

## 한타바이러스와 서울바이러스의 M 및 S 분절의 염기서열 및 계통분석

고려대학교 의과대학 미생물학교실, 바이러스병연구소<sup>1</sup>, 고려대학교 대학원<sup>2</sup>

송기준<sup>1</sup> · 양정인<sup>2</sup> · 김상현<sup>1</sup> · 김종현<sup>1</sup> · 이영은<sup>1</sup> · 백락주<sup>1</sup> · 이용주<sup>1</sup> · 송진원<sup>1\*</sup>

=Abstract=

### Sequence and Phylogenetic Analyses of the M and S Genomic Segments of Hantaan and Seoul Viruses

Ki-Joon Song<sup>1</sup>, Jeong-In Yang<sup>2</sup>, Sang Hyun Kim<sup>1</sup>, Jong Hun Kim<sup>1</sup>,  
Young Eun Lee<sup>1</sup>, Luck Ju Baek<sup>1</sup>, Yong-Ju Lee<sup>1</sup> and Jin-Won Song<sup>1\*</sup>

Department of Microbiology, College of Medicine, Institute for Viral Diseases<sup>1</sup>,  
Korea University Graduate School<sup>2</sup>, Korea University, Seoul 136-705, Korea

Hantaan (HTN) and Seoul (SEO) viruses, murid rodent-borne hantaviruses, are known to causes hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) in Korea. To determine the genomic diversity and molecular phylogeny of HTN and SEO viruses found in Korea, we amplified for part of M and S genomic segments of hantaviruses from sera of HFRS patients and lung tissues of hantavirus seropositive striped-field mice. Both M and S segment of 16 HTN and 2 SEO viruses were amplified by nested reverse transcription-polymerase chain reaction. Based on 324 nucleotides in the M genomic segment, the HTN and SEO strains showed 93.8~100% and 99.1~99.4% homologies, respectively. Similarly, based on 230 nucleotides in the S genomic segment, HTN and SEO strains showed 90.9~100% and 100% homologies, respectively. Phylogenetic analysis of M and S segments indicated that HTN strains could be divided into at least two main groups in M and S trees and the sequence differences detected among the S and M genomic segments of HTN viruses are consistent with reassortment having taken place between HTN virus strains.

**Key Words:** Hantaan virus, Seoul virus, Reassortment

### 서 론

한타바이러스 속은 그 원형 (prototype)인 등줄쥐 (*Apodemus agrarius*)를 숙주로 하는 한타바이러스 (Hantaan, HTN)가 1976년에 처음 발견된 [13] 이후 지속적으로 새로운 종들이 규명되어 30여개

이상의 각기 다른 종들을 포함하는 큰 그룹으로 확대되었으며 앞으로도 새로운 종들이 전세계적으로 지속적으로 발견될 것으로 예상되고 있다.

한타바이러스 속 (genus)의 여러 바이러스들은 envelope 및 표면돌기 (surface projection)를 가진 약 100nm 크기의 입자로서 [14,26] 각각  $2.7 \times 10^3$ ,  $1.2 \times 10^3$  및  $0.6 \times 10^3$  KDa 크기의 Large (L), Medium

접수 : 1998년 11월 24일

\*책임저자: 송진원, 서울시 성북구 안암동 5가 고려대학교 의과대학 미생물학교실. Tel.: (02) 920-6408 Fax.: (02) 923-3645 E-mail: jwsong@kuccnx.korea.ac

(M), Small (S)의 3개의 분절로된 negative polarity, single-stranded RNA genome을 갖고 있으며, 이들 각 분절로부터 유래된 transcriptase, 표면항원인 G1, G2 당단백 및 nucleocapsid 단백질로 바이러스가 구성되며 internal matrix (M) 단백질 없는 특성을 갖고 있다 [5,16,17]. 50~53kDa의 nucleocapsid 단백질과 65~74 및 55~60kDa의 G1, G2 당단백질은 한탄바이러스속의 혈청학적 분류에 중요한 항원으로서 종 (species) 간의 대부분의 교차반응은 nucleocapsid 단백질에 반응하는 항체에 의해 발생하며 G2 당단백질은 약한 교차반응을 나타내고 G1 당단백질은 교차반응을 일으키지 않는다 [18,19]. 표면항원인 G1, G2 당단백질 가운데 항원결정기의 대부분이 G2 당단백에 의한 것으로 연구 보고되고 있으며 [27], 단세포균항체를 이용한 연구결과 G1에 2개, G2에 7개의 항원결정기가 존재하는 것으로 밝혀져 있다 [9]. 또한 한탄바이러스 각 분절은 동일한 3' 말단 염기서열을 갖고 있고 이에 상보적인 5' 말단 염기서열이 안정적인 panhandle 구조를 형성하며 각각 single open reading frame을 갖고 있는 것으로 알려져 있다 [1,18,19,20]. 이러한 특성을 지닌 한탄바이러스의 L, M, S 각 분절 중 M 및 S 분절에 대한 연구는 매우 활발히 진행되어 왔으며, 본 교실에서도 국내에서 유행하고 있는 한탄바이러스 및 서울바이러스의 M 분절에 대한 염기서열 및 계통분석 결과를 보고 한 바 있다 [11,21]. 그러나 국내에서 유행하고 있는 한탄바이러스 및 서울바이러스의 S 분절에 대한 염기서열 및 계통분석에 대한 연구는 아직 보고된 바 없어 본 연구에서는 한탄바이러스 및 서울바이러스의 M 및 S 분절의 염기서열을 분석하고 M 및 S 분절의 계통분석 결과를 상호 비교하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험대상

1994년 3월~1996년 12월 기간에 고려대학교 의과대학 미생물학교실, 바이러스병연구소에 열성감염성질환이 의심되어 검사의뢰 되는 환자혈청 중 간접형광항체 검사에서 한탄바이러스 항체 양성으로 판명된 1,030건의 환자혈청과 경기도 안성, 연천, 운천, 의정부와 강원도 인제, 충청북도 음성, 전라북도 무주, 전라남도 담양, 함평, 무안, 화순, 장흥, 순천, 광양 등에서 채집한 등줄쥐

362수 중에서 한탄바이러스 항체양성을 보인 48수의 등줄쥐 폐조직을 대상으로 하였다.

### 2. 한탄 및 서울바이러스 RNA 분리

간접형광항체법상 항체양성으로 판명된 환자혈청과 등줄쥐 폐조직 현탁액 0.1ml을 각각 RNAZOL™ B (CINNA/ BIOTEX, Houston, TX) 0.8ml로 균질화시킨 후 Eppendorf tube에 옮기고 chloroform 80μl를 넣고 잘 섞은 다음 4℃에 5분간 방치하였다. 4℃에서 12,000 x g로 15분간 원심분리하여 얻은 상층액에 0.4ml의 isopropanol을 첨가하여 얼음수조에 45분간 방치한 후 위와 동일한 방법으로 원심분리하여 RNA를 침전시켰다. 상층액을 버리고 1ml 75% ethanol로 세척한 후 RNA 침전물을 진공건조하여 20μl의 diethylpyrocarbonate (DEPC) 처리한 증류수에 용출시켜 -70℃에 보관하였다.

### 3. Primers

본 연구에서는 한탄바이러스 및 서울바이러스 M 분절상의 G2 당단백 coding 부위와 S 분절상의 뉴클레오펜시드 단백질 coding 부위의 4쌍의 primer를 사용하였다. M 분절의 cDNA 합성을 위해서 HTN G2F1 (5'-TGGGCTGCAAGTGC-3', 1970-1983)을 이용한 후 nested RT-PCR법의 일차 primer쌍으로 HTN G2F1과 HanG2-2 (5'-ACATGCTGTACAGCCTGTGCC-3', 2380-2360)을 이차 primer쌍으로 HanG2-1 (5'-TGGGCTGCAAGTGCATCAGAG-3', 1970-1990)과 HanG2-4 (5'-ATGGATTACAACCCAGCTCG-3', 2342-2322)를 사용하였다. S 분절의 cDNA 합성을 위해서 HTN S1 (5'-TAGTAGTAGACTCC-3', 1-14)을 이용한 후 nested RT-PCR법의 일차 primer쌍으로 F410 (5'-ATCTTACATCCTTTGTCGTC-3', 410-431)과 S6 (5'-AGCTCDGGATCCATRTCATC-3', 1215-1234)를, 이차 primer쌍으로는 S4 (5'-GAYCGD TGTCMCCAACATG-3', 973-992)와 R1222 (5'-AGTTGTCCACAGCCTCCTTT-3' 1203-1222)를 사용하였다.

### 4. 역전사 중합효소연쇄반응

반응액 20μl 당 분리한 RNA 5μl, 100 nM primer, 20unit RNase inhibitor (Perkin Elmer Cetus, Norwalk, CT), 50mM Tris-HCl (pH 8.3), 75mM KCl, 3mM MgCl<sub>2</sub>, 1mM DTT, 250μM dNTPs, 100unit Superscript II (GIBCO BRL, Grand Island, NY)를

넣고 mineral oil을 첨가한 후 95℃에서 3분간 annealing하고 42℃에서 45분간 반응하였다.

중합효소연쇄반응의 일차반응은 반응액 100μl 당 cDNA 산물 2μl, 50mM 일차 primer쌍, 10mM Tris-HCl (pH 8.8), 50mM KCl, 0.1% Triton X-100, 4mM MgCl<sub>2</sub>, 200μM dNTPs, 1unit DynaZyme (Finzyme OY, Finland)를 넣고 mineral oil을 첨가한 후 DNA thermal cycler 480 (Perkin Elmer Cetus, Norwalk, CT)로 35회 주기로 증폭하였다. 증폭에 사용한 주기는 94℃ 1분, 55℃ 1분, 72℃ 3분이며 첫번째 주기는 94℃ 5분, 마지막 주기는 72℃ 10분을 사용하였다. 이차반응은 위와 동일한 방법으로 이차 primer쌍을 이용하여 증폭한 후 1% agarose gel상에서 PCR 산물을 확인하였다.

#### 5. 한탄바이러스 및 서울바이러스 cDNA의 염기서열 결정

ABI PRISM™ Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (PERKIN ELMER)를 사용하여 반응액 20μl 당 Terminator Ready Reaction Mix 8μl, 1μM primer 3.2μl와 30~100ng template을 첨가하고 mineral oil을 가하여 thermal cycler로 25회 주기로 증폭하였다. 증폭에 사용하는 주기는 96℃ 30초, 50℃ 15초, 60℃ 4분이며 첫번째 주기는 96℃ 5분을 사용하고, 증폭 종료 후에는 위 반응액을 3M Sodium acetate (pH 4.6) 2μl, 95% ethanol 50μl와 혼합하여 얼음위에 10분간 방치한뒤 11000 rpm에서 20분간 원심분리하고 침전물을 70% ethanol 250μl로 세척한 후 진공건조 시킨뒤 6μl loading buffer (deionized formamide 5μl, 25mM EDTA (pH 8.0) containing 50mg/ml blue dextran 1μl)에 용해하였다. Loading 직전에 90℃에서 2분간 변성 시킨후 1.5μl씩을 4% polyacrylamide sequencing gel에서 3000V로 전기영동하고 ABI PRISM™377 DNA Sequencer 로 염기서열 결과를 판독하였다.

#### 6. 한탄 및 서울바이러스 염기서열 및 deduced 아미노산서열의 분석

LaserGene program (DNASTAR, Madison, WI)을 사용하여 한탄바이러스 및 서울바이러스의 M, S 분질의 염기서열 및 deduced 아미노산서열을 비교분석하였으며 PAUP Verson 3.1 (Illinois Natural History Survey, Champaign, IL) [22]을 이용하여 이들 서열들의 계통수를 작성한 후 한탄 및 서울바이러스 M, S 분질간의 연관성을 분석하였다. 한

탄바이러스와 서울바이러스의 계통수 작성을 위하여 한탄바이러스 76~118주 [19] 및 SN/Aa94~2주 [11]와 서울바이러스 80~39주 [12], SR~11주 [10]들을 비교분석에 사용하였다.

## 결 과

### 1. 한탄바이러스 및 서울바이러스 M, S 분질의 증폭

간접형광항체법상 한탄바이러스에 대한 항체가 양성으로 판명된 1,030건의 환자혈청과 48수의 등줄쥐 중에서 역전사 중합효소연쇄반응법으로 M과 S 분질 모두 증폭이 확인된 검체는 한탄바이러스의 경우 환자혈청 11건 (1994년 7건, 1995년 2건, 1996년 2건) 및 등줄쥐 폐조직 5건 (경기도 양주 2건, 송내리 1건, 포천 1건, 충청남도 논산 1건)이었으며 서울바이러스의 경우에는 환자혈청 2건 (1994년 1건, 1996년 1건)이었다.

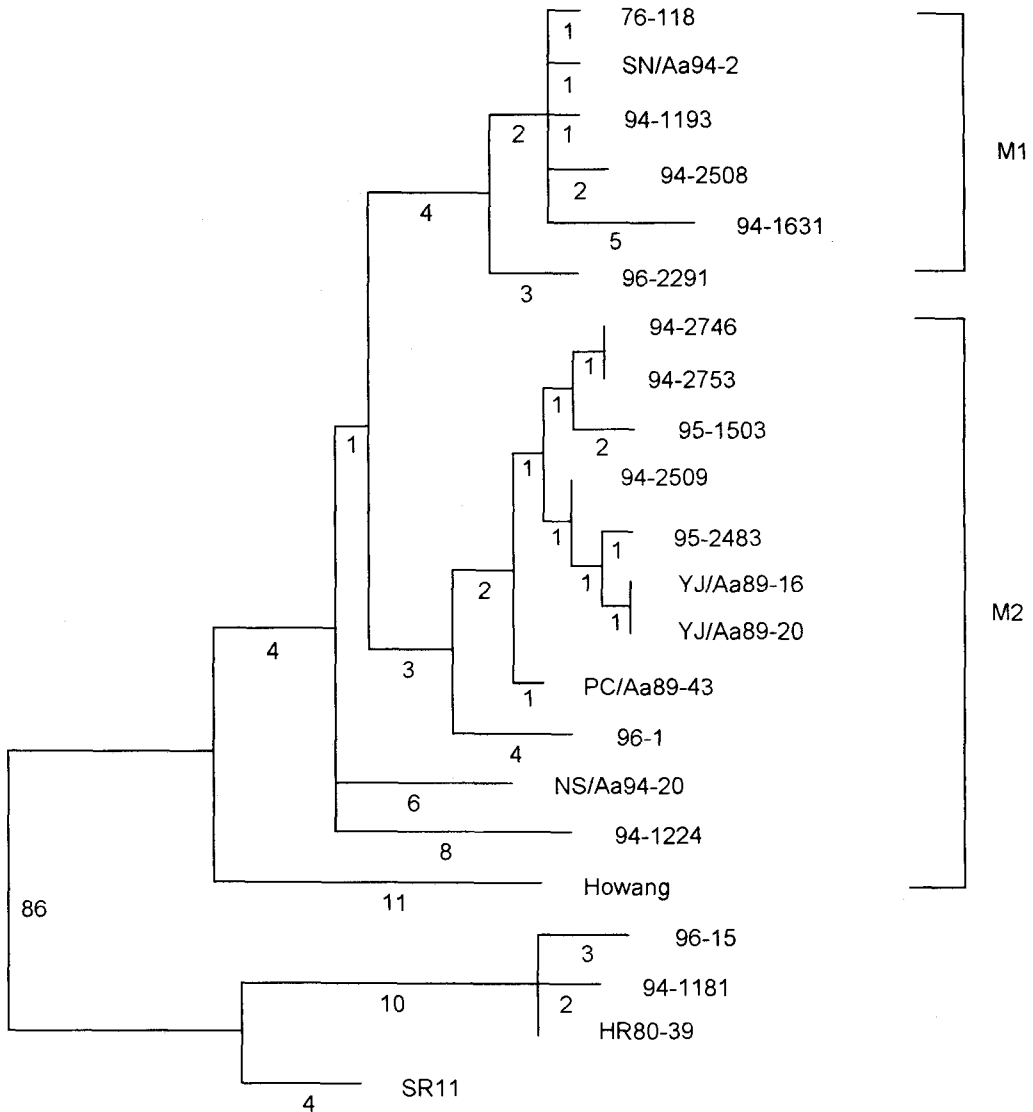
### 2. 한탄바이러스 및 서울바이러스 M, S 분질의 염기서열 특성

환자 및 등줄쥐에서 얻은 16건의 한탄바이러스 M 분질 324bp 염기서열을 분석한 결과 한탄바이러스의 원형인 76~118주와 비교시 2~19개의 변이를 나타내었으며 각 염기서열 상호간에는 동일하거나 23개 이하의 변이를 보여 92.9~100%의 동질성을 보였다. 서울바이러스 M 분질 319bp 염기서열에서는 원형인 HR80~39주와 비교시 2~3개의 변이만이 관찰되어 99.1~99.4%의 높은 동질성이 관찰되었으며 일본에서 분리된 서울바이러스인 SR11주와 비교시에도 14~15개의 변이로 95.3~95.6%의 높은 동질성을 나타내었다.

230bp의 S 분질 염기서열 분석 결과 한탄바이러스의 경우 원형인 76~118주와 비교시 5~21개의 변이를 나타내었으며 각 염기서열 상호간에는 동일하거나 25개 이하의 변이를 보여 89.1~100%의 동질성을 보였다. 서울바이러스 S 분질 염기서열에서는 원형인 HR80~39주와 동일한 염기서열이 관찰되었으며 SR11주와 비교시에도 2개의 변이만이 관찰되어 99.1%의 높은 동질성을 나타내었다.

한편 한탄바이러스 M과 S 분질의 염기서열상에서 환자유래 염기서열과 등줄쥐 유래 염기서열간의 구분이 되는 특이한 변이는 관찰되지 않았다.

송기준 등: 한탄 및 서울바이러스 계통분석



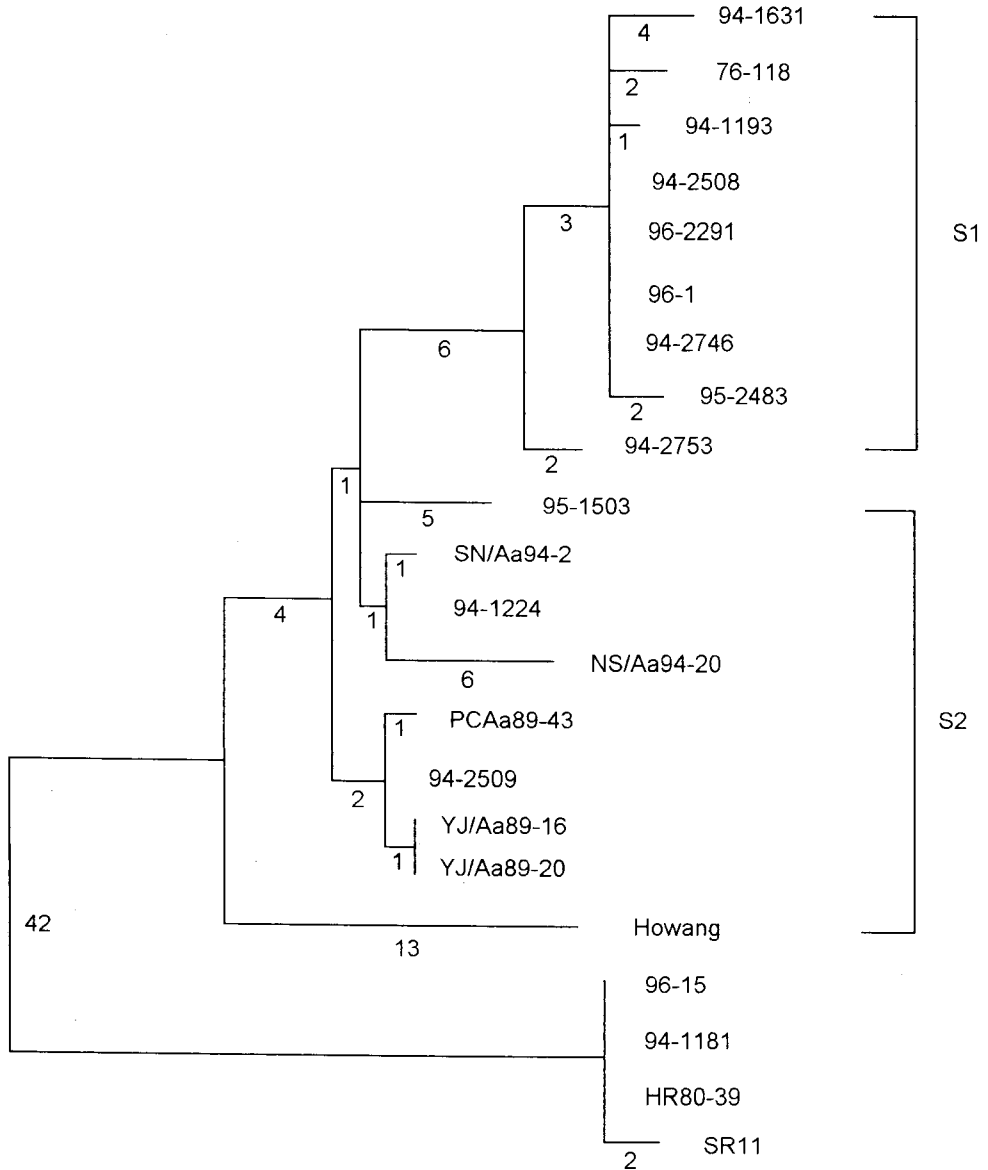
**Figure 1.** Phylogenetic tree based on the 319bp regions of the 5' G2 encoding M segment of HTN and SEO virus strains from Korean human and *Apodemus agrarius*, and corresponding sequences from Korea (76-118 for HTN, HR80-39 for SEO), and Japan (SR11 for SEO).

3. 한탄바이러스 및 서울바이러스 M, S 분절의 deduced 아미노산서열 특성

환자 및 등줄쥐에서 얻은 16건의 한탄바이러스 M 분절 108개의 deduced 아미노산서열을 분석한 결과 76~118주와 비교시 및 각 아미노산서열 상호간에는 0~5개의 변이를 나타내어 95.4~100%의 동질성을 보였다. 서울바이러스 M 분절

에서는 원형인 HR80~39주와 비교시 0~2개의 변이로 98.1~100%의 높은 동질성이 관찰되었으며 SR11주와 비교시에도 2~4개의 변이로 96.3~98.1%의 높은 동질성을 나타내었다.

88개의 S 분절 아미노산서열 분석 결과 한탄바이러스의 경우 76~118주와 비교시 1~5개의 변이를, 각 염기서열 상호간에는 동일하거나 6개 이하의 변이를 보여 93.2~100%의 동질성을 보였



**Figure 2.** Phylogenetic tree based on the 230bp regions of the 3' N encoding S segment of HTN and SEO virus strains from Korean human and *Apodemus agrarius*, and corresponding sequences from Korea (76-118 for HTN, HR80-39 for SEO), and Japan (SR11 for SEO).

다. 서울바이러스 S 분절 아미노산서열은 HR80~39주, SR11주 및 환자에서 얻은 서열이 모두 일치하였다. 한편 S 분절 아미노산서열상에서 한타바이러스 속의 원형인 76~118주를 제외한 서울바이러스를 포함한 모든 아미노산 서열상의 379위치에서 76~118주에서 관찰되는 glycine (Gly, G)이 aspartic acid (Asp, D)로 변환된 양상이 관찰되었다.

#### 4. 한타바이러스 및 서울바이러스 M, S 분절의 계통분석

PAUP법에 따라 한타바이러스 및 서울바이러스의 M 분절상 319bp, S 분절상 230bp 염기서열에 근거하여 계통수를 작성하였다 (Figure 1, 2). 각 계통수는 mid-portion rooting으로 작성하였으며 각 branch의 상단에는 1000 resampling에 의한 boots-

trap의 확률을 퍼센트로 표시하였고 하단에는 염기의 변화 갯수를 표시하였다. 각 branch의 길이는 염기의 변화 갯수에 비례하여 표시되었다.

M 및 S분절에 의한 계통수에서 (Figure 1, 2) 한탄바이러스와 서울바이러스는 각기 독자적인 그룹을 형성하였으며 한탄바이러스는 M 분절에 의한 계통수에서는 M1과 M2의 두그룹으로, S 분절에 의한 계통수에서는 S1과 S2의 두그룹으로 분리되는 양상을 나타내었으며, 서울바이러스는 우리나라 서울바이러스와 일본 서울바이러스가 분리되는 양상을 보였다.

M 및 S 분절에 따른 계통수를 상호 비교분석한 결과 한탄바이러스의 경우 M 및 S 분절에서 관찰되는 두그룹이 서로 연관성을 나타내어 M1 그룹에 속하는 바이러스들은 S1 그룹과, M2 그룹에 속하는 바이러스들은 S2 그룹과 밀접한 연관성을 나타내었다. 그러나 일부 바이러스들은 M 및 S 분절에서 각기 다른 그룹에 위치하는 특이한 양상을 보였다. 예를 들면 M1 그룹에 위치하였던 SN/Aa94-2인 경우 다른 M1 그룹에 속하였던 바이러스들과는 달리 S2 그룹에 위치하고 있었으며 M2 그룹에 속하였던 11주의 한탄바이러스 중 4주는 S1 그룹에 위치하였다.

## 고 찰

최근 한탄바이러스에 대한 연구는 새로운 혈청형의 바이러스 규명과 진단법의 개발, 병인성에 대한 연구 및 치료약의 개발과 예방백신의 개선 등 다양하게 진행되고 있으며 분자유전학적인 접근방법이 이들 연구의 근간을 구성하고 있다. 1986년 Schmaljohn 등 [18]에 의해 한탄바이러스의 S분절에 대한 염기서열이 최초로 보고된 이래 한탄바이러스 속의 여러 혈청형에 대한 염기서열이 지속적으로 규명되었으며 염기서열에 따른 각 바이러스의 구분은 기존의 혈청학적인 분류와 일치하였다. 이러한 염기서열에 대한 정보는 한탄바이러스의 유전자 구조분석과 그 발현 및 치료제와 백신의 개발, 한탄바이러스의 종분화한 시기분석과 한탄바이러스 원형의 발생 추정 지역 및 세계적 전파경로 등의 연구에 기초자료로서의 활용성이 높아 국내외에서 여러 한탄바이러스들에 대한 염기서열 정보가 활발히 보고되고 있다. 이러한 염기서열 분석 결과를 보면 여러 한탄바이러스들은 각기 독자적으로 진화하여 각 지

역적인 특성을 나타내고 있으며 그 숙주동물과 밀접하게 연관되어 있는 것을 알 수 있다. 한탄바이러스 염기서열에 따라 작성된 계통수 상에서 구대륙에 분포하는 쥐아과를 숙주동물로 하는 한탄바이러스들과 신대륙에 분포하는 아메리카쥐아과를 숙주동물로 하는 한탄바이러스들, 그리고 구대륙 및 신대륙에 모두 분포하는 발쥐아과를 숙주동물로 하는 한탄바이러스들은 각기 다른 계통그룹으로 명확하게 구분된다. 즉 구대륙 유래의 쥐아과를 숙주로 하는 한탄바이러스, 서울바이러스, 벨그레이드바이러스 및 타일랜드바이러스들이 독자적인 계통그룹을 형성하고 있으며, 신대륙의 한탄바이러스를 대표하는 신놈브레바이러스를 포함하는 아메리카쥐아과에서 분리된 새로운 한탄바이러스들이 또다른 독자적인 계통그룹을 형성하고, 구대륙 및 신대륙에 모두 분포하는 발쥐아과에서 유래한 푸말라바이러스, 프로스펙트힐바이러스 등은 구대륙 및 신대륙의 지역적 특성에 관계없이 같은 발쥐아과 유래 바이러스들이 또다른 독자적인 계통그룹을 형성한다.

이러한 양상은 한탄바이러스의 조상형 바이러스가 쥐과의 조상형 쥐의 종분화에 병행하여 분화하였고 따라서 현재와 같은 분포 및 여러종으로 발견되는 것으로 추정된다. 이러한 한탄바이러스의 독자적인 진화과정은 국내에서 유행하고 있는 한탄바이러스 및 서울바이러스의 염기서열에 따른 계통분석 결과에서도 잘 나타난다. 먼저 구대륙의 쥐아과의 대표적인 종의 하나인 등줄쥐를 숙주로 하는 한탄바이러스의 염기서열 분석에 따른 계통수상에서 우리나라 중부지역에 분포하고 있는 한탄바이러스들은 중국에서 분리된 한탄바이러스들과 명확하게 구분되어 같은 한탄바이러스 내에서도 지역적 분포에 따른 독자적인 진화양상을 보여주고 있으며, 한탄바이러스 중에서 유일하게 전세계적으로 분포하고 있는 서울바이러스의 계통분석에서는 한탄바이러스의 계통분석 결과와는 달리 지역적 장애 보다는 원래 구대륙 유래인 집쥐가 인류의 이동에 따라 구대륙에서 신대륙으로 이주하였고 현재에도 각종 운송수단에 편승하여 전세계적으로 이동하고 있는 집쥐의 분포, 전파경로, 생활상 등과 보다 밀접한 연관성을 나타내고 있다 [21].

인플루엔자바이러스, 레오바이러스, 분야바이러스 및 아레나바이러스 등과 같이 그 genome이 분절로 나누어진 바이러스는 각 분절간의 교환

에 의해 유전적 변이가 발생하는 reassortment 현상이 관찰된다. 8개의 분절로 구성된 genome을 갖고 있는 인플루엔자바이러스의 reassortment 현상은 1949년 각기 다른 HA 혈청형과 neurotropism을 갖고 있는 인플루엔자바이러스 A형 두바이러스를 마우스 뇌내에 혼합감염시킨 실험에서 그 유전적 형질교환이 관찰되어 최초로 보고되었으며 [4] 인플루엔자바이러스는 이러한 과정을 통해 항원대변이 (antigenic shift)가 발생하여 전세계적인 대유행을 일으킨다 [25]. 레오바이러스 속의 레오바이러스와 로타바이러스도 10~12개의 분절로 구성된 genome을 갖고 있으며 자연 상태에서 지속적으로 많은 변이주들이 발견되고 있다. 한타바이러스가 속해 있는 분야바이러스과의 약 300여종의 바이러스들의 분류에는 중화항체검사, 혈구응집저지반응, 보체결합반응 등의 일반적인 혈청학적 검사법들이 주로 사용되어 왔으며 중화항체검사와 혈구응집반응은 M 분절 유래의 당단백을 주로 검지하며 보체결합반응은 S 분절 유래의 캡시드단백을 주로 검지한다. 따라서 중합효소연쇄반응 및 염기서열 분석 등의 분자생물학적 방법들의 발전 이전에도 이러한 혈청학적 검사상의 성적이 서로 일치하지 않는 현상을 통하여 분야바이러스과에 속하는 여러 바이러스들에서 reassortment 현상이 자연상태에서 발생함이 제기되었으며 [6,15,24] 분자유전학적인 방법에 의해 분야바이러스, 플레보바이러스, 토스포바이러스 등에서 reassortment 현상이 여러 그룹들에 의해 보고되었고 [2,3,7,23] 한타바이러스 속 (genus) 내에서도 신놈브레바이러스의 경우에는 reassortment 현상이 최근에 보고되었다 [8]. 신놈브레바이러스의 reassortment 연구결과를 보면 신놈브레바이러스를 조사한 지역과 동일지역에 분포하는 프로스펙트힐 유사바이러스나 엘모로캐년바이러스와의 reassortment는 관찰되지 않았으며 reassortment 양상은 무작위적으로 발생하지 않고 M 분절의 reassortment가 주로 발생하는 것으로 보고되었다. 본 실험에서도 한타바이러스와 서울바이러스간의 reassortment 현상은 관찰되지 않았으며 한타바이러스의 M 및 S 분절간에 reassortment 현상이 상당수 발생한 것으로 추정되었다. 그러나 국내 한타바이러스 및 서울바이러스의 reassortment의 발생빈도와 발생양상의 정확한 규명을 위해서는 보다 지속적인 연구를 통하여 더욱 많은 한타 및 서울바이러스 주들의 염기서열을 분석하

고 M 및 S 분절이외에 L 분절에 대한 조사도 병행하며 한타바이러스와 서울바이러스간의 reassortment의 발생 가능성에 대한 관찰도 수행되어야 할 것이다.

## 결 론

간접형광항체법상 한타바이러스에 대한 항체가 양성으로 판명된 1,030건의 환자혈청과 48수의 등줄쥐 중에서 역전사 중합효소연쇄반응법으로 M과 S 분절 모두 증폭이 확인된 한타바이러스 16건과 서울바이러스 2건을 대상으로 M 및 S 분절의 염기서열과 아미노산서열의 분석 및 계통분석을 시행하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. M 분절의 염기서열상에서 한타바이러스 염기서열들은 92.9~100%의 동질성을 나타내었고 서울바이러스 염기서열들은 99.1~99.4%의 동질성을 보였다.

2. S 분절의 염기서열상에서 한타바이러스 염기서열들은 89.1~100%의 동질성을 나타내었고 서울바이러스 염기서열들은 99.1%의 동질성을 보였다.

3. M 분절의 아미노산서열상에서 한타바이러스 아미노산서열들은 95.4~100%의 동질성을 나타내었고 서울바이러스 아미노산서열들은 98.1~100%의 동질성을 보였다.

4. S 분절의 아미노산서열상에서 한타바이러스 아미노산서열들은 93.2~100%의 동질성을 나타내었고 서울바이러스 아미노산서열들은 일본에서 분리된 SR11주를 포함하여 동일한 서열이 관찰되었다.

5. PAUP법으로 작성된 염기서열의 계통수상에서 한타바이러스 염기서열들은 각 분절에 따른 그룹형성에서 밀접한 연관성을 나타내었다.

이상의 결과로 서울바이러스는 본 연구에서 분석된 M과 S 분절 부위에서는 유사한 변이정도를 보이나 한타바이러스의 경우에는 S 분절이 M 분절에 비해 높은 변이를 나타내고 있었으며 한타바이러스의 경우에는 reassortment에 의한 분절간의 이동양상이 발생하고 있는 것으로 사료되었다.

## 참 고 문 헌

1. Antic D, Lim BU, Kang CY: Nucleotide sequence and coding capacity of the large (L)

- genomic RNA segment of Seoul 80-39 virus, a member of the hantavirus genus. *Virus Res* **19**: 47-58, 1991.
2. **Best R**: Tomatospotted wilt virus. *Adv. Virus Res* **13**: 65-146, 1968.
  3. **Bishop D**: Genetic potential of bunyaviruses. *Curr Top Microbiol Immunol* **86**: 1-33, 1979.
  4. **Burnet FM, Bull DR**: Recombination of characters between two influenza virus strains. *Aust J Sci* **12**: 109-110, 1949.
  5. **Elliott LH, Kiley MP, McCormick JB**: Hantaan virus: Identification of viron proteins. *J Gen Virol* **65**: 1285-1293, 1984.
  6. **Fields BN, Henderson BE, Coleman PH, Work TH**: Pahyokee and Shark river, two new arboviruses related to Patois and Zegla from the Florida Everglades. *Am J Epidemiol* **89**: 222-226, 1969.
  7. **Gentsch J, Bishop DHL**: Recombination and complementation between temperature-sensitive mutants of a bunyavirus, snoeshoe hare virus. *J Virol* **20**: 351-354, 1976.
  8. **Henderson WW, Monroe MC, Jeor SCS, Thayer WP, Rowe JE, Peters CJ, Nichol ST**: Naturally occurring Sin Nombre virus genetic reassortants. *Virology* **214**: 602-610, 1995.
  9. **Kim TG**: Production and characterization of monoclonal antibodies to Hantaan virus. *J Catholic Medical College* **43**: 1119-1131, 1990.
  10. **Kitamura T, Morita C, Komatsu T, Sugiyama K, Arikawa J, Shiga S, Takeda H, Akao Y, Imaizumi K, Oya A, Hashimoto N, Urasawa S**: Isolation of virus causing hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) through a cell culture system. *Japan J Med Sci Biol* **36**: 17-25, 1983.
  11. **Lee ES, Kim SY, Choi YJ, Song K-J, Lee YJ**: Genetic analysis of Hantaan viruses isolated in Korea in 1994. *J Kor Soc Microbiol* **30**: 549-562, 1995.
  12. **Lee HW, Baek LJ, Johnson KM**: Isolation of Hantaan virus, the etiologic agent of Korean hemorrhagic fever from wild urban rats. *J Infect Dis* **146**: 638-644, 1982.
  13. **Lee HW, Lee PW**: Korean hemorrhagic fever I. Demonstration of causative antigen and antibodies. *The Korean Journal of Internal Medicine* **19**: 371-383, 1976.
  14. **McCormick JB, Sasso DR, Palmer EL, Kiley MP**: Morphological identification of the agent of Korean hemorrhagic fever (Hantaan virus) as a member of the *Bunyaviridae*. *Lancet* **I**: 765-768, 1982.
  15. **Peters CJ, LeDuc JW**: *Bunyaviridae*: Bunyavirus, Phleboviruses, and related viruses. In "Textbook of Human Virology" (RB Belshe, ed.), 2nd ed., pp. 571-614. Mosby St. Louis, 1991.
  16. **Schmaljohn CS, Dalrymple JM**: Analysis of Hantaan virus RNA: evidence for a new genus of *Bunyaviridae*. *Virology* **131**: 482-491, 1983.
  17. **Schmaljohn CS, Hastly SE, Dalrymple JM, LeDuc JW, Lee HW, von Bonsdorff CH, Brummer-Korvenkontio M, Vaheri A, Tsai TF, Regnery HL, Goldgaber D, Lee PW**: Antigenic and genetic properties of viruses linked to hemorrhagic fever with renal syndrome. *Science* **227**: 1041-1044, 1985.
  18. **Schmaljohn CS, Jennings GB, Hay J, Dalrymple JM**: Coding strategy of the S genome segment of Hantaan virus. *Virology* **155**: 633-643, 1986.
  19. **Schmaljohn CS, Schmaljohn AL, Dalrymple JM**: Hantaan virus M RNA: Coding strategy, nucleotide sequence, and gene order. *Virology* **157**: 31-39, 1987.
  20. **Schmaljohn CS**: Nucleotide sequence of the L genome segment of Hantaan virus. *Nucleic Acids Res* **18**: 6728, 1990.
  21. **Song K-J, Min MG, Kim SY, Choi YJ, Kim SY, Park KS, Lee YJ**: Sequence and phylogenetic analysis of the M genomic segment of Seoul virus. *J Kor Soc Microbiol* **31**: 489-502, 1996.
  22. **Swofford DL**: PAUP: phylogenetic analysis using parsimony, version 3.1. Computer program distributed by the Illinois Natural History Survey, Champaign, Illinois. 1993.
  23. **Turell MJ, Saluzzo JF, Tammariello RF, Smith JF**: Generation and transmission of Rift Valley fever viral reassortants by the mosquito



- Culex pipiens*. *J Gen Virol* **71**: 2307-2312, 1990.
24. **Ushijima H, Clerx-Van Haaster CM, Bishop DHL**: Analyses of Patois group bunyaviruses: Evidence for naturally occurring recombinant bunyaviruses and existence of immune precipitable and nonprecipitable nonvirion proteins induced in bunyavirus-infected cells. *Virology* **110**: 318-332, 1981.
  25. **Webster RG, Laver WG, Air GM, Schild GC**: Molecular mechanisms of variation in influenza viruses. *Nature* **296**: 115-121, 1982.
  26. **White JD, Shirey FG, French GR, Huggins JW, Brand OM, Lee HW**: Hantaan virus, aetiologic agent of Korean hemorrhagic fever, has Bunyaviridae-like morphology. *Lancet* **I**: 768-771, 1982.
  27. **Yamanishi K, Dantas Jr JR, Takahashi M, Yamanouchi T, Domae K, Takahashi Y, Tanishita O**: Antigenic differences between two viruses, isolated in Japan and Korea, that cause hemorrhagic fever with renal syndrome. *J Virol* **52**: 231-237, 1984.
-