

Protein A gold complex을 이용한 보리호위축 바이러스(BaYMV)의 면역세포학적 진단

소 인영, 전 길형, 이 귀재, 정 성수*

전북대학교 농생물학과

*전라북도 농촌진흥원 남원 고냉지 화훼시험장

멸균 파미규레트토양에 보리호위축바이러스(barley yellow mosaic virus)에 감염된 보리뿌리를 혼입한 후 백동보리(*Hordeum vulgare* L. cv. Baegdong)을 파종하고, 4주일 후에 병증이 나타난 보리잎과 뿌리를 공시하였다. Spurr수지 포매를 위하여서는 4% 구르텔알데하이드 및 1% 오스뮴테트로옥사이드(OsO_4)로 고정하였고, Lowicryl수지(K_4M)포매용 시료는 2% glutaraldehyde 고정만을 하여 $-20^{\circ}C \sim -30^{\circ}C$ 에서 자외선(360nm) 조사하에서 중합시켰다. Anti-goat immunogold particles은 10Å 또는 15Å 크기를 bovin-serum albumin-PBS로 희석하여 사용하였다. BaYMV 항혈청은 정제하여 anti-rabbit BaYMV IgG는 PBS로 희석하여 사용하였다.

감염엽육조직내에는 바이러스 봉입체 및 바이러스 입자에 gold particles이 결합 부착되어 있음을 관찰할 수 있었다. 감염 뿌리조직내에는 유리된 바이러스 입자들에 gold particles이 결합된 것이 관찰이 되었고, 특히 바이러스 매개체인 *Polymyxa graminis*의 유주자 표면과 내부에 gold particles이 결합되어 있음이 관찰되었으며, 따라서 유주자들이 뿌리 조직 안으로 침입하여 바이러스를 매개하는 것으로 생각된다. 순화한 바이러스입자들을 다른 바이러스와 혼합하여 immunogold particles을 처리하면 BaYMV particles에만 gold particles이 결합되는 현상을 관찰 할 수 있다. 따라서 맥류에 감염되는 사상형 맥류바이러스들의 진단에 immunogold particles을 사용하면 진단에 편리할 것으로 사료된다. (환등사용)끝.

FIGURE LEGENDS

Fig. 1~5.

Preliminary detection of the best immunostaining condition with BaYMV antiserum(100 $\mu\text{g/ml}$) and gold-labelled anti-goat IgG(diluted 30 times in BSA-PBS) in BaYMV infected barley leaf and particles of BaYMV purified, respectively.

Fig. 1. Healthy barley leaf fixed in glutaraldehyde and osmium tetroxide, followed by Spurr's resin embedding (Grana:GR). $\times 45,000$. Bar = $0.2\mu\text{m}$

Fig. 2. Infected leaf of glutaraldehyde fixed, Lowicryl embedded, followed by immuno-staining. Postitive stain of gold particles associated with BaYMV(arrowed). $\times 45,000$. Bar = $0.2\mu\text{m}$

Fig. 3. Electron-micrograph of BaYMV particles purified. $\times 40,000$. Bar = $0.25\mu\text{m}$

Fig. 4. BaYMV particles immuno-stained. Note the gold particles associated with virus particles(arrows),but non associate on BaMMV $\times 40,000$. Bar = $0.25\mu\text{m}$

Fig. 5. Strip of epidermal root tissue showing density of infected with *Polymyxa graminis* and various shapes of spore cluster(cystosori) (arrowed),stained with lactophenol-acid fuchsin in barley root infected with BaYMV. $\times 400$

Fig. 6. Various mature zoospores bursting out from the zoosporangium $\times 20,000$. Bar = $0.2\mu\text{m}$

Fig. 7~8

Electron micrographs of glutaraldehyde fixed,Lowicryl embedded BaYMV infected barley root. Stained with BaYMV antiserum(100 $\mu\text{g/ml}$), followed by colloidal gold-labelled anti-goat IgG(diluted 30 times in BSA-PBS).

Gold particles associated with electron materials on surface of zoospore (arrowed) (virus-like particles:V).

Fig. 7. $\times 100,000$ Bar = $0.1\mu\text{m}$

Fig. 8. $\times 80,000$ Bar = $0.12\mu\text{m}$



