



苏云金杆菌印第安变种和九州变种的酯酶分析

黄健屏 杨婵君 唐炜臻 周国芳

(中南林学院, 湖南株洲)

为了使苏云金杆菌各变种的酯酶图型趋于完善, 我们采用了聚丙烯酰胺凝胶电泳的方法, 对没有分析过的苏云金杆菌印第安变种 (*Bacillus thuringiensis* var. *indiana*) 和九州变种 (*B. t.* var. *kyushuensis*) 进行了分析。

材料和方法

一、电泳仪

DYY-III 型电泳仪。电泳玻璃管内径 4.4 mm, 管长 90mm。

二、供试变种

变种 18 个 (其中 16 个变种已有酯酶图型), 其名称、血清型和来源见表 1。

三、酯酶的提取

将活化的试验菌接种在牛肉膏蛋白胨平板培养基上, 30—32℃ 培养 16 小时, 收集菌苔,

加适量的二氧化硅 (SiO_2) (800 目), 磨碎; 再加少量的蒸馏水混匀, 以 3,000rpm 离心 30 分钟, 取上清液用于分析。

四、电泳

凝胶制备用文献 [1, 2] 的方法, 电泳用不连续的缓冲系统 (凝胶缓冲液为 Tris-EDTA 缓冲液, pH8.8; 电极槽内缓冲液为硼酸缓冲液, pH 9.0)。凝胶浓度为 10%, 交联度为 2%。点样后, 开始以电流为 1mA/管进行电泳 15 分钟, 待样品进入凝胶后, 加大电流至 2mA/管。当溴酚蓝指示剂接近管底时, 停止电泳。

五、酶带检定

电泳后取出凝胶柱, 量出溴酚蓝迁移距离。按文献 [2, 3] 介绍的方法, 用新配制的染色液室温下染色 30—40 分钟, 酯酶带呈玫瑰色, 倾去染色液, 量出其迁移距离, 加入 5% 冰醋酸固

表 1 供试变种的血清型、酯酶型及其来源

	苏云金杆菌各变种名称	血清型	酯酶型	来源
苏云金变种	<i>B. t.</i> var. <i>thuringiensis</i>	1	Berliner	湖南省微生物研究所
幕虫变种	<i>B. t.</i> var. <i>finitimus</i>	2	Finitimus	湖南省微生物研究所
阿来变种	<i>B. t.</i> var. <i>alesti</i>	3a	Alesti	湖南省微生物研究所
戈尔斯德变种	<i>B. t.</i> var. <i>kurstaki</i>	3a3b	Galleriac	湖南省微生物研究所
松蠹变种	<i>B. t.</i> var. <i>dendrolimus</i>	4a4b	Dendrolimus	湖南省微生物研究所
肯尼亚变种	<i>B. t.</i> var. <i>kenyae</i>	4a4c	Kenya	武汉病毒研究所
加拿大变种	<i>B. t.</i> var. <i>canadensis</i>	5a5c	Galleriac	湖南省微生物研究所
杀虫变种	<i>B. t.</i> var. <i>entomocidus</i>	6	Entomocidus	湖南省微生物研究所
粘泽变种	<i>B. t.</i> var. <i>aizawai</i>	7	Galleriac	湖南省微生物研究所
多窝变种	<i>B. t.</i> var. <i>tolworthi</i>	9	Tolwrth	湖南省微生物研究所
丹穆斯达变种	<i>B. t.</i> var. <i>darmstadiensis</i>	10	Darmstadt	武汉病毒研究所
杜曼变种	<i>B. t.</i> var. <i>toumanoffi</i>	11	Toumanoff	武汉病毒研究所
汤普生变种	<i>B. t.</i> var. <i>thompsoni</i>	12	Thompson	武汉病毒研究所
巴基斯坦变种	<i>B. t.</i> var. <i>pakistani</i>	13	Pakistan	武汉病毒研究所
以色列变种	<i>B. t.</i> var. <i>israelensis</i>	14	Israel	武汉病毒研究所
云南变种	<i>B. t.</i> var. <i>yunnaensis</i>	20	Yunnan	武汉病毒研究所
印第安变种	<i>B. t.</i> var. <i>indiana</i>	16	Indiana	武汉病毒研究所
九州变种	<i>B. t.</i> var. <i>kyushensis</i>	11a11c	Kyushue	武汉病毒研究所

本文经谭松山副教授审阅, 谨此致谢。

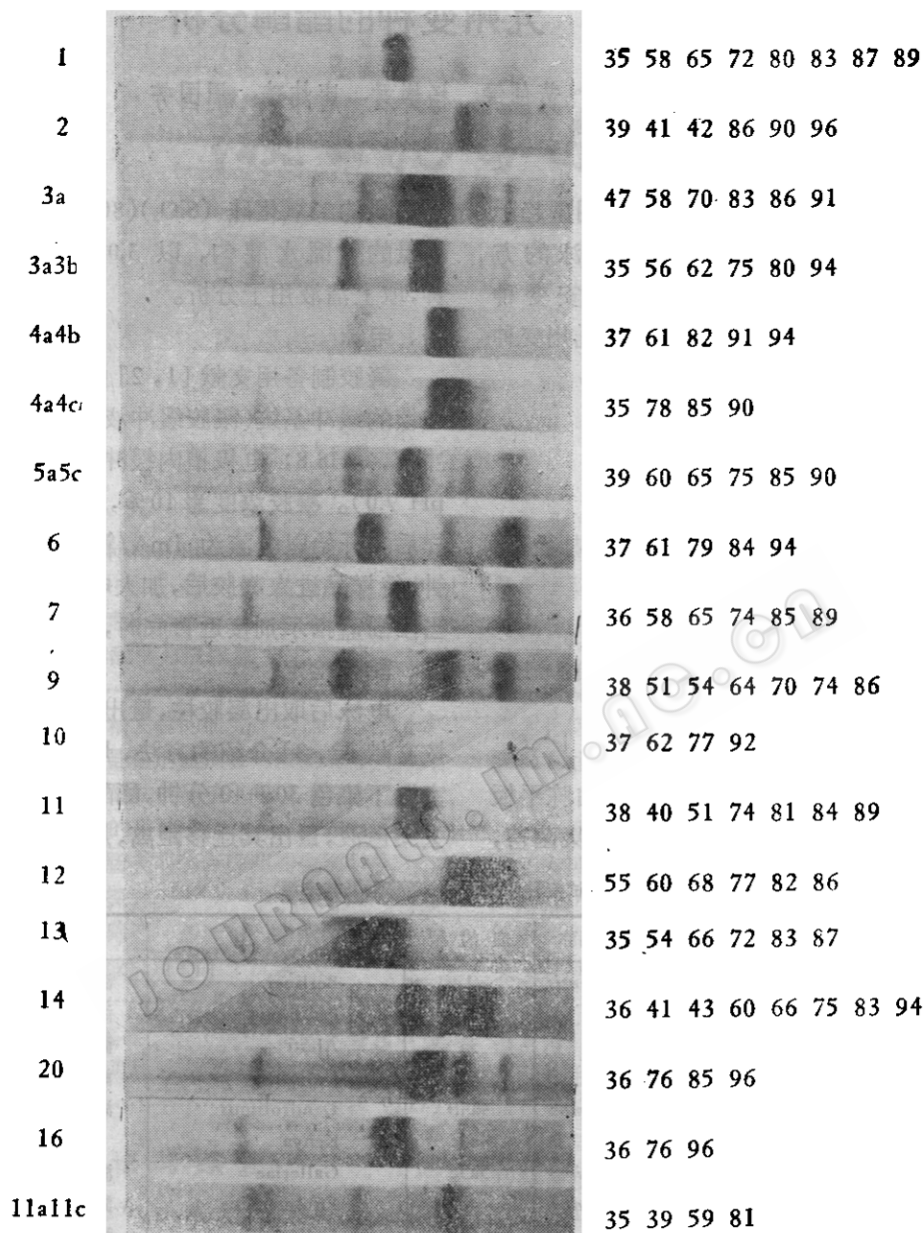


图1 供试变种的酯酶区带分布图

定脱色。

六、计算 Ef 值

用下列公式计算出酯酶区带的 Ef 值。

$$\text{Ef 值} = \frac{\text{区带迁移距离}}{\text{溴酚蓝迁移距离}} \times 100$$

以后根据 Ef 值绘制出各变种的酯酶区带分布图（见图1），并将各变种酯酶分布的凝胶柱拍照。再根据各变种的酯酶区带数目、强、中、弱带分布特征及区带的 Ef 值，比较各变种酯酶图型的异同。

结 果

B. t. var. indiana 的聚丙烯酰胺凝胶电泳图型呈现 3 条较明显的酯酶区带, 第二条为强带。其 Ef 值分别为 36、76 和 96, 与已经被描述过的所有变种的酯酶图型不同, 将它的酯酶型定为 Indiana 酯酶型。

B. t. var. kyushuensis 的聚丙烯酰胺凝胶电泳图型呈现 4 条较明显的酯酶区带, 第四条

为强带。其 Ef 值分别为 35、39、59 和 81, 与已经被描述过的所有变种的酯酶图型不同, 将它的酯酶型定为 Kyushue 酯酶型。

参 考 文 献

- [1] 兰州生物制品研究所生化组: 生物化学与生物物理进展, 4: 45—48, 1978。
- [2] 张用梅等: 微生物学通报, 6(1): 6--9, 1979。
- [3] Norris J. R. and H. D. Barges: *J. Insect pathol.* 5: 460—472, 1963.