

## Expresión de GFP en discos imagales de *D. melanogaster*

Autores: Bravo Contreras, Lilia Zuhey; Díaz Bajonero, Shirley Margarita; Mejía Ávila, Rocío Pamela; García Paz, María Alejandra Sandra; Silva Nava, Eduardo Alexis

Institución que representan: Centro Universitario Anglo Mexicano de Morelos, S. C.

### Asesores:

Dr. Edmundo Calva

Estudiante: Iván Sánchez Díaz

### Introducción:

*Drosophila melanogaster* también llamada mosca del vinagre o mosca de la fruta, es un insecto díptero (dos alas). Recibe este nombre debido a que se le encuentra alimentándose de frutas en proceso de fermentación tales como manzana, cambur, uva, etc. Es una especie utilizada frecuentemente en experimentación genética, dado que posee un reducido número de cromosomas (4 pares) y aproximadamente el 61% de los genes de enfermedades humanas que se conocen tienen una contrapartida identificable en el genoma de las moscas de la fruta. Los discos imagales de *D. melanogaster* son una secuencia de discos y cada uno va a dar origen a estructuras que van a formar a las moscas.

El promedio de duración de su ciclo de vida es de 10 días, lo que permite obtener varias generaciones en un año. En el siguiente cuadro se puede apreciar esto en forma más específica.

Estado	Tiempo
Desarrollo embrionario	1 día
Larva del 1er. estadio	1 día
Larva del 2o. estadio	1 día
Larva del 3er. estadio	2 días
Pre-pupa	4 horas
Pupa	4.5 días
Adulto	25 a 30 días

La mosca cuenta con cuatro cromosomas: el cromosoma 1 corresponde al cromosoma sexual y entre otras características hay genes involucrados con el color de los ojos, dado que cuando hay mutaciones en este cromosoma el ojo se vuelve blanco; el cromosoma 2 tiene que ver, entre otros genes con los que están involucrados en la formación de las alas de la mosca; el cromosoma 3 tiene que ver con los pelos que tienen las moscas en el abdomen y tórax, y el cromosoma 4 por ser muy pequeño contiene poca información.

Cuando las moscas están mutadas pueden presentar las siguientes características: cuando la mutación afecta a alguno de los genes de los ojos pueden presentarse de color blanco, a esta mutación se le llama White (w) y solo se da en el cromosoma X; cuando presentan las alas enroscadas se les llama curly (Cy) y por lo general estas moscas no pueden volar. Cuando

presentan los pelos del abdomen y del tórax más cortos que las que no presentan mutación se le llama Stubble (Sb) y entre el abdomen y el tórax las moscas tienen una pequeña protuberancia llamada Alterio, esta es la que le da el equilibrio para poder volar a la mosca y cuando presenta una mutación se le llama ultrabitorax (ubx).

Recientemente se han utilizado diferentes organismos como modelo de estudio de enfermedades adictivas. *Drosophila melanogaster* es un organismo invertebrado que ofrece ventajas ya que su bioquímica es muy parecida a la de los mamíferos, incluido el humano. Otra ventaja para trabajar con *Drosophila* es que es muy fácil de controlar su crecimiento.

En trabajos previos en el laboratorio del Dr. Enrique Reynaud se utilizó *Drosophila melanogaster* para realizar estudios sobre la respuesta ante una exposición a nicotina volatilizada y determinar si algún circuito neuronal en la mosca estaba relacionado con esta respuesta. Basados en experimentos previos, McClung y Hirsh y Baiton et al. 2000, realizaron un "screening" de moscas transgénicas en el cual usaron herramientas genéticas tales como el sistema UAS/GAL4 para expresar la proteína verde fluorescente (GFP) y la toxina de tétanos (TNTE) en el sistema nervioso central (SNC), así como moscas controles con la finalidad de caracterizar genética y citológicamente redes neuronales relacionados con la respuesta a la nicotina. De esta forma se encontró una línea (L-70) que presenta un fenotipo de sensibilidad a la nicotina. Se observó expresión de GFP en unas pocas neuronas que posiblemente estén relacionadas con el fenotipo que observaremos.

En genética se denomina mutagénesis a la producción de mutaciones sobre DNA, clonado o no. De realizarse *in vitro*, dicha alteración puede realizarse al azar (mutagénesis al azar), sobre cualquier secuencia, o bien de forma dirigida (mutagénesis dirigida) sobre una secuencia conocida y en la posición de interés.

El elemento P es una serie de segmentos de DNA que puede contener de uno a varios genes. El elemento P puede moverse dentro del genoma siempre y cuando se presente la enzima transposasa.

#### Objetivo:

Determinar la expresión de la proteína verde fluorescente (GFP) en discos imagales de la línea de mosca mutante *D. melanogaster*.

#### Hipótesis:

Al hacer las cruces de las moscas que contienen el elemento P con las moscas que contienen GFP, observaremos en qué tejido se expresa el elemento P que reduce la sensibilidad de la nicotina en la mosca.

#### Metodología:

Este proyecto fue realizado en un laboratorio del Instituto de Biotecnología donde nos proporcionaron las moscas y los medios de cultivo para criarlas. Las moscas se mantendrán a una temperatura de 25 °C para que su crecimiento no sea tan rápido. Para poder hacer las cruces, se deben dormir a las moscas para poder traspasarlas de un frasco a otro, así como para poder verlas en el microscopio y esto se hace mediante el CO<sub>2</sub>.

Se utilizará el sistema de dos componentes UAS/GAL4 para realizar un análisis de microscopía de fluorescencia, utilizando el gen de la proteína verde fluorescente (GFP) bajo el control del UAS. De las cruces de las líneas L-70

(Gal4) y la GFP (UAS), se seleccionarán las moscas de la F1 que hayan incorporado las dos inserciones. Estas moscas se observarán al microscopio de fluorescencia en etapas de larva y adulto de la mosca. De la siguiente manera:

Se obtendrán los discos imagales de larvas y se disectarán tejidos de adulto. Se fijarán en formaldehído al 4%, se lavarán 3 veces con buffer de fosfato  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  100mM, pH 7.8. Finalmente se montarán en un porta objetos añadiendo unas gotas de citifluor, se cubrirán y se sellarán para observarse al microscopio de fluorescencia y/o confocal.

Finalmente se analizarán los datos obtenidos.

#### Resultados:

En proceso

#### Conclusiones:

Se establecerán una vez terminada la fase experimental.

#### Bibliografía:

[www.Flybase.org/static\\_pages/anatomy](http://www.Flybase.org/static_pages/anatomy)

[www.botanical-onlyne.com/animales/mosca\\_vinagre](http://www.botanical-onlyne.com/animales/mosca_vinagre)

[www.wikipedia.com](http://www.wikipedia.com)