

新实验病毒学

戴华生 等编



RTS
DHS

014496
912A2

新 实 验 病 毒 学

戴 华 生 等 编 著

目 录
第一章 病毒学概论
第二章 病毒的发现与命名
第三章 病毒的结构与分类
第四章 病毒的复制与增殖
第五章 病毒的致病性与免疫性
第六章 病毒与人类疾病
第七章 病毒与植物病害
第八章 病毒与动物疾病
第九章 病毒与微生物学
第十章 病毒与医学
第十一章 病毒与农业
第十二章 病毒与工业
第十三章 病毒与环境保护
第十四章 病毒与生物进化
第十五章 病毒与生物化学
第十六章 病毒与遗传学
第十七章 病毒与细胞生物学
第十八章 病毒与分子生物学
第十九章 病毒与免疫学
第二十章 病毒与流行病学
第二十一章 病毒与公共卫生
第二十二章 病毒与疫苗学
第二十三章 病毒与抗病毒药物
第二十四章 病毒与基因工程
第二十五章 病毒与生物技术
第二十六章 病毒与生物信息学
第二十七章 病毒与生物物理学
第二十八章 病毒与生物数学
第二十九章 病毒与生物统计学
第三十章 病毒与生物力学
第三十一章 病毒与生物化学
第三十二章 病毒与生物物理学
第三十三章 病毒与生物数学
第三十四章 病毒与生物统计学
第三十五章 病毒与生物力学

C0154373



中 国 学 术 出 版 社

1 9 8 3

3287/22

新实验病毒学

戴华生等编著

中国学术出版社出版

(北京朝内大街137号)

海淀区北下关印刷厂印刷

北京市新华书店发行

开本: 850×1168 1/32 印张30.25 字数:7864字

1983年10月第一版,1983年10月第一次印刷

印数: 1—7500,统一书号:14262·003

定价: 3.90元

序 言

近年来医学病毒学不论在病毒的基本理论方面，如化学结构、复制机制、基因重组、遗传进化等，还是在病毒的实际意义方面，如发病原理、疫苗制备、病毒病因、化疗药物等，都有突飞猛进的发展，特别是肿瘤的病毒病因和干扰素的遗传工程，则是既有理论意义又有现实意义的重要课题，已成为病毒学的重要内容。如果探讨一下医学病毒学迅速发展的原因，不难指出这是很多新的实验技术在病毒学中广泛应用的结果。电泳技术、超速离心技术、细胞克隆及细胞杂交技术、分子杂交技术等，都对病毒学的发展起了不可估量的作用。技术科学是发展基础理论和解放生产力的重要手段，医学病毒学的发展自不例外。在党的领导下，我国在防治病毒性疾病中取得了可喜的成就。消灭了天花，对麻疹、小儿麻痹症、乙型脑炎等的有效防治方面也取得了很大的成绩。但病毒性疾病的比重仍不断增加，估计约占临床所有疾病的首位。由于病毒病防治工作的需要，对病毒学实验技术就不可避免地提出了新的要求，由此可以看出戴华生副教授编写的《新实验病毒学》是适应客观需要的著作。本书在简要叙述病毒基本知识的基础上，着重介绍了病毒实验的常用技术和某些最新技术，共五十三章，约75万字，并附有大量病毒颗粒电镜照片和模式图。对病毒学特别是医学、兽医学的教学培干和科研工作，都有很大的参考价值，也是临床医护人员，卫生防疫工作者，检验工作者，兽医工作者以及大专院校有关生物学科的研究生和进修生有价值的病毒学图谱和技术手册。这本书将在普及病毒学实验技术及提高防治病毒性疾病方面起一定的作用，这是可以预言的。

中国医学科学院流行病
学微生物学研究所 魏 曦

湖北医学院病毒研究所 向近敏

1983年3月

目 录

序 言..... ()

第一篇 总 论

第一章 病毒的基本特性与传染免疫..... (1)

一、病毒的大小和形态..... (1)

二、病毒的结构与化学组成..... (3)

三、病毒的繁殖过程..... (3)

四、病毒的基因、遗传与变异..... (6)

五、病毒的传染与免疫..... (6)

六、病毒对理化因子的稳定性..... (10)

七、病毒的分类和命名..... (12)

第二章 病毒学实验常用技术..... (17)

一、概述..... (17)

二、实验室注意事项..... (18)

三、常用洗涤、消毒和处理方法..... (18)

四、标本收集、运送和保存..... (20)

五、光学显微镜技术..... (23)

六、病毒分离..... (25)

七、病毒鉴定..... (26)

八、病毒的滴定及其应用..... (30)

九、血清学实验..... (35)

(一) 补体结合试验..... (36)

(二) 中和试验..... (36)

(三) 红细胞凝集抑制试验..... (38)

(四) 凝胶扩散试验·····	(39)
(五) 免疫荧光技术·····	(39)
(六) 酶标记免疫技术·····	(39)
(七) 放射免疫测定法·····	(40)
(八) 免疫电镜技术·····	(40)
十、病毒快速诊断·····	(41)
第三章 电子显微镜技术·····	(43)
一、电子显微镜·····	(43)
二、电子显微镜技术在病毒学中的应用·····	(47)
(一) 标本支持膜与金属载网·····	(47)
(二) 超薄切片技术·····	(49)
(三) 负染色技术·····	(53)
(四) 投影技术(真空喷镀)·····	(55)
(五) 复型法·····	(57)
(六) 背散射扫描·····	(58)
(七) 免疫电镜技术·····	(59)
甲、免疫铁蛋白技术·····	(59)
乙、简易快速免疫电镜技术·····	(64)
(八) 酶标记免疫电镜·····	(65)
(九) 放射自显影技术·····	(67)
(十) 冰冻蚀刻技术·····	(67)
(十一) 核酸分子的观察·····	(68)
第四章 组织培养技术·····	(70)
一、病毒学实验中使用细胞培养的种类·····	(71)
二、在细胞培养中测定病毒的繁殖·····	(72)
三、体外细胞培养物的制备·····	(75)
(一) 培养液·····	(75)
(二) 新鲜组织的处理与贮存·····	(79)

(三) 细胞分散技术·····	(79)
(四) 细胞计数·····	(87)
(五) 各种细胞培养物的制备·····	(88)
1. 人源细胞·····	(88)
2. 猴源细胞·····	(103)
3. 啮齿类源细胞·····	(105)
4. 鸡胚细胞·····	(108)
5. 蚊虫细胞·····	(109)
四、用细胞培养物分离病毒·····	(110)
(一) 标本的处理与接种·····	(110)
(二) 病毒培养物的孵育·····	(112)
(三) 在组织培养中病毒作用的识别·····	(112)
五、在单层细胞上滴定病毒的 TCD ₅₀ 终点·····	(113)
六、病毒蚀斑技术·····	(114)
七、组织培养系统的中和试验·····	(123)
八、组织培养制备血清学抗原·····	(134)
九、细胞培养物的保存、贮藏及运输·····	(140)
十、细胞培养物中的支原体污染·····	(143)
(一) 细胞培养物中支原体的检查·····	(143)
1. 培养基·····	(143)
2. 分离培养·····	(144)
3. 检查支原体集落·····	(145)
4. 支原体的移种·····	(145)
(二) 防止支原体污染细胞培养物·····	(146)
(三) 从细胞培养物中清除支原体·····	(146)
十一、滤器及其使用·····	(147)
(一) 滤器的型号和用法·····	(147)
(二) 滤器的清洁法·····	(149)
十二、组织培养设备·····	(151)
(一) 玻璃器皿·····	(151)

(二) 塑料培养瓶·····	(152)
(三) 橡皮类·····	(152)
(四) 杂项·····	(152)
十三、培养液和试剂·····	(153)
(一) 抗菌素和抗霉素溶液·····	(153)
(二) 平衡盐溶液及缓冲盐溶液·····	(154)
1. Earle 平衡盐溶液·····	(154)
2. Hanks 平衡盐溶液·····	(155)
3. 磷酸盐缓冲液·····	(155)
4. pH7.5 磷酸盐缓冲液·····	(156)
5. 无钙、镁离子的磷酸盐缓冲液·····	(156)
6. Pucks 盐水·····	(156)
(三) 缓冲溶液-碳酸氢钠·····	(157)
(四) 细胞分散剂·····	(157)
(五) 50% 鸡胚浸液·····	(157)
(六) 指示剂及染色液·····	(158)
(七) 营养培养液·····	(158)
1. Eagles 最低必要成分培养液 (MEM)·····	(158)
2. 水解乳白蛋白-酵母浸液培养液·····	(161)
3. Leibovitz-15 号培养液 (L-15)·····	(162)
4. 199 培养液·····	(164)
5. RPMI1640 培养液·····	(170)
(八) 营养液·····	(173)
1. 20% 葡萄糖·····	(173)
2. 5% 水解乳白蛋白生理盐水·····	(173)
(九) 血清·····	(173)
(十) 培养液的除菌过滤·····	(173)
 第五章 分子生物学实验技术·····	 (175)
第一节 病毒的提纯·····	(175)

一、病毒提纯一般原则	(175)
二、物理提纯法	(176)
三、化学提纯法	(180)
四、血清学提纯法	(182)
五、电泳提纯法	(182)
六、液体两相分配系统法	(182)
第二节 病毒的大小及其分子量的测定	(183)
一、超速离心沉淀法	(184)
二、微孔薄膜过滤法	(186)
第三节 细胞成分的分离提纯	(188)
一、收集细胞	(188)
二、细胞粉碎方法	(189)
三、细胞成分分离	(189)
四、离心分离法	(189)
五、细胞成分提取法	(190)
六、线粒体、溶酶体、微粒体的精制	(191)
七、细胞膜的制备	(193)
1. 概述	(193)
2. 纯度的测定	(194)
3. 细胞膜细片段的制备	(196)
4. 细胞膜大片段的制备	(199)
八、无菌染色体的分离	(201)
九、细胞核和染色质的制备	(202)
十、病毒感染所致染色体畸变与体外培养制备染色体标本	(204)
第四节 病毒核酸亚单位的分离与测定	(207)
一、病毒DNA的分离和测定	(207)
二、病毒RNA的分离和测定	(210)
第五节 病毒蛋白质亚单位的分离和测定	(214)
一、病毒蛋白质亚单位的分离	(214)

二、病毒蛋白质的测定·····	(215)
第六节 核酸分子杂交 ·····	(216)
一、概述·····	(216)
二、意义·····	(217)
三、核酸的分离提取·····	(218)
四、核酸分子杂交方法·····	(222)
第七节 RNA-DNA 分子杂交法对病毒实验的应用 ·····	(224)
一、基本原理·····	(225)
二、材料·····	(226)
三、原位杂交法·····	(228)
四、结果·····	(228)
第八节 病毒的遗传基因与变异 ·····	(228)
一、病毒的基因数·····	(228)
二、病毒的基因重组·····	(229)
三、病毒的基因复活·····	(231)
四、病毒的互补·····	(231)
五、病毒的突变·····	(233)
(一) 变异剂与诱导变异·····	(233)
(二) 温度敏感性变异株的分离和鉴定·····	(236)
第六章 病毒免疫化学技术 ·····	(241)
第一节 免疫球蛋白的分离和提纯 ·····	(241)
一、概述·····	(241)
二、IgG 的提取·····	(242)
三、分泌IgA 的提取·····	(243)
四、IgM 的提取·····	(246)
五、IgE 的提取·····	(246)
六、连续提取免疫球蛋白法·····	(248)
第二节 凝胶过滤与离子交换层析法 ·····	(249)
一、凝胶过滤·····	(249)

二、离子交换层析法·····	(253)
第三节 亲和层析纯化法 ·····	(255)
第四节 盘状电泳 ·····	(258)
第五节 醋酸纤维膜电泳 ·····	(265)
第六节 免疫球蛋白的鉴定 ·····	(268)
第七章 细胞免疫实验 ·····	(271)
第一节 白细胞的吞噬功能测定 ·····	(271)
第二节 淋巴细胞有关的实验方法 ·····	(273)
第三节 淋巴素实验法 ·····	(278)
第八章 干扰素实验 ·····	(284)
一、概述·····	(284)
二、干扰素产生与作用机制·····	(284)
三、干扰素制备·····	(285)
四、干扰素测定·····	(286)
五、干扰素的提纯浓缩·····	(288)
六、干扰素的应用展望·····	(289)
第九章 单克隆抗体技术与金黄色葡萄球菌蛋白A (SPA)在病毒学上的应用·····	(291)
第一节 单克隆抗体技术在病毒学上的应用 ·····	(291)
一、概述·····	(291)
二、细胞融合的主要程序·····	(292)
三、骨髓瘤细胞与B细胞融合法·····	(297)
四、单克隆化·····	(299)
五、特异性抗体与亚类抗体试验·····	(300)
六、从小鼠腹水中提取单克隆抗体·····	(301)
七、杂交瘤细胞冷藏·····	(303)

八、试剂配制	(304)
第二节 金黄色葡萄球菌蛋白A(SPA)在病毒学上的应用	
用	(305)
一、概述	(305)
二、SPA的制备	(308)
三、SPA在酶标记免疫吸附试验中的应用	(309)
四、应用SPA提取IgG	(310)
五、SPA琼脂糖珠6MB亲和层析法分离B细胞	(311)
六、SPA在放射免疫中的应用	(312)
七、 ^{125}I -SPA放射自显影法	(313)
八、SPA在病毒抗原检测上的应用	(314)
九、SPA在病毒抗体检测上的应用	(315)
十、SPA在免疫电镜上的应用	(317)
第十章 放射免疫测定法	(319)
一、概述	(319)
二、基本原理	(320)
三、测定方法	(322)
(一)放射性同位素的标记	(322)
1.放射性同位素的选择	(323)
2.氯胺T碘化法	(323)
3.气态碘微量扩散标记法	(326)
(二)抗血清的制备	(326)
(三)保温	(326)
(四)分离法	(326)
1.电泳与层析	(327)
2.凝胶过滤或凝胶平衡	(328)
3.吸附法	(328)
4.沉淀分离法	(328)
5.免疫学分离法	(328)

6. 固相分离法	(329)
(五) 标准曲线的制作	(329)
(六) 固相免疫吸附剂的制备	(331)
(七) 放射自显影法	(333)
四、对放射免疫测定法的评价	(333)
(一) 敏感性	(334)
(二) 精确度	(337)
(三) 特异性	(337)
五、放射免疫测定技术在病毒学上的应用	(338)
第十一章 气相色谱技术	(342)
一、概述	(342)
二、气相色谱仪	(342)
(一) 基本部件	(343)
1. 载气	(343)
2. 注射器	(343)
3. 色谱柱与加热炉	(343)
4. 检测器	(344)
(二) 辅助部件	(346)
1. 记录仪	(346)
2. 积分仪	(346)
3. 质谱仪	(346)
4. 数据处理装置	(347)
三、微生物气相色谱分析法	(348)
(一) 微生物化学成分的分析	(349)
1. 热解法	(349)
2. 水解和提取	(350)
3. 多组分分析	(352)
(二) 微生物代谢产物的分析	(352)
(三) 临床标本的气相色谱鉴定	(352)

四、病毒的气相色谱鉴定	(352)
(一) 病毒成分的分析	(353)
(二) 对体外组织培养物的分析	(354)
(三) 对体内的血清和其他体液的分析	(355)
五、气相色谱数据的分析	(358)
 第十二章 电子计算机技术	 (360)
一、概述	(360)
二、电子计算机	(360)
(一) 计算机的基本构造	(361)
1. 运算器	(361)
2. 存储器	(362)
3. 输入装备	(362)
4. 输出装备	(362)
5. 控制器	(362)
(二) 计算机中的运算方法	(363)
(三) 计算机的程序编制	(365)
三、微生物的电子计算机鉴定	(366)
(一) 微生物的分类鉴定	(366)
(二) 微生物的图象分析	(366)
四、病毒感染细胞电子计算机鉴定	(367)
(一) 细胞分光光度测量法	(368)
(二) 电子计算机鉴定结果	(370)
五、文献检索	(379)
六、怎样评价计算机系统的质量	(381)
 第十三章 免疫荧光技术	 (383)
一、荧光显微镜	(383)
二、免疫荧光染色原理	(385)
三、免疫荧光技术程序	(386)

四、免疫荧光试剂准备	(386)
(一) 材料	(386)
(二) 方法	(387)
1. 荧光素	(387)
2. 免疫球蛋白的提取	(387)
3. 荧光素标记抗体方法	(387)
4. 去除非特异性荧光染色的方法	(389)
五、荧光抗体染色法	(392)
六、荧光显微镜检查	(410)
七、荧光分带技术	(410)
第十四章 酶标记免疫技术	(414)
一、概述	(414)
二、原理与分类	(414)
(一) 不均一酶标记免疫试验	(416)
(二) 均一酶标记免疫试验	(419)
三、器材与试剂	(420)
(一) 固相载体	(420)
(二) 抗原	(422)
(三) 抗体	(422)
(四) 抗原结合片段(Fab)的制备	(422)
(五) 血清(样品)	(423)
(六) 洗涤液	(423)
(七) 酶	(423)
(八) 酶结合物制备	(425)
(九) 底物	(431)
(十) 间接法测定抗体所需的器材与试剂	(433)
四、酶标记免疫试验方法	(435)
(一) 均一酶标记免疫试验	(435)
(二) 不均一酶标记免疫试验	(436)

(三) 预备试验·····	(438)
1. 酶结合物最适浓度测定·····	(438)
2. 抗原最适浓度测定·····	(439)
3. 底物最适时间测定·····	(439)
(四) 正式试验·····	(439)
1. 间接法检测抗体·····	(439)
2. 双抗体夹心法检测抗原·····	(441)
3. 酶标记抗原竞争法检测抗原·····	(441)
4. 竞争性酶标记免疫试验检测抗原·····	(442)
5. 特定抗原基质球(DASS)法·····	(443)
6. 酶标记免疫组织抗原定位法·····	(448)
7. 无标记抗体酶(NLAbE)法·····	(449)
8. 可溶性酶-抗酶复合物(PAP)法·····	(450)
9. 四步抗体法·····	(451)
10. 组织固定法·····	(452)
11. 免疫球蛋白桥免疫显色法·····	(455)
12. 可溶性酶-抗酶显色法·····	(456)
五、在病毒学中的应用·····	(456)
第十五章 鸡胚培养法·····	(458)
一、概述·····	(458)
二、器材·····	(458)
三、鸡卵的选择与孵育·····	(459)
四、接种与收获·····	(459)
(一) 绒毛尿囊膜接种法·····	(459)
(二) 尿囊腔接种法·····	(462)
(三) 卵黄囊接种法·····	(463)
(四) 羊膜腔接种法·····	(463)

第十六章 动物实验法	(464)
一、概述	(464)
二、动物实验室的设施与工作制度	(464)
三、实验动物的选择	(465)
四、啮齿类实验动物的病毒感染	(467)
五、动物接种法	(470)
(一) 接种标本的准备	(470)
(二) 接种动物的准备	(471)
(三) 皮内接种	(471)
(四) 皮下接种	(471)
(五) 腹腔接种	(471)
(六) 脑内接种	(471)
(七) 静脉接种	(472)
(八) 鼻腔接种	(472)
六、动物采血法	(473)
(一) 心脏采血	(473)
(二) 羊和小牛颈外静脉采血	(473)
(三) 羊和小牛颈动脉放血	(473)
七、动物解剖法	(473)

第二篇 各 论

腺病毒科	(475)
------------	-------

第十七章 腺病毒	(477)
----------------	-------

一、概述	(477)
二、病毒的特性	(477)
三、实验程序	(487)
四、病毒分离	(487)