

프리온 질환과 어류의 관련성에 관한 연구 동향

김재일

부경대학교 식품영양학과

Fish and Prion Diseases

Jae-Il Kim

Department of Food Science and Nutrition, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

Transmissible spongiform encephalopathies (TSEs), also termed prion diseases, are a threat to food safety and to human and animal health. Variant Creutzfeldt-Jakob disease (vCJD) in humans is caused by the consumption of meat contaminated with bovine spongiform encephalopathy (BSE, mad cow disease). The BSE epidemic in the United Kingdom was shown to be related with the extensive use of BSE-contaminated meat-and-bone meal (MBM) and bovine offal. Many countries worldwide use MBM, as well as meat from cows, for aquaculture feed. This raises concerns about the safety of farmed fish, a major protein source for humans. The present work reviews recent studies on fish prion protein and the transmissibility of mammalian prion agents to fish, providing insights into the future direction of fish prion research.

Key words: Prion diseases, Bovine spongiform encephalopathy, Meat-and-bone meal, Fish prion, Transmissibility

서론

전염성 해면상 뇌증(transmissible spongiform encephalopathies; TSEs)이라고도 하는 프리온 질환(prion diseases)은 사람 및 동물의 중추신경계에 영향을 미치는 치명적인 신경퇴행성 질환이다(Kim YS, 1990). 질병에 걸린 뇌의 신경병리학적인 병변으로는 전반적인 신경세포의 소실에 의한 해면모양(spongiform)의 퇴화와 함께 별아교세포비대증(astrocytosis)을 나타내고, 일부의 경우 비정상적인 프리온단백질(Pr^{Sc})로 이루어진 아밀로이드 플라크(amyloid plaque)가 뇌조직에 침착하는 것이 그 특징이다(Prusiner SB, 1998).

동물에서 유발되는 질환으로는 양의 스크래피(scrapie), 소의 우해면상뇌병증(bovine spongiform encephalopathy, BSE 또는 일명 광우병, mad cow disease), 그리고 사슴과 고라니에서 발생하는 만성소모성질환(chronic wasting disease, CWD) 등이 있다. 사람에서는 산발성(sporadic), 가족성(familial), 그리고 감염성(infectious)의 세 가지의 형태로 발생한다. 산발성 Creutzfeldt-Jakob disease (sporadic CJD, sCJD)는 뚜렷한 발병원인이 밝혀져 있지 않은 가장 많이 발병하는 형태로서, 전 세계적으로 매년 백만 명당 1-2명의 환자가 발생하고 전체 사

람 프리온질환의 약 85-90%를 차지한다(Prusiner SB, 1998). sCJD의 경우 국내에서도 유사한 발병률을 나타내고(Jeong et al., 1998), CWD의 경우 캐나다에서 수입한 사슴(elk)에서 발병한 예가 보고되어 있다(Kim et al., 2005; Sohn et al., 2002).

프리온질환은 발병률이 높지 않은 드문 질환이기는 하지만 현재까지 치료법이 없고 질환이 발병하게 되면 100% 사망에 이르는 치명적인 질환이며, 또한 전염성을 가진다는 점에서 다른 신경퇴행성질환과 차이가 있다(Prusiner SB, 1998). 또한 variant CJD (vCJD)라고 하는 새로운 형태의 CJD가 보고되어 있고, 이 질환의 원인은 BSE에 오염된 쇠고기의 섭취와 연관되어 있음이 밝혀짐으로써 그 위험성 때문에 대중들의 많은 관심의 대상되고 있다(Bruce et al., 1997; Hill et al., 1997; Will et al., 1996). 최근에는 그 사망자 수가 감소하고 있지만, 전 세계적으로 1995년 이후 200명 이상의 vCJD 사망자가 발생하였다(CDC, 2014). 1980년대 중반 이후 영국을 중심으로 한 BSE의 폭발적인 발생과 그와 연관된 vCJD의 출현은 BSE에 오염된 소의 부산물을 이용하여 만든 육골분 사료(meat-and-bone meal, MBM)의 광범위한 사용과 오염된 육가공품의 섭취가 그 원인이라 할 수 있다(Brown P, 2004). 이러한 점에서 프리온 병원체가 오염된 동물성 식품이 food chain을 통해 사람으로 전

<http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2014.0341>



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Kor J Fish Aquat Sci 47(4) 341-346, August 2014

Received 24 July 2014; Accepted 28 July 2014

*Corresponding author: Tel: +82. 51. 629. 5849 Fax: +82. 51. 629. 5842

E-mail address: jikim@pknu.ac.kr

염될 가능성은 식품안전 및 공중보건 측면에서 중요한 문제라고 할 수 있다.

소의 육골분사료는 소의 육 및 다른 포유류 유래 산물들과 함께 과거에 양식어류의 사료에 첨가되었고, 일부 국가의 어류양식에 사용되고 있다(Friedland et al., 2009; Matthew and Cooke, 2003). 미국에서는 소의 지방을 제외한 나머지 재료를 돼지, 조류, 애완동물, 또는 어류에게 먹이는 것에 대한 제재가 없는 것으로 알려져 있다(Friedland et al., 2009). 전통적으로 양식어류 사료에 사용되는 어분(fish meal)과 비교하여 단백질 함량이 높고 저렴한 가격 때문에 육골분 및 조류의 부산물이 어류의 단백질급원으로 사용되는 것이다(Baboli et al., 2013; Yang et al., 2004). 어류를 포함하는 수산물의 섭취는 관상심장 질환의 예방측면에서 우리나라를 포함하여 전세계적으로 권장되고 있고(Kromhout D., 2001; The Korean Nutrition Society, 2010), 이와 더불어 유럽연합(European Union, EU)의 몇몇 국가들에서는 수산양식산업이 급격하게 발달하고 있다(Salta et al., 2009). 이상과 같이 어류양식은 사람과 동물의 주요 단백질 자원을 제공해주는 경제적으로 주요한 사업이므로 프리온 병원체에 의한 양식어류의 오염가능성, 또는 양식어류의 프리온 질환 발병가능성에 대한 기초연구는 중요하다고 할 수 있다. 따라서, 본 논문에서는 프리온질환의 특성과 최근까지 발표된 어류 프리온 단백질(prion protein, PrP)의 동정 및 질병발병 가능성에 대한 국제적인 연구동향을 고찰함으로써 향후 연구방향에 대한 자료를 제시하고자 한다.

프리온 병원체의 특성

병원체가 단백질로만 이루어져 있다고 하는 프리온 가설(prion hypothesis)에 따르면, 프리온 병원체는 핵산이 없는 전염성 입자이고, 단지 구조가 변형된 PrP로만 이루어진 것으로 생각되고 있다(Bolton et al., 1982, Prusiner SB, 1998,). 정상 세포에 존재하는 PrP (cellular PrP; PrP^C)는 30-35 kDa의 나선구조(α -helical)를 가진 단백질이지만, PrP를 암호화하는 유전자의 돌연변이에 의해서, 또는 외부에서 유입된 비정상적인 감염성 PrP (PrP^{Sc})와 접촉하는 것에 의해 나선이 풀려(unfolding) β -sheet로 형태가 변환되면서 단백질 분해효소(proteinase K, PK)에 저항성을 가지는 비정상적인 PrP^{Sc}로 변형된다는 것이다(Pan et al, 1993). 이 PrP^{Sc}는 전염성뿐만 아니라 증식성을 나타내어 결국에는 주위의 신경세포를 선택적으로 사멸시켜 질병을 일으키게 되는 것으로 알려져 있다. 신경세포 사멸의 기전에는 PrP^{Sc}에 의한 산화적스트레스의 관련성 등이 보고되어 있지만(Kim et al, 2001; Kim and Lee, 2008), 아직까지 정확하게 어떠한 경로 또는 기전을 통해서 직접적인 신경세포 소실을 유발하는지는 정확하게 밝혀져 있지 않다.

프리온 단백질의 특성

포유류 PrP^C 생성과정은 전사 이후에 광범위한 수식(modification)이 진행된다. 다른 막단백질과 마찬가지로 rough endo-

plasmic reticulum (ER)에서 만들어진 PrP^C는 golgi apparatus를 통과하면서, N-말단 부분에 2개의 glycan의 부착, disulfide bridge의 형성 및 glycosylphosphatidylinositol (GPI) anchor의 부착과 같은 수식(modification)과정을 거치고 최종적으로 세포막의 외막부분으로 이동하게 된다(Harris DA, 2003). PrP^C는 많은 조직들에서 발견되는 것으로 알려 있고, 특히 신경 및 면역세포에 높게 발견되는 것으로 나타났다(Collinge, 2001; Fort et al., 2002). 마우스 PrP 유전자를 결손시킨 마우스(PrPKO mouse)의 경우 정상적으로 생존하고 뚜렷한 생리학적 또는 행동학적 이상을 나타내지 않는다(Bueller et al., 1992). 동일 마우스에 프리온 병원체를 주입하였을 경우 질환에 걸리지 않고 감염에 저항성이 있는 것으로 나타남으로써 프리온 병원체의 증식에 PrP^C가 필수적이라는 것이 확인되었지만(Steele et al., 2007; Bueller et al., 1993), 아직까지 정확한 생리적인 역할은 불분명하다. 현재까지 보고되어 있는 PrP^C의 가능성 있는 역할들은 림프구 활성화(Cashman et al., 1990), 시냅스 기능(Collinge et al., 1994), Cu 대사(Brown et al., 1997a), 산화적 스트레스 및 apoptosis로부터의 보호(Brown et al., 1997b; Kuwahara et al., 1999, respectively), 신호전달(Mouillet-Richard et al., 2000), 세포점착분자와의 결합(Schmitt-Ulms et al., 2001), 그리고 세포자기소화(autophagy)의 조절(Oh et al., 2008) 등이 있다. 이러한 PrP^C의 잠재적인 역할들의 *in vivo*에서의 관련성은 이후 연구에서 규명되어야 할 것이다.

어류 PrP 단백질의 동정

포유류의 PrP를 coding하는 cDNA는 햄스터에서 처음으로 클로닝되어 특징이 밝혀지고, 이후 마우스와 사람(Oesch et al., 1985), 조류(Harris et al., 1991), 파충류(Simonin et al., 2000), 그리고 양서류(Strumbo et al., 2001)에서 확인되었다. 어류의 경우에는 PrP-관련단백질로서 비교적 최근에 밝혀지기 시작했고, 현재까지 확인되어 있는 어종은 다음과 같다(Favre-Krey et al., 2007): 자주복(puffer fish, *Takifugu rubripes*) (Oidtmann et al., 2003, Rivera-Milla et al., 2003, Suzuki et al., 2002), 대서양 연어(Atlantic salmon, *Salmo salar*) (Oidtmann et al., 2003), 초록 복어(*Tetraodon nigroviridis*) (Premzl et al., 2004), 농어(Japanese sea bass, *Lateolabrax japonicus*) (Liao et al., 2005), zebrafish (*Danio rerio*) (Cotto et al., 2005), 넙치(Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*) (Liao et al., 2005), 이스라엘 잉어(common carp, *Cyprinus carpio*) (Rivera-Milla et al., 2006), 큰가시고기(stickleback, *Gasterosteus aculeatus*) (Rivera-Milla et al., 2006), 무지개 송어(rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*) (Rivera-Milla et al., 2006), 그리고 청돔속 어류(gilthead sea bream, *Sparus aurata*) (Favre-Krey et al., 2007). 대서양연어 *S. salar*의 경우 유전자의 조직 발현의 특성을 분석하였을 때 근육, 간, 심장을 포함한 여러 조직에서 검출되었고, 뇌에서 가장 발현이 높은 것으로 확인되었다(Oidtmann et al., 2003).

mann et al., 2003). 이들 경골어류에서 두 개의 PrP ortholog (동종유전자)인 PrP-1과 PrP-2가 동정되었다. 비록 포유류 PrP^C와 비교하여 단백질의 분자량은 크고 아미노산서열의 상동성(homology)은 ~30%로 낮은 것으로 확인되었지만, PrP^C의 여러 가지 특성, 즉 N-말단의 연속적인 반복아미노산서열(tandem peptide repeat) 영역, 중간 부분의 소수성 영역, 그리고 C-말단의 disulfide 결합과 같은 특성을 보유하고 있었다. 또한 C-말단의 구상(globular) 형태는 포유류 PrP^C와 마찬가지로 α -helix 및 β -sheet를 이루고 있는 것과 나타났다. 이외에 ER로의 이동 및 GPI anchor 부착에 필요한 signal sequence를 가지고 있고, C-말단에 glycan 부착을 위한 공감서열을 가지고 있는 것으로 확인됨으로써(Malaga-Trillo et al., 2011; Miesbauer M et al., 2006), 포유류 PrP^C의 구조적인 특성이 어류에도 유지되는 것으로 나타났다.

포유류가 아닌 어류에 PrP와 유사한 단백질이 존재한다는 것은 어류에서 어떤 특정한 기본적인 역할을 할 것임을 의미한다. 어류 PrP의 생리학적 기능에 관해서는 zebrafish를 이용하여 유전자를 제거하는 방법을 적용하여 연구되었다. Zebrafish (*D. rerio*) embryo에서 PrP-1 또는 PrP-2 유전자발현을 결손시켰을 때, 세포간 점착의 감소, apoptosis의 증가, 낭배형성(gastrulation)의 정지, 그리고 중추신경계 발달의 손상 등을 포함하여 배아기 발달과정에 중대한 결함이 유발되는 것으로 확인되었다(Malaga-Trillo et al., 2009). 이러한 결과는 포유류 PrP^C의 가능성 있는 역할로써 제시되었던 세포접착분자 및 신호전달물질로서의 역할과 일치하는 것이고(Mouillet-Richard et al., 2000; Schmitt-Ulms et al., 2001), 이는 세포와 세포 간의 communication에 PrP가 결정적인 역할을 할 것임을 의미한다.

어류에 대한 프리온병원체 감염 연구

앞에서도 서술하였듯이 프리온 질환의 발병 및 다른 종으로의 감염을 위한 전제조건은 감염개체에 내인성 PrP^C가 있어야 한다는 것이다(Bueler et al., 1993). 어류에서 PrP와 동종의 단백질이 동정이 되었다는 것은 어류에서도 프리온질환 또는 유사한 질환에 감염이 가능할 수도 있음을 의미하는 것이다. 이러한 가능성을 검토하기 위해서 상업적으로 중요한 양식어류들을 대상으로 감염연구가 수행되었다.

Ingrasso et al. (2006)은 무지개 송어(*O. mykiss*)와 대문짝 낚치(turbot, *Scophthalmus maximus*)를 대상으로 프리온 병원체 139A strain을 경구 및 비경구적으로 투여하고 일정 기간 이후 어류의 조직을 채취하여 그 조직의 프리온 감염력의 유무를 mouse bioassay를 통해 조사하였다. 경구적으로 강제 투여된 프리온 병원체는, 주입 이후 1, 15, 60, 90일째에 어류의 각 조직에 남아있는 감염력은 전반적으로 없었지만, 투여 후 1일째에 채취한 무지개송어의 장조직을 접종한 마우스의 뇌조직에서 PrP^{Sc} 및 해면상 병변이 관찰되었다. 접종 마우스는 임상증상을 나타내지는 않았지만, 이러한 결과는 송어의 장에 소량의 잔여

감염력이 남아있음을 의미한다. 또한 비록 장벽을 통과하는 흡수는 없었지만, 어류의 장점막면에 PrP^{Sc}가 특이적으로 결합한다는 것이 *in vitro* 실험에서 확인되었다. 또한 비경구적인 경로로 투여한 실험에서는, 프리온 병원체를 투여 이후 15일 및 90일째에 어류의 비장 및 뇌조직을 채취하여 마우스에 접종한 결과 임상증상은 관찰되지 않았지만 일부 마우스에서 뇌에 PrP^{Sc}가 검출되었다. 이후 연구(Dalla Valle et al., 2008)에서는 무지개송어를 이용하여 경구투여 이후 프리온 병원체가 얼마나 오랫동안 위장관에 머무는가가 조사되었다. 앞의 연구와 마찬가지로 139A strain의 프리온 병원체를 강제 경구투여하고 일정 기간 별로 위장관을 채취하여 PrP^{Sc}의 유무를 면역조직화학적 방법을 분석하였다. 투여 이후 15일까지 관찰한 결과, PrP^{Sc}는 장점막에 흡수되고 이후 유문수에는 3일까지, 장말단부에는 7일까지 위장관에 남아있었다. 이전 연구와 마찬가지로 장벽을 통과하는 흡수는 없었고, 15일 이후에는 관찰되지 않았다. 보다 최근에는 청돔속 어류(gilthead sea bream, *S. aurata*)를 이용한 연구가 수행되었다(Salta et al., 2009). BSE 및 scrapie 병원체를 경구투여한 어류는 아무런 임상증상을 나타내지는 않았지만, 2년 이후 채취한 뇌조직에서 신경퇴화의 징후와 함께 다수의 plaque-like 침착물이 축적되는 것이 관찰되었다. 이러한 침착물은 scrapie 병원체를 투여한 군보다 BSE 병원체를 투여한 군에서 훨씬 이른 시기에 축적되기 시작하고 보다 광범위하게 진행되는 것으로 나타났다. 이들 PrP로 이루어진 plaque-like 침착물은 일부 PK에 대한 저항성을 나타내고, 현미경적 관찰에서 전형적인 amyloid-like 특성을 가지고 있다.

이상의 결과에서, 다양한 양식어류들이 포유류-유래 프리온 병원체에 노출되었을 때 뚜렷한 임상증상을 나타내거나, 또는 어류의 조직에 프리온 감염력을 가지고 있는 경우는 없었다. 그러나 일부 마우스의 뇌조직에서 PrP^{Sc}가 검출되었고, 또한 투여된 PrP^{Sc}는 장점막에 결합하여 일정 기간 동안 위장관에 남아있을 수 있음이 확인되었다. 또한 BSE 병원체 투여에 의해 어류의 뇌조직에 광범위한 PrP plaque-like 침착물이 축적되는 것이 관찰되었고 이는 프리온질환의 병리학적 특성과 유사하다. 포유류에서 어류로의 프리온 전염은 일어나지 않을 것으로 생각되고 있다(European Food Safety Authority, 2007). 그러나, 이상의 연구결과들에서 실제 어류의 프리온 병원체의 존재는 확인되지 않았지만, 어류와 포유류 사이의 프리온 전염이 일어날 가능성을 완전히 배제할 수는 없음을 보여주고 있다.

향후 전망

프리온 질환의 특성 중에 하나는 한 가지 종에서 다른 종으로의 전염은 종간의 장벽(species barrier)에 의해 제한적이라는 것이다. 그러한 종간의 장벽을 결정하는 주요한 인자는 donor와 recipient 사이의 PrP 구성 아미노산 서열의 homology이고(Caughey et al., 2001; Prusiner et al., 1990), 서로 다른 척추동물들의 PrP homology를 비교하는 것은 한 종에서 다른 종

으로의 프리온 전염 위험성을 평가하는데 중요한 항목이다. 앞에서 언급되었듯이 포유류와 어류의 PrP 상동성은 낮고, 그래서 포유류 유래 프리온 병원체가 어류로 전염될 가능성은 낮을 것으로 판단되고 있다(Rivera-Milla et al., 2003). 그러나 오랜 기간 동안 접촉하는 경우 종간의 장벽을 통과해서 병원체의 전파가 일어날 수도 있고(Billeter et al., 1997), 또한 BSE 병원체의 경우 종간의 벽을 넘어 사람, 고양이, 그리고 영양과 같은 동물원의 유계동물(ungulate)들에게도 전염되는 독특한 병원체(Prusiner SB, 1998)라는 점에서 어류로의 전염가능성을 배제할 수 없다.

어류에 대한 프리온 전염 실험에서 어류 프리온 병원체 및 감염력을 검출하기 위해서 mouse bioassay를 이용하였다. 이러한 bioassay에서도 어류와 마우스 사이의 또 다른 종간의 장벽이 있을 수 있고, 이는 분석의 감도를 저하시키는 요인이 될 수 있다. 따라서 잠재적인 어류 프리온 병원체의 보다 정확한 검출을 위해서 몇 가지의 다른 실험방법을 이용해 볼 수 있을 것이다. (1) 어류 PrP를 발현하는 형질전환 마우스(transgenic mouse)를 이용한 bioassay; (2) 다양한 종류의 prion strains에 감수성이 있는 동물인 bank voles을 이용한 bioassay (Watts et al., 2014); (3) PrP^{Sc}를 *in vitro*에서 증폭하는 기법인 protein misfolding cyclic amplification (PMCA) 방법을 이용하고, 기질로써 어류의 뇌균질물을 사용하여 어류 프리온 병원체의 증폭하여 검출(Castilla et al., 2005, Saborio et al., 2001); (4) 어류 recombinant PrP를 기질로 하여 *in vitro*에서 PrP^{Sc}를 증폭하는 recombinant PMCA (rPMCA) 방법의 적용(Atarashi et al., 2007; Kim et al., 2010); (5) 어류 recombinant PrP를 기질로 해서 *in vitro*에서 PrP^{Sc}를 증폭하고 실시간으로 검출하는 방법인 real-time quaking-induced conversion (RT-QUIC)을 적용(Atarashi et al., 2011); (6) PrP^{Sc} 검출을 위한 단백질분해효소 처리과정을 포함하지 않는 초고감도 검출법인 surround optical fiber immunoassay (SOFIA)의 적용(Chang et al., 2009) 등을 들 수 있다. 이상과 같이 고감도의 증폭, 검출 방법들을 어류 프리온 병원체에 맞게 특이적으로 이용함으로써 어류로의 전염 가능성에 대한 보다 정확한 진단 및 연구가 가능할 것으로 판단된다.

결 론

포유류를 포함하여 조류, 어류는 전세계적으로 단백질의 가장 중요한 급원이다. 프리온이 오염되어 있는 사료를 통해서 양식 어류가 프리온병원체에 노출될 가능성이 있다. 어류를 이용한 연구에서 병원체에 노출된 일부 어류의 조직 내에 프리온병원체가 축적되는 것이 관찰되었다. 이러한 병원체가 실제 사람이 나 동물에 어떠한 영향을 미치는가에 대해서는 알려진 것이 없다. 어류에 대한 전염연구는 아직까지 초기 단계이고, 보다 다양하고 특이적인 분석법을 이용한 연구들이 필요할 것으로 판단된다. 우리 나라에서는 아직까지 BSE가 발생된 적이 없다. 그래

서 광우병의 위험으로부터 상대적으로 안전하다고 할 수 있지만 향후 있을 수 있는 발생에 대한 예찰 및 감시를 계속 유지해 나가야 할 것이다. 또한 국내 양식산업의 사료에 대한 소의 부산물 사용에 대한 기초자료 확보를 위한 조사연구도 필요할 것으로 판단된다. 우리들의 식품안전성 확보와 양식 및 수산업의 지속적인 발전을 위해서 프리온질환 및 어류관련성에 대한 다양한 연구가 수행되어야 할 것이다.

사 사

이 논문은 부경대학교 자율창의학술연구비(2013년)에 의하여 연구되었음.

References

- Atarashi R, Moore RA, Sim VL, Hughson AG, Dorward DW, Onwubiko HA, Priola SA and Caughey B. 2007. Ultrasensitive detection of scrapie prion protein using seeded conversion of recombinant prion protein. *Nat Methods* 4, 645-650.
- Atarashi R, Satoh K, Sano K, Fuse T, Yamaguchi N, Ishibashi D, Matsubara T, Nakagaki T, Yamanaka H, Shirabe S, Yamada M, Mizusawa H, Kitamoto T, Klug G, McGlade A, Collins SJ and Nishida N. 2011. Ultrasensitive human prion detection in cerebrospinal fluid by real-time quaking-induced conversion. *Nat Med* 17, 175-178. <http://dx.doi.org/10.1038/nm.2294>.
- Baboli MJ, Dawodi M and Gorjipor A. 2013. Effect of replacement fish meal by poultry meal on growth, survival and body composition of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Int Res J Appl Basic Sci* 4, 4197-4201.
- Billeter M, Riek R, Wider G, Hornemann S, Glockshuber R and Wüthrich K. 1997. Prion protein NMR structure and species barrier for prion diseases. *Proc Natl Acad Sci USA* 94, 7281-7285.
- Bolton DC, McKinley MP and Prusiner SB. 1982. Identification of a protein that purifies with the scrapie prion. *Science* 218, 1309-1311.
- Brown DR, Qin K, Herms JW, Madlung A, Manson J, Strome R, Fraser PE, Kruck T, von Bohlen A, Schulz-Schaeffer W, Giese A, Westaway D and Kretzschmar H. 1997a. The cellular prion protein binds copper in vivo. *Nature* 390, 684-687.
- Brown DR, Schulz-Schaeffer WJ, Schmidt B and Kretzschmar HA. 1997b. Prion protein-deficient cells show altered response to oxidative stress due to decreased SOD-1 activity. *Exp Neurol* 146, 104-112.
- Brown P. 2004. Mad-cow disease in cattle and human beings. *American Scientist* 92, 334. <http://dx.doi.org/10.1511/2004.4.334>
- Bruce ME, Will RG, Ironside JW, McConnell I, Drummond D, Suttie A, McCordle L, Chree A, Hope J, Birkett C, Cousens

- S, Fraser H and Bostock CJ. 1997. Transmissions to mice indicate that 'new variant' CJD is caused by the BSE agent. *Nature* 389, 498-501.
- Büeler H, Aguzzi A, Sailer A, Greiner RA, Autenried P, Aguet M and Weissmann C. 1993. Mice devoid of PrP are resistant to scrapie. *Cell* 73, 1339-1347.
- Büeler H, Fischer M, Lang Y, Bluethmann H, Lipp HP, DeArmond SJ, Prusiner SB, Aguet M and Weissmann C. 1992. Normal development and behaviour of mice lacking the neuronal cell-surface PrP protein. *Nature* 356, 577-582.
- Cashman NR, Loertscher R, Nalbantoglu J, Shaw I, Kascsak RJ, Bolton DC and Bendheim PE. 1990. Cellular isoform of the scrapie agent protein participates in lymphocyte activation. *Cell* 61, 185-192.
- Castilla J, Saá P, Hetz C and Soto C. 2005. In vitro generation of infectious scrapie prions. *Cell* 121, 195-206.
- Caughey B, Raymond GJ, Callahan MA, Wong C, Baron GS and Xiong LW. 2001. Interactions and conversions of prion protein isoforms. *Adv Protein Chem* 57, 139-169.
- CDC. 2014. vCJD (Variant Creutzfeldt-Jakob Disease). Retrieved from <http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/vcjd/epidemiology.htm> on June 4.
- Chang B, Gray P, Piltch M, Bulgin MS, Sorensen-Melson S, Miller MW, Davies P, Brown DR, Coughlin DR and Rubenstein R. 2009. Surround optical fiber immunoassay (SO-FIA): an ultra-sensitive assay for prion protein detection. *J Virol Methods* 159, 15-22. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jviro.2009.02.019>.
- Collinge J, Whittington MA, Sidle KC, Smith CJ, Palmer MS, Clarke AR and Jefferys JG. 1994. Prion protein is necessary for normal synaptic function. *Nature* 370, 295-297.
- Collinge J. 2001. Prion diseases of humans and animals: their causes and molecular basis. *Annu Rev Neurosci* 24, 519-550.
- Cotto E, André M, Fougère J, Fleury HJ and Babin PJ. 2005. Molecular characterization, phylogenetic relationships, and developmental expression patterns of prion genes in zebrafish (*Danio rerio*). *FEBS J* 272, 500-513.
- Dalla Valle AZ, Iriti M, Faoro F, Berti C and Ciappellano S. 2008. In vivo prion protein intestinal uptake in fish. *APMIS* 116, 173-180. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0463.2008.00863.x>.
- European Food Safety Authority. 2007. Health risks of feeding of ruminants with fishmeal in relation to the risk of TSE. *The EFSA Journal* 443, 1-26.
- Favre-Krey L, Theodoridou M, Boukouvala E, Panagiotidis CH, Papadopoulos AI, Sklaviadis T and Krey G. 2007. Molecular characterization of a cDNA from the gilt-head sea bream (*Sparus aurata*) encoding a fish prion protein. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 147, 566-573.
- Ford MJ, Burton LJ, Morris RJ and Hall SM. 2002. Selective expression of prion protein in peripheral tissues of the adult mouse. *Neuroscience* 113, 177-192.
- Friedland RP, Petersen RB and Rubenstein R. 2009. Bovine spongiform encephalopathy and aquaculture. *J Alzheimers Dis* 17, 277-279. <http://dx.doi.org/10.3233/JAD-2009-1060>.
- Harris DA. 2003. Trafficking, turnover and membrane topology of PrP. *Br Med Bull* 66, 71-85.
- Harris DA, Falls DL, Johnson FA and Fishbach GD. 1991. A prion-like protein from chicken brain copurifies with an acetylcholine receptor inducing activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 88, 7664-7668.
- Hill AF, Desbruslais M, Joiner S, Sidle KC, Gowland I, Collinge J, Doey LJ and Lantos P. 1997. The same prion strain causes vCJD and BSE. *Nature* 389, 448-450.
- Ingrosso L, Novoa B, Valle AZ, Cardone F, Aranguren R, Sbricoli M, Bevivino S, Iriti M, Liu Q, Vetrugno V, Lu M, Faoro F, Ciappellano S, Figueras A and Pocchiari M. 2006. Scrapie infectivity is quickly cleared in tissues of orally-infected farmed fish. *BMC Vet Res* 2, 21. <http://dx.doi.org/10.1186/1746-6148-2-21>
- Jeong BH, Ju WK, Huh K, Lee EA, Choi IS, Im JH, Choi EK and Kim YS. 1998. Molecular analysis of prion protein gene (PRNP) in Korean patients with Creutzfeldt-Jakob disease. *J Korean Med Sci* 13, 234-240.
- Kim JI and Lee HG. 2008. Increases in the proteins modified by malondialdehyde and hydroxynonenal in the hippocampus of prion-infected mice. *J Bacteriol Virol* 38, 47-52.
- Kim JI, Cali I, Surewicz K, Kong Q, Raymond GJ, Atarashi R, Race B, Qing L, Gambetti P, Caughey B and Surewicz WK. 2010. Mammalian prions generated from bacterially expressed prion protein in the absence of any mammalian cofactors. *J Biol Chem* 285, 14083-14087. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.C110.113464>.
- Kim JI, Choi SI, Kim NH, Jin JK, Choi EK, Carp RI and Kim YS. 2001. Oxidative stress and neurodegeneration in prion diseases. *Ann N Y Acad Sci* 928, 182-186.
- Kim TY, Shon HJ, Joo YS, Mun UK, Kang KS and Lee YS. 2005. Additional cases of chronic wasting disease in imported deer in Korea. *J Vet Med Sci* 67, 753-759.
- Kim YS. 1990. Unconventional slow infectious agents: Virus, prion, or virino? *Mol Biol News* 2, 11-21.
- Kromhout D. 2001. 'Protective nutrients' and up-to-date dietary recommendations. *Eur Heart J Supplement* 3, D33-D36.
- Kuwahara C, Takeuchi AM, Nishimura T, Haraguchi K, Kubosaki A, Matsumoto Y, Saeki K, Matsumoto Y, Yokoyama T, Itohara S and Onodera T. 1999. Prions prevent neuronal cell-line death. *Nature* 400, 225-226.
- Liao M, Zhang Z, Yang G, Sun X, Zou G, Wei Q and Wang D. 2005. Cloning and characterization of prion protein coding genes of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) and Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*

- 249, 47-53.
- Málaga-Trillo E, Salta E, Figueras A, Panagiotidis C, Sklaviadis T. 2011. Fish models in prion biology: Underwater issues. *Biochimica Biophysica Acta* 1812, 402-414. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbadis.2010.09.013>.
- Matthews D and Cooke BC. 2003. The potential for transmissible spongiform encephalopathies in non-ruminant livestock and fish. *Rev Sci Tech* 22, 283-296.
- Miesbauer M, Bamme T, Riemer C, Oidtmann B, Winklhofer KF, Baier M and Tatzelt J. 2006. Prion protein-related proteins from zebrafish are complex glycosylated and contain a glycosylphosphatidylinositol anchor. *Biochem Biophys Res Commun* 341, 218-224.
- Mouillet-Richard S, Ermonval M, Chebassier C, Laplanche JL, Lehmann S, Launay JM, Kellermann O. 2000. Signal transduction through prion protein. *Science* 289, 1925-1928.
- Oesch B, Westaway D, Wälchli M, McKinley MP, Kent SB, Aebersold R, Barry RA, Tempst P, Teplow DB, Hood LE, Prusiner SB and Weissmann C. 1985. A cellular gene encodes scrapie PrP 27-30 protein. *Cell* 40, 735-746.
- Oh JM, Shin HY, Park SJ, Kim BH, Choi JK, Choi EK, Carp RI and Kim YS. 2008. The involvement of cellular prion protein in the autophagy pathway in neuronal cells. *Mol Cell Neurosci* 39, 238-247. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mcn.2008.07.003>.
- Oidtmann B, Simon D, Holtkamp N, Hoffmann R and Baier M. 2003. Identification of cDNAs from Japanese pufferfish (*Fugu rubripes*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*) coding for homologues to tetrapod prion proteins. *FEBS Lett* 538, 96-100.
- Pan KM, Baldwin M, Nguyen J, Gasset M, Serban A, Groth D, Mehlhorn I, Huang Z, Fletterick RJ, Cohen FE and Prusiner SB. 1993. Conversion of alpha-helices into beta-sheets features in the formation of the scrapie prion proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 90, 10962-10966.
- Premzl M, Gready JE, Jermlin LS, Simonic T and Marshall Graves JA. 2004. Evolution of vertebrate genes related to prion and shadoo proteins clues from comparative genomic analyses. *Mol Biol Evol* 21, 2210-2231.
- Prusiner SB. 1998. Prions. *Proc Natl Acad Sci USA* 95, 13363-13383.
- Prusiner SB, Scott M, Foster D, Pan KM, Groth D, Miranda C, Torchia M, Yang SL, Serban D, Carlson GA, Hoppe PC, Westaway D and DeArmond SJ. 1990. Transgenic studies implicate interactions between homologous PrP isoforms in scrapie prion replication. *Cell* 63, 673-686.
- Rivera-Milla E, Oidtmann B, Panagiotidis CH, Baier M, Sklaviadis T, Hoffmann R, Zhou Y, Solis GP, Stuermer CAO and Málaga-Trillo E. 2006. Disparate evolution of prion protein domains and the distinct origin of doppel and prion-related loci revealed by fish-to-mammal comparisons. *FASEB J* 20, 317-319.
- Rivera-Milla E, Stuermer CAO and Málaga-Trillo E. 2003. An evolutionary basis for scrapie disease: identification of a fish prion mRNA. *Trends Genet* 19, 72-75.
- Saborio GP, Permanne B and Soto C. 2001. Sensitive detection of pathological prion protein by cyclic amplification of protein misfolding. *Nature* 411, 810-813.
- Salta E, Panagiotidis C, Teliouis K, Petrakis S, Eleftheriadis E, Arapoglou F, Grigoriadis N, Nicolaou A, Kaldrymidou E, Krey G and Sklaviadis T. 2009. Evaluation of the possible transmission of BSE and scrapie to gilthead sea bream (*Sparus aurata*). *PLoS One* 4, e6175. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0006175>.
- Schmitt-Ulms G, Legname G, Baldwin MA, Ball HL, Bradon N, Bosque PJ, Crossin KL, Edelman GM, DeArmond SJ, Cohen FE and Prusiner SB. 2001. Binding of neural cell adhesion molecules (N-CAMs) to the cellular prion protein. *J Mol Biol* 314, 1209-1225.
- Simonic T, Duga S, Strumbo B, Asselta R, Cecilian F and Ronchi S. 2000. cDNA cloning of turtle prion protein. *FEBS Lett* 469, 33-38.
- Sohn HJ, Kim JH, Choi KS, Nah JJ, Joo YS, Jean YH, Ahn SW, Kim OK, Kim DY and Balachandran A. 2002. A case of chronic wasting disease in an elk imported to Korea from Canada. *J Vet Med Sci* 64, 855-858.
- Steele AD, Lindquist S and Aguzzi A. 2007. The prion protein knockout mouse: a phenotype under challenge. *Prion* 1, 83-93.
- Strumbo B, Ronchi S, Bolis LC and Simonic T. 2001. Molecular cloning of the cDNA coding for *Xenopus laevis* prion protein. *FEBS Lett* 508, 170-174.
- Suzuki T, Kurokawa T, Hashimoto H and Sugiyama M. 2002. cDNA sequence and tissue expression of *Fugu rubripes* prion protein-like: a candidate for the teleost orthologue of tetrapod PrPs. *Biochem Biophys Res Commun* 294, 912-917.
- The Korean Nutrition Society. 2010. Dietary reference intakes for Koreans, 1st Revision., Hanarum, Seoul, Korea, 73-95
- Watts JC, Giles K, Patel S, Oehler A, DeArmond SJ and Prusiner SB. 2014. Evidence that bank vole PrP is a universal acceptor for prions. *PLoS Pathog* 10, e1003990. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1003990>.
- Will RG, Ironside JW, Zeidler M, Cousens SN, Estibeiro K, Alperovitch A, Poser S, Pocchiari M, Hofman A and Smith PG. 1996. A new variant of Creutzfeldt-Jakob disease in the UK. *Lancet* 347, 921-925.
- Yang Y, Xie S, Cui Y, Lei W, Zhu X, Yang Y and Yu Y. 2004. Effect of replacement of dietary fish meal by meat and bone meal and poultry by-product meal on growth and feed utilization of gibel carp, *Carassius auratus gibelio*. *Aquaculture Nutr* 10, 289-294. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2095.2004.00301.x>