

## 국내에서 분리된 Canine parvovirus DNA의 제한효소 분석

박종현·송재영·이중복·현방훈·안수환·전무형\*

가축위생연구소

충남대학교 수의과대학\*

(1992년 6월 8일 접수)

### Restriction endonuclease analysis of canine parvovirus DNA isolated in Korea

Jong-hyeon Park, Jae-young Song, Jung-bok Lee, Bang-hun Hyun, Soo-hwan An,  
Moo-hyung Jun\*

Veterinary Research institute, Anyang, Korea,

College of Veterinary Medicine, Chungnam National University Taejon, Korea\*

(Received June 8, 1992)

**Abstract** : To elucidate the molecular genetical properties of the canine parvoviruses isolated from the diseased puppies in the regions of Kyunggi and Chungnam provinces, the replicative form (RF) DNA of four field isolates were compared with those of two attenuated vaccine strains and a reference strains of CPV by restriction endonuclease analysis (REA). REA by Hinf I showed that three CPV isolates except CPV-V15 had an identical banding pattern with two vaccine strains, one standard strain and feline panleukopenia virus (FPLV). In CPV-V15 strain the fourth fragment of DNA with 800 bp was deleted. REA by Bgl II and Pst I indicated that CPV-V15 and FPLV had a bigger second fragment than those of the other strains of CPV. Meanwhile REA by Bam HI revealed that all the field isolates and vaccine strains used in this experiment showed similar banding patterns.

**Key words** : canine parvovirus, replicative DNA, restriction endonuclease analysis.

## 서 론

Canine parvovirus(CPV)는 Parvoviridae에 속하는 single stranded linear DNA를 함유하는 icosahedral symmetry형의 18~22nm 크기의 바이러스로 仔犬에서 출혈성 장염과 때로 심근염을 주증으로하는 개의 중요한 급성 전염병의 원인체이다.<sup>1-6</sup>

CPV는 1970년 Binn 등<sup>7</sup>에 의해 건강한 개의 분변에서 처음 분리 보고되었으며 그후 1978년 Appel 등<sup>8</sup>에 의해서 설사증 환경에서 분리된 바 있다. Binn 등이 분리한 비병원성 바이러스를 CPV-1 또는 minute virus of canine 그리고 1978년 이후 분리된 병원성이 있는 바이러스를 CPV-2로 불리워지고 있다.<sup>1,9</sup> 이 두 바이러스는

물리화학적 성상은 동일하나 병원성과 DNA의 제한효소 분석 pattern이 서로 다른 것으로 밝혀졌으며<sup>10</sup>, CPV-2는 물리화학적 성상과 DNA 제한효소 분석결과, feline panleukopenia virus (FPLV), mink enteritis virus (MEV) 그리고 racoon parvovirus (RPV) 등과 비슷하다.<sup>8,11</sup> 따라서 CPV-2는 FPLV나 MEV의 야외주나 약독백신주가 변이되어서 개에 대한 병원성을 획득함으로써 세계적으로 널리 확산되었을 가능성을 시사하고 있다.<sup>12</sup> 이러한 논리는 McMaster<sup>13</sup>, Tratschinn<sup>14</sup>, Parrish<sup>15,16</sup> 그리고 Goto 등<sup>17</sup>이 CPV, FPLV와 MEV 등의 백신주와 야외주의 DNA를 제한효소 처리로 DNA성상을 밝히고 비교함으로써 더욱 가능성이 확실해지고 있다.

국내에서 개 파보바이러스 감염증은 세계적으로 대유

행이 시작된 1978년 이후 3년이 지난 1981년에 서울, 인천, 경기등지에서 장염을 주증으로 하는 개에서 이 병이 발생한다는 사실을 이 등<sup>18</sup>이 처음 보고하였고, 이어 한 등<sup>19</sup>이 임상병리학적 소견을 보고하였으며 이후 전국적으로 확산되어 1982년에서 1984년에 걸쳐 폭발적으로 발생하여 많은 피해를 주었다.<sup>20-22</sup>

그뒤 최 등<sup>23</sup>은 전국적인 혈청학적 연구를 수행하여 CPV가 국내 개에 만연되어 있음을 밝혔고, 김 및 류<sup>24</sup>는 분리 바이러스의 조직배양 증식성과 혈구응집능에 대해 조사보고하였다. 또한 최근 최 등<sup>25,26</sup>은 충청지역에서 장염에 이환된 자견으로부터 CPV 8주를 분리하고 분리 바이러스의 물리화학적 성상 및 자견에 대한 병원성시험을 수행하여 국내분리주의 특성에 대해 밝힌 바 있다. 그러나 CPV의 병인기전에 밀접한 연관성이 있으며 바이러스의 성상을 구명하는데 가장 기본이 되는 국내분리 CPV 유전자의 분자생물학적 구조에 대한 연구는 수행된 바 없다.

저자 등은 CPV의 국내분리주, 약독화백신주 및 외국에서 도입한 바이러스의 replicative form (RF) DNA를 제한효소로 처리하고 그 pattern을 분석하여 CPV strain 간의 특성을 유전자의 분자생물학적 구조에 의해 비교 분석하고자 일련의 실험을 수행하였다.

## 재료 및 방법

**바이러스의 증식** : CPV를 증식시키기 위해서 Crandell feline kidney (CRFK) cell을 사용하였다. 세포배양액은 Eagle's minimum essential medium (EMEM, Gibco, USA)에 calf serum (Hyclone, USA)을 5%로 첨가하고 nonessential amino acid (0.01mM, Gibco, USA) 및 gentamycin (100 µg/ml)을 첨가하여 사용하였다. 시험에 사용한 CPV는 Table 1에서 요약한 바와 같이 1984년 이후 가축위생연구소에서 분리한 CPV-V11, CPV-V15, CPV-V20 그리고 최 등<sup>25</sup>이 충청지역에서 분리한 CPV-TJ89-1을 국내분리주로 공시하였고 표준 및 대조 바이러스로는 CPV-912 (ATCC, VR 2006, USA)와 feline parvovirus인 FPLV를 공시하였으며 백신주는 국내에서 시판되고 있는 백신에서 CPV-CA-2, CPV-GC 2주를 분리 증식시켜 사용하였다. 공시한 모든 바이러스는 계대에 따른 변이의 가능성을 배제하기 위해서 약 3~5대 정도의 CRFK cell에서 계대후 seed로 작성하여 -70°C에 보관하면서 사용하였다.

**바이러스 RF DNA의 추출** : McMaster<sup>11</sup>, Tratschin<sup>14</sup>, Goto<sup>17</sup>, Thomas<sup>27</sup>, Shinagawa<sup>28</sup>, Hirt<sup>29</sup> 및 Paradiso<sup>30</sup>의 방법을 응용하여 세포로부터 RF DNA를 추출하였다. 바이러스는 Fig 1에서 요약한 바와 같이 roller b-

ottle에 CRFK cell을 6~10시간 배양시켜 S와 G<sub>2</sub>기에 10m.o.i 역가의 바이러스를 37°C에서 90분간 흡착시킨후 증식시켰다.<sup>31-35</sup> CPV RF DNA가 가장 많이 생산되는 시간인 바이러스 접종후 18시간 내지 24시간에 trypsin 처리한후 감염된 세포를 수확하였다.<sup>27</sup> Lysis solution (10mM Tris-HCl, 10mM EDTA [pH 7.4], 0.6% sodium dodecyl sulfate) 5ml를 가하여 세포를 완전히 용해한후 proteinase K (20mg/ml, BRL, USA) 25 µl를 가하고 37°C, 2시간동안 소화하여 5M NaCl 0.25ml를 넣고 1시간동안 얼음에 처리, 진탕한후 다시 얼음에서 18시간 방치시켰다. 그리고 microcentrifuge (Vision Scientific, VS 15,000)에서 15,000rpm으로 40분동안 원심시켜 그 상층액에 3 volume의 ethanol을 가하여 -70°C에서 1시간 처리한 다음 15,000rpm에서 20분간 원심하고 그 침전물을 감압건조시켰다. 그 DNA pellet을 TE buffer (50mM Tris-HCl, 5mM EDTA, pH 8.5), 0.1ml에 부유시켰으며 RNase A (10mg/ml, BPL, USA) 1 µl를 가하여 37°C, 30분간 처리하여 RNA를 제거시켰다. 여기에 다시 TE buffer (50mM Tris-HCl, 5mM EDTA, pH 8.5) 100 µl를 가한 후 chromosome DNA를 제거하기 위하여 100°C에서 5분동안 열처리하여 얼음에 넣고 신속히 온도를 낮추었다. 여기에 2 volume의 phenol을 가하여 추출한후 10,000rpm에서 10분간 원심하고 다시 상층액에 다시 3 volume의 ethanol을 가하여 -70°C, 15분간 처리한후 15,000rpm에서 원심 RF DNA를 침전시켰다. 침전된 핵산을 감압건조하여 TE buffer (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA [pH 7.5])로 그 DNA pellet을 용해하여 -20°C에서 보관하면서 시험에 공시하였다. Fig 1은 RF DNA추출방법을 도표화한 것이다.

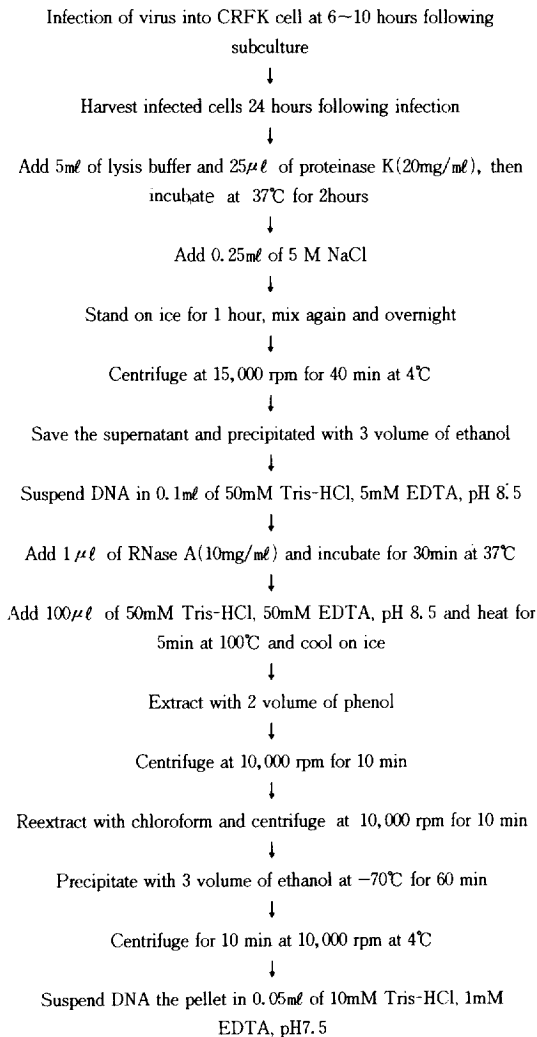
**RF DNA의 제한효소 분석** : RF DNA의 제한효소 처리는 Kosco에서 생산한 제한효소 Hinf I, Bam HI, Bgl II 그리고 Pst I을 이용하여 Brown<sup>36</sup>, Kammermeyer<sup>37</sup>, Ohman 등<sup>38</sup>의 방법을 응용하여 분석하였다. 요약하면 제한효소를 37°C에서 2시간 반응하였으며 반응후 0.1 volume loading buffer (0.25% bromphenol blue, 0.25% xylene cyanol, 30% glycerol, 1% SDS, 100mM EDTA pH 8.0)를 가하여 1~2% agarose를 gel plate (12×10×0.3cm)에 주입하고, 5V/cm로 2~3시간 전기영동하였다. 전기영동 buffer는 Tris-borate EDTA buffer (0.089M Tris borate, 0.089 M boric acid, 0.002 M EDTA, pH 8.0)를 사용하였다. Molecular size marker로는 Hind III로 절단한 lambda phage DNA를 사용하였으며 전기영동후 gel을 ethidium bromide (EtBr, 0.5 µg/ml)에서 20분간 염색하여 UV illuminater (Spectroliner, USA)에서 전기영동 pattern을 관찰하였다.

**Table 1.** Parvovirus strains used for experiment

Viruses	Strains	Country of origins (district)	Virulence
Canine parvovirus	TJ89-1	Korea(Chungnam)	virulent
Canine parvovirus	V11	Korea(Kyunggi)	virulent
Canine parvovirus	V15	Korea(Kyunggi)	virulent
Canine parvovirus	V20	Korea(Kyunggi)	virulent
Canine parvovirus	912 *	USA	virulent
Canine parvovirus	CA-2 <sup>+</sup>	--	attenuated
Canine parvovirus	GC <sup>+</sup>	--	attenuated
Feline panleukopenia virus	-	USA	virulent

\* American type culture collection(ATCC, VR 2006)

<sup>+</sup> The viruses were originated from the commercial CPV attenuated live vaccines in Korea



**Fig 1.** Procedure for extraction of RF DNA from CPV infected cells.

## 결 과

**제한효소 Hinf I에 의한 유전자 분석:** 각 CPV로부터 추출한 RF DNA를 Hinf I으로 처리한후 agarose gel 전기영동상에서 관찰된 pattern은 Fig 2와 같다. 이 시험에 사용된 CPV DNA는 7~8개의 유전자 분절로 분리되었으며 국내분리주중 V15주를 제외한 3주는 표준주로 공시한 CPV-912주와 유사한 pattern을 나타내었다. 즉, V15주는 기타 국내분리주, 백신주 및 CPV-912주에 존재하는 4번째 band인 800 bp의 DNA분절이 결손되어 있었고 그 형태는 FPLV와 유사한 pattern으로 관찰되었다.

**제한효소 Bam HI에 의한 유전자 분석:** 시험에 사용한 RF DNA를 제한효소인 Bam HI으로 처리시 gel 전기영동상에 나타나는 pattern을 관찰한 바 Fig 3과 같이 모든 CPV는 4.6kb와 0.4kb의 2개의 분절로 분할되었으며 두 band의 위치에는 유의한 차이가 인정되지 않았다.

**제한효소 Bgl II에 의한 유전자 분석:** 각 CPV의 RF DNA를 제한효소인 Bgl II로 처리한후 gel 전기영동상에 나타난 pattern을 관찰한 바 Fig 4와 같이 2주의 백신주와 4주의 국내 분리주중 국내분리주 CPV-V15주만을 제외하고 모두가 2개의 유전자 분절을 보였으며 band의 위치는 3.2kb와 1.8kb였고, 2번째 band는 FPLV와 약간의 차이를 보였다. 국내분리주 CPV-V15주는 다른 CPV처럼 2개의 분절을 형성하였으나 다른 CPV주에 비해 2번째 단편이 커서 200~300bp정도의 차이를 보였으며 FPLV와는 그 pattern이 일치하였다.

**제한효소 Pst I에 의한 유전자 분석:** 공시한 RF DNA를 제한효소인 Pst I으로 처리한후 gel 전기영동상에 나타난 pattern을 관찰한 바 Fig 5와 같이 공시주 모두 3개의 분절을 보였으며 CPV-CA-2, CPV-GC, CP-

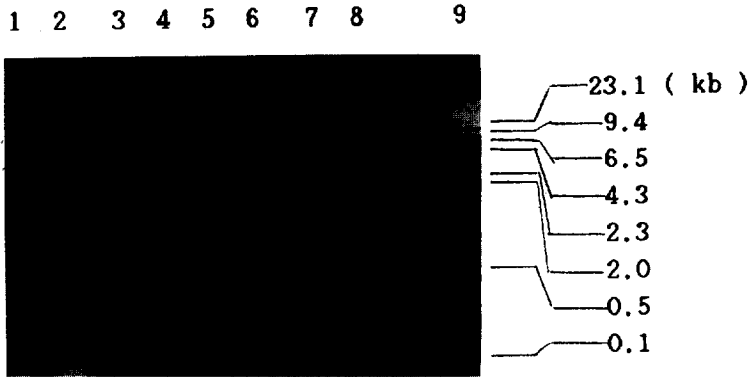


Fig 2. Gel electrophoresis patterns of RF DNAs of seven canine parvovirus and one feline panleukopenia virus digested with restriction endonuclease Hinf I. The arrow indicates the position of the deficient band of CPV isolates.

lane 1. CPV-GC(vaccine strain), lane 2. CPV-CA-2(vaccine strain), lane 3. CPV-TJ89-1(isolate), lane 4. CPV-V11(isolate), lane 5. CPV-V15(isolate), lane 6. CPV-V20(isolate), lane 7. CPV-912(ATCC), lane 8. FPLV lane 9.  $\lambda$  DNA digested with Hind III.

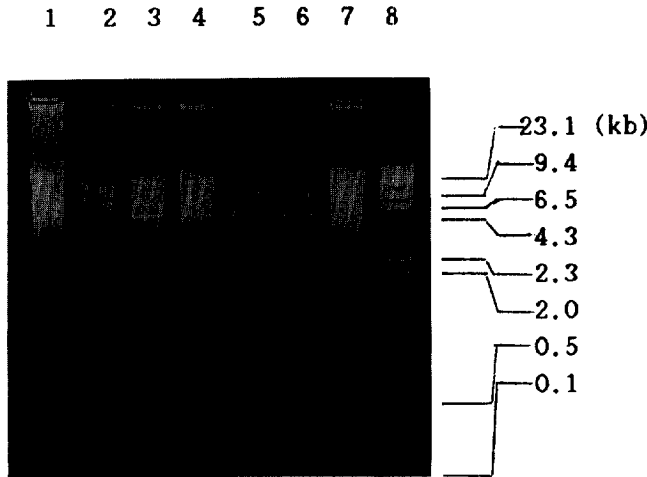


Fig 3. Gel electrophoresis patterns of RF DNAs of one feline panleukopenia virus and six canine parvovirus digested with restriction endonuclease Ban HI.

lane 1. FPLV, lane 2. CPV-CA-2(vaccine strain), lane 3. CPV-GC (vaccine strain), lane 4. CPV-V11(isolate), lane 5. CPV-V15(isolate), lane 6. CPV-V20(isolate), lane 7. CPV-912 (ATCC), lane 8.  $\lambda$  DNA digested with Hind III.

V-TJ89-2, CPV-V11, CPV-V20 및 CPV-912의 band의 위치는 2.8kb, 1.8kb 그리고 0.4kb였다. 그러나 CPV-V15주는 다른 CPV처럼 3개의 band를 형성하였으나 2번째 band가 2.0kb로 다른 주에 비해 약간 큰 것으로 나타났으며 FPLV와는 동일한 전기영동 pattern을 보였다.

### 고 찰

공시한 바이러스를 제한효소 Hinf I 으로 처리하여

얻어진 결과는 Tratschin 등<sup>14</sup>이 CPV, Mink enteritis virus(MEV)와 FPLV에 대한 연구에서 4번째 band에 차이가 있다고 지적한 결과와 일치하였다. 또한 Parrish등<sup>15</sup>은 제한효소 Hinf I 처리시에 차이 나는 DNA분절은 capsid protein 생성과는 관련이 없는 3'-noncoding region이라고 하였고 아직 이 부분의 기능에 대해서는 명확하지 않다고 기술하였다. 또한 이 시험에서 국내분리주 4주 가운데 V15주만이 다른 pattern을 보여 국내 CPV에도 변이주가 발생하고 있음을 추정할 수 있으며 Reed

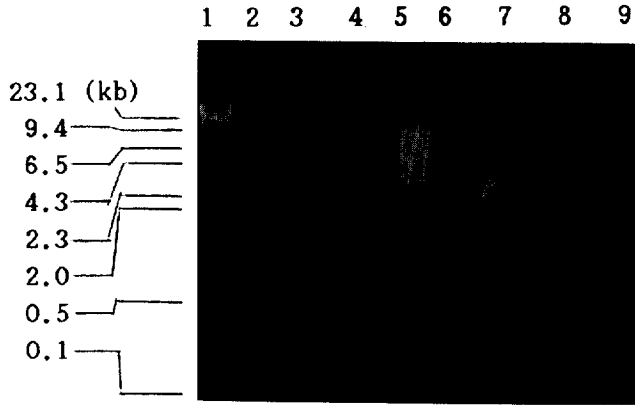


Fig 4. Gel electrophoresis patterns of RF DNAs of seven canine parvoviruses and one feline panleukopenia virus digested with restriction endonuclease Bgl II. The arrow indicates the band different from the others.

lane 1.  $\lambda$  DNA digested with Hind III, lane 2. CPV-CA-2(vaccine strain), lane 3. CPV-GC(vaccine strain), lane 4. CPV-TJ89-1(isolate), lane 5. CPV-V11(isolate), lane 6. CPV-V15(isolate), lane 7. CPV-V20(isolate), lane 8. FPLV, lane 9. CPV-912(ATCC)

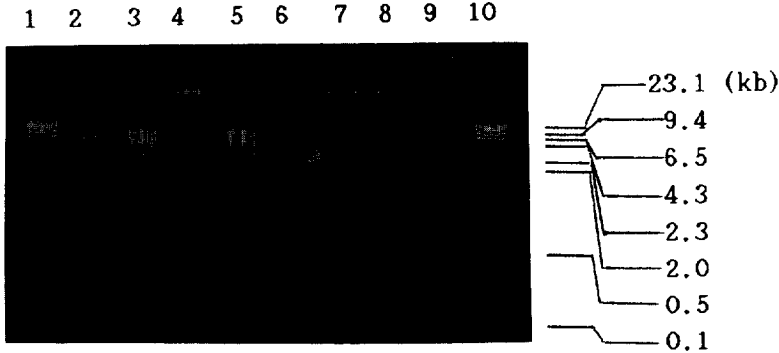


Fig 5. Gel electrophoresis patterns of RF DNAs of seven canine parvoviruses and one feline panleukopenia virus digested with restriction endonuclease Pst I. The arrow indicates the band different from the others.

lane 1.  $\lambda$  DNA digested with Hind III, lane 2. CPV CA-2(vaccine strain), lane 3. CPV-GC(vaccine strain), lane 4. CPV-TJ89-1(isolate), lane 5. CPV-V11(isolate), lane 6. CPV-V15(isolate), lane 7. CPV-V20(isolate), lane 8. FPLV, lane 9. CPV-912(ATCC)

등<sup>39</sup>이 CPV-N주에 3' 부분이 결손되기 쉬운 반복적인 염기서열로 되어 있다고 보고한 사실을 감안하면 국내 CPV주에는 이 4번째 band가 존재하는 주와 결손된 주로 대별할 수 있을 것으로 생각된다.

제한효소 BamH I의 처리결과에 의하면 공시한 parvoviridae는 모두 1개의 cleavage site를 가지고 있다는 사실이 확인되었다. 그러나 CPV RF DNA의 제한효소 분석에 Bam HI을 사용한 보고는 아직 없으며 Reed 등<sup>39</sup>이 분석한 CPV-N주의 염기구조에도 Bam HI site가 없었다. McMaster 등<sup>13</sup>이 minute virus of mice의 RF DNA에서 얻어진 결과에서도 고려해 볼 때 이 시험성적에서 얻어진 결과는 CPV DNA 구조를 밝히는데 새로운 사실로 생각된다.

Goto 등<sup>17</sup>은 Parvoviridae의 Bgl II의 제한효소 처리 비교시험에서 FPLV가 다른 Parvoviridae에 비해 non-coding region에서 염기가 약 150bp 큰 것으로 나타났으며 band의 위치는 CPV와 약간 다르나 단편의 수는 동일하다고 보고하였다. 이 시험에서는 국내분리주 및 백신주의 제한효소 분석에서 V15주를 제외한 나머지 CPV주와 FPLV주의 banding pattern은 Goto 등<sup>17</sup> 성적과 일치하였다. 이 시험에서 얻어진 V15주와 Goto 등의 CPV에 대한 banding pattern의 차이점은 Parrish 등<sup>40</sup>의 Parvoviridae의 유전적 변이에 대한 연구 결과를 감안할 때 V15주는 다른 국내분리주 및 백신주에 비해 변이 정도가 낮은 바이러스주라고 생각된다.

McMaster<sup>13</sup>의 제한효소 지도에서 Pst I 처리시 map

position(MP)8에 절단부위가 없고, MP 58에는 절단부위가 인정되었으며 mink parvovirus인 MEV에도 MP 8에 절단부위가 인정되지 않았다. 또한 Reed 등<sup>39</sup>의 CPV-N주의 DNA염기서열 분석에서도 MP 8의 Pst I 절단부위가 없고 MP 58의 절단부위는 인정되었다. 그러나 이 시험에 사용한 모든 바이러스는 MP 8에 절단부위가 인정되는 3개의 단편으로 확인되어 McMaster 등 Reed 등에 대해 얻어진 결과와 차이가 있었다. 또한 CPV-V15주의 제한효소 pattern이 FPLV와 동일하고 반면에 2번째 band가 다른 CPV주와 상이한 것은 제한효소 Bgl II 처리에서 얻은 결과와 유사한 연유에 기인된 것이라 생각된다.

## 결 론

1984년 이후 경기 및 충남지역에서 장염에 이환된 개에서 분리된 canine parvovirus의 분자유전학적 성상을 밝히기 위해 야외분리주, 약독백신주 및 표준주의 replicative form DNA에 대해 제한효소분석을 실시한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 제한효소 Hinf I 처리시 국내 분리주인 CPV-TJ89-1, CPV-V11, CPV-V20 그리고 백신주, 표준주 및 feline panleukopenia virus(FPLV)는 동일한 banding pattern을 보였으나 국내분리주인 CPV-V15주만이 800 bp에 해당되는 4번째 분절의 결손을 보였다.

2. 제한효소 Bgl II 처리시 국내 분리주인 CPV-TJ89-1, CPV-V11, CPV-V20 그리고 백신주 및 표준주는 서로 유사한 banding pattern을 보였으나 국내분리주인 CPV-15주와 FPLV는 2번째 분절이 약 200~300 bp로 크게 나타나 이 시험에 사용된 타 CPV와 다르게 나타났다.

3. 제한효소 Pst I 처리시 국내분리주인 CPV-TJ89-1, CPV-V11, CPV-V20 그리고 백신주 및 표준주는 서로 유사한 banding pattern을 보였으나 국내분리주인 CPV-15주와 FPLV는 2번째 분절이 약 200 bp로 크게 나타나 이 시험에 사용된 타 CPV와 차이가 있었다.

4. 제한효소 Bam HI 처리시 사용된 모든 바이러스의 RF DNA는 4.6 및 0.4 kb으로 분절되어 바이러스간에 차이가 인정되지 않았다.

## 참 고 문 헌

- Gillespie JH, Timony JF, et al. eds. The parvoviridae, In Hagan and Bruner's infectious diseases of domestic animals. 8th ed. Comstock Publishing

- Associates. Ithaca and London. 1989 ; pp 511~514.
- Buxton A, Fraser G, eds. In animal microbiology, Blackwell Scientific Publications LTD, Oxford and London. 1977 ; pp 711~716.
- Cotmore SF, Tattersall P. The autonomously replicating parvoviruses of vertebrates, *Adv Virus Res* 1987 ; 33 : 91~97.
- Chappuis G, Duret C. Canine parvovirus infection. *Vet Dep Ina Fra* 1979 ; 1~16.
- Berns KI, Labow MA. Parvovirus gene regulation, *J Gen Virol* 1987 ; 68 : 601~614.
- McCandlish IAP, Thompson H, Fisher EW, et al. Canine parvovirus infection. *Am J Small Animal Clin* 1981 ; 5~15.
- Binn LN, Lozar EC, Eddy GA, et al. Recovery and characterization of minute virus of canines. *Infect Imm* 1970 ; 1 : 503.
- Appel MJG, Scott FW, Carmichael LE. Isolation and Immunization studies of canine parvo-like virus from dogs with haemorrhagic enteritis. *Vet Rec* 1979 ; 105 : 156~159.
- Parrish CR, Chamichael LE. Characterization and recombination mapping of an antigenic and host range mutation of canine parvovirus. *Virology*. 1986 ; 148 : 121~132.
- Macartney L, Parrish CR, Binn LN, et al. Characterization of minute virus of canines (MVM) and its pathogenicity for pups. *Cornell Vet* 1988 ; 78 : 131~145.
- McMaster GK, Beard P, Engers HD, et al. Characterization of an immunosuppressive parvovirus related to the minute virus of mice. *J Virol* 1981a ; 38 : 317~326.
- Johnson RH, Spradbrow PB. Isolation from the dogs with severe enteritis of a parvovirus related to feline panleukopenia virus. *Aus Vet J* 1979 ; 55 : 151.
- McMaster GK, Tratschin JD, Siegl G. Comparison of canine parvovirus with mink enteritis virus by restriction site mapping. *J Virol* 1981b ; 38 : 368~371.
- Tratschinn JD, McMaster GK, Kronauer G, et al. Canine parvovirus : relationship to wild type and vaccine strains of feline panleukopenia virus and mink enteritis virus. *J Gen Virol* 1982 ; 61 : 33~41.
- Parrish CR, Leathers CW, Pearson R, et al. Comp-

- arisons of feline panleukopenia virus, canine parvovirus, racoon parvovirus and mink enteritis virus and the their pathogenicity for mink and ferrets. *Am J Vet Res* 1987 ; 48 : 1429~1435.
16. Parrish CR, O'Connell PH, Evermann JF, et al. Natural variation of canine parvovirus. *Science* 1985 ; 230 : 1046~1048.
  17. Goto H, Hirano T. Comparative studies of physiochemical and biological properties between canine parvovirus and feline panleukopenia virus. *Jpn Vet Sci* 1984 ; 46 : 519~526.
  18. 이영옥, 최대영, 박봉균 등. 개 파보바이러스성 장염의 국내 발생. *대한수의학회지* 1982 ; 22 : 171~174.
  19. 한홍율, 황의경, 유규연 등. 개의 바이러스성 장염의 국내 발생보고. *대한수의학회지* 1982 ; 22 : 167~170.
  20. 이영옥, 모인필. 개 파보바이러스병의 발생 및 예방. *대한수의학회지* 1984 ; 20(5) : 271~278.
  21. 김지인. 한국에서의 개 파보바이러스 장염의 수혈 치료에 대한 임상적 고찰. *대한수의학회지* 1984 ; 20 (10) : 622~630.
  22. 윤여성. 한배 새끼 강아지에서 보인 소화기형과 심장형의 파보바이러스 감염증. *서울시수의학회지* 1981 ; 81.
  23. 최대영, 류영수, 권창희 등. 개의 파보바이러스성 감염증의 발생과 항체율 조사. *농사시험연구논문집* 1986 ; 28(2) : 193~199.
  24. 김태종, 류영수. 개 파보바이러스의 조직배양 증식성 및 혈구응집능에 관한 연구. *건국대학교 축산과학연구소논문집* 1988 ; 13 : 1~7.
  25. 최해연, 전무형, 박성국. 설사증 이환견으로부터 분리한 canine parvovirus의 성장에 관한 연구. *대한수의학회지* 1991 ; 31(3) : 295~302.
  26. 최해연, 전무형, 박성국. 환견으로부터 분리한 canine parvovirus의 실험적 감염자견에 대한 바이러스학적 연구. *대한수의학회지* 1991 ; 31(3) : 303~309.
  27. Thomas WM, Han SJ, Marc SC. Porcine parvovirus DNA. Characterization of the genomic and replicative form DNA of two virus isolates. *Virology* 1984 ; 137 : 241~245.
  28. Shinagawa M, Matsuda A, Ishiyama T, et al. Rapid and simple method for preparation of adenovirus DNA from infected cells. *Microbiol Immunol* 1983 ; 27 (9) : 817~822.
  29. Hirt B. Selective extraction of polyoma virus DNA from infected cell cultures. *J Mol Biol* 1967 ; 36 : 365~369.
  30. Paradiso PR, Rhode SL. III, Singer II. Canine parvovirus : a biochemical and ultrastructural characterization. *J gen Virol* 1982 ; 62 : 113~125.
  31. Hirasawa T, Tsujimura N, Konishi S. Multiplication of canine parvovirus in CRFK cells. *Jpn J Vet Sci* 1984 ; 47(1) : 89~99.
  32. Hampton EG. H-1 virus growth in synchronized rat embryo cells. *Can J Microbiol* 1970 ; 16 : 266~268.
  33. Parris DS, Bates RC. Effect of bovine parvovirus replication on DNA, RNA and protein synthesis in S phase cells. *Virology* 1976 ; 73 : 72~78.
  34. Rhode SL. III. Replication process of the parvovirus replication process of the parvovirus H-1. I. kinetics in a parasynchronous cell system. *J Virol* 1973 ; 11 : 856~861.
  35. Siegl G, Gautschi M. The replication of parvovirus Lu III in a synchronized cultured system. II. biological characteristics of virus replication. *Arch Gesamte Virusforsch* 1973 ; 540 : 119~127.
  36. Brown TA, eds. Gene cloning, an introduction. Van Nostrand Reinhold. Berkshire. 1986.
  37. Kaummermeyer K, Clark VL. Genetic engineering fundamentals, an introduction to principles and applications. Marcel Dekker. New York. 1989.
  38. Ohman DE. Experiments in gene manipulation. Prentice Hall. New Jersey 1988.
  39. Reed AP, Jones EV, Miller TJ. Nucleotide sequence and genome organization of canine parvovirus. *J Virol* 1988 ; 62 : 266~276.
  40. Parrish CR, Carmicheal LE, Antczak DF. Antigenic relationships between canine parvovirus type 2, feline panleukopenia virus and mink enteritis virus using conventional antisera and monoclonal antibodies. *Arch Virol* 1982 ; 72 : 267~278.