

<원 저>

최근 국내 분리 고병원성 infectious bursal disease virus의 segment A 유전자 특성

오현석 · 이진화 · 권혁무 · 성환우*

강원대학교 수의과대학
(게재승인: 2010년 9월 30일)

Sequence analysis of segment A gene of a very virulent infectious bursal disease virus recently isolated in Korea

Hyun Seok Oh, Jin Hwa Lee, Hyuk Moo Kwon, Haan Woo Sung*

College of Veterinary Medicine, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea
(Accepted: September 30, 2010)

Abstract : Infectious bursal disease virus (IBDV) is a member of the *Avibirnavirus* genus of the *Birnaviridae* family which genome consists of two segments (A and B) of double stranded RNA. Segment A gene of KNU08010 isolate, which was isolated from a 15-day-old chicken flock in 2008, was sequenced and compared with other IBDV isolates including SH/92 strain, the first Korean very virulent (vv) IBDV isolate. The amino acid sequences of segment A gene showed that KNU08010 had 99.2% homology with SH92 strain. KNU08010 isolate had specific amino acids A222, I242, I256, I294 and S299 which are highly conserved among vvIBDV strains. Phylogenetic analysis based on the nucleotide sequences of variable region of the VP2 gene of 18 IBDV strains revealed that KNU08010 was grouped with vvIBDVs and was closely related to Korean vvIBDVs isolated from wild birds.

Keywords : segment A gene, sequence, very virulent IBDV

서 론

전염성 F낭병(Infectious bursal disease, IBD) virus (IBDV)는 감수성 조류에 감염하여 면역능력 저하와, 증체저하 및 폐사를 유발한다 [9]. IBDV는 혈청형(serotype) I과 II로 구분되는데 혈청형 II는 닭과 칠면조에 감수성이 있으나 병원성은 나타나지 않고, 혈청형 I 바이러스가 주로 닭에서 병원성을 나타낸다 [14, 21]. 혈청형 I 바이러스에는 기존 바이러스(classical IBDV)뿐만 아니라 기존 바이러스와 항원성이 변화된 항원성변이형(antigenic variant subtype)과 병원성이 변화된 병원성변이형(pathogenic variant subtype)으로 구분될 수 있다 [9]. 병원성변이형 중 치사율이 매우 높은 very virulent(vv) IBDV는 1980년대 후반 유럽에서 처음 발생보고 된 이

후 여러 나라에서 발생되고 있으며 국내에서도 1992년 처음 발생된 사실이 보고된 바 있다 [1, 8, 23, 26].

IBDV는 Birnaviridae family에 속하는 바이러스로 RNA는 두 개의 분절(segment)로 구성되어 있으며 큰 분절인 segment A는 2개의 open reading frame(ORF)를 가지고 있고 이 중 large ORF는 polyprotein으로 번역된 후 viral protease에 의해 VP2(37 kD), VP4(32 kD), VP3(28 kD)로 가공된다 [6, 12, 13, 22]. VP2는 숙주의 중화항체를 유도하는 항원결정부를 갖고 있는 구조단백질로 이 중 아미노산 206~350에 해당하는 부위는 다양한 변이가 관찰되어 hypervariable region(HVR)이라고 부른다 [3, 5, 10, 15]. 또한, 아미노산 326~332에 존재하는 serine rich heptapeptide(SWSASGS)는 모든 병원성 바이러스(virulent strain)에서 보존되어 있고 병원성이 약한 바이

*Corresponding author
Tel: +82-33-250-8680, Fax: +82-33-244-2367
E-mail: sunghw@kangwon.ac.kr

러스에는 serine기가 적은 것이 특징이다 [11]. HVR에 나타나는 A222, I242, I256, I294, S299 아미노산은 지역과 국가에 관계없이 대부분의 vvIBDV에서 보존되어 있으며 [15], 국내 vvIBDV에서도 확인된 바 있다 [18]. VP3는 중화항체와는 관련없는 group-specific antigen으로 혈청형에 관계없이 염기서열이 유사하며, polyprotein을 가공하는 protease인 VP4는 VP3와 마찬가지로 염기서열이 대부분 잘 보존되어 있다 [3, 7, 25].

본 연구는 기존의 IBD 사례와는 다르게 2주령 전후의 닭에서 높은 치사율을 보이는 사례에서 분리된 바이러스의 유전자 특성을 파악하여 기존 바이러스와의 차이점을 구명하고자 실시하였다.

재료 및 방법

IBDV의 분리 및 증폭

IBDV 분리 및 증폭은 specific pathogen free(SPF) 종란에 접종하는 방법으로 실시하였다. 즉, 바이러스 분리를 채취 시료인 F낭 조직을 항생제가 첨가된 멸균 PBS로 20%(w/v) 장기유제액을 만든 뒤 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하고 상층액을 채취하여 0.45 µm membrane filter(Millipore, USA)에 여과한 후 10일령 SPF 종란의 chorioallantoic membrane(CAM)에 0.2 mL씩 접종하였다. 5일간 배양 후 계태아에서의 IBDV 특이 병변을 확인하고 CAM을 채취하여 실험에 사용하였다.

Viral RNA 추출 및 염기서열 분석

바이러스 RNA는 TRIZOL(Invitrogen, USA)를 사용하여 제조사의 설명에 따라 추출하였다. Segment A gene 염기서열을 분석하기 위하여 Kwon 등 [18]이 보고한 것과 동일한 primer 5쌍을 이용하여 reverse transcriptase (RT)-polymerase chain reaction(PCR)을 통해 segment A gene을 증폭하였다. IBD viral RNA는 이중쇄(double strand) RNA이기 때문에 추출한 IBDV dsRNA는 90% demethyl sulfoxide에 부유시킨 후 98°C에서 5분간 반응시켜 단일가닥으로 denaturation 시킨 후 42°C에서 60분간 RT 반응을 수행하였다. PCR은 94°C 5분간 denaturation, 51°C 30초간 annealing, 72°C 2분간 elongation 과정을 35회 반복 수행하였으며 최종 elongation은 74°C 15분간 실시하였다. RT와 PCR 반응에 사용한 시약은 Accupower RT/PCR Premix(Bioneer, USA)를 사용하였다.

PCR로 증폭된 DNA는 1.5% agarose gel에 전기영동으로 전개시킨 후 IBDV 특이 증폭산물을 수거하였다. 수거된 gel로부터 QiAquick Gel Extraction Kit(Qiagen, USA)을 이용하여 증폭 DNA를 정제하고 MacroGen (Korea)사에 증폭 DNA와 primer를 제공하여 염기서열을 분석하였다. 분석된 염기서열은 MEGA4.0과 Bioedit software를 이용하여 다른 바이러스(Table 1)와의 관련성을 분석하였다.

Table 1. IBDV strains used for alignment and comparison of homology of nucleotides and amino acids in this study

Strain	Virulence	Countries	Accession No. in GenBank	Reference
Cu-1	A	Germany	D00867	[3]
CEF94	A	Netherlands	AF194428	[4]
52/70	CV	UK	D00869	[3]
STC	CV	U.S.A	D00499	[17]
Variet-E	AV	U.S.A	AF133904	[2]
K310	AV	Korea	AF165149	[18]
D6948	VV	Netherlands	AF240686	[4]
UK661	VV	UK	X92760	[5]
HK46	VV	HongKong	AF092943	[19]
OKYM	VV	Japan	D49706	[28]
SH/92	VV	Korea	AF533670	Not published
KK1	VV	Korea	AF165150	[18]
KSH	VV	Korea	AF165151	[18]
Paju27	VV	Korea	EU493345	[16]
Ganghwa6	VV	Korea	EU493341	[16]
Pyeongchang45	VV	Korea	EU493343	[16]
Ulsan30	VV	Korea	EU493342	[16]
Pohang5	VV	Korea	EU493344	[16]

IBDV: infectious bursal disease virus, A: attenuated, CV: classical virulent, AV: antigenic variant, VV: very virulent.

결 과

발생사례 및 바이러스 분리

충남 당진소재 한 농장으로부터 IBDV KNU08010주를 분리하였다. 바이러스가 분리된 농장은 약 15,800수의 토종닭이 입추되어 사육되던 농장으로 14일령부터 폐사가 크게 증가되기 시작하여 연구자의 실험실로 가검물이 의뢰된 사례이었다. 15일령때 의뢰된 가검물은 부검결과 F낭의 종대 및 출혈, 선위근위 연접부위의 출혈, 피하의 반상 출혈 등이 특징으로 전형적인 IBD 감염사례로 판단되었다. 폐사수는 10일간 약 2,200수가 폐사하여 총 13.9%의 폐사가 있었으며 폐사양상은 급격히 폐사수가 증가하였다가 감소하는 양상을 보였던 사례이었다. 부검 후 F낭을 채취하여 10일령의 SPF 종란의 CAM에 접종후 5일간 배양한 결과 계태아의 부종, 출혈 및 간의 괴사반점 등 IBDV 특이 병변이 관찰되어 IBDV를 확인할 수 있었다. 분리된 IBDV는 SPF 종란의 CAM에서 증폭하여 염기서열분석에 사용하였다.

염기서열 분석결과

분절 A 유전자 전체염기 3,039개중 분리주 KNU08010는 VP2 시작부위 일부와 VP3 종결부위의 일부염기 30개를 제외한 총 3,009개의 염기서열을 분석하였다. 분석한 3,009개의 염기서열을 기준으로 다른 바이러스와의 상동성을 비교한 결과 KNU08010주는 일본에서 분리 보고된 vvIBDV인 OKYM주와 국내에서 분리된 vvIBDV인 SH/92주와 각각 98.9% 및 98.6%로 높은 상동성을 보였으며 국내 분리주 KK1과는 96.0%의 상동성을 보였다(Table 2). 또한 KNU08010주는 classical IBDV로 분류되고 있는 STC주와는 염기 상동성이 95.1%이었으며, avirulent strain인 Cu1주와는 94.7%의 상동성을 보였고, antigenic variant 바이러스로 알려진 Var-E주와 K310주와는 각각 95.2%와 93.9%로 vvIBDV보다는 낮은 상동성을 보였다. 염기서열을 토대로 예상되는 아미노산의

상동성 비교 결과에서도 KNU08010주는 OKYM주 및 SH92주와는 각각 99.6%와 99.2%의 높은 상동성을 보였으며, KK1주와는 97.4%, STC와는 96.2%, Cu1주와는 96.7%, Var-E주와 K310주와는 각각 94.0%와 93.5%의 아미노산 상동성을 보였다(Table 2).

KNU08010주는 모든 병원성 바이러스주에서 보존되고 있는 HVR의 아미노산 326-332부위의 serine rich heptapeptide(SWSASGS)를 가지는 특징을 보였으며 VP2 단백질(아미노산 1-454) 중 아미노산 201-350에 해당하는 HVR에서 다른 분리주와의 차이가 뚜렷하였다(Fig. 1). KNU08010주는 HVR부위에서 vvIBDV간에 잘 보존되어있는 것으로 알려진 5개의 아미노산(A222, I242, I256, I294, S299)이 모두 존재하였다. KNU08010주는 polyprotein 전체에서 다른 vvIBDV주(SH/92, OKYM)에서만 공통적으로 관찰되는 아미노산을 조사한 결과 14개(A222, I242, I256, A270, I294, S299, L451, I541, Y680, N685, S715, D751, V990, A1005)가 확인되었다. 이중 7개(A222, I242, I256, A270, I294, S299, L451)는 VP2(polyprotein 1~454), 4개(I541, Y680, N685, S715)는 VP4(polyprotein 455~723), 나머지 3개(D751, V990, A1005)는 VP3(polyprotein 724~1012)에 존재하였으며 L451은 VP2-VP4 절단부위 근처에 위치하였다(Fig. 1). VP2에서 나타나는 특징적인 7개의 아미노산 중 6개(A222, I242, I256, A270, I294, S299)는 HVR에서 확인되었다. KNU08010주는 HVR에서 다른 분리주와의 차이가 가장 뚜렷하였으며 antigenic variant주인 K310주와는 가장 많은 21개의 아미노산 차이가 있었다. 국내에서 분리된 vvIBDV인 SH/92 및 KK1주와는 HVR에서는 거의 동일하였으나 SH/92주와는 D279N, KK1주와는 F266L과 M290V에서 차이를 보였다. 국내분리주간에 polyprotein 전체의 아미노산을 비교한 결과 KNU08010주는 SH92주와는 4개의 차이만 있었으나 KK1주와는 비교적 많은 차이를 보여 17개의 아미노산 차이를 보였다.

야생조류를 포함한 IBDV 18개주를 대상으로 HVR의

Table 2. Nucleotide and deduced amino acid sequence similarities of segment A gene of KNU08010 with other IBDV strains

	KNU08010	OKYM	SH/92	KK1	Var-E	STC	Cu1	K310
KNU08010		98.9*	98.6	96.0	95.2	95.1	94.7	93.9
OKYM	99.6 [†]		99.0	96.4	95.1	95.6	95.4	94.1
SH/92	99.2	98.9		96.4	95.2	95.6	95.5	94.3
KK1	97.4	96.8	96.4		95.6	96.4	97.3	96.3
Var-E	94.0	93.7	93.7	93.0		96.7	96.8	95.7
STC	96.2	95.9	95.9	95.0	93.9		97.7	96.3
Cu1	96.7	96.4	96.4	96.1	95.0	97.5		97.7
K310	93.5	93.2	93.1	93.2	92.1	94.3	95.7	

*Percent homology of nucleotide sequences. [†]Percent homology of amino acid sequences.

1 80

Consensus MTNLQDQTQQIVPFI RSLLMPTTGPASIPDDTLEKHLRSETSTYNLTVGDTGSGLIVFFPGFPGSIVGAHYTLQSNQY

KNU08010 -----

KK1

SH/92

OKYM

Variant-E

K310

Cu1

STC

81 160

Consensus KFDQMLLTAQNLPA SYNYCRLVSRSLTVRSSTLPGGVYALNGTINAVTFQGSLS ELDVSYNGLMSATANINDKIGNVLV

KNU08010

KK1A.....

SH/92

OKYM

Variant-E

K310G.....

Cu1

STC

←-----

161 201 240

Consensus GEGVTVLSLPTS YDLGYVRLGDP I PA IGLDPK M V A T C D S S D R P R V Y T I T A A D D Y Q F S S Q Y Q P G G V T I T L F S A N I D A I T S L

KNU08010

KK1

SH/92

OKYM

Variant-E

K310

Cu1

STC

A

A

A

A

N

H

Major hydrophilic region A

<<-----Variable region of VP2 (201-350)----->>

241 320

Consensus SVGGELV F Q T S V Q G L V L G A T I Y L I G F D G T T V I T R A V A A N N G L T A G T D N L M P F N L V I P T N E I T Q P I T S I K L E I V T S K S G G Q

KNU08010 .I.....I.....A.....D.....I.....S.....

KK1 .I.....I.....L.A.....D.....V.....I.....S.....

SH/92 .I.....I.....A.....D.....I.....S.....

OKYM .I.....I.....A.....D.....I.....S.....

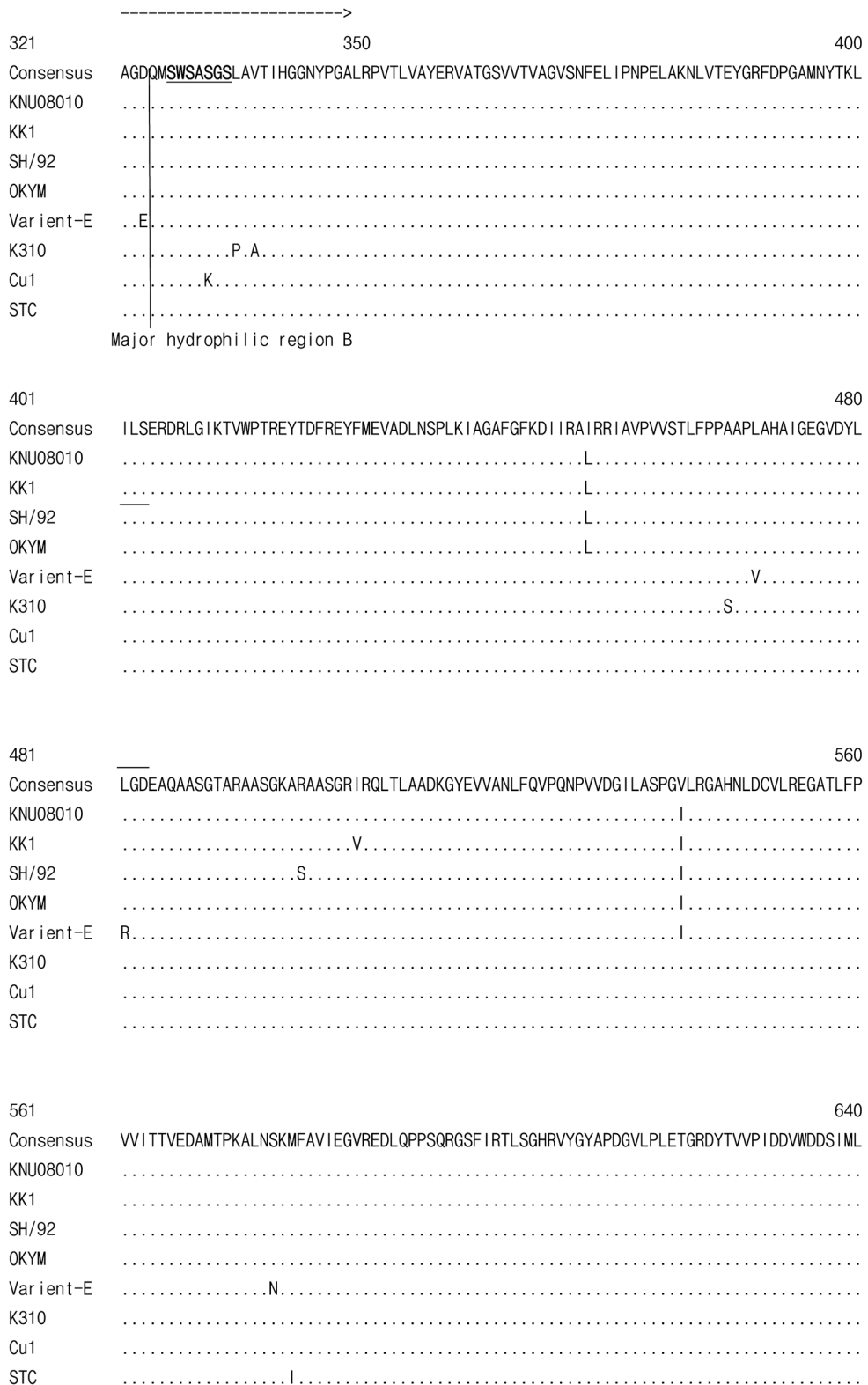
Variant-EK.....S.....C.....A.....I.....D.....

K310P.....S.....S.S.T.....P I.....F.....T.....

Cu1H.....T.....S.....

STCF.....D.....V.....

Minor hydrophilic region 1 Minor hydrophilic region 2 Minor hydrophilic region 3



<-----variable region of VP4(651-720)----->

641	651	720
Consensus	SKDP I P P I V G N S G N L A I A Y M D V F R P K V P I H V A M T G A L N A C G E I E K V S F R S T K L A T A H R L G L K L A G P G A F D V N T G P N W A T F	
KNU08010Y...N.....S.....	
KK1	
SH/92-.....Y...N.....S.....	
OKYMY...N.....S.....	
Var ient-EI.....	
K310G.....	
Cu1	
STCF.....	

<----->

721	751	800
Consensus	I K R F P H N P R D W D R L P Y L N L P Y L P P N A G R Q Y H L A M A A S E F K E T P E L S A V R A M E A A A N V D P L F Q S A L S V F M W L E E N G I V T D	
KNU08010D.....	
KK1	
SH/92D.....G.....	
OKYMD.....	
Var ient-E	
K310S.....	
Cu1	
STC	

<<----->>

801	880
Consensus	M A N F A L S D P N A H R M R N F L A N A P Q A G S K S Q R A K Y G T A G Y G V E A R G P T P E E A Q R E K D T R I S K K M E T M G I Y F A T P E W W A L N G H
KNU08010
KK1	S.....
SH/92
OKYMV.....A.....
Var ient-EL.....L.G.....Q.....F.R.....
K310
Cu1
STCA.....

<<-----Part of VP3(751-1012)----->>

881	960
Consensus	R G P S P G Q L K Y W Q N T R E I P D P N E D Y L D Y V H A E K S R L A S E E Q I L R A A T S I Y G A P G Q A E P P Q A F I D E V A K V Y E I N H G R G P N Q E
KNU08010
KK1	...G.....V.....
SH/92
OKYM
Var ient-E	.R.....Y.....V...L.....
K310V.....
Cu1
STC	...A.....K.....

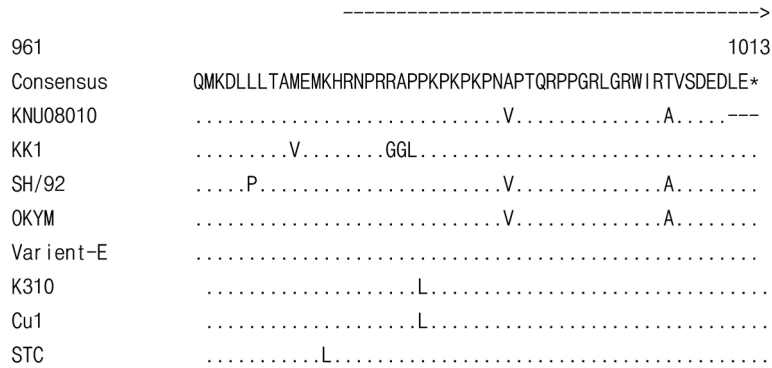


Fig. 1. Deduced amino acid sequence translated from open reading frame 2 in segment A gene of infectious bursal disease virus (IBDV) strains. Differences from the consensus sequence are shown. Identical amino acids are marked as a period (.). Hyphens indicate positions where amino acids are not confirmed in KNU08010. Hydrophilic regions, which represent areas critical for antigenicity, are boxed. The serine-rich region is underlined.

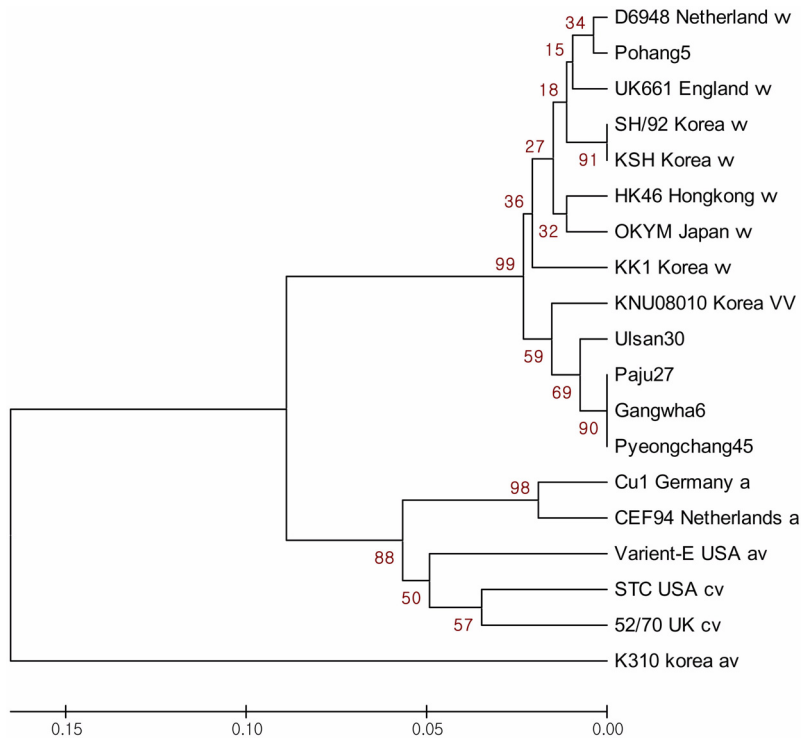


Fig. 2. Phylogenetic tree based on the nucleotide sequences of variable region (nucleotides 571-1277) of the VP2 gene of 18 IBDV strains denoted from Table 1. a: attenuated, cv: classical virulent, av: antigenic variant, vv: very virulent.

염기서열을 기준으로 phylogenetic tree를 작성하여 근연 관계를 분석하였다(Fig. 2). 분리주 KNU08010주는 국내외 보고된 vvIBDV와 동일한 계열로 분류되었고, 특히 야생조류에서 분리된 vvIBDV인 Pohang5, Ulsan30,

Paju27, Gangwha6, Pyeongchang45와 가장 가까운 근연 관계를 나타냈다. 반면, classical IBDV(STC, 52/70), avirulent IBDV(Cu1, CEF94), antigenic variant strain(Variet-E)과는 다른 계열로 분류되었다.

고 찰

vvIBDV는 폐사율이 높을 뿐만 아니라 기존의 classical IBDV와는 다르게 폐사를 유발하는 감수성일령 범위가 넓은 특징이 있다. 즉, vvIBDV는 3주령 미만이나 14주령 전후의 닭에 감염하여도 폐사를 유발할 수 있어 classical IBDV와는 차이를 보인다. 본 실험에서 KNU08010주가 분리된 농장에서는 폐사가 2주령부터 나타나기 시작하였으며 폐사한 병아리의 부검결과 F낭의 종대 및 출혈, 선위근위 연접부위의 출혈, 피하의 반상출혈 등 IBDV의 임상병변이 나타나는 것으로 보아 3주령 미만의 병아리에 감염될 경우 임상병변이 거의 나타나지 않던 classical IBDV 감염과는 차이를 보였다.

KNU08010주는 모든 병원성 바이러스주에서 보존되고 있는 HVR의 아미노산 326-332부위의 serine rich heptapeptide(SWSASGS)를 가지는 특징을 보였다. 또한 VP2의 HVR부위에서 vvIBDV간에 잘 보존되어있는 것으로 알려진 5개의 아미노산(A222, I242, I256, I294, S299)이 모두 존재하였다. Jackwood와 Sommer-Wagner [15]는 4개 대륙 18개국에서 분리된 vvIBDV를 대상으로 HVR부위에서의 아미노산 특징을 조사한 결과 대부분의 vvIBDV는 위의 5개 아미노산이 잘 보존되고 있음을 확인한 바 있다. 본 실험에서 분리된 KNU08010주도 이 부위 5개의 아미노산이 모두 잘 보존된 것으로 보아 vvIBDV로 추정되었다.

KNU08010주는 polyprotein 전체에서 다른 vvIBDV주(SH/92, OKYM)에서만 공통적으로 관찰되는 아미노산을 조사한 결과 14개(A222, I242, I256, A270, I294, S299, L451, I541, Y680, N685, S715, D751, V990, A1005)가 확인되었다. 이 중 7개(A222, I242, I256, A270, I294, S299, L451)는 VP2, 3개(I541, Y680, N685, S715)는 VP4, 나머지 3개(D751, V990, A1005)는 VP3에 존재하였다. IBDV의 병원성은 VP2 단백질의 변화뿐만 아니라 다른 부위 단백질 변화와도 관련이 있음을 시사한 바 있다 [6, 20, 28, 29]. 따라서 KNU08010주의 VP3 혹은 VP4 부위에서 특징적으로 나타나는 이들 아미노산이 vvIBDV의 병원성과 관련이 있는지 여부는 앞으로 추가적인 연구가 더 필요할 것으로 생각되었다.

Cystein과 proline기는 바이러스 단백질의 folding에 관여한다고 알려져 있으며 VP2의 아미노산 222와 VP4의 아미노산 715에 위치하는 proline이 vvIBDV에서는 각각 alanine과 serine으로 대체되며 이 아미노산 변이가 VP2와 VP4의 구조에 변화를 주어 병원성 변화가 가능할 것으로 추정된 바 있다 [29]. KNU08010주도 이 부위에서 proline이 각각 alanine과 serine으로 변이가 되어 있는 것으로 나타났다.

KNU08010주를 포함하여 vvIBDV인 SH92와 OKYM주 모두 VP2-VP4 절단부위 근처에서 L451 특성을 가지는 것으로 나타났다. 단백질 절단부위의 아미노산 변화는 감염세포에서 바이러스 증식성 변화로 병원성 변이가 가능할 수 있기 때문에 [29], KNU08010주에서 나타나는 이러한 특징도 이 바이러스의 병원성과 관련이 있을 것으로 추정되었다.

HVR의 염기서열을 기준으로 phylogenetic tree를 비교한 결과에서 분리주 KNU08010주는 기존의 classical IBDV와는 다른 계열로 분류되며 국내외에서 보고된 vvIBDV와 동일한 계열로 분류되는 것으로 나타나 분리주 KNU08010주는 vvIBDV인 것으로 판단되었다. 국내 분리 vvIBDV간에 polyprotein 전체의 아미노산을 비교한 결과 KNU08010주는 SH92주와 HVR부위에서 매우 유사하였을뿐만 아니라 다른 부위에서도 상동성이 매우 높아 segment A 유전자중 4개의 아미노산 차이만 있었다. 반면 KK1주와는 HVR에서는 유사성이 높았으나 VP4나 VP3 등 다른 부위에서는 많은 차이를 보여 segment A 전체 유전자에서 총 17개의 아미노산 차이를 보이는 것으로 나타나 분리주 KNU08010주는 KK1주보다는 SH92주와 더 유사한 것으로 생각되었다.

KNU08010주는 HVR 부위의 phylogenetic tree 분석결과 최근 야생조류에서 분리된 바이러스 [16]와 매우 가까운 근연관계를 보이는 것으로 나타났다. IBDV는 닭뿐만 아니라 항체조사결과 야생조류에서도 일부 양성으로 나타나 야생조류도 IBDV 감염이 가능한 것으로 보고된 바 있으며 [24, 27], 국내에서는 야생조류들로부터 IBDV가 분리된 바 있다 [16]. 따라서 닭 농장에서 발생한 KNU08100주와 국내 야생조류에서 분리된 바이러스와 HVR 유전자에서 매우 근연관계가 높은 것으로 보아 이들 질병 전파와 야생조류의 관련성도 배제할 수 없을 것으로 생각되나 관련성을 보다 정확히 구명하기 위해서는 HVR 이외에도 polyprotein 단백질 전체뿐만 아니라 segment B 유전자의 비교도 추가로 더 필요할 것으로 생각되었다.

결 론

2주령 전후의 닭에서 높은 치사율을 보이는 사례에서 IBDV를 분리하여 분절 A 유전자를 분석하였다. 분리주는 일본 및 한국에서 분리 보고된 vvIBDV와 매우 높은 아미노산 상동성을 보였으며 HVR부위에서 vvIBDV간에 잘 보존되어있는 것으로 알려진 5개의 아미노산이 모두 존재하는 것으로 보아 vvIBDV로 분류되었다. 또한 HVR의 염기서열을 기준으로 phylogenetic tree를 작성하여 다른 바이러스들과 근연관계를 분석한 결과 분

리주 KNU08010주는 국내의 보고된 vvIBDV와 동일한 계열로 분류되었고, 특히 야생조류에서 분리된 vvIBDV들과 매우 가까운 근연관계를 나타냈다.

감사의 글

본 연구는 과학재단 특정기초연구사업(과제번호: 2010-0000138)의 지원에 의해 이루어진 것으로, 지원에 감사드립니다.

참고문헌

- 권용국, 모인필, 성환우, 강문일, 고흥범, 이정길, 양창근. 전염성 F낭병 바이러스 국내 분리주 SH/92의 병원성 연구. 농업논문집 1995, **37**, 637-647.
- Akin A, Wu CC, Lin TL. Amplification and cloning of infectious bursal disease virus genomic RNA segments by long and accurate PCR. *J Virol Methods* 1999, **82**, 55-61.
- Bayliss CD, Spies U, Shaw K, Peters RW, Papageorgiou A, Müller H, Bournnell ME. A comparison of the sequences of segment A of four infectious bursal disease virus strains and identification of a variable region in VP2. *J Gen Virol* 1990, **71**, 1303-1312.
- Boot HJ, ter Huurne AAHM, Hoekman AJW, Peeters BPH, Gielkens ALJ. Rescue of very virulent and mosaic infectious bursal disease virus from cloned cDNA: VP2 is not the sole determinant of the very virulent phenotype. *J Virol* 2000, **74**, 6701-6711.
- Brown MD, Green P, Skinner MA. VP2 sequences of recent European 'very virulent' isolates of infectious bursal disease virus are closely related to each other but are distinct from those of 'classical' strains. *J Gen Virol* 1994, **75**, 675-680.
- Brown MD, Skinner MA. Coding sequences of both genome segments of a European 'very virulent' infectious bursal disease virus. *Virus Res* 1996, **40**, 1-15.
- Cao YC, Yeung WS, Law M, Bi YZ, Leung FC, Lim BL. Molecular characterization of seven Chinese isolates of infectious bursal disease virus: classical, very virulent, and variant strains. *Avian Dis* 1998, **42**, 340-351.
- Chettle NJ, Stuart JC, Wyeth PJ. Outbreak of virulent infectious bursal disease in East Anglia. *Vet Rec* 1989, **125**, 271-272.
- Etteradossi N, Saif YM. Infectious bursal disease. In: Saif YM, Fadly AM, Glisson JR, McDougald LR, Nolan LK, Swayne DE (eds.). *Diseases of Poultry*. 12th ed. pp. 185-208, Blackwell, Iowa, 2008.
- Fahey KJ, McWaters P, Brown MA, Emy K, Murphy VJ, Hewish DR. Virus-neutralizing and passively protective monoclonal antibodies to infectious bursal disease virus of chickens. *Avian Dis* 1991, **35**, 365-373.
- Heine HG, Haritou M, Failla P, Fahey K, Azad A. Sequence analysis and expression of the host-protective immunogen VP2 of a variant strain of infectious bursal disease virus which can circumvent vaccination with standard type I strains. *J Gen Virol* 1991, **72**, 1835-1843.
- Hudson PJ, McKern NM, Power BE, Azad AA. Genomic structure of the large RNA segment of infectious bursal disease virus. *Nucleic Acids Res* 1986, **14**, 5001-5012.
- Jackwood DJ, Saif YM, Hughes JH. Nucleic acid and structural proteins of infectious bursal disease virus isolates belonging to serotypes I and II. *Avian Dis* 1984, **28**, 990-1006.
- Jackwood DJ, Saif YM, Moorhead PD. Immunogenicity and antigenicity of infectious bursal disease virus serotypes I and II in chickens. *Avian Dis* 1985, **29**, 1184-1194.
- Jackwood DJ, Sommer-Wagner S. Genetic characteristics of infectious bursal disease viruses from four continents. *Virology* 2007, **365**, 369-375.
- Jeon WJ, Lee EK, Joh SJ, Kwon JH, Yang CB, Yoon YS, Choi KS. Very virulent infectious bursal disease virus isolated from wild birds in Korea: Epidemiological implications. *Virus Res* 2008, **137**, 153-156.
- Kibenge FS, Jackwood DJ, Mercado CC. Nucleotide sequence analysis of genome segment A of infectious bursal disease virus. *J Gen Virol* 1990, **71**, 569-577.
- Kwon HM, Kim DK, Hahn TW, Han JH, Jackwood DJ. Sequence of precursor polyprotein gene (segment A) of infectious bursal disease viruses isolated in Korea. *Avian Dis* 2000, **44**, 691-696.
- Lim BL, Cao Y, Yu T, Mo CW. Adaptation of very virulent infectious bursal disease virus to chicken embryonic fibroblasts by site-directed mutagenesis of residues 279 and 284 of viral coat protein VP2. *J Virol* 1999, **73**, 2854-2862.

20. **Liu M, Vakharia VN.** VP1 protein of infectious bursal disease virus modulates the virulence in vivo. *Virology* 2004, **330**, 62-73.
21. **McFerran JB, McNulty MS, McKillop ER, Connor TJ, McCracken RM, Collins DS, Allan GM.** Isolation and serological studies with infectious bursal disease viruses from fowl, turkeys and ducks: demonstration of a second serotype. *Avian Pathol* 1980, **9**, 395-404.
22. **Müller H, Scholtissek C, Becht H.** The genome of infectious bursal disease virus consists of two segments of double-stranded RNA. *J Virol* 1979, **31**, 584-589.
23. **Nunoya T, Otaki Y, Tajima M, Hiraga M, Saito T.** Occurrence of acute infectious bursal disease with high mortality in Japan and pathogenicity of field isolates in specific-pathogen-free chickens. *Avian Dis* 1992, **36**, 597-609.
24. **Ogawa M, Wakuda T, Yamaguchi T, Murata K, Setiyono A, Fukushi H, Hirai K.** Seroprevalence of infectious bursal disease virus in free-living wild birds in Japan. *J Vet Med Sci* 1998, **60**, 1277-1279.
25. **Pitcovski J, Goldberg D, Levi BZ, Di-Castro D, Azriel A, Krispel S, Maray T, Shaaltiel Y.** Coding region of segment A sequence of a very virulent isolate of IBDV-Comparison with isolates from different countries and virulence. *Avian Dis* 1998, **42**, 497-506.
26. **Van den Berg TP, Gonze M, Meulemans G.** Acute infectious bursal disease in poultry: isolation and characterisation of a highly virulent strain. *Avian Pathol* 1991, **20**, 133-143.
27. **Wilcox GE, Flower RLP, Baxendale W, Mackenzie JS.** Serological survey of wild birds in Australia for the prevalence of antibodies to egg drop syndrome 1976 (EDS-76) and infectious bursal disease viruses. *Avian Pathol* 1983, **12**, 135-139.
28. **Yamaguchi T, Ogawa M, Inoshima Y, Miyoshi M, Fukushi H, Hirai K.** Identification of sequence changes responsible for the attenuation of highly virulent infectious bursal disease virus. *Virology* 1996, **223**, 219-223.
29. **Yamaguchi T, Ogawa M, Miyoshi M, Inoshima Y, Fukushi H, Hirai K.** Sequence and phylogenetic analyses of highly virulent infectious bursal disease virus. *Arch Virol* 1997, **142**, 1441-1458.