

파라믹소바이러스

- 복제의 단계 -

송희종¹, 어성국, 조정곤, 채효석

전북대학교 수의과대학 및 생체안전성연구소
(접수 2002. 4. 2, 게재승인 2002. 5. 31)

Paramyxoviridae - Stages of replication -

Hee-Jong Song¹, Seong-Kug Eo, Jeong-Gon Cho, Hyo-Seok Chai

Bio-Safety Research Institute, Chonbuk National University, Jeonju, 561-756, Korea
(Received 2 April 2002, accepted in revised form 31 May 2002)

복제에 대한 일반 개념

지금까지 알려져 있는바와 같이, 파라믹소바이러스와 복제는 세포질 내에서 일어난다. 바이러스 생활환의 개요는 그림 1에 모식적으로 나타나있고, 전사(轉寫)와 복제간의 차이를 나타내는 모식도는 그림 2에 나타나있다. 인플루엔자바이러스에 대한 상황과 달리, 파라믹소바이러스와 mRNA합성은 actinomycin D와 같은 DNA-intercalating 약에 감수성이 없고¹⁾, 파라믹소바이러스과는 탈핵세포(enucleated cell)내에서 복제할 수 있다²⁾. 세포배양에서, 단일 사이클 발육곡선은 일반적으로 14~20시간동안 지속하지만, NDV의 병원성 주(株)는 10시간 이내로 짧을 수 있다. 숙주 거대분자 합성에 대한 바이러스 복제효과는 매우 다양하여, NDV

와 Sendai virus 감염의 경우 늦게 거의 완전히 차단되는 것에서부터 SV5에서 뚜렷한 효과가 없는 것까지의 범위이다.

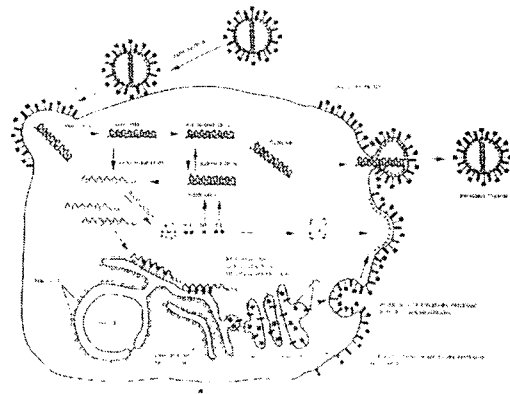


그림 1. 파라믹소바이러스 생활환의 모식도

이 논문은 2002년도 전북대학교 생체안전성연구소 학술연구비의 일부지원으로 이루어 졌음(CNU-BSRI, NO. 2002-02).

¹Corresponding author

Phone : 82-63-270-2562, Fax : 82-63-270-3780

E-mail : hjsong@chonbuk.ac.kr

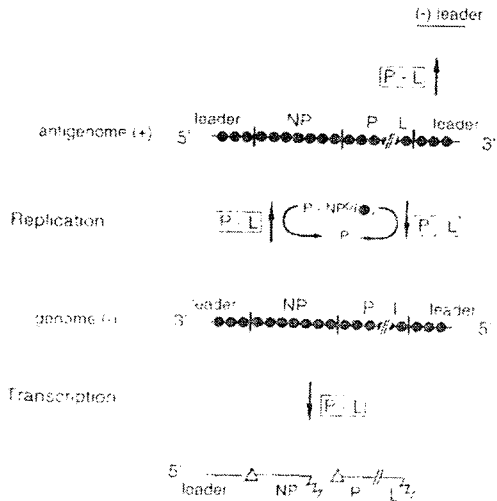


그림 2. 파라믹소바이러스의 RNA 합성.

바이러스 nucleocapsid RNA합성을 위한 주형(鑄型)은 유전자 접합부(junction)를 가리키는 짧은 수직선을 가진, NP 서브유닛(circle)의 직선배열로서 나타나 있다. 바이러스 폴리메라제(P-L)는, 3'-말단에서 출발하여, plus leader RNA와 각 접합부에서 정지와 재출발을 반복함으로써 연속 캡이 형성된(triangle) 폴리아데닐화한 mRNA를 생산하는 유전자 주형을 전사한다. 일단 이들 1차 전사는 충분한 바이러스단백질을 생산하고, assembly되지 않은 NP(P-NP⁰복합체로서) 신생 leader쇄를 assembly하기 시작하고, RNA를 조정하는 assembly와 합성은 폴리메라아제가 접합부를 기각하도록 하여, antigenome 뉴클레오캡시드를 생산한다. 이 능력 때문에, P는 신생 RNA에 NP를 전달하는 chaperone으로서 작용한다. P-L의 폴리메라아제도 역시 anti게놈의 3'-말단에서 충분한 P-NP⁰ 없이 RNA합성을 개시할 수 있으나, 그러나, minus leader RNA만은 이 경우에 만들어진다. 게놈 RNA와 anti게놈 RNA는 결코 naked RNA로서 나타나지 않는 데 유의 할 것.

바이러스 흡착과 침입

파라믹소바이러스와 rubulavirus의 경우 시

알산을 함유하는 분자 (sialoglycoconjugate)가 세포표면 리셉터로서 작용한다. 이것은 *Vibrio cholerae*의 sialidase가 리셉터-파괴 효소로서 작용하여, 감염으로부터 숙주세포를 방어하는 사실에 근거하고있다³⁾. Sialic acid, neuraminic acid의 acryl 유도체는 당단백질과 지질 (sialoglycolipid 또는 ganglioside) 모두에서 발견된다. *Sendai virus*에서 ganglioside가 부착인자와 바이러스에 대한 리셉터로서 기능한다는 것을 보여주었다⁴⁾. 위에서 기술한 바와 같이, *Morbillivirus*속 measles virus에 대한 세포리셉터는 세포표면단백질 CD46이며, *Pneumovirus*에 대한 세포리셉터는 불분명하다. 세포리셉터에 대한 바이러스의 흡착시, 바이러스 막(envelope)은 세포표면에서 발견된 중성 pH에서 세포형질막과 융합하고, 그 결과는 나선 뉴클레오캡시드의 세포질내 방출이다. 위에서 기술한바와 같이, 대부분의 파라믹소바이러스 아과의 부착단백질 (HN 또는 H)은 활성을 촉진하는 융합을 가진다. 융합과정에서 HN의 관련을 합리적으로 설명할 수 있는 모델은 융합 펩티드를 방출하는 F내 가설화된 구조변화의 하나가 고도로 제한되어있는 것이다. 융합을 관찰하는데 공동 표현될 수 있는 HN과 F를 필요로 하는 이들 파라믹소바이러스아과에서, 첫 단계는 그의 리셉터에 HN의 결합일 것이다. Ligand 결합에서, HN단백질은 자신의 구조변화를 겪을 수 있으며, 역으로 융합펩티드를 방출하는 F내 구조변화를 야기할 수 있다. 이 방법에서, F와 HN은 target막에 융합펩티드를 방출하여 지시하는 공역분자골격으로서 작동한다⁵⁾. SV5와 같은 바이러스에서, HN의 공동표현이 cell-cell 융합에 오직 약하게 영향을 주기 위하여, 예측된 구조변화는 target막과 F의 접촉에 의해 촉발되거나 target막상에 위치한 인지되지 않은 리셉터와 F의 결합후 야기되거나 할 수 있다⁵⁾.

바이러스입자에서, M단백질은 뉴클레오캡시드와 무수하게 접촉하는 것으로 생각되며, 이들 M-NP 접촉은 바이러스 assembly동안 전사를 억제하는 계기가 되는 것으로 생각된다. 세포형질막과 바이러스 외피(envelope)가 융합

하고 세포질내로 뉴클레오캡시드의 방출시 M-NP 접촉을 방해하는 과정이 필요하다. 인플루엔자 A바이러스를 이용하여, selfassembly와 disassembly간의 평형을 변화시키는 인자는 산성의 탈외피(脫外皮, uncoating)된 격실(endosome)과 assembly 부위(형질막)간의 pH에 차이가 있는 것으로 생각된다. 파라믹소바이러스를 탈외피하기 위한 추진력은 불분명하다.

1차 전사

파라믹소바이러스의 mRNA가 virion RNA에 상보적(complementary)이었다는 것을 가리키는 초기의 증거, naked viral RNA의 감염성 결여 및 감염되지 않은 세포에서의 RNA-의존성 RNA 폴리메라아제의 검출불능은 전사(轉寫)가 파라믹소바이러스의 virion 내에 존재할 수 있다는 것을 암시한다. 1차 마이너스쇄 바이러스(the first negative strand virus) virion-associated polymerase가 *Rhabdovirus* VSV 내에서 동정되었고⁶⁾, 그후 *ND virus*⁷⁾와 *Sendai virus*⁸⁾에서 동정되었다. 바이러스 외피(envelope)와 숙주세포 형질막과의 융합이 일어난후, 감염성 뉴클레오캡시드가 P/L polymerase의 다중 복사물을 운반하는 세포질을 침입한다. 폴리메라아제는 오직 그의 3' 말단에서 (-)계놈 주형을 침입하는 것으로 생각되지만, virion 폴리메라아제는 주형의 길이를 넘어서 산재해 있는데⁹⁾, 아마도 virion 내로 충전하기 위하여 차단되었을 때부터 그 주형이 고정되었기 때문일 것이다. RNA합성은 (+)leader RNA의 합성을 위하여, 계놈이 세포질내 ribonucleoside triphosphate와 조우되자마자 시작되는 것으로 예상된다. Leader 서열은 바이러스 유전자 표현의 조절에 중요한 역할을 하는 것으로 생각된다. (+)leader 서열은 첫 유전자의 초기부터 계놈의 3' 말단에서 분리되며, 다른 한편, (-)leader나 trailer 서열은 마지막 유전자 말단에서부터 antigenome의 3' 말단에서 분리된다. 이들은 배열이 짧아 약 50 nucleotide 길이이며, 그의 첫 12 nucleotide는 각 유전자에서 바이러스를 동정할 수 있고(또

파라믹소바이러스아과 전체에 잘 보존되어있으며), leader 서열의 나머지는 대부분 A와 U가 풍부하다.

방대한 수량의 유전자가 있고 전사가 흔히 일정한 촉진인자(promoter)에서 개시되는 세포 전사(轉寫)와는 대조적으로, 파라믹소바이러스과의 촉진인자(또는 폴리메라아제 침입부위)는 항상 "on"에 있고, 바이러스 폴리메라아제는 바이러스 주형에서만 작동한다. 1차 전사 동안, 폴리메라아제는 (+)leader 영역의 말단에서 종결되고 첫 유전자의 시초에서 재개시한다. 재개시(reinitiation)는 계놈 복제와는 반대로서, 주형을 mRNA로 만드는 폴리메라아제를 한정하기 때문에 critical event인 것으로 보인다. 재개시는 5' 말단이 캡형성되는 전사를 유도하고, 특이부위와 특이빈도에서, 내부배열은 G 삽입에 의해 상호전사적으로 편집될 수 있다. 전사도 역시 그의 3' 말단에서 폴리아데닐화된다. 인플루엔자바이러스, *rhabdovirus* 및 파라믹소바이러스의 mRNA가 그들의 (-)계놈 주형상에 배열될 때, 모든 경우에 poly(A) 꼬리의 시작은 주형상에 4~7 U잔기의 신장(伸張)과 함께 정열된다. 모든 이들 바이러스 mRNA의 polyadenylation도 역시 정제된 virion과 폴리메라아제 반응 내에서 일어나기 때문에, 그 꼬리가 폴리메라아제에 의한 oligo(U) stretch의 반복 복사(reiterative copying)에 의해 만들어지는 것으로 추측되었다^{10,11)}. *Rhabdovirus* VSV에서, 폴리메라아제는 훨씬 더 큰 코드화된 서열을 교차하는데 유전자접합을 교차하는 것만큼 많은 시간을 보내고¹⁰⁾, 바이러스 변이체는 비정상적으로 긴 poly(A) 꼬리가 만들어진 것에서 발견되었다¹²⁾. 이와 같은 발견은 모두 poly(A) 첨가가 폴리메라아제의 반복적 단속작용(stuttering)에 의해서 일어난다는 견해를 보강해주었다. 최근, P유전자 mRNA가 G insertion에 의해 상호전사적으로 편집된다는 소견은 반복 복사의 보다 고도화된 조절형태(또는 가성 주형화된 전사)도 역시 이 과정에서 일어난다는 것을 암시하였다¹³⁻¹⁵⁾.

Poly(A) 꼬리의 길이(약 200잔기)는 chain 종결에 의해 제한되는 것으로 생각된다. 다음

시발서열에서 mRNA 합성을 재개하기 위하여, 폴리메라아제는 그후 유전자간 영역을 건너뛸 수 있다(이 영역은 *Rubulavirus*와 *Pneumovirus*에서 단일 base 만큼 짧거나 56 nucleotide 만큼 길 수 있으나, *Paramyxovirus*와 *morbillivirus*에서 정확히 3 nucleotide이다). 폴리메라아제는 L mRNA를 완성할 때까지 이 stop-start fashion에서 연속 전사될 수 있다. 따라서, 짧은 유전자간 영역과 길잡이(trailing) (-) leader 영역을 제외하고, 전체 게놈은 mRNA 내로 전사된다. 즉, *Sendai virus*에서, 15, 384 nucleotide중 오직 70만은 mRNA 내에 존재하지 않는다.

폴리메라아제가 각 접합부(junction)에서 mRNA 합성을 재개할 빈도는 높지만, 완전하지는 않다. 따라서, mRNA는 항상 그들의 상류(upstream)와 비례하여 하류(downstream) 유전자로부터 만들어지는 것은 아니며, 주형의 3' 말단과 비례하는 유전자 위치에 따라 mRNA abundance 구배(勾配)가 존재한다. 이 mRNA abundance 구배는 mRNA의 반감기 차이에 기인하지는 않는다. *Measles virus*에서, 이 mRNA abundance 구배는 비교적 평탄하며, polymerase가 각 접합부에 동등한 확률(equal probability)의 재개시 없는 것을 암시하며, 반면 *Sendai virus*에서, M-F와 HN-L 경계에 더 큰 상이(相異)가 있다¹⁶⁾. 그래서, 이것은 각 바이러스가 각 유전자 생산의 상대적량을 훌륭히 동조할 수 있는 한 방법이다. 더욱이, *Measles virus*에서, 사람의 뇌와 neural origin 세포계의 감염에서, 바이러스 발육은 훨씬 더 느리고 완고한 지속감염으로 유도하며, 바이러스가 용해되는 세포계(예를 들면, HeLa)에 감염하는 것보다 훨씬 더 급경사진 구배를 가진다¹⁷⁾. 그 위에, 접합부에 mRNA 재개시의 속도에 영향을 줄 수 있는 세포성 인자가 있을 수 있다. 그러나, 이들 인자가 특이세포단백질을 표현하거나 adenosine triphosphate의 세포질 농도와 같은 비특이적 효과를 표현하는지는 불분명하다.

전사(轉寫)수준에서 유전자표현 감쇠(attenuation)에 관한 두가지 다른 기전이 언급되어

왔는데, 두가지 모두 이들 바이러스가 그들의 mRNA의 상대적량을 충분히 동조할 수 있는 방법을 전개한다. 첫째 기전은 비능률적인 전사종결(transcriptional termination) 및 폴리아데닐화와 관련된다. 특히, 일부 바이러스는 보통보다 더 고빈도로 일부 접합부를 통하여 관독하고 bicistronic mRNA를 생산한다. ORF의 가장 상류만이 정상적으로 번역되고, 그래서 이들 mRNA상의 ORF 하류는 표현되지 않는다. 그러나, 폴리메라아제는 여전히 하류를 재개시하는데 방해받지 않고, 그래서 이 방법으로 지도(地圖) 중앙에 있는 유전자도 선택적으로 하류로 제한할 수 있다. 예를 들면, *measles virus*는 SSPE로서 알려진, 사람 뇌의 감염이 장기간 존속하는 동안 M 유전자 표현을 하류로 제한하는 이 기전을 사용한다^{17,18)}.

둘째 방법은 mRNA를 중복하는 유전자 코드화와 관련된다. *Pneumovirus* RS바이러스에서, L 유전자 개시서열은 바로 앞의 M2 유전자내의 상류에 위치한다¹⁹⁾. 이 중복은 L 유전자내에 M2 유전자가 56~68 nucleotide의 말단서열을 둔다(전보²⁰⁾의 그림 3 참조). 이 생소한 배열 때문에, L 개시부위에서 개시하는 대부분의 전사는 M2 말단부위에서 그후 짧게 종결하며 외견상 불분명하고 제한된 기능의 부산물이다. 유일하게 소수의 전사만이 M2 말단서열을 통하여 관독하고 L 유전자의 진성 말단(true end) 위에서 계속한다¹⁹⁾. RS바이러스에서, 전사적 통독(read-through)은 그후 L mRNA를 만드는 필수 기전이 된다. 이상하게도, M2와 L 유전자의 전사중복에 의한 이 과잉전사감약(superattenuation) 기전은 *Pneumovirus* 마우스 폐염바이러스에 대해서는 설명되어있지 않다.

유전자표현의 감쇠에 대한 부가적 기전은 편기된 과잉변이(hypermutation)로서 알려져 있다. 일부 SSPE의 경우, M 유전자는 대량의 변이에 의해 불활화되었고, 그의 대부분은 mRNA쇄 내의 U-to-C 변화이다. 이들 변이의 제한은 정확히 M 유전자 전사적 경계였고, 2분쇄 RNA 내에서 adenosine이 inosine으로 전환하는 세포활성이 최근에 설명되었기 때문에²¹⁾, 이것은 이들 과도하게 편기된 변이가 일어난

모델이 되게 하였다²²⁾. 유전자표현 면에서, 이것은 *measles virus*가 완고한 지속감염동안 M 단백질 수준을 특히 하류로 제한할 수 있는 다른 방법이다. 과도하게 편기된 변이도 역시 배양된 세포의 감염동안 RSV G유전자 내에서 일어나는 것으로 알려져 있다²³⁾.

(1) P유전자 발현의 특별한 다양성

P유전자를 제외하고, 모든 바이러스 유전자는 monocistron성이고, 하나의 개시코돈을 사용하여, 한개의 1차 번역산물을 생산한다. 그러나, P유전자는 여러 개의 개시 코돈을 사용하여 3개 ORF 모두에서 단백질을 생산할 수 있다.

(2) 번역(翻譯)선택에 기인된 다양성

*Parainfluenza virus*와 *Morbillivirus* P유전자는 *rubulavirus* P유전자와 다른데, 전자(前者)는 C단백질 ORF를 함유하며, +1 frame내 P ORF의 아미노-말단 서열과 중복한다. 2개 독립된 단백질을 코드하는 mRNA의 존재는, 리보솜 개시를 위한 정사(精査, scanning) model의 변형을 필요로 하는 모델을 유도하였고, scanning 리보솜은 바람직 하지 못한 주형내의 5' 인접(proximal)의 AUG를 때때로 우회하여²⁴⁾, 하류 AUG상에서 개시함으로써 개시부위 사용에 관한 선택인자를 도입한 모델의 도입을 유발하였다. 그러나, C단백질 자체는 폴리펩티드의 쌍(C and C')으로서 발견되었고, 이들도 역시 그후에 리보솜 선택의 결과인 것으로 보였다. *Sendai virus*와 hPIV-1 모두 5' proximal non-AUG 개시코돈(ACG or GUG)에서 C'를 표현하는 것으로 알려졌다^{25,26)}. 더욱이, *Sendai virus*에서, 둘 이상의 C단백질이 다른 하류 AUG상에서 개시하는 (Y₁과 Y₂라 하는) 것이 발견되었고²⁷⁾, X라 하는 P단백질의 C-말단 fragment의 개시는 5' 말단에서 1,500 nucleotide 이상의 AUG로부터 개시하는 것으로 보고되었다²⁸⁾. *Sendai virus*는 가장 집중적으로 연구되었으며, 단백질합성을 위한 6개 독립된 개시부위, 즉 P ORF를 위한 2개 부위와 C ORF를 위한 4개 부위가 사용될 수 있다. 단순 수정 scanning 가설은 모든 다른 리보솜 선택을 수용할 수 있는지 여부는 아직도

불분명하다^{26~28)}.

(3) 전사(轉寫)선택에 기인된 다양성

P유전자는 한때는 특이한 유전자로 생각된 적도 있다. 모든 경우에 multiple protein은 이 유전자로부터 표현된 것으로 알려졌고, *rubulavirus*에서도 같은 현상이 일어났으며, 중복 C ORF를 함유하지 않는다. 예를 들면, *mumps virus* P유전자 역시 비구조적 단백질 NS1과 NS2(SV5와 일관성을 위하여 V와 I로 개명되었기 때문에)를 발현한다²⁹⁾. 그러나, 이 그룹내 첫 P유전자의 정확한 서열이 결정될 때까지 오로지 리보솜 선택만이 multiple 단백질을 생산하였는지 여부는 불분명하였다.

정확하게 밝혀진 1차 *Rubulavirus* P유전자는 SV5의 유전자였으며¹⁴⁾(전보³⁰⁾의 그림 5 참조), P단백질을 코드할 만큼 큰 단일 ORF가 없었다는 예기치 않은 결과를 얻었다. 정확히 말하자면, 유전자는 각 말단에서 2개 독립된 ORF를 함유하였으며, 간단히 말해서 중간에서 중복되었다. *In vitro*에서 이들 cDNA로부터 전사된 mRNA는 5' proximal ORF에 의해 코드화된 더 짧은 V단백질내에 번역될 수 있지만 더 긴 P단백질내에는 번역될 수 없었다. 이와 같은 문제에 대한 해결은 2개 ORF가 중첩된 영역내(전보³⁰⁾, 그림 5의 화살표 끝부분 참조) G의 짧은 홈통(run)내로 삽입된 2개의 G간격을 가진 것을 제외하고, 최초로 동정된 2차 mRNA 그룹이 있다는 것을 발견하였을 때 명확하게 되었다. 이것은 각 말단에서 single continuous unit 내로 독립된 ORF를 융합시켰고, 이들 후자 클론에서 제조된 mRNA는 *in vitro*에서 P(그러나 V는 아님) 단백질내로 번역되었다.

2차로 예기치 않은 견해는 이 연구에서 출현하였다. P단백질 서열은 다른 *paramyxovirus* 간의 가장 적게 보존된 바이러스 단백질 범위 내에 있는 반면에, P와 공유되어있지 않은 V영역은 고시스테인(cysteine-rich)이고, 가장 잘 보존된 모든 바이러스 서열내에 있다. 이 고시스테인 V영역은 사실상 전에 배열된 *paramyxovirus*와 *morbillivirus*의 모든 P유전자내에

존재하였지만, 비교적 짧고(약 70아미노산), 유전자의 중앙에서 일반적으로 개시코돈이 결여되었기 때문에 인지되지 않았다. Thomas 등¹⁴⁾과 Paterson 등³⁰⁾은, P에서 V ORF까지 switch하기 위하여 삽입하는데 필요한 것을 제외하고, *Parainfluenza*와 *morbillivirus* 1G에서 다른 바이러스도 역시 유사한 기전에 의해 V단백질을 표현할 수 있다고 예측하였다.

이와 같은 예측은 cDNA 클론에서 생산된 일부 P유전자 mRNA가 정상 크기의 P단백질을 얻기 위하여 번역될 수 있다는 것을 발견하였을 때, *measles virus*에서 최초로 입증되었고, 반면 다른 mRNA는 오직 V로 명명된, 더 작은 분자량의 단백질을 합성하기 위하여 번역될 수 있다³¹⁾. 여러 cDNA가 배열되었을 때, 그들간의 유일한 차이는 G의 짧은 홈통(run)내에 단일 extra G를 함유한 더 짧은 V단백질을 만드는 차이였고, 그것 역시 계놈내에는 없었다³¹⁾. P유전자 mRNA내 G삽입 과정을 편집하는 RNA의 대부분은 여러 가지로 나타났지만, *Paramyxovirus*과의 모두 즉 예를들면, *Sendai virus*³²⁾, *mumps virus*²⁹⁾, hPIV-2³³⁾, hPIV-4³⁴⁾, bPIV-3³⁵⁾, hPIV-3³⁶⁾, LPMV³⁷⁾ 및 NDV³⁸⁾가 그런 것은 아니었다.

(4) G삽입 기전

파라믹소바이러스 mRNA상에서 poly(A) 꼬리의 형성은 각 유전자의 말단에서 종결서열내의 U₄7 stretch를 반복적으로 복사하는 바이러스 폴리머라아제에 의해 일어나는 것으로 생각된다. G삽입은 P유전자 mRNA에서만 일어나고 P유전자 내에서는 일어나지 않는 것(예를 들면, 전사(轉寫) 동안은 일어나지만 계놈복제 동안은 일어나지 않음)으로 보이기 때문에, 그리고 U₄7 stretch를 선행하는 서열과 G삽입부위의 서열 사이에 일부 상동성도 있기 때문에, G삽입이 삽입부위에서 계놈 주형상에 짧은 C stretch의 반복적 복사에 의해 일어난 것으로 생각되었다^{14,30,31)}.

G삽입이 반복적 복사에 기인되었다는 견해에 대한 지지는 *Sendai virus*를 이용하여 얻었다^{15,32)}. 모든 파라믹소바이러스는 주형-결합

(template-bound) 폴리머라아제를 함유하며, 정제(精製)바이러스는 *in vitro*에서 mRNA를 만들 수 있다. 그러나, *Sendai virus*에서만은 특성을 잘 나타낸 효과적인 mRNA 합성을 위한 조건을 가졌다. 정제 *Sendai virus*로 만든 P유전자 mRNA는 *in vivo*에서 만든 것으로 실험 비교하였을 때, 이들이 매우 유사하게 “편집”되는 것을 발견하였다. 이것은 삽입이 바이러스 단백질에 의하여 야기된 것을 나타낸다. P유전자 mRNA가 *Sendai virus*와 혼합감염된 세포내의 재조합 *vaccinia virus*에서 발현되었을 때, *Sendai virus* 계놈에서 만들어진 것은 앞서와 같이 변형되었고, 다른 한편, *vaccinia* 계놈에서 만들어진 것은 변형되지 않았다. *Trans*로 작용하는 삽입 활성의 불가능은 삽입이 사전에 형성된 mRNA상에서 보다 오히려 mRNA 합성 동안 일어난다는 견해를 지지한다. G삽입도 역시 mRNA가 *in vivo*에서 박테리오파아지 T7 polymerase로부터 또는 *Sendai virus* polymerase를 사용하는 RNA vector로부터 만들어질 때에는 일어나지 않는다¹⁵⁾. 이와 같은 모든 결과는 G삽입을 위한 공동전사기전(cotranscriptional mechanism)과 일치한다. “stuttering (반복 중단)” 모델은 이들 현상이 주로 계놈서열에 의해 조절되는 것이, 제안되었고^{15,35)}, 이용할 수 있는 결과에 기초하고 있다. 그 모델은 폴리머라아제가 주형의 내재성 특성 때문에 삽입부위나 인접에서 중지한다는 것을 제안하고, 그후 중단이 충분히 길 때, 신생 mRNA의 어긋나는 정도(slippage)가 1 nucleotide(예를 들면 *Sendai virus*와 *measles virus*) 또는 2 nucleotide(SV5와 *mumps*)에 의해 일어난다.

RNA editing의 기전은 야외형 *Sendai virus*에 의해 표현되고, 복제되어, package할 수 있는 *Sendai virus*의 인공 minigenome을 사용함으로써 시험이 더욱 진행되었다³⁹⁾. Park과 Krystal¹³⁾은 과정이 일어나는데 필요한 editing 부위를 둘러싼 최소 크기의 P유전자 서열을 시험하는 방법을 개발하였다. RNA minigenome은 *Sendai virus* genome의 5' 및 3' 말단서열 145와 119에 의해 측면을 우회한 영역을 코드하는

antisense chloramphenicol acetyltransferase (CAT)로 되어있다. 유사한 strategy도 역시 RS 바이러스 복제를 시험하기 위하여 개발되었다⁴⁰⁾. P/C/V 유전자의 RNA editing 부위에서 유도된 합성 *Sendai virus* 42-base RNA 분자가 CAT 유전자의 중앙에 삽입되고, 감소된 효과에도 불구하고, *Sendai virus* polymerase가 G-뉴클레오티드 삽입을 이용하여 mRNA를 충분히 전사할 수 있음을 발견하였다. 3' 말단에서 점진적으로 삭제함으로써 G-삽입부위를 spin하고 있는 24-nucleotide 서열이 editing을 일으키기에 충분하였다는 것을 발견하였다¹³⁾.

파라믹소바이러스 공동전사적 편집(cotranscriptional editing)의 주목할만한 상황은 모든 경우에 G 삽입 빈도가 각 유전자의 ORF 구조와 일치되어 있다는 것이다(전보²⁰⁾의 그림 5 참조). 따라서, *Sendai virus*와 *Morbillivirus*에서, 1G 삽입은 삽입이 일어날 때 보편화된 현상(predominant event)이며, rubulavirus에서 2G 삽입은 보편화된 현상이고 그리고 hPIV-3에서, 아마도 1~6G가 동일 빈도로 첨가되며, 이 유

전자내에 함유된 2개 중복된 ORF를 수용하는 것으로 추측된다.

다른 P 유전자의 다양한 산물은 표 1과 전보²⁰⁾의 그림 5에 수록되어 있다. 고도로 인산화된 P 단백질을 제외하고, RNA 합성에 필수적이며, 역시 이 유전자에서 만들어진 가장 긴 폴리펩티드이며, 다른 것 중 어느 것도 이 유전자에서 일관성 있게 표현된 것은 없다. 그러나, mRNA 편집과 P 유전자 표현에 기초를 두고, 한 경향이 바이러스 그룹에 따라 출현한다.

*Parainfluenzavirus*와 *morbillivirus*에서, P ORF는 N-말단 P 서열이 중복하는 C ORF를 가진 continuous stretch에서 발견된다. V ORF는 그 유전자의 중심 가까이에서 발견되고, V는 1G 삽입을 가진 mRNA에서 만들어진다. mRNA의 약 절반은 삽입되고, 이들중에서, 1G의 삽입이 압도적이다. 그러나, 2개 이상의 G를 가진 mRNA도 역시 발견된다. 2G 삽입은 일반적으로 그후 짧게 판독틀을 종결하고, W로서 명명된, P 단독의 N-말단 절반을 표현하는 단백질을 생산한다.

표 1. 표현될 수 있는 P 유전자 ORF

<i>Paramyxovirus</i>	Host	Ribosomal choice			mRNA editing	
		P	C'	C	D	V
Sendai	mouse	+	+	+	-	+
hPIV-1	human	+	+	+	-	-
bPIV-3	cattle	+	..	+	+	+
hPIV-3	human	+	-	+	+	(+)
Mumps	human	+	-	+
Simian virus 5	dog	+	-	+
hPIV-2 and hPIV-4	human	+	-	..	-	+
NDV	fowl	+	-	+
Measles	human	+	-	+	-	+
Canine distemper	dog	+	-	+	-	+
Rinderpest	cattle	+	-	+	-	+
Phocine distemper	seals	+	-	+	-	+

(+), not definitely proven

이러한 경향은 *morbillivirus*에서는 변함이 없으나, 의외로 *parainfluenzavirus*에서는 예외가 있다. bPIV-3과 hPIV-3에서, P를 중복하는 2개의 ORF 즉, 고도로 보존된 cysteine-rich V ORF와 D라 부르는 것이 있다. hPIV-3과 bPIV-3 모두에서, 2G-삽입 mRNA는 D단백질을 표현하며, alternate C-terminal 단백질서열과 관련되는 것을 제외하고는 V와 유사한 융합 단백질이다. bPIV-3 역시 1G-삽입 mRNA로부터 V단백질을 표현하기 때문에, 이 바이러스는 HIV와 *polyoma virus*와 함께, 3개 flane 모두에서 동일 뉴클레오티드 서열로부터 단백질을 표현하는 생소한 특징을 가진다. 다른 한편, hPIV-3 P유전자내에, cysteine-rich V ORF가 보존되었을지라도, 삽입부위와 cysteine-rich ORF 사이에 4개 중지코돈이 있고, 그래서 1G-삽입 mRNA는 V단백질보다는 오히려 W를 코드한다. 그후 hPIV-3가 V단백질을 표현하는지 여부는 전혀 불분명하다.

hPIV-3 및 bPIV-3과 같이, *Sendai virus*(역시 설치류 PIV-1으로 명명됨)와 hPIV-1은 매우 밀접하게 관련된 한쌍의 바이러스이다. 그럼에도 불구하고, hPIV-1은 G삽입에 대한 공통배열 (consensus sequence)을 소유하지 않으며, V ORF는 적어도 9개 정지코돈에 의해 저지되어있고, 따라서 hPIV-1은 V단백질을 표현할 수 없다.

*Rubulavirus*에서 C ORF의 중복이 없고, P ORF는 게놈내에서 continuous stretch (連續伸張)로서 발견되지 않는다. 오히려, 게놈 RNA서열은 그곳에 이미 융합된 cysteine-rich ORF를 가지고있는, 1G-삽입 *Sendai virus/measles virus* mRNA의 보체에 상당한다. *Rubulavirus* 내에서, 하류 P ORF 서열은 불활성 P ORF를 저장하는 2개 부가적 G간기의 삽입에 의해 N-말단 부위에 재융합되어 있다. 단일 G의 삽입은 이 바이러스 그룹내에서 드문(또는 존재하지 않는) 현상이다. 그러나, 4G의 삽입이 발견되었고, 이것은, 위의 W situation과 유사하며, I라 부르는 제3의 단백질을 유도한다.

Rubulavirus 중에서 이러한 법칙에 대한 유일한 예외는, 비포유류 파라믹소바이러스인

NDV이다. NDV에서 P유전자는 비교적 짧을지라도, 중복 C ORF를 함유하지 않는 것을 제외하고, 파라인플루엔자바이러스 및 *morbillivirus*와 유사하게 구성되어 표현된다³⁹⁾.

(5) 다양한 P유전자 산물의 기능

지금까지 파라믹소바이러스의 전염성 cDNA 클론을 생산하는 것이 불가능하다고 판명되었을지라도, 세포 내부와 *in vitro* 모두에서, DI RNA를 표현하는 cDNA와 바이러스 단백질을 표현하는 cDNA를 사용함으로써, 바이러스 생활환의 어떤 면을 개조하는 것이 가능하였다. 이러한 system을 사용함으로써, NP, P 및 L 유전자는 모두 예상하였던 대로 게놈 복제에 필요한 것을 발견하였다. 여러 *Sendai virus* P유전자 산물중에서, P단백질 자체만이 RNA합성에 필수인 것으로 알려졌다. 대조적으로, C, V 및 W 단백질은, 용량 의존적으로 RNA합성을 억제하였다⁴¹⁾. 이들 억제효과를 더 면밀히 시험했을 때, C단백질은 주로 mRNA합성을 억제하였고, 게놈 복제에 거의 효과가 없었다는 것을 발견하였다. 대조적으로, V와 W 단백질은 주로 게놈복제를 억제하였고, mRNA합성에 효과가 아주 적거나 없었다. *Sendai virus* P유전자는 폴리메라아제 복합체의 필수성분을 위해서 뿐만 아니라 그 작용을 변화시킬 수 있고, 그 반대방향으로 변화시킬 수 있는 2그룹의 단백질을 위하여 code하는 것으로 보일 수 있다. 만일 이들 비구조단백질 역시 세포성분과 상호 작용한다면(그리고 이 유전자의 다른 ORF 모두가 고도로 보존되어있지 않을 때 이것이 파라믹소바이러스아과와 V아미노산서열의 높은 보존을 위한 이유가 될 수 있다면), 이들은 숙주세포의 대사상태를 감지하는 바이러스에 유용할 수 있고, 세포성 수송이 무엇을 운반할 수 있는지에 따라 바이러스 복제를 빠르게 진행시키거나 느리게 할 수 있다. 만일 그렇다면, 이들 다른 P유전자 산물은 "supplemental" 유전자의 범주대로 정렬할 수 있고, 이것 역시 일부 파라믹소바이러스, 심지어 아주 밀접하게 관련된 이것들이 어느 것인가 다른 단백질을 표현하지 않는 이유를 설명하는데 도움이 될 수 있다.

게놈 복제

(1) 전사에서 복제로의 전환

(-) 게놈은, 전장(全長) 상보적 복사(full-length complementary copy)를 경유하여 복제하는 (+) antigenome이라 하는데, assembled form에서만 발견되는 (-) 게놈과 같다. 전사와 복제간의 본질적 차이를 나타내는 모식도는 그림 2에 나타나 있다. *Rhabdovirus*에 비하여, 파라믹소바이러스 감염세포내에 상당량의 antigenome nucleocapsid가 있다(*Sendai virus*에서 10~40%). antigenome nucleocapsid에 대한 판별이 바이러스 assembly 동안은 어렵기 때문에, antigenome도 역시 바이러스 입자내에 게놈 크기의 RNA가 5~20% 나타날 수 있다⁴²⁾. 그러나 그들은 ORF의 아무런 기록도 없고, mRNA가 그들로부터 전사된다고도 알려져 있지 않다. 그들의 유일한 기능은 게놈복제내의 중간체로서 존재하는 것으로 생각되고 있다.

1차 전사의 번역과 바이러스 단백질의 집적(accumulation)후, antigenome 합성이 시작된다. 여기서, 표면상으로 동일 polymerase가 그 후 mRNA 합성에 사용되었을 때까지 동일 주형을 복사하지만 이제는 모든 연결 종지시그널(junctional stop signal)과 편집 부위를 무시하고, 정확하고 상보적인 복사물을 합성한다. 전사와 복제는 감염된 세포가 단백질합성을 억제하는 약물로 처리될 때, mRNA 합성은 정상적으로 계속되었지만, 게놈합성은 신속히 소실되었다는 소견에 의해 최초로 식별되었다⁴³⁾. 게놈합성과 캡시드형성은 함께 일어나는 것으로 보이기 때문에, 게놈 복제를 위해 단백질의 계속적인 합성은 게놈 캡시드형성에 필요한 집합되지 않은 NP(NP⁰)의 연속적인 공급과 관련되었다. 게놈 assembly와 합성의 공역(共役, coupling)은 아무튼 junctional signal과 editing signal을 무시하는 폴리머라아제가 원인이 되는 것으로 생각된다⁴⁴⁾.

게놈 assembly와 합성의 공역도 역시 전사와 복제의 상대적 수준을 조절하기 위하여 self-regulatory system으로 유도한다. VSV에서,

antigenome 캡시드형성의 개시를 위한 부위로서는 leader 서열의 최초 14 nucleocapsid에 대한 지도가 작성되었는데, 파라믹소바이러스에서 유사한 상황이 적용되는 것으로 보인다.

Measles virus 감염세포에서, 함께 융합된 leader와 NP유전자 배열을 나타내는 rare polyadenylated 전사는 발견되는 반면, nucleocapsid로서 NP mRNA는 nonassembled form 내에서만 발견된다⁴⁵⁾. (+) leader 서열은 캡시드형성 부위를 함유하기 때문에, leader는 assemble되고 번역되지 않은 형태의 종결로부터(1차 junction에서 종결과 재개시에 의한) 최초 mRNA를 보호하기 위하여 최초 mRNA의 body에서 분리되어야 한다. 제안된 self-regulatory 기전은 그 후 거의 우회하지 않게 되며, NP⁰가 한정되어 있을 때 폴리머라아제가 우선적으로 mRNA 합성에 사용될 수 있고, NP⁰를 포함하여 모든 바이러스 단백질의 세포내 수준을 향상시킨다. NP⁰ 수준이 충분할 때 폴리머라아제는 복제로 스위칭할 수 있고, 그 때문에 각 캡시드형성의 개시는 assembled chain을 종결하기 위하여 약 2,600 NP monomer를 수용할 수 있어 NP⁰ 수준을 더 낮출 수 있다⁴⁶⁾.

앞에서 기술한 rare *measles virus* leader-NP mRNA⁴⁵⁾는 추측컨대 antigenome으로서 시작하였지만, 그럼에도 불구하고 2차 junction에서 chain을 polyadenylated / terminated polymease에 의해 만들어진다. Assembly와 합성 단계는 그 후 때때로 coupled될 수 없는데, 아마 신생 chain의 assembly가 junction에 접근할 수 있을 만큼 길게 폴리머라아제 운동이 배치되지 않기 때문이다. Antigenome chain을 종결하기 위하여 연속되지 않은 1차 junction을 통한 판독은 일반적으로 드문 현상이지만, VSV의 pol^R mutant⁴⁷⁾와 *Sendai virus*의 Z주⁴⁸⁾에서, 폴리머라아제는 신생 RNA를 캡시드형성 없이 20%이상의 빈도로 leader-NP junction을 통하여 판독한다. 그러나 rare *measles virus* 전사와는 달리, 이들 전사는 아마도 2차 junction 전에 불균일하게 종결한다⁴⁹⁾. 2차 junction에 도달하기 위한 이들 폴리머라아제의 불가능은 기대되지 않았고, 폴리머라아제가

동시에 assembly되어있는 신생 chain 없이 1차 junction과 cross되었다면, 상대적으로 비진행성 모드에 있는 것으로 생각되며 그러므로, 그것은 그후 짧게 heterogenous fashion 내에서 종결(또는 stall)한다. 이와 같은 관점에서, 폴리머라아제는 항상 이러한 비진행성 모드에서 개시할 수 있지만 assembly하기 위하여 연속된 신생 chain 만큼 긴 주형의 말단까지 연속될 수 있다. 그러나, mRNA 합성에서, 폴리머라아제는 아마도 1차 junction에서 그의 재개시에 기인하여, 그의 진행이 신생 chain의 동시 assembly에 독립적인 모드로 전환될 수 있다. 전사 모드에서, 폴리머라아제는 더욱더 5' 말단을 cap할 수 있고 P-유전자 mRNA를 편집함은 물론, mRNA의 poly (A) 꼬리를 형성하기 위한 junction에서 oligo (U) run에 stutter할 수 있다. 이 모델에서, leader/ NP junction은 폴리머라아제가 이 부위에 도달하기 전에 mRNA를 만들거나 게놈을 복제하는데 사용되는지 여부를 식별할 방법이 없기 때문에 중요한 checkpoint가 된다.

Antigenome 주형에서의 게놈합성은 antigenome의 3' 말단에서 promoter도 항상 "on"에 있는 antigenome 합성을 위한 것과 유사한 방식내에서 일어나는 것으로 생각되며, (-) leader-RNA는 단백질합성의 진행과는 독립적인 이 영역에서 만들어진다. 그러나, (-) 게놈 주형으로부터의 합성과는 대조적으로, antigenome 주형상에는 재개시 부위가 없고, 그래서 (-) leader RNA의 종결은 폴리머라아제를 재순환하는데에만 소용된다. NP⁰의 충분한 세포내 농도 조건하에서, 신생 (-) leader chain의 캡시드형성은 폴리머라아제가 L-유전자에 도달하기 전에 개시될 수 있으며, 이것은 캡시드 형성된 (-) 게놈상에서 모두 종결을 방해하고 합성을 유도할 수 있다.

(2) 6가지 규칙

게놈 RNA의 효과적인 복제는 그들의 총 길이가 6개의 multiple인 것을 필요로 한다(그림 3). 이 예기치 않은 규칙은 정확한 5'와 3' 말단을 함유하는 게놈 RNA를 표현한 natural

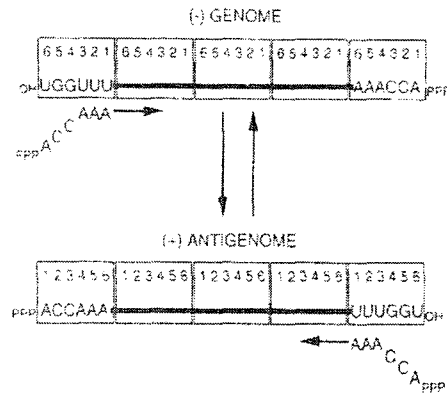


그림 3. Sendai virus 게놈을 복제하기 위한 6가지 규칙의 모식적 표현⁵⁰⁾

Sendai virus DI RNA의 cDNA 복사를 개시하는 게놈복제를 실행할 수 있게 되었을 때 발견되었다⁴⁹⁾. 다양한 제한부위를 사용하여, Calain과 Roux⁵⁰⁾는 어떤 부위에 2~3개 nucleotide의 첨가 또는 제거가 효과적인 복제를 파괴한 것을 발견하였는데, 더 많은 첨가나 삽입에 의해 복구될 수 있지만, 이것은 전체 길이가 6개의 multiple로 복구되었을 때 뿐이었다. 6가지 규칙의 부재에서 비효과적인 복제는 cDNA-expressed DI 게놈의 캡시드 형성결핍에 기인되지 않았는데, 결합이 있는 이들 nucleocapsid의 3' 말단에서 개시하는 폴리머라아제의 결핍이었던 것으로 추측된다.

6가지 규칙은 아마도 각 NP monomer가 정확히 6개 nucleotide와 결합되어있다는 사실과 관련되어있다⁵¹⁾. 뉴클레오캡시드 assembly는 아마 5' 말단에서 1차 nucleotide를 개시하고 3' 말단에 도달할 때까지 한번에 6개 nucleotide를 assemble함으로써 계속된다. 3' 말단에서 promoter의 효과는 그후 아마도 NP subunit와 관계있는 그의 위치에 좌우되고, 이것은 게놈 chain 내의 총 nucleotide 수에 의해 결정된다. 흥미롭게도, 유사한 규칙이 rhabdovirus 게놈의 복제에 적용할 때에는 나타나지 않으며, 각 N monomer가 6개 nucleotide 보다는 오히려 9개와 결합되어있다⁵²⁾.

결손간섭 게놈(DI게놈)

DI게놈은 복제오류의 결과로서 생기며, polymerase가 신생 게놈이나 antigenome chain을 운반하고, 그의 주형을 떠나 (a) chain을 종결하기 위하여 더욱더 하류의 동일 주형과 재결합하며, 따라서 내부 결실을 만들거나 또는 (b) 신생 chain 자체와 재결합하고, 합성을 종결함으로써 inverted terminal repeat를 만든다. 이들 polymerase transfer는 모두 분자내 현상이다. 분자간 이입(intermolecular

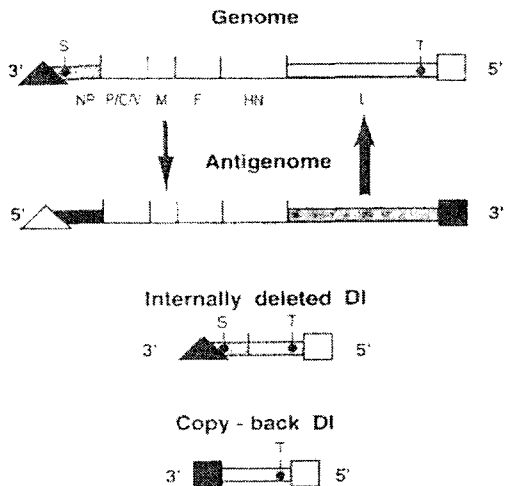


그림 4. 내부결실된 *Sendai virus* 구조와 copy-back 결실 간섭 RNA(55). 게놈 RNA의 3' 말단은 검정으로 채워진 삼각형으로 나타나 있고, 5' 말단은 개방된 정방형으로 나타나 있다. 상보적 antigenome 말단은 개방된 삼각형(5')과 검정으로 채워진 정방형(3')으로 나타나 있다. 내부결실 DI RNA는 게놈 RNA의 3' 과 5' 말단을 유지하고 NP 전사개시 signal(S)와, L유전자 종결 및 polyadenylation signal (T)를 유지하는 NP 및 L유전자의 단편을함유한다. Copy-back DI RNA는 게놈 RNA의 5' 말단 단편으로 되어있고, anti-genome의 3' 말단을 가지고 있다. 화살표(그의 굵은 것)는 새 RNA분자의 생성을 위한 주형의 사용 빈도를 나타낸다.

transfer)은 아직 파라믹소과에서는 보고된적이 없는 true recombinant를 유도한다. 후자 DI게놈은 “copy backs”이라 부르며, 2개 가능한 형 중에서, antigenome의 3' 말단을 복제하고(그림 4, 검게 밀폐된 정방형), 그 때문에 mRNA를 표현하지 않는 이들만이 발견된다^{53,54)}.

DI게놈은 다소 경합적 이점을 가지고있기 때문에 비결손성 helper virus를 간섭하는 것으로 생각되며, 그들의 크기에는 영향을 받지 않는다⁵⁵⁾. Copy-backs에 대한 이점은 분명히 나타난다. 감염 세포내에 antigenome 만큼 많은 게놈이 5배나 있기 때문에, 각각은 다른 것에 대한 주형이고, 그후 antigenome으로부터 게놈의 합성은 다른 nondefective genome 합성보다 (분자 basis상에서) 25배나 빈번하게 일어난다. 이것은 antigenome promoter가 더 강하기 때문(그 자체내에서 또는 전사를 위한 promoter로서 작용해서는 안되기 때문)이거나 또는 신생 게놈 chain의 5' 말단이 NP⁰에서 더 경합하기 때문에 일어날 수 있다. Copy-backs은 antigenome뿐만 아니라 게놈상에 더 강한 promoter를 가진다(그림 4). 이 설명은 단일 내부결실 DI가 기술되었고, 이 DI는 신속히 copy-back으로 발전(evolve)된 *Rhabdovirus* VSV에 응용되는 것으로 보인다⁵⁶⁾.

그러나, *Sendai virus*에서, 내부결실 DI는 드물지 않고, 이들은 크기에 구애되지 않고, stock에서 조차 copy-back과 안정적으로 공존할 수 있다⁵³⁾. 이들의 helper virus 뿐만 아니라 copy-back과의 경합능력은 수수께끼로 남아있다. 그러나, helper virus와 간섭하는 그들의 능력은, 발현되는 변형된 단백질에 기인될 수 있다. P의 C-말단 절반만을 함유하는 결실된 P 단백질은 DI 게놈의 두 형을 함유한 지속성 *Sendai virus* 감염에서 표현되며, 자연적으로 유도된 단백질은 게놈복제를 억제하는 것으로 보였다⁵⁷⁾. DI 게놈의 지속적 감염은 반복 진화를 겪으며, 이 내부결실 DI는 copy-back 후에 일어날 수 있으며 P fragment가 지속감염을 유지하는데 유용하기 때문에, 표준바이러스의 효과를 변조함으로써 보유된다. *Sendai virus* DI입자도 역시 지속감염의 확립에 관련된다.

Copy-back이 표준바이러스 감염에 부가될 때, 거의 모든 세포는 지속감염으로 생존하고, 정상적으로 용해성 감염으로부터의 이와 같은 변화는 주로 바이러스 분아(分芽)의 박리 및 M 단백질의 불안정성과 상관관계가 있다.⁵⁹⁾

Sendai virus DI 계놈은 hPIV-1 및 bPIV-3 과 같은 다른 helper parainfluenzavirus에 의해서 복제될 수 있지만 *measles virus*에 의해서는 복제되지 않는다. 그러나, 이 DI복제는 내인성 *Sendai virus* polymerase가 RNA chain을 개시할 경우에만 일어난다.³⁹⁾ 아마도 이종 바이러스는 *Sendai virus* nucleocapsid로부터 RNA합성을 개시할 수 없지만 *Sendai virus* polymerase에 의해 개시된 신생 chain을 assembly할 수 있다. 일단 이종 NP에 의해 assembly되면, 이종 polymerase는 이제 키메라 DI계놈을 증폭할 수 있다. 모든 parainfluenza virus는 최초 12 nucleotide를 공유하는 반면에, parainfluenza와 morbillivirus는 최초 9 nucleotide만을 공유한다. *Measles virus*가 *Sendai virus* DI계놈을 증폭시킬 수 없는 것은 신생 *Sendai virus* chain을 assembly 할 수 없는데서 기인한다.

바이러스입자 assembly와 방출

Paramyxovirus 복제의 생활환에서 다른 현상과 같이, nucleocapsid assembly는 세포질에서 일어난다. Nucleocapsid는 두 단계에서 assemble되는 것으로 생각된다. 즉 첫째는 helical RNA구조를 형성하는 계놈이나 주형 RNA를 가진 유리 NP subunit의 회합이고, 둘째는 P-L 단백질복합체의 회합이다⁶⁰⁾. TMV nucleocapsid의 assembly기전에 대한 상사성에 의해서, RNA를 가진 최초 단백질 subunit의 회합을 위해 정해진 핵적출점 (enucleation point)과, *paramyxovirus* mRNA는 주형 플러스쇄 antigenome 중간체 처럼 캡시드형성이 되지 않는다는 관찰을 사용하여, 그 계놈의 leader와 trailer 영역이 캡시드형성을 개시하기 위한 특이 서열을 함유하는 것으로 추측되었다⁶¹⁾.

바이러스의 2차 assembly 부분인 envelope

는 세포표면에 있다. 분극한(polarized) 상피세포내에서, *Paramyxovirinae*아과는 첨단면(apical surface)에서만 분아(分芽)한다. 바이러스 세포막내 단백질(viral integral membrane protein)은 ER내에서 합성되고 분비경로를 통하여 수송되기 전에 단계적 배좌성숙(conformational maturation)을 거친다. 바이러스 glycoprotein folding, oligomeric assembly 및 sorting의 기전은 근년에 광범위하게 특성이 결정되었으며, 바이러스단백질이 그들의 기능적 구조를 얼마나 필요로 하는지가 더욱 더 상세히 기술된 보고가 있다. 당단백질의 folding과 배좌성숙은 세포내에서 일어나는 자발적인 현상이 아니다. 오히려, 이들은 수많은 folding enzyme과 분자 샤프롱(molecular chaperone)에 의해 지원된다. Viral integral proteins, 특히 *influenza A virus*의 혈구응집소와 neuraminidase, *vesicular stomatitis virus*의 G단백질, 및 SV5와 *Sendai virus*의 HN단백질은 세포성 글리코단백질의 전형적인 예(paradigm)로서 광범위하게 사용되어왔으며, 세포외 유출경로에서 일어나는 과정에 대한 현재의 많은 이해는 이들 단백질에 대한 연구로부터 터득하여왔다⁶²⁾. Signal 또는 signal/anchor영역을 함유하는 세포막 단백질의 신생 polypeptide chain이 translating ribosome 내의 프로테아제 잠재구역에서 나타날 때, ER의 막내로 삼입하기 위하여 세포기관을 사용한다. 단백질 전위를 통한 펩티드쇄의 전좌(轉座)에서⁶³⁾, 단백질은 상호번역적으로 fold하기 시작한다. N-결합 oligosaccharide는 dolichol phosphate로부터 신생 chain으로 첨가되고, S-S결합이 형성되기 시작한다. 폴리펩티드쇄의 개시로부터 그 종결까지 순차적 folding은, 독립적으로 fold된 subdomain을 가지며, 아마도 *in vivo*에서 folding 효과를 해명하는데 도움이 된다. 단량체(monomer) subunit가 광범위하게 folding되어 있을 때, subunit-subunit 인식이 일어나고, oligomer assembly가 뒤따른다. 정확하게 fold되고 assemble된 단백질만이 일반적으로 ER을 벗어나 수송된다. Golgi 체내에서, carbohydrate chain은 높은 mannose에서 복합체 형성

까지 수식될 수 있고, 이들 multibasic cleavage site를 가진 F단백질에서, 절단(cleavage)이 *trans* Golgi network내에서 일어난다. 결국, 당단백질은 형질막으로 수송된다.

바이러스 입자가 형질막에 assemble되는 기전은 불분명하다. 위에서 고찰한바와 같이, 바이러스 M단백질은 분아(分芽) virion을 형성하기 위하여 형질막상의 적당한 patch로 assemble된 ribonucleoprotein core로 운반하는데 주요한 역할을 하는 것으로 생각된다. Virion을 assemble하게 하는 단백질-단백질 상호작용은 세포막 단백질이 virion으로부터 대부분이 배제되기 때문에 특이적이어야 한다. 당단백질 cytoplasmic tail은 M단백질과 접촉하는데 중요하며, 연속하여 nucleocapsid와 관련된다. 뉴라미니다아제 활성을 가진 이들 *paramyxovirinae* 아과는 그들의 탄수화물쇄의 sialic modification이 결핍된 당단백질을 함유하고, HN neuraminidase 활성은 self-binding을 방지하기 위하여, *influenza virus*의 neuraminidase와 동일한 목적으로 작용한다.

편집자 주

이 종설은 Lamb RA, Kolakofsky D. 1996. *Paramyxoviridae: The Viruses and their Replication*. Fields Virology (3 Eds), Ed. by Fields BN., Knipe DM., Howley PM et al. : Lippincott-Raven publishers. Philadelphia : 1190~1204 에 실린 내용을 편집하였음을 밝힙니다.

참고문헌

1. Choppin PW, Compans RW. 1975. Reproduction of paramyxoviruses. In : Fraenkel-Conrat H, Wagner RR, eds. *Comprehensive virology*. New York : Plenum : 95~178.
2. Pennington TH, Pringle CR. 1978. Negative strand viruses in enucleate cells. In : Mahy BWJ, Barry RD, eds. *Negative*

- strand viruses and the host cell*. New York : Academic : 457~464.
3. Markwell MAK. 1991. New frontiers opened by the exploration of host cell receptors. In : Kingsbury DW, ed. *The Paramyxoviruses*. New York : Plenum : 407~425.
4. Markwell MAK, Moss J, Hom BE, et al. 1986. Expression of gangliosides as receptors at the cell surface controls infection of NCTC 2071 cells by Sendai virus. *Virology* 155 : 356~364.
5. Lamb RA. 1993. Paramyxovirus fusion : a hypothesis for changes. *Virology* 197 : 1~11.
6. Baltimore D, Huang AS, Stampfer M. 1970. Ribonucleic acid synthesis of vesicular stomatitis virus 2. An RNA polymerase in the virion. *Proc Natl Acad Sci USA* 66 : 572~576.
7. Huang AS, Baltimore D, Bratt MA. 1971. Ribonucleic acid polymerase in virions of Newcastle disease virus : comparison with the vesicular stomatitis virus polymerase. *J Virol* 7 : 389~394.
8. Stone HO, Portner A, Kingsbury DW. 1971. Ribonucleic acid transcriptases in Sendai virions and infected cells. *J Virol* 8 : 174~180.
9. Portner A, Murti KG, Morgan EM, et al. 1988. Antibodies against Sendai virus L protein: distribution of the protein in nucleocapsids revealed by immunoelectron microscopy. *Virology* 163 : 236~239.
10. Iverson LB, Rose JK. 1981. Localized attenuation and discontinuous synthesis during vesicular stomatitis virus transcription. *Cell* 23 : 477~484.
11. Gupta M, Kingsbury D. 1984. Complete sequences of the intergenic and mRNA start signals in the Sendai virus genome

- : Homologies with the genome of vesicular stomatitis virus. *Nucleic Acids Res* 12 : 3829~3841.
12. Hunt DM, Smith EG, Buckley DW. Aberrant polyadenylation by a vesicular stomatitis virus mutant is due to an altered L protein. *J Virol* 1984;52:515~521.
 13. Park KH, Krystal M. 1992. *In vivo* model for pseudo-templated transcription in Sendai virus. *J Virol* 66 : 7033~7039.
 14. Thomas SM, Lamb RA, Paterson RG. 1988. Two mRNAs that differ by two nontemplated nucleotides encode the amino coterminal proteins P and V of the paramyxovirus SV5. *Cell* 54 : 891~902.
 15. Vidal S, Curran J, Kolakofsky D. 1990. A stuttering model for paramyxovirus P mRNA editing. *EMBO J* 9 : 2017~2022.
 16. Homann HE, Hofschneider PH, Neubert WJ. 1990. Sendai virus expression in lytically and persistently infected cells. *Virology* 177 : 131~140.
 17. Cattaneo R, Rebmann G, Baczko K, 1987. Altered ratios of measles virus transcripts in diseased human brains. *Virology* 160 : 523~526.
 18. Hirano A, Ayata M, Wang AH, et al. 1993. Functional analysis of matrix proteins expressed from cloned genes of measles virus variants that cause subacute sclerosing panencephalitis reveals a common defect in nucleocapsid binding. *J Virol* 67 : 1848~1853.
 19. Collins PL, Olmsted RA, Spriggs MK, et al. 1987. Gene overlap and site-specific attenuation of transcription of the viral polymerase L gene of human respiratory syncytial virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 84 : 5134~5138.
 20. Song HJ, Eo SK, Chai HS. Paramyxoviridae : Classification, viron structure, genomes and their encoded proteins. *KOJVS* 25(2) : ??-??. (총설 제1부가 인쇄 되면 쪽수를 기록요망)
 21. Bass BL, Weintraub H. 1988. An unwinding activity that covalently modifies double-stranded RNA substrate. *Cell* 55 : 1089~1098.
 22. Cattaneo R, Bileter MA. 1992. Mutations and AI hypermutations in measles virus persistent infections. *Curr Top Microbiol Immunol* 176 : 63~74.
 23. Rueda P, Delgado T, Portela A, et al. 1991. Premature stop codons in the G glycoprotein of human respiratory syncytial viruses resistant to neutralization by monoclonal antibodies. *J Virol* 65 : 3374~3378.
 24. Kozak M. 1986. Bifunctional messenger RNAs in eukaryotes. *Cell* 47 : 481~483.
 25. Boeck R, Curran J, Matsuoka Y, et al. 1992. The parainfluenza virus type 1 P/C gene uses a very efficient GUG codon to start its C'protein. *J Virol* 66 : 1765~1768.
 26. Curran J, Kolakofsky D. 1988. Ribosomal initiation from an ACG codon in the Sendai virus P/C mRNA. *EMBO J* 7 : 245~251.
 27. Curran J, Kolakofsky D. 1989. Scanning independent ribosomal initiation of the Sendai virus Y proteins in vitro and in vivo. *EMBO J* 8 : 521~526.
 28. Curran J, Kolakofsky D. 1988. Scanning independent ribosomal initiation of the Sendai virus X protein. *EMBO J* 7 : 2869~2874.
 29. Paterson RG, Lamb RA. 1990. RNA editing by G-nucleotide insertion in mumps virus P-gene mRNA transcripts. *J Virol* 64 : 4137~4145.
 30. Paterson RG, Thomas SM, Lamb RA. 1989. Specific nontemplated nucleotide

- addition to a simian virus 5 mRNA : prediction of a common mechanism by which unrecognized hybrid P-cysteine-rich proteins are encoded by paramyxovirus "P" genes. In: Kolakofsky D, Mahy BWJ, eds. *Genetics and pathogenicity of negative strand viruses*. London : Elsevier : 232~245.
31. Cattaneo R, Kaelin K, Baezko K, et al. 1989. Billeter MA. Measles virus editing provides an additional cysteine-rich protein. *Cell* 56 : 759~764.
 32. Vidal S, Curran J, Kolakofsky D. 1990. Editing of the Sendai virus P/C mRNA by G insertion occurs during mRNA synthesis via a virus-encoded activity. *J Virol* 64 : 239~246.
 33. Ohgimoto S, Bando H, Kawano M, et al. 1990. Sequence analysis of P gene of human parainfluenza type 2 virus: P and cysteine-rich proteins are translated by two mRNAs that differ by two non-templated G residues. *Virology* 177 : 116~123.
 34. Kondo K, Bando H, Tsuradome M, et al. 1990. Sequence analysis of the phosphoprotein(P) genes of human parainfluenza type 4A and 4B viruses and RNA editing at transcript of the P genes : the number of G residues added is imprecise. *Virology* 178 : 321~326.
 35. Pelet T, Curran J, Kolakofsky D. 1991. The P gene of bovine parainfluenza virus 3 expresses all three reading frames from a single mRNA editing site. *EMBO J* 10 : 443~448.
 36. Galinski MS, Troy RM, Banerjee AK. 1992. RNA editing in the phospho-protein gene of the human parainfluenza virus type 3. *Virology* 186 : 543~550.
 37. Berg M, Hjertner B, Moreno LJ, et al. 1992. The P gene of the porcine paramyxovirus LPMV encodes three possible polypeptides P, V and C: the P protein mRNA is edited. *J Gen Virol* 73 : 1195~1200.
 38. Steward M, Vipond IB, Millar NS, et al. 1993. RNA editing in Newcastle disease virus. *J Gen Virol* 74 : 2539~2547.
 39. Park KH, Huang T, Correia FF, et al. 1991. Rescue of a foreign gene by Sendai virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 88 : 1~5.
 40. Collins PL, Mink MA, Hill MG III, et al. 1993. Rescue of a 7502-nucleotide(49.3% of full-length) synthetic analog of respiratory syncytial virus genomic RNA. *Virology* 195 : 252~256.
 41. Curran J, Boeck R, Kolakofsky D. 1991. The Sendai virus P gene expresses both an essential protein and an inhibitor of RAN synthesis by shuffling modules via mRNA editing. *EMBO J* 10 : 3079~3085.
 42. Kolakofsky D, Bruschi A. 1975. Antigens in Sendai virions and Sendai virus-infected cells. *Virology* 66 : 185~91.
 43. Robinson WS. 1971. Sendai virus RNA synthesis and nucleocapsid formation in the presence of cycloheximide. *Virology* 44 : 494~502.
 44. Kolakofsky D, Vidal S, Curran J. 1991. Paramyxovirus RNA synthesis and P gene expression. In : Kingsbury DW, ed. *The Paramyxoviruses*. New York : Plenum : 215~233.
 45. Castaneda SJ, Wong TC. 1990. Leader sequence distinguishes between translatable and encapsidated measles virus RNAs. *J Virol* 64 : 222~230.
 46. Kolakofsky D, Blumberg BM. 1982. A model for the control of non-segmented negative strand viruses genome replication. In : *Virus Persistence Symposium* 33. Cambridge, MA : Society for general

- Microbiology Ltd, Cambridge University Press.
47. Perrault J, Clinton GM, McClure MA. RNP template of vesicular stomatitis virus regulates transcription and replication functions. *Cell* 1983;35:175~185.
 48. Vidal S, Kolakofsky D. 1989. Modified model for the switch from Sendai virus transcription to replication. *J Virol* 63 : 1951~1958.
 49. Calin P, Curran J, Kolakofsky D, 1992. Molecular cloning of natural paramyxovirus copy-back defective interfering RNAs and their expression from DNA. *Virology* 191 : 62~71.
 50. Calain P, Roux L. 1993. The rule of six, a basic feature for efficient replication of Sendai virus defective interfering RNA. *J Virol* 67 : 4822~4830.
 51. Egelman EH, Wu SS, Amrein M, et al. 1989. The Sendai virus nucleocapsid exists in at least four different helical states. *J Virol* 63 : 2233~2243.
 52. Thomas D, Newcomb WW, Brown JC, et al. 1985. Mass and molecular composition of vesicular stomatitis virus : a scanning transmission electron microscopy analysis. *J Virol* 54 : 598~607.
 53. Amesse LS, Pridgen CL, Kingsbury DW. 1982. Sendai virus DI RNA species with conserved virus genome termini and extensive internal deletions. *Virology* 118 : 17~27.
 54. Re GG, Gupta KC, Kingsbury DW. 1983. Genomic and copy-back 3' termini in Sendai virus defective interfering RNA species. *J Virol* 45 : 659~664.
 55. Re GD. 1991. Deletion mutants of paramyxoviruses In : Kingsbury DW, ed. *The Paramyxoviruses*. New York : Plenum : 275~298.
 56. Perrault J. 1981. Origin and replication of defective interfering particles. *Curr Top Microbiol Immunol* 93 : 151~207.
 57. Garcin D, De Melo M, Roux L, et al. 1994. Presence of a truncated form of the Sendai virus P protein in a long-term persistent infection: implications for the maintenance of the persistent state. *Virology* 201 : 19~25.
 58. Roux L, Waldvogel FA. 1982. Instability of the viral M protein in BHK-21 cells persistently infected with Sendai virus. *Cell* 28 : 293~302.
 59. Curran J, Richardson C, Kolakofsky D. 1986. Ribosomal initiation at alternate AUGs on the Sendai virus P/C mRNA. *J*