

家蠶의 軟化病바이러스에 關한 研究

I. 軟化病바이러스의 精製

姜 錫 權

서울大學校 農科大學

Studies on Flacherie and Ina-flacherie Viruses of the Silkworm, *Bombyx mori*

I. Purification of Viruses

Seok Kwon Kang

College of Agriculture, Seoul National University

SUMMARY

The flacherie (FV) and Ina-flacherie (Ina-FV, named arbitrarily) viruses of the silkworm, *Bombyx mori* was isolated from infectious larvae. Two types of infectious particles were purified by sucrose density gradient centrifugation. Some properties of the purified particles were investigated.

Electron micrographs showed that FV and Ina-FV were spherical particles with diameters of 27nm and 20nm, respectively. The sedimentation coefficient of Ina-FV was 80S.

I. 緒 言

바이러스性 軟化病은 家蠶의 疾病中에서 대단히 被害가 큰 蠶病으로 알려져 있다. 그러나 이 蠶病은 日本에서는 오랫동안 生理障害 및 細菌에 의한 疾病이라고 간주되어 왔다. 家蠶의 軟化病이 傳染性이 있고 그것이 바이러스에 의한 病이라고 처음 지적한 것은 Paillot⁽⁷⁾이다. 그러나 이 軟化病病原說은 오랫동안 日本에서는 無視되어 왔다. 1960年代에 와서 山崎等⁽⁸⁾은 軟化病症狀를 나타내는 病蠶의 마쇄액의 限外濾液을 건강잠에 투여한 결과, 高率의 軟化病蠶이 발생한 것을 발견하였다. 또 鮎澤(啓)⁽¹⁾ 등은 本病의 起病因子의 感染力價는 感染後 시간이 경과함에 따라 증가하며 單離된 起病性因子는 免疫血清에 의하여 中和되고, 또 그 起病性因子의 직경은 30~32nm의 균일한 球型粒子라고 보고함과 동시에 本病이 바이러스임을 증명했다. 이것이 바로 현재 傳染性 軟化病 또는 바이러스性 軟化病이라고 불리는 軟化病이다. 그후 鮎澤(千)⁽²⁾은 CsCl平衡密度勾配遠心法을 이용하여 바이러스標品을 얻고, 그 바이러스粒子는 직경 약 26nm이고 沈降定數

가 183S의 球型粒子임을 보고하였다. 또 Himeno 등⁽⁵⁾은 蔗糖密度勾配遠心法에 의하여 바이러스를 精製하여 직경 27nm, 沈降定數 180S의 구형입자임을 보고하였다. 以下 本文에서는 이 軟化病바이러스를 FV로 略記한다.

이 FV는 蠶蠶業上 重要한 바이러스임에도 불구하고 核多角體病 바이러스나 細胞質多角體病 바이러스와는 相異하여 細胞內 封入體를 形成하지 않기 때문에 바이러스의 純化가 대단히 어려워져서 그 性狀은 數十年間 밝혀지지 않고 지금까지도 완전히 究明되지 않고 있는 實情이다.

그런데도 불구하고, 최근에 와서 軟化病症狀蠶으로부터 얻은 바이러스標品中에 직경 20nm前後의 소위 小型軟化病바이러스가 존재하고 있다는 것이 몇몇 研究者에 의하여 보고 되어 있다. 즉 松井⁽⁶⁾ 및 Himeno 등⁽⁵⁾은 직경 21nm 또는 22nm의 小型바이러스 입자가 FV接種蠶에 있어서 인정되었다고 보고하였고, 또 古田⁽⁴⁾는 *Prodenia litura* Fabricius와 *Lymantria dispar* Linne의 核多角體를 家蠶에 接種하여 發生한 軟化病蠶으로부터 직경 17~23nm의 바이러스粒子를 분리하였다. 극히 최근에와서, 清水⁽⁹⁾는 日本 長野縣 伊那地方

에 發生한 바이러스性的 軟化病蠶의 組織病變像이 FV 感染蠶의 그것과는 相異함과 동시에 그 바이러스의 品種感受性이 FV와는 전혀 다른 것임을 나타내고 있음을 발견하여 이 軟化病바이러스를 伊那株라고 假稱하였다.

著者は 이러한 狀況下에 있어서는, 우선 이들 바이러스의 異同 내지 相互關係를 밝히는 것이 主要한 先決問題이며, 동시에 이러한 問題를 해결하기 위해서는 바이러스의 適切한 精製方法을 確立하여 純度 높은 바이러스標品을 얻어서 그 性狀을 究明하고 그것을 比較檢討하는 것이 最初의 課題라 생각했다.

本研究은 이러한 觀點에 입각하여, 실제로 농가의 集團遠作要因으로 대두되고 있는 FV와 伊那株바이러스에 關한 그 精製法에 對하여 檢討研究한 結果, 새로운 精製法이 確立되었기에 報告하고자 한다.

끝으로 本研究을 遂行함에 있어서 始終指導하여 주신 日本 名古屋大學 川瀬茂實教授, 또한 蠶種 및 試料에 대하여 여러가지 配慮를 하여 주신 日本 農林蠶試 바이러스室長 鮎澤千尋 博士께 감사를 드린다.

II. 材料 및 方法

1. 供試材料

FV는 1965年 晩秋蠶期에 日本 長野縣 上田市 郊外에 發生한 傳染性 軟化病蠶을 繼代한 것이다. 이 FV를 春蠶×鍾月の 4齡 2-3日제의 幼蟲에 桑葉添食하고 添食後 8-9日제에 中腸을 解剖摘出하여 -70°C 에 凍結保存하고 이 中腸을 필요에 따라 FV의 精製의 出發材料로 하였다.

伊那株바이러스는 日本 長野蠶試 飯田支場의 清水孝夫氏로 부터 分讓받은 것을 繼代한 것이다. 이 伊那株 바이러스를 本바이러스에 感受品種인 日124號×支124號 또는 支135號×日134號의 4齡起蠶에 桑葉添食했다. 添食 7-8日後에 病蠶의 中腸을 解剖摘出하여 -70°C 에 凍結保存하고 伊那株바이러스의 精製에 임하였다.

2. 바이러스의 精製

FV의 精製法에 關해서는, 이미 川瀬(未發表), 鮎澤(千)⁽²⁾ 및 Himeno 등⁽⁵⁾에 의하여 圖 1에서 보여주고 있는 方法이 보고되어 있으므로, 우선 이들 方法에 의하여 比較檢討하였다. 그 結果, 精製度 또는 精製效率 등의 觀點으로 부터 판단해 볼 때, 어느 方法 할 것 없이 만족한 結果를 얻지 못하였다. 여기에서 이들 方法을 參考로 하고 改良을 하여 다음에 記述하는 새로운 精製方法을 確立하였다. 이 改良精製法을 伊那株

바이러스의 精製에 그대로 適用한 結果, 극히 有効한 것이라고 判明했기 때문에 伊那株바이러스의 精製는 이 方法에 準하여 行하였다.

새로운 精製法은 다음과 같다(圖 2). 우선 FV 및 伊那株바이러스 感染中腸 400g에 5倍量의 50mM Tris-HCl緩衝液(pH 7.2)을 넣고, waring blender로 5分間 마쇄하여 2重의 가-제로 여과하였다. 이 여과액을 氷冷 homogenizer로 잘 마쇄한 後, 3,000rpm, 10分間, 4°C 에 遠心하였다. 원심후 上清에 同量의 fluorocarbon을 넣고, waring blender로 5分間 攪拌한 후, 3,000rpm으로 10分間 遠心하였다. 이 fluorocarbon處理는 3回 반복하였다. 이렇게하여 최종적으로 얻어진 上清에 硫安을 40% 飽和溶液이 되도록 氷冷中에서 서서히 加하였다. 氷冷하여 24時間 放置後, 12,000g로 30分間 遠心하고, 그 沈澱을 500ml의 10mM EDTA-50mM Tris-HCl緩衝液(pH 7.2)에, teflon homogenizer를 사용하여 浮遊시키고, 다시 12,000g로 20分間 遠心하고 이번에는 上清을 얻었다. 이 上清을 123,400g로 2時間 遠心하여 얻은 沈澱을 300ml의 10mM EDTA-50mM Tris-HCl緩衝液(pH 7.2)에 부유시켜서, 12,000g로 20分間 원심하고 上清(粗바이러스라 불음)을 얻었다. 이 上清 20ml을 10ml의 40% 蔗糖溶液(30ml用의 遠心管을 사용)의 위에 重層하고, 123,400g로 5時間 遠心하여 침전을 얻었다. 이것을 6ml의 10mM EDTA-50mM Tris-HCl緩衝液(pH 7.2)에 부유시켜 12,000g로 20分間 원심하였다. 이렇게 하여 얻은 上清(部分精製 바이러스라 불음) 2ml을 채취, 10-40% 直線의蔗糖密度勾配(總量 25ml)에 重層하고, 日立 55P-2超遠心機의 RPS-25 rotar를 사용하여 55,000g, 2時間, 4°C 로 遠心하였다. 遠心後, 40本の 試驗管에 分割하고, 各各에 2ml의 50mM Tris-HCl緩衝液(pH 7.2)를 가한 後, 260nm에 있어서의 吸光度를 測定하였다.

3. 電子顯微鏡에 의한 觀察

얻은 바이러스標品の 精製度を 調査하기 위하여, 바이러스粒子를 negative染色하고, 電子顯微鏡으로 觀察하였다. 바이러스粒子의 negative染色은 2% 磷 텡그스텐酸 水溶液(pH 6.5)으로 行하고, 電子顯微鏡은 日立 HU12A型을 사용하였다. 바이러스粒子의 크기는 同一 視野中에 混入시킨 담배 모자이크 바이러스(TMV, 幅 15nm)을 標準으로 하여 산출하였다.

FV infected midgut (pH 7.4)	FV infected midgut (pH 7.2)	FV infected midgut (pH 7.2)
Homogenized in 0.05M Tris-HCl buffer	Homogenized in 0.05M Tris-HCl buffer (pH 7.2)	Homogenized in 0.05M Tris-HCl buffer (pH 7.2)
Mixed with an equal volume of cold fluorocarbon	Centrifuged at 6,000g for 15 min	Mixed with an equal volume of cold fluorocarbon
Shook for 5 min	Supernatant	Shook for 2 min
Centrifuged at 8,000rpm for 30 min	Mixed with an equal volume of cold fluorocarbon	Centrifuged at 3,000rpm for 10 min
Supernatant	Shook for 5 min	Supernatant
Treated with ammonium sulfate to give 40% saturation	Centrifuged at 3,000rpm for 10 min	Centrifuged at 8,000rpm for 20 min
Left standing for 2 hr	Supernatant	Supernatant
Centrifuged at 5,000rpm for 20 min	Treated with ammonium sulfate to give 40% saturation	Centrifuged at 40,000rpm for 120 min
Precipitate	Left standing overnight	Precipitate
Suspended in 0.05M Tris-HCl buffer (pH 7.4)	Centrifuged at 12,000g for 30 min	Suspended in 0.05M Tris-HCl buffer (pH 7.2)
Centrifuged at 40,000rpm for 90 min	Precipitate	Centrifuged at 8,000rpm for 20 min
Precipitate	Suspended in 10mM EDTA-0.05M Tris-HCl buffer (pH 7.2) (ET buffer)	Supernatant
Resuspended in 0.05M Tris-HCl buffer (pH 7.4)	Centrifuged at 12,000g for 20 min	Centrifuged at 40,000rpm for 120 min
Crude virus was layered on 10 to 40% sucrose density gradient and centrifuged at 23,000rpm for 120 min	Supernatant	Precipitate
Fractionation	Centrifuged at 65,000g for 180 min	Resuspended in 0.05M Tris-HCl buffer (pH 7.2) at 5°C for 24 hr
Measured at 260 nm in spectrophotometer	Precipitate	Centrifuged at 3,000rpm for 20 min
Procedures by Kawase <i>et al.</i> (unpublished)	Resuspended in ET buffer	Supernatant (crude FV)
	Centrifuged at 12,000g for 20 min	Crude FV: saturated CsCl solution = 2:3 ($N_D^{20}=1.370$)
	Supernatant (crude FV)	Centrifuged at 34,000rpm for 24 hr
	Crude FV was layered on 10 to 40% sucrose density gradient and centrifuged at 23,000rpm for 120 min	Fractionation
	Fractionation	Measured at 260nm in spectrophotometer
	Measured at 260 nm in spectrophotometer	Procedures described by Ayuzawa (1972)
	Procedures described by Himeno <i>et al.</i> (1974)	

Fig. 1. Procedures of flacherie virus purification

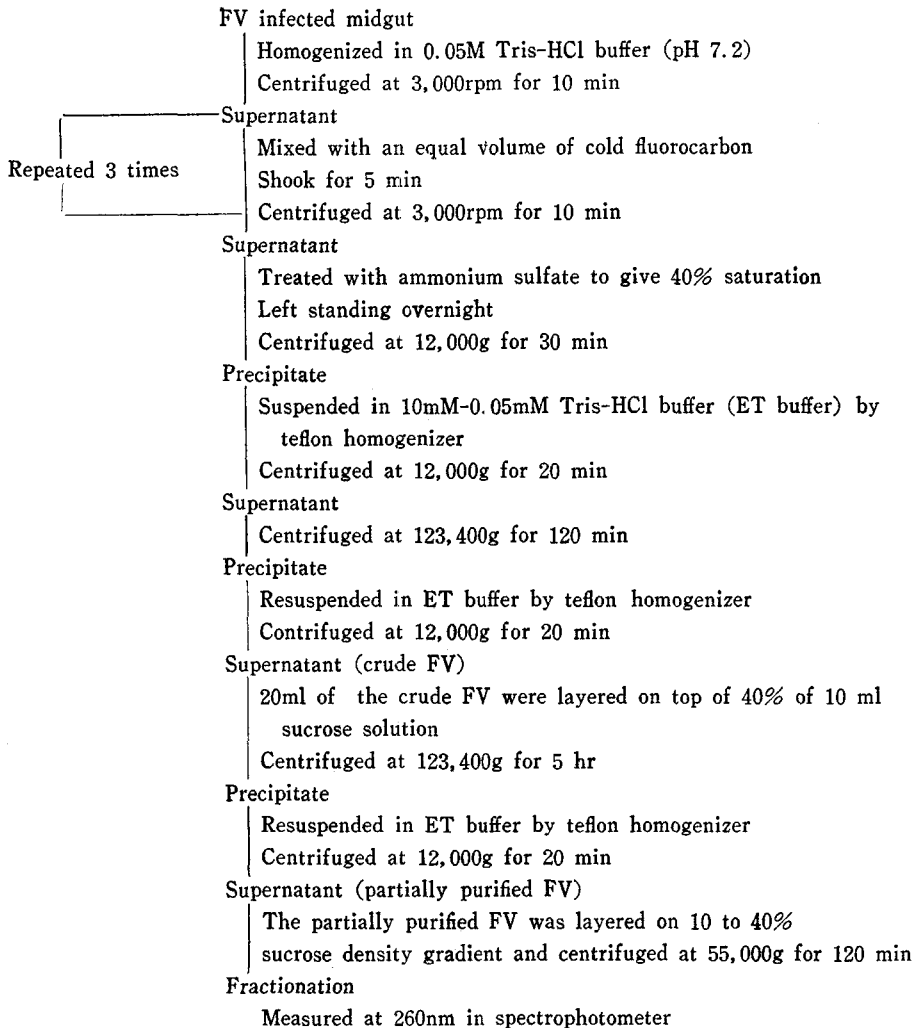


Fig. 2. The improved procedures of flacherie virus purification

4. 沈降定數의 決定

바이러스粒子的 沈降定數는, 日立 UCA-IA 分析用 超遠心機의 紫外線 光學系를 사용하여 移動限界沈降速度法으로 行하였다. 遠心은 19,780rpm, 20°C 조건으로 行하고, 3分 간격으로 scanning하였다. 그리고 測定은 0.1M NaCl-0.01M Tris-HCl 緩衝液(pH 7.5)中에 行하였다.

II. 實驗結果

1. 從來의 FV의 精製法の 檢討

川瀨 등(以下 A法이라 부름)의 方法에 의한 FV의 精製結果를 圖 3A에 나타내고 있다. FV에 의한 것이라고 생각되는 單一 peak가 시험관 번호 23에 인정되었다.

그러나 이 peak는 260nm에 있어서의 吸光度가 0.1정도로 낮고, 더욱이 base line은 吸光度가 0.05 가까운 値를 나타내고 있기 때문에 紫外線 吸收物質의 混入이 懸念하다고 생각되었다. 圖 3B에 Himeno 등⁽⁶⁾(以下 B法이라 부름)의 方法에 의한 FV의 精製結果를 나타내었다. 이 方法도 A法과 같이 최종적으로는 蔗糖密度 勾配遠心法에 의하여 精製하고 있으나, 도중의 과정에 있어서 加速度差遠心を 반복하고 있는 點으로 A法과는 서로 相異하고 있다. 이 方法에 의하여 精製한 結果는 圖 3B에서 밝혀진 바와 같이, peak의 吸光度에 對한 base line의 吸光度의 비율이 A法에 비교하여 낮은 傾向이 있으나 아직 상당한 정도의 不純物의 混入이 예상되었다. 한편, 鮎澤(干)⁽²⁾(以下 C法이라 부름)의 方法은, 粗바이러스 標品을 얻을 때까지의 과정에 있어서 硫酸鹽析을 行하지 않는 點 및 최종적으로 CsCl平

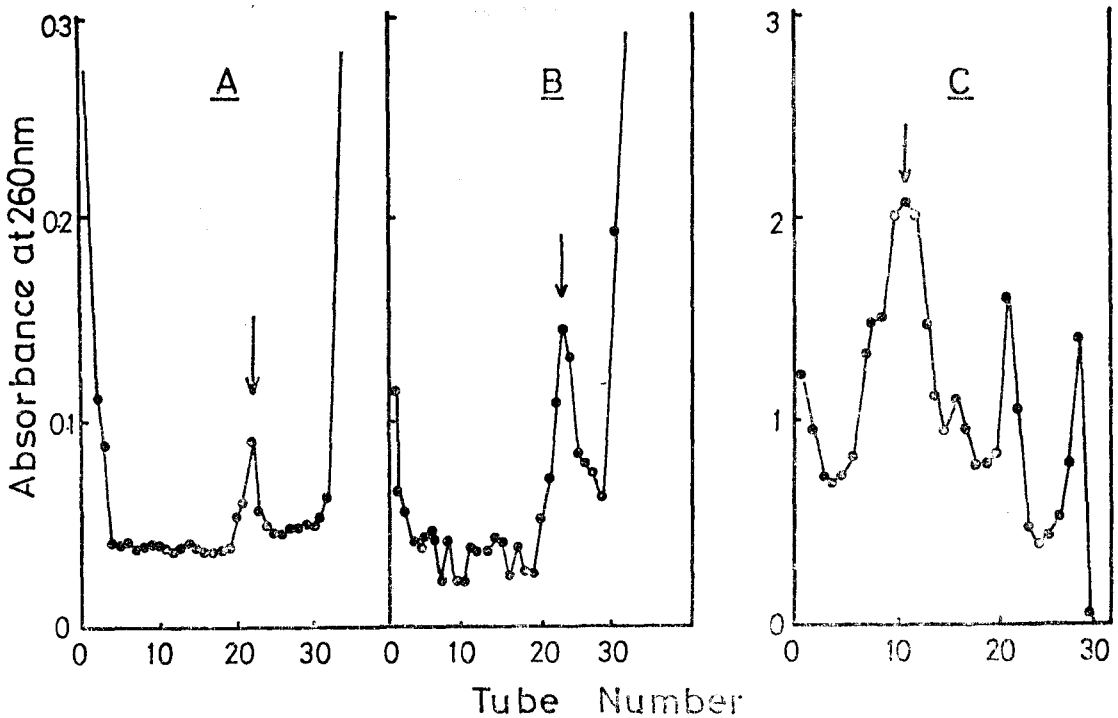


Fig. 3. Sedimentation profiles of flacherie virus extracted from infected midguts. The virus purified by sucrose density gradient centrifugation for 2 hr at 23,000rpm in a Hitachi RPS-25 rotar in a gradient of 10 to 40% sucrose by the procedures by Kawase *et al.* (unpublished) (A), Himeno *et al.* (1974) (B) and CsCl equilibrium density gradient centrifugation at 34,000rpm for 24 hr in a Hitachi 55T rotar by the procedures described by Ayuzawa (1972) (C). After centrifugations the gradients were fractionated from the bottom of the tube, each was collected in a tube with 2ml of the TK buffer. —→ peaks of virus.

衡密度勾配遠心法에 의하여 精製바이러스를 얻고 있는 點으로 보아서 앞의 2가지 방법과는 다르다. 이 方法에 의한 結果는, 4개의 peak가 시험관번호 11, 16, 21 및 28에 인정되었다(圖 3C). 이 패턴은 實際에 鮎澤(千)⁽²⁾가 나타내고 있는 結果와 유사하고, 시험관 번호 11의 peak가 FV에 의한 것이라 생각되었다.

이상의 3방법에 의하여 얻은 各各의 peak를 모아서 (圖 3C에 對하여는 시험관번호 11) 電子顯微鏡에 의한 觀察를 행하였다. 그 結果, 이들의 peak는 모두가 FV라고 생각되는 직경 27nm전후의 球型粒자를 함유하고 있는 것으로 나타났다.

2. 새로운 方法에 의한 FV의 精製

前述한 바와 같이, 이미 보고되어 있는 3가지의 方法에 의하여 FV의 精製를 試圖하여 최종적으로 얻은 各各의 peak를 電子顯微鏡으로 관찰한 결과, 어느 方法이든 FV를 얻을 수는 있었다. 그러나 어느 方法 할 것 없이 精製度 또는 精製效率의 點으로 보아서는 만

족할 수 없었다.

이들의 3가지의 精製方法을 검토하여 보면, 우선 A法은 다른 2가지 方法에 비하여 操作은 비교적 간단하나, 바이러스의 peak가 낮고, 또 peak에 대한 base line이 높기 때문에 精製度 및 精製效率에 대하여 만족할 수 없었다. 또 C法⁽²⁾은 圖 3C에서 나타난 것과 같이, 한번의 遠心으로 多量의 바이러스標品이 얻어지지만 CsCl平衡密度勾配遠心法을 이용하고 있기 때문에 長時間의 遠心を 필요로 하는 點 및 바이러스의 peak에 대하여 base line이 대단히 높은 點 등으로 精製도가 크게 문제되었다.

한편, B⁽⁶⁾法은 操作은 다소 번잡스러우나, A法에 비하여 바이러스 peak는 높고, base line이 비교적 낮기 때문에 어느 정도 만족할 수 있었기 때문에, 이 方法을 基盤으로 하여 精製法の 改良을 행하였다.

즉 粗바이러스標品을 얻을 때까지의 단계에 있어서는 大同少異하나 蔗糖密度勾配遠心에 걸기 前의 단계에 粗바이러스標品을 40% 蔗糖溶液에 重層하여 遠心

하고, 여기에서 얻은 침전을 蔗糖密度勾配遠心に 걸었다. 이 操作을 加하므로 하여, 최종까지 除外되지 않았던 比較의 가벼운 不純物이 上清에 제거되어, 어느 정도로 精製된 바이러스 粒子가 침전으로서 얻을 수 있다고 判斷했다. 이것을 蔗糖密度勾配遠心に 걸은 結果를 圖 4에 나타내었다. 圖 4로서 밝혀진 바와 같이, 左右相稱의 대단히 높은 單一 peak가 시험관번호 24에 인정되었다. 더욱이, peak에 대한 base line이 극히 낮은 點으로 보아 바이러스의 精製도는 대단히 良好하다고 생각되었다.

이것을 電子顯微鏡으로 관찰한 結果, 圖 5에서 보며

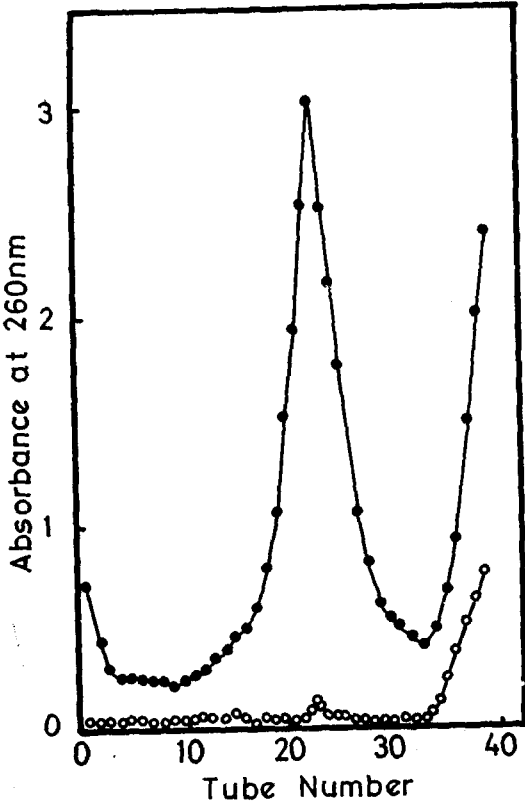


Fig. 4. Sedimentation profiles of flacherie virus extracted from infected midguts. The procedures for virus purification described by Himeno *et al.* (1974) were modified. The partially purified virus was loaded on a 10 to 40% sucrose density gradient and centrifuged at 55,000g for 120 min in a Hitachi RPS-25 rotar. After centrifugation the gradients were fractionated from the bottom of the tube and each was collected in a tube with 2 ml of 50mM Tris-HCl buffer (pH 7.2) (●). The virus purification performed by the procedures described by Himeno *et al.* (1974) was shown as indicated in Fig. 3B (○).

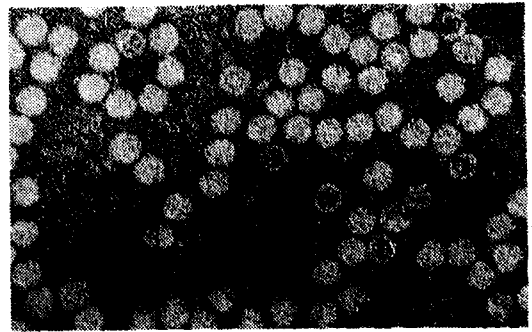


Fig. 5. Electron micrograph of the purified flacherie virus negatively stained with 2% phosphotungstic acid.

지는 것과 같이 純도가 높은 균일한 球型粒子가 인정되고, TMV를 指標로 하여 粒子의 直徑을 推定하여 산출한 結果 27nm였다. 그리고 이 粒子의 病原性에 대해서는 注射에 의하여 확인되었다.

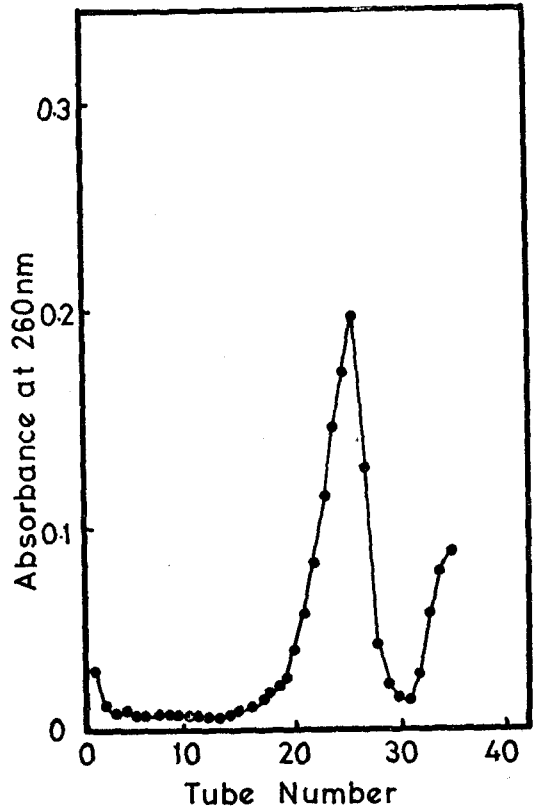


Fig. 6. Sedimentation profile of Ina-flacherie virus extracted from infected midguts. The procedures for virus purification described by Himeno *et al.* (1974) were modified as described in the text.

3. 새로운 精製方法에 의한 伊那株 바이러스의 精製

前述한 바와 같이, 從來의 방법을 改良하여 새로운 FV의 精製法을 確立했기 때문에 이 방법에 準하여 伊那株바이러스의 精製를 試圖하였다. 그 結果, 圖 6에서 나타내고 있는 바와 같이, 대단히 높은 單一의 peak가 시험관번호 26(35本으로 分割)에 얻어졌고, 그 base line은 극히 낮았다. 이 結果는 FV의 새로운 精製法이

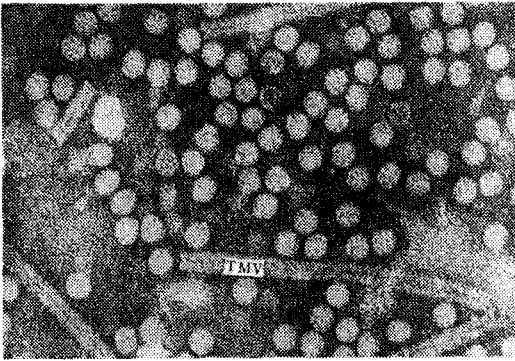


Fig. 7. Electron micrograph of the purified Ina-flacherie virus negatively stained 2% phosphotungstic acid.

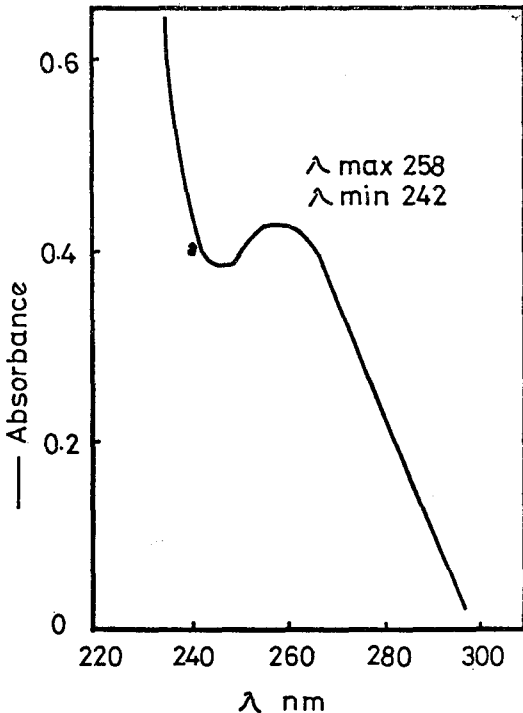


Fig. 8. Ultraviolet absorption spectrum of purified Ina-flacherie virus particles.

그대로 伊那株바이러스의 精製에도 有効함을 示唆하고 있다.

이것을 電子顯微鏡으로 관찰한 結果(圖 7), 純度높은 직경 20nm의 均일한 球型粒子임이 인정되었다. 또 이 粒子의 紫外線吸收 spector을 調查한 結果, 極大吸收을 258nm에, 極小吸收을 242nm에 가지고 있고, 極大吸收과 極小吸收과의 比는 1.15였다(圖 8). 또 粒子의 沈降定數를 구한 結果 80S였다.

IV. 考 察

家蠶의 軟化病中에 傳染性的인 바이러스가 存在함을 Paillot⁽⁷⁾가 최초 지적한 이래, 이미 50年 가까운 세월이 흘렀다. 또 일본에 있어서는 바이러스性的인 軟化病의 存在가 推定되고⁽⁸⁾, 또 그것이 확인⁽¹⁾된 후에도 數十年이 경과하였다. 이때에는 많은 연구자가 防除法이나 疫學的인 面에 關於하여 研究하였기 때문에, 起病性 因子인 FV의 化學的 및 物理學的인 性狀은 아직 밝혀지 지 않고 있는 實情이다. 그 이유는 적절한 바이러스의 精製方法이 確立되어 있지 않았기 때문인 것이다.

여기에, 著者は 效率종교 精製度가 높은 바이러스를 얻을 수 있는 精製方法의 確立을 意圖하여, 우선 이미 보고되어 있는 3가지의 精製法을 比較檢討하였다(圖 1, 3). 그 結果, 어느 방법에 依하던 바이러스粒子를 얻을 수는 있었지만, 精製度 및 精製效率 觀點에서 問題가 있었다.

그러나 이들 3가지의 方法中에서 Himeno 등⁽⁵⁾의 方法이 비교적 有効하다고 인정되었기 때문에, 이 方法에 대하여 여러가지 각도에서 檢討하고 改良을 하여, 精製度가 극히 높은 FV를 效率的으로 얻을 수 있는 精製法을 確立하는데 성공하였다(圖 2, 4).

이 방법의 重要한 관건은, 蔗糖密度勾配遠心에 걸기 前에 粗바이러스標品을 40%蔗糖溶液에 重層하여 遠心을 行하고, 거기에서 얻은 침전을 蔗糖密度勾配遠心으로 分割한 것이다. 이 操作을 加하므로써 지금까지 除去하지 못했던 不純物을 上淸으로서 제거할 수 있었고 어느 정도의 精製度가 높은 바이러스標品을 침전으로서 얻을 수 있었다. 그 結果로서 최후의 蔗糖密度勾配遠心에 依하여 극히 예리한 單一의 peak로서 分割되어(圖 4), 그 패턴으로 부터 판단하면, FV의 精製度는 극히 良好하다고 생각되었다. 그리고 精製度가 높다는 것은 電子顯微鏡觀察의 結果를 보아서도 의심할 여지가 없다고 믿어진다(圖 5).

이 새로운 精製法은 效率的으로도 대단히 좋다고 생각된다. 즉 Himeno 등⁽⁵⁾의 방법에 依하면, FV中腸

400g으로 부터 시작하여 粗바이러스 浮遊液 120ml을 얻어서, 그 2ml을 蔗糖密度勾配遠心に 건다면, 260nm의 吸光度로서 0.1정도의 peak를 얻을 수 있다. 그러나 그 보다 더 큰 peak를 얻기 위하여 粗바이러스 浮遊液의 濃度を 높이면, FV의 peak는 不純物에 의하여 인정할 수 없게 되어 버린다. 이것에 대하여 새로운 精製法은, 同量의 中腸으로 부터 시작하여 얻은 300ml의 粗바이러스浮遊液을 40%蔗糖溶液에 重層遠心하고, 그 침전물 6ml에 부유시켜서, 12,000g, 20분간 遠心한 上清의 2ml을 蔗糖密度勾配遠心に 걸면 260nm의 吸光度로서 3unit정도의 예리한 peak를 얻을 수 있었다(圖 4). 이것은 angle rotar를 사용한 원심의 조작을 加하므로 因하여, 대단히 번잡한 蔗糖密度勾配遠心の 回數를 무려 1/20로 減少시킬 수 있는 결과이다. 또 바이러스의 收量은, 바이러스의 增殖度에 따라 相違가 있겠으나, 著者の 結果의 경우는 400g의 感染中腸으로부터 260nm의 吸光度로서 約 58unit, 伊那株바이러스의 경우에는 約 38unit였다.

伊那株 바이러스의 精製는 현재까지 전혀 보고되어 있지 않고 있다. 本研究에 있어서는 FV의 새로운 精製法을 伊那株바이러스에 그대로 適用한 결과, FV와 같이 예리한 peak로서 分離되었다(圖 6). 精製한 伊那株바이러스의 직경은 20nm였고, 이것은 FV의 26~27nm와는 크게 差가 있었다. 또 沈降定數는 80S로서 FV의 180S前後의 수치와는 현저한 차이를 나타내어, FV와 伊那株바이러스와는 전혀 새로운 바이러스임이 究明되었다. 그러나 이들 수치는 같은 바이러스라 할지라도 capsid담백질의 형태등에 의하여도 좌우되는 경우가 있으므로⁽³⁾ 그것은 各各의 핵산의 性狀에서 밝히기로 하겠다. 그리고 계속해서 FV와 伊那株 바이러스의 capsid담백질의 性상 및 바이러스의 증식기구에 대하여 究明하겠다.

그리고 우리나라에 있어서의 FV 및 新型 伊那株 바이러스의 存在의 확인도 試圖하겠다.

V. 摘 要

1. 從來의 報告된 FV의 精製法을 比較檢討한 결과, 어느方法도 精製度 및 精製效率에 問題가 있음을 指摘하였다.

2. 從來의 精製方法을 改良하여 精製度·精製效率이 뛰어난 FV의 精製法을 확립하였다.

3. 새로운 精製法을 伊那株바이러스의 精製에 적용한 결과, 本바이러스의 精製에도 有效함이 究明되었으며 동시에 최초로 本 바이러스를 精製하는데 성공하였다.

4. 새로운 精製法으로 精製한 FV 및 伊那株 바이러스 粒子를 電子顯微鏡으로 觀察한 결과, 이들 바이러스粒子는 球型粒子이고, 그 직경은 前者는 27nm, 後者는 20nm이었다. 또 伊那株바이러스 粒子의 沈降定數는 80S였다.

VI. 參考文獻

1. 鮎澤啓夫·古田要二·倉田啓而·佐藤文子(1964) : 蠶의 傳染性 軟化病 바이러스에 關する 研究, 蠶試報 19, 223-239.
2. 鮎澤千尋(1972) : 蠶의 바이러스性 軟化病에 關する 研究 1, 바이러스의 精製와 2,3의 性狀, 日蠶雜 41, 338-344.
3. Clinton, G. M., and Hayshi M. (1975) : The parvovirus MVM: Particles with altered structural proteins, Virology 66, 261-267.
4. 古田要二(1973) : 蠶에 病原性을 示す 新らしい 軟化病에 について, 日蠶雜 42, 443-453.
5. Himeno, M., Onodera, K., and Tanami, Y. (1974) : Properties of flacherie virus of the silkworm, *Bombyx mori*, J. Invertabr. Pathol. 23, 164-171.
6. 松井正春(1973) : 바이러스性 軟化病蠶에 見出された 從來よりも 小型의 球型 바이러스粒子에 について, 應動昆 17, 113-115.
7. Paillot, A. (1929) : La gattine et al Flacherie ou flacherie de pasteur, maladies infectieuse mixtes ultra-microbe et bactéries, Compt. Rend. Acad. Sci. 189, 308-310.
8. 清水孝夫(1975) : 伊那市農家の 病蠶から 分離した 軟化病 바이러스의 病原性, 日蠶雜 44, 45-48.
9. 山崎壽·酒井榮一·下平睦夫·山田たけを(1960) : 傳染性のある 軟化病(F)에 關する 研究, 長野蠶試報 61, 1-28.