

ОГЛАВЛЕНИЕ

Часть I. Вирусы гриппа.....	3
Введение	3
Глава 1. Пандемии гриппа	6
1.1. Первые исторически зафиксированные эпидемии гриппа	6
1.2. Пандемия гриппа 1918–1920-х гг. (А/Н1N1, «испанка»)	9
1.3. Пандемия «азиатского гриппа» (А/Н2N2, 1957–1959 гг.).....	12
1.4. Пандемия Гонконгского гриппа (А/Н3N2, 1968–1970 гг.).....	14
1.5. Пандемия «русского гриппа» (А/Н1N1, 1977–1978 гг.).....	14
1.6. Первая пандемия гриппа в XXI в. (А/Н1N1pdm09, 2009–2010 гг.).....	15
1.7. Эпидемиология сезонного гриппа.....	16
1.8. Вирусы гриппа с пандемическим потенциалом.....	19
1.9. История открытия вируса гриппа	21
Рекомендуемая литература	24
Глава 2. Структура вириона вируса гриппа	28
2.1. РНК-геном и белки вируса гриппа	30
2.2. Вирусы гриппа А, В, С, D	31
2.3. Поверхностные гликопротеины вируса гриппа А и В.....	36
Рекомендуемая литература	43
Глава 3. Жизненный цикл вируса гриппа	45
3.1. Прикрепление вируса к клетке.....	46
3.2. Проникновение вРНП в клетку	50
3.3. Расщепление НА — необходимое условие инфекционности вируса.....	52
3.4. Синтез вирусных белков	54
3.5. Синтез РНК вируса гриппа	56
3.6. Сборка вирусной частицы	58

3.7. Сборка сегментированного РНК-генома.....	60
3.8. Реассортация вирусных геномов	62
Рекомендуемая литература	64
Глава 4. Патогенез	67
4.1. Передача вируса гриппа	67
4.2. Сезонность гриппа	70
4.3. Врожденный иммунитет.....	71
4.4. Воспалительная реакция.....	74
4.5. Адаптивная иммунная защита	75
4.5.1. Антитела в системе адаптивной иммунной защиты.....	78
4.5.2. Нейтрализация вируса антителами.....	80
4.5.3. Т-клеточный иммунитет.....	81
4.6. Уход вируса гриппа от иммунитета хозяина.....	83
Рекомендуемая литература	84
Глава 5. Животные модели гриппозной инфекции	87
5.1. Мыши (<i>Mus musculus</i>).....	87
5.1.1. Передача вирусов гриппа у мышей.....	89
5.1.2. Иммунология гриппозной инфекции у мышей	90
5.2. Хорьки (<i>Mustela putorius furo</i>)	92
5.3. Морские свинки (<i>Cavia porcellus</i>)	92
Рекомендуемая литература	95
Глава 6. Лечение гриппа. Противогриппозные препараты	98
6.1. Препараты адамантанового ряда.....	99
6.2. Ингибиторы нейраминидазы	101
6.3. Арбидол.....	103
6.4. Рибавирин.....	104
6.5. Лекарственная устойчивость штаммов вируса гриппа.....	106
6.6. Разработка новых противовирусных препаратов	108
6.7. Комбинированная терапия	113
Рекомендуемая литература	114

Глава 7. Вакцинопрофилактика гриппа	116
7.1. Современные противогриппозные вакцины.....	116
7.2. Обратная генетика вируса гриппа.....	118
7.2.1. Первые подходы к разработке методологии обратной генетики вируса гриппа.....	119
7.2.2. Обратная генетика для исследования вируса гриппа.....	123
7.2.3. Использование обратной генетики для разработки новых вакцин.....	125
7.2.4. Дефектные вирусы гриппа по белку NS1 как кандидаты LAIV.....	125
7.2.5. Кандидаты LAIV, полученные методом деоптимизации кодонов.....	126
7.2.6. Инфекционные вирусы с одним циклом как кандидаты LAIV	127
7.3. Современные стратегии создания универсальной противогриппозной вакцины	129
7.3.1. Вакцины на основе M2e	129
7.3.2. Вакцины на основе стволовой части HA	130
7.3.3. Вакцины на основе других эпитопов HA.....	132
7.3.4. Вакцины на основе NA	134
7.3.5. Вакцины на основе T-клеток и другие подходы	136
Рекомендуемая литература	144
Глава 8. Размножение и титрование вируса	148
8.1. Выращивание вируса гриппа в куриных эмбрионах	148
8.2. Реакция торможения гемагглютинации	150
8.3. Нейтрализация вируса гриппа	153
8.4. Титрование вирусов: метод получения бляшек	156
8.5. Титрование вирусов методом предельных разведений.....	158
Рекомендуемая литература	161

Часть II. Методы.....	162
Глава 9. Сбор клинических образцов	162
9.1. Взятие образцов	162
9.2. Типы собираемых образцов	163
9.3. Инструменты и материалы для взятия образцов	163
9.4. Хранение и транспортировка	164
9.5. Методика взятия образцов из дыхательных путей. Необходимые материалы	166
9.6. Взятие мазков из носа и из зева	167
9.7. Взятие мазка с задней стенки глотки (мазок из зева).....	169
9.8. Взятие переднего назального мазка	170
Рекомендуемая литература	171
Глава 10. Выделение, культивирование и титрование вируса гриппа.....	172
Протокол 1. Ведение клеточных культур	172
1. Материалы	172
2. Подготовка к работе	172
3. Процедура	173
Протокол 2. Выделение и наработка вируса гриппа в культуре клеток	179
1. Материалы	179
2. Подготовка к работе	180
3. Процедура	181
Протокол 3. Культивирование и титрование вируса гриппа в куриных эмбрионах	184
1. Материалы	185
2. Процедура	185
Рекомендуемая литература	188
Глава 11. Реакция торможения гемагглютинации	189
Протокол 1. Подготовка сывороток и эритроцитов	189
1. Подготовка сывороток.....	189
2. Подготовка эритроцитов.....	190

Протокол 2. Подготовка антигенов	194
1. Материалы	194
2. Процедура	195
Протокол 3. РТГА с эритроцитами индейки	197
1. Материалы	197
2. Процедура	198
Рекомендуемая литература	200
Глава 12. Микронеutralизация	201
Протокол 1. Подготовка культуры клеток MDCK.....	201
1. Материалы	201
2. Процедура	201
Протокол 2. Определение ТЦИД вируса.....	203
1. Титрование вируса (первый день эксперимента)	203
2. ELISA (второй день эксперимента).....	204
3. Микронеutralизация	207
Рекомендуемая литература	216
Глава 13. Изучение противогриппозной активности	
фармакологических веществ	217
Протокол 1. Определение цитотоксичности	
испытуемых препаратов при помощи МТТ-теста.....	217
1. Материалы	217
2. Процедура	217
Протокол 2. Использование РГА для скрининга	
противогриппозной активности	
лекарственных препаратов	218
1. Материалы	218
2. Процедура	219
Протокол 3. Оценка активности противогриппозных	
препаратов в тесте адсорбции нейтрального красного.....	221
1. Материалы	221
2. Процедура	222
3. Критерии оценки противовирусного действия	
химиопрепаратов в культуре клеток	223

Протокол 4. ИФА для тестирования противовирусной активности лекарственных препаратов	225
1. Материалы	225
2. Процедура	226
Протокол 5. Тестирование чувствительности вирусов гриппа к антинейраминидазным препаратам.....	229
1. Материалы	230
2. Оборудование	231
3. Процедура	231
Рекомендуемая литература	237
Глава 14. Получение рекомбинантного вируса гриппа А методом обратной генетики	238
1. Материалы	239
2. Протоколы	240
Протокол 1. Экстракция РНК вируса гриппа.....	240
Протокол 2. Синтез вирусной кДНК	242
Протокол 3. ПЦР-амплификация вирусных кДНК.....	242
Протокол 4. Клонирование вирусных кДНК в вектор транскрипции РНК-полимеразы I....	244
Протокол 5. Получение экспрессионных плазмид для синтеза белков	245
Протокол 6. Трансфекция эукариотических клеток плазмидами для синтеза вРНК и белка	246
Протокол 7. Нарботка вирусов гриппа.....	247
Рекомендуемая литература	248
Список условных сокращений.....	249