

Poznaj – Polubisz

Przez poznanie lokalnych gatunków do poszerzenia wiedzy i umiejętności biologicznych uczniów

Muszka owocowa jako modelowy obiekt badań

GABRIELA GOŁĘBIOWSKA-PALUCH*

Uniwersytet Komisji Edukacji Narodowej w Krakowie

Artykuł dotyczy muszki owocowej z rzędu muchówek. To niewielkie (2–3 mm) zwierzę bezkręgowce jest nie tylko dobrze znane z powodu powszechnego występowania w środowisku naturalnym i w otoczeniu człowieka, ale równocześnie ważnym organizmem modelowym do badań biologicznych. Muszka owocowa była także jednym z pierwszych zwierząt wykorzystywanych w lotach balonowych w górne warstwy atmosfery oraz pierwszym zwierzęciem umieszczonym w przestrzeni kosmicznej (20 lutego 1947 r.). Artykuł omawia m.in. zachowania godowe owada i jego cechy genetyczne.

SŁOWA KLUCZOWE: muszka owocowa, drozofila, muchówki, octówka

Fruit fly as a model research object

An article about a fruit fly from the order Diptera. This small (2–3 mm) invertebrate animal is not only well-known due to its common occurrence in the natural environment and around humans, but is also an important model organism for biological research. The fruit fly was also one of the first animals used in balloon flights into the upper atmosphere and the first animal placed in space (February 20, 1947). The article discusses, among others: insect mating behavior and its genetic features.

KEYWORDS: fruit fly, drosophila, flies, vinegar fly

Muszka owocowa (łac. *Drosophila melanogaster* Meig.) jest gatunkiem owada z rzędu muchówek (łac. *Diptera*) z rodziny wywilżankowatych (łac. *Drosophilidae*) (Narodowe Centrum Informacji Biotechnologicznej/Taksonomia, ang. National Center for Biotechnology Information/Taxonomy). Inne spotykane nazwy tej muchy to: wywilżna karłowata, wywilżnia, wywilżanka, drozofila karłowka, drozofila, muszka wytłokowa, mniejsza muszka owocowa, owocówka oraz octówka. W środowisku naturalnym owad ten żyje w pobliżu fermentujących owoców. Pierwotnie był to gatunek afrykański, a wszystkie nieafrykańskie linie miały wspólne pochodzenie. Jego zasięg geograficzny obejmuje wszystkie kontynenty, w tym wyspy (Klepsatel i in., 2014). Taksonomicznie nie jest to prawdziwa mucha owocowa, ponieważ nie rozmnaża się w owocach rosnących na drzewach, lecz w tych, które już opadną i zaczną fermentować.

W środowisku synantropijnym można ją spotkać w zakładach przetwórstwa owoców, dokąd przywabiają muszkę zapachy takich produktów jak wino, dżemy i ocet. Natomiast nie jest szkodnikiem upraw rolnych, ponieważ, wbrew obiegowej opinii, nie odżywia się owocami i sama nie powoduje ich gnicia. Jej pokarmem są drożdże rozwijające się na dojrzałych i gniących owocach. Natomiast drozofila jest powszechnym szkodnikiem w domach, sklepach, restauracjach i innych miejscach związanych z przemysłem spożywczym, gdyż zanieczyszcza produkty owocowe. Zarówno owady dorosłe, jak i znajdujące się we wcześniejszych stadiach rozwojowych mogą być łatwo zawleczone do pomieszczeń właśnie wraz z owocami.

Ze względu na łatwość hodowli oraz cechy biologiczne już w 1901 r. Charles W. Woodworth zaproponował wykorzystanie drozofili jako organizmu modelowego. Osiem lat później została wprowadzona przez Williama Ernesta Castle'a i Thomasa Hunta Morgana do badań genetycznych. Do tej pory ta mucha jest szeroko wykorzystywana w badaniach genetycznych, fizjologicznych, behawioralnych, ewolucjonistycznych oraz w patogenezie

drobnoustrojów. Od 2017 r. przyznano aż pięć Nagród Nobla za prace naukowe z wykorzystaniem tego owada.

Muszka owocowa jest łatwa i tania w hodowli, ma szybki cykl życiowy, niewielkie wymagania pokarmowe, temperaturowe, oświetleniowe i przestrzenne. Sama wielkość owada jest mała, a więc wiele osobników zmieści się w jednym naczyniu hodowlanym, którym może być kolba, butelka lub słoik. Łatwo odróżnić samca od samicy, co ułatwia krzyżowanie. Muchy można bezpiecznie i łatwo znieczulić, np. przez schłodzenie lub produktami takimi jak FlyNap¹. Hodowla wymaga niewielkiego sprzętu, miejsca i kosztów, nawet w przypadku dużych kultur.

Cykl życiowy muszki owocowej jest krótki i zależy od temperatury hodowli; w optymalnej temperaturze, czyli 25°C, wynosi on ok. 8,5 dnia od jaja do postaci dorosłej, co sprawia, że można zbadać kilka pokoleń w ciągu kilku tygodni. Natomiast w temperaturze niższej lub wyższej od optimum czas hodowli wydłuża się na skutek stresu temperaturowego (11 dni w 22°C i 30°C, 19 dni w 18°C, 50 dni w 12°C). Czas ten może ulec wydłużeniu także w warunkach zatłoczenia lub hipoksji i wówczas pojawiające się muchy są mniejsze. Mimo przeprowadzania wielokrotnych kojarzeń zapłodnienie samicy ma miejsce tylko jeden raz w życiu – przyjmuje się, że całe jej potomstwo ma jednego ojca. Aktualne badania wskazują, że ostatni samiec, który kojarzył się z samicą, jest ojcem ok. 80% jej potomstwa. Potomstwo jest liczne, jedna samica składa aż do 100 jaj dziennie, a więc nawet do 2000 jaj w ciągu swojego życia (przeciętnie 400). Samice składają jaja (zarodki), po ok. 5 na raz, w gnijących owocach lub innym odpowiednim materiale, takim jak rozkładające się grzyby i soki. Aby zapobiec utonięciu, jaja wyposażone są w filamenty przytwierdzające je

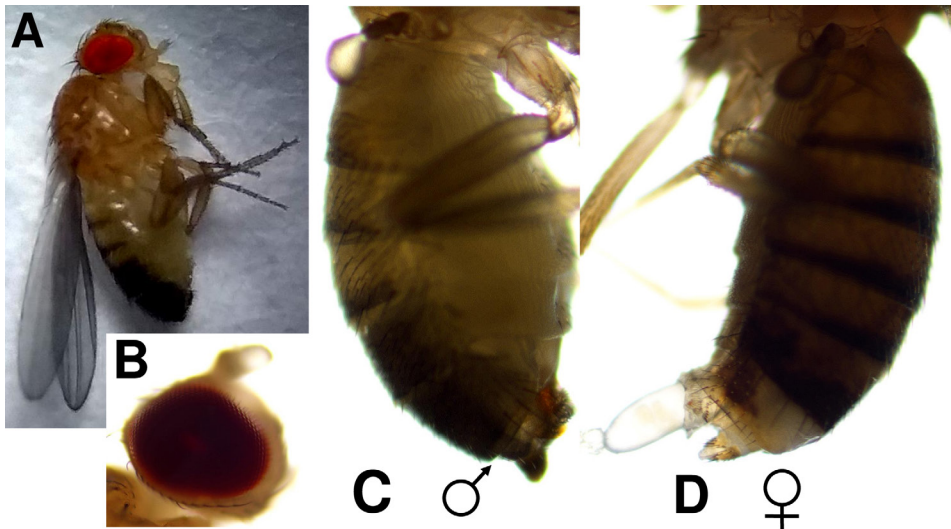
¹ Przygotowanie i prowadzenie hodowli drozofila opisano w osobnych materiałach zawartych w tym numerze.

do podłoża. Jajo ma białawy kolor, a od zewnątrz jest chronione błoną zwaną chorionem.

Muszka owocowa jest owadem holometabolicznym, a więc przechodzi pełną metamorfozę. Na jej cykl życiowy składa się pięć stadiów rozwojowych: jajo, zarodek (embrion), larwa, poczwarka oraz postać dorosła (Markow, 2015). Zygota powstała z połączenia haploidalnych (1n) gamet – komórki jajowej i plemnika jest diploidalna (2n) i już kilka minut po zapłodnieniu podejmuje podziały mitotyczne. W warunkach optymalnej temperatury z dużych jaj o długości ok. 0,5 mm po 12–15 godzinach wylęgają się larwy typu czerw. Następnie rosną one przez ok. 4 dni, podczas dwukrotnego linienia, do larw znajdujących się w drugim i trzecim stadium rozwojowym, które rozwijają się odpowiednio ok. 24 godziny i 48 godzin po wykluciu z jaja. W tym czasie larwy żywią się mikroorganizmami rozkładającymi owoce, a także cukrem zawartym w samym owocu. Matka umieszcza swój kał na woreczkach jajowych, aby ustalić ten sam skład mikrobiologiczny w jelitach larw. Rozwinięte larwy (do 4,5 mm) zamykają się w poczwarcie, która tworzy z kutikuli twardniejącą i ciemniejącą osłonę zwaną puparium. W niej znajduje się komora – wypełniona powietrzem przestrzeń, umożliwiająca wzrost podczas czterodniowego przeobrażenia (metamorfozy). Po tym czasie przez otwór w puparium wylaniają się dorosłe osobniki. Już po 8–12 godzinach po przepoczwarczeniu osobniki dorosłe (imago) są zdolne do rozmnażania. Początkowo mucha jest wydłużona, jasno zabarwiona i z nierozciągniętymi skrzydłami. W optymalnych warunkach długość życia *D. melanogaster* wynosi ok. 50 dni od złożenia jaja do śmierci.

Formy dorosłe mają wyraźne cechy fenotypowe uwarunkowane genetycznie, co ułatwia obserwację wyników eksperymentu oraz rozróżnienie płci. Dzięki muszki owocówki są żółtobrązowe, mają ceglastoczerwone oczy i poprzeczne czarne pierścienie na odwłoku (stąd nazwa gatunku *melanogaster* – „czarnobrzucha”). Mają lirowate skrzydła, ułożone wzdłuż

ciała i wystające poza nie (zdjęcie 1 A, B). Ceglastoczerwony kolor oczu muszki typu dzikiego pochodzi od dwóch pigmentów: ksantommatyny, która jest brązowa i jest pochodną tryptofanu, oraz drosopteryny, które są czerwone i są pochodnymi trójfosforanu guanozyny. Drozofile wykazują dymorfizm płciowy; samice mają ok. 2,5 mm długości, a samce są nieco mniejsze. Cechą pozwalającą odróżnić samca od samicy są różnice w kolorze – samce mają wyraźną ciemną plamę na odwłoku, na skutek zlania się prążków, w przeciwieństwie do samicy. Plama i prążki są mniej zauważalne u niedawno wylęgłych muszek. U samców dwa ostatnie segmenty odwłoka są zlane, a odwłok samicy składa się z siedmiu widocznych segmentów. Samce posiadają ponadto grzebień płciowy (rzęd ciemnego włosia na stępie pierwszej nogi) oraz wiązkę kolczastych włosów (zapinek) otaczających części reprodukcyjne używane do przyczepiania się do samicy podczas krycia. Odwłok samca jest bardziej zaokrąglony, a u samicy większy, lirowaty o ostrym zakończeniu, zakończony pokładką do składania jaj (zdjęcie 1 C, D).



Zdjęcie 1. Cechy fenotypowe muszki owocowej typu dzikiego: A – pokrój i zabarwienie samca, B – kształt i kolor oka; C – odwłok samca, D – odwłok samicy (fot. G. Gołębiowska-Paluch)

Zachowania godowe muszek owocowych są także przedmiotem badań ze względu na swoją złożoność oraz procesy adaptacji i uczenia się. Samce rozróżniają samce i samice tego samego gatunku i kierują uporczywie zaloty preferencyjnie do samic dzięki specyficznemu dla samicy feromonowi płciowemu, który jest głównie wytwarzany przez tergity samicy. Samce much śpiewają samicom podczas zalotów, używając skrzydeł do generowania dźwięku, a niektóre z zachowań seksualnych zostały scharakteryzowane pod względem genetycznym. Zarówno samce, jak i samice drozofila mogą zachowywać się poligamicznie, mając wielu partnerów seksualnych w tym samym czasie. W przypadku samców kojarzenie z wieloma partnerkami zwiększa ich sukces reprodukcyjny przez zwiększenie różnorodności genetycznej ich potomstwa. Ta korzyść jest zaletą ewolucyjną, ponieważ zwiększa prawdopodobieństwo, że część z potomstwa będzie miała cechy, które zwiększą ich przystosowanie do środowiska. Embriogeneza tego zwierzęcia jest także szeroko badana, ponieważ mały rozmiar owada, jego krótki czas generacji i duża wielkość poczwarki sprawiają, że idealnie nadaje się do analiz genetycznych. Jest również wyjątkowy wśród organizmów modelowych, ponieważ pierwsze podziały występują w syncytium. Mianowicie po zapłodnieniu komórki jajowej wczesny zarodek (lub zarodek syncytialny) przechodzi szybką replikację DNA i 13 mitotycznych podziałów jądrowych (kariokinetycznych), bez podziałów cytoplazmy (cytokinezy), aż w nierozdzielonej cytoplazmie zarodka zgromadzi się ok. 5000 do 6000 jąder komórkowych. Dopiero po 13. podziale błony komórkowe powoli wnikają, dzieląc syncytium na pojedyncze komórki somatyczne. Po zakończeniu tego procesu rozpoczyna się gastrulacja.

Układ odpornościowy *D. melanogaster* można podzielić na dwie odpowiedzi: humoralną ogólnoustrojową oraz komórkową związaną z bezpośrednią aktywnością komórek krwi (hemocytów), które są analogiczne do monocytów/makrofagów ssaków. Drozofila ma narząd zwany

„ciałem tłuszczowym”, który jest analogiczny do ludzkiej wątroby. Jest on głównym narządem wydzielniczym i po zakażeniu wytwarza kluczowe cząsteczki odpornościowe. W przeciwieństwie do ssaków muszki owocowe mają wrodzoną odporność, ale brakuje im adaptacyjnej odpowiedzi immunologicznej, stąd owad ten jest klasycznym modelem do badania wrodzonego układu odpornościowego, szczególnie że podstawowe procesy z nim związane wykazują podobieństwo pomiędzy muszkami owocowymi a człowiekiem.

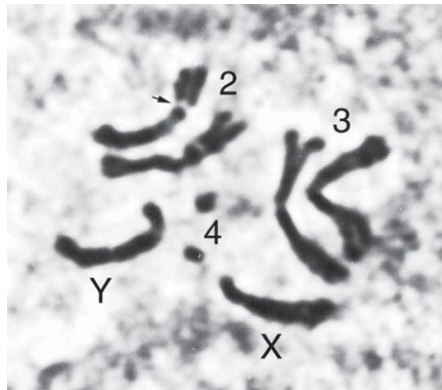
Około dwie trzecie mózgu drozofila zajmuje się przetwarzaniem bodźców wzrokowych i chociaż rozdzielczość przestrzenna ich wzroku jest znacznie gorsza niż u ludzi, ich rozdzielczość czasowa jest ok. dziesięciokrotnie lepsza. Oko muszki owocowej jest zbudowane z 760 jednostkowych oczu (ommatidiów) i jest jednym z najbardziej zaawansowanych wśród owadów. Na każde ommatidium składa się 8 komórek fotoreceptorowych (R1-8) – 6 wewnętrznych i 2 zewnętrzne, które zawierają opsynę. Prócz tego zawiera ono komórki podporowe, komórki barwnikowe i rogówkę. Muchy typu dzikiego mają czerwone komórki pigmentowe, które służą do pochłaniania nadmiaru niebieskiego światła, dzięki czemu mucha nie jest oślepiana przez światło otoczenia. Oczy są wrażliwe nawet na niewielkie różnice w natężeniu światła i owady instynktownie odlatują po wykryciu cienia lub innego ruchu. Muszki owocowe używają zmodyfikowanej wersji filtrów Blooma do wykrywania nowości zapachowych z dodatkowymi cechami, takimi jak podobieństwo nowego zapachu do wcześniej doświadczanych oraz czas, jaki upłynął od poprzedniego doświadczenia tego samego zapachu.

Podobnie jak w przypadku większości owadów często w czasie zalotów do samicy i podczas rywalizacji o zasoby występują agresywne zachowania samców, które obejmują unoszenie skrzydeł i nóg w kierunku przeciwnika oraz atakowanie całym ciałem. To z kolei powoduje uszkodzenie skrzydeł, co zmniejsza ich sprawność, pozbawiając zdolności do latania

i łączenia się w pary (Zwarts i in., 2012). Samce much wydają dźwięki ukazujące agresję – impulsy pojawiające się w dłuższych odstępach czasu, aby zakomunikować swoje zamiary. Oprócz słuchu inną modalnością sensoryczną, która reguluje agresję, jest sygnalizacja feromonowa, która działa przez układ węchowy lub układ smakowy. Stwierdzono, że na większą skalę to pożywienie wyznacza granice terytorium, ponieważ zaobserwowano, że muchy są bardziej agresywne na fizycznym obwodzie jedzenia. *Drosophila* wykazuje także zachowania pielęgnacyjne, które są wykonywane w określonej sekwencji, najpierw z użyciem przednich nóg do czyszczenia oczu, a następnie głowy i czułków. Używając tylnych nóg, mucha potem przystępuje do pielęgnacji brzucha, a na końcu skrzydeł i tułowia. W całej tej sekwencji okresowo pociera nogi o siebie, aby pozbyć się nadmiaru kurzu i zanieczyszczeń, które gromadzą się podczas procesu pielęgnacji. Podobnie jak wiele innych owadów sześcionożnych muszka zazwyczaj chodzi na trójnogu. Oznacza to, że 3 nogi poruszają się razem, podczas, gdy pozostałe 3 pozostają nieruchome lub w pozycji. Analizy sugerują, że *drosophila* może wykazywać kompromis między najbardziej stabilnym i najsolidniejszym chodem przy danej prędkości chodzenia. Muszki owocowe latają prostymi sekwencjami ruchów przeplatanyymi szybkimi zwrotami zwanymi sakkadami, wyczuwając prądy powietrza za pomocą włosów na grzbiecie. Podczas tych obrotów mucha jest w stanie obrócić się o 90° w mniej niż 50 milisekund. Jest też jednym z nielicznych zwierząt (poza nicieniem), u których dostępne są szczegółowe obwody neuronowe dla całego mózgu (konektom) na poziomie przedziałów mózgowych i łączących się dróg neuronów. Przeprowadzono gęste rekonstrukcje wszystkich neurytów na dużą skalę, a dzięki zastosowaniu mikroskopii elektronowej ukazano różnice ultrastrukturalne pomiędzy neuronami, a także lokalizację poszczególnych synaps, dostarczając w ten sposób schemat połączeń synaptycznych między wszystkimi neurytami (Scheffer i in., 2020).

O tym jednak, że muszka owocowa stała się organizmem modelowym, zdecydowały przede wszystkim jej cechy genetyczne. Jej niewielki genom, zsekwencjonowany jako jeden z pierwszych u eukariotycznych organizmów (Adams i in., 2000), ma długość ok. 139 milionów par zasad, zawiera ok. 15 682 zidentyfikowanych genów oraz koduje 30 717 zidentyfikowanych białek (Narodowe Centrum Informacji Biotechnologicznej/Genomy; baza danych FlyBase; przeglądarka genomu i proteomu muszki owocowej). Ponad 60% genomu wydaje się być funkcjonalnym DNA niekodującym białek, zaangażowanym w kontrolę ekspresji genów. Powyżej 25% każdego chromosomu stanowi heterochromatyna zlokalizowana w części centralnej i telomerach. Większość genów znajduje się więc w euchromatynie, co ułatwia mapowanie genowe. W badaniu przeprowadzonym przez Narodowy Instytut Badań nad Genomem Człowieka (ang. National Human Genome Research Institute), porównującym genom muszki owocówki i człowieka, oszacowano, że między tymi dwoma gatunkami jest zachowanych ok. 60% genów. Ok. 75% znanych ludzkich genów powiązanych z chorobami znajduje dopasowanie w genomie muszek owocówek, a 50% sekwencji białek muszek ma swoje homologi w proteomie ssaków (Chien i in., 2002). Z tego względu drozofila jest wykorzystywana jako model genetyczny do badań nad chorobami człowieka, w tym zaburzeń neurodegeneracyjnych, choroby Parkinsona, Huntingtona i Alzheimerera, ataksji rdzeniowo-mózdkowej, do badania mechanizmów leżących u podstaw starzenia się, stresu oksydacyjnego, odporności, cukrzycy oraz raka, a także nadużywania narkotyków. U muszki występują niektóre geny zidentyfikowane u ludzi jako pełniące niezwykle ważne funkcje regulatorowe tzw. strażnika genomu, jak gen *TP53* odpowiedzialny za hamowanie rozwoju nowotworów. Z kolei mutacje w innym genie – homologu genu *WRN* u *D. melanogaster*, podobnie jak u ludzi z mutacją genu *WRN* (syndrom Wernerera), powodują zwiększone fizjologiczne oznaki starzenia, ponieważ geny te kodują białko odgrywające kluczową rolę w naprawie uszkodzeń DNA.

Genom jądrowy drozofila ($2n$) jest zorganizowany w 4 pary chromosomów (zdjęcie 2), które są w dodatku łatwo rozróżnialne w badaniach cytologicznych. Jest to para chromosomów płciowych – heterosomów X/Y oraz 6 autosomów oznaczonych jako pary II, III i IV. Szacowane fizyczne długości tych chromosomów w bazie Narodowego Centrum Informacji Biotechnologicznej są następujące: 23,5 miliona par zasad (Mbp) dla chromosomu X (I para); 3,7 miliona Mbp dla chromosomu Y; 48,8 miliona Mbp dla chromosomu II pary; 60,2 miliona Mbp dla chromosomu III pary oraz 1,3 miliona Mbp dla chromosomu IV pary (The FlyBase Consortium/Berkeley Drosophila Genome Project/Celera Genomics, GCA_000001215.4 Release 6 plus ISO1 MT). Chromosomy płciowe drozofila są zaliczane do akrocentrycznych (chromosom X) i submetacentrycznych (chromosom Y). Z kolei autosomy to duże chromosomy metacentryczne (II i III para) oraz małe telocentryczne (IV para).



Zdjęcie 2. Chromosomy samca muszki owocowej – para chromosomów płciowych (X i Y) oraz 3 pary autosomów (za Henderson, 2004)

Prócz wymienionych typów chromosomów mogą występować chromosomy politeniczne (olbrzymie) w gruczołach ślinowych, komórkach przewodu pokarmowego, cewkach Malpighiego i w komórkach tłuszczowych, które powstają przez wielokrotną replikację DNA, nieprzedzieloną

podziałami mitotycznymi, i które wskazują regiony transkrypcji – aktywności genów.

Określenie płci u drozofila następuje na podstawie stosunku chromosomów płciowych do autosomów (X: A, tabela 1), a nie z powodu obecności chromosomu Y, jak w przypadku determinacji płci u ludzi (Rideout i in., 2015). Chociaż chromosom Y jest całkowicie heterochromatyczny, zawiera co najmniej 16 genów, z których wiele uważa się za pełniące funkcje związane z płcią męską, i koduje m.in. geny niezbędne do wytworzenia plemników. Co więcej, każda komórka „decyduje”, czy być męską czy żeńską, niezależnie od reszty organizmu. Skutkuje to sporadycznym występowaniem gynandromorfów, czyli mozaik seksualnych. Można również łatwo je wytworzyć w laboratorium, zapewniając dodatkowe narzędzie do badania rozwoju i zachowania tych much. Przykładowe badania nad zachowaniem samców w trakcie zalotów wykazały, że są one kontrolowane przez mózg, i dostarczyły pierwszej wskazówki na istnienie feromonów u tego gatunku. Ponadto samce drozofila nie wykazują rekombinacji mejotycznej, co ułatwia badania genetyczne. Z kolei techniki transformacji genetycznej tego owada są dostępne już od 1987 r. Chromosom Y nie zawiera wielu genów znajdujących się na chromosomie X, stąd samiec drozofila XY jest określany pod względem tych genów jako osobnik hemizygotyczny.

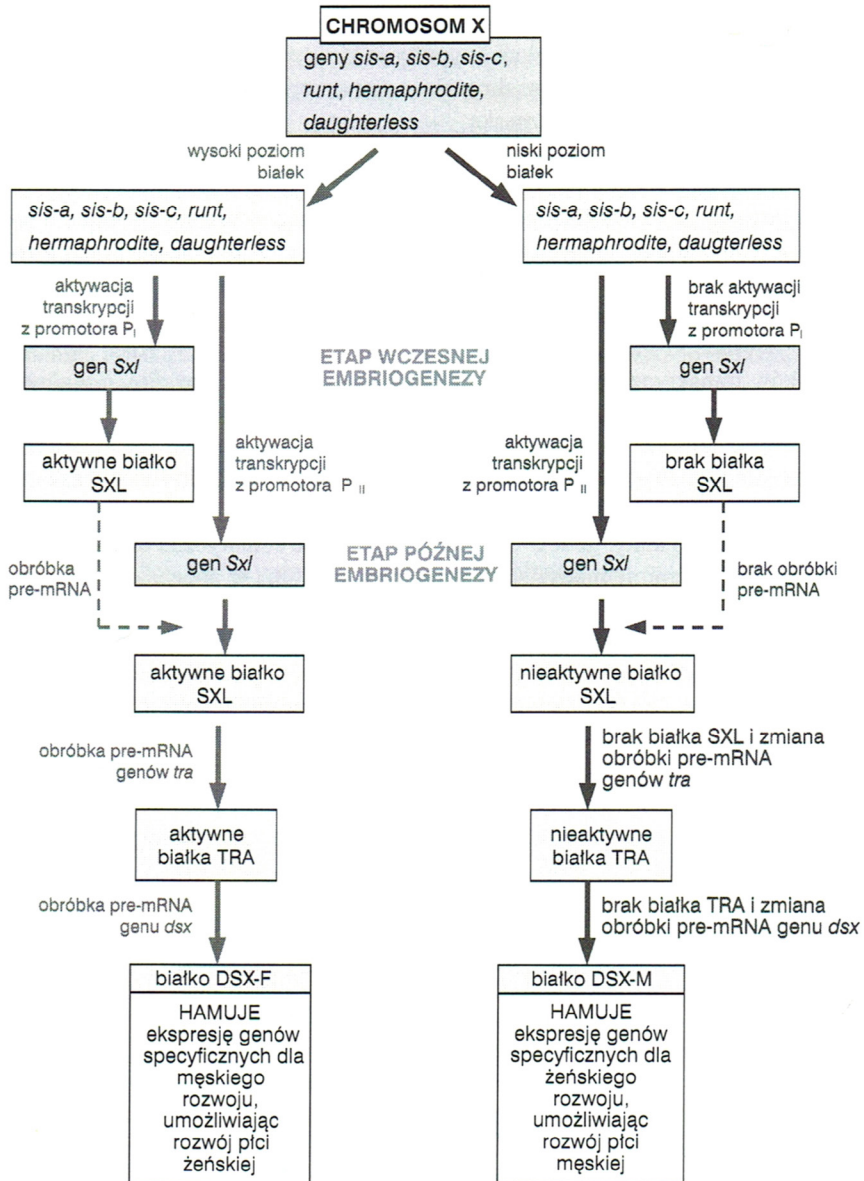
Tabela 1.

Determinacja płci u muszki owocowej w zależności od stosunku liczby chromosomów X do liczby autosomów (indeksu X/A)

Chromosomy płci	Autosomy	Indeks X:A	Płeć
XX	AA	1	Prawidłowo rozwinięta samica
XXX	AAA		
XXY	AA		
XXYY	AA		
XXXX	AAAA		
XY	AA	0,5	Płodny samiec
X	AA		Sterylny samiec
XXX	AA	1,5	Metasamica (nadsamica)
XXXX	AAA	1,33	
XX	AAA	0,66	Interseks
XXY	AAA		
X	AAA	0,33	Metasamiec (nadsamiec)
XYY	AAA		

Trzy główne geny są zaangażowane w określanie płci drozofila – *Sxl*, *tra* i *dsx* (rysunek 1). Sygnałem wywoławczym jest indeks X/A – to od niego prowadzi droga do alternatywnego składania RNA nadrzędnego genu regulatorowego *Sxl* (ang. *Sex lethal*). Przypuszczalnie geny zlokalizowane na chromosomie/chromosomach X przez swoje produkty białkowe tworzą wspólny aktywator wczesnego promotora P₁ genu *Sxl* we wczesnej embriogenezie, inicjując kaskadę genów różnicowania płci u drozofila. Prowadzi ona do determinacji płci komórek rozrodczych, determinacji płci somatycznej oraz mechanizmu kompensacyjnego. Ten ostatni polega na wyrównaniu poziomu ekspresji genów pomiędzy muszkami owocowymi różnych płci (u samic zachodzi transkrypcja z obu chromosomów

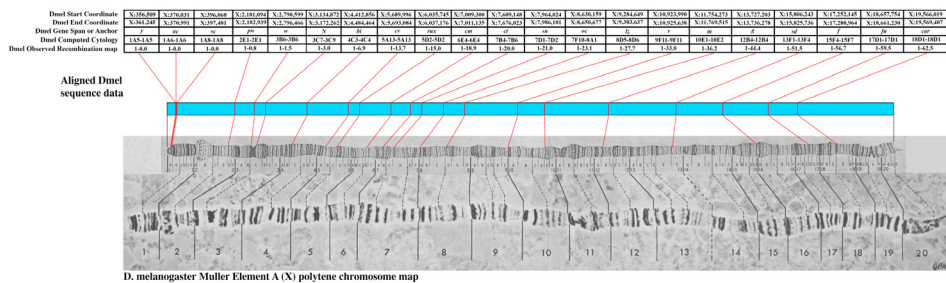
X, a u samca poziom transkrypcji z pojedynczego chromosomu X jest dwukrotnie wyższy niż z każdego chromosomu X u samicy).



Rysunek 1. Szlak determinacji płci aktywany przez gen *Sxl* u drozofila (za Sadakierska-Chudy, Dąbrowska, Goc, 2004)

Mapa powiązań genetycznych u muszki owocowej Alfreda Sturtevant'a była pierwszą udaną pracą nad mapowaniem genów i dostarcza ważnych dowodów chromosomowej teorii dziedziczenia. Mapa ta pokazuje względne pozycje cech allelicznych na drugim chromosomie. Odległość między genami (jednostki mapy w centymorganach – cM) jest równa odsetkowi zdarzeń typu *crossing-over*, które występują pomiędzy różnymi allelami. Muszka jest jednym z pierwszych organizmów użytych do analizy genetycznej, a obecnie stanowi jeden z najczęściej używanych i najlepiej poznanych genetycznie ze wszystkich organizmów eukariotycznych. Wszystkie organizmy używają wspólnych systemów genetycznych, dlatego zrozumienie procesów, takich jak transkrypcja i replikacja u muszek owocowych pomaga w zrozumieniu tych procesów u innych eukariotów, w tym u ludzi. T. H. Morgan zaczął wykorzystywać muszki owocówki w eksperymentalnych badaniach dziedziczości na Uniwersytecie Columbia w 1910 r. w laboratorium znanym jako Fly Room. Wraz ze studentami prowadził hodowlę muszek owocowych z użyciem butelek po mleku i lup ręcznych, zastąpionych następnie mikroskopami do obserwacji ich cech. T. H. Morgan i jego uczniowie ostatecznie wyjaśnili wiele podstawowych zasad dziedziczości, w tym dziedziczenie sprzężone z płcią, epistazę, allele wielokrotne i mapowanie genów. Od tej pory powstało wiele map genetycznych i fizycznych drozofila, a także map będących kompilacją obu tych mapowań (rysunek 2).

Markery genetyczne u drozofila są powszechnie stosowane w analizie dziedziczenia cech oraz konstrukcji map genetycznych, a większość fenotypów można łatwo zidentyfikować nieuzbrojonym okiem lub pod mikroskopem. Obecnie stosunkowo łatwo jest wygenerować transgeniczne muszki owocowe, opierając się na różnych technikach. Jedną z nich polega na wstawianiu obcych genów do genomu *Drosophila* przez transpozony, czyli segmenty bakteryjnego DNA, które są przenoszone do genomu muchy. Muchy transgeniczne już przyczyniły się do wielu postępów naukowych, np. modelowania takich chorób ludzkich jak choroba



Rysunek 2. Położenie wybranych genów na mapie genetycznej (ang. *Recombination map*) w cM oraz fizycznej (ang. *Start/end coordinate*) w Mbp na chromosomie X muszki owocowej. Wszystkie geny, które leżą na tym chromosomie, są sprzężone z płcią. Źródło: <http://flybase.org/maps/chromosomes/maps> (dostęp: 22.02.2023)

Parkinsona, nowotwory, otyłość i cukrzyca (Hughes i in., 2012). Na liście typowych markerów po symbolu allelu następuje nazwa genu i opis jego fenotypu (allele recesywne oznaczane są małymi literami, podczas gdy allele dominujące – wielkimi). Geny drozofila są tradycyjnie nazywane od fenotypu, który powstaje po zmutowaniu. I tak oznaczenie *Cy1* oznacza gen na skrzydła podkreślone; skrzydła te odchylają się od ciała, a lot może być nieco utrudniony. *Sb1* oznacza ściernisko, ponieważ włosie takiego owada jest krótsze i grubsze niż typu dzikiego. Z kolei *e1* oznacza kolor hebanowy, gdy ciało i skrzydła są czarne (heterozygoty są również wyraźnie ciemniejsze niż typ dziki). Oko szczelinowate *BB* ma znacznie zredukowaną liczbę ommatydów w stosunku do oka typu dzikiego B^+B^+ . Mutacje można indukować w warunkach laboratoryjnych, mogą one też powstawać spontanicznie.

Tak zwane klasyczne mutacje u drozofila dają fenotyp łatwy do odróżnienia, a równocześnie ich podłoże jest dobrze poznane. Pierwsze z nich dotyczą koloru ciała muszki owocowej. Mutacja recesywna w genie *b* została odkryta w 1910 r. przez T. H. Morgana i skutkuje ciemniejszym kolorem ciała, skrzydeł, żył i segmentów nogi. Dzieje się tak z powodu niezdolności muchy do tworzenia beta-alaniny. Fenotypowa ekspresja tej mutacji różni się w zależności od genotypu osobnika: heterozygotyczny posiadający zarówno allel genu typu dzikiego, jak i zmutowanego (*b+b*)

jest mniej ciemny niż homozygotyczny posiadający oba allele zmutowane (b,b). Ta mutacja genetyczna jest sprzężona z płcią, ponieważ miejsce (*locus*) genu b znajduje się na chromosomie X.

Inną recesywną mutację koloru ciała i skrzydeł można łatwo zidentyfikować na podstawie nietypowego żółtego pigmentu obserwowanego w naskórku dorosłych much i na gębach larw (y). Mutacja ta obejmuje następujące klasy fenotypowe: mutanty, które wykazują całkowitą utratę pigmentacji naskórka, i inne mutanty, które wykazują mozaikowy wzór pigmentu z niektórymi regionami naskórka. Rola tego genu jest zróżnicowana i odpowiada za zmiany w zachowaniu, dojrzewanie reprodukcyjne zależne od płci oraz przeprogramowanie epigenetyczne. Łatwy do zaobserwowania efekt w fenotypie (odpowiednik albinizmu u muchy) sprawia, że można ocenić, kiedy organizm ma ten gen, co ułatwia śledzenie jego dziedziczenia w pokoleniach potomnych.

Kolejne mutacje dotyczą koloru oka – jak recesywna mutacja brązowego oka bw , która wynika z niezdolności do produkcji lub syntezy pigmentów pterydynowych (czerwonych) z powodu mutacji punktowej na chromosomie II pary. Kiedy mutacja jest homozygotyczna, nie dochodzi do syntezy pigmentów pterydiny, ponieważ homozygotyczne recesywne geny kodują wadliwy enzym na początku tego szlaku. Skutkiem tego jest ciemniejszy kolor oczu, a finalny kolor defektu biochemicznego w szlaku pterydiny jest brązowy. Z kolei mutacja se – sepia skutkuje czerwono-brązowym kolorem oczu. U much dzikich ommochromy (brązowe) i drosopteryiny (czerwone) nadają oczom typowy czerwony kolor. Zmutowany gen powoduje, że muchy nie mogą wytwarzać drosopteryiny, więc oczy pozostają w kolorze sepia. Allel sepia jest recesywny, a zatem potomstwo much sepia i homozygotycznych much typu dzikiego ma czerwone oczy. Fenotyp sepia, podobnie jak ten powodowany mutacją genu bw , nie zależy od płci muchy.

Inne mutanty recesywne (v – cynober) nie mogą wytwarzać brązowych ommochromów, pozostawiając czerwone drosopteryiny tak, że oczy są

koloru promiennej czerwieni. Mutacja ta jest także sprzężona z płcią, ponieważ gen, który jest objęty defektem, leży na chromosomie X. Brązowe ommochromy są syntetyzowane z kinureniny, która jest wytwarzana z tryptofanu. Muchy Vermilion nie mogą przekształcać tryptofanu w kinureninę, a zatem nie mogą również wytwarzać ommochromów. Mutanty te żyją dłużej niż muchy typu dzikiego, co może być związane ze zmniejszoną ilością tryptofanu przekształcanego w kinureninę.

Jedną z najbardziej znanych mutacji koloru oka u muszek owocowych jest ta związana z występowaniem mutacji w genie w , leżącym na chromosomie X. W tym przypadku efekt białych oczu jest spowodowany brakiem dwóch pigmentów związanych z czerwonym i brązowym kolorem oczu – pterydyn (czerwonych) i ommochromów (brązowych). W styczniu 1910 r. T. H. Morgan po raz pierwszy opisał tę mutację, co zapoczątkowało eksperymenty genetyczne i mapowanie genetyczne u drozofila. Pierwsze krzyżowanie T. H. Morgana zostało przeprowadzone pomiędzy homozygotyczną samicą o oczach czerwonych z hemizygotycznym samcem o oczach białych:

I krzyżowanie

Rodzice **P**: $X^{w+}X^{w+} \times X^wY$

Gamety **G**: X^{w+} X^w, Y

Pokolenie potomne **F₁**:

♂\♀	X^{w+}
X^w	$X^{w+}X^w$
Y	$X^{w+}Y$

Fenotypy muszek w F₁: samica o oczach czerwonych i samiec o oczach czerwonych (1:1).

F₂: $X^{w+}X^w \times X^{w+}Y$

Gamety **G**: $X^{w+}, X^w \quad X^{w+}, Y$

♂\♀	X^{w+}	X^w
X^{w+}	$X^{w+}X^{w+}$	$X^{w+}X^w$
Y	$X^{w+}Y$	X^wY

Fenotypy muszek w F₂: samica o oczach czerwonych, samiec o oczach czerwonych i o oczach białych (2:1:1).

Drugie krzyżowanie, nazywane odwrotnym, T. H. Morgan przeprowadził pomiędzy homozygotyczną samicą o oczach białych z hemizygotycznym samcem o oczach czerwonych:

II krzyżowanie

Rodzice **P**: $X^wX^w \times X^{w+}Y$

Gamety **G**: $X^w \quad X^{w+}, Y$

Pokolenie potomne **F₁**:

♂\♀	X^w
X^{w+}	$X^{w+}X^w$
Y	X^wY

Fenotypy muszek w F₁: samica o oczach czerwonych i samiec o oczach białych (1:1).

F₂: $X^{w+}X^w \times X^wY$

Gamety **G**: $X^{w+}, X^w \quad X^w, Y$

$\sigma \setminus \text{♀}$	X^{w+}	X^w
X^w	$X^{w+}X^w$	X^wX^w
Y	$X^{w+}Y$	X^wY

Fenotypy muszek w F_2 : samica o oczach czerwonych, samica o oczach czerwonych, samiec o oczach czerwonych i samice o oczach białych (1:1:1:1).

Odmienne wyniki powyższych krzyżowań doprowadziły do wysunięcia wniosku, że barwa oczu czerwona lub biała jest sprzężona z płcią. T. H. Morgan ostatecznie odkrył, że gen podlega podobnemu wzorowi dziedziczenia, związanemu z mejotyczną segregacją chromosomu X. Dzięki tej informacji odkrył, że gen znajduje się na chromosomie X. Doprowadziło to do odkrycia genów sprzężonych z płcią, a także do odkrycia innych mutacji u drozofila. Mutacja białych oczu prowadzi do kilku wad u much, takich jak zmniejszona zdolność wspinania się, skrócona żywotność i obniżona odporność na stres w porównaniu z muchami typu dzikiego.

Muszka owocowa wykazuje szereg zachowań godowych, które umożliwiają im kopulację w danym środowisku, a tym samym przyczyniają się do ich efektywności. Po odkryciu przez T. H. Morgana, że mutacja białooka jest powiązana z płcią, badanie przeprowadzone przez Alfreda Henry'ego Sturtevanta (1915) wykazało, że białoookie samce odnosiły mniejsze sukcesy pod względem kojarzenia się z samicami niż samce typu dzikiego. Stwierdzono, że im większa gęstość pigmentacji oczu, tym większy sukces w kryciu samców. Gen *white* posiada kilkaset alleli wielokrotnych, czyli alleli, które występują w więcej niż dwóch postaciach w puli genowej populacji (w danym organizmie diploidalnym mogą występować tylko dwa allele) i są genami warunkującymi tę samą cechę, a więc zajmują to samo miejsce (*locus*) w chromosomie. Wybrane allele genu *white* wraz z ich fenotypem przedstawia tabela 2.

Tabela 2.

Wybrane allele wielokrotne genu *white* (*w*).

Symbol allelu	Nazwa w języku angielskim	Fenotyp – barwa oczu
W lub W ⁺ lub w ⁺	wine	czerwone
w ^{co}	coral	korale
w ^{bl}	blood	krwiste
w ^e	eosin	eozynowe
w ^a	apricot	morelowe
w ^{ch}	cherry	wiśniowe
w ^h	honey	miodowe
w ^{bf}	buff	cieliste
w ^t	tinged	jasnożółte
w ^p	pearl	perłowe
w ⁱ	ivory	kości słoniowej
w	white	białe

Poznano także źródła zmienionego fenotypu skrzydeł u muszki owocowej. Jedną z pierwszych obserwacji mutacji skrzydeł również została sporządzona przez T. H. Morgana w 1911 r., który opisał skrzydła *m* – miniaturowe jako mające podobny kształt do fenotypu typu dzikiego. Jednak miniaturowe oznaczenie muszki odnosi się do długości ich skrzydeł, które nie rozciągają się poza ciało, a zatem są znacznie krótsze (ok. półtora raza) niż u typu dzikiego. Miniaturowe skrzydła mają taką samą liczbę komórek jak te typu dzikiego, jednak z powodu braku ich całkowitego spłaszczenia ogólna struktura skrzydła wydaje się krótsza. Mogą również wykazywać inne cechy odmienne od typu dzikiego, takie jak ciemniejszy i bardziej mętny kolor. T. H. Morgan zauważył również, że dziedziczenie tego fenotypu jest związane z płcią muchy i może być powiązane z dziedziczeniem innych cech zależnych od płci, takich jak białe oczy.

Inna recesywna mutacja skrzydeł *vg* – gen szczątkowy – to spontaniczna mutacja, odkryta w 1919 r. przez T. H. Morgana i Calvina Bridgesa. Skrzydła nie są w pełni rozwinięte i utraciły swoją funkcję. Od czasu odkrycia tego genu szczątkowego dokonano wielu odkryć genu szczątkowego u innych zwierząt. Jest on uważany za jeden z najważniejszych genów odpowiedzialnych za tworzenie skrzydeł, ale kiedy ulega nadmiernej ekspresji, zaczynają się tworzyć ektopowe skrzydła. Gen szczątkowy reguluje ekspresję dysków imaginalnych skrzydeł w zarodku i wraz z innymi genami reguluje rozwój skrzydeł. Zmutowany allel szczątkowy usuwa istotną sekwencję DNA wymaganą do prawidłowego rozwoju skrzydeł. Gen *vg* jest genem plejotropowym, czyli takim, którego efekt fenotypowy dotyczy jednocześnie wielu cech organizmu, ponieważ oprócz zmienionych skrzydeł obniża także żywotność i płodność muszek.

Szczególnie cenne są tzw. mutanty wielokrotne drozofila, które posiadają więcej niż jeden zmieniony gen. Jednoczesne śledzenie losów kilku genów, o łatwym do zaobserwowania fenotypie, dostarcza wielu ważnych informacji oraz stanowi podstawę do konstrukcji map genetycznych. Przykładem jest potrójny mutant muszki owocowej o ciemnym kolorze ciała, szczątkowych skrzydłach i białych oczach (zdjęcie 3).



Zdjęcie 3. Samiec muszki owocowej wykazujący fenotypowy efekt mutacji w trzech genach: czarnego ciała (*b*), szczątkowych skrzydeł (*vg*) i białych oczu (*w*) (fot. G. Gołębiowska-Paluch)

Sieć genów (interakcje transkrypcyjne i białkowe) rządząca wczesnym rozwojem zarodka muszki owocowej jest jedną z najlepiej poznanych do

tej pory, zwłaszcza wzorce rozwojowe wzdłuż osi przednio-tylnej (AP) i grzbietowo-brzuszej (DV) (Weigmann i in., 2003). Podczas rozwoju larwalnego wewnątrz larwy rosną tkanki zwane dyskami imaginalnymi, czyli specjalne grupy komórek prekursorowych, które rozwijają się, tworząc większość struktur dorosłego ciała, takich jak głowa, nogi, skrzydła, klatka piersiowa i genitalia. Czynniki biotyczne i abiotyczne doświadczane podczas rozwoju mają wpływ na alokację zasobów rozwojowych, prowadząc do zmienności fenotypowej, określanej również jako plastyczność rozwojowa, obejmująca m.in. długość owada, grubość tkanki mięśniowej i wzorce aktywności. Rozwój w temperaturze 25°C zwiększa prędkość chodu, wydajność termiczną i sukces terytorialny, podczas gdy rozwój w temperaturze 18°C zwiększa masę ciała, rozmiar skrzydeł, co poprawia wydajność lotu i reprodukcji. Niektóre skutki temperatury rozwojowej, takie jak rozmiar ciała, są nieodwracalne, a inne mogą być odwracalne, jak tolerancja na wzrost/spadek temperatury. Temperatura rozwojowa u samic wpływa na liczbę jajników, rozmiar jaja, wczesną płodność i wydajność reprodukcyjną. Z kolei samce much są bardziej płodne, mniejsze oraz skuteczniej bronią miejsc pożywienia i składania jaj, gdy są hodowane w temperaturze 25°C, w porównaniu z tymi żyjącymi w 18°C, a zatem osiągają większy sukces godowy i wydajność reprodukcyjną.

Prace prowadzone przez następne lata wykazały, że mutacje u drozofila wpływają także na grupę genów i ich produktów, które razem tworzą zegar biochemiczny lub biologiczny. Zegar ten znajduje się w wielu komórkach much, ale komórki, które kontrolują aktywność, to kilkadziesiąt neuronów w centralnym mózgu owada. Nagroda Nobla w dziedzinie fizjologii lub medycyny za rok 2017 została przyznana Jeffreyowi C. Hallowi, Michaelowi Rosbashowi i Michaelowi W. Youngowi za ich prace wykorzystujące muszki owocówki do zrozumienia „mechanizmów molekularnych kontrolujących rytm dobowy”. Poznano geny zaangażowane w zachowanie tego zwierzęcia, w procesy związane z percepcją bodźców wzrokowych,

węchowych i słuchowych, a także powiązane z uczeniem się, pamięcią, zalotami, odczuwaniem bólu i długowiecznością.

W internetowej bazie *FlyBase* (<http://flybase.org/>) i *Ensembl*, w *Interaktywnym atlasie budowy i rozwoju muszki owocowej* oraz w znajdującym się w otwartym dostępie czasopiśmie „*Drosophila Information Service*” można odnaleźć wiele informacji na temat cech fenotypowych muszki owocowej, a także na temat jej rozmnażania, fizjologii i uwarunkowań genetycznych. Są dostępne liczne schematy, fotografie, nagrania oraz przeglądarki genomu.

Bibliografia

- Adams, M. D., Celniker, S. E., Holt, R. A., Evans, C. A., Gocayne, J. D., Amanatides, P. G., ..., Saunders, R. D. (2000). The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. *Science*, 287(5461), 2185–2195.
- Chien, S., Reiter, L. T., Bier, E., Gribskov, M. (2002). Homophila: human disease gene cognates in *Drosophila*. *Nucleic Acids Research*, 30(1), 149–151.
- Henderson, D. S. (2004). The Chromosomes of *Drosophila melanogaster*. W: D. S. Henderson (red.), *Drosophila Cytogenetics Protocols. Methods in Molecular Biology*, vol. 247 (s. 1–43). Humana Press.
- Hughes, T. T., Allen, A. L., Bardin, J. E., Christian, M. N., Daimon, K., Dozier, K. D., ..., Ahlander, J. (2012). *Drosophila* as a genetic model for studying pathogenic human viruses. *Virology*, 423(1), 1–5.
- Klepsatel, P., Gáliková, M., Huber, C. D., Flatt, T. (2014). Similarities and differences in altitudinal versus latitudinal variation for morphological traits in *Drosophila melanogaster*. *Evolution*, 68(5), 1385–1398.
- Markow, T. A. (2015). The secret lives of *Drosophila* flies. *Elife*, 4, e06793.
- Rideout, E. J., Narsaiya, M. S., Grewal, S. S. (2015). The sex determination gene transformer regulates male-female differences in *Drosophila* body size. *PLoS genetics*, 11(12), e1005683.
- Sadakerska-Chudy, A., Dąbrowska, G., Goc, A. (2004). *Genetyka ogólna. Skrypt do ćwiczeń dla studentów biologii*. Toruń: Wydawnictwo Uniwersytetu Mikołaja Kopernika.
- Scheffer, L. K., Xu, C. S., Januszewski, M., Lu, Z., Takemura, S. Y., Hayworth, K. J., ..., Plaza, S. M. (2020). A connectome and analysis of the adult *Drosophila* central brain. *Elife*, 9, e57443.
- Weigmann, K., Klapper, R., Strasser, T., Rickert, C., Technau, G., Jäckle, H., ..., Klämbt, C. (2003). FlyMove – a new way to look at development of *Drosophila*. *Trends in Genetics*, 19(6), 310–311.

Zwarts, L., Versteven, M., Callaerts, P. (2012). Genetics and neurobiology of aggression in *Drosophila*. *Fly*, 6(1), 35–48.

Netografia

Drosophila Information Service, <https://www.ou.edu/journals/dis/> (dostęp: 22.02.2023).

Ensembl, http://www.ensembl.org/Drosophila_melanogaster/Info/Index (dostęp: 22.02.2023).

FlyBase – baza danych muszki, <http://flybase.org/> (dostęp: 22.02.2023).

Interaktywny atlas budowy i rozwoju muszki owocowej, <https://www.sdbonline.org/sites/fly/aimain/1aahome.htm> (dostęp: 22.02.2023).

Narodowe Centrum Informacji Biotechnologicznej/Taksonomia, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/taxonomy> (dostęp: 22.02.2023).

Narodowe Centrum Informacji Biotechnologicznej/Genomy, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=fruit+fly> (dostęp: 22.02.2023).

Przeglądarka genomu, https://genome-euro.ucsc.edu/cgi-bin/hgTracks?db=dm6&lastVirtModeType=default&lastVirtModeExtraState=&virtModeType=default&virtMode=0&nonVirtPosition=&position=chr2%3A826001%2D851000&hgsid=295312051_748ntElikKB4KqgUw5i-GR01hQEQm (dostęp: 22.02.2023).

Przeglądarka proteomu D. melanogaster, <https://www.uniprot.org/proteomes/UP000000803> (dostęp: 22.02.2023).