

국내 양식어종에서 발생하는 바이러스성 신경괴사증(viral nervous necrosis)

김석렬¹ · 김영진¹ · 김진도² · 정성주¹ · 오명주¹

1여수대학교 수산생명의학과
2국립수산진흥원 여천종묘시험장

서론

VNN(viral nervous necrosis)는 종묘단계 및 양성장의 해산어 양식장에서 발생하는 바이러스성 질병으로 외견적으로 척추만곡, 이상유영, 체색흑화와 조직학적으로는 뇌와 망막에 공포 및 괴사를 형성하고, 또한 매우 높은 폐사율을 나타내는 질병으로 보고되어 있다. 이러한 질병은 성공적인 종묘의 생산 및 보급을 위해서 반드시 해결해야 할 사항이다.

최근 홍민어 종묘생산장에서 척추만곡, 체색흑화 등의 증상으로 대량폐사를 일으키고, 넙치와 황점볼락과 같이 특이한 외견증상을 보이지 않고 대량폐사를 보이는 사례가 발생하고 있다. 이에 조직학적 검사와 유전학적 검사를 행하여 원인체의 규명과 이들 어종에서 검출되는 VNN의 관련성에 대해 연구하였다.

재료 및 방법

본 실험에서 사용한 시료는 1999년 11월에 전남 여수시 일대에서 대량폐사를 나타낸 홍민어 (평균 1.5 cm), 2000년 4월에 전남 영광지역에서 대량폐사를 나타낸 넙치 (평균 1.2 cm), 2001년 4월 전남 여수지역에서 폐사를 나타낸 황점볼락 (평균 5 cm) 및 2001년 4월 전남 여수지역 홍민어 종묘생산을 위한 친어 혈액 (평균 70 cm)을 사용하였다. 이들 어체 시료들은 실험실로 옮겨져 통상적인 세균검사 검사를 행한 후 병리조직 관찰을 위해 10% 중성 포르말린에 고정 후 조직표본제작 과정을 거쳐 H-E염색하여 광학현미경하에서 검경하였고, 혈액과 시료의 신장 및 비장은 HBSS로 1:9로 희석하여 균질화하여 원심(5000rpm, 20min)하여 상등액을 취해 high pure RNA isolation kit(Roche. co)로서 RNA를 분리 후 oligo dT로서 cDNA를 합성하여 이를 주형으로 Nishizawa 등 (1995) 에 의해 디자인된 primer를 이용 PCR을 행하였다. PCR product는 1.5% agarose gel 상에서 전기영동 하여 EtBr 염색 후 UV하에서 band를 확인하였다. 확인된 밴드는 절취한 다음 PCR product purification kit (Roche. co)를 이용하여 정제하였고 ABI prism 310 genetic analyzer (perkin elmer co.)로 sequencing을 수행하여 유전자 서열을 비교 분석하였다.

결과 및 고찰

홍민어는 힘없이 유영하다 정지한 상태에서 몇 바퀴 회전하며 바닥에 가라앉는 형태의 폐사 양상을 나타냈으며, 황점볼락과 넙치의 경우는 외견적으로 거의 증상을 나타내지 않고 폐사를 일으키는 매우 특이함을 보였다. 이들 모든 개체의 조직을 H-E 염색하여 관찰한 결과 뇌, 안구 및 망막과 척수의 신경세포들의 괴사와 함께 공포화를 관찰 하여 VNN임을 의심할 수 있었다. 혈액 및 시료의 비장과 신장을 HBSS와 1:9로 균질화 후 얻은 상등액을 CHSE-214, FHM, RTG-2 cell line에 접종하였으나, 이들 세포에서는 CPE를 관찰할 수 없었다. 그러나 넙치의 경우 CHSE-214과 RTG-2 cell line에서 MABV CPE를 확인하여 MABV와 VNN의 복합 감염을 확인하였다. 이들 상등액에서 분리된 RNA로 RT-PCR을 실시한 결과 예상되어지는 426 bp의 DNA단편을 1.5% agarose gel을 이용하여 확인 할 수 있었다. 밴드 확인 후 핵산을 회수하여 sequencing을 행한 결과 이들의 염기서열은 매우 높은 homology를 나타내는 것으로 보아 이들 모두 유사한 NNV에 의해 감염되었던 것으로 확인되었다.

참고 문헌

1. Fukuda, Y., H. D. Nguyen,, M. Furuhashi and T. Nakai: Mass mortality of cultured sevenbanded grouper, *Eponephelus septemfasciatus*, associated with viral nervous necrosis. *Fish Pathol.*, 31(3), 165-170, 1996.
2. Nakai, T: Viral nervous necrosis, in "Summary of fish diseases"(ed. by K. Muroga and S. Egusa), Krseisa Koseikaku, Tokyo, pp36, 1996.