

## 돌돔이리도바이러스 (RBIV) 유전자를 이용한 펩타이드 및 재조합단백질 백신의 유효성 연구

도정완 · 차승주 · 이남실 · 김진우 · 정승희 · 김이침\* · 이창훈\*\*

국립수산물과학원 병리연구팀, \*어류연구센터, \*\*제주수산연구소

### 서론

양식돌돔의 대량폐사를 일으키는 돌돔이리도바이러스를 예방하기 위한 연구는 지속적으로 이루어고 있지만, 아직 이리도바이러스에 효과적인 예방법을 내놓지 못하고 있다. 이리도바이러스의 예방을 위한 백신이 이미 일본에서 시판되고 있으나 일본의 참돔이리도바이러스와 우리나라의 돌돔이리도바이러스는 바이러스의 게놈유전자의 서열과 감염대상어종 및 병원성에서 차이가 있음이 확인되었다 (Do *et al.* 2004, 2005). 돌돔의 이리도바이러스에 의한 피해는 매년 지속적으로 발생하고 있으며, 이리도바이러스 감염지역도 확산되고 있다. 또한 양식어류에서 발생하고 있는 다양한 바이러스에 대한 연구도 간헐적으로 이루어지고 있어 어류바이러스에 대한 체계적인 연구의 필요성이 요구되고 있다. 따라서 본 연구진들이 돌돔이리도바이러스에 대한 기초연구와 예방연구를 수행하면서 얻어진 결과를 분석하였다.

### 재료 및 방법

이리도바이러스에 감염된 돌돔에서 비장과 신장을 분리하여 마쇄여과후 GF 세포와 BF-2세포에 배양한 후 초고속원심분리기를 이용한 글루코스 농도구배 방법으로 순수분리하여 genomic DNA를 분리하였다. 분리한 DNA를 주형으로 하여 백신대상유전자의 ORF에 해당하는 PCR 프라이머로 PCR을 수행한 후 agarose gel 영동으로 PCR산물을 확인하였으며, 확인된 산물은 Gel extraction kit (Qiagen)를 사용하여 순수분리 하였다. 순수분리한 PCR산물들을 발현백터인 pET 28a (Novagen) 및 TA expression kit (Invitrogen)에 크로닝하여 *E. coli* BL21 및 *E. coli*. TOP10 strain에 Transformation하여 돌돔이리도바이러스 재조합단백질을 발현시켜 실험에 사용하였다. 또한 펩타이드의 합성은 백신대상 유전자의 특이부위를 선택하여 21-23 mer의 펩타이드를 합성하여 사용하였다. 발현단백질과 합성펩타이드의 돌돔이리도바이러스 예방효과 실험은 돌돔을 0.5 ton FRP 수조에 30-100마리씩을 수용하여 백신접종구와 비접종구에서

의 돌돔이리도바이러스 감염에 의한 폐사율을 분석하였다.

### 결과 및 요약

돌돔이리도바이러스 유전자를 이용하여 제조한 펩타이드 백신과 재조합단백질백신을 처리한 후 15일째 세포배양 한 돌돔이리도바이러스를 복강주사하여 감염시켰을 때, 대조구에서는 바이러스 감염 후 45일째부터 폐사가 시작되어 12-23일 까지 100%폐사가 이루어졌다. 백신처리구의 경우 백신조합에 따른 폐사경향에 차이가 있으나 대조구에 비해 폐사 시작시기가 4-6일가량 지연되고, 시험구 4 (Test 4)를 제외하고 폐사가 100%에 도달하는 기간도 대조구에 비해 6일가량 지연되었다. 시험구 4의 경우에는 대조구를 포함한 다른 시험구에서 이리도바이러스에 의한 폐사가 100% 이루어졌으나 펩타이드 백신 (A)의 백신에서는 폐사율이 30%미만이며, 재조합단백질 백신 (B)의 경우 18%가 폐사하였다. 따라서 시험구 4의 펩타이드 및 재조합백신은 돌돔이리도바이러스에 대한 예방효과가 뛰어나 백신으로의 이용가치가 높음을 확인하였다.

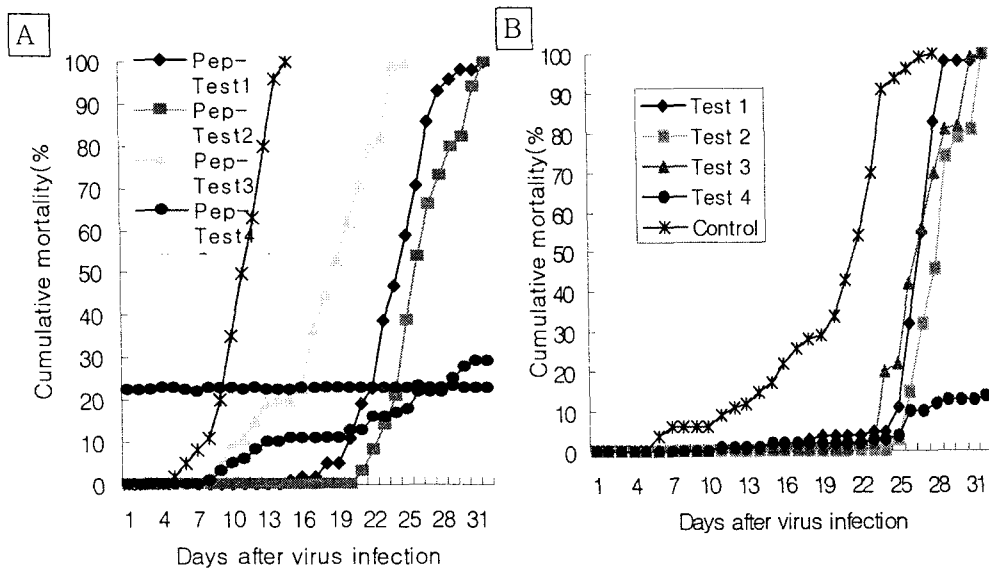


그림 1. 돌돔이리도바이러스 예방 펩타이드 백신 및 재조합단백질 백신의 예방효과. (A) 펩타이드 백신 투여 후 이리도바이러스 인위감염에 따른 누적폐사율, (B) 재조합단백질 백신 투여 후 이리도바이러스 인위감염에 따른 누적폐사율.

## 참고문헌

- Do JW, Moon CH, Kim HJ, Ko MS, Kim SB, Son JH, Kim JS, An EJ, Kim MK, Lee SK, Han MS, Cha SJ, Park MS, Park MA, Kim YC, Kim JW, Park JW. 2004. Complete genomic DNA sequence of rock bream iridovirus. *Virology*. 325(2):351-63.
- Do JW, Cha SJ, Kim JS, An EJ, Park MS, Kim JW, Kim YC, Park MA, Park JW. 2005. Sequence variation in the gene encoding the major capsid protein of Korean fish iridoviruses. *Arch Virol*. 150(2):351-9.
- Do JW, Cha SJ, Kim JS, An EJ, Lee NS, Choi HJ, Lee CH, Park MS, Kim JW, Kim YC, Park JW. 2005. Phylogenetic analysis of the major capsid protein gene of iridovirus isolates from cultured flounders *Paralichthys olivaceus* in Korea. *Dis Aquat Organ*. 64(3):193-200