

Birnavirus에 감염된 뱀장어
(*Anguilla Japonica*)의 분포와 분리 바이러스의
혈청형

김춘섭, 정성주, 오명주
여수대학교 수산생명의학과

서론

IPNV(Infectious Pancreatic Necrosis Virus)와 MABV(Marine Birnavirus)는 어류의 병원성 버나바이러스로서 잘 알려져 있다(Wolf *et. al.*, 1960, Oh *et. al.*, 2000). birnavirus는 전세계적으로 뱀장어, 방어, 가자미, goby, 패류와 같은 다양한 어패류에서 분리되었으며 IPNV와 해양 birnavirus의 혈청학적 연관관계는 polyclonal antibody와 monoclonal antibody의 교차중화반응 연구 등으로 2~3개 혈청형으로 나누어지고 있다(Hill & Way 1988, Wolf 1988, Caswell-Reno *et al.*, 1989, Kusuda *et al.*, 1993).

본 연구는 2000년 10월부터 2002년 3월까지 전라남북도 순천, 곡성, 나주, 고창, 영광, 여수, 벌교, 나주, 충남 논산 등의 양식산 뱀장어 및 사육수를 채집하여 바이러스를 분리하고, 분리된 바이러스의 혈청형을 분류하고, 버나바이러스에 감염된 뱀장어의 분포를 밝히기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

병어의 신장, 비장, 아가미, 근육을 채취하여 상법의 바이러스의 분리를 시료를 제작하고, 세포변성효과에 의한 바이러스 검출을 위해 어류 주화세포인 Chinook Salmon Embryo cell line(CHSE-214: Wolf & Quimby 1962), Rainbow Trout Gonad cell line(RTG-2: Fernandez *et al.*, 1993), Epithelioma Papilosum Cyprini cell line(EPC: Fijian *et al.*, 1983), Fathead Minnow caudal trunk cell line(FHM: Gravell and Malsberger, 1965), EO-2 cell line을 사용하였고, 바이러스 중화반응 실험에서는 CHSE-214 cell line을 사용하였다. 세포배양액은 100 IU/ml의 penicillin, 100 IU/ml의 streptomycin, 10% FBS(Fetal bovine serum) 첨가한 DMEM(Dulbecco's Modified Eagle medium, Gibco)을 사용하여 배양하였다.

분리된 바이러스는 오 등(1999)의 방법으로 핵산을 추출하고 역전사시켜 얻어진 cDNA를 주형으로 RT-PCR을 행하였다. 검출 확인용 바이러스로 IPNV Ab,

Sp, MABV Y6, NC1를 사용하였다.

바이러스 중화실험은 곡성과 순천 양식장에서 분리된 바이러스와 어류 유래의 버나바이러스(IPNV Ab, IPNV Sp, MABV Y6, MABV NC1, SC-1)를 항바이러스 토끼혈청(Anti-IPNV Ab, IPNV Sp, MABV Y6, MABV NC1, SC-1 rabbit serum)으로 중화실험을 행하였다. 중화반응은 96well cell culture plate를 사용하여 100 TCID₅₀/ml 조정된 후 anti-serum과 1시간 반응시켜 20℃에서 7일간 배양하고 CPE를 관찰하여 100 TCID₅₀/well의 바이러스를 중화시키는 50% 종말희석점(ND₅₀)을 구했다. 혈청의 교차중화실험은 1/r 값(Archetti & Horsfall 1995) $r = \sqrt{1} \times \sqrt{2}$ 의 방법을 사용하여 계산하였다.

결과 및 요약

2000년 10월부터 2002년 3월까지 전라남북도 순천, 곡성, 나주, 고창, 영광, 여수, 벌교, 나주, 충남 논산에서 양식중인 뱀장어 및 사육수를 채집하여 바이러스를 분리하였다. 분리 바이러스는 각각의 주화세포에 대한 감수성 실험에서는 CHSE-214, RTG-2, EPC, EO-2 cell line에 감수성이 있었다.

분리 바이러스로 버나바이러스 검출용으로 선택된 primer(P1, P2)를 이용하여 RT-PCR을 행한 결과 모두 360bp 크기의 밴드를 확인하였다.

교차중화시험 결과 IPNV Sp와 가장 유사한 것으로 나타났다. European eel에서 분리된 birnavirus는 IPNV Ab와 가장 유사한 것으로 나온 것과는 다르게 본 실험에서 분리되어진 바이러스주와는 중화되지 않았다.

국내 뱀장어 양식장에서 서로 다른 혈청형을 가지는 버나바이러스가 관찰되어지는 점 및 해양유래 MABV와의 유사성이 확인되어진 점으로부터 해양에서 채집한 실뱀장어단계에서부터의 감염에 관한 검토가 필요한 것으로 사료된다.

참고 문헌

- Oh, M. J., Jung, S. J. and Kim Y. J.. 1999. Detection of birnavirus from marine cultured fish using ploymerase chain reaction(PCR). J. Fish pathol. 12(1) 49-55.
- Oh, M. J., Jung, S. J. and Kim, H. R.. 1999. Biological and serological characteristics of birnavirus isolated from cultured Japanese flounder in 1999. J. Fish Pathol. 12(1) 56-62.
- Hudson, E. B., D. Bucke, and A. Forrest. 1981. Isolation of infectious pancreatic ecrosis virus from eels, *Anguilla anguilla* L., in the United Kingdom. J. Fish Dis. 4:429-431.