

DROSOPHILA MELANOGASTER MODELNI ORGANIZAM ZA BAZIČNA I MEDICINSKA ISTRAŽIVANJA

Rozi Andretić Waldowski

Odjel za biotehnologiju Sveučilišta u Rijeci, Rijeka

Sažetak

T.H.Morgan je početkom prošlog stoljeća počeo koristiti *Drosophila melanogaster* kao modelni organizam koji omogućuje relativno lako, brzo, jeftino i kontrolirano znanstveno istraživanje u laboratorijskim uvjetima. *Drosophila* se koristi i danas kao jedan od najpogodnijih laboratorijskih organizama radi naknadno uočene visoke genske sličnosti sa sisavcima.

Dva pristupa zaslužna da je *Drosophila* postala modelni organizam bez premca su: genski probir i genski inženjering (metode integriranja željenih gena u genom). Genski probir primjer je genotipskog pristupa (engl. Forward Genetics), i služi za otkrivanje novih gena koji sudjeluju u određenom procesu, dok metode genskog inženjeringa koriste fenotipski pristup (engl. Reverse Genetics), kojim se definira funkcija novootkrivenih gena.

Metode genskog inženjerstva, od kojih je najpoznatiji binarni izražajni sustav, omogućuju vrlo preciznu anatomsku i vremensku kontrolu nad genskom izražajnošću. Upotreba genskog inženjeringa omogućila je definiranje neuralnih mreža koje generiraju ponašanje kroz detaljnu analizu staničnog i ponašajnog fenotipa. Razumijevanje složenih obrazaca ponašanja proteklih je godina značajno uznapredovalo korištenjem optogenetskih pristupa te primjenom metode genskog uređivanja (engl. editing), CRISPR/Cas9.

Radi genske homologije sa sisavcima, otkrića na *Drosophili*, lako se prevode na ostale organizme, te tako dovode do značajnih napredaka u razumijevanju bazičnih mehanizama funkcioniranja i raznih patološka stanja.

Ključne riječi: *Drosophila*; ponašanje; genetika; metode genskog inženjerstva

POVIJESNI UVOD

„There was much to be done; there were many new ideas to be tested, and many new experimental techniques to be developed. There can have been few times and places in scientific laboratories with such an atmosphere of excitement and with such a record of sustained enthusiasm. This was due in part to Morgan's own attitude, compounded with enthusiasm combined with a strong critical sense, generosity, open-mindedness, and a remarkable sense of humor.”

(Sturtevant, A.H., Thomas Hunt Morgan: Biographical Memoirs)

Davne 1904. godine, Thomas Hunt Morgan tražio je modelni organizam koji će biti pogodan za ispitivanje nasljeđivanja i razvojne biologije, organizam kojeg će biti lako, brzo i jednostavno uzgajati u relativno skućenom prostoru njegova laboratorija na Cornell University. Njegova odluka pala je na *Drosophila* radi njenog: kratkog generacijskog vremena, jeftinog i jednostavnog uzgoja, te kromosomske sličnosti sa kralježnjacima (diploidan genom sa 3 para autosoma i jednim parom spolnih kromosoma). Koliko je Morganov odabir *Drosophila* kao modelnog organizma bio dobar, toliko je bio dobar i njegov odabir bliskih suradnika, koji su kroz suradnju baziranu na demokratičnosti, kritičnosti, otvorenosti, propitivanju i humoru stvorili izuzetno produktivnu atmosferu koja je u roku od par desetljeća rezultirala dvijema Nobelovim nagradama. Morgan nije mogao ni naslutiti da će se *Drosophila* nakon više od stoljeća kasnije smatrati jednim od glavnih genetskih modelnih organizama radi istih kriterija radi kojih ju je on odabrao, te radi njene značajne geneske homologije sa ljudima, koja je otkrivena znatno kasnije (1). Morgan je znanosti u nasljedstvo ostavio ne samo *Drosophila* kao modelni organizam, nego i atmosferu istraživanja baziranu na otvorenosti, suradnji i kritičnosti, za razliku od hijerarhijski organiziranih laboratorija europske tradicije.

Morganovi najpoznatiji suradnici u ranom periodu bili su Calvin Bridges i Alfred Sturtevant. Bridges je skicirao i pobrojao prstenove na politenim (gigantskim) kromosomima, a njihova numerizacija koristi se i danas. Alfred Sturtevant je u Morganovom laboratoriju još kao dodiplomac napravio prvu kromosomsku mapu, kada je uvidio da se učestalost rekombinacije može koristiti da bi se poredali geni uzduž kromosoma.

Otkrića Morgana i suradnika rezultirala su Nobelovom nagradom dodjeljenom Morganu 1933.g. za otkrića o ulozi kromosoma u nasljeđivanju. 1946.g. jedan od Morganovih znanstvenih potomaka, H.J.Muller dobio je Nobelovu nagradu za otkriće kako rendgenske zrake izazivaju genetske mutacije. Koristeći mutagene da bi saturirali genom mutacijama i definirali gene koji utječu na rani

embrionalni razvoj, 1995.g. E. B. Lewis, C. Nusslein-Volhardt, E.F.Wieschaus dobili su Nobelovu nagradu za istraživanja koja su stoljeće ranije motivirali Morgana da odabere *Drosophilu* za rad u laboratoriju.

Velika ekspanzija istraživanja na *Drosophili* desila se nakon 2000.g. kada je sekvenciran njen genom i kada se uočilo da postoji značajna genska homologija između ljudi i *Drosophile*, te da je oko 75% gena koji su u podlozi ljudskih bolesti prisutno u *Drosophili*. To je ukazalo da se genetika i genski mehanizam raznih bolesti može ispitivati na genetski vrlo pogodnom organizmu, a otkrića se potom mogu prevesti na kralježnjake i ljude (2). Tako je recentna Nobelova nagrada 2011.g. za korištenje *Drosophile* u ispitivanjima aktivacije urođenog imuniteta koja je dodijeljena J.A.Hoffmanu, posljedica genskih istraživanja zasnovanih na značajnoj sličnosti *Drosophile* i ljudi.

Osnovne karakteristike *Drosophile*

Drosophila, iako naizgled vrlo različita od ljudi, biološki nam je vrlo slična. Kao i ljudi *Drosophila* je diploidna i ima spolno dimorfne gamete. Bazični principi stanične biologije su vrlo slični s onima kod sisavaca. Živčani sustav *Drosophile* ima oko 100, 000 neurona od kojih je većina smještena u glavi (centralni mozak, očne polutke i podezofagalni ganglion), te torakalni ganglion koji se nalazi u torakalnom dijelu (*Drosophila* se sastoji od 3 segmenta: glava, torakalni i abdominalni segment). Centralni mozak sastoji se od površinskog neuropila (aksoni, dendriti i glia) organiziranog u funkcionalna područja, koja sudjeluju u regulaciji ponašanja kao i analogne strukture kod sisavaca. Radi relativno malog broja neurona koji reguliraju relativno složena ponašanja, *Drosophila* omogućuje sofisticirane neuroelektrofiziološke analize aktivnosti neuronskih mreža za kontrolu ponašanja.

No još je Morgan koristio *Drosophilu* zato što je laka za održavanje i baratanje. *Drosophila melanogaster* na latinskom znači tamnog trbuha koja voli vlagu (radi omjera površine naspram mase tijela sklona je isušivanju, pa je stoga najviše aktivna u doba dana s povećanom vlagom u zraku, zoru i sumrak). U laboratoriju uzgoj se vrši na hranjivom mediju na bazi: šećera, kvasca, brašna i agara, koja se kuha svakih tjedan do dva. Mušice se čuvaju u tubama ili bocama koje primaju nekoliko desetina do stotina jedinki, te se svakog tjedna mušice prebacuju u boce sa svježim hranjivim medijem. Razvrstavanje *Drosophile* vrši se pod mikroskopom na poroznoj podlozi koja ispušta nisku količinu ugljičnog dioksida za uspavlivanje mušica. Oporavak nakon takvog postupka je u roku od nekoliko minuta. Generacijsko vrijeme od jajašca koje ženka izliježe do odrasle jedinke ovisi o temperaturi, te na 25°C iznosi 10 dana. Boce s *Drosophilom* obično se čuva-

ju u inkubatorima s konstantnom temperaturom od oko 25°C i vlagom oko 70%, te izmjenom svjetla i mraka svakih 12 sati. Tijekom života ženka izliježe oko 500 jajašaca, a razvoj do odrasle mušice karakteriziraju 3 glavna razvojna stadija: jajašca prelaze u stadij ličinke (larve) koja se začahuri, te nakon metamorfoze iz čahure izlazi odrasla jedinka.

Osim genske homologije s ljudima, napredne genske tehnike koje se stalno usavršavaju su ono što je omogućilo da se *Drosophila* danas smatra jednim od tri glavna modelna organizma (2). Današnji razvoj sofisticiranih tehnika za gensku manipulaciju baziran je na nekoliko genetskih osobitosti *Drosophile*, a to su: gigantski kromosomi koji su već davno omogućili praćenje rekombinacije i kreiranje fizikalne i genske mape kromosoma, ravnotežni (engl. balancer) kromosomi koji su omogućili čuvanje letalnih mutacija u populaciji, te nepostojanje rekombinacije kod mužjaka što olakšava praćenje mutacija tijekom križanja (3). Osim toga *Drosophila* ima mnoštvo morfoloških mutacija (engl. marker mutations); lako uočljivih mutacija u boji očiju, obliku krila ili boji eksoskeletona koje u kombinaciji s ravnotežnim kromosomom znatno olakšavaju praćenje mutacija tijekom križanja. Ravnotežni kromosomi sprječavaju rekombinaciju jer posjeduju mnoštvo velikih kromosomskih promijena (inverzija, traslokacija) tako da za vrijeme mejoze kada se homologni kromosomi poravnaju, ukriženo povezivanje nije moguće radi nepostojanja homologije. U populaciji mušica koja nosi letalnu mutaciju kao heterozigot bez ravnotežnih kromosoma mutacija bi se vremenom izgubila, jer bi homozigoti uginuli, a preživjela bi mješavina heterozigota i mušica divljeg tipa. Međutim s ravnotežnim kromosomom, sve mušice u populaciji su istog genotipa; heterozigoti s jednim ravnotežnim kromosomom i drugim s letalnom mutacijom.

U drugoj polovici 20.st. velika ekspanzija u biološkim istraživanjima na *Drosophili* usljedila je radi razvoja novih genskih metoda za jednostavnu gensku manipulaciju, tako da je *Drosophila* postala alat za identifikaciju i karakterizaciju gena značajnih za ljudsko zdravlje (4). Unaprijeđene su tehnike genotipskog pristupa, kao što je genski probir za nepristrano identificiranje novih gena koji sudjeluju u određenom procesu, i metode fenotipskog pristupa, koje omogućuju gensku manipulaciju. Osim toga, tkiva *Drosophile* su relativno jednostavna, laka za vizualiziranje i nema etičkih ograničenja u radu, za razliku od rada na glodavcima. Osim visoke genske sličnosti sa sisavcima, genom *Drosophile* je nisko redundantan jer uglavnom posjeduje samo jednu varijantu gena, a ne više njih kao što je to slučaj u sisavaca, što onda omogućuje precizniju interpretaciju genskih mutacija. Laboratoriji koje koriste *Drosophili* otvoreno i slobodno razmjenjuju materijale i informacije. Na internetu postoji niz baza s informacijama

o *Drosophili*, kao i nekoliko baza širom svijeta za naručivanje sojeva *Drosophile* (razne vrste mutacija i sojevi sa ubačenim kopijama dizajniranih gena).

Genske metode rada na *Drosophili*

Spoznaje o genskoj podlozi raznih procesa i patoloških stanja su u velikoj mjeri proizašle radi korištenje genotipskog pristupa, koji je na *Drosophili* relativno lako primjenjiv. Genotipski pristup omogućava identifikaciju gena koji reguliraju određeni proces na način da se iz populacije mušica koje nose nasumične mutacije po cijelom genomu identificiraju jedinke s promijenjenim fenotipom. Promjena fenotipa posljedica je mutacije u jednom genu, nakon čega slijedi istraživanje funkcije gena i mehanizama djelovanja. Kako bi se identificirali novi geni unutar određenog signalnog puta primijenjuje se modificirani probir (engl. Modifier Screen), kada se mutageneza provodi na *Drosophili* s prethodno mutiranim fenotipom kako bi se identificirali genski mutanti koji će taj fenotip ublažiti ili pogoršati (uvjet je da do promijene fenotipa dolazi zato što nova mutacija sudjeluje u istom signalnom putu kao ona u polaznoj mutiranoj genskoj pozadini).

Jedna od velikih prednosti *Drosophile* u biološkim istraživanjima je da napredak tehnika koje se koriste za provedbu genotipskog i fenotipskog pristupa omogućuju da se posljedica mutacije proučava na nekoliko nivoa od genskog, staničnog, sistemskog do ponašanja (4). Također je moguće proučavanje uzročno-posljedičnih veza u tzv. Rescue eksperimentima, gdje se ubacivanjem normalne kopije gena u mušicu koja nosi mutiranu verziju istog gena, pokazuje da li je gen dovoljan ili neophodan (engl. necessary or sufficient) za određeni proces.

Većina genotipskih i fenotipskih tehnika bazirana je na upotrebi P-elementa (2). Interesantno je da su P-elementi u populaciju *Drosophila* u prirodi ušli nakon što su izolirani sojevi mušica divljeg tipa koje se danas koriste u laboratorijima (najpopularniji od kojih su *OregonR* i *CantonS*). Radi toga križanje laboratorijskih mušica s onima iz prirode izaziva fenomen hibridne disgenetze (engl. Hybrid Dysgenesis), kada je stabilno integriran P-element u populaciji vanlaboratorijskih mušica induciran na transpoziciju (mijenjanje mjesta integracije u genomu) radi enzima transpozaze koja se križanjem aktivira, što rezultira sterilnim jedinkama ili smrću. Taj fenomen ujedno objašnjava zašto odbjegli mutirane ili genski inženjirane laboratorijske mušice ne predstavljaju opasnost za populaciju vanlaboratorijskih mušica.

P-elementi koji se danas koriste u *Drosophili* su modificirani transpozicijski elementi koji sadržavaju gen kojeg se želi istražiti, te razne markere. Genski in-

ženjering, ubacivanje P-elementa u genom mušice relativno je jednostavan, no za to danas postoje specijalizirani servisi. P-element se može stabilno integrirati i koristiti u eksperimentima fenotipskog pristupa kada se ispituje posljedica unosa normalne ili modificirane kopije gena na fenotip. P-elemente moguće je mobilizirati te je to oblik mutageneze koja nastaje usljed nasumičnog ubacivanja P-elementa na novo mjesto u genomu što može poremetiti pravilnu gensku izražajnost. Mutageneza sa P-elementima znatno olakšava kloniranje gena.

Daljnja pogodnost upotrebe P-elementa je da omogućuju relativno laku anatomsku i vremensku kontrolu nad genom koji je sadržan u P-elementu. Jedan od klasičnih načina je vremenska kontrola korištenjem promotora toplinskog šoka povezanog sa genom od interesa, kada se gen aktivira premještanjem mušica sa sobne, inaktivirajuće temperature, na povišenu, aktivirajuću temperaturu od 29°C. Međutim radi niza pogodnosti, danas se najčešće koristi izražajni sistem UAS/GAL4, baziran na vezivanju transkripcijskog faktora GAL4 iz kvasca na uzvodnu aktivirajuću sekvencu (engl. Upstream Activating Sequence, UAS). Za postizanje preciznog anatomskog izražaja gena potrebna su dva genski inženjirana soja mušica; prvi nosi P-element u kojem je GAL4 izražen pod kontrolom odgovarajućeg promotora, a drugi soj posjeduje P-element gdje je gen od interesa izražen pod kontrolom UAS promotora, veznog mjesta za GAL4 transkripcijski faktor. U GAL4 i UAS sojevima ponaosob ne dolazi do aktivacije gena, a genski izražaj gena od interesa postiže se jedino u potomcima parenja takva dva soja, kada su GAL4 i UAS prisutni u istoj jedinki. Gen od interesa može biti bilo koji gen kojeg se želi izraziti, no postoje nekoliko grupa gena koji kada su izraženi mijenjaju neuronsku aktivnost pa su pogodni za ispitivanje posljedica koje usljed toga nastaju na ponašanje. Tako UAS promotor može kontrolirati gene koji mijenjaju provodljivost električnih kanala ili mijenjaju količinu neurotransmisije, što rezultira povećanom ili smanjenom aktivnosti određenih neurona, te se tako može odrediti njihova uloga u regulaciji ponašanja (5).

Vrlo su popularne modifikacije UAS/GAL4 sistema koji omogućavaju uz anatomsku i vremensku kontrolu izražajnosti. Na taj način mogu se izbjeći negativni razvojni utjecaji koje izražajnost nekog gena može imati, ili se gen može izraziti samo tijekom kratkog vremenskog perioda koji je kritičan za razumijevanje nekog procesa, npr. tijekom procesa učenja, ali ne tijekom pamćenja ili ponovnog testiranja. Vremenska kontrola postiže se regulacijom GAL4 vezivanja, pa tako postoje geni koji su temperaturno osjetljivi, kao što je GAL80^{ts}, inhibitor GAL4 izražajnosti. Na sobnoj temperaturi GAL80^{ts} je vezan na UAS promotor i time sprječava aktivaciju gena, dok premještanjem mušica na temperaturu od 29°C dolazi do inaktivacije inhibicije GAL80^{ts} tako da GAL4 može aktivi-

rati gen. Drugi način vremenske kontrole je genska modifikacija koja gen učini temperaturno osjetljivim. Tako je neuronsku aktivnost moguće kontrolirati izražennošću gena *Shibire^{ts}* koji pri povišenoj temperaturi inaktivira neuronsku aktivnost, ili *TrpA1* kationskog kanala koji pri povišenoj temperaturi povećava neuronsku aktivnost. Za vizualizaciju aktivnosti neurona i posljedice na fenotip koriste se razni optogenetski geni-reporteri. Tada je moguće aktivnost neurona modulirati izlaganjem mušica svjetlu određene valne dužine koja gen aktivira ili inaktivira, pa se tako postigne vrlo dobra i brza vremenska rezolucija koja se može kombinirati s elektrofiziološkim snimanjima aktivnosti neurona ili mjerenjem promijena u ponašanju. Daljnje modifikacije UAS/GAL4 tehnike danas su rezultirale generacijom GAL4 sojeva koji omogućuju selektivnu i kontroliranu aktivaciju gena na nivou jednog pojedinačnog neurona (5).

***Drosophila* u istraživanjima genetike ponašanja**

Prvi eksperimentalni dokaz da složeno ponašanje može biti pod utjecajem (jednog) gena publiciran je 1971.g. kada su Seymour Benzer i Ronald Konopka nakon mutageneze i primjene genskog probira u *Drosophili* identificirali gen kojeg su nazvali *period* (*per*), koji kontrolira populacijski dnevni ritam izlaska iz čahure mladih mušica (engl. eclosion) (6). Kroz naredna desetljeća funkcija *per* gena se detaljno ispitivala od molekularnog do sistemskog nivoa kako bi se shvatila njegova funkcija u regulaciji ponašanja.

Cilj genetike ponašanja je definirati koji geni i na koji način reguliraju ponašanje, a prednost *Drosophile* je da omogućava izučavanje svih nivoa regulacije; od gena do ponašanja (4). Prvi korak je nepristrana identifikacija gena koji utječu na regulaciju ponašanja, a u *Drosophile* najefikasniji način je genski probir. Slijedi izučavanje genske regulacije i interakcije s ostalim genima. Potom se izučava stanična biologija proteina kojega gen predstavlja, regulacija i istraživanje signalnih puteva u kojima protein sudjeluje. Slijede elektrofiziološka istraživanja neurona u kojima je gen izražen, te utvrđivanje promijena u funkcioniranju neurona koje razne varijante (alele ili mutacije) gena mogu izazvati. S time je povezano istraživanje neuronskih mreža, komunikacija i povezanost s ostalim dijelovima mozga, te ispitivanje kako procesuiranje informacija dovodi do plastičnih promijena. Razumijevanje ponašanja nije moguće prije nego li se istraže svi nivoi na koje pojedini gen utječe, pri čemu treba uzeti u obzir da su ponašanja pod utjecajem više od jednog gena, te da je genski izražaj pod utjecajem okolinskih utjecaja.

Značajna genska sličnost *Drosophile* i ljudi koja je uočena nakon sekvenciranja genoma rezultirala je da se u 21.st. *Drosophila* sve više koristi kao modelni

organizam za izučavanje niza ljudskih bolesti, uključujući neuredegenerativne i psihijatrijske poremećaje. Genotipski pristup zahtijeva da *Drosophila* pokazuje određeni relevantni fenotip, kako bi se provela mutageneza, testirao veliki broj jedinki za identifikaciju onih s značajnim odstupanjima u fenotipu, te potom identificirao mutirani gen koji utječe na fenotip. Kako je preduvjet za provođenje genskog probira dobro definiran fenotip, odnosno test koji kvantificira ponašanje i koji će uspješno diferencirati između prosječnog ponašanja i mutiranog, tako je dizajniranje testova za mjerenje ponašanja jedna od značajnih područja znanstvenog rada na *Drosophili*.

U *Drosophile* je moguće ispitivati i mjeriti ponašanja koja ona spontano pokazuje, kao što je to cirkadijalno regulirana lokomotorna aktivnost, ali moguće je dizajnirati testove koji mjere inducirana ponašanja koja predstavljaju endofenotipove (manje složene vrajente ponašanja). Endofenotip je moguće objektivno mjeriti u laboratorijskih životinja, a stoga što predstavlja integralnu komponentu znatno složenijeg ljudskog poremećaja, spoznaje koje se steknu na jednostavnom organizmu važna su za razumijevanje poremećaja u ljudi. Tako se ovisnost o opojnim drogama, alkoholu i kokainu, na *Drosophili* ispituje već skoro dva desetljeća. Endofenotipovi koji se u *Drosophile* mjere su: osjetljivost, tolerancija, samovoljna konzumacija i nagrađujući utjecaj alkohola. Za mjerenje ponašanja izazvanih administracijom kokaina u *Drosophile* se mjeri osjetljivost i senzitivizacija ponašanja (7).

Senzitivizacija ponašanja se u laboratorijskih životinja kvantificira kao povećanje motoričkog odgovora na uzastopne doze iste koncentracije droge. Ponašanja izazvana kokainom u *Drosophile* pokazuju evolucijsku sačuvanost neurobioloških i genskih mehanizama. Tako psihostimulansi poput kokaina i metamfetamina u *Drosophili* djeluju aktivirajuće na motorički sustav i pobuđujuće na živčani sustav. Međutim, još uvijek nije pokazano da li psihostimulansi djeluju nagrađujuće, što bi omogućilo provedbu genskih probira za ponašanja koja kod ljudi rezultiraju povećanom žudnjom za drogom i stvaranjem ovisnosti.

Sličnosti između posljedica administracije kokaina u sisavaca i *Drosophile* uočene su nakon izlaganja *Drosophile* kokainskom dimu, kada je otkriveno nekoliko gena bitnih za razvoj senzitivizacije ponašanja, a njihova uloga u regulaciji odgovora na razne vrste droga je potom potvrđena u sisavaca (8). Međutim test za mjerenje senzitivizacije ponašanja u tim istraživanjima nije adekvatan za provođenje genskog probira jer ne omogućava brzo, kvantificirano i jednostavno testiranje velikog broja jedinki. Tako je u mojem laboratoriju u tijeku realizacija istraživačkog projekta kojeg financira HRZZ ("Definiranje uloge cirkadijurnih gena kod bihevioralne senzitivizacije na psihostimulanse kod *Drosophile*"), gdje

je jedan od ciljeva razvoj novog visokoprotocnog testa za mjerenje senzitivacije ponašanja na psihostimulanse.

Novi visokoprotocan test za mjerenje senzitivacije ponašanja na kokain u *Drosophila* je uspješno razvijen. Tijekom njegovog razvoja i validacije pokazano je da se parametri za izazivanje senzitivacije na kokain razlikuju od onih za metamfetamin. Također potvrđene su i dalje definirane karakteristike podržaja koje utječu na razvoj primitivnih oblika učenja kao što su senzitivacija i habituacija. Sa novim visokoprotocnim testom sada će biti moguće provesti genski probir i identificirati nove gene koji sudjeluju u procesu senzitivacije ponašanja, kao oblika neuralne plastičnosti.

Korištenjem nove genske tehnike CRISPR/Cas9 za uređivanje gena, relativno se lako izazivaju ili popravljaju mutacije u sisavcima, slično kao što je to do sada bilo moguće u *Drosophila*, no to vrijedi samo za prethodno identificirane gene. Da bi se gene moglo identificirati, najbolje oruđe i dalje ostaje *Drosophila*, jer genski probiri u glodavaca ostaju izrazito komplicirani, dugotrajni i skupi. Stoga, unatoč svakodnevnom napretku u razvoju genskih tehnika u sisavaca, *Drosophila* ostaje laboratorijski organizam koji omogućava kombinaciju različitih pristupa i tehnika na način kako to nije moguće niti u jednom drugom organizmu. Vrlo važna je i činjenica da *Drosophila* u potpunosti zadovoljava europski naputak o dobroj laboratorijskoj praksi, 3R (zamjena, smanjenje, poboljšanje). Za istraživače u Hrvatskoj, gdje su financijska sredstva vrlo ograničena, privlačnost *Drosophila* treba biti i u činjenici da ona omogućava provođenje visoko vidljivih i relevantnih istraživanja sa relativno malim početnim financijskim ulaganjima.

Literatura:

- [1] Letsou A & Bohmann D (2005) Small flies--big discoveries: nearly a century of *Drosophila* genetics and development. *Dev Dyn* 232(3):526-528.
- [2] Hartwell LHLG, M.L.; Silver, L.M.; Veres R.C.; Reynolds, A.E. (2011) *Drosophila melanogaster*: Genetic Portrait of the Fruit Fly. *Genetics: From Genes to Genomes, 4th Ed.*, ed Lange M (McGraw Hill), pp 75-107.
- [3] Roote J & Prokop A (2013) How to design a genetic mating scheme: a basic training package for *Drosophila* genetics. *G3 (Bethesda)* 3(2):353-358.
- [4] O'Kane CJ (2011) *Drosophila* as a model organism for the study of neuropsychiatric disorders. *Curr Top Behav Neurosci* 7:37-60.
- [5] Oswald D, Lin S, & Waddell S (2015) Light, heat, action: neural control of fruit fly behaviour. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 370(1677).
- [6] Konopka RJ & Benzer S (1971) Clock mutants of *Drosophila melanogaster*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 68(9):2112-2116.
- [7] Andretic Waldowski R (2016) From Flies to Humans: Circadian Genes in the Neurogenetics of Addiction. *Psihologijske teme* 25(2):245-262.
- [8] Andretic R, Chaney S, & Hirsh J (1999) Requirement of circadian genes for cocaine sensitization in *Drosophila*. *Science* 285(5430):1066-1068.

Drosophila melanogaster: model organism for basic and medical research

Summary

At the beginning of last century T.H.Morgan choose *Drosophila melanogaster* as a model organism because it enabled him to do relatively fast, inexpensive and controlled scientific research in laboratory conditions. *Drosophila* continues to be used today as one of the most versatile laboratory organisms, also because it contains high genetic homology with mammals.

Two approaches used in *Drosophila* that caused it to become a model organism without comparison are: genetic screen and transgenic techniques. Genetic screen is an example of forward genetic approach and is used for discovering new genes which contribute to a biological process, while transgenic methods use reverse genetics for defining the function of new genes.

The most common transgenic method is UAS/GAL4 binary expression system, which enables precise anatomical and temporal control over gene expression. Use of transgenic methods led to identification of neural networks which generate behavior through precise analysis of cellular and behavioral phenotype. Understanding of complex behavior has significantly advanced with the application of the optogenetic methods and new method for gene editing, CRISPR/Cas9.

Because of its genetic homology with mammals, discoveries in *Drosophila* are easily translated to other organisms and lead to significant developments in understanding of the basic functioning as well as pathologies.

Keywords: *Drosophila*; behavior; genetics transgenic methods

Adresa za dopisivanje / Corresponding author:

Rozi Andrečić Waldowski

Odjel za biotehnologiju Sveučilišta u Rijeci

Radmile Matejčić 2, 51 000 Rijeka

e-mail: randretic@uniri.hr