《村门智》的技术,爱术讨论会 1994.4.11-15

蚕豆蒌蔫病毒分子生物学研究 I 病毒提纯 及理化特性

Molecular Biology of Broad Bean Wilt Virus

I Purification, Biophysical and Biochemical Characterization

* 周雪平 徐 平 李德葆 (浙江农业大学生物技术研究所,杭州310029)

蚕豆萎蔫病毒(BBWV)寄主范围极广,能严重危害多种豆类植物、蔬菜及木本植物,且该病毒的衣壳蛋白由两种多肽组成,这在植物病毒中是较特殊的。 国际病毒分类委员会第五次报告中,已将BBWV归在蚕豆病毒组(Fabaviruses)中,暂只有两个成员。目前有关BBWV分子生物学方面的研究尚属空白,为此作者开展了这方面的研究工作。

1993年从杭州蚕豆田上分离获得病毒分离物B934,经生物学测定、 血清学试验及粒体形态观察,将 B934鉴定为蚕豆萎蔫病毒。将B934接种昆诺藜(Chenopodium quinoa),10-14 天后采收病叶,通过使用高盐浓度的磷酸钾盐缓冲液以及在缓冲液中加蔗糖,并用Triton X-100作为澄清剂,成功的提取到了大量病毒粒体,提纯病毒得率为 128mg/kg病叶。提纯病毒在电镜下可观察到大量球形粒体,直径约25mm,提纯病毒在甘油梯度中超离心后可观察到3个组份,分别称为T、B、M组份。经紫外吸收测定,T组份为空壳蛋白,B和M组份为核蛋白,各组分A260/280分别为0.75、 1.44和1.42。各组份经SDS-PAGE测定,证明其外壳蛋白均由两条多肽链组成,分子量分别为42.5kD和21.2kD。 提纯病毒提取核酸后进行电泳鉴定,证明病毒基因组由两条单链RNA分子组成,长约6.4kb和4.5kb。 提纯病毒直接电泳后发现由两条电泳带,类似于豇豆花叶病毒组(Comoviruses)病毒。目前正在克隆该病毒基因组的cDNA。