

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory

Obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Mirka Famfulíková

Endogenní retrovirové elementy a jejich funkce v lidském genomu

Endogenous retroviral elements and their functions in the human genome

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: Mgr. Jan Pačes, Ph.D.

Praha 2014

Poděkování:

Na tomto místě bych chtěla poděkovat všem, kteří mě podporovali po celou dobu mého studia. Dík patří mým rodičům a přátelům za jejich neutuchající lásku a trpělivost a mému školiteli Mgr. Janu Pačesovi, PhD. a dále také Prof. RNDr. Václavu Pačesovi, DrSc. dr. h. c., MUDr. Danielu Ellederovi, PhD. a Bc. Vojtěchu Dostálovi, za jejich cenné rady a pomoc při vypracování této práce.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla veškeré použité informační zdroje a literaturu. Tato práce, ani její podstatná část nebyla předložena k získání stejného nebo jiného akademického titulu.

V Praze dne

podpis

Abstrakt

Lidský genom obsahuje kromě kódujících oblastí také nekódující, ke kterým řadíme transponovatelné elementy, které jsou schopny se v genomu přemísťovat. Pozůstatky dávných retrovirových infekcí – endogenní retroviry (*human endogenous retroviruses* = HERVs) patří mezi transponovatelné elementy obsahující LTR sekvence na 5' i 3' konci. Lidské endogenní retroviry tvoří až 8% lidského genomu. Nejsou jen nečinnými relikty, ale zastávají i klíčové funkce. Zvětšují plasticitu lidského genomu a v některých případech se v LTR mohou nacházet vazebná místa pro určité proteiny (např. p53). Geny *env* rodin HERV-W a HERV-FRD byly lidským genomem kooptovány a nyní jsou exprimovány jako proteiny Syncytin-1 a Syncytin-2, nezbytné při formování lidské placenty. Bohužel HERV elementy mohou mít na člověka také negativní dopad. V posledních dekádách jsou často diskutovány v souvislosti s některými onemocněními, jako je např. roztroušená skleróza, schizofrenie, proliferace HIV a různé druhy rakovinného bujení. Role elementů HERV v lidském genomu není stále ještě jednoznačně známá a jejich výzkum se zintenzivňuje.

Klíčová slova: lidský genom, transpozice, transponovatelné elementy, retroelementy, lidské endogenní retroviry, HERV

Abstract

In addition to the coding sequences, the human genome contains a so noncoding DNA, among which we count transposable elements capable of transposition in the genome. The remnants of the past retrovirus infections – endogenous retroviruses (*human endogenous retroviruses* – HERVs) belong to the transposable elements, which contain the LTR sequences. Human endogenous retroviruses make up to 8% of the size of the human genome. The retroviruses are not only passive relicts, but they have gained some key functions - too. They increase the plasticity of the human genome and some HERV LTRs can serve as binding sites for transcription factors like. Env protein from the families HERV-W and HERV-FRD were coopted by the human genome and are nowadays expressed as proteins Syncitin-1 and Syncitin-2, which are necessary by the forming of human placenta. Unfortunately, the HERV elements can have a negative health impacts. In the last decades they are subject of a debate in connection with various diseases, such as multiple sclerosis, schizophrenia, HIV proliferation and some types of tumorigenesis. The role of HERVs in the human genome is not completely known yet and it is important to continue with their research.

Key words: human genome, transposition, transposable elements, retroelements, human endogenous retroviruses, HERV

Seznam použitých zkratek

A – Polyadenylační signál

AD – Alzheimerova choroba, Alzheimer's disease

ADC - AIDS Dementia Complex

AIDS - Acquired Immune Deficiency Syndrome

ASLV – virus ptačího sarkomu, avian sarcoma-leucosis virus

CA – Kapsidu kódující úsek

CNS – Centrální nervová soustava

CT- pojivová tkáň, connective tissue

CTL – Cytotoxické T-lymfocyty

Cy - Cytotrofoblast

DNA – Deoxyribonukleová kyselina, deoxyribonucleic acid

E – Enhancer

env – Gen pro obal, envelope

ERV – Endogenní retrovirus, endogenous retrovirus

gag - Group specific antigen

GAPDH – Glyceraldehyd 3-fosfát dehydrogenáza

HERV – Human endogenous retrovirus

HERV-Ag – HERV antigen

HFV – Human foamy virus

HG – Lidský genom, human genome

HIV - Virus lidské imunitní nedostatečnosti, human immunodeficiency virus

INT – Integrázový protein

L1 – LINE-1

L2 – LINE-2

LINE – Dlouhé rozptýlené elementy, long interspersed elements

LTR – Dlouhé koncové repetice, long terminal repeat

MA – Matrix kódující úsek

MLV – Virus myší leukemie, murine leukemia virus

MMTV – Mouse mammary tumor virus

MS – Roztroušená skleróza, multiple sclerosis

MSRV - Multiple sclerosis asociated retrovirus, retrovirus spojený s roztroušenou sklerózou

NCA – Nukleokapsidu kódující úsek

P – Promotor

PBS – Místo vazby primeru, primer binding site

pol – Gen pro polymerázu

Pol – Polymeráza

PPT – Polypurine tract = polypurinové místo

Pr – Protilátky

pro – Gen pro proteázu

R – Repetice

RNA – Ribonukleová kyselina, ribonucleic acid

RT – Úsek kódující reverzní transkriptázu

SINE – Krátké rozptýlené repetice, short interspersed elements

SIR – Krátká obrácená repetice, short inverted repeat

SU- Povrchový glykoprotein, surface glycoprotein

Sy - Syncytiotrofoblast

TE – Transponovatelné elementy

TM- Transmembránový glykoprotein

U3 – Nepřekládaná sekvence na 3' konci, Untranslated region

U5 – Nepřekládaná sekvence na 5' konci, Untranslated region

UTR – Nepřekládaný region, untranslated region

XRV – Exogenní retrovirus, exogenous retrovirus

Obsah

1. Úvod	1
2. Lidské endogenní retroviry	2
2.1 Základní popis elementů HERV.....	2
2.2 Struktura HERV	4
2.3 Vznik endogenního retroviru	5
2.4 Životní cyklus endogenního retroviru.....	5
2.4.1 Transkripce.....	7
2.4.2 Reverzní transkripce.....	8
2.4.3 Integrace	8
2.5 Klasifikace elementů HERV	10
2.5.1 Vybrané rodiny elementů HERV	10
3. Funkce elementů HERV v lidském genomu	12
3.1 Pozitivní efekt elementů HERV na lidský genom a člověka	13
3.1.1 Syncytin	14
3.1.2 Exprese receptoru pro leptin ovlivněná LTR HERV-K.....	15
3.2 Patogenní potenciál elementů HERV	15
3.2.1 Elementy HERV a roztroušená skleróza	16
3.2.2 Elementy HERV a psychická onemocnění.....	16
3.2.3 Elementy HERV a HIV.....	16
3.3 Elementy HERV a nádorová onemocnění	18
4. Závěr	20
5. Bibliografie	23

1. Úvod

Rok 2001 byl pro molekulární genetiku člověka zcela přelomovým. V rámci projektu *Human Genome Project* byl sekvenován a analyzován lidský genom (*human genome* = HG). V současnosti je jeho sestavení z jednotlivých čtení stále zdokonalováno a velikost HG je určena na $\sim 3,209286 \times 10^9$ nukleotidů.¹⁻³

Kromě částí genomu tvořících geny obsahuje HG také nekódující oblasti, které byly dříve označovány jako „*junk DNA*“.⁴ Mezi nekódující oblasti řadíme také transponovatelné elementy (TE) – sekvence schopné transpozice v rámci genomu.⁵ TE zaujímají okolo 45% HG.¹ Rozdělení TE viz **Obr. 1**.

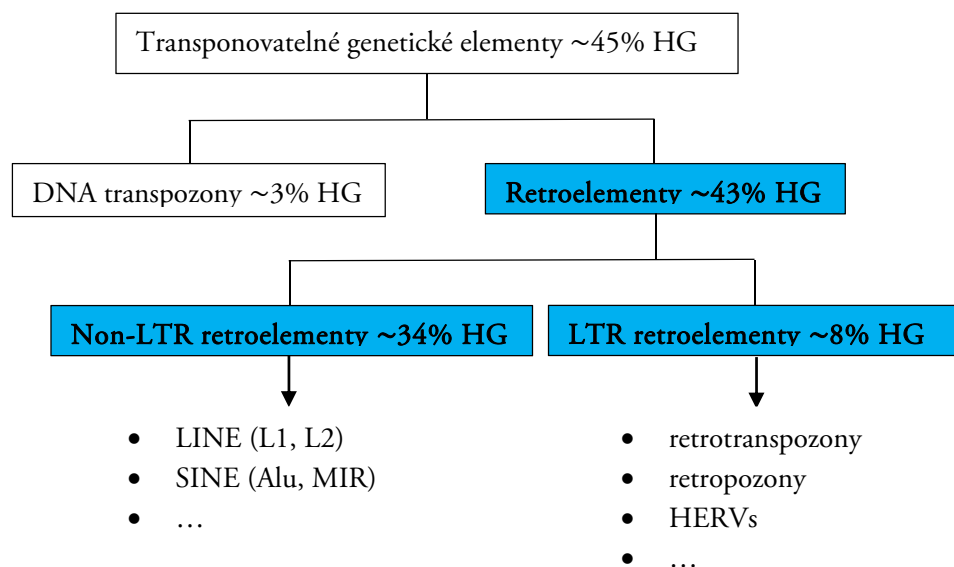
TE jsou zastoupeny u většiny eukaryotických organismů. V rámci jednotlivých tříd a druhů jsou variabilní.⁶ Pro vyšší eukaryotické organismy existuje ustálené rozdělení, které je obecně platné pro většinu z nich.^{7,8} Lidské TE je možno rozdělit do dvou hlavních skupin, podle typu intermediátu účastnícího se jejich transpozice: RNA (třída I čili retroelementy) a DNA (třída II čili DNA transpozony). Retroelementy zaujímají 43% HG a mechanismus jejich transpozice je nazýván jako „*copy-and-paste*“ („kopírovat-a-vložit“) a v jejich cyklu figuruje enzym reverzní transkriptáza tj. RNA-dependentní DNA-polymeráza. DNA transpozony tvoří oproti tomu jen 3% velikosti HG a jejich transpozice je označována jako „*cut-and-paste*“ („vyjmout-a-vložit“).^{1,8-10}

Rozlišujeme dvě skupiny retroelementů. LTR retroelementy a non-LTR retroelementy. LTR retroelementy tvoří kolem 8% HG a patří mezi ně především retrotranspozony, retropozony a lidské endogenní retroviry (*human endogenous retroviruses* = HERVs). Sekvence LTR retroelementů je ohraničena dlouhými terminálními repeticemi (*long-terminal repeats* = LTR), které slouží jako promotorové a terminátorové oblasti.^{1,11-17} Non-LTR retroelementy jsou se svými 34% HG početnější skupinou retroelementů.¹ Nejhojněji zastoupené jsou LINE (*long interspersed elements*) a SINE (*short interspersed elements*). U LINE se na 5' i 3' konci nachází UTR (*untranslated region*). LINE si kódují vlastní polymerázu – Pol II. Nejsou tedy závislé na jiných TE a jsou proto nazývány autonomními elementy. Nejabundantnějšími LINE jsou u člověka L1 (LINE-1). Tvoří 17% jeho genomu. Dalšími zástupci jsou L2 (LINE-2).^{1,16,18,19} SINE jsou elementy odvozené od genů transkribovaných RNA Pol III a jsou jí také přepisovány. Jsou velmi malé a nekódují žádný protein. „Životaschopné“ jsou jedině díky autonomním elementům, jejichž replikační aparát

využívají. Nazývají se proto neautonomní elementy a nejhojněji zastoupené jsou Alu elementy, tvořící více než 10% HG.^{1,20,21}

Retroelementy nejsou jen mrtvými společníky člověka, ale zastávají mnoho dnes již krucálních funkcí. Příkladem může být například syncytin, který původně pochází z retrovirové RNA a začal být využíván člověkem.²² TE a z nich nejvíce retroelementy mohou také sloužit jako transkripční regulátory a pokud se integrují v blízkosti promotoru/enhanceru konkrétního genu, mohou zcela ovlivnit jeho další osud.^{23,24} V současnosti je stále více aktuální téma souvislosti HERV elementů s rakovinou.^{16,25}

V této práci se zaměřuji na endogenní retroviry v lidském genomu, na jejich strukturu a funkce, které v lidském genomu mají, ať se již jedná o pozitivní vliv na organismus, nebo souvislost s některými onemocněními.



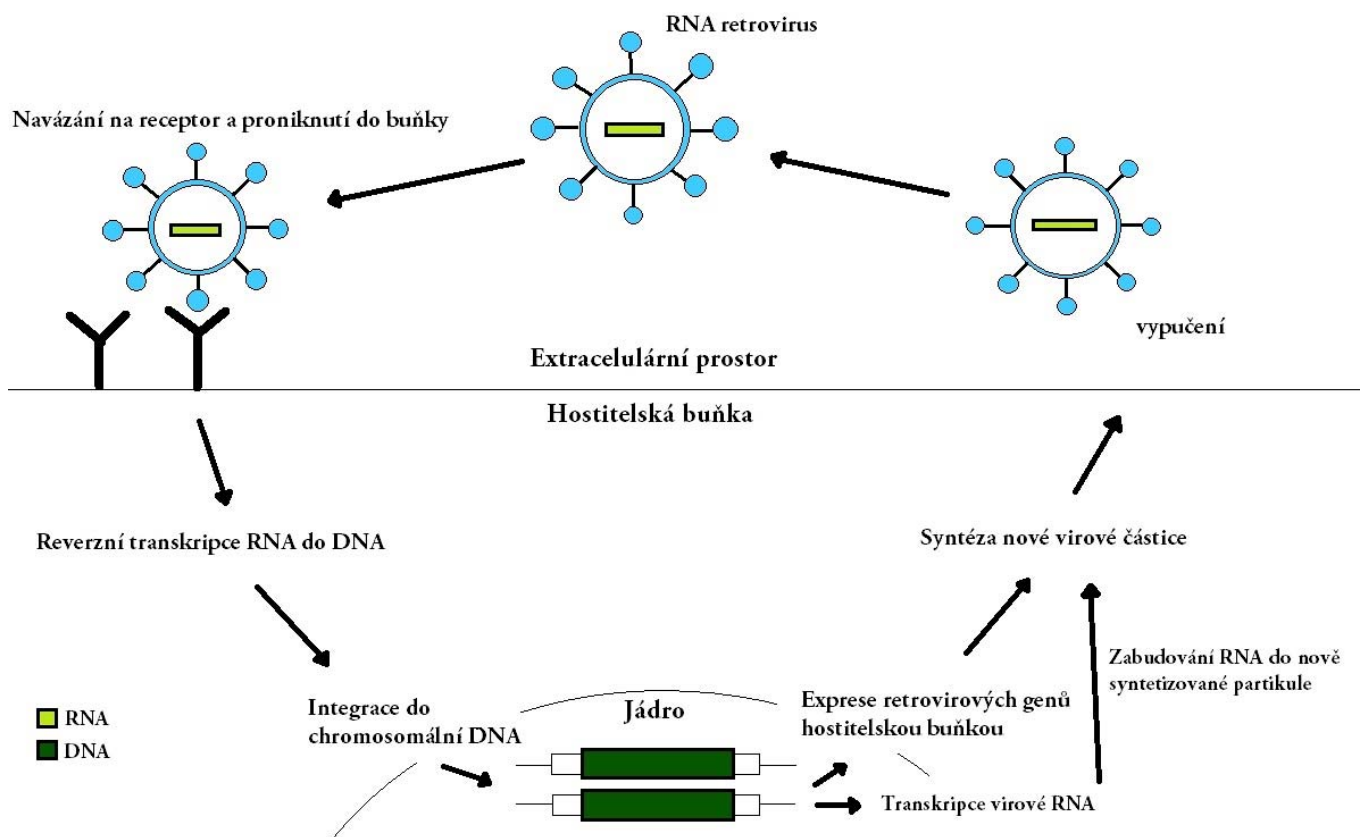
Obr. 1: Rozdělení transponovatelných genetických elementů v lidském genomu. Překresleno podle ¹⁶.

2. Lidské endogenní retroviry

2.1 Základní popis elementů HERV

Nejpočetnější skupinou lidských LTR retroelementů jsou endogenní retroviry. Jsou to pozůstatky dávných retrovirových infekcí člověka a jeho předků, které již nejsou schopny reinfekce.

Endogenní retroviry přetrvávají v genomu hostitele tisíce i miliony let. Exogenní retroviry (XRV) běžně infikují somatické buňky a retrovirové geny následně integrované do hostitelského genomu se nepřenášejí na hostitelovo potomstvo. Některé typy retrovirů ale mohou infikovat i buňky zárodečné, čímž „kolonizují“ germinální linii hostitele. Důsledkem toho se retroviry přenášejí z infikovaných germinálních buněk hostitele na jeho potomstvo a vznikají tak retroviry endogenní.^{26–28} Replikační cyklus XRV znázorňuje Obr. 2.



Obr. 2: Replikační cyklus exogenního retroviru. Překresleno a upraveno podle ²⁸.

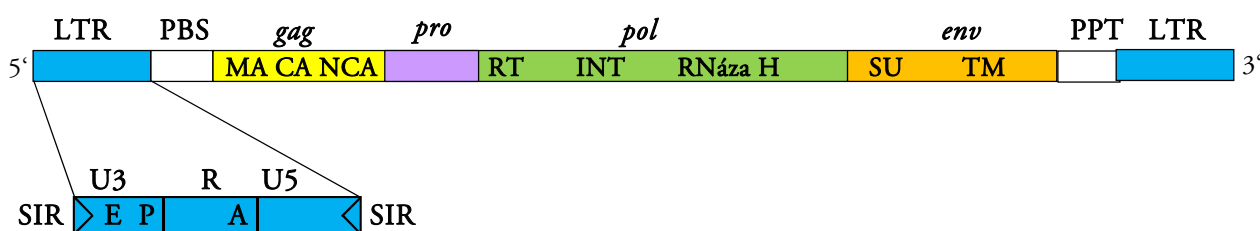
Lidské endogenní retroviry byly podrobeny různým evolučním událostem. Proběhlo u nich mnoho transpozičních aktivit, byly amplifikovány a nevyhnuły se jim ani četné mutace a delece. Kvůli tomu je dnes možné najít elementy HERV prakticky ve všech částech lidského genomu, ale většinou u nich neprobíhá genová exprese.^{13,26,29}

Existuje databáze, která obsahuje veškeré známé HERV sekvence, nazvaná HERVd. Je volně dostupná na internetu (<http://herv.img.cas.cz>) a může být výborným nástrojem

pro identifikaci endogenních retrovirů v konkrétním lidském genomu nebo transkriptomu.^{30,31} Databáze je sestavena pro verzi lidského genomu *hg17*. V současnosti probíhá aktualizace pro verzi *hg19*. Kromě HERVd lze HERV sekvence nalézt v Repbase, což je databáze všech repetitivních elementů v HG.^{32,33}

2.2 Struktura HERV

Lidské endogenní retroviry mají analogickou strukturu jako provirus infekčního exogenního retroviru. Obsahují na 3' i 5' konci LTR. Ty jsou tvořeny nepřekládanými 3' a 5' (U3 a U5) sekvencemi, které jsou rozděleny repeticí (R). Většina endogenních retrovirů obsahuje čtyři geny *gag*, *pro*, *pol* a *env*. Nejblíže 5'LTR je *gag* (*group specific antigen*). Jeho produktem je polyprotein dělící se na proteiny matrix, kapsidy a nukleokapsidy. Na rozhraní genů *gag* a *pol* se nachází gen pro proteázu (*pro*). Gen *pol* (*polymerase*) kóduje reverzní transkriptázu (RT), integrázu a RNázu H. RT HERV je schopna jak RNA-, tak i DNA-dependentní DNA syntézy a je nejkonzervovanějším genem endogenních retrovirů. Gen *env* (*envelope*) kóduje transmembránový a povrchový glykoprotein. Mezi 5'LTR a *gag* se nachází místo, kam se při replikaci váže primer (*primer binding site* = PBS). Mezi 3'LTR a genem *env* najdeme polypurinové místo (*polypurine tract* = PPT).^{16,17,29,34} Strukturu HERV schematicky znázorňuje Obr. 3.



Obr. 3: Schéma HERV struktury.^{8,17,28,34,35}

LTR – long terminal repeat = dlouhá koncová repetice, PBS – primer binding site, MA – matrix kódující úsek, CA – kapsidu kódující úsek, NCA – nukleokapsidu kódující úsek, RT – úsek kódující reverzní transkriptázu, INT – úsek kódující integrázu, SU – povrchový glykoprotein (surface glycoprotein), TM – transmembránový glykoprotein, PPT – polypurine tract = polypurinové místo, U3 – nepřekládaná sekvence na 3' konci, U5 – nepřekládaná sekvence na 5' konci, R – repetice, E – enhancer, P – promotor, A – polyadenylační signál, SIR – short inverted repeat = krátká obrácená repetice.

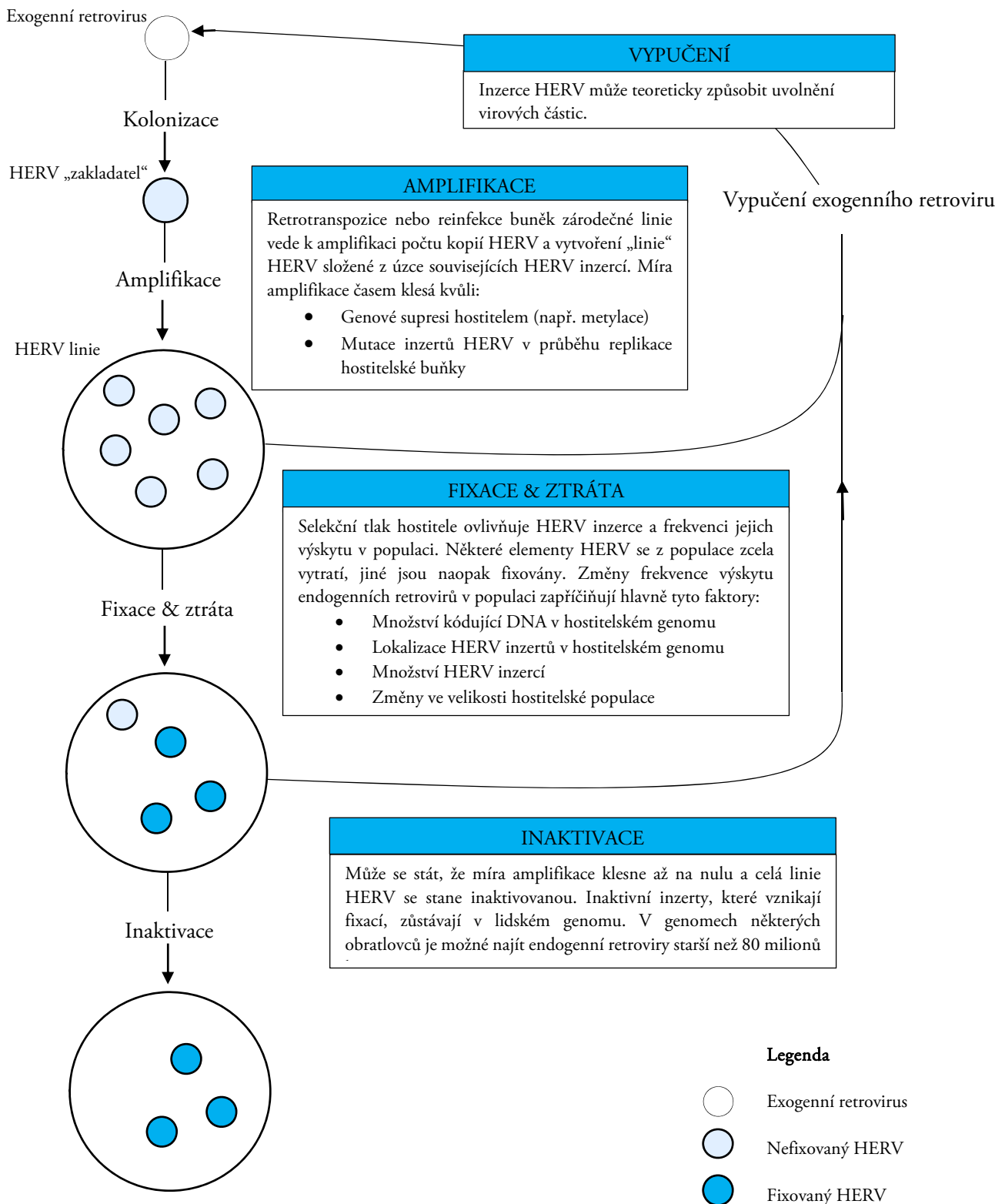
Jak již bylo zmíněno, prošly během evoluce jednotlivé elementy HERV mnohými změnami. Jejich geny mají většinou porušený otevřený čtecí rámeček (*open reading frame* = ORF). Např. ze ~4000 míst v HG, kde se vyskytuje gen *env* některého elementu HERV jen 16 z nich obsahuje celý ORF, který může být potenciálně exprimován jako Env protein. U genů *gag* a *pol* je rozdíl mezi počtem míst v HG obsahující jejich ORF celý/porušený ještě větší – *gag* 9500/17 a *pol* 20900/13.^{36,37}

2.3 Vznik endogenního retroviru

Je pravděpodobné, že retroviry, které infikovaly germinální buňky člověka a jeho předchůdců, byly silnou negativní selekcí z genomu nakonec většinou odstraněny. Integrace v blízkosti nebo uvnitř důležitých genů měla nepříznivý vliv na buňku a tím i celý organismus. Takové inzerty se v genomu dlouho neudržely. Nicméně ty elementy HERV, které hostitele příliš neomezovaly a neměly na něj negativní vliv, byly šířeny vertikálním přenosem a jejich frekvence v hostitelské populaci rostla v důsledku genetického driftu nebo genetického draftu (*genetic hitchhiking*).^{38,39} Současně si mohou elementy HERV udržet schopnost replikace a v průběhu času generovat další inzerce v germinální linii pomocí retrotranspozice nebo reinfekce.²⁸ Tyto dvě cesty dávají vzniknout smíšené populaci fixovaných a nefixovaných elementů obsažených v jedné monofyletické HERV „linii“. Jelikož se tento proces týká poměrně nízkého počtu virových replikačních cyklů, tyto linie jsou vždy úzce spojené s původním virovým „zakladatelem“. Poměr mezi fixovanými a nefixovanými elementy v rámci jedné linie je ovlivněn mnohými faktory, jakými jsou např. věk, retrotranspoziční aktivita virů, změny v hostitelské populaci a samozřejmě i selekční tlak, který je hostitelem na inzertovaný HERV vyvíjen. Vznik HERV je znázorněn na **Obr. 4**.

2.4 Životní cyklus endogenního retroviru

Pro všechny retroelementy je společné vytvoření transkriptu RNA, který je následně reverzní transkripcí přepsán do DNA. Ta je integrována na nové místo v genomu. Tento proces je tedy replikativní a nedochází ke ztrátě retroelementu z jeho původní pozice.¹⁷

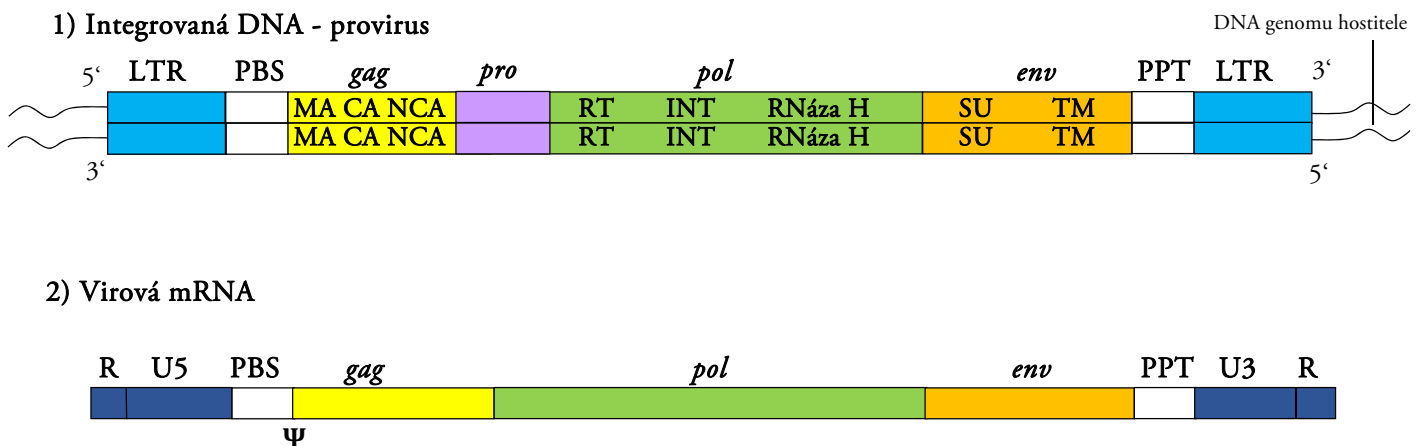


Obr. 4: Vznik endogenního retroviru. Překresleno a upraveno podle ²⁸.

Životní cyklus endogenního retroviru začíná transkripcí jeho kopie integrované v genomu hostitele. Vzniklá mRNA je transportována z jádra do cytoplazmy, kde je translatována. Zvláště je transkribovaná virová genomická RNA, která je pak zabudována do nové partikule (pokud by u elementů HERV došlo k jejímu vzniku). Reverzní transkripce obvykle probíhá ve virové partikuli v cytoplazmě. Výsledná cDNA je transportována zpět do jádra, společně s virovou integrázou, pomocí které je inzertována do genomu hostitele.^{17,35,40,41}

2.4.1 Transkripce

Transkripce provirus začíná na promotoru, který je obsažen v U3 oblasti 5'LTR. Transkripce tedy začíná na rozhraní U3-R a končí v 3'LTR na rozhraní R-U5. Terminace transkripce je zajištěna polyadenylačním signálem. Ten se nachází i na rozhraní v U3-R 5'LTR regionu, ale až na pár výjimek končí transkripce vždy ve 3'LTR, kvůli supresi terminace transkripce při velmi krátké vzdálenosti mezi promotorem a polyadenylačním signálem. Transkripce probíhá v cytoplazmě.^{17,28,35,41} Srovnání DNA provirusu inkorporovaného do hostitelského genomu a retrovirové mRNA ukazuje Obr. 5.



Obr. 5: Srovnání DNA provirusu integrovaného do hostitelského genomu a retrovirové mRNA.^{16,17,28,34,40,35} LTR – long terminal repeat = dlouhá koncová repetice, PBS – primer binding site, MA – matrix kódující úsek, CA – kapsidu kódující úsek, NCA – nukleokapsidu kódující úsek, RT – úsek kódující reverzní transkriptázu, INT – integrázu kódující úsek, SU- povrchový glykoprotein (surface glycoprotein), TM - transmembránový glykoprotein PPT – polypurine tract = polypurininové místo, U3 – nepřekládaná sekvence na 3' konci, U5 – nepřekládaná sekvence na 5' konci, Ψ – „leader sekvence“ obsahující packing signál pro retrovirové RNA

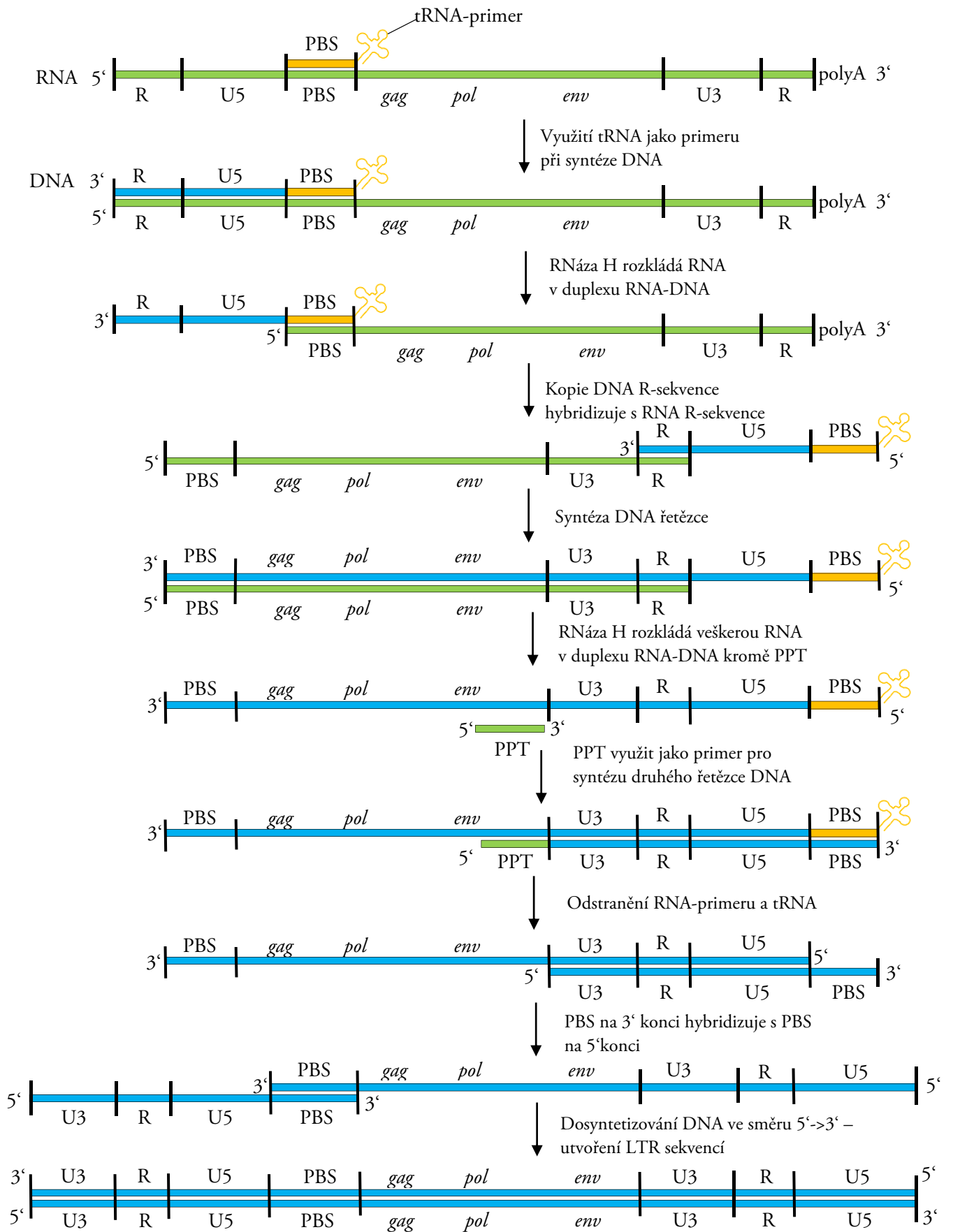
2.4.2 Reverzní transkripce

Celý proces reverzní transkripce začíná syntézou jednořetězcové DNA, komplementární k jednořetězcové virové mRNA. Reverzní transkripci zahajuje molekula tRNA komplementární k PBS na 5'LTR. Poté co RT syntetizuje 3' konec virové DNA, rozloží RNáza H v duplexu RNA-DNA virovou RNA. Tento rozklad umožní, aby se R sekvence nově syntetizovaného DNA řetězce mohly párovat s R sekvencemi na 3' konci RNA viru. Nakonec R oblast DNA řetězce „přeskočí“ z 5' na 3' konec RNA viru. RT pak může dokončit tvorbu kopie DNA s využitím 5' oblasti RNA jako templátu. V dalším kroku RNáza H rozloží veškerou RNA v duplexu RNA-DNA s výjimkou PPT. Tento úsek je využíván k zahájení syntézy druhého řetězce DNA, odpovídajícího 3' polovině retrovirového genomu. Po odstranění tRNA a genomové RNA z duplexů RNA-DNA dochází ke druhému „skoku“, během něhož se PBS na 5' konci druhého řetězce DNA hybridizuje s komplementárním PBS na 5' konci prvního řetězce DNA. 3' hydroxylové konce obou řetězců pak slouží k zahájení syntézy DNA, aby mohla být dokončena dvouřetězcová molekula. Konverze retrovirové RNA na DNA vede k tvorbě LTR na obou koncích molekuly.^{17,28,35,40-42} Mechanismus reverzní transkripce HERV znázorňuje schéma na **Obr. 6**.

2.4.3 Integrace

Začlenění retrovirové DNA do hostitelského genomu je katalyzováno enzymem integrázou (INT), která má endonukleázovou aktivitu. Štěpením konců poblíž LTR nejdříve INT vytvoří 5' přesahující konce. Ty jsou pak použity k napadení fosfodiesterových vazeb v cílové DNA sekvenci hostitele, katalyzovaných INT. Tento krok vede k vytvoření vazeb mezi retrovirovým řetězcem a řetězcem hostitele. Provirus je v místě začlenění duplikován a stává se tak součástí hostitelské buňky, ve které se replikuje jako každý jiný segment její vlastní DNA.^{17,28,35,40,41}

Různé XRV mají různé integrační preference v HG. HIV (*human immunodeficiency virus*) se preferenčně integruje do míst aktivních genů. Naproti tomu virus myší leukemie (*murine leukemia virus* = MLV) se většinou integruje do promotorových oblastí genů, které nemusí být nutně aktivní. Nejmenší preferenční požadavky na integraci má pak z trojice zkoumaných XRV virus ptačího sarkomu (*Avian sarcoma-leucosis virus* = ASLV).⁴³



Obr. 6: Replikace retrovirového genomu.^{17,35,42,44,45}

LTR – long terminal repeat, **PBS** – primer binding site, **PPT** - polypurine tract, **U3** – nepřekládaná sekvence na 3' konci, **U5** – nepřekládaná sekvence na 5' konci

2.5 Klasifikace elementů HERV

Klasifikační systém endogenních retrovirů je rozděluje do třech hlavních skupin (I, II, III), na základě podobnosti k sekvencím různých rodin exogenních retrovirů.^{26,46–48} Kromě skupin můžeme dělit elementy HERV do rodin. Jména rodin jsou založená na pojmenování po jednopísmenné zkratce aminokyseliny, která je nesena tRNA, jež je komplementární k PBS. Tato nomenklatura se stále používá, převážně z historických důvodů, přestože HERV elementy patřící do jedné rodiny často nemají PBS komplementární k aminokyselině nesené tRNA, podle které je jejich rodina pojmenovaná. Do stejných rodin jsou endogenní retroviry řazeny na základě sekvenční homologie.^{26–28,34,49} Elementy HERV skupiny I jsou příbuzné gamaretrovirům, jako je například MLV. Mezi nejdůležitější rodiny řazené do skupiny I patří HERV-W, HERV-V a další. Elementy HERV skupiny II jsou příbuzné betaretrovirům, mezi které patří např. virus způsobující prsní nádor u myši (*mouse mammary tumor virus* = MMTV) nebo lentiviry, do nichž řadíme i HIV. Nejdůležitější rodinou skupiny II je HERV-K. Elementy HERV skupiny III jsou vzdáleně příbuzné spumavirům, jako je např. „foamy“ virus (*human foamy virus* = HFV). Důležitými rodinami skupiny III jsou HERV-L a HERV-S.³⁴ Příbuzenské vztahy mezi jednotlivými skupinami retrovirů a endogenní retroviry a rozdělení důležitých rodin v třídách ukazuje **Obr. 7**.

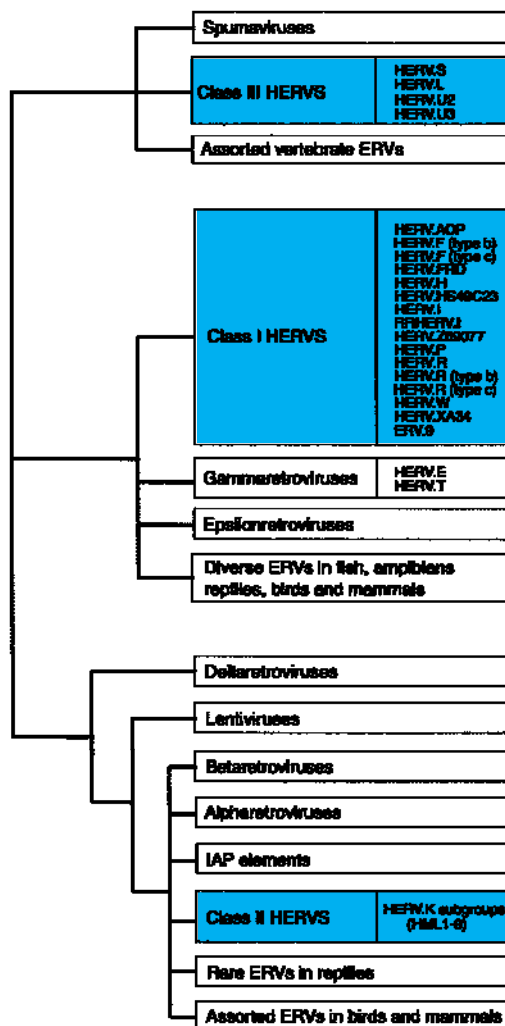
2.5.1 Vybrané rodiny elementů HERV

• HERV-L

Nejstarší rodinou endogenních retrovirů v HG je HERV-L. Tato rodina má své zástupce u mnoha savčích druhů a předpokládá se proto tedy, že společný předek savců byl kdysi dávno infikován exogenním předchůdcem HERV-L. Důležitým charakteristickým znakem této rodiny je, že u ní nikdy nebyl nalezen *env*.⁵⁰

• HERV-T

HERV-T patří mezi typické průměrné rodiny endogenních retrovirů, které mají většinou méně než 80 kopií v genomu, mají *env* gen a proliferují spíše reinfekcí v HG než pomocí retrotranspozice.^{51,52}



Obr. 7: Vztahy mezi skupinami retrovirů.

Třídy elementů HERV jsou zvýrazněny. Fylogenetický strom retrovirů byl sestaven na základě alignmentů známých retrovirových RT sekvencí. Předpokládá se, že došlo ke třem rozdělením v průběhu evoluce RT. Vztahy mezi mnoha skupinami nemohly být kvůli nedostatku dat patřičně určeny, jsou tedy znázorněny jako polytomy. Převzato z ²⁸.

• HERV-H

Nejhojněji zastoupenou rodinou endogenních retrovirů v HG je HERV-H, která zaujímá až jednu třetinu lokusů obsahujících gen *pol*.²⁷ Na rozdíl od HERV-L, existují u HERV-H lokusy obsahující *env* geny, které byly prokázány jako imunosupresivní.^{53,54} HERV-H jsou také hojně exprimovány v embryonálních kmenových buňkách.⁵⁵

· HERV-W

Relativně malá skupina endogenních retrovirů, která byla inzertována do genomu před rozdělením primátů na úzkonosé a ploskonosé a byla aktivní jen poměrně krátkou dobu.⁵⁶ U této rodiny, stejně jako u rodiny HERV-FRD, byl v poslední době zaznamenán nárůst výzkumných projektů, které se jí zabývají. Bylo totiž zjištěno, že jejich *env* geny byly kooptovány hostitelskými genomy, které z nich profitují. Jako příklad může sloužit Syncytin-1.²² HERV-W je také jedinou rodinou běžně kopírovanou pomocí LINE.⁵⁷

· HERV-K

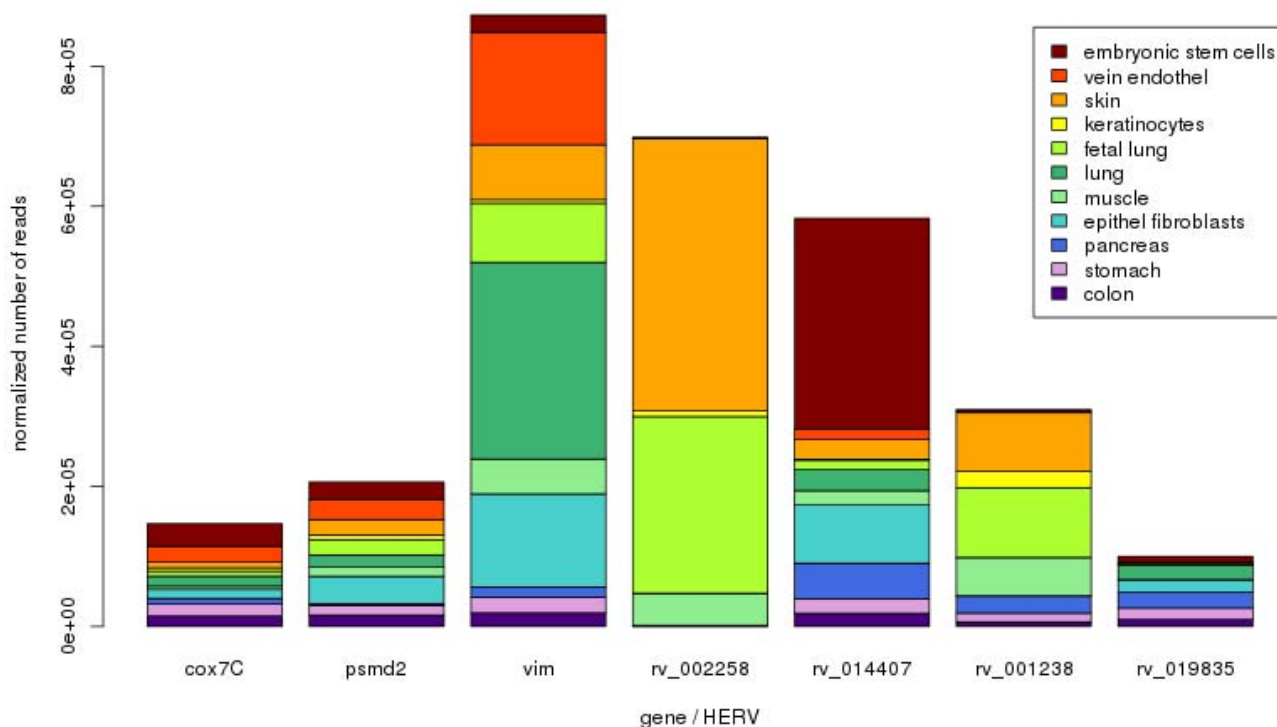
Většina HERV rodin je v HG již neaktivní, kromě HERV-K (HK2). Ta může stále expandovat, jak bylo evidováno z četných inzercí specifických pro lidský genom. S použitím konsenzuálních sekvencí lokusu HK2, byl *in vitro* rekonstruován celý retrovirus. HK2 je jediná rodina, jejíž lokus má neporušený celý ORF.⁵⁸⁻⁶²

3. Funkce elementů HERV v lidském genomu

Ačkoli je dnes již většina HERV lokusů neaktivních, kvůli nasbíraným mutacím atp., existují i výjimky, jejichž ORF je kompletní a dává vzniknout nejen transkriptům, ale také následně proteinům.^{1,27} Transkripce HERV je pod kontrolou jejich LTR oblastí.^{63,64} Existují HERV elementy, ze kterých v HG zůstaly jen jejich LTR s přidruženou PBS.¹ K vzniku solo-LTR dochází homologní rekombinací mezi 5'LTR a 3'LTR jednoho endogenního retroviru a delecí jeho interní sekvence.⁶⁵ Předpokládá se, že tyto solo-LTR hrály také významnou roli při evoluci primátů. Dříve se myslelo, že endogenní retroviry nejsou transkripčně aktivní, ale poslední výzkumy ukazují, že transkripce HERV elementů je v různých tkáních poměrně častá (viz. **Obr. 8**).⁶⁶

Sekvence HERV jsou v posledních desetiletích stále více spojovány s některými onemocněními. Endogenní retroviry, které jsou transkripčně aktivní, mohou potenciálně interagovat s proteiny hostitele a být tak příčinou nemoci, nebo přispívat k jejímu rozvoji.⁶⁷ Elementy HERV jsou spojovány s nemocemi, jako je např. rakovinné bujení, HIV progresse, neurologické a autoimunitní poruchy, schizofrenie a bipolární porucha.⁶⁸⁻⁷¹

Že HERV elementy nemají na člověka jen negativní dopad, dokazuje např. již zmíněný protein Syncytin-1, důležitý při vývoji placenty.²²



Obr. 8: Příklad analýzy transkripce čtyřech vybraných elementů HERV.

Pro srovnání jsou přidány tři housekeeping geny. Jsou zobrazeny rozdíly transkripce v různých tkáních. Housekeeping geny: cox7c = cytochrom oxydáza podjednotka 7C; psmd2 = podjednotka 26S proteasomu; vim = vimentin

HERV elementy (nomenklatura dle HERVd^{30,31}): rv_002258 HERV na chromozomu 6; rv_014407 HERV na chromozomu 1; rv_019835 ERV na chromozomu 14.

Převzato z ⁶⁶.

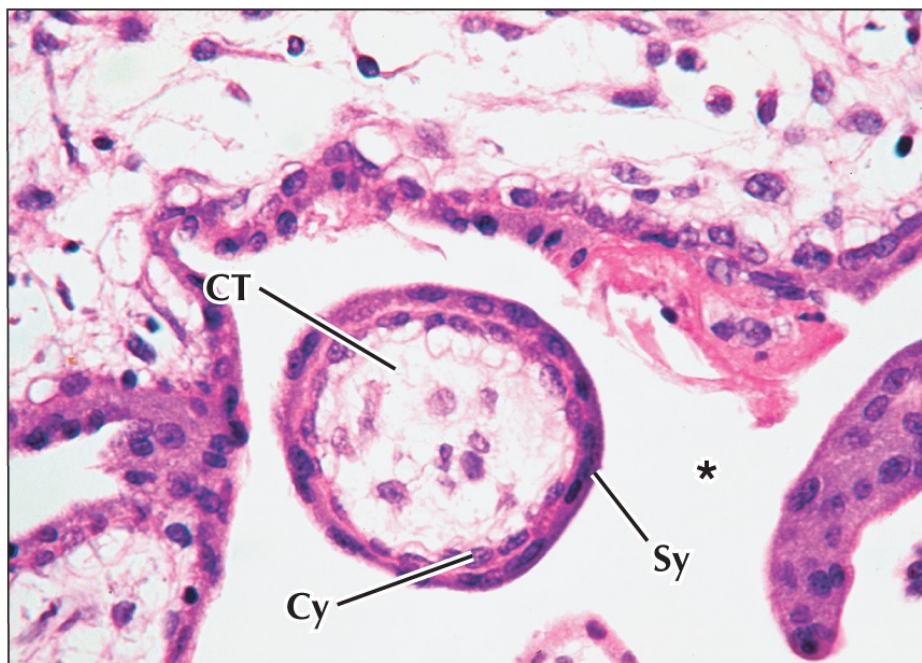
3.1 Pozitivní efekt elementů HERV na lidský genom a člověka

Ačkoli bývají endogenní retroviry zmiňovány spíše v souvislostech s některými nemocemi, existují i příklady, kdy z jejich výskytu v genomu a jejich transkripčních aktivit člověk profituje. Bylo popsáno několik pozitivních efektů elementů HERV na lidský genom. Elementy HERV zvyšují plasticitu genomu a slouží jako substráty pro genomové remodelace. Navíc regulační sekvence nacházející se v HERV LTR oblastech, mohou sloužit jako tkáňově specifické enhancery, alternativní promotory, nebo alternativní polyadenylační signály pro blízké geny.⁷² Další zajímavé

zjištění se týká transkripčních faktorů a LTR. Více než třetina vazebných míst v HG pro transkripční faktor a tumorsupresorový protein p53 se nachází v HERV LTR oblastech. Tyto HERV LTR p53 místa jsou pravděpodobně část p53 transkripčního programu a regulují p53 cílové geny.⁷³

3.1.1 Syncytin

Nejnámějším příkladem funkce některého elementu HERV v HG je HERV-W. Tento endogenní retrovirus je kódován na chromozomu 7.²² Kromě této pozice, existují ještě další místa na chromozomech 3 a 6, kde jsou kódovány části endogenních retrovirů HERV-W rodiny.⁷⁴ HERV-W na sedmém chromozomu má kompletní ORF pouze pro *env* a dochází nejen k jeho transkripci, ale celý gen je exprimován za vzniku proteinu nazvaného Syncytin-1.^{22,75} Tento protein se podílí na tvorbě placenty.²²



Obr. 9: Vrstvy placenty u osmitýdenního zárodka.

V tomto raném stádiu zárodka jsou placentární klky ještě úzké. Sy = syncytiotrofoblast, Cy = cytotrofoblast, CT = pojivová tkáň (connective tissue), * - meziklkové prostory. Převzato z ⁷⁶.

Syncytin-1 funguje jako fúzogenní protein při splývání embryonálních buněk cytotrofoblastu. Cytotrofoblast je tvořen buňkami na povrchu embrya a slouží jako materiál

pro vznik placenty. Po fúzi vzniká mnohojaderný syncytiotrofoblast, který tvoří vrstvu oddělující tkáň matky a zárodku. Je také velmi důležitý při látkové výměně mezi matkou a zárodkem, remodelaci tkání při vývoji placenty a ochraně plodu před imunitní odpovědí matky.^{22,77-79} Jak tyto struktury vypadají ve skutečnosti, ukazuje **Obr. 9**.

Později byl detekován další protein, tentokrát pocházející z *env* endogenního retroviru HERV-FRD, který hraje podobnou roli jako Syncytin-1. Byl pojmenován Syncytin-2.^{80,81}

Nejen u člověka jsou při formování syncytiotrofoblastu důležité proteiny endogenních retrovirů. Stejná situace je i u myši, kde byly objeveny dva proteiny Syncytin-A a Syncytin-B, homologické k lidským.⁸² Před nedávnem byl u myši objeven ještě další gen (a příslušný protein) významně zasahující do formování placenty – *Peg10*.⁸³ Na myších bylo zkoumáno, do jaké míry jsou skutečně tyto proteiny pro tvorbu placenty nezbytné - po jejich knock-outu vůbec nedošlo k fúzi buněk cytotrofoblastu.^{83,84}

3.1.2 Exprese receptoru pro leptin ovlivněná LTR HERV-K

Leptin (OB), je hormon sekretovaný adipocyty tukové tkáň, kódovaný genem *ob* (*obese gene*).⁸⁵ Pakliže je tento gen mutován, nedochází k produkci leptinu, což má za následek vznik obezity. Leptin ovlivňuje nejen tělesnou hmotnost, ale také výdej energie, produkci pohlavních hormonů a hematopoezi.⁸⁶⁻⁹⁰ Přenos signálu leptinu je zprostředkován pomocí leptinového receptoru (OBR).⁹¹

Gen pro receptor pro lidský leptin se nachází na chromozomu 1 a je tvořen 20 exony. Existují dvě hlavní formy leptinového receptoru v HG, krátká (OBRa) a dlouhá (OBRb). Obě dvě formy jsou nezbytně nutné pro správné fungování celého receptoru.^{90,92,93} Mezi exonem 19 a 20 se nachází LTR5, který pochází z HERV-K10. Tato LTR sekvence je zodpovědná za vznik kratší formy receptoru indukci alternativního splicingu.⁹⁰

3.2 Patogenní potenciál elementů HERV

Většina funkčních studií elementů HERV se soustředí na jejich patologický potenciál, který doprovází transkripci nebo expresi jejich genů.^{66,94} Při infekci exogenním retrovirem je také možná

interakce s homologickým HERV a následný nárůst patogenity.²⁸ Logicky je největší úsilí vynakládáno na výzkum chorob jakými je např. HIV, leukémie, roztroušená skleróza a různé druhy nádorů.^{70,95–102}

3.2.1 Elementy HERV a roztroušená skleróza

Roztroušená skleróza (*multiple sclerosis* = MS) je autoimunitní onemocnění, při kterém imunitní systém napadá CNS. Postihuje především mladé dospělé a vzniká kombinací více činitelů – genetických předpokladů a environmentálních faktorů.¹⁰³ Mezi environmentální faktory můžeme zařadit i vliv virů a endogenních retrovirů.¹⁰⁰

V tkáních pacientů s MS byla detekována RNA pocházející z MSRV (*multiple sclerosis associated retrovirus*). Když byl MSRV objeven, bylo předmětem diskuzí, zda se jedná o XRV nebo HERV.¹⁰⁴ V současnosti se zdá, že MSRV je nejspíše transkribován z elementu HERV-W.¹⁰⁵ Tyto *env* transkripty pochází z chromozomu X a ne z chromozomu 7, jako Syncytin-1, který je také kódován HERV-W.^{105,106} Existují i přímé biologické výzkumy, dávající do kauzální souvislosti MSRV/HERV *env* a roztroušenou sklerózu.¹⁰⁷ Dalším podobným endogenním retrovirem, jehož transkripty se vyskytují u pacientů s MS může být HERV-Fc1.¹⁰¹ Kromě roztroušené sklerózy byl taky pozorován nárůst HERV elementů u pacientů s Alzheimerovou chorobou.¹⁰⁸

3.2.2 Elementy HERV a psychická onemocnění

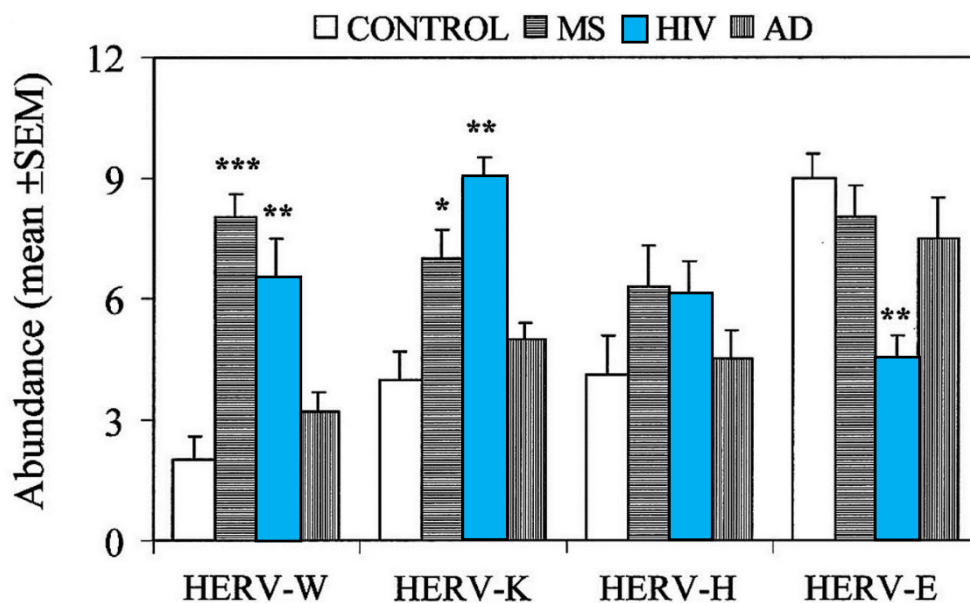
Další skupinou nemocí, které jsou dávány do souvislosti s HERV-W jsou psychické choroby jako např. schizofrenie nebo schizoafektivní porucha. V krvi pacientů byly nalezeny HERV-W transkripty. Předpokládá se, že je HERV-W u těchto pacientů aktivován po infekci některým virem nebo XRV, ale dosud není známo, jak konkrétně ovlivňují psychiku člověka.^{109–111}

3.2.3 Elementy HERV a HIV

HIV je jedním z nejkoumanějších lidských virů resp. retrovirů. V důsledku nákazy tímto virem propuká u infikovaných jedinců posléze syndrom AIDS (*Acquired Immune Deficiency*

Syndrom).¹¹² Bylo vypracováno několik zajímavých studií, které hledají souvislost mezi nákazou HIV a HERV, obzvláště rodinou endogenních retrovirů HERV-K.⁷⁰ Předpokládá se, že je možné doplnění ORF genů HERV při naze příbuzným XRV. Na toto téma byl proveden výzkum. Při infekci HIV se aktivuje HERV-K10, který kóduje proteázu rezistentní vůči antivirotikům na bázi inhibitorů virové proteázy.¹¹³ Tato HERV proteáza pak měla zastoupit roli nefunkční HIV proteázy, což by znesnadňovalo léčbu takovýmito antivirotiky. Podle dalších navazujících výzkumů, kde byla in vitro do HIV virionů s defektní proteázou vložena HERV-K10 proteáza, však žádná inkorporace virové pozorována nebyla. Role HERV-K10 proteázy v souvislosti s rezistencí HIV vůči proteázu inhibujícím antivirotikům je tedy velmi nejasná.^{113,114} Kromě proteázy byla popsána možnost komplementace HIV integrázy pomocí HERV-K10 INT, a také HIV Env pomocí HERV-W Env.^{115,116}

Retrovirové partikule obsahují kromě svých vlastních komponent také buněčnou RNA. Pokud by byla do virionu balena i HERV RNA umožnilo by to velice efektivní mobilizaci těchto elementů. Zeilfelder *et al.*, ale prokázali na vektorech odvozených od HIV-1, že HIV partikule inkorporují jen velmi malé množství HERV RNA.^{117,118}



Obr. 10: Expresa endogenních retrovirů v tkáních pacientů s onemocněními CNS.

Analýza mozkových tkání pacientů s HIV infekcí nebo AIDS, roztroušenou sklerózou nebo Alzheimerovou chorobou (AD). Použití denzitometrické analýzy pro srovnání exprese HERV rodin HERV-W, HERV-K, HERV-H, HERV-E. U pacientů nakažených HIV dochází ke zvýšení exprese HERV-W, HERV-K, HERV-H. Naopak ke snížení exprese HERV-E. Pro každou chorobu byly použity vzorky šesti pacientů. Abundance je udávána v arbitrárních jednotkách využívající normalizace podle množství GAPDH v každém vzorku a je udána jako průměr ze šesti vzorků v každé skupině. * $p < 0,01$; ** $p < 0,005$; *** $p < 0,001$. Převzato z ¹⁰⁸.

V krevní plazmě a krevních buňkách pacientů s HIV byly zaznamenány transkripty a proteiny pocházející z HERV-K (HML2).^{97,98,119} Dále v mozkové tkáni pacientů s ADC (*AIDS Dementia Complex*) byly detekovány HERV-K a HERV-W transkripty, naopak množství HERV-E se u těchto pacientů snížilo.^{108,120} **Obr.10** ukazuje nárůst exprese různých HERV v tkáních pacientů s onemocněními CNS, jedním z nich je právě ADC, způsobený infekcí virem HIV.

Homologie mezi HIV a elementy HERV-K hraje roli ve formování a zesílení T-buněčné odpovědi na HIV. Díky tomuto poznatku by mohla být vytvořena HERV-K cílená HIV imunoterapeutika a vakcíny.^{121,122}

3.3 Elementy HERV a nádorová onemocnění

Existuje určité spojení mezi elementy HERV a nádorovými onemocněními. Zásadní otázky ohledně role endogenních retrovirů při tumorigenezi však stále zůstávají spíše nezodpovězené. Je genová exprese endogenních retrovirů v nádorových tkáních pouze náhodná, nebo vyplývá z celkové deregulace genové exprese nádorových buněk? Může přímo přispívat ke vzniku rakoviny, nebo je jejím důsledkem?¹⁰²

Často je hranice mezi pozitivním a negativním efektem HERV na organismus velmi tenká. Příkladem může být opět Syncytin-1, bez kterého by nevznikla placenta. Tento protein však byl také nalezen v nádorových tkáních rakoviny prsu a endometriálního karcinomu. Výzkumy na buněčných kulturách nasvědčují tomu, že exprese Syncytinu-1 v těchto nádorech způsobuje buněčné fúze.^{123,124} Takovéto fúze mohou měnit biologické chování nádoru a podporovat jeho proliferaci.¹²⁵

Doposud používané metody mnohdy nedovolí rozpoznat, ze kterého lokusu na genomu RNA HERV pochází. Biologický význam transkripce a exprese elementů HERV pak zůstává skrytý. V některých případech je exprimované proteiny HERV možné odhalit pomocí imunohistochemických metod, jak ukazuje **Tab.1**.

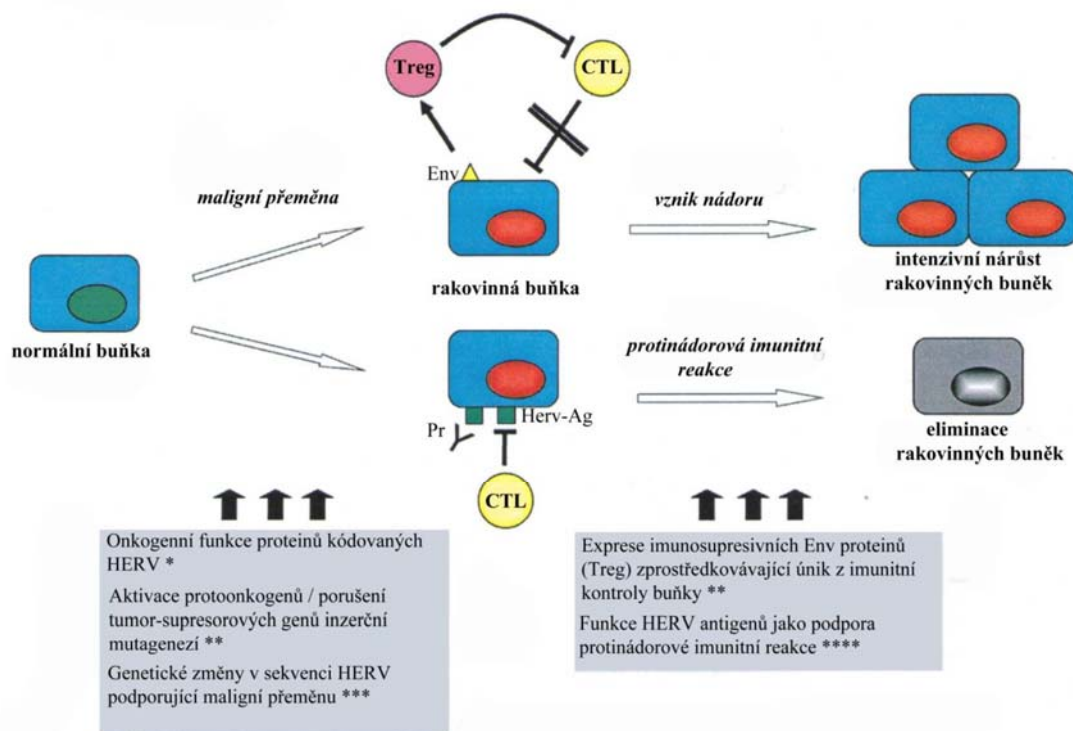
Druh nádoru	HERV protein	Reference
Nádor zárodečných buněk - tkáň	HERV-K Gag	126
Nádor zárodečných buněk – buněčné linie	HERV-K Gag	126
	HERV-K Env	127
	HERV-K Rec	128,129
	HERV-K Np9	130
	HERV-K Env	131
Melanom – tkáň, buněčné linie	HERV-K Gag	132
	HERV-K Rec	131
Rakovina prsu	HERV-W Env	133
Nádor vaječníku	HERV-K Env	134
Endometritální karcinom	HERV-W Env	123
Astrocytom	HERV-W Env	100
Neuroblastom	HERV-W Gag	135
	HERV-W Env	135

Tab. 1: HERV kódované proteiny objevené imunohistochemickými metodami v lidských nádorech a nádorových buňkách.

Převzato a upraveno podle ¹⁰².

U zvířat často závisí patogenní potenciál elementů ERV, které mohou přispívat k tumorigenezi, na retrovirovém pohybu, tj. *de novo* formování provirových kopií v somatických buňkách hostitelského organismu.⁴¹ U člověka takovéto somatické inserce zatím nebyly pozorovány, ačkoli některé výzkumy se jimi zabývají. Role elementů HERV v tumorigenezi zůstává stále nezodpovězená a spíše se předpokládá, že endogenní retroviry v tumorigenezi nehrají tak velkou roli.¹³⁶

Nákres potenciálních mechanismů, kterými by elementy HERV mohly přispívat k tumorigenezi jsou znázorněny na **Obr. 11**.



Obr. 11: Potenciální mechanismy, kterými by se elementy HERV mohly účastnit tumorigeneze.

Zjednodušené schéma tumorigeneze a potenciálního osudu maligních buněk je nakreslen tak, aby byly patrné kroky, ve kterých by mohly endogenní retroviry hrát nějakou roli. Proces, při kterém se normální buňka (na obrázku se zeleným jádrem) přemění v rakovinnou (na obrázku s červeným jádrem), je označen jako maligní přeměna. V prvním šedém rámečku je uvedeno, jakým způsobem může HERV tuto přeměnu ovlivnit. Zhoubné buňky jsou za normálních okolností kontrolovány imunitním systémem. Expresí antigenů endogenních retrovirů (na obrázku jako HERV-Ag) může u nádorových buněk vyvolat imunitní reakci, zahrnující mimo jiné protilátky (na obrázku jako Pr) a CD8+ - cytotoxické T-lymfocyty (na obrázku jako CTL). V ideálním případě má takováto imunitní reakce za následek zničení nádorové buňky. Expresí imunosupresivních Env HERV proteinů v nádorové buňce pravděpodobně vede k tomu, že protinádorový CTL je potlačen regulačními T-lymfocyty (na obrázku jako Treg). To vede k tomu, že buňka není kontrolována imunitním systémem a může dojít k invazivnímu rakovinnému bujení. To, do jaké míry byly výše popsané mechanismy prokázány, je uvedeno níže.

* Byla prokázána souvislost elementů HERV se vznikem lidské rakoviny.

** Zjištěno u zvířat, u lidí zatím ne.

*** Hypotetický mechanismus.

**** Existují důkazy, že HERV-Ag fungují jako podpora protinádorové imunitní reakce. Je však stále nejasné, jak moc důležitou roli v tomto procesu hrají.

Převzato a upraveno dle ¹⁰².

4. Závěr

Cílem mé bakalářské práce bylo shrnout poznatky o lidských endogenních retrovirech, popsat jejich stavbu, rozdělení a především některé jejich funkce v lidském genomu.

Lidské endogenní retroviry spadají mezi transponovatelné genetické elementy, které jsou schopny transpozice v genomu. Podle jejich struktury je řadíme mezi LTR retroelementy. Jelikož se transponují pomocí mechanismu „*copy-and-paste*“ jejich množství se v průběhu evoluce zvětšovalo. Některé ERV máme společné nejen s primáty, ale také s dalšími savci. Tato skutečnost může sloužit jako dobrá pomůcka při evolučních studiích.

Elementy HERV dělíme do tří skupin, podle jejich příbuznosti k exogenním retrovirům. Častější je však jejich rozdělování do rodin, podle toho, která aminokyselina je nesena tRNA, která je komplementární k PBS daného HERV. V současnosti jsou do stejných rodin řazeny i takové endogenní retroviry, které toto kritérium nespĺňují, ale byla prokázána jejich příbuznost na základě sekvenční homologie. Tato nomenklatura se tedy dále používá spíše z historických důvodů a zvyklostí.

Endogenní retrovirus vzniká, pakliže je XRV integrován do germinální linie hostitele a jeho sekvence není selekčním tlakem odstraněna. Takový HERV je pak v genomu zafixován a je dále přenášen zárodečnými buňkami na potomstvo. Mezi nejmladší rodiny, u kterých k takovéto inzerční události došlo, řadíme především HERV-K. Většina elementů HERV již není schopna transpozice ani infekce v důsledku mutací, delecí a inzercí v jejich sekvenci. Často se také nachází v oblastech s metylovanou DNA nebo z jejich sekvence zůstaly jen solo-LTR. I přesto zaujímají elementy HERV až 8% HG a některé dokonce získaly poměrně důležité funkce.

Nejnámějším příkladem jsou proteiny Syncytin-1 a Syncytin-2, pocházející z genů *env* endogenních retrovirů HERV-W a HERV-FRD. Ty byly koptovány lidským genomem a významně se podílí na tvorbě placenty, kdy fungují jako fúzogenní proteiny při vzniku syncytiotrofoblastu z cytotrofoblastu. Dalším příkladem je receptor pro leptin (OBR), tvořený dvěma podjednotkami. Gen tohoto receptoru je tvořen 20 exony a mezi posledními dvěma se nachází LTR pocházející z HERV-K10. Tato sekvence je zodpovědná za alternativní sestřih OBR, díky kterému mohou vzniknout obě podjednotky.

HERV elementy bývají dávány do souvislosti s některými onemocněními. Jedním z nich je roztroušená skleróza. V nemocných tkáních pacientů s MS byly detekovány transkripty a proteiny pocházející z HERV-W. Stejně tak u pacientů se schizofrenií byla detekována HERV-W mRNA. V obou případech se jedná spíše o následek onemocnění, než o jeho původce, ale rozhodně tato exprese HERV může přispívat k rozvoji těchto chorob. U nakažených HIV byla zkoumána možnost

komplementace některých genů HIV geny pocházejícími z HERV, po nasazení antivirotik. Tyto předpoklady byly nakonec ve většině případů vyvráceny. Každopádně byl zaznamenán nárůst HERV transkriptů u HIV nakažených osob. Jedná se zřejmě opět o sekundární efekt nákazy, ale zásadní by tento nárůst mohl být, pokud by se takto aktivované HERV elementy transponovaly do oblasti některých esenciálních genů. Homologie mezi HIV a HERV-K hraje roli ve formování a zesílení T-buněčné odpovědi, což by mohlo být vodítkem k vytvoření HERV-K cílených HIV imunoterapeutik a vakcín. Nejvíce diskutovány jsou elementy HERV a jejich role v tumorigenezi. První hypotézy předpokládaly, že po aktivaci některého elementu HERV (ovlivnění vnějšími faktory, aktivace po nákaze homologickým XRV,...) dojde k probuzení činnosti některého onkogenu, resp. dojde k maligní transformaci buněk. Žádná taková hypotéza zatím nebyla potvrzena. Spíše se zdá, že endogenní retroviry k rakovinnému bujení mohou přispívat až po jeho propuknutí.

Endogenní retroviry mají v HG nezastupitelnou roli. Mnoho jejich funkcí doposud zřejmě nebylo vůbec objeveno, a tak si rozhodně zaslouží naši pozornost, stejně jako další retroelementy a transponovatelné genetické elementy.

5. Bibliografie

1. Lander, E. S. *et al.* Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* **409**, 860–921 (2001).
2. Consortium, I. H. G. S. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature* **431**, 931–945 (2004).
3. GRCh38 - Assembly - NCBI. at http://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCF_000001405.26/
4. Ohno, S. So Much Junk Dna in Our Genome. *Brookhaven Symp. Biol.* 366–8 (1972).
5. McClintock, B. Chromosome Organization and Genic Expression. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* **16**, 13–47 (1951).
6. Kidwell, M. G. & Lisch, D. Transposable elements as sources of variation in animals and plants. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **94**, 7704–7711 (1997).
7. Wicker, T. *et al.* A unified classification system for eukaryotic transposable elements. *Nat. Rev. Genet.* **8**, 973–982 (2007).
8. Finnegan, D. J. Eukaryotic transposable elements and genome evolution. *Trends Genet.* **5**, 103–107 (1989).
9. Baltimore, D. Viral RNA-dependent DNA Polymerase: RNA-dependent DNA Polymerase in Virions of RNA Tumour Viruses. *Nature* **226**, 1209–1211 (1970).
10. Temin, H. M. & Mizutani, S. Viral RNA-dependent DNA Polymerase: RNA-dependent DNA Polymerase in Virions of Rous Sarcoma Virus. *Nature* **226**, 1211–1213 (1970).
11. Mager, D. L. & Henthorn, P. S. Identification of a retrovirus-like repetitive element in human DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **81**, 7510–7514 (1984).
12. Eickbush, T. H. Transposing without ends: the non-LTR retrotransposable elements. *New Biol.* **4**, 430–440 (1992).
13. 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.* **93**, 5177–5184 (1996).
14. Baltimore, D. Retroviruses and Retrotransposons: The role of reverse transcription in shaping the eukaryotic genome. *Cell* **40**, 481–482 (1985).
15. Rogers, J. Retroposons defined. *Nature* **301**, 460–460 (1983).
16. Bannert, N. & Kurth, R. Retroelements and the human genome: New perspectives on an old relation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **101**, 14572–14579 (2004).
17. Deininger, P. L. & Batzer, M. A. Mammalian Retroelements. *Genome Res.* **12**, 1455–1465 (2002).
18. Kazazian, H. H. & Moran, J. V. The impact of L1 retrotransposons on the human genome. *Nat. Genet.* **19**, 19–24 (1998).
19. Malik, H. S., Burke, W. D. & Eickbush, T. H. The age and evolution of non-LTR retrotransposable elements. *Mol. Biol. Evol.* **16**, 793–805 (1999).
20. Okada, N. SINEs: Short interspersed repeated elements of the eukaryotic genome. *Trends Ecol. Evol.* **6**, 358–361 (1991).
21. Okada, N., Hamada, M., Ogiwara, I. & Ohshima, K. SINEs and LINEs share common 3' sequences: a review. *Gene* **205**, 229–243 (1997).

22. Mi, S. *et al.* Syncytin is a captive retroviral envelope protein involved in human placental morphogenesis. *Nature* **403**, 785–789 (2000).
23. Brosius, J. RNAs from all categories generate retrosequences that may be exapted as novel genes or regulatory elements. *Gene* **238**, 115–134 (1999).
24. Van de Lagemat, L. N., Landry, J.-R., Mager, D. L. & Medstrand, P. Transposable elements in mammals promote regulatory variation and diversification of genes with specialized functions. *Trends Genet.* **19**, 530–536 (2003).
25. Wang-Johanning, F. *et al.* Human endogenous retrovirus type K antibodies and mRNA as serum biomarkers of early-stage breast cancer. *Int. J. Cancer* **134**, 587–595 (2014).
26. Magiorkinis, G., Belshaw, R. & Katzourakis, A. ‘There and back again’: revisiting the pathophysiological roles of human endogenous retroviruses in the post-genomic era. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* **368**, 20120504 (2013).
27. Jern, P., Sperber, G. O. & Blomberg, J. Definition and variation of human endogenous retrovirus H. *Virology* **327**, 93–110 (2004).
28. Gifford, R. & Tristem, M. The Evolution, Distribution and Diversity of Endogenous Retroviruses. *Virus Genes* **26**, 291–315 (2003).
29. Jern, P., Sperber, G. O., Ahlsén, G. & Blomberg, J. Sequence Variability, Gene Structure, and Expression of Full-Length Human Endogenous Retrovirus H. *J. Virol.* **79**, 6325–6337 (2005).
30. Paces, J., Pavlíček, A. & Paces, V. HERVd: database of human endogenous retroviruses. *Nucleic Acids Res.* **30**, 205–206 (2002).
31. Pačes, J. *et al.* HERVd: the Human Endogenous RetroViruses Database: update. *Nucleic Acids Res.* **32**, D50–D50 (2004).
32. Jurka, J. *et al.* Repbase Update, a database of eukaryotic repetitive elements. *Cytogenet. Genome Res.* **110**, 462–467 (2005).
33. Jurka, J. Repbase Update: a database and an electronic journal of repetitive elements. *Trends Genet.* **16**, 418–420 (2000).
34. Griffiths, D. J. Endogenous retroviruses in the human genome sequence. *Genome Biol.* **2**, 1017.1 (2001).
35. Hu, W. S. & Temin, H. M. Retroviral recombination and reverse transcription. *Science* **250**, 1227–1233 (1990).
36. Parseval, N. de, Lazar, V., Casella, J.-F., Benit, L. & Heidmann, T. Survey of Human Genes of Retroviral Origin: Identification and Transcriptome of the Genes with Coding Capacity for Complete Envelope Proteins. *J. Virol.* **77**, 10414–10422 (2003).
37. Villesen, P., Aagaard, L., Wiuf, C. & Pedersen, F. S. Identification of endogenous retroviral reading frames in the human genome. *Retrovirology* **1**, 1–13 (2004).
38. Stoye, J. P. Endogenous retroviruses: Still active after all these years? *Curr. Biol.* **11**, R914–R916 (2001).
39. Smith, J. M. & Haigh, J. The hitch-hiking effect of a favourable gene. *Genet. Res.* **23**, 23 (1974).
40. Varmus, H. Retroviruses. *Science* **240**, 1427–1435 (1988).
41. Boeke, J. D. & Stoye, J. P. Retrotransposons, Endogenous Retroviruses, and the Evolution of Retroelements. (1997). at <http://d360prx.biomed.cas.cz:2259/books/NBK19468/>

42. Gilboa, E., Mitra, S. W., Goff, S. & Baltimore, D. A detailed model of reverse transcription and tests of crucial aspects. *Cell* **18**, 93–100 (1979).
43. Mitchell, R. S. *et al.* Retroviral DNA Integration: ASLV, HIV, and MLV Show Distinct Target Site Preferences. *PLoS Biol* **2**, e234 (2004).
44. Coffin, J. M., Hughes, S. H. & Varmus, H. E. Overview of Reverse Transcription. (1997). at <<http://d360prx.biomed.cas.cz:2259/books/NBK19424/>>
45. Snustad, D. P. & Simmons, M. J. *Principles of Genetics*. (John Wiley & Sons, 2012).
46. Stocking, C. & Kozak, C. A. Endogenous retroviruses. *Cell. Mol. Life Sci.* **65**, 3383–3398 (2008).
47. Jern, P., Sperber, G. O. & Blomberg, J. Use of Endogenous Retroviral Sequences (ERVs) and structural markers for retroviral phylogenetic inference and taxonomy. *Retrovirology* **2**, 50 (2005).
48. Gifford, R., Kabat, P., Martin, J., Lynch, C. & Tristem, M. Evolution and Distribution of Class II-Related Endogenous Retroviruses. *J. Virol.* **79**, 6478–6486 (2005).
49. Tristem, M. Identification and Characterization of Novel Human Endogenous Retrovirus Families by Phylogenetic Screening of the Human Genome Mapping Project Database. *J. Virol.* **74**, 3715–3730 (2000).
50. 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.* **73**, 3301–3308 (1999).
51. Belshaw, R. *et al.* Long-term reinfection of the human genome by endogenous retroviruses. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **101**, 4894–4899 (2004).
52. Belshaw, R., Katzourakis, A., Pačes, J., Burt, A. & Tristem, M. High Copy Number in Human Endogenous Retrovirus Families is Associated with Copying Mechanisms in Addition to Reinfection. *Mol. Biol. Evol.* **22**, 814–817 (2005).
53. De Parseval, N., Casella, J.-F., Gressin, L. & Heidmann, T. Characterization of the Three HERV-H Proviruses with an Open Envelope Reading Frame Encompassing the Immunosuppressive Domain and Evolutionary History in Primates. *Virology* **279**, 558–569 (2001).
54. Mangeney, M., Parseval, N. de, Thomas, G. & Heidmann, T. The full-length envelope of an HERV-H human endogenous retrovirus has immunosuppressive properties. *J. Gen. Virol.* **82**, 2515–2518 (2001).
55. Santoni, F. A., Guerra, J. & Luban, J. HERV-H RNA is abundant in human embryonic stem cells and a precise marker for pluripotency. *Retrovirology* **9**, 111 (2012).
56. Kim, H.-S., Takenaka, O. & Crow, T. J. Isolation and phylogeny of endogenous retrovirus sequences belonging to the HERV-W family in primates. *J. Gen. Virol.* **80**, 2613–2619 (1999).
57. Pavlíček, A., Pačes, J., Elleder, D. & Hejnar, J. Processed Pseudogenes of Human Endogenous Retroviruses Generated by LINEs: Their Integration, Stability, and Distribution. *Genome Res.* **12**, 391–399 (2002).
58. Subramanian, R. P., Wildschutte, J. H., Russo, C. & Coffin, J. M. Identification, characterization, and comparative genomic distribution of the HERV-K (HML-2) group of human endogenous retroviruses. *Retrovirology* **8**, 90 (2011).
59. Barbulescu, M. *et al.* Many human endogenous retrovirus K (HERV-K) proviruses are unique to humans. *Curr. Biol.* **9**, 861–S1 (1999).

60. Belshaw, R. *et al.* Genomewide Screening Reveals High Levels of Insertional Polymorphism in the Human Endogenous Retrovirus Family HERV-K(HML2): Implications for Present-Day Activity. *J. Virol.* **79**, 12507–12514 (2005).
61. Dewannieux, M. *et al.* Identification of an infectious progenitor for the multiple-copy HERV-K human endogenous retroelements. *Genome Res.* **16**, 1548–1556 (2006).
62. Lee, Y. N. & Bieniasz, P. D. Reconstitution of an Infectious Human Endogenous Retrovirus. *PLoS Pathog* **3**, e10 (2007).
63. Kovalskaya, E., Buzdin, A., Gogvadze, E., Vinogradova, T. & Sverdlov, E. Functional human endogenous retroviral LTR transcription start sites are located between the R and U5 regions. *Virology* **346**, 373–378 (2006).
64. Schön, U. *et al.* Cell Type-Specific Expression and Promoter Activity of Human Endogenous Retroviral Long Terminal Repeats. *Virology* **279**, 280–291 (2001).
65. Sverdlov, E. D. Perpetually mobile footprints of ancient infections in human genome. *FEBS Lett.* **428**, 1–6 (1998).
66. Pačes, J., Huang, Y.-T., Pačes, V., Rídl, J. & Chang, C.-M. New insight into transcription of human endogenous retroviral elements. *New Biotechnol.* **30**, 314–318 (2013).
67. Moyes, D., Griffiths, D. J. & Venables, P. J. Insertional polymorphisms: a new lease of life for endogenous retroviruses in human disease. *Trends Genet.* **23**, 326–333 (2007).
68. Urnovitz, H. B. & Murphy, W. H. Human endogenous retroviruses: nature, occurrence, and clinical implications in human disease. *Clin. Microbiol. Rev.* **9**, 72–99 (1996).
69. Löwer, R. The pathogenic potential of endogenous retroviruses: facts and fantasies. *Trends Microbiol.* **7**, 350–356 (1999).
70. Kuyl, A. C. van der. HIV infection and HERV expression: a review. *Retrovirology* **9**, 6 (2012).
71. Diem, O., Schäffner, M., Seifarth, W. & Leib-Mösch, C. Influence of Antipsychotic Drugs on Human Endogenous Retrovirus (HERV) Transcription in Brain Cells. *PLoS ONE* **7**, e30054 (2012).
72. De Parseval, N. & Heidmann, T. Human endogenous retroviruses: from infectious elements to human genes. *Cytogenet. Genome Res.* **110**, 318–332 (2005).
73. Wang, T. *et al.* Species-specific endogenous retroviruses shape the transcriptional network of the human tumor suppressor protein p53. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **104**, 18613–18618 (2007).
74. Voisset, C. *et al.* Chromosomal Distribution and Coding Capacity of the Human Endogenous Retrovirus HERV-W Family. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* **16**, 731–740 (2000).
75. Frendo, J.-L. *et al.* Direct Involvement of HERV-W Env Glycoprotein in Human Trophoblast Cell Fusion and Differentiation. *Mol. Cell. Biol.* **23**, 3566–3574 (2003).
76. Ovalle, W. K. & Nahirney, P. C. *Netter's essential histology*. (Saunders/Elsevier, 2008).
77. Munn, D. H. *et al.* Prevention of Allogeneic Fetal Rejection by Tryptophan Catabolism. *Science* **281**, 1191–1193 (1998).
78. Lala, P. K. & Hamilton, G. S. Growth factors, proteases and protease inhibitors in the maternal—fetaldialogue. *Placenta* **17**, 545–555 (1996).
79. Cross, J. C., Werb, Z. & Fisher, S. J. Implantation and the placenta: key pieces of the development puzzle. *Science* **266**, 1508–1518 (1994).

80. Blaise, S., Parseval, N. de, Bénit, L. & Heidmann, T. Genomewide screening for fusogenic human endogenous retrovirus envelopes identifies syncytin 2, a gene conserved on primate evolution. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **100**, 13013–13018 (2003).
81. Esnault, C. *et al.* A placenta-specific receptor for the fusogenic, endogenous retrovirus-derived, human syncytin-2. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **105**, 17532–17537 (2008).
82. Dupressoir, A. *et al.* Syncytin-A and syncytin-B, two fusogenic placenta-specific murine envelope genes of retroviral origin conserved in Muridae. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **102**, 725–730 (2005).
83. Henke, C. *et al.* Regulation of murine placentogenesis by the retroviral genes Syncytin-A, Syncytin-B and Peg10. *Differentiation* **85**, 150–160 (2013).
84. Dupressoir, A. *et al.* Syncytin-A knockout mice demonstrate the critical role in placentation of a fusogenic, endogenous retrovirus-derived, envelope gene. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **106**, 12127–12132 (2009).
85. Zhang, Y. *et al.* Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* **372**, 425–432 (1994).
86. Gainsford, T. *et al.* Leptin can induce proliferation, differentiation, and functional activation of hemopoietic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **93**, 14564–14568 (1996).
87. Chehab, F. F., Mounzih, K., Lu, R. & Lim, M. E. Early Onset of Reproductive Function in Normal Female Mice Treated with Leptin. *Science* **275**, 88–90 (1997).
88. Halaas, J. L. *et al.* Weight-reducing effects of the plasma protein encoded by the obese gene. *Science* **269**, 543–546 (1995).
89. Friedman, J. M. & Halaas, J. L. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* **395**, 763–770 (1998).
90. Kapitonov, V. V. & Jurka, J. The Long Terminal Repeat of an Endogenous Retrovirus Induces Alternative Splicing and Encodes an Additional Carboxy-Terminal Sequence in the Human Leptin Receptor. *J. Mol. Evol.* **48**, 248–251 (1999).
91. Tartaglia, L. A. The Leptin Receptor. *J. Biol. Chem.* **272**, 6093–6096 (1997).
92. Lee, G.-H. *et al.* Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature* **379**, 632–635 (1996).
93. Ghilardi, N. *et al.* Defective STAT signaling by the leptin receptor in diabetic mice. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **93**, 6231–6235 (1996).
94. Ahn, K. & Kim, H.-S. Structural and quantitative expression analyses of HERV gene family in human tissues. *Mol. Cells* **28**, 99–103 (2009).
95. Expression of a human endogenous retrovirus, HERV-K, in the blood cells of leukemia patients. *Publ. Online 21 January 2002 Doi101038sjleu2402355* **16**, (2002).
96. Patzke, S., Lindeskog, M., Munthe, E. & Aasheim, H.-C. Characterization of a Novel Human Endogenous Retrovirus, HERV-H/F, Expressed in Human Leukemia Cell Lines. *Virology* **303**, 164–173 (2002).
97. Contreras-Galindo, R., Kaplan, M. H., Markovitz, D. M., Lorenzo, E. & Yamamura, Y. Detection of HERV-K(HML-2) Viral RNA in Plasma of HIV Type 1-Infected Individuals. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* **22**, 979–984 (2006).
98. Contreras-Galindo, R., López, P., Vélez, R. & Yamamura, Y. HIV-1 Infection Increases the Expression of Human Endogenous Retroviruses Type K (HERV-K) in Vitro. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* **23**, 116–122 (2007).

99. Michaud, H.-A. *et al.* Trans-activation, post-transcriptional maturation, and induction of antibodies to HERV-K (HML-2) envelope transmembrane protein in HIV-1 infection. *Retrovirology* **11**, 10 (2014).
100. Mameli, G. *et al.* Brains and peripheral blood mononuclear cells of multiple sclerosis (MS) patients hyperexpress MS-associated retrovirus/HERV-W endogenous retrovirus, but not Human herpesvirus 6. *J. Gen. Virol.* **88**, 264–274 (2007).
101. De la Hera, B. *et al.* Human Endogenous Retrovirus HERV-Fc1 Association with Multiple Sclerosis Susceptibility: A Meta-Analysis. *PLoS ONE* **9**, e90182 (2014).
102. Ruprecht, K., Mayer, J., Sauter, M., Roemer, K. & Mueller-Lantzsch, N. Endogenous retroviruses. *Cell. Mol. Life Sci.* **65**, 3366–3382 (2008).
103. Compston, A. & Coles, A. Multiple sclerosis. *The Lancet* **359**, 1221–1231 (2002).
104. Antony, J. M., DesLauriers, A. M., Bhat, R. K., Ellestad, K. K. & Power, C. Human endogenous retroviruses and multiple sclerosis: Innocent bystanders or disease determinants? *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Basis Dis.* **1812**, 162–176 (2011).
105. Laufer, G., Mayer, J., Mueller, B. F., Mueller-Lantzsch, N. & Ruprecht, K. Analysis of transcribed human endogenous retrovirus W env loci clarifies the origin of multiple sclerosis-associated retrovirus env sequences. *Retrovirology* **6**, 37 (2009).
106. García-Montojo, M. *et al.* HERV-W polymorphism in chromosome X is associated with multiple sclerosis risk and with differential expression of MSRV. *Retrovirology* **11**, 2 (2014).
107. Perron, H. *et al.* Human Endogenous Retrovirus Protein Activates Innate Immunity and Promotes Experimental Allergic Encephalomyelitis in Mice. *PLoS ONE* **8**, e80128 (2013).
108. Johnston, J. B. *et al.* Monocyte activation and differentiation augment human endogenous retrovirus expression: Implications for inflammatory brain diseases. *Ann. Neurol.* **50**, 434–442 (2001).
109. Karlsson, H. *et al.* Retroviral RNA identified in the cerebrospinal fluids and brains of individuals with schizophrenia. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **98**, 4634–4639 (2001).
110. Karlsson, H., Schröder, J., Bachmann, S., Bottmer, C. & Yolken, R. H. HERV-W-related RNA detected in plasma from individuals with recent-onset schizophrenia or schizoaffective disorder. *Mol. Psychiatry* **9**, 12–13 (2003).
111. Leboyer, M., Tamouza, R., Charron, D., Faucard, R. & Perron, H. Human endogenous retrovirus type W (HERV-W) in schizophrenia: A new avenue of research at the gene–environment interface. *World J. Biol. Psychiatry* **14**, 80–90 (2011).
112. Barre-Sinoussi, F. *et al.* Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* **220**, 868–871 (1983).
113. Towler, E. M. *et al.* Functional Characterization of the Protease of Human Endogenous Retrovirus, K10: Can It Complement HIV-1 Protease?†. *Biochemistry (Mosc.)* **37**, 17137–17144 (1998).
114. Padow, M. *et al.* Analysis of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Containing HERV-K Protease. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* **16**, 1973–1980 (2000).
115. Ogata, T., Okui, N., Sakuma, R., Kobayashi, N. & Kitamura, Y. Integrase of human endogenous retrovirus K-10 supports the replication of replication-incompetent Int-human immunodeficiency virus type 1 mutant. *Jpn. J. Infect. Dis.* **52**, 251–252 (1999).

116. An, D. S., Xie, Y. & Chen, I. S. Y. Envelope Gene of the Human Endogenous Retrovirus HERV-W Encodes a Functional Retrovirus Envelope. *J. Virol.* **75**, 3488–3489 (2001).
117. Zeilfelder, U. *et al.* The potential of retroviral vectors to cotransfer human endogenous retroviruses (HERVs) from human packaging cell lines. *Gene* **390**, 175–179 (2007).
118. Rulli, S. J. *et al.* Selective and Nonselective Packaging of Cellular RNAs in Retrovirus Particles. *J. Virol.* **81**, 6623–6631 (2007).
119. Contreras-Galindo, R. *et al.* Characterization of Human Endogenous Retroviral Elements in the Blood of HIV-1-Infected Individuals. *J. Virol.* **86**, 262–276 (2012).
120. Navia, B. A., Jordan, B. D. & Price, R. W. The AIDS dementia complex: I. Clinical features. *Ann. Neurol.* **19**, 517–524 (1986).
121. Jones, R. B. *et al.* HERV-K-specific T cells eliminate diverse HIV-1/2 and SIV primary isolates. *J. Clin. Invest.* **122**, 4473–4489 (2012).
122. Garrison, K. E. *et al.* T Cell Responses to Human Endogenous Retroviruses in HIV-1 Infection. *PLoS Pathog* **3**, e165 (2007).
123. Strick, R. *et al.* Proliferation and cell–cell fusion of endometrial carcinoma are induced by the human endogenous retroviral Syncytin-1 and regulated by TGF- β . *J. Mol. Med.* **85**, 23–38 (2007).
124. Bjerregaard, B., Holck, S., Christensen, I. J. & Larsson, L.-I. Syncytin is involved in breast cancer-endothelial cell fusions. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* **63**, 1906–1911 (2006).
125. Duelli, D. & Lazebnik, Y. Cell fusion: A hidden enemy? *Cancer Cell* **3**, 445–448 (2003).
126. Sauter, M. *et al.* Human endogenous retrovirus K10: expression of Gag protein and detection of antibodies in patients with seminomas. *J. Virol.* **69**, 414–421 (1995).
127. Bieda, K., Hoffmann, A. & Boller, K. Phenotypic heterogeneity of human endogenous retrovirus particles produced by teratocarcinoma cell lines. *J. Gen. Virol.* **82**, 591–596 (2001).
128. Galli, U. M. *et al.* Human endogenous retrovirus rec interferes with germ cell development in mice and may cause carcinoma in situ, the predecessor lesion of germ cell tumors. *Oncogene* **24**, 3223–3228 (2005).
129. Büscher, K. *et al.* Expression of the human endogenous retrovirus-K transmembrane envelope, Rec and Np9 proteins in melanomas and melanoma cell lines: *Melanoma Res.* **16**, 223–234 (2006).
130. Armbruster, V. *et al.* Np9 protein of human endogenous retrovirus K interacts with ligand of numb protein X. *J. Virol.* **78**, 10310–10319 (2004).
131. Büscher, K. *et al.* Expression of human endogenous retrovirus K in melanomas and melanoma cell lines. *Cancer Res.* **65**, 4172–4180 (2005).
132. Muster, T. *et al.* An endogenous retrovirus derived from human melanoma cells. *Cancer Res.* **63**, 8735–8741 (2003).
133. Yi, J. M., Kim, H. M. & Kim, H. S. Expression of the human endogenous retrovirus HERV-W family in various human tissues and cancer cells. *J. Gen. Virol.* **85**, 1203–1210 (2004).
134. Wang-Johanning, F. *et al.* Expression of multiple human endogenous retrovirus surface envelope proteins in ovarian cancer. *Int. J. Cancer* **120**, 81–90 (2007).
135. Ruprecht, K. *et al.* Regulation of human endogenous retrovirus W protein expression by herpes simplex virus type 1: Implications for multiple sclerosis. *J. Neurovirol.* **12**, 65–71 (2006).

136. Stoye, J. P. The pathogenic potential of endogenous retroviruses: a sceptical view. *Trends Microbiol.* 7, 430 (1999).