

*Zeewater dat behandeld is met een fluorescerende kleurstof. De grote groene vlekjes zijn bacteriën en de kleinere groene stipjes zijn bacteriofagen (virusdeeltjes) daarom heen. Bron: Mann (2005).*

# Een planeet gaat viraal

## *Hoe de Aarde wordt geregeerd door virussen*

BAS VAN DE SCHOOTBRUGGE &  
GERARD VAN DE SCHOOTBRUGGE

B.VANDERSHOOTBRUGGE@UU.NL  
SCHOOTBRUGGE@GMAIL.COM

Virussen hebben geen beste reputatie. Begrijpelijk. Alles wat leeft heeft er last van. Vanuit een evolutionair perspectief gezien zijn ze echter extreem succesvol. Virussen spelen een cruciale rol in de evolutie van het leven op aarde. Zowel waar het gaat om het ontstaan ervan als om het bewaren van de leefbaarheid van de aarde. En het zou zo maar kunnen dat virussen daarbij de eerste viool spelen! Ook ons voortbestaan hangt er van af. In het grote verhaal van het leven staan wij aan de kant. Maar vanuit die positie kunnen we wel proberen te begrijpen hoe dit fantastische bouwwerk tot stand is gekomen, is samengesteld en zich gedraagt en wat de betekenis van virussen is. Ook paleontologen beginnen het virus te ontdekken en er is zelfs een eigen vakgebied: de paleovirologie. In dit artikel laten we het virus als ziekmaker even voor wat het is. We richten ons op het virus als speler in het grote evolutiespel en als onderdeel van de aardse biosfeer. Een verkenning van de viruswereld. Een wereld vol verrassingen met bijna dagelijks nieuwe inzichten.



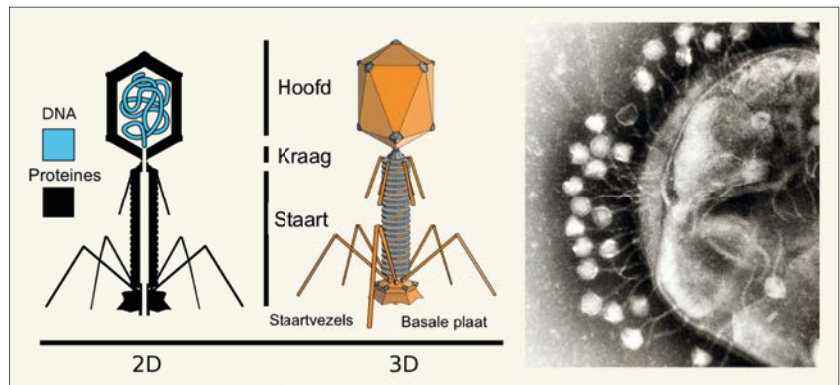
## Klein en veel

Wie deze zomer weer eens voorzichtig zijn grote teen in de lauwwarme Noordzee heeft gedipt, zal zich niet hebben gerealiseerd dat hij daarmee de rust van ontelbaar veel virussen verstoort. We weten nu, nog niet eens zo heel lang, dat een milliliter zeewater wel zo'n tien miljoen virusdeeltjes kan bevatten. De oceanen zijn een enorme soep vol microscopisch leven met virussen als de smaakmakers. Er zijn schattingen dat het in de oceanen wel eens om  $10^{31}$  virusdeeltjes zou kunnen gaan. Er zijn niet alleen veel virusdeeltjes, er zijn ook veel verschillende soorten. Honderdduizenden en het aantal loopt snel op. Virussen komen overal voor, van de polen tot in de diepzee en ver daaronder in de zeebodem. Wat doen die virussen daar en waar komen ze vandaan? Hoe oud zijn virussen eigenlijk en hoe zit het met hun evolutie? Kun je ze als fossiel in je verzameling thuis hebben?

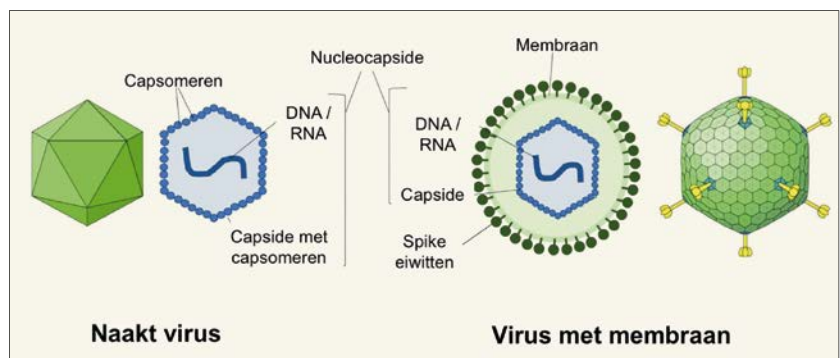
We leven op een planeet die vergeven is van de virussen. Ieder organisme op aarde heeft te maken met infecties van een of meer virussoorten, van de allerkleinste bacteriën tot de allergrootste zeezoogdieren. En ook planten blijven niet buiten schot. Na de uitbraak van de varkensgriep (H1N1), die in 2009 een pandemie veroorzaakte, bleek dat dit virus ook in zeeolifanten en zeeotters voorkomt, mogelijk verspreid door zeevogels. Hetzelfde geldt voor SARS-CoV2 (het Coronavirus) dat ook in katten, tijgers, en nertsen is opgedoken en waarschijnlijk via vleermuizen en onbekende tussenstations op mensen is overgedragen. Maar het overgrote deel van de virussen in de oceanen infecteert micro-organismen zoals bacteriën, archaea en eencellige algen.

## Leven ze?

Zijn virussen de echte meesters van onze planeet? Er is veel discussie of het hier om echt levende organismen gaat. De klassieke parasieten, zoals teken of vlooiën, voeden zich met bestanddelen van hun gastheer. Verder kunnen ze alles zelf (stofwisseling, voortplanting, etc.). Virussen hebben het complete biochemische arsenaal van hun gastheer nodig om te overleven, lees voortplanten. Geen enkel virus beschikt over ribosomen, de eiwitfabrieken van de cel. Een virus is



AFBEELDING 1. | Links en Midden: Schematische structuur van een bacteriofaag. Bestaat uit capsid (hoofd), staart, en aanhangsels. Rechts: een bacterie wordt geïnfecteerd door bacteriofagen. Bron: Wikipedia (aangepast).



AFBEELDING 2. | Verschil tussen een "naakt" (links) en "omhuld" virus (rechts). Een naakt virus bestaat uit een capsomeer opgebouwd uit capsiden (eiwitten). Daarin verpakt zit het genetisch materiaal. Een omhuld virus heeft een extra membraan dat is opgebouwd uit lipiden, gestolen van de gastheer, met daarop vaak een serie eiwitten (spikes) die het aandokken op een gastheer cel makkelijker maken. Bron: Wikipedia (aangepast).

niet veel meer dan goed verpakt genetisch materiaal (RNA of DNA). Kleine machientjes met stukjes code die op slinkse wijze levende cellen binnendringen en ze ertoe aanzetten om nieuwe virussen te produceren. Soms kort na het binnendringen, soms na een periode waarin niets gebeurt. De cellen worden daarbij vaak dusdanig beschadigd dat ze door de gastheer moeten worden opgeruimd. Zo dringen bacteriofagen (bacterie-eters) een bacterie binnen die vervolgens nieuwe fagen gaat aanmaken (Afb. 1). Bij bepaalde faagsoorten zal de bacterie uiteindelijk openbarsten waarna de inhoud van de bacterie samen met grote aantallen nieuwe virusdeeltjes vrijkomt. Klaar voor een nieuwe infectieronde.

## Virus en virion

Dat er zoiets bestaat als een "virus" - latijn voor gif - werd voor het eerst in 1898 beschreven door professor Martinus Willem Beijerinck, hoogleraar aan toen nog de polytechnische hogeschool Delft en een vermaard microbioloog. Beijerinck beschreef dit gif als onderdeel van een infectieuze, levende vloeistof (*contagium vivum fluidum*) waarvan de actieve deeltjes niet door een filter werden tegengehouden dat wel bacteriën tegenhield. Er waren op dat moment meer onderzoekers bezig deze nanowereld te verkennen, zoals de Russische botanist Dmitry Ivanovski die in 1892 al melding maakte van infectieuze deeltjes kleiner dan bacteriën. De lichtmicroscopie was te zwak. Wat virussen echt waren werd pas in de jaren dertig duidelijk toen de elektronenmicroscopie op het toneel verscheen. Toen bleek dat virussen twee verschijningsvormen kennen. Buiten de gastheer cel is sprake van een passief, bijna mineraalachtig object dat vaak virusdeeltje of virion wordt genoemd. Eenmaal in contact met een "geschikte" cel komt het virion "tot leven". Het wordt actief, gooit zijn harnas af en brengt



een proces op gang waarbij het zijn “ware gezicht” laat zien: de gastheercel aanzetten om nieuwe virionen te produceren zelfs als dat diens ondergang inhoudt.

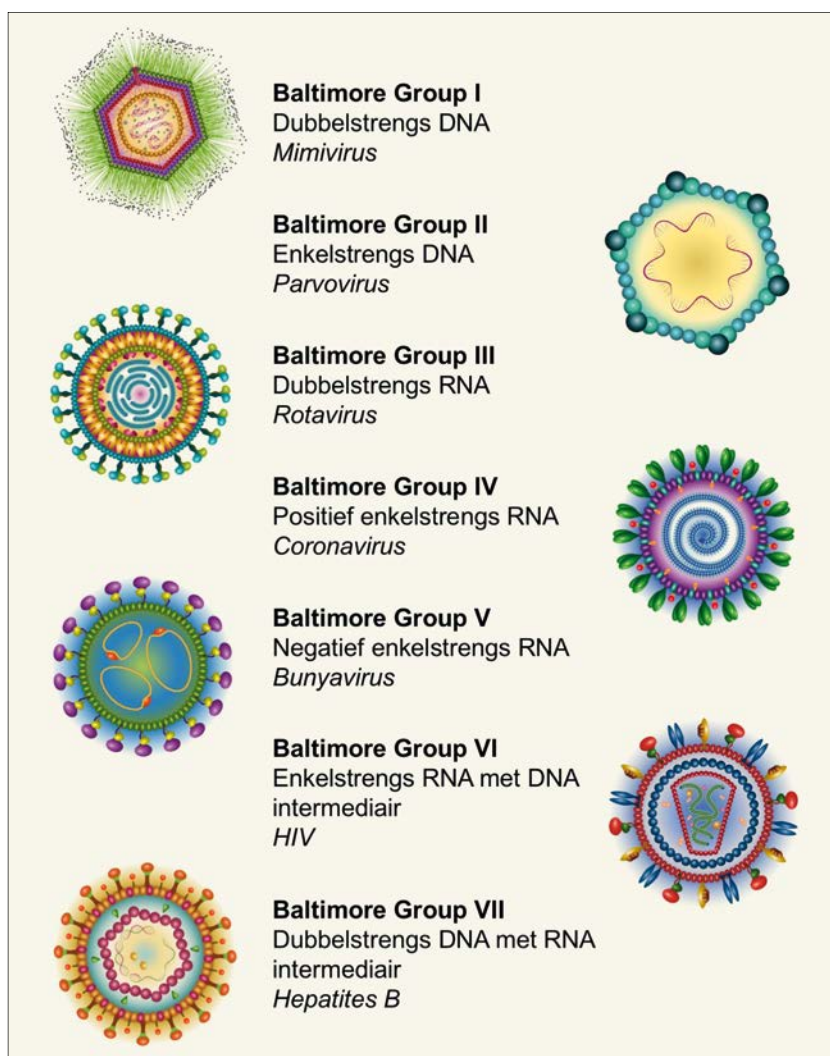
Een virion bestaat uit een omhulsel, een zogenaamde capsid, symmetrisch opgebouwd uit eiwitten, zogenaamde capsomeren (Afb. 2). De capsid moet zorgen dat “het programma”, erfelijk materiaal (DNA of RNA), in de gastheer terecht komt (de infectie) om de tweede fase van de viruscyclus te voltooien: de productie van virionkopieën. Bij sommige virussoorten is de capsid nog omgeven door een extra “huid”. Op de buitenschil van een virion zitten specifieke “tastzintuigen”, eiwitten die als een sleutel in een slot “passen” op eiwitten op de buitenkant van de gastheercel waar het specifieke virus op is ingesteld. Het is dit “eiwitcontact” dat “het binnendringen” en daarmee het infectieproces inleidt.

De groeiende verzameling virussoorten wordt tegenwoordig geordend op basis van het type erfelijk materiaal dat een virusdeeltje meevoert en dat in belangrijke mate bepaalt hoe het vermenigvuldigen in de gastheercel er aan toe gaat. Voor een goed begrip een korte indruk van de werking van een cel. Bij eukaryoten (protisten, schimmels en alle meercellige dieren en planten) zit het erfelijk materiaal in de celkern. Bacteriën (prokaryoten) en Archaea hebben geen kern. Het erfelijk materiaal ligt bij deze eencelligen als een cirkel in het cellichaam. De erfelijke eigenschappen zijn vastgelegd in het DNA. Een lange ketting met biochemische “kralen”. Er zijn vier verschillende kralen (basen) die met de “letters” A, C, T, G worden aangeduid. Een aantal van deze letters in een specifieke volgorde vormen samen een gen. Een gen bevat de code voor de productie

van een of enkele specifieke eiwitten. Het zijn deze eiwitten die de structuur van een cel vormen en die allerlei biochemische processen mogelijk maken. Bij de mens bevat het DNA circa 25.000 genen. Veel virussen hebben in hun capsid maar enkele genen. Bij de mens beslaan de genen overigens slechts een paar procent van de totale DNA-keten. De functie van de rest van het DNA is nog maar gedeeltelijk bekend. Wel is duidelijk dat een flink deel van dit niet-coderende DNA in de loop van de tijd door virussen is binnengesmokkeld. Bijna altijd met een negatieve of neutrale uitwerking, soms echter lijkt het de aanzet te hebben gegeven tot belangrijke evolutionaire “sprongen”. Daarover later meer.

De vertaling van DNA in een eiwit verloopt door tussenkomst van boodschapper-RNA (mRNA, waarbij de m staat voor *messenger*), een soort kopie van een gen. Het mRNA neemt de instructie mee naar een ribosoom, een eiwitproductie-eenheid. Het mRNA wordt door het ribosoom afgelezen en vertaald in een reeks aminozuren. Het ribosoom koppelt de aminozuren in de juiste volgorde aan elkaar tot het gewenste eiwit af is. De overal in de levende natuur optredende productievolgorde in cellen is dus: DNA > mRNA > eiwit. Voor zover bekend zijn er geen virussen met ribosomen (of met de code voor de aanmaak van ribosomen). Die moeten ze dus van hun gastheercel “lenen”. Virussen zijn verder uniek in zoverre dat ze hun erfelijke eigenschappen ofwel in DNA ofwel in RNA (enkel- of dubbelstrengs) hebben vastgelegd. Bij alle andere cellen, dierlijk, plantaardig of bacterieel, is het altijd dubbelstrengs DNA. Sommige virussen gebruiken bij hun replicatie alleen RNA, wat sommige wetenschappers tot de suggestie heeft gevoerd dat deze virussen mogelijk uit “de RNA-wereld” stammen, de aanloop naar het ontstaan van leven op Aarde toen er nog geen DNA was.

Een veel gebruikte classificatie van virussen is door Nobelprijswinnaar David Baltimore bedacht. Die is gebaseerd op de aard van het genetische materiaal dat met een virion wordt overgebracht. In het schema van Baltimore worden zeven virustypen onderscheiden (Afb. 3). Ieder type moet



AFBEELDING 3. | Classificatie van Baltimore die zeven hoofdtypen van virussen onderscheidt gebaseerd op de manier waarop het genetisch materiaal in een virion gecodeerd is.



uiteindelijk “messenger RNA” (mRNA) maken om de ribosomen van de gastheercel aan het werk te kunnen zetten om de bestanddelen van een nieuw virion te produceren, eiwitten om de capsule op te bouwen, en daar moet uiteraard weer een kopie van het erfelijk materiaal van het virus zelf in gestopt worden. Die zeven verschillende typen doen dat allemaal op hun eigen manier. Een paar groepen kunnen dat heel direct door hun dubbelstrengs DNA of RNA af te laten lezen, maar een aantal andere virusgroepen volgen complexere routes waarbij soms eerst uit enkelstrengs-RNA weer dubbelstrengs-DNA moet worden geproduceerd dat vervolgens weer terugvertaald wordt naar mRNA. Bij de enkelstrengstypen wordt nog onderscheid gemaakt tussen de draairichting van de keten.

## Overal virussen

De gigantische aantallen virussen op aarde doen vermoeden dat hun invloed verder gaat dan het infecteren en profiteren van alles wat leeft. Recent onderzoek ondersteunt dit vermoeden. Virussen spelen waarschijnlijk een essentiële rol bij het limiteren van de omvang van populaties, bij het functioneren van ecosystemen en zelfs bij de werking van grote stofkringlopen, zoals de koolstofcyclus. Virussen spelen bijvoorbeeld een zeer belangrijke regulerende rol bij het verloop van algenbloei in de oceanen. Algen kunnen zich onder bepaalde omstandigheden massaal vermenigvuldigen. Deze algenbloei is vaak schadelijk voor andere mariene organismen. Zo wordt de bloei van de alg *Alexandrium tamarense*, een zogenoemde dinoflagellaat, beperkt door de voor de alg dodelijke bacterie *Pseudoalteromonas*. Maar de bacterie is zelf ook weer een doelwit, in dit geval van een specifieke bacteriofaag (zo'n faag die zijn slachtoffer laat openbarsten). Als de bacteriedichtheid bij een algenbloei toeneemt, groeit ook de kans op virusinfectie. Het recycleren van voedingsstoffen uit geïnfecteerde bacteriën is van groot belang voor mariene leefgemeenschappen.

Onderzoek tijdens een piek in algenbloei in Japan liet nog iets opmerkelijks zien. Een virusuitbraak in het water ging gepaard met een ophoping van virionen in het sediment op de zeebodem. En nog opmerkelijker: de virusdeeltjes in het sediment bleven

nog minstens drie maanden in staat algen te infecteren (Salomon en Imai, 2006). Dat werpt de vraag op of virionen eventueel ook in het sediment als fossiel zijn terug te vinden. Geen makkelijk te beantwoorden vraag. Virusdeeltjes zijn namelijk minuscuul. Het overgrote deel is kleiner dan 300 nanometer; veel kleiner dan bacteriën en archaea. Hun organische omhulsels zijn onder normale omstandigheden geen goede kandidaten om als fossiel bewaard te blijven. Bacteriën en archaea zijn ook al niet makkelijk als fossielen terug te vinden, maar sommige van hun bouwstenen, zoals de lipiden in hun membranen, wel. Deze lipiden zijn met moderne instrumenten (gaschromatograaf, massaspectrometer) goed in sedimenten terug te vinden, vooral als het er veel zijn, zoals in oliemoedergesteenten. Ook sommige virustypen hebben lipidenomhulsels (tweede huid om de capsid), maar die lipiden worden “gestolen” van de gastheer als het virus als virion een eukaryotische cel verlaat. Fossiele lipiden in sedimenten vertellen ons daarom helaas weinig over de aanwezigheid van virussen.

Om de aanwezigheid van virussen in sedimenten aan te tonen heb je moleculair genetisch onderzoek nodig. Je moet op zoek naar DNA of RNA. Met die techniek kun je in ieder geval een paar duizend jaar terugkijken als het sediment bijvoorbeeld onder zuurstofarme omstandigheden is afgezet. Recent onderzoek aan boorkernen in de Baltische Zee heeft aangetoond dat er virus-DNA voorkomt in sedimenten die meer dan 6000 jaar oud zijn (Cai *et al.*, 2019). Maar zijn het ook fossielen? Dit virus-DNA kwam tot wel 37 meter onder de zeebodem nog voor en het lijkt er sterk op dat die virussen daar bezig zijn bacteriën te infecteren die onderdeel zijn van de zogenaamde *Deep Biosphere*. De diepe ondergrond wordt naar schatting bevolkt door  $10^{29}$  bacteriën en archaea (ongeveer de helft van het aantal dat er in de oceanen voorkomt), die onder andere complexe organische verbindingen omzetten naar de bestanddelen in aardolie en aardgas. Die bacteriën en archaea vormen de voedingsbodem voor een onmetelijke hoeveelheid virussen: 20 miljard virusdeeltjes per kubieke centimeter!

## Megavirussen in de permafrost

Toch zijn er steeds meer aanwijzingen dat sommige virussen ook als fossielen terug te vinden zijn. Het is vooral de combinatie van hoogwaardige microscopen, een ongekennde vooruitgang in het genetisch onderzoek van virussen en een gezonde dosis speurwerk op plekken waar voorheen niet is gekeken die tot opzienbarende inzichten hebben geleid. Zo zijn er de laatste 15 jaar een aantal virussen opgedoken die veel groter zijn dan wat tot dan toe normaal was (zie ook Afbeelding 4). Deze megavirussen zijn zo groot en complex dat ze aanvankelijk voor bacteriën werden aangezien. Het eerst ontdekte megavirus was het *Mimivirus*. De naam is een afkorting van “microbe mimicking virus”. Deze reuzenvirussen beschikken over veel genmateriaal waarmee ze complexe functies kunnen vervullen. Ze hebben de vraag of virussen wel of niet leven een nieuwe dimensie gegeven.

De ontdekking van het *Mimivirus* heeft letterlijk een doos van Pandora geopend. De megavirussen blijken onopgemerkt direct onder, en gelukkig niet in, onze neus voor te komen in riolen en watertorens en infecteren daar amoeben, de grootste eencellige organismen die we kennen. Megavirussen duiken nu overal op. Zoals het *Marseillevirus* dat oorspronkelijk uit amoeben in riolen van Marseille werd geïsoleerd, maar inmiddels ook in het bloed van mensen is aangetoond. Of wat te denken van onderzoek naar de ernstige, maar gelukkig uiterst zeldzame ooginfecties door amoeben. Een vrouw die haar contactlenzen niet goed schoon hield en ze met kraanwater afspoelde, bleek een ernstige infectie van haar hoornvlies te hebben opgelopen. De vermeende bacteriën die met de amoeben samen voor de oogproblemen zorgden, reageerden niet op antibiotica. Op zich niet vreemd als je bedenkt dat verder onderzoek liet zien dat de amoebe in haar oog geen bacterie in zich droeg maar een megavirus, nu bekend als *Lentillevirus*, naar het Franse woord voor “lens”. Andere megavirussen zijn ook aangetroffen in muizen en ongewervelden, zoals sponzen en koralen (Abraham *et al.*, 2014). Wat die virussen daar precies allemaal doen is nog een raadsel.

Na de ontdekking van het *Mimivirus* in 2003 zijn er in rap tempo meer megavirussen gevonden, zoals het *Pandoravirus*, *Pithovirus*, *Mollivirus* en het *Megavirus*.



Het *Mimivirus* is eigenlijk een dreumes vergeleken met het *Pandoravirus* en het *Pithovirus* dat tot 1.5 micrometer groot wordt en een enorm genoom bezit. Het *Pithovirus* bevat 600 genen en *Pandoravirus* zelfs meer dan 2000. Vergelijk dat met het HIV-virus dat slechts 9 genen heeft, of het griepvirus dat er maar 7 heeft. Megavirussen van deze omvang zijn net als bacteriën ook met een standaardmicroscop nog redelijk goed te zien.

Maar het kan nog wonderlijker. In 2013 werd er een onderzoek gepresenteerd door een groep Franse onderzoekers die een 30.000 jaar oud *Pithovirus* weer tot leven wisten te wekken (Legendre *et al.*, 2014). Dit *Pithovirus sibericum* was uit de permafrost geïsoleerd en opnieuw tot leven gekomen door het met amoeben in het lab op te kweken. Een bewijs voor de ongekende resistentie van deze megavirussen. De ontdekking leidde om meerdere redenen tot grote opschudding. Want zouden er ook ziekteverwekkers tot leven kunnen komen uit de ontdooiende permafrost die voor ons gevaarlijk zijn? Vooralsnog gaat niemand daar vanuit. De kans dat er ergens een oermens ontdooit die een dodelijk virus in zich draagt dat weer tot leven kan komen, is een leuk gegeven voor een Hollywood film maar in realiteit verwaarloosbaar klein.

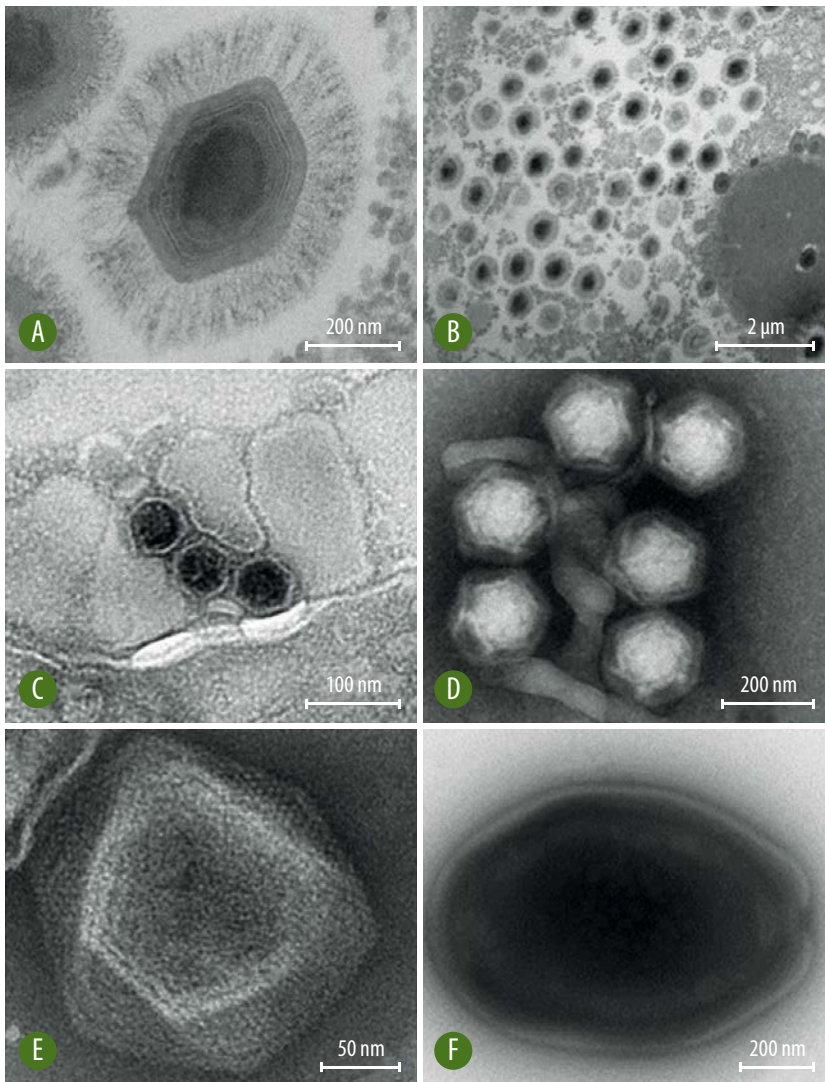
Ijs is dus een goede plek om te zoeken naar oude virussen. Gletsjers in het hooggebergte en de grote ijsschilden op de noord- en zuidpool zijn natuurlijke ijskasten, soms honderdduizenden jaren oud, en daarom uitermate goede plekken om te zoeken naar fossiele virussen. Onderzoek uit 2015 liet zien dat ijs op

Spitsbergen (Afb. 5) een grote hoeveelheid genetisch materiaal van virussen bevat. Van bijna al die virussen is niet bekend wat ze doen in het ijs, maar het is zeer aannemelijk dat ze ook hier andere micro-organismen infecteren (Bellas *et al.*, 2015). In een recente voorpublicatie (nog niet officieel beoordeeld door derden) die net verschenen is in januari 2020, wordt melding gemaakt van wel 28 compleet nieuwe virus geslachten uit twee ijskernen van een gletsjer in Tibet. Het oudste ijs in de kernen is vijftienduizend jaar oud. Niet alleen gebruikten de onderzoekers een zeer precieze methode om vervuiling door recente virussen en microben te voorkomen, maar deze resultaten zijn ook een grote stap naar onderzoek van veel ouder gletsjerijs op de aanwezigheid van virusmateriaal.

### Leven megavirussen echt?

De ontdekking van de megavirussen heeft al geleid tot geheel nieuwe inzichten in de evolutie van het leven zelf. De complexiteit van deze groep virussen doet vermoeden dat er mogelijk een vierde tak op de stamboom van het leven moet worden aangebracht naast de eukaryoten, archaea en bacteriën. Het zou ook betekenen dat virussen, of in ieder geval de megavirussen, als levende organismen moeten worden beschouwd, hoewel dat toch lastig hard te maken is, omdat een van de pijlers van wat leven is, namelijk een zelfstandige stofwisseling, ook bij deze virussen ontbreekt. Virussen eten en poepen niet. Het enige dat virussen doen, is zichzelf in elkaar laten zetten met de legosteentjes uit de doos van hun gastheer. Ze leveren de meest elementaire constructievoorschriften en wat speciaal gereedschap (lees eiwitten). Zich zelfstandig voortplanten kunnen ook de megavirussen niet.

Toch zijn er ook goede argumenten om de megavirussen wel als een soort van leven te zien. Megavirussen muteren veel langzamer dan de meeste andere virussen. Dit zou kunnen betekenen dat megavirussen meer controle hebben over hun “voortplanting”. De hoge mutatiesnelheid bij andere virussen wordt veroorzaakt door de grote hoeveelheid fouten die worden gemaakt bij het kopiëren van het erfelijk materiaal in de gastheer. Dat geldt in het bijzonder voor retrovirussen.



AFBEELDING 4. | Voorbeelden van megavirussen (A-F). (A) Mimivirus; (B) Mimivirus in *Acanthamoeba polyphaga*; (C) Marseillevirus; (D) Virofagen; (E) Faustovirus; (F) *Pandoravirus sp.* Bron: Aherfi *et al.* (2016).



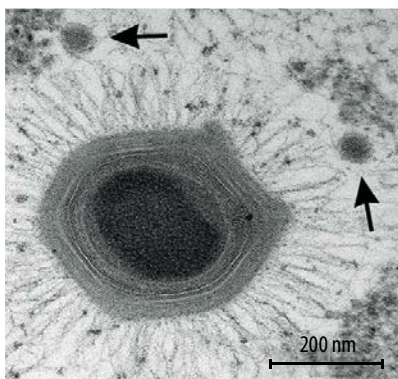
Megavirussen maken minder fouten bij het repliceren. Je zou hieruit kunnen opmaken dat de grote hoeveelheid DNA in bijvoorbeeld *Pithovirus* niet zomaar junk is die gestolen is van de gastheer, maar een hele duidelijke rol speelt bij het “voorplanten”. Misschien nog interessanter is de ontdekking dat megavirussen zelf ook geïnfecteerd kunnen worden door kleinere virussen, die door de Russische ontdekkers Sputniks worden genoemd. Deze Sputniks (Afb. 6), satellietjes, zijn niet zomaar meelifters, maar beïnvloeden wel degelijk de viraliteit van de megavirussen. Die hebben op hun beurt een eenvoudig afweersysteem tegen de Sputniks ontwikkeld. In deze virofeer worden oorlogen op nanoschaal uitgevochten door zombieachtige levensvormen.

## Virussen en evolutie

Virussen zijn waarschijnlijk zo oud als het leven zelf. Het ligt voor de hand



AFBEELDING 5. | Welke virussen liggen er nog meer verstopt in het ijs op Spitsbergen?



AFBEELDING 6. | *Mimivirus*, *Acanthamoeba polyphaga mimivirus*, met twee satelliet *Sputnik virophagen* (pijltjes). Bron: Wikipedia - J.Y. Bou Khalil en B. La Scola, *IHU Mediterranean Infection*, Frankrijk.

om aan te nemen dat virussen ook op de jonge Aarde, die miljarden jaren lang bevolkt werd door bacteriën, archaea en eencellige eukaryoten, welig tierden. Maar kunnen we dat ook echt aantonen?

Het virustype dat misschien wel de meeste informatie kan verschaffen over de ontwikkeling van het leven in wisselwerking met virussen, is de familie van de retrovirussen. We zullen ze kort karakteriseren. We hebben eerder gezien dat het leven op aarde zich houdt aan de volgorde: DNA (in de kern) > boodschapper-RNA > eiwit (met behulp van een ribosoom). Retrovirussen volgen de omgekeerde weg: van RNA terug naar het DNA. In het algemeen voor de gastheer cel een onbekende route. Retrovirussen brengen bij infectie een streng RNA binnen. Daarop bevindt zich ook een gen dat codeert voor het eiwit reverse-transcriptase dat voor de gastheer cel onbekend is. Dit eiwit is in staat om een “DNA-kopie” van het virus-RNA te maken. De combinatie DNA-RNA wordt vervolgens door een ander enzym (eiwit) geïntegreerd in het DNA van de gastheer. De RNA-streng wordt losgekoppeld en zorgt voor een tweede DNA-streng. Een retrovirus is in staat zijn genetisch materiaal op een willekeurige plek in het genoom te integreren.

Reverse-transcriptase maakt veel fouten tijdens de transcriptie van RNA in DNA, omdat het geen correctiemechanisme heeft. Hierdoor kunnen mutaties zich in rap tempo in het virusgenoom opstapelen. Insectie van een retrovirus in het genoom van een organisme kan op verschillende manieren dichtbijgelegen genen ontregelen. Integratie van het virus in een gen zelf kan bij transcriptie leiden tot een niet of anders werkend eiwit. Meestal zal men bij insertiemutagenese echter geen effect zien. Slechts een klein gedeelte van het DNA bestaat namelijk uit genen en inserties in de rest van het DNA hebben vaak (gelukkig!) maar weinig effect.

Waar het hier om gaat is dat in het geval van retrovirussen virus-DNA in het genoom van een gastheer cel wordt ingebouwd. Bij ons mensen is de hoeveelheid ingebouwd retroviraal DNA al 8 procent van onze gehele genoom, alles door virussen binnengebracht en doorgegeven (Emerman and Malik, 2010). Dat gebeurt als retroviraal DNA ook in het genoom van een geslachts cel wordt ingebouwd. In dat geval wordt het DNA een onderdeel van de afstammingslijn van een gastheer. Het retrovirale DNA dat in de virionen van een retrovirus zit, muteert snel. Maar dat geldt niet langer voor het in de geslachts cellen opgenomen retrovirale DNA. Dat krijgt de mutatiefrequentie van de gastheer met zijn geavanceerde herstelprocessen. Dit biedt in principe interessante mogelijkheden om de deep-time historie van virussen en van gastheer organismen te achterhalen. Overigens raakt dit retrovirus-DNA na verloop van tijd (mutaties) zijn infectiekracht kwijt. Maar het verhaal gaat verder.

## Placenta's en hersencellen: Retrovirussen beïnvloeden evolutie

Er komen steeds meer aanwijzingen dat de fixatie van retroviraal DNA in het genoom van een gastheer organisme een rol speelt (of kan spelen) in de evolutie van de gastheer. We moeten daarbij bedenken dat deze continue input van virus-DNA mogelijk net zo oud is als het leven zelf. We hebben het hier dus over complexe mutaties.

In 1973 werden voor het eerst aanwijzingen gevonden voor de aanwezigheid van virionen van een retrovirus in de placenta. Zorgelijk? Daar leek het niet op. De placenta's waren gezond. Of hadden de virionen misschien een functie bij het correct functioneren van de placenta? Heel vroeg in de zwangerschap fuseren de cellen van de placenta tot een samenhangend cellichaam dat de scheiding tussen moeder en vrucht vormt. Van retrovirussen weten we dat ze een gastheer cel binnendringen door celfusie en dat ze zijn opgewassen tegen het afweersysteem van de gastheer. Vergelijkbaar met wat er in de vroege zwangerschap gebeurt. Was het denkbaar dat deze viruseigenschappen een sleutelrol hebben gespeeld bij de verschijning van zoogdieren in de evolutie? Ja. In de loop van de tijd is het gen van een retrovirus dat codeerde voor de productie van het eiwit dat ooit bestemd was voor de vorming van de capsid, een variant van dit eiwit gaan





AFBEELDING 7. | Een Latimeria (Coelacant), een levend fossiel met retroviraal DNA in het genoom dat meer dan 500 miljoen jaar oud is.  
Bron: Wikimedia Commons.

aanmaken. Dit eiwit syncytine zorgt bij mensen voor het essentiële fuseren van de placentacellen aan het begin van de zwangerschap. Maar syncytine wordt, in verschillende varianten, bij alle zoogdieren aangetroffen (Lavialle *et al.*, 2013). Het lijkt er dus op dat het hier beschreven proces meerdere malen heeft plaatsgevonden in verschillende groepen zoogdieren.

Niet alleen de placenta in zoogdieren heeft een duidelijke link met virusinfecties. Ook sommige cruciale functies in onze hersenen suggereren de invloed van virussen. Het zogenaamde Arc-gen komt bij alle landdieren voor. Het speelt een essentiële rol bij het verbinden van neuronen in het brein. Geen Arc-gen, geen geheugen. Jason Shepherd van de universiteit van Utah ontdekte dat er een sterke overeenkomst bestaat tussen het Arc-gen en het zogenoemde Gag-gen van retrovirussen. Om een verbinding tussen neuronen tot stand te brengen moet er informatie van het ene neuron naar het andere worden overgebracht. Die informatie wordt overgedragen door het mRNA van het Arc-gen. Voor het leggen van een verbinding beschermt een neuron zich met een capsid zodat het veilig op weg kan naar een ontvangend neuron en deze ook kan binnendringen. Een capsid, bekend van virussen maar zeer ongebruikelijk buiten de virussfeer. Het geheugen als het product van een virusinfectie? Een gewaagde veronderstelling maar niet uit de lucht gegrepen.

### Bewijs voor de oudste virussen

Als we echt willen weten hoe oud de oudste virussen zijn dan moeten we aan de slag met “moleculaire stambomen” en de “moleculaire klok”. Inmiddels is de verwantschap van organismen zeer goed te bepalen door de genomen van die organismen met elkaar te vergelijken. Daarvoor heb je niet al het erfelijke materiaal nodig, maar kun je volstaan met bepaalde stukjes DNA die bijzonder stabiel zijn. Meestal is dat mitochondriaal DNA. Als je de erfelijke code van mitochondriën (de energiecentrale van een cel) leest dan blijkt dat sommige organismen veel DNA met elkaar delen, en andere juist veel minder. Dat principe van genetische verwantschap kun je ook nog op een andere manier te gelde maken, namelijk voor een genetische of moleculaire klok.

De moleculaire klok berust op een geniaal inzicht dat door Linus Pauling en Emile Zuckerkandl in de jaren 60 van de vorige eeuw werd geïntroduceerd. Aan de basis staat de observatie dat mutaties in genomen van verwante organismen met dezelfde constante snelheid optreden. Dus als je het DNA van vissen met dat van vogels en zoogdieren vergelijkt dan zie je dat het DNA van de laatste twee meer hetzelfde is dan dat van vissen, omdat vogels en zoogdieren later zijn afgesplitst van de vertebratenstamboom. Anders gezegd: vissen hebben meer mutaties ten opzichte van vogels en zoogdieren omdat ze ouder zijn. Als je binnen

de zoogdierlijn kijkt dan zul je zien dat mensen 99 procent van hun DNA met chimpansees delen. Binnen de lijn van de primaten zijn dat dus onze naaste verwanten. De hoeveelheid mutaties bij mensen en mensapen is nagenoeg gelijk omdat de mutatiesnelheid van het DNA met een constante snelheid verloopt. Net zoals een klok tikt.

Maar hoe snel tikt die klok? Bij de meeste organismen blijkt dat zo'n 1 a 2 procent verandering in het genoom per miljoen jaar te zijn. Maar bij mensen is dat waarschijnlijk maar 0,3 procent per miljoen jaar. Die klok tikt dus langzamer. Bij mensen kun je dat redelijk eenvoudig bepalen door mutaties tussen generaties te analyseren, dus binnen dezelfde familie van overgrootmoeder tot achterkleinkind. Onafhankelijk bewijs komt van fossielen die ankerpunten opleveren waarmee je de stamboom en de afsplitsingen kuntijken. Bijvoorbeeld de oudste fossielen van primaten zijn ongeveer 55 miljoen jaar oud. Ieder apenfossiel waarvan de ouderdom met absolute dateringen bepaald kan worden levert een ankerpunt op voor de moleculaire klok van de primatenstamboom. Als je vervolgens een constante mutatiesnelheid aanneemt kun je terugtellen tot wanneer het DNA van verwante soorten van elkaar is gaan verschillen. Op die manier kun je bepalen dat de geslachten *Homo* (mens) en *Pan* (chimpansee) tussen 7 en 5 miljoen jaar geleden van elkaar zijn afgesplitst. De lijn van de mensapen, gibbons en mensen splitste zich waarschijnlijk in het Mioceen af van de apen, rond 23 miljoen jaar geleden. Een recent ontdekt fossiel van een aap dat 13 miljoen jaar oud is, wordt nu gezien als een mogelijke gemeenschappelijke voorouder van mensen en chimpansees. Dus fossielen bieden een onafhankelijk bewijs voor de juistheid van de moleculaire klok en de genetische verwantschap.

Ook het erfelijk materiaal van virussen muteert. Bij virussen is echter de mutatiesnelheid veel hoger doordat er, zoals eerder opgemerkt, veel fouten worden gemaakt. Dat betekent dat het gebruik van moleculaire klokken om stambomen van virussen te dateren al snel op problemen stuit. Toch kunnen retrovirussen ons helpen. Omdat hun erfelijk materiaal wordt vastgelegd in het genoom van de gastheer en in



sommige gevallen ook onderdeel wordt van de afstammingslijn, waarna het de veel lagere mutatiesnelheid van de gastheer krijgt, kun je retroviraal DNA handig gebruiken om de evolutie van virussen zelf na te trekken. Als je stukjes “fossiel” retroviraal DNA in het genoom van een aantal verschillende gastheren kunt indentificeren, kun je vervolgens met behulp van de moleculaire klok terugrekenen hoe oud de gemeenschappelijke voorouder van het virus was dat werd ingebouwd.

Een studie aan de oervis en levend fossiel *Latimeria* (een Coelacant; Afb. 7) in vergelijking met kikkers, salamanders en andere vissen liet zien dat bepaalde Spumavirussen al meer dan 500 miljoen jaar oud zijn, en waarschijnlijk zelfs al voorkwamen voordat er *Latimeria*'s rondzwommen (Aiewsakun and Katzourakis, 2017). Bovendien konden de onderzoekers aantonen dat de Spumavirus DNA-sequenties in vissen daadwerkelijk ouder waren dan die in kikkers en salamanders, iets dat je zou verwachten als de virussen mee evolueren met hun verschillende gastheren.

### Zieke fossielen: Misvormde vleugels, losse armen en dikke poten

Als virussen honderden miljoenen jaren oud zijn, zijn er dan aanwijzingen voor hun activiteit in het verre verleden? Zijn er fossielen die sporen vertonen van virusinfecties? Laten we vooropstellen dat dat heel moeilijk aan te tonen is. Als er sprake is van pathologische misvormingen, zoals bij de trilobieten in Afbeelding 8, kan dat verschillende oorzaken hebben, van mutaties tot verwondingen, of infecties met bacteriën of andere parasieten. Toch zijn er een aantal virusinfecties waarvan bekend is dat ze zeer specifieke sporen achterlaten in huidige organismen, die eventueel ook fossiel terug te vinden zijn. De grootste kans daarop is in groepen organismen die ook veel fossielresten hebben geproduceerd. Over het algemeen zijn dat ongewervelden, zoals mollusken, arthropoden (waaronder trilobieten en insecten), of echinodermen (zee-egels, zeesterren, etc.).

Een van de virusinfecties die ook vandaag voor duidelijke pathologische afwijkingen zorgt, is een *Iflavirus* dat

tot ernstige misvormingen van de vleugels van bijen leidt. Als gevolg van infectie met dit *Deformed Wing Virus* ofwel DWV blijven de vleugels van de bij klein en misvormd waardoor ze niet kan vliegen (Afb. 8). Voor veel larven is het virus, dat door mijten wordt overgebracht, dodelijk. Insecten worden in grote hoeveelheden en vaak goed gepreserveerd in barnsteen als fossielen bewaard. Zouden andere fossiele insecten ook dit soort typische afwijkingen kunnen laten zien? Het is zoeken naar een speld in een hooiberg, maar recent werd er inderdaad melding gemaakt van zo'n soort afwijking. Niet bij een bij, maar bij een fossiele kakkerlak van 98 miljoen jaar oud, opgesloten in barnsteen uit Myanmar (Vršanský *et al.*, 2019).

Als virusinfecties tot massasterfte leiden dan kan dat ook zorgen voor een hogere kans op fossilisatie. Een van de meest vreemde gevallen van massa-sterfte is de sinds 1972 regelmatig optredende sterfte van zeesterren (*Starfish Wasting Syndrome*) langs de westkust van de Verenigde Staten (Hewson *et al.*, 2019). De zeesterren verliezen armen (Afb. 8) of vervloeien compleet tot een soort slush puppies. Bij sommige uitbraken ligt de zeebodem bezaaid met uitelkaar gevallen zeesterren. Bijna 40 soorten hebben er last van, maar catastrofale sterfte komt maar bij enkele soorten voor. Dat zijn vaak wel soorten die een cruciale rol in het ecosysteem vervullen zoals de *Pisaster* in afbeelding 8. De oorzaak is nog steeds een mysterie maar er zijn sterke aanwijzingen dat het om een *Densovirus* gaat. Massale voorkomens van zee-egels, zeelilies en zelfs zeesterren of hun skeletdelen zijn bekend uit alle delen van de wereld. Maar over virusinfecties en hun gevolgen voor fossiele echinodermen is nagenoeg niets bekend. Daar ligt nog een leuke uitdaging voor een nieuwe generatie verzamelaars en wetenschappers.

Een laatste voorbeeld is de infectie met een *Parvovirus* dat bij kippen en andere vogels bizarre vervormingen aan de botten veroorzaakt (Afb. 9). Dit *Avian*



AFBEELDING 8. | Bovenste rij: De bovenste drie foto's laten pathologie bij verschillende trilobieten zien. Zulke vergroeiingen kunnen meerdere oorzaken hebben, naast verwondingen en parasitaire ziektes is niet uit te sluiten dat de afwijkingen ook door virussen kunnen zijn veroorzaakt. Met dank aan Michael Kipping voor het gebruik van de foto's via <http://www.trilobita.de/patho.htm>. Linksonder: Een zeester *Pisaster ochraceus* in Oregon die uit elkaar aan het vallen is als gevolg van het *Starfish Wasting Syndrome*. Bron: Wikipedia. Rechtsonder: Een bij met sterk misvormde vleugels als gevolg van het *Deformed Wing Virus* (DWV).







AFBEELDING 9. | Links: Kippen kunnen bij meerdere botten afwijkingen vertonen die door een Parvovirus worden veroorzaakt, maar het overgrote deel heeft extra dikke poten als gevolg van tumoren. Bron: (Fothergill, 2017). Rechts: Recent ontdekte bottumor bij een Triceratops-achtige dinosaur die als eerste bewijs geldt voor botkanker bij dinosaurussen Bron: Ekhtiari et al. (2020).

*Leukosis Sarcoma Virus* of ALSV leidt voornamelijk tot tumoren op de poten (Fothergill, 2017). De verdikkingen kunnen zo extreem worden dat zulke kippen door boeren ook wel “cowboy roosters” worden genoemd, alsof de kippen cowboy laarzen aan zouden hebben. Kippenbotten met dat soort tumoren worden heel regelmatig gevonden door archeologen die bijvoorbeeld opgravin-

gen doen naar Romeinse nederzettingen in noordwest Europa. Ook in Nederland zijn dit soort kippenbotten gevonden, onder andere bij de resten van een castellum in Velsen (het legendarische fort Flevum) wat suggereert dat de Romeinen die hier gelegerd waren te maken hadden met een heuse pluimvee crisis (Prummel, 1987). Botten met tumoren worden ook fossiel teruggevonden. Heel recent, in augustus van dit jaar, werd er een studie gepresenteerd door een groep oncologen die op het onderbeen van een Triceratops-achtige dinosaur een kankergezwell hebben geïdentificeerd (Afb. 9). Het is het eerste echte bewijs voor botkanker bij dinosaurussen (Ekhtiari et al., 2020). In de studie werd een parallel getrokken met menselijke botkanker en bij mensen wordt die vorm nooit door virussen veroorzaakt. De vraag blijft dus of gewervelde dieren, dino’s of anderszins, ook botafwijkingen vertonen die op virusinfecties zijn terug te voeren. Laten we maar zeggen dat de deur naar de fossiele viruswereld op een kier staat.

## REFERENTIES

- Abrahamo, J. S., Dornas, F. P., Silva, L. C., Almeida, G. M., Boratto, P. V., Colson, P., La Scola, B., and Kroon, E. G., 2014, *Acanthamoeba polyphaga mimivirus and other giant viruses: an open field to outstanding discoveries: Virol J*, v. 11, p. 120.
- Aherfi, S., Colson, P., La Scola, B., and Raoult, D., 2016, *Giant Viruses of Amoebas: An Update: Front Microbiol*, v. 7, p. 349.
- Aiewsakun, P., and Katzourakis, A., 2017, *Marine origin of retroviruses in the early Palaeozoic Era: Nat Commun*, v. 8, p. 13954.
- Bellas, C. M., Anesio, A. M., and Barker, G., 2015, *Analysis of virus genomes from glacial environments reveals novel virus groups with unusual host interactions: Front Microbiol*, v. 6, p. 656.
- Cai, L., Jorgensen, B. B., Suttle, C. A., He, M., Cragg, B. A., Jiao, N., and Zhang, R., 2019, *Active and diverse viruses persist in the deep sub-seafloor sediments over thousands of years: ISME J*, v. 13, no. 7, p. 1857-1864.
- Ekhtiari, S., Chiba, K., Popovic, S., Crowther, R., Wohl, G., Kin On Wong, A., Tanke, D. H., Dufault, D. M., Geen, O. D., Parasu, N., Crowther, M. A., and Evans, D. C., 2020, *First case of osteosarcoma in a dinosaur: a multimodal diagnosis: The Lancet Oncology*, v. 21, no. 8, p. 1021-1022.
- Emerman, M., and Malik, H. S., 2010, *Paleovirology--modern consequences of ancient viruses: PLoS Biol*, v. 8, no. 2, p. e1000301.
- Fothergill, B. T., 2017, *Human-Aided Movement of Viral Disease and the Archaeology of Avian Osteopetrosis: Int J Osteoarchaeol*, v. 27, no. 5, p. 853-866.
- Hewson, I., Sullivan, B., Jackson, E. W., Xu, Q., Long, H., Lin, C., Quijano Cardé, E. M., Seymour, J., Siboni, N., Jones, M. R. L., and Sewell, M. A., 2019, *Perspective: Something Old, Something New? Review of Wasting and Other Mortality in Asteroidea (Echinodermata): Frontiers in Marine Science*, v. 6.
- Lavialle, C., Cornelis, G., Dupressoir, A., Esnault, C., Heidmann, O., Vernochet, C., and Heidmann, T., 2013, *Paleovirology of ‘syncytins’, retroviral env genes exapted for a role in placentation: Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, v. 368, no. 1626, p. 20120507.
- Legendre, M., Bartoli, J., Shmakova, L., Jeudy, S., Labadie, K., Adrait, A., Lescot, M., Poirot, O., Bertaux, L., Bruley, C., Coute, Y., Rivkina, E., Abergel, C., and Claverie, J. M., 2014, *Thirty-thousand-year-old distant relative of giant icosahedral DNA viruses with a pandoravirus morphology: Proc Natl Acad Sci U S A*, v. 111, no. 11, p. 4274-4279.
- Mann, N. H., 2005, *The third age of phage: PLoS Biol*, v. 3, no. 5, p. e182.
- Prummel, 1987, *Poultry and fowling at the roman castellum Velsen 1*.
- Salomon, P. S., Imai, I., 2006, *Pathogens of harmful microalgae, in Graneli E., T., J.T., ed., Ecology of Harmful Algae, Volume 189, p. 272-282*.
- Vršanský, P., Vršanská, L., Beňo, M., Bao, T., Lei, X., Ren, X., Wu, H., Šmídová, L., Bechly, G., Jun, L., Yeo, M., Jarzembowski, E., 2019, *Pathogenic DWV infection symptoms in a Cretaceous cockroach: Paleontographica, Abt. A: Palaeozoology - Stratigraphy*, v. 314, p. 1-10.

