

Received: 2006.10.26
Accepted: 2006.12.06
Published: 2006.12.18

Sekwencje pochodzenia retrowirusowego w genomie człowieka. Ludzkie endogenne retrowirusy (HERV)*

Retroviruses-derived sequences in the human genome. Human endogenous retroviruses (HERVs)

Katarzyna Zwolińska

Laboratorium Wirusologii, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu

Streszczenie

Dziewięćdziesiąt procent rozproszonych w genomie człowieka niekodujących sekwencji ruchomych stanowią elementy pochodzenia retrowirusowego. W procesie ich transpozycji główną rolę odgrywa odwrotna transkryptaza (RT) oraz długie powtórzenia końcowe (LTR), zawierające sekwencje promotorowe, wzmacniające i regulatorowe. Wśród retroelementów można wyróżnić sekwencje nieautonomiczne, niemające własnej RT (pseudogeny oraz retrogeny, np. SINE), zależne od elementów autonomicznych, takich jak retropozony (LINE). Sekwencjami autonomicznymi są także retrotranspozony oraz retrowirusy egzo- i endogenne. Na genom retrowirusów składają się geny *gag*, *pol* i *env*, flankowane przez LTR. Retrowirusy endogenne (ERV) są najprawdopodobniej pozostałością retrowirusów egzogennych, które w toku ewolucji zostały włączone do chromosomów w komórkach linii płciowej i są przekazywane wertykalnie zgodnie z regułami genetyki mendelowskiej. Większość z nich to formy defektywne, ze względu na nagromadzone mutacje, jednak niektóre są nadal aktywne, a ich ekspresja jest regulowana przez wiele czynników (promieniowanie UV, cytokiny prozapalne, hormony steroidowe oraz produkty wirusów egzogennych). Retroelementy i produkty ich genów wywierają różnoraki wpływ na funkcjonowanie organizmu. Wpływają na organizację, plastyczność i ewolucję genomów, są źródłem sekwencji promotorowych i regulatorowych niektórych genów, ale także dostarczają dodatkowych miejsc inicjacji transkrypcji, składowania mRNA i kodonów terminacyjnych. Do pozytywnych aspektów istnienia ludzkich endogennych retrowirusów (HERV) należy udział ich produktów w powstawaniu prawidłowego łożyska oraz blokowanie replikacji wirusów egzogennych, poprzez interferencję z ich receptorami lub antysensowne mRNA. Pojawiają się przesłanki wskazujące na powiązania HERV z wieloma chorobami, m.in. autoimmunologicznymi (stwardnienie rozsiane, cukrzyca typu 1, toczeń układowy), nowotworowymi, a nawet z zaburzeniami na tle nerwowym (schizofrenia). Osobny problem stanowi potencjalna rola ERV w terapii genowej z zastosowaniem wektorów retrowirusowych oraz w transplantologii (ksenotransplantacje).

Słowa kluczowe:

pseudogen • retrogen • retropozon • LTR • retrotranspozon • retrowirusy • endogenne retrowirusy • ludzkie endogenne retrowirusy (HERV)

Summary

Retroviruses-derived elements in the human genome constitute 90% of non-coding mobile sequences. Reverse transcriptase (RT) plays an essential role in their transposition as do long terminal repeats (LTRs), which contain promoters, enhancers, and regulatory sequences. Some retroelements (pseudogenes and retrogenes, e.g. SINE) are non-autonomic and do not possess their

* Praca naukowa finansowana ze środków na naukę w latach 2005–2008, jako projekt badawczy Ministerstwa Nauki i Informatyzacji nr 2 P05B 152 29.

own RT. These elements are dependent on autonomic elements (retrotransposons, e.g. LINE, retrotransposons, exo- and endogenous retroviruses). The genome of retroviruses is composed of *gag*, *pol*, and *env* genes flanked by long terminal repeats. Endogenous retroviruses are probably the remnants of ancient germ cell infection by exogenous retroviruses and are transmissible to the next generation in a Mendelian way. Most of them are defective (because of mutation accumulation), but some are still active and their expression is regulated by different factors (UV radiation, inflammatory cytokines, steroid hormones, and exogenous virus products). Retroelements as well as their gene products exert influence on the organism's functions. They influence the plasticity and evolution of genomes, are a source of promoters and regulatory sequences, but they also supply additional signals of transcription initiation, mRNA splicing, and STOP codons. One of the positive aspects of human endogenous retroviruses (HERVs) is the participation of their products in normal syncytiotrophoblast formation. They also block exogenous retrovirus replication by receptor interference or antisense mRNA. Their presence is considered to be connected with a number of autoimmune diseases (multiple sclerosis, insulin-dependent diabetes mellitus, systemic lupus erythematosus), cancer, or even psychiatric disorders (schizophrenia). There are also other problems connected with the potential role of ERVs in genomic therapy (with retroviruses vectors) and transplantology (xenotransplantation).

Key words: pseudogene • retrogene • retroposon • LTR • retrotransposon • retroviruses • endogenous retroviruses • human endogenous retroviruses (HERVs)

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_60/9958.pdf

Word count: 5387

Tables: 5

Figures: 3

References: 80

Adres autorki: mgr Katarzyna Zwolińska, Laboratorium Wirusologii, Zakład Immunologii Lekarskiej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, ul. Weigla 12, 53-114 Wrocław; e-mail: kizwolinska@iitd.pan.wroc.pl

Wykaz skrótów: **ALV** – wirus białaczki ptaków (avian leukemia virus); **APC** – gen polipowatości gruczolakowatej okrężnicy (adenomatous polyposis coli); **ERV** – endogenne retrowirusy (endogenous retroviruses); **FeLV** – wirus białaczki kotów (feline leukemia virus); **HERV** – ludzkie endogenne retrowirusy (human endogenous retroviruses); **HRE** – sekwencje odpowiedzialne za reakcję na hormony (hormone responsive elements); **HRES-1** – ludzkie endogenne sekwencje związane z HTLV-1; **HTLV-1** – ludzki wirus białaczki T-limfocytarnej (human T-cell leukemia virus); **JRSV** – retrowirus owczy (Jaagsiekte sheep retrovirus); **LINE** – długie rozproszone elementy jądrowe (long interspersed nuclear elements); **LTR** – długie powtórzenia końcowe (long terminal repeats); **MMTV** – myszy wirus raka sutka (mouse mammary tumor virus); **MuLV** – endogeny wirus białaczki myszy (murine leukemia virus); **PBS** – miejsce wiążące starterowe tRNA (primer binding site); **PERV** – endogeny retrowirus świni (porcine endogenous retrovirus); **RSV** – wirus mięsaka Rousa (Rous sarcoma virus); **RT** – odwrotna transkryptaza (reverse transcriptase); **SINE** – krótkie rozproszone elementy jądrowe (short interspersed nuclear elements).

WSTĘP

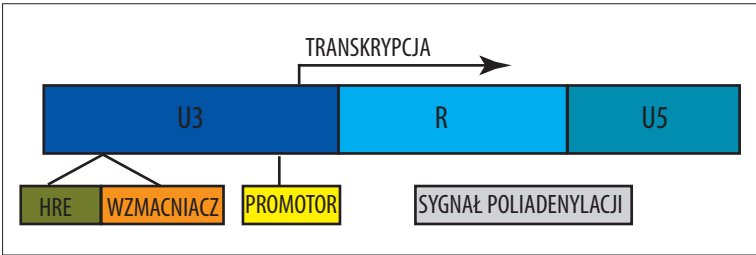
Ponad dwie trzecie genomu człowieka stanowi niekodujące DNA pozagenowe, z czego 42,2–46,4% przypada na rozproszone w genomie sekwencje ruchome. Są to **transpozony DNA** oraz **retroelementy** [4,8,26,47]. Te ostatnie stanowią prawie 90% sekwencji ruchomych genomu. Są one transkrybowane przez polimerazy komórkowe wraz z DNA komórki, po czym w wyniku działalności **odwrotnej transkryptazy (RT)** (przepisującej sekwencje RNA na cDNA), ponownie ulegają transpozycji do chromosomów [32]. Część retrosekwencji (tzw. sekwencje **autonomiczne**) koduje własną RT, dzięki czemu może samodzielnie amplifikować i ulegać transpozycji. Od nich zależą

także amplifikacja pozostałych retroelementów (tzw. **nieautonomicznych**), niekodujących odwrotnej transkryptazy [17,23,26].

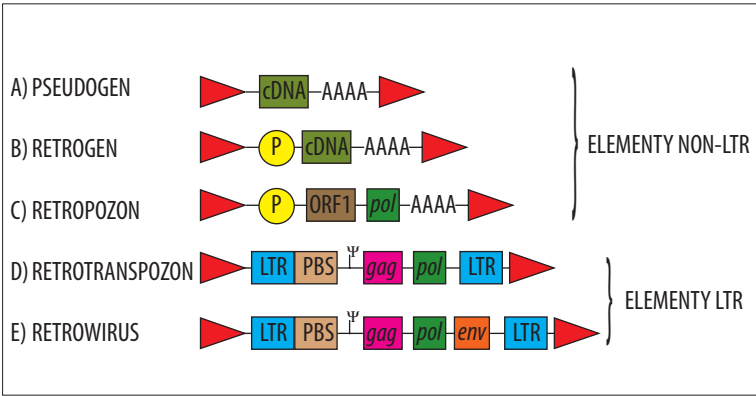
Istotnym funkcjonalnym elementem sekwencji pochodzenia retrowirusowego są długie (500–600 nukleotydów [46]), niekodujące powtórzenia końcowe (**LTR** – long terminal repeats) (ryc. 1), odgrywające ważną rolę w procesie transpozycji i ekspresji. W obrębie LTR znajdują się promotory, enhancery, sekwencje regulatorowe, odpowiadające na działanie hormonów, warunkujące ekspresję swoistą tkankowo, a także sygnały poliadenylacji [6,30,60,68]. LTR mogą aktywować nie tylko transkrypcję własnych genów, ale także genów znajdujących się w pewnej odległości od nich [44].

Tabela.1. Rodzaje retroelementów [4,17,23,32,68]

Retroelementy	Nieautonomiczne	Autonomiczne
non-LTR	- pseudogeny pochodzenia retrowirusowego - retrogeny (np. SINE) - fragmenty pseudogenów	retropozony (np. LINE)
LTR	- solo-LTR - MER4 (endogenne retrowirusy wywodzące się z HERV klasy I)	- retrotranspozony - retrowirusy (egzogenne, endogenne, skrócone wersje genów retrowirusowych RTLV)



Ryc. 1. Schemat struktury LTR. HRE – region odpowiedzialny za odpowiedź na działanie hormonów [na podstawie: 4,32,68]



Ryc. 2. Struktura elementów ruchomych pochodzenia retrowirusowego. A,B,C – elementy non-LTR; D,E – elementy LTR; P – promotor; AAAA – łańcuch poli(A); ORF – otwarta ramka odczytu (open reading frame); *pol* – gen kodujący odwrotną transkryptazę; PBS – region wiążący tRNA starterowe (primer binding site); Ψ – sygnał pakowania, *gag* – gen kodujący białka strukturalne, *pol* – gen kodujący odwrotną transkryptazę; *env* – gen kodujący białka otoczki [na podstawie: 4,26,32,51]

W genomie człowieka istnieje ponad 200 rodzin retroelementów LTR [4]. Można je pogrupować w zależności od kodowanych przez nie genów na **retrotranspozony**, **retrowirusy** (ryc. 2D–E) (**egzogenne**, **endogenne** i skrócone wersje genów retrowirusowych **RTLV** – retrowirus-like elements) oraz tzw. **samotne LTR (solo-LTR)** [4,32]. Solo-LTR powstają w wyniku rekombinacji homologicznej prowadzącej do wypadnięcia sekwencji flankowanych przez LTR. Często jest ich 10-1000 razy więcej, niż wyjściowych sekwencji, z których powstały, np. pełnych sekwencji HERV-K w genomie jest ok. 30–50 kopii, podczas gdy powstałych z nich solo-LTR – 10–25 tys. kopii [6,68]. Sekwencjami niezawierającymi LTR (**non-LTR**), ale wymagającymi do transpozycji RT są niektóre **pseudogeny**, a także **retrogeny** i **retropozony** (ryc. 2A–C) [32]. Niektórzy autorzy określają wszystkie retrosekwencje mianem retrotranspozonów [8,26].

Odwrotna transkrypcja sekwencji LTR przebiega zgodnie ze schematem transkrypcji retrowirusów egzogennych i rozpoczyna się od końca 3' starterowego tRNA, przyłączającego się do regionu **PBS** (primer binding site), znajdującego się za LTR na końcu 5' sekwencji (ryc. 3A) [17]. Proces ten zachodzi w cytoplazmie [17]. W przypadku sek-

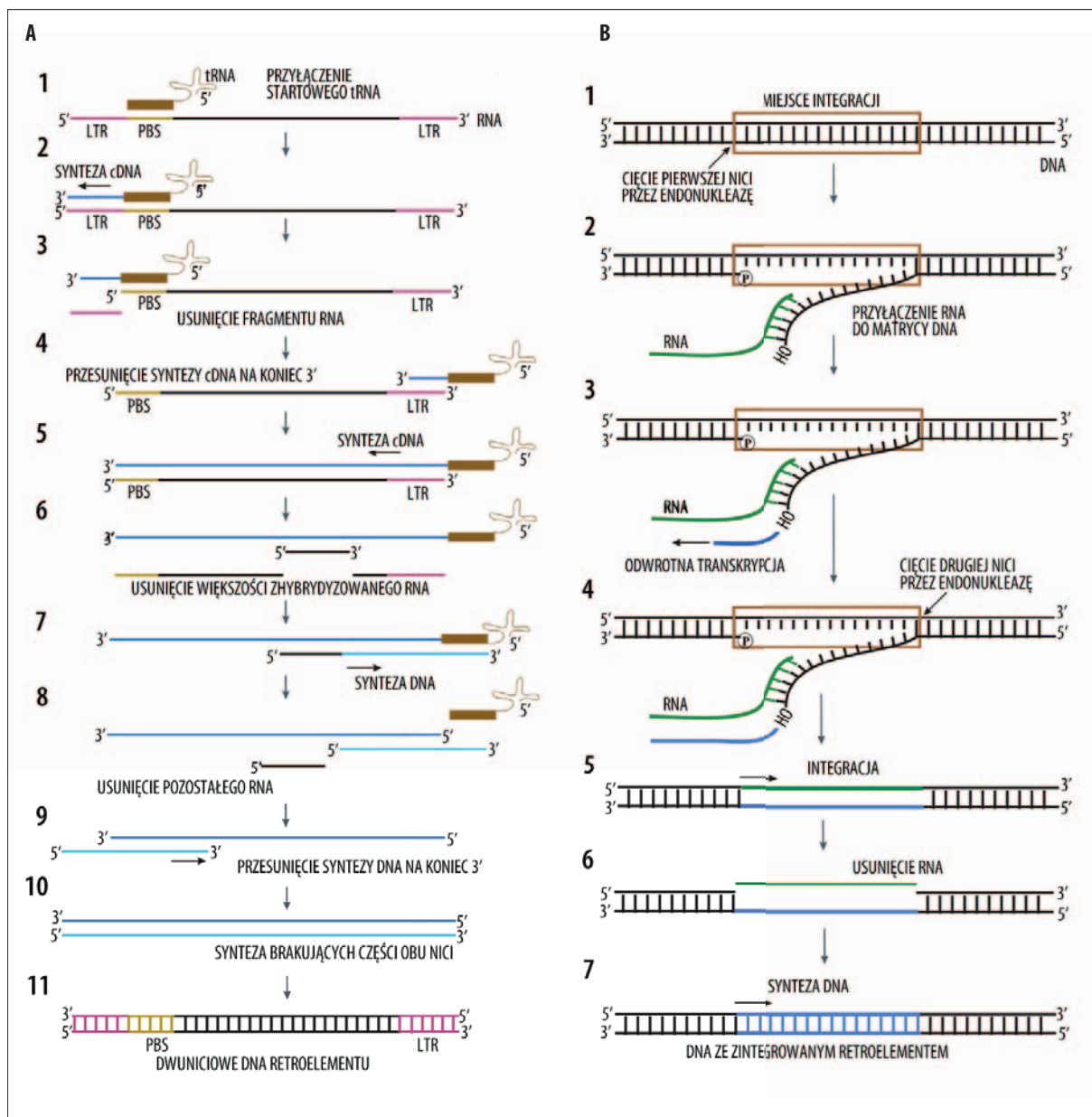
wencji non-LTR mamy do czynienia z tzw. **TPRT** (target-primed reverse transcription), gdzie funkcję miejsca PBS pełni łańcuch poliA na końcu 3' sekwencji, natomiast starterem jest koniec 3' łańcucha DNA genomowego w miejscu integracji retroelementu (ryc. 3B) [17,26].

Retrosekwencje wraz z transpozonomi DNA są często określane jako DNA balastowe lub śmieci DNA (junk DNA) [4,8,51]. Okazuje się jednak, że ich obecność w genomie nie jest obojętna. W zależności od miejsca insercji, mogą mieć one wpływ na organizację, plastyczność i ewolucję genomu oraz na ekspresję genów komórkowych, a tym samym mogą być w pewnym stopniu zaangażowane w procesy zachodzące w organizmie, zarówno korzystne dla niego, jak i będące przyczyną procesów chorobowych [8,30,32,51].

ELEMENTY NON-LTR

1. Pseudogeny i retrogeny

W wyniku działalności odwrotnej transkryptazy może dochodzić do transkrypcji przypadkowych fragmentów komórkowego mRNA i następnie do ich integracji z DNA



Ryc. 3. Schemat odwrotnej transkrypcji retroelementów LTR (A) i non-LTR (B). (A) 1 – przyłączenie starterowego tRNA do miejsca PBS (primer binding site); 2 – start syntezy cDNA; 3 – usunięcie fragmentu RNA przez RN-azę; 4 – „przeskok” syntezy cDNA na drugi koniec nici RNA; 5 – przedłużenie nici cDNA; 6 – usunięcie większości RNA przez RN-azę; 7 – synteza końca 3' drugiej nici DNA; 8 – usunięcie pozostałego RNA; 9 – przesunięcie syntezy DNA na drugi koniec matrycy; 10 – synteza brakujących części obu nici; 11 – dwuniciowe DNA retroelementu. (B) 1 – nacięcie nici DNA w miejscu integracji przez endonukleazę; 2 – przyłączenie końca 3' retroelementu do wolnego końca 3'OH DNA; 3 – odwrotna transkrypcja; 4 – nacięcie drugiej nici DNA w miejscu integracji przez endonukleazę; 5 – integracja RNA retroelementu oraz powstałej nici DNA w miejscu insercji; 6 – usunięcie nici RNA; 7 – synteza drugiej nici DNA w miejscu usuniętego RNA [na podstawie: 17,26]

chromosomalnym. Proces ten zachodzi bardzo rzadko, a w jego wyniku powstają niefunkcjonalne postaci genu, czyli tzw. **pseudogeny** (ryc. 2A), występujące w niewielkiej ilości kopii [32].

Pseudogeny mające własny promotor i mogące zatem samodzielnie ulegać transkrypcji określane są mianem **retrogenów** (ryc.2B). Sekwencje te nie mają własnej RT (są to zatem elementy nieautonomiczne), ale mogą ulegać transpozycji, korzystając z RT kodowanej przez inne retroelementy (np. retropozony L1) [26]. Do grupy retro-

genów zalicza się zarówno niskokopijne sekwencje (np. retrogen ludzkiej kinazy fosfoglicerynianowej, występujący w ilości 10 kopii na genom), jak i wysokokopijne, niemające własności kodujących, często ulegające mutacjom sekwencje **SINE** – krótkie rozproszone elementy jądrowe (short interspersed nuclear elements). SINE to fragmenty o długości 10–300 par zasad, transkrybowane przez polimerazę RNA III, pochodzące z różnych genów tRNA oraz 7SL RNA [17]. Integrują one najczęściej w miejscach DNA bogatych w zasady G+C (regiony szczególnie aktywnie transkrybowane) [32,47], chociaż są również obec-

ne w regionach bogatych w A+T ulegających transkrypcji [63]. Istnieją trzy odrębne rodziny SINE – *Alu*, *MIR* i *MIR3* [47], z których najciekawsze wydają się sekwencje **Alu** (występujące w ilości około 1,2 mln kopii i stanowiące 10–11% genomu) [23]. Wbudowały się one do genomu wspólnego przodka naczelnych i gryzoni około 100 mln lat temu i są pochodnymi genów 7SL RNA, kodujących nukleoproteiny rdzeniowe, oddziałujące z systemem rybosomów i zaangażowane w kotranslacyjny transport białek przez błonę komórkową [23].

Sekwencje *Alu* często ulegają ekspresji w warunkach stresu, a ich mRNA wiąże się do swoistych kinaz białkowych (PKR), odblokowując tym samym translację białek, hamowaną przez PKR. Stanowią zatem pewnego rodzaju stymulator translacji [47]. Szacuje się, że insercje elementów *Alu* oraz rekombinacje *Alu* – *Alu* w genomie mogą być przyczyną prawie 20 chorób człowieka o podłożu genetycznym [26], a w tym niektórych przypadków raka piersi, choroby Huntingтона, agammaglobulinemii, hemofilii (gen czynnika IX krzepnięcia krwi) i niedoboru deaminazy adenozyyny [15,47]. Wstawienie *de novo* sekwencji *Alu* do intronu genu neurofibromatozy typu I (NF1) powoduje wypadnięcie następującego po nim eksonu w czasie składania mRNA i przesunięcie ramki odczytu, co objawia się rozwojem neurofibromatozy [4]. Dodatkowo sekwencje *Alu* podejrzewa się o inaktywację (w toku ewolucji) genu GLO, kodującego oksydazę gulonolaktonu, czyli ostatni z enzymów szlaku syntezy witaminy C, co w konsekwencji uniemożliwia wytwarzanie tej witaminy w organizmie ludzkim [15].

2. Retropozony

Wśród retroelementów autonomicznych, można wyróżnić sekwencje non-LTR, kodujące własną RT (*gen pol*), czyli **retropozony** (ryc. 2C), do których należą wysokokopijne sekwencje **LINE** – długie rozproszone elementy jądrowe (long interspersed nuclear elements) [32]. Szacuje się, że stanowią one do 20% genomu [23]. Podobnie jak sekwencje SINE, często ulegają mutacjom, ale w przeciwieństwie do nich integrują w regionach DNA bogatych w zasady A+T, o małej aktywności transkrypcyjnej [47,63]. Przykładem mogą być elementy LINE-1 (L1), występujące w genomie w ilości 10^4 – 10^5 kopii [32]. Mają one dwa aktywne ORF – jeden z nich koduje białko wiążące swoiście L1 RNA, natomiast drugi – odwrotną transkryptazę i endonukleazę, nacinającą DNA w miejscu integracji L1, umożliwiając start odwrotnej transkrypcji [17,26].

Sekwencje L1 biorą udział zarówno w procesach korzystnych dla organizmu (np. w inaktywacji jednego z chromosomów X w trakcie embriogenezy [26,47], czy też w powstawaniu rozpuszczalnej postaci atraktyny (zaangażowanej w procesy zapalne) przez „dostarczenie” kodonu terminacyjnego i sygnału poliadenylacji do genu atraktyny transmembranowej [4]), jak i prowadzących do rozwoju wielu chorób [4,47]). Transpozycja L1 powoduje rozbitcie genu czynnika VIII krzepnięcia krwi, co jest przyczyną hemofilii A, a obecność tego elementu w eksonie 48 genu dystrofiny wiąże się z dystrofią mięśniową. Stwierdzono także dodatnią korelację między insercją L1 do protoonkogenu *c-myc* a rakiem piersi oraz insercją L1 do genu APC (gen polipowatości gruczolakowatej okrężnicy) a rakiem okrężnicy (mutacje somatyczne) [4,43]. Dodatkowo sekwencje LINE

„dostarczają” odwrotnej transkryptazy innym retroelementom (np. SINE), wpływając w ten sposób na zwiększenie liczby ich kopii, a także kierując retrotranspozycją pseudogenów wywodzących się z endogennych retrowirusów klasy I, warunkując ich umiejscowienie w genomie (nieznany jest jednak mechanizm tego działania) [47].

ELEMENTY LTR

1. Retrotranspozony

Do ruchomych retroelementów genomu, mających LTR należą **retrotranspozony** (ryc. 2D). Są to wysokokopijne sekwencje, kodujące własną RT (*gen pol*) oraz białka, które mogą samoagregować w struktury przypominające cząstki rdzenia retrowirusów (**Gag**). Ze względu na nagromadzenie mutacji struktury te są często defektywne, niemniej jednak w niektórych przypadkach (gdy retrotranspozon ma tzw. sygnał pakowania Ψ) może dochodzić do powstawania prawidłowych struktur rdzeniowych i pakowania do nich retrotranspozono-owego RNA [32]. Pojawianie się retrotranspozonów jest często wynikiem rekombinacji między endogennymi retrowirusami, prowadzącej do utraty genów *env* [4]. Do najlepiej poznanych sekwencji z tej grupy należą retrotranspozony drożdży *Saccharomyces cerevisiae* (elementy *Ty3*, *Ty1-copia*) oraz *Drosophila melanogaster* (grupa *gypsy*) [30].

2. Retrowirusy egzogenne

Retrowirusy (ryc. 2E), w odróżnieniu od retrotranspozonów, oprócz genów *gag* i *pol* mają także *gen env*, kodujący białka otoczkowe wirusa. Retrowirusy egzogenne mają dodatkowo wiele sekwencji regulatorowych. Produkty genu *env* są odpowiedzialne m.in. za wiązanie wirusa z receptorami na powierzchni infekowanych komórek, czyli za pierwszy etap cyklu replikacyjnego. Umożliwiają zatem rozprzestrzenianie się wirusa [32]. Retrowirusy egzogenne są przekazywane horyzontalnie, zakażają komórki somatyczne i wbudowują się do ich genomu [50].

3. Retrowirusy endogenne (ERV)

Retrowirusy endogenne (ERV – endogenous retroviruses) i egzogenne mają wspólny schemat budowy genomu, na który składają się geny *gag*, *pol* i *env*, flankowane powtórzeniami LTR (ryc. 2E) [4,6,51]. ERV są najprawdopodobniej pozostałością retrowirusów egzogennych, które w toku ewolucji zostały włączone do chromosomów w komórkach linii płciowej kręgowców i są przekazywane wertykalnie organizmom potomnym, zgodnie z regułami genetyki mendelowskiej [6,50,51]. Wskutek obecności ERV w genomie zostały wyeliminowane ich wersje egzogenne, gdyż produkty *env* ERV blokowały ich receptory, uniemożliwiając infekowanie komórek somatycznych. Podobna sytuacja występuje w przypadku retrowirusa owczego **JRSV** (Jaagsiekte sheep retrovirus), który interferuje ze swoim egzogennym odpowiednikiem, blokując jego receptory [42] lub wirusa mięsaka Rousa (RSV – Rous sarcoma virus), którego wejście do komórki jest na tej samej zasadzie hamowane przez białka otoczkowe pokrewnego wirusa endogennego [50].

Istnieje również hipoteza, przyjmująca sytuację odwrotną, a mianowicie powstanie egzogennych retrowirusów wsku-

tek uniezależnienia się od genomu pewnych sekwencji endogennych i nabrania przez nie cech infekcyjności.

Wśród kręgowców istnieją retrowirusy w obu postaciach – egzo- i endogennej, takich jak np. myszy wirus raka sutka **MMTV** (mouse mammary tumor virus), wirus JRSV [32], ptasi wirus białaczki (**ALV** – avian leukemia virus) lub wirus białaczki kotów (**FeLV** – feline leukemia virus) [4]. Istnieją również ERV zdolne do reinfekcji swojego naturalnego gospodarza (np. endogenne wirus białaczki myszy **MuLV** – mouse leukemia virus) lub też organizmów innego gatunku (np. endogenne wirus świni (**PERV** – porcine endogenous retrovirus), jest zdolny do infekowania nie tylko komórek świni, ale także ludzkich) [11,18].

W toku ewolucji większość ERV uległa inaktywacji ze względu na nagromadzenie wielu mutacji, szczególnie prowadzących do zmiany ramek odczytu (delekcje, insercje), a także polegających na wstawieniu kodonów terminacyjnych w obrębie ORF [6,31]. Stąd też większość z nich to wirusy defektywne, niezdolne do ekspresji i wytwarzania kompletnych cząstek wirusowych [30]. Niektóre ulegają jednak nadal retrotranspozycji (ERV zwierzęce oraz prawdopodobnie ludzkie endogenne retrowirusy z grupy K (HML-2) [25]). Defektywne ERV mogą namnażać się w komórkach linii płciowej, korzystając z białek kodowanych przez inne retrowirusy (retrotranspozycje *trans*). Natomiast sekwencje ERV nieuszkodzone przez mutacje ulegają retrotranspozycji *cis* (kodują wszystkie niezbędne do tego procesu białka). Niektóre z ERV tworzą cząstki wirusowe i są zdolne do reinfekcji komórek linii płciowej [25]. Zmiany mutacyjne dotyczą nie tylko genów ERV, ale także LTR, identycznych w chwili integracji sekwencji z genomem. Szacuje się, że nowa mutacja w LTR pojawia się raz na 200–450 tys. lat [4]. Na tej podstawie, porównując ze sobą LTR danego ERV można określić względny czas jego włączenia się do genomu przodków kręgowców [4], co jest pomocne w badaniach ewolucyjnych.

ERV obecne w genomie człowieka określa się mianem **ludzkich endogennych retrowirusów (HERV – human endogenous retrovirus)**.

LUDZKIE ENDOGENNE RETROWIRUSY (HERV)

Ludzkie endogenne retrowirusy (HERV) zostały odkryte w latach osiemdziesiątych XX w. (pierwsze doniesienie na temat HERV pochodzi z 1981 r. [46]) i według różnych źródeł stanowią 1–8% ludzkiego genomu (około 450 tys. kopii, które można zaliczyć do 100–200 grup i podgrup) [6,8,37,53,60,78]. HERV wbudowały się do komórek linii płciowej przodków człowieka, przy czym szacuje się, że insercje takie nastąpiły 30–45 mln lat temu w przypadku „starszych” sekwencji HERV-W i HERV-K, a 200–400 tys. lat temu w przypadku „młodych” sekwencji HERV-K113 [4,70]. HERV występują w genomie od I (HRES-1) do 1000 kopii (HERV-H) [22,51] i niektóre z nich są polimorficzne (niektóre HERV-K) [4]. Największe zagęszczenie sekwencji HERV występuje w chromosomach: Y, X, 4 i 20 [29]. Komórki rozrodcze zostały najprawdopodobniej zainfekowane przez niewielką liczbę HERV (na co wskazuje niewielka liczba ich rodzin), które następnie uległy amplifikacji (co potwierdza wysokokopijność

większości z nich) [30]. Integracja HERV z genomem w toku ewolucji ma właściwie charakter nieodwracalny, co znajduje dwojakie wytłumaczenie. Bierze się pod uwagę niedoskonałe mechanizmy naprawcze organizmu, które nie zdołały usunąć sekwencji endogennych (teoria „pasożytniczej” obecności HERV w genomie – **selfish/parasitic theory**) lub też zakłada się pozytywną selekcję ewolucyjną ze względu na ważne funkcje, pełnione przez HERV (teoria obecności „symbiotycznej” HERV – **symbiotic theory**) [30,46]. Współcześnie nie obserwuje się integracji z genomem nowych HERV (w przeciwieństwie do sekwencji *Alu* i *L1*, których retrotranspozycje do genomu człowieka zachodzą również obecnie – przyjmuje się jedną insercję tych elementów *de novo* na 100–200 urodzeń) [4,17].

Bezpośrednim bodźcem do podjęcia poszukiwań ludzkich endogennych retrowirusów było dostrzeżenie związku między niektórymi typami nowotworów myszy i owiec, a sekwencjami ich endogennych retrowirusów. Dlatego rozpoczęto przeszukiwanie bibliotek genomu ludzkiego za pomocą sond wywodzących się z regionu *pol* ERV zwierzęcych [4]. W ten sposób, w wyniku hybrydyzacji metodą Southerna odkryto po raz pierwszy sekwencję HERV-K, stosując sondę *pol* endogenne retrowirusa chomika syryjskiego [4]. Obecnie prowadzi się wiele zróżnicowanych badań nad endogennymi retrowirusami człowieka, począwszy od wyszukiwania nowych HERV (za pomocą przeszukiwania bibliotek genomowych, hybrydyzacji metodą Southerna i PCR) [4], ich klasyfikacji i badania pokrewieństwa filogenetycznego (poprzez porównywanie sekwencji i sporządzanie drzew podobieństwa) [69], określania czasu włączania się do genomu przodków człowieka (na podstawie różnic w LTR i nagromadzenia mutacji) [9]; aż po wykrywanie kolejnych stadiów ekspresji HERV w komórkach prawidłowych i zmienionych procesami chorobowymi lub transformacją nowotworową. Wykrywa się transkrypty mRNA HERV (metodą RT-PCR) [48], produkty translacji tego mRNA (za pomocą przeciwciał monoklonalnych wykrywających produkty genów *gag* i *env* oraz przeciwciała przeciwko tym produktom) [10,32], a także cząstki wirusowe (z użyciem mikroskopii elektronicznej lub przeciwciał skierowanych przeciwko białkom otoczkowym kodowanym przez gen *env*) [72]. Dodatkowo bada się wpływ czynników egzo- i endogennych na ekspresję HERV, ich interakcje z retrowirusami egzogennymi i wreszcie wpływ HERV na organizację, funkcjonowanie i ewolucję genomu gospodarza [32].

Struktura sekwencji HERV jest typowa dla retrowirusów (ryc. 3B); mają one geny ***gag***, ***pol*** i ***env***, pomiędzy LTR [9]. Gen *gag* koduje białka strukturalne wirionu (kapsydu, nukleokapsydu i macierzy), gen *pol* odwrotną transkryptazę, a także proteazę, rybonukleazę H (RNazę H) i integrazę, natomiast gen *env* – białka otoczkowe – białko transmembranowe **TM** (transmembrane) i powierzchniowe **SU** (surface) [30,41]. Niektóre HERV (np. HERV klasy II i III) mają także geny kodujące dodatkowe enzymy, np. dUTP-azę (katalizującą hydrolizę dUTP do dUMP i reszty pirofosforanowej, która to reakcja zapobiega włączaniu dUTP do nowo powstającego łańcucha DNA, oraz dostarcza prekursora (dUMP) do syntezy TTP) [37]. Inne HERV (HERV-L) nie mają genu *env* (co upodabnia je do retrotranspozonów) [6,47]. Podobnie jak w przypadku

zwierzęcych ERV, również ludzkie endogenne retrowirusy są najczęściej defektywne ze względu na liczne mutacje w obrębie otwartych ramek odczytu. Niektóre z nich zachowały jednak zdolność do ekspresji genów [72]. Szacuje się, że wśród ponad 8 tys. sekwencji HERV zawierających gen *pol*, powyżej 3 tys. ma pełne lub częściowo otwarte ramki odczytu [58].

KLASYFIKACJA I NOMENKLATURA HERV

Na podstawie homologii genu *pol* endogennych retrowirusów ludzkich do genów *pol* retrowirusów egzogennych wyróżnia się trzy klasy HERV. **Klasę I** stanowią HERV wykazujące podobieństwo regionu *pol* (ale także *gag* i *env*) do **gammaretrowirusów** (retrowirusów typu C) jak np. MuLV. Wykazują one także homologię do endogennych retrowirusów pawiana (BaEV – baboon endogenous virus) [46]. W obrębie **klasy II** można wyróżnić HERV homologiczne do **betaretrowirusów**, takie jak np. MMTV (retrowirusów A, B i D oraz ptasich retrowirusów C). Do klasy tej należą najbardziej aktywne biologicznie ludzkie endogenne retrowirusy, HERV-K. W skład **klasy III** wchodzi endogenne retrowirusy spokrewnione w niewielkim stopniu ze **spumaretrowirusami** [4,32,46,65]. Szacuje się, że HERV wymienionych trzech klas stanowią odpowiednio 2,3, 0,7 i 4% genomu ludzkiego [65].

W taksonomii HERV bierze się również pod uwagę swoistość substratową tRNA, od którego rozpoczyna się transkrypcja tych sekwencji. Do skrótu HERV dodaje się skrót aminokwasu, dla którego starterowy tRNA jest swoisty (korzystając z jednoliterowego kodu aminokwasów) (tab. 2) [32,70]. I tak np. HERV-E mają starterowy tRNA swoisty dla kwasu glutaminowego, a HERV-L dla leucyny. Jednak to kryterium nie jest uniwersalne, gdyż istnieje wiele niespokrewnionych HERV, mających tRNA swoiste dla tego samego aminokwasu. Przykładem może być duża grupa HERV-K (tRNA^{Lys}), w której można wyróżnić kilka niespokrewnionych grup (HML(1-10) – human MMTV-like) [1,32,38,69,71]. Stąd też taksonomia HERV nie jest jednolita, a nazwy poszczególnych grup są nadawane na podstawie podobieństwa do retrowirusów egzogennych (np. HRES-1 – HTLV-1-related endogenous sequence), na zawartość określonych motywów w obrębie sekwencji (np. HERV-FRD) lub też ze względu na integrację w określone miejsce genomu (np. HERV-K(C4)), obecny w genach dla składników dopełniacza C4A i C4B) [57]. Niektóre tradycyjne nazwy, np. ERV-1 i ERV-3 pozostały w użyciu, mimo zidentyfikowania ich specyficzności tRNA starterowego (tRNA^{Arg}), co pozwalałoby na zaliczenie ich do HERV-R.

W tabeli 2 przedstawiono klasyfikację HERV, w oparciu o dostępne dane literaturowe.

REGULACJA EKSPRESJI HERV W KOMÓRKACH

Jak już wcześniej wspomniano, większość HERV nie ulega ekspresji, ze względu na liczne mutacje w obrębie otwartych ramek odczytu. Poza tym sekwencje te są często wyciszane za pomocą mechanizmów epigenetycznych. Przypuszcza się, że jednym z nich jest **metylacja DNA** [44,48]. Niemniej niektóre HERV są aktywne i ich ekspresja jest regulowana przez wiele czynników zewnętrz-

nych i wewnętrznych. Dość często HERV są aktywne transkrypcyjnie w komórkach o charakterze embrionalnym (łożysko, komórki teratokarcinomy) [32], a także w komórkach nowotworowych, w przeciwieństwie do prawidłowych tkanek [64].

Ekspresja niektórych sekwencji endogennych retrowirusów jest regulowana przez zewnętrzne czynniki fizyczne, takie jak promieniowanie X lub UV [60,72]. Promieniowanie UVB indukuje transkrypcję **ERV-9**, **HERV-K** i **HERV-L** w skórze pacjentów z toczniem układowym [52], natomiast obniża transkrypcję **ERV-9** w ludzkich prawidłowych keratynocytach oraz translację mRNA genu *env* **HERV-E** w skórze pacjentów cierpiących na łuszczycę [39].

Ekspresja HERV znajdujących się w obrębie genów komórkowych podlega regulacji ze strony czynników transkrypcyjnych związanych z tymi genami. Wpływ na ekspresję sekwencji endogennych mają także pirymidyny halogenowane, inhibitory syntezy białek, a także cytokiny prozapalne [72] (przykładowo ekspresja genu *env* **HERV-K18** jest stymulowana przez **IFN-α** [73], zaś transkrypcja **HERV-R** w ludzkich komórkach endotelialnych jest wzmacniana przez **TNF-α**, **IL-1α** i **IL-1β** [53]). Innym czynnikiem aktywującym transkrypcję HERV są **hormony steroidowe**, w tym **glukokortykosteroidy**. Stopień ekspresji HERV jest najwyższy w tkankach wydzielających oraz odpowiadających na działanie hormonów (łożysko, mięśnie szkieletowe, podwzgórze, jądra) [29]. Do sekwencji, których transkrypcja jest aktywowana przez steroidy należą m.in. **HERV-K10** (w komórkach raka piersi), **ERV-3** (**HERV-R**), **HERV-W** i **HERV-F(XA34)** w komórkach łożyska [47,55], z kolei ekspresja **HERV-E(4.1)** jest hamowana w czasie terapii steroidowej pacjentów z SLE [60]. Kwas retinowy aktywuje transkrypcję **RR HERV-I** w komórkach ludzkiej teratokarcinomy [72].

Inną grupę czynników wpływających na aktywność endogennych retrowirusów są produkty wirusów egzogennych. Wirus **Epsteina-Barr** wzmacnia transkrypcję genu *env* **HERV-K18** znajdującego się w intronie genu CD48 (chromosom 1) i ulegającego ekspresji w limfocytach B po zakażeniu tym wirusem [54]. Badania *in vitro* potwierdziły, że **HSV-1** indukuje ekspresję **HERV-W (MSRV)** w komórkach ludzkiej neuroblastomy [61] oraz w komórkach nerwowych i endotelialnych mózgu [45,57]. Wirus ten powoduje również ekspresję **HERV-K** [47]. Podobnie cytomegalowirus (**CMV**) aktywuje **HERV-K** [47], wirus **grypy (A/WSN/33)** powoduje zwiększenie stężenia białka **Env HERV-W** w komórkach nuroepitelialnych linii SK-N-MC [45], a **HIV-1** indukuje ekspresję **proteazy PR (HERV-K)** w limfocytach CD4+ [49]. Przypuszcza się, że może on również podnosić poziom ekspresji genów białek strukturalnych **HERV-K**, poprzez oddziaływanie białka **Rev HIV-1** z regionem **K-RRE** (**HERV-K** Rec response element). Być może właśnie to jest powodem obecności przeciwciał rozpoznających białka strukturalne **HERV-K** u 70% pacjentów **HIV-1** pozytywnych, w przeciwieństwie do zdrowych dawców krwi, u których takich przeciwciał się nie wykrywa [74].

W tabeli 3 przedstawiono ekspresję wybranych HERV na poziomie mRNA i białka.

Tabela 2. Klasyfikacja ludzkich endogennych retrowirusów

Klasa	Grupa	Rodzina HERV	Przedstawiciel	Liczba kopii w genomie	Lokalizacja w genomie	Struktura genomu	tRNA	Piśmiennictwo
I	1. HERV-HF	HERV-H	RTVL-H, RGH (AF108842)	100 pełnych sekwencji 800–1000 fragmentów ok. 1000 solo-LTR	w całym genomie, szczególnie w chromosomie 1q i 7q	liczne fragmenty prowirusowe <i>gag-pol-env</i> (5,8 kbp + 500–600 p.z. LTR) pełne lub z delecją w <i>pol</i> i <i>env</i>	tRNA ^{His}	22,46,47,75
		HERV-F	HERV-F (XA34) HERV-F (AF070684) HERV-F (typ b) (AC002416)	16 15 30	7q31.1-q31.3	LTR- <i>gag-pol-env</i> -LTR (7,5–9 kbp) LTR- <i>gag-pol-env</i> -LTR (8,7 kbp) LTR- <i>gag-Δpol-Δenv</i> -LTR (6,8 kbp)	tRNA ^{Phe}	27,70,77
		HERV-W	MSRV	30–115	1,3,4,5,6,7,12,17,20,X	LTR- <i>gag-pol-env</i> -LTR (7,6 kbp)	tRNA ^{Trp}	2,28,46,47,70,76
	2. HERV-RW	HERV-R	ERV-9 (X57147)	70	X	liczne fragmenty prowirusowe LTR- <i>gag-pol-Δenv</i> -LTR (1,8–3,8 kbp)	tRNA ^{Arg}	46,47,59,70
		HERV-P	HuERS-P; HuRRS-P (X06279)	20–40	X, 7, 11,6	LTR- <i>gag-pol-env</i> -LTR (8,1 kbp)	tRNA ^{Pro}	46,70,72
		HERV-E	HERV-E (4.1) (S46403)	85	b.d.	LTR- <i>gag-pol-env</i> -LTR (8,8 kbp) LTR- <i>gag-pol</i> -LTR (6 kbp)	tRNA ^{Glu}	46,47,60
	3. HERV-ERI	HERV-R	ERV-3 (M12140) ERV-1	1 1	7 18	LTR- <i>gag-pol-env</i> -LTR (9,9 kbp) <i>gag-pol</i> -LTR	tRNA ^{Arg}	41,46,47,72
		RRHERV-I	RRHERV-I (M64936)	15	Y	LTR- <i>Δpol-env</i> -LTR (3,3 kbp)	tRNA ^{Ile}	46,47,59,70
	4. HERV-T	HERV-T	S71 (M32788)	12	Y	<i>gag-Δpol</i> -LTR (5,5 kbp)	tRNA ^{Thr}	6,49,73,75
	5. HERV-IP	HERV-I	RTVL-I (X14953)	85	b.d.	LTR- <i>gag-pol-env</i> -LTR (9,0 kbp)	tRNA ^{Ile}	46,70
		HERV-IP-T47D	ERV-FTD (U27241)		b.d.		b.d.	46
	6. HERV-FRD	HERV-FRD	HERV-FRD (U27240)	15–16	7q21–22	LTR- <i>gag-pol-env</i> -LTR (10,8 kbp)	tRNA ^{His}	41,46,47,70
		HRES-1	HRES-1	1	1q42	b.d.	b.d.	1,46,47
	Niesklasyfikowane	HERV-ADP	HERV-ADP (L14752)	60	7, 6, 5	LTR- <i>gag-pol-env</i> -LTR (8,4 kbp) <i>pol</i> (1,5 kbp)	tRNA ^{Thr?}	70

ZNACZENIE BIOLOGICZNE DZIEDZICZENIA HERV

1. Wpływ HERV na organizację, plastyczność i ewolucję genomów

Integracja retroelementów z genomem jest właściwie nieodwracalna [4]. Wyjątek stanowią delecje wewnątrzchro-

mosomalne w czasie rekombinacji homologicznej lub rekombinacje między LTR prowirusowymi, prowadzące do powstania solo-LTR [25]. Stąd też insercja i amplifikacja HERV jest przyczyną nagromadzenia znacznej ilości balastowego materiału genetycznego o niewyjaśnionej funkcji. Niemniej jednak sekwencje te (lub też pochodzące z nich LTR) mogą być zaangażowane w procesy rearanzacji ge-

Tabela 2 c.d. Klasyfikacja ludzkich endogennych retrowirusów

Klasa	Grupa	Rodzina HERV	Przedstawiciel	Liczba kopii w genomie	Lokalizacja w genomie	Struktura genomu	tRNA	Piśmiennictwo
II	1. HERV-K (HML-1)	HERV-K (HML-1.1)	HERV-K14I	68	głównie chromosom 19	LTR- <i>gag-pol-env</i> -LTR (ok. 6 kpz)	tRNA ^{Lys}	19,46,59
		HERV-K10	HERV-K10	30-50	w całym genomie	LTR- <i>gag-pol-env</i> -LTR (8,8 kpz)	tRNA ^{Lys}	46,47,59
	2. HERV-K (HML-2)	HERV-K-HTDV	HERV-K-HTDV	b.d.	b.d.	LTR- <i>gag-pol-env</i> -LTR	tRNA ^{Lys}	46,59
		HERV-K113	HERV-K113	1	19p13.11	LTR- <i>gag-pol-env</i> -LTR	tRNA ^{Lys}	13,33,46
		HERV-K115	HERV-K115	1	8p23.1	LTR- <i>gag-pol-env</i> -LTR	tRNA ^{Lys}	13,33,46
		HERV-K102	HERV-K102	1	1q21-q22	LTR- <i>gag-pol-env</i> -LTR	tRNA ^{Lys}	5,33,44
	3. HERV-K (HML-3)	HERV-K (HML-3)	HERV-K (HML-3.1) HERVK9I	około 140	b.d.	LTR- <i>gag-pol-env</i> -LTR, większość to sekwencje defektywne	tRNA ^{Lys}	38,46,59
	4. HERV-K (HML-4)	HERV-K-T47D	HERV-K-T47D	b.d.	b.d.	LTR- <i>gag-pol-env</i> -LTR	tRNA ^{Lys}	46,59
	5. HERV-K (HML-5)	HERV-K-NMWW2	(HERV-K-NMWW2)	b.d.	b.d.	b.d.	tRNA ^{Lys}	1,46,59
	6. HERV-K (HML-6)	HERV-K (HML-6p)	HERV-K (HML-6p)	b.d.	b.d.	b.d.	tRNA ^{Lys}	46,59
III	7. HERV-K (HML-7)	HERV-K-NMWW7	HERV-K-NMWW7	b.d.	b.d.	b.d.	tRNA ^{Lys}	3,46
	8. HERV-K (HML-8)	HERV-K-NMWW3	HERV-K-NMWW3	b.d.	b.d.	b.d.	tRNA ^{Lys}	3,46
	9. HERV-K (HML-9)	HERV-K-NMWW9	HERV-K-NMWW9	b.d.	b.d.	b.d.	tRNA ^{Lys}	3,46
	10. HERV-K (HML-10)	HERV-KC4	HERV-K(C4)	30-50	6	LTR- <i>gag-pol-env</i> -LTR	tRNA ^{Lys}	32,46,58,59
III	HERV-S	HERV-S	HERV-S	70	chromosom X	LTR- <i>gag-pol-env</i> -LTR (6,7 kpz)	tRNA ^{Ser}	70,78
	HERV-L	HERV-L	HERV-L	200-575	w całym genomie, szczególnie X	LTR- <i>gag-pol</i> -LTR (6,5 kpz)	tRNA ^{Leu}	7,46,47,70

b.d. – brak dostępnych danych.

nów, wpływając na ich zmienność i zróżnicowanie, a tym samym działając na organizację, plastyczność i ewolucję genomu (procesy selekcji i adaptacji) [4]. Niektóre z HERV są obecne w genach szybko ewoluujących i o wysokim poziomie mutacji, a tym samym bardzo zmiennych, takich jak np. geny zaangażowane w procesy odpowiedzi immunologicznej. Szacuje się, że w genach MHC klasy I znajduje się 16 różnych HERV, podobnie w MHC klasy II są obecne sekwencje pochodzenia retrowirusowego, np. HERV [1]. W MHC klasy II (**HLA-DQ**) znajdują się **LTR** pochodzące z **HERV-K** [46,66]. W genie składnika **C4** dopełniacza obecny jest prowirus **HERV-K(C4)** [58]. Obecność pewnych LTR w genach MHC wiąże się ze zwiększeniem podatności na choroby autoimmunizacyjne, takie jak cukrzyca typu 1, reumatoidalne zapalenie stawów, czy też choroba Addisona. Ryzyko wystąpienia tej ostatniej koreluje do-

datnio z HLA-DQ8 oraz DQ-LTR13 [55]. Z kolei insercja HERV-K(C4) w genie C4A wydaje się chronić przed rozwinieniem tocznia układowego (SLE) – w 50% przypadków SLE występuje delecja fragmentu genu C4A, zawierająca insercję HERV-K(C4) [1].

2. Wpływ HERV na ekspresję genów komórkowych

Sekwencje endogennych retrowirusów nie tylko wpływają na procesy związane z organizacją DNA genomowego, ale także z ekspresją genów komórkowych. Szacuje się, że około ¼ genów ludzkich i ¼ regionów UTR (regiony niepodlegające translacji – untranslated regions) mRNA komórkowego zawiera fragmenty pochodzenia retrowirusowego [4]. Retroelementy mogą być promotorami lub wzmacniaczami niektórych genów. Przykładem może być promotor pocho-

Tabela 3. Ekspresja wybranych HERV w tkankach

Klasa	Rodzina	Przedstawiciel	Ekspresja mRNA	Ekspresja białka	Piśmiennictwo
I	HERV-H	RTLV-H2, RGH2	ekspresja mRNA w płaskokomórkowym raku płuc, komórkach teratokarcinomy, raka jąder i pęcherza w stwardnieniu rozsianym ekspresja env w komórkach łożyska, mięśni szkieletowych, śledziony i grasicy oraz w komórkach nowotworowych linii RT4, BT747, HCT-116, TE-1, UO-31, Jurkat, HepG2, A549, MCF7, OVCAR-3, MIA-PaCa-2, PC-3, LOX-IMVI, AZ521, 2F7, U-937, C-33A	62 kDa białko Env o własnościach immunosupresyjnych	34,47,75
		HERV-E (4.1)	liczne LTR oraz mRNA zawierające <i>env</i> w prawidłowym łożysku, piersi, wątrobie, śledzionie, a także w komórkach raka okrężnicy transkrypty w leukocytach krwi obwodowej pacjentów SLE	38 kDa białko Env	47,60
	HERV-E	ERVE1	transkrypty (3,3 oraz 4,1 kpz) w komórkach trzustki i tarczycy	b.d.	62
		ERV-3	wysoka ekspresja w łożysku i kom. linii U937, gruczołach tłuszczowych, zaktywowanych makrofagach krążących, komórkach nabłonka oskrzeli niska ekspresja w kom. grasicy, piersi, płuc i trzustki,	65 kDa Env	30,41,47,55
	ERV-9	ERV-9	mRNA (8,2 i 1,5 kpz) w niezróżnicowanych komórkach linii NT2/D1	b.d.	47
	HRES-1	HRES-1	ekspresja mRNA w komórkach ludzkiego czerniaka i białaczki promielocytarnej	28 kDa białko <i>gag</i> w limfocytach T linii H9	47,52
	HERV-W	MSRV HERV-W/7q	transkrypty 8 kpz i 4 kpz ekspresja w łożysku i jądrach	64 kDa białko syncytyna (produkt genu <i>env</i>) 59,8 kDa glikoproteina – enveryna (produkt <i>env</i>)	28,41,47,55
	HERV-F	HERV (XA34)	transkrypty o długości 7,5–8,5 kpz w łożysku	prawdopodobnie synteza białka w łożysku	77
II	HERV-FRD	HERV-FRD	transkrypty w łożysku	syncytyna 2	41
	HERV-K10	HERV-K10	ekspresja w komórkach linii komórkowych teratokarcinomy, guzach jąder HERV-K <i>env</i> w komórkach raka piersi, niska ekspresja w łożysku i prawidłowych tkankach, ekspresja w limfocytach krwi obwodowej	proteaza w limfocytach CD4+; <i>gag</i> , c-ORF, integraza, polimeraza, <i>env</i> , rev, tworzenie cząstek wirusowych	47,49
	HERV-S	HERV-S	ekspresja w mózgu, grasicy oraz komórkach nowotworowych linii: RT4, PFSK-1, BT-474, HCT-116, Jurkat, HepG2, MCF7, OVCAR-3, MIA-PaCa-2, PCT, LOS-IMVI, AZ521, 2F7, C-33A	b.d.	70,78
III	HERV-L	HERV-L	ekspresja w łożysku, komórkach raka piersi, komórkach płynu maziówkowego stawów; w reumatoidalnym zapaleniu stawów	b.d.	47,70

b.d. – brak dostępnych danych

dzący z **HERV-E** w genie **amylazy ślinowej** lub też promotor genów kodujących białka zawierające domeny **palca cynkowego** wywodzący się z **ERV-9**, powodujący selektywną ekspresję niektórych z tych białek w komórkach hematopoetycznych [32]. Podobnie transkrypcja genów receptora **endoteliny** i **plejotropiny** w łożysku jest kierowana przez LTR; z LTR wywodzi się także około 15% transkryptów genu **apolipoproteiny C1** w wątrobie [4]. Oprócz pozytywnego wpływu na aktywność genów komórkowych, sekwencje LTR mogą powodować wiele zakłóceń w ich ekspresji. Mogą dostarczać dodatkowych miejsc inicjacji transkrypcji, powodować niewłaściwe pocięcie transkryptu, wstawienie kodonów STOP lub sygnału poliadenylacji, czy też dodatkowych miejsc składania mRNA [73]. Następstwami tego typu zakłócenia funkcjonowania genów mogą być różnego typu choroby (np. nowotworowe, jeśli insercja HERV nastąpi do protoonkogenów lub genów supresorowych nowotworów albo w ich sąsiedztwie) [32,51]. Z taką sytuacją mamy do czynienia w przypadku indukowanego metylonitrozomocznikiem raka sutka szczurów, u których defektywne sekwencje ERV w intronie genu **c-Ha-ras** są odpowiedzialne za jego nadekspresję [46]. Poza tym ze zmianami w ekspresji sąsiednich genów, wywołanymi przez **HERV-K102** i **HERV-H** mogą wiązać się schorzenia neurologiczne (schizofrenia i zaburzenia dwubiegunowe). Wydaje się, że HERV-K102 może wzmacniać ekspresję wielu sąsiadujących z nim genów na chromosomie 1q21-q22 (m.in. genów kodujących efrynę A1, A3 i A4 oraz białko związane z onkogenem *ras* – *RAB25*), których produkty są zaangażowane w funkcjonowanie i rozwój układu nerwowego, a także wiążą się z rozwojem schorzeń neuropsychiatrycznych. Z kolei obecny na chromosomie 22 (22q12) **HERV-H** (HSN28H9) podejrzewa się o obniżanie ekspresji genu *SYNIII*, poprzez **antysensowne RNA**. *SYNIII* koduje synapsynę III (białko zaangażowane w powstawanie synaps i uwalnianie neuroprzebieżników). Małe stężenie tego białka jest obserwowane w przypadku schizofrenii i zaburzeniach dwubiegunowych [44].

3. Wpływ produktów genów HERV na funkcjonowanie organizmu

W zależności od rodziny HERV oraz od typu tkanki, ekspresja genów sekwencji endogennych niesie ze sobą pozytywne, bądź negatywne konsekwencje. Do tych pierwszych zaliczyć można rozwój prawidłowego łożyska, możliwy dzięki własnościom fuzyjnym i immunosupresyjnym produktów genów **env HERV-W** (**syncytyna**), **HERV-FRD** (**syncytyna 2**) oraz **ERV-3** (białko **SU** – surface i **TM** – transmembrane) [4,30,48]. Stwierdzono dodatnią korelację między obniżeniem poziomu ekspresji syncytyny w łożysku a pewnymi komplikacjami ciąży (stan przedrzucawkowy – pre-eclampsia oraz zespół HELLP – haemolysis, elevated liver enzymes, low platelets). Nie wyjaśniono jednak, czy obniżenie poziomu tego białka jest przyczyną czy też konsekwencją tego typu zaburzeń [41,56]. Własności immunosupresyjne, zapobiegające odrzuceniu płodu przez układ immunologiczny matki wiąże się z regionem **ISP** (immunosuppressive peptide) białek Env HERV, który jest homologiczny do immunosupresyjnego peptydu **p15E MLV** (murine leukaemia virus) [46,75]. Pojawiają się dane sugerujące udział sekwencji **HERV-K cORF/rec** i **HERV-R env** w rozwoju i różnicowaniu prawidłowych tkanek w czasie embriogenezy [75].

Innym korzystnym aspektem obecności produktów genów retrowirusów endogennych jest interferencja białek Env HERV z wirusami egzogennymi (poprzez blokowanie ich receptorów) lub też zakłócanie replikacji wirusów poprzez antisensowne RNA [4,46]. W przypadku endogennych retrowirusów mysich mamy także do czynienia z blokowaniem cyklu życiowego wirusa egzogenego już po jego wnikięciu do komórki gospodarza (blokowanie wirusa MLV przez białko **Fv1**, będące produktem mysiego genu *gag*, homologicznego do ludzkiego HERV-L) [4]. Wydaje się, że białka Env HERV-W i ERV-3 w czasie rozwoju prawidłowego łożyska chronią przed infekcją retrowirusów egzogennych (tzw. germline vaccination), przez blokowanie ich receptorów [30,41]. Pojawiają się sugestie, że względnie niski poziom transmisji HIV przez łożysko może być następstwem blokowania receptorów HIV przez białka Env HERV-W [41]. Antysensowne RNA, pochodzące ze znajdującego się w genach składnika C4 dopełniacza **HERV-K(C4)**, wydaje się mieć znaczenie ochronne, skierowane przeciwko infekcjom retrowirusami egzogennymi. Sekwencje **HERV-K(C4)** znajdują się w genach dopełniacza C4A i C4B w orientacji przeciwnej do orientacji genów C4. Ich nosicielami jest około 60% populacji. Ich ekspresja może zachodzić wraz z genami C4 lub niezależnie od nich. Istnieje hipoteza, zgodnie z którą mRNA **HERV-K(C4)**, powstałe w czasie transkrypcji genów C4 (np. stymulowanej IFN- γ) może tworzyć heteroduplexy z homologicznym mRNA wirusów egzogennych, hamując tym samym ich translację [58].

Istnieją dowody wskazujące na to, że obecność produktów genów HERV i ich cząstek wirusowych może mieć związek z wieloma chorobami (tab. 4), m.in. o podłożu autoimmunologicznym (tab. 5) [55] lub o złożonej etiologii (np. łuszczyca) [39,55].

W etiologii **cukrzycy typu 1** odgrywają rolę m.in. **superantygeny (SAg)**, będące produktami genu **env HERV-K18 (IDDM_{1,2}22)**, które pobudzają klony limfocytów T, związane z cukrzycą typu 1 (V β 7, V β 13 i V β 9). Sekwencje **HERV-K18 (IDDM_{1,2}22)** wykazują zróżnicowanie alleliczne (trzy allele wyodrębniono na podstawie miejsca insercji do intronu 1 genu CD48, uczestniczącego w kostymulacji limfocytów), a ich ekspresja jest wzmacniana przez INF- α oraz EBV [53,54,55]. Pojawiły się sugestie, że również produkty genów **env HERV-W (MSRV)** i **HERV-FRD**, znane skądinąd z korzystnego wpływu na rozwój łożyska (**syncytyna** i **syncytyna 2**), mogą, jako superantygeny, wywoływać odpowiedź immunologiczną przeciwko oligodendrocytom osłoniętej mielinowej u osób ze **stwardnieniem rozsianym (SM)** [53,61]. Stwierdzono również wzrost ekspresji **HERV-H** i **HERV-K** w tkance mózgowej chorych na MS [12].

Za rolę HERV w etiologii toczenia układowego (SLE) przemawia obecność (u chorych na SLE) przeciwciał reagujących krzyżowo z produktami genów **gag**, **env**, **nef** i **p24** wirusów HIV-1 i HTLV-1, mimo braku ekspozycji na ten wirus [55]. W hodowlach limfocytów pochodzących od pacjentów z **SLE** wykrywa się aktywność **RT** i obserwuje się wytwarzanie interferonu, charakterystycznego dla indukcji retrowirusowej [1]. Przypuszczalnym mechanizmem działania HERV w SLE jest **mimikra molekularna**, spowodowana homologią między **HRES-1** a regionem

Tabela 4. Ekspresja HERV w jednostkach chorobowych

	Jednostki chorobowe	Rodzina HERV	Piśmiennictwo
Schorzenia o podłożu autoimmunologicznym	stwardnienie rozsiane	HERV-W (MSRV), HERV-H	12,16,53,61,75
	toczeń układowy	HERV-H, HRES-1, HERV-E(4.1), ERV-3	52,53,55,60
	zespół Sjögrena	HRES-1	53,55
	cukrzyca typu 1	HERV-K18	54,55
	arytmia serca	ERV-3	53
	reumatoidalne zapalenie stawów	HERV-K10, ERV-3	30,47
	zapalenie mięśnia sercowego i arytmia serca płodu	ERV-3	53
Choroby nowotworowe	guzy embrionalne (teratokarcinoma)	HERV-K/HTDV	14,46,47
	rak piersi	HERV-K, HERV-W i HERV-S	14
	rak jąder	HERV-K10	46
	komórki linii T47D (rak sutka)	HERV-K10	46
	choriokarcinoma	HERV typu C	46
	TGCT (testicular germ cells tumor)	HERV-K	46
	czerniak	HERV-K-MEL	14,44
Zaburzenia związane z układem nerwowym	schizofrenia	HERV-W (MSRV), HERV-K102, HERV-H (HSN28H9), HERV-K10	20,24,44,79,80
	zaburzenia dwubiegunowe	HERV-K10, HERV-H (HSN28H9)	
Choroby o złożonej etiologii	łuszczyca	HERV-K, HERV-W, HERV-E, HERV spokrewniony z ERV-9/HERV-W	39,55

homologicznym do *gag* w **snRNP** (antygenach jądrowych, przeciwko którym rozwija się odpowiedź immunologiczna w SLE), co może wyzwać wytwarzanie przeciwciał anty-snRNP (52% pacjentów z SLE posiada przeciwciała anty-HRES-1) [1,55]. Dodatkowo badania na mysim modelu SLE wykazały, że integracja **HRES-1** w obszar genów *fas* powodowała obniżenie poziomu białka **Fas**, zaangażowanego w usuwanie limfocytów autoreaktywnych [55]. Inną sekwencją, związaną z SLE jest **HERV-E(4.1)**. Transkrypty *gag* **HERV-E(4.1)** są wykrywane w limfocytach krwi obwodowej pacjentów z SLE, poza tym wśród 50% pacjentów z SLE obecne są przeciwciała przeciwko produktowi p30 *gag* klonu 4.1, niewykrywane u osób zdrowych. Stwierdzono także, że syntetyczny peptyd p15E, pochodzący z klonu 4.1 jest zdolny do aktywacji lub anergii limfocytów CD4+, indukuje wytwarzanie wielu cytokin (m.in. IL-6 i IL-16) oraz może powodować poliklonalną aktywację limfocytów B, związaną z cytokinami (PBA – polyclonal B-cell activation). Te zaś zjawiska są obserwowane u chorych na SLE [60].

Ekspresję endogennych retrowirusów wykryto w wielu liniach komórek nowotworowych, a także w guzach nowotworowych. Wykrywane są zarówno transkrypty genów, jak i przeciwciała przeciwko produktom białkowym, cząstki wirusowe i aktywność odwrotnej transkryptazy [46,47]. Stwierdzono pozytywną korelację między ekspresją HERV, a teratokarcinoma (HERV-K/HTDV), oraz niektórych nowotworów litych – między innymi raka piersi i jąder (HERV-K) [14,46,47]. Brak jednak niepodwa-

żalnych dowodów wskazujących na rolę HERV w etiologii nowotworów [63]. Przypuszcza się jednak, że mogą one mieć wpływ na progresję nowotworów, np. HERV-K może być ważnym czynnikiem progresji TGCT (testicular germ cell tumours), przez hamowanie odpowiedzi immunologicznej [4,46]. Odpowiedzialne za ten proces mogą być czynniki immunosupresyjne [30], takie jak np. homolog białka p15E MLV (**ISP**), znany skądinąd z ochronnego działania, zapobiegającego odrzuceniu płodu przez organizm matki [75].

Podwyższony stopień transkrypcji HERV-W (MSRV) w tkance mózgowej [80] oraz w płynie mózgowo-rdzeniowym [24] stwierdzono w licznych przypadkach schizofrenii. Nadekspresja sekwencji endogennych retrowirusów w mózgu dotyczy także HERV-K10 w przypadkach schizofrenii i zaburzeń dwubiegunowych [20,80]. Brak jednak informacji wyjaśniających ewentualny mechanizm działania tych sekwencji, prowadzący do rozwoju tego typu zaburzeń układu nerwowego.

4. HERV a retrowirusy egzogenne

Niekorzystnym aspektem ekspresji sekwencji endogennych retrowirusów w genomie człowieka jest możliwość wykorzystania produktów HERV przez retrowirusy egzogenne (transkomplementacja). Konsekwencją tego zjawiska może być m.in. zmiana (rozszerzenie) tropizmu komórkowego lentiwirusów (mogących wykorzystywać białka **Env**, m.in. **HERV-W** i **HERV-FRD**, jako własne białka otoczki) [4].

Tabela 5. HERV a schorzenia o podłożu autoimmunologicznym

Wykrywanie HERV	Rodzina HERV	Jednostki chorobowe	Piśmiennictwo
Ekspresja HERV (mRNA)	HERV-W (MSRV), HERV-K, HERV-H	stwardnienie rozsiane	12
	HERV-H, HRES-1, HERV-E(4.1)	toczeń układowy	52,60
	HERV-K18	cukrzyca typu 1	54,55
	HERV-K10, ERV-3	reumatoidalne zapalenie stawów	16,47
	HERV-H (<i>env</i>)	toczeń układowy	53
Przeciwciała przeciwko produktom HERV	HERV-W(MSRV), HERV-H	stwardnienie rozsiane	12,53
	HRES-1	toczeń układowy, stwardnienie rozsiane, zespół Sjögrena	47,53
	ERV-3 (HERV-R)	toczeń układowy	52,53
	ERV-3	zespół Sjögrena, toczeń układowy	53
	ERV-3	korelacja między zapaleniem mięśnia sercowego i arytmia serca płodu a transportem matczynych przeciwciał anti-ERV-3 przez łożysko	53
Cząstki wirusowe	HERV-E(4.1)	toczeń układowy	59
	HERV-W (MSRV), HERV-H	stwardnienie rozsiane	12,53,61

Na przykład HIV-1 ma zdolność do wykorzystywania glikoprotein otoczkowych **HERV-W** [2,4] i być może regionu *pol* HERV [4]. W badaniach *in vitro* stwierdzono również, że **proteaza (PR)**, będąca produktem **HERV-K10** ma zdolność do cięcia **białek macierzy** i **kapsydu HIV-1**, przy czym dokonuje cięcia w miejscach rozpoznawanych przez prawidłową proteazę HIV-1. Wykazuje ona wprawdzie aktywność około 20-krotnie niższą niż PR HIV-1, jest jednak szczególnie odporna na działanie inhibitorów proteazy HIV-1 (takich jak indynawir, rytonawir i sakwinawir) [69]. Badania innego zespołu wykazały jednak, że cięcie **prekursorów Gag i Pol** przez **PR HERV-K10** nie dawało prawidłowych produktów, a wprowadzenie genu PR do klonów HIV-1 pozbawionych własnej PR, nie przywracało tym klonom infekcyjności [49]. Stwierdzono także, że proteaza **HERV-K10** nie jest w stanie zastąpić funkcjonalnej PR szczepów dzikich HIV-1. Brak jednak danych, które wykluczałyby taką możliwość w przypadku stosowania inhibitorów proteazy HIV-1 oraz w przypadku szczepów, które rozwinęły w wyniku mutacji oporność wielolekową [49]. Wykazano również, że retrowirusy endogenne, należące do rodziny HERV-K (HML-2) – **HERV-K10** kodują funkcjonalny homolog genu regulatorowego *rev* **HIV-1** i *rex* **HTLV** (określany jako **K-rev**, **cORF** lub **Rec**) [21,36,74]. Białko **Rec** (o masie 14 kDa), podobnie jak Rev HIV-1 jest umiejscowione w jądrze komórkowym, a jego funkcją jest transport nieociętego mRNA HERV-K z jądra do cytoplazmy. W czasie transportu następuje (analogicznie do transportu HIV-1 mRNA) interakcja z Crm-1 (jądrowym czynnikiem transportowym) oraz z **RRE** (Rev response element) w obrębie HERV-K mRNA (**K-RRE**) [36,74]. Wydaje się, że może następować przypadkowa interakcja między **K-RRE** a Rev HIV-1, nie wykryto natomiast interakcji między **RRE** HIV, a Rec [74]. Geny kodujące Rec są obecne w 11 sekwencjach z grupy HML-2 typu drugiego (czyli mających 292 pz fragment na grani-

cy *pol-env*) [36]. Zaliczyć można do nich m.in. polimorficzne **HERV-K113** i **HERV-K115**, występujące z różną częstością w populacjach ludzi pochodzących z różnych regionów geograficznych [33,40,71].

5. Endogenne retrowirusy w transplantologii i terapii genowej

Osobnym problemem związanym z endogennymi retrowirusami jest ryzyko przeniesienia nowych sekwencji do organizmu ludzkiego w czasie ksenotransplantacji (np. tkanek świni). Większość komórek ludzkich ma receptor **PERV-A** (badania *in vitro* wykazały zdolność **PERV** do zakażenia ludzkich komórek). Cząstki wirusowe **PERV** mogą być uwalniane z komórek świni, a u niektórych świń na niskim poziomie utrzymuje się ekspresja **PERV** i wiremia. Dodatkowo modyfikacje genetyczne świń, mające na celu wyprodukowanie organów, które nie byłyby odrzuca- ne przez organizm ludzki, mogą doprowadzić do ułatwienia transmisji **PERV** [11].

Immunosupresja, jakiej poddaje się pacjenta z przeszczepionym narządem, może także zwiększać możliwość infekcji. Istnieje ryzyko rekombinacji endogennych retrowirusów zwierzęcych z **HERV** lub ludzkimi retrowirusami, co może prowadzić do powstania form chimerycznych, o trudnych do przewidzenia cechach, np. zwiększonej patogenności. **PERV** podane do organizmu wraz z transplantowaną tkanką mogą również indukować proces kancerogenezy, jeśli zintegrują z/lub w pobliżu protoonkogenów [11]. Dotychczas nie zarejestrowano przypadku zakażenia **PERV in vivo**, nieznane są także następstwa ewentualnego zainfekowania tego typu wirusami [17,67].

W terapii genowej, z użyciem wektorów retrowirusowych istnieje zagrożenie omyłkowego zapakowania do wekto-

rów sekwencji **HERV** (takie zjawisko jest obserwowane w układach z komórkami mysimi), przeniesienia go i integracji z genomem biorcy.

Może także dochodzić do komplementacji między defektywnymi **HERV** biorcy a wektorowymi retrowirusami. Trudno przewidzieć skutki takiej komplementacji, bierze się jednak pod uwagę możliwość powstania retrowirusów o zmienionym tropizmie komórkowym, szerszym zakresie gospodarza lub zwiększonej zjadliwości [30,51].

PODSUMOWANIE

Elementy pochodzenia retrowirusowego stanowią znaczną część genomu człowieka. Ich transpozycję warunkuje działalność kodowanej przez nie, lub przez inne sekwencje, odwrotnej transkryptazy. Retroelementy różnią się między sobą schematem budowy genomu, jego organizacją i stopniem skomplikowania, kodowanymi genami a także liczbą kopii obecnych w genomie gospodarza. W świetle dotychczasowych badań, retrosekwencje nie są jedynie balastowym materiałem genetycznym, będącym pozostałością retrotranspozycji zachodzących w procesie ewolucji. Ich obecność w genomie niesie ze sobą zarówno pozytywne, jak i negatywne konsekwencje. Są one związane z insercją retroelementów w określone miejsce genomu, co powoduje zmiany w jego organizacji, plastyczności i jest jed-

nym z procesów umożliwiających jego ewolucję. Poza tym produkty ekspresji retrosekwencji (mRNA, białka i ewentualnie cząstki wirusowe) wywierają określony wpływ na funkcjonowanie komórek, działanie układu immunologicznego (np. białka będące superantygenami lub peptydy o własnościach immunosupresyjnych), rozwój tkanek (np. powstawanie prawidłowego łożyska), a także na replikację wirusów egzogennych (poprzez interferencję z ich receptorami lub antysensowne mRNA). Nie do końca wyjaśniona jest rola retroelementów, a szczególnie ludzkich endogennych retrowirusów (HERV) w etiologii chorób człowieka. Dotychczasowe badania wskazują na ich związek z chorobami o charakterze autoimmunologicznym, pewnymi typami nowotworów, a także zaburzeń psychicznych. Brak jednak jednoznacznych dowodów wskazujących na zaangażowanie tych sekwencji w rozwój schorzeń, być może obecność ich produktów jest jedynie zjawiskiem towarzyszącym danej chorobie, a nie warunkującym jej rozwój. Zagadnienia dotyczące retroelementów, szczególnie podejmujące temat ludzkich endogennych retrowirusów, nie są do końca poznane i wymagają dalszych, wyczerpujących badań. Konieczne jest zwłaszcza wyjaśnienie ich roli w kontekście chorób człowieka, infekcji wirusowych oraz określenie możliwych konsekwencji istnienia elementów pochodzenia retrowirusowego w genomach, w związku z wprowadzeniem w życie nowych terapii (w tym terapii genowych oraz ksenotransplantacji).

PIŚMIENICTWO

- [1] Adelman M.K., Marchalonis J.J.: Endogenous retroviruses in systemic lupus erythematosus: candidate lupus viruses. *Clin. Immunol.*, 2002; 102: 107–116
- [2] An D.S., Xie Y.M., Chen L.S.: Envelope gene of the human endogenous retrovirus HERV-W encodes a functional retrovirus envelope. *J. Virol.*, 2001; 75: 3488–3489
- [3] Andersson M.L., Lindeskog M., Medstrand P., Westley B., May F., Blomberg J.: Diversity of human endogenous retrovirus class II-like sequences. *J. Gen. Virol.*, 1999; 80: 255–260
- [4] Bannert N., Kurth R.: Retroelements and the human genome: new perspective on an old relation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004; 101: 14572–14579
- [5] Barbulescu M., Turner J., Seaman M.I., Deinard A.S., Kidd K.K., Lenz J.: Many human endogenous retrovirus K (HERV-K) proviruses are unique to humans. *Curr. Biol.*, 1999; 9: 861–868
- [6] Belshaw R., Pereira V., Katzourakis A., Talbot G., Pačes J., Burt A., Tristem M.: Long-term reinfection of the human genome by endogenous retroviruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004; 101: 4894–4899
- [7] Bénit L., Lallemand J.B., Casella J.F., Philippe H., Heidmann T.: ERV-L elements: a family of endogenous retrovirus-like elements active throughout the evolution of mammals. *J. Virol.*, 1999; 73: 3301–3308
- [8] Biémont C., Vieira C.: Junk DNA as an evolutionary force. *Nature*, 2006; 443: 521–524
- [9] Bock M., Stoye J.P.: *Endogenous* retroviruses and the human germline. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 2000; 10: 651–655
- [10] Boller K., Janssen O., Schuldes H., Tönjes R.R., Kurth R.: Characterization of the antibody response specific for the human endogenous retrovirus HTDV/HERV-K. *J. Virol.*, 1997; 71: 4581–4588
- [11] Boneva R.S., Folks T.M.: Xenotransplantation and risks of zoonotic infections. *Ann. Med.*, 2004; 36: 504–517
- [12] Brudek T., Christensen T., Hansen H.J., Bobeck J., Møller-Larsen A.: Simultaneous presence of endogenous retroviral and herpes virus antigens has profound effect on cell-mediated immune responses: implications for multiple sclerosis. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 2004; 20: 415–423
- [13] Burmeister T., Ebert A.D., Pritze W., Lodenkemper C., Schwartz S., Thiel E.: Insertional polymorphisms of endogenous HERV-K113 and HERV-K115 retroviruses in breast cancer patients and age-matched controls. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 2004; 20: 1223–1229
- [14] Büscher K., Trefzer U., Hofmann M., Sterry W., Kurth R., Denner J.: Expression of human endogenous retrovirus K in melanomas and melanoma cell lines. *Cancer Res.*, 2005; 65: 4172–4180
- [15] Challem J.J., Taylor E.W.: Retroviruses, ascorbate, and mutations, in the evolution of *Homo sapiens*. *Free Radic. Biol. Med.*, 1998; 25: 130–132
- [16] Clausen J.: Endogenous retroviruses and MS: using ERVs as disease markers. *Int. MS J.*, 2003; 10: 22–28
- [17] Deininger P.L., Batzer M.A.: Mammalian retroelements. *Genome Res.*, 2002; 12: 1455–1465
- [18] Fishman J.A., Patience C.: Xenotransplantation: infectious risk revisited. *Am. J. Transplant.*, 2004; 4: 1383–1390
- [19] Flockerzi A., Burkhardt S., Schempp W., Meese E., Mayer J.: Human endogenous retrovirus HERV-K14 families: status, variants, evolution, and mobilization of other cellular sequences. *J. Virol.*, 2005; 79: 2941–2949
- [20] Frank O., Giehl M., Zheng C., Hehlmann R., Leib-Mösch C., Seifarth W.: Human endogenous retrovirus expression profiles in samples from brains of patients with schizophrenia and bipolar disorders. *J. Virol.*, 2005; 79: 10890–10901
- [21] Indik S., Günzburg W.H., Salmons B., Rouault F.: A novel, mouse mammary tumor virus encoded protein with Rev-like properties. *Virology*, 2005; 337: 1–6
- [22] Jern P., Sperber G.O., Blomberg J.: Definition and variation of human endogenous retrovirus H. *Virology*, 2004; 327: 93–110
- [23] Jurka J.: Evolutionary impact of human *Alu* repetitive elements. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 2004; 14: 603–608
- [24] Karlsson H., Bachmann S., Schröder J., McArthur J., Torrey E.F., Yolken R.H.: Retroviral RNA identified on the cerebrospinal fluids and brains of individual with schizophrenia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001; 98: 4634–4639
- [25] Katzourakis A., Rambaut A., Pybus O.G.: The evolutionary dynamics of endogenous retroviruses. *Trends Microbiol.*, 2005; 13: 463–468
- [26] Kazazian H.H.Jr.: Mobile elements: drivers of genome evolution. *Science*, 2004; 303: 1626–1632
- [27] Kim H.S., Hyun B.H., Takenaka O.: Isolation and phylogeny of endogenous retrovirus HERV-F family on Old World monkeys. *Brief report. Arch. Virol.*, 2002; 147: 393–400

- [28] Kim H.S., Lee W.H.: Human endogenous retrovirus HERV-W family: chromosomal localization, identification, and phylogeny. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 2001; 17: 643–648
- [29] Kim T.H., Jeon Y.J., Yi J.M., Kim D.S., Huh J.W., Hur C.G., Kim H.S.: The distribution and expression of HERV families in the human genome. *Mol. Cells*, 2004; 18: 87–93
- [30] Larsson E., Andersson G.: Beneficial role of human endogenous retroviruses: facts and hypotheses. *Scand. J. Immunol.*, 1998; 48: 329–338
- [31] Lee J.M., Choi J.Y., Kim J.S., Hyun B.H., Kim H.S.: Identification and phylogeny of new human endogenous retroviral sequences belonging to the HERV-H family. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 2000; 16: 2055–2058
- [32] Löwer R., Löwer J., Kurth R.: The viruses in all of us: Characteristics and biological significance of human endogenous retrovirus sequences. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996; 93: 5177–5184
- [33] Macfarlane C., Simmonds P.: Allelic variation of HERV-K(HML-2) endogenous retroviral elements in human population. *J. Mol. Evol.*, 2004; 59: 642–656
- [34] Mangeney M., de Parseval N., Thomas G., Heidmann T.: The full-length envelope of an HERV-H human endogenous retrovirus has immunosuppressive properties. *J. Gen. Virol.*, 2001; 82: 2515–2518
- [35] Marguerat S., Wang W.Y., Todd J.A., Conrad B.: Association of human endogenous retrovirus K-18 polymorphisms with type 1 diabetes. *Diabetes*, 2004; 53: 852–854
- [36] Mayer J., Ehlhardt S., Seifert M., Sauter M., Müller-Lantzsch N., Mehraein Y., Zang K.D., Meese E.: Human endogenous retrovirus HERV-K(HML-2) proviruses with Rec protein coding capacity and transcriptional activity. *Virology*, 2004; 322: 190–198
- [37] Mayer J., Meese E.U.: Presence of dUTPase in the various human endogenous retrovirus K (HERV-K) families. *J. Mol. Evol.*, 2003; 57: 642–649
- [38] Mayer J., Meese E.U.: The human endogenous retrovirus family HERV-K(HML-3). *Genomics*, 2002; 80: 331–343
- [39] Molès J.P., Tesnière A., Guilhaud J.J.: A new endogenous retroviral sequence is expressed in skin of patients with psoriasis. *Brit. J. Dermatol.*, 2005; 153: 83–89
- [40] Moyes D.L., Martin A., Sawcer S., Temperton N., Worthington J., Griffiths D.J., Venables P.J.: The distribution of the endogenous retroviruses HERV-K113 and HERV-K115 in health and disease. *Genomics*, 2005; 86: 337–341
- [41] Muir A., Lever A., Moffett A.: Expression and functions of human endogenous retroviruses in the placenta: an update. *Placenta*, 2004; 18(Suppl.A): S16–S25
- [42] Mura M., Murcia P., Caporale M., Spencer T.E., Nagashima K., Rein A., Palmarini M.: Late viral interference induced by transdominant Gag of an endogenous retrovirus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004; 101: 11117–11122
- [43] Muster T., Waltenberger A., Grassauer A., Hirschl S., Caucig P., Romirer I., Fodinger D., Seppel H., Schanab O., Magin-Lachmann C., Lower R., Jansen B., Pehamberger H., Wolff K.: An endogenous retrovirus derived from human melanoma cells. *Cancer Res.*, 2003; 63: 8735–8741
- [44] Nakamura A., Okazaki Y., Sugimoto J., Oda T., Jinno Y.: Human endogenous retroviruses with transcriptional potential in the brain. *J. Hum. Genet.*, 2003; 48: 575–581
- [45] Nelläker C., Yao Y., Jones-Brando L., Mallet F., Yolken R.H., Karlsson H.: Transactivation of elements in the human endogenous retrovirus W family by viral infection. *Retrovirology*, 2006; 3: 44
- [46] Nelson P.N., Carnegie P.R., Martin J., Davari Ejtehad H., Hooley P., Roden D., Rowland-Jones S., Warren P., Astley J., Murray P.G.: Demystified... Human endogenous retroviruses. *J. Clin. Pathol. Mol. Pathol.*, 2003; 56: 11–18
- [47] Nelson P.N., Hooley P., Roden D., Davari Ejtehad H., Rylance P., Warren P., Martin J., Murray P.G., Molecular Immunology Research Group: Human endogenous retroviruses: transposable elements with potential. *Clin. Exp. Immunol.*, 2004; 138: 1–9
- [48] Okahara G., Matsubara S., Oda T., Sugimoto J., Jinno Y., Kanaya F.: Expression analyses of human endogenous retroviruses (HERVs): tissue-specific and developmental stage-dependent expression of HERVs. *Genomics*, 2004; 84: 982–990
- [49] Padow M., Lai L., Fisher R.J., Zhou Y.C., Wu X., Kappes J.C., Towler E.M.: Analysis of human immunodeficiency virus type 1 containing HERV-K protease. *AIDS Res. Human Retroviruses*, 2000; 16: 1973–1980
- [50] Palmarini M., Mura M., Spencer T.E.: Endogenous betaretroviruses of sheep: teaching new lessons in retroviral interference and adaptation. *J. Gen. Virol.*, 2004; 85: 1–13
- [51] Patience C., Wilkinson D.A., Weiss R.A.: Our retroviral heritage. *Trends Genet.*, 1997; 13: 116–120
- [52] Perl A.: Endogenous retroviruses in pathogenesis of autoimmunity. *J. Rheumatol.*, 2001; 28: 461–464
- [53] Portis J.L.: Perspectives on the role of endogenous human retroviruses in autoimmune diseases. *Virology*, 2002; 296: 1–5
- [54] Posnett D.N., Yarinina A.A.: Sleeping with the enemy – endogenous superantigens in humans. *Immunity*, 2001; 15: 503–506
- [55] Rebora A.: Human endogenous retroviruses and their possible impact on dermatology. *J. Am. Acad. Dermatol.*, 2005; 52: E7
- [56] Rote N.S., Chakrabarti S., Stetzer B.P.: The role of human endogenous retroviruses in trophoblast differentiation and placental development. *Placenta*, 2004; 25: 673–683
- [57] Ruprecht K., Obojes K., Wengel V., Gronen F., Kim K.S., Perron H., Schneider-Schaulies J., Rieckmann P.: Regulation of human endogenous retrovirus W protein expression by herpes simplex virus type 1: implication for multiple sclerosis. *J. Neurovirol.*, 2006; 12: 65–71
- [58] Schneider P.M., Witzel-Schlömp K., Rittner C., Zhang L.: The endogenous retroviral insertion in the human complement C4 gene modulates the expression of homologous genes by antisense inhibition. *Immunogenetics*, 2001; 53: 1–9
- [59] Seifarth W., Frank O., Zeilfelder U., Spiess B., Greenwood A.D., Hehlmann R., Leib-Mösch C.: Comprehensive analysis of human endogenous retrovirus transcriptional activity in human tissues with a retrovirus-specific microarray. *J. Virol.*, 2005; 79: 341–352
- [60] Sekigawa I., Ogasawara H., Naito T., Kaneko H., Hishikawa T., Hashimoto H.: Systemic lupus erythematosus and human endogenous retroviruses. *Mod. Rheumatol.*, 2003; 13: 107–113
- [61] Serra C., Mameli G., Arru G., Sotgiu S., Rosati G., Dolei A.: *In vitro* modulation of the multiple sclerosis (MS)-associated retrovirus by cytokines: implications for MS pathogenesis. *J. Neurovirol.*, 2003; 9: 637–643
- [62] Shirota T., Sugimoto J., Oda T., Jinno Y., Kanaya F.: Search for active endogenous retroviruses: identification and characterization of HERV-E gene that is expressed in the pancreas and thyroid. *J. Hum. Genet.*, 2001; 46: 619–625
- [63] Smit A.F.: Interspersed repeats and other mementos of transposable elements in mammalian genomes. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 1999; 9: 657–663
- [64] Stauffer Y., Theiler G., Sperisen P., Lebedev Y., Jongeneel C.V.: Digital expression profiles of human endogenous retroviral families in normal and cancerous tissues. *Cancer Immun.*, 2004; 4: 2
- [65] Stoye J.P.: Endogenous retroviruses: still active after all these years? *Curr. Biol.*, 2001; 11: R914–R916
- [66] Sugimoto J., Matsuura N., Kinjo Y., Takasu N., Oda T., Jinno Y.: Transcriptionally active HERV-K genes: identification, isolation, and chromosomal mapping. *Genomics*, 2001; 72: 137–144
- [67] Suling K., Quinn G., Wood J., Patience C.: Packaging of human endogenous retrovirus sequences is undetectable in porcine endogenous retrovirus particles produced from human cells. *Virology*, 2003; 312: 330–336
- [68] Sverdlöv E.D.: Perpetually mobile footprints of ancient infections in human genome. *FEBS Lett.*, 1998; 428: 1–6
- [69] Towler E.M., Gulnik S.V., Bhat T.N., Xie D., Gustschina E., Sumpter T.R., Robertson N., Jones C., Sauter M., Mueller-Lantzsch N., Debouck C., Ericson J.W.: Functional characterization of the protease of human endogenous retrovirus, K10: can it complement HIV-1 protease? *Biochemistry*, 1998; 37: 17137–17144
- [70] Tristem M.: Identification and characterization of novel human endogenous retrovirus families by phylogenetic screening of the human genome mapping project database. *J. Virol.*, 2000; 74: 3715–3730
- [71] Turner G., Barbulescu M., Su M., Jensen-Seaman M.J., Kidd K.K., Lenz J.: Insertional polymorphisms of full length endogenous retroviruses in humans. *Curr. Biol.*, 2001; 11: 1531–1535
- [72] Urnowitz H.B., Murphy W.H.: Human endogenous retroviruses: nature, occurrence and clinical implications in human disease. *Clin. Microbiol. Rev.*, 1996; 9: 72–99
- [73] Villesen P., Aagaard L., Wiuf C., Pedersen F.S.: Identification of endogenous retroviral reading frames in the human genome. *Retrovirology*, 2004; 1: 32

- [74] Yang J., Bogerd H.P., Peng S., Wiegand H., Truant R., Cullen B.R.: An ancient family of human endogenous retroviruses encodes a functional homolog of the HIV-1 Rev protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999; 96: 13404–13408
- [75] Yi J.M., Kim H.M., Kim H.S.: Human endogenous retrovirus HERV-H family in human tissues and cancer cells: expression, identification, and phylogeny. *Cancer Lett.*, 2006; 231: 228–239
- [76] Yi J.M., Kim H.M., Lee W.H., Kim H.S.: Molecular cloning and phylogenetic analysis of new human endogenous HERV-W family in cancer cells. *Curr. Microbiol.*, 2002; 44: 216–220
- [77] Yi J.M., Kim H.S.: Expression analysis of endogenous retroviral elements belonging to the HERV-F family from human tissues and cancer cells. *Cancer Lett.*, 2004; 211: 89–96
- [78] Yi J.M., Kim T.H., Huh J.W., Park K.S., Jang S.B., Kim H.M., Kim H.S.: Human endogenous retroviral elements belonging to the HERV-S family from human tissues, cancer cells, and primates: expression, structure, phylogeny and evolution. *Gene*, 2004; 342: 283–292
- [79] Yolken R.H., Karlsson H., Bayer T.A., Johnson-Wilson N., Yee F., Torrey E.F.: Retroviruses, genes and schizophrenia. *Clin. Neurosci. Res.*, 2001; 1: 164–169
- [80] Yolken R.H., Karlsson H., Yee F., Johnston-Wilson N.L., Torrey E.F.: Endogenous retroviruses and schizophrenia. *Brain Res. Brain Res. Rev.*, 2000; 31: 193–199