

Coronavirüslerin replikasyonları

Replication of coronavirus

Mustafa Ulaşlı¹, Recep Bayraktar¹, İbrahim Bozgeyik¹

¹Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep

Özet

Coronavirüsler (CoVs) çok çeşitlilik gösteren bir virüs ailesidir. CoV'lar konak hücrelerle birçok aşamada etkileşime geçerler ve konak hücrenin değişik mekanizmalarını kullanarak enfeksiyonlarını ve replikasyonlarını gerçekleştirirler. CoV'ların moleküler biyolojisiyle ilgili olarak birçok şey bilinmektedir. Ancak CoV'ların moleküler biyolojisini daha iyi anlamak için daha çok bilgiye ihtiyaç vardır ve CoV'lara karşı geliştirilmiş herhangi etkili bir ilaç tedavisi bulunmamaktadır. CoV'ların moleküler biyolojisini daha iyi anlama adına son yıllarda yapılan araştırmalarda birçok teknik ve yöntem kullanılmıştır. Moleküler biyolojik araştırmalar açısından fare hepatit virüsü en çok çalışılan CoV'lardır ve Coronaviridae ailesi üyelerini araştırmak için iyi bir model sistemdir. Bu derleme CoV'lerin replikasyonunu, transkripsiyonunu ve tekrar bir araya getirilmesini anlatmaktadır.

Anahtar kelimeler: Coronavirüs; replikasyon; transkripsiyon; toplama

Abstract

Coronaviruses (CoVs) are a diverse family of viruses that interact at multiple levels with components of host cells taking this advantage of some of the cellular machineries for replication and proliferation. A lot is known about the molecular biology of CoVs but more information needs to be learned because no effective treatments against these viruses are available. The challenge now is to incorporate advance techniques in the investigative efforts done to understand further the biology of CoVs. In terms of molecular biology, mouse hepatitis virus (MHV) is the best-studied CoVs, and it is consequently considered a model system for the family of Coronaviridae. This review described replication, transcription, and assembly of CoVs.

Keywords: Coronavirus; replication; transcription; assembly

Coronavirüslerin biyogenezi

Nidovirales sınıfı

Nidovirales sınıfı virüsler omurgalıları konak olarak kullanan zarflı RNA virüsleridir. Genel olarak, zarflı virüsler yaşam döngülerinin farklı aşamalarında hücre zarlarını değişik şekilde kullanabilmektedirler. Bazı virüslerin replikasyon kompleksini ve virüsün tekrar oluşturulması işlemini desteklemek için hücre zarlarını kullanmaları buna örnek verilebilir (1). Nidovirales sınıfı Tablo 1'de de görüldüğü gibi Roniviridae, Arteriviridae ve Coronaviridae virüs ailelerini içermektedirler.

Coronavirüslerin sınıflandırılması; genom organizasyonları, genom dizilimindeki benzerlikler, viral proteinlerinin antijenik özellikleri, replikasyon stratejileri, virionlarının yapısal özellikleri, etkiledikleri konaklar, yönedikleri hücre ve dokular, patojenik ve sitopatojenik özellikleri, yayılma biçimi ve fizikokimyasal özellikleri göz önünde bulundurularak yapılmıştır (2). Nidoviralesler arasında yapısal olan genlerin aralarında benzerlikler vardır. Ancak gen dizileri, proteinlerin ve virionların yapıları farklılık göstermektedir (3). Sonuç olarak; Nidovirales sınıfı geniş bir virüs yelpazesi içermektedir (3).

Coronaviridae'lerin genom büyüklükleri 26 ile 32 kb arasında değişmektedir ve Coronaviridae'ler bilinen en büyük RNA virüsleridir (4). Arteriviridae'lerin genomları ise yaklaşık 15 kb civarındadır.

Nidovirales'ler genomlarının üçte biriyle yapısal proteinlerini kodlarken, genomlarının üçte ikisiyle replikaz genlerini kodlamaktadırlar. Bu replikaz genleri, viral replikasyonun çeşitli aşamalarında gerekli olan yapısal olmayan proteinlerin (nsp) öncülleridir (5-7).

Yapılan çalışmalarda Nidovirales virüslerinin virion yapıları ve morfolojilerinin oldukça heterojen bir yapıda olduğu gösterilmiştir. Örneğin arterivirüs virionları yaklaşık 25-30 nm çapa sahip izometrik bir yapıya sahipken, torovirüsler tübüler yapıda kompakt bir yapıya sahiptir (8,9). Bunun aksine coronavirüsler sarmal nükleokapsid yapıya sahiptir (7,10).

Coronaviridae virüs ailesi

Coronaviridae sınıfındaki virüsler segmentsiz, pozitif polariteye sahip RNA virüsleridir (2,6,7,11-13). Coronaviridae virüs ailesinin coronavirüs ve torovirüs olmak üzere iki türü vardır. Torovirüsler insanları ve hayvanları enfekte ederek ağırlıklı olarak enterik hastalıklara sebep olmaktadır (6). Coronavirüsler ve torovirüsler arasında herhangi bir dizi benzerliği olmamasına rağmen bu iki virüs ailesinin genomik RNA organizasyonu benzerlik göstermektedir (14-16). Coronavirüsler kendilerine özgü genleri kodladıklarından genom organizasyonları son derece korumalıdır. Bu nedenle yaşam döngüleri yaygın olarak ortaktır (17).

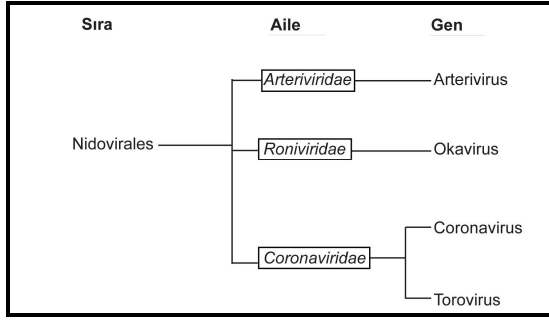
2003 yılında ciddi akut solunum yolu yetmezliği sendromu (SARS) salgını sırasında yapılan Coronavirüs filogenik tiplendirme çalışmaları sırasında, hayvandan insana, insandan hayvana ya da hayvandan hayvana olmak üzere bu virüs ailesinin sık sık konak değiştirme yoluyla karakterize olduğu ortaya konulmuştur (18-21).

İletişim/Correspondence to: Mustafa Ulaşlı, Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep, TÜRKİYE
Tel:+90 342 3601200 / 3397 mulasli@gmail.com

Geliş Tarihi:20.05.2013**Kabul Tarihi:**19.07.2013

Received:20.05.2013**Accepted:** 19.07.2013

DOI: 10.5455/GMJ-30-2013-144
<http://gul6.bim.gantep.edu.tr/~tipdergi>
ISSN 1300-0888



Tablo 1. Coronavirüslerin filogenik ağacı.

Coronavirüsler genetik özelliklerine ve serolojik çapraz (tepkî göstermelerine) reaktivitelerine göre 3 antijenik gruba ayrılır. Son zamanlarda yeni coronavirüslerin bulunması nedeniyle bu virüslerin sınıflandırılmasında başka değişikliklere tabi olması muhtemeldir.

Coronavirüslerin genel özellikleri

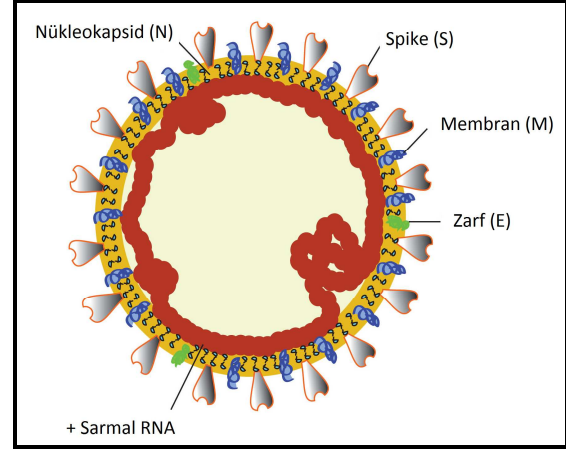
Yukarıda da belirtildiği gibi, coronavirüslerin belirli bir morfolojisi vardır (22,23). Farklı yapısal özellikleri inceleyen çalışmalara göre coronavirüsler farklı büyüklüklerde (80-120 nm) ve şekillerde küreye benzer şekilde pleomorfik (farklı morfolojik biçimlerde) partiküller oluşturmaktadırlar (5,22,24,25).

Coronavirüslerin zarfları lipitlerden oluşmaktadır. Coronavirüslerin 3 farklı gurubu arasında virüslerin yapısında kayda değer farklılıklar bulunmaktadır (22). Coronavirüsler genomlarında genellikle 4 tane yapısal protein kodlamaktadır. Bu 4 yapısal protein Şekil 1'de de görüldüğü gibi; spike (S), zarf (E), membran (M) glikoproteinleri ve nükleokapsid (N)'dir. Coronavirüs zarfları konak hücrelerin hücre içi zarlarının lipit tabakasından ve 3 tane viral glikoproteinden oluşmaktadırlar (26,27). Virüs partiküllerinde glikoproteinlerden en çok bulunan M proteini olup, en az miktarda bulunan protein ise E proteindir. Bütün zarflı proteinler ve N proteini virionların tamamında bulunmaktadır (23). Ayrıca, bu proteinlerin aralarındaki etkileşim sayesinde virüs partiküllerinin bir araya toplandığı düşünülmektedir (5,25).

S glikoproteinleri virionun dışında bulunur ve virionlara tipik şekillerini verirler. S proteinleri homotrimerler oluşturarak Coronavirüslere ismini veren güneş şeklindeki morfolojilerin oluşmasını sağlarlar (19,24,28). S proteinleri C-terminal transmembran bölgeleri aracılığıyla virion zarına bağlanırlar ve aynı zamanda M proteinleriyle de etkileşim kurarlar (25). Virionlar S proteinlerinin N-terminali aracılığıyla konak hücrenin plazma zarında bulunan spesifik yüzey reseptörlerine bağlanabilirler (29).

Coronavirüs M glikoproteininin 3 tane transmembran bölgesi bulunmaktadır. M proteinleri golgi aygıtında glikolize edilirler (30-32). M proteinin bu modifikasyonu virionun hücre içerisine füzyonunda ve proteinin antijenik özellik kazanmasında önem arz etmektedir (1,33,34). M proteini virionların hücre içerisinde tekrar oluşturulmasında anahtar bir rol oynamaktadır. N proteini genomik RNA'ya bağlanarak

kompleks oluşturur ve daha sonra da M proteini de bu kompleks ile endoplazmik retikulum-Golgi aygıtı ara kompartmanında (ERGIC) etkileşime geçerek virionların oluşturulmasını tetikler (30,35,36).



Şekil 1. Coronavirüslerin şematik gösterimleri (6). S,M ve E proteinleri lipid katmanı içerisinde coronavirüslerin zarf yapısını oluşturmaktadır. N proteini genomik viral RNA bağlar.

Coronavirüs E proteinleri yaklaşık olarak 76 ile 109 amino asit uzunluğunda olan küçük proteinlerdir. E proteinlerinin N terminalinde bulunan yaklaşık 30 aminoasit dizisi virüslerin zarına tutunmayı sağlar (37). Ayrıca coronavirüs E proteinleri, virionların hücre içerisinde bir araya getirilmesinde ve morfogenezinde kritik bir rol oynamaktadır. Yapılan bir çalışmada coronavirüs E ve M proteinleri memeli ekspresyon vektörleri aracılığıyla birlikte eksprese edilerek hücre içerisinde virüs partiküllerine benzer yapılar oluşturduğu gözlenmiştir (38-40). Yapılan diğer bir çalışmada bu durumu destekler biçimde genomundan E proteini çıkarılmış rekombinant fare hepatit virüsü (MHV) ve SARS virüslerinin enfekte edebilme yeteneklerinde ciddi oranda düşüşler tespit edilmiştir (41,42).

N proteini heliks ve esnek yapıda viral genomik RNA'ya bağlanabilen bir fosfoproteindir (Figure 2A). N proteini virionun yapısında, Coronavirüslerin replikasyonunda ve transkripsiyonunda önemli role sahiptir. Çünkü N proteini coronavirüslerin hem replikasyon/transkripsiyon bölgesinde hem de virüsün toplandığı ERGIC bölgesinde lokalize olmaktadır (23,35,43,44). Avian infectious bronchitis virus (IBV) ve SARS-coronavirüslerinin N proteininin kristalizasyon çalışmaları sonucunda proteinin N terminalinin viral genomik RNA'ya bağlandığı, C terminalinin de virüsün bir araya getirilmesi sırasında oligomerleşmeye neden olduğu gösterilmiştir (45-49). Bunun yanı sıra N proteinin C terminali, viral M proteiniyle de etkileşime geçmektedir (50,51). Yapılan çalışmalarda memeli ekspresyon vektörleri aracılığıyla viral M ve N proteinleri birlikte eksprese edildiğinde hücre içerisinde M ve N proteinleri etkileşerek virionlara benzer yapılar oluşturduğu gözlenmiştir (47).

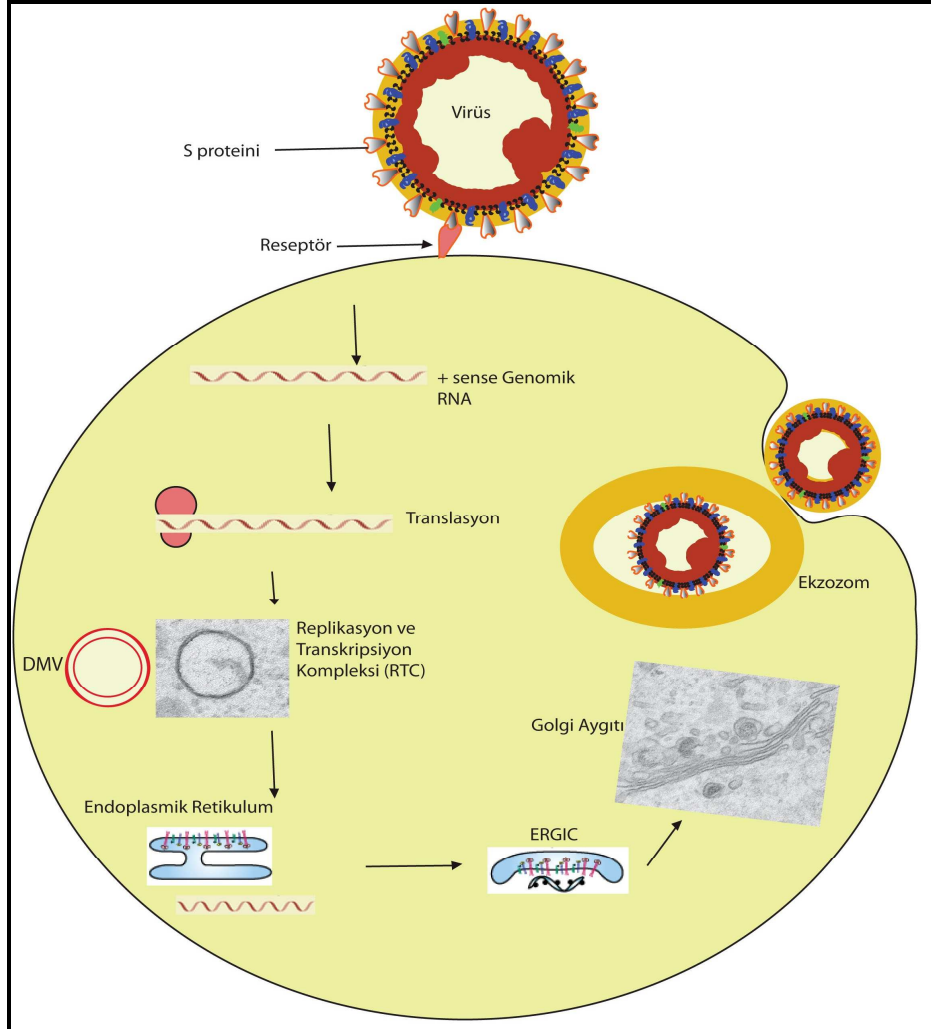
Bazı grup 2 koronavirüslerin genomunda beşinci bir yapısal protein olarak hemagglutininesteraz (HE) proteini bulunmaktadır (52,53). HE 65 kDa büyüklüğünde bir transmembran proteinidir (53-55). HE proteini virüsün sialik asit reseptörüne bağlanarak, hücreyi enfekte etmesinde ve virüsün yayılmasında etkili olmaktadır (56-58). MHV koronavirüslerinin hücre kültürü ortamında replikasyonu için HE proteinlerine ihtiyaçları yoktur. Onun için moleküler biyoloji ve genetik çalışmalarında HE proteinini kodlayan gen bölgesi çıkarılarak rekombinant virüsler oluşturulabilmektedir. HE gen bölgesinin yerine farklı mutant gen bölgeleri eklenebilmektedir (44,50,59,60).

olarak S protein aracılığıyla hücre yüzeyinde bulunan reseptöre bağlanmaktadır. S proteini reseptöre bağlandığında S proteinin yapısında konformasyonel bir değişiklik meydana gelmekte ve virüsün hücre içerisine giriş süreci başlamaktadır (61,62). Birçok koronavirüs hücre içerisine reseptör aracılığıyla pH'a bağlı endositoz ile girmektedir (63-66). Virüsün hücre içerisine girmesinden sonra virüsün genomik RNA'sının üçte ikisinden direkt olarak pp1a ve pp1b diye isimlendirilen iki tane büyük protein sentezlenmektedir (67-69). Bu proteinlerin sentezinden sonra pp1a ve pp1b viral proteazlar yardımıyla 16 tane yapısal olmayan proteine (nsp) dönüştürülmektedir (Şekil 3B).

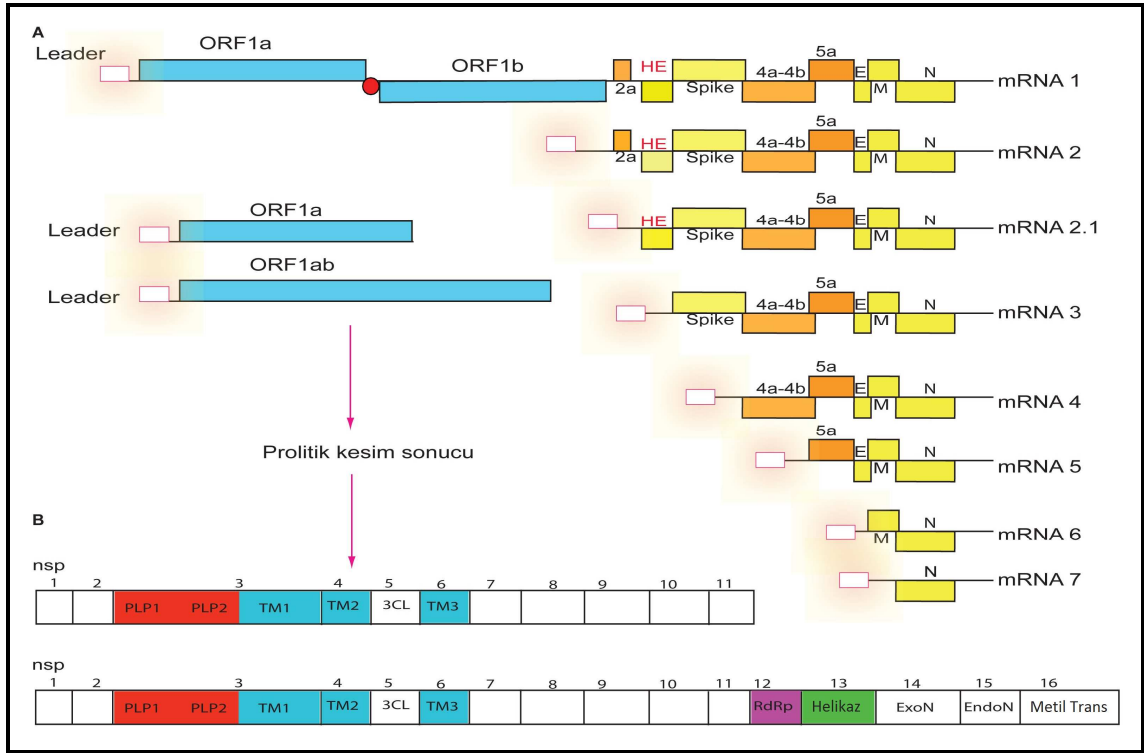
Coronavirüs genom yapısı ve replikasyon

Hücre içine giriş, replikasyonu ve transkripsiyonu

Coronavirüslerin bütün replikasyonu konak hücrenin sitoplazmasında gerçekleşmektedir. Virüs öncelikli



Şekil 2. Coronavirüsün enfeksiyon döngüsü. Virion S proteini aracılığıyla konak hücre yüzeyinde bulunan reseptöre bağlanır ve hücre içerisine girip genomik RNA'sını sitoplazmaya bırakır. Öncelikli olarak iki tane büyük protein sentezlenir. Bu iki büyük protein proteazlar sayesinde 16 tane yapısal olmayan proteine (nsp) dönüştürülür. Bu 16 tane nsp çift zarlı kesecikleri (DMV) ve replikasyon ve transkripsiyon kompleksini (RTC) oluştururlar. Yeni oluşturulan yapısal proteinler ve genomik RNA endoplazmik retikulum Golgi ara kompartmanın (ERGIC) da bir araya getirilerek yeni virionlar oluşturulur. Yeni oluşturulan virionlar hücrenin dışına ekzozomları kullanarak çıkarlar.



Şekil 3. MHV-A59 coronavirusün gen organizasyonu ve ekspresyonu. Alt genomik mRNA'ların yapılarının gösterilmesi (7). A. Replikaz genlerini ORF1a ve ORF1ab çoklu proteinlerini sentezlemektedir. Bunun yanı sıra yapısal proteinler ve yardımcı (*accessory*) proteinlerde sentezlenmektedir. B. ORF1a ve ORF1ab proteazlar tarafından 16 tane yapısal olmayan proteine dönüştürülmektedir (7).

Bu 16 nsp'ler kendi arasında etkileşim kurarak çift zarlı kesecikler (DMV) oluştururlar. Bu çift zarlı kesecikler aynı zamanda virüsün replikasyon ve transkripsiyon kompleksleridir (RTC) (Şekil 2) (23,70,71). Bu nsp'ler virüs replikasyonunda ve transkripsiyonunda hayati öneme sahiptirler (72-74). nsp'lerin, DMV'leri ve RTC'leri nasıl oluşturduğu net olarak bilinmemektedir. DMV'lerin orjinal kaynağının neresi olduğu tam olarak ortaya konulamamıştır. Bu DMV'lerin membran kaynaklarının ER, Golgi aygıtı, endozomal zarlar veya otofajik mekanizma olduğu düşünülmektedir (75-79). Ancak yapılan son çalışmalarda, coronavirusün endoplamik retikuluma bağlı degradasyon (ERAD) yolağını kullanarak DMV'leri oluşturduğu düşünülmektedir (80). Yine bu çalışma sonucunda coronaviruslerin otofajik yolağı kullanmadığı da gösterilmiştir (80,84).

RTC'ler genomik RNA (g mRNA) sentezinde rol almaktadırlar (7,81). Yapısal proteinlerin translasyonu için Şekil 3'de de görüldüğü gibi farklı boylarda mRNA'lar sentezlenmektedir (2,3,7,82). Farklı boydaki mRNA'lara alt genomik mRNA (*sub-genomic mRNA* (sgmRNA)) denilmektedir.

Coronaviruslerin transkripsiyonu Şekil 3'de de görüldüğü gibi devam etmeyen RNA sentezi şeklinde olmaktadır. Pozitif polariteye sahip g mRNA ve sgmRNA'nın sentezi için negatif polariteye sahip g mRNA ve sgmRNA kalıp vazifesi görmektedir. Pozitif ve negatif polariteye sahip RNA'lar enfeksiyonun belirli

aşamalarında çift sarmallı RNA (dsRNA) oluştururlar (7,83). dsRNA'nın DMV'lerin içerisinde olduğu ve toplandığı gösterilmiştir (84). Coronaviruslerin replikasyonu sırasında oluşturulan dsRNA'lar interferon- β uyarılmasına neden olmaktadır. Bundan dolayı dsRNA'nın DMV'lerin içerisinde toplanması bir nevi bağışıklık sisteminden kaçış olarak da düşünülmektedir (85,86).

Bütün sgmRNA'lar 5' ucunda öncül diziler içermektedir (Şekil 3A). Ayrıca sgmRNA'ların 3' ucunda poliadenilleşme olmaktadır. Sonuç olarak virüsün oluşturduğu sgmRNA konak hücrenin mRNA'sına yapısal olarak benzerlik göstermektedir. Viral sgmRNA'lar da translasyon olmayan bölgeler vardır. Bu bölgeler cis- rolü olan elementler olarak bilinmektedir. Bu bölgeler virüslerin replikasyonu ve transkripsiyonu için önemlidir. Ayrıca mRNA'ların bu bölgeler sayesinde virüsün RTC ile de etkileşime geçtiği düşünülmektedir (3,7,25,87-89). Virüsün aksesuar (*accessory*) genlerinin sgmRNA'ları da sentezlenmektedir (Şekil 3A). Aksesuar genlerinin sayısı ve fonksiyonu coronavirusler arasında farklılık göstermektedir. Ayrıca bu aksesuar genlerinin çoğunun fonksiyonu da tam olarak bilinmemektedir.

Virionun toplanması ve hücre dışına çıkışı

Bütün viral yapısal proteinler virüslerin sgmRNA'larından sentezlenmektedir. Sentezlenen yeni yapısal proteinler endoplazmik retikulumun içerisine bırakılmaktadır (Şekil 2). Bütün yapısal proteinler

virionların üzerinde bulunmaktadırlar (23). Coronavirüs S proteininin, konak hücrenin salınım yolağında lokalize olduğu gösterilmiştir (90,91). M proteininin ise yoğun olarak Golgi cisimciği üzerinde lokalize olduğu gösterilmiştir (35,92,93). E proteininin ise endolazmik retikulumda ve Golgi cisimciğinde lokalize olduğu gösterilmiştir (37,94). Bütün bu proteinlerle beraber N proteinin viral genomik RNA'ya bağlanarak ERGIC bölgesinde lokalize olduğu gösterilmiştir (23,43,70,93,95). ERGIC'de bir araya getirilen virionlar hücrenin genel salınım yolağını kullanarak hücreden çıkıp gitmektedir (93).

Coronavirüslerin patogenezi ve bağışıklık

Coronavirüslerin patogenezi biyokimyasal, genetik yöntemler ve elektron mikroskopuyla 1960'lı yıllardan bu yana çalışılmaktadır (96,97). Coronavirüsler kuşlardan, memelilere ve hatta insanlara kadar geniş bir yelpazedeki canlıları enfekte edebilmektedir (98,99).

Coronavirüsler, üst solunum yolundaki ve gastrointestinal sistemdeki epitel hücrelerini enfekte etmektedirler. Örneğin insan coronavirüsü (HCoV-OC43 ve HCoV-229E) yeni doğan bebeklerde ve bağışıklık sorunu olan insanlarda üst solunum yolu enfeksiyonlarına neden olmaktadır (100). Son yıllarda iki tane yeni insan coronavirüsü tanımlanmıştır. Bunlar HCoV-NL63 ve HCoV-HKU-1'dir. Bu virüsler de insanlarda üst solunum yolu enfeksiyonlarına neden olmaktadır (101-103). Coronavirüsler üst solunum yolu ve gastrointestinal yolu enfeksiyonları dışında hepatit, nörolojik hastalıklara, peritoneal enfeksiyonlara, nefrite, adenite, pankreas inflamasyonlarına ve runting sendromuna neden olmaktadır (104,105).

2003 yılı baharında yeni bir insan coronavirüsü salgını Güney Asya'dan Kanada'ya kadar geniş bir yelpazede yayılmıştır. Bu virüse yapmış olduğu hastalıktan dolayı SARS-CoV ismi verilmiştir. Ancak SARS-CoV'u bilinen diğer coronavirüslere pek benzerlik göstermemektedir. Dünya genelinde 8000 kişi SARS-CoV'undan etkilenmiş ve enfekte olan insanlardan yaklaşık 800 kişi enfeksiyon nedeniyle hayatını kaybetmiştir (106). İlk zamanlar SARS-CoV'ün kaynağının misk kedisi, rakun veya yarasalar olduğu tahmin edilmekteydi. Fakat son yapılan çalışmalarda SARS-CoV kaynağının yarasalar olduğu bildirilmektedir (98,99).

Bilinen birçok hayvan coronavirüsü hayvanlarda gastrointestinal hastalıklara neden olmaktadır. Örneğin TGEV domuzlarda ishale sebep olmaktadır (107-109). Bunun yanı sıra, FCoV kedilerde semptomik enfeksiyonlara neden olurken az miktarda da ishale neden olmaktadır (110-112). BCoV sığırlarda üst solunum yolu enfeksiyonuna ve ishale neden olmaktadır (109,113). IBV tavuklarda üst solunum yolu enfeksiyonlarına ve böbrek hastalıklarına neden olmaktadır (109,114). MHV'nin farklı soyları farklı hastalıklara neden olabilmektedir. Örneğin MHV-A59 soyu hem hepatopatolojik hem de nöropatolojik hastalıklara neden olurken, MHV-JHM soyu birincil olarak nöropatolojik hastalıklara neden olabilmektedir

(115,116). Coronavirüslerin hücre kültürü ortamında replikasyon ve transkripsiyon mekanizmalarını anlamak için MHV model sistem olarak kullanılmaktadır (109). Bunun dışında hepatit, ansefalit, immündefensizlik ve multipl skleroz (MS) hastalığının fare modeli oluşturulmasında MHV coronavirüsleri kullanılmaktadır (109,117).

Coronavirüs enfeksiyonları yeni doğanlarda daha şiddetli seyretmektedir. Coronavirüsler dışkıda, üst solunum yolundan alınan örneklerde ve hasta serumlarında tanımlanabilmektedir. Coronavirüslerin nefesle veya fekal kontaminasyonla bulaştığı düşünülmektedir (104,118-120).

Coronavirüs enfeksiyonlarına karşı geliştirilmiş ve onaylanmış herhangi etkin bir ilaç tedavisi bulunmamaktadır. Proteaz inhibitörlerin viral S proteinlerini ve viral RNA polimerazları etkileyebileceği düşünülmektedir. Endozomal proteazların da virüsün hücre içerisine girişini etkileyebileceğinden dolayı coronavirüs enfeksiyonunu engelleyebileceği düşünülmektedir (121-123). Membran füzyon inhibitörlerinin de virüslerin hücre içerisine girişini engelleyebileceği düşünülmektedir (62,124). Viral S proteinine karşı geliştirilen antikorlar da coronavirüslerin hücre içerisine girişini durdurmaktadır (41,125). Domuz ve tavuk coronavirüslerine karşı geliştirilen bazı aşilar mevcuttur. Tavuk ve domuzlar için kullanılan bu aşilar zayıflatılmış PEDV ve IBV virüsleridir (114,126). Kedi coronavirüslerine (FCoV) karşı geliştirilen aşilar kedilerde çok ciddi yan etkiler göstermektedir ve hastalığı daha da ağırlaştırmaktadır (127,128).

Kaynaklar

1. de Haan CA, de Wit M, Kuo L, Montalto-Morrison C, Haagmans BL, Weiss SR, et al. The glycosylation status of the murine hepatitis coronavirus M protein affects the interferogenic capacity of the virus in vitro and its ability to replicate in the liver but not the brain. *Virology* 2003;312(2):395-406.
2. Lai MM, Cavanagh D. The molecular biology of coronaviruses. *Adv Virus Res* 1997;48:1-100.
3. Pasternak AO, Spaan WJ, Snijder EJ. Nidovirus transcription: how to make sense? *J Gen Virol* 2006;87(Pt 6):1403-21.
4. Gorbalenya AE, Enjuanes L, Ziebuhr J, Snijder EJ. Nidovirales: evolving the largest RNA virus genome. *Virus Res* 2006;117(1):17-37.
5. de Haan CA, Rottier PJ. Molecular interactions in the assembly of coronaviruses. *Adv Virus Res* 2005;64:165-230.
6. Perlman S, Netland J. Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol* 2009;7(6):439-50.
7. Sawicki SG, Sawicki DL, Siddell SG. A contemporary view of coronavirus transcription. *J Virol* 2007;81(1):20-9.
8. Horzinek MC. Comparative aspects of togaviruses. *J Gen Virol* 1973;20(Suppl):87-103.
9. Weiss M, Horzinek MC. The proposed family Toroviridae: agents of enteric infections. Brief review. *Arch Virol* 1987;92(1-2):1-15.
10. von Brunn A, Teepe C, Simpson JC, Pepperkok R, Friedel CC, Zimmer R, et al. Analysis of intraviral protein-protein interactions of the SARS coronavirus ORFome. *PLoS One* 2007;2(5):e459.
11. Wijegoonawardane PK, Cowley JA, Phan T, Hodgson RA, Nielsen L, Kiatpathomchai W, et al. Genetic diversity in the yellow head nidovirus complex. *Virology* 2008;380(2):213-25.

12. Brian DA, Baric RS. Coronavirus genome structure and replication. *Curr Top Microbiol Immunol* 2005;287:1-30.
13. Ziebuhr J, Snijder EJ, Gorbalenya AE. Virus-encoded proteinases and proteolytic processing in the Nidovirales. *J Gen Virol* 2000;81(Pt 4):853-79.
14. Snijder EJ, Ederveen J, Spaan WJ, Weiss M, Horzinek MC. Characterization of Berne virus genomic and messenger RNAs. *J Gen Virol* 1988;69(Pt 9):2135-44.
15. Snijder EJ, den Boon JA, Horzinek MC, Spaan WJ. Comparison of the genome organization of toro- and coronaviruses: evidence for two nonhomologous RNA recombination events during Berne virus evolution. *Virology* 1991;180(1):448-52.
16. Gonzalez JM, Gomez-Puertas P, Cavanagh D, Gorbalenya AE, Enjuanes LA comparative sequence analysis to revise the current taxonomy of the family Coronaviridae. *Arch Virol* 2003;148(11):2207-35.
17. den Boon JA, Snijder EJ, Chimside ED, de Vries AA, Horzinek MC, Spaan WJ. Equine arteritis virus is not a togavirus but belongs to the coronavirus-like superfamily. *J Virol* 1991;65(6):2910-20.
18. Chinese SMEC. Molecular evolution of the SARS coronavirus during the course of the SARS epidemic in China. *Science* 2004;303(5664):1666-9.
19. Graham RL, Baric RS. Recombination, reservoirs, and the modular spike: mechanisms of coronavirus cross-species transmission. *J Virol* 2010;84(7):3134-46.
20. Guan Y, Zheng BJ, He YQ, Liu XL, Zhuang ZX, Cheung CL, et al. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science* 2003;302(5643):276-8.
21. Lau SK, Woo PC, Li KS, Huang Y, Tsoi HW, Wong BH, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus-like virus in Chinese horseshoe bats. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102(39):14040-5.
22. Davies HA, Macnaughton MR. Comparison of the morphology of three coronaviruses. *Arch Virol* 1979;59(1-2):25-33.
23. Ulasli M, Verheije MH, de Haan CA, Reggiori F. Qualitative and quantitative ultrastructural analysis of the membrane rearrangements induced by coronavirus. *Cell Microbiol* 2010;12(6):844-61.
24. Barcena M, Oostergetel GT, Bartelink W, Faas FG, Verkleij A, Rottier PJ, et al. Cryo-electron tomography of mouse hepatitis virus: Insights into the structure of the coronavirus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106(2):582-7.
25. Masters PS. The molecular biology of coronaviruses. *Adv Virus Res* 2006;66:193-292.
26. Niemann H, Klenk HD. Coronavirus glycoprotein E1, a new type of viral glycoprotein. *J Mol Biol.* 1981;153(4):993-1010.
27. Sturman LS, Holmes KV, Behnke J. Isolation of coronavirus envelope glycoproteins and interaction with the viral nucleocapsid. *J Virol* 1980;33(1):449-62.
28. Tan YJ, Lim SG, Hong W. Characterization of viral proteins encoded by the SARS-coronavirus genome. *Antiviral Res* 2005;65(2):69-78.
29. Lewicki DN, Gallagher TM. Quaternary structure of coronavirus spikes in complex with carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule cellular receptors. *J Biol Chem* 2002;277(22):19727-34.
30. de Haan CA, Kuo L, Masters PS, Vennema H, Rottier PJ. Coronavirus particle assembly: primary structure requirements of the membrane protein. *J Virol* 1998;72(8):6838-50.
31. Holmes KV, Doller EW, Sturman LS. Tunicamycin resistant glycosylation of coronavirus glycoprotein: demonstration of a novel type of viral glycoprotein. *Virology* 1981;115(2):334-44.
32. Niemann H, Geyer R, Klenk HD, Linder D, Stirn S, Wirth M. The carbohydrates of mouse hepatitis virus (MHV) A59: structures of the O-glycosidically linked oligosaccharides of glycoprotein E1. *EMBO J* 1984;3(3):665-70.
33. Alexander S, Elder JH. Carbohydrate dramatically influences immune reactivity of antisera to viral glycoprotein antigens. *Science* 1984;226(4680):1328-30.
34. Wissink EH, Kroese MV, Maneschijn-Bonsing JG, Meulenberg JJ, van Rijn PA, Rijsewijk FA, et al. Significance of the oligosaccharides of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus glycoproteins GP2a and GP5 for infectious virus production. *J Gen Virol* 2004;85(Pt 12):3715-23.
35. Escors D, Ortego J, Enjuanes L. The membrane M protein of the transmissible gastroenteritis coronavirus binds to the internal core through the carboxy-terminus. *Adv Exp Med Biol* 2001;494:589-93.
36. Narayanan K, Makino S. Characterization of nucleocapsid-M protein interaction in murine coronavirus. *Adv Exp Med Biol* 2001;494:577-82.
37. Raamsman MJ, Locker JK, de Hooge A, de Vries AA, Griffiths G, Vennema H, et al. Characterization of the coronavirus mouse hepatitis virus strain A59 small membrane protein E. *J Virol* 2000;74(5):2333-42.
38. Baudoux P, Carrat C, Besnardeau L, Charley B, Laude H. Coronavirus pseudoparticles formed with recombinant M and E proteins induce alpha interferon synthesis by leukocytes. *J Virol* 1998;72(11):8636-43.
39. Vennema H, Godeke GJ, Rossen JW, Voorhout WF, Horzinek MC, Opstelten DJ, et al. Nucleocapsid-independent assembly of coronavirus-like particles by co-expression of viral envelope protein genes. *EMBO J* 1996;15(8):2020-8.
40. Bos EC, Luytjes W, van der Meulen HV, Koerten HK, Spaan WJ. The production of recombinant infectious DI-particles of a murine coronavirus in the absence of helper virus. *Virology* 1996;218(1):52-60.
41. DeDiego ML, Alvarez E, Almazan F, Rejas MT, Lamirande E, Roberts A, et al. A severe acute respiratory syndrome coronavirus that lacks the E gene is attenuated in vitro and in vivo. *J Virol* 2007;81(4):1701-13.
42. Kuo L, Masters PS. The small envelope protein E is not essential for murine coronavirus replication. *J Virol* 2003;77(8):4597-608.
43. Stertz S, Reichelt M, Spiegel M, Kuri T, Martinez-Sobrido L, Garcia-Sastre A, et al. The intracellular sites of early replication and budding of SARS-coronavirus. *Virology* 2007;361(2):304-15.
44. Verheije MH, Hagemeijer MC, Ulasli M, Reggiori F, Rottier PJ, Masters PS, et al. The coronavirus nucleocapsid protein is dynamically associated with the replication-transcription complexes. *J Virol* 2010;84(21):11575-9.
45. Chang CK, Sue SC, Yu TH, Hsieh CM, Tsai CK, Chiang YC, et al. Modular organization of SARS coronavirus nucleocapsid protein. *J Biomed Sci* 2006;13(1):59-72.
46. Chen CY, Chang CK, Chang YW, Sue SC, Bai HI, Riang L, et al. Structure of the SARS coronavirus nucleocapsid protein RNA-binding dimerization domain suggests a mechanism for helical packaging of viral RNA. *J Mol Biol* 2007;368(4):1075-86.
47. Huang Q, Yu L, Petros AM, Gunasekera A, Liu Z, Xu N, et al. Structure of the N-terminal RNA-binding domain of the SARS CoV nucleocapsid protein. *Biochemistry* 2004;43(20):6059-63.
48. Jayaram H, Fan H, Bowman BR, Ooi A, Jayaram J, Collisson EW, et al. X-ray structures of the N- and C-terminal domains of a coronavirus nucleocapsid protein: implications for nucleocapsid formation. *J Virol* 2006;80(13):6612-20.
49. Saikatendu KS, Joseph JS, Subramanian V, Neuman BW, Buchmeier MJ, Stevens RC, et al. Ribonucleocapsid formation of severe acute respiratory syndrome coronavirus through molecular action of the N-terminal domain of N protein. *J Virol* 2007;81(8):3913-21.
50. Hurst KR, Koetzner CA, Masters PS. Identification of in vivo-interacting domains of the murine coronavirus nucleocapsid protein. *J Virol* 2009;83(14):7221-34.
51. Rottier PJ, Welling GW, Welling-Wester S, Niesters HG, Lenstra JA, Van der Zeijst BA. Predicted membrane topology of the coronavirus protein E1. *Biochemistry* 1986;25(6):1335-9.
52. Lissenberg A, Vrolijk MM, van Vliet AL, Langereis MA, de Groot-Mijnes JD, Rottier PJ, et al. Luxury at a cost? Recombinant mouse hepatitis viruses expressing the accessory hemagglutinin esterase protein display reduced fitness in vitro. *J Virol* 2005;79(24):15054-63.
53. Shieh CK, Lee HJ, Yokomori K, La Monica N, Makino S, Lai MM. Identification of a new transcriptional initiation site and the corresponding functional gene 2b in the murine coronavirus RNA genome. *J Virol* 1989;63(9):3729-36.
54. Callebaut PE, Pensaert MB. Characterization and isolation of structural polypeptides in haemagglutinating encephalomyelitis virus. *J Gen Virol* 1980;48(1):193-204.

55. King B, Potts BJ, Brian DA. Bovine coronavirus hemagglutinin protein. *Virus Res* 1985;2(1):53-9.
56. Vlasak R, Luytjes W, Leider J, Spaan W, Palese P. The E3 protein of bovine coronavirus is a receptor-destroying enzyme with acetyltransferase activity. *J Virol* 1988;62(12):4686-90.
57. Vlasak R, Luytjes W, Spaan W, Palese P. Human and bovine coronaviruses recognize sialic acid-containing receptors similar to those of influenza C viruses. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988;85(12):4526-9.
58. Schultze B, Herrler G. Bovine coronavirus uses N-acetyl-9-O-acetylneuraminic acid as a receptor determinant to initiate the infection of cultured cells. *J Gen Virol* 1992;73(Pt 4):901-6.
59. Kuo L, Godeke GJ, Raamsman MJ, Masters PS, Rottier PJ. Retargeting of coronavirus by substitution of the spike glycoprotein ectodomain: crossing the host cell species barrier. *J Virol* 2000;74(3):1393-406.
60. Verheije MH, Raaben M, Mari M, TeLintelo EG, Reggiori F, van Kuppeveld FJ, et al. Mouse hepatitis coronavirus RNA replication depends on GBF1-mediated ARF1 activation. *PLoS Pathog* 2008;4(6):e1000088.
61. Holmes KV, Tresnan DB, Zelus BD. Virus-receptor interactions in the enteric tract. *Virus-receptor interactions. Adv Exp Med Biol* 1997;412:125-33.
62. Bosch BJ, van der Zee R, de Haan CA, Rottier PJ. The coronavirus spike protein is a class I virus fusion protein: structural and functional characterization of the fusion core complex. *J Virol* 2003;77(16):8801-11.
63. Blau DM, Holmes KV. Human coronavirus HCoV-229E enters susceptible cells via the endocytic pathway. *Adv Exp Med Biol* 2001;494:193-8.
64. Chu VC, McElroy LJ, Ferguson AD, Bauman BE, Whittaker GR. Avian infectious bronchitis virus enters cells via the endocytic pathway. *Adv Exp Med Biol* 2006;581:309-12.
65. Eifart P, Ludwig K, Botcher C, de Haan CA, Rottier PJ, Korte T, et al. Role of endocytosis and low pH in murine hepatitis virus strain A59 cell entry. *J Virol* 2007;81(19):10758-68.
66. Wang H, Yang P, Liu K, Guo F, Zhang Y, Zhang G, et al. SARS coronavirus entry into host cells through a novel clathrin- and caveolae-independent endocytic pathway. *Cell Res* 2008;18(2):290-301.
67. Baranov PV, Henderson CM, Anderson CB, Gesteland RF, Atkins JF, Howard MT. Programmed ribosomal frameshifting in decoding the SARS-CoV genome. *Virology* 2005;332(2):498-510.
68. Snijder EJ, Bredenbeek PJ, Dobbe JC, Thiel V, Ziebuhr J, Poon LL, et al. Unique and conserved features of genome and proteome of SARS-coronavirus, an early split-off from the coronavirus group 2 lineage. *J Mol Biol* 2003;331(5):991-1004.
69. Ziebuhr J. Molecular biology of severe acute respiratory syndrome coronavirus. *Curr Opin Microbiol* 2004;7(4):412-9.
70. Goldsmith CS, Tatti KM, Ksiazek TG, Rollin PE, Comer JA, Lee WW, et al. Ultrastructural characterization of SARS coronavirus. *Emerg Infect Dis* 2004;10(2):320-6.
71. Gosert R, Kanjanahaluethai A, Egger D, Bienz K, Baker SC. RNA replication of mouse hepatitis virus takes place at double-membrane vesicles. *J Virol* 2002;76(8):3697-708.
72. Denison MR. Seeking membranes: positive-strand RNA virus replication complexes. *PLoS Biol* 2008;6(10):e270.
73. Miller S, Krijnse-Locker J. Modification of intracellular membrane structures for virus replication. *Nat Rev Microbiol* 2008;6(5):363-74.
74. Ahlquist P. Parallels among positive-strand RNA viruses, reverse-transcribing viruses and double-stranded RNA viruses. *Nat Rev Microbiol* 2006;4(5):371-82.
75. Prentice E, Jerome WG, Yoshimori T, Mizushima N, Denison MR. Coronavirus replication complex formation utilizes components of cellular autophagy. *J Biol Chem* 2004;279(11):10136-41.
76. Shi ST, Schiller JJ, Kanjanahaluethai A, Baker SC, Oh JW, Lai MM. Colocalization and membrane association of murine hepatitis virus gene 1 products and De novo-synthesized viral RNA in infected cells. *J Virol* 1999;73(7):5957-69.
77. Snijder EJ, van der Meer Y, Zevenhoven-Dobbe J, Onderwater JJ, van der Meulen J, Koerten HK, et al. Ultrastructure and origin of membrane vesicles associated with the severe acute respiratory syndrome coronavirus replication complex. *J Virol* 2006;80(12):5927-40.
78. van der Meer Y, Snijder EJ, Dobbe JC, Schleich S, Denison MR, Spaan WJ, et al. Localization of mouse hepatitis virus nonstructural proteins and RNA synthesis indicates a role for late endosomes in viral replication. *J Virol* 1999;73(9):7641-57.
79. de Haan CA, Reggiori F. Are nidoviruses hijacking the autophagy machinery? *Autophagy* 2008;4(3):276-9.
80. Reggiori F, Monastyrska I, Verheije MH, Cali T, Ulasli M, Bianchi S, et al. Coronaviruses Hijack the LC3-I-positive EDEMosomes, ER-derived vesicles exporting short-lived ERAD regulators, for replication. *Cell Host Microbe* 2010;7(6):500-8.
81. de Haan CA, Rottier PJ. Hosting the severe acute respiratory syndrome coronavirus: specific cell factors required for infection. *Cell Microbiol* 2006;8(8):1211-8.
82. Snijder EJ, Meulenberg JJ. The molecular biology of arteriviruses. *J Gen Virol* 1998;79(Pt 5):961-79.
83. Sethna PB, Hung SL, Brian DA. Coronavirus subgenomic minus-strand RNAs and the potential for mRNA replicons. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86(14):5626-30.
84. Knoops K, Kikkert M, Worm SH, Zevenhoven-Dobbe JC, van der Meer Y, Koster AJ, et al. SARS-coronavirus replication is supported by a reticulovesicular network of modified endoplasmic reticulum. *PLoS Biol* 2008;6(9):e226.
85. Kawai T, Akira S. Innate immune recognition of viral infection. *Nat Immunol* 2006;7(2):131-7.
86. Perry AK, Chen G, Zheng D, Tang H, Cheng G. The host type I interferon response to viral and bacterial infections. *Cell Res* 2005;15(6):407-22.
87. Chang RY, Hofmann MA, Sethna PB, Brian DA. A cis-acting function for the coronavirus leader in defective interfering RNA replication. *J Virol* 1994;68(12):8223-31.
88. Sola I, Moreno JL, Zuniga S, Alonso S, Enjuanes L. Role of nucleotides immediately flanking the transcription-regulating sequence core in coronavirus subgenomic mRNA synthesis. *J Virol* 2005;79(4):2506-16.
89. Zuniga S, Sola I, Alonso S, Enjuanes L. Sequence motifs involved in the regulation of discontinuous coronavirus subgenomic RNA synthesis. *J Virol* 2004;78(2):980-94.
90. de Haan CA, Smeets M, Vernooij F, Vennema H, Rottier PJ. Mapping of the coronavirus membrane protein domains involved in interaction with the spike protein. *J Virol* 1999;73(9):7441-52.
91. Lontok E, Corse E, Machamer CE. Intracellular targeting signals contribute to localization of coronavirus spike proteins near the virus assembly site. *J Virol* 2004;78(11):5913-22.
92. Klumperman J, Locker JK, Meijer A, Horzinek MC, Geuze HJ, Rottier PJ. Coronavirus M proteins accumulate in the Golgi complex beyond the site of virion budding. *J Virol* 1994;68(10):6523-34.
93. Tooze J, Tooze S, Warren G. Replication of coronavirus MHV-A59 in sac- cells: determination of the first site of budding of progeny virions. *Eur J Cell Biol* 1984;33(2):281-93.
94. Corse E, Machamer CE. The cytoplasmic tails of infectious bronchitis virus E and M proteins mediate their interaction. *Virology* 2003;312(1):25-34.
95. Ng ML, Tan SH, See EE, Ooi EE, Ling AE. Proliferative growth of SARS coronavirus in Vero E6 cells. *J Gen Virol* 2003;84(Pt 12):3291-303.
96. Svoboda D, Nielson A, Werber A, Higginson J. An electron microscopic study of viral hepatitis in mice. *Am J Pathol* 1962;41:205-24.
97. David-Ferreira JF, Manaker RA. An electron microscope study of the development of a mouse hepatitis virus in tissue culture cells. *J Cell Biol* 1965;24:57-78.
98. Shi Z, Hu Z. A review of studies on animal reservoirs of the SARS coronavirus. *Virus Res* 2008;133(1):74-87.
99. Wang LF, Shi Z, Zhang S, Field H, Daszak P, Eaton BT. Review of bats and SARS. *Emerg Infect Dis* 2006;12(12):1834-40.
100. Garbino J, Crespo S, Aubert JD, Rochat T, Ninet B, Deffernez C, et al. A prospective hospital-based study of the clinical impact of non-severe acute respiratory syndrome (Non-SARS)-related human coronavirus infection. *Clin Infect Dis* 2006;43(8):1009-15.

- 101.van der Hoek L, Pyrc K, Jebbink MF, Vermeulen-Oost W, Berkhout RJ, Wolthers KC, et al. Identification of a new human coronavirus. *Nat Med* 2004;10(4):368-73.
- 102.Vijgen L, Keyaerts E, Zlateva K, Van Ranst M. Identification of six new polymorphisms in the human coronavirus 229E receptor gene (aminopeptidase N/CD13). *Int J Infect Dis* 2004;8(4):217-22.
- 103.Woo PC, Lau SK, Chu CM, Chan KH, Tsoi HW, Huang Y, et al. Characterization and complete genome sequence of a novel coronavirus, coronavirus HKU1, from patients with pneumonia. *J Virol* 2005;79(2):884-95.
- 104.Peiris JS, Lai ST, Poon LL, Guan Y, Yam LY, Lim W, et al. Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome. *Lancet* 2003;361(9366):1319-25.
- 105.Godfraind C, Coutelier JP. Morphological analysis of mouse hepatitis virus A59-induced pathology with regard to viral receptor expression. *Histol Histopathol* 1998;13(1):181-99.
- 106.Liang G, Chen Q, Xu J, Liu Y, Lim W, Peiris JS, et al. Laboratory diagnosis of four recent sporadic cases of community-acquired SARS, Guangdong Province, China. *Emerg Infect Dis* 2004;10(10):1774-81.
- 107.Kim L, Chang KO, Sestak K, Parwani A, Saif LJ. Development of a reverse transcription-nested polymerase chain reaction assay for differential diagnosis of transmissible gastroenteritis virus and porcine respiratory coronavirus from feces and nasal swabs of infected pigs. *J Vet Diagn Invest* 2000;12(4):385-8.
- 108.Pensaert MB, de Bouck P. A new coronavirus-like particle associated with diarrhea in swine. *Arch Virol* 1978;58(3):243-7.
- 109.Weiss SR, Navas-Martin S. Coronavirus pathogenesis and the emerging pathogen severe acute respiratory syndrome coronavirus. *Microbiol Mol Biol Rev* 2005;69(4):635-64.
- 110.Hartmann K, Ritz S. Treatment of cats with feline infectious peritonitis. *Vet Immunol Immunopathol* 2008;123(1-2):172-5.
- 111.Hooper BE, Haelterman EO. Lesions of the gastrointestinal tract of pigs infected with transmissible gastroenteritis. *Can J Comp Med* 1969;33(1):29-36.
- 112.Addie D, Belak S, Boucraut-Baralon C, Egberink H, Frymus T, Gruffydd-Jones T, et al. Feline infectious peritonitis. ABCD guidelines on prevention and management. *J Feline Med Surg* 2009;11(7):594-604.
- 113.Gelinas AM, Boutin M, Sasseville AM, Dea S. Bovine coronaviruses associated with enteric and respiratory diseases in Canadian dairy cattle display different reactivities to anti-HE monoclonal antibodies and distinct amino acid changes in their HE, S and ns4.9 protein. *Virus Res* 2001;76(1):43-57.
- 114.Cavanagh D. Coronavirus avian infectious bronchitis virus. *Vet Res* 2007;38(2):281-97.
- 115.Buchmeier MJ, Lewicki HA, Talbot PJ, Knobl RL. Murine hepatitis virus-4 (strain JHM)-induced neurologic disease is modulated in vivo by monoclonal antibody. *Virology* 1984;132(2):261-70.
- 116.Lavi E, Gilden DH, Highkin MK, Weiss SR. The organ tropism of mouse hepatitis virus A59 in mice is dependent on dose and route of inoculation. *Lab Anim Sci* 1986;36(2):130-5.
- 117.Perlman S. Pathogenesis of coronavirus-induced infections. Review of pathological and immunological aspects. *Adv Exp Med Biol* 1998;440:503-13.
- 118.Risku M, Lappalainen S, Rasanen S, Vesikari T. Detection of human coronaviruses in children with acute gastroenteritis. *J Clin Virol* 2010;48(1):27-30.
- 119.Dominguez SR, Robinson CC, Holmes KV. Detection of four human coronaviruses in respiratory infections in children: a one-year study in Colorado. *J Med Virol* 2009;81(9):1597-604.
- 120.Soma T, Ohinata T, Ishii H, Takahashi T, Taharaguchi S, Hara M. Detection and genotyping of canine coronavirus RNA in diarrheic dogs in Japan. *Res Vet Sci* 2010;90(2):205-7.
- 121.Belouzard S, Chu VC, Whittaker GR. Activation of the SARS coronavirus spike protein via sequential proteolytic cleavage at two distinct sites. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106(14):5871-6.
- 122.Jackwood MW, Hilt DA, Callison SA, Lee CW, Plaza H, Wade E. Spike glycoprotein cleavage recognition site analysis of infectious bronchitis virus. *Avian Dis* 2001;45(2):366-72.
- 123.Yamada YK, Takimoto K, Yabe M, Taguchi F. Requirement of proteolytic cleavage of the murine coronavirus MHV-2 spike protein for fusion activity. *Adv Exp Med Biol* 1998;440:89-93.
- 124.de Haan CA, Stadler K, Godeke GJ, Bosch BJ, Rottier PJ. Cleavage inhibition of the murine coronavirus spike protein by a furin-like enzyme affects cell-cell but not virus-cell fusion. *J Virol* 2004;78(11):6048-54.
- 125.Ghosh AK, Takayama J, Aubin Y, Ratia K, Chaudhuri R, Baez Y, et al. Structure-based design, synthesis, and biological evaluation of a series of novel and reversible inhibitors for the severe acute respiratory syndrome-coronavirus papain-like protease. *J Med Chem* 2009;52(16):5228-40.
- 126.Schwegmann-Wessels C, Herrler G. Transmissible gastroenteritis virus infection: a vanishing specter. *Dtsch Tierarztl Wochenschr* 2006;113(4):157-9.
- 127.Takano T, Kawakami C, Yamada S, Satoh R, Hohdatsu T. Antibody-dependent enhancement occurs upon re-infection with the identical serotype virus in feline infectious peritonitis virus infection. *J Vet Med Sci* 2008;70(12):1315-21.
- 128.Hoskins JD. Coronavirus infection in cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1993;23(1):1-16.