

流感病毒的裂解气相色谱分析

孟潞英 肖 俭 汪亚东

(第一军医大学微生物学教研室, 广州)

裂解气相色谱法 (Pyrolysis Gas Chromatography, PGC) 在微生物学的应用中曾多侧重于细菌的鉴定^[1-6], Mayer 最早用 PGC 做植物病毒的快速鉴定^[7], 80 年代国内开始开展了病毒的 PGC 研究^[8,9]。本文报道用 PGC 分析流感病毒和新城疫病毒的初步结果。

流感病毒 (Influenza virus) A₁/京科株 (湖北医学院病毒研究所), A₂/张 57-4 株 (广东省卫生防疫站), A₃/京科株 (广州市卫生防疫站), B/京防株 (来源同 A₁) 和新城疫病毒 NDV-F 系 (中国科学院武汉病毒研究所)。上述五株病毒均通过 10 日龄鸡胚尿囊腔接种传代, 无菌收获尿囊液, 血凝试验滴定效价 1:320 以上者与等量无菌脱脂牛奶混合后真空冷冻干燥, 所获干粉即为待测样品。同时制备正常鸡胚尿囊液与脱脂牛奶混合液的冻干粉作为对照 (N)、PGC 分析时每份样品称量约 200 μg。

PGC 条件: 管式裂解炉 (南京分析仪器厂) 与日本岛津 GC-7A 型气相色谱仪连接, 配有岛津 C-RIB 型数据处理机。不锈钢色谱柱 (φ 3mm × 2M) 填充 Porapak P, 氢焰检测器, H₂ 47ml/min, Air 750ml/min, N₂ 30ml/min; 裂解温度 720°C 10 秒, 气化室与检测器温度 180°C, 柱温: 初温 90°C 2min, 4°C/min 程序升温, 终温 150°C, 衰减 2³, 纸速 5mm/min。

每份样品重复分析 2—3 次, 同一批数以及不同批数的同种样品均可获得重现性较好的色谱图。将具有鉴别意义的峰群和单个数分别标为 A、B、C 区和 a、b、c、d 峰, 通过目测峰形和峰高, 以及对峰面积的规一化处理后可见 A 区中的 a、b 峰和 C 区中的 c、d 峰是区别正常样品与病毒感染样品的重要标志。正常样品 a 峰明显高于 b 峰, c 峰低于 d 峰, 而五株病毒感染样品与其截然相反。B 区大小不等的 6 个单峰, 从左至右分别为峰 1—6。流感病毒 A₁、A₂、A₃ 的 B 区峰形基本相同, 峰 6 面积占 B 区总面积的百分比值接近, 分别为 19.8±0.52, 19.5±0.49 和 20.5±0.54。流感病毒 B 的峰 1 极不明显, 峰 6 的面积比值为 15.2±0.49。流感病毒 A 型 (A₁、A₂ 和 A₃) 和 B 型的峰 5 均低于峰 6, 而 NDV 的峰 5 与峰 6 几乎等高, 且峰面积比值为 13.2±0.45。所有病毒样品的峰 2 和峰 5 均低于或几乎等高于峰 6, 但正常样品的峰 2 和峰 5 均高于峰 6, 峰 6 的面积比值为 10.8±0.41。故, PGC 可清晰地区别正常样品与病毒样品、不同种属的病毒, 以及不同血清型病毒。但在本实验条件下未能反映同种不同血清亚型的病毒样品 (即 A₁、A₂ 和 A₃) 间的差异, 相反证实它们具有同种血清型病毒的 PGC 图谱特点。

本文于 1988 年 11 月 26 日收到。

本文得到华南理工大学罗远芳、霍瑞贞的协助, 特此致谢。

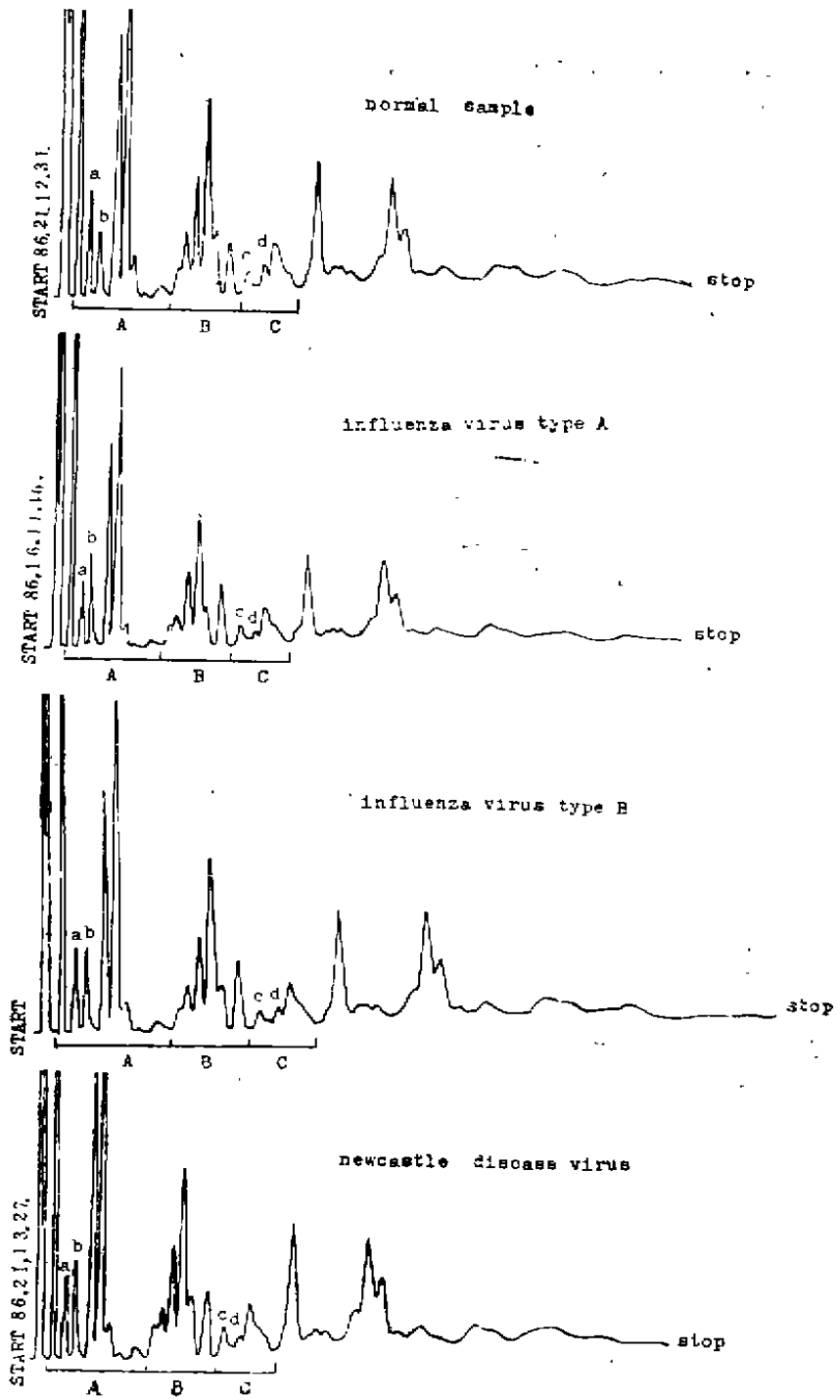


Fig 1 Pyrochromatograms of the normal sample, influenza virus type A, B and newcastle disease viruses

参 考 文 献

- (1) Oyama Y.I, et al., 1963, *Nature*(London), 200 : 1056.
- (2) Reiner E., 1968, *Nature*(London), 206 : 1272.
- (3) Haddadin J.M, et al., 1973, *Appl Microbiol*, 25 : 40.
- (4) Smith C.S, et al., 1987, *Anal Chem*, 59 : 1410.
- (5) 周方等, 1982, *中华微生物学和免疫学杂志*, 2 : 16.
- (6) 周方等, 1984, *科学通报*, 22 : 1394
- (7) Myers A, 1969, *Nature*(London), 223 : 954
- (8) 朱湘民等, 1988, *病毒学杂志*, 4 : 347
- (9) 刘紫慧等, 1987, *分析微生物学论文摘要集*p44

Analysis of Influenza Viruses by Pyrolysis Gas Chromatography

Meng Lu-ying et al

(*Department of Microbiology, The First Military Medical College, Guangzhou*)

Five strains of influenza and one strain of newcastle disease virus were analysed by pyrolysis gas chromatography (PGC). The different patterns between the normal and the infected allantois fluid samples which included influenza viruses type A, B and newcastle disease virus were clearly shown in the pyrograms. But the differences among the influenza subtype A₁, A₂, and A₃ were not clear. Their pyrograms showed similar characters. From the above findings it was concluded that PGC can be used as a tool for the distinguishing or identification of human viruses.

Key words: Pyrolysis gas chromatography Influenza virus Newcastle disease virus