

DNA 중합효소 연쇄반응을 이용한 한국형 젃소 면역결핍 바이러스의 검출

계명대학교 자연과학대학 응용과학부 미생물학전공

권 오 식*

국문초록: 젃소 면역결핍 바이러스 (BIV)는 젃소에게 여러 가지 면역결핍증후군을 야기하는 렌티 바이러스 (역전사효소 바이러스의 아군)로서 국내에서는 이에 대한 연구나 보고가 진행된 바 없다. 본 연구에서는 BIV가 다른 젃소의 역전사효소 바이러스인 젃소 백혈병바이러스 (BLV)와 동시 감염 되고 (5% 정도) 있는 점을 착안해 우선 대구·경북지역의 소의 BLV 감염실태를 조사해 BLV가 감염 된 젃소를 대상으로 BIV 감염상태를 알아보았다. 먼저 10회에 걸쳐 젃소와 황소 248마리의 혈액을 채취해 BLV와 BIV의 숙주세포가 되는 말초혈액 단핵구 (peripheral blood monocytes, PBMC)를 분리하 고, 이를 이용해 DNA 중합효소 연쇄반응 (PCR)과 Southern blot 분석법을 통해 BLV와 BIV의 존재여 부를 조사하였다. 그 결과 조사대상 젃소의 66.9% (81/121) 이상이 BLV에 감염되어 있음을 PCR 검사 를 통해 알 수 있었으며, 이는 Southern blot법으로 재차 확인되었다. 이 결과는 종래에 보고된 대구· 경북지역에서의 BLV 감염율인 27~30%보다 2배 이상 높은 수치로서, (1) 우리가 사용한 방법들 (PCR & Southern blot법)이 분자생물학적 연구방법인 관계로 고도의 특이성 (specificity)을 지녔기 때 문이며 (2) 지난 10년간 조사 대상지역인 대구·경북지역 내에서 젃소들에게 지속적으로 BLV 감염 이 증가하였기 때문으로 본다. 한편 이들 BLV positive PBMC의 chromosomal DNA를 사용해 BIV의 검출을 시도한 바, lot 3C 샘플은 BLV에 100% 감염되어 있음과 동시에 그 일부가 BIV에 감염되어 있음을 PCR 방법을 통하여 확인할 수 있었다.

서 론

Bovine immunodeficiency virus (BIV)는 젃소에 게 있어서 여러 가지 면역결핍증후군을 일으키 는 전염성 바이러스로 인간의 HIV와 비교될 수 있는 역전사효소 바이러스 (retrovirus)의 일종이 다^{8,14}). 이는 1970년대 초 많은 바이러스 연구자들 이 역전사효소 바이러스에 관심을 갖기 시작했 을 때 가축의 질병과 관련된 여러 역전사효소 바 이러스를 분리¹⁸⁾하면서 알려졌다. 젃소에 있어서 는 이미 bovine leukemia virus (BLV)라는 소에게 백혈병 (bovine leukosis; BL)을 야기하는 역전사효 소 바이러스⁹⁾가 낙농 및 유가공 산업에 심한 경 제적 피해를 가져다 주는 관계로 이미 지난 20~

30년간 많은 연구가 되어왔으나 BLV보다 잠복 기간이 길고, 질병 증상이 잘 알려져 있지 않은 BIV는 집중적인 연구가 이루어지지 못하였다.

따라서 초기의 BIV에 대한 연구는 *in vitro* 세포 배양 후 얻어지는 BIV 입자의 전자현미경 연구¹⁸⁾ 등 미미하였으나 미국 National Cancer Institute (NCI)의 Gonda와 그의 동료가 발표한 BIV와 HIV 의 면역학적 유연 관계⁸⁾에 대해서 알려진 후부터 이 바이러스에 대한 새로운 관심이 고조되었다. 이에 BIV는 같은 렌티바이러스이며 AIDS의 병원 체인 HIV의 활발한 연구에 힘입어 AIDS의 동물 모델로서 연구되기 시작하였으며⁹⁾, 우리는 유전 자 증폭방법인 polymerase chain reaction (PCR)을 응용해 자연 상태 (*in vivo*)에서 송아지 혈액 내 존 재하는 BIV를 성공적으로 검출하였고^{12,13)} BIV의 역전사효소 불변부 염기서열이 HIV의 그것과 매 우 유사하다는 것을 확인하였다¹⁴⁾. 이러한 노력은 BIV를 검출하고 분리하는데 많은 도움이 될 뿐만

* 논문 접수: 1999년 5월 4일

수정재접수: 1999년 6월 14일

† 별책 요청 저자

아니라 BIV의 계통발생학적 연구에 많은 도움을 주었지만, 앞서 언급한 것처럼 렌티바이러스 연구의 불편함 때문에 BIV의 경우 (1) 역학, (2) PBMC 중에서 바이러스가 침입하여 복제 증식하는 세포의 종류, (3) 전파과정에 대해서 현재 정확히 알고 있지 못하는 실정이다.

따라서 그 동안 자연 숙주인 젓소에 있어서 BIV의 감염정도가 어느 정도인지 알 수 없었지만 최근 미국을 비롯한 여러 선진국들은 이미 BIV가 자국 내에서 만연되고 있음을 밝혔다. 예를 들면, 미국의 경우 젓소에 있어 남부지역 (루이지애나주, 미시시피주)이 북부지역보다 BIV 만연이 심하다고 보고되고 있으며^{16,17,19}, 조사된 젓소의 5%가 BIV에 감염되어 있음을 알아냈다³. 한편 미국 이외에서의 BIV 감염실태 확인은 네덜란드¹⁰에서 조사대상 젓소의 1.4%가 BIV seropositive (Western blot에 의함)로 보고되었고, 인도네시아에서는 Jembrana 병을 일으키는 원인이 또 다른 BIV strain (*pol* gene 염기서열의 74%가 동일)임을 최근에 확인하였으며^{6,11}, 호주 및 독일에서도 자국 내 젓소에 BIV가 전파되고 있음이 알려졌다⁷.

한편 BIV 감염된 젓소의 상당수 (35%)는 소에게 백혈병 (BL)을 전염시키는 역전사효소 바이러스인 BLV와 동시감염 (co-infection)되고 있음이 보고되었다^{3,4}. 이렇게 나라 및 지역적 발생률은 차이가 있지만, 한국 전체 소의 29.7% (경북지역 소: 32.2%)는 BLV에 감염되어 있고² 미국 내 소의 24%에서 42%가 BLV에 감염되어 있다⁵. 이러한 사실들과 BIV가 BLV와 동시 감염된다는 보고는 국내에서도 BIV가 전파되고 있을 가능성을 설명해 주고 있는 것이다. 왜냐하면 지금 국내에서의 BLV의 감염율이 30% 정도일 경우 한국형 BIV가 발견될 가능성은 대구·경북지역에서만 적어도 4%에서 10%가 된다고 유추할 수 있기 때문이다. 따라서 이를 위한 기초적 자료로서, 본 연구는 국내에서의 BIV 전파여부를 확인하는 방법으로 DNA 증합효소 연쇄반응 (PCR)을 이용하여 BLV의 감염여부와 더불어 한국형 젓소 면역결핍 바이러스 (BIV)의 존재유무를 확인하였다.

재료 및 방법

1. 대상

본 연구를 위하여 대구·경북지역 내 가능한 많은 병든 소 (특히 BLV 감염이 된)의 혈액을 채

취해 혈청과 peripheral blood monocyte (PBMC)를 분리하는 것으로, 특히 젓소의 연령이 5살이 넘을 경우 또 다른 젓소 역전사효소 바이러스인 BLV의 감염이 50%에서 100% 된다는³ 점을 감안해서 대구 축산물 도매시장에서 일정한 스케줄로 248마리의 젓소 및 황소에서 두 당 50 ml의 젓소 혈액을 채취하였다.

2. 방법

1) 말초혈액 단핵구 (PBMC) 세포분리

렌티바이러스는 감염 후 대개 provirus 상태로 존재하기 때문에 BIV의 감염여부를 확인을 위한 첫 번째 작업으로 채취한 혈액에서 PBMC를 분리하였다. 먼저 10 ml의 fresh blood이 담겨있는 50 ml 원심분리관 (Corning)에 동량의 1X HBSS를 넣고 잘 섞은 후, 이 중 7 ml을 Histopaque-1077 (Sigma) 3 ml 용액이 있는 15 ml 튜브에 파스퇴르 피펫을 이용하여 조심스럽게 중층하였다. 이를 저속 냉장 원심분리하여 (2,500 rpm/20 min) 튜브 중간에 나타나는 PBMC 층을 파스퇴르 피펫으로 회수하였고 1X HBSS로 두 번 세척한 후 다시 원심분리하여 PBMC를 침강시켰다.

2) PBMC의 genomic DNA 추출

먼저 PBMC가 들어있는 15 ml 원심분리관 (Corning)에 DNA 추출용액 (20 mM Tri-HCl, pH 7.6; 10 mM EDTA; 100 mM NaCl; 0.5% SDS; 200 µg/ml proteinase K)을 첨가한 후 상온에서 밤새 배양하였다. 다음날 세포가 용해된 튜브에 phenol: chloroform (50%:50%)용액을 동량으로 넣어 잘 섞은 후 2,500 rpm에서 30분간 원심분리하여 나타나는 상청액을 새 15 ml 원심분리관에 모았다. 이 상청액은 다시 phenol: chloroform 용액으로 처리하고, chloroform (100%)과 혼합용액을 만들어 상기한 방법으로 원심분리하였다. 얻어진 상청액은 RNase (10 mg/ml)을 처리하였고, 최종적으로 PBMC genomic DNA를 spectrophotometer로 확인하였다. 각 PBMC genomic DNA는 T₁₀E₁ 완충액 (10 mM Tris-HCl; 1 mM EDTA, pH 8.3)에 500 µg/ml의 농도로 준비해 -30°C에 저장하였다.

3) DNA 증합효소 연쇄반응 (PCR)

한국형 BIV/BLV의 검출을 위해 PCR 유전자 증폭방법을 이용하였다. 젓소의 PBMC genomic DNA에 provirus 상태로 존재할 BIV/BLV를 확인하기 위해서, 일련의 알려진 서구형 BIV/BLV의 *pol* gene 불변부 염기서열로 합성된 primers (Table 1)

를 이용해 PCR을 하였다. 이때 사용된 PCR 반응 용액의 구성성분은 10X *Taq* DNA polymerase buffer, 10 mM dNTP, oligonucleotide primers (200 pmol씩), 1 unit *Taq* DNA polymerase (Promega)를 포함하며, 10X *Taq* DNA polymerase buffer는 500 mM Tris-HCl pH 8.3, 25 mM CaCl₂, 0.1% gelatin으로 만들었다. 한편 DNA 샘플은 실험 목적에 따라 그 양을 1.0~4.0 µg/reaction으로 조절하였고 준비된 PCR 반응용액과 잘 혼합하여 thermal cycler (Perkin-Elmer Model 480)로 PCR을 하였다. PCR 반응조건은 반응 최적화를 위해 95°C/30초, 55°C/30초, 72°C/30초로 하였다. 계획된 PCR 실행이 끝나면 PCR DNA의 완성을 돕기 위해 72°C에서 10분간 반응을 연장시켰다. PCR의 결과를 확인하기 위하여 2% 한천 (Sigma) gel로 PCR 반응액 (10 µl)을 전기영동하였으며, 증폭된 DNA를 분석하기 위해서 전기영동 후 gel을 ethidium bromide로 염색해 Polaroid film (667)으로 UV사진을 찍

었다.

4) Southern blot 분석

PCR을 통해 BLV 감염여부가 확인된 시료는 2차 확인 작업으로서 BLV *pol* gene 염기서열의 일부인 probe BLV06 (Table 1)을 사용해 Southern blot하였다. 간단히 요약하면, 전기영동이 끝난 한천 gel을 1.5 M NaCl과 0.5 M NaOH 혼합액에 담가 실온에서 20분간 진탕하였다. 그리고 denaturing된 gel 위에 물로 젖힌 nylon membrane filter (Schleicher & Schuell)를 올려놓고 20X SSC (3 M NaCl; 0.3 M Na-Citrate)를 1리터의 증류수에 녹인 후 pH를 7.0으로 조절하여 가압 멸균용액에 장치시켜 밤새도록 PCR DNA를 membrane filter로 이동시켰다. 다음날 DNA를 고정하기 위하여 membrane filter를 UV transilluminator에 올려놓고 자외선으로 7분간 조사시켰다. 이 membrane filter는 prehybridization (2시간)을 한 후 BLV06 probe (DIG labelled)가 담긴 hybridization용액에 담가

Table 1. Oligonucleotide primers used for BLV/BIV detection

Primers	Nucleotide sequences
BIV01	5'-ATCCCTTTACATGAGGATTTAGACCC-3'
BIV02	5'-GATACAACATGACATCTGGGTGACTC-3'
BLV04	5'-TTTGTGCATGACCTACGAGCTACA-3'
BLV05	5'-AAGCGGTCTTCGACTGGAATCT-3'
BLV06 ^{a)}	5'-TTTGAGATCTAGGCAAATGATATGTGGAGGGTGCCT-3'

^{a)} for Southern blot probing

Table 2. Results of PCR for BLV infection among cows

Samples name	# of tested samples	# of BLV positive	% of BLV infection	Remarks
2C	25	12	48.0	
3C	9	9	100.0	BIV positive lot
4C	6	2	33.3	
5C	15	14	93.3	
6C	10	4	40.0	
7C	14	11	78.6	
8C	15	9	60.0	
9C	15	15	100.0	
10C	12	5	41.7	1 sample lost
Total	121	81	66.9	

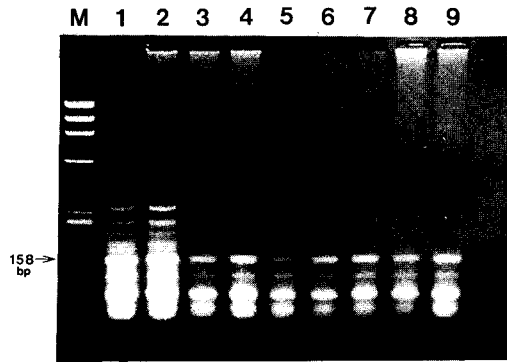


Fig. 1. PCR amplification results of the sample lot 3C for BLV detection. 9 over 9 cow samples showed BLV positive signals at the expected band size (158 bp). Used primers were BLV04 and BLV05. Lane description: M, marker DNA ϕ X174 RFI *Hae*III digested 0.25 μ g. Number 1 to 9 means different cow PBMC samples.

42°C에서 6시간 이상 반응시켰다. Hybridization 이 끝나면, 적당한 stringency로 membrane을 수세 하고 말린 후 DIG-nucleic acid detection kit (Boehringer Mannheim)를 이용하여 발색시켰다.

결 과

1. PCR 및 Southern Blot법을 통한 BLV 검출

먼저 얻어진 PBMC DNA를 이용하여 우리는 Table 1에 나열된 BLV primers (BLV04, BLV05)를 사용해 PCR을 통한 BLV 감염여부를 조사하였다. 이 primer의 염기서열은 BLV *pol* gene의 불변부에 해당하는 것으로서 의외로 좋은 결과를 가져다 주었다. 우리는 총 121개 시료 (젖소 PBMC DNA)로부터 66.9%에 해당하는 81개 시료에서 BLV 양성임을 확인할 수 있었는데 (Table 2) 이 수치는 과거의 통계인 30%보다 두 배 이상 높은 것으로서 한국 내 특히 대구·경북지역 내의 BLV 감염이 생각보다 매우 심각하다는 것을 알려주는 것이다. 10회에 걸쳐 임의채취 (random sampling)로 얻은 121개의 시료를 조사한 결과, BLV 감염율은 33.3% (lot 4C)에서 100% (lot 3C, 9C)로 크게 차이 났는데 이는 대구·경북지역 내에서 젖소사육이 집단적으로 이루어지고 있기 때문에 사료되었다. 즉 lot 3C (Fig. 1)와 9C의 경우 이들 젖소는 모두 같은 장소에서 사육되었기 때문에 모든 젖소가 BLV에 감염된 것으로 볼 수 있다.

한편 이러한 PCR 결과가 유의성 있는 것인지

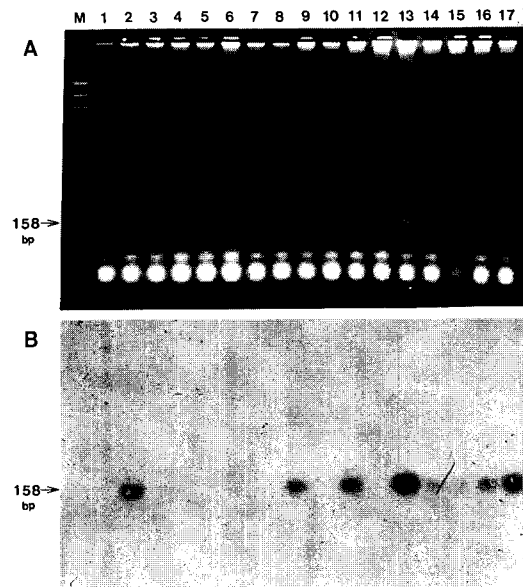


Fig. 2. PCR results of the pooled PBMC DNA (A) and its Southern blot with probe BLV06 (B). Lane description: M, marker DNA ϕ X174 RFI *Hae*III digested 0.25 μ g. Lane number 1, lot 1B; 2, lot 2B; 3, lot 2C; 4, lot 3B1; 5, lot 3B2; 6, lot 3C; 7, lot 4B1; 8, lot 4B2; 9, lot 4C; 10, lot 5B; 11, lot 5C; 12, lot 6B; 13, lot 6C; 14, lot 7C; 15, lot 8C; 16, lot 9C; 17, lot 10C.

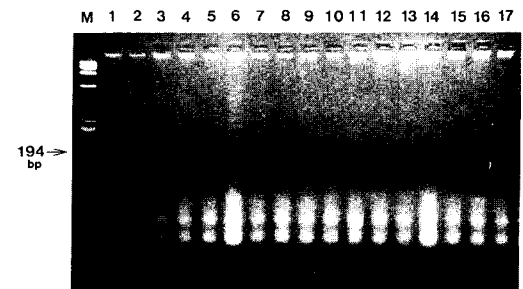


Fig. 3. PCR results for detecting Korean-type BIV with primers BIV01 and BIV02. Only the sample lot 3C (lane 6) showed a BIV positive signal at the expected DNA band size (194 bp). Lane description: M, marker DNA ϕ X174 RFI *Hae*III digested 0.25 μ g. Lane number 1, lot 1B; 2, lot 2B; 3, lot 2C; 4, lot 3B1; 5, lot 3B2; 6, lot 3C; 7, lot 4B1; 8, lot 4B2; 9, lot 4C; 10, lot 5B; 11, lot 5C; 12, lot 6B; 13, lot 6C; 14, lot 7C; 15, lot 8C; 16, lot 9C; 17, lot 10C.

를 확인하기 위하여 BLV06 probe를 사용하여 Southern blot를 해 보았다. 그 결과 (Fig. 2) 모든 황소 PBMC 샘플(1B-6B)은 BLV 음성으로 나온

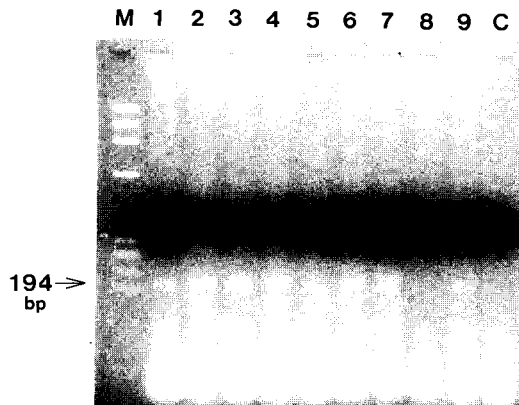


Fig. 4. PCR results of the sample lot 3C which showed a BIV positive signal in the Fig. 3. 7 over 9 cow PBMC showed BIV positive signals at the 194 bp. Lane description: M, marker DNA ϕ X174 RFI *Hae*III digested 0.25 μ g. Number 1 to 9 means different cow PBMC samples. C, control (H_2O).

반면 젖소의 경우 lot 3C를 제외하고 모두 (2C, 4C-10C) BLV 양성임을 확인할 수 있었다. 특이하게 PCR 검사에서 100% BLV 양성을 보인 lot 3C의 경우, Southern blot에서 전혀 BLV 양성신호를 얻을 수 없었는데 이러한 결과는 전 실험과정에서 혼치 않는 경우로 이는 실험이 잘못되었던 것이 아니라 한국형 BLV가 존재하고 있음을 의미하는 것이라 사료되었다. 왜냐하면 PCR 양성인 반면 Southern blot에서 나타나지 않는 시료는 본 실험에서의 hybridization 조건이 매우 stringent했기 때문으로 (50% formamide/42 $^{\circ}$ C) 이에 대한 정확한 규명은 추후 계속되는 DNA 염기서열 조사 결과 밝혀지게 될 것이다.

2. PCR을 통한 BIV 검출

한편 국내의 BIV 전파 내지는 감염상태를 확인하기 위하여, BLV 양성을 보이는 시료 (젖소 PBMC DNA)를 사용하여 Table 1의 primers (BIV01, BIV02)로 PCR을 하였다. 그 결과 오직 lot 3C에서만 예상크기인 194 bp DNA 밴드를 확인할 수 있었다 (Fig. 3). 이는 우리가 사용한 총 시료수가 248두 일 때, 그 일부인 9마리의 젖소 (100% BLV 양성인 lot 3C 시료) 중에 BIV가 동시감염되고 있음을 알려주는 것이다. 이에 우리는 계속해서 lot 3C 시료를 구성하는 개별 PBMC DNA를 이용하여 같은 조건으로 PCR하여 보았다 (Fig. 4). 그 결과 시료 lot 3C의 #1, #2, #3, #4, #6, #7, #9

PBMC DNA에서도 동일한 위치의 (194 bp) PCR DNA 밴드를 보여 주었다. 즉 9마리의 젖소 혈액으로부터 분리한 PBMC DNA로 구성된 lot 3C 시료 중 적어도 7 마리 젖소에서 그들의 PBMC에 BIV provirus를 갖고 있음을 확인하였다. 이는 우리가 사용한 총 248마리의 소 중 약 2.8%가 BIV에 감염되어 있음을 알려줌과 동시에 또한 BIV에 감염된 소 모두가 젖소임이 흥미로웠다.

고 찰

이상의 실험 결과 우리는 적어도 두 가지 귀중한 사실을 알 수 있게 되었다. 첫째, 한국 내에서의 BIV의 감염상태를 확인하기 위하여 많은 소 (248두)에서 혈액을 채취해 이의 PBMC DNA를 이용해 PCR해 본 결과, 의외로 국내 젖소의 BLV 감염상태가 평균 66.9% (Table 2)로 매우 높다는 것이다. 이는 과거의 국내 BLV 감염조사 결과인 27~30%의 두 배 이상인 것으로 (1) 우리가 사용한 방법들 (PCR 및 Southern blot법)이 분자생물학적 연구방법인 관계로 바이러스 감염조사 시 고도의 특이성을 지녔기 때문이며 (2) 지난 10년간 조사 대상지역인 대구·경북지역 내에서 젖소들에게 지속적으로 BLV 감염이 증가하였기 때문으로 사료되었다.

둘째, 우리가 얻어낸 많은 BLV 양성 시료를 이용하여 한국형 BIV의 검출을 시도한 결과, PCR을 통한 BIV 양성신호 (Fig. 3, Fig. 4)를 lot 3C에서 보여 줌으로써 우리 나라에서도 다른 나라와 마찬가지로 BIV가 적은 비율 (2.8%)이나마 전파되고 있음을 알 수 있었다. 특히 BIV 감염이 확인되는 젖소는 모두가 또 다른 역전사효소 바이러스인 BLV에 의해 동시감염되고 있음을 알 수 있었는데, 이는 미국을 비롯한 몇몇 선진국에서 보고되는 결과^{3,7)}와 매우 유사하다. 이로써 BIV의 전파는 젖소를 사육하는 일부 낙농국가에서만 한정되어 있다기 보다는 아마도 전세계적인 문제가 될 것으로 사료된다. 이에 현재 국내에서 BIV에 대한 연구가 전무한 실정으로 새로이 나타나기 시작한 BIV가 인간생활에 밀접한 젖소에게 전파되면서 야기될 수 있는 여러 가지 문제점들에 대비해 미리 예방적인 조치나 필요한 대책 및 전파 경로의 차단을 위한 기초적인 연구가 우리 나라에서도 진행되어야 할 것이다.

감사의 말

본 논문은 1996년도 한국학술진흥재단의 공모 과제 연구비 (02-D-0437)에 의하여 연구되었고 부분적으로 (BLV 부분) 1997년도 계명대학교 연구처에서 지급한 부설연구소 연구비로 이루어졌으며 이에 사의를 표한다.

참 고 문 헌

- 1) 농촌진흥청 (1991): 한국의 가축위생연구, pp. 140-142. 가축위생연구소. 안양.
- 2) 전무형, 박봉균, 안수환, 김용희, 정운익 (1985): 소 백혈구에 관한 연구 IV. 농시 연2보 (가위) 27: 38-45.
- 3) Ambroski GF, Lo JL and Seger CL (1989): Serological detection of multiple retroviral infection in cattle: Bovine leukemia virus, bovine syncytial virus and bovine visna virus. *Vet Micro*, 20: 247-253.
- 4) Bouillant AMP, Ruckerbauer GM and Neilsen KH (1989): Replication of the bovine immunodeficiency-like virus in diploid and aneuploid cells: permanent, latent and virus-productive infections *in vitro*. *Res Virol*, 140: 511-529.
- 5) Burny A, Bex F, Chantrenne H, Cleuter Y, Dekegal D, Ghysdael J, Kettmann R, Leciercq M, Leunen J, Mammerickx M and Portetelle D (1978): Bovine leukemia virus involvement in enzootic bovine leukosis. *Adv Cancer Res*, 28: 251-310.
- 6) Chadwick BJ, Coelen RJ, Sammels LM, Kertayadnya G and Wilcox GE (1995): Genomic sequence analysis identifies Jembrana disease virus as a new bovine lentivirus. *J Gen Virol*, 76: 189-192.
- 7) Gonda MA (1994): Bovine immunodeficiency virus, pp. 158-166. In: "Encyclopaedia of virology" Vol. 1. Academic press, New York.
- 8) Gonda MA, Brown MJ, Carter SG, Kost TA, Bess Jr. JW, Arthur LO and Van der Maaten MJ (1987): Characterization and molecular cloning of a bovine lentivirus related to human immunodeficiency virus. *Nature (London)*, 330: 388-391.
- 9) Gonda MA, Oberste MS, Garvey KJ, Pallansch LA, Battles KJ, Pifat DY, Bess JW and Nagashima K (1990): Development of the bovine immunodeficiency-like virus as a model of lentivirus disease. *Dev Biol Stand*, 72: 97-110.
- 10) Horzinek M, Keldermans L, Stuurman T, Black J, Herrewegh A, Sillekens P and Koolen M (1991): Bovine immunodeficiency virus: immunochemical characterization and serological survey. *J Gen Virol*, 72: 2923-2928.
- 11) Kertayadnya G, Wilcox GE, Soeharsono S, Hartaningsih N, Coelen RJ, Cook RD, Collins ME and Brownie J (1993): Characteristics of a retrovirus associated with Jembrana disease in Bali cattle. *J Gen Virol*, 74: 1765-1778.
- 12) Kwon OS and Theilen GH (1994): Diagnosis of bovine immunodeficiency-like virus (BIV) by optimizing polymerase chain reaction. *Mol Cells*, 4: 505-510.
- 13) Kwon OS (1994): A study of PCR quantification of viral infection: BIV model. *J Inst Natl Sci*, 13: 99-108.
- 14) Kwon OS and Sninsky JJ (1995): Genetic variation of BIV isolates characterized by PCR using degenerate primers. *Jour Microbiol*, 33: 252-259.
- 15) Martin S, O'Neill JTP, Bilello JA and Eiseman JL (1991): Lymphocyte transformation abnormalities in bovine immunodeficiency-like virus infected calves. *Immunol Letters*, 27: 81-84.
- 16) Nash J, Hanson WLA and St Cyr Coat K (1995): Bovine immunodeficiency virus in stud bull semen. *Am J Vet Res*, 56: 760-763.
- 17) Suarez DL, Van Der Maaten MJ, Wood C and Whetstone CA (1993): Isolation and characterization of new wild-type isolates of bovine lentivirus. *J Virol*, 67: 5051-5055.
- 18) Van Der Maaten MJ, Boothe AD and Seger CL (1972): Isolation of a virus from cattle with persistent lymphocytosis. *J Nat Cancer Inst*, 49: 1649-1657.
- 19) Whetstone CA, Van der Maaten MJ and Miller JM (1991): A Western blot assay for the detection of antibodies to bovine immunodeficiency-like virus in experimentally inoculated cattle, sheep, and goats. *Arch Virol*, 116: 119-131.

=Abstract=

**Molecular Detection of Korean-type Bovine Immunodeficiency Virus by
Polymerase Chain Reaction**

Oh-Sik Kwon[†]

**Department of Microbiology, Keimyung University, Daegu 704-701, Korea*

Bovine immunodeficiency virus (BIV) which was grouped into the *Lentivirinae* of family *Retroviridae*, was known to be causing many immunodeficiency syndromes among cows. The BIV was studied worldwide during last several years for its importance in cattle industries but nothing was reported in Korea until now. Thus we initially tried to study the existence of BIV in cattle around the Daegu · Kyungpook area by PCR related molecular techniques. As a prerequisite investigation for detecting Korean-type BIV, we had focused our aim into BLV infected cows because the BLV infected cows tend to show BIV infection with 5% ranges. Hence we randomly sampled fresh bloods from 248 cows and bulls near the Daegu · Kyungpook area and collected peripheral blood monocytes (PBMC) from the sample bloods. After extracting genomic DNA from the PBMC, we subjected it to PCR and Southern blot analysis for BIV/BLV detection. Overall, 66.9% (81/121) of the cow PBMC samples turned out to be BLV positive by PCR and the result was reconfirmed by Southern blot analysis. The value was two times higher than the previously reported results of BLV infection in Korea. The significant difference was mainly due to 1) applying highly specific methods for BLV detection such as PCR 2) that BLV was continuously spreaded in the Daegu · Kyungpook area without any notice during last ten years. We also tested the BLV positive samples with the same techniques for BIV detection. And we found some BIV positives among the lot 3C samples by PCR, which had showed 100% BLV positive.

Key Words: BIV, BLV, PCR

[Korean J. Biomed. Lab. Sci., 5(1): 101-107, June, 1999]

[†]Corresponding author