

# Virusna Pandorina kutija - što nam sve otkrivaju najveći virusi?

---

**Kraus, Gloria**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2014**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:404372>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2022-01-22**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Science - University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
PRIRODOSLOVNO - MATEMATIČKI FAKULTET  
BIOLOŠKI ODSJEK

**VIRUSNA PANDORINA KUTIJA – ŠTO NAM SVE OTKRIVAJU  
NAJVEĆI VIRUSI?**  
**VIRAL PANDORA'S BOX – WHAT CAN WE LEARN FROM THE  
LARGEST VIRUSES?**

SEMINARSKI RAD

Gloria Kraus  
Preddiplomski studij molekularne biologije  
Undergraduate Study of Molecular Biology  
Mentor: izv. prof. dr. sc. Dijana Škorić

Zagreb, 2014.

# SADRŽAJ

1. UVOD .....	1
2. OTKRIĆE PANDORAVIRUSA .....	2
2.1 REPLIKACIJSKI CIKLUS PANDORAVIRUSA.....	2
3. STRUKTURA I GRAĐA PANDORAVIRUSA.....	5
4. <i>PANDORAVIRUS SALINUS</i> KAO PREDSTAVIK PANDORAVIRUSA.....	7
5. ZAKLJUČAK .....	12
6. LITERATURA .....	15
7. SAŽETAK .....	16
8. SUMMARY .....	16

## 1. UVOD

Otkriće mimivirusa prije jednog desetljeća dovelo je u pitanje definiciju virusa. Proširilo je granice pretpostavljene veličine virusa budući da genom mimivirusa doseže i do 1.3 Mb te kodira 1200 gena. Ovakav genom je kompleksniji od genoma mnogih parazitskih bakterija. Također, otkriće virusa s manjim genomima, ali onih koji imaju karakteristike specifične za članove porodice *Megaviridae* ukazivalo je na filogenetsku srodnost gigantskih virusa i drugih dvolančanih DNA-virusa. Nedavno otkriće pandoravirusa još je više uzdrmalo temelje virusnog svijeta. Ime „pandoravirus“ opisuje nedostatak sličnosti s postojećim virusima i općenito mikrobima i iznenađenja koja može donijeti njihovo dalje istraživanje (Philippe *et al.*, 2013). Domaćini samih pandoravirusa su amebe (rod *Acanthamoeba*). Amebe roda *Acanthamoeba* su domaćini različitih virusa, bakterija, alga i gljiva. Nastanjuju tla i vode i otporne su na mnoge nepovoljne uvjete (Colson *et al.* 2013). Pandoravirusi su posebni po svojoj veličini (duljine 1  $\mu\text{m}$ ), veličini genoma (2.5 Mb) i broju kodirajućih sekvenci (2556). Također, pandoravirusi nisu filogenetski srodni ni sa jednom opisanom virusnom vrstom (Philippe *et al.*, 2013).

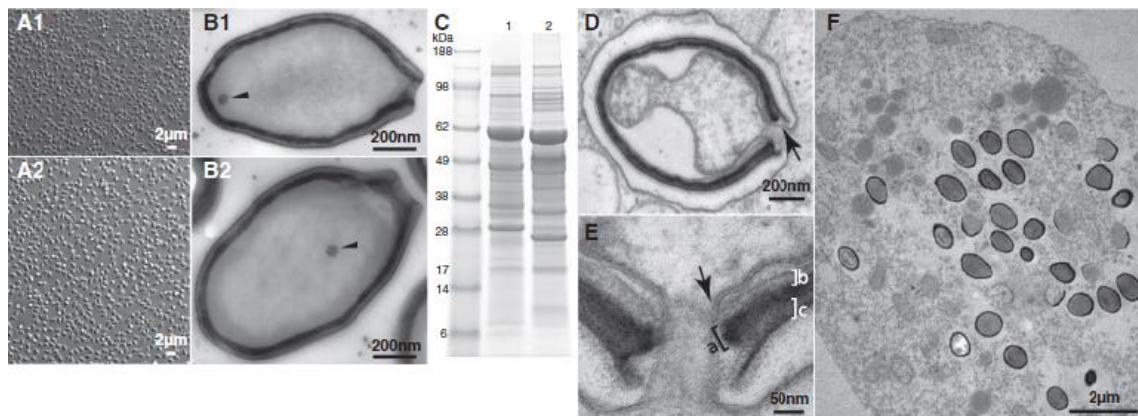
## 2. OTKRIĆE PANDORAVIRUSA

Poznato je da pripadnici reda *Megavirales* nastanjuju amebe roda *Acanthamoeba* (Pagnier *et al.*, 2013). Vodeći se tom činjenicom, u potrazi za novim vrstama gigantskih virusa, sakupljeni su uzorci roda *Acanthamoeba* iz različitih vrsta sedimenata. Primjećeno je da u nekim uzorcima dolazi do litičkog razaranja stanica. Takvi uzorci su primljeni na dalju obradu i identifikaciju. Prvi tip parazita potječe iz površinskog morskog sedimentnog sloja rijeke Tunquen u središnjem Čileu, a drugi tip iz mulja sa dna plitkog slatkovodnog jezera blizu Melbournea u Australiji. Nakon amplifikacije u domaćinu, parazitske čestice postale su vidljive pod svjetlosnim mikroskopom kao ovalne čestice dužine 1  $\mu\text{m}$  i promjera 0,5  $\mu\text{m}$  (Slika 1.A i 1.B) (Philippe *et al.*, 2013).

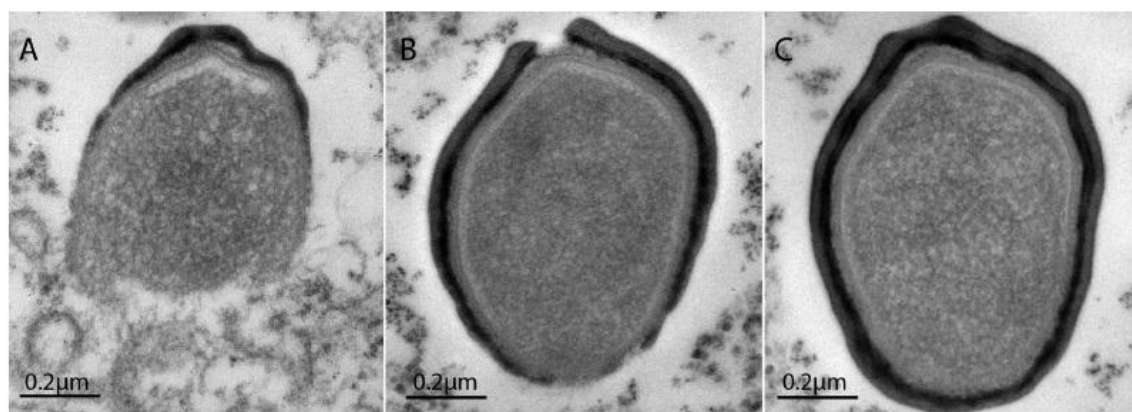
### 2.1 REPLIKACIJSKI CIKLUS PANDORAVIRUSA

Kako bi se ustanovilo jesu li zapaženi paraziti stanične ili virusne prirode pratio se njihov replikacijski ciklus. Replikacijski ciklus pandoravirusa u vrsti *Acanthamoeba castellanii* traje između 10 i 15 sati, a započinje internalizacijom individualnih čestica uz pomoć fagocitnih vakuola. Čestice zatim ispuste svoj sadržaj u citoplazmu domaćina kroz „apikalnu poru“. Unutarnja lipidna membrana čestice spaja se s membranom vakuole i stvara se kanal kroz koji se kreću proteini i DNA čestice (Slika 1.D i 1.E). Fuzijski proces dovodi do stadija eklipse gdje sadržaj čestice postaje nevidljiv nakon što je ubačen u citoplazmu domaćina. Dva do četiri sata kasnije jezgra domaćina prolazi kroz velike promjene koje počinju s gubitkom njenoga sferičnog oblika. Membrana jezgre invaginira na mnogim mjestima i stvaraju se brojne vezikule. Osam do deset sati nakon infekcije, stanice se zaokružuju, gube dodir s podlogom, a nove virusne čestice se pojavljuju na periferiji stanice gdje je nekoć bila jezgra (Slika 1.F). Za razliku od DNA-virusa koji inficiraju eukariote i faga koji prvo sintetiziraju kapside pa ih naknadno popune, tegument i unutrašnje strukture čestica pandoravirusa se sintetiziraju istovremeno dok se čestice u potpunosti ne formiraju i zatvore. Sinteza same čestice započinje i napreduje od vrha nalik ostioli (Slika 2.). Replikacijski ciklus završava kada dođe do stanične lize i oslobađanja

stotina virusnih čestica. Replikacijski ciklusi vrsta *Pandoravirus salinus* i *P. dulcis* imaju iste stadije i karakteristike (Philippe *et al.*, 2013).



**Slika 1.** Virusne čestice pandoravirusa i njihovi proteomski profili. Virusne čestice *Pandoravirus salinus* (1) i *P. dulcis* (2) pod svjetlosnim (A) i elektronskim mikroskopom (B). Proteinski profili *P. salinus* (kolona 1) i *P. dulcis* (kolona 2) dobiveni elektroforezom na gelu. Infekcija vrste *Acanthamoeba castellanii* virusnom česticom *P. salinus* (D, E, F) (Philippe *et al.*, 2013).

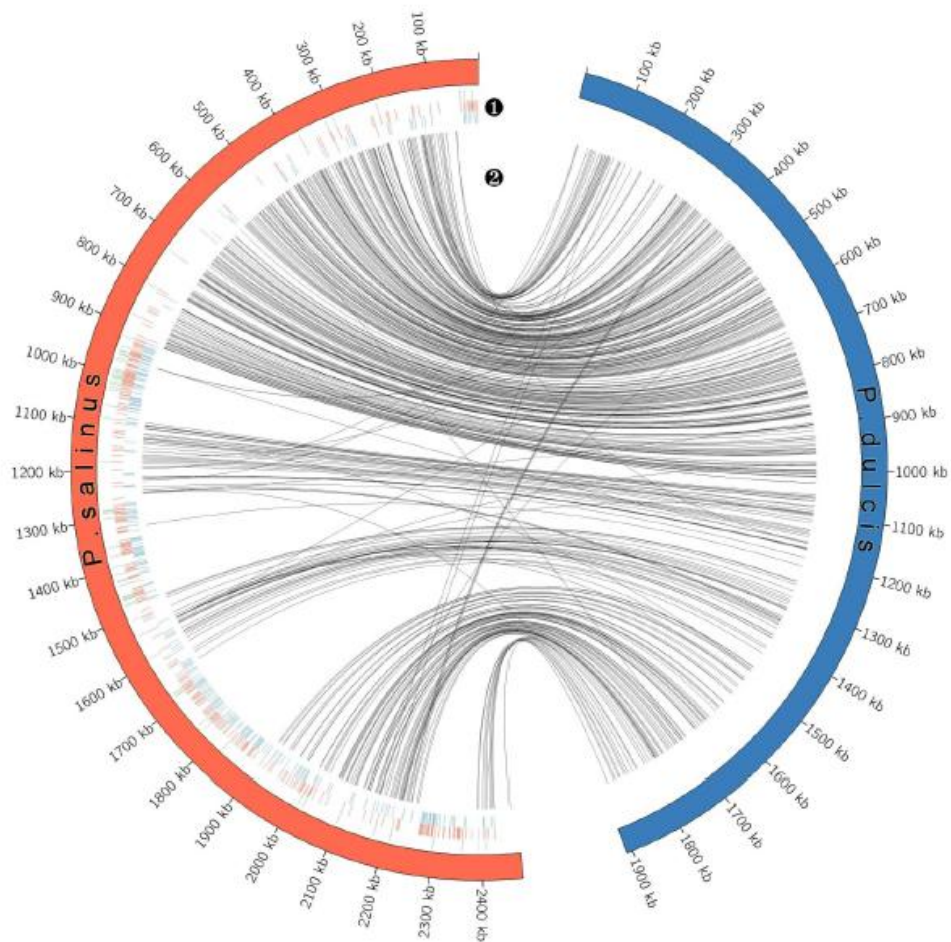


**Slika 2.** Sazrijevanje virusne čestice pandoravirusa unutar domaćina *Acanthamoeba Castellanii*. Postupno nastajanje virusne čestice čija sinteza započinje od vrha nalik ostioli, a završava kada tegument u potpunosti obavije česticu (A-C). (Philippe *et al.*, 2013).

### 3. STRUKTURA I GRAĐA PANDORAVIRUSA

*Pandoravirus salinus* i *P. dulcis* imaju čestice ovalnog oblika koje nemaju ikozaedarsku građu karakterističnu za viruse. Jedna virusna čestica je duga 1  $\mu\text{m}$  s promjerom 0.5  $\mu\text{m}$  (Slika 1.A i 1.B). Virusna obilježja pandoravirusa potvrđena su rezultatima istraživanja njihovog replikacijskog ciklusa. Sekvenciranjem genoma je utvrđeno da *P. salinus* ima genom veličine 2,473,870 bp (baznih parova), a *P. dulcis* 1,908,524 bp. Genomi obaju virusa su bogati GC baznim parovima, 61.7% u slučaju *P. salinus* i 63.7% u slučaju *P. dulcis*. Genom *P. salinus* sadrži 2556 kodirajućih sekvenci, dok genom *P. dulcis* sadrži njih 1502. *P. salinus* i *P. dulcis*, iako identičnoga izgleda, pokazuju različit sadržaj proteina nakon elektroforetske analize (Slika 1.C). Komparativna računalna analiza genoma obaju virusa pokazala je određen stupanj kolinearnosti, a genomi se razlikuju samo u četiri segmenta specifična za *P. salinus* (Slika 3.). Takva razlika se objašnjava samom razlikom u veličini genoma virusa što govori u prilog tome da je skup gena *P. dulcis* podskup genoma *P. salinus* (Philippe *et al.*, 2013).





**Slika 3.** Kolinearnost genoma virusnih vrsta *Pandoravirus salinus* i *P. dulcis*. Plavom bojom su označena ankirinska ponavljanja, crvenom domene „F-box“, a zelenom ponavljanja MORN (1). Visoko konzervirane genske regije *P. salinus* i *P. dulcis* s jasno vidljivim genskim regijama *P. salinus* kojih nema u genomu *P. dulcis* (1000 kb, 1400 kb, 1750 kb i 2300 kb) (2) (Philippe *et al.*, 2013).

#### 4. PANDORAVIRUS SALINUS KAO PREDSTAVIK PANDORAVIRUSA

Pretpostavljeni proteini koje kodira genom *P. salinus* (2556 pretpostavljenih proteina) su građeni od 26 do 2367 aminokiselina. Ima 2364 kodirajućih sekvenci koje su dulje od 150 nukleotida, a prosječna veličina proteina je 258 aminokiselina. Udaljenost između dvije susjedne kodirajuće sekvence je prosječno svega 233 nukleotida (Slika 4.). Gustoća gena jedne kodirajuće sekvence po kilobazi je tipična za prokariotske organizme i dvolančane DNA-viruse. Bionforimatičkim metodama pronađen je 401 homolog za 2556 kodirajućih sekvenci *P. salinus*. Otprilike polovica (215) homologa od navedenih 401 odgovara često ponavljajućim motivima: ankirini, MORN i „F-box“ (Slika 4.). Ankirini su ponavljanja od 33 aminokiselina te su posrednici u interakcijama protein-protein. Često se nalaze u proteinskim strukturama u različitim kontekstima i ne daju jednoznačnu informaciju o funkciji nekog proteina. Strukturu MORN čine 23 aminokiseline, a nalazi se u mnogim proteinima i funkcija te strukture je nepoznata (Philippe *et al.*, 2013). Domena „F-box“ se sastoji od četrdesetak aminokiselina te se nalazi u različitim proteinima gdje ima ulogu u procesu degradacije proteina putem ubikvitilacije (Jin *et al.*, 2014). Nakon maskiranja ankirina, motiva MORN i F-box, dobiveno je 186 homolognih kodirajućih sekvenci. Najviše kodirajućih sekvenci *P. salinus*, njih 101, je homologno eukariotskima, 43 je homologno bakterijskim, a 42 kodirajućih sekvenci *P. salinus* je homologno virusnima. Filogenetska distribucija spomenutih kodirajućih sekvenci *P. salinus* koje imaju homologe u drugim skupinama organizama ukazuje na to da nikada nije sekvenciran nijedan organizam blisko srodan *P. salinus*. Samo 17 kodirajućih sekvenci *P. salinus* imaju bliske homologe među pripadnicima porodice *Megaviridae*. Ovaj podatak ukazuje na to da *P. salinus* nije filogenetski srodan sa skupinom virusa za koje se zna da inficiraju amebe. Također, samo 50 kodirajućih sekvenci *P. salinus* je homologno proteinima koji pripadaju koljenu Amoebozoa, što ukazuje na to da je horizontalni prijenos gena između domaćina roda *Acanthamoeba* i *P. salinus* rijedak događaj.

Karakteristike *P. salinus* kao što su visoki postotak kodirajućih sekvenci (93%) koje nisu homologne onima u postojećim organizmima (*Open Reading Frames -ORFans*), morfološke karakteristike i atipični proces replikacije, ukazivale su na činjenicu da translacija gena *P. salinus* možda ne prati standardni genetički kod. Pročišćene virusne čestice su podvrgnute proteomičkoj analizi nano-tekućinskoj kromatografijom pridruženoj

masenoj spektrometriji (*Nano-liquid chromatography-tandem mass spectrometry*). Tako je identificirano 266 proteina (Slika 4), od kojih je 56 pripadalo proteinima *A. castellanii* (domaćinu *P. salinus*), a 210 virusnoj čestici *P. salinus*, a to je pak u skladu s poštivanjem standardnog genetičkog koda. Od 210 identificiranih proteina samo njih 42 (20%) je homologno proteinima drugih postojećih organizama. Velik dio (80%) *ORFana* u genomu *P. salinus* predstavlja nikad prije viđeni udio i potvrđuje veliku evolucijsku udaljenost *P. salinus* od ostalih poznatih mikroba. Većina (195 tj. 93%) proteina identificiranih u *P. salinus* imaju homologe u proteomu *P. dulcis*. Ovakav nalaz pretpostavlja da je u tom slučaju proteomski sastav dvaju spomenutih virusa sličan iako varijacije u proteinskim sljedovima daju različite proteomske profile (Slika 1.C) (Philippe *et al.*, 2013).

Analizom proteina *P. salinus* nisu nađene komponente osnovnog staničnog metabolizma, odnosno translacije, sinteze ATPa i binarne diobe. Takav nalaz potvrđuje virusnu prirodu pandoravirusa. *P. salinus* ne posjeduje komponente koje sačinjavaju ribosome (ribosomske RNA i proteine), kao ni enzime uključene u procese glikolize i Krebsovog ciklusa. Također nisu nađeni ni homolozi proteina uključeni u proces stanične diobe kao što su FtsZ, tubulin ili komponente sustava ESCRT (Philippe *et al.*, 2013). FtsZ je bakterijski protein čija koncentracija u stanici regulira učestalost staničnih dioba. U trenutku invaginacije FtsZ protein putuje na mjesto diobe gdje oblikuje strukturu prstena te ostaje vezan na vodeći kraj invaginirajućeg septuma do završetka separacije (De Boer *et al.*, 1992). Tubulin je eukariotski protein uključen u proces diobe stanice. Komponente sustava ESCRT, homolozi eukariotskih proteina Vps4 i ESCRT-III, su uključene u diobu stanica arheja (Samson *et al.*, 2008). *P. salinus*, dakle, nema većinu komponenata karakterističnih za stanične organizme, kao ni one koje su u sastavu najreduciranijih unutarstaničnih parazita.

Genom *P. salinus* sadrži 14 od 31 osnovnih gena velikih dvolančanih DNA virusa („*core genes*“). Identificirano je tri od devet najočuvanijih osnovnih gena (tip I) među kojima su DNA-polimeraza i četiri kopije adenzin-trifosfataze. Također je identificirano četiri od osam manje očuvanih osnovnih gena (tip II), a uključuju dvije podjedinice ribonukleotid-reduktaze. Naposljetku, identificirano je 7 od 14 osnovnih gena tipa III koji uključuju enzim zadužen za procesiranje 3'-kraja mRNA („*mRNA-capping enzyme*“) i tri podjedinice DNA-ovisne RNA-polimeraze. U genomu *P. salinus* nedostaje nekoliko osnovnih gena koji kodiraju komponente potrebne za replikaciju DNA kao što su DNA-ligaze, topoizomeraze i nuklearni antigen proliferacije stanica („*Proliferating Cell Nuclear*

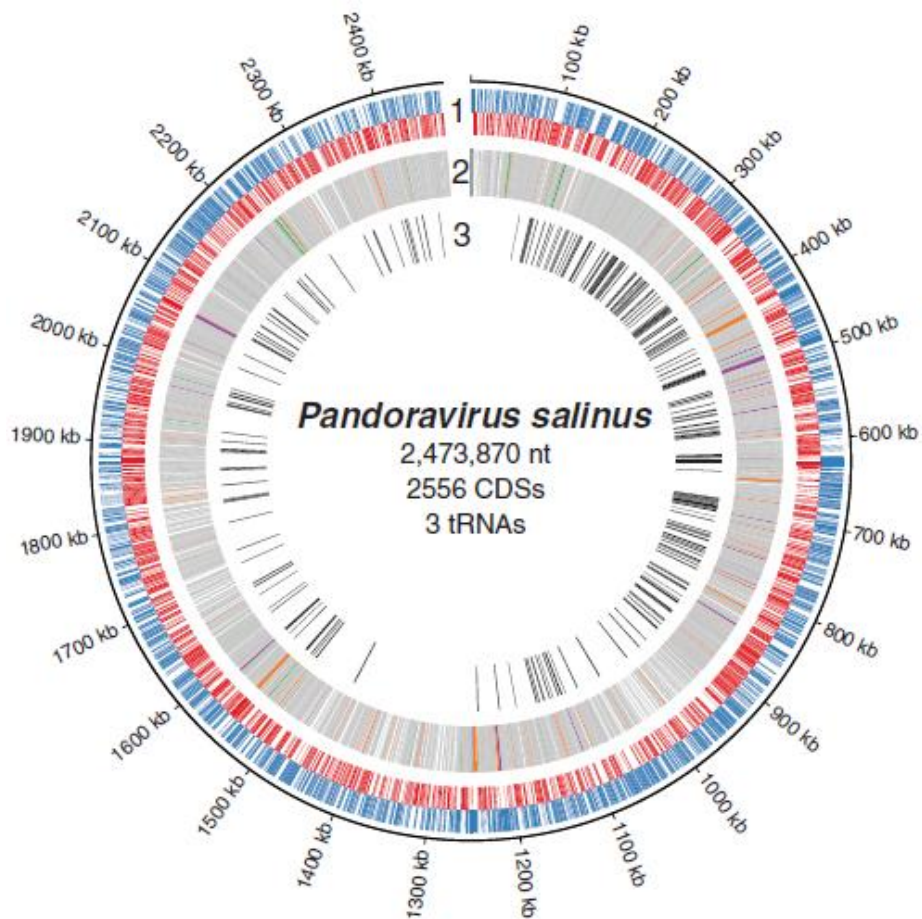
*Antigen – PCNA*<sup>66</sup>). Za razliku od virusa porodice *Megaviridae*, za replikaciju pandoravirusa potrebne su sastavnice koje se nalaze u jezgri domaćina. Pandoravirusi također nemaju gen koji kodira protein koji gradi virusne kapside, a koji je ujedno karakterističan za gotovo sve viruse.

Iako nema nekoliko osnovnih gena karakterističnih za velike dvolančane DNA-viruse, *P. salinus* je ipak virusne prirode jer posjeduje veliki udio enzima uključenih u procesiranje DNA, tj. u procese replikacije DNA, transkripcije, popravka i sinteze nukleotida. *P. salinus* posjeduje 54 proteina koji imaju ulogu u procesiranju DNA. Tri takva enzima nemaju homologe među virusima: sintetaza p-aminobenzoične kiseline, dihidroneopterin-aldolaza i hidrosimetilpterin-pirofosfokinaza (HPPK). Enzimi uključeni u transkripciju su četiri podjedinice RNA-polimeraze, dvije kopije transkripcijskih faktora nalik genu *VLTF3*, transkripcijski elongacijski faktor nalik SII i helikaza nalik DEAD-helikazi. Osim proteina uključenih u procesiranje DNA, nađeno je i 82 proteina uključenih u razne stanične funkcije. Identificirano je nekoliko proteina uključenih u proteinsku degradaciju putem ubikvitilacije. Također su identificirane razne hidrolaze, proteaze, kinaze i fosfataze za koje se vjeruje da ometaju metabolizam domaćina. Neđene su i dvije aminoacil-tRNA-sintetaze od kojih je jedna za tirozin (TyrRS), a druga za triptofan (TrpRS). Prije je prisutnost aminoacil-tRNA-sintetaza kodiranih virusnim genomom bila značajka virusa porodice *Megaviridae* i *Cafeteria roenbergensis* virusa (CroV), njihovog najbližeg srodnika. Međutim, TyrRS i TrpRS kodirane genomom pandoravirusa su srodnije njihovim homolozima u amebama nego pripadnicima porodice *Megaviridae*. Ovakav nalaz govori u prilog činjenici da geni za TyrRS i TrpRS iz pandoravirusa i pripadnika porodice *Megaviridae* nemaju zajedničko porijeklo. *P. salinus* posjeduje još neke dijelove translacijske mašinerije: translacijski inicijacijski faktor eIF4E, tRNA-modifikacijski enzim nalik SUA5 i tri tRNA (tRNA<sup>Pro</sup>, tRNA<sup>Met</sup> i tRNA<sup>Trp</sup>) (Philippe *et al.*, 2013).

Karakteristika velikih DNA-virusa je da nemaju introne koji se izrezuju pomoću spliceosoma. Ipak, 16 od 186 kodirajućih sekvenci *P. salinus* sadrže jedan ili više introna. Introni *P. salinus* imaju dužinu od 138 nukleotida u prosjeku i ne nalikuju samo izrezujućim intronima grupa I i II. Introni se najvjerojatnije izrezuju iz transkripata *P. salinus* pomoću izrezujuće mašinerije ovisne o U2, a to pak govori u prilog činjenici da se dio genoma *P. salinus* transkribira u jezgri domaćina. Također, nekoliko enzima esencijalnih za sintezu DNA sadrže inteine. Po jedan intein se nalazi u najvećoj podjedinici

RNA-polimeraze i u maloj podjedinici ribonukleotid-reduktaze (RNR), a po dva inteina se nalaze u velikoj podjedinici RNR i u enzimu DNA-polimerazi. Geni koji kodiraju malu podjedinicu RNR i DNA-polimerazu u *P. salinus* sadrže i inteine i introne.

Kvalitativnom analizom proteoma čestica *P. salinus* tragalo se za proteinom nalik kapsidnom proteinu virusa. Nađena su dva proteina molekularnih masa otprilike 60 kD. Međutim, protein kojega ima najviše u čestici *P. salinus* ne nalikuje nijednom poznatom proteinu, dok drugi protein nalikuje proteinu nepoznate funkcije nađenom kod pripadnika *Megaviridae*. Nadalje, transkripcijska mašinerija kodirana genomom pandoravirusa je u potpunosti odsutna u čestici samoga virusa, za razliku od mimivirusa i drugih virusa koji se repliciraju u citoplazmi domaćina. Ovaj nalaz, zajedno sa prisutnošću spliceosomskih introna, potvrđuje da je jezgra domaćina aktivno uključena u rani stadij replikacijskog ciklusa pandoravirusa. Među proteinima u česticama *P. salinus* nađeno je i 56 proteina *A. castellanii* koji se javljaju u malo kopija. Budući da se pandoravirusi repliciraju unutar citoplazme domaćina, ali ne i unutar staničnih kompartimenata, proteini *Acanthamoeba* su mogli slučajno biti upakirani u česticu pandoravirusa (Philippe *et al.*, 2013).

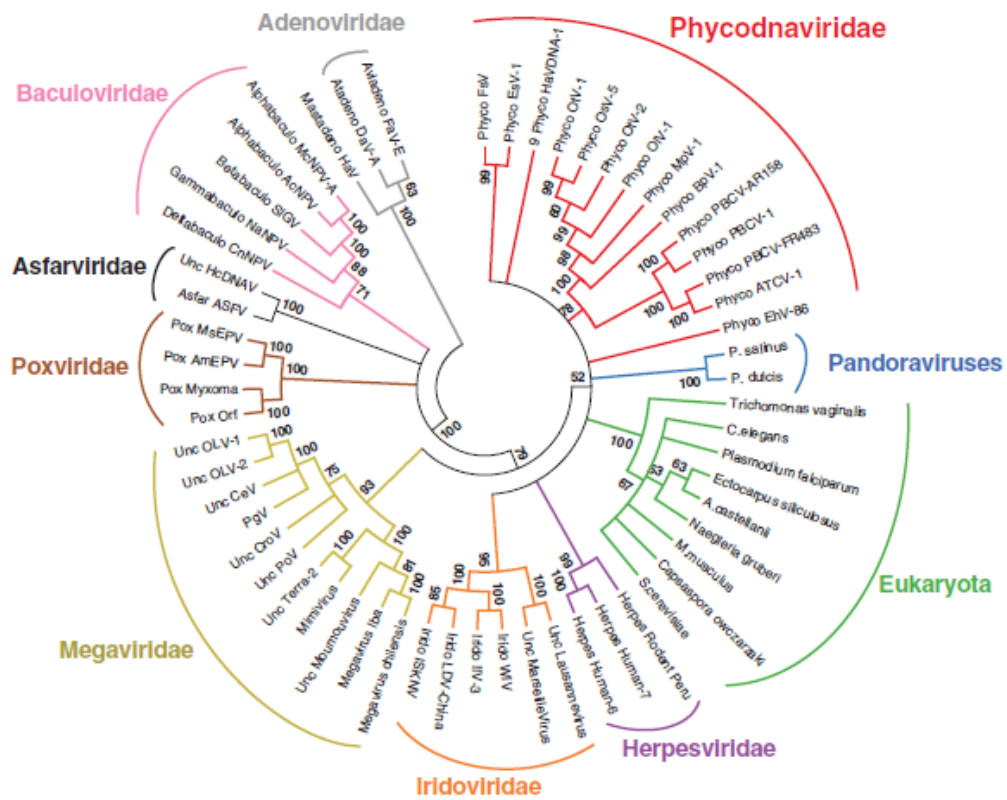


**Slika 4.** Struktura genoma vrste *Pandoravirus salinus*. Kodirajuće sekvence na direktnom (plavo) i obrnutom (crveno) lancu (1). Kodirajuće sekvence homologne eukariotima (narančasto), bakterijama (zeleno) i virusima (ljubičasto). Kodirajuće sekvence ankirina, domena F-box i ponavljanja MORN (bijelo). Kodirajuće sekvence bez homologa (sivo) (2). Kodirajuće sekvence identificirane u genomu pročišćenih čestica *P. salinus* (3) (Philippe *et al.*, 2013).

## 5. ZAKLJUČAK

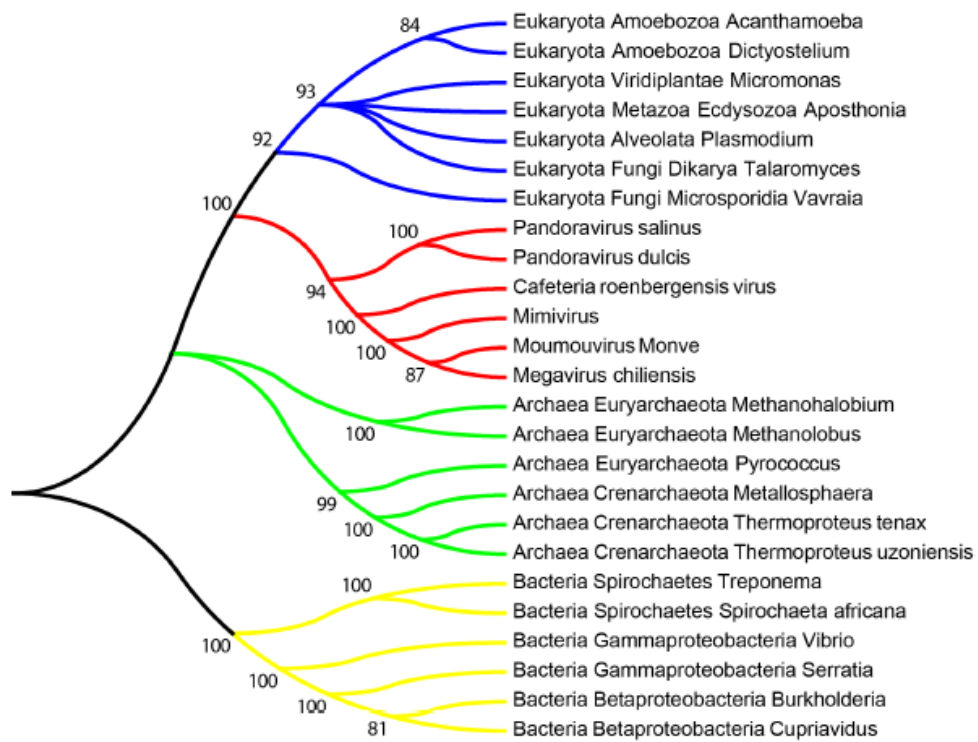
Iako pretežito virusne prirode, pandoravirusi uvelike odstupaju od slike o tipičnom pripadniku virusnog svijeta. Posebni po svojoj veličini, veličini genoma i broju kodirajućih sekvenci, oni također ne pokazuju gotovo nikakvu filogenetsku srodnost s postojećim mikrobima (Slika 5.). Budući da više od 93% genoma pandoravirusa ne nalikuje ni na što poznato, njihovo porijeklo se za sada ne može utvrditi. Unatoč tome, DNA-polimeraza kodirana genomom pandoravirusa pokazuje određeni stupanj srodnosti s ostalim gigantskim DNA-virusima i govori u prilog tezi o postojanju četvrte domene života (Slika 6.) (Philippe *et al.*, 2013). Dosadašnja filogenija i klasifikacija u domene se radila na temelju ribosoma te je isključivala viruse iz te podjele. Zbog velike raznolikosti virusa, od kojih su neki veći od parazitskih bakterija, ne bi ih se smjelo isključiti iz domena života isključivo na temelju nedostatka ribosoma i parazitskog načina života (koji je ujedno karakterističan i za neke bakterije, arheje i eukariote) (Raoult, 2013). Pripadnici reda *Megavirales* te posebno članovi roda *Pandoravirus* pokazuju veliki evolucijski napredak u odnosu na ostale pripadnike virusnog svijeta prvenstveno svojom veličinom genoma, posjedovanjem sastavnica translacijske mašinerije te nedostatkom filogenetske povezanosti s postojećim organizmima. Iako pretežito virusne prirode zbog nedostatka vlastitog metabolizma i ribosoma, ne može se negirati određeni evolucijski pomak prema carstvima bakterija, arheja i eukariota. Nedostatak genoma sličnog genomu pandoravirusa u genomskoj bazi podataka sugerira da su pandoravirusi ili jako rijetki, ili da njihove ekološke niše nisu dovoljno istražene (Philippe *et al.*, 2013).

Prirodni domaćini samih pandoravirusa, amebe roda *Acanthamoeba*, su domaćini i drugih virusa, bakterija, alga i gljiva. Nastanjuju tla i vode i otporne su na mnoge nepovoljne uvjete što ih čini povoljnim vektorima za izmjenu gena među organizmima koje ih „nastanjuju“. Budući da je poznato da određeni pripadnici reda *Megavirales*, koji također parazitiraju u amebama, mogu inficirati ljude (Colson *et al.*, 2013), postavlja se pitanje mogu li s vremenom pandoravirusi steći to svojstvo i kakve bi bile posljedice. S obzirom na sve činjenice, predlažu se daljnja istraživanja Pandoravirusa kao potencijalnih patogena ljudi te kao poveznicu svijeta virusa i „živoga“ svijeta.



**Slika 5.** Filogenetska analiza B-obitelji DNA-polimeraza koja ukazuje na filogenetsku nesrodnost pandoravirusa i postojećih mikroba. (Philippe *et al.*, 2013).





**Slika 6.** Filogenija DNA-polimeraza koje ukazuje na postojanje četvrte domene života (Philippe *et al.*, 2013).

## 6. LITERATURA

- Colson P, La Scola B, Raoult D, 2013. Giant Viruses of Amoebae as Potential Human Pathogens. *Intervirology* **56**, 376-385
- De Boer P, Crossley R, Rothfield L, 1992. The Essential Bacterial Cell-division Protein FtsZ is a GTPase. *Nature* **359**, 254-256
- Jin J, Cardozo T, Lovering R, *et al.*, 2004. Systematic Analysis and Nomenclature of Mammalian F-box Proteins. *Genes Dev* **18**, 2573-2580
- Pagnier I, Ikanga Reteno D, Saadi H, Boughalmi M, Gaia M, Slimani M, Ngounga T, Bekliz M, Colson P, Raoult D, La Scola B, 2013. A Decade of Improvements in Mimiviridae and Marseilleviridae Isolation from Amoeba. *Intervirology* **56**, 354-363
- Phillipe N, Legendre M, Doutre G, Couté Y, Poirot O, Lescot M, Arslan D, Seltzer V, Bertaux L, Bruley C, Garin J, Claverie J, Abergel C, 2013. Pandoraviruses: Amoeba Viruses with Genomes Up to 2.5 Mb Reaching That of Parasitic Eukaryotes. *Science* **341**, 281-286
- Raoult D, 2013. TRUC or the Need for a New Microbial Classification. *Intervirology* **56**, 349-353
- Samson R, Obita T, Freund S, Williams R, Bell S, 2008. A Role for the ESCRT system in Cell Division in Archaea. *Science* **322**, 1710-1713

## 7. SAŽETAK

Otkriće pandoravirusa uzdrmalo je temelje virusnog svijeta. Njihovo ime opisuje nedostatak sličnosti s postojećim mikrobima i iznenađenja koja može donijeti njihovo dalje istraživanje. S genomom od 2.5 Mb i 2556 kodirajućih sekvenci ruše sve rekorde virusne zajednice. Iako pretežito virusne prirode, posjeduju određene komponente translacijske mašinerije i mali dio proteina homologan proteinima bakterija, arheja i eukariota, što ih čini evolucijski naprednijim od ostalih poznatih virusa. Unatoč tome, najveći dio genoma pandoravirusa ostaje potpuna nepoznanica jer ne pokazuje nikakvu sličnost s ostalim genomima postojećih mikroba. Analizom B-obitelji DNA-polimeraza pokazalo se da pandoravirusi, i drugi gigantski virusi, filogenetski odmiču od postojećih organizama tvoreći četvrtu domenu života. Potrebna su daljnja istraživanja kako bi se utvrdilo je li zaista nađena poveznica između virusa i „živoga“ svijeta.

## 8. SUMMARY

The discovery of the Pandoraviruses has shaken up the postulates of the viral world. The name “Pandoravirus” describes a lack of similarity with the existing microbes and surprises one might expect from the further research. With the 2.5 Mb genome and 2556 protein-coding sequences, they break all the records in the world of viruses. Although they are viruses by nature, they possess some components of the translational machinery as well as a handful of proteins which are homologous to bacterial, archaeal and eukaryotic proteins. Such characteristics exhibit evolutionary advantage over other existing viruses. However, the majority of Pandoravirus genome remains a mystery because it does not show any similarity with the genomes of the existing organisms. The analysis of B family DNA polymerases showed that Pandoraviruses, and other gigantic viruses, are phylogenetically different from the other organisms and they cluster together to form a fourth domain of life. Additional research is necessary to establish whether Pandoraviruses are really the missing link between the viral and the “living” world.