

DOI: 10.3969/cjz.j.issn.1002-2694.2012.12.001

# 弓形虫与疟原虫入侵引起宿主细胞骨架重组相关 GTP 酶不同定位的观察\*

陈艾媛<sup>1</sup>, 娜仁花<sup>1</sup>, 彭鸿娟<sup>1</sup>, 赵亚<sup>2</sup>

**摘要:** 目的 方法, 结论 弓形虫与疟原虫均是顶复门(Phylum Apicomplexa), 孢子纲(Class Sporozoea), 真球虫目(Order Eucoccidiida)的细胞内寄生原虫, 入侵宿主细胞后均寄生于纳虫泡内进行发育增殖。细胞内寄生原虫的入侵均需要宿主细胞的细胞骨架发生重组, RhoGTP 酶是哺乳动物细胞(有核细胞及红细胞)调节细胞骨架重组的重要酶类。我们在研究中发现宿主细胞的 RhoA 及 Rac1GTP 酶在弓形虫速殖子感染后被纳入了纳虫泡膜(Parasitophorous Vacuole Membrane, PVM)上并高丰度聚集, 然而在疟原虫裂殖子感染的红细胞内却没有发现这两种 GTP 酶在纳虫泡膜上聚集的现象。宿主细胞 RhoA 及 Rac1GTP 酶在弓形虫及疟原虫感染宿主细胞后的不同分布, 显示这两种原虫感染引起宿主细胞骨架重组的途径是不同的。

**关键词:** 弓形虫; 疟原虫; 细胞骨架重组; Rho GTP 酶中图分类号:R382.5,R382.3<sup>+1</sup>

文献标识码:A

文章编号:1002-2694(2012)12-1155-06

## Observation on different localization of GTPases related to host cytoskeleton reorganization triggered by *Toxoplasma gondii* and *Plasmodium falciparum* infection

CHEN Ai-Yuan<sup>1</sup>, NA Ren-Hua<sup>1</sup>, PENG Hong-Juan<sup>1</sup>, ZHAO Ya<sup>2</sup>

(1. Department of Pathogen Biology, School of Public Health and Tropical Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China;

2. Department of Pathogen Biology, School of Basic Medicine, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

**ABSTRACT:** Both *Toxoplasma gondii* and *Plasmodium* spp. belong to the intracellular protozoa in Order Eucoccidiida, Class Sporozoea, and Phylum Apicomplexa. They dwell in the parasitophorous vacuole for parasitism, development and multiplication after recruitment. The invasion of these intracellular protozoans into host cells requires the cytoskeleton reorganization of the host cell. Rho GTPases are the important enzymes in regulation of cytoskeleton reorganization in mammalian cells including nucleated cells and erythrocytes. We found in our research that host cell RhoA and Rac1 GTPase were recruited to the parasitophorous vacuole membrane (PVM) of *T. gondii* and showed a high accumulation on the PVM after *T. gondii* tachyzoite invading the host cell. On the other hand, this accumulation of the Rho GTPases on the PVM was not observed after *Plasmodium falciparum* merozoites invading erythrocytes. The different distribution of RhoA and Rac1GTPase in the host cell after

the invasion of *T. gondii* tachyzoites and *Plasmodium falciparum* merozoites indicated the different way for the regulation of cytoskeleton reorganization in host cells upon the parasites invasion.

**KEY WORDS:** *Toxoplasma gondii*, *Plasmodium*, cytoskeleton rearrangement, Rho GTPase

\* 国家自然科学基金(No. 81071377, No. 81271866), 广东省自然科学基金(No. 10151051501000033), 高等学校博士学科点专项科研基金(No. 20104433120014), 广东省医学科研基金(No. A2010356), 广东省人才引进专项资金(No. 2011-67), 广东省科技攻关项目(No. 2011B010500003)广东省大学生创新实验计划项目(No. 1212110047), 南方医科大学院长基金(No. GW201110), 陈艾媛和娜仁花为共同第一作者

通讯作者:彭鸿娟, Email: floriapeng@hotmail.com

赵亚, Email: zhaoya@fmmu.edu.cn

作者单位:1. 广东省广州市沙太南路 1023 号南方医科大学公共卫生与热带医学学院病原生物学系, 广州 510515;  
2. 陕西省西安市长乐西路 169 号第四军医大学基础医学院病原生物学教研室 西安 710032

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81071377, No. 81271866), the Natural Science Foundation of Guangdong Province (No. 10151051501000033), the Research Fund for the Doctoral Program of Higher Edu-

cation of China (No. 20104433120014), the Medical Science Research Fund of Guangdong Province (No. A2010356), Guangdong Province talent introduction of special funds (No. 2011-67), Guangdong provincial key scientific and technological project (No. 2011B010500003), the Guangdong Province College Students Renovation Experimental Program (No. 1212111020), and the Grant from the School of Public Health and Tropical Medicine of Southern Medical University (No. GW201110).

Corresponding authors: Peng Hong-Juan, Email: floriapeng@hotmail.com, Zhao Ya, Email: zhaoya@fmmu.edu.cn

弓形虫(*Toxoplasma gondii*)和疟原虫(*Plasmodium* spp)的分类地位均属于顶复门(Phylum Apicomplexa),孢子纲(Class Sporozoea),真球虫目(Order Eucoccidiida)<sup>[1]</sup>。顶复门原虫都是通过与其质膜相连的肌动蛋白-肌球蛋白马达,以主动入侵的方式侵入宿主细胞内,而不是被宿主细胞所摄取或吞噬<sup>[2]</sup>。两种原虫都以纳虫泡的形式在宿主细胞内寄生并增殖,但是弓形虫、疟原虫与宿主细胞之间的相互作用大部分并不十分清楚,两者入侵细胞及纳虫泡膜形成的过程也各有不同的特点。

细菌、病毒等病原入侵宿主细胞后都伴随有宿主细胞骨架重组的过程<sup>[3]</sup>。顶复门的原虫包括隐孢子虫(*Cryptosporidium parvum*)、弓形虫、疟原虫入侵宿主细胞后都有引发宿主细胞骨架重组的现象:隐孢子虫感染宿主细胞时诱导宿主肌动蛋白网络形成片状结构,将虫体与宿主细胞质分隔开来,从而形成一个细胞内胞质外的小室,并在小室中进行增殖<sup>[4]</sup>;弓形虫速殖子和伯氏疟原虫裂殖子入侵宿主细胞后在“运动连接(moving junction)”处形成一个宿主细胞F-肌动蛋白环,因而推测弓形虫与疟原虫的入侵过程需要宿主细胞肌动蛋白的极化<sup>[2]</sup>;弓形虫的入侵激活宿主细胞微管和微丝等细胞骨架元件的重组<sup>[5]</sup>,而在感染的晚期,弓形虫启用宿主细胞的微管形成管道结构将宿主细胞器组分运输到纳虫泡膜上<sup>[6]</sup>;疟原虫感染红细胞后,向红细胞的胞质中分泌虫体蛋白,调控红细胞骨架的重组<sup>[7-9]</sup>。

Rho GTP 酶属于 Ras 超家族的成员,其分子量一般在 20~30 kD。Ras 家族成员众多,在哺乳动物中至少由 14 个亚族组成,其中最具代表性的为 Rho (Ras homologous member)、Rac (ras-related C3 botulinum toxin sub-strate) 和 Cdc42 (cell division cycle 42) 3 个亚族。Rho GTP 酶广泛地调节细胞功能,许多调节是通过控制肌动蛋白极性来实现的。RhoGTP 酶家族调节肌动蛋白骨架,微管动力学,细胞极性和运动性,小泡运输路径以及细胞吸附、移动、增殖与生存<sup>[10-13]</sup>。在疟原虫入侵红细胞时,Rac GTP 酶是红细胞骨架重组的动态调节因子<sup>[14]</sup>。肌动蛋白低聚体是红细胞骨架重要的结构组成部分,Rac1 和 Rac2 调节肌动蛋白结构,在造

血细胞中有许多重叠的和独特的功能<sup>[14]</sup>。RhoA 被发现存在于红细胞的胞质和膜上,而且高度亲合性地结合于红细胞膜的胞质面上<sup>[15]</sup>。而在弓形虫入侵宿主细胞时,RhoGTP 酶调控宿主细胞骨架的重组却未见文献报导。

为了解宿主细胞 RhoGTP 酶在弓形虫与疟原虫这两种原虫入侵过程中对宿主细胞骨架重组所起的调控作用,本研究选取 Rho GTP 酶家族中的 RhoA 和 Rac1 作为靶标蛋白,利用细胞免疫荧光的方法来检测弓形虫和疟原虫入侵宿主细胞后,宿主细胞 Rho GTP 酶在细胞内的分布情况。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 细胞株、虫株与实验动物 人呼吸道上皮细胞 16-HBE 购自上海复祥生物技术有限公司。SPF 级 KM 鼠(18~22 g 雌性鼠)购于南方医科大学实验动物中心。弓形虫 RH 株为本实验室保存,接种于 SPF 级 KM 鼠腹腔中传代。恶性疟原虫云南地理株由第四军医大学病原生物学教研室保存。

1.1.2 主要试剂 TritonX-100、DAPI 购于 sigma 公司;兔抗人 Rac1 和兔抗人 RhoA 单克隆抗体均购于 Cell Signaling 公司;二抗 goat anti-rabbit IgG-FITC 购于 SANTA CRUZ 公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 细胞爬片及涂片的制备

1.2.1.1 16-HBE 细胞爬片制备及弓形虫感染 放置 4 片盖玻片于六孔板内其中四孔,将 16-HBE 细胞平均分到此四孔中,用 DMEM+10% NBS 培养基在 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 条件下培养至细胞覆盖率达 95%~100%,细胞长在盖玻片上制备细胞爬片,方便下一步的免疫荧光实验操作与观察。从 KM 鼠腹腔中抽取弓形虫 RH 株速殖子, 3 000×g 离心 5 min 后弃掉上清液,加入 4 mL DMEM 完全培养基重悬虫体,混匀后均匀加入四孔 16-HBE 细胞爬片的培养孔中,37 °C 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中侵染 2 h。吸掉细胞培养基上清,并用 PBS 洗涤细胞 3 次,洗去未侵染的弓形虫速殖子。

#### 1.2.1.2 恶性疟原虫体外同步化培养和血涂片制

备 恶性疟原虫复苏和传代培养参照 Trager 等的方法<sup>[16]</sup>进行。简述如下:以 RPMI1640 为基础培养基,其中含有 25 mmol/L HEPES,0.2% NaHCO<sub>3</sub> 和 10% 人血清,红细胞压积 2%~5%,在 5% CO<sub>2</sub> 和 37 °C 条件下培养。每天换液一次、每隔 3 天添加一次新鲜人红细胞。选择疟原虫环状体较多的发育阶段开始同步化培养,待疟原虫同步化至成熟裂殖体为主且出现部分早期环状体阶段时,吸取适量悬浮红细胞,离心,留取适量上清,重悬红细胞制作薄血片,同时制作正常红细胞薄血片为阴性对照。血片自然晾干,4 °C 预冷无水乙醇固定 10 min,冷风吹干,PAP 笔划分实验区域待用。

**1.2.2 细胞免疫荧光实验** 室温条件下用多聚甲醛固定细胞爬片或红细胞涂片 10 min,PBS 振荡洗涤(5 min×3 次),透化液(0.5% TritonX-100,PBS 稀释)500 μL 覆盖细胞后室温静置 10 min。PBS 振荡洗涤(5 min×3 次),封闭液(0.1% TritonX-100,用新生牛血清稀释)500 μL 覆盖细胞并在 37 °C 下孵育 1 h。弃去封闭液,加入 500 μL 一抗(封闭液稀释,稀释度 1:500),37 °C 孵育 3 h。弃一抗,PBS 振荡洗涤(5 min×3 次)。加入 500 μL FITC 标记的二抗(封闭液稀释,稀释度 1:300)37 °C 条件下避光孵育 1 h。在阴性对照实验中,细胞不用一抗孵育,仅以 FITC 标记的二抗(封闭液稀释,稀释度 1:300)孵育。以下过程均在避光条件下进

行,PBS 振荡洗涤(5 min×3 次),10 nmol/L DAPI 染色 5 min,PBS 振荡洗涤(5 min×3 次),用双蒸水洗去玻片上的盐分。将玻片避光置于滤纸上风干,封片并在荧光显微镜下观察。

## 2 结 果

在荧光显微镜下用 FITC 滤光片观察可见,经抗人 Rac1 和 RhoA 单抗及 FITC 标记的二抗孵育后的 16-HBE 细胞内,在弓形虫纳虫泡膜上有荧光的丰度聚集(见图 1-A 和图 1-C,黄色箭头所示);阴性对照实验中,只用 FITC 标记的二抗与 16-HBE 细胞内孵育,在弓形虫纳虫泡膜上没有荧光的丰度聚集(见图 1-E);而在未被侵染的 16-HBE 细胞中,只见 RhoA 和 Rac1 GTP 酶在细胞质中的均匀分布(见图 1-B 和图 1-D)。该实验结果表明在弓形虫入侵宿主细胞后,出现了宿主细胞的 RhoA 和 Rac1 GTP 酶聚集在弓形虫纳虫泡膜上的现象。然而,在用抗人 Rac1 和 RhoA 单抗孵育后的被恶性疟原虫侵染的红细胞中,疟原虫纳虫泡上没有看到荧光的聚集(见图 2-A 和图 2-C,黄色箭头所示);而在未被侵染的红细胞中只见 RhoA 和 Rac1 GTP 酶在红细胞中均匀分布(见图 2-B 和图 2-D)。该实验结果提示在被恶性疟原虫感染的红细胞内的纳虫泡膜上未出现 RhoA 和 Rac1 GTP 酶聚集的现象。

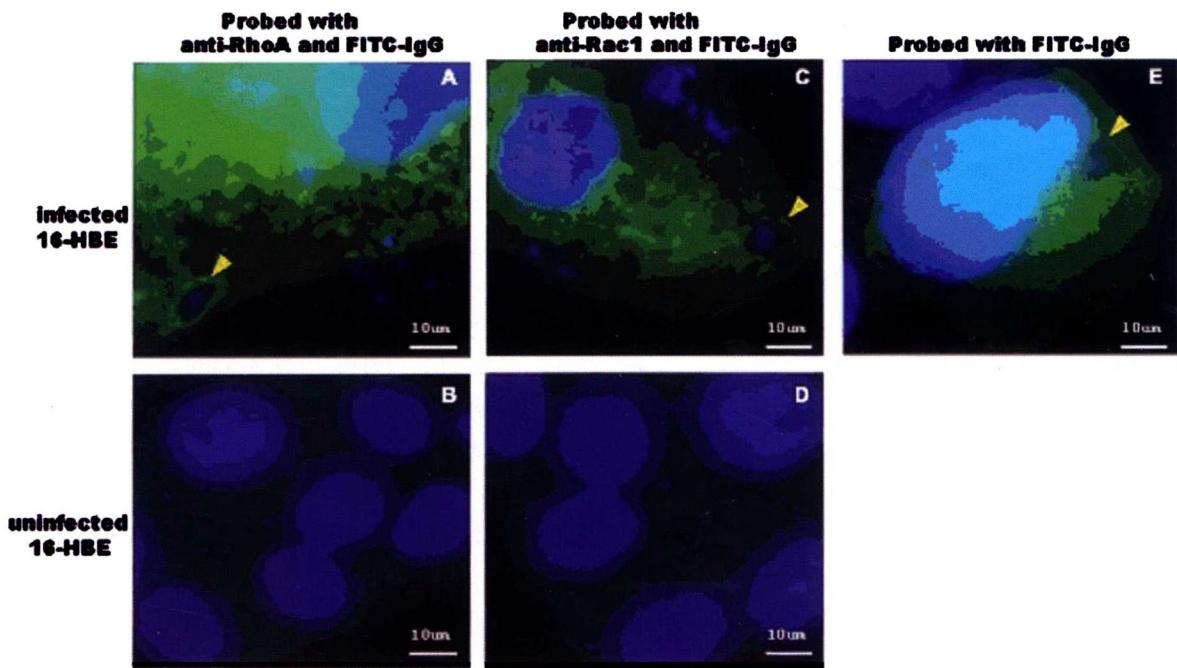


图 1 弓形虫 RH 株速殖子侵染 16-HBE 细胞后抗 RhoA、Rac1 单抗免疫荧光检测结果

Fig. 1 The immunofluorescence detection with anti-RhoA and anti-Rac1 mAb of 16-HBE cells infected with *T. gondii* RH tachyzoites 在绿色荧光显微镜下可见宿主细胞的 RhoA 和 Rac1GTP 酶在弓形虫纳虫泡膜上的高丰度聚集

(Fig 1-A, 和 Fig 1-C, 黄色箭头所示),而在阴性对照实验组中,当细胞只与 FITC 标记的 IgG 二抗孵育时, 荧光没有在纳虫泡膜上聚集的现象(Fig 1-B, 和 Fig 1-D)。

在绿色荧光显微镜下可见红细胞的 RhoA 和

Rac1 GTP 酶在恶性疟原虫(包括环状体、未成熟裂殖体和成熟裂殖体等阶段)纳虫泡膜上均没有聚集(Fig 2-A, 和 Fig 2-C, 黄色箭头所示),而在未被侵染的红细胞中只见 RhoA 和 Rac1 GTP 酶在红细胞中均匀分布(Fig 2-B, 和 Fig 2-D)。

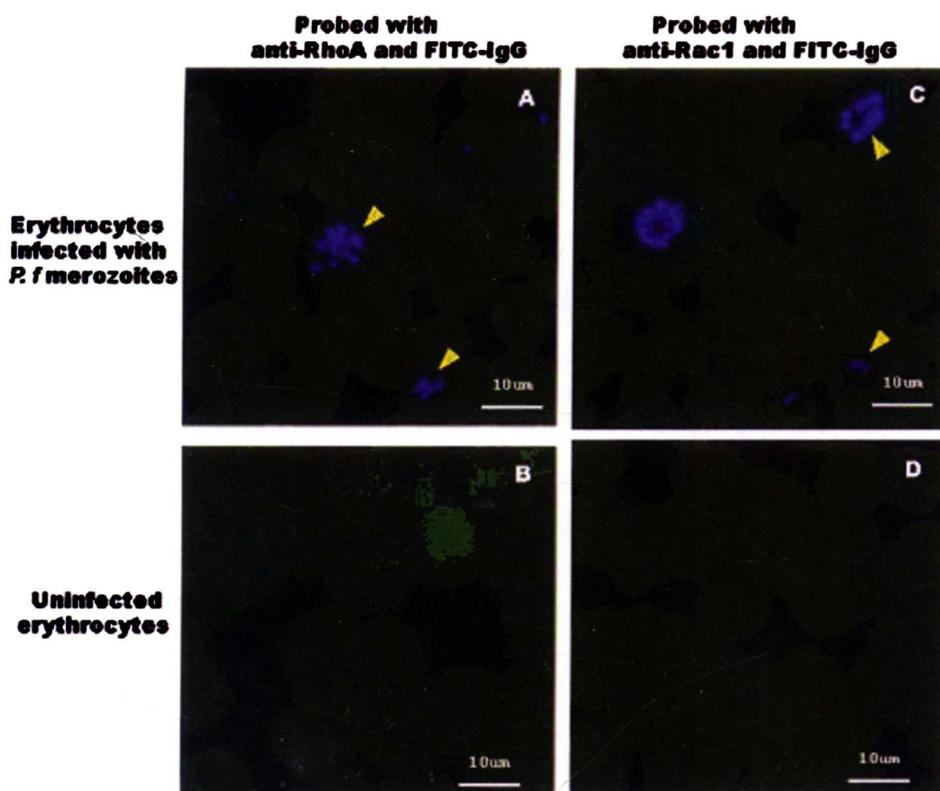


图 2 恶性疟原虫裂殖子侵染人红细胞后抗 RhoA、Rac1 单抗免疫荧光检测结果

Fig. 2 The immunofluorescence detection with anti-RhoA and anti-Rac1 mAb of human erythrocytes infected with *Plasmodium falciparum* merozoites

### 3 讨 论

虽然弓形虫与疟原虫均属于顶复门的细胞内原虫,并以纳虫泡的形式在宿主细胞内寄生并增殖,但是两者入侵细胞及纳虫泡膜形成的过程却各有不同的特点。弓形虫对宿主细胞无特异的选择性,几乎可以感染所有的有核细胞。弓形虫入侵宿主细胞的过程是主动入侵,弓形虫以滑动的运动方式靠近宿主细胞膜,其类锥体紧密粘附于宿主细胞膜并向前推进,弓形虫棒状体与前端表膜融合后释放调控蛋白诱导宿主细胞表面形成丝状伪足和通道辅助其入侵,同时宿主细胞膜向内凹陷,虫体通过类锥体端进入细胞<sup>[17]</sup>。入侵部位的宿主细胞膜形成环状结构压缩包围虫体,入侵完成后宿主细胞膜封闭,纳虫泡形成<sup>[18-20]</sup>。在与宿主细胞的吸附过程中,弓形虫分泌的微粒体蛋白和棒状体颈蛋白形成的运动连接(moving junction, MJ)<sup>[21-22]</sup>是弓形虫吸附于宿主细胞的结构,且具有从纳虫泡膜中筛选宿主细胞膜组

分的功能<sup>[23]</sup>。一些宿主细胞膜组分如与膜筏(membrane raft)、细胞骨架定位及分子多聚体形成相关的跨膜蛋白等,被迅速清除并在成熟的纳虫泡膜中消失,这些组分的排除可避免纳虫泡被内膜系统融合<sup>[24]</sup>,但许多膜脂却被保留下来。纳虫泡外表还与宿主细胞的细胞器如线粒体、内质网紧密结合,这些细胞器的膜组分为纳虫泡的生长扩大提供膜组分来源<sup>[18-19]</sup>。纳虫泡膜的组分中,大部分来源于宿主细胞膜,少数来源于宿主细胞质,还包括弓形虫分泌的棒状体蛋白、微粒体蛋白、致密颗粒蛋白<sup>[18-19]</sup>。由此,弓形虫在入侵后在宿主细胞内形成了一个非融合小室—纳虫泡包围着虫体,来抵抗宿主细胞内涵体的酸化及溶酶体的融合作用,即防止被宿主细胞清除。

疟原虫裂殖子入侵红细胞则具有高度的宿主特异性,这是因为疟原虫是以配体-受体结合的方式来识别红细胞的<sup>[25]</sup>。疟原虫裂殖子入侵红细胞的过

程开始于裂殖子与红细胞表面之间的微弱的吸附作用,是通过尚未鉴定的原虫配体与红细胞受体之间的相互作用,接着裂殖子的类锥体顶端与红细胞表面紧密结合<sup>[26-27]</sup>。裂殖子触发了与红细胞之间“连接(junction)”的形成,该连接在电子显微镜下显示为电子致密区,存在于裂殖子类锥体的一端。此外,裂殖子分泌棒状体蛋白进入红细胞,可能促进入侵的过程<sup>[27-29]</sup>。裂殖子最终通过原虫表面蛋白和原虫的肌动蛋白-肌球蛋白马达之间的相互作用,随着该“连接”向红细胞内的移动而进入红细胞<sup>[30]</sup>。因此,该“连接”的形成及其与原虫分子马达之间的相互作用是入侵的关键步骤<sup>[31-32]</sup>。而纳虫泡是由红细胞膜向细胞内流动而形成,与原虫进入红细胞的过程同步完成<sup>[29]</sup>,在入侵过程结束的时候,“连接”部分的电子致密区成为纳虫泡的一部分包裹着刚入侵的原虫<sup>[27]</sup>。

从弓形虫与疟原虫入侵宿主细胞的过程和纳虫泡形成过程来看,两者都具有很多的相同之处,如在入侵开始时,弓形虫速殖子和疟原虫裂殖子入侵宿主细胞都形成一个特殊的结构——“运动连接(moving junction)”,并在该连接处形成一个宿主细胞F-肌动蛋白环,激活宿主细胞骨架发生重组<sup>[2]</sup>;此外,两种原虫纳虫泡膜的组分大部分是来源于宿主细胞膜,小部分来源于原虫本身的分泌蛋白,而且还有一些来源于宿主细胞质。

弓形虫感染宿主细胞后,在纳虫泡膜上有宿主细胞RhoA与Rac1 GTP酶的聚集,这两种宿主细胞的酶类被纳入了弓形虫的纳虫泡膜上的方式有可能包括以下三种:1、随同宿主细胞膜一同被组成到纳虫泡膜上;2、通过扩散作用,从宿主细胞质中被组成到纳虫泡膜上;3、来源于与弓形虫纳虫泡膜紧密结合且作为纳虫泡扩大中主要膜成分来源的宿主细胞器如内质网、线粒体等。

尽管RhoAGTP酶被发现存在于红细胞的胞质和胞膜上,而且高度亲合性地结合于红细胞膜的胞质面上<sup>[15]</sup>,但是疟原虫纳虫泡膜上没有发现RhoA和Rac1 GTP酶聚集,这个现象有可能说明:1、红细胞膜上的Rho GTP酶并没有在纳虫泡形成时随着红细胞膜被纳入到纳虫泡膜上;2、细胞质中的Rho GTP酶也没有被组成到纳虫泡膜上;3、因为红细胞内没有内质网、线粒体等细胞器,因而也不可能通过膜融合的方式被组成到纳虫泡膜上。

尽管弓形虫、疟原虫的入侵过程需要宿主细胞骨架发生重组,而细胞骨架的重组又是由Rho GTP酶家族所调控,但是这个过程的具体细节仍是未知。

宿主细胞Rho GTP酶在弓形虫速殖子与疟原虫裂殖子入侵宿主细胞时不同的分布现象,显示这两种原虫通过不同的途径来调节宿主细胞骨架重组。

## 参考文献:

- [1] Zhao WX. Human parasitology[M]. 3<sup>rd</sup> ed. Beijing: People's Health Publishing House, 2004: 175. (in Chinese)  
赵慰先. 人体寄生虫学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2004: 175.
- [2] Gonzalez V, Combe A, David V, et al. Host cell entry by apicomplexa parasites requires actin polymerization in the host cell [J]. Cell Host Microbe, 2009, 5(3): 259-272. DOI: 10.1016/j.chom.2009.01.011
- [3] Gomes-Santos CS, Itoe MA, Afonso C, et al. Highly dynamic host actin reorganization around developing *Plasmodium* inside hepatocytes[J]. PLoS One, 2012, 7(1): e29408.
- [4] Elliott DA, Clark DP. *Cryptosporidium parvum* induces host cell actin accumulation at the host-parasite interface[J]. Infect Immun, 2000, 68(4): 2315-2322. DOI: 10.1128/IAI.68.4.2315-2322.2000
- [5] da Silva CV, da Silva EA, Cruz MC, et al. ARF6, PI3-kinase and host cell actin cytoskeleton in *Toxoplasma gondii* cell invasion[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 378(3): 656-661. DOI: 10.1016/j.bbrc.2008.11.108
- [6] Coppens I, Dunn JD, Romano JD, et al. *Toxoplasma gondii* sequesters lysosomes from mammalian hosts in the vacuolar space [J]. Cell, 2006, 125(2): 261-274. DOI: 10.1016/j.cell.2006.01.056
- [7] Oh SS, Voigt S, Fisher D, et al. *Plasmodium falciparum* erythrocyte membrane protein 1 is anchored to the actin-spectrin junction and knob-associated histidine-rich protein in the erythrocyte skeleton[J]. Mol Biochem Parasitol, 2000, 108 (2): 237-247. DOI: 10.1016/S0166-6851(00)00227-9
- [8] Pei X, Guo X, Coppel R, et al. *Plasmodium falciparum* erythrocyte membrane protein 3 (*PfEMP3*) destabilizes erythrocyte membrane skeleton[J]. J Biol Chem, 2007, 282 (37): 26754-26758. DOI: 10.1074/jbc.M701612200
- [9] Millholland MG, Chandramohanadas R, Pizarro A, et al. The malaria parasite progressively dismantles the host erythrocyte cytoskeleton for efficient egress[J]. Mol Cell Proteomics, 2011, 10 (12): M111.010678. DOI: 10.1074/mcp.M111.010678
- [10] Hall A. Rho GTPases and the actin cytoskeleton[J]. Science, 1998, 279 (5350): 509-514. DOI: 10.1126/science.279.5350.509
- [11] Schwartz M. Rho signalling at a glance[J]. J Cell Sci, 2004, 117(Pt 23): 5457-5458. DOI: 10.1242/jcs.01582
- [12] Burridge K, Wennerberg K. Rho and Rac take center stage[J]. Cell, 2004, 116 (2): 167-179. DOI: 10.1016/S0092-8674(04)00003-0
- [13] Etienne-Manneville S, Hall A. Rho GTPases in cell biology [J]. Nature, 2002, 420(6916): 629-635. DOI: 10.1038/nature01148
- [14] Kalfa TA, Pushkaran S, Mohandas N, et al. Rac GTPases regulate the morphology and deformability of the erythrocyte cytoskeleton[J]. Blood, 2006, 108(12): 3637-3645. DOI: 10.1182/blood-2006-03-005942

- [15] Boukharov AA, Cohen CM. Guanine nucleotide-dependent translocation of RhoA from cytosol to high affinity membrane binding sites in human erythrocytes[J]. *Biochem J*, 1998, 330 (Pt 3): 1391-1398.
- [16] Trager W, Jensen JB. Human malaria parasites in continuous culture[J]. *Science*, 1976, 193 (4254): 673-675. DOI: 10.1126/science.781840
- [17] MacLaren A, Attias M, de Souza W. Aspects of the early moments of interaction between tachyzoites of *Toxoplasma gondii* with neutrophils[J]. *Vet Parasitol*, 2004, 125(3-4): 301-312. DOI: 10.1016/j.vetpar.2004.07.006
- [18] Peng HJ, Chen XG, Lindsay DS. A review: Competence, compromise, and concomitance—reaction of the host cell to *Toxoplasma gondii* infection and development[J]. *J Parasitol*, 2011, 97(4): 620-628. DOI: 10.1645/GE-2712.1
- [19] Peng HJ. Formation mechanism and the function of parasitophorous vacuole of *Toxoplasma gondii*[J]. *Chin J Parasitol Parasit Dis*, 2010, 28(5): 81-84. (in Chinese)  
彭鸿娟. 刚地弓形虫纳虫泡的形成机制及其作用[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2010, 28(5): 81-84.
- [20] Liang ZH. Research progress of *Toxoplasma gondii* invading host cells mechanism[J]. *Chin J Zoonoses*, 1995, 11(5): 34-36. (in Chinese)  
梁志慧. 弓形虫速殖子侵入宿主细胞机理的研究进展[J]. 中国人兽共患病杂志, 1995, 11(5): 34-36.
- [21] Alexander DL, Mital J, Ward GE, et al. Identification of the moving junction complex of *Toxoplasma gondii*: a collaboration between distinct secretory organelles[J]. *PLoS Pathog*, 2005, 1 (2): e17.
- [22] Cao J, Kaneko O, Thongkukiatkul A, et al. Rhoptry neck protein RON2 forms a complex with microneme protein AMA1 in *Plasmodium falciparum* merozoites[J]. *Parasitol Int*, 2009, 58(1): 29-35. DOI: 10.1016/j.parint.2008.09.005
- [23] Straub KW, Cheng SJ, Sohn CS, et al. Novel components of the apicomplexan moving junction reveal conserved and coccidia restricted elements[J]. *Cell Microbiol*, 2009, 11(4): 590-603. DOI: 10.1111/j.1462-5822.2008.01276.x
- [24] Sibley LD, Dobrowolski JM, Morisaki JH, et al. Invasion and intracellular survival by *Toxoplasma gondii*[M]//Russell DG. In: *Strategies for Intracellular Survival of Microbes*. London: Bailliere Tindall, 1994: 245-264.
- [25] Srinivasan P, Beatty WL, Diouf A, et al. Binding of *Plasmodium merozoite* proteins RON2 and AMA1 triggers commitment to invasion[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(32): 13275-13280. DOI: 10.1073/pnas.1110303108
- [26] Dvorak JA, Miller LH, Whitehouse WC, et al. Invasion of erythrocytes by malaria merozoites[J]. *Science*, 1975, 187 (4178): 748-750. DOI: 10.1126/science.803712
- [27] Aikawa M, Miller LH, Johnson J, et al. Erythrocyte entry by malarial parasites. A moving junction between erythrocyte and parasite[J]. *J Cell Biol*, 1978, 77(1): 72-82.
- [28] Miller LH, Aikawa M, Johnson JG, et al. Interaction between cytochalasin B-treated malarial parasites and erythrocytes. Attachment and junction formation[J]. *J Exp Med*, 1979, 149 (1): 172-184.
- [29] Aikawa M, Miller LH, Rabbege JR, et al. Freeze-fracture study on the erythrocyte membrane during malarial parasite invasion[J]. *J Cell Biol*, 1981, 91(1): 55-62.
- [30] Baum J, Richard D, Healer J, et al. A conserved molecular motor drives cell invasion and gliding motility across malaria life cycle stages and other apicomplexan parasites[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(8): 5197-5208. DOI: 10.1074/jbc.M509807200
- [31] Jewett TJ, Sibley LD. Aldolase forms a bridge between cell surface adhesins and the actin cytoskeleton in apicomplexan parasites[J]. *Mol Cell*, 2003, 11(4): 885-894. DOI: 10.1016/S1097-2765(03)00113-8
- [32] Buscaglia CA, Coppens I, Hol WG, et al. Sites of interaction between aldolase and thrombospondin-related anonymous protein in plasmodium[J]. *Mol Biol Cell*, 2003, 14(12): 4947-4957. DOI: 10.1091/mbc.E03-06-0355

收稿日期:2012-05-10;修回日期:2012-08-11