

## 국내 어류에서 분리된 *Megalocytivirus*의 유전형 분류 및 상관관계 분석

이은선 · 조미영 · 민은영 · 정승희 · 김광일<sup>†</sup>

국립수산과학원 병리연구과

### Genetic relatedness of *Megalocytivirus* from diseased fishes in Korea

Eun Sun Lee, Miyoung Cho, Eun Young Min, Sung Hee Jung and Kwang Il Kim<sup>†</sup>

Pathology Research Division, National Institute of Fisheries Science, Busan, 46083, Republic of Korea

In this study, we collected 39 megalocytiviruses isolated from diseased fish in Korea from 2012 to 2018. Major capsid protein (MCP) gene, a part of vascular endothelial growth factor (VEGF) gene and histidine triad motif-like protein (HIT) genes of *Megalocytivirus* were targeted for PCR amplification and analysis of those DNA nucleotide sequences. Korean strains revealed two genotypes (red sea bream iridovirus and turbot reddish body iridovirus types) based on the phylogeny of MCP gene. The red sea bream iridovirus type (RSIV-type) megalocytiviruses were divided into RSIV-subgroup 1 and 2. From the phylogenetic analysis of the VEGF genes, a genotypic variant of RSIV-type *Megalocytivirus* was identified. The HIT-like protein gene was detected in RSIVs, but not in TBRIV and ISKNV, suggesting that HIT-like protein gene may be specific in RSIV.

**Key words:** Histidine triad motif-like protein (HIT); Major capsid protein (MCP); *Megalocytivirus*; Vascular endothelial growth factor (VEGF)

### 서 론

참돔이리도바이러스병 (red sea bream iridoviral diseases, RSIVD)의 원인 바이러스는 이리도바이러스과 (family *Iridoviridae*), 메갈로사이티바이러스속 (genus *Megalocytivirus*)에 속하며, 지름이 약 140-250 nm인 20면체 double strand DNA 바이러스이다 (Kurita and Nakajima, 2012; Chinchar et al., 2017). *Megalocytivirus*의 유전형 분류는 major capsid protein (MCP) 및 adenosine triphosphatase

(ATPase) 유전자 염기서열의 상관관계를 기반으로 하고 있다. *Megalocytivirus*의 유전형은 red sea bream iridovirus (RSIV)형, infectious spleen and kidney necrosis virus (ISKNV)형, 그리고 turbot reddish body iridovirus (TRBIV)형으로 총 3가지 유전형 (genotype)으로 분류되며, RSIV형과 ISKNV형은 각 유전아형(subgroup 1형과 2형)으로 세분화하여 분류할 수 있다(Kurita and Nakajima, 2012).

1990년 일본 양식 참돔에서 처음 참돔이리도바이러스병이 발생된 후, 경골어류(농어목, 복어목, 송어목, 가자미목, 열대송사리목, 등목어목, 상어목 등) 약 30종이 이상이 감수성 품종으로 알려져 있다 (Inouye et al., 1992; Lee et al., 2007; OIE,

<sup>†</sup>Corresponding author: Kwang Il Kim  
Tel: +82-51-720-2484, Fax: +82-51-720-2498  
E-mail: kimki@korea.kr

2018). 참돔이리도바이러스병에 감염된 어류들은 비장 비대, 아가미 점상 출혈, 신장 팽창, 유영력 상실, 식욕부진, 빈혈 등을 일으켜 폐사에 이른다 (Yanong and Waltzek, 2010; Kurita and Nakajima, 2012; OIE, 2018). 국내에서도 해수 및 내수면 양식 어류의 높은 감염률과 폐사율을 보이며 양식산업의 큰 경제적 손실을 발생시키고 있다 (Jung and Oh, 2000; Sohn et al., 2000; Do et al., 2005a; Kim et al., 2018).

*Megalocytivirus*의 MCP 유전자는 거의 모든 이리도바이러스에 있으며 보존적 염기서열을 가지므로 이리도바이러스의 감염 진단이나 동정에 널리 사용된다 (Stohwasser et al., 1993; Tidona et al., 1998; Eaton et al., 2007). 또한, MCP 유전자로 코딩된 바이러스 외피막 단백질은 바이러스 계통을 보호할 뿐만 아니라 숙주 세포를 인식하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다 (Tidona et al., 1998; Fu et al., 2012).

Vascular endothelial growth factor (VEGF)는 이리도바이러스과 (*Iridoviridae*)내에서 유일하게 *Megalocytivirus*속 바이러스에만 존재하는 유전자로, Wang et al (2008)에 의하면 VEGF는 숙주 내에서 혈관 확장 유도 및 침투성을 촉진하여 바이러스 감염 및 복제에 중요한 역할을 할 것이라 시사한 바 있다. Histidine triad motif로 되어 있는 HIT-like protein (HIT)은 거의 모든 생물체에서 발견되며 보존적인 단백질로, 기능적으로는 Hint (Histidine triad nucleotide-binding protein)와 Fhit (Fragile HIT protein)는 종양 형성을 억제하는 것으로 알려져 있으나 *Megalocytivirus*에서 HIT-like protein의 기능적인 역할은 아직 밝혀진 바 없다 (Brenner, 2002; Martin et al., 2011).

본 연구에서는 국내 어류에서 분리된 *Megalocytivirus*의 MCP, VEGF 및 HIT-like protein 도메인의 유전자 염기서열을 분석하고, 국내 분리주의 유전형 및 유전적 상관관계에 대해 고찰하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 바이러스

본 연구에서 사용된 시료는 2012년 8월부터 2018

년 1월까지 경남(고성, 거제, 남해, 통영, 사천, 하동), 경북(안동), 전남(장흥, 여수, 완도, 신안) 및 제주 지역 어류에서 분리된 megalocytiviruses로, 국립수산물품질관리원 수산방역과에서 세계동물보건기구 (OIE) 수산동물진단매뉴얼의 유전자 진단법으로 확정 진단한 총 39개의 양성 조직 시료를 분양 받아 분석하였다. 각 양성 조직 시료는 비장과 신장 조직으로 실험 전까지 -80°C에서 냉동보관을 하였다. 실험에 사용된 시료는 돌돔 (rock bream, *Oplegnathus fasciatus*; 24개), 농어 (sea bass, *Lateolabrax japonicus*; 6개), 가송어 (so-iuy mullet, *Planiliza haematocheila*; 2개), 참돔 (red sea bream, *Pagrus major*; 2개), 쏘가리 (golden mandarin fish, *Siniperca scherzeri*; 2건), 강도다리 (starry flounder, *Platichthys stellatus*; 1개), 넙치 (olive flounder, *Paralichthys olivaceus*; 1개), 그리고 취치 (thread-sail filefish, *Stephanolepis cirrhifer*; 1개)에서 분리하였다 (Table 1).

### 유전자 추출 및 증폭

조직 시료로부터 핵산을 추출하고자 조직(100–200 mg)을 인산완충생리식염수 (PBS, pH 7.4)에 1:9 (w/v) 비율로 첨가하여 마쇄한 다음, 원심분리 (1,000×g, 10분, 4°C)를 하고 상징액만 취하였다. 상징액을 멸균된 필터 (pore 0.45 μm)로 여과를 한 후 DNA mini kit (Qiagen, USA)을 이용하여 제조사에서 제시한 방법에 따라 핵산을 추출하였다. *Megalocytivirus*의 MCP, VEGF 및 HIT-like protein 도메인의 유전자 염기서열을 분석하고자, RSIV-Ehime-1 (GenBank Accession No. AB104413) 분리주를 기반으로 DNASTAR Lasergene 8 버전의 Primer Select 프로그램을 사용하여 프라이머를 제작하여 Table 2의 조건하에서 유전자를 증폭하였다.

### 유전적 상관관계 분석

각 유전자의 증폭 산물에 대한 염기서열은 ABI 3730XL DNA Analyzer (Applied Biosystems, USA) sequencer를 사용하여 분석하였다. 각 단편의 염기서열들은 BioEdit Sequence Alignment Editor (Hall, 1999)의 CLUSTAL W alignment model (Thompson et al., 1994)을 통해 교차분석 후 단일 염기서열을 확보하였고 유사도 분석을 수행하였다. 또한, Na-

Table 1. List of biological source infected by *Megalocytivirus* in Korea

Biological source	Isolate	Collection date	location
Rock bream ( <i>Oplegnathus fasciatus</i> )	RB1-GJ	2012. 08.	Geoje
Red sea bream ( <i>Pagrus major</i> )	RS1-TY	2012. 08.	Tongyeong
Rock bream ( <i>Oplegnathus fasciatus</i> )	RB2-YS	2012. 10.	Yeosu
So-iuy mullet ( <i>Planiliza haematocheila</i> )	SM1-SC	2013. 08.	Sachun
Sea bass ( <i>Lateolabrax japonicus</i> )	SB1-TY	2013. 09.	Tongyeong
Rock bream ( <i>Oplegnathus fasciatus</i> )	RB3-JJ	2013. 10.	Jeju
Rock bream ( <i>Oplegnathus fasciatus</i> )	RB4-SC	2014. 08.	Sachun
Rock bream ( <i>Oplegnathus fasciatus</i> )	RB5-NH	2014. 08.	Namhae
Olive flounder ( <i>Paralichthys olivaceus</i> )	OF1-JH	2014. 09.	Jangheung
Red sea bream ( <i>Pagrus major</i> )	RS2-TY	2014. 10.	Tongyeong
Rock bream ( <i>Oplegnathus fasciatus</i> )	RB6-YS	2014. 10.	Yeosu
Sea bass ( <i>Lateolabrax japonicus</i> )	SB2-YS	2015. 08.	Yeosu
Rock bream ( <i>Oplegnathus fasciatus</i> )	RB7-NH	2015. 09.	Namhae
Rock bream ( <i>Oplegnathus fasciatus</i> )	RB8-WD	2016. 09.	Wando
Rock bream ( <i>Oplegnathus fasciatus</i> )	RB9-WD	2016. 09.	Wando
Golden mandarin fish ( <i>Siniperca scherzeri</i> )	GMIV	2016. 10.	Andong
Rock bream ( <i>Oplegnathus fasciatus</i> )	RB10-GH	2016. 11.	Goheung
Rock bream ( <i>Oplegnathus fasciatus</i> )	RB11-GH	2016. 11.	Goheung
Thread-sail filefish ( <i>Stephanolepis cirrhifer</i> )	TF1-GS	2017. 09.	Gocong
Rock bream ( <i>Oplegnathus fasciatus</i> )	RB16-YS	2016. 09.	Yeosu
Rock bream ( <i>Oplegnathus fasciatus</i> )	RB17-YS	2016. 09.	Yeosu
Rock bream ( <i>Oplegnathus fasciatus</i> )	RB18-TY	2016. 09.	Tongyeong
Sea bass ( <i>Lateolabrax japonicus</i> )	SB3-GH	2016. 10.	Goheung
Rock bream ( <i>Oplegnathus fasciatus</i> )	RB19-GJ	2016. 10.	Geoje
Sea bass ( <i>Lateolabrax japonicus</i> )	SB4-GH	2016. 11.	Goheung
Sea bass ( <i>Lateolabrax japonicus</i> )	SB5-TY	2017. 07.	Tongyeong
Rock bream ( <i>Oplegnathus fasciatus</i> )	RB20-SH	2017. 08.	Shinan
Rock bream ( <i>Oplegnathus fasciatus</i> )	RB21-NH	2017. 08.	Namhae
Sea bass ( <i>Lateolabrax japonicus</i> )	SB6-NH	2017. 08.	Namhae
Rock bream ( <i>Oplegnathus fasciatus</i> )	RB22-SC	2017. 08.	Sachun
So-iuy mullet ( <i>Planiliza haematocheila</i> )	SM2-HD	2017. 08.	Hadong
Rock bream ( <i>Oplegnathus fasciatus</i> )	RB23-TY	2017. 08.	Tongyeong
Rock bream ( <i>Oplegnathus fasciatus</i> )	RB24-GS	2017. 09.	Goseong
Rock bream ( <i>Oplegnathus fasciatus</i> )	RB25-GJ	2017. 09.	Geoje
Rock bream ( <i>Oplegnathus fasciatus</i> )	RB26-GJ	2017. 09.	Geoje
Starry flounder ( <i>Platichthys stellatus</i> )	SF1-PH	2017. 11.	Pohang
Rock bream ( <i>Oplegnathus fasciatus</i> )	RB27-YS	2017. 11.	Yeosu
Rock bream ( <i>Oplegnathus fasciatus</i> )	RB28-YS	2017. 12.	Yeosu
Golden mandarin fish ( <i>Siniperca scherzeri</i> )	GM2-SC	2018. 01.	Sancheong

Table 2. Oligonucleotide primers used in PCR amplification

Target	Primer	Sequence (5' - 3')	PCR condition
MCP	Irido-MCP-pcDNA 1F	GAA TTC GCA TGT CTG CAA TCT CAG GTG	(95°C, 30 sec; 58°C, 30 sec; 72°C, 30 sec), 35 cycles
	Irido-MCP-pcDNA 1R	CTC GAG TTA CAG GAT AGG GAA GCC TGC	
VEGF	RSIV-VEGF-F	AGG TTG AGG CAT CAG CAG ACT	(94°C, 30 sec; 60°C, 30 sec; 72°C, 30 sec), 35 cycles
	RSIV-VEGF-R	GCC TGT ACC GCT ACA TGA CAG AA	
HIT-like protein	RSIV-515L-HIT-F	GAT GAC GCC AGC CTG ACT GA	(94°C, 30 sec; 55°C, 30 sec; 72°C, 30 sec), 30 cycles
	RSIV-515L-HIT-R	GCG GTC AAG ACC ACA TTC ATC C	

tional Center for Biotechnology Information (NCBI)에 등록된 보존 도메인 정보 검색 서비스를 (Conserved Domain Search) 이용하여 선별된 유전자 서열을 계통 분석에 사용하였다. 유전체가 분석된 10종의 megalocytiviruses (RSIV-Ehime-1, RSIV-RIE12-1, RBIV-KOR-TY1, RBIV-C1, GSIV-K1, OSGIV, LYCIV, TRBIV, ISKNV, ISKNV-RSIV-Ku; Table 3)를 참조서열로 하여 계통분류 분석을 하였으며, 분석은 MEGA5.2 프로그램에서 neighbor-joining 분석 방법(1,000 bootstrap)으로 계통분류를 검증하였다.

## 결 과

### 국내 어류 분리 *Megalocytivirus*의 MCP 유전자 상관관계에 따른 유전형 분류

2012년 8월부터 2018년 1월까지 국내에서 *Megalocytivirus*로 검출된 어류는 총 5목 8과의 8개의 품종으로 분류되었다. *Megalocytivirus*가 검출된 어종은 돌돔, 농어, 가송어, 참돔, 강도다리, 넙치, 그리고 쥐치와 같은 해산어류뿐만 아니라 내수면 품종인 쏘가리에서 확인되었다. 본 연구에서 제작한 primer로 증폭된 MCP 유전자의 길이는 1,286-1,287 bp (GC content: 54.82-56.14%)이며, NJ 법으로 계통발생학적 상관관계를 분석한 결과, RSIV형과 TRBIV형으로 총 2가지 유전형으로 분류되었다 (Fig. 1). RSIV형에 속하는 분리주 중, 농어에서 분리된 SB5-TY strain (2017년 7월, 경남 통영)과 쏘가리에서 분리된 GMIV strain (2016년 10월, 경북 안

동)는 Large yellow croaker iridovirus (LYCIV, Gen Bank Accession no. AY779031) 그리고 Red sea bream iridovirus-Ehime-1 (RSIV-Ehime, GenBank Accession no. AB104413)과 함께 RSIV-subgroup 1형으로 속하는 것으로 나타났으며, 나머지 분리주는 RSIV-subgroup 2형으로 분류되었다. 가자미목(order *Pleuronectiformes*)의 넙치에서 분리된 OF1-JH (2014년 9월, 전남 장흥) 분리주는 TRBIV형에 속하는 것으로 나타났다.

### VEGF 및 HIT-like protein 유전자 분석

본 연구에서 제작한 프라이머로 증폭된 VEGF 유전자의 길이는 348-354 bp (GC content: 56.50-57.76%)이다. VEGF의 유전적 상관관계 분석 결과, MCP 유전자로 분석한 유전형 분류와 동일하게 RSIV형과 TRBIV형의 2가지 유전형으로 분류되었다 (Fig. 2). 특이적인 부분은 MCP 유전자에 의한 유전형 분류에서 RSIV-subgroup 1형으로 분류된 SB5-TY 분리주(농어에서 분리)가 VEGF 유전자 분석 시 RSIV-subgroup 2형으로 분류되었으며, RSIV-subgroup 1형과는 97.7%의 상동성을 보였고 RSIV-subgroup 2형과는 99.7-100% 유사도를 보였다.

HIT-like protein 유전자의 경우, 본 연구에서 제작한 프라이머로 PCR 수행 시 288 bp (GC content: 53.13%)로 나타났다. RSIV형의 *Megalocytivirus* (RSIV-Ehime, RSIV-RIE12-1, RBIV-KOR-TY1, RBIV-C1, GSIV, OSGIV)에서만 특이적으로 존재하며, TRBIV

Table 3. *Megalocytivirus* genome list in GenBank

Virus	Strain	Biological source/year/country	GenBank Accession No.
Giant seaperch iridovirus	GSIV-K1	<i>Lateolabrax calcarifer</i> /2006/Taiwan	KT804738
Infectious spleen and kidney necrosis virus	ISKNV	Mandarin fish/1998/China	AF371960
Infectious spleen and kidney necrosis virus	RSIV-Ku	<i>Pagrus major</i> /2007/Taiwan	KT781098
Large yellow croaker iridovirus	LYCIV	<i>Pseudosciaena crocea</i> /1999/China	AY779031
Orange-spotted grouper	OSGIV	<i>Epinephelus coioides</i> /2002/China	AY894343
Red sea bream iridovirus	Ehime-1	<i>Pagrus major</i> /1992/Japan	AB104413
Red sea bream iridovirus	RIE12-1	<i>Pagrus major</i> /2012/Japan	AP017456
Rock bream iridovirus	RBIV-C1	<i>Oplegnathus fasciatus</i> /2009/China	KC244182
Rock bream iridovirus	RBIV-KOR-TY1	<i>Oplegnathus fasciatus</i> /2000/Korea	AY532606
Turbot trddish body iridovirus	TRBIV	<i>Scophthalmus maximus</i> /2005/China	GQ273492

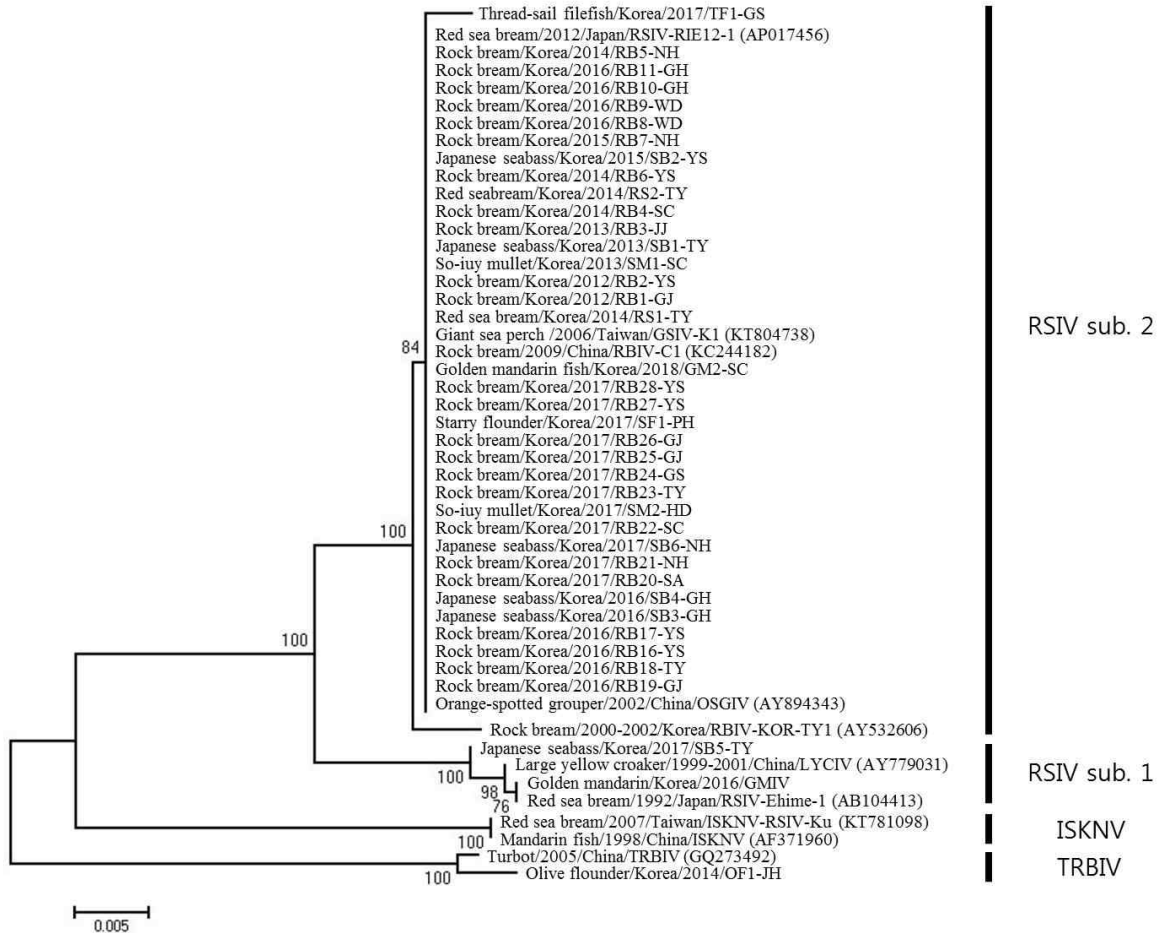


Fig. 1. Phylogenetic tree based on neighbor-joining analysis of the major capsid protein (MCP) gene sequences. Each of the Korean strains is named in host species/year/ strain name order. GenBank accession numbers are given in parentheses. The numbers indicate the percentage bootstrap support for each node following 1,000 replicates.

형에 속하는 OF1-JH 분리주(넙치에서 분리)에서는 HIT-like protein 유전자를 확인할 수 없었다. RSIV형 바이러스들의 HIT-like protein 유전자 상동성을 조사한 결과, Ehime-1 strain에서 288 bp 중 5 bp의 염기서열 차이를 보여, 다른 바이러스와 98.6%의 상동성을 보였다. 또한, LYCIV의 경우 전체 서열 중 93,629~ 93,912 부위에서 4 bp가 결실된 (deletion) HIT-like protein conserved domain 추정부위를 확인할 수 있었으며, 다른 RSIV형 megalocytiviruses와의 상동성이 96.8~98.2%로 나타났다 (Fig. 4).

## 고 찰

국내 어류에서 분리된 *Megalocytivirus*의 유전형은 RSIV-subgroup 2형과 TRBIV형으로 분류되며, RSIV-subgroup 2형은 돌돔, 참돔, 농어 등 가두리 양식어류에서 우점적으로, TRBIV형은 넙치에서 우점적으로 분포하고 있다(Do et al., 2005a, b; Kim et al., 2018, 2019). 본 연구에서 분석된 39개의 *Megalocytivirus* 양성 시료들도 기존 보고들과 마찬가지로 RSIV형과 TRBIV형으로 확인되었다.

최근 국내에서 방류 종료용으로 생산된 황쏘가리 (Golden mandarin fish, *Siniperca scherzeri*)가

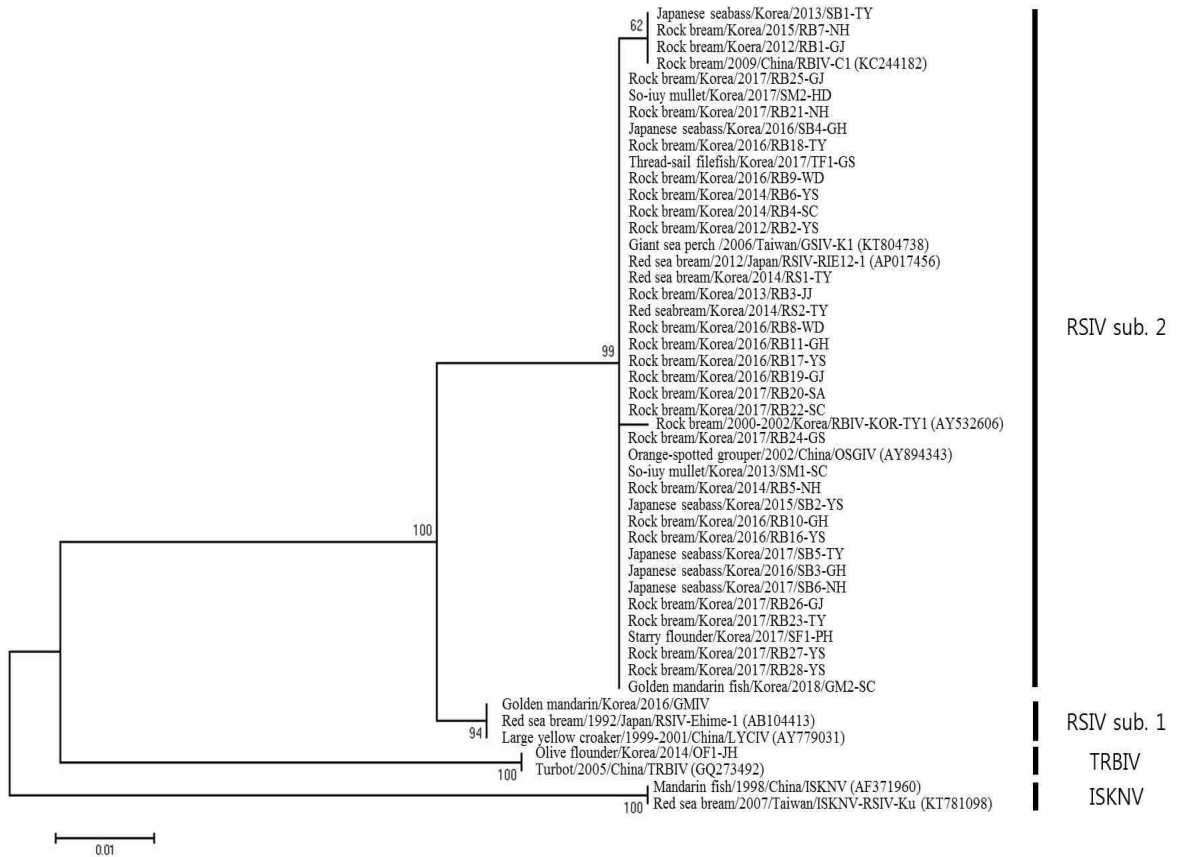


Fig. 2. Phylogenetic tree based on neighbor-joining analysis of the conserved domain sequences of vascular endothelial growth factor (VEGF) gene. Each of the Korean strains is named in host species/year/ strain name order. GenBank accession numbers are given in parentheses. The numbers indicate the percentage bootstrap support for each node following 1,000 replicates.

1990년 일본의 참돔에서 발생한 RSIV-Ehime-1 strain과 동일한 RSIV-subgroup 1형의 자연 감염 사례가 최초로 보고되어, 국내에 RSIV-subgroup 1형이 유입될 가능성을 시사한 바 있다 (Kim et al., 2018). 또한 2016년에 황쏘가리에서 발견된 RSIV-subgroup 1형에 이어 2018년 1월 경남 산청의 황쏘가리에서도 *Megalocytivirus*가 검출되었고, 검출된 바이러스는 RSIV-subgroup 2형으로 분류되었다. 또한, 강도다리에서 분리된 *Megalocytivirus*들은 TRBIV 유전형인 것으로 보고되어 왔으나 (Do et al., 2005b; Won et al., 2013; Mishra et al., 2017), Kim 등 (2019)에서 제시된 바와 같이 2014년 9월 전남 장흥의 강도다리에 분리된 *Megalocytivirus*는

RSIV-subgroup 2형으로 분류되었다. 즉, RSIV 유전형이 가자미목 어류에도 감염될 수 있는 가능성이 있음을 시사한다.

MCP를 포함하여 바이러스 복제 및 감염 관련 유전자들로 알려진 ATPase나 *PstI* 유전자에 대한 계통 관계 연구가 알려진 바 있으나(Kwon et al., 2011), VEGF와 HIT-like protein 유전자 염기서열의 분석은 본 연구에서 처음 보고하고자 한다. 본 연구를 통해 HIT-like protein 유전자는 RSIV형 *Megalocytivirus*에만 존재하는 특이적인 유전자임을 알 수 있다. 향후, 이를 더 뒷받침하기 위해서는 다양한 숙주로부터 확보된 *megalocytiviruses*를 비롯하여 ISKNV, TRBIV 유전형에 속한 분리주들의 HIT-

like 단백질에 대한 분석을 수행할 필요가 있다.

Eaton 등(2007) 연구에서 같은 과 (family) 내에서 가지는 상동 염기서열이나 염기의 결실 등에 의한 frame shift 돌연변이의 경우들을 고려하여 *Iridoviridae*과 5속 내 대표 종들의 전체 유전체를 재분석 하였다. 그 결과, *Megalocytivirus* 속 내에서는 ISKNV (GenBank Accession no. AF371960), OSGIV (GenBank Accession no. AY894343) 그리고 RBIV-KOR-TY1 (GenBank Accession no. AY532606)가 재분석되어 ISKNV는 7개, OSGIV는 8개 그리고 RBIV-KOR-TY1는 VEGF 유전자를 포함한 28개의 ORF가 각각 수정되어 보고되었다. 본 연구에서도 LYCIV 유전자 염기서열들을 재분석한 결과, HIT-like protein으로 추정되는 염기서열은 RSIV-Ehime-1 strain과 98.2%로 가장 유사했으나 일부 염기서열(4 bp)의 결실이 있는 것으로 나타났다 (Fig. 4.). 향후 *Megalocytivirus*의 유전체 분석 연구에서

는 ORF 비교 분석을 통한 고찰뿐만 아니라 정확한 ORF 주석 (annotation) 이 필요한 것으로 사료된다.

본 연구에서는 2012년부터 2018년 1월까지 국내 어류에서 분리된 megalocytiviruses의 MCP 유전자 의 계통분류를 통해 RSIV형 (subgroup 1형과 2형), TRBIV형이 분포하고 있음을 확인하였다. 또한, *Megalocytivirus*의 VEGF 및 HIT-like protein 유전자 에는 각각 보존적 도메인이 존재하고 있으며 이를 통해 megalocytiviruses간의 유전적 상관관계를 파악할 수 있었다. 특히, HIT-like protein은 RSIV형의 바이러스에서만 존재하는 것으로 확인되었다. 향후, *Megalocytivirus*의 유전자 변이에 의한 재조합 바이러스 출현의 가능성을 본 연구를 통해 제기하며 이를 위한 특성 구명을 위해서는 보다 넓은 범위의 유전자 변이 부위 탐색이 필요할 것으로 사료 된다.

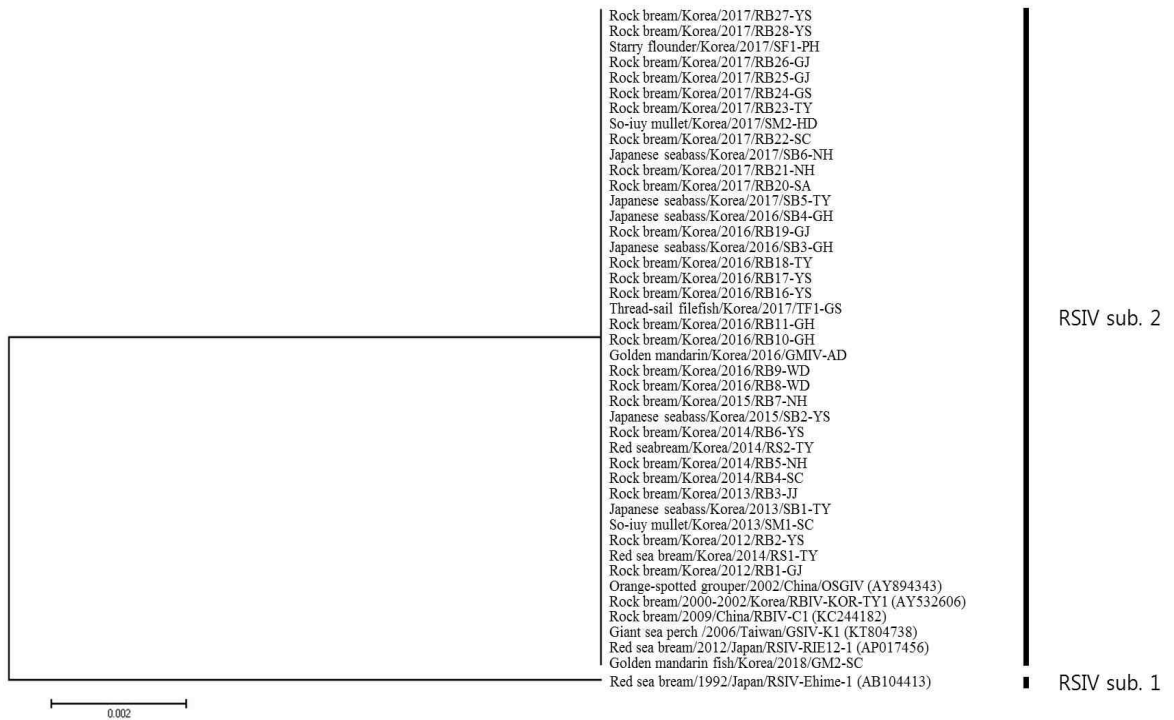


Fig. 3. Phylogenetic tree based on neighbor-joining analysis of the conserved domain sequences of HIT-like protein (HIT) gene. Each of the Korean strains is named in host species/year/strain name order. GenBank accession numbers are given in parentheses. The numbers indicate the percentage bootstrap support for each node following 1,000 replicates.



Fig. 4. Multiple sequence alignment analysis of the HIT-like protein conserved domains in megalocytiviruses. Arrows indicate the nucleotide deletions in the large yellow croaker iridovirus (LYCIV).

요 약

본 연구에서는 2012년부터 2018년 1월까지 국내 어류에서 참돔이리도바이러스병 (red sea bream iridoviral disease; RSIVD) 으로 확정 진단된 주요 분리주에 대하여 major capsid protein (MCP) 유전자의 염기서열을 바탕으로 *Megalocytivirus*의 유전적 관계를 명확히 했다. 또한, *Megalocytivirus*와 숙주 세포간 상호작용에 영향을 줄 수 있는 특이 유전자 2종, Vascular endothelial growth factor (VEGF) 및 Histidine triad motif인 HIT-like 단백질 (HIT)에 대한 염기서열 분석을 통해 유전적 상관관계를 고찰하였다. 국내 어류에서 분리된 39개의 megalocytiviruses는 2가지 유전형인 red sea bream iridovirus (RSIV)형과 turbot reddish body iridovirus (TRBIV)형으로 분류되었으며, RSIV형의 megalocytiviruses는 다시 유전아형인 RSIV-subgroup 1형과 2형으로 분류되었다. 그리고 VEGF 유전자 염기서열 분석 결과에서는 RSIV형의 바이러스에서 변이가 발생되었음을 확인할 수 있었으며, HIT-like 단백질 유전자는 RSIV형의 *Megalocytivirus*에서만 발견되는 것을 알 수 있었다.

사 사

본 논문은 국립수산물과학원 수산시험연구소 (R2019055)의 지원으로 수행된 연구 결과로 연구비 지원에 감사드립니다.

References

Brenner C. 2002. Hint, Fhit and GalT: Function, Structure, Evolution and Mechanism of Three Branched of the Histidine Triad Superfamily of Nucleotide Hydrolases and Transferases. *Biochemistry* 23: 9003-9014.

Chinchar, V. G., Hick, P., Ince, I. A., Jancovich, J. K., Marschang, R., Qin, Q., Subramaniam, K., Waltzek, T. B., Whittington, R., Williams, T., Zhang, Q. Y., 2017. ICTV Virus Taxonomy Profile: *Iridoviridae*. *J. Gen. Virol.*, 98, 890-891.

Do JW, Cha S, Kim JS, An EJ, Park MS, Kim JW, Kim YC, Park MA, Park JW. 2005a. Sequence variation in the gene encoding the major capsid protein of Koran fish iridoviruses. *Archives of Virology* 150: 351-359. DOI: 10.1007/s00705-004-0424-6.

Do JW, Cha SJ, Kim JS, An EJ, Lee NS, Choi HJ, Lee CH, Park MS, Kim JW, Kim YC, Park JW. 2005b. Phylogenetic analysis of the major capsid protein gene of iridovirus isolates from cultured flounders



- Paralichthy olivaceus* in Korea. Diseases of Aquatic organisms 64: 193–200. DOI: 10.3354/dao064193.
- Eaton HE, Metcalf J, Penny E, Tcherepanov V, Upton C, Brunetti CR. 2007. Comparative genomic analysis of the family *Iridoviridae*: re-annotating and defining the core set of iridovirus genes. Virology Journal 4: 11.
- Fu X, Li N., Lai Y, Liu L, Lin Q, Shi C, Huang Z, Wu S. 2012. Protective immunity against iridovirus disease in mandarin fish induced by recombinant major capsid protein of infectious spleen and kidney necrosis virus. Fish & Shellfish Immunology 33: 880-885.
- Hall TA. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symposium Series 41: 95-98.
- Inouye K, Yamano K, Maeno Y, Nakajima K, Matsuoka M, Wada Y, Sorimachi M. 1992. Iridovirus infection of cultured red sea bream, *Pagrus major*. Fish Pathology 27: 19-27. DOI: 10.3147/jsfp.27.19.
- Jung SJ, Oh MJ. 2000. Iridovirus-like infection associated with high mortalities of striped beakperch, *Oplegnathus fasciatus* (Temminch et Schlegel), in southern coastal areas of Korean peninsula. Journal of Fish Diseases 23: 223–226. DOI: 10.1046/j.1365-2761.2000.00212.x.
- Kim KI, Hwang SD, Cho MY, Jung SH, Kim YC, Jeong HD. 2018. A natural infection by the red sea bream iridovirus-type *Megalocytivirus* in the golden mandarin fish *Siniperca scherzeri*. Journal of Fish Diseases 41: 1229-1233. DOI: 10.1111/jfd.12815.
- Kim KI, Lee ES, DO JW, Hwang SD, Cho MY, Jung SH, Jee BY, Jeong HD. 2019. Genetic diversity of *Megalocytivirus* from cultured fish in Korea. Aquaculture 509: 16-22. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2019.05.014.
- Kurita J. and Nakajima K. 2012. Megalocytiviruses. Viruses 4: 521–538. DOI: 10.3390/V4040521.
- Kwon SR, Nishizawa T, Park JW, Oh MJ. 2011. Shift of phylogenetic position in megalocytiviruses based on three different genes. The Journal of Microbiology 49: 981-986. DOI: 10.1007/s12275-011-1500-8.
- Lee WL, Kim SR, Yun HM, Kitamura SI, Jung SJ, Oh MJ. 2007. Detection of Red Sea Bream Iridovirus (RSIV) from marine fish in the Southern Coastal Area and East China Sea. Journal of Fish Pathology 20: 211-220.
- Martin J, St-Pierre MV, Dufour JF. 2011. Hit protein, mitochondria and cancer. Biochimica et Biophysica Acta 1807: 626-632.
- Mishra A, Nam GH, Gim JA, Lee HE, Jo A, Yoon D, Oh S, Kim S, Kim A, Kim DH, Kim YC, Jeong HD, Cha HJ, Choi YH. 2017. Comparative evaluation of *MCP* gene in worldwide strains of *Megalocytivirus* (*Iridoviridae* family) for early diagnostic marker. Journal of Fish Diseases. DOI: 10.1111/jfd.12685.
- OIE. 2018. World Organization for Animal Health, Manual of Diagnostic Tests for Aquatic animal. <http://www.oie.int/standard-setting/aquatic-manual/access-online>.
- Sohn SG, Choi DL, Do JW, Hwang JY, Park JW. 2000. Mass Mortalities of Cultured Striped Beakperch, *Oplegnathus fasciatus* by Irioviral Infection. Journal of Fish Pathology 13: 121-127.
- Song JY, Kitamura SJ, Jung SJ, Miyadai T, Tanaka S, Fukuda Y, Kim SR, Oh MJ. 2008. Genetic variation and geographic distribution of megalocytiviruses. The Journal of Microbiology 46: 29-33. DOI: 10.1007/s12275-007-0184-6.
- Stohwasser R, Raab K, Schnitzler P, Janssen W, Darai G. 1993. Identification of the Gene Encoding the Major Capsid Protein of Insect Virus Type 6 by Polymerase Chain Reaction. Journal of General Virology 74: 873–879. DOI: 10.1099/0022-1317-74-5-873.
- Tidona, CA, Schnitzler P., Kehm R., Darai G. 1998. Is the major capsid protein of iridoviruses a suitable target for study of viral Evolution?. Virus Gene, 16: 59-66.
- Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. Nucleic Acids Research 22: 4673-4680.
- Tidona CA, Schnitzler P, Kehm R, Darai G. 1998. Is the Major Capsid Protein of Iridoviruses a Suitable Target for the Study of Viral Evolution? Virus Genes 16: 59-66.
- Wang Z, Xu X, He B, Weng S, Xiao J, Wang L, Lin T, Liu X, Wang Q, Yu X, He J. 2008. Infectious Spleen and Kidney Necrosis Virus ORF48R Functions as a New Viral Vascular Endothelial Growth Factor. Journal of Virology 82: 4371–4383. DOI: 10.1128/JVI.02027-07.
- Won KM, Cho MY, Park MA, Jee BY, Myeong JI, Kim JW. 2013. The First Report of a Megalocytivirus Infection in Farmed Starry Flounder, *Platichthys stellatus*, in Korea. Fisheries and aquatic sciences 16: 93-99. DOI: 10.5657/FAS.2013.0093.