

보안 과제( ), 일반 과제( O ) / 공개( O ), 비공개( )발간등록번호( O )  
가축질병대응기술개발사업 2022년도 최종보고서

발간등록번호
11-1543000-004150-01

# 돼지 생식기 호흡기증후군 바이러스(PRRSV)의 백신 타깃 후보물질 개발

2022.9.13.

주관연구기관 / 경북대학교 산학협력단  
협동연구기관 / 건국대학교 산학협력단

농 립 축 산 식 품 부  
(전문기관)농림식품기술기획평가원



<제출문>

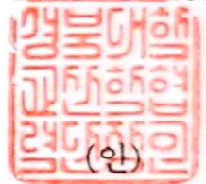
## 제 출 문

농림축산식품부 장관 귀하

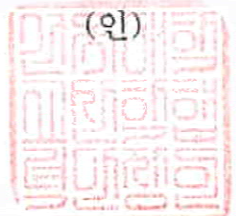
본 보고서를 “돼지 생식기 호흡기증후군 바이러스(PRRSV)의 백신 타깃 후보물질 개발”(개발기간 : 2021.04.01 ~ 2022.03.31)과제의 최종보고서로 제출합니다.

2022. 9. 13.

주관연구기관명 : 경북대학교 산학협력단 (김지현)



협동연구기관명 : 건국대학교 산학협력단 (윤동열)



주관연구책임자 : 박 최 규

협동연구책임자 : 류 영 수

국가연구개발사업의 관리 등에 관한 규정 제18조에 따라 보고서 열람에 동의합니다.



## < 요약 문 >

사업명		가축질병대응기술개발사업		총괄연구개발 식별번호 (해당 시 작성)			
내역사업명 (해당 시 작성)		동물의약품개발		연구개발과제번호		321015-01	
기술 분류	국가과학기술 표준분류	LB0701	70 %	LB0710	20 %	LB0703	10%
	농림식품 과학기술분류	RB0299	70 %	RB0201	20 %	RB0203	10%
총괄연구개발명 (해당 시 작성)							
연구개발과제명		돼지 생식기 호흡기증후군 바이러스(PRRSV)의 백신 타깃 후보물질 개발					
전체 연구개발기간		2021. 04. 01. - 2022. 03. 31.(12개월)					
총 연구개발비		총 400,000 천원 (정부지원연구개발비: 400,000천원, 기관부담연구개발비: 천원, 지방자치단체: 천원, 그 외 지원금: 천원)					
연구개발단계		기초[ ] 응용[ ] 개발[√] 기타(위 3가지에 해당되지 않는 경우)[ ]		기술성숙도 (해당 시 기재)		착수시점 기준 (3단계) 종료시점 목표 (4-5단계)	
연구개발과제 유형 (해당 시 작성)							
연구개발과제 특성 (해당 시 작성)							
연구개발 목표 및 내용		최종 목표		○ 국내 및 해외 PRRSV의 유전자 분석 정보를 기반으로 분자역학적 연관성을 분석하고, 한국 양돈장 상황에 적합한 백신 타깃 후보물질을 발굴하여 PRRSV 백신 개발 자원으로 활용			
		전체 내용		<ul style="list-style-type: none"> <li>○ <b>국내 및 해외 발병 PRRSV 분자 유전학적 데이터 수집 및 분자역학적 분석</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 국내 양돈장에서 유행하고 있는 돼지 생식기 호흡기 증후군 바이러스(PRRSV)의 유전자형을 수집하여 분석</li> <li>- 국내 양돈장에서 수집한 PRRSV의 분석 결과를 토대로 한국적 특징 도출</li> <li>- 해외 발병 및 유행하고 있는 PRRSV 유전자형 분석</li> <li>- 국내 및 해외 발병 PRRSV의 유전자형간 상관관계 분석</li> </ul> </li> <li>○ <b>PRRSV의 분자유전학적 특징과 임상증상의 상관관계 분석</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 국내 유행하고 있는 PRRSV의 임상증상과 병리적 특징을 자세히 기술하고 이에 따른 PRRSV의 분류체계 구축</li> <li>- 분자역학적 방법에 의거하여 국내 유행하고 있는 PRRSV의 임상증상에 따른 특정 epitope 발굴 및 분석</li> <li>- 국내 유행 PRRSV의 병원성에 대한 평가기법 구축(RFLP)</li> <li>- 각 양돈장별 유행하는 PRRSV의 분자유전학적 특징과 임상증상 간 상관관계 분석</li> </ul> </li> <li>○ <b>분자역학적 방법에 의거한 백신 후보 타깃 물질 발굴</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 분자역학적 방법에 의거하여 PRRSV NA타입과 EU 타입 간 교차방어를 유도할 수 있는 백신 후보물질 발굴</li> <li>- 발굴된 백신 후보 타깃 물질에 대한 in-vitro 스크리닝</li> </ul> </li> </ul>			

			방법 제시 - 분자역학적 방법으로 발굴된 백신후보 타깃 물질과 유행 바이러스와 매칭분석  ○ PRRSV 백신사용에 대한 가이드라인 제시 - 국내 및 해외 유행 PRRSV 분자유전학적 분석에 따라 양돈장에서 기 사용중인 백신 사용에 있어 현장 실증적 분석 및 이에 대한 가이드라인 수립 - PRRSV 분자유전학적 현황 파악을 통해 양돈장에서 PRRSV를 관리하기 위한 방안을 도출하고 과학적인 근거 제시
	1단계 (해당 시 작성)	목표 내용	
	n단계 (해당 시 작성)	목표 내용	

연구개발성과	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 특허 출원/등록: 연구기간 내 출원 1건, 연구종료 2년 내 등록 1건</li> <li>- 논문(SCI) 2편: 한국 PRRSV의 유전적 특성 분석, 유전형 분석 진단법</li> <li>- 기술이전 1건: PRRSV 유전형분석 기술 또는 백신 후보물질</li> <li>- 정책제안 1건: PRRS 방역실시 지침</li> <li>- 인력양성 2명: 연구원(대학원생) 2명</li> <li>- PRRSV 백신 사용을 위한 매뉴얼 1건 제작</li> </ul>
--------	---

연구개발성과 활용계획 및 기대 효과	<ul style="list-style-type: none"> <li>○ 연구개발성과의 수요처: 동물용 백신 제조사, PRRS 연구 개발 기관(정부,대학)</li> <li>○ 활용내용: 고효능 국산 PRRSV 백신 개발 자원 확보 및 PRRSV 피해 예방을 위한 예방접종 가이드라인 개발 및 보급</li> <li>○ 경제적 파급효과 및 기대효과           <ul style="list-style-type: none"> <li>- PRRSV 유전자 분석 및 매칭 기술 확보로 바이러스 변이에 따른 신규 백신 개발 속도 가속화 가능</li> <li>- 방어능이 넓은 PRRSV 백신 후보물질 발굴</li> <li>- PRRS 백신 후보물질 기술이전을 통한 국산 백신 개발 자원으로 활용</li> <li>- 외국산 PRRS 백신의 수입 백신 대체 효과</li> <li>- 개발 백신의 해외 수출을 통한 기업 이윤 창출</li> <li>- PRRS 발생으로 인한 국내 양돈장 경제적 피해 방지(연간 1000억원)</li> <li>- PRRSV 유전자 분석 및 매칭 기술 확보로 바이러스 변이에 따른 신규 백신 개발 속도 가속화 가능</li> </ul> </li> </ul>
---------------------	--

연구개발성과의 비공개여부 및 사유

연구개발성과의 등록·기탁 건수	논문	특허	보고서 원문	연구 시설·장비	기술 요약 정보	소프트웨어	표준	생명자원		화합물	신품종	
								생명 정보	생물 자원		정보	실물
	2	2	1									
연구시설·장비 종합정보시스템 등록 현황	구입 기관	연구시설·장비명	규격 (모델명)	수량	구입 연월일	구입가격 (천원)	구입처 (전화)	비고 (설치장소)	ZEUS 등록번호			
국문핵심어 (5개 이내)	돼지생식기 호흡기 증후군		데이터베이스		백신		진단 kit		후보물질			
영문핵심어 (5개 이내)	PRRSV		database		vaccine		diagnostic kit		candidate substance			

## 〈 목 차 〉

1. 연구개발과제의 개요 .....	8
가. 연구개발과제의 필요성 .....	8
나. 연구개발과제의 목표 .....	13
2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행내용 .....	14
2-1. 국내 및 해외 발생 PRRSV 분자유전학적 데이터 수집 및 분자역학적 분석 ..	14
2-2. PRRSV의 분자유전학적 특징과 임상증상의 상관관계 분석 .....	51
2-3. 분자역학적 방법에 의거한 백신 후보 타겟 물질 발굴 .....	66
2-4. PRRS 방역 지침 및 백신 접종 가이드라인 제시 .....	77
2-5. 고찰 및 의의 .....	105
2-6. 참고 문헌 .....	110
3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도 .....	113
가. 연구수행 결과 .....	113
나. 목표 달성 기준 .....	117
4. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도 .....	118
5. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획 .....	119
<별첨 1> 자체평가의견서	
<별첨 2> 연구성과 활용계획서	

# 1. 연구개발과제의 개요

## 가. 연구개발과제의 필요성

### 1) PRRS 발생상황과 경제적 피해

- 가) 돼지 생식기 호흡기 증후군 (PRRS)은 전 세계적으로 양돈이 이루어지고 있는 거의 모든 국가에서 발생하고 있으며, 세계 양돈산업에 가장 큰 경제적 피해를 입히고 있는 돼지 질병종의 하나이다.
- 나) PRRS는 임신돈의 번식장애와 허약 자돈 생산, 모든 일령의 돼지에서 호흡기 질병을 유발하는 등 다양한 임상증상을 유발하는 질병으로 미국은 매년 6,000억원 이상의 피해를 입고 있는 것으로 추산되었고, 국내 양돈업에는 매년 1,000억원 이상의 피해를 입히고 있어 단일 질병으로는 양돈업에 가장 큰 경제적 피해를 입히는 질병이다,
- 다) 또한, PRRSV 감염은 다른 세균 및 바이러스성 호흡기 질병 원인체들의 복합감염을 유도하여 돼지호흡기복합병 (porcine respiratory disease complex, PRDC)을 유발하게 되며, 이로 인한 간접적인 피해까지 고려하면 PRRS로 인한 한국 양돈업의 피해 규모는 연간 2000억원대 이상일 것으로 추정된다.
- 라) PRRS의 전파는 감염 돼지와 직접적인 접촉, 감염 돼지의 콧물이나 오줌 등 분비물에 오염된 기구나 장비를 통한 간접 접촉, 감염된 웅돈의 정액을 통한 전파 등 전파 경로가 다양하여 농장 간 또는 돼지 간 감염 및 전파를 예방하기 어려운 특성을 가지고 있다. 또한 한번 양돈장에 발생된 이후에는 농장의 돼지 전체로 급속하게 전파되며, 감염된 돼지는 장기간 바이러스를 배출하기 때문에 농장 내 바이러스의 순환감염 고리를 끊기가 어렵다.
- 마) 이러한 질병의 특성으로 인해 그간 다양한 PRRS 예방 및 통제 전략들이 개발되어 왔음에도 불구하고, 여전히 전 세계 양돈업에 가장 큰 피해를 입히고 있다. 또한, 다양한 외국산 약독화 생독백신 및 불활화백신들이 시판되고 있지만 양돈 현장에서의 백신 접종 효과가 미흡하여 국내 유행 PRRSV에 적합한 고효능 국산 백신의 개발이 요구되고 있다.

### 2) PRRS 바이러스의 특성

#### 가) PRRSV의 특성

- PRRSV는 *Arteriviridae* family(과), *Arterivirus* genus(속)에 속하는 외피를 가지는 RNA 바이러스로 약 15 kb 크기의 단일가닥의 positive-sense RNA 게놈을 보유하고 있다.
- PRRSV는 9개의 Open Reading Frame (ORF)을 보유하고 있으며, ORF1a와 ORF1b는 바이러스 게놈의 약 80%를 차지하며, 자가 복제에 필요한 효소들로 구성되어진 비 구조단백질 (Nonstructural protein, NSPs)을 코딩하고 있다. 나머지 ORF들은 당단백질 (glycoprotein)인 GP2, GP3, GP4, GP5와 unglycosylated 2b/E, M (membrane), N (nucleocapsid) 단백질을 코딩하는 구조 단백질을 코딩한다. 이 단백질들은 감염된 세포 내에서 subgenomic mRNA의 5'말단으로부터 발현되며, 이 중 ORF5는 바이러스 표면에 노출되어 있으며, 중화항체의 항원 결정기 중에서 가장 중요한 유전자 부위로 알려져 있다.

#### 나) PRRSV의 유전형 분류



- PRRSV는 유전적, 항원적으로 서로 구별되는 2가지 종류의 유전형 즉, type 1 유럽형 PRRSV와 type 2 북미형 PRRSV로 구분된다.
- 동일한 바이러스 임에도 불구하고, 두 유전형 바이러스 간에는 약 55~70%의 염기서열 상동성과 50~80%의 아미노산 상동성을 보이며, 동일 유전형 내에 속하는 바이러스들 간에는 평균 85%~87.5%, 최대 70~79%의 유전적 상동성을 나타내고 있어 동일 유전형 내에서도 다양한 유전적 변이주들이 존재하는 것으로 보고되고 있다.

### 3) 국내 유행 PRRSV의 유전적 특성 및 분자역학적 연구 필요성

#### 가) 한국 발생 PRRSV의 유전형

- 한국에는 1993년에 북미형 (NA), type 2 PRRSV가 보고되었고, 2005년에 유럽형 (EU, type 1 PRRSV가 보고되었으며, 현재는 두 가지 유전형의 PRRSV가 동시에 유행하고 있다.
- 양돈장에 따라 북미형 또는 유럽형 PRRSV가 단독으로 감염된 농장도 있지만 대부분의 일반 양돈장은 두 가지 유전형의 PRRSV가 동시감염되어 있는 경우가 많아 진단과 방역에 어려움을 주고 있다.

#### 나) 한국 PRRSV의 분자역학적 특성

- 2007-2008년 사이에 분리한 유럽형 PRRSV 7주에 대한 염기서열을 분석한 결과, ORF7 분석결과에 근거할 때 국내분리주는 모두 유럽형 아형 1에 속하며, PRF5 분석결과로는 유럽형 PRRSV의 원형인 Lelystad virus와 유전적으로 구별되는 Clade를 가진다고 보고하였다(Lee 등, 2010).
- Kim 등(2009)은 1997-2008년에 분리한 북미형 PRRSV에 대한 유전자분석결과, 4개의 subgroup로 분류되며, 이중 48%가 제4 subgroup에 속하는 것으로 분석되었다. 또한 ORF 5 아미노산 염기서열에서 3개의 B-cell epitope와 2개의 T-cell epitope가 존재하는 부위가 북미형 생독백신주(MLV)와 많은 차이를 나타내고 있었음.
  - 특히 북미형 생독백신주(MLV)를 접종한 농장의 돼지에서 이질적인 북미형 PRRSV가 검출되고 있어 한국 상황에 적합한 새로운 백신 전략이 필요하다고 보고하였다.
- 본 연구팀 (전북대)에서 최근 국내 양돈장에서 유행하는 PRRSV에 대한 유전적 계통을 분류한 결과(표 1), 북미형은 5개 그룹(Lineage 1, Lineage 5, Korean lineage A, B, C), 유럽형은 2개 그룹(Korean EU, EU vaccine)으로 구분되었다.
  - 북미형 바이러스 5개 그룹 간에는 15~20% 이상의 유전적 차이를 보였으며, 유럽형 바이러스 2개 그룹 간에도 15% 정도의 유전적 차이를 나타내었다.
  - 특히, 유럽형 바이러스들은 백신주에서 유래 된 그룹(EU vaccine)을 제외하고 2013년 이후에 국내에서 발생한 한국형 유럽형 바이러스(Korean EU-subgroup A) 간의 유전적 차이는 10% 이하로 북미형 바이러스와 비교하여 유전적 변이가 비교적 낮은 것으로 분석되었다.

표 1. 2009-2018년 국내 발생 PRRSV의 유전적 계통 분석 결과

복미형	Lineage 5	Lineage 1	Korean lineage A	Korean lineage B	Korean lineage C
발생비율	32.19%	4.14%	21.7%	15.6%	19.2%
유럽형	European Vaccine	Korean EU(A)		Korean EU(B)	
발생비율	6.84%	81.66%		1.71%	

- 위와 같이 국내 발생 PRRSV는 해외 PRRSV와 구별되는 한국적 특징을 보유하고 있으며, 현재 시판되고 있는 PRRSV 약독화 백신주와도 다른 유전적 특성을 가지고 있다. 따라서 한국 PRRSV에 대한 특성을 폭 넓게 조사하고, 이를 기반으로 한국의 PRRSV 발생 및 유행 상황에 적합한 새로운 백신 후보물질 개발이 필요한 상황이다.

#### 4) 국내 유행 PRRSV의 병원성

##### 가) PRRSV의 병원성 평가 기준 검토

- PRRSV의 병원성을 평가하는 기준은 아직 명확하게 정립되어 있지 않다. 중국에서 2006년부터 발생하고 있는 고병원성 PRRSV가 100%에 이르는 폐사율을 보이는 사례가 있지만, 대부분 PRRSV들은 단독감염만으로는 육성/비육구간의 돼지에서 폐사가 일어나는 경우가 드물고, 어린 연령의 자돈군에서의 폐사도 단독 감염보다는 다양한 세균 및 바이러스의 2차 복합감염에 의해 주로 발생한다.
- 따라서 다양한 질병들이 복합적으로 발생하고 있는 한국의 양돈장 상황에서 특정 PRRSV의 병원성을 농장 수준에서 평가하기는 곤란하며, 분리 바이러스를 돼지에 공격 접종한 다음, ① PRRSV의 증식과 배출 정도, ② 감염돈의 체중 감소 (성장 지연), ③ 발열반응, ④ 폐장 병변과 같은 병리학적 소견 등 다양한 요인들을 복합적으로 고려하여 평가해야 한다.

##### 나) 연구팀의 선행 연구 결과

- 본 연구팀 (제1 세부과제 참여 전북대, 농림축산검역본부)에서는 국내 유행 PRRSV를 유전적 특성에 따라 복미형 5개 그룹 및 유럽형 2개 그룹으로 구분하고, 각 그룹의 대표 바이러스주를 선발하여 4주령 자돈에 공격접종하여 위 병원성 평가항목(바이러스 전파력, 체온과 체중 변화 등 임상증상, 폐장 병변)을 기준으로 각 바이러스의 병원성을 평가한 바 있다.
- 그 결과, 국내 양돈장에도 고병원성의 복미형 PRRSV를 포함한 다양한 병원성을 가지는 야외 바이러스가 확인되었다. 이러한 선행 연구결과는 본 과제에서 요구하는 국내 PRRSV의 유전형과 병원성간의 연관성을 분석하는 데 있어 중요한 선행연구 자료로 활용될 수 있을 것이다.

#### 5) PRRS의 신규 백신 후보물질 개발 필요성

##### 가) 현재 상용화된 PRRS 백신 현황

- 현재 양돈현장에서 일반적으로 사용되고 있는 PRRSV 백신은 약독화 생바이러스(MLV)를 이용하여 제조한 생 백신으로 유럽형 PRRSV-1과 복미형 PRRSV-2 두가지 유전형

에 대한 MLV 백신이 각각 시판되고 있다.

- 현재는 한국을 포함한 대부분의 국가(지역)에서 유럽형과 북미형의 PRRSV가 동시에 발생하고 있기 때문에 두 가지 유전형의 백신이 동시에 시판되고 있다.

표 2. 시판 유럽형 및 북미형 PRRSV 약독화 백신 현황

유럽형 PRRSV-1 MLV 백신	북미형 PRRSV-2 MLV 백신
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Porcilis® PRRS (Merck),</li> <li>• Ingelvac PRRSFLEX® EU (Boehringer Ingelheim),</li> <li>• Amervac-PRRS (Hipra),</li> <li>• Pyrsvac-183 (Syva)</li> <li>• ReproCyc® PRRS EU (Boehringer Ingelheim)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ingelvac PRRS® MLV (Boehringer Ingelheim),</li> <li>• ReproCyc® PRRS-PLE (Boehringer Ingelheim),</li> <li>• Ingelvac PRRSATP® (Boehringer Ingelheim)</li> <li>• Foster® PRRS (Zoetis)</li> </ul>

나) 한국의 다양한 PRRSV에 교차방어능을 가지는 백신 후보물질 개발 필요성

- PRRSV는 높은 변이율로 인해 바이러스의 병원성 및 면역원성에 변화가 일어나게 되고 해당 PRRSV 변이주는 기존 백신으로 방어가 되지 않는다.
- 해당 농장의 돼지에 감염되는 야외 바이러스와 동일한 바이러스로 백신을 제조하여 접종하는 것이 가장 좋은 방어효과를 나타낸다. 반대로 백신 바이러스와 농장 발생 야외 주간에 유전적 및 항원적 차이가 클수록 교차방어능은 낮아지게 된다.
- 요약하면 ① 야외 바이러스와 동일한 백신 바이러스가 가장 면역 및 방어효과가 우수하다. ② 한국 양돈장에는 유전적 및 항원적으로 다양한 PRRSV가 존재하고 있다. ③ 한국의 야외 PRRSV들은 현재 시판되고 있는 외국산 백신 바이러스와 유전적으로 상당한 차이를 보이고 있어 교차 방어능이 낮을 것으로 추정된다.
- 그럼에도 불구하고, 아직 한국에는 한국 PRRSV로 제조한 국산 PRRSV MLV 백신이 없다. 따라서 한국에서 유행하고 있는 다양한 유전형의 PRRSV에 대해 폭넓은 교차방어능을 가지는 한국형 PRRSV 백신 후보물질의 개발과 이를 이용한 고효능 국산 PRRSV 백신 개발 및 보급이 시급한 상황이다.

6) PRRS 백신접종 가이드라인 개발 현황 및 추가 연구 필요성

가) 현행 PRRSV 백신접종 가이드라인

- 현재 양돈 전문수의사들이 일반적으로 권장하는 PRRSV 예방접종 프로그램은 주기적으로 모든 모돈군에 일괄 접종하는 프로그램이다. 이는 PRRSV 백신접종의 목표가 ① 모돈군에서 PRRSV의 순환 방지, ② 모돈의 번식장애 예방, ③ PRRSV 감염 자돈의 생산 억제에 있기 때문이다. 이러한 목표를 달성하기 위해서는 연간 3-4회 주기적으로 모든 모돈군에 동시에 일괄 백신접종을 실시해서 면역수준을 동기화하는 것이 가장 효과적이라고 알려져 있다.
- 그러나 감염 위험도가 낮은 농장에서는 번식장애 예방에 초점을 맞춰 매 종부전 1회 접종프로그램을 사용하기도 한다.
- PRRSV 백신의 모든 일괄접종을 통해 양성돈의 바이러스 배출량을 감소시켜 다른 돈군으로 바이러스가 확산되는 위험성을 감소시킬 수 있다.

- 또한 PRRSV 생백신을 감염자돈군에 접종함으로써 양성 자돈으로부터 배출되는 PRRSV의 양을 감소시켜 돈군 내 PRRSV의 확산을 감소시키는 전략을 도입하기도 한다.

나) 한국 상황에 맞는 PRRSV 백신접종 가이드라인 개발 필요성

- 한국 양돈장의 경우, 양돈장별로 감염되는 PRRSV의 유전형이 다르고, PRRSV 감염에 따른 피해 상황이 매우 다양하기 때문에 일률적인 하나의 백신 접종 전략을 적용하기가 어렵다.
- 따라서 개별 양돈장의 PRRSV 감염(발생) 유형을 객관적으로 평가하고, 해당 농장의 PRRS 방역 목표를 설정하고, 이 목표 달성을 위하여 최적화된 PRRSV 백신 접종 프로그램을 제시해주는 구체적인 백신 접종 프로그램의 개발 및 보급이 필요하다.
- 또한, PRRSV의 특성상 백신바이러스간 또는 백신바이러스와 야외바이러스간 유전자 재조합에 의한 변이 바이러스의 출현이 향후 PRRSV 국가 방역에 큰 문제점으로 대두될 수 있으므로 농장 차원의 백신 접종 가이드라인뿐만 아니라 국가 차원의 PRRS 방역 목표에 부합되는 백신 접종 및 방역 지침 개발이 필요하다.

다) 한국 상황에 맞는 PRRSV 방역지침 제정 필요성

- PRRS는 1990년대 초반 국내에 발생된 이후 현재까지 지속적으로 국내 양돈업에 피해를 입혀왔다. PRRS로 인한 국내 양돈업 손실액 1,000억원을 고려할 때 현재까지 국내 양돈업은 30년동안 무려 3조원 이상의 피해를 입었다고 추정할 수 있다.
- 그러나 PRRS는 현재 국가 청정화 대상 질병이 아니므로 구체적인 국가 청정화전략이 담긴 방역실시요령이 없다. 방역실시요령은 질병조사, 방역조치, 방역주체별 담당임무, 예산지원 등 방역정책의 모든 것이 기록된 질병방역의 지도와도 같다. 방역실시요령이 없다는 것은 PRRS 문제를 해결하지 않겠다는 것과 다르지 않다.
- 따라서 PRRS 문제를 해결하기 위해서는 가축전염병예방법, 종돈장방역관리요령, 우수종돈장인증요령 등 국내 PRRS 방역관련 규정들을 검토하여 PRRS 방역의 지침이 되는 "돼지생식기호흡기증후군 방역실시요령"을 제정할 필요가 있다.

## 나. 연구개발과제의 목표

### 1) 연구개발과제의 최종 목표

- 국내 및 해외 PRRSV의 유전적 분석 정보를 기반으로 분자역학적 연관성을 분석하고, 한국 양돈장 상황에 적합한 백신 타겟 후보물질을 발굴하여 PRRSV 백신 개발 자원으로 활용

### 2) 연구개발과제의 단계별 목표

- 국내 및 해외 발병 PRRSV 분자 유전학적 데이터 수집 및 분자역학적 분석
- PRRSV의 분자유전학적 특징과 임상증상의 상관관계 분석
- 분자역학적 방법에 의거한 백신 후보 타겟 물질 발굴
- PRRSV 백신사용에 대한 가이드라인 제시

### 3) 연구개발과제의 내용

#### 가) 국내 및 해외 발병 PRRSV 분자 유전학적 데이터 수집 및 분자역학적 분석

- 국내 양돈장 유행 돼지 생식기 호흡기 증후군 바이러스(PRRSV)의 유전자형 수집 및 분석
- 국내 양돈장에서 수집한 PRRSV의 분석 결과를 토대로 한국적 특징 도출
- 해외 발병 및 유행하고 있는 PRRSV 유전자형 분석
- 국내 및 해외 발병 PRRSV의 유전자형간 상관관계 분석

#### 나) PRRSV의 분자유전학적 특징과 임상증상의 상관관계 분석

- 국내 유행 PRRSV의 임상증상과 병리적 특징 파악 및 이에 따른 PRRSV 분류체계 구축
- 분자역학적 방법에 의한 국내 유행 PRRSV 임상증상에 따른 특정 epitope 발굴 및 분석
- 국내 유행 PRRSV의 병원성에 대한 평가기법 구축(RFLP)
- 각 양돈장별 유행하는 PRRSV의 분자유전학적 특징과 임상증상을 상관관계 분석

#### 다) 분자역학적 방법에 의거한 백신 후보 타겟 물질 발굴

- 분자역학적 방법에 의거하여 PRRSV NA타입과 EU 타입 간 교차방어를 유도할 수 있는 백신 후보물질 발굴
- 발굴된 백신 후보 타겟 물질에 대한 in-vitro 스크리닝 방법 제시
- 분자역학적 방법으로 발굴된 백신후보 타겟물질과 유행 바이러스와 매칭분석

#### 라) PRRSV 백신사용에 대한 가이드라인 제시

- 국내 및 해외 유행 PRRSV 분자유전학적 분석에 따라 양돈장에서 기 사용 중인 백신 사용에 있어 현장 실증적 분석 및 이에 대한 가이드라인 수립
- PRRSV 분자유전학적 현황 파악을 통해 양돈장에서 PRRSV를 관리하기 위한 방안을 도출하고 과학적인 근거 제시
- 국내 PRRS 방역 관련 규정을 반영한 PRRS 방역실시요령(안) 또는 매뉴얼 도출 및 정책건의

## 2. 연구개발과제의 수행 과정 및 수행내용

### 2-1. 국내 및 해외 발생 PRRSV 분자유전학적 데이터 수집 및 분자역학적 분석

#### (제2 세부-건국대)

#### 1) 최근 한국 양돈장 발생 PRRSV 임상시료 수집

##### 가) 연구 추진 계획

(1) 연구 목표: PRRSV 발생상황, 유전자 분석 등을 위한 국내 양돈장 최근 임상시료 수

(2) 추진 계획:

- 최근 2018 - 2021년의 건국대, 경북대, 전북대, 검역본부 등에서 병성감정 등으로 확보한 PRRSV 양성 시료 수집 및 목록을 작성하였다.
- 전국 상황을 대표할 수 있도록 전국 단위 양돈장 시료가 포함되도록 수집한다.
- 시료에서 RNA를 추출하여 북미형 및 유럽형 PRRSV 감별 진단 후, 전국 농장의 PRRSV 단독감염 또는 복합감염 여부를 확인하였다.

##### 나) 연구 추진 결과

(1) 최근 한국 발생 PRRSV 양성시료 수집

(가) 최근 한국 발생 PRRSV 유전자 염기서열 분석을 위하여 참여 연구기관인 건국대, 경북대, 전북대, 및 검역본부에서 보관하고 있던 215개 PRRSV 양성 농장 시료 2,638점을 수집하였다.

(나) 임상시료 수집 농장을 지역별로 분류한 결과, 강원도 10 농장, 경기도 37 농장, 충청북도 15 농장, 충청남도 27 농장, 전라북도 28 농장, 전라남도 14 농장, 경상북도 34 농장, 경상남도 25 농장, 제주도 22 농장 및 지역 불명 3 농장 등으로 전국적인 분포를 나타내어 한국의 PRRSV 발생상황을 대표할 수 있다 (표 1-1).

표 1-1. 본 과제에서 분석한 PRRSV 양성 농장의 지역별 분포

지역	농장수	감염 농장 수		
		PRRSV-1	PRRSV-2	PRRSV-1 & 2
강원도	10	3	3	4
경기도	37	8	13	16
충청북도	15	2	7	6
충청남도	27	6	11	10
전라북도	28	13	5	10
전라남도	14	2	11	1
경상북도	34	6	16	12
경상남도	25	3	12	10
제주도	22	0	11	11
기타	3	0	3	0
총 계	215	43	92	80

(다) 각 임상시료의 PRRSV 유전형은 추출한 RNA를 이용하여 북미형 및 유럽형 PRRSV 감별진단용 real time RT-PCR을 실시하여 확인하였다. 표 1과 같이 PRRSV-1 단독

감염 농장이 20.0% (43/215), PRRSV-2 단독감염 농장이 41.8%, (92/215) 그리고, PRRSV-1과 PRRSV-2 혼합감염 농장이 37.2% (80/215)로 확인되었다 (그림 1-1).

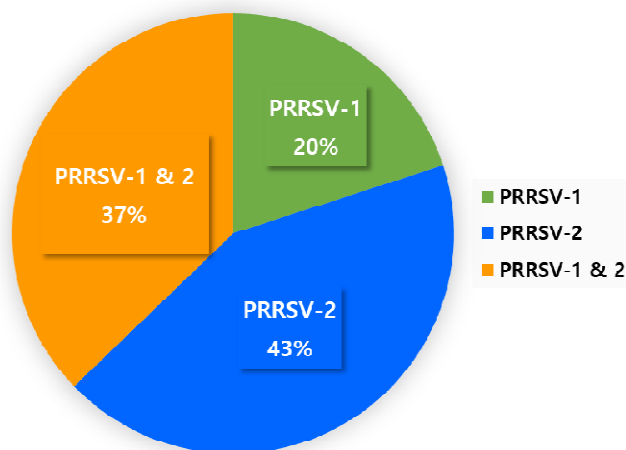


그림 1-1. 2019-2021년 농장 단위 PRRSV 단일·복합 감염여부

(라) 수집한 임상시료 및 검사결과에 대한 세부내역은 표 1-2와 같다.

표 1-2. 본 과제에서 수집한 PRRSV 양성 시료 내역

지역	농장	시료 형태	시료 수	접수일자	PRRSV 진단		
					EU	NA	EU/NA
강원도	GHYD	조직	1	2018		0	
		조직	4	2019			0
		조직	4	2020			0
강원도	GB	혈청	60	2019/07	0		
		혈청	46	2019/08	0		
		조직	27	2019/08	0		
		혈청	21	2019/09	0		
		조직	4	2019/09	0		
		혈청	13	2019/10	0		
		조직	4	2019/10	0		
		혈청	2	2019/11	0		
		조직	3	2019/11	0		
		혈청	2	2019/12	0		
		타액	2	2019/12	0		
		조직	2	2019/12	0		
		타액	2	2020/01	0		
		혈청	1	2020/02	0		
		조직	6	2020/03	0		
타액	1	2020/03	0				
혈청	6	2020/04	0				
강원도	NPR	조직	1	2019	0		
강원도	DW	혈청	2	2021/06		0	
강원도	DH	조직	1	2018	0		
		조직	1	2019		0	
강원도	DHW	조직	1	2018		0	

강원도	ST	조직	1	2018		0	
강원도	JM	혈청	5	2020/01			0
		조직	1	2020/01			0
강원도	CI	조직	1	2019	0		
강원도	GS	혈청	10	2020/03		0	
		조직	5	2020/03		0	
경기도	KSS	혈청	15	2020/08			0
		조직	5	2020/08		0	
경기도	GS	조직	1	2019/04		0	
		혈청	5	2020/02		0	
		조직	6	2020/02			0
경기도	GR	조직	1	2020	0		
경기도	URD	혈청	5	2019/03		0	
경기도	DH	조직	1	2020/06			0
경기도	DJ	조직	1	2020		0	
경기도	DMF	혈청	10	2020/02	0		
		조직	4	2020/02	0		
경기도	DS	조직	1	2018		0	
경기도	RS	조직	1	2020		0	
경기도	BS	혈청	10	2019/04		0	
		혈청	15	2020/10			0
		조직	6	2020/10			0
경기도	BR	혈청	7	2019/03		0	
		혈청	12	2019/09		0	
		조직	2	2019/09		0	
		혈청	10	2019/09		0	
		혈청	9	2019/11		0	
		혈청	2	2020/02		0	
		조직	3	2020/02		0	
		혈청	54	2020/04			0
		조직	16	2020/04			0
		혈청	36	2020/05	0		
		조직	3	2020/05		0	
		혈청	7	2020/09			0
		혈청	6	2020/10	0		
		타액	4	2020/10			0
		조직	5	2020/12	0		
		혈청	3	2021/01			0
경기도	SY	타액	3	2019/03			0
경기도	SI	혈청	10	2019/04		0	
경기도	SUR	혈청	12	2019/03			0
경기도	SJ	혈청	5	2020/05	0		
		조직	3	2020/05	0		
경기도	SH	조직	1	2019		0	
경기도	SY	혈청	1	2021/05		0	
경기도	YJ	조직	1	2019	0		
경기도	EC	조직	1	2018		0	
경기도	OS	혈청	10	2019/04			0
경기도	UR	혈청	16	2020/01		0	
		타액	2	2020/01		0	
		조직	3	2020/01		0	
경기도	UG	혈청	5	2019/03		0	
		혈청	12	2019/04		0	
		혈청	4	2020/02		0	
		조직	9	2020/02			0
경기도	LJH	조직	1	2020		0	
경기도	IP	혈청	10	2020/02			0



경기도	JI	조직	2	2019/09			0
		혈청	5	2019/10	0		
		혈청	14	2019/11		0	
		조직	1	2019/11		0	
		혈청	11	2020/09		0	
		조직	4	2020/09	0		
		혈청	13	2020/10			0
		조직	1	2020/10		0	
		혈청	36	2020/11	0		
		조직	6	2020/11		0	
		혈청	104	2020/12			0
		조직	21	2020/12			0
		혈청	42	2021/01			0
		조직	6	2021/01			0
		혈청	9	2021/03		0	
		조직	2	2021/03		0	
		혈청	5	2021/04		0	
		혈청	2	2021/05		0	
		조직	1	2020	0		
경기도	CHJ	타액	5	2020/12			0
		조직	5	2021/01	0		
경기도	CH	혈청	2	2020/08			0
		조직	2	2020/08	0		
경기도	CW	혈청	11	2020/01			0
		조직	1	2020/01		0	
경기도	CP	혈청	5	2019/04	0		
		혈청	6	2019/03			0
경기도	TK	혈청	10	2019/04			0
		혈청	10	2019/04			0
경기도	TS	조직	1	2018	0		
		혈청	10	2020/06			0
경기도	TH	조직	5	2020/06		0	
		혈청	15	2019/03		0	
경기도	HJ	조직	1	2020		0	
		혈청	5	2019/03	0		
경기도	HH	혈청	4	2019/04	0		
		혈청	4	2019/04	0		
경기도	HK	조직	1	2018		0	
		혈청	6	2019/03			0
경기도	HR2	혈청	5	2020/10	0		
		혈청	5	2020/10	0		
충청북도	KB	조직	1	2019	0		
충청북도	DW	조직	2	2019/03		0	
충청북도	BS	혈청	5	2019/03	0		
충청북도	BJ	혈청	10	2020/06		0	
충청북도		조직	7	2020/06			0
충청북도	SS-1	혈청	5	2020/11			0
충청북도		조직	3	2020/11	0		
충청북도	SS-2	혈청	3	2021/06		0	
충청북도	YH	혈청	2	2021/05		0	
충청북도	AP	혈청	15	2020/02		0	
충청북도	YL	혈청	8	2019/04		0	
충청북도	UJ	혈청	9	2019/09		0	
충청북도		혈청	4	2019/12		0	
충청북도		혈청	1	2020/04		0	
충청북도		조직	2	2019/09		0	
충청북도		조직	1	2019/11		0	
충청북도		조직	3	2020		0	
충청북도		조직	1	2020/02		0	
충청북도		타액	4	2019/09		0	
충청북도	HK	조직	8	2020/09			0

충청북도	TS	혈청	2	2020/07		○	
충청북도		조직	10	2020/07			○
충청북도	EL	혈청	3	2019/03		○	
충청북도	CJ	혈청	15	2019/04		○	
충청북도		혈청	3	2019/09		○	
충청북도		혈청	3	2019/10		○	
충청북도		혈청	6	2019/11		○	
충청북도		혈청	12	2019/12			○
충청북도		혈청	1	2020/02	○		
충청북도		혈청	22	2020/04		○	
충청북도		혈청	1	2020/06	○		
충청북도		조직	5	2020/03		○	
충청북도		조직	6	2020/04		○	
충청북도	CL	혈청	20	2019/03			○
충청북도		조직	1	2019/04		○	
충청북도		조직	1	2020		○	
충청남도	GH	혈청	5	2019/03	0		
충청남도	GC	혈청	10	2019/03		0	
충청남도	KM	조직	1	2019	0		
		조직	2	2020	0		
충청남도	KT	타액	9	2020/11			0
충청남도	NG	타액	5	2020/11		0	
충청남도	NHU	혈청	5	2019/03		0	
충청남도	DP	혈청	10	2019/03		0	
충청남도	DS	혈청	1	2020/02			0
		조직	3	2020/02			0
충청남도	DJ	혈청	16	2020/02		0	
		조직	4	2020/02		0	
충청남도	DH	혈청	11	2019/03			0
충청남도	BOR	혈청	4	2020/03			0
		조직	4	2020/03			0
충청남도	BJ	혈청	10	2019/03		0	
충청남도	SH	혈청	5	2019/03		0	
충청남도	SB	혈청	2	2020/02		0	
		혈청	2	2020/03			0
		조직	9	2020/02			0
		조직	5	2020/03			0
충청남도	SW	조직	4	2019/04		0	
충청남도	OG	혈청	3	2019/04		0	
충청남도	RNF	혈청	1	2019/04	0		
충청남도	YD	조직	1	2020/05	0		
충청남도	EBES	혈청	1	2019/04	0		
		조직	1	2019/04	0		
충청남도	YJ	혈청	3	2019/04	0		
충청남도	WJ	혈청	5	2020/01			0
		조직	1	2020/01			0
충청남도	YHS	조직	8	2020/10		0	
충청남도	CAF	혈청	5	2019/03			0
		혈청	1	2020/11		0	
		조직	7	2020/11		0	
충청남도	CHM	혈청	35	2019/04			0
		혈청	15	2020/01			0
		조직	2	2020/01	0		
		혈청	15	2020/09			0
		조직	3	2020/09			0
		혈청	10	2020/10			0
충청남도	PG	조직	4	2020/10			0
충청남도		혈청	15	2020/07			0

충청남도	HF	혈청	5	2019/03		0	
충청남도	HS	조직	6	2019/04			0
전라북도	KCK	혈청	12	2019/03	0		
전라북도	KO	혈청	2	2020/03		0	
		조직	5	2020/03		0	
전라북도	KW	혈청	15	2019/04	0		
전라북도	DY	조직	3	2020/10			0
전라북도	DU	혈청	5	2019/03	0		
전라북도	MK	조직	1	2020		0	
전라북도	MR	혈청	30	2019/04	0		
전라북도	MJJ	조직	1	2018	0		
전라북도	BRK	혈청	4	2020/11	0		
전라북도	BB	타액	15	2020/11			0
전라북도	SR-1	혈청	10	2019/04			0
전라북도	SJ	조직	1	2020	0		
전라북도	SR-2	혈청	5	2019/03			0
전라북도	EJ	혈청	15	2019/04			0
전라북도	WJ	혈청	10	2021/04			0
전라북도	YS	조직	1	2019		0	
전라북도	WPG	혈청	10	2020/04			0
		조직	2	2020/04			0
전라북도	YM	혈청	2	2019/03		0	
		혈액	30	2020/01			0
전라북도	EST	혈청	5	2019/04	0		
전라북도	EL	혈청	15	2019/03	0		
전라북도	YJB	혈청	9	2019/04	0		
전라북도	JH	혈청	25	2019/04			0
		조직	3	2019/04		0	
전라북도	JY	혈청	10	2020/10	0		
		조직	10	2020/10	0		
전라북도	TH	혈청	2	2019/03	0		
전라북도	HN	혈청	10	2019/04	0		
전라북도	HEF	혈청	10	2019/04			0
전라북도	HR	조직	1	2019/03		0	
전라북도	HH	혈청	5	2019/04		0	
전라남도	KS	혈청	5	2021/04		0	
전라남도		혈청	10	2021/04			0
전라남도	DB	혈청	4	2019/04			0
전라남도		혈청	4	2019/04	0		
전라남도	DY	혈청	5	2019/03	0		
전라남도	DSJD	조직	1	2019/04		0	
전라남도		혈청	10	2019/04		0	
전라남도	SY	조직	1	2020		0	
전라남도	SR	혈청	12	2019/04		0	
전라남도	ECOPARM	혈청	10	2019/04		0	
전라남도	YI	타액	3	2020/11		0	
전라남도	TH	조직	1	2019/04		0	
전라남도	PS	조직	2	2021/04		0	
전라남도	HD	혈청	20	2020/03		0	
전라남도		조직	4	2020/03		0	
전라남도	HJ	혈청	1	2019/03		0	
전라남도	YYS	조직	2	2020/09		0	
전라남도	LKR	혈청	5	2020/07		0	
경상북도	GF	조직	1	2018		0	
경상북도	NG	조직	1	2018		0	
경상북도	WI	혈청	12	2020/07			0
경상북도	DS	혈청	8	2020/07		0	
경상북도	SM	혈청	8	2020/07			0

경상북도		조직	2	2020/07			○
경상북도	CS	조직	1	2020		○	
경상북도	DH-1	혈청	20	2019/03			○
경상북도		혈청	11	2020/06			○
경상북도	DH-2	조직	2	2020/06		○	
경상북도		혈청	10	2020/03			○
경상북도	DJ	조직	1	2020/03	○		
경상북도	DJ	혈청	10	2019/03			○
경상북도	MS	조직	1	2019	○		
경상북도	MR	조직	3	2020	○		
경상북도	BD	혈청	34	2019/04		○	
경상북도	BL	혈청	5	2020/01			○
경상북도		조직	1	2020/01	○		
경상북도	BW	조직	2	2018	○		
경상북도	BF	혈청	15	2019/04			○
경상북도	SR	조직	1	2018		○	
경상북도	SG	조직	1	2020	○		
경상북도	SL	조직	1	2021/07		○	
경상북도	SS-3	조직	1	2018		○	
경상북도	SH	조직	1	2020		○	
경상북도	AH	혈청	5	2019/04		○	
경상북도	YJ	혈청	5	2019/03	○		
경상북도	YH	혈청	22	2019/03			○
경상북도	OJ	혈청	15	2019/04			○
경상북도	OB	혈청	4	2020/06		○	
경상북도	OI	조직	2	2020/07		○	
경상북도	JY	조직	1	2020		○	
경상북도	TC	조직	1	2020	○		
경상북도	CW	조직	1	2018		○	
경상북도	TH	혈청	5	2020/01	○		
경상북도		조직	1	2020/01			○
경상북도	PN	조직	1	2020/06	○		
경상북도		혈청	2	2019/03			○
경상북도	PP	조직	1	2020		○	
경상북도	HA	혈청	20	2019/03		○	
경상북도	HJ	혈청	5	2019/03		○	
경상북도		조직	1	2019	○		
경상남도	GB	조직	1	2018		○	
경상남도	GN	조직	1	2018	○		
경상남도	GA	혈청	5	2019/03		○	
경상남도		혈청	5	2019/03			○
경상남도		혈청	5	2019/04			○
경상남도	KSO	조직	2	2020		○	
경상남도	NB	혈청	15	2019/03		○	
경상남도	DL	조직	1	2020		○	
경상남도	DH	혈청	6	2020/10		○	
경상남도		혈청	2	2020/10	○		
경상남도		혈청	1	2020/10			○
경상남도	DH-2	혈청	5	2019/05	○		
경상남도	BTH	조직	2	2019/03		○	
경상남도		혈청	10	2019/03			○
경상남도		혈청	10	2019/03	○		
경상남도		혈청	5	2019/03		○	
경상남도	BH	혈청	10	2019/04			○
경상남도	SD	조직	16	2021/02		○	
경상남도		혈청	24	2020/10		○	
경상남도	SDR	조직	2	2020		○	

경상남도		조직	1	2020	0		
경상남도	SE	혈청	10	2019/04		0	
경상남도	SH	혈청	10	2020/03		0	
경상남도		조직	3	2020/03		0	
경상남도	YS	혈청	5	2020/06		0	
경상남도		조직	2	2020/06		0	
경상남도	LJH	조직	1	2020	0		
경상남도	ID	조직	1	2020		0	
경상남도	JD	혈청	10	2019/04	0		
경상남도		혈청	5	2019/04			0
경상남도	JK	혈청	1	2019/03		0	
경상남도	HA-1	혈청	6	2020/03			0
경상남도		혈청	5	2020/03		0	
경상남도		조직	3	2020/03			0
경상남도	HA-2	조직	1	2020		0	
경상남도	HD	혈청	5	2020/08		0	
경상남도		조직	2	2020/08			0
경상남도	HH	혈청	15	2019/04	0		
경상남도		혈청	10	2019/04			0
경상남도	HJ-1	혈청	10	2020/10		0	
경상남도		혈청	5	2020/10		0	
경상남도	HJ-2	조직	1	2019			0
제주도	13H	혈청	5	2020/07		0	
제주도	DW	혈청	5	2019/03		0	
제주도	MAR	혈청	5	2020/10		0	
제주도		타액	1	2020/10		0	
제주도	MS	혈청	1	2019/03		0	
제주도	BD	조직	55	2020/09		0	
제주도		혈청	12	2020/09		0	
제주도		타액	2	2020/11		0	
제주도		분변	2	2020/11		0	
제주도		타액	1	2020/11		0	
제주도		혈청	10	2020/11		0	
제주도	SI	분변	1	2020/08		0	
제주도		분변	1	2020/08	0		
제주도		타액	2	2020/08	0		
제주도	SJ	타액	1	2020/08			0
제주도		타액	1	2021/03		0	
제주도	SB	분변	1	2021/03		0	
제주도		분변	6	2021/04		0	
제주도	SB	타액	4	2021/04		0	
제주도		조직	5	2021/04		0	
제주도		조직	3	2021/04			0
제주도	SBR	조직	1	2021/03		0	
제주도		혈청	15	2020/12		0	
제주도		혈청	3	2020/12	0		
제주도		혈청	1	2020/12			0
제주도		타액	2	2020/12		0	
제주도		타액	1	2020/12			0
제주도	WR	분변	2	2020/12		0	
제주도		혈청	1	2020/05	0		
제주도		혈청	14	2020/05		0	
제주도		타액	12	2020/05		0	
제주도		분변	4	2020/08		0	
제주도	YCH	조직	2	2020/11			0
제주도		분변	1	2020/07		0	
제주도		타액	1	2020/07	0		
제주도		타액	3	2020/07		0	

제주도	ES	혈청	6	2020/12	0		
제주도		혈청	1	2020/12			0
제주도		혈청	1	2020/12		0	
제주도		타액	1	2020/12	0		
제주도		타액	1	2020/12		0	
제주도		분변	2	2020/12		0	
제주도	JGP	혈청	5	2019/03	0		
제주도		혈청	10	2019/03			0
제주도	JJ	혈청	4	2019/04	0		
제주도		혈청	15	2019/04			0
제주도	JE	조직	1	2021/03		0	
제주도		분변	3	2021/02		0	
제주도		타액	1	2021/02		0	
제주도		타액	1	2021/02			0
제주도	CM	타액	1	2020/08		0	
제주도	CS	혈청	5	2020/07		0	
제주도		TR	분변	1	2020/07		0
제주도	타액		1	2020/07		0	
제주도	PSB	혈청	5	2019/03			0
제주도		혈청	5	2019/03		0	
제주도	PSJC	혈청	10	2019/04		0	
제주도		혈청	5	2019/04			0
제주도		혈청	5	2019/04	0		
제주도	HS	혈청	5	2020/10		0	
제주도		타액	1	2020/10		0	
제주도	HW	혈청	5	2019/04		0	
기타	unkwon	혈청	1	2019		0	
기타	unkwon	혈청	1	2019		0	
기타	unkwon	혈청	1	2019		0	

## 2) 국내 유행 PRRSV 유전자 분석 및 해외 발생 PRRSV 유전자 정보 확보

### 가) 연구 추진 계획

(1) 연구목표: 최근 국내 발생 PRRSV의 ORF5-7 유전자 염기서열 기초 분석

(2) 추진계획: 최근 및 기존 PRRSV 유전자 염기서열 확보 및 기초분석

(가) 신규 PRRSV 유전자 정보: 확보된 임상시료로부터 증폭 및 염기서열 분석 (ORF5-7)

(나) 기보고된 국내 및 해외 PRRSV 유전자 정보 수집 및 목록 작성: Full, ORF5, ORF6, ORF7

### 나) 연구 추진 결과

(1) 최근 한국 양돈장 PRRSV 양성시료에 대한 ORF5-7 염기서열 증폭 및 분석

(가) 수집된 215개 농장의 임상시료를 농장별 시료 종류 및 사전 검사 결과를 고려하여 최종 378개 임상시료를 선별했다. 선별된 시료의 핵산을 추출한 다음, 염기서열 분석을 실시하였다. 핵산 추출은 각 임상시료 200  $\mu$ l를 덜어내어 TANBead Nucleic Acid Extraction Kit와 자동 핵산추출기(Taiwan Advanced Nanotech Inc., Taoyuan, Taiwan)를 제조사의 방법에 준하여 핵산을 추출하여 100  $\mu$ l의 용출용액 (elution buffer)에 용출한 다음, PRRSV 유전자 염기서열 분석을 실시하였다.

(나) PRRSV 유전형이 확인된 핵산시료는 유전자 염기서열 기초 분석 (ORF5-7)을 위한 재료로 활용하였으며, 해당 양성 시료와 목록은 제1 세부기관에 제공하여 바이러스 분리 등 후속 연구에 활용하도록 하였다.

(다) PRRSV-1 및 PRRSV-2의 3개 유전자 (ORF5-7) 염기서열을 한번에 분석하기 위하여 1차적으로 ORF5, ORF6 및 ORF7을 동시에 증폭 및 분석할 수 있는 primer sets를 각각 설계하였으며, 동시 분석이 되지 않을 경우에는 ORF5 유전자만이라도 분석할 수 있도록 ORF5 유전자 증폭용 primer sets를 추가로 제작하였다. Primer sets는 수집된 PRRSV-1 및 PRRSV-2의 염기서열을 BioEdit Sequence Alignment Editor program (<http://www.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html>)를 이용하여 가장 안정적인 부위를 선별한 다음, Clone manager (Scientific&Educational Software, USA) OligoAnalyzer Tool (<https://sg.idtdna.com/pages>)를 이용하여 설계하였다 (그림 1-2, 표 1-3). 설계한 primer 염기서열들에 대하여 BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 검색을 통하여 특이도를 검증한 결과, 각 primer set들이 PRRSV-1과 PRRSV-2 유전자와 특이적으로 반응함을 확인하였다. 설계한 primer set는 제조업체(Bioneer Co, Korea)에 의뢰하여 합성하였다.

(라) PRRSV-1 또는 PRRSV-2 ORF5-7 유전자 증폭은 시판 RT-PCR 키트 (TAKARA, GXL 050A)를 이용하여 제조사의 추천방법에 따라 실시하였다.

(마) 증폭된 약 1500 bp의 증폭 유전자를 핵산 정제키트 (Expin<sup>TM</sup> Gel SV mini, GeneAll)를 이용하여 핵산을 추출 정제한 다음, NanoDrop Lite (ThermoFisher Scientific)를 이용하여 흡광도(260/280nm)를 측정하여 정제 핵산 순도와 양을 확인한 다음, 염기서열 분석회사 (BIONICS, SOLGENT) 에 분석을 의뢰하였다.

(바) ORF5-7 증폭용 primer sets로 증폭이 되지 않거나 유전자 분석이 되지 않는 임상 시료들에 대해서는 2차적으로 ORF5 유전자만을 증폭할 수 있는 primer sets를 이용하여 유전자를 증폭한 다음, 염기서열 분석을 의뢰하였으며, 분석된 ORF5 유전자를 PRRSV 유전형 분석에 제공하였다.

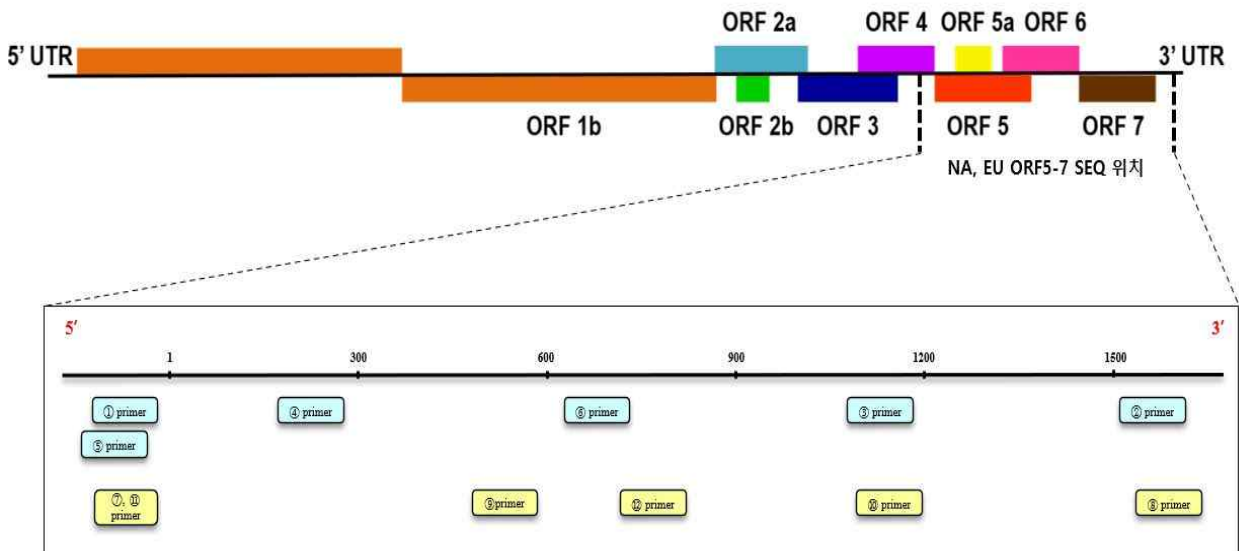


그림 1-2. 본 과제에서 PRRSV-1, PRRSV-2 ORF5-7 염기서열 분석에 사용한 프라이머 위치

표 1-3. 본 과제에서 PRRSV-1, PRRSV-2 ORF5-7 염기서열 분석에 사용한 프라이머 내역

목적	프라이머 이름	프라이머 서열 (5'-3')
PRRSV-1	PCR for ORF5-7	①EORF5/7-PF ATGAGGTGGGCAACAACCAT
		②EORF5/7-PR AATCGCGCCATTACCT
	Sequencing for ORE5-7	EORF5/7-SF1 ATGAGGTGGGCAACAACCAT
		EORF5/7-SR1 AATCGCGCCATTACCT
		③EORF5/7-SF2 AACCTCGTCAAGTATGGCCG
		④EORF5/7-SR2 GGTCGCATTTCAGCTCRCATA
	PCR for ORF5	⑤EORF5-PF CCGTCTGTGATGAGRTGGGC
		⑥EORF5-PR GGAYACTTTTAGGGCRTATA
	Sequencing for ORF5	EORF5-SF CCGTCTGTGATGAGRTGGGC
		EORF5-SR GGAYACTTTTAGGGCRTATA
PRRSV-2	PCR for ORF5-7	⑦NORF5/7-PF GTGGGCRACYGTTTTAGCCT
		⑧NORF5/7-PR TCGCCCTAATTGAATAGGTGAC
	Sequencing for ORE5-7	NORF5/7-SF GTGGGCRACYGTTTTAGCCT
		NORF5/7-SR1 TCGCCCTAATTGAATAGGTGAC
		⑨NORF5/7-SR2 CAAGCACAACCTCTYTTGAGGTCG
		⑩NORF5/7-SR3 TGCCACCCAACACGAGGC
	PCR for ORF5	⑪NORF5-PF GTGGGCRACYGTTTTAGCCT
		⑫NORF5-PR CATAGTGAGCGCGACCYTAT
	Sequencing for ORF5	NORF5-SF GTGGGCRACYGTTTTAGCCT
		NORF5-SR CATAGTGAGCGCGACCYTAT

(2) 최근 한국 발생 PRRSV의 ORF5-7 염기서열 분석결과

(가) 215개 농장의 378개 임상시료로부터 ORF5-7 유전자를 증폭하여 염기서열을 분석한 결과, PRRSV-1의 ORF5-7 유전자 염기서열 114개와 PRRSV-2의 ORF5-7 유전자 염기서열 210개를 포함하여 총 324개의 ORF5-7 유전자 염기서열을 확보하였다.

(나) 또한 ORF5-7 전체 유전자 염기서열이 분석되지 않은 시료에 대하여 2차적으로 ORF5 유전자를 증폭하여 염기서열 분석을 실시하여 추가로 PRRSV-1 ORF5 유전자 염기서열 14개와 PRRSV-2 ORF5 유전자 염기서열 6개를 포함하여 총 20개의 ORF5 유전자 염기서열을 추가



확보하였다.

(다) 분석된 총 344개의 PRRSV-1 및 PRRSV-2 유전자 염기서열의 연도별 및 지역별 분포는 표 1-4 및 표 1-5와 같으며, 유전자 염기서열 분석 추진 결과 목록은 표 1-6과 같으며, 분석 완료된 유전자 염기서열은 별첨 1과 같다.

표 1-4. 본 과제에서 분석된 PRRSV의 경시적 분포

년도	분석된 염기서열 수						총계
	PRRSV-1			PRRSV-2			
	ORF5-7	ORF5	계	ORF5-7	ORF5	계	
2018	4	0	4	5	1	6	10
2019	47	7	54	72	5	77	131
2020	57	7	64	107	0	107	171
2021	6	0	6	26	0	26	32
총계	114	14	128	210	6	216	344

표 1-5. 본 과제에서 분석된 PRRSV의 지역 분포

Province	분석된 염기서열 수					
	PRRSV-1			PRRSV-2		
	ORF5-7	ORF5	계	ORF5-7	ORF5	계
강원도	12	2	14	10	0	10
경기도	33	2	35	73	0	73
충청북도	5	0	5	14	0	14
충청남도	13	2	15	18	1	19
전라북도	23	2	25	10	2	12
전라남도	1	0	1	9	0	9
경상북도	13	4	17	29	1	30
경상남도	6	1	7	27	2	29
제주도	8	1	9	17	0	17
기타	0	0	0	3	0	3
총계	114	14	128	210	6	216

표 1-6. 본 과제에서 실시한 PRRSV 염기서열 분석 내역

No.	Date	Name of strain	Species of PRRSV	Target genes analysed	Sequencing company	Results of 1st sequencing	Results of 2nd sequencing	Sequence obtained
1	20210525	KNU-18	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
2	20210525	KNU-46	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
3	20210525	KNU-59	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
4	20210525	KNU-78	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
5	20210525	KNU-98	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
6	20210525	KNU-104	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
7	20210525	KNU-106	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
8	20210525	KNU-129	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
9	20210525	KNU-133	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
10	20210525	KNU-152	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Failed	Partial analysis	ORF5
11	20210525	KNU-174	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
12	20210525	KNU-187	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7

13	20210525	KNU-195	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
14	20210525	KNU-213	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
15	20210525	KNU-229	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
16	20210525	KNU-235	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
17	20210525	KNU-259	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
18	20210525	KNU-268	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
19	20210525	KNU-281	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
20	20210525	KNU-286	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
21	20210525	KNU-292	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
22	20210525	KNU-294	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
23	20210525	KNU-298	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Failed	Partial analysis	ORF5
24	20210525	KNU-299	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
25	20210525	KNU-351	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
26	20210525	KNU-385	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
27	20210525	KNU-390	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
28	20210526	KNU-395	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
29	20210526	KNU-415	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
30	20210528	JB-13	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
31	20210528	JB-18	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
32	20210528	JB-21	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
33	20210528	JB-28	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
34	20210528	JB-33	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
35	20210528	JB-34	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Failed	Partial analysis	ORF5
36	20210528	JB-72	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Failed	Failed	-
37	20210630			ORF5	SOLGENT	Failed	Failed	-
38	20210630	JB-76	PRRSV-1	ORF5	SOLGENT	Failed	Failed	-
39	20210528	JB-127	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
40	20210528	JB-129	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Failed	Partial analysis	ORF5
41	20210528	JB-138	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Failed	Partial analysis	ORF5
42	20210528	JB-141	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
43	20210528	JB-146	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
44	20210528	JB-148	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
45	20210528	JB-156	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
46	20210528	JB-161	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
47	20210528	JB-166	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
48	20210528	JB-168	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
49	20210528	JB-171	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
50	20210528	JB-185	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Failed	Partial analysis	ORF5
51	20210528	JB-196	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
52	20210528	JB-198	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
53	20210528	JB-199	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
54	20210630	JB-205	PRRSV-1	ORF5	SOLGENT	Failed	Failed	-
55	20210528	JB-208	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
56	20210630	JB-210	PRRSV-1	ORF5	SOLGENT	Failed	Failed	-
57	20210630	JB-215	PRRSV-1	ORF5	SOLGENT	Failed	Failed	-
58	20210528	JB-217	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
59	20210528	JB-243	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
60	20210630	JB-250	PRRSV-1	ORF5	SOLGENT	Failed	Failed	-
61	20210630	JB-264	PRRSV-1	ORF5	SOLGENT	Failed	Failed	-
62	20210630	JB-265	PRRSV-1	ORF5	SOLGENT	Failed	Failed	-
63	20210630	JB-272	PRRSV-1	ORF5	SOLGENT	Success		ORF5
64	20210528	JB-292	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Failed	Partial analysis	ORF5
65	20210630	JB-297	PRRSV-1	ORF5	SOLGENT	Failed	Failed	-
66	20210630	JB-303	PRRSV-1	ORF5	SOLGENT	Failed	Failed	-
67	20210528	JB-314	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
68	20210528	JB-315	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7

69	20210531	JB-316	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
70	20210531	JB-317	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
71	20210531	JB-319	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
72	20210531	JB-320	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
73	20210630	JB-330	PRRSV-1	ORF5	SOLGENT	Failed	Failed	-
74	20210531	JB-333	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Failed	Failed	-
75	20210630		PRRSV-1	ORF5	SOLGENT	Failed	Failed	-
76	20210531	JB-353	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
77	20210531	JB-354	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
78	20210531	JB-361	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
79	20210607	JB-365	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
80	20210531	JB-366	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
81	20210531	JB-370	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Failed	Failed	-
82	20210531	JB-385	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Failed	Failed	-
83	20210531	JB-386	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
84	20210531	JB-387	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
85	20210531	JB-388	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
86	20210611	JB-390	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
87	20210531	JB-405	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
88	20210531	JB-406	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
89	20210607	JB-430	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
90	20210531	JB-445	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
91	20210607	JB-465	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Failed	Partial analysis	ORF5
92	20210611	JB-466	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
93	20210531	JB-469	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Failed	Partial analysis	ORF5
94	20210607	JB-488	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
95	20210607	JB-500	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
96	20210531	JB-506	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Failed	Partial analysis	ORF5
97	20210607	JB-519	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
98	20210531	JB-529	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Failed	Failed	-
99	20210531	JB-533	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Failed	Partial analysis	ORF5
100	20210531	JB-537	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
101	20210531	JB-538	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
102	20210531	JB-539	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
103	20210531	JB-540	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
104	20210531	JB-541	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
105	20210607	JB-543	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
106	20210531	JB-547	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Failed	Failed	-
107	20210630		PRRSV-1	ORF5	SOLGENT	Failed	Failed	-
108	20210531	JB-553	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
109	20210611	JB-556	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
110	20210607	JB-558	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
111	20210607	JB-559	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
112	20210611	JB-565	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
113	20210611	JB-566	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
114	20210531	JB-615	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
115	20210607	QIA-13	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
116	20210607	QIA-19	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
117	20210607	QIA-21	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
118	20210607	QIA-22	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
119	20210607	QIA-23	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
120	20210607	QIA-25	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
121	20210607	QIA-26	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
122	20210607	QIA-29	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
123	20210607	QIA-32	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
124	20210607	QIA-34	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7

125	20210607	QIA-35	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
126	20210607	QIA-37	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
127	20210607	QIA-46	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
128	20210607	QIA-48	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
129	20210607	QIA-49	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
130	20210607	QIA-50	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
131	20210607	QIA-55	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
132	20210607	QIA-56	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Failed	Partial analysis	ORF5
133	20210607	QIA-57	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
134	20210607	QIA-59	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
135	20210607	QIA-60	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
136	20210607	QIA-61	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
137	20210607	QIA-63	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
138	20210607	QIA-64	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
139	20210607	QIA-65	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
140	20210611	KK-92	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
141	20210611	KK-130	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Failed	Partial analysis	ORF5
142	20210611	KK-146	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
143	20210611	KK-147	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
144	20210611	KK-158	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
145	20210611	KK160	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
146	20210611	KK-202	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
147	20210611	KK-225	PRRSV-1	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
148	20210531	JB-002	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
149	20210527	JB-008	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS, SOLGENT	Success		ORF5-7
150	20210527	JB-009	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS, SOLGENT	Failed	Failed	-
151	20210531	JB-011	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
152	20210527	JB-012	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS, SOLGENT	Failed	Failed	-
153	20210628	JB-012	PRRSV-2	ORF5	BIONICS	Success		ORF5-7
154	20210531	JB-018	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
155	20210531	JB-019	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
156	20210531	JB-027	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
157	20210531	JB-072	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Failed	Failed	-
158	20210628	JB-072	PRRSV-2	ORF5	BIONICS	Success		ORF5-7
159	20210531	JB-105	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
160	20210531	JB-108	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
161	20210527	JB-109	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS, SOLGENT	Success		ORF5-7
162	20210527	JB-111	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS, SOLGENT	Failed	Failed	-
163	20210531	JB-112	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
164	20210804	JB-119	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
165	20210531	JB-129	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
166	20210531	JB-130	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
167	20210531	JB-133	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
168	20210531	JB-135	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Failed	Failed	-
169	20210628	JB-135	PRRSV-2	ORF5	BIONICS	Failed	Partial analysis	ORF5
170	20210531	JB-138	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Failed	Failed	-
171	20210527	JB-139	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS, SOLGENT	Failed	Failed	-
172	20210531	JB-141	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
173	20210527	JB-143	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS, SOLGENT	Success		ORF5-7
174	20210531	JB-146	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
175	20210531	JB-147	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
176	20210531	JB-149	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
177	20210531	JB-168	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
178	20210531	JB-169	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
179	20210527	JB-176	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS, SOLGENT	Success		ORF5-7
180	20210527	JB-177	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS, SOLGENT	Success		ORF5-7

181	20210527	JB-186	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS, SOLGENT	Success		ORF5-7
182	20210531	JB-191	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
183	20210527	JB-194	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS, SOLGENT	Success		ORF5-7
184	20210527	JB-195	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS, SOLGENT	Success		ORF5-7
185	20210527	JB-197	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS, SOLGENT	Success		ORF5-7
186	20210527	JB-204	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS, SOLGENT	Success		ORF5-7
187	20210527	JB-207	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS, SOLGENT	Success		ORF5-7
188	20210527	JB-212	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS, SOLGENT	Success		ORF5-7
189	20210527	JB-213	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS, SOLGENT	Success		ORF5-7
190	20210531	JB-216	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
191	20210531	JB-217	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
192	20210531	JB-218	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
193	20210527	JB-219	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS, SOLGENT	Success		ORF5-7
194	20210531	JB-220	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
195	20210531	JB-228	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
196	20210527	JB-229	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS, SOLGENT	Success		ORF5-7
197	20210527	JB-230	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS, SOLGENT	Failed	Failed	-
198	20210531	JB-241	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
199	20210527	JB-242	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS, SOLGENT	Failed	Failed	-
200	20210628	JB-242	PRRSV-2	ORF5	BIONICS	분석완료		ORF5-7
201	20210531	JB-244	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Failed	Failed	-
202	20210628	JB-244	PRRSV-2	ORF5	BIONICS	Failed	Partial analysis	ORF5
203	20210531	JB-249	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Failed	Failed	-
204	20210628	JB-249	PRRSV-2	ORF5	BIONICS	Success		ORF5-7
205	20210531	JB-263	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
206	20210531	JB-266	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
207	20210601	JB-268	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Failed	Failed	-
208	20210601	JB-269	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
209	20210601	JB-270	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
210	20210601	JB-274	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
211	20210601	JB-290	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
212	20210601	JB-295	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
213	20210601	JB-299	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
214	20210601	JB-308	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
215	20210527	JB-323	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS, SOLGENT	Success		ORF5-7
216	20210601	JB-325	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Failed	Failed	-
217	20210527	JB-327	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS, SOLGENT	Success		ORF5-7
218	20210601	JB-333	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
219	20210601	JB-343	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Failed	Failed	-
220	20210628	JB-343	PRRSV-2	ORF5	BIONICS	Failed	Partial analysis	ORF5
221	20210601	JB-355	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
222	20210601	JB-357	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Failed	Failed	-
223	20210628	JB-357	PRRSV-2	ORF5	BIONICS	Success		ORF5-7
224	20210601	JB-361	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
225	20210606	JB-363	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
226	20210601	JB-366	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
227	20210606	JB-368	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
228	20210606	JB-379	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
229	20210606	JB-393	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
230	20210606	JB-394	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
231	20210606	JB-403	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
232	20210606	JB-409	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
233	20210606	JB-416	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
234	20210606	JB-418	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
235	20210606	JB-424	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
236	20210606	JB-426	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7

237	20210606	JB-430	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
238	20210606	JB-434	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
239	20210606	JB-435	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
240	20210606	JB-436	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
241	20210606	JB-437	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
242	20210606	JB-440	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
243	20210606	JB-441	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
244	20210606	JB-442	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
245	20210601	JB-451	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
246	20210606	JB-458	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Failed	Failed	-
247	20210606	JB-460	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
248	20210606	JB-470	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
249	20210606	JB-471	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
250	20210601	JB-473	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
251	20210606	JB-475	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
252	20210606	JB-477	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
253	20210606	JB-478	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
254	20210606	JB-480	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
255	20210606	JB-481		ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
256	20210606	JB-497	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
257	20210606	JB-499	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
258	20210606	JB-504	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
259	20210601	JB-510	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Failed	Failed	-
260	20210601	JB-517	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
261	20210606	JB-528	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
262	20210601	JB-546	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
263	20210601	JB-553	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
264	20210606	JB-558	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
265	20210606	JB-561	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
266	20210606	JB-562	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
267	20210606	JB-563	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
268	20210606	JB-569	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
269	20210606	JB-619	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
270	20210616	KK-009	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
271	20210616	KK-033	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
272	20210616	KK-057	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
273	20210616	KK-064	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
274	20210804	KK-093	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
275	20210804	KK-095	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
276	20210616	KK-101	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
277	20210804	KK-104	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
278	20210804	KK-133	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
279	20210804	KK-134	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
280	20210616	KK-178	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
281	20210616	KK-179	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
282	20210616	KK-204	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
283	20210616	KK-205	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
284	20210616	KK-214	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
285	20210616	KK-222	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
286	20210616	KK-227	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
287	20210616	KK-229	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
288	20210518	KNU-058	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
289	20210518	KNU-065	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS, SOLGENT	Success		ORF5-7
290	20210518	KNU-071	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
291	20210518	KNU-107	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS, SOLGENT	Success		ORF5-7
292	20210518	KNU-110	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7

293	20210518	KNU-114	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
294	20210518	KNU-117	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
295	20210518	KNU-118	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
296	20210518	KNU-143	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
297	20210518	KNU-144	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
298	20210518	KNU-145	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
299	20210518	KNU-156	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Failed	Failed	-
300	20210602	KNU-156	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
301	20210518	KNU-157	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Failed	Failed	-
302	20210602	KNU-157	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
303	20210518	KNU-158	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
304	20210518	KNU-159	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
305	20210518	KNU-160	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Failed	Failed	-
306	20210518	KNU-161	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Failed	Failed	-
307	20210518	KNU-162	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
308	20210518	KNU-163	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
309	20210518	KNU-166	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
310	20210518	KNU-167	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
311	20210518	KNU-168	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS, SOLGENT	Success		ORF5-7
312	20210518	KNU-170	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS, SOLGENT	Success		ORF5-7
313	20210518	KNU-194	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS, SOLGENT	Success		ORF5-7
314	20210518	KNU-256	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Failed	Failed	-
315	20210602	KNU-256	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
316	20210518	KNU-267	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
317	20210518	KNU-307	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
318	20210518	KNU-326	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
319	20210518	KNU-328	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
320	20210518	KNU-332	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
321	20210518	KNU-333	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
322	20210518	KNU-335	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
323	20210518	KNU-341	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
324	20210518	KNU-358	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
325	20210518	KNU-369	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
326	20210518	KNU-371	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
327	20210518	KNU-374	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
328	20210518	KNU-377	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
329	20210602	KNU-380	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
330	20210602	KNU-409	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
331	20210518	KNU-412	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
332	20210518	KNU-413	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
333	20210518	KNU-414	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
334	20210602	KNU-419	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
335	20210602	KNU-420	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
336	20210606	KNU-427	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
337	20210606	KNU-428	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
338	20210714	KNU-432	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
339	20210609	QIA-002	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
340	20210609	QIA-003	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
341	20210609	QIA-006	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
342	20210609	QIA-007	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
343	20210609	QIA-011	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
344	20210609	QIA-012	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
345	20210609	QIA-014	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Failed	Partial analysis	ORF5
346	20210609	QIA-015	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
347	20210609	QIA-016	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
348	20210609	QIA-017	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7

349	20210609	QIA-018	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
350	20210609	QIA-020	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Failed	Failed	-
351	20210609	QIA-024	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Failed	Failed	-
352	20210609	QIA-027	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF-5-7
353	20210609	QIA-028	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
354	20210609	QIA-030	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
355	20210609	QIA-033	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
356	20210609	QIA-036	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
357	20210609	QIA-040	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
358	20210609	QIA-041	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
359	20210609	QIA-042	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Failed	Failed	-
360	20210609	QIA-043	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Failed	Failed	-
361	20210609	QIA-044	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Failed	Partial analysis	ORF5
362	20210609	QIA-051	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
363	20210609	QIA-052	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
364	20210609	QIA-053	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
365	20210609	QIA-054	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
366	20210609	QIA-066	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
367	20210609	QIA-068	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
368	20210609	QIA-070	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
369	20210609	QIA-071	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
370	20210609	QIA-073	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
371	20210804	QIA-075	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
372	20210804	QIA-076	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
373	20210804	QIA-077	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
374	20210813	210727-QIA-004	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
375	20210813	210727-QIA-005	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
376	20210813	210727-QIA-032	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
377	20210813	210727-QIA-035,036	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
378	20210813	210727-QIA-043	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
379	20210813	210727-QIA-085	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
380	20210813	210727-QIA-086,087	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
381	20210813	210727-QIA-136,137	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
382	20210813	210727-QIA-160	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
383	20210813	210727-QIA-246,247	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
384	20210813	210727-QIA-281,282	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
385	20210813	210727-QIA-283,284	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
386	20210813	210727-QIA-286,287	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
387	20210813	210727-QIA-288,289	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
388	20210813	210727-QIA-290,291	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Failed	Partial analysis	ORF5
389	20210813	210727-QIA-298,299	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7
390	20210813	210727-QIA-302,303	PRRSV-2	ORF5-7	BIONICS	Success		ORF5-7

(3) 분석된 한국 발생 PRRSV 유전자 염기서열 목록 작성 (데이터베이스 구축)

(가) 수집 염기서열 정보의 분류 및 명명

- 수집 또는 분석한 국내 발생 PRRSV 유전자 염기서열을 이용하여 이 과제에서 목표 달성에 필요한 다양한 분석을 수행하기 위하여 바이러스 종 (PRRSV-1 및 PRRSV-2), 분리주명, 년도, GenBank number 등을 체계적으로 정리하여, 일관성 있는 식별번호를 부여함으로써 효율적인 분석이 가능하도록 하였다

\* 예시: 바이러스종|분리주명|GenBank no.|국가|년도

→ PRRSV\_2|VR2332|EF536003|USA|1992



(4) 기보고된 국내 및 해외 PRRSV 유전자 정보 수집 및 목록 작성

(가) 발표 논문에 근거한 국내 PRRSV 유전자 염기서열 정보 수집

- 기 발표된 문헌에 근거하여 국내 발생 PRRSV에 대한 유전자 염기서열 정보를 최대한 수집하였으며, 그 결과, 표 1-7과 같이 1,600개 이상의 유전자 염기서열 정보(PRRSV-1 1023 및 PRRSV-2 938)를 수집하였다.
- 수집한 유전자 염기서열 정보 중에서 ORF5 염기서열 정보가 포함되어 있는 1786개 (PRRSV-1 966개 및 PRRSV-2 820개)의 ORF5 염기서열을 연도별로 분류한 다음, 제1 세부 과제 연구팀에 제공하여 이 연구과제에서 분석한 최근 발생 PRRSV의 ORF5 염기서열 간 비교 분석에 활용하였다.

표 1-7. 기 보고된 한국 PRRSV 염기서열 수집 내역

종	수집 연도	염기서열 수	유전자 (염기서열 수)	참고문헌
PRRSV-1	2006-2010	1	Whole genome (4) NSP2 (23) ORF5 (938) ORF7 (30) ORF5-7 (28)	Nam et al.(2009) Kim et al. (2010) Lee et al. (2010) Choi et al. (2013) Kang et al. (2018) Kwon et al. (2019) Kim et al, (2021)
	2006-2015	106		
	2011-2013	25		
	2014-2017	7		
	2018-2021	117		
	계			
PRRSV-2	1997	1	Whole genome (16) ORF5 (817) ORF7 (105)	Kang et al. (2004) Cha et al. (2006) Yoon et al. (2008) Kim et al. (2009) Choi et al. (2013) Kang et al. (2018) Kim et al, (2021)
	2002-2003	28		
	2003-2006	105		
	2007-2008	23		
	2005-2010	186		
	2012-2016	247		
	2017-2019	230		
	계			

(나) PRRSV 생독백신주 유전자 염기서열 정보 수집

- 생독백신주 유래 바이러스 추적 또는 백신주와 야외주간 재조합 바이러스의 추적조사를 위하여 현재 시판되고 있는 백신주의 염기서열 정보를 추가로 수집하였다 (표 1-8).
- 북미형 생독백신
  - 인겔백® 피알알에스 생독 백신 (Ingelvac PRRS modified live vaccine [MLV]; Boehringer Ingelheim)은 PRRS-ATCC VR 2332 strain ( $10^{4.9}$  TCID<sub>50</sub> 이상)을 이용하여 제조되었으며, 한국에서는 1995년 9월 1일 최초 허가되어 96년에 출시되었다.
  - Zoetis 포스테라 PRRS (Fostera PRRS) 생독백신은 P129 strain ( $10^{3.1}$  TCID<sub>50</sub> 이상)을 이용하여 제조되었으며, 한국에는 2013년 12월 9일 최초 허가되어 2015년 3월에 출시되었다. 이 백신 바이러스는 CD163 발현 돼지 신장세포에서 배양한 것으로 알려져 있다.
  - Ingelvac PRRS ATP 백신은 JA142 strain (1997년 미국 아이오와 모돈 유산 폭풍 때 분리)으로 제조되었으며, 2021년 현재 아직 한국에는 시판되지 않고 있으나 최근 국내 인허가를 위한 시험이 진행 중인 것으로 파악되고 있다.

(나) 유럽형 생독백신

- Unistrain PRRS (Hipra, Amer, Spain) 생독백신은 VP064 BIS strain ( $103.5$  TCID<sub>50</sub> 이상)

으로 제조되었으며, 한국에는 2013년 8월 14일에 최초 허가되었고, 2014년에 출시되었다.

- Porcilis PRRS (MSD Animal Health, Summit, NJ) 백신은 DV strain (104.0 TCID50 이상)으로 제조되었으며, 한국에는 2013년 10월 28일 최초 허가되었으며, 2014년 2월에 출시되었다.

\* 엘랑코동물약품 PRRS 백신 ‘Prevacent®’ 2018년 미농무부(USDA) 허가 취득, 국내 미출시

표 1-8. 시판된 8종의 PRRSV 생독백신 정보

종	백신 (회사)	백신주 (GenBank no.)	유전형	국내도입년도 (허가년도)	용법
PRRSV-1	UNISTRAN PRRS (Hipra)	VP064 BIS strain (GU067771)	Subtype 1	2014 (2013)	Sow, Piglet
	Porcilis® PRRS (MSD Animal Health)	DV strain (AY743931)	Subtype 1	2014 (2013)	Sow, Piglet
	ReproCyc PRRS EU	94881 strain (KT988004)	Subtype 1	NI*	Sow
	Ingelvac PRRSFLEX EU (Boehringer Ingelheim)	94881 strain (KT988004)	Subtype 1	NI*	Piglet
PRRSV-2	Ingelvac® PRRS MLV (Boehringer Ingelheim)	VR 2332 strain (AF068183.4)	Lineage 5	1996 (1995)	Sow, Piglet
	Ingelvac PRRS® ATP (Boehringer Ingelheim)	JA142 strain (EF442773)	Lineage 8	NI*	Sow, Piglet
	Fostera™ PRRS (Zoetis)	P129 strain (AF494042)	Lineage 8	2015 (2013)	Sow, Piglet
	PrimePac PRRS (MSD Animal Health)	Neb-1 strain (DQ779791.1)	Lineage 7	NI*	Sow, Piglet
	Prevacent PRRS (Elanco Animal Health)	SD11-21 P100 strain (KU131568.1)	Lineage 1	NI*	Sow, Piglet

\* NI(Not introduced in Korea) : 미도입

(다) GenBank database를 이용한 해외 발생 PRRSV 염기서열 정보 추가 수집

- 한국 발생 PRRSV와 표준주 및 해외 발생 야외주간 상호 연관성 분석을 위하여 최근 유전자 분석 보고 논문들을 참고하여 해외 PRRSV 유전자 염기서열을 추가로 수집하였다.
- 한국의 종돈 수입과 관련된 국가들(네덜란드, 덴마크, 미국, 캐나다, 프랑스 등)과 인접국가들(중국, 태국, 일본 등)의 PRRSV ORF5 유전자 염기서열을 Geneious prime 프로그램의 Genbank 검색기능을 사용하여 연도별로 모두 수집하였다.
- 분석의 효율성을 위해 95% 이상 상동성을 나타내는 서열들을 제외하였다. 즉, 수집된 염기서열들을 국가별/년도별로 fasta 형식으로 저장하고, CD-HIT-EST tool에서 각각의 fasta 파일을 불러와 similarity threshold를 0.95로 설정하여 추출하였다.
- 그 결과 2,411개 서열이 최종 수집되었으며, 해외 발생 PRRSV 유전자 염기서열 정보 현황은 표 1-9와 같다.
- 수집한 해외 발생 PRRSV 유전자 염기서열은 전술한 분류 및 명명법에 따라 엑셀파일로 정리하여 database화 하였다. 그 세부 내역을 정리하여 제1 세부과제 연구팀에 제공하였다.

표 1-9. GenBank에서 수집한 해외 PRRSV-2 염기서열 내역

종	국가	년도			계
		1990-2000	2001-2010	2011-2020	
		염기서열 수			
PRRSV-2	호주	0	3	0	3
	중국	1	39	410	450
	캐나다	4	29	12	45
	덴마크	0	7	1	8
	일본	0	16	0	16
	미국	164	985	426	1575
	베트남	0	25	47	72
	계	169	1104	896	2169
PRRSV-1	중국	0	11	11	22
	러시아	0	4	0	4
	덴마크	4	19	55	78
	네덜란드	2	2	34	38
	프랑스	1	1	3	5
	미국	1	14	0	15
	영국	1	21	13	35
	리투아니아	0	0	8	8
	벨라루스	0	11	0	11
	라트비아	0	3	0	3
	스페인	2	7	0	9
	호주	0	8	0	8
	폴란드	0	4	0	4
	태국	0	1	0	1
	체코	0	1	0	1
	계	11	107	124	242
	총 계		180	1211	1020

(라) PRRSV 유전자염기서열 분석 및 수집 결과 종합

- 제2 세부연구과제 (건국대) 연구팀에서는 최근 한국 발생 PRRSV의 유전자 염기서열 정보를 확보하기 위하여 참여 연구기관 (경북대, 건국대, 전북대, 농림축산검역본부 등)으로부터 수집한 최근 (2018-2021) PRRSV 양성 임상시료 2,638점(215개 농장)을 대상으로 ORF5-7 또는 ORF5 유전자를 증폭하여 유전자 염기서열 분석을 실시하였다.
- 임상시료로부터 증폭된 유전자에 대하여 염기서열 분석을 실시한 결과, PRRSV-1의 ORF5-7 유전자 염기서열 114개와 ORF5 유전자 염기서열 14개, 그리고 PRRSV-2의 ORF5-7 유전자 염기서열 210개와 ORF5 유전자 염기서열 6개 등 총 344개의 유전자 염기서열 분석을 완료하였다
- 국내 PRRSV의 경시적 유전적 변이를 추적조사하기 위하여 기보고된 논문을 참고하여 약 1,900개 이상의 유전자 염기서열 정보(PRRSV-1 1,023 및 PRRSV-2 938)를 수집하였으며, ORF5 염기서열 정보 1,786개 (PRRSV-1 966 및 PRRSV-2 823)를 연도별로 분류한 다음, 제1 세부과제 연구팀에 제공하여 이 연구과제에서 분석한 최근 발생 PRRSV의 ORF5 염기서열 간 비교 분석에 활용하였다.
- 국내 발생 PRRSV의 유전적 특성을 파악하기 위한 자료로 해외 발생 PRRSV의 유전자 염기서열 정보를 추가로 수집하였으며, PRRSV 생독백신주와 표준주를 포함한 총 2400개 이상의 유전자 염기서열 정보를 수집 및 분류하여 제 1세부과제 연구팀에 제공하였다.

- 신규 수집된 최근 한국 발생 PRRSV의 유전자 염기서열 정보는 NCBI GenBank 등록을 완료하였다.

### 3) 국내 및 해외 발병 PRRSV의 분자역학적 특성 분석 (제1/2 세부-경북대, 건국대)

#### 가) 연구 추진 계획

##### (1) 연구목표: 최근 국내 발생 PRRSV의 유전형 분석 및 분자역학적 특성 분석

- (가) 국내 PRRSV의 전국적인 유전형 분포 조사
- (나) 백신 후보주 선발 및 후보주 분리를 위한 최근 발생 우점 유전형 규명
- (다) 분석결과를 백신후보주 선발 및 후보주 분리 배양의 근거 자료로 활용

##### (2) 추진계획

###### (가) 해외 및 국내 PRRSV 유전자 정보 수집

- 수집범위: 한국, 중국, 유럽, 북미지역 등 데이터베이스 (GenBank 등)에 등재된 국내·외 유럽형(EU) 및 북미형(NA) PRRSV 유전자 정보
- 수집기간: 최근 10년간 (2010-2021)
- 수집대상: 유럽형 및 북미형 PRRSV의 전체 유전자 및 구조단백질 유전자
- 추가수집: 비 등재된 최근 국내 PRRSV 유전자 정보 추가 수집

###### (나) 한국의 최근 유행 PRRSV 유전자 정보 수집 및 분석

- 각 연구팀에서 보유하고 있는 최근 PRRS 양성 농장 시료를 대상으로 유전자 증폭 및 분석으로 국내 PRRSV 유전자 정보 추가 확보
- 양돈 전문 수의사 그룹을 이용한 전국 양돈장 PRRSV 양성 시료 확보 및 추가 분석
- 이를 통하여 국내 양돈장 시료로부터 최근 유행 PRRSV의 유전자를 증폭하여 해당 바이러스 유전자의 염기서열 분석 및 확보 (100건 이상)

###### (다) 한국 PRRSV의 특징 및 국가 간 유전자형 상관관계 분석

- 국제 분류상 PRRSV의 유전형 구분에 사용하는 ORF5 염기서열로 분석 추진
- 우점 유전형 규명을 위한 계통학적 유전자 분석 (Multiple alignment, phylogenetic analysis)
- 각 유전형별 백신 후보주를 선발하기 위한 분자유전학적 분석 (Neutralizing epitope analysis)

#### 나) 연구 추진 결과

##### (1) 한국 PRRSV 발생 상황을 고려한 분석 방향 설정

- (가) 한국 발생 PRRSV의 유전적 특성을 파악하기 위하여 PRRSV 유전형의 세계적인 분류 기준 (Shi 등, 2010)에 따라 ORF5 유전자 염기서열을 기준으로 PRRSV의 유전형을 분류하였다.
- 분석된 PRRSV의 유전형 결정 방법:
  - PRRSV-1 또는 PRRSV-2의 분석된 ORF5 염기서열과 reference 서열을 geneious 프로그램의 MAFF 방법을 통해 이용해 multiple-alignment
  - geneious 프로그램 RAXML tree의 GAMMA GTR 방법, Rapid bootstrapping 알고리즘, bootstrap은 1000회 반복하여 수형도 그림

##### (2) 한국 발생 PRRSV의 ORF5 유전자 염기서열 수집 결과

(가) 1997년부터 2021년까지 GenBank에 등록된 1786개의 ORF5 유전자염기서열과 이 연구에서 분석한 344개의 ORF5 유전자 정보를 포함하여 총 2130개의 국내 PRRSV ORF5 염기서열 정보를 확보하였다 (표 1-10).

표 1-10. 분석에 사용된 한국 발생 PRRSV의 ORF5 서열 내역

년도	PRRSV-1			PRRSV-2			총계
	NCBI에서 수집	본 과제에서 분석	계	NCBI에서 수집	본 과제에서 분석	계	
1997				1	-	1	1
1999				2	-	2	2
2000				5	-	5	5
2001				1	-	1	1
2002				9	-	9	9
2003				32	-	32	32
2005	1	-	1	38	-	38	38
2006	8	-	8	26	-	26	34
2007	8	-	8	12	-	12	20
2008	69	-	69	16	-	16	85
2009	47	-	47	40	-	40	87
2010	36	-	36	3	-	3	39
2011	10	-	10	-	-	-	10
2012	99	-	99	1	-	1	100
2013	28	-	28	8	-	8	36
2014	148	-	148	108	-	108	256
2015	114	-	114	83	-	83	197
2016	125	-	125	89	-	89	214
2017	85	-	85	121	-	121	206
2018	74	4	78	88	6	94	172
2019	114	54	168	137	77	214	382
2020		64	64	-	107	107	171
2021		6	6	-	26	26	32
Total	966	128	1094	820	216	1036	2130

(3) 분석기간 설정 및 분석방법

(가) 당초 제안서에는 최근 10년간 (2010-2021) 기보고된 한국 발생 PRRSV의 유전자 염기서열과 최근 PRRSV 양성 시료로부터 신규 분석한 PRRSV 염기서열 (100건 이상)을 확보하여 유전적 특성 분석을 실시하였다.

(나) 그러나 이 연구에서는 국내 발생 PRRSV의 특성을 최초 발생시점부터 현재 시점까지 총괄적으로 분석하기로 하고, PRRSV-2의 경우, 1993년 한국 최초 발생 이후의 유전자 염기서열 정보를 수집하였고, PRRSV-1의 경우는 2005년 한국 최초 발생 이후 보고된 유전자 염기서열을 가능한 모두 수집하였다.

(다) 또한, 신규 분석한 PRRSV는 PRRSV-1 128건, PRRSV-2 216건으로 총 344건을 분석하였다.

(라) PRRSV의 국가간 장거리 전파에 중요한 역할을 하는 종돈 수입 현황을 농림축산검역본부 가축 수입 검역통계 자료를 이용하여 파악하였고(표 1-11) 종돈의 수입 규모와 유전적 다양성의 상관관계를 분석하기 위한 자료로 활용하였다.

표 1-11. 1996-2021 한국의 증돈 수입 현황

연도	수입 총계		미국		캐나다		영국		아일랜드		프랑스		덴마크		스웨덴		핀란드		호주		일본		베트남	
	건수	두수	건수	두수	건수	두수	건수	두수	건수	두수	건수	두수	건수	두수	건수	두수	건수	두수	건수	두수	건수	두수	건수	두수
1990			-	155	-	-	-	561						80										
1991				382		24	-	537						270										
1992				-				256	241							71				78				
1993				16				390	199							133				216				
1994				327		81		120	6					467										
1995				820		398		987	13					399										
1996	43	2480	18	1241	7	317	12	687	1	25				3	136				1	22	1	52		
1997	46	3922	21	1344	19	1950	4	486							1	108			1	34				
1998	9	420	5	218	1	35	2	153															1	4
1999	22	1692	13	888	5	487	3	179						1	138									
2000	36	1860	16	579	9	538	7	486	1	35				2	164			1	58					
2001	29	1444	21	1059	7	355													1	30				
2002	23	1240	16	890	6	331								1	19									
2003	23	974	13	646	9	305														1	23			
2004	38	1491	21	800	11	404	3	196						2	54	1	37							
2005	37	1776	24	1309	9	355	2	62						2	50									
2006	39	2770	18	1210	15	912	1	43			2	484	2	89	1	32								
2007	33	2622	12	700	14	1507	2	94			3	254	1	41					1	26				
2008	27	1765	9	592	16	977					1	150	1	46							1	5		
2009	7	321	3	214	3	102															1	5		
2010	34	2306	8	480	21	1337					3	424	1	46							1	19		
2011	67	1572 9	22	4430	45	1129 9																		
2012	51	1104 3	8	440	31	6516					10	3995	2	92										
2013	22	1959	12	966	8	357					12	966												
2014	23	1771	5	276	12	952					2	511	4	32										
2015	32	1931	8	451	15	1100					4	219	5	161										
2016	34	3179	6	489	17	1887					5	515	6	288										
2017	31	4905	4	230	14	2750					7	1261	6	664										
2018	23	2250	2	141	10	1033					2	346	9	730										
2019	14	1039	2	169	7	558					1	23	4	289										
2020	10	938	1	31	7	571							2	336										
2021.08	13	1035	2	51	6	527					1	54	4	403										
계	766		290	21,54 4	324	37,96 5	36	5,23 7	2	519	53	9,20 2	58	4,99 4	3	381	1	58	3	380	5	125	1	4

<출처: 농림축산검역본부 ([https://eminwon.qia.go.kr/statistics/statistics\\_No2.jsp?action=search](https://eminwon.qia.go.kr/statistics/statistics_No2.jsp?action=search))>

(마) 북미형 및 유럽형 PRRSV의 국내 최초 발생 이후, PRRSV의 경시적 변이 양상을 추적하되, 생독백신주 도입 시기가 국내 PRRSV의 유전형 분포에 미친 영향을 분석하였다.

○ PRRSV-1는 3단계 기간, PRRSV-2는 4단계 기간으로 나누어 경시적 유전형 분포를 조사하였다.

- ① NCBI에서 국내 발생 PRRSV 염기서열을 수집
- ② 유전자의 이름에 연도가 포함되게 수정
- ③ Geneious 프로그램의 MAFF 방법을 통해 이용해 multiple-alignment
- ④ 위와 같은 방법으로 수형도를 그리고 연도별 & Lineage별 구분

○ 국내 발생시기 및 생독백신 도입 시기를 고려한 국내 PRRSV의 변이 양상을 분석하였다.

- ① ‘가’의 분석 데이터를 활용하여 연도별 분포도 작성
- ② 생독백신 도입시기와 Lineage의 발생 양상 분석

(바) 한국의 PRRSV 발생 및 생독백신 도입시기를 고려하여 분석기간 단계를 설정하였고, 각 시기

별 PRRSV 유전형 분포를 분석하였다 (그림 1-3, 표 1-12).

- 유럽형은 국내 2005년 보고되었으며, 2014년 이후 히프라 유니스트레인 생독백신 (VP064 BIS strain)과 엠에스디 포실리스 (DV strain) 생독백신이 국내에서 사용되기 시작하였으므로 아래와 같이 3단계로 구분하여 PRRSV-1의 유전형의 변화를 경시적으로 분석하였다.
  - ① 2005-2009년 (국내 발생 후 1-5년간, 백신 도입 전)
  - ② 2010-2014년 (국내 발생 후 6-10년간, 백신 도입 전)
  - ③ 2015-2021년 (백신 도입 후 7년간)
- 북미형은 국내 1993년 발생 보고되었으며, 북미형 백신 2종이 각각 1996년 (베링거인겔하임, 인겔백 PRRS) 및 2016년 (조에티스, 포스테라 PRRS) 백신이 사용되기 시작하였다. 1993년 발생 보고되었지만 최초 등록된 염기서열이 1997년부터이므로 아래와 같이 4단계로 시기를 구분하여 PRRSV-2의 유전형의 변화를 경시적으로 분석하였다.
  - ① 1997-2010년 (베링거 VR-2332 strain 기반 백신 도입 이후 - 종돈 대거 수입 전)
  - ② 2011-2015년 (종돈 대거 수입 후 5년)
  - ③ 2016-2018년 (포스테라 P129 strain 기반 백신 도입 이후 3년)
  - ④ 2019-2021년 (최근 3년)

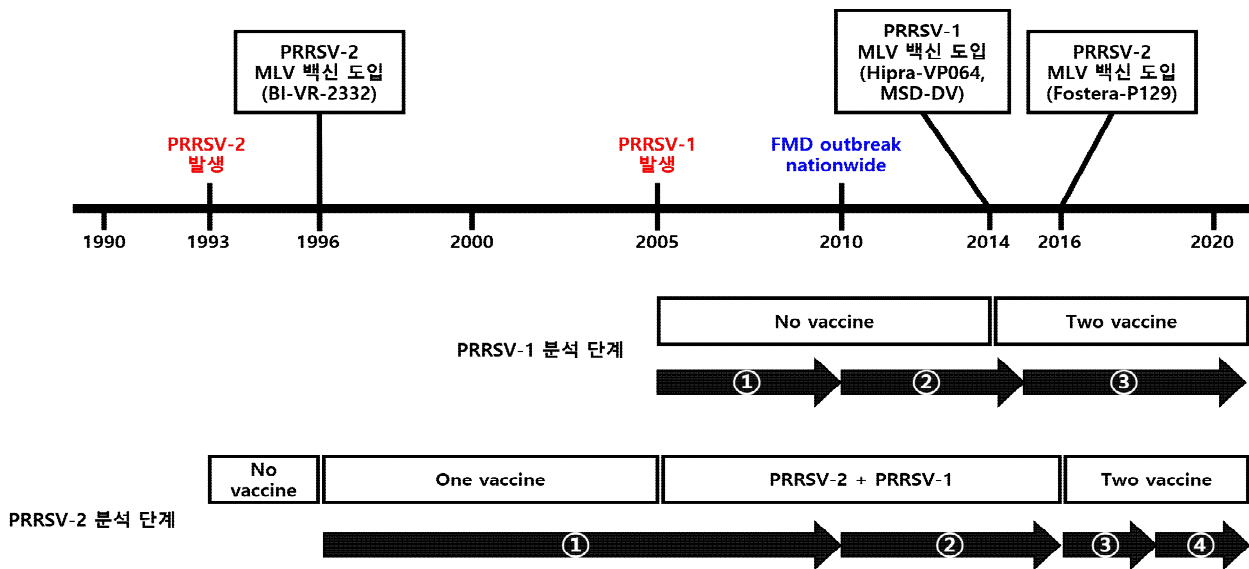


그림 1-3. 한국의 PRRSV 발생 및 생독백신 도입시기를 고려한 분석 단계 설정

표 1-12. 한국의 PRRSV 발생 및 생독백신 도입시기를 고려한 분석 단계 설정

종	기간			
PRRSV-1	2005 - 2009	2010 - 2014	2015 - 2021	
	국내 발생 후 1-5년 백신 도입 전	국내 발생 후 6-10년간 백신 도입 전	백신 도입 후 7년간	
PRRSV-2	1997 - 2010	2011 - 2015	2016 - 2018	2019 - 2021
	인겔백 백신 도입 후-구제역 유행 전	구제역 유행 종돈 대거 수입 이후 5년간	포스테라 백신 도입 후 3년	최근 3년

- 유전형 간 또는 유전형 내 nucleotide 및 amino acid 서열의 상동성 분석
  - ① Lineage 별로 구분된 서열들을 두 Lineage 씩 multiple-alignment
  - ② geneious 프로그램에서 translation 하여 같은 방식으로 multiple-alignment
  - ③ 상동성의 최대/최소값 확인
- Neutralization epitope 분석
  - ① 기존의 논문에서 수집된 epitope 정보를 PRRSV reference 서열에 표시
  - ② 분석된 서열을 epitope mapping 서열과 multiple-alignment
  - ③ Lineage 별 epitope의 분포를 확인
- 기간별 Phylogenetic analysis
  - ① 각 Lineage별 염기서열을 설정한 분석 단계에 맞추어 분류
  - ② 분류한 염기서열을 multiple-alignment 한 뒤, RAxML tree의 GAMMA GTR 방법, Rapid bootstrapping 알고리즘, bootstrap은 1000회 반복하여 수형도 그림
  - ③ ITOL tree에서 분석 단계별로 염기서열의 표시를 달리하여 구분

(4) 분석 결과 활용방안

- (가) ORF5 염기서열에 근거한 subtype 또는 lineage 분류를 통한 한국 발생 PRRSV의 유전적 특성 파악
- (나) ORF5에 근거한 유전형 분류에 근거한 국내 우점주 확인 및 백신후보주 기초 선발

(5) 한국 발생 PRRSV-1의 ORF5-기준 유전역학적 분석 결과

- (가) 한국 발생 PRRSV-1의 유전계열 (subtype) 분류
  - 유전자수형도 분석 (phylogenetic analysis) 결과
    - 한국에서 PRRSV-1이 최초 발생한 2005년 이후 현재까지 수집된 966개의 PRRSV-1 ORF5 염기서열과 해외 표준 바이러스의 염기서열을 토대로 Stadejek 등(2008)과 Shi 등(2010)이 보고한 PRRSV-1 유전형 분류법에 따라 phylogenetic analysis를 실시하여 한국 발생 PRRSV-1의 유전계열 (subtype)을 분류하였다.
    - ORF5 유전자 염기서열을 기준으로 기 보고된 PRRSV-1 966개 염기서열과 해외 표준 염기서열, 최근 발생 한국 PRRSV-1 128주를 포함한 수형도 분석결과, 2005-2021년 발생한 한국의 PRRSV-1은 Subtype 1A, 1B, 1C로 분류되었다 (그림 1-4).



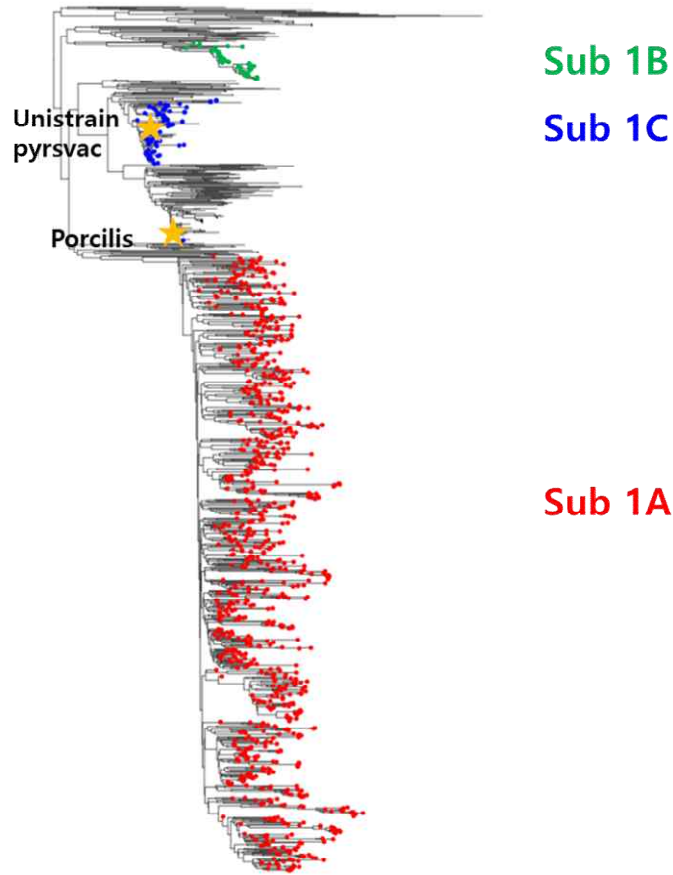


그림 1-4. 2005-2021년 국내 발생 PRRSV-1 ORF5 유전자 기준 계통수 (n=1344)

(나) 시기별 RRSV-1의 유전형 발생 양상

- Sub1A 계열은 국내 PRRSV-1 최초 발생 이후 현재까지 우점형인 것으로 확인되었다.
- Sub1B는 2006년 처음 발생하였고 2014년을 마지막으로 보고되지 않았다.
- Sub1C는 2008년, 2009년 발생한 뒤 발생이 없다가, 같은 유전계열의 생독백신이 도입되면서 발생하기 시작하여 최근까지 점점 증가하고 있다 (그림 1-5).

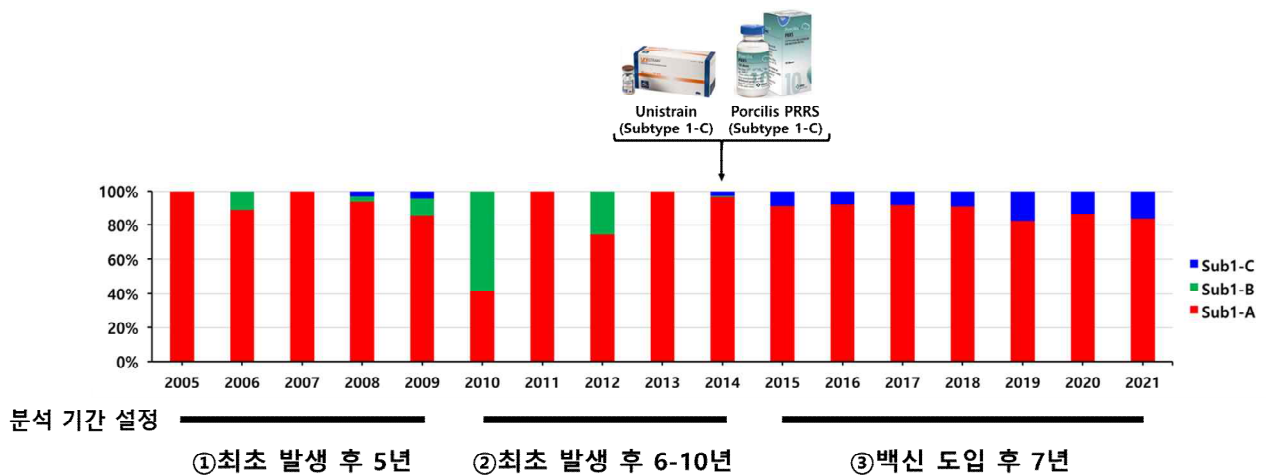


그림 1-5. PRRSV-1의 최초 발생부터 현재까지 연도별 Subtype 분포

(다) 경시적 유전형 분포 변화

- 한국 발생 PRRSV-1의 유전형별 분포는 전체적으로 Sub1A이 957주 (87.5%), Sub1B이 55주 (5.0%), Sub1C 82주 (7.5%) 나타나 Sub1-A 계열 PRRSV-1의 유병률이 가장 높았다.
- 이를 3단계 기간별로 분석한 결과, 3단계 모두 Sub1A가 우점형인 것으로 나타났다 (표 1-13).

표 1-13. 국내 2005-2021년 PRRSV-1의 유전형 분포

유전형	Subtype (Sub)	기간별 Subtype 분포 ( 염기서열 수 )			총
		2005-2009	2010-2014	2015-2021	
PRRSV-1	Sub1A	122	270	565	957
	Sub1B	8	47	0	55
	Sub1C	4	4	74	82
	총	134	321	639	1094

- 한국 발생 PRRSV-1의 기간별 Subtype 발생 양상을 분석한 결과, 모든 기간에서 Sub1A가 우점주로 확인됐다 (그림 1-6).
  - 1단계 기간: Sub1A>Sub1B>Sub1C 순으로 우점형 분포
  - 2단계 기간: Sub1A>Sub1C>Sub1B 순으로 우점형 분포
  - 3단계 기간: Sub1A>Sub1C>Sub1B 순으로 우점형 분포
- 현재 국내 시판중인 PRRSV-1 백신은 모두 Sub1C이며, 국내 우점주인 Sub1A와는 다른 Subtype에 속하였다. 따라서 Sub1A 양성시료를 분리하여 PRRSV-1 한국형 백신후보주를 최대한 확보하였다.

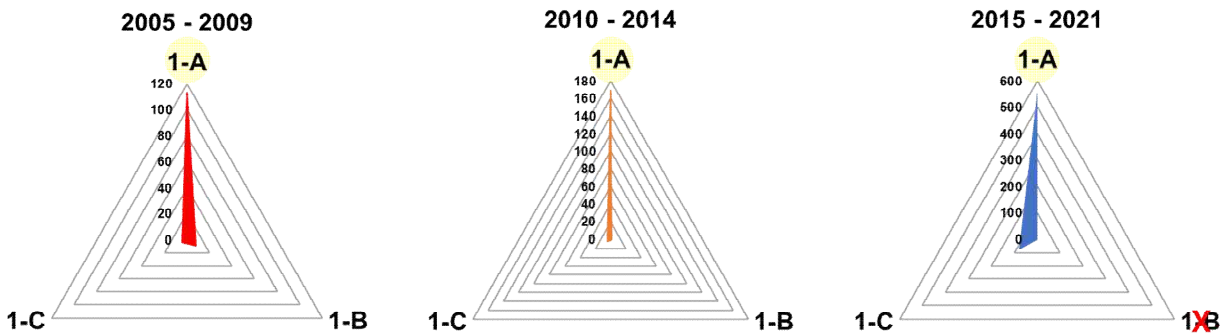


그림 1-6. PRRSV-1의 분석 기간별 Subtype 분포.

(라) PRRSV-1의 subtype 별 최초 발생 시기 조사

- 분석된 PRRSV-1 ORF5 염기서열 분석결과를 토대로 각 Subtype의 한국 최초 발생 시기를 조사하고, 이를 한국의 해외 종돈 수입 통계와 연계하여 분석하였다.
- 발생 분석 결과, Sub1A는 2005년부터 보고되어 현재까지 가장 많이 발생하는 우점주이고, Sub1B는 2006년부터 2014년까지 보고되었지만 2015년 이후로 현재까지 보고되지 않았다. Sub1C는 같은 Subtype의 백신 도입 전부터 발생하였고 백신 도입 이후 발생이 증가하였다.
- 이 연구에서 분석된 국내 PRRSV-1 Subtype 발생 시기는 이전 Cha 등 (2006), Choi 등

(2013)의 보고와 일치하였다 (표1-13).

표 1-13. 각 Lineage의 논문 최초 보고 시기 및 최초 발생 분석 결과

Subtype	기 보고된 논문	본 과제 분석 결과
Sub1A	2005	2005
Sub1B	2006	2006
Sub1C	2008	2008

(마) 한국 발생 PRRSV-1의 ORF5 유전자 상동성 비교

○ Subtype 내 및 Subtype 간 ORF5 상동성 분석

- 한국 발생 PRRSV-1의 Subtype 내 및 Subtype 간 ORF5 유전자의 상동성을 분석하였다 (표 1-14).
- Subtype 내 상동성은 Sub1A이 82.8%로 가장 낮았고, 다른 Subtype 간 상동성도 81.4 %로 낮았다. 이는 Sub1A의 바이러스들이 다른 Subtype과 확연히 구분되며, 독자적으로 번이하여 왔음을 의미한다.
- Sub1C의 유전형은 백신주와 같은 Subtype에 속하지만 유전형 내 상동성이 88.9%로 10%이상 차이가 나는 것으로 확인되었다.

표 1-14. 한국 발생 PRRSV-1의 Subtype의 ORF5 유전자 뉴클레오타이드 상동성

PRRSV-1 Subtype	Sub1A		Sub1B		Sub1C	
	MIN (%)	MAX (%)	MIN (%)	MAX (%)	MIN (%)	MAX (%)
Sub1A	82.8	100				
Sub1B	81.4	85.5	90.8	100		
Sub1C	81.4	91.7	83.8	87.3	88.9	100

○ 백신주(Unistrain PRRS)와의 ORF5 상동성 비교

- 국내 시판 백신주(Unistrain PRRS)와 국내 발생 PRRSV-1 상동성을 3단계 기간별로 비교하였다 (그림 1-7).
- Sub1A는 발생 초기(2005년)부터 백신주와 상동성이 90% 이하이며 시간 경과에 따라 백신주 대비 상동성이 더 낮아지는 것으로 확인되었다.
- 국내 발생 PRRSV-1 Subtype들 중 Sub1B는 백신주와 상동성이 가장 낮았고, 2014년 이후 2015년부터는 검출 보고가 없었다.
- Sub1C는 생독백신 도입 전에는 백신주와 상동성이 낮았으나 생독백신 도입 이후 백신유래주가 우점주로 자리 잡으면서 분리주간 상동성이 높아지는 경향을 나타내었다. 그러나 2015년 이후부터 현재까지 생독백신 유래주의 상동성이 95% 수준으로 낮아지고 있기 때문에 백신유래주에서 백신유래 번이주로 번이될 가능성에 주목할 필요가 있다.

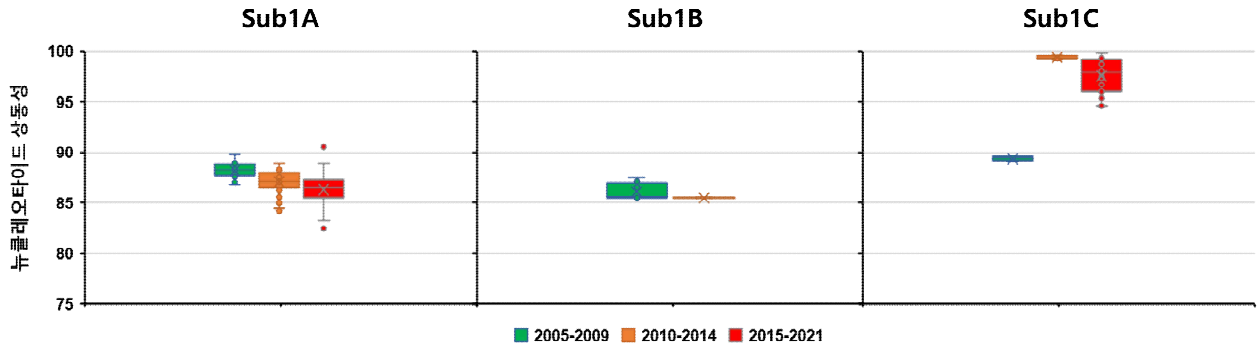


그림 1-7. 국내 PRRSV-1의 백신주와 ORF5 상동성 비교

(바) 한국 발생 PRRSV-1의 ORF5 중화에피토프(Neutralizing epitope; NE) 분석

- PRRSV-1의 ORF5의 중화에피토프 부위는 바이러스에 대한 중화항체 형성에 중요한 면역원성을 제공하는 부위이다. 중화에피토프 부위는 PRRSV의 유전자와 방어능을 연관시킬 수 있는 부위로, 국내 발생 PRRSV-1의 중화에피토프의 아미노산 배열을 파악하여 다양성을 확인하고 in vitro 스크리닝 기법에 기초 자료로 활용하였다.
- 기 보고된 논문(Wissink et al., 2003)을 참고하여 국내 PRRSV-1의 중화에피토프 부위의 유전적 다양성을 확인한 결과, Subtype에 따라 Sub1A는 50개 패턴, Sub1B는 5개 패턴, Sub1C는 9개 패턴을 가지는 것으로 나타났다 (표 1-15).
- 모든 Subtype에서 가장 높은 비율의 NE는 현재 국내 시판중인 두 백신의 중화 에피토프와 동일하였다. 하지만 Sub1A는 백신주 패턴 이외의 다양한 패턴이 존재하여 Sub1A 바이러스들에 대한 기존 백신주의 교차방어능 평가가 필요한 것으로 판단된다.

표 1-15. 국내 발생 PRRSV-1의 중화에피토프 분석 결과

Sub1A (n=957)		Sub1B (n=55)		Sub1C (n=82)	
WSFADGN	74.4% (n=712)	WSFVDGN	80% (n=44)	WSFVDGN	46% (n=38)
WSFADGS	6.4% (n=61)	WSFANGN	9.1% (n=5)	WSFADGN	29% (n=23)
WSFVDGN	2.4% (n=23)	WSFADGN	7.3% (n=4)	WSFVDGS	10% (n=8)
WSFADGT	2.1% (n=20)	WSFVDGS	0.2% (n=1)	WSFAAGS	7% (n=6)
WSSADGN	2.5% (n=24)	WSFVGGN	0.2% (n=1)	WSFAAGN	4% (n=3)
WSFAEGN	2.1% (n=17)			WSFVEGN	1% (n=1)
WSFAAGS	1.4% (n=13)			WSFVDGK	1%(n=1)
WSCVDGN	0.6% (n=6)			WSFANGN	1%(n=1)
WSFAAGN	0.6% (n=6)			WPFADGN	1%(n=1)
WSSADGS	0.5% (n=5)				
WSFADGD	0.4% (n=4)				
WSCADGN	0.4% (n=4)				
WPFADGN	0.4% (n=4)				
WPFAAGS	0.4% (n=4)				
CSFAAGS	0.4% (n=4)				
WSFANGN	0.3% (n=3)				
WSFADCN	0.3% (n=3)				
기타	4.6% (n=44)				

※ Porcilis PRRS: WSFADGN, Unistrain PRRS: WSFVDGN

(6) 한국 발생 PRRSV-2의 ORF5-기준 유전역학적 분석 결과

(가) 한국 발생 PRRSV-2의 유전계열 (lineage, L) 분류

○ 유전자수형도 분석 (phylogenetic analysis) 결과

- 1997년 이후 현재까지 수집된 1036개의 국내 PRRSV-2 ORF5 염기서열과 표준 바이러스 포함한 1130개의 해외 바이러스 염기서열을 토대로 Shi 등(2010)의 표준 분류법에 따라 수형도 분석을 실시하여 한국 발생 PRRSV-2의 유전계열 (lineage, L)을 분류하였다.
- 1997년 이후 현재까지 한국 발생 PRRSV-2는 6개의 계열 (L1, L5, L8, LKorA, LKorB 및 LKorC)로 분류되었다 (그림 1-8).

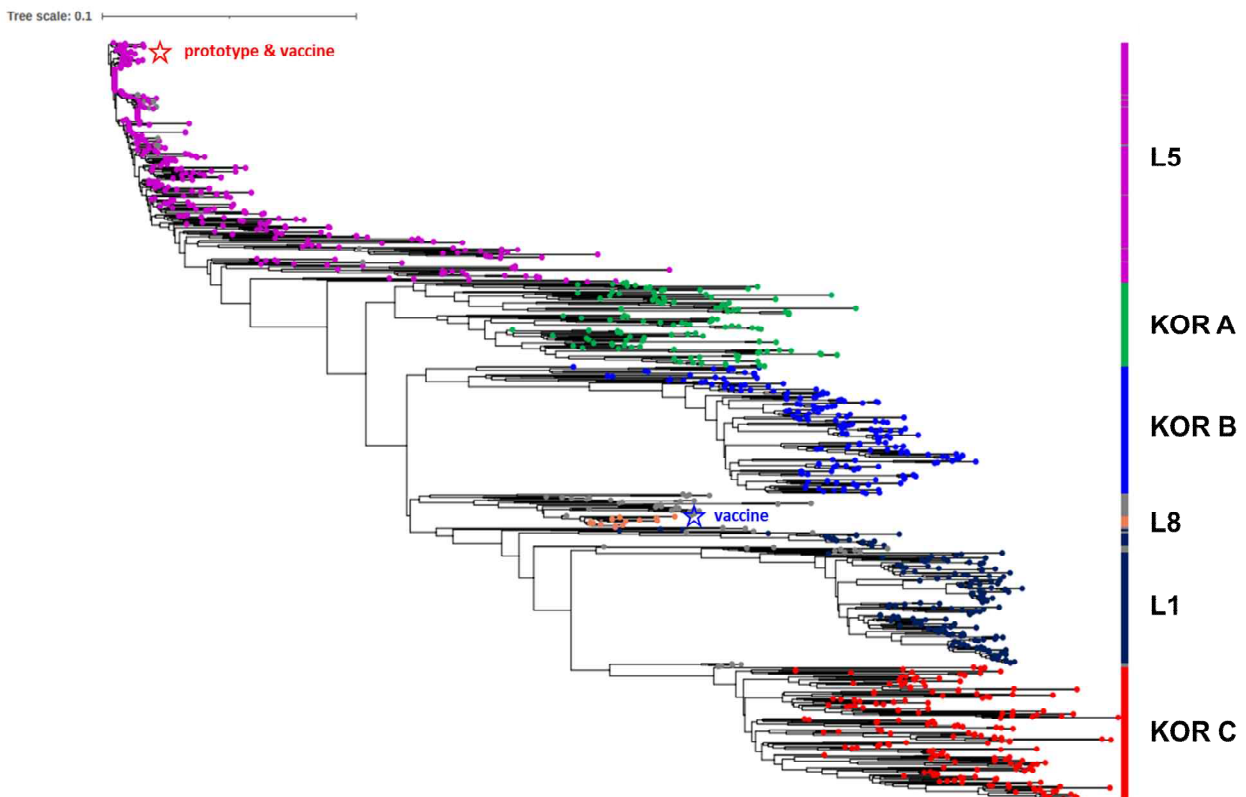


그림 1-8. 한국 발생 및 표준 PRRSV-2을 포함하는 ORF5 수형도 (n=1130)

- 수집된 종돈 수입국 PRRSV-2 서열들과 함께 수형도 분석 시, Lineage의 구분이 명확하게 나타났다 (그림 1-9).
- 각 Lineage 내에서 L1, LKor C, LKor B는 국내주 특이적인 clade를 형성하는 반면 L5, L8, LKor A는 해외발생주와 함께 clade를 형성하였다.
- L1의 경우(주황색), 2개로 뚜렷하게 구분되는 clade를 형성하였으며, 2018년부터 국내에서 확인된 NADC31 계열의 PRRSV-2가 발생하였다.
- 또한, 수형도에서 clade를 형성하지 않는 strain들이 확인되었으며, 이 strain들은 국내 발생 당시 clade를 형성하지 못하고 소멸한 strain들로 판단된다.

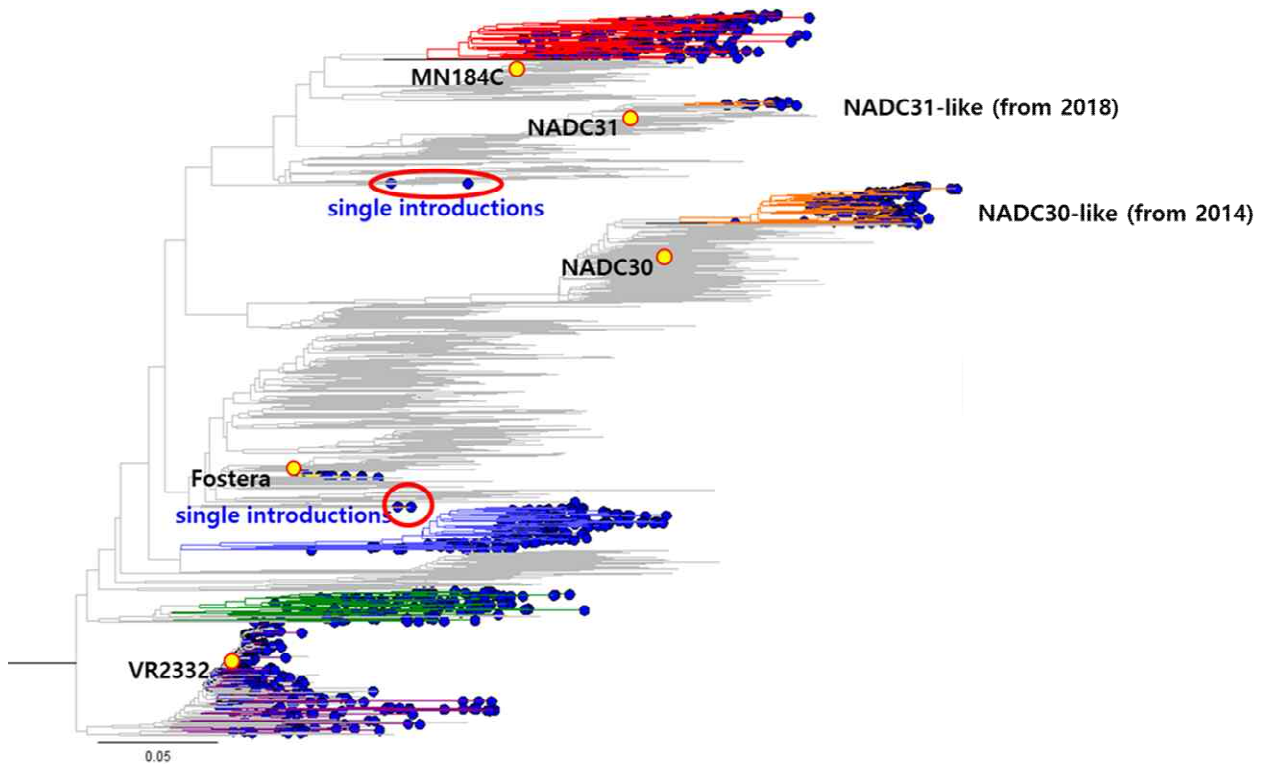


그림 1-9. 한국 및 중돈수입국들의 PRRSV-2 strain을 포함하는 ORF5 수형도 (n=3205).

(나) 시기별 PRRSV-2의 유전형 발생 양상

- L5 계열은 VR2332 백신주가 속한 계열로 최초 발생부터 2018년까지 우점형이었지만, 최근 3년간 L1 계열이 증가하면서 2019-2021년 분석결과 최대 우점형으로 확인되었다. Korea Lineage의 경우 LKorB 계열과 LKorC 계열이 우점하고 있고, LKorA는 감소하는 경향을 나타내었다 (그림 1-10).
- 1997년 Ingelvac MLV 백신이 도입 된 이후, 백신유래주인 L5 계열이 지속 발생하였으며, 2016년 Fostera PRRS 백신의 도입으로 2017년부터 L8 계열의 백신유래주가 발생하였다. 국내 PRRSV-2는 Ingelvac MLV 생독백신이 도입된 이후 최근까지 5개 계열이었으나 Fostera 유래주가 발생하면서 L8 계열이 추가되어 6개 계열로 구분되었다.
- 이는 국내 비발생 Lineage에 속하는 생독백신 strain을 도입하는 것이 백신유래 변이주의 발생 또는 백신주와 야외주의 재조합주 발생을 유발함으로써 국내 바이러스의 다양성을 더욱 증가시킬 수 있다는 것을 의미한다.

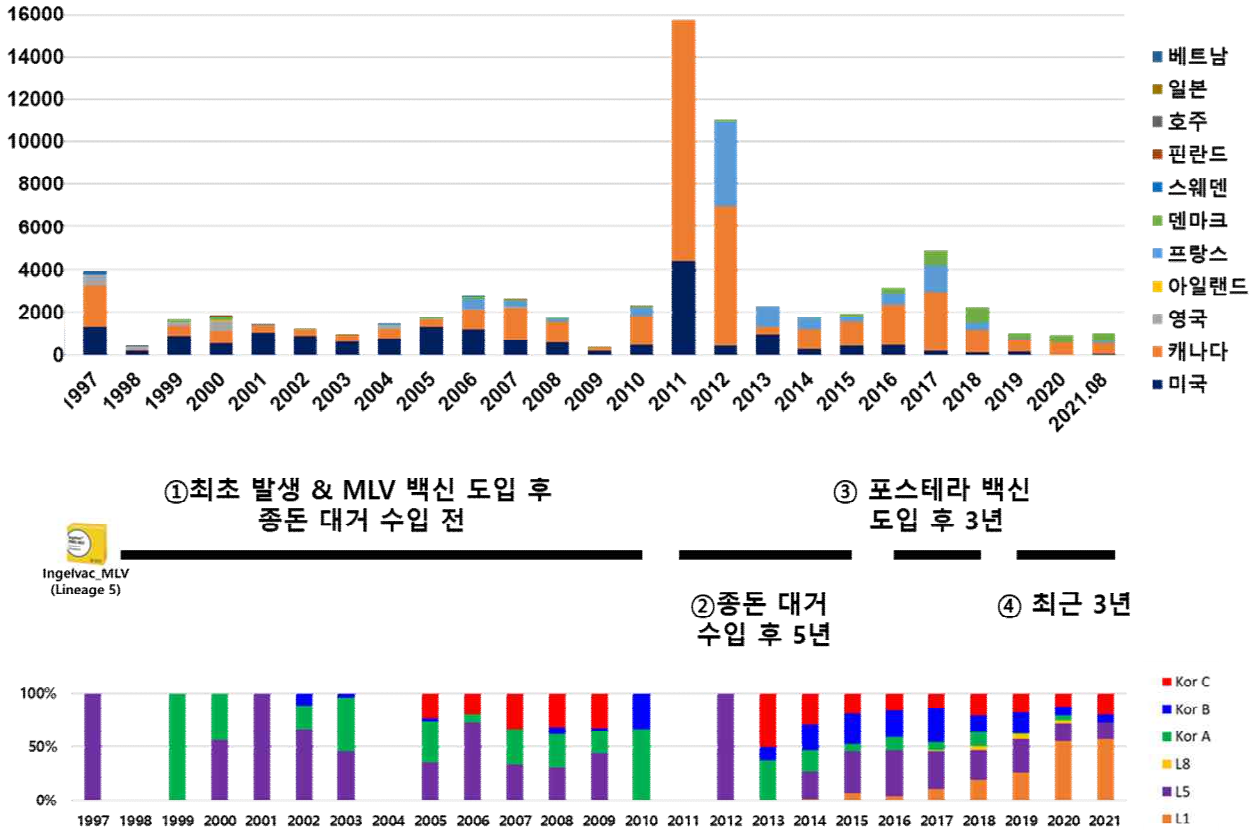


그림 1-10. PRRSV-2의 최초 발생부터 현재까지 연도별 Lineage 분포

(다) 경시적 유전형 분포 변화

- 한국 발생 PRRSV-2의 유전형별 분포는 전체적으로 L1이 165주 (17.1%), L5 349주 (33.2%), L8 16주 (1.5%), LKorA 127주 (12.1%), LKorB 185주 (17.6%) 및 LKorC 194주 (18.5%)로 나타나 L5 계열 PRRSV-2의 유병률이 가장 높았다.
- 이를 기간별로 분석한 결과, 최초 발생부터 2018년까지 지속적으로 L5가 우점하였으나 2019-2021 기간에서는 L1이 우점계열로 나타났으며 L5는 두 번째 우점계열로 확인되었다 (표 1-16).

표 1-16. 국내 1997-2021년 PRRSV-2의 유전형 분포

유전형	Lineage	기간별 Lineage 분포 ( 염기서열 수 )				총 계
		1997-2010	2011-2015	2016-2018	2019-2021	
PRRSV-2	Lineage KorA	56	30	33	8	127
	Lineage KorB	6	51	76	52	185
	Lineage KorC	36	50	51	57	194
	Lineage 1	-	8	36	121	165
	Lineage 5	87	61	110	91	349
	Lineage 8	-	-	4	12	16
	Total		185	200	310	341

- 한국 발생 PRRSV-2의 유전계열별 발생 양상을 분석하기 위하여 4단계 기간별 유전계열 분포를 조사한 결과, 1단계, 2단계, 3단계는 L5가 우점형이며, 4단계는 L1이 우점형으로 확인되었다 (그림 1-11).
  - 1단계 기간: L5>LKorA>LKorC>LKorB 순으로 우점형 분포
  - 2단계 기간: L5>LKorB>LKorC>LKorA>L1 순으로 우점형 분포
  - 3단계 기간: L5>LKorB>LKorC>LKorA>L1 순으로 우점형 분포
  - 4단계 기간: L1>L5>LKorC>LKorB>LKorA>L8 순으로 우점형 분포
- 현재 국내 시판중인 PRRSV-2 백신은 L5와 L8에 속한다. 2018년까지(3단계 기간까지) L5의 우점은 백신유래주로 판단할 수 있으나, 최근 3년(4단계)에서 L1의 우점은 현재 시판중인 백신이 L1의 바이러스를 방어하지 못한다는 것을 의미한다. 더불어, 유전형 분석에서 L1이 두 개의 sublineage(NADC30-like와 NADC31-like)로 나뉘었다. 따라서 현재 우점하는 L1을 중점으로 바이러스 분리하되, 변화하는 우점형에 맞추어 대응 할 수 있도록 모든 유전형에서 PRRSV를 분리하는 것을 목표로 하였다.

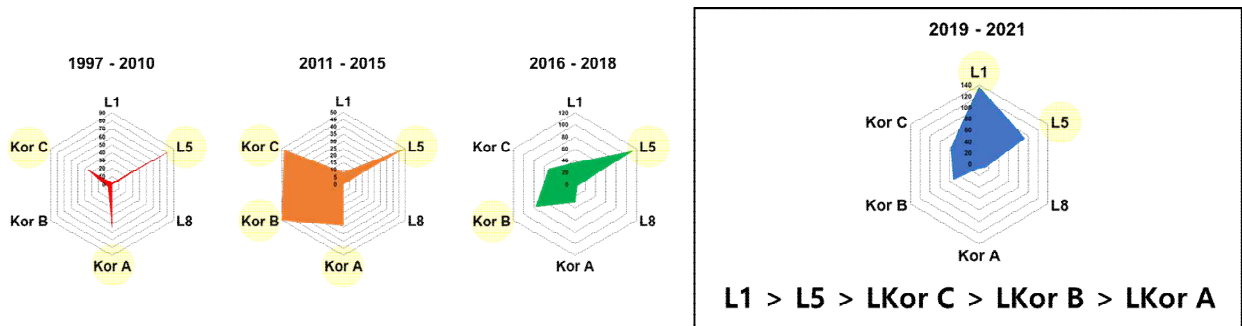


그림 1-11. PRRSV-2의 분석 단계별 Lineage 분포

(라) PRRSV-2의 lineage 별 최초 발생 시기 조사

- PRRSV의 유전형 분류를 위해서는 충분한 수의 바이러스 염기서열 정보 확보가 필요하며, 이를 체계적으로 분석할 수 있는 분석 프로그램의 활용이 필요하다. 국내 및 해외의 유전자 염기서열들을 확보하여 한국 PRRSV-2에 대한 Phylogenetic 분석을 실시한 결과, 최초보고 시기가 이전 보고와 다른 lineage가 확인되었다 (표 1-17).
- 국내의 PRRSV-2 ORF5 서열과 종돈 수입국의 PRRSV 염기서열을 수집하여 계통분석을 실시한 결과, LKorA 및 LKorB는 논문 보고보다 이전에 발생했던 것으로 확인되었고, 나머지 Lineage의 경우 기보고된 논문들의 최초 보고 시기와 일치 하였다.
- 당시에 현재와 같은 lineage 명을 쓰지 않았기 때문에, ‘논문 최초 보고’라 함은 다른 clade와 독자적인 clade로 확인한 시기로 정하였다. LKorA의 경우 Cha 등 (2006)의 논문에서 2003년부터 발생한 sublineage 4로 최초 분류되었으나, 해외 strain들을 포함한 phylogenetic 분석 결과 LKorA는 1999년 BI19 strain과 BI378 strain이 최초인 것으로 분석되었다.
- LKorB는 Kang 등(2018)의 논문에서 2014년부터 발생한 lineage 4와 LKorB로 분류되었으나, 해외 strain들을 포함한 phylogenetic 분석 결과 LKorB는 2002년 BI885-2002 strain이 최초인 것으로 분석되었다.



표 1-17. 각 Lineage의 논문 최초 보고시기 및 최초 발생 분석 결과

Lineage	논문 최초 보고	분석 결과
L1	2014	2014
L5	1997	1997
L8	2017	2017
LKorA	2003	1999
LKorB	2014	2002
LKorC	2005	2005

(마) 한국 발생 PRRSV-2의 ORF5 유전자 상동성 비교

○ Lineage 내 및 Lineage 간 ORF5 상동성 분석

- 한국 발생 PRRSV-2의 Lineage 구분에 따라 Lineage 간, Lineage 내의 ORF5 nucleotide 상동성을 분석하였다 (표 1-18).
- Lineage 내 상동성은 L1이 82.42%, L5가 84.74%, L8이 94.53%, LKorA가 83.58%, LKorB가 81.92%, LKorC가 83.42%로 LKorB의 Lineage 내 상동성이 가장 낮았으며, L8의 Lineage 내 상동성이 94.53%로 가장 낮았다. LKorB 계열의 바이러스가 6개의 Lineage 중 가장 변이가 많으며, L8 계열의 바이러스는 2017년부터 발생한 백신유래주로 현재까지 변이가 가장 적은 것으로 분석되었다.
- Lineage 간 상동성은 L1과 LKorB가 78.44% 상동성으로 가장 낮았고, L5와 L8의 상동성이 85.07%로 가장 높았다.

표 1-18. 국내 PRRSV-2의 Lineage 간, Lineage 내의 ORF5 유전자 뉴클레오타이드 상동성

	LKorA (n=127)		LKorB (n=185)		LkorC (n=194)		L1 (n=165)		L5 (n=349)		L8 (n=16)	
	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX
LKorA	83.58	100										
LKorB	80.43	91.54	81.92	100								
LkorC	79.27	89.22	79.77	88.56	83.42	100						
L1	79.27	88.39	78.44	87.06	80.93	90.55	82.42	100				
L5	81.92	93.2	81.76	94.36	79.27	89.05	79.93	88.72	84.74	100		
L8	83.42	91.21	83.91	91.38	81.09	88.39	81.76	86.73	85.07	93.03	94.53	100

○ 백신주(VR-2332)와의 ORF5 상동성 비교

- 국내 PRRSV-2 ORF5 상동성을 백신주(Ingelvac MLV)와 비교한 결과, 국내 최초로 도입된 PRRSV-2 생독백신 Ingelvac MLV 백신주와 ORF5 상동성을 비교했을 때 L5를 제외한 모든 Lineage에서 시간 경과에 따라 상동성이 낮아졌다. 이는 각 Lineage들에서 백신주를 회피하는 방향으로 변이하고 있음을 나타낸다 (그림 1-12).

- L5 계열과 L8 계열을 제외한 L1, LKorA, LKorB, LKorC 계열의 바이러스들은 발생초기부터 백신주와 상동성이 90%이하로 나타났으며 최근 발생에서 상동성이 더 낮아지고 있는 것으로 분석되었다. 결론적으로 L1, LKorA, LKorB, LKorC 계열의 바이러스들은 발생초기부터 백신주와의 항원차이로 인해 시판 백신 접종에 따른 방어가 불충분하였을 것으로 추정된다.
- L5는 백신유래주에 의해 대체적으로 상동성이 높게 형성되나, 몇몇 strain들은 90% 이하의 상동성을 보였다. 낮은 상동성을 보이는 strain들은 초기부터(1단계기간) 존재하였으며 백신유래주라고 단정 지을 수 없다. 따라서 L5는 백신유래주와 백신유래변이주 또는 야외주가 함께 존재하는 Lineage로 한국의 PRRSV-2의 lineage 분포에서 지속적인 우점형으로 존재하였다.
- L1은 백신주와 상동성이 85%이하로 국내 PRRSV-2 lineage 중 가장 낮게 확인되었다. 최근 NADC31-like strain이 국내에 새롭게 발생하였으며, 백신주와 큰 유전적 차이를 보였다.
- 종합적으로, 국내 PRRSV는 백신주와 상동성이 크게 벌어지고 있으며, 항원적 다양성이 커지고 있다. 백신주와 낮은 상동성을 보이는 L1, LKorA, LKorB, LKorC에 대해서는 최근 국내 PRRSV 양성시료에서 분리한 각 lineage의 대표주들을 백신후보주로 선발하는 것이 바람직할 것으로 판단되었다.

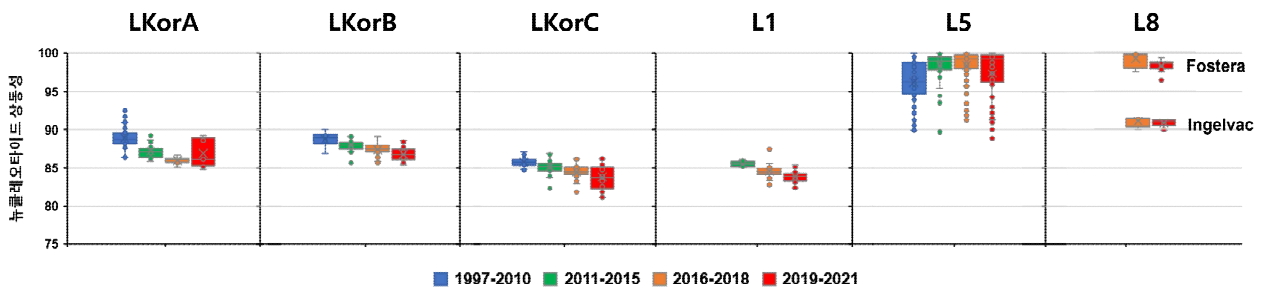


그림 1-12. 국내 PRRSV-2의 백신주와 ORF5 상동성 비교

- 한국 발생 PRRSV-2의 ORF5 중화에피토프(Neutralizing epitope; NE) 분석
  - 기 보고된 논문(Popescu et al., 2017)을 참고하여 국내 PRRSV-2의 중화에피토프 부위의 유전적 다양성을 확인한 결과, 바이러스 계열에 따라 L1은 13개 패턴, L5는 10개 패턴, L8는 4개 패턴, LKorA는 16개 패턴, LKorB는 22개 패턴, LKorC는 12개 패턴을 가지는 것으로 나타나 유전적으로 매우 다양함이 확인되었다 (표 1-19).
  - 또한, 국내 발생 PRRSV-2의 경우, 바이러스의 유전적 계열에 상관없이 상용 백신주와 중화에피토프 부위 아미노산 염기서열이 다른 패턴을 나타내어 상용 백신주 접종에 의해 생성된 중화항체가 국내 발생 PRRSV-2 strain을 효과적으로 방어할 수 없다는 것을 의미한다.

표 1-19. 국내 발생 PRRSV-2의 중화에피토프 분석 결과

L1 (n=165)		L5 (n=349)		L8 (n=84)	
SSHLQLIYNL	65% (n=110)	SSHLQLIYNL	86% (n=301)	SSHFQLIYNL	50% (n=8)
SSHLQSIYNL	24% (n=37)	SSNLQLIYNL	6% (n=22)	SSHFQSIYNL	38% (n=6)
SSHLQLIYDL	2% (n=3)	SSKLQLIYNL	4% (n=15)	SSTFQLIYNL	6% (n=1)
SSHLQSIYDL	2% (n=3)	SSHLQSIYNL	1% (n=3)	SSYSQLIYNL	6% (n=1)
GSHLQLIYNL	2% (n=3)	SSKFQLIYNL	1% (n=2)		
SSHLQSIYKL	1% (n=2)	SSQLQLIYNL	1% (n=2)		
SSNLQLIYNL	0.6% (n=1)	SSHSQLIYNL	0.6% (n=1)		
SSHMQLIYNL	0.6% (n=1)	SSHLQLIYTL	0.6% (n=1)		
SSHLQTIYDL	0.6% (n=1)	GSHLQLIYNL	0.6% (n=1)		
SSHLQSIYHL	0.6% (n=1)	SSHLQLIYKL	0.6% (n=1)		
SSHLQLIYSL	0.6% (n=1)				
SSHLQLIYKL	0.6% (n=1)				
SSHLQIYNL	0.6% (n=1)				
LKorA(n=127)		LKorB(n=185)		LKorC(n=194)	
SSKLQLIYNL	34% (n=43)	SSNLQLIYNL	52% (n=96)	SSHLQLIYNL	78% (n=152)
SSKLQSIYDL	13% (n=17)	SSKLQLIYNL	17% (n=32)	SSHLQSIYNL	12% (n=23)
SSKLQSIYNL	10% (n=13)	SSTLQLIYNL	9% (n=17)	SSQLQLIYNL	4% (n=7)
SSKFQLIYNL	9% (n=11)	SSHLQLIYNL	9% (n=16)	SSHLQLIYKL	2% (n=4)
SSNFQLIYNL	8% (n=10)	SSHLQLIYNM	2% (n=3)	SSHLQLIYKM	0.5% (n=1)
SSHFQLIYNL	8% (n=10)	SSTLQLIYNL	1% (n=2)	SSHLQLIYSL	0.5% (n=1)
SSKLQLIYNM	8% (n=10)	SSHLQSIYNL	1% (n=2)	SSHLQLIYDL	0.5% (n=1)
SSNLQLIYNL	4% (n=5)	SSHSQLIYNL	1% (n=2)	SSHLLLIYNL	0.5% (n=1)
SSHLQLIYNL	0.8% (n=1)	SSKLQLIYSL	1% (n=2)	SSHLQSIYDL	0.5% (n=1)
SSHIQLIYNL	0.8% (n=1)	SSRLQLIYNL	1% (n=1)	SSHFQSIYNL	0.5% (n=1)
SSYSQLIYNL	0.8% (n=1)	SSNLQLIYDL	1% (n=1)	SSNLQLIYNL	0.5% (n=1)
SSHFQSIYNL	0.8% (n=1)	SSTLQLIYKL	1% (n=1)	SSHSQLIYNL	0.5% (n=1)
SSKLQSIYKL	0.8% (n=1)	SSTLQLIYHL	1% (n=1)		
SSYSQSIYNL	0.8% (n=1)	SSTSQLIYNL	1% (n=1)		
SSYSQSIYDL	0.8% (n=1)	SSSLQLIYNL	1% (n=1)		
SSKIQLIYNL	0.8% (n=1)	SSKLQLIYKL	1% (n=1)		
		SSKLQLIYDL	1% (n=1)		
		기타	5% (n=5)		

※ Ingelvac MLV : SSHLQLIYNL

※ Foster PRRS: SSHFQLIYNL

## 2-2. PRRSV의 분자유전학적 특징과 임상증상의 상관관계 분석 (제1 세부-경북대)

### 1) 연구 추진 계획

#### 가) 연구목표

- (1) 국내 유행 PRRSV의 임상증상과 병리적 특징 파악 및 이에 따른 PRRSV 분류체계 구축
- (2) 분자역학적 방법에 의한 국내 유행 PRRSV 임상증상에 따른 특정 epitope 발굴 및 분석
- (3) 국내 유행 PRRSV의 병원성에 대한 평가기법 구축(RFLP)
- (4) 각 양돈장별 유행하는 PRRSV의 분자유전학적 특징과 임상증상을 상관관계 분석

#### 나) 추진계획

- (1) 병원성이 확인된 국내 PRRSV의 유전자염기서열 분석 및 병원성 유전인자 도출
  - (가) 기보고된 PRRSV의 병원성과 연관된 유전자의 탐색
  - (나) 바이러스의 병원성에 따른 유전자 특성 비교 분석
  - (다) PRRSV의 병원성과 연관된 유전자 마커 분석 확립
- (2) 국내 유행 PRRSV의 병원성 연관 유전자 분포 조사
  - (가) 선행 연구를 통하여 돼지에서의 병원성이 확인된 국내 PRRSV의 전체유전자 정보 분석
  - (나) 국내 PRRSV 유전자 정보와 병원성-유전인자 mapping 기술을 이용한 국내 유행 PRRSV의 병원성 분포 조사
  - (다) PRRSV의 병원성 mapping 결과와 바이러스 유전형 간 상관관계 분석
  - (라) 유전형 및 병원성 유전인자 mapping 기술을 접목한 PRRSV 병원성 평가 기준 도출
- (3) 국내 유행 PRRSV의 병원성에 대한 평가기법 구축(RFLP)
  - (가) 국내 유행 PRRSV를 대상으로 ORF5 서열의 restriction fragment length polymorphism (RFLP) 의 패턴 분석
  - (나) 제 1세부과제 연구팀에서 기확보한 국내 유행 PRRSV의 유전자 정보를 통해 국내 유행 PRRSV의 유전형과 RFLP패턴과의 상관관계 분석
  - (다) 제 1세부과제 연구팀에서 제공한 한국 유행 PRRSV의 유전형별 병원성 평가시험 자료를 이용하여 PRRSV 유전형에 따른 RFLP 패턴과 병원성의 상관관계 분석
- (4) PRRSV 병원성 평가 유효성에 대한 검증
  - (가) 양성농장에서 시료가 수집된 개체들의 임상증상 파악
    - 양성시료가 수집 될 당시 농장의 기록과 접수된 시료 종류에 따라 임상증상 파악
    - 임상증상 분류 : 호흡기형, 유사산·번식장애형, 번식·호흡기복합형 등
  - (나) 유전자 분석과 임상증상 간의 상관관계 분석
    - 양성 농장의 시료에서 유전자 증폭 및 병원성-연관 유전자 분석 실시
    - 유전형, 병원성 연관 유전자, RFLP와 임상증상 간 연관성 분석

### 2) 연구 추진 결과

#### 가) 기보고된 PRRSV의 병원성과 연관된 유전자의 탐색

##### (1) 병원성 연관 유전자 분석 및 평가 전략 수립

- (가) 기발표된 논문들을 종합하여 PRRSV-2의 증식성 및 병원성에 관여하는 유전자 부위의 역할 및 평가 기준을 표 2-1와 같이 정리하였다.
  - Du 등 (2021)에 따르면 HP-PRRSV의 고열증상과 연관된 부위는 Nsp2의 500-596과658-777

부위로, 두 부분이 conserved 하다면 고병원성을 나타내고 Deletion이 있다면 저병원성을 나타낸다고 밝혔다.

- Li 등 (2014)은 HP-PRRSV와 저병원성 PRRSV (low pathogenic, LP-PRRSV)의 유전자를 상호 교환한 chimeric viruses를 제작한 다음, 자돈에 접종하여 바이러스의 증식능과 병원성을 확인한 결과, Nsp9 544번 아미노산과 Nsp10의 408번 아미노산이 자돈에서의 바이러스 증식능과 병원성에 같이 관여한다는 사실을 확인하였다.
- Zhao 등 (2018)은 204개의 북미형 PRRSV-2의 전체 유전자를 비교분석한 결과, HP-PRRSV와 C-PRRSV간에 Nsp9의 519번과 544번 위치에 일정한 아미노산 변이가 존재함을 확인하였으며, 이 부위의 변이가 HP-PRRSV의 증식성 또는 병원성 강화에 관여하는 것으로 판단하였다.
- Xu 등 (2018)에서 중국 HP-PRRSV의 nsp9 유전자의 586과 592 잔기가 PAM 에서의 바이러스 증식 효율과 관련있음을 확인하였으나 모든 PRRSV의 증식능을 결정하지는 않는다고 하였다. nsp9의 586 부위는 모든 HP-PRRSV가 Thr이고, LP-PRRSV는 Ala 으로 안정적인 부위로 확인되었다. 반면에, 592 부위는 특정 strain에서만 Thr이고, 다른 strain에서는 Ser으로 안정적인 부위가 아니었다. nsp9의 586 아미노산이 모든 PRRSV의 증식능과 병원성에 영향을 미치는 공통적인 부위인 반면에 592 아미노산의 영향은 strain-specific하다고 평가하여 586번 아미노산을 마커로 설정하였다.
- N protein은 C 말단부위에 최소 2개의 phosphorylation modification site (105S 및 120S 잔기)를 보유하고 있으며, 이들 부위의 변이 (S105A 또는 S120A)는 Marc-145 세포에서의 바이러스 증식능을 약화시킨다. Ser105와 Ser120은 바이러스감염이나 생존에는 영향을 미치지 않지만, 바이러스의 증식에는 중요한 역할을 한다 (Chen 등, 2018).

표 2-1. PRRSV의 병원성 평가를 위한 잠재적 유전자 마커 및 기준

유전자	중요 부위	바이러스 복제와 병원성에 대한 잠재적 기능 (참고문헌)	PRRSV 병원성 평가 기준	
			고병원성	저병원성
Nsp2	500-596 & 658-777	HP-PRRSV의 고열 증상과 연관된 부위 (Du et al., 2021)	Conserved	Deleted
Nsp9	519	HP-PRRSV의 복제 효율성 및 병원성과 연관된 부위 (Zhao et al., 2018)	Serine (S)	Threonine (T)
	544	HP-PRRSV의 복제 효율성 및 병원성과 연관된 부위 (Li et al., 2014; Zhao et al., 2018)	Threonine (T)	Alanine (A)
	586	HP-PRRSV의 복제 효율성 및 병원성과 연관된 부위 (Xu et al., 2018)	Threonine (T)	Alanine (A)
Nsp10	408	HP-PRRSV의 복제와 연관된 부위 (Li et al., 2014)	Arginine (R)	Lysine (K)
N	105 & 120	인산화 부위의 변이에 의한 PRRSV의 약독화와 연관된 부위 (Chen et al., 2019)	Serine (S) & Serine (S)	Alanine (A) or 기타

나) PRRSV의 병원성에 따른 유전자 특성 비교 분석

(1) 기 보고된 문헌 검토를 통해, 국내 또는 해외 (미국, 중국, 태국 등)에서 병원성에 대해 보고된

PRRSV strain들의 전체유전자 염기서열을 수집하여 병원성 마커 부분을 분석하였다 (표 2-2).  
 (2) 문헌에 병원성이 기록된 PRRSV 34 strain들을 병원성 별로 수집한 결과, Chinese HP-PRRS는 16개 strain, IP-PRRS는 9개 strain, LP-PRRS는 5개 strain, Vaccine strain 4개 strain을 수집하였다.

표 2-2. 병원성이 확인된 고병원성 또는 저병원성 PRRSV strain 목록

번호	균주명	지역 (연도)	바이러스 분류	GenBank 번호	유전적 특성 (논문내용)	참고논문
1	JXA1	China (2006)	Chinese HP-PRRSV	EF112445	prototype of Chinese HP-PRRSV	Tian et al. (2007)
2	FZ06A	China (2006)		MF370557		Sui et al. (2018)
3	HuN4	China (2007)		EF635006		Tong et al.(2007)
4	JXwn06	China (2006)		EF641008	nsp2-deleted strain	Zhou et al.(2014)
5	07QN	Vietnam (2007)		FJ394029	nsp2-deleted strain	Feng et al. (2008)
6	GD	China (2007)		EU109503		Chen et al. (2009)
7	WUH1	China (2007)		EU187484		Chen et al. (2009)
8	SY0608	China (2007)		EU144079		Chen et al. (2009)
9	07HEBTJ	China (2007)		FJ393458	nsp2-deleted strain	Feng et al. (2008)
10	07BT	China (2007)		FJ393459	nsp2-deleted strain	Feng et al. (2008)
11	SX2009	China (2009)		FJ895329		Zhou et al. (2011)
12	09HEB	China (2009)		JF268679		Zhou et al. (2011)
13	14LY01-FJ	China (2014)		KP780881	nsp2-deleted strain	Liu et al. (2017)
14	14LY02-FJ	China (2014)		KP780882	nsp2-deleted strain	Liu et al. (2017)
15	15LY01-FJ	China (2015)		KU215416	nsp2-deleted strain	Liu et al. (2017)
16	15LY02-FJ	China (2015)		KU215417	nsp2-deleted strain	Liu et al. (2017)
17	NADC30	USA (2008)	IP-PRRSV	JN654459		Brockmeier (2012)
18	HENAN-HEB	China (2013)		KJ143621.1	NADC30-like recombinant	Tian et al. (2017)
19	HENAN-XINX	China (2013)		KF611905.1	NADC30-like recombinant	Tian et al. (2017)
20	Chsx1401	China (2015)		KP861625.1	NADC30-like recombinant	Tian et al. (2017)
21	HNjz15	China (2015)		KT945017.1	NADC30-like recombinant	Tian et al. (2017)
22	JL580	China (2014)		KR706343.1	NADC30-like recombinant	Tian et al. (2017)
23	MN184A	USA (2001)		DQ176019		Han et al.(2006)
24	JA142	USA(1997)		AY424271	atypical PRRSV	Ropp et al.(2004)
25	SDSU73	USA (1996)		JN654458	atypical PRRSV	Brockmeier (2012)
26	HB-1/3.9	China (2002)	LP-PRRSV	EU360130	Non-nsp2 deleted strain	Zhou et al.(2014)
27	HB-1(sh)	China (2002)		AY150312	Classical PRRSV	Chen et al. (2009)
28	HB-2(sh)	China (2002)		AY262352		Chen et al. (2009)
29	CH-1a	China (1996)		AY032626	Classical PRRSV	Chen et al. (2009)
30	CH-1R	China (2008)		EU807840		Yang et al. (2016)
31	VR-2332	USA (1999)	Vaccine	U87392	Reference strain	NCBI GenBank
32	RespPRRS(MLV)			AF066183	Vaccine strain	NCBI GenBank
33	Ingelvac-ATP	USA		DQ988080	Vaccine strain	NCBI GenBank
34	P129				Vaccine strain	NCBI GenBank

\* PRRSV의 병원성을 고병원성(highly pathogenic HP-PRRSV), 중병원성 (intermediate pathogenic IP-PRRSV)또는 저병원성 (low pahogenic LP-PRRSV)로 구분하였음.

(3) 선정된 병원성 마커의 유용성을 확인하기 위하여 병원성이 확인된 PRRSV 유전자 염기서열34 개에 적용한 결과 (표 2-3), 해당 마커들의 패턴이 유전적 특징 또는 병원성에 따라 6개 그룹으로 분류되는 것을 확인하였다.

표 2-3. 해외 발생 PRRSV의 병원성과 보고된 병원성 유전자 마커간 연관성 분석

Lineage	균주명	병원성	바이러스 분류	Nsp2		Nsp9			Nsp10	N	
				500-596 DEL	658-777 CON	519	544	586	408	105	120
8	JXA1	HP-PRRSV	Chinese HP-PRRSV	DEL	CON	S	T	A	R	S	S
8	FZ06A	HP-PRRSV		DEL	CON	S	T	A	R	S	S
8	HuN4	HP-PRRSV		DEL	CON	S	T	A	R	S	S
8	JXwn06	HP-PRRSV		DEL	CON	S	T	A	R	S	S
8	07QN	HP-PRRSV		DEL	CON	S	T	A	R	S	S
8	GD	HP-PRRSV		DEL	CON	P	T	A	R	S	S
8	WUH1	HP-PRRSV		DEL	CON	S	T	A	R	S	S
8	SY0608	HP-PRRSV		DEL	CON	S	T	A	R	S	S
8	07HEBTJ	HP-PRRSV		DEL	CON	S	T	A	R	S	S
8	07BJ	HP-PRRSV		DEL	CON	S	T	A	R	S	S
8	SX2009	HP-PRRSV		DEL	CON	S	T	A	R	S	S
8	09HEB	HP-PRRSV		DEL	CON	S	T	A	R	S	S
8	14LY01-FJ	HP-PRRSV		DEL	CON	S	T	A	R	S	S
8	14LY02-FJ	HP-PRRSV		DEL	CON	S	T	A	R	S	S
8	15LY01-FJ	HP-PRRSV		DEL	CON	S	T	A	R	S	S
8	15LY02-FJ	HP-PRRSV		DEL	CON	S	T	A	R	S	S
1	NADC30	IP-PRRSV	NADC30-like recombinant	DEL	CON	S	A	A	K	S	S
1	HENAN-HEB	IP-PRRSV		DEL	CON	S	A	A	K	S	S
1	HENAN-XINX	IP-PRRSV		DEL	CON	S	A	A	K	S	S
1	Chsx1401	IP-PRRSV		DEL	CON	S	A	A	K	S	S
1	HNjz15	IP-PRRSV		DEL	CON	S	A	A	K	S	S
1	JL580	IP-PRRSV		DEL	CON	S	A	A	R	S	S
1	MN184A	IP-PRRSV	MN184 strain	DEL	CON	T	T	A	K	S	S
8	JA142	IP-PRRSV	atypical PRRSV	CON	CON	T	A	A	K	S	P
8	JA142	IP-PRRSV	IngelvacATP	CON	CON	T	A	A	K	S	P
8	SDSU73	IP-PRRSV	atypical PRRSV	CON	CON	T	A	A	K	S	S
8	P129	IP-PRRSV	Postera	DEL	Con	T	A	A	K	S	S
8	HB-1/3.9	LP-PRRSV	Non-nsp2 deleted strain	CON	CON	S	A	A	K	S	S
8	HB-1(sh)	LP-PRRSV	Classical PRRSV	CON	CON	S	A	A	K	S	S
8	HB-2(sh)	LP-PRRSV		CON	CON	T	A	A	K	S	S
8	CH-1a	LP-PRRSV		CON	CON	T	A	A	K	S	S
8	CH-1R	LP-PRRSV		CON	CON	T	A	A	E	S	S
5	VR-2332			Prototype strain	CON	CON	T	A	A	K	S
5	RespPRRS		IngelvacMLV	CON	CON	T	A	A	K	S	S

\* PRRSV의 병원성을 고병원성(highly pathogenic HP-PRRSV), 중병원성 (intermediate pathogenic IP-PRRSV)또는 저병원성 (low pahogenic LP-PRRSV)로 구분하였음.

다) PRRSV의 병원성과 연관된 유전자 마커 분석 기준 설정

- (1) 표 2-3의 결과를 토대로 표 2-4과 같이 nsp2, nsp9, nsp10 및 N 유전자의 병원성 관련 유전자 부위의 아미노산 변이를 고려하여 병원성 유전자 분석 기준을 확정하였다.
- (2) 본 과제에서 이 유전자 마커들의 패턴들의 분석을 ‘병원성 유전자 마커 분석’이라고 하여 전체 유전자에서 특정 아미노산들의 배열을 분석 함으로써, 병원성을 추정 할 수 있는 방법을 확립 하였다.
  - (가) 고 병원성을 나타내는 Chinese HP-PRRSV strain은 **Del-Con-S-T-A-R-S-S**의 패턴, 중 병원성을 나타내는 NADC30-like strain은 **Del-Con-S-A-A-K-S-S** 패턴을, 중 병원성을 나타내는 MN184-strain은 **Del-Con-T-T-A-K-S-S** 패턴을, 중·저 병원성을 나타내는 Ingelvac-ATP strain은 **Con-Con-T-A-A-K-S-P** 패턴을, 중·저 병원성을 나타내는 Foster strain은 **Del-Con-T-A-A-K-S-S** 패턴을, Classical strain은 **Con-Con-T-A-A-K-S-S** 패턴을 가진다.

표 2-4. PRRSV-2 병원성 유전자 마커 분석 기준표

분류	병원성	Nsp2		Nsp9			Nsp10	N	
		500-596	658-777	519	544	586	408	105	120
Chinese HP-PRRSV	고 병원성	Del	Con	S	T	A	R	S	S
NADC30-like strain	중 병원성	Del	Con	S	A	A	K	S	S
MN184 strain	중 병원성	Del	Con	T	T	A	K	S	S
Ingelvac-ATP strain	중·저 병원성	Con	Con	T	A	A	K	S	P
Fostera strain	중·저 병원성	Del	Con	T	A	A	K	S	S
Classical strain	저병원성	Con	Con	T	A	A	K	S	S

라) 국내 유행 PRRSV의 병원성 연관 유전자 분포 조사

(1) 국내 발생 PRRSV의 병원성 평가 및 유전자 염기서열 확보

(가) 분석 대상 국내 발생 PRRSV 선발

- 국내 발생 PRRSV의 병원성과 바이러스 유전자간 유전역학적 분석을 위하여 검역본부(전북대)로부터 국내 발생 PRRSV의 유전형별 대표 바이러스 strain에 대한 병원성 시험결과를 확보하였다.
- 병원성 평가에 사용된 바이러스는 북미형 PRRSV 11주로, Lineage 1에 해당하는 바이러스 2주, Lineage 5에 해당하는 바이러스 3주와 백신주 1주, 그리고 Korean lineage A, B에 해당하는 바이러스 각 2주, Korean lineage C에 해당하는 바이러스 1주를 확보하였다.

(나) 분석 대상 국내 발생 PRRSV의 돼지에 대한 병원성 평가 결과

- 실험개요: 선발된 국내 발생 PRRSV의 병원성 평가시험은 검역본부의 용역연구과제의 일환으로 전북대 연구진에서 수행하였으며, PRRSV 음성인 4주령 자돈 (삼원 교잡종으 대상으로)을 BSL 2급의 돼지전용 동물실험 축사에서 사육하며 진행되었다.
- 바이러스 접종 및 병원성 평가 방법: 각 바이러스별 14두의 자돈을 시험군으로 하였으며, 8두에는 를 병원성 평가 대상 바이러스 (역가  $10^3$  TCID<sub>50</sub>/ml)를 근육접종하고 6두는 바이러스 비접종 대조군으로 유지하면서 임상증상, 바이러스 배설, 체중 변화 및 병리증상을 비교 평가하였다.
  - 임상증상 평가: 공격접종 후 28일까지 매일 관찰 및 평가
  - 바이러스 배설: 공격접종 후 0, 3, 7, 14일에 비강스왑 시료를 채취
  - 체온 변화 : 공격접종 후 최초 10일간 매일 측정
  - 체중 변화 (중체량): 공격접종 후 0, 7, 14, 21, 28일에 측정
  - 바이러스혈증 수준: 공격접종 후 0, 3, 7, 14, 21, 28일에 전혈튜브와 혈청튜브 채혈
  - 병리검사: 공격접종 후 14일과 28일에 그룹별 3-4 두씩 부검을 실시하고 조직 채취 및 병리 조직학적 평가 실시 (적출한 장기에서의 바이러스 역가 측정 및 조직병리학적 검사, 폐장은 육안 및 조직병리검사와 폐엽별 병변 스코어링 실시)
- 병원성 평가 결과 종합: 북미형 표준주인 VR2332의 병원성을 기반으로 전파력, 임상증상, 폐 병변의 정도를 비교 평가하여 각각의 바이러스의 병원성을 평가한 결과는 표 2-5와 같다



- 바이러스 전파력 (혈중 바이러스 농도 및 비강 배출 정도), 임상증상 (고열, 증체량) 및 폐렴 병변(육안 및 조직병리검사) 항목을 각각 3단계 즉, 고 (+++, 3점), 중(++ , 2점), 저(+, 1점)로 평가한 다음, 이를 합산하여 고 단계 (7-9점), 중 단계 (4-6점) 및 저 단계 (1-3점)로 최종 분류하였다.
- PRRSV-2인 경우에는 NA10이 9점으로 병원성이 가장 높았고, 10D415와 NA4가 ‘고 단계’ 병원성으로 그리고, 나머지 바이러스들은 ‘중 단계’ 병원성으로 분류되었다 (표 2-5).

표 2-5. 본 과제에서 사용된 한국 PRRSV 병원성 평가 결과

Type	Lineage	균주명	전파력	임상증상	폐 병변	병원성 단계
PRRSV-2	Lineage 1	NA31	+	++	++	중 (5)
		NA73	+	++	+++	중 (6)
	Lineage 5	NA8	++	+	+	중 (4)
		VR2332	++	+	+	중 (4)
		NA42	++	+	+	중 (4)
		NA4	++	++	+++	고 (7)
	Korean lineage A	NA149	++	++	+	중 (5)
		NA282	+	++	++	중 (5)
	Korean lineage B	10D415	+	+++	+++	고 (7)
		NA10	+++	+++	+++	고고 (9)
	Korean lineage C	NA45	+	++	+++	중 (6)

다) 병원성이 확인된 국내 발생 PRRSV의 전체유전자 염기서열 분석

- (1) 병원성이 확인된 국내 발생 PRRSV에 대해서는 전체유전자 염기서열은 GenBank에 등록되었으며, 그 정보는 표 2-6와 같다.

표 2-6. 병원성이 확인된 국내 발생 PRRSV 전체 바이러스 유전자 염기서열 정보

Type	Lineage	균주명	GenBank 등록 번호
PRRSV-2	Lineage 1	NA31	MZ287320
		NA73	MZ287317
	Lineage 5	NA8	MZ287322
		NA42	MZ287319
		NA4	MZ287323
	Korean lineage A	NA149	MZ287316
		NA282	MZ287315
	Korean lineage B	10D415	MZ287324
		NA10	MZ287321
	Korean lineage C	NA45	MZ287318

- (2) 본 과제에서 확보한 양성시료 또는 분리한 바이러스에서 최근 국내 발생 PRRSV-2 전체 유전자 염기서열을 분석 완료하였다 (그림 2-1).

(가) 병원성 마커 분석을 위해 양성 시료에서 분리된 바이러스들의 전체 염기서열 분석하였다.

(나) 총 29개 바이러스, L1의 바이러스 7건, L5 계열의 바이러스 6건, L8 계열의 바이러스 2건,

LKorB의 바이러스 6건, LKorC의 바이러스 8건의 분석을 완료하였다.

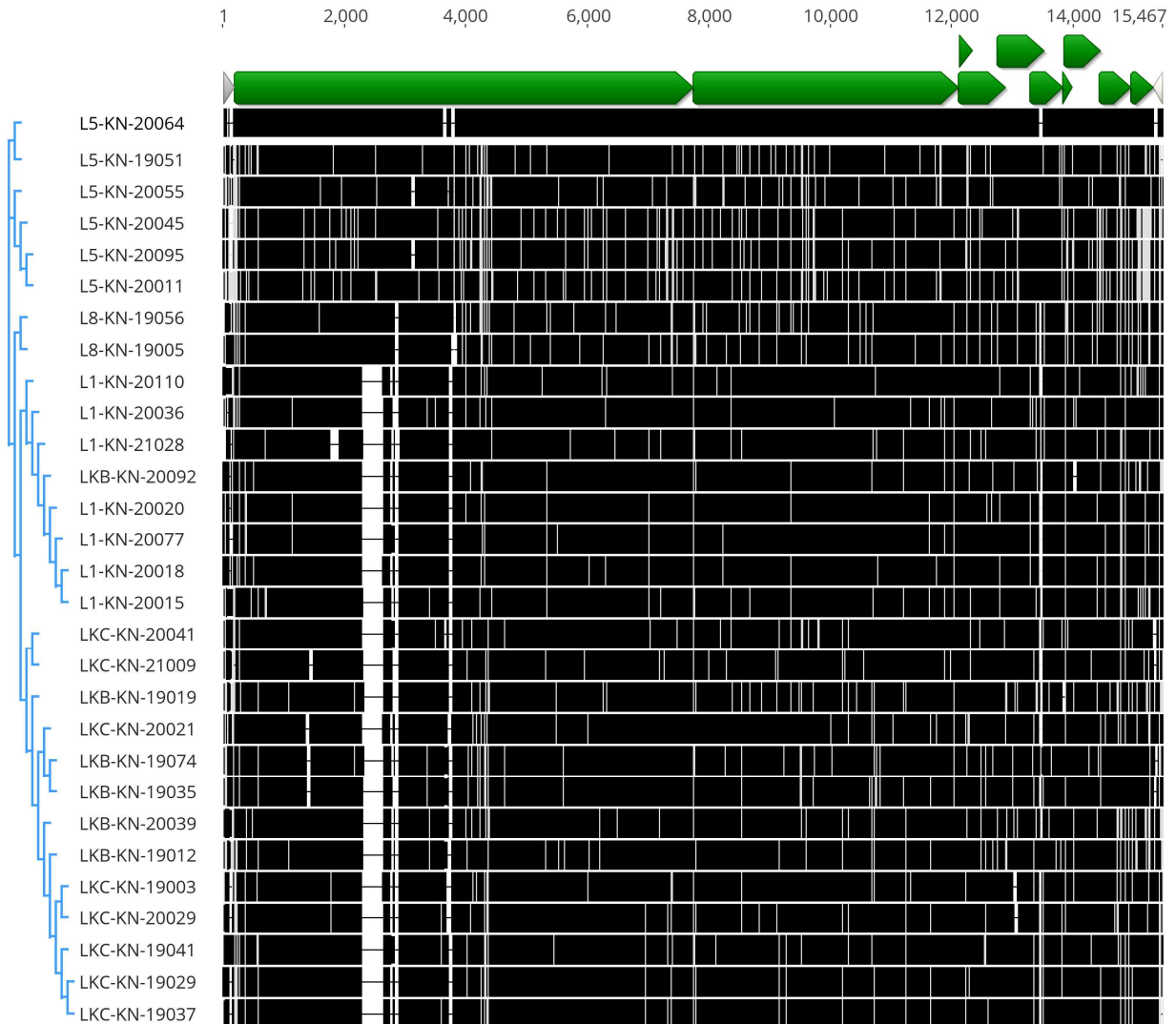


그림 2-1. 본 과제에서 분석 완료한 최근 국내 발생 PRRSV 전체 바이러스 유전자 염기서열

### (3) PRRSV 병원성과 유전자 염기서열 간 유전역학적 분석 결과

#### (가) 국내 발생 PRRSV의 병원성과 선발된 병원성 유전자 마커 간 연관성 분석

- 병원성이 확인된 국내 발생 PRRSV의 전체 유전자 염기서열을 분석한 다음, 표 2-1의 병원성 관련 유전자 마커 부위의 아미노산 서열을 비교 분석하였다 (표 2-7).
  - L1의 2개 strain (NA31, NA73)은 병원성 시험에서 ‘중 단계’로 평가되었으며, 병원성 마커 분석에서도 중 병원성으로 분석되었다.
  - L5의 3개 strain (NA8, NA42, NA4)은 병원성 시험에서 ‘중 단계’ 또는 ‘고 단계’로 평가되었으며, 병원성 마커 분석에서는 모두 저 병원성으로 분석되었다.
  - LKorA의 2개 strain (NA282, NA149)은 병원성 시험에서 모두 ‘중 단계’로 평가되었으며, 병원성 마커 분석에서는 모두 중·저 병원성으로 분석되었다.
  - LKorB의 2개 strain (10D415, NA10)은 병원성 시험에서 ‘고 단계’ 또는 ‘고고 단계’로 평가되었으며, 병원성 마커 분석에서는 모두 중·저 병원성으로 분석되었다.

- LKorC의 1개 strain (NA45)은 병원성 시험에서 ‘중 단계’로 평가되었으며, 병원성 마커 분석에서는 모두 중 병원성으로 분석되었다.
- 병원성 평가와 유전자 마커에 따른 병원성 예측결과, 국내에는 중국의 HP-PRRS와 같은 병원성이 매우 큰 바이러스는 존재하지 않았다.
- 하지만, 유전자 마커에 따라 예측된 중 병원성 바이러스들 중에서도 병원성이 다양하게 나타났다. 특히, 중 병원성 바이러스들 중 LKorB의 바이러스들의 병원성이 큰 것으로 확인되었다.
- L5의 경우, 유전자 마커에 따른 병원성 예측에서 모두 저 병원성으로 분석되었지만, 병원성은 중~고 단계로 평가되었다. L5에서 고 단계의 병원성을 보인 NA4 strain은 나머지 L5 바이러스들과 다르게 1-5-2 RFLP 패턴을 가졌다.
- 따라서, LKorB의 1-27-4 RFLP 패턴 및 L5의 1-5-2 RFLP 패턴 바이러스들의 병원성에 관한 추가 연구가 필요하다.

표 2-7. 병원성이 확인된 국내 발생 PRRSV-2와 병원성 유전자 마커간 연관성 분석

Type	Lineage	균주명	병원성 시험 결과 (index)	병원성 관련 유전자								RFLP	유전자 마커에 따른 병원성 예측	
				Nsp2		Nsp9		Nsp10		N				
				500 -	658 -	519	544	586	408	105	120			
PRRS V-2	L1	NA31	중 (5)	Del	Con	S	A	A	K	S	S	1-8-4	중병원성	
		NA73	중 (6)	Del	Con	S	A	A	K	S	S	1-2-4		
	L5	NA8	중 (4)	Con	Con	T	A	A	K	S	S	2-5-2	저 병원성	
		VR2332	중 (4)	Con	Con	T	A	A	K	S	S	2-5-2		
		NA42	중 (4)	Con	Con	T	A	A	K	S	S	2-5-2		
		NA4	고 (7)	Con	Con	T	A	A	K	S	S	1-5-2		
	LKorA	NA282	중 (5)	Del	Con	T	A	A	K	S	S	1-3-3	중·저 병원성	
		NA149	중 (5)	Del	Con	T	A	A	K	S	S	1-3-1		
	LKorB	10D415	고 (7)	Del	Con	T	A	A	K	S	S	1-1-3		
		NA10	고고 (9)	Del	Con	T	A	A	K	S	S	1-27-4		
	LKorC	NA45	중 (6)	Del	Con	T	T	A	K	S	S	1-7-2		중 병원성

(나) 본 과제에서 확보된 최근 국내 발생 PRRSV의 유전자 마커 분석 결과 (표 2-8)

- 국내 발생 PRRSV-2 29주의 전체유전자 염기서열에서 병원성 마커를 분석하였다.
  - L1의 경우, 7주 모두 NADC30-like strain 패턴으로 중 병원성으로 예상되었다.
  - L5의 경우, 6주 중 2주는 Ingelvac-ATP strain 패턴으로 중·저 병원성으로 예상되며, 4주는 Classical strain 패턴으로 저 병원성으로 예상되었다.
  - L8의 경우, 모두 Foster strain 패턴으로 중·저병원성으로 예상되었다.
  - LKorB의 경우, 6주중 4주는 Foster strain 패턴으로 중·저병원성으로 예상되었으며, 나머지 2주는 병원성 마커 기준표에 없는 새로운 패턴으로 확인되었다.
  - LKorC의 경우, 8주중 7주는 Foster strain 패턴으로 중·저병원성으로 예상되었으며, 나머지 1주는 병원성 마커 기준표에 없는 새로운 패턴으로 확인되었다.
- 국내 발생 PRRSV-2 29주 중 25주는 모두 중 병원성, 중·저 병원성 또는 저 병원성으로 평가되었다. 국내 발생 PRRSV-2 28주 중 3주는 PRRSV-2 병원성 마커 기준표에 해당하지 않는

새로운 패턴으로 확인되었다. 병원성 마커의 유효성과 새로운 패턴의 병원성은 목적동물에 대한 병원성 실험까지 거쳐야 검증이 될 것이다. 하지만 병원성 마커 분석결과 현재 국내에 발생하는 PRRSV는 최대 중 병원성으로, 중 병원성 중에서 strain 별로 병원성이 다르며, 중국의 고병원성 HP-PRRSV는 발생하지 않은 것으로 확인되었다.

표 2-8. 본 과제에서 전장 염기서열 분석된 최근 국내 발생 PRRSV의 유전자 마커 분석 결과

번호	Lineage	균주명	Nsp2 500-5 96 Del	Nsp2 500-5 96 Con	Nsp9 519	Nsp9 544	Nsp9 586	Nsp0 408	N 105	N 120	병원성 유전자 마커 분석 결과
1	L5	KN-20055	Con	Con	T	A	A	K	S	P	중·저병원성 (Ingelvac ATP 패턴)
2	L5	KN-20064	Con	Con	A	A	A	K	S	P	
3	L5	KN-19051	Con	Con	T	A	A	K	S	S	
4	L5	KN-20045	Con	Con	T	A	A	E	S	S	저 병원성 (Classical 패턴)
5	L5	KN-20095	Con	Con	T	A	A	R	S	S	
6	L5	KN-20011	Con	Con	T	A	A	K	S	S	
7	L8	KN-19005	Del	Con	T	A	A	K	S	S	중·저병원성 (Fostera패턴)
8	L8	KN-19056	Del	Con	T	A	A	K	S	S	중 병원성 (NADC30-like 패턴)
9	L1	KN-20036	Del	Con	S	A	A	K	S	S	
10	L1	KN-21028	Del	Con	S	A	A	K	S	S	
11	L1	KN-20020	Del	Con	S	A	A	K	S	S	
12	L1	KN-20077	Del	Con	S	A	A	K	S	S	
13	L1	KN-20018	Del	Con	S	A	A	K	S	S	
14	L1	KN-20015	Del	Con	S	A	A	K	S	S	
15	L1	KN-20110	Del	Con	S	A	A	K	S	S	
16	LKorB	KN-19019	Del	Con	T	A	A	K	S	S	
17	LKorB	KN-20039	Del	Con	T	A	A	K	S	S	
18	LKorB	KN-19012	Del	Con	T	A	A	K	S	S	
19	LKorB	KN-20092	Del	Con	T	A	A	K	S	S	
20	LKorC	KN-20041	Del	Con	T	A	A	K	S	S	
21	LKorC	KN-19029	Del	Con	T	A	A	K	S	S	
22	LKorC	KN-19050	Del	Con	T	A	A	K	S	S	
23	LKorC	KN-20029	Del	Con	T	A	A	K	S	S	
24	LKorC	KN-19003	Del	Con	T	A	A	K	S	S	
25	LKorC	KN-20021	Del	Con	T	A	A	K	S	S	
26	LKorC	KN-21009	Del	Con	A	A	A	K	S	S	
27	LKorB	KN-19074	Del	Con	T	A	A	K	S	P	? (새로운 패턴)
28	LKorB	KN-19035	Del	Con	T	A	A	K	S	P	
29	LKorC	KN-19041	Del	Con	S	A	A	K	S	T	

다) 국내 발생 PRRSV-2의 RFLP 패턴과 병원성과의 연관성 분석

(1) 국내 발생 PRRSV의 ORF5 RFLP 분석

(가) 국내 발생 PRRSV-2 ORF5 서열을 USDA 표준 RFLP 기준에 따라 분석하였다.

○ USDA(US Swine pathogen database)의 RFLP 기준표는 표 2-9와 같다.

○ USDA의 기준표 이외에 추가적인 RFLP 패턴이 국내 발생주의 HincII Digestion site에서 확인되어 이를 167-170으로 명명하였다.

(나) 국내 PRRSV-2 ORF5 RFLP 분석 결과, 각 lineage 별 RFLP 패턴의 종류는 L1이 16가지, L5가 37가지, L8이 2가지, LKorA가 29가지, LKorB가 27가지, LKorC가 41가지로 LKorC의 RFLP 종류가 가장 많았고 최근 발생한 Lineage 8의 RFLP 종류가 가장 적었다 (그림 2-2).

○ 국내 PRRSV-2 ORF5 RFLP 중 가장 많은 분포를 가지는 패턴은 2-5-2 패턴으로 Ingelvac-MLV 백신주(VR-2332)의 패턴이다.

○ 백신주 패턴을 제외하고 1-4-4>1-27-4>1-4-2>1-1-4>1-7-4 순서로 1-4-4 패턴의 바이러

스가 많이 발생하고 있음이 확인되었다.

표 2-9. PRRSV-2 ORF5 RFLP 분석시 사용된 USDA 표준 RFLP 기준

MluI Digestion = A^CGCGT		HincII Digestion = GT(CT)^(AG)AC				SacII Digestion = CCGC^GG	
절단 부위	RFLP #	절단 부위	RFLP #	절단 부위	RFLP #	절단부위	RFLP #
-	1	-	1	508, 523	86	-	1
408	2	88	2	172	87	24	2
336	3	219	3	88, 596	88	555	3
532	4	88, 219	4	502, 508	89	24, 555	4
90	5	360	5	88, 219, 502, 508	90	24, 582	5
		88, 360	6	94, 219, 502	91	24, 310	6
		88, 219, 360	7	88, 94, 219	92	24, 357	7
		88, 219, 381	8	219, 360, 515	93	24, 310, 555	8
		219, 515	9	94, 502	94	24, 192, 555	9
		219, 360	10	88, 97, 219	95	24, 555, 582	10
		360, 515	11	97, 508	96	24, 297	11
		219, 381	12	88,100	97	24, 297, 555	12
		88, 219, 508	13	219, 381, 508	98	555, 582	13
		88, 291	14	219, 508, 523	99	24, 351, 555	14
		88, 219, 291, 381, 515	15	88, 360, 558	100	310, 555	15
		88, 381	16	97, 381	101	454	16
		88, 502	17	219, 502, 515	102	24, 357, 555	17
		88, 508	18	88, 360, 596	103	24, 100, 555	18
		381, 508	19	135, 219	104	582	19
		360, 596	20	219, 291, 502	105		
		88, 219, 360, 381	21	219, 360, 381	106		
		219, 502	22	219, 381, 515	107		
		219, 360, 381	23	88, 307	108		
		88, 381, 508	24	219, 381, 596	109		
		88, 219, 596	25	172, 360, 596	110		
		508	26	97	111		
		515	27	360, 558	112		
		88, 508, 523	28	508, 515	113		
		88, 172, 219	29	596	114		
		381	30	88, 360, 381	115		
		88, 135, 219	31	88, 360, 381, 596	116		
		88, 219, 360, 515	32	88, 219, 291, 360	117		
		88, 219, 515	33	88, 219, 381, 502	118		
		291, 360	34	18, 88, 135, 381	119		
		219, 523	35	88, 135, 219, 381	120		
		88, 219, 360, 596	36	88, 135, 381	121		
		219, 508	37	88, 381, 596	122		
		219, 502, 523	38	88, 172, 360	123		
		502	39	100, 502	124		
		88, 219, 291	40	88, 219, 381, 508	125		
		88, 502, 515	41	88, 94, 360	126		
		94, 219	42	100, 219, 502	127		
		88, 219, 360, 523	43	360, 381, 508	128		
		88, 219, 558	44	88, 219, 381, 515	129		
		88, 219, 381, 596	45	18, 219	130		
		88, 360, 508	46	219, 381, 502	131		
		219, 596	47	88, 291, 381	132		
		88, 135	48	88, 219, 381, 471	133		
		88, 509	49	18, 88, 219	134		
		94, 508	50	88, 173, 219	135		
		88, 219, 282	51	18, 219, 381	136		
		172, 360	52	219, 381, 502	137		
		88, 360, 523	53	88, 219, 360, 381, 502	138		
		103, 360	54	360, 381, 502	139		
		88, 219, 360, 508	55	381, 502	140		
		88, 172	56	88, 360, 381, 502	141		
		88, 219, 502	57	219, 360, 381, 502	142		
		291	58	88, 219, 360, 381,	143		

				452, 502		
		360, 381	59	88, 219, 360, 381, 515	144	
		172, 219	60	135, 219, 381, 515	145	
		219, 291, 381	61	135, 219, 351	146	
		88, 381, 502	62	18, 88, 219, 381	147	
		88, 135, 502	63	18, 88, 219, 508	148	
		88, 291, 508	64	88, 508, 596	149	
		88, 515	65	100	150	
		94, 360	66	18, 88, 219, 291, 360	151	
		88, 219, 471	67	219, 291	152	
		88, 135, 360	68	88, 219, 291, 381	153	
		88, 100, 219	69	88, 173, 219, 381	154	
		88, 100, 219, 381	70	18, 88, 219	155	
		360, 508	71	88, 360, 515	156	
		219, 567	72	445	157	
		219, 282	73	514	158	
		452, 508	74	103, 360, 508	159	
		88, 97, 508	75	88, 219, 523	160	
		88, 502, 508	76	219, 471	161	
		291, 508	77	88, 523	162	
		88, 219, 291, 508	78	103, 307, 360	163	
		88, 100, 508	79	100, 508	164	
		360, 523	80	88, 219, 508, 523	165	
		88, 219, 381, 523	81	219, 360, 508	166	
		135	82	88, 360, 508, 515	*167	
		307, 360	83	523	*168	
		88, 103, 219	84	100, 360	*169	
		88, 172, 508	85	135, 515	*170	

\*: 본 과제에서 새로 확인된 RFLP 패턴

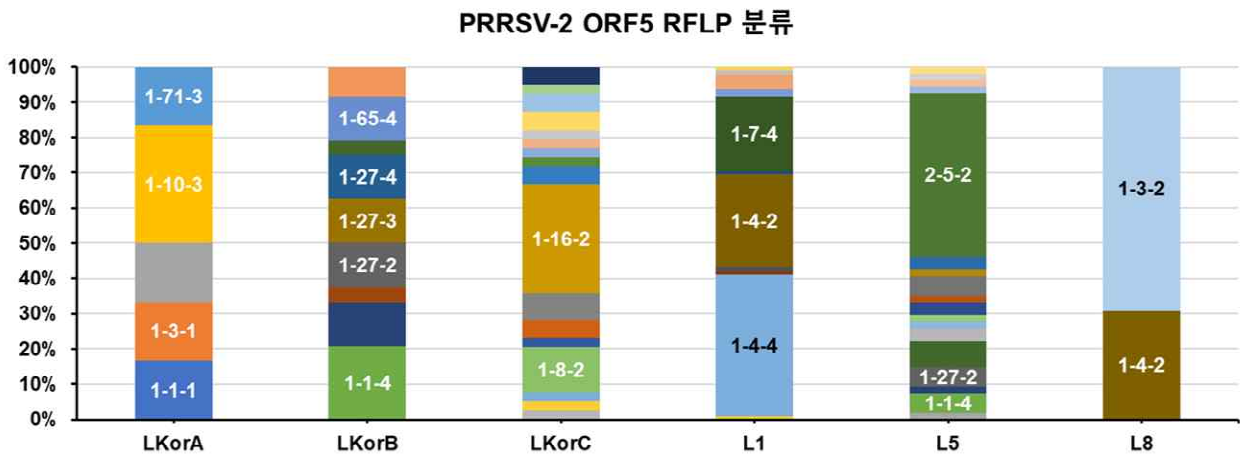


그림 2-2. 국내 발생 PRRSV-2의 Lineage 별 ORF5 RFLP 분류

(2) 병원성이 확인된 국내 발생 PRRSV의 ORF5 RFLP 유형을 분석한 결과 (표 2-10)

(가) L1의 2개 strain의 ORF5 RFLP 패턴은 1-8-4, 1-2-4로 ‘중 단계’의 병원성으로 확인되었다.

국내 L1 전체의 1-8-4, 1-2-4 RFLP는 각각 3.3%, 1.7%로 분포상으로 많지 않은 것으로 확인되었다. 따라서, L1에 많이 발생하는 1-4-4, 1-4-2, 1-7-4 RFLP 패턴을 가지는 바이러스의 병원성에 대한 추가 연구가 필요하다.

(나) L5의 대부분을 차지하는 RFLP 패턴은 백신주와 같은 2-5-2 패턴이다. 백신주와 같은 패턴임에도 불구하고 병원성 마커 분석에서 3개 strain은 ‘중 단계’의 병원성을 나타내었다.

- (다) 또한, ‘고 단계’의 병원성으로 확인된 NA4 strain의 1-5-2 패턴은 국내 L5 RFLP 패턴 중 두 번째로 많은 패턴(5.2%)으로 L5의 바이러스들이 고 단계의 병원성을 나타낼 가능성이 있다.
- (라) 가장 높은 ‘고고 단계의’ 병원성을 보인 LKorB의 1-27-4 RFLP 패턴의 바이러스는 LKorB 내에 37.4%를 차지하며 가장 많은 RFLP 패턴이다. 따라서 LKorB의 1-27-4 바이러스에 대한 분포조사와 추가적인 LKorB 1-27-4 strain들에 대한 병원성 평가가 요구된다.

표 2-10. 병원성이 확인된 국내 발생 PRRSV의 ORF5 RFLP 유형

종	유전형	균주명	병원성 (index)	RFLP 패턴
PRRSV-2	L1	NA31	중 (5)	1-8-4
		NA73	중 (6)	1-2-4
	L5	NA8	중 (4)	2-5-2
		VR2332	중 (4)	2-5-2
		NA42	중 (4)	2-5-2
		NA4	고 (7)	1-5-2
	LKorA	NA282	중 (5)	1-3-3
		NA149	중 (5)	1-3-1
	LKorB	10D415	고 (7)	1-1-3
		NA10	고고 (9)	1-27-4
	LKorC	NA45	중 (6)	1-7-2

마) 유전자 분석과 임상증상 간의 상관관계 검증

(1) 양성농장에서 시료가 수집된 개체들의 임상증상 파악

- (가) 양성시료가 수집 될 당시 농장의 기록과 접수된 시료 종류에 따라 임상증상을 호흡기형, 유사산·번식장애형, 번식·호흡기복합형 3가지로 분류하여 파악했다.
- (나) PRRSV-1 130개 시료와 PRRSV-2 237개 시료에 대하여 임상증상 분석 결과, PRRSV-1과 PRRSV-2에서 각각 65%, 71%로 호흡기형이 가장 많았으며, 다음으로 복합형이 많았고, 유사산·번식장애형을 단독으로 나타내는 농장들은 적게 나타났다 (그림 2-3).
- PRRSV-1, PRRSV-2 모두 호흡기형의 임상증상은 단독으로도 빈번하게 발생하지만, 번식장애형의 경우 단독 증상보다는 호흡기증상이 동반하여 복합유형으로 발생하는 것으로 파악된다.

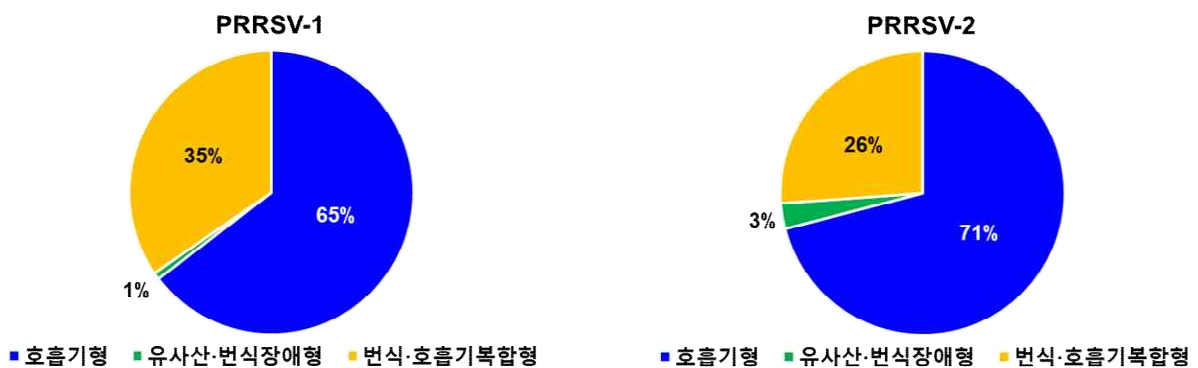


그림 2-3. 2019 - 2021년 접수된 시료에 대한 임상증상 분석 결과

(2) 유전자 분석과 임상증상 간의 상관관계 분석

- (가) 양성 농장의 시료에서 유전자 증폭 및 병원성 연관 유전자 분석은 앞선 결과에서 완료하였다. 전체유전자 염기서열을 분석 완료한 바이러스들에 대해 유전형/ RFLP/ 병원성 유전자 마커

분석과 임상증상을 표로 나타내었다 (표 2-11).

- L5의 중 병원성 병원성 마커를 가진 바이러스들 중 1-2-4 RFLP 패턴은 호흡기증상을, 1-65-2 RFLP 패턴은 유사산, 번식장애 증상을 나타냈다.
- L5의 저 병원성 병원성 마커를 가진 바이러스들 중 2-5-2 RFLP 패턴과 1-27-2 RFLP 패턴은 호흡기증상을, 1-6-2 RFLP 패턴은 유사산, 번식장애 증상을 나타냈다.
- L8의 경우, 중 병원성 마커를 가지며 1-4-2, 1-3-2 RFLP 패턴과 상관없이 모두 호흡기증상을 나타냈다.
- L1의 경우, 모두 중 병원성 마커를 가지며 1-4-2 RFLP 패턴으로 호흡기증상을 나타냈다.
- 임상증상과 유전자 분석의 관계를 분석하기 위해 유전형/ RFLP/ 병원성 유전자 마커분석과 시료 접수 시의 임상증상 정보를 확보하여 비교했지만, 큰 유의성을 얻지 못했다.
  - 유의성이 없었던 가장 큰 원인은 시료 접수 당시 해당 농장 돼지의 임상증상은 대부분이 호흡기증상으로 파악되었기 때문이며, 이는 PRRS란 질병의 특성상 사전에 이미 예상되었던 결과이기도 하다. 즉, PRRS는 음성돈군에 처음 도입되어 발생할 경우에는 모돈군의 번식장애를 주로 나타내지만 이후 농장에 상재화된 이후에는 자돈군의 호흡기질병을 주증으로 나타내는 양상을 보인다. 따라서 PRRS가 이미 상재되어 있는 대부분의 국내 양돈장에서는 호흡기증상을 주로 보일 수밖에 없기 때문이다.
- 따라서 특정 PRRSV strain의 병원성과 해당 바이러스 유전자간의 상관관계를 파악하기 위해서는 이 과제를 통하여 분석된 여러 유형의 바이러스들을 직접 목적동물인 돼지에 접종하여 병원성을 평가하는 과정이 필요하다. 이를 통하여 여러 유전자 유형의 PRRSV에 대한 병원성 평가결과가 축적된다면, PRRSV의 유전적 특성과 병원성간 연관성을 추정할 수 있는 과학적 근거가 마련될 수도 있을 것이다.



표 2-11. 유전형/ RFLP/ 병원성 유전자 마커분석 결과와 임상증상 내역 종합

번호	Lineage	균주명	RFLP	병원성 유전자 마커 분석 결과	임상증상
1	L5	KN-20055	1-2-4	중·저병원성 (Ingelvac ATP 패턴)	호흡기
2	L5	KN-20064	1-65-2		유사산, 변식장애
3	L5	KN-19051	1-27-2	저 병원성 (Classical 패턴)	호흡기
4	L5	KN-20045	2-5-2		호흡기
5	L5	KN-20095	1-6-2		유사산, 변식장애
6	L5	KN-20011	2-5-2		호흡기
7	L8	KN-19005	1-4-2	중·저병원성 (Fostera패턴)	호흡기
8	L8	KN-19056	1-3-2		호흡기
9	L1	KN-20036	1-4-2	중 병원성 (NADC30-like 패턴)	호흡기
10	L1	KN-21028	1-4-2		호흡기
11	L1	KN-20020	1-4-2		호흡기
12	L1	KN-20077	1-4-2		호흡기
13	L1	KN-20018	1-4-2		호흡기
14	L1	KN-20015	1-4-2		호흡기
15	L1	KN-20110	1-4-2	호흡기	
16	LKorB	KN-19019	1-131-4	중·저병원성 (Fostera패턴)	호흡기
17	LKorB	KN-20039	1-27-4		호흡기
18	LKorB	KN-19012	1-113-4		호흡기
19	LKorB	KN-20092	1-27-4		호흡기
20	LKorC	KN-20041	1-65-4		호흡기
21	LKorC	KN-19029	1-8-2		호흡기
22	LKorC	KN-19050	1-8-2		호흡기
23	LKorC	KN-20029	1-16-2		호흡기
24	LKorC	KN-19003	1-16-2		복합
25	LKorC	KN-20021	1-59-4		호흡기
26	LKorC	KN-21009	1-10-2	호흡기	
27	LKorB	KN-19074	1-6-4	병원성 미분류 (새로운 패턴)	호흡기
28	LKorB	KN-19035	1-3-4		호흡기
29	LKorC	KN-19041	1-3-2		호흡기

## 2-3. 분자역학적 방법에 의거한 백신 후보 타깃 물질 발굴 (제1 세부-경북대)

### 1) 연구 추진 계획

#### 가) 연구 목표

- (1) 분자역학적 방법에 의거하여 교차방어를 유도할 수 있는 백신 후보물질 발굴
- (2) 발굴된 백신 후보 타깃 물질에 대한 in-vitro 스크리닝 방법 제시
- (3) 분자역학적 방법으로 발굴된 백신 후보 타깃물질과 유행 바이러스와 매칭분석

#### 나) 추진계획

- (1) 국내 유행 PRRSV의 유전형 및 병원성별 시료 بانک 구축
  - (가) 국내 유행 PRRSV 유전형별 바이러스 양성 시료 수집 (각 연구팀 협조)
  - (나) 양성 시료 (조직, 혈청 등) 분류 및 보관체계 구축
    - 양성시료 번호에 지역, 연도, 시료 종류, 진단결과 및 바이러스 유전형 정보 등을 반영하여 장기적 연구 개발 자원으로 활용 가능하게 분류 및 보관
- (2) 국내 유행 PRRSV를 이용한 백신 후보물질 확보
  - (가) PRRSV에 대해 교차방어 유도능이 있는 백신 후보물질 확보
    - 돼지 초대 폐포 대식세포(primary PAM)에서 PRRSV 분리
      - primary PAM을 접종 16시간 전에 10% FBS RPMI1640 배지로 Seeding 한다.
      - Seeding 하고 16시간 뒤, D-PBS로 세척한다.
      - 양성 시료를 접종한다 (비동화 하지 않은 혈청을 필터하여 사용, 조직의 파쇄액을 원심분리하여 상층액을 필터하여 사용).
      - 1시간 감작 후, 10% FBS RPMI1640 배지를 넣어준다.
    - 재조합 진단 프로그램 (RDP: Recombination Detection Program)을 사용하여 재조합 분석
      - 국내 유행 PRRSV에 대한 교차방어능이 우수한 후보 바이러스주를 선별하기 위해 재조합 여부를 확인한다.
      - 전체유전자 염기서열을 기반으로 RDP 프로그램을 사용하여 분석한다.
      - RDP 프로그램의 하위 분석 방법 7개 (RDP, GENECONV, BootScan, MaxChi, Chimera, SiScan, 3Seq)를 모두 만족하는 재조합을 확인한다.
  - (나) 백신 후보물질로 한국 대표 유전형 바이러스주 10주 이상 확보
    - primary PAM에 각 유전형 별 양성 시료를 접종하여 최대한 다양한 유전형의 바이러스를 확보한다.
  - (다) 선발 백신 후보주의 계대 배양 및 바이러스 특성 변화 조사
    - primary PAM에서 맹목계대하며, passage 1번과 passage 10번의 Real-time RT-PCR의 Ct값을 비교하여 고증식 바이러스를 선발한다.
  - (라) 백신 후보주에 대한 in-vitro 스크리닝 방법 개발
    - PRRSV 유전자의 중화 epitope mapping을 이용한 스크리닝 기법 개발
    - 기보고된 PRRSV의 ORF5에 위치하는 epitope 부분을 mapping 한다.
    - 중화 epitope 뿐만 아니라, ORF5에 위치하는 B cell, T cell epitope들을 추가로 mapping 한다.
  - (마) 핵심 유전자 Bar-code analysis를 통한 신속 스크리닝 기법 개발
    - 핵심유전자는 ORF5에 mapping 한 중화에피토프, B cell epitope, T cell epitope로 한다.

- mapping 된 부위에 야외발생주의 ORF5 유전자를 align하여 Bar-code로 신속하게 비교할 수 있도록 한다.
- 위 분석기법을 연계한 백신후보주와 유행 바이러스 간 분자역학적 매칭분석기법 개발
  - 백신후보주와 야외발생주를 mapping 하여 야외발생주에 적합한 백신후보주를 스크리닝한다.
  - mapping의 결과는 Bar-code의 형태로 나타나며, 하나의 Bar-code는 하나의 변이를 뜻한다.
  - Bar-code analysis 결과를 4개의 epitope 부위 별로 숫자 형태로 변환하여 Bar-code가 가장 적은 (숫자가 가장 낮은) 적합한 백신후보주를 선발한다.
- (바) in vitro 분자역학적 매칭기법의 유효성 검증
  - 대표 백신 후보주를 이용한 항혈청 생산
    - 본 과제 기간중에는 항혈청 생산까지 도달 할 수 없어, 제 1세부과제 연구팀의 PRRSV의 유전형별 병원성 평가시험 때 확보된 항혈청을 이용한다.
- (사) 야외 PRRSV 대상 분자역학 매칭기법과 바이러스 교차 중화시험 간 비교 분석
  - 항혈청 확보된 바이러스들을 백신후보주화하며, 본 과제에서 분리 된 바이러스를 야외발생주로 한다.
  - 백신후보주의 항혈청과 야외발생주 간의 교차 중화시험을 실시한다.
  - 백신후보주와 야외발생주 간의 Bar-code analysis를 실시하여 중화시험과 비교한다.
- (아) 최종 백신 후보주는 향후 상용 백신 개발 자원으로 활용할 수 있게 분류 및 보관
  - 확보된 백신후보주들은 primary PAM에 증식시켜 -80℃에 보관하고 목록을 작성한다.

다) 연구 추진 결과

(1) 국내 유행 PRRSV의 유전형 및 병원성별 시료 بانک 구축

(가) 국내 유행 PRRSV 유전형별 바이러스 양성 시료 수집 완료

- 각 연구기관으로부터 제공받은 시료 중, 단독 감염시료 296개 (PRRSV-1 100개, PRRSV-2 196개)를 선별하였고 real time qPCR 결과 Ct값 25이하의 분리 가능성이 있는 시료 79개 (PRRSV-1 26개, PRRSV-2 53개)를 확보하였다 (표 3-1).

표 3-1. PRRSV-1, PRRSV-2의 단독감염 시료 및 선별된 분리시도 시료

	PRRSV-1		PRRSV-2	
	단독 감염시료	분리시도 시료	단독 감염시료	분리시도 시료
시료 수	100	26	196	53

(나) 양성 시료 (조직, 혈청 등) 분류 및 보관체계 구축

- 단독감염 시료중 Ct값 25이하의 시료들에 대해서는 양성시료 내역에 지역, 연도, 시료종류, 진단결과 및 바이러스 유전형 정보 등을 반영하여 장기적 연구 개발 자원으로 활용 가능하게 분류 및 보관하였다. 최종 확보된 바이러스 분리용 시료는 바이러스유전형별로 Sub1A 26개, L1은 9개, L5는 13개, L8은 5개, LKorA는 5개, LKorB는 9개, LKorC는 12개로 한국 발생 유전형을 모두 확보하였다 (표 3-2).

표 3-2. 바이러스 분리에 사용된 양성시료 내역

No.	Type	년도	도	시군구	종류	일령	Lineage
1	PRRSV-1	2019	강원	원주	고환	2주령	Sub1A
2	PRRSV-1	2021	경북	경산	폐	4주령	Sub1A
3	PRRSV-1	2019	경남	창원	혈청	6주령	Sub1A
4	PRRSV-1	2019	강원	철원	폐	4주령	Sub1A
5	PRRSV-1	2020	경북	영천	폐	4주령	Sub1A
6	PRRSV-1	2019	경북	영천	폐	4주령	Sub1A
7	PRRSV-1	2020	충남	당진	폐	4주령	Sub1A
8	PRRSV-1	2020	전북	부안	폐	4주령	Sub1A
9	PRRSV-1	2020	경기	이천	혈청	4주령	Sub1A
10	PRRSV-1	2020	경기	이천	혈청	2주령	Sub1A
11	PRRSV-1	2020	경기	포천	혈청	4주령	Sub1A
12	PRRSV-1	2020	전북	김제	폐	4주령	Sub1A
13	PRRSV-1	2019	경기	평택	혈청	7주령	Sub1A
14	PRRSV-1	2020	전북	김제	혈청	6주령	Sub1A
15	PRRSV-1	2019	경북	김천	혈청	10주령	Sub1A
16	PRRSV-1	2020	전남	무안	혈청	6주령	Sub1A
17	PRRSV-1	2020	전북	김제	혈청	9주령	Sub1A
18	PRRSV-1	2020	충북	진천	폐	6주령	Sub1A
19	PRRSV-1	2019	전북	순창	혈청	2주령	Sub1A
20	PRRSV-1	2019	전북	순창	혈청	2주령	Sub1A
21	PRRSV-1	2020	경북	칠곡	폐	4주령	Sub1A
22	PRRSV-1	2019	충남	천안	혈청	8주령	Sub1A
23	PRRSV-1	2019	충남	천안	혈청	6주령	Sub1A
24	PRRSV-1	2019	전북	완주	혈청	6주령	Sub1A
25	PRRSV-1	2019	강원	원주	혈액	4주령	Sub1A
26	PRRSV-1	2021	제주		혈청	6주령	Sub1A
27	PRRSV-2	2020	경북	군위	혈청	6주령	L1
28	PRRSV-2	2020	경기	여주	혈청	6주령	L1
29	PRRSV-2	2020	경기	안성	혈청	6주령	L1
30	PRRSV-2	2020	충남	홍성	혈청	4주령	L1
31	PRRSV-2	2020	경기	이천	혈청	4주령	L1
32	PRRSV-2	2020	충북	진천	혈청	4주령	L1
33	PRRSV-2	2021	경기	이천	혈청	4주령	L1
34	PRRSV-2	2020	경기	이천	혈청	4주령	L1
35	PRRSV-2	2020	경기	이천	혈청	4주령	L1
36	PRRSV-2	2020	제주	한림	혈액	6주령	L5
37	PRRSV-2	2020	제주	한림	폐	사산돈	L5
38	PRRSV-2	2020	경기	안성	폐	10주령	L5
39	PRRSV-2	2020	전남	진도	폐	7주령	L5
40	PRRSV-2	2019	제주	제주	혈청	6주령	L5
41	PRRSV-2	2019	강원	강릉	폐	4주령	L5
42	PRRSV-2	2020	경남	진주	폐	4주령	L5
43	PRRSV-2	2019	경북	고령	혈청	4주령	L5
44	PRRSV-2	2019	경북	고령	혈청	4주령	L5
45	PRRSV-2	2019	경북	고령	혈청	4주령	L5
46	PRRSV-2	2020	제주		혈청	4주령	L5
47	PRRSV-2	2019	경북	청도	혈청	10주령	L8
48	PRRSV-2	2019	경기	파주	혈청	4주령	L8
49	PRRSV-2	2020	강원	강릉	혈청	4주령	L8
50	PRRSV-2	2020	경기	이천	고환	2주령	L8
51	PRRSV-2	2020	경기	이천	고환	2주령	L8
52	PRRSV-2	2018	경북	상주	혈청	4주령	LKorA

53	PRRSV-2	2018	경북	경주	혈청	4주령	LKorA
54	PRRSV-2	2020	경북	경산	혈청	4주령	LKorA
55	PRRSV-2	2020	강원	철원	혈청	4주령	LKorA
56	PRRSV-2	2020	강원	철원	혈청	8주령	LKorA
57	PRRSV-2	2019	충남	공주	혈청	5주령	LKorB
58	PRRSV-2	2019	충남	보령	혈청	12주령	LKorB
59	PRRSV-2	2019	경기	안성	혈청	10주령	LKorB
60	PRRSV-2	2020	경남	거창	혈청	10주령	LKorB
61	PRRSV-2	2020	경남	거창	혈청	10주령	LKorB
62	PRRSV-2	2021	강원	철원	혈액	4주령	LKorB
63	PRRSV-2	2020	전북	익산	혈액	4주령	LKorB
64	PRRSV-2	2019	경기	안성	혈액	10주령	LKorB
65	PRRSV-2	2020	경남	양산	폐	4주령	LKorB
66	PRRSV-2	2020	충북	음성	혈액	6주령	LKorC
67	PRRSV-2	2019	경기	용인	혈액	8주령	LKorC
68	PRRSV-2	2019	충남	홍성	혈액	8주령	LKorC
69	PRRSV-2	2020	전북	익산	혈액	10주령	LKorC
70	PRRSV-2	2019	경기	용인	혈액	6주령	LKorC
71	PRRSV-2	2020	경북	경산	혈액	8주령	LKorC
72	PRRSV-2	2019	경북	포항	혈액	6주령	LKorC
73	PRRSV-2	2020	경북	경산	혈액	4주령	LKorC
74	PRRSV-2	2020	경북	경주	혈액	4주령	LKorC
75	PRRSV-2	2020	전남	무안	혈액	4주령	LKorC
76	PRRSV-2	2021	제주		폐	6주령	LKorC
77	PRRSV-2	2021	경기	안성	혈액	7주령	LKorC
78	PRRSV-2	2020	경북	고령	폐	4주령	L5
79	PRRSV-2	2018	경북	고령	폐	6주령	L5

(2) 국내 유행 PRRSV를 이용한 백신 후보물질 확보

(가) 국내 유행 PRRSV에 대한 백신 후보물질을 확보하는데 있어 다음과 같은 로드맵을 설정하였다 (그림 3-1).

- 최근발생 시료에서 PRRSV-1 또는 PRRSV-2 단독 감염 시료를 1차 선발
- ORF5 유전자를 분석하여 유전형을 분류하여 유전형별 시료를 2차 선발
- PAM cell을 이용하여 2차 선발 시료에서 바이러스를 분리한다. 분리된 바이러스는 계대 배양하여 증식능을 확인하고 고증식 백신후보주를 1차로 선발
- 1차 백신후보주의 미입바이러스를 검사하고 미오염 분리주를 2차로 선발
- 2차 선발주의 전체염기서열을 분석하여 재조합 분석하여 교차방어 가능성을 평가하고, 재조합주가 아닌 분리주도 다양한 유전형으로 확보
- 최종선발된 백신후보주는 특허출원 및 백신개발회사에 기술이전을 추진

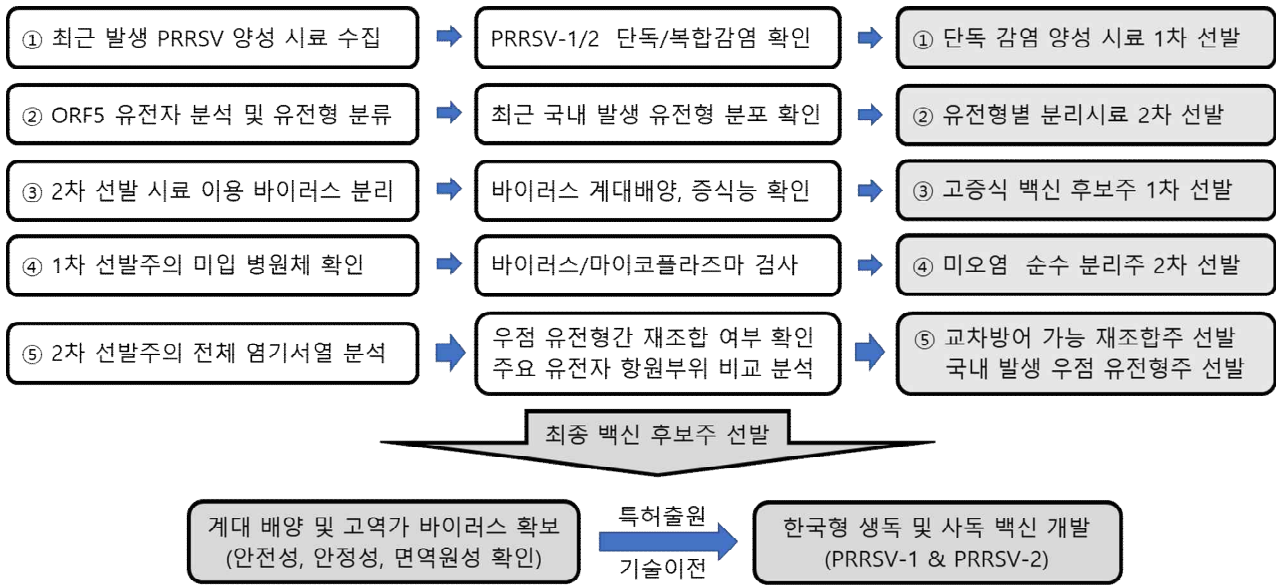


그림 3-1. PRRSV 양성 시료에서 백신후보물질 확보 전략

(나) 교차방어 유도능이 있는 백신 후보물질 확보

- 과제 제안 단계에 북미형 및 유럽형 교차방어 유도능이 있는 백신 후보물질을 확보하기 위해 북미형과 유럽형 PRRSV가 자연적으로 재조합된 바이러스를 선발하려고 하였으나, 양성시료 염기서열 분석 시 북미형과 유럽형이 재조합된 바이러스는 발견되지 않았다.
- 따라서, 유전적으로 다양한 북미형 PRRSV에 대한 Lineage 간 교차방어를 유도할 수 있는 북미형 Lineage 간 재조합 바이러스를 선발하는 것을 목표로 수정하였다.
- 교차방어 가능한 유전자 재조합 백신후보주 발굴을 위해, 분리 바이러스에 대한 전체 유전자 염기서열 분석하여, 재조합은 기존의 국내 발생 PRRSV와 백신주, Reference 주들을 포함하여 RDP 프로그램을 이용하여 분석하였다.
  - RDP 분석으로 7가지 방법을 모두 만족하는 재조합주 10주를 선발하였다 (표 3-3).
  - 이 중 증식력이 좋은 백신후보주 7주가 (1-7 번) 2차 선발 되었다.
  - 최근 한국 발생 PRRSV-2의 우점 Lineage를 포함하며 구조단백질 부분이 재조합 된 최종 2개의(1-2번) 재조합주를 최종 선발하였다 (그림 3-2).

표 3-3. 본 과제에서 선발된 PRRSV-2 재조합 주

	재조합 주	Major parent	Minor parent	재조합 부위
1	L5 KN-20045 (최종선발)	L5 VR-2332	L8 P129	nsp11 - GP2
2	LKorC KN-20021 (최종선발)	LKorB KN-19074	LKorC KN-20041	GP5 - N
3	L1 KN-20015	L1 KN-20018	L5 KN-20110	nsp1 - nsp2
4	LKorB KN-19019	LKorB KU-N1712	L5 VR2332	RdRp(nsp9)
5	LKorB KN-20092	L1 KN-20077	LKorB NA10	GP2 - N
6	L1 KN-20077	LKorC CVK3-6	L1 MN184B	nsp11 - GP2
7	LKorC KN-20029	LKorC KNU-1902	L8 KN-19056	nsp9
8	LKorB KN-19012	LKorA KNU-1606	LKorB KN-19019	GP5 - N
9	LKorC KN-20041	LKorC KN-20021	LKorA e471-2 L5 RVRp13	nsp1 - nsp7 nsp7 - nsp10
10	L1 KN-20110	L1 NADC30	L1 NADC34	nsp2 / nsp10

1997 - 2021년 PRRSV-2 발생 분포

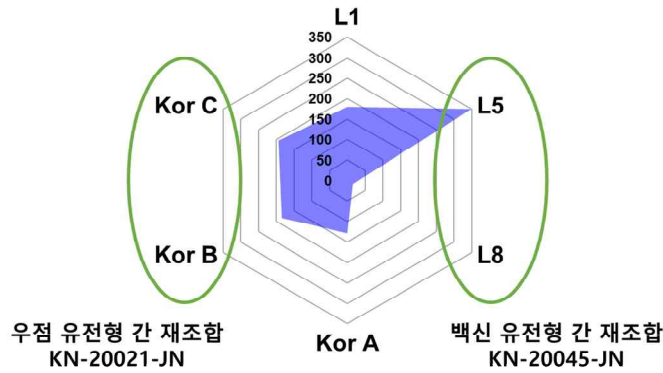


그림 3-2. 한국 PRRSV-2 재조합 백신 후보주

(다) 선발된 재조합 백신 후보물질의 기술이전 추진

- 최종 선발된 재조합 2주를 균주 특허 출원을 완료하였다
- 출원된 특허 균주는 백신개발회사에 기술이전 완료하였다.

(라) 한국 대표 유전형 별 백신 후보물질 확보

- 국내 발생 PRRSV-1 백신후보주 확보 결과
  - 앞선 국내 발생 PRRSV-1의 유전형 분포 조사 결과에 따르면 Sub1A의 다양성이 매우 큼과 동시에 현재 가장 많은 유병률을 보였다. 반면, Sub1B는 최근 발생이 보고되지 않고 있으며 Sub1C는 모두 백신유래주로 분석되었다.
  - 따라서, 국내 PRRSV-1에 대한 백신후보물질은 모두 Sub1A에서 선발하였다. 단일감염 양성 시료 100개 중, Ct값이 25이하로 측정된 26개를 이용하여 바이러스분리를 시도하였으며, 10주의 분리주를 최종 확보하였다 (표 3-4).

표 3-4. 국내 PRRSV-1 최종 백신후보주 선발 내역

PRRSV-1		
단독 감염 및 분리 가능 양성 시료	시료 개수	26
Sub1A		
유전형별 분리시료 선발	시료 개수	12
	분리주 개수	10
고증식백신 후보주선발	후보주 개수	10

○ 국내 발생 PRRSV-2 백신후보주 확보 결과

- 국내 발생 PRRSV-2의 유전형 분포 조사 결과에 따르면 L5와 L1이 우점 유전형이었지만, 최대한 다양한 Lineage의 분리주를 확보하였다.
- 단일 감염 양성 시료 196개 중, 53개의 시료를 이용하여 바이러스 분리를 시도하였으며 35개의 분리주를 최종 확보하였다 (표 3-5).

표 3-5. 국내 PRRSV-2 최종 백신후보주 선발 내역

PRRSV-2							
단독 감염 및 분리 가능 양성 시료	시료 개수	53					
		L1	L5	L8	LKorA	LKorB	LKorC
유전형별 분리시료 선발	시료 개수	9	13	5	5	9	12
	분리주 개수	9	11	3	2	7	9
	계	41					
고증식백신 후보주선발	후보주 수	7	8	2	2	7	9
	계	35					

○ 선발 백신 후보주의 계대 배양 및 바이러스 특성 변화 조사

- PRRSV-1 백신후보주 10주의 바이러스 특성 및 계대배양 시 역가 변화를 확인한 결과, PAM cell에서 계대배양 시 Passage가 지남에 따라 바이러스의 역가가 높아지는 것을 확인하였다 (표 3-6).

표 3-6. PRRSV-1 백신후보주의 바이러스 특성 및 계대배양 시 역가 변화

NO.	Subtype	Strain	P(passage)1 Ct 값		P10 Ct 값
1	1A	KE-19003-GN	26.28	→	16.78
2	1A	KE-19017-GG	19.17		15.67
3	1A	KE-19022-GB	23.63		18.58
4	1A	KE-19026-JB	22.54		15.72
5	1A	KE-19027-JB	22.07		15.79
6	1A	KE-19031-CN	19.38		17.41
7	1A	KE-19033-CN	18.67		17.41
8	1A	KE-21007-CN	20.85		18.93
9	1A	KE-20040-JB	21.56		18.85
10	1A	KE-21005-JN	23.37		16.79

- PRRSV-2 백신후보주 35주의 바이러스 특성 및 계대배양 시 역가 변화를 확인한 결과, PAM cell에서 계대배양 시 Passage가 지남에 따라 바이러스의 역가가 높아지는 것을 확인하였다 (표 3-7). 특히 L1과 LKorC의 바이러스 중, Ct값이 약 12로 측정되며 PAM cell에서 증식이 매우 잘 되는 것으로 확인되었다.

표 3-7. PRRSV-2 백신후보주의 바이러스 특성 및 계대배양 시 역가 변화



NO.	Lineage	Strain	P(passage)1 Ct 값		P10 Ct 값
1	L1	KN-20036-GB	18.14		13.7
2	L1	KN-20020-GG	17.82		14.38
3	L1	KN-20018-GG	17.92		12.52
4	L1	KN-20015-CN	16.47		13.45
5	L1	KN-21018-GG	17.9		14.87
6	L1	KN-21035-GG	19.33		16.5
7	L1	KN-20075-GG	19.85		12.64
8	L5	KN-20064-JJ	25.49		18.23
9	L5	KN-20045-JN	24.13		14.67
10	L5	KN-19074-GG	25.15		13.66
11	L5	KN-20095-GN	26.75		15.35
12	L5	KN-19070-GB	20.19		17.82
13	L5	KN-19069-GB	19.13		16.82
14	L5	KN-19071-GB	20.79		18.86
15	L5	KN-20055-JJ	21.08		19.52
16	L8	KN-19005-GB	21.37		15.15
17	L8	KN-19056-GG	19.16		14.57
18	LKorA	KN-20026-GW	19.60	→	15.6
19	LKorA	KN-20027-GW	20.29		14.47
20	LKorB	KN-19019-CN	21.94		13.74
21	LKorB	KN-19012-CN	19.29		14.86
22	LKorB	KN-19075-GN	23.14		19.43
23	LKorB	KN-20039-GN	18.01		14.59
24	LKorB	KN-21032-GW	17.92		14.61
25	LKorB	KN-19035-GG	18.88		12.62
26	LKorB	KN-20092-GN	18.62		14.19
27	LKorC	KN-20041-CB	15.78		12.68
28	LKorC	KN-19029-GG	22.38		12.8
29	LKorC	KN-19003-CN	19.18		14.02
30	LKorC	KN-20029-JB	19.67		14.27
31	LKorC	KN-19050-JN	19.43		17.1
32	LKorC	KN-21021-GB	27.47		13.9
33	LKorC	KN-19080-GB	15.75		12.76
34	LKorC	KN-20021-JN	13.54		13.94
35	LKorC	KN-21009-JN	23.25		17.53

(3) 백신 후보주에 대한 in-vitro 스크리닝 방법 개발

- PRRSV는 유전적 다양성이 매우 크게 나타나기 때문에, 분자역학적 수준에서 효과적인 백신을 선별하는 기준이 명확하지 않다.
- PRRSV의 ORF5는 중화에피토프, B 세포 에피토프, T 세포 에피토프 등이 분포하며 PRRSV 방어항체 형성에 중요한 역할을 한다. 따라서 ORF5에 분포하는 에피토프의 Barcode analysis를 통해 국내 발생 PRRSV에 적합한 백신후보주를 선별할 수 있을 것으로 판단되어 epitope mapping 기법을 확립하였다

(가) PRRSV 유전자의 중화 epitope mapping을 이용한 스크리닝 기법 개발

○ PRRSV-1의 epitope mapping 결과

- 기 보고된 연구 결과(Díaz et al., 2009, Mokhtar et al., 2014, Vanhee et al., 2011,

Wissink et al., 2003)를 토대로 PRRSV-1 ORF5 서열에 중화에피토프, B 세포 에피토프, T 세포 에피토프 부위를 mapping하였다 (그림 3-3).

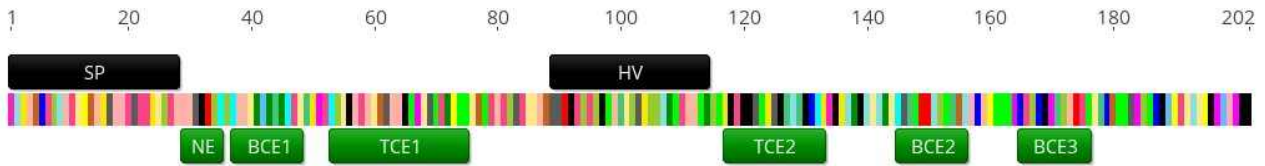


그림 3-3. PRRSV-1 ORF5의 에피토프 mapping. SP, signal peptide); HV, hypervariable region; NE, Neutralizing epitope; BCE, B cell epitope; TCE, T cell epitope).

○ PRRSV-2의 epitope mapping 결과

- 기 보고된 연구 결과(Hanada et al., 2005, Plagemann et al., 2002, Pond et al., 2005)를 토대로 PRRSV-2 ORF5의 중화에피토프, B 세포 에피토프, T 세포 에피토프부위를 mapping 하였다 (그림 3-4).

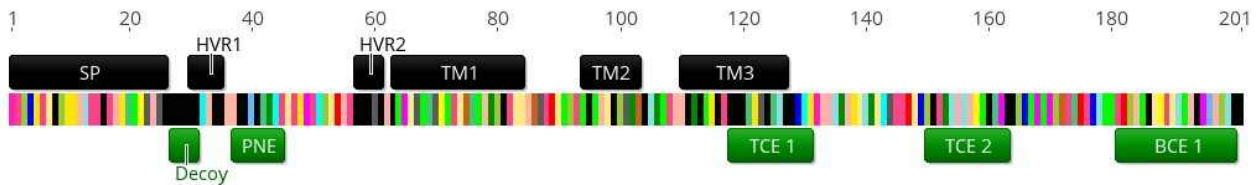


그림 3-4. PRRSV-2 ORF5의 에피토프 mapping

(나) 주요 항원 부위 유전자의 Bar-code analysis

- PRRSV-1/-2의 각 Subtype 또는 Lineage 별 백신후보주의 에피토프는 각각 다른 Barcode 형태를 가진다 (그림 3-5).
- 발생한 PRRSV의 ORF5 염기서열을 분석하여 백신후보주의 에피토프에 대비하면 백신후보주의 에피토프부위와 일치하는 부위는 '회색'으로 나타나며 일치하지 않는 부위는 '검정색'으로 나타난다.
- '검정색'으로 나타난 불일치 부위를 숫자로 나타내어 가장 적은 숫자 패턴을 가지는 백신후보주가 야외주와 에피토프가 가장 유사하며, 적합한 방어항체를 형성 할 수 있다.

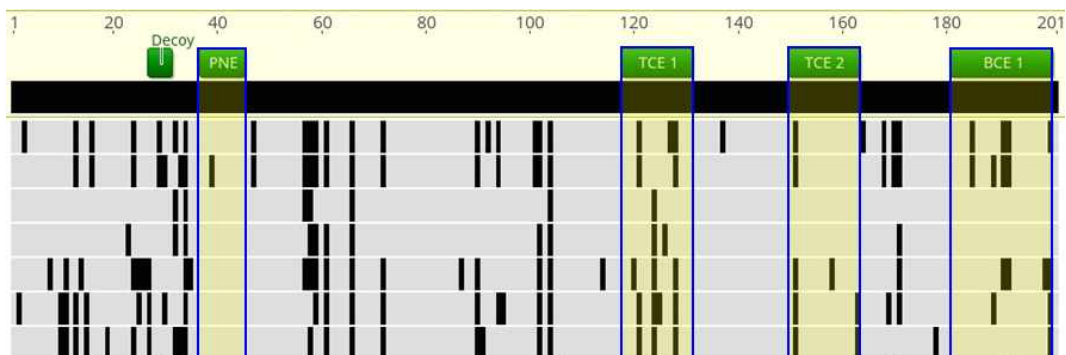


그림 3-5. 백신후보주의 ORF5 유전자 염기서열을 이용한 epitope Barcode analysis 예시

(다) Bar-code analysis를 이용한 백신후보주와 야외발생주 간 매칭분석기법 개발

○ PRRSV 발생과 에피토프 Barcode analysis

- 야외발생주의 ORF5 염기서열을 기준으로 백신주들의 ORF5 염기서열을 대비했을 때, epitope 부위의 바코드 패턴을 숫자로 정리한다 (그림 3-6).
- 여러 백신후보주들 중에 바코드 패턴의 숫자가 가장 작은 패턴을 적합한 백신주로 선발한다. 동일한 패턴의 후보주는 ORF5 상동성 비교를 통해 선발한다.

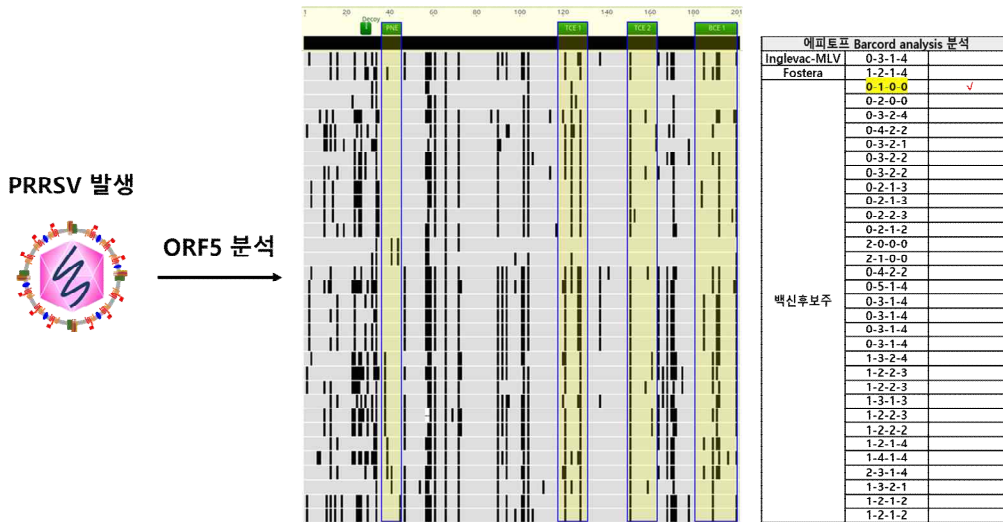


그림 3-6. 야외주와 백신후보주의 에피토프 매칭분석(Barcode analysis) 예시

(라) in vitro 분자역학적 매칭기법의 유효성 검증

○ 대표 백신 후보주를 이용한 항혈청 생산

- 본 과제 기간 내에 백신후보주들에 대한 항혈청을 확보하는 것은 기간상 어려움이 있었다. 기간 내에 확보 가능했던 항혈청은 병원성 평가시험에서 사용된 바이러스의 항혈청으로, PRRSV-1 4개 항혈청, PRRSV-2 7개 항혈청이며 내역은 다음과 같다.

- PRRSV-1 : Sub1A 1주, Sub1C 1주, Unistrain 백신주, Porcilis 백신주
- PRRSV-2 : L1 1주, L5 1주, LKorA 1주, LKorB 1주, LKorC 1주, Ingelvac MLV 백신주, Fostera 백신주

- PRRSV 야외발생주를 대상으로 분자역학 매칭기법과 in vitro 바이러스 교차 중화시험 간 비교 분석을 실시하였다. PRRSV 분리주에 대한 중화능을 중화시험을 통해 비교하기 위해서는 MARC-145 세포에서 증식이 가능한 바이러스주가 요구된다. 따라서, MARC-145 세포에 증식 가능한 바이러스와 항혈청이 확보된 바이러스에 대해서 매칭기법을 적용하고 교차방어시험을 통해 검증을 하였다.

○ PRRSV-1 바이러스의 에피토프 Barcode analysis 결과와 중화시험 비교

- PRRSV-1 분리주 중, MARC145 세포에서 증식 가능한 바이러스 1종을 확보하였으며, 해당 바이러스를 대상으로 에피토프 Barcode analysis와 중화시험을 시행하였다 (표 3-8).
- 에피토프 매칭결과, 같은 Sub1C 바이러스의 0-1-1-0-0의 패턴과 Unistrain의 0-2-0-0-0 패턴이 가장 유사하게 나타났다.
- 하지만 중화시험 결과, Sub1C의 항혈청은 방어능이 없었으며, Unistrain 백신 항혈청은 1:8의 중화능을 보였다.

- Porcilis 백신은 1-4-1-2-2의 매칭결과로 매칭은 안되는 것으로 분석되지만, 1:4의 낮은 정도의 중화능을 보였다.
- 실험 결과, 두 결과의 연관성이 없는 것으로 확인되었지만 Sub1A와 Sub1C의 더 많은 바이러스에 대한 매칭기법과 중화시험의 연관성이 실험이 필요할 것이다.

표 3-8. PRRSV-1 에피토프 Barcode analysis와 중화시험 결과

에피토프Barcodeanalysis / 중화시험 결과	PRRSV-1 백신후보주와 시판 백신주의 항혈청			
	Sub1A	Sub1C	Unistrain	Porcilis
Sub1C 2021년 야외주	1-4-3-1-2 X	0-1-1-0-0 X	0-2-0-0-0 1:8	1-4-1-2-2 1:4

○ PRRSV-2 바이러스의 에피토프 Barcode analysis 결과와 중화시험 비교

- PRRSV-2 분리주 중에 MARC145 세포에서 증식 가능한 바이러스 3종을 확보하였으며, 해당 바이러스를 대상으로 에피토프 Barcode analysis와 중화시험을 시행하였다 (표 3-9).
- LKorA 야외주의 매칭결과, 가장 적은 숫자 패턴은 동일한 Lineage의 1-3-1-0 패턴이었으며, 해당 항혈청은 바이러스에 대해 1:4의 중화능을 보였다.
- LKorC 야외주의 매칭결과, 동일한 Lineage의 바이러스와 0-0-0-0의 완벽한 매칭결과를 보였으며, 해당 항혈청은 바이러스에 대해 1:4의 중화능을 보였다. 또한 다음으로 매칭결과가 좋은 L1의 항혈청이 바이러스에 대해 1:4의 중화능을 보였으며, 나머지 항혈청은 중화능이 없었다.
- L5 야외주의 매칭결과, 동일한 리니지의 바이러스와 0-0-1-0의 매칭결과를 보였으며, 해당 항혈청은 바이러스에 대해 1:8의 중화능을 보였다. 차선의 매칭결과를 보인 Ingelvac MLV 백신주도 1:8의 중화능을 보였다.
- PRRSV-2의 경우, 에피토프 Barcode analysis 매칭의 결과와 중화시험의 결과가 유의한 것으로 나타났다. 매칭 숫자가 적은 바이러스들의 항혈청이 1:4 - 1:8의 방어능을 보였다. 특히 0-0-0-0 또는 0-0-1-0 등 매칭이 확실한 바이러스의 항혈청이 1:8의 중화능을 보였다. 매칭 숫자가 큰 바이러스들의 항혈청은 방어능을 보이지 못했다.

표 3-9. PRRSV-2 에피토프 Barcode analysis와 중화시험 결과

에피토프Barcodeanalysis / 중화시험 결과	PRRSV-2 백신후보주와 시판 백신주의 항혈청						
	L1	L5	LKorA	LKorB	LKorC	Ingelvac-MLV	Fostera
LKorA 2019년 야외주	1-3-1-3 1:4	1-3-1-4 X	1-3-1-0 1:4	2-3-1-3 X	1-4-0-3 X	1-3-0-4 1:4	0-3-0-5 1:4
LKorC 2019년 야외주	0-2-1-0 1:4	0-2-1-3 X	1-4-1-3 X	1-3-1-2 X	0-0-0-0 1:4	0-2-0-3 X	1-2-0-5 X
L5 2020년 야외주	0-4-0-3 X	0-0-1-0 1:8	1-5-2-4 X	1-3-2-3 X	0-2-1-3 X	0-1-1-0 1:8	1-2-1-2 1:4

## 2-4. PRRS 방역 지침 및 백신 접종 가이드라인 제시 (제1 세부-경북대)

### 1) PRRS 방역지침 제시

#### 가) 한국의 PRRS 방역관리 규정에 대한 검토 방향

- (1) 한국의 PRRS 방역관리는 가축전염병예방법과 종돈장방역실시요령(농림축산식품부 고시)에 의해 이루어지고 있다.
- (2) 그 외 우수 종축업체 (종돈장 및 정액처리업체)는 우수 종축업체 인증에 관한 고시 (국립축산과학원고시 제2018-1호)에 따라 PRRS 질병검사를 정기적으로 받도록 되어 있으니 이 고시는 축산법 및 축산법 시행규칙에 근거하여 우수 종축업체를 인증 받으려고 하는 종돈장 및 정액처리업체에 한하여 적용되는 규정이기 때문에 일반 종돈장 및 정액처리업체에 포괄적으로 적용되는 규정은 아니다.
- (3) 따라서 이 연구에서는 한국의 모든 종돈장과 정액처리업체가 적용받는 현행 가축전염병예방법과 종돈장 방역관리요령의 내용을 검토하여 문제점 및 개선방안을 제시하였다.

#### 나) PRRS 관련 가축전염병예방법의 방역관리 규정 검토

##### (1) 가축전염병예방법의 PRRS 방역관리 주요 내용

- (가) PRRS는 가축전염병예방법상 제3종 법정전염병으로 지정 관리되며, 발생농장에 대해서는 2종 가축전염병에 준하는 이동제한, 역학조사, 사육제한, 업무 정지 등의 방역조치를 취할 수 있도록 규정되어 있다.
- (나) 단, 단서조항에 의거, “가축방역관의 지도에 따라 가축전염병의 전파 방지를 위한 세척·소독 등 방역조치를 한 후 도축장으로 출하하거나 계약사육농가로 이동하려는 경우 이동제한에 관하여는 제19조 제1항 제1호를 준용하지 아니한다.”라고 규정하고 있어 도축장 출하 및 계약사육농가로의 이동은 허용되고 있다.

### <관련 법규>

#### ① 가축전염병예방법상 돼지의 제3종 가축전염병 종류 (5종)

- 돼지생식기호흡기증후군, 돼지전염성위장염, 돼지유행성설사, 돼지단독, 돼지위축성비염

#### ② 3종 가축전염병의 방역조치 규정

- 제28조의2(제3종 가축전염병에 대한 조치) 제3종 가축전염병에 대하여는 제19조 제1항 제1호 및 같은 조 제2항부터 제4항까지 및 제8항을 준용한다. 다만, 가축방역관의 지도에 따라 가축전염병의 전파 방지를 위한 세척·소독 등 방역조치를 한 후 도축장으로 출하하거나 계약사육농가로 이동하려는 경우 이동제한에 관하여는 제19조 제1항 제1호를 준용하지 아니한다.
- \* 제28조(제2종 가축전염병에 대한 조치) 제2종 가축전염병에 대하여는 제19조 제1항 제1호·제3호, 같은 조 제2항부터 제4항까지 및 제8항, 제20조 제1항 본문 및 제2항, 제21조를 준용한다.
- 제19조(격리 및 가축사육시설의 폐쇄명령 등) ① 시장·군수·구청장은 가축전염병이 퍼지는 것을 막기 위하여 농림축산식품부령으로 정하는 바에 따라 다음 각 호의 조치를 명할 수 있다.  
(2종 전염병에 준하는 이동제한, 역학조사, 사육제한, 업무 정지 등의 방역조치)

#### (2) 현황 및 문제점

- (가) 현행 가축전염병예방법 상으로는 PRRS를 포함한 18종의 가축전염병들이 제3종 가축전염병으로 지정되어 있으며, 그 중 돼지 전염병은 PRRS를 포함한 5종의 전염병이 포함되어 있다, 제3종 가축전염

병은 법 규정에 따라 일련의 방역조치를 이행해야 하는 질병이기 때문에 PRRS만을 별도로 분리하여 방역관리 규정을 제시하는 것은 사실상 불가능하다. 따라서 PRRS에 대한 방역관리 규정 개선을 위해서는 현행 가축전염병예방법에서 정한 가축전염병의 분류 체계를 검토 및 개정하는 작업이 이루어져야 한다.

(나) 당초 제3종 가축전염병 분류 목적

- 과거의 분류체계 (제1종과 제2종 가축전염병)에 제3종 가축전염병을 추가하여 제1종, 제2종 및 제3종 가축전염병으로 개선하게 된 것은 “PRRS와 같은 상재성 질병인 경우, 현실적으로 국가가 관리하기 불가능하므로, 국가 방역이 아닌 농가 자율방역 대상 질병으로 변경하자”는 의도가 있었다.
- 그러나 법 개정 당시 제3종 가축전염병에 대한 방역조치를 제2종 가축전염병에 준하도록 규정해버림으로써 사실상 제3종 가축전염병을 추가로 분류하게 된 당초 개정안의 취지가 적절하게 반영되지 못했다.

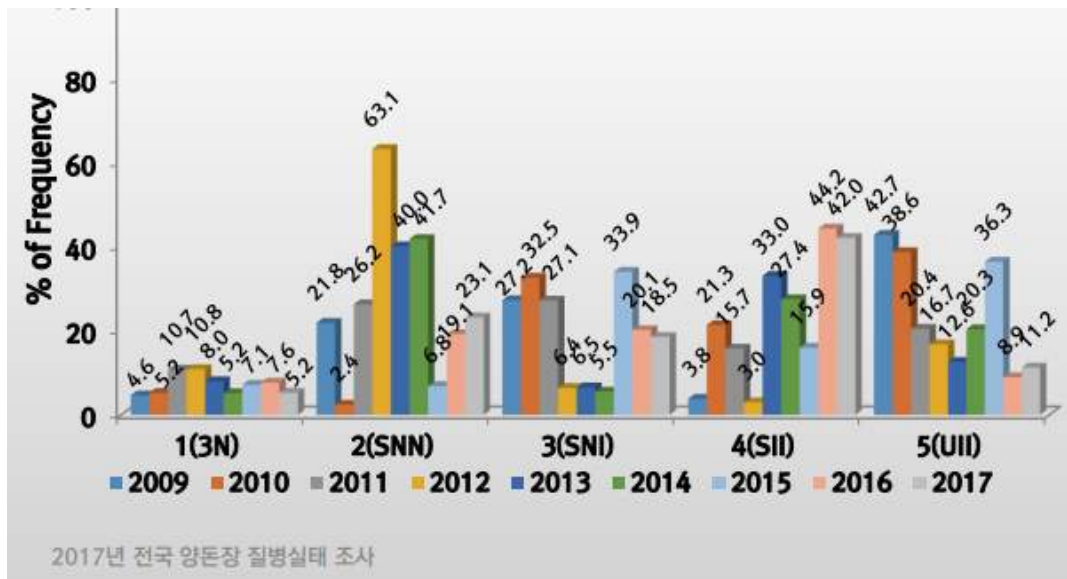


그림 4-1. PRRS의 농가 감염 유형 분석결과 (출처: 2017년 전국양돈질병 실태조사 발표자료).

\* 3N 유형 (비감염농장), SNN 유형 (안정화농장), SNI, SII 및 UII 유형 (감염 농장)

(다) 제3종 가축전염병에 대한 국가 방역관리의 문제점

- 제3종 가축전염병으로 분류된 전염병 특히, 돼지의 전염병은 한국의 축산 농가에서 산발적 또는 상재성으로 발생하고 있는 전염병들이다.
- PRRS를 예를 들면, 한국한돈협회에서 발표한 2017년 전국 양돈장 질병실태조사보고서 (농림축산식품부 돼지소모성질환 지도지원사업 연계 전국 330 농가 질병 조사 결과)에 따르면 현재 3종 가축전염병으로 지정되어 있는 PRRS의 경우, 약 70%의 농장이 현재 감염이 진행 중인 유형으로 분류되었으며, 이러한 발생 양상은 연도별로 다소 차이가 있으나 거의 유사하였다.
- 이와 같이 전국 대부분의 양돈장에 감염되고 있는 상재성 전염병에 대해 국가가 이동제한 등의 방역조치를 강제한다는 것은 현실적으로 실현 불가능하다고 판단된다. 만약 현행 가축전염

병에 따라 방역기관에서 이동제한 등 방역조치를 충실히 이행한다고 하면 한국 양돈산업의 운영 자체가 불가능해 질 것이며, 역으로 방역당국에서 이를 그냥 두고 넘어간다고 하면 방역당국이 법에 규정된 의무를 이행하지 않는 것이 된다. 사실상 현장에서는 부득이 후자의 경우에 따라 PRRS에 대한 방역을 허술하게 적용해 온 것이 사실이다.

- 전국에 상재화된 PRRS에 대한 효과적인 방역활동을 위해서는 양돈장 및 종돈장의 PRRS 발생 상황과 발생 바이러스의 유전형 분석 등 구체적인 발생 상황 정보 확보가 필수적이다. 그러나 농가 입장에서는 제3종 가축전염병인 PRRS에 대한 발생 보고를 하게 되면 이동제한 등 당장의 불이익을 받기 때문에 발생 상황을 숨기게 된다. 이로 인해 질병 발생 사실이 숨겨지고, 질병 발생 통계가 왜곡이 되기 때문에 국가, 지역 및 농장 단위 PRRS 방역이 더욱 어려워지게 된다.
- 따라서 지금이라도 당초 3종 가축전염병을 추가로 구분 지정하게 된 가축전염병예방방법의 개정 취지를 살려서 제3종 가축전염병 발생 시에는 농가에서 자율적으로 방역조치를 실시하되, 방역당국에는 발생 보고만 하는 방향으로 가축전염병예방방법 관련 조항을 개정할 필요가 있다.

#### 다) 방역 효율성 제고를 위한 가축전염병 분류체계 개선방안

##### (1) 현황

##### (가) 가축전염병 지정 및 등급 분류

- 가축전염병예방방법 (동법 시행규칙)에 따라 총 68종의 가축전염병을 제1종(15종), 제2종(32종) 및 제3종(21종) 가축전염병으로 구분하여 지정하고 있다(표 4-1).
- 가축 종류별로는 반추류 전염병 26종(세균성 8종, 바이러스성 12종, 원충성 3종 및 프리온성 3종), 돼지 전염병 12종(세균성 2종 및 바이러스성 10종), 가금 전염병 14종(세균성 4종 및 바이러스성 10종), 토끼 3종(세균성 1종 및 바이러스성 2종) 및 꿀벌 2종(세균성 1종 및 바이러스성 1종)이 각각 지정되어 있어 반추류의 전염병이 가장 많은 비율을 차지하고 있다.

##### (가) 가축전염병 발생에 따른 방역조치(표 4-2)

- 가축전염병 발생 시에는 법 제19조(격리와 가축사육시설의 폐쇄명령 등), 제19조의2(일시 이동중지 명령), 제20조(살처분명령), 제21조(도태권고 및 명령)에 따라 다양한 방역조치를 취할 수 있으며, 가축전염병의 등급 및 종류에 따라 발생농장 및 발생지역에 대해 차별화된 방역조치를 취할 수 있다.
- 제1종 가축전염병에 대한 방역조치: 상기 모든 방역조치가 가능하며, 아래 7종의 제1종 가축전염병에 대해서는 발생 농장뿐만 아니라 발생지역에 포함된 미 발생 농장에 대한 예방적 살처분 조치가 가능하다.
  - 우역, 우폐역, 구제역, 돼지열병, 아프리카돼지열병, 뉴캐슬병, 고병원성조류인플루엔자
- 제2종 가축전염병에 대한 방역조치: 제2종 가축전염병 중에서 아래 8종은 농장 살처분이 가능하며, 나머지 2종은 이동제한, 도태권고 등의 방역조치가 가능하다.
  - 브루셀라병, 결핵병, 돼지오제스키병, 돼지인플루엔자(H5 또는 H7 혈청형), 광견병, 소해면상뇌증, 사슴만성소모성질병, 스크래피(양해면상뇌증)
- 제3종 가축전염병에 대한 방역조치: 제3종 가축전염병은 살처분 및 도태 권고(명령), 교통차단/출입통제 조항은 없으나 나머지 방역조치는 제2종 전염병과 동일하며, 이동 제한, 물품 반출 금지, 가축 방목 제한, 가축 사육시설 폐쇄, 가축 사육 제한(6개월 이내), 법 위반 가축운송업

자 및 도축업 영업자의 업무 정지 등의 방역조치가 가능하다.

표 4-1. 제1종, 제2종 및 제3종 가축전염병 (가축전염병예방법 및 동법 시행규칙)

가축	원인체	제1종 (15종)	제2종 (32종)	제3종 (21종)
반추수 (26종)	세균(8)	우폐역	탄저, 기종저, 소결핵병, 요네병, 소브루셀라병, 큐열	소렙토스피라병
	바이러스(12)	우역, 가성우역, 구제역, 블루팅병, 리프트게곡열, 럼프스킨병, 양두, 수포성 구내염		소유행열, 소아카바네병, 소전염성비기관염, 소류코시스(지방병성)
	원충(3)		타이레리아병 (팔바 및 에놀라 타), 바베시아병 (비제미나 및 보 비스), 아나플라즈마병 (마지날 레)	
	프리온 (3)		소해면상뇌증, 스크레피(양해면상 뇌증), 사슴만성소모성질병	
돼지 (12종)	세균(2)			돼지단독, 돼지위축성비염
	바이러스(10)	돼지열병, 아프리카돼지열병, 돼지수포병	돼지오제스키병, 돼지일본뇌염, 돼지텃센병, 돼지인플루엔자 (H5, H7 및 신종 인플루엔자 H1N1)	돼지생식기호흡기증후군, 돼지전염성위장염, 돼지유행성설사
가금 (14종)	세균(4)		추백리, 가금티프스, 가금콜레라	닭마이코플라즈마병
	바이러스(10)	뉴캐슬병 고병원성조류인플루엔자	오리바이러스성감염 오리바이러스성장염	저병원성조류인플루엔자, 닭뇌척수염, 마렉병 닭전염성후두기관염 닭전염성기관지염 닭전염성에프(F)낭법
말 (10종)	세균(2)		비저, 말전염성자궁염	
	바이러스(7)	아프리카마역	말전염성빈혈, 말전염성동맥염 동부말뇌염, 서부말뇌염, 베네주 엘라말뇌염, 마웨스트나일열	
	원충(1)		구역(dourine)	
기타 가축 (6종)	세균(2)			부저병, 야토병
	바이러스(4)		광견병 낭충봉아부패병	토끼출혈병 토끼점액종증

\* 2021년 시행규칙 개정으로 토끼 전염병 3종 즉, 토끼출혈병 (칼리시바이러스), 토끼점액종증 (폭스 바이러스), 야토병이 제3종 가축전염병에 포함되고, 뉴캐슬병이 살처분 대상 전염병으로 방역관리가 강화됨.



표 4-2. 가축전염병예방법에 의한 법정 가축전염병의 방역조치 내용

구분	방역조치
제1종 가축 전염병	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 법 제19조 1항 (격리와 가축사육시설의 폐쇄명령 등)</li> <li>• 법 제19조의 2(가축 등에 대한 일시이동중지 명령)</li> </ul> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 법 제20조(살처분명령) - 발생(의심) 농장 살처분               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 제1종 가축전염병 : 농장 살처분</li> <li>- 우역, 우폐역, 구제역, 돼지열병, 아프리카돼지열병 또는 고병원성조류인플루엔자 (지역 살처분 가능)</li> </ul> </li> <li>• 시행규칙 제23조 (살처분 명령 등)               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 제1종 가축전염병 : 우역, 우폐역, 구제역, 돼지열병, 아프리카돼지열병, 뉴캐슬병, 고병원성조류인플루엔자</li> <li>- 제2종가축전염병: 소브루셀라병, 결핵병, 소해면상뇌증, 돼지오제스키병, 돼지인플루엔자 (H5 또는 H7 혈청형 바이러스만 해당한다), 광견병, 사슴만성소모성질병, 스크래피(양해면상뇌증)</li> <li>- 그 밖에 가축전염병이 퍼지는 것을 막기 위하여 긴급하다고 인정하여 농림축산식품부장관이 정하는 제1종가축전염병 또는 제2종가축전염병</li> </ul> </li> </ul> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 법 제21조 (도태권고 및 명령)               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 제1종 가축전염병 재발 및 전파 우려 시</li> <li>- 우역, 우폐역, 구제역, 돼지열병, 아프리카돼지열병 또는 고병원성 조류인플루엔자 발생 및 전파 우려시 (도축장 출하 도태 권고)</li> </ul> </li> <li>• 시행규칙 제24조 (도태의 권고 및 명령)               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 제1종가축전염병: 우역, 우폐역, 구제역, 돼지열병, 아프리카돼지열병, 고병원성조류인플루엔자</li> <li>- 제2종가축전염병: 소브루셀라병, 소결핵병, 돼지오제스키병, 추백리, 가금티프스</li> <li>- 그 밖에 가축전염병이 다시 발생하거나 퍼지는 것을 막기 위하여 긴급하다고 인정하여 농림축산식품부장관이 정하는 가축전염병</li> </ul> </li> </ul>
제2종 가축 전염병	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 제2종 가축전염병에 대한 조치: 제19조 제1항 제1호, 제3호, 같은 조 제2항부터 제4항까지 및 제8항, 제20조 제1항 본문 및 제2항, 제21조를 준용한다.               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 제19조 제1항 제1호: 이동 제한</li> <li>- 제19조 제1항 제3호: 교통차단, 출입통제 또는 소독</li> <li>- 제19조 제2항: 물품 반출 금지</li> <li>- 제19조 제3항: 가축 방목 제한</li> <li>- 제19조 제4항: 가축 사육시설 폐쇄, 가축 사육 제한 (6개월 이내)</li> <li>- 제19조 제8항: 위반 가축운송업자, 도축업 영업자의 업무 정지</li> <li>- 제20조제1항 본문 및 제2항, 발생농장 또는 발생지역 농장 살처분</li> <li>- 제21조: 가축의 도태 권고 또는 명령</li> </ul> </li> </ul>
제3종 가축 전염병	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 제3종 가축전염병에 대한 조치: 제19조 제1항 제1호 및 같은 조 제2항부터 제4항까지 및 제8항을 준용한다. 다만, 가축방역관의 지도에 따라 가축전염병의 전파 방지를 위한 세척·소독 등 방역조치를 한 후 도축장으로 출하하거나 계약사육농가로 이동하려는 경우 이동제한에 관하여는 제19조 제1항 제1호를 준용하지 아니한다.               <ul style="list-style-type: none"> <li>- 제19조 제1항 제1호: 이동 제한</li> <li>- 제19조 제2항: 물품 반출 금지</li> <li>- 제19조 제3항: 가축 방목 제한</li> <li>- 제19조 제4항: 가축 사육시설 폐쇄, 가축 사육 제한 (6개월 이내)</li> <li>- 제19조 제8항: 위반 가축운송업자, 도축업 영업자의 업무 정지</li> </ul> </li> </ul>

(2) 문제점 및 개선 필요성

(가) 가축전염병 지정 및 등급 분류의 문제점

○ 가축전염병 등급에 대한 기준 결여

- 총 68종의 가축전염병을 제1종, 제2종 및 제3종 가축전염병으로 등급을 구분하여 지정하고 있으나 해당 전염병 등급(종)에 대한 정의(기준)가 법에 규정되어 있지 않다.
- 따라서 현재 각 등급(종)으로 분류된 가축전염병이 해당 등급에 적절하게 분류된 것인지에 대한 판단 자체가 곤란하다.
- 만약 새로운 가축전염병이 발생(출현)하여 질병등급을 정해야 할 경우에도 등급 분류기준이 없어 혼란이 초래될 수 있다.

※ “감염병의 예방 및 관리에 관한 법률”에서는 각 등급별 감염병에 대한 정의를 규정하고 있으며, 해당 정의에 따라 각 감염병의 등급을 분류하고 있다.

○ 개별 가축전염병의 특성을 고려한 등급 재분류 필요

- 제1종, 제2종 및 제3종 가축전염병의 정의(기준)가 없는 상황에서 다양한 가축전염병들을 해당 전염병의 특성을 고려하지 않은 채 분류하고, 그에 따른 방역조치를 강제하고 있어 국가 방역자원 낭비와 방역의 효율성 저하는 물론 축산농가의 경제적 손실과 불편을 초래하고 있다.

○ 최근 전염병 발생상황 및 전염병의 특성을 고려한 가축전염병 등급 신설 필요

- “감염병의 예방 및 관리에 관한 법률”에서는 감염병의 특성과 방역조치 범위에 따라 제1군에서 제4군까지의 감염병을 분류하는 동시에 특정 감염병에 대한 효율적인 감시 및 통제를 위하여 세계보건기구 감시대상 감염병, 생물테러감염병, 성매개감염병, 인수공통감염병, 의료관련감염병 등을 따로 규정 및 분류하고 있다.
  - 인수공통감염병의 효율적인 관리를 위하여 의학분야와 수의학분야의 원헬스 개념이 강조되고 있는 현 상황에서 인수공통감염병 발생의 근원이 되는 동물에 대한 인수공통전염병 관리 체계 구축이 시급하나 현 가축전염병방법에는 인수공통전염병에 대한 분류 및 관리 규정이 없음.
  - 가축 생산체계의 특성상 종축에 발생하는 전염병에 대한 각별한 방역관리가 필요하나 종축 발생 전염병에 대한 분류 및 관리 규정이 없음,
- 따라서 가축전염병의 효율적인 방역관리를 위하여 “감염병의 예방 및 관리에 관한 법률”의 예 처럼 가축전염병 등급에 대한 합리적인 정의를 설정하고, 설정된 정의 및 분류기준에 따라 가축전염병의 등급을 재분류할 필요가 있으며, 인수공통감염병, 종축 감시 대상 전염병 등 감시 미 통제 활동이 필요한 전염병 등급 신설이 필요하다.

(3) 개선방안

(가) 가축전염병예방법의 가축전염병 등급 분류 개선 (안)

○ 기존 제1종, 2종 및 3종 가축전염병에 대한 정의 규정

- 우리나라 “감염병의 예방 및 관리에 관한 법률”에서는 사람에 대한 치명률과 전파 가능성 등을 고려하여 감염병 등급을 제1급, 제2급, 제3급 및 제4급 감염병으로 분류하고, 그 외 특정한 관리대상 및 목적에 따라 세계보건기구 감시대상 감염병, 생물테러감염병, 성매개감염병, 인수공통감염병 및 의료관련감염병을 추가로 분류 및 정의하고 있다.
- 가축전염병도 위 감염병예방법의 정의를 변형 적용하여 가축에 대한 치명률과 전파 위험성 및 적용해야 할 방역관리의 수준을 고려하여 제1종, 제2종 및 제3종 가축전염병의 정의를 명확

하게 규정할 필요가 있다 표 4-3).

○ 종축 감시대상 가축전염병 및 인수공통전염병 분류 신설

- 제1종, 제2종 및 제3종 가축전염병으로 지정되지 않은 가축전염병 중에서도 축산업에 피해를 입히거나 국민 보건에 영향을 미칠 수 있는 가축전염병에 대한 감시 활동이 필요하다.
- 현재 종축의 가축전염병질병 전파 방지를 위하여 법 제3종, 제15조 및 제16조에 근거하여 종돈장 방역관리요령, 종계장·부화장 방역관리요령을 농림축산식품부 고시로 운영하고 있다.
  - 종돈장 방역관리 요령의 대상 전염병은 5종 즉, 구제역, 돼지열병, 돼지오제스키병, 돼지브루셀라병, 돼지생식기호흡기증후군이 지정되어 있으나 발생상황 등을 고려하여 관리 대상에서 제외해야 할 전염병 또는 추가 지정이 필요한 전염병에 대한 검토가 필요하다.
  - 종계장·부화장 방역관리요령의 대상 전염병은 3종 즉, 추백리, 가금티푸스, 닭마이코플라스마병(*Mycoplasma gallisepticum* 감염증)이 지정되어 있으나 그외 추가 지정이 필요한 전염병에 대한 검토가 필요하다.

※ 종축감시대상 전염병은 종돈장방역관리요령 또는 종계장·부화장 방역관리요령에 의해 방역관리되고 있으나 실질적인 방역 목표 달성을 위하여 해당 전염병의 발생역학 등 특성을 고려한 구체적인 방역관리지침이 필요함. 따라서 각 질병별로 개별 방역관리요령을 제정하여 방역의 효율성을 높일 필요성이 있다.

○ 인수공통전염병 분류 신설

- 동물인플루엔자 바이러스, 광견병 등 동물에서 유래한 다수의 인수공통감염병들을 감염병예방법에서 법정 감염병으로 지정관리하고 있는 반면에 정작 인수공통감염병 발생의 근원이 되는 동물의 감염에 대해서는 정의 조차 규정되어 있지 않다.
- 따라서 추가로 인수공통전염병 분류를 신설하여 공중보건에 위해를 입힐 수 있는 가축 유래 인수공통전염병에 대한 효율적인 방역관리를 통하여 국민 보건 증진에 기여할 수 있도록 해야 한다(표 4-3).

(나) 가축전염병 분류체계 및 기준 개선(안)

○ 기존 제1종, 제2종 및 제3종 가축전염병의 재분류안

- 제1종 가축전염병의 범주
  - 국내 미발생 가축전염병으로 국내 유입 시에 축산업에 큰 위협을 줄 수 있어 즉각적인 신고와 국가단위 방역조치가 필요한 악성 가축전염병
  - 국내 발생 가축전염병으로 가축에 대한 치명률 및 전파속도가 빨라 지역 및 농장간 집단 발생의 위험성이 커서 발생 또는 유행 즉시 신고하여야 하고, 지역 및 농장간 격리와 발생농장 및 발생지역 (필요 시) 살처분 등 중앙정부 차원의 국가 방역조치가 필요한 가축전염병

\* 현재 제1종 가축전염병 대부분이 이 범주에 그대로 존속될 것으로 예상된다.

표 4-3. 가축전염병예방법의 가축전염병 분류 체계 및 정의 개선 (안)

감염병예방법 분류체계 및 정의		가축전염병예방법 분류체계 및 정의(안)		
구분	정의	구분	정의	비고
제1급 감염병	생물테러감염병 또는 치명률이 높거나 집단 발생의 우려가 커서 발생 또는 유행 즉시 신고하여야 하고, 음압격리와 같은 높은 수준의 격리가 필요한 감염병	제1종 가축 전염병	국내 비발생 악성 가축 전염병 또는 국내 발생 가축전염병으로 치명률 및 전파속도가 빨라서 <u>지역 및 농장간 집단 발생의 위험성이 커서 발생 또는 유행 즉시 신고하여야 하고, 지역 및 농장간 격리와 살처분 등 중앙정부 차원의 국가 방역조치가 필요한 다음 각 목의 가축전염병</u>	정의 추가
제2급 감염병	전파가능성을 고려하여 발생 또는 유행 시 24시간 이내에 신고하여야 하고, 격리가 필요한 다음 각 목의 감염병	제2종 가축 전염병	국내 발생 또는 비발생 가축전염병으로 가축에 대한 치명률과 전파속도를 고려하여 발생 또는 유행 시 <u>24시간 이내 신고하여야 하고, 농장간 격리와 살처분 등 지방정부 차원의 지역 방역 조치가 필요한 다음 각 목의 가축 전염병</u>	정의 추가
제3급 감염병	그 발생을 계속 감시할 필요가 있어 발생 또는 유행 시 24시간 이내에 신고하여야 하는 다음 각 목의 감염병	제3종 가축 전염병	제1종 및 제2종가축전염병 외에 유행 여부를 <u>조사하기 위하여 표본감시 활동이 필요한 다음 각 목의 가축전염병</u>	정의 추가
제4급 감염병	제1급감염병부터 제3급감염병까지의 감염병 외에 유행 여부를 조사하기 위하여 표본감시 활동이 필요한 다음 각 목의 감염병	-	표본 감시 활동이 필요한 전염병은 제3종 가축전염병으로 분류	
세계 보건 기구 감시 대상 감염병	세계보건기구가 국제공중보건의 비상사태에 대비하기 위하여 감시대상으로 정한 질환으로서 질병관리청장이 고시하는 감염병	종축 감시 대상 전염병	종축을 통한 질병 전파 방지를 위하여 감시대상으로 정한 전염병으로 <u>농림축산식품부장관이 고시하는 가축전염병</u>	신설
인수 공통 감염병	동물과 사람 간에 서로 전파되는 병원체에 의하여 발생하는 감염병 중 질병관리청장이 고시하는 감염병	인수 공통 전염병	동물과 사람 간에 서로 전파되는 병원체에 의하여 발생하는 전염병 중 <u>농림축산식품부장관이 고시하는 가축전염병</u>	신설
감염병예방법의 경우, 제1급, 제2급, 제3급 감염병에 대한 단서 조항으로 “다만, 갑작스러운 국내 유입 또는 유행이 예견되어 긴급한 예방·관리가 필요하여 질병관리청장이 보건복지부장관과 협의하여 지정하는 감염병을 포함”할 수 있게 되어 있다. 따라서 가축전염병예방법에도 단서 조항으로 “다만, 갑작스러운 국내 유입 또는 유행이 예견되어 긴급한 예방·관리가 필요하여 농림축산검역본부장이 농림축산식품부장관과 협의하여 지정하는 가축전염병을 추가로 포함할 수 있도록 개정하는 것이 바람직하다.				

- 제2종 가축전염병의 범주

- 국내 발생 또는 비발생 가축전염병으로 가축에 대한 치명률과 전파속도를 고려하여 발생 또는 유행 시 24시간 이내 신고하여야 하고, 발생농장에 대한 격리와 감염축 (필요시 감염의

심축)에 대한 살처분 등 지방정부 차원의 지역 방역조치가 필요한 가축전염병.

- \* 현재 제2종 가축전염병 대부분이 이 범주에 그대로 존속될 것이나 일부는 제1종 또는 제3종으로 변경될 것으로 예상된다.
  - 제3종 가축전염병의 범주
    - 제1종 및 제2종가축전염병 외에 유행 여부를 조사하기 위하여 표본감시 활동이 필요한 다음 각 목의 가축전염병
- \* 현재 제2종 가축전염병 중 일부가 제3종으로 변경되고, 일부 전염병은 제외되며, 신규 전염병 일부가 추가될 것으로 예상된다.
  - 종축 감시 대상 전염병의 범주
    - 종축을 통한 질병 전파 방지를 위하여 감시 대상으로 정한 전염병으로 농림축산식품부장관이 고시하는 가축전염병
- \* 현재 종돈장 (5종) 및 종계장·부화장 (3종) 방역관리요령의 대상 가축전염병 이외 종축 방역관리에 필요한 일부 전염병이 추가될 수 있다.
  - 인수공통전염병의 범주
    - 동물과 사람 간에 서로 전파되는 병원체에 의하여 발생하는 전염병 중 농림축산식품부장관이 고시하는 가축전염병
- \* 제1종에서 제3종까지의 가축전염병에 포함된 인수공통감염병과 “감염병 예방과 관리에 관한 법률” 및 야생동물질병관리법에서 규정하고 있는 인수공통전염병 일부가 추가될 수 있다.

#### (4) 향후 계획 및 기대 효과

- (가) 농림축산식품부에서 활동을 지원하고 있는 “미래축산포럼”의 가축방역분과위원회(위원장 김원일교수)에서는 위 가축전염병예방법 개정안을 2021년 사업 내용으로 제안하여 세부 작업을 진행하였으며, 지난 12월 정기 포럼에서 개정안을 발표한 바 있다.
- (나) 현재 상기 가축전염병예방법 개정 건의안을 농림축산식품부 가축 방역 유관부서에 전달하였고, 정책 건의 절차를 추진하고 있다. 향후 농림축산식품부와 협의하여 미래축산포럼 사무를 관장하고 있는 농협을 통하거나 국민제안 제도를 통하여 개정안을 정부에 건의할 계획이다.
- (다) 개정 건의안과 같이 제3종 가축전염병이 농가자율방역 대상 질병으로 전환된다면 양돈농가의 PRRS 발생 신고에 따른 방역조치 부담이 해소되기 때문에 발생상황과 바이러스 정보 파악 등이 용이해져서 방역관리의 효율성이 크게 증진될 것으로 기대된다.

#### 라) 종돈장 방역관리요령의 PRRS 방역관리 규정 검토 및 개선방안

##### (1) 현 황

(가) 종돈장방역관리요령 (농림축산식품부고시 제2016-51호) 주요 내용

- 목적 (제1조): 가축전염병의 전파 방지를 위하여 종돈장에 대한 정기적인 가축전염병 검사와 방역관리에 필요한 사항을 규정하고 있음.
- 적용범위(제2조): 축산법령에 의해 허가받은 종돈업 또는 정액등처리업체 및 대한한돈협회가 운영하는 검정소를 대상으로 함.
- 검사기관(제3조): 시·도가축방역기관장 (확인 검사기관: 농림축산검역본부)
- 검사대상 가축전염병(제4조): 5종 (구제역, 돼지열병, 돼지오제스키병, 돼지브루셀라병, 돼지생

식기호흡기증후군.

- 검사주기(제5조): 분기별 1회 이상 (우수종축업체는 연 1회)
  - 검사방법: 바이러스 항원검사(RT-PCR) 및 바이러스 항체검사(ELISA 또는 형광항체법)
  - 시료 채취: 번식돈군 25-30두(1, 2, 3, 4산 및 후보 모돈 등 각 5~6두), 사육단계별 돼지 30-40두 (40, 70, 100, 130, 160일령 돼지 각 6~8두)
  - 판정: 돼지생식기호흡기증후군 검사의 경우, 항체검사 결과 음성이면 음성으로 판정하고, 항체 양성일 경우 해당 종돈장에서 채취한 모든 시료에 대한 항원검사를 하며, 항원검사 결과 양성이면 양성으로 판정하되 예방접종을 실시하는 농장의 100일령 이내 돼지에서 백신으로 사용하는 북미형 등 항원이 확인된 경우는 양성 판정을 하지 않음.

(가) 최근 1년간 종돈장 가축전염병 검사 결과 종합

- 최근 1년간 종돈장 가축전염병 검사결과 (농림축산검역본부)에 따르면, 검사 대상 5종 전염병 중에서 구제역, 돼지열병, 돼지오제스키병 및 돼지브루셀라병은 전 농장(전두수) 음성이었으나, PRRS의 경우 17개 농장이 항원 양성이었으며, 이 중 13개 농장이 최종 발생농장으로 판정됨 (표 4-4).

표 4-4. 최근 1년간 종돈장 가축전염병 검사결과 (농림축산검역본부)

가축전염병	2020년 4분기	2021년 1분기	2021년 2분기	2021년 3분기
구제역 (NSP 항체)	전두수 음성	전두수 음성	전두수 음성	전두수 음성
돼지열병 (항원)	전두수 음성	전두수 음성	전두수 음성	전두수 음성
돼지오제스키병 (항체)	전두수 음성	전두수 음성	전두수 음성	전두수 음성
돼지브루셀라병 (항체)	전두수 음성	전두수 음성	전두수 음성	전두수 음성
돼지생식기호흡기증후군 (항원)	양성 2, 발생 2	양성 4, 발생 1	양성 9, 발생 7	양성 4, 발생 3

- PRRS에 대한 항원 및 항체검사 결과를 세부적으로 분석한 결과는 아래와 같음 (표 4-5).
  - 백신 접종농장 (총 733개 농장)의 경우, 대부분의 농장이 항체양성이었으며, 20개 농장이 항원 양성으로 판정되었음 (표 2). 항원 양성인 20개 농장 중에서 10개 농장은 백신 항원으로 확인되어 비발생농장으로 판정되었고, 10개 농장만 최종 발생농장으로 판정되었음.
  - 백신 비접종농장 (총 477개 농장)의 경우, 49개 농장이 항체 양성으로 판정되었으며, 그 중 3개 농장만 항원 양성으로 확인되어 최종 발생농장으로 판정되었음.

표 4-5. 돼지생식기호흡기증후군 항원, 항체검사 결과 세부내용 (농림축산검역본부)

검사시기	검사 농장수	백신 접종농장 검사결과			백신 비접종농장 검사결과		
		농장수	항체양성	항원양성 (발생판정)	농장수	항체양성	항원양성 (발생판정)
2020년 4분기	194	66	65	6 (2) <sup>1)</sup>	128	11	0 (0)
2021년 1분기	170	66	65	4 (1) <sup>2)</sup>	104	12	0 (0)
2021년 2분기	201	65	64	6 (4) <sup>3)</sup>	136	12	3 (3)
2021년 3분기	168	59	58	4 (3) <sup>4)</sup>	109	14	0 (0)
계	733	256	252	20 (10)	477	49	3 (3)

1) 2020년 4분기 검사 결과, 6개 농장이 항원 양성이었으며, 이중 2호만 발생농장으로 판정함.  
 - 생독백신 (유립형) 접종 농장 1호와 불활화백신 접종 농장 1호임 (2개 농장 최종 발생 판정).  
 2) 2021년 1분기 검사 결과, 4개 농장이 항원 양성이었으며, 이중 3호는 백신주 항원으로 확인되어 비발생 농장으로 판정하고, 나머지 1호만 발생농장으로 판정함 (1개 농장 최종 발생 판정).  
 3) 2021년 2분기 검사 결과, 9개 농장이 항원 양성이었으며, 이중 2호는 백신주 항원으로 확인되어 비발생 농장으로 판정하고, 나머지 7호만 발생농장으로 판정함 (7개 농장 최종 발생 판정).  
 4) 2021년 3분기 검사 결과, 4개 농장이 항원 양성이었으며, 이중 1호는 백신주 항원으로 확인되어 비발생 농장으로 판정하고, 나머지 3호만 발생농장으로 판정함 (3개 농장 최종 발생 판정)

(2) 문제점 및 개선 방안

(가) 종돈장의 PRRS 백신 접종 지침 부재

○ 현황

- 방역관리요령에서는 돼지생식기호흡기증후군의 경우 백신 접종 종돈장에 대한 예외적 판정기준을 규정하고 있어 사실상 종돈장의 PRRS 백신 접종을 허용하고 있음.

(나) 문제점

- 다수의 양돈장으로 종돈 (정액)을 판매하는 종돈장의 경우, PRRS 음성 (항원 및 항체 음성) 상태를 유지하는 것이 바람직함.
- 방역상 부득이하어 백신을 접종하더라도 해당 종돈장의 PRRS 문제를 해결할 수 있는 방향으로 백신 접종이 이루어져야 함.
- 그러나 현 요령에는 종돈장에 대한 구체적인 PRRS 백신 접종 지침이 마련되어 있지 않아 일부 종돈장의 무분별한 백신 접종을 조장할 수 있으며, 해당 종돈을 분양 받는 양돈장의 PRRS 방역에 혼란을 초래할 수 있음.

(다) 개선 방안

- 방역관리요령에 종돈장에 대한 PRRS 백신 접종 지침을 구체적으로 제시하여 종돈장 백신 접

종 관리를 강화할 필요가 있음.

- PRRS 음성 종돈장인 경우, 예방 차원에서의 PRRS 백신 (특히 생독백신) 접종은 허용하지 않는 것이 바람직함.
- PRRS 양성 종돈장인 경우, 최종적인 PRRS 모돈군 안정화 및 농장 청정화를 목표로 백신 접종 전략을 수립하여 접종해야 하며, 구체적인 방역 목표 없이 일상적으로 PRRS 백신을 접종하는 것은 허용하지 않는 것이 바람직함.

<상기 개선사항을 반영한 종돈장 방역실시요령 개정안>

구분	현행	개정(안)
제5조(예방접종 등 방역조치)	<해당조항 없음> 제5조를 신설하고, 기존 제5조-제11조는 제6조-제12조로 개정.	<p>제5조(예방접종 등 방역조치) 신설</p> <p>①종돈장은 제4조의 검사대상 가축전염병에 대한 방역 목표 달성을 위하여 시판 예방약이 있는 구제역, 돼지열병, 돼지오제스키병 및 돼지생식기호흡기증후군에 대한 예방접종을 실시할 수 있다.</p> <p>②단, 돼지생식기호흡기증후군의 경우, 종돈장 방역상황에 따라 다음 각호의 예방접종 지침을 준수하여야 한다.</p> <p>1. 돼지생식기호흡기증후군 비발생 종돈장은 예방접종을 실시하지 않는다.</p> <p>2. 돼지생식기호흡기증후군 발생 종돈장은 질병 청정화 목표를 달성하기 위하여 일정 기간 (1년 이내) 예방접종을 실시할 수 있으며, 이 경우, 별지 제1호의3 서식의 돼지생식기호흡기증후군 예방접종 세부내역서를 제출하여야 한다.</p> <p>3. 돼지생식기호흡기증후군 발생 종돈장에서 질병 청정화 이외의 예방 또는 피해 방지 목적으로 장기간 예방접종하는 행위는 허용되지 않는다.</p>

(나) 종돈장의 PRRS 백신 접종에 대한 사전 신고 절차 미흡

- 현황
  - 최근 1년간 조사 결과, 국내 일부 종돈장에 PRRS 발생이 지속적으로 확인되고 있으며, 약 35% (256/733)의 종돈장이 PRRS 백신을 접종하고 있는 것으로 파악되었음 (표 2).
- 문제점
  - 시판 PRRS 생독백신은 백신 바이러스의 배설과 전파, 백신바이러스의 병원성 복귀, 백신바이러스와 야외 바이러스간 재조합 변이주 발생 등 안전성에 문제가 있음이 보고됨.
  - PRRS 생독 백신 접종 종돈장의 경우, 백신 바이러스가 배설 및 전파될 위험성을 배제할 수 없으며, 종돈 분양을 통하여 백신 바이러스가 타 양돈장으로 전파될 가능성도 배제할 수 없음.
  - 특히, PRRS 음성 양돈장에서 해당 종돈장의 후보돈을 구입할 경우, 구입 후보돈에 의한 PRRS 전파 및 발생 가능성을 배제할 수 없음.
- 개선방안



- 종돈장에서 PRRS 백신을 접종한 경우에는 해당 종돈장에서 백신 접종 내역을 사전에 신고하여 방역기관 및 타 양돈장에서 이를 사전에 파악할 수 있어야 효율적인 PRRS 방역이 가능함.
- 따라서 방역관리요령에 PRRS 백신을 접종한 종돈장은 검사 신청 시에 세부적인 백신 접종 내역을 기록하여 신청하도록 규정 (검사신청서 서식)을 보완할 필요가 있음.
- 종돈장의 PRRS 백신 접종 세부 내역 신고 의무화
  - PRRS 백신 접종 종돈장은 방역관리 요령에 의한 검사 신청시에 백신 접종 세부 내역을 신고할 수 있도록 방역관리요령 제7조 (검사절차)에 PRRS 백신 접종 세부내역을 “별지 제1호의3 서식의 돼지생식기호흡증후군 예방 접종 세부내역서”를 제출하도록 개정하고, 별지 제1호의3서식을 신설함.

<상기 개선사항을 반영한 종돈장 방역실시요령 개정안>

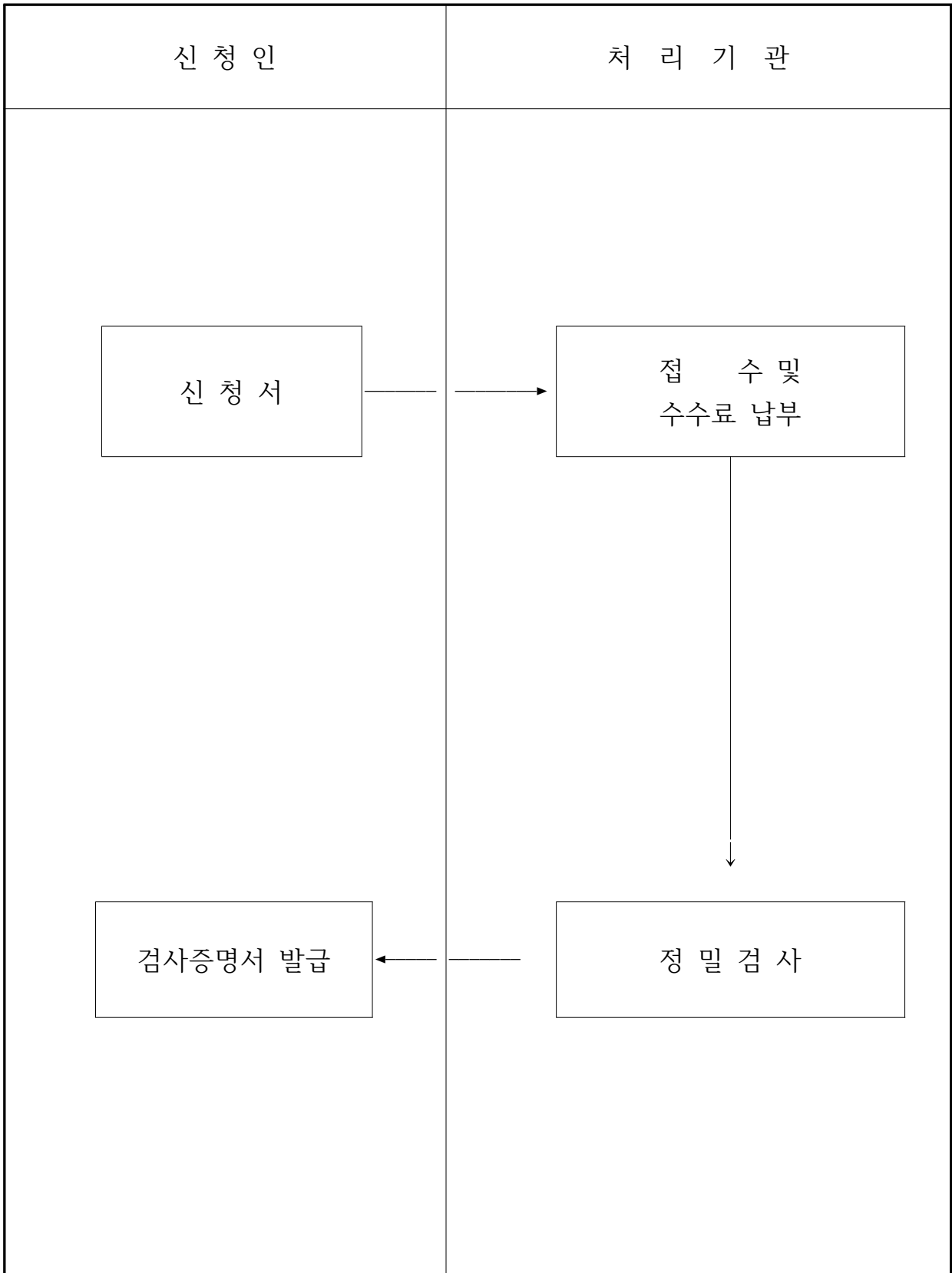
구분	현행	개정(안)
제7조(검사절차등)의 제 2항	<② 제1항에도 불구하고 방역상의 이유로 소유자등이 원하면 소유자등이 시료를 채취하여 별지 제1호 서식의 시료채취 내역서와 함께 검사기관에 제출토록 하게 할 수 있으며, 이 경우 소속 가축방역관 등에게 시료채취 과정을 입회하고 임상관찰을 하도록 하여야 한다.	② 제1항에도 불구하고 방역상의 이유로 소유자등이 원하면 소유자등이 시료를 채취하여 별지 제1호 서식의 시료채취 내역서와 함께 검사기관에 제출토록 하게 할 수 있으며, 이 경우 소속 가축방역관 등에게 시료채취 과정을 입회하고 임상관찰을 하도록 하여야 한다. 단, 돼지생식기호흡기증후군에 대한 예방접종을 실시한 경우에는 별지 제1호의3 서식의 돼지생식기호흡기증후군 예방접종 세부내역서를 제출하여야 한다.

(앞쪽)

접수번호			
돼지생식기호흡기증후군 예방접종 세부내역서			
가축사육시설	농장명		소재지
소유자 (관리자)	성명		생년월일
	주소	(전화 : )	
예방접종 세부내역			
구분	세부내역		
접종목적	① 비발생종돈장의 예방 ② 발생종돈장의 피해 방지		
접종기간	년 월부터 년 월까지 (년 월)		
백신종류	제조사 및 제품명		
접종내역	접종대상	접종여부	접종시기 및 회수
	모돈		
	후보돈		
	응돈		
	자돈		
납입수수료		없음	
※ 특기사항 (2종 이상의 백신을 접종한 경우, 해당 접종 세부내역 등)			
종돈장방역관리요령 제7조에 따라 위와 같이 제출합니다.			
			년 월 일
제출인			(성명 또는 인)
○○도 가축방역기관장 귀하			
※ 구비서류 : 없음			수수료
			없음

(뒷쪽)

※ 이 신청서는 아래와 같이 처리됩니다.



(다) PRRS 백신접종 농장에 대한 세부 검사 방법 및 판정 기준 강화 필요

○ 현황

- 방역관리요령 별표 1 (검사대상 가축전염병별 검사두수)에서 돼지생식기호흡기증후군은 항원 검사 (RT-PCR) 및 항체검사 (ELISA 또는 형광항체법)으로 검사하며, 아래와 같이 판정하도록 되어 있음.
  - 항체검사 결과 음성이면 음성으로 판정함.
  - 항체 양성일 경우 해당 종돈장에서 채취한 모든 시료에 대한 항원검사를 실시하며, 항원검사 결과 양성이면 양성으로 판정함.
  - 단, 예방접종을 실시하는 농장의 100일령 이내 돼지에서 백신으로 사용하는 북미형 등 항원이 확인된 경우는 양성 판정을 하지 않음
- 즉, 항체 양성 및 항원 양성이라도 해당 바이러스 항원이 백신 바이러스이면 음성으로 판정함.

○ 문제점

- 돼지생식기호흡기증후군의 항체검사는 형광항체법이 아니라 간접형광항체법으로 실시하고 있으므로 자구 수정 필요.
- 항체 양성 판정된 종돈장에서 백신을 접종하는 경우에 한하여 검출된 바이러스 항원이 백신 바이러스 항원일 경우에 음성으로 판정하고 있으나 검출된 바이러스 항원이 백신 또는 야외 바이러스인지 여부를 확인할 수 있는 표준 검사법이 방역관리요령에 제시되어 있지 않아 검사기관의 자의적인 검사 및 해석이 가능함.
  - 백신 바이러스 항원 여부는 해당 바이러스의 유전자 염기서열 분석으로 확인이 가능하나 검사시료에 따라 유전자 염기서열 분석이 곤란한 경우가 많음. 또한 바이러스 유전자 염기서열 분석이 된다 하더라도 국내 양돈장에서는 백신 바이러스-유사 변이주들이 다수 발생하고 있어 해당 바이러스가 백신주라고 확정하기가 곤란할 수도 있음 (즉, 백신주-유사 야외 바이러스일 가능성이 있음).
  - 따라서 백신주/야외주 감별검사는 시도방역기관에서 농림축산검역본부로 검출된 바이러스 항원에 대한 확인검사를 의뢰하고, 해당 바이러스의 ORF5 유전자 염기서열 분석을 실시하여 100% 일치하는 경우에 백신주로 판정하는 것이 바람직함
- 백신 비접종 종돈장이 항체 양성인 경우에도 항원검사 음성이면 음성 판정을 하고 있음 (표 2). 그러나 백신 비접종 종돈장의 항체 양성 결과는 백신 바이러스가 아닌 야외 바이러스에 노출 (감염)되었음을 의미하며, 백신비접종 항체 양성 종돈장의 경우, 농장 내에 야외 바이러스가 잔존할 가능성이 높음.
- 또한, 백신 접종한 종돈장에서 항원이 검출되더라도 100일령 이내 돼지에서 백신 바이러스 항원이 확인된 경우에는 양성 판정을 하지 않게 되어 있으나 이 판정 기준에는 다음과 같은 문제점이 있음.
  - 첫째, 백신 접종을 한 경우, 백신의 종류 (생독 또는 사독), 백신 접종 대상 (모돈 또는 자돈), 자돈의 백신 접종 일령, 백신 접종 범위 (일괄접종 또는 부분 접종), 백신 접종 주기 (상시 접종, 주기 접종) 등에 따라 돈군 내 백신 바이러스의 검출 양상이 달라질 수 있으나 이에 대한 구체적인 정보를 확보할 수 없어 검사결과의 객관적인 해석이 곤란함.
  - 둘째, 백신 접종 종돈장의 사육 돼지에서 백신 바이러스가 검출됨에도 불구하고, 최종 PRRS 음성 판정을 내릴 경우, 해당 종돈을 구입한 양돈장에서는 PRRS 음성 종돈을 구입

한 것으로 판단할 수 있어 해당 양돈장의 PRRS 방역에 혼선을 초래할 수 있음. 따라서 종돈장의 최종 판정기준을 음성 및 양성으로 구분하는 것보다 음성, 백신접종-음성, 백신접종-양성 및 양성으로 구분 할 필요가 있음

○ 개선방안

- 돼지생식기호흡기증후군 검사방법 보완
  - 별표 1의 돼지생식기호흡기증후군 검사방법에 백신주/야외주 검사법으로 “단, RT-PCR에서 양성으로 확인될 경우 농림축산검역본부에서 유전자 염기서열 검사 실시” 명기
- 돼지생식기호흡기증후군 검사에 따른 판정기준 구체화.
  - 백신 접종 또는 비접종 종돈장에 대한 판정기준을 아래와 같이 명확하게 구분하고, 별지 제2호 서식의 검사증명서의 돼지생식기호흡기증후군 검사결과를 아래와 같이 구체적으로 구분하여 통보함으로써 종돈 구입 양돈장에 정확한 정보 제공
  - 항체검사 음성인 경우 “음성”으로 판정
  - 백신 비접종 종돈장이 항체검사 또는 항원검사 양성인 경우 “양성”으로 판정
  - 백신 접종 종돈장이 항체 양성이나 야외 항원 음성인 경우 “백신접종-음성”으로 판정
  - 백신 접종 종돈장이 항체 양성이나 야외 항원 양성인 경우 “백신접종-양성”으로 판정

<상기 개선사항을 반영한 종돈장 방역실시요령 개정안>

별표 1의 돼지생식기호흡기증후군검사방법	<검사방법> 바이러스 항원검사(RT-PCR) 및 바이러스 항체검사(ELISA 또는 형광항체법)	<검사방법> 바이러스 항원검사(RT-PCR) 및 바이러스 항체검사(ELISA 또는 간접형광항체법) (단, RT-PCR에서 양성으로 확인될 경우 농림축산검역본부에서 유전자 염기서열 검사 실시)
	③ 돼지생식기호흡기증후군 검사 의 경우, 항체검사 결과 음성이면 음성으로 판정하고, 항체 양성일 경우 해당 종돈장에서 채취한 모든 시료에 대한 항원검사를 하며, 항원검사 결과 양성이면 양성으로 판정하되 예방접종을 실시하는 농장의 100일령 이내 돼지에서 백신으로 사용하는 북미형 등 항원이 확인된 경우는 양성 판정을 하지 않음	③ 돼지생식기호흡기증후군 검사 결과의 판정기준은 다음과 같음 - 항체검사 결과 음성이면 음성으로 판정함 - 백신 비접종 종돈장이 항체 양성 또는 항원 양성일 경우 양성으로 판정함 - 백신 접종 종돈장이 항체 양성일 경우, 채취한 모든 시료에 대한 항원검사를 하며, 항원검사 결과 양성인 경우, 농림축산검역본부에 백신주/야외주 감별을 위한 확인검사를 의뢰함 - 백신주/야외주 감별검사는 바이러스 항원 양성시료를 대상으로 ORF5 유전자 염기서열 분석을 실시하여 해당 종돈장의 사용한 백신주와 100% 일치할 경우에는 양성 판정을 하지 않음. 단, 검출된 바이러스의 유전자 염기서열 분석이 되지 않는 등의 이유로 백신주로 확인할 수 없는 경우는 양성으로 판정 (확인검사를 위하여 필요할 경우, 해당 종돈장의 혈액, 타액 또는 위축돈 등 검사 시료를 추가로 채취할 수 있음)

2) PRRS 백신 접종 가이드라인 제시

가) PRRSV 시판 백신의 방어효과 및 안전성 검토

(1) PRRSV 시판 백신 현황

(가) 현재 시판되고 있는 PRRSV 백신은 약독화 생독 (modified live virus, MLV) 백신과 불활화 사독 (killed virus, KV) 백신으로 구분되며, 각각 장·단점을 가지고 있다.

- KV 백신은 안전하다는 장점이 있지만 동질성 또는 이질성의 바이러스에 대한 방어 효과가 제한적이며, 특히 음성 가축에 대한 방어효과가 낮다.
- 반면, MLV 백신은 안전성에 문제가 있지만 방어효과 면에서 KV 백신보다 우수하여 동종의 바이러스에 대해서는 높은 방어효과를 그리고 이종의 바이러스에 대해서는 부분적인 방어효과를 나타낸다.
- 따라서 현재 양돈 현장에서는 MLV를 주로 사용하고 있다. 그러나 MLV 백신의 효과는 MLV 백신 자체의 생물학적 특성뿐만 아니라 현장에서의 백신 접종 전략과 차단 방역 (biosecurity) 대책을 어떻게 적용하는가에 따라 달라진다(Chae 등, 2021).

(나) 현재 세계적으로 시판되고 있는 백신은 MLV 백신의 종류는 표 4-6과 같다.

- 유럽형 PRRSV-1 MLV 백신은 유전형 subtype 1 계열의 바이러스로 제조된 4종이 세계적으로 출시되어 있으며, 이 중 2종 즉, 포실리스 PRRS (MSD)와 UNISTRAN PRRS (Hipra) 백신 2종이 2014년부터 한국에 출시되어 있다.
- 북미형 PRRSV-2 MLV 백신은 유전형 lineage 1, 5, 7 또는 8에 속하는 바이러스로 제조된 4종이 세계적으로 출시되어 있으며, 이 중 2종 즉, 인겔백 PRRS MLV (Boehringer Ingelheim)가 1996년 그리고 포스테라 PRRS (Zoetis) 백신이 2015년부터 한국에 출시되어 있다.

표 4-6. 현재 시판 중인 PRRSV MLV 백신 현황

Virus	Vaccine name	Company	Introduction (in Korea)	Vaccine strain	Genetic lineage
European PRRSV-1	Pocillus PRRS	MSD	2000 (2014)	DV	Subtype 1
	UNISTRAN PRRS	Laboratories Hipra S.A.	2013 (2014)	VP-064 BIS	Subtype 1
	ReproCyc PRRS EU	Boehringer Ingelheim	2015 (NI)	94881	Subtype 1
	Ingelvac PRRSFLEX EU	Boehringer Ingelheim	2015 (NI)	94881	Subtype 1
North American PRRSV-2	Ingelvac PRRS MLV	Boehringer Ingelheim	1994 (1996)	VR2332	Lineage 5
	Fostera PRRS	Zoetis	2012 (2015)	P129	Lineage 8
	PrimePac PRRS	MSD	2014 (NI)	Neb-1	Lineage 7
	Prevacent PRRS	E l a n c o Animal Health	2018 (NI)	S D 1 1 - 2 1 (P100)	Lineage 1

. \* NI, not introduced in Korea.

(2) PRRSV MLV 백신의 방어효과 및 안전성 검토

(가) PRRSV MLV 백신의 방어 효과

- 시판 MLV 백신의 방어효과는 일반적으로 유전적 및 항원적으로 동종의 바이러스에 대해서는 방어효과가 있지만, 이종의 바이러스에 대해서는 방어효과가 부분적이거나 아예 없는 것으로 알려져 있다. 따라서 유전적 및 항원적 특성이 다양한 바이러스가 발생하고 있는 현장 상황에서 일률적인 효과를 기대할 수 있는 백신은 없다고 할 수 있다(Chae 등, 2021; Nan 등, 2017).
- 유럽형 MLV 백신의 방어효과 검토
  - 유럽형 PRRSV-1은 ORF5 유전자 염기서열을 기준으로 3개 subtype 즉, subtype 1 (세계적으로 발생, 저병원성 Lelystad virus-like 바이러스), subtype 2 (prototype Bor strain) 및 subtype 3 (고병원성 Lena-like 바이러스)로 분류되며, subtype 1에 비해 subtype 2와 subtype 3에 속하는 바이러스가 병원성이 더 강한 것으로 알려져 있다. 한국에는 subtype 1 유전형에 속하는 PRRSV-1이 주로 발생하고 있다(그림 4-2).
  - Subtype 1 PRRSV-1은 다시 1A, 1B 및 1C 등의 clade로 세분되며, 한국에서는 subtype 1A clade에 속하는 바이러스가 가장 유행률이 가장 높다(그림 4-2, Kim 등, 2021).
  - 시판 PRRSV-1 MLV 백신(4종)은 모두 subtype 1-C 유전형에 속하는 바이러스를 원료로 제조된 백신이다(표 4-6). 백신 바이러스와 한국 발생 바이러스간 유전자 상동성을 비교한 결과(표 4-7), 10-20% 수준의 차이가 나타나 시판 PRRSV-1 MLV 백신들은 동일한 subtype 1에 속하는 야외 바이러스에 대해서는 효과가 비교적 높지만 subtype 2나 subtype 3 계열의 야외 바이러스에 대한 방어효과가 비교적 낮을 것으로 추정된다.
  - 시판 PRRSV-1 MLV 백신은 복미형 PRRSV-2에 대해서는 야외 바이러스 종류에 따라 효과에 차이가 있으나 전반적으로 좋은 효과를 기대하기 힘들다.

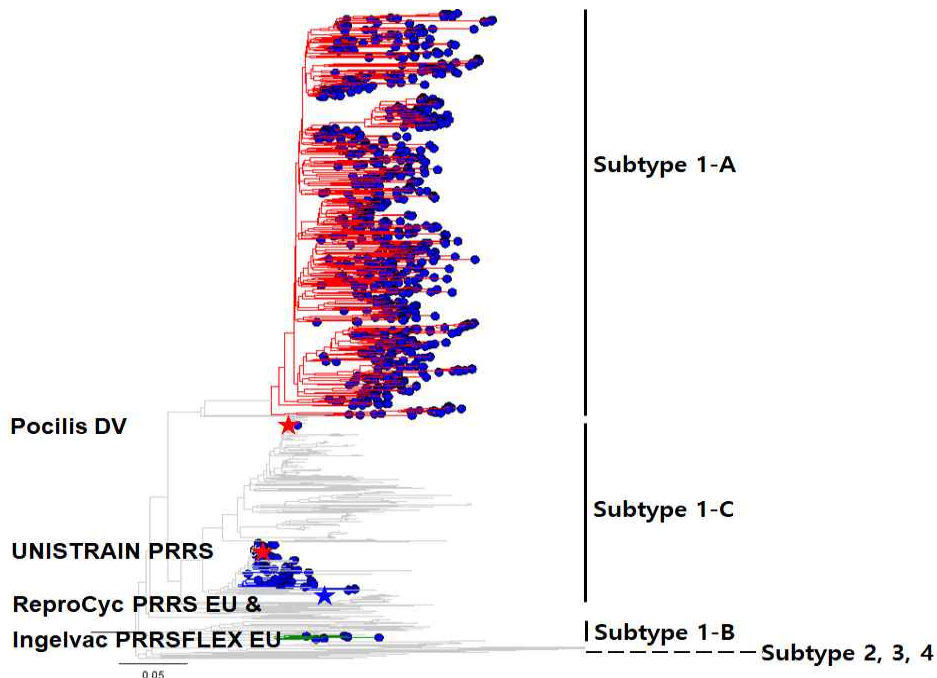


그림 4-2. 한국의 최근 발생 PRRSV-1과 시판 백신 바이러스간 유전형 비교.

표 4-7. 한국의 최근 발생 PRRSV-1과 시판 백신 바이러스간 ORF5 유전자 상동성 비교

vaccine strains	Sequence similarity of NT to vaccine strains (%)		
	Subtype 1-A	Subtype 1-B	Subtype 1-C
Pocillus PRRS	83.3-91.1	89.1-99.5	85.5-86.8
UNISTRAN PRRS	82.5-90.6	85.5-87.5	91.1-99.8
ReproCyc PRRS EU	81.5-87.6	88.8-92.7	83.5-85.0
Ingelvac PRRSFLEX EU	81.5-87.6	88.8-92.7	83.5-85.0

○ 북미형 MLV 백신의 방어 효과

- 북미형 PRRSV-2는 ORF5 유전자 염기서열을 기준으로 9개 lineage로 분류되며, 국가별, 시기별로 우점 바이러스 아형이 다르다. 한국에는 lineage 1, 5, 8 및 한국 고유의 유전형인 Kor A, Kor B 및 Kor C 유전형이 발생하고 있다(그림 4-3).
- 시판 PRRSV-2 MLV 백신 4종은 유전형이 각각 lineage 1, 5, 7 및 8에 속하는 바이러스를 원료로 제조된 백신이며, 현재 한국에 시판되고 있는 백신은 유전형 5와 8에 속하는 바이러스로 제조된 백신이다(표 4-6 및 그림 4-3). 시판 백신 바이러스와 한국 발생 바이러스간 유전자 상동성을 비교한 결과(표 4-8), 유전형에 따라 2-28%의 차이를 나타내어 시판 PRRSV-2 MLV 백신들의 한국 발생 바이러스에 대한 방어효과가 다양하게 나타날 것으로 판단된다.
- PRRSV-2 MLV 백신은 다양한 유전형의 야외 바이러스에 교차방어 효과가 있으나 일반적으로 유전형(lineage)이 다르면 효과가 떨어진다.
- PRRSV-2 MLV 백신은 PRRSV-1에 대해서는 부분적 방어효과가 있으며, 고병원성의 subtype 3 PRRSV-1(Lena strain)에 대해서는 효과가 떨어진다고 보고되었다(Nan 등, 2017).
- 한국에 시판 중인 4종의 PRRSV MLV 백신 (PRRSV-1 백신 2종 및 PRRSV-2 백신 2종)의 효능을 유럽형 및 북미형 PRRSV 동시감염 상황에서 평가한 실증 보고(Oh 등, 2020) 결과는 백신 접종 가이드라인 설정에 중요한 단서를 제공해준다.
  - 4주령의 PRRSV-음성 돼지군(각 12두)에 4종의 백신을 각각 접종한 다음, 5주 후에 백신 바이러스와 이중 바이러스인 PRRSV-1 및 PRRSV-2 한국 분리주를 동시에 공격접종하여 그 방어효과를 비교 평가하였으며, 그 결과는 다음과 같다.
    - ① 2종의 PRRSV-2 백신 접종군에서는 혈중 PRRSV-2 농도가 유의하게 감소되었지만 2종의 PRRSV-1 백신 접종군에서는 혈중 PRRSV-2 농도가 감소되지 않았다.
    - ② 2종의 PRRSV-1 및 2종의 PRRSV-2 백신은 각 바이러스-특이적인 IFN- $\gamma$ -SC 반응을 더 강하게 유발하였다.
    - ③ 2종의 PRRSV-2 백신 접종군은 PRRSV-1 백신 접종군에 비하여 폐병변 지수가 유의하게 낮게 나타났다.
  - 이를 종합하면 PRRSV-1과 PRRSV-2 동시감염 상황인 경우(특히 자돈 호흡기질환의 방어에 있어서), PRRSV-1 백신보다는 PRRSV-2 백신의 방어효과가 더 우수하다고 할 수 있다.



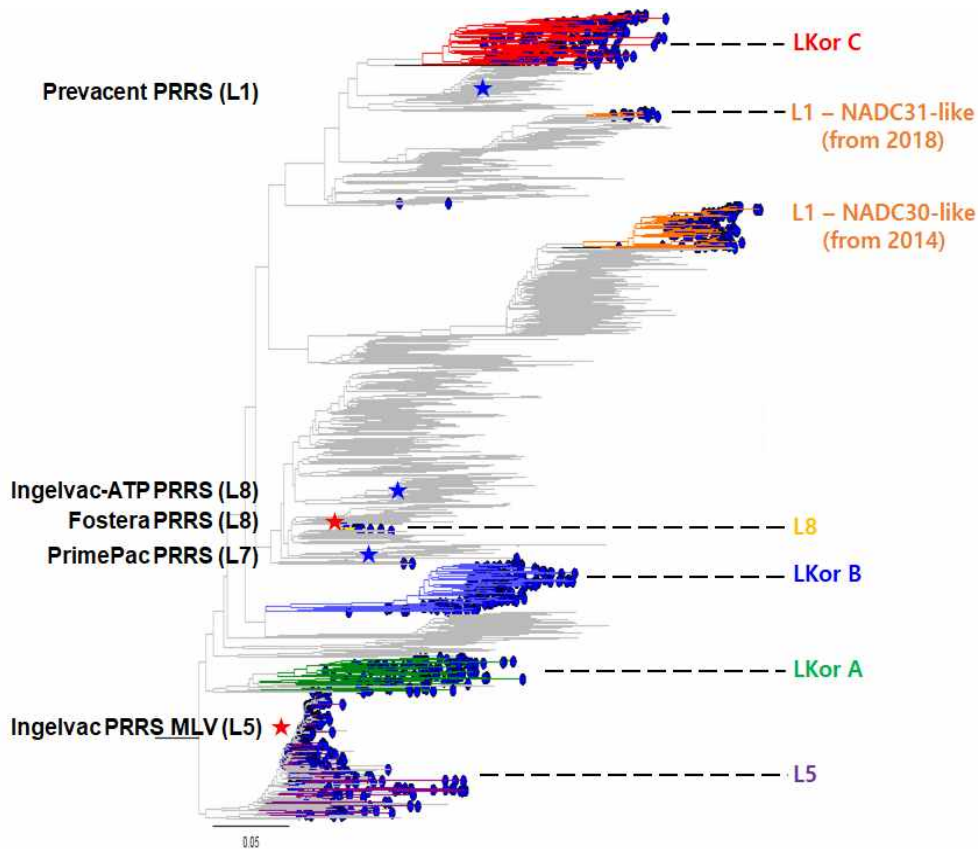


그림 4-3. 한국의 최근 발생 PRRSV-2와 시판 백신 바이러스간 유전형 비교.

표 4-8. 한국의 최근 발생 PRRSV-2와 시판 백신 바이러스간 유전자 상동성 비교

vaccine strains	Sequence similarity of NT to vaccine strains (%)					
	LKorA	LKorB	LKorC	L1	L5	L8
Ingelvac-MLV*	85.4-86.6	85.4-88.6	81.1-86.6	82.4-85.4	88.9-99.7	90.2-91.5
Fostera PRRS*	85.7-87.7	84.9-90.9	82.8-87.2	83.1-86.9	86.4-92.0	95.9-98.5
PrimePac PRRS	85.4-87.2	85.2-88.9	82.4-87.6	82.9-86.1	86.6-92.4	91.7-93.4
Prevacent PRRS	83.6-85.7	83.3-86.7	84.1-88.2	84.6-88.6	82.8-88.1	85.4-86.7
Ingelvac-ATP	83.6-86.9	83.4-87.4	82.4-86.4	82.6-86.1	85.7-90.5	91.2-93.2

\* 한국 시판 생독 백신주는 각각 lineage 5 (Ingelvac-MLV)와 8 (Fostera PRRS)로 분류됨.

(나) PRRSV MLV 백신의 안전성

- 그간 많은 연구자들에 의해 PRRSV MLV 백신의 안전성에 대한 문제를 제기하여 왔으며(Chae 등, 2021; Nan 등, 2017; Xhou 등, 2021), 이를 정리하면 다음과 같다.
  - 백신 바이러스의 배설 및 지속감염 유발
    - MLV 백신 접종 후 백신접종 돼지는 약 4주간(2-4주) 바이러스혈증이 일어나며, 이 기간 동안 배설된 백신 바이러스가 PRRS 음성 돼지에 감염될 수 있다.
  - 이종 바이러스에 대한 불충분한 방어 면역
    - PRRS MLV 백신은 동질성(homologous) 바이러스에 대해서는 방어면역을 유도하여 임상증상을 완

화시켜 줄뿐만 아니라 돈군 내 바이러스 전파를 줄여준다. 반면 이질성(heterologous) 바이러스에 대해서는 방어효과가 낮지만 감염 돈군의 생산성 개선에는 도움을 준다.

- 그러나 백신 바이러스와 야외 바이러스간의 이질성 여부 평가에 대한 정확한 기준이 아직 제시되어 있지 않다. 따라서 현재로서는 국제적으로 통용되는 PRRSV-1과 PRRSV-2의 유전형 분류체계에 따라 유전형이 다를 경우에는 이질성 바이러스인 것으로 평가하는 것이 적절한 것으로 생각된다.

- 백신 바이러스의 병원성 복귀 및 백신 바이러스-유래 변이주 출현

- PRRS MLV 백신 바이러스는 돼지에서 증식할 수 있으며, 바이러스혈증을 유발하고, 체오로 배설된다. 또한 야외 PRRSV 감염에 대한 완전 면역(sterilizing immunity)을 유도하지 못하기 때문에 야외 바이러스의 변이나 재조합을 가속화시킬 수 있으며, 백신 바이러스가 숙주에 적응하거나 면역반응을 회피함으로써 병원성 복귀 위험이 증가하게 된다.
- 이를 반영하듯 백신주와 유사한 바이러스에 의한 발병 사례가 각국에서 보고되었으며, 현재 유행 바이러스 중 상당수가 백신바이러스-유사 바이러스이다. 또한 백신 바이러스와 야외 바이러스간 유전자 재조합 바이러스 출현이 보고되고 있다(Wang 등, 2019).
- 따라서 현재 한국 양돈장에서 발생하고 있지 않은 유전형의 생독백신은 도입하여 사용하는 것을 지양하는 것이 바람직하며, 한국에 현재 유행하는 유전형의 PRRSV를 이용한 백신을 개발하여 사용하는 것이 바람직하다.

- 항체-의존성 감염 증강 효과 (antibody-dependant enhancement, ADE)

- MLV 백신 접종 후 4주 이내에 형성되는 항체는 중화항체 (neutralizing antibody)가 아닌 비중화항체 (non-neutralizing antibody)이며, N과 GP5 단백질에 있는 epitope에 의해 유도된다.
- 이 비중화항체가 바이러스 항원에 결합하여 옵소닌화 (opsonization)되면 대식구에 의한 탐식이 촉진되며, 결과적으로 PRRSV의 타겟 세포인 대식구에 대한 감염이 강화된다.
- 이러한 ADE 현상은 백신 접종군에 이중의 PRRSV(백신 접종에 의해 형성된 중화항체에 영향을 받지 않는)가 감염되었을 때도 유발될 수 있다. 즉, 백신 접종이 야외 바이러스 감염을 증강시킬 수도 있다.

- 위와 같이 PRRSV MLV 백신은 KV 백신에 비하여 방어효과가 높아 현장에서 널리 사용되고 있지만 한국에서 발생하고 있는 PRRSV와 다른 유전형의 백신을 사용할 경우에는 불완전 면역 형성에 따른 방어효과 미흡과 이에 따른 변이주 출현 조장 등의 문제를 야기할 수 있다. 따라서 시판 PRRSV 생독백신의 무분별한 사용은 농장 및 지역 차원의 PRRS 방역을 어렵게 할 수도 있으므로 국내 발생 PRRSV를 이용한 한국형 PRRSV 백신 개발 및 보급이 시급한 실정이다.

(다) PRRSV MLV 생독백신 사용 가이드라인

- 위 정리한 내용을 종합하여 PRRSV MLV 생독백신의 사용에 대한 기본 원칙을 정리하면 다음과 같다.
- PRRSV MLV 생독백신은 발생 농장의 야외 바이러스 종 (type 1 또는 type 2)이나 유전형이 동일할 경우에는 방어효과가 우수하지만 그렇지 않은 경우에는 방어효과가 낮다. 따라서 MLV 백신을 접종하고자 할 경우에는 해당 양돈장에 감염된 PRRSV의 종과 유전형을 분석한 다음, 동일 종 및 동일 유전형의 백신을 사용하는 것이 가장 바람직하다.
- 유럽형 PRRSV-1의 경우에는 한국 시판 백신과 한국 발생 PRRSV-1의 유전형이 subtype 1으로 동일하기 때문에 유럽형 PRRSV-1 단독감염 양돈장인 경우에는 시판 유럽형 PRRSV-1

MLV 백신을 접종하면 비교적 우수한 방어효과를 기대할 수 있다.

- Subtype 1 PRRSV-1은 다시 1A, 1B, 1C clade로 세분되며, 한국에서 최근 발생하고 있는 대부분의 PRRSV-1 strain들은 clade 1A에 속하기 때문에 이를 고려한 백신 선발이 필요하다.
- 현재 한국 시판 PRRSV-1 MLV 백신은 2종으로 각각 subtype 1C에 속한다. 따라서 한국 우점주인 subtype 1A 유전형의 백신 개발이 필요하다.
- 북미형 PRRSV-2의 경우에는 한국 발생 PRRSV-2의 유전형 (lineage, L)은 L1, L5, L8, Kor A, Kor B 및 Kor C 이며, 현재 시판되고 있는 생독백신 백신의 유전형은 L5와 L8 유전형에 속한다.
- 만약 농장 발생 바이러스가 L5나 L8 유전형이라면 해당 유전형의 MLV 백신을 우선적으로 선 발 사용할 수 있으나 나머지 유전형 (L1, Kor A, Kor B 및 Kor C)에 대해서는 경험적으로 적합한 백신을 선발하여 사용해야 한다.
- 따라서 시판 백신과 유전형이 다른 PRRSV 항원을 이용한 추가 백신 개발이 필요하다.

### (3) PRRSV KV 백신의 방어효과 및 안전성 검토 (Nan 등, 2017)

#### (가) PRRSV KV 백신의 방어 효과

- PRRSV KV 백신은 안전성 때문에 많은 국가에서 허가되어 시판되고 있으나 야외 바이러스에 대한 낮은 방어효과 때문에 MLV 백신만큼 널리 사용되고 있지는 않다.
- 불활화 바이러스 항원을 사용하여 제조되기 때문에 항체(중화항체 및 비중화항체) 형성능이 낮으며, 세포면역반응을 일으키지 않는다.
- 시판 불활화 백신 접종 시에는 낮은 항체면역 (중화항체 8배 이하)이 유도되어 체내의 바이러스를 충분히 제거하지 못한다.
- 그러나 최근 나노입자와 같은 특별한 조성을 적용하고, 결핵균 균체 성분 등 신규 면역 보좌제 (adjuvant)를 첨가할 경우, 불활화백신의 면역반응을 강화할 수 있다는 보고에 있어 면역강화 불활화 백신의 개발이 요구되고 있다.
- 또한, 이전에 야외 바이러스에 노출된 개체에 불활화백신을 반복 접종하면 항체 생산 및 세포면역 반응이 증강되며, 특히 항체 양성 모돈에 접종했을 때 모돈 생산성이 개선되었다는 보고가 있다.

#### (나) PRRSV KV 백신의 안전성

- PRRSV KV 백신은 불활화된 백신 바이러스를 항원으로 사용하기 때문에 안전성 부분에 있어서는 MLV 백신과 같은 다양한 문제를 일으키지 않는다.

#### (다) 이를 종합하면 PRRSV KV 백신은 질병 예방 효과 목적으로 보다는 기감염된 돈군 (특히 모돈군)의 PRRSV 피해 저감을 위한 치료 목적의 백신 (therapeutic vaccine)으로 사용할 수 있으며, 생독백신 접종 돈군에 대하여 면역 보강 목적으로 사용할 수 있다.

- 또한 향후 적절한 백신 조성 (나노입자) 및 보좌제를 첨가하여 안전하면서도 면역반응을 증강시킬 수 있는 KV 백신의 개발이 필요하다.

### (4) 한국의 PRRSV 백신 인허가 가이드라인(지침) 검토

#### (가) 수입 백신은 한국 발생 PRRSV 유전형을 고려한 백신 인허가 지침 도입 필요

- 이전 문헌 보고와 제3장의 한국 PRRSV의 유전자 분석 결과에서 보듯이 PRRSV MLV 백신의 도입 및 사용은 필연적으로 해당 백신 바이러스-유사 바이러스의 출현을 초래한다.

- 따라서 외국산 MLV 백신의 국내 사용을 인허가할 때에는 한국에 발생하지 않는 유전형의 PRRSV로 제조된 MLV 백신은 인허가 사전 검토 단계에서 한국 내 도입을 허용하지 않는 것이 바람직하다.

(나) 한국형 PRRSV 백신에 대한 유연한 인허가 전략 필요

- 한국에 발생하고 있는 유전형의 PRRSV로 제조된 국산 MLV 백신인 경우, 인허가 지침을 유연하게 적용하여 제품화를 촉진시켜야 한다.
- 인허가에 필요한 안전성 및 유효성 평가 등 필수적인 요소는 당연히 평가하되, 기존 PRRSV MLV 백신의 사용으로 이미 실증적으로 확인된 백신바이러스의 병원성 복귀나 백신 바이러스의 배설 등에 대한 시험성적을 요구하여 국산 PRRSV 백신의 상용화를 제약하지 않도록 해야 한다.

가) 양돈장의 일반적인 PRRSV 백신 접종 지침(가이드라인)

(1) 접종 전 고려사항

(가) PRRSV 백신의 기본 개념

- 시판 PRRSV 백신은 해당 양돈장의 감염 바이러스 및 감염 양상에 따라 방어효과가 다양할 뿐만 아니라 백신 바이러스의 감염 및 전파로 인한 다양한 부작용을 유발할 수도 있다.
- 따라서 PRRSV 백신은 다른 질병의 백신과는 달리 농장의 감염 상황에 따른 전략적 접종 전략이 필요하다. 따라서 백신 접종 이전에 해당 농장의 PRRSV 감염 상황을 파악한 다음, 농장의 PRRSV 감염유형에 따라 적절한 백신 프로그램을 수립하여 접종하여야 한다.

(나) 농장의 PRRSV 감염 유형에 대한 이해

- 농장에 따라 PRRSV의 감염 유형이 다양하며, 감염 유형에 따라 백신 접종 등 적절한 방역대책이 적용되어야 방역효과를 거둘 수 있다. 따라서 반드시 사전에 정밀검사를 통하여 농장의 PRRSV 감염 유형을 파악하여 농장 맞춤형 백신 접종 전략을 수립하여 적용하여야 한다.
- PRRSV 백신 접종만으로는 농장의 PRRSV 문제를 완전히 해결할 수 없으므로 백신 접종과 함께 농장 상황에 따라 적절한 추가적인 방역대책을 수립하여 적용하여야 한다.

(다) PRRSV의 다양성에 대한 이해

- PRRSV는 유럽형 PRRSV-1과 북미형 PRRSV-2로 분류되며, 두 바이러스는 감염돈에서 나타나는 임상증상은 유사하지만 바이러스의 유전적 및 생물학적 특성이 서로 다르다.
- 2종의 PRRSV는 지속적으로 변이하고 있으며, 유전적 및 항원적 특성이 다른 다양한 변이주들이 유행하고 있으며, 이러한 유전적 및 항원적 차이가 백신 접종 효과에 영향을 미친다.

(라) PRRSV 백신의 방어효과 및 안전성에 대한 이해

- PRRSV 사독백신은 안전하기는 하나 방어효과가 낮기 때문에 일반 양돈장에서 질병 예방 목적으로 사용하기 보다는 이미 감염된 농장에서 치료 목적으로 사용하는 것이 바람직하다.
  - 예를 들어 이미 PRRSV에 감염된 돈군 또는 생독백신을 접종한 돈군에 불활화백신을 보강 접종하면 돈군의 면역반응을 증강시킬 수 있다.
- PRRSV 생독백신은 근본적으로 백신 바이러스의 배설과 전파, 병원성 복귀 등 안전성에 문제가 있으므로 무분별하게 사용해서는 아니 된다.
  - PRRSV 음성 농장에서는 생독백신을 접종하지 않는 것이 원칙이다.
  - 생독백신은 동종 바이러스에 대해서는 방어효과가 우수하나 이종의 바이러스에 대해서는 방어

효과가 낮기 때문에 백신 접종 이전에 농장에 감염되어 있는 PRRSV의 종(PRRSV-1 또는 PRRSV-2) 또는 유전형을 확인하여 적합한 백신을 선별하여 사용한다.

- 외국의 경우, 적합한 유전형의 생독백신이 없을 경우, 농장 바이러스를 이용한 자가백신을 접종하기도 한다.

## (2) 양돈장의 PRRSV 백신 접종 기본 전략

### (가) 양돈장 감염 PRRSV의 종 및 유전형 분석

- 백신접종 대상 양돈장의 감염 시료를 채취하여 PRRSV 종(PRRSV-1 및 PRRSV-2) 감별이 가능한 유전자진단법을 이용하여 감염 PRRSV의 종을 확인한다.
- 검출된 PRRSV의 ORF5 유전자를 증폭한 다음, 유전자 염기서열 분석을 실시하여 해당 PRRSV의 유전형을 확인한다.

### (나) PRRSV 감염 상황에 따른 백신 선별 요령

- PRRSV-1 또는 PRRSV-2 단독 감염된 농장인 경우
  - 1차적으로 농장 감염 바이러스 종과 동일한 종의 백신을 선별 대상으로 한다.
  - 2차적으로 농장 감염 바이러스의 유전형과 일치하는 백신을 선별한다.
- PRRSV-1과 PRRSV-2가 혼합 감염된 농장인 경우
  - 농장의 사육단계별 감염 및 피해 상황에 따라 감염 및 피해가 심한 바이러스 종의 백신을 우선적으로 선별한다.
  - 모든의 수직감염이 문제되는 농장에 대하여 모돈군 안정화 목적으로 백신접종을 실시하는 경우에는 모돈군에서 수직감염을 유발하고 있는 바이러스 종에 대한 백신을 선별한다.
  - 자돈군의 호흡기 질병이 문제되는 농장에서는 호흡기 질병의 발생에 더 큰 영향을 주는 PRRSV-2 백신을 우선적으로 선별한다.

### (다) PRRSV 백신접종 목적에 따른 백신 접종 요령

- 번식장애 발생 농장의 긴급 백신 접종
  - PRRSV 감염에 의해 번식장애가 나타날 경우, 적절한 방역조치가 이루어지지 않으면 농장 상황에 따라 번식장애 증상이 1-4개월간 지속되면서 농장에 큰 피해를 유발하게 된다. 이런 농장에 대해서는 모돈군에 대한 긴급 예방접종을 통하여 모돈의 면역수준을 일시에 높여줌으로써 피해를 경감시킬 수 있다.
  - 백신 접종 요령
    - ① 백신 접종 후 면역이 형성되는 데 최소 3주 이상의 시간이 걸리기 때문에 백신 접종시기가 빠를수록 효과가 좋다. 백신 접종시기가 늦어질수록 접종 당시에 비감염 모돈보다 감염 모돈의 수가 증가해 있을 것이기 때문이다 백신은 비감염 음성 모돈에 접종해야 효과적이다.
    - ② 긴급 백신접종은 MLV 백신을 사용하여야 한다. 생독백신이라야 더 빨리 더 강한 면역을 형성시킬 수 있기 때문이다. 그러나 생독 백신 바이러스는 돼지 체내에서 증식하여 바이러스 혈증을 유발할 수 있으며, 임신 말기 모돈에 접종할 경우에는 바이러스혈증을 가진 자돈이 태어날 수 있음을 염두에 두어야 한다.
- 후보돈 순치를 위한 백신 접종
  - PRRSV 음성 후보돈을 순치하는 가장 좋은 방법은 백신 접종이다.
  - 백신 접종 요령
    - ① 1차 접종은 반드시 생백신을 접종해야 하며, 백신 접종 2주 후에 항체검사를 실시하여 항체

가 형성되었는지(백신 접종이 제대로 되었는지) 확인한다.

② 해당 농장의 감염 수준이 높을 경우에는 1차 접종 4주 후에 2차 접종을 실시한다.

\* 2차 접종은 최소한 최초 종부 3주 이전에 완료해야 한다.

③ 만약 후보돈이 이전에 감염되어 항체 양성인 경우라면 1차 백신접종만으로도 충분한 면역을 형성할 수도 있다.

○ PRRSV 양성 모돈군에 대한 백신 접종

- PRRSV 양성 모돈군에 대한 백신 접종은 생독 또는 사독백신을 사용 할 수 있다.

- 백신 접종 요령

① 이 경우에는 백신의 종류에 상관없이 1년에 3-4회 일괄 접종하되, 농장의 감염 위험성을 고려하여 생독 또는 사독 백신을 선발할 수 있다.

② 농장의 감염 수준이 높지 않고, 생독 백신 바이러스의 농장 유입을 원하지 않는 경우에는 사독백신을 접종한다. 그러지 않은 경우에는 생독백신 접종을 고려한다.

③ 연간 3-4회 접종하였음에도 불구하고 돈군의 면역이 충분히 유도되지 않는 경우에는 백신접종 상의 오류 백신의 부적절한 보관, 백신접종 방법의 오류 등)가 없었는지 점검해야 한다.

④ 이미 항체-양성인 모돈군에 백신을 재접종할 경우에는 ELISA 항체가 더 이상 올라가지 않을 수도 있음을 염두에 둔다.

○ 자돈군에 대한 백신 접종

- 자돈군에 대한 백신접종은 농장의 감염 상황에 따라 효과가 달라질 수 있다. 백신 접종에 따른 면역은 최소 접종 후 3-4주가 지나야 형성된다. 따라서 해당 농장이 수직감염에 의해 바이러스 양성 자돈이 태어나고 있는 경우라면 백신 접종 이전에 야외 PRRSV가 이미 감염되어 있기 때문에 백신 접종 효과를 크게 기대할 수 없다.

- 백신 접종 요령

① 자돈군의 PRRSV 감염 상황을 파악하여 감염 3-4주 이전에 백신 접종을 완료해야 한다. 다시 말하면 자돈의 백신 접종은 모돈군이 안정화되어 있어 6-7주령의 자돈군에 PRRSV가 감염되는 돈군은 자돈 백신 접종을 기대할 수 있으나 그 이전에 조기 감염이 일어나고 있는 농장 상황에서는 좋은 효과를 기대하기 어렵다.

② 따라서 자돈군에 대한 PRRSV 백신 접종을 고려할 때에는 모돈군의 안정화 여부를 확인하고, 만약 모돈군 불안정화 상태라면 먼저 모돈군을 안정화를 시키는 것이 바람직하다.

### 3) 양돈장의 PRRSV 감염 유형 분류와 현장 방역 지침(가이드라인)

#### 가) 개요

(1) 돼지생식기호흡기증후군(PRRS)은 현재 우리나라를 포함한 세계 양돈산업에 가장 큰 경제적 피해를 입히고 있는 돼지 전염병 중의 하나이다. 그간 PRRS 문제를 해결하기 위하여 다양한 현장 방제전략이 개발되어 왔음에도 불구하고, 여전히 많은 양돈장들이 PRRS 발생으로 인해 막대한 피해를 겪고 있는 것이 현실이다.

(2) 현재 PRRS 예방을 위한 백신이 시판되고 있으나 백신 접종만으로는 농장의 PRRS 문제를 해결할 수가 없기 때문에 차단방역과 돈군관리 등 추가적인 방제전략의 적용이 필요하다. 따라서 효과적인 PRRS 현장 방역을 위해서는 PRRS 백신과 다양한 방제전략에 대한 이해를 기반으로 농장 상황에 적합한 맞춤형 방제 전략 수립 및 적용이 필요하다.

(3) 따라서 이 연구를 통하여 한국 양돈장의 PRRS 발생 상황을 기반으로 현장에서 적용 가능한 다양한 PRRS 방제전략과 그 세부 요령들을 체계적으로 정리한 “PRRS 현장 방역 관리 지침”을 작성하였다. 작성 지침서를 한돈협회나 양돈수의사회 등에 제공하여 양돈농가나 양돈수의사가 농장 맞춤형 PRRS 방역 계획을 수립하고 실행하는데 참고하도록 하였다.

나) 현장 방역관리 지침 주요 내용

- (1) PRRS 현장 방역 관리 지침서의 내용은 아래 표 4-9와 같이 구성하였으며, 양돈장 또는 종돈장에서 해당 농장의 PRRS 감염 유형에 따라 적절한 방역목표를 설정하고, 방역 목표에 따라 PRRS를 안정화 또는 청정화 하는데 필요한 방역조치들을 세부적으로 제시하였다.
- (2) 작성된 지침서는 책자로 발간하는 동시에 지침서 내용을 양돈전문지(월간피그엔포크한돈) 제공하여 시리즈로 게재함으로써 관심 있는 양돈 종사자들이 널리 참고할 수 있도록 하였다 (그림 4-4).

표 4-9. PRRS 현장 방역 관리 지침서

구분	주요 내용	페이지
제 1장 PRRS 방역 계획의 수립	I. PRRS 방역 목표 설정 II. PRRS 방제전략 수립	2-9
제 2장 양돈장 PRRS 감염 유형 및 방역대책	I. 양돈장 PRRS 감염 유형 분류 II. 양돈장 PRRS 감염 유형별 방역 관리 요령	10-25
제 3장 PRRS 백신과 접종요령	I. 시판 PRRS 백신에 대한 이해 II. PRRS 백신 접종 가이드라인	26-36
제 4장 돈군 관리를 통한 PRRS 방제전략	I. 돈군 관리 전략 개요 II. 돈군 폐쇄형 PRRS 방제전략 III. 돈사 비우기 청정화 전략	37-43
제 5장 양돈장 방역 관리 요령	I. 양돈장 차단 방역 관리 요령 II. 후보돈 격리 및 순치 요령 III. 돈사별 기본 방역 관리 요령 IV. 양돈장 청소 및 소독 요령	44-62
제 6장 참고문헌		63

※ 돼지생식기호흡기증후군(PRRS) 현장 방역 관리 지침 책자 별첨.



그림 4-4. 돼지생식기호흡기증후군(PRRS) 현장 방역 관리 지침 책자 표지



## 2-5. 고찰 및 의의

### 1) 국내 발생 PRRSV의 유전적 특성 확인

가) PRRSV는 외피가 있는 single-stranded, positive-sense RNA 바이러스로 Arteriviridae과, Porartevirus속에 속하며. 전통적으로 유럽형 type 1 PRRSV (PRRSV-1)과 북미형 type 2 PRRSV (PRRSV-2)로 구분된다. PRRSV-1과 PRRSV-2는 유전자 구성이 유사하며, 감염에 따른 임상증상이나 질병 발생 양상 또한 유사하지만 항원적 및 유전적 특성은 서로 매우 다르다. 또한 동일 종 내에서도 다양한 유전적 변이주들이 존재하며, 지속적인 변이가 진행되고 있어 기존 면역 (백신 접종 또는 자연감염에 의한)을 회피하는 새로운 변이주가 출현하고 있어 방역, 백신 및 진단법 개발에 어려움을 주고 있다.

나) 한국에서는 1993년에 PRRSV-2가 최초로 확인되었고 (Kwon 등, 1994), 2005년에는 PRRSV-1이 최초로 확인되었으며 (Kim 등, 2006), 이들 바이러스는 해외 종돈 수입을 통하여 한국에 유입된 것으로 추정된다 (Kim 등, 2021). 또한 북미 및 유럽지역에서 종돈이 매년 수입되고 있었기 때문에 최초 발생 보고 이전에 이미 2종의 PRRSV가 한국에 유입되어 있었을 것으로 추정된다. 한국에 발생하고 있는 PRRSV의 유전적 특성에 대한 조사는 다수의 연구자들에 의해 이루어져 왔다.

다) 이 연구에서s,s 국내 PRRSV의 최근 발생상황을 조사하고 한국 PRRSV의 전체적인 분자유전학적 분석을 실시하였다.

(1) 총 215개 PRRSV 양성 농장의 시료 2,638을 수집하여 국내의 PRRSV-1과 PRRSV-2의 단일감염 또는 반복감염 여부를 확인하였다. 가장 최근의 결과가 PRRSV-1 및 PRRSV-2 단독감염이 각각 38.4% 및 37.4%, 동시감염이 24.2%인(Kang 등, 2018) 반면 최근 3년에는 PRRSV-1 단독감염 20%, PRRSV-2 단독감염 43%, 동시감염이 37%로 PRRSV-1 단독감염의 비율은 절반으로 줄고, 동시감염의 수가 증가하였다.

(2) 현재까지 국내 발생한 모든 PRRSV의 유전자를 수집하였고, 수집한 PRRSV 양성시료에서 최근 PRRSV의 염기서열을 분석 완료하였다. ORF5 염기서열의 Phylogenetic 분석으로 국내 PRRSV의 유전형 별 분포를 확인하였다. 공시 해외 PRRSV strain과 종돈수입국가에서 발생한 PRRSV strain을 포함하여 계통학적으로 분석했을 때, 국내 PRRSV의 유전형의 구분이 명확하게 되었으며, 이를 토대로 각 Subtype 또는 Lineage의 기원을 분석하였다.

(3) 국내 발생한 PRRSV-1은 Sub1A, Sub1B, Sub1C로 분류된다. Sub1B는 더 이상 발생하지 않으며 Sub1C는 백신유래주로 알려져있다. Sub1A의 바이러스들은 한국 특이적인 clade를 형성하며 다양성이 높아지고 있었다. 공히 PRRSV-1은 병원성이 낮다고 알려져 있지만, 이미 백신주와 10% 이상의 유전적 차이를 보이고 있기 때문에 Sub1A 바이러스들의 특성에 대한 연구가 필요하다. 최근의 PRRSV 양성시료에서 Sub1A 계열의 시료를 확보하였고 Sub1A 바이러스를 분리하여 백신후보주로 확보하였다. 추후, Sub1A 백신후보주의 유용성 평가를 위한 연구들이 필요할 것으로 판단된다.

(4) PRRSV-2는 이전보고(Kim 등, 2021)와 같이 L1, L5, L8, LKorA, LKorB, LKorC로 분류되며, 이전에는 L5가 가장 많이 발생하였지만, 최근 Lineage 10이 우점 Lineage로 확인된다. 새로운 Lineage는 발견되지 않았지만 Lineage 1의 sublineage로 NADC31-like strain들이 새롭게 발생하여 증가하고 있다.

(5) Korea lineage들은 지속적인 변이로 인해 초기발생보다 백신주와의 상동성이 5-10%까지 감소

하였다. 2011-2012년 구제역의 발생과 대거 종돈수입이 있었음에도 불구하고 Korea lineage 들은 endemic의 형태로 국내에 지속적으로 발생한다. 최근 LKorA의 발생이 줄었지만, LKorB 와 LKorC는 더 큰 변이를 나타내며 발생하고 있다.

(6) L5의 경우, 백신주가 속한 Lineage 임에도 Lineage 내 상동성이 약 85%로 서로간의 최대 15% 차이를 보이고 있다. 이러한 백신유래변이주 또는 야외주들에 대해서 현재 시판되는 백신 이 같은 Lineage임에도 불구하고 방어능을 가지는지에 대해 평가할 필요가 있다.

(7) L8은 2016년 이전에는 국내에 발생하지 않았으나 2016년 Fosterer 생독백신이 도입된 후, 2017년부터 백신주와 상동성 95%의 백신 유래 바이러스가 발생하고 있다. Lee 등(2016)의 문헌에서 국내 우점하지 않은 Lineage의 생독백신 사용에 따른 백신주-유래 병원성 복귀주의 발생이 처음 언급되었다. 동시에 국내 우점주를 활용한 백신 개발을 제안하였다.

라) 결론적으로, 한국의 PRRSV의 Phylogenetic 분석, 상동성 분석, epitope 분석에서 볼 수 있듯이, 한국의 PRRSV는 유전적 다양해지며 Subtype/Lineage 별 독자적인 변이를 지속하고 있다. 백신 주의 방어 실패에 의한 PRRSV의 지속적인 순환감염과 새로운 유전형의 생독백신유래주는 국내 PRRSV의 다양성을 가속화 시킬 수 있다. 따라서 현재 유행하는 한국 발생 PRRSV를 이용한 생 독백신이 필요하며, 우점주가 지속적으로 변하는 PRRSV의 발생 상황에 신속하게 대응할 수 있는 유전형 별 백신후보주들의 확보가 필요하다.

## 2) 국내 PRRSV의 분자유전학적 특징 기반 병원성 분석

가) 현재까지 국내외 연구결과를 고찰해보면 특정 단일 유전자 마커가 PRRSV의 병원성과 연관된다 고 확정할 수는 없다. 그러나 기보고된 병원성 연관 유전자 관련 논문들을 고찰하여 분석 방향 을 설정하고, 해당 선발 유전자를 중심으로 해당 유전자들과 병원성 연관성 여부를 최대한 분석 하고자 하였다.

나) PRRSV의 병원성 마커 분석 결과와 바이러스 유전형 간 상관관계 분석 결과, Lineage 별로 유사 한 병원성 마커를 가지는 것을 확인하였다 (표 5-1).

표 5-1. Lineage 별 병원성 마커 분석 결과

Virus	Lineage	
PRRSV-2	Lineage 1	NADC30-like strain 패턴으로 중 병원성
	Lineage 5	Classical strain 패턴과 Ingelvac ATP strain 패턴을 가지며 저 병원성 또는 중·저 병원성
	Lineage 8	Fosterer strain 패턴으로 중·저 병원성
	Korean lineage A	NADC30 like & Classical strain 패턴으로 중 또는 저 병원성
	Korean lineage B	NADC30likestrain & Fostererstrain & IngelvacATP 패턴을 모두 가지며 중 병원성 또는 중·저 병원성
	Korean lineage C	NADC30likestrain & Fostererstrain & IngelvacATP 패턴을 모두 가지며 중 병원성 또는 중·저 병원성

(2) 설정 된 병원성 마커 분석의 ‘고 병원성’은 HP-PRRSV를 대상으로 하며, 국내 PRRSV에는 고 병원성 PRRSV가 확인되지 않았다. 병원성 평가에서 NA10 strain이 ‘고고 단계’의 병원성으로 평가되었는데, 실제 중 병원성 중에서도 높은 병원성을 나타냄을 의미한다.

(3) 본 과제에서 설정한 병원성 관련 유전자 마커 분석은 전체유전자 염기서열 분석을 통해 병원성 실험 전의 분자유전학적 단계에서 병원성을 추정할 수 있다는 데에 의미가 있다. 더욱 정확한 분석을 위해서는 지속적인 역유전학을 통한 병원성 마커의 발굴이 요구된다.

다) PRRSV-2의 병원성과 RFLP pattern과의 연관성 분석

(1) Wesley 등(1998)이 보고한 ORF5 RFLP 분석법은 일부 연구자들에 의해 여전히 PRRSV-2의 병원성 바이러스 (pathogenic biotype)를 분류하는 방법으로 이용되고 있다. 또한, Trevisan 등 (2021)은 RFLP 분석법은 PRRSV의 다양한 strain을 구별하는 능력이 제한적이라는 결론을 내렸으며, RFLP 분석법은 PRRSV의 지역 통제 프로그램이나, 돈군 면역 전략, PRRSV 전파 위험 평가 등에서 각 RFLP 유형 내 바이러스들의 유전적 다양성을 이해하는 수단으로만 활용될 수 있을 것으로 평가하였다. 따라서 이 연구에서는 첫째, phylogenetic analysis에 의해 분류된 PRRSV-2의 유전형과 RFLP 분석법에 의한 RFLP 유형간의 연관성을 확인하기 위하여 최근 한국 발생 PRRSV-2의 phylogenetic lineage를 분석하고, 각 lineage에 속한 바이러스들에 대한 RFLP 유형의 다양성을 확인하였다. 또한, RFLP 분석법의 유용성과 관계없이 병원성이 확인된 한국 발생 PRRSV-2의 RFLP 유형을 분석하여 그 연관성을 확인하였다.

(2) 국내 발생 PRRSV-2의 ORF5 RFLP 패턴 분석 결과, 100가지의 RFLP 패턴이 확인되었으며, 그 중 2-5-2 (20%), 1-4-4 (9.3%), 1-27-4 (5.5%) 가 높은 점유율을 보였다.

- 우리의 결과와 유사하게 최근의 미국의 분석에서(Trevisan 등, 2021), 2007-2019년 사이 보고된 PRRSV-2 ORF5 유전자 염기서열 40,454개의 RFLP 유형을 분석한 결과, 2-5-2 패턴의 비율과 1-4-4 패턴의 비율이 21.2%와 11.8%로 국내 PRRSV-2 분석결과와 비슷한 비율로 나타났다. 그러나 미국에서 높은 비율로 나타난 1-7-4 (15.6%) 패턴의 경우 국내에는 2.3%로 낮은 비율로 나타났다.

(3) 국내의 전체 PRRSV-2 바이러스중 1-27-4 RFLP 패턴은 5.5%, LKorB에서 14.1%를 차지하면서 3번째로 많은 RFLP로 분석되었다. 1-27-4는 병원성 평가에서 NA10의 RFLP로 가장 큰 병원성을 나타냈다.

(4) 이와 같이 국내 발생 PRRSV-2는 RFLP 패턴은 100종 내외로 매우 다양함을 확인할 수 있었으며, 이 모든 RFLP 유형 바이러스에 대한 병원성을 분석한다는 것은 현실적으로 불가능하다.

3) 이와 같이 여러 연구에서 RFLP 분석법의 불안정성에 대한 문제점을 지적하고 있다. 즉, 유전적으로 연관성이 낮은 바이러스들이 동일한 RFLP 유형을 가지기도 하며, 동일 바이러스를 10 대 이상 동물에 계대 접종할 경우, RFLP 유형이 변이되기도 한다. (Cha 등, 2014; Paploski 등, 2019). 이러한 RFLP 분석의 불안정성과 결과 해석의 모호성으로 인해 2010년에 phylogenetic analysis에 의한 유전형 (lineage) 분류법이 도입되어 널리 활용되고 있다 (Shi 등, 2010a; Shi 등, 2010b). 따라서 한국의 PRRSV의 유전형을 경시적으로 분석함으로써 RFLP 분석법보다는 우선적으로 phylogenetic analysis 분석법을 이용하여 한국 발생 PRRSV의 유전형 변화와 특성을 구명하는 것이 바람직하다고 판단된다.

3) 한국형 PRRSV 백신후보주의 확보

가) 이 연구를 통하여 국내 PRRSV 양성 시료로부터 최종 45주의 백신후보주주를 분리하였다.

나) PRRSV-1 백신후보주. 한국에서 최근 발생하고 있는 대부분의 PRRSV-1은 Sub1A 계열에 속하며, 시판 백신주가 속하는 Sub1C 계열의 바이러스와는 유전적 차이가 크다는 것을 확인했다. 이

연구를 통하여 국내 발생 유전형인 Sub1A 계열의 백신후보주 10주를 확보하였다.

다) PRRSV-2 백신후보주: 국내 PRRSV-2 양성 시료에서 백신후보주 35주 (L1 7주, L5 8주, L8 2주, LKorA 2주, LKorB 7주, LKorC 9주)를 분리하였다. 과제 계획 단계에서는 국내 우점주를 제한적으로 분리할 계획이었지만 국내 발생 PRRSV-2의 모든 유전형의 바이러스를 분리하는 데 성공함으로써 향후 다양한 국내 발생 유전형의 백신후보주로서 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

#### 4) PRRSV 아외 발생주와 백신후보주 Barcode analysis를 통한 신속 매칭기법의 개발

가) PRRSV의 유전적 다양성으로 인해 시판 백신에서도 사용할 백신을 선발 하는데 어려움이 있다. 또한 국내 시판 백신은 L5와 L8로 한정되어 있어 실제로 아외주와 유전적 상동성이 큰 상황이다.

나) 한국의 PRRSV 양성시료에서 분리한 유전형 별 백신후보주는 현재 유행하는 아외주와 상동성이 높으며, Barcode analysis에서 높은 매칭을 보인다.

다) PRRSV의 면역원성과 가장 연관되어있다고 알려진 ORF5 내의 에피토프 부위를 비교함으로써, 분자유전학적인 방법으로 아외주에 적합한 백신후보주 선발 할 수 있는 가능성을 열었다. Barcode analysis에서 방어능이 있을 것이라고 예상된 바이러스 주들의 매칭이 실제 중화시험 결과 유의하게 나타났다.

라) 향후, Barcode analysis의 적용 범위를 ORF5 뿐만 아니라 면역원성과 관련된 유전자 부위(다른 구조단백질 들)로 넓히고 PRRSV의 방어능을 in vitro 상에서 평가 할 수 있는 방법(중화시험 등)들이 연구된다면 분자유전학적으로 방어능을 예상할 수 있는 매칭기법을 더욱 발전시킬 수 있을 것이라 예상된다.

#### 5) PRRS 방역 관리요령 개선방안 도출 및 정책건의

가) PRRS 현장 방역관리를 강화하기 위하여 현행 가축전염병예방법의 법정 전염병 분류체계 및 방역관리의 문제점과 개선방안을 도출하였으며, 이를 농림축산식품부에서 활동을 지원하고 있는 “미래축산포럼”의 가축방역분과위원회(위원장 김원일교수)에서는 위 가축전염병예방법 개정안을 2021년 사업 내용으로 제안하여 세부 작업을 진행하였으며, 지난 12월 정기 포럼에서 개정안을 발표하였다.

- 현재 상기 가축전염병예방법 개정 건의안을 농림축산식품부 가축 방역 유관부서에 전달하였고, 정책건의 절차를 추진하고 있다. 향후 농림축산식품부와 협의하여 미래축산포럼 사무를 관장하고 있는 농협을 통하거나 국민제안 제도를 통하여 개정안을 정부에 건의할 계획이다.
- 개정 건의안과 같이 제3종 가축전염병이 농가자율방역 대상 질병으로 전환된다면 양돈농가의 PRRS 발생 신고에 따른 방역조치 부담이 해소되기 때문에 발생상황과 바이러스 정보 파악 등이 용이해져서 방역관리의 효율성이 크게 증진될 것으로 기대된다.

나) 종돈장의 효율적인 PRRS 방역관리는 국내 양돈장의 PRRS 확산과 피해를 예방하는데 가장 중요한 요소 중의 하나이다. 이 연구에서는 현행 종돈장방역관리요령 (농림축산식품부고시 제 2016-51호)의 PRRS 방역관리 규정의 문제점과 개선사항을 도출하여 개정안을 마련하여 농림축산검역본부에 해당 개정안을 정책건의하였다. 이를 통하여 국내 종돈장의 PRRS 현장 방역관리 수준이 향상될 것으로 기대된다.

#### 6) PRRS 방역 지침 및 백신 접종 가이드라인 제시

가) PRRS는 현재 우리나라를 포함한 세계 양돈산업에 가장 큰 경제적 피해를 입히고 있는 돼지 전염병 중의 하나이다. 그간 PRRS 문제를 해결하기 위하여 다양한 현장 방제전략이 개발되어 왔음에도 불구하고, 여전히 많은 양돈장들이 PRRS 발생으로 인해 막대한 피해를 겪고 있다.

- 나) 현재 PRRS 예방을 위한 백신이 시판되고 있으나 백신 접종만으로는 농장의 PRRS 문제를 해결할 수가 없기 때문에 차단방역과 돈군관리 등 추가적인 방제전략의 적용이 필요하다. 따라서 효과적인 PRRS 현장 방역을 위해서는 PRRS 백신과 다양한 방제전략에 대한 이해를 기반으로 농장 상황에 적합한 맞춤형 방제 전략 수립 및 적용이 필요하다.
- 다) 따라서 이 연구를 통하여 한국 양돈장의 PRRS 발생 상황을 기반으로 현장에서 적용 가능한 다양한 PRRS 방제전략과 그 세부 요령들을 체계적으로 정리한 “PRRS 현장 방역 관리 지침”을 제작하여 발간하였다. 또한 지침서 내용을 한국 대표 양돈 전문지인 월간피그엔포크한돈에 시리즈로 연재하여 양돈농가나 양돈수의사들이 농장 맞춤형 PRRS 방역 계획을 수립하고 실행하는데 참고하도록 하였다.

## 2-6. 참고 문헌

<국내 발생 PRRSV 유전적 특성 관련 참고문헌>

- Cha SH, Choi EJ, Park JH, Yoon SR, Song JY, Kwon JH, Song HJ, Yoon KJ. 2006. Molecular characterization of recent Korean porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) viruses and comparison to other Asian PRRS viruses. *Vet Microbiol.* 117(2-4), 248-257. doi: 10.1016/j.vetmic.2006.05.007.
- Choi EJ, Lee CH, Song JY, Song HJ, Park CK, Kim B, Shin YK. 2013. Genetic diversity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Korea. *J Vet Sci.* 14(2), 115-124. doi: 10.4142/jvs.2013.14.2.115.
- Kang H, Yu JE, Shin JE, Kang A, Kim WI, Lee C, Lee J, Cho IS, Choe SE, Cha SH. 2018. Geographic distribution and molecular analysis of porcine reproductive and respiratory syndrome viruses circulating in swine farms in the Republic of Korea between 2013 and 2016. *BMC Vet Res.* 14(1), 160. doi: 10.1186/s12917-018-1480-6.
- Kim HK, Yang JS, Moon HJ, Park SJ, Luo Y, Lee CS, Song DS, Kang BK, Ann SK, Jun CH, Park BK. 2009. Genetic analysis of ORF5 of recent Korean porcine reproductive and respiratory syndrome viruses (PRRSVs) in viremic sera collected from MLV-vaccinating or non-vaccinating farms. *J Vet Sci.* 10(2), 121-30. doi:10.4142/jvs.2009.10.2.121.
- Kim SH, Roh IS, Choi EJ, Lee C, Lee KK, Song YK, Lee OS, Park CK. 2010. A molecular analysis of European porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolated in South Korea. *Vet Microbiol.* 143, 394-400. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.11.039>.
- Kwon T, Yoo SJ, Lee DU, Sunwoo SY, Je SH, Park JW, Kim MH, Park CK, Lyoo YS. 2019. Differential evolution of antigenic regions of porcine reproductive and respiratory syndrome virus 1 before and after vaccine introduction. *Virus Research* 260, 12-19. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2018.11.004>
- Lee C, Kim H, Kang B, Yeom M, Han S, Moon H, Park S, Kim H, Song D, Park B. 2010. Prevalence and phylogenetic analysis of the isolated type 1 porcine reproductive and respiratory syndrome virus from 2007 to 2008 in Korea. *Virus Genes.* 40(2), 225-30. doi: 10.1007/s11262-009-0433-3.
- Lee DU, Yoo SJ, Kwon T, Je SH, Shin JY, Byun JJ, Kim MH, Lyoo YS. 2017. Genetic diversity of ORF 4-6 of type 1 porcine reproductive and respiratory syndrome virus in naturally infected pigs. *Vet Microbiol.* 199, 54-61. doi: 10.1016/j.vetmic.2016.12.026.
- Lee JA, Lee NH, Lee JB, Park SY, Song CS, Choi IS, Lee SW. 2016. Genetic diversity of the Korean field strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Infect Genet Evol.* 40, 288-294. doi: 10.1016/j.meegid.2015.11.001.
- Lyoo, KS., Yeom, M., Choi, JY, Park JH, Yoon SW, Song D. 2015. Unusual severe cases of type 1 porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) infection in conventionally reared pigs in South Korea. *BMC Vet Res* 11, 272 (2015). <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0584-5>
- Nam E, Park CK, Kim SH, Joo YS, Yeo SG, Lee C. 2009. Complete genomic characterization of a European type 1 porcine reproductive and respiratory syndrome virus isolate in Korea. *Arch Virol.* 154(4), 629-38. doi: 10.1007/s00705-009-0347-3.
- Nguyen VG, Kim HK, Moon HJ, Park SJ, Chung HC, Choi MK, Kim AR, Park BK. 2014. ORF5-based evolutionary and epidemiological dynamics of the type 1 porcine reproductive and respiratory syndrome virus circulating in Korea. *Infect Genet Evol.* 21, 320-328. doi: 10.1016/j.meegid.2013.11.023.

Yoon SH, Song JY, Lee CH, Choi EJ, Cho IS, Kim B. 2008. Genetic characterization of the Korean porcine reproductive and respiratory syndrome viruses based on the nucleocapsid protein gene (ORF7) sequences. *Arch Virol* 153(4), 627–635. doi: 10.1007/s00705-007-0027-0.

<병원성 관련 유전자 분석 관련 참고문헌>

Alkhamis MA, Perez AM, Murtaugh MP, Wang X, Morrison RB 2016. Applications of bayesian phylodynamic methods in a recent U.S. porcine reproductive and respiratory syndrome virus outbreak. *Front Microbiol.* 2016; 7, 67. doi: 10.3389/fmicb.2016.00067.

Guo Z, Chen X, Li R, Qiao S, Zhang G. The prevalent status and genetic diversity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in China: a molecular epidemiological perspective. *Virol J.* 2018; 15(1): 2. Available from: <https://doi.org/10.1186/s12985-017-0910-6>.

Guzmán M., Meléndez R., Jiménez C., Piche M., Jiménez E., León B., Cordero JM., Ramírez-Carvajal L., Uribe A., Nes AV., Stegeman A., Romero JJ. 2021. Analysis of ORF5 sequences of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) circulating within swine farms in Costa Rica. *BMC Veterinary Research* 17, 217. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02925>

Ramirez M, Bauermann FV, Navarro D, Rojas M, Manchego A, Nelson EA, Diel DG, Rivera H. 2019. Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) 1–7–4-type strains in Peru. *Transboundary. Emerg. Dis.*, 66, 1107–1113.

van Geelen AGM, Anderson TK, Lager KM, Das PB, Otis NJ, Montiel NA, Miller LC, Kulshreshtha V, Buckley AC, Brockmeier SL, Zhang J, Gauger PC, Harmon KM, Faaberg KS 2018. Porcine reproductive and respiratory disease virus: Evolution and recombination yields distinct ORF5 RFLP 1–7–4 viruses with individual pathogenicity. *Virology.* 513, 168–179.

Xie C, Ha Z, Nan F, Zhang Y, Zhang H, Li J, Zhang P, Han J, Zhang H, Zhuang X, Zhang J, Lu H, Jin N. 2020. Characterization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (ORF5 RFLP 1–7–4 viruses) in northern China. *Microb Pathog.* 140, 103941. doi: 10.1016/j.micpath.2019.103941.

Xie C, Ha Z, Zhang H, Zhang Y, Xie Y, Zhang H, Nan F, Wang Z, Zhang P, Xu W, Han J, Wen S, Lu H, Jin N. 2020. Pathogenicity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (ORF5 RFLP 1–7–4 viruses) in China. *Transbound Emerg Dis* 67, 2065–2072. doi: 10.1111/tbed.13549.

Zhang HL, Zhang WL, Xiang LR, Leng CL, Tian ZJ, Tang YD, Cai XH. 2018. Emergence of novel porcine reproductive and respiratory syndrome viruses (ORF5 RFLP 1–7–4 viruses) in China. *Vet Microbiol.* 222, 105–108. doi: 10.1016/j.vetmic.2018.06.017.

<PRRS 백신 가이드라인 작성 관련 참고문헌>

Bitsouni V, Lycett S, Opriessnig T, Doeschl-Wilson A 2019. Predicting vaccine effectiveness in livestock populations: A theoretical framework applied to PRRS virus infections in pigs. *PLoS One.* 14(8):e0220738. doi: 10.1371/journal.pone.0220738.

Chae C. 2021. Commercial PRRS Modified-Live Virus Vaccines. *Vaccines (Basel).* 9(2): 185. doi: 10.3390/vaccines9020185.

Geldhof MF, Vanhee M, Van Breedam W, Van Doorselaere J, Karniychuk UU, Nauwynck HJ. 2012. Comparison of the efficacy of autogenous inactivated Porcine Reproductive and

- Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) vaccines with that of commercial vaccines against homologous and heterologous challenges. *BMC Vet Res.* 8:182. doi: 10.1186/1746-6148-8-182.
- Huang YW, Meng XJ. 2010. Novel strategies and approaches to develop the next generation of vaccines against porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *Virus Res.* 154(1-2):141-9. doi: 10.1016/j.virusres.2010.07.020.
- Iseki H, Kawashima K, Shibahara T, Mase M. 2021. Immunity against a Japanese local strain of porcine reproductive and respiratory syndrome virus decreases viremia and symptoms of a highly pathogenic strain. *BMC Vet Res.* 17(1):156. doi: 10.1186/s12917-021-02863-4.
- Madapong A, Saeng-chuto K, Boonsoongnern A, Tantituvanont A, Nilubol D. 2020. Cell-mediated immune response and protective efficacy of porcine reproductive and respiratory syndrome virus modified-live vaccines against co-challenge with PRRSV-1 and PRRSV-2. *Scientific Reports* 10, 1649. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-58626-y>.
- Ouyang K, Hiremath J, Binjawadagi B, Shyu DL, Dhakal S, Arcos J, Schleappi R, Holman L, Roof M, Torrelles JB, Renukaradhya GJ. 2016. Comparative analysis of routes of immunization of a live porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vaccine in a heterologous virus challenge study. *Vet Res.* 47:45. doi: 10.1186/s13567-016-0331-3.
- Renukaradhya GJ, Meng XJ, Calvert JG, Roof M, Lager KM. 2015. Inactivated and subunit vaccines against porcine reproductive and respiratory syndrome: Current status and future direction. *Vaccine.* 33(27):3065-72. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.04.102.
- Renukaradhya GJ, Meng XJ, Calvert JG, Roof M, Lager KM. 2015. Live porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccines: Current status and future direction. *Vaccine.* 7;33(33):4069-80. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.06.092.



### 3. 연구개발과제의 수행 결과 및 목표 달성 정도

#### 가. 연구수행 결과

##### 1) 정성적 연구개발성과

- 
- 이 연구의 최종 목표인 PRRSV 백신 타겟 후보 물질 개발을 위하여 전국적으로 215개 PRRSV 양성 농장 시료 2,638점을 수집하였다. 이 중 378개 임상시료로부터 ORF5-7 유전자를 증폭하여 염기서열을 분석한 결과, PRRSV-1의 ORF5-7 유전자 염기서열 114개와 PRRSV-2의 ORF5-7 유전자 염기서열 210개를 포함하여 총 324개의 ORF5-7 유전자 염기서열을 확보하였다.
    - 과제 계획 당시 국내 PRRSV 분자유전학적 분석을 위해 최근 10년간의 염기서열을 수집하여 분석할 계획이었으나, 본 과제에서 한국의 PRRS 최초발생년도인 1997년부터 등록된 모든 서열을 수집하여 PRRSV의 유전적 분포를 확인하였다. 특히, 국내 2019-2021년 PRRSV 양성 시료를 전국적으로 수집하여 염기서열 분석을 완료하였다.
  - 확보한 국내 발생 PRRSV의 염기서열을 기반으로 분자유전학적 분석을 통해 국내 우점 유전형질을 확인하였고, 각 Lineage의 특성과 백신주와의 비교를 통해 한국형 백신 개발의 필요성을 확인하였다.
    - 한국 발생 PRRSV-1의 유전형별 분포는 전체적으로 Sub1A이 957주 (87.5%), Sub1B이 55주 (5.0%), Sub1C 82주 (7.5%) 나타나 Sub1-A 계열 PRRSV-1의 유병률이 가장 높았다. 따라서 구배 발생 유전주인 Sub1A를 분리하여 백신후보물질로 확보하였다.
    - 한국 발생 PRRSV-2의 유전형별 분포는 전체적으로 L1이 165주 (17.1%), L5 349주 (33.2%), L8 16주 (1.5%), LKorA 127주 (12.1%), LKorB 185주 (17.6%) 및 LKorC 194주 (18.5%)로 나타나 L5 계열 PRRSV-2의 유병률이 가장 높았다. 따라서 한국 발생 유전형의 바이러스를 모두 분리하여 백신후보물질로 확보하였다.
    - 위 PRRSV-1 및 PRRSV-2 유전형 분석에 따른 대표주 총 45주를 분리하여 당초 목표(10 주이상)를 초과 달성하였다.
  - 위 분리주에 대한 전체 유전자 염기서열 분석을 완료하였으며, 유전자 염기서열 분석결과, 국내 발생 PRRSV 우점주간 유전자재조합 바이러스를 광범위 교차방어 백신후보주로 선발하였으며, 나머지 유전형별 분리주들은 유전형-특이 맞춤형 백신후보주로 분류하였다.
    - 확보된 광범위 교차방어가 가능한 유전자 재조합 백신 후보주는 특허 출원 2건을 완료하였으며, 유관업체에 기술이전을 완료하였다.
  - 국내 PRRSV의 분자유전학적 분석과 병원성의 연관성을 확인하기 위해 병원성 연관 유전자, 유전형, RFLP 분석을 파악된 임상증상과 비교분석하였다. 병원성 연관 유전자 분석을 통해 국내 양돈장에서는 고병원성의 PRRSV는 확인되지 않았으며, 중/저 병원성의 PRRSV의 발생을 확인하였다.
    - 다수의 중/저병원성 strain간 병원성에 차이가 있음은 확인하였으나 해당 바이러스의 병원성과 분자유전학적 분석결과간 뚜렷한 연관성은 확인할 수 없었다. 이는 바이러스의 유전적 특성만으로는 목적동물인 돼지에서의 병원성을 파악할 수 없다는 이전 보고들과 일치한다. 따라서 이 연구를 통하여 확보된 한국 발생 PRRSV의 유전형별 병원성 분석을 위한 추가 연구가 필요한 것으로 판단된다.
  - 국내 PRRS 방역관리의 효율성을 개선하기 위해 현행 한국의 PRRS 방역관리 관련 규정을 검토하고 가축전염병예방법의 가축전염병 등급 분류 등에 대한 문제점과 개선방안을 도출하여 공론화하였다. 또한, 종돈장의 PRRS 방역관리에 대한 문제점과 개선방안을 도출하여 “종돈장 방역관리요령” 개정을 위한 정책건의를 완료하였다.
    - 또한, 양돈 현장에서 양돈농가나 양돈수의사들이 활용할 수 있는 “PRRS 현장 방역관리 지침서”를 제작 및 발간하였으며, 해당 지침서 내용을 양돈전문지(월간피그엔포크한돈) 시리즈로 연재함으로써 양돈 종사자들이 널리 활용할 수 있도록 홍보하였다.
  - 이상, 한국 발생 PRRSV의 유전적 특성 분석과 이에 근거한 한국형 PRRSV 백신후보물질 확보, 백신후보주 특허 출원 및 기술이전, PRRS 방역관리 개선과 현장 방역관리 및 백신 접종 가이드라인 제시 등 이 과제에서 당초 목표로 연구성과를 충분히 달성하였다.
-

## 2) 정량적 연구개발성과

정량적 성과는 연구기간 내 학술논문 (1건 목표 대비 2건 달성), 학술발표 (1건 목표 대비 1건 달성), 특허 (1건 목표대비 2건 달성), 기술이전 건수(1건 목표대비 1건), 기술이전 기술료 (20.000.000원 목표 대비 20.000.000원), 인력양성 (2건 목표대비 2건), 정책활용 (1건 목표대비 1건), 홍보전시 (0건 목표대비 4건) 등으로 성과 목표를 초과 달성하였다.

< 정량적 연구개발성과표 >

(단위 : 건, 백만원)

성과지표명		연도	1단계 (2021.4~2022.3)	계	가중치 (%)
전담기관 등록·기탁 지표 <sup>1)</sup>	논문 (SCI)	목표(단계별)	1	1	-
		실적(누적)	2	2	-
	논문 평균 IF	목표(단계별)	1.5	1.5	20
		실적(누적)	2.294	2.294	20
	특허	목표(단계별)	1	1	20
		실적(누적)	2	2	20
	학술발표	목표(단계별)	1	1	10
		실적(누적)	2	2	10
연구개발과제 특성 반영 지표 <sup>2)</sup>	기술실시 (이전) 건수	목표(단계별)	1	1	15
		실적(누적)	1	1	15
	기술실시 (이전) 기술료	목표(단계별)	20	20	15
		실적(누적)	20	20	15
	*고용창출	목표(단계별)	1	1	10
		실적(누적)	0	0	-
	인력양성	목표(단계별)	0	0	-
		실적(누적)	2	2	-
	정책활용	목표(단계별)	1	1	10
		실적(누적)	1	1	10
	홍보전시	목표(단계별)	0	0	-
		실적(누적)	4	4	-
계	목표(단계별)	27.5	27.5	100	
	실적(누적)	33.294	33.297	90	

\* 이 과제의 주관 및 협동연구기관은 기업이 아니라 학교이기때문에 고용창출 성과목표는 불가능함, 따라서 당초 연구계획서 내용에도 인력창출로 성과목표가 기술되어 있으나 총괄표에만 인력양성이 고용창출로 잘못 기록된 것이며, 인력양성 목표는 달성 완료하였음.

### 3) 세부 정량적 연구개발성

#### [과학적 성과]

논문(국내외 전문 학술지) 게재

번호	논문명	학술지명	주저자명	호	국명	발행기관	SCIE 여부 (SCIE/비SCIE)	게재일	등록번호 (ISSN)	기여율
1	Detection of a novel porcine circovirus 4 in Korean pig herds using a loop-mediated isothermal amplification assay	Journal of Virological Methods	김다영	299	네덜란드	Elsevier	SCIE	2022년 1월	0166-0934	100
2	Comparison of the pathogenicity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV)-1 and PRRSV-2 in pregnant sows	Archives of Virology	정창기	167(14)	스위스	Springer	SCIE	2022년 2월	1432-8798	100

국내 및 국제 학술회의 발표

번호	회의 명칭	발표자	발표 일시	장소	국명
1	Genetic characterization of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in Korea from 2018 to 2020	신고은	2021-05-27	2021 대한수의학회	대한민국
2	Development of multiplex real-time PCR for viruses inducing porcine reproductive failure	박지영	2021-05-27	2021 대한수의학회	대한민국

#### [기술적 성과]

지식재산권(특허, 실용신안, 의장, 디자인, 상표, 규격, 신제품, 프로그램)

번호	지식재산권 등 명칭 (건별 각각 기재)	국명	출원				등록			기여율	활용 여부
			출원인	출원일	출원 번호	등록 번호	등록인	등록일	등록 번호		
1	신규한 재조합 돼지 생식기 호흡기 증후군 바이러스 KPRRSV2-D3 균주	대한민국	경북대학 교 산학협력 단	2022.04 .06	10-2022 -004292 8				100		
2	신규한 재조합 돼지 생식기 호흡기 증후군 바이러스 KPRRSV2-D4 균주	대한민국	경북대학 교 산학협력 단	2022.04 .06	10-2022 -004298 4				100		

## [경제적 성과]

### 기술 실시(이전)

번호	기술 이전 유형	기술 실시 계약명	기술 실시 대상 기관	기술 실시 발생일	기술료 (해당 연도 발생액)	누적 징수 현황
1	기술 이전 (통상실시권)	신규한 재조합 돼지 생식기 호흡기 바이러스 KPRRSV2-D3 균주 외 1건	㈜디바바이오	2022.04.06	20,000,000원	20,000,000원

## [사회적 성과]

### 정책 활용 내용

번호	구분 (제안/채택)	정책명	관련 기관 (담당 부서)	활용 연도	채택 내용
1	정책건의	PRRS 방어관리 강화를 위한 중돈장방역관리요령 개정 정책건의	농림축산검역본부	2022.01.12	

### 전문 연구 인력 양성

번호	분류	기준 연도	현황										
			학위별				성별		지역별				
			박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
1	졸업 및 수의연구 사 취업	2021		√			√				√		
2	졸업 및 연구원 취업	2021	박사	석사	학사	기타	남	여	수도권	충청권	영남권	호남권	기타
				√				√			√		

### 홍보 실적

번호	홍보 유형	매체명	제목	홍보일
1	월간잡지	월간한돈	한돈협, PRRS와 중돈, 한돈산업 워크숍 개최	2021.08.01
12	월간잡지	Pig&pork한돈	PRRS 방역계획의 수립 -PRRS 방역 목표 설정 및 방제 전략 수립	2022.02.01
3	월간잡지	Pig&pork한돈	양돈장 PRRS 감염 유형 및 방역대책 - 양돈장 PRRS 감염 유형 분류	2022.03.01
4	월간잡지	Pig&pork한돈	양돈장 PRRS 감염 유형 및 방역대책 - 양돈장 PRRS 감염 유형별 방역 관리 요령	2022.04.01

## 나. 목표 달성 수준

추진 목표	달성 내용	달성도(%)
○ 국내 및 해외 발병 PRRSV 분자 유전학적 데이터 수집 및 분자역학적 분석	○ 국내 유전자 염기서열 (수집 1786개 및 분석 344개)과 해외 염기서열 2411개를 수집하여 분자역학적 분석 완료하여, 국내 PRRSV의 유전학적 특징을 밝히고 우점주를 확인하였으며 백신 후보주 선발의 데이터베이스로 활용 (국내 PRRSV 유전자 344개를 확보하여 당초 목표 100개 이상 초과 달성)	100
○ PRRSV의 분자유전학적 특징과 임상증상의 상관관계 분석	○ 기 보고된 PRRSV의 병원성 연관 유전자를 검토하고, 국내 PRRSV의 병원성 평가와 병원성 연관 유전자의 상관관계를 분석 완료 ○ PRRSV 양성 시료 수집 당시 기록을 통해 시료 당 임상 증상 분류 완료 ○ 유전형 및 RFLP 분석을 완료하고 임상증상 간 상관성을 분석 완료	100
○ 분자역학적 방법에 의거한 백신 후보 타겟 물질 발굴	○ 분자역학적 방법에 의거하여 교차방어를 유도할 수 있는 재조합 백신 후보물질 발굴하여 특허 출원 2건 및 기술이전 1건 완료 (기술료: 20,000,000 원) ○ PRRSV-1 및 PRSSV-2 유전형 분석에 따른 대표주 총 45주를 확보하여 당초 목표(10 주이상)를 초과 달성 ○ 발굴된 백신 후보 타겟 물질과 야외 발생주를 매칭할 수 있는 in-vitro 스크리닝 방법을 제시 완료	100
○ PRRSV 백신사용에 대한 가이드라인 제시	○ 국내 및 해외 유행 PRRSV 분자유전학적 분석에 따라 양돈장에서 기 사용 중인 백신 사용에 있어 현장 실증적 분석 및 이에 대한 가이드라인 수립 완료 ○ PRRSV 분자유전학적 현황 파악을 통해 양돈장에서 PRRSV를 관리하기 위한 방안을 도출하고 과학적인 근거 제시 완료 ○ 국내 PRRS 방역 관련 규정을 반영한 PRRS 방역실시요령(안) 또는 매뉴얼 도출 및 정책건의 완료	100

#### 4. 연구개발성과의 관련 분야에 대한 기여 정도

---

○ 최근 한국 발생 PRRSV의 분자유전학적 특성 분석

PRRSV는 다양한 유전형과 높은 변이율을 가지고 있기 때문에 PRRS의 진단과 백신 전략에 있어서 지속적인 분자유전학적 분석이 매우 필수적이다. 본 과제를 통해 국내 2019 - 2021년 발생 PRRSV의 유전자분석을 완료하여 Genbank 데이터에 등록하였다. 이는 한국 PRRSV의 변이 및 진화 연구에 도움이 될 것이며, 한국 PRRSV 백신주 선발에 중요한 데이터베이스가 될 것이다.

○ 한국형 PRRSV 백신 후보주 확보

국내 시판중인 수입백신은 현재 국내 양돈농가에서 유행하는 PRRSV와 유전적·항원적 변이로 인해 충분한 방어를 하지 못하고 있다. 본 과제를 통해 국내 유행하는 모든 유전형의 PRRS 바이러스를 분리하였으며, 광범위 교차 방어가 가능한 국내 발생 우점주간 유전자재조합 바이러스를 확보하였다. 이 연구를 통하여 분리 확보된 바이러스들을 향후 한국 발생 PRRSV의 유전형에 적합한 유전형-맞춤형 백신 또는 광범위 방어 백신 개발의 핵심 자원으로 활용될 수 있다. 따라서 이 과제에서 확보된 백신 후보물질들을 이용한 상용 백신 개발 및 실용화를 위한 추가 연구과제 지원이 필요하다.

○ PRRS 방역관리 개선 및 현장 가이드라인(지침서) 작성 및 홍보

한국의 가축전염병 방역관리 규정상의 문제점과 개선방안을 도출하여 가축전염병예방법 개정안으로 공론화하였으며, 종돈장 방역관리요령의 PRRS 방역관리 규정의 문제점과 개선방안을 도출하여 유관부서인 농림축산검역본부에 정채건의하였다. 이를 통하여 한국의 가축전염병 방역관리 체계가 선진화 될 것으로 기대되며, 종돈장의 PRRS 방역수준이 향상될 것으로 기대된다.

- 양돈 현장에서 활용할 수 있는 PRRS 현장 방역관리지침서 (가이드라인)를 제작하여 책자로 발간하였으며, 양돈전문지에 연재하여 홍보하였다. 이 지침서는 양돈농가와 양돈수의들의 PRRS 현장 방역 관리에 큰 도움이 될 것으로 기대된다.

## 5. 연구개발성과의 관리 및 활용 계획

< 연구개발성과 활용계획표 >

구분(정량 및 정성적 성과 항목)		연구개발 종료 후 5년 이내	
국외논문	SCIE	1	
	비SCIE		
	계		
국내논문	SCIE		
	비SCIE		
	계		
특허출원	국내		
	국외		
	계		
특허등록	국내	1	
	국외		
	계		
인력양성	학사		
	석사		
	박사		
	계		
사업화	상품출시		
	기술이전		
	공정개발		
제품개발	시제품개발		
비임상시험 실시			
임상시험 실시 (IND 승인)	의약품	1상	
		2상	
		3상	
	의료기기		
진료지침개발			
신의료기술개발			
성과홍보			
포상 및 수상실적			
정성적 성과 주요 내용			

< 별첨 자료 >

중앙행정기관 요구사항	별첨 자료
	1) 자체평가의견서
	2) 연구성과 활용계획서

[별첨 1]

## 자체평가의견서

### 1. 과제현황

		과제번호		321015-01-1-CG600	
사업구분	동물의약품개발사업				
연구분야				과제구분	단위
사업명	가축질병대응기술개발사업				주관
총괄과제	기재하지 않음			총괄책임자	기재하지 않음
과제명	돼지생식기호흡기증후군 바이러스(PRRSV)의 백신 타겟 후보물질 개발			과제유형	(기초,응용,개발)
연구개발기관	경북대학교 산학협력단			연구책임자	박최규
연구기간 연구개발비 (천원)	연차	기간	정부	민간	계
	1차년도	400,000,000			400,000,000
	2차년도				
	3차년도				
	4차년도				
	5차년도				
계	400,000,000				400,000,000
참여기업					
상대국				상대국연구개발기관	

2. 평가일 : 2022.05.14

3. 평가자(연구책임자) :

소속	직위	성명
경북대학교 산학협력단	교수	박최규

4. 평가자(연구책임자) 확인 :

본인은 평가대상 과제에 대한 연구결과에 대하여 객관적으로 기술하였으며, 공정하게 평가하였음을 확약하며, 본 자료가 전문가 및 전문기관 평가 시에 기초자료로 활용되기를 바랍니다.

확약 



## I. 연구개발실적

### 1. 연구개발결과의 우수성/창의성

■ 등급 : 우수

국내 PRRSV의 지속적인 번이로 시판 수입 백신주간 유전적 차이가 커서 방어에 의문이 제기되고 있는 상황에서 국내 발생 PRRSV를 효과적으로 방어할 수 있는 국산 PRRS 백신 개발을 위한 유용 백신 후보물질 발굴이 요구되었다. 따라서 이 연구에서는 최근 국내 발생 PRRSV 양성시료를 전국적으로 수집한 다음, 바이러스 유전자 염기서열 분석을 실시하였고, 이를 기반으로 국내 발생 PRRSV의 분자역학적 분석 및 유전형 분포를 확인하였다.

유전형 분석결과를 토대로 바이러스분리를 추진하여 한국 발생 유전형별로 모든 유전형에 대한 맞춤형 백신후보물질을 확보하였으며, 분리된 바이러스에 대한 전체 유전자 염기서열 분석을 통하여 한국 발생 우점 유전형간 유전자재조합 바이러스를 선별하여 다중 유전형에 대한 광범위 교차 방어 백신후보물질을 다수 확보하였다. 또한, 백신후보주 중 양돈장 상황에 적합한 백신주를 선별할 수 있도록, 백신주와 야외주간 분자역학적 매칭기법을 확립하였다.

이와 같이 유전역학적 분석 결과를 토대로 한국 발생 PRRSV의 유전적 특성에 부합하는 다수의 PRRS 백신후보물질을 당초 계획 대비 초과 확보하였으므로 연구결과의 우수성과 창의성이 충분히 인정된다.

### 2. 연구개발결과의 파급효과

■ 등급 : 우수

한국 발생 PRRSV에 적합한 백신후보물질을 다수 확보함으로써 효과적인 국산 PRRS 백신 개발을 위한 핵심 자원을 성공적으로 확보하였다. 이를 이용하여 향후 PRRS 국산 백신이 상용화된다면 PRRS 발생으로 인한 양돈농가의 피해(연간 1000억원 이상) 방지는 물론 수입 PRRS 백신을 대체 할 수 있어 외화 절감에도 크게 기여할 수 있을 것으로 기대된다. 또한 개발 PRRS 백신의 국내 판매 및 해외 수출을 통한 동물백신 기업의 이윤 창출에도 기여할 수 있을 것이다.

### 3. 연구개발결과에 대한 활용 가능성

■ 등급 : 우수

백신 후보물질 중 광범위 교차방어가 가능한 재조합 PRRSV 백신후보물질은 이미 백신개발 기업에 기술이전을 완료하였고, 향후 광범위한 면역을 제공할 수 있는 한국형 백신의 개발 연구가 진행될 것으로 기대된다. 그 외 유전형별 백신 후보주들도 유전형 맞춤형 PRRS 백신후보물질로서 후속 연구를 통하여 상용 백신 개발이 진행될 것으로 기대된다.

PRRSV의 병원성 유전자 마커, 백신주와 야외주 매칭기법 등은 한국의 PRRSV의 특성 연구에 활용 가능하며, 개발 완료된 PRRSV 현장방역관리 지침(가이드라인)은 양돈장 또는 종돈장의 PRRS 안정화 또는 청정화에 널리 활용될 것으로 기대된다

4. 연구개발 수행노력의 성실도

■ 등급 : 우수

과제 기간 1년 동안 총 215개 PRRSV 양성 농장의 시료 2,638점을 수집하여 300개 이상의 염기서열을 분석하여 Genbank에 등록하고 45주의 바이러스를 분리하였다. 더불어, 분석한 염기서열과 현재까지의 국내에 발생한 PRRSV 염기서열을 모두 수집하여 분자유전학적 분석을 실시하여 제시된 정성 목표를 모두 달성하였다. 또한 1차년도 정량적 성과 즉, 학술논문 (1건 목표 대비 2건 달성), 학술발표 (1건 목표 대비 1건 달성), 특허 (1건 목표대비 2건 달성), 기술이전 건수(1건 목표대비 1건), 기술이전 기술료 (20.000.000원 목표 대비 20.000.000원), 인력양성 (2건 목표대비 2건), 정책활용 (1건 목표대비 1건), 홍보전시 (0건 목표대비 4건) 등을 모두 초과달성하여 1년이라는 짧은 연구기간에도 불구하고, 연구개발목표 달성에 최선의 노력을 다하였다고 평가된다.

5. 공개발표된 연구개발성과(논문, 지적소유권, 발표회 개최 등)

■ 등급 : 우수

국내 PRRSV의 유전적 다양성에 대해 'Classification and characterization of Korean PRRSV field isolates'의 주제로 2021년 대한바이러스학회에 발표하였다. 국내 PRRSV의 병원성에 대해 'Comparison of the pathogenicity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV)-1 and PRRSV-2 in pregnant sows'의 제목으로 Archives of Virology 저널에 2022년 2월 발표하였다.

추가적으로, 본 과제를 통해 획득한 국내 PRRSV 양성 시료를 활용하여 PCV4의 진단법 논문 'Detection of a novel porcine circovirus 4 in Korean pig herds using a loop-mediated isothermal amplification assay'를 Journal of Virological Methods 저널에 2022년 1월 발표하였다.

PRRSV 분리하여 획득한 백신후보주들 중 유전형 간 교차방어를 유도 할 수 있는 재조합 후보주 2주를 선발하여 특허출원 2건을 완료하여 당초 목표를 초과달성하였고, 이를 유관 기업에 기술이전 완료하였다.

PRRS 현장방역관리 지침서를 책자로 발간하였으며, 해당 내용을 양돈 전문지인 월간피그엔포크한돈에 시리즈로 연재 및 홍보하여 양돈농가와 수의사들이 널리 활용할 수 있도록 하였다.

## II. 연구목표 달성도

세부연구목표 (연구계획서상의 목표)	비중 (%)	달성도 (%)	자체평가
국내 및 해외 발병 PRRSV 분자 유전학적 데이터 수집 및 분자역학적 분석 (염기서열 100건 이상 확보)	25	100	○ 국내 유전자 염기서열 (수집 1786개 및 분석 344개)과 해외 염기서열 2411개를 수집하여 분자역학적 분석 완료하여, 국내 PRRS의 유전학적 특징을 밝히고 우점주를 확인하였으며 백신 후보주 선발의 데이터베이스로 활용 (염기서열 344건 확보)
PRRSV의 분자유전학적 특징과 임상증상의 상관관계 분석	25	100	○ 기 보고된 PRRSV의 병원성 연관 유전자를 검토하고, 국내 PRRSV의 병원성과 병원성 연관 유전자의 상관관계를 분석 완료 ○ PRRSV 양성 시료 수집 당시 기록을 통해 시료당 임상증상 분류 완료 ○ 유전형 및 RFLP 분석을 완료하고 임상증상 간 상관성을 분석 완료
분자역학적 방법에 의거한 백신 후보 타겟 물질 발굴 (바이러스 10주 이상 확보)	25	100	○ 분자역학적 방법에 의거하여 교차방어를 유도할 수 있는 재조합 백신 후보물질 발굴하여 특허 출원 및 기술이전 완료 ○ 한국 PRRSV 유전형 별 바이러스, 총 45주 확보 ○ 발굴된 백신 후보 타겟 물질과 야외 발생주를 매칭할 수 있는 in-vitro 스크리닝 방법을 제시 완료
PRRSV 백신사용에 대한 가이드라인 제시	25	100	○ 국내 및 해외 유행 PRRSV 분자유전학적 분석에 따라 양돈장에서 기 사용 중인 백신 사용에 있어 현장 실증적 분석 및 이에 대한 가이드라인 수립 완료 ○ PRRSV 분자유전학적 현황 파악을 통해 양돈장에서 PRRSV를 관리하기 위한 방안을 도출하고 과학적인 근거 제시 완료 ○ 국내 PRRS 방역 관련 규정을 반영한 PRRS 방역실시요령(안) 또는 매뉴얼 도출 및 정책건의 완료
합계	100	100	

### III. 종합의견

#### 1. 연구개발결과에 대한 종합의견

연구진은 이 과제에서 목표로 한 국내 발생 PRRSV의 분자역학적 특성 파악, 국내 발생 바이러스를 이용한 PRRS 백신후보물질 발굴, PRRS 피해 방지를위한 현장 방역관리 가이드라인 개발 등 정성적 연구개발 목표를 충실히 달성하였으며, 특히 출원 및 기술이전, 학술논문 및 발표, 정책건의 등의 정량적 연구성과도 모두 초과달성하였다. 특히 그간 미흡했던 국산 PRRS 백신후보물질을 다수 확보함으로써 향후 국산 PRRS 백신 개발 및 상용화에 큰 도움이 될 것으로 기대된다.

#### 2. 평가시 고려할 사항 또는 요구사항

- 1년이라는 짧은 연구기간에 당초 목표한 연구성과를 대부분 초과달성하였으나 궁극적인 목표인 PRRS 국산 백신 개발을 위해서는 3-5년의 중장기 과제 추진이 필요하다. 이 과제를 통하여 확보된 PRRS 백신 후보물질들이 사장 되지 않고, 이를 활용한 국산 PRRS 백신이 실제 상용화될 수 있도록 가칭 본 연구진과 유관기업 등이 참여하는 “발굴된 한국 PRRSV 백신 후보물질을 이용한 국산 백신 개발 및 상용화” 후속 과제가 반드시 필요하다는 점을 강조드린다.
- 논문 성과 달성에 있어 정량적 목표는 달성하였으나 이 연구에서 확보된 자료를 이용한 후속 논문 작성 및 발표가 가능할 것으로 판단되어 과제 종료 후에도 추가 학술논문 발표를 진행할 계획이다.

#### 3. 연구결과의 활용방안 및 향후조치에 대한 의견

- 과제 종료 후, 국내 발생 PRRSV의 추가적인 분자유전학적 분석으로 논문을 발표 할 예정이며, 기술이전된 특허 출원건에 대해 백신개발회사와 지속적으로 공동연구하여 특허등록을 진행 할 예정이다.
- 백신후보주를 한국의 PRRSV 백신주로 산업화 하기위해, 확보된 백신후보주를 지속 계대 배양 할 수 있는 세포주의 발굴 또는 새로운 세포주의 개발을 진행 할 예정이다.

### IV. 보안성 검토

○ 해당 없음.

#### 1. 연구책임자의 의견

○ 해당 없음.

#### 2. 연구개발기관 자체의 검토결과

○ 해당 없음.

## 연구성과 활용계획서

### 1. 연구과제 개요

사업추진형태	<input type="checkbox"/> 자유응모과제 <input type="checkbox"/> 지정공모과제	분 야	동물의약품개발	
연구과제명	돼지 생식기 호흡기증후군 바이러스(PRRSV)의 백신 타겟 후보물질 개발			
주관연구개발기관	경북대학교 산학협력단		주관연구책임자	박최규
연구개발비	정부지원 연구개발비	기관부담연구개발비	기타	총연구개발비
	400,000,000			400,000,000
연구개발기간	2021.04.01 - 2022.03.31. (12개월)			
주요활용유형	<input checked="" type="checkbox"/> 산업체이전 <input type="checkbox"/> 교육 및 지도 <input type="checkbox"/> 정책자료 <input checked="" type="checkbox"/> 기타( 후속연구추진 ) <input type="checkbox"/> 미활용 (사유: )			

### 2. 연구목표 대비 결과

당초목표	당초연구목표 대비 연구결과
① 특허 출원 1건 및 등록 1건(2년 이내)	특허 출원 2건 완료(초과달성) 및 등록 추진
② 기술실시 (1건, 기술료 2000만원)	PRRSV 백신후보주 기술이전 1건 및 기술료 2000만원 완료 (신규한 재조합 돼지 생식기 호흡기 바이러스 KPRRSV2-D3 균주 외 1건)
③ 학술성과 (SCI 논문 2건: 기간내 1, 종료 1년차 1) - 논문 IF (계획 1.5+2.0 = 3.5)	- 연구기간내 SCI 논문 2건 게재 완료 - 게재 논문 IF: 2.014 + 2.574 = 평균 2.294
④ 학술성과 (학술발표 1건)	2021 대한수의학회 발표 2건 완료
⑤ 인력양성 (1명: 기간내 1, 종료 1년차 1)	당해연도 연구 참여 대학원생 2명 석사학위 취득 및 졸업 (농림축산검역본부 2명 취업)
⑥ 정책활용	중돈장 방역관리요령 개정 정책건의 1건 완료
⑦ 홍보전시	<추가 연구 성과> - PRRS 현장방역관리지침(가이드라인) 책자 발간 - 한돈협, PRRS와 중돈, 한돈산업 워크숍 개최 (월간한돈, 2021년 8월호) - PRRSV 현장 방역관리 지침 연재 3건 (월간 피그엔포크한돈 2월호-4월호)

### 3. 연구목표 대비 성과

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과 목표	사업화지표											연구기반지표								
	지식 재산권				기술 실시 (이전)		사업화					기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍보		기타 (타연구 활용액)
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	S M A R T	건 수	기술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출	투 자 유 치		논문		학 술 발 표			정 책 활 용	홍 보 전 시	
												SCI	비 SCI	논 문 평 가 I F						
단위	건	건	건	건	건	백 만 원	건	백 만 원	백 만 원	명	백 만 원	건	건	건	건	명	건	건		
가중치	20				15	15				10				20	10	0	10	0		
최종 목표	1	1			1	20				2				1		0	1	0		
당해 년도	목표	1			1	20				1				1		0	1	0		
	실적	2			1	20				0				2		2	1	4		
달성률 (%)	200				100	100				0				100		100	100			

\*이 과제의 주관 및 협동연구기관은 기업이 아니라 학교이기때문에 고용창출 성과목표는 불가능함, 따라서 당초 연구계획서 내용에도 인력창출로 성과목표가 기술되어 있으나 총괄표에만 인력양성이 고용창출로 잘못 기록된 것이며, 인력양성 목표는 달성 완료하였음.

### 4. 핵심기술

구분	핵심기술명
①	신규한 재조합 돼지 생식기 호흡기 증후군 바이러스 KPRRSV2-D3 균주
②	신규한 재조합 돼지 생식기 호흡기 증후군 바이러스 KPRRSV2-D4 균주
③	유럽형 및 북미형 PRRS 국산 백신 개발에 필요한 백신후보물질

### 5. 연구결과별 기술적 수준

구분	핵심기술 수준					기술의 활용유형(복수표기 가능)				
	세계 최초	국내 최초	외국기술 복제	외국기술 소화·흡수	외국기술 개선·개량	특허 출원	산업체이전 (상품화)	현장애로 해결	정책 자료	기타
①의 기술		√				√	기술이전 완료			
②의 기술		√				√	기술이전 완료			
③의 기술		√					√			
•										
•										

6. 각 연구결과별 구체적 활용계획

핵심기술명	핵심기술별 연구결과활용계획 및 기대효과
①의 기술	한국형 PRRSV 북미형 백신 개발
②의 기술	한국형 PRRSV 북미형 백신 개발
③의 기술	한국형 PRRSV 유럽형 또는 북미형 백신 개발

7. 연구종료 후 성과창출 계획

(단위 : 건수, 백만원, 명)

성과 목표	사업화지표										연구기반지표										
	지식 재산권				기술 실시 (이전)		사업화				기술 인증	학술성과			교육 지도	인력 양성	정책 활용·홍보		기타 (타연구 활용등)		
	특허 출원	특허 등록	품종 등록	S M A R T	건 수	기술 료	제 품 화	매 출 액	수 출 액	고 용 창 출		투 자 유 치	논문				학 술 발 표	정 책 활 용		홍 보 전 시	
													SCI	비 SCI							논 문 평 균 I F
단위	건	건	건	건	건	백 만 원	건	백 만 원	백 만 원	명	백 만 원	건	건		건	명	건	건			
가중치	20				15	15								20	10		10	10	0		
최종목표	1	1			1	20				2				2		3.5	2		1	1	0
연구기간내 달성실적	2				1	20				0				2		2.29 4	2		2	1	4
연구종료후 성과창출 계획		1												1		2					

8. 연구결과의 기술이전조건(산업체이전 및 상품화연구결과에 한함)

핵심기술명 <sup>1)</sup>	신규한 재조합 돼지 생식기 호흡기 증후군 바이러스 KPRRSV2-D3 균주 외 1건		
이전형태	<input type="checkbox"/> 무상 <input checked="" type="checkbox"/> 유상	기술료 예정액	20,000 천원
이전방식 <sup>2)</sup>	<input type="checkbox"/> 소유권이전 <input type="checkbox"/> 전용실시권 <input checked="" type="checkbox"/> 통상실시권 <input type="checkbox"/> 협의결정 <input type="checkbox"/> 기타( )		
이전소요기간	1년	실용화예상시기 <sup>3)</sup>	5년 이내
기술이전시 선행조건 <sup>4)</sup>	균주 유전정보 및 균주 배양 기술지도		

### 주 의

1. 이 보고서는 농림축산식품부에서 시행한 가축질병대응기술개발 사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표하는 때에는 반드시 농림축산식품부에서 시행한 가축질병대응기술개발 사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀 유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.