

用梯度凝胶电泳分离雀麦花叶病毒核酸组分

STUDIES ON THE ISOLATION NUCLEIC COMPONENT OF BROME MOSAIC VIRUS WITH GRADIENTS GEL ELECTROPHORESIS

张满良

(植保系)

Zhang Manliang

(Department of plant protection)

关键词: 雀麦花叶病毒; 梯度凝胶电泳; 核酸分离

Key words: Brome Mosaic virus; gradient gel electrophoresis; Nucleic isolation

雀麦花叶病毒 (Brome mosaic virus BMV) 易于获得性质稳定和浓度较大的病毒制剂, 从而为研究多组分病毒RNA的复制和侵染等方面提供了一个理想的材料。但在分离RNA不同组分时, 前人均采用2.4%的聚丙烯酰胺凝胶电泳。为了提高BMV-RNA四种组分的分离效果, 采用了梯度聚丙烯酰胺凝胶电泳。

试验用BMV-G株系, 在大麦上繁殖14天后剪下病叶, -60°C 冰箱保存备用。BMV的提纯和BMV-RNA的分离参考Lane^[1]和魏宁生^[2]的方法。为了获得精提纯的病毒制剂, 除用PEG (6000) 沉降外, 进一步采用差速离心(20000rpm 5 min和40000rpm 90 min)。核酸的提取是用重蒸的水饱和酚(内含0.5%皂土和1% SDS)降解提取二次, 然后用乙醚除去残留的酚, 再用冰乙醇沉淀RNA (-20°C 2~4 h), 沉淀溶于蒸馏水中, -60°C 保存备用。

为了制备几种梯度凝胶, 先配制2.1%, 3.7%, 4.7%, 7.4%和2.4%的胶液。2.1%~3.7%梯度凝胶的配制, 是先把2.1%胶液20ml装入TB-50梯度混合器1杯中, 7.4%胶液20ml装入2杯中(两杯容量各为50ml), 然后在各杯中按规定量加入过硫酸铵和TEMED, 立即进行磁力搅拌, 同时通过直径0.1cm的乳胶管开始缓慢灌胶。后置室温(20°C)下聚合, 则制成2.1~3.7%的梯度凝胶。如上法制备2.1~4.7%, 2.1~7.4%, 4.8~7.4%梯度凝胶, 2.4%凝胶制备同常规。

BMV的RNA₁, RNA₂, RNA₃和RNA₄的分离, 是把加少量蔗糖和臭吩蓝的RNA制备物分别在2.1~3.7%, 2.1~4.7%, 2.1~7.4%, 4.8~7.4%和2.4% (对照) 凝胶板上垂直电泳2~2.4h。每块板10个样, 每个样10 μl 。电泳结束后经固定、染色以及漂洗再观察色带, 比较不同处理的现带情况, 各处理重复二次。

本文于1987年12月26日收到。

在不同凝胶板上, BMV-RNA四种组分的迁移距离及现带情况见附表。

附表 BMV四种核酸组分在不同凝胶中的迁移距离

凝胶类型 (%)	试验次数	色带数目	迁移距离 (cm)				
			总RNA	RNA ₁	RNA ₂	RNA ₃	RNA ₄
4.8—7.4	2	1	2.0, 1.9				
2.1—7.4	2	1	4.4, 4.2				
2.1—4.7	2	3		2.5, 2.7	3.0, 3.1	4.6, 4.8	
2.1—3.7	2	4		2.1, 2.5	2.3, 2.7	2.9, 3.3	4.9, 5.5
2.4对照	2	4		3.2, 3.5	3.8, 4.2	5.8, 6.2	7.1, 7.4

试验结果表明, 4.8~7.4%和2.1~7.4%两种梯度凝胶各出现一条色带, 四种核酸组分未分离。2.1~4.7%梯度凝胶出现三条带, 其中RNA₃和RNA₄重合在一起。2.1~3.7%和2.4%两种凝胶各出现四条带, 依次为RNA₁, RNA₂, RNA₃, RNA₄, 四种核酸组分全分离。在点样数量、电泳等条件相同的情况下, 2.1~3.7%的梯度凝胶色带颜色深, 带窄, 清晰, 因而易于观察和切带, 分离效果明显比2.4%凝胶好。在RNA含量较低时分离效果还会好些。这是由于聚丙烯酰胺梯度凝胶多级分子筛作用的结果。

此项工作在魏宁生教授指导下进行, 并审定文稿, 谨此致谢。

参 考 文 献

- 1 Lane L C, Kaesberg P. *Nature New Biology* 1971 (232): 40—43
- 2 魏宁生等. 植物病理学报, 1984; 14 (2): 71—78