

УКАЗАТЕЛЬ ЛАТИНСКИХ НАЗВАНИЙ

Adenoviridae 254	Phytoreovirus 201
Aedes pseudoscutellaris 108	Pneumovirus 131
Aviadenovirus 254, 256	Rabdoviridae 112
Birnaviridae 202	Reoviridae 201
Cercopithecus aethiops 262	Rotavirus 201
Cypovirus 201	Saguinus 295
Escherichia coli 30, 152, 218, 220	Saimiri sciureus 295
Fijivirus 201	Staphylococcus aureus 149
Lissavirus 122	— <i>dureus</i> 149
Mastadenovirus 254, 256	Testudo graeca 135
Morbillivirus 131	Togaviridae 66
Orbivirus 201	Vesiculovirus 122
Orthoreovirus 201	Xenopus laevis 135
Paramyxovirus 131	

ОГЛАВЛЕНИЕ

От переводчика	5
Предисловие к английскому изданию	7
Список авторов	9
Список сокращений	10
Глава 1. Очистка, биофизическая и биохимическая характеристика вирусов (преимущественно вирусов растений). Р. Халл	12
1. Введение	12
2. Очистка вирусов растений	12
2.1. Растения-хозяева	12
2.2. Экстракция вирусов из растений	13
2.3. Осветление экстрактов	14
2.4. Концентрирование вирусов	15
2.5. Дальнейшая очистка	16
2.6. Что такое «чистота»?	19
2.7. Хранение вирусных препаратов	19
2.8. Конкретные методики очистки	20
3. Биофизическая характеристика	22
3.1. Необходимость биофизической характеристики	22
3.2. Ультрафиолетовые спектры	22
3.3. Седиментационные свойства	24
3.4. Коэффициенты диффузии	26
3.5. Определение молекулярной массы	26
3.6. Плавающая плотность	27
3.7. Электронная микроскопия	28
3.8. Обнаружение вирусов методом дот-блот гибридизации	29
4. Биохимический анализ	33
4.1. Выделение нуклеиновых кислот	33
4.2. Определение типа нуклеиновой кислоты	36
4.3. Определение содержания нуклеиновой кислоты	37
4.4. Гель-электрофорез нуклеиновых кислот	39
4.5. Гель-электрофорез белков	41
4.6. Гель-электрофорез вирусных частиц	42
Литература	42
Глава 2. Культивирование, идентификация и очистка пикорнавирусов. П. Майонор	44
1. Введение	44
2. Меры безопасности	45
3. Культивирование пикорнавирусов	46
3.1. Выбор клеток	46

3.2. Условия культивирования	48
3.3. Сбор вирусов	49
3.4. Нарращивание полиовируса типа 3 для заражения клеток	50
3.5. Получение меченного [³⁵ S]-метионином полиовируса типа 3 на монослойных клеточных культурах в химических пробирках	50
3.6. Получение вируса в суспензионной культуре клеток HeLa	51
4. Идентификация вирусов	52
4.1. Методы определения инфекционности	52
4.2. Методы определения антигенных свойств	54
4.3. Другие методы идентификации пикорнавирусов	57
5. Очистка вирусов	57
5.1. Общие замечания	57
5.2. Концентрирование пикорнавирусов	58
5.3. Очистка пикорнавирусов	59
5.4. Фракционирование градиентов	62
Литература	65
Глава 3. Культивирование, титрование и очистка тогавирусов. Е. Гулд и Дж. Клегг	66
1. Введение	66
2. Культивирование тогавирусов	67
2.1. Заражение новорожденных мышат	67
2.2. Выделение и наращивание тогавирусов в культуре клеток комаров	73
2.3. Нарращивание вирусов в культуре клеток млекопитающих	77
2.4. Выращивание вирусов на комарах и их личинках	81
3. Титрование тогавирусов	83
3.1. Титрование путем интрацеребрального заражения новорожденных мышат	83
3.2. Титрование в культуре клеток	85
3.3. Титрование методом гемагглютинации	91
4. Очистка тогавирусов	95
4.1. Культивирование тогавирусов	95
4.2. Концентрирование вирусов	97
4.3. Очистка вирусов градиентным центрифугированием	100
5. Общие выводы	105
6. Благодарности	106
Приложение	107
1. Среды для культур тканей	107
2. Среды для поддержания культур клеток	108
3. Растворитель для природного материала	108
4. Приготовление суспензии природного материала	109
5. Обработка сывороток, используемых в РТГА	109
6. Реактивы и буферные растворы	109
Литература	111
Глава 4. Культивирование, очистка и титрование рабдовирусов. В. Вуннер	112
1. Введение	113
2. Нарращивание рабдовирусов в культурах клеток	113
2.1. Кривая нарастания титра в одиночном цикле размножения	113
2.2. Титрование вирусов	116
3. Выделение и очистка вирусов	122
3.1. Рабдовирусы животных	122

3.2. Рабдовирусы растений	126
Литература	129
Глава 5. Пневмовирусы. К. Прингл	131
1. Уникальные особенности пневмовирусов	131
1.1. Общее введение	131
1.2. Номенклатура	133
1.3. Выделение вируса	133
1.4. Хранение вируса	134
2. Основные методы	134
2.1. Культивирование респираторно-синцитиального вируса	136
2.2. Методы определения инфекционности	138
2.3. Гемагглютинация	139
2.4. Гемадсорбция	139
2.5. Иммунофлуоресцентные методы	140
2.6. Твердофазный иммуоферментный анализ (ELISA)	142
3. Аналитические методы	142
3.1. Радиоактивное мечение, радиоиммуноанализ и радиоиммунопреципитация	142
3.2. Метод выявления дефектных интерферирующих частиц	145
3.3. Электронная микроскопия	145
3.4. Концентрирование вируса	150
3.5. Очистка и радиоактивное мечение РСВ	150
3.6. Радиоактивное мечение вирионной РНК	151
3.7. Анализ вирусных РНК и белков методом электрофореза в полиакриламидном геле	152
3.8. Очистка матричной РНК для трансляции	154
3.9. Молекулярное клонирование и олигонуклеотидное секвенирование	155
3.10. Очистка вирусных белков	155
4. Специальные биологические методы	157
4.1. Получение моноклональных антител	157
4.2. Выделение температурно-чувствительных мутантов	158
4.3. Получение персистентно инфицированных клеточных культур	159
Литература	159
Глава 6. Выращивание, очистка и титрование вирусов гриппа. Т. Баррет и С. Инглис	161
1. Общее введение	161
2. Системы для размножения вирусов гриппа	162
2.1. Куриные эмбрионы	162
2.2. Нарращивание вирусов в культурах клеток	166
2.3. Органные культуры	168
3. Методы титрования вирусов	169
3.1. Титрование вирусов гриппа в реакции гемагглютинации	169
3.2. Титрование путем определения инфекционности для куриных эмбрионов	174
3.3. Титрование вирусов с использованием фрагментов эмбрионов	176
3.4. Титрование вирусов гриппа методом бляшек	178
3.5. Электронная микроскопия вирусов гриппа	181
4. Очистка вирусов гриппа	181
4.1. Введение	181
4.2. Концентрирование вируса	183
4.3. Методы очистки вирусов гриппа	184
5. Определение активности вирионных ферментов	188
5.1. Вирионная транскриптаза	188

5.2. Нейраминидаза	189
5.3. Слияние вирусной и клеточной мембран	192
6. Хранение вирусных препаратов	193
7. Радиоактивное мечение вируса	194
7.1. Введение метки в РНК	194
7.2. Введение метки в белки	195
8. Среды и буферные растворы	197
8.1. Среды для культуры клеток ФЭК	197
8.2. Буферные растворы	198
9. Благодарности	199
Литература	199
Глава 7. Вирусы, содержащие двуниевую РНК. М. Мак-Кри	201
1. Классификация вирусов, содержащих двуниевую РНК	201
2. Выделение вирусов и культуры клеток	202
2.1. Поддержание культур клеток для наращивания реовирусов	202
2.2. Получение вирусного инокулята	203
2.3. Наращивание вирусов в больших масштабах	203
3. Очистка вирусов	204
3.1. Сбор зараженных клеток и первая экстракция вируса	204
3.2. Очистка вируса центрифугированием в градиенте	206
3.3. Определение выхода и хранение очищенного вируса	207
4. Культивирование и очистка ротавирусов	207
4.1. Адаптация к размножению в культуре клеток	209
5. Наращивание и очистка ротавирусов для биохимических исследований	211
6. Биохимические методы	212
6.1. Транскрипция вирусных мРНК в бесклеточной системе	212
6.2. Трансляция вирусных мРНК в бесклеточной системе	215
6.3. Трансляция вирусных геномных днРНК для определения их кодирующих функций	216
6.4. Молекулярное клонирование генома днРНК-содержащих вирусов	218
Приложение	221
Литература	222
Глава 8. Обезьяний вирус (SV40) и вирус полиомы: культивирование, титрование, трансформация и очистка вирусных компонентов. Г. Тюрлер и П. Берд	223
1. Введение	223
2. Техника безопасности при работе с вирусом полиомы и SV40	224
3. Культуры клеток, среды и буферы	224
3.1. Культуры клеток	224
3.2. Клетки-хозяева для SV40 и вируса полиомы	225
3.3. Среды и сыворотки	226
3.4. Буферы и растворы	226
4. Получение заготовок вируса	226
5. Очистка SV40 и вируса полиомы	231
5.1. Равновесное центрифугирование в градиенте плотности CsCl	232
5.2. Центрифугирование в градиенте плотности сахарозы	234
5.3. Некоторые особенности методов работы с вирусом полиомы	235
6. Определение концентрации вируса	235
6.1. Титрование вируса методом бляшек	236
6.2. Идентификация вируса полиомы в реакции гемагглютинации	237

6.3. Анализ вирусной ДНК электрофорезом в агарозном мини-геле	240
6.4. Определение количества зараженных клеток с помощью иммунофлуоресцентного окрашивания культур на внутриядерный опухолевый антиген	241
7. Опухолевая трансформация клеток	244
7.1. Инфицирование непермиссивных клеток	245
7.2. Получение колоний на пластике в жидкой среде	245
7.3. Получение колоний в полужидком агаре [20]	246
8. Выделение вирусной ДНК и вирусных мини-хромосом из инфицированных клеток	248
8.1. Экстракция вирусной ДНК	248
8.2. Выделение мини-хромосом SV40	250
9. Благодарности	252
Литература	252
Глава 9. Культивирование, очистка и титрование аденовирусов. Б. Прешнос и В. Рассел	254
1. Введение	254
2. Клеточные системы для культивирования аденовирусов	254
2.1. Аденовирусы человека, легко адаптируемые к культуре клеток	256
2.2. Аденовирусы человека, трудно адаптируемые к культуре клеток	261
2.3. Вирусы других видов	262
3. Очистка	263
3.1. Экстракция инфицированных клеток	263
3.2. Очистка вируса из экстрактов инфицированных клеток	265
3.3. Свойства очищенного вируса	265
4. Титрование вируса	265
4.1. Титрование вируса методом бляшек	267
4.2. Титрование вируса по ЦПД определением конечной точки	268
4.3. Метод флуоресцирующих фокусов	269
4.4. Общие замечания	269
Литература	269
Глава 10. Культивирование, идентификация и очистка герпесвирусов. Р. Куллингтон и К. Пауэлл	270
1. Введение	270
2. Вирусы простого герпеса типов 1 и 2	271
2.1. Получение заготовок вируса	275
2.2. Электронная микроскопия (подсчет частиц)	276
2.3. Определение инфекционного титра	278
2.4. Приготовление экстрактов клеток, инфицированных вирусом	279
2.5. Получение очищенного вируса	283
2.6. Другие α -герпесвирусы	287
3. Цитомегаловирус человека	287
3.1. Получение заготовок вируса	288
3.2. Цикл размножения	289
3.3. Идентификация вируса	290
3.4. Метод черных бляшек	290
3.5. Культивирование и очистка CMV	292
3.6. Типы частиц CMV	295
4. Герпесвирус саймири (HVS)	295
4.1. Получение заготовок вируса	299
4.2. Титрование вируса	299
4.3. Цикл размножения	301
4.4. Получение очищенного вируса	301

5. Благодарности	302
Литература	302
Глава 11. Методы клинической вирусологии П. Морган-Капнер и Дж. Паттисон	304
1. Введение	304
2. Электронная микроскопия	304
2.1. Прямое электронно-микроскопическое исследование фекалий	305
2.2. Иммуноэлектронная микроскопия	307
3. Идентификация вирусных антигенов	307
3.1. Идентификация респираторно-синцитиального вируса в носоглоточных выделениях методом иммунофлуоресценции	309
4. Культуры клеток	310
5. Иммунологические методы	312
5.1. Реакция торможения гемагглютинации (РТГА)	314
5.2. Реакция связывания комплемента (РСК)	317
5.3. Радиальный гемолиз	324
5.4. Обнаружение специфических IgM к вирусу краснухи методом «захвата» антител (antibody-capture technique)	327
6. Благодарности	330
Литература	331
Предметный указатель	332
Указатель латинских названий	338

Учебное издание

Роджер Халл, Томас Баррет, Стефан К. Инглис и др.

ВИРУСОЛОГИЯ. МЕТОДЫ

Под редакцией Б. Мейхи

Заведующий редакцией чл.-корр. АН СССР Т. М. Турпаев. Зам. зав. редакцией М. Д. Гроздова. Научный редактор М. А. Серова. Мл. редактор И. А. Деменцова. Художник А. А. Захаров. Художественный редактор А. Я. Мусин. Технический редактор Л. В. Козлова. Корректор Т. А. Пашковская

ИБ № 6433

Сдано в набор 29.06.88. Подписано к печати 17.10.88. Формат 60×90^{1/16}. Бумага книжно-журнальная. Печать высокая. Гарнитура латинская. Объем 10,75 бум. л. Усл. печ. л. 21,50. Усл. кр.-отт. 21,50. Уч.-изд. л. 21,83. Изд. № 4/5405. Тираж 6000. Зак. 369. Цена 2 р. 30 к.

Издательство «Мир» В/О «Совэксспорткнига» Государственного комитета по делам издательств, полиграфии и книжной торговли. 129820, ГСП, Москва, И-110, 1-й Рижский пер., 2.

Московская типография № 11 Союзполиграфпрома при Государственном комитете СССР по делам издательств, полиграфии и книжной торговли. 113105, Москва, Нагатинская ул., д. 1.