

油菜花叶病毒 6 号(YMV₆)的部分提纯*

刘年娟 李祿先

(中国科学院微生物研究所, 北京)

油菜花叶病是我国十字花科作物的重要病毒病害之一, 在多数油菜产区成为油菜减产的重要因素^[1], 油菜花叶病毒 6 号, 系周家斌从华东主要油菜产区中较有代表性的植株上分离的^[2], 关于这病毒的部分提纯方法, 国内已有用琼脂凝胶过滤法的报道^[3], 现将用交叉离心法提纯的结果, 简述如下。

提 纯 步 骤

采收染病一个月左右的油菜叶片, 除去中脉, 在冰箱深冻过夜, 次日取出搅碎榨出汁液, 先在 Universal KSM 离心机于 10,000 转/分离心 15—20 分钟去渣, 将上清液在 Spinco 超速离心机以 105,000 转/分继续离心 10 分钟, 将汁液中较大的颗粒除去, 然后将上清液在同一离心力下继续离心 1.5 小时。沉淀中含有大部分病毒, 弃去上清液, 将沉淀溶于 0.02 M pH 7.2 焦磷酸缓冲液中, 置冰箱中过夜, 次日以 9,000 转/分离心 20 分钟去渣, 然后将上清液在 105,000 转/分离心 1.5 小时, 所得沉淀以上述缓冲液溶解, 然后在 10,000 转/分离心 20 分钟去渣, 如此重复交叉离心 2 次, 最后以 150,000 转/分离心 60 分钟, 将病毒沉下, 溶于各种缓冲液中作为检查样品。

实 验 结 果

一、活性检查 提纯后的病毒, 以水稀释至每毫升 1 微克, 可以在千日红叶上引起枯斑。较原汁活性提高 40 倍。

二、吸收光谱 病毒溶液用 Hilger 分光光度计测定其紫外吸收光谱, 其最低点在波长 240 毫微米, 最高点在 260 毫微米, 比值为 1.60 左右,

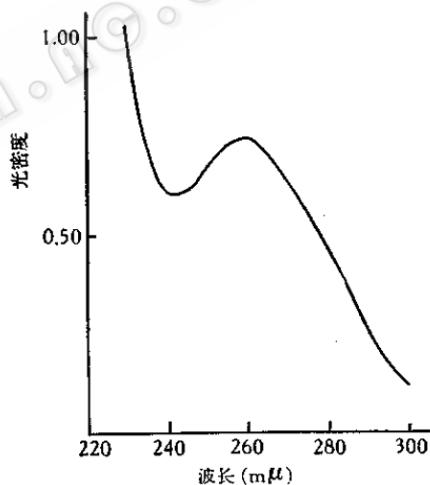


图 1 油菜花叶病毒 6 号吸收光谱



图 2 油菜花叶病毒 6 号提纯制剂电泳, pH 8.6 巴比妥缓冲, 0.1μ, 电泳 40 分钟

* 技术协助初昭嶠同志, 电泳检查及超离心工作为中国科学院实验中心协助, 一并致谢。
本文 1965 年 10 月 14 日收到。

与裴美云^[3]等报道近似,可以认为是典型的核蛋白,见图 1。

三、电泳检查 将病毒溶于 pH8.6 巴比妥缓冲液,以 LK30 型微量电泳仪于 0.1 μ , 80V, 4.5mA 电泳 40 分钟,见图 2,然后在 26—27°C 扩

散 12 小时,见图 3,其干涉光谱显为均一状态。

四、电子显微镜检查 病毒沉淀经蒸馏水透析并适当稀释用金属投影和磷钨酸反染,在电子显微镜下观察,可见球状颗粒,平行制备的健株汁液制剂中,完全不能见到同样颗粒,见图 4。

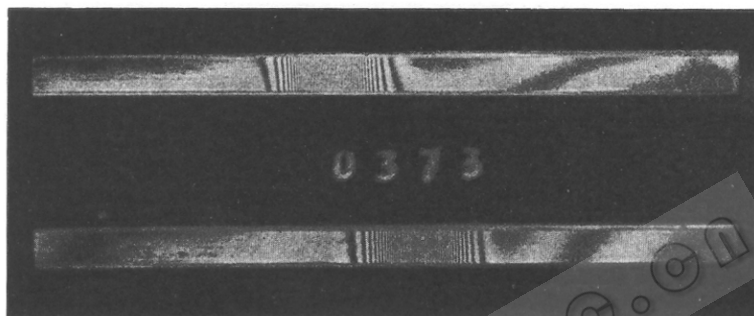


图 3 与图 2 同,又扩散 12 小时

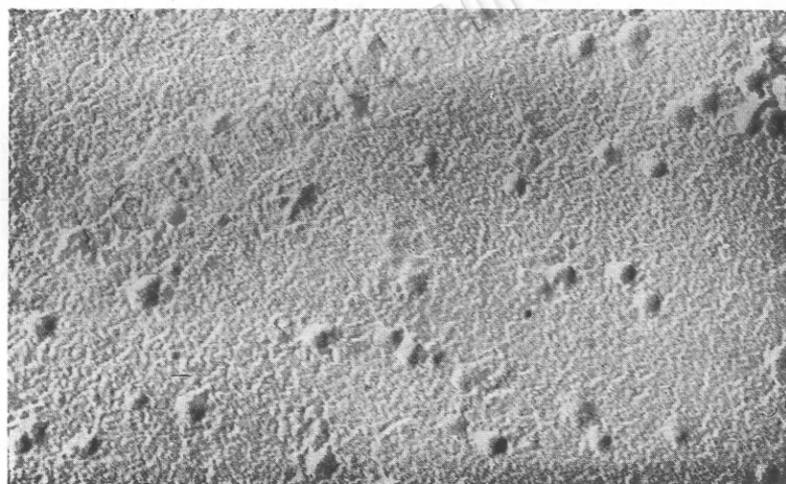


图 4 油菜花叶病毒 6 号(YMV.) 电子显微镜照片 30,000 \times

参 考 文 献

- [1] 魏景超: 油菜花叶病, 科学出版社, 1959。
- [2] 周家炽: 微生物学报, 8: 414—417, 1962。
- [3] 裴美云, 田 波, 张友尚, 钱元任, 曹天钦: 生物化学与生物物理学报, 5: 303—310, 1965。