

Zoonoottiset virukset ja niiden vuorovaikutus isäntien kanssa



Emma Määttä
750376A LuK-tutkielma
Biologian tutkinto-ohjelma, biotiede
Oulun yliopisto
Kevät 2019

Sisällys

1. Johdanto	2
2. Virusten ja isäntien yhteisevoluutio ja kilpavarustelu.....	3
3. Nisäkkäiden immuniteetti	4
3.1. Synnynnäinen immuniteetti	4
3.2. Adaptiivinen eli sopeutuva immuniteetti.....	6
4. Virusbiologiaa ja -genetiikka.....	7
5. Zoonoottiset virustaudit.....	8
5.1. Lepakot virusten luonnollisina reservi-isäntinä.....	9
5.2. Ihmisiin tarttuvia zoonoottisia virustauteja	10
5.2.1. Tyypin A influenssavirukset	10
5.2.2. Koronavirukset.....	11
5.2.3. Filovirukset	13
5.2.4. Lentivirukset	14
6. Tulevaisuus	15
7. Yhteenveto	16
8. Lähteet.....	18

1. Johdanto

LuK-tutkielmani tavoite on koota kirjallisuuskatsauksen muodossa viimeaikaista tietoa zoonoottisista viruksista, niiden erilaisista isännistä ja virusten ja isäntien vuorovaikutuksista; yhteisevoluutiosta ja kilpajuoksusta. Tutkielmassani keskityn uusiin, nouseviin viruksiin ja ihmiskuntaan merkittävästi vaikuttaneisiin viruslajeihin. Isäntien osalta painotus on nisäkkäissä, etenkin ihmisissä, sekä virusten reservi-isännissä. Tutkielmani alussa esittelen nisäkkäiden immuunijärjestelmän, sekä virusbiologian ja –genetiikan peruspiirteet, joiden tunteminen on ensiarvoisen tärkeää virusten ja isäntien vuorovaikutuksesta puhuttaessa.

Zoonoottiset virukset ovat lajista toiseen siirtymiseen kykeneviä viruksia, jotka usein ovat luonnollisessa reservi-isännässään oireettomia tai hyvin lieviä oireita aiheuttavia. Levitessään vahinkoisäntiin (spill-over host) virukset voivat kuitenkin aiheuttaa vakavia oireita tai olla jopa letaaleja. Ihmistartunnat tulevat villi- tai kotieläimistä. Usein virukset käyttävät luonnollisena reservi-isäntään luonnoneläintä (esim. lepakot ja jyräjät), josta siirtyvät väli-isäntänä toimivaan kesytettyyn eläimeen (esim. siipikarja, sivettieläimet ja dromedaarit) ja sitten ihmiseen (Bean *ym.* 2013).

Uudet zoonoottiset virustaudit kehittyvät yleensä jo ennalta olemassa olevista patogeneistä, jotka adaptoituvat niin, että ne kykenevät infektoimaan luonnollisen isäntälajinsa lisäksi myös muita isäntiä (Sironi *ym.* 2015). Virukset voivat adaptoitua infektoimaan uusia isäntiä usealla tavalla. Patogeenisyyden kannalta hyödylliset geenimutaatiot yleistyvät nopeasti ja virukset voivat myös vaihtaa geneettistä materiaalia keskenään. Virusten genomien pieni koko ja sukupolven lyhyt pituus tekevät niistä erittäin nopeita muuntelemaan ja sopeutumaan uusiin olosuhteisiin (Narasaraju *ym.* 2009).

Isäntien ja patogeenien yhteisevoluution ajatellaan olevan yksi tärkeä isäntien immuunijärjestelmän muotoutumiseen vaikuttava tekijä. Monet luonnolliset reservi-isännät ovat evolutiivisesti hyvin vanhoja (esim. lepakot ja jyräjät) ja niiden yhteiselo virusten kanssa on jatkunut jo pitkään (Olival *ym.* 2017). Selittäväksi tekijäksi eri isäntien eroaville immuunivasteille onkin ehdotettu immuunimekanismeja, jotka ovat uniikkeja luonnollisissa isännissä, ja kykenevät kontrolloimaan virusreplikaatiota. Virusproteiinien ja niiden isäntäsolukohteiden vuorovaikutus on viruksen ja luonnollisen isännän välillä hiottu tarkaksi – on siis mahdollista, että kun virus leviää luonnollisesta isännästä toiseen isäntälajiin, tämä vuorovaikutus häiriintyy ja aiheuttaa vahinkoisännässä oireita (Wang *ym.* 2011).

Uusia zoonoottisia virustauteja on hankala hallita, sillä niiden synnystä ja tarttumismekanismeista ei ole riittävästi tietoa. Lisäksi zoonoottisten virusten aiheuttamista immuunivasteista tiedetään liian vähän. Esimerkiksi rokotteen kehittäminen uutta löydettyä tautia vastaan kestää aikansa. Zoonoottisten tautien tutkimusta hankaloittaa se, että ”perinteisistä” taudinaiheuttajista poiketen ne kykenevät infektoimaan useita eri lajeja aiheuttaen eriasteisia oireita kullekin isännälle. Klassinen hiiritutkimus ei näin ollen ole ideaali, sillä vaikka saataisiin tarkkaa tietoa viruksen aiheuttamista oireista ja immuunivasteesta hiirellä, ei voida välttämättä ennustaa, kuinka infektiota vaikuttaa johonkin toiseen eläinlajiin. Tämän vuoksi olisi tärkeää tutkia näitä uusia tarttuvia tauteja niiden luonnollisissa isännissä ja selvittää, kuinka etenkin oireettomien isäntien immuunipuolustus käyttäytyy viruksen läsnä ollessa (Bean *ym.* 2013).

2. Virusten ja isäntien yhteisevoluutio ja kilpavarustelu

Virusten ja ihmisten miljoonien vuosien mittainen yhteisevoluutio on johtanut todella monimutkaisen isännän immuunijärjestelmän kehittymiseen, kuten myös hienostuneiden, immunitteettia vastustavien virusmekanismien syntyyn (Hengel *ym.* 2005). Isäntien ja virusten välillä käydäänkin jatkuvaa kilpajuoksua, kun isännät yrittävät kehittyä vastustuskykyisiksi patogeeneille ja patogeenit pyrkivät väistämään isäntien immuunijärjestelmää ja kehittämään infektiota.

Selvitäkseen ihmisen ja muiden lajien on jatkuvasti sopeuduttava muuttuviin elinympäristöihin ja vastattava olemassaolon kilpailuun. Ihmlaji on aina elänyt ja kehittynyt yhdessä lukuisten mikro-organismien kanssa; sekä vaarattomien, että patogeenisten. Patogeenien läsnäolo on huomattava jatkuvaa sopeutumista vaativa tekijä. Näistä ajatuksista on noussut Punaisen Kuningattaren hypoteesi, joka perustuu Liisa Ihmemaassa –tarinassa kuultuun lausahdukseen: *“Now, here, you see, it takes all the running you can do, to keep in the same place.”* Lajien välillä vallitseva kilpailu on johtanut evolutiiviseen kilpavarusteluun, joka ajaa jatkuvaa adaptaatiota ja vasta-adaptaatiota kilpailevien lajien, esimerkiksi ihmisen ja virusten, välillä (Siddle *ym.* 2014).

Patogeenien aiheuttama valintapaine on valtava, ja lisätukea muille havainnoille, kuten rokotteita edeltävälle merkittävälle lapsikuolleisuudelle, antavat koko genomien sekvensoinnit, joista pystytään näkemään immunitettiin liittyvien geenien olevan voimakkaimman valinnan kohteena. Tutkimuksissa, joissa on sekvensoitu alueellisesti ihmispopulaation genomit ja selvitetty patogeenidiversiteettiä, on huomattu, että vaikka otetaan huomioon muut muuttajat (esim. ilmasto-olosuhteet ja ruokavalio), patogeenit ovat pääasiainen paikallisen adaptaation aikaansaaja (Siddle *ym.* 2014).

Ihmisten geenit, joiden on tutkittu olevan patogeenien aiheuttaman valinnan kohteena, ovat toiminnaltaan osallisina inflammaatioreaktioissa ja synnynnäisessä immunitetissa. Puhdistavan valinnan kohteena ovat olleet esimerkiksi mikrobisensorit, kuten TLRs (toll-like receptors) ja NLRs (nod-like receptors), sekä jotkin tyypin 1 interferonit (IFNs). Puhdistavaa valintaa kohdistuu geeneihin, joiden toiminta on välttämätöntä isännän immuunipuolustukselle, ja joissa variaatio voisi aiheuttaa vakavia häiriöitä. Puhdistava valinta tai negatiivinen valinta on valinnan muoto, jossa haitalliset alleelit poistuvat populaatiosta valinnan seurauksena. Noin 200 immunitettiin liittyvästä geenistä on löydetty vahvoja merkkejä positiivisesta valinnasta. Positiivisen valinnan seurauksena hyödylliset alleelit yleistyvät populaatiossa ja usein lopulta fiksoituvat. Löydökset ovat usein populaatiospesifisiä, mikä korostaa patogeenien merkitystä paikallisessa adaptaatiossa (Siddle *ym.* 2014).

Isännät ovat kehittäneet spesifisiä reseptoreita (PRRs, pattern recognition receptors) virusten ja virusgeeniekspression tunnistamiseen. Yksi esimerkki virusten ja isäntien kilpajuoksusta on joillekin viruksille kehittynyt kyky väistää tämän tyyppistä isännän immuunivalvontaa. Virukset voivat muunnella itseään; nukleiinihappojen modifiointi on yksi tapa vältellä isäntäreseptoreiden tunnistusta. Kun virionin pintaproteiinien rakenne muuttuu, isännän PRR:t eivät enää tunnista niitä. Virukset voivat myös häiritä reseptorien ja niiden adapteriproteiinien translaation jälkeisiä muokkauksia tai reseptorien uudelleensijoittumista solukalvolla (Chan *ym.* 2016).

HIV:n aiheuttama nopea ja laajamittainen epidemia on luonut tilanteen, jossa ihmisen ja viruksen yhteisevoluutiota on päästy tarkkailemaan läheltä. Ihmisen HLA:ja (human leukocyte antigen) koodaavat geenit ja HIV:n proteiineja koodaavat geenit ovat keskiössä tässä vuorovaikutuksessa. HLA-molekyylit esittelevät HIV:n proteiinifragmentteja (epitoopeja) infektoituneiden isäntäsolujen pinnalla, jolloin CD8⁺-T-solut tuhoavat sairaat solut. Ihmisille on kehittynyt tiettyjä HLA-molekyylejä, jotka ovat tehokkaampia HIV-infektion rajoittamisessa. HIV on kuitenkin paikoin mutatoitunut niin, että sen epitootit ovat muuntuneet, ja mahdollistavat CD8⁺-T-solun tunnistukselta pakenemisen. Genomisekvensointien avulla on löydetty vahvoja todisteita siitä, että HIV on adaptoitunut HLA:in populaatiotasolla (Kawashima *ym.* 2009).

HIV kuuluu lentivirusten sukuun. Nisäkkäillä on spesifisiä solunsisäisiä APOBEC3-proteiineja (apolipoprotein B mRNA editing enzyme catalytic polypeptide-like 3), jotka kykenevät rajoittamaan lentivirusreplikatiota voimakkaasti. Vastustaakseen APOBEC3-proteiinivälitteistä antiviraalista toimintaa lentivirukset ovat kehittäneet *vif*-apugeenin (viral infectivity factor). APOBEC3-proteiinit inhiboivat lentivirusreplikaatiota entsyymaattisesti mutatoimalla virusgenomia (G-A-hypermutaatio). Lentivirusten *vif*-proteiinit puolestaan hajottavat APOBEC3-proteiineja. On pystytty osoittamaan, että lentivirusten *vif*-geenit ovat kehittyneet nisäkkäiden ja virusten välisen kilpavarustelun tuotteena ja että *APOBEC3*-geenit ovat positiivisen valinnan kohteena nisäkkäiden pyrkiessä välttämään *vif*-proteiinien antagonismia (Nakano *ym.* 2017).

3. Nisäkkäiden immunitaetti

Synnyynnäisen immunitaetin peruspiirteiden uskotaan kehittyneen nisäkkäissä noin 600 miljoonaa vuotta sitten, kun taas ensimmäiset merkit adaptiivisesta immunitaetista löytyvät noin 500 miljoonan vuoden takaa hain kaltaisesta esi-isästä. Sen jälkeen adaptiivinen immunitaetti on alkanut muotoutua monimutkaisemmaksi ja variaatioita on alkanut kehittyä. Esimerkkinä antigeenireseptori TCRs (unconventional T cell receptors), joita on löydetty useista eri lajeista, mm. hait ja sammakot (Bean *ym.* 2013).

3.1. Synnyynnäinen immunitaetti

Synnyynnäisen immunitaetin vasteet ilmenevät ensimmäisenä, kun patogeeni havaitaan. Synnyynnäinen immunitaetti on yleinen puolustusjärjestelmä, jonka avulla voidaan puolustautua lähes mitä tahansa elimistöön kuulumatonta vastaan. Sen puolustusreaktiot ovat pääsääntöisesti lyhytkestoisia, eivätkä jätä elimistöön muistijälkiä (Alberts *ym.* 2015).

Ensimmäiseksi osaksi synnyynnäistä immunitaettijärjestelmää lasketaan epiteelipinnat, jotka muodostavat fyysisen tai kemiallisen esteen patogeenien isäntään saapumiselle, esimerkiksi ihon, ruuansulatuskanavan ja hengitysteiden epiteelisolut. Seuraavana linjana puolustuksessa ovat immuunijärjestelmät solut, jotka tunnistavat patogeenit reseptoriproteiinien avulla. Solun ulkopuolisia patogeeneja tunnistavat transmembraaniset proteiinit, joita on isäntäorganismien solujen ulkopinnoilla. Solun sisällä olevia patogeeneja, esimerkiksi viruksia tai virusten osia, tunnistavat reseptoriproteiinit, jotka ovat joko vapaana sytosolissa tai kiinnittyneinä endolysosomaalisen järjestelmän kalvoille (Alberts *ym.* 2015).

Proteiinireseptorit tunnistavat molekyyliä, jotka ovat tyypillisiä patogeeneiden pintarakenteille, mutta puuttuvat tai ovat eristettynä isäntäorganismien elimistön omista soluissa. Nämä patogeeneille ominaiset mikrobialiset molekyylit esiintyvät usein toistuvina rakenteina patogeeneissa ja niitä kutsutaan siksi lyhenteellä PAMPs (= pathogen-associated molecular patterns eli patogeeneihin liittyvät molekulaariset rakenteet) (Alberts *ym.* 2015). PAMP-rakenteet ovat usein elintärkeitä patogeeneille ja siksi niiden muuntelu on hankalaa. Tämän vuoksi PAMP-rakenteet ovat otollisia tunnistettavia isäntäorganismien immuunijärjestelmälle (Akira *ym.* 2006).

Patogeeneiden mikrobialisia molekyyliä tunnistavia reseptoriproteiineja (= PRRs, pattern recognition receptors) on useita eri tyyppiä ja niitä luokitellaan sijainnin ja rakenteen suhteen, sekä sen perusteella, millaisia patogeeneja tai mitä osia patogeeneista ne tunnistavat. Suurimpia luokkia ovat TLRs (toll-like receptors), NLRs (NOD-like receptors), RLRs (retinoic acid-inducible gene 1-like receptors) ja CLR (c-type lectin receptors) (Alberts *ym.* 2015).

TL-reseptorit ovat transmembraanisia glykoproteiineja, joiden ekstrasellulaarinen alue koostuu leusiinirikkaista toistoista, joita käytetään PAMP-tunnistukseen. Sytosolissa sijaitsevaa aluetta käytetään signaalointiin. TL-reseptorit ovat kaikilla nisäkkäillä samanlaisia, mutta niiden tyyppien määrä vaihtelee. Ihmisillä on kymmentä eri tyyppiä TL-reseptoreita, joista TLR2, TLR3, TLR4, TLR7, TLR8 ja TLR9 osallistuvat virusten tunnistukseen (Alberts *ym.* 2015, Akira *ym.* 2006, Kumar *ym.* 2011).

RL-reseptorit ovat sytosolissa sijaitsevia proteiinireseptoreita, joilla on PAMP-tunnistukseen DExD/H-box RNA-helikaasialue. RL-reseptoreita on kolme eri tyyppiä; LGP2, RIG1 ja MDA5. Niistä kukin tunnistaa erityyppisiä viruksia ja virusrakenteita (Kumar *ym.* 2011).

Fagosyytit tuhoavat reseptorien tunnistamia patogeeneja solusyönnin avulla. Fagosyyteilla on PR-reseptoreiden lisäksi vasta-ainereseptoreita (FcR), jotka sitoutuvat kaikkiin vasta-aineisiin. Patogeeneiden pintaproteiineihin sitoutuneet vasta-aineet vuorovaikuttavat Fc-reseptoreiden kanssa ja aikaansaavat patogeeneiden fagosytoinnin (Madigan *ym.* 2012).

Eukaryooteilla on RNA-viruksia vastaan erityinen puolustusmekanismi, RNA interferenssi (RNAi). Normaalit, terveet isäntäsolut sisältävät kaksijuosteista DNA:ta ja yksijuosteista RNA:ta (ssRNA), mutta eivät koskaan kaksijuosteista RNA:ta (dsRNA). Mikäli solun sisällä havaitaan dsRNA:ta, on se merkki virusperäisen geneettisen materiaalin läsnäolosta. Vaikka RNA-viruksen genomi olisi normaalisti yksijuosteista RNA:ta, on sen replikaation aikana läpikäytävä kaksijuosteinen vaihe (Madigan *ym.* 2012).

RNA interferenssi aktivoituu kaksijuosteisen RNA:n läsnäolosta solun sisällä. Ensin löydetty dsRNA pilkotaan noin 20 emäsparin mittaisiksi fragmenteiksi, joita kutsutaan siRNA:ksi (short interfering RNA). RISC (RNA-induced silencing complex) sitoo siRNA:n, erottaa sen juosteet toisistaan ja etsii solusta kaiken ssRNA:n, jolla on siRNA:ta vastaavaa geenisekvenssiä. Näin saadaan tunnistettua ja tuhottua virusperäisen kaksijuosteisen RNA:n lisäksi myös kaikki sen tuottama lähetti-RNA (messenger RNA, mRNA) (Madigan *ym.* 2012).

Esimerkki ihmisistä luontaisesta antiviraalisesta vasteesta on interferonivaste (IFN-vaste). Tyyppi 1 IFN-ekspressio käynnistyy, kun PRR:t tunnistavat viruksen. PRR alatyypit RLR:t (RIG-1-like receptors) ovat sytoplasmisia RNA-helikaaseja, jotka havaitsevat virusperäisen RNA:n ja edistävät

interferonivasteita. Aktivoiduttuaan RLR:t puolestaan aktivoivat seriini / treoniini –kinaasit TBK1 ja IκB kinaasi-ε (IKKε), jotka fosforyloivat transkriptiofaktorit IRF3 ja IRF7 (IFN regulatory factor). Tämä puolestaan edistää IRF3 ja IRF7 kertymistä tumaan, jolloin IRSE:t (IFN-stimulated response elements) laukaisevat tyypin 1 IFN-ekspression. Ekspressoidut tyypin 1 interferonit eritetään ulos soluista, jolloin ne pääsevät signaloimaan IFN-stimuloitujen geenien (ISGs) ekspression. Tästä syntyy antiviraalinen tila, joka aiheuttaa yleisen soluvasteen virusinfektiolle (Messaoudi *ym.* 2015).

3.2. Adaptiivinen eli sopeutuva immunitetti

Adaptiivinen immuunijärjestelmä on kehittynyt vain selkärangkaisille, selkärangattomilla ja kasveilla on ainoastaan synnynnäinen immunitetti (Alberts *ym.* 2015). Adaptiivista immuunijärjestelmää tarvitaan, kun patogeenin virulenssi on niin voimakas, ettei synnynnäinen immunitetti pysty täysin estämään infektiota. Adaptiivinen immuunivaste käynnistyy synnynnäistä vastetta hitaammin. Leukosyyttien alaluokka lymfosyytit ovat perusta adaptiivisen immuunivasteen syntymiselle (Madigan *ym.* 2012).

Antigeeni-reaktiiviset lymfosyytit jaetaan kahteen ryhmään, B- ja T-soluihin. Antigeenit ovat molekyyliä, jotka aktivoivat isännän immuunivasteen. Ne ovat usein proteiineja tai hiilihydraatteja, esimerkiksi virionin pintaproteiinit ovat antigeenejä (Madigan *ym.* 2012).

B-solut tuottavat vasta-aineita, immunoglobuliineja (Ig), jotka sitten leviävät verenkierron mukana kaikkialle ekstrasellulaariseen ympäristöön. Jokainen B-solu on antigeenispesifinen, eli yksi B-solu kykenee tuottamaan vasta-aineita vain yhtä antigeeniä kohtaan. B-solun pinnalla sijaitsevan immunoglobuliinin ja spesifisen antigeenin vuorovaikutus aktivoi fagosytoosin ja B-solu tappaa ja hajottaa patogeenin. Sitten B-solu tuottaa joukon patogeeniperäisiä peptidiantigeenejä, jotka se esittelee T-auttajasoluille (T_{H2}). T-auttajasolut vastaavat tuottamalla sytokiineja, jotka taas stimuloivat B-solua kasvamaan ja jakautumaan; tuottamaan klooneja alkuperäisestä B-solusta. Aktivoituneet B-solut erilaistuvat vasta-ainetta tehokkaasti tuottaviksi plasmasoluiksi tai muistisoluiksi. Plasmasoluista tuotetut ulos eritetyt vasta-aineet sitoutuvat sitten vapaiden patogeenien pinnalla oleviin antigeeneihin estäen näin patogeenejä tarttumasta isäntäsolujen kalvoreseptoreihin. Patogeeniin sitoutuneet vasta-aineet toimivat myös tuhoamissignaalina synnynnäisen immunitettijärjestelmän fagosyyteille (Madigan *ym.* 2012).

Immunoglobuliinit jaotellaan ryhmiin niiden primaaristen aminohapposekvenssien perusteella. IgA löytyy verestä ja limakalvoilta, esimerkiksi hengityselimistä ja suolistosta. IgD toimii pääasiassa B-solujen pinnalla antigeenireseptorina. IgE kiinnittyneenä syöttösoluihin (mast cells), tekemisissä allergioiden ja loisinfektioiden kanssa. IgG ja IgM löytyy runsaina verestä (Madigan *ym.* 2012).

T-solujen pinnalla on niille ominaisia reseptoreita, TCRs (T cell receptors), joiden avulla T-solut tunnistavat vieraat antigeenit. T-solutunnistusta varten antigeenin on kuitenkin oltava liittyneenä MHC-proteiiniin (major histocompatibility complex). Kaikissa isäntäsoluissa on MHC1-proteiineja ja lisäksi kaikki antigeenejä esittelevät solut (antigene presenting cell, APC) sisältävät MHC2-proteiineja. APC ryhmään kuuluvat makrofagit, dentriittisolut ja B-lymfosyyttisolut. APC:t fagosytoivat vierasta antigeeniä sisältävän partikkelin, esimerkiksi viruksen, ja hajottavat antigeenit pieniksi peptideiksi. MHC-proteiinit sitoutuvat näihin peptideihin ja MHC-peptidikompleksi siirretään APC:n pinnalle esiteltäväksi T-soluille (Madigan *ym.* 2012).

Kun antigeeniä esittelevä solu aktivoi T-solun, se voi erikoistua joksikin kolmesta T-solutyypistä. Sytotoksiset-T-solut (T_C) tunnistavat vieraan antigeenin infektoituneen isäntäsolun pinnalla ja vuorovaikuttavat solun kanssa erittäin proteiineja, jotka aiheuttavat kohdesolun apoptoosin eli ohjelmoidun solukuoleman (Madigan *ym.* 2012).

Auttaja-T-solut (T_H1 ja T_H2) tuottavat liukoisia sytokiineja, jotka vaikuttavat muihin immuunijärjestelmän soluihin aktivoiden niitä. T_H1 -solut tunnistavat makrofagien pinnalla sijaitsevan MHC2-peptidikompleksin ja tuottavat tämän seurauksena sytokiineja, jotka taas aktivoivat makrofageja syömään mitä tahansa soluja, joiden pinnalla on tunnistettavissa kohdeantigeneja. T_H2 -solut tuottavat sytokiineja vuorovaikutuksessa B-solujen kanssa (Madigan *ym.* 2012).

Regulatoriset-T-solut eli suppressori-T-solut hillitsevät muiden T-solujen toimintaa suojellakseen isännän elimistön omia soluja. Ne myös ehkäisevät kudosaivurioiden syntymistä kroonisissa infektioissa hillitsemällä liiallista T-soluaktiivisuutta (http://www.solunetti.fi/fi/histologia/regulatoriset_t-solut/2/ (7.3.2019)).

4. Virusbiologiaa ja -genetiikkaa

Virukset ovat todella monimuotoinen ryhmä, ja viruksissa onkin enemmän biologista diversiteettiä kuin kaikissa muissa eliöissä (bakteerit, kasvit, eläimet) yhteensä. Virukset kykenevät monimuotoisuutensa takia loisimaan kaikissa elävissä organismeissa (Cann, 2005).

Virukset koostuvat DNA- tai RNA-fragmenteista eli nukleiinihapoista, jotka koodaavat suhteellisen pientä määrää geenituotteita. Perintöaines on suojattu proteiiniukuorella ja joskus lisäksi ulkoisella lipidikaksoiskalvolla (Alberts *ym.* 2015). Virusten geneettinen materiaali voi olla RNA:ta tai DNA:ta ja se voi olla yksi- tai kaksijuosteista. Muodoltaan genomi voi olla sirkulaarinen tai lineaarinen. Genomin ja sen kromosomien muoto voi myös vaihdella viruksen elinkaaren myötä (Klug *ym.* 2016). Proteiiniukuoren tehtävänä on genomin suojaamisen lisäksi toimittaa se sopivaan isäntäsoluun ja replikaation kannalta otolliseen solun osaan (Cann 2005). Virukset eivät voi replikoitua itsenäisesti, vaan tarvitsevat siihen isäntäsolun, jonka energiantuottoa, aineenvaihduntaa ja proteiinisynteesiä ne hyväksikäyttävät (Madigan *ym.* 2012).

Isäntäsolun ulkopuolella virukset ovat ekstrasellulaarisessa muodossa kokonaisina viruspartikkeleina, joita kutsutaan virioneiksi (Madigan *ym.* 2012). Virionit eivät kasva eivätkä jakaudu, vaan uusia viruksia muodostuu isäntäsolun sisällä valmistettavista viruspartikkeleista (Cann 2005).

Virusreplikaatio etenee vaiheittain. Ensin virus löytää sopivan isäntäsolun ja kiinnittyy siihen. Viruksen pintarakenteessa on proteiineja, jotka vuorovaikuttavat isäntäsolun solukalvon pinnalla sijaitsevien reseptorien (proteiinit, hiilihydraatit, glykoproteiinit jne.) kanssa. Virukset tarttuvat solun normaalitoimintoja välittäviin reseptoreihin; kukin virus käyttää hyväkseen yhtä tai useampaa isäntäsolun reseptoryyppiä. Esimerkiksi bakteriofagi T1 kiinnittyy isäntäsolun raudanottoon erikoistuneeseen reseptoriin ja poliovirus sekä HIV käyttävät hyväkseen solujen väliseen kommunikointiin tarkoitettuja reseptoreita (Madigan *ym.* 2012).

Mikäli isäntäsolussa ei ole virukselle sopivaa kiinnittymisreseptoria, virus ei kykene infektoimaan solua. Monisoluisilla isännillä, kuten ihmisillä, eri kudosten soluissa on erilaisia pintareseptoreita, eikä virus pysty infektoimaan kaikkien kudostyyppien soluja. Isäntäsolun reseptorit voivat myös muuttua normaalista poikkeavaksi esimerkiksi mutaation seurauksena, eikä virus silloin enää voi käyttää kyseistä reseptorityyppiä. Virukset ovat kuitenkin nopeita muuntelemaan, ja ne voivat sopeutua isännän reseptorimutaatioon ollen taas pian infektiivisiä. Jotkin virukset käyttävät useampia reseptorityyppejä, jolloin yhden reseptorin muutos ei aiheuta ongelmia viruksen virulenssille (Madigan *ym.* 2012).

Reseptoriin kiinnittymisen jälkeen viruksessa ja isäntäsolun reseptorissa tapahtuu muutoksia, jotka johtavat viruksen isäntäsoluun tunkeutumiseen. Virustyypistä riippuen isäntäsoluun voi siirtyä pelkkä geneettinen materiaali, sen lisäksi virusproteiineja, tai koko virioni endosytoosin avulla (Madigan *ym.* 2012).

Isäntäsoluun päästyään virukset käyttävät hyödykseen isännän replikaatiokoneistoa, mutta prosessin alkuunsaamiseksi tarvittava lähetti-RNA niiden on tuotettava itse. ssRNA(+)-genomi voi toimia suoraan mRNA:na, muun tyyppisillä viruksilla genomista on transkription kautta muodostettava mRNA replikaatiota varten. Tätä varten osalla viruksista isäntäsoluun siirtyy genomien lisäksi virusspesifisiä proteiineja, joiden avulla mRNA:n transkriptio tapahtuu. Genomin kopioinnin lisäksi virus-mRNA:n ohjeilla valmistetaan virusproteiineja isännän ribosomeilla. Näin saadaan tuotettua kaikki uusiin virioineihin tarvittavat komponentit, jotka sitten yhdistetään kullekin virukselle ominaisiksi kokonaisuuksiksi (Madigan *ym.* 2012).

Virus voi olla joko alaston (naked) tai vaipallinen (enveloped). Alastomilla viruksilla geneettisen materiaalin suojana on vain proteiineista muodostuva kapsidi, kun taas vaipallisilla viruksilla kapsidin päällä on lipidimembraani (Cann 2005). Vaippa koostuu lipidikaksoiskerroksesta ja proteiineista (yleensä glykoproteiineja). Vaipan lipidit ovat peräisin isäntäsolun kalvoilta, mutta proteiinit ovat virusperäisiä, eli viruksen geenit koodaavat niiden valmistuksen (Madigan *ym.* 2012).

Alastomat virukset tuhoavat isäntäsolun, kun solun sisällä rakennetut virionit poistuvat, kun taas vaipalliset virukset voivat pitää isäntäsolun hengissä myös siitä poistuessaan. Vaipalliset virukset voivat säilyttää isäntäsolun solukalvon ehjänä, koska ne voivat kuroutua solukalvolta saaden päälleen lipidikaksoiskerroksen, vaipan. Jotkin virukset muodostavat vaippansa jo solun sisällä käyttäen hyväkseen esimerkiksi Golgin laitetta tai tumakalvoa (Cann 2005).

5. Zoonoottiset virustaudit

Zoonoottiset virukset ovat lajista toiseen leviäviä taudinaiheuttajia, jotka elävät reservi-isännissään aiheuttaen vain vähäisiä tai ei lainkaan oireita. Levitessään muihin isäntiin, kuten ihmisiin, samat virukset voivat aiheuttaa vakavia oireita ja jopa korkeaa kuolleisuutta (Bean *ym.* 2013). Nisäkkäistä selvästi yleisimpiä reservi-isäntiä ovat jyrsijät, kädelliset (muut kuin ihmiset) ja lepakot. Näillä lajeilla on havaittu olevan muihin nisäkkäisiin verrattuna suuri joukko oireita aiheuttamattomia reserviviruksia (Olival *ym.* 2017).

5.1. Lepakot virusten luonnollisina reservi-isäntinä

Lepakoilla on useita ominaisuuksia, jotka tekevät niistä erinomaisia isäntiä virusten näkökulmasta. Ne ovat määrältään runsaita, monipuolisia ja laajalle levinneitä. Lepakot elävät populaatioissa, jotka mahdollistavat virusten helpon leviämisen yksilöstä toiseen. Niiden lentokyky, kausittaiset muutot ja päivittäinen liikkuminen antavat viruksille helpon väylän levitä laajasti myös maantieteellisesti (Calisher *ym.* 2006). Lepakot ovat kokoonsa nähden pitkäikäisiä ja horrostavat talvisin, minkä uskotaan rajoittavan sekä virusreplikaatiota, että immuunivasteita (Luis *ym.* 2013).

Lepakot ovat luonnollisia reservi-isäntiä monille maailman patogeenisimmista viruksista, kuten Nipah, Hendra, Ebola ja SARS (severe acute respiratory syndrome, äkillinen vakava keuhkotieoireyhtymä) (Zhang *ym.* 2013). Lepakoilla on havaittu olevan kaikista nisäkäslajeista eniten nimenomaan zoonoottisia reserviviruksia (Olival *ym.* 2017). Nämä virukset eivät aiheuta lepakossa kliinisiä oireita, vaikka ovat muille lajeille, kuten ihmisille, vakavan taudin aiheuttavia tai jopa tappavia. Tämän ominaisuutensa vuoksi lepakot ovat viime vuosina herättäneet kiinnostusta tutkijoissa ja on luotu hypoteesi lepakoiden ainutlaatuisesta immuunijärjestelmästä (Ng *ym.* 2017). Erityisen immuniteetin lisäksi lepakoiden vahvan aseman reservi-isäntinä arvellaan johtuvan lepakkolajien välisestä virusten jakamisesta ja sympatriasta. Usein samalla elinalueella elää monen eri lepakkolajin populaatioita, jotka voivat jakaa viruksia keskenään (Luis *ym.* 2013).

Zhang *ym.* (2013) suorittivat koko genomien sekvensoinnin kahdelle lepakkolajille, *Pteropus alecto* ja *Myotis davidii*, joista *P. alecton* tiedetään olevan reservi-isäntä monille viruksille. Lepakoiden immuunijärjestelmän geneettisen taustan lisäksi tutkimuksessa oltiin kiinnostuneita lepakoiden lentokyvyn syntyyn vaikuttaneista geneeistä.

Lepakoiden lentokyky on ainutlaatuinen ominaisuus nisäkkäillä ja sen kehittyminen on aiheuttanut muutoksia genomissa. Oksidatiivisen fosforylaation (OXPHOS) aineenvaihduntareitti on ollut positiivisen valinnan kohteena ja sen seurauksena lepakoiden on täytynyt löytää keinoja käsitellä oksidatiivisen metabolian sivutuotteita, kuten reaktiivisia happilajeja (ROS), jotka voivat esimerkiksi vaurioittaa DNA:ta. Suuren osan geneeistä DNA-vaurio-tarkastuspiste – DNA-korjaus - polulla havaittiinkin olevan positiivisen valinnan kohteina molemmilla tutkituilla lepakkolajeilla (Zhang *ym.* 2013).

DNA-vauriovasteet ovat tärkeitä isäntien immuunipuolustuksen kannalta ja niiden tiedetäänkin olevan virusinteraktioiden kohteena. Voitaisiin siis päätellä, että lepakoiden lentokyvyn myötä muokkautuneet DNA-vauriovastemekanismat ovat vaikuttaneet myös lepakoiden ainutlaatuisen immuunijärjestelmän muodostumiseen (Zhang *ym.* 2013).

Useiden geenien, jotka liittyvät patogeenien tunnistamiseen ja immuunivasteisiin, on tutkittu olevan positiivisen valinnan kohteena lepakolla. Jonkin tietyn geenin positiivinen valinta yleensä viittaa sen parantavan yksilön kelpoisuutta eli olevan jollakin tavalla edullinen yksilölle. (Bean *ym.* 2013) Positiivisen valinnan seurauksena hyödylliset mutaatiot voivat kasvattaa frekvenssiään populaatioissa ja lopulta fiksoitua. Kun uusi hyödyllinen mutaatio ilmestyy populaatioon, voi tapahtua valinnan pyyhkäisy, ”selective sweep”, eli uuden alleelin fiksoituminen; tapahtuu useimmiten jonkin elinympäristömuutoksen vuoksi (Siddell *ym.* 2014).

Tällaisen positiivisen valinnan kohteina ovat lepakolla esimerkiksi geenit, jotka koodaavat DNA-vauriosensoreita, kuten DNA-PKc eli DNA-riippuvaisen proteiinikinaasin katalyyttinen alayksikkö

(catalytic subunit of DNA-dependent protein kinase). Positiivisen valinnan merkkejä löytyi myös geenistä *ATM*, ataxia telangiectasia mutated, joka koodaa ATM-proteiinia, joka on mukana immuunijärjestelmän kehityksessä ja aktivoinnissa (Bean *ym.* 2013, Zhang *ym.* 2013). DNA-PKc ja ATM vastaavat DNA-kaksoiskierteen rikkoutumisen korjaamisesta; ne havaitsevat DNA-vaurion ja toimivat muuntajaproteiineina, jotka välittävät ja vahvistavat vaurioviestiä (Falck *ym.* 2005). Näiden geenien positiivinen valinta voisi olla lähtöisin lepakoiden lentokyvystä. Oksidatiivisesta fosforylaatiosta syntyvät ROS:it voivat vaurioittaa DNA:ta, jolloin DNA-vauriosensoreiden merkitys korostuu (Zhang *ym.* 2013). Reaktiivisia happilajeja syntyy myös ennen inflammaatiota virusinfektioiden yhteydessä (Messaoudi *ym.* 2015). Jotkin virukset (esim. retrovirukset) voivat suoraan vaurioittaa isännän omaa DNA:ta (Madigan *ym.* 2012).

Muitakin poikkeavuuksia havaittiin. Positiivisen valinnan merkkejä löytyi geenistä *NLRP3*, NLR family, pyrin domain-containing 3, joka aktivoituu sekä virusinfektiossa, että reaktiivisten happiradikaalien (reactive oxygen species, ROS) vaikutuksesta, on analogisessa roolissa *AIM2*-geenin kanssa inflammasomin kokoonpanossa (Zhang *ym.* 2013).

AIM2-geeni (melanoma 2) taas puuttui molemmilta Zhang *ym.* (2013) tutkimuksessa mukana olleilta lepakkolajeilta. Geeni on osa PYHIN-geeniperhettä ja näiltä lepakoilta on kokonaan hävinnyt lokus, joka sisältää kyseisen geeniperheen. PYHIN-geeniperheeseen sisältyy myös esimerkiksi *IFI16*, joka aistii mikrobiperäistä DNA:ta ja on *AIM2* tavoin osana inflammasomien muodostumisesta (Zhang *ym.* 2013). On tutkittu, että isäntäsoluilla, joilla on vajavainen *AIM2*, synnynnäisen immunitetin vasteet DNA-virusia kohtaan ovat puutteelliset (Chan *ym.* 2016). Lisäksi lepakoilta näyttäisivät puuttuvan *AIM2* tavoin muutkin luonnollisten tappajasolujen (natural killer cell, NK-solu) reseptorit (Bean *ym.* 2013). Luonnolliset tappajasolut (natural killer, NK) ovat ensimmäinen linja puolustuksessa viruksia ja kasvaimia vastaan. Nämä löydökset todennäköisesti viittaavat siihen, että lepakoiden NK-solut käyttävät uudenlaisia reseptoreita klassisten luokan 1 MHC-molekyylien (major histocompatibility complex) tunnistuksessa (Zhang *ym.* 2013).

On mahdollista, että nisäkkäille ainutlaatuisen lentokyvyn kehittyminen on tuonut lepakoille ikään kuin vahingossa immuniteettimuutoksia, jotka mahdollistavat virusreservi-isäntänä toimimisen. Lepakoiden ja patogeenien vuorovaikutuksissa on kuitenkin vielä paljon epäselvyyksiä, jotka vaativat lisätutkimusta (Zhang *ym.* 2013).

5.2. Ihmisiin tarttuvia zoonoottisia virustauteja

Virukset, jotka ovat aiheuttaneet huomattavia pandemioita edellisen vuosisadan aikana, ovat olleet geneettisiä rekombinantteja ihmis- ja eläinperäisistä viruksista (Herfst *ym.* 2012).

Esittelen tarkemmin muutamia merkittäviä ihmiskuntaan vaikuttaneita virustauteja useasta eri virussuvusta: H5N1-virus, SARS- ja MERS-CoV, ebolavirus ja HIV.

5.2.1. Tyypin A influenssavirukset

Influenssaviruksia on neljää eri tyyppiä; A, B, C ja D. Näistä A ja B tyypin virukset aiheuttavat vuosittaisia epidemioita ihmisillä. Influenssa A virukset jaetaan alatyyppeihin niiden kahden pintaproteiinin perusteella: hemagglutiniini (H tai HA) ja neuraminidaasi (N). Hemagglutiniini-proteiineja on 18 eri tyyppiä, neuraminidaaseja 11 (<https://www.cdc.gov/flu/about/viruses/types.htm>, WHO Memorandum 1980).

H5N1-viruksen (highly pathogenic avian influenza) kannan H5N1 ("Hongkongin lintuinfluenssa") luonnollisina isäntinä toimivat ankat, joille se aiheuttaa yleensä vain lieviä oireita (Bean *ym.* 2013). H5N1 kykenee kuitenkin infektoimaan myös useita muita eläinlajeja (mm. useat vesilinnut, kana, ihminen, sika, kissaeläimet) aiheuttaen vakavia oireita tai ollen jopa letaali (Olsen *ym.* 2006). Erityisesti jotkin isäntälajit, kuten kanat ja ihmiset, kehittävät nopean ja rajun inflammatorisen vasteen, johon voidaan viitata hyposytokinemiana tai sytokiinimyrskynä. Infektiosta tulee systeeminen ja se aiheuttaa vakavia tautioireita ja korkeaa kuolleisuutta (Bean *ym.* 2013).

H5N1-virus on rakenteeltaan vaipaton, proteiinikuorellinen RNA-virus. Sen pintaproteiinit ovat hemagglutiniini (H tai HA) ja neuraminidaasi (N), kuten kaikilla tyypin A influenssaviruksilla. HA-glykoproteiini on vastuussa isäntäsolureseptorin siaalihappoon kiinnittymisestä (Aubin *ym.* 2005). Viruksen genomi muodostuu kahdeksasta geenisegmentistä ja erilaisia H5N1-virusgenotyypppejä on eristetty jo 14, joista ainakin 9 on edelleen kierrellyt Kiinassa 2002 (Li *ym.* 2004).

Ensimmäinen H5N1 ihmistartunta raportoitiin 1997 Hongkongissa. 2004 – 2005 virus aiheutti tautiaallon, jonka seurauksena menehtyi tai jouduttiin lopettamaan yli 100 miljoonaa lintua. Lisäksi linnuista levinneitä ihmisinfektioita raportoitiin 89, joista fataaleja 45 (Aubin *ym.* 2005).

Vaikka muutamia ihmistenvälisiä tartuntoja on raportoitu, H5N1 ei yleensä leviä ihmisestä ihmiseen, eikä se leviä lainkaan ilman välityksellä. On kuitenkin tutkittu, että virus voi mutatoitumalla kehittää kannan, joka kykenee leviämään yksilöstä toiseen ilman välityksellä (tutkimus tehty freteillä). Verrattuna nykyiseen infektiiviseen kantaan, ilmajälitteisellä viruksella oli neljä aminohapposubstituutiota hemagglutiniini-proteiinissa ja yksi substituutio PB2-proteiinissa (polymerase complex protein basic polymerase 2) (Herfst *ym.* 2012).

H5N1 taudinkuva on radikaalisti erilainen ankoilla, joilla infektio voi olla jopa oireeton, verrattuna kanoihin, joilla tautiin kuolleisuus on lähes 100 % (Bean *ym.* 2013). Yksi selitys tälle voisi olla se, että kanat ovat menettäneet synnynnäisen immuunisen RIG-1-proteiinin (retinoic acid-inducible protein 1) ekspresion. Ankoilla RIG-1 ekspresio on säilynyt ja proteiini on aktiivisessa roolissa influenssainfektion rajoittamisessa; RIG-1 havaitsee virusperäiset RNA-ligandit ja käynnistää interferonivasteen (Barber *ym.* 2010).

RIG-1 merkityksen selviämisen myötä ankan RIG-1 siirrettiin kanan DF-1 soluihin, ja huomattiin, että siirto nosti *IFNB*-promootorin aktiivisuutta ja rajoitti virusreplikaatiota. Tämä löydös voisi avata mahdollisuuden parempaan influenssaresistenssiin transgeenisten kanojen luomisella, joskin lisätutkimusta kaivataan, sillä täyttä ymmärrystä siitä, kuinka kanojen RIG-1 ekspresion puute vaikuttaa niiden vasteeseen muita viruksia kohtaan, ei vielä ole (Barber *ym.* 2010).

Ihmisille on kehitetty rokotteita H5N1-virusta vastaan, ja osa niistä on jo käytössä. Kiertävien H5N1-viruskantojen muuttuva antigeenisuus aiheuttaa kuitenkin jatkuvan tarpeen uusien rokotteiden kehittämiseksi. Tarvetta olisi etenkin rokotteelle, joka aikaansaisi immunogeenisyyden koko H5N1-viruskladia kohtaan (Abdel-Ghafar *ym.* 2008).

5.2.2. Koronavirukset

SARS (severe acute respiratory syndrome) eli äkillinen vakava keuhkotieoireyhtymä on SARS-koronaviruksen (SARS-CoV) aiheuttama influenssatauti (Bean *ym.* 2013). Ensimmäiset ihmistartunnat havaittiin 2002 Kiinassa (Cui *ym.* 2019). Tähän mennessä SARS-CoV on infektoinut

yli 8000 ihmistä, joista noin 800 on kuollut tautiin (https://www.who.int/csr/sars/country/table2004_04_21/en/).

SARS-CoV on vaipallinen (+)ssRNA-virus, joka käyttää reseptorina ihmisistäsolun ACE2-entsyymiä (angiotensin-converting enzyme 2) (Cui *ym.* 2019). ACE2 tehtävänä on aminohappojen kuljetus soluun ja sieltä pois, sekä kuljetuksen säätely (<https://www.uniprot.org/uniprot/Q9BYF1>). SARS-CoV infektoi pääasiassa hengityselimistöön soluja ja aiheuttaakin siksi hengitystieoireita isännässään (Cui *ym.* 2019).

SARS-CoV:n luonnollisina reservi-isäntinä toimivat lepakot, hevosenkenkäyököt. Oletetaan, että SARS-CoV on kehittynyt lepakoissa kahden eri SARS-CoV tyyppisen viruksen rekombinaation seurauksena ja levinnyt sitten sivettieläimiin, jotka toimivat väli-isäntinä tartuttaen ihmisiä. SARS-CoV voi myös tarttua ihmisestä toiseen melko helposti esimerkiksi pisaratartuntana (Cui *ym.* 2019).

Sivettieläimistä ja ihmisistä eristetyt virukset ovat olleet geneettisesti lähes identtisiä; variaatiota on huomattu kahdessa geenissä, *S* ja *orf8*. *S*-proteiinin S1-alayksikkö sisältää RBD:n (receptor-binding domain), joka on vastuussa viruksen reseptoriin sitoutumisesta ja solukalvofuusioitumisesta. RBD:stä on tunnistettu kaksi muuntelevaa aminohappotähdettä (479 ja 487), jotka ovat välttämättömiä SARS-CoV infektiön muodostumisessa ja viruksen siirtymisessä sivettieläimestä ihmiseen. *Orf8*-geenissä havaittiin muuntelua SARS-aallon (2002 – 2003) eri vaiheissa, joka viittaisi siihen, että geenissä tapahtui adaptaatiota viruksen eläimistä ihmiseen siirtymän aikana (Cui *ym.* 2019).

SARS-CoV:ta vastaan ei ole olemassa rokotetta eikä kliinistä hoitoa. Viruksen konservoituneen RBD:n vuoksi kehittäessään on anti-RBD-vasta-aine ja RBD-pohjainen rokote, mutta vielä ei ole onnistuttu kehittämään tuotetta, joka tehoaisi kaikkiin SARS-CoV-kantoihin (Cui *ym.* 2019).

MERS-CoV eli MERS-koronavirus (Middle East respiratory syndrome coronavirus) aiheuttaa Lähi-idän hengitystieoireyhtymää (MERS) ja se tunnistettiin ensimmäistä kertaa Saudi Arabiassa 2012. Tällä hetkellä varmistetuista ihmistartunnoista noin 35 % on ollut fataaleja ([https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-\(mers-cov\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-(mers-cov))).

MERS-CoV on SARS-CoV:en tavoin vaipallinen (+)ssRNA virus, jonka ihmisistäsolun reseptorina toimii DPP4 eli CD26 (dipeptidyl peptidase 4) (Cui *ym.* 2019). DPP4 on solun pinnalla sijaitseva glykoproteiinireseptori, jonka tehtävä on olla osana T-solujen aktivointia (<https://www.uniprot.org/uniprot/P27487>).

Myös MERS-koronaviruksen luonnollisia reservi-isäntiä ovat lepakot, mutta väli-isäntälajina toimivat dromedaarit, joista tauti on alun perin levinnyt ihmisiin. Taudin alkuperästä ei ole varmuutta, mutta samoin kuin SARS-CoV, sen ajatellaan kehittyneen lepakoissa kahden tai useamman MERS-CoV kaltaisen viruksen rekombinaation seurauksena ja siirtyneen sitten dromedaareihin, joissa virus on vielä mutatoitunut ennen ihmisinfektioon kykenemistä. Tutkimusten mukaan virus on ollut läsnä dromedaareissa jo ainakin 30 vuotta (Cui *ym.* 2019). Virus voi levitä ihmisestä toiseen, mutta ei yhtä herkästi kuin SARS-CoV, vaan ainoastaan lähikontaktissa

([https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-\(mers-cov\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-(mers-cov))).

Ihmistä ja dromedaareista eristetyt MERS-koronavirukset ovat olleet geneettisesti hyvin samanlaisia. Nämä virukset ovat proteiineiltaan melko konservoituneita, runsasta muuntelua kantojen välillä tavataan ainoastaan S-proteiineissa ja apuproteiineissa ORF3 ja ORF4 (accessory proteins). ORF4b tiedetään olevan interferoniantagonisti eli hillitsevän isäntäsolun interferonituotantoa. Tutkimuksissa kuitenkin selvisi, että pelkän *orf4*-geenin deleetio ei juurikaan hillinnyt virusreplikaatiota voimistuneesta interferonituotannosta huolimatta, mutta geenien *orf3*, *orf4* ja *orf5* poistaminen heikensi MERS-CoV virulenssia dramaattisesti (Cui *ym.* 2019).

MERS-CoV-rokotetta tai varsinaista hoitoa tautiin ei ole olemassa. Kuten SARS-CoV:en kohdalla, myös MERS-CoV aiheuttaa haasteita tuotekehityksessä jatkuvan geneettisen muuntelun vuoksi. Tarvitaan lisätutkimusta koskien MERS-koronavirusta ja sen tyyppisiä viruksia, etenkin lepakoissa elävistä viruskannoista tiedetään vielä hyvin vähän (Cui *ym.* 2019).

5.2.3. Filovirukset

Ebolaa (ebola virus disease, EVD) aiheuttaa ebolavirus (EBOV); ihmisillä EVD on vakava, usein tappava verenvuotokuumetauti. Ebola ilmestyi ensimmäistä kertaa 1976 melko yhdenaikaisesti sekä Sudanissa että Kongossa. Vuosina 2014 – 2016 ebola aiheutti tähän mennessä vakavimman tautiaallon leviten useaan maahan (<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ebola-virus-disease>). WHO:n ebolatilanneraportin (2016) mukaan tautiin on sairastunut lähes 29000 ihmistä, joista yli 11000 on kuollut.

Ebolavirussukuun kuuluu viisi viruslajia: Zaire (EBOV), Sudan (SUDV), Bundibugyo (BDBV), Tai Forest (TAFV) ja Reston (RESTV). EBOV on ollut vastuussa suurimmista EVD aalloista ihmisillä. Ebola leviää ihmisestä toiseen ruumiinnesteiden välityksellä (Messaoudi *ym.* 2015).

EBOV aiheuttaa vakavia oireita ihmisten lisäksi myös muille kädellisille. Infektion vakavuus kädellisillä näyttäisi johtuvan massiivisesta systeemisestä virusreplikaatiosta ja liiallisesta inflammaatiovasteesta. Uskotaan, että lepakot ovat pääasiallisia, oireettomia reservi-isäntiä ebolavirukselle. Vielä ei ole tarkkaa tietoa siitä, miksi EBOV on patogeeninen tietyissä isännissä ja toisissa ei, joskin IFN-vasteella (tyypin 1 interferoni) on hiiritutkimuksissa todettu olevan rooli infektion hillitsemisessä (Messaoudi *ym.* 2015).

EBOV on rakenteeltaan vaipallinen (-)ssRNA-virus, jonka genomi koostuu seitsemästä geenistä (Manicassamy *ym.* 2005). Jokainen geeni koodaa yhtä viruksen rakenneproteiinia, paitsi GP-geeni useaa eri proteiinia transkriptionaalisen muokkauksen avulla. GP-proteiini on ebolaviruksen transmembraalinen proteiini, joka toimii isäntäsoluun tunkeutumisessa kiinnittymis- ja fuusioproteiinina. Ebolavirus kykenee infektoimaan useita solutyyppejä, mutta tehokkaimmin se käyttää hyväkseen makrofageja ja dentriittisoluja (Messaoudi *ym.* 2015).

EBOV-infektion on huomattu aiheuttavan lymfopeniaa ja etenkin CD4⁺ (cluster of differentiation 4) auttaja-T-solujen sekä NK-solujen tuhoutumista. CD4⁺-solujen määrän väheneminen laskee EBOV-spesifisen immunoglobuliinin tuotantoa, helpottaen näin viruksen leviämistä. EBOV kykenee myös vastustamaan antiviraalista puolustusjärjestelmää estämällä tyypin 1 interferonien tuotannon ja niiden normaalisti aiheuttamat soluvasteet. Virus siis kykenee isännän infektoimisen lisäksi

hillitsemään immuunivastetta niin, että replikoituminen ja uusien solujen infektoiminen on virukselle helpompaa (Messaoudi *ym.* 2015).

Ebolaan ei ole hoitoa, joskin ebolavirusta vastaan on kehitetty useita rokotteita, joista mikään ei kuitenkaan vielä ole yleisesti hyväksytyssä käytössä. Tutkimuksissa tällä hetkellä olevat rokotteet on kehitetty EBOV GP-proteiinin perusteella aktivoimaan ihmisen immuunijärjestelmä niin, että se tunnistaa viruksen pintaproteiinin jo viruksen saapuessa elimistöön, eikä infektio pääse alkamaan. Epäselvyyttä on edelleen rokotteiden turvallisuudessa ja niiden antaman immuniteetin voimakkuudessa ja kestossa (Marzi *ym.* 2019).

5.2.4. Lentivirukset

HIV (human immunodeficiency virus) on eritteiden välityksellä ihmisestä toiseen tarttuva virus, joka aiheuttaa pahimmillaan AIDSin (acquired immunodeficiency syndrome). HIV on globaali terveysongelma, joka on aiheuttanut jo yli 35 miljoonaa kuolemaa maailmanlaajuisesti. HIV-infektioista ei voi parantua, ja se on hoitamattomana tappava, mutta nykyään on olemassa lääkkeitä (ART, antiretroviral therapy), joiden avulla infektion kanssa voi elää lähes normaalia elämää (<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids>).

HIV on vaipallinen (+)ssRNA / dsDNA retrovirus, jolla on 9 geeniä. Se käyttää reseptoreinaan ihmisisäntäsolun proteiineja, jotka hoitavat solujenvälistä kommunikointia. Muiden retrovirusten tavoin sen RNA-genomi luetaan DNA:ksi isäntäsolun sisällä. HIV:n virionissa on genomien lisäksi useita entsyymeitä, kuten käänteiskopioijaentsyymi, jonka avulla ssRNA:sta synnytetään dsDNA:ta. Tuotettu kaksijuosteinen virus-DNA siirretään isäntäsolun tumaan yhdessä virusperäisen liittäjäproteiinin (integrase protein) kanssa ja DNA yhdistetään osaksi isännän genomia. Tällaista virus-DNA:ta kutsutaan provirukseksi tai esivirukseksi, ja se voi säilyä osana isäntägenomia ikuisesti. Virus-DNA:ta monistetaan isännän oman DNA:n mukana ja HIV replikoituu jatkuvasti (Madigan *ym.* 2012).

Immuunijärjestelmän krooninen aktivaatio on yksi HIV-tartunnan peruspilteitä. CD4⁺ auttaja-T-solujen tuhoutuminen, polyklonaalinen B-soluaktivaatio, kasvanut T-solukiertonopeus, kasvanut aktiivisen fenotyypin T-solufrekvenssi ja inflammaatiota edeltävien sytokiinien ja kemokiinien määrän nousu seerumissa ovat tyypillisiä HIV:n aiheuttamia immuunireaktioita (Brenchley *ym.* 2006).

HIV-1 (human immunodeficiency virus 1) on lähtöisin lajienvälisestä SIV (simian immunodeficiency virus) tartunnasta. Luontaisesti SIV infektoi simpansseja. Toisin kuin ihmiset, vanhan maailman häntäapinat (Cercopithecidae-heimo) ovat resistenttejä HIV-1 tartunnalle. (Sironi *ym.* 2015). Häntäapinoilla HIV-1 infektion estämisestä on vastuussa *TRIM5* (= TRIM5 α), joka on tärkeä retrovirus-rajoitustekijä. *TRIM5*-geenin proteiinituote sitoutuu suoraan sisään tulevaan viruskapsidiin ja merkitsee sen tuhoamista varten. Ihmisten vastaava proteiini on kuitenkin tehoton HIV-1 infektion torjunnassa (Kaiser *ym.* 2007).

Kaiser *ym.* (2007) tekemässä tutkimuksessa selvisi, että simpanssien ja gorillojen genomissa on yli 100 PtERV1-kopiota, kun ihmisgenomista kyseistä retrovirusta ei löydy laisinkaan (PtERV1 = Pan troglodytes endogenous retrovirus). Selvisi, että ihmisen *TRIM5* on erittäin aktiivinen PtERV1 vastaan, mutta on tämän vuoksi vastustuskyvytön HIV-1 infektiolle. *TRIM5*-proteiinin

antiviraalinen spesifisyys on kehittynyt kädellisillä nopeina sykäyksinä positiivisen valinnan seurauksena edellisen 30 miljoonan vuoden aikana (Kaiser *ym.* 2007).

HIV-tartunnan hoitoon suunniteltuja ART-lääkkeitä on saatavilla useita kymmeniä erilaisia, ja ne voidaan jakaa toimintansa perusteella alaluokkiin. Lääkkeillä pyritään hillitsemään virusreplikaatiota ja tarttuvuutta. Antiviraalisten lääkkeiden vaikutus kohdistuu johonkin tiettyyn viruskomponenttiin. HIV:n kohdalla eniten käytetyt kohteet ovat käänteiskopiointi ja käänteiskopioijaentsyymi ja muut ssRNA:n dsDNA:ksi muuttamiseen osallistuvat virusperäiset entsyymit, sekä virusproteaasi, joka on välttämätön HIV:n proteiinien valmistuksessa (De Clercq 2009). Tehokas ART madaltaa HIV:n tarttuvuutta jopa 96 % (<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids>).

Myös ihmiset, joilla ei ole HIV-tartuntaa voivat riskiryhmään kuuluessaan käyttää ART-lääkitystä estääkseen mahdollisen HIV-tartunnan. Lääkkeitä voidaan käyttää jatkuvasti ennaltaehkäisevästi (pre-exposure prophylaxis, PrEP), tai mahdollisen tartunnan jälkeen kuuriluontoisesti (post-exposure prophylaxis, PEP). Tällaisen käytön tarkoituksena on tuhota virus ennen sen genomin liittymistä isännän omaan genomiin (<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids>).

6. Tulevaisuus

WHO (World Health Organization) on varoittanut seuraavan pandemian eli maailmanlaajuisen epidemian olevan zoonoottinen. Vaikka jo ilmestyneitä tarttuvia virustauteja pidetäänkin suurena vaarana, isomman uhan aiheuttaa jokin uusi zoonoottinen tarttuva tauti, joka kykenee lajien välillä leviämisen lisäksi tarttumaan tehokkaasti ihmisyksilöstä toiseen (Bean *ym.* 2013).

Virus-isäntävuorovaikutuksia, viruszoonoosien historiaa ja virustautien leviämistä analysoimalla on ennustettu, että tuntemattomista viruksista yli 800 000 on potentiaalisia tulevien zoonoosien aiheuttajia. Tällä hetkellä ei ole olemassa mitään keinoa kattavasti ennustaa tai ennaltaehkäistä näiden uusien virusten nousemista (Carrol *ym.* 2018).

Erilaisten isäntien immuunijärjestelmien ja –vasteiden ymmärtäminen on avainasemassa zoonoottisten virustautien ennaltaehkäisemisessä ja hoitamisessa. Kun isäntien immuunivasteiden kokonaisvaltainen ymmärrys yhdistetään epidemiologisen, ekologisen ja evoluutiivisen virusemergenssin tutkimuksen kanssa, saadaan tärkeää tietoa mekanismeista, joilla virukset tarttuvat isännästä toiseen ja voidaan ymmärtää reservi-isäntien ja virusten kumppanuutta. Reservi-isäntien immunologisten prosessien ja niiden geneettisten taustojen tutkiminen on tärkeä väylä tautitoleranssin ja isännän resistenssin selvittämiseksi (Mandl *ym.* 2015). Kun saavutetaan kattava tietämys eri isäntien immuunivasteista, virusreservi-isännistä ja eri virusten virulenssista, voidaan kehittää tauti-interventiostrategioita, joiden avulla uusien zoonoottisten virustautien ennaltaehkäisy on helpompaa ja tehokkaampaa (Bean *ym.* 2013).

Työkalut, joiden avulla uudet virukset voidaan havaita ja sekvensoida ovat parantuneet viime vuosina huomattavasti. Tämä kehitys helpottaa virusten aiheuttamien tautien diagnosointia ihmisissä ja yksinkertaistaa myös oletettujen reservi-isäntien tunnistamista. Hämärän peitossa ovat kuitenkin edelleen virusten ja reservi-isäntien väliset suhteet, jotka usein jäävät vähälle

huomiolle nousevien virusten tutkimisessa. Virusisännässä tapahtuvat prosessit ovat erittäin kriittisiä taudin lopputuleman kannalta, ja niitä tulisikin tulevaisuudessa tutkia intensiivisesti (Mandl *ym.* 2015).

Yksi tärkeistä tulevaisuuden kehityskohteista on rokotteet ja antiviraaliset lääkkeet (Chan *ym.* 2016). Monien virusten kohdalla rokotetta tai hoitomuotoja ei ole. Useissa tapauksissa virusinfektion jälkeen isännälle muodostuu elinikäinen immunitetti kyseistä virusta kohtaan, jolloin toimiva rokote olisi tehokas ennaltaehkäisy menetelmä. Ongelmana rokotekehittelyssä on virusten jatkuva geneettinen muuntelu (sama rokote ei välttämättä tehoa kaikkiin viruskantoihin) ja uuden rokotteen vaatima pitkä tutkimus turvallisuusseikkoineen. Rokotetutkimusta ja –kehitystä on kuitenkin jatkettava, jotta tilanne parantuisi tulevaisuudessa (Burt *ym.* 2012, Gire *ym.* 2012).

Tulevaisuudessa virusten leviäminen helpottuu entisestään, kun ihmisen toimet vähentävät ympäristön monimuotoisuutta ja lisäävät eläinkontakteja maatalouden kautta. Ihmisten entistä suurempi maailmanlaajuinen liikkuvuus tehostaa virusten leviämistä maantieteelliseltä alueelta toiselle. Olisi siis erittäin tärkeää, että uusiin zoonoottisiin viruksiin ja niiden luonnollisiin isäntiin, sekä adaptaatio- ja tarttumismekanismeihin keskittäisiin lisätutkimusta (Carrol *ym.* 2018).

7. Yhteenveto

Virusten ja nisäkäsisäntien yhteisevoluutio ja kilpavarustelu on jatkunut kautta historian muotoillen niin isäntien immunitettijärjestelmää kuin viruksiakin. Edelleen molempien osapuolten on jatkettava muuntelua ja sopeutumista pysyäkseen toisen mukana ja säilyäkseen. Virusten nopea muuntelu aiheuttaa nisäkkäille valintapainetta, joka näkyy esimerkiksi valintana immuunijärjestelmään liittyvissä geeneissä.

Eri nisäkäsisäntien välillä on suuria eroja siinä, millaisia oireita jokin virus läsnä ollessaan niissä aiheuttaa. Yleisempien luonnollisten virusreservi-isäntien (lepakot, jyrsijät) genomeissa on oltava jotain erityistä, joka selittää virusinfektion fenotyypiset erot väli- ja vahinkoisäntiin verrattuna. Lepakoiden uniikin immuunijärjestelmän taustalla on arveltu olevan niiden nisäkkäille ainutlaatuinen kyky lentää, jonka myötä niille olisi ikään kuin vahingossa kehittynyt kyky elää sopuisaa yhteiseloä useiden maailman patogeenisimpien viruslajien kanssa. Luonnollisten isäntien genomeista on löydetty useita merkkejä immuunijärjestelmään vaikuttavien geenien voimakkaasta positiivisesta valinnasta ja toisaalta joidenkin geenien osittaisista tai täydellisistä deleetioista. Vielä ei olla kuitenkaan pystytty tunnistamaan niitä tekijöitä, jotka lopulta antavat reservi-isännille kyvyn kontrolloida virusinfektiota.

Ihmisiin tarttuvia zoonoottisia virustauteja on jo löydetty todella paljon ja lisää löydetään jatkuvasti, kun muissa nisäkkäissä elävät virukset mutatoituvat niin, että kykenevät infektoimaan myös ihmisiä. Usein virukset ovat lähtöisin villieläimistä, joista siirtyvät koti- tai tuotantoeläinten kautta ihmisiin. Uudet zoonoottiset virustaudit muodostavat todellisen pandemiariskin ja ovat vaikeasti hallittavissa. Historian zoonoottisten epidemioiden ja nykyisten tunnettujen zoonoosien, sekä virusreservi-isäntien tutkiminen voi auttaa ennustamaan, mikä useista potentiaalisista viruksista voisi aiheuttaa seuraavan ihmisepidemian.

Virustautien ennaltaehkäisy tutkimuksen ja tiedon levittämisen kautta on ensiarvoisen tärkeää maailman globalisaation vain vauhdittuessa. Rokotteiden kehittäminen on vielä huomattavasti antiviraalisten lääkkeiden kehittelyä tärkeämpää, sillä tehokkaan rokotteen löytyessä sen avulla voidaan luoda elinikäinen immuniteetti virusta vastaan. Rokotteiden kehittämistä vaikeuttaa virusten jatkuva muuntelu. Rokotevalmistuksessa pyritään luomaan valmiste, joka pystyisi luomaan immuniteetin viruksen kaikkia eri kantoja kohtaan.

8. Lähteet

- Abdel-Ghafar A.-N., Chotpitayasunondh T., Gao Z. *ym.* (2008) Update on avian influenza A (H5N1) virus infection in humans. *New England Journal of Medicine*, 358 (3), 261.
- Alberts B., Johnson A., Lewis J. *ym.* (2015) *Molecular Biology of the Cell*, 6th edn. Garland Science.
- Akira S., Uematsu S., Takeuchi O. (2006) Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*, 124, 783-801.
- Aubin J.-T., Azebi S., Balish A. *ym.* (2005) Evolution of H5N1 avian influenza viruses in Asia. *Emerging Infectious Diseases*, 11 (10), 1515-1521.
- Barber, M. R., Aldridge, J. R. Jr, Webster, R. G., Magor, K. E. (2010) Association of RIG-I with innate immunity of ducks to influenza. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107, 5913-5918.
- Bean. A.G.D., Baker M.L., Stewart C.R. *ym.* (2013) Studying immunity to zoonotic diseases in the natural host — keeping it real. *Nature Reviews Immunology*, 13 (12), 851-861.
- Brenchley J.M., Price D.A., Schacker T.W. *ym.* (2006) Microbial translocation is a cause of systemic immune activation in chronic HIV infection. *Nature Medicine*, 12, 1365-1371.
- Burt F.J., Rolph M.S., Rulli N.E. *ym.* (2012) Chikungunya: A re-emerging virus. *The Lancet*, 379 (9816), 662-671.
- Calisher C.H., Childs J.E., Field H.E., Holmes K.V., Schountz T. (2006) Bats: Important Reservoir Hosts of Emerging Viruses. *Clinical Microbiology Reviews*, 19, 531-545.
- Cann, A. (2005) *Principles of Molecular Virology*, 4th edn. Amsterdam, Elsevier Ltd.
- Carroll D., Daszak P., Wolfe N.D. *ym.* (2018) The Global Virome Project. *Science*, 359 (6378), 872-874.
- Chan Y.K., Gack M.U. (2016) Viral evasion of intracellular DNA and RNA sensing. *Nature Reviews Microbiology*, 14 (6), 360-373.
- Cui J., Li F., Shi Z.-L. (2019) Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature Reviews Microbiology*, 17 (3), 181-192.
- De Clercq E. (2009) Anti-HIV drugs: 25 compounds approved within 25 years after the discovery of HIV. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 33 (4), 307-320.
- Falck J., Coates J., Jackson S.P. (2005) Conserved modes of recruitment of ATM, ATR and DNA-PKcs to sites of DNA damage. *Nature*, 434 (7033), 605-611.
- Gire S.K., Goba A., Andersen K.G. *ym.* (2012) Genomic surveillance elucidates Ebola virus origin and transmission during the 2014 outbreak. *Science*, 345 (6202), 1369-1372.
- Hengel H., Koszinowski U.H., Conzelmann K.-K. (2005) Viruses know it all: New insights into IFN networks. *Trends in Immunology*, 26 (7), 396-401.

- Herfst S., Schrauwen E.J.A., Linster M. *ym.* (2012) Airborne transmission of influenza A/H5N1 virus between ferrets. *Science*, 336 (6088), 1534-1541.
- Kaiser S.M., Malis H.S., Emerman M. (2007) Restriction of an extinct retrovirus by the human TRIM5 α antiviral protein. *Science*, 316 (5832), 1756-1758.
- Kawashima Y., Pfafferott K., Frater J. *ym.* (2009) Adaptation of HIV-1 to human leukocyte antigen class I. *Nature*, 458 (7238), 641-645.
- Klug W.S., Cummings M.R., Spencer C.A., Palladino M.A. (2016) Concepts of Genetics, 11th edn. Pearson.
- Kumar H., Kawai T., Akira S. (2011) Pathogen recognition by the innate immune system. *International Reviews of Immunology*, 30, 16-34.
- Li K.S., Guan Y., Wang J. *ym.* (2004) Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia. *Nature*, 430, 209-213.
- Luis A.D., Hayman D.T.S., O'Shea T.J. *ym.* (2013) A comparison of bats and rodents as reservoirs of zoonotic viruses: Are bats special? *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280 (1756).
- Madigan M.T., Martinko J.M., Stahl D.A., Clark D.P. (2012) Brock Biology of Microorganisms, 13th edn. Pearson.
- Mandl J.N., Ahmed R., Barreiro L.B. *ym.* (2015) Reservoir host immune responses to emerging zoonotic viruses. *Cell*, 160 (1-2), 20-35.
- Manicassamy B., Wang J., Jiang H., Rong L. (2005) Comprehensive analysis of ebola virus GP1 in viral entry. *Journal of Virology*, 79 (8), 4793-4805.
- Marzi A., Mire C.E. (2019) Current Ebola Virus Vaccine Progress. *BioDrugs*, 33 (1), 9-14.
- Messaoudi I., Amarasinghe G.K., Basler C.F. (2015) Filovirus pathogenesis and immune evasion: Insights from Ebola virus and Marburg virus. *Nature Reviews Microbiology*, 13 (11), 663-676.
- Nakano Y., Aso H., Soper A. *ym.* (2017) A conflict of interest: The evolutionary arms race between mammalian APOBEC3 and lentiviral Vif. *Retrovirology*, 14 (1), 31.
- Narasaraju T., Sim M.K., Ng H.H. *ym.* (2009) Adaptation of human influenza H3N2 virus in a mouse pneumonitis model: insights into viral virulence, tissue tropism and host pathogenesis. *Microbes and Infection*, 11 (1), 2-11.
- Ng J.H.J., Tachedjian M., Wang L-F., Baker M.L. (2017) Insights into the ancestral organisation of the mammalian MHC class 2 region from the genome of the pteropid bat, *Pteropus alecto*. *BMC Genomics*, 18, 388.
- Olival K.J., Hosseini P.R., Zambrana-Torrel C. *ym.* (2017) Host and viral traits predict zoonotic spillover from mammals. *Nature*, 546 (7660), 646-650.
- Olsen B., Munster V.J., Wallensten A. *ym.* (2006) Global Patterns of Influenza A Virus in Wild Birds. *Science*, 312 (5772), 384-388.

- Shih R.-H., Wang C.-Y., Yang C.-M. (2015) NF-kappaB signaling pathways in neurological inflammation: A mini review. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 8 (Dec), 77.
- Siddle K.J., Quintana-Murci L. (2014) The Red Queen's long race: Human adaptation to pathogen pressure. *Current Opinion in Genetics and Development*, 29, 31-38.
- Sironi, M., Cagliani, R., Forni, D., Clerici, M. (2015) Evolutionary insights into host-pathogen interactions from mammalian sequence data. *Nature Reviews Genetics*, 16 (4), 224-236.
- Wang L.-F., Walker P.J., Poon L.L.M. (2011) Mass extinctions, biodiversity and mitochondrial function: are bats 'special' as reservoirs for emerging viruses? *Current Opinion in Virology*, 1 (6), 649-657.
- World Health Organization (2016) Ebola situation report, 30 March, 2016.
http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204714/1/ebolasitrep_30mar2016_eng.pdf?ua=1&ua=1
- Zhang G., Cowled C., Shi Z., ym. (2013) Comparative Analysis of Bat Genomes Provides Insight into the Evolution of Flight and Immunity. *Science*, 339, 456-460.
- (1980) A revision of the system of nomenclature for influenza viruses: a WHO Memorandum. *Bulletin of the World Health Organization*, 58 (4), 585-591.
<https://www.cdc.gov/flu/about/viruses/types.htm> (2.3.2019)
http://www.solunetti.fi/fi/histologia/regulatoriset_t-solut/2/ (haettu 7.3.2019)
<https://www.uniprot.org/uniprot/Q9BYF1> (20.3.2019)
https://www.who.int/csr/sars/country/table2004_04_21/en/ (20.3.2019)
[https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-\(mers-cov\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/middle-east-respiratory-syndrome-coronavirus-(mers-cov)) (21.3.2019)
<https://www.uniprot.org/uniprot/P27487> (21.3.2019)
<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/ebola-virus-disease> (21.3.2019)
<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids> (28.3.2019)