

## 돼지 썬코바이러스 2형 국내분리주의 유전학적 특성 규명

김 문 · 한정희\*

강원대학교 수의학부(대학)

(접수 2009. 2. 10, 게재승인 2009. 3. 25)

### Genetic characterization and phylogenetic analysis of porcine circovirus type 2 field strains isolated from Korean porcine circovirus disease (PCVD) pigs

Wen Jin, Jeong-Hee Han\*

Department of Veterinary Medicine and Institution of Veterinary Science,  
Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

(Received 10 February 2009, accepted in revised from 25 March 2009)

#### Abstract

In order to obtain the genetic information of the Korean isolates of porcine circovirus 2 (PCV2), complete genomes of five isolates from Korean PCVD weaned pigs with wasting syndromes were sequenced and compared with those of other published PCV2 isolates. Of the five PCV2 isolates, four (1767 nucleotides) were classified into PCV2b, and one (1,768 nucleotides) was PCV2a. Moreover, it appeared that PCV2b is now the dominant genotype circulating in Korea herds. Total complete genomes of four PCV2b isolates shared 99.1~99.4% nucleotide sequence homology each other, and were only 95.4~96.2% similar to one PCV2a isolate. ORF2 genome of four PCV2b isolates shared over 99% nucleotide sequence and deduced amino acid sequence identity to each other. Nevertheless, those were much divergent with the PCV2a isolate of this study and ranged from 92.3~92.7% nucleotide homology and 91.9~92.3% deduced amino acid sequence homology, respectively. The amino acid sequence alignments of the putative capsid protein identified three major regions of amino acid heterogeneity at residues 59~91, 121~136 and 190~210. Two of those correspond with dominant immunoreactive areas. Phylogenetic analysis based on the complete genome of PCV2 isolates showed that four PCV2b isolates of this study existed the closest relationship with European strains (Netherlands, UK and France). One PCV2a isolate was closely related to Japan and North America strains.

**Key words** : PCV2a, PCV2b, Genetic characterization, Korea

#### 서 론

돼지 썬코바이러스 2형(porcine circovirus 2 : PCV2)

은 1990년 후반에 캐나다에서 처음으로 발견되어 이  
유자돈 전신성 소모성증후군(postweaning multisyste-  
mic wasting syndrome, PMWS)을 일으키는 1차적인  
원인체로 인식되고 있다(Allan 등, 1998; Allan 등, 1999).  
PCV2는 돼지 피부염 및 신장증후군(porcine dermatitis

\* Corresponding author: Jeong-Hee Han, Tel. +82-33-250-8691,  
Fax. +82-33-256-3722, E-mail. hanjh@kangwon.ac.kr

and nephropathy syndrome, PDNS), 호흡기질병 복합증 후군(porcine respiratory disease complex, PRDC) 및 번식장애 등을 포함한 다양한 증후군이나 복합체 질환과 밀접한 관련을 갖고 있다(Rosell과 Segales, 2000; Allan과 Ellis, 2000; West와 Bystrom, 1999). 최근에는 이들 대신으로 porcine circovirus disease (PCVD)를 사용하여 PCV2에 감염되어 질병을 일으킬 경우를 통칭하고 있다(Allan과 Krakowka, 2002).

PCV2는 *Circoviridae*로 분류되는 직경 17nm크기에 envelope이 없고 1.76kb의 genome를 보유하고 있는 single stranded DNA바이러스다(McNulty 등, 2000). PCV2는 포유류 바이러스 중 가장 작은 바이러스다(Mankertz 등, 1997). PCV2는 2개 중요한 open reading frames (ORFs)으로 구성 되어 있으며 ORF1 (945 nucleotides)은 바이러스 복제에 관여하는 replicase protein을 encoding하고, ORF2 (702 nucleotides)는 면역학적으로 중요한 structural capsid protein을 encoding한다. PCV2의 ORF2 capsid protein은 항원성과 관련이외에 PCV2의 발병 및 병원성에도 관련있는 것으로 추정된다. 이 capsid protein은 면역을 자극하며 백신의 성분으로서 가장 중요하다(Cheung, 2007; Fenaux 등, 2000).

PCV2의 전체 유전자 분석 혹은 ORF2의 polymerase chain restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) 분석으로 통해 2종류의 subtypes 혹은 patterns으로 분류되어 각각 “newer” Genotype I, group 1 및 321-like RFLP pattern; “older” Genotype II, group 2 및 422-like RFLP pattern으로 분류된다(Cheung 등, 2003; Boisseson 등, 2004; Grierson 등, 2004; Ma 등 2007; Olvera 등, 2007). 최근에는 보편적으로 phylogenetic analyses을 이용하여 PCV2a와 PCV2b로 분류한다(Gagnon 등, 2007). PCV2a와 PCV2b의 연기사열 크기는 각각 1768nt와 1767nt 이며, ORF2의 signature motif로 구별할 수 있고, PCV2a의 ORF2 motif는 염기 262-CCCCG/TC-267 및 아미노산 88-PR/L-89으로, PCV2b는 염기 262-AAAATC-267 및 88-KI-89으로 구성되어 있다(Cheung 등, 2007; An 등, 2007). Opriessnig 등(2006)은 실험으로 통해 PCV2분리주간에 virulence가 다르다고 하였다.

PCV2의 genome은 지역적으로 상당한 차이가 있으며 American-like strain(PCV2a)과 European-like strain(PCV2b)으로 양분되어 있다(Cheung 등, 2007). 유럽에서는 PCV2a, PCV2b가 동시에 존재 하고 북미에는 PCV2a만 존재 한다고 알려져 있었지만 2005-

2006년 미국과 캐나다에서 치사율이 높은 PCVD가 대유행하였고 PCV2b가 처음으로 분리되었다(Cheung 등, 2007; Gagnon 등, 2007; DeLay 등, 2005; Horlen 등, 2007). 2005~2006년 캐나다에서 발생한 PCVD는 PCV2의 variation과 밀접한 관련이 있다(Carman 등, 2006).

현재 국내에서 PCVD사양관리방법 개선과 일부 농장의 백신접종 등으로 대책을 하고 있지만 피해는 지속적이고 심각하여 국내에서 발생하고 있는 PCV2에 대한 유전적 분석을 이용한 대책이 이루어져야 한다. 따라서 본 연구는 최근에 국내 양돈장의 PCVD 발병돈에서 분리된 PCV2 국내 분리주에 대한 유전자염기서열을 분석하여 기존에 보고된 국내 분리주 및 외국 분리주와의 유전적 특성을 비교 분석하였다.

## 재료 및 방법

### 공시재료

국내에서 전형적인 임상증상, 특징적인 조직병리학적 병변 및 조직내 PCV2 항원이나 핵산의 검출 등 3가지 기준을 통해 PCVD로 진단된 5두의 이유자돈을 대상으로 PCV2의 유전자 검출을 위하여 이용하였다.

### Primer 합성

국내에서 분리된 PCV2 전체 유전자의 분석은 GenBank entry AF027217을 참고하여 4종의 primer를 합성하여 PCR 증폭 위해 사용하였다(Hamel 등, 1998) (Table 1).

### DNA 추출

폐, 간, 비장, 편도 및 림프절 등의 조직을 균질화하여 5% PBS 부유액을 원심분리하고 상층액을 보관하면서 DNeasy® Mini kit(QIAGEN, Germany)를 이용하여 제조사의 술식에 따라 DNA를 추출하였다.

**Table 1.** Oligonucleotide primers used for cloning and sequencing

Primer	no.	Nucleotide sequences (5'-3')	Position
P1	F	ACCAGCGCACTTCGGCAG	1-18
P2	R	GGAAATTCAGGGCATGGGGG	976-957
P3	F	GCTCTCTATCGGAGGATTAC	867-886
P4	R	AATACTTACAGCGCACTTCTTTCG	1745-1768

### 중합효소 연쇄반응(PCR)

역전사 반응에서 추출된 5 $\mu$ l DNA에 0.2 $\mu$ M의 primer, 10 $\times$  PCR buffer, 2.5 unit *Taq* DNA polymerase, 0.2mM dNTPs, 2.5mM MgCl<sub>2</sub>, 멸균된 증류수 32 $\mu$ l를 첨가한 50 $\mu$ l의 반응액을 94 $^{\circ}$ C 5분간 1차 반응시킨 다음, 94 $^{\circ}$ C에 45초, 52 $^{\circ}$ C 45초, 72 $^{\circ}$ C 1분씩 30회 반응시킨 후 최종 72 $^{\circ}$ C에서 10분간 반응시켰다. 증폭된 PCR 산물의 확인은 TAE buffer (40mM Tris acetate, 1mM EDTA, pH 8.0)를 전해질로 사용한 1% agarose gel에서 전기영동을 실시한 후, 40mM etidium bromide용액에서 gel을 염색하여 UV transilluminator (Vilberlourmat, France)로 생성된 band를 확인하였으며 DNA mar-

ker로는 100bp DNA ladder (Promega, USA)를 사용하였다.

### Cloning 및 염기서열의 분석

PCV2의 cloning 및 염기서열 분석을 위하여 PCR 반응산물을 GENE CLEAN<sup>®</sup> Turbo kit (BIO101, USA)로 정제하였다. pCR<sup>®</sup> 2.1-TOPO<sup>®</sup> kit (Invitrogen Corp, USA)를 사용하여 정제된 DNA 4 $\mu$ l, TOPO vector 1 $\mu$ l, salt solution 1 $\mu$ l를 혼합한 후 5분간 실온에서 ligation 하였다. Ligation 반응물 2 $\mu$ l를 one shot<sup>®</sup> chemically competent *E. coli* (TOP10) kit (Invitrogen Corp)의 방법에 따라 transformation시켰다. 20 $\mu$ l kanamycin(50mg/

**Table 2.** PCV2 isolates used in comparison of nucleotide sequences

Geographic origin	GenBank accession number	Genotypes	Reference or source
Canada	AF027217	PCV2a	GenBank
	AF086836		GenBank
	AF109398		GenBank
	AF109399		GenBank
	AF117753	PCV2b	GenBank
	AF118097		GenBank
	EF394778		GenBank
	DQ220729		GenBank
DQ220736	GenBank		
USA	DQ629115	PCV2b	GenBank
	DQ629118		GenBank
	DQ629119		GenBank
	AJ223185	PCV2a	GenBank
UK	AY484412	PCV2b	GenBank
France	AF109397	PCV2a	GenBank
	AF322003	PCV2b	GenBank
	AY321985		GenBank
Germany	AY713470	PCV2b	GenBank
Netherlands	AF201897	PCV2b	GenBank
	AY484409		GenBank
Japan	AB072301	PCV2a	GenBank
	AB072302		GenBank
	AB072303		GenBank
China	AY556473	PCV2b	GenBank
	AY556476		GenBank
	AY686763		GenBank
	DQ195678		GenBank
Taiwan	AF154679	PCV2a	GenBank
	AY146991		GenBank
	AF166528		GenBank
Korea	PC201DJ	PCV2a	Kim & Lyoo (2002)
	PC201SS		Kim & Lyoo (2002)
	PCK101		Park & Lee (2004)
	KPCV201	CV2b	This study
	KPCV202		This study
	KPCV203		This study
	KPCV204		This study
	KPCV205		This study
	PCV2a		

ml, Sigma, USA)과 20µl X-gal (50mg/ml, Promega, USA)을 함유한 LB plates (DIFCO, USA)에서 흰색 또는 연한 파란색의 집락을 선택하여 miniprep kit (Promega)로 DNA를 추출한 뒤 제한효소 *EcoR* I (MBI)으로 처리한 다음 agarose gel에 전기영동하여 삽입된 DNA를 확인하였다. DNA 염기서열은 ABI PRISM® 3700 DNA Analyzer (Applied Biosystems, USA)로 분석하였고, 분석된 염기서열은 DNASRRAR version 2.1 software를 이용하여 기존에 검출된 33주 북미, 유럽, 아시아 및 국내 분리주의 염기 및 아미노산서열과 비교분석하였고 Cheung 등(2007)의 분류방법에 따라 PCV2a와 PCV2b로 분류하였다(Table 2).

### 결 과

5종의 PCV2 국내 분리주(KPCV201, KPCV202, KPCV203, KPCV204 및 KPCV205)에 대한 전체 유전자염기서열을 분석하기 위하여 제작된 4종의 primer pair를 이용하여 PCR 및 cloning을 실시하였고, 이들 cloning 유전자단편의 염기서열을 분석한 후 DNA-

STAR 프로그램으로 재배열하여 PCV2 국내 분리주에 대한 전체 유전자염기서열지도를 작성하였던 바 Fig. 1과 같다.

### 염기 및 아미노산 서열 분석

전체유전자의 크기는 KPCV205주는 1,768개의 nucleotides로 구성되어 있었고, KPCV201, KPCV202, KPCV203 및 KPCV204는 ORF2 부위에 해당하는 1,042번째 염기서열에 1개의 nucleotide (thymidine: T)가 deletion되어 1,767개의 nucleotides로 구성되어 있었다. KPCV205는 ORF2의 262-CCCCGC-267 염기 및 88-PR-89 아미노산을 갖고 있어 PCV2a genotype로 분류되었고, 반면에 KPCV201, KPCV202, KPCV203 및 KPCV204는 262-AAAATC-267 염기 및 88-KI-89 아미노산을 갖고 있어 PCV2b genotype로 분류되었다 (Fig. 1).

국내 분리주 5주의 염기서열을 북미 PCV2a주인 AF027217과 유럽 PCV2b주인 AY484009와 비교한 결과 4개 국내 PCV2b주간에는 11~16개의 nucleotides가 point mutation 되어 PCV2a주인 KPCV205와 비교 시 PCV2b주별로 62~74개의 nucleotides가 point

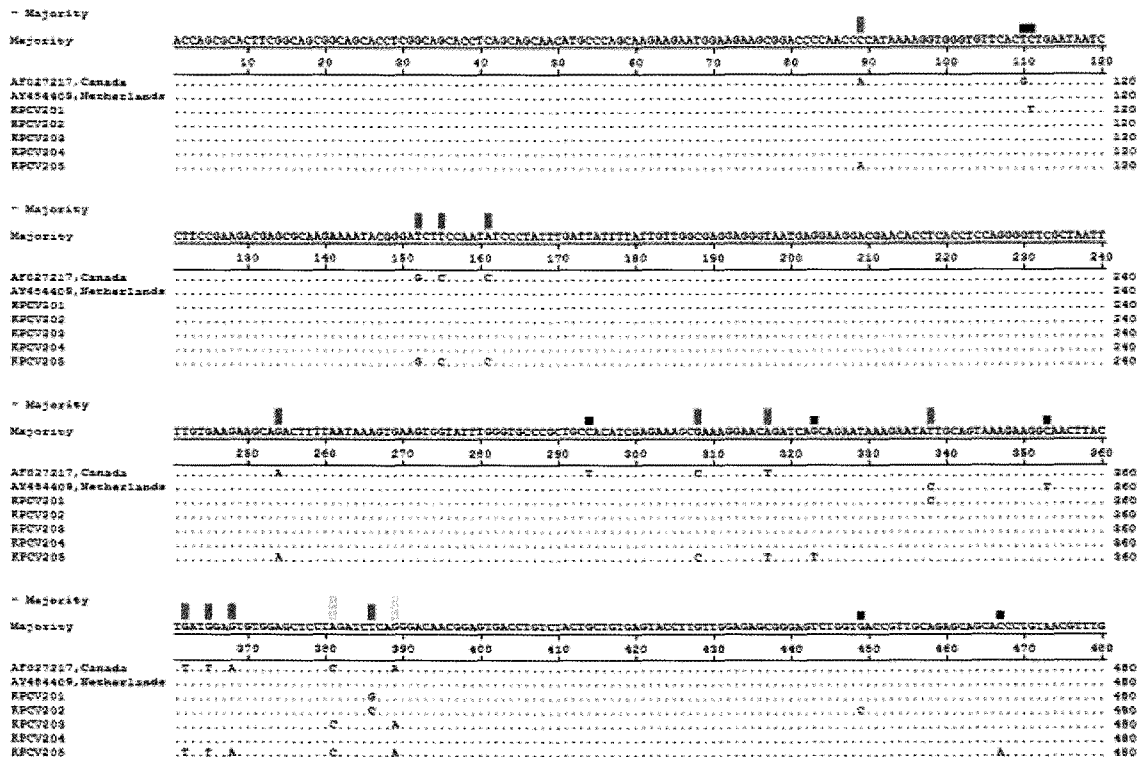


Fig. 1. The complete genomic nucleotide alignments of 38 PCV2 strains [Nucleotide sequence differences were indicated with markers above the alignments].

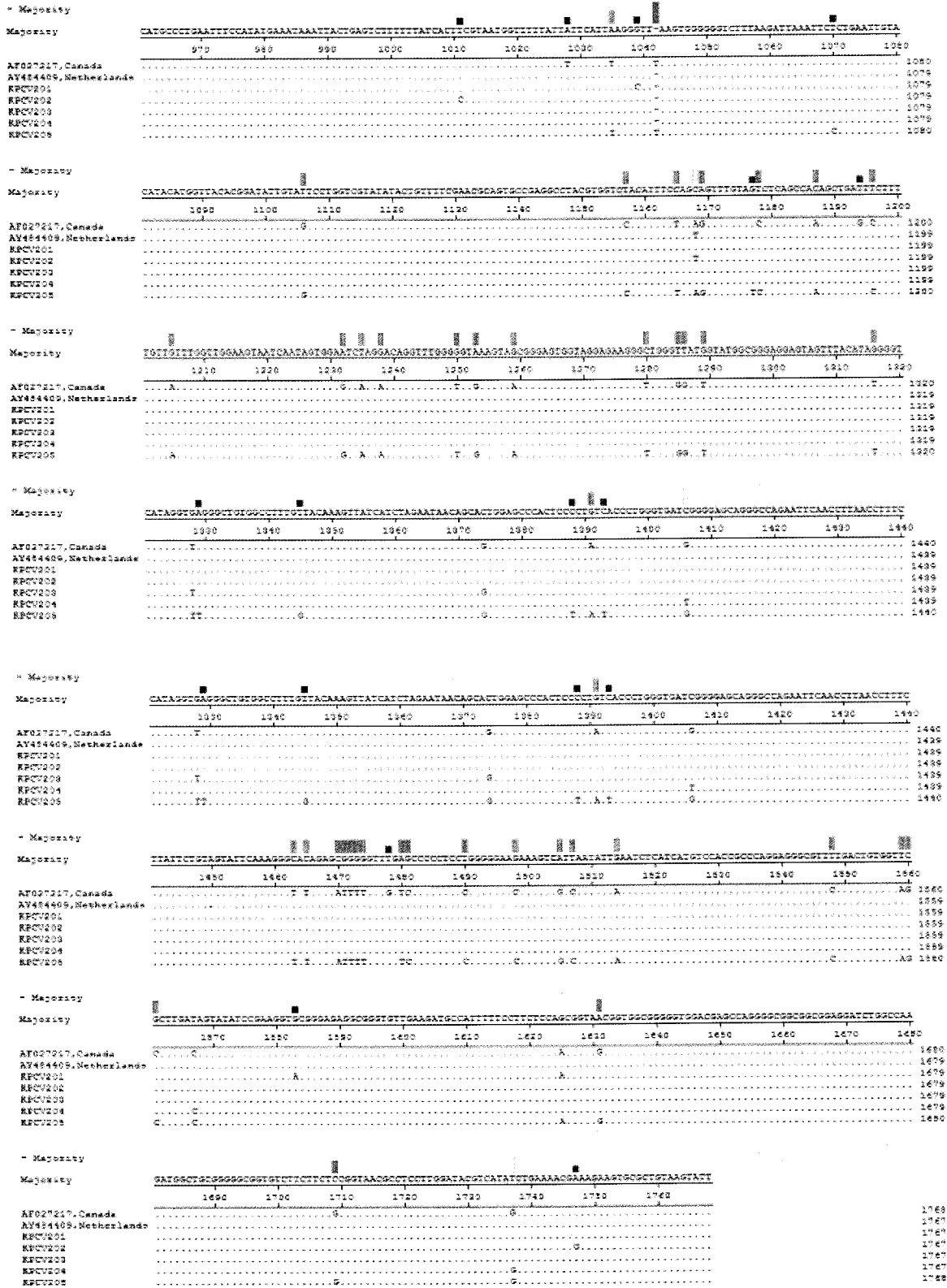


Fig. 1. Continued.

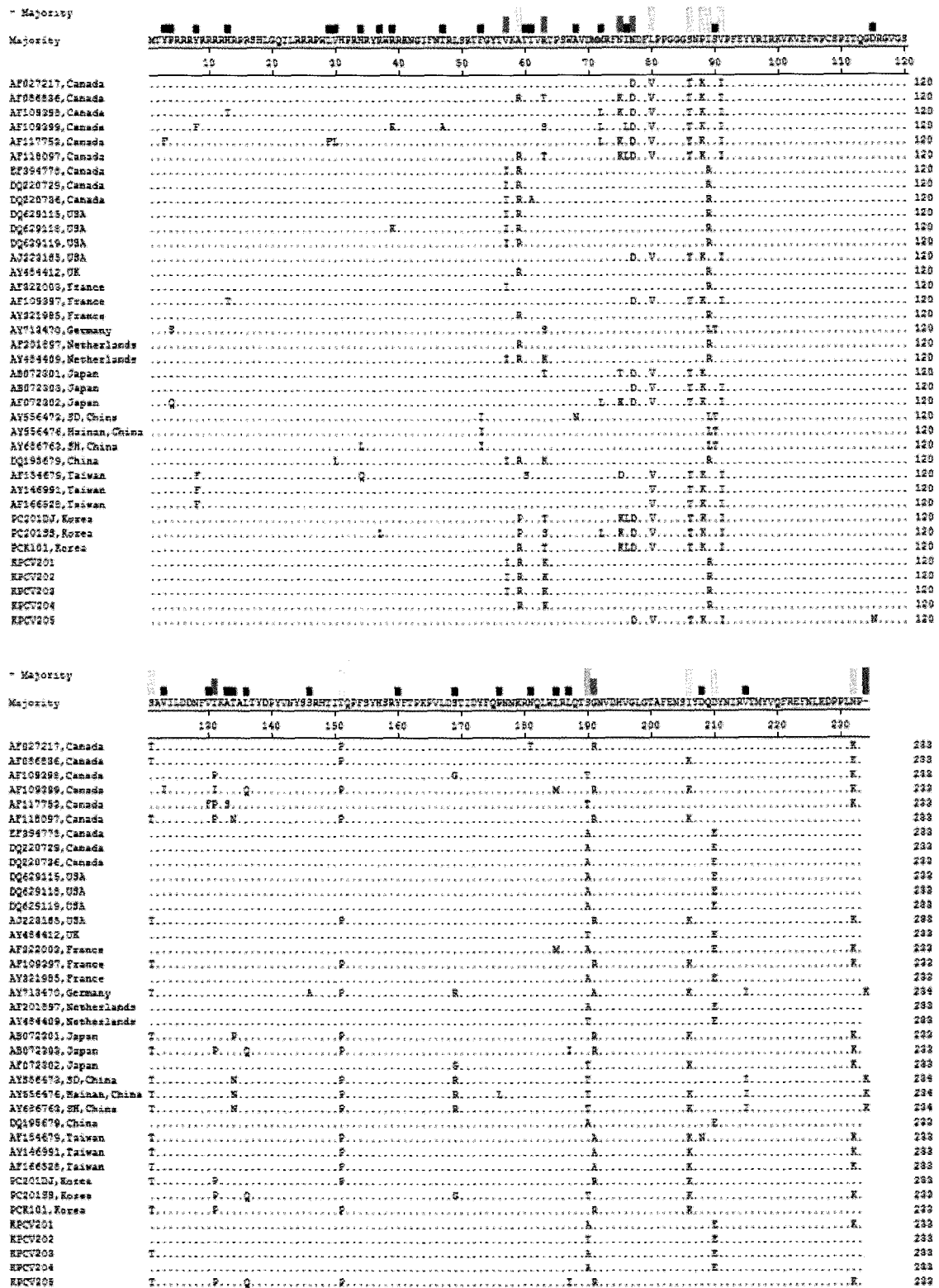


Fig. 2. Deduced amino acid alignments of the putative capsid protein coded by ORF2 genes of 38 PCV2 strains. [Amino acid sequence differences were indicated with markers above the alignments].

mutation되어 있는 것으로 확인되었다. 국내 PCV2b분리주는 AF027117 및 AY484009와 비교시 PCV2b주별로 63~77개와 14~18개 nucleotides가 point mutation되어 있는 것으로 확인되었다(Fig. 1).

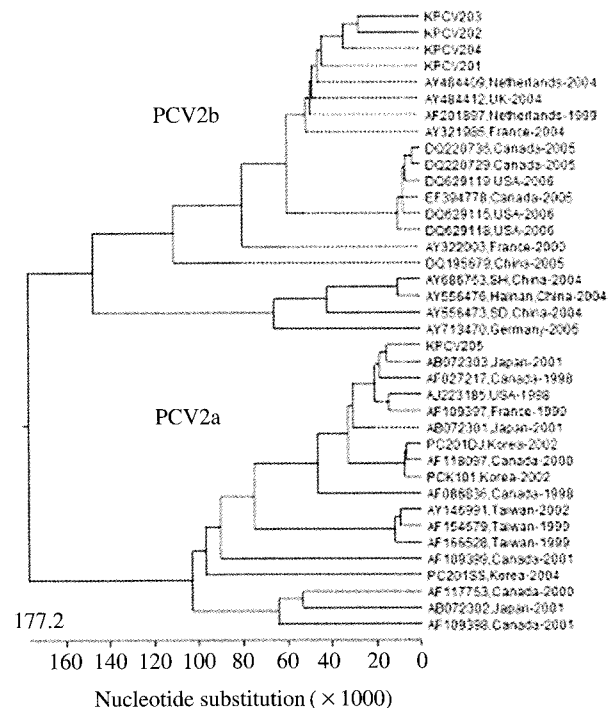
전체 유전자염기서열 분석에는 PCV2b주간에 99.1~99.4% 높은 상동성을 나타내었고, PCV2a주와 비교시 95.4~96.2% 상동성을 나타내었다. 이전 국내 분리주와 비교시에도 95.1~96.3% 상동성을 보였다. 유럽의 네델란드(AY484409, AF201897), 영국(AY484412) 및 프랑스(AY321985)의 분리주와 비교시 99.2~99.5% 높은 상동성을 나타내었고 2005~2006년 북미 분리주와 비교시에도 98.9~99.3% 높은 상동성 나타내었다. 중국분리주(DQ195679)와 비교시 98.1~98.7%의 상동성을 보였고 다른 아시아 분리주인 일본주와 대만주의 비교시 95.2~96.4%의 낮은 상동성을 보였다. 또한 국내 PCV2a주는 이전 국내 분리주(PC201DJ, PC201SS 및 PCK101)와 비교시 97.3~99% 비교적 높은 상동성을 나타내었고 일본(AB072303) 및 2005년 이전 북미주(AF027217, AJ223185)와 비교시 99~99.3%의 더 높은 상동성을 나타내었다.

국내 PCV2a 및 PCV2b분리주 간의 ORF1 염기는 97.8~99.4%, 아미노산은 98.1~99.7% 비교적 높은 상동성을 보였고 이전 국내주 및 외국주와 비교시 유사한 염기 및 아미노산 상동성을 보였다. ORF2의 염기 및 아미노산 분석에는 국내 PCV2b주간에 각각99.3%, 99.1% 이상의 높은 상동성을 나타내었고 국내 PCV2a주와 비교시 각각 92.3~92.7%, 91.9~92.3%의 매우 낮은 상동성을 나타내었다. 유럽 분리주의 네델란드, 영국 및 프랑스주(AY321985)와 비교시 염기는 99.1~100%, 아미노산은 98.7~100% 매우 높은 상동성을 보였고 2005~2006년 북미 분리주와 비교시 염기는 99~99.4%, 아미노산은 98.7~99.1% 높은 상동성을 보였다. 특히 PCV2b주의 KPCV202는 네델란드 분리주의 AY484009와 100% 상동성을 나타내었다. capsid protein의 아미노산 서열비교분석결과 ORF2의 시작부위로부터 residues 59~91, 121~136 및 190~210 3개 greater heterogeneity 구간이 존재하는 것을 확인하였다(Fig. 2).

## Phylogenetic tree 분석

국내에서 분리된 PCV2 분리주와 기존에 보고된 국내, 북미, 유럽 및 아시아 분리주들과의 유전자의 근연관계를 조사하기 위해 전체 염기서열 phylogenetic tree를 작성하여 비교한 결과, 총 38주는 유전자 염기 길이(1768nt와 1767nt)에 따라 2개 큰 계열(PCV2a, PCV2b)로 분류되었다. 국내 분리주인 KPCV201, KPCV202, KPCV203 및 KPCV204와 유럽분리주인 네델란드, 영국 및 프랑스(AY321985)분리주와 함께 같은 계열에 속하였고 다른 계열에 속하는 2005년 북미 분리주와 같은 그룹에 속하였으며 유전적 밀접한 근연관계를 나타내었다. 이 그룹은 중국주(DQ195679), 프랑스주(AY322003)와 함께 다른 중국(AY686763, AY556476 및 AY713470) 및 독일주(AY713470)와 함께 큰 PCV2b 계열을 구성되었다(Fig. 3).

또한 KPCV205는 일본주(AB072303, AB072301), 2005년 이전 북미주(AF027217)와 같은 계열에 속하였고 유전적으로 밀접한 근연관계를 나타내었으며 아시아주인 대만, 일본(AB072301, AB072302) 및 다른 2005년 이전 북미주와 함께 큰 PCV2a 계열을 구성하였다(Fig. 3). ORF2 유전자 염기서열에 의한 phylo-



**Fig. 3.** Phylogenetic tree based on the complete genomic nucleotide sequences of 38 PCV2 isolates.

[The tree was constructed with the aid of the Jotun Hein method with the DNASTAR MegAlign program].

genetic tree 분석결과도 일부 분리주간에 상동성에 다소 차이가 있을 뿐 전체 염기서열 분석결과와 유사한 양상을 나타내었다.

## 고 찰

PCVD의 주된 원인체인 PCV2에 관한 연구가 전세계적으로 활발히 수행되고 있다. 국내 분리주의 유전적 특성과 외국 분리주와의 상관성 여부를 알아보고자 PCVD 발병돈의 조직시료에서 분리한 PCV2에 대한 유전자염기 및 아미노산 서열 분석을 실시하였다.

전체 유전자염기서열을 분석한 결과 국내 분리주 중 1주는 1,768 nucleotides로 구성되어 있고 4주는 1,767 nucleotides로 구성되어 있었으며 각각 PCV2a 및 PCV2b로 분류되었다. PCV2b주는 1,042번째 염기서열의 thymidine가 deletion되어 1,767개의 nucleotide로 구성되었다. An 등(2007)의 PCV2a genotype는 2004년까지 농장에서 유행하였고 그 후 2005~2006년에는 PCVD으로 발병한 돼지에서 PCV2b genotype만 검출되었다고 하였다. 본 연구에서 국내 분리주 중 4주는 PCV2b genotype로 분류되었고, 1주는 PCV2a genotype로 분류되어 현재 국내 PCVD 일으키는 dominant genotype는 PCV2b인 것으로 사료되며 동시에 PCV2a genotype도 존재하는 것으로 나타났다. 이는 Gagnon 등(2007)이 보고한 2005~2006년 캐나다의 dominant genotype으로 확인된 PCV2b 것과 동일한 pattern으로 나타났었다.

PCV2의 genome는 지역적으로 유전적 차이가 있다 (Fenaux 등, 2000; Olvera 등, 2007). 전체 염기서열은 국내 PCV2b주간에 11~16개 염기차이를 나타냈으며 99.1~99.4%의 높은 상동성을 나타내었다. PCV2a주와 비교시 62~74개 큰 염기차이를 나타냈으며 95.4~96.2%의 상동성을 나타내었다. 국내 PCV2b주간에 안정된 양상을 나타내고 있었고 PCV2a주와는 차이를 보여 국내분리주간에 유전적 차이가 있는 것으로 생각된다. 국내 PCV2b분리주는 유럽주(네덜란드, 영국 및 프랑스) 및 2005~2006년 북미주와 비교시 각각 99.2~99.5%, 98.9~99.3%의 높은 상동성을 보였다. 국내 PCV2b분리주는 유럽주 및 2005~2006년 북미주간에 높은 유전적 특성을 보였고, 일본 및 대만 분리주와 비교시 95.2~96.4%의 상동성을 보였다. 따라서 PCV2의 genome는 지역적으로 유전적 차이를 보였다.

ORF1의 replication protein는 바이러스의 증식에 필수적인 protein로서 안정성이 높다(Carman 등, 2006; Hamel 등, 1998). 국내 분리주간에 ORF1의 염기는 97.8~99.4%, 아미노산은 98.1~99.7%의 비교적 높은 상동성을 나타내었고 이전 한국분리주 및 외국주와 비교시 유사한 염기 및 아미노산 상동성을 나타내었다. 따라서 PCV2 국내분리주의 ORF1는 안정성이 높다고 사료된다.

Mankertz 등(1997)은 capsid protein을 encoding하는 ORF2 genome는 변이가 가장 심한 것으로 보고했다. ORF2에 대한 유전자염기 및 아미노산 서열 분석결과, 4종의 PCV2b 분리주간에는 99.3%, 99.1% 이상인 높은 염기 및 아미노산 상동성을 나타내었고 국내 PCV2a주와 비교시 각각 92.3~92.7%, 91.9~92.3%의 낮은 상동성을 나타내었다. 국내 분리주간에 ORF2는 유전적 차이가 있는 것으로 생각된다. 또한 국내 PCV2b분리주는 유럽주 및 2005~2006년 북미주와 99~100%의 높은 유전자 염기 상동성을 보였고 특히 네덜란드 분리주와는 완전 일치하였다. 국내 PCV2b주와 유럽주 및 2005~2006년 북미주간에 항원성 및 병원성과 관련된 유전적 특성이 매우 일치한 것으로 생각한다.

전체 유전자 염기서열을 비교하여 phylogenetic analysis로 유전적 근연관계를 분석한 결과, 38개 한국주 및 외국주는 2005년 이전에 분리된 북미주 위주로 구성된 PCV2a계열과 유럽주 위주로 구성된 PCV2b계열로 나누어졌었다. 한국, 일본, 중국 및 대만 등 아시아 주는 북미주와 유럽주의 PCV2a와 PCV2b의 계열에 분포되었고, 2005~2006년 북미주는 PCV2b 계열에 분포되었다. 4주 국내 PCV2b주는 유럽주와 같은 계열에 속하였고 매우 밀접한 유전자 근연관계를 보였으며 네덜란드, 영국 및 프랑스 등 유럽주와 근연관계가 있는 것으로 추정되었다. 동시에 2005~2006년 북미주와도 밀접한 유전자 근연관계를 보였다. 국내 PCV2a주는 일본, 2005년 이전의 북미주와 같은 계열에 속하고 매우 밀접한 유전적 근연관계를 보였다. 이런 결과는 국내 양돈산업에 있어서 국가간에 특히 북미 및 유럽과의 돼지 교역상황과 밀접한 연관성 있을 것으로 생각된다.

최근 북미에서 발견된 PCV2b주는 PCVD 발생과 발병 양상을 관련되었고, 유럽에서도 유사한 발병 양상을 보였다(박과 이, 2004). 국내 분리주의 ORF2 아미노산 서열에서 3개 주요한 변이 구역으로 57~91, 121



~136 및 190~210이 나타났다. 이중에 57~91 및 121~136 구역은 Mahe 등(2000)이 보고한 dominant immunoreactive areas (65~87 및 113~147)에 속하였다. 이런 구역에서 아미노산의 배열이 변이하면 PCV2의 항원성과 병원성 변이를 일으킬 수 있는 것으로 추정된다. 국내 PCV2b주의 ORF2 57~91 아미노산 구역은 국내 PCV2a주 및 다른 PCV2a주와 비교시 아미노산 residue 57은 V→I로, 59은 A→R로, 63은 R→K로, 77은 D→N로, 80은 V→L로, 86은 T→S로, 88은 K→P로, 89은 I→R로, 91은 I→V로 변환되었고, 121~136번 구역에서는 공통적으로 121은 T→S로, 131은 P→T로, 136은 Q→L로 변환되었다. 이런 PCV2a와 PCV2b 간의 유전적 차이가 virulence 차이를 나타낼 수 있는 지, PCV2b가 국내 PCVD 일으키는 dominant genotype으로 향후 보다 많은 원인의 규명이 필요할 것으로 사료된다.

## 결 론

PCV2 국내 분리주의 유전적 특성 규명하고자 PCVD로 진단 받은 돼지로부터 분리한 5개의 국내 분리주와 이전에 검출된 국내 분리주 및 외국 분리주 간의 유전자 염기와 아미노산 서열을 분석하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

PCV2 국내 분리주는 PCV2a genotype과 PCV2b genotype으로 분류되었으며 주로 dominant genotype는 PCV2b이며 일부 PCV2a genotype도 존재한다.

국내 분리주에 대한 유전자염기서열을 분석한 결과, PCV2b주는 PCV2a주와 비교시 보다 낮은 상동성을 나타내었다. 국내 분리주간에는 유전적 차이를 보였다. 국내 PCV2b주는 유럽주 및 2005년 북미주와 밀접한 유전적 특성을 보였다. 국내 PCV2a주는 일본주 및 2005년 이전 북미주와는 밀접한 유전적 특성을 나타내었다.

국내 분리주와 외국 분리주간에 ORF1의 염기와 아미노산은 안정적인 반면 ORF2는 국내 PCV2a와 PCV2b주간에 낮은 염기 및 아미노산 상동성을 나타내었다. 국내 PCV2b주는 유럽주 및 2005~2006년 북미주와는 높은 상동성을 나타내었다.

전체 염기서열에 의한 phylogenetic analysis 근연관계 분석 결과, 국내 PCV2b분리주는 유럽주와 같은 계열에 속하였고 2005~2006년 북미 분리주와도 밀접한

유전자 상관관계를 보였다. 국내 PCV2a주는 일본, 2005년 이전 북미주와 같은 계열에 속하였다.

국내 분리주의 ORF2 아미노산 서열에서 3개 주요한 변이 구역(57~91, 121~136 및 190~210)이 나타났다. 57~91와 121~136 구역은 dominant immunoreactive areas에 속하였다.

이상의 연구결과를 통하여 최근 국내에서 문제되고 있는 PCV2는 북미와 유럽에서 발생되고 있는 PCVD의 PCV2와 밀접한 관련이 있는 것으로 추정된다. 본 연구를 통하여 얻어진 PCV2 국내 분리주의 유전적 정보는 향후 진단법 개발이나 병원성 규명 등에 유용하게 사용되어질 것으로 판단된다.

## 감사의 글

본 연구는 지식경제부와 한국산업기술평가원이 지원하는 진주산업대학교 동물생명산업센터의 사업비 지원으로 수행되었습니다.

## 참 고 문 헌

- 박최규, 이경기. 2004. Porcine circovirus 2 국내 분리주의 유전적 특성. *대한수의학회지* 44(4): 571-579.
- Allan G, Krakowka S. 2002. PCV2: Ticking time bomb. *Pig Progress* 18: 14-15.
- Allan GM, Ellis JA. 2000. Porcine circoviruses: a review. *J Vet Diagn Invest* 12(1): 3-14.
- Allan GM, McNeilly F, Kennedy S, et al. 1998. Isolation of porcine circovirus-like viruses from pigs with a wasting disease in the USA and Europe. *J Vet Diagn Invest* 10: 3-10.
- Allan GM, McNeilly F, Meehan BM, et al. 1999. Isolation and characterization of circoviruses from pigs with wasting syndromes in Spain, Denmark and Northern Ireland. *Vet Microbiol* 66: 115-123.
- An DJ, Roha IS, Song DS, et al. 2007. Phylogenetic characterization of porcine circovirus type 2 in PMWS and PDNS Korean pigs between 1999 and 2006. *Virus Res* 129: 115-12.
- Boissesson C, Beven V, Bigarre L, et al. 2004. Molecular characterization of porcine circovirus type 2 isolates from post-weaning multisystemic wasting syndrome-affected and non-affected pigs. *J Gen Virol* 85: 293-304.
- Carman S, McEwen B, DeLay J, et al. 2006. Porcine circovirus-2 associated disease in swine in Ontario (2004 to 2005). *Can Vet J* 47: 761-762.

- Cheung AK, Lager LM, Kohutyuk OI, et al. 2007. Detection of two porcine circovirus type 2 genotypic groups in United States swine herds. *Arch Virol* 152: 1035-1044.
- Cheung AK. 2003. Transcriptional analysis of porcine circovirus. *J Virol* 305:168-180.
- DeLay J, McEwen B, Carman S, et al. 2005. Porcine circovirus type 2-associated disease is increasing. *AHL Newsl* 9: 22.
- Fenaux M, Halbur PG, Gill M, et al. 2000. Genetic characterization of type 2 porcine circovirus (PCV-2) from pigs with post-weaning multisystemic wasting syndrome in different geographic regions of North America and development of a differential PCR-restriction fragment length polymorphism assay to detect and differentiate between infections with PCV-1 and PCV-2. *J Clin Microbiol* 38:2494-2503.
- Gagnon CA, Tremblay D, Tijssen P, et al. 2007. The emergence of porcine circovirus 2b genotype (PCV-2b) in swine in Canada. *Can Vet J* 48: 811-819.
- Grierson SS, King GP, Wellenberg J, et al. 2004. Genome sequence analysis of 10 Dutch isolates from a PMWS case-control study. *Res Vet Sci* 77: 265-268.
- Hamel AL, Lin LL, Nayar GP, et al. 1998. Nucleotide sequence of porcine circovirus associated with postweaning multisystemic wasting syndrome in pigs. *J Virol* 72(6): 5262 - 5267.
- Horlen KP, Schneider P, Anderson J, et al. 2007. A cluster of farms experiencing severe porcine circovirus associated disease: clinical features and association with the PCV2b genotype. *J Swine Health Prod* 15: 270-278.
- Kim JH, Lyoo YS. 2002. Genetic characterization of porcine circovirus-2 field isolates from PMWS pigs. *J Vet Sci* 3(1): 31-39.
- Ma CM, Hon CC, Lam TY, et al. 2007. Evidence for recombination in natural populations of porcine circovirus type 2 in Hong Kong and mainland China. *J Gen Virol* 88: 1733-1737.
- Mahe D, Blanchard P, Truong C, et al. 2000. Differential recognition of ORF2 protein from type 1 and type 2 porcine circoviruses and identification of immunorelevant epitopes. *J Gen Virol* 81: 1815-1824.
- Mankertz A, Persson F, Mankertz J, et al. 1997. Mapping and characterization of the origin of the replication of porcine circovirus. *J Virol* 71: 2562-2566.
- McNulty M, Dale J, Lukert P, et al. 2000. Circoviridae. In: van Regenmortel MHV, Fauquet CM, Bishop DHL, et al, eds. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. San Diego: Academic Press: 299-303.
- Olvera A, Cortey M, Segales J, et al. 2007. Molecular evolution of porcine circovirus type 2 genomes: phylogeny and clonality. *Virology* 357: 175-185.
- Opriessnig T, McKeown NE, Zhou EM, et al. 2006. Genetic and experimental comparison of porcine circovirus type 2 (PCV2) isolates from cases with and without PCV2-associated lesions provides evidence for differences in virulence. *J Gen Virol* 87: 2923-2932.
- Rosell C, Segales J, Ramos-Vara JA, et al. 2000. Identification of porcine circovirus in tissues of pigs with porcine dermatitis and nephropathy syndrome. *Vet Rec* 146: 40-43.
- West KH, Bystrom JM. 1999. Myocarditis and abortion associated with intrauterine infection of sows with porcine circovirus 2. *J Vet Diagn Invest* 11: 530-532.