



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK VİROLOJİ ANABİLİM DALI

**YERLİ İNFEKSİYÖZ PANKREATİK NEKROZİS VİRÜS
(IPNV) İZOLATLARININ MOLEKÜLER
KARAKTERİZASYONU VE PATOJENİTE DENEMELERİ**

DOKTORA TEZİ

Yüksel DURMAZ

Samsun

Aralık 2018



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK VİROLOJİ ANABİLİM DALI

**YERLİ İNFEKSİYÖZ PANKREATİK NEKROZİS VİRÜS
(IPNV) İZOLATLARININ MOLEKÜLER
KARAKTERİZASYONU VE PATOJENİTE DENEMELERİ**

DOKTORA TEZİ

Yüksel DURMAZ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Harun ALBAYRAK

Samsun

Aralık 2018

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Yüksel DURMAZ tarafından Prof. Dr. Harun ALBAYRAK Danışmanlığında hazırlanan “**Yerli İnfeksiyöz Pankreatik Nekrozis Virüs (IPNV) İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu ve Patojenite Denemeleri**” konusundaki çalışma jürimiz tarafından 12/12/2018 tarihinde yapılan sınav ile Veterinerlik Viroloji Anabilim Dalında DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Aykut ÖZKUL, Ankara Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Harun ALBAYRAK, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Semra GÜMÜŞOVA, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Sena ÇENESİZ, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Prof. Dr. Ahmet Kürşat AZKUR, Kırıkkale Üniversitesi

ONAY:

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

12/12/2018

Prof. Dr. Ahmet UZUN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Bilgi ve desteğiyle doktora eğitiminin tamamlanmasını sağlayan danışman hocam Prof. Dr. Harun ALBAYRAK'a, Anadilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Semra GÜMÜŞOVA'ya, değerli hocam Prof. Dr. Zafer YAZICI'ya, laboratuvar çalışmalarında emeği geçen Cüneyt TAMER, Hasan Sercan PALANCI, Bahadır MÜFTÜOĞLU, Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürü İsmail AYDIN ve diğer çalışanlar Abdullah ÇAVUNT, Emre ÖZAN, Bülent DURMUŞ ve Veysel KAVÇİN'e teşekkür ederim. Emeğin, birlikte çalışarak başarıya dönüşmesini sağlayan tüm çalışma arkadaşlarıma ve aileme sevgilerimi sunarım.

Bu çalışma, TAGEM/HSGYAD/17/A05/P04/93 proje numarası ile Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü (TAGEM) ve PYO.VET.1904.17.012 proje numarası ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından desteklenmiştir

ÖZET
YERLİ İNFEKSİYÖZ PANKREATİK NEKROZİS VİRÜS (IPNV)
İZOLATLARININ MOLEKÜLER KARAKTERİZASYONU
VE PATOJENİTE DENEMELERİ

Amaç: İnfeksiyöz Pankreatik Nekrozis Virüsü (IPNV; *Birnaviridae, Aquabirnavirus*) balıklarda İnfeksiyöz Pankreatik Nekrozis (IPN) hastalığını oluşturmaktadır. IPN hastalığı ülkemizde kültürü yapılan gökkuşacağı alabalıkları ve kuluçkahanelerinde oldukça yaygın olarak görülmektedir. Bu çalışmada; Türkiye’de gökkuşacağı alabalığı çiftliklerinden ve denizde yaşayan kalkan balıklarından izole edilen IPNV suşlarının moleküler karakterizasyonu ve genogruplarının belirlenmesi ile genomik farklılıkların patojenite üzerine etkilerinin olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: IPNV izolatları RTG-2 hücre kültürlerinde üretildi ve hücre lizatlarından virüsün VP1, VP2, VP3, VP4 ve VP5 genleri tam uzunlukta amplifiye edildi. Genlerin sekansları yapıldı. IPNV Almus, Hah-4, Hatay07 ve Uşak05 izolatları ile 0,48 gram ağırlıktaki gökkuşacağı alabalıklarında immersiyon yöntemi ile deneysel enfeksiyon oluşturuldu. Deneysel enfeksiyon sırasında ölen ve öldürülen balıklarda realtime PCR metodu ile IPNV viral nükleik asit varlığı ve miktarı araştırıldı.

Bulgular: İncelenen izolatlarda filogenetik analizler ile % 93,5 ile % 99,8 oranında genetik benzerlik saptandı. Deneysel enfeksiyon sonucunda mortalite oranı; kontrol grubunda % 1,53, Hah-4 ve Hatay07 izolatlarında % 1,42 Almus izolatında % 2,85 olarak gerçekleşti. Uşak05 izolatında ise ölüm gerçekleşmedi. rRT PCR testi sonucunda ölen/öldürülen balık örneklerinde $1,213 \times 10^6$ - $1,961 \times 10^2/\mu\text{l}$ arasında viral kopya sayısı tespit edildi. Balık organ örneklerinde en yoğun C_T değeri 21,75 olarak kaydedildi. Hastalığa spesifik klinik belirti veya işaret enfekte edilen, ölen ve öldürülen balıklarda gözlemlenmedi.

Sonuç: Türkiye izolatlarının A2 serotipi ve genogrup 5 içinde olduğu, avirulent oldukları ve gökkuşacağı alabalığı frylarında persiste enfeksiyon oluşturdukları belirlendi. Filogenetik analiz sonuçlarına göre Fransa, İspanya ve İran suşları ile yakın ilişkili oldukları görüldü.

Anahtar Kelimeler: İPNV; Moleküler karakterizasyon; Patojenite denemeleri; RT-PCR;

Yüksel DURMAZ Doktora Tezi
Ondokuz Mayıs Üniversitesi - Samsun, Aralık-2018

ABSTRACT

**MOLECULAR CHARACTERISATION OF LOCAL INFECTIOUS
PANCREATIC NECROSIS VIRUS (IPNV) ISOLATES
AND PATHOGENICITY TRIALS**

Aim: Infectious pancreatic necrosis virus (IPNV; *Birnaviridae, Aquabirnavirus*) is a virus that causes Infectious pancreatic necrosis disease (IPN) in fish. IPN spread quite in cultured rainbow trout farm and hatchery in our country. In this study, establishment of molecular characterization and identification of genogroups with isolated IPNV strains from rainbow trout farm and sea turbot. It was aimed to investigate the effects of genomic differences on pathogenicity.

Material and Method: IPNV isolates were propagated in RTG-2 cell line and VP1, VP2, VP3, VP4 and VP5 genes were fully amplified from cell lysates. Sequences were made of the genes and with the isolates that Almus, Hah-4, Hatay07 and Usak05. Experimental infection were established at 0.48 g rainbow trout fry by immersion method. At the dying or killed fish during the experimental infection amount of IPNV viral nucleic acid was investigated by realtime PCR method.

Results: Examined isolates were found genetically similar to between 93.5 – 99.8 % in phylogenetic analyses. Mortality rates were detected as in the observed 1.53 %, Hah-4 and Hatay07 1.42 % and Almus 2.85 %. There was no mortality from isolate Usak05. The number of viral copies in the fish samples (dead/killed) were found to be 1.213×10^6 - $1.961 \times 10^2 / \mu\text{l}$ by rRT-PCR. The highest CT value in the fish organ samples was recorded as 27.75. Specific clinical symptoms or signs of the disease were not observed in all of the fish.

Conclusion: As a result of genetic analysis Turkey isolates were classified in genogroup 5 and serogroup A2 and we determined as avirulent in rainbow trout fry. It seems that they are related and close relationship to France, Spain and Iran IPNV isolates

Keywords: IPNV; Molecular characterization; Pathogenicity assays; RT-PCR

Yüksel DURMAZ, PhD Thesis

Ondokuz Mayıs University - Samsun, December-2018

SİMGELER VE KISALTMALAR

aa	: Aminoasit
A	: Adenin
Ala	: Alanin
bp	: Baz çifti
BF-2	: Bluegill fry-2
CHSE-214	: Chinook salmon embryo hücre hattı-214
cm	: Santimetre
CPE	: Sitopatik efekt
DKID₅₀	: Doku kültürü infeksiyöz doz 50
DNA	: Deoksiribonükleik asit
E	: Glutamik asit
ELISA	: Enzyme-linked immunosorbent assay
EPC	: Epithelioma papulosum cyprini
FDS	: Föetal dana serumu
FHM	: Fathead minnow
G	: Guanin
g	: Gram
GMO	: Genetiği değiştirilmiş organizma
IFAT	: İndirekt floresan antikor testi
HEPES	: 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfoni acid
IFN	: İnterferon
IHNV	: İnfeksiyöz hemotopoetik nekroz virüsü
ISAV	: İnfeksiyöz salmon anemisi virüs
IPTG	: Isopropil β -D-1- hiogalactopyranoside
IPN	: Infectious pancreatic necrosis
IPNV	: Infectious pancreatic necrosis virüs
ISG15	: Antiviral protein
ip	: İntraperitonal
JEECV	: Japon yılan balığı endotelial hücre virüsü
kb	: Kilobaz
kDa	: Kilodalton
L	: Litre

LAMP	: Döngüsel merkezli izotermal amplifikasyon yöntemi
L-15	: Leibovitz's L-15 vasatı
m²	: Metrekare
MCS	: Çoklu klonlama bölgesi
mg	: Miligram
mM	: Milimolar
ml	: Mililitre
Mx	: Myxovirüs promotörü
NEAA	: Non essential aminoasit
nm	: Nanometre
NT	: Nötralizasyon testi
OIE	: Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü
ORF	: Açık okuma bölgesi
PBS	: Fosfatlı tampon solüsyonu
PG	: Pike gonad
pmol	: Pikomol
Pro	: Prolin
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
QTL	: Quantitative trait loci
RdRp	: RNA bağımlı RNA polimeraz enzimi
RNA	: Ribonükleik asit
RPS	: Hayatta kalma oranı
RT-PCR	: Revers transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu
rRT-PCR	: Real-time revers transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu
RT-LAMP	: Revers transkripsiyon döngüsel izotermal amplifikasyon yöntemi
RTG-2	: Rainbow trout gonad-2
ssGBLUP	: Tek adımlı genomik en iyi doğrusal tahmini
TAE	: Tris-asetat-EDTA
Thr	: Treonin
TLR	: Toll-like reseptörler
µl	: Mikrolitre
UV	: Ultraviyole
VHSV	: Viral hemorajik septisemi virüsü
X-gal	: 5-bromo-4-chloro-3- indolyl-beta-D-galactopyranoside

İÇİNDEKİLER

ÖZET	v
ABSTRACT	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
İÇİNDEKİLER	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. İnfeksiyöz Pankreatik Nekroz Hastalığı	3
2.1.1. Tanım	3
2.1.2. Tarihçe	3
2.1.3. Etiyoloji	4
2.1.4. Epidemiyoloji	8
2.1.5. Patogenez	10
2.1.6. Klinik Belirtiler	12
2.1.7. Teşhis	12
2.1.8. Bağışıklık	14
2.1.9. Koruma Kontrol	17
2.2. Amaç	19
3. MATERYAL VE METOT	20
3.1. Materyal	20
3.1.1. Balık Örnekleri	20
3.1.2. Hücre ve Virüs İzolatları	20
3.1.3. Primerler ve Prob	20
3.1.4. Ekstraksiyon ve Amplifikasyon Kitleri	21
3.1.5. Deneme Ünitesi ve Su Kriterleri	22
3.2. Metot	23
3.2.1. Hücre Kültürü ve Pasajlama	23
3.2.2. İzolat Seçimi	23
3.2.3. Virüs İzolatlarının Üretilmesi	25
3.2.4. Moleküler Çalışmalar	26
3.2.5. Virüslerin Titrasyonu	31
3.2.6. Balıkların Beslenmesi ve Yetiştirme Koşulları	32
3.2.7. Virüs İnokulasyonu	33

4. BULGULAR	35
4.1. Virolojik Çalışma Sonuçları	35
4.2. Moleküler Çalışma Sonuçları	36
4.2.1. PCR Bulguları.....	36
4.2.2. Real Time PCR Bulguları	38
4.2.3. Sekans Analiz Sonuçları	41
4.3. Patojenite Testi Sonuçları	55
5. TARTIŞMA	58
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	65
KAYNAKLAR	67
EKLER	75
ÖZGEÇMİŞ	110

1. GİRİŞ

İnfeksiyöz pankreatik nekrozis (IPN) balıkçılık sektöründe önemli ekonomik kayıplara neden olan bulaşıcı viral bir enfeksiyondur (Nishizawa ve ark., 2005). İnfeksiyöz pankreatik nekrozis virüsü (IPNV) *Birnaviridae* familyası *Aquabirnavirus* genusundan olup, bu aile kuşların (*Avibirnavirus*) ve insektlerin (*Entemobirnavirus*) birnaviruslarını da kapsamaktadır (Bain ve ark., 2008). IPNV'ler çeşitli Tatlısu balıkları, deniz salmonidi ve salmonid olmayan balık türlerinden, kabuklu ve yumuşakçalardan izole edilmişlerdir (Dadar ve ark., 2015). Tatlısu ve deniz balıklarında çeşitli viral enfeksiyonların akuatik birnaviruslarla yakından ilişkili olduğu rapor edilmiştir. IPNV, atlantik salmon (*Salmo salar*) kültüründe smoltların denize transferinden kısa bir süre sonra şiddetli derecede enfeksiyon oluşturmaktadır (Ørpetveit ve ark., 2010). Yüksek derecede virülensli IPNV izolatları 4 haftalıktan küçük salmon balıklarında % 90'dan daha büyük oranda mortalite oluşturmaktadırlar (Yao ve Vakharia, 1998).

Hayvansal proteine artan talepten dolayı, su ürünleri sektörü tarım sektörü içerisinde en hızlı gelişen sektör haline gelmiştir (Heppell ve Davis, 2000). Ülkemizde 2017 yılında su ürünleri üretimi bir önceki yıla göre % 7,2 artarak 630 bin 820 ton olarak gerçekleşmiştir. Bu üretimin % 43,8'ini (276.502 ton) yetiştiricilik ürünleri oluşturmuştur. Üretilen gökkuşağı alabalığı miktarı ise 106.733 tondur. Türkiye'de kişi başına düşen ortalama balık tüketimi 2017 yılı için 5,49 kg olarak gerçekleşmiştir. (TÜİK, 2018). IPNV'nin etiyolojik öneminden dolayı son yıllarda virüsün biyolojisi ve patolojisi ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır (Pedersen ve ark., 2007). Enfeksiyöz hastalıklar balıkçılık sektöründeki hızlı gelişmelerden dolayı artmıştır. IPN akut kataral enteritis olarakta bilinmektedir. IPNV salgınları dünya genelinde oldukça yaygın bir problem olup her yıl su ürünleri yetiştiriciliğinde ciddi ekonomik kayıplara sebep olmaktadır (Soltani ve ark., 2014). Balık sağlığının korunması, su ürünleri yetiştiriciliğinde en önemli hedeflerden bir tanesidir (Bain ve ark., 2008). Stok yoğunluğunun kontrolü, bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi ve optimum yemleme gibi çok sık uygulanan yöntemlerin farklı kombinasyonlarının uygulanması hastalıkların kontrolünde ilk alınacak tedbirler arasındadır (Estevez ve ark., 2018).

Su ürünleri endüstrisinin sürdürülebilirliği için patojenler büyük bir tehdit oluşturmaktadır. Antropojenik faaliyetler ve iklimsel değişikliklerden dolayı doğal su kaynaklarının bileşiminin bozulması yabani balık popülasyonlarında hastalık

salgınlarının çıkmasına neden olmakta ve bu durum endiŖeyle izlenmektedir. Özellikle akut viral hastalıklar kültür balılığını yüksek derecede tehdit etmekte ve ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Sudhagar ve ark., 2018). Balık yetiŖtiriciliđinde olumsuz koŖullar, kültür balıklarını hastalıklara karŖı yüksek derecede duyarlı hale getirmektedir. Genetik seleksiyon yöntemleri ile IPNV'ye karŖı daha fazla dirençli balıklar geliŖtirilmiŖ olmasına rağmen IPNV hala salmon üretim endüstrisi için ciddi bir problemdir (Julin ve ark., 2013). Su rnleri yetiŖtiricileri, balık stoklarını viral enfeksiyonlardan koruyabilmek için, yeni nesil aŖılarla ilgili geliŖmelere odaklanmıŖlardır (Estevez ve ark., 2018).

Bu alıŖmada; Türkiye'de gkkuŖađı alabalığı çiftliklerinden ve denizde yaŖayan kalkan balıklarından izole edilen IPNV izolatlarının moleküler karakterizasyonun belirlenmesi, genogruplandırmalarının yapılması, virüsün bilinen Avrupa, Amerika izolat genotipleri ile karŖılaŖtırılması ve genomik farklılıkların patojenite üzerine etkilerinin araŖtırılması amalanmıŖtır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnfeksiyöz Pankreatik Nekrozis Hastalığı

2.1.1. Tanım

IPN genç salmonidlerin oldukça bulaşıcı, pankreas nekrozu ile karakterize mortalitesi yüksek viral bir enfeksiyonudur. IPNV kültür balıkçılığı ve vahşi hayattaki balıklarda gözlemlenen en yaygın virüsler arasındadır. IPN balıklar, yumuşakçalar ve kabuklularda yüksek oranlarda morbiditeye neden olurken fry ve genç çiftlik balıklarında yüksek oranlarda ölümler oluşturmaktadır (Wen, 2017; Ahmadivand ve ark., 2018). Balıkçılık endüstrisinde atlantik salmon 6-10 haftalık post smoltlarında denize transferin arkasından salgınlar oluşturmaktadır (Gadan ve ark., 2013). Tatlı sulardaki mortalite oranı % 100'e kadar çıkarken, denizlerdeki salgınlarda ise % 10-20 arasındadır (Julin ve ark., 2013). IPNV enfeksiyonundan sonra hayatta kalan balıklar uzun süre asemptomatik taşıyıcı olarak kalmakta ve duyarlı hayvanları hem vertikal ve hem de horizontal yol ile enfekte etmektedirler (Flores-Mara ve ark., 2017).

2.1.2. Tarihçe

Akuatik birnavirüsler geniş ve oldukça çeşitli bir virüs grubunu oluştururlar. Bu grup virüsler sayısız balık türü ve denizde yaşayan omurgalılarda görülmektedir (Ji ve ark., 2017). IPNV enfeksiyonları kuluçkahanelerden nakli yapılan balıklar aracılığı ile deniz kafeslerine bulaştırılmaktadır (Kristoffersen ve ark., 2018). IPN hastalığı dünyada ilk kez 1958 yılında, Kuzey Amerika'da tatlısularda yetiştiriciliği yapılan Brook trout (*Salvelinus fontinalis*) tesislerinde görülen vakalardan ardı ardına yapılan 2 izolasyon ile bildirilmiştir. Bunu takip eden yıllarda Avrupa'da hastalık Fransa, Danimarka, İskoçya ve Norveç'te tatlısu gökkuşacağı alabalıklarında görülmüş, 1970 yılının ortalarında, Amerika, Avrupa, ve Japonya'dan resmi olarak rapor edilmiştir. 1986 yılında Çin'de gökkuşacağı alabalıklarında ilk salgın ortaya çıkmıştır (Ji ve ark., 2017). Hastalık ilk çıktığı zamanlarda 5 gram (g)'dan küçük salmonidlerde görülmekte iken, sonraki zamanlarda büyük balıklar ile birçok deniz ve tatlı su türlerinde örneğin, gökkuşacağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*), kahverengi alabalık (*Salmo trutta*) ve atlantik salmonlarda (*Salmo salar*) enfeksiyonlar oluşturmuştur (Roberts ve Pearson, 2005; Cuesta ve ark., 2010). Türkiye'de ilk kez IPN virüsü 2002 yılında enfekte gökkuşacağı alabalığı dokularından Revers transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR)

yöntemiyle teşhis edilmiştir (Candan, 2002). Norveç'te denizlerde bulunan bütün ticari salmon çiftlikleri IPNV taşıyıcısı olup (Santi ve ark., 2005a), 2004 ve 2011 yılları arasında ortalama her yıl 154 ile 223 çiftlikten hastalık bildirimleri yapılmıştır. 2008 yılından 2015 yılına kadar çıkan salgınların % 24 ile % 57'si tatlısulardaki kuluçkahanelerden rapor edilmiştir. Bazı kuluçkahanelerde diğerlerinden daha fazla IPNV enfeksiyonu görülmüştür. Bu çiftliklerde kuluçkahanelerin oldukça benzer virüs suşları ile yeniden enfeksiyona yakalandıklarını bildirilmiştir. Bu durum bazı kuluçkahanelerin IPN virüsünün persiste suşlarına sahip olduklarını ve genetik olarak aynı izolatların kuluçkahanelerde kümelenmelerini göstermektedir (Kristoffersen ve ark., 2018).

Meksika da 2009 yılında gökkuşuğu alabalıklarında IPNV prevalansı % 11,9 olarak rapor edilmiştir (Salgado-Miranda ve ark., 2014). IPNV 2015 yılında Çin'de salmon çiftliklerinde meydana gelen hastalık salgınlarının % 30'unda rapor edilmiş ve bu çiftliklerde % 8 oranından patojenle ilişkili ölüm gerçekleştiği açıklanmıştır (Manríquez ve ark., 2017). 2016 yılında 3 aylık gökkuşuğu alabalığı frylarının bulunduğu bir işletmede 12 - 15 °C su sıcaklığında oldukça yaygın bir IPNV salgını görülmüş, bu vakada 1 aylık süre içinde % 100'e yakın kümülatif mortalite gerçekleşmiştir (Zhu ve ark., 2017). IPN hastalığı geniş bir coğrafyaya dağılmış ve günümüz itibari ile enfeksiyon dünyanın birçok bölgesine yayılmıştır (Suebsing ve ark., 2011; Soltani ve ark., 2014).

2.1.3. Etiyoloji

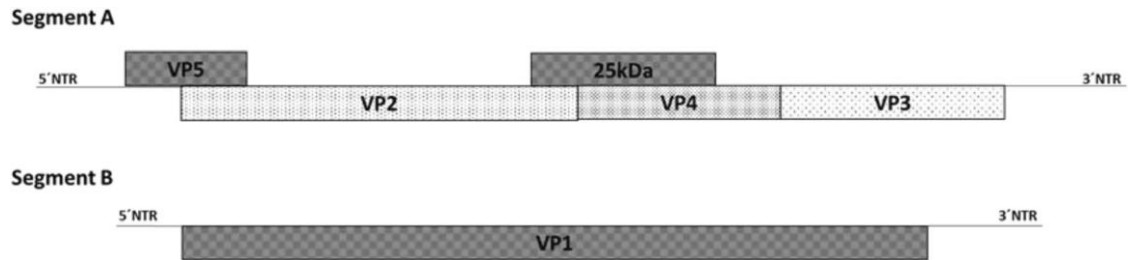
Virüsün Morfolojisi ve Moleküler Yapısı

IPNV *Birnaviridae* familyasından, *Aquabirnavirus* genusuna ait zarfsız küçük bir virüstür (Song ve ark., 2005). Virüsün genomu 2 segmentli (Segment A ve B) çift iplikçikli ribonükleik asit (RNA) yapısında ve tek tabakalı 60 nanometre (nm) çapında, ikosahedral bir kapsit ile çevrilmiştir (Şekil 1) (Dobos, 1976; 1995).

Segment A 3,097 baz çifti (bp) uzunluğunda, 3,1 kilobaz (kb) ve 4 adet viral proteini kodlamaktadır (Bain ve ark., 2008; Zhu ve ark., 2017). Bunlar yapısal proteinler VP2, VP3 ve yapısal olmayan proteinler VP4 ve VP5'dir (Dobos, 1995). Segment A büyük open reading frame (ORF) ile 106 kilodalton (kDa) bir poliprotein (NH₂-VP2-VP4 VP3-COOH) kodlamaktadır (Dobos, 1976; Duncan ve ark., 1991) Bu polipeptid translasyon esnasında bir proteaz olan VP4 (24 kDa, 252 aminoasit, aa) ile

kesilerek pre-VP2 (pVP2, 62 kDa) ve VP3 (31 kDa, 217 aa) ürünlerini üretir (Ji ve ark., 2017). Pre-VP2 ileri bir prosedür ile virüs maturasyonu esnasında VP2'ye (54 kDa, 449 aa) dönüşür (Dobos, 1976; Duncan ve ark., 1991; Cuesta ve ark., 2010). Ayrıca segment A küçük bir ORF daha içerir ve bu iki ORF büyük ORF'nin amino terminal ucunda üst üste çakışırlar. Küçük ORF VP5 (17 kDa'dan 3 kDa'ya kadar) yapısal olmayan polipeptidlerini kodlamakta ve bu polipeptid sadece enfekte hücrelerden identifiye edilmiş, viriyondan pürüfiye edilmemiştir (Duncan ve ark., 1991; Dobos, 1995; Dadar ve ark., 2014; Estevez ve ark., 2018). IPNV VP2 majör nötralizan epitoplari kapsayan bir dış kapsid proteinidir. VP2 ayrıca virülens markirlarını kapsar ve genotipleme için özel bir taksonomik öneme sahiptir (Blake ve ark., 2001; Nishizawa ve ark., 2005). VP3 hem VP1 ve hem de genomik RNA ile ribonükleoprotein kompleksi oluşturan (Pedersen ve ark., 2007) internal bir protein olup, IPNV'nin spesifik antijen gruplarını taşır, replikasyon siklusunda birkaç görevi vardır (Duncan ve ark., 1991; Cuesta ve ark., 2010). Domainler VP3'ün 3 türlü bağlanma özelliğinden sorumludurlar. IPNV ile enfekte CHSE-214 hücre hatlarında VP1-VP3 kompleksleri olgun virüs soylarının oluşumundan önce tespit edilmiştir. Bu durum VP3'ün viriyonun paketlenmesi sürecinde rol aldığını göstermektedir (Pedersen ve ark., 2007).

Segment B monosistronik yapıda ve yaklaşık olarak 2783 nükleotit baz içermekte olup VP1 (94 kDa) proteinini kodlamaktadır (Manríquez ve ark., 2017). Bu protein 2 formda bulunur (Duncan ve ark., 1991; Dobos, 1995). VP1 proteini hem IPNV'de viriyon ilişkili RNA bağımlı RNA polimeraz (RdRp) olarak görev yapar ve hem de her iki genomik RNA segmentlerinin 5 uçlarına kovalent bağlarla bağlanmış olarak bulunur (Ji ve ark., 2017).



Şekil 1. IPNV genom haritası. Segment A'da büyük ORF ile bir poliprotein (NH₂-pVP2-VP4-VP3-COOH) kodlanmaktadır. Segment A'nın 5 ucu ile üst üste çakışan ikinci ORF ile yapısal olmayan VP5 proteini kodlanmaktadır. Segment B RNA bağımlı RNA polimeraz enzimi olan VP1 proteinini kodlamaktadır (Manríquez ve ark.'dan, 2017)

Serolojik ve Genotipik Gruplandırma

Serolojik olarak akuabirnavirüsler kros nötralizasyon çalışmalarına göre 4 (A-B-C-D) serogruba ayrılırlar (Mutoloki ve Evensen, 2011; Wen, 2017). Salmonlarda enfeksiyon oluşturan akuatik birnavirüslerin çoğunluğu Serogrup A içerisinde yer alır, ve bu grup 9 serotipe ayrılmıştır (A1-A9). Bu serotipler West Buxton (A1), Sp (A2), Ab (A3), He (A4), Te (A5), Can1 (A6), Can2 (A7), Can 3 (A8) ve Jasper (A9) referans suşları tarafından temsil edilmektedir (Hill ve Way, 1995, Salgado-Miranda ve ark., 2014). Küçük serogrup B tek serotip B1'den oluşmaktadır. Serotip A1 Amerika izolatlarını, serotip A6-A9 Kanada izolatlarını, serotip A2-A5 ve B1 Avrupa ve Asya (Blake ve ark., 2001; Nishizawa ve ark., 2005; Mutoloki ve Evensen, 2011) izolatlarını içerir. Bu virüsler önemli antijenik varyasyonlar göstermektedirler (Heppel ve ark., 1995; Santi ve ark., 2005a).

Blake ve ark. (2001) akuabirnavirüsleri VP2 geninin filogenetik analiz sonuçlarına göre sınıflandırmışlardır. Serogrup A'nın 9 serotipi içinde 6 genogrup olduğu bildirilmiştir (Blake ve ark., 2001; Ahmadivand ve ark., 2018). Genogrup 1, ABD izolatlarını (serotip A1) ve Kanada'dan 2 Jasper türünü kapsamaktadır. Genogroup 2, Asya ve Avrupa izolatlarını kapsar (serotip A3). Genogroup 3, Kanada'dan 2 izolat C1 ve ASV (serotip A6) ve Avrupa Te (serotip A5) izolatını kapsar. Genogroup 4, Kanada'dan 2 izolat C2 ve C3'ü kapsar (serotip A7 ve A8). Genogroup 5, Avrupadan 5 izolat ve 1 Asya izolatu (serotip A2)'yi kapsar. Genogroup 6, yalnızca hecht izolatını (serotip A4) kapsar. Kanada suşlarının virülensi oldukça yüksektir (Santi ve ark., 2004; Shivappa ve ark., 2004; Song ve ark., 2005). Salmonidlerden izole edilen marine birnavirüsler, IPNV de dahil olmak üzere farklı bir genogrup ve serotipi oluşturmaktadırlar. Bu 6 genogruba ilave olarak deniz balıkları, yumuşakçalar ve deniz kabuklularından yapılan izolatlarla tüm deniz birnavirüslerinin 7. genogrup olarak sınıflandırılması önerilmiş olup (Salgado-Miranda ve ark., 2014; Ji ve ark., 2017), genogrup 7 başlıca Japonya ve Kore izolatlarını kapsamaktadır (Nishizawa ve ark., 2005; Manríquez ve ark., 2017).

Virülens ve Virülens ile İlişkili Aminoasit Rezidüleri

IPNV-VP2 proteini IPNV'nin virülensi için belirleyici faktörleri taşımaktadır. Bu protein virüsün konağa giriş sürecinde anahtar rol oynamaktadır (Bruslind ve Reno, 2000; Song ve ark., 2005). IPNV'nin 5 proteini arasında VP2 ve VP3 proteini virüsün

major yapısal ve immunojenik polipeptitleridir. VP2 proteini virülensle ilgili epitoplari içerir. Bu epitoplar IPNV'ye karşı virüsü nötrale edici antikorların üretilmesi ve ortaya çıkarılması kapasitesine sahiptir (Guo ve ark., 2018). Tipe spesifik monoklonal antikorların üretilmesinden VP2 sorumludur. VP2 bütün virüsün hücreye tutunma bölgeleri ile konak ve hücre aralığını belirler. VP2 domeinlerindeki farklılıklar bu proteinin özelliklerini değiştirebilir. Bu değişimler VP2'nin antijenik karakterleri üzerine etki edebilir ve balıklardaki mortalite oranını değiştirebilir (Shivappa ve ark., 2004; Song ve ark., 2005; Dadar ve ark., 2015). IPNV-VP2 genomu genetik farklılıklar ve moleküler araştırmalar için değerli bir araçtır (Soltani ve ark., 2014). IPNV izolatlarının virülensini belirlemek için VP2 proteininin domeinleri içinde yüksek derecede homoloji olmasından dolayı virülens ile ilişkili amino asitleri tanımlamak mümkündür. Spesifik amino asitlerden 199, 286 (Shivappa ve ark., 2004), 217, 221, 247, 500 IPNV türlerinin virülensi ile ilişkilidir ve enfekte edilen balıklarda bu amino asitlerde gözlemlenen farklılıklara bağlı olarak yüksek oranda mortaliteler oluşmuştur (Santi ve ark., 2004; Shivappa ve ark., 2004; Song ve ark., 2005). Chinook salmon embryo (CHSE-214) hücre hatlarında seri pasajlardan sonra segment A'nın nükleotit sekansları incelendiğinde VP2 geninde nükleotit pozisyonu 779'da Guanin (G)'den Adenin (A)'ya oluşan nokta mutasyonundan dolayı 221 pozisyonundaki Alanin (Ala) rezidüsü Treonin (Thr)'ye dönüşmektedir. Yaklaşık olarak 4. pasajdan sonra virüs popülasyonunun yarısı, 9. pasajdan sonra ise virüslerin tamamı aynı pozisyonda (221 pozisyonunda) Ala'dan Thr'ye dönüşmüştür. 221 pozisyonundaki aminoasit değişimi sadece virüsün CHSE-214 hücre hatlarına adaptasyonu esnasında oluşmakta, RTG-2 hücre hatlarında oluşmamaktadır. Bu adaptasyon mutasyonu Prolin (Pro)217 ve Ala247 içeren suşlarda gecikmektedir. Adaptasyon mutasyonu, VP2'deki lineer epitopun bir parçasıdır (Song ve ark., 2005). Viral RNA polimeraz, deoksiribonükleik asit (DNA) polimerazın düzeltme yeteneğinden yoksundur (Drake ve Holland, 1999). Bu durum RNA virüslerinde sürekli ve hızlı bir evrim ile mutasyonlara sebep olmaktadır. Viral genom üzerinde mutasyona açık olan bölgeler hotspot olarak isimlendirilirler. IPNV-VP5'i kodlayan küçük ORF'de çok sayıda hotspot nokta gözükmektedir (Jülin ve ark., 2013). VP5 proteini *in vitro* şartlarda virüs replikasyonu için gerekli olmayıp Bel-2 homoloji domainlerini kapsamaktadır. IPNV-VP5 aracılığı ile konağın antiapoptik yolunu regüle eder ve hücrenin hayatta kalma süresini uzatarak virülense katkı sağlamaktadır (Song ve ark., 2005). Ribozomal ünite tarafından translasyon başlangıç bölgesinin seçimi nükleotit sekansı üzerinde karşılaşılan ilk AUG

kodonuna göre belirlenir. Segment A'daki küçük ORF'nin başlangıç kodonu 112. nükleotitte başlar, buna karşın büyük ORF ise 119. nükleotitte başlamaktadır. Küçük ORF'nin bulunmaması poliproteinin translasyonel etkinliğinin artmasına neden olabilir ve bu durum IPNV-VP5 eksik suşlarda hafif seviyede replikasyon artışı ile sonuçlanmaktadır (Santi ve ark., 2005b). VP5 geni üzerinde oluşan mutasyonlar sonucunda tam uzunluğu 15 kDa, 12 kDa ve 3.3 kDa olan 3 farklı tip VP5 açığa çıkmaktadır (Julin ve ark., 2013). VP3 ribonükleoproteininin çekirdek yapısını oluşturan dsRNA'ya bağlı bir iç kapsit proteindir. VP3 VP1'e bağlı güçlü bir matrix proteini olarak görev yapmaktadır (Skjesol ve ark., 2011).

IPNV Sp serotiplerinin genomunda VP2 geninin 221 pozisyonundaki aminoasit kalıntısı adaptif mutasyonlar için hotspot noktadır. Bu rezidü virüsün, persistensliği ve in vivo olarak üremesi üzerine etki etmektedir (Song ve ark., 2005; Gadan ve ark., 2013). Virüent suşlarda VP2'nin sırasıyla 217 ve 221 pozisyonunda Thr ve Ala (Thr217/Ala221) aminoasit rezidüleri bulunurken, orta ve düşük virülensli suşlarda ise bu pozisyonda Pro ve Ala (Pro217/Ala221) vardır. Treonin pozisyonu 221 olan suşlar (Thr221) neredeyse avirüenttirler (Santi ve ark., 2005a; Skjesol ve ark., 2011). Bununla birlikte pozisyonu Pro217 ve Ala221 olan IPNV'nin bazı suşlarında yüksek virülens gözlemlenmektedir. Çevresel faktörler, konak ve spesifik aminoasit kalıntılarının patojeniteyi etkilediği görüşünü destekleyen veriler mevcuttur (Bain ve ark., 2008; Ahmadivand ve ark., 2018). VP2'nin 247 pozisyonundaki rezidüleri yüksek oranda değişebilir nitelikte olup, Thr217 Ala221, Thr247 motifleri yüksek virülens ile ilişkili, Pro217, Ala221 ve Ala247 motifleri ise düşük ve orta derecede virülens varlığını göstermektedir. VP2'nin merkezi değişebilir domainleri içermekte olduğu ve iki yüksek dereceli değişebilir bölgeyi kapsadığı gösterilmiştir. Bu yüksek değişebilir bölgeler virüsün spesifik serotiplerini belirlemektedir (Santi ve ark., 2005b; Dadar ve ark., 2013). Virüent IPNV suşları, 12 kDa VP5 proteini kodlamaktadırlar (Song ve ark., 2005). IPNV izolatlarının virülensinin segment A ile bağlantılı olduğu saptanmış ancak, segment B'de virülens ile bağlantılı spesifik sekans yada motif tanımlanmamıştır (Dadar ve ark., 2013).

2.1.4. Epidemiyoloji

IPNV tatlı sularda ilk kez yemlenen genç salmonid balıklar ile deniz kültürlerinde, brook trout ve atlantik salmon smoltlarında (Crane ve ark., 2000) denize transferden sonra 4-12. günden 6 haftaya kadar olan süre içerisinde ortaya çıkan ve

yüksek mortaliteli akut viral bir enfeksiyon hastalığına neden olmaktadır (Flores-Mara ve ark., 2017; Fourrier ve ark., 2017). Genç salmonların tuzlu sulara transferi özellikle üretim siklusu içerisinde stresli bir dönemdir. Smoltifikasyon, morfolojik, fizyolojik, biyokimyasal ve davranışsal olarak kompleks bir değişimi içererek balıkları tatlı sulardan deniz sularında yaşama siklusuna hazırlamaktadır. Deniz balıklarında gözlemlenen IPN vakaları denize transferden sonra stres merkezli olarak asemptomatik enfeksiyon taşıyan balıklarda hastalığın reaktivasyonudur (Johansen ve Summer, 1995; Gadan ve ark., 2013). Epidemiyolojik çalışmalarda IPNV salgınlarının ortaya çıkması için taşıma stresinin risk faktörü oluşturduğu tespit edilmiştir. Akut IPN salgınlarında mortalite oranı konak türü, yaşı, virüs izolatu ve çevre koşullarına bağlı olarak % 5'ten % 100'e kadar değişiklik göstermektedir (Gadan ve ark., 2013; Ahmedivand, 2018). Enfeksiyondan sonra hayatta kalan balıklar ömür boyu asemptomatik taşıyıcı olarak kalırlar. Taşıyıcı balıklar idrar, gaita, sperm ve yumurta (Salgado-Miranda ve ark., 2014) ile virüsü etrafa saçarak diğer duyarlı balık ve kabuklu türlerine bulaştırırlar ancak, saçılım miktarı stres süresince artmaktadır (Crane ve ark., 2000). IPNV salmon kuluçkahanelerinde oldukça yaygın olup (Dadar ve ark., 2013) yüksek virülensli suşlar 4 aylıktan küçük balıklarda yüksek seviyelerde mortalitelere neden olur (Song ve ark., 2006). IPNV mortaliteleri sadece larva ve fingerlinglerde değil aynı zamanda 200 g üzerindeki balıklarda da görülmektedir (Soltani ve ark., 2014).

IPNV çevresel kaynaklarda persiste kalabilmekte aylarca suda ve havada yaşayabilmektedir. Virüsün bütün bu özellikleri bu hastalığı salmonlarda endemik yapmaktadır (Brun, 2003). Virüs 10°C sıcaklıktaki suda 7 ay kadar canlı kalabilmektedir (Zhu ve ark., 2017). Böylece IPN problemlerine ilişkin bölgesel farklılıklar virüs dışındaki faktörlerden de etkilenmektedir (Julin ve ark., 2013). Bir çiftlikte çeşitli işletmelerden temin edilen genç alabalıklar olabilir ve bu balıkların karıştırılması ileriki dönemlerde işletmede IPN gelişmesi için risk oluşturmaktadır (Bain ve ark., 2008). Virüsün bulaştırılmasında ve varlığını sürdürmesinde bölgelerarası enfekte balıkların transferi en önemli mekanizmayı oluşturmaktadırlar (Manríquez ve ark., 2017). Teşhis çalışmalarında yüksek mortalite ile seyreden olguların 9-12°C su sıcaklığında görüldüğü, daha yüksek sıcaklıklarda ise virüsün tespit edildiği ancak mortalite oranının düştüğü ya da görülmediği bildirilmektedir. Salgınlar ve yüksek mortalite ile seyreden olgular sıcak bölgelerde ilkbahar aylarında, serin bölgelerde ise ilkbahar sonu ve yaz başlarında görülmektedir (Kalaycı ve ark., 2012). *Aquabirnavirüsler* geniş bir konak yelpazesine sahiptirler. Bu virüsler en az 32 farklı

familyaya ait balık türünden, 11 tür yumuşakça ve 4 tür kabuklu deniz hayvanından izole edilmişlerdir (Song ve ark., 2005). IPNV çizgili levrek, levrek, çipura, kalkan, ringa, halibut, sarıkuyruk, yılanbalığı, pisi balığı gibi deniz balıklarında da mortaliteye neden olabilmektedir (Castric ve ark., 1987; Nakajima ve ark., 1993). IPNV ile ilişkili suşlar Japonya, Avrupa ve Amerika'da hem vahşi ve hem de kültürü yapılan yılan balıklarından izole ve identifiye edilmişlerdir. Yılan balıklarında bu virüslerin oluşturduğu enfeksiyonlarda sıklıkla mortaliteler oluşmasına rağmen klinik belirtiler görülmemektedir. Bazı farklılıklar suşlar arasında gözlemlenebilmektedir (Wen, 2017). Avrupa yılan balıkları IPNV, Rhabdovirus anguilla ve Herpesvirus anguilla ile birlikte mix enfeksiyona yakalanırken, Japon yılan balıkları ise japon yılan balığı endotelial hücre virüsü (JEECV) ve IPNV ile koenfekte olmaktadır (Nshizawa ve ark., 2005; Wen, 2017). Salmonidlerin yetiştirildiği bölgelerin çoğunluğu IPNV yönünden endemik bölgeler haline gelmekte ve kuluçkahanelerde her yıl hastalık salgınları ortaya çıkmaktadır. Norveç'te denizdeki bütün salmon çiftlikleri IPNV ile kontamine olmuşlardır. Ulusal izleme programlarına göre her yıl denizde bulunan işletmelerde % 70'e varan oranlarda salgınlar çıktığı rapor edilmektedir (Santi ve ark., 2005b). Çiftliklerde damızlıkların taranması, dezenfeksiyon ve IPNV'nin persiste suşlarından kurtulmak için harcanan çaba nedeniyle 2011 yılından itibaren kuluçkahanelerden yapılan salgın bildirimlerinde yıllık % 20'den % 50'ye kadar varan oranda bir azalma görülmektedir (Kristoffersen ve ark., 2018). Yüksek mortalite genellikle fry ve fingerlinglerde oluşmaktadır. Hastalığın epidemik olduğu yerlerde, bakım ve beslemenin iyi olmadığı, stok yoğunluğunun, stresin fazla bulunduğu işletmelerde, bakteriyel ve paraziter etkenlerin miks enfeksiyon oluşturduğu durumlarda erişkin balıklarda da mortalite oranının arttığı görülmektedir. Hastalığın endemik olduğu yerlerde mortalite oranının düştüğü ancak taşıyıcılığın arttığı tespit edilmiştir (Kalaycı ve ark., 2012).

2.1.5. Patogenez

Akut enfeksiyona tutulan salmonidlerde IPNV lezyonları ilk olarak ekzokrin pankreatik dokularda oluşmakta (Johansen ve Sommer, 1995), persiste balıklarda ise virüs böbrek dokularında, makrofajlar ve lökositler gibi immun sistem hücreleri içerisinde bulunmaktadır (Santi ve ark., 2005b). Sitokinlerin salınımı, antikörlerin ve diğer moleküllerin uyarılması bu hücreler tarafından yapıldığından virüsün lökositler içerisine yerleşmesi ile bu kan hücrelerinin fonksiyonlarında değişiklikler meydana

gelmektedir. Taşıyıcı balıklardan izole edilen lökositlerde düşük bir immun yanıt saptanmıştır (Lockhart ve ark., 2004; Gadan ve ark., 2013). Hücre kültürlerine inokulasyondan 5-10 gün sonra virüs sitopatik efekt (CPE) oluşturmakta ve tipik olarak hücrelerin nukleusunda piknozis meydana getirmektedir (Dadar ve ark., 2014). Piloristeki pankreatik dokular virüsün hedef dokularıdır ve enfeksiyonun akut fazı boyunca etkilenmektedirler (Julin ve ark., 2013). Enfekte balıkların pankreas karaciğer ve solungaçlarından yapılan histopatolojik incelemelerde; pankreatik asiner hücrelerde ağır dejeneratif bozukluklar, koagülatif nekrozlar (Dadar ve ark., 2014; Dadar ve ark., 2015), vakuoller, piknotik nukleus, granüllerde azalma, yağ dokuda diffüz nekrozis ve pankreasta inflamatuvar hücre infiltrasyonları gözlemlenir. Karaciğer hücrelerinde şiddetli kanama ile birlikte vakuoler dejenerasyon ve apoptozis gözlemlenmektedir. Solungaçlarda kılcal kan damarlarının respiratorik epitellerinde ayrılma, solungaç lamellerinde ölü hücreler ve benzeri oluşumlar gözlemlenmektedir (Zhu ve ark., 2017).

Bu güne kadar elde edilen verilerden balık lökositlerinin genital sistem steroidlerine karşı duyarlı oldukları ve östrojenlerin balıklarda immun yanıtları modüle ettikleri belirlenmiştir (Chaves-Pozo ve ark., 2018). Bazı yazarlar virüsün hemopoetik dokularda replikasyona devam ettiğini rapor etmektedirler (Manríquez ve ark., 2017). IPNV suşları kapsit üzerinde bulunan VP2 motif varyasyonlarına göre farklı seviyelerde virülens ve immunojenite oluşturmaktadırlar (Zhu ve ark., 2017). Diğer zarfsız virüslere benzer şekilde IPNV reseptör merkezli endositozis ile hücre içine alınır ve VP2 hücre ataçman proteini olarak görev yapmaktadır (Song ve ark., 2005). Virüsler nöyraminidaz gibi reseptör yıkıcı enzimlerden salınımaya yardımcı olmak ve diğer hücrelere yayılımı kolaylaştırarak virülensi yükseltmek amacıyla faydalanırlar. Bu nedenle reseptörlerin bağlanma gücündeki küçük değişiklikleri sağlayan reseptör yıkıcı enzimler IPNV gibi virüslerde yoktur (Gadan ve ark., 2013). IPNV hücre kültürlerinde seri pasajlamalardan sonra mutasyona ve virülens kaybına uğramaktadır (Santi ve ark., 2004; Shivappa ve ark., 2004; Song ve ark., 2005) Bu değişim virüslerin CHSE-214 hücre kültürlerine hızlı adapte olduklarını göstermektedir (Song ve ark., 2005; Julin ve ark., 2013). Salgınlarda virüsün oluşturduğu mortalite oranı konağın türü, yaşı, çevre koşulları, fiziksel durumu ve izolatin virülensine göre farklılıklar göstermektedir (Song ve ark., 2005; Dadar ve ark., 2014).

2.1.6. Klinik Belirtiler

Hastalıklı balıklarda deride kararma, karında şişlik, sarı müköz bir dışkı, dışkı saçılması, iştah kaybı (Crane ve ark., 2000; Matvienko ve ark., 2014), bazı balıklarda düzensiz yüzme, su çıkışında toplanma, baş bölgesinde küçük şişlikler, deride siyah renkli pigmentasyon (vücudun arka 1/3'lük bölümünde daha fazla), ekzoftalmus (Kalaycı ve ark., 2012; Zhu ve ark., 2017) ve spiral dönme gibi davranış bozuklukları görülür (Suebsing ve ark., 2011). İç organlarda kanama görülebilir. Dalak ve karaciğerde solgunluk, mide ve bağırsaklar genişlemiş ve içinde gıda yok, bağırsak içi sarı renkli mukoid bir sıvı ile doludur (Dadar ve ark., 2014; Dadar ve ark., 2015).

IPN virüsleri Japon yılan balıklarının nefritisli vakalarında nefroblastomalarda, solungaç lamellerinde, nekrozlu vücut ve endotelial hücrelerde lezyonlar oluşturmaktadırlar. Bu balıkların genellikle deri yüzgeç ve solungaçlarında hemorajiler görülmektedir (Wen, 2017). IPNV ile persiste enfekte balık hastalığının klinik belirtilerini göstermemekte ve postmortem incelemelerde herhangi bir bulgu da görülmemektedir (Ørpetveit ve ark., 2010).

2.1.7. Teşhis

IPNV enfeksiyonları ticari gökkuşacağı alabalığı işletmelerinde büyük ekonomik kayıplara sebep olmasının yanında, uluslararası ticarete de kısıtlamalara yol açmaktadır. 4 santimetre (cm)'den küçük yavrularda böbrek dahil tüm iç organlar, 4 cm'den büyük balıklarda böbrek, dalak, kalp, karaciğer, beyin ve anaçlarda ovarial sıvıların virüs izolasyonunda kullanılması önerilmektedir. Özellikle taşıyıcıların tespiti için beyin ve kalbin kullanılması önemlidir (Anon, 2006; Albayrak ve Özan, 2010; Soltani ve ark., 2014).

IPNV izolasyonunda, RTG-2, CHSE-214, bluegill fry (BF-2), epithelioma papulosum cyprini (EPC), fathead minnow (FHM), pike gonad (PG) hücreleri kullanılmaktadır. İzolasyonda RTG-2 ve BF-2 en duyarlı hücre hatlarıdır (Lorenzen ve ark., 1999; Anon, 2006; Song ve ark., 2006; Rud ve ark., 2015). Virüs izolasyonu virüs identifikasyonu için altın standarttır. IPN virüs izolasyonunda hedef doku homojenize edilerek santrifüj edilir, supernatant toplanır ve 220 nm membran filtreden geçirildikten sonra hücre hatlarına inoküle edilerek 15°C'de inkube edilirler. İnkübasyonu takiben 3-5 gün sonra CPE oluşumu gözlemlenir. CPE oluşmazsa hücreler 7 gün süreyle günlük olarak incelenirler. CPE gözlenen hücre süpernatantlarından RNA ekstraksiyonları yapılarak moleküler testlerle teşhis konulur (Zhu ve ark., 2017).

Hücre kültürü, nötralizasyon testi (NT) (Julin ve ark., 2013), indirektfloresan antikor testi (IFAT), immunfloresan testi, konvansiyonel RT-PCR, real-time revers transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu (rRT-PCR) ve enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) testleri hastalığın teşhisinde kullanılabilen testlerdir (Yao ve ark., 1998; Orpetvit ve ark., 2010; Dadar ve ark., 2015; Zhu ve ark., 2017). Dünya Hayvan Sağlığı Örgütü (OIE)'nin talimatlarına göre böbrek ve gonadlar ile seminal sıvılardan hücre kültüründe yapılan virüs izolasyonu bu hastalığın teşhisi için önerilen metottur (Anon, 2006). Ayrıca virüs piloristen yapılan ekimler sonucunda da izole edilebilmektedir (Julin ve ark., 2013). Bununla birlikte hücre kültürü metodu uzun zaman almakta ve yüksek seviyede özelleşmiş laboratuvarları gerektirmektedir. PCR gibi viral nükleik asit tespitine dayalı teknikler yüksek derecede spesifik ve genellikle daha yüksek sensivite göstermektedir. Taşıyıcı balıklarda yapılan deneme çalışmaları ile RT-PCR'ın oldukça yüksek spesifikite ve sensivite göstererek subklinik enfeksiyonlarda başarılı bir şekilde kullanılabileceği saptanmıştır (Mackay ve ark., 2002). Bu metot virüs izolasyonu ve konvansiyonel RT-PCR'dan daha az zaman almaktadır. Real-time RT-PCR uygulamasında SYBER Green 1 boyası kullanılarak poliprotein geni üzerinde viral protein kodlayan kısmın tespiti yapılmaktadır (Bowers ve ark., 2008). PCR ile virüs tespitinin dezavantajı vardır. Pozitif sonuçlar virüs enfeksiyonu ile ilgili bilgi vermemekte, sadece viral nükleik asit varlığını kanıtlamaktadır. Örneklerin laboratuvara taşınması esnasındaki fiziksel ve kimyasal koşullar ile depolama şartları, virüsün yapısını veya viral genomun bütünlüğünü yüksek oranda etkilemekte ve böylece analiz sonuçları da etkilenmektedir. IPNV için konvansiyonel RT-PCR ile real-time RT-PCR'ın sensivitesinin karşılaştırılması amacıyla IPNV hücre kültürü süpernatantlarından yapılan nükleik asit ekstraksiyonları 10 kat sulandırıldığında sonuçları paralel bulunmuş ancak Real-time RT-PCR konvansiyonel PCR'dan yaklaşık olarak 100 kat daha hassas bulunmuştur. Real-time RT-PCR ile virüs tespit duyarlılığı hücre kültüründe izolasyondan hafif derecede daha yüksek bulunmuştur. Hücre kültürleri virüs izolasyonu yoluyla daha geniş bir alanda bulunan IPNV suşlarını tespit edilebilirken, real-time RT-PCR özgülüğü bazı suşları tespit etmekte başarısız olabilmektedir (Ørpetveit ve ark., 2010).

Akuatik patojenlerin tespiti için döngüsel merkezli izotermal amplifikasyon yöntemi (LAMP) yeni bir yöntemdir. Revers transkripsiyon döngüsel izotermal amplifikasyon (RT-LAMP) yöntemi ile 65 °C'de 30 dakikada yüksek seviyelerde amplifikasyon elde edilebilmektedir. Spesifik IPNV RT-LAMP ve primerleri ile Asya

ve Avrupa suşlarını (Sp ve Ab suşları) tespit etmek mümkündür. RT-LAMP yöntemi ile IPNV hedef RNA'sının 8 ayrı bölgesini tanımlayan 6 adet primer kullanılmaktadır (Suebsing ve ark., 2011).

Balık sağlığı araştırmalarında özellikle virüslerle ilgili çalışmalarda toplanan örnekler için nakil ve stoklama solusyonu olarak RNAlater yaygın olarak kullanılmaktadır. IPNV RNAlater içerisinde 37 °C'de en az 30 gün süre yüksek titrede canlılığını korumaktadır ancak aynı koşullarda PBS içinde inaktive olmaktadır. Ayrıca RNAlater bu virüsün yüksek sıcaklıklarda ve böbrek doku homojenizatlarında termal inaktivasyonunu geciktirmektedir (Pham ve ark., 2018). Örnekleri -80 °C'de 2 aya kadar stoklama süresi IPNV nükleik asitlerindeki virüs spesifik RNA'da bozulmaya neden olmamaktadır (Ørpetveit ve ark., 2010). Hücre kültürü testleri için OIE tarafından önerilen taşıma süresi 48 saattir (Anon, 2006). Bununla birlikte -80 °C'de saklanmayan doku örnekleri hücre kültürlerine ekildiğinde pozitif sonuçlarda belirgin bir azalma gözlemlenmiştir. Ayrıca virüs analizleri için doku örnekleri soğutma olmaksızın gönderilecek ise RNA stabilizasyon solüsyonu ile korunarak gönderilmesi önerilmektedir. Real-time RT-PCR metodu taşıyıcı atlantik salmonların böbreklerinde düşük miktarlardaki IPNV tespiti için OIE'nin önerdiği hücre kültürü metoduna eşit veya daha duyarlıdır. Hücre kültüründe ikinci pasaj sonrasında yüksek sayıda IPNV pozitif örnekler elde edilmiştir (Ørpetveit ve ark., 2010). IPNV'nin diğer balık virüslerini baskılayıcı özelliği vardır. Bu nedenle IPNV tespit edilen örneklerin ayrıca IPNV antiserumu ile nötralize edildikten sonra diğer virüsler yönünden de izolasyon çalışmalarının yapılması önerilmektedir (Anon, 2006; Kalyacı ve ark., 2010). Histopatolojik incelemeler için balıkların karaciğer, pankreas, beyin, solungaç, dalak, kalp, barsaklar ve böbrek dokuları % 10'luk nötral buffer formalin içerisinde laboratuvara transfer edilmelidir (Zhu ve ark., 2017).

2.1.8. Bağışıklık

Balıkların viral patojenlere karşı savunmasında doğal ve edinsel bağışıklık sistemi birbirleri ile etkileşim içinde çalışmaktadır. Doğal immun sistem edinsel bağışıklık sisteminin aktivasyonuna kadar geçen sürede viral replikasyonu sınırlandırmaktadır (Durmaz ve Albayrak, 2016). Balık vücudunda oluşan immun yanıtları anlayabilmek için RNA sekans teknolojisi kullanılarak tüm RNA hattı boyunca meydana gelen değişikliklerin araştırılması fayda sağlamaktadır (Sudhagar ve ark., 2018). Diğer viral proteinlerden farklı olarak VP2 proteini virüsün temel immunojenik

özelliklerini kapsamaktadır (Song ve ark., 2005). VP2 geni üzerinde treoninlerin yerleşim pozisyonları protein fonksiyonları için önemlidir. Treonin farklı şekillerde bağlanma kapasitesine sahiptir. Alanin daha az reaktif bir rezidüdür ve yan taraflarında bulunan zincirler muhtemelen hücre reseptörlerine tutunmayı sağlamakta ve proteinin içine, çekirdeğe doğru yerleşmiş bir pozisyonudur. Bir reseptör için güçlü bir bağlanma yeteneği virüsün enfekte hücrelerden kaçışını inhibe eder ve sonuç olarak bağlı reseptörlerden daha az bir salınımına neden olur. Bu da immunojenite üzerine etki etmektedir (Gadan ve ark., 2013). Virüsent IPNV'nin CHSE-214 hücre hattında 10 kez pasajlanmasından sonra attenüasyon gerçekleşmektedir. Attenüasyon öncesinde virüsent bir ebeveyn suş yavru atlantik salmonlarda % 68 oranında mortalite oluştururken, attenüe olduktan sonra % 15 oranında mortalite oluşturmuştur (Allnutt ve ark., 2007).

VP2 genini içeren bir DNA aşısının interferon (IFN) ve IFN ilişkili genleri regüle ettiği ve spesifik antikor yanıtları oluşturduğu Brown trout'ta gösterilmiştir (De Las Heras ve ark., 2009). Balık yağlarından üretilen lipidler (Omega 3) ve vitamin D3 balık dokularında katelisin ekspresyonunu artırarak immün sistemi güçlendirmekte ve IPNV ile enfeksiyöz salmon anemisi virüsüne (ISAV)'a karşı direnç oluşumuna neden olmaktadır (Estevez ve ark., 2018). IPNV'ye karşı atlantik salmonlarda mRNA ekspresyon ile CD4 ve CD8 T hücrelerinin arasında bir korelasyon vardır. IPNV-VP4 ekspresyonu enfeksiyonlarda ve aşılama çalışmalarında viral yükün hesaplanmasında markır olarak kullanılabilir. Enfeksiyon sonrası virüs replikasyonunun iyi bir göstergesidir (Ahmedivand, 2018).

IPNV suşlarının zayıflaması ve virülens kaybı, virüsün yeni hücre kültürlerine transfer edildiğinde gerçekleşmektedir. IPNV-VP5'i CHSE-214 hücre hatlarında aşırı derecede eksprese edildiğinde IFN yanıtı üzerine antagonist etki etmekte ve antiviral proteinlerden myxovirüs (Mx) promotorunun ekspresyonunun uyarılmasını inhibe ederek virüs replikasyonuna katkı sağlamaktadır (Santi ve ark., 2005a; Julin ve ark., 2013). NK hücreleri bir sitotoksik hücre grubudur. Bu hücreler enfekte hücreleri granzim merkezli ozmotik lizis ve apoptozis aracılığıyla yıkımlarlar (Durmaz ve Albayrak, 2016). VP5 proteini ayrıca konak hücrelerinin yaşama süresini yükselterek enfeksiyonunun ilk evrelerinde virüs kaynaklı apoptozisi engellemektedir (Liu ve Vakharia, 2006; Song ve ark., 2006). IPNV'de VP3 ve VP4'e karşı bazı immün reaksiyonlar gerçekleştiği saptanmıştır (De Las Heras ve ark., 2009). VP3'ün IPNV partikülünün % 30 unu, VP1 in ise ancak % 4 ünü oluşturduğu rapor edilmektedir. VP3 birden fazla RNA bağlanma alanı içermektedir. VP3'ün RNA'ya bağlanma özelliklerine

bağlı olarak konağın antiviral yanıtını inhibe edebilme olasılığının bulunduğu bildirilmektedir (Pedersen ve ark., 2007)

Balıklar için, inaktif aşı, attenüe aşı, DNA aşısı veya subunit aşılardan olmak üzere farklı şekillerde hazırlanmış IPNV aşılardan tanımlanmıştır. IPNV suşlarına ait VP2 ve VP3 füzyon proteinlerinin ekspresyonları *Escherichia coli*'de başarılı bir şekilde yapıldıktan sonra bu proteinler IPNV'ye karşı alabalıklarda aşı olarak kullanılmıştır. Aşılanan balıklar % 83'e varan oranlarda IPNV enfeksiyonuna karşı korunmuşlardır (Dhar ve ark., 2014; Dadar ve ark., 2015; Albayrak, 2017). DNA aşısı teknolojisine ise geleneksel aşılardan optimal seviyelerin altında koruma sağladığı durumlarda ihtiyaç duyulmaktadır. Balıkları immunize etmenin en etkili yöntemi intraperitoneal (İP) uygulamadır. Bu metottaki koruma süresi immersiyon metodundan daha uzun sürelidir. DNA aşılardan ile aşılanmış balıklar bazı ülkelerde genetiği değiştirilmiş organizma (GMO) olarak etiketlenmektedirler. GMO'lardaki genel algı ise gıda kökenli olmalarıdır. Bu konuda resmi otoritelerin uyguladığı kısıtlayıcı yasa ve yönetmelikler nedeniyle akuakültür endüstrisinde sınırlandırmalar olabilir. DNA aşısı uygulanan bireylerde otoimmün yanıtlar, eksprese edilen antijenlere karşı immun tolerans gelişmesi, kromozomal entegrasyon, enjeksiyon bölgesinde inflamasyon ve doku yıkımlanması gibi yan etkilerin görülmesi bu aşılardan kullanımını sınırlandırmaktadır (Dadar ve ark., 2015).

Gonadlarda oluşan immun yanıtlar patojenlere spesifik olup, bu patojenler bir sonraki jenerasyona ovaryum ve seminal sıvılar veya gametlerin içerisinde taşınarak bulaştırılabilirler. Bazı IPNV türleri üreme siklusunun farklı evrelerinde alınmış ise bu virüsler arasında farklılıklar bulunduğu rapor edilmektedir. Üreme parametreleri ile virüsün yaşam siklusu ve gonadlardaki immun regülasyon arasında bir etkileşim oluşmaktadır. IPNV ve viral hemorajik septisemi virüsü (VHSV) gökkuşuğu alabalıklarının ovaryumlarında kolonize olmakta ve ovaryumlarda latent bir enfeksiyon başlatmaktadır. Ovaryumlarda IPNV kolonizasyonu ile görülen immun yanıtların baskılanması enfeksiyon süresince üretilen eksojen sistemik faktörler ile ilişkilidir (Chaves-Pozo ve ark., 2010; Chaves-Pozo ve ark., 2018). Cinsel olgunlaşmanın belirli bir seviyede antiviral immunitiyi teşvik edici etkisi vardır. Atlantik salmonlarda cinsel olgunlaşma antiviral etkileri bulunan Mx gen artışına neden olmaktadır. Mx gen artışı ile üretilen Mx proteinleri ergin dişi atlantik salmonlarda enfeksiyon oranının düşmesine sebep olmaktadır (Jensen ve ark., 2002; Fourier ve ark., 2017). Mx proteinleri Tip 1 IFNs ile uyarılmaktadır. Tip 1 IFNs lenfosit, monosit ve lökosit gibi

perifer kan hücrelerinde Mx protein seviyesini yükseltmektedir. Genel olarak, Mx gen ekspresyonu bazal seviyesi dışı atlantik salmon balıklarının böbrek ve karaciğerinde erkeklere oranla önemli derecede yüksek bulunmuştur. Dişiler viral enfeksiyonlara karşı daha fazla direnç gösteren bir doğal bağışıklık sistemine sahiptirler. Yapılan bir izleme çalışmasında, IPNV prevalansı seksüel olgunlaşma öncesi % 24 olarak saptanırken, yine aynı popülasyonda yumurta ve sperm sağımı sonrasında IPNV prevalansının % 8'e düşmüş olduğu görülmüştür. Damızlık balıklarda yumurtlama ve sperm sağımı öncesindeki dönemde gözlemlenen IPNV prevalansındaki azalmanın nedeninin bu durumdan kaynaklandığı düşünülmektedir (Hicks ve ark., 2003; Hannah ve ark., 2008; Fourrier ve ark., 2017). IPNV'nin doğal immun sistem ile etkileşiminin aydınlatılması virüsün patojenik özelliklerinin anlaşılabilmesi için gereklidir. Sistemik bir enfeksiyon oluşturabilmek için virüsler immun sistemden kaçış yöntemleri ile tip I IFN sistemini yıkabilecek geniş kapsamlı mekanizmalar geliştirmişlerdir. Tip I IFN'ler sitoplazmada endozomların zarı içerisinde bulunan toll-like reseptörlerin (TLR3 ve TLR7) viral RNA'yı tanımaları üzerine aktive olmaktadır (Arpaia ve Barton, 2011; Lauksund ve ark., 2015). Salgınan INFs'lar geniş çaplı antiviral proteinleri (Mx, ISG15, viperin ve PKR) uyararak her iki enfekte ve enfekte olmayan hücreleri enfeksiyonun ilerleyişinden korurlar. IPNV-VP4 ve VP5'in IFN ile uyarılan Mx promotorunu inhibe ettiği gösterilmiştir (Randall ve Goodbourn, 2008; Lauksund ve ark., 2015).

2.1.9. Koruma Kontrol

IPNV salgınları modern balık yetiştiriciliğinde hastalıklar açısından en önemli problemlerden bir tanesidir (Cuesta ve ark., 2010). Salgınlarının kontrolü aşılama ve yetiştiricilerin uygulayacağı hijyen stratejileri ile mümkün olabilmektedir. Hastalıktan ari işletmelerde yetiştiricilik yapılması hastalığın kontrol altına alınmasında önemlidir (Yoshida ve ark., 2018). Balık popülasyonları içerisinde patojenlere karşı dirence sahip olan genetik varyasyonların buldukları saptanmıştır. Gökkuşığı alabalıklarında IPNV'ye karşı direnç yapay seleksiyon yolu ile elde edilebilir ve enfeksiyonların kontrolünde alternatif yöntem olarak kullanılabilir (Flores-Mara ve ark., 2017). Gökkuşığı alabalıklarında ve atlantik salmonlarda düşük çözünürlükte markırların kullanılması ile IPNV direnç varlığını gösteren gen bölgelerinin identifikasyonu genomik tekniklerden Quantitative trait loci (QTL) analizleri ile yapılmış ve bu bölgelerin 26. kromozomda lokalize oldukları belirlenmiştir (Moen ve ark., 2015; Flores-Mara ve ark., 2017). Hayvanların fenotipik özelliklerinin genetik olarak

değerlendirilmesi için geliştirilen tek adımlı genomik en iyi doğrusal tahmin (ssGBLUP) metotları ile genotiplendirilmesi yapılmamış hayvanlar ve akrabaları için otomatik olarak direnç hesaplanabilmektedir. Balıklarda IPNV direnci tatlı su ile resirkülasyon sistemli kapalı devre ünitelerde yapılan deneme çalışmaları ile ölümlerin görüldüğü 13-63 günler arasında hayatta kalma oranı (RPS) ölçülerek belirlenmiştir (Yoshida ve ark., 2018).

IPN genellikle balıkların genç devrelerinde görülen bir enfeksiyondur. Bu dönemlerde balıkları enjeksiyon yöntemiyle aşılama zor olduğundan diğer uygulama yöntemleri tercih edilmektedir (Ramstad ve Midtlyng, 2008). Balıklarda İP enjeksiyon yoluyla uygulanan aşılar enfeksiyonlara karşı mükemmel koruma sağlamaktadır (Estevez ve ark., 2018). Enjeksiyon yolu ile aşılamalardan sonra önemli derecede immun yanıtlar oluşmaktadır. Tek bir doz aşı uygulaması güçlü bir immun yanıt oluşturarak hastalıklara karşı 2 yıl kadar koruma sağlayabilmektedir (Ramstad ve Midtlyng, 2008; Cuesta ve ark., 2010). Aşılama olmaksızın mortalite yüksek olmaktadır (Julin ve ark., 2013). Doğal enfeksiyonlarda potansiyel olarak var olan viral persistens nedeniyle aşılarının koruyuculuğu kesin olarak belirlenememektedir. Bu durumun saha şartlarında balıkların ilave olarak başka patojenlere de maruz kalmalarından ya da aşılama balıkların zaten enfekte olmalarından kaynaklanıyor olabileceği düşünülmektedir. Yeni geliştirilmiş aşılar ile balıkların enfekte olmadan önce erken dönemde aşılama gerektirdiği bildirilmektedir (Cuesta ve ark., 2010).

IPN'ye karşı aşılama balıklarda bile % 1-50 arasında mortaliteler rapor edilmiştir (Julin ve ark., 2013). Aşılama önemli bir kontrol stratejisidir. Antijen kodlayan plazmit DNA'ların intramüsküler yolla balıklara enjeksiyonu ile viral enfeksiyonlarına karşı güçlü ve uzun süreli immuniteler elde edilmiştir (Alonso ve Leong, 2013). IPNV ve infeksiyöz hematopoetik nekrozis virüsü (IHNV) ile miks enfeksiyonlara karşı önemli derecede koruma sağlayan DNA aşıları geliştirilmiştir. Alabalıklarda deneysel amaçlı oral yolla uygulanan VP2 kodlayan bu aşılar düşük seviyeli virüs enfeksiyonlarına karşı % 88 RPS seviyesinde koruyucu immun yanıtlar oluşturmuşlardır. Ancak DNA aşılarının içerdikleri risklerden dolayı kullanımı sınırlandırılmaktadır (Munang'andu ve ark., 2013; Ahmadivand ve ark., 2018; Guo ve ark., 2018). Rekombinant eksprese edilmiş virüs ürünleri içeren veya formalin ile inaktive edilmiş tam partikül multivalent yağlı adjuvantlanmış aşılar mevcuttur. İlk ticari rekombinant IPN aşısı Norveç'te 1995 yılında pazara sunulmuş ve salmon endüstrisinde bu aşılar o yıldan itibaren kullanılmaya başlanmıştır (Julin ve ark., 2013).

IPNV'nin Avrupalı kaynaklardan çıktığı kabul edilmektedir (Blake ve ark., 2001). Damızlık salmon balıkları arasında sağlıklı görünen IPNV taşıyıcılarının varlığı özellikle anaçlarda endişe verici bir durumdur. Anaçların IPNV testlerine tabi tutulmaları ve tespit edilen taşıyıcı damızlıkların işletmeden çıkarılmaları gerekmektedir (Ørpetveit ve ark., 2010). Taşıyıcı balıklar seksüel olgunluğa erişebilirler ve bu balıkların ovaryumları ile seminal sıvılarında değişen oranlarda virüs bulunmaktadır (Bootland ve ark., 1991). Asemptomatik enfekte balıklar virüsü ve enfektif viral partikülleri sağlamlara bulaştırırlar. Bu etkenleri enfekte balıkların yavrularına da bulaştırdıklarından bu balıkların yumurtalarının yüzeyi dezenfekte edilmelidir (Suebsing ve ark., 2011). Hastalığın kontrolü için IPNV'den ari gözlü yumurta ve yavru balıkların ithalatının yapılması oldukça önemlidir. IPNV ile ilgili ulaşılabilir gen sekansları hastalığın teşhisi, moleküler epidemiyolojik araştırmalar ve aşılarda geliştirilmesi için altyapı oluşturmaktadır. IPN hastalığının salmon endüstrisini sınırlandırmasından dolayı etkili aşılarda geliştirilmesi öncelik arz etmektedir (Cuesta ve ark., 2010 ; Dadar ve ark., 2014).

2.2. Amaç

IPNV dünyanın birçok ülkesinde yetiştirme ve semirtme havuzlarındaki alabalıklarda ve alabalık kuluçkahanelerinde yüksek mortalitelere neden olmaktadır. Etkenin patojenitesi suşun genotipik karakterlerine göre değişkenlik göstermektedir. Bu çalışmada; Türkiye'de yetiştiriciliği yapılan gökkuşuğu alabalıkları ile kalkan balıklarından izole edilen IPNV izolatlarında segment A ve B genlerinin identifikasyonu, incelenmesi, virüslerin genogruplandırmalarının yapılması, bilinen Avrupa Amerika izolat genotipleri ile karşılaştırılması ve genomik farklılıkların patojenite üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

3. MATERYAL METOT

3.1. Materyal

“Yerli İnfeksiyöz Pankreatik Nekrozis Virüs İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu ve Patojenite Denemeleri” başlıklı doktora tez konusu T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’nun 04.01.2015 tarih, 13 sayı ve 42/2 karar no’lu izni ile yürütülmüştür.

3.1.1. Balık Örnekleri

Çalışmaya balık örneği sağlamak amacıyla Trabzon, Ordu Giresun ve Samsun illerinde kuluçkahanesi bulunan ve geçmişinde viral enfeksiyon geçirmemiş ticari gökkuşığı alabalığı işlemlerinden 30’arlı örnekler alınarak real-time PCR metodu ile IPNV taraması yapıldı. 2018 yılı Şubat ayında Trabzon İli Maçka İlçesi’nden IPNV varlığı tespit edilmeyen bir işletmeden sağlanan balık örnekleri deneme çalışmalarında kullanıldı. 0,16 – 0,2 g ağırlığındaki 1600 adet yavru gökkuşığı alabalığı (Fry) Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü Hayvan Refahı Birimi bünyesinde bulunan Su Ürünleri Deneme Ünitesi kapalı sistem balık tanklarına uygun koşullarda nakledildiler.

3.1.2. Hücre ve Virüs İzolatları

Çalışmada Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi Viroloji Anabilim Dalı virüs kültür koleksiyonunda bulunan ve -80 °C’de muhafaza edilen, sekans verileri Genbank’ta kayıt altına alınmış 10 adet IPNV izolatu kullanıldı. Yine fakültenin hücre kültür koleksiyonundan RTG-2 devamlı hücre hatları IPN virüs izolatlarının üretilmesi, pasajlanması ve titrasyon çalışmalarında kullanıldı. RTG-2 hücre kültürlerinin üretildiği Leibovitz’s L-15 (L-15) vasatı içerisine, fetal dana serum (FDS), antibiyotik+antimikotik, 1-piperazineethanesulfonic acid (HEPES) ilavesi yapıldı.

3.1.3. Primerler ve Prob

Virüse spesifik gen bölgelerinin identifikasyonu amacıyla Segment A ve B’nin amplifikasyonları yapıldı. Segment B’nin oldukça uzun bir genoma sahip olması nedeni ile amplifikasyon 2 adet üst üste gelen parçanın spesifik primerleri kullanılarak yapıldı. Moleküler çalışmalarda kullanılan primerler ve probun baz dizimleri ile lokalizasyon

bilgileri Tablo 1’de sunuldu (Orpetvit ve ark., 2010; Dadar ve ark., 2014; Albayrak, 2017).

Tablo 1. Primer prob dizini ve lokalizasyon bölgeleri

Primer ve Prob adı	Dizin	Lokalizasyon Bölgesi
FVP1A	5’ - ATG TCG GAC ATC TTC AAY TCA CC - 3’	101-123
RVP1A	5’ - GAG CCG TCC TCG TTT GTC CA - 3’	1379-1398
FVP1B	5’ - CAC ATG CAG GCA ATG ATG TAC TAC - 3’	1340-1364
RVP1B	5’ - CCT AGT TTC TTC TCT GCT TCT C - 3’	2614-2636
FVP3	5’ - GCA TCC GGG ATG GAC GAG GA - 3’	2207-2226
RVP3	5’ - TTA CAC CTC AGC GTT GTC TCC - 3’	2956-2977
FVP4	5’ - GGA CCA GAG TCT TCA ACG AAA TCA CG - 3’	1275-1300
RVP4	5’ - TAG ATC TCG GCG TCC TGG ACT TC - 3’	2377-2400
SPAF 1	5- GGA AAG AGA GTT TCA ACT TTA GTC G -3	1-24
SPAR 1	5- GAC TCC AGC CTG TTC TTG AGG -3	1675- 1686
rRT -VP3F	5-CGACCGACATGAACAAAATCA-3	2754-2774
rRT -VP3R	5-AGTTGCAGCTGTATTTCGCACA-3	2842-2862
rRT –Prob	FAM-5-TCTAGCCAACAGTGTGTACGGCCTCCC-3-TAMRA	2779-2805

3.1.4. Ekstraksiyon ve Amplifikasyon Kitleri

Çalışmada ticari olarak temin edilen kitler kullanıldı. RNA ekstraksiyonunda Thermo, GeneJET RNA Pürifikasyon, K0732 kiti, Vilnius Litvanya, PCR çalışmalarında Qiagen OneStep RT-PCR kiti, Hilden Almanya, rRT-PCR çalışmalarında ise tek aşamalı Bio-Rad iTAq Universal prob One-Step PCR kiti, Kalifornia ABD, kullanıldı. Viral yükün belirlenmesinde virüsün tüm VP3 genini içeren pGEM-T Easy vektör, Promega, ABD plazmiti, plazmit pürifikasyon işleminde, GeneJET plazmid miniprep Thermo kit, Kat no:K0503, Vilnius Litvanya, kullanıldı.

3.1.5. Deneme Ünitesi ve Su Kriterleri

Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü Su Ürünleri Deneme Ünitesi yaklaşık 80 metrekare (m²) kapalı bir alana kurulmuş, üç cepheden fanlarla havalandırılmaktadır. Balıkların yaşam koşulları için dizayn edilmiş kapalı devre sistemde 13 adet deneme tankı olup 5 ton su depolama kapasitesine sahiptir. Sisteme entegre ultraviyole (UV) dezenfeksiyon sistemi dolaşımda olan suyu sürekli dezenfekte etmekte, ısıtma-soğutma sistemi ile de su sıcaklığının stabilitesi sağlanmaktadır. İlave olarak sudaki kireci giderilebilirliği amacıyla entegre kireç giderici sistem de mevcuttur. Su parametreleri tablo 2’de verilmiştir.

Tablo 2. Su parametreleri

Parametre	Ortalama	Parametre	Ortalama
Su sıcaklığı	11 °C	Oksijen	10 mg/L
pH	6,5 – 9,5	Kadmiyum	5 µg/L
İletkenlik	2500 µS/cm (25°C)	Klorür	250 mg/L
Bulanıklık	5 NTU	Krom	50 µg/L
Toplam Sertlik	Fr°	Kurşun	10 µg/L
Renk	Kab.Ed.D.	Mangan	50 µg/L
Koku	Kab.Ed.D.	Nikel	20 µg/L
Tat	Kab.Ed.D.	Nitrat	50 mg/L
Alüminyum	200 µg/L	Nitrit	0,50 mg/L
Amonyum	50 µg/L	Oksitlenebilirlik	5 mg/L O ₂
Antimon	5 µg/L	Selenyum	10 µg/L
Arsenik	10 µg/L	Siyanür	50 µg/L
Bakır	2 mg/L	Sodyum	200 mg/L
Bor	1 mg/L	Sülfat	250 mg/L
Civa	1 µg/L	E-coli	0/100 ml
Demir	200 µg/L	Koliform	0/100 ml
Florür	1,5 mg/L	Enterokok	0/100 ml

3.2. Metot

3.2.1. Hücre Kültürü ve Pasajlama

Dondurulmuş ve -80 °C'de stoklanmış 2 mililitre (ml) kriyo tüp içerisinde bulunan RTG-2 hücreleri 20 °C'de 10 dakika benmaride bekletildi. 1500 devirde 10 dakika santrifüje edildikten sonra süpernatant atıldı. Altta kalan kısım içinde % 10 FDS %1 antibiyotik+antimikotik (10000 IU/ml penicilline, 10 mg/ml streptomisin, 0,025 mg/ml amphotericin B) ve % 1 HEPES bulunan L-15 vasatı ile birlikte 25 ve 75 cm² yüzeyli doku kültürü flasklarında aktarıldılar. Bu flasklar 23 °C'de soğutmalı inkübatör içinde 1-2 hafta inkübe edildiler ve günlük olarak inverted mikroskop altında takipleri yapıldı.

Flask yüzeyi asgari % 90 hücre ile kaplandıktan sonra hücreler tekrar pasajlandılar. Vasat, hücre, tripsin ve phosphate buffered saline (PBS) 20 °C'de 30 dakika ısıtılarak alkolden geçirildi. Hücre vasatı (ters istikamette) döküldü. Flaska 2 ml PBS eklendi, hücrelerin yüzeyi dairesel hareketlerle hafifçe yıkandı ve döküldü. Böylece ortamdaki ölü hücreler uzaklaştırıldı. % 0,25'lik tripsinden 2 ml eklendi, 45-75 saniye bekletildi, tripsin döküldü, az bir miktar tripsin flaskta bırakıldı. 20 °C'de 2-5 dakika inkübe edilerek hücreler zeminden ayrıştırıldı. İnkübasyondan sonra hücrenin üzerine 3-5 ml vasat ilave edildi. 25-30 kez pipete edildi ve yapışmış hücreler birbirlerinden ve yüzeyden ayrıldı. Mevcut hücreler hücre yoğunluğu dikkate alınarak 1 veya 2 yeni flaska aktarılacak şekilde pasajlama yapıldı. Her bir flaskın üzerine hücre adı, pasaj sayısı, tarih ve yapanın adı yazıldı. Her flaska hacminin % 10'u kadar (25'lik flaska yaklaşık 5 ml, 75'lik flaska 15 ml) vasat dağıtıldı. Pasajlanan vasatlar 20 °C'de inkübe edildiler. Hücreler bu şekilde pasajlanarak virüs ekimi için ihtiyaç duyulan sayıda tek katmanlı hücre kültürleri elde edildi.

3.2.2. İzolat Seçimi

Suşlar arasından çalışmada kullanılacak izolatların seçiminde bir önceki çalışmada elde edilen verilerden faydalanıldı. Bu amaçla koleksiyonda bulunan IPNV izolatlarının önceki çalışma için yaptırılmış olan VP2 ve VP5 sekansları incelendi. İlk değerlendirmede suşların VP2 sekansları üzerindeki VP5 stop kodonlarına (TGA) bakılarak seçildiler. 6 hastalık vakası ve 4 tarama izolatu olmak üzere toplam 10 izolat çalışmada kullanılmak üzere seçildi (Albayrak, 2017).

Dizi üzerinde TGA-TAA ve TAG baz grupları stop kodonlarını oluşturmaktadır. IPNV-VP5 geninin ikinci yarısı IPNV-VP2'nin ilk yarısı ile çakışmaktadır. Böylece 427-496 ve 511 bazlık 3 farklı VP5 proteini oluşmaktadır (Santi ve ark., 2005b; Song ve ark., 2005). Kimliklendirme bilgilerine göre seçilen 10 izolatın tamamı VP2-PTA motifli (Pro217/Thr221/Ala247) ve stop kodonu TGA ile bitmektedir (Tablo 3).

Tablo 3. İzolatların kimlik, bilgileri (Albayrak'dan, 2017)

İzolat Özellikleri				
Suş No	İzolasyon İli/Yılı	İzolat ismi	Orjini	Genbank No
14	Muğla/2007	Muğla07	Hastalık/ab	KY606185
16	Hatay/2007	Hatay07	Hastalık/ab	KY606187
21	Aydın/2007	Aydın07	Tarama/ab	KY606192
44	Antalya/2007	Antalya07	Hastalık/ab	KY606213
52	Ankara/2010	Ankara10	Hastalık/ab	KY606221
61	Uşak/2005	Uşak05	Hastalık/ab	KY606229
63	Trabzon/2010	Hah 2	Tarma/kb	KM972673
64	Trabzon/2010	Hah 3	Tarama/ab	KM972674
65	Trabzon/2010	Hah 4	Tarama/ab	KM972675
66	Tokat/2013	Almus	Hastalık/ab	KM972672

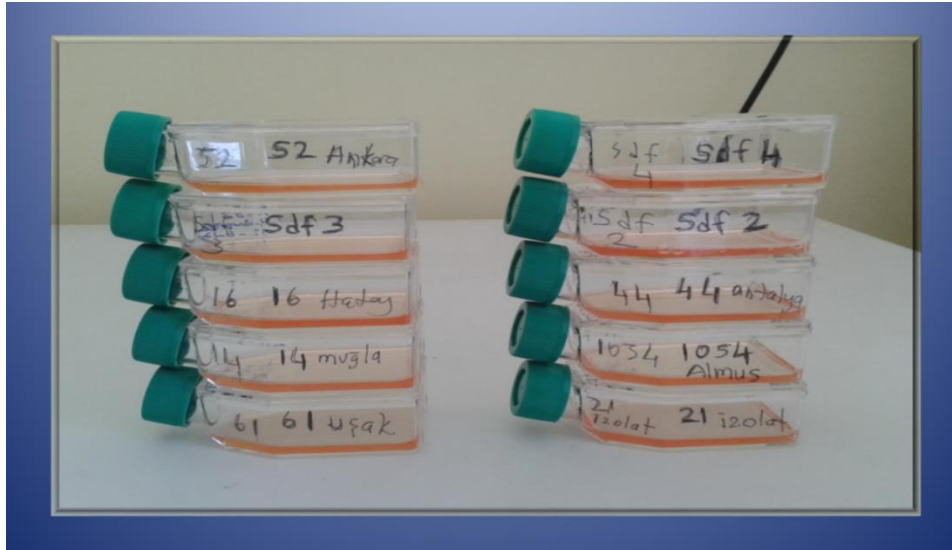
ab: Alabalık, kb: Kalkan balığı

Seçilen 10 izolat ile sekans sonuçları tamamlanıncaya kadar çalışıldı ancak izolatlardan yalnızca 7 tanesinin tam genom sekansı yapılabildiğinden çalışmaya bundan sonra bu 7 izolat ile devam edildi. Deneysel enfeksiyon için IPNV-VP3 geninin virülens motifleri sabit tutularak bu çalışma için yaptırılan sekans sonuçlarına göre VP5 için 2 farklı (eksik/tam) ve VP2 üzerinde belirgin farklılık bulunan örnekler için ise 2 farklı motifin (PTA₂₁₇₋₂₂₁₋₂₄₇ ve PTE₂₁₇₋₂₂₁₋₂₄₇) virülense etkisinin invivo araştırılması

hedeflendi. Çalışılan 7 izolat içerisinde tekrar 4 izolat (Hatay07, Uşak05, Hah4 ve Almus) seçilerek bu izolatların patojenite denemeleri yapıldı.

3.2.3. Virüs İzolatlarının Üretilmesi

Önceden kültüre edilmiş ve yüzeyi tam kaplamış 25'lik RTG-2 hücre kültürü flasklarına virüs ekiminden bir gün önce 1/1 oranında pasajlama yapıldı. 24 saat sonra hücreler kontrol edilerek tam kaplamış ve ekime hazır hale gelmiş 10 adet flask seçildi. Yine önceden belirlenmiş, çalışma için uygun kriterleri taşıyan -80 °C'de stoklanan 10 adet virüs izolatı çıkartılıp 10 dakika oda ısısında bekletilerek çözündürüldüler. Hücrelerin tutunup asgari % 90 oranında kaplamış olduğu flasklar içerisine ekimi yapılacak virüsten 300-500 mikrolitre (μ l) hücrenin tutunduğu yüzeye damlatılarak ekildi (Şekil 2). Flasklar virüsün adsorbe olması için 1 saat oda ısısında bekletildi. 1 saat sonra flasklara antibiyotik, antifungal, non esencil aminoasit (NEAA), sodyum pruvat ve serum içeren L-15 vasatı ilavesi yapıldıktan sonra 15 °C'de inkübasyona bırakıldılar. 1 hafta süreyle günlük olarak inverted mikroskop altında CPE yönünden kontrolleri yapıldı. % 90'ın üzerinde CPE oluşan kültürler -80 °C'ye kaldırılarak donduruldular. Bir hafta sonra tekrar çözündürülerek 2. kez pasajlandılar ve CPE gözlemlendiğinde yeniden -80 °C'ye kaldırılarak donduruldular. Projenin bundan sonraki tüm aşamalarında bu 2 pasaj numaralı virüs izolatları ile çalışma yapıldı.



Şekil 2. RTG-2 hücre hatlarında IPNV Pasajları

3.2.4. Moleküler Çalışmalar

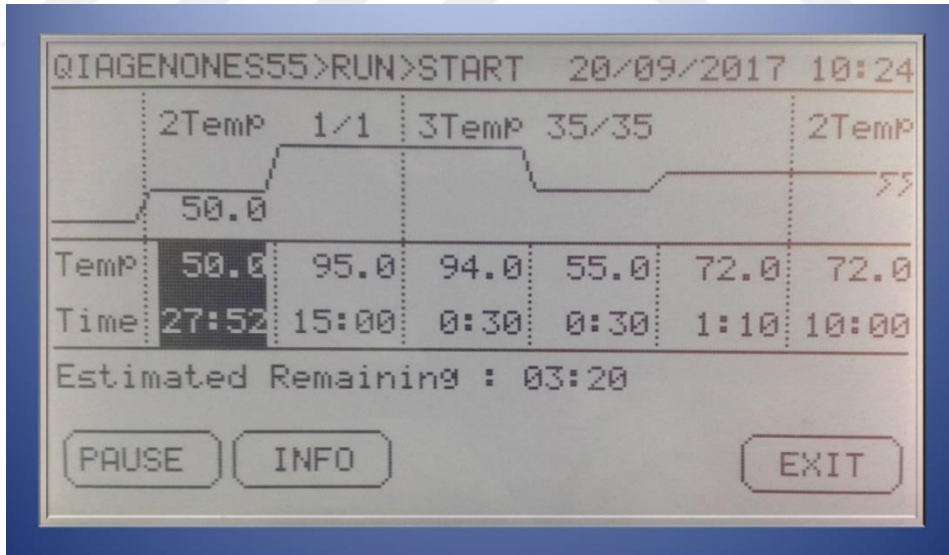
Genomik RNA Ekstraksiyonu

RNA ekstraksiyonu ticari olarak temin edilen ekstraksiyon kiti (Thermo RNA purifikasyon kiti, K0732, Lot 00294315) ile üretici firmanın talimatları doğrultusunda yapıldı. Öncelikle kit reaktifleri 30 dakika oda sıcaklığında bekletildi. RNA ekstraksiyonu hem RTG-2 hücre kültürlerinde üretilen 2 nolu pasajın virüs pelletlerinden ve hem de patojenite denemelerinde ölen veya öldürülen balık örneklerinin iç organ dokularından yapıldı. Virüs pelletlerinin ekstraksiyonunda; 2 ml tüp içerisine 100 µl virüs süspansiyonu ile 300 µl Lizis Buffer ve 6 µl beta Merkaptol etanol eklendi. Vortekslenildi ve oda ısısında 10 dakika bekletildikten sonra santrifüj işlemi hariç olmak üzere doku örnekleriyle aynı protokol takip edilerek yapıldı.

Doku örneklerinin ekstraksiyonu özetle şu şekilde yapıldı; 4 cm altındaki balıklarda bütün balık 4-6 cm arasındaki balıklarda ise iç organları bütün olarak çıkartılarak 2 ml tüpe kondu, üzerine 300 µl Lizis Buffer ve 6 µl beta Merkaptol etanol karışımı eklendi. Bu karışım ThermoLyser LT cihazı ile 3.000 rpm'de 20-30 saniye tutularak parçalandı. Üzerine 600 µl stok Proteinaz K solüsyonu (10 µl Proteinaz K + 590 µl TE Buffer) eklendi. 10 saniye vortekslenildi ve oda ısısında 10 dakika bekletildi. 5 dakika süreyle 12.000 rpm'de santrifüj edildiler. Alınan 2 ml'lik yeni tüplerden her bir tüp içerisine 450 µl % 96'lık etanol eklendi. Santrifüj tüplerindeki supernatantlar bu yeni tüplere aktarılarak Etanol+supernatant karışımı elde edildi. Etanol+supernatant karışımından 700 µl alınarak 1,5 ml hacimli başka tüplere aktarıldı. 12.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Alttaki sıvı boşaltıldı. Etanol ve supernatant karışımından tekrar 700 µl alınarak 1,5 ml tüplere eklendi ve 12.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi (Bu siklusa bütün supernatant bitirilene kadar devam edildi). Supernatantların aktarılması tamamlandıktan sonra alt kısımdaki sıvı döküldü üstte bulunan tüpe 700 µl Wash Buffer 1 kondu ve 12.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Alttaki sıvı boşaltıldı üstteki tüpe 600 µl Wash Buffer 2 eklendi ve 12.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Tekrar alttaki sıvı döküldü üzerine 250 µl Wash Buffer 2 eklendi ve 12.000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi. Bu aşamadan sonra alttaki tüp atıldı üstteki tüpler yeni 1.5 ml hacimli PCR tüpleri içine yerleştirildi üzerlerine 75 µl RNase içermeyen steril disitile su eklendi 12.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Üstteki tüp atıldı alt tüpte kalan sıvı RNA - 20 °C de saklandı.

PCR Analizleri ile Genlerin oğaltılması

IPNV izolatlarının VP1, VP2, VP3, VP4 ve VP5 gen bölgeleri PCR yöntemi ile invitro olarak çoğaltıldı. Ekstraksiyonları yapılan ve -20 C'de saklanan genomik RNA'lar kalıp olarak kullanıldı. Amplifikasyonları yapılan bütün genlerin miks hazırlanması ve PCR Şartları aynı fakat VP1 geni uzun olduğundan bu gen VP1a ve VP1b olmak üzere 2 parça halinde çoğaltıldı ve VP1 geni için annealing ısısı 50 C olarak deđiŐtirildi. VP5 geni ile VP2 geninin amplifikasyonu tek parçalı fragment üzerinde yapıldı PCR alıŐmalarında Qiagen OneStep RT-PCR kit kullanıldı. Her genin amplifikasyonu için 11 PCR'lık reaksiyon hazırlandı. Bu amaçla; her bir RNA için 10 l 5X Buffer, (12,5 milimolar (mM) MgCl₂), 1 l (0,2 mM) dNTP mix, 2 l (10 pikomol, (pmol)) primerler, 1 l enzim (RT, DNA pol), 2,5 l (5 mM) DTT, 5 l RNA ve 26,5 l distile sudan oluşan 50 l karışım içeren reaksiyon tüpleri 50 C'de 30 dakika, 95 C'de 15 dakika cDNA (Reverse transkripsiyon) aŐamasını takiben, 94 C'de 30 saniye, 55 C'de 30 saniye, 72 C'de 70 saniye 35 siklusdan sonra 72 C'de 10 dakika thermal cyclara bırakılarak amplifikasyonları tamamlandı (Şekil 3) (Dadar ve ark., 2014; Albayrak, 2017).



Şekil 3. IPNV VP3 geninin thermal cyclarda amplifikasyonu

rnlerin Görüntülenmesi

Amplifikasyon iŐlemlerinin tamamlanmasının ardından, 1x 100 ml Tris-Acetate-EDTA (TAE; 40 mM Tris-Acetate ve 1 mM EDTA, pH 8.3) içerisine 1,5 g (% 1,5) agaroz jel karıŐtırılarak mikrodalga fırında kaynatıldı, soğutuldu ve içerisine 10 l

etidium bromid (Son hacim 0.5 µg/ml olacak şekilde) eklenerek 50 °C'ye kadar soğutulduktan sonra jel hazırlama tankına döküldü ve 20 dakika süreyle donması beklendi. Soğuyarak katılaştıran jel içinde TAE bulunan yatay elektroforez tankına konuldu (elektroforez; eksiden siyahtan uçtan, - artıya kırmızı uca doğru gitmektedir). Jeldeki kuyucuklara 10'ar ul PCR ürünü ile 2 ul 6X Loading dye (1/6 oranında) eklenerek dağıtıldı. Elektroforez işlemi 80 voltta 60 dakika sonunda bitirilerek UV transilluminator altında genlerin oluşturduğu bantlar gözlemlendi.

rRT PCR Çalışmaları

Her izolata ait virüs deneme tanklarından 1, 3, 5, 14, 21, 28 ve 35. günlerde 5 balık örneği alındı. Aynı tanktan alınan beş balığın iç organları aynı tüp içerisinde toplanarak bir havuz oluşturuldu ve bu havuz bir örnek kabul edildi. Daha sonra bu doku örneklerinin ekstraksiyonları yapıldı. rRT PCR için reaksiyonlar hazırlandı. Bir örnek için reaksiyon içeriği:

2X Buffer (Taq DNA polimeraz içerir)	12,5 µl
RT enzim	0,5 µl
Fprimer	0,8 µl
Rprimer	0,8 µl
Prob	0,4 µl
Template RNA	5 µl
Distile su	5 µl
Toplam hacim	25 µl

Organ ve doku örneklerindeki viral yükün belirlenmesi amacıyla ihtiyaç duyulan standartları oluşturmak üzere VP3 geni vektör içerisine klonlandı. Klonlama işlemi başarılı şekilde sonuçlandıktan sonra nanodrop cihazında plazmit ağırlığı ölçüldü ve aşağıda verilen formüle göre µl'deki viral partikül miktarı hesaplandı.

$$\text{Viral partikül (1 ul'deki)} = \frac{\text{Miktar} \left(\frac{\text{ng}}{\text{ul}} \right) \times 6,022 \times 10^{23}}{[\text{Plazmit+insert edilen gen uzunluğu (bp)}] \times 1 \times 10^9 \times 650}$$

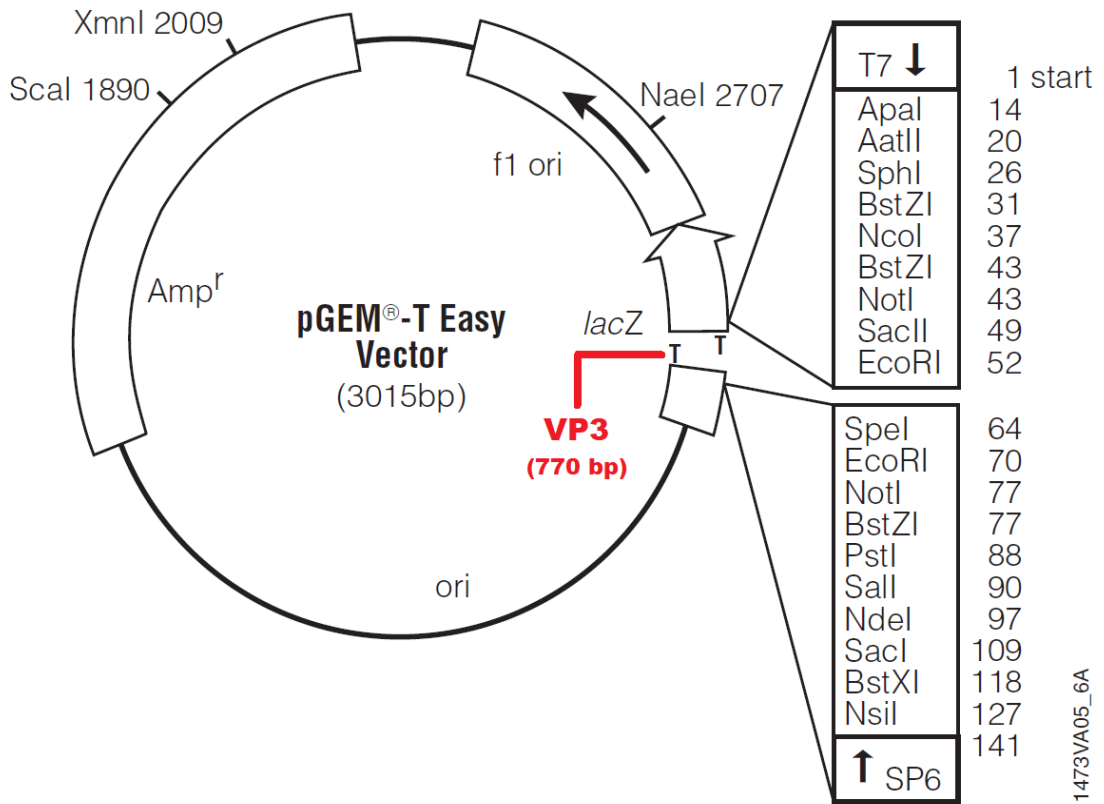
Viral partikül miktarı bilinen ve VP3 insörtü içeren bu lizatlar logaritma 10 tabanına göre 10^{-6} oranında sulandırılarak dilüe edildi. Template RNA yerine VP3 genini içeren bu pGEM-T easy plazmit DNA'ları eklendi (Bu aşama klonlama

bölümünde detaylıca anlatılmıştır). Bu sulandırmalar organlardaki viral yükün tespiti amacıyla rRT PCR'da standart olarak kullanıldı. Hazırlanan reaksiyonlar 96 gözlü pleytlere yüklenerek Biorad RT-PCR cihazı ile amplifikasyonları yapıldı. RT-PCR şartları; 50 °C'de 10 dakika RT aşaması, 95 °C'de 5 dakika ön denatürasyonu, 95 °C'de 5 saniye, 53 °C'de 10 saniye 40 siklus döngüden sonra 12 °C'de sonlanmaktadır. Her bir siklus sonunda (53 °C'de 10 saniye'den sonra) reaksiyonların bulunduğu pleyt cihaz tarafından FAM dalga boyu ile 40 kez okuma yapılmaktadır (Orpetvit ve ark., 2010).

VP3 Geninin Plazmite Klonlanması

PCR yöntemiyle elde edilen 770 bazlık VP3 ampikonu (717 nt:239 aa geni içeren) tek adımlı işlemle yüksek kopya sayısına sahip T7 ve SP6 polimeraz promotorlara sahip olan pGEM-T vektörüne T4 DNA ligaz enzimi aracılığıyla klonlanlandı (Şekil 4). Kimyasal olarak kompetan hale getirilmiş JM109 hücreleri transformasyon için kullanıldı. Transformasyon üretici firma kılavuzuna uygun olarak yapıldı. Özetle; 1,5 ml hacimli mikro tüp içerisine VP3 PCR ürününün pGEM-T easy vektörüne ligasyon işlemi toplam hacim 20 µl olacak şekilde; 10 µl 2X rapid ligasyon Buffer (400mM Tris-HCl, 100mM MgCl₂), 2 µl T4 DNA ligaz (3 weiss U/µl), 7 µl pürifiye IPN VP3 DNA (FVP3 ve RVP3 primerleri kullanılarak elde edilmiş PCR ürünü), 1 µl pGEM-T Easy plazmid (50ng/µl) olacak şekilde formüle edildi. Tüm bu karışım işlemleri buz üzerinde gerçekleştirildi. Daha sonra karışım pipetle karıştırıldıktan sonra 16 °C'de bir gece boyunca inkübe edildi. Ertesi gün, ligasyon karışımı (20 µl) alınarak buz içine gömüldü. Aynı şekilde -80 °C derin dondurucuda bekletilen JM109 yüksek etkinlikli kompetan hücrelerin çözünmesi için buz içine gömülerek 30 dakika beklenildi. Süre sonunda 50 µl hacimli JM109 hücrelerini 20 µl hacimli ligasyon karışımı üzerine pipetle dikkatli bir şekilde transfer edildikten sonra buz içinde 30 dakika inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda hücreler sıcaklık şoku için 42 °C'de 50 saniye tutulduktan sonra buz içine konuldu ve tekrar 2 dakika inkübe edildi. Karışım üzerine oda ısısında olan 250 µl ticari olarak alınan SOC (Biolabs, Kat No:B9020S) vasatı ilave edildi ve sallamalı inkübatörde 150 rpm hızda 37 °C'de 1 saat inkübe edildi. Buna ilaveten LB/amp pleytlere hazırlanmasında; 10 g Bacto trypton, 5 g Bacto-yeast, 10 g NaCl, 15 g agar 1litre distile suyla tamamlandı. Sıvı vasat 121 °C'de 30 dakika otoklavlandı ve 50 °C'ye soğutulduktan sonra ampisilin (son konsantrasyon 100 µg/ml olacak şekilde) eklendi. 15-20 ml hacimli vasatlar 85 mm çaplı petrilere dökülerek katılaşması beklendi. 100 µl 100 mM isopropil β-D-1- hiogalactopyranoside

(IPTG, Fermentas) ve 40 µl 5-bromo-4-chloro-3- indolyl-beta-D-galactopyranoside (X-gal; 50 mg/ml, Fermentas) LB/amp pleytin üzerine yayılarak 30 dakika absorbe olması için beklendi. Bunu takiben 100 µl hacminde transforme hücre karışımı pleytin üzerine yayılarak gece boyunca 37 °C’de inkübe edildi. Mavi/beyaz koloni seçimi sonrasında seçilen küçük beyaz renkli transformat nutrient-rich tryptone-yeast extract brotta (2XYT) 37 °C’de 250 rpm’de bir gece boyunca üretildikten sonra pürifiye edildi. Beyaz renkli kolonileri üretmek amacıyla kullanılan 2XYT broth’un hazırlanmasında ise; 16 g Bacto trypton, 10 g Bacto-yeast, 5 g NaCl, 1litre distile suyla tamamlandı. Sıvı vasat 121 °C’de 30 dakika otoklavlandı ve 50 °C’ye soğutulduktan sonra ampisilin (son konsantrasyon 100 µg/ml olacak şekilde) eklendi. Mavi/beyaz koloni seçiminin prensibi; PGEM-T easy vektörü üzerinde yer alan *lacZ* geni içerisinde yer alan çoklu klonlama bölgesi (MCS) içerisine hedef genin yerleştirilmesi sonucu genin işlevsiz hale gelmesiyle oluşmaktadır. Pozitif transformatları içeren koloniler beyaz renkli, içermeyenler ise mavi renkli koloni oluşturmaktadır. Renk oluşumu agar içerisinde yer alan X-gal ile sağlandı. Pürifikasyon işlemi için GeneJET plazmid miniprep kit (Thermo, Kat no:K0503) kullanıldı ve üretici talimatlarına uygun olarak gerçekleştirildi.



Şekil 4. pGEM-T Easy vektör haritası

Plazmit Pürifikasyonu

2XYT brot 12000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı. Pellet üzerine 250 µl resuspension solüsyonu eklendi ve iyice vortekslendi. Daha sonra 250 µl Lizis solüsyonu eklendi ve tüpler 4-6 defa altüst edildi. Üzerine 350 µl nötralizasyon solüsyonu koyuldu ve tekrar 4-6 defa altüst edildi. Karışım 12000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant filtreli kolonlara aktarıldı ve tekrar aynı devirde 1 dakika santrifüj edildi. Filtreden gelen atık uzaklaştırıldı ve kolona 500 µl wash solüsyonu koyuldu ve tekrar santrifüj edildi (bu işlem 2 kez tekrarlandı). Kolonların diplerindeki atıklar uzaklaştırıldıktan sonra kolona hiç birşey koymadan aynı şekilde santrifüj edildi. Daha sonra kolonlar 1,5 ml'lik steril tüplere yerleştirildi. Kolonun tam ortasına 50 µl elüsyon buffer eklendi. 2 dakika oda ısısında beklendikten sonra. 13000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi. Bu süreç sonunda 50 µl VP3 gen bölgesini içeren PGEM-T easy plazmitini pürifikasyonunu gerçekleştirildi.

Sekanslama

PCR çalışmaları ile izolatların VP1 (VP1A ve VP1B), VP2, VP3, VP4 ve VP5 genleri çoğaltıldıktan sonra nanospektrofotometreyle yoğunlukları ölçüldü. VP2 ve VP5 geninin amplifikasyonu tek parça olarak birlikte yapıldı. Toplam 10 örnek için 5 farklı primer çifti kullanıldı ve toplamda $50 \times 2 = 100$ sekanslama primerlerle beraber Sanger metodu kullanılarak ticari bir firmaya yaptırıldı. Sekansların sıralamasında ve değerlendirilmesinde BioEdit sequence alignment editor programı kullanıldı ve Contig ekspres programıyla kendi içinde tüme tamamlama yapıldı. İzolatların Segment A ve Segment B'si ayrı ayrı, Vector NTI 11.5 analiz programı ile çoklu olarak kendi içinde ve referans virüs sekanslarıyla kıyaslamaları yapıldı. filogenetik ağaçlar oluşturularak önceden tanımlanan referans suşlarla genogrup karşılaştırmaları yapıldı.

3.2.5. Virüslerin Titrasyonu

Denemede kullanılacak virüslerin titrasyonu mikrotitrasyon yöntemi ile yapıldı. Bu amaçla, Almus, Hah4, hatay07 ve Uşak05, izolatlarının ayrı ayrı doku kültürü infeksiyöz doz 50 (DKID₅₀) değerleri hesaplandı. Virüsler 96 gözlü mikrotitrasyon pleytlerinde, her bir sulandırma oranı için 4 göz olacak şekilde 10^{-1} 'den 10^{-16} 'ya kadar log₁₀ tabanında son hacim 100 µl olacak şekilde sulandırıldı. Sulandırılan gözler üzerine ml'de 300 000 RTG-2 hücresi içeren vasattan 50 µl hücre süspansiyonu konuldu. Hücre kontrol kuyucuklarına 100 µl hücre üretme vasatı, virüs kontrol kuyucuklarına ise 50 µl

sulandırılmamış virüs ile 50 µl hücre üretme vasatı konularak soğutmalı inkübatörde 15 °C’de inkübasyona bırakıldı. Günlük olarak doku kültürü mikroskobu ile CPE varlığı kontrol edildi. 7 günlük inkübasyonun sonunda virüslerin DKID₅₀ değerleri hesaplandı. Bu uygulama her dört virüs için ayrı ayrı olmak üzere toplamda 4 kez yapıldı (Darling ve ark., 1998).

3.2.6. Balıkların Beslenmesi ve Yetiştirme Koşulları

Balık Deneme Ünitesi’ne nakli yapılan balıklar tanklarda 15 gün süre ile bekletilerek çevre koşullarına adaptasyonları sağlandı (Şekil 6). Ortalama 11 ± 1 °C sıcaklık ve $10 \pm 0,7$ mg/L oksijen içeren su koşullarında 12/12 aydınlık/karanlık periyodu uygulanarak doğal koşullardaki ortam sağlanmaya çalışıldı (Şekil 5). Ticari sıfır numara yem kullanılarak günde 3 kez yemleme yapıldı. Balıkların uyum süreci ve deneysel enfeksiyon süresi boyunca rutin olarak günlük kontrolleri, tankların temizliği, ve oksijen ölçümleri yapılarak değerler kayıt altına alındı.



Şekil 5. Yetiştirme suyu sıcaklığı ve oksijen değerleri



Şekil 6. Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü Hayvan Refahı Birimi Su ürünleri Deneme Ünitesi

3.2.7. Virüs İnokulasyonu

Kapalı devre sistemde adaptasyon için geçirilen 15 günlük süre sonunda tanklardan 30 adet numune alındı. İnsancıl öldürme yöntemi ile öldürüldü. Öldürülen bu balıkların boy ve ağırlık ölçümleri yapıldıktan sonra IPNV varlığı yönünden RT-PCR ile test edildiler (Santi ve ark., 2005a). Ortalama balık boyu 3.92 cm, ortalama balık ağırlığı 0,48 gram olarak bulundu. Virüs inokulasyonundan önce balıklar bir gün süreyle aç bırakıldılar. Toplam 820 adet balık çalışmada kullanıldı.

Balıklara virüs inokulasyonu Song ve ark. (2005)'in bildirdiği metotta küçük modifikasyonlar yapılarak uygulandı (Song ve ark., 2005). Virüs uygulanan balıklar inokulasyon için 350 L kapasiteli tanklardan alınarak 50-70 L kapasiteli inokulasyon tanklarına aktarıldılar (Şekil 7). İçerisine 10 litre su bulunan 10 tanktan ikisi kontrol (biri örneklemeye diğeri gözlem) tankı olarak ayrıldı. Kontrol tanklarının her birine 130 adet balık dağıtımı yapıldı. Kalan 8 tanka ise 70'er adet balık dağıtımı yapıldı ve bu tanklara yine 1×10^5 DKID₅₀ ml⁻¹ dozunda IPNV-Almus, Hah-4, Hatay07, Uşak05 izolatlarının inokulasyonu yapıldı (her izolat için 2 tekrar, biri örneklemeye diğeri gözlem tankı). Balıklar bu tanklarda 4 saat süreyle tutularak immersiyon yöntemi ile enfekte edildiler (Şekil 8). Uygulama süresince tanklarında su akışı kesilerek yalnızca havalandırma yapıldı, Deneme inokulasyonu süresince ortalama su ısı 11,7 °C ve ortalama oksijen seviyesi 9,8 miligram/litre (mg/L) olarak ölçüldü. İnokulasyonun 1. gününden itibaren, 1, 3, 5, 14, 21, 28 ve 35. günlerde kontrol tankı örneklemeye grubu ile her virüs izolatı için oluşturulan örneklemeye tanklarından 5'er adet balık örneği alınarak

incelenmek üzere $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı ve çalışma 35. günde sonlandırıldı. Oluşturulan gözlem tanklarından ise herhangi bir örnek alınmayıp, 35 günlük süre boyunca bu tanklarda oluşan ölümler günlük olarak kayıt altına alındı. Ölü balıklar her gün toplandı ve $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de dondurularak saklandı (Song ve ark., 2005).



Şekil 7. 50 Litre kapasiteli tanklarda virüs inokulasyonu

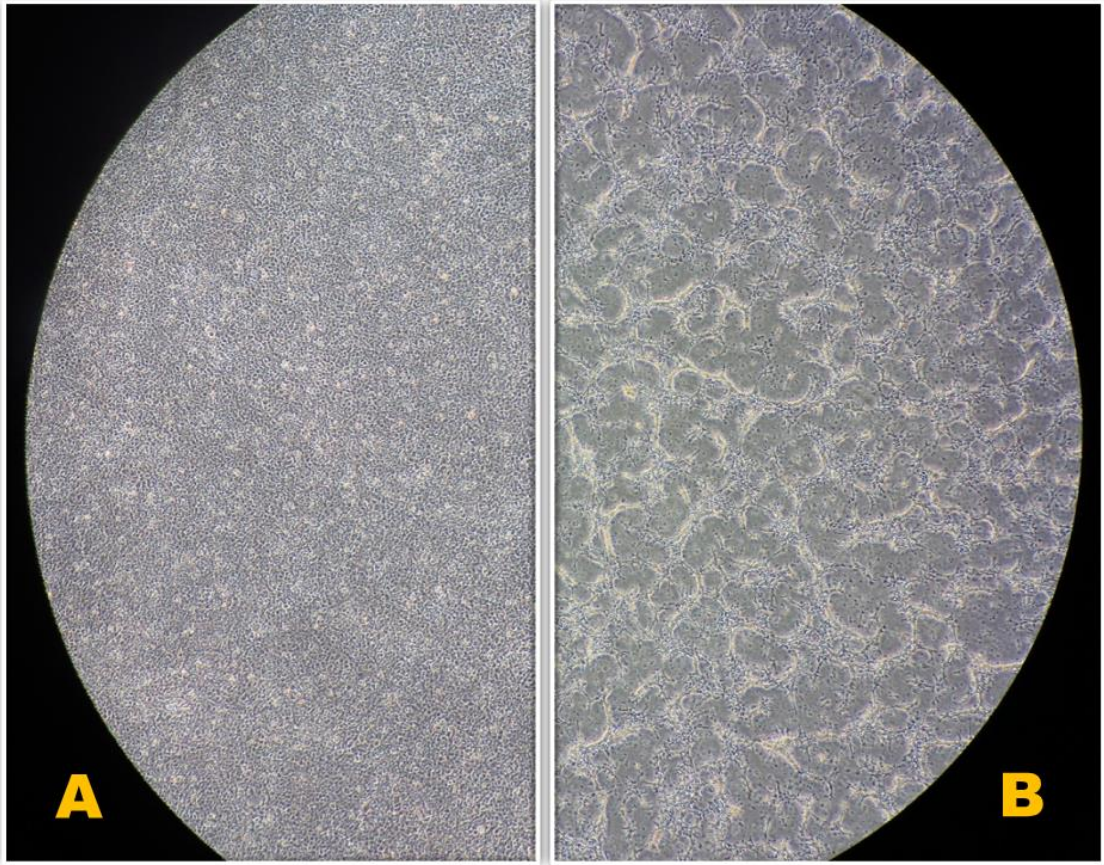


Şekil 8. 50-70 Litre kapasiteli tanklarda virüs inokulasyonu

4. BULGULAR

4.1. Virolojik Çalışma Sonuçları

RTG-2 hücre hatlarına ekimi yapılan virüs izolatlarının 7 günlük ilk pasajı sonrasında, Almus, Antalya07, Aydın07, Hah-2, Hah-4 ve Uşak05 izolatları CPE oluşturdu (Şekil 9). Ankara10, Hah-3, Hatay07 ve Muğla07 izolatlarında ise CPE oluşumu gözlemlenmedi. İlk pasajın inkübasyon süresinin bitiminde izolatların tamamı -80 °C'ye kaldırılarak donduruldu ve 1 gece bekletildikten sonra tekrar çözündürülerek ikinci pasajları yapıldı. İlk pasajda CPE vermeyen 4 izolat ikinci pasaj sonunda CPE oluşturdu. Böylece ikinci pasaj sonrasında toplam 10 izolatta da CPE oluşumu gözlemlendi. Deneysel enfeksiyon çalışmasında kullanılmasına karar verilen izolatların saptanan DKID₅₀ değerleri; Hah4 izolatı 10^{-8,5}, Hatay07 izolatı 10^{-15,25}, Uşak05 izolatı 10^{-10,5}, Almus izolatı ise 10^{-9,75} olarak bulundu.



Şekil 9. RTG-2 hücre kültürleri. A; Ekime hazır tam kaplanmış RTG-2 hücre kültürü, B; IPNV'nin RTG-2 hücre hatlarında 3. günde oluşturduğu CPE

4.2. Moleküler Çalışma Sonuçları

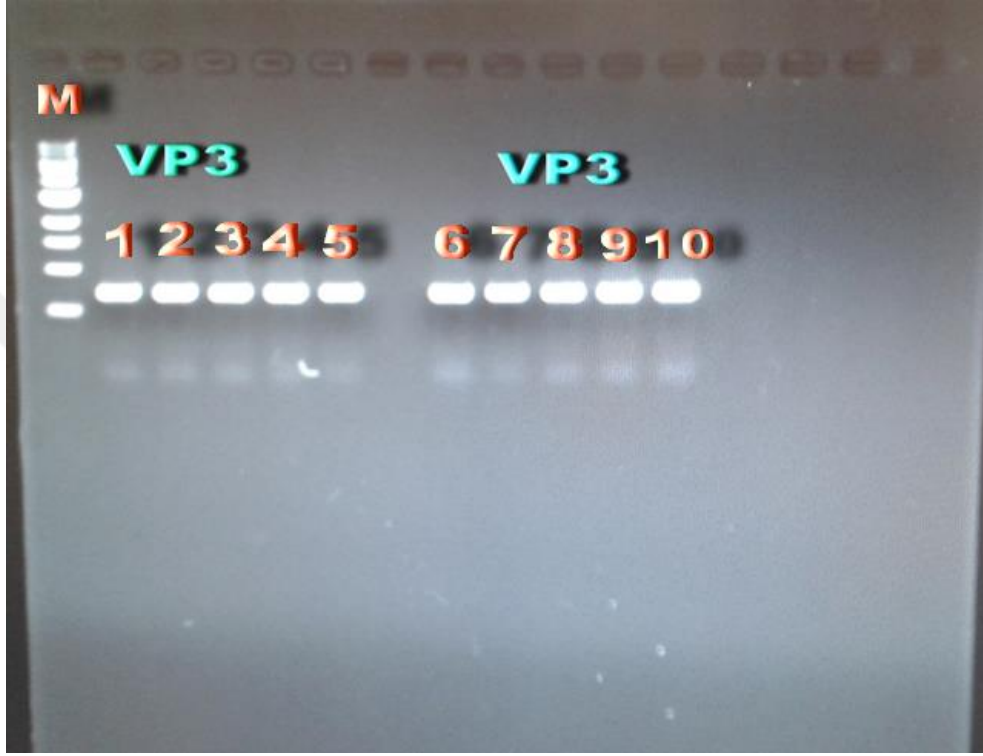
4.2.1. PCR Bulguları

-80 °C'de saklanan izolatların 2 nolu pasaj pelletlerinden çıkartılan RNA'lar kalıp olarak kullanılarak her izolat için hedef gen bölgelerinin amplifikasyon ve identifikasyonu yapıldı. IPNV-VP1 geni oldukça uzun olduğundan, VP1A ve VP1B olmak üzere üst üste gelen iki parça halinde çalışıldı. IPNV-VP1 gen bölgesini hedef alan 1297 bp'lik FVP1A: 5'- ATG TCG GAC ATC TTC AAY TCA CC - 3' ve RVP1A: 5'- GAG CCG TCC TCG TTT GTC CA - 3' primer seti kullanılarak genin ilk yarısının amplifikasyonu yapıldı. VP1 geninin 1296 bp'lik ikinci yarısı ise, FVP1B; 5'- CAC ATG CAG GCA ATG ATG TAC TAC - 3' ve RVP1B; 5'- CCT AGT TTC TTC TCT GCT TCT C - 3' primer seti kullanılarak amplifiye edildi. Çalışmada 1000 bp moleküler ağırlık standartı kullanıldı (New England Biolabs, Cat no:N3232S). Tüm suşların PCR ürünü % 1,5 agaroz jel yatay elektroforezinde 1296 ve 1297 bp'de spesifik bantları verdi (Şekil 10).



Şekil 10. 1297 bp VP1A ve 1296 bp VP1B spesfik bantlar. 1; Almus, 2; Uşak05, 3; Hah-2, 4; Hah-3, 5; Hah-4, 6; Antalya07, 7; Muğla07, 8; Ankara10, 9; Hatay07, 10: Aydın07

717 bp'lik IPNV-VP3 geni FVP3; 5'- GCA TCC GGG ATG GAC GAG GA - 3' ve RVP3; 5'- TTA CAC CTC AGC GTT GTC TCC - 3' primer seti kullanılarak amplifiye edildi. Çalışmada 1000 bp moleküler ağırlık standartı kullanıldı (New England Biolabs, Cat no:N3232S). Tüm suşlar % 1,5 agaroz jel yatay elektroforezinde 770 bp'de spesifik bantları verdi (Şekil 11).



Şekil 11. 770 bp VP3 spesifik bantlar. M; moleküler ağırlık standardı. 1; Almus, 2; Uşak05, 3; Hah-2, 4; Hah-3, 5; Hah-4, 6; Antalya07, 7; Muğla07, 8; Ankara10, 9; Hatay07, 10: Aydın07

698 bp'lik VP4 geni FVP4; 5'- GGA CCA GAG TCT TCA ACG AAA TCA CG - 3' ve RVP4; 5'- TAG ATC TCG GCG TCC TGG ACT TC - 3' primer seti kullanılarak amplifiye edildi. Çalışmada 1000 bp moleküler ağırlık standartı kullanıldı (New England Biolabs, Cat no:N3232S) Tüm suşlar % 1,5 agaroz jel yatay elektroforezinde 1125 bp'de spesifik bantları verdi (Şekil 12).

VP5 ve VP2 genlerinin amplifikasyonu birlikte yapıldı. Bu amaçla hem VP5 ve hem de VP2 gen bölgesini kapsayan SPAF 1 ; 5'- GGA AAG AGA GTT TCA ACT TTA GTC G - 3' ve SPAR 1 ; 5'- GAC TCC AGC CTG TTC TTG AGG - 3' primer seti kullanılarak amplifiye edildi ve 1000 bp moleküler ağırlık standartı kullanıldı (New England Biolabs, Cat no:N3232S) % 1,5 agaroz jel yatay

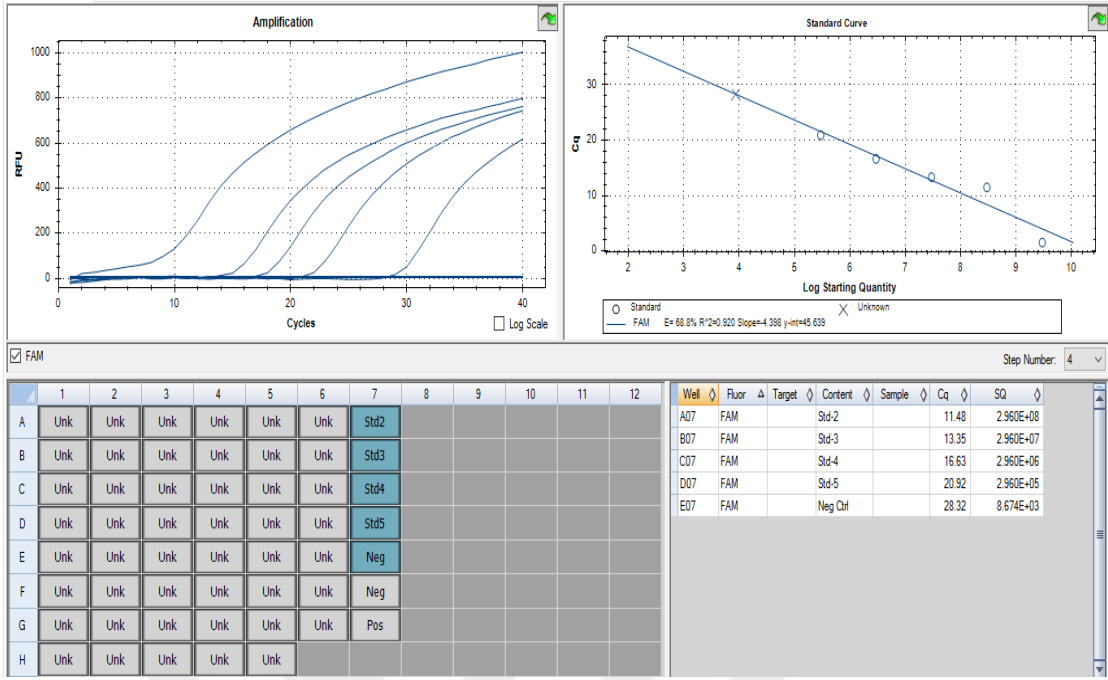
elektroforezinde 1662 bp'de spesifik bantları görüldü (Şekil 12). Muğla07 ve Aydın07 izolatları için bu bölgede bant gözlemlenmedi.



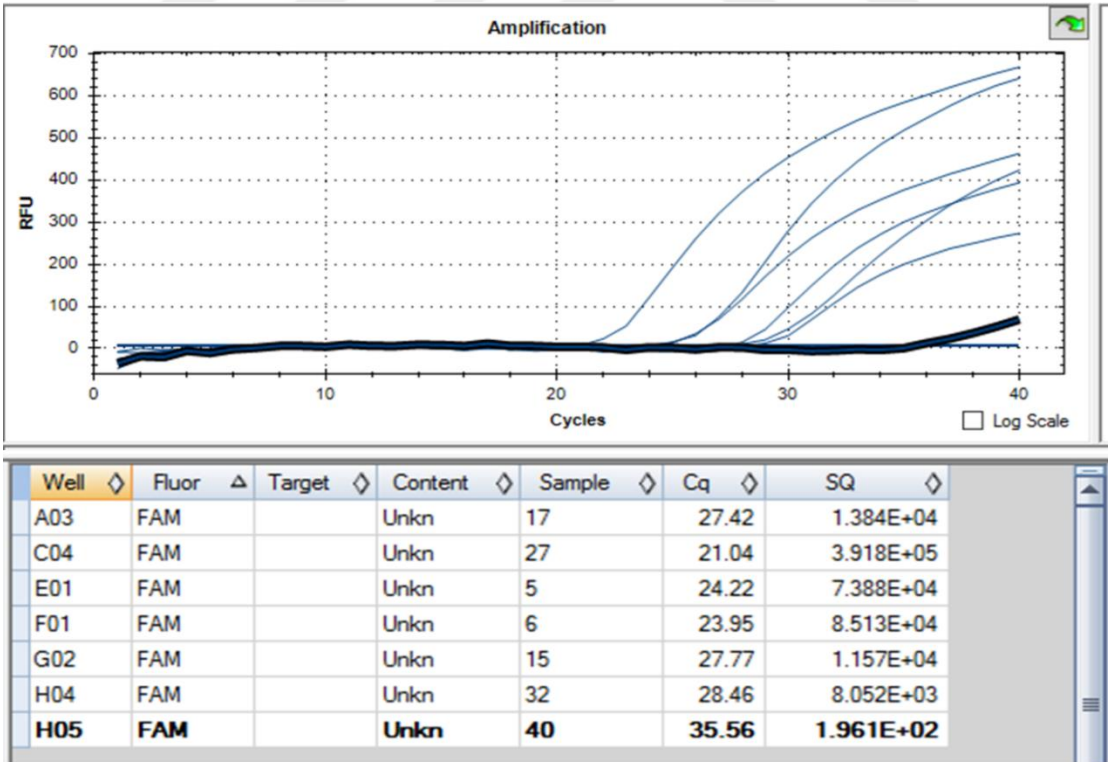
Şekil 12. 1125 bp'de VP4 ve 1662 bp'de Vp5-VP2 spesfik bantlar. M; moleküler ağırlık standardı. 1; Almus, 2; Uşak05, 3; Hah-2, 4; Hah-3, 5; Hah-4, 6; Antalya07, 7; Muğla07, 8; Ankara10, 9; Hatay07, 10: Aydın07

4.2.2. Real Time PCR Bulguları

Deneysel enfeksiyon uygulanan IPNV-Almus, Hah-4, Hatay07 ve Uşak05 izolatları ile ilgili persistensliğin varlığı örnek RNA'ları kalıp olarak kullanılarak VP3 gen bölgesinin çoğaltılması ile araştırıldı (Şekil 13). Denemeye alınan 4 izolat için de persistenslik saptandı. İnokulasyon sonrasında hayatta kalan balıklardaki viral yükün kantitatif değeri realtime rRT-PCR ile belirlendi. Bu amaçla; FVP3; 5'- CGA CCG ACA TGA ACA AAT CA - 3', ve RVP3; 5'- AGT TGC AGC TGT ATT CGC ACA - 3' primer seti ile FAM; 5'- TCT AGC CAA CAG TGT GTA CGG CCT CCC - 3' TAMRA problemleri kullanılarak Bio-Rad CFX Connect Real Time Sistem'de Orpetveit ve ark. (2010) tarafından bildirilen metotla yapıldı (Orpetveit ve ark., 2010). Yapılan incelemeler sonunda; virüs uygulama grubu örnekleme tanklarından 1, 3, 5, 14, 21, 28 ve 35. günlerde alınan ve 5 balıktan oluşan balık havuzlarındaki doku örneklerinin tamamında IPNV RNA'sı saptandı (Şekil 14).

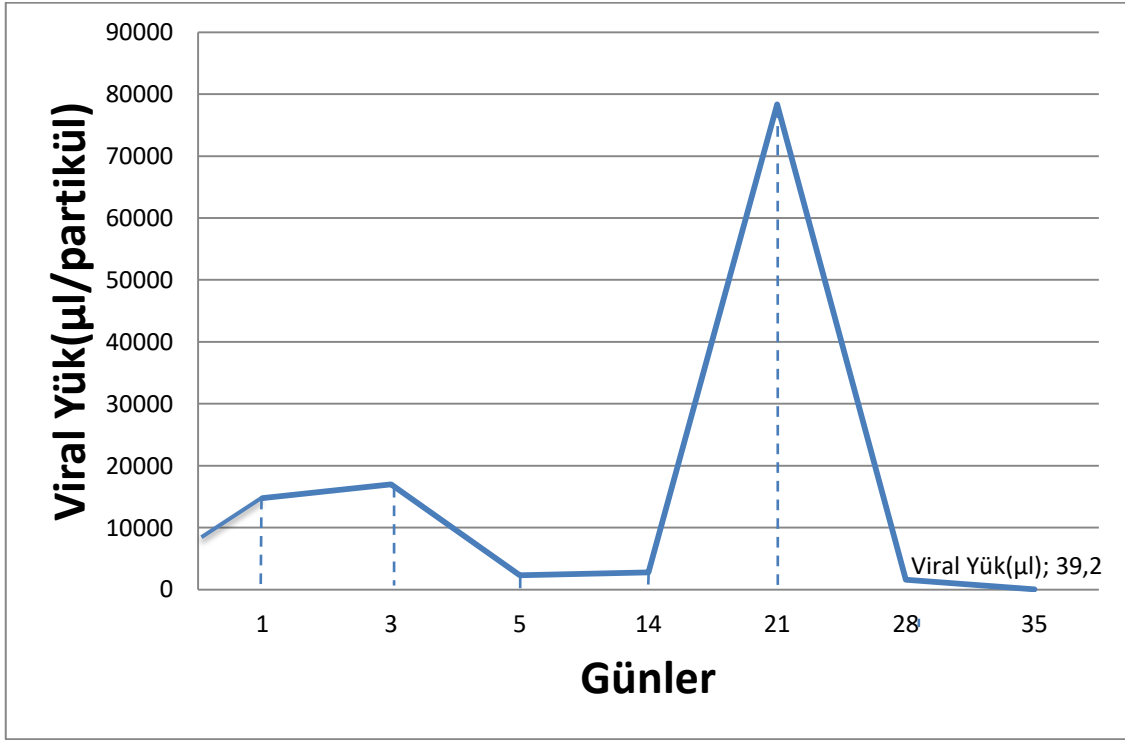


Şekil 13. Pozitif kontrol plazmidlerle elde edilen ışımaya eğrileri



Şekil 14. Virüs uygulama grubu örnekleme tanklarından alınan balıklarda viral yük ve RNA'ların oluşturduğu ışımaya eğrileri. Örnek 5; 1. gün, örnek 6; 3. gün, örnek 15; 5. gün, örnek 17; 14.gün, örnek 27; 21.gün, örnek 32; 28.gün ve örnek 40; 35.gün RNA'sı ct grafiğidir

İncelenen balık örneklerinde $1,213 \times 10^6$ ile $1,961 \times 10^2 / 5 \mu\text{l}$ arasında viral kopya sayısı tespit edildi. Balık organ örneklerinde en yoğun C_T değeri 21,75 olarak kaydedildi. $5 \mu\text{l}$ 'deki viral yük 1. gün örneklerinde; 73880 (14776/ μl), 3. gün örneklerinde; 85130 (17026/ μl), 5. gün örneklerinde; 11570 (2314/ μl), 14. gün örneklerinde; 13840 (2768/ μl), 21. gün örneklerinde; 391800 (78360/ μl), 28. gün örneklerinde, 8052 (1610,4/ μl) ve 35. gün örneklerinde, 196,1 (39,2/ μl) olarak hesaplandı (Şekil 14).

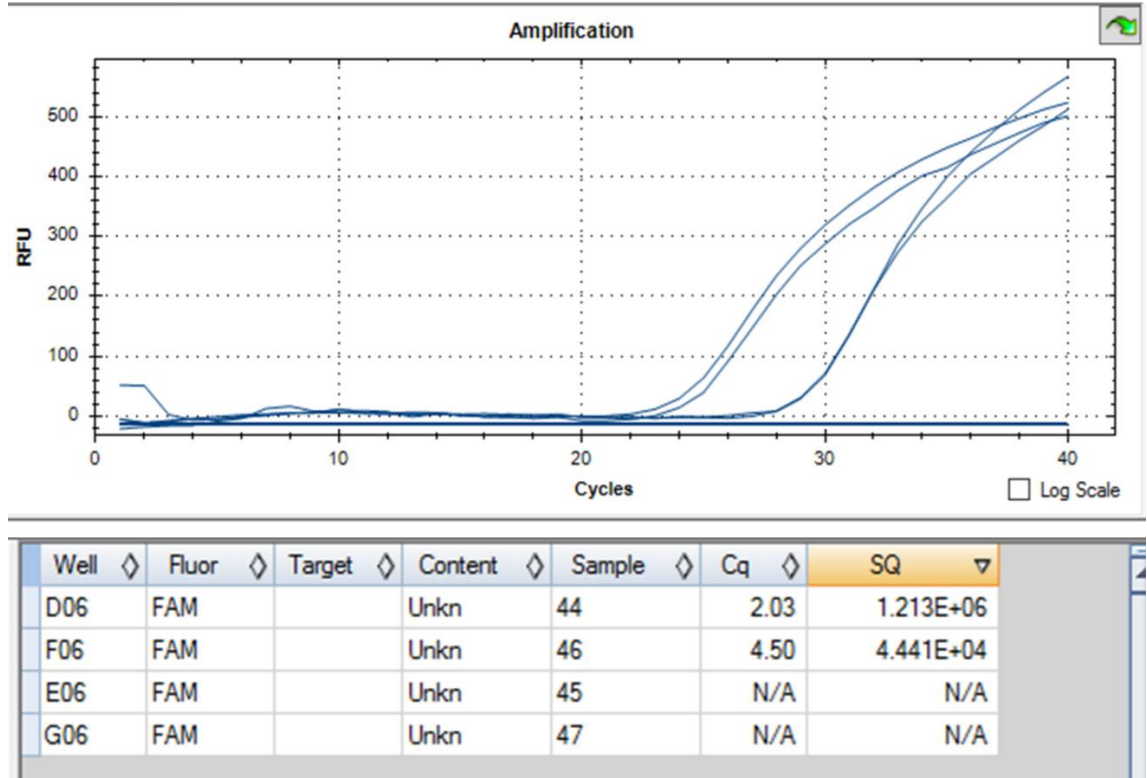


Şekil 15. Günlere göre viral yük dağılımı. $\mu\text{l}/\text{viral partikül/gün}$

İnokulasyonun 1. gününde yoğun bir antijen girişi olmuş μl 'de 14776 virüs partikülü tespit edilmiştir. 3. günde viral yük 1,15 kat artmış, 5. günde virüs eclipse safhasına girdiğinden 1. güne oranla μl 'deki partikül sayısı 6,3 kat azalmıştır. 14. günde bir önceki örnekleme gününe göre 1,19 kat artmış, 21 günde ise, 28,3 kat daha artarak μl 'de 78360 partikül ile pik seviyeye ulaşmıştır. 28. günde 21. güne göre 48,6 kat azalmış, 35. günde ise 41 kat daha azalarak μl de 39,2 partikül sayısına inmiş ve enfeksiyon persiste olmuştur (Şekil 15).

rRT PCR analizleri ile virüs uygulama grubu gözlem tanklarında enfeksiyon sonrası 22. ve 25. günlerde ölen balıkların organ homojenizat ekstarktlardan IPNV RNA'sı tespit edildi (Şekil 16, örnek 44, 46). 22. günde ölen IPNV-hah-4 izolatu balık örneğinden $5 \mu\text{l}$ de $1,213 \times 10^6$ (242600/ μl), 25. günde ölen IPNV-Hatay07 izolatından ise $4,441 \times 10^4$ (8882/ μl) viral partikül tespiti yapıldı. Almus izolatu gözlem tankında

31. ve 32. günlerde ölen balıklardan ise IPNV RNA'sı tespit edilmedi (Şekil 16, örnek 45, 47).



Şekil 16. Gözlem tanklarında ölen balıklarda viral yük ve ışma eğrileri

4.2.3. Sekans Analiz Sonuçları

İzolatların VP1, VP2, VP3, VP4 ve VP5 genlerinin sekansları ticari bir firmaya yaptırıldı. Çalışmaya dahil edilen 10 izolatın tamamında segment B sekanslanırken segment A 7 izolatta sekanslandı. Kalan 3 izolatta ise segment A'nın tüm genom sekansı yapılamadı. IPNV izolatlarında segment A ile B'nin ilgili bölgeleri ve ORF'leri PCR amplifikasyonlarından elde edilen ürünlerin birleştirilmesi sonucunda elde edildi. VP5 geninin ilk 7 nükleotiti hariç diğer nükleotitleri VP2 geni ile çakışmakta olduğundan VP5 ve VP2 genlerinin sekans değerlendirmeleri tek parçalı 1662 bp parça üzerinde yapıldı. PCR ve sekans analiz kromatogramlarında oluşan hatalar nedeniyle Muğla07, Aydın07 ve Ankara10 izolatları 2. Tez İzleme Ara Raporu ile çalışmadan çıkartıldı ve kalan 7 izolat (Almus, Antalya07, Hah-2, Hah-3, Hah-4, Hatay07 ve Uşak05) ile çalışmaya devam edildi.

Almus, Antalya07, Hah-2, Hah-3, Hah-4 ve Uşak05 izolatlarının VP5 terminasyon kodonunun 496 nükleotit bazda, Hatay07 izolatının ise 511 nükleotit bazda sonlandırılmış olduğu görüldü. VP2 geninin virülensle ilişkili 217/221/247

pozisyonlarındaki aminoasit kalıntıları Almus ve Hah-4 izolatlarında PTE, Antalya07, Hah-2, Hah-3, Hatay07 ve Uşak05 izolatlarında PTA olarak tanımlanmıştır (Tablo 4).

Tablo 4. İzolatların VP5 stop kodonu ve virülensle ilişkili motifleri

Suş No	İzolat İsmi	VP5 Stop Kodonu	Virülens Motifi
16	Hatay07	511	P/T/A
44	Antalya07	496	P/T/A
61	Uşak05	496	P/T/A
63	Hah-2	496	P/T/A
64	Hah-3	496	P/T/A
65	Hah-4	496	P/T/E
66	Almus	496	P/T/E

Segment A üzerinde küçük ORF'nin korunmuş bir bölge sekansı AATGCAA ile 112. nükleotitte başladığı ve 496 nükleotitte erken terminasyon kodonu ile kesilmiş bir protein ve 511 bazda 15 kDa tam bir protein olmak üzere 2 farklı VP5 proteini kodladıkları görüldü. Büyük ORF'nin ise küçük ORF den 7 nükleotit sonra 119. nükleotitte başladığı TAA terminasyon kodonu ile 3037. nükleotitte sonlandığı, VP2, VP3 ve VP4 proteinlerini kodladığı görüldü.

Analizi yapılan 7 adet Segment A sekansı; Hatay07 MH614926, Antalya07 MH614927, Uşak05 MH614928, Almus MH614929, Hah-2 MH614930, Hah-3 MH614931, Hah-4 MH614932 geçiş numarası ile Genbank Database'e depolandı ve Genbank'tan elde edilen 13 adet referans IPNV segment A gen sekans verileri ile karşılaştırılarak filogenetik analizleri yapıldı. Genbank suşları bütün IPNV genogrularını temsil etmektedirler (Tablo 5).

Tablo 5. Karşılaştırılan ve filogenetik analizleri yapılan IPNV suşları

Genogrup	İzolat İsmi	Genbank No	Coğrafik Orjini	Referansans Bölgesi	Nükleotit Sekansı
I	Ja	NC001915	Kanada	Segment A	1-3097
I	WB	AF078668	Kanada	Segment A	1-3097
II	Ab	AF342729	Danimarka	Segment A	1-2904
III	C1	AF342732	Kanada	Segment A	1-2904
III	TE	AF342731	İngiltere	Segment A	1-2904
IV	1146	AJ489222	İspanya	Segment A	1-2919
IV	C2	AF342733	Kanada	Segment A	1-2904
IV	C3	AF342734	Kanada	Segment A	1-2904
V	Hatay07	MH614926	Türkiye	Segemnt A	1-3097
V	Antalya07	MH614927	Türkiye	Segemnt A	1-3097
V	Uşak05	MH614928	Türkiye	Segemnt A	1-3097
V	Almus	MH614929	Türkiye	Segemnt A	1-3097
V	Hah-2	MH614930	Türkiye	Segemnt A	1-3097
V	Hah-3	MH614931	Türkiye	Segemnt A	1-3097
V	Hah-4	MH614932	Türkiye	Segemnt A	1-3097
V	Heh-5	KF991533	Türkiye	Segment A	1-1572
V	Almus-1	KF914646	Türkiye	Segment A	1-1779
V	SP	KF279643	İran	Segment A	1-2916
V	31-75	AJ622822	Fransa	Segment A	1-3096
V	N-137	HQ457181	Norveç	Segment A	1-1510
V	I-2	HQ457195	İrlanda	Segment A	1-1510
VI	He	AF342730	Almanya	Segment A	1-2904

Yerli izolatlarda 3097 bp segment A'nın aminoasit benzerliği % 98 ile % 99,8 arasında iken (Şekil 17) 2783 bp segment B'nin aminoasit benzerliği % 93,5 ile % 99,1 arasında bulundu (Şekil 21). Segment B aminoasitleri daha yüksek oranda farklılıklar içermektedir.

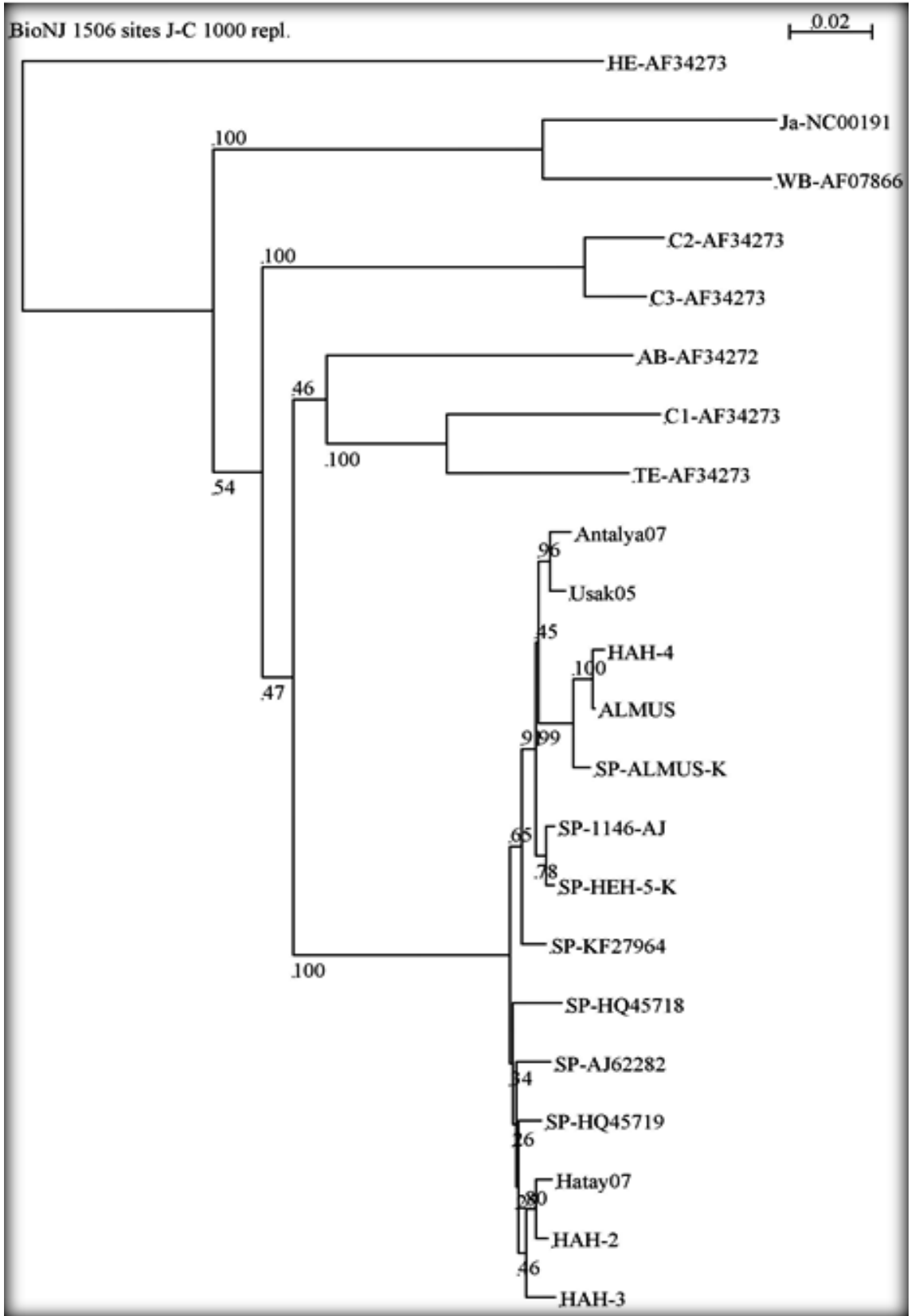
Hatay07 ile Hah-2 ve Hah-3, Hah-2 ve Hah-3, Uşak05 ile Antalya07, Almus ile Hah-4 izolatlarında segment A'nın nükleotitleri % 99'un üzerinde benzerlik gösterdi. Bu çalışmadaki izolatlar 2014 ve 2015'te rapor edilen Türkiye suşları (KF914646 ve KF991533) ile % 97,8 ile 99,6 oranında benzerlik gösterdi. Filogenetik çalışmalar sonucunda örneklerin tamamının Sp serotipi olduğu belirlendi (Şekil 18-20).

Segment A'nın nükleotit benzerliklerine göre Türkiye izolatları ile Fransa, İran ve İspanya izolatlarının yakın ilişki içerisinde oldukları belirlendi. Yerli izolatların segment A nükleotitlerinde en yakın benzerlik oranı Fransa izolatı (AJ622822) ile % 97,3 - % 98,6 arasında, İran izolatı (KF279643) ile % 97,8 -% 98,5 arasında, İspanya izolatı (AJ489222) ile ise % 98,3 - % 98,8 arasında bulundu. Bu izolatlar ile yerli izolatlarının nükleotitleri % 97,3 ten fazla benzer bulundu. Nükleotitler arasında en yüksek farklılık oranı ise yerli izolatlar ile Kanada izolatı (NC001915) arasında % 34,3 ve Almanya izolatı (AF342730) arasında ise % 23,3 olarak bulundu.

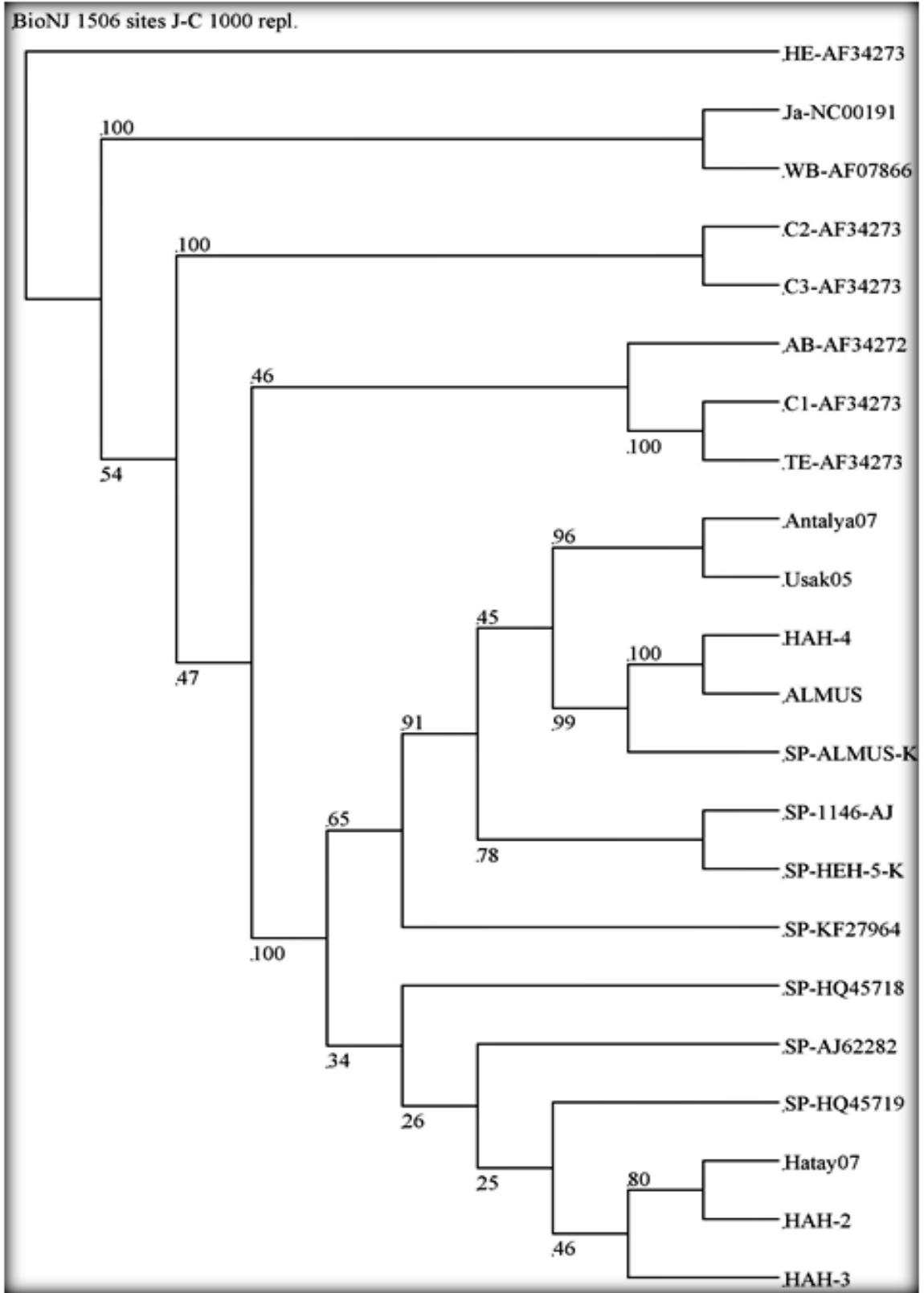
Oluşturulan filogenetik ağaçlar şekil 18, 19 ve 20'de görülmektedir. IPNV izolatları 7 genogruba sınıflandırılmışlardır. 6 genogrup Blake ve ark. (2001) tarafından ve ilave olan diğer bir genogrup ise Nishizawa ve ark. (2005) tarafından önerilmiştir (Blake et al. 2001; Nishizawa ve ark., 2005). Türkiye IPNV izolatları genogrup 5 içerisinde sınıflandırıldılar ve bu genogrup Avrupa, Asya izolatlarını (İran Sp, Fransa 31-75, Norveç N-137 ve İrlanda I-2) içermektedir. Türkiye izolatlarının aminoasit kalıntıları bu çalışmada sırasıyla Pro217, Thr221, Ala247 veya Glu247 olarak tespit edildi.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W
1	Nük/Aa	Hatay07,,	Hah-2,, 2'	Hah-3,, 2'	Antalya07	Usak05,, 1'	Hah-4,, 2'	Almus,, 2'	SP-ALMU	SP-1146-4	SP-HEH-4	SP-KF279	SP-AJ622	AB-AF34;	C1-AF342	TE-AF342	C2-AF342	C3-AF342	HE-AF34;	Ja-NC001	WB-AF07	SP-HQ45'	SP-HQ4571'
2	Hatay07,,	ID	0,998	0,988	0,985	0,984	0,981	0,984	0,979	0,983	0,982	0,981	0,993	0,9	0,905	0,899	0,881	0,879	0,843	0,844	0,85	0,507	0,51
3	Hah-2,, 2'	0,996		0,989	0,984	0,985	0,98	0,983	0,978	0,982	0,981	0,98	0,992	0,899	0,904	0,898	0,88	0,878	0,842	0,843	0,849	0,506	0,509
4	Hah-3,, 2'	0,991	0,994		0,986	0,987	0,981	0,984	0,979	0,984	0,983	0,986	0,99	0,896	0,902	0,898	0,879	0,878	0,838	0,837	0,842	0,508	0,505
5	Antalya07	0,982	0,983	0,984		0,996	0,989	0,992	0,987	0,988	0,991	0,985	0,985	0,896	0,905	0,899	0,882	0,881	0,843	0,843	0,848	0,506	0,505
6	Usak05,, 1'	0,983	0,984	0,985	0,993		0,987	0,99	0,986	0,987	0,99	0,984	0,984	0,895	0,904	0,898	0,881	0,88	0,841	0,841	0,846	0,505	0,504
7	Hah-4,, 2'	0,979	0,978	0,979	0,984	0,987		0,996	0,987	0,982	0,985	0,98	0,981	0,892	0,904	0,897	0,876	0,875	0,838	0,84	0,843	0,501	0,5
8	Almus,, 2'	0,98	0,98	0,979	0,985	0,988	0,998		0,99	0,985	0,988	0,983	0,984	0,895	0,906	0,899	0,879	0,878	0,841	0,843	0,846	0,504	0,503
9	SP-ALMU	0,979	0,98	0,979	0,984	0,986	0,989	0,991		0,994	0,995	0,982	0,981	0,891	0,903	0,896	0,881	0,876	0,84	0,839	0,842	0,503	0,502
10	SP-1146-4	0,984	0,984	0,985	0,988	0,988	0,983	0,983	0,992		0,996	0,987	0,985	0,895	0,901	0,897	0,881	0,876	0,842	0,839	0,844	0,507	0,506
11	SP-HEH-4	0,984	0,983	0,984	0,989	0,99	0,984	0,985	0,993	0,997		0,986	0,984	0,894	0,904	0,898	0,883	0,878	0,842	0,84	0,845	0,506	0,505
12	SP-KF279	0,981	0,982	0,985	0,983	0,983	0,978	0,978	0,981	0,988	0,987		0,985	0,893	0,9	0,896	0,88	0,877	0,841	0,841	0,846	0,51	0,507
13	SP-AJ622	0,985	0,986	0,984	0,979	0,98	0,973	0,975	0,976	0,981	0,98	0,98		0,903	0,908	0,904	0,884	0,882	0,843	0,843	0,849	0,509	0,511
14	AB-AF34;	0,863	0,863	0,861	0,86	0,861	0,855	0,857	0,859	0,862	0,862	0,86	0,865		0,918	0,915	0,865	0,87	0,822	0,84	0,842	0,472	0,473
15	C1-AF342	0,863	0,862	0,86	0,861	0,86	0,856	0,857	0,859	0,86	0,861	0,859	0,864	0,876		0,963	0,87	0,873	0,822	0,835	0,833	0,473	0,474
16	TE-AF342	0,866	0,867	0,867	0,865	0,866	0,861	0,862	0,863	0,867	0,867	0,865	0,87	0,871	0,912		0,865	0,868	0,829	0,831	0,835	0,474	0,474
17	C2-AF342	0,842	0,843	0,843	0,841	0,841	0,837	0,838	0,842	0,843	0,844	0,842	0,846	0,829	0,836	0,828		0,974	0,827	0,832	0,835	0,473	0,472
18	C3-AF342	0,842	0,842	0,843	0,843	0,843	0,838	0,84	0,84	0,842	0,843	0,843	0,846	0,829	0,841	0,831	0,97		0,824	0,829	0,83	0,472	0,47
19	HE-AF34;	0,768	0,768	0,767	0,768	0,767	0,768	0,77	0,771	0,77	0,771	0,767	0,766	0,756	0,757	0,762	0,758	0,754		0,801	0,804	0,456	0,458
20	Ja-NC001	0,659	0,658	0,657	0,659	0,658	0,658	0,658	0,658	0,658	0,659	0,66	0,659	0,655	0,649	0,646	0,649	0,648	0,612		0,972	0,459	0,459
21	WB-AF07	0,788	0,788	0,785	0,788	0,786	0,784	0,785	0,785	0,787	0,788	0,787	0,787	0,791	0,782	0,777	0,776	0,775	0,736	0,763		0,459	0,46
22	SP-HQ45'	0,504	0,505	0,504	0,502	0,502	0,497	0,499	0,499	0,503	0,503	0,505	0,505	0,449	0,445	0,452	0,439	0,441	0,4	0,343	0,417		0,991
23	SP-HQ45'	0,51	0,51	0,507	0,504	0,504	0,5	0,501	0,502	0,507	0,506	0,507	0,508	0,45	0,447	0,452	0,442	0,443	0,404	0,345	0,418	0,981	

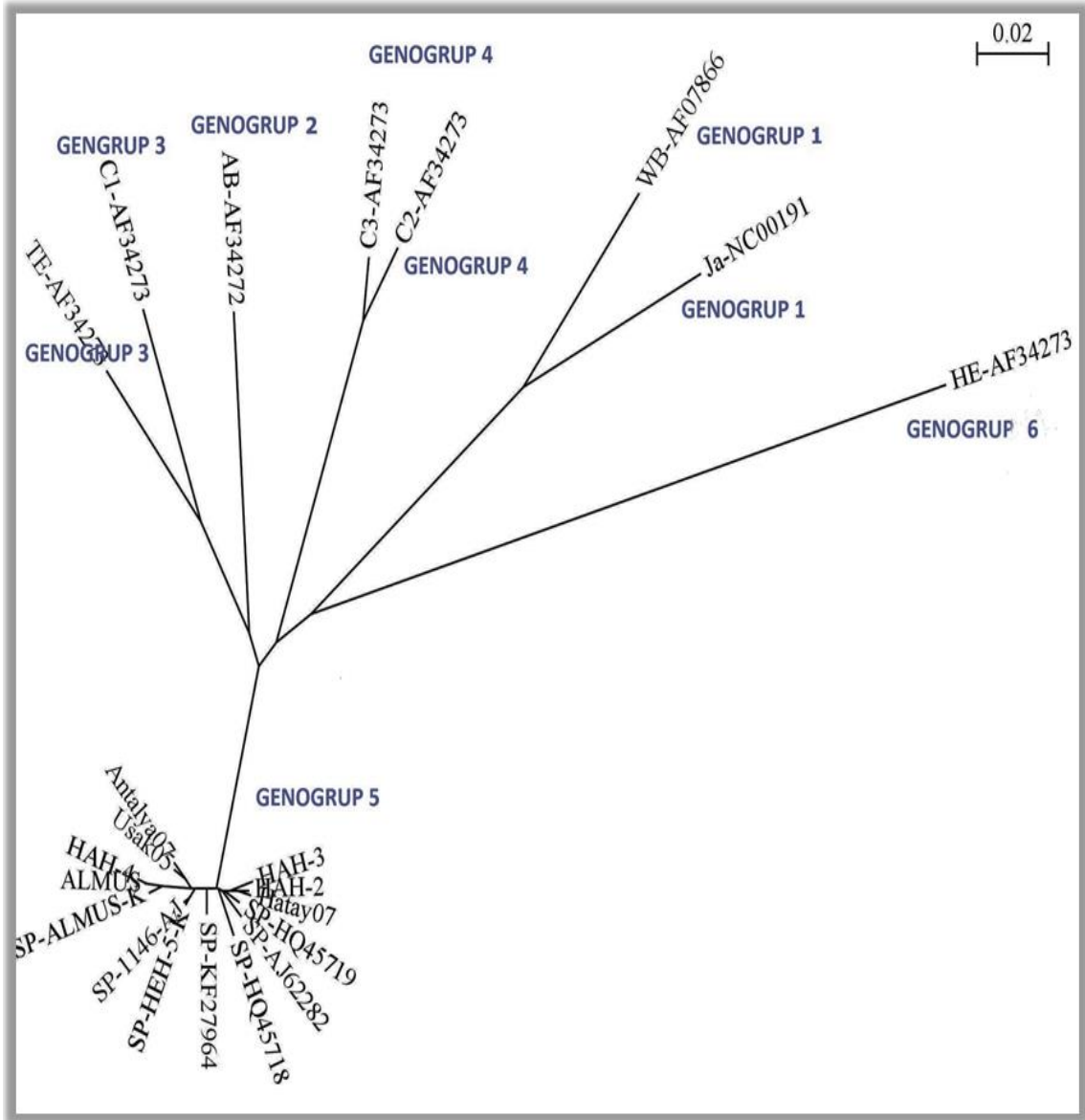
Şekil 17. Segment A nükleotit ve aminoasit sekanlarının yüzde oranları



Şekil 18. Türkiye izolatları ve referans izolatlarda segment A'ya göre Neighbor Joining programı ile 1000 bootstrap yapılarak elde edilen squared filogenetik ağaç



Şekil 19. Türkiye izolatları ve referans izolatlarda segment A'ya göre Neighbor Joining programı ile 1000 bootstrap yapılarak elde edilen phylogram



Şekil 20. Türkiye izolatları ve referans izolatlarda segment A'ya göre Neighbor Joining programı ile 1000 bootstrap yapılarak elde edilen dendrogram

Analizi yapılan 10 adet Segment B sekansı; Almus MH645337, Ankara10 MH645338, Antalya07 MH645339, Aydın07 MH645340, Hah-2 MH645341, Hah-3 MH645342, Hah-4 MH645343, Hatay07 MH645344, Muğla07 MH645345, Uşak05 MH645346 geçiş numarası ile Genbank Database'e depolandı ve Genbank'tan elde edilen 25 adet IPNV segment B sekans (Tablo 6) verileri ile karşılaştırılarak filogenetik analizleri yapıldı (Şekil 22-24)

Tablo 6. Karşılaştırılan ve filogenetik analizleri yapılan IPNV suşları

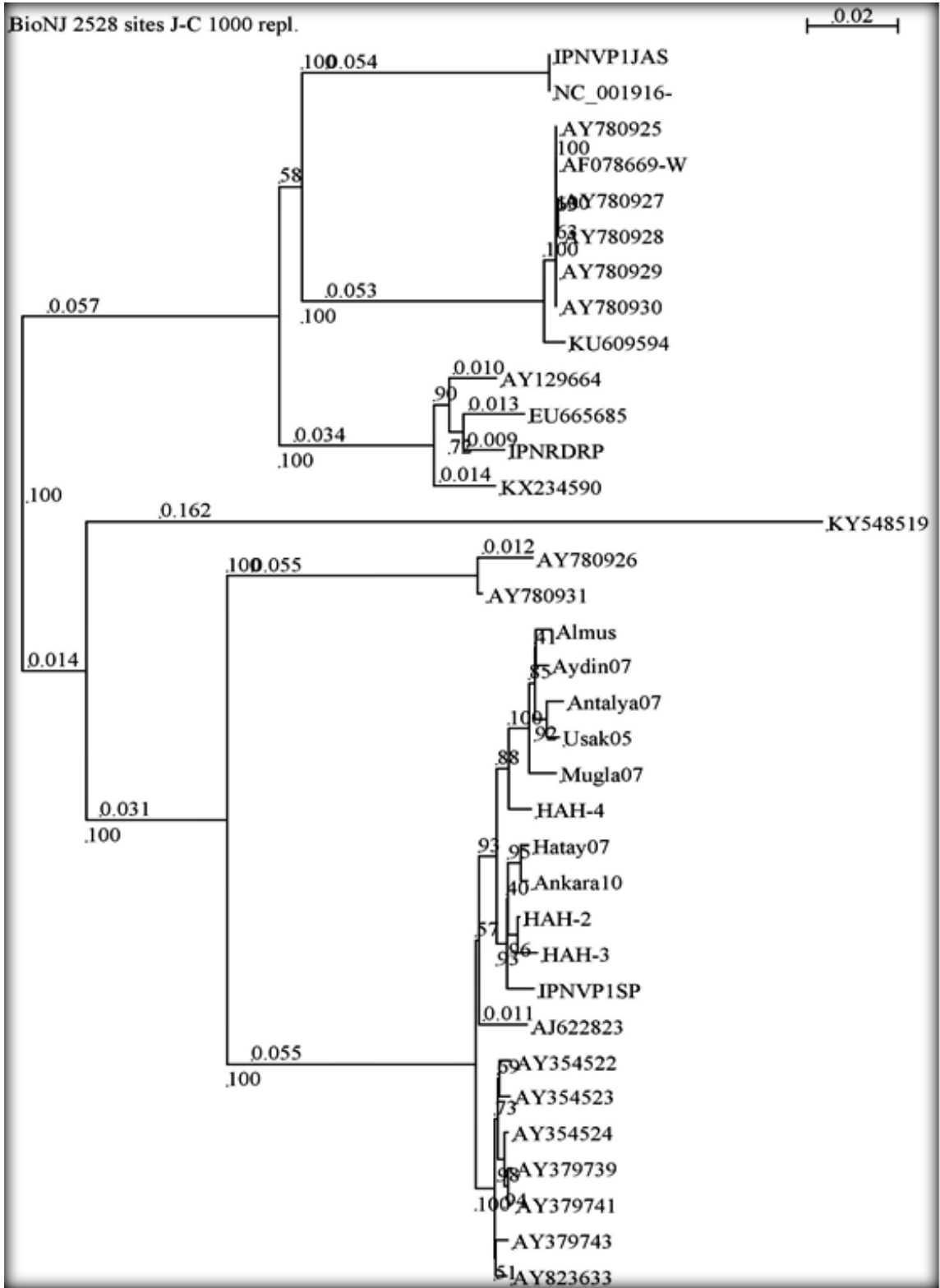
İzolat İsmi	Genbank	Coğrafik	Referansan	Nükleotit
	No	Orjini	Bölgesi	Sekansı
Almus	MH645337	Türkiye	Segment B	1-2630
Ankara10	MH645338	Türkiye	Segment B	1-2630
Antalya07	MH645339	Türkiye	Segment B	1-2630
Aydın07	MH645340	Türkiye	Segment B	1-2630
Hah-2	MH645341	Türkiye	Segment B	1-2630
Hah-3	MH645342	Türkiye	Segment B	1-2630
Hah-4	MH645343	Türkiye	Segment B	1-2630
Hatay07	MH645344	Türkiye	Segment B	1-2630
Muğla07	MH645345	Türkiye	Segment B	1-2630
Uşak05	MH645346	Türkiye	Segment B	1-2630
IPNVP1SP	M58757	Kanada	Segment B	1-2630
West buxton	AF078669	Amerika	Segment B	1-2783
5B1d	AY780925	İspanya	Segment B	1-2783
17F2	AY780927	İspanya	Segment B	1-2783
19F3b	AY780928	İspanya	Segment B	1-2783
19G3e	AY780929	İspanya	Segment B	1-2783
19G73	AY780930	İspanya	Segment B	1-2783
23459	KU609594	Şili	Segment B	1-2538
IPNVP1JAS	M58756	Kanada	Segment B	1-2784
Jasper	NC001916	Kanada	Segment B	1-2784
AM-98	AY129664	Japonya	Segment B	1-2738
Mexican	EU665685	Meksika	Segment B	1-2782
IPNRDRP	D26527	Kore	Segment B	1-2731
ChRtm213	KX234590	Çin	Segment B	1-2789
1375/89	KY548519	Finlandiya	Segment B	1-2746
6B1a	AY780926	İspanya	Segment B	1-2745
20G1d	AY780931	İspanya	Segment B	1-2745
31-75	AJ622823	Fransa	Segment B	1-2782
NVI-016	AY379743	Norveç	Segment B	1-2742
VP5dSp103	AY823633	Norveç	Segment B	1-2777
Sp103	AY354522	Amerika	Segment B	1-2777
Sp116	AY354523	Amerika	Segment B	1-2777
Sp122	AY354524	Amerika	Segment B	1-2777
NVI-013	AY379739	Norveç	Segment B	1-2742
NVI-015	AY379741	Amerika	Segment B	1-2742

Yerli izolatların segment B nükleotit benzerlikleri kendi aralarında % 97,4 ile 99,5 arasında bulundu (Şekil 21). Buna karşın uluslararası referans suşlardan Kanada (M58757) izolatı ile yerli izolatlar arasında % 97,5'in üzerinde nükleotit benzerliği bulunurken, en düşük oranda benzerlik ise Finlandiya (KY548519) suşu ile yerli izolatlar arasında % 64,2 olarak bulundu.

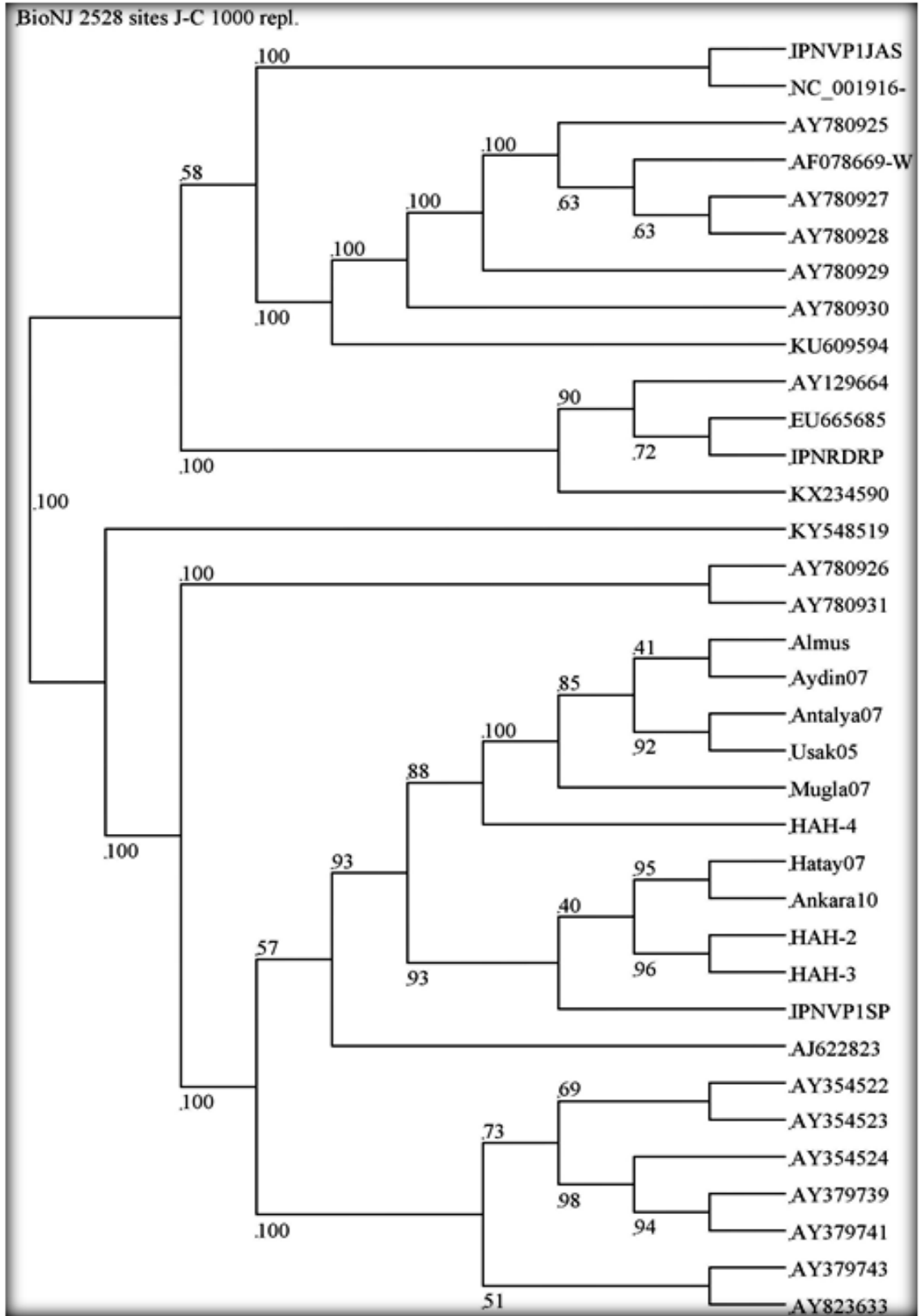
Yerli izolatların kendi aralarında segment B'nin aminoasit sekansları % 93,5 ile % 99,1 oranında benzerlik gösterdi. Buna karşın uluslararası referans suşlardan Kanada (M58757) izolatı ile yerli izolatlar arasında en yüksek % 98,4 oranında aminoasit benzerliği bulunurken, en düşük oranda benzerlik ise Finlandiya (KY548519) suşu ile yerli izolatlar arasında % 52,7 olarak bulundu.

Yerli izolatlar ile uluslararası referans suşlardan Kanada (M58757), Fransa (AJ622823), Norveç (AY379743, AY823633, AY379739), Amerika (AY354522, AY354523, AY354524, AY379741) suşları arasında % 93,3'ün üzerinde aminoasit benzerliği bulundu.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z	AA	AB	AC	AD	AE	AF	AG	AH	AI	AJ	
1	Nük/As	Almus	Aydin07	Antalya01	Usak05	Mugla07	HAA-4	Hatay07	Ankara10	HAA-2	HAA-3	IPNVP1M	AF07866	AY78092	AY78092	AY78092	AY78092	AY78092	KU60955	IPNVP1M	NC_0019	AY12966	EU66568	IPNRDRP	KK23459	KY54851	AY78092	AY78092	AJ62282	AY37974	AY82363	AY35452	AY35452	AY35452	AY37973	AY3797	
2	Almus	ID	0,983	0,97	0,98	0,972	0,973	0,947	0,952	0,957	0,952	0,949	0,558	0,558	0,558	0,558	0,558	0,558	0,556	0,559	0,559	0,588	0,578	0,582	0,582	0,528	0,701	0,723	0,945	0,942	0,944	0,942	0,94	0,945	0,942	0,94	
3	Aydin07	0,994	0,978	0,977	0,973	0,97	0,948	0,947	0,957	0,952	0,952	0,555	0,555	0,555	0,555	0,555	0,555	0,552	0,557	0,557	0,586	0,576	0,581	0,58	0,531	0,699	0,722	0,948	0,945	0,947	0,944	0,944	0,947	0,945	0,94		
4	Antalya01	0,988	0,992	0,982	0,964	0,955	0,935	0,936	0,946	0,945	0,941	0,562	0,562	0,562	0,562	0,562	0,562	0,558	0,552	0,552	0,588	0,576	0,584	0,584	0,531	0,694	0,719	0,935	0,934	0,936	0,933	0,933	0,938	0,935	0,93		
5	Usak05	0,992	0,991	0,993	0,967	0,959	0,941	0,947	0,952	0,952	0,945	0,556	0,556	0,556	0,556	0,556	0,556	0,553	0,556	0,556	0,588	0,576	0,582	0,582	0,527	0,691	0,716	0,94	0,936	0,939	0,935	0,935	0,94	0,938	0,93		
6	Mugla07	0,989	0,99	0,986	0,987	0,963	0,943	0,945	0,952	0,942	0,952	0,555	0,555	0,555	0,555	0,555	0,555	0,553	0,558	0,558	0,586	0,572	0,58	0,58	0,534	0,7	0,725	0,939	0,939	0,944	0,94	0,94	0,945	0,941	0,94		
7	HAA-4	0,985	0,985	0,979	0,98	0,982	0,959	0,959	0,973	0,965	0,966	0,561	0,561	0,561	0,561	0,561	0,561	0,557	0,565	0,565	0,586	0,576	0,58	0,581	0,534	0,7	0,722	0,948	0,954	0,955	0,952	0,949	0,954	0,952	0,95		
8	Hatay07	0,979	0,98	0,975	0,977	0,978	0,983	0,991	0,977	0,967	0,976	0,553	0,553	0,553	0,553	0,553	0,553	0,55	0,562	0,562	0,582	0,569	0,576	0,578	0,531	0,697	0,725	0,946	0,957	0,959	0,958	0,955	0,955	0,951	0,95		
9	Ankara10	0,981	0,979	0,975	0,979	0,978	0,982	0,996	0,983	0,976	0,977	0,552	0,552	0,552	0,552	0,552	0,552	0,549	0,561	0,561	0,582	0,568	0,575	0,577	0,528	0,695	0,724	0,945	0,955	0,96	0,959	0,957	0,957	0,952	0,95		
10	HAA-2	0,979	0,979	0,976	0,978	0,977	0,99	0,989	0,991	0,988	0,984	0,553	0,553	0,553	0,553	0,553	0,553	0,55	0,562	0,562	0,584	0,569	0,577	0,578	0,533	0,699	0,728	0,947	0,961	0,966	0,965	0,96	0,963	0,958	0,95		
11	HAA-3	0,978	0,978	0,975	0,977	0,974	0,986	0,985	0,988	0,995	0,972	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,55	0,548	0,557	0,557	0,577	0,562	0,57	0,571	0,527	0,693	0,722	0,938	0,952	0,957	0,955	0,951	0,953	0,948	0,94		
12	IPNVP1M	0,977	0,978	0,975	0,975	0,979	0,983	0,989	0,989	0,985	0,988	0,557	0,557	0,557	0,557	0,557	0,557	0,553	0,564	0,564	0,586	0,572	0,578	0,58	0,528	0,694	0,723	0,949	0,959	0,964	0,963	0,958	0,96	0,957	0,95		
13	AF07866	0,667	0,666	0,669	0,667	0,666	0,667	0,665	0,665	0,666	0,663	0,666	1	0,998	0,998	1	1	0,984	0,741	0,741	0,763	0,757	0,762	0,76	0,496	0,551	0,554	0,561	0,568	0,562	0,561	0,562	0,563	0,561	0,56		
14	AY78092	0,667	0,666	0,669	0,667	0,666	0,667	0,665	0,665	0,666	0,663	0,666	1	0,998	0,998	1	1	0,984	0,741	0,741	0,763	0,757	0,762	0,76	0,496	0,551	0,554	0,561	0,568	0,562	0,561	0,562	0,563	0,561	0,56		
15	AY78092	0,666	0,666	0,669	0,666	0,665	0,667	0,665	0,665	0,665	0,662	0,666	0,999	0,999	1	0,998	0,998	0,983	0,741	0,741	0,763	0,757	0,762	0,76	0,496	0,551	0,554	0,561	0,568	0,562	0,561	0,562	0,563	0,561	0,56		
16	AY78092	0,666	0,666	0,669	0,666	0,665	0,667	0,665	0,665	0,665	0,662	0,666	0,999	0,999	1	0,998	0,998	0,983	0,741	0,741	0,763	0,757	0,762	0,76	0,496	0,551	0,554	0,561	0,568	0,562	0,561	0,562	0,563	0,561	0,56		
17	AY78092	0,667	0,666	0,669	0,667	0,666	0,667	0,665	0,665	0,666	0,663	0,666	1	1	0,999	0,999	1	0,984	0,741	0,741	0,763	0,757	0,762	0,76	0,496	0,551	0,554	0,561	0,568	0,562	0,561	0,562	0,563	0,561	0,56		
18	AY78092	0,667	0,666	0,669	0,667	0,666	0,667	0,665	0,665	0,666	0,663	0,666	1	1	0,999	0,999	1	0,984	0,741	0,741	0,763	0,757	0,762	0,76	0,496	0,551	0,554	0,561	0,568	0,562	0,561	0,562	0,563	0,561	0,56		
19	KU60955	0,666	0,666	0,668	0,666	0,665	0,666	0,664	0,664	0,664	0,662	0,665	0,992	0,992	0,992	0,992	0,992	0,984	0,732	0,732	0,752	0,747	0,751	0,751	0,494	0,552	0,555	0,558	0,565	0,559	0,558	0,558	0,561	0,558	0,56		
20	IPNVP1M	0,669	0,669	0,669	0,669	0,668	0,671	0,669	0,669	0,67	0,667	0,67	0,899	0,899	0,899	0,899	0,899	0,894	0,894	0,894	0,899	0,899	0,899	0,899	0,899	0,894	1	0,727	0,736	0,741	0,728	0,486	0,575	0,573	0,567	0,567	0,57
21	NC_0019	0,669	0,669	0,669	0,669	0,668	0,671	0,669	0,669	0,67	0,667	0,67	0,899	0,899	0,899	0,899	0,899	0,894	0,894	0,894	0,899	0,899	0,899	0,899	0,899	0,894	1	0,727	0,736	0,741	0,728	0,486	0,575	0,573	0,567	0,567	0,57
22	AY12966	0,676	0,675	0,675	0,675	0,675	0,676	0,673	0,673	0,674	0,671	0,674	0,907	0,907	0,907	0,907	0,907	0,902	0,891	0,891	0,926	0,949	0,936	0,475	0,568	0,574	0,591	0,593	0,587	0,591	0,592	0,591	0,59	0,59			
23	EU66568	0,672	0,672	0,671	0,671	0,671	0,672	0,669	0,669	0,671	0,667	0,67	0,906	0,906	0,905	0,905	0,906	0,901	0,893	0,893	0,97	0,946	0,916	0,477	0,562	0,564	0,577	0,577	0,571	0,577	0,576	0,572	0,575	0,57			
24	IPNRDRP	0,674	0,674	0,674	0,673	0,674	0,674	0,672	0,672	0,673	0,67	0,673	0,908	0,908	0,908	0,908	0,908	0,903	0,896	0,896	0,98	0,977	0,935	0,476	0,564	0,568	0,583	0,586	0,58	0,583	0,584	0,583	0,584	0,583	0,582	0,58	
25	KK23459	0,676	0,676	0,676	0,675	0,676	0,677	0,674	0,674	0,675	0,672	0,675	0,905	0,905	0,905	0,905	0,905	0,901	0,891	0,891	0,972	0,965	0,973	0,485	0,573	0,577	0,584	0,584	0,582	0,584	0,582	0,581	0,58	0,58			
26	KY54851	0,643	0,644	0,643	0,642	0,643	0,644	0,643	0,642	0,644	0,64	0,641	0,761	0,761	0,76	0,76	0,761	0,761	0,76	0,762	0,762	0,756	0,755	0,757	0,759	0,52	0,52	0,531	0,54	0,541	0,537	0,54	0,537	0,535	0,53		
27	AY78092	0,734	0,733	0,732	0,731	0,733	0,732	0,732	0,732	0,731	0,728	0,73	0,803	0,803	0,802	0,802	0,803	0,803	0,813	0,813	0,811	0,808	0,809	0,814	0,778	0,965	0,698	0,705	0,705	0,699	0,699	0,702	0,699	0,703			
28	AY78092	0,741	0,741	0,74	0,739	0,741	0,739	0,741	0,741	0,741	0,737	0,739	0,804	0,804	0,803	0,803	0,804	0,804	0,813	0,813	0,813	0,809	0,811	0,817	0,779	0,986	0,724	0,735	0,732	0,728	0,725	0,728	0,725	0,728	0,725	0,73	
29	AJ62282	0,819	0,82	0,816	0,816	0,816	0,817	0,818	0,817	0,816	0,812	0,817	0,801	0,801	0,801	0,801	0,801	0,801	0,802	0,802	0,812	0,808	0,81	0,812	0,78	0,876	0,886	0,955	0,958	0,957	0,957	0,959	0,957	0,95			
30	AY37974	0,818	0,818	0,815	0,816	0,816	0,82	0,822	0,822	0,822	0,817	0,822	0,805	0,805	0,804	0,804	0,805	0,805	0,804	0,806	0,806	0,814	0,809	0,812	0,814	0,783	0,88	0,891	0,981	0,985	0,983	0,982	0,984	0,979	0,978		
31	AY82363	0,818	0,819	0,816	0,816	0,818	0,82	0,823	0,823	0,823	0,819	0,823	0,803	0,803	0,803	0,803	0,803	0,802	0,804	0,804</																	



Şekil 22. Türkiye izolatları ve referans izolatlarda segment B'ye göre Neighbor Joining programı ile 1000 bootstrap yapılarak elde edilen squared filogenetik ağaç



Şekil 23. Türkiye izolatları ve referans izolatlarda segment B'ye göre Neighbor Joining programı ile 1000 bootstrap yapılarak elde edilen phylogram

4.3. Patojenite Testi Sonuçları

Virüs inokulasyonundan sonraki 1-3 günlük süre içerisinde balıkların yem alımında azalma, 1-15 günler arasında bazı balıkların renginde, özellikle balığın sırt kısmında omurga boyunca kararma gözlemlendi (Şekil 25). İnokulasyonunun 3. gününden itibaren balıklar oldukça sağlıklı, yem alımında istekli ve dinç gözlemlenmişlerdir. Enfeksiyondan ölen balıkların iç organlarında ve sağlıklı persiste balıkların bazılarının yüzgeçlerinde hafif hemoraji haricinde bir belirti gözlemlenmedi.



Şekil 25. Virus inokulasyonu sonrası 7. gün örnekleri. A, B, C, D : Kararmış balık, E: Normal görünümlü balık

İlk balık ölümleri virüs verildikten sonraki 5. günde ve 18. günde kontrol grubu balıklarda gözlemlendi. rRT-PCR testi sonucunda IPNV nükleik asiti tespit edilmeyen ölümler enfeksiyona bağlı olmayan ölümler olarak kaydedildi. Kontrol grubundan 5. günde ölen balığın sırt yüzgecinin ventralinde ve yanıl çizgi üzerinde gözlemlenen yuvarlak ve koyu renkli lezyon bölgesinin temizlik esnasında kaza ile balığın hortumla sifonlanması sonucu oluştuğu ve ölümün buna bağlı şekillenmiş olabileceği düşünüldü (Şekil 26).

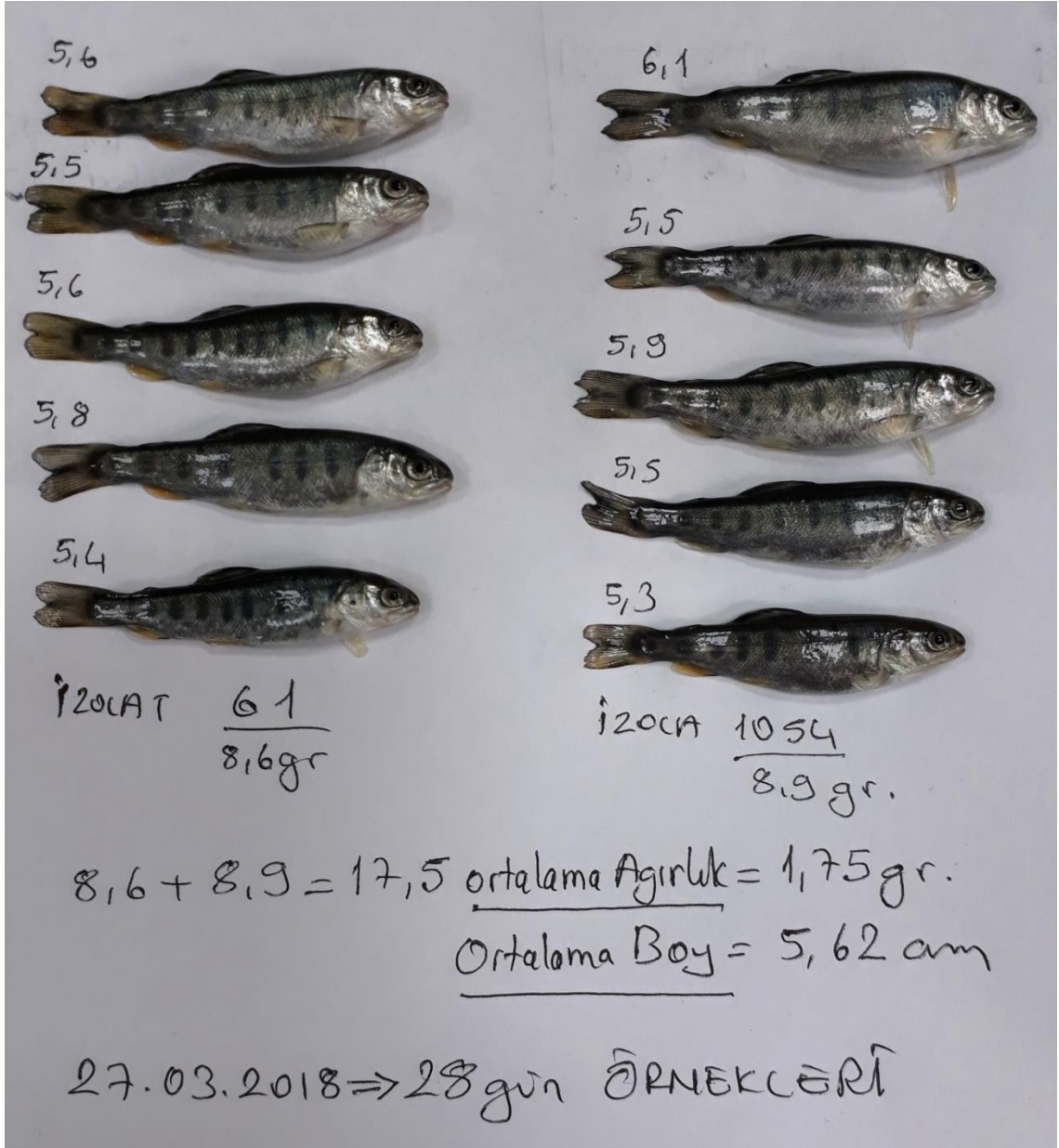
Enfeksiyon sonrası 35 günlük süre içerisinde kontrol grubu gözlem tankından toplam 2 balık (% 1,53) ölüm gerçekleşti. Hah-4 izolatu gözlem tankında 22. günde 1 balık (% 1,42), Hatay07 izolatında 25. günde 1 balık (% 1,42), Almus izolatında 31. günde 1

ve 32. günde 1 balık olmak üzere toplam 2 balık (% 2,85) ölümü gerçekleşti. Uşak05 izolatına ait gözlem takında herhangi bir ölüm gerçekleşmedi. Almus izolatı hah-4 ve Hatay07 izolatından daha yüksek oranda mortalite oluşturmasına rağmen bu sonuçlar patojenite üzerine dikkate değer bir etki olarak değerlendirilmedi.



Şekil 26. Kontrol grubu 5. günde ölen balık

Virüs uygulanan örnekleme tanklarından alınan 5 balıktan oluşan havuzların temsil ettiği tüm balık örneklerinden IPNV RNA'sı saptanması ile denemesi yapılan izolatların gökkuşağı alabalıklarında persiste enfeksiyon oluşturdukları saptandı. Balıklar enfekte edilmeden 1 gün önce boy ve ağırlık ölçümleri yapılmış, ortalama balık boyu 3,92 cm, ortalama balık ağırlığı 0,48 g olarak bulunmuştur. Enfeksiyondan sonra 28. günde yapılan ölçümlerde ise ortalama balık boyu 5.62 cm, ortalama balık ağırlığı 1,75 g olarak bulunmuştur. Balıklar enfekte olmalarına rağmen 28 günlük süre içerisinde ağırlıkları 3,6 kat (% 364) artmıştır (Şekil 27).



Şekil 27. Virüs inokulasyonunun 28. gününde balıkların boy ve ağırlık değerleri

5. TARTIŞMA

Bu çalışma Türkiye’de farklı coğrafik bölgelerdeki ticari gökkuşığı alabalığı çiftliklerinden izole edilen IPNV izolatlarının tüm genom sekansları ile moleküler karakterizasyonlarının yapıldığı ilk çalışmadır. Ülkemizde gökkuşığı alabalığı yaygın olarak yetiştirilmektedir. Bu nedenle gözlü yumurta ve yavru balıklara ülke içerisinde büyük talep vardır. Her yıl ABD’den ülkemize triploid gökkuşığı alabalığı yumurta sevkiyatı yapılmaktadır. Araştırmalardan elde edilen veriler IPNV ile enfekte hayvanların ve hayvansal ürünlerin ülke içi nakilleri, ithalatı, hastalıktan korunma ile mücadele stratejilerinin belirlenmesi ve geliştirilmesi yönünden önemlidir. Bizim çalışmamızda moleküler incelemeler izolatlar arasında çok az genetik farklılıklar olduğunu göstermiştir. Bu az orandaki genetik farklılıklar coğrafi olarak uzak bölgeler arasında balık ve yumurtaların çiftlikler arası transfer edildiklerini ve enfeksiyonun oldukça geniş bir alana yayılmış olduğunu göstermektedir.

Çalışmada kullanılan suşlar farklı bölgelerdeki çiftliklerden farklı zamanlarda izole edilmiş ve -80 °C’de stoklanmıştır. IPNV ile yapılan önceki çalışmalarda CHSE-214 hücre hatlarında 8. pasajdan sonra mutasyon oluşumu rapor edildiğinden (Song ve ark., 2005), çalışmamız sonuçları üzerine muhtemel olumsuz etkilerini ortadan kaldırmak için pasajlar RTG-2 hücre hatlarında yapıldı ve düşük pasaj numaralı suşlar ile çalışıldı. Sekans sıralamaları örneklerin 2’no’lu pasajlarından yapıldı. Elde edilen güvenilir verilerden filogenetik analiz yöntemleri kullanılarak moleküler değerlendirmeler yapıldı.

Segment A yaklaşık 3097 nükleotit baz kapsamakta ve 2 adet ORF içermektedir. Küçük ORF ile büyüklüğü 3,3 kDa’dan 15 kDa’ya varan VP5 proteini kodlanmakta iken büyük ORF ile 106 kDa bir poliprotein (NH₂-pVP2-VP4-VP3-COOH) olan VP2, VP3, VP4 prokursörleri kodlanmaktadır (Manriquez ve ark., 2017). IPNV türleri segment A ve VP2’nin aminoasit sekans sonuçlarına göre coğrafik ve serolojik benzerlikleri dikkate alınarak 7 genogrupta gruplandırılmıştır (Blake ve ark., 2001; Nishizawa ve ark., 2005). Bizim filogenetik analiz sonuçlarımız Türkiye izolatlarının genogrup 5 ve serotip A2 içinde olduğunu Fransa, İspanya ve İran suşları ile yakın ilişkili olduğunu göstermektedir. Serotip A2’in düşük virülense sahip olduğu bilinmektedir (Shivappa ve ark., 2004; Eriksson-Kallio ve ark., 2016). Pro217 suşlarının patojenitesi genellikle konağın stres ve immun sisteminin durumu ile

yakından ilişkilidir (Wem, 2017). Sp serotipi Türkiye izolatlarının Avrupa orijinli olduğu düşünülmektedir.

IPNV Sp serotiplerinde VP2 geninin 217, 221 ve 247 pozisyonlarında bulunan aminoasitlerin virülensi belirleyen majör determinatlar olduğu bildirilmiştir (Santi ve ark., 2005a; Song ve ark., 2005). Thr217 ve Ala221 yüksek virülensle ilişkili, Pro217 ve Ala221 orta ve düşük virülensle ilişkili, Thr221 varyantları avirüenttirler (Shivappa ve ark., 2004; Skjesol ve ark., 2011; Dadar ve ark., 2014). Bu çalışmada virülens motifi Pro217, Thr221 ve Ala247 veya Glu247 olan 7 Türkiye IPNV izolatından 4'ü ile deneysel enfeksiyon oluşturuldu ve mortalite verilerine bağlı olarak virüslerin tamamının avirüent oldukları belirlendi.

Sekans sıralamalarının incelenmesinden yerli izolatların tam ve kesilmiş bir VP5 protein ORF'sini VP2 ve VP4 aralığında kodladıkları saptandı. Genogrup 5 içerisinde bulunan ve Thr221 içeren izolatların hemen hemen hepsi avirüent olup, salmonlarda taşıyıcı veya persiste IPN enfeksiyonların oluşmasından sorumlu oldukları bildirilmektedir (Santi ve ark., 2004; Santi ve ark., 2005b.; Song ve ark., 2005). RNA virüslerinin çevre koşullarına hızlı bir şekilde adapte oldukları bilinmektedir. Zarflı virüslerde dokuya adaptasyon esnasında oluşan mutasyonlar sıklıkla zarf proteinlerinde oluşmaktadır. Zarfsız virüslerde ise adaptasyon mutasyonları genellikle virüs hücre bağlanma ve reseptör tanımlama proteini olarak görev yapan dış kapsit proteinlerinde meydana gelmektedir (Song ve ark., 2005). Bizim çalışmamızda ise Almus ve Hah-4 izolatlarının VP2 geni 247 pozisyonunda ebeveyn virüsten farklı olarak Ala'dan Glu'ya bir nokta mutasyonu gerçekleşmiş olduğu saptanmıştır.

VP5 proteininin start kodonunun başlangıcı değişebilir (Davies ve ark., 2010). VP5'in start kodonunun 68 veya 112 pozisyonunda yerleştiği gösterilmiştir (Heppel ve ark., 1995). Ayrıca Weber ve ark. (2001) ve Shivappa ve ark. (2004) Sp suşlarında ikinci başlangıç metiyonin kodonunun VP5'in başlatılmasında sorumlu olduğunu göstermişlerdir (Weber ve ark., 2001; Shivappa ve ark., 2004). Segment A sekanslarına göre Türkiye suşlarında VP5 start kodonunun 112 nükleotide yerleştiği ve ikinci metiyonin motifinin VP5'in translasyonunun başlatılmasından sorumlu olduğu belirlendi.

Atlantik salmonlarda seksüel olgunlaşma böbrek, karaciğer ve plazmada mx geni ve protein ekspresyonunun artışı uyararak IFN salgılanmasını başlatmaktadır. Mx geni ve protein ekspresyonunun artırılması IPNV prevalansını düşürmekte ve anaçlarda yumurta ile sperm üretimi süresince viral enfeksiyonlara karşı ilave bir

koruma sağlamaktadır. Seksüel olgunlaşma sürecinde mx protein üretimindeki artış IPNV identifikasyonunu potansiyel olarak maskeleyebilir. Bu nedenle IPNV yönünden anaçlarda uygulanan izleme programlarının analitik duyarlılığının sorgulanması gerekir (Fourrier ve ark., 2017). Araştırmacılar 15 kDa VP5 proteininin IFN yanıtı üzerine antagonist etki ettiğini ve mx promotörü ile IFN ekspresyonunun uyarılmasını inhibe ederek virüs replikasyonuna katkı sağladığını bildirmişlerdir (Santi ve ark., 2005a; Skjesol ve ark., 2011). IPNV genomunda VP5'i kodlayan küçük ORF'de çok sayıda hotspot nokta gözükmemektedir. VP5 mutasyonları aminoasit rezidüsü 29, 36, 45 ve 106'yı kapsamaktadır. Bu bölgelerde oluşan değişiklikler sonucunda 3 farklı tip VP5 açığa çıkmaktadır. Tam uzunluğu 133 aa, 15 kDa olan protein, erken stop kodonu nükleotit 427'de olan 12 kDa VP5 proteini ve stop kodonu 199'da olan sadece 28 aminoasit içeren 3,3 kDa proteindir (Jülin, 2013). Çalışmamızda sekanslanan 7 izolatın tamamında bu gen VP5 proteinini kodlamaktadır. Sadece Hatay07 izolatı 511 nükleotit 133 aa tam uzunlukta 15 kDa VP5 proteini kodlarken, Almus, Antalya07, Uşak05, Hah-2, Hah-3 ve Hah-4 izolatlarının ise 496 nükleotitte terminasyona uğrayan 128 aa kesilmiş bir VP5 proteini kodladıkları görülmüştür.

Bu çalışmadaki izolatların 2014 ve 2015'te rapor edilen Türkiye suşları (KF914646 ve KF991533) ile yakın ilişkili oldukları ve % 97,8'in üzerinde benzer oldukları görülmektedir. Filogenetik analizler sonucunda Almus ile Antalya07, Uşak05 ve Hah-4 izolatlarında segment A aminoasitleri % 99'un üzerinde benzerlik gösterdi. Yine Hah-2, Hah-3, Hatay07, Uşak05 ile Antalya07 izolatlarında virüs genomunun bütün nükleotitleri % 99'un üzerinde benzer bulundu. Bu durum farklı yıllarda ve illerde izolasyonu yapılan bu virüslerin kaynağının aynı ve virüsün yıllar ve iller arasında sirküle olduğunu düşündürmüştür. Hah-2 suşu kalkan balıklarından ve Hah-3 suşu alabalıklardan 2010 yılında Trabzon ilinde, Hatay07 suşu ise 2007'de Hatay ilindeki alabalıklardan izole edilmiştir. Kalkan izolatı Hah-2 ile alabalık izolatı Hatay07 ve Hah-3 arasında % 99'dan fazla moleküler benzerlik bulunması bu virüsün balık türleri arasında geçiş yapmış olduğunu düşündürmektedir.

Yerli izolatlarda segment A'nın nükleotit sekansları kendi aralarında % 97,8 ile % 99,8 oranında benzerlik gösterdi. Buna karşın yerli izolatların nükleotit benzerliği uluslararası referans suşlarla karşılaştırıldığında en düşük oranda benzerlik (% 65,7) Kanada suşu (NC001915) ile Hah-3 izolatı arasında bulunurken, en yüksek oranda benzerlik ise (% 98,8) İspanya izolatı (AJ489222) ile Uşak05 ve Antalya07 arasında bulundu.

Segment A'nın aminoasit sekansları kendi aralarında % 98,0 ile % 99,8 oranında benzerlik gösterdi. Buna karşın yerli izolatların aminoasit benzerliği uluslararası referans suşlarla karşılaştırıldığında en düşük oranda benzerlik (% 83,7) Kanada suşu (NC001915) ile Hah-3 izolatı arasında, en yüksek oranda benzerlik ise (% 99,3) Fransa izolatı (AJ622822) ile Hatay07 arasında bulundu.

Yerli izolatlarda segment B'nin nükleotit sekansları kendi aralarında % 97,4 ile % 99,5 oranında benzerlik gösterdi. Buna karşın yerli izolatların nükleotit benzerliği uluslararası referans suşlarla karşılaştırıldığında en düşük oranda benzerlik (% 64,2) Finlandiya suşu (KY548519) ile Ankara10 ve Uşak05 izolatı arasında bulunurken, en yüksek oranda benzerlik ise (% 98,9) Kanada izolatı (M58757), Hatay07, Ankara10 ve Hah-2 arasında bulundu.

Yerli izolatlarda segment B'nin aminoasit sekansları kendi aralarında % 93,5 ile % 99,1 oranında benzerlik gösterdi. Buna karşın yerli izolatların aminoasit benzerliği uluslararası referans suşlarla karşılaştırıldığında en düşük oranda benzerlik (% 52,7) Finlandiya suşu (KY548519) ile Uşak05 ve Hah-3 izolatı arasında, en yüksek oranda benzerlik ise (% 98,4) Kanada izolatı (M58757) ile Hah-2 arasında bulundu.

Balıklarda vücut ağırlığı arttıkça mortalite düşmektedir. Daha büyük balıkların hayatta kalma yüzdesi yüksektir. Yaşın ilerlemesi ve suyun soğukluğu balıkların direnci üzerine olumlu etki etmektedir. IPNV ile enfekte balıklarda hayatta kalma ve mortalite oranını balık türü, su kriterleri, suşun nitelikleri, virülensi ve diğer faktörler de etkilemektedir (Faisal, 2011; Zhu ve ark., 2017). Çalışmamızda gökkuşağı alabalığı frylarında banyo yoluyla IPNV enfeksiyonu başarılı bir şekilde uygulanmıştır. VP5 virülens faktörü olarak rol oynamamıştır. Bizim çalışmamızda deneme tanklarında su ısısının düşük tutulması (11 ± 1 °C sıcaklık), yüksek oksijen seviyesi ($10 \pm 0,7$ mg/l), balıkların günde 3 kez yemlenmesi ve tank temizliğinin yapılması, UV sistemi ile suyun sürekli dezenfekte edilmesi balıklara doğal koşullardan daha iyi ortam sağlamıştır. Bunun sonucu olarak balıkların vücut direnci yüksek olmuştur. Denemeye alınan suşlarda ölüm yüzdelerinin düşük bulunması üzerine yetiştirme koşullarının da etkili olduğu düşünülmektedir.

IPNV'nin virulent suşları hücre kültürlerinde seri pasajlardan sonra virülensini kaybetmektedirler (Dorson ve ark., 1978; McAllister ve Owens, 1986). VP2 geninin 221 pozisyonunda Ala'den Thr'ye doğru oluşan mutasyonlar ile patojen suşlar apatojen hale geçmektedirler (Santi ve ark., 2004). Bu durum virüsün bağlanma gücünü azaltarak etkili salınımına neden olmakta ve buna bağlı olarak virüs yayılımı ile replikasyon

kapasitesi de artırmaktadır (Gadan ve ark., 2013). Virüent IPNV suşlarında balıklar enfeksiyondan 7-9 gün sonra ölmeye başlar ve % 59-70 arası kümülatif mortalite oluştururlar. Pro 217 ve Ala221 izolatları orta derecede (% 36'dan % 47'ye kadar) mortalite oluşturmakta ve virüent suşla karşılaştırıldığında ölümler 2-3 gün daha geç başlamaktadır. Sp sero grubundan pro217 ve Thr211 rezidü içeren ve VP5 kodlayan bir saha izolatu nerdeyse avirüent olup, % 5 (% 3 ile % 8) mortalite oluşturmuştur. Bu oran aynı çalışmadaki kontrol grubunda oluşan ölümlerden (% 4-6) çok farklı bulunmamıştır (Song ve ark., 2005). Araştırmacılar virüsün virülensi azaldıkça ölümlerin geç başladığını rapor etmektedirler. Bizim çalışmamızda virüs uygulanan tanklardaki ilk balık ölümü 21. günde, diğer ölümler ise 25, 31 ve 32. günlerde gerçekleşmiştir. Virüslerin virülensinin düşük olması nedeniyle ölümler geç başlamıştır. Bizim yaptığımız çalışma sonucunda avirüent IPNV suşlarında ölümlerin 20. günden sonra başladığı söylenebilir.

Song ve ark. (2005) yaptıkları çalışmasında VP2 247'deki rezidünün IPNV'nin virülens karakteristiği ile direkt ilişkili olmadığını bildirmişlerdir (Song ve ark., 2005). Dadar ve ark. (2013) İran izolatlarının VP2 virülens motofi Thr221 olmasına rağmen enfekte gökkuşığı alabalığı frylarında orta derecede virüent izolatlarla denk seviyede mortalite oluşturdıklarını tespit etmişler, bunun muhtemelen 247 pozisyonundaki alanin kalıntısı ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Dadar ve ark., 2013). Çalışmamızda ise Türkiye izolatları Thr221, Ala247 ve Glu247 pozisyonunda olduklarından avirüent bulunmuşlar, Ala247 kalıntısının gökkuşığı alabalığı fraylarında orta dereceli virülense neden olmadığı görülmüştür.

Virüs ile enfekte hücrelerde tespit edilen VP5 proteinini kodlayan VP5 geni akuabirnavirüslerde poliprotein veya RdRp gibi korunmamıştır (Santi ve ark., 2005a). Önceki çalışmalarda, VP5'in replikasyon, virülens ve persiste enfeksiyon oluşması için gerekli olmadığı bildirilmektedir (Weber ve ark., 2001). VP5'in virülens üzerine etkisini araştırabilmek için, bir tanesi 12 kDa kesilmiş VP5, diğeri, tam uzunlukta 15 kDa VP5 ve diğeri de VP5 ekspresyonu hiç olmayan 3 izolatla deneme yapılmış ve her 3 virüsün de atlantik salmon smoltlarında % 80 mortalite oluşturdıkları gözlemlenmiştir. VP5 direkt virülens üzerine etki etmemekte, apaoptozisi bloke etmekte ve hücrenin hayatta kalma süresini uzatarak IPNV'ye viral replikasyon için zaman kazandırmak suretiyle patojeniteye dolaylı katkı sağlamaktadır. 15 kDa, 12 kDa ve VP5 olmayan tüm virüslerin persiste enfeksiyon oluşturma kabiliyetine sahip oldukları belirlenmiştir (Santi ve ark., 2005b). Çalışmamızda incelenen izolatların hem 496 nükleotit kesilmiş

bir VP5 proteini ve hem de 511 nükleotit tam bir VP5 proteini kodladıkları gözlemlenmiştir. Bu durumun virüslerin RTG-2 hücre hatlarında üremesi ve persiste enfeksiyon oluşturması üzerine herhangi bir etkisi olmamıştır. Ayrıca deneysel enfeksiyon çalışması yapılan VP5'i eksik ve tam virüslerin patojeniteleri arasında bir farklılık saptanmamıştır.

Bir IPN salgınında meydana gelebilecek mortalite oranı konağın savunması ile virüsün genomik özellikleri (persiste kalabilme yeteneği) arasındaki hassas bir dengeye bağlıdır (Skjesol ve ark., 2011). IPNV-VP2 geninde Thr aminoasit kalıntısının 221 pozisyonunda bulunması taşıyıcılığın uyarılması için önemli bir vurgudur. Thr221 pozisyonunda kodlanan izolatlarla ilgili yapılan bir çalışmada incelenen 80 balıktan 79 unun taşıyıcı olduğu saptanmıştır (Song ve ark., 2005). Çalışmamızda izolatların aminoasit kalıntısı Thr221 pozisyonunda olup deneysel enfeksiyon sonrası izolatların tamamının persiste enfeksiyon oluşturdukları ve 35. günden itibaren viral partikül sayısının μl 'de 39,2'ye kadar düştüğü yapılan rRT-PCR analizleri ile saptanmıştır. Viral RNA tespiti yapılamayan ölümler Almus izolatu gözlem tanklarında 31. ve 32. günlerde gözlemlenmiştir. Almus izolatu tanklarında ölen bu balıklardan viral yükün oldukça düşük ve cihaz tespit limitlerine yakın olması nedeni ile IPNV RNA'sı saptanamadığı düşünülmüştür.

IPNV genogrup 5'in salmonlarda genogrup 1 ve 2'den daha fazla virulent olduğu (Zhu ve ark., 2017) ve PTA motifli suşların atlantik salmonlarda avirulent oldukları bildirilmektedir (Song ve ark., 2005; Dadar ve ark., 2013). Sublinik olarak enfekte olan balık dokularında IPNV oranı genellikle düşüktür (Ørpetveit ve ark., 2010). Bizim çalışmamızda gökkuşağı alabalığı fraylarında Pro217, Thr221, Ala247 ve Glu247 (PTA/PTE) motifli üç tane kesilmiş 128 aminoasit ve bir tane de 133 aminoasit VP5 kodlayan IPNV izolatu ile persiste enfeksiyonlar oluşturuldu. Naif fraylar 0,48 g büyüklükte iken enfekte edildiler ve balıklar enfeksiyondan sonra 5 hafta süreyle takip edildiler. Virüs yükünün en yüksek oranı 21. günde ilk güne oranla 5,30 kat yukarı regüle edildiği saptandı. Viral yük değerlendirildiğinde virüsün oldukça düşük derecede replikasyon kapasitesine sahip olduğu görülmektedir.

Virüsün gaita ile saçılımı, üreme ile ilgili madde ve atıklarda bulunması hem enfeksiyondan arı balık stokları için ve hem de taşıyıcı balık popülasyonlarında IPNV'nin tekrar nüksü için büyük risk oluşturmaktadır (Stangeland ve ark., 1996). Genetik seleksiyon yöntemleri ile IPNV'ye karşı daha fazla dirençli balıklar üretilmiş (Wetten ve ark., 2007) fakat bu çalışmalara rağmen IPNV hala salmon üretim endüstrisi

için ciddi bir problem olmaya devam etmektedir. IPN hastalığına karşı aşilar geliştirilmiş ve 1995 yılından itibaren ticari olarak bu aşilara ulaşilabilmektedir. IPNV aşiları yüksek virü lensli suşlara karşı bir miktar koruma sağlamaktadır. Aşilama olmaksızın mortalite yüksek olmaktadır. Balıkların IPNV'ye karşı bireysel direnci ve yetiştirme koşulları mortalite üzerine belirleyici etki etmektedir (Jülin, 2013).



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1- Bu çalışmada denemesi yapılan IPNV izolatlarının gökkuşağı alabalığı fraylarında persiste enfeksiyon oluşturdukları saptanmıştır. Çıkan veriler ile alabalık üretimi yönetiminde faydalanılabilecek sonuçlara ulaşılmış, epidemiyolojik bağlantılar ve IPNV'den korunmada spesifik sanitasyon yöntemlerinin geliştirilmesine yardımcı olabilecek bilgiler elde edilmiştir.

2- Çalışmamızda incelenen bütün IPNV izolatlarında prolin ve treonin pozisyonu sırasıyla 217 ve 221'dir. Treonin pozisyonunun 221 olması bu izolatların doğal avirüent olmalarının göstergesidir. Tüm çalışmalar göstermiştir ki patojenik izolatlar kesilmiş bir VP5 proteini kodlamaktadır (Santi ve ark.,2005). Ancak kesilmiş VP5 proteini kodlayan her izolat patojenik özellikte değildir. Çalışmamızda denenen izolatlardan Almus, Hah-2 ve Hah-4 izolatları kesilmiş bir VP5 proteini kodlamasına rağmen Pro217 ve Thr221 motifi içermeleri nedeniyle avirüent bulunmuşlardır.

3- Türkiye izolatlarının yapılan filogenetik analizler sonucunda genogrup 5, serotip A2 içerisinde oldukları, Avrupa ve İran IPNV virüsleri ile yakın ilişki içerisinde oldukları saptanmıştır.

4- Damızlık gökkuşağı alabalıkları arasında sağlıklı görünen IPNV taşıyıcılarının varlığı özellikle anaçlarda endişe verici bir durumdur. Bu anaçlardan alınan larva ve yumurtalar aracılığıyla enfeksiyon diğer işletmelere ve bölgelere nakil edilmektedir. IPN'nin vertikal bulaşmasından korunmak için rutin kontroller, anaçlarda IPNV taşıyıcılığının tespiti ve tespit edilen taşıyıcı damızlıkların işletmeden çıkarılmaları yöntemi ile hastalığın yayılma kaynağı ortadan kaldırılmalıdır. Üreticilerin yumurta ve yavru alırken IPNV kontrol testlerini yaptırarak almaları özellikle kuluçkahanelere sertifikasyon zorunluluğunun getirilmesi gerektiği düşünülmektedir.

5- Limanlarda karantina tedbirlerine uyulmalı, ithalatı yapılan canlı balık ve yumurtalarının analizleri yapılmadan yurda girişine izin verilmemeli, yurt içinde patojenleri tespit için tarama çalışmaları rutin olarak yapılmalı ve epidemiyolojik veriler elde edilmelidir. Çiftlik hijyeni ve profilaksiye yönelik seminer eğitim ve kurslar düzenlenmeli, gökkuşağı alabalığı üretimi için pratik bilgiler içeren el kitapları hazırlanmalı ve yetiştiricilere dağıtılması önerilmektedir.

6- Ülkemizde su ürünleri sektörünün güvenli ve hızlı şekilde gelişmesi için IPN hastalığının yayılışının önlenmesi gerekmektedir. Bu enfeksiyon ile mücadeledeki boşluklar ekonomik kayıplar ile sonuçlanmaktadır. Özellikle kuluçkahanelerde önemli

seviyelerde yavru kayıplarına neden olan enfeksiyonla mücadele kuluçkahanelere yerleşen ve eliminasyonu zor olan “persiste IPNV suşları”nın varlığı nedeniyle kolay olmamaktadır. Etkili aşuların geliştirilmesi ve pazara sunulması hastalıkla mücadeleye katkı sağlayacaktır.



KAYNAKLAR

- Ahmadivand S, Soltani M, Behdani M, Evensen Ø, Alirahimi E, Soltani E, Hassanzadeh R, Ashrafi-Helan J. VP2 (PTA motif) encoding DNA vaccine confers protection against lethal challenge with infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in trout. *Mol Immunol* 2018; 94: 61-67.
- Albayrak H, Özcan E. Gökkuşuğu alabalıklarında (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) infeksiyöz pankreatik nekrozis ve infeksiyöz hematopoietik nekrozis virus enfeksiyonlarının varlığının araştırılması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg* 2010; 57: 125-129.
- Albayrak H. Türkiye’de izole edilen infeksiyöz pankreatik nekroz virusu saha suşlarının genetik analizi ve moleküler karakterizasyonu: klasik ve rekombinant aşı denemeleri ve teşhis kiti geliştirilmesi. Ondokuz Mayıs Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Samsun, Tubitak projesi, Proje No: 213O156, 2017; 1-114.
- Allnutt FC, Bowers RM, Rowe CG, Vakharia NV, LaPatra SE, Dhar AK. Antigenicity of infectious pancreatic necrosis virus VP2 subviral particles expressed in yeast. *Vaccine* 2007; 25: 4880–4888.
- Alonso M, Leong JA. Licensed DNA vaccines against infectious hematopietic necrosis virus (IHNV). *Recent Pat DNA Gene Seq* 2013; 7: 62–65.
- Anon 2006. Infectious pancreatic necrosis. in: manual of diagnostic tests for aquatic animals, Chapter 2.1.8; 176–185. World Organisation for Animal Health, Paris, France. <http://www.oie.int/doc/ged/D6505.pdf>, 2018.
- Arpaia N, Barton GM. Toll-like receptors: key players in antiviral immunity. *Curr Opin Virol* 2011; 1: 447–454.
- Bain N, Gregory A, Raynard SR. Genetic analysis of infectious pancreatic necrosis virus from Scotland. *J Fish Dis* 2008; 31: 37-41.
- Blake S, Ma JY, Caporale DA, Jairath S, Nicholson BL. Phylogenetic relationships of aquatic birnaviruses based on deduced amino acid sequences of genome segment A cDNA. *Dis Aquat Org* 2001; 45: 89–102.
- Bootland LM, Dobos P, Stevenson RMW. The IPNV carrier state and demonstration of vertical transmission in experimentally infected brook trout. *Dis Aquat Org* 1991; 10: 13–21.
- Bowers RM, LaPatra SE, Dhar AK. Detection and quantitation of infectious pancreatic necrosis virus by realtime reverse transcriptase-polymerase chain reaction using lethal and non-lethal tissue sampling. *J Virol Methods* 2008; 147: 226–234.
- Brun E. Epidemiology in: IPN in salmonids: a review. (ed. by E. Rimstad, O. Evensen, R. Stagg, E. Brun, P. Midtlyng, LH. Johansen, I.J.). FHL havbruk, VESO, Trondheim 2003; 51–67.

- Bruslind LD, Reno PW. Virulence comparison of three buhl-subtype isolates of infectious pancreatic necrosis virus in brook trout fry. *J Aquat Anim Health* 2000; 12: 301–315.
- Candan A. First report on the diagnosis of infectious pancreatic necrosis (IPN) based on reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) in Turkey. *Bull Eur Ass Fish Pathol* 2002; 22 (1): 45-48.
- Castric J, Baudin-Laurench F, Cowtwins MF, Auffret M. Isolation of infectious pancreatic necrosis virus Ab serotype from a epizootic in farmed turbot (*scophthalmus maximus*) and scallups (*pecten maximus*). *Aquaculture* 1987; 67: 117-126.
- Chaves-Pozo E, Montero J, Cuesta A, Tafalla C. Viral hemorrhagic septicemia and infectious pancreatic necrosis viruses replicate differently in rainbow trout gonad and induce different chemokine transcription profiles. *Dev Comp Immunol* 2010; 34: 648–658.
- Chaves-Pozo E, Ayala GA, Cabas I. Effects of sex steroids on fish leukocytes. *Biology* 2018; 7(9): 1-21.
- Crane JM, Hardy-Smith P, Williams LM, Hyatt AD, Eaton LM, Gould A, Handlinger J, Kattenbelt J, Gudkovs N. First isolation of an aquatic birnavirus from farmed and wild fish species in Australia. *Dis Aquat Org* 2000; 43: 1–14.
- Cuesta A, Chaves-Pozo E, De Las Heras AI, Saint-Jean RS, Perez-Prieto S, Tafalla C. An active DNA vaccine against infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) with a different mode of action than fish rhabdovirus DNA vaccines. *Vaccine* 2010; 28: 3291–3300.
- Dadar M, Peygham R, Memari RH, Shapouri ASMR, Hasanzadeh R, Goudarzi LM, Vakharia NV. Sequence analysis of infectious pancreatic necrosis virus isolated from Iranian reared rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in 2012. *Virus Genes* 2013; 47; 574–578.
- Dadar M, Peygham R, Memari RH, Shapouri ASMR, Hasanzadeh R, Goudarzi LM, Vakharia NV. Infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) based on deduced amina acid sequences of genom segment A and B cDNA. *Iran J Fish Sci* 2014; 13: 560-575.
- Dadar M, Memari RH, Vakharia NV, Peygham R, Shapouri ASMR, Mohammadian T, Hasanzadeh R, Ghasemi M. Protective and immunogenic effects of *Escherichia coli*-expressed infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) VP2-VP3 fusion protein in rainbow trout. *Fish Shellfish Immunol* 2015; 47: 390-396.
- Darling AJ, Boose JA, Spaltro J. *Virus Assay Methods: Accuracy and Validation*. *Biologicals* 1998; 26: 105–110.

- Davies KR, Mccoll KA, Wang LF, Yu M, Williams LM, Crane MSJ. Molecular characterisation of Australasian isolates of aquatic birnaviruses. *Dis Aquat Org* 2010; 93: 1- 15.
- De Las Heras AI, Prieto PSI, Saint-Jean RS. In vitro and in vivo immune responses induced by a DNA vaccine encoding the VP2 gene of the infectious pancreatic necrosis virus. *Fish Shellfish Immunol* 2009; 27: 120-129.
- Dhar AK, Manna SK, Allnutt TF. Viral vaccines for farmed finfish. *Indian J Virol* 2014; 25: 1-17.
- Dobos, P. Size and structure of the genome of infectious pancreatic necrosis virus. *Nucleic Acids Res* 1976; 3: 1903–1924.
- Dobos P. The molecular biology of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV). *Ann Rev Fish Dis* 1995; 5: 25-54.
- Dorson M, Castric J, Torchy C. Infectious pancreatic necrosis virus of salmonids: biological and antigenic features of a pathogenic strain and of a non-pathogenic variant selected in RTG-2 cells. *J Fish Dis* 1978; 1: 309– 320.
- Drake JW, Holland JJ. Mutation rates among RNA viruses. *Nat Acad Sci* 1999; 96: 13910–13913.
- Duncan R, Mason CL, Nagy E, Leong JA, Dobos P. Sequence analysis of infectious pancreatic necrosis virus genome segment B and its encoded VP1 protein: a putative RNA-dependent RNA polymerase lacking the Gly-Asp-Asp motif. *Virology* 1991; 181: 541–552.
- Durmaz Y, Albayrak H. Balıklarda viral enfeksiyonlara karşı immun sistemin işleyişi. *Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg* 2016; 11(3): 355-363.
- Eriksson-Kallio AM, Holopainen R, Viljamaa-Dirks S, Vennerstrom P, Kuukka-Anttila H, Koski P, Gadd T. Infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) strain with genetic properties associated with low pathogenicity at Finnish fish farms. *Dis Aquat Org* 2016; 118: 21–30.
- Estévez AR, Mostazo CGM, Rodriguez E, Espinoza CJ, Kuznar J, Jónsson OZ, Guðmundsson HG, Maier HV. Inducers of salmon innate immunity: An in vitro and in vivo approach. *Fish Shellfish Immunol* 2018; 72: 247–258.
- Faisal M. Detection of viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) from *Diporeia* spp. (Pontoporeiidae, Amphipoda) in the Laurentian Great Lakes, USA. *Parasites Vectors* 2011; 4: 1–4.
- Flores-Mara R, Rodriguez HF, Bangerab R, Lhorente PJ, Neira R, Newman S, Yáñez MJ. Resistance against infectious pancreatic necrosis exhibits significant genetic variation and is not genetically correlated with harvest weight in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 2017; 479: 155-160.

- Fourrier MCS, Monte MM, Munro ES. Sexual maturation in Atlantic salmon induces a constitutive Mx protein production and influences the infectious pancreatic necrosis virus carrier-status. *Fish Shellfish Immunol* 2017; 62 : 217-220.
- Gadan K, Sandtrq A, Marjara SI, Santi N, Munang'andu MH, Enensen Q. Stress-induced reversion to virulence of infectious pancreatic necrosis virus in naïve fry of atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Plos One* 2013; 8 (2) : 1-12.
- Guo M, Shi W, Wang Y, Wang Y, Chen Y, Li D, Ren X, Hua X, Tang L, Li Y, Liu M. Recombinant infectious hematopoietic necrosis virus expressing infectious pancreatic necrosis virus VP2 protein induces immunity against both pathogens. *Fish Shellfish Immunol* 2018; 78: 187–194.
- Hannah MF, Bajic VB, Klein SL. Sex differences in the recognition of and innate antiviral responses to Seoul virus in Norway rats. *Brain Behav Immun* 2008; 22: 503-516.
- Heppell J, Tarrab E, Berthiaume L, Lecomte J, Arella MJ. Characterization of the small open reading frame on genome segment A of infectious pancreatic necrosis virus. *J Gen Virol* 1995; 76: 2091–2096.
- Heppell J, Davis HL. Application of DNA vaccine technology to aquaculture. *Adv Drug Deliv Rev* 2000; 43(1): 29-43.
- Hicks BA, Etter SJ, Carnahan KG, Joyce MM, Assiri AA, Carling SJ, Kodali K, Johnson GA, Hansen TR, Mirando MA, Woods GL. Expression of the uterine Mx protein in cyclic and pregnant cows, gilts, and mares, *J Anim Sci* 2003; 81: 1552-1561.
- Hill BJ, Way K. Serological classification of infectious pancreatic necrosis (IPN) virus and other aquatic birnaviruses. *Annu Rev Fish Dis* 1995; 5: 55–77.
- Jensen I, Larsen RL, Robertsen B. An antiviral state induced in Chinook salmon embryo cells (CHSE-214) by transfection with the double-stranded RNA poly I: C. *Fish Shellfish Immunol* 2002; 13: 367-378.
- Ji F, Zhao ZJ, Liu M, Lu YT, Liu BH, Yin J, Xu ML. Complete genomic sequence of an infectious pancreatic necrosis virus isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in China. *Virus Genes* 2017; 53: 215-225.
- Johansen LH, Sommer AI. Multiplication of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in head kidney and blood leukocytes isolated from Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *J Fish Dis* 1995; 18: 147–156.
- Julin K, Mennen S, Sommer AI. Study of virulence in field isolates of infectious pancreatic necrosis virus obtained from the northern part of Norway. *J Fish Dis* 2013; 36: 89–102.

- Kalaycı G, İnçoğlu Ő, Özyer ÖB. İnfeksiyöz pankreatik nekrozis virusunun (IPNV) üç farklı serotipine karşı tavşanlarda nötralizan antiserum üretimi. *Bornova Vet Kont Arařt Enst Derg* 2010; 32 (46): 11-17.
- Kalaycı G, İnçoğlu Ő, Özyer ÖB, Küçükali Y. Türkiye’de infeksiyöz pankreatik nekrozis ve viral hemorajik septisemi hastalıklarının durumu. *Bornova Vet Bil Derg* 2012; 34 (48): 31-38.
- Kristoffersen BA, Devold M, Aspehaug V, Gjelstenli O, Breck O, Jensen BB. molecular tracing confirms that infection with infectious pancreatic necrosis virus follows the smolt from hatchery to grow-out farm. *J Fish Dis* 2018; 1-7.
- Lauksund S, Tollersrud GL, Chang JC, Robertsen B. Infectious pancreatic necrosis virus proteins VP2, VP3, VP4 and VP5 antagonize IFN α 1 promoter activation while VP1 induces IFN α 1. *Virus Research* 2015; 196: 113–121.
- Liu M, Vakharia NV. Nonstructural protein of infectious bursal disease virus inhibits apoptosis at the early stage of virus infection. *J Virol* 2006; 80: 3369–3377.
- Lockhart K, Bowden TJ, Ellis AE. Poly I: C-induced Mx responses in atlantic salmon parr, post-smolts and growers. *Fish Shellfish Immunol* 2004; 17: 245–254.
- Lorenzen E, Carstensen B, Olesen NJ. Interlaboratory comparison of cell lines for susceptibility to three viruses: VHSV, IHNV and IPNV. *Dis Aquat Org* 1999; 37: 81-88.
- Mackay IM, Arden KE, Nitsche A. Real-time PCR in virology. *Nucleic Acids Res* 2002; 30: 1292–1305.
- Manríquez AR, Vera T, Villalba VM, Mancilla A, Vakharia NV, Yañez JA, Cárcamo GJ. Molecular characterization of infectious pancreatic necrosis virus strains isolated from the three types of salmonids farmed in Chile. *Virol J* 2017; 14 (17): 1-16.
- Matvienko N, Rud Y, Buchatsky L. Replication of infectious pancreatic necrosis virus in different cell lines and in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. *Arch Pol Fisheries* 2014; 22: 127-133.
- McAllister PE, Owens WJ. Infectious pancreatic necrosis virus: protocol for a standard challenge to brook trout. *Trans Amer Fish Soc* 1986; 115: 466–470.
- Moen T, Torgersen J, Santi N, Davidson WS, Baranski M, Ødegård J, Kjølglum S, Velle B, Kent M, Lubieniecki KP, Isdal E, Lien S. Epithelial cadherin determines resistance to infectious pancreatic necrosis virus in atlantic salmon. *Genetics* 2015; 200: 1313–1326.
- Munang’andu HM, Sandtro A, Mutoloki S, Brudeseth BE, Santi N, Evensen O. Immunogenicity and cross protective ability of the central VP2 amino acids of infectious pancreatic necrosis virus in atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *PLoS One* 2013; 8: 54263-54273.

- Mutoloki S, Evensen Ø. Sequence similarities of the capsid gene of Chilean and European isolates of infectious pancreatic necrosis virus point towards a common origin. *J Gen Virol* 2011; 92: 1721–1726.
- Nakajima K, Maeno Y, Arimoto M, Inouye K, Sorimachi M. Viral deformity of yellowtail fingerlings. *Fish Pathol* 1993; 28: 125-129.
- Nishizawa T, Kinoshita S, Yoshimizu M. An approach for genogrouping of Japanese isolates of aquabirnaviruses in a new genogroup VII based on the VP2/NS junction region. *J Gen Virol* 2005; 86: 1973-1978.
- Ørpetveit I, Mikalsen BA, Sindre H, Evensen Ø, Dannevig HB, Midtlyng JP. Detection of Infectious pancreatic necrosis virus in subclinically infected atlantic salmon by virus isolation in cell culture or real-time reverse transcription polymerase chain reaction: influence of sample preservation and storage. *J Vet Diagn Invest* 2010; 22: 886–895.
- Pedersen T, Skjesol A, Jørgensen BJ. VP3 a Structural protein of infectious pancreatic necrosis virus, interacts with RNA-dependent RNA polymerase VP1 and with double-stranded RNA. *J Virol* 2007; 81(12): 6652-6663.
- Pham HP, Sokeechand HSB, Garver AK, Jones G, Lumsden SJ, Bols CN. Fish viruses stored in RNAlater can remain infectious and even be temporarily protected from inactivation by heat or by tissue homogenates. *J Virol Methods* 2018; 253: 31-37.
- Ramstad A, Midtlyng PJ. Strong genetic influence on IPN vaccination and challenge trials in atlantic salmon, *Salmo salar* L. *J Fish Dis* 2008; 31: 567–78.
- Randall RE, Goodbourn S. Interferons and viruses: an interplay between induction, signalling, antiviral responses and virus countermeasures. *J Gen Virol* 2008; 89: 1–47.
- Roberts RJ, Pearson MD. Infectious pancreatic necrosis in atlantic salmon, *salmo salar* L. *J Fish Dis* 2005; 28: 383–390.
- Rud YP, Maistrenko MI, Buchatskiy LP. Characterization of an infectious pancreatic necrosis virus from rainbow trout fry (*Onchorhynchus mykiss*) in West Ukraine. *Virology Sinica* 2015; 30: 231–233.
- Salgado-Miranda C, Anaya ER, Espinosa GG, Rubio LE. Molecular Characterization of the VP2 Gene of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) isolates from Mexico. *J Aquat Anim Health* 2014; 26: 43-51.
- Santi N, Vakharia NV, Evensen Ø. Identification of putative motifs involved in the virulence of infectious pancreatic necrosis virus. *Virology* 2004; 322: 31–40.
- Santi N, Sandtro A, Sindre H, Song HC, Hong JR. Infectious pancreatic necrosis virus induces apoptosis in vitro and in vivo independent of VP5 expression. *Virology* 2005a; 342: 13–25.

- Santi N, Song H, Vakharia NV, Evensen Ø. Infectious pancreatic necrosis virus VP5 is dispensable for virulence and persistence. *J Virol* 2005b; 79: 9206–9216.
- Shivappa RB, Song H, Yao K, Aas-Eng A, Evensen Ø, Vakharia NV. Molecular characterization of Sp serotype strains of infectious pancreatic necrosis virus exhibiting differences in virulence. *Dis Aquat Org* (2004); 61: 23–32.
- Skjesol A, Skjæveland I, Elnæs M, Timmerhaus G, Fredriksen BN, Jørgensen SM, Krasnov A, Jørgensen JB. IPNV with high and low virulence: host immune responses and viral mutations during infection. *Virol J* 2011; 10: 8-396.
- Soltani M, Rouholahi S, Mousavi EAH, Abdi K, Zargar A, Mohamadian S. Genetic diversity of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Iran. *Bull Eur Ass Fish Pathol* 2014; 34(5): 154-165.
- Song H, Santi N, Evensen Ø, Vakharia NV. Molecular determinants of infectious pancreatic necrosis virus virulence and cell culture adaptation. *J Virol* 2005; 79 (16):10289–10299.
- Song H, Baxter-Roshek LJ, Dinman DJ, Vakharia NV. Efficient expression of the 15-kDa form of infectious pancreatic necrosis virus VP5 by suppression of a UGA codon. *Virus Research* 2006; 122; 61-68.
- Stangeland K, Hoie S, Taksdal T. Experimental induction of infectious pancreatic necrosis in atlantic salmon, *salmo salar* L, post-smolts. *J Fish Dis* 1996; 19: 323–327.
- Sudhagar A, Kumar G, Matbouli EM. Transcriptome analysis based on RNA-seq in understanding pathogenic mechanisms of diseases and the immune system of fish: A comprehensive review. *Int J Mol Sci* 2018; 245 (19): 1-22.
- Suebsing R, Myung-JOO OH, Kim HJ. Evaluation of rapid and sensitive reverse transcription loop-mediated isothermal amplification method for detecting Infectious pancreatic necrosis virus in chum salmon (*Oncorhynchus keta*) introduction. *Journal of J Vet Diagn Invest* 2011; 23(4): 704– 709.
- TÜİK 2018. Türkiye İstatistik Kurumu. Su ürünleri istatistikleri. Ankara (TÜİK). <http://www.tuik.gov.tr/PreHaberBultenleri.do?id=27669>, 2018.
- Weber S, Fichtner D, Mettenleiter TC, Mundt E. Expression of VP5 of infectious pancreatic necrosis virus strain VR299 is initiated at the second in-frame start codon. *J Gen Virol* 2001; 82: 805–812.
- Wen MC. Complete genome sequence and phylogenetic analyses of an aquabirnavirus isolated from a diseased marbled eel culture in Taiwan. *Arch Virol* 2017; 162:2467–2471.

- Wetten M, Aasmundstad T, Kjøglum S, Storset A. Genetic analysis of resistance to infectious pancreatic necrosis in atlantic salmon (*salmo salar* L.). *Aquaculture* 2007; 272: 111–117.
- Yao K, Vakharia NV. Generation of infectious pancreatic necrosis virus from cloned cDNA. *J Virol* 1998; 72(11); 8913-8920.
- Yoshida GM, Carvalheiro R, Francisco H, Rodríguez FH, Jean P, Lhorente JP, Yáñez JM. Single-step genomic evaluation improves accuracy of breeding value predictions for resistance to infectious pancreatic necrosis virus in rainbow trout. *Genomics* 2018; 7543(18): 30021-1. <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2018.01.008>
- Zhu L, Wang X, Wang K, Yang Q, He J, Qin Z, Geng Y, Ouyang P, Huang X. Outbreak of infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in farmed rainbow trout in China. *Acta Trop* 2017; 170: 63-69.

EKLER

EK. 1 Segment A Sekans Analiz Sonuçları

LOCUS BSeq#1 3097 bp RNA linear VRL 12-JUL-2018

DEFINITION Infectious pancreatic necrosis virus strain Hatay07

ACCESSION BSeq#1 - MH614926

VERSION

KEYWORDS .

SOURCE Infectious pancreatic necrosis virus

ORGANISM Infectious pancreatic necrosis virus

Viruses; dsRNA viruses; Birnaviridae; Aquabirnavirus.

REFERENCE 1 (bases 1 to 3097)

AUTHORS ALBAYRAK,H.

TITLE Complete genomic sequence of an infectious pancreatic necrosis virus isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 3097)

AUTHORS ALBAYRAK,H.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (12-JUL-2018) Ondokuz Mayıs University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Virology, Kurupelit, Atakum, Samsun 55139, TURKEY

COMMENT Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:1.

##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..3097

/organism="Infectious pancreatic necrosis virus"

/mol_type="genomic RNA"

/strain="Hatay"

/serotype="Sp"

/host="Rainbow trout"

/db_xref="taxon:11002"

/cell_line="RTG-2"

/country="TURKEY"

/collection_date="2007"

/serogroup="A"

CDS <119..3037

/note="VP2-VP4-VP3 precursor"

/codon_start=1

/product="polyprotein"

/translation="MNTNKATATYLKSIMLPETGPASIPDDITERHILKQETSSYNLE

VSESGSILVCFPGAPGSRIGAHYRWANQTGLEFDQWLETSQDLKAFNYGRLISRK

YDIQSSTLPAGLYALNGTLNAAATFEGSLSEVESLTYNLSLMLTTNPQDKVNNQLVTKG

VTVLNLPFGFDKPYVRLDETPQGLQSMNGARMRCTAAIAPRRYEIDLPSQSLPPVPA

TGTLTLLYEGNADIVNSTTVTGDINFLAEQPANETRFDFQLDFMGLDNDVPVVTVVS

SVLATNDNYRGSVAKMTQSIPTENITKPITRVKLSYKINQQTAIGNVATLGMTGPASV

SFSSGNGNVPGLRPITLVAYEKMTPLSILTVAGVSNYELIPPELLKNMVTRYGKYD

PEGLNYAKMILSHREELDIRTVWRTEEYKERTRVFNEITDFSSDLPTS KAWGWRDIVR

GIRKVAAPVLSTLFPMAAPLIGMADQFIGDLTKTNAAGGRYH SMAAGGRYKDVLESWA

SGGPDGKFSRALKNRLESANYEEVELPPPSKGVIVPVVHTVKSAPGEAFGSLAIIPG

EYPELLDANQQVLSHFANDTGSVWGIGEDIPFEGDNMCYTALPLKEIKRNGNIVVEKI

FAGPIMGPSAQLGLSLLVNDIEDGVPRMVFTGEIADDEETIIPICGVDIKAI AAEHQG

LPLIGNQPGVDEEVRNTSLAAHLIQTGLPVQRAKGSNKRIKYLGELMASNASGMDEE
LQRLNATMARTKEVQDAEYKLLKLMWTRKNDLTDHMYEWSKEDPDALKFGKLIST
PPKHPEKPKGPDQHHAEARATRISLDAVRAGADFATPEWVALNNYRGPSPGQFKYYL
ITGREPEPGDEYEDIKQPIVKPTDMNKIRRLANSVYGLPHQEPAPEEFYDAVAVFA
QNGGRGPDQDQMQLRELARQMKRRPRNADAPRRTRAPAEPAPPGRSRFTPSGDNAEV
"

BASE COUNT 893 a 918 c 800 g 486 t

ORIGIN

1 gaaagagag tttaacggt agtggaacc cagagcggg gagctctac ggaggagctc
61 tccgtgatg gcaaaagccc ttctaaca acaacaac aatctatc aatgcaagat
121 gaacacaaac aaggcaacc caactact gaaatcatt atgctccag agactggacc
181 agcaagcatc ccggacgaca taacggagag acacatcta aaacaagaga cctcgtcata
241 caacttagag gtctccgaat caggaagtgg cattctgtt tgtttccctg gggcaccagg
301 ctacggatc ggtgcgact acagatggaa tgcgaaccag acggggctgg agttcgacca
361 gtggctggag acgtcgagg acctgaagaa agcctcaac tacggggagg tgatctcaag
421 gaaatacgac attcaaagct ccacactacc ggccgtctc tatgctctga acgggagct
481 caacgtgcc acctcgaag gcagtctgc tgaggtggag agcctgacct acaacagct
541 gatgtcccta accacgaacc cccaggacaa agtcaacaac cagctgtga ccaaaggagt
601 caccgtcctg aatctacca cagggttca caaacatac gtccgctag aggacgagac
661 acccagggt ctccagtaa tgaacggggc caggatgagg tgcacagctg caattgacc
721 acggaggtac gagatcgacc tccatccca aagcctacc cccgttctg cgacaggaac
781 cctcaccact ctctacgagg gaaacgccga catcgtcaac tccacaacag tgacgggaga
841 cataaactc agtctggcag aacaaccgc aaacgagacc agttcact tccagctgga
901 ttcagctggc ctgacaatg acgtcccagt ggtcacagtg gtcagctcg tgctggccac
961 aaacgacaac tacagaggag tctcagcaa gatgaccag tccatccga cggagaacat
1021 caccaagccg ataccaggg tcaagctgtc atacaagatc aaccagcaga cagcaattg
1081 caatgtgcc actctgggca caatgggtcc agcatcgtc tcttttcat cggggaacgg
1141 aaatgtccc ggcgtgtca gaccaattac actggtggca tatgagaaga tgacaccgt
1201 gtccatcctg accgtagctg gtagtccaa ctacgagtg atcccaaac cagaactct
1261 caagaacatg gtgacacgt atggcaagta cgacccgaa ggtctcaact atgcaagat
1321 gatcctgtcc cacagggaag agctggacat caggacagtg tggaggacag aggagtaca
1381 ggagaggacc agagtctca acgaaatcac agacttccc agtgacctgc ccactgaaa
1441 ggcatggggc tggagagaca tagtcagagg aattcgaaa gtcgagctc ctgtactgtc
1501 aacgtgttt ccaatggcag caccactcat agaatggca gaccaattca ttggagatc
1561 caccaagacc aacgagcag gcggaaggta cactccatg gccgaggag ggcgctaca
1621 agacgtgctc gagtctggg caagcggagg gccgacgga aaattctcc gagccctca
1681 gaacaggctg ggtccgca actacgagg agtcgagctt ccacccctc caaaaggagt
1741 catcgtccc gtggtgcaca cagtaagag tgcaccaggc gaggcattcg ggtccctggc
1801 aattataatt ccgggggagt acccagact tctagatcc aaccagcagg tctatccca
1861 cttcgcaaac gacaccggga gcgtgtgggg cataggagag gacatacctc tcgagggaga
1921 caacatgtc tacactgac tccactcaa ggagatcaag agaaacggga acatagtagt
1981 cgagaagatc ttgtctggc caattatggg tccctctgt caactaggac tgtccctact
2041 tgtgaacgac atcagaggac gattccaag gatgtattc accggcgaaa tgcgatga
2101 cgaggagaca atcatacaa tctcgggtg agacataaa gccatcgag cccacgaaca
2161 agggctgcca ctatcggca accaaccagg agtggacgag gagggtcgaa acacatcct
2221 ggccgacac ctgatccga ccgggacct gcccgtaaa cgcgcaaagg gttccaaca
2281 gaggatcaag tacctgggag agctgatgg atcaaatgca tccggatgg acgaggaact
2341 gcaacgctc ctgaacgca caatggcag gaccaaagaa gtccaggacg ccgagatcta
2401 caaacttct aagctatgg catggaccag aaagaacgac ctaccgacc acatgtacga
2461 gtggtcaaaa gaggaccgg atgactaaa gttcgaaaag ctatcagca cgcacacaa
2521 gcaccctgag aagcccaag gaccagaca acaccagcc caagaggcga gagccaccg
2581 catatcactg gacccgtga gagccggggc ggacttcc acaccggagt ggtcgcgt
2641 gaacaactac cgcggacat ctccgggca gttcaagta ctctgatca ctggacgaga
2701 accagaacca ggcgacgag acgaggacta cataaaaca cccatcgtga aaccgaccg
2761 catgaacaaa atcagagctc tagccaacag tgtgtacggc ctccacacc aggaaccagc
2821 accagaggag ttctatgat cagttgacg gtattcga cagaacggag gcagaggtc
2881 cgaccaggac caaatgcaag acctcagga gtagcaaga cagatgaaac gacgacccc

2941 gaacgccgat gcaccacgga gaaccagagc gccagcggaa ccggcaccgc ccggacgctc
3001 aaggttacc cccagcggag acaacgctga ggtgtaacga ctactcttt tctgactga
3061 tcccctggcc aaaacccgg cccccaggg ggcccc

//

LOCUS BSeq#1 3097 bp RNA linear VRL 12-JUL-2018

DEFINITION Infectious pancreatic necrosis virus isolate Antalya07

ACCESSION BSeq#1 - MH614927

VERSION

KEYWORDS .

SOURCE Infectious pancreatic necrosis virus

ORGANISM Infectious pancreatic necrosis virus

Viruses; dsRNA viruses; Birnaviridae; Aquabirnavirus.

REFERENCE 1 (bases 1 to 3097)

AUTHORS ALBAYRAK,H.

TITLE Complete genomic sequence of an infectious pancreatic necrosis virus isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 3097)

AUTHORS ALBAYRAK,H.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (12-JUL-2018) Ondokuz Mayis University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Virology, Kurupelit, Atakum, Samsun 55139, TURKEY

COMMENT Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:1.

##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..3097

/organism="Infectious pancreatic necrosis virus"

/mol_type="genomic RNA"

/serotype="Sp"

/isolate="Antalya"

/host="Rainbow trout"

/db_xref="taxon:11002"

/cell_line="RTG-2"

/country="TURKEY"

/collection_date="2007"

/serogroup="A"

CDS 119..3037

/note="VP2-VP4-VP3 precursor"

/codon_start=1

/product="polyprotein"

/translation="MNTNKATATYLKSIMLPETGPASIPDDITERHILKQETSSYNLE

VSESGSILVCFPGAPGSRIGAHYRWANQTGLEFDQWLETSQDLKAFNYGRLISRK

YDIQSSTLPAGLYALNGTLNAAATFEGSLSEVESLTYNLSLMLTTNPQDKVNNQLVTKG

VTVLNLPFGFDKPYVREDETPQGLRSMNGAKMRCTAAIAPRRYEIDLPSQRLPPVPA

TGTLTLLYEGNADIVNSTTVTGDINFSLAQQPANETKFHFQLDFMGLDNDVPVTVVS

SVLATDDNYRGSVAKMTQSIPTENITKPITRVKLSYKINQQTAIDNVATLGAMGPSV

SFSSGNGNVPGVLRPITLVAYEKMTQPQSILTVAGVSNYELIPNPELLKNMVMTRYGKYD

PEGLNYAKMILSHREELDIRTVWRTEEYKERTRVFNEITDFSSDLPTS KAWGWRDIVR

GIRKVAAPVLSTLFPMAAPLIGMADQFIGDLTKTNAAGGRYHSIAAGGRYKDVLESWA

SGGPEGKFSRALKNRLESANYEEVELPPPSKGVIVPVVHTVKSAPGEAFGSLAIIIPG

EYPELLDANQQVLSHFANDTGSVWGIGEDIPFEGDNMCYTALPLKEIKKNGNIVVEKI

FAGPIMGPSAQLGLSLLVNDIEDGVPRMVFTGEIADDEETIIPICGVDIKAI AAEHQG

LPLIGNQPGVDEEVRNTSLAAHLIQTGLPVQRAQGSNKRIKYLGELMASNASGMDEE
LQRLNATMARTKEVQDAEYKLLKLMWTRKNDLTDHMYEWSKEDPDALKFGKLIST
PPKHPEKPKGPDQHHAEARATRISLDAVRAGADFATPEWVALNNYRGPSPGQFKYYL
ITGREPEPGDEYEDIKQPIVKPTDMNKIRRLANSVYGLPHQEPAPEEFYDAVAVFA
QNGGRGPDQDQMQLRELARQMKRRPRNADAPRRTRAPAEPAPPGRSRFTPSGDNAEV
"

BASE COUNT 890 a 925 c 799 g 483 t

ORIGIN

1 gaaagagag tttaacggt agtgtaacc cagagcggg gagctctac ggaggagctc
61 tccgtgatg gcaaaagccc ttctaaca acaacaac aattcatatt aatgcaagat
121 gaacacaac aaggcaactg caacttact gaaatcatt atgcttcag agactggacc
181 agcaagcatc ccggacgaca taacggagag acacatctta aaacaagaga cctcgtctta
241 taacttagag gtctccgaat caggaagtgg cattctgtt tgtttccctg gggcaccagg
301 ctcacggatc ggtgcacact acaggtggaa tgcgaaccag acggggctgg agttcgacca
361 gtggctggag acgtcgagg acctgaagaa agcctcaac tacggggagg tgatctcaag
421 gaaatacgac attcaaagct ccacactacc ggccgtctc tatgctctga acgggagct
481 caacgtgcc accttgaag gcagcctgtc tgaggtggag agcctgacct acaacagct
541 gatgtcccta accacgaacc cccaggacaa agtcaacaac cagctggtga ccaaaggagt
601 caccgtctg aacttaccaa cagggttca caaaccatac gtccgcctag aggacgagac
661 acccagggt ctccggtcaa tgaacggggc caagatgagg tgcacagctg caattgacc
721 acggaggtac gagatcgacc tccatccca acgcctacc cccgttctg cgacaggaac
781 cctcaccact ctctacgagg gaaacgccga catcgtcaac tccacaacag tgacgggaga
841 cataaactc agtctggcac acaaccgc gaatgagacc aagtccact tccagctgga
901 tttcatggg cttgacaatg acgtcccagt ggtcacagtg gtcagctctg tgctggccac
961 agacgacaac tacagaggag tctcagccaa gatgaccag tccatccga cggagaacat
1021 caccaagccg ataccaggg tcaagctgtc atacaagatc aaccagcaga cagcaatcga
1081 caacgtcggc acctggggc caatgggtcc agcatctgtt tcttctcat cggggaacgg
1141 aaacgtccc ggctgtctca gaccaatcac actggtggcc tacgagaaga tgacgccga
1201 gtccatctc acctagctg gtagtccaa ctacgagctg atcccaaac cagaactct
1261 caagaacatg gtgacacgat atggcaagta gcacccgaa ggtctcaact atgcaagat
1321 gatcctgtc cacagggagg agctggacat caggacagtg tggaggacag aggagtaca
1381 ggagaggacc agagtctca acgaaatcac agacttccc agtgacctg ccacgtcaa
1441 ggcatggggc tggagagaca tagtcagagg aattcgaaa gtcgagctc ctgtactgtc
1501 aacgtgttt ccaatggcag caccactcat agaatggca gaccaattca ttggatct
1561 caccaagacc aacgagcag gcggaaggt ccaactcata gccgaggag ggcgctaca
1621 agacgtgctc gactcctggg caagcggagg gcccgaggga aaattctcc gagccctca
1681 gaacaggctg gactcccca actacgagga agtcgagctt ccacccctc caaaaggagt
1741 catcgtcctc gtggtgaca cagtcaagag cgcaccaggc gaggcattc ggtcctggc
1801 aattataatt ccaggggagt acccgagct tctagatgcc aaccagcagg tctatccca
1861 cttcgcaac gacaccggga gcgtgtgggg cataggagag gacataacct tcgagggaga
1921 caacatgtc tacactgac tccactcaa ggagatcaag aaaaacggga acatagtagt
1981 cgagaagatc tttgtgggc caattatggg tccctcggct caactaggac tgtcctact
2041 tgtgaacgac atcgaggacg gattccaag gatgtattc accggcgaga tgcgatga
2101 cgaggagaca atcatacaa tctcgggtg agacatcaa gccatcgag cccacgaaca
2161 agggctgcca ctatcggca accaaccagg agtggacgag gagggtcgaa acacatcct
2221 ggctgcacac ctgatccga ccgggacct accgtaca cgcgcacagg gttcaaca
2281 gaggatcaag tacctgggg agctgatggc atcaaatgca tccggatgg acgaggaact
2341 gcaacgctc ctgaacgca caatggcag gaccaaagaa gtccaggacg ccgatctca
2401 caaacttct aagctatg catggaccag aaagaacgac ctaccgacc acatgtacga
2461 gtggtcaaaa gaggaccgg atgactaaa gttcgaaaag ctatcagca gccaccaaa
2521 gcaccctgag aagcccaag gaccagaca acaccagcc caagaggcga gagccaccg
2581 catatcactg gacccgtga gagccggggc ggacttcc acaccggagt gggctcgcgt
2641 gaacaactac cgcggacat ctccgggca gttcaagta ctctgatca ctggacgaga
2701 accagaacca ggcgacgag acgaggacta cataaaaca cccatcgtga aaccgaccg
2761 catgaacaaa atcagagctc tagccaacag tgtgtacggc ctccacacc aggaaccagc
2821 accagaggag ttctatgat cagttgacg gtattcga cagaacggag gcagaggtc
2881 cgaccaggac caaatgcaag acctcagga gctagcaaga cagatgaaac gacgacccc

2941 gaacgccgat gcaccacgga gaaccagagc gccagcggaa ccggcaccgc ccggacgctc
3001 aaggttacc cccagcggag acaacgctga ggtgtaacga ctactctt ctctgactga
3061 tcccctggcc aaaacccgg cccccaggg ggcccc

//

LOCUS BSeq#1 3097 bp RNA linear VRL 13-JUL-2018

DEFINITION Infectious pancreatic necrosis virus isolate Usak05

ACCESSION BSeq#1 - MH614928

VERSION

KEYWORDS .

SOURCE Infectious pancreatic necrosis virus

ORGANISM Infectious pancreatic necrosis virus

Viruses; dsRNA viruses; Birnaviridae; Aquabirnavirus.

REFERENCE 1 (bases 1 to 3097)

AUTHORS ALBAYRAK,H.

TITLE Complete genomic sequence of an infectious pancreatic necrosis virus isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 3097)

AUTHORS ALBAYRAK,H.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (13-JUL-2018) Ondokuz Mayis University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Virology, Kurupelit, Atakum, Samsun 55139, TURKEY

COMMENT Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:1.

##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..3097

/organism="Infectious pancreatic necrosis virus"

/mol_type="genomic RNA"

/serotype="Sp"

/isolate="Usak"

/host="Rainbow trout"

/db_xref="taxon:11002"

/cell_line="RTG-2"

/country="TURKEY"

/collection_date="2005"

/serogroup="A"

CDS 119..3037

/note="VP2-VP4-VP3 precursor"

/codon_start=1

/product="polyprotein"

/translation="MNTNKATATYLKSIMLPETGPASIPDDITERHILKQETSSYNLE

VSESGSILVCFPGAPGSRIGAHYRWANQTGLEFDQWLETSQDLKAFNYGRLISRK

YDIQSSTLPAGLYALNGTLNAAATFEGSLSEVESLTYNLSLMLTTNPQDKANNQLVTKG

VTVLNLPFGFDKPYVRLDETEPQGLRSMNGAKMRCTAAIAPRRYEIDLPSQRLPPVPA

TGTLTTYEGNADIVNSTTVTGDINFSLAQPPANETKFHFQLDFMGLDNDVPVTVVS

SVLATDDNYRGSVAKMTQSIPTENIIPITRVKLSYKINQQTAINVATLGAMGPASV

SFSSGNGNVPGVLRPITLVAYEKMTTPQSILTVAGVSNYELIPNPELLKNMVMTRYGKYD

PEGLNYAKMILSHREELDIRTVWRTEEYKERTRVFNEITDFSSDLPTSKAWGWRDIVR

GIRKVAAPVLSTLFPMAAPLIGMADQFIGDLTKTNAAGGRYHSMAGGRYKDVLESWA

SGGPEGKFSRALKNRLESANYEEVELPPPSKGVIVPVVHTVKSAPGEAFGSLAIIPG

EYPELLDANQQVLSHFANDTGSVWGIGEDIPFEGDNMCYTALPLKEIKKNGNIVVEKI

FAGPIMGPSAQLGLSLLVNDIEDGVPRMVFTGEIADDEETIIPICGVDIKAIAAHEQG

LPLIGNQPGVDEEVRNTSLAAHLIQTGLPVQRAQGSNKRIKYLGELMASNASGMDEE
LQRLLNATMARTKEVQDAEYKLLKLMWTRKNDLTDHMYEWSKEDPDALKFGKLIST
PPKHPEKPKGPDQHHAEARATRISLDAVRAGADFATPEWVALNNYRGPSPGQFKYYL
ITGREPEPGDEYEDIKQPIVKPTDMNKIRRLANSVYGLPHQEPAPEEFYDAVAAVFA
QNGGRGPDQDQMQLRELARQMKRRPRNADAPRRTRAPAEPAPPGRSRFTPSGDNAEV
"

BASE COUNT 890 a 927 c 799 g 481 t

ORIGIN

1 gaaagagag tttaacggt agtgtaacc cagagcggg gagctctac ggaggagctc
61 tccgtcgtg gcaaaagccc ttctaaca acaacaac aatccatatt aatgcaagat
121 gaacacaaac aaggcaactg caacttact gaaatccatt atgcttcag agactggacc
181 agcaagcatc ccggacgaca taacggagag acacatctta aaacaagaga cctcgtcata
241 taacctagag gtctccgaat caggaagtgg cattctgtt tgtttccctg gggcaccagg
301 ctcacggatc ggtgcacact acaggtggaa tgcgaaccag acggggctgg agttcgacca
361 gtggctggag acgtcgcagg acctgaagaa agccttaac tacggggaggc tgatctcaag
421 gaaatacgac attcaaagct ccacactacc ggccgtctc tatgctctga acgggagct
481 caacgtgcc accttgaag gcagcctgtc tgaggtggag agcctgacct acaacagcct
541 gatgtcccta accacgaacc ccaggacaa agccaacaac cagctggta ccaaaggagt
601 caccgtcctg aatttaccaa cagggttca caaaccatac gtcgcctag aggacgagac
661 acccagggt ctcggctca tgaacggggc caagatgagg tgcacagctg caattgacc
721 acggaggtac gagatcgacc tccatccca acgcctacc cccgttctg cgacaggaac
781 cctcaccact ctctacgagg gaaacgccga catcgtcaac tccacaacag tgacgggaga
841 cataaactc agtctggcac aacaaccgc gaatgagacc aagtccact tccagctgga
901 tttcatggg cttgacaatg acgtcccagt ggtcacagtg gtcagctcg tgctggccac
961 agacgacaac tacagaggag tctcagcaa gatgaccag tccatccga cggagaacat
1021 catcaagccg atcaccaggg tcaagctgtc atacaagatc aaccagcaga cagcaattga
1081 caacgtgcc acctgggcg caatgggtcc agcatctgtt tcttttcat cggggaacgg
1141 aaacgtccc ggctgtctca gaccaatcac actggtggcc tacgagaaga tgacaccgca
1201 gtccatcctt accgtagctg gagtgtcaa ctacgagctg atccaaacc cagaactcct
1261 caagaacatg gtgacacgt atggcaagta cgacccgaa ggtctcaact atgcaagat
1321 gatcctgtcc cacaggagg agctggacat caggacagtg tggaggacag aggagtaca
1381 ggagaggacc agagtctca acgaaatcac agacttccc agtgacctgc ccactgaaa
1441 ggcatggggc tggagagaca tagtcagagg aattcgaaa gtcgagctc ctgtactgtc
1501 aacctgttt ccaatggcag caccactcat agaatggca gaccaattca ttggatct
1561 caccaagacc aacgagcag gcggaaggta cactccatg gccgaggag ggcgctaca
1621 agacgtgctc gactcctggg caagcggagg gcccgaggga aaattctcc gagccctca
1681 gaacaggctg gactcccca actacgagga agtcgagctt ccacccctc caaaaggagt
1741 catcgtcctt gtgtgcaca cagtcaagag cgcaccaggc gaggcattcg ggtcctggc
1801 aatcataatt ccaggggagt acccgagct ttagatgcc aaccagcagg tctatccca
1861 cttgcaaac gacaccggga gcgtgtgggg cataggagag gacatacctc tcgagggaga
1921 caacatgtgc tacactgac tccactcaa ggagatcaag aaaaacggga acatagtagt
1981 cgagaagatc tttgtgggc caattatggg tccctcggct caactaggac tgtcctact
2041 tgtgaacgac atcgaggacg gattccaag gatgtattc accggcgaga tcgccgatga
2101 cgaggagaca atcatacaa tctgcggcgt agacatacaa gccatcgag cccatgaaca
2161 agggctgcca ctatcggca accaaccagg agtggacgag gagggtcgaa acacatcct
2221 ggccgcacac ctgatccaga ccgggacct gcccgtaaa cgcgcacagg gttcaacaa
2281 gaggatcaag tacctggggg agctgatggc atcaaatgca tccgggatgg acgaggaact
2341 gcaacgctc ctgaacgcca caatggcag gaccaaagaa gtccaggacg ccgatgata
2401 caaacttctt aagctatgg catggaccag aaagaacgac ctaccgacc acatgtacga
2461 gtggtcaaaa gaggaccctg atgactaaa gttcgaaaag ctatcagca cgcacacaa
2521 gcaccctgag aagcccaag gaccagaca acaccagcc caagaggcga gagccaccg
2581 catatcactg gacccgtga gagccggggc ggacttccg acaccggagt gggctcgcgt
2641 gaacaactac cgcggacat ctccgggca gttcaagta tacctgatca ctggacgaga
2701 accagaacca ggcgacgagt acgaggacta cataaaaca cccatcgtga aaccgaccg
2761 catgaacaaa atcagagctc tagccaacag tgtgtacggc ctccacacc aggaaccagc
2821 accagaggag ttctatgatg cagttgacg tgattcga cagaacggag gcagaggtc
2881 cgaccaggac caaatgcaag acctcaggga gctagcaaga cagatgaaac gacgacccc

2941 gaacgccgat gcaccacgga gaaccagagc gccagcggaa ccggcaccgc ccggacgctc
3001 aaggttacc cccagcggag acaacgctga ggtgtaacga ctactctt ctctgactga
3061 tcccctggcc aaaacccgg cccccaggg ggcccc

//

LOCUS BSeq#1 3097 bp RNA linear VRL 13-JUL-2018
DEFINITION Infectious pancreatic necrosis virus strain 1054 isolate Almus
ACCESSION BSeq#1 - MH614929
VERSION
KEYWORDS .
SOURCE Infectious pancreatic necrosis virus
ORGANISM Infectious pancreatic necrosis virus
Viruses; dsRNA viruses; Birnaviridae; Aquabirnavirus.
REFERENCE 1 (bases 1 to 3097)
AUTHORS ALBAYRAK,H.
TITLE Complete genomic sequence of an infectious pancreatic necrosis
virus isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 3097)
AUTHORS ALBAYRAK,H.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (13-JUL-2018) Ondokuz Mayis University Faculty of
Veterinary Medicine, Department of Virology, Kurupelit, Atakum,
Samsun 55139, TURKEY
COMMENT Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:1.

##Assembly-Data-START##
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers
source 1..3097
/organism="Infectious pancreatic necrosis virus"
/mol_type="genomic RNA"
/strain="Almus"
/serotype="Sp"
/isolate="1054"
/host="Rainbow trout"
/db_xref="taxon:11002"
/cell_line="RTG-2"
/country="TURKEY"
/collection_date="2013"
/serogroup="A"
CDS 119..3037
/note="VP2-VP4-VP3 precursor"
/codon_start=1
/product="polyprotein"
/translation="MNTNKATATYLKSIMLPETGPASIPDDITERHILKQETSSYNLE
VSESGSILVCFPGAPGSRIGAHYRWANQTGLEFDQWLETSQDLKAFNYGRLISRK
YDIQSSTLPAGLYALNGTLNAAATFEGSLSEVESLTYNLSMLSTTNPQDKVNNQLVTKG
VTVLNLPFGDKPYVRLEDETPQGLRSMNGAKMRCTAAIAPRRYEIDLPSQRLPPVPA
TGTLTLLYEGNADIVNSTTVTGDINFSLERQPANETKFHFQLDFMGLDNDVPVVTVVS
SVLATNDNYRGSVAKMTQSIPTENITKPITRVKLSYKINQQTVIDNVATLGAMGPSV
SFSSGNVPGVLRPITLVAYEKMTQPQSILTVAGVSNYELIPPELLKNMVMTRYGKYD
PEGLNYAKMILSHREELDIRTVWKTEYKERTRVFNEITDFSSDLPTS KAWGWRDIVR
GIRKVAAPVLSTLFPMAAPLIGMADQFIGDLTKTNAAGGRYHSTAAGGRYKDVLESWA
SGGPEGKFSRALKNRLESANYEEVELPPPSKGVIVPVVHTVKSAPGEAFGSLAIIPG
EYPELLDANQQVLSHFANDTGSVWVGIGEDIPFEGDNMCYTALPLKEIKRNGNIVVEKI

FAGPIMGPSAQLGLSLLVNDIEDGVPRMVFTGEIADDEETIIPICGVDIKAIAAHEQG
LPLIGNQPVDDEVNRTSLAAHLIQTGLPVQRAQGSNKRIKYLGELMASNASGMDEE
LQRLNATMARTKEVQDAEYKLLKLMWTRKNDLTDHMYEWSKEDPDALKFGKLIST
PPKHPEKPKGPDQHHAEARATRISLDAVRAGADFATPEWVALNNYRGPSPGQFKYYL
ITGREPEPGDEYEDIKQPIVKPTDMNKIRRLANSVYGLPHQEPAPEEFYDAVAVFA
QNGGRGPDQDQMQLRELARQMKRRPRNADAPRRTRAPAEPAPPGRSRFTPSGDNAEV
"

BASE COUNT 887 a 924 c 800 g 486 t

ORIGIN

1 gaaagagag ttcaacgtt agtgtaacc cagagcggg gagctctac ggaggagctc
61 tccgtgatg gcgaaagccc ctttaacaa acaacaac aatctatc aatgcaacat
121 gaacacaaac aaggcaactg caactactt gaaatccatt atgcttcag agactggacc
181 agcaagcatc ccggacgaca taacggagag acacatctta aaacaagaga cctctcata
241 taacctagag gtctccgaat caggaagtgg cattctgtt tgttccctg gggcaccagg
301 ctcacggatc ggtgcacact acaggtggaa tgcgaaccag acggggctgg agttcgacca
361 gtggctggag acgtcgagg acctgaagaa agcctcaac tacggggaggc tgatctcaag
421 gaaatacgac attcaaagct ccacactacc ggccgtctc tatgctctga acgggagct
481 taacgtgcc accttgaag gcagcctgtc tgaggaggag agcctgacct acaacagct
541 gatgtcccta accacgaacc cccaggacaa agtcaacaac caactggtga ccaaaggagt
601 caccgtcctg aatctacaa cagggttca caaaccatac gtccgcctag aggacgagac
661 acccagggt ctcgggtcaa tgaacggggc caagatgagg tgcacagctg caattgcacc
721 acggaggtag gagatcgacc tccatccca acgctgccc cccgttctg cgacaggaac
781 cctcaccact ctctacgagg gaaacgcca catcgtcaac tccacaacag tgacgggaga
841 cataaactc agtctggaac ggcaaccgc gaacgagacc aagtccact tcagctgga
901 ttcattggc cttgacaatg acgtccagt ggtcacagt gtcagctcg tgctggccac
961 aaatgacaac tacagaggag tctagccaa gatgaccag tccatccga cggagaacat
1021 caccaagccg atcaccaggg tcaagctgtc atacaagatc aaccagcaga cagtattga
1081 caactgcc accctgggac caatgggtcc agcatcgtt tcttttcat cggggaacgg
1141 aaactgtccc ggctgtca gaccaatcac actggtggcc tacgagaaga tgacaccaca
1201 gtccatcctg accgtggctg gtagtccaa ctacgagctg atcccaaac cagaactct
1261 caagaacatg gtgacacgt atggcaagta cgacccgaa ggtctcaact atgccaagat
1321 gatcctgtcc cacagggagg agctggacat caggacagt tggagacag aggagtaca
1381 ggagaggacc agagtctca acgaaatcac agacttccc agtgacctgc ccactgaaa
1441 ggcatggggc tggagagaca tagtcagagg aattcgaaa gtcgagctc ccgtactgtc
1501 aacgtgttt ccaatggcag caccactcat agaatggca gaccaattca ttggatct
1561 cactaagacc aacgagcag gcggaaggta cactccacg gccgaggag ggcgctaca
1621 agactgtctc gactcctggg caagcggagg gcccgaggga aaattctcc gagcctcaa
1681 gaacaggctg gactcccca actacgagga agttgagctt ccacccctc caaaaggagt
1741 catcgtcctg gtgtgcaca cagtaagag cgcaccaggc gaggcattcg ggtcctggc
1801 aattataatt ccaggggagt acccgagct tctagatcc aaccagcagg tctatccca
1861 cttcgcaaac gacaccggga gcgtgtgggg cattggagag gacatacct tcgagggaga
1921 caacatgtgc tactgtcac tccactcaa ggagatcaag agaaacggga acatagtagt
1981 cgagaagatc ttgtctggc caattatggg tccctcggct caactaggac tctcctact
2041 tgtgaacgac atcgaggacg gattcccag aatggtattc accggcgaga tcgccgatga
2101 cgaggagaca atcatacaa tctgcggtg agacatcaa gccatcgag ccatgaaca
2161 agggctgcca ctatcggca accaaccagg agtggacgag gagggtcgaa acacatcct
2221 ggccgcacac ctgatccaga ccgggacct gcccgtaaa cgcgcacagg gttccaaca
2281 gaggatcaag tacctggggg agctgatggc atcaaatgca tccgggatgg acgaggaact
2341 gcaacgctc ctgaacgcca caatggcag gaccaaagaa gtccaggacg ccgagatcta
2401 caaacttct aagctatg catggaccag aaagaacgac ctaccgacc acatgtacga
2461 gtggtcaaaa gaggaccgg atgactaaa gttcgaaaag ctatcagca cgccacaaa
2521 gcaccctgag aagcccaag gaccagacca acaccagcc caagaggcga gagccaccg
2581 catatcactg gacccgtga gagccggggc ggacttccg acaccggagt gggctcgcgt
2641 gaacaactac cgcggacat cttccgggca gttcaagta tacctgatca ctggacgaga
2701 accagaacca ggcgacgag acgaggacta cataaaaca ccatcgtga aaccgaccga
2761 catgaacaaa atcagacgtc tagccaacag tgtgtacggc ctccacacc aggaaccagc
2821 accagaggag ttctatgatg cagttgacg tttattcga cagaacggag gcagaggtc

2881 cgaccaggac caaatgcaag acctcaggga gctagcaaga cagatgaaac gacgaccccg
2941 gaacgccgat gcaccacgga gaaccagagc gccagcggaa ccggcaccgc ccggacgctc
3001 aaggttacc cccagcggag acaacgctga ggtgtaacga ctactcttt tcctgactga
3061 tcccctggcc aaaacccgg cccccaggg ggcccc

//

LOCUS BSeq#1 3097 bp RNA linear VRL 13-JUL-2018

DEFINITION Infectious pancreatic necrosis virus Hah-2

ACCESSION BSeq#1 - MH614930

VERSION

KEYWORDS .

SOURCE Infectious pancreatic necrosis virus

ORGANISM Infectious pancreatic necrosis virus

Viruses; dsRNA viruses; Birnaviridae; Aquabirnavirus.

REFERENCE 1 (bases 1 to 3097)

AUTHORS ALBAYRAK,H.

TITLE Complete genomic sequence of an infectious pancreatic necrosis
virus isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 3097)

AUTHORS ALBAYRAK,H.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (13-JUL-2018) Ondokuz Mayis University Faculty of
Veterinary Medicine, Department of Virology, Kurupelit, Atakum,
Samsun 55139, TURKEY

COMMENT Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:1.

##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..3097

/organism="Infectious pancreatic necrosis virus"

/mol_type="genomic RNA"

/serotype="Sp"

/host="Turbot"

/db_xref="taxon:11002"

/cell_line="RTG-2"

/country="TURKEY"

/collection_date="2010"

/serogroup="A"

CDS 119..3037

/note="VP2-VP4-VP3 precursor"

/codon_start=1

/product="polyprotein"

/translation="MNTNKATATYLKSIMLPETGPASIPDDITERHILKQETSSYNLE

VSESGSILVCFPGAPGSRIGAHYRWANQTGLEFDQWLETSQDLKAFNYGRLISRK

YDIQSSTLPAGLYALNGTLNAAATFEGSLSEVESLTYNLSLMLTTNPQDKANNQLVTKG

VTVLNLPFGFDKPYVRLEDETPQGLQSMNGARMRCTAAIAPRRYEIDLPSQSLPPVPA

TGTLTTYEGNADIVNSTTVTGDINFLAEQPANETRFDFQLDFMGLDNDVPVVTVVS

SVLATNDNYRGSVAKMTQSIPTENITKPITRVKLSYKINQQAIGNVATLGMTGPASV

SFSSGNGNVPGLRPITLVAYEKMTPLSILTVAGVSNYELIPPELLKNMVTRYGKYD

PEGLNYAKMILSHREELDIRTVWRTEEYKERTVFNIEITDFSSDLPTSKAWGWRDIVR

GIRKVAAPVLSTLFPMAAPLIGMADQFIGDLTKTNAAGGRYHMAAGGRYKDVLESWA

SGGPDGKFSRALKNRLESANYEEVELPPPSKGVIVPVVHTVKSAPGEAFGSLAIIPG

EYPELLDANQQVLSHFANDTGSVWVIGEDIPFEGDNMCYTALPLKEIKRNGNIVVEKI

FAGPIMGPSAQLGLSLLVNDIEDGVPRMVFTGEIADDEETIIPICGVDIKAIAAHEQG

LPLIGNQPGVDEEVRNTSLAAHLIQTGLPVQRAKGSNKRIKYLGELMASNASGMDEE
LQRLNATMARTKEVQDAEYKLLKLMWTRKNDLTDHMYEWSKEDPDALKFGKLIST
PPKHPEKPKGPDQHHAEARATRISLDAVRAGADFATPEWVALNNYRGPSPGQFKYYL
ITGREPEPGDEYEDIKQPIVKPTDMNKIRRLANSVYGLPHQEPAPEEFYDAVAVFA
QNGGRGPDQDQMQLRELARQMKRRPRNADAPRRTRAPAEPAPPGRSRFTPSGDNAEV
"

BASE COUNT 894 a 920 c 799 g 484 t

ORIGIN

1 gaaagagag tttaacggt agtgtaacc cagagcggg gagctctac ggaggagctc
61 tccgtgatg gcgaaagccc ttctaaca acaacaac aatctatc aatgcaagat
121 gaacacaac aaggcaacc caactactt gaaatcatt atgctccag agactggacc
181 agcaagcatc ccggacgaca taacggagag acacatctta aaacaagaga cctcgtcata
241 caacttagag gtctccgaat caggaagtgg cattctgtt tgtttccctg gggcaccagg
301 ctcacggatc ggtgcacact acagatggaa tgcgaaccag acggggctgg agttcgacca
361 gtggctggag acgtcgagg acctgaagaa agcctcaac tacggggaggc tgatctcaag
421 gaaatacgac attcaaagct ccacactacc ggccgtctc tatgctctga acgggagct
481 caacgtgcc accttgaag gcagtctgtc tgaggaggag agcctgacct acaatagcct
541 gatgtcccta actacgaacc ccaggacaa agccaacaac cagctgtga ccaaaggagt
601 caccgtcctg aatctacca cagggttca caaacatac gtccgctag aggacgagac
661 acccagggt ctccagtaa tgaacggggc caggatgagg tgcacagctg caattgacc
721 acggaggtag gagatcgacc tccatccca aagcctacc cccgttctg cgacaggaac
781 cctcaccact ctctacgagg gaaacgccga catcgtcaac tccacaacag tgacgggaga
841 cataaactc agtctggcag aacaaccgc aaacgagacc aggttcgact tccagctgga
901 ttcctgggc ctgacaatg acgtcccagt ggtcacagtg gtcagctcg tgctggccac
961 aaacgacaac tacagaggag tctcagcaa gatgaccag tccatccga cggagaacat
1021 taccaagccg atcaccaggg tcaagctgtc atacaagatc aaccagcaga cagcaatcgg
1081 caatgtgcc accctgggca caatgggtcc agcatcctc tcctttcat cggggaaccg
1141 aaatgtccc ggcgtgtca gaccaatcac actggtggca tatgagaaga tgacaccgt
1201 gtccatcctg accgtagctg gtagtccaa ctacgagctg atcccaaacc cagaactct
1261 caagaacatg gtgacacgt atggcaagta cgacccgaa ggtctcaact atgccaagat
1321 gatcctgtcc cacagggaag agctggacat caggacagtg tggaggacag aggagtaca
1381 ggagaggacc agagtctca acgaaatcac agacttccc agtgacctgc ccactgaaa
1441 ggcatggggc tggagagaca tagtcagagg aattcgaaa gtcgagctc ctgtactgtc
1501 aacgtgttt ccaatggcag caccactcat agaatggca gaccaattca ttggagatct
1561 caccaagacc aacgagcag gcggaaggt ccaactcatg gccgaggag ggcgctaca
1621 agacgtgctc gagtctggg caagcggagg gccgacgga aaattctcc gagccctcaa
1681 gaacaggctg gtagccgca actacgagga agtcgagctt ccacccctc caaaaggagt
1741 catcgtccc gtggtgcaca cagtcaagag tgcaccaggc gaggcattcg ggtcctggc
1801 aattataatt ccgggggagt acccgagct tctagatgcc aaccagcagg tcctatcca
1861 cttcgcaac gacaccgga gcgtgtgggg cataggagag gacatacctc tcgagggaga
1921 caacatgtc tacactgac tccactcaa ggagatcaag agaaacggga acatagtagt
1981 cgagaagatc ttgtctggc caattatggg tcctctgtc caactaggac tgtccctact
2041 tgtgaacgac atcgaggacg gattccaag gatggtattc accggcgaag tcgccgatga
2101 cgaggagaca atcatacaa tctcggtgt agacatcaa gccatcgag cccacgaaca
2161 agggctgcca ctatcgga accaaccagg agtggacgag gagggtcgaa acacatcct
2221 ggccgacac ctgatccaga ccgggacct gcccgtaaa cgcgcaaagg gttccaaca
2281 gaggatcaag tacctgggag agctgatggc atcaaatgca tccgggatgg acgaggaact
2341 gcaacgctc ctgaacgca caatggcag gaccaaagaa gtccaggacg ccgatgata
2401 caaacttct aagctatgg catggaccag aaagaacgac ctaccgacc acatgtacga
2461 gtggtcaaaa gaggaccgg atgactaaa gttcgaaaag ctatcagca cgcaccaaa
2521 gcaccctgag aagcccaag gaccagaca acaccagcc caagaggcga gagccaccg
2581 catatcactg gacccgtga gagccggggc ggacttcc acaccggagt gggctcgcgt
2641 gaacaactac cgcggacat ctccgggca gttcaagta ctctgatca ctggacgaga
2701 accagaacca ggcgacgag acgaggacta cataaaaca cccatcgtga aaccgaccg
2761 catgaacaaa atcagagctc tagccaacag tgtgtacggc ctccacacc aggaaccagc
2821 accagaggag ttctatgat cagttgacg gtattcga cagaacggag gcagaggtc
2881 cgaccaggac caaatgcaag acctcagga gtagcaaga cagatgaaac gacgacccc

2941 gaacgccgat gcaccacgga gaaccagagc gccagcggaa ccggcaccgc ccggacgctc
3001 aaggttacc cccagcggag acaacgctga ggtgtaacga ctactctctt tctgactga
3061 tcccctggcc aaaacccgg cccccaggg ggcccc

//

LOCUS BSeq#1 3097 bp RNA linear VRL 13-JUL-2018

DEFINITION Infectious pancreatic necrosis virus Hah-3

ACCESSION BSeq#1 - MH614931

VERSION

KEYWORDS .

SOURCE Infectious pancreatic necrosis virus

ORGANISM Infectious pancreatic necrosis virus

Viruses; dsRNA viruses; Birnaviridae; Aquabirnavirus.

REFERENCE 1 (bases 1 to 3097)

AUTHORS ALBAYRAK,H.

TITLE Complete genomic sequence of an infectious pancreatic necrosis virus isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 3097)

AUTHORS ALBAYRAK,H.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (13-JUL-2018) Ondokuz Mayis University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Virology, Kurupelit, Atakum, Samsun 55139, TURKEY

COMMENT Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:1.

##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..3097

/organism="Infectious pancreatic necrosis virus"

/mol_type="genomic RNA"

/serotype="Sp"

/host="Rainbow trout"

/db_xref="taxon:11002"

/cell_line="RTG-2"

/country="TURKEY"

/collection_date="2010"

/serogroup="A"

CDS 119..3037

/note="VP2-VP4-VP3 precursor"

/codon_start=1

/product="polyprotein"

/translation="MNTNKATATYLKSIMLPETGPASIPDDITERHILKQETSSYNLE

VSESGSILVCFPGAPGSRIGAHYRWANQTGLEFDQWLETSQDLKAFNYGRLISRK

YDIQSSTLPAGLYALNGTLNAAATFEGSLSDVESLTYNSLMSLTTNPQDKANNQLVTKG

VTVLNLPFGFDKPYVRLDETPQGLQSMNGAKMRCTAAIAPRRYEIDLPSQRLPPVPA

TGTLTLLYEGNADIVNSTTVTGDINFSLAQQPADETKFHFQLDFMGLDNDVPVVTVVS

SVLATNDNYGGVSAKMTQSIPTENITKPITRVKLSYKINQQTAINVATLGTMGPASV

SFSSGNGNVPGVLRPITLVAYEKMTPLSILTVAGVSNYELIPNPELLKNMVTRYGKYD

PEGLKYAKMILSHREELDIRTVWRTEEYKERTRVFNEITDFSSDLPTS KAWGWRDIVR

GIRKVAAPVLSTLFPMAAPLIGMADQFIGDLTKTNAAGGRYH SMAAGGRYKDVLESWA

SGGPDGKFSRALKNRLESANYEEVELPPPSKGVIVPVVHTVKSAPGEAFGSLAIIPG

EYPELLDANQQVLSHFANDTGSVWGIGEDIPFEGDNMCYTALPLKEIKRNGNIVVEKI

FAGPIMGPSAQLGLSLLVNDIEDGVPRMVFTGEIADDEETIIPICGVDIKAI AAHEQG

LPLIGNQPGVDEEVRNTSLAAHLIQTGTLPVQRAKGSNKRIKYL GELMASNASGMDEE

LQRLNATMARTKEVQDAEYKLLKLMAWTRKNDLTDHMYEWSKEDPDALKFGKLIST
PPKHPEKPKGPDQHHAEARATRISLDAVRAGADFATPEWVALNNYRGPSPGQFKYYL
ITGREPEPGDEYEDIKQPIVKPTDMNKIRRLANSVYGLPHQEPAPEEFYDAVAAVFA
QNGGRGPDQDQMQLRELARQMKRRPRNADAPRRTRAPAEPAPPGRSRFTPSGDNAEV
"

BASE COUNT 895 a 922 c 796 g 484 t

ORIGIN

1 gaaagagag tttaacggt agtggaacc cagagcgga gagctctac ggaggagctc
61 tccgtcgatg gcgaaagccc ttctaaca acaacaac aatctatc aatgcaagat
121 gaacacaaac aaggcaaccg caactactt gaaatcatt atgcttcag agactggacc
181 agcaagcatc ccggacgaca taacggagag acacatctta aaacaagaga cctcgtcata
241 caacttagag gtctccgaat caggaagtgg cattctgtt tgtttccctg gggcaccagg
301 ctacggatc ggtgcacact acagatggaa tgcgaaccag acggggctgg agttcgacca
361 gtggctggag acgtcgagg acctgaagaa agccttaac tacggggagg tgatctcaag
421 gaaatacgac attcaaagct ccacactacc ggccgtctc tatgctctga acgggagct
481 caacgtgcc accttgaag gcagtctgtc tgactggag agcctgacct acaatagct
541 gatgtcccta actacgaacc cccaggaca agccaacaac cagctgtga ccaaaggagt
601 caccgtcctg aatctacca cagggttca caaacatac gtccgctag aggacgagac
661 acccagggt ctccagtaa tgaacgggc caagatgagg tgcacagctg caattgacc
721 acggaggtac gagatcgacc tccatccca acgcctacc cccgttctg cgacaggaac
781 cctcaccact ctctagagg gaaacggcga catcgtcaac tccacaacag tgacgggaga
841 cataaactc agtctggcac aacaaccgc agatgagacc aagttcact tccagctgga
901 ttcctgggc ctgacaatg acgtccagt ggtcacagt gtcagctcg tctggccac
961 aaacgacaac tacggaggag tctagccaa gatgaccag tccatccga cggagaacat
1021 caccaagcg atcaccagg tcaagctgtc atacaagatc aaccagcaga cagcaatcga
1081 caatgtgcc accctgggca caatgggccc agcatctgtc tcatttcat cgggaaacgg
1141 aaatgtccc ggcgtgtca gaccaatcac actggtggca tatgagaaga tgacaccgct
1201 gtccatcctg accgtagctg gactgtcca ctacgagctg atcccaaac cagaactct
1261 caagaacatg gtgacagct atggcaagta cgacccgaa ggtctcaagt atgccaagat
1321 gatcctgtcc cacagggaag agctggacat caggacagt tggaggacag aggagtaca
1381 ggagaggacc agagtctca acgaaatcac agacttccc agtgacctg ccactgaaa
1441 ggcatgggc tggagagaca tagtcagagg aattcgaaa gtcgagctc ctgtactgtc
1501 aacgtgttt ccaatggcag caccactcat agaatggca gaccaattca ttggatct
1561 caccaagacc aacgagcag gcggaaggta cactccatg gccgaggag ggcgctaca
1621 agactgtctc gactcctgg caagcggagg gccgacgga aaattctcc gagccctca
1681 gaacaggctg gactccgca actacgagga agtcagctt ccacccctc caaaaggagt
1741 catcgtccc gtggtgaca cagtcaagag tgcaccagg gaggattcg ggtcctggc
1801 aattataat cgggggagt acccgagct tctagatg cc aaccagcag tctatcca
1861 cttcgcaac gacaccgga gcgtgtggg cataggagag gacatacct tcgagggaga
1921 caacatgtc tacactgac tccactca ggagatca agaaacggga acatagtagt
1981 cgagaagatc ttgctgggc caattatgg tccctctgt caactaggac tgtcctact
2041 tgtgaacgac atcagaggac gattccaag gatggtatt accggcgaaa tgcgatga
2101 cgaggagaca atcatacaa tctcggtgt agacataaa gccatcgag cccacgaaca
2161 agggctgcca ctatcgga accaaccagg agtggacgag gagggtcgaa acacatcct
2221 ggccgacac ctgatccga cgggaccct gccgtaca cgcgcaaagg gttccaaca
2281 gaggatcaag tacctgggag agctgatgg atcaaatgca tccggatgg acgaggaact
2341 gcaacgctc ctgaacgca caatggcag gaccaaaga gtccaggac cggatgata
2401 caaacttct aagctatg catggaccag aaagaacgac ctaccgacc acatgtacga
2461 gtggtcaaaa gaggaccgg atgactaaa gttcgaaa ctatcagca cggcaccaa
2521 gcaccctgag aagccaaag gaccagaca acaccagcc caagaggcga gagccaccg
2581 catatcactg gacccgtga gagccgggc ggacttcc acaccggagt ggtcgcgt
2641 gaacaactac cgcggacat ctccgggca gttcaagta tacctgatca ctggacgaga
2701 accagaaca ggcgacgag acgaggacta cataaaaca cccatcgtga aaccgaccg
2761 catgaacaaa atcagagctc tagccaacag tgtgtacgg ctcccacc aggaaccagc
2821 accagaggag ttctatgat cagttgagc gtattcga cagaacggag gcagaggtc
2881 gcaccaggac caaatgca acctcagga gtagcaaga cagatgaaac gacgacccc
2941 gaacccgat gcaccagga gaaccagag gccagcggaa cggcaccgc cggacgctc

3001 aaggttcacc cccagcggag acaacgctga ggtgtaacga ctactctctt tcctgactga
3061 tcccctggcc aaaacccgg cccccagg ggcccc

//

LOCUS BSeq#1 3097 bp RNA linear VRL 13-JUL-2018

DEFINITION Infectious pancreatic necrosis virus isolate HAH-4.

ACCESSION BSeq#1 - MH614932

VERSION

KEYWORDS .

SOURCE Infectious pancreatic necrosis virus

ORGANISM Infectious pancreatic necrosis virus
Viruses; dsRNA viruses; Birnaviridae; Aquabirnavirus.

REFERENCE 1 (bases 1 to 3097)

AUTHORS ALBAYRAK,H.

TITLE Complete genomic sequence of an infectious pancreatic necrosis
virus isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 3097)

AUTHORS ALBAYRAK,H.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (13-JUL-2018) Ondokuz Mayis University Faculty of
Veterinary Medicine, Department of Virology, Kurupelit, Atakum,
Samsun 55139, TURKEY

COMMENT Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:1.

##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..3097

/organism="Infectious pancreatic necrosis virus"

/mol_type="genomic RNA"

/serotype="Sp"

/isolate="HAH-4"

/host="Rainbow trout"

/db_xref="taxon:11002"

/cell_line="RTG-2"

/country="TURKEY"

/collection_date="2010"

/serogroup="A"

CDS 119..3037

/note="VP2-VP4-VP3 precursor"

/codon_start=1

/product="polyprotein"

/translation="MNTNKATATYLKSIMLPETGPASIPDDITERHILKQETSSYNLE

VSESGSILVCFPGAPGSRIGAHYRWANQTGLEFDQWLETSQDLKAFNYGRLISRK

YDIQSSTLPAGLYALNGTLNAATFEGSLSEVESLTYNSLMSLTTNPQDKVNNQLVTKG

VTVLNLPFGFDKPYVRLEDETPQGLRSMNGAKMRCTAAIAPRRYEIDLPSQRLPPVPA

TGTLTLLYEGNADIVNSTTVTGDINFSLERQPANETKFHFQLDFMGLDNDVPVTVVS

SVLATNDNYRGVSAKMTQSIPTENITKPITRVKLSYKINQQTVTDKVATLGAMGPASV

SFSSGNGNVPGVLRPITLVAYEKMTQPQSILTEAGVSNYELIPPELLKNMVTRYGKYD

PEGLNYAKMILSHREELDIRTVWKTEYKERTRVFNEITDFSSDLPTS KAWGWRDIVR

GIRKVAAPVLSTLFPMAAPLIGMADQFIGDLTKTNAAGGRYHSTAAGGRYKDVLESWA

SGGPEGKFSRALKNRLESANYEEVELPPPSKGVIVPVVHTVKSAPGEAFGSLAIIIPG

EYPELLDANQQVLSHFANDTGSVWVGIGEDIPFEGDNMCYTALPLKEIKRNGNIVVEKI

FAGPIMGPSAQLGLSLLVNDIEDGVPRMVFTGEIADDEETIIPICGVDIKAIAAHEQG

LPLIGNQPGVDEEVRNTSLAAHLIQTGTLPVQRAQGSNKRIKYL GELMASNASGMDEE

LQRLNATMARTKEVQDAEIYKLLKLMAWTRKNDLTDHMYEWSKEDPDALKFGKLIST
PPKHPEKPKGPDQHHAEARATRISLDAVRAGADFATPEWVALNNYRGPSPGQFKYYL
ITGREPEPGDEYEDIKQPIVKPTDMNKIRRLANSVYGLPHQEPAPEEFYDAVAAVFA
QNGGRGPDQDQMQLRELARQMKRRPRNADAPRRTRAPAEPAPPGRSRTFSPGDNAEV
"

BASE COUNT 889 a 920 c 802 g 486 t

ORIGIN

1 gaaagagag tttaacggt agtgtaacc cagagcggg gagctctac ggaggagctc
61 tccgtcgatg gcgaaagccc ttctaaca acaacaac aatctatc aatgcaagat
121 gaacacaac aaggcaactg caactactt gaaatcatt atgctccag agactggacc
181 agcaagcatc ccggacgaca taacggagag acacatctta aaacaagaga cctctcata
241 taacctagag gtctccgaat caggaagtgg cattctgtt tgtttccctg gggcaccagg
301 ctacggatc ggtgcacact acaggtggaa tgcgaaccag acggggctgg agttcgacca
361 gtggctggag acgtcgagg acctgaagaa agcctcaac tacggggagg tgatctcaag
421 gaaatacgac attcaaagct ccacactacc ggccgtctc tatgctctga acgggagct
481 taacgtgcc accttgaag gcagcctgtc ttaggtggag agcctgacct acaacagct
541 gatgtcccta accacgaacc cccaggacaa agtcaacaac caactggtga ccaaaggagt
601 caccgtcctg aatctacca cagggttca caaacatac gtccgctag aggacgagac
661 acccagggt ctccgtcaa tgaacgggg caagatgagg tgcacagctg caattgacc
721 acggaggtac gagatcgacc tccatccca acgctgccc cccgttctg cgacaggaac
781 cctcaccact ctctacgagg gaaacggcg catcgtcaac tccacaacag tgacgggaga
841 cataaactc agtctggaac ggcaaccgc gaacgagacc aagttccact ttacgtgga
901 tttcatggg cttgacaatg acgtccagt ggtcacagt gtcagctcg tctggccac
961 aaatgacaac tacagaggag tctagccaa gatgaccag tccatccga ccgagaacat
1021 caccaagcg atcaccagg tcaagctgtc atacaagatc aaccagcaga cagtactga
1081 caaggtgcc acctgggcg caatgggtcc agcatctgtt tcatttcat cggggaacgg
1141 aaacgtccc ggcgtgtca gaccaatcac actggtggcc tacgagaaga tgacaccaca
1201 gtccatcctg accgaggctg gagtgtcaa ctacgagctg atcccaaacc cagaactct
1261 caagaacatg gtgacagct atggcaagta cgacccgaa ggtctcaact atgccaagat
1321 gatcctgtcc cacagggagg agctggacat caggacagtg tgaagacag aggagtaca
1381 ggagaggacc agagtctca acgaaatcac agacttccc agtgacctgc ccactgcaa
1441 ggcatggggc tggagagaca tagtcagagg aattcgaaa gtcgagctc cgtactgtc
1501 aacgtgttt ccaatggcag caccactcat agaatggca gaccaattca ttggatct
1561 cactaagacc aacgagcag gcggaaggta cactccacg gccgaggag ggcgctaca
1621 agacgtgctc gactcctggg caagcggagg gcccgaggga aaattctcc gagccctca
1681 gaacaggctg gactcccca actacgagga agttgagctt ccacccctc caaaaggagt
1741 catcgtccc gtggtgaca cagtaagag cgcaccaggc gaggattcg ggtcctggc
1801 aattataat ccaggggagt acccgagct tctagatgc aaccagcagg tctatccca
1861 cttgcaaac gacaccggga gcgtgtgggg cattggagag gacatacct tcgagggaga
1921 caacatgtc tactgtcac tccactcaa ggagatcaag agaaacggga acatagtagt
1981 cgagaagatc ttgtgtggc caattatggg tccctggct caactaggac tgtcctact
2041 tgtgaacgac atcgaggacg gattcccag aatggtattc accggcgaga tgcgatga
2101 cgaggagaca atcatacaa tctgctgtg agacatcaa gccatcgag ccatgaaca
2161 agggctgcca ctatcggca accaaccagg agtggacgag gagggtcgaa acacatcct
2221 ggccgacac ctgatccga cgggaccct gccgtaca cgcgacagg gttcaaca
2281 gaggatcaag tacctggggg agctgatggc atcaaatgca tccggatgg acgaggaact
2341 gcaacgctc ctgaacgca caatggcag gaccaaaga gtccaggacg ccgatgata
2401 caaacttct aagctatg cattggaccag aaagaacgac ctaccgacc acatgtacga
2461 gtgtcaaaa gaggaccgg atgactaaa gttcgaaaag ctatcagca cgccacaaa
2521 gcaccctgag aagccaaag gaccagaca acaccagcc caagaggcga gagccaccg
2581 catatcactg gacccgtga gagccggggc ggacttcc acaccggagt gggctcgtc
2641 gaacaactac cgcggacat ctccgggca gttcaagta ctctgatca ctggacgaga
2701 accagaacca ggcgacgag acgaggacta cataaaaca cccatcgtga aaccgaccg
2761 catgaacaaa atcagagctc tagccaacag tgtgtacggc ctccacacc aggaaccagc
2821 accagaggag ttctatgat cagttgagc gtattcgca cagaacggag gcagaggtc
2881 cgaccaggac caaatgca acctcagga gtagcaaga cagatgaaac gacgacccc
2941 gaacccgat gcaccagga gaaccagag gccagcggaa ccggcaccg ccggacgctc

3001 aaggtcacc cccagcggag acaacgctga ggtgtaacga ctactcttt tcctgactga
3061 tcccctggcc aaaaccccg gggggcagg ggcccc

//



EK 2. Segment B Sekans Analiz sonuçları

LOCUS BSeq#1 2630 bp RNA linear VRL 17-JUL-2018
DEFINITION Infectious pancreatic necrosis virus isolate Almus.
ACCESSION BSeq#1 - MH645337
VERSION
KEYWORDS .
SOURCE Infectious pancreatic necrosis virus
ORGANISM Infectious pancreatic necrosis virus
Viruses; dsRNA viruses; Birnaviridae; Aquabirnavirus.
REFERENCE 1 (bases 1 to 2630)
AUTHORS ALBAYRAK,H.
TITLE Complete genomic sequence of an infectious pancreatic necrosis
virus isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 2630)
AUTHORS ALBAYRAK,H.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (17-JUL-2018) Ondokuz Mayıs University Faculty of
Veterinary Medicine, Department of Virology, Kurupelit, Atakum,
Samsun 55139, TURKEY
COMMENT Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:1.

```
##Assembly-Data-START##  
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing  
##Assembly-Data-END##  
FEATURES             Location/Qualifiers  
source               1..2630  
                     /organism="Infectious pancreatic necrosis virus"  
                     /mol_type="genomic RNA"  
                     /serotype="Sp"  
                     /isolate="Almus"  
                     /host="Rainbow trout"  
                     /db_xref="taxon:11002"  
                     /segment="B"  
                     /cell_line="RTG-2"  
                     /country="TURKEY"  
                     /collection_date="2013"  
                     /serogroup="A"  
gene                 94..2628  
                     /gene="VP1"  
CDS                  94..2628  
                     /gene="VP1"  
                     /codon_start=1  
                     /product="RNA dependent RNA Polymerase"  
                     /translation="MSDIFNSPQKGASILNALMKSTQGDVEDVLIPKFRPAKDPLDS  
PQAAAAFLKEHKYRILRPRAIPTMVEIETDAALPRLAAMVDDGKLEKEMVSVPEGTTAF  
YPKYYPFHKPDHDDVGTGFGAPDITLLKQLTFFLENDFPTGPETLRQVREAIATLQYG  
SGSYSGQLNRLLAMKGVATGRNPNKTP LAVGYTNEQMARLMEQTL PINPPKNEDPDLR  
WAPSWLIQYTGDASTDKSYLPHVTVKSSAGLPYIGTKGDTTAEALV LADSFIRDLGK  
AATSADPEADVKKVLSDFWYLSCGLLFPKGERYTQKDWDLKTRNIWSAPYPTHLLSM  
VSSPVMDESKL NITNTQTPSLYGFSPFHGGINRIMTI IREHLDQEQLVMIYADNIYI  
LQDNTWYSIDLEKGEANCTPQHMQAMMYRRLTREW TNE DGS PRYNPTWATFAMNVGPS  
MVVDSTCLL MNLQLKTHGQGSGNAFTLNNHLMSTIVVAEWHKAGRPNPMSKEFMDLE  
AKTGINFKIERELKDLRSIIMEAVDTAPLDGYLADGSDLP RPVPGKAVELDLLGWSAV  
YSRQLEMFPVPLENERLIASVAYPKGLENKSLARKPGAEIAYQIVRYE AIRLIGGWNN
```

PLIETAAKHMSLDKRRKLEVKGIDVTGFLDDWNTMSEFGDLEGISLTAPLTNQTLTD
INTPETEFDVKDRPPTPRSPGKTLAEVTAITSGYKDPKSAVWRLDQRKLRVSTL
RDHAHALKPAASTSDFWGDTEELAEQQQLMKANLLKSSLTEAREALETVQSDKII
SGKTSPEKNPGTAANPVVAYGEFSEKIPLTPTQKKNKRREKQRRN"

BASE COUNT 790 a 761 c 641 g 438 t

ORIGIN

1 gtgggtcaac gttggtggca cccgacatac cagactggt tatgtatgca cgcgagtgcc
61 tttttaaac ctctacaata tacaacttat gatatgtcgg acatcttcaa ctcacctcaa
121 aaaggggctt ctatgtttaa tgactcatg aagagcacgc agggagacgt ggaggatggt
181 ctaataccta agcggtttag accgcaaag gatccgtag atagcccca ggctgcagcc
241 gcgttctga aagaacacaa gtagcggata cttagccgc gagctatacc caccatggt
301 gaaatagaga cggatccgc tctgcctga ctaggccca tggaggacga tggcaagcct
361 aagaaatgg tcagtgtcc agaggaaca accggttct acccaaaata ctaccattc
421 cacaacccg accatgacga cgtgggaacg tttggggctc cagacatcac actactcaa
481 caactgactg tttctctgct ggagaatgac tttccaactg gtccagaaac ctaagacaa
541 gtcagagaag caatgcaac cctgcaatc ggtccggca gctactcagg acaactcaac
601 aggctactgg caatgaagg cgctgccacg gggaggaatc ccaacaagac tccactggcc
661 gttgctaca ccaacgagca gatggcaaga ctgatggagc aaaccttgcc tattaacct
721 ccaagaatg aggaccaga cctcggggg gccccgagct ggttgataca gtacaccgga
781 gacgcatcaa ctgacaagtc atatctcct catgtgacag tcaagtcac tgccgccta
841 ccctacatag gcaaaacaa aggagacacc acggctgaag ccctggtgct ggagactcc
901 ttcataagg acctcgaaa agctgcaacc tcagccgacc cagaggcgga cgtcaagaaa
961 gtactgtccg acttctgta cctcagctgc ggtctgctat tccaaaagg ggagagatac
1021 acacagaag actgggacct gaagaccagg aacatctgga gtgcccccta tcaacgcac
1081 ctactactat caatggtgct gtcaccggtg atggacgagt ccaactcaa catccaac
1141 actcagacc cctctctgta cgggttctca ccattccacg ggggatcaa cagaatcatg
1201 accatcatca gagagcatc ggaccaagag caggacctag tcatgatata tgccgacaac
1261 atatacatac tacaggaaa cacctggtac tccatcgtc tagaaaagg agaagcaaac
1321 tgacaccac aacacatgca ggcaatgat tactaccgtc tcacacgca atggacaaac
1381 gaggacggt caccacgga caaccaacg tgggcaacat tcgcatgaa cgttgggccc
1441 tcaatgtag tggactcaac ctgctgctg atgaatctg agctgaagac ccacggcgag
1501 ggacgaggga atgcctcac cttctcaac aacctctca tgtccacaat cgtggtagc
1561 gaggggcaca aagcaggaag gcaaatccc atgtcaaag aattcatgga cctcagggca
1621 aagacgggga tcaactcaa aatcgagcgc gagtaaaag acctaaggtc gatcatcatg
1681 gaggcagtag acaccgccc actcgacgac tacttagccg acgggtccga cctgccacc
1741 aggtgcccag ggaaggcgg agagctcgc ctctagatg ggtccgagc gtacagccga
1801 cagctcgaga tgtctgccc cgtcctgaa aacgaaagac taattgcatc agtcgctac
1861 ccaaaaggc tagagaacaa atccctagc cgaaaaccag gggccgagat cgatacaca
1921 atagtaagg atgaagcgt tcggctcacc ggaggctgga acaatccact catcgaaca
1981 gcagcaaac acatgtcct agacaaaagg aagaggctgg aggtaaaagg catcgacgtc
2041 accgattcc tagacgactg gaacaccatg tcggagtgc gaggcgacct ggaggcatc
2101 tcaactaac ctcccctac aaaccagact ctctagaca tcaacacacc agagaccgag
2161 ttcgacgtca aagacagacc cccacgccc cgctcccag gcaaacctc cgccgagga
2221 accgacgca taacatcagg gacctacaa gacccaaaa gtgagtggtg gaggctcctc
2281 gaccagagga ccaactacg cgtgagcacc ctacgcgac acgcgcatc gctaaaacc
2341 gcagcgtcaa catccgactt ctggggggg gccacagaag aactcgccga acaacaaca
2401 ctgctgatga aagcgaaca cctgctaaag agcagcctca cggaagcgag ggaagcctc
2461 gaaacctgac agtcagataa aataatctca ggcaaacct ctccagagaa gaatcccggg
2521 accgccgaa acccgtggt ggcgtatgga gagttcagc agaaaattc tctactccc
2581 acgcaaaaga agaacgcaa gcgtcgggag aagcagagaa gaaactaaga

//

LOCUS BSeq#1 2630 bp RNA linear VRL 17-JUL-2018

DEFINITION Infectious pancreatic necrosis virus isolate Ankara10.

ACCESSION BSeq#1 - MH645338

VERSION

KEYWORDS .

SOURCE Infectious pancreatic necrosis virus
 ORGANISM Infectious pancreatic necrosis virus
 Viruses; dsRNA viruses; Birnaviridae; Aquabirnavirus.
 REFERENCE 1 (bases 1 to 2630)
 AUTHORS ALBAYRAK,H.
 TITLE Complete genomic sequence of an infectious pancreatic necrosis
 virus isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 2630)
 AUTHORS ALBAYRAK,H.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (17-JUL-2018) Ondokuz Mayis University Faculty of
 Veterinary Medicine, Department of Virology, Kurupelit, Atakum,
 Samsun 55139, TURKEY
 COMMENT Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:1.

##Assembly-Data-START##
 Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
 ##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..2630
 /organism="Infectious pancreatic necrosis virus"
 /mol_type="genomic RNA"
 /serotype="Sp"
 /isolate="Ankara10"
 /host="Rainbow trout"
 /db_xref="taxon:11002"
 /segment="B"
 /cell_line="RTG-2"
 /country="TURKEY"
 /collection_date="2010"
 /serogroup="A"
 gene 94..2628
 /gene="VP1"
 CDS 94..2628
 /gene="VP1"
 /codon_start=1
 /product="RNA-dependent RNA polymerase"
 /translation="MSDIFNSPQKGASILNALMKSTQGDVEDVLIPKFRFPKADSLDS
 PQAAAAFLKEHKYRILRPRAIPTMVEIETDAALPRLAAMVDDGCLKEMVNVPEGTTAF
 YPKYYPFHKPDHDDVGTGFGAPDITLLKQLTFFLENDFPTGPETLRQVREAIATLQYG
 SGSYSGQLNRLLAMKGVATGRNPNKTP LAVGYTNEQMARLMEQTL PINPPKNEDPDLR
 WAPSWLIQYTGDASTDKSYLPHVTVKSSAGLPYIGKTKGDTTAEALVLADSFIRDLGK
 AATSADPEADVKKVLSDFWYLSGLLFPKGERYTQKDWDLKTRNIWSAPYPHTLLLSM
 VSSPVMDESKLNITNTQTPSLYGFSPFHGGINRIMTIIREHLDQEQLVMIYADNIYI
 LQDNTWYSIDLEKGEANCTPQHMQAMMYRLTREWNTEDGSPRYNPTWATFAMNVGPS
 MVVDSTCLLNLQLKTYGQGSNAFTFLNNHLMSTIVVAEWHKAGRPNPMSKEFMDLE
 AKTGINFKIERELKDLRSIIMEAVDTAPLDGYLADGSDLPPRVP GKAVELDLLGWSAV
 YSRQLEMFPVLENERLIASVAYPKGLENKSLARKPGAEIAYQIVRYE AIRLIGGWNN
 PLIETAAKHMSLDKRKRLEVKGIDVTGFLDDWNAMSEFGGDLEGISLTAPLTNQTLTD
 INTPETEFDVKDRPPTPRSPGKTLAEVAAAITSPTYKDPKSAVWRLDQR TKLRVSTL
 RDHAHALKPAASTSDFWGDTEELAEQQQLLMKANNLLKSSLTEAREALETVQSDKII
 SGKTSPEKNPGTAANPVVAYGEFSEKIPLTPTQKKNKRREKQRRN"

BASE COUNT 784 a 761 c 643 g 442 t

ORIGIN

1 gtgggtcaac gttggtggca cccgacatac cagcactgtt tatgtatgca cgcgagtgcc
 61 cttttaaacc ctctacaata tacaacttat gatatgctcg acatctcaa ctcacctcaa

121 aaaggggctt ctatcttga tgcactcatg aagagcacgc agggagacgt ggaggatgtt
181 ctaataccca agcggtttag acccgaaag gattcgttag atagccccca ggctgcagcc
241 gcgttcctga aagaacacaa gtagcggata cttagccgc gagccatacc caccatggtt
301 gaatagaga cggatccgc tctgcctga cttagccgc tggaggacga tggcaagctt
361 aagaaatgg tcaatgttc cgaaggaaca accggttct acccaaaata ctaccattc
421 cacaacccg accatgacga cgtgggaacg tttggggctc cagacatcac actactcaa
481 caactgacgt tcttctgct ggagaatgac tttcaactg gtccagagac ctaagacaa
541 gtcagagaag caatgcaac cctgcaatac ggtccggca gctactcagg acaactcaac
601 aggctactgg caatgaaggg cgtcgccacg gggaggaatc ccaacaagac tccactggcc
661 gttggctaca ccaacgagca gatggcaaga ctgatggagc aaacctgccc tatcaacct
721 ccaaagaatg aggaccaga cctcagatgg gcccaagct ggttgataca gtacaccgga
781 gacgcatcaa ctgacaagtc atatctcct catgtgacag tcaagtcac tgccggccta
841 ccctacatag gcaaaacaa aggagacacc acggccgaag ccctggtgct ggagactcc
901 ttcataaggg acctcgaaa agccgcaaca tcagccgacc cagaggcggga cgtcaagaaa
961 gtactgtccg acttctgcta cctcagctgc ggtctgctt tccaaaagg ggagagatac
1021 acacagaaag actgggactt gaagaccagg aacatctgga gtgccccca tccaacgac
1081 ctactactat caatggtgct gtcaccggtg atggatgagt ccaactcaa catccaac
1141 actcagacc cctctctgta cgggttctca ccatttcacg gtgggatcaa cagaatcatg
1201 accatcatca gagagcatct ggaatcaagag caggacctgg tcatgatata tgccgacaac
1261 atatacatac tacaggacaa cacctggtac tccatgac tagaaaagg agaagcaaac
1321 tgacaccac aacacatgca ggcaatgatg tactaccgct tcacacgca atggacaaac
1381 gaggcggct caccacgta caaccgacg tgggcaacat tcgcatgaa cgttgggccc
1441 tcaatgtag tggactcaac ctgctgctg atgaatctgc agtgaagac ctacggcaa
1501 ggagtgagg atgccttac cttctcaac aacctctca tgtccacaat tgggtcgcg
1561 gaggggcaca aggcaggaag gccaatccc atgtccaaag aattcatgga cctcgaagca
1621 aagacgggga tcaactcaa aatcgagcgc gagctgaaag acctaaagtc gatcatcatg
1681 gaggcggtag acaccgccc actcgacgac tatctagcgc acgggtccga cctgccacc
1741 aggtgcccag ggaagcggt ggagctgac ctctaggat ggtccgact gtacagcca
1801 caactgaga tttctgccc cgtcctgaa aacgaaaggc taattgcatc agtcgcctac
1861 caaaagggc tagagaacaa atccctagct cgaaccccg gggccgagat cgcatacaca
1921 atagtaaggt atgaagcgt tcggctcacc ggaggctgga acaatccact catcgaaca
1981 gcagcaaac acatgtcct ggacaaaagg aagagactgg aggtaaaagg catcagcctc
2041 accggattcc tagacgactg gaacccatg tcggagtgc gaggcactt ggaggatc
2101 tcaactaacg ctcccctac aaaccagacc ctctagaca tcaacacacc agagaccgag
2161 ttcagctca aagatagacc cccacgccc cgttcccag gcaaacctc cgccaggta
2221 gccgagcga taacatcagg gacctacaaa gaccccaaaa gtgagtggt gaggctcctc
2281 gaccagagga ccaactacg cgtgagcacc ctacgcatc acgcatcgc gctaaaacc
2341 gcagctcaa catccgactt ctgggggac gccacagaag aactcgcga acaacaaca
2401 ctgctgatga aagcaacaa cctgctaaag agcagcctc cggaagcgg ggaagccctc
2461 gaaacctgac agtcagataa aataatctca ggcaaacct ctccagagaa gaatccggg
2521 accccgcaa acccgtggt ggcgatgga gattcagcg agaaaattcc tctactccc
2581 acgcaaaaga agaacgcaa gcgtcgggag aagcagagaa gaaactaaga

//

LOCUS BSeq#1 2630 bp RNA linear VRL 17-JUL-2018
DEFINITION Infectious pancreatic necrosis virus isolate Antalya07.
ACCESSION BSeq#1 - MH645339
VERSION
KEYWORDS .
SOURCE Infectious pancreatic necrosis virus
ORGANISM Infectious pancreatic necrosis virus
Viruses; dsRNA viruses; Birnaviridae; Aquabirnavirus.
REFERENCE 1 (bases 1 to 2630)
AUTHORS ALBAYRAK,H.
TITLE Complete genomic sequence of an infectious pancreatic necrosis
virus isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey
JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 2630)
 AUTHORS ALBAYRAK,H.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (17-JUL-2018) Ondokuz Mayıs University Faculty of
 Veterinary Medicine, Department of Virology, Kurupelit, Atakum,
 Samsun 55139, TURKEY
 COMMENT Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:1.

##Assembly-Data-START##
 Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
 ##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..2630
 /organism="Infectious pancreatic necrosis virus"
 /mol_type="genomic RNA"
 /serotype="Sp"
 /isolate="Antalya07"
 /host="Rainbow trout"
 /db_xref="taxon:11002"
 /segment="B"
 /cell_line="RTG-2"
 /country="TURKEY"
 /collection_date="2007"
 /serogroup="A"
 gene 94..2628
 /gene="VP1"
 CDS 94..2628
 /gene="VP1"
 /codon_start=1
 /product="RNA dependent RNA polymerase"
 /translation="MSDIFNSPQNKASILNALMKSTQGDVEDVLIPIKRRFRPAKDPLDS
 PQAAAAFLKEHKYRILRPRAIPTMVEIETDAALPRLAAMVDDGKLEKEMVSVPEGTTAF
 YPKYYPFHKPDHDDVGTGFGAPDITLLKQLTFFLENDFPTGPFETLRQVREAIATLQYG
 SGSYSQQLNRLLAMKGVATGRNPNKTP LAVGYTNEQMARLMEQTL PINPPKNEDPDLR
 WAPSWLIQYTGDTSTDKSYLPHVTVKSSAGLPYIGTKGDTTAEALVLADSFIRDLGK
 AATSADPEADVKKVLSDFWYLSGLLFPKGERYTQKDWDLKTRNIWSAPYPHTLLLSM
 VSSPVMDESKLNITNTQTPSLYGFSPFHGGINRIMTIIEHLDQEQLVMIYADNIYI
 LQDNTWYSIDLEKGEANCTPQHMQAMMYRRLREWTNEDGSPRYNPTWATFAMNVGPS
 MVVDSTCLLMNLQLKTHGQSGNAFTFLNNHLMSTIVVAEWHKAGRPNPMSKEFMDLE
 AKTGINFKIERELKDLRSIIMEAVDTAPLDGYLADGSDLPPRVP GKAVELDLLGWSAV
 YSRQLEMFPVPLENERLIASVAYPKGLENKSLARKPGAIEYQIVRYE AIRLIGGWNN
 PLIETAAKHMSLDKRRKLEVKGIDVTGFLDDWNTMSEFGGDLEGISLTAPLTNQTLTD
 INTPETEFDVKDRPPTPRSPGKTLAEVTA AITSGTYKDPKSAVWRLDQRTKLRVSTL
 RDHAHALKPAASTSDIWGDATEELAEQQQLLMKANNLLKSSLTEAREALETVQSDKII
 SGKTSPEKNPGTAANPVVAYGEFSEKIPLTPTQKKNKRREKQRRN"

BASE COUNT 797 a 758 c 632 g 443 t

ORIGIN

1 ggggtcaac gttggtggca cccgacatac cagcactgtt tatgtatgca cgcgagtgcc
 61 tttttaaac ctctacaata tacaacttat gatatgctcg acatcttcaa ctacactcaa
 121 aacaaggctt ctatcttgaa tgcactcatg aagagcacgc agggagacgt ggaggatggt
 181 ctaataccta agcggtttag accgcaaag gatccgtag atagcccca ggctgcagcc
 241 cgcttcctga aagaacaaa gatacggata ctaggccgc gagctatacc caccatggtt
 301 gaaatagaga cggatgccgc tctgcctcga ctagggccca tggggacga tggcaagctt
 361 aaggaaatgg tcagtgtcc agaggaaca acccggttct acccaaaata ctaccattc
 421 cacaaaccg accatgacga cgtgggaacg tttggggctc cagacatcac actactcaa
 481 caactgacgt tcttctgct ggagaatgac ttccaactg gtccagaac cctgagaaa
 541 gtcagagaag caatcgaac cctgcaaat ggtccggca gctactcagg acaactcaac

601 aggctactgg caatgaaggg cgtcgccacg gggaggaatc ccaacaagac tccactagcc
661 gttggctaca ccaacgagca gatggcaaga ctgatggagc aaaccttgcc tatcaacct
721 ccaaagaatg aggaccgaga ccttcggtgg gccccgagct ggttgataca gtacaccgga
781 gacacatcaa cgcacaagtc atatctcct catgtgacag tcaagtcac tgccggccta
841 ccctacatag gcaaaaccaa aggagacacc actgctgaag ccctggtgct ggagactcc
901 ttcataaggg acctcgaaa agctgcaacc tcagccgacc cagaggcgga cgtcaagaaa
961 gtactgtccg acttctgta cctcagctgc ggtctgctat tcccaaaagg ggagagatac
1021 acacagaaag actgggactt gaagaccagg aacatctgga gtgccccta tccaacgca
1081 ctactactat caatggtgtc gtcaccggtg atggacgaat ccaaactcaa catccaac
1141 actcagacc cctctctgta cgggttctca ccattccacg ggggatcaa cagaatcatg
1201 accatcatca gagagcatct ggaccaagag caggacctag tcatgatata tgccgacaac
1261 atatacatac tacaggacaa cacctggtac tccatcgatc tagaaaagg agaagcaaac
1321 tgacaccac aacacatgca ggcaatgatg tactaccgctc tcacacgca atggacaaa
1381 gaggacggct caccacggtg caaccaacg tgggcaacat tcgcatgaa cgttgggcc
1441 tcaatgtag tgactcaac ctgcctactg atgaatctgc agctgaagac ccacggcgag
1501 ggacgaggga atgcctcac cttctcaac aacctctca tgtccacaat tgtgtagcg
1561 gagtggcaca aagcaggaag gccaaatccc atgtccaaag aattcatgga cctcgaagca
1621 aagacgggga tcaactcaa aatcgagcgc gagctaaaag acctaggct gatcatcatg
1681 gaggcagtag acaccgccc actcgacgac tatctagccg acgggtccga cctgccacc
1741 aggtgcccag ggaagcggtg agagctgac cttctaggat ggtccgagc gtacaccga
1801 cagctcgaga tttctgccc cgtcctgaa aacgaaagac taattgcatc agtcgctac
1861 ccaaaaggc tagagaacaa atccctagct cgaaccag gggccgagat cgcatacaca
1921 atagtaaggt atgaagcgtc tcggtctcgc ggaggctgga acaatccact catcgaaca
1981 gcagcaaac acatgtcct agacaaaagg aagaggctgg aggtaaaagg cattgacgtc
2041 accgattcc tagacgactg gaacacatg tcggagtgc gaggcagct ggaggcatt
2101 tcaactacag ctcccctac aaaccagact ctctagaca ttaacacacc cgagaccgag
2161 ttcgacgtca aagacagacc acccagcgc cgtccccag gcaaacctc cgcgaggtg
2221 accgacgca taacatcagg gacctacaaa gaccccaaaa gtgagtggtg gaggctctc
2281 gaccagagga ccaactacg cgttagcacc ctactgac acgacgac actaaaacc
2341 gcagcgtcaa catccgacat ctgggggac gccacagaag aactcgcga acaacaaca
2401 ctgctgatga aagcgaaca cctgctaaag agcagcctca cggaagcag ggaagcctc
2461 gaaaccgtgc agtcagataa aataatctca ggcaaacct ctccagagaa gaatccggg
2521 accgccgca acccgtggt ggcgtatgga gattcagc agaaaattcc tctactccc
2581 acgcaaaaga agaacgcaa gcgtcgggag aagcagagaa gaaactaaga

//

LOCUS BSeq#1 2630 bp RNA linear VRL 17-JUL-2018
DEFINITION Infectious pancreatic necrosis virus isolate Aydin07.
ACCESSION BSeq#1 - MH645340
VERSION
KEYWORDS .
SOURCE Infectious pancreatic necrosis virus
ORGANISM Infectious pancreatic necrosis virus
Viruses; dsRNA viruses; Birnaviridae; Aquabirnavirus.
REFERENCE 1 (bases 1 to 2630)
AUTHORS ALBAYRAK,H.
TITLE Complete genomic sequence of an infectious pancreatic necrosis
virus isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 2630)
AUTHORS ALBAYRAK,H.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (17-JUL-2018) Ondokuz Mayıs University Faculty of
Veterinary Medicine, Department of Virology, Kurupelit, Atakum,
Samsun 55139, TURKEY
COMMENT Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:1.

```

##Assembly-Data-START##
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
##Assembly-Data-END##
FEATURES             Location/Qualifiers
source               1..2630
                    /organism="Infectious pancreatic necrosis virus"
                    /mol_type="genomic RNA"
                    /serotype="Sp"
                    /isolate="Aydin07"
                    /host="Rainbow trout"
                    /db_xref="taxon:11002"
                    /segment="B"
                    /cell_line="RTG-2"
                    /country="TURKEY"
                    /collection_date="2007"
                    /serogroup="A"
gene                 94..2628
                    /gene="VP1"
CDS                  94..2628
                    /gene="VP1"
                    /codon_start=1
                    /product="RNA dependent RNA Polymerase"
                    /translation="MSDIFNSPQNKASILNALMKSTQGDVEDVLIPKRFPAKDPLDS
PQAAAAFLKEHKYRILRPRAIPTMVEIETDAALPRLAAMVDDGKLEKEMVSVPEGTTAF
YPKYYPFHKPDHDDVGTGFGAPDITLLKQLTFFLENDFPTGPETLRQVREAIATLQYG
SGSYSGQLNRLLAMKGVATGRNPNTPLAVGYTNEQMARLMEQTLPINPPKNEPDLR
WAPSWLIQYTGDASTDKSYLPHVTVKSSAGLPYIGTKGDTTAEALVLADSFIRDLGK
AATSADPEADVKKVLSDFWYLSGCLLFPKGERYTQKDWDLKTRNIWSAPYPTHLLSM
VSSPVMDESKLNIQTTPSLYGFSPFHGGINRIMTIIEHLDQEQLVMIYADNIYI
LQDNTWYSIDLEKGEANCTPQHMQAMMYRRLTREWTNEDGSPRYNPTWATFAMNVGVS
MVVDSTCLLMNLQLKTHGQGSGNAFTFLNNHLMSTIVVAEWHKAGRPNPMSKEFMDLE
AKTGINFKIERELKDLRSIIMEAVDTAPLDGYLADGSDLPPRPVPGKAVELDLLGWSAV
YSRQLEMFPVPLENERLIASVAYPKGLENKSLARKPGAIEYQIVRYEAIRLIGGWNN
PLIETAAKHMSLDKRRKRELVKIDVTGFLDDWNTMSEFGGDLGISLTAPLTNQTLTD
INTPETEFDVKDRPPTPRSPGKTLAEVTAITSWYKDPKSAVWRLLDQRTKLRVSTL
RDHAHALKPAASTSDIWGDATEELAEQQQLMKANNLLKSSLTEAREALETVQSDKII
SGKTSPEKNPGTAANPVVAYGEFSEKIPLTPTQKKNKRREKQRRN"
BASE COUNT          794 a 759 c 635 g 442 t
ORIGIN
1 ggggtcaac gttggtggca cccgacatac cagcactgtt tatgatgca cgcgagtgcc
61 cttttaaac ctctacaata tacaacttat gatatgtcgg acatctcaa ctcacctcaa
121 aacaaggctt ctattttgaa tgcactcatg aagagcacgc agggagacgt ggaggatgtt
181 ctaataccta agcggtttag accgcaaag gatccgtag atagcccca ggctgcagcc
241 gcgttcctga aagaacacaa gtatcggata cttaggccgc gagctatacc caccatggtt
301 gaaatagaga cggatgccgc tctgcctcga ctagcggcca tggtgacga tggcaagctt
361 aaggaaatgg tcagtgttcc agaggaaca acccggttct acccaaaata ctaccattc
421 cacaaaccg accatgacga cgtgggaacg tttgggctc cagacatcac actactcaa
481 caactgactt tcttctgct ggagaatgac tttccaactg gtccagaaac ctaagacaa
541 gtcagagaag caatcgcaac cctgcaatac ggtcggca gctactcagg acaactcaac
601 aggctactgg caatgaaggc cgtcgccacg gggaggaatc ccaacaagac tccactggcc
661 gttgctaca ccaacgagca gatggcaaga ctgatggagc aaccttgcc tatcaacct
721 caaagaatg aggaccgaga ccttcggtgg gcccttagct ggttgatata gtacaccgga
781 gacgcatcaa ctgacaagtc atatctcctc catgtgacag tcaagtcac tgccgcgcta
841 ccctacatag gcaaaaccaa aggagacacc acggctgaag ccctggtgct ggagactcc
901 ttcataaggc acctcgaaa agctgcaacc tcagccgacc cagaggcgga cgtcaagaaa
961 tactgtcgc acttctgcta cctcagctgc ggtctgctat tccaaaagg ggagagatac
1021 acacagaag actgggactt gaagaccagg aacatctgga gtgccccta tccaacgac

```

1081 ctactactat caatggtg gtcaccggtg atggacgaat ccaaactcaa catcaccaac
 1141 actcagaccc cctctctgta cgggttctca ccattccacg ggggatcaa cagaatcatg
 1201 accatcatca gagagcatct ggaccaagag caggacctag tcatgatata tgccgacaac
 1261 atatacatac tacaggacaa cacctggtac tccatcgatc tagaaaaggg agaagcaaac
 1321 tgacacacc aacacatgca ggcaatgatg tactaccgtc tcacacgcga atggacaaac
 1381 gaggacggct caccacggta caaccaacg tgggcaacat tcgcatgaa cgttgggccc
 1441 tcaatggtag tggactcaac ctgctgctg atgaatctgc agctgaagac ccacgggcag
 1501 ggcagcggga atgccttca cttctcaac aacctctca tgtccacaat cgtggtagcg
 1561 gagtggcaca aagcaggaag gccaaatccc atgtccaaag aattcatgga cctcgaagca
 1621 aagacgggga ttaacttcaa aatcgagcgc gagctaaaag acctaaggtc gatcatcatg
 1681 gaggcagtag acaccgcccc actcgacggc tatttagccg acgggtccga cctgccacc
 1741 aggggtccag ggaaggcggg agagctcgac cttctaggat ggtccgcagt gtacaccga
 1801 cagctcgaga tgtctgccc cgtccttga aacgaaagac taattgcatc agtcgctac
 1861 ccaaaaggc tagagaacaa atccctagct cgaaaaccag gggccgagat cgcatacaca
 1921 atagtaaggt atgaagcga tcggctcacc ggaggctgga acaatccact catcgaacaa
 1981 gcagcaaac acatgtcct agacaaaagg aagaggctgg aggtaaaagg catcgacgtc
 2041 accggattcc tagacgactg gaacaccatg tcggagtccg gaggcgatct ggaggcagc
 2101 tcaactaacag ctccccac aaaccagact ctctagaca tcaacacacc agagaccgag
 2161 ttcgactca aagacagacc cccacgccc cgctcccag gcaaacctc cggcaggta
 2221 accgacgca taacatcatg gacctacaaa gaccccaaaa gtgcagtgtg gaggctcct
 2281 gaccagagga ccaactacg cgtgagcacc ctactgac acgcgcacgc gtaaaaacc
 2341 gcagcgtcaa catccgacat ctggggggac gccacagaag aactcgccga acaacaaca
 2401 ctgctgatga aagcgaacaa cctgctaaag agcagcctca cggaagcgag ggaagccctc
 2461 gaaaccgtgc agtcagataa aataatctca ggcaaacct ctccagagaa gaatcccggg
 2521 accgccgcaa acccgtggt ggcgtatgga gagttcagcg agaaaattcc tctactccc
 2581 acgcaaaaga agaacgcaa gcgtcgggag aagcagagaa gaaactaaga

//

LOCUS BSeq#1 2630 bp RNA linear VRL 17-JUL-2018
 DEFINITION Infectious pancreatic necrosis virus isolate HAH-2.
 ACCESSION BSeq#1 - 645341
 VERSION
 KEYWORDS .
 SOURCE Infectious pancreatic necrosis virus
 ORGANISM Infectious pancreatic necrosis virus
 Viruses; dsRNA viruses; Birnaviridae; Aquabirnavirus.
 REFERENCE 1 (bases 1 to 2630)
 AUTHORS ALBAYRAK,H.
 TITLE Complete genomic sequence of an infectious pancreatic necrosis
 virus isolated from turbot (*Scophthalmus maximus*) in Turkey
 JOURNAL Unpublished
 REFERENCE 2 (bases 1 to 2630)
 AUTHORS ALBAYRAK,H.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (17-JUL-2018) Ondokuz Mayıs University Faculty of
 Veterinary Medicine, Department of Virology, Kurupelit, Atakum,
 Samsun 55139, TURKEY
 COMMENT Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:1.

##Assembly-Data-START##
 Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
 ##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers
 source 1..2630
 /organism="Infectious pancreatic necrosis virus"
 /mol_type="genomic RNA"
 /serotype="Sp"

```

/isolate="HAH-2"
/host="Turbot"
/db_xref="taxon:11002"
/segment="B"
/cell_line="RTG-2"
/country="TURKEY"
/collection_date="2010"
/serogroup="A"
gene      94..2628
          /gene="VP1"
CDS       94..2628
          /gene="VP1"
          /codon_start=1
          /product="RNA dependent RNA Polymerase"
          /translation="MSDIFNSPQKGASILNALMKSTQGDVEDVLIPKFRPAKDPLDS
PQAAAAFLKEHKYRILRPRAIPTMVEIETDAALPRLAAMVDDGKLKEMVNVPEGTTAF
YPKYYPFHRPDHDDVGTGFGAPDITLLKQLTFFLENDFPTGPETLRQVREAIATLQYG
SGSYSGQLNRLLAMKGVATGRNPNTPLAVGYTNEQMARLMEQTLPINPPKNEPDLR
WAPSWLIQYTGDAITDKSYLPHVTVKSSAGLPYIGTKGDTTAEALVLADSFIRDLGK
AATSADPEADVKKVLSDFWYLSGGLLFPKGERYTQKDWDLKTRNIWSAPYPHTLLSM
VSSPVMDESKLNIITNTQTPSLYGFSPFHGGINRIMTIIEHLDQEQLVMIYADNIYI
LQDNTWYSIDLEKGEANCTPQHMQAMMYRLTREWNTNEDGSPRYNPTWATFAMNVGPS
MVVDSTCLLMNLQKTYGQSGNAFTFLNNHLMSTIVVAEWHKAGRPNPMSKEFMDLE
AKTGINFKIERELKDLRSIIMEAVDTAPLDGYLADGSDLPVRVPGKAVELDLLGWSAV
YSRQLEMFVPLENERLIASVAYPKGLENKSLARKPGAEIAYQIVRYEAIRLIGGWNN
PLIETAAKHMSLDKRKRLEVKGIDVTGFLDDWNTMSEFGDLEGISLTAPLTNQTLTD
INTPETEFDVKDRPPTPRSPGKTLAEVTAAITSGTYKPKSAVWRLDQRTKLRVSTL
RDHAHALKPAASTSDIWGDATEELAEQQQLMKANNLLKSSLTEAREALETVQSDKII
SGKTSPEKNPGTAANPVVAYGEFSEKIPLTPTQKKNKRREKQRRN"

```

BASE COUNT 786 a 763 c 641 g 440 t

ORIGIN

```

1 gttgggtcaac gttggtggca cccgacatac cagcactgtt tatgtatgca cgcgagtgcc
61 cttttaaacc ctctacaata tacaacttat gatatgtcgg acatcttcaa ctacactcaa
121 aaaggggctt ctatctttaa tgcactcatg aagagcacgc agggagacgt ggaggatgtt
181 ctaataccca agcgggttag accgcaaag gatccgtag atagcccca ggctgcagcc
241 gcgttcctga aagaacacaa gtatcgata cttagccgc gagccatacc caccatggtt
301 gaaatagaga cggatccgc tctgcctga ctagcggcca tggaggacga tggcaagctt
361 aaggaaatgg tcaatgttc cgaaggaaca acccggttct acccaaaata ctaccattc
421 cacagaccg accatgacga cgtgggaacg tttggggctc cagacatcac actactcaa
481 caactgacgt tcttctgct ggagaatgac tttccaactg gtccagagac ctaagacaa
541 gtcagagaag caatgcaac cctgcaatac ggtccggca gctactcagg acaactcaac
601 aggctactgg caatgaaggc cgtcgccacg gggaggaatc ccaacaagac tccactggcc
661 gttggctaca ccaacgagca gatggcaaga ctgatggagc aaccttgc tatcaacct
721 ccaaagaatg aggaccaga cctcagatg gcccaagct ggttgataca gtacaccgga
781 gacgattaa ctgacaagtc atatctcct catgtgacag tcaagtcatc tgcggccta
841 ccctacatag gcaaaacaa aggagacacc acggccgaag ccctggtgct ggcagactcc
901 ttcataaggc acctcggaaa agccgcaacc tcagccgacc cagaggcggga cgtcaagaaa
961 gtactgtccg acttctgcta cctcagctgc ggtctgctt tccaaaagg ggagagatac
1021 acacagaaag actgggactt gaagaccagg aacatctgga gtgccccta tccaacgca
1081 ctactactat caatggtgtc gtcaccggtg atggatgagt ccaactcaa catccaac
1141 actcagacc tttctctgta cgggttctca ccatcagc gtgggatcaa cagaatcatg
1201 accatcatca gagagcatct ggatcaagag caggacctag tcatgatata tgccgacaac
1261 atatacatac tacaggacaa cacctggtac tccatgac tagaaaagg ggaagcaaac
1321 tgcacaccac aacacatgca ggcaatgatg tactaccgtc tcacacgca atggcaaac
1381 gaggacggct caccacgta caaccgacg tgggcaacat tcgcatgaa cgttgggccc
1441 tcaatgtag tggactcaac ctgctgctg atgaatctgc agctgaagac ctacgggcaa
1501 ggcagtggga atgcctcac cttctcaac aacctctca tgtccacaat tgtggtcgcg

```

1561 gagtggcaca aggcaggaag gccaatccc atgtccaaag aattcatgga ctcgaagca
1621 aagacgggga tcaactcaa aatcgagcgc gagctgaaag acctaaggtc gatcatcatg
1681 gaggcggtag acaccgcccc actcgacggc tatctagccg acgggtccga cctgccacc
1741 aggggtgccag ggaaggcggt ggagctcgac ctctaggat ggtccgcagt gtacagccga
1801 caactcgaga tgttcgtccc cgtccttga aacgaaagac taattgcatc agtcgcctac
1861 ccaaaagggc tagagaaca atccctagct cgaaaacccg gggccgagat cgataccea
1921 atagtaaggat atgaagcgat tcggctcadc ggaggctgga acaatccact catcgaaca
1981 gcagcaaac acatgtcctt ggacaaaagg aagagactgg aggtaaaagg catcgacgtc
2041 accggattcc tagacgactg gaacaccatg tcggagtctg gaggcgatct ggagggtatc
2101 tcaactaacag ctccccctac aaaccagacc ctctagaca tcaacacacc agagaccgag
2161 ttcgacgtca aagacagacc ccccacgccc cgctccccag gcaaaacctt cgccgagga
2221 accgacgca taacatcagg gacctacaaa gacccccaaa gtgcagtgtg gaggctcctc
2281 gaccagagga ccaactacg cgtgagcacc ctacgcgac acgcgcacgc gctaaaacct
2341 gcagcgtcaa catccgacat ctggggggac gccacagaag aactcgcca acaacaaca
2401 ctgctgatga aagcgaaca cctgctaaag agcagcctca cggaagcgag ggaagccctc
2461 gaaacctgtc agtcagataa aataatctca ggcaaacctt ctccagagaa gaatcccggg
2521 accccgcaa accccgtggt ggcgtatgga gagttcagcg agaaaattcc tctcactcc
2581 acgcaaaaga agaacgcaa gcgtcgggag aagcagagaa gaaactaaga

//

LOCUS BSeq#1 2630 bp RNA linear VRL 17-JUL-2018
DEFINITION Infectious pancreatic necrosis virus isolate HAH-3.
ACCESSION BSeq#1 - MH645342
VERSION
KEYWORDS .
SOURCE Infectious pancreatic necrosis virus
ORGANISM Infectious pancreatic necrosis virus
Viruses; dsRNA viruses; Birnaviridae; Aquabirnavirus.
REFERENCE 1 (bases 1 to 2630)
AUTHORS ALBAYRAK,H.
TITLE Complete genomic sequence of an infectious pancreatic necrosis
virus isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 2630)
AUTHORS ALBAYRAK,H.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (17-JUL-2018) Ondokuz Mayıs University Faculty of
Veterinary Medicine, Department of Virology, Kurupelit, Atakum,
Samsun 55139, TURKEY
COMMENT Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:1.

##Assembly-Data-START##
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers
source 1..2630
/organism="Infectious pancreatic necrosis virus"
/mol_type="genomic RNA"
/serotype="Sp"
/isolate="HAH-3"
/host="Rainbow trout"
/db_xref="taxon:11002"
/segment="B"
/cell_line="RTG-2"
/country="TURKEY"
/collection_date="2010"
/serogroup="A"

```

gene      94..2628
          /gene="VP1"
CDS       94..2628
          /gene="VP1"
          /codon_start=1
          /product="RNA dependent RNA Polymerase"
          /translation="MSDIFNSPQKGASILNALMKSTQGDVEDVLIPKRFRPAKDPLDS
PQAAAAFLKEHKYRILRPRAIPTMVEIETDAALPRLAAMVDDGKLEKEMVNVPEGTTAF
YPKYYPFHRPDHDDVGTGFGAPDITLLKQLTFFLENDFPTGPETLRQVREAIATLQYG
SGSYSQQLNRLLAMKGVATGRNPNKTPLAVGYTNEQMARLMEQTLPINPPKNEDPDLR
WAPSWLIQYTGDALTDKSYLPHVTVKSSAGLPYIGTKGDTTAEALVLADSFIKDLGK
AATSADPEADVKKVLSDFWYLSGGLLFPKGERYTQKDWDLKTRNIWSAPYPTHLLSM
VSSPVMDESKLNITNTQTPSLYGFSPFHGGINRIMTIIEHLDQEQLVMIYADNIYI
LQDNTWYSIDLEKGEANCTPQHMAMMYRLTREWNTEDGSPRYNPTWATFAMNVGPS
MVVDSTCLLMNLQLKTYGQSGNAFTLNNHLMSTIVVAEWHKAGRPNPMSKEFMDLE
AKTGINFKIERELKDLRSIIMEAVDTAPLDGYLADGSDLPPRVPKAVELDLLGWSAV
YSRQLEMFPVLENERLIASVAYPKGLENKSLARKPGAEIAYQIVRYEAIRLIGGWNN
PLIETAAKHMSLDKRRLEVKGIDVTGFLDDWNTMSEFGDLEGISLTALLTNQTLTD
INTPETEFDVKDRPPTPRSSGKSLAEVAAAITSGTYKDPKSAVWRLDQRTRKLRVSTL
RDHAHALKPAASTSDIWGDATEELAEQQQLLMKANNLLKSSLTEAREALETVQSDKII
SGKTSPEKNPGTAANPVVAYGEFSEKIPLTPTQKKNKRREKQRRN"

```

BASE COUNT 785 a 755 c 640 g 450 t

ORIGIN

```

1 gtgggtcaac gttggtggca cccgacatac cagcactggt tatgtatgca cgcgagtgcc
61 cttttaaacc ctctacaata tacaacttat gatatgctcg acatctcaa ctacactcaa
121 aaagggcct ctattttgaa tgcactcatg aagagcacgc agggagacgt ggaggatgtt
181 ctaataccca agcggtttag acccgcaaag gatccgtag atagcccca ggctgcagcc
241 ggttcctga aagaacacaa gtatcggata cttaggccgc gagccatacc caccatggtt
301 gaaatagaga cggatccgc tctgcctcga ctagcggcca tggtagacga tggcaagctt
361 aaggaaatgg tcaatgtcc cgaaggaaca accgcttct acccaaaata ctaccattc
421 cacagaccg accatgacga cgtgggaacg tttggggctc cagacatcac actactcaa
481 caactgacgt tcttctgct ggagaatgac ttccaactg gtccagagac ctaagacaa
541 gtcagagaag caatcgcaac cctgcaatac ggttccggca gctactcagg acaactcaac
601 aggtactgga caatgaaggg cgtcgccacg gggaggaatc ccaacaagac tccactggcc
661 gttggctaca ccaacgagca gatggcaaga ctgatggagc aaaccttgc tatcaacct
721 ccaaagaatg aggaccaga cctccgatgg gcccgaagct ggtgataca gtacaccgga
781 gaccattaa ctgacaagtc atatctcct catgtgacag tcaagtcac tgccgccta
841 ccctacatag gcaaaacaa aggagacacc acggccgaag ccctggtgct ggagactcc
901 ttcataaggc acctcgaaa agccgcaacc tcagccgacc cagaggcggga cgtcaagaaa
961 gtactgtccg acttctggtta cctcagctgc ggtctgctt tccaaaagg ggagagatac
1021 acacagaaag actgggactt gaagaccagg aacatctgga gtgcccccta tccaacgcaac
1081 ctactactat caatggtgtc gtcaccggtg atggatgagt ccaactcaa catcaccaac
1141 actcagacc cttctctgta cgggttctca ccatttcacg gtgggatcaa cagaatcatg
1201 accatcatca gagagcatct ggatcaagag caggacctag tcatgatata tgccgacaac
1261 atatacatac tacaggacaa cacctggtac tccatgatc tagaaaagg ggaagcaaac
1321 tgacaccac aacacatgca ggcaatgatg tactaccgctc tcacacgca atggacaaac
1381 gaggacggct caccacggtta caaccaacg tgggcaacat tcgcatgaa cgttgggccc
1441 tcaatgtag tggactcaac ctgcctgctg atgaatctgc agctgaagac ctacgggcaa
1501 ggcaatggga atgcttctac cttcctcaac aacctctca tgtccacaat tgtggtcgg
1561 gagtggcaca aggaggaag gccaaatccc atgtccaaag aattcatgga cctcgaagca
1621 aagacgggga tcaactcaa aatcgagcgc gagctgaaag acctaaggct gatcatcatg
1681 gaggcggtag acaccgccc actcgacggc tatctagccg acgggtccga cctgccacc
1741 aggtgcccag ggaagcggtt ggagctgac cttctaggat ggtccgagc gtacagccga
1801 caactcgaga tgtctgtccc cgtccttgaa aacgaaagac taattgcatc agtcgcctac
1861 caaaagggtc tagagaacaa atcctagct cgaaaaccg gggccgagat cgcatacaca
1921 atagtaagg atgaagcga tcggctcctc ggaggctgga acaatcact catcgaacaa
1981 gcagcaaac acatgtcctt ggacaaaagg aagagactgg aggtaaaagg catcgactc

```

2041 accggatttc tagacgactg gaacacatg tcggagtgc gaggcgatct ggagggtatc
 2101 tcactaacag ctctctcac aaaccagact ctctagaca tcaacacacc agagaccgag
 2161 ttcgacgtca aagacagacc tcccagccg cgctctcag gcaaatccct cgccgaggta
 2221 gccgcagcga taacatcagg gacctacaaa gaccccaaaa gtgcagtgtg gaggctcctc
 2281 gaccagagga ccaaactacg cgttagcacc ctacgtgatc acgcgcatgc gctaaaacc
 2341 gcagcgtcaa catccgacat ctggggggac gccacagaag aactcgccga acaacaaca
 2401 ctgctgatga aagcgaaca cctgctaaag agcagcctca cggaagcgag ggaagccctc
 2461 gaaaccgtgc agtcagataa aataatctca ggcaaacct ctccagagaa gaatccggg
 2521 accccgcaa accccgtgtt ggcgtatgga gagttcagcg agaaaattcc tctcactcc
 2581 acgcaaaaga agaacgcaa gcgtcgggag aagcagagaa gaaactaaga

//

LOCUS BSeq#1 2630 bp RNA linear VRL 17-JUL-2018

DEFINITION Infectious pancreatic necrosis virus isolate HAH-4.

ACCESSION BSeq#1 - MH645343

VERSION

KEYWORDS .

SOURCE Infectious pancreatic necrosis virus

ORGANISM Infectious pancreatic necrosis virus

Viruses; dsRNA viruses; Birnaviridae; Aquabirnavirus.

REFERENCE 1 (bases 1 to 2630)

AUTHORS ALBAYRAK,H.

TITLE Complete genomic sequence of an infectious pancreatic necrosis virus isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 2630)

AUTHORS ALBAYRAK,H.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (17-JUL-2018) Ondokuz Mayis University Faculty of Veterinary Medicine, Department of Virology, Kurupelit, Atakum, Samsun 55139, TURKEY

COMMENT Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:1.

##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..2630

/organism="Infectious pancreatic necrosis virus"

/mol_type="genomic RNA"

/serotype="Sp"

/isolate="HAH-4"

/host="Rainbow trout"

/db_xref="taxon:11002"

/segment="B"

/cell_line="RTG-2"

/country="TURKEY"

/collection_date="2010"

/serogroup="A"

gene 94..2628

/gene="VP1"

CDS 94..2628

/gene="VP1"

/codon_start=1

/product="RNA dependent RNA Polymerase"

/translation="MSDIFNSPQNKASILNALMKSTQGDVEDVLIPKFRFRPAKDPLDS

PQAAAAFLKEHKYRILRPRAIPTMVEIETDAALPRLAAMVDDGKLEKEMVNVPEGTTAF

YPKYYPFHRPDHDDVGTGAPDITLLKQLTFFLENDFPTGPETLRQVREAIATLQYG
SGSYSGQLNRLLAMKGVATGRNPNKTPLAVGYTNEQMARLMEQTLPINPPKNEDPDLR
WAPSWLIQYTGDAITDKSYLPHVTVKSSAGLPYIGKTKGDTTAEALVLADSIFIRDLGK
AATSADPEADVKKVLSDFWYLSGGLLFPKGERYTQKDWDLKTRNIWSAPYPTHLSSM
VSSPVMDESKLNITNTQTPSLYGFSPFHGGINRIMTIIEHLDQEQLVMIYADNIYI
LQDNTWYSIDLEKGEANCTPQHMAMMYRLTREWNTEDGSPRYNPTWATFAMNVGPS
MVVDSTCLLMNLQLKTHGQSGNAFTFLNNHLMSTIVVAEWHKAGRPNPMSKEFMDLE
AKTGINFKIERELKDLRSIIMEAVDTAPLDGYLADGSDLPPRVPKAVELDLLGWSAV
YSRQLEMFVPLENERLIASVAYPKGLENKSLARKPGAEIAYQIVRYEAIRLIGGWNN
PLIETAAKHMSLDKRRLEVKGIDVTGFLDDWNTMSEFGGDLEGISLAPLTNQTLTD
INTPETEFDVKDRPPTPRSPGKPLAEVTAITSGYKDPKSAVWRLDQRKLRVSTL
RDHAHALNPAASTSDFWGDTEELAEQQQLMKANNLLKSSLTEAREALETVQSDKII
SGKTSPEKNPGTAANPVVAYGEFSEKIPLTPTQKKNKRREKQRRN"

BASE COUNT 787 a 768 c 638 g 437 t

ORIGIN

1 gtgggtcaac gttggtggca cccgacatac cagcactgtt tatgtatgca cgcgagtgcc
61 cttttaaacc ctctacaata tacaacttat gatatgctcg acatcttcaa ctcaactcaa
121 aacaaggctt ctatcttgaa tgcactcatg aagagcacgc agggagacgt ggaggatggt
181 ctaataccca agcggtttag acccgaag gatccgtag atagcccca ggctgcagcc
241 gcgttcctga aagaacacaa gtatcgata ctaggccgc gagcatacc caccatggt
301 gaaatagaga cggatgccgc tctgcctga ctagcgcca tggaggaca tggcaagctt
361 aaggaaatgg tcaatgtcc cgaaggaaca acccgctt acccaata ctaccattc
421 cacagaccg accatgacga cgtgggaacg tttgggctc cagacatcac actactcaa
481 caactgactg tcttctgct ggagaatgac ttccaactg gtccagagac ctaagacaa
541 gtcagagaag caatcgcaac cctgcaatc ggtccggca gctactcagg acaactcaac
601 aggtactgga caatgaagg cgtcgccacg gggaggaatc ccaacaagac tccactggcc
661 gttggtaca ccaacgagca gatggcaaga ctgatggagc aaacctgctc tatcaacct
721 ccaagaatg aggaccaga cctccgatgg gcccgaagct ggttgatata gtacaccgga
781 gaccattaa ctgacaagtc atatctcct catgtgacag tcaagtcatc tgccggccta
841 ccctacatag gcaaaacaa aggagacc accgccaag ccctggtgct ggcagactcc
901 ttcataaggg acctcgaaa agccgaacc tcagccgacc cagaggcggga cgtcaagaaa
961 gtactgtccg actcttggtta cctcagctgc ggtctgctc tccaaaagg ggagagatac
1021 acacagaaag actgggactt gaagaccagg aacatctgga gtcccccta tccaacgcac
1081 ctactactat caatggtgtc gtcaccggtg atggatgagt ccaactcaa catccaac
1141 actcagacc cttctctgta cgggttctca ccatttcacg gtgggatcaa cagaatcatg
1201 accatcatca gagagcatc ggatcaagag caggacctag tcatgatata tgccgacaac
1261 atatacatac tacaggacaa cacctggtac tccatcgatc tagaaaagg ggaagcaaac
1321 tgcacaccac aacatgca ggcaatgatg tactaccgctc tcacacgca atggcaaac
1381 gaggacggt caccacggt caaccgacg tgggcaacat tcgcatgaa cgttgggccc
1441 tcaatgtag tggactcaac ctgctgctg atgaatctgc agctgaagac ccagggcag
1501 ggcagcggga atgcttcac cttctcaac aacctctca tgtccacaat cgtggtagcg
1561 gagtggcaca aagcaggaag gcaaatccc atgtccaaag aattcatgga cctcagggca
1621 aagacgggga tcaactcaa aatcgagcg gagtaaaag acctaaggct gatcatcatg
1681 gaggcagtag acaccgccc actcgacggc tacttagccg acgggtccga cctgccacc
1741 aggtgcccag ggaaggcggg agagctcgac cttctaggat ggtccgagc gtacagccga
1801 cagctcgaga tgtctgccc cgtcctgaa aacgaaagac taattgcatc agtcgctac
1861 ccaaaaggc tagagaacaa atccctagct cgaaccag gggcggagat cgcatacaca
1921 atagtaaagt atgaagcgt tcggctcacc ggaggctgga acaatccact catcgaaca
1981 gcagcaaac acatgtcct agacaaaagg aagaggctgg aggtaaaagg catcgacgtc
2041 accgattcc tagacactg gaacacatg tcggagtccg gaggcagct ggaggcagc
2101 tactaacag ctcccctac aaaccagact ctctagaca tcaacacacc agagaccgag
2161 ttcgactca aagacagacc cccacgccc gctcccag gcaaacctc cggcaggta
2221 accgacgca taacatcagg gacctacaa gaccccaaaa gtgagtggtg gaggctcctc
2281 gaccagagga ccaactacg cgtgagcacc ctacgcatc acgacgacg gctaaaccc
2341 gcagctcaa catccgactt ctggggggac gccacagaag aactcgcca acaacaaca
2401 ctgctgatg aagcgaaca cgtgctaaag agcagcctc cggaagcag ggaagcctc
2461 gaaaccgtg agtcagataa aataatctca ggcaaacct ctccagagaa gaatcccggg

2521 accgccgcaa accccgtggt ggcgtatgga gagttcagcg agaaaattcc tctcactccc
2581 acgcaaaaaga agaacgcca gcgtcgggag aagcagagaa gaaactaaga
//

LOCUS BSeq#1 2630 bp RNA linear VRL 17-JUL-2018

DEFINITION Infectious pancreatic necrosis virus isolate Hatay07.

ACCESSION BSeq#1 - MH645344

VERSION

KEYWORDS .

SOURCE Infectious pancreatic necrosis virus

ORGANISM Infectious pancreatic necrosis virus
Viruses; dsRNA viruses; Birnaviridae; Aquabirnavirus.

REFERENCE 1 (bases 1 to 2630)

AUTHORS ALBAYRAK,H.

TITLE Complete genomic sequence of an infectious pancreatic necrosis
virus isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 2630)

AUTHORS ALBAYRAK,H.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (17-JUL-2018) Ondokuz Mayis University Faculty of
Veterinary Medicine, Department of Virology, Kurupelit, Atakum,
Samsun 55139, TURKEY

COMMENT Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:1.

##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..2630

/organism="Infectious pancreatic necrosis virus"

/mol_type="genomic RNA"

/serotype="Sp"

/isolate="Hatay07"

/host="Rainbow trout"

/db_xref="taxon:11002"

/segment="B"

/cell_line="RTG-2"

/country="TURKEY"

/collection_date="2007"

/serogroup="A"

gene 94..2628

/gene="VP1"

CDS 94..2628

/gene="VP1"

/codon_start=1

/product="RNA dependent RNA Polymerase"

/translation="MSDIFNSPQNKASILDALMKSTQGDVEDVLPKRFRPAKDSLDS

PQAAAAFLKEHKYRILRPRAIPTMVEIETDAALPRLAAMVDDGKLEKEMVNVPEGTAF

YPKYYPFHKPDHDDVGTFGAPDITLLKQLTFFLENDFPTGPETLRQVREAIATLQYG

SGSYSGQLNRLLAMKGVATGRNPNKTPLAVGYTNEQMARLMEQTLPINPPKNEPDLR

WAPSWLIQYTGDASTDKSYLPHVTVKSSAGLPYIGKTKGDTTAEALVLADSFIRDLGK

AATSADPEADVKKVLSDFWYLSGGLLFPKGERYTQKDWDLKTRNIWSAPYPTHLLSM

VSSPVMDESKLNITNTQTPSLYGFSPFHGGINRIMTIIEHLDQEQLVMIYADNIYI

LQDNTWYSIDLEKGEANCTPQHMQAMMYRLTREWTDGSPRYNPTWATFAMNVGFS

MVVDSTCLLNLQKTYGQSGNAFTLNNHLMSTIVVAEWHKAGRPNPMSKEFMDLE

AKTGINFKIERELKDLRSIIMEAVDTAPLDGYLADGSDLP RPVPGKAVELDLLGWSAV

YSRQLEMFPVLENERLIASVAYPKLENKSLARKPGAEIAYQIVRYEAIRLIGGWNN
PLIETAAKHMSLDKRKRLEVKGIDVTGFLDDWNAMSEFGGDLEGISLTAPLTNQTLDD
INTPETEFDVKDRPPTPRSPGKTLAEVTAITSGYKDPKSAVWRLDQRTKLRVSTL
RDHAHALKPAASTSDFWGDTEELAEQQQLMKANNLLKSSLTEAREALETVQSDKII
SGKTSPEKNPGTAANPVVAYGEFSEKIPLTPTQKKNKRREKQRRN"

BASE COUNT 785 a 759 c 641 g 445 t

ORIGIN

1 gtgggtcaac gttggtggca cccgacatac cagactgtt tatgtatgca cgcgagtgcc
61 ttttaaac ctctacaata tacaactat gatatgtcgg acatcttcaa ctcacctcaa
121 aacaaggctt ctatcttga tgactcatg aagagcacgc agggagacgt ggaggatgtt
181 ctaataccca agcggtttag acccgcaaag gattcgttag atagcccca ggctgcagcc
241 gcgttcctga aagaacacaa gtagcggata cttaggccgc gagcataacc caccatggtt
301 gaaatagaga cggatgccgc tctgcctga cttagggcca tggtagacga tggcaagcct
361 aaggaaatgg tcaatgttcc cgaaggaaca accgcgttct acccaaaata ctaccattc
421 cacaaaccg accatgacga cgtgggaacg tttggggctc cagacatcac actactcaa
481 caactgacgt tttctctgct ggagaatgac tttccaactg gtccagagac cctaagacaa
541 gtcagagaag caatcgcaac cctgcaatac ggtccggca gctactcagg acaactcaac
601 aggctactgg caatgaaggc cgtcggcacg gggaggaatc ccaacaagac tccactggcc
661 gttggctaca ccaacgagca gatggcaaga ctgatggagc aaacctgccc tatcaacct
721 ccaaagaatg aggaccgaga cctccgatgg gcccaagct ggttgataca gtacaccgga
781 gacgcatcaa ctgacaagtc atatctcctc catgtgacag tcaagtcac tgccggccta
841 ccctacatag gcaaaaccaa aggagacacc acggccgaag ccctggtgct ggagactcc
901 ttcataaggg acctcgaaa agccgcaaca tcagccgacc cagaggcggc cgtcaagaaa
961 gtactgtccg acttctgta cctcagctgc ggtctgctc tccaaaagg ggagagatac
1021 acacagaag actgggactt gaagaccagg aacatctgga gtcccccta tccaacgac
1081 ctactactat caatggtgct gtcaccggtg atggatgagt ccaaactcaa catccaac
1141 actcagacc cctctctgta cgggttctca ccatttcacg tggggatcaa cagaatcatg
1201 accatcatca gagagcatc ggatcaagag caggacctgg tcatgatata tggcacaac
1261 atatacatal tacaggaaa cacctgtac tccatcgtc tagaaaaggg agaagcaaac
1321 tgcaaccac aacatgca ggcaatgat tactaccgtc tcacacgca atggcaaac
1381 gaggacggct caccacggta caaccgacg tgggcaacat tcgcatgaa cgttgggccc
1441 tcaatgtag tggactcaac ctgctgctg atgaatctgc agctgaagac ctacgggcaa
1501 ggcagtggga atgccttca cttcctcaac aaccttca tgtccaat tgtggtcgcg
1561 gagtggcaca aggcaggaag gcaaatccc atgtccaaag aattcatgga cctcgaagca
1621 aagacgggga tcaactcaa aatcgagcgc gagtgaaag acctaaagtc gatcatcatg
1681 gaggcgtag acaccgccc actcgacgac tatttagctg acgggtccga cctgccacc
1741 aggtgcccag ggaaggcggg ggagctcgc cttctagat ggtccgcagt gtacagccga
1801 caactcgaga tgtctgccc cgtccttga aacgaaaggc taattgcatc agtcgcctac
1861 ccaaaaggc tagagaacaa atccctagct cgaaaaccg gggcgagat cgcatacaca
1921 atagtaaggt atgaagcgt tcggctcctc ggaggctgga acaatcact catcgaacaa
1981 gcagcaaac acatgtcctt ggacaaaagg aagagactgg aggtaaaagg catcgacgtc
2041 accgattcc tagacgactg gaacgcatg tcggagtctg gaggcgtatc ggagggtatc
2101 tcattaacag ctcccctc aaaccagacc ctctagaca tcaacacacc agagaccgag
2161 ttcgactca aagatagacc cccacgccc cgttcccag gcaaaacct cgccaggta
2221 accgagcga taacatcagg gacctacaaa gaccccaaaa gtgagtgctg gaggctcctc
2281 gaccagagga ccaactacg cgtgagcacc ctacgcatc acgagcgtc gctaaaacc
2341 gcagcgtcaa catccgactt ctggggggac gccacagaag aactcgccga acaacaaca
2401 ctgctgatga aagcgaacaa cctgctaaag agcagcctca cggaagcgag ggaagcctc
2461 gaaacctgac agtcagataa aataatctca ggcaaacct ctccagagaa gaatcccggg
2521 accgcccga acccctggtt ggcgtatgga gagttcagc agaaaatcc tctactccc
2581 acgcaaaaga agaacgcaa gcgtcgggag aagcagagaa gaaactaaga

//

LOCUS BSeq#1 2630 bp RNA linear VRL 17-JUL-2018

DEFINITION Infectious pancreatic necrosis virus isolate Mugla07.

ACCESSION BSeq#1 - MH645345

VERSION

KEYWORDS .
SOURCE Infectious pancreatic necrosis virus
ORGANISM Infectious pancreatic necrosis virus
Viruses; dsRNA viruses; Birnaviridae; Aquabirnavirus.
REFERENCE 1 (bases 1 to 2630)
AUTHORS ALBAYRAK,H.
TITLE Complete genomic sequence of an infectious pancreatic necrosis
virus isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey
JOURNAL Unpublished
REFERENCE 2 (bases 1 to 2630)
AUTHORS ALBAYRAK,H.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (17-JUL-2018) Ondokuz Mayis University Faculty of
Veterinary Medicine, Department of Virology, Kurupelit, Atakum,
Samsun 55139, TURKEY
COMMENT Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:1.

##Assembly-Data-START##
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers
source 1..2630
/organism="Infectious pancreatic necrosis virus"
/mol_type="genomic RNA"
/serotype="Sp"
/isolate="Mugla07"
/db_xref="taxon:11002"
/segment="B"
/cell_line="RTG-2"
/country="TURKEY"
/collection_date="2007"
/serogroup="A"
gene 94..2628
/gene="VP1"
CDS 94..2628
/gene="VP1"
/codon_start=1
/product="RNA dependent RNA Polymerase"
/translation="MSDIFNSPQNKASILNALMKSTQGDVEDVLIPKRFRPAKDPLDS
PQAAAAFLKEHKYRILRPRAIPTMVEIETDAALPRLAAMVDDGKLEMVSVPEGTTAF
YPKYYPFHKPDHDDVGTGFGAPDITLLKQLTFFLENDFPTGPETLRQVREAIATLQYG
SGSYSQQLNRLLAMKGVATGRNPNKTPLAVGYTNEQMARLMEQTLPIPPKNEPDLR
WAPSWLIQYTGDASTDKSYLPHVTVKSSAGLPYIGKTKGDTTAEALVLADSFIRDLGK
AATSADPEADVKKVLSDFWYLSGGLLFPKGERYTQKDWDLKTRNIWSAPYPHTLLLSM
VSSPVMDESKLNITNTQTPSLYGFSPFHGGINRIMTIIREHLDQEQLVMIYADNIYI
LQDNTWYSIDLEKGEANCTPQHMQAMMYRLTREWNTEDGSPRYNPTWATFAMYVGPS
MVVDSTCLLMLQLKTHGQSGNAFTFLNNHLMSTIVVAEWHKAGRPNPMSKEFMDLE
AKTGINFKIERELKDLRSIIMEAVDTAPLDGYLADGSDLPPGVPGKAVELDLLGWSAV
YSRQLEMVPLVENERLIASVAYPKGLENKSLARKPGAIEAYQIVRYEAIRLIGGWNN
PLIETAAKHMSLDKRKRLEVKGIDVTGFLDDWNTMSEFGGDLEGISLTAPLTNQTLTD
INTPETEFVDRPPTPRSPGKTLAEVTAITSPTYKDPKSAVWRLDQRTKLRVSTL
RDHAHALKPAASTSDFWGDTEELAEQQQLLMKANNLLKSSLTEAREALETVQSDKII
SGKTSPEKNPGTAANPVVAYGEFSEKIPLTPTQKKNKRREKQRRN"

BASE COUNT 787 a 759 c 644 g 440 t

ORIGIN

1 gtgggtcaac gttggtggca cccgacatac cagcactgtt tatgtatgca cgcgagtgcc
61 cttttaaacc ctctacaata tacaacttat gatatgctcg acatctcaa ctcacctcaa

121 aacaaggctt ctattttaa tgcactcatg aagagcacgc agggagacgt ggaggatgtt
181 ctaataccca agcggtttag acccgcaaag gatccgtag atagcccca ggctgcagcc
241 gcgttcctga aagaacacaa gtatcgata cttagccgc gagctatacc caccatggtt
301 gaaatagaga cggatccgc tctgcctga cttagccga tggaggacga tggcaagctt
361 aaggaaatgg tcagtgttcc agagggaaca accggttct acccaaaata ctaccattc
421 cacaacccg accatgacga tgtgggaacg tttggggctc cagacatcac actactcaa
481 caactgacgt tcttctgct ggaaatgac tttcaactg gtccagaaac ctaagacaa
541 gtcagagaag caatgcaac cctgcaatac ggggccgca gctactcagg acaactcaac
601 aggctactgg caatgaaggc cgtcgccag gggaggaatc ccaacaagac tccactggcc
661 gttgctaca ccaacgacga gatggcaaga ctgatggagc aaacctgccc tatcaacct
721 ccaaagaatg aggaccaga cttcgggtg gccccgagct ggtgataca gtacaccgga
781 gacgcatcaa ctgacaagtc atatctcct cacgtgacag tcaagtcac tgccgccta
841 ccctacatag gcaaaacaa aggagacacc acggctgaag ccctggtgct ggcagactcc
901 ttcataaggc acctcgaaa agccgcaacc tcagccgacc cagaggcggga cgtcaagaaa
961 gtactgtccg acttctgcta cctcagctgc ggtctgctat tccaaaagg ggagagatac
1021 acacagaaag actgggactt gaagaccagg aacatctgga gtgccccca tccaacgac
1081 ctactactat caatggtgct gtcaccggtg atggacgaat ccaactcaa catccaac
1141 actcagacc cctctctgta cgggttctca ccattccacg ggggatcaa cagaatcatg
1201 accatcatca gagagcatct ggaccaagag caggacctag tcatgatata tgctgacaac
1261 atatacatac tacaggacaa cacctggtac tccatcgtc tagaaaagg agaagcaaac
1321 tgacaccac aacacatgca ggcaatgat tactaccgct tcacacgca atggacaaac
1381 gaggcggct caccacgta caaccgacg tgggcaacat tcgcatgta cgttggccc
1441 tcaatgtag tggactcgc ctgctgctg atgaatctgc agctgaagac tcagggcag
1501 ggcagcggga atgctctac cttctcaac aacctctca tgtccacaat tgtgtagcg
1561 gaggggcaca aagcaggaag gccaaatccc atgtccaaag aattcatgga cctcaggca
1621 aagacgggga tcaactcaa aatcgagcgc gagctaaaag acctaaggtc gatcattatg
1681 gaggcggtag acaccgccc actcgacgac tatctagcgc acgggtccga cctgccacc
1741 ggggtgccag ggaagcggt agagctcgc cttctaggat ggtccgact gtacagccga
1801 cagctcgaga tgtgctccc cgtcctgaa aacgaaagac taattgcatc agtcgctac
1861 caaaagggc tagagaacaa atccctagct cgaaaaccag gggccgagat cgatacaca
1921 atagtaaggc atgaagcgt tcggctcgc ggaggctgga acaatccact catgaaaca
1981 gcagcgaac acatgtcct agacaaaagg aagaggctg aggtaaaagg catcagctc
2041 accggattcc tagacgactg gaacacgatg tcggagtgc gaggcgtat ggaggcctc
2101 tcaactaacag ctcccctac aaaccagact ctctagaca tcaacacacc agagaccgag
2161 ttcagctca aagacagacc cccacgccc cgtccccag gcaaacctc cgcgaggta
2221 accgagcga taacatcagg gacctacaaa gacccaaaa gtgagtggt gaggctcctc
2281 gaccagagga ccaactacg cgtgagcacc ctacgcatc acgacgacg gtaaaacc
2341 gcagcgtcaa catccgactt ttgggggac gccacagaag aactcgcga acaacaaca
2401 ctgctgatga aagcgaaca cctgctaaag agcagctca cggaagcga ggaagccctc
2461 gaaaccgtgc agtcagata aataatctca ggcaaacct ctccagagaa gaatccggg
2521 accgccgca acccgtggt ggcgtatgga gattcagcg agaaaattcc tctactccc
2581 acgcaaaaga agaacgcaa gcgtcgggag aagcagagaa gaaactaaga

//

LOCUS BSeq#1 2630 bp RNA linear VRL 17-JUL-2018
DEFINITION Infectious pancreatic necrosis virus isolate Usak05.
ACCESSION BSeq#1 - MH645346
VERSION
KEYWORDS .
SOURCE Infectious pancreatic necrosis virus
ORGANISM Infectious pancreatic necrosis virus
Viruses; dsRNA viruses; Birnaviridae; Aquabirnavirus.
REFERENCE 1 (bases 1 to 2630)
AUTHORS ALBAYRAK,H.
TITLE Complete genomic sequence of an infectious pancreatic necrosis
virus isolated from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in Turkey
JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 2630)
 AUTHORS ALBAYRAK,H.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (17-JUL-2018) Ondokuz Mayıs University Faculty of
 Veterinary Medicine, Department of Virology, Kurupelit, Atakum,
 Samsun 55139, TURKEY
 COMMENT Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:1.

##Assembly-Data-START##
 Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
 ##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..2630
 /organism="Infectious pancreatic necrosis virus"
 /mol_type="genomic RNA"
 /serotype="Sp"
 /isolate="Usak05"
 /host="Rainbow trout"
 /db_xref="taxon:11002"
 /segment="B"
 /cell_line="RTG-2"
 /country="TURKEY"
 /collection_date="2005"
 /serogroup="A"
 gene 94..2628
 /gene="VP1"
 CDS 94..2628
 /gene="VP1"
 /codon_start=1
 /product="RNA dependent RNA Polymerase"
 /translation="MSDIFNSPQKGASILNALMKSTQGDVEDVLIPKRRFPAKDPLDS
 PQAAAAFLKEHKYRILRPRAIPTMVEIETDAALPRLAAMVDDGKLEKEMVSVPEGTTAF
 YPKYYPFHKPDHDDVGTGFGAPDITLLKQLTFFLENDFPTGPFETLRQVREAIATLQYG
 SGSYSGQLNRLLAMKGVATGRNPNKTP LAVGYTNEQMARLMEQTL PINPPKNEDPDLR
 WAPSWLIQYTGDTSTDKSYLPHVTVKSSAGLPYIGKTKGDTTAEALVLADSFIRDLGK
 AATSADPEADVKKVLSDFWYLSGGLLFPKGERYTQKDWDLKTRNIWSAPYPHTLLLSM
 VSSPVMDESKLNITNTQTPSLYGFSPFHGGINRIMTIIEHLDQEQLVMIYADNIYI
 LQDNTWYSIDLEKGEANCTPQHMQAMMYRRLREWTNEDGSPRYNPTWATFAMNVGPS
 MVVDSTCLLMNLQLKTHGQSGNAFTFLNNHLMSTIVVAEWHKAGRPNPMSKEFMDLE
 AKTGINFKIERELKDLRSIIMEAVDTAPLDGYLADGSDLPPRVP GKAVELDLLGWSAV
 YSRQLEMFPVPLENERLIASVAYPKGLENKSLARKPGAIEYQIVRYE AIRLIGGWNN
 PLIETAAKHMSLDKRRLEVKGIDVTGFLDDWNTMSEFGGDLEGISLTAPLTNQTLTD
 INTPETEFDVKDRPPTPRSPGKTLAEVTA AITSGTYKDPKSAVWRLDQR TKLRVSTL
 RDHAHALKPAASTSDFWGDTEELAEQQQLLMKANNLLKSSLTEAREALETVQSDKII
 SGKTSPEKNPGTAANPVVAYGEFSEKIPLTPTQKKNKRREKQRRN"

BASE COUNT 792 a 758 c 637 g 443 t

ORIGIN

1 gtggtcaac gttggtggca cccgacatac cagcactgtt tatgtatgca cgcgagtgcc
 61 tttttaaac ctctacaata tacaacttat gatatgctcg acatcttcaa ctcacctcaa
 121 aaagggcctt ctatcttgaa tgcactcatg aagagcacgc agggagacgt ggaggatgtt
 181 ctaataccta agcggtttag accgcaaag gatccgtag atagcccca ggctgcagcc
 241 cgcttcctga aagaacacaa gtatcggata ctaggccgc gagctatacc caccatggtt
 301 gaaatagaga cggatgccgc tctgcctcga ctaggccca tggaggacga tggcaagctt
 361 aaggaaatgg tcagtgttcc agaggaaca acccgcttct acccaaaata ctaccattc
 421 cacaaaccg accatgacga tgtgggaacg ttggggctc cagacatcac actactcaa
 481 caactgacgt tttctctgct ggagaatgac ttccaactg gtccagaac ctaagacaa
 541 gtcagagaag caatcgaac cctgcaatat ggtccggca gctactcagg acaactcaac

601 aggctactgg caatgaaggg cgtcgccacg gggaggaatc ccaacaagac tccactagcc
661 gttggctaca ccaacgagca gatggcaaga ctgatggagc aaaccttgcc catcaacct
721 ccaaagaatg aggaccaga ccttcggtgg gccccgagct ggttgataca gtacaccgga
781 gacacatcaa cgcacaagtc atatctcct catgtgacag tcaagtcac tgccggccta
841 ccctacatag gcaaaacaa aggagacacc acggctgaag ccctggtgct ggcagactcc
901 ttcataaggg acctcgaaa agctgcaacc tcagccgacc cagaggcgga cgtcaagaaa
961 gtactgtccg acttctggtta cctcagctgc ggtctgctat tccaaaagg ggagagatac
1021 acacagaaag actgggactt gaagaccagg aacatctgga gtgcccccta tccaacgac
1081 ctactactat caatggtgtc gtcaccggtg atggacgagt ccaaactcaa catcaccaac
1141 actcagacc cctctctgta cgggttctca ccattccacg gggggatcaa cagaatcatg
1201 accatcatca gagagcatct ggaccaagag caggacctag tcatgatata tgccgacaac
1261 atatacatac tacaggacaa cacctggtac tccatcgatc tagaaaagg agaagcaaac
1321 tgacaccac aacacatgca ggcaatgatg tactaccgctc tcacacgca atggacaaaac
1381 gaggacggct caccacggtta caaccaacg tgggcaacat tcgcatgaa cgttgggccc
1441 tcaatgtag tgactcaac ctgcctgctg atgaatctgc agctgaagac ccacgggcag
1501 ggacgaggga atgctctcac cttctcaat aacctctca tgtccacaat tgtgtagcg
1561 gagtggcaca aagcaggaag gccaaatccc atgtccaaag aattcatgga cctcgaagca
1621 aagacgggga tcaactcaa aatcgagcgc gagctaaaag acctaggct gatcatcatg
1681 gaggcagtag acaccgccc actcgacgac tatctagccg acgggtccga cctgccacc
1741 aggtgcccag ggaagcggtg agagctgac cttctaggat ggtccgagc gtacagccga
1801 cagctcgaga tgtctgccc cgtcctgaa aacgaaagac taattgcatc agtcgctac
1861 ccaaaaggc tagagaacaa atccctagct cgaaccag gggccgagat cgcatacaca
1921 atagtaaggt atgaagcgtat tcggtctatc ggaggctgga acaatccact catcgaaca
1981 gcagcaaac acatgtcct agacaaaagg aagaggctgg aggtaaaagg catcgacgt
2041 accgattcc tagacgactg gaacacatg tcggagtctg gaggcgatct ggaggcatt
2101 tactaacag ctcccctcac aaaccagact ctctagaca tcaacacacc cgagaccgag
2161 ttcgacgtca aagacagacc cccacgccc cgtccccag gcaaacctc cgcgaggta
2221 accgacgca taacatcagg gacctacaaa gacccaaaa gtgcagtgtg gaggctctc
2281 gaccagagga ccaactacg cgttagcacc ctactgac acgcatgac gctaaaacc
2341 gcagcgtcaa catccgactt ctgggggac gccacagaag aactcggca acaacaaca
2401 ctgctgatga aagcaacaa cctgctaaag agcagcctca cggaagcgag ggaagcctc
2461 gaaaccgtgc agtcagataa aataatctca ggcaaacct ctccagagaa gaatcccgg
2521 accccgcaa acccgtggt ggcgtatgga gattcagcg agaaaattcc tctactccc
2581 acgcaaaaaga agaacgcaa gcgtcgggag aagcagagaa gaaactaaga

//



T.C.
GIDA, İLAHİYAT VE HAYVANCILIK
BAKANLIĞI

T.C.
GIDA TARIM VE HAYVANCILIK BAKANLIĞI
Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu



Tarih/Sayı:04.01.2015/13

Karar No : 42/2

ETİK KURUL RAPORU

Kurulumuza 01/12/2015 tarihinde başvurusu yapılan Yüksel Durmaz' nın yürütücüsü bulunduğu «Yerli Enfeksiyöz Pankreatik Nekrozis Virüs İzolatlarının Moleküler Karakterizasyonu ve Patojenite Denemeleri» konusundaki Araştırma projesi kurulun 04/12/2015 tarihli oturumunda değerlendirilmiştir.

Karar: Projenin yürütülmesi uygun görülmüştür.

Üye

Üye

Üye

Üye

Üye

Üye

Başkan

Gülner SERDAR

Gülner SAĞLAM

Ykın UZUN

Yüksel DURMAZ
(Katılmadı)

Yunus GÜR

Renzi YURTSİVEN

Dr. Neslihan ORMANCI

Üye

Üye

Faruk ÇİROĞLU
(Katılmadı)

Adem ÖZTÜRK
(Katılmadı)

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Yüksel DURMAZ

Doğum Yeri: Çarşamba / Samsun

Doğum Tarihi: 02.05.1966

Medeni Hali: Evli

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

Samsun Veteriner Sağlık Meslek Lisesi	1982-1985
İ.Ü Veteriner Fakültesi	1987- 1992
Bakanlık Uzmanlık Eğitimi (Bakteriyoloji Bilim Dalı)	1999-2002
Ondokuz Mayıs Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü	2014-2018

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:

Suşehri Bakanlık İlçe Müdürlüğü	1986
Sivas İl Müdürlüğü	1986-1987
İstanbul İl Müdürlüğü	1987-1993
İkizdere İlçe Müdürlüğü	1993
Rize İl Müdürlüğü	1993-1995
Çaybaşı İlçe Müdürlüğü	1995-1997
Fatsa İlçe Müdürlüğü	1997
Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü	1997-

İletişim Bilgileri :

Samsun Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğü

Yeşildere mah. Atatürk Bulvarı Alaçam Cad. 55200 Atakum / Samsun

E-posta: E-posta: samsunfishlab@hotmail.com

Telefon : 0362 437 08 36 - 128