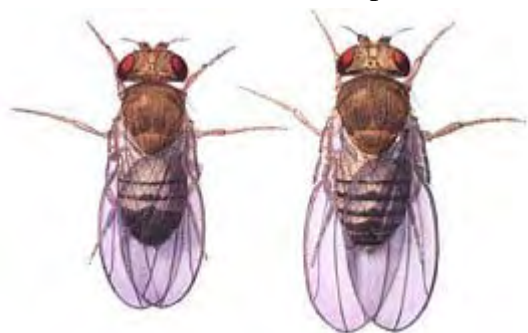


## DROSOPHILA MELANOGASTER

La *Drosophila melanogaster* è un organismo modello, ovvero uno degli organismi più studiati nella ricerca biologica, in particolare nella genetica e nella divulgazione biologica.

I motivi sono molteplici:

- Si tratta di un insetto piccolo e facile da allevare in laboratorio;
- Ha un breve tempo di generazione (circa 2 settimane) e una elevata produttività (le femmine possono deporre 400 uova in 10 giorni);
- Le larve mature mostrano cromosomi "giganti" nelle ghiandole salivari;
- Hanno solo 4 paia di cromosomi: 3 autosomi e 1 sessuale;
- I maschi non mostrano ricombinazioni genetiche, facilitando gli studi genetici;
- Tecniche di trasformazione genetica sono state disponibili dal 1987;
- Il sequenziamento del suo genoma è stato completato nel 1998.



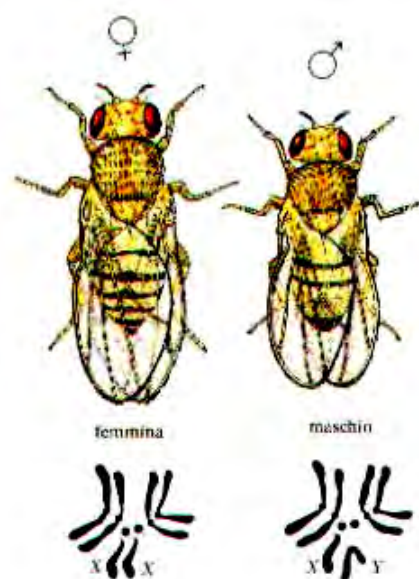
La *Drosophila* ha 4 paia di cromosomi: una coppia X/Y e tre coppie autosomiche etichettate 2, 3, e 4. Il quarto cromosoma è così sottile che è spesso ignorato. Il genoma, che è stato interamente sequenziato, contiene 132 milioni di basi e approssimativamente 13.767 geni, tra questi ad esempio vi sono: *Antennapedia*<sup>1</sup> (gene che controlla il posizionamento delle antenne dell'insetto)

Da un punto di vista genetico l'uomo e il moscerino della frutta sono abbastanza simili.

Circa il 60% delle malattie genetiche conosciute si possono verificare nel patrimonio genetico del moscerino e circa il 50% delle proteine della *Drosophila* hanno un analogo nei mammiferi.

La *Drosophila* viene usata come modello genetico per varie malattie umane, inclusi i disturbi neurodegenerativi come il morbo di Parkinson e il morbo di Alzheimer.

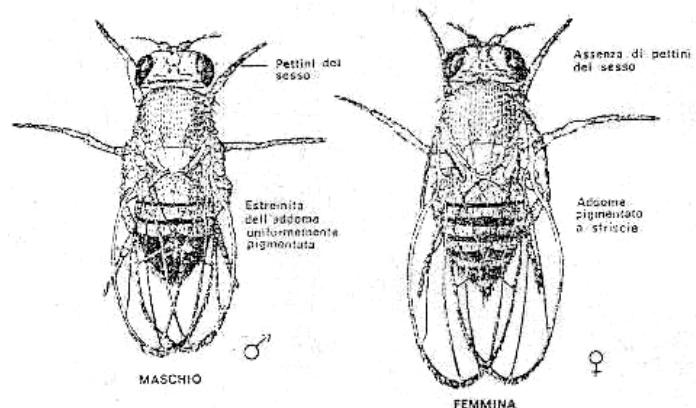
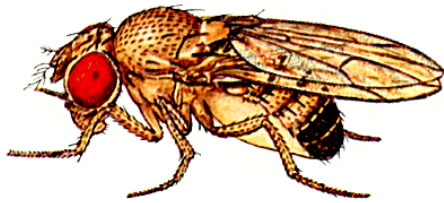
Il moscerino viene utilizzato anche per studiare il meccanismo biologico del sistema immunitario, del diabete, del cancro e persino dell'abuso di sostanze stupefacenti



<sup>1</sup> **Antennapedia** è un gene in *Drosophila melanogaster* che controlla il posizionamento delle zampe nello sviluppo dell'insetto. La perdita di funzione del sito di trascrizione per il gene delle zampe fa crescere un paio di antenne e viceversa, ovvero fa crescere delle zampe al posto delle antenne nel caso sia attivato al posto del gene per le antenne

## Biologia della DROSOPHILA

*Drosophila melanogaster*, comunemente chiamata "moscerino della frutta" è un insetto dell'ordine dei ditteri.



Il corpo, provvisto di arti, è diviso in tre parti:

- Capo con un paio di antenne, occhi composti e ocelli e apparato buccale
- Tronco con un solo paio d'ali e tre paia di arti formati da cinque segmenti.
- Addome segmentato che porta l'altro paio d'ali trasformato in bilanceri che servono all'insetto come elementi di stabilità e di direzione.

Il ceppo selvatico, normale, ha occhi rossi, corpo nero, rivestito di setole e un paio di ali diritte che si stendono oltre l'estremità dell'addome. Nell'adulto l'apparato buccale è succhiatore.

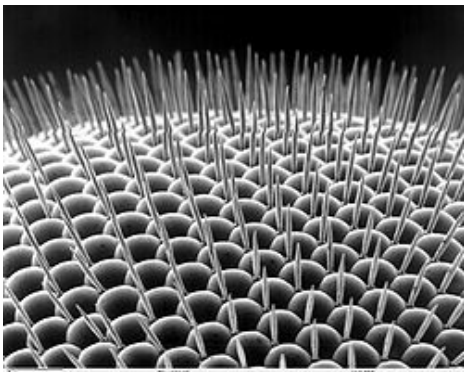


Figura 1: immagine al microscopio elettronico di occhio di *Drosophila*

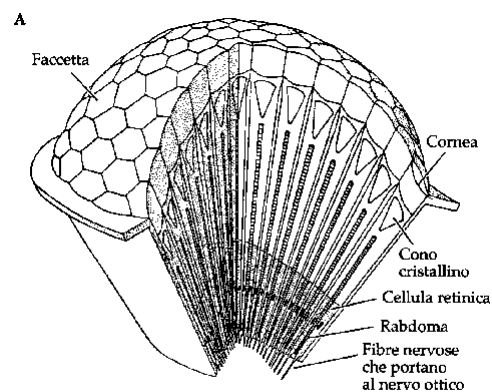


Figura 2: sezione di occhio composto

Gli occhi composti sono formati da migliaia (una decina di migliaia nella libellula) di occhi elementari (ommatidi), ciascuno dei quali è in una posizione fissa.



Figura 3: occhi composti

Gli ommatidi danno ognuno un'immagine parziale dell'oggetto posto nel campo visivo; di conseguenza, tutti gli ommatidi insieme danno l'immagine intera (visione 180°).

Ogni ommatide (o ommatidio) si presenta come un elemento prismatico formato dai seguenti componenti (dall'esterno all'interno): la *cornea*, il *cristallino*, la *retinula*.

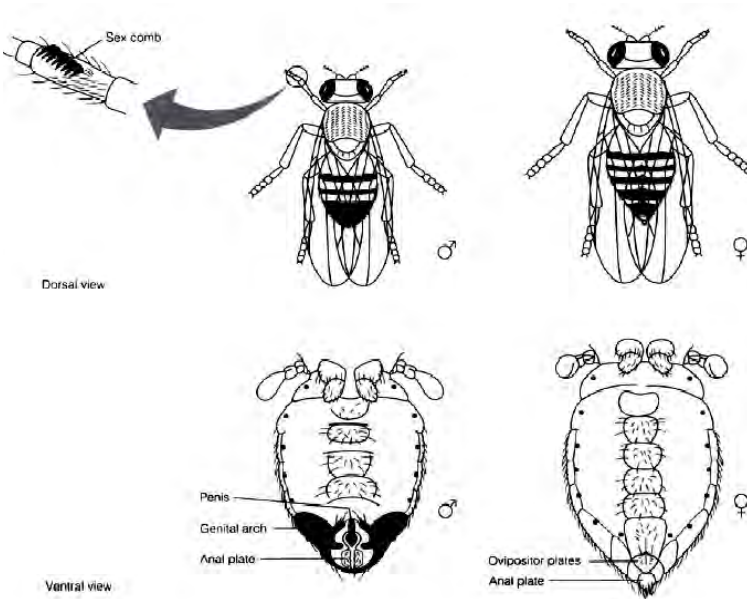
La cornea è una lente, prodotta da apposite cellule, meno spessa rispetto a quella degli ommatidi; immediatamente sotto è presente un corpo rifrangente, il cristallino, in genere composto da quattro cellule.

La retinula è composta da 4-8 cellule sensoriali e da un asse centrale a forma di bastoncino, detto *rabdoma*, composto dalle terminazioni nervose.

Nel rabdoma si concentra il recettore chimico (*retinene*).

## DISTINGUERE I SESSI

(la forma e il colore non sono evidenti negli individui appena nati).



Il **maschio** si differenzia dalla femmina per essere un po' più piccolo, per avere l'addome uniformemente pigmentato. La parte distale dell'addome del maschio è più arrotondata e scura. Il tarso delle zampe anteriori del maschio porta i "pettini sessuali", formati di setole situati sugli arti anteriori servono per bloccare la femmina durante l'accoppiamento. I genitali nei due sessi sono molto differenti, nel maschio sono presenti degli uncini copulatori

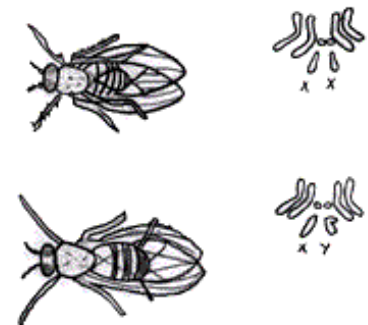
La **femmina** è generalmente più grande, ha un addome appuntito che si ingrossa quando deve deporre le

uova e che diviene concavo dopo la deposizione.

La **femmina** presenta invece una pigmentazione a strisce sull'addome e un ciuffo di setole all'estremità posteriore. Importante, ai fini degli esperimenti di incrocio, è il riconoscimento della "**femmina vergine**", sfarfallata da meno di 6 ore, la quale, pertanto, non ha ancora raggiunto la maturità sessuale.

Le femmine vergini hanno corpo cilindrico rispetto a quello dell'adulto leggermente svasato e ali ancora accartocciate.

Nella drosophila il sesso è determinato da una coppia di cromosomi identici per la femmina, diversi per il maschio, nel quale il cromosoma Y è fatto ad uncino, quello X è invece diritto. Questa determinazione del sesso è propria di molti animali, compreso l'uomo. In altri invece il fattore determinante del sesso è diverso: gli uccelli maschi, ad esempio, hanno due X e la femmina un solo X; in alcuni insetti e rettili il maschio è XX e la femmina XY.



## LARVA DI DROSOPHILA MELANOGASTER

La larva di *Drosophila melanogaster* ha 12 segmenti: un segmento cefalico, tre toracici e otto addominali.

L'apertura buccale è situata ventralmente nel segmento cefalico e al suo interno sono alloggiato delle strutture cheratinose dette "uncini buccali" che servono per raccogliere il cibo. L'apparato buccale è masticatore.

La parete del corpo è flessibile e sottile ed è formata da una cuticola esterna e da una epidermide interna. Poiché le larve sono abbastanza trasparenti alcuni organi interni possono essere osservati anche nella larva viva.

Oltre a queste strutture la larva contiene anche dei gruppi di cellule chiamati "dischi imaginali" che sono i primordi delle strutture dell'adulto.

Da quando la drosophila è stata allevata nei laboratori di genetica (ormai sono decenni), nelle colture sono comparse numerose mutazioni anche morfologiche, come la perdita della pigmentazione rossa degli occhi, della pigmentazione nera del corpo, la riduzione delle ali, ecc.

Esse vengono indicate con simboli: il carattere color seppia degli occhi viene indicato con il simbolo **se**, quello ali ridotte o vestigiali con il simbolo **vg**; i caratteri normali corrispondenti (occhi rossi, ali normali) vengono indicati con gli stessi simbolo con l'esponente + (**se<sup>+</sup>**; **vg<sup>+</sup>**).

Si calcola che la frequenza di comparsa delle mutazioni nel Moscerino della frutta (*Drosophila melanogaster*) sia compreso tra 1:100'000 ed 1:1'000'000. Le mutazioni sono generalmente indotte da alcuni fattori ambientali come le radiazioni elettromagnetiche, radiazioni ultraviolette, particolari sostanze chimiche...

Una delle domande che i biologi si pongono è se la mutazione sia veramente casuale od è invece "direzionata" per un adattamento specifico in un determinato ambiente. Dato però che le mutazioni che avvengono allo stato selvatico possono produrre soggetti nettamente svantaggiati rispetto agli altri, è pensabile che non sia così.

Successivamente gli elementi vantaggiosi casualmente apparsi (*la minoranza rispetto a quelli svantaggiosi*) vengono mantenuti attraverso la **selezione naturale**.

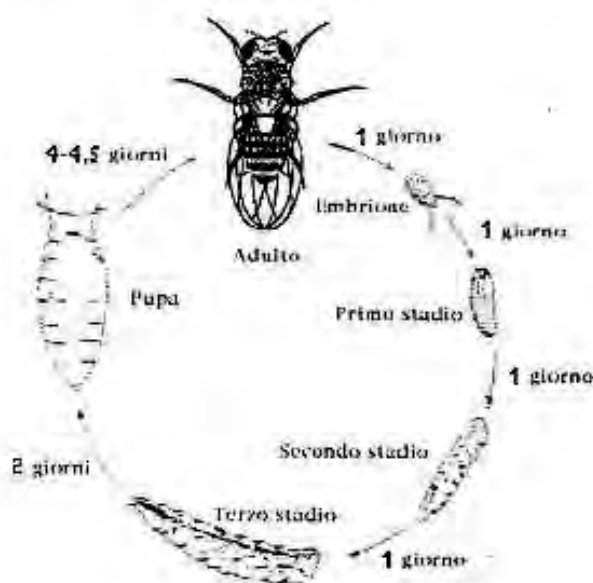
La mutazione appare quindi improvvisamente ed è un evento ben determinato nel tempo. Essa consiste quindi in una variazione della costituzione chimico-fisica del DNA.

Questa mutazione è poi quello che provoca il cambiamento fenotipico del soggetto esaminato.



Figura 4:  
larva di *Drosophila* III stadio

### CICLO VITALE DI DROSOPHILA MELANOGASTER



Il ciclo di sviluppo della drosophila, dall'uovo all'individuo sessualmente maturo, si compie in 11-12 giorni alla temperatura di 25°C. Esso è costituito da quattro stadi:

- I. **uovo** del diametro di circa 0,5mm; schiude in media dopo 22-24 ore;
- II. **larva**, lunga 4-5mm, molto mobile; muta tre volte e dopo 3-4 giorni si trasforma in ninfa o pupa;
- III. **ninfa o pupa**, lunga 3mm circa, immobile, racchiusa nel pupario; dopo 4-5 giorni si ha lo sfarfallamento dell'adulto;
- IV. **adulto o immagine**, lungo 2mm circa; raggiunge la maturità sessuale entro 6 ore dallo

sfarfallamento; la vita media di un adulto è di circa 1 mese.

## **Tecnica di allevamento della drosofila**

La drosofila è facilmente allevabile in laboratorio alla temperatura ottimale di 25°C. Il terreno di coltura è costituito dai seguenti ingredienti:

- |                                |               |
|--------------------------------|---------------|
| <b>1. acqua</b>                | <b>mL 450</b> |
| <b>2. agar in fili</b>         | <b>g 0,75</b> |
| <b>3. lievito secco</b>        | <b>g 22</b>   |
| <b>4. farina di mais</b>       | <b>g 25</b>   |
| <b>5. zucchero comune</b>      | <b>g 22</b>   |
| <b>6. destrosio</b>            | <b>g 45</b>   |
| <b>7. Nipagina (antimuffa)</b> | <b>g 4</b>    |

Per al preparazione del terreno di coltura si procede nel seguente modo:

- Versare in un becher 425mL di acqua e 0,75g di agar, portare a ebollizione;
- aggiungere 22g di lievito un poco per volta, girando fino a quando l'acqua non tende a traboccare
- prima che l'acqua torni a bollire aggiungere 55g di farina di mais un poco per volta; portare ad ebollizione;
- dopo 10 minuti aggiungi ancora 22g di zucchero e 45g di destrosio;
- aggiungere gradatamente 4g di Nipagina; lasciare bollire fino a quando la pappa non acquisti una certa consistenza;
- versare quindi la pappa ancora bollente nei barattoli in quantità appropriata (un paio di dita);
- spruzzare una soluzione diluita di lievito sulla superficie della pappa; attendere che questa si raffreddi prima di introdurre le drosofile; chiudere i barattoli con cotone idrofilo

## **Operazioni preliminari all'allestimento di esperimenti con le Drosofile**

Ai fini dell'allestimento degli esperimenti di genetica con le drosofile, è opportuno procedere ad alcune operazioni preliminari quali il riconoscimento del sesso, il riconoscimento del ceppo normale da quelli dei mutanti, l'anestesia.

- Osservare attraverso il vetro del barattolo i vari stadi di sviluppo della drosofila (larva, pupa, adulto )
- Sul barattolo contenente le drosofile capovolgere una beuta vuota per prelevare alcuni insetti.
- Richiudere il barattolo di coltura con il tappo di cotone e chiudere la beuta con del cotone imbevuto di etere etilico per anestetizzare le drosofile
- Attendere che le drosofile siano immobili sul fondo; togliere il tappo e far cadere le drosofile su un cartoncino bianco
- Osservare al microscopio separando con un pennellino i maschi dalle femmine, gli individui mutati da quelli normali e i diversi mutati
- Prima che finisca l'effetto della narcosi preparare dei piccoli coni di carta in cui raccogliere le drosofile e con la punta fissarli sulla pappa del barattolo di coltura; questo accorgimento è necessario per evitare che le drosofile ancora narcotizzate si attacchino sul fondo umido del terreno di coltura



Figura 2: vista laterale



Figura 6: vista dorsale



Figura 7: vista anteriore

Quando, finito l'esperimento le drosofile non serviranno più, è opportuno versarle in un becher contenente un po' di alcol denaturato (il "cimitero delle drosofile").

### Informazioni su salute/ sicurezza/ ambiente

*Consultare preventivamente le schede di sicurezza per le informazioni riguardanti tossicità/pericolosità ed i DPI da utilizzare per la manipolazione delle sostanze previste in questo metodo.*

Per i prodotti di scarto derivanti dall'utilizzo di questo metodo attenersi alle specifiche procedure di laboratorio.

Reagente	Symboli	Frafi di rischio
<b>Agar in fili</b>	Sostanza non pericolosa secondo la Direttiva 67/548/CEE	
<b>Saccarosio</b>	Sostanza non pericolosa secondo la Direttiva 67/548/CEE	
<b>Glucosio</b>	Sostanza non pericolosa secondo la Direttiva 67/548/CEE	
<b>Nipagina (metile-paraidrossi-benzoato)</b>	Sostanza non pericolosa secondo la Direttiva 67/548/CEE	
<b>Etere dietilico</b>	<b>F+</b>	R: 12-19

**Le principali caratteristiche somatiche della DROSOPHILA MELANOGASTER**

Disegnare, all'ingrandimento ottimale, l'insetto intero ed i particolari (occhi, ali, zampe, addome testa con apparato boccale, "pettine del sesso" presente solo nei maschi). Mediante tali osservazioni imparare a riconoscere i normali caratteri e soprattutto le differenze tra maschi e femmine.

