

한국산 넙치에서 분리된 버나바이러스의 유전자해석

정성주 · 오명주 · 다테 테쯔지* · 스즈키 사토루**

여수대학교 수산생명의학과 · 코치대학교 재배어업학과* · 에히메대학교
해양환경연구센터**

서론

지금까지의 연구에서 한국산 넙치 치어에서 분리된 버나바이러스는 MABV (Marine Birnavirus)와 혈청학적으로 유사하며, VP2/NS 경계영역의 염기배열도 MABV와 높은 homology를 가지고 있음을 밝혔다. 본 연구에서는 genome segment A를 중심으로 한국의 넙치에서 분리된 버나바이러스의 유전자해석을 행했다.

재료 및 방법

【바이러스】 한국의 넙치에서 분리된 버나바이러스 NC1 strain을 m.o.i.가 0.01이 되도록 CHSE-214 세포에 접종하여 5일간 배양하였다. 바이러스액은 PEG6000으로 하룻밤 농축한 후, 농축액은 30% sucrose와 40% CsCl에 중층하여 10,000×g에서 90분간 초원심분리하여 부분정제하였다. 【RT-PCR】 부분정제한 바이러스액에 Proteinase K를 넣어 42 °C에서 1시간 처리한 후 페놀과 클로로포름으로 핵산을 추출하였다. 여기에 VP5의 470bp, VP2 중앙의 770bp, VP3의 643bp를 증폭시키는 primer set과 reaction mixture, MMLV를 넣어 37 °C에서 1시간 반응시켜 cDNA를 합성하였다. 여기에 PCR용 reaction mixture를 넣어 각 반응조건에 맞추어 PCR을 한 후, 반응액은 1.5%의 agarose gel에 전기영동하여 ethidium bromide로 염색하였다. 【염기배열결정】 PCR로 증폭된 band만을 잘라낸 후 투석막에 넣어 전기영동에 의하여 gel로부터 DNA를 추출하였다. 추출한 DNA는 ABI PRISM™ Dye Terminator Sequencing Kit으로 반응시켜, DNA sequencer 373A로 염기배열을 결정했다.

결과 및 요약

본 연구에서 대상으로 한 genome segment A의 VP5, Vp2 및 Vp3의 염기배열은 일본에서 분리된 MABV의 prototype인 Y-6 strain과 모든 영역에 있어서 97.5% 이상의 homology를 보였다. 또한 염기배열을 아미노산 배열로 치환한 후 계통수를 작성하여 유전적 거리를 본 결과 VP5와 VP3영역에 있어서는 한국의 strain과 일본에서 분리된 strain들과는 거리가 있었으며, 그 계통수의 패턴은 VP5와 VP3가 유사하였다. VP2의 중앙영역의 계통수는 다양하게 분지되어 있었으며, 유전적 거리도 각 strain들 사이에 다양하게 나타났다. 지금까지의 연구에서 한국의 넙치에서 분리된 버나바이러스는 혈청학적 유전학적으로 MABV에 속하는 것을 밝혔으며, VP3와 VP5 영역은 지리적 변화를 반영하는 부위로 추측되었다.

참고문헌

- Hosono, N., Suzuki, S. and Kusuda, R.: Genogrouping of birnaviruses isolated from marine fish: a comparison of VP2/NS junction regions on genome segment A. *J. Fish. Dis.*, 19: 295-302, 1996.
- Suzuki, S., Kimura, M. and Kusuda, R: The Complete Nucleotide Sequence of the Polyprotein and VP5 Gene of a Marine Birnavirus. *Fisheries Sci.*, 64: 428-433, 1998