

Великий практикум

Методи генетичного аналізу на *Drosophila melanogaster*

3. Соматичні мозаїки

Мозаїк — організм, у якого клітини мають різний генотип

Перші мозаїки у дрософіли – гінандроморфи
(Морган, 1914)

Причини виникнення мозаїцизму:

Втрата хромосоми під час поділу

Соматичний кросінговер

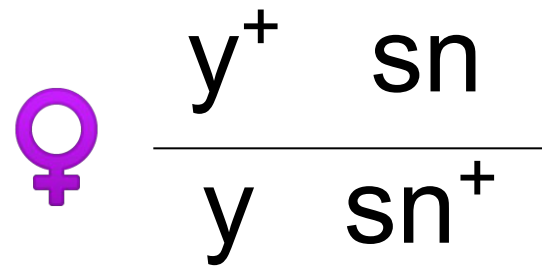
Інсерційниці мутагенез

Використання соматичних мозаїків у генетичному аналізі:

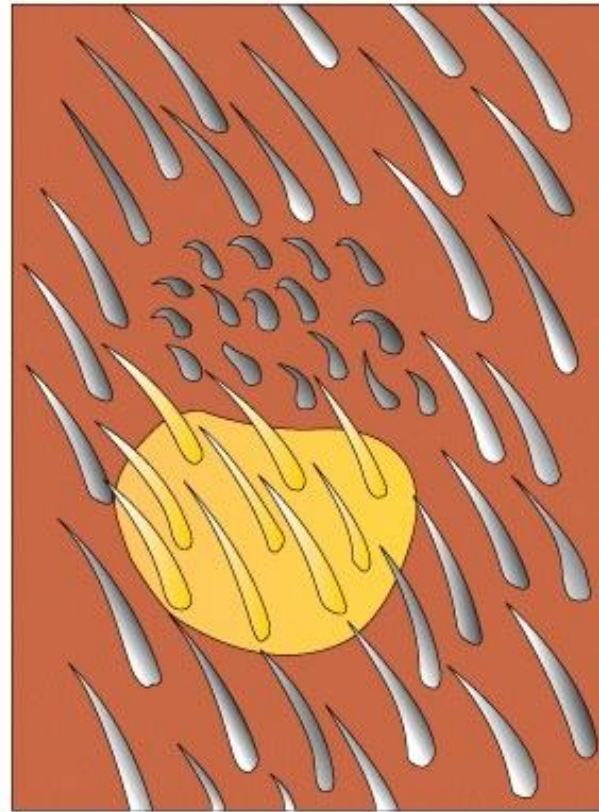
1. Визначити місце та характер активності гена:

- Чи функція гена внутрішньоклітинна, чи він діє на віддалені клітини?

2. Вивчення функції летальних генів, оскільки гомозиготи гинуть у ембріональному періоді, а мозаїки - життєздатні

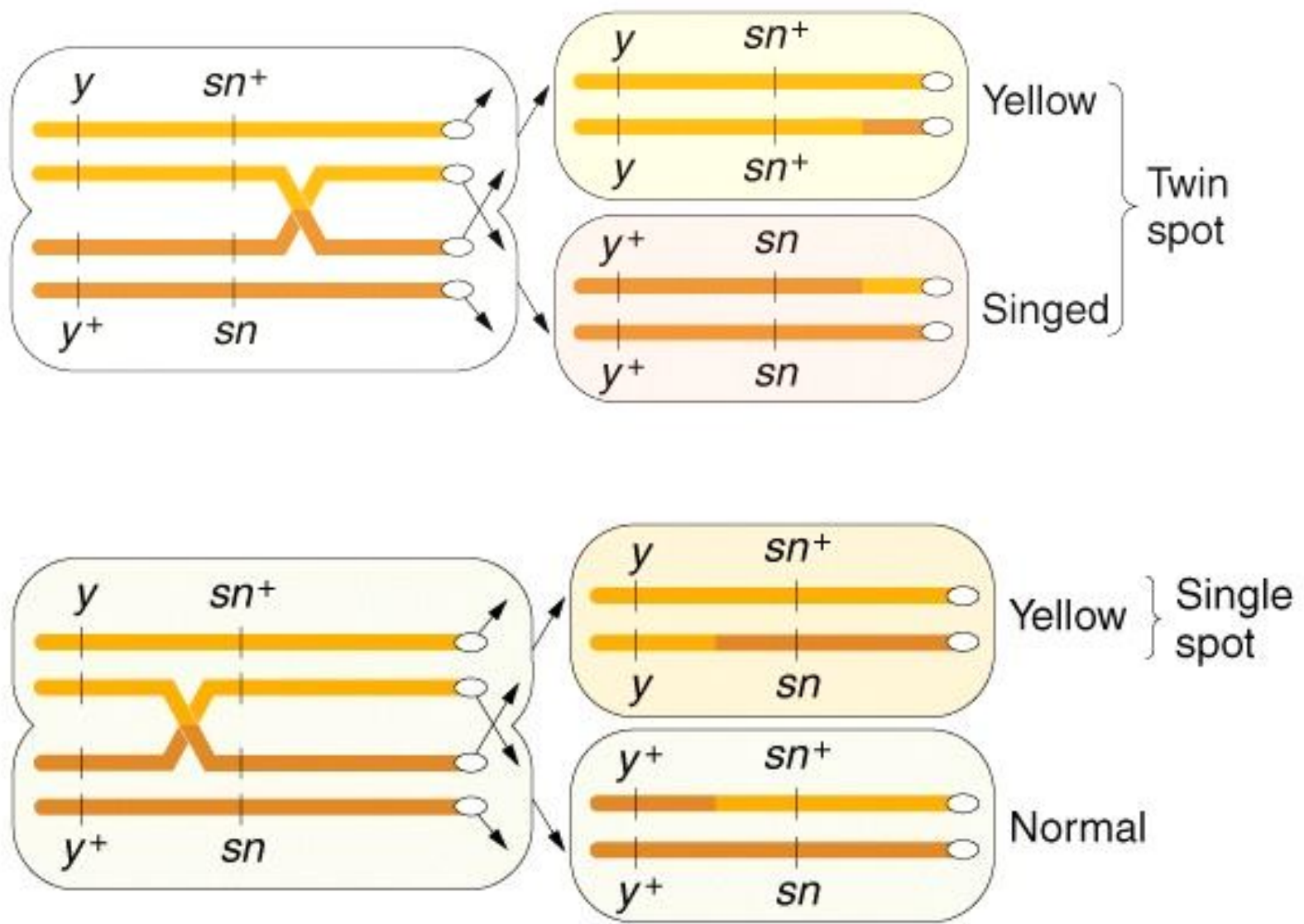


(a) Single yellow spot



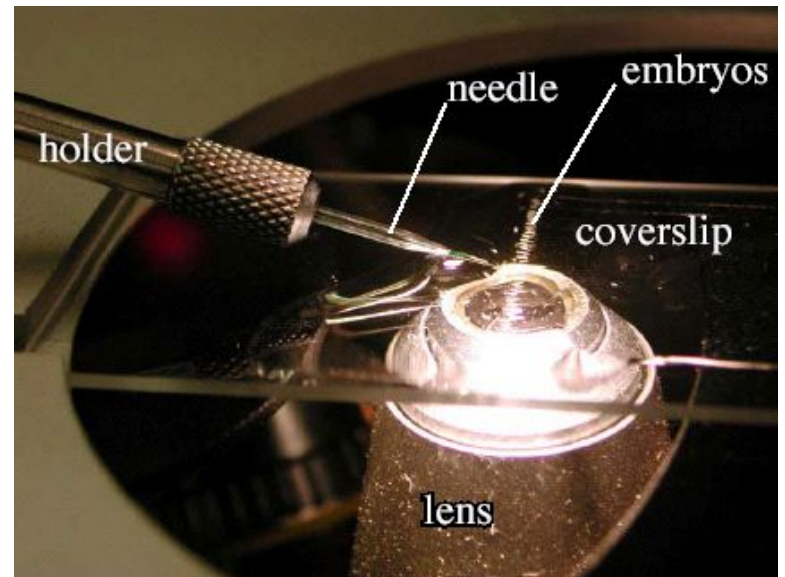
(b) Twin spot

Phenotype



Молекулярні інструменти –трансформація у дрозозфіли

1982 - Дж.Рубін та А.Спрэдлінг, вектор **P**-елемент



Ефективність трансформації близько 14%

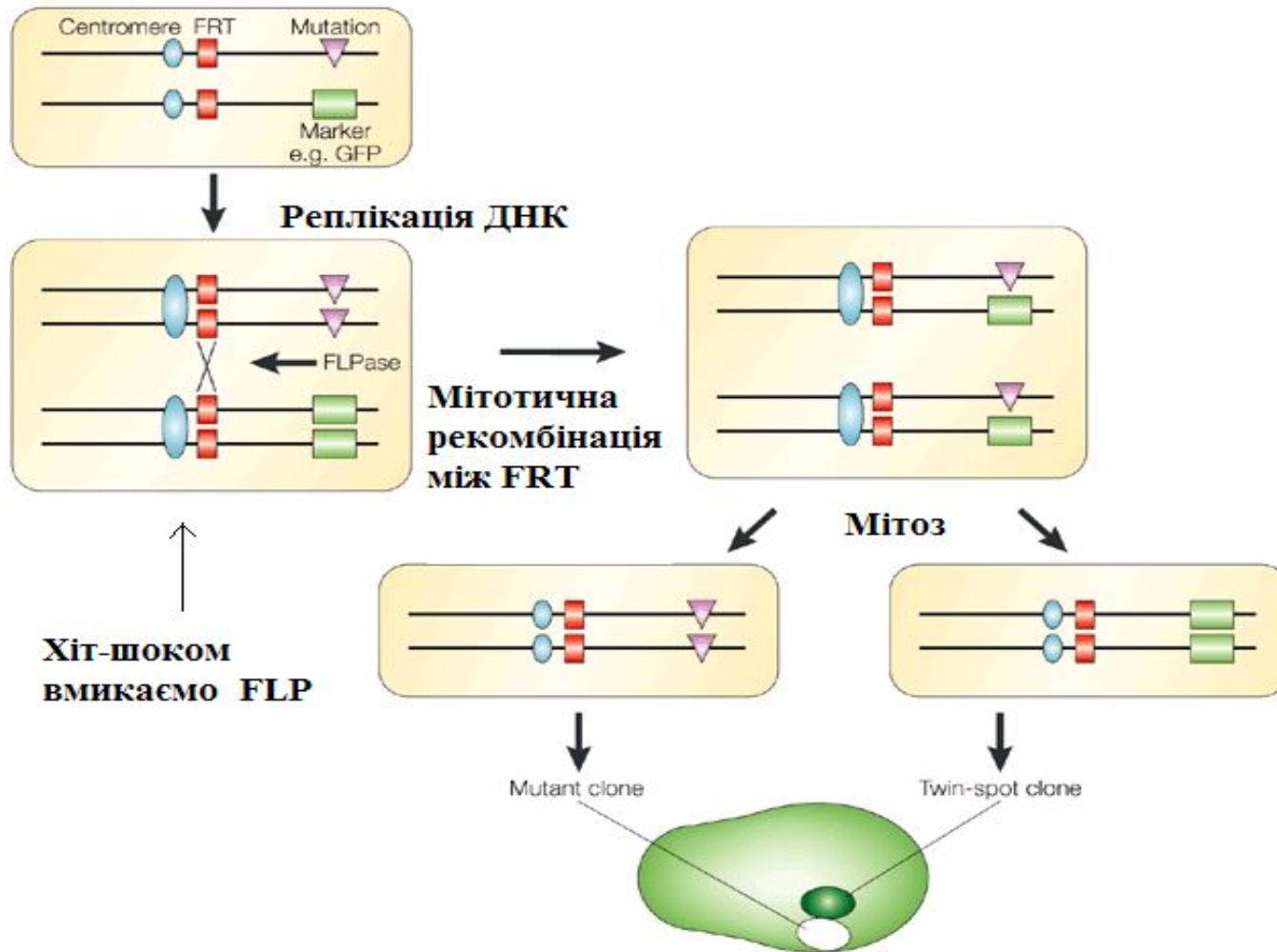
Система FRT – FLP

- FLP – рекомбіназа дріжджів (фліпаза), що викликає сайтспецифічну рекомбінацію
- FRT – сайт мішень

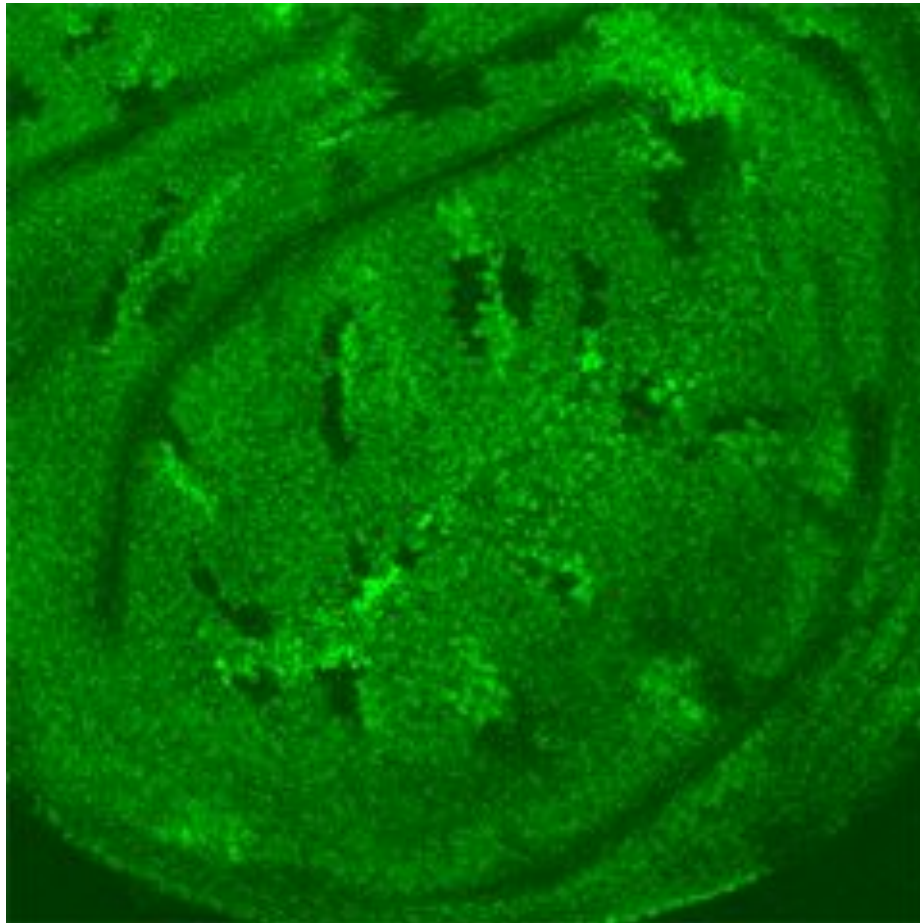
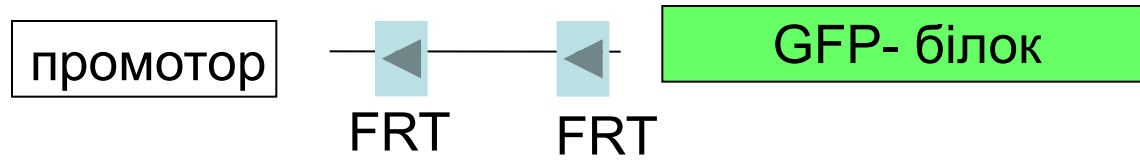
Перевага – рекомбінацію можна «вмикати» у потрібний час та у визначеному місті

Як включити рекомбіназу FLP?

1. Хіт-шоком (38° на 1 год). FLP під хіт-шоковим промотором
Клони розподілятимуться по тканинах випадково



Маркування

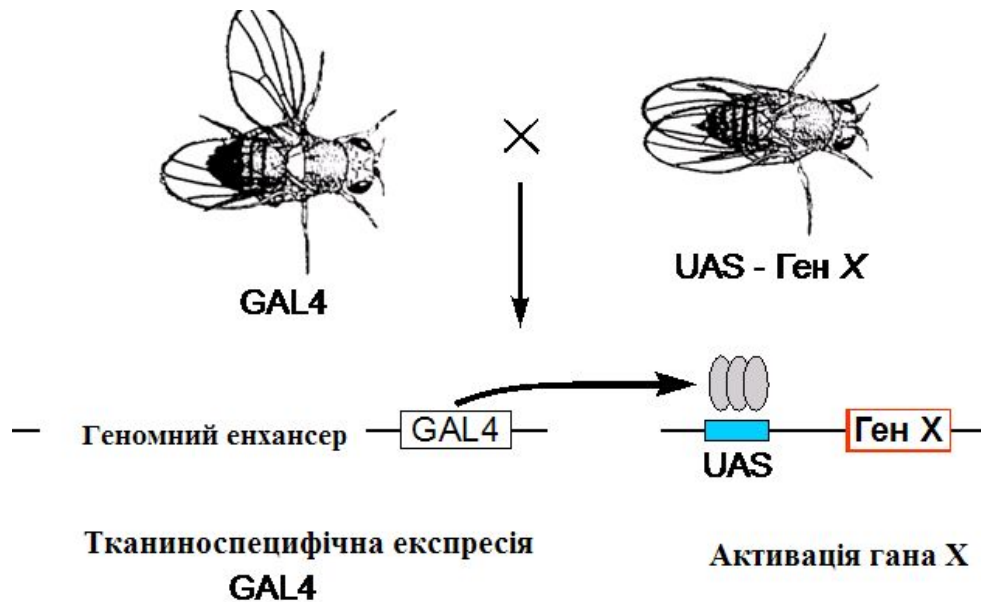


GFP-білок з'явиться, якщо спейсер видалено

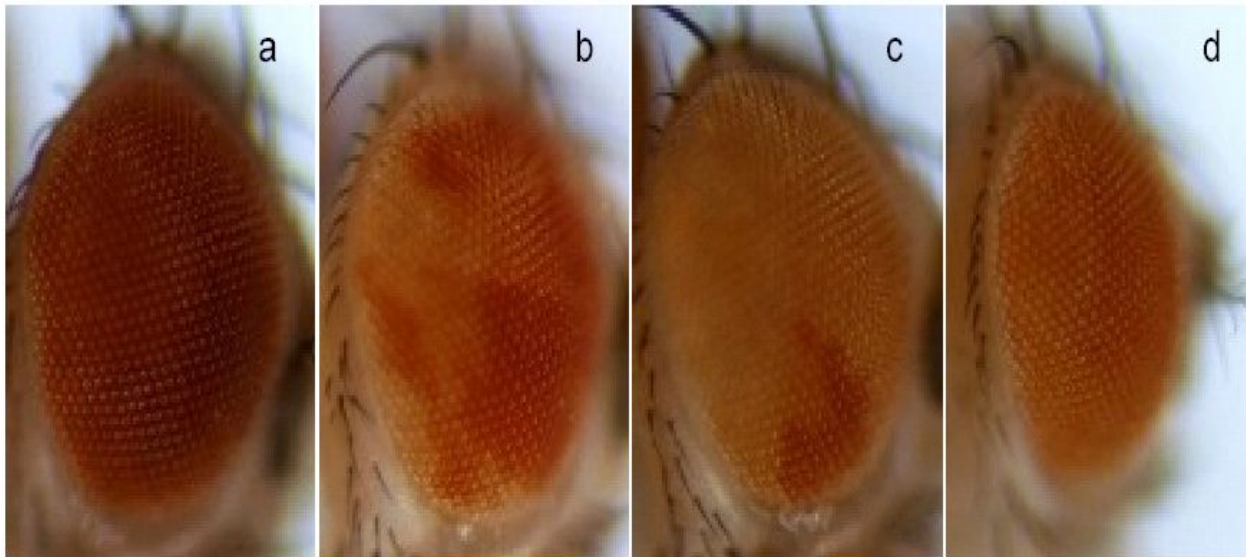
Клони в імагінальному диску крила

2. Бінарна GAL4 – UAS система

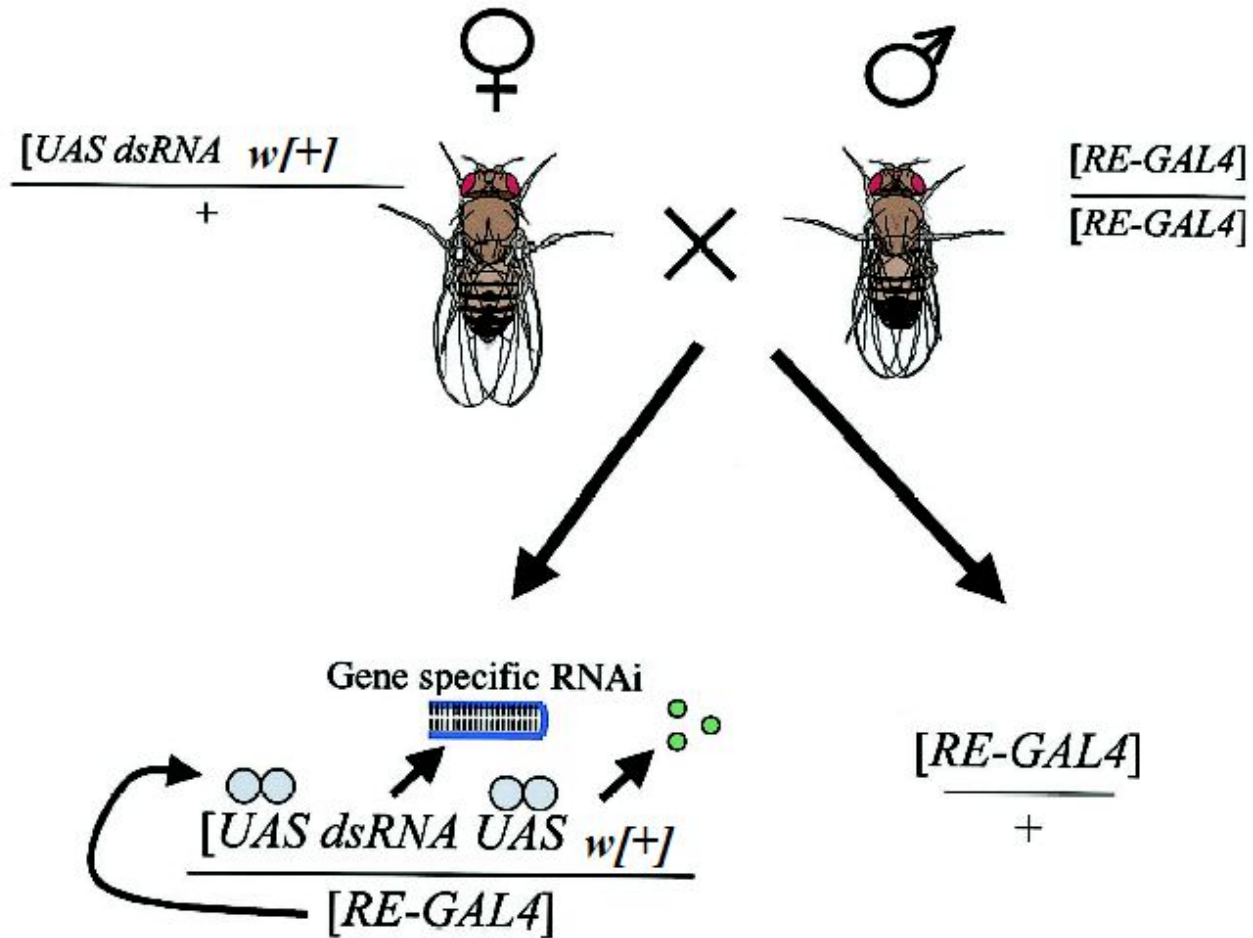
UAS-FLPпромотор + специфічний драйвер GAL4 (активатор транскрипції дріжджів)
– тканиноспецифічні клони



Маркування геном w



Функціональний knock-out



До 70-80% мРНК інактивується

[w1118](#)w1118; [P{GD3277}v5469](#)
(*UAS-sws-RNAi*)

Драйвер:

1369-GAL4 - око, глія, ламіна
геро - GAL4 - глія

NH2DysActGal4/ CyO – інактивовані довгі ізоформи дистрофіну

Модифікатор:

11257 [cn1 P{PZ}Sema-2a03021/CyO; ry506](#)

cn[1] P {ry[+t7.2]=PZ} Sema-2a[03021]/CyO; ry[506]