

Генетика вирусов гриппа: Пер. с англ./Под ред. П. ПЕЙЛИЗА,
Д. У. КИНГСБЕРИ.—М.: Медицина, 1986, 336 с., ил.
Genetics of Influenza Viruses. Ed. by P. PALESE, D. W. KINGSBURY.
Springer—Verlag Wien. New York, 1983.

В монографии рассмотрены генетика и молекулярные основы репродукции вируса гриппа, его эволюция и эпидемиология. Описаны геном вируса гриппа, транскрипция генома и геномные РНК-сегменты. Представлены данные об антигенной вариации и мутантах вирусов гриппа, экспрессии клинико-диагностических генов, генетическом базисе вирулентности вируса. Освещены наиболее крупные пандемии XX века.

Для микробиологов, эпидемиологов, вирусологов, генетиков.
Рис. 49. Табл. 37. Список литературы — 1446 назв.

Рекомендовано проф. Ф. С. Носковым, проф. В. И. Аголом

Г 4107000000—293
039(01)—86 91—86

© 1983 by Springer—Verlag/Wien
© Перевод на русский язык. Издательство «Медицина» Москва, 1986

ИЧУЖНАЯ БИБЛИОТЕКА
им. Н. Н. Лобачевского
КАЗАНСКОГО ГОС. УНИВЕРСИТЕТА

Оглавление

1. Перспективы развития генетики вируса гриппа.— Э. Кильбурн (E. Kilbourne)	11
I. Введение	11
II. Развитие современной генетики вируса гриппа	12
A. Первые лабораторные доказательства генетической изменчивости	12
B. Применение традиционных генетических методов для изучения вируса гриппа	13
B. Генетические маркеры	14
Г. Развитие методов бляшек	15
Д. Использование условных летальных мутантов	16
E. Новые подходы в генетике вируса гриппа	17
1. Биохимическая идентификация продуктов вирусного гена при нечетком определении вирусного потомства	17
2. Картирование генома вируса гриппа коррелятивными физико-химическими и биологическими методами	18
3. Применение методов молекулярной биологии для изучения вирусных генетических изменений	19
4. Олигонуклеотидное картирование вирусных РНК	19
5. Роль секвенирования белка и РНК в генетике вируса гриппа — внутригенное картирование	20
III. Вирусная генетика и понимание вирулентности и патогенности вирусов	20
IV. Взаимосвязь генетики вируса гриппа с эпидемиологией и эволюцией вирусов гриппа (молекулярная эпидемиология)	21
A. Генетическое перераспределение в природе и его роль в эволюции новых вирусов	22
B. Генетика мипорной изменчивости	23
B. Вирусы гриппа А, В и С	23
V. Практическое применение генетики вируса гриппа	24
VI. Специальная генетика вирусов с раздробленным геномом в связи с проблемами гриппа	25
VII. Нерешенные проблемы гриппа и генетические подходы к их решению	26
Список литературы	27
2. Сегменты РНК вируса гриппа и кодированные ими белки.— Р. Лемб (R. Lamb)	31
I. Введение	31
II. Частица вируса гриппа: основная структура	31
III. Структура генома	33
A. Первые доказательства сегментированности генома	34
B. Восемь сегментов РНК вируса гриппа	34

В. Методы определения функций гена	36	
Г. Последовательности 5'- и 3'-концов каждого сегмента РНК—общие	37	
Д. Синтез двунитчатой ДНК с РНК вируса гриппа, клонирование и определение нуклеотидных последовательностей	39	
IV. Сегменты РНК вируса гриппа	42	
А. Сегменты 1, 2 и 3 РНК: свойства белков PB1, PB2 и PA, ассоциированных с транскриптазой	42	
Б. Сегмент 4 РНК: структура и функция гемагглютинина	43	
1. Структура сегмента 4 РНК, кодирующего гемагглютинин	44	
2. Трехмерная структура гемагглютинина	46	
3. Синтез гемагглютинина, котрансляционные и посттрансляционные модификации	47	
4. Активация инфекционности кливеджем и слияние <i>in vitro</i>	48	
В. Сегмент 5 РНК: структура белка нуклеокапсида	48	
Г. Сегмент 6 РНК: структура и свойства нейраминидазы	49	
Д. Сегмент 7 РНК: структура и синтез мембранных белка (M1) и неструктурного белка (M2)	52	
Е. Сегмент 8 РНК: структура и синтез неструктурных белков NS1 и NS2	55	
Ж. Перекрывающиеся кодирующие области, использующие различные рамки считывания у вирусов	58	
Список литературы	58	
3. Транскрипция и репликация вируса гриппа.—Р. Краг (R. Krug)	66	
I. Введение	66	
II. Синтез вирусных мРНК	67	
А. Праймирование клеточными кэпированными РНК—открытие	67	
Б. Праймирование клеточными кэпированными РНК — механизм	69	
В. Роль трех вирусных белков Р на этапах праймирования транскрипции	72	
Г. Окончание транскрипции и добавление поли(A)	77	
Д. Регуляция синтеза вирусной мРНК в инфицированной клетке	78	
Е. Клеточный сайт для синтеза вирусных мРНК	80	
Ж. Роль других функций ядер клеток-хозяев в синтезе вирусной мРНК — сплайсирование и метилирование внутренних А-остатков	84	
III. Синтез транскриптов во всю длину	90	
IV. Синтез вРНК (репликация)	92	
Список литературы	93	
4. Генетическое родство вирусов гриппа (РНК и белок).—К. Шолтис-сек (C. Scholtissek)	96	
I. Введение	96	
II. Генетическое родство вирусных РНК	96	
А. Различия в скоростях миграции A _s сегментов РНК, выявленные методом электрофореза в поликарбамидном геле (ПААГЭ)	96	
Б. Молекулярная гибридизация	98	
1. Прямая РНК-РНК-гибридизация	98	
2. Конкурентная гибридизация	101	
3. ДНК-РНК-гибридизация	102	
4. Анализ двухцепочных обработанных нуклеазой S1 гибридных молекул методом ПААГЭ	102	
В. Метод олигонуклеотидного фингерпринта	103	
Г. Секвенирование сегментов РНК	105	
1. Секвенирование ³² P-концевых меченых РНК частичным расщеплением нуклеазой	105	
2. Секвенирование 3'-конца РНК с использованием дидеокси-метода	105	
3. Секвенирование полных сегментов РНК	107	
а) Ген гемагглютинина	108	
б) Ген нейраминидазы	110	
в) Три гена белка Р	110	
г) Ген нуклеопротеида	111	
д) Ген мембранных белка	111	
е) Ген неструктурного белка	113	
III. Генетическое родство вирусных белков	114	
А. Различия в скоростях миграции вирусных белков при ПААГЭ	114	
Б. Триптическое пептидное картирование	115	
В. Прямое секвенирование	116	
IV. Заключение	117	
Список литературы	118	
5. Антигенные вариации среди вирусов гриппа типа А.—Р. Вебстер, В. Лейвер, Г. Эир (R. Webster, W. Laver, G. Air)	123	
I. Введение	123	
II. Исторические сведения	124	
III. Номенклатура	124	
IV. Химические и физические свойства антигенов	126	
V. Гемагглютинин	128	
А. Выделение и антигенные свойства гемагглютинина	129	
Б. Изменение структуры и антигенных свойств гемагглютинина при низких значениях pH	131	
В. Антигенный дрейф гемагглютинина	132	
Г. Использование моноклональных антител в анализе антигенного дрейфа	133	
Д. Изменение последовательности гемагглютинина вариантов вируса гриппа, отобранных с моноклональными антителами	133	
Е. Расположение антигенных сайтов в 3-D структуре гемагглютинина	136	
Ж. Отбор антигенных вариантов секвенированием	138	
З. Антигенный дрейф гемагглютинина вируса гриппа типа А низших животных	140	
VI. Нейраминидаза	141	
А. Антигенные вариации в нейраминидазе	143	
Б. Селекция вариантов нейраминидазы с моноклональными антителами	144	
В. Антигенный дрейф в нейраминидазах вирусов гриппа типа А низших животных	146	
Г. Механизм антигенного дрейфа	147	
VII. Антигенный шифт	147	
А. Выводы из анализа последовательностей	148	
Б. Возможные механизмы шифтов в штаммах вируса гриппа человека	150	
В. Антигенный шифт среди вирусов гриппа низших животных	151	
VIII. Вариация в нуклеопротеиде	152	
IX. Вариация в матриксном белке	153	
X. Вариация в неструктурных белках	154	
XI. Вариации в белках полимеразы	154	
XII. Каково будущее?	155	
Список литературы	157	
6. Экспрессия клонированных генов вируса гриппа.—М.-Дж. Гетсинг, Дж. Сэмбрук (M.-J. Gething, J. Sambrook)	161	
I. Введение	161	
II. Векторы экспрессии	162	
III. Экспрессия генов вируса гриппа в <i>E. coli</i>	162	
А. Экспрессия гемагглютинина	163	
Б. Экспрессия белка NS1	166	

IV. Экспрессия генов вируса гриппа в клетках эукариотов	166
А. Экспрессия гемагглютинина в клетках обезьян с использованием рекомбинантных SV40 вирусных векторов	166
Б. Приготовление генов гемагглютинина	168
В. Конструирование рекомбинантных геномов	168
Г. Введение рекомбинантных геномов в клетки обезьян и производство вирусного материала	170
Д. Анализ гемагглютинина экспрессированного из SV40-нарекомбинантных векторов	172
Е. Количественная оценка гемагглютинина, экспрессированного из рекомбинантных геномов	174
Ж. Влияние промежуточных последовательностей в транскрипте гемагглютинина рекомбинанта на уровень экспрессии белка гемагглютинина	175
З. Экспрессия матриксного гена в клетках обезьян с использованием SV40-М-рекомбинантного вируса	176
И. Кратковременная экспрессия клонированных генов в клетках COS-1	176
К. Непрерывная экспрессия гемагглютинина из генов, интегрированных в хромосомы клеток эукариотов	177
V. Анализ экспрессии белков мутанта гемагглютинина	179
А. Сигнал-минус гемагглютинина (S-HA) — негликозилированный внутриклеточный белок	179
Б. Удаление С-терминальной гидрофобной последовательности превращает гемагглютинин в секретированный белок	180
В. Планы на будущее	184
Список литературы	185
7. Мутанты вируса гриппа. — Б. Мэйхи (B. Mahy)	186
I. Введение	186
II. Характеристика вирусных мутантов	187
А. Системы вирус гриппа—клетка	188
Б. Природа вирусной популяции	188
В. Скорость естественной мутации	189
Г. Индукция мутантов	
1. Мутагены	190
Д. Текущесть и реверсия	191
III. Температурочувствительные мутанты	194
А. Генетическое взаимодействие и классификация мутантов	194
Б. Передача ts-повреждений индивидуальным сегментам генома	
1. Мутанты из Кембриджа	196
2. Мутанты из Нью-Йорка и Токио	197
3. Мутанты из Гессена	198
4. Мутанты из Москвы	198
5. Мутанты из Бетезды	199
6. Заключение	199
В. Фенотипический анализ температурочувствительных мутантов	
1. Предназначенность полипептидов относительно сегментов РНК	201
2. Мутанты с ts-повреждениями в сегменте 1 РНК	202
а) Активность транскриптазы вирионной РНК	203
б) Активность РНК-зависимой РНК-полимеразы экстрактов инфицированных клеток	205
в) Синтез вирусспецифической РНК in vivo	206
г) Синтез вирусспецифических полипептидов	210
д) Заключение	212
3. Мутанты с повреждениями в сегменте 2 РНК	214
а) Активность вирионной транскриптазы	214
б) Активность РНК-зависимой РНК-полимеразы в экстрактах инфицированных клеток	215

в) Синтез вирусспецифической РНК in vivo	216
г) Синтез вирусспецифических полипептидов	218
д) Заключение	219
4. Мутанты с повреждениями в сегменте 3 РНК	220
а) Активность транскриптазы вириона	220
б) Активность РНК-зависимой РНК-полимеразы в экстрактах инфицированных клеток	221
в) Синтез вирусспецифической РНК in vivo	221
г) Синтез вирусспецифических полипептидов	222
д) Заключение	223
5. Мутанты с ts-повреждениями в сегменте 4 РНК	224
6. Мутанты с ts-повреждениями в сегментах РНК, кодирующих нуклеопротеид	
а) Активность транскриптазы РНК	224
б) Синтез вирусспецифической РНК in vivo	225
в) Синтез вирусспецифических полипептидов	226
г) Заключение	226
7. Мутанты с ts-повреждениями в сегменте РНК, кодирующем пейраминидазу	227
8. Мутанты с ts-повреждениями в сегменте 7 РНК	228
9. Мутанты с ts-повреждениями в сегменте 8 РНК	230
Г. Вакцины, полученные на основе температурочувствительных мутантов	232
IV. Холодоадаптированные мутанты	233
V. Мутанты круга хозяев	235
А. Неусловные мутанты круга хозяев	235
Б. Условные мутанты круга хозяев	237
В. Заключение	238
VI. Мутанты, устойчивые к амантадину	238
VII. Общие заключения	239
Список литературы	241
8. Структура дефектных интерферирующих РНК вируса гриппа и их прогениторных генов.—Д. Нейяк, Н. Сивесабраманьян (D. Nayak, N. Sivasubramanian)	249
I. Введение	249
II. Свойства ДИ частиц вируса гриппа	249
III. РНК ДИ частиц вируса гриппа	250
IV. Структура генов и белков полимеразы	
А. Последовательность нуклеотидов генов полимеразы	252
Б. Первичная структура белков PB1 и PB2	253
В. Предсказанные вторичные структуры белков PB1 и PB2	255
V. Структура ДИ РНК	
А. Классы ДИ РНК	258
Б. Полные последовательности нуклеотидов ДИ РНК	260
VI. Генерирование ДИ РНК из прогениторных РНК	261
VII. Транскрипция ДИ частиц вируса гриппа	266
VIII. Интерференция ДИ вирусами гриппа	268
IX. Заключение	269
Список литературы	269
9. Вирусы гриппа В и гриппа С.—Г. Эир, Р. Компанс (G. Air, R. Compans)	272
I. Введение	272
II. Вирус гриппа В	
А. Разновидность РНК вируса гриппа В	272
Б. Белки вируса гриппа В	274
1. Гемагглютинин	276
2. Нейраминидаза	277
3. Матричный белок	279
4. Неструктурные белки	281
5. Белки Р	281

В. Репликация вируса гриппа В	281
Г. Эпидемиология	282
Д. Антигенная изменчивость вирусов гриппа В	283
III. Вирус гриппа С	285
А. Структура вируса	285
1. Морфология виронов	285
2. Разновидности вирусной РНК	286
3. Вирусные полипептиды	287
4. Активности слияния и гемолиза	289
5. Фермент, разрушающий рецептор	289
Б. Репликация вируса гриппа С	290
В. Генетика и эпидемиология	291
Список литературы	293
10. Различия в патогенезе гриппозной инфекции, зависящие от вируса.—Дж. Шульман (J. Schulman)	296
I. Введение	296
II. Методы	297
III. Различия биологических свойств, связанные с гемагглютинином	299
IV. Вирулентность для цыплят	301
V. Нейровирулентность для мышей	303
VI. Вирулентность для других экспериментальных животных	304
А. Хорьки	304
Б. Крысы	304
В. Мыши	305
VII. Вирусзависимые различия в других системах	307
А. Культуры клеток	307
Б. Выращивание вируса в эмбрионах	307
В. Чувствительность к амантадину	307
VIII. Вирулентность для человека	308
IX. Резюме	310
Список литературы	310
11. Молекулярная эпидемиология вируса гриппа.—П. Пейлиз, Дж. Юнг (P. Palese, J. Young)	313
I. Введение	313
II. Вирусы гриппа А, В и С и связанные с ними заболевания	313
III. Грипп в XX столетии	313
IV. Надзор за вирусами гриппа	314
V. Вирусы H1N1, появившиеся в 1977 г.	316
VI. Молекулярная эпидемиология гриппа у животных	317
VII. Механизмы, влияющие на изменчивость полевых штаммов вирусов гриппа	318
А. Точечные мутации	319
Б. Рекомбинация	320
В. Делекции/вставки	323
Г. Повторное появление старых генов	325
VIII. Перспективы на будущее	326
Список литературы	327
Предметный указатель	329

1

Перспективы развития генетики вируса гриппа

Э. Кильбурн (E. Kilbourne)

I. Введение

На протяжении истории человечества среди людей не раз возникали заболевания в результате мутаций в гемагглютинине вирусов гриппа А. Клинические и эпидемиологические черты прошлых и современных эпидемий очень похожи. Это наводит на мысль что минувшие эпидемии были вызваны антигенно отличающимися вирусами, подобно современным штаммам, изучаемым в настоящее время. Такое предположение подкрепляется серологическими и недавно полученными молекулярно-генетическими доказательствами возвращения, или рециркуляции, вариантов вируса, которые существовали в прошлом. Таким образом, современное изучение генетики вирусов гриппа имеет не только ретроспективное, но и прогностическое значение для оценки этого рециркулирующего вируса.

В то время как варианты других человеческих вирусов в результате эволюции трансформировались в многочисленные разновидности, варианты вирусов гриппа А, известные своей изменчивостью, с трудом существовали в человеческой популяции. Вследствие этого лишь один или два основных варианта вызывали заболевания в отдельные годы, причем такие «подтипы» выживали на протяжении одного-трех десятилетий. Подобная ускоренная эволюция вируса, обретенного на быстрое исчезновение по мере нарастания иммунитета у населения, объясняет исключительность гриппозной инфекции и трудности ее предупреждения. В отличие от других заболеваний генетика вируса гриппа позволяет понять патогенез и эпидемиологию данной инфекции.

Генетика вируса гриппа возникла скорее не как формальная генетическая система, а как попытка определить и понять практические проблемы, касающиеся непрерывного антигенного изменения вируса, способного как к пандемическим «взрывам», так и к «древлющей» эпидемичности. Предстоит еще объяснить и парадокс немеющейся болезни, вызываемой изменяющимся вирусом [57, 58]. Эта загадка сейчас поддается разрешению посредством определения консервативных последовательностей аминокислот и вариабельных участков в ключевых структурных белках вируса [1, 24, 25, 45].