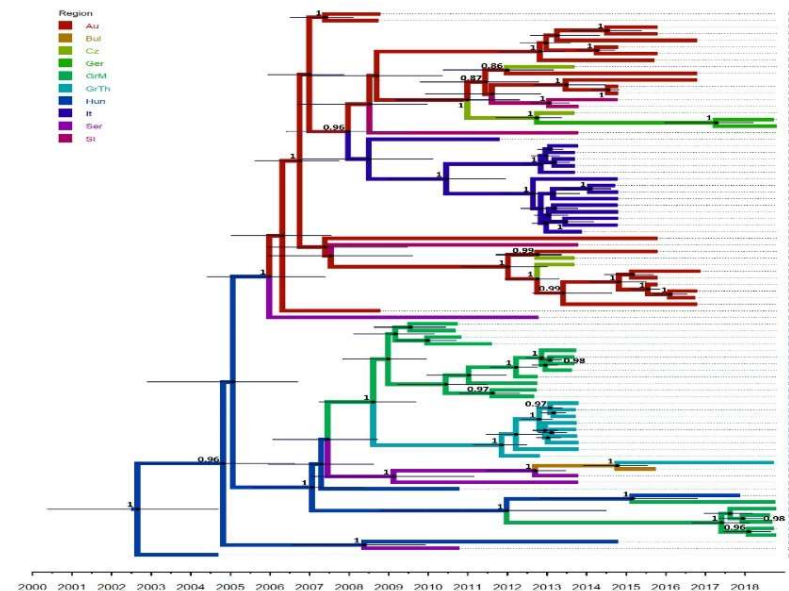
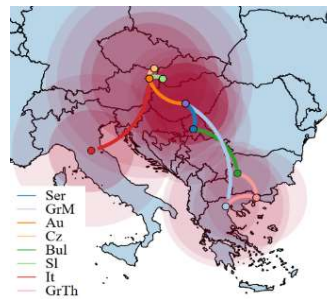
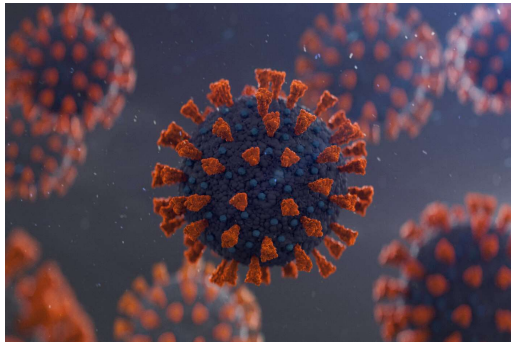




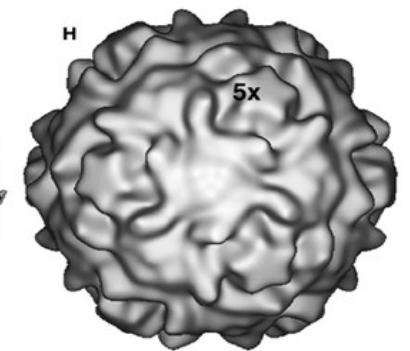
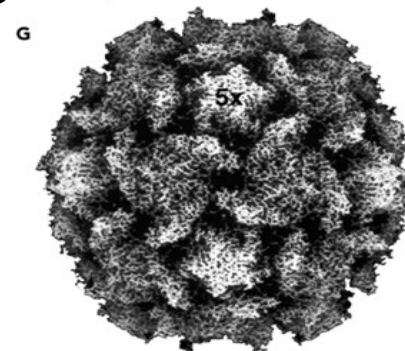
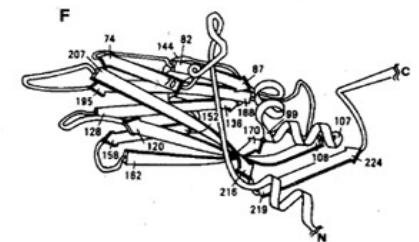
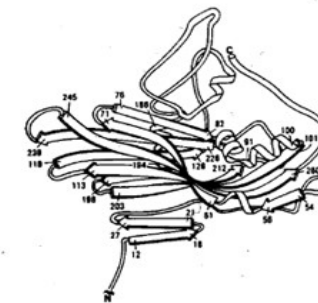
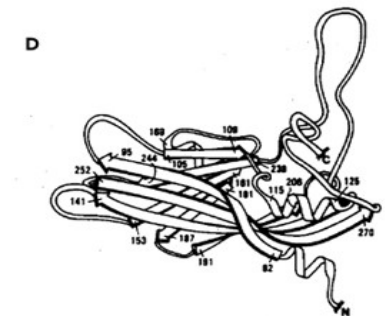
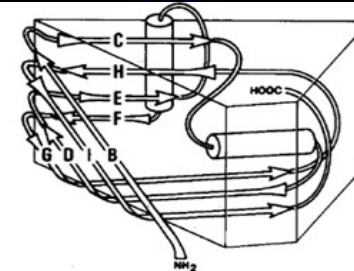
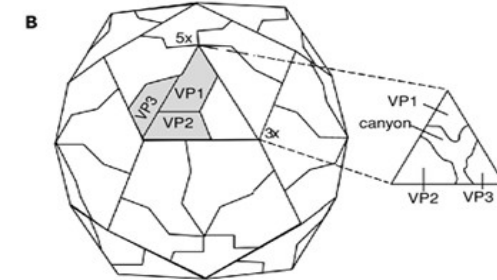
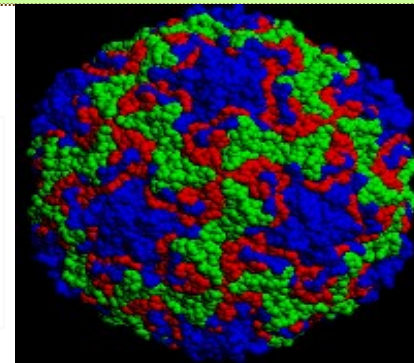
Εξελικτική ιολογία και ανάδυση ιών σε ζώα και στον άνθρωπο



Χρυσόστομος Ι. Δόβας
Αν. Καθηγητής Μοριακής Μικροβιολογίας
Διαγνωστικό Εργαστήριο Τομέα Κλινικών, Τμήμα Κτηνιατρικής ΑΠΘ

Μορφολογία καψιδίου (1)

VP1
VP2
VP3

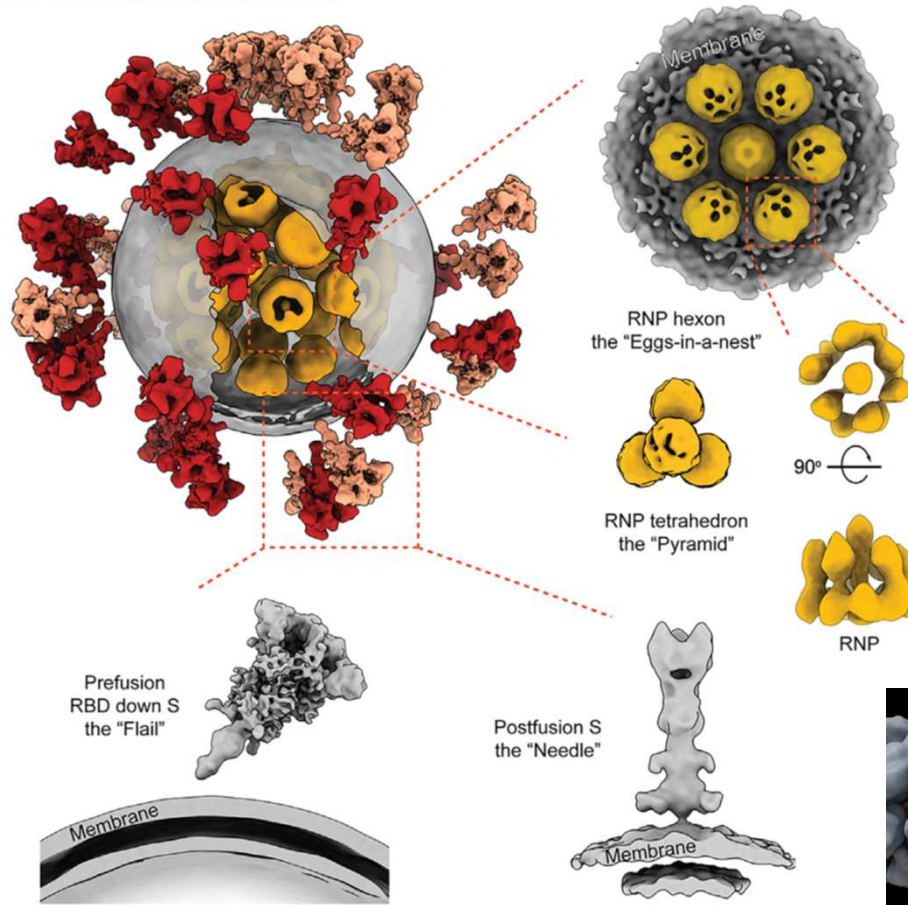


- Αποτελείται από **δομικές ιικές πρωτεΐνες**
- **Συγκρότηση** καψιδίου:
 - **πρωτεϊνικές υπομονάδες που δημιουργούν συμπλέγματα, τις δομικές μονάδες του καψιδίου (καψομερίδια)**
 - για κάθε ιό συγκεκριμένος αριθμός καψομεριδίων ενώνεται με ασθενείς χημικούς δεσμούς & σχηματίζει καψίδιο **με συμμετρικό σχήμα**

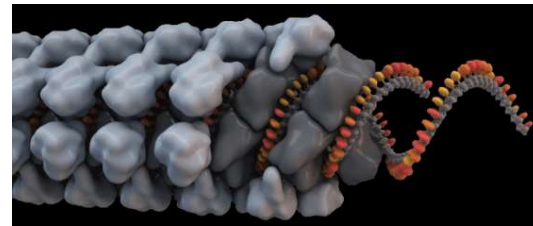
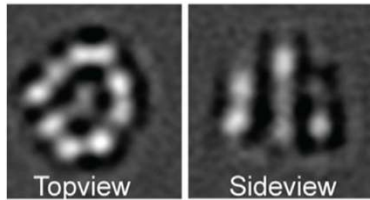
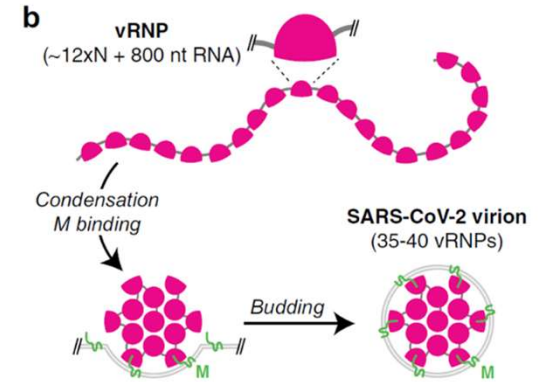
Molecular Architecture of the SARS-CoV-2 Virus

Hangping Yao, Yutong Song, Yong Chen, ..., Yigong Shi, Lanjuan Li, Sai Li

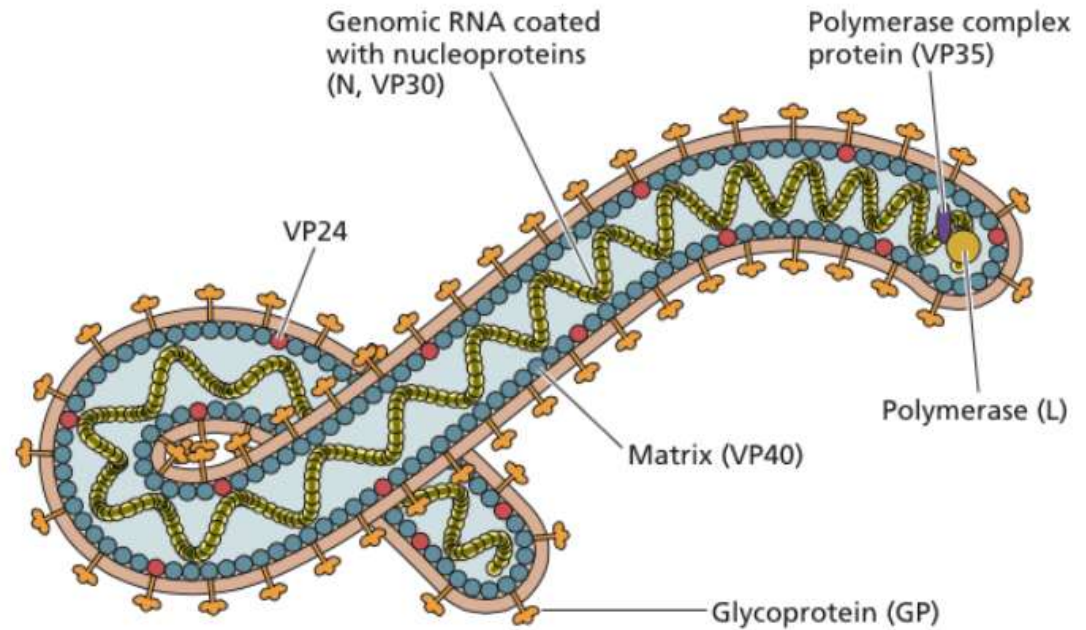
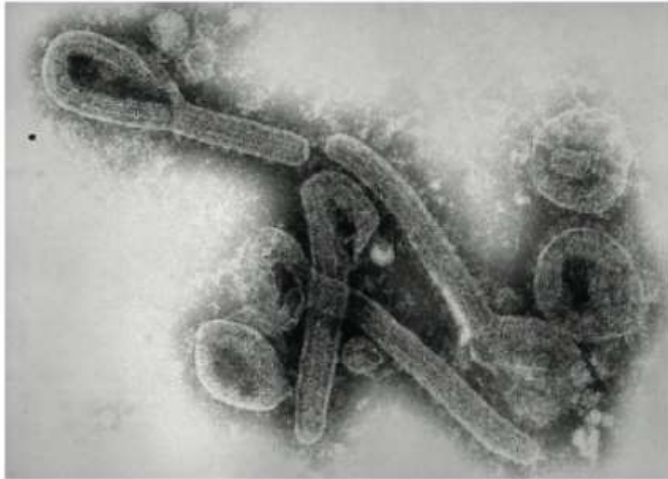
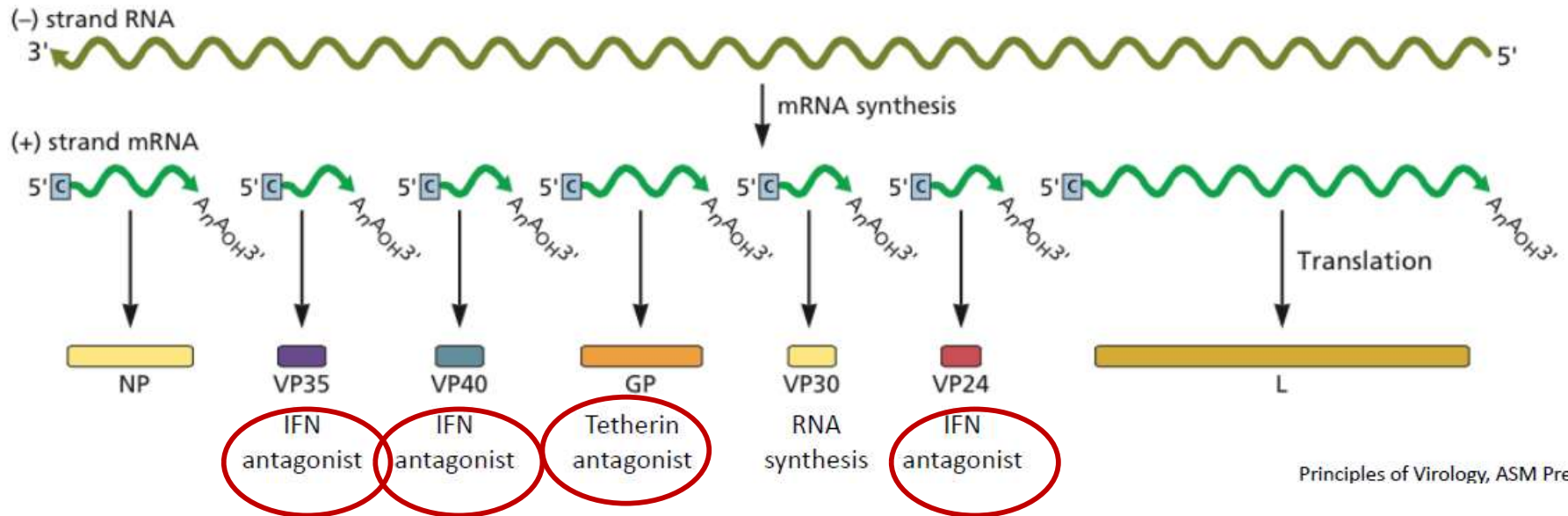
the authentic SARS-CoV-2 virus



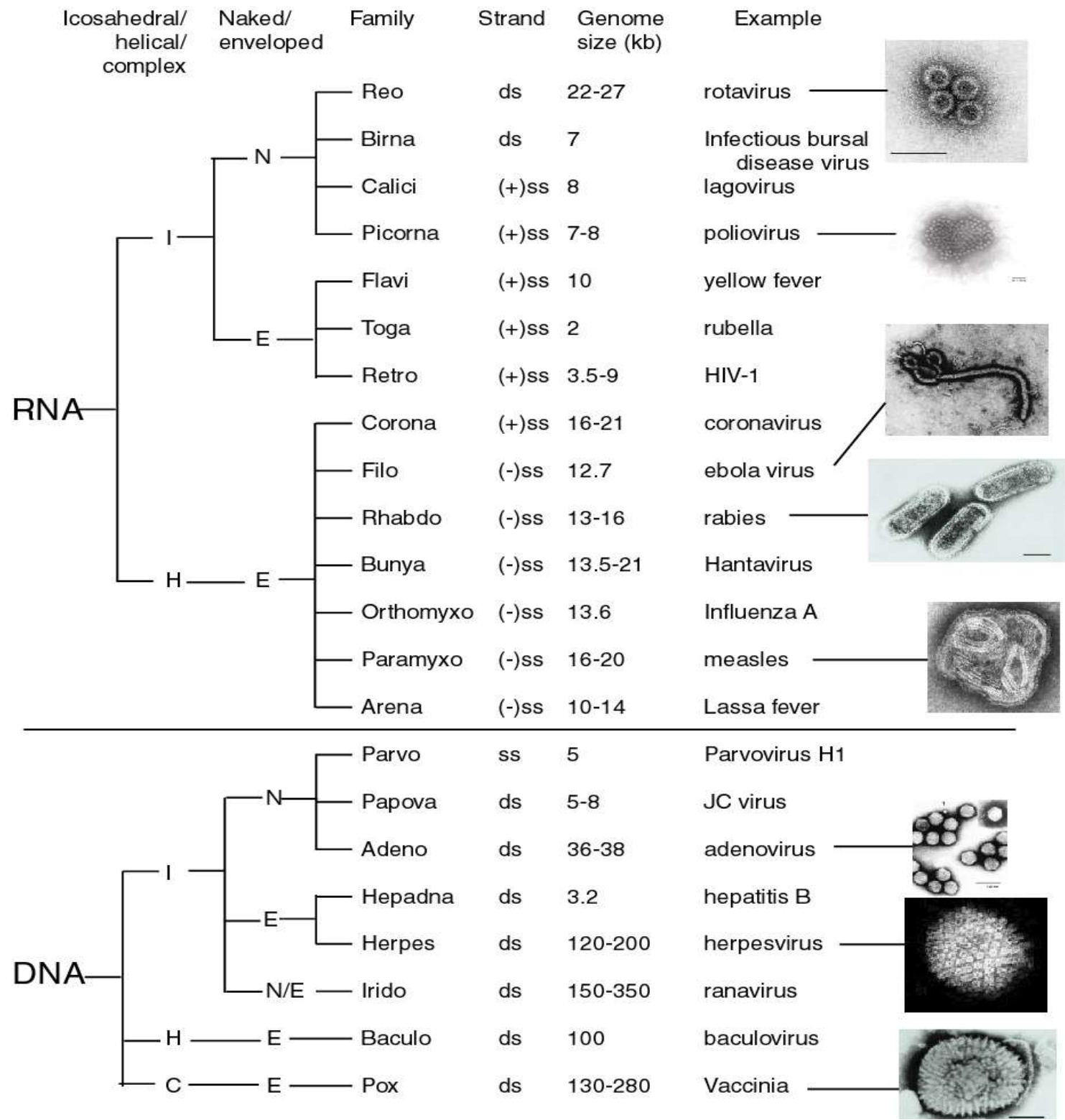
Betacoronavirus N proteins self-associate into dimers, tetramers, and larger oligomers that are thought to form the basis for assembly of the vRNP complex



The packaging of the RNA - Nucleocapsid proteins

A**B**

Ο ιός έμπολα εκφράζει μη δομικές πρωτεΐνες που αναστέλλουν την έκφραση και δράση των ιντερφερονών και τη δράση της τεθερίνης (IFN-επαγόμενη πρωτεΐνη που αποτρέπει την εκβλάστηση του ιού από κύτταρο ξενιστή).



Γενετική & εξέλιξη των ιών

Μεταλλάξεις: Κληρονομήσιμες αλλαγές στην αλληλουχία των βάσεων του DNA

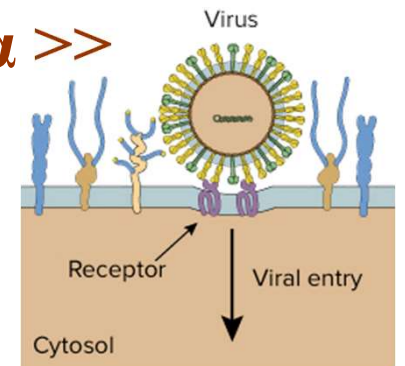
Οι μεταλλάξεις στη φύση είναι τυχαία γεγονότα υπό το πρίσμα ότι συμβαίνουν με μη συστηματικό τρόπο και η πιθανότητα να συμβούν δεν εξαρτάται από το βαθμό χρησιμότητας τους

Οι αλλαγές που δεν οδηγούν σε αλλαγή της αλληλουχίας των αμινοξέων, λόγω εκφυλισμού του γενετικού κώδικα, ονομάζονται **σιωπηλές μεταλλάξεις**

Ορισμένες που οδηγούν σε αλλαγή αμινοξέων και έχουν ελάχιστη επίδραση στη στερεοδιάταξη και στη λειτουργικότητα της πρωτεΐνης και χαρακτηρίζονται ως **ουδέτερες**

Φαινοτυπική μετάλλαξη

- Παρατηρείται μεταβολή ιδιοτήτων της μεταλλαγμένης πρωτεΐνης (ορισμένες ιδιαίτερα σημαντικές για την παθογένεια και επιδημιολογία του νοσήματος) π.χ.:
 - **αλλαγή σύστασης αντιγονικών επίτοπων**, (μεταλλάκτες που διαφεύγουν της αναγνώρισης από τα υπάρχοντα αντισώματα ενός πληθυσμού ξενιστών = **αντιγονική παρέκκλιση**)
 - **αναγνώριση διαφορετικών υποδοχέων στα κύτταρα** >> μεταβολή του εύρους ξενιστών >> αναδυόμενοι ιοί



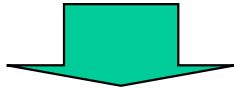
Μεταλλάξεις

- Ανάλογα με την φαινοτυπική έκφραση της μετάλλαξης, οι ιοί χαρακτηρίζονται ως μεταλλάκτες
 - **διαφορετικών αντιγονικών επίτοπων**
 - **διαφορετικού τροπισμού σε κύτταρα και ιστούς**
 - **τροποποιημένου εύρους ξενιστών**
 - **διαφορετικής κυτταροπαθογόνου δράσης**
 - **διαφορετικής λοιμογόνου δύναμης**

Μηχανισμοί παραγωγής γενετικής ποικιλότητας στους ιούς

1. Σημειακές μεταλλάξεις /απαλείψεις/ενθέσεις

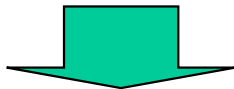
- Αντικαταστάσεις της αλληλουχίας των νουκλεοτιδίων / απαλείψεις ή ενθέσεις μικρού αριθμού νουκλεοτιδίων λόγω λανθασμένης αντιγραφής /



μικρές μεταβολές στο ικό γονιδίωμα

2. Γενετικός ανασυνδυασμός

- Ανταλλαγή ομόλογων γονιδιωματικών περιοχών μεταξύ 2 συγγενών ιών που πολλαπλασιάζονται ταυτόχρονα στο ίδιο κύτταρο



σημαντικές μεταβολές στο ικό γονιδίωμα

Συχνότητα μεταλλάξεων

Μεταλλάξεις

- συχνότερες σε RNA ιούς
- λιγότερο συχνές στους dsDNA ιούς

Η παρουσία αντιγραφικής διορθωτικής ενεργότητας στις DNA πολυμεράσες (I και III) μειώνει τη συχνότητα σφαλμάτων στο DNA

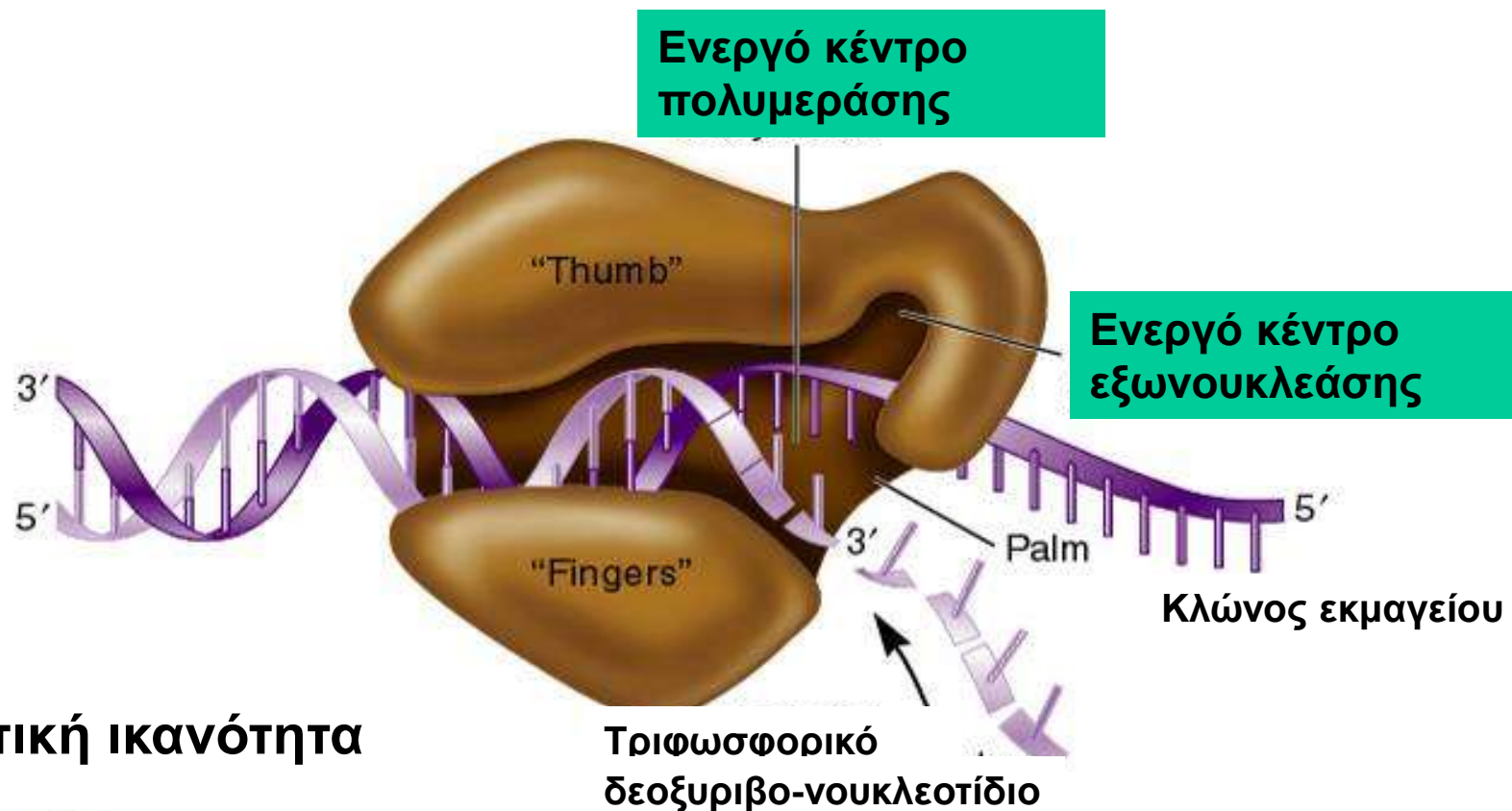
- Σφάλματα στην αντιγραφή του DNA: $10^{-7} - 10^{-11}$ αντικαταστάσεις βάσεων ανά νουκλεοτίδιο που αντιγράφεται

Η RNA εξαρτώμενη RNA πολυμεράση δεν έχει αντιγραφική διορθωτική ικανότητα

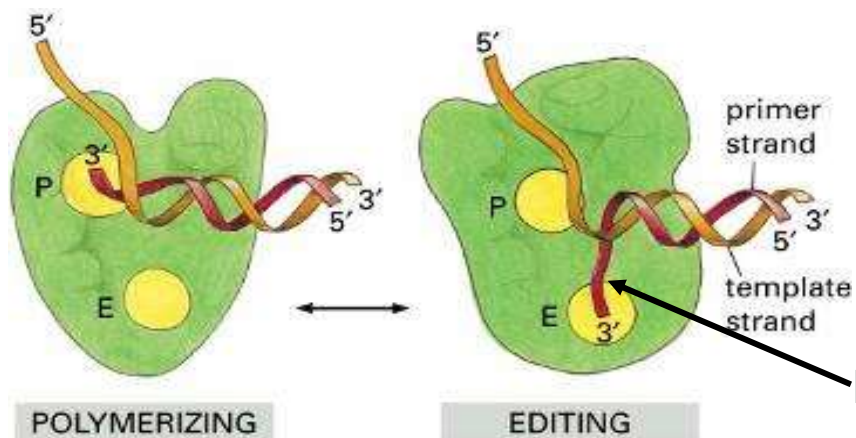
- Σφάλματα στην αντιγραφή του RNA: $10^{-3} - 10^{-6}$ / θέση

Πιστότητα αντιγραφής του DNA

DNA πολυμεράση III

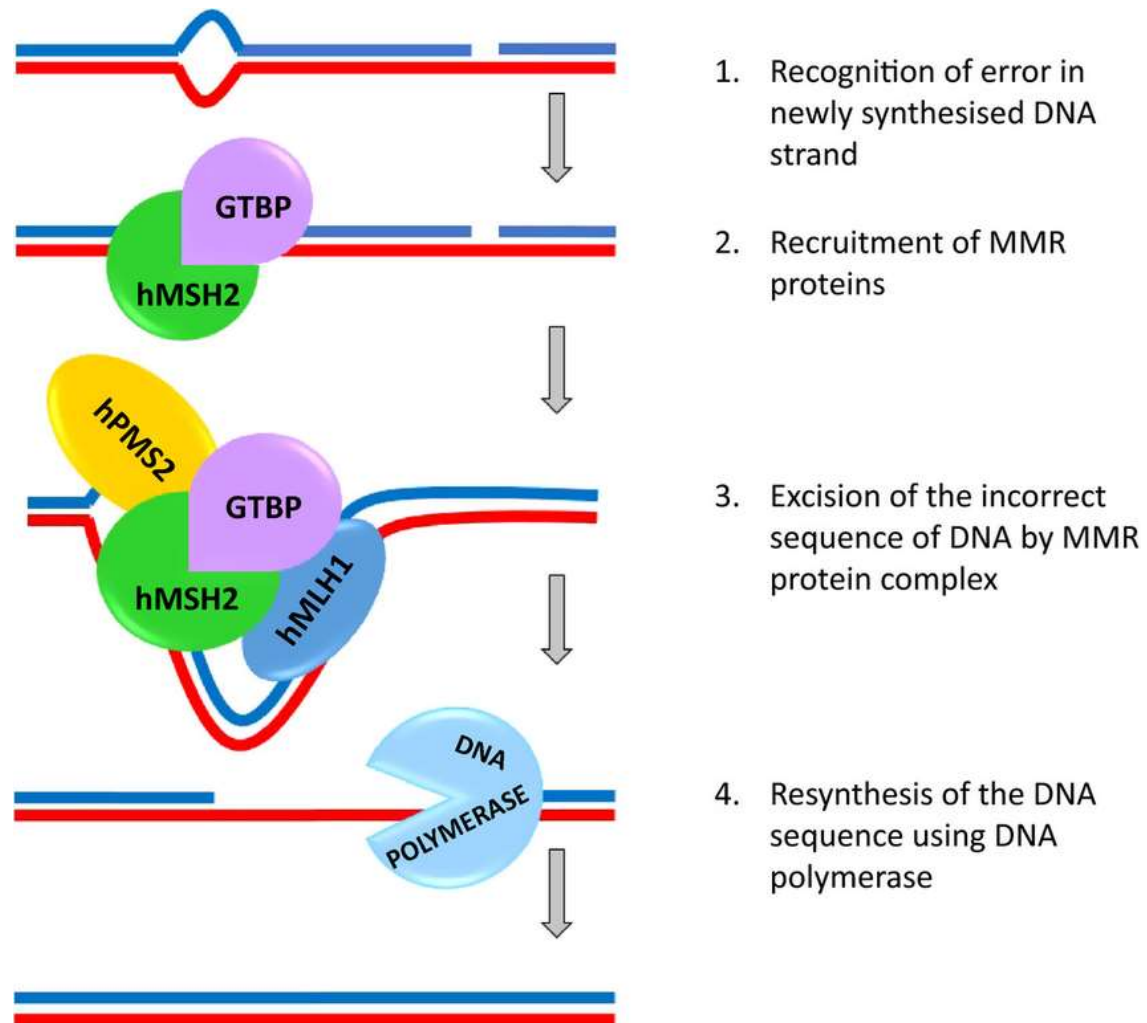


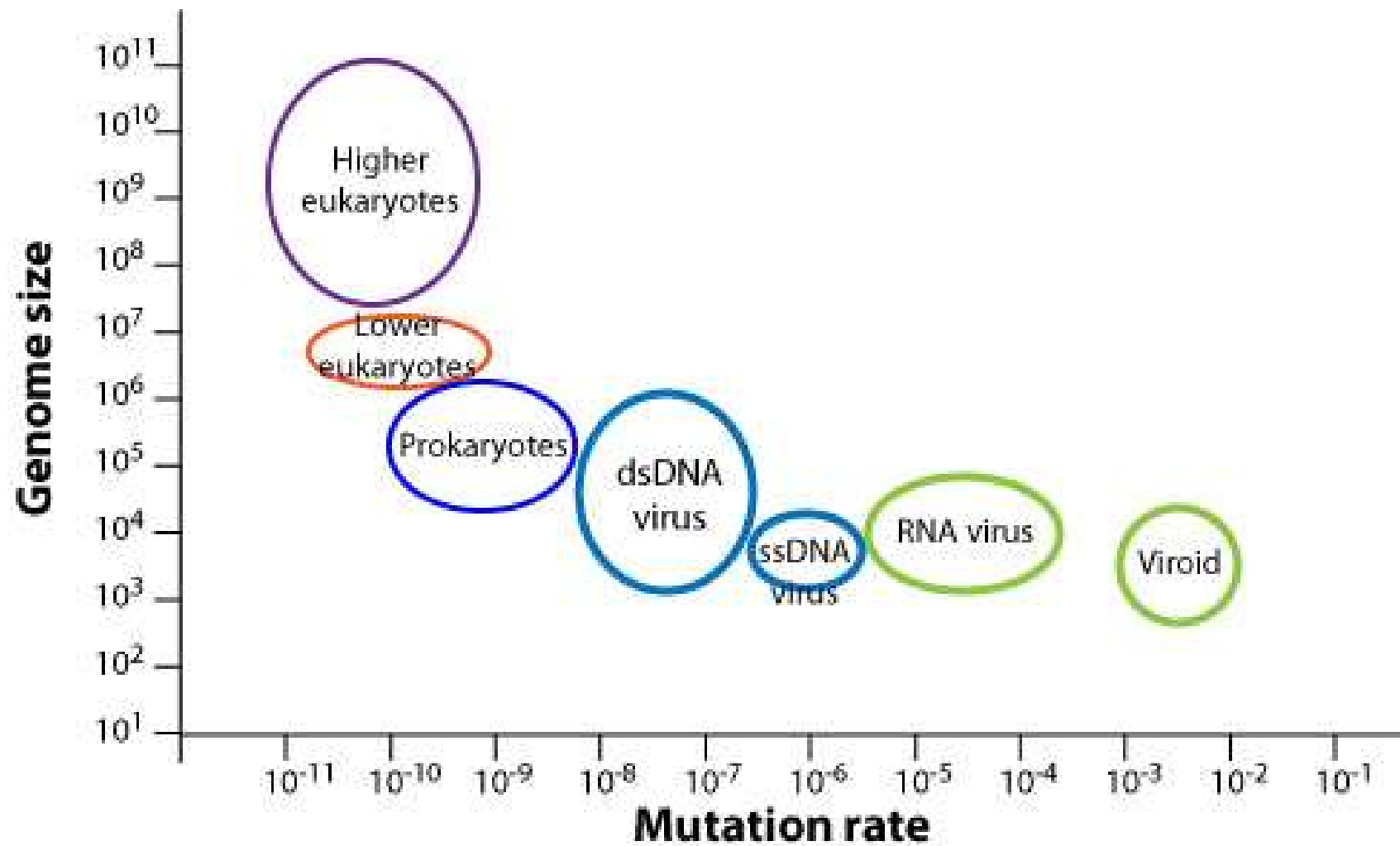
Αντιγραφική διορθωτική ικανότητα



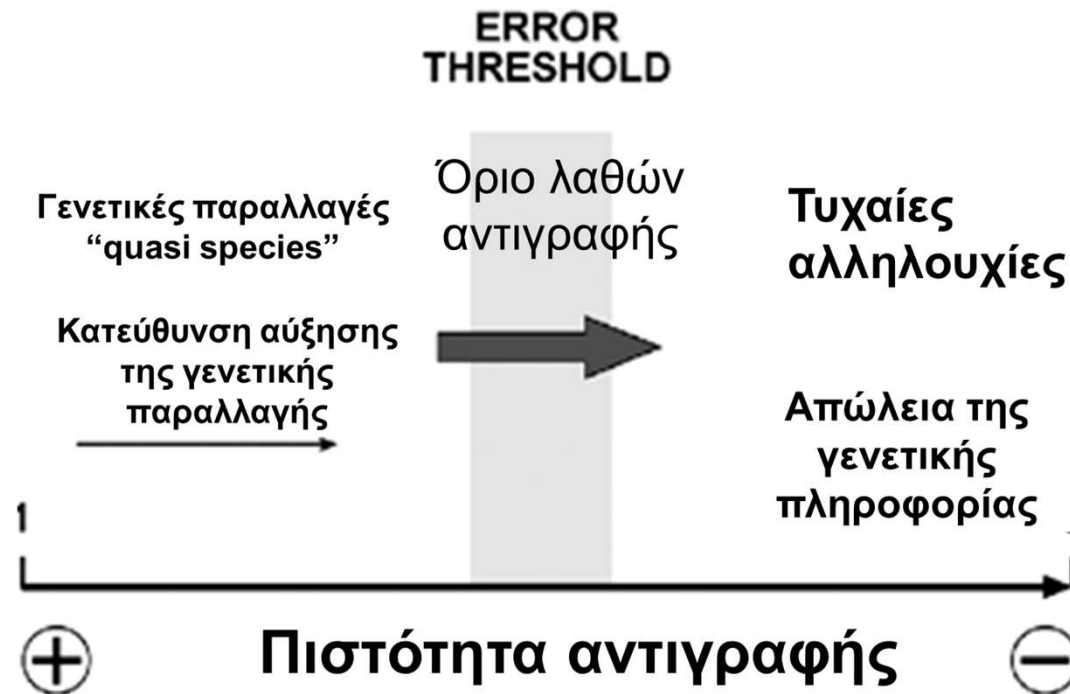
Επιδιόρθωση λάθους με δράση εξωνουκλεάσης 3' → 5'

Διόρθωση σφαλμάτων μετά την αντιγραφή του δίκλωνου DNA





Εξάλειψη λόγω λαθών αντιγραφής (*Transition into error catastrophe*)



Molecular Cell

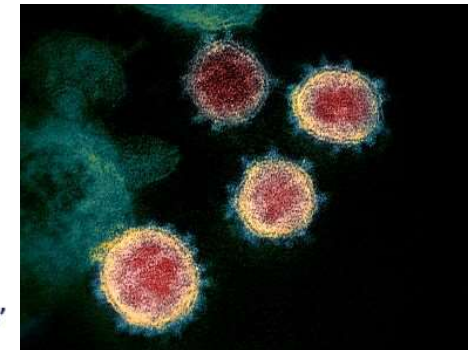
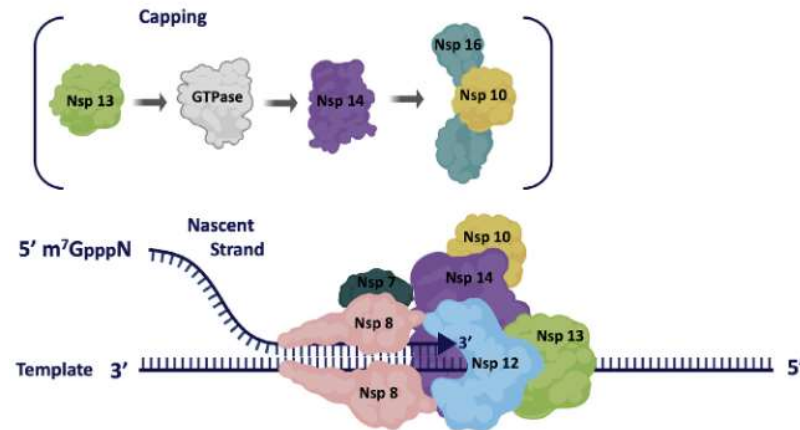
Volume 79, Issue 5, 3 September 2020, Pages 710-727



Review

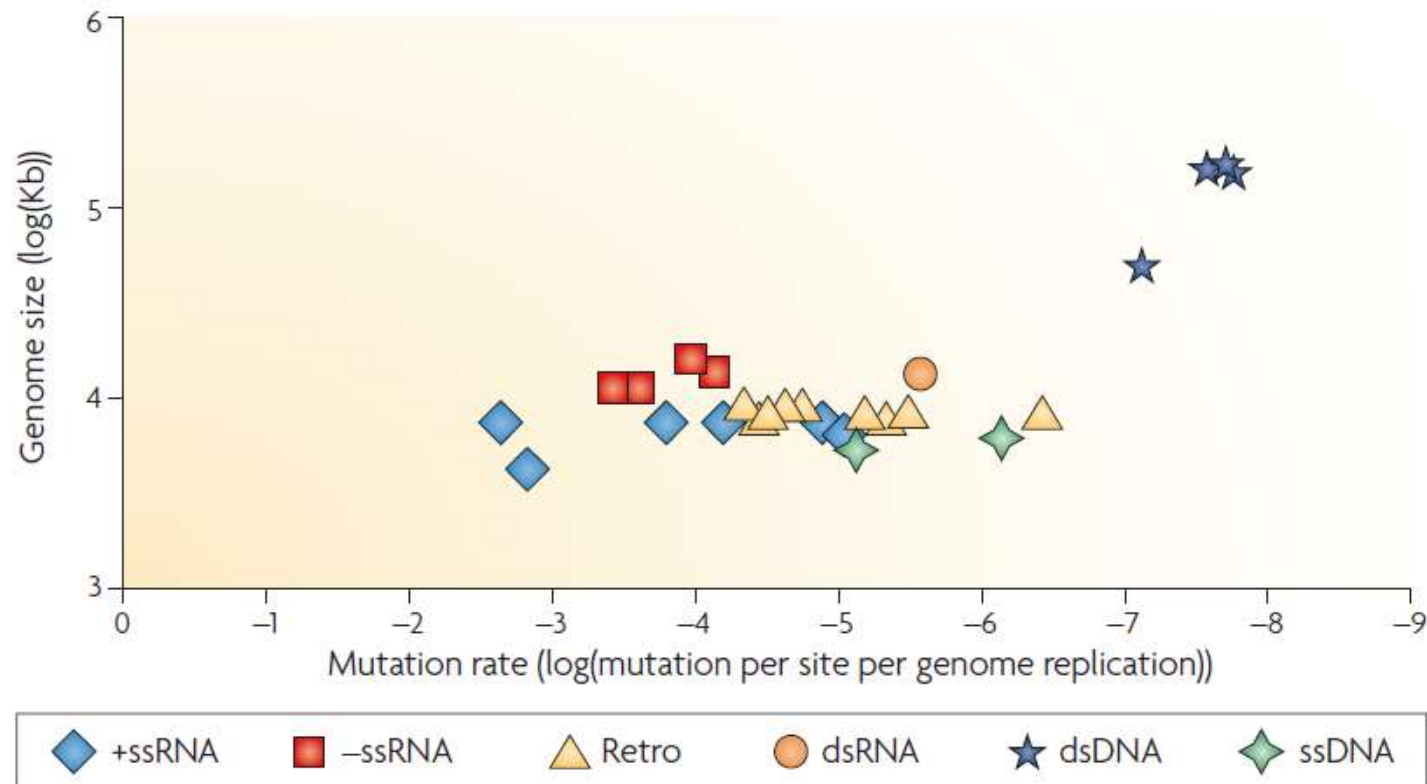
Coronavirus RNA Proofreading: Molecular Basis and Therapeutic Targeting

Fran Robson^{1,7}, Khadija Shahed Khan^{2,7}, Thi Khanh Le^{3,4}, Clément Paris⁴, Sinem Demirbag⁵, Peter Barfuss⁶, Palma Rocchi⁴, Wai-Lung Ng² ✉



Μέγεθος του ιικού γονιδιώματος και συχνότητα μεταλλάξεων ανά αντιγραφή του

Συχνότητα μεταλλάξεων ανά αντιγραφή γονιδιώματος



Γενετικός ανασυνδυασμός

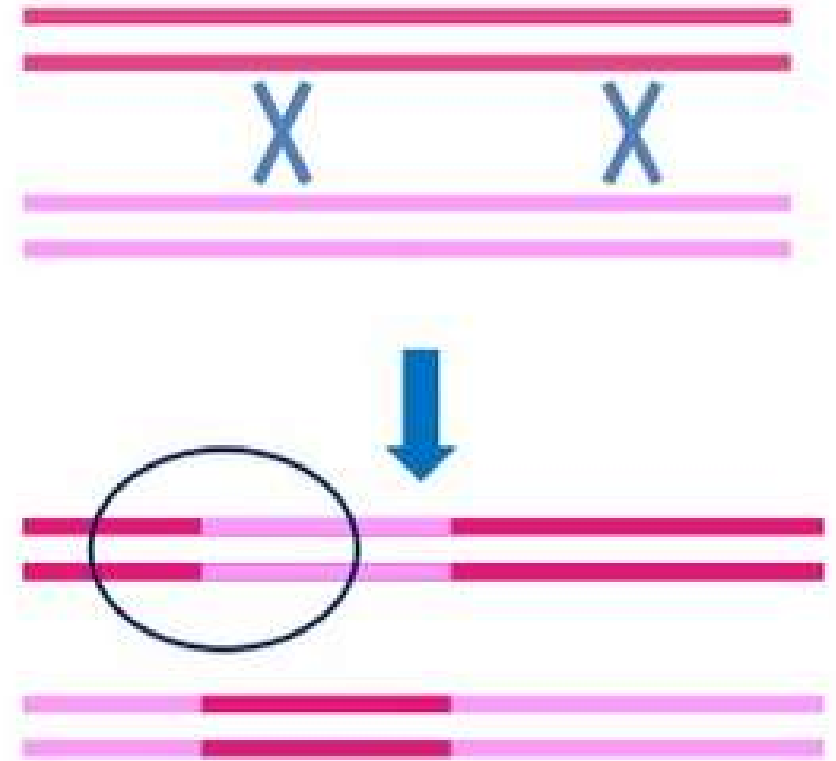
Ανταλλαγή τμημάτων του γονιδιώματος μεταξύ δύο συγγενών ιών που συμβαίνει όταν αυτοί πολλαπλασιάζονται στο ίδιο κύτταρο ξενιστή

- *Ομόλογος ανασυνδυασμός (DNA ιοί)*
- *Ανασυνδυασμός επιλογής αντιγράφου (RNA ιοί)*
- *Ανταλλακτική ανακατάταξη (RNA ιοί με κατατετμημένο γονιδίωμα)*

Ομόλογος Ανασυνδυασμός

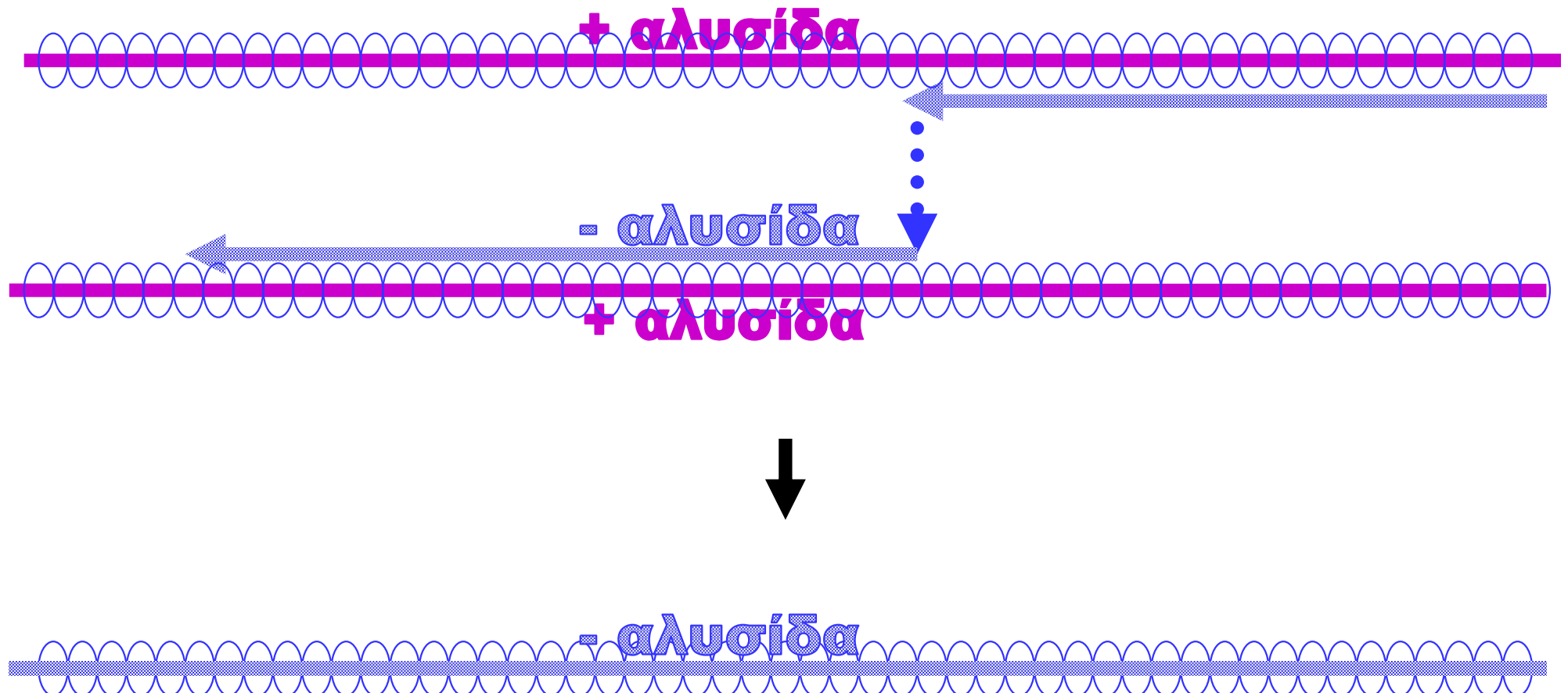
Μηχανισμός ενσωμάτωσης ενός γενετικού στοιχείου στο γονιδίωμα μετά από εκτεταμένη σύζευξη των DNA αλυσίδων με **ομόλογες νουκλεοτιδικές** αλληλουχίες

- Οδηγεί στην ανταλλαγή ομόλογων αλληλουχιών DNA από διαφορετικά γονιδιώματα ή από διαφορετικές θέσεις ενός γονιδιώματος



B) Ανασυνδυασμός επιλογής αντιγράφου (copy choice)

RNA ιοί: Παραγωγή ανασυνδυασμένου ιικού γονιδιώματος εξαιτίας της RNA πολυμεράσης που μεταπηδά από το ένα ιικό RNA γονιδίωμα σε ένα άλλο κατά τη διαδικασία αντιγραφής

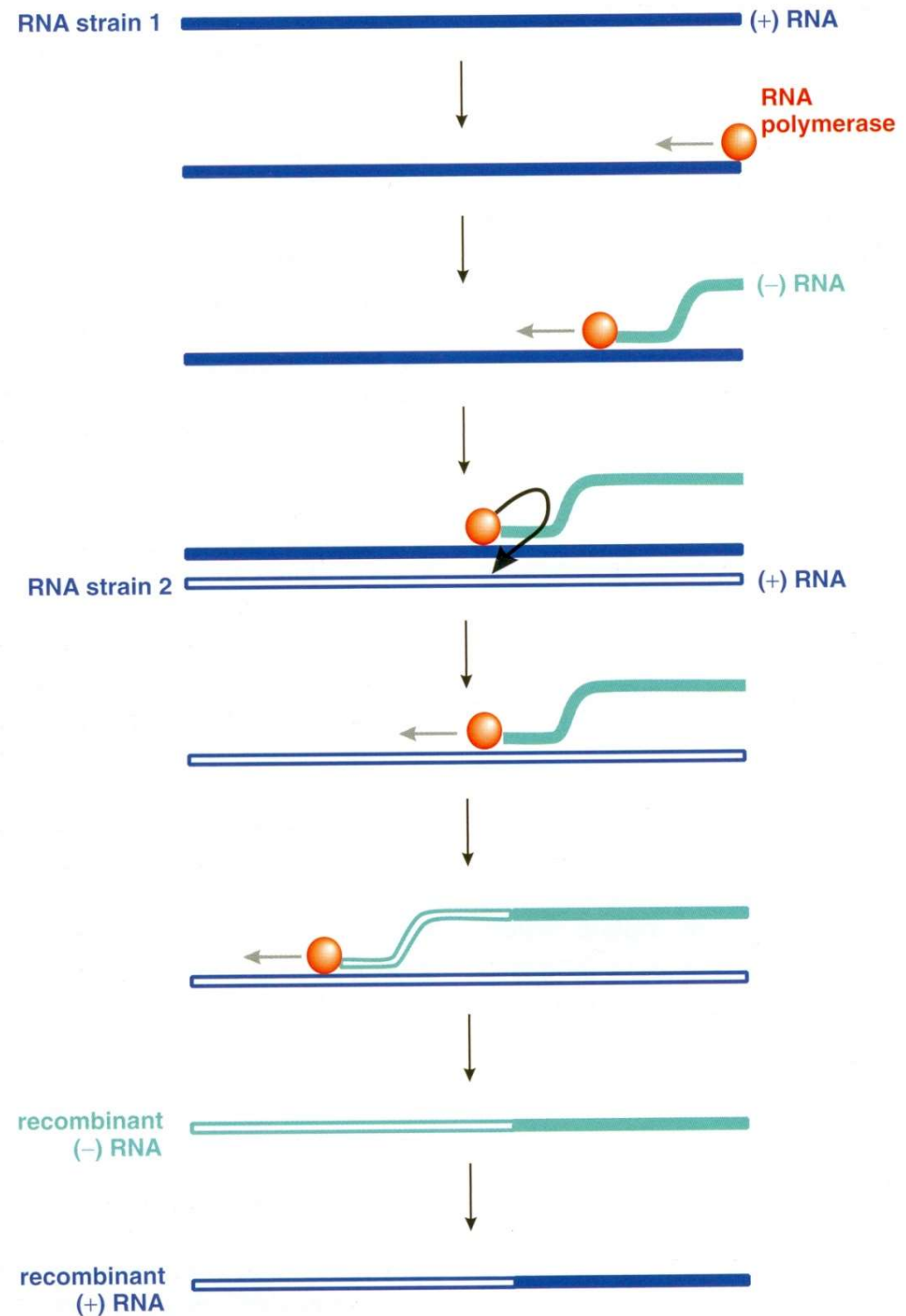


Συνέχεια

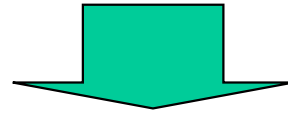
Ανασυνδυασμός επιλογής αντιγράφου (copy choice)

Ιοί με γονιδίωμα RNA:

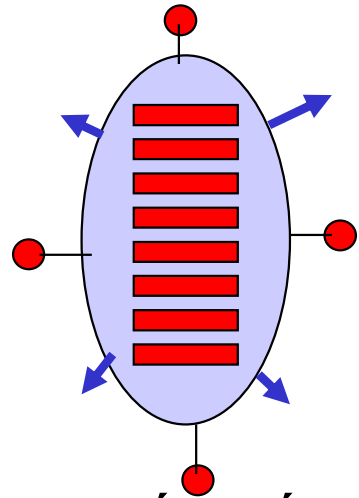
1. Ιοί με μονόκλωνο θετικής πολικότητας RNA
2. Ρετροϊοί



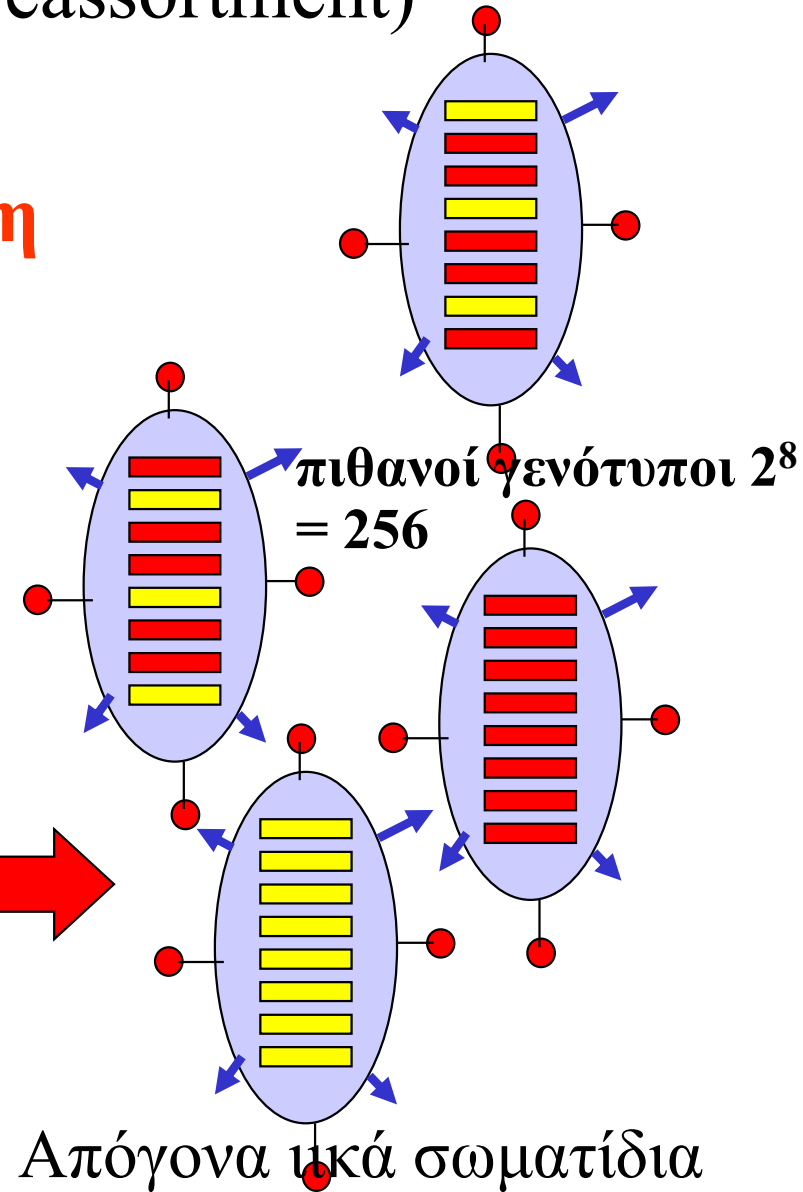
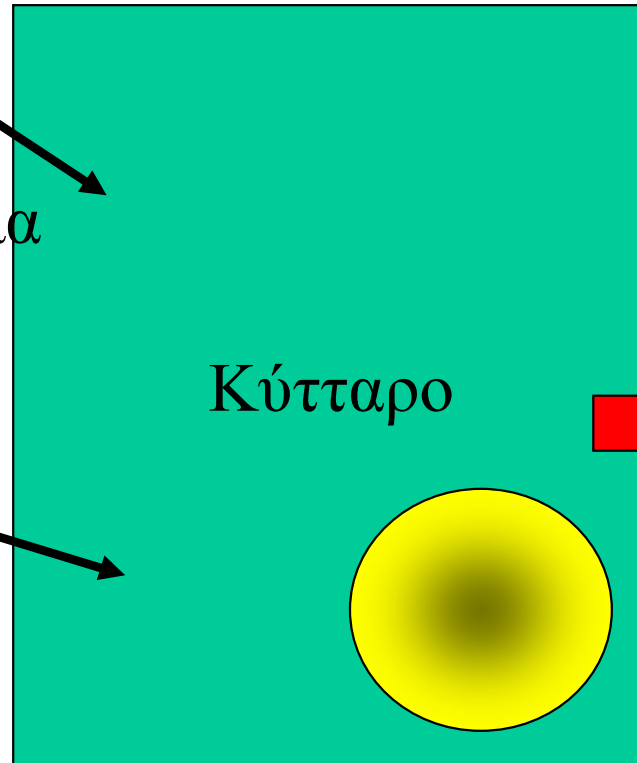
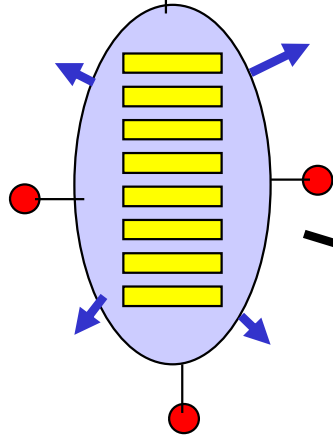
Ανταλλακτική ανακατάταξη (reassortment)



Αντιγονική μετάπτωση (antigenic shift)



Προγονικά ιικά σωματίδια



Απόγονα ιικά σωματίδια

- Συμβαίνει σε RNA ιούς με γονιδίωμα χωρισμένο σε τμήματα
- Κατά το στάδιο της συγκρότησης των απόγονων ιικών σωματιδίων, στα καψίδια τους περικλείονται γονιδιωματικά τμήματα που προέρχονται και από τα δύο προγονικά ιικά σωματίδια

Μηχανισμοί δημιουργίας γενετικής ποικιλότητας στους RNA ιούς

- **Σημειακές μεταλλάξεις**
 - Η συχνότητα τους είναι μεγάλη εξαιτίας της έλλειψης αντιγραφικής διορθωτικής ικανότητας της ιικής RNA πολυμεράσης
- **Γενετικοί ανασυνδυασμοί**
 - *Ανασυνδυασμός επιλογής αντιγράφου*
 - Είναι συχνός στους *Retro-ιούς* και σε ιούς με γονιδίωμα ενιαία αλυσίδα θετικής πολικότητας, (*Picornaviridae*, *Coronaviridae*)
 - *Ανταλλακτική ανακατάταξη*
 - Σε ιούς με RNA γονιδίωμα χωρισμένο σε τμήματα (*Orthomyxo-*, *Reoviridae*)

Μηχανισμοί δημιουργίας γενετικής ποικιλότητας στους ιούς που φέρουν δίκλωνο DNA (ds-DNA) γονιδιόμα

- *Σημειακές μεταλλάξεις*
 - Σπανιότερες από ότι στους RNA ιούς
- *Ομόλογος ανασυνδυασμός*

Μηχανισμοί δημιουργίας γενετικής ποικιλότητας στους ιούς που φέρουν μονόκλωνο DNA (ss-DNA) γονιδιόμα

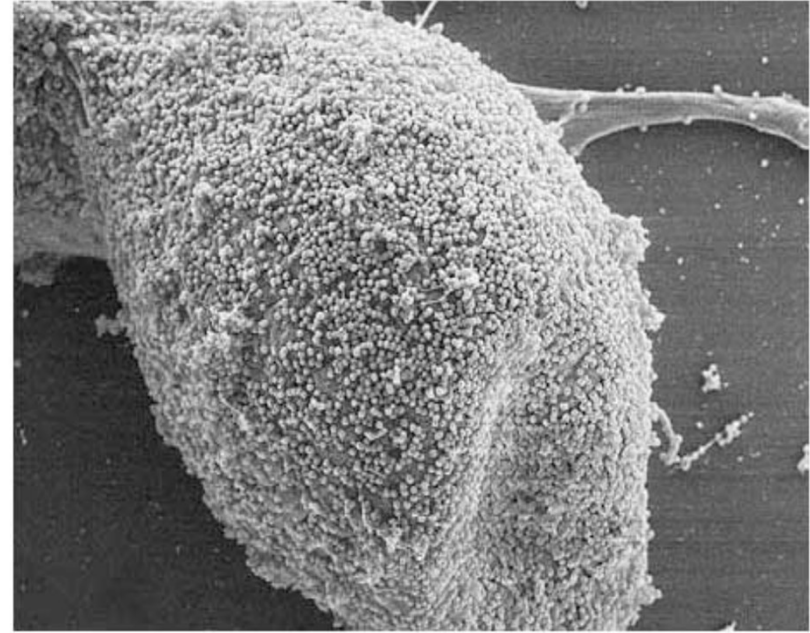
- *Σημειακές μεταλλάξεις.*

Συχνές λόγω αδυναμίας επιδιόρθωσης μεταλλάξεων μετά την αντιγραφή του DNA

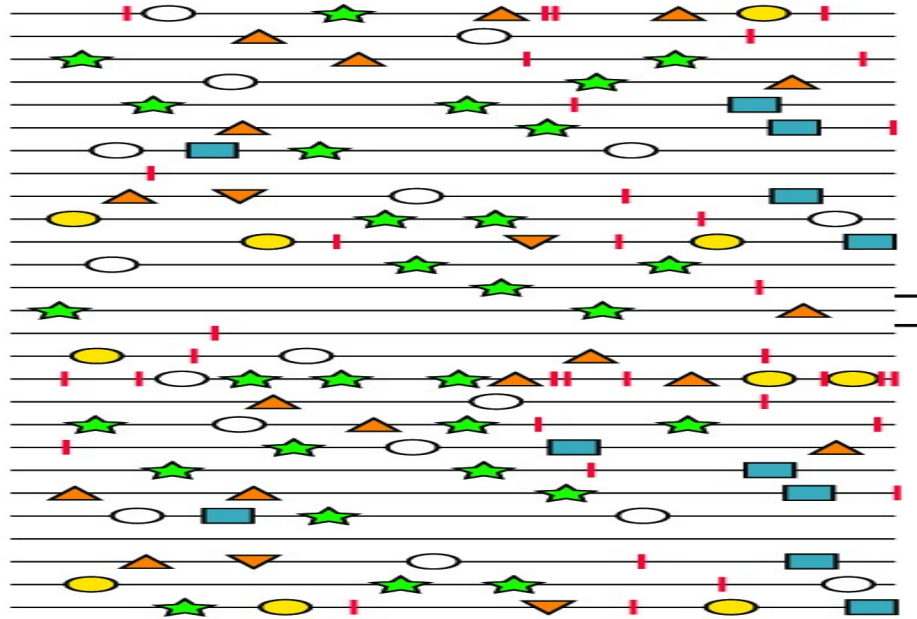
- *Ομόλογος ανασυνδυασμός*

Συχνός

HIV (10^{10} ιικά σωματίδια την ημέρα / άτομο)



Μολυσμένο κύτταρο και
απόγονα ιικά σωματίδια

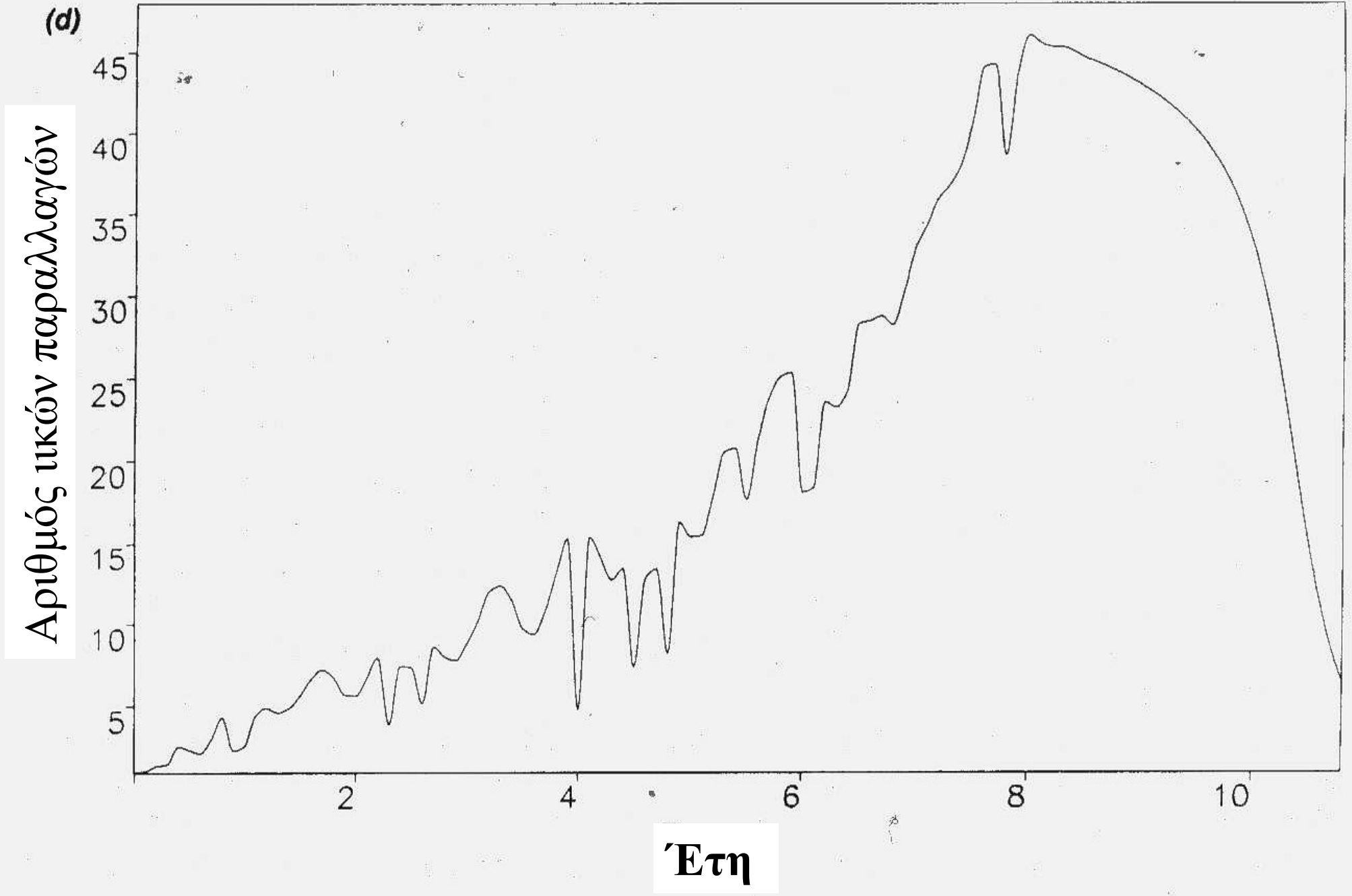


μεταλλάξεις

Παράδειγμα

- RNA ιός με γονιδίωμα 10 kb
- Εάν το σφάλμα στην αντιγραφή του RNA = 10^{-5} /θέση
→ ένα στα 10 απόγονα ιικά σωματίδια φέρει μια μετάλλαξη
- Εάν παράγονται 10^{10} ιικά σωματίδια την ημέρα / άτομο, τότε παράγονται 10^9 μεταλλαγμένα ιικά σωματίδια ανά ημέρα

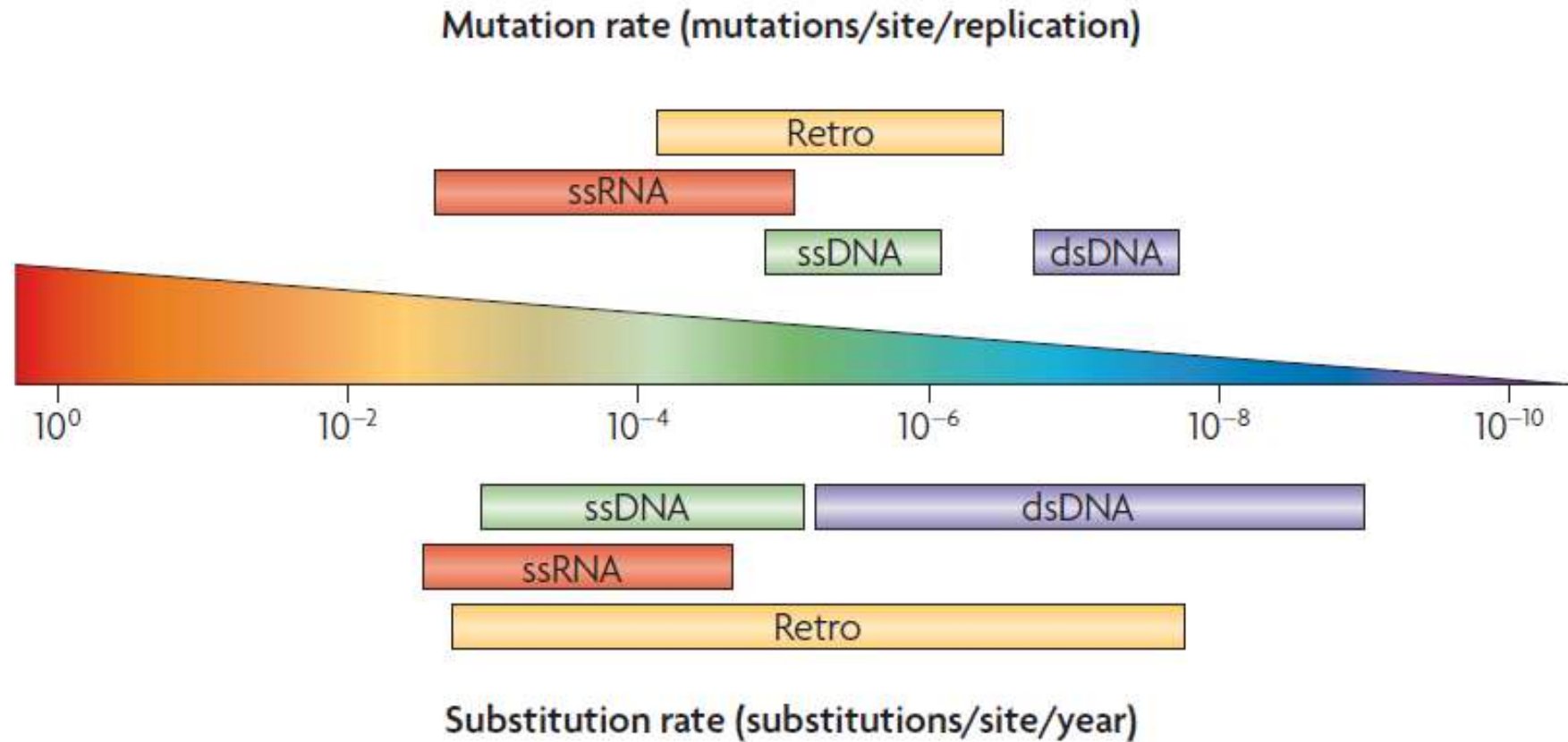
Αύξηση της γενετικής παραλλακτικότητας του HIV στον ίδιο ξενιστή



Rates of evolutionary change in viruses: patterns and determinants

Siobain Duffy*, Laura A. Shackelton* and Edward C. Holmes**

Συχνότητα μεταλλάξεων ανά αντιγραφή γονιδιώματος



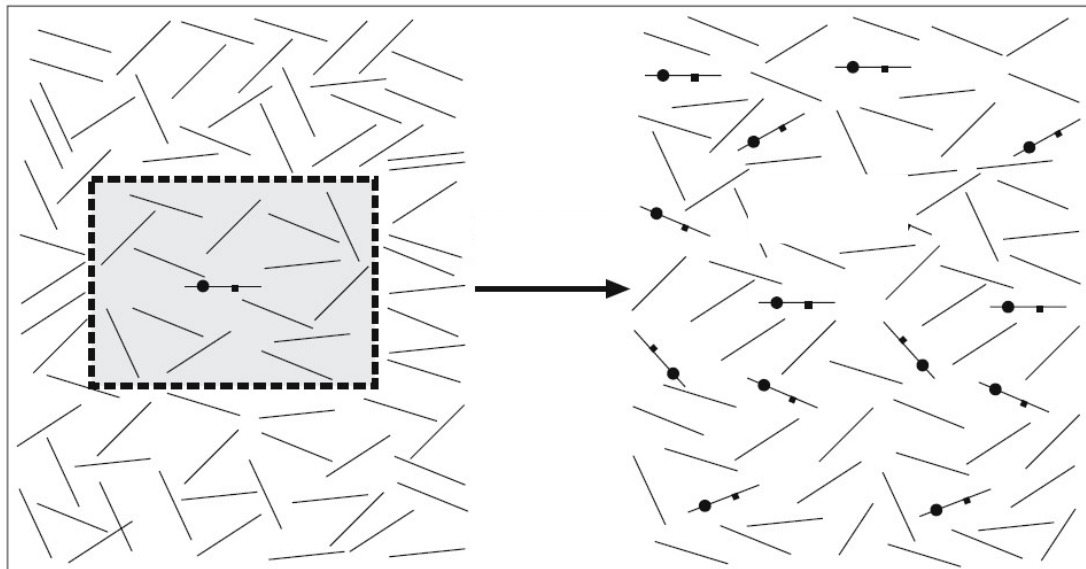
Ρυθμοί σημειακών νουκλεοτιδικών αντικαταστάσεων ανά έτος

Εξέλιξη των ιών

Προσδιορίζεται ως η αλλαγή της γενετικής σύνθεσης του ιικού πληθυσμού στην πορεία του χρόνου



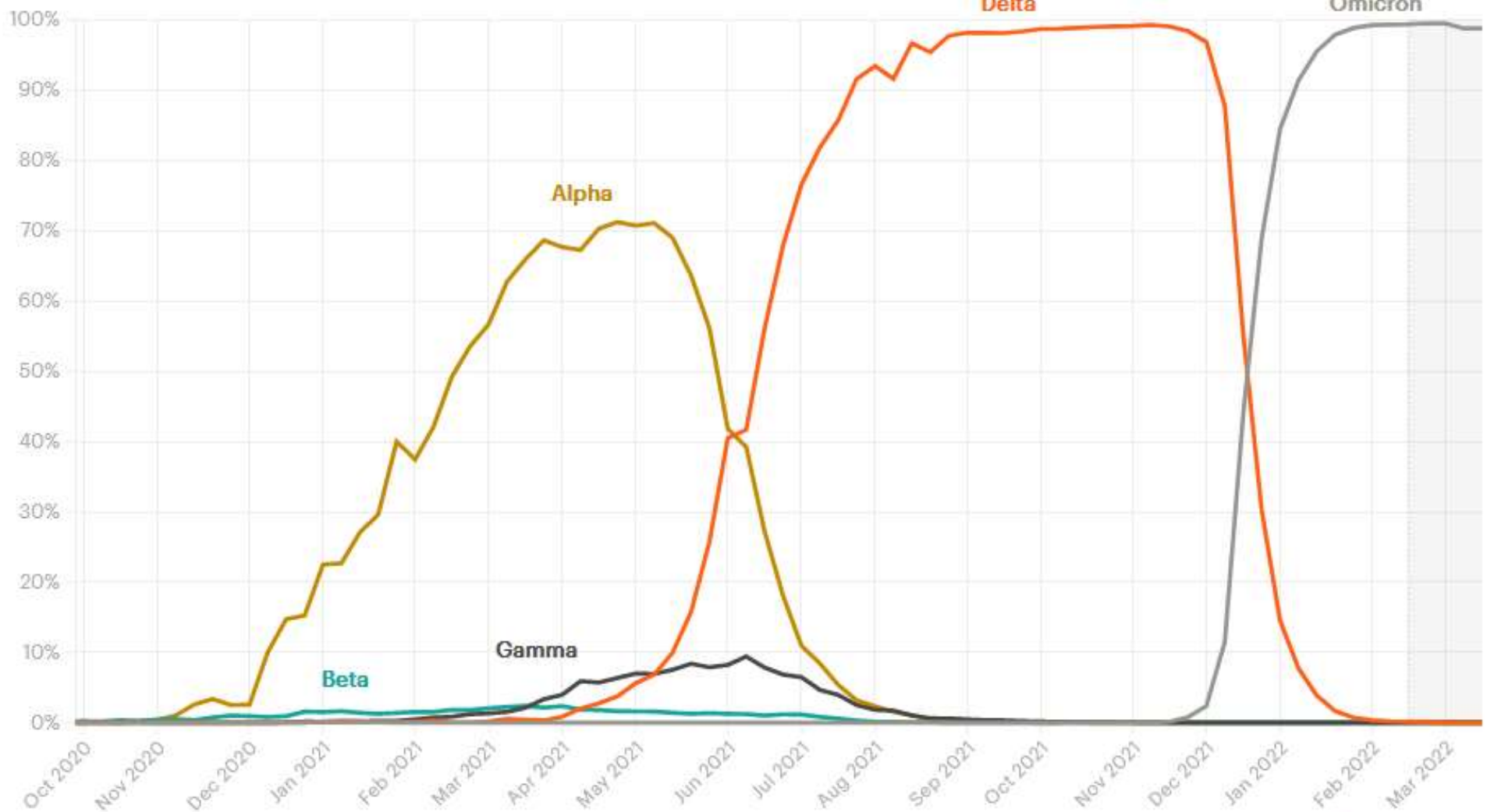
Αλλαγή της συχνότητας του κάθε γενότυπου από τη μια γενιά στην επόμενη



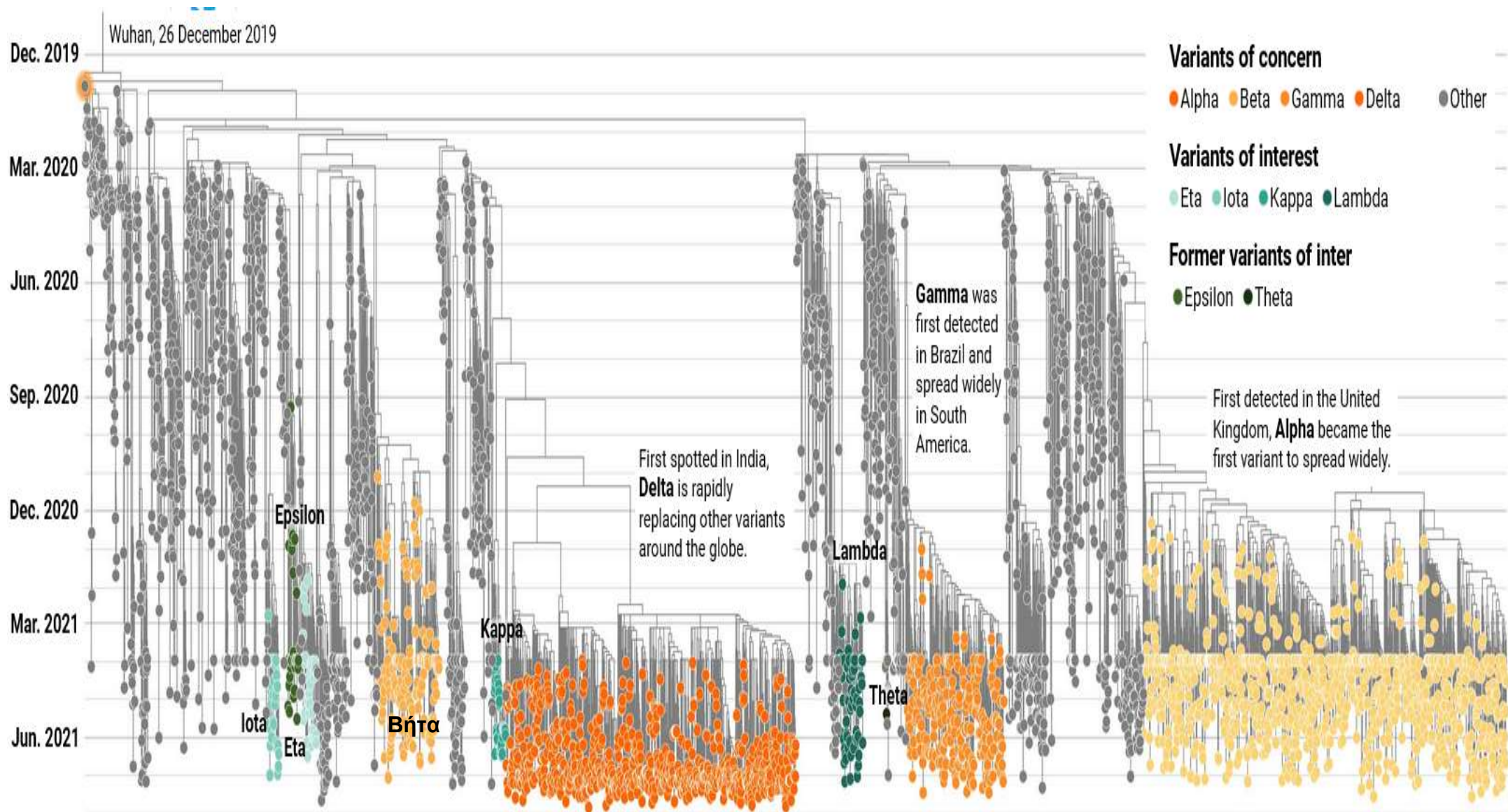
Νέα ιικά στελέχη με συγκεκριμένες νουκλεοτιδικές αντικαταστάσεις

SARS-CoV-2 Variant of Concern (VOC) Global Trends

Percentage of Genome Sequences on GISAID by Sample Collection Week



Visualization: Jonathan Gilmour, Pandemic Tracking Collective @pandemictrack
Source: GISAID as of March 21, 2022 • data in the past month is less complete due to submission lag

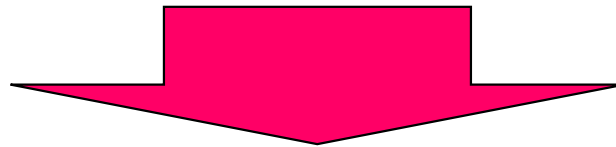


Εξέλιξη των ιών

Μηχανισμοί δημιουργίας
γενετικής ποικιλότητας
(μεταλλάξεις &
ανασυνδυασμοί)



Φυσική επιλογή &
Τυχαία γενετική
παρέκκλιση



Αλλαγή της γενετικής σύνθεσης
του ιικού πληθυσμού στην
πορεία του χρόνου = **Εξέλιξη**

Η εξέλιξη καθοδηγείται από περιορισμούς (φυσική επιλογή) που αφορούν

A) τον ιό

B) το περιβάλλον

Εξέλιξη και περιορισμοί που αφορούν τον ιό

Οι γονιδιωματικές αλληλουχίες των στελεχών ενός ιού που παρατηρούνται στη φύση μπορεί να παραλλάσουν σημαντικά ανάλογα με το είδος αλλά μέχρι κάποιο ποσοστό ($\leq 10 - 20\%$) γιατί χάνεται η βασική λειτουργικότητα των πρωτεϊνών τους

Δομικοί και λειτουργικοί περιορισμοί στις παραλλαγές των ικών πρωτεϊνών

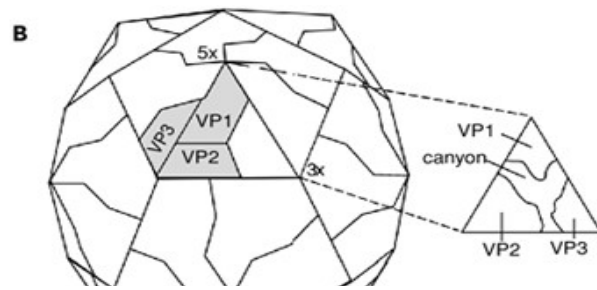
Ορισμένες μεταλλάξεις δεν επιτρέπουν στον ιό να ασκήσει σημαντικές λειτουργίες για την "επιβίωση" του:

- μόλυνση επιτρεπτικών κυττάρων
- πολλαπλασιασμός του ιού και αντιμετώπιση των μηχανισμών φυσικής και επίκτητης ανοσίας
- συγκρότηση του ιικού σωματιδίου
- διασπορά στα συστήματα του ξενιστή και στο περιβάλλον

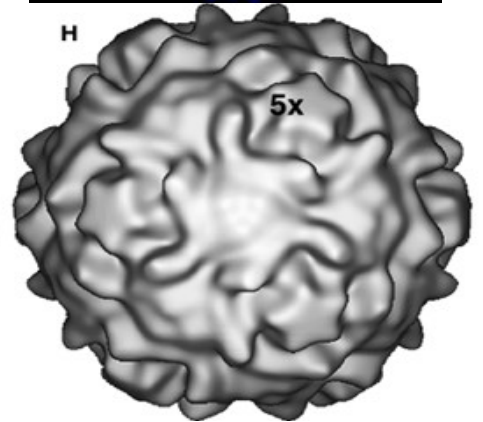
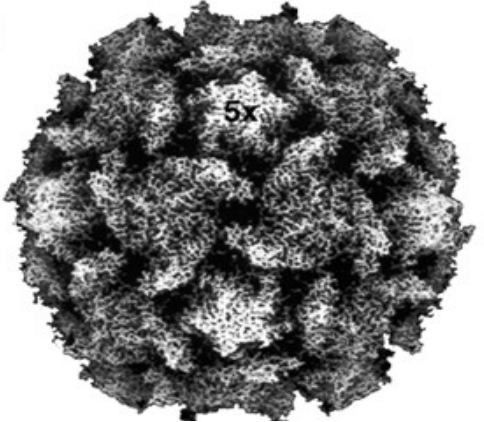
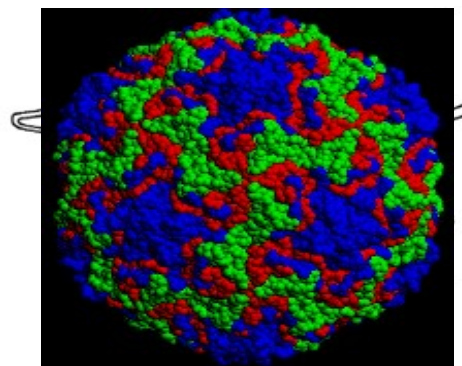
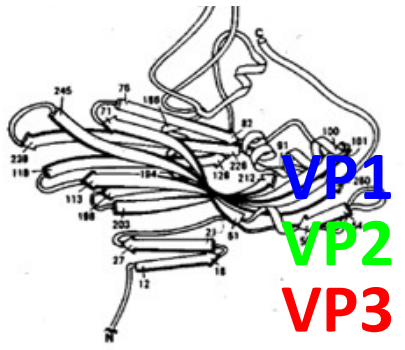
Μηχανισμοί παραγωγής γενετικής ποικιλότητας

ιοί DNA vs RNA

Picornaviridae



- Ιικό σωματίδιο χωρίς περίβλημα
- Αντιϋποδοχείς και αντιγονικοί επίτοποι βρίσκονται στην εξωτερική επιφάνεια του καψιδίου
- Καψίδιο: εικοσαεδρικό
- Γένωμα: μονόκλωνο RNA θετικής πολικότητας 7.2-8.4 kb

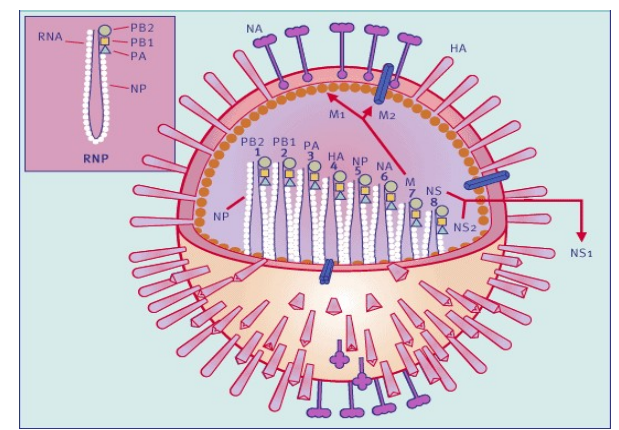
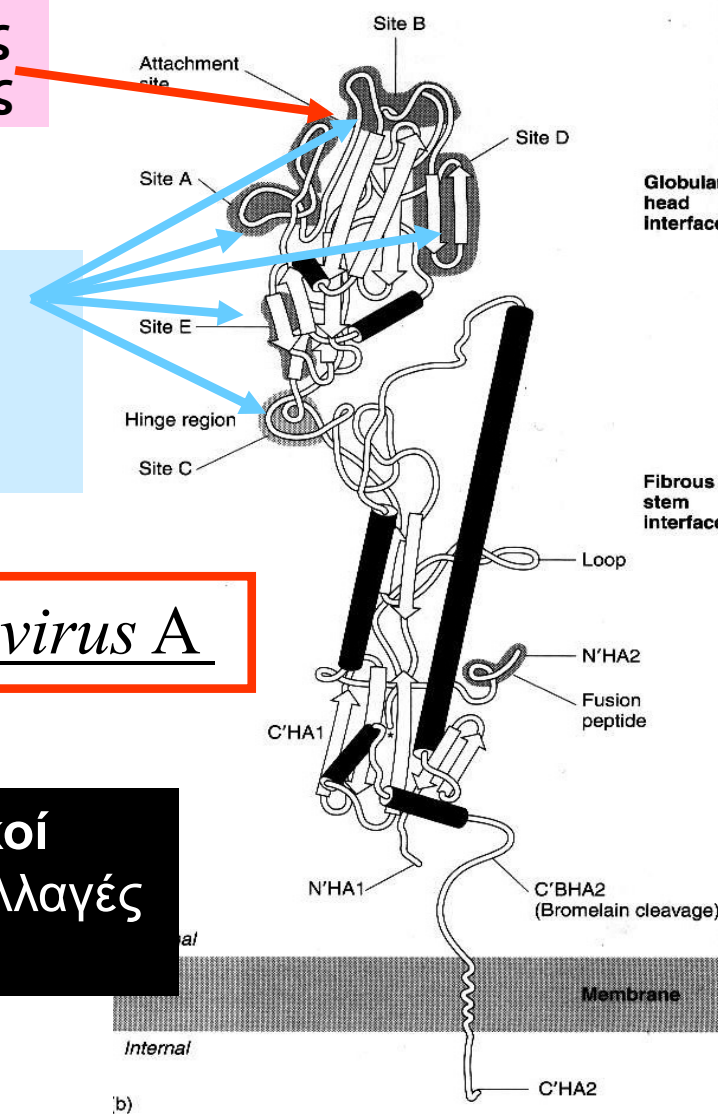


Αντιυποδοχέας σιαλικού οξέως

Μεταβλητές αντιγονικές περιοχές (Επίτοποι)

Influenzavirus A

δομικοί και λειτουργικοί περιορισμοί στις μεταλλαγές ιικών πρωτεϊνών



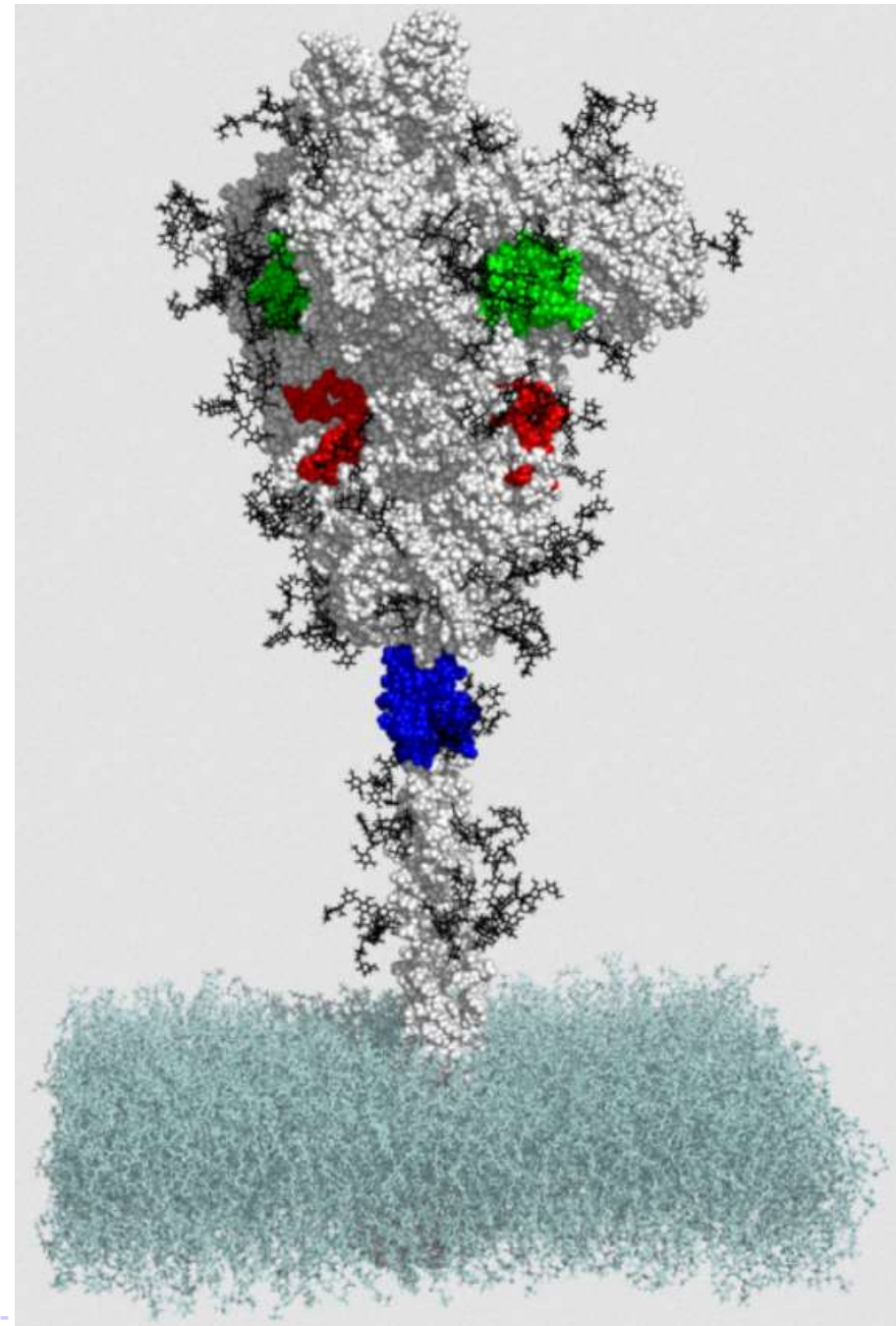
CORONAVIRUS

Human neutralizing antibodies to cold linear epitopes and subdomain 1 of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein

Filippo Bianchini^{1†}, Virginia Crivelli^{1†}, Morgan E. Abernathy^{2†}, Concetta Guerra^{1†}, Martin Palus^{3,4†}, Jonathan Muri¹, Harold Marcotte⁵, Antonio Piralla⁶, Mattia Pedotti¹, Raoul De Gasparo¹, Luca Simonelli¹, Milos Matkovic¹, Chiara Toscano¹, Maira Biggiogero⁷, Veronica Calvaruso⁷, Pavel Svoboda^{3,4,8,9}, Tomás Cervantes Rincón¹, Tommaso Fava¹, Lucie Podešvová¹, Akanksha A. Shanbhag¹, Andrea Celoria¹, Jacopo Sgrignani¹, Michal Stefanik^{4,10}, Vaclav Hönig^{3,4}, Veronika Pranclova^{3,11}, Tereza Michalcikova¹², Jan Prochazka¹², Giuditta Guerrini¹³, Dora Mehn¹³, Annalisa Ciabattini¹⁴, Hassan Abohassani^{5,15}, David Jarrossay¹, Mariagrazia Uguccioni¹, Donata Medagliani¹⁴, Qiang Pan-Hammarström⁵, Luigi Calzolari¹³, Daniel Fernandez¹⁶, Fausto Baldanti^{17,6}, Alessandra Franzetti-Pellanda⁷, Christian Garzoni¹⁸, Radislav Sedlacek¹², Daniel Ruzek^{3,4,8*}, Luca Varani^{1*}, Andrea Cavalli^{1,19*}, Christopher O. Barnes^{2,20*}, Davide F. Robbiani^{1*}

A group of researchers used coldspot-guided antibody discovery (a screening approach that focuses on portions of the virus spike glycoprotein that are both functionally relevant and averse to change) to identify antibodies directed toward highly conserved viral epitopes that recognize all SARS-CoV-2 variants and other coronaviruses. Screening through over 10 million coronavirus sequences, researchers discovered areas of the spike protein of the virus that were remarkably conserved.

<https://www.genengnews.com/virology/coronavirus/broad-range-antibodies-neutralize-all-sars-cov-2-variants-and-other-coronaviruses/>



Εξέλιξη και περιορισμοί που αφορούν το περιβάλλον

Οικολογικός θώκος ή οικόθεση / ecological niche)

Στους ιούς η οικόθεση αφορά:

- κύτταρα ξενιστές / συστήματα ξενιστή / είδη ξενιστών / κοινότητες ξενιστών
- Παράγοντες που επιτρέπουν τη **διασπορά** και **διατήρηση του ιού στους πληθυσμούς** των ξενιστών
(π.χ. υγρασία, θερμοκρασία, παρουσία εντόμων διαβιβαστών, μέγεθος, πυκνότητα και κινητικότητα πληθυσμών, ανοσία ή ανοσοκαταστολή κλπ)

Εξέλιξη και περιβάλλον

- Αλληλεπίδραση με τις λειτουργίες του κυττάρου
- Αλληλεπίδραση με τον ξενιστή (συστήματα ανοσολογική απάντηση κλπ)
- Διάδοση και διατήρηση του ιού στον πληθυσμό

Οι περισσότερες νέες μεταλλάξεις δεν καταφέρνουν να εγκατασταθούν στους ιικούς πληθυσμούς

Ορισμένες όμως έχουν πλεονέκτημα λόγω καλύτερης προσαρμογής

Φυσική Επιλογή

Η εξέλιξη στους ιούς εξαρτάται από:

1. Τη **δυνατότητα για ταχεία αύξηση γενετικής ποικιλότητας** (ρυθμοί μεταλλάξεων, μέγεθος πληθυσμού, χρόνος γενεάς)
2. **Δομικούς και λειτουργικούς περιορισμούς** ιικών πρωτεϊνών ή τμημάτων τους (συγκεκριμένα τμήματα μιας πρωτεΐνης, παρουσιάζουν σημαντικούς περιορισμούς ως προς τη βασική της λειτουργικότητα σε περίπτωση μεταλλαγής)
3. Τις **πιέσεις επιλογής** που ασκούνται από το περιβάλλον στις νέες παραλλαγμένες γονιδιωματικές αλληλουχίες

Οι πιέσεις επιλογής αφορούν:

- **Ανάγκη ταυτόχρονης προσαρμογής** του ιού σε **ποικίλα περιβάλλοντα** (κύτταρα, ιστοί, είδη ξενιστών, διαβιβαστές)
- **Ανοσία πληθυσμών των ξενιστών**
- **Μηχανισμούς διατήρησης, διασποράς και μετάδοσης** του ιού σε πληθυσμούς και διαφορετικά είδη ξενιστών

Προσαρμογή στο περιβάλλον

Εάν μια γενετική παραλλαγή είναι καλή, ουδέτερη, ή επιβλαβής εξαρτάται από τον τρόπο με τον οποίο επηρεάζει την επιβίωση και την αναπαραγωγική επιτυχία.

Χωρίς παραλλαγές η φυσική επιλογή δεν θα είχε υπόστρωμα για να δράσει

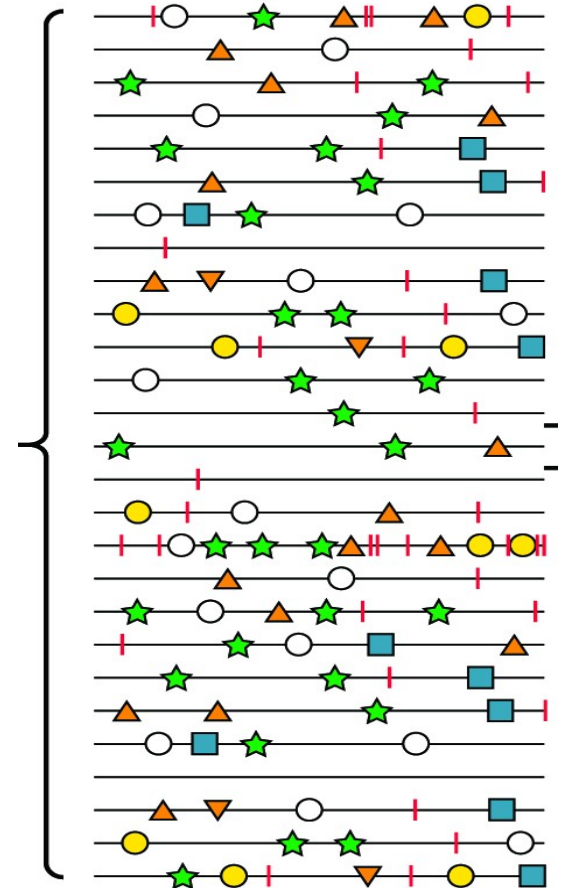
Έννοιες της δαρβινικής σκέψης, όπως «προσαρμογή» και «επιβίωση του καταλληλότερου», αποδίδονται ορθότερα από τις αντίστοιχες έννοιες της «αναπαραγωγικής επιτυχίας» και της «αρμοστικότητας»

Αρμοστικότητα (fitness) των ιών

Εκφράζει το βαθμό προσαρμογής, διασποράς και πολλαπλασιασμού μιας ικής γονιδιωματικής αλληλουχίας σε ένα καθορισμένο περιβάλλον

- Μια ική αλληλουχία έχει **μεγάλη αρμοστικότητα** όταν η **συχνότητα παρουσίας της στον ικό πληθυσμό είναι αυξημένη** σε σχέση με τις λοιπές παραλλαγμένες ικές αλληλουχίες

Γονιδιωματικές αλληλουχίες με μειωμένη αρμοστικότητα εξαλείφονται από τον ικό πληθυσμό ή μειώνεται η συχνότητα τους = **σταθεροποιούσα επιλογή** (stabilizing / negative / purifying selection)

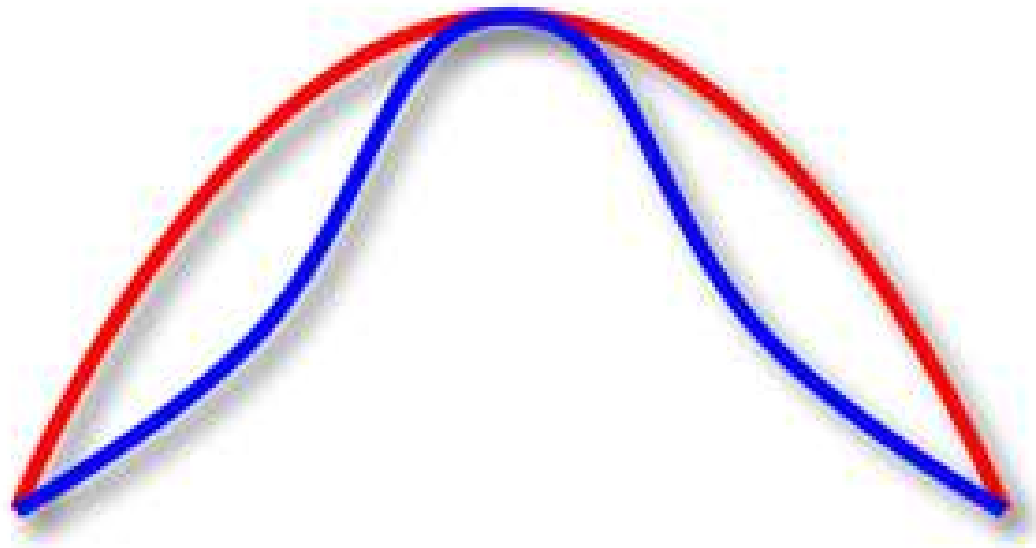


Σταθεροποιούσα επιλογή

(stabilizing / negative / purifying selection)

Συχνότητα στον μικό πληθυσμό

Stabilizing selection



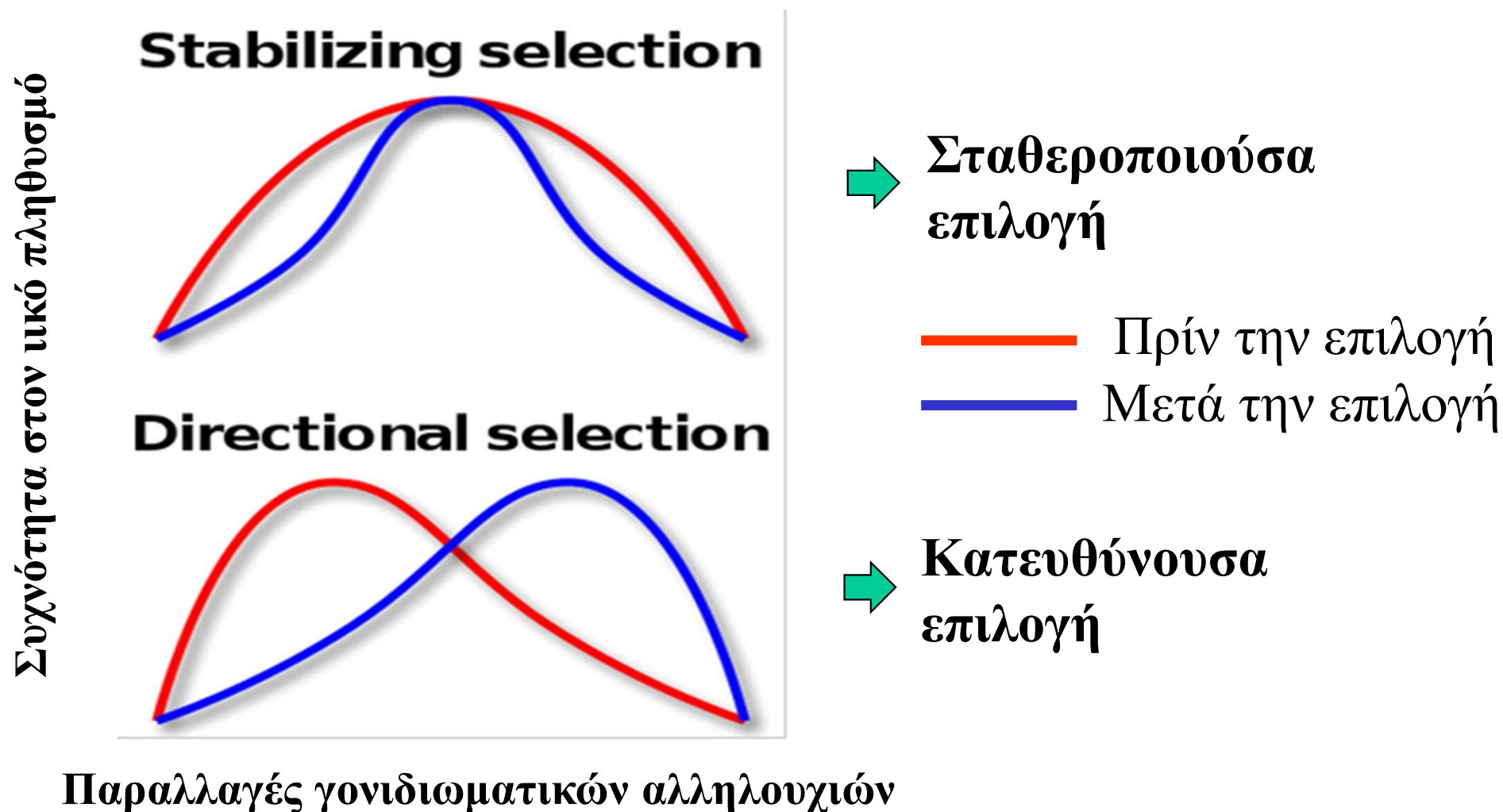
— Πρίν την επιλογή
— Μετά την επιλογή

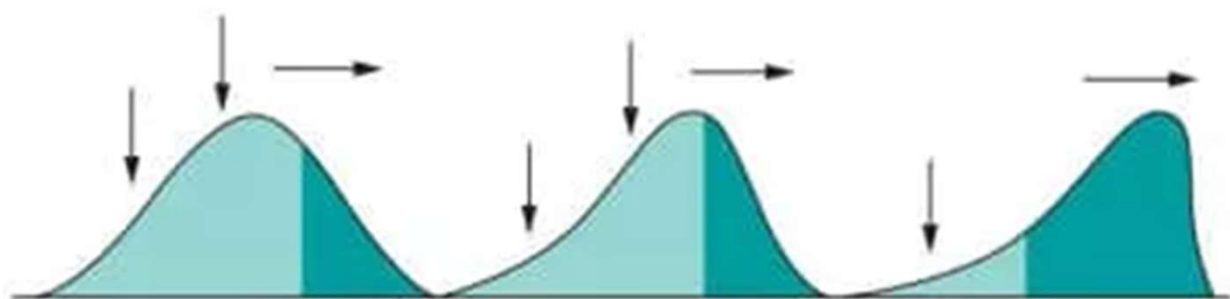
Παραλλαγές γονιδιωματικών αλληλουχιών

Η σταθεροποιούσα επιλογή μειώνει τη γενετική παραλλακτικότητα του μικού πληθυσμού σε ένα άτομο ή στον πληθυσμό των ξενιστών

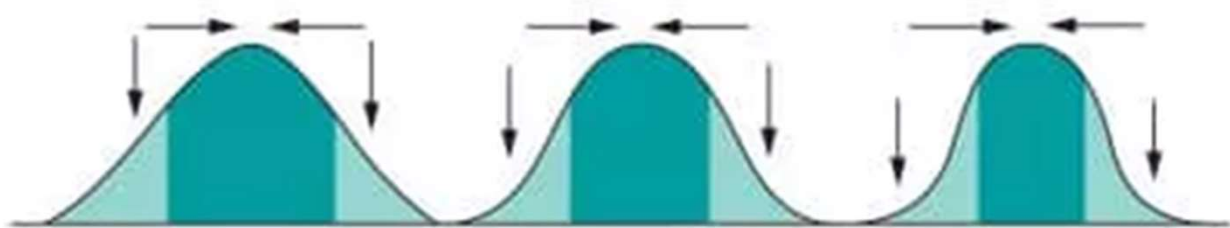
Κατευθύνουσα επιλογή (directional / positive selection)

Η επιλογή γίνεται **κατευθύνουσα** όταν, **μετά από μεταβολή του περιβάλλοντος**, αλλάζει η αρμοστικότητα συγκεκριμένων ιικών γονιδιωματικών αλληλουχιών με αποτέλεσμα την αύξηση της συχνότητάς τους στον ιικό πληθυσμό

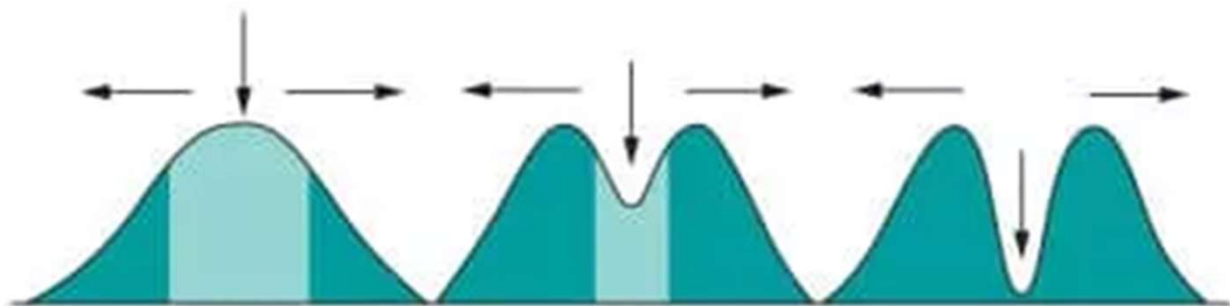




(a) Directional selection



(b) Stabilizing selection

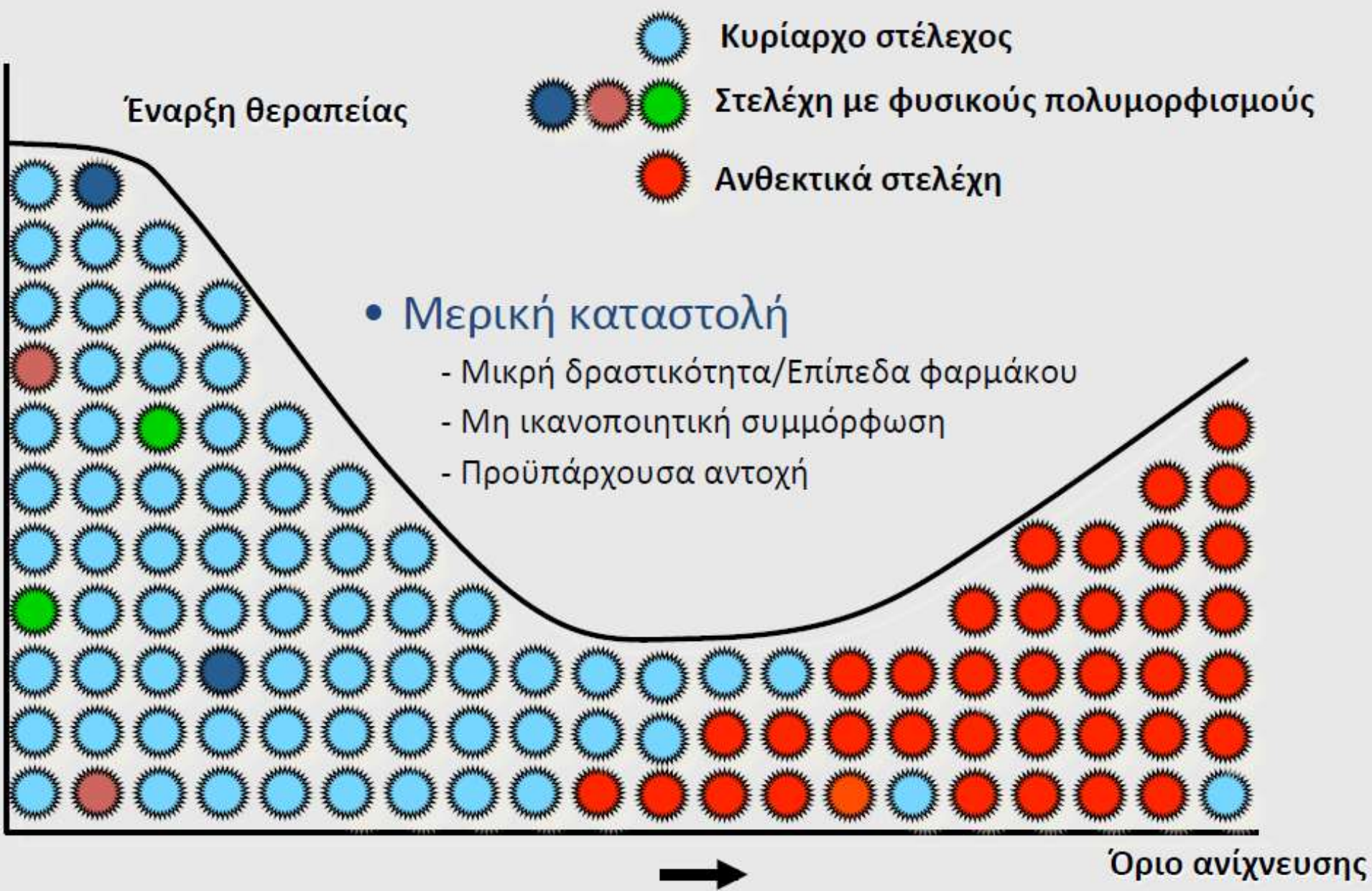


(c) Disruptive selection

Ανάπτυξη αντοχής σε αντιικά φάρμακα

HIV

↑
Πίκος πολλαπλασιασμός



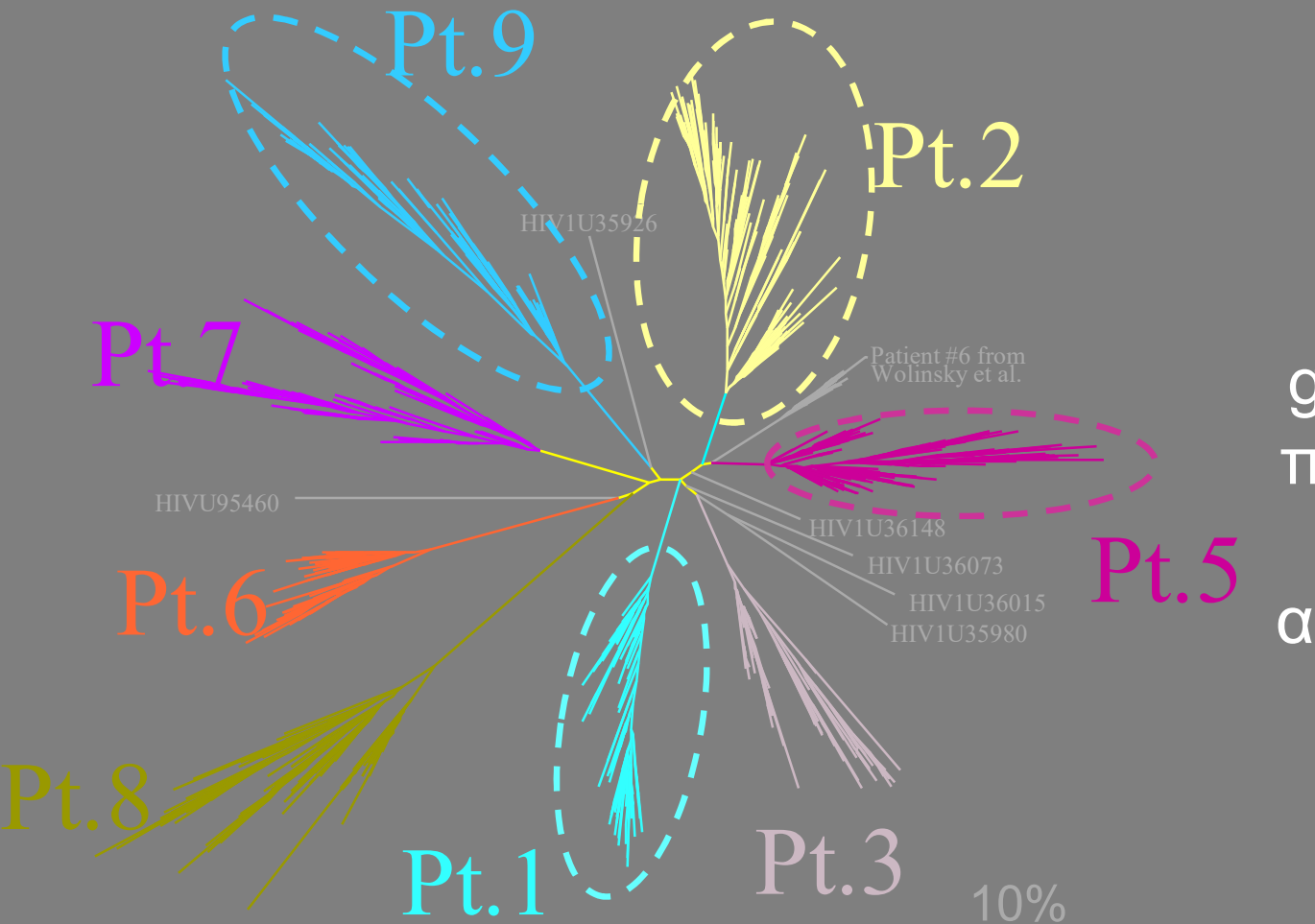
παράδειγμα

Μεταλλάξεις διαφυγής της ανοσίας (κατευθύνουσα επιλογή):

Προκύπτουν ως αποτέλεσμα της εξελικτικής πίεσης που ασκείται στον ιό, στην περίπτωση μιας ατελούς ανοσολογικής απάντησης, όπως όταν ένα άτομο με εξασθενημένο ανοσοποιητικό σύστημα προσπαθεί να εξαλείψει τον ιό για μεγάλο χρονικό διάστημα

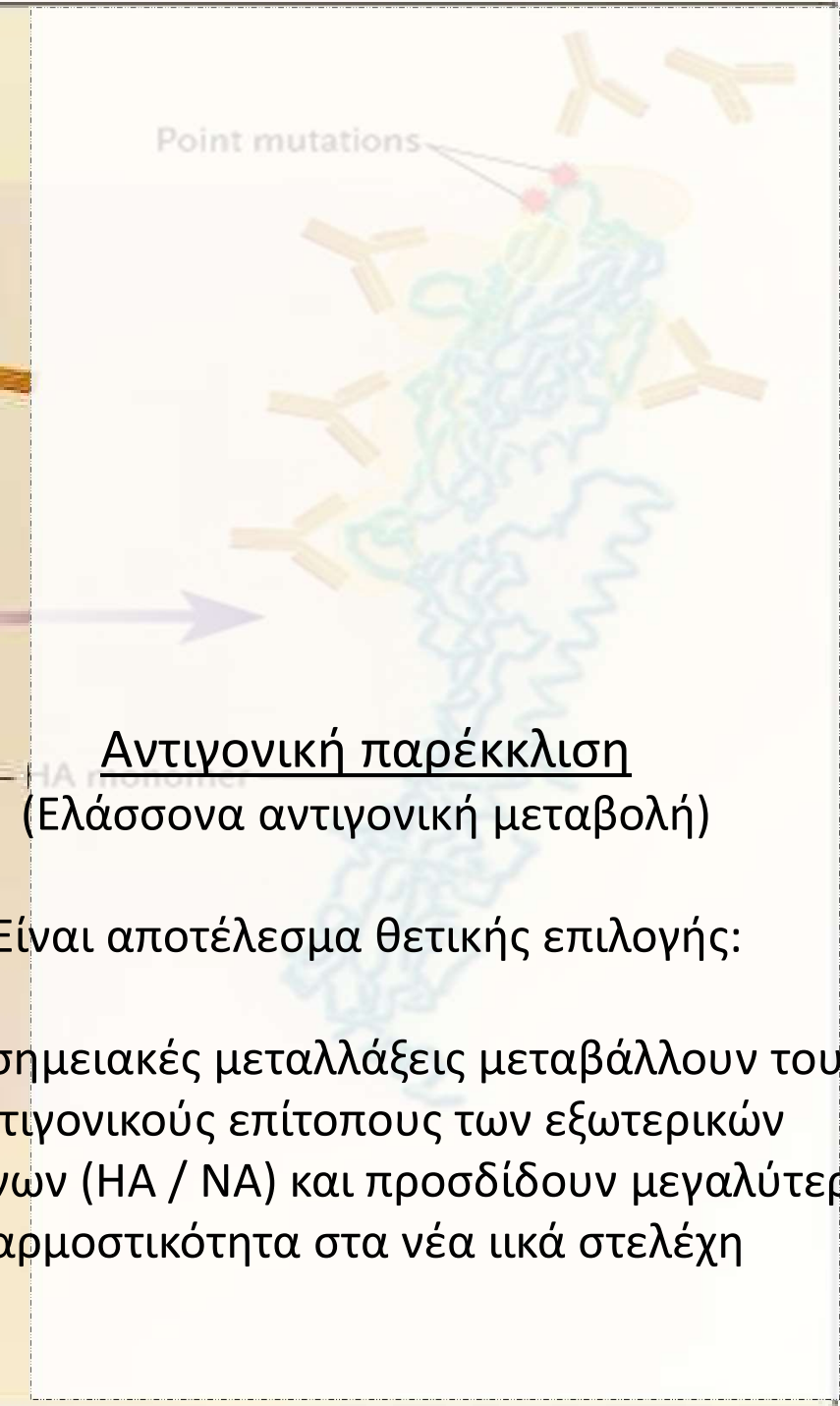
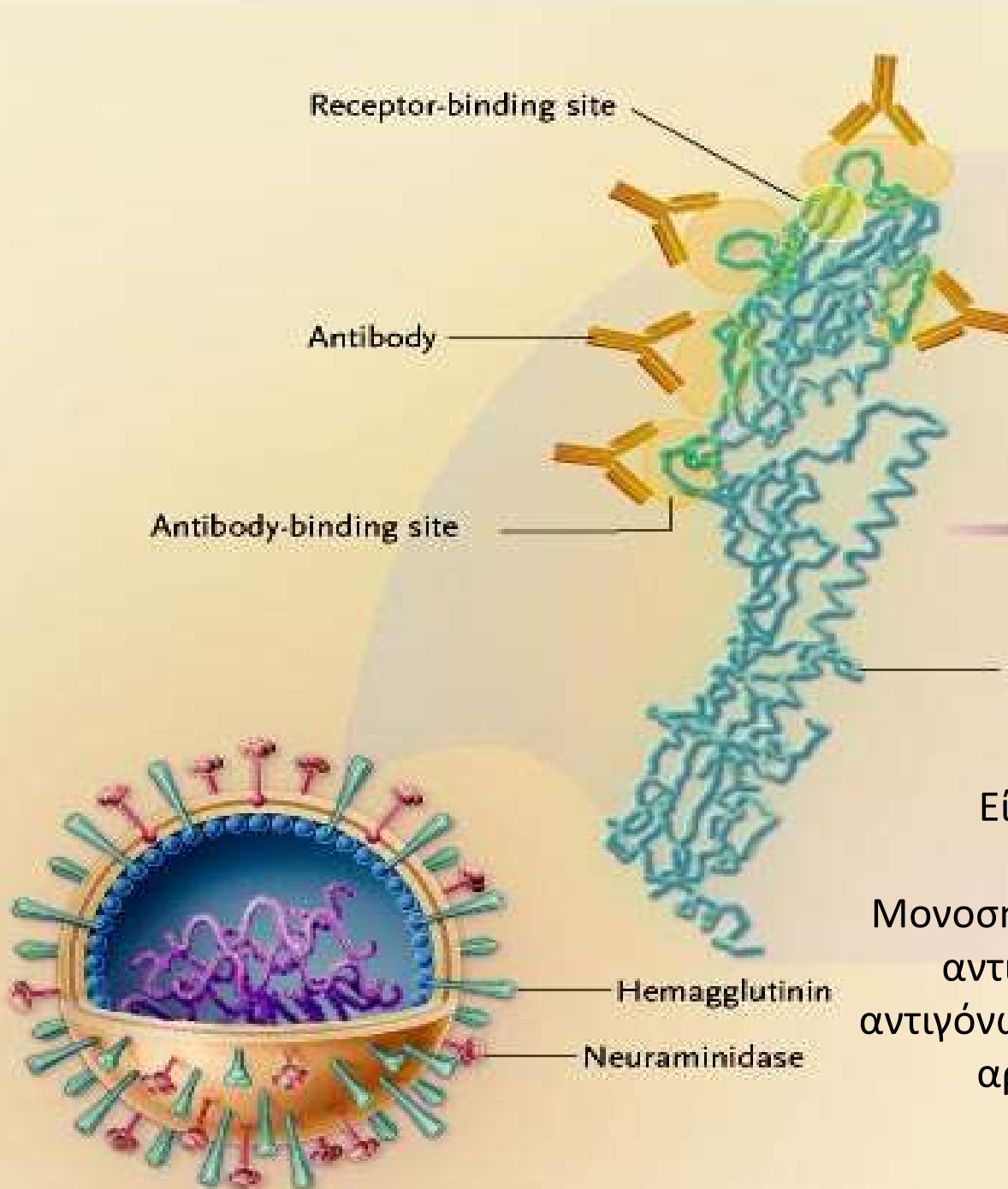
Εξέλιξη του HIV-1 (env) σε εννέα ασθενείς

Γονιδιωματικές αλληλουχίες γλυκοπρωτεϊνών περιβλήματος (gp120 και gp41)



Αντιγονική ποικιλότητα, εξαιτίας της παραγωγής παραλλαγών του γονιδίου env που κωδικοποιεί τις gp120 και gp41. Μόνο όσες παραλλαγές διαφεύγουν της επιτήρησης του ανοσοποιητικού συστήματος επιλέγονται

Influenza A virus

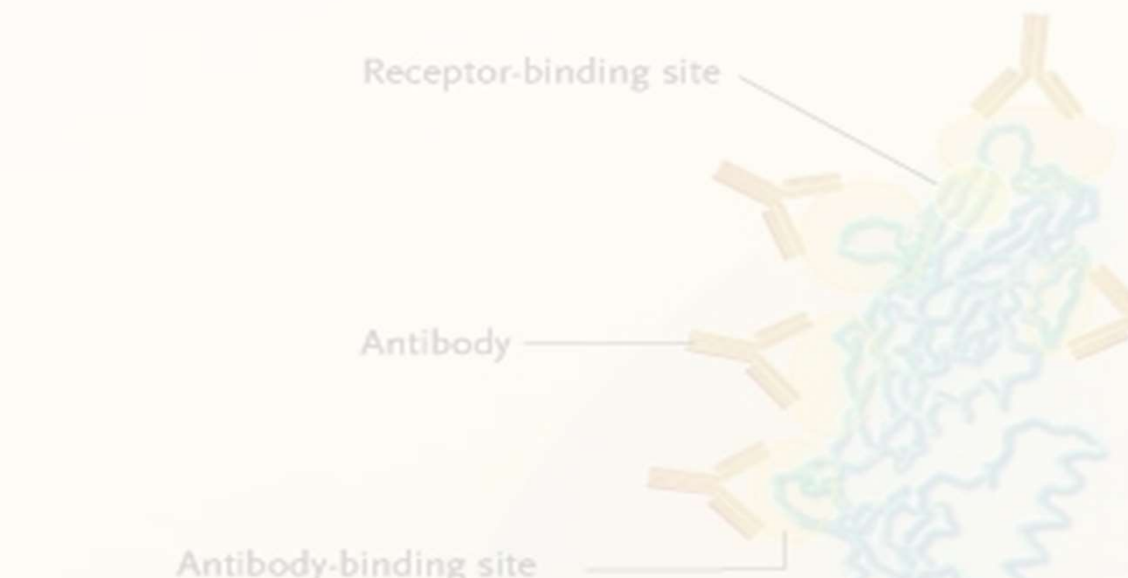


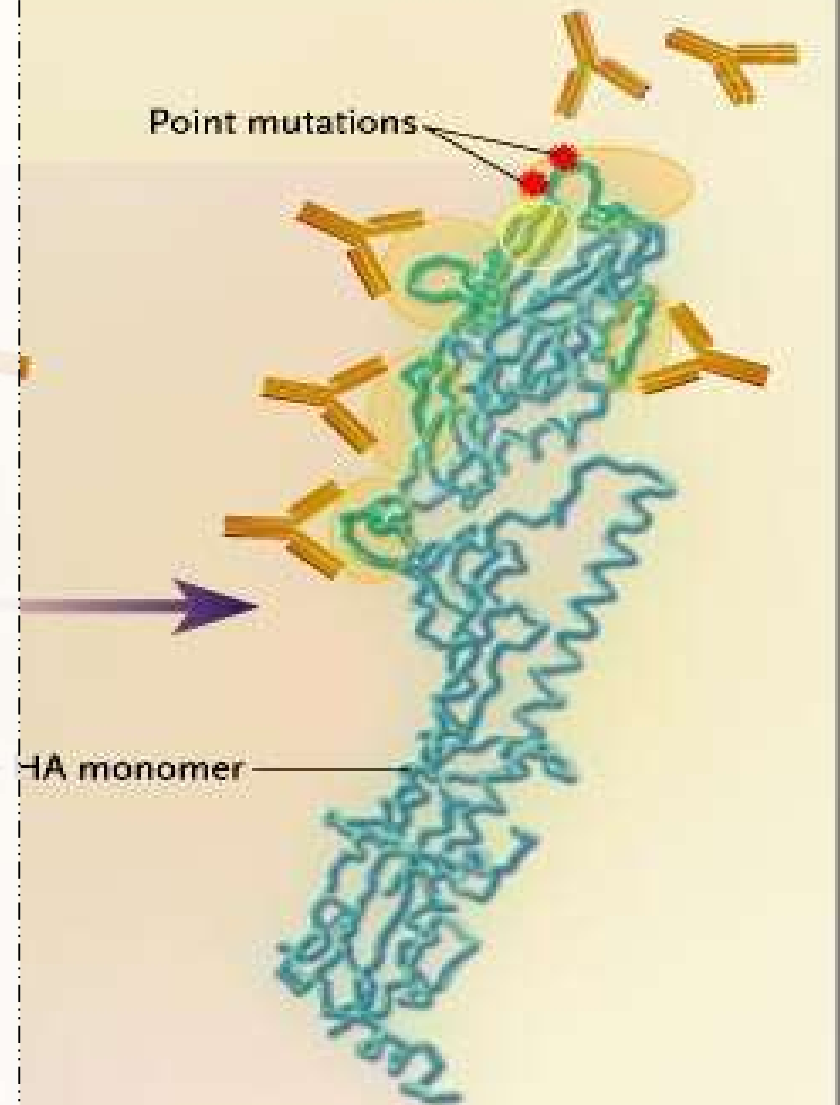
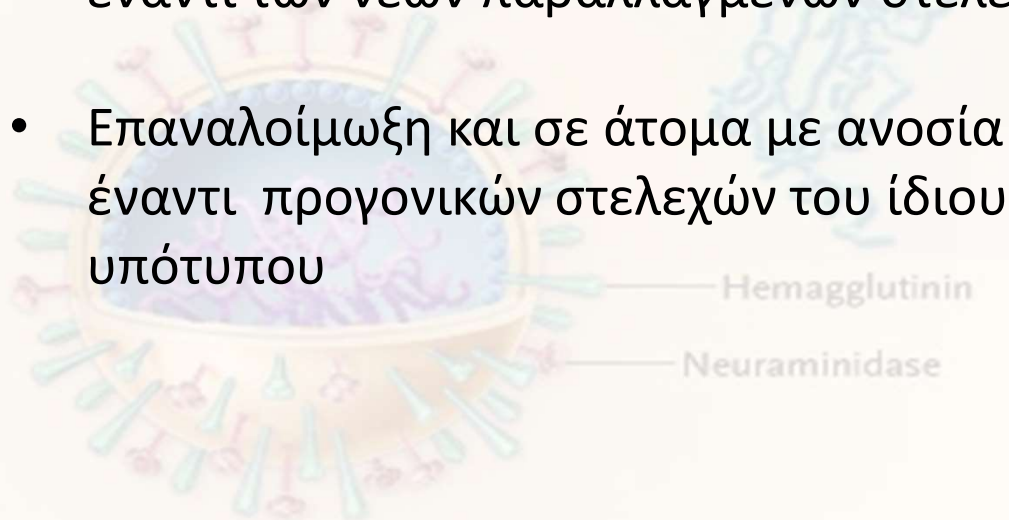
Αντιγονική παρέκκλιση
(Ελάσσονα αντιγονική μεταβολή)

Είναι αποτέλεσμα θετικής επιλογής:

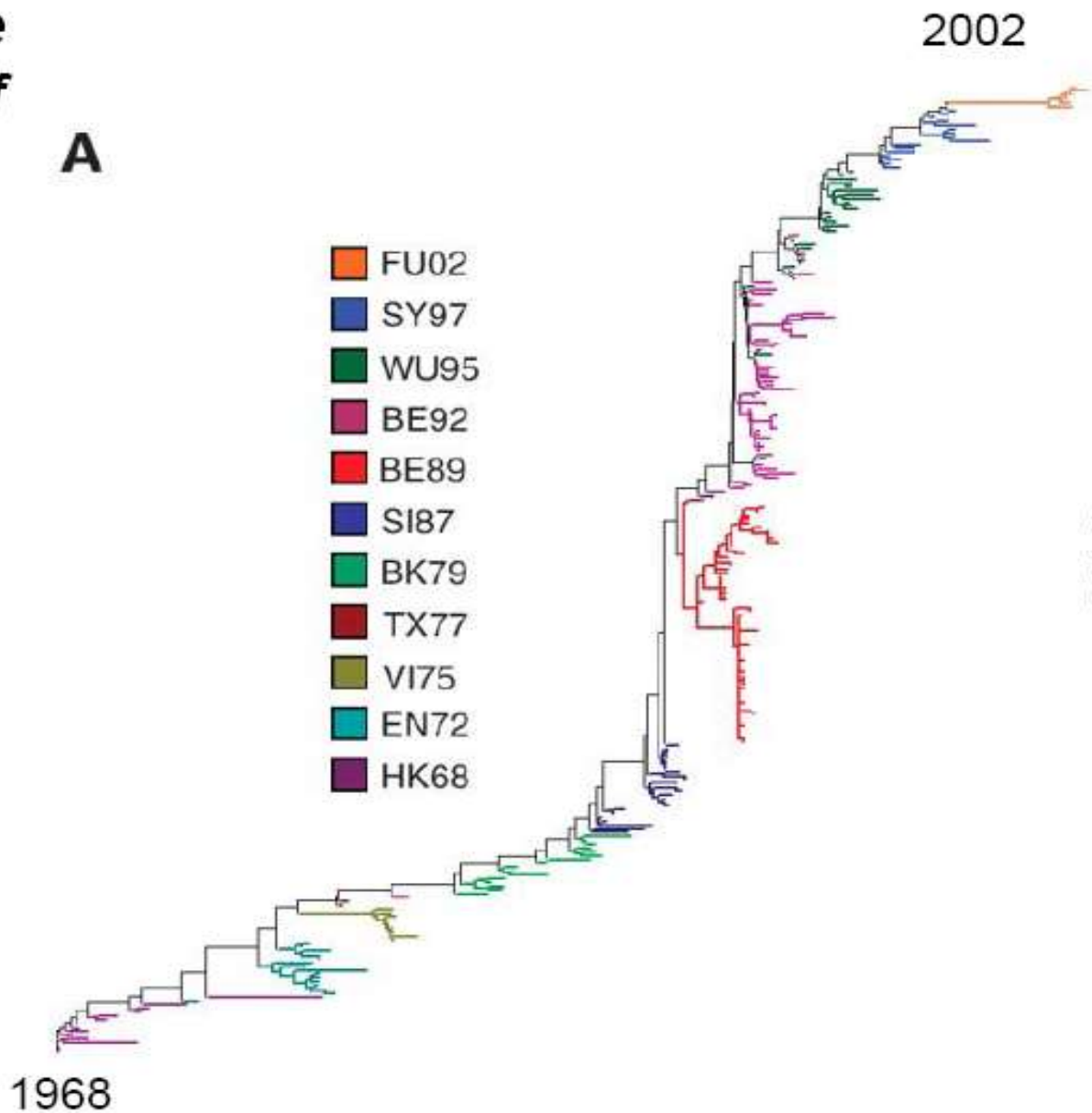
Μονοσημιακές μεταλλάξεις μεταβάλλουν τους αντιγονικούς επίτοπους των εξωτερικών αντιγόνων (HA / NA) και προσδίδουν μεγαλύτερη αρμοστικότητα στα νέα ιικά στελέχη

Influenza A virus

- 
- Οι ξενιστές με προηγούμενη ανοσία έναντι του ιού δεν έχουν ικανοποιητική προστασία έναντι των νέων παραλλαγμένων στελεχών
 - Επαναλοίμωξη και σε άτομα με ανοσία έναντι προγονικών στελεχών του ίδιου υπότυπου



**Evolutionary change
("Antigenic Drift") of
Human Influenza A
H3N2 over the past
40 years.**



Εξέλιξη ιών

Κατευθύνουσα επιλογή

C

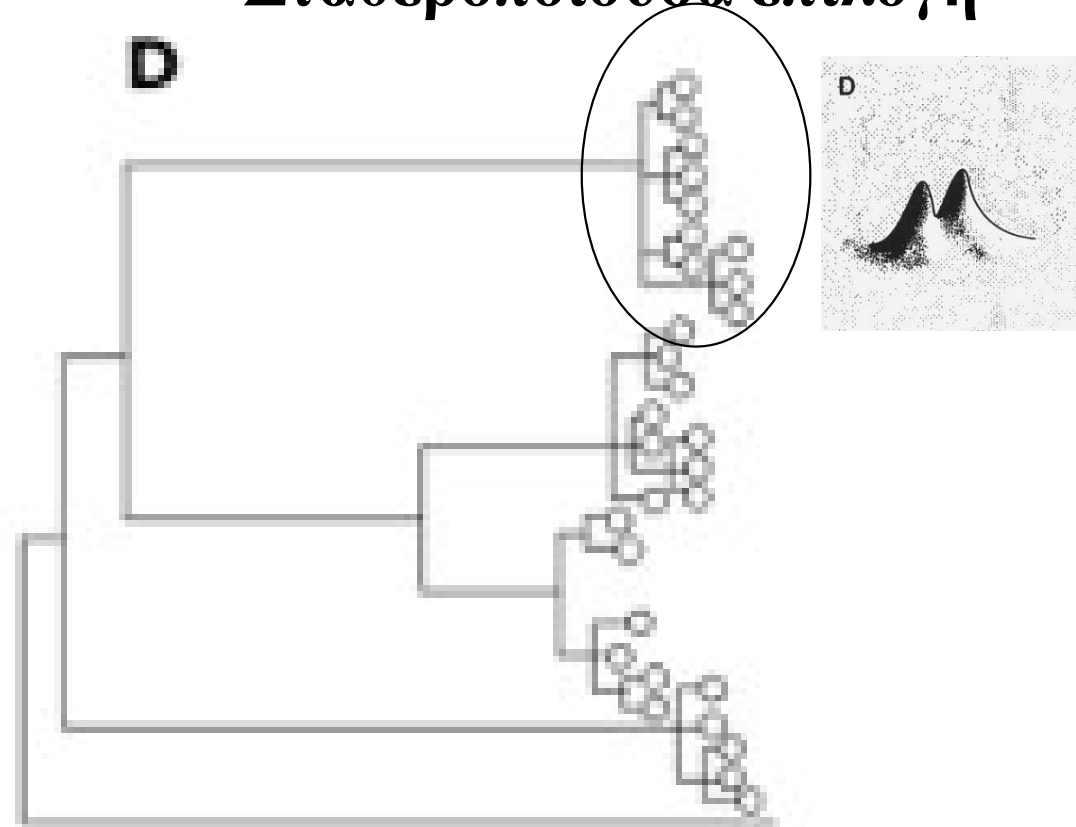


Το μήκος των
βραχιόνων
ανταποκρίνεται
στην εξελικτική
απόσταση

Οι ιικές αλληλουχίες που εντοπίζονται στους πληθυσμούς του ξενιστή καθώς και η συχνότητά τους, αλλάζουν σημαντικά στην πορεία του χρόνου
Ο ιός εξελίσσεται

Σταθεροποιούσα επιλογή

D

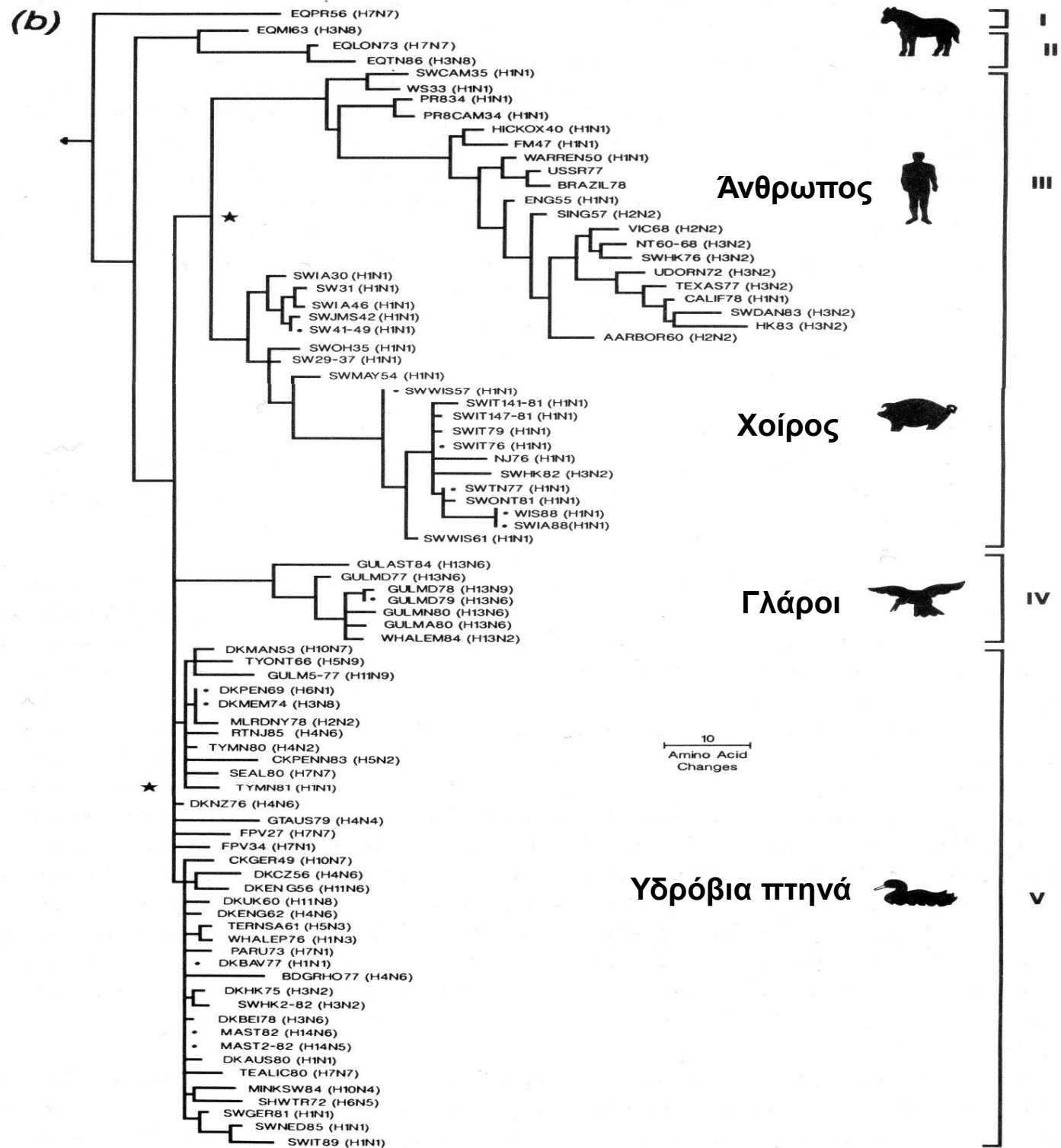


Οι ιικές αλληλουχίες που εντοπίζονται στους πληθυσμούς του ξενιστή και η συχνότητά τους δεν μεταβάλλονται σημαντικά στην πορεία του χρόνου
Ο ιός δεν εξελίσσεται

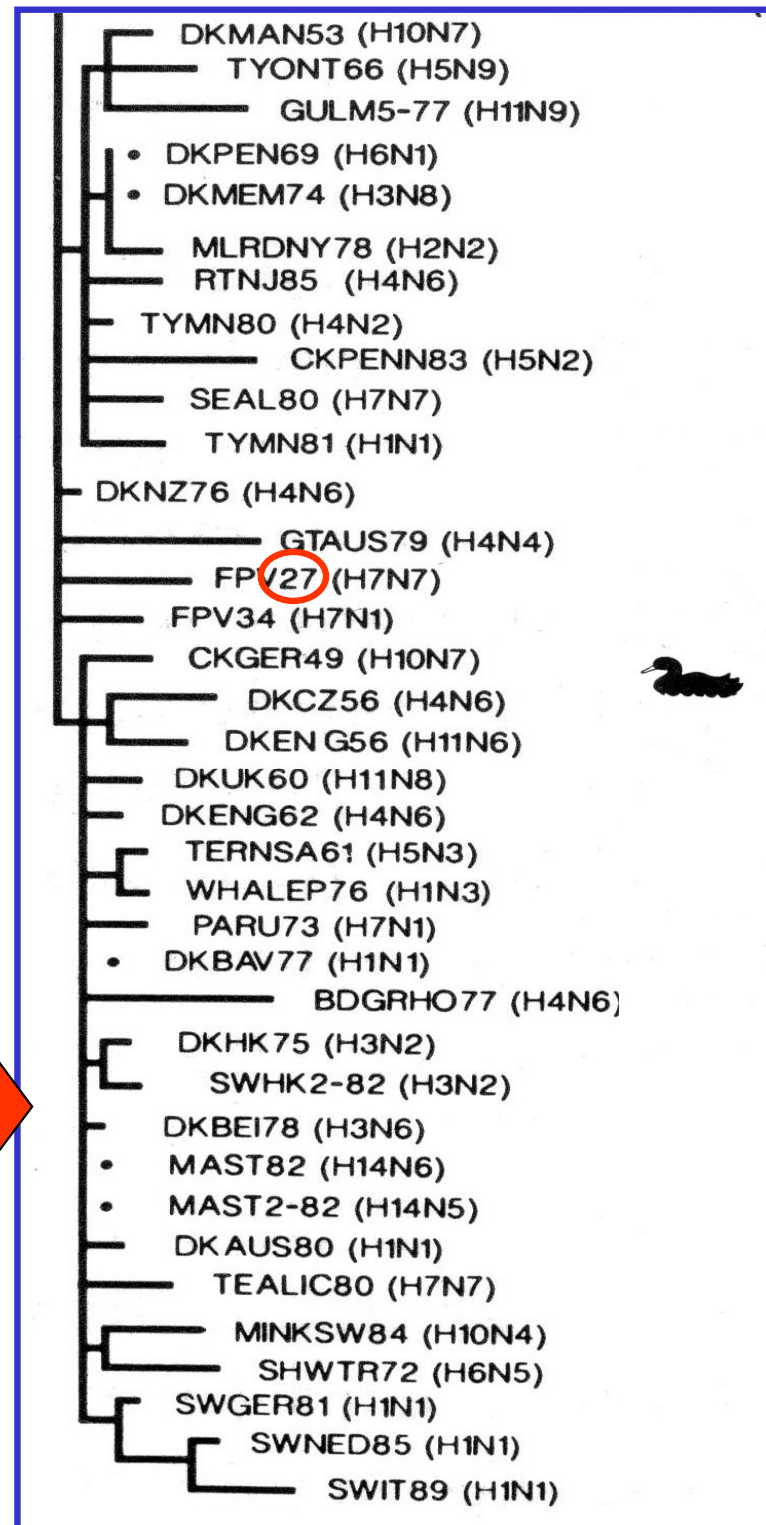
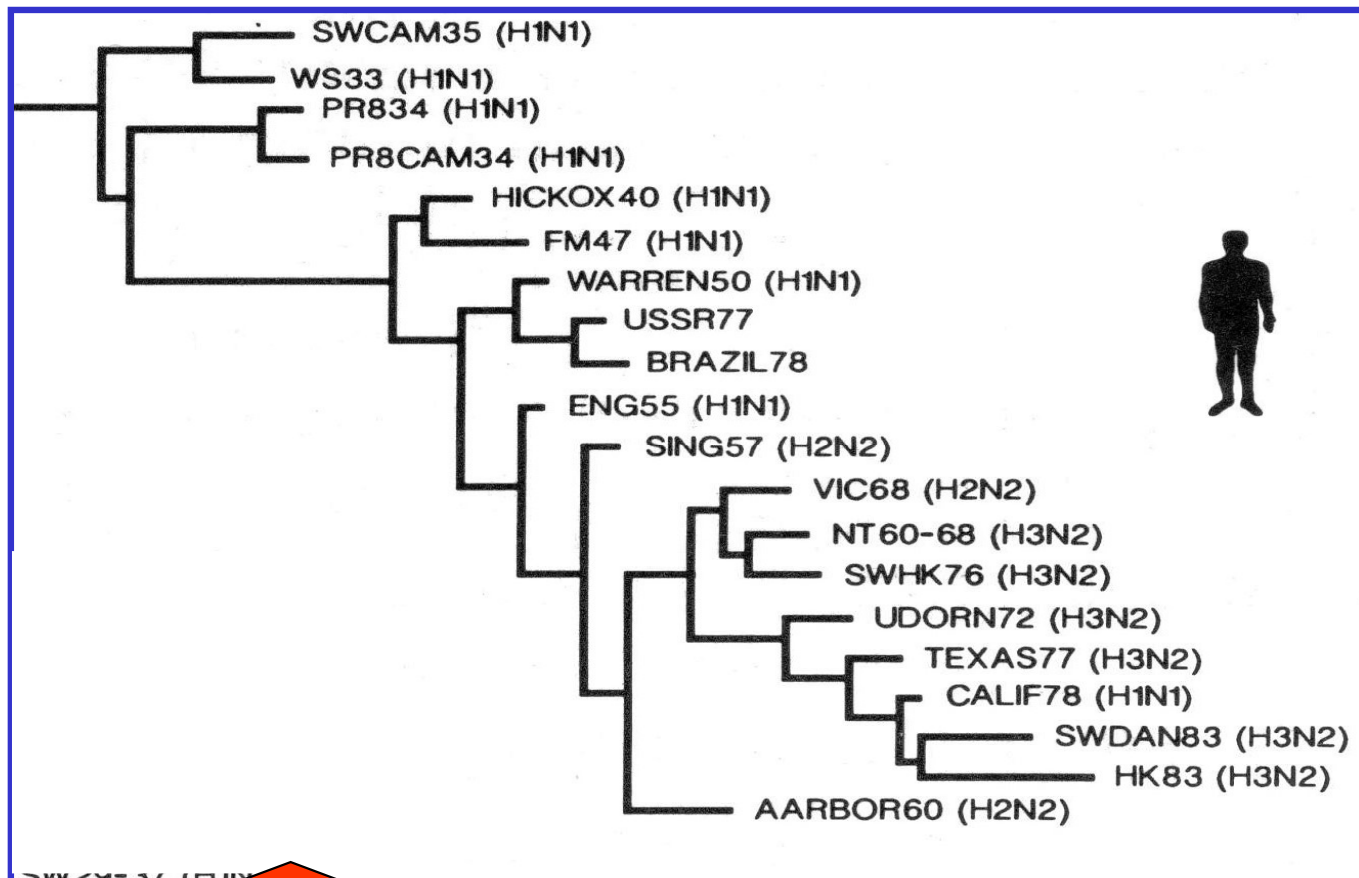
Influenzavirus A γονίδιο νουκλεοπρωτεΐνης

Φυλογενετική ανάλυση πρωτεϊνικών αλληλουχιών

Το μήκος των βραχιόνων
εκφράζει την εξελικτική
απόσταση



Influenzavirus A, γονίδιο νουκλεοπροτεΐνης



Άνθρωπος
Κατευθύνουσα επιλογή

Εξέλιξη

Μη βέλτιστη προσαρμογή
στον ξενιστή

Αυξημένη λοιμογόνος δύναμη

Υδρόβια πτηνά
Σταθεροποιούσα επιλογή

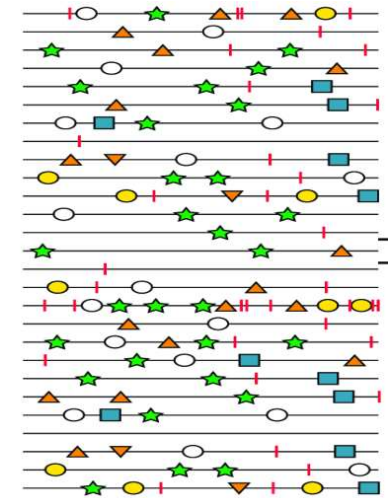
Στάση εξέλιξης

Βέλτιστη προσαρμογή
στον ξενιστή

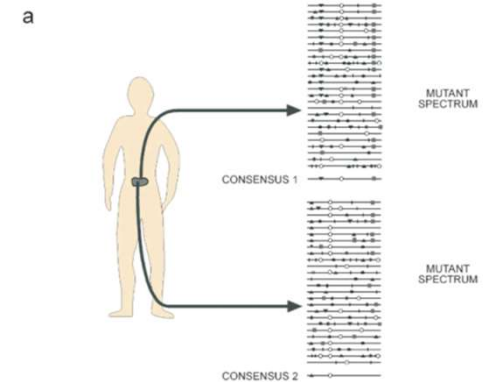
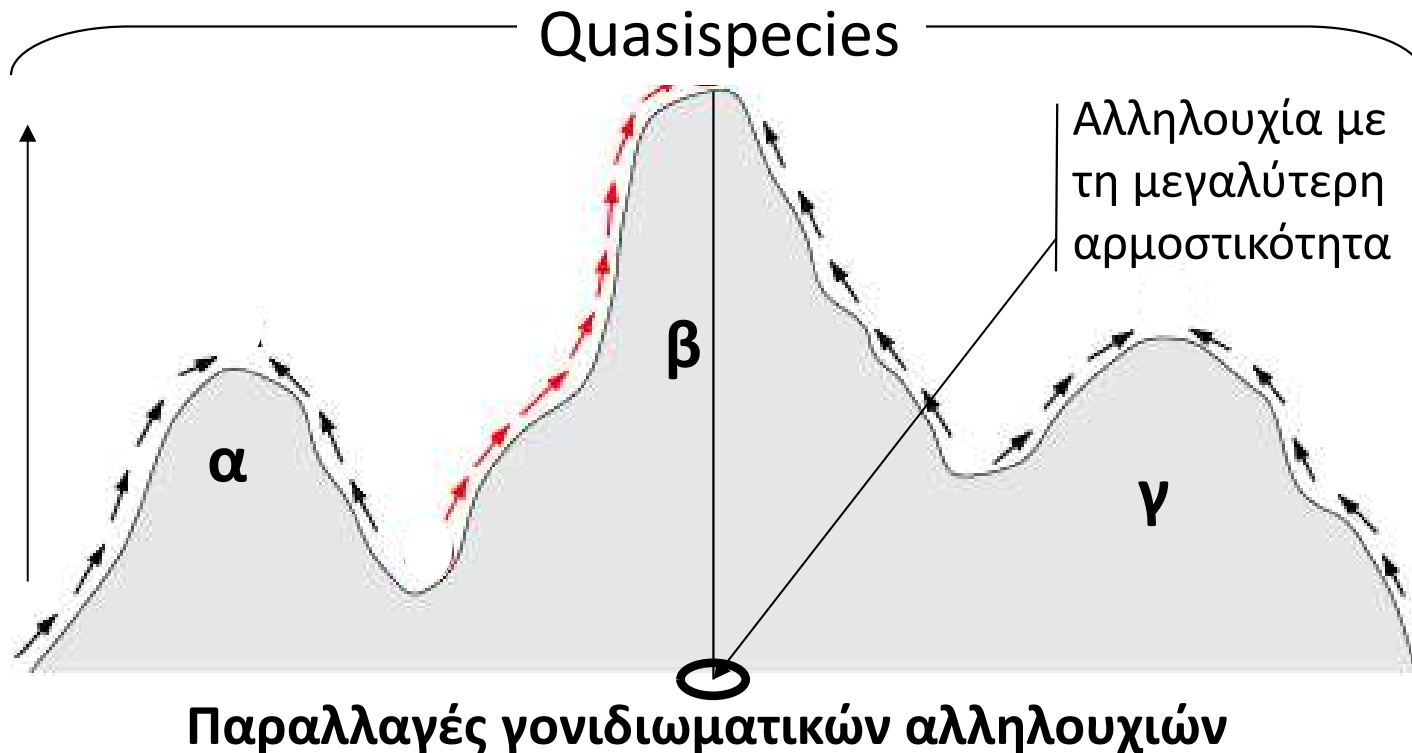
Ασυμπτωματικές
Λοιμώσεις

"Quasispecies" στους RNA ιούς

- Κατά τον πολλαπλασιασμό των RNA ιών, παράγεται μεγάλος αριθμός μεταλλαγμένων γονιδιωματικών αλληλουχιών. Μερικές από αυτές έχουν υψηλή αρμοστικότητα στον εκάστοτε ξενιστή.
- Στον ξενιστή οι πληθυσμοί των RNA του ιού συνήθως δεν αποτελούνται από αντίγραφα μιας αλληλουχίας αλλά από **διαφορετικές επιμέρους γενετικές ομάδες (quasispecies)**, κάθε μια από τις οποίες περιλαμβάνει γονιδιωματικές αλληλουχίες που έχουν πολύ μικρή εξελικτική απόσταση μεταξύ τους
- Η αρμοστικότητα της κάθε αλληλουχίας είναι διαφορετική

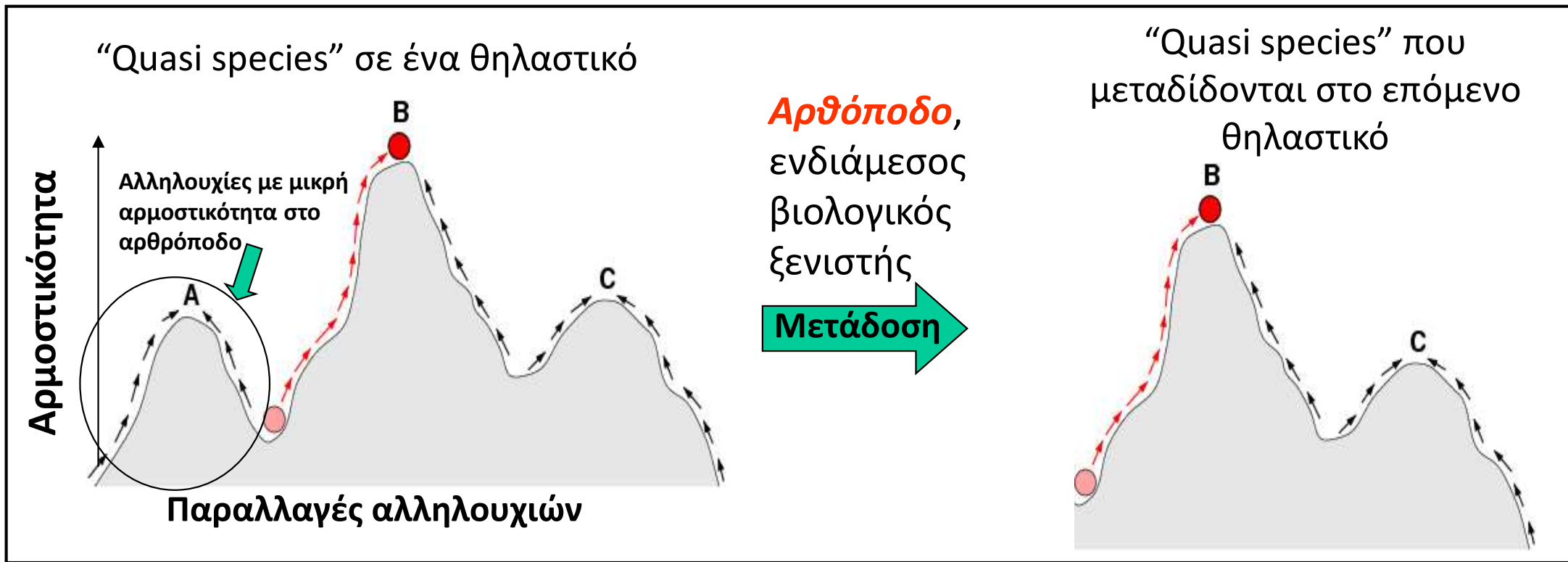


Συχνότητα στον ιικό πληθυσμό



Μετάδοση των “quasi species” αρμποϊών

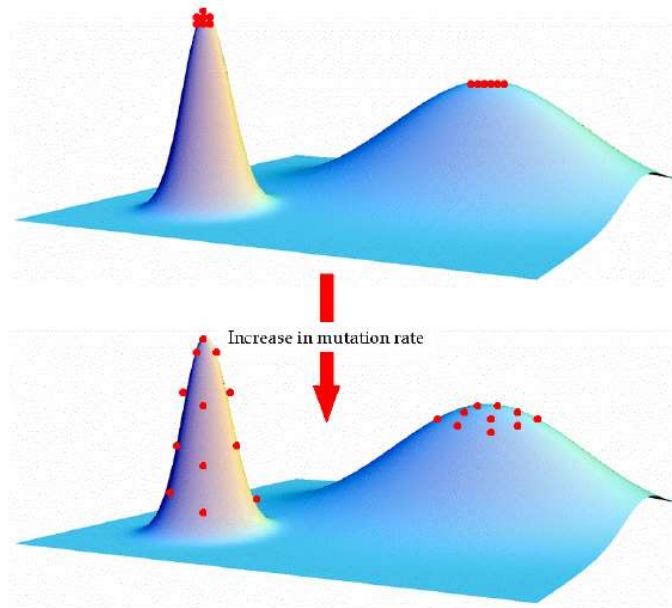
- Οι RNA ιοί που μεταδίδονται με αρθρόποδα υφίστανται **σημαντική σταθεροποιούσα επιλογή** που μειώνει σημαντικά τη γενετική τους ποικιλότητα σε σύγκριση με τους υπόλοιπους RNA ιούς



- Απαιτείται διαδοχική προσαρμογή σε πολύ διαφορετικούς ξενιστές (σπονδυλωτά ↔ αρθρόποδα) κατά τους κύκλους μετάδοσης του ιού
- Οι αλληλουχίες του ιού που επιλέγονται πρέπει να έχουν αρμοστικότητα και στα δύο είδη ξενιστών με αποτέλεσμα την μείωση της γενετικής ποικιλότητας στον μικρό πληθυσμό

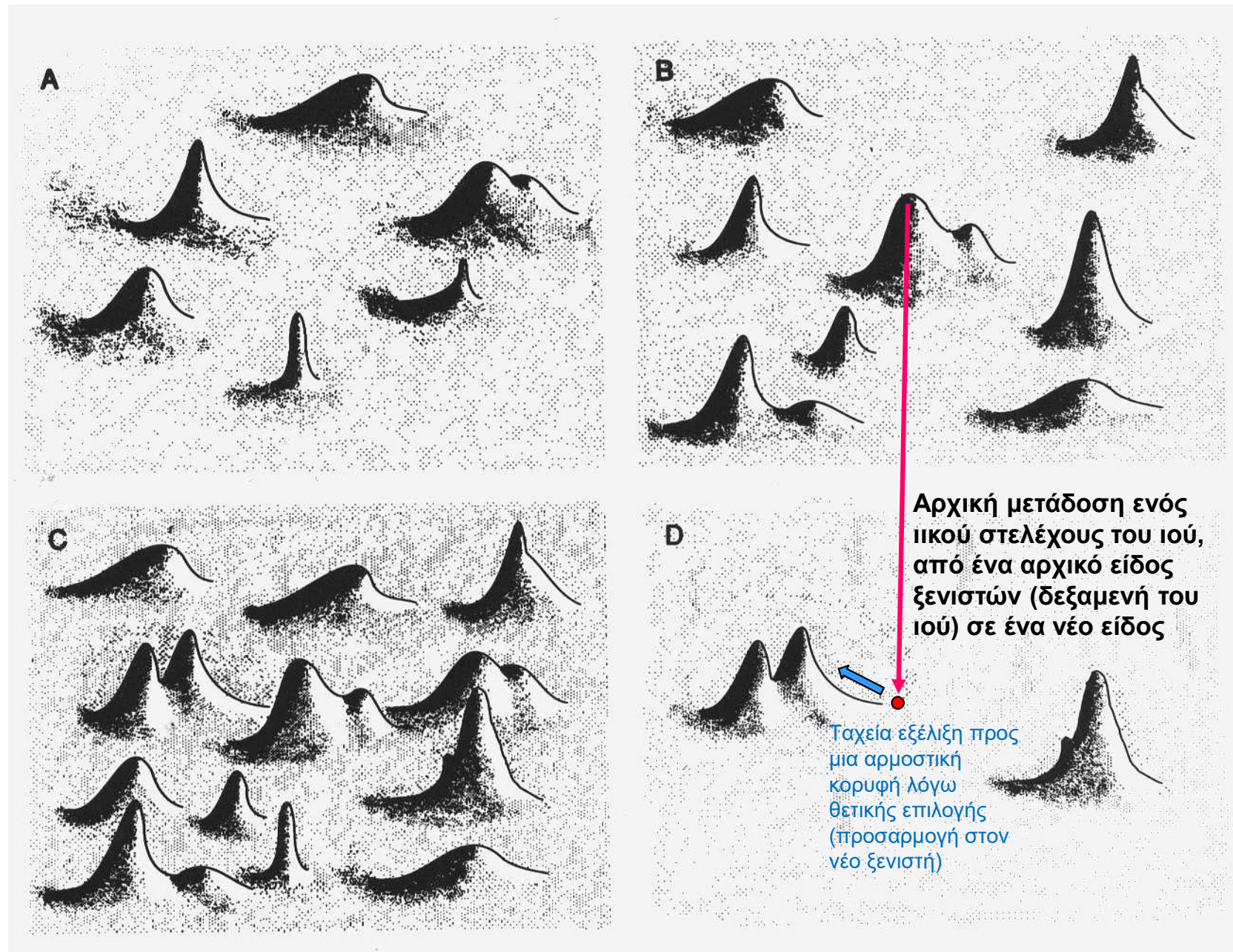
Προσαρμοστικό τοπίο (adaptive landscape)

Σχήμα προσαρμοστικών κορυφών και κοιλάδων των διαφορετικών ικών αλληλουχιών σε ένα συγκεκριμένο **περιβάλλον** (κύτταρα, ιστοί, τρόπος διασποράς στους ξενιστές, είδη ξενιστών, πληθυσμοί ξενιστών, κινητικότητα ξενιστών)



- Κάθε πιθανή παραλλαγή ικής αλληλουχίας αντιπροσωπεύεται από ένα σημείο στο οριζόντιο πλαίσιο δύο διαστάσεων. Οι αλληλουχίες που γειτνιάζουν έχουν μεγάλη γενετική συγγένεια. Η **διάσταση του ύψους** στον τρισδιάστατο χώρο **εκφράζει την αρμοστικότητα** της κάθε παραλλαγής
- Η **σταθεροποιούσα επιλογή** εξαλείφει από τον πληθυσμό του ιού όσες παραλλαγές βρίσκονται στις κοιλάδες του σχήματος

Το προσαρμοστικό τοπίο αλλάζει όταν μεταβάλλεται το περιβάλλον



Γένος *parvovirus*

Feline panleukopenia parvovirus (FPLV)
Canine parvovirus (CPV)

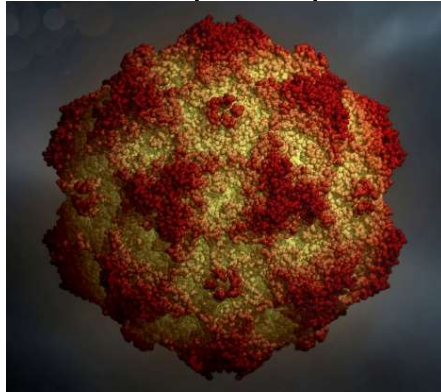


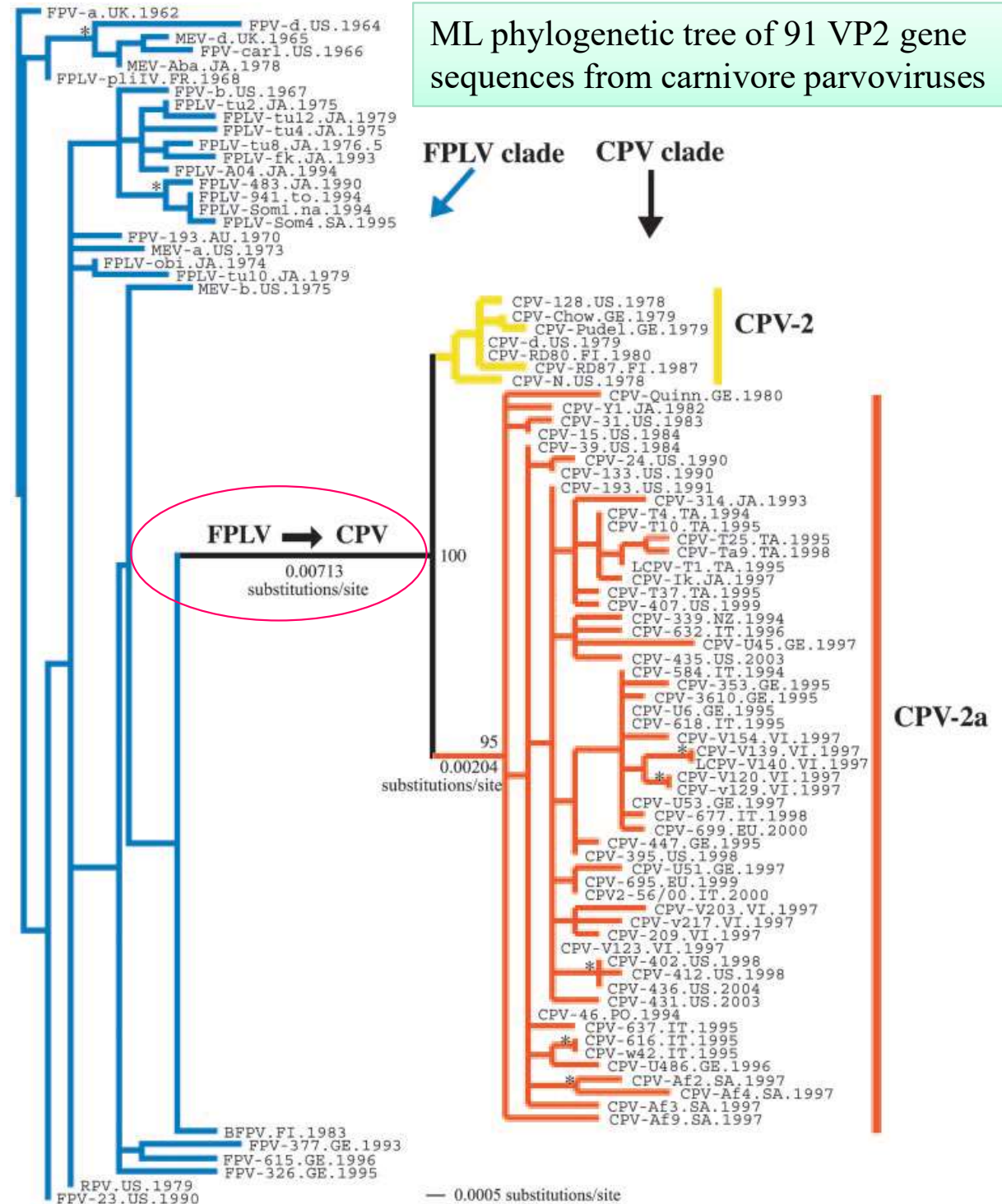
Table 2. Selection analysis of FPLV→CPV→CPV2a branches

Measure	FPLV→CPV	CPV→CPV2a
d_N/d_S	0.382	∞
Nd_N/Sd_S^*	2.353	∞
Nonsynonymous	K80R (A239G) K93N (A279C) V103A (T308C) V300A/G (T899G/C) D323N (G967A) N564S (A1691G) A568G (C1703G)	M87L (A259T) A/G300G (G/C899C) D305Y (G913T)
Synonymous	V82V (A246G) F212F (G694A) Y233Y (T699C) A541A (A1623C)	

Amino acid changes along each branch are given, followed by the underlying nucleotide change.

* Nd_N/Sd_S = total nonsynonymous changes/total synonymous changes.

ML phylogenetic tree of 91 VP2 gene sequences from carnivore parvoviruses



High rate of viral evolution associated with the emergence of carnivore parvovirus

Laura A. Shackelton¹, Colin R. Parrish², Uwe Truyen³, and Edward C. Holmes^{1*}

¹Department of Zoology, University of Oxford, South Parks Road, Oxford OX1 3PS, United Kingdom; ²Department of Microbiology and Immunology, College of Veterinary Medicine, Cornell University, Ithaca, NY 14853; and ³Institute for Animal Hygiene and Public Veterinary Health, Universität Leipzig, an den Tierkliniken 1, D-04103 Leipzig, Germany

Edited by Kenneth I. Berns, University of Florida College of Medicine, Gainesville, FL, and approved November 24, 2004 (received for review September 13, 2004)

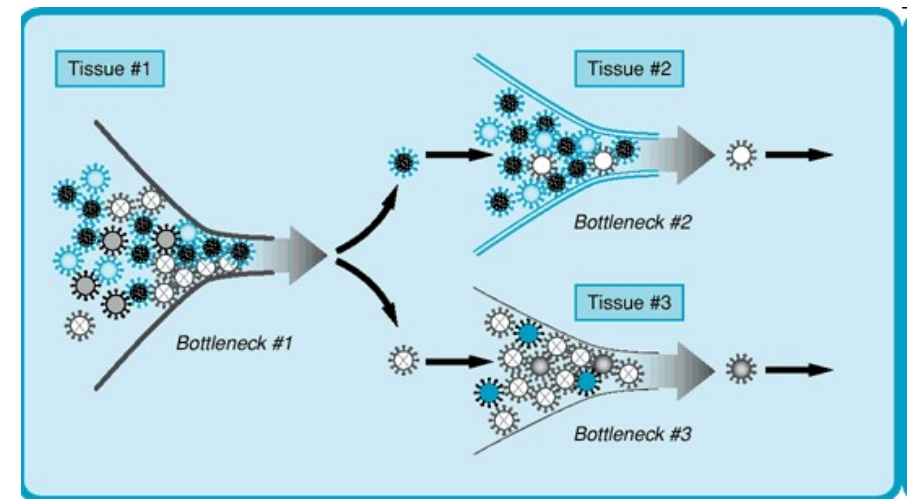
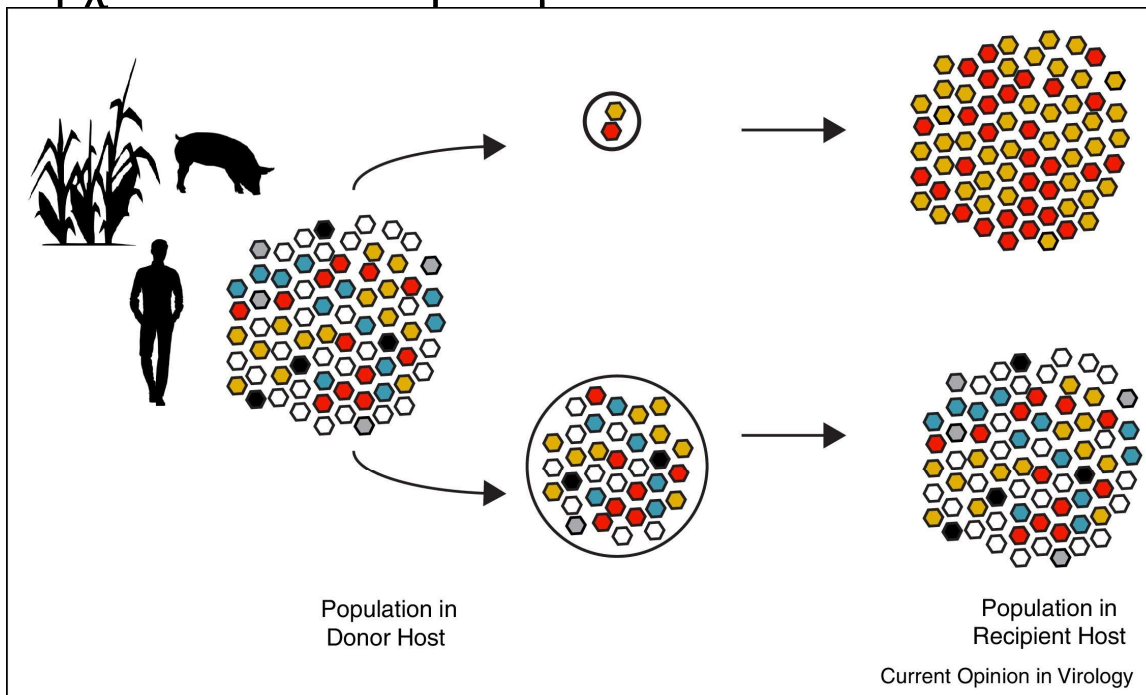
Τυχειότητα

Γενετική στενωπός (genetic bottleneck)

Περίπτωση όπου,

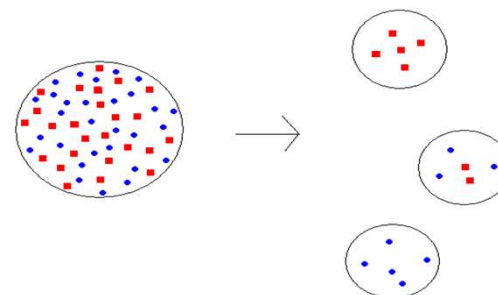
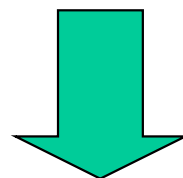
- κατά τη μετάδοση του ιού από τον ένα ξενιστή στον άλλο ή
- ενός αναδυόμενου ιού που εισβάλλει σε μια νέα περιοχή λόγω μετακίνησης μικρού αριθμού μολυσμένων ζώων ή ανθρώπων,

μεταφέρεται με τυχαίο τρόπο μόνο ένα υποσύνολο από τις γενετικές παραλλαγές του αρχικού ιικού πληθυσμού

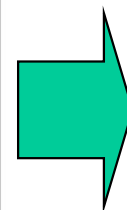
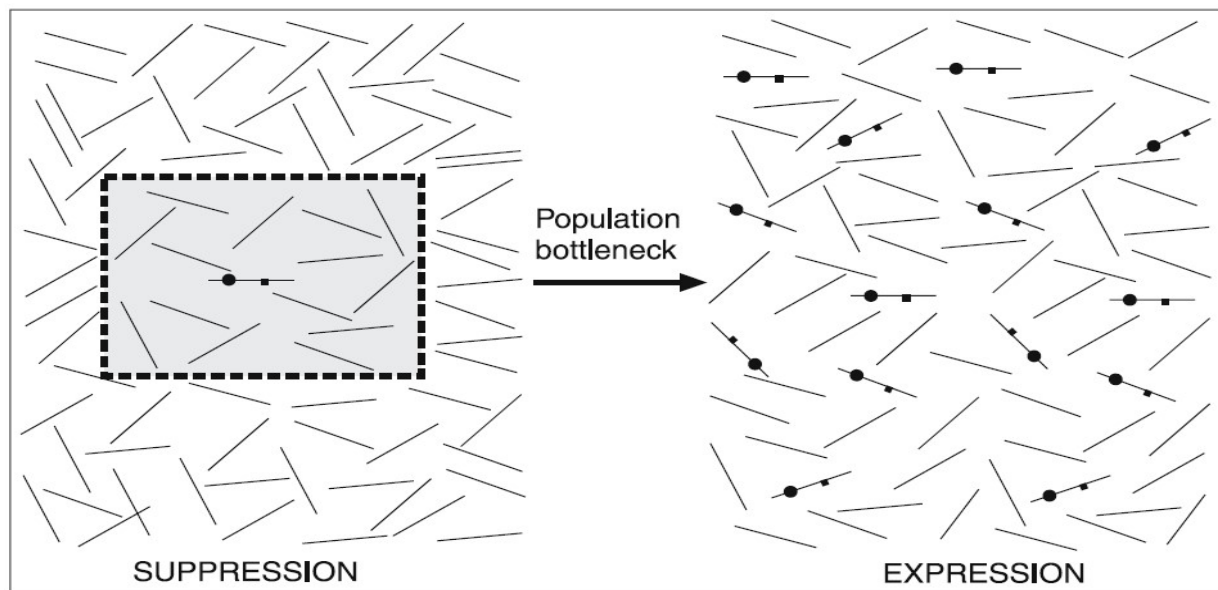


Φαινόμενο του ιδρυτή (Founder effect)

Ο **ικός πληθυσμός** στο νέο ξενιστή, ή σε μια νέα γεωγραφική περιοχή, ξεκινά από έναν **μικρό αριθμό παραλλαγών γονιδιωματικών αλληλουχιών** που επιλέχθηκαν τυχαία από τον αρχικό ικό πληθυσμό



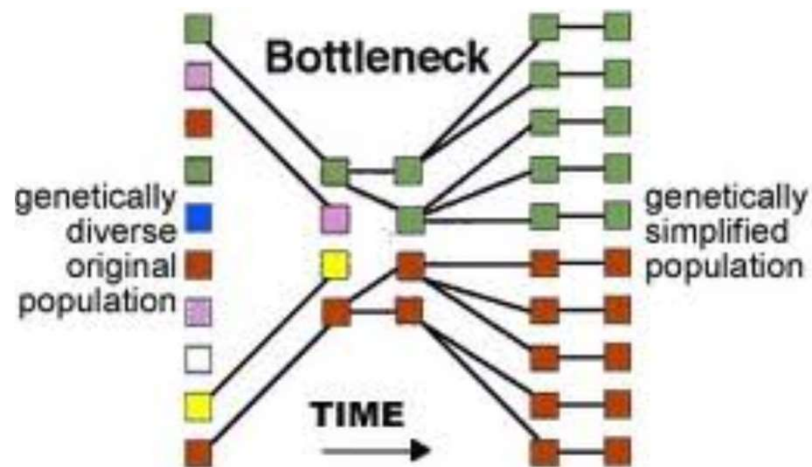
- Η πιθανότητα για την **εγκαθίδρυση νέων παραλλαγών** είναι μεγάλη καθώς το μέγεθος του νέου ικού πληθυσμού είναι μικρό και **δεν υπάρχει ανταγωνισμός από αλληλουχίες οι οποίες υπήρχαν σε μεγάλη συχνότητα στον αρχικό ικό πληθυσμό**



Τυχαία γενετική παρέκκλιση

Είναι εξέλιξη γιατί στην πορεία του χρόνου αλλάζει η συχνότητα των διαφόρων παραλλαγών στον ικό πληθυσμό

- Το φαινόμενο του **ιδρυτή** είναι μια περίπτωση γενετικής παρέκκλισης, στην οποία σπάνιοι γενότυποι του ιού εμφανίζονται σε υψηλότερη συχνότητα σε μια περιοχή σε σχέση με την συχνότητα που είχαν στο παρελθόν
- Οι «ιδρυόμενοι» σπάνιοι μικροί γενότυποι αντιπροσωπεύουν ένα **μέρος της συνολικής γενετικής ποικιλομορφίας της αρχικής γονιδιωματικής δεξαμενής**
- Οι γενετικές παραλλαγές των ιδρυτών και οι συχνότητές τους καθορίζονται από **τυχαία γεγονότα διασποράς του ιού ή και γενετικής στενωπού**



Συμπέρασμα: μικροί γενότυποι μπορεί να εντοπίζονται σε αυξημένη συχνότητα στο περιβάλλον και λόγω τυχαίας γενετικής παρέκκλισης (από τύχη) και όχι αποκλειστικά λόγω φυσικής επιλογής. **(Ουδέτερη εξέλιξη)**

Spread of a SARS-CoV-2 variant through Europe in the summer of 2020

<https://doi.org/10.1038/s41586-021-03677-y>

Received: 25 November 2020

Accepted: 28 May 2021

Published online: 7 June 2021

Emma B. Hodcroft^{1,2,3,5}, Moira Zuber¹, Sarah Nadeau^{2,4}, Timothy G. Vaughan^{2,4}, Katharine H. D. Crawford^{5,6,7}, Christian L. Althaus³, Martina L. Reichmuth³, John E. Bowen⁸, Alexandra C. Walls⁹, Davide Corti⁹, Jesse D. Bloom^{5,6,10}, David Veester⁸, David Mateo¹, Alberto Hernandez¹¹, Ifaki Comas^{12,13}, Fernando González-Candelas^{13,14}, SeqCOVID-SPAIN consortium^{*}, Tanja Stadler^{2,4,9,2} & Richard A. Neher^{1,2,9,2,2}

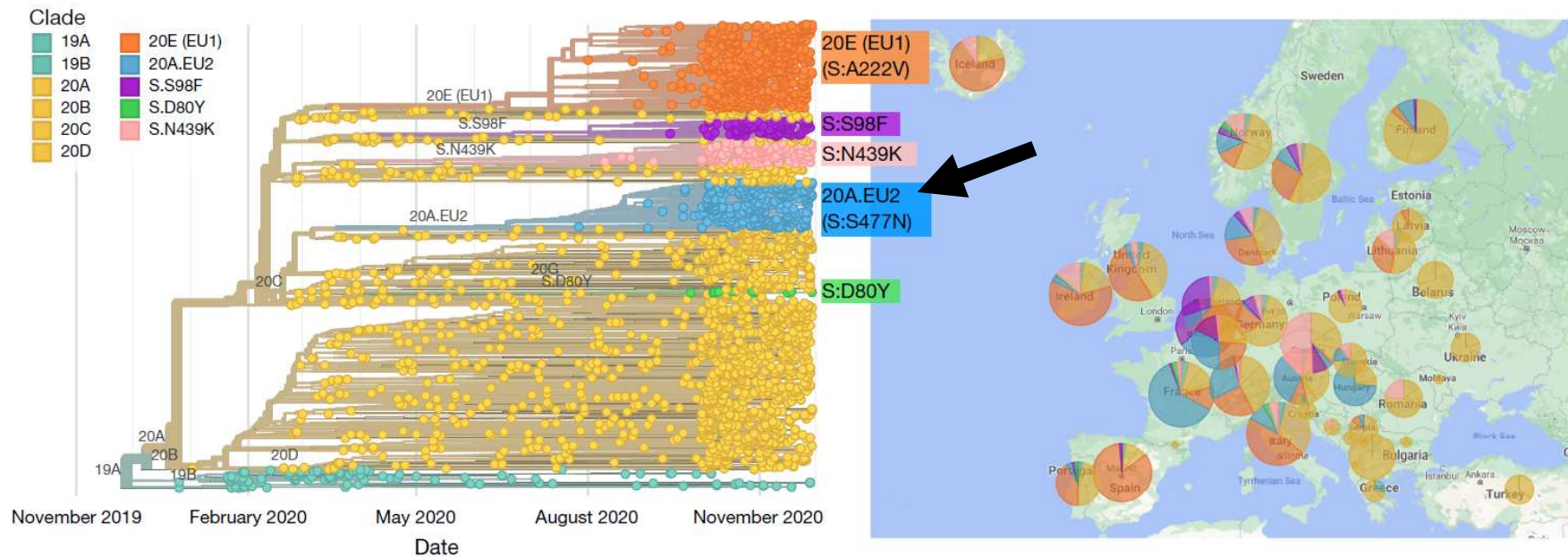


Fig. 1 | Phylogenetic overview of SARS-CoV-2 in Europe up to the end of November 2020. Left, the tree shows a representative sample of isolates from Europe coloured by clade and by the variants highlighted in this paper. Clade 20A and its daughter clades 20B and 20C (yellow) carry mutations S:D614G. Variant 20E (EU1) (orange), with mutation S:A222V on a S:D614G background, emerged in early summer 2020 and became common in many European

countries in autumn 2020. A separate variant (20A.EU2; blue) with mutation S:S477N became prevalent in France. Right, the proportion of sequences belonging to each variant (up to the end of November 2020) per country. Tree and visualization were generated using the Nextstrain platform⁴ (see Methods). Map data copyright Google, INEGI (2021).

Γενετική στενωπός και φαινόμενο του «ιδρυτή»

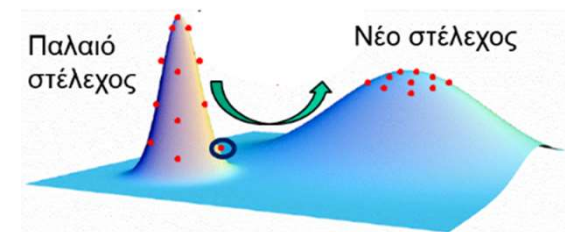
Συνέπειες του φαινομένου:

- Η γενετική ποικιλότητα γίνεται μικρότερη από αυτή του αρχικού ικού πληθυσμού
- Οι γενετικές παραλλαγές που εγκαθιδρύονται έχουν διαφορετική συχνότητα από αυτή που είχαν στον αρχικό ικό πληθυσμό (--->εξέλιξη)



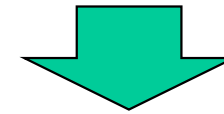
Η γενετική σύνθεση του πληθυσμού μεταβάλλεται, αλλά τυχαία
Τυχαία γενετική παρέκκλιση (ουδέτερη εξέλιξη)

- Υπάρχει στη συνέχεια, λόγω της απουσίας άλλων παραλλαγών που υπήρχαν στον πληθυσμό σε αυξημένη συχνότητα, η δυνατότητα **μετακίνησης του ικού πληθυσμού** στο πεδίο έλξης μιας **νέας γειτονικής προσαρμοστικής κορυφής μέσω τυχαίων μεταλλάξεων και θετικής επιλογής (νέες παραλλαγές αναδύονται κατά την επιτήρηση)**



Φαινόμενο του ιδρυτή και εξέλιξη

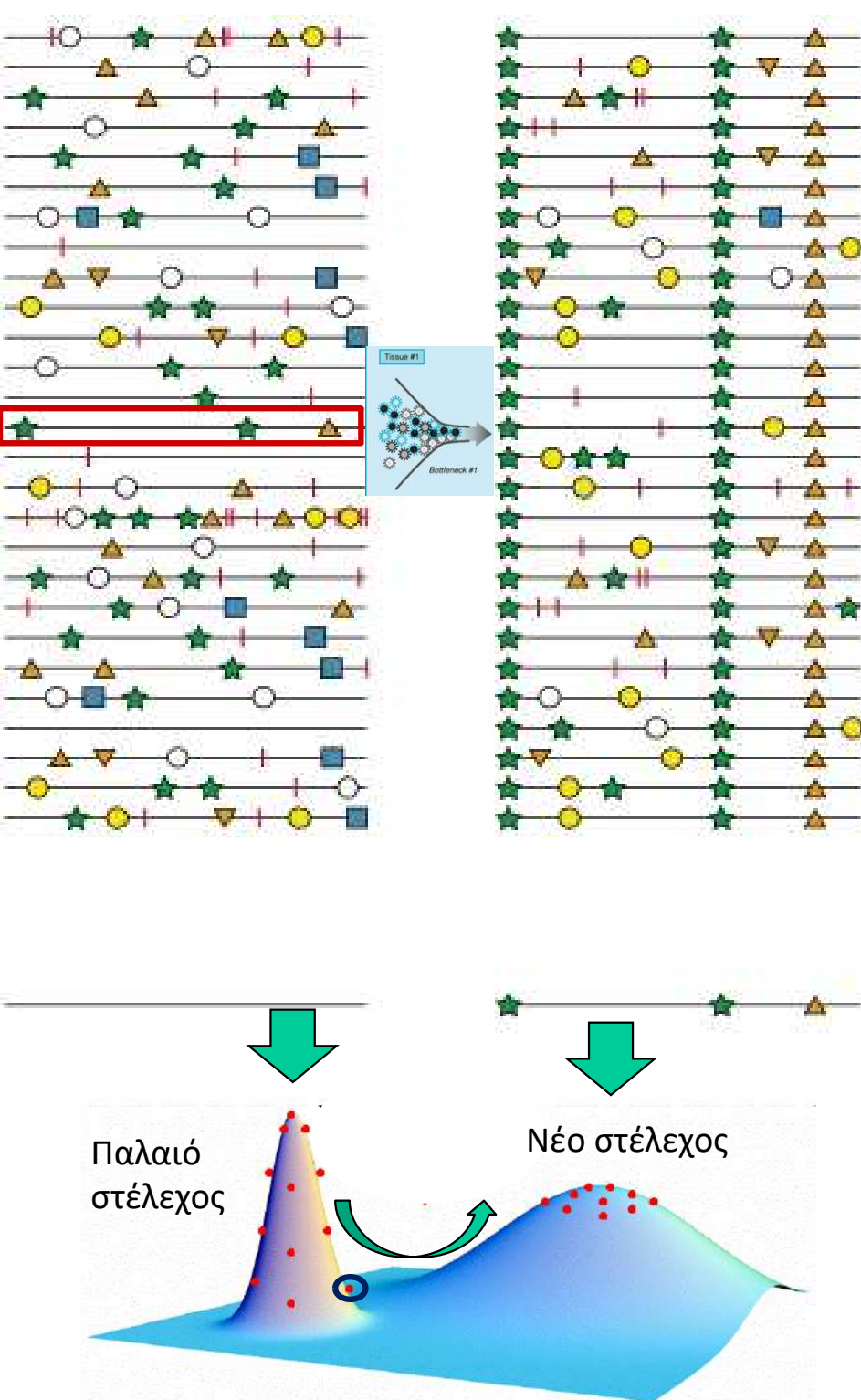
Υπάρχει η πιθανότητα εμφάνισης
επιστατικών* αλληλεπιδράσεων μεταξύ
μεταλλάξεων διαφορετικών γενετικών τύπων
και μετακίνησης του ικού πληθυσμού στο
πεδίο έλξης μιας διαφορετικής
προσαρμοστικής κορυφής



Νέα ικά στελέχη με μεγάλο αριθμό
μεταλλάξεων σε διαφορετικούς γενετικούς
τύπους εγκαθιδρύονται στον πληθυσμό
(εντοπίζονται κατά την επιτήρηση)

Τυχαία γενετική παρέκκλιση (ουδέτερη εξέλιξη)

*Επίσταση είναι η κατάσταση κατά την οποία το
φαινοτυπικό αποτέλεσμα ενός γενετικού τύπου
επηρεάζεται από την δράση διαφορετικών
γενετικών τύπων



Μηχανισμοί που προσδιορίζουν τη γενετική δομή των ικτών πληθυσμών

Ο αριθμός και η συχνότητα των γενετικών παραλλαγών που εντοπίζονται σε έναν ικό πληθυσμό εξαρτώνται από:

1. Τυχαία γενετική παρέκκλιση (genetic drift)

2. Πιέσεις επιλογής (Selection)

Κατευθύνουσα ή θετική επιλογή (positive selection)

Σταθεροποιούσα ή αρνητική επιλογή (negative selection)

Προσαρμογή και εξέλιξη των ιών

Μεταβαλλόμενο περιβάλλον (π.χ. εισβολή και προσαρμογή σε νέα είδη ξενιστών / μεταβολές στον πληθυσμό τους / ανοσία κλπ)

Το προσαρμοστικό τοπίο αλλάζει και η εξέλιξη καθοδηγείται από:

✓ **Κατευθύνουσα επιλογή:**

επιλέγονται και εντοπίζονται γρήγορα κατά την επιτήρηση, νέες μεταλλαγμένες ιικές αλληλουχίες με μεγαλύτερη αρμοστικότητα από τις προγονικές



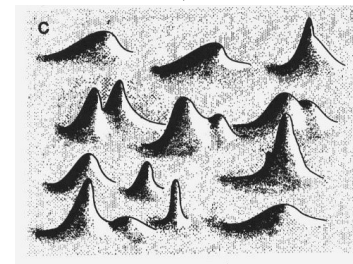
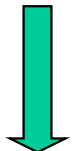
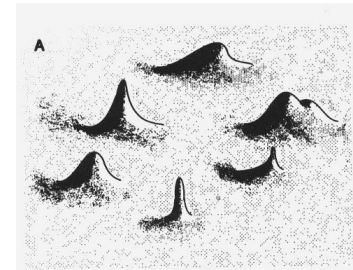
Συστηματική (προσαρμοστική) εξέλιξη

✓ **Τυχαία γενετική παρέκκλιση:**

ο ιός εξελίσσεται τυχαία και εντοπίζονται στην επιτήρηση νέες παραλλαγές (φαινόμενο του ιδρυτή), ο αριθμός των οποίων αυξάνει με το χρόνο καθώς ο ιός «εξερευνά» το νέο προσαρμοστικό τοπίο και καταλαμβάνει τις κορυφές υψηλής αρμοστικότητας



Ουδέτερη εξέλιξη

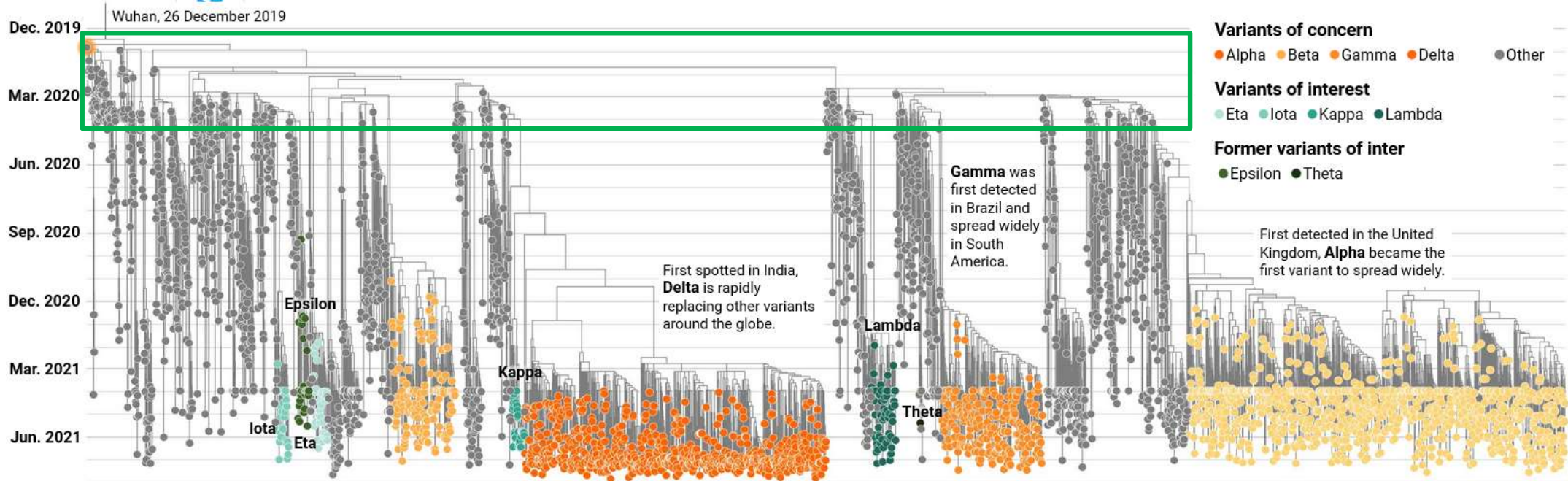


Ο ιός εξελίσσεται και εντοπίζονται σε βάθος χρόνου κατά την επιτήρηση νέες παραλλαγές, στον βαθμό που του επιτρέπει το προσαρμοστικό τοπίο

Παράδειγμα

Εξέλιξη του Sars-CoV-2 κατά τους πρώτους μήνες (πληθυσμός επίνοσος στο σύνολο του)

- Εξέλιξη που χαρακτηρίζεται κυρίως από ταχεία διασπορά και τυχαία γενετική παρέκκλιση (τυχαία εγκαθίδρυση μεταλλαγών οι οποίες δεν προσφέρουν εξελικτικό πλεονέκτημα - ουδέτερες μεταλλάξεις) σε συνδυασμό με το φαινόμενο του ιδρυτή (μετακίνηση ατόμων και διασπορά των παραλλαγών σε νέες περιοχές)
- Παράλληλα παρατηρούνται και μεταλλάξεις λόγω κατευθύνουσας επιλογής (αρχική προσαρμογή του ιού στον άνθρωπο και αύξηση μεταδοτικότητας)



Συνεχιζόμενη εξέλιξη λόγω εμβολιασμού και μόλυνσης μεγάλου ποσοστού του πληθυσμού

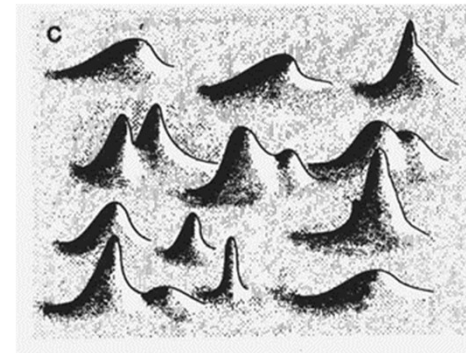
- Εξέλιξη που χαρακτηρίζεται κυρίως από κατευθύνουσα επιλογή (α) αύξηση μεταδοτικότητας και β) ανοσοδιαφυγή)
- Παράλληλα παρατηρείται τυχαία γενετική παρέκκλιση

Προσαρμογή και εξέλιξη των ιών

Σταθερό περιβάλλον

1) Σταθεροποιούσα επιλογή (επιλέγονται πλέον ικές γονιδιωματικές αλληλουχίες όμοιες με τις προγονικές καθώς η πλειονότητα όσων μεταλλαγμένων παράγονται έχουν μικρή αρμοστικότητα)

2) Τυχαία γενετική παρέκκλιση (μέσω της γενετικής στενωπού κατά τη μετάδοση από τον ένα ξενιστή στον άλλο)



Ο ρυθμός εξέλιξης επιβραδύνεται και τα υπάρχοντα στελέχη εντοπίζονται διαχρονικά κατά την επιτήρηση, χωρίς να παρατηρούνται σημαντικές εξελικτικές αποστάσεις μεταξύ των υποπαραλλαγών τους σε βάθος χρόνου

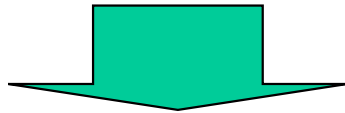
Εξέλιξη

- **Μηχανισμοί δημιουργίας γενετικής ποικιλότητας**
Μεταλλαγές / Γενετικοί ανασυνδυασμοί
- **Περιβάλλον και πληθυσμοί ξενιστών, επιζωοτιολογία / επιδημιολογία**
τρόπος διασποράς, επιπολασμός στην κοινότητα, χρόνος γενεάς κ.λ.π.
- **Φυσική επιλογή**
είναι μηχανιστική διαδικασία, δεν έχει κανένα στόχο, επιλέγει στελέχη μέσα στον πληθυσμό, η επιλογή δεν είναι τυχαία
- **Τυχαία γενετική παρέκκλιση**
Μετανάστευση / φαινόμενα του «ιδρυτή» / η επιλογή είναι τυχαία

Δυνατότητα για ταχεία μεταλλαγή

RNA & ssDNA ιοί: μεγάλη

Δικλωνοι DNA ιοί: μικρή



**Τυχαία γενετική παρέκκλιση &
κατευθύνουσα επιλογή**

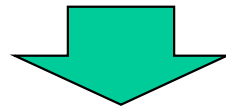


Νέα ιικά στελέχη και υποπαραλλαγές τους κυκλοφορούν στο περιβάλλον και εντοπίζονται κατά την επιτήρηση

Ταχεία προσαρμογή των ιών

Για τους ιούς ισχύουν:

- ταχεία παραγωγή γενετικής παραλλαγής λόγω συχνών μεταλλάξεων και γενετικών ανασυνδυασμών
- **ανάπτυξη πολύ μεγάλων πληθυσμών στον ξενιστή**
- **Ταχύτατος πολλαπλασιασμός στον ξενιστή (σύντομος χρόνος γενεάς)**
- Οι γενετικές παραλλαγές που επιλέγονται μπορούν να δώσουν **καινούριο εξελικτικό κλώνο** (σε αντιδιαστολή με τους ευκαρυώτες όπου οι μεταλλάξεις πρέπει να αφορούν γεννητικά κύτταρα για συμβεί αυτό)
- Οι ιοί με μεγάλο R_t και μικρό χρόνο γενεάς προσαρμόζονται πιο γρήγορα λόγω του μεγάλου αριθμού διόδων σε μικρό χρονικό διάστημα



Η φυσική επιλογή ενεργεί πολύ γρήγορα στους ιούς