

用PAGE分析人轮状病毒RNA基因组及其多形性

孙银兰 范天锐 杨喜岭 付震

(徐州市卫生防疫站)

本文主要报告1984年10月—1985年1月徐州市、区及所属邳县婴幼儿感染轮状病毒的分子流行病学分析结果。

材料与方 法

1. 1984年10月—1985年1月,取徐州市儿童医院和邳县铁佛医院就诊的急性腹泻患儿的粪便标本378份,经ROTA-ELISA检测阳性171份,其中158份标本提供了足够量的RNA,另有经ROTA-ELISA检测阴性207份,经提取病毒RNA进行凝胶电泳,结果发现了3份提供足够量RNA,可供电泳分型分析。

2. RNA电泳分析:由患儿粪便提取RNA,垂直板式聚丙烯酰胺凝胶电泳,采用3%样品胶及10%分离胶单相电泳,30mA于室温6小时或4℃10小时,电泳结束后将胶片固定、银染色,观察显带结果。

结果与讨论

1. 人轮状病毒RNA基因组的分型及其多形性表现:

当比较病毒RNA基因组电泳模式后,以第10、11基因片段的运动率为标记,可以容易地将161株轮状病毒区分为短RNA型和长

RNA型,在长型和短型之内,又各有相当多的电泳图型。通过混合电泳证明有12种不同的电泳图型。RNA基因组运动率的差异见图版I-1。长RNA型的共同点是第10、11片段运动较快,第1、4基因片段基本相同,其余2、3、5—11片段的运动率互不相同。短RNA型的共同点是第10、11基因片段运动较慢,1、6、11各片段运动率基本相同,但7—10片段互不相同。

还看到图版I-2中I所示的电泳型,第10片段上出现一条额外的片段,可能是病人同时感染了两种不同电泳型的病毒所致^[1]。

关于各电泳型之间差异通过混合电泳更能显示出来。图版I-3是C、C+D、D、E、E+F、F、G、G+H和H各型病毒的RNA结果,从图上看,C与D的主要差异在第5、10片段,C电泳型的第10片段运动较慢,D电泳型的第5片段运动较慢。E与F的主要差异在第7、9、11片段,E电泳型7、11片段运动较快,F第9片段运动较慢,因而与第8片段重合在一起。G与H的主要差异在第5、6、7,G电泳型的5、6片段运动慢,第7片段较快,与第8片段重合在一起。

2. 1984年10月—1985年1月通过对徐州

市及所属县局部地区的婴幼儿急性腹泻监测,证明这次急性腹泻的发生流行是由于轮状病毒所致。从 PAGE 分析中获得了进一步结果,发现徐州地区有几种不同电泳型,和国内外报道相类似。有短 RNA 型占 58.4%(94/161),长 RNA 型占 41.6%(67/61),在长型与短型之内又各有相当多的电泳图型,且在同一时期同一地区共存于人群中,这反应轮状病毒基因组的

变异可能与流感病毒一样,是由于:基因组在自然宿主中发生重配后;RNA 病毒通常发生突变;在同一体内发生混合感染。这对轮状病毒疫苗的研制和流行病学监督具有一定的意义,应予重视。

参 考 文 献

- [1] 戴国珍等: 中华微生物学和免疫学杂志, 6: 355, 1984。

科技动态

第一届中日国际真菌学会议

1987 年 8 月 24—29 日,在中国古都西安召开了第一届中日国际真菌学会议。与会代表中方为 190 余人,日方 79 人。本次会议由中国微生物学会和日本医学真菌学会联合发起召开,并得到中国真菌学会和日本真菌学会以及日本细菌学会的支持和赞助。

会议共收到论文 143 篇,大会专题报告 53 个,分组专题讨论 115 个。与会代表通过大会、分组报告等形式进行了交流。主要内容分为四部分: 1. 真菌分类与生态。其中上海医科大学秦启贤报告了“癣菌病和一种新命名法以及皮肤真菌病的分类”;日本国立卫生实验所宇田川俊一报告了“曲霉和青霉的分类及霉菌毒素的产生”;德兰正治在专题讨论会上作了“普通分支孢菌的分类及分布”的报告;还有山田雄藏的“裂

殖酵母的分类”等。2. 皮肤深部真菌病及其感染机理。本日山梨医科大学深沢义村报告了“真菌感染免疫机理”;北京医科大学孙鹤龄的“关于中国胃癌研究进展”;日本北里大学实平雅彦的“内脏真菌感染病理”;日本顺天堂大学池本秀雄的“肺真菌病”等。3. 表面霉菌与霉菌毒素。中国预防医学科学院孟昭赫报告了中国霉菌毒素研究进展;广西医学院邓卓霖报告了中国广西由 *Penicillium marneffei* 引致的青霉病。4. 抗真菌制剂在医学与农业上的应用及抗真菌化疗的进展等。

通过本次会议,中日两国科学家不仅在学术上进行了交流,且为今后的进一步交流架起了友谊之桥。

(郭丽华 供稿)

科 技 信 息

• 发酵生产的 γ -亚麻酸投放市场: 利用毛霉 (*Mucor*) 等真菌发酵生产 γ -亚麻酸,以代替从植物月见草籽中榨取的老工艺,已引起日、英、加等国科学家的注意。目前世界 γ -亚麻酸总交易额为 1300 万美元。日本市场交易额约为 4—5 万公斤。日本东京 Idemitsu 石油化学有限公司开始大规模利用丝状真菌发酵生产 γ -亚麻酸。 γ -亚油酸主要用于食品和化妆品,每公斤约 325 美元。用发酵法生产成本只需 6.5 美元。英、加合营的 Fimol 公司目前已分离到几株 γ -亚麻酸的高产株;一家中试工厂采用了上述日本研制

的生产 γ -亚麻酸的生产工艺,并已在 Ecasse 运转,收获到的脂肪酸中含 20—30% 的 γ -亚麻酸,经提纯可提高到 60%。英国 John 和 Sturge 有限公司发酵生产的 γ -亚麻酸,其中 15% 销往日本,每公斤价值 143 美元,为从月见草籽中提取的 γ -亚麻酸的一半。

摘自 Newswatch 6(20):6, 1986

• 苏联科学院微生物研究所研究采用微生物方法从矿石中提取微量金。已筛选出广泛存在于自然界的 4 株菌。在培养基质上混合培养 48 小时,若放入含

有两类的合金矿溶液中,这些放线菌可通过矾土从含5.7%的硫化精矿中吸收和蓄积8%的金。

摘自《日刊工业》1987.2.16;

《化工日报》1987.2.23

• 美国科学家试验将表面活性剂和产碳酸气的微生物注入油田,提高油田内气压,增加石油产生量。这种微生物在30分钟内可增殖2倍。

据《日经产业》1987.2.23

• 随着农村使用化肥量日益增加,地下水水质受到污染,供水中的硝酸盐浓度增高。英国供水中硝酸盐浓度目前已达到80mg/l,最高为100mg/l。英国环境大臣要求将此指标下降至50mg/l。按W.Waldegrove的推算,供水中硝酸盐浓度低于80mg/l,投资费用为10万英镑,低于50mg/l,投资费用为5000万英镑。

摘自 New Scientist 113(1545):71, 1987

• 发酵工业产值拾零: 1982年美国酵母工业产品及设备全年产值为450亿美元。

1982年英国发酵工业产值为50亿英镑。

摘自 Biotech News 3(8): 3 1984

• 胰岛素市场: 1980年胰岛素交易额达1.6亿美元,其中0.8亿美元的交易额由美国市场成交。1982年11月,美国Genetech公司研究和Eli Lilly公司负责生产的人胰岛素问世(通过微生物遗传工程方法生产的首批胰岛素)。每2000l培养液可提取100克纯胰岛素。截至1985年,运用该方法生产的人胰岛素,贸易额已达0.5—0.6亿美元。

摘自 Les Biotechnologies p. 106

Newswatch 6(4):1, 1986

• 1982—1983年世界投入到生物工程学的研究与开发资金(亿美元):

国别	政府	产业
美国	5	14
日本	0.6	10
西德	0.6	0.9
英国	0.6	0.1
法国	0.5	1

据学术报告会资料

• 维生素B₁₂全部是由微生物发酵生产的。维生素B₁₂ 1980年世界市场交易量为12吨,其中约一半用于动物饲料。总贸易量为1.6亿美元,居维生素国际市场交易额的第六位。

维生素B₁₂的90%由Rhône-Poulenc公司和Roussel-Uclaf公司生产,每升培养液可收取100mg维生素B₁₂。

摘自 Les Biotechnologies 1984

• 全国今年下半年药品补货会于8月份在天津召开。据透露,本届会上畅销和货源偏紧的化学药品主要有:青霉素针、羧苄青霉素针、土霉素片、维生素C

针剂和片剂、洁霉素针、辅酶A针剂、胰岛素针、细丙针、水解蛋白、氯霉素片等。

另据第二届全国工商联合药品订货会传出的信息,青霉素针剂、羧苄青霉素持续紧张,土霉素、红霉素、四环素已达抢手程度。麦迪霉素货源增加,销售趋缓。肌苷片、赖氨酸开始动销。维生素B₁、维生素C继续紧缺。环磷酰胺阿糖胞苷货源十分紧张。

摘自《经济消息》报, 1987.8.18;9.11

• 柠檬酸目前国际市场年总产量约42万吨。国际市场售价上涨。今年初,北欧市场每吨已从3400马克上涨到4100马克,提高21.6%。我国柠檬酸年产量已达4万吨,已有厂家40个。目前大部分产品外销,国内市场约为1万吨容量。轻工业部提请有关部门注意,目前国内销售并不乐观。另据报道,辽宁柠檬酸价格已由每吨8100元下降至7600元。

摘自《经济消息》1987.8.4;9.11;9.18

• 1986年我国啤酒产量突破400万吨,市场渐趋饱和。轻工业部强调,我国啤酒工业发展的新方针,应以确保产品质量和经济效益为前提,要相对集中,合理布局,重点发展产量在3万吨以上的水平较高的大中型啤酒厂,压缩小厂和质量次的产品。

另据报道,我国1986年啤酒产量为413万吨,占饮料酒产量的41.9%,第一次超过了白酒产量。酒精度40度以下的低度白酒已有几十种投放市场。

摘自《中国食品报》1987.8.28;

《经济消息》1987.8.21

• 1986年我国出口味精1万吨,比上年增长近5倍,创历史最好水平。

广东省湛江最近由中联国际租赁有限公司通过香港利和洋行有限公司引进先进技术设备,利用甘蔗糖蜜生产味精。湛江每年产糖50万吨,占全国总产量的1/10,甘蔗糖蜜非常丰富。

摘自《中国食品报》1987.8.28;

《经济消息》1987.8.4

• 高粱啤酒即将投放市场: 由山西省农科院高粱研究所承担的省科委重点项目——高粱啤酒中试研究,不久前通过省级鉴定。高粱啤酒是我国啤酒系列中的新类型,属国内首创产品,与普通啤酒相比风味不变,成本降低20%,使昔日果腹粗粮,变今日佐餐佳酿,目前该研究所已形成了年产1000—3000吨的生产能力。

摘自科学报 87.6.16

• 我国第一座环糊精厂投产: 中科院微生物所开发公司、陕西省微生物所和陕西礼泉县联合建立科研生产联合体,开发环糊精生产技术。在阡东镇梁家村建成我国第一个环糊精厂。 β -CD环糊精是以淀粉为原料,在环状糊精糖苷转移酶作用下得到环状低聚糖。这一生产技术由中科院微生物所研制后,经礼泉县化

工有限实业公司引进并实验,获得成功。今年投产3个月,已生产近5吨,经济效益达30万元,中试产品,吸引了国内外用户。联合体还将陆续建立鸟苷酸、活性干酵母、麦芽糖醇等厂,预计在五、六年内总产值突破1亿元。

摘自科学报 87.7.17

• 庆丰霉素已通过试生产和应用鉴定:庆丰霉素是由庆丰链霉菌产生的胞嘧啶核苷类抗生素,对水稻稻瘟病、小麦白粉病及多种家畜鱼类病等病害有显著防治作用。但由于固体发酵生产规模受限制,野生型菌株已不适宜深层发酵、发酵单位低(1000 μ g/ml)。为改变现状,上海植物生理研究所在原基础上成功的分离出庆丰链霉菌 M₁,优良菌株,改进了深层发酵工艺,使抗生素具有毒性低、无残留、安全系数高,发酵过程稳定等特点,发酵单位可达近5000 μ g/ml,比原发酵单位提高了4倍左右,成本明显降低。

摘自科学报 87.7.31

• 成都生物所推出新酒老熟和白酒低度化理论:成都生物所从吸附动力学原理出发,运用组合层析理论和吸附理论、结合原曲酒本身的成分关系,成功地设计出一套多功能工艺路线,一次就可完成对吸附剂、工艺流程、设备、条件的选择。一套日产600公斤曲酒的设备,其成本投资只需400—500元,比目前我国同等规模的生产设备减少投资2至3倍,同时具有新酒老熟的功效,即能在较短时间内使苦麻腥臭的新酒变得绵甜适口,并降至38度以下也不混浊,甚至使混浊的基础降度酒变清澈透明,保持原酒风格,比原储酒期减少2—3个月。仅四川绵竹曲酒二厂年产量就达800吨,并可在现有设备上采用一般水质作为降度用水。

摘自科学报, 87.8.21

• 昆明植物所建立名酒香气成分分析新技术:过去靠口感品尝,现用仪器鉴定,昆明植物所研制出一种定性定量分析酒的香气成分的新技术,能准确、快速地分离鉴定酒中微量的香气成分(100ml酒中的0.1mg香气物质均可鉴定出)及杂质达近百种化合物。现已鉴定出贵州董酒所含的63个成分。

摘自科学报 87.9.11

• 分解硫磺类恶臭物质的细菌:日本技术院微生物工业技术研究所,从处理农药厂废水的污泥中分离到一种硫杆菌。这种细菌能在短时间内分解硫化甲基或硫化烃等硫磺类恶臭物质,并能除去其臭味。760ppm浓度的硫化甲基在1分钟内可完全分解。防止恶臭物法规所规定的8种物质:硫化甲基、硫化烃、甲硫醇、二硫化甲基和其他4种硫化物都能被分解。该所计划利用这种硫杆菌研制恶臭物处理装置。

摘自“化工日报”, 1987.3.26

• 基因工程工业化竞争激烈:目前应用基因工程研制某一特定产品,涉及不同国家的许多公司,竞争

非常激烈,几个有代表性的基因工程产品和参与研制的公司数目如下:

项目名称	参与公司数
淋巴细胞活化素	184
α -干扰素	34
白细胞间介质	29
γ -干扰素	22
β -干扰素	21
组织血浆活性剂	18
尿激酶	17
乙型肝炎疫苗	13
人生长激素	9
肿瘤坏死因子	9
凝血素因子-III	8

摘自访华学者学术报告会资料

• 美国酶市场一瞥:美国商务通讯公司最近对美国酶市场的一项调查研究表明,1985年美国酶市场的交易总额为1.059亿美元。预计到1995年将上升到3.1亿美元,年增长率为11.4%。其中传统工业用酶,量大而价格低,市场交易额年增长率仅为7%;而那些非传统用酶,量小而价格昂贵,主要用于医学领域,其市场交易额年增长率将达到23.4%。这份报告分析,到1995年,用遗传工程构建的酶将占酶市场交易额的43%。

摘自“European Chemical News” 1986.4.21

• 廉价生产L-天冬氨酸:日本三菱石油化学工业公司采用黄色短杆菌(*Brevibacterium flavum*)发酵生产L-天冬氨酸。L-天冬氨酸以富马酸和氨为原料经细菌作用诱导出酶反应而生成。过去使用的大肠杆菌,因其细胞壁薄弱,在循环使用中必须将细胞固定于载体。与此相反,黄色短杆菌有坚硬的细胞壁,无需采用昂贵的固定化技术,经过离心分离,可反复使用。所以,三菱石油化学工业公司估计采用这种方法可以降低L-天冬氨酸的生产成本,预料生产能力可达1000吨/年。

摘自“发酵与工业”, 1986, 44(6): 664

• 我国研制成功第一台细菌内毒素测定仪: XNC-1型细菌内毒素测定仪由济南军区155医院研制成功。这是测定细菌内毒素的一种新仪器、新方法。通过指示细菌内毒素浓度与成胶时间的量变规律,把测定细菌内毒素的方法由定性检查发展到定量检查阶段。经此仪器测定的大量试验数据总结出,细菌内毒素和成胶时间量变规律的经验公式 $C = aTb$ 。用此公式可准确测出细菌内毒素含量。此仪器操作简便、功能稳定,实用价值较高。

摘自“光明日报”, 1987.10.14

• 纤维素酶曲在酱油酿造上的应用:纤维素酶曲用于酱油酿造上,不改变原有生产工艺流程,不增加人

力、设备,无论用于低盐或无盐发酵工艺,都能提高酱油的产量和质量。加用此酶曲发酵后原料蛋白利用率提高 14—32%,淀粉利用率提高 10—22%。酱油产量无盐发酵者提高 16.3%,低盐发酵者提高 12—

21%。感官、卫生、理化指标均符合商业部制定的酱油质量标准。

摘自“科学报”, 1987.10.16