

果蝇胚胎收集和脱壳处理

Collection and Hulling treatment of *Drosophila*'s embryos

沈妍[#], 徐龙梅[#], 吴薇^{*}

果蝇资源与技术平台, 分子细胞科学卓越创新中心, 中国科学院, 上海

*通讯作者邮箱: wuwei@sibcb.ac.cn

[#]Contributed equally to this work

引用格式: 沈妍, 徐龙梅, 吴薇. (2023). 果蝇胚胎收集和脱壳处理. *Bio-101* e1010977. Doi: 10.21769/BioProtoc.1010977.

How to cite: Shen, Y., Xu, L. M., and Wu, W. (2023). Collection and Hulling treatment of *Drosophila*'s embryos. *Bio-101* e1010977. Doi: 10.21769/BioProtoc.1010977. (in Chinese)

摘要: 果蝇胚胎收集和脱壳处理是所有以果蝇胚胎为实验材料的基础, 包括胚胎显微注射、胚胎 DNA、RNA 提取、胚胎期实验观察、利用胚胎进行药物筛选等。本文系统讲述两种果蝇胚胎的准备方法, 为各类需要果蝇胚胎的实验提供操作指南。

关键词: 果蝇, 胚胎收集, 脱壳处理

材料与试剂

1. 84 消毒液 (江苏爱特福 84 股份有限公司, 爱特福)
2. 果蝇胚胎收集笼 (Genesee Scientific 科技公司, Genesee Scientific, Genesee# 59-101)
3. 胚胎收集器 (漏斗): (Corning 公司, FALCON, REF352350, 70 μ m, Nylon)
4. 遮光布
5. 昆虫解剖针 (塑料柄): (泰州市思齐教学仪器有限公司, 思齐, JPZZ, 长 14.5 cm, 针尖直径 0.1 mm)
6. 90 cm 培养皿 (上海泰坦科技股份有限公司, Titan/泰坦, 货号: 02036583)
7. 载玻片 (SAIL BRAND (帆船牌), catalog number: 7105)
8. 培养基板 (见溶液配方)
9. 葡萄汁板 (见溶液配方)

10. 玉米粉（黑龙江北纯农产品开发有限公司，北纯）
11. 大豆粉（黑龙江北纯农产品开发有限公司，北纯）
12. 蔗糖（白砂糖）（国药集团化学试剂有限公司，沪试，货号：10021463）
13. 麦芽糖（上海畅硕生物科技有限公司，畅硕）
14. 高活性干酵母（高糖型）（英联马利（北京）食品销售有限公司，梅山）
15. 琼脂粉（上海益启生物科技有限公司，Sigma，货号:A1296-1KG）
16. 对羟基苯甲酸甲酯（也称尼泊金甲酯）（国药集团化学试剂有限公司，沪试，货号：30119416）
17. 苯甲酸钠（国药集团化学试剂有限公司，沪试，货号：30164817）
18. 丙酸（国药集团化学试剂有限公司，沪试，货号：81011918）
19. 无水乙醇（国药集团化学试剂有限公司，沪试，货号：10009218）
20. 葡萄汁（味全食品工业股份有限公司，味全）

仪器设备

1. 恒温恒湿培养箱（宁波江南仪器厂，宁波江南，型号：HWS-500）
2. 体视显微镜（Olympus 生物显微镜公司，Olympus，型号：SZ61）
3. 微波炉（广东格兰仕微波生活电器制造有限公司，格兰仕，型号：P70F23P-G5(S0)）

实验步骤

一、胚胎收集

1. 将准备好的果蝇放入遮光布遮光的胚胎收集笼中（见图 1a 未遮光；b 遮光），在黑暗环境中果蝇产卵率高。

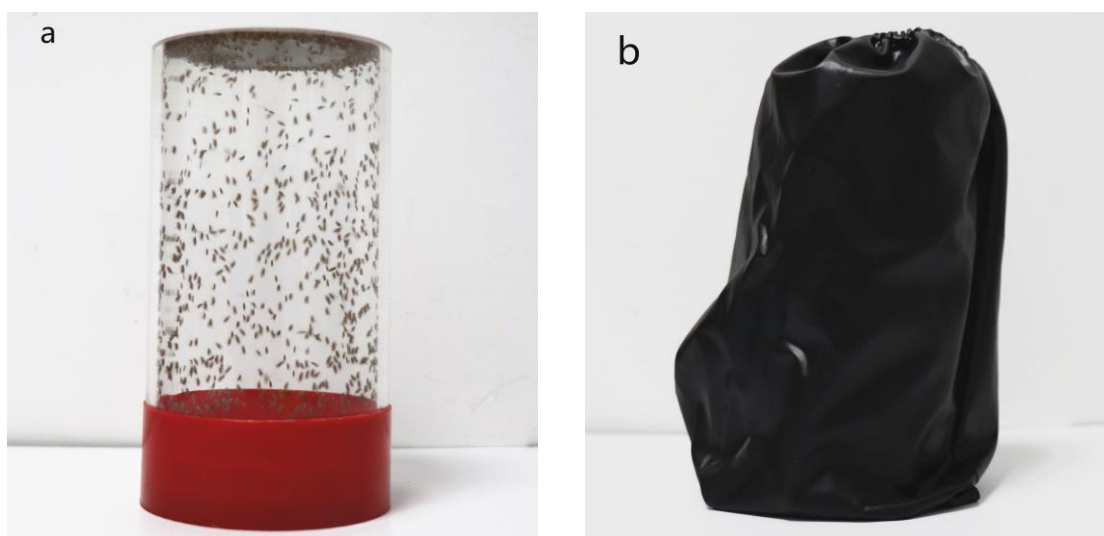


图 1. 胚胎收集笼 (a) 未遮光; (b) 遮光

2. 培养基板驯化 1-2 d。
3. 在葡萄汁板上涂酵母膏收集果蝇卵。
4. 产卵 30 min 后用湿润细毛刷将胚胎从葡萄汁板上轻轻刷下，800 个左右。
5. 用自来水冲洗，倒入胚胎收集器（漏斗）中，流速 2 mL/S（见图 2）。

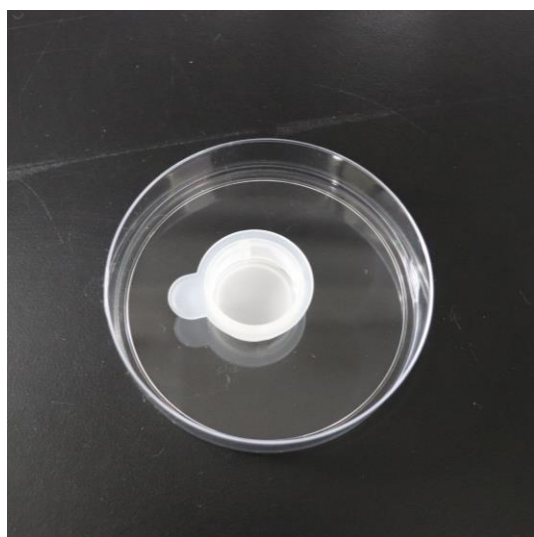


图 2. 胚胎收集.

6. 用自来水冲洗 30 s，流速 2 mL/S。
7. 用纯净水冲洗 30 s，流速 2 mL/S。

不需要脱壳处理的就可以直接使用。脱壳处理根据实验需求有两种方法：

二、胚胎脱壳

1. 用于显微注射

- a. 将收集好的胚胎放入 84 消毒液中漂洗 1 min。
- b. 用自来水冲洗 30 s，流速 2 mL/S。
- c. 用纯净水冲洗 30 s，流速 2 mL/S。

使用过程中加水保湿（见图 3）。

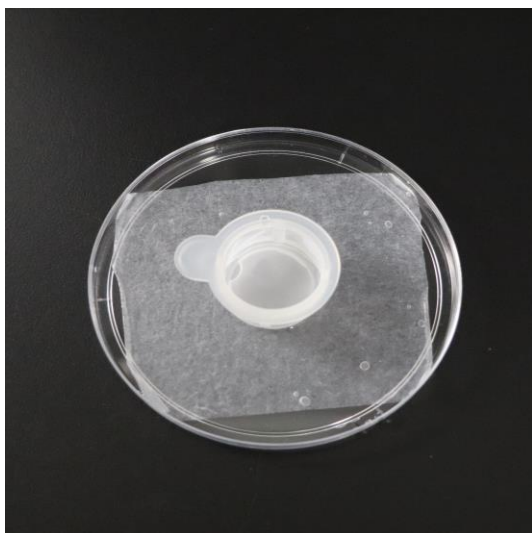


图 3. 胚胎保湿

2. 用于 DNA、RNA 提取、有特殊要求的显微注射等

- a. 用湿润细毛刷将收集好的胚胎（未脱壳胚胎，见图 4a）粘起放到载玻片上，不用额外试剂。
- b. 用解剖针轻轻挑开外壳按住。
- c. 用毛刷粘着胚胎内芯在载玻片上滚动，剥出内芯（脱壳胚胎，见图 4b）。
- d. 用湿润细毛刷将去壳胚胎粘住，轻放到湿的滤纸上保湿。

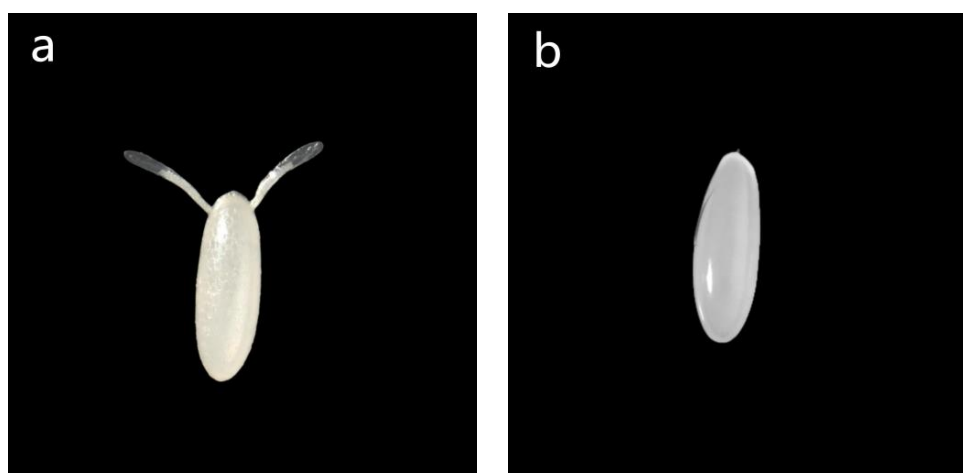


图 4. 果蝇胚胎 (a) 未脱壳; (b) 脱壳

溶液配方

1. 果蝇培养基板配制:

- a. 果蝇培养基原料种类: 玉米粉, 大豆粉, 蔗糖 (白砂糖), 麦芽糖, 高活性干酵母 (高糖型), 琼脂粉, 防腐剂 (对羟基苯甲酸甲酯也称尼泊金甲酯、苯甲酸钠、丙酸等), 所有原料均需妥善保管, 有条件都 4 °C 冷藏。
- b. 果蝇培养基配方: 名称: 玉米粉果蝇培养基, 成分如下表, 防腐剂特殊实验可不加。

玉米粉果蝇培养基 (总体积 1L)	
成分名称	质量 (克/g)
玉米粉	66.825
大豆粉	9.18
蔗糖 (白砂糖)	40
麦芽糖	42.4 (用 125 mL 水化开后加入)
酵母	25
琼脂粉	6
防腐剂(对羟基苯甲酸甲酯也称尼泊金甲酯)	0.25 (用 2.5 mL 95%乙醇溶解后加入)
防腐剂 (苯甲酸钠)	1
防腐剂 (丙酸)	6.875 mL (温度降至 60°C ~ 70°C 加入)

c. 小量培养基配制方法：煮沸法（500 mL）

- 1) 按配方称取玉米粉、大豆粉、蔗糖、麦芽糖、酵母、琼脂粉放到烧杯中，加水至 500 mL，搅拌混匀，放入微波炉加热。
- 2) 中间需要搅拌混匀 2-3 次，防止玉米粉等糊底，彻底煮沸后反复沸腾 2-3 次。
- 3) 培养基温度降到 60 °C -70 °C 时添加防腐剂，搅拌均匀。
- 4) 用培养皿分装，15 mL/皿。
- 5) 盖好盖子，待冷却凝固后 4 °C 冷藏备用。
- 6) 在 2-3 周内用完。

2. 葡萄汁板配制

水 150 mL，葡萄汁 150 mL，蔗糖 4.8 g，琼脂粉 6.8 g。

- a. 先在烧杯里加 150 mL 水，加入 6.8 g 琼脂粉，放微波炉加热。
- b. 煮沸后搅拌均匀，再煮沸，重复 3 次。
- c. 加入蔗糖煮沸。
- d. 加入 150 mL 葡萄汁，煮沸。
- e. 用培养皿分装，15 mL/皿。
- f. 盖好盖子，待冷却凝固后 4 °C 冷藏备用。
- g. 尽量在两周内用完。

致谢

感谢中华人民共和国科学技术部 2021YFA0805800 和中国科学院的支持。

感谢中国科学院分子细胞科学卓越创新中心公共技术中心果蝇资源与技术平台的工作和经费支持。

参考文献

1. 吴薇. (2016) [果蝇显微注射系统优化的研究](#). 生物技术世界, 6: 11-12.