

## 烟草花叶病毒的普通株和油菜株 RNA 的体外翻译比较

赵淑珍 莽克强

(中国科学院微生物研究所, 北京)

对烟草花叶病毒普通株 (TMV<sub>c</sub>) 及另一毒株, 油菜花叶病毒株 (YMV<sub>15</sub>) 的 RNA, 在麦胚无细胞提取液和兔网织红细胞裂解液中的体外翻译产物, 利用 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离, 放射自显影, 荧光放射自显影以及放射免疫沉淀法进行了分析。结果证明, 在 YMV<sub>15</sub>-RNA 的体外翻译产物中检测出有与天然的 YMV<sub>15</sub>-外壳蛋白分子量 (16.5K) 一致的, 并被 TMV<sub>c</sub> 抗血清和金黄葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*) 细胞悬浮液所沉淀的多肽。V8 蛋白酶酶解图谱也证明该产物与天然外壳蛋白相同。而 TMV<sub>c</sub>-RNA 的体外翻译产物中则完全不产生其外壳蛋白 (M. W. 17.5K), 在 TMV<sub>c</sub> 抗血清沉淀反应中也未见任何沉淀带产生。属于同一分类组的同一病毒的不同毒株, 其翻译策略很可能不一样, 对此本文进行了讨论。

**关键词** 体外翻译; 烟草花叶病毒普通株; 油菜花叶病毒株

烟草花叶病毒普通株 (TMV<sub>c</sub>) 和 YMV<sub>15</sub> 都是烟草花叶病毒组成员, 后者是从油菜上分离的, 病毒为坚硬杆状, 基因组由单链 RNA 组成, 分子量为  $2 \times 10^6$  道尔顿, TMV<sub>c</sub>-外壳蛋白 (cp) 亚单位的分子量为 17,500, YMV<sub>15</sub>-外壳蛋白 (cp) 亚单位的分子量为 16,500, 两种病毒的外壳蛋白氨基酸组成不同, YMV<sub>15</sub>-cp 含有 TMV<sub>c</sub>-cp 中没有的甲硫氨酸和组氨酸<sup>[1,2]</sup>, YMV<sub>15</sub>-cp 的等电点也比 TMV<sub>c</sub> 的高, 但是, YMV<sub>15</sub> 与 TMV<sub>c</sub> 之间有血清学关系<sup>[3]</sup>。

完整的 TMV<sub>c</sub>-RNA 在麦胚无细胞体系和兔网织红细胞体系中不能翻译出外壳蛋白<sup>[7,20]</sup>。而本文初步证明与 TMV<sub>c</sub> 相近的 YMV<sub>15</sub> 的完整的 RNA 在麦胚和兔网织红细胞两个体外体系中都可能翻译产生外壳蛋白, 特别是在麦胚无细胞体系中翻译的主要产物是外壳蛋白。用 <sup>35</sup>S-甲硫氨酸做掺入证明 YMV<sub>15</sub>-cp 是含甲硫氨酸的, 此结果与前人报导相同。

## 材料和方法

## (一) 病毒和核液的制备

TMV<sub>c</sub> 在普通烟叶 (*N. tabacum*) 上, YMV<sub>15</sub> 在白菜 (*Brassica pekinensis* Rupr) 上繁殖。发病叶组织在 0.1M 磷酸缓冲液 (pH7.0) 中匀浆, 滤液经 8,000rpm 离心 15 分钟, 上清液加聚乙二醇 (PEG 6,000) 至 7.0%, 加 NaCl 至 0.4% 的浓度, 在 4℃ 沉淀过夜, 离心后, 将沉淀悬浮在上述缓冲液中, 经两次差速离心 (10,000rpm, 15 分钟和 105,000×g, 1.5 小时) 纯化病毒。

将所得病毒按 Marcus 等人的方法<sup>[4]</sup>抽提核酸。取 56mg 病毒加 0.15ml 0.5M EDTA, 加 0.15ml 10%SDS, 再加水至 3ml, 最后加 3.6ml 经 EDTA 处理过的酚, 室温振荡 10 分钟, 离心 (2—4℃) 分相后取水相, 再用 EDTA 处理过的酚抽提两次, 离心取水相, 加 0.03ml 2M NaAc 和 2.5 倍冷的无水乙醇, 放 -20℃ 沉淀过夜, 沉淀用 100μl 冷的无菌水溶解, 分装并放液氮中保存备用。

## (二) 麦胚无细胞提取液的制备和蛋白质合成的条件

基本上按参考文献<sup>[5-6]</sup>进行, 稍有更改, 反应总体积 50μl, 其中含有: 25μl 的麦胚提取液, 2.5mM MgAc<sub>2</sub>, 100mM KAc, 10mM HEPES-KOH (pH8.0), 12.5mM Tris-HAc (pH8.0), 1mM

文本于 1984 年 12 月 4 日收到。

本所照相室协助摄制照片, 特此致谢。

ATP, 0.025mM GTP, 15 $\mu$ g 酵母 tRNA, 1.25 $\mu$ g 丙酮酸激酶, 25 $\mu$ g 磷酸烯醇式丙酮酸钠盐, 0.12mM 精胺 (Spermine), 8 $\mu$ g TMV<sub>c</sub>-RNA 或是 13.5 $\mu$ g YMVI<sub>3</sub>-RNA, 0.5 $\mu$  Ci [U-<sup>14</sup>C] 小球藻蛋白水解液 (四川简阳, 比度 50mCi/mg 碳原子) 或是 2.5 $\mu$  Ci L-<sup>35</sup>S-甲硫氨酸 (四川简阳), 再补加其余的 19 种未标记氨基酸各 0.03mM, 30℃ 保温 60 分钟, 反应后取 5 $\mu$ l 点样计数。

反应混合物进行聚丙烯酰胺凝胶电泳分析<sup>[7]</sup>。

### (三) 兔网织红细胞裂解液的制备和放射性标记氨基酸的掺入条件

兔网织红细胞裂解液的制备按 Schink 等<sup>[8]</sup>和 Gibert 等<sup>[9]</sup>的方法制备。兔网织红细胞裂解液用小球藻核酸酶处理参照 Pelham 等<sup>[10]</sup>和 Shih 等<sup>[11]</sup>的条件。

取上述裂解液 17.5 $\mu$ l (反应总体积 30 $\mu$ l), 相继加入 5mM DTT, 10mM 磷酸肌酸, 90 $\mu$ M 未标记氨基酸, 58 $\mu$ g 牛肝 tRNA/ml, 80mM KAc, 0.6mM MgAc<sub>2</sub>, 和 10% <sup>35</sup>S-甲硫氨酸或 20% <sup>3</sup>H-亮氨酸 (或 25% <sup>14</sup>C-小球藻蛋白水解液, 不加未标记氨基酸), 保温 30℃ 60 分钟, 取 2 $\mu$ l 点样计数。

反应混合物用 3 倍的 Laemmli 缓冲液 (62.5mM Tris-HCl (pH6.8), 2% SDS, 5%  $\beta$ -巯基乙醇, 10% 甘油) 终止反应后, 用 0.5ml 丙酮沉淀蛋白, 1000 $\times$ g 离心收集沉淀 (蛋白质), 真空干燥去丙酮, 用 Laemmli 缓冲液室温溶解, 过夜达全溶为止, 100℃ 下处理 5 分钟, 离心, 凝胶电泳分析。

### (四) 翻译产物分析

#### 1. 放射性免疫沉淀法:

放射性免疫沉淀法参考 Kessler<sup>[12]</sup>和 William<sup>[13]</sup>的方法。取 40 $\mu$ l 反应液, 在 90℃ 下处理 5 分钟, 加入 80 $\mu$ l NET (150mM NaCl, 5mM EDTA, 50mM Tris-HCl (pH7.4)) 缓冲液, 含有 0.02% NaN<sub>3</sub>, 0.05% NP-40, 0.1% BSA, 2mM 甲硫氨酸和 10 $\mu$ l 未标记 TMV 抗血清, 室温保温 1 小时后, 加入 20 $\mu$ l (10% W/V) 金黄色葡萄球菌的细胞悬浮液, 继续保温 30 分钟后, 离心, 沉淀用 250 $\mu$ l NET 缓冲液 (不含甲硫氨酸) 洗四次, 沉淀用 50 $\mu$ l Laemmli 缓冲液溶解, 90℃ 处理 5 分钟, 离

心, 取上清液进行凝胶电泳分析。

#### 2. 不连续的 SDS-聚丙烯酰胺平板凝胶电泳:

参照 Laemmli 的方法<sup>[14]</sup>, 13% 的分离胶和 3% 的浓缩胶 (丙烯酰胺: 双丙烯酰胺为 30:0.8), 电泳 80V (5—6V/cm), 6 小时。染色前先在 50% TCA 中固定过夜, 用 0.1% 考马斯亮兰 R250 在 37℃ 染色 2 小时, 用 10% 甲醇和 10% HAc 溶液脱色。

#### 3. 平板凝胶电泳后放射自显影和荧光放射自显影:

按照 Bonner 等<sup>[15]</sup>和彭学贤等<sup>[17]</sup>的方法进行。

#### 4. 用金黄色葡萄球菌 V8 蛋白酶水解蛋白质的肽谱:

(1) 天然的 YMVI<sub>3</sub>-cp 的制备: 将 YMVI<sub>3</sub> 用醋酸法<sup>[16]</sup>提取外壳蛋白质, 产物的 280nm/250nm 光密度比值为 2.0, 浓度 5mg/ml, 经凝胶电泳鉴定分子量为 16,500 道尔顿 (图 1)。

(2) 体外翻译产物 YMVI<sub>3</sub>-cp 的制备: 用放射性免疫沉淀法制备体外翻译 YMVI<sub>3</sub>-外壳蛋白质, 加入载体蛋白 0.5mg/ml, 将溶液冷却至 4℃, 用 TCA (最终浓度为 20%) 浓缩, 离心, 收集沉淀物, 用冷丙酮洗两次, 抽干。

(3) 用 V8 蛋白酶水解蛋白质: 参考 Cleveland 等的方法<sup>[17]</sup>, 将上述制备的天然 YMVI<sub>3</sub>-cp 用样品缓冲液 (0.125M Tris-HCl (pH6.8), 0.5% SDS, 10% 甘油, 0.0001% 溴酚兰) 稀释到 0.5mg/ml 和体外翻译 YMVI<sub>3</sub>-cp 抽干物溶在一定量的样品缓冲液里, 然后 100℃ 处理 3 分钟, 再分别加入适量的 V8 蛋白酶 (60 $\mu$ g/ml), 37℃ 保温 30 分钟, 相继各加 10%  $\beta$ -巯基乙醇和 2% SDS (最终浓度)。100℃ 处理 3 分钟, 在聚丙烯酰胺凝胶上电泳分析, 参考 BRL 公司介绍的<sup>[18]</sup>用 15% 的凝胶 (丙烯酰胺: 双丙烯酰胺为 30:0.8), 含有 0.1M 磷酸钠缓冲液 (pH7.2), 0.1% SDS 和 6M 尿素。电泳缓冲液为 0.1M 磷酸钠缓冲液 (pH7.2), 含有 0.1% SDS, 预泳 1 小时, 电泳 12 小时, 80V (5—6V/cm), 电泳后先用水漂洗, 再用 25% 甲醇, 1% 甘油和 10% HAc 溶液浸泡过夜, 再换一次溶液, 以除去尿素和 SDS。用 0.1% 考马斯亮兰 R250 (溶于 50% 甲醇和 10% HAc 中)

染色1小时,再用5%甲醇和10% HAc溶液脱色,照相,然后把放射性的凝胶切下,经过荧光处理,干胶,做荧光放射自显影分析。

结 果

(一) 在麦胚无细胞体系和兔网织红细胞体系中体外合成蛋白质的分析

1. 标准蛋白质与天然外壳蛋白在凝胶上共泳的相对泳动率的标准曲线 (图1):

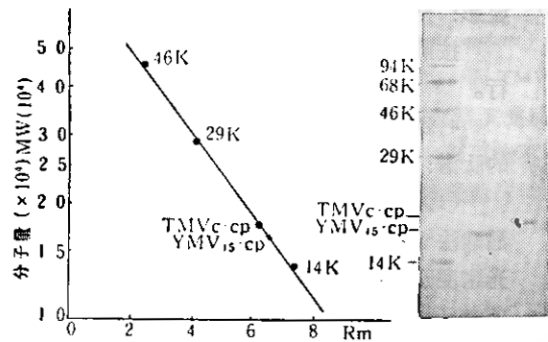


图1 标准蛋白质凝胶电泳分子量和相对泳动率的标准曲线

Fig. 1 Logarithmic calibration of molecular weight of standard proteins VS. electrophoretic mobility on the electrophoregram.

卵白蛋白分子量为46K,碳酸酐酶为29K, TMV<sub>c</sub>-cp为17.5K,溶菌酶为14K, YMV<sub>15</sub>-cp为16.5K。

2. YMV<sub>15</sub>-RNA 掺入的最适浓度:

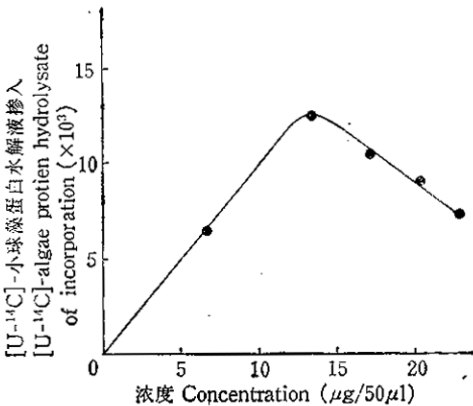


图2 不同量的 YMV<sub>15</sub>-RNA 对 <sup>14</sup>C-小球藻蛋白水解液掺入的影响

Fig. 2 The effects of various amount of YMV<sub>15</sub>-RNA on the incorporation of <sup>14</sup>C-algae protein hydrolysate.

注: 在麦胚无细胞体系中,反应总体积50μl, 点样5μl计数。

Note: With wheat germ system the total volume of the reaction mixture is 50μl. CPMs correspond to that of 5μl samples.

从图2看出, YMV<sub>15</sub>-RNA 的最适浓度为13.5μg/50μl即270μg/ml, 而TMV<sub>c</sub>-RNA 的最适浓度为160μg/ml<sup>[6]</sup>。

3. 不同标记氨基酸掺入值cpm的比较:

由表1可见,在两个体系中的最适条件下, TMV<sub>c</sub>-RNA 指导的氨基酸掺入值总高于 YMV<sub>15</sub>-RNA 指导的值。在麦胚体

表1 不同的标记氨基酸掺入值 (cpm) 的比较

Table 1 Comparison of the incorporation (CPM) for different isotopic labelled amino acids

体系 system		标记氨基酸 labelled amino acid		L-[ <sup>35</sup> S]-甲硫氨酸 L-[ <sup>35</sup> S]-methionine		[U- <sup>14</sup> C]-小球藻蛋白水解液 [U- <sup>14</sup> C]-algae protein trydrolysate		DL-[4,5- <sup>3</sup> H]-亮氨酸 DL-[4,5- <sup>3</sup> H]-leucine
				+spermine	-spermine	+spermine	-spermine	
麦胚无细胞体系 Wheat germ	TMV <sub>c</sub> -RNA			32145	154421	1525	4590	5021
	YMV <sub>15</sub> -RNA			18956	25419	1094	1576	2769
兔网织红细胞体系 rabbit reticulocyte	TMV <sub>c</sub> -RNA				175965			4213
	YMV <sub>15</sub> -RNA				21368			1580

注: 点样5μl的cpm数

Note: CPMs correspond to that of 5μl samples

系里,精胺的作用,并不像文献中<sup>[19]</sup>报道的那样能刺激增加 3—5 倍的氨基酸掺入,本试验加精胺反而使氨基酸掺入降低。但部分产物,尤其是大分子的产物有明显地增

加如图 3(D、E)。可见氨基酸掺入值高低并不与合成产物的分子量大小成正相关,这一现象与我们过去的结论是一致的<sup>[6]</sup>。

#### 4. 体外翻译产物的比较:

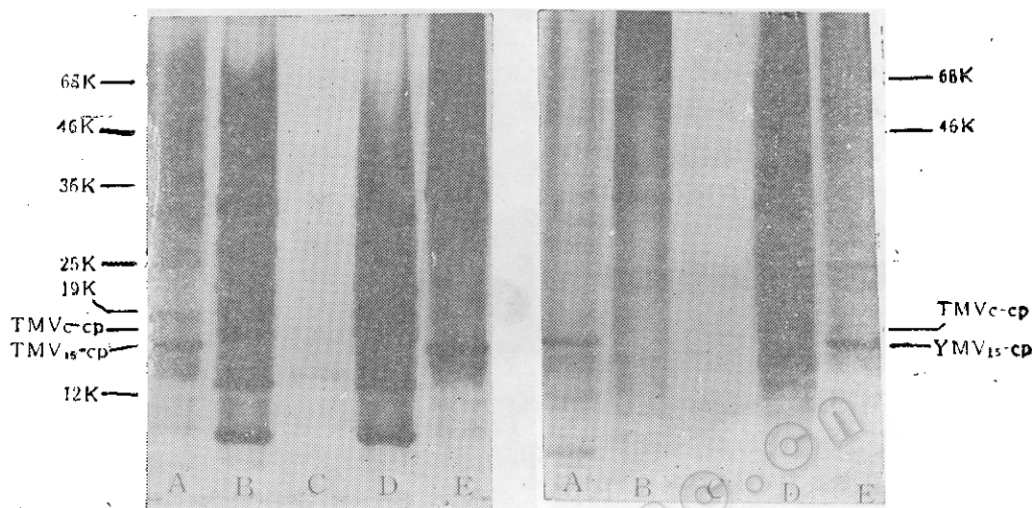


图3 麦胚无细胞体系中,合成产物的 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳

Fig. 3 SDS-polyacrylamide gel analysis of the translated products in wheat germ extracts.

左图: 用  $^{14}\text{C}$ -小球藻蛋白水解液的荧光放射自显影图谱(放液氮中,曝光 18 天)

Left: Fluorographic analysis of  $^{14}\text{C}$ -algae protein hydrolysate labelled products.  
(in liquid nitrogen, exposure time 18 days)

右图: 用  $^{35}\text{S}$ -甲硫氨酸的放射自显影图谱(放  $4^\circ\text{C}$ , 曝光 20 天)

Right: Autoradiographic analysis of  $^{35}\text{S}$ -met-labelled products.  
(under  $4^\circ\text{C}$ , exposure time 20 days)

A. 不加精胺的 YMV<sub>15</sub>-RNA 的翻译产物; B. 不加精胺的 TMV<sub>c</sub>-RNA 的翻译产物; C. 不加任何外源 mRNA 的麦胚内源 mRNA 的翻译产物; D. 加精胺的 TMV<sub>c</sub>-RNA 的翻译产物; E. 加精胺的 YMV<sub>15</sub>-RNA 的翻译产物。

A: Directed by YMV<sub>15</sub>-RNA without spermine; B: Directed by TMV<sub>c</sub>-RNA without spermine;

C: Directed by endogenous mRNA of wheat germ extracts; D: Directed by TMV<sub>c</sub>-RNA with spermine; E: Directed by YMV<sub>15</sub>-RNA with spermine.

从图 3 中(左) A、B、D、E 可清楚地看出,在麦胚体系中,以  $^{14}\text{C}$ -小球藻蛋白水解液为掺入物, YMV<sub>15</sub>-RNA 指导合成的产物主要是 YMV<sub>15</sub>-cp(16.5K), 其次是 36K, 25K, 19K 的蛋白;而 TMV<sub>c</sub>-RNA 指导合成的产物为 35K, 30K, 22K 和 17K 的蛋白,该 17K 蛋白虽与 TMV<sub>c</sub>-cp 分子量(17.5K)很接近,但经放射免疫沉淀法检测该 17K 蛋白并不是 TMV<sub>c</sub>-cp。在同一体系以  $^{35}\text{S}$ -甲硫氨酸为掺入物时, YMV<sub>15</sub>-

RNA 指导的翻译产物主要是 16.5K 蛋白与 YMV<sub>15</sub>-cp 的分子量接近;而 TMV<sub>c</sub>-RNA 也同样被翻译出 17K 蛋白,尽管带色较浅。

为了进一步证实, 16.5K 蛋白是否就是 YMV<sub>15</sub>-cp, 17K 蛋白是否为 TMV<sub>c</sub>-cp, 将 TMV<sub>c</sub>-RNA 和 YMV<sub>15</sub>-RNA 分别在兔网织红细胞中翻译,并用 TMV<sub>c</sub> 的抗血清做免疫沉淀分析,从图 4 左图可清楚看出 YMV<sub>15</sub>-RNA 在有  $^{35}\text{S}$ -甲硫氨酸存在下,被

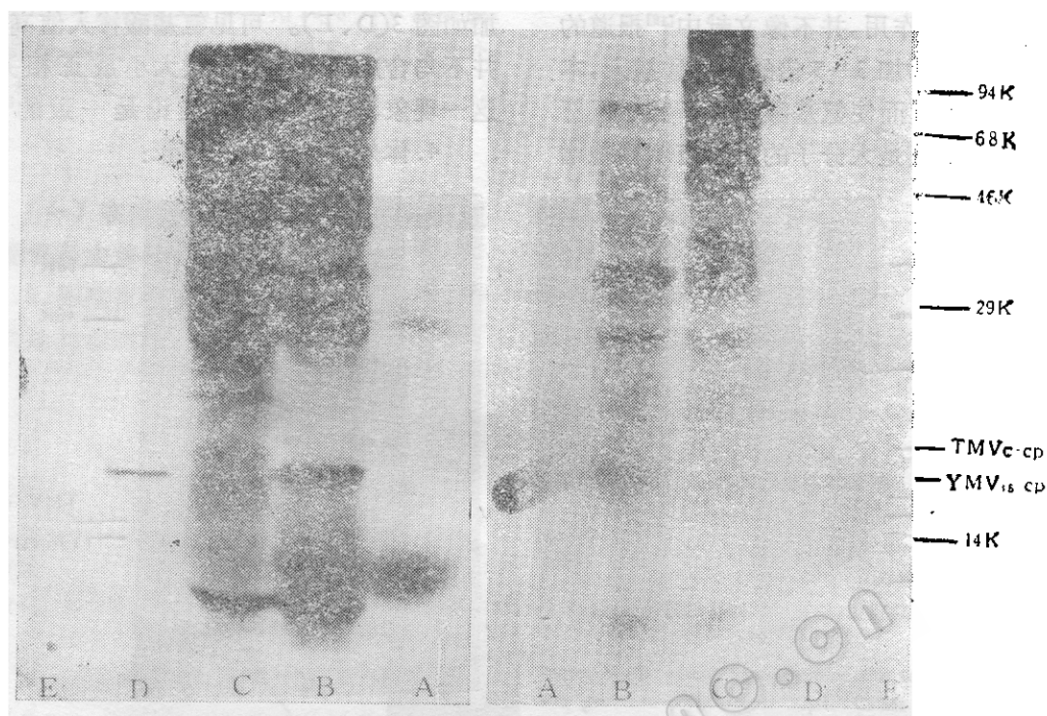


图 4 兔网织红细胞体系中,合成产物的放射性免疫沉淀图谱

Fig. 4 Autoradio-immuno precipitation analysis of the translated products in rabbit reticulocyte cell-free system

左图: 用  $^{35}\text{S}$ -甲硫氨酸的荧光放射自显影图谱 ( $-70^\circ\text{C}$ , 曝光 3 天)

Left: With  $^{35}\text{S}$ -methionine (under  $-70^\circ\text{C}$ ; exposure time 3 days)

右图: 用  $^3\text{H}$ -亮氨酸的荧光放射自显影图谱 ( $-70^\circ\text{C}$ , 曝光 18 天)

Right: With  $^3\text{H}$ -leucine (under  $-70^\circ\text{C}$ ; exposure time 18 days)

A. 不加任何外源 mRNA 的兔网织内源 mRNA 的翻译产物; B. YMV<sub>15</sub>-RNA 的翻译产物; C. TMV<sub>c</sub>-RNA 的翻译产物; D. 从 YMV<sub>15</sub>-RNA 的翻译产物中经免疫沉淀的 YMV<sub>15</sub>-cp; E. 从 TMV<sub>c</sub>-RNA 的翻译产物中经免疫沉淀的 TMV<sub>c</sub>-cp。

A: Without any exogenous mRNA; B: With YMV<sub>15</sub>-RNA; C: With TMV<sub>c</sub>-RNA; D: YMV<sub>15</sub>-RNA-directed product after immuno-precipitation with antiserum against YMV<sub>15</sub>-cp; E: TMV<sub>c</sub>-RNA-directed product after immuno-precipitation with antiserum against TMV<sub>c</sub>-cp.

翻译出 16.5K 蛋白, 不论是分子量或免疫沉淀分析都是 YMV<sub>15</sub>-cp; 而 TMV<sub>c</sub>-RNA 指导的 17K 蛋白尽管其分子量与 TMV<sub>c</sub>-cp 接近, 但无免疫沉淀反应, 因此不是其外壳蛋白。YMV<sub>15</sub>-RNA 能指导  $^{35}\text{S}$ -甲硫氨酸掺入至外壳蛋白中, 说明 YMV<sub>15</sub>-cp 是含甲硫氨酸, 这一结果与过去报导<sup>[1]</sup>相符。

用  $^3\text{H}$ -亮氨酸为掺入物的试验, 如图 4(右) 所示, 也得到类似的结果, 尽管 YMV<sub>15</sub>-cp 的免疫沉淀带较弱, 但仍可见。

## (二) 蛋白水解产物的肽谱分析

天然的纯的 YMV<sub>15</sub>-cp 经金黄色葡萄球菌 V8 蛋白酶水解, 在聚丙烯酰胺凝胶电泳后, 用考马斯亮蓝染色, 则出现清晰的三条带; 而经放射性免疫沉淀检出的体外翻译 YMV<sub>15</sub>-cp 样品, 同样用 V8 蛋白酶水解, 并在聚丙烯酰胺凝胶与天然外壳蛋白共泳, 电泳后, 凝胶用荧光放射自显影处理, 则出现与染色带泳动相同的两条带, 见图 5C。第 2 条带染色浅, 很可能是由于所

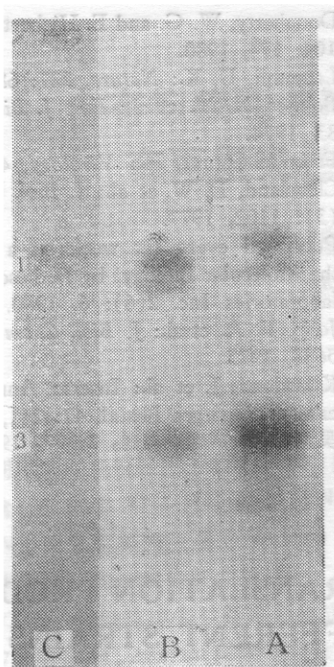


图5 用金黄色葡萄球菌 V8 蛋白酶解肽谱  
Fig. 5 *Staphylococcus aureus* V8 enzymatic electrophoretic mapping

A. 天然的 TMV<sub>c</sub>-cp 酶解产物; B. 天然的 YMV<sub>15</sub>-cp 酶解产物; C. YMV<sub>15</sub>-RNA 的体外翻译产物经免疫沉淀检出的 YMV<sub>15</sub>-cp 酶解产物。(用 <sup>14</sup>C-小球藻蛋白水解液的荧光放射自显影, -70°C 曝光 20 天)

A: Authentic TMV<sub>c</sub>-cp; B: Authentic YMV<sub>15</sub>-cp; C: YMV<sub>15</sub>-RNA-directed translated product immuno-precipitated by YMV<sub>15</sub>-cp (with <sup>14</sup>C-protein hydrolysate; flurography; -70°C, exposure time 20 days)

用同位素标记氨基酸量太少所致。

## 讨 论

YMV<sub>15</sub> 是 20 年前从油菜上分离到的, 在病毒颗粒形态, 血清学关系, 症状等方面与 TMV<sub>c</sub> 是很相似的。但本文试验, 初步证明两者的基因组 RNA 在蛋白质体外翻译体系中的表现是不同的, 全长的 TMV<sub>c</sub>-RNA 在体外体系不能指导合成其外壳蛋白, 而全长的 YMV<sub>15</sub>-RNA 却可以翻译出外壳蛋白。前人工作已证明 TMV<sub>c</sub>-RNA 的 3'-端尽管有外壳蛋白的全部基因组, 但是沉默基因至少在体外体系中不被表达, 而感病叶内的一种低分子量组分的 RNA,

即所谓 LMC 组分 (Low molecular weight component) 在体外体系中却是个活性很强的外壳蛋白 mRNA。TMV 的另一株系豇豆株情况显然不同, 除全长的基因组 RNA 被包壳外, 还至少有两种亚基因组 RNA (Subgenomic RNA) 被包壳, 其中之一的亚基因组为外壳蛋白的 mRNA。YMV<sub>15</sub> 显然与 TMV<sub>c</sub> 相近, 未见病毒颗粒中包有亚基因组 RNA。YMV<sub>15</sub> 在感病叶内也有相应的 LMC 存在<sup>[2]</sup>。YMV<sub>15</sub> 的全长基因组 RNA 能指导翻译出靠 3'-端处编码的外壳蛋白, 其机制至少有四种可能性: (1) 其外壳蛋白基因不是沉默基因, 其翻译起始密码可以被核糖体所识别, 所以其翻译策略可能是多顺反子的; (2) YMV<sub>15</sub>-RNA 在体外体系中很易被降解, 其外壳蛋白的被翻译是由于降解而产生 YMV<sub>15</sub> 的编码外壳蛋白的亚基因组, 该亚基因组成为有活性的外壳蛋白 mRNA。若果真如此, 其翻译策略仍然是单顺反子的; (3) YMV<sub>15</sub> 的全长 RNA 上附着有外壳蛋白亚基因组的 mRNA, 在体外体系中与全长的 YMV<sub>15</sub>-RNA 解离而成为外壳蛋白活跃的 mRNA, 这种方式仍然是单顺反子的; (4) YMV<sub>15</sub> 在自我装配时确将外壳蛋白的亚基因组 mRNA 包壳, 这种方式仍是单顺反子的策略。

究竟是那一种机制, 还需进一步验证, 但根据初步结果, 似乎不大可能是第 (3) 和第 (4) 种机制, 因为多次抽提, 电泳检验毒粒中的 YMV<sub>15</sub>-RNA 未见有亚基因组 RNA 的存在, 做变性, 解离后电泳也未见。因此更大的可能性不是第 (1) 种就是第 (2) 种, 有待进一步证实。

## 参 考 文 献

- [1] 张友尚等: 生物化学与生物物理学报, 4(2): 196, 1964.
- [2] Palukaitis, P. 等: 生物化学与生物物理学报, 14(3): 217, 1982.

- [3] 裴美云: 微生物学报, 8(4): 420, 1962。
- [4] Marcus, A. et al.: *Methods in Enzymology*, 30: 749, 1974.
- [5] 中国科学院微生物所病毒复制组: 生物化学与生物物理学报, 8(2): 179, 1976。
- [6] 吴世宣等: 微生物学报, 23(1): 50, 1983。
- [7] 彭学贤等: 微生物学报, 19(1): 34, 1979。
- [8] Schinke, R. T. et al.: *Methods in Enzymology*, 30, p. 694, 1974.
- [9] Gilbert, J. M. and W. F. Anderson: *J. Biol. Chem.*, 245: 2342, 1970.
- [10] Pelham, H. R. B. et al.: *Eur. J. Biochem.*, 67: 247, 1976.
- [11] Shih, D. S. et al.: *J. Virology*, 30(2): 472, 1979.
- [12] Kessler, S. W.: *J. Immunology*, 115: 1617, 1975.
- [13] Dougherty, W. G. and E. Hiebert.: *Virology*, 104: 174, 1980.
- [14] Laemmli, U. K.: *Nature*, 227: 680, 1970.
- [15] Bonner, N. M. et al.: *Eur. J. Biochem.*, 46: 83, 1974.
- [16] Fraenkel-Conrat, H.: *Virology*, 4: 1, 1957.
- [17] Cleveland, D. W. et al.: *J. Biol. Chem.*, 252 (3): 1102, 1977.
- [18] Published every six weeks as a service to the Molecular Biology, by Bethesda Research laboratories Inc. 2(6): 6, 1980.
- [19] John, F. A. et al.: *J. Biol. Chem.*, 250(14): 5688, 1975.
- [20] Knowland, J. et al.: Inserm, Anne-Lise Haenni et. Georges Beaud, 47: 211, 1975.
- [21] 吴世宣等: 病毒学集刊, 2: 17, 1982。

## COMPARISON OF THE IN VITRO TRANSLATION PRODUCTS OF TMV-RNA FROM TWO DIFFERENT STRAINS

Zhao Shuzhen    Mang Keqiang

(Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing)

The translation products directed by TMV<sub>1</sub>-RNA (common strain) or YMV<sub>1</sub>-RNA (*Brassica campestris* L, (Youcai) mosaic virus) in both wheat germ and rabbit reticulocyte cell-free systems were analysed by SDS-gel electrophoresis autoradiography, fluorography and radioimmuno-precipitation. The results showed that a *in vitro* translation product directed by YMV<sub>1</sub>-RNA had the same mol. weight as the authentic coat protein (M<sub>w</sub> 16,500) and could be specifically precipitated by the antiserum to TMV at the presence of *Staphylococcus aureus* cell

suspension. The V8 enzymatic mapping also revealed that this product is identical with the authentic coat protein of YMV<sub>1</sub>, while the TMV-RNA-directed did not give a product serologically precipitated by the antiserum against to TMV. The different behavior of these two viruses which have already classified into the same taxon as two strains of the same virus was discussed in term of the translation strategy.

### Key words

*In vitro* translation; TMV, YMV<sub>1</sub>