不同发育时期果蝇样品的收集

Collection of *Drosophila* Samples at Different Developmental Stages

邓娟，刘南*

中国科学院生物与化学交叉研究中心，上海

*通讯作者邮箱: liunan@sioc.ac.cn

引用格式：邓娟，刘南．(2019)．不同发育时期果蝇样品的收集． *Bio-101* e1010252. Doi: 10.21769/BioProtoc.1010252.

How to cite: Deng, J and Liu, N. (2019). Collection of *Drosophila* samples at different developmental stages. *Bio-101* e1010252. Doi: 10.21769/BioProtoc.1010252. (in Chinese)

摘要：果蝇发育主要有卵、幼虫、蛹和成虫几个发育阶段，主要讲述如何快速有效地收集这几个不同时期样本。

关键词：果蝇，发育时期，样品收集

材料与试剂

1. 1.5 ml 离心管
2. 博格利诺勾线笔
3. Kimwipes 纸巾 (Kimberly-Clark Worldwide, catalog number: 34155)
4. 100 μ m 细胞滤网筛 (Corning Incorporated-Life Sciences, catalog number: 352360)
5. 高糖型马利活性干酵母 (英联马利(北京)食品销售有限公司)
6. 苹果汁
7. 84 消毒液
8. PBS
9. CO₂
10. 琼脂
11. 食物平板 (见溶液配方)
12. 酵母泥 (见溶液配方)
13. 苹果汁板 (见溶液配方)

仪器设备

1. 果蝇培养瓶 (Genesee Scientific, catalog number: 32-130)
2. 果蝇胚胎收集笼 (Genesee Scientific, catalog number: 59-101)
3. 果蝇培养箱 (Percival Scientific, model: DR-41VL)
4. 离心机 (Eppendorf)
5. 微波炉

实验步骤

一、果蝇卵的收集

1. 果蝇培养条件：温度 25 °C；湿度 60%。准备 4 个果蝇培养瓶，每个培养瓶里各放 50 只雄果蝇和 50 只雌果蝇。
2. 3 天后，倒掉果蝇，每个培养瓶放一张 kimwipes 纸巾，增加蛹依附的空间，以收到更多的成虫。
3. 第 10 天开始下一代成虫开始出，收集 3 天的成虫，并全部 (约 1,200 只果蝇) 集中放到果蝇胚胎收集笼中养 2 天，使用直径为 10 cm 的食物平板。为减少果蝇的损耗，把胚胎收集笼倒置，让食物平板在上，并放入 2 张 kimwipes 纸巾以保持环境干燥。
4. 第 3 天更换新鲜的食物平板，并在食物平板上抹适量酵母，放入果蝇胚胎收集笼中适应一天，胚胎收集笼倒置，食物平板在上，更换 2 张新的 kimwipes 纸巾。
5. 将苹果汁板上抹上酵母泥，苹果汁板在下面，每间隔 1 h 更换一次苹果汁板，换 2~3 次苹果汁板之后观察预产情况，卵数量足够即可开始收集。
6. 用博格利诺勾线笔将苹果汁板上的卵收集到 100 μ m 的细胞滤网筛中。
7. 用自来水冲洗一遍。
注：自来水的流速不能太大，并且避免直接冲洗卵，减少对卵的伤害。
8. 用干纸巾吸干水分后，置于 50% 84 消毒液中漂洗 1 min。
注：50% 84 消毒液处理的作用是去掉外层卵膜 (outer chorion)。
9. 自来水冲洗 1 min，注意水的流速不要太快。
10. 洗干净的卵即可用于下一步实验。

注：根据预期收集的胚胎发育时期，可以调整产卵笼下苹果汁板的更换间隙，并放

置一定时间再收集胚胎。如：产卵笼下苹果汁板放置 4 小时使成虫产卵，取出后把平板在培养箱中放置 12 小时再收集，则得到的胚胎发育时期为 12~16 小时。

二、果蝇幼虫、蛹及成虫的收集

1. 准备 3~5 天的 150 只处女果蝇和 200 只雄果蝇，平均分到 10 个管里。
注：食物上添加酵母，促进果蝇产卵，25 °C，60%湿度保证最佳培养条件。
2. 每间隔 4 h 将果蝇转移至新的食物管中开始新一轮实验计时，以 4 h 为一个时间段，收集对应时间段的幼虫。
3. 24 h 收第 1 龄的幼虫，48 h~72 h 收第 2 龄的幼虫 76 h~80 h 收第 3 龄早期幼虫，96 h 收第 3 龄中期幼虫，116 h 收第 3 龄晚期幼虫，6 天收早期的蛹，7 天收中期的蛹，8 天收晚期的蛹，9 天收隐成虫，10 天收成虫。每个时间点的果蝇参考下图 1。

图 1. 不同发育时期果蝇形态

4. 收集不同时期的幼虫
 - 4.1 搅碎食物，小心将幼虫转移到 1.5 ml 离心管中。
 - 4.2 10,000 rpm 室温离心 5 min，幼虫会在上层，将其转移至干净的离心管中。
 - 4.3 加入 1 ml 1× PBS，10,000 rpm 室温离心 5 min，弃掉 PBS。
 - 4.4 如果是要做 RNA 相关实验，就可以加入 Trizol 进行处理。
注：收集一龄幼虫也可以用收集胚胎的方法。洗净即可，不必用 84 消毒液处理。
5. 收集不同时期的蛹
 - 5.1 用博格利诺勾线笔小心将蛹夹出果蝇管，收集至 1.5 ml 离心管中。

5.2 10,000 rpm 室温离心 5 min，蛹会在上层，将其转移至干净的离心管中。

5.3 加入 1 ml 1× PBS，10,000 rpm 室温离心 5 min，弃掉 PBS。

5.4 如果是要做 RNA 相关实验，就可以加入 Trizol 进行处理。

6. 收集成虫

将果蝇用 CO₂ 麻醉后收集即可。

结果与分析

如果收到的卵不够或者很少，可以从两个方面是找原因：

1. 果蝇是否都是 3~7 天的果蝇。
2. 果蝇的密度一定要合适，太少肯定产卵少，太多果蝇状态很差，会粘死很多，也会导致卵少。

溶液配方

1. 食物平板

在 10 cm 平板中倒入 1/2 高度的果蝇食物，冷却即可

2. 酵母泥

5 g 高糖型马利活性干酵母中加入 8 ml 双蒸水，搅拌混匀

3. 苹果汁板

- 1) 200 ml 双蒸水和 100 ml 的苹果汁混匀，加入 6 g 琼脂，摇匀
- 2) 微波炉加热至琼脂完全融化，倒入 10 cm 平板，冷却即可
- 3) 4 °C 倒置保存