parazitují na buněčných mechanismech syntézy proteinů.

S příchodem třetího tisíciletí byly vyvinuty techniky jako rychlé metody sekvenování nukleových kyselin (sekvenování druhé generace) a metody metagenomiky, tedy sekvenování anonymního genetického materiálu získaného přímo z environmentálních vzorků různých ekosystémů (vod řek, moří a oceánů, půd, různých biologických společenstev), následované počítačovou analýzou. Tyto techniky dramaticky změnily pohled na viry, jejich kvantitu, evoluci, diverzitu, rozložení v ekosystémech, symbiózu s hostiteli. Ukazuje se, že mohou infikovat všechny formy života, živočichy, rostliny, mikroorganismy včetně bakterií a archeí, pokrývají obrovské spektrum morfologické, genomové i funkční komplexity.

Diverzita virových částic

S vynalezením elektronového mikroskopu Ernestem Ruskou (laureátem Nobelovy ceny za fyziku za r. 1986) bylo možné na počátku 40. let 20. století prvně pozorovat virové částice (viriony). Naprostá většina dlouho známých virů se pohybuje v rozmezí velikostí spadajících do rozlišovací schopnosti elektronového mikroskopu. Za dosud nejmenší známý virus je považován prasečí cirkovirus s průměrem částice 17–20 nm.



Hranice velikostí směrem k těm největším se v posledních 15 letech rozšířila objevem gigantických virů, jenž vyvrátil nejstarší dogma o virech jako infekčních agens tak malých, že projdou filtrem s malými (0,2 μm) póry. Velikosti mnohých gigantických virů jsou srovnatelné s velikostí bakterií a dají se pozorovat ve světelném mikroskopu (obr. 1).

Strukturu nejjednodušších virů tvoří ribonukleová nebo deoxyribonukleová kyselina (RNA nebo DNA), a její proteinová schránka – kapsida (neobalené viry). U některých virů existuje nad kapsidou ještě lipidický obal (obalené viry), který získávají z membrán hostitele a do něhož jsou

vloženy virem kódované proteiny, většinou navíc opatřené cukernou složkou.

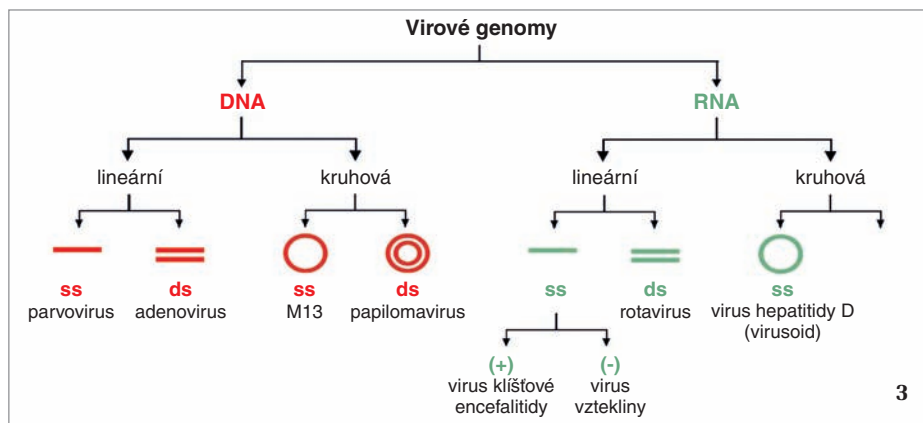
Kapsidy „klasických“ virů jsou stavěny podle podobných principů a jejich charakteristickým rysem je symetrie. Sférické kapsidy mají ikosaedrickou symetrii (dvacetistěnu složeného z rovnostranných trojúhelníků s dvou-, troj- a pětičetnou osou symetrie). Některé kapsidy mají vláknitý nebo tyčkovitý tvar s helikální symetrií, např. rostlinný virus tabákové mozaiky – první virus, který se díky jednoduché symetrické struktuře podařilo již v r. 1935 krystalizovat. Některé bakteriofágy (viry bakterií) mají struktury obou symetrií – hlavičku s ikosaedrickou a ocasek s helikální symetrií. Částice neobalených virů nesou někdy i další proteinové struktury (vláknité výběžky, destičky apod.)

Kromě výše jmenovaných morfologií existují viry s komplexní strukturou, která nejeví prvky symetrie. Tyto viry mohou mít několik obalů a nejrůznější tvary, z nichž mnohé připomínají spíše buněčné mikroorganismy (obr. 2). Takovou strukturou se vyznačuje řada z dosud popsanych gigantických virů a také již dříve známé poxviry (např. virus černých neštovic).

Diverzita virových genomů

Některé viry mají genetickou informaci uloženou v molekule DNA, podobně jako jejich hostitelé, některé v RNA. Jejich genom je tedy buď DNA, nebo RNA, nikdy obojí. DNA i RNA mohou být jednovláknové (ss, single stranded), nebo dvouvláknové (ds, double stranded). Genomová dsDNA některých virů je ve virové částici v lineární podobě, u jiných v uzavřené kruhové formě. Jednovláknový ssRNA genom mohou mít viry v tzv. pozitivní, plus (+) formě – jejich genom může po vstupu viru do buňky sloužit přímo jako předloha (mediátorová, mRNA) pro translaci proteinů na ribozomech. Naopak minus (-)ssRNA viry mají v kapsidě negativní řetězec RNA komplementární k pozitivnímu řetězci. Aby mohly být syntetizovány virové proteiny, musí být minusové vlákno přepsáno nejprve virovou RNA polymerázou (kterou si minus RNA viry musejí do buňky přinést ve své kapsidě) do mRNA. Zatímco u mnoha virů je genom tvořen jedinou molekulou jednovláknové nebo dvouvláknové nukleové kyseliny, u virů se segmentovaným genomem se skládá z více molekul (segmentů). Jde např. o reoviry s genomem z 10 či 11 segmentů dsRNA nebo třeba o genom viru chřipky z 8 segmentů (-)ssRNA.

Diverzita ve velikostech virových genomů je enormní. Mezi viry s nejmenšími DNA genomy patří např. prasečí cirkovirus (Porcine circovirus, PCV2), jehož kruhová ssDNA je dlouhá necelých 1 770 nukleotidů. Nejmenší RNA genomy mají viry čeledi *Leviviridae*, jako bakteriofág MS2 s genomem tvořeným (+)ssRNA o délce 3 569 nukleotidů. Takové virové genomy mají dva až tři otevřené čtecí rámce, takže kódují minimum proteinů potřebných především pro replikaci virových genomů a proteiny kapsidy. Největší genomy náležejí gigantickým virům s dsDNA – nukleocytoplazmatickým velkým DNA virům (NCLDV), jejichž replikační cyklus probíhá částečně v jádře a částečně v cytoplasmě. U některých těchto virů, např. pandoravirů, dosa-



1 Přehled velikosti virových částic. Cirkovirus (17–20 nm; 1), polyomavirus (2), papillomavirus (3), bakteriofág (*Myoviridae*, 4), adenovirus (5), virus chřipky (6), virus vztekliny (7), virus lidské imunitní nedostatečnosti HIV (8), poxvirus (9), Ebola (10), mimivirus (11), pandoravirus (ca 1 000 nm; 12)

2 Symetrie neobalených virionů a obalené virové částice. A – struktury částic s ikosaedrickou a helikální symetrií: vlevo ikosaedr (trojúhelníkový dvacetistěn), uprostřed částice s ikosaedrickou symetrií, vpravo helikální kapsida tvořená kolem nukleové kyseliny; B – bakteriofágová částice s hlavičkou založenou na ikosaedrické a ocasem na helikální symetrii: uprostřed virus z čeledi *Myoviridae* s různými přídatnými strukturami (límeček, vousy, hexagonální destička, výběžky s ohebnými klouby), vpravo částice adenovirus s ikosaedrickou symetrií a výběžky (spikes), kterými se virus zachytí na buněčný receptor; C – obalené virové částice s helikálními kapsidami uvnitř, vlevo virus vztekliny, uprostřed chřipky a vpravo Ebola; D – viry s komplexní strukturou: zleva poxvirus, mimivirus a pandoravirus

3 Typy virových genomů s příklady zástupců. Jako virus hepatitidy D je označován virusoid – infekční kruhová ssRNA bez vlastní kapsidy, který zneužívá kapsidu viru hepatitidy B a v nich se spolupřenáší do hostitelských buněk.

huje velikost genomu téměř 2,5 milionu nukleotidových párů, více než u některých bakterií, a dokonce více než u eukaryotického organismu – parazitického mikrosporidie *Encephalitozoon intestinalis* s dosud nejmenším sekvenovaným genomem 2,3 milionu nukleotidových párů. U většiny virů je velikost virové částice v souladu s velikostí genomu. Výjimku představují opět gigantické viry, např. cedratvirus, jehož viriony mají podobnou velikost i morfologii jako viriony pandoravirů, nebo pithovirus, u něhož je virion ještě větší než u pandoravirů, jejichž genom tvoří zhruba „pouhých“ 600 tisíc nukleotidových párů.

Strategie exprese a replikace virových genomů

Poznání replikačních strategií známých virů vedlo amerického mikrobiologa Davida Baltimora k rozdělení virů do 6 skupin, k nimž byla později přidána ještě sedmá – hepadnaviry, odrážejících hlavních rozdílů ve strategii replikace jejich genomů (obr. 4).

První skupinou Baltimorova dělení (I) jsou viry s genetickou informací zapsanou v dsDNA. Patří k nim např. polyomaviry, papillomaviry, adenoviry, herpesviry, ale také řada bakteriofágů i všechny gigantické NCLDV. Skupina II zahrnuje viry, jejichž genomem je ssDNA, např. lidský parvovirus nebo prasečí cirkovirus, a III tvoří viry s dsRNA, náleží sem třeba řada rostlinných virů, virů hub a také rotaviry, působící těžká průjmová onemocnění kojenčům. Viry ze skupiny IV mají (+)ssRNA a jde o většinu rostlinných virů, z lidských patogenů lze jmenovat např. virus klíšťové encefalitidy, viry hepatitidy A a C, virus Zika nebo virus dětské obrny. V páté (V) skupině se nacházejí viry s genomem tvořeným (-)ssRNA. Řadíme sem např. virus chřipky, spalniček, příušnic, ale i smrtelný virus vztekliny nebo virus Ebola. A konečně poslední dvě skupiny zahrnují (+)ssRNA viry (VI) i dsDNA viry (VII), které kódují a ve své replikační strategii používají enzym reverzní transkriptázu. U těchto virů se genom vyskytuje v určitých fázích replikačního cyklu v podobě RNA a v jiných v podobě DNA. Do skupiny VI patří retroviry, např. virus lidské imunitní nedostatečnosti – HIV, reprezentantem VII je čeleď *Hepadnaviridae*, např. lidský virus hepatitidy B.

Povaha virových genomů předurčuje strategii virové replikace – mechanismy transkripce i replikace genomové nukleové kyseliny (obr. 5). S výjimkou skupiny IV, kde genomová (+)ssRNA může hned po vstupu viru do buňky sloužit jako předloha (mRNA) pro syntézu všech nebo aspoň některých proteinů, musejí být z virových genomů před translaci syntetizovány mRNA.

Transkripce (syntéza virových mRNA) u virů s dvouvláknovým i jednovláknovým DNA genomem ze skupiny I a II, jakož i transkripce virů využívajících reverzní transkriptici, RNA(RT) a DNA(RT) ze skupiny VI a VII, probíhá z dvouvláknové formy DNA – genom tvořený jedním vláknem DNA je převeden buněčnými enzymy do dvouvláknové podoby a (+)ssRNA genomy (VI) jsou napřed reverzní transkriptázou převedeny do dsDNA. Transkripce těchto virů s výjimkou gigantických virů probíhá v buněčném jádře, kde DNA viry s výhodou využívají hostitelskou RNA polymerázu syntetizující podle DNA templátu. Řada bakteriofágů s DNA genomem kóduje vlastní RNA polymerázu syntetizující mRNA podle genomové DNA předlohy.

Replikace DNA genomů (viry I a II) v buněčném jádře může podle typu viru

probíhat různými způsoby (obr. 5). Některé menší viry s dsDNA genomem (např. polyomaviry, papillomaviry) jsou replikovány hostitelskou replikační mašinerií – mechanismem replikace buněčné DNA, tedy obousměrně, z místa replikačního počátku, syntézou vedoucího a opožďujícího se řetězce. Některé viry kódují vlastní DNA polymerázu (adenoviry, herpesviry nebo hmyzí bakuloviry) a mohou využívat různé replikační mechanismy, jako je třeba mechanismus valivé kružnice (rolling circle mechanism), známý u herpesvirů nebo některých bakteriofágů, či mechanismus vytěšňování jednoho ze dvou vláken genomu nově se syntetizujícím vláknem DNA (displacement model), používaný třeba adenoviry.

Transkripce i replikace genomů gigantických virů nejsou díky své obrovské kódující kapacitě závislé na jaderných funkcích hostitelské buňky a mohou být realizovány virovými proteiny v cytoplasmě.

Viry skupiny VI a VII využívají pro syntézu DNA formy genomu RNA templát a virovou reverzní transkriptázu.

Genomy RNA virů (skupiny III, IV a V) potřebují k transkripci a replikaci RNA dependentní RNA polymerázu (RNA polymeráza syntetizující RNA podle matrice RNA). Tento enzym musí být jejich genomy kódován a kromě virů skupiny IV i přinášen hotový ve virové částici. Virové genomy tvořené (+)ssRNA mohou být přímo translatovány, jejich RNA dependentní RNA polymeráza je tak syntetizována na ribozomech hned po proniknutí viru do cytoplazmy hostitelské buňky. U virů skupiny IV tedy slouží genomová RNA zároveň jako templát pro translaci i pro replikaci genomů. Viry skupiny III musejí dsRNA genom ukryt během transkripce i replikace, protože dsRNA je silným induktorem protivirové buněčné obrany. Řešení je jednoduché – jak syntéza mRNA, tak replikace probíhají uvnitř pouze částečně rozvolněné dvojrstevné virové kapsidy, v níž je přítomna virová RNA dependentní RNA polymeráza a také další virem kódované enzymy pro tvorbu čepičky (cap struktury na 5' konci mRNA; čepička na 5' konci eukaryotických mRNA je důležitá pro rozpoznání mRNA ribozomem a chrání mRNA před štěpením nukleázami; strukturně jde o nukleosid 7-metylguanin (m7G) trifosfát, navázaný na první nukleotid mRNA řetězce přes 5' uhlíky ribóz obou nukleotidů). Vytvořené mRNA jsou pak soukromými otvory v kapsidě do cytoplazmy, kde jsou translatovány a po syntéze kapsidových proteinů také baleny do nových kapsid, kde probíhá replikace za vzniku genomové dsRNA.

Viry s (-)ssRNA genomem (skupina V) předcházejí tvorbě dvouvláknových úseků během replikace tím, že jejich jednovláknová genomová (-)RNA i replikační intermediát (+)RNA vlákno (antigenom) jsou ihned během replikace pokrývány nukleoproteinem (kapsidový protein tvořící spolu s RNA helikální nukleokapsidu). Před replikací proběhnou specifické mechanismy transkripce (-)ssRNA genů do molekul mRNA prováděné stejnou virovou polymerázou. Transkripce je zahajována prodlužováním specifických prumerů. U některých (-)ssRNA virů slouží jako primer pro

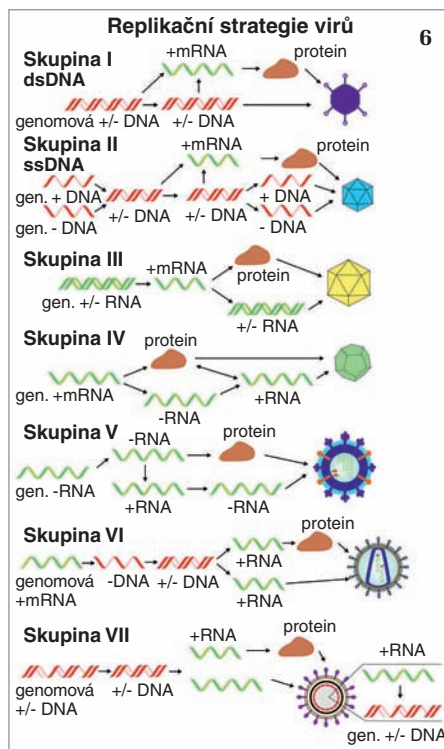
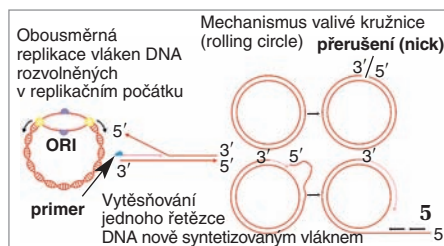
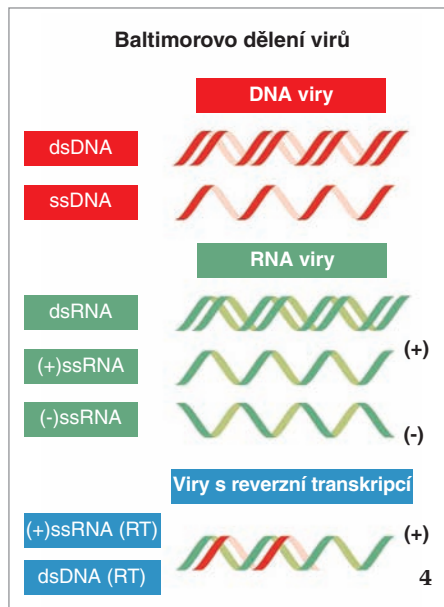
syntézu mRNA několik počátečních nukleotidů včetně 5' cap struktury, které virus „ukradne“ hostitelským mRNA. Za odštěpení 5' konce hostitelských RNA je odpovědná rovněž virová RNA polymeráza. Genomová (+)ssRNA virů skupiny VI je převáděna reverzní transkriptázou do dsDNA v prvním kroku replikačního cyklu viru. Po transportu do buněčného jádra se začlení do hostitelského genomu. Nové virové ssRNA genomy vzniknou transkripcí integrované virové DNA hostitelskou DNA dependentní RNA polymerázou. Naopak u virů skupiny VII s dsDNA probíhá reverzní transkripce až ke konci replikačního cyklu po transkripci kruhového DNA genomu v jádře hostitelskou RNA polymerázou, kdy vzniknou mRNA, z nichž jedna je delší než genom (pregenomová RNA). Ta je enkapsidována (zabalena) do nových virových částic a zároveň reverzně transkribována. Reverzní transkriptáza nestihne dokončit syntézu dsDNA před vypučením viru z buněk, takže genom ve virové částici nese úseky ssDNA. Po infekci nových buněk je virová DNA před transkripcí v jádře doplněna buněčnými opravnými mechanismy do formy uzavřené kruhové dsDNA (obr. 6).

Tropismus virů a jeho změny

Vzhledem k parazitické podstatě potřebují viry k přežití bezpodmínečně hostitelské buňky. Obecně virový tropismus vypovídá o schopnosti daného viru infikovat produktivně určité druhy hostitelských organismů (hostitelský tropismus), určité tkáně (tkáňový tropismus) nebo buňky (buněčný tropismus). Zdá se, že na Zemi neexistuje biologická entita, která by nebyla infikovatelná nějakým virem. Podle tropismu rozlišujeme viry eukaryot, bakteriální viry a viry archeí. Další dělení může být např. u eukaryotických na viry rostlinné, hub, živočišné nebo viry jednobuněčných organismů. Živočišné viry lze dále dělit na viry hmyzu, savců atd. Existují viry, které jsou co do tropismu přísně druhově specifické, např. poxvirus variola pro člověka. Virus hepatitidy B je specifický druhově i tkáňově – infikuje lidské jaterní buňky. Některé viry napadají mnoho biologických druhů, např. virus vztekliny. A jeden organismus může být hostitelem mnoha různých nepříbuzných virů.

Hostitelský okruh určitého viru závisí na celé řadě faktorů, jako je přítomnost vhodného receptoru na povrchu buněk, síla mechanismů vrozené i získané imunity, přítomnost určitých hostitelských faktorů potřebných pro virovou replikaci apod. Významnou roli hraje také replikační strategie virů, způsobu infekce, rychlosti mutace jejich genomů a schopnosti adaptovat se na jiné hostitele. U virů, které mají striktně omezený hostitelský okruh, závisí šíření na nepřetržité dostupnosti kontaktu s hostitelem.

Podíváme-li se na viry působící nemoci člověku, většina je zoonotických – přenesených na člověka z domestikovaných nebo divoce žijících zvířat. K přenosu viru může dojít buď přímým kontaktem s nakaženým zvířetem, s jeho slinami či exkrementy (virus vztekliny, virus chřipky), nebo nepřímo prostřednictvím krevsajících hmyzu, hlavně komárů (virus žluté zimnice, virus



Zika) a klíšťaty (virus klíšťové encefalitidy), poté co se virus replikoval v rezervoáru nějakého zvířecího hostitele. Slinami hmyzu se virus dostane na další hostitele. Bylo ale zjištěno, že virus klíšťové encefalitidy může být na člověka přenesen nejen klíšťaty, ale i nepasterizovaným mlékem nakažených krav, koz nebo ovcí. Řadu zoonotických virů přenášejí divoce žijící ptáci, kteří slouží jako rezervoáry (pro virus chřipky vodní ptáci, zvláště kachny), nebo pomáhají šířit infikované hmyzí vektory. Migrace ptáků navíc poskytuje mechanismus šíření virové nákazy do vzdálených lokalit.

4 Dělení virů do 7 skupin podle povahy genomu a replikační strategie

5 Různé mechanismy replikace virových DNA genomů

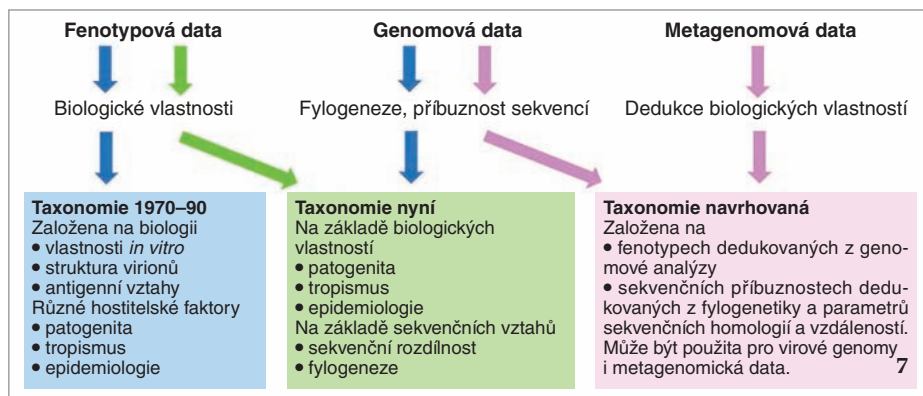
6 Schéma genomové exprese jednotlivých virových skupin podle Baltimoreova dělení; gen. – genomová. Blíže v textu.

Upraveno podle: J. Flintová (2015)

7 Vývoj kritérií pro taxonomii virů. Všechny orig. M. Fraiberk

Viry s RNA genomy se rychle mění. Ve srovnání s DNA viry se genomy RNA virů replikují s mnohem menší přesností, rychleji hromadí mutace. Ale i mezi RNA viry byly nalezeny velké rozdíly v evolučních rychlostech, které nezávisí na mutagenезi způsobené RNA dependentní RNA polymerázou, ale na uspořádání genomů a na tropismu (např. viry infikující epitelální buňky se vyvíjejí mnohem rychleji než neurotropní viry napadající neurony). Rozdíly v evoluční dynamice vysvětlují, proč se některé viry adaptují snáze na nové hostitelské druhy, proč se jim může zvýšit virulence a patogenní účinky nebo proč se stávají rezistentními k antivirotikům. Rychlejší evoluce může přispívat k jejich epidemiologické zdatnosti a ke zvýšení genetické diverzity i pravděpodobnosti výskytu v nových hostitelích. Např. mezi paramyxoviry s (-)ssRNA genomem, k nimž patří lidský virus spalniček nebo příušnic, se objevily vysoce patogenní viry Hendra a Nipah. Oba mají rezervoár v letounech (kaloních) a vykazují neobvykle široké hostitelské spektrum. Virus Hendra se objevil v 90. letech v Austrálii u koní, od nich byl přenesen na člověka a způsobil smrtelné onemocnění. Nipah byl poprvé zaznamenán v r. 1996 v Malajsi u prasat domácích, posléze byl přenesen na člověka, u něhož vyvolal fatální encefalitidu. V r. 1999 vypukla epidemie prasat v Singapuru, muselo být utraceno více než milion zvířat a 40 % z 256 lidí, na něž se virus přenesl, zemřelo na encefalitidu. V r. 2004 byla v Bangladéši zaznamenána další významná adaptace viru Nipah, kdy byl pozorován přímý přenos z člověka na člověka. Tak jako viry chřipky nepůsobí divokým kachánám, které jsou jejich rezervoárem, výrazné újm, Hendra a Nipah nevyvolávají žádná závažná onemocnění letounům.

Vzhledem k tomu, že donedávna byly studovány hlavně viry působící problémy člověku (v podobě onemocnění, nebo ekonomické – nemoci a úmrtí hospodářských zvířat, chřadnutí či zkázu pěstovaných rostlin), naše znalosti o přítomnosti virů v jednotlivých organismech a ekosystémech jsou stále velice omezené. V posledních letech se díky metagenomickým analýzám začínají hromadit data o viromech (souborech všech přítomných virů) v různých organismech, včetně těch, které jsou známými rezervoáry. Výsledky jsou překvapující. V souhrnné práci Davida Haymana (2016) z Massey University na Novém Zélandu jsou prezentována data získaná z nejrůznějších částí světa o virech nalezených v populacích různých netopýrů a kaloňů. Ze studií vyplynulo, že letouni hostí více zoonotických virových druhů než hlodavci. Byly u nich objeveny viry všech 7 typů genomových struktur a replikačních strategií. Netopýří populace na



každém kontinentě s výjimkou Antarktidy obsahují množství virů, i když zastoupení virů v jednotlivých populacích nejsou v různých částech světa a u různých netopýřích druhů stejná. Byly zjištěny různé (-)ssRNA viry (skupina V), z nichž mnohé jsou významní až smrtelnými patogeny pro člověka, např. rhabdoviry, včetně viru vztekliny, o němž se předpokládá, že z netopýřů pochází. Po zjištění, že kaloni hostí viry Hendra a Nipah, studie zaměřené na paramyxoviry a fylogenetické analýzy ukázaly, že různé paramyxoviry jsou všudypřítomné u netopýřů napříč světem a že patrně netopýři hostili předky všech hlavních paramyxovirů, včetně virů spalniček nebo příušnic. Rovněž filoviry Marburg a Cuevavirus příbuzné viru Ebola byly nalezeny u některých druhů letounů. Celá genomová sekvence viru Ebola sice zatím v netopýřech zjištěna nebyla, ale fragmenty genomu ano. U amerických netopýřů byly také objeveny nové typy viru chřipky (H17N10 a H18N11 s novými typy virových obalových glykoproteinů hemagglutininu a neuraminidázy), které nebyly nalezeny v rezervoárech vodních ptáků. Fylogenetická analýza sekvencí virů chřipky nalezených u netopýřů ukázala, že netopýři skrývají větší genetickou diverzitu chřipkového viru než studované ptačí i savčí druhy dohromady, patrně představují pravěký rezervoár. U netopýřů byly dále nalezeny i bunjaviry, působící lidem těžké hemoragické horečky, včetně hantaviry, jež mají nyní rezervoár v hlodavcích.

Také z ostatních skupin Baltimorova dělení bylo zastoupení virů v netopýřech ohromující. Ze skupiny s dsDNA (I) nechyběly adenoviry, herpesviry, papilomaviry, polyomaviry a poxviry. S (+)ssRNA genomem (IV) lze např. jmenovat velmi rozšířené koronaviry, působící člověku záněty dýchacích cest, včetně virů podobných SARS-CoV (Severe Acute Respiratory Syndrom – Corona Virus), jehož pandemie u lidí vypukla v letech 2003–04, nebo předek MERS-CoV (Middle East Respiratory Syndrom – Corona Virus), který byl nedávno přenesen na člověka z velbloudů. Ve skupině virů s dsRNA genomem (III) jsou hojně zastoupeny reoviry včetně rotavirů a nechybějí ani viry s genomem ssDNA (II), jako parvoviry nebo cirkoviry. Není překvapením, že v netopýřech byla přítomna i řada retrovirů (VI). Hepadnaviry příbuzné lidskému viru hepatitidy B (VII) nalezené v netopýřech byly schopny infikovat lidské hepatocyty, což naznačuje, že netopýří virus překročil druhovou bariéru nejen v dávné minulosti, ale že přenos na

člověka nebo jiného hostitele se může přihodit kdykoli, i nyní. Viromy živočichů a rostlin odkrývají množství i pestrost virových populací. To dokazuje, že většina virů žije s hostiteli v komenzální symbióze, v rovnováze mezi obranou hostitele a adaptací virů (viz Živa 2018, 2: 58–62).

Metagenomické studie také ukázaly, že lidské střevo hostí jednu z nejhustších mikrobiálních komunit, takže člověka lze považovat za dynamický mikrobiální ekosystém. Nachází se v nás kromě bakterií, archeí a eukaryotických mikroorganismů (kvasinky a další jednobuněčné organismy) množství virů, zejména bakteriofágů. Jejich počet výrazně převyšuje množství bakterií. Vztahy střevních mikroorganismů a jejich virů, funkční dynamika těchto vztahů – mezidruhové kompetice, rezistence bakterií k fágům, invazivita mikroorganismů často závislá na přítomnosti profágů (integrováných sekvencí fágů v genomech bakterií) ovlivňují lidské zdraví. Rozbíhající se výzkumy na rozhraní mikrobiální ekologie, matematického modelování, mikrobiologie, virologie a medicíny mohou zásadně přispět k rozvoji nových terapeutických přístupů.

Taxonomie virů v éře metagenomiky

Taxonomie zesiluje naše porozumění virům, pomáhá komunikaci mezi virology a dalšími odborníky. V některých důležitých ohledech se liší od principů taxonomie buněčných forem. Viry nemají univerzální všudypřítomné geny, jako jsou sekvenční kódující ribozomální RNA (16S RNA pro bakterie a archea a 18S pro eukaryota), nebo geny kódující téměř univerzální proteiny u bakterií, které bývají využívány jako markery diverzity a evoluční příbuznosti či vzdálenosti. Proto nemůže být sestaven fylogenetický strom. Navíc viry jsou přenášeny horizontálně a některé velmi rychle mutují. Vedle elegantního, dodnes platného, avšak hrubého rozdělení podle D. Baltimora jsou viry zařazovány do klasifikačního systému Mezinárodním výborem pro taxonomii virů (International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV). Tento výbor byl založen v r. 1966, kdy byly známy stovky virů, a vědělo se o nich jen málo. Proto bylo těžké posuzovat příbuznost. Pro zařazení nových virů do systému byla stanovena kritéria založená na tehdy dostupných informacích – na biologických vlastnostech pozorovaných *in vitro*, na struktuře virionů, tropismu, způsobu šíření, patogenních účincích a na antigenních vztazích (zdali protilátka proti struktuře jednoho virového izolátu reaguje se strukturou

nového izolátu). S vývojem sekvenování DNA i RNA genomů a dalších technik molekulární biologie se hromadila data o virových sekvencích, o mechanismech replikačního cyklu, jeho interakcích s hostitelskými buňkami. Současná taxonomie je založena na biologických vlastnostech (patogenita, tropismus, epidemiologie), ale především na základě sekvenčních vztahů, sekvenční rozdílnosti a fylogenezi. Viry jsou řazeny podle klasifikačního systému podobně jako organismy: doména (Realm) - *viria*, poddoména - *vira*; říše (Kingdom) - *viriae*, podříše - *virites*; kmen (Phylum) - *viricota*, podkmen - *viricotina*; třída (Class) - *viricetes*, podtřída - *viricetidae*; řád (Order) - *virales*; čeleď (Family) - *viridae*, podčeleď - *virinae*; rod (Genus) - *virus*, podrod - *virus*, druh (Species).

K červnu 2019 bylo stanoveno 14 řádů, celkem 150 čeledí a evidováno více než 5 500 různých virových izolátů. Mnoho již charakterizovaných virů (např. nově objevených gigantických virů) stále čeká na zařazení. Tradiční virologie a sekvenování virových genomů závisely na kultivaci buněk nebo hostitelů, z nichž většina se standardními technikami kultivovat nedala. O naprosté většině virové diverzity jsme tedy neměli tušení. Metody rychlého sekvenování a rozvoj metagenomiky ihned odkryly ohromující rozsah viromů všude v biosféře. Pouze počet částic bakteriofágů v oceánech se odhaduje na 4×10^{31} . Kromě obrovské kvantity se viry vyznačují relativně rychlou dynamikou vývoje a donekdávna netušenou diverzitou v organizaci genomů, v sekvencích genů i jejich translačních produktů. U řady nově objevených virů neodpovídá většina genomových sekvencí (u některých až přes 90 %) žádným známým virovým či buněčným sekvencím v databázích. Neuvěřitelné množství nových virových sekvencí přibývajících v současné době do databází se naprosto vymyká možnostem třídění virů podle dosud platných kritérií. Data generovaná anonymním sekvenováním environmentálních vzorků představují obrovskou výzvu právě vzhledem k produkci zdrcujícího objemu dat, k nimž nemáme žádné, nebo jen velmi omezené biologické informace. Proto Wellcome Trust financoval již v r. 2016 workshop (v Bostonu, USA) s cílem změnit způsob taxonomie virů. Diskuzní fórum bylo složeno z předních odborníků (13 z 26 účastníků byli členové výkonného výboru ICTV). Účastníci se shodli, že termín metagenomický se vztahuje na jakoukoli virovou sekvenci, která postrádá biologickou nebo jinou experimentální charakterizaci, a dospěli k závěru, že je zcela platné použít metagenomické sekvence bez pořízení izolátu nebo přímých biologických dat, jako je mikroskopické pozorování částic nebo detekce příznaků choroby (blíže obr. 7).

Pozorování, že genomy velkého množství virů objevených v oceánech obsahují ve své většině genetické informace, které dosud nebyly nalezeny v genomech žádných ze známých forem života, a přibývajících metagenomické studie potvrzují, že viry jsou obrovským zdrojem genetické diverzity pro všechny formy života na Zemi a že významně ovlivnily a ovlivňují evoluci.

Použitá literatura uvedena na webu Živa.