

우리 나라 양식 넙치, *Paralichthys olivaceus*에서 분리된 VHSV(Viral Hemorrhagic Septicemia Virus)의 유전학적 검토

김수미 · 이재일* · 홍미주* · 박현식** · 박수일†

부경대학교 수산과학연구소, *부경대학교 수산생명의학과, **울산지방해양수산청

Genetic relationship of the VHSV(Viral Hemorrhagic Septicemia Virus) isolated from cultured olive flounder, *Paralichthys olivaceus* in Korea

Su-Mi Kim · Jae-Il Lee* · Mi-Ju Hong* · Heon-Sik Park** and Soo-Il Park†

Institute of Fisheries Science, Pukyong National University, Busan 612-021, Korea

*Department of Aquatic Life Medicine, College of Fisheries Science,

Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

**Ulsan Regional Maritime Affairs & Fisheries Office

RT-PCR method was applied to detect and clone the nucleocapsid protein (N) gene and glycoprotein (G) gene for sequencing 5 Korean VHSV isolates from cultured olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. Phylogenetic analysis was performed to investigate their relationship with the VHSV strains described previously and isolated from different geographical area. Generally, VHSV strains were separated phylogenetically according to the major geographical area of isolation: Genogroup I (American type), Genogroup II (British Isles) and Genogroup III (European type). This study revealed that all 5 Korean VHSV isolates were belonged to Genogroup I and closely related to Japanese Obama25 type.

Key word : VHSV, Nucleocapsid protein (N), Glycoprotein (G) gene, Phylogenetic analysis

Viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV)는 무지개송어를 비롯한 담수산 연어과 어류에서 가장 심각한 바이러스성 질병을 야기하는 것으로 잘 알려져 왔으나 최근에 와서 담수 및 해수 어류 모두에 질병을 유발하는 병원체라는 것이 밝혀지고 있다 (Mortensen *et al.*, 1999 ; Smail, 1999). 해수 어류에서의 VHSV는 1979년 Atlantic cod *Gadus morhua*에서 첫 보고된 이후, 프랑스의 해수 양식 무지개송어와 터봇 등에서 질병을 야기 (Jensen *et al.*, 1979; Horlyck *et al.*, 1984; Schlotfeldt *et al.*, 1991)하였을 뿐만 아니라, Pacific cod *Gadus macrocephalus*, Atlantic herring *Clupea harengus* 등 다양한 야생 해수 어류에서 분

리되어 해양 환경 중에 바이러스가 존재한다는 것이 입증되고 있다 (Meyers *et al.*, 1992, Mortensen *et al.*, 1999). VHSV는 유럽 지역 뿐만 아니라 1980년대 후반부터는 북미 지역에서도 빈번히 분리되고 있어 그 지리적 분포가 광범위한 바이러스에 속한다 (Brunson *et al.*, 1989; Winton *et al.*, 1989). 또한 VHS는 'OIE notifiable disease'로 규정되어 있어 수산물 유통시 검역대상이 되는 질병 (OIE, 2001)이므로 전 세계적으로 이 질병의 발생이나 분포에 대한 관심이 매우 높다.

한편, 아시아 지역의 여러 나라에서 IHNV나 HIRRV와 같은 *Novirhabdovirus*는 광범위하게

†Corresponding Author : Soo-Il Park, Tel. 051-620-6141,
Fax. 051-628-7430, E-mail. parksi@mail.pknu.ac.kr

분포하지만 VHSV는 분리된 예가 거의 없었으며 우리 나라의 경우 역시 현재까지는 VHSV에 대한 보고가 전무하였다. 그러나, 최근 일본에서는 연안 해수 어종에 대한 바이러스 역학 조사를 통하여 야생 넙치에서 VHSV를 검출한 바 있으며 (Takano *et al.*, 2000), 이어 Isshiki *et al.* (2001)은 VHSV가 양식 넙치에 심각한 질병을 야기한다고 보고하였다. 본 연구자들은 2001년과 2002년의 저수온기에 우리 나라의 동해안 넙치 양식장에서 복수와 탈장을 동반하는 새로운 형태의 바이러스성 질병을 보고한 바 있고 그 원인 병원체를 동정한 결과 VHSV임을 밝혀내었다.

VHSV는 Family Rhabdoviridae, Genus *Novirhabdovirus*에 속하는 것으로서 6개의 gene (3'-N-P-M-G-NV-L-5')의 순으로 구성된 약 12,000 bp의 linear negative-sense ss-RNA를 가진다 (Schutze *et al.*, 1999; van Regenmortel *et al.*, 2000). Benmansour *et al.* (1997)과 Stone *et al.* (1997)은 해수 및 담수어류에서 분리되는 VHSV를 G gene 염기서열에 기초하여 3가지 Genogroups으로 구분하였으며, 이들 유전형은 지리적 분리 유래에 따라 American (Genogroup I), British Isles (Genogroup II), European (Genogroup III) isolates로 대별된다고 하였다.

본 연구에서는 우리 나라 양식 넙치에서 분리한 VHSV isolates의 Nucleocapsid gene 및 Glyco-

protein gene의 유전자 배열을 분석하여 이들 Korean VHSV isolates와 기보고된 여러 VHSV isolates간의 상관관계를 유전학적으로 비교 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

Cell line 및 Viruses

본 연구에 사용한 VHSV isolates의 분리 유래는 Table 1과 같다. 병어의 조직 마쇄 여과액을 EPC cell line에 접종한 후 15°C에서 3일간 배양하여 CPE를 확인하였다. 세포 배양액은 10 % Fetal Bovine Serum (FBS), 1 % antibiotic-antimycotic (Gibco BRL)을 첨가한 Eagle's minimum essential medium (EMEM)를 사용하였다. 바이러스의 계대는 low multiplicity of infection (MOI, <0.01)으로 수행하였고 모든 실험에는 3회 이하로 계대한 바이러스액을 사용하였다.

감염된 cell에서의 RNA 분리

각각의 VHSV isolates를 접종한 후 3일째, CPE가 나타나기 시작한 EPC cells을 수거하고 Trizol (Gibco BRL)을 사용하여 cell에서 total RNA를 분리하였다. 건조한 RNA를 30 μ l의 RNase free water (DEPC treated H₂O)에 녹인 다음 RT-PCR에 사용하였다.

Table 1. The Korean isolates of VHSV used in this study

Virus isolate	Location of isolation	Host fish, Sample size	Date of isolation and Water Temp.
JY-0112	Pohang, Korea	Olive flounder, 20g	Dec 2001, 13°C
HS-0203	Pohang, Korea	Olive flounder, 30g	Mar 2002, 10°C
JI-0203	Pohang, Korea	Olive flounder, 25g	Mar 2002, 10°C
DN-0206	Ulsan, Korea	Olive flounder, 4g	June 2002, 17°C
CS-0206	Busan, Korea	Olive flounder, 40g	June 2002, 17°C

Table 2. Primer sets used in this study for VHSV N and G gene cloning

Primer sets name		Primer sequence	Products size (bp)
N gene	VHSV N	5' -CTC AGT TGA AAA ATG GAA GG-3'	1,048
		5' -TCC TCT CAT ACT TGT CCA CC-3'	
G gene	VHSV G1	5' -GGT ACG TTT GTG TAC ACA AC-3'	732
		5' -TGT GAT CAT GGG TCC TGG TG-3' *	
	VHSV G2	5' -CCA TTG CCC TAC CTC AGA AA-3'	1,023
		5' -GGA GAA AAG CTG GTT GTG CT-3'	

*, According to Miller *et al.*, 1998

RT-PCR과 Gene cloning

추출한 total RNA 1 μ l와 0.5 μ g oligo(dT)₁₅ primer, 1 μ l PowerScript™ Reverse Transcriptase (Invitrogen)를 사용하여 cDNA를 합성한 후 RT-PCR을 실시하였다. VHSV isoaltes의 G gene과 N gene을 cloning하기 위하여 설계한 primer sets는 Table 2와 같다.

JY-0112 strain의 PCR products는 pGEM-T easy vector system (Promega)과 *Escherichia coli* JM109를 사용하여 gene cloning한 후 sequencing하였다.

DNA sequencing 및 Computer analysis

N gene과 G gene의 clone 및 PCR products를 automatic sequencer (ABI 3700)를 사용하여 sequencing하였고 NCBI의 BLAST에서 기보된 gene들과의 상동성이 있는 유전자를 검색하였다. 이들을 Clustal W program을 이용하여 multiple sequence alignments하였고 Phylogenetic analysis는 Mega 2.1 version을 사용하여 Neighbour-joining method와 Bootstrap test를 실시한 다음 Dendrogram을 작성하였다. 각 유전자간의 sequence similarity에는 Genetyx program을 이용하여 분석하였다.

결 과

VHSV N gene과 G gene

VHSV N primer set의 PCR product를 gene cloning하여 1,048 bp의 N gene 염기서열을 밝혔으며 VHSV G primer sets을 이용하여 1,672 bp의 염기서열을 밝혔다. JY-0112 isolates를 제외한 나머지 4개의 VHSV isolates는 각각의 PCR products를 direct sequencing (N gene >750 bp, G gene >1,400 bp reading)하여 VHSV JY-0112와의 염기서열을 비교한 결과 이들 유전자형은 96~99%의 상동성을 보였다. 본 연구에서 밝힌 VHSV JY-0102 isolates의 N gene은 Korean Sequence Database (accession number, KS108627), G gene는 GenBank (accession number, AY167587)에 등재하였다.

Phylogenetic Analysis 및 유전자 상동성 비교

5개의 Korean VHSV isolates의 N gene과 GenBank에 등재된 18개의 VHSV isolates의 N gene을 기초로 작성한 phylogenetic tree는 Fig. 1과 같다.

세계 각지에서 분리되는 VHSV isolates의 N gene은 분리 어종이나 분리 시기에 관계없이 3

개의 major cluster로 구분되며 이들 각 cluster에 해당하는 strains의 유래를 Table 3에 나타내었다. Genogroup I에 속하는 기보고된 strains는 모두 American isolates이었으며, Genogroup II에 속하는 strains는 British Isles 주변의 해역에서 분리된 것들이었고, Genogroup III는 유럽대륙 및 그 인근 해역에서 분리된 것들이 대부분을 차지하였다. 이와 같이, VHSV의 유전형은 분리 지역과 밀접한 연관성이 있었고 우리 나라에서 분리한 5개의 isolates는 모두 Genogroup I에 속하는 것을 알 수 있었다. 그러나, 어류 rhabdovirus인 IHNV의 N gene (accession number, U50402)과 HIRRV의 N gene (accession number, AF104985)은 VHSV isolates의 그것과는 뚜렷이 구별되었다 (Fig. 1).

이러한 결과는 G gene에서도 유사한 경향을 나타내었다 (Fig. 2, Table 4). GenBank에 등재된 46개의 G gene에 기초하여 작성한 phylogenetic tree에서도 Korean VHSV isolates는 모두 Group I에 속하며, 그 중에서도 Japanese isolates인 Obama25와 가장 가까운 위치에 있었다 (Fig. 2).

Table 5와 Table 6에는 Korean VHSV isolates의 대표인 JY-0112 isolate와 각 Genogroup의 대표 isolates간의 N gene 및 G gene에 대한 sequence similarity를 나타내었다. Korean VHSV isolates의 유전자는 Genogroup I의 대표 균주인 Makah 유사하며, G gene의 경우 일본에서 분리된 Obama25 strain과 가장 높은 상동성 (99.1%)을 나타내었다.

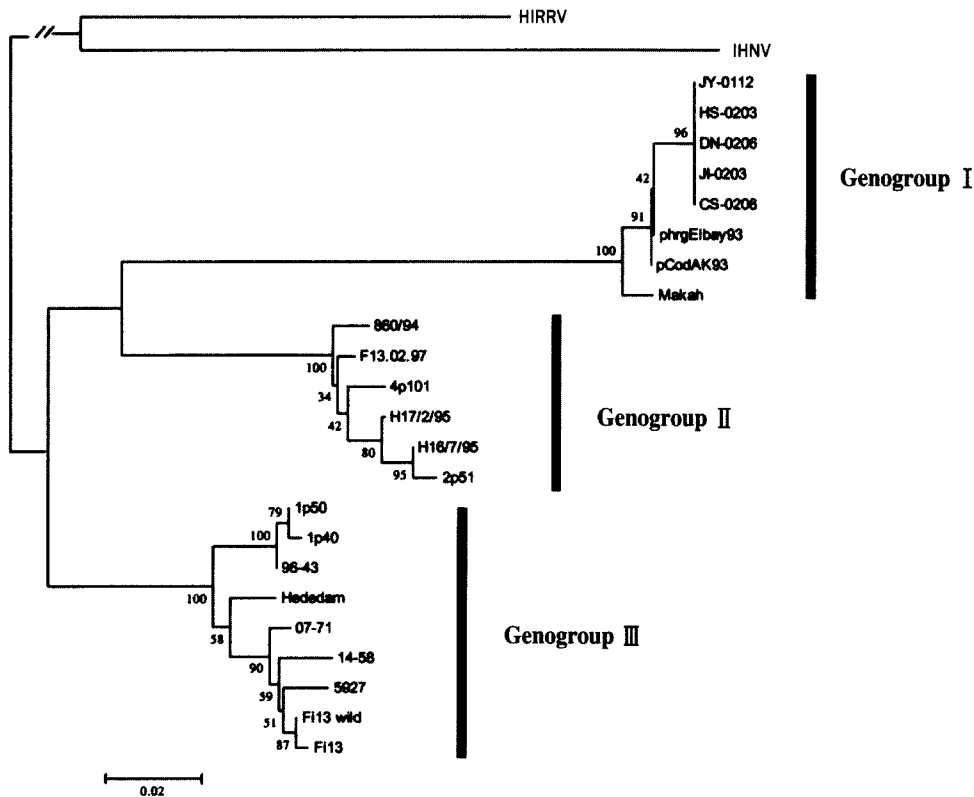


Fig. 1. Dendrogram showing the genetic relationship among Korean VHSV isolates, American (Genogroup I), British (Genogroup II), European (Genogroup III) isolates based on analysis of the coding region of the nucleocapsid (N) protein gene. Bootstrap values for branches are shown.

Table 3. Isolates of VHSV used in this study for comparison of N gene

Virus strain	Location	Year	Host fish	GenBank Accession No.	Reference
JY-0112	Pohang, Korea	2001			
HS-0203	Pohang, Korea	2002	Olive flounder,		
JI-0203	Pohang, Korea	2002	<i>Paralichthys olivaceus</i>	KS108627*	in this study
DN-0206	Ulsan, Korea	2002			
CS-0206	Busan, Korea	2002			
phrgElbay93	Washington, USA	1993	Pacific herring	AJ130925	Snow <i>et al.</i> , 1999
pCodAK93	Alaska, USA	1993	Cod	AJ130926	Meyers <i>et al.</i> , 1994
Makah	Washington, USA	1998	Coho salmon	X59241	Stone <i>et al.</i> , 1997
860/94	West scotland	1994	Turbot	AJ130915	Ross <i>et al.</i> , 1994
F13.02.97	Ireland	1997	Turbot	AJ130916	Snow, GenBank
4p101	Skagerrak	1997	Whiting	AJ130918	Mortensen <i>et al.</i> , 1999
H17/2/95	North sea	1995	Haddock	AJ130924	Smail, 1995
H16/7/95	North sea	1995	Cod	AJ130923	Smail, 1995
2p51	Skagerrak	1996	Norway pout	AJ130917	Mortensen <i>et al.</i> , 1999
1p50	Baltic Sea	1996	Sprat	AJ130920	Mortensen <i>et al.</i> , 1999
1p40	Baltic Sea	1996	Rockling	AJ130919	Mortensen <i>et al.</i> , 1999
96-43	England	-	Atlantic herring	AF143862	Betts and Stone, 2000
Hededam	Denmark	1972	Rainbow tuout	Z93412	Stone <i>et al.</i> , 1997
07-17	France	1971	Rainbow trout	AJ23396	Le Berre <i>et al.</i> , 1977
14-58	France	-	Rainbow trout	AF143863	Betts and Stone, 2000
5927	Germany	1991	Turbot	AJ130922	Schlotfeldt <i>et al.</i> , 1991
Fi13 wild type	-	-	-	X73873	Bernard <i>et al.</i> , 1990
Fi13	-	-	-	Y18263	Schuze <i>et al.</i> , 1999

*, Korean Sequence Database accession number.

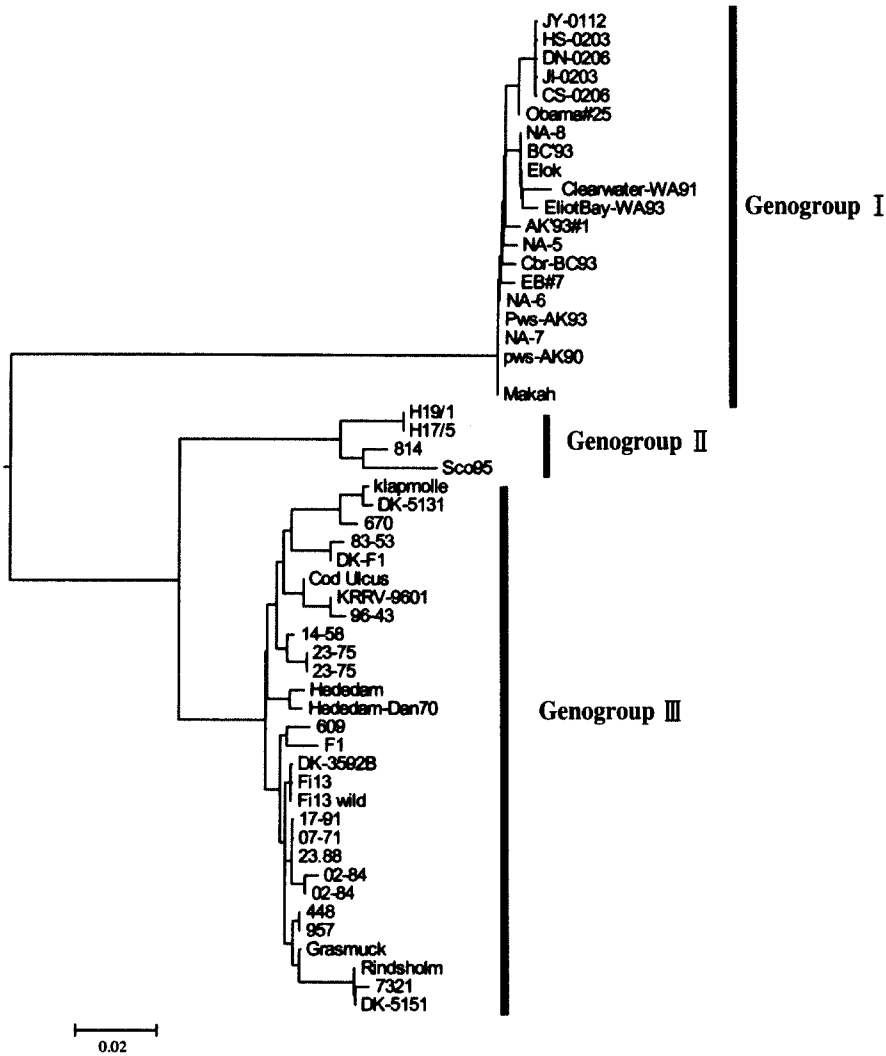


Fig. 2. Dendrogram showing the genetic relationship among Korean VHSV isolates, American (Genogroup I), British (Genogroup II), European (Genogroup III) isolates based on analysis of the coding region of the glycoprotein (G) gene.

고 찰

본 연구에서는 우리 나라 동해안 일원의 양식 넙치에서 체색흑화, 복수, 탈장 및 간 출혈 등의 병변을 나타내며 폐사하는 질병의 원인 병원체를 조사하고 그 원인이 VHSV라는 것을 밝혀내었다. 양식 넙치에서 분리한 VHSV의 N gene과 G gene을 밝히고 그 유전자를 분석한 결과 현재 까지 우리 나라에서 분리되는 VHSV는 모두 동

일한 유전형질을 가지는 것으로 밝혀졌다.

VHSV의 genome은 5개의 구조단백 coding gene인 nucleocapsid protein (N), polymerase associated protein (P 또는 M1), matrix protein (M 또는 M2), glycoprotein (G), RNA polymerase (L)와 기능을 모르는 1개의 non-structural protein (NV) gene로 구성되어 있다 (Basuroco and Benmansour, 1995; Benmansour *et al.*, 1997). 본 연구에서 phylogenetic analysis에 사용한 N gene과 G gene

Table 4. Isolates of VHSV used in this study for comparison of G gene

Virus strain	Location	Year	Host fish	GenBank Accession No.	Reference
JY-0112	Pohang, Korea	2001			
HS-0203	Pohang, Korea	2002	Olive flounder,		
JI-0203	Pohang, Korea	2002	<i>Paralichthys</i>	AY167587	in this study
DN-0206	Ulsan, Korea	2002	<i>olivaceus</i>		
CS-0206	Busan, Korea	2002			
Obama25	Japan	1999	Japanese flounder,	AB060725	Nishizawa <i>et al.</i> , 2002
KRRV9601	Japan	1996	<i>Paralichthys</i> <i>olivaceus</i>	AB060727	Nishizawa <i>et al.</i> , 2002
NA-8	Washington, USA	1991	Coho salmon	Z93426	Stone <i>et al.</i> , 1997
BC' 93	Columbia, Canada	1993	Pacific herring	Z93427	Stone <i>et al.</i> , 1997
Elock	Washington, USA	1994	Coho salmon	Z93422	Stone <i>et al.</i> , 1997
Cleanwater-WA91	Washington, USA	1991	Coho salmon	U88050	Benmansour <i>et al.</i> , 1997
EliotBay-WA93	Washington, USA	1993	Pacific herring	U88055	Benmansour <i>et al.</i> , 1997
AK' 93#1	Alaska, USA	1993	Pacific herring	Z93430	Stone <i>et al.</i> , 1997
NA-5	Washington, USA	1989	Coho salmon	Z93423	Stone <i>et al.</i> , 1997
Cbr-BC93	Columbia, Canada	1993	Pacific herring	U88051	Benmansour <i>et al.</i> , 1997
EB#7	Washington, USA	1993	Pacific herring	Z93428	Stone <i>et al.</i> , 1997
NA-6	Alaska, USA	1990	Pacific cod	Z93424	Stone <i>et al.</i> , 1997
pws-AK93	Alaska, USA	1993	Pacific herring	U88053	Benmansour <i>et al.</i> , 1997
NA-7	Alaska, USA	1991	Pacific cod	Z93425	Stone <i>et al.</i> , 1997
pws-AK90	Alaska, USA	1990	Pacific cod	U88052	Benmansour <i>et al.</i> , 1997
Makah	Washington, USA	1998	Coho salmon	U28747	Stone <i>et al.</i> , 1997
H19/1	Scotland	1993	Atlantic cod	Z92407	Stone <i>et al.</i> , 1997
H17/5	Scotland	1993	Atlantic cod	Z93406	Stone <i>et al.</i> , 1997
814	Scotland	1994	Turbot	Z93405	Stone <i>et al.</i> , 1997
Sco95	Scotland	1995	Turbot	U88056	Benmansour <i>et al.</i> , 1997

Klapmolle	Denmark	1988	Rainbow trout	Z93410	Stone <i>et al.</i> , 1997
DK-5131	Denmark	-	Rainbow trout	AF345858	Winton, unpublished
670	Netherlands	1987	Rainbow trout	Z93413	Stone <i>et al.</i> , 1997
83-53	England	1983	Rainbow trout	Z93411	Stone <i>et al.</i> , 1997
DK-F1	-	-	Rainbow trout	AF345857	Winton, unpublished
Cod ulcus	Denmark	1979	Atlantic cod	Z93414	Stone <i>et al.</i> , 1997
96-43	England	-	Atlantic herring	AF143862	Betts and Stone, 2000
14-58	France	-	Rainbow trout	AF143863	Betts and Stone, 2000
23-75	France	1975	Brown trout	U28799	Stone <i>et al.</i> , 1997
23-75	France	1975	Brown trout	Z93415	Stone <i>et al.</i> , 1997
Hededam	Denmark	1972	Rainbow trout	Z93412	Stone <i>et al.</i> , 1997
Hededam-Dan70	Denmark	1970	Salmo trutta	U28798	Benmansour <i>et al.</i> , 1997
609	Netherlands	1991	Rainbow trout	Z93417	Stone <i>et al.</i> , 1997
F1	Denmark	1965	Rainbow trout	Z93408	Stone <i>et al.</i> , 1997
DK-3592B	Denmark	-	-	X66134	Lorenzen <i>et al.</i> , 1998
Fi13 wild type	-	-	-	X73873	Bernard <i>et al.</i> , 1990
Fi13	-	-	-	Y18263	Schuze <i>et al.</i> , 1999
07-71	France	1971	Rainbow trout	AJ233396	Le Berre <i>et al.</i> , 1977
23.88	France	1988	Rainbow trout	U88054	Benmansour <i>et al.</i> , 1997
02-84	France	1984	-	U28800	Stone <i>et al.</i> , 1997
448	Netherlands	1992	Rainbow trout	Z93418	Stone <i>et al.</i> , 1997
957	Netherlands	1992	Rainbow trout	Z93420	Stone <i>et al.</i> , 1997
Grasmuck	France	1984	Rainbow trout	Z93149	Stone <i>et al.</i> , 1997
Rinsholm	Denmark	1988	Rainbow trout	Z93416	Stone <i>et al.</i> , 1997
7321	Germany	1991	Turbot	Z93409	Stone <i>et al.</i> , 1997
DK-5151	Denmark	-	Rainbow trout	AF345859	Winton, unpublished

Table 5. Nucleotide sequence identities (%) of the N gene in the genome of Korean VHSV isolate compared with that of pre-reported VHSV isolates

Virus strain	Korean isolate	Genogroup I	Genogroup II	Genogroup III
	JY-0112	Makah	H16/7/95	96-43
JY-0112	100	97.3	84.4	88.1
Makah		100	84.9	87.9
H16/7/95			100	89.1
96-43				100

Table 6. Nucleotide sequence identities (%) of the G gene in the genome of Korean VHSV isolate compared with that of pre-reported VHSV isolates

Virus strain	Korean isolate	Genogroup I		Genogroup II	Genogroup III	
	JY-0112	Makah	Obama25	Sco95	96-43	KRRV9601
JY-0112	100	98.8	99.1	84.2	85.8	84.2
Makah		100	99.3	84.8	86.2	84.8
Obama25			100	83.6	84.5	84.7
Sco95				100	90.1	91.0
96-43					100	99.8
KRRV9601						100

은 rhabdovirus의 유전자 중 잘 보존되어 있는 부분이며 유전자의 진화 분석에 가장 적합한 유전자로 알려져 있다 (Bourhy *et al.*, 1992, 1993).

Bemansour *et al.* (1997)은 VHSV의 genotype이 바이러스의 geographical area에 의해 결정된다고 하였으며, G gene에 기초한 phylogenetic analysis에서 VHSV의 lineage를 Europe (Group I), British Isles (Group II), North America (Group III)와 같이 3계열로 구분하였다. 그리고, 이것은 VHSV가 유전적으로 비교적 안정된 negative strand RNA 바이러스이기 때문에 나타나는 현상이라고 하였다. Snow *et al.* (1999)은 유럽의 해수 유래인 39개의 VHSV isolates를 RNase protection assay (RPA)와 N gene을 기초로 하여 분류한 결과 4가지 Genotype으로 구분하였다. 즉, 유럽대륙에서 분리한 담수 VHSV를 포함한 Baltic sea isolates (Group I), Baltic sea isolates (Genotype II), British Isles 주변의 North sea isolates (Geno-

type III)이며 이들 Genotype은 North American isolates (Genotype IV)와 확연히 구별된다고 하였다. 이와는 약간의 차이가 있긴 하지만, Stone *et al.* (1997)과 Nishizawa *et al.* (2002)은 American isolates를 Group I, Scotland isolates를 Group II, European isolates를 Group III라고 분류하였다. 이러한 결과는 본 연구에서도 유사하여 우리나라에서 분리한 5개의 isolates가 가지는 N gene과 G gene을 조사하고 기보고된 여러 VHSV isolates의 유전자를 비교 분석한 결과, 앞서 보고한 바와 같이 크게 3가지 Group으로 나눌 수 있었다. 여기서는 우리나라에서 분리되는 VHSV를 G gene에 기초한 계통 분석의 결과를 Bemansour *et al.* (1997)의 연구 결과와 같은 형식으로 표기하였으며, 이러한 연구 결과는 Nishizawa *et al.* (2002)의 연구 결과와 거의 일치하였다.

아시아 지역에서는 처음으로 VHSV를 보고한 Nishizawa *et al.* (2002)은 일본에서 분리한 7개의

isolates 중 6개는 Obama25 type으로서 American isolates (Genogroup I)와 가깝다고 하였다. 그러나 이들 Obama type은 Group I의 minor cluster이지만, American isolates와는 구분되기 때문에 Obama type이 America에서 유입되었다기 보다는 일본 연안의 native VHSV일 가능성이 높다고 하였다. 이에 비해, 1996년 넙치 양식장에서 단 한번 분리된 KRRV9601 type은 European type과 매우 가까워 그 유입 경로에 대해서는 불명확하지만 다른 나라에서 일본으로 유입되었을 것으로 추정하였다 (Nishizawa *et al.* 2002). 한편, Thiery *et al.* (2002)은 프랑스에서 분리된 63개의 VHSV isolates에 대하여 G gene 기초로 phylogenetic analysis한 결과, 동일한 지역에서도 서로 다른 Genogroup이 공존할 뿐만 아니라 같은 Genogroup 내에서도 몇 가지 sub-group이 존재한다고 하였다. Nishizawa *et al.* (2002)이나 Thiery *et al.* (2002)의 의견을 종합해 볼 때, 특정 Genogroup의 출현 상황만으로 VHSV의 역학적인 분포 특성을 판단하기에는 많은 어려움이 내재되어 있는 것으로 생각된다.

우리 나라에서 분리되는 VHSV의 유전형은 Genogroup I에 속하는 American type 및 Japanese Obama25 type의 isolates와 유사하였지만, 현재로서 이들 바이러스의 출현 배경에 대해서는 알 수가 없다. 앞으로 국내에서 VHSV Genogroup I이 출현한 배경과 국가간 수산물 유통과의 관계를 역학적으로 밝힐 필요성이 있으며 이를 위해서는 보다 폭넓은 조사 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

요 약

RT-PCR법을 이용하여, 우리 나라 동해안의 양식 넙치에서 VHSV를 검출하였으며 5개의 VHSV isolates의 N gene과 G gene을 sequencing 하였다. Phylogenetic analysis를 실시하여 이들 VHSV isolates와 지리적 분리 유래가 다른 VHSV strains간의 유전학적 상관관계를 조사하

였다. 일반적으로 VHSV strains의 유전형은 그 지리적 분리 유래에 따라 American type (Genogroup I), British Isles type (Genogroup II), European type (Genogroup III)으로 구분할 수 있으며, 본 연구에서는 우리 나라 양식 넙치에서 분리한 5개의 Korean isolates는 모두 Genogroup I에 속하며, 일본의 Obama25 type과 유사하다는 것을 밝혔다.

사 사

본 연구는 한국해양수산개발원의 수산특정과정 (20010064)의 연구비 지원에 의하여 수행된 연구결과의 일부임을 밝힙니다.

참 고 문 헌

- Basurco, B. and Benmansour A. : Distant strains of the fish rhabdovirus VHSV maintain a sixth functional cistron which codes for a non-structural protein of unknown function. *Virology*, 212 : 741-745, 1995.
- Benmansour, A., Basurco, B., Monnier, A.F., Vende, P., Winton, J.R. and Kinkelin, P. : Sequence variation of the glycoprotein gene identifies three distinct lineages within field isolates of viral haemorrhagic septicaemia virus, a fish rhabdovirus. *J. Gen. Virol.*, 78 : 2837-2846, 1997.
- Bernard, J., Lecocq-Xhonneux, F., Rossius, M., Thiry, M.E. and de Kinkelin, P. : Cloning and sequencing the messenger RNA of the N gene of viral haemorrhagic septicaemia virus. *J. Gen. Virol.*, 71(8) : 1669-1674, 1990.
- Betts, A.M. and Stone, D.M. : Nucleotide sequence analysis of the entire coding regions of virulent and avirulent strains of viral haemorrhagic septicaemia virus. *Virus Genes*, 20(3)

- : 259-262, 2000.
- Bourhy, H., Kissi, B., Lafon, M., Sacramento, D. and Tordo, N. : Antigenic and molecular characterisation of bat rabies virus in Europe. *J. Clin. Microbiol.*, 30 : 2419-2426, 1992.
- Bourhy, H., Kissi, B. and Tordo, N. : Molecular diversity of the *Lyssavirus* genus. *Virology*, 194 : 70-81, 1993.
- Brunson, R., True, K. and Yancey, J. : VHS virus isolated at Makah National Fish Hatchery. *Am. Fish. Soc. Fish Health Sec. Newsl.*, 17 : 3-4, 1989.
- Horlyck, V., Møllergaard, S., Dalsgaard, I. and Jørgensen, P.E.V. : Occurrence of VHS in Danish maricultured rainbow trout. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, 4 : 11-13, 1984.
- Isshiki, T., Nishizawa, T., Kobayashi, T., Nagano, T. and Miyazaki, T. : An outbreak of VHSV (viral hemorrhagic septicemia virus) infection in farmed Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* in Japan. *Dis. Aquat. Org.*, 47(2) : 87-99, 2001.
- Jensen, N.J., Bloch, B. and Larsen, J.L. : The ulcer-syndrome in cod (*Gadus morhua*) III. A preliminary virological report. *Nord. Vet. Med.*, 31 : 436-442, 1979.
- Le Berre, M., de Kinkelin, P. and Metzger, A. : Identification serologique des rhabdovirus des salmonides. *Bull. Off. Epizoot.*, 87 : 391-393, 1977.
- Lorenzen, N., Olesen, N. J., Jørgensen, P.E.V., Etzerodt, M., Holtet, T.L. and Thøgersen, H.C. : Characterization of intramolecular disulfide bonds and secondary modifications of the glycoprotein from viral hemorrhagic septicemia virus, a fish rhabdovirus. *J. Virol.*, 72 : 10189-10196, 1998.
- Meyers, T.R., Sullivan, J., Emmengger, E., Follet, E., Short, S., Batt, W.N. and Winton, J.R. : Identification of viral hemorrhagic septicemia virus isolated from Pacific cod *Gadus macrocephalus* in Prince William Sound, Alaska, USA. *Dis. Aquat. Org.*, 12 : 167-175, 1992.
- Meyers, T.R., Short, S., Lipson, K., Batts, W.N., Winton, J.R., Wilcock, J. and Brown, E. : Association of viral haemorrhagic septicemia virus with epizootic haemorrhages of the skin in pacific herring *Clupea harengus pallasii* from Prince William Sound and Kodiak Island, Alaska USA. *Dis. Aquat. Org.*, 19 : 27-37, 1994.
- Mortensen, H.F., Heuer, O.E., Lorenzen, N., Otte, L. and Olesen, N.J. : Isolation of viral haemorrhagic septicemia virus (VHSV) from wild marine fish species in the Baltic Sea, Kattegat, Skagerrak and the North Sea. *Virus Res.*, 63 : 95-106, 1999.
- Nishizawa, T., Iida, H., Takano, R., Isshiki, T., Nakajima, K. and Muroga, K. : Genetic relatedness among Japanese, American and European isolates of viral hemorrhagic septicemia virus(VHSV) based on partial G and P genes. *Dis. Aquat. Org.*, 48 : 143-148, 2002.
- Office International des Epizooties : International Aquatic animal health code and diagnostic manual for aquatic animal disease. OIE, Paris, 2001.
- Ross, K., McCarthy, U., Huntly, P.J., Wood, B.P., Stuart, D., Rough, E.I., Smail, D.A. and W Bruno, D. : An outbreak of viral haemorrhagic septicemia (VHS) in turbot (*Scophthalmus maximus*) in Scotland. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, 14 : 213-214, 1994.
- Schlotfeldt, H.J., Ahne, W., Jørgensen, P.E.V. and Glende, W. : Occurrence of viral haemor-

- rhagic septicaemia in turbot (*Scophthalmus maximus*) a natural outbreak. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol., 11 : 105-107, 1991.
- Schutze, H., Mundt, E. and Mettenleiter, T.C. : Complete genomic sequence of viral hemorrhagic septicemia virus, a fish rhabdovirus. Virus Genes, 19 (1) : 59-65, 1999.
- Smail, D.A. : Isolation and identification of viral haemorrhagic septicaemia (VHS) virus from North Sea cod (*Gadus morhua* L.), ICES Mariculture Committee Report CM. 1995/f: 15 : 1-6, 1995.
- Smail, D.A. : Viral haemorrhagic septicaemia. In: Wood PTK, Bruno DW (eds) Fish disease and disorders, vol 3, Viral, bacterial and fungal infections. CABI Publishing, New York, pp 123-147, 1999.
- Snow, M., Cunningham, C.O., Melvin, W.T. and Kurath, G. : Analysis of the nucleoprotein gene identifies distinct lineages of viral haemorrhagic septicaemia virus within the European marine environment. Virus Res., 63 : 35-44, 1999.
- Stone, D.M., Way, K. and Dixon, P.F. : Nucleotide sequence of the glycoprotein gene of viral haemorrhagic septicaemia (VHS) viruses from different geographical areas: a link between VHS in farmed fish species and viruses isolated from North Sea cod (*Gadus morhua* L.). J. Gen. Virol., 78 : 1319-1326, 1997.
- Takano, R., Nishizawa, T., Arimoto, M. and Muroga, K. : Isolation of viral haemorrhagic septicemia (VHSV) from wild Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol., 20 : 186-193, 2000.
- van Regenmortel, M.H.V., Fauquet, C.M., Bishop, D.H.L., Carstens, E.B. and 7 others (eds) : Virus taxonomy: the classification and nomenclature of viruses. The Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. Academic Press, San Diego, 2000.
- Winton, J.R., Batts, W.N., Nishizawa, T. and Stehr, C.M. : Characterization of the first North American isolates of viral hemorrhagic septicemia virus. Am. Fish. Soc. Fish Health Sect. Newsl., 17 : 2-3, 1989.

Manuscript Received : December 23, 2002

Revision Accepted : February 22, 2003

Responsible Editorial Member : Myung-Joo Oh
(Yosu Univ.)