

文章编号: 1000-7423(2011)-03-0229-05

【综述】

棘阿米巴分类与虫种鉴定方法的研究进展

朴杰, 玄英花, 郑善子*

【摘要】棘阿米巴是致病性的自由生活阿米巴, 因其特殊的形态特征在属级分类不难, 但仅根据形态学特征鉴定到种较为困难。本文就国内外对棘阿米巴分类与虫种鉴定方法的研究进展进行综述。

【关键词】棘阿米巴; 分类; 鉴定

中图分类号: R382.1

文献标识码: A

Progress on Classification and Identification of *Acanthamoeba*

PIAO Jie, XUAN Ying-hua, ZHENG Shan-zi*

(Department of Pathogenic Biology, College of Basic Medicine, Yanbian University, Yanji 133002, China)

【Abstract】As a pathogenic free-living amoeba, *Acanthamoeba* is easy to be recognized at the genus level, but difficult to identify at species level on the morphological basis. This review summarizes the methods for *Acanthamoeba* species classification and identification.

【Key words】*Acanthamoeba*; Classification; Identification

自由生活阿米巴(free-living amoebae)种类繁多, 广泛分布于自然环境中, 其中部分自由生活阿米巴与人类疾病有关, 例如耐格里属阿米巴(*Naegleria* spp.)、棘阿米巴(*Acanthamoeba* spp.)和狒狒巴拉姆希阿米巴(*Balamuthia mandrillaris*)等。

棘阿米巴属阿米巴广泛存在于土壤、淡水、海水、尘土和腐败物等环境中, 其中某些致病虫种可引起棘阿米巴性角膜炎(*Anthamoeba keratitis*, AK)外, 还可在艾滋病患者、器官移植者、系统性红斑狼疮患者、肿瘤化疗患者和肺结核病患者等免疫功能低下人群中引起肉芽肿性阿米巴性脑炎(granulomatous amoebic encephalitis)、肺部感染、皮肤病变、鼻窦炎或弥漫性感染^[1-4]。也有由棘阿米巴引起的肉芽肿性阿米巴性脑炎和皮肤感染患者无上述基础疾病的病例报道^[1,5]。自Fowler等^[6]和Nagington等^[7]分别于1965年和1975年首次报道棘阿米巴性角膜炎和肉芽肿性阿米巴性脑炎病例后, 20世纪80年代以来, 随着角膜接触镜的广泛使用, 棘阿米巴性角膜炎病例迅速增多。目前报道的26种棘阿米巴中, 有12种对人和动物有致病性。迄今有10种棘阿米巴引起眼部感染, 即卡氏棘阿米巴(*A. castellanii*)^[8-10]、多噬棘阿米巴(*A. polyphaga*)^[10-12]、条脊棘阿米巴(*A. rhysodes*)^[10,11]、哈氏棘阿米巴(*A. hatchetti*)^[11,12]、柯氏棘阿米巴(*A. cu-*

bertsonii)^[8,9,11]、路邓氏棘阿米巴(*A. lugdunensis*)^[8,13]、淇那棘阿米巴(*A. quina*)^[8,9]、格里棘阿米巴(*A. griffini*)^[8,9,14]、琳氏棘阿米巴(*A. lenticulata*)^[15,16]和三角棘阿米巴(*A. triangularis*)^[17]。引起中枢神经系统感染的有卡氏棘阿米巴、柯氏棘阿米巴、似星棘阿米巴(*A. astronyxis*)^[10]、条脊棘阿米巴^[18]、赫氏棘阿米巴(*A. healyi*)^[19]和琳氏棘阿米巴^[1]等6种。

棘阿米巴不仅可直接致病, 还可作部分致病性细菌的宿主, 如嗜肺军团菌(*Legionella pneumophila*)、肺炎衣原体(*Chlamydia pneumoniae*)、鸟分枝杆菌(*Mycobacterium avium*)和大肠埃希菌(*Escherichia coli* O157)^[20-23]等病原体的载体。

棘阿米巴为小型阿米巴, 隶属于叶足纲(Lobosea)、无壳阿米巴亚纲(Gymnamoebia)、阿米巴目(Amoebida)、棘阿米巴科(Acanthamoebidae)。棘阿米巴形态因实验室条件的不同而不同, 不同时期的包囊形态亦不同, 且同一类群中的不同种棘阿米巴的形态相似, 有时两个种的棘阿米巴包囊之间仅短暂时期能区别, 因此, 仅根据形态学特征进行种类鉴定较为困难。近年来国外研究者应用多种方法对棘阿米巴进行虫种鉴定和分类, 如形态学方法、同工酶谱、基因组或线粒体DNA限制性内切酶片段长度多态性(mitochondrial DNA restriction fragment length polymorphism, mtDNA-RFLP)和基因测序等, 目前认为基因组DNA序列分析对棘阿米巴属下阶元分类较为有效。

作者单位: 延边大学基础医学院免疫学与病原生物学教研部, 延吉 133002

* 通讯作者, E-mail: szzheng@ybu.edu.cn

1 形态学分类

根据棘阿米巴包囊大小和形态特征, 最初 Pussard 等^[24]将 18 种棘阿米巴分为 3 个类群, 近年来又新命名了 9 种棘阿米巴, 目前共有 27 种棘阿米巴。

类群 I 的包囊平均直径 $\geq 18 \mu\text{m}$, 内囊呈星状, 外囊光滑或轻度皱缩, 内外壁在内壁突起处相接。已知的有似星棘阿米巴 (*A. astronyxis*)、科曼迪尼棘阿米巴 (*A. comandoni*)、易其棘阿米巴 (*A. echinulata*)、培里棘阿米巴 (*A. pearcei*) 和特比棘阿米巴 (*A. tubiashi*) 等 5 种。虽有 1 例脑组织感染由似星棘阿米巴引起^[13], 但一般认为该类群阿米巴无致病性。

类群 II 的包囊平均直径 $< 18 \mu\text{m}$, 具有星状、波浪状、三角形、四角形或多角形内囊, 亦可呈圆形或椭圆形, 其外周有外囊, 常为波浪状或皱缩。该类群种类最多, 致病性棘阿米巴多属该类群。已知的有卡氏棘阿米巴、多噬棘阿米巴、哈氏棘阿米巴、条脊棘阿米巴、玛尼氏棘阿米巴 (*A. manuritaniensis*)、路邓氏棘阿米巴、淇那棘阿米巴、迪奥棘阿米巴 (*A. diuionensis*)、三角棘阿米巴、史帝文棘阿米巴 (*A. steuensoni*)、格里棘阿米巴和帕拉迪棘阿米巴 (*A. paradiuionensis*) 等 12 种。引起眼部感染的致病性棘阿米巴多属于类群 II, 卡氏棘阿米巴是最常见的致病菌种, 可引起眼部和中枢神经系统的感染, 其中 Neff 株为实验室最常用虫种。多噬棘阿米巴、路邓氏棘阿米巴、淇那棘阿米巴、条脊棘阿米巴、格里棘阿米巴、哈氏棘阿米巴^[8,9]和三角棘阿米巴^[10]可引起棘阿米巴角膜炎。条脊棘阿米巴对眼部和中枢神经系统均可造成损伤^[13,14,18]。

类群 III 的包囊平均直径 $< 18 \mu\text{m}$, 外囊紧绕内囊, 内囊呈圆形或略带角形, 外囊薄而光滑或略皱缩, 有时难以观察。该类群包括赫氏棘阿米巴、柯氏棘阿米巴、琳氏棘阿米巴、帕氏棘阿米巴 (*A. palestinensis*)、罗氏棘阿米巴 (*A. royreba*)、普氏棘阿米巴 (*A. pustulosa*) 和萨禾棘阿米巴 (*A. sohi*), 仅依据形态特点难以相区别。引起中枢神经系统感染的种类多属于该类, 实验室研究证明赫氏棘阿米巴的致病性最强。类群 III 中帕氏棘阿米巴是惟一无致病性的。柯氏棘阿米巴^[8,9,13]和琳氏棘阿米巴^[1,11,12]可引起中枢神经系统和眼部感染。虽有动物实验证明罗氏棘阿米巴和萨禾棘阿米巴^[25]有致病性, 但尚未见人体感染报道。此外尚有 2 种棘阿米巴 *A. jacobsi* 和 *A. terricola* 无法依据形态特征分组。

2 同工酶谱分析

De Jonckheere^[26]最先将同工酶分析应用于棘阿米巴虫种的分类, 之后有研究者使用酸性磷酸酶、亮氨

酸氨基肽酶、葡萄糖磷酸异构酶、葡萄糖 6 磷酸脱氢酶和苹果酸脱氢酶等多种同工酶进行棘阿米巴分类^[27,28]。Chung 等^[27]从棘阿米巴性角膜炎患者中分离, 形态上非常接近卡氏棘阿米巴 Neff 株的 KA/S2 株, 与其他 4 个卡氏棘阿米巴株进行酸性磷酸酶、亮氨酸氨基肽酶、葡萄糖磷酸异构酶和葡萄糖 6 磷酸脱氢酶电泳分析, 结果显示其同工酶分析符合形态学分类。应用同工酶分析的缺点是不能用一种同工酶来区分不同虫株。因此, 目前同工酶分析在棘阿米巴分类上较少应用。

3 线粒体 DNA 限制性内切酶片段长度多态性分析 (mtDNA-RFLP)

近年来有研究者将 mtDNA-RFLP 用于棘阿米巴虫种的分类, 但受到部分研究者的质疑。因线粒体 DNA 并不是基因组 DNA, 且阿米巴具有内共生菌时 mtDNA-RFLP 的特征发生变化。笔者研究同属 T5 型的棘阿米巴 CB/S1、CJY/S3 和 CG/S1 的 mtDNA-RFLP 表现型, 发现 CB/S1 与后两者间具有不同的 DNA 片段模式(待发表资料), 进一步的实验证实 CB/S1 细胞内存在内共生细菌^[29], 而 CJY/S3 和 CG/S1 具有相同的 mtDNA-RFLP 片段。Yagita 等^[30]发现, 形态分类属于多噬棘阿米巴, 其 mtDNA-RFLP 特征与卡氏棘阿米巴 Ma 株相同。Bogle 等^[31]对 13 株棘阿米巴进行 mtDNA-RFLP 分析, 观察到截然不同的 mtDNA 片段。目前 mtDNA-RFLP 方法主要用于观察棘阿米巴虫株线粒体 DNA 特征和差异性, 较少用于棘阿米巴虫种的分类。

4 DNA 序列分析

目前认为基因组 DNA 序列分析是最有效的棘阿米巴种的分型方法, 最常用的是 18S rDNA 全基因序列分析, 常与形态学分类法结合应用^[9,32]。Byers 等^[33]首先使用 18S rDNA 基因序列对 18 种棘阿米巴进行分析, 发现 18 种棘阿米巴的 18S rDNA 基因序列存在 12 个高变区, 据此将这些棘阿米巴分为 T1~T4 型, T1 型为卡氏棘阿米巴 V006, T2 型为帕氏棘阿米巴 Reich, T3 型为格里棘阿米巴 S-7, 其余 15 种棘阿米巴虫株为 T4 型, 包括卡氏棘阿米巴、多噬棘阿米巴、条脊棘阿米巴和分离自棘阿米巴性角膜炎患者的虫株, 这 15 种 T4 型棘阿米巴虫株的基因序列差异为 0%~4%, 而不同基因型间的基因序列差异为 6%~12%。从临床棘阿米巴性角膜炎患者和自然环境中分离的多为 T4 型^[28], 因此, 同一个基因型间的序列差异分析研究较多的是 T4 型, 尚未见其他基因型的基

因序列差异分析。Byers 等^[34]随后又确定了 T5~T12 的 8 种基因型。

近年来又相继报道了棘阿米巴新的基因型^[35-42]。Horn 等^[35]研究 3 种具有内共生菌的棘阿米巴发现, 棘阿米巴 UWC9 株和 UWE39 株与 T4 型多噬棘阿米巴 HN-3 株相比, 基因的序列一致性 <92%, 分别为 T13 和 T14 型。李红花等^[36]研究发现延吉市自来水分离的棘阿米巴 CJY/W1 株基因序列与 T13 型 UWC9 最接近。又有研究者先后报道了 T15~T17 型^[38,39], 但一般认为 T1~T12 型是基本的 18S rDNA 基因分型。

研究表明, 棘阿米巴基因型与其致病性相关, 不同基因型所致的棘阿米巴性角膜炎的病理特征有所不同^[17,40], 认为棘阿米巴在自然界生物进化过程中, 某些基因的变异可能导致了该型的致病性, 致病性棘阿米巴具有较强的嗜角膜性, 容易造成角膜的感染, 但其确切的致病机制尚不清。从临床棘阿米巴性角膜炎患者中分离的致病性棘阿米巴多属于 T4 基因型^[33,34], 其次是 T3^[40], 亦有 T2^[4,41]、T5^[5,12]、T6^[15]、T10^[42]、T11^[43]和 T15^[39]基因型棘阿米巴引起角膜炎的报道。

5 结语

棘阿米巴为致病性自由生活阿米巴, 可引起致盲性角膜感染, 并可在免疫功能低下的人群中引起致死性的中枢神经系统感染, 该种病原体近 30 年来受到关注。棘阿米巴属下阶元分类较为困难。目前认为基因测序是有效的虫种鉴定和分类的方法, 常与形态学分类同时应用。

参 考 文 献

- [1] Galarza C, Ramos W, Gutierrez EL, et al. Cutaneous acanthamebiasis infection in immunocompetent and immunocompromised patients[J]. Int J Dermatol, 2009, 48(12): 1324-1329.
- [2] Steinberg JP, Galindo RL, Kraus ES, et al. Disseminated acanthamebiasis in a renal transplant recipient with osteomyelitis and cutaneous lesions: case report and literature review[J]. Clin Infect Dis, 2002, 35(5): 43-49.
- [3] Maritschneq P, Sovinz P, Lackner H, et al. Granulomatous amebic encephalitis in a child with acute lymphoblastic leukemia successfully treated with multimodal antimicrobial therapy and hyperbaric oxygen[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(1): 446-448.
- [4] Walochnik J, Aichelburg A, Assadian O, et al. Granulomatous amoebic encephalitis caused by *Acanthamoeba* amoebae of genotype T2 in a human immunodeficiency virus negative patient [J]. J Clin Microbiol, 2008, 46(1): 338-340.
- [5] Lackner P, Beer R, Broessner G, et al. Acute granulomatous acanthamoeba encephalitis in an immunocompetent patient[J]. Neurocrit Care, 2010, 12(1): 91-94.
- [6] Fowler M, Carter RF. Acute pyogenic meningitis probably due to *Acanthamoeba* sp.: A preliminary report[J]. Br Med J, 1965, 25(2): 741.
- [7] Nagington J, Watson PG, Playfair TJ, et al. Amoebic infection of the eye[J]. Lancet, 1974, 28(2): 1537-1540.
- [8] Schaumberg DA, Snow KK, Dana MR. The epidemic of *Acanthamoeba* keratitis: where do we stand?[J]. Cornea, 1998, 17(1): 3-10.
- [9] Walochnik J, Obwaller Aspöck H. Correlation between morphological, molecular biological and physiological characteristics in clinical and nonclinical isolates of *Acanthamoeba* spp.[J]. Appl Environ Microbiol, 2000, 66(10): 4408-4413.
- [10] Rondanelli EG. Amphizoic Amoebae; Human Pathology[M]. Padova; Piccin Nuova Libreria SpA, 1987: 129-133.
- [11] Poqson C. *Acanthamoeba* keratitis[J]. J Ophthalmic Nurs Technol, 1993, 12(3): 114-116.
- [12] Walochnik J, Haller-Schober E, Kolli H, et al. Discrimination between clinically relevant and nonrelevant *Acanthamoeba* strains isolated from contact lens-wearing keratitis patients in Austria[J]. J Clin Microbiol, 2000, 38(11): 3932-3936.
- [13] Yu HS, Kong HH, Kim Sy, et al. Laboratory investigation of *Acanthamoeba lugdunensis* from patients with keratitis[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2004, 45(5): 1418-1426.
- [14] Ledee DR, Hay J, Byers TJ, et al. *Acanthamoeba griffini*. Molecular characterization of a new corneal pathogen[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1996, 37(4): 544-550.
- [15] Spanakos G, Tzanetou K, Miltakakis D, et al. Genotyping of pathogenic *Acanthamoebae* isolated from clinical samples in Greece — Report of a clinical isolate presenting T5 genotype [J]. Parasitol Int, 2006, 55(2): 147-152.
- [16] Iovieno A, Oechsler RA, Ledee DR, et al. Drug-resistant severe *Acanthamoeba* keratitis caused by rare T5 *Acanthamoeba* genotype [J]. Eye Contact Lens, 2010, 36(3): 183-184.
- [17] Xuan YH, Chung BS, Hong YC, et al. Keratitis by *Acanthamoeba triangularis*: report of cases and characterization of isolates[J]. Korean J Parasitol, 2008, 46(3): 157-164.
- [18] Gardner HA, Martines AJ, Visvesvara GS, et al. Granulomatous amebic encephalitis in an AIDS patient[J]. Neurology, 1991, 41(12): 1993-1995.
- [19] Moura H, Wallace S, Visvesvara GS. *Acanthamoeba healyi* n. sp. and the isoenzyme and immunoblot profiles of *Acanthamoeba* spp., groups 1 and 3[J]. J Protozool, 1992, 39(5): 573-583.
- [20] Rowbotham TJ. Current views on the relationship between amoebae, legionellae and man[J]. Isr J Med Sci, 1986, 22(9): 678-689.
- [21] Essig A, Heiemann M, Sinnacher U, et al. Infection of *Acanthamoeba castellanii* by *Chlamydia pneumoniae* [J]. Appl Environ Microbiol, 1997, 63(4): 1396-1399.
- [22] Steinert M, Birkness K, White E, et al. *Myobacterium avium* bacilli grow saprozoically in coculture with *Acanthamoeba polyphaga* and survive within cyst walls[J]. Appl Environ Microbiol, 1998, 64(6): 2256-2261.
- [23] Barker J, Humphrey TJ, Brown MW. Survival of *Escherichia coli* O157 in a soil protozoan; implications for disease[J]. FEMS Microbiol Lett, 1999, 173(2): 291-295.
- [24] Pussard M, Pons R. Morphologie de la paroi kystique et taxonomie du genre *Acanthamoeba* (Protozoa, Amoebida)[J]. Protistologica, 1977, 13(3): 557-598.
- [25] Im KI, Shin HJ. *Acanthamoeba soli*, n. sp., a pathogenic Korean isolate YM-4 from a freshwater fish[J]. Korean J Parasitol, 2003, 41(4): 181-188.
- [26] De Jonckheere JF. Isoenzyme and total protein analysis by agarose isoelectric focusing and taxonomy of the genus *Acanthamoeba* [J]. J Protozool, 1983, 30: 701-706.
- [27] Chung DL, Kong HH, Yu HS, et al. Biochemical and molecular characterization of a strain KA/S2 of *A. castellanii* isolated from Korean soil[J]. Korean J Parasitol, 1996, 34(1): 79-85.
- [28] Kong HH, Park JH, Chung DI. Interstrain polymorphisms of isoenzyme profiles and mitochondrial DNA fingerprints among seven strains assigned *Acanthamoeba polyphaga*[J]. Korean J Parasitol, 1995, 33(4): 331-340.
- [29] Xuan YH, Cui CQ, Zheng SZ. Sequence analysis of 16S rDNA

- of endosymbiont of *Acanthamoeba* sp. CB/S1 isolated from soil of China[J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2011, 29(2): 81-83. (in Chinese)
(玄英花, 崔春权, 郑善子. 棘阿米巴土壤分离株 CB/S1 共生细菌的 16S rDNA 序列分析[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2011, 29(2): 81-83.)
- [30] Yagita K, Endo T. Restriction enzyme analysis of mitochondrial DNA of *Acanthamoeba* strains in Japan[J]. J Protozool, 1990, 37(6): 570-575.
- [31] Bogler SA, Zarley CD, Burianek LL, et al. Interstrain mitochondrial DNA polymorphism detected in *Acanthamoeba* by restriction endonuclease analysis[J]. Mol Biochem Parasitol, 1983, 8(2): 145-163.
- [32] Kong HH. Molecular Phylogeny of *Acanthamoeba* [J]. Korean J Parasitol, 2009, 47(1): 21-28.
- [33] Gast RJ, Ledee DR, Fuerst PA, et al. Subgenus systematics of *Acanthamoeba*: Four nuclear 18S rDNA sequence types[J]. J Euk Microbiol, 1996, 43(6): 498-504.
- [34] Stothard DR, Schroeder-Diedrich JM, Awwad MH, et al. The evolutionary history of the genus *Acanthamoeba* and the eight new 18S rRNA gene sequence type[J]. J Euk Microbiol, 1998, 45(1): 45-54.
- [35] Hom M, Fritsche TR, Gautom RK, et al. Novel bacterial endosymbionts of *Acanthamoeba* spp. related to the *Paramecium caudatum* symbiont *Caedibacter carphillus* [J]. Environ Microbiol, 1999, 1(4): 357-367.
- [36] Li HH, Xuan YH, Zheng SZ. Genotype identification of the 18S rDNA in *Acanthamoeba* species isolated from tap water in Yanji City[J]. Chin J Zoonoses, 2009, 25(12): 1215-1217. (in Chinese)
(李红花, 玄英花, 郑善子. 自延吉市自来水分离的棘阿米巴 18S rDNA 基因型鉴定[J]. 中国人兽共患病学报, 2009, 25(12): 1215-1217.)
- [37] Zheng SZ, Xuan YH, Wang YH, et al. Genetic identification of *Acanthamoeba* spp. CJY/S1 and CJY/S2 isolated from soil[J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2006, 24(5): 391-392. (in Chinese)
(郑善子, 玄英花, 王月华, 等. 从土壤中分离的棘阿米巴属 CJY/S1 和 CJY/S2 株的 18S rDNA 基因型鉴定[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2006, 24(5): 391-392.)
- [38] Hewett MK, Robinson BS, Monis PT, et al. Identification of a new *Acanthamoeba* 18S rRNA gene sequence type, corresponding to the species *Acanthamoeba jacobsi* Sawyer, Nerad and Visvesvara 1992 (Lobosea: Acanthamoeba)[J]. Acta Protozool, 2003, 42(2): 325-329.
- [39] Di Cave D, Monno R, Bottalico P, et al. *Acanthamoeba* T4 and T15 genotypes associated with keratitis infections in Italy[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2009, 28(6): 607-612.
- [40] Booton GC, Kelly YW, Seal DV, et al. 18S ribosomal DNA typing and tracking of *Acanthamoeba* species isolates from corneal scrape specimens, contact lenses, lens cases, and home water supplies of *Acanthamoeba* keratitis patients in Hongkong[J]. J Clin Microbiol, 2002, 40(5): 1621-1625.
- [41] Maghsood AH, Sissons J, Rezaian M, et al. *Acanthamoeba* genotype T4 from the UK and Iran and isolation of the T2 genotype from clinical isolates[J]. J Med Microbiol, 2005, 54(8): 755-760.
- [42] Nuprasert W, Putapornitip C, Parivakanok L, et al. Identification of a novel T17 genotype of *Acanthamoeba* from environmental isolates and T10 genotype causing keratitis in Thailand[J]. J Clin Microbiol, 2010, 48(12): 4636-4640.
- [43] Lorenzo-Morales J, Morcillo-Laiz R, Martin-Navarro CM, et al. *Acanthamoeba* keratitis due to genotype T11 in a rigid gas permeable contact lens wearer in Spain[J]. Cont Lens Anterior Eye, 2010, 34(2): 83-86.
(收稿日期: 2011-02-22 编辑: 衣凤芸)

(上接第 228 页)

- VAL) gene family[J]. BMC Genomics, 2008, 9: 89.
- [52] McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte hemocuprein (hemocuprein)[J]. J Biol Chem, 1969, 244(22): 6049-6055.
- [53] Callahan HL, Crouch RK, James ER. Helminth anti-oxidant enzymes: a protective mechanism against host oxidants?[J]. Parasitol Today, 1988, 4(8): 218-225.
- [54] Simurda MC, Van KH, Rekosh DM, et al. *Schistosoma mansoni*: identification and analysis of an mRNA and a gene encoding superoxide dismutase (Cu/Zn) [J]. Exp Parasitol, 1988, 67(1): 73-84.
- [55] Mei H, Hirai H, Tanaka M, et al. *Schistosoma mansoni*: cloning and characterization of a gene encoding cytosolic Cu/Zn superoxide dismutase[J]. Exp Parasitol, 1995, 80(2): 250-259.
- [56] Weissenbach J, Gyapay G, Dib C, et al. A second-generation linkage map of the human genome[J]. Nature, 1992, 359(6398): 794-801.
- [57] Zhang D, Zhu HC, Huang LY. Bacterial artificial chromosome and its use in genomics[J]. Lett Biotechnol, 2003, 14(5): 406-409. (in Chinese)
(张达, 朱厚础, 黄留玉. 细菌人工染色体及其在基因组学研究中的应用[J]. 生物技术通讯, 2003, 14(5): 406-409.)
- [58] Hirai H, LoVerde PT. FISH techniques for constructing physical maps on schistosome chromosomes[J]. Parasitol Today, 1995, 11(8): 310-314.
- [59] Le Paslier MC, Pierce RJ, Merlin F, et al. Construction and characterization of a *Schistosoma mansoni* bacterial artificial chromosome library[J]. Genomics, 2000, 65(2): 87-94.
- [60] Hirai H, Taguchi T, Saitoh Y, et al. Chromosomal differentiation of the *Schistosoma japonicum* complex[J]. Int J Parasitol, 2000, 30(4): 441-452.
- [61] Taguchi T, Hirai Y, LoVerde PT, et al. DNA probes for identifying chromosomes 5, 6, and 7 of *Schistosoma mansoni* [J]. J Parasitol, 2007, 93(3): 724-726.
- [62] Zhou Y, Zheng H, Liu F, et al. The *Schistosoma japonicum* genome reveals features of host-parasite interplay[J]. Nature, 2009, 460(7253): 345-351.
(收稿日期: 2011-03-09 编辑: 高石, 瞿麟平)