DŽINOVSKI VIRUSI

THE GIANT VIRUSES

Miroslav Petković, Maja Travar

Sažetak. *Mnogo je napora učinjeno kako bi se razjasnilo poreklo i priroda virusa. Posebno je nejasna njihova evolucija. Jesu li živi ili ne? Kojem domenu života pripadaju? Koji su odnosi između virusa i ćelijskih organizama? Već dugi niz godina, prihvaćen je koncept koji podrazumeva da je virus najmanji i najjednostavniji oblik života, koji se sastoji samo od DNK ili RNK zaštićene proteinskim omotačem i da je obavezan intracelularni parazit! Međutim, pitanje je da li je ovo shvatanje virusa i dalje održivo i prihvatljivo? Neverovatno otkriće džinovskog Mimivirusa 2003. godine, kao i specifična organizacija njegovog genoma i replikacijski ciklus, u velikoj meri, pomutili su doskora jasnu granicu između virusa i ćelijskih organizama. Šta više, najnovije otkriće virusa koji ne može da se replikuje bez džinovskog Mimivirusa i koji krade njegove replikacijske kapacitete, a nazvan je "virofag" Sputnik, napravilo je još veću zbrku u virusologiji. Prečnik džinovskog Mimivirusa iznosi više od 550 nm, a dužina njegovog genoma je neverovatnih 1,2 Mbp. Ovaj virus ima veliki broj gena koji kodiraju više od 900 proteina. I pored mnogih jedinstvenih osobina, Mimivirus je filogenetski veoma blizak drugim velikim DNK virusima, kao što su Phycodnavirusi i Iridovirusi i, najverovatnije, ima zajedničko poreklo s nukleocitoplazmatskim velikim DNK virusima. Otkriće džinovskih virusa izaziva puno ostrašćenih rasprava o poreklu i evoluciji virusa. Postoje dva ekstremna mišljenja. Prvo mišljenje ili koncept "ranog" virusa naglašava jedinstveno i pradačno poreklo džinovskih virusa, dok drugo ili koncept "kasnog" virusa zastupa model bega. Po ovom drugom smatra se da je Mimivirus džinovska himera, odnosno da je nastao nakon oslobađanja dela ćelijskog genetičkog materijala ili dramatičnog smanjenja genoma ćelije reduktivnom evolucijom. Sekvencioniranje i poređenje genoma nukleocitoplazmatskih velikih DNK virusa donelo je velik broj podataka, koji se tumače u skladu s voljom i predrasudama samih istraživača, tako da zbog toga do sada nema jedinstvenog mišljenja o poreklu džinovskih virusa, kao ni o tome da li bi uopšte trebalo da se uvrste u drvo života. U ovom članku dat je prikaz preklapanja džinovskih virusa sa svetom ćelijskih organizama, pre svega njihovom veličinom i složenošću genoma, što u budućnosti može da utiče na način na koji će da se posmatraju pojedini domeni života ili vrši njihova klasifikacija.*

Ključne riječi: Džinovski virusi, Mimivirus, Nukleocitoplazmatski veliki DNK virusi

Uvod

Uobičajeno je da se na viruse gleda kao na veoma male čestice koje lako prolaze kroz bakterijske filtre i imaju mali genom koji kodira svega nekoliko proteina. Međutim, zadnjih godina otkriveno je više džinovskih virusa. Oni imaju veliki dvolančani DNK genomom (više od 300 kbp) koji kodira na stotine proteina [1]. Često se u literaturi

nazivaju girusi, što je akronim nastao od engleskih reči *giant viruses* [2].

Većina džinovskih virusa inficira protozoe koje žive u vodenoj sredini. Kao primeri mogu da se navedu: Mimivirus (slika 1), koji inficira amebe (*Acanthamoeba polyphaga*) i ima najveći poznati virusni genom od 1.181 kbp [3-5], i Phycodnavirus, koji inficira alge i ima genom od oko 560 kbp [6]. Najmanje jedan od poznatih Poxvirusa ima genom

veći od 300 kbp. To je Canarypox virus, čiji genom ima oko 360 kbp [7]. Ipak, većina poxvirusa ima genom veličine od 180 kbp do 290 kbp i stoga se ni Canarypox virus ne svrstava u džinovske viruse.

Slika 1. Transmisiono-elektronski prikaz Mimivirusa

Koliko su zaista ogromni genomi džinovskih virusa pokazuje podatak da genom najmanje slobodnoživeće bakterije *Mycoplasma genitalium* ima oko 590 kbp i kodira svega 470 proteina [8]. Iako je procenjeno da je minimalna veličina genoma koja obezbeđuje život oko 250 gena [9], simbiotska bakterija *Hodgkinia cicadicola*, koja se nalazi u ćelijama nekih insekata (*Dicicero procta semicincta*), ima genom od svega 145 kbp [10]. Dakle, genom džinovskih virusa je znatno veći od genoma nekih slobodnoživećih jednoćelijskih mikroorganizama (slika 2).

Osim što imaju velike kapacitete kodiranja, džinovski virusi kodiraju mnoge proteine koji su atipični ili potpuno novi za viruse [5,11]. Neki od ovih gena ne mogu da se nađu ni u jednoj genskoj bazi podataka. Na primer, geni za nekoliko komponenti translacionog sistema, posebno, 4 aminoacil-tRNK sintetaze, 4 translaciona faktora, tRNK-modifikacioni enzim i nekoliko tRNK. Ništa manje ne zbunjuje otkriće gena koji kodiraju: enzime uključene u biosintezu aminokiselina, nekoliko DNK popravljajućih enzima, nekoliko proteina sa funkcijom molekularnih pratilaca (*engl. chaperone functions*) [5].

Slika 2. Poređenje veličine genoma džinovskih virusa i nekih najmanjih ćelijskih organizama

Kod nekih džinovskih virusa mogu da se nađu introni i inteini, što nije svojstveno ostalim virusima. Nekoliko Phycodnavirusa poseduje IB intron, dok Mimivirus ima šest samouplićućih introna. Inteini su proteinski domeni koje kodiraju mobilne sekvence i koji se sami isecaju iz proteina. Inteini mogu da se nađu sporadično u svim domenima života. Mimivirus i Phycodnavirus NY-2A i CeV01 su retki virusi koji imaju inteine. Preko 30 proteina Mimivirusa sadrže ankirin ponavljanja i više od 20 sadrže POZ/BTB domene, koji su uključeni u protein-protein reakcije i stvaranje kompleksa makromolekula, navodeći na to da Mimivirus kodira složen aparat za morfogenezu viriona i intracelularni transport [5,12].

Morfogeneza velikih virusa je jedinstvena, jer je očigledno da se tako složene i velike strukture ne mogu same sastavljati. Pojedini džinovski virusi značajno se razlikuju po građi. Ovi virusi moraju da kodiraju proteine koji ograničavaju veličinu i druge koji služe za kontrolu sastavljanja i razgradnje delova virusa [4,13].

Poseban problem koji se tiče džinovskih virusa predstavlja njihova klasifikacija. Ako bi se svi džinovski virusi svrstali u jednu porodicu, uzimajući u obzir njihovu veličinu, onda bi to bila veoma raznorodna grupa virusa prema morfologiji, veličini genoma i razvojnem ciklusu [1,14].

Otkriće džinovskih virusa

Danas najveća otkrića u mikrobiologiji dolaze iz detaljnih molekularnim studija i poređenja genoma. Nije više često, kao što je bilo u 19. veku, da se otkrivaju neverovatni mikroorganizmi koje pre toga niko nije video. U virusologiji, koja po definiciji proučava najmanje intracelularne parazite, era deskriptivnih otkrića trajala je do 20. veka i otkrivanje novih, neobičnih porodica virusa nastavljeno je i u 21. veku.

Džinovski virusi ostali su neotkriveni dugi niz godina iz mnogih razloga, pre svega, tehničkih. Klasična virusna izolacija podrazumeva filtraciju kroz filtre čiji je prečnik pora 200 nm kako bi se uklonile bakterije i protozoe. Međutim, ovi filteri zaustavljaju i džinovske viruse. Dalje, džinovski virusi se značajno sporije razvijaju i daju manji broj novih virusnih čestica. Konačno, otkriće pojedinih džinovskih virusa predstavljalo je ogromno iznenađenje. Na primer, početno se smatralo za Mimivirus da je intracelularna bakterija, pa je nazvan *Bradfordococcus*, po gradu u Velikog

Britaniji gde je prvi put izolovan 1992. godine iz vode u rashladnom tornju [3,4].

Većina džinovskih virusa otkrivena je i detaljno opisana zadnjih godina. Ipak, postoje dva izuzetka. Prvi je *Bacillus megatherium* bakteriofag G, koji je otkriven pre više od 35 godina i potpuno ignorisan daskora. Drugi je *Paramecium bursaria Chlorella* virus 1 (PBCV-1), koji je otkriven pre 30 godina i od tada je stalno proučavan [15]. Očigledno je da će u skorij budućnosti biti otkriveni brojni novi džinovski virusi.

Klasifikacija džinovskih virusa

Džinovski virusi imaju zajedničkog evolucionog prethodnika, koji se javio pre nego što je došlo do velikih razilaženja u kraljevstvu eukariota. Ova grupa virusa, u koju su uključeni Phycodnavirusi, Poxvirusi, Asfarvirusi, Iridovirusi, Ascovirusi i Mimivirusi naziva se i grupa nukleocitoplazmatskih velikih dvolančanih DNK virusa (*engl. Nucleo-Cytoplasmic Large dsDNA Virus, NCLDV*) [16]. Nedavno je iz ameba izolovan novi NCLDV, nazvan Marseillevirus, koji je daleki srodnik Iridovirusima i Ascovirusima. NCLDV sadrže 9 zajedničkih gena, a još 177 dodatnih gena prisutno je u najmanje dve porodice u ovoj grupi [17].

Poreklo NCLDV je predmet mnogih rasprava. Neki virusolozi predlažu da bi NCLDV trebalo posmatrati kao zaseban domen života, drugi da su NCLDV geni potekli iz izvornog genskog bazena iz koga su potekli i prokariotski i eukariotski organizmi, dok treći pretpostavljaju da je horizontalni prenos gena pokrenuo evoluciju njihovog genoma. Postavljena je i hipoteza da su primitivni NCLDV omogućili razvoj eukariotskog jedra ili se desilo suprotno, to jest, ovi su se virusi razvili iz jedra. Bez obzira koja je pretpostavka tačna, stoji da neki virusi, uključujući i NCLDV, imaju dugu evoluciju i da su značajno učestvovali u javljanju i oblikovanju sadašnjih oblika života [14].

Iako je opšteprihvaćena pretpostavka o zajedničkom prethodniku NCLDV, postoje velike razlike što se tiče veličine i morfologije ovog prethodnika, kao i na koji način se desilo razdvajanje u različite virusne porodice. Evolucioni model NCLDV, izgrađen metodom maksimalne verovatnoće, prepoznaje 47 sačuvanih gena koji su činili minimum genoma zajedničkog prethodnika. Tokom evolucije NCLDV su neke zajedničke gene izgubili, neke nove dobili od svojih domaćina i

bakterijskih endosimbionata, a neke duplirali. Druga mogućnost je da je prethodnik NCLDV bio velik virus ili čak ćelijski organizam koji je evoluirao skraćivanjem genoma, dok je treća pretpostavka da su NCLDV nastali od malih DNK virusa koji su primali gene od domaćina [18].

Svi NCLDV se replikuju i formiraju u citoplazmi. Uloga jedra u replikaciji pojedinih NCLDV veoma se razlikuje. Na primer, Mimivirus i Poxvirusi ciklus replikacije u celini provode u citoplazmi. Za razliku od ovih, jedro je verovatno neophodno za replikaciju Phycodnavirusa i ostalih NCLDV.

Vrlo je teško razvrstavati džinovske viruse u zasebne porodice. Skorašnje filogenetske analize DNK polimeraznih proteina iz četiri dobro poznata Phycodnavirusa oslikavaju ovaj problem [19]. Naime, DNK polimeraze iz tri Phycodnavirusa (CeV01, PpV01 i PoV01) su sličnije polimerazi Mimivirusa. Dodatnu nesigurnost i zbrku, što se tiče evolucije NCLDV, unosi otkriće da struktura glavnog proteina kapsida PBCV-1 slični strukturi glavnog proteina kapsida malih dvolančanih DNK virusa koji parazitiraju u sva tri domena života (adenovirusi, bakteriofagi, virusi arheona *Sulfolobus solfataricus*) [20].

Mimivirusi

Mimivirusi inficiraju slobodnoživeće amebe. Prva dva su najveći virusi do sada otkriveni. Mamavirus ima novootkriveni prateći virus, koji su naziva virofag Sputnik [21]. Genom ovog virusa čini vrlo mala dvolančana DNK od 18,3 kbp, koja može da se replikuje samo u prisustvu Mamavirusa.

Virion Mimivirusa ima ikozaedarni kapsid čiji je prečnik oko 550 nm [22]. Debeo sloj gusto upakovanih vlakana (140 nm) ravnomerno pokriva kapsid, čineći tako loptast oblik prečnika od oko 750 nm. Ovaj sloj vlakana, koji se ne javlja kod drugih NCLDV, neki istraživači povezuju sa heterotrofičnom prirodom amebe koja im je domaćin i kojim Mimivirus oponaša površinu bakterija koje su amebama osnovna hrana. Da bi amebe otpočele fagocitozu, čestice moraju da imaju prečnik od najmanje 600 nm ili da se nalaze u nakupinama. Nakon okruživanja bakterija, bakterijski površinski lipopolisaharidi stimulišu stvaranje endocitotskih vakuola. Iz tog razloga, spoljašnji sloj Mimivirusa, koji se boji Gram pozitivno, slični površini Gram pozitivnih bakterija

[3]. U prilog ovoj pretpostavci ide činjenica da Mimivirus kodira nekoliko enzima koji obrađuju šećere, a neki su direktno povezani sa šećerima na površini, kao što je perozamin.

Elektronska tomografija i zapreminska rekonstrukcija virusne čestice u amebi, pri završetku infekcije, govore da je kapsid Mimivirusa sačinjen od dve ljuske koje se nalaze jedna preko druge i imaju različite gustine [23]. Unutrašnja strana virusne čestice je membranozna vreća koja okružuje virusni genom. Pored ove dve ljuske, na jednom od vrhova ikozaedra smeštena je uzdignuta struktura koja podseća na morsku zvezdu (petokraka). Kraci se pružaju čitavom dužinom stranica ikozaedra (slika 3).

Slika 3. Jedinstvena struktura oblika morske zvezde na kapsidu Mimivirusa (Atomic Forced Microscopy, AFM)

Infekcija Mimivirusom počinje fagocitozom koju prati spajanje fagozoma sa lizozomom [5,24]. Pretpostavlja se da ova lizozomalna aktivnost otvara virusni kapsid na takozvanoj “zvezdanoj kapiji”. Stapanje unutrašnje ljuske virusne čestice sa membranom endocitotske vakuole stvara veliku šupljinu kroz koju u citoplazmu ulazi jezgro sa genomom Mimivirusa. Najnovije studije, pokazuju da genom Mimivirusa ostaje stalno u citoplazmi. Kao i Poksvirusi, Mimivirus ima sopstvenu transkripcionu mašineriju i u samu česticu virusa pakuje se 12 transkripcionih proteina. Veruje se da se transkripcija ranih gena Mimivirusa, zajedno sa konzervisanim promoterskih elementom AAAATTGA, događa u jezgrou virusne čestice. Jezgro oslobađa virusnu DNK,

uspostavljajući citoplazmatsko replikaciono mesto gde počinje DNK replikacija, a zatim dolazi do transkripcije kasnih gena. Replikaciono mesto nastaje oko jezgra virusa i širi se dok ne zauzme veliki deo amebe 6 h nakon infekcije.

Kasne faze replikacije Mimivirusa traju od 6 do 9 sati nakon infekcije, kada se na periferiji replikacionih područja pojavljuju prazni prokapsidi bez sloja vlakana i delimično sastavljeni, kao i ikozedarni prokapsidi u koje se ubacuje DNK [23]. U oko 60% virusnih čestica, DNK ulazi kroz otvore na stranama, a kod ostalih kroz otvore na vrhovima. Prema tome, izlazak i pakovanje DNK Mimivirusa odigrava se kroz različite otvore, što je jedinstvena osobina među virusima.

Linearni genom Mimivirusa kodira oko 910 proteina. Uprkos njegovom mnogo većem genomu, Mimivirus ima visoku kodirajuću gustinu (90,5%), što je slično onoj kod ostalih NCLDV. Susjedni otvoreni okviri za čitanje odvojeni su u proseku sa 157 bp [11]. Za razliku od drugih NCLDV, Mimivirus genomski terminusi (završeci) nemaju velika obrnuta ponavljanja. Trideset tri procenta gena Mimivirusa je srodno barem jednom od ostalih gena zbog duplikacije [25]. Dalje, 36 od 910 proteina ima funkcije koje ranije nisu nađene kod virusa [11]. Na primer, Mimivirus ima komplet enzima za popravak DNK koji su sposobni da isprave nukleotidna nepodudaranja, kao i greške uzrokovane oksidacijom, ultravioletnim zračenjem ili alkilirajućim agensima. Mimivirus je jedini virus koji kodira tri topoizomeraze. Uz to, Mimivirus kodira različite enzime koji obrađuju polisaharide, aminokiseline i lipide. Takvi metabolički kapaciteti postoje i kod drugih NCLDV, naročito Phycodnavirusa. Najveće iznenađenje, vezano za genom Mimivirusa, izazvalo je otkriće homologa za 10 proteina povezanih sa translacijom. I konačno, Mimivirus, kao i Chlorella virusi, kodira nekoliko glikoziltransferaza koje mogu da pomognu glikozilaciju njihovog glavnog proteina kapsida.

Mogući medicinski značaj mimivirusa

Poznato je da mikroorganizmi udruženi sa slobodnoživućim amebama, kao što je Legionella pneumophila, uzrokuju epidemije akutne pneumonije kod imunosupresivnih i starijih osoba, mada prenos sa osobe na osobu nije čest [26]. Da li je Mimivirus odgovoran za pojedinačne slučajeve respiratornih bolesti, trebalo bi da se ustanovi sa sigurnošću.

Prethodne studije izveštavaju o serološkim dokazima Mimivirus infekcija kod 7,1% do 9,7% pacijenata sa pneumonijom [27]. DNK Mimivirusa je amplifikirana pomoću "nested PCR assay" iz bronho-alveolarnog lavaža kod 60-godišnjeg pacijenta sa intenzivne nege koji je imao pneumoniju.

Nedavno je pokazano da čestice Mimivirusa unose makrofagi putem fagocitoze, ali ih ne mogu uneti "neprofesionalne" fagocitne ćelije, što dovodi do produktivnog ciklusa virusne replikacije. Mimivirus je prvi virus koji može da uđe u "profesionalne" fagocite ovim mehanizmom, koji se uobičajeno koristi za bakterije ili parazite. Dakle, Mimivirus bi mogao da bude patogen makrofaga i pretpostavka je da se on razmnožava u alveolarnim makrofagima, što posledično može da dovede do pneumonije. Eksperimentalni rezultati su sigurno pokazali da je Mimivirus sposoban da uzrokuje murinu pneumoniju [28].

Zaključak

Mada su se džinovski virusi pojavili vrlo rano kao oblik života, relativno kasno su otkriveni. I sa ograničenim saznanjima, istraživanja džinovskih virusa dala su izuzetan naučni doprinos. Na primer, Chlorella virusi, koji kodiraju više od 400 proteina, predstavljaju izvor novih i neočekivanih gena. Geni ne kodiraju samo komercijalno važne enzime, kao što je DNK restrikciona endonukleaza, već i mnoge virusne proteine koji su najmanji u njihovoj klasi. Ovi proteini dalje predstavljaju odličan biohemijski model za strukturne studije. Takođe, džinovski virusi su izvor genetičkih elemenata za genetički inženjering ostalih organizama.

Genomi nekih od džinovskih virusa su ili sekvencionirani ili su u procesu sekvencioniranja. Utvrđivanje ovih sekvenci sigurno će doprineti proučavanju genoma džinovskih virusa. Ipak, jedna od poteškoća u proučavanju ovih virusa je činjenica da trenutno ni jedan od eukariotskih džinovskih virusa ne može genetski da se menja molekularnim tehnikama. Razvoj uspešnih i izvodljivih procedura za transformaciju genoma domaćina pomoglo bi genetsku analizu džinovskih virusa.

Očigledno je da je otkriće i karakterizacija džinovskih virusa na početku i da će mnogi, još značajniji i neočekivani članovi biti otkriveni. Na primer, metagenomska ispitivanja slobodnih DNK sekvenci iz Sargaskog mora otkrilo je brojne homologe gena Mimivirusa [29]. Dakle, u prirodi

postoje mnogi srodnici Mimivirusa, koji inficiraju protozoe. Klasifikacija ovih novootkrivenih džinovskih virusa biće veoma teška zbog horizontalnog prenosa gena.

Poreklo džinovskih virusa je kontroverza. Jedna od interesantnih pretpostavki je da amebe, koje nakupljaju mnoge različite mikroorganizme, a i viruse, predstavljaju "lonac" u kome se dešava horizontalni prenos gena, što dovodi do pojave novih virusa, uključujući i džinovske viruse sa složenim genskim sastavom koji potiče iz različitih izvora.

Literatura

1. Moreira D, Brochier-Armanet C. Giant viruses, giant chimeras: the multiple evolutionary histories of Mimivirus genes. *BMC Evol Biol.* 2008; 8: 12.
2. Claverie JM, Ogata H, Audic S, Abergel C, Suhre K, Fournier PE. Mimivirus and the emerging concept of "giant" virus. *Virus Res.* 2006; 117: 133-44.
3. La Scola B, Audic S, Robert C, Jungang L, de Lamballerie X, Drancourt M, Birtles R, Claverie JM, Raoult D. A giant virus in amoebae. *Science.* 2003; 299(5615): 2033.
4. Raoult D, Audic S, Robert C, Abergel C, Renesto P, Ogata H, La Scola B, Suzan M, Claverie JM. The 1.2-megabase genome sequence of Mimivirus. *Science.* 2004; 306(5700): 1344-50.
5. Claverie JM, Abergel C, Ogata H. Mimivirus. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2009; 328: 89-121.
6. Wilson WH, Van Etten JL, Allen MJ. The Phycodnaviridae: the story of how tiny giants rule the world. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2009; 328: 1-42.
7. Tulman ER, Afonso CL, Lu Z, Zsak L, Kutish GF, Rock DL. The genome of canarypox virus. *J Virol.* 2004; 78: 353-66.
8. Fraser CM, Gocayne JD, White O, Adams MD, Clayton RA, Fleischmann RD, et al. The minimal gene complement of *Mycoplasma genitalium*. *Science.* 1995; 270(5235): 397-403.
9. Mushegian AR, Koonin EV. A minimal gene set for cellular life derived by comparison of complete bacterial genomes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996; 93(19): 10268-73.
10. McCutcheon JP, McDonald BR, Moran NA. Origin of an alternative genetic code in the extremely small and GC-rich genome of a bacterial symbiont. *PLoS Genet.* 2009; 5(7): e1000565.
11. Claverie JM, Abergel C. Mimivirus and its virophage. *Annu Rev Genet.* 2009; 43: 49-66.
12. Filée J, Pouget N, Chandler M. Phylogenetic evidence for extensive lateral acquisition of cellular genes by Nucleocytoplasmic large DNA viruses. *BMC Evol Biol.* 2008; 8: 320.
13. Claverie JM, Grzela R, Lartigue A, Bernadac A, Nitsche S, Vacelet J, Ogata H, Abergel C. Mimivirus and Mimiviridae: giant viruses with an increasing number of potential hosts, including corals and sponges. *J Invertebr Pathol.* 2009; 101: 172-80.
14. Yin Y, Fischer D. Identification and investigation of ORFans in the viral world. *BMC Genomics.* 2008; 9: 24.
15. Van Etten JL, Meints RH, Kuczmarski D, Burbank DE, Lee K. Viruses of symbiotic *Chlorella*-like algae isolated from *Paramecium bursaria* and *Hydra viridis*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1982; 79: 3867-71.
16. Yutin N, Wolf YI, Raoult D, Koonin EV. Eukaryotic large nucleo-cytoplasmic DNA viruses: clusters of orthologous genes and reconstruction of viral genome evolution. *Virol J.* 2009; 6: 223.
17. Boyer M, Yutin N, Pagnier I, Barrassi L, Fournous G, Espinosa L, Robert C, Azza S, Sun S, Rossmann MG, Suzan-Monti M, La Scola B, Koonin EV, Raoult D. Giant Marseillevirus highlights the role of amoebae as a melting pot in emergence of chimeric microorganisms. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2009; 106: 21848-53.
18. Monier A, Claverie JM, Ogata H. Taxonomic distribution of large DNA viruses in the sea. *Genome Biol.* 2008; 9: R106.
19. Monier A, Larsen JB, Sandaa RA, Bratbak G, Claverie JM, Ogata H. Marine mimivirus relatives are probably large algal viruses. *Virol J.* 2008; 5: 12.
20. Krupovic M, Bamford DH. Virus evolution: how far does the double beta-barrel viral lineage extend? *Nat Rev Microbiol.* 2008; 6: 941-8.
21. La Scola B, Desnues C, Pagnier I, Robert C, Barrassi L, Fournous G, Merchat M, Suzan-Monti M, Forterre P, Koonin E, Raoult D. The virophage as a unique parasite of the giant mimivirus. *Nature.* 2008; 455(7209): 100-4.
22. Xiao C, Kuznetsov YG, Sun S, Hafenstein SL, Kostyuchenko VA, Chipman PR, Suzan-Monti M, Raoult D, McPherson A, Rossmann MG. Structural studies of the giant mimivirus. *PLoS Biol.* 2009; 7: e92.
23. Zauberman N, Mutsafi Y, Halevy DB, Shimoni E, Klein E, Xiao C, Sun S, Minsky A. Distinct DNA exit and packaging portals in the virus *Acanthamoeba polyphaga* mimivirus. *PLoS Biol.* 2008; 6: e114.
24. Suzan-Monti M, La Scola B, Barrassi L, Espinosa L, Raoult D. Ultrastructural characterization of the giant volcano-like virus factory of *Acanthamoeba polyphaga* Mimivirus. *PLoS One.* 2007; 2(3): e328.
25. Suhre K. Gene and genome duplication in *Acanthamoeba polyphaga* Mimivirus. *J Virol.* 2005; 79: 14095-101.

26. Berger P, Papazian L, Drancourt M, La Scola B, Auffray JP, Raoult D. Ameba-associated micro-organisms and diagnosis of nosocomial pneumonia. *Emerg Infect Dis.* 2006; 12: 248-55.
27. Dare RK, Chittaganpitch M, Erdman DD. Screening pneumonia patients for mimivirus. *Emerg Infect Dis.* 2008; 14: 465-7.
28. Khan M, La Scola B, Lepidi H, Raoult D. Pneumonia in mice inoculated experimentally with *Acanthamoeba polyphaga* mimivirus. *Microb Pathog.* 2007; 42: 56-61.
29. Ghedin E, Claverie JM. Mimivirus relatives in the Sargasso sea. *Virology J.* 2005; 2: 62.

Summary. Many efforts have been done to clarify the origin and nature of viruses. Their evolution remains unclear in particular. Are they alive or not? Which domain of life do they belong to? What are the relationships between viruses and cellular organisms? For many years now, the accepted concept implies that the virus is the smallest and simplest form of life which is composed of only DNA or RNA protected by proteinaceous shell and that it is an obligate intracellular parasite! The question is, however, whether this understanding of the virus remains sustainable and acceptable?

An amazing discovery of the giant Mimivirus in 2003, and its specific genome organization and replicative cycle, blurred, to a large extent, this until recently clear border between viruses and cellular organisms. Moreover, the latest discovery of the virus that cannot replicate without giant Mimivirus and which steals his replicative capacity, and which was given the name "virophage" Sputnik, has made even more confusion in virology.

The diameter of the giant Mimivirus is greater than 550 nm and its genome length is of incredible 1.2 Mbps. This virus has a large number of genes that encode more than 900 proteins. Despite its many unique features, Mimivirus is phylogenetically very close to other large DNA viruses, such as Phycodnaviruses and Iridoviruses and most likely has a common origin with nucleocytoplasmic large DNA viruses.

The discovery of the giant viruses causes many passionate debates on the origin and evolution of the viruses. There are two extreme views. The first view or concept of "early" viruses highlights the unique and ancient origin of the giant viruses, while the second one or concept of "late" viruses represents a model of escape. According to the second concept, the Mimivirus is a giant chimera, or that it originated after a part of the cell's genetic material had been released or that there was a dramatic reduction in cell genome by reductive evolution. Sequencing and comparing the genomes of nucleocytoplasmic large DNA viruses have given a great deal of data which are interpreted in accordance to the wishes and prejudices of researchers themselves, so there is still no unified opinion either on the origin of giant viruses or on whether they should even be included in the tree of life.

This article showed the overlapping among the giant virus and the world of cellular organisms, primarily their size and the complexity of the genome itself, which may affect the manner in which a particular domain of life could be observed or their classification be made in the future..

Key words: Giant viruses, Mimivirus, Nucleocytoplasmic large DNA viruses

Miroslav Petković, Maja Travar

Katedra za mikrobiologiju i imunologiju, Medicinski fakultet Banja Luka