

# 생명정보학 기반 H5N1에 특이적인 진단키트 개발을 위한 epitope 선별

## Selection of epitope for development of H5N1 specific diagnostic kit based on bioinformatics

이 인 성, 김 학 용  
충북대학교

In Seoung Lee, Hak Yong Kim  
Chungbuk National University

### 요약

인플루엔자 A 바이러스의 아형인 H5N1은 고병원성으로 조류 독감을 일으킨다. H5N1 바이러스는 원래 조류끼리만 감염되는 독감이고, 사람에게는 전염되지 않는다고 알려져 있었으나, 2003년에 베트남과 중국을 시작으로 현재까지 168명의 사망자가 기록되고 있다. 그러나 현재 시판되고 있는 진단키트(Rapid diagnostic kits)들은 H5N1에 특이적인 것이 아니라 influenza A virus 모두를 진단한다. 따라서 influenza 감염여부는 확인 할 수 있지만, 이것이 H5N1 인지는 확인 할 수가 없다. H5N1은 전염성이 강하기 때문에 빠르게 진단하여 감염조류를 살 처분 하여야 더 많은 경제적 손실을 줄일 수 있다. 따라서 H5N1에만 특이적인 epitope를 네트워크 기반으로 예측하여 진단제에 응용할 수 있도록 하고자 한다. 각 서열 정보는 Openflu (<http://openflu.vital-it.ch/browse.php>)에서 얻었다. H5N1은 H1N1에서 유래되었기 때문에 두 subtype의 차이점을 알아보고자 TCOFFEE에서 multiple sequence alignment를 수행한 결과 N-terminal 부분이 상이하였다. 상이한 H5N1의 N-terminal 부분이 H5N1 virus에 감염된 모든 host에서 존재하는지 알아보기 위해 host가 사람인 경우와 조류인 경우를 TCOFFEE에서 alignment 하였다. 그 결과 H5N1의 N-terminal 부분은 사람과 조류에서 보존적이었다. 따라서 H5N1의 N-terminal이 다른 subtype과 유사하지 않고 H5에만 특이적이기 때문에 진단키트 제작을 위한 epitope로 사용할 수 있을 것으로 기대된다.

## I. 서론

인플루엔자 바이러스는 전 세계적으로 독감을 일으키는 전염성 바이러스이다. 미국에서는 매년 200,000명 이상의 환자가 독감으로 병원에 오고, 약 36,000명의 환자가 인플루엔자 바이러스에 감염되어 사망한다[1].

고병원성인 H5N1은 인플루엔자 A타입으로 원래는 조류사이에만 유행하여 많은 감염조류가 살 처분 되었다. 그러나 최근 숙주를 달리하여 사람에게도 전염되어 현재까지 약 328명이 사망하였다[2]. 이처럼 H5N1은 전염성과 치사율이 높아 사전에 진단하지 못할 경우 감염조류를 집단 처분해야하는 경제적 손실을 야기한다. 현재 인플루엔자 아형을 구분해서 진단하는 진단키트는 시판되지 않고 있다. 즉, 인플루엔자 A타입에 감염된 것은 확인 할 수 있지만 H5N1인지는 알 수 없다. 따라서 본 연구에서는 특이적으로 H5N1만 진단할 수 있는 신속진단키트의 제작에 필요한 단백질조각(epitope)을 선별하고자 한다.

## II. 본론

### 1. 다중서열분석 - Multiple alignment

H5N1은 매년 조류독감으로 유행하는 H1N1의 유전자 서열의 변이로 인해 유래된 바이러스이다[2]. 이들의 유전자 차이점을 알아보기 위해서 TCOFFEE를 통해서 다중서열분석을 하였다(그림 1, a). 선을 기준으로 위의 서열은 H1N1이고, 아래는 H5N1이다. 붉은색에 가까울수록 유사성이 높은 것으로 N-terminal 일부분을 제외한 뒷부분은 모두 유사성이 높아 그림에는 표시하지 않았다.

H5N1은 인수공통전염병임으로 숙주가 사람인 경우와 조류인 경우를 multiple alignment 하여 유사성을 알아보고자 하였다(그림 1, b). 선을 기준으로 위의서열은 숙주가 조류인 경우, 아래서열은 사람인 경우이다. 숙주에 상관없이 염기서열의 유사성이 아주 높았다.

본 연구에서는 H5N1의 종들에서만 모두 발견되는 H5N1에 특이적인 epitope를 찾으려한다. 따라서 네모박스(그림 1, a)의 14 amino acids는 H5N1에만 특이적으로 존재하여 epitope로써 가능성이 있다.

### 2. Phylogenetic tree를 통한 종간의 유사성분석

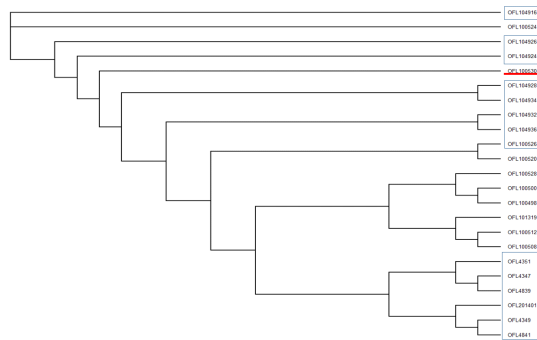
H5N1은 조류에서만 유행하는 질병이었지만, 숙주세포를 달리하여 사람에게도 감염되어 사망자가 발생하였다. 따라서 Phylogenetic tree로 종간의 진화정도를 알아보려고 한다.

Openflu를 통해 획득한 유전자 서열을 이용하여 중간 의 진화정도를 보면(그림2), 사람과 조류의 뚜렷한 경계 가 없다. 특히 OFL100530(굵은 밑줄, 그림 2)의 경우, 숙 주가 조류이지만 숙주가 사람인 경우의 서열들과 밀접한 관계를 보인다. 또한, 그림1에서 얻은 peptide가 OFL100530에 존재하는 것을 확인하였다. 따라서 “GGAGAAAATAGTGC”는 사람과 조류 모두에 존재한다 고 예측할 수 있다.



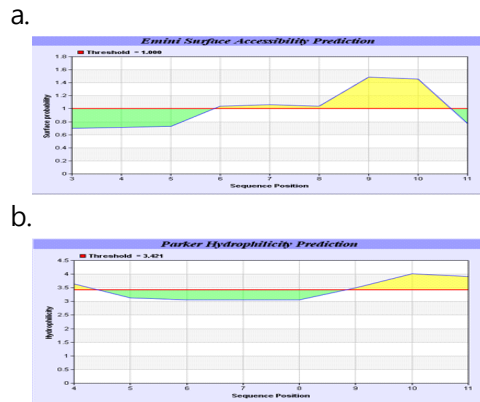
▶▶ 그림 1. Multiple alignment (a. H5N1과 H1N1 비교, b. H5N1 중 숙주가 사람인 경우와 조류인 경우 비교)

▶▶ 그림 2. Phylogenetic tree. 숙주가 사람인 경우-네모박스, 나머지는 조류인 경우



3. Epitope로써 활용 가능성 분석

그림1에서 설명한 “GGAGAAAATAGTGC” 서열에 대 한 epitope로써의 활용가능성 분석을 위해 hydrophilicity 와 surface accessibility를 Antibody Epitope Prediction- IEDB를 통해 예측해 보았다(그림 3). Epitope가 되려면 용액에 잘 녹아야 함으로 hydrophilic 해야 하고, 면역세 포들과의 surface accessibility 가 높아야한다. 14 Amino acids 가 모두 hydrophilic 한 것은 아니지만 전체적으로 친수성의 성격을 띠고 있고, 표면 접근성도 높다. 따라서 “GGAGAAAATAGTGC”는 H5N1에만 특이적인 epitope 로 진단키트에 활용 가능할 것이다.



▶▶ 그림 3. Epitope 예측 (a. Surface accessibility prediction, b. Hydrophilicity prediction)

III. 결론

H5N1은 전염성과 치사율이 높은 바이러스로 신속한 진단을 통해 경제적 손실을 줄여야 한다. 현재 인플루엔 자 바이러스에 대한 신속진단키트가 판매되고 있지만 각 서브타입에 특이적인 키트는 개발되지 않았다. 따라서 본 연구에서는 H5N1에만 특이적인 epitope를 선별하였다.

H5N1는 H1N1에서 유래한 바이러스이다. H5N1에 특 이성을 알아보기 위해 Multiple alignment를 통해 두 서 브타입간의 차이점을 찾았고, 이 부분이 H5N1에 감염된 모든 종(사람, 조류)에서 존재하는지도 multiple alignment 와 phylogenetic tree를 통해 확인하였다. 선 별된 14 amino acids가 epitope로써 활용가능한지 알아보 기 위해서 hydrophilicity와 surface accessibility를 조사 하였다. 전체적으로 친수성을 띠고, 표면 접근성도 높아 epitope로써 진단키트에 활용 가능할 것으로 예측된다.

향후, 본 연구에서 머무르지 않고 선별된 epitope를 제작하여 H5N1에 대한 특이성 및 반응성과 신속진단키 트에 활용가능성을 실험을 통해 확인 할 것이다.

■ 참고 문헌 ■

[1] The Influenza Virus Resource at the National Center for Biotechnology Information, Yiming Bao\*, Pavel Bolotov, Dmitry Dernovoy, Boris Kiryutin, Leonid Zaslavsky, Tatiana Tatusova, Jim Ostell, and David Lipman.  
 [2] Human influenza A H5N1 virus related to a highly pathogenic avian influenza virus, Dr Eric CJ Claas, PhDa, Prof Albert DME Osterhaus, DVMA, Ruud van Beek, MSa, Jan C De Jong, PhDb, Guus F Rimmelzwaan, PhDa, Dennis A Senne, MSc, Scott Krauss, MSe, Prof Kennedy F Shortridge, PhDd, Prof Robert G Webster, PhDe