

DOI: 10.13376/j.cblls/2014111

文章编号: 1004-0374(2014)08-0782-08

· 评述与综述 ·

## 巨大病毒的发现及研究进展

李亚东, 寸 韡\*

(中国医学科学院&北京协和医学院医学生物学研究所, 云南省重大传染病疫苗研发重点实验室, 昆明 650118)

**摘要:** 人们发现第一个病毒以来, 病毒学科取得了迅猛的发展, 人们对病毒大小的认知也已经基本成型。21 世纪初, 科学家发现了拟菌病毒, 开启了巨大病毒的大门, 此后人们又陆续发现了多种巨大病毒。这些病毒体积较大, 基因复杂, 已经超出了以往以大小区分病毒的标准, 其体积和基因组大小甚至与很多原核和真核生物相当。此外, 科学家们还发现了数种能够感染巨大病毒和其他核质大 DNA 病毒 (nucleo-cytoplasmic large DNA virus, NCLDV) 的病毒, 将其命名为噬病毒体。这一系列新发现极大地触动了人们对病毒认识的知识体系, 并导致了关于病毒起源与进化问题的讨论, 这在病毒学史上具有重大的意义。

**关键词:** 巨大病毒; 噬病毒体; 横向基因迁移; 拟菌病毒; 潘多拉病毒

**中图分类号:** Q939; R373.9 **文献标志码:** A

## Discovery and progress of giant virus

LI Ya-Dong, CUN Wei\*

(Yunnan Key Laboratory of Vaccine Research & Development on Severe Infectious Disease, Institute of Medical Biology, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Kunming 650118, China)

**Abstract:** Since the first virus was recognized, virology has made a rapid development. The people's perception about the size of viral particle has been basically formed. Early 21<sup>st</sup>-century, scientists discovered Mimivirus as the first giant virus. Several other giant viruses have been found sequentially. These giant viral particles are larger, and their genomes have exceeded the previous standard in size to distinguish virus. They are even as large as some parasitic prokaryotes and eukaryotes. In addition, the scientists also found some organisms can infected the giant viruses and other nucleo-cytoplasmic large DNA virus (NCLDV), named as Virophage. This series of newly discovered virus shacked people's understanding of viruses and lead a discussion on the origins and evolution of the virus, which has great significance in the history of virology.

**Key words:** giant virus; Virophage; HGT; Mimivirus; Pandoravirus

2003 年, 法国科学家 Didier Raoult 实验室在阿米巴虫原虫体内发现了可以在普通光学显微镜下清晰观察到的病毒<sup>[1]</sup>, 其大小超过了人们当时对病毒认识的范畴, 拉开了巨大病毒研究的序幕。此后的 10 年, 科学家们又陆续发现了多种巨大病毒, 这些巨大病毒不仅体积巨大, 而且基因组碱基数和基因数目也是巨大的, 同时表现出更加复杂的特点, 如最近发现了目前最大的潘多拉病毒 (Pandoravirus), 长度达到 1  $\mu\text{m}$ , 直径达到 0.5  $\mu\text{m}$ , 其基因组达到 2.5 Mb<sup>[2]</sup>。到目前为止, 科学家已经从不同地域、不同环境中分离出很多株巨大病毒, 其中完成全基因

组测序的已经有 20 余株, 表明这些巨大病毒可能是普遍存在的, 只是一直以来未被发现, 真实的病毒界可能远不止以往认识的那样, 还有更多未曾发现的病毒。同时, 研究发现很多巨大病毒能够直接或者间接威胁到人们的健康<sup>[3]</sup>。通常病毒只有通过感染细胞, 利用宿主的复制系统才能进行复制, 但是目前科学家已经发现了一类通过“感染”核质大

收稿日期: 2013-11-28; 修回日期: 2014-02-19

基金项目: 云南省应用基础研究重点项目(2013FA053)

\*通信作者: E-mail: cunwei@foxmail.com; Tel: 0871-68334579

DNA 病毒 (nucleo-cytoplasmic large DNA viruses, NCLDV; 主要是感染巨大病毒) 来进行自我复制的病毒, 并将这类病毒命名为噬病毒体 (Virophage)<sup>[4]</sup>。

病毒太过简单, 以至于在细胞生物学中并未被归为一种“生命”。但是, 研究者对巨大病毒的研究发现, 它们都具有很多作为细胞标志的蛋白质或分子<sup>[5]</sup>, 并且这些巨大病毒还能够被噬病毒体“感染”<sup>[4,6]</sup>, 这些发现引起了人们的关注, 并开始思考这些病毒的来源以及进化模式。人们猜想巨大病毒正是连接细胞生物与非细胞病毒的中间一环, 使得病毒与细胞之间的分界不再那么明显。

巨大病毒的发现已经开始影响人们对病毒的认识, 它们的基因组巨大, 远远超过了普通病毒, 甚至超过了很多原核生物 (图 1), 已经不再是一开始通过可滤过性来定义的病毒了, 它们的出现扩大了病毒的外延, 因此不得不重新审视以往对病毒的定义。同时, 关于这些病毒起源的问题也引起了人们的思考。

## 1 巨大病毒

### 1.1 拟菌病毒(Mimivirus)

在巨大病毒中, 最具代表性的就是拟菌病毒了。1992 年, Birtles 等<sup>[7]</sup>于英格兰 Bradford 小镇的冷却塔水中偶然发现一种微生物寄生于阿米巴原虫体内, 因为其体积较大, 而且革兰氏染色鉴定为阳性, 因此, 当时将其归为一种革兰氏阳性菌并命名为 Bradford 球菌。直到 2003 年法国马赛大学的 Raoult 课题组对 Bradford 球菌的研究发现, 它具有典型病毒复制周期, 并认定它是一种具有浓密纤维毛覆盖于二十面体衣壳外的双链 DNA 病毒, 因为该病毒与细菌很相似并一度被误认为是一种球菌, 所以将其命名为拟菌病毒 (Mimivirus)<sup>[1,5]</sup>。

拟菌病毒与常见病毒差别很大, 为了研究方便, 暂时将其划分为一个新的病毒科——拟菌病毒科

(Mimiviridae)<sup>[5]</sup>, 后来发现的很多巨大病毒也属于这一病毒科。通过测序分析得出其基因组全长 1 181 549 bp (NC\_014649), 是一种线性双链 DNA 病毒, 包含 1 018 个基因, 其中 979 个基因编码蛋白质, 6 个基因编码 tRNAs, 33 个对应非编码的 RNA 基因, 且该病毒株 G/C 含量较低 (约 28%)<sup>[8]</sup>。除此之外, 该病毒 1 262 个开放阅读框 (open reading frames, ORFs) 中有 90% 左右的基因编码的蛋白质尚未知其功能, 最特别的是它具有很多细胞标志性蛋白的编码基因, 能编码氨酰 tRNA 合成酶等与蛋白质转录、翻译、加工、修饰相关的蛋白质, 还含有与基因修复、新陈代谢等相关的很多细胞才特有的分子, 而且拟菌病毒的前体蛋白存在内含子序列<sup>[5]</sup>。这表明它可能具备部分自我转录翻译蛋白质的功能, 并能影响宿主细胞的新陈代谢等相关活动, 这使得病毒与细胞之间的分界变得模糊。

拟菌病毒基因组稳定性较差, 随着培养代数的增加, 其碱基会有所丢失。科学家将拟菌病毒接种到无菌的阿米巴原虫中进行共培养 150 代以后, 病毒表面的纤维毛消失, 病毒变得光滑, 其基因组由原来的 1.2 Mb 减少至 0.993 Mb, 减少的碱基主要集中在基因组两端, 基因组减少后的拟菌病毒不能够再被噬病毒体“感染”, 这可能是病毒在进化过程中将某些非必需的基因丢失的结果<sup>[9]</sup>。有趣的是, 同样的碱基大量缺失现象也存在于其他某些核质大 DNA 病毒中, 如非洲猪瘟病毒能从基因组 DNA 左端缺失 8~20 kb<sup>[10]</sup>。

拟菌病毒不仅基因较为复杂, 同时其体积也跟普通病毒有较大差异。对病毒结构进行进一步研究确定, 该病毒直径约为 0.75  $\mu\text{m}$ , 其中二十面体的核衣壳直径约为 0.5  $\mu\text{m}$ , 核衣壳外围还被约 0.125  $\mu\text{m}$  的浓密的纤维毛覆盖, 被膜样物质包被的基因组与衣壳之间有 30~50 nm 的间隙, 衣壳外有多层蛋白质和脂质膜<sup>[11-12]</sup>。Xiao 等<sup>[12]</sup>通过低温电子显

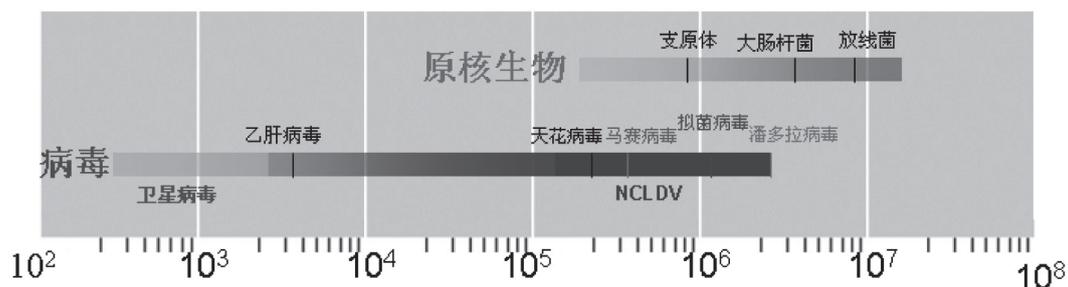


图1 病毒与原核生物基因组对比

显微镜和原子力显微镜研究发现,二十面体对称结构只是近似的,与其他二十面体对称病毒的衣壳存在很大差异;病毒外层具有与细菌细胞壁肽聚糖类似的物质。这可能就是导致革兰氏染色呈现阳性的原因。

对拟菌病毒形态及基因研究的同时,还发现了拟菌病毒具有致病性,是在1992年流行肺炎研究中偶然发现的<sup>[7]</sup>。拟菌病毒是引起人肺炎的一种病原体,除了能够在阿米巴体内生存外,还能感染哺乳动物巨噬细胞<sup>[13-14]</sup>。2013年,Saadi等<sup>[15]</sup>从一名72岁的女性肺炎患者体内分离得到该病毒。同年,Saadi等<sup>[16]</sup>又从肺炎患者大便内分离出该病毒科的另一成员——Shan病毒。目前,对拟菌病毒的实验室检测方法有微量免疫荧光法检测抗体和PCR法检测核酸<sup>[17]</sup>。

尽管早在拟菌病毒被发现之前就有一类以痘病毒为代表的NCLDV存在,这类病毒同样体积和基因组均比其他病毒大,但直到拟菌病毒的发现才真正开启了巨大病毒的大门。拟菌病毒被认为是第一种也是最具代表性的巨大病毒,后来被分类为一个新的病毒科——拟菌病毒科。该病毒科以体积较大、基因数目众多、复杂为其主要特点。

## 1.2 马赛病毒(Marseillevirus)

拟菌病毒被发现后,人们对病毒的定义不再局限于可滤过性。同时有了拟菌病毒的研究经验,也加速了其他巨大病毒的发现与研究进程,如在与发现拟菌病毒类似的环境中发现了很多新的巨大病毒,其中马赛病毒就是较为典型的一种。

马赛病毒是2007年法国马赛大学研究者从巴黎冷却塔水中分离的又一种巨大病毒,同样以阿米巴原虫为宿主。该病毒直径约250 nm,二十面体衣壳外覆盖约12 nm长的顶端呈球形的纤维毛,其基因组为386 454 bp (NC\_013756),含有457个开放阅读框,编码428个蛋白质,是一种环状双链DNA病毒<sup>[18]</sup>。该病毒基因组与其他DNA病毒基因组具有很大差异,除了与拟菌病毒一样具有氨酰tRNA合成酶等蛋白质外,该病毒复制周期较短,仅需5 h就能完成复制。据Boyer等<sup>[18]</sup>报道,马赛病毒的特点如下:(1)一种典型的NCLDV,很可能是NCLDV的原型;(2)具有15个蛋白激酶,是所有病毒中含蛋白激酶最多的,在病毒蛋白质合成过程中发生大量蛋白质加工修饰,已鉴定的49个蛋白中有10个糖基化蛋白和19个磷酸化蛋白;(3)含有蛋白质泛素化系统,与宿主信号转导具有密切

联系;(4)在病毒内发现了3个组蛋白样的蛋白质(马赛病毒科的另一巨大病毒*Lausannevirus*也存在3个同样的组蛋白样蛋白<sup>[19]</sup>);(5)基因组中含有其他真核生物、细菌、古细菌、病毒的遗传物质。通过比对,与其他病毒、细菌、真核细胞、古生菌的蛋白质序列同源的蛋白分别为59、57、70和2个,与拟菌病毒拥有17个其他NCLDV中不存在的相同基因,猜测该病毒能够进行横向基因迁移(horizontal gene transfer, HGT)。阿米巴是一种噬细胞性单细胞生物,通常吞噬较大的多种微生物,并且能够同时被马赛病毒和两种寄生虫成功感染<sup>[18, 20]</sup>。这样,病毒在宿主胞质内进行复制时,很可能就会将阿米巴细胞内其他生物的遗传物质整合到自己的基因组中进行包装,从而实现横向基因迁移(HGT)。

马赛病毒作为一种独特的DNA病毒,成为该病毒家族的第一个成员,最近又从不同的环境中发现并分离了该病毒家族的其他成员,并将它们归为同一个科——马赛病毒科(Marseilleviridae)<sup>[19, 21-23]</sup>。法国科学家最近在无症状人群捐献的血液样品中发现了一种基因组与马赛病毒高度同源,外形也相似的巨大病毒GBM(giant blood Marseillevirus)。它是人血液病毒组中的一种病毒,能够感染T淋巴细胞和Jurkat细胞<sup>[24]</sup>。该病毒来自于无症状人群的血液样本,猜测该病毒在人体内不引起症状或能引起慢性症状,但它能感染体内T淋巴细胞,所以也应该重视它。2012年,Lagier等<sup>[25]</sup>在无症状人消化道中发现了马赛病毒科另一个成员——Senegalvirus,这表明马赛病毒科很可能也是威胁人类健康的又一类巨大病毒。

同拟菌病毒一样,马赛病毒作为另一种典型的巨大病毒,体积和基因数目巨大,同时编码的蛋白质复杂,并且对人类存在致病隐患。该病毒典型地表现出巨大病毒可能存在的一种进化机制——横向基因迁移,因此,对其成员进一步研究意义重大。

## 1.3 Megavirus (*Megavirus chiliensis*)

Megavirus是继拟菌病毒和马赛病毒后于智利海岸水域中发现的又一种巨大病毒,因为该病毒是当时发现的最大的病毒,且该病毒株发现于智利海域,因此该病毒株被命名为*Megavirus chiliensis*。

尽管发现于盐水海域中,该病毒也能够淡水中的阿米巴细胞内进行复制繁殖<sup>[26]</sup>。Arslan等<sup>[26]</sup>对该病毒进行基因组测序发现,它是一种长1 259 197 bp (NC\_016072)、G/C含量较低(25.2%)、含有1 123个基因、编码1 120个蛋白质的线性双链DNA巨

大病毒。对该病毒外形的研究显示, 该病毒衣壳也是类似二十面体结构, 与拟菌病毒一样, 衣壳外被长约 75 nm 的纤维毛; 电镜测量该病毒衣壳直径约为 440 nm, 由于进行电镜观察的处理会使病毒衣壳缩水约 20%, 因此该病毒衣壳实际约为 520 nm, 加上表面纤维毛, 该病毒体积约为 680 nm<sup>[12, 26]</sup>。对该病毒核酸和蛋白质进行分析, 并与拟菌病毒比较发现, *M. chiliensis* 中 77% 的蛋白质编码序列 (coding sequences, CDSs) 与拟菌病毒同源, 其编码的 1 120 个蛋白质中 594 个蛋白质与拟菌病毒同源, 分别占各自所有蛋白质的 50% 左右; *M. chiliensis* 含有 7 个氨酰 tRNA 合成酶, 比拟菌病毒还要多出 3 个, 为目前含有 tRNA 合成酶最多的病毒; *M. chiliensis* 也存在 DNA 修复酶、拓扑异构酶以及很多与蛋白质、糖类等折叠修饰相关的酶系统<sup>[5, 26]</sup>。

Megavirus 与拟菌病毒表现出极大的相似性, 因此将其归为拟菌病毒科。通过对 Megavirus 与拟菌病毒的比较, 科学家们猜测它们很可能起源于一个具有共同基因的祖先, 在后来的进化过程中不断丢失基因、突变进化, 产生了不同的分支<sup>[26]</sup>。这两种病毒阐释了巨大病毒可能存在的另一种进化机制, 即巨大病毒起源于某一更复杂的共同祖先, 在后来的进化过程中根据不同环境不断丢失某些非必需基因而进化出不同的分支。

#### 1.4 潘多拉病毒

*M. chiliensis* 等巨大病毒如此大的体积和基因组已经影响了人们对病毒的看法。2013 年, Philippe 等<sup>[27]</sup> 分别于智利中海岸河流沉积物表层 (约 10 m 深) 和澳大利亚墨尔本附近一个淡水池塘底部泥浆中发现了两种更大的阿米巴寄生型巨大病毒, 这两株病毒分别被命名为 *Pandoravirus salinus* 和 *Pandoravirus dulcis*。*Pandoravirus* 中文译为“潘多拉病毒”, 是目前最大的病毒。它无论在外形还是基因组上都与其他巨大病毒有很大差别, 而且其基因只有 7% 左右与地球上已发现的生物同源, 科学家们认为对该病毒的深入研究就像打开了一个潘多拉魔盒, 不知道会有什么惊人的发现, 它可能会很大程度影响甚至改变人们以往对病毒的认识<sup>[2, 27]</sup>。

早在 1998 年就有与潘多拉病毒类似的颗粒报道<sup>[28]</sup>, 但是由于当时未引起注意, 因此一直到现在才被发现。这两种潘多拉病毒与其他病毒的不同主要表现在以下几方面<sup>[2, 27]</sup>。(1) 两株病毒均为线性双链 DNA 病毒, 病毒基因组巨大, 其中 *P. salinus* 基因组全长 2 473 870 bp (NC\_022098), G/C 含量为

61.7%, 含有 2 556 个 CDSs, 2 544 个基因, 编码 2 541 个蛋白质, 编码序列占基因组 80%; *P. dulcis* 基因组全长 1 908 524 bp (NC\_021858), G/C 含量为 63.7%, 含有 1 502 个 CDSs, 1 488 个基因, 编码 1 487 个蛋白质。基因组序列比对结果分析表明, *P. dulcis* 的基因只是 *P. salinus* 基因中的一部分。很多普通病毒只含有 10 个左右的基因, 而潘多拉病毒的碱基含量和基因含量不仅超过了细菌, 也超过了某些真核细胞。(2) 潘多拉病毒基因与其他巨大病毒存在很大差异, 缺乏衣壳蛋白编码基因以及很多对 DNA 复制、转录很重要的蛋白质的编码基因, 它们通过很多大片段酶来行使复制、转录、基因修复等功能。同时, 潘多拉病毒只有约 7% 的基因能在现有生物中找到相似基因, 2 556 个 *P. salinus* CDSs 中只有 186 个能在 NCBI 中找到对应的同源蛋白, 其中 101 个为真核生物蛋白、43 个为细菌蛋白, 42 个为病毒蛋白。潘多拉病毒只有 3.6% 的 CDSs 与宿主阿米巴存在同源, 表明潘多拉病毒与宿主之间也很少存在横向基因迁移。同时, 科学家们通过实验验证了该病毒采用标准的遗传密码, 排除了该病毒不遵守标准遗传密码导致其与其他生物差异如此之大的可能性。(3) 两株潘多拉病毒在电镜下病毒超微结构基本相同, 外形均为卵形, 体积较大, 病毒长约为 1  $\mu\text{m}$ , 直径约为 0.5  $\mu\text{m}$ , 是普通病毒的 10 倍以上。(4) 潘多拉病毒被膜和内部核衣壳同时合成, 而且病毒颗粒的合成是从一个孔状的顶端开始并继续的。(5) 存在两个氨酰 tRNA 合成酶——TyrRS 和 TrpRS, 但是这两种氨酰 tRNA 合成酶与宿主阿米巴的同源性达到了 60% 左右, 比其他巨大病毒的氨酰 tRNA 合成酶与宿主之间的同源性更高, 这不符合之前认为这些氨酰 tRNA 合成酶基因来自同一祖先的假说。(6) 在 186 个与现有基因同源的 *P. salinus* CDSs 中有 16 个存在 1 个或多个平均 138 bp 的剪接内含子, 这说明该病毒至少有部分基因是在宿主核内转录的。

潘多拉病毒具有典型的病毒复制周期, 不存在核糖体, 也不能自我产生能量, 也没有检测到与 FtsZ 等细胞分离相关蛋白同源的蛋白<sup>[27]</sup>, 这些信息表明, 尽管有如此巨大的体积和基因组, 并且与其他病毒存在很大差异, 但它仍然属于病毒。它很可能起源于藻类 DNA 病毒科 (Phycodnaviruses)<sup>[27, 29]</sup>。

潘多拉病毒的体积和基因正如其名, 让人不可思议。如此巨大的体积和碱基数使其超过了某些真核生物。更让人不可思议的是它只有约 7% 的基因

与地球生物同源，这不仅与普通病毒不同，甚至与其他巨大病毒也不同，这让人联想到了外星生命。当然，这一切都还只是猜想，只有对其进一步深入研究方能得出确切的结论。

## 2 噬病毒体

近年来巨大病毒的发现扩展了人们对病毒的认识界限，但所发现的巨大病毒基本以单细胞生物为宿主。然而，在研究巨大病毒的过程中发现了能够“感染”病毒的病毒——噬病毒体 (Virophage)<sup>[4, 6]</sup>。2008年，La Scola等<sup>[4]</sup>发现并命名了第一个噬病毒体——Sputnik，之后科学家又陆续从不同的环境中发现了4种噬病毒体：Mavirus<sup>[30]</sup>、OLV<sup>[31]</sup>、Sputnik2<sup>[32]</sup>、Sputnik3<sup>[33]</sup>。这是一类与已知的卫星病毒相似但存在本质区别的病毒，它们的复制不依赖于宿主的细胞核，复制的整个过程都是在NCLDV的病毒加工厂中完成的，同时它们的存在能使相应宿主病毒出现异常复制、毒力减弱等不利现象<sup>[4, 34]</sup>。科学家还发现噬病毒体Sputnik2能够将自身基因组整合进入巨大病毒Lentille基因组中<sup>[35]</sup>，成为第一个能够将自身DNA整合到其他病毒中的病毒，这与普通病毒感染细胞的过程相似。同时，研究发现噬病毒体Sputnik1、Sputnik2、Sputnik3均能交叉感染拟菌病毒科的巨大病毒<sup>[33]</sup>，这一发现进一步说明了噬病毒体可能是巨大病毒之间进行基因横向迁移的媒介。

在对巨大病毒的研究过程中，人们发现了噬病毒体的存在，同时对噬病毒体的研究又进一步说明巨大病毒横向基因迁移这一进化机制的可能性，横向基因迁移的媒介很可能就是噬病毒体。当然，这些都还只是猜想，要解开巨大病毒的进化之谜还需

要深入彻底的研究。

## 3 总结与讨论

尽管拟菌病毒科、噬病毒体等术语已经在研究论文中广泛运用，但是国际病毒分类委员会 (ICTV) 尚未对已发现的巨大病毒进行统一分类与命名，研究者只是根据它们具有NCLDV的核心基因而将它们归为NCLDV家族。目前发现的很多巨大病毒属于拟菌病毒科，有研究者根据这些巨大病毒较为保守的基因序列构建系统发生树，将拟菌病毒科分为两个大组：第一大组细分为三个小组，以拟菌病毒为代表的A组、以Moumouvirus为代表的B组和以*M. chiliensis*为代表的C组；第二个大组为CroV (*Cafeteria roenbergensis virus*)<sup>[33, 36]</sup>。而马赛病毒及与其同源的病毒归为马赛病毒科 (Marseilleviridae)<sup>[36]</sup>，潘多拉病毒与其他巨大病毒的差异都很大，单独归为潘多拉病毒科 (Pandoraviridae)<sup>[27]</sup> (图2)。同时，Colson等<sup>[36]</sup>认为简单的用NCLDV来表示这些较大的病毒不是十分贴切，NCLDV也不是病毒分类学上的一个等级术语，建议将这些NCLDV划分为一个新的病毒目——巨病毒目 (Megavirales)。而Arslan等<sup>[26]</sup>将Mimivirus、Mamavirus和*M. chiliensis*等称为巨病毒科 (Megaviridae)。

同样，巨大病毒也并非一个分类学术语，仅仅是为了研究方便而简单地将这些体积和基因数巨大的病毒称为巨大病毒。病毒学界也还没有严格的定义与统一的划分标准。尽管NCLDV中的某些病毒株体积和基因也接近巨大病毒，但是一般认为巨大病毒的研究以2003年拟菌病毒的发现为开端。目前巨大病毒主要有以下三大病毒科：拟菌病毒科、

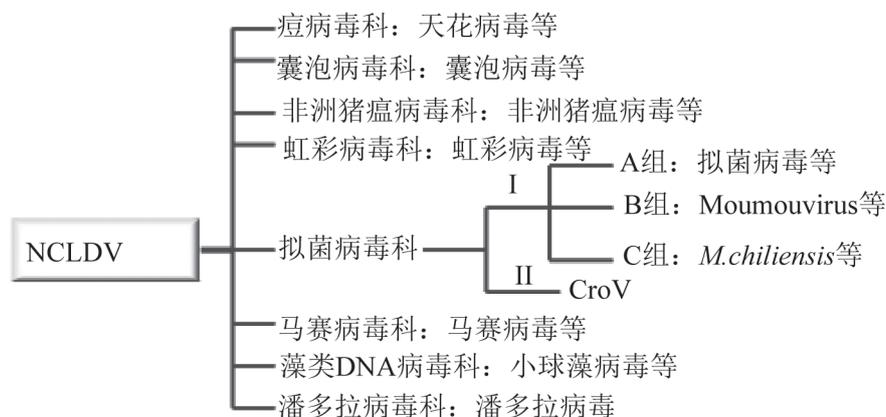


图2 NCLDV分类图

马赛病毒科和潘多拉病毒科, 它们与其他五类体积和基因数较大的病毒共同构成了 NCLDV (图 2)。

NCLDV 是真核 DNA 病毒中的一大家族, 体积和基因组相对较大, 它们在宿主细胞质形成病毒加工厂完成自我复制<sup>[37-38]</sup>, 少数病毒也在细胞核进行复制<sup>[39]</sup>。NCLDV 很可能是由一个共同的祖先进化而来, 猜测它们的祖先含有 47 个核心基因, 这些核心基因编码的蛋白质含有与 DNA 复制、转录相关的酶类<sup>[40-41]</sup>, 但是在进化过程中不断丢失, 致使每种 NCLDV 带有不同个数的标志核心基因。从某种意义上来说, 先前发现的 NCLDV 中的痘病毒等就已经与传统意义上的病毒有一定差别了, 只是新发现的巨大病毒表现更加特殊, 它们主要感染阿米巴原虫等单细胞生物, 同时其体积更大、基因更加复杂。由于巨大病毒体积较大、基因较复杂, 同时含有一些细胞特有的分子, 比普通病毒更加接近于细胞, 甚至有可能是由细胞长期进化演变而来, 而巨大病毒属于 NCLDV, 它们与其他 NCLDV 具有某些独立于通过可滤过性定义的病毒的相似特征, NCLDV 又与通过可滤过性定义的病毒一样属于普通病毒, 这样一来可以猜想从最低等的病毒到人类是相互联系的, 没有特别明显的分界。鉴于此, 病毒也可能是有生命的, 而不能仅仅将它们认为是一种有机物的组合。

之前对 NCLDV 核心基因的研究表明, 它们很可能从一个共同的祖先进化而来<sup>[41-42]</sup>, 这一观点已经被大部分人认可, 那么, 巨大病毒也当如此。以一直从事巨大病毒研究的 Didier Raoult 教授为代表的大部分学者也支持了这一观点, 他们还认为这些巨大病毒有一个共同的起源, 属于除了真细菌、古菌和真核生物外的第四域, 他们推荐使用 TRUC (things resisting uncompleted classifications) 一词来代表这些巨大病毒组成的第四种生命形式<sup>[43-44]</sup>。当然, 对于第四域的划分部分科学家还持有不同观点<sup>[45-46]</sup>。

对于巨大病毒的起源与进化问题是个值得深思的问题, 它可能不仅仅代表其自身的进化, 也代表了一种新的进化模式。线粒体和叶绿体的内共生起源学说已经得到了大部分人的认可, 这是一种由细菌到细胞器的互利共生的进化模式。参照内共生起源学说, 可以猜想这些巨大病毒也以类似的方式进化, 主要有两个可能的机制致使它们出现这样复杂的基因和这样大的体积。首先, 它们可能由一个共同的祖先细胞在进化过程中不断丢失基因, 致使它

们含有部分细胞的标志基因。这可能是在它们被原生生物 (如阿米巴原虫) 吞噬后, 由于某些功能依靠宿主完成, 从而丢失了一些非必需基因, 使得它们向着更高效的方向进化, 形成不同的巨大病毒, 这一点在 Mimivirus 与 Megavirus 之间表现较为突出<sup>[26]</sup>, 拟菌病毒培养 150 代后基因组碱基大量缺失<sup>[9]</sup>也支持这一观点。另外, 拟菌病毒等部分巨大病毒同时存在 DNA 和 RAN 两种遗传物质也能用这种进化模式来进行解释。同时, 多数巨大病毒的复制独立于宿主细胞核在细胞质内完成, 也说明了这种可能性。其次, 巨大病毒很可能存在横向基因迁移, 以马赛病毒最为典型<sup>[18]</sup>, 很可能它们在宿主细胞内复制的时候得到了其他被吞噬的细胞的基因而被保留下来。同时, 噬病毒体能够在巨大病毒之间穿梭<sup>[33]</sup>也为基因迁移提供了一种方式。在 *P. salinus* 中检测到了 82 个具有辅助细胞功能的蛋白质, 并且这些蛋白质与病毒自身的复制周期没有关系<sup>[27]</sup>; 在多种巨大病毒中也检测到泛素化蛋白和与信号转导相关的蛋白, 这些蛋白质也很可能参与宿主细胞的新陈代谢, 这表明巨大病毒在感染宿主细胞的同时也辅助宿主完成某些功能, 这一点也与内共生起源学说有相似之处。根据这种可能的进化模式, 我们也认为巨大病毒很可能是第四域生物的代表, 病毒是有生命的, 那么, 它们就有自己的起源。巨大病毒起源于第四域 (图 3), 普通病毒也可能起源于这种生命形式。即便最为特殊的潘多拉病毒也很可能起源于藻类 DNA 病毒<sup>[29]</sup>, 而它之所以与地球生物基因差异较大, 可能是因为它们在不同的时期形成生命或者环境使它们沿着不同的方向进化。当然, 对于它们的起源仅仅只是猜想, 很多机制目前还没有研究清楚, 很多现象也还没办法解释, 需要进一步的研究。

这是一类新的病毒, 同时也可能代表了一种新的进化模式, 目前人们对巨大病毒的了解还很少, 随着进一步的研究, 更多的机制会更加明确, 更多的猜想会被证实或否定, 最终对病毒的了解也会更加深入。由于某些巨大病毒是致病原, 而且对它们的了解还不够深入, 因此, 人们应该保护好自己, 对病毒严格管理, 防止病毒在人群中扩散而造成严重后果。

#### [参 考 文 献]

- [1] La Scola B, Audic S, Robert C, et al. A giant virus in amoebae. *Science*, 2003, 299(5615): 2033

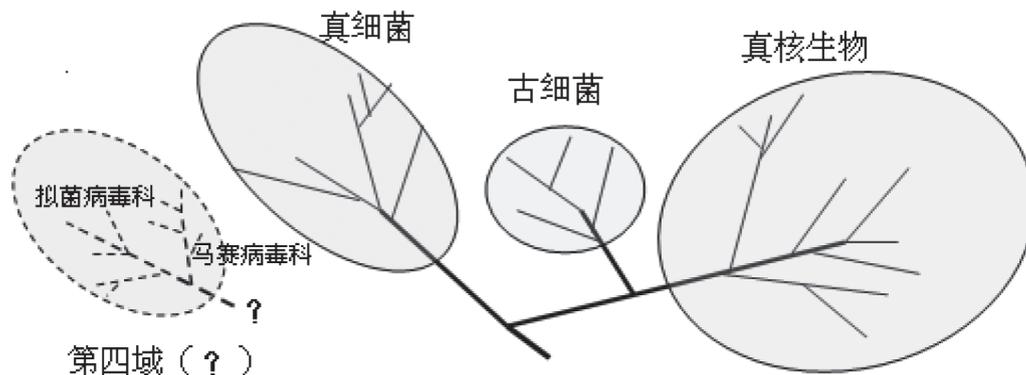


图3 可能存在的第四域

- [2] Pennisi E. Microbiology. Ever-bigger viruses shake tree of life. *Science*, 2013, 341(6143): 226-7
- [3] Colson P, La Scola BDR. Giant viruses of amoebae as potential human pathogens. *Intervirology*, 2013, 56(6): 376-85
- [4] La Scola B, Desnues C, Pagnier I, et al. The virophage as a unique parasite of the giant mimivirus. *Nature*, 2008, 455(7209): 100-4
- [5] Raoult D, Audic S, Robert C, et al. The 1.2-megabase genome sequence of Mimivirus. *Science*, 2004, 306(5700): 1344-50
- [6] Desnues C, Boyer M, Raoult D. Sputnik, a virophage infecting the viral domain of life. *Adv Virus Res*, 2012, 82: 63-89
- [7] Birtles RJ, Rowbotham TJ, Storey C, et al. Chlamydia-like obligate parasite of free-living amoebae. *Lancet*, 1997, 349(9056): 925-6
- [8] Legendre M, Santini S, Rico A, et al. Breaking the 1000-gene barrier for Mimivirus using ultra-deep genome and transcriptome sequencing. *Virology*, 2011, 418: 99
- [9] Boyer M, Azza S, Barrassi L, et al. Mimivirus shows dramatic genome reduction after intraamoebal culture. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(25): 10296-301
- [10] Blasco R, de la Vega I, Almazan F, et al. Genetic variation of African swine fever virus: variable regions near the ends of the viral DNA. *Virology*, 1989, 173(1): 251-7
- [11] Xiao C, Chipman PR, Battisti AJ, et al. Cryo-electron microscopy of the giant Mimivirus. *J Mol Biol*, 2005, 353(3): 493-6
- [12] Xiao C, Kuznetsov YG, Sun S, et al. Structural studies of the giant Mimivirus. *PLoS Biol*, 2009, 7(4): e92
- [13] Raoult D, La Scola B, Birtles R. The discovery and characterization of Mimivirus, the largest known virus and putative pneumonia agent. *Clin Infect Dis*, 2007, 45(1): 95-102
- [14] La Scola B, Marrie TJ, Auffray JP, et al. Mimivirus in pneumonia patients. *Emerg Infect Dis*, 2005, 11(3): 449-52
- [15] Saadi H, Pagnier I, Colson P, et al. First isolation of Mimivirus in a patient with pneumonia. *Clin Infect Dis*, 2013, 57(4): e127-34
- [16] Saadi H, Reteno DG, Colson P, et al. Shan virus: a new mimivirus isolated from the stool of a Tunisian patient with pneumonia. *Intervirology*, 2013, 56(6): 424-9
- [17] 马亦林. 拟菌病毒及其感染. *中华临床感染病杂志*, 2010, 3(4): 249-50
- [18] Boyer M, Yutin N, Pagnier I, et al. Giant Marseillevirus highlights the role of amoebae as a melting pot in emergence of chimeric microorganisms. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(51): 21848-53
- [19] Thomas V, Bertelli C, Collyn F, et al. Lausannevirus, a giant amoebal virus encoding histone doublets. *Environ Microbiol*, 2011, 13(6): 1454-66
- [20] Greub G, Raoult D. Microorganisms resistant to free-living amoebae. *Clin Microbiol Rev*, 2004, 17(2): 413-33
- [21] Boughalmi M, Saadi H, Pagnier I, et al. High-throughput isolation of giant viruses of the Mimiviridae and Marseilleviridae families in the Tunisian environment. *Environ Microbiol*, 2013, 15(7): 2000-7
- [22] Aherfi S, Pagnier I, Fournous G, et al. Complete genome sequence of cannes 8 virus, a new member of the proposed family "Marseilleviridae". *Virus Genes*, 2013, 47(3): 550-5
- [23] Boughalmi M, Pagnier I, Aherfi S, et al. First isolation of a Marseillevirus in the Diptera Syrphidae *Eristalis tenax*. *Intervirology*, 2013, 56(6): 386-94
- [24] Popgeorgiev N, Boyer M, Fancello L, et al. Marseillevirus-like virus recovered from blood donated by asymptomatic humans. *J Infect Dis*, 2013, 208(7): 1042-50
- [25] Lagier JC, Armougom F, Million M, et al. Microbial culturomics: paradigm shift in the human gut microbiome study. *Clin Microbiol Infect*, 2012, 18(12): 1185-93
- [26] Arslan D, Legendre M, Seltzer V, et al. Distant Mimivirus relative with a larger genome highlights the fundamental features of Megaviridae. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(42): 17486-91
- [27] Philippe N, Legendre M, Doutre G, et al. Pandoraviruses: amoeba viruses with genomes up to 2.5 Mb reaching that of parasitic eukaryotes. *Science*, 2013, 341(6143): 281-6
- [28] Hoffmann R, Michel R, Müller K, et al. Archaeobacteria like endocytobiotic organisms isolated from *Acanthamoeba*

- sp (gr II). *Endocyt Cell Res*, 1998, 12: 185-8
- [29] Yutin N, Koonin EV. Pandoraviruses are highly derived phycodnaviruses. *Biol Direct*, 2013, 8(1): 25
- [30] Fischer MG, Suttle CA. A virophage at the origin of large DNA transposons. *Science*, 2011, 332(6026): 231-4
- [31] Yau S, Lauro FM, DeMaere MZ, et al. Virophage control of antarctic algal host-virus dynamics. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(15): 6163-8
- [32] La Scola B, Campocasso A, N'Dong R, et al. Tentative characterization of new environmental giant viruses by MALDI-TOF mass spectrometry. *Intervirology*, 2010, 53(5): 344-53
- [33] Gaia M, Pagnier I, Campocasso A, et al. Broad spectrum of Mimiviridae virophage allows its isolation using a Mimivirus reporter. *PLoS One*, 2013, 8(4): e61912
- [34] Pearson H. 'Virophage' suggests viruses are alive. *Nat News*, 2008, 454(7205): 677
- [35] Desnues C, La Scola B, Yutin N, et al. Provirophages and transpovirons as the diverse mobilome of giant viruses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(44): 18078-83
- [36] Colson P, de Lamballerie X, Fournous G, et al. Reclassification of giant viruses composing a fourth domain of life in the new order Megavirales. *Intervirology*, 2012, 55(5): 321-32
- [37] Suzan-Monti M, La Scola B, Barrassi L, et al. Ultrastructural characterization of the giant volcano-like virus factory of *Acanthamoeba polyphaga* Mimivirus. *PLoS One*, 2007, 2(3): e328
- [38] Novoa RR, Calderita G, Arranz R, et al. Virus factories: associations of cell organelles for viral replication and morphogenesis. *Biol Cell*, 2005, 97(2): 147-72
- [39] Koonin EV, Yutin N. Origin and evolution of eukaryotic large nucleo-cytoplasmic DNA viruses. *Intervirology*, 2010, 53(5): 284-92
- [40] Yutin N, Wolf YI, Raoult D, et al. Eukaryotic large nucleo-cytoplasmic DNA viruses: clusters of orthologous genes and reconstruction of viral genome evolution. *Virology*, 2009, 6(1): 223
- [41] Yutin N, Koonin EV. Hidden evolutionary complexity of nucleo-cytoplasmic large DNA viruses of eukaryotes. *Virology*, 2012, 9(1): 161
- [42] Iyer LM, Balaji S, Koonin EV, et al. Evolutionary genomics of nucleo-cytoplasmic large DNA viruses. *Virus Res*, 2006, 117(1): 156-84
- [43] Raoult D. A need to discover the world of giant viruses. *Intervirology*, 2013, 56(6): 347-8
- [44] Raoult D. TRUC or the need for a new microbial classification. *Intervirology*, 2013, 56(6): 349-53
- [45] Williams TA, Embley TM, Heinz E. Informational gene phylogenies do not support a fourth domain of life for nucleocytoplasmic large DNA viruses. *PLoS One*, 2011, 6(6): e21080
- [46] Legendre M, Arslan D, Abergel C, et al. Genomics of Megavirus and the elusive fourth domain of life. *Commun Integr Biol*, 2012, 5(1): 102-6