

日本血吸虫凋亡诱导因子 SjAIF 功能区片段的克隆及表达分析

陆 看^{1,2}, 韩宏晓², 洪 炆², 马茜茜², 刘艳涛², 韩 倩², 马 帅², 傅志强², 林矫矫^{2,3}

摘要:目的 克隆表达日本血吸虫凋亡诱导因子(SjAIF)功能区片段,并对其生物学特性进行初步分析。方法 应用PCR技术扩增日本血吸虫凋亡诱导因子的功能区片段,构建原核重组表达质粒并诱导其表达,实时定量PCR分析其在不同发育时期童虫和成虫的转录水平,通过Western-blot和间接ELISA法分析重组蛋白的抗原性和免疫原性,应用免疫组化分析该蛋白在虫体内的分布情况。结果 克隆了SjAIF功能区片段,大小为831 bp。成功构建了原核重组表达质粒pET-28a(+)-SjAIF,并在大肠杆菌中获得表达,重组蛋白分子量35 kD。实时定量PCR分析表明SjAIF基因在童虫和成虫的各个发育阶段均有转录,其中7 d~21 d虫体表达量较低,42 d和28 d虫体表达量较高,雌虫表达量高于雄虫。重组蛋白具有较好的抗原性和免疫原性,免疫小鼠后诱导产生了较高水平的特异性IgG抗体。该蛋白主要存在于日本血吸虫体被,少部分分布于实质组织中。结论 成功表达了SjAIF基因的功能区片段,对其生物学特性进行了初步分析,为进一步研究该基因生物学功能和作用提供了基础。

关键词:日本血吸虫;细胞凋亡;凋亡诱导因子

中图分类号:R383

文献标识码:A

文章编号:1002-2694(2015)02-0102-07

Cloning and expression analysis of a functional fragment of apoptosis-inducing factor (AIF) gene in *Schistosoma japonicum*

LU Kan^{1,2}, HAN Hong-xiao², HONG Yang², MA Qian-qian²,
LIU Yan-tao², HAN Qian², MA Shuai², FU Zhi-qiang², LIN Jiao-jiao^{2,3}

(1. College of Life and Environmental Sciences, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China;

2. Shanghai Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Science

/ Key Laboratory of Animal Parasitology, Ministry of Agriculture, Shanghai 200241, China;

3. Jiangsu Co-innovation Center for Prevention and Control

of Important Animal Infectious Diseases and Zoonoses, Yangzhou 225009, China)

Abstract: We cloned and expressed a functional fragment of apoptosis-inducing factor (AIF) gene in *Schistosoma japonicum* and further analyzed its biological characteristics. PCR technique was employed to amplify the functional fragment of SjAIF by employing a cDNA of 14 d (day) schistosomula as template. The fragment of AIF was subcloned into a pET28a(+) vector and the recombinant plasmid was transformed into competent *E. coli*/BL21 for producing recombinant protein. The expression level of SjAIF was determined at several different development stages of schistosomula and adult worms by using real-time RT-PCR. The recombinant protein was purified and then its antigenicity was accessed by Western blotting and ELISA. The distribution of the protein in *Schistosoma japonicum* was analyzed by immunolocalization. Real-time PCR analysis revealed that the expression of SjAIF was lower in 7 d, 14 d and 21 d than that in other stages. Western-blotting showed that the recombinant had good immunogenicity. The vaccinated group showed a good ability to induce IgG as examined by ELISA. Immunolocalization analysis revealed that the SjAIF was mainly distributed in tegument and parenchyma. The fragment of SjAIF was obtained and

国家自然科学基金(No. 81271871)资助

通讯作者:林矫矫, Email:jjlin@shvri.ac.cn

作者单位:1. 上海师范大学生命与环境科学学院, 上海 200234;

2. 中国农业科学院上海兽医研究所, 农业部动物寄生虫学

重点开放实验室, 上海 200241;

3. 江苏省动物重要疫病与人兽共患病防控协同创新中心,

扬州 225009

its molecular characterizations were preliminarily investigated. This study provided an important basis for further investigation of the biological characteristics and mechanism of the protein in *Schistosoma japonicum*.

Keywords: *Schistosoma japonicum*; apoptosis; apoptosis-inducing factor

Supported by the National Natural Science Foundation of People's Republic of China (No. 81271871)

Corresponding author: Lin Jiao-jiao, Email: jjlin@shvri.ac.cn

血吸虫病(schistosomiasis)是由血吸虫尾蚴感染人或其它哺乳动物而引起的一种危害严重的人兽共患寄生虫病,广泛流行于亚洲、非洲和拉丁美洲。该病流行于全球 76 个国家和地区,约 6 亿人受到威胁,2 亿人感染^[1]。在我国流行的是日本血吸虫病。自 1977 年吡喹酮成功合成至今,该药一直是唯一一种大规模使用的治疗血吸虫病药物。而吡喹酮耐药虫株的出现使治疗血吸虫病新药物研发更加紧迫^[2-3]。日本血吸虫在不同宿主体内的生长发育情况与虫体细胞凋亡相关的发现,为研制血吸虫病新药物以及防治提供了新思路^[4-6]。

细胞凋亡是由多基因严格控制的细胞程序性死亡,对于维持生物体正常的生长发育以及内环境的稳定具有重要作用。哺乳动物发生细胞凋亡主要有三条通路,即死亡受体通路、线粒体通路和内质网通路。有研究表明,血吸虫与其他多细胞生物一样具有凋亡相关的编码基因,但是血吸虫凋亡的确切机制尚不明确^[6]。凋亡诱导因子(apoptosis-inducing factor, AIF)是线粒体通路中的凋亡因子之一,是一种位于线粒体膜间隙的黄素蛋白,具有氧化还原和促凋亡双重功能。

本实验室利用 RT-PCR 技术获得 *SjAIF* 的全长 cDNA 序列,对 *SjAIF* 的功能区片段进行了克隆、表达以及生物信息学分析,制备了针对该基因片段重组蛋白的多克隆抗体,分析了该基因在不同时期童虫和成虫及雌雄虫间的表达差异,对该基因编码蛋白在虫体内的分布情况进行了免疫组织定位,为进一步研究其生物学功能和作用提供基础资料。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂和酶 TrizolRNA 提取试剂盒、逆转录酶、RNA 酶抑制剂购自 Invitrogen; Ex Taq DNA 聚合酶、pMD-19T 载体、T4DNA 连接酶、限制性内切酶 *Sac* I 和 *Xho* I、荧光实时定量 PCR (SYBR Green)检测试剂盒购自 TaKaRa 生物工程(大连)有限公司;琼脂糖凝胶电泳 DNA 纯化回收试剂盒和质粒快速提取试剂盒购自 Axygen 公司;硝酸纤维素膜(Whatman)购自北京经科宏达生物技术有限公司;Ni-NTA HisBind Resin 购自中科新生命生物科技有限公司;DAB 底物显色液、DAPI 溶液、四甲基联苯胺(TMB)购自天根生化科技(北京)

有限公司;山羊抗小鼠 IgG-HRP、山羊抗兔 IgG-HRP、Cy3 标记的山羊抗小鼠 IgG(H+L)二抗购自康为世纪生物科技有限公司。

1.1.2 菌种、实验动物和血清 感受态大肠杆菌 DH5 α 、BL21(DE3)购自北京全式金生物科技有限公司;6 w 龄雄性 BALB/c 小鼠购自斯莱克实验动物中心;雄性新西兰大白兔购自上海罗泾飞达实验动物养殖场;表达载体 pET-28a(+)和感染 42 d 兔阳性血清由本实验室保存。

1.2 方法

1.2.1 虫体的收集 新西兰大白兔以腹部贴片法分别感染 2 000~20 000 条日本血吸虫尾蚴,于感染后 7、14、21、28、35、42 d 分别剖杀,以肝门静脉灌注法收集虫体,用 PBS 充分洗涤虫体。将部分 42 d 合抱虫体吹打分开,分别收集雌虫和雄虫。将各时期虫体以及雌雄虫保存于液氮中备用。

1.2.2 RNA 的提取 取保存于液氮中的各个时期虫体以及雌雄虫,按照 TrizolRNA 提取试剂盒说明书分别提取虫体总 RNA。

1.2.3 生物信息学分析和目的基因的扩增 利用 DNASTar 软件分析 AIF 的理论等电点,蛋白质相对分子质量等参数。利用在线软件 Clustal Omega (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>)对 AIF 蛋白进行多重比对,利用 SignalP(www.cbs.dtu/services/Signalp)在线软件进行信号肽预测,利用在线软件 SMART(<http://smart.embl-heidelberg.de/>)和 NCBI(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)对 *SjAIF* 进行结构预测和功能分析,并由此确定本实验的功能区片段。根据目的基因的功能区片段设计引物,上游引物 P1: 5'-GCCGAGCTC GTACCTGAGTCACTTGTG-3'(下划线处为 *Sac* I 酶切位点),下游引物 P2: 5'-GCCCTCGAG AGCTAGACATGGTGAAGCAC-3'(下划线处为 *Xho* I 酶切位点),由上海华津生物科技有限公司合成。以反转录的日本血吸虫 14 d 虫体 cDNA 为模板进行 PCR 扩增。扩增条件为 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 30 s, 62 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 共 30 个循环;延伸温度设为 72 $^{\circ}$ C 10 min。PCR 产物按照 DNA 纯化试剂盒的步骤纯化后,将其连接 pMD19-T 载体,并将阳性质粒送往上海华津生物科技有限公司测序。

1.2.4 重组表达质粒的构建 将阳性质粒双酶切

后连接到表达载体 pET28a(+), 构建重组表达质粒 pET28a(+)-SjAIF 片段, 并转化至感受态 BL21 中。通过菌液 PCR、双酶切以及测序鉴定阳性重组质粒。

1.2.5 重组质粒在大肠杆菌中的表达以及纯化 将鉴定好的 pET28a(+)-SjAIF/BL21 接种于 LB 培养基中, 以 37 °C, 250 r/min 培养约 2~4 h 至 OD₆₀₀ ≈ 0.6 时, 加入 IPTG, 使其终浓度为 1 mmol/L, 进行诱导表达, 并确定其最佳表达条件和表达形式。将以包涵体形式存在的重组蛋白以 Ni-NTA HisBind Resin 纯化。

1.2.6 荧光实时定量 PCR 以日本血吸虫的看家基因 α -tubulin 为内参。SjAIF 实时定量 PCR 的扩增引物 sense: 5'-ATATGGCGGTGTGGCGTT-TATG-3', anti-sense: 5'-CACTCCTGTTTGC-CTACAAGTTTC-3', 其扩增片段长度为 172 bp; Sj α -Tubulin 的实时定量 PCR 的扩增引物 sense: 5'-CTGATTTTCCATTCGTTTG-3', anti-sense: 5'-GTTGTCTACCATGAAGGCA-3', 其扩增片段长度为 213 bp。引物由上海华津生物科技有限公司合成。Real-time PCR 反应体系: 2×SYBR Premix Ex Taq 10 μ L, 上游引物和下游引物各 0.4 μ L, ROX Reference Dye II 0.4 μ L, EASY Dilution 6.8 μ L, cDNA 模板 2 μ L。反应条件: 95 °C 预变性 30 s, 95 °C 5 s, 60 °C 34 s, 72 °C 15 s 共 40 个循环, 每个反应 3 孔重复。分析得出相对于看家基因的目的基因含量。

1.2.7 Western blotting 检测 将纯化的重组蛋白进行 SDS-PAGE 电泳, 经电转移至硝酸纤维素膜上。用重组蛋白 SjAIF 免疫的 BALB/c 小鼠血清和感染日本血吸虫 42 d 的兔阳性血清为一抗孵育, 以未感染血吸虫的小鼠和兔血清作为对照, 再分别以辣根过氧化物酶标记的山羊抗小鼠 IgG 和山羊抗兔 IgG 作为二抗进行孵育。用 DAB 作为底物避光显色。

1.2.8 ELISA 检测免疫小鼠血清抗重组蛋白特异性 IgG 抗体水平 将 30 只雄性 BALB/c 小鼠分为蛋白免疫组、206 佐剂组和 PBS 组, 每组 10 只。免疫程序为: 每 2 周免疫 1 次, 共免疫 3 次, 在 1 免前和每次免疫 1 周后眼眶静脉采血, 第 3 次免疫后 2 周, 每只小鼠经腹部贴片接种日本血吸虫尾蚴, 并于感染后 6 w 后剖杀, 收集剖杀后血清备用。ELISA 检测各组血清中的特异性 IgG 抗体水平。

1.2.9 免疫组化分析 取 21 d 血吸虫虫体制成 6 μ m 的冰冻切片。切片用丙酮固定 30 min, 10% 的

山羊血清封闭 2 h, 以重组蛋白免疫 BALB/c 小鼠的 3 兔血清为一抗室温孵育 2 h, 同时以未感染小鼠血清作为阴性血清对照。用 Cy3 标记的羊抗鼠 IgG 为二抗室温避光孵育, 最后用 DAPI 溶液复染 10 min。在各步骤之间用 PBST 洗涤 3 次, 每次 5 min。

2 结果

2.1 SjAIF 基因的生物信息学分析 生物信息学分析表明 SjAIFcDNA 全长为 3 441 bp, 编码的蛋白不含信号肽, 理论等电点为 6.61。本实验综合 SjAIF 的功能区结构域及抗原性分析, 选择编码该蛋白的第 200-476 位氨基酸的核苷酸片段进行克隆、表达和初步分析。选择来自埃及血吸虫、华支睾吸虫、细粒棘球绦虫、多房棘球绦虫、原鸡、人 (Accession No. 分别为 KGB36175.1、GAA47621.1、CDS21975.1、CDI96960.1、NP_001007491.1、O95831) 6 个物种的 AIF 蛋白进行氨基酸序列的多重比对。结果显示, 该基因所编码的氨基酸序列与埃及血吸虫的 AIF 相似性最高, 达到 68%, 与华支睾吸虫、细粒棘球绦虫、多房棘球绦虫、原鸡和人的相似性分别为 45%, 41%, 43%, 35% 和 33% (图 1)。

2.2 重组质粒在大肠杆菌中的表达及纯化 通过 PCR、酶切鉴定和测序分析, 表明成功构建了重组表达质粒 pET28a(+)-SjAIF (图 2、图 3)。

重组表达质粒在大肠杆菌 BL21 中获得表达, 且在诱导 5h 时表达量最高 (图 4)。SDS-PAGE 结果显示重组蛋白分子量约为 35 kDa, 与预期结果相符。重组蛋白以包涵体形式存在。经 Ni-NTA 树脂纯化后, 获得较纯的重组蛋白。

2.3 SjAIF 基因在不同时期童虫和成虫以及雌雄虫表达差异分析 RT-PCR 结果显示, SjAIF 在所检测的各个时期均有表达, 在 14 d 虫体表达量最低, 42 d 和 28 d 虫体表达量较高, 雌虫表达量高于雄虫 (图 5)。

2.4 Western blotting 检测重组蛋白的免疫原性 以重组蛋白免疫鼠血清和感染血吸虫 42 d 的兔阳性血清为一抗孵育, 结果显示在 35 kDa 处有明显的识别条带, 而以健康小鼠或兔血清作为对照则没有阳性条带出现, 说明重组蛋白具有很好的免疫原性和抗原性 (图 6)。

2.5 小鼠血清抗 SjAIF 特异性 IgG 抗体水平的检测 结果表明, 免疫组小鼠在一免后就产生了特异性 IgG 抗体, 在二免、三免至剖杀后特异性 IgG 水平

CLUSTAL O (1.2.1) multiple sequence alignment

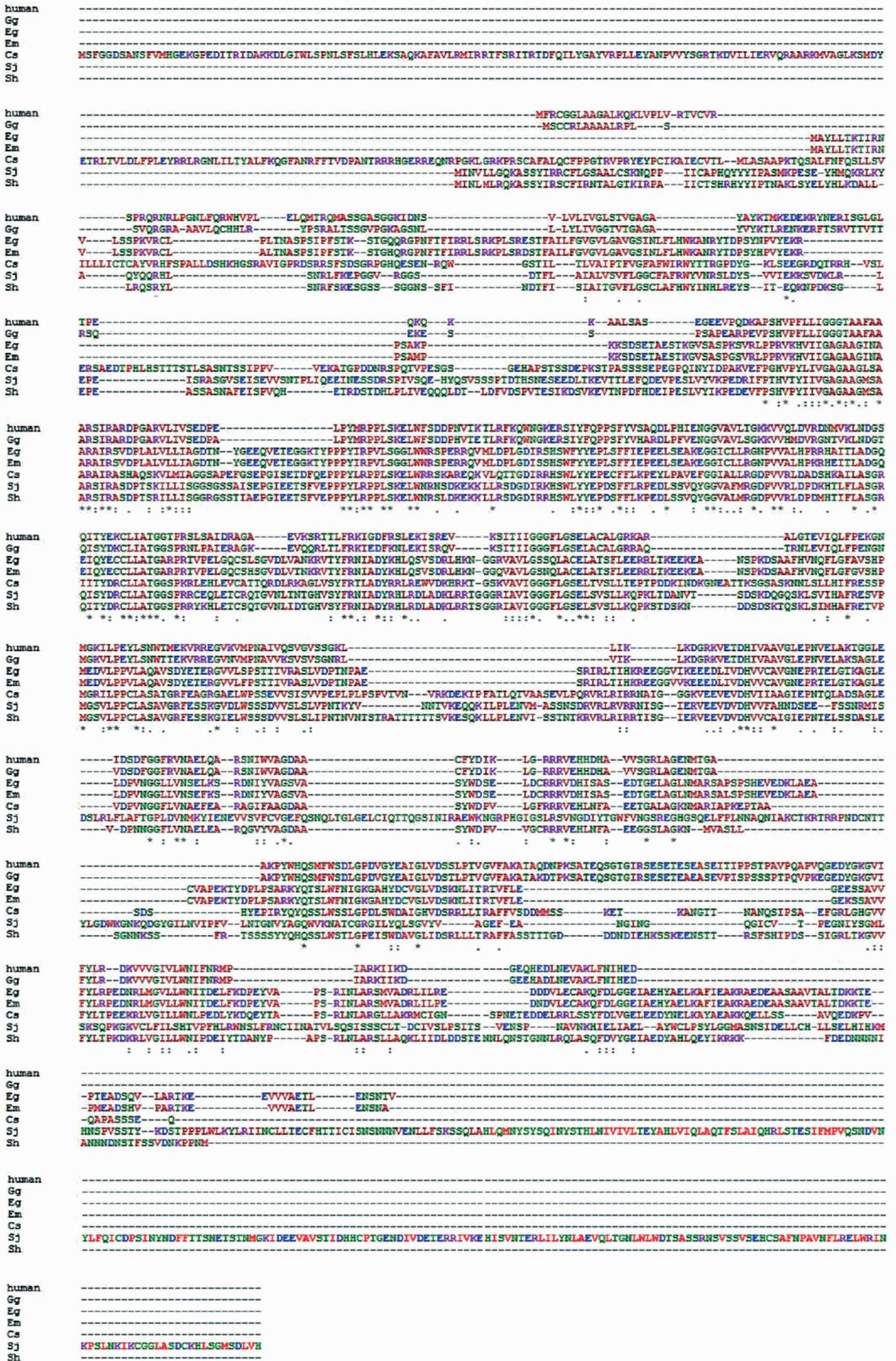
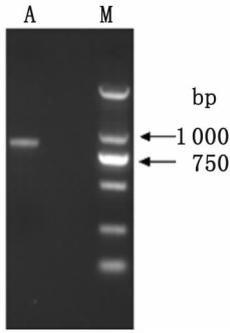


图 1 不同物种 *SjAIF* 基因氨基酸序列的同源性分析

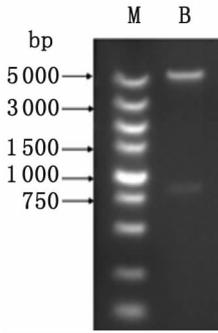
Fig.1 Homology analysis of the amino sequences of AIF gene among difference species



M: DNA marker; A: Product of PCR

图2 *SjAIF* PCR 的扩增产物;

Fig.2 Amplification of *SjAIF* by PCR

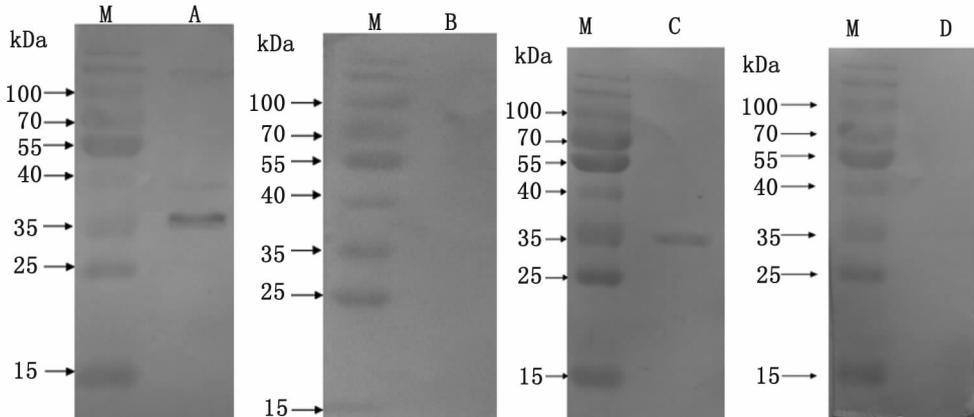


M: DNA marker; B: pET-28a-*SjAIF* digested with *Sac* I and *Xho* I.

图3 重组质粒 pET-28a-*SjAIF* 的双酶切鉴定

Fig.3 Recombinant plasmid identified by enzyme digestion

持续升高。而 206 佐剂对照组和 PBS 对照组小鼠血清的特异性 IgG 抗体水平基本保持不变,一直维持在较低水平,只在血吸虫攻击感染后 6 周才见到略有升高(图 7)。

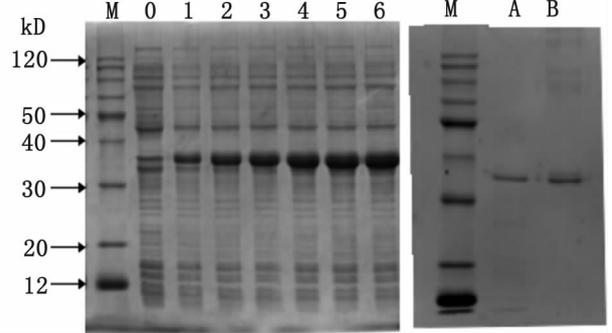


M: marker; A:Recombinant protein was probed with mouse sera against *SjAIF*; C:Recombinant protein was probed with sera from rabbit infected with *S. japonicum*; B,D: Recombinant protein was probed with the normal mice or rabbit sera respectively.

图6 pET28a(+)-*SjAIF* 重组蛋白的 Western blotting 分析

Fig.6 Western blotting analysis of *SjAIF* expression product

2.5 *SjAIF* 蛋白在虫体内的分布分析:在荧光显微镜下可以观察到用 Cy3 标记的羊抗鼠 IgG 二抗发出红色荧光以及用 DAPI 复染核酸后发出的蓝色



M: Marker; 0-6: Recombinant plasmid pET-28a(+)-*SjAIF* induced with IPTG for 0-6h; A, B: Purified recombinant protein of *SjAIF*.

图4 SDS-PAGE 分析 pET-28a(+)-*SjAIF*/BL21 的蛋白表达情况

Fig.4 SDS-PAGE analysis of the expression of pET-28a(+)-*SjAIF*/BL21 in *E. coli*

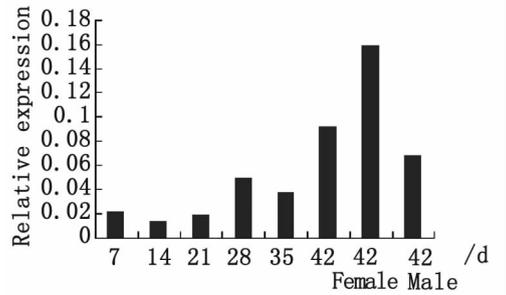


图5 荧光实时定量 PCR 分析 *SjAIF* 基因在日本血吸虫不同阶段童虫和成虫的表达分析

Fig.5 Expression profiles of *SjAIF* at differential stages of schistosomula and adult worms of *S. japonicum* by real-time PCR

荧光,结果表明 *SjAIF* 蛋白主要存在于日本血吸虫体被,少部分分布于实质组织中(图 8)。

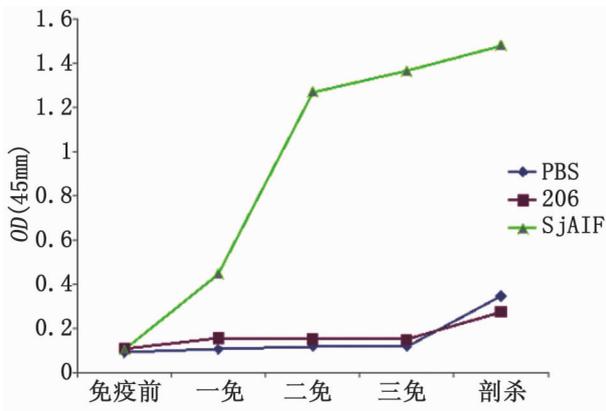


图 7 BALB/c 小鼠血清抗 *SjAIF* 抗原特异性 IgG 抗体水平检测

Fig. 7 Specific IgG level against *SjAIF* by ELISA

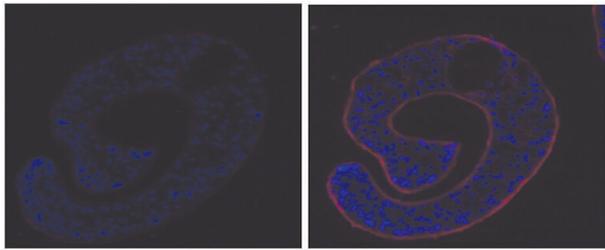


图 8 *SjAIF* 蛋白在 21d 日本血吸虫虫体内的分布分析 (10 × 40)

Fig. 8 Localization analysis of *SjAIF* by immunolocalization in 21d-day-old worms of *S. japonicum* (10 × 40)

3 讨论

细胞凋亡是多种生物平衡细胞增殖与组织发育的重要机制。凋亡过程的紊乱可能直接或间接导致许多疾病的发生,如癌症和自身免疫性疾病等。根据不同哺乳动物对日本血吸虫感染的易感性可把日本血吸虫终末宿主分为适宜宿主、非适宜宿主和抗性宿主。东方田鼠是迄今为止发现的唯一一种日本血吸虫无法在其体内发育成熟的哺乳类动物抗性宿主^[7]。已有研究表明,一些不同宿主来源的日本血吸虫凋亡相关基因呈现差异表达,日本血吸虫可能存在类似哺乳动物或线虫等的凋亡通路^[6,8]。有实验发现,肿瘤治疗药物伊马替尼能诱导曼氏血吸虫虫体生殖器官细胞发生凋亡,最终致使虫体死亡^[9]。细胞凋亡研究有可能为血吸虫新药靶和候选疫苗分子的筛选提供新思路。

凋亡诱导因子(AIF)是一种位于线粒体内外膜间隙的黄素蛋白,具有氧化还原酶和促凋亡双重功能。正常情况下 AIF 能够依赖其氧化还原酶的功能催化细胞色素 C 和 NAD 之间的电子传递而阻止凋亡。当线粒体受到凋亡刺激后,引起线粒体膜通透性转运孔的结构发生变化而开放,导致凋亡诱导因子 AIF 从线粒体释放到细胞质中,最终引起细胞

凋亡^[10]。AIF 是线粒体凋亡通路中的凋亡因子之一,是第一个被鉴定出可以不依赖半胱天冬酶(caspase)信号通路而直接介导细胞发生凋亡的分子^[11]。但后来又有研究发现在线虫体内,CED-3(caspase 的同源物)的活性对于 WAH-1(AIF 的同源类似物)从线粒体释放很重要,表明在线虫体内 WAH-1 的促凋亡活性依赖于 CED-3^[12]。另有研究发现 AIF 引起的细胞凋亡与 caspase 级联反应之间并不是完全独立的,激活的 caspase 能使纯化的线粒体释放 AIF 因子,Bcl-2 家族在某种程度上能抑制 AIF 从线粒体的释放^[13-14]。因此推测在细胞死亡的级联反应中,AIF 和 caspase 可能存在一种合作关系,而它们相互之间的作用可能取决于凋亡刺激物和细胞的类型。而 AIF 在日本血吸虫中的作用及其机制尚不明确。

生物信息学分析表明本实验研究的 *SjAIF* 功能区片段包含一个吡啶核苷酸-二硫化物氧化还原酶家族蛋白,是一种肿瘤相关蛋白。有研究发现 FAD 依赖的吡啶核苷酸-二硫化物氧化还原酶 DepH 可以催化抗癌药物 FK228 前体形成二硫键,促进 FK228 的活化,进而促进癌细胞凋亡和癌症的康复^[15]。由此推测 *SjAIF* 的吡啶核苷酸-二硫化物氧化还原酶结构域的功能行使是否与 FAD/NAD(P)结合域结构域(第 221-428 位氨基酸)的功能有关?但血吸虫在此方面的研究尚不多见,本实验为发现促进血吸虫凋亡的潜在新靶点奠定了基础。本实验研究结果表明 *SjAIF* 基因在血吸虫感染宿主 7 d、14 d、21 d、28 d、35 d、42 d 都有表达,在 7 d ~ 21 d 表达量较低,可能与维持线粒体的结构稳定,以提供大量的能量用于血吸虫的形态结构和生理功能的改变,使血吸虫在终末宿主体内正常的生长发育有关。Western blotting 结果表明该重组表达产物具有良好的抗原性,用 *SjAIF* 重组抗原免疫 BALB/c 小鼠后,可诱导小鼠体内的抗重组抗原的特异性 IgG 抗体迅速产生,并且维持在一个较高的水平。免疫组化结果表明该蛋白主要存在于日本血吸虫体被与实质组织中。

本实验首次克隆表达了 *SjAIF* 基因的功能区片段,并对其生物学特性进行了初步研究,为进一步探讨 *SjAIF* 在血吸虫生长发育中的作用以及其功能奠定了基础。

参考文献:

- [1] Zhang SY, Jiang SF. Development plan of the schistosomiasis vaccines[J]. Foreign Med Sci Parasit Dis, 2004, 31(2): 66-68.

(in Chinese)

- 张述义, 蒋守富. 血吸虫病疫苗开发行动计划[J]. 国外医学: 寄生虫病分册, 2004, 31(2): 66-68.
- [2] Liang YS, Li HJ, Dai JR, et al. Studies on resistance of *Schistosoma to praziquantel* XIII resistance of *Schistosoma japonicum* to praziquantel is experimentally induced in laboratory[J]. Chin J Schisto Ctrl, 2011, 23(6): 605-610. (in Chinese)
- 梁幼生, 李洪军, 戴建荣, 等. 血吸虫对吡喹酮抗药性的研究 XIII 日本血吸虫吡喹酮抗药性的实验诱导[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2011, 23(6): 605-610.
- [3] Cioli D. Chemotherapy of schistosomiasis: an update[J]. Parasitol Today, 1998, 14(10): 418-422. DOI: 10.1016/S0169-4758(98)01323-4
- [4] Peng JB, Hong Y, Gobert GN, et al. Apoptosis governs the elimination of *Schistosoma japonicum* from the non-permissive host *Microtus fortis*[J]. PLoS One, 2011, 6(6): e21109. DOI: 10.1371/journal.pone.0021109
- [5] Guo XY, Hong Y, Han HX, et al. Observation of apoptosis in 14 days-old Schistosomulum of *Schistosoma japonicum*[J]. Chin Vet Sci, 2014, 44(06): 558-562. (in Chinese)
- 郭小勇, 洪扬, 韩宏晓, 等. 日本血吸虫 14d 童虫凋亡现象的观察[J]. 中国兽医科学, 2014, 44(06): 558-562.
- [6] Han HX, Peng JB, Gobert GN, et al. Apoptosis phenomenon in the schistosomulum and adult worm life cycle stages of *Schistosoma japonicum*[J]. Parasitol Int, 2013, 62(2): 100-108. DOI: 10.1016/j.parint.2012.09.008
- [7] Li H, He YY, Lin JJ, et al. The observation for the phenomenon of *Microtus fortis* aganisting *Schistosoma japonicum* [J]. Chin J Vet Parasitol, 2000, 8(2): 12-15. (in Chinese)
- 李浩, 何艳燕, 林矫矫, 等. 东方田鼠抗日本血吸虫病现象的观察[J]. 中国兽医寄生虫病杂志, 2000, 8(2): 12-15.
- [8] Peng JB, Han HX, Gobert GN, et al. Differential gene expression in *Schistosoma japonicum* Schistosomula from Wistar rats and BALB/c mice[J]. Parasite Vector, 2011, 4(1): 155-166. DOI: 10.1186/1756-3305-4-155
- [9] Beckmann S, Grevelding CG. Imatinib has a fatal impact on morphology, pairing stability and survival of adult *Schistosoma mansoni* in vitro[J]. Int J Parasitol, 2010, 40(5): 521-526. DOI: 10.1016/j.ijpara.2010.01.007
- [10] Wang CZ, Cao C, Ma QJ. The regulation of apoptosis by apoptosis-inducing factor[J]. Chem Life, 2005, 25(6): 454-456. (in Chinese)
- 王昌正, 曹诚, 马清钧. 凋亡诱导因子(AIF)对细胞凋亡的调控[J]. 生命的化学, 2005, 25(6): 454-456.
- [11] Susin SK, Lorenzo HK, Zamzaml N, et al. Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor[J]. Nature, 1999, 397(6718): 441-446. DOI: 10.1038/17135
- [12] Wang XC, Yang CL, Chai JJ, et al. Mechanisms of AIF-mediated apoptotic DNA degradation in caenorhabditis elegans[J]. Science, 2002, 298(5598): 1587-1592. DOI: 10.1126/science.1076194
- [13] Cai JY, Yang J, Jones DP. Mitochondrial control of apoptosis: the role of cytochrome c[J]. Biochimica et Biophysica Acta, 1998, 1366: 139-149. DOI: 10.1016/S0005-2728(98)00109-1
- [14] Cande C, Cecconi F, Dessen P, et al. Apoptosis-inducing factor (AIF): key to the conserved caspase-independent pathways of cell death? [J]. J Cell Sci, 2002, 115(24): 4727-4734. DOI: 10.1242/jcs.00210
- [15] Wang C, Wesener SR, Zhang HL, et al. An FAD-dependent pyridine nucleotide-disulfide oxidoreductase is involved in disulfide bond formation in FK228 anticancer decapeptide[J]. Chem Biol, 2009, 16(6): 585-593. DOI: 10.1016/j.chembiol.2009.05.005

收稿日期:2014-10-08;修回日期:2014-12-22

欢 迎 订 阅

中 国 人 兽 共 患 病 学 报

邮发代号:34-46

全年订价:96元