

Kunst- en vliegwerk

Wisselwerking tussen virus, gastheer en vector

Prof. dr. M.M. van Oers

Inaugurele rede bij de aanvaarding van het ambt van hoogleraar Virologie
aan Wageningen University op 16 januari 2014



Kunst- en vliegwerk

Wisselwerkingen tussen virus, gastheer en vector

Prof. dr. Monique M. van Oers

Inaugurale rede bij het aanvaarden van de positie van Hoogleraar Virologie
aan Wageningen University op 16 januari 2014



WAGENINGEN UNIVERSITY
WAGENINGEN UR

ISBN 978-94-6173-799-1

Kunst- en vliegwerk

Wisselwerkingen tussen virus, gastheer en vector

Mijnheer de rector, dames en heren

In deze inaugurele rede wil ik u meenemen naar de wereld van virussen. Deze overlapt sterk met onze eigen wereld en het lijkt er op dat alle cellulaire organismen te maken hebben met virusinfecties.

De titel *kunst- en vliegwerk* verwijst naar de toestellen, waarmee men op het toneel natuurverschijnselen kon nabootsen en acteurs liet opstijgen en neerdalen. In figuurlijke zin wil met *kunst- en vliegwerk* zeggen dat alles uit de kast wordt gehaald om iets voor elkaar te krijgen, vaak op het laatste nippertje, en al improviserend. Dat is nu precies wat virussen moeten doen om een geslaagde infectie voor elkaar te krijgen. Planten en dieren moeten zich aan de andere kant te weer stellen om een virusaanval te pareren. Er is aan beide kanten sprake van tijdsdruk en de gevonden oplossingen zijn zeker niet universeel. De uitkomst van deze wisselwerking is echter cruciaal voor het voortbestaan van virus en gastheer. Zulke interacties zijn dan ook een drijvende kracht in de evolutie. De titel kan echter ook slaan op het feit dat veel virussen zich vliegend verplaatsen tussen gastheren door gebruik te maken van bijvoorbeeld nieskracht of insecten. Daarnaast zou de term kunst- en vliegwerk kunnen wijzen op de vindingrijkheid en technische foefjes, die virologen moeten toepassen om alle aspecten van virusinfecties te doorgronden.

In deze rede wil ik u een indruk geven van de diversiteit en de complexiteit van de wisselwerkingen tussen virussen, hun gastheren, en virusoverdragende insecten. Ik zal ook aangeven waar we de komende jaren bij de leerstoelgroep Virologie aan gaan werken.

Voorbeelden van virusinfecties

Iedereen heeft met virussen te maken. De omschrijving 'het komt door een virus' wordt door velen, te pas en te onpas, gebezigd. Bij vee kent u ongetwijfeld varkenspest en mond- en klauwzeer, en ook hondsdolheid wordt door een virus veroorzaakt. Voorbeelden van virusziektes bij de mens zijn griep, polio, aids én, nu weer

heel actueel, mazelen. Soms gaan virusinfecties snel over, maar sommige virussen veroorzaken chronische infecties, die op langere termijn tot bijvoorbeeld kanker kunnen leiden. Ook planten zijn bevattelijk voor virusinfecties. Aardappelbladrolvirus was het grootste probleem in de aardappelteelt, totdat in de 19^e eeuw de koppositie werd overgenomen door de aardappelziekte, veroorzaakt door de oömyceet *Phytophthora infestans*. In de tomaten- en peperteelt zijn infecties met het tomatenbronsvlekkenvirus een groot probleem. In planten kunnen virusinfecties echter ook prachtige bloem- of bladvarianten opleveren. Zo waren gestreepte tulpen zeer gewild in de 17^e eeuw. Ze werden voor enorme bedragen verkocht en zijn nog te zien op **kunstwerken** uit die tijd.

Veel virussen worden verspreid door insecten. Deze nemen het virus op tijdens het opzuigen van bloed of plantensappen. Het virus wordt weer afgegeven bij het aanpakken van een volgende geschikte gastheer. In dit geval is het insect een vector voor het virus, omdat het insect zorgt voor de overdracht van het virus tussen gastheren. Een duidelijk voorbeeld van **vliegwerk**. Zo worden het gele-koortsvirus en het West Nile-virus door bloedzuigende muggen verspreid, terwijl veel plantenvirussen zich mobiliteit verschaffen via bijvoorbeeld bladluizen of witte vliegen. Het eerder genoemde aardappelbladrolvirus wordt bijvoorbeeld verspreid door bladluizen. Het vergaren van kennis over hoe virussen er voor zorgen dat ze efficiënt worden overgedragen door insecten is uiterst belangrijk voor het bestrijden en voorkomen van virusziektes. Dit geldt voor zowel de agricultuur als de humane en veterinaire gezondheidszorg.

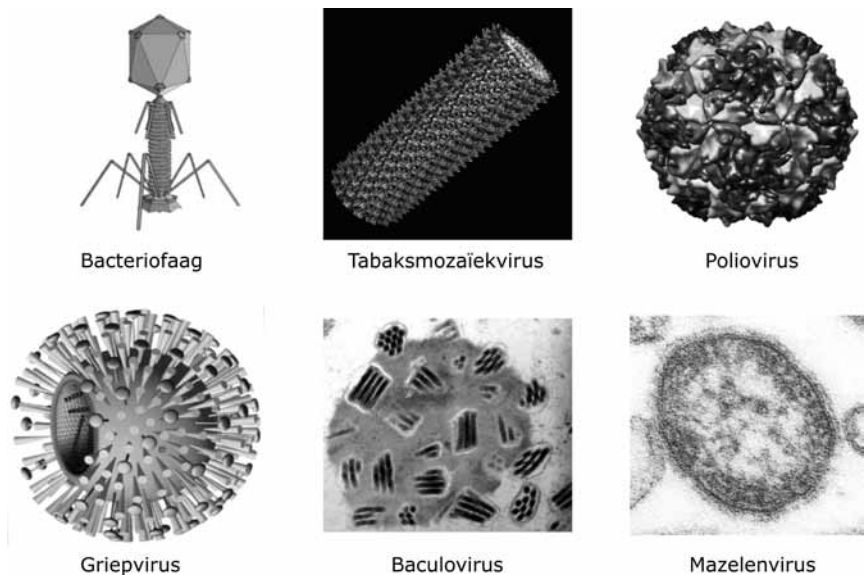
Daarnaast zijn er natuurlijk ook virussen die ziektes in insecten veroorzaken. In dit geval is het insect dus niet de vector maar een gastheer voor het virus. Insectenvirussen reguleren de grootte van insectenpopulaties en worden toegepast om plaaginsecten te bestrijden. Rupsen van de fruitmot veroorzaken wormstekigheid in appels en worden in de biologische teelt bestreden met een baculovirus. In de palmtelte wordt een nudivirus ingezet om neushoornkevers onder controle te houden. Aan de andere kant zijn insectenvirussen een groot probleem voor kwekers van insecten. Imkers hebben te maken met virale infecties in hun bijen en de zijdeproductie is door virusinfecties vrijwel geheel uit Europa verdwenen. Tseetseevliegen worden gekweekt om steriele mannetjes uit te kunnen zetten om slaapziekte te bestrijden. De kweek van deze vliegen moet echter onder streng gereguleerde condities plaatsvinden om te voorkomen dat de kolonie bezwijkt aan een hytrosavirus⁴.

Maar wat is nu een virus?

Virale eigenschappen

Men kan ziekteverwekkende virussen zien als ongenode gasten in een hotel, waarin de kamers te vergelijken zijn met onze lichaamscellen. Deze lieden kiezen zelf de kamers uit en rekken het begrip 'roomservice' drastisch op. Ze verbouwen iedere kamer tot een werkplaats om duizenden kopieën van zichzelf te maken. Aan het eind van het verhaal zal het hotel bezwijken, tenzij de eigenaar erin slaagt de indringers tot kalmte te manen of zelfs te verdrijven, eventueel met hulp van buitenaf. Deze 'gasten' komen dan op de zwarte lijst te staan, en bij een hernieuwd aankloppen, zal hun door de beveiliging de toegang worden geweigerd.

Het geven van een wetenschappelijke definitie voor een virus is echter nog niet zo eenvoudig. Eén van de fascinerende aspecten van virussen is namelijk dat ze in een enorme verscheidenheid vóórkomen (Fig. 1). Algemeen kunnen we zeggen dat virussen zeer kleine deeltjes zijn, die bestaan uit genetisch materiaal (RNA of DNA), dat is omgeven door een beschermende eiwitmantel en soms een lipidemembraan. De virusdeeltjes kunnen zich alleen vermeerderen in cellen van een geschikte gastheer en daarmee zijn virussen dus obligate parasieten.



Figuur 1. De morfologische diversiteit van virussen.

We kennen het bestaan van virussen pas sinds het eind van de 19^e eeuw. Adolf Mayer, directeur van het Rijks Landbouw Proefstation in Wageningen, was door tabakskwekers in de omgeving gevraagd om een vreemde ziekte in tabak nader te

onderzoeken². In 1886 heeft hij de symptomen van de ziekte, die hij 'mosaic disease of tobacco' noemde, in detail beschreven. Hij liet als eerste zien dat de ziekte overdraagbaar was via het sap van zieke planten. Martinus Beijerinck, werkzaam in Delft en Wageningen, en zijn Russische tijdgenoot Dimitri Ivanovski lieten zien dat deze bladvlekkenziekte werd veroorzaakt door een filtreerbaar agens³. Beijerinck zag in dat het hier om iets anders ging dan een bacterie en beschreef dit agens als een *contagium vivum fluidum* een levende smetvloeistof, waaraan hij de naam 'virus' gaf⁴. Hij kon het virus niet in kweek brengen, maar kon met het filtraat wel nieuwe planten infecteren. Na 1930 kon men met elektronenmicroscopie en kristallografie voor het eerst laten zien dat het tabaksmozaïekvirus uit deeltjes bestond, samengesteld uit eiwit en RNA⁵.

De opkomst van de akkerbouw, zoönoses en migraties

Virussen hebben een belangrijke rol gespeeld in onze geschiedenis. Serieuze problemen traden waarschijnlijk voor het eerst op tijdens de Jonge Steentijd, die 10.000 jaar geleden in het Midden-Oosten begon. Er ontstonden kleine landbouwgemeenschappen met akkerbouw en veeteelt, waardoor populatiedichtheden toenamen en mensen en dieren dichter op elkaar gingen leven. Met de opkomst van de akkerbouw ontstonden monoculturen en daarmee kregen plantenvirussen meer kans. Op afbeeldingen uit de tijden van de farao's zijn de verschijnselen van polio te herkennen. Ook zijn er Egyptische mummies met pokachtige littekens gevonden. Het is bekend dat de pokken in de 2^e eeuw endemisch waren in de antieke wereld⁶. Met de kruisvaarders en de toenemende handel kwam deze ziekte in de 11^e eeuw naar Europa. In de 2e helft van de 18^e eeuw waren er in Europa jaarlijks gemiddeld 400.000 slachtoffers te betreuren^{6,7}. Ook veel regerende vorsten vielen eraan ten prooi zoals Queen Mary of England in 1694 en de jonge Tsaar Peter de Ie in 1730. Na uitgebreide vaccinatiecampaagnes is de wereld sinds 1980 pokkenvrij.

Een andere zeer geslaagde vaccinatiecampagne was die tegen runderpest. Deze ziekte is in de 4^e eeuw door binnendringende Hunnen naar Europa gebracht en latere epidemieën zijn met Mongoolse legers en door invoer van vee vanuit Rusland naar Europa gekomen. In de 18^e eeuw stierf in Nederland 90% van de veestapel tijdens een epidemie. Na gecoördineerde vaccinatiecampaagnes, in combinatie met een streng sanitatiebeleid, is de wereld in 2011 officieel runderpestvrij verklaard⁸. Een enorme prestatie, mede gezien het feit dat het virus ook circuleerde in wilde tweehoevigen. Ons mazelenvirus is nauw verwant aan het runderpestvirus en is waarschijnlijk in de 11^e of 12^e eeuw hiervan afgesplitst⁹. Waarschijnlijk was er sprake van een zoönose, een dierziekte die op de mens overging in een omgeving waar mensen en runderen nauw samenleefden.

Veel 'oude wereld' virussen zijn met de Spaanse veroveraars en hun Afrikaanse slaven naar Zuid-Amerika gemigreerd en richtten daar enorme slachtingen aan onder de inheemse bevolking. Het ging hier om de introductie van virussen op het Amerikaanse continent, waartegen de lokale bevolking geen enkele natuurlijke weerstand had, omdat die virussen tot die tijd in dat deel van de wereld niet voorkwamen. Ook bij de kolonisatie van de Arctische gebieden vielen door introductie van virusziektes veel slachtoffers. Zo stierven in Point Barrow in Alaska 200 mensen aan griep na het aanleggen van een walvisvaarder¹⁰.

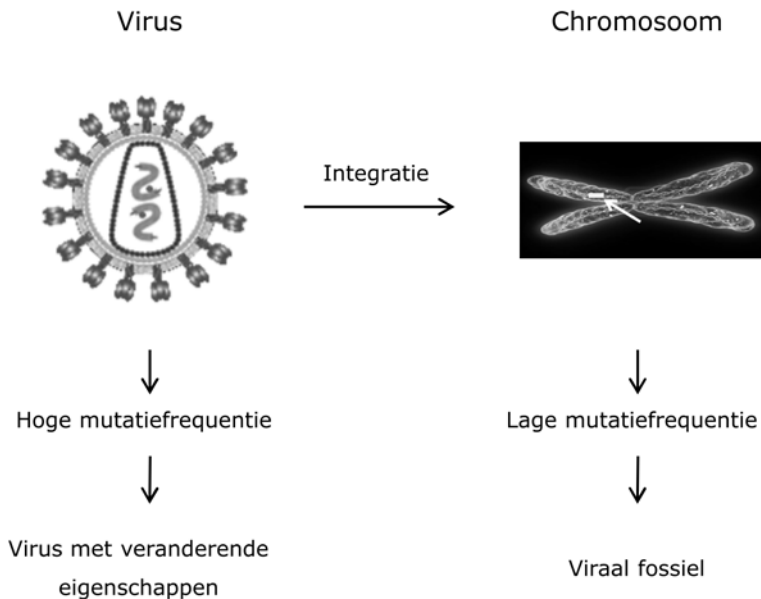
Wat we van deze voorbeelden kunnen leren, is dat problemen met virussen kunnen worden verwacht, wanneer populatiedichtheden toenemen en omgevingsfactoren veranderen, al dan niet door menselijk handelen. Het is dan ook niet verbazend, dat we met de opkomst van de intensieve aquacultuur nu virusproblemen in de vis- en garnalenteelt zien verschijnen. Een nauwkeurige analyse van alle aanwezige virussen in een teeltsysteem door het inzetten van moderne sequentieanalyse technieken, kan helpen om problemen tijdig te signaleren, controlemaatregelen te nemen en preventieprogramma's te ontwikkelen.

Virale fossielen

Alle organismen zijn hoogstwaarschijnlijk bevattelijk voor virussen en we moeten er ernstig rekening mee houden dat we alleen het topje van de ijsberg kennen. Dat volgt uit het feit dat er steevast nieuwe sequenties van virale oorsprong worden gevonden, wanneer alle RNA sequenties van een organisme worden geanalyseerd. Dit wil echter niet zeggen dat al deze sequenties ziekmakende virussen vertegenwoordigen, zoals zo dadelijk duidelijk zal worden.

Lange tijd werd gedacht dat virussen geen fossielen hebben achtergelaten en dat hun evolutionaire geschiedenis daarom lastig te achterhalen zou zijn. Dit beeld moet echter worden bijgesteld. Met het beschikbaar komen van steeds meer sequentiedata wordt het duidelijk dat er virale elementen, afkomstig van een groot aantal virus-families, in het DNA van cellulaire organismen aanwezig zijn¹¹. Zo bestaat acht procent van het humane genoom uit overblijfselen van fossiele retrovirussen¹².

Zolang virussen afzonderlijke eenheden zijn en los van het gastheergenoom repliceren, kunnen ze relatief snel muteren, maar ze worden als het ware bevroren na inbedding in het gastheer DNA (Fig. 2). Hierdoor krijgen we een idee van de eigenschappen van zulke virussen op het moment van integratie. Opmerkelijk is dat het soms om virussen gaat die we nu niet meer kennen of niet meer in een bepaalde groep organismen, en die dus mogelijk uitgestorven zijn. Sommige geïntegreerde DNA sequenties van virale afkomst zijn nog steeds functioneel en zijn als het ware



Figuur 2. Endogene virale sequenties in het genoom van de gastheer. Wanneer virale genetische elementen integreren in het genoom van de gastheer worden ze in hoge mate gefixeerd door het grote verschil in mutatiefrequentie tussen gastheer en virus, en kunnen we spreken van een viraal fossiel.

gedomesticiseerd. Blijkbaar heeft de gastheer er baat bij om deze virale sequenties in functionele staat te behouden. Zo kunnen endogene viruseiwitten een rol spelen in de bescherming tegen hedendaagse virussen. Vuur met vuur bestrijden zo gezegd. Dit zien we bijvoorbeeld bij een endogeen retrovirus, dat schapen beschermt tegen het hedendaagse Jaagsiekte retrovirus, dat op zijn beurt longkanker veroorzaakt. Maar, het zal u niet verrassen, er zijn virusstammen opgedoken die deze afweer, gemedieerd door het endogene virus, kunnen ontwijken^{11, 13}.

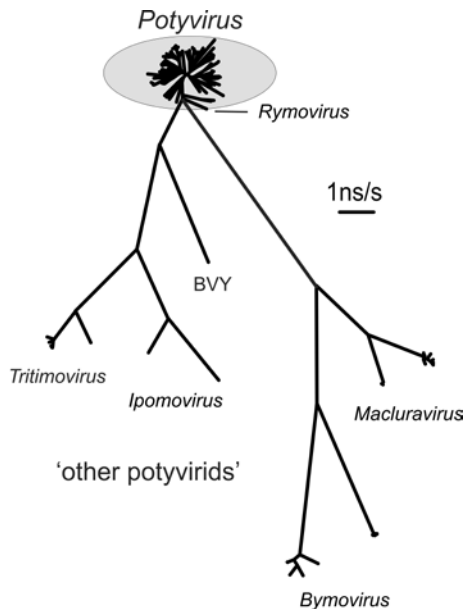
Bij insecten zien we dat overblijfselen van een nudivirus zich hebben genesteld in het genoom van parasitaire wespen. Deze wespen leggen hun eieren in rupsen. De virale sequenties in het wespengenoom worden met de eieren meegegeven in de vorm van polydnavirussen en deze virussen beschermen de groeiende wespenlarven tegen afstoting door de rups^{14, 15}.

Taxonomie en evolutie

Om de grote verscheidenheid aan virussen te kunnen duiden brengen de virologen de virussen onder in families. Binnen een familie delen de virussen belangrijke structurele en functionele eigenschappen. Met de opkomst van gedetailleerde

virusgenoomanalyses en de hierop gebaseerde verwantschapsstudies kunnen fylogenetische stambomen worden gegenereerd. Uit zulke studies is gebleken dat niet alle virusfamilies op één voorouder te herleiden zijn.

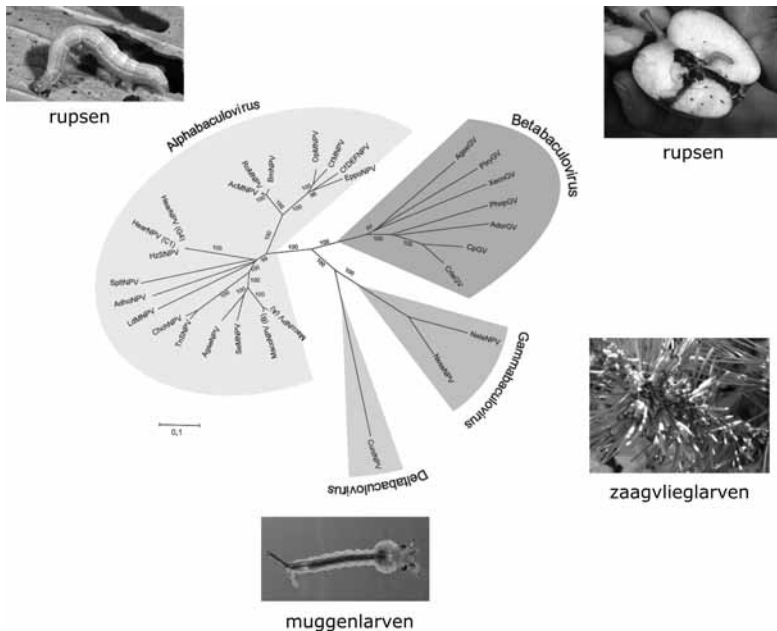
Ik wil nu ingaan op verschillende vormen van soortvorming binnen virusfamilies. Voor aardappel Y virus en zijn verwanten in het geslacht *Potyvirus* (Fig. 3) wordt het begin van de uitsplitsing in soorten geschat op zo'n 7000 jaar geleden¹⁶. Soortsvorming is hier dus begonnen in het vroege agrarische tijdperk en het ligt voor de hand dat de veranderde ecologische condities hierin een grote rol hebben gespeeld. Een zelfde fenomeen zien we bij virussen in het geslacht *Sobemovirus*¹⁷, waaronder het 'rice yellow mottle' virus. Bij potyvirusen is ook bekend dat bladluizen een rol spelen bij de soortsvorming. De bladluizen prikken verschillende soorten planten aan op zoek naar geschikte voedingsbronnen. Op deze manier introduceren ze de potyvirusen in allerlei planten en af en toe blijken deze virussen in staat om zich aan een nieuwe plantensoort aan te passen. Het gedrag van de bladluizen heeft er toe geleid dat nauw verwante potyvirusen soms in heel verschillende gewassen voorkomen¹⁶. Er zijn echter ook virusfamilies bekend, waar de uitsplitsing in soorten



Figuur 3. Fylogenetische stamboom van het geslacht *Potyvirus* en aanverwante geslachten. *Potyvirus* specificatie begon met de opkomst van de landbouw en wordt ook bepaald door het gedrag van de bladluizen die als vector fungeren. Figuur ontleed aan Gibbs et al. 2008¹⁶.

veel langer geleden heeft plaatsgevonden en waarvan de individuele virussen over lange tijd gecoëvolueerd zijn met hun gastheer. Dit geldt bijvoorbeeld voor de familie *Tobamoviridae*, waartoe het eerder genoemde tabaksmozaïekvirus behoort. Hier begon de uitsplitsing in soorten meer dan 100 miljoen jaar geleden en viel samen met de divergentie van de grote plantengroepen de Asteriden en de Rosiden^{18, 19}. Als gevolg van co-evolutie hebben plant en virus veel tijd gehad om zich aan elkaar aan te passen en specifieke afweer en tegenafweermechanismen te ontwikkelen²⁰.

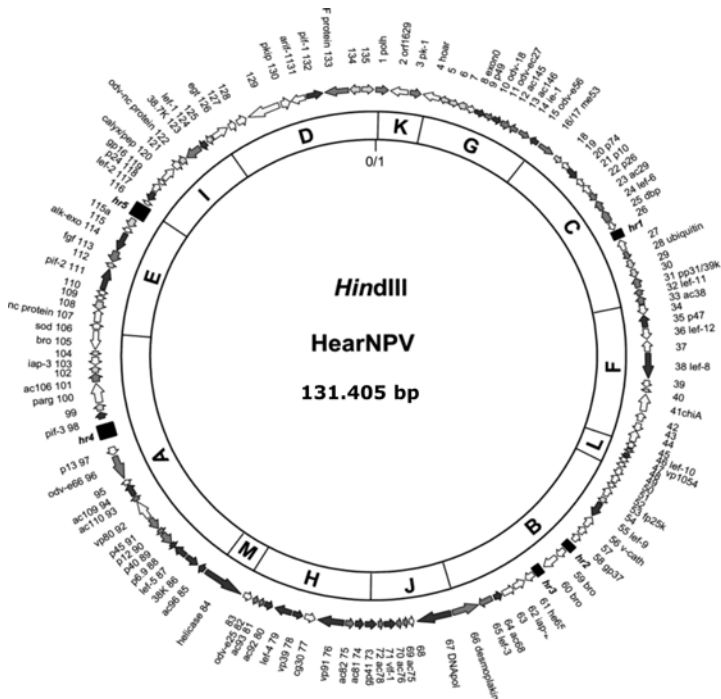
De insectenvirussen in de familie *Baculoviridae*, waaronder het eerder genoemde virus van de fruitmot, zijn ook samen met hun gastheren geëvolueerd^{21, 22}. De stamboom heeft vier duidelijke takken en is gecorreleerd met de gastheerstamboom (Fig. 4). Ook hier zijn de relaties tussen virus en gastheer heel soort specifiek en sommige baculovirussen infecteren slechts één type insect. Baculovirussen hebben een circulair DNA genoom met zo'n 150 genen, elk coderend voor een viraal eiwit (Fig. 5). Een groep van 37 genen²³ komt in alle baculovirussen voor en je zou kunnen zeggen dat het bezit van deze set genen het handelskenmerk is van baculovirussen.



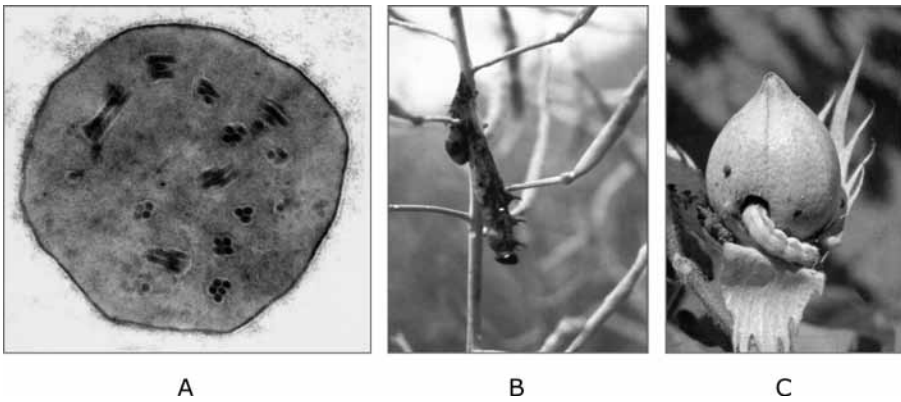
Figuur 4. Co-evolutie van baculovirussen in insecten. De familie *Baculoviridae* kan worden onderverdeeld in de genera *Alphabaculovirus* en *Betabaculovirus* (beide groepen omvatten virussen die rupsen van vlinders en motten (orde *Lepidoptera*) infecteren), *Gammabaculovirus* (in larven van zaagvliegen, orde *Hymenoptera*) en *Deltabaculovirus* (in muggen, orde *Diptera*). De figuur is aangepast van Jehle et al., 2006²⁹

De geconserveerde genen zijn nodig voor basale functies, zoals DNA replicatie, genexpressie en de vorming van virusdeeltjes. De overige genen zijn slechts in een deel van de baculovirussen vertegenwoordigd en zijn soms zelfs uniek voor één soort. Het is aannemelijk dat veel variabele genen verkregen zijn door horizontale overdracht van erfelijk materiaal tussen gastheer en virus, of tussen ziekteverwekkers onderling. We vermoeden dat het hier om genen gaat, die een rol spelen in specifieke interacties tussen virus en gastheer. Ook kan het gaan om verschillende varianten met eenzelfde functie. Dit laatste is bijvoorbeeld het geval bij de genen voor de fusie-eiwitten F en GP64²⁴⁻²⁶. Elk van deze twee fusie-eiwitten kan ervoor zorgen dat een baculovirus een insectencel kan binnendringen.

Co-evolutie met de gastheer zien we ook bij herpesvirussen²⁷. Voor de meeste mensen geldt dat ze verschillende herpesvirusinfecties hebben doorgemaakt tegen de tijd dat ze volwassen zijn. Herpesvirussen blijven sluimerend aanwezig in het lichaam, maar individuen met een goed werkend immuunsysteem hebben hier



Figuur 5. Het baculovirus genom. Baculovirussen hebben een groot, circulair, dubbelstrengs DNA genom. De genetische kaart van *Helicoverpa armigera* nucleopolyhedrovirus (HearNPV) dient hier als voorbeeld (naar Chen et al., 2001³⁰).



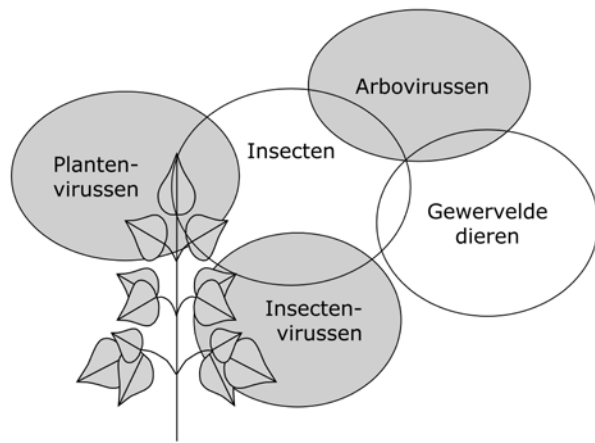
Figuur 6. Baculoviruseigenschappen en biologische controle van insecten. A) Baculovirussen kunnen heel lang overleven buiten de gastheer, doordat ze in grote eiwitcapsules worden verpakt, ook wel polyeders genaamd. B) Deze polyeders komen vrij als het insect verslijmd aan het eind van een infectie. C) Het baculovirus HearNPV wordt in China gebruikt om de katoenbolworm te bestrijden.

doorgaans weinig last van. De latente virussen kunnen echter op een zwak moment weer uitbreken, denk bijvoorbeeld aan een koortslip of aan gordelroos. Net als herpesvirussen in mensen zijn baculovirussen vaak sluimerend aanwezig in insectenpopulaties²⁸. Hoe baculovirussen dat precies doen is onduidelijk en één van de ‘holey grales’ in het insectenvirusonderzoek.

De vergelijking gaat echter maar ten delen op, want als een baculovirusinfectie eenmaal tot ziekte leidt is deze dodelijk en bij herpesvirussen zien we dat zelden. Waar dit verschil door veroorzaakt wordt is een intrigerende vraag en het kan te maken hebben met verschillen in het afweersysteem tussen insecten en gewervelde dieren. Het kan echter ook voortkomen uit het feit dat baculovirusdeeltjes ingekapseld worden in een grote, beschermende eiwitmantel (Fig. 6A). Hierdoor zijn deze virussen in staat vele jaren buiten de gastheer te overleven. Maar om deze relatief grote eiwitpakketten uit het insect te bevrijden, moet het virus de geïnfecteerde rups laten verslijmen (Fig. 6B). Het feit dat baculovirussen zo soort specifiek zijn en dodelijke infecties veroorzaken maakt ze uitermate geschikt als biologisch bestrijdingsmiddel, bijvoorbeeld tegen de fruitmot of de katoenbolworm (Fig. 6C).

Interacties van virussen met gastheren en vectoren

Het zal u zo langzamerhand duidelijk zijn dat virussen niets aan kunnen vangen zonder cellulaire organismen. Het is zelfs zo dat virussen bestaande cellulaire processen veranderen in hun eigen voordeel. In Wageningen hebben we speciaal



Figuur 7. Model van het netwerk van interacties van plantenvirussen, arbovirussen en insectenvirussen met hun gastheer en eventuele vectoren. Insecten vinden we op een centrale positie in dit netwerk. Insecten, die zich voeden op planten en dieren, fungeren als vector voor plant- en diervirussen.

aandacht voor de interacties tussen virussen en planten, én tussen virussen en insecten, waarbij de insecten zélf gastheer zijn of als vector dienen voor virussen van plant of dier. In Figuur 7 is te zien, hoe al deze systemen verweven zijn. De voortdurende interacties tussen virus en gastheer, en tussen virus en vector heeft er toe geleid, dat zich een groot repertoire aan resistentie- en afweermechanismen heeft ontwikkeld. Daarnaast bestaat er een scala aan virale tegenmaatregelen.

Hoe virussen hun gastheer en hun vectoren manipuleren zal één van de belangrijkste pijlers van ons virologisch onderzoek zijn. In Tabel 1 heb ik onze belangrijkste onderzoekslijnen aangegeven, die ik zo dadelijk nader zal toelichten. We willen weten hoe aanval, afweer, tegenafweer en mogelijke anti-tegenafweer in elkaar haken en hoe deze processen gastheerspecificiteit en vectorcompetentie bepalen. We zijn ook zeer geïnteresseerd in hoe virussen het gedrag van insecten manipuleren om virustransmissie te bevorderen. De kennis van al deze facetten van virusinfecties nutten we waar mogelijk uit ten behoeve van de gezondheid van plant, mens en dier, en de daarmee nauw verweven voedselvoorziening en voedselveiligheid. Hiermee past ons onderzoek uitstekend binnen het motto van Wageningen University: *‘To explore the potential of nature to improve the quality of life’*.

Tabel 1. Belangrijkste onderzoeklijnen van de leerstoelgroep Virologie

Onderzoekslijn	Direct verantwoordelijke medewerker(s)
1 Antivirale afweer en resistentie in planten	Dr ir R.J.M. Kormelink
2 Ecologie van plantenvirussen	Prof. dr ir R.A.A. van der Vlugt
3 Orale infectie van baculovirussen	Prof. dr M.M. van Oers & Dr ir J.W.M. van Lent
4 Virale manipulatie van gedrag	Prof. dr M.M. van Oers & Dr ir V.I.D. Ros
5 Immunomodulatie en vectorcompetentie	Dr ir G.P. Pijlman
6 Visualisatie van virussen en virale infecties	Dr ir J.W.M. van Lent
7 Toepassingen voor gezondheid en voedselproductie	Alle stafleden

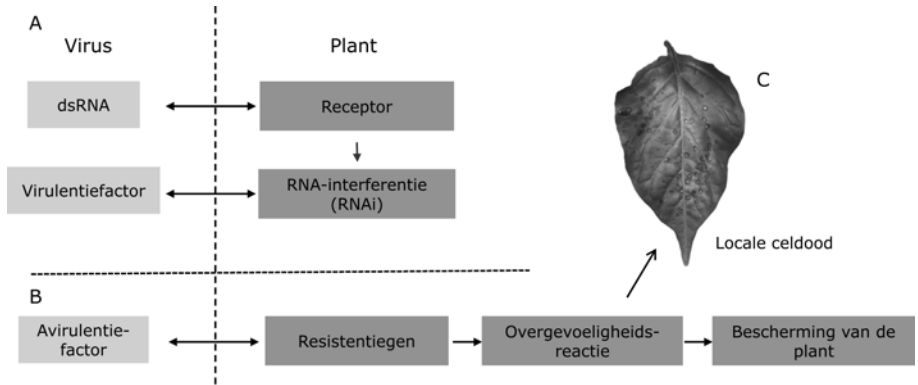
Afweer en resistentie in planten

In het geval van plantenvirussen kunnen we de wedloop tussen virus en plant illustreren met een model waar ziekteverwekker en plant om beurten aan zet zijn^{31, 32}. In dit model (Fig. 8A) wordt de eerste lijn van afweer aangezet door plantenreceptoren, die het virus herkennen aan zijn moleculaire eigenschappen. Bij plantenvirussen gaat het meestal om herkenning van dubbelstrengs RNA, dat wordt gevormd tijdens de replicatie van het virale RNA. Het gevolg is het aanschakelen van RNA interferentie, of wel RNAi, een verdedigingsmechanisme dat virusinfecties tegengaat. Als tegenmaatregel coderen plantenvirussen voor virulentiefactoren, die zodanig interfereren met de afweerreactie van de plant, dat de virussen toch in staat zijn een plant succesvol te infecteren.

De infectie kan vervolgens een tweedelijnsafweerreactie in gang zetten, waarin resistentiegenen van de plant een belangrijke rol spelen. Het virale eiwit dat aanleiding geeft tot activatie van resistentiegenen in de plant noemen we het avirulentiegen (Fig. 8B). De respons in de plant is als een overgevoelighedsreactie zichtbaar. Als gevolg van geprogrammeerde celdood sterft het weefsel op de plek van de infectie af en daarmee wordt het virus ingeperkt. Vaak wordt ook een systemisch signaal uitgezonden, dat er voor zorgt dat ook de rest van de plant beschermd wordt.

Tospovirussen, waaronder het eerder genoemde tomatenbronsvlekkenvirus of TSWV, veroorzaken wereldwijd enorme schade in land- en tuinbouw. Tospovirussen worden verspreid door thripsen en deze vectoren zijn moeilijk onder controle te houden. Kennis over afweer- en resistentiemechanismen tegen tospovirussen is dan ook van groot economisch belang. Als een tospovirus een plantencel infecteert, komt

het defensieve RNAi-mechanisme van de plant in actie. Uit onderzoek van staflid Richard Kormelink en zijn medewerkers is duidelijk geworden dat het virale NSs-eiwit deze eerstelijnsafweer kan doorbreken³³, waardoor het virus zich kan vermeerderen. NSs is dus het virulentiegen.

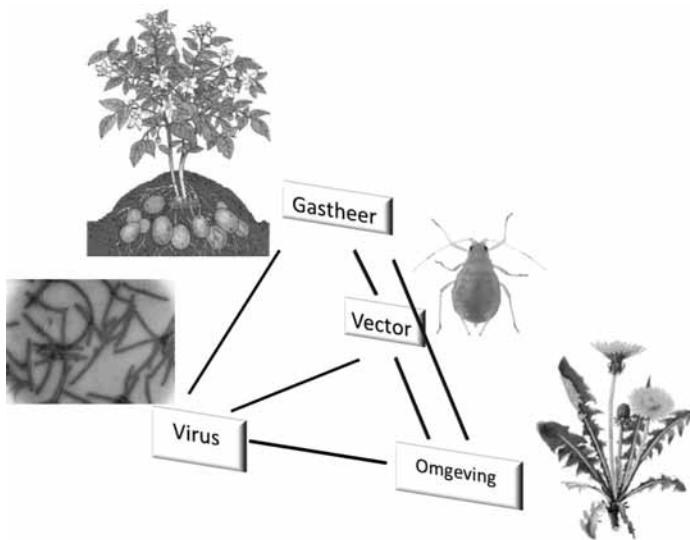


Figuur 8. Model van de interacties tussen een plantenvirus en een plant. A) Bij de aanval wordt het virus herkend aan zijn dubbelstrengs RNA en wordt afweer in de vorm van RNA-interferentie aangezet. Een tegenaanval met behulp van een virulentiefactor (RNAi- inhibitor) leidt tot infectie. Deze aanval kan gevolgd worden door een tweedelijnsafweer (B) als de plant een resistentiegen bezit. Het resistentiemechanisme wordt in gang gezet door herkenning van een viraal eiwit, dat we de avirulentiefactor noemen, en uit zich als lokale celdood, waardoor het virus wordt ingeperkt (C).

Op dit moment zijn slechts twee dominante resistentiegen beschikbaar voor resistentieveredeling tegen tospovirussen, het *Sw-5b* gen van tomaat en het *Tsw* gen van peper^{34, 35}. Bij tomatenplanten, die in het bezit zijn van het resistentiegen *Sw-5b*, treedt een overgevoelighedsreactie op na infectie met TSWV, waardoor het virus direct wordt ingeperkt. Samen met onderzoekers van de Universiteit van Brasilia en van het Braziliaanse EMBRAPA Instituut hebben we gevonden dat het NSm-eiwit van dit virus de avirulentiefactor is. Dit wordt herkend door het genproduct van het *Sw-5b* resistentiegen, dat vervolgens het resistentiemechanisme in gang zet. NSm is ook verantwoordelijk voor de verspreiding van het virus van cel naar cel en daardoor onmisbaar voor het virus. Het bijzondere aan het tomaten *Sw-5b* gen is dat het zorgt voor resistentie tegen een aantal gerelateerde, maar toch verschillende tospovirussen. Dit in tegenstelling tot soortgelijke dominante resistentiegen, die meestal specifiek tegen één ziekteverwekker actief zijn. Het *Tsw* resistentiegen in peper wordt geactiveerd door het virale NSs-eiwit, het eiwit dat ook een belangrijke rol speelt in het verweer van TSWV tegen het antivirale RNAi-mechanisme. In samenwerking met de leerstoelgroep Plantenveredeling is zeer recent het eerste resistentiegen tegen

een geminivirus gecloneerd. Dit *Ty-1* gen codeert voor een vermeend RNA-afhankelijk RNA polymerase en daarmee is een nieuwe klasse van resistentiegenen aan het licht gebracht³⁶. Momenteel wordt onderzoek verricht om het onderliggende mechanisme van het *Ty-1* resistentiegen te ontrafelen.

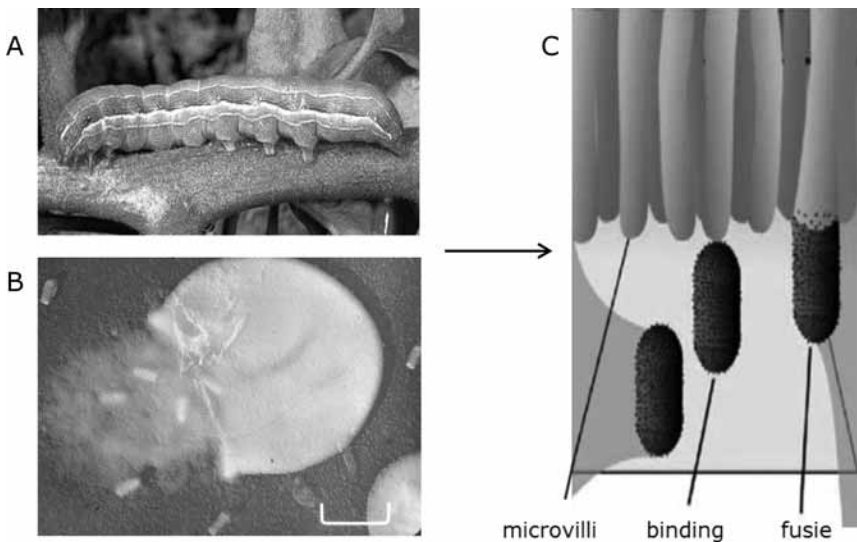
Een verontrustend feit in de plantenvirologie is, dat er in toenemende mate resistentie-doorbrekende virusstammen worden gevonden, die weer kunnen leiden tot flinke opbrengstdervingen. Dit vraagt om aandacht voor het verkrijgen van inzicht in het overdrachtsmechanisme van deze virussen en in de wijze waarop planten zich tegen virussen verweren, om daarmee duurzamere vormen van resistentie voor de toekomst te kunnen ontwikkelen. Ik ben in dit verband zeer verheugd met de recente benoeming van René van der Vlugt tot buitengewoon hoogleraar Ecologische Plantenvirologie aan Wageningen University. Immers met virus en gastheer is het beeld verre van compleet. Een virus is altijd onderdeel van zijn omgeving (Fig. 9). Hoe plantenvirussen door insecten worden overdragen en welke natuurlijke reservoirs het virus heeft, zijn belangrijke factoren in de evolutie en ze bepalen mede welke strategieën kunnen werken om plantenvirussen onder controle te houden in agro-ecosystemen. Daarnaast blijft René van der Vlugt leiding geven aan de Bio-interacties groep van Plant Research International, die na de recente verhuizingen in dezelfde gang gehuisvest is als het Laboratorium voor Virologie.



Figuur 9. Ecologische plantenvirologie. De wisselwerking tussen plantenvirussen, waardplanten, vectorinsecten en omgeving. Met dank aan René van der Vlugt.

Baculovirus infectie: entree-mechanismen

Ik wil nu overgaan op het insectenvirusonderzoek. Zoals ik al aangaf worden baculovirussen buiten het insect beschermd door eiwitcapsules. Als rupsen gecontamineerd plantmateriaal consumeren, vallen deze capsules uit elkaar en komen de ingesloten virusdeeltjes vrij³⁷. De vrijgekomen virusdeeltjes infecteren de middendarm van het insect (Fig. 10). Om de darmcellen binnen te dringen zijn ten minste zeven virale eiwitten nodig. Deze eiwitten noemen we per os infectiefactoren of PIF-eiwitten en ze bevinden zich op het oppervlak van de virusdeeltjes. Uit recent onderzoek weten we dat een groot aantal van deze PIF-eiwitten een complex vormt^{38,39} en het is dus waarschijnlijk dat ze gezamenlijk hun functie uitoefenen. Maar waarom zoveel factoren, en wat is de rol van de individuele eiwitten, en aan welke cellulaire receptor bindt dit complex eigenlijk? De antwoorden op dit soort vragen zijn van belang om de gastheerspecificiteit van deze virussen te kunnen begrijpen, wat weer relevant is voor de toepassing van baculovirussen in de biologische bestrijding van plaaginsecten.



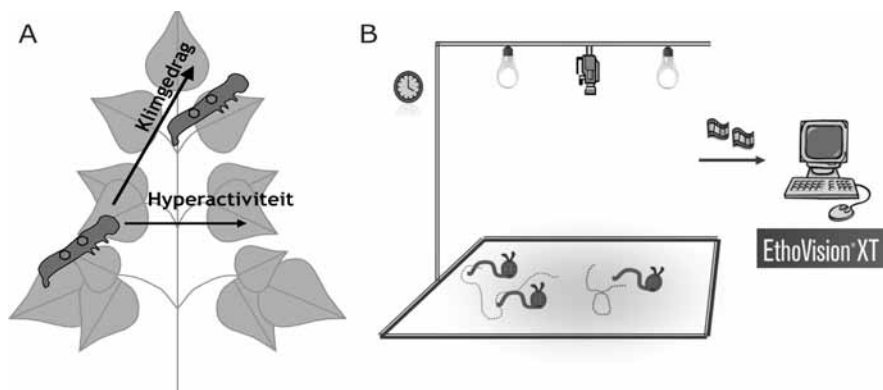
Figuur 10. Baculovirusinfectie in de middendarm van insecten. Na het consumeren van met virus gecontamineerd plantmateriaal door een rups (A) komen in het basische milieu van de middendarm de baculovirusdeeltjes vrij uit de beschermende polyeders (B). De vrijgekomen virusdeeltjes binden aan en fuseren vervolgens met de microvilli van de epitheelcellen in de middendarm (C). Deze compilatie bevat delen van figuren uit van Oers & Vlak (2007)⁴⁰ en Slack & Arif (2007)⁴¹

PIF-eiwitten vinden we ook in nudivirussen en hytosavirussen, die ik beide al eerder noemde. Wat al deze grote DNA virussen gemeen hebben is dat ze cellen moeten kunnen infecteren in het basische milieu van de insectendarm. Omdat we vrij eenvoudig mutante baculovirussen kunnen maken, staat dit virus model voor een grote groep insectenvirussen met *pif*-genen. Dit onderzoek voer ik uit samen met staflid Jan van Lent.

Gedragsmanipulatie door virussen

Baculovirussen zijn ook een goed modelsysteem om virale gedragsmanipulatie te bestuderen. In de literatuur verschijnen steeds meer voorbeelden van parasieten, die het gedrag van hun gastheer of vector beïnvloeden ten einde hun eigen transmissie te bevorderen⁴². Een baculovirusinfectie in rupsen leidt tot hyperactiviteit en voor de rupsen dood gaan klimmen ze omhoog (Fig. 11A). Het idee is dat het virus zich door het veranderde gedrag van de gastheer over een groter oppervlak kan verspreiden en daardoor een grotere kans heeft om een volgend slachtoffer te infecteren. Ons doel is het moleculaire mechanisme achter dit soort gedragsmanipulaties te ontrafelen.

Hyperactiviteit kunnen we meten door rupsen met een camera te volgen in een speciaal ontworpen arena (Fig. 11B). Door ook het gedrag van rupsen die met gemuteerde virussen zijn geïnfecteerd te bepalen, weten we nu dat het virale PTP enzym betrokken is bij de inductie van hyperactiviteit^{43, 44}. Voor klimgedrag is dit enzym echter niet nodig, en dus lijkt het hier verschillende vormen van gedragsmanipulatie te betreffen⁴⁵. Het vervolg van dit onderzoek zal zich richten op het

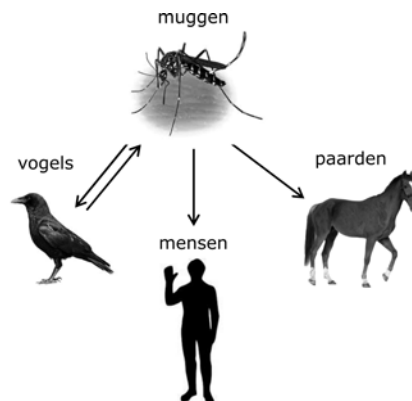


Figuur 11. Baculovirussen veranderen het gedrag van hun gastheer. Dit leidt tot hyperactiviteit en klimgedrag (A). Beweging in het horizontale vlak (hyperactiviteit) kunnen we registreren in een proefopstelling, waarbij het looppatroon van de rupsen gedurende 10 minuten wordt geregistreerd en software matig verwerkt wordt (B).

achterhalen van de signaaltransductieroutes, die in de gastheer worden aangesproken, en op de effectormoleculen, die uiteindelijk leiden tot veranderd gedrag. Hiervoor willen we de verschillen in genexpressie en eiwitsamenstelling bepalen tussen rupsen, die geïnfecteerd zijn met het wild type virus en rupsen die met bijvoorbeeld de ptp-mutant zijn geïnfecteerd en geen veranderd gedrag te zien geven.

Immunomodulatie en vectorcompetentie

Diervirussen, die via bloedzuigende insecten worden overgedragen, zoals West Nile-virus, noemen we arbovirussen. West Nile-virus is een vogelvirus, dat ook mensen en paarden ziek maakt, en overgedragen wordt door muggen (Fig. 12). Arbovirussen vermeerderen zich niet alleen in de gastheer maar ook in de insecten, die als vector optreden. De fysiologische condities in gastheer en vector zijn vaak heel verschillend en ernstige pathologische effecten in het insect zullen voorkomen moeten worden, omdat anders de verspreiding van het virus in gevaar komt. Maar een te sterke afweerreactie in het insect is ook niet bevorderlijk voor virusoverdracht. Eén van onze onderzoekslijnen op dit gebied is uit te zoeken hoe arbovirussen het immuunsysteem van muggen moduleren om actieve virale replicatie in het insect mogelijk te maken. Via het werk van stafid Gorben Pijman en zijn medewerkers weten we dat arbovirussen aangrijpen op signaaltransductieroutes in de mug, waardoor de afweer afgezwakt wordt⁶. Insecten hebben, net als planten, een efficiënt RNAi-systeem om virusinfectie tegen te gaan. Recent hebben we gevonden dat West Nile-virus en Dengue-virus, beide behorend tot de familie *Flaviviridae*, niet voor een



Figuur 12. West Nile-virus gastheren en vector. West Nile-virus wordt door muggen (*Aedes aegypti*) verspreid onder vogels. Soms worden ook mensen en paarden geïnfecteerd door besmette muggen, maar het virus kan vanuit deze gastheer geen muggen besmetten.

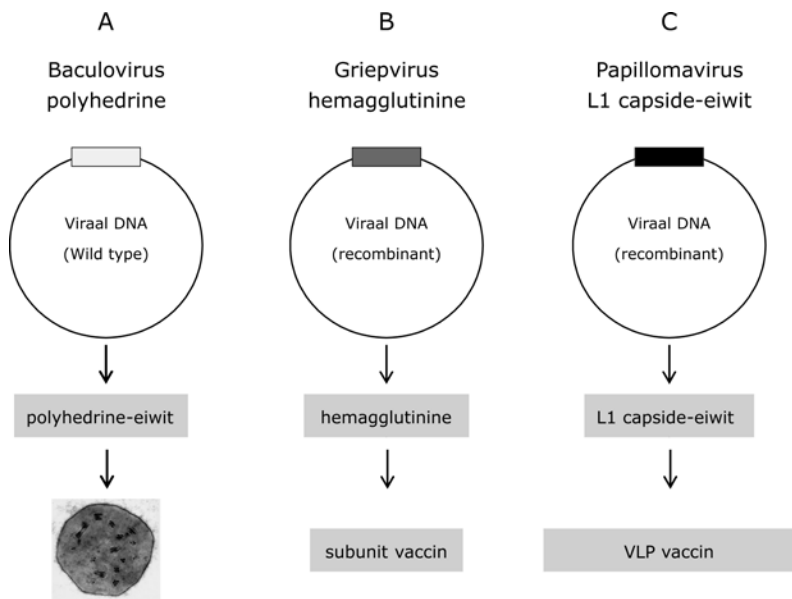
RNAi-remmende eiwit coderen, in tegenstelling tot het plantenvirus TSWV. In plaats daarvan maken ze een klein RNA-molecuul, dat als een bliksemafleider voor het RNAi-systeem fungeert⁴⁷. Dit zogenaamde 'small flavivirus RNA' (sfRNA) blijkt ook een cruciale rol te spelen bij de pathogeniciteit van deze virussen in humane cellen en momenteel zijn we bezig uit te zoeken hoe dat precies werkt.

Een nieuwe onderzoekslijn zal zich bezig houden met de onderliggende mechanismen van vectorcompetentie. Waarom kunnen sommige muggenpopulaties wel een virus overdragen en andere niet of in veel mindere mate? Dit soort kennis is van groot belang om een inschatting te kunnen maken van de risico's op de verspreiding van arbovirussen naar nieuwe regio's, bijvoorbeeld als muggenpopulaties een groter geografisch gebied gaan bestrijken door klimaatveranderingen.

Biotechnologische toepassingen van insectenvirussen

We zagen al dat insecten bij veel virale problemen een cruciale rol spelen, als gastheer of als vector. Daarnaast zijn insectenvirussen heel belangrijk in de biotechnologie. Hierbij wordt het baculovirus zodanig gemodificeerd, dat in plaats van het virale polyhedrine-eiwit, dat de beschermende eiwitcapsules of polyeders vormt, een voor ons interessant eiwit geproduceerd wordt (Fig. 13A). Onze emeritus Prof. dr Just Vlak is nauw betrokken geweest bij de ontwikkeling van het baculovirusexpressiesysteem. Zelf ben ik druk in de weer geweest om dit expressiesysteem te optimaliseren en aan te passen aan specifieke situaties.

Dit expressiesysteem, bestaande uit recombinante baculovirussen en insectencellen, heeft zich ontwikkeld tot methode bij uitstek om diagnostica, vaccins en zelfs genterapievectoren te produceren in bioreactors⁴⁸. Het systeem dankt zijn populariteit aan zijn veiligheid door het gebruik van een serumvrij, niet-humaan productiesysteem en aan de doorgaans hoge productieniveaus en de biologische activiteit van de producten. Het ligt in de lijn der verwachting dat deze technologie in de komende jaren nog meer aandacht zal krijgen nu de eerste vaccins voor humaan gebruik, die in dit systeem worden geproduceerd, zijn toegelaten. Het betreft moderne vaccins tegen griep en baarmoederhalskanker (Fig. 13B-C). In het geval van griep gaat het om het hemagglutinine eiwit dat als 'subunit' vaccin wordt gebruikt⁴⁹. Wanneer het L1 capsid-eiwit van het humane papillomavirus in insectencellen gemaakt wordt, assembleert dit eiwit tot virusachtige deeltje of VLPs. Deze deeltjes vormen het hoofdbestanddeel van het vaccin tegen baarmoederhalskanker. Ze worden heel goed door het immuunsysteem herkend, maar ze zijn niet infectieus omdat ze geen viraal DNA bevatten⁵⁰. We hebben als leerstoelgroep Virologie een sterke positie in dit biotechnologische onderzoek door onze fundamentele kennis van het baculovirusinfectieproces. Op dit moment ligt onze focus op het ontwikkelen van vaccins tegen



Figuur 13. Het gebruik van het baculovirusexpressiesysteem voor vaccinontwikkeling. Het baculovirus (A) wordt zodanig gemodificeerd dat het in plaats van het polyhedrine-eiwit een voor de mens interessant eiwit maakt, zoals het hemagglutinine-eiwit van het griepvirus (B), dat ons kan beschermen tegen griep in de vorm van een 'subunit' vaccin, of het papillomavirus L1 capsid-eiwit (C), dat als 'virus-like particles' (VLPs) bescherming biedt tegen baarmoederhalskanker.

verschillende arbovirussen⁵¹ en een prototype VLP-vaccin tegen Chikungunya virus is recent ontwikkeld⁵².

Bijzondere omstandigheden en faciliteiten

Samenvattend kunnen we zeggen dat het Wageningse Laboratorium voor Virologie een unieke positie heeft op het gebied van virussen van planten en insecten. Enkele jaren geleden hebben we heel bewust ook het onderzoek aan arbovirussen omarmd. Om het arbovirusonderzoek meer gestalte te kunnen geven is sinds 2013 in samenwerking met het Laboratorium voor Entomologie een BSL3 laboratorium operatief, dat specifiek is ontworpen om experimenten met geïnfecteerde, vliegende insecten te kunnen uitvoeren. Daarnaast hebben we de beschikking over het Wageningen Elektronenmicroscopisch Centrum (WEMC), waarmee we virale processen kunnen visualiseren. Dit centrum is van oudsher nauw gelieerd aan de leerstoelgroep virologie via staflid Jan van Lent en is ondergebracht bij CAT-AGROFOOD. Sinds augustus 2013 geef ik leiding aan het WEMC.

Onderwijs

Naast het doen van onderzoek is het opleiden van nieuwe wetenschappers met gedegen kennis van virologie een kerntaak van de leerstoelgroep. Jonge mensen enthousiast maken voor dit intrigerende vakgebied om samen oplossingen te zoeken voor virale problemen is voor mij een grote drijfveer achter het geven van onderwijs. Ik vind het ook belangrijk om diegene, die niet doorgaan in de virologie, toch zoveel virologische kennis mee te geven dat ze zin en onzin van elkaar kunnen onderscheiden en weloverwogen beslissingen kunnen nemen in het dagelijkse leven. De wisselwerking met studenten vind ik heel inspirerend en het doet mij persoonlijk veel genoegen te zien dat voormalige studenten succesvol zijn in hun vak en in hun persoonlijk leven. De toenemende studentenaantallen vormen echter wel een bedreiging voor het geven van goed onderwijs.

Hiermee sluit ik het wetenschappelijke deel van mijn rede af en ga ik over op het dankwoord.

Dankwoord

Vandaag sta ik voor u als hoogleraar Virologie. Zoals velen van u ongetwijfeld weten, is die leerstoel vrijgekomen door het onverwachte overlijden van Prof. dr Rob W. Goldbach in 2009. Hij was in 1994 mijn promotor en ik heb vele jaren met hem mogen samenwerken en heb veel van hem geleerd. Ik ben vereerd dat ik zijn taak nu voort mag zetten. Ik wil Just Vlak bedanken voor zijn inzet als interim leerstoelhouder in de tussenliggende jaren. Daarnaast ben ik hem persoonlijk veel dank verschuldigd voor zijn niet-aflatende stroom ideeën en nuttige adviezen tijdens mijn gang langs de wetenschappelijke leerweg. Voor de komende jaren zal hij nog parttime betrokken zijn bij de leerstoelgroep om een aantal PhD studenten te begeleiden. De andere leden van de vaste staf van de leerstoelgroep verdienen ook een bijzonder woord van dank. Na het wegvallen van Rob was er veel extra werk te doen, de collegezalen zaten vol, practica moesten gegeven worden en examens lagen te wachten om nagekeken te worden. Promovendi en studenten in binnen- en buitenland vroegen zich af hoe het nu verder moest. Het was een straf staaltje kunst- en vliegwerk. Het ‘gezamenlijk de schouders eronder’ en ‘we moeten samen door’, heb ik sterk ervaren de afgelopen jaren. Ook jullie betrokkenheid en persoonlijke steun tijdens de sollicitatieprocedure heb ik zeer gewaardeerd. Samen vormen we een hecht team waar ik op kan bouwen voor de toekomst en door onze gezamenlijke expertise kunnen we een breed virologisch gebied beslaan.

Mijn kennismaking met de virologie betrof het bepalen van de sequentie van het fusie-eiwit van het mazelenvirus onder supervisie van Simon Langeveld bij de vakgroep Genetica in Utrecht. Dit afstudeervak bleek een toevalstreffer, want sindsdien heeft de virologie mij niet meer los gelaten. Ik werd onderzoeksassistent in

Wageningen en promoveerde bij Rob Goldbach en Just Vlak op een functionele studie aan het baculovirus p10- eiwit. Daarna ging ik als postdoctoraal onderzoeker naar Leiden, waar ik me in de groep van John Bol onder leiding van Huub Linthorst stortte op de hypersensitiviteitsrespons in planten. Vervolgens ben ik in Utrecht aan de slag gegaan, waar ik van Adri Thomas heel veel geleerd heb over de regulatie van de eiwitsynthese en de manipulatie hiervan tijdens virale infecties. Drie jaar later ben ik naar Wageningen getogen om het baculovirusexpressiesysteem te optimaliseren. Een persoonlijke NWO MEERVOUD-beurs stelde mij vervolgens in staat een nieuwe onderzoekslijn op te starten op het gebied van gedragsmanipulatie door insectenvirussen. Eind 2010 ben ik ingestapt in het Tenure Track Systeem van Wageningen University. Het liep uiteindelijk toch anders en ik ben een nieuw pad gaan volgen.

Ik zou hier natuurlijk vandaag niet staan zonder de inzet van vele getalenteerde PhD studenten en postdocs. Hiervoor ben ik jullie allen zeer erkentelijk. Mijn postdocs Martin Marek en Vera Ros wil ik hier met name noemen, evenals mijn analiste Els Roode. Jullie hebben een grote bijdrage geleverd aan het slagen van het insectenvirusonderzoek in recente jaren en samen hebben we nieuwe lijnen voor de toekomst opgezet. Daarnaast wil ik alle andere medewerkers van de leerstoelgroep bedanken voor hun inzet en ik hoop daar nog lang gebruik van te mogen maken. Ook mijn collega's binnen en buiten Wageningen University wil ik bedanken voor hun interesse en ik hoop dat de bestaande samenwerkingen nog lang vruchten af zullen werpen en dat we nieuwe samenwerkingen tot stand kunnen brengen.

Ik wil ook mijn familie bedanken. Van kleins af aan hebben mijn ouders mijn ontwikkeling en die van mijn broer Bruno gestimuleerd en ons geleerd zelf verantwoordelijkheid te dragen. Wij kregen veel ruimte om onze eigen weg te vinden en we zijn uiteindelijk dan ook heel verschillende kanten op gegaan. Cees en Ploni, ook al vonden jullie het denk ik heel normaal zo te handelen, je ziet waar het toe geleid heeft. Dit is een goed moment om daar even bij stil te staan en jullie daarvoor te bedanken. Als laatste wil ik Chris bedanken. Ik ben heel blij dat ik jou heb leren kennen en dat we samen een fijne thuishaven hebben gecreëerd. Jij draagt er toe bij dat er naast werk ook voldoende ontspanning in mijn leven zit. Zo maken we samen de mooiste wandeltochten en ook al is het soms een heel geploeter, het geeft veel voldoening als het is volbracht.

Geachte aanwezigen

Het is helaas niet mogelijk een ieder persoonlijk te bedanken en daarom ga ik kort, maar krachtig afsluiten. Dank voor jullie aandacht en betrokkenheid.

Ik heb gezegd!

Referenties

1. Kariithi, H.M., M.M. van Oers, J.M. Vlak, M.J.B. Vreysen, A.G. Parker & A.M.M. Abd-Alla (2013). Virology, epidemiology and pathology of *Glossina hytrosavirus*, and its control prospects in laboratory colonies of the tsetse fly, *Glossina pallidipes* (Diptera; Glossinidae). *Insects* 4, 287-319.
2. Vlak, J.M. (2008). Roest of vuil in den tabak: Rhenen-Elst en de oorsprong van de Virologie, in *Geschiedenis van Rhenen* J. Vredenberg and e.a., Editors. Matrijs, Utrecht, NL. p. 352 - 359.
3. Zaitlin, M. (1998). The discovery of the causal agent of the tobacco mosaic disease, in *Discoveries in Plant Biology* World Publishing Co., Ltd. , Hong Kong. p. 105-110.
4. Beijerinck, M. (1898). Über ein Contagium vivum fluidum als Ursache der Fleckenkrankheit der Tabaksblätter *Verhandelingen der Koninklyke Akademie van Wetenschappen te Amsterdam* (in German) 65, 1-22.
5. Pennazio, S. & P. Roggero (2000). The discovery of the chemical nature of tobacco mosaic virus. *Riv Biol* 93, 253-81.
6. Eyler, J.M. (2003). Smallpox in history: the birth, death, and impact of a dread disease. *J Lab Clin Med* 142, 216-20.
7. Radetsky, M. (1999). Smallpox: a history of its rise and fall. *Pediatr Infect Dis J* 18, 85-93.
8. Roeder, P., J. Mariner & R. Kock (2013). Rinderpest: The veterinary perspective on eradication. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 368.
9. Furuse, Y., A. Suzuki & H. Oshitani (2010). Origin of measles virus: Divergence from rinderpest virus between the 11th and 12th centuries. *Virology* 7, 52.
10. Griest, H.W. *The Big Sickness. Seventeen Years with the Eskimo's* [cited 2013 31-7-2013]; Available from: <http://arcticcircle.uconn.edu/HistoryCulture/Sickness/sickness.html>.
11. Feschotte, C. & C. Gilbert (2012). Endogenous viruses: insights into viral evolution and impact on host biology. *Nat Rev Genet* 13, 283-288.

12. Patel, M.R., M. Emerman & H.S. Malik (2011). Paleovirology - ghosts and gifts of viruses past. *Current opinion in virology* 1, 304-309.
13. Arnaud, F., M. Varela, T.E. Spencer & M. Palmarini (2008). Coevolution of endogenous Betaretroviruses of sheep and their host. *Cell Mol Life Sci* 65, 3422-3432.
14. Herniou, E.A., E. Huguet, J. Theze, A. Bezier, G. Periquet & J.M. Drezen (2013). When parasitic wasps hijacked viruses: genomic and functional evolution of polydnviruses. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 368, 20130051.
15. Roossinck, M.J. (2011). The good viruses: viral mutualistic symbioses. 9, 99-108.
16. Gibbs, A.J., K. Ohshima, M.J. Phillips & M.J. Gibbs (2008). The prehistory of potyviruses: Their initial radiation was during the dawn of agriculture. *PLoS ONE* 3, e2523.
17. Fargette, D., A. Pinel-Galzi, D. Sereme, S. Lacombe, E. Hebrard, O. Traore & G. Konate (2008). Diversification of rice yellow mottle virus and related viruses spans the history of agriculture from the neolithic to the present. *PLoS pathogens* 4, e1000125.
18. Gibbs, A. (1999). Evolution and origins of tobamoviruses. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 354, 593-602.
19. Gibbs, A., M. Gibbs, K. Ohshima & F. Garcia-Arenal (2008). More plant virus evolution: Past, present and future, in *Origin and Evolution of Viruses*, E. Domingo, J. Holland, and C. Parrish, Editors. Academic Press, London. p. 229-250.
20. Ishibashi, K., N. Mawatari, S. Miyashita, H. Kishino, T. Meshi & M. Ishikawa (2012). Coevolution and hierarchical Interactions of Tomato mosaic virus and the resistance gene Tm-1. *PLoS pathogens* 8, e1002975.
21. Herniou, E.A., J.A. Olszewski, D.R. O'Reilly & J.S. Cory (2004). Ancient coevolution of baculoviruses and their insect hosts. *J Virol* 78, 3244-3251.
22. Thézé, J., A. Bezier, G. Periquet, J.M. Drezen & E.A. Herniou (2011). Paleozoic origin of insect large dsDNA viruses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108, 15931-15935.

23. Garavaglia, M.J., S.A.B. Miele, J.A. Iserte, M.N. Belaich & P.D. Ghiringhella (2012). The ac53, ac78, ac101, and ac103 genes are newly discovered core genes in the family Baculoviridae. *J Virol* 86, 12069-12079.
24. Westenberg, M., P. Uijtdewilligen & J.M. Vlak (2007). Baculovirus envelope fusion proteins F and GP64 exploit distinct receptors to gain entry into cultured insect cells. *J Gen Virol* 88, 3302-3306.
25. Westenberg, M., F. Veenman, E.C. Roode, R.W. Goldbach, J.M. Vlak & D. Zuidema (2004). Functional analysis of the putative fusion domain of the baculovirus envelope fusion protein F. *J Virol* 78, 6946-6954.
26. Oomens, A.G.P., S.A. Monsma & G.W. Blissard (1995). The baculovirus GP64 envelope fusion protein - Synthesis, oligomerization, and processing. *Virology* 209, 592-603.
27. Davison, A.J. (2011). Evolution of sexually transmitted and sexually transmissible human herpesviruses. *Ann N Y Acad Sci* 1230, E37-49.
28. Hughes, D.S., R.D. Possee & L.A. King (1997). Evidence for the presence of a low-level, persistent baculovirus infection of *Mamestra brassicae* insects. *J Gen Virol* 78, 1801-5.
29. Jehle, J.A., G.W. Blissard, B.C. Bonning, J.S. Cory, E.A. Herniou, G.F. Rohrmann, D.A. Theilmann, S.M. Thiem & J.M. Vlak (2006). On the classification and nomenclature of baculoviruses: a proposal for revision. *Arch Virol* 151, 1257-1266.
30. Chen, X., W. IJkel, R. Tarchini, X. Sun, H. Sandbrink, H. Wang, S. Peters, D. Zuidema, R.K. Lankhorst, J.M. Vlak & Z. Hu (2001). The sequence of the *Helicoverpa armigera* single nucleocapsid nucleopolyhedrovirus genome. *J Gen Virol* 82, 241-257.
31. Jones, J.D.G. & J.L. Dangl (2006). The plant immune system. *Nature* 444, 323-329.
32. Spoel, S.H. & X. Dong (2012). How do plants achieve immunity? Defence without specialized immune cells. *Nat Rev Immunol* 12, 89-100.
33. Schnettler, E., H. Hemmes, R. Huisman, R. Goldbach, M. Prins & R. Kormelink (2010). Diverging affinity of tospovirus RNA silencing suppressor proteins, NSs, for various RNA duplex molecules. *J Virol* 84, 11542-11554.

34. Folkertsma, R.T., M.I. Spassova, M. Prins, M.R. Stevens, J. Hille & R.W. Goldbach (1999). Construction of a bacterial artificial chromosome (BAC) library of *Lycopersicon esculentum* cv. Stevens and its application to physically map the Sw-5 locus. *Mol Breed* 5, 197-207.
35. Spassova, M.I., T.W. Prins, R.T. Folkertsma, R.M. Klein-Lankhorst, J. Hille, R.W. Goldbach & M. Prins (2001). The tomato gene Sw5 is a member of the coiled coil, nucleotide binding, leucine-rich repeat class of plant resistance genes and confers resistance to TSWV in tobacco. *Mol Breed* 7, 151-161.
36. Verlaan, M.G., S.F. Hutton, R.M. Ibrahim, R. Kormelink, R.G.F. Visser, J.W. Scott, J.D. Edwards & Y. Bai (2013). The tomato yellow leaf curl virus resistance genes Ty-1 and Ty-3 are allelic and code for DFDGD-class RNA-dependent RNA polymerases. *Plos Genet* 9, e1003399.
37. Slack, J. & B.M. Arif (2006). The baculovirus occlusion derived virus: Virion structure and function, in *Adv Virus Res Academic Press*. p. 99-165.
38. Peng, K., J.W. van Lent, S. Boeren, M. Fang, D.A. Theilmann, M.A. Erlandson, J.M. Vlak & M.M. van Oers (2012). Characterization of novel components of the baculovirus per os infectivity factor complex. *J Virol* 86, 4981-4988.
39. Peng, K., M.M. van Oers, Z. Hu, J.W. van Lent & J.M. Vlak (2010). Baculovirus per os infectivity factors form a complex on the surface of occlusion-derived virus. *J Virol* 84, 9497-9504.
40. van Oers, M.M. & J.M. Vlak (2007). Baculovirus genomics. *Curr Drug Targets* 8, 1051-1068.
41. Slack, J. & B.M. Arif (2007). The baculovirus occlusion-derived virus: virion structure and function. *Adv Virus Res* 69, 99-165.
42. van Houte, S., V.I.D. Ros & M.M. van Oers (2013). Walking with insects: Molecular mechanisms behind parasitic manipulation of host behavior. *Mol Ecol* 22, 3458-3475.
43. van Houte, S., V.I.D. Ros, T.G. Mastenbroek, N.J. Vendrig, K. Hoover, J. Spitzen & M.M. van Oers (2012). Protein tyrosine phosphatase-induced hyperactivity is an evolutionarily conserved strategy of a subset of baculoviruses to manipulate lepidopteran host behavior. *PLoS ONE* 7, no. e46933.

44. Kamita, S.G., K. Nagasaka, J.W. Chua, T. Shimada, K. Mita, M. Kobayashi, S. Maeda & B.D. Hammock (2005). A baculovirus-encoded protein tyrosine phosphatase gene induces enhanced locomotory activity in a lepidopteran host. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102, 2584-2589.
45. van Houte, S., Ros, V.I.D., & van Oers, M.M. (2014). Hyperactivity and tree-top disease induced by the baculovirus AcMNPV in *Spodoptera exigua* larvae are governed by independent mechanisms. *Naturwissenschaften* (in press).
46. Fros, J.J., W.J. Liu, N.A. Prow, C. Geertsema, M. Ligtenberg, D.L. Vanlandingham, E. Schnettler, J.M. Vlak, A. Suhrbier, A.A. Khromykh & G.P. Pijlman (2010). Chikungunya virus nonstructural protein 2 inhibits type I/II interferon-stimulated JAK-STAT signaling. *J Virol* 84, 10877-10887.
47. Schnettler, E., M.G. Sterken, S.W. Metz, C. Geertsema, R.W. Goldbach, J.M. Vlak, A. Kohl, A. Khromykh & G.P. Pijlman (2012). Noncoding flavivirus RNA displays RNA interference suppressor activity in insect and mammalian cells. *J Virol* 86, 13486-13500.
48. van Oers, M.M. (2011). Opportunities and challenges for the baculovirus expression system. *J Invertebr Pathol* 107 Suppl, S3-15.
49. Cox, M.M.J. (2009). Development of an influenza virus vaccine using the baculovirus expression system, PhD thesis, Wageningen University, The Netherlands,
50. Harper, D.M. (2009). Currently approved prophylactic HPV vaccines. *Expert Rev Vaccines* 8, 1663-1679.
51. Metz, S.W. & G.P. Pijlman (2011). Arbovirus vaccines; opportunities for the baculovirus-insect cell expression system. *J Invertebr Pathol* 107 Suppl, S16-30.
52. Metz, S.W., J. Gardner, C. Geertsema, T.T. Le, L. Goh, J.M. Vlak, A. Suhrbier & G.P. Pijlman (2013). Effective Chikungunya virus-like particle vaccine produced in insect cells. *PLoS Negl Trop Dis* 7, e2124.



Prof. dr. M.M. van Oers

'Virussen zijn intracellulaire parasieten die cellulaire processen manipuleren om zich efficiënt te vermeerderen. Om verspreiding te bevorderen veranderen virussen het gedrag van hun gastheer en eventuele vector. Tijdens de co-evolutie van virussen en organismen zijn resistentie- en afweermechanismen ontstaan, naast een scala aan virale tegenmaatregelen. Het is essentieel om te bepalen welke moleculaire processen ten grondslag liggen aan de wisselwerkingen tussen virus, gastheer en vector om virusinfecties bij plant, mens en dier tegen te kunnen gaan.'