

# 果蝇在肠道疾病研究中的应用

王仁惠

上海市嘉定区第一中学 上海 201800

**摘要** 果蝇(*Drosophila melanogaster*)作为一种模式生物,在科学研究中发挥了广泛的应用。本研究通过文献综述和实验验证,深入探讨了果蝇在肠道疾病模型中的应用。研究过程中,我们建立了基于果蝇的蓝精灵(Smurf)模型,进行了无菌果蝇的培养,并成功提取了果蝇基因组,用于后续的基因表达分析。这些实验不仅提高了我们的实验技能,也拓宽了在未来科研工作中应用果蝇的可能性。研究表明,果蝇模型能有效模拟人类肠道疾病,为疾病机制研究及新治疗策略的开发提供了重要工具。

**关键词** :果蝇;蓝精灵模型;肠道完整性;模式生物

## 引言:

果蝇(*Drosophila melanogaster*)自其首次在科学研究中的应用以来,已成为遗传学和发育生物学领域的经典模式生物。由于其明确的遗传背景、简单的神经系统结构、短暂的生命周期以及强大的繁殖能力,果蝇在生命科学研究中提供了独特的研究优势。此外,果蝇在遗传操作上的便利性使其在探索基因功能和病理机制方面展现出巨大的潜力。<sup>[1]</sup>

在神经科学和行为学中,果蝇有广泛的应用。果蝇的神经系统构造相对简单,但其神经元和神经胶质细胞类型多样,能够执行复杂的活动,如视觉、嗅觉处理、学习和记忆等,使其成为研究神经科学和行为学的重要模型。为很多精神疾病、病理条件的发病机制的探究奠定了基础。在实验室中还可以对果蝇进行不同形式的人工操控,探究不同因素对其行为的影响。在这些研究中,果蝇可以被用来研究时间记忆、空间记忆、注意力等和人格行为相关的生理学机制。如抑郁症的研究。可选取果蝇的性欲和食欲改变,作为抑郁的行为表型,分别从药物诱导(左旋多巴/氯丙嗪)、环境压力(高温35°C/低温15°C)和社会因素(求偶失败)三个途径诱导果蝇的抑郁表型,模拟人类常见的药物、环境、社会压力三类致抑郁风险因素,加以研究。<sup>[2]</sup>

果蝇由于其与人类有较高的基因同源性,且果蝇没有类似哺乳动物的B和T淋巴细胞,它们抵抗微生物入侵的宿主防御主要依赖于先天性免疫系统<sup>[3]</sup>,成为研究遗传疾病和药物发现的重要工具。在研究人类神经退行性疾病中,通过对果蝇模型的研究不仅可以揭示神经退行性疾病发生的细胞分子通路,还可以研究对疾病有调控作用的基因及其表达产物,寻找可能的药物作用靶点并进行药物筛选,为防治人类神经退行性疾病提供新的方法和有效的药物<sup>[4]</sup>,此外果蝇也是研究肠炎、糖尿病、肿瘤等其他疾病的重要工具<sup>[5]</sup>。

探究果蝇作为模式生物在人类疾病、遗传学、发育生物学、神经科学和人类疾病研究等多个领域的巨大贡献。通过肠炎模型的研究,重点探究果蝇在人类疾病方面的应用及实验原理与实验方法,培养科学素养和精神。随着科技发展,会对未来医学科学等领域有更重要的作用,可以探索未来适用果蝇作为模式生物领域。

## 1 材料与方法

### 1.1 果蝇蓝精灵(Smurf)模型的建立

#### 1.1.1 实验材料

10% SDS溶液,10%蔗糖溶液,10%蓝色染料,水,果蝇成虫,幼虫,饲养管若干

#### 1.1.2 实验操作

1.1.2.1 取雄性果蝇60只,等分成2组,脱水饥饿处理后,分别放在无培养基的饲养管里2小时。

1.1.2.2 用10% SDS溶液、10%蔗糖溶液、10%蓝色染料和水制备含1% SDS溶液、5%蔗糖溶液、2.5%蓝色染料的实验组溶液,用10%蔗糖溶液、10%蓝色染料和水制备含5%蔗糖溶液、2.5%蓝色染料对照组溶液。

1.1.2.3 取有培养基的饲养管3只,一只将培养基

捣碎,加1mL实验组溶液,搅匀备用,两只先各加一片与管壁内径相同的滤纸覆盖在培养基上,加400微升实验组溶液,再覆盖一层滤纸,使其被溶液完全浸湿,同相同的方法,制备对照组食物,加400微升对照组溶液。

1.1.2.4 取有培养基的饲养管4只,两只将培养基捣碎,分别加入1mL实验组溶液、1mL对照组溶液搅匀备用,两只先各加一片与管壁内径相同的滤纸覆盖在培养基上,分别加400微升实验组溶液,和400微升对照组溶液,再覆盖一层滤纸,使其被溶液完全浸湿。

1.1.2.5 挑选二龄的幼虫,若干只分别加入幼虫的实验和对照组培管中,将饥饿处理的果蝇倒入成虫的实验和对照组饲养管中48小时后观察结果。

#### 1.2 无菌果蝇的制备

1.2.1 制备无菌培养基,然后进行高温灭菌,最后

分装于无菌培养装置中，并用耐高温封口膜封口

### 1.2.2 收集果蝇卵：

1.2.2.1 配制收卵平板：将水、浓缩葡萄汁和琼脂混匀后煮沸，然后分装至无菌平皿中，待其凝固后撒上适量的酵母粉。

1.2.2.2 制备果蝇收卵杯：将口径略小于平皿的透明塑料杯倒扣在 1) 的收卵平板上。

1.2.2.3 产卵：将亲代雌雄果蝇成虫转移至果蝇收卵杯中，收卵平板靠下置于培养箱中培养，培养 2 小时后开始收卵。

1.2.2.4 收集：将果蝇收卵杯小心倒置，轻轻将果蝇震动到杯底，拿起收卵平板并换上新的平板，向平板中加入水，将卵转移到细胞滤网筛中收集果蝇卵。

### 1.2.3 果蝇卵的无菌培养：

在超净工作台中进行卵表面杀菌消毒和分装：将盛有果蝇卵的滤网筛放在培养皿中，用灭菌蒸馏水冲洗清洗第一遍，将水吸干后再用 3% 次氯酸钠溶液冲洗卵 3min，将残留液体吸干后再用 70% 乙醇溶液冲洗卵两次，并用灭菌蒸馏水洗去卵表面残留的乙醇；然后将漂洗后的卵分装到无菌培养基中。

### 1.3 果蝇基因组提取 (rp49)

果蝇的 rp49 基因，全名为核糖体蛋白 L32 (Ribosomal protein L32)，是编码一种核糖体蛋白的基因。该基因在果蝇体内具有重要的生物学功能，且在果蝇中的表达非常稳定，常被用作内参基因进行各种实验中的相对定量分析。

#### 1.3.1 实验材料

1.3.1.1 果蝇，0.5mm 的无菌陶瓷研磨珠

1.3.1.2 溶液：70% 乙醇，异丙醇，无菌 ddH<sub>2</sub>O，5M 醋酸钾溶液，2X 溶液 A:200mM TrisHCl (PH8.0)，200mM NaCl，100mM EDTA (PH8.0)，4% (v/v) SDS。

#### 1.3.2 实验操作

1.3.2.1 在 1.5ml 离心管中，装入 15 只雄果蝇。加入 250ul 无菌 ddH<sub>2</sub>O 以及 0.5mm 的无菌陶瓷研磨珠，用研磨机器 high speed 研磨 1 分钟。加入 250ul 2x 溶液 A 并震荡混匀。

注意事项：因溶液 A 中含有 SDS，如果直接加入溶液 A 进行研磨，会产生大量的泡沫，从而影响研磨效果。如果为红眼果蝇，在研磨前去除头部，红眼色素会影响 DNA 产物的颜色。

1.3.2.2 加入 190ul 5M 醋酸钾溶液，震荡混匀，冰浴 15 分钟。

1.3.2.3 室温离心 13000g，5 分钟，收集上清并转移至新的 1.5ml 离心管。

1.3.2.4 重复 step3。

1.3.2.5 加入 750ul 异丙醇，轻柔地上下颠倒几次，室温孵育 5 分钟。

1.3.2.6 室温离心 13000g，5 分钟，去除上清，底部白色沉淀为基因组 DNA。

1.3.2.7 加入 1ml 70% 乙醇，上下颠倒几次，清洗基因组 DNA，室温离心 13000g 5 分钟。

1.3.2.8 分钟，去除上清。

1.3.2.9 风干直至基因组 DNA 呈透明状。

1.3.2.10 用 10uI 无菌 ddH<sub>2</sub>O 重悬 DNA，并检测浓度，将 DNA 浓度稀释至 100ng/ul。

1.3.2.11 取 200ngDNA 作为模板，用 rp49 特异性引物进行 PCR 鉴定。

1.3.2.12 PCR 程序：变性，退火，延伸，重复

1.3.2.13 用 1% 琼脂糖凝胶电泳鉴定 rp49 特异性片段 (200bp)

## 2 结果与讨论

### 2.1 蓝精灵模型的建立



实验组幼虫



对照组幼虫



实验组幼虫



对照组幼虫

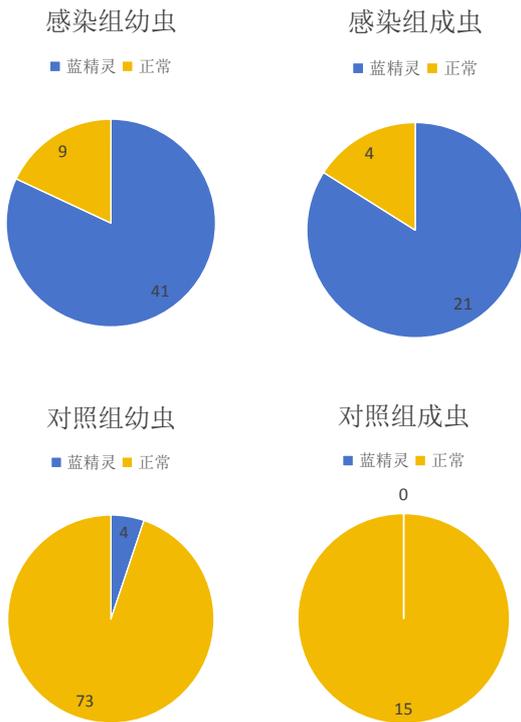


图1 果蝇蓝精灵实验造模结果

结果显示，加入 SDS 的实验组果蝇，不论是幼虫组还是成虫，肠道破损只数都大大升高。SDS 可以使果蝇肠道破损。实验数据中果蝇成虫的数量相对较少，是因为放果蝇成虫前未将溶液抽干，导致部分果蝇因被粘住翅膀，无法活动而死亡，减少统计总数量。在感染组幼虫中没有看到全身完全变蓝的，但在食物中发现了完全变蓝的尸体。可能有部分感染比较完全的幼虫，已经成为蓝色的食物的一部分，但未统计进总数中。但也可

以看到实验组和对照组的明显差异。

### 2.2 无菌果蝇的制备

无菌果蝇卵成功孵化。无菌果蝇模型被用于探索肠道微生物对宿主的攻击行为、运动行为和求偶行为的影响。通过构建无菌果蝇模型，研究人员能够深入研究肠道微生物调控果蝇行为输出的神经机制，并分析肠道微生物的组成以及不同种类微生物的定植对果蝇行为的影响。蓝精灵果蝇模型，用于测试果蝇肠道感染情况，测试药物与药效的研究。将两者结合，可评估治疗效果以及理解肠道免疫反应等。

### 2.3 果蝇基因组提取 (rp49)

用微量分光光度计检验 DNA 纯度

OD260/OD280=2.19

OD260/OD230=2.39

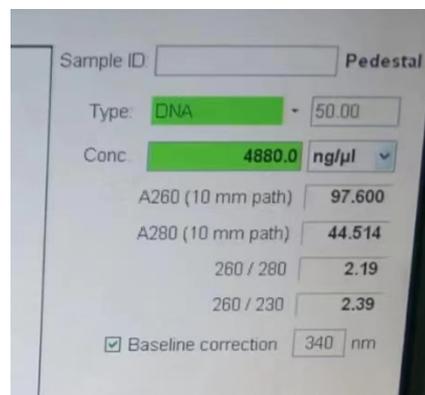


图2 琼脂糖凝胶电泳鉴定 rp49 特异性片段

可以看到模版组在 200bp 到 300bp 中间有 rp49 片段，对照组没有明显现象，在前面有亮光，引物添加过多所导致，通过提取果蝇 DNA 可以检测果蝇体内是否含有对应病毒，用于免疫与病毒相关研究领域。

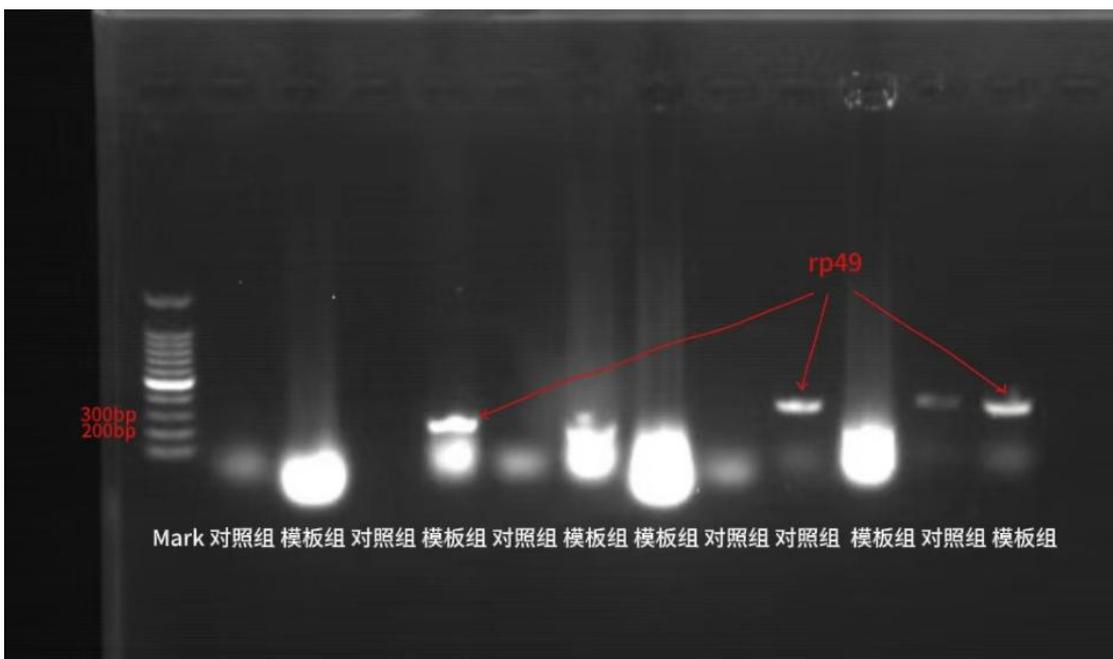


图3 PCR 产物电泳结果

### 总结与展望：

本研究深入探讨了果蝇在科研中的应用，对果蝇有了进一步的认识，果蝇是科研中必不可少的模式生物，在生命科学研究不同的方面都有应用。有着不可替代的地位。不愧是“培养诺贝尔奖得主最多的模式生物”，相信果蝇在 21 世纪的遗传学研究中将发挥更加巨大而不可替代的作用。这项研究初步实施了对果蝇的无菌处理，尽管实验流程相对简单，但存在操作精度低、果蝇卵存活率较低等问题。随着微生物组被广泛认为是人类第二基因组的一部分，无菌动物作为研究微生物组的核心技术工具，在相关领域的应用亦呈上升趋势。然而，当前无菌动物处理的局限性和弊端表明有必要进一步改进与发展。

实验数据表明，使用 SDS 处理的实验组果蝇在幼虫和成虫阶段均表现出显著的肠道损伤。SDS 的加入导致肠道屏障功能受损，验证了此模型的有效性于模拟肠炎状况。然而，实验也暴露了操作中的风险，如处理不当可能导致果蝇死亡，这提示在实验设计时需考虑更细致的生物安全措施。

无菌果蝇的成功孵化为研究肠道微生物与宿主相互作用提供了重要工具。通过此模型，研究揭示了肠道微生物如何影响果蝇的行为和生理反应，这对理解微生物与神经系统的交互具有重大意义。此外，无菌果蝇模型也表明，肠道微生物的不同组成可能对宿主的健康产生深远影响。

rp49 基因作为内参基因，其稳定的表达为果蝇基因表达研究提供了重要基准。通过 PCR 和琼脂糖凝胶电泳验证，实验确认了 DNA 提取的质量和纯度，这对进行后续的基因功能和表达分析至关重要。这一过程不

仅增强了实验的准确性，还为进一步的遗传和分子生物学研究打下了坚实的基础。

本研究通过多种实验模型深入探讨了果蝇在科学研究中的多面应用，尤其是在疾病模拟和基因功能研究方面的贡献。结果强调了模式生物在生命科学研究中的核心地位，并展示了使用果蝇进行复杂生物学问题研究的潜力。展望未来，随着基因编辑和生物信息学技术的发展，果蝇模型的应用范围将进一步扩大，特别是在精准医学和定制疗法的开发上。研究也指出了实验操作中需改进的地方，如提高操作精度和优化。

### 参考文献：

- [1] 郭爱克, 张柯, 郭建增, 等. 果蝇的视觉认知研究 [J]. 中国基础科学, 2008, (01): 29-33.
- [2] 江明颀. 建立果蝇抑郁模型研究抑郁症的发病机理 [D]. 华中师范大学, 2017. DOI: 10.27159/d.cnki.ghzsu.2017.000217.
- [3] 郝阳光, 张玮钰, 金丽华. 果蝇肠道免疫的研究进展 [J]. 免疫学杂志, 2013, 29(09): 813-817. DOI: 10.13431/j.cnki.immunolj.20130177.
- [4] 温艾, 刘力. 以果蝇模型研究人类神经退行性疾病 [J]. 生物化学与生物物理进展, 2003, (03): 357-362.
- [5] 周子谦. 果蝇对不同提取物的抗氧化性 Meta 筛选及其对肠道的影 响 [D]. 黑龙江: 东北林业大学, 2023.
- [6] 金秋霞, 王思宏, 金丽华. 果蝇肠道干细胞及肠道菌群的研究进展 [J]. 生物技术通报, 2021(4): 245-250.
- [7] 杜艳娇, 田瑶, 袁志霄, 等. 果蝇肠道共生菌对宿主作用的研究进展 [J]. 微生物学报, 2021(7): 1896-1909.