

文章编号: 1000-7423(2001)-03-0176-03

【实验报道】

伯氏疟原虫 ANKA 株染色体核型分析

陈颖丹 张家坝 林宝英

【摘要】 目的 分析伯氏疟原虫 ANKA 株染色体分子核型, 确定染色体的数目与大小。方法 用脉冲凝胶电泳(PFGE)方法对伯氏疟原虫 ANKA 株进行核型分析。结果与结论 伯氏疟原虫 ANKA 株染色体共 14 条, 其大小为 0.6~3 Mb。第 5~7 和第 9~12 条染色体在电泳中表现为共迁移。为利用多种特异性基因制作探针进行杂交, 并对特异基因进行染色体定位提供参考。

【关键词】 脉冲凝胶电泳; 伯氏疟原虫 ANKA 株; 染色体核型

中图分类号: R382.312

文献标识码: A

Analysis on Karyotypes of ANKA strain of *Plasmodium berghei*

CHEN Ying-dan, ZHANG Jia-xun, LING Bao-ying

(Institute of Parasitic Diseases, Chinese Academy of Preventive Medicine, Shanghai 200025)

【Abstract】 Objective To analyze the molecular karyotypes of ANKA strain of *Plasmodium berghei* and demonstrate the size and number of chromosomes. **Methods** To isolate the genome DNA of *P. berghei* ANKA strain and analyze molecular karyotypes through CHEF-Ⅱ pulsed field gel electrophoresis (PFGE). **Results** The number of chromosomes was found to be 14, and their size ranged from 0.6 Mb to 3 Mb. Chromosomes number 5 to 7 and 9 to 12 appeared co-migrated in the gel. **Conclusion** PFGE technique is useful for analyzing the molecular karyotypes and may be also useful for further study to locate the special gene on chromosomes and carry out the genetic characters and mechanism of drug resistance.

【Key words】 pulsed field gel electrophoresis, ANKA strain of *Plasmodium berghei*, molecular karyotypes

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 39770671)

* WHO Collaborating Centre for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis, Key Laboratory of Parasite and Vector Biology, Ministry of Health, P. R. China

分析疟原虫染色体结构有助于更好地了解疟原虫的病原生物学及分子生物学特性。伯氏疟原虫 ANKA 株小鼠模型是我国常用的鼠疟模型, 研究其染色体分子核型, 可为深入了解和进一步利用该鼠疟模型提供依据。采用电镜等技术已揭示疟原虫存在 14 条染色体, 且均为单倍体^[1]。Schwartz 等^[2]应用脉冲电泳技术有效地分离出 30~3 000 kb 大范围的染色体。随后, Kemp 等、Sharkey 等、Janse 等和 Ponzi 等先后报道了对几种疟原虫染色体结构的研究结果, 其染色体呈多态性, 而且数量较多^[3-6]。国内尚无同类研究报道。本文采用脉冲电泳方法, 对国内实验室常用的伯氏疟原虫 ANKA 株的染色体进行了核型分析, 报告如下。

材料与amp;方法

基金项目: 国家自然科学基金资助课题(No. 39770671)

作者单位: 中国预防医学科学院寄生虫病研究所, 卫生部寄生虫病原与媒介生物学重点实验室, 世界卫生组织疟疾、血吸虫病合作中心, 上海 200025

1 材料

伯氏疟原虫 ANKA 株小鼠由本所动物实验室提供。脉冲电泳所需试剂均由 Bio-rad 公司提供, marker 为放线菌基因染色体, 由中国科学院植物生理研究所马伟博士提供。

2 方法

2.1 伯氏疟原虫感染血样制备 伯氏疟原虫 ANKA 株为本所保种, 感染小鼠的原虫血症达 10% 时, 经消毒后摘除眼球取血。

2.2 脉冲电泳琼脂糖块的制备 感染的小鼠血样, 经葡聚糖凝胶加碘化乙基纤维素柱层析除去白细胞, 收集样品, 离心, 计算红细胞感染率^[7], 用预冷的 PBS 洗涤 2 次, 加 0.15% 皂素溶血, 经 TSE 洗涤两次后, 配制成每毫升含 $(5.0\sim 6.0)\times 10^8$ 个原虫的 TSE 液, 于 50℃ 恒温水浴中加入 2% 的低熔点琼脂糖凝胶, 配成含 3.0×10^8 个原虫的 1% 低熔点琼脂糖液, 加入 50 孔膜中, 制成琼脂糖包块, 经蛋白酶 K 消化包块 48 h, 使其呈无色透明状, 用洗涤液清洗 3 次后将包块置于保存液中, 于 4℃ 冰箱

致谢 本实验得到中国预防医学科学院寄生虫病研究所瞿靖琦教授,中国科学院植物生理研究所马伟博士,中国科学院细胞研究所肖磊博士的大力支持,谨致谢意!

参 考 文 献

[1] Prensier G, Slomianny CH. The karyotype of *Plasmodium* determined by ultrastructural serial sectioning and 3D reconstruction. *J Parasitology*, 1986, 72: 731-736.
 [2] Schwartz DC, Safran W, Welsh J, et al. New techniques for purifying large DNAs and studying their properties and packaging. *Cold spring harbor symposium of quantitative biology*, 1983, 47: 189-195.
 [3] Kemp DJ, Corcoran LM, Coppel RL, et al. Size variation in chromosome from independent cultured isolates of *Plasmodium falciparum*. *Nature*, 1985, 315: 347-350.
 [4] Sharkey A, Langsley G, Paratarapotikul J, et al. Chromosome size variation in malaria parasites of rodents: *Plasmodium chabaudi*.

Mol Biochem Parasitol, 1988, 28: 47-54.

[5] Janse CJ, Boorsma EC, Ramesar J. *Plasmodium berghei*: Gametocyte production, DNA content and chromosome-size polymorphisms during asexual multiplication *in vivo*. *Exp Parasitol*, 1989, 68: 247-284.
 [6] Ponzi M, Janse CJ, Dore E, et al. Generation of chromosome size polymorphism during *in vivo* mitotic multiplication of *Plasmodium*. *Mol Biochem Parasitol*, 1990, 41: 73-82.
 [7] 黄左斌, 富秀兰, 吴克英, 等. 氯喹对疟原虫多胺及核酸的影响. *中国药理学报*, 1987, 8: 63-68.
 [8] Chris J, Janse CJ, Jane MR, et al. Conserved location of genes on polymorphic chromosomes of four species of malaria parasites. *Mol Biochem Parasitol*, 1994, 68: 285-296.
 [9] Ahamada SAID, Wery M, Hamers R, et al. Rodent malaria parasites: molecular karyotypes characterize species, subspecies and lines. *Parasite*, 1994, 1: 31-38.

(收稿日期: 2000-11-28 编辑: 李雅卿)

文章编号: 1000-7423(2001)-03-0178-01

【 病例报告 】

尿 道 铁 线 虫 病 1 例 报 告

钟建安¹ 杨发柱²

中图分类号: R532.5 文献标识码: D

患者女性, 28岁。两年来因尿频、尿急和尿痛等症状反复发作, 多次到当地卫生院求治, 均诊断为‘尿道感染’, 给予抗感染处理。1999年6月13日症状加重, 出现血尿。尿常规检查: 红细胞(+++), 白细胞(+), 血常规及肝功能均正常, 肾区及膀胱B超检查未见异常, X线盆腔平片正常, 给予消炎等处理后症状稍缓解。1月后, 出现血尿, 当地卫生院按‘尿道结石’给予消炎及中药排石汤治疗。当晚21:00左右, 患者排尿时排出4条细长圆形棕褐色虫, 至第2天早上仍能游动, 患者即将1条虫体送浦城县卫生防疫站, 经初步鉴定为铁线虫。排出虫体后, 尿频、尿急和尿痛等症状消失, 3个月后随访, 恢复正常。

该虫体送福建省卫生防疫站进一步鉴定: 虫体细长, 雌性, 约180mm×0.94mm, 棕褐色似铁丝, 体壁粗糙, 表面呈现许多网眼状结构(areoles)和均匀细小的小乳突(papillae), 无刚毛着生, 头端呈锥形, 尾短钝圆、卷曲、未分叶, 为Chorododiae科Parachordodes属铁线虫^[1,2]。

讨论

铁线虫病系罕见的寄生虫病, 1978年以来, 我国陆续报道18例铁线虫感染, 其中山东、湖北和河南省各3例, 四川、广西、广东、陕西和云南省各1例, 新疆4例^[3]。这些病例中有9例为尿道感染^[4]。报道的虫种为Neochordoes

sp^[3], Parachordose sp^[4]和Cordius villoti^[5]等3种, 其余未定种。成虫多生存于淡水或潮湿土壤中, 幼虫寄生于昆虫体内。福建地处东南沿海, 且多为丘陵地带, 潮湿温暖, 适于铁线虫生存, 但至今未见有关人体感染的报道, 该病例的发现应引起重视。患者家住浦城县南部山区, 房屋背靠山, 门前有水田。据当地村民反映, 在水田及山上经常见到这种类似铁线的长虫。患者可能是洗凉衣裤时被铁线虫污染所致。目前尚无有效的药物, 患者排出虫体可能与服用排石汤有关。

参 考 文 献

[1] Cheng TC. The biology of animal parasites. Philadelphia: Saunders, 1964: 375-389.
 [2] Faust EC, Russell PF, Jung RC. Craig & Faust's clinical parasitology 8th ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1970: 405-406.
 [3] 山东省寄生虫病防治所. 铁线虫的人体感染一例报告. *中华内科杂志*, 1978, 17: 483.
 [4] 寄生虫学教研室. 铁线虫人体尿路感染国内首次报告. *武汉医学院学报*, 1979, 3: 56-58.
 [5] 徐秉锃, 李道宁. 铁线虫寄生人体一例. *广东寄生虫年报*, 1983, 4-5: 112-113.

(收稿日期: 1999-12-25 编辑: 富秀兰)

作者单位: 1 浦城县卫生防疫站, 浦城 353400;
 2 福建省卫生防疫站, 福州 350001

致谢 本实验得到中国预防医学科学院寄生虫病研究所瞿靖琦教授,中国科学院植物生理研究所马伟博士,中国科学院细胞研究所肖磊博士的大力支持,谨致谢意!

参 考 文 献

[1] Prensier G, Slomianny CH. The karyotype of *Plasmodium* determined by ultrastructural serial sectioning and 3D reconstruction. *J Parasitology*, 1986, 72: 731-736.
 [2] Schwartz DC, Safran W, Welsh J, et al. New techniques for purifying large DNAs and studying their properties and packaging. *Cold spring harbor symposium of quantitative biology*, 1983, 47: 189-195.
 [3] Kemp DJ, Corcoran LM, Coppel RL, et al. Size variation in chromosome from independent cultured isolates of *Plasmodium falciparum*. *Nature*, 1985, 315: 347-350.
 [4] Sharkey A, Langsley G, Paratarapotikul J, et al. Chromosome size variation in malaria parasites of rodents: *Plasmodium chabaudi*.

Mol Biochem Parasitol, 1988, 28: 47-54.

[5] Janse CJ, Boorsma EC, Ramesar J. *Plasmodium berghei*: Gametocyte production, DNA content and chromosome-size polymorphisms during asexual multiplication *in vivo*. *Exp Parasitol*, 1989, 68: 247-284.
 [6] Ponzi M, Janse CJ, Dore E, et al. Generation of chromosome size polymorphism during *in vivo* mitotic multiplication of *Plasmodium*. *Mol Biochem Parasitol*, 1990, 41: 73-82.
 [7] 黄左斌, 富秀兰, 吴克英, 等. 氯喹对疟原虫多胺及核酸的影响. *中国药理学报*, 1987, 8: 63-68.
 [8] Chris J, Janse CJ, Jane MR, et al. Conserved location of genes on polymorphic chromosomes of four species of malaria parasites. *Mol Biochem Parasitol*, 1994, 68: 285-296.
 [9] Ahamada SAID, Wery M, Hamers R, et al. Rodent malaria parasites: molecular karyotypes characterize species, subspecies and lines. *Parasite*, 1994, 1: 31-38.

(收稿日期: 2000-11-28 编辑: 李雅卿)

文章编号: 1000-7423(2001)-03-0178-01

【 病例报告 】

尿 道 铁 线 虫 病 1 例 报 告

钟建安¹ 杨发柱²

中图分类号: R532.5 文献标识码: D

患者女性, 28岁。两年来因尿频、尿急和尿痛等症状反复发作, 多次到当地卫生院求治, 均诊断为‘尿道感染’, 给予抗感染处理。1999年6月13日症状加重, 出现血尿。尿常规检查: 红细胞(+++), 白细胞(+), 血常规及肝功能均正常, 肾区及膀胱B超检查未见异常, X线盆腔平片正常, 给予消炎等处理后症状稍缓解。1月后, 出现血尿, 当地卫生院按‘尿道结石’给予消炎及中药排石汤治疗。当晚21:00左右, 患者排尿时排出4条细长圆形棕褐色虫, 至第2天早上仍能游动, 患者即将1条虫体送浦城县卫生防疫站, 经初步鉴定为铁线虫。排出虫体后, 尿频、尿急和尿痛等症状消失, 3个月后随访, 恢复正常。

该虫体送福建省卫生防疫站进一步鉴定: 虫体细长, 雌性, 约180mm×0.94mm, 棕褐色似铁丝, 体壁粗糙, 表面呈现许多网眼状结构(areoles)和均匀细小的小乳突(papillae), 无刚毛着生, 头端呈锥形, 尾短钝圆、卷曲、未分叶, 为Chorododiae科Parachordodes属铁线虫^[1,2]。

讨论

铁线虫病系罕见的寄生虫病, 1978年以来, 我国陆续报道18例铁线虫感染, 其中山东、湖北和河南省各3例, 四川、广西、广东、陕西和云南省各1例, 新疆4例^[3]。这些病例中有9例为尿道感染^[4]。报道的虫种为Neochordoes

sp^[3], Parachordose sp^[4]和Cordius villoti^[5]等3种, 其余未定种。成虫多生存于淡水或潮湿土壤中, 幼虫寄生于昆虫体内。福建地处东南沿海, 且多为丘陵地带, 潮湿温暖, 适于铁线虫生存, 但至今未见有关人体感染的报道, 该病例的发现应引起重视。患者家住浦城县南部山区, 房屋背靠山, 门前有水田。据当地村民反映, 在水田及山上经常见到这种类似铁线的长虫。患者可能是洗凉衣裤时被铁线虫污染所致。目前尚无有效的药物, 患者排出虫体可能与服用排石汤有关。

参 考 文 献

[1] Cheng TC. The biology of animal parasites. Philadelphia: Saunders, 1964: 375-389.
 [2] Faust EC, Russell PF, Jung RC. Craig & Faust's clinical parasitology 8th ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1970: 405-406.
 [3] 山东省寄生虫病防治所. 铁线虫的人体感染一例报告. *中华内科杂志*, 1978, 17: 483.
 [4] 寄生虫学教研室. 铁线虫人体尿路感染国内首次报告. *武汉医学院学报*, 1979, 3: 56-58.
 [5] 徐秉锃, 李道宁. 铁线虫寄生人体一例. *广东寄生虫年报*, 1983, 4-5: 112-113.

(收稿日期: 1999-12-25 编辑: 富秀兰)

作者单位: 1 浦城县卫生防疫站, 浦城 353400;
 2 福建省卫生防疫站, 福州 350001