

·论 著·

基于 28S *rRNA* 基因序列对洛阳地区嗜尸性蝇类的分子鉴定赵琳琳¹, 翟仙敦¹, 张 振¹, 吕 宙², 夏志远¹, 莫耀南¹

(1. 河南科技大学法医学院, 河南 洛阳 471003; 2. 西南政法大学刑事侦查学院, 重庆 400031)

摘要: 目的 通过检测嗜尸性蝇类 28S *rRNA* 基因中 715 bp 序列, 鉴定常见嗜尸性蝇类种属, 解决其形态学鉴定难题, 为死亡时间推断提供技术支持。方法 收集洛阳地区常见嗜尸性蝇类标本 29 只, 经形态学鉴定后, 用 Chelex-100 法提取腿部 DNA, 并对 28S *rRNA* 基因片段进行扩增和测序, 与 GenBank 和 EMBL 数据库中的 28 条相应蝇种序列进行比对, 用 MEGA7.0 软件进行序列整理, 通过 BLAST 搜索进行序列比对, 并分析所得序列碱基组成, 建立种内及种间进化分歧率, 构建系统发育树。结果 形态学鉴定 29 只嗜尸性蝇类归属于 3 科 5 属 6 种。获得 28S *rRNA* 基因中 715 bp 的序列, 在线 BLAST 比对结果显示相似度 100%。系统发育树显示 5 种蝇类可以较好聚类。不同蝇种种间差异 0.007~0.045, 种内差异 0~0.001, 种间差异和种内差异没有交叉。结论 28S *rRNA* 靶基因序列片段对嗜尸性蝇类有良好的鉴别能力, 可以作为新的嗜尸性蝇类种属鉴定遗传标记。

关键词: 法医昆虫学; 法医遗传学; 嗜尸性蝇类; 聚类分析; 28S *rRNA*; 死亡时间; 洛阳

中图分类号: DF795.1 文献标志码: A doi: 10.3969/j.issn.1004-5619.2018.02.002

文章编号: 1004-5619(2018)02-0114-06

Molecular Identification of Sarcosaphagous Flies in Luoyang Based on 28S *rRNA* Gene SequenceZHAO Lin-lin¹, ZHAI Xian-dun¹, ZHANG Zhen¹, LÜ Zhou², XIA Zhi-yuan¹, MO Yao-nan¹

(1. School of Forensic Medicine, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China; 2. School of Criminal Investigation, Southwest University of Political Science & Law, Chongqing 400031, China)

Abstract: Objective To detect 715 bp sequence of 28S *rRNA* in sarcosaphagous flies, and to identify their common species for solving the problem of morphological identification, as well as providing technical support for postmortem interval (PMI) estimation. **Methods** Twenty-nine common sarcosaphagous flies were collected in Luoyang and classified by morphological characteristics. The DNA was extracted from the fly's legs by Chelex-100 method and then the fragments of 28S *rRNA* were amplified and sequenced. The results were compared with twenty-eight corresponding fly species of GenBank and EMBL databases. All the sequences were analyzed by MEGA7.0 software, and sequence alignment was performed by the searching in BLAST. The nucleotide composition was analysed, and the intraspecific and interspecific genetic distance and phylogenetic tree were established. **Results** Twenty-nine sarcosaphagous flies were classified into 6 species of 5 genera, 3 families by morphological characteristics. In the obtained 715 bp sequence of 28S *rRNA*, the comparison result of online BLAST showed that the similarity was 100%. Five species were well clustered by a phylogenetic tree. Between different groups, the interspecific and intraspecific differences ranged from 0.007 to 0.045 and 0 to 0.001, respectively. **Conclusion** The 28S *rRNA* target gene sequences shows a good identification capability, which can be a new genetic marker for the identification of sarcosaphagous flies.

Keywords: forensic entomology; forensic genetics; sarcosaphagous flies; cluster analysis; 28S *rRNA*; post-mortem interval; Luoyang

法医昆虫学(forensic entomology)是应用昆虫学及其他自然科学的理论与技术,对死亡时间(postmortem

interval, PMI)和死亡地点进行推断,从而解决司法实践中有关昆虫问题的一门科学。研究^[1-4]表明,与尸体腐败联系最紧密的是双翅目与鞘翅目昆虫,但鞘翅目昆虫到达尸体时间较晚,而双翅目昆虫常常第一时间到达尸体,具有更重要的法医学意义,尤其是双翅目中的丽蝇科、麻蝇科与蝇科。传统的形态学鉴定要求鉴定人具有丰富的经验,在我国仅有少数形态学专家具备这方面的能力。鉴于案发现场蝇类的多样性和复杂性,非昆虫专业人员很难依据其形态鉴定种属,因此寻找一种简单、准确、迅速、通用的方法是当务之急。

基金项目: 河南省基础与前沿技术研究计划资助项目(11230 0410082); 河南科技大学基金资助项目(09001309, 13000914, 13000696); 洛阳市法医技术鉴定重点实验室资助项目(11550002); 河南科技大学研究生创新基金资助项目(CXJJ-2016-ZR16); 河南省高等学校重点科研项目基础研究计划资助项目(18B310002)

作者简介: 赵琳琳(1991—),女,硕士研究生,主要从事法医遗传学研究; E-mail: flyzhaolilin@163.com

通信作者: 翟仙敦,女,博士,副教授,硕士研究生导师,主要从事法医遗传学研究; E-mail: xiandunzhai@163.com

近年来国内外关于昆虫的分子鉴定为嗜尸性蝇类的种属鉴定开辟了新途径,其中最常用的是线粒体基因组 *CO I*、*CO II*、*16S rRNA* 等基因序列^[5-6],核基因组 *28S rRNA* 基因序列也逐渐被国外学者研究并证实可以进行嗜尸性蝇类的种属鉴定^[2,7]。本研究拟对嗜尸性蝇类核基因组变异性较大的 *28S rRNA* 基因中 715bp 序列片段进行分析,进而对洛阳地区常见嗜尸性蝇类进行种属鉴定,以方便法医昆虫学的应用。

1 材料与方法

1.1 样本

1.1.1 蝇类样本采集

放置大鼠尸体于河南科技大学(洛阳)操场树荫下诱捕蝇类,之后用离心管分类单独密封包装置于 -20℃ 冰箱中保存。依据《中国常见蝇类检索表》进行形态学种类鉴定,共捕捉到 8 只丝光绿蝇 *Lucilia sericata* (Meigen, 1826)、1 只铜绿蝇 *Lucilia cuprina* (Wiede-

mann, 1830)、11 只大头金蝇 *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794)、2 只家蝇 *Musca domestica* (Linnaeus, 1758)、4 只棕尾别麻蝇 *Sarcophaga peregrina* (Robineau-Desvoidy, 1830)、3 只肥须亚麻蝇 *Sarcophaga crassipalpis* (Macquart, 1839)。

1.1.2 虚拟样本来源

虚拟样本来自 GenBank 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>)和 EMBL 数据库(<https://www.ebi.ac.uk/>),在数据库中以 6 种蝇类[丝光绿蝇 *Lucilia sericata* (Meigen, 1826)、铜绿蝇 *Lucilia cuprina* (Wiedemann, 1830)、大头金蝇 *Chrysomya megacephala* (Fabricius, 1794)、家蝇 *Musca domestica* (Linnaeus, 1758)、棕尾别麻蝇 *Sarcophaga peregrina* (Robineau-Desvoidy, 1830)、肥须亚麻蝇 *Sarcophaga crassipalpis* (Macquart, 1839)]和 *28S rRNA* 为关键词进行索引,将大于 700bp 的序列纳入本研究。经筛选共得到 28 条其他地区的记录,其中 2 条为家蝇,详见表 1。

表 1 GenBank 和 EMBL 检索数据汇总情况

序号	种名	GenBank/EMBL 登录号	地区
1	丝光绿蝇 <i>Lucilia sericata</i>	AJ300139.1	英国萨默塞特郡
2		AJ300140.1	丹麦西兰岛
3		AJ300141.1	美国加利福尼亚州
4		FJ650534.1	美国
5		FJ650535.1	美国俄勒冈州
6		FJ650536.1	美国加利福尼亚州
7		FJ650537.1	美国加利福尼亚州
8		JQ246624.1	法国
9		JQ307777.1	英国
10	铜绿蝇 <i>Lucilia cuprina</i>	AJ417709.1	澳大利亚昆士兰
11		FJ650528.1	美国佛罗里达州
12		FJ650529.1	美国佛罗里达州
13		FJ650530.1	美国佛罗里达州
14		FJ650531.1	美国佛罗里达州
15		FJ650532.1	美国佛罗里达州
16		FJ650533.1	美国加利福尼亚州
17		FJ650538.1	美国佛罗里达州
18		FJ650539.1	美国佛罗里达州
19		FJ650540.1	美国佛罗里达州
20		FJ650541.1	美国佛罗里达州
21	FJ650542.1	美国佛罗里达州	
22	JQ246622.1	巴西	
23	大头金蝇 <i>Chrysomya megacephala</i>	AJ551435.1	西班牙加那利群岛
24		JF439576.1	美国西佛吉尼亚州
25		JQ246607.1	美国西佛吉尼亚州
26	家蝇 <i>Musca domestica</i>	AJ551427.1	英国布里斯托尔郡
27		JQ246652.1	巴西
28	肥须亚麻蝇 <i>Sarcophaga crassipalpis</i>	JF439572.1	美国西佛吉尼亚州

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取

每个样本取腿 4 条,清洗,捣碎,用 Chelex-100 法提取腿部 DNA,置于-20℃保存备用。

1.2.2 PCR 扩增

采用 *TaKaRa Ex Taq*[®] 试剂盒[宝日医生物技术(北京)有限公司]对 28S *rRNA* 基因中的目的片段进行扩增。扩增引物为:上游引物 5'-GACTACCCCCTG AATTTAAGCAT-3';下游引物 5'-GACTCCTTGGTCC GTGTTTCAAG-3'。扩增总体积为 50 μL,包括 10× PCR 缓冲液(含 Mg²⁺) 5 μL,dNTP 混合物(2.5 mmol/L) 6 μL,上、下游引物(10 μmol/L)各 2 μL,5 U/μL 的 *Ex Taq*[®] DNA 聚合酶 0.75 μL,DNA 模板 6 μL,ddH₂O 补足。PCR 循环参数:94℃预变性 1 min;94℃ 1 min,45℃ 1.5 min,72℃ 1.5 min,5 个循环;94℃ 1 min,50℃ 1.5 min,72℃ 1 min,35 个循环;72℃延伸 8 min。扩增产物于 4℃保存。

1.2.3 电泳检测及测序分析

PCR 产物经 2%琼脂糖凝胶电泳(120 V 30 min),溴化乙锭染色,置于凝胶成像系统拍照分析。

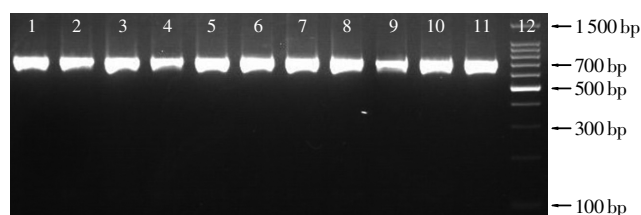
测序引物为 PCR 扩增引物,扩增产物由上海立菲生物技术有限公司测序,正反双向测序以保证序列的准确性。应用 MEGA7.0^[8]分析软件将所测 29 个样本的基因序列进行整理,在 BLAST 搜索(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)进行序列比对。纳入来自 GenBank 和 EMBL 数据库的 28 条相应蝇种序列,以家蝇为外群,经 MEGA7.0 分析软件比对,剪切为相同

长度,然后按邻近法(neighbor-joining,NJ)对序列进行碱基组成、进化分歧率和系统发育树分析,Bootstrap 值为 1 000。

2 结果

2.1 DNA 提取及测序结果

本研究共获得 3 科 5 属 6 种 29 个样本的 DNA,DNA 提取效果较好,部分样本 DNA 扩增产物琼脂糖凝胶电泳结果见图 1。与来自 GenBank 和 EMBL 数据库的 28 个蝇种(含 2 只家蝇)序列合并分析,获得片段长度为 715 bp。



1~11 泳道为样本,12 泳道为 100 bp DNA Ladder

图 1 部分样本 DNA 扩增后电泳图谱

2.2 BLAST 比对结果

BLAST 比对结果(表 2)显示所得样本 DNA 与 GenBank 中已知序列一致(相似度均为 100%),与形态学鉴定结果相符合。但并未发现与样本 23、24、25 和 26 一致的基因序列,形态学鉴定该 4 个样本为棕尾别麻蝇,GenBank 中搜索棕尾别麻蝇 *Sarcophaga peregrina* 的 28S *rRNA* 基因序列,共有 4 条记录,但显示长度均约 400 bp。

表 2 29 个样本 28S *rRNA* 基因中 715 bp 序列在线 BLAST 比对结果

编号	GenBank 注册号 ¹⁾	科	属	种	BLAST 比对结果	GenBank 登录号 ²⁾	覆盖率/相似度
1	KY197797	丽蝇科	绿蝇属	丝光绿蝇	<i>Lucilia sericata</i>	JQ307777.1	100%/100%
2	KY197798			丝光绿蝇	<i>Lucilia sericata</i>	JQ307777.1	100%/100%
3	KY197799			丝光绿蝇	<i>Lucilia sericata</i>	JQ307777.1	100%/100%
4	KY197800			丝光绿蝇	<i>Lucilia sericata</i>	JQ307777.1	100%/100%
5	KY197801			丝光绿蝇	<i>Lucilia sericata</i>	JQ307777.1	100%/100%
6	KY197802			丝光绿蝇	<i>Lucilia sericata</i>	JQ307777.1	100%/100%
7	KY197803			丝光绿蝇	<i>Lucilia sericata</i>	JQ307777.1	100%/100%
8	KY197804			丝光绿蝇	<i>Lucilia sericata</i>	JQ307777.1	100%/100%
9	KY197796			铜绿蝇	<i>Lucilia cuprina</i>	FJ650542.1	99%/100%
10	KY197787		金蝇属	大头金蝇	<i>Chrysomya megacephala</i>	JF439576.1	100%/100%
11	KY197788			大头金蝇	<i>Chrysomya megacephala</i>	JF439576.1	100%/100%
12	KY197789			大头金蝇	<i>Chrysomya megacephala</i>	JF439576.1	100%/100%
13	KY213956			大头金蝇	<i>Chrysomya megacephala</i>	JF439576.1	100%/100%
14	KY197790			大头金蝇	<i>Chrysomya megacephala</i>	JF439576.1	100%/100%
15	KY197791			大头金蝇	<i>Chrysomya megacephala</i>	JF439576.1	100%/100%
16	KY197792			大头金蝇	<i>Chrysomya megacephala</i>	JF439576.1	100%/100%
17	KY197793			大头金蝇	<i>Chrysomya megacephala</i>	JF439576.1	100%/100%
18	KY213957			大头金蝇	<i>Chrysomya megacephala</i>	JF439576.1	100%/100%

表 2(续)

编号	GenBank 注册号 ¹⁾	科	属	种	BLAST 比对结果	GenBank 登录号 ²⁾	覆盖率/相似度
19	KY197794			大头金蝇	<i>Chrysomya megacephala</i>	JF439576.1	100%/100%
20	KY197795			大头金蝇	<i>Chrysomya megacephala</i>	JF439576.1	100%/100%
21	KY197805	蝇科	家蝇属	家蝇	<i>Musca domestica</i>	FJ177822.1	100%/100%
22	KY197806			家蝇	<i>Musca domestica</i>	FJ177822.1	100%/100%
23	KY197810	麻蝇科	别麻蝇属	棕尾别麻蝇	<i>Sarcophaga peregrina</i>	-	-
24	KY197811			棕尾别麻蝇	<i>Sarcophaga peregrina</i>	-	-
25	KY197812			棕尾别麻蝇	<i>Sarcophaga peregrina</i>	-	-
26	KY197813			棕尾别麻蝇	<i>Sarcophaga peregrina</i>	-	-
27	KY197807		亚麻蝇属	肥须亚麻蝇	<i>Sarcophaga crassipalpis</i>	JF439572.1	100%/100%
28	KY197808			肥须亚麻蝇	<i>Sarcophaga crassipalpis</i>	JF439572.1	100%/100%
29	KY197809			肥须亚麻蝇	<i>Sarcophaga crassipalpis</i>	JF439572.1	100%/100%

注:1)本研究提交序列 GenBank 注册号;2)BLAST 比对序列 GenBank 登录号;“-”表示未发现一致的基因序列

2.3 碱基组成分析

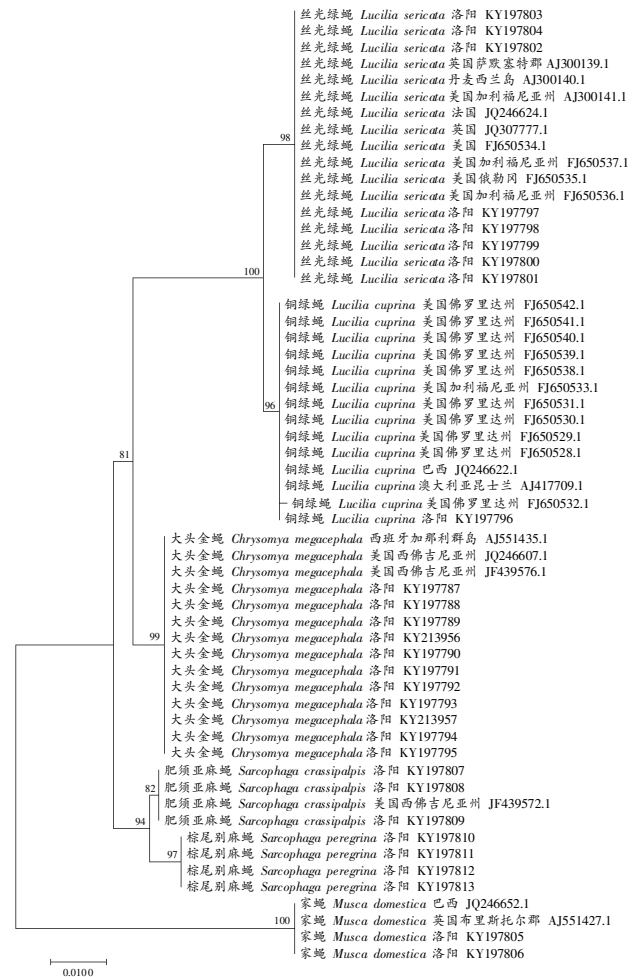
家蝇作为外群除外,对所得 53 个样本的基因序列进行碱基组成分析,结果显示:保守位点 677 个,可变位点 37 个,其中简约性信息位点 36 个,自裔位点 1 个。碱基平均组成:T=34.3%,C=13.2%,A=34.2%,G=18.3%,A+T=68.5%,具有明显的 A+T 倾向性。

2.4 系统发育树分析

以家蝇为外群,运用 MEGA7.0 软件对其他 53 个样本基因序列进行分析,构建系统发育树,结果按照不同科、属、种分别聚类,分子鉴定结果和形态学鉴定结果一致(图 2)。53 个样本自上而下分别形成 2 个群聚,分别代表丽蝇科和麻蝇科。丽蝇科又分为 2 支,分别代表绿蝇属和金蝇属,属间 Bootstrap 检验可信度为 81%。绿蝇属包括 17 只丝光绿蝇和 14 只铜绿蝇,两个蝇种分别聚类,两者的种内 Bootstrap 检验可信度分别为 98%和 96%,种间 Bootstrap 检验可信度为 100%;金蝇属包括 14 只大头金蝇,种内 Bootstrap 检验可信度为 99%。麻蝇科分出亚麻蝇属和别麻蝇属 2 支,属间 Bootstrap 检验可信度为 94%。亚麻蝇属包括 4 只肥须亚麻蝇,种内 Bootstrap 检验可信度为 82%;别麻蝇属包括 4 只棕尾别麻蝇,种内 Bootstrap 检验可信度为 97%。各个科、属、种间的划分清晰,效果好。

2.5 种内及种间进化分歧

经过对不同地区 2 科 4 属 5 种 53 个蝇类个体的遗传距离进行计算,获得不同蝇种种间差异为 0.007~0.045,种内差异为 0~0.001,种间差异和种内差异没有交叉(表 3)。



右侧依次显示为蝇种名称、采集地点、GenBank 登录号,左侧分支上的数字表示群聚的 Bootstrap 检验可信度(%)

图 2 基于 53 个样本 28S rRNA 基因中 715 bp 序列构建的系统发育树

表 3 53 个样本 28S rRNA 基因中 715 bp 序列的种间差异和种内差异

蝇类	大头金蝇 <i>Chrysomya megacephala</i>	铜绿蝇 <i>Lucilia cuprina</i>	丝光绿蝇 <i>Lucilia sericata</i>	肥须亚麻蝇 <i>Sarcophaga crassipalpis</i>	棕尾别麻蝇 <i>Sarcophaga peregrina</i>
大头金蝇 <i>Chrysomya megacephala</i>	0				
铜绿蝇 <i>Lucilia cuprina</i>	0.033/0.035	0/0.001			
丝光绿蝇 <i>Lucilia sericata</i>	0.033	0.009/0.010	0		
肥须亚麻蝇 <i>Sarcophaga crassipalpis</i>	0.020	0.035/0.036	0.041	0	
棕尾别麻蝇 <i>Sarcophaga peregrina</i>	0.023	0.039/0.041	0.045	0.007	0

注:GenBank 登录号为 FJ650532.1 的铜绿蝇序列与其他铜绿蝇样本的序列不同,故铜绿蝇的种内种间差异有两个值

3 讨论

根据尸体上嗜尸性蝇类生态群落演替规律对死亡时间和死亡地点进行推断,首要任务就是鉴定其种类。尽管我国具有丰富经验的昆虫学专家能够快速、精确地作出鉴定,但也仅限于成虫,困难的是对蝇类卵、幼虫、蛹生长发育规律的把握和形态学的鉴定,这对于缺乏昆虫学专业知识的广大法医工作者来说更是难上加难,因此寻找一种简单、准确、迅速、通用的方法是当务之急。1994 年 SPERLING 等^[9]首次将一种以 DNA 为基础的方法用于嗜尸性昆虫种类鉴定,此后 DNA 分子鉴定作为形态学鉴定方法的补充手段被越来越多的法医昆虫学研究者所接受。

28S rRNA 基因是真核生物染色体上编码核糖体大亚基的基因,具有重要的生物学功能,在进化上比较保守,是研究生物系统发育较好的分子标记。其序列中包含 12 个可变区,基因变异性较大,因此可用于嗜尸性蝇类从科到种水平上的分子鉴定。YUSSEFF-VANEGAS 等^[2,7]应用 28S rRNA 基因序列成功对丽蝇科属种进行鉴定,本研究结果与其一致。葛振萍等^[10]用 28S rRNA 基因中 698 bp 序列片段作为分子标记对常见有瓣蝇类的系统发育关系进行研究,取得了很好的效果。

本研究中,分子鉴定结果与形态鉴定结果一致。洛阳地区的 5 种嗜尸性蝇类 27 条序列与来自 GenBank 和 EMBL 数据库不同国家不同地区的 26 个相应蝇种序列(表 1)合并分析后发现,利用细胞核 28S rRNA 基因中 715 bp 的基因序列可以有效地将洛阳地区常见嗜尸性蝇类鉴定到种的水平。BLAST 在线比对过程中没有发现与棕尾别麻蝇一致的该基因序列,检索 GenBank 棕尾别麻蝇 28S rRNA 序列,只发现 4 条长度约 400 bp 的短序列,说明该蝇种的相关研究较少,而本研究的序列信息可以为此提供补充。构建的系统

发育树显示,丝光绿蝇与铜绿蝇分成明显的两支,可初步认为该基因序列能够对亲缘关系非常近的丝光绿蝇与铜绿蝇进行鉴别,这与 WILLIAMS 等^[7,11]的研究结果一致。

根据 WELLS 等^[12]的研究表明,判定一个遗传标记是否能够进行嗜尸性蝇类的分子鉴定,起决定作用的是种内序列变异的百分比,且与种间序列变异百分比无重叠。联合线粒体基因 CO I 和 CO II 进行鉴定,种内差异<1%,种间差异≥3%,通过分子鉴定,即使不能准确确定某一特定嗜尸性蝇种,至少可以把未知蝇种定位于某一特定的进化分支上。本研究中,不同蝇种种间差异为 0.007~0.045,种内差异为 0~0.001,与 WELLS 等的研究相比,种间差异未达到 3%,但种间差异和种内差异没有交叉,所有样本均位于某一特定的分支上,并且 Bootstrap 检验可信度≥81%。与国内研究^[13-14]也有一些差异,这可能与样本量大小、所捕获的蝇种差异及分子标记的选择有关。鉴于本研究中两种麻蝇的种间差异只有 0.007,本实验又选择了 CO I 基因序列中经典 DNA 条形码序列采用相同的实验和分析方法再次验证,结果发现两者的种间差异为 0.080,初步推测本研究中所选择的 28S rRNA 基因序列对麻蝇的鉴别能力有限,这有待于增加样本种类和数量进一步研究。

本研究中采用蝇类样本腿部提取 DNA,简便易行,同时 Chelex-100 法是法医实验室的常规方法,更有利于在基层实验室的推广。尽管 28S rRNA 靶基因序列片段相对较长,但对于目前的技术,一个测序反应足以完成。鉴于 28S rRNA 基因变异性大的特点,其对嗜尸性蝇类鉴定有独特优势,本课题组将在此基础上进一步筛选高变异的短片段用于嗜尸性蝇类分子鉴定的研究。

参考文献:

[1] LYU Z, WAN L H, YANG Y Q, et al. A checklist

- of beetles (Insecta, Coleoptera) on pig carcasses in the suburban area of southwestern China: A preliminary study and its forensic relevance[J]. *J Forensic Leg Med*, 2016, 41:42-48.
- [2] YUSSEFF-VANEGAS S, AGNARSSON I. Molecular phylogeny of the forensically important genus *Cochliomyia* (Diptera: Calliphoridae)[J]. *Zookeys*, 2016(609): 107-120.
- [3] SHARMA M, SINGH D, SHARMA A K. Mitochondrial DNA based identification of forensically important Indian flesh flies (Diptera: Sarcophagidae)[J]. *Forensic Sci Int*, 2015, 247:1-6.
- [4] SYAMSA R A, AHMAD F M, ZUHA R M, et al. An occurrence of *Synthesiomyia nudiseta* (Wulp) (Diptera: Muscidae) from a human corpse in a high-rise building in Malaysia: a case report[J]. *Trop Biomed*, 2012, 29(1):107-112.
- [5] PREATIVATANYOU K, SIRISUP N, PAYUNGPORN S, et al. Mitochondrial DNA-based identification of some forensically important blowflies in Thailand[J]. *Forensic Sci Int*, 2010, 202(1-3):97-101.
- [6] 陈凤磊, 蔡继峰, 郭亚东, 等. 利用 *16S rDNA* 序列鉴定常见嗜尸性蝇类种属[J]. *中国法医学杂志*, 2011, 26(5): 362-364.
- [7] WILLIAMS K A, LAMB J, VILLET M H. Phylogenetic radiation of the greenbottle flies (Diptera, Calliphoridae, Luciliinae)[J]. *Zookeys*, 2016(568):59-86.
- [8] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets[J]. *Mol Biol Evol*, 2016, 33(7): 1870-1874.
- [9] SPERLING F A, ANDERSON G S, HICKEY D A. A DNA-based approach to the identification of insect species used for postmortem interval estimation[J]. *J Forensic Sci*, 1994, 39(2):418-427.
- [10] 葛振萍, 智妍, 张春田. 基于 *28S rRNA* 基因序列的常见有瓣蝇类的系统发育[J]. *四川动物*, 2008, 27(6):989-992.
- [11] DEBRY R W, TIMM A E, DAHLEM G A, et al. mtDNA-based identification of *Lucilia cuprina* (Wiedemann) and *Lucilia sericata* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae) in the continental United States[J]. *Forensic Sci Int*, 2010, 202(1-3):102-109.
- [12] WELLS J D, SPERLING F A. DNA-based identification of forensically important Chrysomyinae (Diptera: Calliphoridae)[J]. *Forensic Sci Int*, 2001, 120(1-2): 110-115.
- [13] 石坚, 郭亚东, 匡栩源, 等. 应用 *16S rDNA* 短序列片段鉴定常见嗜尸性丽蝇[J]. *法医学杂志*, 2012, 28(4): 281-286.
- [14] 李进华, 蔡继峰, 郭亚东, 等. 利用 *CO I* 序列序列鉴定常见嗜尸性蝇种[J]. *中国法医学杂志*, 2011, 26(6):443-446.

(收稿日期:2016-10-06)

(本文编辑:邹冬华)

(上接第 113 页)

- [10] DI PAOLO N C, SHAYAKHMETOV D M. Interleukin 1α and the inflammatory process[J]. *Nat Immunol*, 2016, 17(8):906-913.
- [11] 张宏伟, 潘灵辉. 急性肺损伤与细胞因子平衡的研究进展[J]. *医学综述*, 2006, 12(23):1411-1414.
- [12] PARSONS P E, MATTHAY M A, WARE L B, et al. Elevated plasma levels of soluble TNF receptors are associated with morbidity and mortality in patients with acute lung injury[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2005, 288(3):L426-L431.

(收稿日期:2016-08-10)

(本文编辑:张建华)