

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. І. МЕЧНИКОВА  
БІОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ

## *Drosophila melanogaster*

як тест-система *in vivo* для виявлення генотоксичної  
дії потенційно-небезпечних препаратів та речовин

### *МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ*

до великого спеціального практикуму для студентів спеціальності  
«біологія» спеціалізації «генетика і молекулярна біологія»  
усіх форм навчання

Одеса  
ОНУ  
2020

УДК 595.773.4:575.222.2.034 (075.8)

**Автори:**

Білоконь С. В. – канд. біол. наук, доцент кафедри генетики і молекулярної біології;

Алексєєва Т. Г. – канд. біол. наук, доцент кафедри генетики і молекулярної біології.

**Рецензенти:**

**К. Й. Черничко** – канд. біол. наук, доцент кафедри зоології;

**Д. Б. Радіонов** – канд. біол. наук, доцент кафедри гідробіології і загальної екології.

Рекомендовано до друку вченою радою  
біологічного факультету ОНУ імені І. І. Мечникова.  
Протокол № 4 від 10.12.2019 р.

**Білоконь С. В.**

*Drosophila melanogaster* як тест-система *in vivo* для виявлення генотоксичної дії потенційно-небезпечних препаратів та речовин : методичні вказівки до розділу великого спеціального практикуму / С. В. Білоконь, Т. Г. Алексєєва. – Одеса : Одес. нац. ун-т імені І. І. Мечникова, 2020. – 32 с.

Методичні вказівки включають основні теоретичні відомості та практичні інструкції щодо проведення лабораторного практикуму, присвяченого виявленню генотоксичної дії препаратів/речовин на *Drosophila melanogaster* як тест-системі *in vivo*.

Методичні вказівки рекомендовано студентам біологічного факультету, що спеціалізуються по кафедрі генетики і молекулярної біології при виконанні лабораторних робіт з «Великого спеціального практикуму» та при виконанні курсових та дипломних робіт.

УДК 595.773.4:575.222.2.034 (075.8)

© Білоконь С. В., Алексєєва Т. Г., 2020

© Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, 2020

## Зміст

ВСТУП.....	4
Розділ 1. Загальні вимоги до проведення дрозофільних практикумів .....	5
1.1. <i>Drosophila melanogaster</i> як модельний об'єкт генетичних досліджень.....	5
1.2. Особливості морфології та життєвого циклу <i>Drosophila melanogaster</i> .....	6
1.3. Основи генетичної символіки.....	9
Розділ 2. Тест-методи, за допомогою яких виявляють генотоксичність досліджуваних препаратів речовин .....	11
2.1. Обробка імаго <i>Drosophila melanogaster</i> препаратом, який досліджують .....	12
2.2. Метод обліку домінантних летальних мутацій (ДЛМ) .....	14
2.3. Облік рецесивних, зчеплених зі статтю, летальних мутацій у дрозофіли.....	16
2.4. Облік соматичної рекомбінації (мозаїцизму) у дрозофіли.....	20
2.5. SMART-тест на <i>D. melanogaster</i> .....	23
2.6. Вивчення частоти нерівного кросинговеру за мутаціями ознаки <i>Bar</i> .....	26
Контрольні запитання для підготовки до роботи .....	28
Список рекомендованої літератури.....	29
Корисні ресурси .....	31

## Вступ

*Drosophila melanogaster* – найбільш вивчений в генетичному відношенні об'єкт серед багатоклітинних організмів. Тривале використання її в генетичних дослідженнях пояснюється наявністю великої кількості спадкових рас, що дозволяють широко моделювати в генетичних експериментах, і метаболічних систем, дуже близьких до ссавців, а також детально розшифрованим геномом. Результати майже вікового її вивчення дозволяють проаналізувати весь спектр можливих мутацій і прогнозувати генетичні ситуації, з якими можна зустрітися у інших вищих організмів.

Корисність дрозофіли як тест-об'єкта є загально визнаною, вона входить у батареї тестів для визначення реальної та потенційної мутагенної активності різних факторів. Практично кожен відомий ген дрозофіли може бути предметом дослідження, але практичне застосування у навчальному процесі знайшли лише деякі.

Даний методичний посібник покликаний ознайомити студентів, у першу чергу фуркантів кафедри генетики і молекулярної біології, з класичними і сучасними методами оцінки мутагенності хімічних і фізичних агентів, які об'єднує тест-об'єкт – *Drosophila melanogaster*.

Виявлення і кількісний облік рецесивних, зчеплених зі статтю, летальних мутацій у дрозофіли проводиться методом Меллер-5 і CLB, локалізація рецесивних леталей в аутосомах враховується за допомогою ліній-аналізаторів зі збалансованими летелями по другій і третій хромосомах і інверсіях, наприклад, CyL/Pm і D/Sb. У виявленні та визначенні частоти видимих мутацій і великих делецій в X-хромосомі використовується метод зчеплених X-хромосом. Для визначення частоти виникнення зигот з анеуплоїдією або зигот з великими хромосомними перебудовами застосовується метод домінантних леталей.

Зібрані авторами методичні підходи також можуть бути корисними не лише студентам, але й аспірантам та молодим науковцям при проведенні власних досліджень.

## Розділ 1. Загальні вимоги до проведення дрозофільних практикумів

### 1.1. *Drosophila melanogaster* як модельний об'єкт генетичних досліджень

Дрозофіли (лат. *Drosophila* від грецького δρόσος – роса, влага і φίλέω – любити) – плодові мушки, рід дрібних комах сімейства *Drosophilidae* ряду *Diptera* (Двокрилі). Рід у його сучасному обсязі нараховує близько 1500 описаних видів.

*Drosophila melanogaster* (чорнобрюха дрозофіла) – найважливіший для наукових досліджень вид дрозофіл, який широко використовується, починаючи з робіт Томаса Ханта Моргана з генетики статі і хромосомної теорії спадковості. Сьогодні *Drosophila melanogaster* – один з найбільш вивчених видів живих організмів – застосовується для широкого спектра досліджень класичної і прикладної генетики. Так, наявність у ряді органів дрозофіли (слинних залозах личинки та ін.) політенних хромосом використовують у дослідженнях з генетики розвитку, а перелічені нижче біологічні особливості роблять *Drosophila melanogaster* зручним об'єктом експериментальної генетики.

Дрозофіли вирізняються високою швидкістю розмноження (нове покоління з'являється кожні 10 днів), численним потомством, а також зручністю розведення в лабораторних умовах.

Каріотип *Drosophila melanogaster* представлено чотирма парами хромосом, серед яких статеві хромосоми X/Y (1) і аутосоми (2, 3, 4). Хромосоми 1, 2 і 3 – досить великі і зручні для досліджень, на відміну від меншої за розміром і генетично не навантаженої хромосоми 4. Розмір геному мухи становить близько 165 мільйонів основ і містить, за приблизними підрахунками, 13 600 генів.

Для *Drosophila melanogaster* характерний статевий диморфізм, що значно полегшує визначення самців і самиць при постановці схрещувань і аналізі нащадків. Крім того, самці дрозофіли вирізняються відсутністю кросинговеру через брак у них білка,

необхідного для кон'югації гомологічних хромосом в профазі мейозу I, що широко використовується при визначенні груп зчеплення і локалізації генів.

Нарешті, однією із головних переваг *Drosophila melanogaster* як незамінного об'єкта генетичного аналізу є наявність значної кількості мутантних форм, що різняться за морфологічними, біохімічними, фізіологічними, поведінковими та іншими фенотиповими ознаками.

## 1.2. Особливості морфології та життєвого циклу

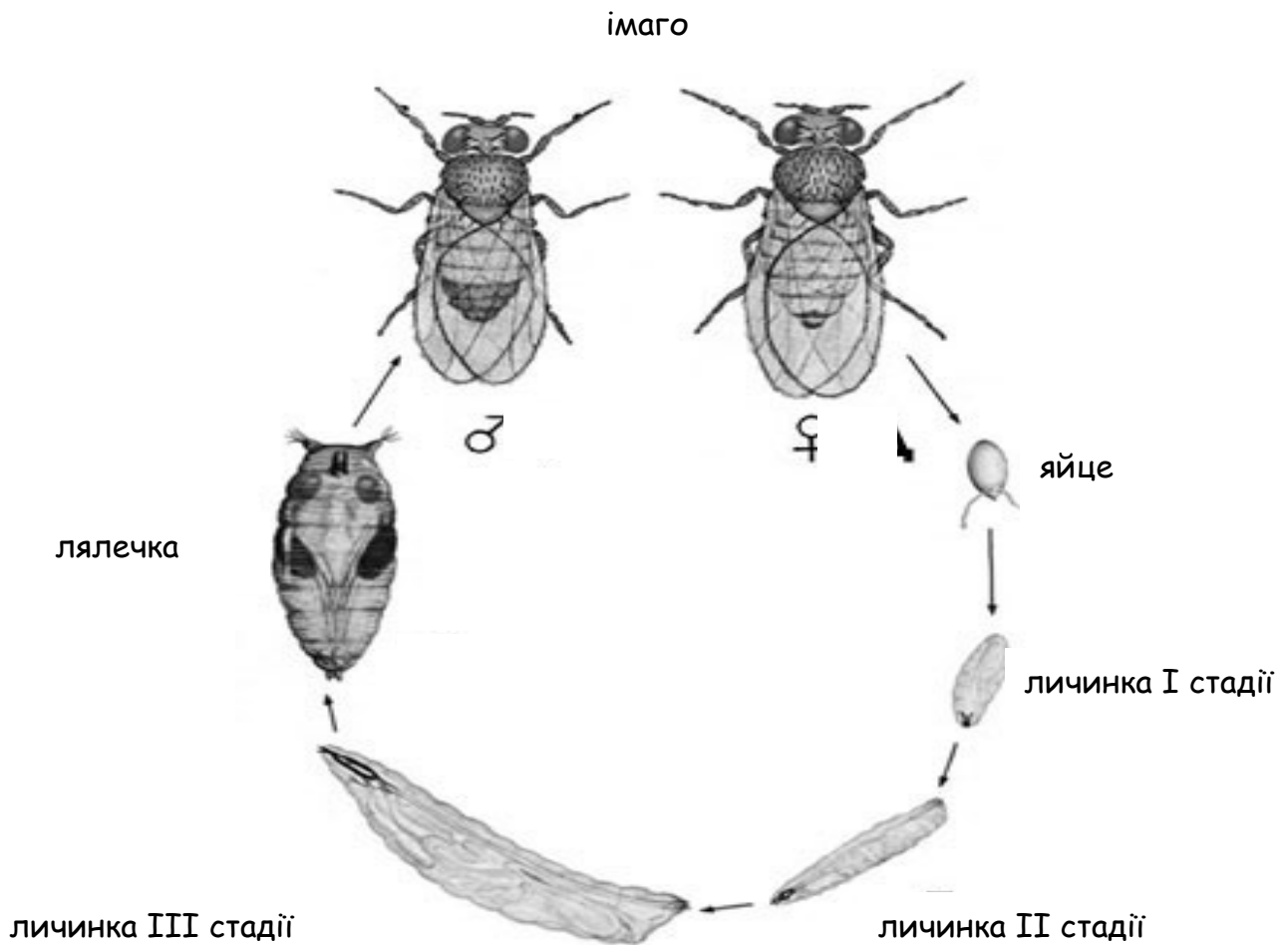
### *Drosophila melanogaster* Mg.

*D. melanogaster* відноситься до комах з повним перетворенням. Тривалість життя дрозофіли залежить від температури навколишнього середовища: при зниженні температури комахи живуть довше, а при підвищенні – менше. Життєвий цикл при температурі 25 °C становить близько 14 днів.

Протягом життя кожна муха проходить ряд стадій розвитку (повний цикл) від яйця через три личинкові стадії і стадію лялечки, після чого вилуплюється доросла особина – імаго (рис. 1).

Запліднені самки відкладають на поверхню корму яйця. Яйце – близько 0,5 мм в довжину. На спинній стороні яйця (відповідній спинній стороні майбутнього зародка) є два відростки (філаменти), які не дозволяють яйцю занурюватися в рідке середовище. На передньому кінці яйця розташований отвір (мікропіле). Через нього проникає сперматозоїд. У нормальних умовах (при температурі + 25 °C) ембріональний розвиток протікає 20 - 24 години.

Червоподібна личинка (1-го віку), що вийшла із яйця, активно харчується, проїдаючи в кормі ходи і занурюючись в нього. Вся личинкова стадія триває 4 - 5 діб. В процесі розвитку личинки зазнають дві линьки. Перед тим, як перетворитися на лялечку, вони виповзають на стінки стаканчика з кормом, перестають харчуватися, потім і рухатися. Лялечка покоїться на місці прикріплення пупарію до виходу імаго.



**Рис. 1. Життєвий цикл *D. melanogaster***

На стадії лялечки відбувається перебудова органів дрозофіли. Всі личинкові органи (крім нервової системи і статевих залоз) замінюються імагінальними, що розвиваються з імагінальних дисків. Стадія лялечки триває приблизно 4 дні.

Протягом 8-10 годин після виходу з лялечки самки залишаються незайманими, віргінними. Для проведення експериментів зі схрещування слід брати саме віргінних самок. Для цього їх відсаджують від самців не пізніше як через 8 годин після вильоту імаго.

У природі *Drosophila melanogaster* харчуються соком рослин і гниючими рослинними залишками, а личинки можуть засвоювати також і мікроорганізми. В лабораторних умовах мух утримують на спеціальному живильному середовищі з додаванням дріжджів, необхідних для живлення дорослих особин.

Культуру мух рекомендується вести індивідуальним способом у плоскодонних пробірках розміром 25 x 100 мм.

За лабораторних умов мух розводять на поживних середовищах. Живильне середовище готують у такій послідовності: розчиняють агар-агар у дистильованій воді та доводять розчин до кипіння; додають попередньо розчинені у дистильованій воді хлібопекарні дріжджі та кип'ятять, помішуючи протягом 35 - 40 хвилин; додають цукор та манну крупу, кип'ятять ще 10 - 15 хвилин; гаряче середовище розливають у пробірки по 5 см<sup>3</sup>.

Після того, як середовище охолоне та затвердіє, його поверхню засівають дріжджами за допомогою пензлика. Для цього використовують густу водну суспензію дріжджів що містить 4 г дріжджів у 10 см<sup>3</sup> дистильованої води. Пробірки з поживним середовищем закривають ватними пробками.

Усі компоненти середовища є поживним субстратом для личинок, що розвиваються. Дріжджі, які проростають на поверхні середовища, є головним елементом живлення імаго.

Відсаджувати мух краще через добу після приготування середовища. В кожен пробірку слід садити не більше трьох самок. Кількість самців не впливає на щільність мух у культурі. Перевищення кількості самок не рекомендується, щоб уникнути перенаселення в культурі, яке тягне за собою значне здрібнювання мух і скорочення строку їх життя.

Кладка починається на другу добу після парування. Інтенсивність відкладення яєць з часом збільшується, досягає максимуму на 4 - 5 день і тримається на цьому рівні протягом тижня. За цей час самки відкладають у середньому 50 - 70 яєць на добу. Потім інтенсивність кладки зменшується. За сприятливих умов кладка триває 3 тижні і може продовжуватись до кінця життя. Після парування від однієї самки можна одержати до 600 нащадків.

Перший час після вилуплювання личинки залишаються на поверхні поживного середовища. Потім вони йдуть вглиб поживного середовища та залишаються там до моменту лялькування. Перед залялькуванням личинки припиняють живитися та виповзають на



стілки пробірки, де заляляковуються. Приблизно на третю добу після утворення лялечки стають помітними обриси очей та крил. На четверту добу виходять імаго.

При постановці схрещувань та підтриманні спеціальних ліній мух необхідно використовувати віргінних (незайманих) самок. Віргінних самок відбирають так: з культури видаляють усіх мух, потім через 6-8 годин, протягом яких виводяться нові мухи, відбирають самиць.

Усі маніпуляції з мухами треба проводити під наркозом, для чого використовують діетиловий ефір або пари CO<sub>2</sub>. Вату в ефіризаторі злегка змочують ефіром та, постукуючи пальцями по стінкам пробірки, витрушують мух на білу керамічну плитку (молочно біле скло або аркуш), після чого переглядають. Наркоз слід проводити обережно, оскільки від великої дози ефіру мухи можуть загинути. Якщо ж в процесі аналізу мухи починають рухатися, їх можна повторно піддати наркотизації і продовжувати аналіз.

Мух під наркозом переглядають під біноклем або лупою, використовуючи підрізане пір'я з махових крил птахів або тонкі пензлики. Після перегляду мух висаджують у пробірки із свіжим поживним середовищем. Мухи під наркозом можуть прилипати до свіжого середовища та гинути, тому після перегляду їх краще поміщати на стінки пробірок, а коли вони почнуть рухатись, пробірки поставити вертикально. Непотрібних для подальшої роботи мух викидають у посудину, що вміщує рідину, в якій мухи швидко тонуть (наприклад, спирт). Усі пробірки з мухами повинні бути позначені (марковані), щоб не виникало плутанини між різними лініями. Для цього необхідно використовувати загально прийняту генетичну символіку.

### **1.3. Основи генетичної символіки**

Фенотип та генотип ліній дикого типу прийнято вважати нормальним. Спадкове відхилення від норми – мутація. Назва мутацій може бути складена із одного чи декількох англійських слів, які відображають фенотиповий прояв цієї мутації. Ці слова можуть бути чи

іменником (наприклад, *plexus* – сплетення) чи прикметником (*white* – білий), чи їх сполученням (*abnormal abdomen* – ненормальне черевце).

Назва мутації з домінантним проявом пишеться з великої літери (*Bar*), а з рецесивним проявом – з маленької (*ebony*). Символ мутації складається із однієї чи декількох літер повної назви мутації. Перша літера символу – це перша літера повної назви мутації. Друга та наступні літери вибрані із повної назви довільно, але згідно з відповідністю до загальноприйнятої номенклатури з метою уникання однакового позначення мутацій. Наприклад, *b* – символ мутації *black* (фенотиповий прояв – чорний колір тіла), чи *bw* – символ мутації *brown* (фенотиповий прояв – коричневі очі).

Нормальні алелі позначаються або символом «+» або символом локусу з індексом «плюс», наприклад,  $st^+$ . Алелі одного локусу (серія множинних алелів) мають таку ж саму назву і символ та відрізняються один від одного лише індексами. Індексом може бути скорочення назви цієї мутації. Наприклад,  $w^a$ , де *white* – назва локусу, а *apricot* – назва мутації.

Хромосоми *Drosophila melanogaster* позначаються арабськими цифрами 1, 2, 3 та 4. Y-хромосома (статева хромосома самців) позначається літерою «Y» чи знаком

Коли описують лінії, які мають декілька мутацій в одній хромосомі, символи мутацій записують у порядку їхнього положення на генетичній карті та розділяють проміжками, Наприклад:  $u\ st$  чи  $cn\ vg$ .

Символи мутацій, які локалізовані у гомологічних хромосомах, розділяються похилою лінією. Наприклад: *Sy/Pm*.

В описі ліній, у яких мутантні гени знаходяться у негомологічних хромосомах, символи розділяють комою з крапкою. Наприклад: *Sy/Pm; D/Sb; u; vg; st e*. Хромосоми записують у наступному порядку 1 (чи X); Y; 2; 3; 4.

Хромосомні мутації можливо позначати по мутантному фенотипу або за особистими правилами позначення структурних перебудов. Хромосомні перебудови, які не мають фенотипового прояву, мають позначатися тільки за правилами позначення структурних перебудов.

Локалізація гена позначається так: спочатку вказують номер хромосоми, а потім відстань у морганідах від лівого плеча хромосоми, в якій локалізовано ген, з точністю до десятих часток. Наприклад, локалізація гену *vestigial* (*vg*) – позначається так: 2 – 76,0.

Для *Drosophila melanogaster* дикого типу характерний цегляно-червоний колір очей, жовто-коричневе з чорними кільцями черевце і довгі закруглені крила. Самки крупніші за самців (близько 2,5 мм довжиною), задня частина їх тіла темніша. Вага самки близька до 1 мг, вага самців дещо менша. Розмір і тих, і інших може коливатися залежно від умов харчування. У самки є вісім добре розвинених тергітів (верхні хітинові щитки грудей), а в самця – шість, оскільки шостий і сьомий тергіти злиті, а восьмий увійшов до складу статевого апарата. Черевце самки округле із загостреним кінцем, у самця воно циліндричне із притупленим кінцем і пігментованими останніми сегментами. Найбільш показовою ознакою самця може служити суцільно чорний кінчик черевця, а також група загострених щетинок, що оточують анус і геніталії.

У *Drosophila melanogaster* відомо більше 170 мутантних ліній, більшість із яких, за окремими винятками, є рецесивними, а їх наявність, зазвичай, сприяє зниженню життєздатності особин. Мутанти відрізняються від дикої раси (*Normal*) по ряду фенотипових ознак. Мухи, мутантні по генах, що визначають морфологічні ознаки, здебільшого мають чітко виражені зовнішні прояви, легко доступні для спостереження, такі як довжина крил, колір тіла, форма і колір очей. При дослідженні інших менш виражених морфологічних ознак (довжина, форма і густота щетинок, відтінки кольору очей та ін.) використовують бінокюляри і лупи.

## **Розділ 2. Тест-методи, за допомогою яких виявляють генотоксичність досліджуваних препаратів речовин**

Загальною метою проведення даного розділу великого спеціального практикуму є навчання студентів методам оцінки мутагенності хімічних речовин за допомогою *Drosophila*

*melanogaster*. Завдання ВСП полягає в ознайомленні студентів з різними методами визначення генотоксичної дії речовин за допомогою тестів на *Drosophila melanogaster*.

## **2.1. Обробка імаго *Drosophila melanogaster* препаратом, який досліджують**

Є три основних шляхи введення досліджуваного препарату: ін'єкційний, інгаляційний та пероральний. Частіше використовують пероральне введення.

Пероральне введення препарату, що досліджують, можна проводити двома способами:

### **1. Спосіб обробки імаго:**

Віргінних самиць розміщують у пробірки, в яких знаходиться фільтрувальний папір, змочений розчином препарату, який містить 5 % розчин глюкози.

Контрольну групу тварин розміщують у пробірки з фільтрувальним папером з 5 % розчином глюкози на дистильованій воді – негативний контроль.

В якості позитивного контролю може бути використано будь-який супермутаген, наприклад, нітрозометилсечовина.

Кількість рідини досліджуваного препарату підбирають емпірично з розрахунку на ємність посуду та кількості мух. Експозиція обробки – 72 години. У разі високої токсичності препарату обробка скорочується до 48 годин.

### **2. Спосіб обробки імаго:**

Обробку мух проводять у плоскодонних пробірках, які рекомендуються для розведення дрозофіли. Дно пробірки заливають гарячим рідким середовищем в кількості 5 см<sup>3</sup> у кожен пробірку. Коли середовище охолоне, його засівають дріжджовою суспензією, яку готують із розрахунку: 4 г дріжджів у 10 см<sup>3</sup> рідини, якщо досліджується (препарат у досліді, дистильована вода у негативному контролі, та нітрозометилсечовина у позитивному контролі). Через

добу у ці пробірки відсаджують віргінних мух (по 20 особин у кожному пробірці), самок і самців окремо. Експозиція обробки – 72 години.

Якщо препарат не розчиняється у воді, можливе (при обов'язковій постановці відповідних контролів) його розчинення в етиловому спирті так, щоб кінцева концентрація цих розчинників у дослідному розчині була не більше 2 %.

**Інгаляційний спосіб введення** використовується, як правило, для оцінки мутагенності наркотичних газів. Обробку мух роблять в ексикаторах, розраховуючи дозу газоподібної речовини на об'єм ексикатора.

**Ін'єкції** дослідного препарату імаго дрозофіли роблять скляним капіляром проміж 4 та 5 сегментами черевця.

Значної різниці у визначенні мутагенності в залежності від шляху введення препарату немає. Тому можна рекомендувати як основний спосіб обробки дрозофіли дослідним препаратом – пероральне введення (з кормом).

### **Вибір доз та експозиції при обробці імаго дрозофіли досліджуваним препаратом**

В залежності від токсичності препарату, тривалість обробки (експозиція) може коливатися від декількох годин до декількох днів (частіше 48 - 72 години). Токсичність препарату встановлюють за виживанням самок, яка повинна бути близько 50 %. Для цього в експерименті досліджують ефекти з щонайменше трьома різними концентраціями (при їх виборі треба враховувати рекомендації виробника препарату щодо його дозування), так встановлюють напівлетальну дозу ( $Lt_{50}$ ). Саме ця доза буде використовуватися далі в експерименті. Її зниження можливе лише в тому випадку, коли досліджуваний препарат має сильно виражений стерилізуючий ефект.

Якщо при обробці максимальною дозою визначені статистично значущі ефекти, експерименти треба продовжувати на вдвічі менших дозах.

Після того, як встановлено токсичність дослідного препарату/речовини та визначено діапазон концентрацій, переходять до визначення мутагенності (генотоксичності). Оцінити

генотоксичність тих чи інших препаратів/речовин на моделі *in vivo* *Drosophila melanogaster* можливо за допомогою чотирьох різних тест-методів, які наведено нижче. Ці методи повинні використовуватися паралельно та одночасно для дослідження одного препарату/речовини. Лише отримавши результати за всіма тестами можливо зробити загальний висновок щодо генотоксичності досліджуваного препарату/речовини.

## **2.2. Метод обліку домінантних летальних мутацій (ДЛМ)**

Сутність даного методу полягає у виявленні індукованих генетичних змін, які виникають у зародкових клітинах батьків і ведуть до загибелі нащадків на різних стадіях ембріонального розвитку. ДЛМ виникають внаслідок великих перебудов хромосом, анеуплоїдій, пошкоджень важливих цитоплазматичних структур, порушення реплікацій ДНК і, частково, генних мутацій. В експериментах використовують низькомутагенні лінії дикого типу дрозофіли *Canton-S*, *Oregon-R*, *Домодедівська-32* та інші.

**Мета роботи:** Застосувати метод домінантних летальних мутацій для визначення потенційного генотоксичного ефекту досліджуваної речовини.

### **Матеріали та обладнання**

*Drosophila melanogaster*, лінія *C-S*

Бінокулярні лупи

Досліджуваний препарат або речовина

Плоскодонні пробірки

Живильне середовище

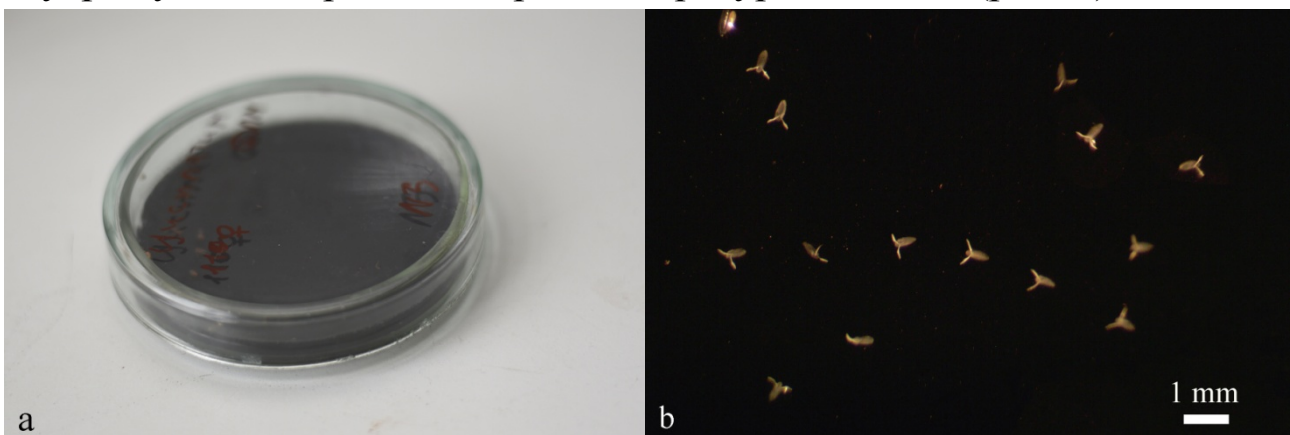
Чорні агарові пластинки

### **Хід роботи**

1. Імаго дрозофіли обробляють перорально. Використовують самців дикого типу *C-S*. На дно пробірки заливають гаряче живильне середовище, засівають його дріжджовою суспензією з досліджуваним препаратом/речовиною в досліді та дистильованою

водою в контролі. Домінантні летальні мутації виявляють на початкових стадіях розвитку першого покоління дрозофіли.

2. Після 72 годин обробки досліджуваним препаратом/речовиною мух відсаджують у пробірки із живильним середовищем для схрещування (по 10 самців і самиць).
3. Підготовлюють «чорні агарові пластинки». Для приготування 100 см<sup>3</sup> середовища беруть 3 грами агар-агару та 3 грами цукру, розчиняють у 100 см<sup>3</sup> дистильованої води та кип'ятять до повного припинення піноутворення. Одну таблетку активованого вугілля розтирають у ступці в порошок і додають (перемішуючи) у середовище, що кипить. Після припинення піноутворення гаряче середовище розливають тонким шаром (3 мм) у чашки Петрі. Середовище охолоджують при кімнатній температурі. Коли середовище охолоне, його покривають тонкою плівкою дріжджової суспензії за допомогою пензлика. Чашки накривають і залишають на добу при температурі 22 ± 3 °С.
4. Через добу по 10 самиць відсаджують на агарові пластинки, які утримують в термостаті при температурі 22 ± 3 °С (рис. 2).



**Рис. 2. Метод ДЛМ:** а – загальний вигляд чашки Петрі з «агаровою пластинкою», б – кладка яєць на агарі під бінокулярною лупою

5. Через вісім годин самиць видаляють. Облік доміантних летальних мутацій здійснюють через 48 та 72 години з моменту відсаджування самок на чашки Петрі (початок яйцекладки). До цього часу з яєць, що нормально розвинулися, виходять личинки. Личинки та нормальні яйця, які ще не розвинулися, враховують як норму. Аномальні яйця поділяють за кольором на три типи:

- прозорі – незапліднені;
- матові – рання ембріональна загибель (перші 9 годин ембріонального розвитку);
- забарвлені (від жовтих до коричневих) – пізня ембріональна загибель (рис. 3).

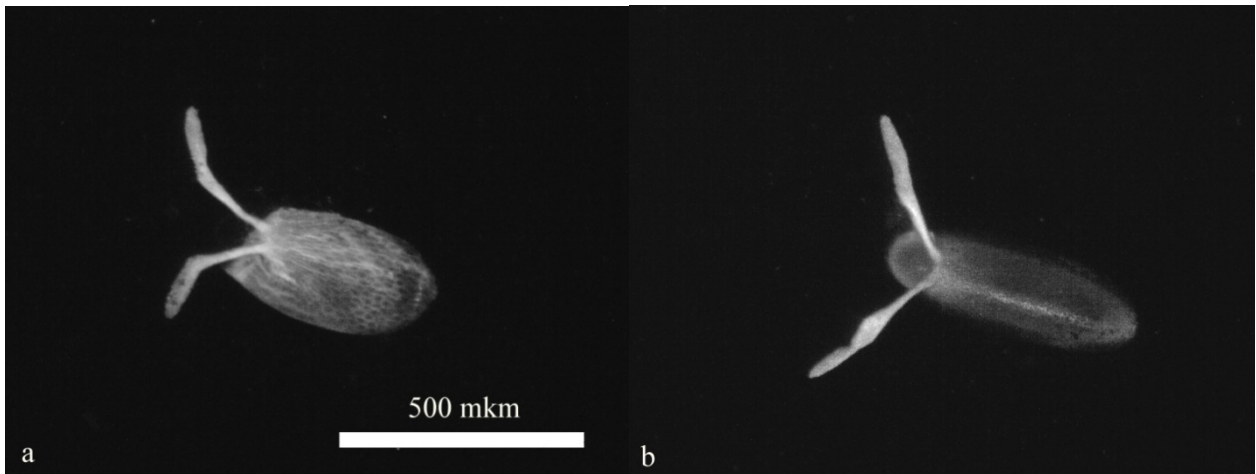
6. Частоту виникнення ДЛМ розраховують за формулою:

$$\mathcal{C}_{\text{ДЛМ}} = \frac{N_{\text{ДЛМ}}}{N_0} \cdot 100\%,$$

де  $\mathcal{C}_{\text{ДЛМ}}$  – частота ДЛМ у відсотках;

$N_{\text{ДЛМ}}$  – кількість яєць з ДЛМ, екземпляри;

$N_0$  – кількість запліднених яєць, екземпляри.



**Рис. 3. а – матові запліднені яйця, б – прозорі незапліднені яйця**

7. Висновок про наявність або відсутність генотоксичності препаратів/речовин роблять на підставі встановлення вірогідності підвищення частоти ДЛМ у досліді порівняно з контролем за критерієм Стюдента.

### **2.3. Облік рецесивних, зчеплених зі статтю, летальних мутацій у дрозофіли**

Летальна мутація – зміна в геномі, яка призводить до смерті її носія. Рецесивна мутація – зміна в геномі, яка проявляється в умовах гомозиготності або гемізіготності. Зчеплені зі статтю гени присутні в статевих (X або Y) хромосомах. Обговорюваний метод визначає мутаційні події в X-хромосомі.



За допомогою даного методу проводять оцінку здатності випробуваної речовини і продуктів її метаболізму індукувати генні мутації в зародкових клітинах дрозофіли. Рекомендований метод, названий Меллер-5, заснований на індукції досліджуваними речовинами рецесивних летальних мутацій в X-хромосомі самців мух лінії дикого типу. Ці мутації передаються через самок F<sub>1</sub>, самцям другого покоління, що не доживають до стадії імаго.

Для дослідів з обліку рецесивних, зчеплених зі статтю летальних мутацій (РЗСЛМ) потрібна лінія мух дикого типу з добре вивченим спонтанним фоном мутабільності, наприклад, *Canton-S*, *Oregon-R* або *D-32*, а в якості тестерної лінії найкраще використовувати лінію *BASC* (рис. 3, 4).

У X-хромосомі мух цієї лінії є 2 інверсії – *sc8* і *d49*, які повністю виключають можливість кросинговеру між статевими хромосомами, але при цьому не порушують життєздатності дрозофіли. Фенотиповими маркерами служать мутації *apricot* – абрикосові очі і *Var* – щілиноподібні очі.



**Рис. 4. Самець лінії *Canton-S*, *C-S***



**Рис. 5. Мутанти *white<sup>apricot</sup> Bar, w<sup>a</sup> B*: щілиноподібні, абрикосові очі**

**Мета роботи:** Застосувати метод обліку рецесивних зчеплених зі статтю мутацій дрозофіли для визначення потенційного генотоксичного ефекту досліджуваної речовини.

**Матеріали та обладнання**

*Drosophila melanogaster*, лінія *C-S*

Бінокулярні лупи

Досліджуваний препарат або речовина

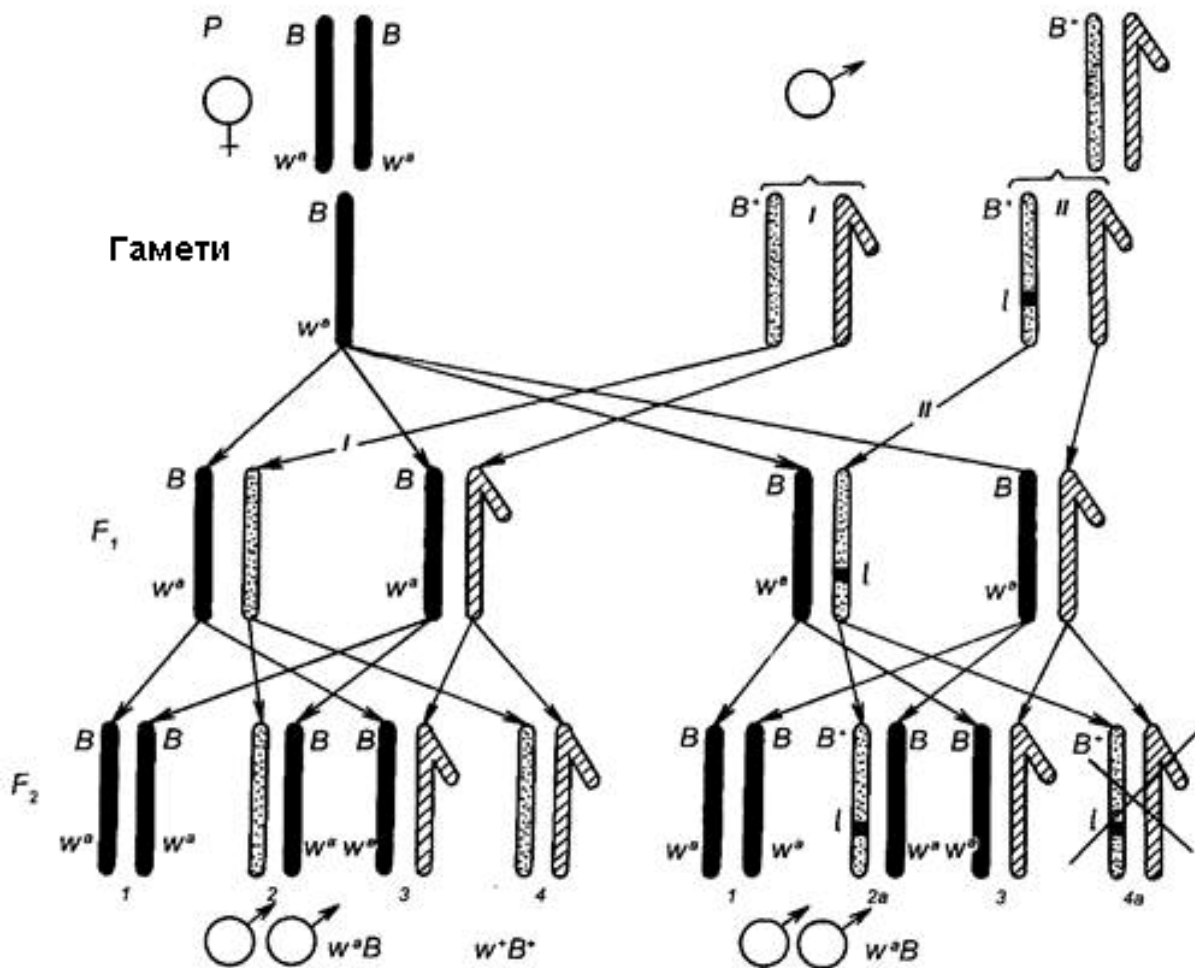
Плоскодонні пробірки

Живильне середовище

**Хід експерименту**

1. Відсаджують віргінних самок лінії *BASC* на поживне середовище.
2. Відсаджують самців лінії *C-S* на поживне середовище з додаванням досліджуваного препарату/речовини.
3. Через 48 годин після обробки досліджуваним препаратом чи речовиною самців лінії *C-S* схрещують з віргінними самками тестерної лінії *BASC* (5 самців на 10 самок).
4. Пробірки з відсадженими тваринами розміщують у термостаті при температурі  $22 \pm 3$  °C та тримають до вильоту першого покоління ( $F_1$ ).

5. Після початку вильоту мух першого покоління ( $F_1$ ) відбирають віргінних гетерозиготних самок (фенотип дикого типу) і індивідуально схрещують їх з самцями  $F_1$ .
6. Через 3-4 дні батьків видаляють з пробірок.
7. Після вильоту другого покоління ( $F_2$ ), кожна культура проглядається візуально з метою виявлення таких, в яких відсутні самці дикого фенотипу (з червоними очима).
8. Загальна кількість культуральних пробірок визначає число проаналізованих X-хромосом самців, які зазнали впливу досліджуваних сполук. Пробірки, в яких відсутні самці дикого типу, відзначають як "летали" (рис. 5). Постановка контролю обов'язкова.



**Рис. 6.** Схема та результати схрещування: 1 – у випадку відсутності летальної мутації в X-хромосомі сперми самця, 2 – у випадку її наявності;  $B$  – щілиноподібні очі,  $w^a$  – абрикосові очі

Частоту рецесивних леталей оцінюють як відношення числа культур другого покоління без самців дикого фенотипу до загальної кількості культур. Всього необхідно поставити щонайменше 100 культур  $F_2$  на одну експериментальну концентрацію.

Для оцінки значущості перевищення частоти рецесивних леталей в досліді над контролем слід застосовувати F-критерій Фішера.

Різниця між дослідом і контролем вважаються значущою при  $p < 0,01$ .

## 2.4. Облік соматичної рекомбінації (мозаїцизму) у дрозофіли

**Мета роботи:** Застосувати метод обліку соматичної рекомбінації для визначення потенційного генотоксичного ефекту досліджуваної речовини.

### Матеріали та обладнання

*Drosophila melanogaster*, лінія C-S

Бінокулярні лупи

Досліджуваний препарат або речовина

Плоскодонні пробірки

Живильне середовище

Під соматичною рекомбінацією розуміють обмін генетичним матеріалом між гомологічними хромосомами соматичних клітин в мітозі, що призводить до утворення мозаїчних особин. При використанні в якості маркерів рецесивних генів можливе виявлення генних мутацій, мітотичної рекомбінації і генних конверсій.

На прикладі успадкування мозаїчного забарвлення у мух (гени  $y^+/y^-$  визначають сіре і жовте забарвлення тіла, гени  $sn^+/sn^-$  – нормальні і «обпалені» щетинки) (рис. 7, 8). Тоді у гетерозиготних самок  $ysn^+/y^+sn^-$  буде нормальний фенотип. Мозаїчне забарвлення могло виникнути тільки в разі кросинговеру на стадії 4-х хроматид – соматичного кросинговеру (явище, що відбувається рідше мейотичного на 2-3 порядки). Тоді отримані при розподілі клітини

мають генотипи  $ysn^+/ysn^+$  і  $y^+sn/y^+sn$  і фенотипи – жовте тіло з нормальними щетинками і сіре тіло з обпаленими щетинками.



**Рис. 7. Мутанти *yellow*, *y* – /жовтий колір тіла**



**Рис. 8. Мутанти *white singed*, *wsn* – білі очі, обпалені щетинки**

Метою даного методу є інтегральне виявлення рекомбінаційних та інших мутаційних подій, індукованих досліджуваною речовиною або її метаболітами в соматичних клітинах личинок дрозофіли. В

основі методу лежить облік мозаїчних плям, що виникають у мух тестерної ліній в результаті комплексного порушення генотипу: мітотичної рекомбінації, втрати хромосом і / або їх фрагментів, транслокацій, делецій і генних мутацій. В якості маркерів можливе використання генів "y" і "sn" в транс-положенні.

Мух *Drosophila melanogaster* утримують при температурі 24 °С в пробірках, куди додають по 5 мл живильного середовища (4,5 г агару, 40 г сирих дріжджів, 13 г манної крупи, 13 г цукру). Корм готують перед експериментом.

В експерименті використовують тестерні лінії дрозофіл:

лінія 1 – *yellow* – генотип  $y/y$ :  $y$  – рецесивний ген, що обумовлює розвиток жовтого забарвлення тіла і щетинок;

лінія 2 –  $w, sn$  – генотип  $wsn/Y$ :  $w$  (*white*) білий колір очей,  $sn$  (*singed*) – скручена форма щетинок, обидва гени рецесивні.

### Хід експерименту

1. Віргінних самок лінії *yellow* в кількості п'яти особин поміщають разом з двома самцями лінії  $w, sn$  у флакони, що містять живильне середовище.
2. Через 48-72 години батьків пересаджують у пробірки зі свіжим живильним середовищем, а в пробірки, де мухи знаходилися і відклали яйця, вносять розчини досліджуваних препаратів/речовин. В контролі на поверхню живильного середовища капають фізіологічний розчин – 0,2 мл на 5 мл середовища.
3. Перегляд вилетівших особин починають з 9-10 дня після початку експерименту і продовжують до початку вильоту наступного покоління. Перегляд проводять під бінокулярним стереоскопічним мікроскопом у відбитому світлі.
4. У гетерозиготних самок першого покоління реєструють мутантні щетинки (макрохети на голові, тораксі і скутеллюмі) фенотипу *singed* і появу плям і щетинок на тілі фенотипу *yellow*. Підраховують загальну кількість переглянутих самок, число самок з поодинокими і подвійними плямами.

5. Значимість відмінностей для показника частоти появи самок з мутаціями при статистичній обробці даних оцінюють за критерієм  $\chi^2$  з поправкою Йетса, яка застосовується тільки для таблиць 2×2. Для 5 % рівня значущості критичне значення  $\chi^2$  становить 3,84.

## 2.5. SMART-тест *D. melanogaster*

Соматичний мутаційний і рекомбінаційний тест (Somatic Mutation and Recombination Test, SMART) на *Drosophila melanogaster* може бути використаний для оцінки впливу на геном різних факторів: фізичних (температура, різні типи радіоактивного випромінювання, електромагнітні поля), біогенних (генетичні, фізіологічні, інфекційні) і широкого спектру хімічних сполук. Тест на репарацію ДНК може виявити ушкоджуючу ДНК активність речовини завдяки оцінці смертності чутливих дефектних по репарації мух порівняно з мухами, які мають зкомпенсований генотип. Криловий тест може визначити втрату гетерозиготності, викликану різними причинами, серед яких можуть бути соматичні мутації, хромосомні рекомбінації чи делеції, за визначенням частоти мутантних плям крила.

### Коротка характеристика лінії 109611<sup>1</sup>

X-хромосоми генотипів мух лінії 109611 представлені двома типами. Перший тип – X-хромосома, дефектна по генам ДНК-репарацій (*sc z* [1] *w* [+ (TE)] *mei-9* [a] *mei-41* [D5]), другий тип – X-хромосома – балансер (*In* (1) *FM7* у [31D] *sc* [8] *dm* *B* / (далі позначається як (FM7 / *mei-9* *mei-41*)). Гени X-хромосоми, *mei-9* [a] і *mei-41* [D5], є мутаціями, що спричиняють дефектність по ексцизійній репарації і пост-реплікативній репарації відповідно. Третя хромосома несе мутацію *multiple wing hair* (*mwh* [\*]), маркер кутикули крила, результатом якої є наявність декількох щетинок в одній клітині крила.

Для забезпечення можливості репараційного відновлення ДНК лінія має наступні чотири генотипи мух:

<sup>1</sup> Лінія 109611 була люб'язно надана д. б. н. Козерецькою І. А і к. б. н. Проценко О. В. із колекції Київського національного університету імені Тараса Шевченка

Самки *mei-9 mei-41 / mei-9 mei-41*, дефектні по ДНК-репарації

Самки *FM7 / mei-9 mei-41*, здатні до ДНК-репарації

Самці *mei-9 mei-41 / Y*, дефектні по ДНК-репарації

Самці *FM7 / Y*, здатні до ДНК-репарації

У комбінованому дослідженні самок *FM7 / mei-9 mei-41; mwh / mwh* спаровують з самцями дикого типу (*mei-9<sup>+</sup> mei-41<sup>+</sup>; mwh<sup>+</sup> / mwh<sup>+</sup>*). Личинки F<sub>1</sub> обробляють сполукою, яку тестують. З метою підвищення чутливості тесту до мутагенів / канцерогенів, які потребують метаболічної активації, необхідно використовувати як джерело самців лінії дикого типу з високою інсектицидною стійкістю (лінії *Oregon R* або *Canton S*).

**Мета роботи:** провести SMART-test для визначення потенційного генотоксичного ефекту досліджуваної речовини.

#### **Матеріали та обладнання**

*Drosophila melanogaster*, лінія C-S

*Drosophila melanogaster*, лінія 109611

Бінокулярні лупи

Досліджуваний препарат або речовина

Плоскодонні пробірки

Живильне середовище

#### **Хід експерименту**

Для постановки експерименту необхідно підготувати два набори мух – самців і самок.

1. Мухи з генотипом *mei-9a mei-41 / FM7c; mwh*. Гени *mei-9a* та *mei-41* розташовані в X-хромосомі, мутації в них призводять до дефектів в ексцизійній та постреплікативній репарації відповідно. Ген *mwh* міститься в третій хромосомі, мутації в ньому спричиняють формування множинних волосків у клітинах міжжилкового простору крила. Фенотипово ці мухи – самки.
2. Мухи дикого типу (з лінії *Canton S*), у якої відсутні порушення репарації ДНК та морфології крила. Для досліду відбирають самців.



3. Можливий токсичний ефект досліджують у тесті на репарацію ДНК. Для цього схрещують віргінних самок лінії 1 з самцями лінії 2. Схрещування проводять в пробірках з дослідним середовищем, отже, весь життєвий цикл отриманих у схрещуваннях нащадків проходить на досліджуваному середовищі. Імаго отриманого  $F_1$  використовують для проведення двох тестів.

### Репараційний тест

Аналіз імаго  $F_1$  проводять, розділяючи мух на такі фенотипові класи:

- 1) самки, які мають червоні очі округлої форми або з проявом мутації *Bar* (зменшена кількість фасеток ока) – (f – female);
- 2) самці, які характеризуються порушенням системи репарації ДНК, а також мають жовті очі (m – male 1);
- 3) самці з непорушеною системою репарації, білі очі *Bar* (m – male 2).

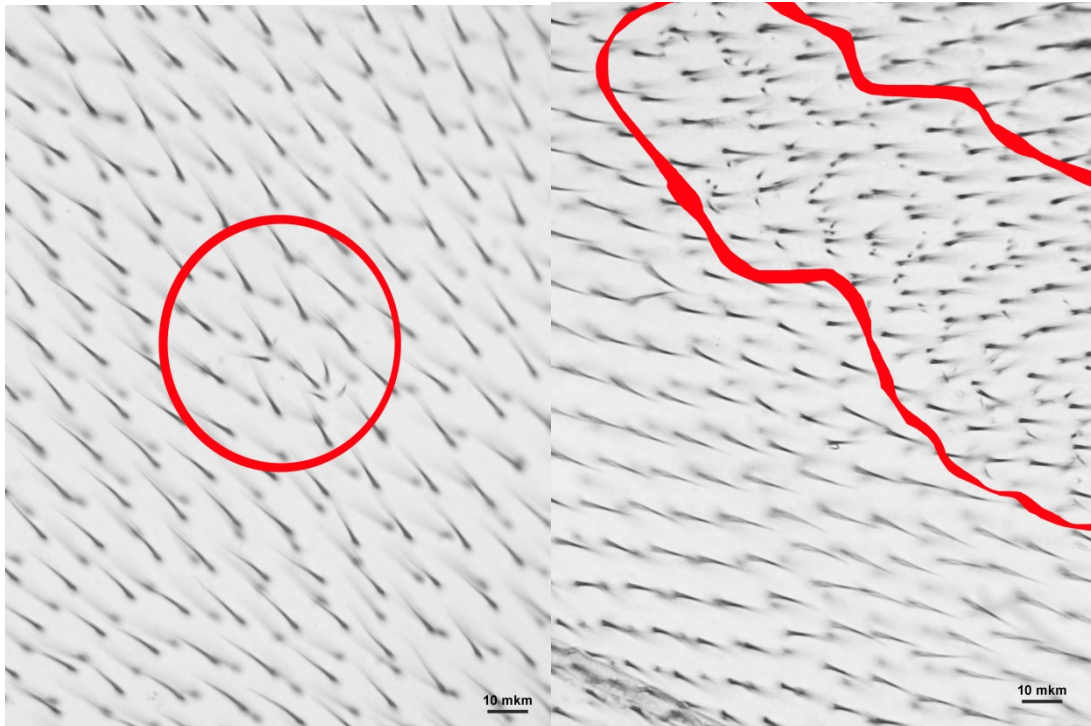
Вживання кожного класу мух оцінюється як відносне число мух у дослідній культурі до показників, отриманих у контрольній культурі. Досліджувана речовина оцінюється як така, якій притаманні мутагенні властивості (позитивний результат тесту), коли відношення виживання особин вказаних класів  $m1/f$  і  $m1/m2$  становить менше 0,1 і 1 відповідно.

### Криловий тест

Як вже зазначалось, крило *Drosophila melanogaster* містить 24400 клітин, розташованих в два шари, і в нормі кожна клітина крила має одну трихому. Рекомбінаційна або мутаційна подія у клітинах під час розвитку крилового зачатка призводить до утворення мутантних плям / клонів, видимих при мікроскопічному аналізі поверхні крилової пластинки. Зрозуміло, що чим раніше протягом онтогенезу тварини відбулися такі події, тим більша кількість клітин з мутантними щетинками буде мати крило імаго.

Зразки крил беруть у  $F_1$  *mwh/+* самок з червоними щілиноподібними очима (гетерозиготи за геном *mwh*). Крила

необхідно оглянути під мікроскопом у пошуку мутантних *mwh*-плям – множинних щетинок-трихом замість одиночної у нормі (рис. 9).



**Рис. 9. Мутації *mwh* у клітинах крил самиць класу F<sub>1</sub> *Drosophila melanogaster*: одиночна пляма з двох мутантних клітин, множинна пляма у верхньому правому куті**

Слід вивчити 100 крил у негативній контрольній групі, 50 крил для кожної концентрації в групі тестованої речовини і 10 крил в позитивній контрольній групі. Мутантна пляма *mwh* вважається "малою плямою", якщо складається з однієї або двох мутантних клітин і "великою плямою", якщо складається з 3-х або більше мутантних клітин.

## **2.6. Вивчення частоти нерівного кросинговеру за мутаціями ознаки *Bar***

Даний спосіб визначення генотоксичної дії хімічного або фізичного чинника передбачає дослідження частоти виникнення мутацій у *Drosophila melanogaster* Meig; як лінію-тестер використовують генетично нестабільну лінію *Bar* (смужковидні очі). Дія фізичного чи хімічного чинника може застосовуватися на різних стадіях онтогенезу дрозофіли: у ембріональній період, на стадії

личинки, лялечки чи імаго. Хімічна речовина може додаватися у живильне середовище для личинок або (для жиророзчинних речовин) застосовуватися шляхом аплікації. Після дії на самок зазначеної лінії хімічного або фізичного чинника у наступному поколінні досліджують частоту нерівного кросинговеру за мутаціями ознаки *Bar*.

Генотоксична дія зовнішнього хімічного або фізичного чинника призводить до порушення взаємодії гомологічних хромосом під час мейозу, внаслідок чого збільшується частота нереципрокної гомологічної рекомбінації у локусі *Bar*, що, у свою чергу, призводить до збільшення частоти мутацій ознаки *Bar*.

Як відомо, у дрозофіли близько 80 % так званих спонтанних мутацій виникає під впливом нестабільних елементів геному. Мутація *Bar (B)* (локалізація 1-57.0) – тандемна дуплікація локусу 16A1-16A7, фенотипово проявляється в редукції очей до вузької вертикальної смужки з кількістю фасеток біля 90 у самців та 70 у самок, на відміну від нормальної кількості біля 740 і 780 фасеток для самців і самок, відповідно. Внаслідок рекомбінації між неправильно спарованими копіями генів в межах дуплікації *Bar* утворюються нереципрокні рекомбінантні хромосоми з трьома (*Double Bar (BD)*, або *Ultrabar (BB)*) і однією (реверсія до нормального фенотипу) копіями гену відповідно. Особини з нереципрокними рекомбінантними хромосомами мають мутантний (*B/+*, *BB/Y*, *BB/B*) і нормальний (*+/Y*) фенотип. Самки *B/+* мають біля 350 фасеток і виїмку на передньому краї ока. У мутантів *Double Bar (BB)* кількість очних фасеток зменшена приблизно до 45 у гетерозигот *BB/B* і до 25 у гемізігот *BB/Y*. Даний спосіб дозволяє визначити генотоксичну або можливу генопротекторну дію хімічного чи фізичного фактора, порівняти дію різних доз того чи іншого фактора, сумісну дію двох чи декількох факторів.

**Мета роботи:** визначити частоту нерівного кросинговеру за мутаціями ознаки *Bar* під впливом потенційно генотоксичної речовини.

## **Матеріали та обладнання**

*Drosophila melanogaster*, лінія *Var*

Бінокулярні лупи

Досліджуваний препарат або речовина

Плоскодонні пробірки

Живильне середовище

## **Хід експерименту**

1. Віргінних самок лінії *Var* 3-денного віку в кількості десяти-двадцяти особин поміщають у флакони, що містять живильне середовище з додаванням досліджуваної речовини.
2. Через 48 годин самок переносять до стандартного поживного середовища, де вони схрещуються з 3-5-денними самцями.
3. У наступному поколінні ( $F_1$ ), що розвивалося у стандартних умовах, досліджують частоту мутацій за нестабільною фенотиповою ознакою *Var*. Частоту мутацій за локусом *Var* визначають за відношенням кількості мутантів  $+/Y$  (самці дикого типу),  $V/+$  (самки з «серцевидними» очима, які мають біля 350 фасеток і виїмку на передньому краї ока), *Double Bar (BB)* (зі зменшеною кількістю очних фасеток по відношенню до *Var*) до загальної кількості проаналізованих мух.
4. Висновок про наявність чи відсутність мутагенної дії досліджуваного хімічного або фізичного чинника роблять на основі порівняння частоти мутацій у досліді відносно контролю, у якому подібного впливу не застосовували.

## **Контрольні запитання для підготовки до роботи**

1. Різноманітність мутацій у популяціях.
2. Відмінність мутацій від модифікацій.
3. Частота мутацій у популяціях.
4. Класифікація мутацій.
5. Сучасні уявлення про генні, хромосомні та геномні мутації.
6. Методи визначення мутацій та їх частоти у популяціях.

7. Можливості класичних методів генетичного аналізу: гібридологічного, моносомного, геномного, інших методів досліджень.

8. Методи дослідження мутацій у еукаріотів.

9. Методи визначення мутацій в хромосомах дрозофіли: *ClB*, Меллер-5 (хромосома X), *Cy L /Pm* (аутосома 2) та інші.

11. Методи визначення частоти домінантних та рецесивних мутацій у популяціях диплоїдних організмів і застосування цих методів в популяційній та медичній генетиці.

12. Методи оцінки потенційної генетичної небезпеки (мутагенної і канцерогенної) факторів середовища і оцінка популяційно-генетичного ризику.

13. Поняття про промутагени і процеси біотрансформації.

14. Генетична активність хімічних сполук та фізичних чинників, що забруднюють довкілля.

15. Генетичний моніторинг мутагенності навколишнього середовища.

16. Тест-об'єкти та тест-системи для швидкої оцінки генетичної активності хімічних та фізичних мутагенів.

17. Важливість генетичних досліджень для оцінки екологічного стану довкілля і розробки санітарно-гігієнічних та соціальних заходів.

### Список рекомендованої літератури

1. Захаренко Л. П., Захаров И. К. Оценка мутагенности химических соединений, физических факторов и неидентифицированных компонентов загрязнения окружающей среды методом соматических мозаиков на клетках крыла *Drosophila melanogaster* // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2016. – № 20 – Т. 1. – С. 72-77.
2. Литвинова Е. М. Биология размножения дрозофилы. В кн.: Проблемы генетики в исследованиях на дрозофиле (ред.: В.В. Хвостова, Л. И. Корочкин, М. Д. Голубовский ) – Наука: Новосибирск. 1977. 278 с. С. 19-61 Файл djvu
3. Методические рекомендации по оценке мутагенных свойств лекарственных средств // Руководство по проведению

доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М., 2013. – С. 94–114.

4. Обзор методов генетики дрозофилы. Глава из кн. Генетика от генов до геномов. 2004 (на англ) - Hartwell, L. H., Hood, L., Goldberg, M. L., Reynolds, A. E., Silver, L. M., and Veres, R. C. 2004. Reference D: *Drosophila melanogaster*: genetic portrait of the fruit fly. In: Genetics from Genes to Genomes 2nd edition. pp. 813–838 Файл pdf, 4 Mb
5. Пат. 90336 Україна, G01N 33/554 (2006.01) на корисну модель. Спосіб визначення генотоксичної дії хімічного або фізичного чинника / Страшнюк В. Ю., Шакіна Л. О., Скоробогатько Д. О.; заявл. 02.12.2013 ; опубл. 26.05.2014, Бюл. № 10. – 5 с.
6. Прохорова, И. М., Ковалева, М. И., Фомичева, А. Н. Генетическая токсикология : лабораторный практикум / И. М. Прохорова, М. И. Ковалева, А. Н. Фомичева ; Яросл. гос. ун-т. – Ярославль: ЯрГУ, 2005. – 132 с.
7. Проценко О. В., Дудка О. А., Козерецька І. А., Фалалеева Т. М., Берегова Т. В., Остапченко Л. І. Оцінка токсичності та генотоксичності меланіну на тест-системі *Drosophila melanogaster* // Фактори експериментальної еволюції організмів. – 2016. – Т. 18. – С.137-139.
8. Чадов Б. Ф. Генетическая символика. В кн.: Проблемы генетики в исследованиях на дрозофиле (ред.: В. В. Хвостова, Л. И. Корочкин, М. Д. Голубовский ) – Наука: Новосибирск. 1977. 278 с. С. 90 – 111.
9. Шварцман П. Я., Сандре З. А. Индуцированный соматический мозаицизм у дрозофилы как тест для оценки генетической активности факторов окружающей среды // Генетика. – 1975. - № 8. – С. 171-173.
10. Furlanetto M., Sinigaglia M., do Amaral V., Dihl R., de Andrade H. Effect of Vanillin on Toxicant – Induced Lethality in the *Drosophila melanogaster* DNA Repair Test // Environmental and Molecular Mutagenesis. – 2007. – 48. – P. 67–70.
11. Fujikawa K. Genotoxic potency in *Drosophila melanogaster* of selected aromatic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons as assayed in the DNA repair test // Mutation Research. – 1993. – № 290. – P. 175–182.

12. Wurgler F.E., Graf U. Mutagenicity testing with *Drosophila melanogaster* // Basic and applied mutagenesis. – 1985. – V. 5. – P. 343-377.
13. Wurgler F.E., Frei H., Graf U. Mutagen-Sensitive Mutants and Chemical Mutagenesis in *Drosophila* // Chemical Mutagens/ Ed. De Serres F. J. – N. Y.: Plenum Press, 1986. – V. 10. – P. 381-416.

### Корисні ресурси

1. Волошина М. А. «Генетика дрозофилы» / М. А. Волошина // Сайт преподавателя биологии. – Електр. дан. – Режим доступу: <http://biologii.net/index.php>
2. Bloomington *Drosophila* Stock Center. – Електрон. дан. – Режим доступу: – <https://bdsc.indiana.edu/index.html>
3. Fly Base Homepage // FlyBase: a database for *drosophila* genetics and molecular biology. – Електр. дан. – Режим доступу: <http://flybase.org/>
4. Martin-Luther-Universitat Halle-Wittenberg // *Drosophila* – Mutanten – Електрон. дан. – Режим доступу: <https://www.biologie.uni-halle.de/entwicklungsgenetik/lehre/studenten/drosophila/mutanten/>
5. The Interactive Fly. A cyberspace guide to *Drosophila* development and metazoan evolution. – Електрон. дан. – Режим доступу: <https://www.sdbonline.org/sites/fly/aimain/1aahome.htm>
6. Pub.med.Homepage – Електрон. дан. – Режим доступу: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>

### Програми

Программа просмотра самых известных мутаций (Dro View)

DROSOPHILA VIEWER V.6.0

<https://www.ib.usp.br/~otto/drosoview.html>

Навчальне видання

**Білоконь Світлана Василівна**  
**Алексєєва Тетяна Григорівна**

*Drosophila melanogaster*

як тест-система *in vivo* для виявлення генотоксичної дії потенційно-небезпечних препаратів та речовин

*МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ*

до великого спеціального практикуму для студентів спеціальності «біологія» спеціалізації «генетика і молекулярна біологія» усіх форм навчання

*В авторській редакції*

Підп. до друку 10.08.20. Формат 60x84/16.

Ум.-друк. арк. 1,86. Тираж 20 пр.

Зам. № 2121.

**Видавець і виготовлювач**  
**Одеський національний університет**  
**імені І. І. Мечникова**

Україна, 65082, м. Одеса, вул. Єлісаветинська, 12

Тел.: (048) 723 28 39. E-mail: druk@onu.edu.ua

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4215 від 22.11.2011 р.