

學術發表 演題 및 抄錄

第一 部 : 바이러스學 分野

(1~6 演題, 10:30~11:30)

座長 宋 熹 鍾 博士

(全北大 獸醫大)

進行 金 淳 泰 博士

(慶北家衛 北部)

1. RT-PCR기법을 이용한 돼지 유행성 설사 바이러스(PEDV) 핵산 검출과 cDNA Probe 제작

2. In situ hybridization법을 이용한 조직내 돼지 유행성 설사 바이러스(PEDV) 핵산 검출

노 환 국

노환국, 이강록, 김근규

부산 보건환경연구원 가축위생시험소

부산 보건환경연구원 가축위생시험소

최근 질병 진단법으로 널리 이용되고 있는 RT-PCR기법을 이용하여 돼지 유행성 설사 바이러스(PEDV) 핵산 검출을 시도함으로써 이 질병을 진단하고자 하였다. PED에 자연 감염된 것으로 의심되는 3-10일령 포유자돈 들은 위내에 응유양 물질이 충만하였고 공장 의 벽이 얇아져 투명하게 보였으며, 장용모의 심한 탈락이 관찰되었다.

공장의 동결조직절편에 형광항체법을 적용 시켜 PED로 진단하였고, 공장의 유체에서 total RNA를 분리하여 RT-PCR을 실시한 결과 600 bp의 PED특이 band를 관찰할 수 있었다. 여기에서 얻은 band는 Gene clean을 실시한 후 Digoxigenin(DIG) Labeling하여 in situ hybridization 에 필요한 probe로 사용하거나, PCR DIG DNA Labeling Kit와 PCR DIG Probe Synthesis Kit를 사용하여 PCR과정중에 직접 DIG가 labeling되게한 후 Gene clean을 실시하여 probe로 사용하였다.

조직내에서 돼지 유행성 설사 바이러스(PEDV) 핵산을 검출하여 진단하고자 포 로말린 고정, 피라핀 포매된 포유자돈의 공장 조직절편에 in situ hybridization법을 적용하 였다. probe는 nucleocapsid protein에 해당하 는 600 bp의 cDNA를 RT-PCR법으로 증폭 된 3종의 Digoxigenin(DIG) labeled probe를 제작하여 사용하였다.

PEDV RNA의 존재를 나타내는 특이 양성 반응이 공장의 상피세포에서 관찰되었으며, 감염된 세포의 세포질에서만 양성반응이 나 타나 이 바이러스가 세포질 내에서 복제한다 는 사실을 확인해 주었다. 또한 PCR후 gene cleaning하여 DIG labeling한 probe와 PCR DIG Labeling Kit와 PCR DIG Probe Synthesis Kit로 PCR과정중에 직접 DIG가 labeling되게한 후 Gene clean을 실시하여 사 용한 probe들을 비교한 결과 모두 우수한 양 성반응을 나타내었다.