

하기도 감염 환아에서 분리된 Adenovirus 1, 2, 5 혈청형의 유전체형 분석

박기원*·[‡] · 최은화[†] · 정지태[†] · 이환종[†] · 박기호[‡]

국립경찰병원 소아과* , 서울대학교 의과대학 소아과학교실[‡] ,
고려대학교 의과대학 소아과학교실[‡] , 서울대학교병원 임상의학연구소[‡]

= Abstract =

Genome Type Analysis of Adenovirus Serotypes 1, 2 and 5 Isolated from Children with Lower Respiratory Tract Infections in Korea

Ki-Won Park, M.D.*·[‡] , Eun-Hwa Choi, M.D.[†] , Ji-Tae Choun, M.D.[‡]
Hoan-Jong Lee, M.D.[†] and Ki-Ho Park, Ph.D.[‡]

Department of Pediatrics , National Police Hospital,
Department of Pediatrics[‡] , Seoul National University College of Medicine,
Department of Pediatrics[‡] , Korea University College of Medicine,
Virus Research Center, Clinical Research Institute[‡] ,
Seoul National University Hospital, Seoul, Korea*

Purpose : The purpose of this study was to examine the molecular epidemiology and genetic variability of adenovirus(Ad) serotypes Ad1, Ad2, and Ad5 over 14 years in Korea.

Methods : A total of 382 adenoviral strains isolated from the nasopharyngeal aspirates of children with lower respiratory tract infections in Seoul, Korea from November 1990 to February 2003 were serotyped by neutralization assay with type-specific antisera. Viral DNAs were extracted from infected cell lysates by the modified Hirt procedure. Genome type(GT) was determined by DNA restriction analysis with 12 restriction enzymes(*Bam*HI, *Bcl*II, *Bgl*II, *Bgl*III, *Bst*EII, *Eco*RI, *Hind*III, *Hpa*I, *Sal*I, *Sma*I, *Xba*I, and *Xho*I). To evaluate the genetic relatedness, pairwise comigrating restriction fragments(PCRF) analysis was performed.

Results : Of 382 strains, 33 strains(9%) were Ad1, 45 strains(12%) were Ad2, and 24 strains(6%) were Ad5. Eighteen GTs(Ad1p1-Ad1p7, Ad1a, Ad1b, Ad1b1-Ad1b3, Ad1c, Ad1d, Ad1e, Ad1e1, Ad1e2, Ad1f) among Ad1, 24(Ad2p1-Ad2p11, Ad2a, Ad2a1-Ad2a6, Ad2b, Ad2c, Ad2d, Ad2e, Ad2e1-Ad2e3) among Ad2, and 10(Ad5p1, Ad5p2, Ad5a, Ad5a1-Ad5a7) among Ad5 strains were identified. One or two strains of the vast majority of GTs were isolated during the study period while a few GTs were identified sporadically with more than 2 strains. It is notable that some GTs such as Ad1p5 and Ad5a1 appeared in cluster during a short period. In analysis of genetic relatedness, the degree of PCRf(pairwise comigrating

이 연구는 2004년도 서울의대 발전기금(소아과학교실 지정기금) 연구비
(예, 과제번호 : 04-001) 지원에 의한 결과임.

책임저자 : 이환종, 서울대학교 의과대학 소아과학교실

Tel : 02)2072-3633, Fax : 02)745-4703, E-mail : hoanlee@snu.ac.kr

restriction fragments) for Ad1 varied from 79 to 99%, for Ad2, 82 to 99%, and for Ad5, 85 to 99%.

Conclusion : This study established the comprehensive nomenclature systems of Ad1, Ad2, and Ad5. Diverse GTs identified in this study have crucial implications in the genomic diversity and epidemiological characteristics of Ad1, Ad2, and Ad5.

Key Words : Adenovirus, Genome type, Serotypes, Molecular epidemiology

서 론

아데노바이러스 감염은 전체 호흡기 질환의 2~5%를 차지한다¹⁾. 소아에서 호흡기 감염의 비율은 보고에 따라 다르지만 2~24%에 이른다. 아데노바이러스 감염은 전 연령층에 나타날 수 있지만 주로 6개월에서 5세 미만의 유소아에서 가장 발병률이 높다. 국내에서는 1995년부터 1998년까지 아데노바이러스 3형과 7형에 의한 심한 소아기 폐렴이 대유행한 이후로 아데노바이러스의 호흡기 감염에 관한 연구에 관심을 갖게 되었다^{2, 3)}. 아데노바이러스의 호흡기 감염은 전 세계적으로 보고되고 있는데, 소아에서 가장 흔히 감염을 일으키는 혈청형은 1, 2, 3, 5형이며 6, 7형이 그 다음으로 흔한 원인이다¹⁾. 혈청형에 따라 발생 양상도 다르게 나타날 수 있는데, 혈청형 1, 2, 5형은 주로 산발성 감염(sporadic infections)을 일으키지만 드물게 유행성 감염(epidemic infections)을 일으킬 수 있고, 혈청형 3, 7형과 21형은 주로 유행성 감염을 일으키지만 또한 산발적으로 발생한례도 보고되었다⁴⁾.

아데노바이러스 DNA의 전체 크기는 약 36 kb로 비피막형, 이중 나선형, DNA 구조로 되어 있으며, 바이러스의 외피를 구성하는 capsid는 20면체의 단백질로 이루어져 있고, 그 면과 모서리에 hexon과 penton base, fiber가 존재한다. 이 세 가지 단백질은 중요한 항원을 제공하는 항원결정기를 가지고 있다¹⁾.

아데노바이러스의 유전체형 분류는 1978년 제한 효소를 사용한 바이러스 DNA 분석법이 소개되면서 DNA 분석에 관한 연구가 진행되어 최근까지 다양한 유전체형들이 발견되었다⁵⁻¹⁰⁾. DNA 제한효소 분석법은 바이러스의 분자 역학과 병원성을 연구하는데 효과적인 방법으로 전 세계적으로 널리

이용되고 있다⁷⁾. 그런데 연구자마다 서로 다른 종류의 제한 효소들을 사용하여 제각기 다른 명명법에 따라 유전체형을 분류하고 있어, 이미 밝혀진 유전체형 간에도 상호 비교할 수 없게 만드는 혼란을 야기하게 되었다. 이런 중에 Li와 Wadell^{6, 7)}은 유전체형 분류에 대한 새로운 명명법을 1988년에 처음 제안하였고 1996년에는 이를 재수정하여 발표하였다.

아데노바이러스 유전체형 분석에 관한 지금까지 보고된 연구들은 심한 폐렴을 흔히 일으키는 것으로 알려진 혈청형 3형과 7형에 관한 연구들이 대부분으로^{11, 12)}, 이들 혈청형에 관한 변이 유전체형들은 이미 체계적으로 잘 분류되어 있고 그 분자역학과 임상적 특징 등도 잘 알려져 있다^{6, 7, 9, 10, 13)}, 그러나 혈청형 1, 2, 5형에 관한 연구는 흔치 않아서 아직까지 그 자료가 미비한 실정이다. 따라서 본 연구는 Li와 Wadell이 사용한 것과 동일한 12종류의 제한 효소(*Bam*HI, *Bcl*II, *Bgl*I, *Bgl*II, *Bst*EII, *Eco*RI, *Hind*III, *Hpa*I, *Sal*I, *Sma*I, *Xba*I, *Xho*I)를 사용하여 아직 이 방법으로 분류되지 않은 아데노바이러스 혈청형 1, 2, 5형을 대상으로 유전체형을 분류하여 새롭게 명명하고, 분류된 유전체형들의 분자역학 및 각 유전체형 간의 상관 관계를 밝히기 위하여 시행하였다.

대상 및 방법

1. 대 상

1990년 11월부터 2003년 2월까지의 기간 동안 급성 기관지염이나 급성 세기관지염 혹은 폐렴 등의 하기도 감염으로 서울대학교병원 소아과에 입원하였거나, 서울지역 타 종합병원 소아과에 입원하여 호흡기 바이러스 배양 검사를 위해 서울대학교 병원 소아과에 검사가 의뢰된 소아들로부터 채취한

비인두 흡인물(nasopharyngeal aspirate)을 검체로 하였으며, HEp-2 세포를 이용한 바이러스 배양 검사에서 분리된 아데노바이러스 382주 가운데 혈청형 1, 2, 5형 총 102주를 연구 대상으로 하였다. 표준주로 혈청형 1형에는 71형, 혈청형 2형에는 6형, 그리고 혈청형 5형에는 75형을 선택하여 사용하였다¹⁴⁾.

2. 방법

1) HEp-2 세포를 이용한 아데노바이러스 배양

분리된 아데노바이러스는 -70°C 냉동고에 보관하였다. American tissue culture collection(ATCC)로부터 구입한 HEp-2 세포주를 계대 배양하여 배양된 세포의 일부를 16×125 mm screw cap tube에 넣어 시험관 배양하였다. 시험관 내에서 세포들이 단층 배양되면 37°C CO₂ 배양기에 보관하면서 필요에 따라 사용하였다. 채취한 검체는 24시간 내에 HEp-2 세포 시험관 두 개에 접종하고 바이러스의 특징적인 세포병변 효과(cytopathic effect, CPE)가 나타날 때까지 3~4주간 매일 관찰하였다. 아데노바이러스는 간접 면역 형광 검사법으로 확인하였다^{3, 10)}.

2) 아데노바이러스의 TCID₅₀(50% tissue culture infection dose) 결정

A549 세포를 단층 배양한 96 well, flat-bottomed, styrene plate(Falcon)에 Stock 바이러스를 10¹부터 10⁸까지 10배씩 계단 희석하여 접종하였다. 접종한 plate를 37°C에서 5일간 배양한 후 세포병변이 50% 나타나는 최대 희석 배수를 관찰하여 TCID₅₀을 구하였다^{3, 10)}.

3) 아데노바이러스의 혈청형 결정

100 TCID₅₀에 해당하는 바이러스 농도와 1:20으로 희석한 아데노바이러스 혈청형 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 11형에 대한 토끼 항혈청(Denka Seiken, Tokyo, Japan)을 동량 혼합하여 단층 배양한 A549 세포주 plate에 접종하고 37°C 배양기에서 5일간 배양 후 세포병변 효과가 나타나는지 관찰하였다^{3, 10)}. 결과 판독은 형 특이 항체를 반응시킨 well에서만 세포병변 효과가 나타나지 않은 것으로 판단하였다.

4) DNA 분리 및 전기영동

바이러스 DNA는 바이러스가 감염된 세포로부터 Modified Hirt's procedure법¹⁵⁾으로 추출하고 추출된 DNA는 6개의 염기서열을 인식하는 12종류의 제한 효소 *Bam*HI, *Bcl*II, *Bgl*II, *Bgl*II, *Bst*EII, *Eco*RI, *Hind*III, *Hpa*I, *Sal*I, *Sma*I, *Xba*I, *Xho*I(KOSCO Central Research Institute, Seoul, Korea; Roche Diagnostic GmbH, Mannheim, Germany)을 이용하여 제조사의 지침 내용에 따라 DNA를 절단하였다. 절단된 DNA는 0.8~1.0% 아가로스 젤(Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo, U.S.A.)에 옮겨 1×concentrated Tris buffer(40 mM Tris-acetate buffer, 2 mM EDTA, pH 8.3)에서 수평 전기영동 기구를 이용하여 8시간 동안 35 V로 전기영동 하였다¹⁰⁾. DNA 분절편들의 분자량 크기를 측정하기 위하여 *Hind*III로 절단한 λ phage DNA를 사용하였다.

5) DNA 제한 효소 분석

DNA 밴드는 ethidium bromide 용액으로 20~30분간 염색한 후 자외선 투영기로 확인하고 염색된 젤은 Image analyzer System(Bio-Print 115; Vilber Lourmat Biotechnology, Marne la Valle, France)을 이용하여 영상을 얻은 후 컴퓨터 분석을 위해 컴퓨터에 저장하고 영상프린터로 출력하였다. 얻어진 자료는 Image analysis software(version 2004, Vilber Lourmat Biotechnology, Marne la Valle, France)를 이용하여 DNA 분절형태(fragment pattern)를 각 혈청형의 표준주의 분절 형태와 비교하여 분석하였다. 이중 밴드(double band)는 densitometry로 확인하였다.

6) 유전체형 명명법

유전체형은 Li와 Wadell의 명명법⁷⁾에 따라 결정하였다. 우선 12종류의 제한 효소 중 가장 다양한 수의 분절 형태를 보인 제한 효소를 구별 제한 효소(discriminating enzyme)로 지정하고 나머지 제한 효소를 추가적으로 사용하여 나타나는 DNA 분절 형태를 비교 분석하였다. 구별 제한 효소에 의해 나타나는 각 혈청형의 표준주의 분절 형태는 'p (prototype)'로 표시하고 표준주(Adenovirus 71, Adenovirus 6, Adenovirus 75)와 모양이 다른 분절 형태들은 'a', 'b', 'c' 등 알파벳순으로 해당 주들이 분리된 시간적 순서에 따라 지정하였다. 그 다음 추

가적으로 사용된 제한 효소들에 의해 또 다른 유형으로 구별되는 분절 형태는 분리된 시간적 순서에 따라 아라비아 숫자를 그 문자 뒤에 추가하여 그 유전체형을 결정하였다.

7) 유전체형 간의 상관성 분석

혈청형 1, 2, 5형의 변이 유전체형 간의 상관성을 분석하기 위하여 image analyzer(BioNumerics, version 3.5, Applied-Maths, sint-Martens-Latem, Belgium)를 이용하여 각 혈청형별로 변이 유전체형 간 분절편들에 pairwise comigrating restriction fragments(PCR) 분석^{6, 9)}을 시행하여 비교하였다.

결 과

1. 아데노바이러스의 분리와 혈청형 1, 2, 5형의 분포 양상

하기도 감염증 소아의 비인두에서 채취한 검체로부터 분리된 아데노바이러스 382주를 대상으로 하여 혈청형을 확인한 결과, 혈청형 1형 33(9%), 혈청형 2형 45(12%), 혈청형 3형 107(28%), 혈청형 4형 16(4%), 혈청형 5형 24(6%), 혈청형 6형 8(2%), 혈청형 7형 116(30%), 혈청형 11형 9(2%), 그 외의 형들이 24(6%)주씩 나타났다. 검체가 채취된 연구 기간 동안에 분리된 아데노바이러스 혈청형 1, 2, 5형 총 102주의 분포 형태를 관찰하기 위하여 바이러스가 분리되어진 시기에 따라 연도 별로 매 2개

월 단위로 구분하여 도표에 나타내었다(Fig. 1). 혈청형 1, 2, 5형은 주기적으로 대규모 유행성 감염을 일으키는 혈청형 3형이나 7형에 비해 그 발생 빈도가 낮기는 하였지만 연중 산발적으로 발생하여 여전히 소아들의 호흡기 감염의 중요한 원인균임을 확인할 수 있었다.

2. 아데노바이러스의 유전체형 분석

1) 제한 효소에 의한 DNA 분절 형태

12 종류의 제한 효소로 아데노바이러스 혈청형 1, 2, 5형 102주의 DNA를 절단하여 전기영동 시킨 후에 나타나는 DNA의 다양한 분절 형태는 각 혈청형별로 Table 1부터 Table 3에 표시한 바와 같다. 각 혈청형별로 사용한 표준주의 분절 형태를 'I'로 표시하였으며 표준주의 유전체형을 'p'로 명명하였다. 각 혈청형의 표준주의 분절 형태와 다른 형태가 관찰되면 해당 주들이 분리된 시간적 순서에 따라 'II', 'III' 등의 숫자를 그 분절 형태에 임의로 부여하였다.

2) 혈청형 1, 2, 5형의 변이 유전체형

(1) 혈청형 1형의 변이 유전체형

12종류의 제한 효소에 의한 분절 형태를 조합하여 유전체형을 분류하고 Li와 Wadell의 명명법에 따라 변이 유전체형을 명명하였다. 그 결과 혈청형 1형 33주에서 18가지의 유전체형을 분리해 낼 수 있었다(Table 1). 12종류의 제한 효소 가운데 Bg/II

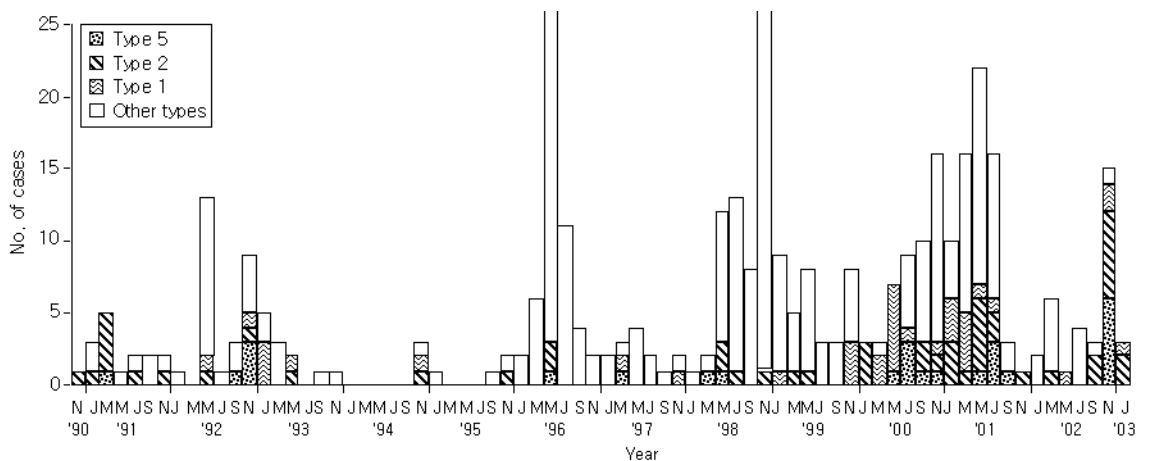


Fig. 1. Temporal distribution of adenovirus serotypes 1, 2, and 5 during the period from November 1990 to February 2003. Note that the time frame for each bar represents a 2-month period. From left to right, months are shown as follows : N, November; J, January; M, March; M, May; J, July; and S, September.

Table 1. Summary of Restriction Fragment Patterns of Ad1. P and I : Restriction Patterns of Prototype(Adenovirus 71)

Genome type	<i>Bam</i> HI	<i>Bcl</i> I	<i>Bgl</i> I	<i>Bgl</i> II	<i>Bst</i> EII	<i>Eco</i> RI	<i>Hind</i> III	<i>Hpa</i> I	<i>Sal</i> I	<i>Sma</i> I	<i>Xba</i> I	<i>Xho</i> I	No. of isolates(%)
Ad1p1	II	II	I	p	II	I	I	I	I	II	I	I	2(6.1)
Ad1p2	II	I	I	p	II	I	I	I	I	I	I	I	5(15.2)
Ad1p3	II	I	I	p	III	I	I	II	I	I	I	I	1(3.0)
Ad1p4	II	II	V	p	II	I	I	IV	I	II	I	V	2(6.0)
Ad1p5	II	II	I	p	II	I	I	IV	I	II	I	V	6(18.2)
Ad1p6	II	I	I	p	II	I	I	I	I	II	I	I	2(6.1)
Ad1p7	I	II	I	p	II	I	I	I	I	II	I	I	1(3.0)
Ad1a	II	II	II	a	III	I	I	I	I	I	I	II	2(6.1)
Ad1b	II	I	III	b	II	II	II	II	II	II	I	III	1(3.0)
Ad1b1	II	I	III	b	II	II	II	II	II	II	II	III	1(3.0)
Ad1b2	II	I	III	b	III	II	II	III	II	I	II	III	1(3.0)
Ad1b3	II	I	III	b	III	II	II	II	II	I	II	III	1(3.0)
Ad1c	III	I	IV	c	III	III	II	II	III	I	I	IV	1(3.0)
Ad1d	IV	III	III	d	III	II	III	II	II	I	I	III	2(6.1)
Ad1e	II	II	I	e	II	I	I	I	I	I	I	I	2(6.1)
Ad1e1	II	II	VI	e	II	I	I	II	I	I	I	I	1(3.0)
Ad1e2	II	II	I	e	II	I	I	II	I	I	II	I	1(3.0)
Ad1f	III	I	IV	f	III	III	II	II	II	I	I	IV	1(3.0)
Total No. of isolates													33

가 가장 많은 수의 분절 형태를 보여 표준주 Adenovirus 71의 분절 형태 외에 6종류의 다른 분절 형태를 나타내었다. 따라서 제한 효소 *BgIII*를 구별 제한 효소(discriminating enzyme)로 지정하고 나머지 11종류의 제한 효소를 추가적으로 사용하여, 나타나는 DNA 분절 형태를 비교 분석하였다. 분류된 유전체형 가운데 Ad1p5는 총 6주로서 가장 빈번히 분리되었는데 2000년 한 해 동안 5월 말부터 7월 초 사이에 가장 우세한 유전체형으로 집중되어 분리되고 이후로는 더 이상 분리되지 않은 점으로 보아 아마도 이 기간 동안 소규모의 유행이 있었던 것으로 추정된다. Ad1p2는 일정한 시간 간격 없이 4주가 분리되었고 이 외의 모든 유전체형들은 전 연구기간 동안 산발적으로 1주 혹은 2주만 분리되었다(Fig. 2).

(2) 혈청형 2형의 변이 유전체형

혈청형 2형 45주에서는 25가지의 유전체형이 분리되었다(Table 2). 12종류의 제한 효소 가운데 *BgIII*가 가장 많은 수의 분절 형태를 보여 표준주

Adenovirus 6의 분절 형태 외에 5종류의 분절 형태를 나타내었다. 따라서 제한 효소 *BgIII*를 구별 제한 효소로 지정하고 나머지 제한 효소를 추가적으로 사용하여 분석하였다. 분류된 유전체형 가운데 Ad2p3은 총 9주로서 가장 많이 분리되었는데 1991년 초에 연속적으로 3주가 분리된 후 전 연구기간 동안 산발적으로 분리되었고, Ad2a는 총 8주 분리되었는데 1992년 11월부터 전 기간에 걸쳐 집단적 분포 없이 분리되었다. 이 외의 모든 유전체형들은 1 내지 2주 분리되었다(Fig. 3).

(3) 혈청형 5형의 변이 유전체형

혈청형 5형 24주에서는 10가지의 유전체형이 분리되었다(Table 3). *BgIII*가 원형 외에 한 가지 분절 형태를 보인 반면 *BgII*은 표준주 Adenovirus 75의 분절 형태 외에 세 가지 분절 형태를 보임으로 사용된 제한 효소 중 *BgII*이 *BgIII* 보다 더 다양한 수의 분절 형태를 보였으나, 전체 분석대상 개체수가 충분히 크지 않은 표본에서 다른 제한 효소와의 우열을 정하기에 통계학적 의미가 충분하지 않다고

Table 2. Summary of Restriction Fragment Patterns of Ad2. P and I : Restriction Patterns of Prototype(Adenovirus 6)

Genome type	<i>Bam</i> HI	<i>Bcl</i> I	<i>Bgl</i> I	<i>Bgl</i> I	<i>Bst</i> EII	<i>Eco</i> RI	<i>Hind</i> III	<i>Hpa</i> I	<i>Sal</i> I	<i>Sma</i> I	<i>Xba</i> I	<i>Xho</i> I	No. of isolates(%)
Ad2p1	I	II	I	p	I	I	II	II	I	I	II	I	2(8.0)
Ad2p2	I	III	I	p	II	I	I	I	I	II	II	I	1(2.2)
Ad2p3	I	II	I	p	II	I	I	I	I	I	II	I	9(20.0)
Ad2p4	I	III	I	p	II	I	III	II	I	I	II	I	1(2.2)
Ad2p5	I	IV	I	p	I	I	I	I	I	I	I	I	1(2.2)
Ad2p6	I	V	I	p	II	III	I	I	I	II	II	I	1(2.2)
Ad2p7	I	II	I	p	II	I	I	III	I	I	II	III	2(4.4)
Ad2p8	I	IV	I	p	I	I	I	I	I	I	II	I	1(2.2)
Ad2p9	I	II	I	p	II	I	I	I	I	I	I	I	1(2.2)
Ad2p10	I	II	I	p	II	I	I	III	I	I	II	I	1(2.2)
Ad2p11	I	III	I	p	I	I	I	V	I	II	II	I	1(2.2)
Ad2a	I	IV	I	a	II	I	I	I	I	I	II	I	8(17.8)
Ad2a1	I	IV	I	a	II	I	I	I	I	I	IV	I	1(2.2)
Ad2a2	I	IV	I	a	II	I	I	I	I	I	II	IV	1(2.2)
Ad2a3	I	IV	I	a	II	I	I	I	II	I	II	I	1(2.2)
Ad2a4	I	IV	I	a	II	I	I	I	I	I	I	IV	1(2.2)
Ad2a5	I	II	I	a	II	I	I	I	I	I	II	I	2(4.4)
Ad2a6	I	IV	I	a	II	I	II	II	I	I	II	I	1(2.2)
Ad2b	I	III	II	b	III	II	IV	I	I	I	III	II	2(4.4)
Ad2c	I	III	III	c	II	IV	III	I	I	I	II	II	1(2.2)
Ad2d	II	IV	IV	d	II	I	III	I	I	I	II	I	1(2.2)
Ad2e	I	V	III	e	II	IV	V	I	I	II	II	II	2(4.4)
Ad2e1	III	V	III	e	II	IV	V	I	I	I	I	II	1(2.2)
Ad2e2	I	V	III	e	I	IV	I	IV	I	I	I	II	1(2.2)
Ad2e3	IV	V	III	e	II	IV	I	IV	I	I	II	II	1(2.2)

Total No.
of isolates

45

판단되어, 다른 혈청형들에서 사용되었던 *Bgl*III를 구별 제한 효소로 그대로 지정하였다. 한편, 제한 효소 *Sal*I은 모든 DNA 분절 형태가 표준주 분절 형태 한 가지로만 나타났기 때문에 유전체형 간 분별력이 없었다. 분리된 혈청형 5형 가운데 유전체형 Ad5a1이 6주로 가장 빈번히 분리되었는데 1992년 11월말에서 12월초까지 약 1개월 동안에 4주가 집중되어 발생하였으며 이 소규모 집단 분포 후에 2000년과 2002년에 2주가 더 분리되었다. Ad5a3과 Ad5a는 각 4주가 집단적 분포 없이 비교적 산발적으로 분리되었고 그 외 Ad5p1, Ad5a2, Ad5a4, Ad5p2, Ad5a5, Ad5a6, Ad5a7은 1주 혹은 2주 분리되었다(Fig. 4).

3. 유전체형 간의 상관성 분석

혈청형 1, 2, 5형 내의 각 유전체형 간의 상동성(homogeneity)과 이형성(heterogeneity)을 비교하기 위하여 각 혈청형별로 변이 유전체형 간 분절편들의 PCR 분석을 시행하여 그 결과를 토대로 un-weighted pair group method with arithmetic averages(UPGMA) 방식으로 dendrogram을 작성하여 비교하였다.

혈청형 1형의 유전체형들 간의 PCR 분석을 값은 79~99%로 다양하게 나타났다. PCR 80%를 기준으로 하였을 때 18개의 유전체형은 2개의 Genomic Clusters(GCs), Cluster 1(GC1)과 Cluster 2

Table 3. Summary of Restriction Fragment Patterns of Ad5. P and I : Restriction Patterns of Prototype(Adenovirus 75)

Genome type	<i>Bam</i> HI	<i>Bcl</i> I	<i>Bgl</i> I	<i>Bgl</i> II	<i>Bst</i> EII	<i>Eco</i> RI	<i>Hind</i> III	<i>Hpa</i> I	<i>Sal</i> I	<i>Sma</i> I	<i>Xba</i> I	<i>Xho</i> I	No. of isolates(%)
Ad5p1	II	I	I	p	II	I	I	II	I	I	II	II	1(4.2)
Ad5p2	II	I	I	p	II	I	I	II	I	I	II	I	1(4.2)
Ad5a	III	I	II	a	III	I	I	II	I	I	II	III	4(16.7)
Ad5a1	III	II	III	a	III	II	II	II	I	I	I	III	6(25.0)
Ad5a2	III	II	II	a	III	II	II	III	I	I	II	III	1(4.2)
Ad5a3	III	II	III	a	III	II	II	II	I	I	II	III	5(20.8)
Ad5a4	III	II	IV	a	II	II	II	II	I	I	I	III	1(4.2)
Ad5a5	III	II	II	a	III	I	III	II	I	I	II	III	2(8.3)
Ad5a6	III	II	II	a	III	I	II	II	I	I	I	III	2(8.3)
Ad5a7	III	II	III	a	III	II	II	II	I	II	I	III	1(4.2)
Total No. of isolates													24

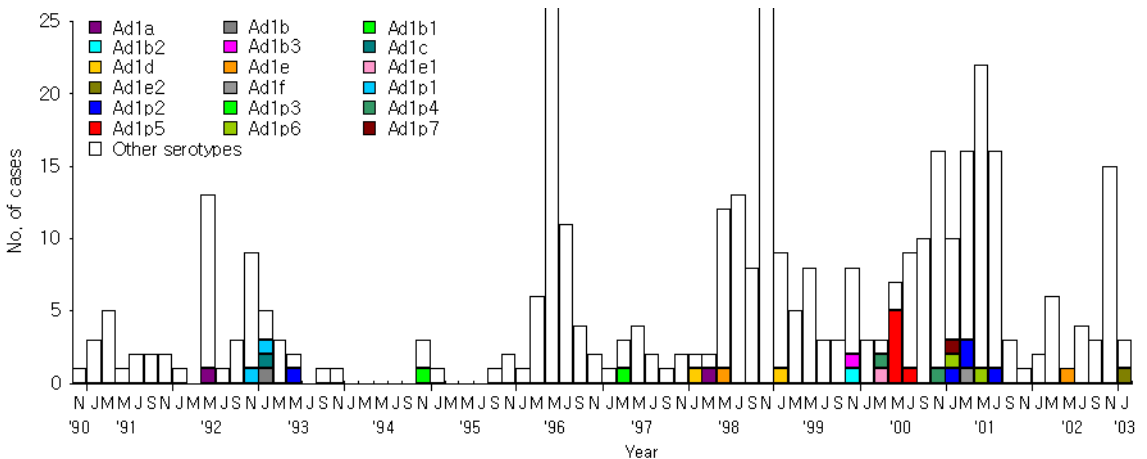


Fig. 2. Temporal distribution of 18 different genome types of Ad1 during the period from November 1990 to February 2003. Note that the time frame for each bar represents a 2-month period. From left to right, months are shown as follows: N, November; J, January; M, March; M, May; J, July; and S, September.

(GC2)로 구분되었다. 각 Cluster 내에서의 PCR-F 백분율은 GC1이 91~99%, GC2가 87~99%로 높은 상동성을 유지하고 있었다. 상동성 정도의 평가 기준치로 80%를 정하는 이유는 subgenus D에 속하는 혈청형 9형과 10형 간의 PCR-F 백분율이 79%, subgenus C의 혈청형 2형과 6형 간에 77%, 혈청형 1형과 2형 간에 76%, 그리고 subgenus B의 혈청형 3형과 7형 간에 80%, 혈청형 34형과 35형 간에 78%로 나타난 결과에 근거한 것이다⁹⁾. 혈청형 2형의 유전체형들 간의 PCR-F 백분율 값은 82~99%로 나

타났다. Ad2b와 그 외의 유전체형들 간의 82%로 가장 낮았고 Ad2p1-Ad2p12, Ad2a, Ad2a1-Ad2a6, Ad2d 상호 간과 Ad2c, Ad2e, Ad2e1-Ad2e3 상호 간의 값은 모두 88% 이상으로 비교적 높은 상동성을 보였다. 혈청형 5형의 유전체형들 간의 PCR-F 백분율 값은 85~99%로 나타났는데 Ad5p의 변이형들과 Ad5a의 변이형들 간의 값이 85%로 가장 낮았고, Ad5p의 변이형들 Ad5p1, Ad5p2 상호 간과, Ad5a의 변이형들 Ad5a, Ad5a1-Ad5a7 상호 간은 각각 98%, 93% 이상의 높은 상동성을 보였다.

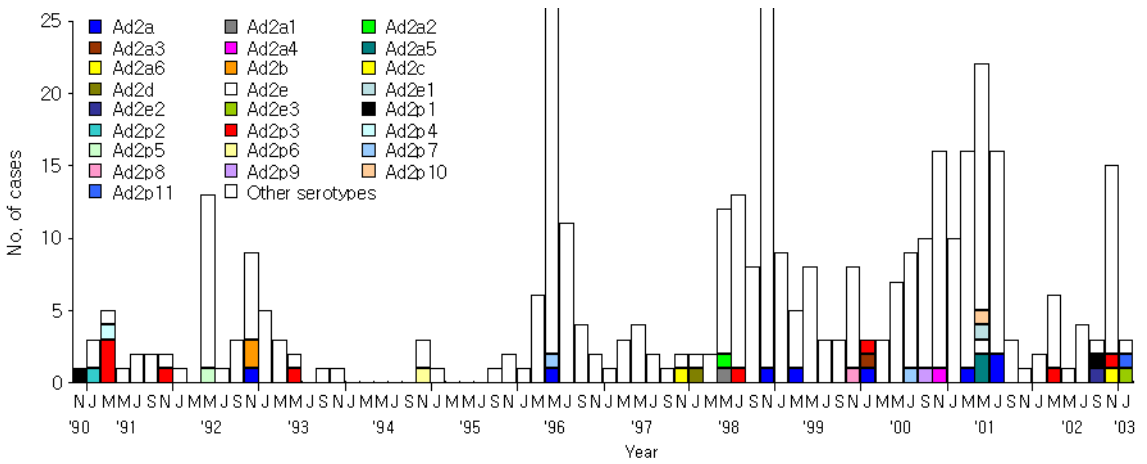


Fig. 3. Temporal distribution of 25 different genome types of Ad2 during the period from November 1990 to February 2003. Note that the time frame for each bar represents a 2-month period. From left to right, months are shown as follows: N, November; J, January; M, March; M, May; J, July; and S, September.

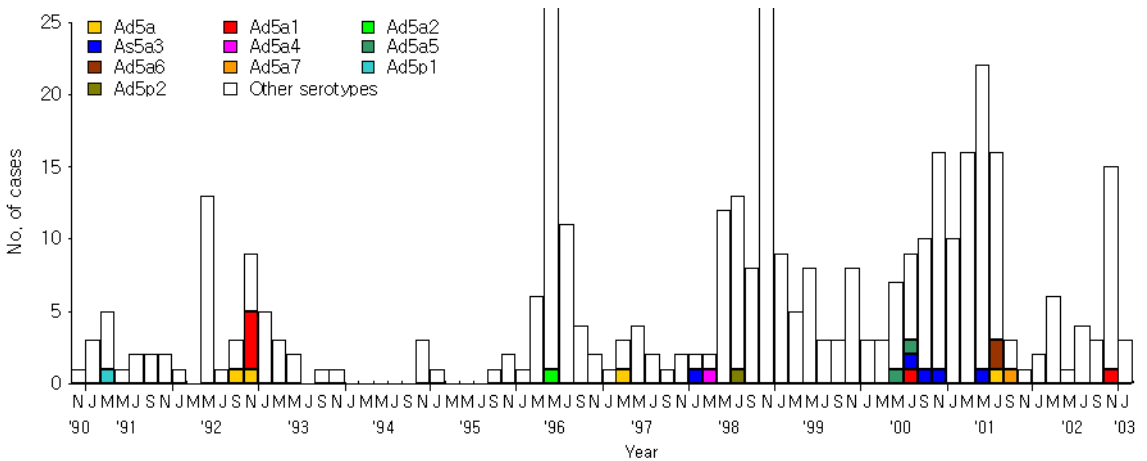


Fig. 4. Temporal distribution of 10 different genome types of Ad5 during the period from November 1990 to February 2003. Note that the time frame for each bar represents a 2-month period. From left to right, months are shown as follows: N, November; J, January; M, March; M, May; J, July; and S, September.

고찰

본 연구에서는 아데노바이러스 혈청형 1, 2, 5형 총 102주를 대상으로 새로운 유전체형의 분류 방법 및 이들의 상관성을 체계적으로 정립하고자 하였으며, 혈청형 1, 2, 5형들의 발생 분포 양상과 유전체형에 따른 역학적 특징을 분석하고자 하였다.

아데노바이러스 혈청형 1, 2, 5형의 유전체형 분류는 현재까지 보고된 연구 자료가 매우 제한적이고 분류 방법이 체계적으로 정립되어 있지 않다.

본 연구에서는 지금까지 보고된 혈청형 1, 2, 5형에 관한 연구들을 본 실험 결과와 비교해 봄으로써 세 가지 혈청형의 유전체형의 다양성 정도를 평가하였다. 먼저, 혈청형 1형에 관한 이전 연구 결과들을 살펴보면, 1985년 미국 시애틀에서 Fife 등¹⁶⁾이 12주의 아데노바이러스 혈청형 1형을 5종류의 제한 효소 *Sma*I, *Eco*RI, *Hind*III, *Kpn*I, *Hpa*I를 사용하여 3개의 변이 유전체형을 발견하고 Ad1a, Ad1b, Ad1c로 명명하여 발표한 적이 있었고 1989년 브라질에서 Gomes 등¹⁷⁾이 아데노바이러스 혈청형 1, 3, 5형을 5종류의 제한 효소 *Bam*HI, *Bg*III, *Bst*EII,

EcoRI, *HindIII*를 이용하여 DNA 분석하고 앞의 Ad1a, Ad1b, Ad1c와 다른 변이 주 1개를 발견하여 Ad1d로 명명하여 보고하였다. 공통으로 사용된 제한 효소의 절단 유형을 비교하였을 때, 이들 변이 유전체형 중 Ad1a, Ad1b, Ad1c는 본 연구의 어떤 유전체형과도 일치하지 않는 유형이었다. Ad1d는 분절 형태가 명확히 기술되지 않아 본 연구의 결과와 정확한 비교를 할 수 없었다.

혈청형 2형에 관한 과거의 연구로는 1983년 캐나다의 Aird 등¹⁸⁾이 6종류의 제한 효소 *EcoRI*, *SmaI*, *HindIII*, *BalI*, *BclI*, *XorII*로 DNA를 분석하여 혈청형 2형의 변이 유전체형 Ad2a를 발견하여 보고하였고, Fife 등¹⁶⁾은 Ad2a와 다른 새로운 유전체형으로 Ad2b, Ad2c, Ad2d를 보고하였는데 이들은 제한 효소 *SmaI*, *EcoRI*, *KpnI*, *HindIII*, *HpaI*를 사용하였다. 공통으로 사용된 제한 효소의 절단 유형을 비교하였을 때, 혈청형 2형 역시 1형과 마찬가지로 지금까지 보고된 변이 유전체형들은 본 연구 결과에서 나타난 어떤 유전체형과도 동일하지 않았다.

혈청형 5형에 관한 이전 연구들을 살펴보면 1980년 Bruckova 등¹⁹⁾이 혈청형 5형 39례를 8종류의 제한 효소 *BamHI*, *EcoRI*, *HindIII*, *HpaI*, *KpnI*, *SalI*, *SmaI*, *XhoI*을 사용하여 분석하고 2례의 변이형을 처음으로 발견하여 Ad5a로 명명하였고, 그 후 Gomes 등¹⁷⁾이 2주의 혈청형 5형을 제한 효소 *BamHI*, *BglII*, *BstEII*, *EcoRI*, *HindIII*를 사용하여 DNA 분석하고 Ad5a의 변이형 Ad5a1과 Ad5a2로 명명하여 잇달아 보고하였다. 1986년에는 Webb 등²⁰⁾이 혈청형 5형 14주를 제한 효소 *EcoRI*, *HindIII*, *HpaI*, *KpnI*, *SmaI*, *XhoI*을 사용하여 분석하고 Ad5a와 다른 새로운 유전체형으로 Ad5b, Ad5c, Ad5d를 보고하였다. 변이 유전체형 Ad5a, Ad5a1, Ad5a2, Ad5b, Ad5c, Ad5d의 분절 형태를 본 연구와 공통으로 사용된 제한 효소 *BamHI*, *BglII*, *EcoRI*, *HindIII*, *HpaI*, *SalI*, *SmaI*, *XhoI*에 대하여 본 연구 결과와 비교해 보았을 때, 서로 다른 분절 형태를 나타내었다.

이상에서 살펴본 바와 같이 본 연구에서 분리된 유전체형들은 각 혈청형의 표준주와 비교하였을 때 12종류 제한 효소 모두에서 표준주와 동일한 분절 형태를 보인 주는 한 주도 발견되지 않았고, 이전

에 보고된 유전체형 가운데 본 연구 결과와 일치하는 유전체형도 관찰되지 않았다. 이러한 결과는 아데노바이러스 혈청형 1, 2, 5형이 분리 시기와 분리된 장소에 따라 다양한 변이를 나타낸다는 점을 시사한다. 또한, 이것은 아데노바이러스 혈청형 중 subgenus C에 속하는 혈청형 1, 2, 5, 6형과 같은 혈청형들이 subgenus B에 속하는 혈청형 3, 7, 21형들에 비해 훨씬 더 다양한 변이를 나타낸다는 이전 연구 결과들과도 부합하는 소견이다⁸⁾.

혈청형 1, 2, 5형의 유전체형에 대한 상관성 분석 결과에서 2형과 5형 유전체형 간의 PCR-F 백분율이 모두 80% 이상으로 비교적 높은 상동성을 보인 반면, 혈청형 1형의 경우 각 genomic cluster 내에서의 PCR-F 백분율 값은 높은 상동성을 유지하고 있었지만, 전체 유전체형들 간의 값은 80% 보다 더 낮게 나타났다. 이러한 결과는 혈청형 1형이 2형과 5형에 비하여 DNA의 다양성이 더 높음을 보여주는 결과로 생각된다. 아데노바이러스의 유전체형을 연구하면서 많은 연구자들이 아데노바이러스의 한 혈청형 내에서 유전체형의 다양한 유형이 유전체형 간에 이형성(heterogeneity)을 초래한다고 주장하였고²¹⁾, 또 다른 연구자들은 유전체형 간에 다양성이 존재하는 동시에 각 유전체형 간에 높은 상동성(homogeneity)이 유지된다는 대조적인 내용의 연구 결과를 보고하였는데²²⁾ 본 연구의 상관성 분석 결과는 이러한 연구결과들의 특징을 모두 뒷받침하고 있다.

같은 subgenus에 속하는 혈청형들은 생화학적, 면역학적 특성이 서로 유사하기 때문에 병원성과 역학적 양상이 서로 유사한 특성을 나타낸다는 것은 당연한 현상일 수 있다²³⁾. 그러나, 아데노바이러스 혈청형 1, 2, 5형의 발전(evolution) 양상은 인플루엔자 바이러스와 유사해서 장기간에 걸친 바이러스 DNA의 점진적 변화를 통하여 새로운 DNA 정보를 갖는 바이러스가 출현하고, 이 바이러스들이 이전에 유행하던 바이러스를 대체시키면서 감염을 일으키는 것으로 해석된다. 따라서 시간이 경과할수록 새로운 감염 발생원이 되고 있는 바이러스들은 원형과는 매우 다른 변화된 DNA 염기 서열을 갖는 병원체가 되는 것이다. 이러한 바이러스 DNA의 변이는 본 연구에서 시행한 DNA 제한 효소 분

석법으로 밝혀낼 수 있는데 제한 효소에 의해 절단된 DNA 분절 형태의 변화는 기존 바이러스의 DNA 염기 서열에 변화가 생겼다는 것을 의미하기 때문이다. 아데노바이러스 유전체형의 점진적 변이 현상은 혈청형 4형의 유전체형 연구 에에서도 증명된 바 있는데 새로운 유행 감염주의 유전체형은 원형과 그리고 그 혈청형의 백신 주와도 매우 상이한 형태를 보였다^{24, 25}.

아데노바이러스 혈청형 1, 2, 5형은 전체적으로 특정 기간에 집단적으로 발생하는 뚜렷한 유행 양상은 관찰되지 않았고 전 연구기간에 걸쳐 연중 산발적 분포 형태를 이루며 발생하였던 것으로 나타났다. 각 혈청형별 유전체형들의 감염 발생 분포 양상은, 전 연구기간 동안 1~2주만 분리되고 더 이상 분리되지 않는 경우가 대부분이었고, 일부 유전체형들은 전 기간에 걸쳐 산발적으로 수 주가 반복 분리되었다. 그러나 Ad1p5, Ad5a1과 같이 유전체형에 따라서는 단기간 내에 집중적으로 분포하여 유행성 양상을 나타내는 유전체형들도 관찰되었는데, 이것은 같은 혈청형 내에서도 유전체형에 따라 다른 역학적 양상과 생물학적 특성을 갖는 변이 유전체형이 존재한다는 것을 시사하는 것으로 해석된다.

일반적으로 아데노바이러스 혈청형 1, 2, 5형이 주로 산발적 감염을 일으키는 것으로 알려져 왔으나, 본 연구에서 보이는 Ad1p5나 Ad5a1과 같이 유행성 감염발생을 시사하는 유전체형들이 관찰되었던 것은 한 가지 혈청형 내에서도 역학적 생물학적 특성이 전혀 다른 변이 유전체형이 출현할 수 있다는 높은 가능성을 시사하는 소견이다. 이것은 아마도 DNA의 일부 변이가 바이러스의 세포 주기와 유출 능력에 변화를 일으키고 이러한 변화가 바이러스의 감염력과 생존력 향상에 영향을 미친 결과로 해석된다⁸). DNA의 변이 형성 과정인 DNA 재조합 현상(recombination phenomena)은 새로운 변이형의 출현을 설명해 주는 기전이 되는데 이러한 변화 과정은 한 혈청형 내에서도²⁶), 서로 다른 혈청형 간이나²⁷), 아데노바이러스와 숙주 세포 사이에서²⁸) 어디에서나 일어날 수 있다. 자연계에서 발견되는 중간형(intermediate strains)도 이와 같은 아데노바이러스 DNA의 재조합 과정에 의해 생성되

었을 것으로 추정되고 있다^{6, 29}). 실제로 Webb 등²⁰)은 골수이식을 받은 환자에서 분리된 혈청형 5형의 변이 유전체형 Ad5b, Ad5c, Ad5d가 다른 유전체형들에 비하여, 특히 면역결핍 환자들에서 더 감염력이 높았다고 보고하였고 Straube 등³⁰)도 혈청형 7형의 변이 유전체형 Ad7b가 강화된 병원성을 보였다고 보고한 적이 있다.

아데노바이러스의 변이 유전체형의 발견이 중요한 의미를 갖는 데는 두 가지 이유가 있는데 첫째는 DNA 분절 형태가 바이러스 역학 연구에서 바이러스에 대한 표식자로 사용될 수 있기 때문이고, 두 번째로는 일부 변이 유전체형들이 병독력의 강화와 관련되어 나타날 수 있으므로 DNA 절단 지점의 일부 변화를 병독력의 표식자로 활용할 수 있기 때문이다¹⁹). 최근 이루어지고 있는 아데노바이러스 DNA의 특정 부위를 이용한 PCR의 개발은 형 특이 PCR을 이용하여 급성 호흡기 감염을 일으키는 바이러스를 조기 진단함으로써 질병 치료에도 도움을 주고 있다²⁴).

본 연구결과는 현재 전 세계적으로 이루어지고 있는 제한 효소 DNA 분석법을 이용한 아데노바이러스 연구자들에게 혈청형 1, 2, 5형의 비교 자료로 활용될 수 있을 뿐만 아니라 혈청형 내에 존재하는 변이 유전체형들에 대한 정보를 제공함으로써 향후, 아데노바이러스 감염의 역학 조사 및 새로운 백신 개발을 위한 기초 자료로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

요 약

목적 : DNA 제한 효소 분석법을 이용한 아데노바이러스의 유전체형 분석 방법은 많은 연구자들이 서로 다른 종류의 제한 효소와 명명법을 사용하여 분류함으로써, 아직까지 체계적인 분류 체계가 정립되어 있지 않다. 본 연구는 Li와 Wadell이 제안한 제한 효소 분석법과 명명법을 이용하여 국내에서 최근 14년 동안 분리된 아데노바이러스 혈청형 1, 2, 5형에 대한 유전체형을 분류하고, 그 분자 역학과 유전체형 상호 간의 연관성을 밝히고자 시행하였다.

방법 : 1990년 11월부터 2003년 2월까지 하기도

감염으로 서울대학교병원 소아과에 입원하였거나, 인접 지역의 종합병원 소아과에 입원한 소아들로부터 채취한 비인두 흡인물을 검체로 하여 HEp-2 세포주에서 배양 후 간접면역형광검사로 확인하고, 분리된 아데노바이러스를 혈청형 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 11에 대한 세포독성 효과를 관찰함으로써 혈청형을 결정하였다. 혈청형 1, 2, 5형을 대상으로 DNA를 추출하고 12가지 제한 효소 *Bam*HI, *Bcl*II, *Bgl*II, *Bgl*III, *Bst*EII, *Eco*RI, *Hind*III, *Hpa*I, *Sal*I, *Sma*I, *Xba*I, *Xho*I로 절단한 후 전기영동 시키고 나타나는 분절 형태를 각 혈청형의 표준주와 비교하여 분석하였다. 유전체형간의 상관성을 비교하기 위하여 PCR-F 분석을 시행하였다.

결 과 : 아데노바이러스 분리주 382주를 대상으로 혈청형을 확인한 결과, 1형 33(9%), 2형 45(12%), 3형 107(28%), 4형 16(4%), 5형 24(6%), 6형 8(2%), 7형 116(30%), 11형 9(2%), 그 외의 형들이 24(6%)주로 각각 나타났다. 변이 유전체형은 혈청형 1형 18종류, 2형 25종류, 5형 10종류가 분류되었으며 Ad1p1-Ad1p7, Ad1a, Ad1b, Ad1b1-Ad1b3, Ad1c, Ad1d, Ad1e, Ad1e1, Ad1e2, Ad1f; Ad2p1-Ad2p11, Ad2a, Ad2a1-Ad2a6, Ad2b, Ad2c, Ad2d, Ad2e, Ad2e1-Ad2e3; Ad5p1, Ad5p2, Ad5a, Ad5a1-Ad5a7로 명명되었다. 본 연구에서는 표준주나 이전에 보고된 유전체형과 일치하는 유전체형은 분리되지 않았다. 대부분의 유전체형은 전 연구기간 동안 1~2주만 분리되었고 일부 유전체형들은 산발적으로 2회 이상 반복 분리되었다. 유전체형 Ad1p5나 Ad5a1와 같이 유행성으로 분포하는 유전체형도 관찰되었다. 혈청형 1형 유전체형 간의 PCR-F는 79~99%로 Genomic cluster 1과 2로 구분되었고, 2형과 5형은 각각 82~99%와 84~99%로 모두 80% 이상이었다.

결 론 : 본 연구를 통하여 국내에서 분리된 아데노바이러스 혈청형 1, 2, 5형의 다양한 유전체형을 체계적으로 분석할 수 있었다. 혈청형 1, 2, 5형이 주로 산발성 감염을 일으키는 것으로 알려져 왔으나, 유전체형에 따라 역학적 특징이 다르게 나타날 수 있으며, 이는 DNA의 변형에 의한 유전체형의 변화가 바이러스의 감염력과 생존력에 변화를 일으켰을 가능성을 시사한다. 본 연구 결과는 혈청형 1,

2, 5형의 비교 자료로 활용될 수 있을 뿐만 아니라, 변이 유전체형들에 대한 정보를 제공함으로써 백신 개발을 위한 기초 자료로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

- 1) Cherry JD. Adenoviruses. In: Feigin RD, Cherry JD, eds. Textbook of pediatric infectious diseases. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders Co, 2004:1843-63.
- 2) Kim CK, Chung CY, Kim JS. A Study of adenovirus pneumonia: Early Summer Outbreak in 1996. Korean J Pediatr Infect Dis 1996;3:145-53.
- 3) Hong JY, Lee HJ, Piedra PA, Choi EH, Park KH, Koh YY, et al. Lower respiratory tract infections due to adenovirus in hospitalized Korean children: epidemiology, clinical features, and prognosis. Clin Infect Dis 2001;32:1423-9.
- 4) Schmitz H, Wigand R, Heinrich W. Worldwide epidemiology of human adenovirus infections. Am J Epidemiol 1983;117:455-66.
- 5) De Jong JC, Wermenbol AG, Verweij-Uijterwaal MW, Slaterus KW, Wertheim-Van Dillen P, Van Doornum GJ, et al. Adenoviruses from human immunodeficiency virus-infected individuals, including two strains that represent new candidate serotypes Ad50 and Ad51 of species B1 and D, respectively. J Clin Microbiol 1999; 37:3940-5.
- 6) Li QG, Wadell G. Comparison of 17 genome types of adenovirus type 3 identified among strains recovered from six continents. J Clin Microbiol 1988;26:1009-15.
- 7) Li QG, Zheng QJ, Liu YH, Wadell G. Molecular epidemiology of adenovirus types 3 and 7 isolated from children with pneumonia in Beijing. J Med Virol 1996;49:170-7.
- 8) Adrian T, Becker M, Hierholzer JC, Wigand R. Molecular epidemiology and restriction site mapping of adenovirus 3 genome types. J Clin Microbiol 1989;27:2329-34.
- 9) Li QG, Wadell G. Analysis of 15 different ge-

- nome types of adenovirus type 7 isolated on five continents. *J Virol* 1986;60:331-5.
- 10) Kim YJ, Hong JY, Lee HJ, Shin SH, Kim YK, Inada T, et al. Genome type analysis of adenovirus types 3 and 7 isolated during successive outbreaks of lower respiratory tract infections in children. *Clin Infect Dis* 2003;41:4594-9.
 - 11) Simila S, Ylikorkala O, Wasz-Hockert O. Type 7 adenovirus pneumonia. *J Pediatr* 1971;79:605-11.
 - 12) Wright HT, Beckwith JB, Gwinn JL. A fatal case of inclusion body pneumonia in an infant infected with adenovirus type 3. *J Pediatr* 1964;64:528-33.
 - 13) Tveten Y, Ahlquist J, Krogvold L, Bruu AL, Storvold G, Orstavik I. Restriction endonuclease analysis of adenovirus type 3 isolated in Norway from 1970 to 1991. *APMIS* 1994;102:215-8.
 - 14) Adrian T, Wadell G, Hierholzer JC, Wigand R. DNA restriction analysis of adenovirus prototypes 1 to 41. *Arch Virol* 1986;91:277-90.
 - 15) Hirt B. Selective extraction of polyoma DNA from infected mouse cell culture. *J Mol Biol* 1967;26:365-9.
 - 16) Fife KH, Ashley R, Corey L. Isoaltion and characterization of six new genome types of human adenovirus types 1 and 2. *J Clin Microbiol* 1985;21:20-3.
 - 17) Gomes SA, Candeias JN, Monteiro SP, Pereira HG, Niel C. New genome types of adenovirus types 1, 3, and 5 isolated from stools of children in Brazil. *J Clin Microbiol* 1989;27:1022-6.
 - 18) Aird F, King JJ, Younghusband HB. Identification of a new strain of adenovirus type 2 by restriction endonuclease analysis. *Gene* 1983;22:133-4.
 - 19) Bruckova M, Wadell G, Sundell G, Syrucek L, Kunzova L. An outbreak of respiratory disease due to a type 5 adenovirus identified as genome type 5a. *Acta Virol* 1980;24:161-5.
 - 20) Webb DH, Shields AF, Fife KH. Genome variation of adenovirus type 5 isolates recovered from bone marrow transplant recipients. *J Clin Microbiol* 1987;25:305-8.
 - 21) Bailey AS, Richmond SJ. Genetic heterogeneity of recent isolates of adenovirus types 3, 4, and 7. *J Clin Microbiol* 1986;24:30-5.
 - 22) Arens M, Dilworth V. Remarkably homogeneous population of adenovirus type 3 and 7 genome types. *J Clin Microbiol* 1988;26:1604-8.
 - 23) Wadell G, Hammarskjold ML, Wimberg G, Varsanyi TM, Sundell G. Genetic variability of adenoviruses. *Ann NY Acad Sci* 1980;354:16-42.
 - 24) Crawford-Miksza LK, Nang RN, Schnurr DP. Strain variation in adenovirus serotypes 4 and 7a causing acute respiratory disease. *J Clin Microbiol* 1999;37:1107-12.
 - 25) Cooper RJ, Bailey AS, Killough R, Richmond SJ. Genomic analysis adenovirus 4 isolated over a six year period. *Med Virol* 1993;39:62-6.
 - 26) Hassel JA, Weber J. Genetic analysis of adenovirus type 2. VIII. Physical location of temperature-sensitive mutation. *J Virol* 1978;28:671-8.
 - 27) Mautner V, Mackay N. Recombination in adenovirus: analysis of crossover sites in intertypic overlap recombinants. *Virology* 1984;139:43-52.
 - 28) Larsen PL, Tibbets C. Spontaneous reiteration of DNA sequences near the ends of adenovirus type 3 genomes. *Virology* 1985;147:187-200.
 - 29) Golovina GI, Zolotaryov FN, Yurlova TI. Sensitive analysis of genetic heterogeneity of adenovirus types 3 and 7 in the Soviet Union. *J Clin Microbiol* 1991;29:2313-21.
 - 30) Straube RC, Thompson MA, Van Dyke RB, Wadell G, Connor JD, Wingard D, et al. Adenovirus type 7b in a children's hospital. *J Infect Dis* 1983;147:814-9.