

Ihmisen endogeenisistä retroviruksista ja niiden vaikutuksista keskushermoston sairauksiin ja kehitykseen

Mikko Voipio
LuK-tutkielma
Biologian tutkinto-ohjelma, fysiologia & genetiikka
Oulun yliopisto
Maaliskuu 2018

Sisällysluettelo

Ihmisen endogeenisista retroviruksista ja niiden vaikutuksista keskushermoston sairauksiin ja kehitykseen	1
Johdanto	3
Retrovirukset	4
Luokittelu	4
Rakenne	5
Infektiokierto	7
Solukalvon läpäisy	7
Solun sisällä ja integraatio	8
Esivirus	9
Puolustuskeinot endogeenisiä retroviruksia vastaan	10
Esiviruksen kontrollointi	10
Infektion estäminen	11
Kehitysbiologia	12
Istukka	12
Aivojen kehitys	12
Keskushermostolliset sairaudet	13
Multippeliskleroosi	13
Amyotrofinen lateraaliskleroosi	13
Skitsofrenia	13
Mekanismi retrovirusten ja patologioiden välillä	14
Lopuksi	16
Kirjallisuus	17

Johdanto

Suurinta osaa ihmisen genomisesta perimäaineksestä on aiemmin pidetty tilke-DNA:na (*noncoding DNA*), sillä sen toiminta on ollut tuntematon. Sekvensointitekniikoiden kehittyessä ja tutkimuksen lisääntyessä tällä tilke-DNA:n sekvensseillä on havaittu olevan toimintoja muun muassa genomien muokkauksessa ja jopa uusien geenien syntyyn johtavissa tapahtumissa (Volf 2006). Ihmisen genomista ns. oikeita geenejä koodaa vain noin 1,5% ja siirtyviä elementtejä (*transposable elements, TE*) on laskettu olevan ihmisellä jopa puolet tumallisesta genomisesta materiaalista (Lander, Linton et al. 2001). TE:t voidaan jakaa kahteen luokkaan siirtymämekanisminsa perusteella: RNA- tai DNA-välivaiheen kautta siirtyvät. RNA-transposonit tunnetaan myös retroelementteinä ja niitä vaikuttaisi olevan vain aiotumallisilla. DNA-transposoneja on havaittu myös esimerkiksi bakteereilla (Hughes, Coffin 2002).

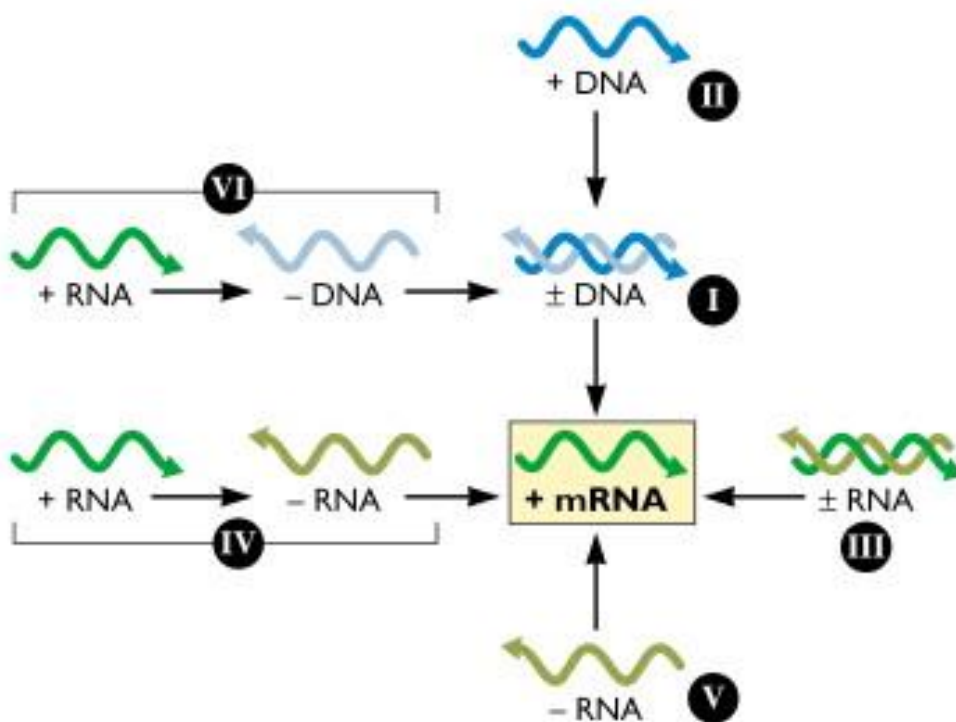
Osa retroelementeistä on ihmisellä endogeenisiä retroviruksia (*human endogenous retrovirus, HERV*), joita on noin kahdeksan prosenttia genomistamme (Bock, Stoye 2000). HERV:t kopioituvat käänteiskopioijaentsyymien avulla ennen liittymistään genomiin ja ne ovat jäänteitä populaatioita kohdanneista, sukusolulinjaan integroituneista eksogeenisistä retrovirusinfektioista. Lähes kaikki endogeenisistä retroviruksista ihmisen perimässä ovat muuttuneet toimintakyvyttömiksi esi- eli proviruksiksi mutaatioiden seurauksena (Gifford, Tristem 2003). Vain HERV-K -tyypin retroviruksien tiedetään kykenevän vielä muodostamaan viruspartikkeleja ja HERV-K (HML-2) viruksen tiedetään edelleen kopioituvan genomissa (Subramanian, Wildschutte et al. 2011). Endogeeniset retrovirukset (ERV) on yhdistetty sairauksien syntyyn, mutta myös istukan muodostumiseen. Suoranaista linkkiä ihmisen sairauksien ja HERV:iän välillä ei ole toistaiseksi löydetty, mutta esimerkiksi hiirillä tunnetaan verisyöpää aiheuttavia ERV:ejä. HERV:iän aiheuttamat autoimmuunireaktiot voivat olla ihmiselle kohtalokkaita erityisesti keskushermostossa. Toisaalta taas nisäkkäiden istukan muodostumisessa välttämätön synsytiini-proteiini on endogeenisen retroviruksen koodaama geenituote (Kurth, Bannert 2010).

Tarkastelen LuK-tutkielmassani ihmisen endogeenisten retrovirusten rakennetta, infektiokiertoa, elimistön immuunivasteita sekä HERV:iän yhteyttä keskushermoston sairauksiin ja kehitykseen.

Retrovirukset

Luokittelu

Virukset luokitellaan replikoitumismekanisminsa perusteella seitsemään eri ryhmään (Kuva 1). Baltimoren luokittelujärjestelmä ryhmittelee virukset sen perusteella, kuinka ne muodostavat luettavan lähetti-RNA -juosteen. Retrovirukset luetaan kuuluviksi luokkaan VI, sillä niiden positiivisesta yksijuosteisesta RNA:sta (+ssRNA) muodostetaan ssDNA, joka replikoituu kaksijuosteiseksi DNA:ksi (double-stranded DNA, dsDNA). Muodostunut dsDNA liitetään osaksi genomista DNA:ta, jonka pohjalta lähetti-RNA muodostetaan (Baltimore 1971).

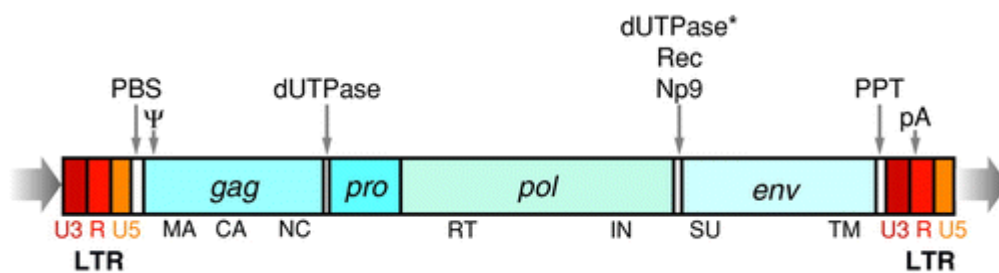


Kuva 1. Baltimoren luokittelujärjestelmä. Virukset luokitellaan sen mukaan, kuinka niiden genomista muodostetaan mRNA. Kuvasta puuttuu luokitusryhmä VII, johon kuuluvat pararetrovirukset, joiden DNA-genomit kopioituvat käänteiskopioinnilla RNA-välivaiheen kautta. Kuvan lähde: <http://www.virology.ws/2009/08/12/simplifying-virus-classification-the-baltimore-system/>

Molekyylibiologian keskeinen dogma on, että avautuvaa DNA-templaattia mallina käyttäen muodostetaan lähetti-RNA (mRNA), joka muokkauksen jälkeen siirtyy tumasta luettavaksi sytoplasmaan, jossa mRNA:n perusteella rakennetaan proteiini. Retrovirukset kopioituvat molekyylibiologisen dogman vastaisesti RNA:sta DNA:ksi käänteiskopioijaentsyymien (*reverse transcriptase, RT*) avulla sytoplasmassa (M. Vuento – Virukset, 2016, Duodecim).

Endogeeniset retrovirukset jaetaan kolmeen luokkaan: I gamma- ja II beta-retrovirukset sekä III spumavirukset ja luokkien sisällä perheisiin (Stocking, Kozak 2008). Retrovirusperheet nimetään yleensä käänteiskopioinnin aloittavan alukkeen kiinnittymiskohtaan, PBS:ään (*primer binding site*), komplementaarisesti sitoutuvan siirtäjä-RNA (tRNA) mukaan. Esimerkiksi runsaimmat retrovirusperheet L, H, W ja K on nimetty leusiiniin, histidiiniin, tryptofaanin ja lysiiniin mukaan. Samaan perheeseen kuulumisen ei välttämättä kerro muuten retrovirusten keskinäisesti samankaltaisuudesta, sillä sama tRNA saattaa toimia muulta sekvensseiltään keskenään eroavilla viruksilla. Retrovirusperhe kertoo yleensä yksittäisestä invaasiosta ja sitä seuranneesta kopiomäärän kasvusta (Tristem 2000). Tyypin L viruksien monistumisen loppumisen ihmisen perimässä on laskettu tapahtuneen jo yli 30 miljoonaa vuotta sitten (Benit, Lallemand et al. 1999). Tyypin H retrovirusperheen on laskettu integroituneen perimään ennen uuden ja vanhan maailman apinoiden eroa noin 30 miljoonaa vuotta sitten (Anderssen, Sjøttem et al. 1997). Laajimman tutkimuskiinnostuksen kohteena olevien tyypin W ja K retrovirusperheiden kohdalla tarina jatkuu edelleen; tyypin W retroviruksilla on havaittu toimintaa isäntäorganismien kanssa ENV-vaippaproteiinigeenien välityksellä. Betaretrovirusiin kuuluva HERV-K (jyrsijöiden nisäkasvainvirusta muistuttava HML-2) sisältää koodauskykyisiä avoimia lukukehyksiä ja sen on havaittu hiljattain monistuneen perimässämme (Hanke, Hohn et al. 2016, Magiorkinis, Belshaw et al. 2013).

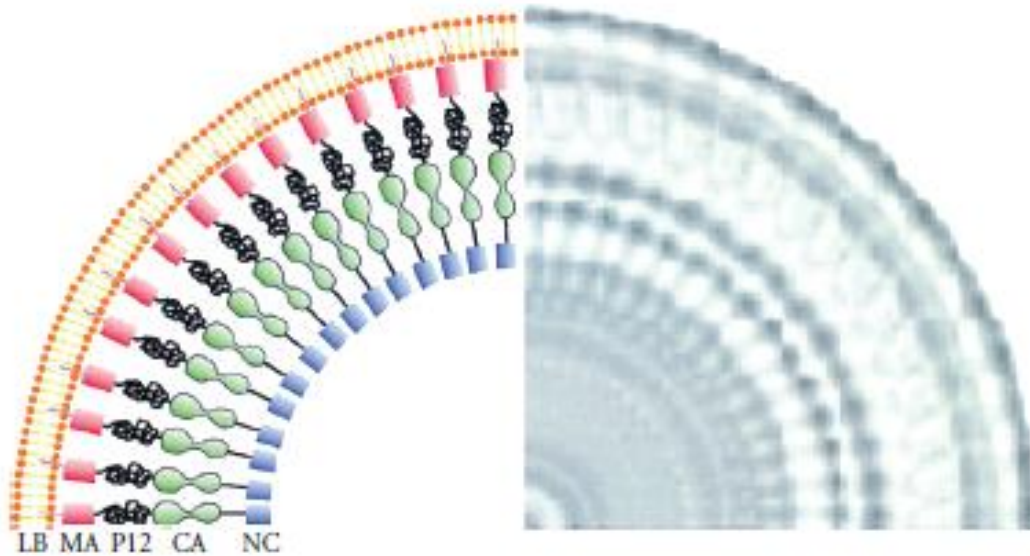
Rakenne



Kuva 3. Integroituneen esiviruksen geenien järjestys. Koodaavia sekvenssejä reunustavat LTR-sekvenssit, jotka sisältävät säätelytekijöitä. Geenien toiminnasta lisätietoa myöhemmin tekstissä (Bannert, Kurth 2006)

Kaikkien endogeenisten retrovirusten perimät koodaavat polyproteiineja GAG (group specific antigen), POL (polymerase) ja ENV (envelope), jotkut myös muita avustavia proteiineja kuten PRO (protease) (Kuva 2). Näiden proteiineja koodaavien sekvenssien lisäksi retrovirusten perimään

kuuluu myös muita, ei-koodaavia sekvenssejä, kuten viruksia reunustavat säätelytekijöitä sisältävät LTR-sekvenssit (*Long Terminal Repeat*) (Bannert, Kurth 2006).



Kuva 4. gag-geenin koodaamat epäkypsän jyräjän leukemiaviruspartikkelin (MLV) rakenneproteiinit. Viruspartikkelia ympäröi lipidikaksoiskalvo, jonka sisempään kalvoon geenituote on kiinnittynyt N-terminaalipäätynsä MA-proteiinista. C-terminaalipäädyn NC-geenituote on oletettavasti kosketuksissa RNA:n kanssa. MLV-partikkeli on halkaisijaltaan noin 100 nm ja gag-polyproteiinin tuotteet noin 20 nm, joten partikkelin sisälle jää halkaisijaltaan noin 60 nm tilaa. Kuvassa ei ole näkyvissä Env ja Pol proteiineja (Rein 2011).

Retroviruksen gag on viruspartikkelin rakenneproteiini. Se koodaa retroviruksen matriksia (MA), kapsidia (CA) ja nukleokapsidia (NC). MA, CA ja NC muodostavat viruksen sisäisen rakenteen kaksoislipidikalvon ympäröimänä (Kuva 3). MLV:n (Murine Leukemia Virus) *gag* koodaa myös proteiinituotetta p12, joka on osa viruksen pre-integraatiokompleksia (Rein 2013). Proteaasi osallistuu viruspartikkelin kypsymiseen johtaviin lohkaisureaktioihin.

Pol-geeni koodaa käänteiskopioijaentsyymiä (RT) ja integraasia (IN). RT syntetisoi viruksen sekvenssistä DNA-juosteen ja IN liittää viruksen perimän osaksi kohdesolun genomista DNA:ta. Vaippaproteiinin geeni *env* koodaa SU (surface unit) ja TM (trans-membrane) proteiineja, jotka indusoivat solukalvojen fuusiota valmiin viruksen ja kohdesolun välillä ja ovat välttämättömiä infektion onnistumiselle (Rein 2011).

Infektiokierto

Solukalvon läpäisy

Saadakseen aikaan infektion ja monistukseen viruksen pitää ensin päästä sisään isäntäeliön soluun. Kaikkia soluja ympäröi jonkinlainen solukalvo, johon on kiinnittyneenä vaihteleva määrä kalvoproteiineja. Nämä proteiinit toimivat solukalvon ominaisuuksien säätelyssä ja monet pintaproteiinit toimivat tunnistusreseptoreina valikoiden solun sisään pääsevät molekyylit (J.Heino, M.Vuento – Biokemian ja solubiologian perusteet, 2014, Sanoma Pro / WSOY). Viruksen kalvon pinnalla olevat glykoproteiinit kiinnittyvät kohdesolun pinnan reseptoreihin ja viruksesta riippuen virukset joko fuusioituvat solukalvoon tai isäntäsolu ottaa sen sisäänsä endosytoosilla. Virukset hyödyntävät tyypistä riippuen vaihtelevia reseptoreja päästäkseen solukalvon läpi. Poliovirus käyttää esimerkiksi yhtä reseptoria, CD155:tä ja ihmisen rhinovirus 2 käyttää LDL-reseptoria (low density lipoprotein, alhaisen tiheyden lipoproteiini). Enterovirus ja SARS-korona virus voivat käyttää useampia reseptoreja vaihtoehtoisina kohteinaan (Grove, Marsh 2011).

Vaippaproteiininsa avulla retrovirukset sitoutuvat kohdesolun solukalvon reseptoreihin. Retroviruksista todennäköisesti tunnetuin, HIV-1 (*human immunodeficiency virus 1*) kiinnittyy vaippaproteiininsa avulla immuunisolujen CD4-reseptoriin. *Env*-geeni koodaa proteiinia gp160, josta furiiniproteaasi lohkaisee alayksiköiksi proteiinit gp120 ja gp41. Nämä alayksiköt muodostavat viruksen vaipan pinnalle glykoproteiinikompleksin (Mao, Wang et al. 2012). Virioni kiinnittyy CD4-reseptoriin saaden aikaan konformaatiomuutokset, jotka lisäävät gp120 vuorovaikutusta muiden valkosolun reseptorien kanssa. Tämä saa aikaan gp41:n fuusiopeptidin työntymisen solukalvoon ja johtaa viruksen vaipan ja kohdesolun kalvon fuusioon (Grove, Marsh 2011).

Env:in esiaste tuotetaan karkeapintaisessa endoplasmakalvostossa ennen kuin siirtyy koottavaksi muiden viruksen osien kanssa. Varhainen *env*-proteiini jyräjän leukemiaviruksessa kypsyy kahden lohkaisureaktion tuloksena. Näissä lohkaisureaktioissa Golgin laitteen furiini erottaa toisistaan *env*:in kaksi alayksikköä, SU:n ja TM:n (Lving, Wu et al. 2012). Viruksen kokoamisen jälkeen proteaasi-entsyymi lohkaisee vielä TM:n C-terminaalista päästä 16 aminohapon pituisen R-jäännöspeptidin. R-peptidin on havaittu estävän solukalvofuusioon johtavia tekijöitä, kuten TM:n hiuspinnirakenteiden muodostamista ja fuusioproteiinien

aktivoitumista, joten sen poistaminen on välttämätöntä myöhempien vaiheiden onnistumiseksi (Lving, Li et al. 2008).

Päästäkseen sisään soluun viruksen vaipan pinnalla sijaitsevat amfipaattiset fuusioproteiinit kiinnittyvät kohdesolun solukalvon pintaproteiineihin ja kalvoproteiinit vetäytyvät hieman syrjään päästään solukalvot lähemmäs toisiaan. Solukalvojen erotessa toisistaan muutamia nanometrejä alkaa tapahtua hemifuusiota, jossa kohtaavien solukalvojen uloimmat lipidikerrokset sekoittuvat keskenään. Hemifuusio etenee sisimpienkin lipidikalvojen sekoittumiseen keskenään ja reunoille muodostuvat hiuspinnirakenteet vetävät solukalvojen väliin muodostuneen tukirakenteen lipidit erilleen muodostaen fuusioaukon. Fuusioaukon välityksellä viruksen sisältämät materiaalit pääsevät kohdesolun sytosoliin (Chernomordik, Zimmerberg et al. 2006, Sapir, Avinoam et al. 2008).

Solun sisällä ja integraatio

Solun sisällä viruskapsidin sisältämät viruksen genomi ja entsyymit muodostavat käänteiskopioijakompleksin (Reverse Transcription Complex, RTC), jossa viruksen yksijuosteinen RNA-perimä käänteiskopioidaan kaksijuosteiseksi DNA:ksi. Muodostunut virus-DNA liittyy esi-integraatiokompleksiin (preintegration complex, PIC). PIC:iin kuuluu isäntäsolun muutamia proteiineja (BAF-1 ja LAP2 α) ja viruksesta riippuen ainakin *gag*-geenin koodaamia kapsidi- ja matriksiproteiineja. Osalla retroviruksista PIC:iin kuuluu vielä muita apuproteiineja, kuten MLV:lla *gag*:in koodaama proteiinituote p12. HIV:lla on havaittu infektiokykyä ei-jakautumisvaiheessa oleviin soluihin, joten HIV:n viraalinen DNA pääsee tumaan tuma-aukoista. MLV kykenee infektoimaan vain jakautumisvaiheessa olevia soluja ja tästä on päätelty MLV:n PIC:n olevan kykenemätön tunkeutumaan tumaan tuma-aukkojen kautta (Goff 2007). Tuman sisällä tai solunjakautumisen aikana viruksen perimä kiinnittyy osaksi isännän genomia integraasi-entsyymien avulla. Aiemmin retroviruksen integroitumiskohtaa pidettiin satunnaisena, mutta nykyisten tietojen mukaan MLV:n kiinnittymiskohta sijaitsee genomissa useimmiten lähellä aktiivisia promoottorikohtia ja vahvennetekijöitä. Näille alueille kiinnittyessä viruksella oletetaan olevan parempi mahdollisuus tulla luetuksi solukoneiston toimesta ja olevan yhteys viruksen selviytymis- ja monistumismahdollisuuksien parantumiseen (Lafave, Varshney et al. 2014).

Ennen liittämistä genomiin käänteiskopioinnin aikana virukselle muodostetaan varsinaisia viruksen koodaavia geenejä reunustavat LTR-sekvenssit, jotka sisältävät promoottorin

ja transkriptiotekijöiden sitoutumiskohtia. LTR-sekvenssit ovat integroitumishetkellä identtiset ja vertailemalla kulloisellakin ajanhetkellä tutkimuskohteena olevaa virusta reunustavia LTR-jaksoja, voidaan neutraaliteorian avulla laskea integraatiosta kulunut aika (Stoye 2012). Toisin kuin monet inaktivoidut HERV:ien koodaamat varsinaiset geenit, LTR-sekvenssit ovat säilyttäneet kykynsä toimia esimerkiksi promoottoreina, transkriptiotekijöiden sidoskohtina ja siten ympäröivien geenien säätelijöinä (Jern, Coffin 2008).

Solukalvon ympäröimät virukset kuroutuvat ulos isäntäsolun solukalvoista ja nappaavat samalla mukaan itselleen kaksoislipidivaipan, johon ovat liittyneet isäntäsolun niille koodaamat virus-pintaproteiinit (Eckert, Kim 2001).

Esivirus

Ajan saatossa integroitunut pro- eli esivirus muuttuu yleensä toimintakyvyttömäksi satunnaisten mutaatioiden ja LTR-sekvenssien rekombinaatioiden seurauksena. Esivirusta molemmin puolin reunustavat LTR-sekvenssit voivat esimerkiksi yhdistyä yhdeksi yksittäiseksi LTR-sekvenssiksi (*solo-LTR*), jolloin esivirus muuttuu replikoitumis- ja koodauskyvyttömäksi. Samassa kromosomissa sijaitsevien esivirusten homologisen rekombinaation johdosta sekvensseissä voi tapahtua deleetioita tai uudelleenjärjestelyä ja virukset muuttuvat toimintakyvyttömiksi. Toisinaan 3' ja 5' LTR-sekvenssien rekombinaatio saattaa johtaa niiden reunustaman esiviruksen duplikaatioon (Stoye 2001).

Integroiduttuaan osaksi genomia endogeenisiin retroviruksiin kohdistuvat samat valintapaineet kuten muihin geeneihin. Virus voi hävitä perimästä populaatiogeneettisistä syistä tai se voi fiksoitua koko populaatioon. Kaikki eri ihmispopulaatioista löydettävät retrovirukset eivät kuitenkaan ole fiksoituneet tai kadonneet. Tutkijat havaitsivat HERV-K:n fiksoitumattomia sekvenssejä tarkastellessaan laajoissa populaatiotutkimuksissa kerättyä dataa (1000 Genomes Project ja Human Genome Diversity Project). Tutkimuksessa löytyi 36 inserttiä, joita ei löytynyt ihmisen referenssigenomista (GRCh37, hg19). Referenssigenomi on epätäydellinen, se on muodostettu monien yksilöiden datasta ja siirtyvinä elementteinä endogeenisten retrovirusten havainnointi tuottaa haasteita. Kahta inserttiä lukuun ottamatta kaikki muut löytyivät jokaisesta tutkitusta populaatiosta, tosin frekvenssiltään laajasti vaihdellen. Populaatiotutkimusten otanta on maailmanlaajuista ja inserttien laajan levinneisyyden johdosta näiden HERV-K inserttioiden oletetaan tulleen ihmisen genomiin ennen levittäytymistä Afrikasta 45-60 tuhatta vuotta sitten (Wildschutte, Williams et al. 2016).

Env-vaippaproteiinin sisältävät virukset monistuvat genomissa uudelleeninfektiokierroksen seurauksena eli toisin sanoen viruspartikkeli muodostuu, kuroutuu ulos solusta, tunkeutuu takaisin samaan tai läheiseen soluun ja liittyy osaksi genomia johonkin muuhun kromosomaaliseen lokaatioon. Monistuakseen tällä mekanismilla virus tarvitsee toimivan *env*-geenin ja kohdesolussa tulee olla sille soveltuvat reseptorit (Dewannieux, Harper et al. 2006). Env-vaippaproteiinia koodaavan geenin toiminta on välttämätöntä retroviruksen leviämislle varsinaisena viruksena, mutta tämän kyvyn menetys joissain tapauksissa nostaa ERV:ien kopiomäärän monikymmenkertaiseksi. Ilman env-vaippaproteiinia endogeeninen retrovirus monistuu siirtyvänä retroelementtinä ilman solun ulkopuolista välivaihetta (Dewannieux, Heidmann 2013). Viruksen itsensä monistumisen kannalta tämä on kannattavaa, mutta env-vaippaproteiinin menettäessä toimintakykynsä virus ei pysty enää infektoimaan muita kantajia. Luokan II retroviruksen kaltaisten intrasisternaalisten A-partikkelien (IAPs) määrä lisääntyy genomissa huomattavasti verrannollisesti *env*-geeniä koodaavien nukleotidien vähetessä erityisesti hiiren (*Mus musculus*) perimässä, eikä tätä korrelaatiota havaittu muiden sekvenssipätkien, *pol* ja *gag*, suhteen (Magiorkinis, Gifford et al. 2012).

Puolustuskeinot endogeenisiä retroviruksia vastaan

Isäntäsolulla on monia keinoja estää retrovirusten infektiokierto: niiden ilmentyminen hiljennetään epigeneettisesti histoni- ja DNA-metylaatiolla, restriktiotekijöillä, estämällä viruksen kiinnittyminen uusiin soluihin reseptorimutaatioilla ja häiritsemällä retroviruksen geenituotteiden koodaamista (Stoye 2012).

Esiviruksen kontrollointi

Betaretrovirusiin kuuluva HERV-K on havaittu aktiiviseksi tietyissä kantasoluissa ja syövissä, mutta sen ilmentyminen terveissä kudoksissa on matalaa tai olematonta. Syynä tähän pidetään terveiden solujen tehokkaita puolustusmekanismeja (Hanke et al. 2016). CpG-metylaation aiheuttama viruselementtien hiljennys syöpäsolulinjoissa on havaittu tärkeimmäksi näitä elementtejä hiljentäväksi tekijäksi. Toisena epigeneettisenä tekijänä on pidetty micro-RNA:ita, jotka osallistuvat aitotumallisilla geenisäätelyyn, mutta vain kahden eri miRNA:n määrän havaittiin lisääntyneen korkean HERV-K -ekspression syöpäsolulinjassa. miRNA:n vähäinen HERV-K kontrollointi saattaa tosin johtua myös siitä, että CpG-metylaatio hiljentää myös miRNA-säätelyalueet (Kraus, Monk et al. 2012)

Tetheriini (BST-2) estää solusta uloskuroutuvan viruksen poistumisen solukalvon pinnalta kiinnyttämällä irtoavaan virioniin, kiinnittäen sen takaisin solukalvoon (Evans, Serra-Moreno et al. 2010). Edelleen aktiiviseksi tiedetty HERV-K (HML-2) pystyy kuroutumaan ulos solusta env:insä koodaaman toiminnallisen pinta-alayksikön (SU) avulla. Tämä alayksikkö inhiboi tetheriinin aktiivisuutta kuitenkin poistamatta tai tuhoamatta tetheriiniä solun pinnalta. HERV-K esiintyy ihmislajilla monimuotoisena ja yksi syy tähän saattaa olla ihmisyksilöiden solujen tetheriiniaktiivisuuden erot (Lemaître, Harper et al. 2014).

Lukuisia RNA-viruksia vastaan inhiboivana tekijänä toimiva RNA-helikaasi MOV10 (Moloney leukemia virus 10) yliekspressoituessaan estää eksogeenisten retroviruspartikkelien syntyä häiritsemällä gag-rakenneproteiinin ekspressiota tai käsittelyä ja se myös häiritsee endogeenisten retroelementtien siirtymistä genomissa (Arjan-Odedra, Swanson et al. 2012).

Infektion estäminen

Esiviruksen kontrolloinnilla hallitaan jo integroituneen viruksen ilmenemistä, mutta solukoneistolla on muitakin keinoja endogeenisiä retroviruksia vastaan.

Nisäkkäillä synnyntyneeseen immuunipuolustukseen lukeutuva *Tripartite motif*/TRIM-proteiiniperhe osallistuu solun puolustamiseen viruksia vastaan. TRIM5 α kiinnittyy solun sisään tunkeutuneeseen viruskapsidiin, nopeuttaen sekä häiriten viruskapsidin ja juosteen hajottamista (Fletcher, Towers 2013). Trim5 α ei ole havaittu aktiiviseksi HERV-K HML-2 -infektiossa (Battivelli, Migraine et al. 2011). Eräs toinen TRIM-perheeseen kuuluva, TRIM28, osallistuu varhaiseen kehitysbiologiaan muodostaen hiljentävän kompleksin ERV:n LTR-sekvenssin alueelle (Mortelmans, Wang-Johanning et al. 2016).

HIV:n yhteydessä runsaasti tutkitut APOBEC3F (A3F) ja APOBEC3G (A3G) yhdessä osallistuvat muun muassa ainakin sytidiinien deaminaatioon, muuttaen käänteiskopioinnin aikana viraalijuosteen guaniinit adeniineiksi, johtaen lopetuskodoneihin ja toimimattomiin virusproteiineihin (Mbisa, Bu et al. 2010). Restriktiotekijöihin lukeutuvalla SAMDH1:lla on havaittu trifosfohydrolaasi-aktiivisuutta ja se osallistuu käänteiskopioinnin inhibointiin rajoittamalla solun sisäistä dNTP määrää (Goldstone, Ennis-Adeniran et al. 2011).

Kehitysbiologia

Istukka

HERV:it on yhdistetty moniin vaiheisiin ihmisen kehitysbiologiassa. Tunnetuin tapaus liittyy nisäkkäillä istukan muodostumiseen. HERV-W:n vaippaproteiinia, env:iä, koodaavaa geeni koodaa synsytiini-proteiinia, joka ilmennetään ihmisellä sytotropoblastien yhteensulaumissa, synkytiotropoblasteissa, jotka muodostavat solufuusiolla rajapinnan äidin ja jälkeläisen välille. Tämä yhdistyminen on välttämätön sikiön myöhemmälle kehitykselle (Mallet, Bouton et al. 2004, Mi, Lee et al. 2000).

Aivojen kehitys

Säätelyelementti TRIM28 kiinnittyy apuproteiineineen hiiren alkion solujen endogeenisten retrovirusten LTR-sekvenssiin hiljentäen näitä ERV:ejä varhaisten kehitysvaiheiden ajaksi. Monissa kudoksissa tämä TRIM28-vaimennus muuttuu DNA:n hypermetylaatiovaimennukseksi hieman myöhemmin, mutta keskushermoston soluissa TRIM28 osallistuu ERV:ien ilmentymisen supressioon vahvemmin. Hermoston kantasoluissa (*neural progenitor cell*, NPC) TRIM28-poistogeenisten hiirten alkioissa havaittiin nousua ERV:in kaikissa koodaavissa geneissä. Ihmisen HERV-K:n kaltaisen "hiiriversion" (MMERVK10C) ekspressiossa havaittiin nousua niin *gag* kuin *pol* osalta, mutta erityisesti *env*-geenin ilmentymisessä. Samankaltaista ilmiötä ei kuitenkaan tavattu kaikissa ERV-tyypeissä, kuten ei esimerkiksi kaikissa IAP-luokissa. ERV-jaksot sijaitsevat lähellä koodaavia genejä ja ne toimivat transkription aloituskohtina geenien lisäksi myös pitkille ei-koodaaville RNA-sekvensseille (*Long Non-Coding RNA*, *lncRNA*), jotka ulottuvat muidenkin geenien alueille. Transkription aloittaminen ERV:in alueelta voi siis johtaa lncRNA-välitteisesti muidenkin geenien lukemiseen ja näin ollen ERV:ien kontrolli ympäröivien geenien verkostoihin on nähtävissä kehittyvissä NPC-soluissa (Mortelmans et al. 2016). TRIM28-kompleksiin kuuluvan KAP1-proteiinin vioittaminen muuntogeenisissä hiirissä johtaa heikentyneeseen ERV:ien supressiotasoon ja muutoksiin käyttäytymisessä. KAP1-poistogeeniset hiiret ilmentävät verrokkeja suurempaa stressiin viittaavaa käytöstä, kuten ahdistuneisuutta ja ongelmia spatiaalisissa ongelmanratkaisutehtävissä. Syyksi tähän on esitetty kehitys- ja toimintahäiriöitä erityisesti hippokampuksen alueella (Jakobsson, Cordero et al. 2008).

Keskushermostolliset sairaudet

Ihmisen endogeeniset retrovirukset on yhdistetty muutamiin neurologisiin ja neuropsykiatriisiin sairauksiin, jotka juontuvat keskushermoston vaurioista. Esiviruksina genomissa HERV:it eivät suoranaisesti itse vaikuta näiden sairauksien syntyyn, mutta niiden mahdollista aktivaatiota seuraava immuunireaktio voi vaurioittaa hermosoluja johtaen psykologisiin ja fysiologisiin ongelmiin. HERV:ien kohdalla syy-seuraussuhteet eivät välttämättä ole selkeitä: johtaako sairaus HERV:ien ilmentymisen lisääntymiseen, HERV:ien ilmentyminen sairauteen vai lieneekö kyse jostain muusta (Christensen 2016).

Multippeliskleroosi

Pesäkekovettumatauti eli multippeliskleroosi (MS-tauti) on autoimmuunisairaus, jossa hermosolujen viejähaarakkeita, aksoneita, ympärivät myeliinitupet tuhoutuvat virheellisten immuunireaktioiden johdosta. Tämän johdosta potilaan hermostossa tiedonkulku hidastuu ja seuraa neurologisia oireita. MS-potilaiden verestä ja aivoista on löydetty sekvensseiltään HERV-W/MSRV (*Multiple Sclerosis-associated RetroViral* -element) ja HERV-H/F retrovirusten RNA:ta ja antigeenejä ja näiden aiheuttama immuunireaktio saattaa osallistua MS-taudille tyypilliseen gliasolujen tuhoutumiseen (Christensen 2017).

Amyotrofinen lateraaliskleroosi

Amyotrofinen lateraaliskleroosi (ALS) on liikehermojen rappeumatauti, jonka syntyyn johtavia tekijöitä ei tunneta, mutta monissa satunnaisissa ALS-tapauksissa (sALS, ei geneettiseen alttiuteen yhdistetyt tapaukset) potilaiden veriseerumista on löydetty kohonneita immuunivasteita HERV-K:n gag-rakenneproteiinille ja potilaiden aivokudoksesta on löytynyt HERV-K:n *pol*-geenin RNA:n kohonnutta ekspressiota. *Pol*-geenin löytyminen soluista viittaa virusten aktivoitumiseen, sillä sen koodaama käänteiskopioijaentsyymi ei esiinny soluissa luontaisesti (Alfahad, Nath 2013).

Skitsofrenia

Skitsofrenia (schizophrenia, SZ) on monitekijäinen sairaus, jonka ilmentymiseen on yhdistetty riskitekijöitä hermostonkehitysvaiheista geneettisiin tekijöihin ja erilaisiin tulehduksiin sekä edeltäviin tartuntatauteihin. Monet perinnöllisiin tekijöihin pohjautuvat riskitekijät on havaittu liittyviksi immuunipuolustukseen ja prenataalivaiheessa tapahtuneet äidin immuunipuolustuksen vasteet voivat vaikuttaa kehittyvän jälkeläisen aivojen kehitykseen (Feigenson, Kusnecov et al.

2014). Immuunipuolustuksen vasteiden ja niiden mahdollisesti skitsofreniaan johtavien kehitysbiologisten seurausten väliseksi linkiksi on ehdotettu tyyppin W ihmisen endogeenista retrovirusta. Skitsofrenia- ja kaksisuuntainen mielialahäiriö- (bipolar disorder, BD) potilaita tutkittaessa havaittiin veriseeruminäytteissä selvästi kohonneita HERV-W -ekspressiotasoja terveisiin verrokkeihin nähden. Potilasryhmien välillä tutkitun viruselementin, MSR:n, ekspresio oli suurempaa BD- kuin SZ-potilaiden keskuudessa. Terveillä verrokeilla havaittiin veren leukosyyttien perimässä kuitenkin korkeampia HERV-W DNA-kopiomääriä kuin sairautta ilmentävillä yksilöillä, mutta nämä lukuisimmat, todennäköisesti defektiiviset kopiot saattavat suojata yksilöä patogeenisempien kantojen ekspressiolta (Perron, Hamdani et al. 2012). Verinäytteiden lisäksi SZ ja BD -potilailla on havaittu eri aivoalueilta kerätyistä näytteissä muuttuneita HERV-W:n ekspresiotasoja verrattessa terveisiin kontrolleihin. Skitsofreniassa vaurioituvaksi tiedetyltä aivojen Brodmannin alueelta *pol*-sekvenssien mRNA-ekspressoissa selkein muutos havaittiin HERV-K perheen retroviruksessa (HERV-K10), jonka ekspresiotaso nousi tilastollisesti merkitsevästi niin SZ kuin BD potilaiden keskuudessa (Frank, Giehl et al. 2005). Aivokuoressa havaittiin erityisesti kohonnutta RNA-ekspressiota HERV-W -tyypin viruksiin kuuluvan MSR-elementin osalta skitsofreniapotilailla (Yolken, Karlsson et al. 2000). HERV-W:n epäkypsän viruspartikkelin rakenneproteiinia, gag:ia, sen sijaan havaittiin pihitipoimun ja hippokampuksen alueen neuroneissa ja gliasoluissa vähemmän SZ, BD ja vakavasta masennuksesta kärsivillä yksilöillä kuin kontrolleilla. Syynä tähän on esitetty muun muassa sitä, että normaaleissakin soluissa gag-proteiineja muodostuu vähäisissä määrin, mutta rappeumasairauksissa niitä kertyy aksoneissa arpeutumien alueelle (Weis, Llenos et al. 2007).

Mekanismi retrovirusten ja patologioiden välillä

Miten HERV:ien havaittu ekspresiotason nousu on mahdollisesti yhteydessä immuunipuolustuksen aktivoitumiseen? MSR:n vaippaproteiinin alayksikön (ENV-SU) on havaittu aktivoivan synnynnäiseen immuunivasteeseen kuuluvien *pattern recognition* (PRR) reseptorien CD14 ja TLR4 kautta sytokiinejä. Sytokiinit ovat immuunipuolustukseen kuuluvia hormonien kaltaisia polypeptidejä, joita vapautuu immuunireaktioissa houkutellessa paikalle muita soluja, kuten monosyyttejä, jotka osallistuvat sytokiinihälytyksen aiheuttajan tuhoamiseen. Tutkimuksessa havaittiin ENV-SU:n aktivoineen tulehdustekijöistä interleukiineja ja tuumorinekroositekijä alfaa PBMC (*Periphreal Blood Mononuclear Cell*)-solukasvatuksissa. Näiden

tulehdustekijöiden aikaansaamat vasteet voivat aktivoida naiivit T-solut toiminnallisiin muotoihin. Tyypin 1 T-solut (T_H1 CD4+) osallistuvat makrofaagien I. syöjäsolujen aktivoimiseen viruksia, solunsisäisiä bakteereja ja parasitteja vastaan (Rolland, Jouvin-Marche et al. 2006).

TLR4-reseptori havaitsee gram-negatiivisten bakteerien ulkokalvolle tyypillisiä lipopolysakkarideja (LPS) ja myös ERV:n vaippaproteiinin SU-alayksikköä (Rassa, Meyers et al. 2002). Erityisesti TLR4-välitteisesti keskushermostossa aktivoituvat mikrogliosyytit (*brain-resident macrophages*) saattavat osallistua hermostollisten rappeumasairauksien syntyyn ja etenemiseen. Mikrogliasolut on yhdistetty keskushermostoa kohtaavaan tavanomaiseen immuunivasteeseen, mutta joissain tapauksissa ne aktivoituneina erittävät hermostolle toksisia sytokiinejä edesauttaen solukuolemia ja tuhoten hermostoa (Lehnardt, Massillon et al. 2003). Mikrogliasolut tuottavat tiettyjen ärsykkeiden johdosta typpioksidin syntaasia (*nitrous oxide synthase*, NOS), jonka eräs alamuoto, iNOS, lisää typpioksidin (NO) tuotantoa L-arginiinista nisäkässoluista erityisesti aivoissa. NO tiedetään laajalle levinneeksi signaalimolekyyliksi ja se toimii myös neurotransmitterina keskushermostossa. Muista välittäjäaineista poiketen se diffuntoituu solukalvojen läpi melkoisen vapaasti. Hyvin matalina pitoisuuksina (pmol) esiintyessään NO on yhdistetty antiviraaliseen ja -bakteeriseen toimintaan, mutta korkeammassa pitoisuudessa (μmol) se on liitetty hermostosairauksiin (Kumar, Singh et al. 2017). Tilanteesta riippuen NO toimii välittäjäaineena joko inhiboivasti tai stimuloivasti. HERV-W:n *env*:n ekspresio lisäsi iNOS:n muodostumisen kautta NO:n tuotantoa mikrogliasoluissa vaikuttaen immunosyyttien kulkeutumiseen gliasolujen arpeutuneelle alueelle myötävaikuttaen neuropsykologisten sairauksien syntyyn (Xiao, Li et al. 2017).

Lopuksi

Ihmisen endogeeniset retrovirukset ovat osa meitä. Niiden meitä itseämme hyödyttävien ominaisuuksien, kuten istukan muodostumisen ja geenien säätelyn, sijaan useimmiten perspektiivinä on aiheellisesti niiden aktivoitumisen mahdollisesti haitalliset seuraukset. Vaikka ihmisellä ei ole suoraan HERV:ien aiheuttamia sairauksia havaittu, niiden on osoitettu osallistuvan monien vakavien sairauksien syntyyn ja etenemiseen. Monitekijäisissä sairauksissa on vaikeaa, jopa mahdotonta, osoittaa yksi ainoa potentiaalinen syyllinen ja vaikka korrelaatio tietyn endogeenisen retrovirustyyppin osasen ja pahenevan taudinkuvan välillä löytyisikin, tulee vielä empiirisesti todentaa kyseessä olevan kausaiteetti. Syy-seuraussuhteen osapuolet myös saattavat mennä sekaisin: aiheuttaako patogeneesi HERV:ien aktivaation vai HERV:ien aktivaatio patogeneesiin? (Kurth, Bannert 2010, Weiss 2016)

Kirjallisuus

Jyrki Heino, Matti Vuento – Biokemian ja solubiologian perusteet, 3. painos, 2014, Sanoma Pro / WSOY.

Matti Vuento – Virukset, 1. painos, 2016, Duodecim.

ALFAHAD, T. and NATH, A., 2013. Retroviruses and amyotrophic lateral sclerosis. *Antiviral Research*, **99**(2), pp. 180-187.

ANDERSSON, S., SJOTTEM, E., SVINENG, G. and JOHANSEN, T., 1997. Comparative analyses of LTRs of the ERV-H family of primate-specific retrovirus-like elements isolated from marmoset, African green monkey, and man. *Virology*, **234**(1), pp. 14-30.

ARJAN-ODEDRA, S., SWANSON, C.M., SHERER, N.M., WOLINSKY, S.M. and MALIM, M.H., 2012. Endogenous MOV10 inhibits the retrotransposition of endogenous retroelements but not the replication of exogenous retroviruses. *Retrovirology*, **9**.

BALTIMORE, D., 1971. Expression of animal virus genomes. *Bacteriological Reviews*, **35**(3), pp. 235-241.

BANNERT, N. and KURTH, R., 2006. *The evolutionary dynamics of human endogenous retroviral families*.

BATTIVELLI, E., MIGRAINE, J., LECOSSIER, D., MATSUOKA, S., PEREZ-BERCOFF, D., SARAGOSTI, S., CLAVEL, F. and HANCE, A.J., 2011. Modulation of TRIM5 α Activity in Human Cells by Alternatively Spliced TRIM5 Isoforms. *Journal of virology*, **85**(15), pp. 7828-7835.

BELSHAW, R., PEREIRA, V., KATZOURAKIS, A., TALBOT, G., PACES, J., BURT, A. and TRISTEM, M., 2004. Long-term reinfection of the human genome by endogenous retroviruses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **101**(14), pp. 4894-4899.

BENIT, L., LALLEMAND, J.B., CASELLA, J.F., PHILIPPE, H. and HEIDMANN, T., 1999. ERV-L elements: a family of endogenous retrovirus-like elements active throughout the evolution of mammals. *Journal of virology*, **73**(4), pp. 3301-3308.

BOCK, M. and STOYE, J.P., 2000. Endogenous retroviruses and the human germline. *Current Opinion in Genetics and Development*, **10**(6), pp. 651-655.

CHERNOMORDIK, L.V., ZIMMERBERG, J. and KOZLOV, M.M., 2006. Membranes of the world unite! *Journal of Cell Biology*, **175**(2), pp. 201-207.

CHRISTENSEN, T., 2017. Human endogenous retroviruses in the aetiology of MS. *Acta Neurologica Scandinavica*, **136**, pp. 18-21.

CHRISTENSEN, T., 2016. Human endogenous retroviruses in neurologic disease. *APMIS*, **124**(1), pp. 116-126.

DEWANNIEUX, M., HARPER, F., RICHAUD, A., LETZELTER, C., RIBET, D., PIERRON, G. and HEIDMANN, T., 2006. Identification of an infectious progenitor for the multiple-copy HERV-K human endogenous retroelements. *Genome research*, **16**(12), pp. 1548-1556.

- DEWANNIEUX, M. and HEIDMANN, T., 2013. *Endogenous retroviruses: acquisition, amplification and taming of genome invaders*.
- ECKERT, D.M. and KIM, P.S., 2001. *Mechanisms of viral membrane fusion and its inhibition*.
- EVANS, D.T., SERRA-MORENO, R., SINGH, R.K. and GUATELLI, J.C., 2010. *BST-2/tetherin: a new component of the innate immune response to enveloped viruses*.
- FEIGENSON, K.A., KUSNECOV, A.W. and SILVERSTEIN, S.M., 2014. Inflammation and the two-hit hypothesis of schizophrenia. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, **38**, pp. 72-93.
- FLETCHER, A.J. and TOWERS, G.J., 2013. Inhibition of retroviral replication by members of the TRIM protein family. *Current topics in microbiology and immunology*, **371**, pp. 29-66.
- FRANK, O., GIEHL, M., ZHENG, C., HEHLMANN, R., LEIB-MOSCH, C. and SEIFARTH, W., 2005. Human endogenous retrovirus expression profiles in samples from brains of patients with schizophrenia and bipolar disorders. *Journal of virology*, **79**(17), pp. 10890-10901.
- GIFFORD, R. and TRISTEM, M., 2003. The evolution, distribution and diversity of endogenous retroviruses. *Virus genes*, **26**(3), pp. 291-316.
- GOFF, S.P., 2007. Host factors exploited by retroviruses. *Nature Reviews Microbiology*, **5**(4), pp. 253-263.
- GOLDSTONE, D.C., ENNIS-ADENIRAN, V., HEDDEN, J.J., GROOM, H.C.T., RICE, G.I., CHRISTODOULOU, E., WALKER, P.A., KELLY, G., HAIRE, L.F., YAP, M.W., DE CARVALHO, L P S, STOYE, J.P., CROW, Y.J., TAYLOR, I.A. and WEBB, M., 2011. HIV-1 restriction factor SAMHD1 is a deoxynucleoside triphosphate triphosphohydrolase. *Nature*, **480**(7377), pp. 379-382.
- GROVE, J. and MARSH, M., 2011. The cell biology of receptor-mediated virus entry. *Journal of Cell Biology*, **195**(7), pp. 1071-1082.
- HANKE, K., HOHN, O. and BANNERT, N., 2016. HERV-K(HML-2), a seemingly silent subtenant - but still waters run deep. *APMIS*, **124**(1), pp. 67-87.
- HUGHES, J.F. and COFFIN, J.M., 2002. A Novel Endogenous Retrovirus-Related Element in the Human Genome Resembles a DNA Transposon: Evidence for an Evolutionary Link? *Genomics*, **80**(5), pp. 453-455.
- JAKOBSSON, J., CORDERO, M.I., BISAZ, R., GRONER, A.C., BUSSKAMP, V., BENSADOUN, J., CAMMAS, F., LOSSON, R., MANSUY, I.M., SANDI, C. and TRONO, D., 2008. KAP1-Mediated Epigenetic Repression in the Forebrain Modulates Behavioral Vulnerability to Stress. *Neuron*, **60**(5), pp. 818-831.
- JERN, P. and COFFIN, J.M., 2008. *Effects of retroviruses on host genome function*.
- KRAUS, B., MINK, B., SLIVA, K. and SCHNIERLE, B.S., 2012. Expression of human endogenous retrovirus-K coincides with that of micro-RNA-663 and -638 in germ-cell tumor cells. *Anticancer Research*, **32**(11), pp. 4797-4804.
- KUMAR, S., SINGH, R.K. and BHARDWAJ, T.R., 2017. Therapeutic role of nitric oxide as emerging molecule. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, **85**, pp. 182-201.

KURTH, R. and BANNERT, N., 2010. Beneficial and detrimental effects of human endogenous retroviruses. *International Journal of Cancer*, **126**(2), pp. 306-314.

LAFAVE, M.C., VARSHNEY, G.K., GILDEA, D.E., WOLFSBERG, T.G., BAXEVANIS, A.D. and BURGESS, S.M., 2014. MLV integration site selection is driven by strong enhancers and active promoters. *Nucleic acids research*, **42**(7), pp. 4257-4269.

LANDER, E.S., LINTON, L.M., BIRREN, B., NUSBAUM, C., ZODY, M.C., BALDWIN, J., DEVON, K., DEWAR, K., DOYLE, M., FITZHUGH, W., FUNKE, R., GAGE, D., HARRIS, K., HEAFORD, A., HOWLAND, J., KANN, L., LEHOCZKY, J., LEVINE, R., MCEWAN, P. and MCKERNAN, K., 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, **409**(6822), pp. 860.

LEHNARDT, S., MASSILLON, L., FOLLETT, P., JENSEN, F.E., RATAN, R., ROSENBERG, P.A., VOLPE, J.J. and VARTANIAN, T., 2003. Activation of innate immunity in the CNS triggers neurodegeneration through a Toll-like receptor 4-dependent pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **100**(14), pp. 8514-8519.

LEMAIRE, C., HARPER, F., PIERRON, G., HEIDMANN, T. and DEWANNIEUX, M., 2014. The HERV-K Human Endogenous Retrovirus Envelope Protein Antagonizes Tetherin Antiviral Activity. *Journal of virology*, **88**(23), pp. 13626-13637.

LVING, R., LI, K., WALLIN, M., SJBERG, M. and GAROFF, H., 2008. R-peptide cleavage potentiates fusion-controlling isomerization of the intersubunit disulfide in moloney murine leukemia virus Env. *Journal of virology*, **82**(5), pp. 2594-2597.

LVING, R., WU, S.-., SJBERG, M., LINDQVIST, B. and GAROFF, H., 2012. Maturation cleavage of the murine leukemia virus Env precursor separates the transmembrane subunits to prime it for receptor triggering. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **109**(20), pp. 7735-7740.

MAGIORKINIS, G., GIFFORD, R.J., KATZOURAKIS, A., DE RANTER, J. and BELSHAW, R., 2012. Env-less endogenous retroviruses are genomic superspreaders. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **109**(19), pp. 7385-7390.

MAGIORKINIS, G., BELSHAW, R. and KATZOURAKIS, A., 2013. 'There and back again': revisiting the pathophysiological roles of human endogenous retroviruses in the post-genomic era. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, **368**(1626), pp. 20120504.

MALLET, F., BOUTON, O., PRUDHOMME, S., CHEYNET, V., ORIOL, G., BONNAUD, B., LUCOTTE, G., DURET, L. and MANDRAND, B., 2004. The endogenous retroviral locus ERVWE1 is a bona fide gene involved in hominoid placental physiology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **101**(6), pp. 1731-1736.

MAO, Y., WANG, L., GU, C., HERSCHHORN, A., XIANG, S.-., HAIM, H., YANG, X. and SODROSKI, J., 2012. Subunit organization of the membrane-bound HIV-1 envelope glycoprotein trimer. *Nature Structural and Molecular Biology*, **19**(9), pp. 893-899.

MBISA, J.L., BU, W. and PATHAK, V.K., 2010. APOBEC3F and APOBEC3G inhibit HIV-1 DNA integration by different mechanisms. *Journal of virology*, **84**(10), pp. 5250-5259.

- MI, S., LEE, X., LI, X.P., VELDMAN, G.M., FINNERTY, H., RACIE, L., LAVALLIE, E., TANG, X.Y., EDOUARD, P., HOWES, S., KEITH, J.C. and MCCOY, J.M., 2000. Syncytin is a captive retroviral envelope protein involved in human placental morphogenesis. *Nature*, **403**(6771), pp. 785-789.
- MORTELMANS, K., WANG-JOHANNING, F. and JOHANNING, G.L., 2016. The role of human endogenous retroviruses in brain development and function. *APMIS*, **124**(1), pp. 105-115.
- PERRON, H., HAMDANI, N., FAUCARD, R., LAJNEF, M., JAMAIN, S., DABAN-HUARD, C., SARRAZIN, S., LEGUEN, E., HOUENOU, J., DELAVEST, M., MOINS-TEISERENC, H., BENGOUFA, D., YOLKEN, R., MADEIRA, A., GARCIA-MONTOJO, M., GEHIN, N., BURGELIN, I., OLLAGNIER, G., BERNARD, C., DUMAINE, A., HENRION, A., GOMBERT, A., LE DUDAL, K., CHARRON, D., KRISHNAMOORTHY, R., TAMOUZA, R. and LEBOYER, M., 2012. Molecular characteristics of Human Endogenous Retrovirus type-W in schizophrenia and bipolar disorder. *Translational Psychiatry*, **2**.
- RASSA, J.C., MEYERS, J.L., ZHANG, Y.M., KUDARAVALLI, R. and ROSS, S.R., 2002. Murine retroviruses activate B cells via interaction with toll-like receptor 4. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **99**(4), pp. 2281-2286.
- REIN, A., 2011. Murine leukemia viruses: Objects and organisms. *Advances in Virology*, **2011**.
- REIN, A., 2013. Murine leukemia virus p12 functions include hitchhiking into the nucleus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **110**(23), pp. 9195-9196.
- ROLLAND, A., JOUVIN-MARCHE, E., VIRET, C., FAURE, M., PERRON, H. and MARCHE, P.N., 2006. The envelope protein of a human endogenous retrovirus-W family activates innate immunity through CD14/TLR4 and promotes Th1-like responses. *Journal of Immunology*, **176**(12), pp. 7636-7644.
- SAPIR, A., AVINOAM, O., PODBILEWICZ, B. and CHERNOMORDIK, L.V., 2008. Viral and Developmental Cell Fusion Mechanisms: Conservation and Divergence. *Developmental Cell*, **14**(1), pp. 11-21.
- STOCKING, C. and KOZAK, C.A., 2008. Murine endogenous retroviruses. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **65**(21), pp. 3383-3398.
- STOYE, J.P., 2012. Studies of endogenous retroviruses reveal a continuing evolutionary saga. *Nature Reviews Microbiology*, **10**(6), pp. 395-406.
- STOYE, J.P., 2001. Endogenous retroviruses: Still active after all these years? *Current Biology*, **11**(22), pp. R916.
- SUBRAMANIAN, R.P., WILDSCHUTTE, J.H., RUSSO, C. and COFFIN, J.M., 2011. Identification, characterization, and comparative genomic distribution of the HERV-K (HML-2) group of human endogenous retroviruses. *Retrovirology*, **8**, pp. 90.
- TRISTEM, M., 2000. Identification and Characterization of Novel Human Endogenous Retrovirus Families by Phylogenetic Screening of the Human Genome Mapping Project Database. *Journal of virology*, **74**(8), pp. 3715-3730.
- VOLFF, J.-., 2006. Turning junk into gold: Domestication of transposable elements and the creation of new genes in eukaryotes. *BioEssays*, **28**(9), pp. 913-922.

WEIS, S., LLENOS, I.C., SABUNCIYAN, S., DULAY, J.R., ISLER, L., YOLKEN, R. and PERRON, H., 2007. Reduced expression of human endogenous retrovirus (HERV)-W GAG protein in the cingulate gyrus and hippocampus in schizophrenia, bipolar disorder, and depression. *Journal of neural transmission*, **114**(5), pp. 645-655.

WEISS, R.A., 2016. Human endogenous retroviruses: friend or foe? *APMIS*, **124**(1), pp. 4-10.

WILDSCHUTTE, J.H., WILLIAMS, Z.H., MONTESION, M., SUBRAMANIAN, R.P., KIDD, J.M. and COFFIN, J.M., 2016. Discovery of unfixed endogenous retrovirus insertions in diverse human populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **113**(16), pp. E2334.

XIAO, R., LI, S., CAO, Q., WANG, X., YAN, Q., TU, X., ZHU, Y. and ZHU, F., 2017. Human endogenous retrovirus W env increases nitric oxide production and enhances the migration ability of microglia by regulating the expression of inducible nitric oxide synthase. *Virologica Sinica*, **32**(3), pp. 216-225.

YOLKEN, R.H., KARLSSON, H., YEE, F., JOHNSTON-WILSON, N.L. and TORREY, E.F., 2000. Endogenous retroviruses and schizophrenia. *Brain Research Reviews*, **31**(2-3), pp. 193-199.