

정상과 비정상 우렁쉥이에서 Marine birnavirus의 검출과 검출된 바이러스의 특성

°윤현미 · Shin-ichi kitamura · 김영진 · 오명주 · 정성주
여수대학교 수산생명의학과

서론

MABV는 1985년 일본의 양식산 방어에서 최초로 분리되었고, 이후 넙치등 많은 해산어류에서 분리가 되었고, 최근에는 건강한 자연산 이매패류와 복족류에서도 감염이 보고 되며(Suzuki and Nojima 1999), 심지어 해수와 동물성플랑크톤 (Kitamura et al 2002, 2003)에서도 감염이 보고 되어 있으며, 2001년 Jung 등은 우리나라 통영에서 양식되는 우렁쉥이에서 MABV의 감염을 보고하였다.

본 연구에서는 통영과 거제의 정상과 비정상의 우렁쉥이로 분리해 Nested PCR을 통해 MABV가 연중 검출됨을 밝혔으며, 바이러스를 분리하여 VP2/NS경계영역의 염기배열을 검색하여 유전학적 변이를 보고한다.

재료 및 방법

우렁쉥이는 2002년 7월, 2003년 2월과 8월에 통영과 거제에서 양식된 것을 샘플로 하였고, 정상과 비정상개체를 분리하였다. 바이러스분리를 위해 간체장은 HBSS에 1:9로 희석후 균질화하여 3000rpm에서 15분간 원심 후 상층액을 필터하여 CHSE-214 cell에 접종하였다.

Nested PCR을 위한 간체장은 HBSS에 1:9로 균질화한 후 Trizol 방법으로 RNA를 추출하였고, Suzuki et al(1997)의 방법으로 VP2/NS junction region의 168bp를 target으로하는 2 set primer(P1-P2, P3-P4)를 이용하여 Nested PCR을 실시하였으며, 증폭된 PCR 산물은 1.5% agarose gel상에서 전기영동을 하여 확인한 다음 gel은 Gel purification kit(QIAGEN)를 이용하여 정제하였다. 정제된 PCR증폭산물에 대해 ABI 310 Genetic Analyzer (Perkin-Elmer,USA)를 이용하여 염기서열을 분석하였다.

결과 및 요약

CHSE-214 cell에서 세포질이 가늘어지고, 핵이 농축되는 MABV 특이 CPE 형태

가 바이러스 분리액 접종 후 3일째에 관찰되었다. 실험에 사용된 108개의 우렁쉥이에서 4개의 분리주를 얻었고, 그 중 3개의 분리주는 정상 우렁쉥이에서 분리되었고, 1개의 분리주는 비정상 개체에서 얻어졌다.

Nested PCR 결과 우렁쉥이들 중 2002년 7월에는 약 18%, 2003년 2월에는 56%, 2003년 8월에는 약 62%가 간체장에 MABV를 가지는 것으로 나타났다. 그리고 건강한 개체의 간체장에서는 약 36%, 비정상개체의 것은 약 47%가 MABV를 가지고 있었다.

이 결과를 바탕으로 우렁쉥이에 MABV는 연중 체내에 존재하는 것으로 생각되지만, 정상과 비정상 개체의 감염율의 차이는 없었고, 낮은 바이러스 분리율은 우렁쉥이에 감염된 MABV의 양이 적을 것으로 생각되어진다. 유전학적 연구에서 8개의 분리주는 동일한 염기 배열을 나타냈으며, 그중 1분리주에서 1군데 변이가 있음을 밝혔다.

참고문헌

- Nijung, S-J., M-J. Oh, T. Date and S. Suzuki (2001): Isolation of marine birnavirus from sea *Halocynthia oretzi*. In: *The Biology of Ascidians*, Sawada H, Yokosawa H, Lambert CC(Eds.) Springer Verlag Tokyo, 436-441
- Kitamura S-I, Tomaru Y, Kawabata Z, Suzuki S. (2002): Detection of Marine Birnavirus In the Japanese pearl oyster *Pinctada fucata* and seawater from different depths 50: 211-217
- Kitamura S-I, Kamata S-I, Nakano S-I, Suzuki (2003): Detection of marine birnavirus genome in zooplankton collected from the Uwa sea, Japan. *Dis aquat org* 54:69-72
- Suzuki S, Nojima M (1999) Detection of a Marine Birnavirus in Wild Molluscan Shellfish Species from Japan. *Fish Pathology* 33(3): 121-125
- Suzuki S, Hosono N, Kusuda R (1997) Detection of aquatic birnavirus gene from marine fish using a combination of reverse transcription and nested PCR. *J Mar Biotechnol* 5: 205-209