寄生虫基因组学研究进展

陈涛[1]，任晓燕[2]，尤平[1*]
(1. 陕西师范大学生命科学学院，西安 710062；2. 陕西省太白县畜牧局)

摘要：寄生虫病严重危害人和动物的健康，但目前防治寄生虫病尚存在困难，随着分子生物学技术的迅速发展，运用分子生物学技术手段来控制寄生虫病将成为可能。本文主要介绍寄生虫基因的组成及特征、目前的测序现状、基因组测序、分析、基因功能及蛋白质组的研究技术等，可为寄生虫种类鉴定、寄生虫病诊断、药物设计和疫苗研制提供新的方向。

关键词：寄生虫；基因组学；寄生虫病
中图分类号：R38；Q343.1　**文献标识码**：A　**文章编号**：1000－7083(2009)06－0941－04

The Progress of Parasite Genomics

CHEN Tao[1], REN Xiao-yan[2], YOU Ping[1*]
(1. College of Life Sciences, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China; 2. Farming and Veterinary Center of Taibai County)

Abstract: The health of people and animals are seriously endangered by parasitic diseases which are difficult to prevent and treat. With the rapid development of molecular biology technology, it may be possible to use technical means to control parasitic diseases. This paper mainly introduces the composition and characteristics of the parasite gene; the current status of sequencing; the research skill of genome sequencing, analysis, gene function and proteomics. The purpose of this paper is to supply new methods to identify the species of parasites, to show the new direction in diagnosing parasitic disease, and to design medicines and develop vaccines.

Key words: parasite; genomics; parasitic diseases

寄生虫为营寄生生活的动物，是引起人类和动物疾病的重要病原。有些寄生虫如恶性疟原虫 *Plamodium falciparum* 和血吸虫 *Schistosoma* 被认为是对人类危害最严重的病原。近年来，随着分子生物学研究技术的日益成熟，应用分子生物学技术研究寄生虫基因组学，可以为寄生虫病的防治提供理论依据和技术手段。目前，一些寄生虫的基因已得到测序，如曼氏血吸虫 *Schistosoma mansoni* 的 *dicer* 基因（编码 RNA 干扰蛋白的主要基因）(Peterson & Skelly, 2008)、布氏锥虫 *Trypanosoma brucei* 的 3 种转运基因、常规抗原基因（Kaminsky, 1998; Pays, 2005）、艾美球虫 *Eimeria tenella* 微线基因及细胞器 Apicoplast 的基因组（Ryan *et al.*, 2000; Cai *et al.*, 2003）、恶性疟原虫 CYP2B6 等位基因（抗青蒿素药品）(Mehlotra *et al.*, 2006)、利什曼原虫 *Leishmania majo* 的 *TcRRMs* 和 *Tcp*28 基因及幼虫期 5′区域的 *LORIEN* 和 *MAT*2 基因（Gomesa *et al.*, 2004; Estrada *et al.*, 2008）、粘孢子虫 *Myxobolus cerebralis* 的半胱氨酸蛋白基因（Kelley *et al.*, 2003）、鲑鱼三代虫 *Gyrodactylus salaris* 的核糖体基因（Cunningham *et al.*, 1995）、舌状绦虫 *Ligula intestinalis* 的核糖体基因及两个线粒体基因（Bouzid *et al.*, 2008）等。本文从寄生虫基因组成和特点、测序现状、测序及分析技术、免疫逃避基因、功能基因组的研究等方面进行综述，通过研究这些具有特定功能的基因，可以帮助阐明有关基因编码序列的特征，鉴定新基因，提供有用的基因标记，比较基因序列的同源性，探讨表达蛋白的功能，从而为寄生虫种类的鉴定、寄生虫病的诊断、药物设计和疫苗研制提供新的方向。

1　寄生虫的基因组成和特点

寄生虫是一类营寄生生活的生物，一般包括寄生原虫、寄生蠕虫、节肢动物等，根据寄生的部位可分为内寄生（endoparasile）和外寄生（ectoparasite）两种，它们是引起人类和动物疾病的重要病原（Wang, 2006）。寄生虫涉及的物种从原生动物门、扁形动物门、线形动物门、软体动物门到节肢动物门等。相对于高等脊椎动物，寄生虫基因组除了核（染色体）DNA 之外，还有线粒体（mitochondrian）DNA、动基体（kinetoplast）DNA 和质体（plastid）DNA 等。在一些低等的寄生原虫中，甚至没有成型的线粒体 DNA，如某些阿米巴除了染色体 DNA 外，只有类似细菌质粒的环状 DNA 和胞质 DNA。

1.1　核（染色体）基因组

1）基因组大小：寄生虫染色体基因组的大小差别较大，其中，微孢子虫 *Microsporidia* 基因组的大小不到 10 Mb，在整个真核生物中最小；血吸虫基因组为 270 Mb，相当于人类基因组的 1/10，为最大的；2）重复序列：寄生虫基因组还含有

收稿日期：2008-11-20　**基金项目**：陕西省自然科学基础研究计划项目（2007C02）
作者简介：陈涛（1984～），男，硕士研究生，主要从事动物学及鱼类寄生学研究，E-mail：taochen07@stu.snnu.edu.cn
*通讯作者 Corresponding author, E-mail: youping@snnu.edu.cn

高度、中度和单拷贝重复序列，只是不同的寄生虫重复序列所占的比例不同，利什曼原虫基因组中重复序列较小，如杜氏利什曼原虫 *L. donovani*，高度重复序列占核基因组的 2%，中度重复序列占 13%，其余为单拷贝序列；3）碱基含量：寄生虫基因组碱基 G + C 含量在 30% ~40% 之间，AT 含量丰富；4）密码子的偏好性：寄生虫基因组在密码子 3 个不同位置上的碱基利用情况存在偏好性，据统计，在疟原虫中，多数密码子的第三位以 A 或 T 最常见，而在表达水平较高的基因中，则多选择 C，这就使疟原虫基因在体外难以克隆表达；5）多态性：如利什曼原虫种内、种间染色体多态性相当高，主要是由于染色体大小改变所致，变化程度可以达到染色体长度的 25%，微孢子虫的基因多态性也非常显著，其核糖体内转录间隔区（internal transcribed spacer，ITS）的多态性在不同种间差异明显，此外，其他多种寄生虫 ITS 序列、核型及染色体数目也呈多态性。

1.2　线粒体基因组

线粒体存在于几乎所有的真核生物中，是含有自身基因组的细胞器，其基因组长度为 14 ~20 kb 的环状分子，具有编码区和非编码区。线粒体 DNA 具有母系遗传和快速进化的特点，较染色体 DNA 更易反映种、株乃至型间差异，由于具有较好的稳定性，因此通常被用来评价物种的种系发生。目前已对血吸虫、恶性疟原虫、弓形虫 *Toxoplasma*、单殖吸虫（*Microcotyle sebastis*，*G. thymalli*，*G. salaris*，*G. derjavinoides*）、血吸虫（*S. japonicum*，*S. mekongi*，*S. mansoni*，*S. haematobium*，*S. spindale*）、肝片吸虫 *Fasciola hepatica*、卫氏并殖吸虫 *Paragonimus westermani* 及绦虫（*Hymenolepis diminuta*，*Taenia asiatica*，*T. solium*，*T. crassiceps*，*Echinococcus multilocularis*，*E. granulosus*）等多种寄生虫的全线粒体基因组作了测序分析（Littlewood *et al*., 2006；Valles & Boore, 2006；Park *et al*., 2007；Plaisance *et al*., 2007；Huyse *et al*., 2007、2008）。

1.3　动基体基因组

利什曼原虫含有一个单管状线粒体叫动基体，每个动基体有不同寻常的单个动基体 DNA（kinetoplast DNA，kDNA），kDNA 是具有成千上万拷贝的小环与拷贝数较少的大环在拓扑学上互相连环，形成巨大的有高度组织结构的盘状网络，位于鞭毛基体的基质内；小环被转录成导向 RNA，利什曼原虫的小环 DNA 序列高度一致性的特征可以区分种、亚种间差异，甚至可用于临床诊断。

1.4　质体基因组

顶复门寄生虫中存在一种称为质体（apicoplast，plastid）的细胞器，这是一种由四层膜质包围 DNA 的独特细胞器。迄今为止在包括疟原虫、弓形虫、巴贝虫 *Babesia* 和艾美球虫等多种顶复门原虫都发现了这种细胞器。质体 DNA 也为闭合环状，在弓形虫和疟原虫中其大小为 35 kb。序列比对发现，质体 DNA 与藻类植物的叶绿体 DNA 具有较高的同源性，其基因组只保留了 RNA 聚合酶亚单位、rRNA 和 tRNA 的基因。

1.5　内共生菌基因组

已证实绝大多数丝虫 *Filaria* 中都存在内共生菌，这种立克次氏体 *Rickettsia* 样的生物属于沃尔巴克体属 *Wolbachia*，有助于丝虫的生长发育。对丝虫的动物宿主使用抗立克次氏体的抗生素可使宿主体内的丝虫发育迟缓，因此，*Wolbachia* 基因组的研究可以为寻找新的疫苗和药物靶点提供信息。

2　寄生虫基因组测序现状

目前许多寄生虫测序工作已取得了一些成果。测出的序列分 3 类：A. 完整或接近完整的基因组序列，主要是可读框区的重复序列，通常用重叠群（contigs）表示；B. 基因组测序序列标签（GSSs），主要有浏览基因组序列产生或随机克隆、细菌人工载体（BAC）末端序列，用来扩增大片段的 DNA（200 kb 左右）；C. 表达序列标签（ESTs），由 mRNA 转录产生的 cDNA，并扩增后进行的测定序列。目前 GenBank 中已收录 371 523 条核酸序列，389 053 条 ESTs，23 206 条 GSSs（2008 年 11 月）。已经完成基因组测序的寄生虫包括恶性疟原虫、约氏疟原虫 *P. yoelii*、马来布鲁线虫 *Brugia malayi*、克氏锥虫 *T. cruzi*、小隐孢子虫 *Cryptosporidium parvum* 及冈比亚按蚊 *Anopheles gambiae* 等的基因组全序列；单殖吸虫（*M. sebastis*，*G. thymalli*，*G. salaris*，*G. derjavinoides*）、肝片吸虫 *F. hepatica*、卫氏并殖吸虫 *P. westermani*、6 种绦虫、5 种血吸虫等的全线粒体基因测序；利什曼原虫、弓形虫、贾第虫 *Giardia lamblia*、阿米巴虫 *Amoeba*、鸡艾美球虫、犬新孢子虫 *Neospora*、小泰勒虫 *Theileria annulata*、人蛔虫 *Ascaris lumbricoides*、捻转血矛线虫 *Haemonchus contortus*、牛巴贝斯虫 *Babesiabovis*、旋毛虫 *Trichina worm*、粘孢子虫 *M. cerebralis*、鲑鱼三代虫及舌状绦虫 *L. intestinalis* 等许多基因测序也取得较大的进展（Cunningham *et al*., 1995；Gutierrez, 2000；Degrave *et al*., 2001；Ersfeld, 2003；Aboobaker & Blaxter, 2004；Belli *et al*., 2005）。

3　寄生虫基因组测序及分析技术

3.1　现有的寄生虫基因组测序技术

（1）细菌人工染色体（BAC）技术：是测定邻近序列的理想方法和鸟枪法测序的良好基础，BAC 文库可获得约 350 kb 的 DNA；（2）表达序列标签（EST）：通常较短（<600 bp），来自随机挑选的 DNA 克隆（single pass sequences），在分析和表达生物体基因特性方面，EST 是一种迅速有效的方法；（3）序列标签位置（sequence tagged site，STS）：是一种短的（200 bp ~500 bp）基因组 DNA，同义于基因组筛查序列标签（GSSs）；（4）鸟枪测序法（shotgun sequence）技术：是对经剪切、声处理或不完全限制性消化得到的克隆 DNA 片段进行随机测序，是发现新基因的有效方法，能确定同源序列，用于物理图谱；（5）芯片（chip）技术：是将高密度寡核苷酸序列固定在约 1.2 cm^2 玻片上，探针可杂交到高密度的序列中，可鉴定新的生物体配位子及研究分子间的相互作用；（6）聚类分析（cluster analysis）技术：用于数目庞大的序列分析，对各阶段基因簇进行分析，可发展出阶段特异性的靶标；（7）荧光原位杂交（FISH）：一种物理制图方法，用荧光标记 DNA 片段，使其在染色体原位上直接可见，用于基因组比较分析；（8）标记标签突变（signature tagged mutagenesis，STM）技术：是以整个基因组为基础的研究病原体致病机制，可在体内对毒力基因进行高通量筛选的一种新方法；（9）同线性分析

(synteny analysis):是根据某些物种的相关基因序列存在高度相似性,人们可能利用两侧的“管家基因”(housekeeping genes)作为基因边界来克隆某一特定基因;(10)酵母人工染色体(YAC):用于克隆约 100 ~ 2000 kb DNA 片段的载体,它由端粒、着丝点以及酵母细胞自主复制所需的基本序列组成(Tetteh, 1999)。

3.2 序列分析技术

研究大规模基因表达技术分为基因表达连续分析(serial analysis of gene expression, SAGE)技术和微阵列分析(microarray analysis)技术。SAGE 分析不同细胞群的基因表达,从而对正常和疾病状态下组织、细胞基因表达做定性和定量分析,对低丰度表达基因有较好检测效果,还可利用得到的未知基因转录产物的短序列发现新基因,已用于刚地弓形虫和恶性疟原虫(Munasinghe *et al.*, 2001);微阵列分析技术最突出的特点是可一次性检测多种样品,获得多种基因的差别表达图谱,已成功地运用 cDNA 微阵列同时检测 1 万多个基因的表达,也已应用于刚地弓形虫、恶性疟原虫和布氏锥虫及克氏锥虫以及寄生虫蛋白质组学的研究(Barrett *et al.*, 2000; Hayward *et al.*, 2000)。

4 寄生虫免疫逃避的基因

目前,已揭示了一种关于布氏锥虫抗原变异的免疫逃避机制。通过研究病毒系统中具有免疫功能的细胞因子模拟物及拮抗剂,发现了寄生生物基因组中的许多细胞因子同源物和免疫调节剂,一种类似哺乳动物迁移抑制因子(MIF)的同源物是丝虫基因组研究中首批 ESTs 序列之一,并且是 25 个最常见表达基因之一(Blaxter *et al.*, 1996)。马来布鲁线虫 *B. malayi* 的 MIF 同源物对人类巨噬细胞具有迁移抑制作用(Pastrana *et al.*, 1998),虽然这种分子在寄主与寄生虫相互作用的生物学意义还不清楚,但马来布鲁线虫的 MIF 同源物可能改变炎症反应并导致 Th2 细胞(能分泌 IL-4 和 IL-5 等细胞因子,与 B 细胞增殖、分化、成熟有关,能促进抗体生成,增强抗体介导的体液免疫应答)因子在传染过程中偏向保守。马来布鲁线虫基因组同样揭示了一些转座生长因子 β(TGFβ)(属于对细胞生长、分化和免疫功能都有重要的调节作用的 TGF-β 超家族,在炎症、组织修复和胚胎发育等方面也起重要作用)的同源物(Gomez-Escobar *et al.*, 1998),发现虫体发展多倍体阶段表达的 tgh-2 基因与人类 TGF-β1 基因同源,tgh-2 基因缺乏阶段特征性调节以及具有 TGFβ 生物活性使其成为寄生虫获得性免疫调节抗原的有利侯选者。此外,马来布鲁线虫丝氨酸蛋白酶家族的丝氨酸抑制剂,病毒编码的丝氨酸蛋白酶抑制剂对许多免疫反应起抑制作用,包括补体系统:1L-1 活化,裂解和凋亡途径。马来布鲁线虫的 SPN2(一种显著的 B 细胞和 T 细胞抗原)转录很丰富,代表了 2% 的 ESTs 序列,仅出现在分泌活性蛋白的微丝蚴阶段,SPN2 可能在 IgG4 共同刺激物中起了与其他丝氨酸抑制剂、α-1 抗胰蛋白酶同样的作用(Zang *et al.*, 2000)。所有这些在感染中起作用的同源分子也都出现在秀丽线虫 *Caenorhabditis elegans*。此外粘孢子虫的半胱氨酸蛋白基因(MyxCP-1)在对寄主感染中也起很大作用。许多寄生虫的基因与免疫逃避有关,亟待深入研究。

5 寄生虫功能基因组学和蛋白质组学研究

寄生虫功能基因组学和蛋白质组学研究主要有:(1) 转基因研究。已经建立了对弓形虫、恶性疟原虫、利什曼原虫、锥虫、球虫等的基因定点整合技术(Balu & Adams, 2007; Brindley & Pearce, 2007),利用该技术不但可对基因进行敲除,还可将外源基因进行定点插入,在基因或基因产物的功能分析方面具有很大的应用前景;(2) RNA 干扰(RNA interference, RNAi)研究。RNAi 技术首先在秀丽线虫得到证实和应用(Fire *et al.*, 1998),随后在许多生物(寄生原虫、线虫和昆虫)的基因功能分析中得到广泛应用;(3) 基因组杂交和定量 PCR,用于研究基因组表达规律;(4) 全细胞蛋白质组学研究。蛋白质组学研究技术经历了从二维聚丙烯酰胺凝胶电泳技术、质谱分析(mass spectrometry, MS)技术到蛋白质芯片技术的发展过程,这些技术几乎都已经或正在应用于寄生虫蛋白质组基因组学研究。开展寄生虫基因组学和蛋白质组学研究是取得具有研究新成果的一个重要方面,我国在血吸虫基因组转录和蛋白质组学研究方面已经奠定了很好的基础(Liu *et al.*, 2006)。

6 展望

当前分子生物学技术日新月异,但这对深入了解和防治寄生虫病还远远不够,寄生虫学的很多研究领域还存在着空白,我国又是寄生虫病危害较为严重的国家之一,因此寄生虫基因组学研究将为寄生虫及寄生虫病防治提供更多有用的资料,今后应该加强以下几个方面的研究。

6.1 重视寄生虫学的基础研究

加强重要寄生虫和新发现寄生虫的病原生物学研究,准确描述形态结构,探明生活史。以寄生虫的形态学为基础,结合生态学、免疫学、蛋白质分析技术、核酸分析技术等综合分析,对一些难以明确分类地位的种类进行分类鉴定和种系发生研究。应用现代生物技术、免疫学技术开展寄生虫生理生化、抗原变异、寄生虫病的分子流行病学、免疫机制等研究,为寄生虫病免疫预防提供基础。

6.2 加强寄生虫分布和流行规律以及检测方法的研究

一些寄生虫在我国的分布及流行规律还不完全清楚,并缺乏特异和快速的检测方法,造成的危害却比较严重,因此应强化对寄生虫的分布和流行规律的研究,发展更新更好的检测技术,为寄生虫病的防治提供有用的资料。

6.3 加强新基因功能的研究

随着分子生物学技术的发展,基因的发现速度大大加快,但基因功能的研究还远远落后于基因发现的步伐。随着各种功能基因组学研究方法及技术的不断创新及运用,更多涉及寄生虫生长、发育、入侵、致病、免疫逃避、期别、性别差异表达、耐药性等相关基因的功能将得到阐明,特别是对与免疫相关的基因进行更好的分析,评估基因的生物学功能,可深入地认识寄生虫和寄生虫病,这将为发现新的药物靶标及新的疫苗侯选基因开辟广阔空间,为最终控制寄生虫病奠定坚实的基础。

7 参考文献

Aboobaker AA, Blaxter ML. 2004. Functional genomics for parasitic nematodes and platyhelminths[J]. Trends Parasitol, 20(4): 178 ~ 184.

Balu B, Adams JH. 2007. Advancement in transfection technologies for *Plasmodium*[J]. Int J Parasitol, 37(1): 1 ~ 10.

Barrett J, Jeferies JR, Brophy PM. 2000. Parasite protemics[J]. Parasitology Today, 16(9): 400 ~ 403.

Belli SI, Walker RA, Flowers SA. 2005. Global protein expression analysis in apicoplexan parasites: current status[J]. Proteomics, 5(4): 18 ~ 24.

Blaxter ML, Raghavan N, Ghosh I, *et al.* 1996. Genes expressed in *Brugia malayi* infective third stage larvae[J]. Mole Biochem, 77(1): 77 ~ 93.

Bouzid W, Stefka J, Hyps V, *et al.* 2008. Geography and host specificity: Two forces behind the genetic structure of the freshwater fish parasite *Ligula intestinali* (Cestoda: Diphyllobothriidae)[J]. Int J Parasito, 38(12): 1465 ~ 1479.

Brindley PJ, Pearce EJ. 2007. Genetic manipulation of *Schistosomes*[J]. In J Parasito, 37(5): 465 ~ 473.

Cai XM, Fuller AL, McDougald LR, *et al.* 2003. Apicoplast genome of the coccidian *Eimeria tenella*[J]. Gene, 321: 39 ~ 46.

Cunningham CO, McGillivary DM, Mackenzie K. 1995. Phylogenetic analysis of *Gyrodactylus salaries* Malmberg, 1957 based on the small subunit (18S) ribosomal RNA gene[J]. Mole Biochem Parasito, 71(1): 139 ~ 142.

Degrave WM, Melville S, Ivens A, *et al.* 2001. Parasite genome initiatives[J]. Int J Parasitol, 31(5-6): 532 ~ 536.

Ersfeld K. 2003. Genomes and genome projects of protozoan parasites[J]. Current Issues in Mole Biolo, 5(3): 61 ~ 74.

Estrada CG, Pertejo YP, Ordonez D, *et al.* 2008. Characterization of the 5′ region of the *Leishmania infantum* LORIEN/MAT2 gene cluster and role of LORIEN flanking regions in post-transcriptional regulation[J]. Biochimie, 90(9): 1325 ~ 1336.

Fire A, Xu SQ, Montgomery MK, *et al.* 1998. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*[J]. Nature, 391(6669): 806 ~ 811.

Gomesa GG, Urmenyia TP, Rondinellia E, *et al.* 2004. TcRRMs and Tcp28 genes are intercalated and differentially expressed in *Trypanosoma cruzi* life cycle[J]. Biochem biophysical res communications, 322(3): 985 ~ 992.

Gomez-Escobar N, Lewis E, Maizels RM. 1998. A novel member of the transforming growth factor-beta (TGF-beta) superfamily from the filarial nematodes *Brugia malayi* and *B. pahangi*[J]. Exp Parasitol, 88(3): 200 ~ 209.

Gutierrez JA. 2000. Genomics: from novel genes to new therapeutics in parasitology[J]. Int J Parasitoly, 30(3): 247 ~ 252.

Hayward RE, Derisi JL, Alfadhli S, *et al.* 2000. Shotgun DNA microarrays and stage-specific gene expression in *Plasmodium falciparum* malaria[J]. Moler Microbiol, 35(1): 6 ~ 14.

Huyse T, Plaisance L, Webster BL, *et al.* 2007. The mitochondrial genome of *Gyrodactylus salaris* (Platyhelminthes: Monogenea), a pathogen of Atlantic salmon (*Salmo salar*)[J]. Parasitol, 134(5): 739 ~ 747.

Huyse T, Bachmann K, Littlewood DTJ. 2008. The mitochondrial genome of *Gyrodactylus derjavinoides* (Platyhelminthes: Monogenea) - A mitogenomic approach for *Gyrodactylus species* and strain identification[J]. Gene, 417(1-2): 27 ~ 24.

Kaminsky R. 1998. Identication of three ABC transporter genes in *Trypanosoma brucei* spp[J]. Parasitoly Res, 84(2): 106 ~ 111.

Kelley GO, Adkison MA, Leutenegger CM, *et al.* 2003. *Myxobolus cerebralis*: identification of a cathepsin Z-lik protease gene (MyxCP-1) expressed during parasite development in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*[J]. Exp Parasitol, 105(3-4): 201 ~ 210.

Littlewood DTJ, Lockyer AE, Webster BL, *et al.* 2006. The complete mitochondrial genomes of *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma spindale* and the evolutionary history of mitochondrial genome changes among parasitic flatworms[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 39(2): 452 ~ 467.

Liu F, Lu J, Hu W, *et al.* 2006. New perspectives on host-parasite interplay by comparative transcriptomic and proteomic analyses of *Schistosoma japonicum*[J]. PloS Pathogens, 2(4): 2 ~ 29.

Mehlotra RK, Ziats MN, Bockarie MJ, *et al.* 2006. Prevalence of CYP2B6 alleles in malaria-endemic populations of West Africa and Papua New Guinea[J]. European Journal of Clinical Pharmacology, 62(4): 267 ~ 275.

Munasinghe A, Patankar S, Cook BP, *et al.* 2001. Serial analysis of gene expression (SAGE) in *Plasmodium falciparum*: application of the technique to A-T rich genomes[J]. Molecular and Biochemical Parasitology, 113(1): 23 ~ 34.

Park JK, Kim KH, Kang S, *et al.* 2007. A common origin of complex life cycles in parasitic flatworms: evidence from the complete mitochondrial genome of *Microcotyle sebastis* (Monogenea: Platyhelminthes)[J]. BMC Evolutionary Biology, 7(11): 1 ~ 13.

Pastrana DV, Raghavan N, FitzGerald P, *et al.* 1998. Filarial nematode parasites secrete a homologue of the human cytokine macrophage migration inhibitory factor[J]. Infection and Immunity, 66(12): 5955 ~ 5963.

Pays E. 2005. Regulation of antigen gene expression in *Trypanosoma brucei*[J]. Trends in Parasitology, 21(11): 517 ~ 520.

Peterson GK, Skelly PJ. 2008. *Schistosoma mansoni*: The dicer gene and its expression[J]. Experimental Parasitology, 118(1): 122 ~ 128.

Plaisance L, Huyse T, Littlewood DTJ, *et al.* 2007. The complete mitochondrial DNA sequence of the monogenean *Gyrodactylus thymalli* (Platyhelminthes: Monogenea), a parasite of grayling (*Thymallus thymallus*)[J]. Mole Biochem Parasitoly, 154(2): 190 ~ 194.

Ryan R, Shirley M, Tomley F. 2000. Mapping and expression of microneme genes in *Eimeria tenella*[J]. Int J Parasitol, 30(14): 1493 ~ 1499.

Tetteh K. 1999. Exlploring Parasite Genomes: The way Forward[J]. Parasitol Today, 15(3): 88 ~ 90.

Valles Y, Boore JL. 2006. Lophotrochozoan mitochondrial genomes[J]. Integrative Comparative Biol, 46(4): 544 ~ 557.

Wang M. 2006. The impact of parasitic zoonoses on human health[C]. Proceed National Conference Zoonoses: 29 ~ 36.

Zang X, Atmadja AK, Gray P, *et al.* 2000. The serpin secreted by *Brugia malayi* microfilariae, Bm-SPN-2, elicits strong, but short-lived, immune responses in mice and humans[J]. Immunol, 165(9): 5161 ~ 5169.