

苜蓿花叶病毒沉降系数的分析

卢太白 李毅

(西北农业大学, 陕西杨陵 712100)

摘要 苜蓿花叶病毒是一种多组分病毒, 提纯的病毒样品中有五种不同形态的颗粒^[1]。在白三叶草分离物中的苜蓿花叶病毒的鉴别研究中, 使用超速离心分析法进行了该病毒的理化特性分析。在分析测试中我们使用了 Schlieren 光路与紫外吸收光路对照, 二次变速法^[2], 配合适当的样品浓度和离子强度。获得了较为理想的可供分析计算的五个样品组分的扫描记录图, 并得到了该五种组分颗粒的沉降系数 S 值, 分别为 $S_{100,0} = 98s$, $S_{100,1} = 82s$, $S_{100,2} = 72s$, $S_{100,3} = 65s$, $S_{100,4} = 36s$ 。

关键词: 苜蓿花叶病毒 (AMV); 分析离心; 变速法; S 值

苜蓿花叶病毒 (Alfalfa mosaic virus-AMV) 是一种分布范围广、寄主多的病毒。它可侵染多种重要的经济作物, 如烟草、马铃薯及许多豆科植物。在干旱条件下, AMV 可使感病品种减产三分之一左右。1939 年俞大绂先生在《中国植物病毒名录》中^[3]报道南京有白三叶草和苜蓿花叶病毒。1982 年蔡发兴等报道了北京 AMV, 并做了进一步生理生化研究^[4]。1986 年李毅在西北农业大学校园种植的白三叶草病叶上发现 AMV, 并对其做了血清学、生物学的鉴定, 及生理生化、分离提纯、分析测定等研究。

材料与方 法

(一) 材料

分析测试中使用的苜蓿花叶病毒 (AMV) 是由本校园中种植的白三叶草病叶上分离提纯得到。

(二) 仪器

MSE-centriscan 75 分析离心机(英国)。

(三) 方法

样品离心时需选择适当的离子强度和样品浓度。使用 Schlieren 光路时, 样品溶液选用

0.2mol/L PBS + 0.85% NaCl, 样品浓度 6—8 mg/ml, 使用单扇形分析离心杯, 16℃, 速度为 46000r/min, 扫描记录到 4 个主峰 (图 1)。使用紫外吸收光路时, 样品浓度为 1.2mg/ml, 其它条件同前法。先加速到 45000r/min, 保持 2

分钟, 然后尽快减速到 15000r/min 后开始每隔 10 分钟扫描记录一次, 扫描时保持在 15000 r/min 进行。得到五个组分的可供计算的扫描图 (图 2)。通过扫描图计算出各组分的沉降系数 S 值。最后校准到 20℃ 的标准状态下的 $S_{20,w}$ 值。

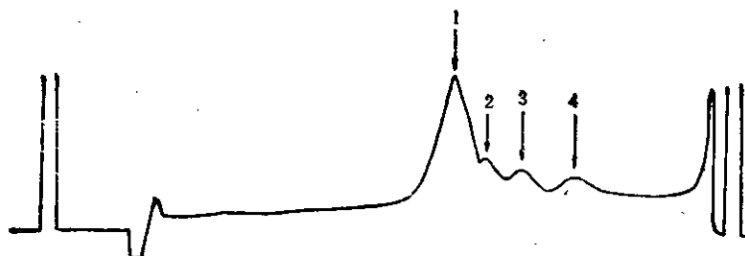


图 1 四个组份 (1,2,3,4) 的 schlieren 扫描图 (示 4 个主峰)

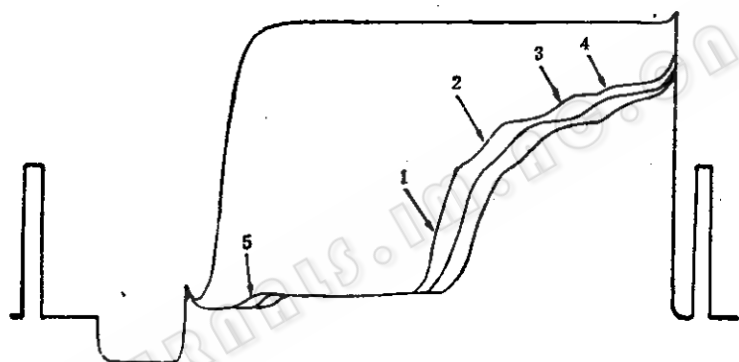


图 2 五个组份 (1,2,3,4,5) 的界面清晰的紫外扫描图

结果与讨论

1. 提纯的苜蓿花叶病毒粒子经多次超离心分析, 从扫描记录得到的 Schlieren 光谱 (图 1) 和紫外吸收光谱 (图 2) 中可以看到 4 个主峰和 5 个不同粒子的移动界面。它们的沉降系数分别为 $S_{20,w1} = 98s$, $S_{20,w2} = 82s$, $S_{20,w3} = 72s$, $S_{20,w4} = 65s$, $S_{20,w5} = 36s$ 。其中 $S_{20,w5}$ 在常规法离心时不能清楚地分离开, 在使用二次变速法时即出现较明显的界面, 该病毒粒子经电镜观察呈近似球形的小粒子, 直径为 16—20nm, 该粒子的 S 值未见报道^[2]。其它粒子的形状为长度不同的杆状或球状, 长度分别为 58、48、40 和 30nm, 宽度大致相同, 约为 16—20nm (图 3)。

2. 实验中使用了高灵敏度的紫外光路、准

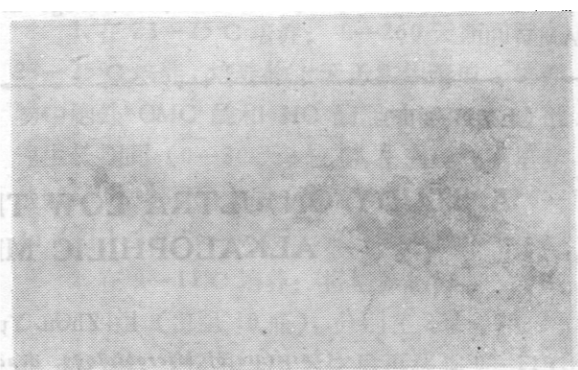


图 3 苜蓿花叶病毒 (AMV) 提纯电镜照片 (144000×)

确方便的 Schlieren 光路、二次变速离心及配合适宜的样品浓度和离子强度等方法。样品粒子在高速离心下获得很大的动能及惯性, 在刹车式快速减速过程中粒子的惯性、电荷效应、J-O 效应等特性得到很好的调整与利用。促

使各种粒子相互分离,摆脱相互间的电荷引力、粘度等的影响,使沉降区带分开形成清晰的界面。各组分粒子在相对比较低速情况下,相应地降低了沉降速度,使形成的界面移动速度变慢并易于保持。使扫描记录仪有充分的时间对不同样品杯进行扫描,并有利于捕捉体现各组分的最佳时机进行选择扫描。实验中我们得到了五种组分病毒粒子的沉降界面扫描图和五种粒子的沉降系数 S 值。本实验结果准确、理想。

因此我们认为在苜蓿花叶病毒的超离心分析中,使用 Schlieren 光路配合紫外吸收光路,使用适当的样品浓度和离子强度、使用二次变速超离心分析法^[4],可以大大提高该多组分病毒粒子的鉴别。

参 考 文 献

1. 蔡发兴、莽克强: 微生物学报, 22(3): 233—240, 1982.
2. 卢太白: 实验室仪器, 30(2): 49—53, 1987.
3. Yu T F: *Phytopath.* 29: 459. 1939.

THE ANALYSIS ON SEDIMENTATION COEFFICIENT OF ALFALFA MOSAIC VIRUS

Lu Taibai

Li Yi

(Department of Biology, Northwestern Agricultural University, Shaanxi 712100)

The physical and chemical properties of alfalfa mosaic virus from white clover have been studied by analytical ultra-centrifuge. The results showed that this virus sample contains five different components which possess the S_{20w} values of 98s, 82s, 72s, 65s, and 36s respectively. While measured the S_m values we have used schlieren light system by using UV system as control. The twice changed speed method also has been used to measure the S_m values at different concentration of samples under different ion strength.

Key words Analytical ultra-centrifuge method; Change speed; Sedimentation coefficient; AMV