

감성돔(*Acanthopagrus schlegeli*)에서 유래한 새로운 세포주의 확립

°임은영 · 강민수 · 오명주 · 정성주

여수대학교 수산생명의학과

서론

어류에서 바이러스성 질병이 중요하다는 인식이 증가하고 있으며 어류바이러스의 연구를 위한 세포주의 발달이 활성화되고 있다. 하지만 상대적으로 해산 유래의 세포주는 많지 않다. 특히 유럽과 우리나라 남·서해안에서 고급어종인 감성돔은 림포시스티스병, 이리도바이러스병 등의 바이러스성 질병이 발생하고 있다. 본 연구는 감성돔에서 유래한 세포주 개발을 목적으로 하였으며, 감성돔의 비장에서 유래한 세포를 초대배양 및 계대배양 하여 새로운 세포주를 확립하였으며, 일련의 실험을 실시하여 확립된 세포주의 특성을 확인하고 바이러스에 대한 감수성을 검사하였다.

재료 및 방법

2001년 10월 남해안의 종묘배양장에서 사육중인 0.1g의 감성돔으로부터 비장 조직을 멸균된 해부용 가위로 잘게 자른 후 초대배양을 실시하였다. 25cm² tissue culture flask를 이용하여 200IU/ml의 페니실린과 200 μ g/ml의 스트렙토마이신, 20%의 FBS가 첨가된 Leibovitz's L-15 배지에서 20°C에서 배양을 하였다. 10대 계대 이후부터는 FBS의 농도를 10%로 낮추었다. 본 세포주의 염색체 수는 Freshney(1994)의 방법에 따라 분석을 하였고, 바이러스 감수성을 확인하기 위하여 실험실에서 보유하고 있는 11종의 바이러스를 접종하여 CPE(Cytopathic effect)를 확인하였고, TCID₅₀을 통해 감염가를 측정하였다.

결과 및 요약

감성돔의 비장 조직에서 유래한 세포를 50회 이상 계대 배양하여 안정적인 세포주를 확보하였다. 본 세포주의 특성 확인의 결과로 세포 형태는 상피성 세포로 관찰되었다. 염색체 수는 43에서 62사이에서 고른 분포를 보였다. 바이러스 감수성 검사결과 MABV-Y6 (marine birnavirus), SVCV(spring viremia of carp), HRV(hiramerhabdovirus), CSV(chum salmon virus)를 접종한 곳에서 CPE(Cytopathic effect)를 확인하였다. CPE를 확인한 결과 MABV-Y6와 SVCV를 접종한

세포는 구형화되어 용해되었고, HRV를 접종한 세포는 구형화되어 포도송이 모양의 형태를 보였으며, CSV를 접종한 세포에서는 다핵거대세포의 형태를 확인할 수 있었다. 감염가는 각각 $10^{3.75}$, $10^{5.5}$, $10^{5.5}$ 와 $10^{3.5}$ TCID₅₀ ml⁻¹으로 측정되었다. 이후 확립된 세포주의 정상검사와 더불어 보다 다양한 바이러스, 특히 해산어류에 큰 피해를 입히면서 분리가 어려운 바이러스들에 대한 감수성검사가 필요하다.

참고문헌

Freshney R. I. 1994. Culture of Animal Cells-A Manual of Basic Technique, 3rd edn (ed. by R. I. Freshney), pp.12, 93-234. Wiley-Liss, New York