

ОБЗОРЫ

©КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 577.083.3, 576.6.086.83

Львов Д.К.¹, Сизикова Т.Е.², Лебедев В.Н.², Борисевич С.В.²

ПЛАЗМИДЫ АРХЕЙ КАК ВОЗМОЖНЫЕ ПРЕДКИ ДНК-СОДЕРЖАЩИХ ВИРУСОВ

¹ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, 123098, г. Москва;²ФГБУ «48 Центральный НИИ» Министерства обороны Российской Федерации, 141306, г. Сергиев Посад-6

Царство Археи (Archaea) наряду с бактериями (Bacteria) относятся к надцарству Prokaryota. Солелюбивые археи (*Halorubrum lacusprofundi*), изолированные из солевых озер Антарктиды, содержат плазмиды (pR1SE), которые кодируют белки, участвующие в формировании стенок везикул архей. В настоящем обзоре представлены данные о молекулярно-генетических и биологических свойствах плазмиды pR1SE и особенностях взаимодействия плазмид с чувствительными клетками архей. Особое внимание обращено на роль структурных белков, кодируемых плазмидой pR1SE, в процессе формирования мембранного комплекса везикул. Везикулы архей, содержащие плазмиды, моделируют некоторые свойства вирусов. Плазмиды архей могут рассматриваться как возможные предки ДНК-содержащих вирусов.

Ключевые слова: обзор; плазмиды; археи; везикулы; геном; ген; ДНК; вирусы; структурные белки; клеточные мембраны.

Для цитирования: Львов Д.К., Сизикова Т.Е., Лебедев В.Н., Борисевич С.В. Плазмиды архей как возможные предки ДНК-содержащих вирусов. *Вопросы вирусологии*. 2018; 63(5): 197-201.
DOI: [http://dx.doi.org/ 10.18821/0507-4088-2018-63-5-197-201](http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-5-197-201)

Lvov D.K.¹, Sizikova T.E.², Lebedev V.N.², Borisevich S.V.²

PLASMIDS OF ARCHAEA AS POSSIBLE ANCESTORS OF DNA-CONTAINING VIRUSES

¹ National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, 123098, Russian Federation;² 48 Central Scientific Research Institute, Sergiev Posad, 141306, Russian Federation

The kingdom Archaea, as well as Bacteria, belongs to the overkingdom Prokaryota. Halophilic archaea (*Halorubrum lacusprofundi*) isolated from Antarctic saline lakes contain plasmids (pR1SE) that code proteins taking part in the formation of membranes of archaea vesicles.

The molecular and biological properties of pR1SE and the peculiarity of its interaction with sensitive cells are considered in this article.

The role of structural proteins coded by pR1S in the process of formation of vesicle membrane complex is paid special attention. Plasmid-containing archaea vesicles model some properties of viruses. Archaea plasmids can be viewed as possible ancestors of DNA-containing viruses.

Keywords: review; plasmids; archaea; vesicles; genome; gene; DNA; viruses; structural proteins; cell membranes.

For citation: Lvov D.K., Sizikova T.E., Lebedev V.N., Borisevich S.V. Plasmids of archaea as possible ancestors of DNA-containing viruses. *Voprosy Virusologii (Problems of Virology, Russian journal)*. 2018; 63(5): 197-201. (In Russ.).
DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0507-4088-2018-63-5-197-201>

For correspondence: Sergey V. Borisevich, Dr. Biol. Sci., Professor, Corresponding member of the Russian Academy of Sciences, 48 Central Scientific Research Institute, Sergiev Posad, 141306, Russian Federation. E-mail: 48cnii@mil.ru

Information about authors:Lvov D.K., <http://orcid.org/0000-0001-8176-6582>Sizikova T.E., <http://orcid.org/0000-0002-1817-0126>Lebedev V.N., <http://orcid.org/0000-0002-6552-4599>Borisevich S.V., <http://orcid.org/0000-0002-5742-3919>**Acknowledgment.** The study had no sponsorship.**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.Received 03 June 2018
Accepted 19 June 2018

ДНК-содержащие вирусы представляют собой молекулы ДНК, окружённые внешней белковой оболочкой, структурные компоненты которой закодированы в геноме самого вируса. Помимо функций защиты от повреждающих факторов

окружающей среды, структурные белки вирусов участвуют в процессах адсорбции вируса на чувствительную клетку, пенетрации вируса в клетку и формировании полноценных вирионов и выхода их из клетки [1, 2].

Для корреспонденции: Борисевич Сергей Владимирович, д-р биол. наук, профессор, член-корреспондент РАН, начальник института ФГБУ «48 ЦНИИ» МО РФ, 141306, г. Сергиев Посад-6. E-mail: 48cnii@mil.ru

Вирусы от других живых организмов имеют принципиальные отличия. В отличие от клеток (и облигатных внутриклеточных паразитов) вирусы не способны к делению, не обладают аппаратом для трансляции белка и не синтезируют аденозинтрифосфат, необходимый для их репликации. Вирусы относятся к неклеточным формам жизни, являясь автономными генетическими структурами, способными к эволюции [3, 4].

До относительно недавнего времени рассматривались 3 основные гипотезы происхождения вирусов: вирусы – потомки древних доклеточных форм жизни, перешедшие к паразитическому способу существования; вирусы – потомки бактерий или других одноклеточных организмов, появившиеся в результате дегенеративной эволюции; вирусы – дивергенты клеточных генетических автономных структур, сохранившие зависимость от клеток [4, 5].

Нет резких границ между вирусами и плазмидами – небольшими (с молекулярной массой меньше 10^7 Да), циркулярными, реже линейными молекулами ДНК, часто обнаруживаемыми в бактериальных клетках, в свободном виде в цитоплазме или интегрированными в геном клетки-носителя [6]. Плазмиды представляют собой независимо реплицирующуюся двуцепочечную экстрахромосомальную ДНК, кодирующую различные белки, обуславливающие новые свойства микробной клетки. Плазмиды выполняют регуляторные или кодирующие функции.

Обычно плазмиды встречаются у бактерий, реже – у архей и эукариот. Выделяют автономные и интегрированные в хромосомы плазмиды. Встраивание плазмид в геном хозяина с последующей интеграцией в него новых генов, вероятно, является возможным механизмом эволюционной изменчивости микроорганизмов.

Анализ результатов исследований, проведенных в Университете Нового Южного Уэльса (Австралия), даёт основания предполагать, что возможными предками ДНК-содержащих вирусов являются плазмиды архей.

Царство Археи (Archaea) наряду с бактериями (Bacteria) отнесены к надцарству Prokarya. Напомним, что надцарство Eucarya включает морские водоросли (Algae), грибы (Fungi), простейших (Protista), растения (Plantae) и животных (Animalia) [3-5, 7-9]. У архей липиды состоят из соединений глицерина и терпенов, мембраны монослойные липидные, клеточная стенка построена из псевдомуреина или гликопротеидов либо кислых полисахаридов, ДНК-зависимая РНК-полимераза состоит из 9-11 субъединиц, в тРНК нет риботимидина [9].

В пробах воды из антарктических солевых озёр Райер 1 (68°49' ю.ш., 77°51' в.д.) и Дип (Deer Lake) (68°33' ю.ш., 78°11' в.д.) обнаружены солелюбивые археи, плазмиды которых, возможно, являются предками ДНК-содержащих вирусов [10, 11].

Антарктические солёные озера имеют морское происхождение и сформировались во время изостатического смещения Антарктиды в период голоцена (около 3500 лет назад). Из-за высокого содержания солей вода в этих озёрах не замерзает даже при -20°C .

Солелюбивые археи (*Halorubrum lacusprofundi*) содержат плазмиды (pR1SE), которые кодируют белки, участвующие в формировании стенок везикул архей.

Везикулы – это сферические структуры, выявленные у грамтрицательных микроорганизмов. Предположительно они играют роль в процессе выживания микроорганизма и его взаимодействия с клетками макроорганизма [12].

Рассмотрим молекулярно-биологические свойства плазмиды pR1SE и особенности её взаимодействия с чувствительными клетками архей.

Типовым штаммом *Halorubrum lacusprofundi* является штамм ACAM 34, полученный из популяции архей из проб воды, взятых из озера Дип [10]. Некоторые свойства штамма ACAM 34 представлены в табл. 1 [13].

Геномный и метагеномный анализ данного штамма выполнен в ряде работ.

Кроме того, в исследованиях широко используют штамм R1S1, выделенный из проб воды, собранных из озера Райер 1 в сентябре 2014 г. [14].

Плазида pR1SE, выделенная из штамма R1S1 *Halorubrum lacusprofundi*, состоит из 163090 п.н.о. Она содержит 193 открытые рамки считывания (ОРС). Перечень кодируемых данной плазмидой структурных белков, участвующих в формировании структурных компонентов стенок везикул архей, представлен в табл. 2.

Кодируемые плазмидами структурные белки, участвующие в формировании структурных компонентов стенок везикул архей, играют важную роль в разрушении клеточной мембраны архей, что приводит к выходу везикул с захваченными ими плазмидами в межклеточное пространство [14, 15].

Таблица 1

Некоторые свойства штамма ACAM 34 *Halorubrum lacusprofundi* [13]

Свойства	Характеристика свойств
Классификация	Домен – <i>Archaea</i> Отдел – <i>Euryarchaeota</i> Класс – <i>Halobacteria</i> Порядок – <i>Halobacteriales</i> Семейство – <i>Halobacteriaceae</i> Род – <i>Halorubrum</i> Вид – <i>Halorubrum lacusprofundi</i>
Окраска по Граму	Неизвестна
Форма клеток	Плеоморфная
Подвижность	Неподвижные
Спорообразование	Неспорообразующие
Температура среды обитания	От -1 до -40°C
Оптимальная температура роста	36°C
Источник углерода для роста	Сахара, органические кислоты, этанол
Среда обитания	Солевые озера
Содержание NaCl	10-25%
Потребление кислорода	Аэробы
Биотические взаимодействия	Свободноживущие
Патогенность	Апатогенны
Место выделения	Озеро Дип, Антарктика
Размер генома	3692576 п.н.о.
Кодирующая область генома	3199417 п.н.о. (86,64% от общего размера генома)
Количество G + C	2362214 п.н.о. (63,97% от общего размера генома)
Количество экстрахромосомальных элементов	1
Общее количество генов	3725
Количество генов, кодирующих белок	3665 (98,39% от общего количества генов)
Количество CRISP-повторов	3

Таблица 2

Кодируемые плазмидой pR1SE структурные белки, участвующие в формировании структурных компонентов стенок везикул архей [14]

№ OPC	Размер белка (аминокислотные остатки)	Функции белка
OPC 6	1384	Мембранный белок, участвующий в формировании структурных компонентов стенок везикул
OPC 7	551	Протеаза, выделяемая клетками и поверхностью везикул
OPC8	264	Активация модифицированного белка, кодируемого плазмидой pR1SE
OPC 9	502	Выделяется клетками и поверхностью везикул, возможно, включается в структуру везикул
OPC 10	98	Белок, обеспечивающий стабильность мембранного комплекса везикул
OPC 13	327	Предполагаемая α -L-фукозидаза, возможно, модифицирующая белки хозяина и белки, кодируемые плазмидой
OPC 14	127	Белок, входящий в состав стенки везикул
OPC 15	133	
OPC 17	305	
OPC 21	199	Неизвестны
OPC 22	340	Интегральный мембранный белок, возможно, представленный в мембранном комплексе везикулы и модифицирующий ДНК
OPC 23	430	Интегральный мембранный белок, возможно, представленный в мембранном комплексе везикулы
OPC 24	567	
OPC 31	378	Белок представлен только в везикулах. Функции неизвестны

Кроме того, в формировании везикул принимают участие структурные белки *Halorubrum lacusprofundi* (табл. 3).

Исследована способность плазмид архей к гетерологичной трансфекции. Плазмиды pR1SE, выделенная из штамма R1S1, и pR1SE2, выделенная из штамма HLS1 *Halorubrum lacusprofundi*, были использованы для трансфицирования архей видов *Hht. litchfieldiae* и *Halobacterium* spp.

В тех же самых условиях эксперимента, при которых проходила трансфекция архей *Halorubrum lacusprofundi*, штамм ACAM 34, трансфекцию указанных выше микроорганизмов плазмидами pR1SE и pR1SE2 не наблюдали [16].

Этот факт может отражать строгую видовую специфичность плазмид pR1SE, обусловленную фундаментальными отличиями структуры плазмид *Halorubrum lacusprofundi* от других представителей семейства. Таким образом, в настоящее время сведения о способности плазмид pR1SE осуществлять межвидовую и тем более межродовую трансфекцию отсутствуют. При этом уровень гомологии генома представителей родов *Halorubrum*, *Halobacterium*, *Haloquadratum*, *Haloarcula*, обитающих в озере Дип, составляет 73%, а гена 16S rPHK – 85%, что указывает на достаточно высокий уровень внутригенного обмена [11].

Для изучения влияния плазмид pR1SE на свойства архей *Halorubrum lacusprofundi* была проведена сравнительная оценка варианта прототипного штамма ACAM34,

трансфицированного плазмидой, и штамма, не содержащего плазмиды.

Присутствие плазмиды у трансфицированного варианта выявляли как с помощью исследования выделенной из микроорганизма тотальной ДНК при обработке рестриктазами, так и при анализе структурных белков. Несмотря на выявленные различия по указанным параметрам, уровни накопления содержащего и не содержащего плазмиду pR1SE вариантов практически не отличались. В то же время у данных вариантов установлены различия морфологии клеточных везикул, что указывает на роль структурных белков, кодируемых плазмидой pR1SE, в процессе формирования мембранного комплекса везикул.

Описанные выше исследования выполнены при использовании архей, выделенных из антарктических солевых озер. Однако аналогичные результаты были получены и при исследовании вирусоподобных везикул и экстрацеллюлярной ДНК, продуцируемых гипертермофильными археями порядка *Thermococcales* [16]. Показано, что большинство штаммов (26 из 34 исследованных) термофильных архей формирует сферические везикулы. При этом экстрацеллюлярная ДНК строго ассоциирована с вирусоподобными везикулами. Ассоциация экстрацеллюлярной ДНК с везикулами является защитным механизмом от воздействия неблагоприятных факторов внешней среды [14].

При сравнении свойств плазмид архей и ДНК-содержащих вирусов необходимо отметить следующие факторы.

Общими признаками везикул архей и ДНК-содержащих вирусов являются возможность репликации генетического материала только в клетке и дизъюнктивный способ размножения [1]. Как и вирусы, археи содержат компоненты клетки-хозяина. Размер генома плазмид архей сопоставим с размером генома гигантских вирусов [17-19].

Важной отличительной особенностью является то, что плазмиды архей используют кодируемые ими белки только на этапах выхода из клетки-хозяина в окружающую среду и внедрения в новую клетку. Как известно, процесс взаимодействия вируса с клеткой включает ряд

Таблица 3

Структурные белки *Halorubrum lacusprofundi*, участвующие в формировании везикул [14, 15]

Обозначение белка	Размер белка (аминокислотные остатки)	Расположение белка в клетке хозяина	Функции белка
Hlac_0271	445	Белок клеточной поверхности	Участие в формировании мембранного комплекса везикулы
Hlac_1892	392		GT-фосфатаза, влияющая на морфологию везикул
Hlac_2346	213	Мембраны клетки хозяина и везикул	GT-фосфатаза, влияющая на формирование мембранного комплекса везикул
Hlac_2402	466		Возможное влияние на формирование мембранного комплекса везикул

Результаты сравнения стадий взаимодействия с клеткой для вирусов и везикул архей, содержащих плазмиды

№ п/п	Стадия взаимодействия с клеткой для	
	вирусов	везикул архей, содержащих плазмиды
1	Адсорбция вируса на клетку	Адсорбция везикул архей, содержащих плазмиды, на клетку
2	Пенетрация вируса через клеточную оболочку	Разрушение белками стенки везикул, кодируемых плазмидой, оболочки клетки-хозяина
3	Депротенинизация вируса	Данный процесс, видимо, происходит во время стадии 2
4	Репликация геномной вирусной нуклеиновой кислоты	Репликация плазмидной ДНК
5	Трансляция вирусспецифических белков	Трансляция белков, кодируемых плазмидной ДНК
6	Сборка вирионов	Включение белков, кодируемых плазмидной ДНК, в состав мембраны везикул
7	Разрушение клеточной оболочки и выход вирусов в межклеточное пространство	Разрушение клеточной оболочки и выход везикул архей, содержащих плазмиды, в межклеточное пространство

последовательных стадий [1]. В табл. 4 представлены результаты сравнения соответствующих стадий взаимодействия с клеткой для вирусов и везикул архей, содержащих плазмиды.

Как следует из представленных в табл. 4 данных, значимые различия в указанном процессе для вирусов и везикул архей, содержащих плазмиды, просматриваются только на этапах 6 и, возможно, 3.

Кардинальным отличием плазмид от вирусов является отсутствие у плазмид белкового капсида, что делает возможным их передачу от одной микробной клетки к другой только при непосредственном контакте.

Отличительным признаком везикул архей, содержащих плазмиды, от вирусов также является то, что в мембрану везикул входят главным образом белки клетки-хозяина, в то время как в состав вирусных частиц входят белки, кодируемые геномом вируса, а клетка-хозяин определяет лишь углеводный и липидный состав оболочки вируса.

Способность плазмид архей кодировать белки, встраивающиеся в стенки клеточных везикул, которые в свою очередь способны транспортировать плазмиды за пределы микробной клетки, что приводит к трансфекции интактных клеток того же вида, представляет собой новый путь горизонтального переноса генетической информации. Таким образом, везикулы архей, содержащие плазмиды, моделируют некоторые свойства вирусов.

Эти свойства определяют сходство указанных плазмид с вирусами и позволяют рассматривать плазмиды архей в качестве предков ДНК-содержащих вирусов.

Необходимо отметить, что вирусоподобные плазмиды выявлены у архей, среда обитания которых характеризуется рядом экстремальных для живых организмов параметров (высокая или низкая температура, высокое содержание солей). Данные архей, ареал распространения которых весьма ограничен, представляют собой реликтовые формы жизни.

Можно предположить, что предками ряда ДНК-содержащих вирусов (наиболее вероятно, семейств гигантских вирусов, входящих в порядок Megavirales) являлись, возможно, вымершие к настоящему времени архей, условия среды обитания которых оптимальны для многих видов водных организмов.

В качестве основных эволюционных этапов перехода от плазмид к вирусам, вероятно, можно рассматривать:

- формирование нуклеопротеинов, компонентами ко-

торых могли бы быть плазмидная ДНК (или её фрагменты) и кодируемые ею белки;

- формирование механизма выхода нуклеопротеинов из клетки в межклеточное пространство;

- расширение спектра чувствительных клеток, в которых может быть запущен процесс репродукции данных нуклеопротеинов (провирусов) от стадии адсорбции вируса на клетку до выхода из клетки в межклеточное пространство.

Высказанную гипотезу косвенно подтверждает анализ свойств гигантских вирусов, представляющих собой форму жизни, которую можно рассматривать как промежуточную между вирусами и клеточными организмами [20]. Предки гигантских вирусов столь же древние, как и предки бактерий, архей и эукариот [21].

Таким образом, полученные в последнее время научные сведения (открытие гигантских вирусов, моделирование везикулами архей, содержащих плазмиды, некоторых свойств вирусов) дают весомые основания предположить, что вирусы как доклеточная форма жизни не являются продуктом обратной эволюции микроорганизмов [14, 15, 22, 23].

Анализ свойств плазмид архей в качестве возможных предков ДНК-содержащих вирусов косвенно подтверждает гипотезу о том, что вирусы (прежде всего ДНК-содержащие вирусы) могут являться потомками «заблудившихся» генов [1]. Это требует дальнейшего углубленного изучения плазмид архей.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1-3, 6-22 см. REFERENCES)

4. Жданов В.М., Львов Д.К. Место вирусов в биосфере. В кн.: Львов Д.К., ред. *Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных*. М.: МИА; 2013: 46-66.
5. Жданов В.М., Львов Д.К. *Эволюция возбудителей инфекционных болезней*. М.: Медицина; 1984.

REFERENCES

1. Lwoff A., Tournier P. The classification of viruses. *Ann. Rev. Microbiol.* 1966; 20: 45-74.
2. Race N.R. Time for a change. *Nature*. 2006; 441(7091): 289.
3. Van Regenmortel M.H. Introduction to the species concept in virus taxonomy. In: Van Regenmortel M.H., Fanquet C.M., Bishop D.H., Carstens E.B., Estes M.K., Lemon S.M., et al. *Virus Taxonomy*.

- Seventh report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. London: Elsevier Academic Press; 2000.
4. Zhdanov V.M., L'vov D.K. Place of Viruses in the Biosphere. In: L'vov D.K., ed. *Guide to Virology. Viruses and Viral Infections of Humans and Animals [Rukovodstvo po virusologii. Virusy i virusnye infektsii cheloveka i zhivotnykh]*. Moscow: MIA; 2013: 46-66. (in Russian)
 5. Zhdanov V.M., L'vov D.K. *Evolution of Pathogens of Infectious Diseases [Evolutsiya vzbuditeley infektsionnykh bolezney]*. Moscow: Meditsina; 1984. (in Russian)
 6. Goldstain R., Sevidg J., Ljungquist E. Propagation of satellite phage P4 as a plasmid. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 1982; 79(2): 515-9.
 7. Carstens E.B. Introduction to virus taxonomy. In: King A.M.Q., Adams M.J., Carstens E.B., Lefkowitz E.Y. *Virus Taxonomy. Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. London: Elsevier Academic Press; 2012: 3-7.
 8. Van Regenmortel M.H. Virus species, a much overlooked but essential concept in virus classification. *Intervirology*. 1990; 31(5): 241-54.
 9. Stoet P., Ziller W. Archeobacterial bacteriophages. In: *Encyclopedia of Virology. Volume 1*. London: Elsevier Academic Press; 1994: 50-8.
 10. Franzmn P.D., Stackebrandt E., Sanderson K., Volkman J.K., Cameron D.E., Stevenson P.L., et al. Halobacterium lacusprofundi sp. nov., a halophilic bacterium isolated from Deep Lake, Antarctica. *Syst. Appl. Microbiol.* 1988; 11(1): 20-7.
 11. DeMaere M.Z., Williams T.J., Allen M.A., Brown M.V., Gibson J.A., Rich J., et al. High level of intergenera gene exchange shapes the evolution of haloarchaea in an isolated Antarctic lake. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2013; 110(42): 16939-44.
 12. Chutkan H., MacDonald I., Manning A., Kuehn M.J. Quantitative and qualitative preparation of bacterial outer membrane vesicles. In: Delcour H., ed. *Bacterial Cell Surfaces: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology*. New York: Springer Science; 2013.
 13. Anderson I.J., DasSarma P., Lucas S., Copeland A., Lapidys A., Del Rio T.G., et al. Complete genome sequence of the Antarctic Halo-
rubrum lacusprofundi type strain ACAM 34. *Stand. Genomic. Sci.* 2016; 11(1): 70.
 14. Tschitschko B., Williams T.J., Allen M.A., Zhong L., Raftery M.J., Cavicchioli R. Ecophysiological distinctions of Haloarchaea from a Hypersaline Antarctic Lake as Determined by metaproteomics. *Appl. Environ. Microbiol.* 2016; 82(11): 3165-73.
 15. Tschitschko B., Williams T.J., Allen M.A., Páez-Espino D., Kyrpides N., Zhong L., et al. Antarctic archaea-virus interactions: metaproteome-led analysis of invasion, evasion and adaptation. *ISME J.* 2015; 9(9): 2094-107.
 16. Soler M., Marguet E., Verbavatz J.M., Forterre P. Virus-like vesicles and extracellular DNA produced by hyperthermophilic archaea of the order Thermococcales. *Res. Microbiol.* 2008; 159(5): 390-9.
 17. Antwerpen M.H., Georgi E., Zoeller L., Woelfel R., Stoecker K., Scheid P. Whole-Genome Sequencing of a Pandoravirus isolated from Keratitis-inducing *Acanthamoeba*. *Genome Announc.* 2015; 3(2): 1-2.
 18. Benamar S., Reteno D.G., Bandaly V., Labas N., Raoult D., La Scola B. Faustoviruses: Comparative genomics of new Megavirales Family members. *Front. Microbiol.* 2016; 7: 3.
 19. Dornas F.P., Khalil J.Y.B., Pagnier I., Raoult D., Abrahao J., La Scola B. Isolation of new Brazilian giant viruses from environmental samples using a panel of protozoa. *Front. Microbiol.* 2015; 6(1086): 1-9.
 20. Sharma V., Colson P., Chabrol O., Scheid P., Pontarotti P., Raoult D. Welcome to pandoraviruses at the 'Fourth TRUC' club. *Front. Microbiol.* 2015; 6(423): 1-11.
 21. Aherfi S., Colson P., La Scola B., Raoult D. Giant Viruses of Amoebas: An Update. *Front. Microbiol.* 2016; 7: 349.
 22. Claverie J.M., Abergel C. Giant viruses: The difficult breaking of multiple epistemological barriers. *Stud. Hist. Philos. Biol. Biomed. Sci.* 2016; 59: 89-99.

Поступила 03.06.18

Принята в печать 19.06.18