

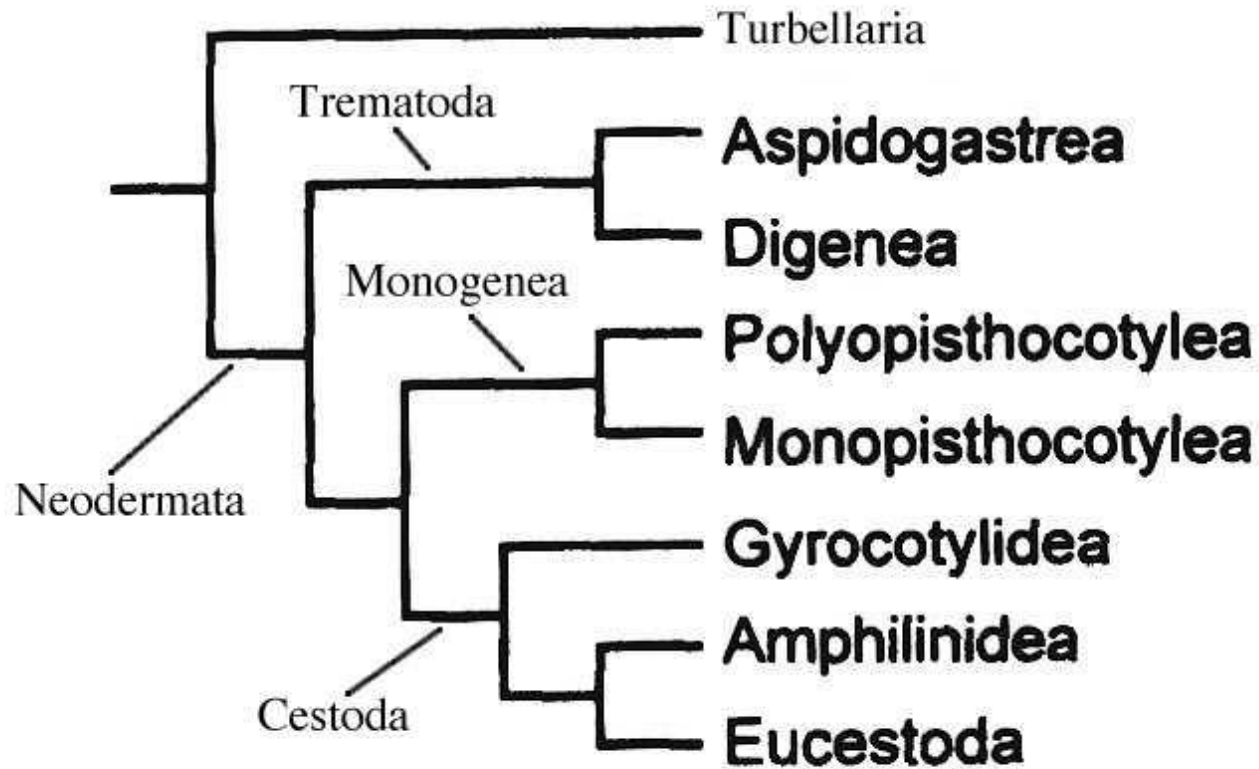
Личиночные стадии цестод и проблемы изучения жизненных циклов

Спецкурс «Частная паразитология»

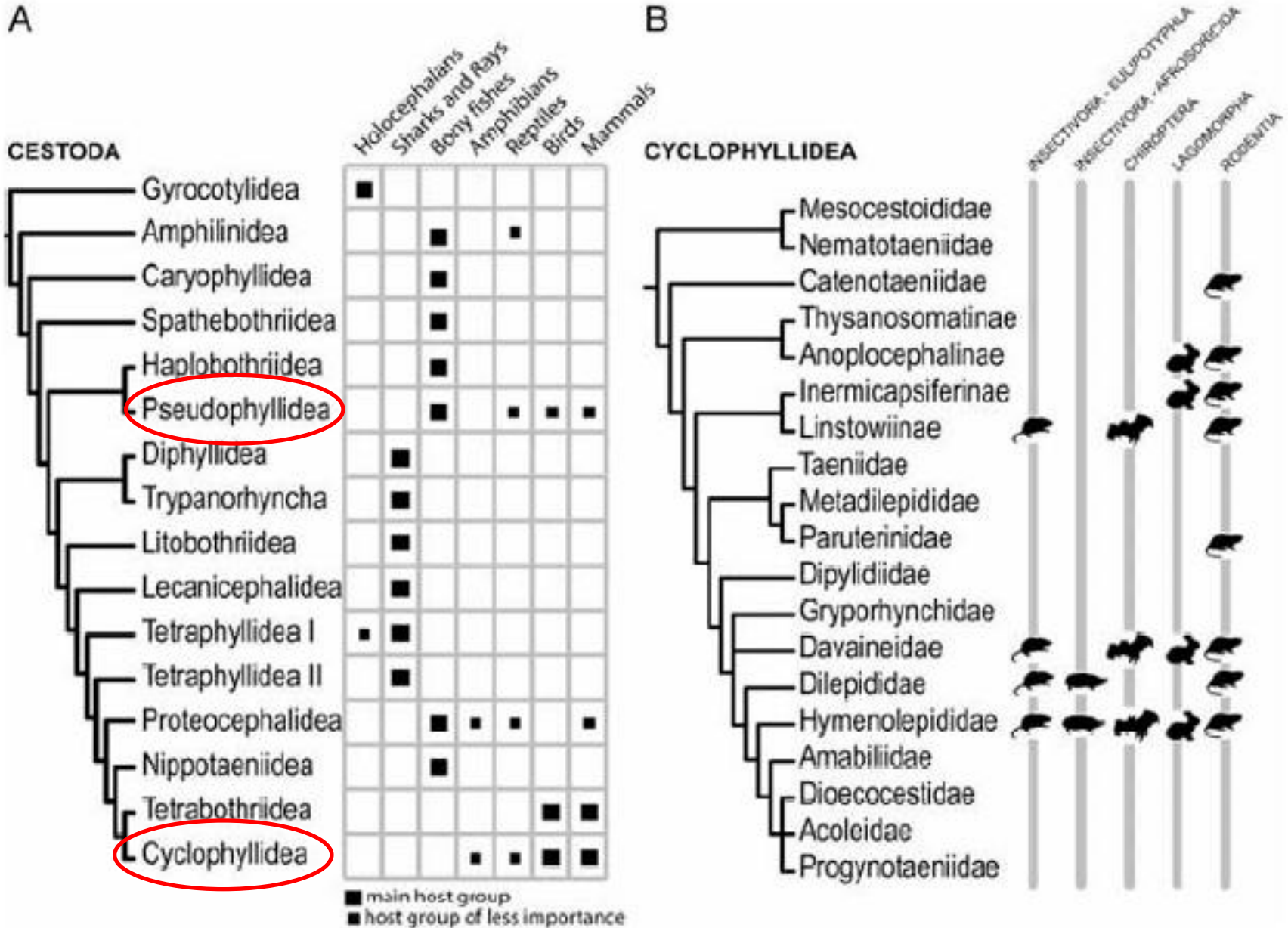
Преподаватель Бисерова Н.М.

Доклад выполнен студенткой МГУ им. М.В. Ломоносова
кафедры зоологии беспозвоночных
Горелышевой Д.И.

Положение Cestoda в системе



Cestoda

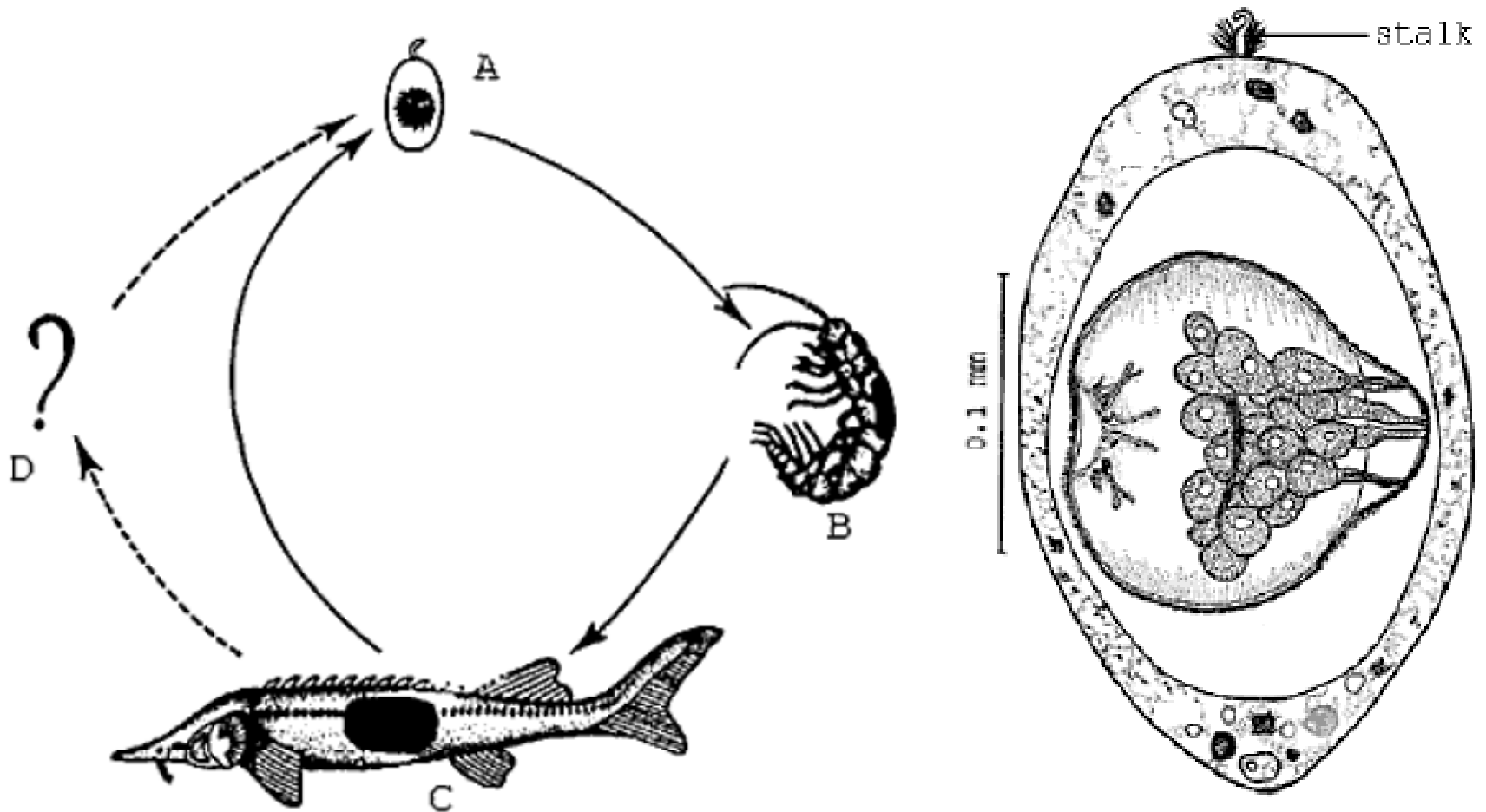


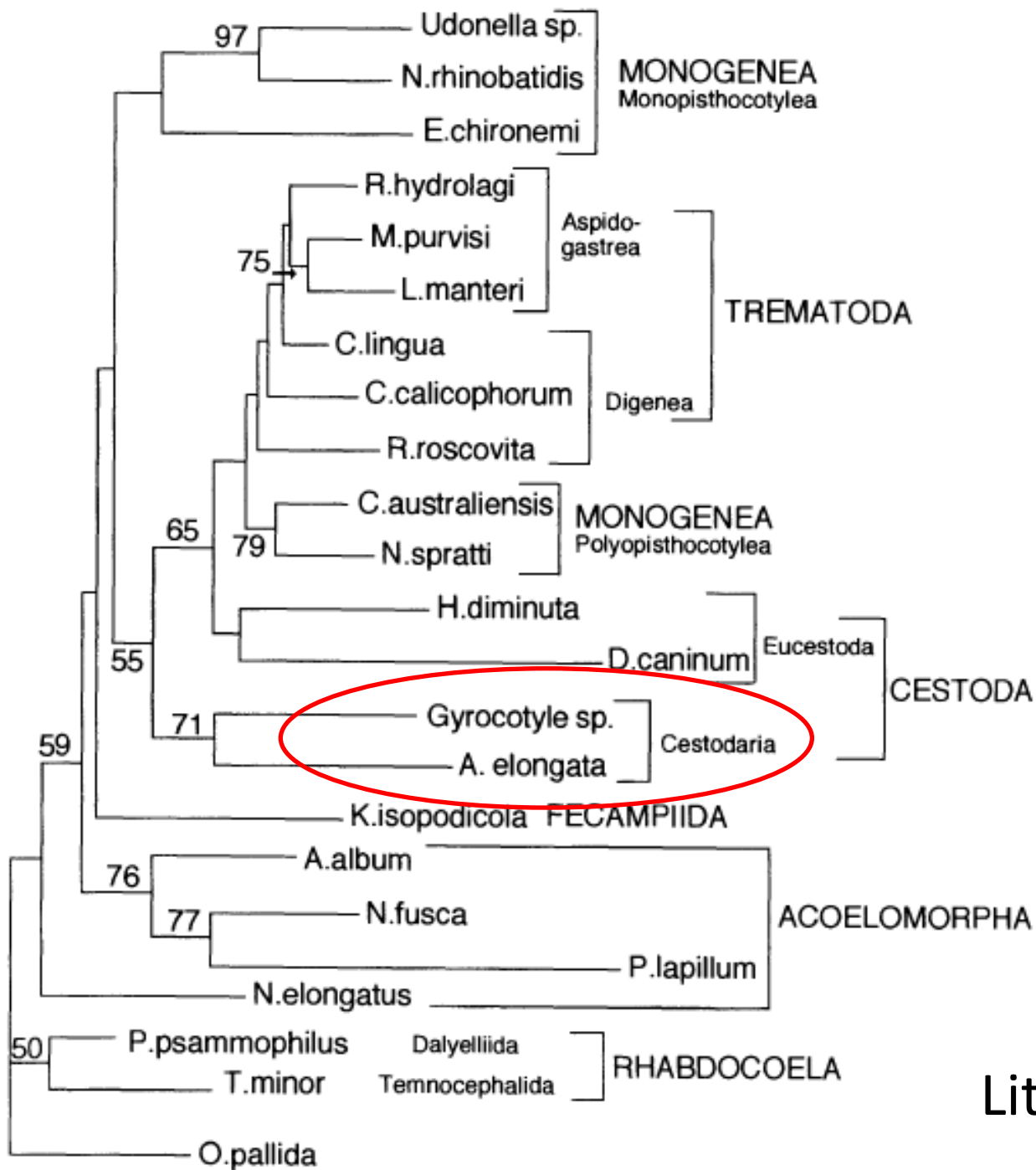
(B.B.Georgiev et all)

Cestodaria

- Отряд *Gyrocotylidea*
- Отряд *Amphilinidea*

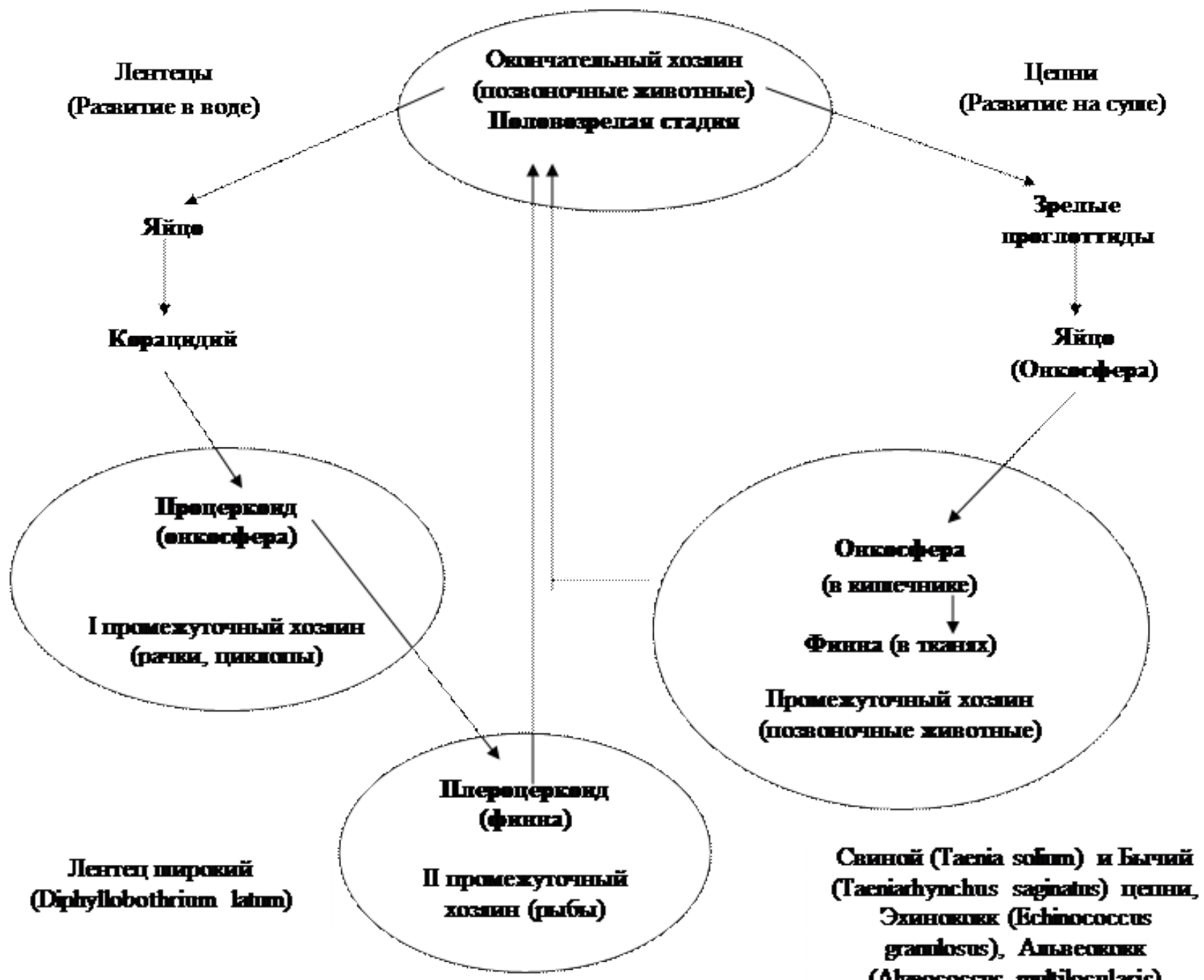
Личинка – ликофора с
10 крючьями





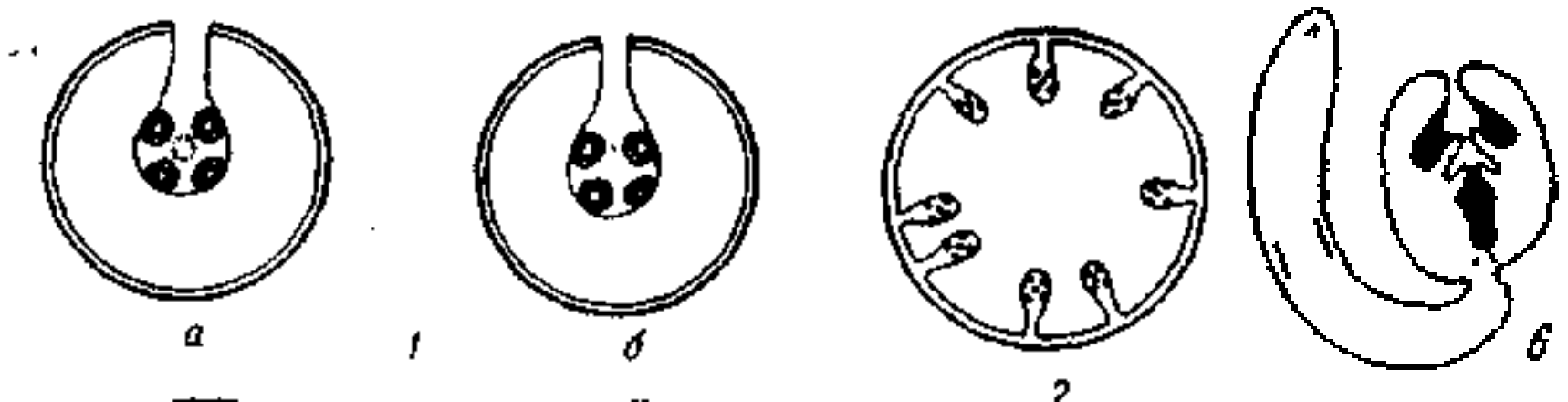
Litvaitis, Rohde, 1999

Eucestoda



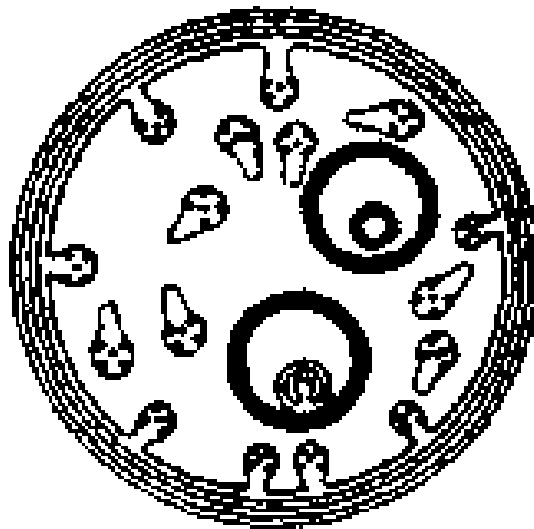
Ларвоцисты

- Цистицерк (Cysticercus)(1а,б) – небольшое пузырчатое образование, наполненное жидкостью и содержащее погружённый внутрь сколекс с органами фиксации. Наиболее распространённая из ларвоцист в тканях позвоночных животных;
- Цистицеркоид (Cysticercoid)(б) состоит из пузыревидной части с погружённым в неё сколексом, шейкой и хвостовым придатком (церкомер), на котором находятся три пары эмбриональных крючков. Развивается обычно в организмах беспозвоночных промежуточных хозяев;
- Ценур (Coenurus)(2) – пузырчатая ларвоциста со многими погружёнными в неё сколексами, каждый из которых в дальнейшем даёт начало отдельной стробиле. Характерен для рода *Multiceps*. Встречается у овец и некоторых грызунов;

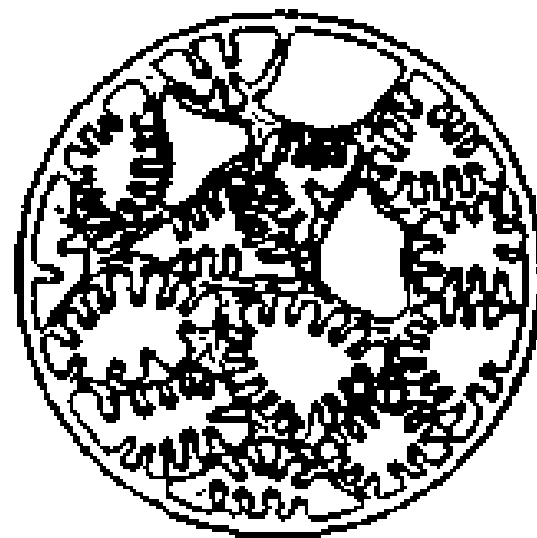


Ларвоцисты

- Ларвоциста цистного эхинококка (*Echinococcus granulosus*)(3) – наиболее сложно устроенная личинка цестод. Представляет собой однокамерный пузырь, заполненный жидкостью. Его внутренняя герминативная оболочка может продуцировать выводковые капсулы с одновременным формированием в них протосколексов, вторичных, в них - третичных пузырей. Паразит млекопитающих;
- Ларвоциста альвеококка (*Echinococcus multilocularis*)(4) – конгломерат большого количества мелких, неправильной формы пузырьков, от внешней поверхности которых отпочковываются дочерние пузырьки. В которых развиваются протосколексы. Ларвоциста имеет тенденцию прорасти в соседние ткани.



3

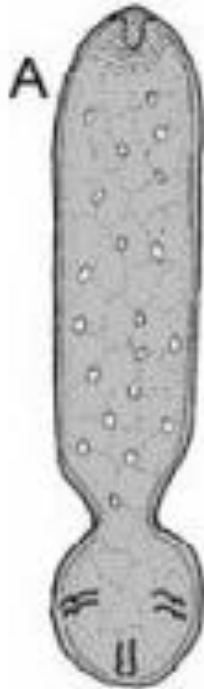


4

Eucestoda

Основные формы личинок цестод (лентецов):

- Процеркоид (Proceroid) (A)—личиночная стадия лентецов, образующаяся в первом промежуточном хозяине (ракообразном) из корацидия. Длина её около 0,5 мм. На переднем конце находится углубление (первичные ботрии). Задний конец тела (церкомер) отделён перетяжкой и снабжён хитиновыми крючками;
- Плероцеркоид (Plerocercoid) (B)— личиночная стадия лентецов, развивающаяся из процеркоида во втором промежуточном хозяине (рыбе). У некоторых видов лентецов может достигать нескольких десятков сантиметров в длину. На переднем конце тела имеются ботрии.



Способы идентификации личиночных стадий

- Восстановление жизненных циклов экспериментальным путем
- Изучение потенциальных хозяев с последующим применением методов молекулярной биологии

Проблемы метода молекулярной биологии

- Правильная фиксация при сборе материала (96% этанол или абсолютный спирт)
- Документирование внешнего вида животного (фото). Четкое морфологическое описание, для чего нужно изучить не одну особь из-за бедности морфологических признаков. Не все признаки видны при подобной фиксации с резкой дегидратацией.
- Желательно фиксировать на генетику только фрагмент животного, если позволяют размеры.

■ Этапы построения филогенетического дерева

1. Выделение биополимеров (ДНК, РНК, белок)
2. Секвенирование (определение аминокислотной или нуклеотидной последовательности)
3. Первичная обработка сиквенсов
4. Построение деревьев с использованием специальных вычислительных (филогенетических) методов (принцип наибольшего правдоподобия, принцип Байеса, «максимальная экономия», «метод объединения соседей» - Neighbor-joining)

Выделение ДНК

Сыворотка/плазма,
моча, слюна, мазки

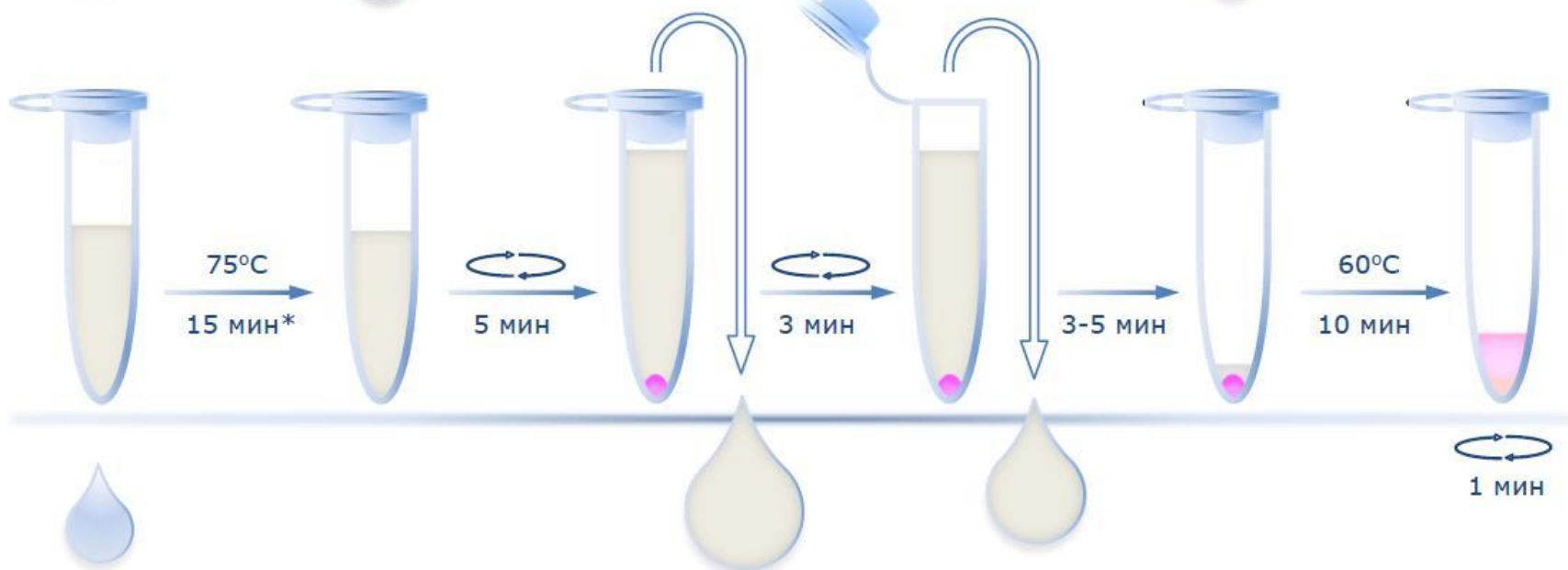
Цельная кровь

Сухие пятна
крови

Раствор
для осаждения
600 мкл

Раствор
для отмывки
1000 мкл

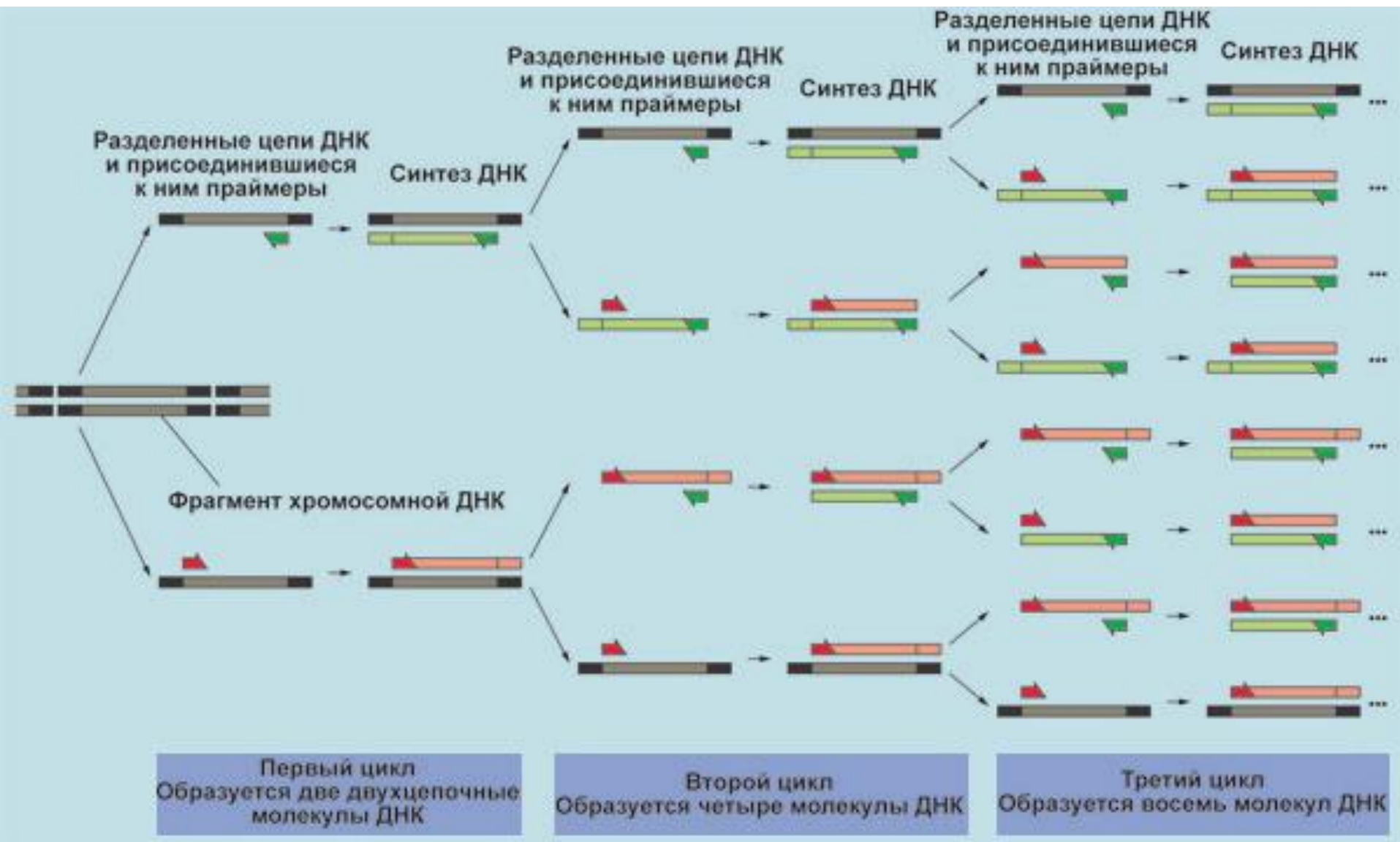
Элюирующий
раствор
100 мкл



Лизирующий
буфер
500 мкл

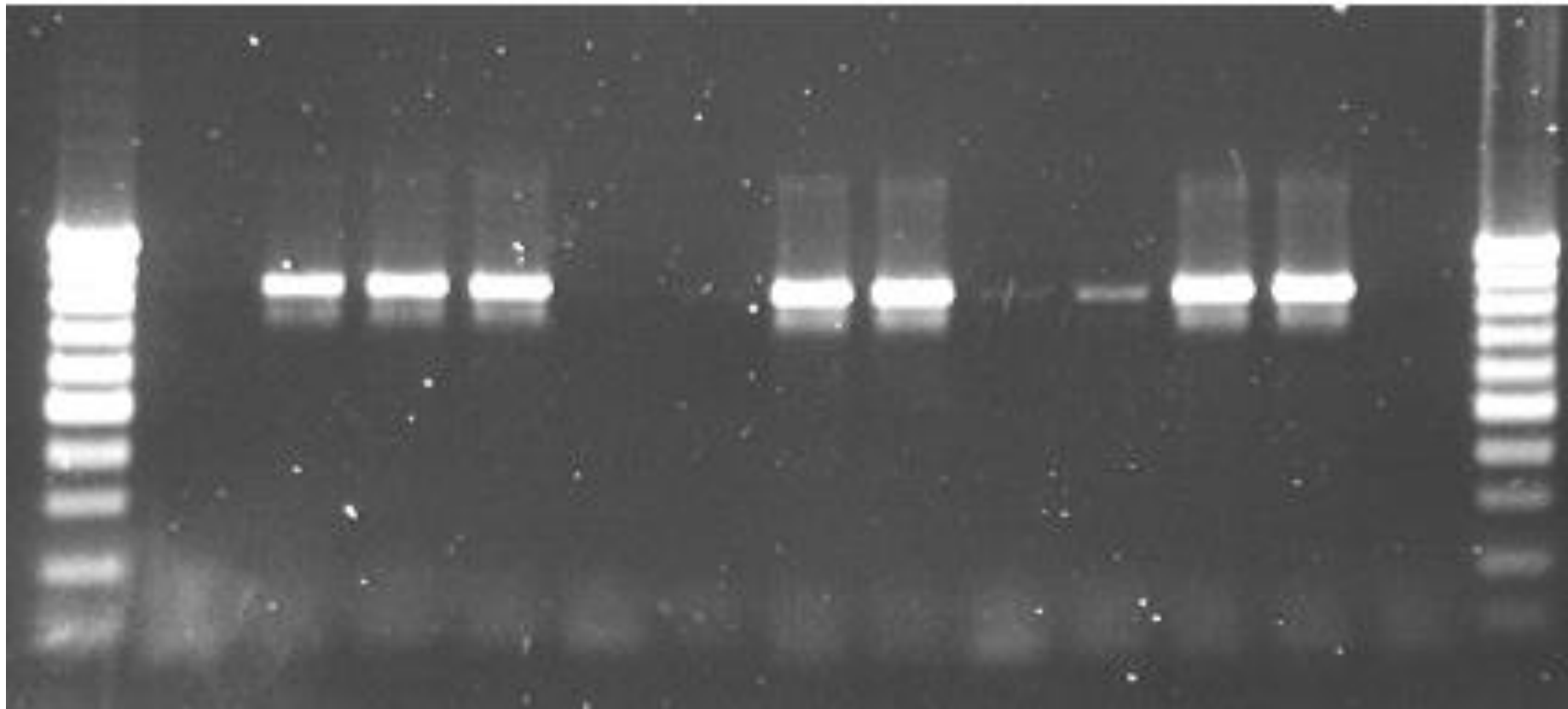
* При использовании сухих пятен крови, центрифугирование (3 мин)
и перенос супернатанта в новую пробирку

PCR

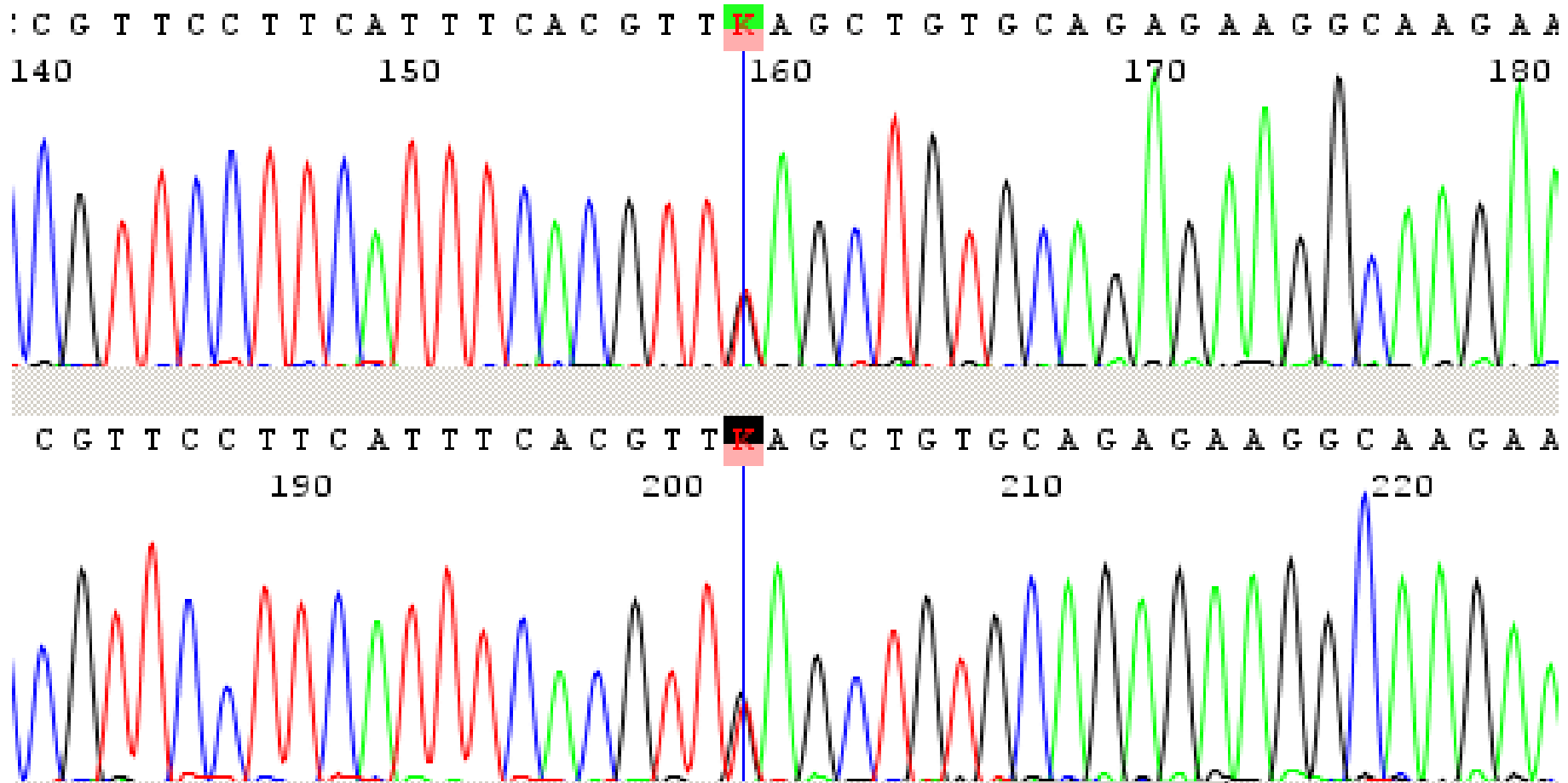


Электрофорез в агарозном геле

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15

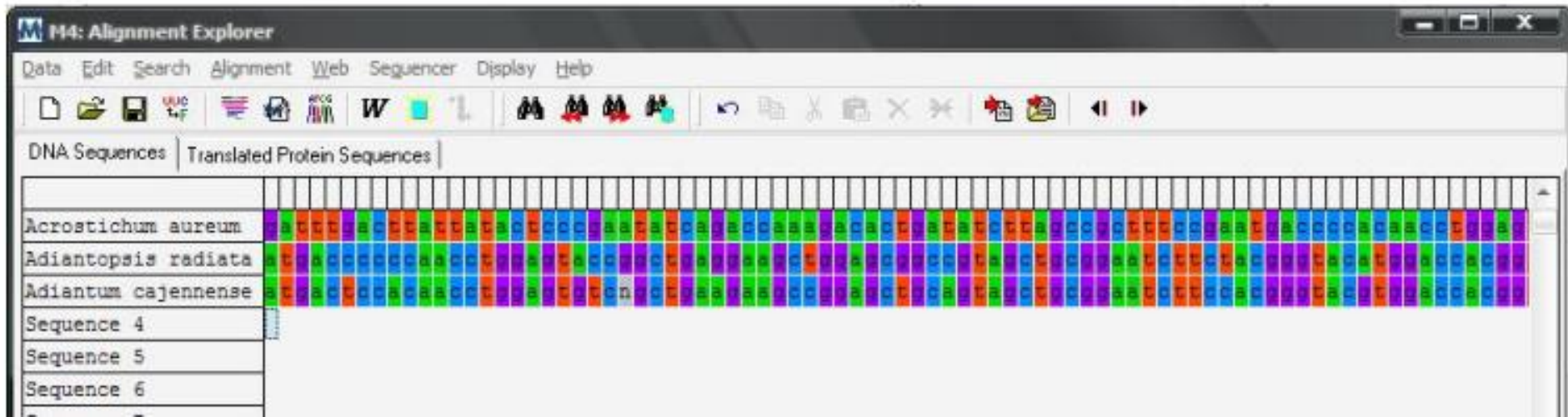


Секвенирование



«Чистка»хроматограмм и соединение стыкующихся последовательностей в TraceEditor.

Выравнивание



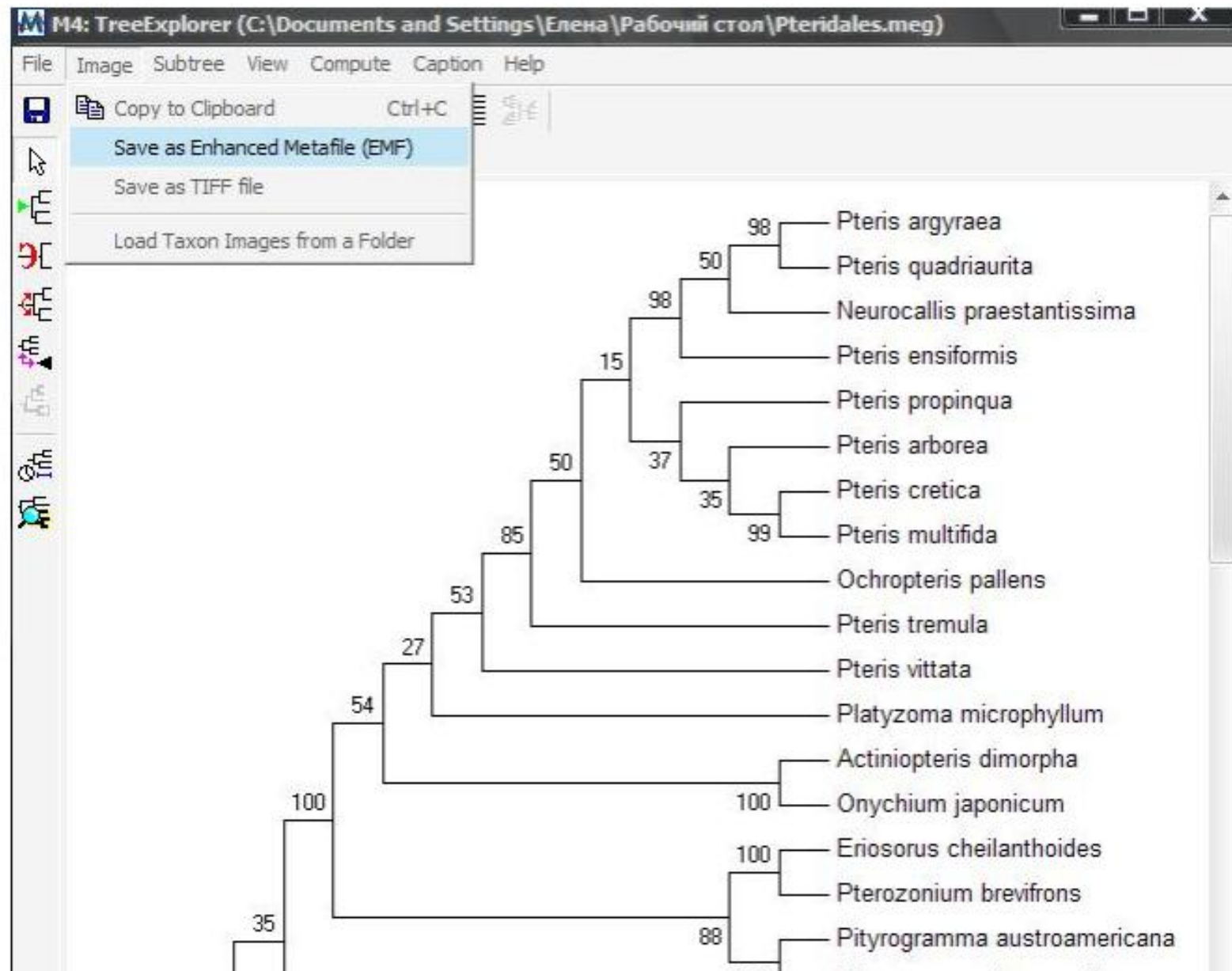
В идеале гомологичные фрагменты последовательности должны быть одна под другой.

Дополнительные последовательности берем из генбанка: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

Построение деревьев

- Выбор модели эволюции (можно посчитать при помощи функции Mega)
- Выбор модели филогенетического дерева
- Neighbour joining, NJ (метод ближайших соседей)
- Максимальная экономия (maximum parsimony)
- Максимальное правдоподобие (maximum likelihood)
- Соответствие расстояний по дереву заданной матрице расстояний (Fitch – Margoliash или minimal evolution)

Bootstrap анализ



Проблема поиска личиночных стадий

- Анализ метагеномов
- **Метагеномика** - раздел молекулярной генетики, изучающий «метагеном» — генетический материал, получаемый напрямую из образцов среды. Так же эта область знаний называется «геномика окружающей среды» или «эко геномика». Традиционное секвенирование геномов полагается на культивируемые клоны культур, в то время как метагеномика работает с набором всех ДНК, находящихся в среде. Широкое развитие метагеномики в последнее время обусловлено распространением методов секвенирования нового поколения.
- Подобные методы можно массово применять к планктонным пробам, чтобы понять есть ли личиночные стадии цестод в ракообразных в определенном сезоне.
- Для этих же целей можно опробовать создание и использование специфических цестодных праймеров.

Спасибо за внимание