

C형 돼지 내인성 레트로바이러스(PERV)의 C-말단 외막당단백질에 의한 재조합 PERV-A/C의 감염력 조절

김새로미 · 박상민 · 이규준 · 이용진 · 배은혜 · 박성한 · 임지현 · 정용태*
단국대학교 첨단과학대학 미생물학과

The Infectivity of Recombinant Porcine Endogenous Retrovirus (PERV-A/C) Is Modulated by Membrane-Proximal Cytoplasmic Domain of PERV-C Envelope Tail

Sae Ro Mi Kim, Sang Min Park, Kyu Jun Lee, Yong Jin Lee, Eun Hye Bae,
Sung-Han Park, Ji Hyun Lim, and Yong-Tae Jung*

Department of Microbiology and Institute of Basic Science, College of Advanced Science, Dankook University,
Cheonan 330-714, Republic of Korea

(Received December 7, 2009/Accepted January 27, 2010)

Xenotransplantation of pig organs is complicated by the existence of polytropic replication-competent porcine endogenous retroviruses (PERV) capable of infecting human cells. Two classes of infectious human-tropic replication-competent PERVs (PERV-A and PERV-B) and one class of ecotropic PERV-C are known. The potential for recombination between ecotropic PERV-C and human-tropic PERVs adds another level of infectious risk. A recombinant PERV-A/C (PERV-A14/220) virus is 500-fold more infectious than PERV-A. Two determinants of this high infectivity was identified; one was isoleucine-to-valine substitution at position 140 in RBD (receptor binding domain), and the other lies within the PRR (proline rich region) of the envelope protein. To examine whether the effects of the cytoplasmic tail of the PERV-C Env on fusogenesis also influences infectivity, we constructed a pseudotype retroviral vectors containing MoMLV core protein and PERV envelopes. Pseudotyping experiments with the PERV envelope glycoproteins indicated that recombinant PERV-A/C virus is 10-fold more infectious than PERV-A by *lacZ* staining. This result supports the suggestion that viral transduction of PERV-A/C is enhanced by a membrane-proximal cytoplasmic amphiphilic α -helix in PERV-C Env tail.

Keywords: amphiphilic, porcine endogenous retrovirus, recombinant envelope, xenotransplantation

이종 간 이식(xenotransplantation)은 다른 동물의 살아있는 장기나 조직 또는 세포를 이종 간에 이식하는 것을 말하는데 침팬지나 비비원숭이 등의 영장류가 인간과 유전적 구조가 거의 일치하여 장기 공급원으로 사용 되었으나 장기 크기가 인체 구조에 적합하지 않고 무균사육의 문제점, 인수공통전염병의 문제 등으로 무균돼지가 대안으로 떠올랐다(21). 무균돼지의 장기 크기와 생리해부학적 조건이 사람의 장기와 유사하고 다산성(6-12 마리), 114일의 짧은 임신기간, 대규모 사육 가능성 등의 장점으로 인해 돼지가 이종 간 장기이식을 위해 각광받고 있다(5, 7, 9). 돼지의 장기를 사람에게 이식하기 위해서는 아

직도 해결해야 할 어려운 문제들이 있는데 가장 문제시 되는 부분은 돼지만이 가지고 있는 바이러스가 기관(organ) 이식을 통해 사람에게 감염될 위험이 있고 알려지지 않은 세균감염의 위험성이 내포되어 있다. 또한 초급성 거부 반응이나 세포매개성 및 만성거부 반응 등의 면역학적인 문제도 극복되어야 한다. 현재 형질전환 돼지 생산 기술의 발달로 이종이식 거부반응을 제어할 수 있을 가능성이 높으며 앞으로 면역이식관련 유전자들의 기능이 밝혀진다면 좀 더 많은 연구 성과를 얻을 수 있을 것이다.

대부분의 외인성 병원균은 무균 사육이나 특정 병원균 부재 SPF (Specific Pathogen Free) 상태의 위생조건에서 생산하면 유해 미생물체를 조기에 탐지하거나 모니터링을 통해 어느 정

*For correspondence. E-mail: yjung@dankook.ac.kr; Tel: +82-41-550-3453, Fax: +82-41-550-3409

도 제어가 가능하나, 모든 종류의 돼지 게놈상에 multi-copy 상태로 provirus 형태 또는 바이러스 입자로 존재하고 germ line 을 통해 전파되는 돼지 내인성 레트로바이러스(PERV: Porcine Endogenous Retrovirus)는 제어하기가 힘들다(17, 18, 19, 25). 모든 척추동물의 게놈에는 내인성 레트로바이러스가 존재하는데 외인성 레트로바이러스와 유전자 구성이 매우 흡사하다. 외인성 레트로바이러스의 게놈이 돼지 숙주에 삽입되어 돼지 내인성 레트로바이러스가 생겨났는데 대부분은 돌연변이나 결실에 의해 복제 능력이 없다. 그러나 몇몇 내인성 레트로바이러스 유전자는 양쪽에 LTR (Long Terminal Repeat)을 가지고 완벽한 *gag*, *pro/pol*, *env*를 가지고 있어 복제가 가능한 감염성 바이러스 입자를 생성할 수 있다. PERV는 약 8.8 kb single strand RNA 바이러스로 돼지 게놈에 약 10-100 copy 존재하는데 대부분 부모로부터 자손으로 provirus 형태로 전달되나 몇몇 돼지 내인성 레트로바이러스는 외인성 바이러스로 존재하여 수평적 전파가 가능하다(1, 12). 돼지 게놈은 적어도 13종의 내인성 레트로바이러스를 포함하고 있는데 γ -레트로바이러스(C-type)와 β -레트로바이러스(B- or D-type)와 연관이 있다. γ -레트로바이러스 그룹 중 감염 능력이 있는 3가지 서브그룹(PERV-A, PERV-B, PERV-C)이 밝혀졌는데 PERV-A와 PERV-B는 인간 세포주와 돼지 세포주를 동시에 감염시킬 수 있으나 PERV-C는 단지 돼지 세포주만 감염시킬 수 있다(12, 13, 15, 23). PERV-C가 인간 세포주를 감염 시키지 못하는 이유는 외막 표면 당단백질(SU; surface protein)의 C-말단 부위가 인간 세포주의 수용체에 결합하는 것을 방해하는 것으로 알려져 있으며 PERV-C의 인간 세포주에 결합하는 능력이나 감염능력을 변화시키는데 관여하는 SU의 C-말단 부위를 PERV-A와 비교 하였을 때 단지 9개의 아미노산만이 다르다. 이 부위에서의 돌연변이는 PERV-C가 인간 세포주를 감염 가능하게 할 수 있다. *In vivo* 상에서 PERV의 감염 여부를 측정하기 위해 동물모델을 개발하려는 여러 시도들이 있어 왔다(14, 22). PERV는 아직까지 *in vivo* 상에서 사람을 감염시키지는 않는 것으로 알려져 있으나 PERV와 PERV 사이 또는 인간 내인성 레트로바이러스(HERV: Human Endogenous Retrovirus)와 재조합을 일으킴으로써 사람에게 치명적인 질병을 일으킬 수 있는 새로운 바이러스를 만들 가능성이 있다(8). 이미 PERV-A와 PERV-C 간에 다양한 재조합 바이러스가 만들어진다고 알려져 있으며 이러한 바이러스들의 인체 세포 감염 기작 규명은 인간에 치명적인 질병의 발생 가능성을 차단하는데 기여할 것이다. 최초로 PERV-A와 PERV-C의 재조합 바이러스로 알려진 PERV-A14/220는 대부분 PERV-C의 유전자로 구성되어 있으며 수용체와 결합하는 부위만 PERV-A의 외막 유전자로 재조합에 되어 있는데 PERV-A보다 인간 세포주에서 높은 감염가를 가진다(11). 본 연구에서는 기존에 확립된 pseudotype assay 방법을 활용하여(24) PERV-A14/220와 같은 재조합 바이러스의 어느 부위가 PERV-A보다 높은 감염가를 나타내는지 관여하는지를 밝히고자 하였다.

재료 및 방법

PERV 외막 유전자 증폭

PERV-A와 PERV-C 외막 유전자를 증폭하기 위하여 스스로 PERV를 분비하는 것으로 알려진 PK15 세포주와 MPK 세포주, PERV에 감염된 293 세포주의 게놈 DNA를 사용하였다. Sense (5'-ACC TCG AGACTC GGT GGA AG-3'), antisense (5'-CTT TCA TTC CCC ACT TCT TCT CT-3')의 primer를 사용하여 약 2-2.5 kb 정도의 증폭 산물을 얻었다. PCR 반응에 사용된 reaction mixture는 3 mM MgCl₂, 0.1 mM dNTP, 1 unit Taq (Solgent, Korea), 1× Taq buffer, 1 pmole primer, 1 µg DNA template, DW 8.8 µl 등 모두 20 µl를 사용하였다. Mj Research (PTC-150)를 사용하여 94°C에서 5분간 hot-start를 1 cycle 수행, 94°C에서 1분간 denaturation 반응, 58°C에서 1분간 annealing 반응, 그리고 72°C에서 2분간 extension 반응을 30 cycle 반복한 후, 72°C에서 7분간 반응시켜 반응을 종결시켰다. 증폭산물은 1% 아가로스젤에서 전기영동을 통하여 확인하였다.

Cloning 및 RFLP 양성 분석

전기영동을 통하여 확인된 약 2-2.5 kb의 PCR 산물을 gel extraction kit (Solgent)를 이용하여 1% 아가로스젤로부터 분리 정제하고 정제된 PCR 산물을 pCR2.1-TOPO TA cloning kit (Invitrogen, USA)를 이용하여 클로닝을 수행하고 *EcoRI*을 처리 하여 PCR 산물만을 분리하였다. 분리된 PCR 산물을 각각의 PERV에 특이적인 *KpnI*, *Bsu36I*, *AvaI*을 처리하여 절편의 크기로 PERV-A, B, C 중 어느 형에 속하는지 비교하였다.

재조합 외막 당단백질의 제조

Murine leukemia virus (MuLV)를 이용한 pseudotype 바이러스를 제조하기 위해 클로닝된 PERV-A와 PERV-C 외막 유전자(*KasI-EcoRI* fragment)의 양 말단에 *BamHI*과 *KasI*을 가지는 linker (PERV-1: 5'-GAT CCT CTA GAC CAC CAT GCA TCC CAC GTT AAG CTG-3', PERV-2: 5'-GCG CCA GCT TAA CGT GGG ATG CAT GGT GGT CTA GAG-3')와 함께 pBluescript II SK vector의 *BamHI-EcoRI* 부위에 클로닝하였다. pVPack-Eco vector에 제한효소 부위가 존재하지 않아 *SacI*과 *EcoRI*을 처리하여 pIRES2-EGFP vector에 옮긴 후 *NotI*과 *PstI*을 처리하여 pVPack-Eco vector (Stratagene, USA)에 클로닝하였다. 인간 세포주를 감염시킬 수 있는 돼지 내인성 레트로 바이러스 PERV-A와 돼지 세포주만 감염시키는 PERV-C 외막 유전자를 재조합 시켰는데 transmembrane (TM) 부위에 존재하는 *BsmI*을 이용하여 PERV-A/C를 만들었으며 pBluescript II SK vector에 옮긴 후 pVPack-Eco vector에 클로닝하였다(Fig. 1).

Pseudotype virus 제작

MuLV packaging 세포주(TELCeB6)는 Moloney leukemia virus의 *gag*와 *pol*을 갖고 있으며 동시에 *lacZ* 유전자도 갖고

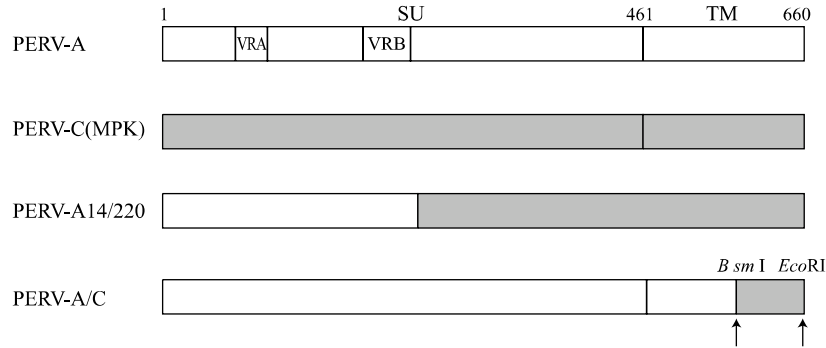


Fig. 1. Schematic representation of PERV-A, PERV-C, and PERV-A/C. *KasI-EcoRI* fragments of amplified PERV-C *env* PCR product and a synthetic double strand linker with *Bam*HI and *KasI* sticky ends were cloned into the pBlueScript II SK vector at the *Bam*HI-*Eco*RI sites (pBlueScript-PERV-C). To prepare the pVPack-Eco-PERV-C, *NotI-EcoRI env* fragment of pBlueScript-PERV-C was ligated into the *NotI-EcoRI* cloning site of the pVPack-Eco retrovirus packaging vector (Stratagene). The recombinant PERV-A/C was constructed by replacing the *BsmI/EcoRI* fragment of pBlueScript-PERV-A with the corresponding fragment of the PERV-C *env* PCR product.

있기 때문에 이 세포주에 각 subtype의 PERV 외막 유전자를 QIAGEN PolyFect transfection kit (QIAGEN, USA)를 사용하여 transfection 시켰다. 세포주는 Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM; Hyclone, USA)에 10% fetal bovine serum (FBS; Hyclone), penicillin/streptomycin (100 U/ml)을 첨가하여 37°C, 5% CO₂가 유지되는 배양기에서 배양하였다.

1.5×10⁵개의 세포를 6-well 배양접시에서 배양한 후 8 µg/ml의 polybrene 하에 transfection을 통하여 획득한 1 ml의 바이러스로 3시간 동안 감염시켰다. 3시간 후 2 ml의 새로운 배지를 첨가하여 24시간 배양하였다. 배양한 세포는 0.5% glutaraldehyde 용액으로 고정하고 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-galactopyranoside (X-gal, 2 mg/ml; ICN Biomedicals, USA)을 기질로 사용하여 β-galactosidase 활성을 측정하였다. 감염가는 바이러스 상층액 1 ml 당 blue colony 갯수로 나타내었다.

결과 및 고찰

PERV와 같은 레트로바이러스의 침입은 바이러스 표면의 외막 당단백질이 숙주세포 표면에 있는 수용체에 결합함으로써 시작된다(2, 3). 레트로바이러스의 막 당단백질은 전구체(precursor molecule)로 합성이 되며 골지체에서 세포내의 프로티아제에 의해 surface (SU) protein과 transmembrane (TM) protein으로 나누어진다(3). Surface (SU) protein은 oligomer를 형성하며 glycosylation되는데 바이러스 막의 바깥쪽에 위치하기 때문에 숙주 면역 반응의 표적이 된다. TM 부위에는 막 융합을 매개하는 'fusion peptide'가 존재하며 초기 막 융합 과정에서 숙주 세포막과 결합하게 된다. PERV-A, B, C형도 모두 외막 단백질의 차이에 의해 3가지 형으로 나누어진다. PERV-A와 B형은 인간 세포주를 감염시킬 수 있으나 PERV-C형은 돼지 세포주만 감염시킬 수 있는 것으로 알려져 있다(23, 24). 현재까지 PERV의 외막 단백질 중 어느 부위가 human tropism에 관여하는지에 대해서는 제한적인 연구만 이루어지고 있다(10). 돼지 내인성 레트로바이러스 사이에서도 재조합이 일어

나 높은 감염가를 나타내는 새로운 바이러스(PERV-A14/220)가 형성되고 PERV-C의 외막 유전자가 PERV-A의 외막 유전자와 재조합하여 PERV-C/A 재조합 외막 바이러스가 만들어지면 돼지 세포주만 감염시킬 수 있던 바이러스가 인간 세포주도 감염할 수 있는 것으로 보고 되었다(16). 이처럼 새로운 재조합 바이러스의 형성은 기존에 존재하고 있는 바이러스와 함께 돼지 장기를 이용한 이종 간 장기 이식시 고려해야 할 중요한 안전성 문제로 대두되고 있으나 인체 세포 감염기전에 대한 연구는 미진한 실정이다. PERV-A와 PERV-C의 재조합 외막 당단백질을 가진 PERV-A14/220는 대부분 PERV-C의 유전자로 구성되어 있으며 수용체와 결합하는 부위만 PERV-A의 외막 유전자로 재조합에 되어 있는데(Fig. 1) PERV-A보다 인간 세포주에서 높은 감염가를 가진다. PERV-A14/220의 PERV-A 외막 단백질 140번 아미노산과 PERV-C 외막 PRR 부위가 높은 감염가에 관여하는 것으로 알려져 있으며 최근 연구에 의하면 PERV-C의 역전사 효율도 재조합 바이러스인 PERV-A14/220의 역가 증가에 관여하는 것으로 밝혀졌다(4, 10, 11).

본 연구에서는 PERV-A14/220의 TM 부위도 PERV-C로부터 유래되었기 때문에 TM 부위가 PERV-A와 PERV-C 외막 재조합 바이러스에 어떤 영향을 미치는지 조사하였다. Pseudotype 바이러스를 만들기 위하여 PK15, MPK, PERV에 감염된 293 세포주로부터 PERV-A와 C 2가지 subtype의 외막 단백질을 모두 증폭할 수 있는 primer를 사용하여 약 2-2.5 kb PCR 산물을 얻었다. 각 subtype에 특이적인 3가지 제한효소인 *Kpn*I, *Bsu*36I, *Ava*I을 처리하여 PCR 산물이 PERV-A와 PERV-C 외막 단백질임을 확인 하였으며 PERV-A, PERV-C, PERV-A/C 외막 재조합 단백질 유전자를 각각 pVPack-Eco 벡터에 클로닝하였다(Fig. 1).

마우스 레트로바이러스(MuLV: murine leukemia virus) packaging cell line (TELCeB6)은 MoMLV (Moloney murine leukemia virus)의 *gag*와 *pol*을 갖고 있으며 동시에 *lacZ* 유전자도 갖고 있기 때문에 이 세포주에 각 subtype의 PERV 외막 유전자를 QIAGEN PolyFect transfection kit를 사용하여 trans-

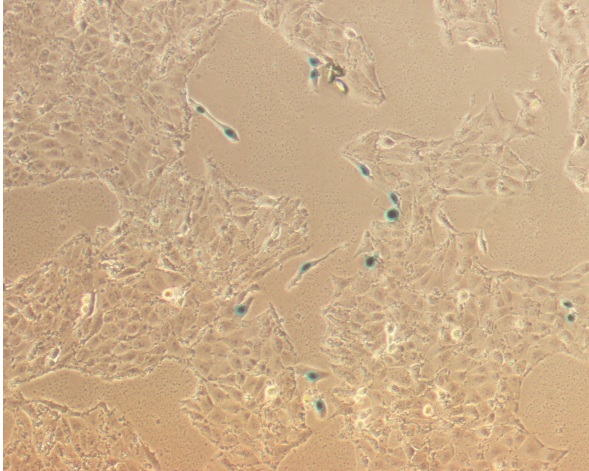


Fig. 2. Susceptibility of PK-15 cells to PERV-C pseudotype infection. Supernatant of pVPack-PERV-C transfected TELCeB6 cells was transferred onto PK-15 cells. Two days after infection with PERV-C *env* pseudotype, PK-15 cells were fixed with 0.5% glutaraldehyde and stained to reveal the presence of β -galactosidase activity. Infectious titers were expressed as the number of blue CFU/ml of virus supernatant.

fection 시켰으며 상층액을 모아 pseudotype assay에 사용하였다. PERV-C 외막 유전자가 제대로 발현이 되어 돼지 세포주를 감염하는지 알아보기 위해 돼지 세포주인 PK15을 감염시켰으며 pseudotype 바이러스가 돼지 세포주를 감염한다는 것을 확인하였다(Fig. 2).

Pseudotype assay 결과 PERV-A 외막을 가진 pseudotype 바이러스는 10^2 CFU/ml 정도의 낮은 감염가를 보였으나 PERV-A 외막의 TM 부위를 PERV-C 외막의 TM 부위로 재조합한 PERV-A/C는 10^3 CFU/ml 정도로 PERV-A 외막보다 더 높은 바이러스 감염가를 나타내었다(Fig. 3). 이러한 결과는 PERV-C의 TM 부위가 재조합 외막 단백질을 비리온 내로 잘 삽입되게 하였거나 세포로부터 바이러스의 출아(budding)를 증가 하였을 것으로 생각된다. 또는 PERV-A/C 재조합 외막 단백질이

PERV-A 단백질 보다 더 안정하여 높은 감염가를 나타냈을 수도 있다.

최근 돼지 내인성 레트로바이러스와 구조가 유사한 마우스 레트로 바이러스의 경우 외막 당단백질 말단 부분을 돌연변이 시킨 결과 말단 부위가 바이러스의 형질도입(transduction)에 관여 한다는 사실이 밝혀졌다(20). 바이러스의 외막 당단백질은 수용체에 부착하여 숙주 세포막과 융합하는데 필수적인 역할을 하고 있으며 바이러스의 침입과정에서의 당단백질의 역할은 이전 연구에서 비교적 자세하게 밝혀졌으나 에너지학적으로 불리한 반응인 숙주 막과 바이러스 막 사이의 지질 혼합 기작은 중요한 의문으로 남아 있다(2, 3). 마우스 레트로바이러스인 경우 수용체와 결합하기에 앞서 R 펩타이드가 분리되어야 하며 돼지 내인성 레트로바이러스의 외막 당단백질에서도 R 펩타이드 분리가 융합을 촉진 시키는 것으로 밝혀졌다(6). R 펩타이드는 마우스 레트로바이러스에서 처음 관찰되었으며 바이러스 프로티아제에 의해 절단되는 TM의 카르복시 말단 16개 아미노산을 지칭한다(617-632번; 외막 단백질 전체 아미노산 갯수는 632개). R 펩타이드의 절단이 외막 당단백질에 의한 바이러스의 침입에 필수적이다. 마우스 레트로바이러스인 경우 R 펩타이드가 막융합을 억제하는 기작은 잘 알려져 있지 않으며 616번 아미노산(leucine)과 617번 아미노산(valine)이 R 펩타이드 절단 위치이다(Fig. 4). 이 절단 위치 주변에 있는 아미노산 중 어떤 아미노산이 막융합 억제에 관여하는지 밝히기 위해 특정 아미노산을 돌연변이 시키는 연구와 R 펩타이드가 절단된 후 남아 있는 TM의 막 가까운 세포질쪽 부위(598-616번 아미노산)의 역할에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(18). Figure 4에서 보는 바와 같이 외막 당단백질의 TM 부위에 뒤따르는 아미노산 서열들은 보통 양친매성(amphiphilicity)을 띄는데 마우스 레트로바이러스인 경우는 R 펩타이드가 절단된 후 남아 있는 아미노산의 양친매성이 바이러스막과 세포막사이의 융합에 관여하는 것으로 알려져 있다(20). 돼지 내인성 레트로바이러스인 경우도 R 펩타이드가 절단된 후 남아 있는 아미노산이 양친매성을 띤다. PERV-A TM과 PERV-C TM의

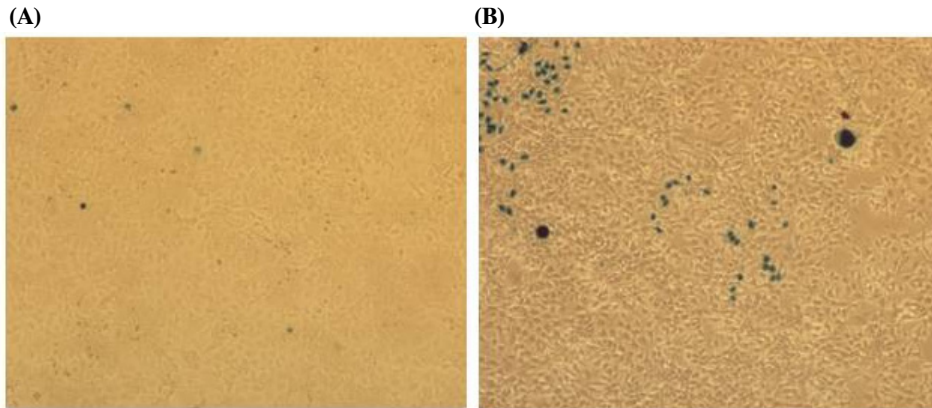


Fig. 3. Susceptibility of 293 cells to PERV-A and PERV-A/C pseudotype infection. 293 cells were inoculated with 1 ml of virus in the presence of 8 μ g/ml polybrene. Two days after infection with PERV-A (A) and PERV-A/C pseudotype (B), cells were fixed with 0.5% glutaraldehyde and stained to reveal the presence of β -galactosidase activity. Infectious titers were expressed as the number of blue CFU/ml of virus supernatant.

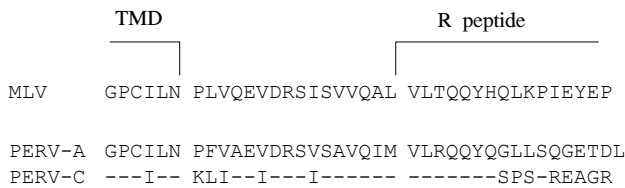


Fig. 4. Alignment of cytoplasmic tail sequences from MuLV (GenBank M 14702), PERV-A (Y12238) and PERV-C (MPK; minipig kidney cell line). The position of the transmembrane domain (TMD) and R peptide are indicated. The cytoplasmic tail of the PERV-A Env protein differs from that of PERV-C by 14 amino acid changes.

세포질쪽 꼬리 부위는 14개의 아미노산 차이를 보이는데 이러한 차이가 PERV-A/C 외막 재조합 바이러스의 감염이 증가에 관여한 것으로 판단되며 각각의 아미노산을 돌연변이 시켜 구체적으로 어느 아미노산이 PERV-A/C의 높은 감염가에 관여하는지 밝혀내어야 할 것이다. 본 연구는 이종 간 장기 이식용 미니돼지를 선택할 때 PERV-C를 발현하지 않는 돼지를 선택하는 것이 높은 역가를 가지는 새로운 재조합 바이러스의 출현을 억제할 수 있음을 시사한다.

적요

돼지를 이용한 이종 간 장기이식은 인간 세포주를 감염시킬 수 있는 것으로 알려진 돼지 내인성 레트로바이러스의 존재로 인해 실제 적용에 어려움이 있다. PERV (Porcine Endogenous Retrovirus: PERV)-A와 PERV-B는 *in vitro* 상에서 인간 세포주와 돼지 세포주를 동시에 감염시킬 수 있으나 PERV-C는 단지 돼지 세포주만 감염시킬 수 있다. 또한 PERV-A와 PERV-B 또는 PERV-A와 PERV-C 사이에 재조합이 일어나 새로운 위험한 바이러스가 출현할 가능성이 있다. 최초의 재조합 바이러스인 PERV-A14/220은 대부분 PERV-C의 유전자로 구성 되어 있으며 수용체와 결합하는 부위만 PERV-A의 외막 유전자로 재조합이 되어 있는데 PERV-A보다 500배 이상 높은 감염가를 가진다. PERV-A14/220의 경우 PERV-A 외막 단백질 140 번째 아미노산과 PERV-C 외막 PRR (proline rich region) 부위가 높은 감염가에 관여하는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 막 융합에 관여하는 PERV-C의 세포질쪽 C-말단 부위 또한 재조합 바이러스의 높은 감염가에 관여하는지 알아보기 위해 PERV-A/C의 재조합 외막 당단백질을 가진 pseudotype 바이러스를 만들어 사람 세포주에서 감염가를 측정하였는데 PERV-A 보다 재조합 바이러스가 10배 이상 높은 감염가를 나타내었다. 이러한 연구 결과는 PERV-C의 C-말단 막당단백질에 존재하는 양친매성 부위가 재조합 바이러스의 높은 감염가에 관여한 것으로 판단된다.

감사의 말

이 논문은 2008년 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(KRF-2008-331-C00210).

이 연구는 2009학년도 단국대학교 대학원 연구 보조 장학금의 지원으로 이루어진 것임.

참고문헌

1. Akiyoshi, D.E., M. Denaro, H. Zhu, J.L. Greenstein, P. Banerjee, and J.A. Fishman. 1998. Identification of a full-length cDNA for an endogenous retrovirus of miniature swine. *J. Virol.* 72, 4503-4507.
2. Albritton, L.M., J.W. Kim, L. Tseng, and J.M. Cunningham. 1993. Envelope-binding domain in the cationic amino acid transporter determines the host range of ecotropic murine retroviruses. *J. Virol.* 67, 2091-2096.
3. Anderson, K.B. and H. Skov. 1989. Retrovirus-induced cell fusion is enhanced by protease treatment. *J. Gen. Virol.* 70, 1921-1927.
4. Argaw, T., M. Figueroa, D.R. Salomon, and C.A. Wilson. 2008. Identification of residues outside of the receptor binding domain that influence the infectivity and tropism of porcine endogenous retrovirus. *J. Virol.* 82, 7483-7491.
5. Bach, F.H., J.A. Fishman, N. Daniels, J. Proimos, B. Anderson, C.B. Carpenter, L. Forrow, S.C. Robson, and H.V. Fineberg. 1998. Uncertainty in xenotransplantation: individual benefit versus collective risk. *Nat. Med.* 4, 141-144.
6. Bobkova, M., J. Stitz, M. Engelstädter, K. Cichutek, and C.J. Buchholz. 2002. Identification of R-peptides in envelope proteins of C-type retroviruses. *J. Gen. Virol.* 83, 2241-2246.
7. Chapman, L.E., T.M. Folks, D.R. Salomon, A.P. Patterson, T.E. Eggerman, and P.D. Noguchi. 1995. Xenotransplantation and xenogenic infections. *N. Engl. J. Med.* 333, 1498-1501.
8. Denner, J. 2008. Recombinant porcine endogenous retroviruses (PERV-A/C): a new risk for xenotransplantation? *Arch. Virol.* 153, 1421-1426.
9. Fishman, J.A. 1998. Infection and xenotransplantation. Developing strategies to minimize risk. *Ann. NY Acad. Sci.* 862, 52-66.
10. Gemeniano, M., O. Mpanju, D.R. Salomon, M.V. Eiden, and C.A. Wilson. 2006. The infectivity and host range of the ecotropic porcine endogenous retrovirus, PERV-C, is modulated by residues in the C-terminal region of its surface envelope protein. *Virology* 346, 108-117.
11. Harrison, L., Y. Takeuchi, B. Bartosch, and J.P. Stoye. 2004. Determinants of high titer in recombinant porcine endogenous retroviruses. *J. Virol.* 78, 13871-13879.
12. Le Tissier, P., J.P. Stoye, Y. Takeuchi, C. Patience, and R.A. Weiss. 1997. Two sets of human-tropic pig retrovirus. *Nature* 389, 681-682.
13. Martin, U., V. Kiessig, J.H. Blusch, A. Haverich, K. von der Helm, T. Herden, and G. Steinhoff. 1998. Expression of pig endogenous retrovirus by primary porcine endothelial cells and infection of human cells. *Lancet* 352, 692-964.
14. Martin, U., G. Steinhoff, V. Kiessig, M. Chikobava, M. Anssar, T. Morschheuser, B. Lapin, and A. Haverich. 1998. Porcine endogenous retrovirus (PERV) was not transmitted from transplanted porcine endothelial cells to baboons *in vivo*. *Transplant Int.* 11, 247-251.
15. Oldmixon, B.A., J.C. Wood, T.A. Ericsson, C.A. Wilson, M.E. White-Scharf, G. Andersson, J.L. Greenstein, H.J. Schuurman, and C. Patience. 2002. Porcine endogenous retrovirus transmission characteristics of an inbred herd of miniature swine. *J. Virol.* 76, 3045-3048.
16. Park, S.H., E.H. Bae, S.M. Park, J.W. Park, M.S. Lim, and Y.T. Jung. 2008. Isolation and characterization of PERV-C env from domestic pig in Korea. *J. Microbiol. Biotechnol.* 18, 1735-1740.

17. Patience, C., W.M. Switzer, Y. Takeuchi, D.J. Griffiths, M.E. Goward, W. Heneine, J.P. Stoye, and R.A. Weiss. 2001. Multiple groups of novel retroviral genomes in pigs and related species. *J. Virol.* 75, 2771-2775.
18. Patience, C., Y. Takeuchi, and R.A. Weiss. 1997. Infection of human cells by an endogenous retrovirus of pigs. *Nat. Med.* 3, 282-286.
19. Patience, C., D.A. Wilkinson, and R.A. Weiss. 1997. Our retroviral heritage. *Trends Genet.* 13, 116-120.
20. Rozenberg-Adler, Y., J. Conner, H. Aguilar-Carreno, S. Chakraborti, D.S. Dimitrov, and W.F. Anderson. 2008. Membrane-proximal cytoplasmic domain of Moloney murine leukemia virus envelope tail facilitates fusion. *Exp. Mol. Pathol.* 84, 18-30.
21. Sachs, D.H., M. Sykes, S.C. Robson, and D.K. Cooper. 2001. Xenotransplantation. *Adv. Immunol.* 79, 129-223.
22. Specke, V., S.J. Tacke, K. Boller, J. Schwendemann, and J. Denner. 2001. Porcine endogenous retroviruses: *in vitro* host range and attempts to establish small animal models. *J. Gen. Virol.* 82, 837-844.
23. Sypniewski, D., G. Machnik, U. Mazurek, T. Wilczok, Z. Smorag, J. Jura, and B. Gajda. 2005. Distribution of porcine endogenous retroviruses (PERVs) DNA in organs of a domestic pig. *Ann. Transplant.* 10, 46-51.
24. Takeuchi, Y., C. Patience, S. Magre, R.A. Weiss, P.T. Banerjee, P. Le Tissier, and J.P. Stoye. 1998. Host range and interference studies of three classes of pig endogenous retrovirus. *J. Virol.* 72, 9986-9991.
25. Wilson, C.A., S. Wong, J. Muller, C.E. Davidson, T.M. Rose, and P. Burd. 1998. Type C retrovirus released from porcine primary peripheral blood mononuclear cells infects human cells. *J. Virol.* 72, 3082-3087.