

用荧光抗体法研究镰刀菌菌丝及孢子的表面抗原性质

刘庆城 许玉兰

(中国农业科学院土壤肥料研究所,北京)

本文用镰刀菌的孢子制成抗血清,运用荧光抗体技术对该菌染色,其孢子明显表现为阳性,而菌丝为阴性,这一现象说明镰刀菌的孢子和其菌丝的表面抗原性质有所不同。

材料和方法

(一) 试验材料

1. 茄病镰刀菌 (*Fusarium solani*) 由中国科学院微生物研究所提供。该菌是多种植物根病病原,能形成大小两种孢子。

2. 异硫氰酸荧光黄 (FITC), 是沈阳药学院制药厂产品。

(二) 试验方法

1. 抗原制备: 将茄病镰刀菌接种于盛有麦芽糖琼脂固体培养基的克氏瓶中, 23℃ 培养, 待形成孢子层后, 用生理盐水洗下孢子, 经四层纱布滤去菌丝, 配制成透光度为 5% 的纯孢子悬液。

2. 免疫: 给体重 2—3 Kg 的雄兔耳静脉注射孢子悬液, 每周 2 次, 每次 2 ml, 两月后试血。用孢子凝聚法^[1]测抗血清效价, 滴定度达到 1:3200 时采血。

3. 荧光抗体的制备: 将茄病镰刀菌孢子的抗血清用 33% 硫酸铵沉淀法分离出 IgG, 用常规方法将 FITC 标记到 IgG 分子上, 最后通过葡聚糖凝胶 G₂₅ 分子筛, 除去未结合的染料颗粒, 将黄绿色的荧光抗体溶液收集于小安瓿瓶中, 冷藏备用。

4. 制片及染色: 用茄病镰刀菌的纯培养物

涂片, 经丙酮固定后滴加荧光抗体溶液, 于 37℃ 保温 20 分钟。染色后的涂片用生理盐水洗涤几次, 除去所有未结合的荧光抗体染料, 滴碱性甘油封片镜检。

结果及讨论

用制成的茄病镰刀菌孢子荧光抗体, 对抗原孢子及其菌丝分别进行染色。在荧光显微镜下观察, 茄病镰刀菌的孢子染成明亮的黄绿色, 而其菌丝只是显出微弱褐黄色的自体荧光 (图 1)。从荧光的颜色和强度上可以明显看出。茄

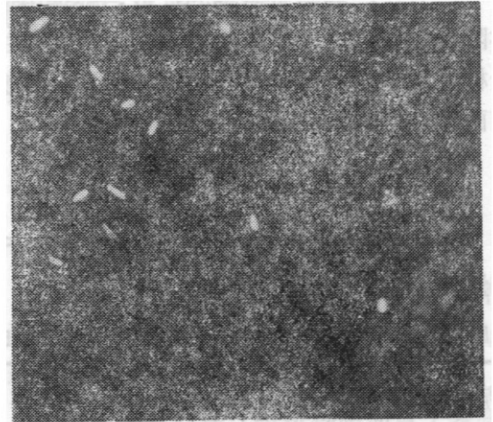


图 1 镰刀菌孢子及菌丝 (450×)

病镰刀菌孢子荧光抗体对其抗原孢子的染色为阳性反应, 而对菌丝的染色为阴性反应。现代免疫学的理论认为, 抗原和抗体专一性结合, 是因为抗原物表面具有特定的抗原决定簇, 试验中的茄病镰刀菌孢子是抗原, 它的表面也附有特异的抗原决定簇, 因而能与自己的荧光抗体

分子相结合，而菌丝体不能被孢子的荧光抗体所染色，是因为它表面不具备相同的抗原结构。因此，可以确认一株镰刀菌的孢子和菌丝的表面抗原性质是不相同的。我们认为进一步阐明镰刀菌孢子和菌丝表面抗原的化学本质，对真

菌免疫学的研究有重要意义。

参 考 文 献

- [1] 许玉兰、刘庆城: 微生物学通报, 7(4): 147—148, 1980。