

한국 양식 넙치에서 분리된 Iridovirus의 면역학적 특성 비교에 관한 연구

도정완 · 차승주 · 김현주 · 조화자 · 문창훈 · 박정민 ·
박명애* · 손상규* · 방종득* · 박정우[†]

울산대학교 생명과학부, *국립수산진흥원 병리과

우리 나라의 양식 해산어에서 분리된 종양을 유발하는 iridovirus가 폐사를 유발하는 iridovirus와 같은 종류인지를 확인하기 위하여 면역학적 특성을 비교하여 보았다. SDS-PAGE를 통하여 이들 바이러스의 구조단백질을 비교한 결과 종양을 유발하는 iridovirus와 폐사를 유발하는 iridovirus는 서로 다른 크기의 단백질을 소유하는 것으로 확인되었다. 종양을 유발하는 iridovirus에 대한 단일클론항체를 사용한 Western blotting 실험을 통하여 구조 단백질의 항원성을 조사한 결과 종양을 유발하는 iridovirus의 경우 분자량 150 kDa의 구조단백질이 면역 유도 특성이 있음이 확인되었다. 반면에 폐사를 유발하는 iridovirus는 종양을 유발하는 iridovirus에 대한 단일클론항체들과는 전혀 반응을 하지 않았다. 이 결과로부터 종양을 유발하는 iridovirus와 폐사를 유발하는 iridovirus의 구조단백질들은 서로 다른 항원성을 지님을 알 수 있었으며 이는 두 iridovirus들이 서로 다른 type일 가능성이 높음을 나타내고 있다.

Key words: Immunological characterization, Tumor-inducing iridovirus, Mortality-associated iridovirus, Immunogen

Iridovirus는 외막이 없는, 정 20면체 모양을 지닌 DNA 바이러스로서 세포질에서 증식하는 특성을 가지고 있다. 이 바이러스의 family에는 4개의 genera가 있는데, 곤충에 감염하는 type 1과 2 (Iridovirus와 Chloriridovirus), 양서류에 감염하는 type 3(Ranavirus), 그리고 어류에 감염하는 type 4 (Lymphocystis disease virus)로 분류된다(Willis, 1990; Franck *et al.*, 1991). Type 4에 속하는 대표적인 iridovirus인 lymphocystis virus는 어류에 감염하여 어체의 피부세포의 비대증을 유발하여 결과적으로 papilloma-like tumor를 유발한다(Lopez *et al.*, 1969).

피부종양을 유발하는 iridovirus인 lymphocystis disease virus는 전세계에 걸쳐 분포하며 다양한 어종에 감염하는데, 넙치와 가자미 등에 주로 감염하는 것으로 보고되어 왔다(Roberts, 1976; Schnitzler

and Darai, 1989). 이 바이러스에 감염되는 경우, 대량 폐사는 일어나지 않지만 양식 어류의 판매가 불가능하여 양식업에 많은 경제적인 손실을 주고 있다.

어류에 종양을 유발하는 iridovirus 이외에, 어류에 감염하여 폐사를 유발하는 iridovirus가 존재함이 확인되었다. 이 바이러스의 경우, 1990년 이전까지는 세계 여러 지역에서 드물게 보고되었다(Laird and Bullock, 1969; Walker and Sherburne, 1977; Evelyn and Traxler, 1978; Langdon *et al.*, 1986). 따라서 이 바이러스는 크게 주목을 받지 못하였다. 그러나 1990년부터 일본에서 양식중인 여러 종류의 해산어에 이 바이러스가 감염하여 대량 폐사를 유발하기 시작하였으며 홍콩, 싱가포르, 대만 등에서도 iridovirus의 감염에 의한 폐사가 발생하였다는 보고(Inouye *et al.*, 1992; Chua *et al.*, 1994; Nakajima *et al.*, 1995)가 있는 후 폐사를 유발하는 iridovirus에 대한 관심이 집중되고 있다.

[†]Corresponding author

아직까지 어류에 감염하는 이들 두종류의 iridovirus들의 정확한 특성이 확인 되지 않았으며 따라서 두종류 사이의 특성 비교가 잘 되어 있지 않은 상황이다. 종양을 유발하는 iridovirus인 lymphocystis disease virus의 경우 전체 genomic DNA의 염기 서열이 이미 분석되어 있어(Tidona & Darai, 1997) 비교적 연구가 많이 되어 있다. 그러나 어류에 폐사를 유발하는 iridovirus의 경우에 대한 연구가 비교적 최근에 시작되었기 때문에 아직 많은 연구 결과가 없는 상황이다. 다만, genomic DNA의 제한효소 지도와(Mao *et al.*, 1997) 유전자 일부에 대한 염기 서열을 분석한 결과에 대한 보고들이(Mao *et al.*, 1997; Miyata *et al.*, 1997) 있었는데, lymphocystis disease virus의 염기 서열과는 유사도가 거의 없는 것으로 나타났으며 오히려 iridovirus type 3인 Ranavirus와 유사한 특성을 지님이 확인 되었다. 따라서 어류에 감염하여 폐사를 유발하는 iridovirus와 종양을 유발하는 iridovirus인 lymphocystis disease virus간에는 병리학적 특성과 genomic DNA의 특성이 서로 다르다는 사실이 제시되고 있다. 그러나 아직 이들 두 iridovirus의 구조단백질의 특성 비교 및 혈청학적 특성 비교에 대해서는 보고된 바가 없다.

우리 나라의 경우 1980년대 이후로 남해안 일대를 중심으로 해산어 양식이 급속도로 증가하는 추세에 있으며, 여러 종류의 바이러스, 특히 iridovirus가 양식 해산어에 감염하여 피해를 유발하고 있는 것으로 보고되고 있다. 해산어에 종양을 유발하는 iridovirus인 lymphocystis disease virus의 경우 우리나라 전역에 걸쳐 양식 넙치에 피부 종양을 유발하여 큰 피해를 입히고 있는 것으로 보고된다. 폐사를 유발하는 iridovirus는 아직 우리나라에 분포하지 않는 것으로 보인다. 그러나 폐사를 유발하는 iridovirus가 양식 해산어에 대량폐사를 유발하고 있는 일본(Inouye *et al.*, 1992)으로부터 우리나라의 해산어 양식업자들이 해산어의 치어를 수입하고 있는 실정에서 볼때, 우리나라에서 양식 중인 해산어류에도 폐사를 유발하는 iridovirus가 감염할 가능성이 매우 높다.

이에 본 연구에서는 우리나라 양식 해산어에 감염하는 iridovirus에 대한 대책 마련을 위한 자료를 얻고자 종양을 유발하는 iridovirus와 폐사를 유발

하는 iridovirus의 구조단백질을 비교 분석하였고, 또한 종양을 유발하는 iridovirus의 면역유도단백질을 확인하였다.

재료 및 방법

바이러스 및 세포배양

Iridovirus에 대한 숙주세포로는 CHSE-214(Chinook Salmon Embryos), FHM(Fathead minnow), GF(Grunt Fin) cell line을 사용하였다. 세포는 minimum essential medium(MEM, Gibco)에 fetal bovine serum(Gibco)을 10% 농도로 첨가한 배지를 사용하여 CHSE-214와 FHM은 20°C에서, 그리고 GF는 25°C에서 배양하였다. 종양을 유발하는 iridovirus는 우리나라의 남해안과 동해안에 위치한 넙치 양식장에서 사육되고 있는 넙치의 종양 시료에서 각각 구하였다. 폐사를 유발하는 iridovirus는 일본 수산청양식연구소의 Dr. Nakajima로부터 구하였다.

바이러스의 순수 분리

TNE 완충용액(10 mM Tris, pH 8.0, 0.1 M NaCl, 1 mM EDTA)을 사용하여 종양 조직이나 바이러스에 감염된 세포의 마쇄액을 3,000 rpm에서 20분간 원심분리한 후 상등액을 모아 30% sucrose(w/w) cushion상에서 25,000 rpm에서 120분 동안 원심분리를 하였다. 침전물을 TNE 완충용액으로 재현탁시킨 다음 sucrose gradient(25-60% continuous)상에서 25,000 rpm으로 20시간, CsCl gradient(10-35% continuous)상에서 30,000 rpm으로 24시간의 연속적인 원심분리를 하여 iridovirus를 순수 분리하였다.

단일클론항체 제조

단일클론항체의 제조에는 남해안에 위치한 넙치양식장의 종양 시료에서 채취한 lymphocystis disease virus를 항원으로 사용하였다. 순수 분리된 lymphocystis disease virus를 Balb/c mouse의 복강에 5 µg씩 주사함으로써 면역을 시켰다. 첫 번째 면역은 단백질을 Freund's complete adjuvant와 현탁시킨 후 복강에 주사함으로써 행하였고 두 번째 이후부터는 Freund's incomplete adjuvant와 현탁

시킨 후 주사하였다. 이와 같은 방식으로 4번을 주사 한 후 마지막 주사시 단백질을 adjuvant를 사용하지 않고 정맥주사를 하여 면역 시켰다. Balb/c mouse에 마지막 정맥주사를 한 후 4일째에 spleen을 취하였다. Spleen cell과 SP-2/0 myeloma cell을 10:1 비율로 섞은 후 PEG 용액(45% PEG-1500, 5% DMSO, 50% serum-free DMEM)을 사용하여 융합시켰다. 융합된 세포를 fetal bovine serum이 10% 첨가된 HAT media(0.1 mM hypoxanthine, 4×10^{-4} mM aminopterin, 1.6×10^{-2} mM thymidine in DMEM)에 suspension 시킨 후 96 microwell plate에 0.2 ml씩 넣었다. 약 3주 동안 5일마다 새 HAT media로 갈아주고 다시 1주일 동안 aminopterin이 없는 HT media로 갈아주었다. 이후 배양액을 취하여 ELISA로 iridovirus에 대한 항체를 내는 hybridoma를 선별하였다.

ELISA

Iridovirus에 대한 단일클론항체를 내는 hybridoma를 선별할 목적과 바이러스의 항원성 비교실험을 위하여 ELISA를 수행하였다. Coating buffer (0.5 M carbonate-bicarbonate, pH 9.6)에 순수 분리된 바이러스를 1 µg/ml 농도가 되도록 준비한 다음 ELISA용 96 well plate에 넣어 4°C에서 16시간 동안 coating하였다. Plate를 PBS로 씻은 후, 1% BSA-PBS(1% BSA in PBS) 용액을 첨가하여 상온에서 1시간 동안 blocking 시켰다. Plate를 PBS-Tween 20(0.05% Tween 20 in PBS)으로 씻은 후, 각 well에 적절하게 hybridoma의 배양액을 넣고 상온에서 2시간 동안 반응시켰다. PBS-Tween을 사용하여 plate를 3번 씻은 후 alkaline phosphatase가 붙어 있는 secondary antibody를 첨가하였다. 상온에서 2시간 동안 반응시킨 후, PBS-Tween으로 3번 씻고 기질(1 mg of p-nitrophenyl phosphate/ml of 9.7% diethylamine, pH 9.8)을 넣었다. 상온에서 30분간 반응시킨 후 3 M NaOH용액 50 µl씩을 넣어 반응을 중지시킨 다음 405 nm에서 OD값을 측정하였다.

전기 영동

바이러스 구조단백질의 전기영동은 Laemmli (1970)의 방법에 따라 행하였다. 순수 분리된 바이

러스를 10% polyacrylamide gel에 loading한 후 150 V에서 denaturing 조건에서 전기영동을 하였다. Gel을 고정한 후 coomassie blue를 사용하여 단백질을 염색하였다. 바이러스 단백질의 분자량은 표준단백질의 이동거리와 비교하여 결정하였다.

Western blotting

순수 분리된 바이러스를 SDS-PAGE gel 상에서 전기영동을 한 후, 다시 transfer buffer(25 mM Tris, pH 8.3, 192 mM glycine, 20% methanol)를 사용하여 40 mA에서 16시간 동안 전기영동 함으로서 gel에 있는 단백질 band를 nitrocellulose(NC) paper에 옮겼다. NC paper를 PBS로 씻은 후, 1% PBS-BSA 용액에 1시간 동안 담가 두어 blocking 시켰다. NC paper를 PBS-Tween 20(0.05%)으로 적당히 희석시킨 단일클론항체에 넣어 상온에서 2시간 동안 반응 시켰다. PBS-Tween으로 NC paper를 씻은 후 alkaline phosphatase가 붙어 있는 goat anti-mouse IgG(Sigma)와 상온에서 2시간 동안 반응 시켰다. PBS-Tween으로 씻은 다음 BCIP/NBT phosphatase substrate; 5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate sodium salt 0.15 mg/ml, p-nitro blue tetrazolium chloride 0.3 mg/ml in carbonate buffer(0.1 M NaHCO₃, 1 mM MgCl₂, pH 9.8)를 첨가하였다. 상온에서 15분 동안 발색시킨 후, 증류수로 씻어냄으로써 반응을 중지 시켰다.

일차항체로서 넙치의 혈청을 사용하여 실험을 수행하는 경우 2차항체는 넙치항체에 대한 단일클론항체(Bang *et al.*, 1996)를 사용하였고, 3차 항체로서 alkaline phosphatase가 붙어 있는 goat anti-mouse IgG를 사용하였다.

결과 및 고찰

어류에 감염하는 iridovirus에는 크게 두종류가 존재하는데, 종양을 유발하는 iridovirus와 폐사를 유발하는 iridovirus가 있다. 본 연구에서는 이들 두 종류의 iridovirus의 면역유도단백질을 확인 및 면역학적 특성을 비교하였다. 먼저 iridovirus의 면역학적 특성의 확인을 위하여 종양에 걸린 넙치의 혈청과 종양을 유발하는 iridovirus에 대한 단일클론항체를 사용하였다. Hybridoma의 배양액에 존

재하는, iridovirus에 대한 항체의 양을 ELISA 실험을 통하여 확인하여 이들 중 ELISA titer가 0.8 이상으로 나온 clone들을 선별하여 iridovirus에 대한 단일클론 항체를 만들었다. 만들어진 단일클론항체들 중 항체 역가가 높은 2종류의 단일클론항체를 우선적으로 본 연구에 사용하였다.

이 단일클론항체들이 iridovirus의 구조단백질들 중 어떤 것을 인지하는지를 Western blotting 실험을 통하여 확인하였다. 지금까지의 보고에 따르면, 종양을 유발하는 iridovirus는 genomic DNA에 195개 정도의 open reading frame이 있으며 (Tinoma & Darai, 1997), SDS-PAGE를 사용한 분석 결과 적어도 33개 이상의 구조단백질로 구성되어 있음이 확인되었다 (Flugel *et al.*, 1982). 이들 구조단백질들 중, 본 실험에 사용한 두 종류의 단일클론항체 모두가 분자량 150 kDa 단백질과 반응을 하는 것이 관찰되었다 (Fig. 1, lane 1 and 2). 이로부터 종양유발 바이러스의 구조단백질들 중 150 kDa 단백질이 면역유도 특성이 있음을 확인할 수 있었다. 그러나 이 결과는 mouse의 면역 반응을 유도하는 단백질을 말하는 것으로서, 실제 현장에 적용하기 위해서는 해산어에서 어떤 구조단백질이 면역유도 특성이 있는지를 확인할 필요가 있다. 따라서 iridovirus에 감염된 넙치의 혈청을 사용한 Western blotting을 수행하였다. 먼저 정상적인 넙치의 혈청은 lymphocystis disease virus의 구조단백질들과 전혀 반응하지 않았다 (Fig. 1, lane 5). 반면에 피부 종양에 걸려 있는 넙치에서 추출한 혈청은 lymphocystis disease virus의 구조단백질들 중 분자량 150 kDa과 강한 반응을 보였다. 이외에도 넙치 혈청은 분자량 66 kDa, 45 kDa 등의 두 종류의 단백질에도 약한 반응을 보였다. 이 결과는 lymphocystis disease virus의 구조단백질들 중 150 kDa, 66 kDa, 그리고 45 kDa 단백질이 넙치에서 면역 유도 특성이 있음을 암시해 주며, 이 중 150 kDa 단백질이 가장 강한 면역유도 특성이 있음을 보여주고 있다 (Fig. 1, lane 3 and 4). 이러한 사실은 후에 iridovirus에 대한 백신을 개발하고자 할 때 대상 단백질을 결정할 수 있는 중요한 정보를 제공하여 준다.

위에서와 같이 제조한, 종양을 유발하는 iridovirus에 대한 단일클론항체들이 폐사를 유발하는

Fig. 1. Reactivities of antibodies against viral polypeptides. Purified virions from papilloma-like lesion of flounder were analyzed on 10% SDS-PAGE and polypeptides on the gels were transferred onto NC papers. The NC papers were incubated with monoclonal antibody IR-AA3 (lane 1), monoclonal antibody IR-BE4 (lane 2), and antisera obtained from diseased flounder with the papilloma-like lesions (lane 3 and 4). Lane 5, a serum of normal healthy flounder which served as a negative control.

iridovirus와도 반응할 수 있는지를 확인하였다. 먼저 ELISA를 사용하여 반응성을 비교 하였다. 실험에 사용한 두종류의 단일클론항체 모두 정상적인 넙치의 상피조직의 추출물과는 OD₄₀₅의 값이 0.029-0.041로 거의 반응을 하지 않았다. 반면에 종양을 유발하는 iridovirus와는 OD₄₀₅에서 각각 0.97과 1.07로 매우 강한 반응을 보였다 (Fig. 2). 이 결과로부터 종양을 유발하는 iridovirus에 존재하는, 단일클론항체가 인지하는 epitope들은 폐사를 유발하는 iridovirus에는 존재하지 않는 것으로 확인되었으며 이는 두 바이러스가 항원성이 서로 다를 수 있음을 말하여 준다.

어류에 감염하는 iridovirus의 항원성을 보다 정확하게 비교하기 위하여 Western blotting 실험을 수행하였다. 먼저 순수분리된 iridovirus를 SDS-

Monoclonal antibodies

Fig. 2. Cross reactivities of monoclonal antibodies raised against tumor-inducing iridovirus. Purified virions of tumor-inducing or mortality-associated iridovirus were coated onto multiwell plate and the reactivities of monoclonal antibodies, IR-AA3 and IR-BE4, with these virions were determined by ELISA. Epithelial cells of normal flounder were used as a control.

PAGE를 통하여 구조단백질들의 pattern을 비교하였다. 종양을 유발하는 iridovirus에는 genomic DNA의 restriction map에 기초하여 strain 1과 strain 2의 두 종류가 존재함이 보고되었다(Schnitzler and Darai, 1989). 그리고 우리나라에서도 바이러스의 구조단백질 pattern이 다른 두 종류가 존재함이 확인되었다(Park *et al.*, 1998). 따라서 본 실험에서는 우리나라에서 분리된 종양을 유발하는 iridovirus중 구조단백질의 pattern이 다른 두 종류를 사용하였다. 이들 두 종류의 종양을 유발하는 iridovirus와 일본에서 구입한, 폐사를 유발하는 iridovirus를 사용하여 SDS-PAGE를 통하여 구조단백질을 비교하였다. 그 결과 두 종류의, 종양을 유발하는 iridovirus들 사이에는 분자량이 큰(66 kDa 이상) 구조단백질들의 경우 두 바이러스간에 비슷한 pattern을 보였다. 그러나 분자량이 작은(66 kDa 이하) 구조단백질들은 서로간에 차이가 있었다. 이와 비교하였을 때, 폐사를 유발하는 iridovirus의 구조단백질은 모든 크기의 단백질에 걸쳐 종양을 유발하는 iridovirus의 구조단백질과 많은 차이를 보였다(Fig. 3). 이는 폐사를 유발하는 iridovirus가

Fig. 3. Comparison of the structural polypeptides of tumor-inducing iridovirus and mortality-associated iridovirus. Polypeptides of purified iridovirus were analyzed on 10% SDS-PAGE. The polypeptides on the gel were visualized by coomassie blue staining. Lane 1, protein size marker in kilodaltons; lane 2, mortality-associated iridovirus; lane 3, tumor-inducing iridovirus collected at Southeastern coast of Korea; lane 4, tumor-inducing iridovirus collected at Southern coast of Korea.

종양을 유발하는 iridovirus와 구조단백질에 있어서 서로 차이를 나타내준다. 다음으로 단일클론항체가 인지하는 면역유도단백질인 150 kDa 단백질

Fig. 4. Western blotting analysis of structural polypeptides of tumor-inducing iridovirus and mortality-associated iridovirus. Purified virions were analyzed on 10% SDS-PAGE and polypeptides on the gels were transferred onto NC papers. The NC papers were incubated with monoclonal antibody AA3. Lane 1, mortality-associated iridovirus; 2, tumor-inducing iridovirus collected at Southeastern coast of Korea; lane 3, tumor-inducing iridovirus collected at Southern coast of Korea. An arrow indicates the 150 kDa protein.

을 비교하여 보았다. Iridovirus의 구조단백질 종류가 30가지 이상이고 분자량 150 kDa 부분에 존재하는 단백질의 양이 매우 적기 때문에 SDS-PAGE 상에서는 비교하기가 어려웠다. 이를 단일 클론항체 IR-AA3를 사용한 Western blotting 실험을 통하여 비교하여 보았다. 그 결과 종양을 유발하는 iridovirus 두종류 모두와 분자량 150 kDa의 구조단백질에서 강한 반응을 나타낸 반면, 폐사를 유발하는 iridovirus는 모든 구조단백질이 전혀 반응을 보이지 않았다(Fig. 4). 이 결과로부터 종양을 유발하는 iridovirus는 지역 및 종류에 관계없이 모두 150 kDa의 구조 단백질을 지니고 있으며, 또한 단일클론항체 IR-AA3가 인지하는 항원결정기를 지니고 있음을 알 수 있었다.

본 연구 결과로부터 종양을 유발하는 iridovirus와 폐사를 유발하는 iridovirus는 구조단백질의 조성 및 항원성에 있어서 차이가 있음을 확인할 수 있었다. 그리고 우리나라의 양식넙치에는 구조단백질의 전기영동상의 pattern을 기초로하여 두종류가 있는데, 이 두 종류 모두 150 kDa 구조단백질이 강한 면역유도 특성이 있으며, 이들의 항원성이 유사함을 알 수 있었다. 따라서 종양을 유발하는 iridovirus의 구조단백질중 150 kDa 단백질이 넙치의 피부종양에 대한 치료제 및 백신의 개발에 있어서 좋은 대상이 될 수 있음을 확인 하였다.

사 사

본 연구는 1995년도 농림수산부에서 시행한 농림수산특정연구사업의 연구비지원으로 수행되었습니다.

참고문헌

- Bang, J. D., Kim, J. W., Lee, S. D., Park, S. I., Chun, S. G., Jeong, C. S., and Park, J. W.: Humoral immune response of flounder to *Edwardsiella tarda*: the presence of various sizes of immunoglobulins in flounder. *Dis. Aquat. Org.*, 26: 197-203, 1996.
- Chua, I. H. C., Ng, M. L., Ng, K. L., Loo, J. J. and Wee, J. Y.: Investigation of outbreaks of a novel disease, sleepy grouper disease, affecting the brown spotted grouper, *Epinephelus tauvina* Forskal. *J. Fish Dis.*, 17: 417-427, 1994.
- Evelyn, T. P. T. and Traxler, G. S.: Vial erythrocytic necrosis: natural occurrence in Pacific salmon and experimental transmission. *J. Fish Res. Bd. Can.*, 35: 903-904, 1978.
- Flugel, R. M., Darai, G., and Gelderblom, H.: Viral proteins and adenosine triphosphate phosphohydrolyase activity of fish lymphocystis disease virus. *Virology*, 122: 48-55, 1982.
- Franck, I. R., Fauquet, C. M., Knudson, D. C. and Brown, F.: Classification and nomenclature of viruses. *In* Fifth Report the International Committee and Taxonomy of Viruses, pp. 132-136, Springer-Verlag, Wien & New York, 1991.
- Inouye, K., Yamano, K., Maeno, Y., Nakajima, K., Matsuoka, M., Wada, Y. and Sorimachi, M.: Iridovirus infection of cultured red sea bream, *Pagrus major*. *Fish Pathol.*, 27: 19-27, 1992.
- Laemmli, U. K.: Cleavage of the structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T 4. *Nature*, 227: 680-685, 1970.
- Laird, M. and Bullock, W. L.: Marine fish hematozoa from new Brunswick and New England. *J. Fish Res. Bd. Can.*, 26: 1075-1102, 1969.
- Langdon, J. S., Humphrey, J. D. and Williams, L. M.: First virus isolation from Australian fish: an iridovirus-like pathogen from redfin perch, *Pecca fluviatilis* L. *J. Fish Dis.*, 9: 263-268, 1986.
- Lopez, D. M., Sigel, M. M., Beashley, A. R. and Dietrich, L. S.: Biochemical and morphological studies of lymphocystis disease. *Natl. Cancer Inst. Monogr.*, 31: 223-236, 1969.
- Mao, J., Hedrick, R. P., and Chinchar, V. G.: Molecular characterization, sequence analysis, and taxonomic position of newly isolated fish iridoviruses. *Virology*, 229(1): 212-220, 1997.
- Miyata, M., Matsuno, K., Jung, S. J., Danaydol, Y. and Miyazaki, T.: Genetic similarity of iridoviruses from Japan and Thailand. *J. Fish Dis.*, 20: 127-134, 1997.
- Nakajima, K. and Sorimechi, M.: Biological and physico-chemical properties of the iridovirus isolated from cultured red sea bream, *Pagrus major*. *Fish pathol.*, 29: 29-33, 1994.
- Park, M. A., Sohn, S. G., Cha, S. J., Kim, H. J., Do, J. W., Kim, S. M., Oh, M. J. and Park, J. W.: Lymphocystis disease virus isolated from cultured flounder in Korea. *J. Fish Pathol.*, 1998 (submitted).
- Roberts, R. J.: Experimental pathogenesis of lymphocystis in the plaice (*Pleuronectes platessa*). *In* *Wildlife Diseases*, Page, L. A., Plenum, London, 1976.
- Schnitzler, P. and Darai, G.: Characterization of the

- repetitive DNA elements in the genome of fish lymphocystis disease virus. *Virology*, 172: 32-41, 1989.
- Tidona, C. A., and Darai, G.: The complete DNA sequence of lymphocystis disease virus. *Virology*, 230: 207-216, 1997.
- Walker, R. and Sherburne, S. W.: Piscine erythrocytic necrosis virus in Atlantic cod, *Gadus morhua*, and other fish: ultrastructure and distribution. *J. fish Res. Bd. Can.*, 34: 1188-1195, 1997.
- Willis, D. B.: Taxonomy of iridoviruses. In *Molecular Biology of Iridoviruses*, pp. 1-12, Darai, G., Kluwer, Academic Publishers, Boston, Dordrecht and London, 1990.

Comparisons of Immunological Characteristics of Iridoviruses Isolated from Cultured Flounder in Korea

**Jeong-Wan Do, Seung-Ju Cha, Hyun-Ju Kim, Wha-Ja Cho,
Chang-Hoon Mun, Jeong-Min Park, Myoung-Ae Park*, Sang-Gyu Sohn*,
Jong-Deuk Bang* and Jeong-Woo Park**

Department of Biological Science, University of Ulsan, Ulsan 680-749, Korea

**Pathology Division, National Fisheries Research and Development AgencyKijang, Pusan, 629-900, Korea*

In order to determine whether the tumor-inducing iridoviruses and the mortality-associated irido- viruses from cultured marine fish in Korea belong to same type, we compared the immunological characteristics of these viruses. The electrophoretical pattern of structural proteins of the tumor-inducing was different from that of the mortality-associated iridoviruses. The antigenicity of structural proteins of these viruses were identified by Western blotting using two monoclonal antibodies against tumor-inducing iridovirus. Two monoclonal antibodies recognized a 150 kDa structural protein of tumor-inducing iridoviruses showed. However, the structural proteins of the mortality-associated iridoviruses did not react with these monoclonal antibodies. These results demonstrate that the antigenicity of the structural proteins of tumor-inducing iridovirus is different from that of mortality-associated iridovirus, indicating that these two iridoviruses belong to different types.

Key words: Immunological characterization, Tumor-inducing iridovirus, Mortality-associated iridovirus, Immunogen