Е. Е. Прохорова, Г. Л. Атаев

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ГАСТРОПОД

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 05-04-48520-а и гранта Правительства Санкт-Петербурга для студентов и аспирантов, стипендии для аспирантов неправительственного экологического фонда им. В. И. Вернадского.

Выявление наследственных основ формирования защитных реакций моллюсков имеет большое значение для сравнительной и эволюционной иммунологии. В формировании общей картины защитных реакций моллюсков принимают участие множество генов, кодирующих все факторы иммунного ответа. Для изучения генетических основ резистентности выведены линии моллюсков с разным уровнем резистентности / чувствительности к паразитарной инвазии, проводится секвенирование участков генома, кодирующих факторы защитных реакций. Установление гомологии расшифрованных участков генома позволяет находить новые факторы защитных реакций у близких видов. С помощью систем скрещиваний и молекулярных маркеров проводится картирование генов, установление мест их преимущественной экспрессии.

E. Prokhorova, G. Ataev

THE GENETIC BASIS OF GASTROPODES' RESISTANCE

The detection of the resistance genetic mechanisms is one of the urgent problems of the comparative immunology. Multitude genes encoding different factors of snails defense reactions operate the whole immune system. For studying the resistance genetic basis, classical and modern molecular methods are used. The classical identification of the resistance inheritance is based on the comparison of the susceptibility level in parasite-host systems and crossings-selection methods, in which different snail lines are used. Most of molecular methods are based on the mapping and sequencing of immune-relevant genes and the searching of novel defense factors genes sequences. Detection of the sequenced genes homology and their expression localization is applied for identifying mechanisms of work and relationships of defense reactions factors.

Защитные реакции моллюсков традиционно рассматриваются с точки зрения их клеточных и гуморальных составляющих. В настоящее время признано, что ведущая роль в иммунном ответе гастропод принадлежит клеточным реак-

циям [1, 2]. При этом циркулирующие гемоциты обеспечивают распознавание, связывание и элиминацию паразита [3,4]. Гуморальные факторы также участвуют в реализации всех этапов защитных реакций [5, 6]. Однако они не обладают собственной цитотоксической активностью и только регулируют цитотоксическую активность гемоцитов [7, 8]. Таким образом, как на клеточном, так и на гуморальном уровнях основными эффекторными клетками защитных реакций гастропод являются клеточные элементы гемолимфы [4, 9].

К сожалению, защитные реакции гастропод попали в круг интересов отечественных исследователей относительно недавно. В то же время, за рубежом этой проблеме посвящено большое количество работ на протяжении нескольких десятков лет [4]. В этих исследованиях в качестве модельного объекта часто используются лабораторные линии моллюсков *Biomphalaria glabrata*. Именно на биомфаляриях впервые изучены защитные реакции гастропод в ответ на трематодную инвазию [10–13], бактериальное заражение [13], описан клеточный ответ на пересадку трансплантатов органов и тканей [14]. Однако механизмы, пути, этапы реализации защитных реакций и взаимодействие между собой компонентов иммунной системы гастропод во многом остаются неясными. Прояснить многие аспекты функционирования иммунной системы моллюсков может изучение генетических основ резистентности к паразитам [9, 15]. В настоящее время выявлены различия в интенсивности экспрессии факторов защитных реакций у зараженных и незараженных моллюсков, у особей разных лабораторных линий *B. glabrata*, изучена экспрессия некоторых иммунокомпетентных генов [8, 16, 17]. Именно анализ современных молекулярно-генетических подходов и методов, используемых для изучения защитных реакций гастропод, и явился целью данной работы.

Генетический контроль резистентности у гастропод. За длительное время культивирования в лабораторных условиях путём направленных скрещиваний и отбора были выведены линии *B. glabrata*, отличающиеся по уровню резистентности к разным видам трематод [16]. В частности, Bg. CB линия *B. glabrata* обладает 70%-ной восприимчивостью к заражению *Echinostoma caproni*, CB линия, напротив, на 99% резистентна к эхиностомной инвазии [18–20]. Существование инбредных линий с разным уровнем восприимчивости к паразиту указывает на наличие у гастропод генетического контроля резистентности. Однако даже внутри линий имеет место индивидуальная изменчивость уровня резистентности и динамики иммунного ответа [16].

Первые работы по генетике биомфалярий были осуществлены в 50-х годах прошлого века Ньютоном [21–23]. Для определения характера наследования резистентности у *Biomphalaria glabrata* он использовал морфологические маркеры (альбинизм и нормальная пигментация), сцепленные с разным уровнем восприимчивости к паразиту. Только часть гибридов от скрещиваний резистентной альбиносной бразильской линии с восприимчивой линией из Пуэрто Рико оказалась восприимчивой к заражению *Shistosoma mansoni,* что указывало на наследственный характер резистентности / чувствительности. Разная степень восприимчивости к трематодной инвазии среди потомства от самооплодотворения гибридов F_1 свидетельствовала о полигенном контроле резистентности.

Позднее при скрещивании различных линий *Biomphalaria glabrata* было показано различие между ювенильной и «взрослой» резистентностью. Согласно исследованиям Ричардса, «взрослая» резистентность — моногенный признак, а

ювенильная — скорее полигенный [24–26]. Ричардс выделил четыре гена ювенильной резистентности / чувствительности к заражению. Основные различия в уровне резистентности связаны с работой генов Mr и R. Доминантный аллель гена Mr обусловливает резистентность к трематодной инвазии у взрослых особей, однако он же определяет восприимчивость у молоди. Удалось установить, что экспрессия этого гена зависит от возраста особи. У моллюсков одних линий он работает только у взрослых особей, а у других — на протяжении всей жизни.

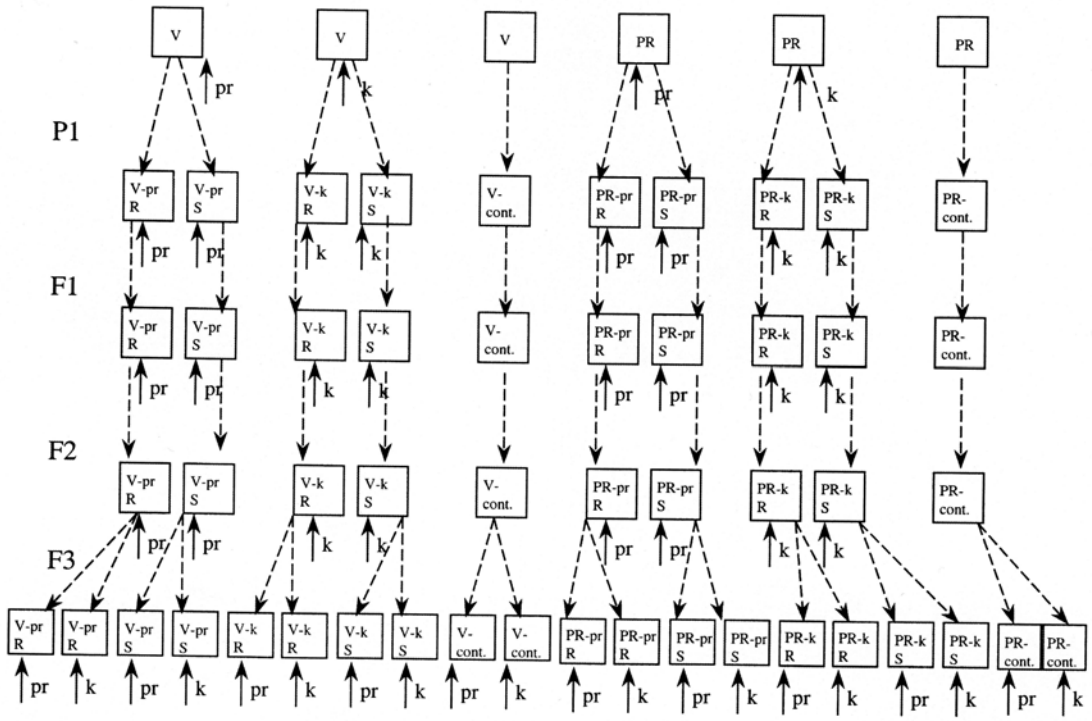

Рис. 1. Метод искусственного отбора моллюсков *Biomphalaria glabrata*, использованный для селекции линий с разным уровнем резистентности / чувствительности к *Shistosoma mansoni*. V = линия моллюсков «Vespiano»; PR = пуэрториканская линия моллюсков; pr = пуэрториканская линия паразита; K = кенийская линия паразита; R = выведенная резистентная линия моллюсков; S — выведенная чувствительная линия моллюсков. Отдельные секции — линии моллюсков, использованные для отбора

Моллюски использованных линий заражались шистозомой (линии паразита указаны на рис. 1 сплошными стрелками). Отличающиеся по восприимчивости к заражению моллюски отбирались для создания новых линий (направление отбора показано пунктирными стрелками). Наследуемость резистентности / чувствительности проверялась экспериментальным заражением одной линией паразита на протяжении всех поколений. Специфичность восприимчивости к заражению определялась экспериментальным заражением новой линией паразита в F_3 [40].

Наличие доминантного аллеля гена R обусловливает резистентнось улиток во всех возрастных группах линии. Морфологическое проявление его работы — формирование скоплений гемоцитов и гемоцитарных капсул вокруг спороцист трематод. При этом ген Mr регулирует работу гена R, подавляя его в рецессивном состоянии [27]. Взаимодействием этих генов можно объяснить раз-

личную резистентность к заражению трематодами *Shistosoma mansoni* среди разновозрастных *Biomphalaria glabrata*. При наличии в генотипе доминантного аллеля гена R особь любого возраста оказывается резистентной (10-R2, 13-16-R1, BS-90 линии *B. glabrata*). Моллюски, имеющие в генотипе рецессивный аллель гена Mr, восприимчивы к заражению в любом возрасте (M-line, NMR1, PR-77 линии *B. glabrata*), при этом аллель гена R не имеет значения. Присутствие в генотипе доминантного аллеля Mr обусловливает «ювенильную» восприимчивость к заражению, но «взрослую» резистентность (442132, 2423432 линии *B. glabrata)*. Согласно работам Ричардса, множественные аллели других генов резистентности обусловливают индивидуальную вариабельность по резистентности / чувствительности среди моллюсков [26, 16].

В настоящее время считается, что в формировании фенотипа резистентной особи принимает участие большое количество генов, обеспечивающих протекание клеточных и гуморальных реакций [4, 20].

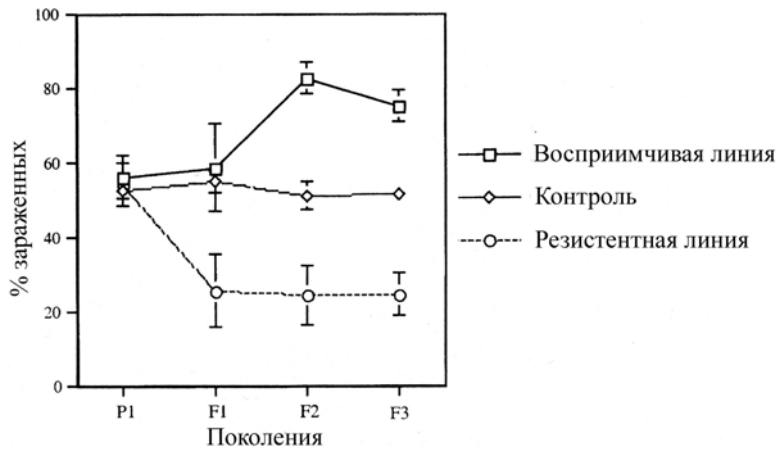

Рис. 2. Наследуемость резистентности и чувствительности в паразито-хозяинной системе *Biomphalaria glabrata—Shistosoma mansoni.* Показан процент заражения среди выведенных резистентных, чувствительных и контрольной линий моллюсков после экспозиции пяти мрацидиям [41]

Расшифровка геномов гастропод. Для изучения характера наследования резистентности / чувствительности большое значение имеет выявление молекулярной структуры всего множества факторов защитных реакций и соответствующих им нуклеотидных последовательностей в геноме. Расшифровка нуклеотидных последовательностей генов резистентности гастропод также имеет большое значение для раскрытия механизмов защитных реакций.

В настоящее время осуществляются проекты по расшифровке геномов нескольких брюхоногих моллюсков, в том числе и *B. glabrata* (см.: www.nlm.ncbi.gov). В геноме биомфалярии — 18 хромосом (в гаплоидном наборе) и 46% ГЦ-пар. Анализ ДНК гемоцитов различных линий *B. glabrata* показал, что размер генома составляет приблизительно 931 Mb. Одновременно осуществляется и расшифровка генома паразита гастропод — *Shistosoma mansoni* (его размер — 270 Mb). Для расшифровки нуклеотидных последовательностей организмов создаются многочисленные генные библиотеки (кДНК, геномные, космидные,

бактериальные). Созданы генные библиотеки М-линии, BS90-линии, BB02-линии *B. glabrata* [28, 29]. Бактериальная геномная библиотека BB02-линии *B. glabrata* содержит 61824 клонов (в среднем по 136,3 kb) [28]. Полностью расшифрована нуклеотидная последовательность митохондриальной ДНК *B. glabrata* (13670 пн) (genome. wustl.edu). Интересно, что состав и последовательности генов в митохондриальном геноме биомфалярии, за исключением двух генов рРНК, оказались почти идентичными таковым у большинства гастропод.

В базе данных GeneBank (www.nlm.ncbi.gov) имеется примерно 45000 нуклеотидных последовательностей для моллюсков рода *Biomphalaria* (из них 42913 — для *B. glabrata)* и около 3600 последовательностей для *Oncomelania sp*., *Lymnaea sp.* и *Bulinus sp*. Однако полная нуклеотидная последовательность и экзон-интронная структура к настоящему времени установлены только для нескольких генов гастропод. Из них самая большая последовательность (16 kb) — последовательность гена фибриноген-подобного белка *Biomphalaria glabrata* (FREP 7.1), принимающего участие в защитных реакциях (см. ниже). Последовательности генов других факторов защитных реакций также имеются в базе данных GeneBank. Все секвенированные последовательности, представленные в базе данных, могут быль использованы для изучения экспрессии факторов защитных реакций у гастропод (подбор праймеров, зондов и др.).

Картирование генов резистентности. Для определения расположения генов резистентности в геноме *B. glabrata* используются как классические, так и современные молекулярные подходы. В основе построения генетических карт лежит анализ сцепления генов, отвечающих за проявление иммунного ответа, с морфологическими или молекулярными маркерами. Анализ расстояния между генами осуществляется по частоте встречаемости рекомбинантных форм среди гибридов (Jones et al., 1999). Недостатком такого картирования является невозможность учёта влияния на проявление генов резистентности других генов, расположенных с ними на одном участке. Кроме того, резистентность как способность к проявлению защитных реакций — полигенный признак, а значит, она определяется многими хромосомными локусами. Однако несомненным преимуществом картирования по частоте рекомбинантов является то, что для определения групп сцепления не нужно знать химические механизмы резистентности и нуклеотидные последовательности конкретных генов. Построенные на основе анализа сцепления карты хромосом с небольшим числом генов являются основой для создания более точных физических карт хромосом.

Для картирования отдельных локусов, вовлечённых в формирование количественного признака (QTL) используются методы молекулярного мечения [31, 32]. В качестве генетических маркеров используют микросателлиты, РАПД (Random Amplified Polymorphic DNA), случайные маркеры (random-markers), меченные зонды. Отдельные локусы QTL локализуют, устанавливая статистическую взаимосвязь между характером наследования признака и распределением молекулярных маркеров в поколениях гибридов от скрещиваний. Основные методы определения сцепления между генетическим маркером и QTL — множественный регрессионный анализ (для бинарных исчислений), общее линейное моделирование, интервальный анализ и др. [31]. Эти методы позволяют оценить все генетические параметры, ассоциированные с определённым резистентным фенотипом: положение QTL на хромосомах, вклад QTL в формиро-

вание признака, взаимодействие различных QTL [31]. Для локализованного на генетической карте QTL определяется возможный вклад в наблюдаемые фенотипические эффекты [32].

Сравнительный анализ экспрессии генов. Сравнительный анализ экспрессии генов у моллюсков разных линий, а также заражённых и незараженных особей позволяет определять гены, работа которых обеспечивает формирование иммунного ответа. Большинство методик связано с определением генной экспрессии на уровне мРНК и с использованием полимеразной цепной реакции.

Один из подходов к анализу экспрессии генов — определение и поиск генов и консервативных последовательностей, гомологичных, уже известных для других филогенетически близких видов. Таким образом, был обнаружен ß-интегрин у *B. glabrata* [33]. В случае, когда нуклеотидная последовательность экспрессируемого гена не известна, используются методы поиска генов, предпо-

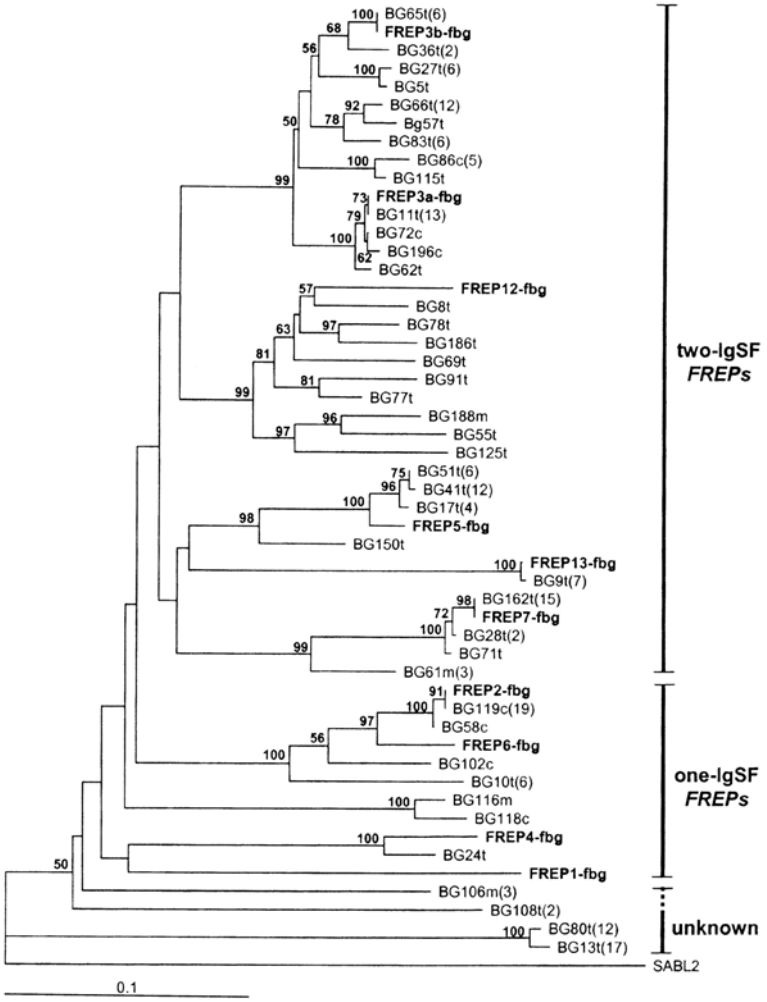

Рис. 3. Филогенетическое дерево, отражающее родство последовательностей, кодирующих фибриноген-подобные белки.

Для анализа использованы 42 последовательности геномной ДНК из одного моллюска *Biomphalaria glabrata.* В качестве контроля использовалась последовательность фибриноген-подобного лектина *Limax flavus* (SABL2) [36].

ложительно вовлеченных в защитные реакции. Одним из таких методов является субстратная гибридизация. Для анализа выделяются мРНК из заражённых и незаражённых особей или особей различных линий моллюсков. Затем проводят гибридизацию сравниваемых образцов комплементарной ДНК (кДНК). Для дальнейшего анализа используют только негибридизовавшиеся, а значит, различающиеся по нуклеотидным последовательностям участки кДНК. Последовательности, имеющиеся только у одной из сравниваемых групп, секвенируются и выравниваются с уже имеющимися в базе данных GeneBank нуклеотидными последовательностями (www.nlm.ncbi.gov). Полученные таким образом нуклеотидные последовательности могут быть использованы для определения места и уровня экспрессии генов, ответственных за формирование резистентности.

Другой путь определения участков генома, отвечающих за проявление резистентности, — установление нуклеотидных последовательностей, соответствующих факторам защитных реакций. Так, при анализе 65 кДа — полипептида, обнаруженного у особей резистентной линии *B. glabrata*, было установлено, что соответствующая ему нуклеотидная последовательность гомологична фибриноген-подобным белкам других беспозвоночных [8]. Дальнейшие исследования показали, что FREP гастропод кроме участвующего в распознавании антигена фибриногенового домена (65кДа-домен) содержат один-два иммуноглобулиновых домена (IgSF). FREP являются лектинами и участвуют в связывании и нейтрализации паразитов [4]. В настоящее время описано около десятка FREP гастропод. В базе данных GeneBank имеется несколько сотен последовательностей различных доменов FREP. Гены FREP служат моделью для изучения работы генов, вовлеченных в защитные реакции беспозвоночных [34]. С использованием молекулярных методов было показано повышение уровня экспрессии FREP двумя и четырьмя гемоцитами моллюсков линий *B. glabrata* в ответ на заражение мирацидиями трематод [35–37]. Кроме того, изучение FREP имеет большое значение для сравнительно-иммунологических исследований [9].

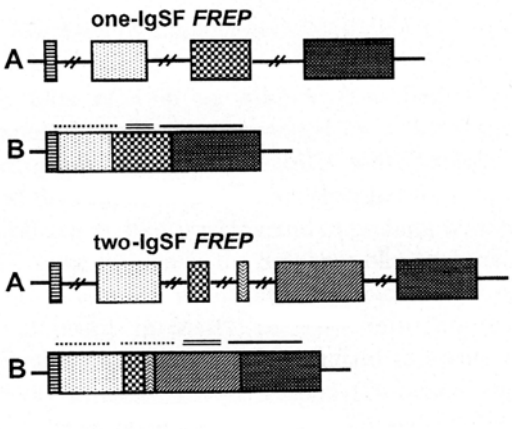

Рис. 4. Структура двух известных типов фибриноген-подобных белков (FREPs), содержащих один (вверху) и два (внизу) домена иммуноглобулинового суперсемейства (IgSF). А — Геномная структура и В — транскрипт мРНК. Отмечены участки, кодирующие домен иммуноглобулинового суперсемейства (пунктиром), промежуточный домен (двумя линиями), фибриногеновый домен (одной линией). Заштрихованные участки — различные экзоны (по: Zhang, Loker, 2004)

Основными эффекторными клетками иммунной системы гастропод являются гемоциты — циркулирующие клетки гемолимфы [4]. Большинство молекулярно-генетических исследований посвящено изучению экспрессии генов резистентности в гемоцитах в ответ на трематодную инвазию. При заражении моллюсков *B. glabrata* трематодами *Echinostoma caproni* было установлено значительное повышение уровня экспрессии гемоцитами веществ, гомологичных цистатину, интегринподобным белкам, дерматопоринов, сериновых протеаз, оксидаз и др. При этом обнаружено различие в динамике уровня экспрессии различных веществ гемоцитами моллюсков резистентных и чувствительных линий. Так, уровень экспрессии F-спондинподобного белка, ß-интегрина, дерматопорина значительно повышается только у моллюсков резистентных линий.

Некоторые из белков, например, альдолаза, синтезируются только гемоцитами чувствительных линий (EAF-S-линия). Например, дерматопорин участвует в процессах агрегации гемоцитов и в формировании капсул [18], а альдолаза влияет на процессы адгезии гемоцитов, их подвижность и способность прикрепляться к субстрату. Эти данные подтверждают предположение, что различие в интенсивности и стратегиях иммунного ответа у моллюсков чувствительных и резистентных линий связано, прежде всего, с разной способностью гемоцитов к адгезии и распознаванию своего—чужого [2, 19]. Определено, что гемоциты чувствительных линий *B. glabrata* не участвуют в инкапсуляции материнских спороцист трематод *Echinostoma caproni* [38].

В разные сроки после заражения биомфалярий мирацидиями трематод между моллюсками наблюдается различие в интенсивности экспрессии гемоцитами различных факторов. Так, уровень экспрессии глутатион-S-трансферазы (GST) увеличивается через 48 часов после заражения, а лектинсвязывающего антимикробного пептида (LBP/BPI) и ахатиноподобного белка — значительно уменьшается уже через день после заражения [20]. Различная динамика экспрессии свидетельствует о разной роли этих веществ в иммунном ответе гастропод.

Известно, что GST у беспозвоночных участвует в детоксикации ксенобиотиков. Через два дня после заражения моллюска мирацидиями происходит инкапсуляция спороцист. Элиминация паразита в капсуле связана с выделением гемоцитами большого количества цитотоксинов и оксидаз. Возможно, что GST защищает окружающие капсулу ткани моллюска от последствий «кислородного взрыва» и работы пероксидаз. LBP/BPI и ахатиноподобный белок у беспозвоночных участвуют в антимикробном ответе. В ответ на трематодную инвазию их концентрация не повышается (а даже несколько снижается), что может указывать на существование у гастропод разных стратегий защитных реакций в ответ на разные антигены [20].

Локализация мест экспрессии иммунокомпетентных генов. Для определения очагов синтеза веществ, участвующих в защитных реакциях, используют методы иммуногистохимии и гибридизацию *in situ*. Гибридизация, осуществляющаяся на уровне мРНК, позволяет наиболее точно локализовать участки синтеза факторов защитных реакций. Так, с помощью гибридизации было показано, что синтез антибактериального белка митилина у *Mytilus galloprovincialis* (Bivalvia) осуществляется особой субпопуляцией гемоцитов, участвующих в ответе на заражение бактериями [39]. Благодаря гибридизации установлено, что

гуморальные факторы защитных реакций у биомфалярии синтезируются в периферических клетках белковой железы (цистатин-подобный лектин, LBP/BPI — бактерицидный гликопротеин), в секреторных клетках гепетопанкреаса (Са-связывающий белок), на участках тегумента (треонинкиниза-подобный белок) и гемоцитах (FREP) [20].

Таким образом, для изучения наследственных предпосылок формирования иммунного ответа необходимо комплексное использование нескольких подходов, направленных на раскрытие различных аспектов функционирования иммунной системы гастропод.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЕ ССЫЛКИ

1. *Cheng T. C.* Functional morphology and biochemistry of molluscan phagocytes // Ann. New York Acad. Sci. 1975. V. 266. P. 343—379.
2. *Adema C. M., Sapp K. K., Hertel L. A., Loker E. S.* Immunobiology of the relationships of the echinostomes with snail intermediate hosts // Echinostomes as experimental models for biological research.Kluwer Academic Publishers, Dordrecht / Boston / London. 2000. P. 149–173.
3. *Van der Knaap W. P. W., Loker E. S.* Immune mechanisms in trematode — snail interactions // Parsitology today. 1990. V. 6. № 6. P. 176–182.
4. *Connors V. A.* The schistosome-snail interaction: factors involved in host immunodefense activation and parasite killing in susceptible and resistant Biomphalaria glabrata // 2003. Taxonomy, ecology and evolution of metazoan parasites. T. I. P. 203–224.
5. *Bayne C. J., Boswell C. A., Loker E. S., Yui M. A.* Plasma components which mediate cellular defaces in the gastropod mollusk Biomphalaria glabrata // Development and Comparative Immunology. 1985. V. 9. P. 523–530.
6. *Атаев Г. Л., Ерёмина Е. Е., Полевщиков А. В.* Защитные реакции брюхоногих моллюсков: 2. Гуморальные реакции // Паразитология. 2005. Т. 39. Вып. 1. С. 3–15.
7. *Yayne C. J., Boswell C. A., Loker E. S., Yui M. A.* Plasma components which mediate cellular defences in the gastropod mollusk, Biomphalaria glabrata // Developmental and Comparative Immunology. 1985. V. 9. № 3. P. 523–530.
8. *Adema C. M., Lynn A. H., Miller R. D., Loker E. S.* A family of fibrinogen-related proteins that precipitates parasite-derived molecules is produced by an invertebrate after infection. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. T. 94. V. 16. P. 8691–8696.
9. *Атаев Г.Л., Дьячков И. С., Полевщиков А. В.* Сравнительно-иммунологический анализ защитных реакций брюхоногих моллюсков // Известия РГПУ им. А. И. Герцена: Научный журнал. 2006. Т. 39. Вып. 1. С. 265–281.
10. *Lie K. J., Heyneman D.* Studies on resistance in snails: a specific tissue reaction to Echinostoma lindoense in Biomphalaria glabrata snails // International Journal for Parasitology. 1975. V. 5. P. 621–625.
11. *Lie K. J., Heyneman D.* Studies on resistance in snails: specific resistance induced by irradiated miracidia of Echinostoma lindoense in Biomphalaria glabrata snails // International Journal for Parasitology. 1975. V. 5. P. 627–631.
12. *Lie K. J., Heyneman D.* Studies on resistance in snails. 3. Tissue reaction to Echinostoma lindoense sporocysts in sensitized and resensitized Biomphalaria glabrata // The Journal of Parasitology. 1976. V. 62. № 1. P. 51–58.
13. *Jourdane J., Cheng T. C.* The two-phase recognition process of allografts in Brazilian strain of Biomphalaria glabrata // The Journal of Invertebrate Parasitology. 1987. V. 49. P. 145–158.
14. *Cheng T. C., Jourdane J.* Transient cellular reaction in Biomphalaria glabrata (Mollusca) to heterotopic isografts // The Journal of Invertebrate Parasitology. 1987. V. 49. P. 273–278.
15. *Атаев Г. Л., Полевщиков А. В.* Защитные реакции брюхоногих моллюсков: 1. Клеточные реакции // Паразитология. 2004. Т. 38. Вып. 4. С. 342–351.

16. *Lewis F. A., Pattarson C. N., Knight M., Richards C. S.* The relationship between Shistosoma mansoni and Biomphalaria glabrata: genetic and molecular approaches // Parasitology. 2001. V. 123. P. 169–179.

17. *Lockyer A. E., Noble L. R., Rollinson D., Jonesb C. S.* Schistosoma mansoni: resistant specific infection-induced gene expression in Biomphalaria glabrata identified by fluorescent-based differential display // Experimental Parasitology. 2004. V. 107. P. 97–104.

18. *Bouchut A., Roger E., Coustau C., Gourbal B., Mitta G.* Compatibility in the Biomphalaria glabrata / Echinostoma caproni model: Potential involvement of adhesion genes // International Journal for Parasitology. 2006. V. 36. P. 175–184.

19. *Bouchut A., Sautiere P. E., Coustau C., Mitta G.* Compatibility in the Biomphalaria glabrata/Echinostoma caproni model: Potential involvement of proteins from hemocytes revealed by a proteomic approach // Acta Tropica. 2006. V. 98. P. 234–246.

20. *Guillou F., Mitta G., Galiniera R., Coustaua C.* Identification and expression of gene transcripts generated during an anti-parasitic response in Biomphalaria glabrata // Developmental and Comparative Immunology. 2007. V. 31. P. 657–671.

21. *Newton W. L.* The inheritance of susceptibilityto infection with Schistosoma mansoni in Australorbis glabratus // Experimental Parasitology. 1953. V. 2. P. 242–257.

22. *Newton W. L.* Albinism in Australorbis glabratus // Proceedings of the Helminthological Society of Washington. 1954. V. 21. P. 72–74.

23. *Newton W. L.* The establishment of a strain of Australorbis glabratus which combines albinism and high susceptibility to infection with Schistosoma mansoni // Journal of Parasitology. 1955. V. 29. P. 539–544.

24. *Richards C. S.* Genetics of a molluscan vector of schistosomiasis // Nature. 1970. V. 227. P. 806–810.

25. *Richards C. S.* Genetic studies on amebocytic accumulations in Biomphalaria glabrata // Journal of Invertebrate Pathology. 1980. V. 35. P. 49–52.

26. *Richards C. S., Shade P. C.* The genetic variation of compatibility in Biomphalaria glabrata and Schistosoma mansoni. Journal of Parasitology. 1987. V. 73. P. 1146–1151.

27. *Richards C. S.* Infuence of snail age on genetic variations in susceptibility of Biomphalaria glabrata for infection with Schistosoma mansoni // Malacologia. 1984. V. 25. P. 493–502.

28. *Abdel-Hamid Z. A. H., Rawi S. M., Arafa A. F.* Identification of a genetic marker associated with the resistance to Schistosoma mansoni infection using random amplifiedpolymorphic DNA analysis // Mem. Inst. Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro. 2006. V. 101. № 8. P. 863–868.

29. *Adema C., Knight M., Lewis F., Loker E. S.* Request for making a BAC library from Biomphalaria glabrata (gastropod mollusc), the prominent snail species contributing to transmission of human schistosomiasis // www.genome.wustl.edu

30. *Jones C. S., Lockyer A. E., Piertney S. B., Rollinson D., Noble L. R.* Isolation and characterization of microsatellite loci in the freshwater gastropod, Biomphalaria glabrata, an intermediate host for Schistosoma mansoni // Molecular Ecology. 1999. V. 8. P. 2149–2151.

31. *Lynch M., Walsh B.* Genetics and Analysis of Quantitative Traits // Massachusetts, USA, Sinauer Associates, Inc. 1998.

32. *Jones C. S., Lockyer A. E., Rollinson D., Noble L. R.* Molecular approaches in the study of Biomphalaria glabrata — Shistosoma mansoni interactions: linkage analysis and gene expression profiling // Parasitology. 2001. V. 123. P. 181–196.

33. *Davids B. J., Wu X. J., Yoshino T. P.* Cloningof a beta-integrin subunit cDNA from an embryonic cell line derived from the freshwater mollusk Biomphalaria glabrata. Gene. 1999. V. 228. P. 213–223.

34. *Mitta G., Galiniera R., Tisseyreb P., Alliennea J. F., Girerd-Chambazc Y., Guilloua F., Bouchuta A., Coustau C.* Gene discovery and expression analysis of immune-relevant genes from Biomphalaria glabrata hemocytes // Developmental and Comparative Immunology. 2005. V. 29. P. 393–407.

35. *Jiang Y., Loker E. S., Zhang S. M.* In vivo and in vitro knockdown of FREP2 gene expression in the snail Biomphalaria glabrata using RNA interference // Developmental and Comparative Immunology. 2006. V. 30. P. 855–866.

36. *Zhang S.-M., Loker E. S.* Representation of an immune responsive gene family encoding fibrinogen-related proteins in the freshwater mollusk Biomphalaria glabrata, an intermediate host for Schistosoma mansoni // Gene. 2004. V. 341. P. 255–266.

37. *Hertel L. A., Adema C. M., Loker E. S.* Differential expression of FREP genes in two strains of Biomphalaria glabrata following exposure to the digenetic trematodes Schistosoma mansoni and Echinostoma paraensei // Developmental and Comparative Immunology. 2005. V. 29. P. 295–303.

38. *Ataev G. L., Coustau C.* Cellular response to Echinostoma caproni infection in Biomphalaria glabrata strains selected for susceptibility / resistance // Development and Comparative Immunology. 1999. V. 23. P. 187–198.

39. *Mitta G., Vandenbulcke F., Hubert F., Roch P*. Mussels defensins are synthesized and processed in granulocytes then released into the plasma after bacterial challenge // Journal of Cell Scienace. 1999. V. 112. P. 4233–4242.

40. *Webster J. P., Davies C. M.* Coevolution and compatibility in the snail-trematode system // Parasitology. 2001. V. 123. P. 41–56.

41. *Webster J. P., Woolhouse M. E.* Selection and strain specificity of compatibility between snail intermediate hosts and their parasitic schistosomes // Evolution. 1998. V. 53. P. 1627–1634.