

2024.11.28 테크노마켓 본선 발표 ppt



참진드기 2종의 DNA바코드 데이터 추적 및 SFTSV 검출

생명과학과

팀장 : 1900657 소석호

팀원 : 1900465 김혜주, 2100586 임승언

동물계통분류학 연구실

김효중 교수님



TICKS and TICK-BORNE DISEASES

Editor-in-Chief
B. J. Mans
(South Africa)

Editor-in-Chief
A. M. Nijhof, Berlin
(Germany)

Managing Editor
O. Kahl, Berlin
(Germany)

3

Volume 15
2024

www.elsevier.com/locate/ttbd

Associate Editors

O. Belova, Moscow
(Russia)

Lars Eisen,
Fort Collins (USA)

A. Estrada-Peña, Zaragoza
(Spain)

J. de la Fuente,
Ciudad Real (Spain)
& Stillwater, OK (USA)

J. Gray, Dublin
(Ireland)

K.-P. Hunfeld,
Frankfurt/Main (Germany)

W. Hynes, Virginia (USA)

P. Kraiczy,
Frankfurt/Main (Germany)

M. Labruna,
Sao Paulo (Brazil)

D. Sonenshine, Norfolk,
VA (USA)

S. Tkachev, Novosibirsk
(Russia)

R. Nakao
(Sapporo, Japan)





Index



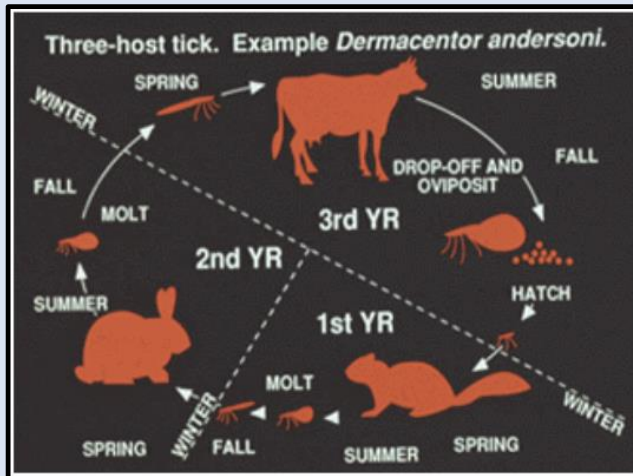
Introduction

Materials and Methods

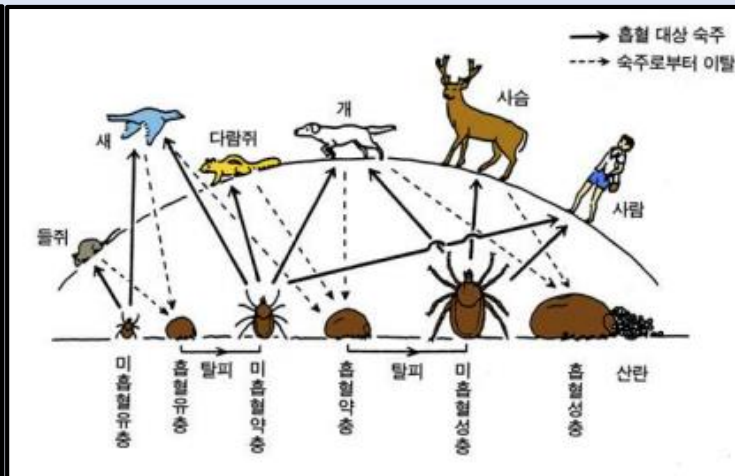
Results

Discussion

Introduction



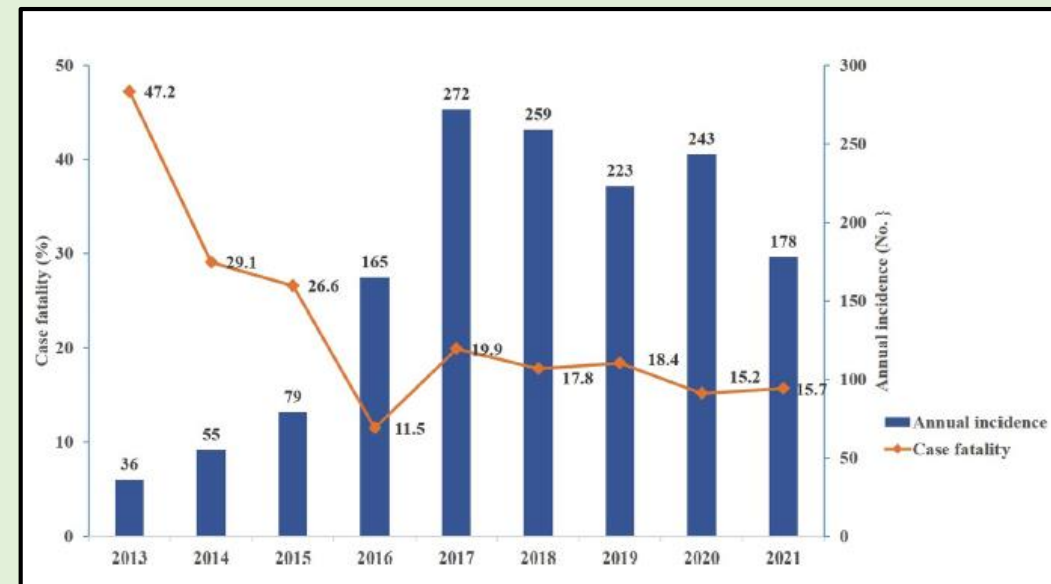
Vredevoe. 1991



질병관리본부. 2014

- 참진드기는 3숙주 진드기
- 발달상태에 따른 숙주선택의 차이 존재
- 숙주의 경우 야생동물 전반으로 보고됨(Kim et al. 2011)
- 흡혈 과정에서 숙주에게 질병을 매개할 수 있음(Shin. 2013)

- 참진드기 매개질병의 일종
- 13~21년 누적 사망률 15%로 보고됨(Hyunjoo et al. 2022)
- 감염자수는 13년도 이후 꾸준히 증가하고 있음(Hyunjoo et al. 2022)



SFTSV의 발생 현황

Oh, H., Yoo, J. R., Kim, M., & Heo, S. T. (2022). Current status and infection control of severe fever with thrombocytopenia syndrome in Korea.

Materials and Methods

Step 1

데이터 확인 및
리스트 작성

참진드기 2종
재동정 및 선별

DNA 추출

Pooling RNA
(개체 RNA 보존)

Primer test
선정 및 PCR

RT-PCR
SFTSV 유무 확인

Sequencing 및
alignment

DNA 바코드
데이터베이스
구축



연구에 활용할 샘플 수집



개피참진드기(좌), 일본참진드기(우)
(Truong et al. 2021)

유전자	Primer	PCR product
CO1	Cox1F 5' - GGAACAATATATTTAATTTTGG-3'	658
	Cox1R 5' - ATCTATCCCTACTGTAATATATG-3'	
16S	16S-F 5' - TTAATTTGCTGTRGTAAT-3'	454
	16S-R1 5' - CCGGTCTGAACCTCASAAC-3'	
ITS2	ITS2-F 5' - ACATTCGCGCCCTTGGGCTTT-3'	830
	ITS2-R 5' - TCGCCTGATCTGAGGTCGAC-3'	
12S	T1B 5' - AAAGTAGGATTAGATACCT-3'	250 - 360
	T2A 5' - AATGAGAGCGACGGGCGATGT-3'	

연구에 사용할 유전자 마커들의 서열
(Lv et al. 2014)

엑셀을 이용한 DNA 바코드 데이터 리스트 축적 예시
(고치별과 DNA 바코드)

Step 2

참진드기 종별
Input dataset
검증 및 확보

다량의 시퀀스
유전적 변이 분석

유전적 변이의
요인 분석

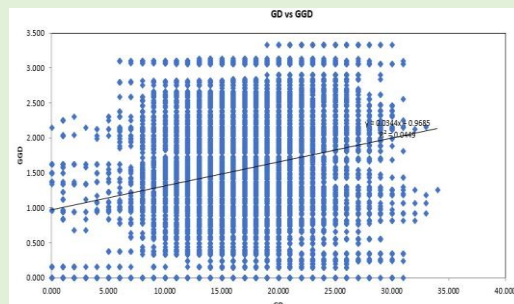
Haplotype network
도식화

집단 간 군집화
관계 분석

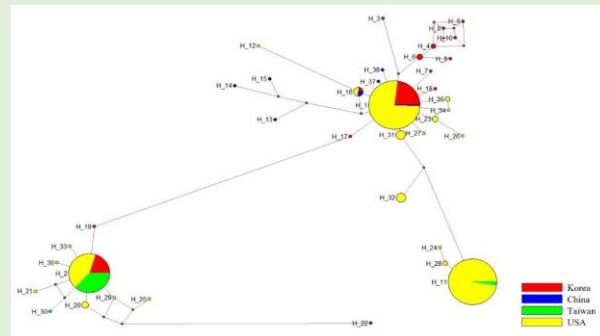
집단 간 지리적 요인
분석

SFTSV 유무의 집단별
비교 분석

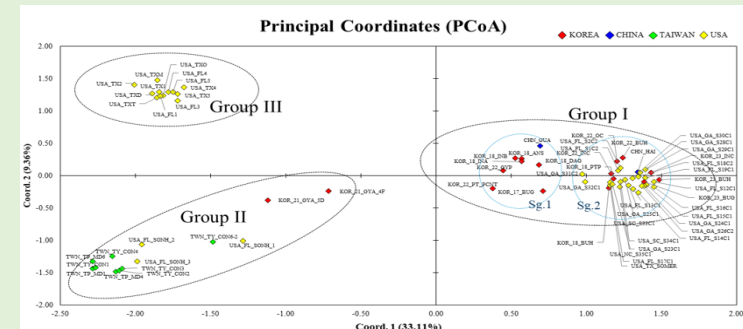
GenAlEx 분석 data 형식 예시
(국내 북송아혹진딧물 집단유전학 분석)



GenAlEx 분석 결과 예시
(국내 북송아혹진딧물 mantel test)



Haplotype network 도식화 결과의 예시
(국내침입 붉은불개미의 haplotype network)



붉은불개미 집단 간 지리적 군집 분석 도식화 예시
(Principal Coordinates Analysis)

Results: DNA barcoding

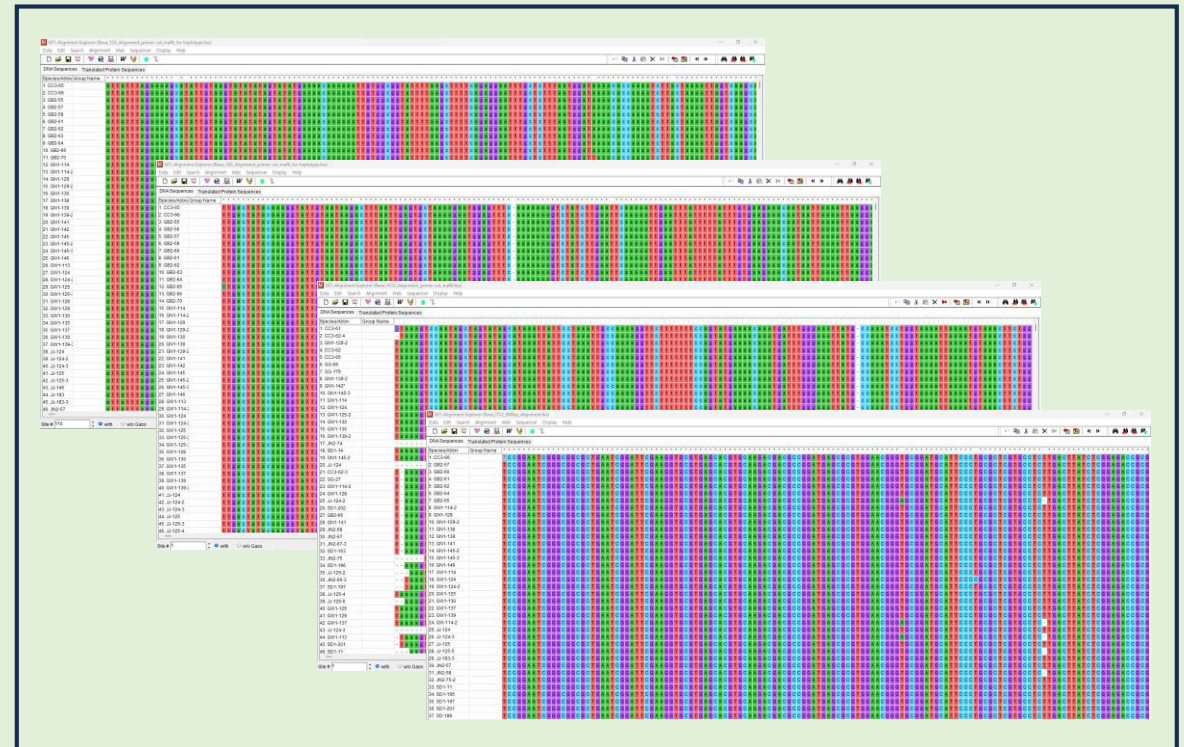
	총 개체 수	DNA/RNA 추출 수	남은 개체 수	Sequence 확보 개체 수				총 시퀀스
				COI(HC02064/HC01215)	12S(T1B/T2A)	16S(16S-F/16S-R1)	ITS2(ITS2-R)	
일본참진드기 (<i>Ixodes nipponensis</i>)	135	135	-	116 (약 830 bp)	109 (약 345bp)	118 (약 408bp)	80	847개 (F+R: 1,694)
개피참진드기 (<i>Haemaphysalis flava</i>)	111	111	-	76 (약 830 bp)	92 (약 340bp)	85 (약 412bp)	89	
기타 참진드기류	(24)	(24)		22 (약 830 bp)	24 (약 340bp)	22 (약 412bp)	14	



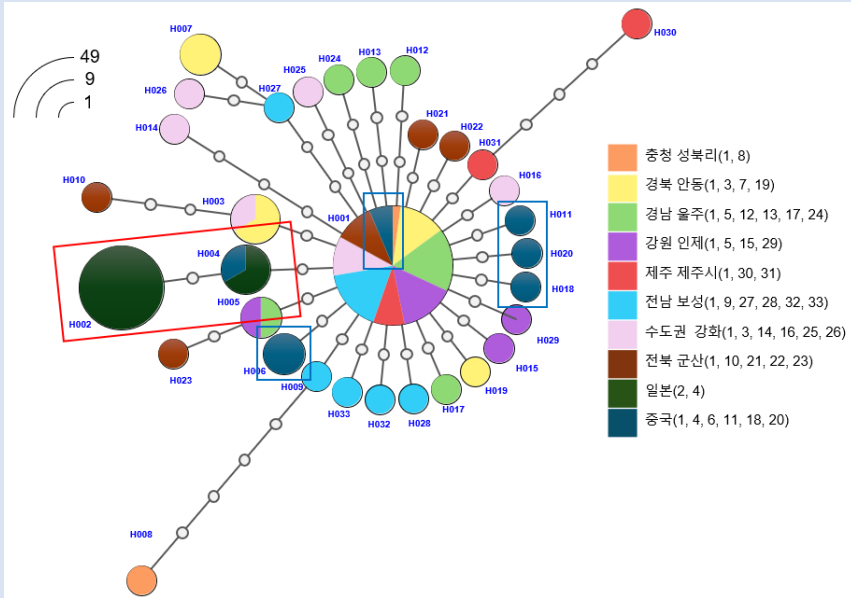
집단 유전학 분석을 위한 각 primer별 sequence를 fasta file 형태로 저장

일본참진드기(*Ixodes nipponensis*) sequence에 대한 fasta file

개피참진드기(*Haemaphysalis flava*) sequence에 대한 fasta file

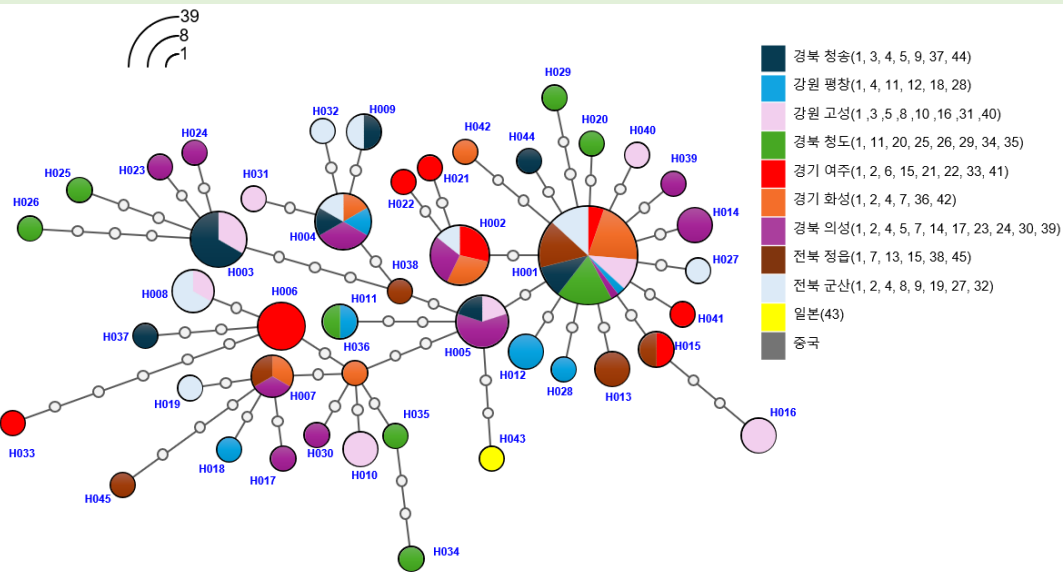


Results: Haplotype network 작성



개피참진드기의 Haplotype network 작성

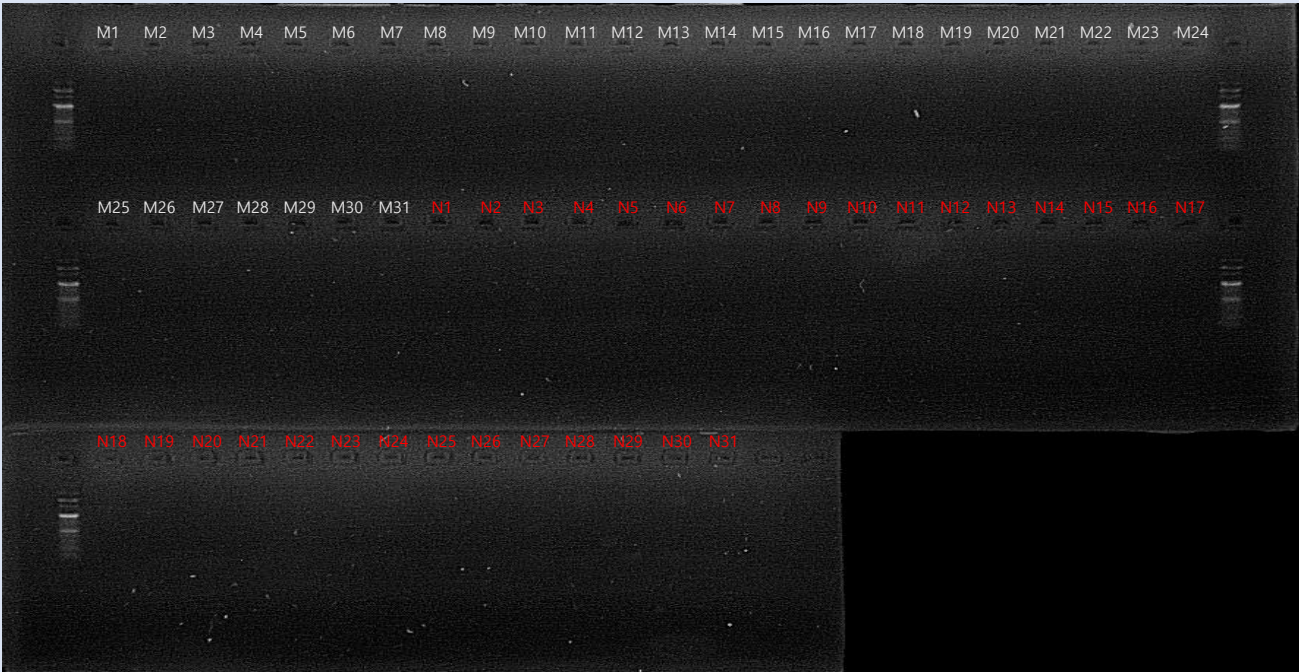
- 국내의 대부분의 진드기들이 포함된 main haplotype 형성
- 지역별로 다양한 유전적 다양성이 나타남
- 특히 일본에 비해서 중국의 일부 개체의 DNA는 국내와 동일한 것으로 나타남
- 국내 야생동물 이외에 조류 등을 통한 광범위한 서식이 원인으로 추측



일본참진드기의 Haplotype network 작성

- 다양한 지역이 포함된 haplotype 형성되었음
- 일정 부분에 대하여 유전적 격리가 나타났다고 판단 가능함
- 지역별로 다양한 유전적 다양성이 나타남
- 샘플 채집장소가 쥐를 통한 채집을 진행하였으므로, 이러한 gene flow가 나타난 것으로 확인

Results: RT-PCR for SFTSV



- 제공받은 진드기 샘플 216개체에 대한 pooling + 샘플 보관용 tube 97개에 대한 pooling 진행
- 총 313개의 RNA 추출물, 31 pool에 대한 RT- PCR 진행
→ M1-31 : MF3/ MR2, N1-31 : NP-2F/ NP-2R
- 모든 샘플에 대한 SFTSV 양성반응이 나타나지 않음
- 지역별 유전적 차이에 의한 SFTSV 매개와는 관련성을 확인할 수 없음

Gene	Primer Pairs	Forward	Reverse	Length
S segment	NP-2F/ NP-2R	5' CATCATTGTCTTTGCCCTGA3'	5' AGAAGACAGAGTTCACAGCA3'	461 bp
M segment	MF3/ MR2	5' GATGAGATGGTCCATGCTGATTCT3'	5' CTCATGGGGTGGAATGTCCTCAC3'	560 bp

결론

- 국내 개체간 뚜렷한 지역적 차이는 형성되지 않음
-> 야생동물에 의한 지역적 격리가 발생하지 않은 것으로 나타남
- 국내 개피참진드기는 일본에 비해 중국과의 유전적 유사성이 높음
- 모든 샘플에서 SFTSV의 양성반응이 확인되지 않음
- 일본참진드기에 대한 국외 DNA barcode data 부족
-> 추후 일본참진드기의 국내 유입 연구의 필요성

활용 방안

- 향후 SFTSV 양성반응 확인 시 haplotype과 연계하여 우점 발생빈도 추정이 가능할 것으로 보임
- 일부 지역에서 발생하는 unique haplotype과 SFTSV를 연계하여 지역적 발생 현황에 대한 모니터링 활용 가능
- 최근 국내에서 확인된 라임병 등 추가적인 진드기 매개 질병 발생시에 신속한 대응체계 확립
- 반려동물의 증가에 따른 반려동물의 건강에 대한 관심이 증가하고 있는 현 사회에 진드기와 같이 반려동물의 건강과 관련한 연구가 필요함
- 진드기매개 질병 이외에 곤충 및 동물에 의해서 매개되는 질병에 대한 연구방법 확립

- Kim, H. C., Han, S. H., Chong, S. T., Klein, T. A., Choi, C.-Y., Nam, H.-Y., . . . Kang, J.-G. (2011). Ticks collected from selected mammalian hosts surveyed in the Republic of Korea during 2008-2009. *The Korean Journal of Parasitology*, 49(3), 331.
- Kim, H. G., Jung, M., & Lee, D.-H. (2022). Seasonal activity of *Haemaphysalis longicornis* and *Haemaphysalis flava* (Acari: Ixodida), vectors of severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS) virus, and their SFTS virus harboring rates in Gyeonggi Province, South Korea. *Experimental and Applied Acarology*, 87(1), 97-108.
- Seo, J.-w., Han, S.-y., Sung, S.-h., Jung, E.-y., Kim, J.-h., Lee, S.-j., & Yoo, S.-s. (2021). Survey on tick distribution and tick-borne pathogens in Daejeon and adjacent areas in South Korea. *Ticks and tick-borne diseases*, 12(4), 101711.
- Sin, S.-S. (2013). 학술 1-중증열성혈소판감소증후군 바이러스 (SFTSV) 와 '살인진드기'. *Journal of the Korean Veterinary Medical Association*, 49(6), 359-364.
- Oh, H., Yoo, J. R., Kim, M., & Heo, S. T. (2022). Current status and infection control of severe fever with thrombocytopenia syndrome in Korea.
- Jo, Y.-S., Kang, J.-G., Chae, J.-B., Cho, Y.-K., Shin, J.-H., Jheong, W.-H., & Chae, J.-S. (2019). Prevalence of severe fever with thrombocytopenia syndrome virus in ticks collected from national parks in Korea. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 19(4), 284-289.
- Li, Z.-B., Liu, G.-H., & Cheng, T.-Y. (2018). Molecular characterization of hard tick *Haemaphysalis longicornis* from China by sequences of the internal transcribed spacers of ribosomal DNA. *Experimental and Applied Acarology*, 74, 171-176.
- Lv, J., Wu, S., Zhang, Y., Chen, Y., Feng, C., Yuan, X., . . . Wang, Q. (2014). Assessment of four DNA fragments (COI, 16S rDNA, ITS2, 12S rDNA) for species identification of the Ixodida (Acari: Ixodida). *Parasites & vectors*, 7, 1-11.
- Thompson, A. T., Dominguez, K., Cleveland, C. A., Dergousoff, S. J., Doi, K., Falco, R. C., . . . Liu, J. (2020). Molecular characterization of *Haemaphysalis* species and a molecular genetic key for the identification of *Haemaphysalis* of North America. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 141.
- Yamaguti, N., Tipton, V. J., Keegan, H. L., & Toshioka, S. (1971). Ticks of Japan, Korea, and the Ryukyu islands. *Brigham Young University Science Bulletin, Biological Series*, 15(1), 1.
- 김선경. (2015). *진드기의 형태학적 동정과 분자생물학적 동정 (16S rDNA, 12S rDNA) 비교*. 조선대학교, 질병관리본부 2014. 진드기 및 설치류 매개 감염병 관리지침. pp40.
- 노병언, 이육교, 이희일, & 조신형. (2018). 2018 년 참진드기 전국 분포조사 현황. *주간 건강과 질병*, 11(42), 1417-1421.
- 노병언, 주정원, & 이희일. (2022). 2021 년 참진드기 발생밀도 조사 현황. *주간 건강과 질병*, 15(23), 1596-1605.
- 노병언, 주정원, & 이희일. (2022). 2021 년 참진드기 발생밀도 조사 현황. *주간 건강과 질병*, 15(23), 1596-1605.