

## PH-2

# Characterization of the DNA nucleotide sequences in the genome of red sea bream iridoviruses isolated in Korea

정준범 · 전려진 · 유민호 · 정현도  
부경대학교

## 서론

RSIV (red sea bream iridovirus)는 1992년 일본 남서부의 red sea bream에서 처음 검출되었으며, 한국의 여러 양식 어종에서도 심각한 경제적 손실을 야기시키고 있다. 감염된 어류의 증상으로는 행동이 둔해지며, 심한 빈혈, 아가미의 점상출혈, 비장의 종대 등이 나타난다. 어류에 병원성을 가지는 여러 virus를 검출하는데 있어서, 면역학적인 방법보다는 감수성이 높으며 빠르게 진단할 수 있는 polymerase chain reaction (PCR) 기법이 많이 사용되고 있다. Oshima 등 (1998)은 RSIV의 ribonucleotide reductase small subunit (RNRS) gene을, 그리고 Kurita 등 (1998)은 DNA polymerase (DPOL) gene, *Pst*-I restriction fragment, adenosine triphosphatase (ATPase) gene 등을 기초로 한 primer sets를 사용하여 virus-specific nucleic acids를 성공적으로 증폭하였다. 이번 연구에서는 다른 실험실에서 보고된 바 있는 primer sets가 한국에서 분리한 여러 RSIVs의 진단에 있어 적용이 가능한지, 그리고 reference nucleotide sequences와 한국의 여러 어종들에서 분리한 RSIVs의 nucleotide sequences를 비교하여 어종간, 연도간, 지역간 그리고 국가간의 차이로 인한 nucleotide sequence의 변화가 나타나는지를 조사하였다.

## 재료 및 방법

**Virus** : Virus는 1998년에서 2000년까지 한국의 여러 어류 양식장에서 RSIV의 전형적인 감염증상을 보이는 어종들의 비장으로부터 얻어졌다.

**Isolation of viral nucleic acids** : 감염어류의 비장으로부터 phenol-chloroform 법을 사용하여 viral nucleic acids를 분리하였고, 사용전까지 80℃에서 보관하였다.

**Amplification of viral genomes** : 이전에 RSIV의 진단에 사용되었던 4 sets의 primers를 사용하여 PCR test (Perkin-Elmer)를 실시하였고, PCR products는 EtBr이 첨가된 1% agarose gel에서 전기영동하여 확인하였다.

**Cloning of the viral DNA fragment** : PCR products는 Prep-A-Gene DNA Purification systems (Bio-Rad)을 사용하여 정제하였고, TOPO-TA vector (Invitrogen)를 사용하여 cloning시켰으며, sequencing (ABI PRISM)하였다. 그리고, 결과는 MACAW program으로 분석하였다.

## 결과 및 요약

RSIV의 DPOL gene, *Pst* I-restriction fragment, RNRS gene 그리고 ATPase gene 등의 nucleotide sequences를 기초로 한 4개의 oligonucleotide primer sets를 PCR assays에 사용하였고, 한국에서 분리한 9 RSIVs로부터 4 부위의 PCR fragments를 sequencing해서 각 결과를 비교하였으며, 그 결과 nucleotide sequences 상에서, 2가지의 다른 RSIV types를 발견할 수 있었다. 한 type은 이미 일본에서 보고된 바 있는 RSIV Ehime-1과 100% homology를 나타낸 RSIV Namhae type이고, 또 다른 type은 RSIV Ehime-1과 96.6%에서 98.9%의 homology를 나타낸 RSIV Sachun type이었다. 분리된 9 RSIVs 중 RSIV Namhae type을 제외한 나머지 8 RSIV isolates는 모두 RSIV Sachun type으로 나타났다. ATPase gene 부위에서 한 개의 nucleotide가 다르게 나타난 한 개의 isolate를 제외하고는 Sachun types의 모든 DNA 염기배열은 동일하였다. 일본에서 보고된 바 있는 RSIV Ehime-1과 한국의 여러 어종들에서 분리한 RSIVs의 nucleotide sequences를 비교했을 때, 어종간, 연도간, 지역간 그리고 국가간의 차이로 인한 변화는 발견할 수 없었으며, 이를 확립하기 위한 더욱 다양한 RSIV strains의 연구가 요구된다.

## 참고문헌

- Inouye K., Yamano K., Maeno Y., Nakajima K., Matsuoka M., Wada Y. and Sorimachi M. 1992. Iridovirus infection of cultured red sea bream, *Pagrus major*. *Fish Pathol.* 27: 19-27 (in Japanese with English abstract).
- Jung S.J. and Oh M.J. 2000. Iridovirus-like infection associated with high mortalities of striped beakperch, *Oplegnathus fasciatus* (Temminck et Schlegel), in southern coastal areas of the Korean peninsula. *J. Fish Dis.* 23: 223-226.
- Kurita J., Nakajima K., Hirono I. and Aoki T. 1997. Molecular sequence analysis and PCR diagnosis of red sea bream iridovirus. NRIA International Workshop; new approach to viral diseases of aquatic animals, Kyoto. 119-123.
- Kurita J., Nakajima K., Hirono I. and Aoki T. 1998. Polymerase chain reaction (PCR) amplification of DNA of red sea bream iridovirus (RSIV). *Fish Pathol.* 33: 17-23.
- Miyata M., Matsuno K., Jung S.J., Danayadol Y. and Miyazaki T. 1997. Genetic similarity of iridoviruses from Japan and Thailand. *J. Fish Dis.* 20: 127-134.
- Oshima S., Hata J., Hirasawa N., Ohtaka T., Hirono I., Aoki T. and Yamashita S. 1998. Rapid diagnosis of red sea bream iridovirus infection using the polymerase chain reaction. *Dis. Aquat. Org.* 32: 87-90.