



吴 薇, 博士, 高级工程师, 硕士研究生导师。现任中国科学院分子细胞科学卓越创新中心果蝇资源与技术平台主任, 国家果蝇资源中心主任兼理事会秘书长, 带领团队为全国科研工作者提供果蝇资源与技术服务。兼任《实验动物与比较医学》青年编委, Bio-protocol 特刊《实验动物胚胎操作实验手册》特邀编委。主要研究方向是果蝇基因编辑、果蝇资源库管理和果蝇发育生物学。以第一作者和通信作者身份在国际权威学术期刊 *PLoS Biology* 上发表果蝇资源和技术相关论文多篇, 以第一发明人获得实用新型专利 4 项。是国家重点研发计划专项“果蝇和线虫发育代谢资源库的系统构建与分析”的研究技术骨干, 2022 年获聘中国科学院特聘研究岗位-技术攻坚类。

## 基于 $\Phi$ C31 整合酶和载体质粒 pUASTattB 的 12 株果蝇转基因阴性对照品系的建立

徐龙梅<sup>1</sup>, 沈如凌<sup>2</sup>, 范 春<sup>2</sup>, 吴 薇<sup>1</sup>

(1. 中国科学院分子细胞科学卓越创新中心, 上海 200031; 2. 上海实验动物研究中心, 上海 201203)

**[摘要]** **目的** 构建基于  $\Phi$ C31 整合酶和载体质粒 pUASTattB 的果蝇转基因系统的阴性对照品系, 为转基因果蝇研究实验提供更科学的阴性对照。**方法** 用显微注射法将载体质粒 pUASTattB (可携带目的基因完成定点插入的常用载体质粒) 转入携带  $\Phi$ C31 整合酶的 4 种不同遗传背景的果蝇品系 attP-25C6、attP-68A4、attP-75B1 和 attP-86F8 胚胎中, 培养获得 G0 代成虫后将每只 G0 代成虫分别与平衡子果蝇品系 ywR13S 做单管杂交 (每管中 G0 代成虫 1 只与 ywR13S 3 只进行杂交), 通过观察 G1 代果蝇的复眼颜色, 判断是否有 mini-White 插入, 计算成功插入的概率。再选取成功插入 mini-White 的 G1 代果蝇成虫与 3 种平衡子果蝇品系 DB、ywR13S 和 yw122 分别做单管杂交 (1 只 G1 代雄果蝇与 3 只平衡子品系处女蝇杂交), 平衡保种。提取保种好的果蝇品系基因组 DNA, 用 PCR 法鉴定载体质粒 pUASTattB 转入情况。**结果** 4 种不同遗传背景的果蝇成功显微转入 pUASTattB 质粒后, 再用 3 种平衡子果蝇品系进行平衡保种, 得到 12 株果蝇品系, 均为携带 mini-White 标记的红眼果蝇, PCR 鉴定表明有 pUASTattB 序列插入。**结论** 12 株转基因果蝇品系可基本满足以 pUASTattB 为载体构建的转基因果蝇研究实验的阴性对照需求, 丰富了国家果蝇资源中心的果蝇资源。

**[关键词]** 黑腹果蝇; 转基因; 阴性对照; 显微注射; 平衡子

**[中图分类号]** R-332; Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2023)05-0541-07



## Generation of 12 *Drosophila* Transgenic Negative Control Lines Based on Site-specific $\Phi$ C31 Integrase and pUASTattB Vector

XU Longmei<sup>1</sup>, SHEN Ruling<sup>2</sup>, FAN Chun<sup>2</sup>, WU Wei<sup>1</sup>

(1. Center for Excellence in Molecular Cell Science, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China; 2. Shanghai Laboratory Animal Research Center, Shanghai 201203, China)

Correspondence to: FAN Chun (ORCID: 0009-0008-8817-4430), E-mail: fanchund@hotmail.com;

WU Wei (ORCID: 0009-0000-6761-3993), E-mail: wuwei@sibcb.ac.cn

**[ABSTRACT]** **Objective** Construction of a negative control line for the *Drosophila* transgenic system

**[基金项目]** 国家重点研发计划项目“果蝇和线虫发育代谢资源库的系统构建与分析”专项(2021YFA0805800)

**[第一作者]** 徐龙梅(1969—), 女, 实验师, 主要从事果蝇资源库管理研究。E-mail: longmei-xu@sibcb.ac.cn;

**[通信作者]** 范 春(1978—), 男, 高级财务管理师, 主要从事实验动物管理。E-mail: fanchund@hotmail.com。ORCID: 0009-0008-8817-4430;

吴 薇(1980—), 女, 博士, 高级工程师, 研究方向为果蝇基因编辑、果蝇资源库管理和果蝇发育生物学。E-mail: wuwei@sibcb.ac.cn。ORCID: 0009-0000-6761-3993

based on  $\Phi$ C31 integrase and vector plasmid pUASTattB to provide a more scientific negative control for transgenic *Drosophila* research experiments. **Methods** The vector plasmid pUASTattB was microinjected into four different genetic backgrounds *Drosophila* lines attP-25C6, attP-68A4, attP-75B1 and attP-86F8 embryos carrying  $\Phi$ C31 integrase. All of the injected embryos were incubated to get G0 adults, and each of them was crossed with balancer stock ywR13S separately in a single vial (1 adult of the G0 generation and 3 of the ywR13S in each vial). The probability of successful insertion was calculated by observing the colour of the compound eyes of the G1 generation of *Drosophila* to determine whether there was a mini-White insertion. The G1 generation *Drosophila* adults successfully inserted into mini-White were then selected to make single-vial crosses (one G1 generation male *Drosophila* crossed with three virgins of balancer *Drosophila* line) with each of the three balancer *Drosophila* strains DB, ywR13S and yw122, respectively, for balanced seed preservation. The genomic DNA of the conserved *Drosophila* lines was extracted and the vector plasmid pUASTattB was identified for transfer by PCR. **Results** 12 *Drosophila* strains were obtained, all of which were red-eyed *Drosophila melanogaster* carrying the mini-White marker, and were identified by PCR as having the pUASTattB sequence insertion. **Conclusion** The 12 transgenic *Drosophila* strains can meet the negative control requirements for the transgenic fly research experiments that constructed with pUASTattB as the vector basically, enriching the *Drosophila* resources in the National *Drosophila* Resource Center of China.

**[Key words]** *Drosophila melanogaster*; Transgenic; Negative control; Microinjection; Balancers

黑腹果蝇 (*Drosophila melanogaster*) 是动物遗传发育生物学研究中广泛使用的一种模式生物。以果蝇为模式动物进行科学研究的过程中, 通常会使用特定转基因品系的背景果蝇作为阴性对照, 以排除遗传背景不同造成的实验误差, 从而得到更为准确的实验结果。对大多数实验来说, 较为理想的阴性对照品系应该是除插入序列外, 其余的遗传背景均相同。因此, 构建包含载体质粒通用序列, 且使用与实验组一致的平衡子 (balancers) 果蝇进行平衡保种的果蝇阴性对照品系, 就显得非常重要<sup>[1-2]</sup>。

利用 P 转座子 (P-element) 插入方法构建获得含上游激活序列 (upstream activating sequence, UAS) 转基因果蝇的转基因系统是研究基因功能的一个强有力工具。现今以果蝇为研究对象的实验室常用转基因系统有两种。一种是基于  $\Delta$ 2-3 序列的随机插入系统, 此系统的常用载体为 pUAST 质粒, 可携带目的基因, 将该质粒与编码转座酶的辅助质粒  $\Delta$ 2-3 共注射到果蝇胚胎, 通过转座酶的重组交换作用使携带目的基因的载体序列随机整合到宿主基因组上。因此, 该系统的优点是可以一次得到多个不同品系, 但缺点是即使目的基因定位到同一条染色体, 仍能造成插入位点不同, 从而产生位置效应, 使不同基因间无法比较<sup>[3]</sup>。另一种是基于  $\Phi$ C31 整合酶的定点插入系统。 $\Phi$ C31 整合酶是在  $\Phi$ C31 链霉菌噬菌体中发现的一种可介导噬菌体在细菌基因组中发生位点特异性整合的重组酶。该系统的特点是载体上带有 attB (a bacterial attachment site)

序列, 常用载体为 pUASTattB 质粒, 在  $\Phi$ C31 整合酶的作用下 pUASTattB 质粒上的 attB 序列和背景果蝇上的 attP (a phage attachment site) 序列结合, 可将载体质粒携带的靶标序列整合到 attP 在基因组上的特定位点。相比于随机插入系统, 定点插入系统的优点是可以排除位置效应对表型的影响, 不同基因插入同一位点产生的果蝇品系可以进行蛋白表达量的比较, 而且该系统可实现基因大片段插入, 因此应用更为广泛<sup>[4-5]</sup>。

本研究利用基于  $\Phi$ C31 整合酶的常用载体质粒 pUASTattB 定点插入系统建立不同遗传背景的转基因阴性对照果蝇品系, 为同种载体质粒的转基因果蝇研究实验提供更为科学的阴性对照。

## 1 材料与方法

### 1.1 质粒与果蝇

载体质粒 pUASTattB 由中国科学院分子细胞科学卓越创新中心果蝇资源与技术平台提供, 图谱见图 1。pUASTattB 载体携带 P-element、mini-White 标记、5XUAS、多克隆位点 (包括 6 个限制性核酸内切酶位点 EcoR I、Bgl II、Not I、Xho I、Kpn I 和 Xba I) 和氨苄青霉素抗性基因 (AmpR) 等原件。

4 种携带  $\Phi$ C31 整合酶的不同遗传背景果蝇品系 (包括 attP-25C6、attP-68A4、attP-75B1、attP-86F8) 和 3 种平衡子果蝇品系 (包括 DB、ywR13S 和 yw122) 均由中国科学院分子细胞科学卓越创新中心果蝇资源与技术平台提供, 具体信息见表 1。

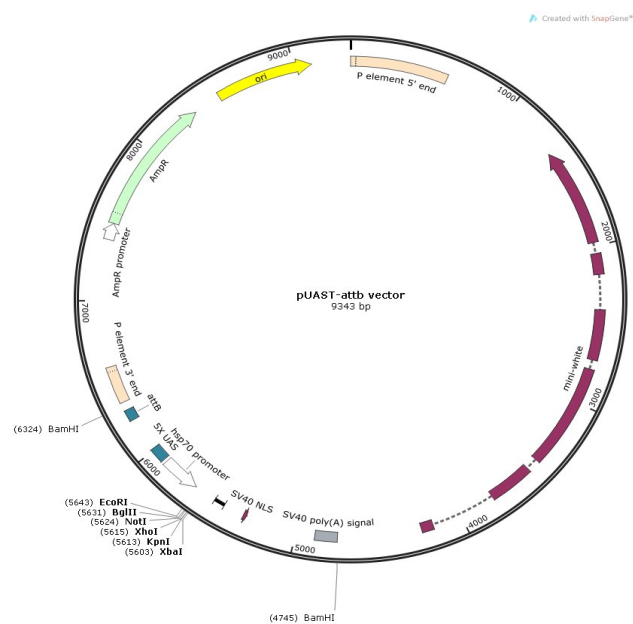


图1 pUASTattB载体质粒图谱  
Figure 1 Profile of pUASTattB plasmid vector

1.2 实验仪器

拉针仪 (Sutter P-97) 为美国 Sutter 公司产品; 体视显微镜 (Olympus SZ61) 为日本 Olympus 公司产品; 显微操作仪 (Narishige IM-9B) 为日本成茂公司产品; 恒温恒湿培养箱 (HWS-500) 购自宁波江南仪器厂。

1.3 主要试剂

果蝇培养基和果蝇胚胎收集果汁板由中国科学院分子细胞科学卓越创新中心果蝇资源与技术平台自制。84 消毒液购自江苏爱特福 84 股份有限公司; 矿物油 Halocarbon oil 27 H8773-100ML 和 Halocarbon oil 700 H8898-100ML 购自美国 Sigma 公司。基因组 DNA 小量

抽提试剂盒 (Cat No.D0063) 购自上海碧云天生物科技有限公司。PCR 引物制备及扩增产物测序由生工生物工程 (上海) 股份有限公司完成。

1.4 实验方法

准备 4 种背景果蝇品系 (包括 attP-25C6、attP-68A4、attP-75B1 和 attP-86F8), 收集果蝇 30 min 内产出的胚胎, 84 消毒液脱壳处理 30 s 后用纯净水冲洗 1 min 备用。将载体质粒 pUASTattB 14 000 r/min 高速离心 20 min, 取上清液 2  $\mu$ L 装针, 显微注射入准备好的未分化胚胎, 质粒注射的质量浓度为 300 ng/ $\mu$ L, 每个胚胎注射量为 2 nL。注射后的果蝇胚胎置于湿盒 18  $^{\circ}$ C 孵育 36 h 后收集幼虫, 将幼虫置于 25  $^{\circ}$ C 培养箱培养 10 d 左右后收集 G0 代成虫。计算孵化出幼虫和成虫的数量及概率。

将上述 4 种不同遗传背景的 G0 代果蝇成虫分别与平衡子果蝇品系 ywR13S (基因型 yw; Sp/CyO; MKRS/TM2) 做单管杂交 (每管中 G0 代成虫 1 只与 ywR13S 3 只进行杂交), 然后筛选 G1 代红眼果蝇 (pUASTattB 载体携带 mini-White 标记, 因此显微注射成功的 G1 代果蝇复眼呈红色)。选取 mini-White 插入成功的 G1 代果蝇成虫与 3 种平衡子果蝇品系 DB、ywR13S 和 yw122 分别做单管杂交 (1 只 G1 代雄果蝇与 3 只平衡子品系处女蝇杂交), 平衡保种。提取保种好的果蝇品系基因组 DNA, 针对载体质粒上多克隆位点附近的 DNA 片段设计并制备 PCR 引物 (正向引物序列为 5'-AAGTAA-CCAGCAACCAAGTA-3', 反向引物序列为 5'-TGA-TGATGAGGCTACTGCTGA-3'), 用 PCR 法鉴定载体质粒 pUASTattB 插入情况。PCR 扩增目的片段为 394 bp, 凝胶电泳纯化后送样测序。

表1 背景果蝇品系和平衡子果蝇品系信息列表  
Table 1 The list of fly strains for transgenics and balancers

| 果蝇品系序号<br>Number of fly strains | 名称<br>Name | attP 位点所在染色体位置<br>Chromosome of attP site | 背景果蝇品系 (基因型)<br>Different genetic background strains (genotype) | 用途<br>Application |
|---------------------------------|------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|-------------------|
| 背景果蝇                            |            |                                           |                                                                 |                   |
| 1                               | attP-25C6  | 2L                                        | y[1] M{vas-int.Dm}ZH-2A w[*]; P{CaryP}attP40                    | 定点插入              |
| 2                               | attP-68A4  | 3L                                        | y[1] M{vas-int.Dm}ZH-2A w[*]; P{CaryP}attP2                     | 定点插入              |
| 3                               | attP-75B1  | 3L                                        | vas-phi-Zh2A-VK5                                                | 定点插入              |
| 4                               | attP-86F8  | 3R                                        | y[1] M{vas-int.Dm}ZH-2A w[*]; M{3xP3-RFP.attP}ZH-86Fb           | 定点插入              |
| 平衡子果蝇                           |            |                                           |                                                                 |                   |
| 1                               | DB         |                                           | W <sup>118</sup> ; Sp/CyO; TM2/TM6B                             | 平衡保种              |
| 2                               | ywR13S     |                                           | yw; Sp/CyO; MKRS/TM2                                            | 平衡保种              |
| 3                               | yw122      |                                           | yw hsFlp <sup>122</sup> ; Sp/CyO(y <sup>*</sup> ); TM2/TM6B     | 平衡保种              |

2 结果

2.1 获得4种不同遗传背景的转基因阴性对照果蝇品系

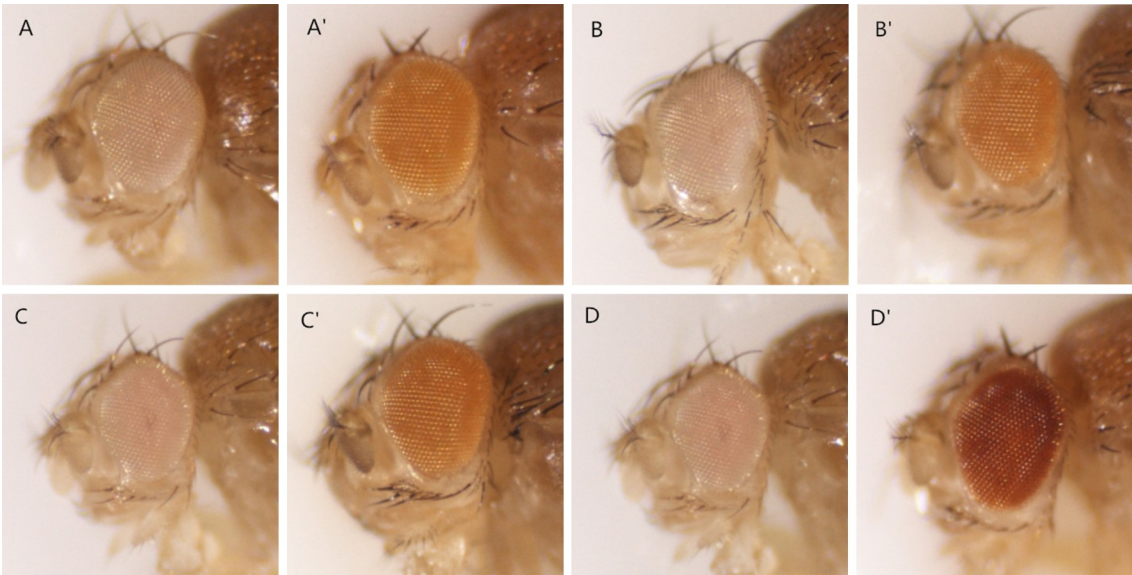
本研究分别针对每一种背景果蝇，将载体质粒 pUASTattB 注射入200枚果蝇胚胎，幼虫孵化率在37%~41%，成虫孵化率均在40%以上。通过观察成虫果蝇的复眼颜色，筛选具有红眼表型的果蝇，证明该品系有 mini-White 序列插入。最后获得 attP-25C6 背景的红眼果蝇 10 管，attP-68A4 背景的红眼果蝇 12 管，attP-

75B1 背景的红眼果蝇 11 管，attP-86F8 背景的红眼果蝇 13 管，计算可知 pUASTattB 质粒转染阳性率均在 28% 以上。由于注射时卵的状态不同，阳性概率和成虫数目没有绝对的量化比例关系。详细结果如表 2 和图 2 所示。

针对所有的红眼果蝇，采用 PCR 法扩增出长度为 394 bp 的目的片段（图 3）。比对测序结果发现，以红眼果蝇基因组为模版扩增出的 DNA 片段序列和载体质粒 pUASTattB 为模版扩增出的 DNA 片段序列完全一致（图 4），说明 pUASTattB 载体质粒成功插

表2 载体质粒 pUASTattB 显微注射入不同背景果蝇的结果列表  
Table 2 Results of different genetic background strains with pUASTattB vector by microinjection

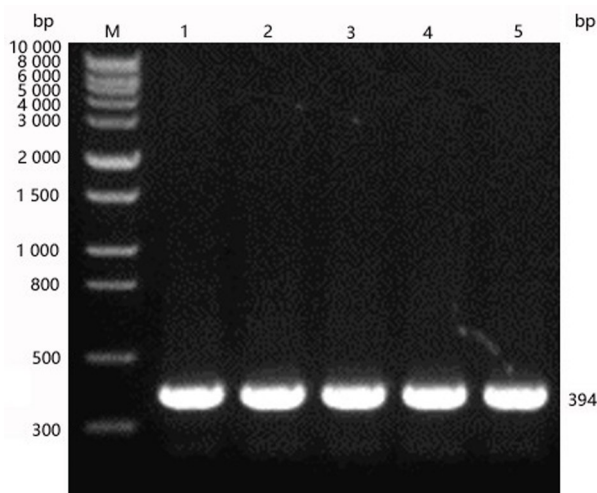
| 载体质粒      | 背景果蝇品系                               | 注射胚胎数目/个                  | 出幼虫数目                 | 出幼虫概率                    | 出成虫数目                 | 出成虫概率                   | 红眼果蝇数目                         | 红眼果蝇概                            |
|-----------|--------------------------------------|---------------------------|-----------------------|--------------------------|-----------------------|-------------------------|--------------------------------|----------------------------------|
| Vector    | Different genetic background strains | Numer of injected embryos | /条<br>Numer of larvae | / %<br>Percent of larvae | /只<br>Number of flies | / %<br>Percent of flies | /管<br>Number of red-eyed flies | 率/%<br>Percent of red-eyed flies |
| pUASTattB | attP-25C6                            | 200                       | 80                    | 40.00                    | 35                    | 43.75                   | 10                             | 28.57                            |
| pUASTattB | attP-68A4                            | 200                       | 75                    | 37.50                    | 32                    | 42.67                   | 12                             | 37.50                            |
| pUASTattB | attP-75B1                            | 200                       | 82                    | 41.00                    | 36                    | 43.90                   | 11                             | 30.56                            |
| pUASTattB | attP-86F8                            | 200                       | 78                    | 39.00                    | 33                    | 42.31                   | 13                             | 39.39                            |



注：A 为未注射载体质粒 pUASTattB 的背景果蝇品系 attP-25C6，A' 为 attP-25C6 成功转入载体质粒 pUASTattB 后获得的红眼果蝇；B 为未注射载体质粒 pUASTattB 的背景果蝇品系 attP-68A4，B' 为 attP-68A4 成功转入载体质粒 pUASTattB 后获得的红眼果蝇；C 为未注射载体质粒 pUASTattB 的背景果蝇品系 attP-75B1，C' 为 attP-75B1 成功转入载体质粒 pUASTattB 后获得的红眼果蝇；D 为未注射载体质粒 pUASTattB 的背景果蝇品系 attP-86F8，D' 为 attP-86F8 成功转入载体质粒 pUASTattB 后获得的红眼果蝇。所有图片均在显微镜下放大 50 倍拍摄。

Note: A, *Drosophila* stock attP-25C6, without pUASTattB; A', Red-eyed flies of attP-25C6 line with pUASTattB; B, *Drosophila* stock attP-68A4, without pUASTattB; B', Red-eyed flies of attP-68A4 line with pUASTattB; C, *Drosophila* stock attP-75B1, without pUASTattB; C', Red-eyed flies of attP-75B1 line with pUASTattB; D, *Drosophila* stock attP-86F8, without pUASTattB; D', Red-eyed flies of attP-86F8 line with pUASTattB. All photos were taken at a magnification of 50 times under the microscope.

图2 载体质粒 pUASTattB 显微插入前后果蝇的眼部表型对比  
Figure 2 Comparison of eyes phenotypes in *Drosophila* before and after microinjection of the vector plasmid pUASTattB



注: M为1 kb Plus DNA Ladder; 条带1为pUASTattB载体质粒扩增结果; 条带2为pUASTattB-25C6果蝇品系鉴定结果; 条带3为pUASTattB-68A4果蝇品系鉴定结果; 条带4为pUASTattB-75B1果蝇品系鉴定结果; 条带5为pUASTattB-86F8果蝇品系鉴定结果。

Note: Lane M, 1 kb Plus DNA Ladder; Lane 1, PCR product of pUASTattB; Lane 2, PCR product of pUASTattB-25C6; Lane 3, PCR product of pUASTattB-68A4; Lane 4, PCR product of pUASTattB-75B1; Lane 5, PCR product of pUASTattB-86F8.

图3 成功转入pUASTattB载体质粒的红眼果蝇基因组DNA的PCR鉴定电泳图

Figure 3 Identification of positive lines via PCR analysis for pUASTattB insertion

入4种不同遗传背景的果蝇。后续将这4种成功转入pUASTattB载体质粒的果蝇分别命名为pUASTattB-25C6、pUASTattB-68A4、pUASTattB-75B1和pUASTattB-86F8品系。

## 2.2 获得12株平衡保种的转基因阴性对照果蝇品系

将成功转入载体质粒pUASTattB的4种红眼果蝇分别和3种不同平衡子果蝇品系进行杂交保种, 共获得12株果蝇品系。杂交配对情况及各种子代果蝇的基因型见表3。

## 3 讨论

本研究系统构建了12种基于ΦC31整合酶的常用载体pUASTattB转基因系统的阴性对照果蝇品系, 为运用该载体构建的转基因果蝇实验提供了科学的阴性对照品系, 可大大提高相关实验的严谨性。为了能在杂合子状态下研究转基因果蝇表型, 同时避免纯合致死效应, 通常是以其与对应平衡子果蝇杂交的方式保种, 并作为实验材料。平衡子果蝇的染色体交换被抑制, 因携带一些隐性致死的突变基因而发生纯合致死。X染色体在雄性果蝇中为半合子状态, 所以大部分X染色体平衡子不携带隐性致死基因, 纯合不致死。但有些X染色体平衡子带有隐性雌性不育突变, 能检出隐性突变<sup>[6]</sup>。平衡子均带有多种突变基因标志, 其中至少有一种是显性标志, 一般在成蝇中(有的在幼虫中)表型为显性<sup>[7]</sup>。本实验所用的平衡子有Sp、CyO、MKRS、TM2和TM6B, 具体信息见表4。其中Sp(sternopleural)是用EMS诱导产生的突变体28A区的一个隐性致死基因, 也有可视标志, 一般也当作平衡子使用, 但不用来保种<sup>[8]</sup>。

新的高质量的果蝇资源是推动果蝇相关科研进展

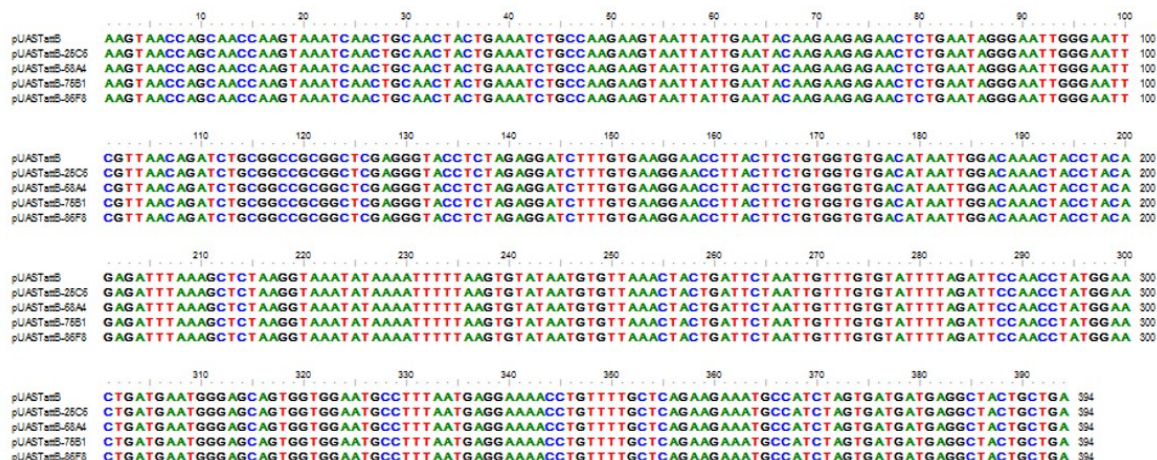


图4 载体质粒pUASTattB以及其成功转入4种背景果蝇获得的红眼果蝇DNA测序结果比对图

Figure 4 Multiple sequences alignment between pUASTattB vector and red-eyed pUASTattB line with pUASTattB insertion

表3 12株转基因阴性对照果蝇品系的保种结果表

Table 3 The results of balanced 12 stocks for transgenic negative control

| 序号<br>No. | 背景果蝇品系<br>Different genetic back ground strains | 平衡子果蝇品系<br>Balancer strains | 阴性对照品系基因型<br>Genotype of negative control lines                              |
|-----------|-------------------------------------------------|-----------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| 1         | attP-25C6                                       | DB                          | <i>W<sup>1118</sup></i> ; pUASTattB-25C6/CyO;TM2/TM6B                        |
| 2         | attP-25C6                                       | ywR13S                      | <i>yw</i> ; pUASTattB-25C6/CyO;MKRS/TM2                                      |
| 3         | attP-25C6                                       | yw122                       | <i>yw hsFlp<sup>122</sup></i> ; pUASTattB-25C6/CyO(y <sup>+</sup> );TM2/TM6B |
| 4         | attP-68A4                                       | DB                          | <i>W<sup>1118</sup></i> ; Sp/CyO; pUASTattB-68A4/TM6B                        |
| 5         | attP-68A4                                       | ywR13S                      | <i>yw</i> ; Sp/CyO; pUASTattB-68A4/TM6B                                      |
| 6         | attP-68A4                                       | yw122                       | <i>yw hsFlp<sup>122</sup></i> ; Sp/CyO(y <sup>+</sup> ); pUASTattB-68A4/TM6B |
| 7         | attP-75B1                                       | DB                          | <i>W<sup>1118</sup></i> ; Sp/CyO; pUASTattB-75B1/TM6B                        |
| 8         | attP-75B1                                       | ywR13S                      | <i>yw</i> ; Sp/CyO; pUASTattB-75B1/TM6B                                      |
| 9         | attP-75B1                                       | yw122                       | <i>yw hsFlp<sup>122</sup></i> ; Sp/CyO(y <sup>+</sup> ); pUASTattB-75B1/TM6B |
| 10        | attP-86F8                                       | DB                          | <i>W<sup>1118</sup></i> ; Sp/CyO; pUASTattB-86F8/TM6B                        |
| 11        | attP-86F8                                       | ywR13S                      | <i>yw</i> ; Sp/CyO; pUASTattB-86F8/TM6B                                      |
| 12        | attP-86F8                                       | yw122                       | <i>yw hsFlp<sup>122</sup></i> ; Sp/CyO(y <sup>+</sup> ); pUASTattB-86F8/TM6B |

表4 本研究所用的平衡子果蝇中平衡子显性标志的基本信息

Table 4 The basic information of the balancers

| 序号<br>No. | 平衡子名称<br>Name of balancers                                                   | 显性标志<br>Dominant marker | 对应染色体<br>Chromosome | 表型描述<br>Comments of phenotype |
|-----------|------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|---------------------|-------------------------------|
| 1         | Wg <sup>Sp-1</sup> (Sp <sup>*</sup> )                                        | Sp <sup>*</sup>         | 2#                  | 腹侧板第三根刚毛由1根变为2根或2根以上          |
| 2         | CyO(In(2LR)O, Cy dp <sup>lv1</sup> cn <sup>2</sup> pr)                       | Cy                      | 2#                  | 翅膀卷曲                          |
| 3         | MKRS(M(3)76A <sup>1</sup> kar <sup>1</sup> ry <sup>2</sup> Sb <sup>1</sup> ) | Sb                      | 3#                  | 刚毛短硬                          |
| 4         | TM2(In(3LR)Ubx <sup>130</sup> )                                              | Ubx                     | 3#                  | 大平衡棒                          |
| 5         | TM6B(In(3LR)TM6, Hu e)                                                       | Hu                      | 3#                  | 肩部多毛                          |

的基础条件。美国、奥地利、瑞士、德国、日本、韩国等都意识到果蝇资源的重要性，设立专项构建各类突变体并积极收集保藏果蝇资源<sup>[9-10]</sup>。2022年起，中国科学院分子细胞科学卓越创新中心在中国科学技术部支持下，起始建立国家果蝇资源中心（National *Drosophila* Resource Center of China, NDRCC），以服务科研为宗旨，完成模式动物果蝇品系及其相关资源的构建、收集、保藏、信息化和线下共享，为全国以果蝇为载体的相关研究提供果蝇资源和技术服务。构建和保存具有自主知识产权的果蝇品系是国家果蝇资源中心建设的核心工作之一。本研究是基于ΦC31整合酶转基因系统的常用载体质粒pUASTattB构建的果蝇阴性对照品系。实际上，构建转基因果蝇品系所用的载体质粒还有很多，如pUAST、pUASP、pUASPatB、pUASC、pUASCattB等，而且还可以添加EGFP、RFP、HA、Flag、Myc等各种标签（tag）<sup>[11-12]</sup>。因此，后续工作会以此研究为基础，系统性构建各类使用不同载体质粒及基因的果蝇突变体对照品系，为以果蝇为模式动物开展的各类科学研究提供强有力资源支撑。

**[医学伦理声明 Medical Ethics Statement]**

本研究涉及的所有果蝇均由中国科学院分子细胞科学卓越创新中心果蝇资源与技术平台提供，所有实验过程均按中国科学院分子细胞科学卓越创新中心果蝇实验指南进行。

All fruitflies were supported by Core Facility of *Drosophila* Resoure and Technology, Center for Excellence in Molecular Cell Science, Chinese Academy of Sciences. All experiments were carried out in according with regulations on *Drosophila* experiments of Center for Excellence in Molecular Cell Science, Chinese Academy of Sciences.

**[作者贡献 Author Contribution]**

徐龙梅完成部分实验、品系保存及论文初稿整理工作；  
沈如凌对实验工作提供意见，并参与论文修改；  
范春对果蝇资源库的建设提供了指导意见，并参与论文完善；  
吴薇完成实验设计、分子生物学实验及论文修改工作。

**[利益声明 Declaration of Interest]**

所有作者声明无利益冲突、无署名纠纷。

**[参考文献 References]**

[1] PORT F, STREIN C, STRICKER M, et al. A large-scale resource for tissue-specific CRISPR mutagenesis in *Drosophila*[J]. eLife, 2020, 9: e53865. DOI: 10.7554/eLife.53865.

- [2] 徐荣刚, 王霞, 王芳, 等. 果蝇研究技术与资源的开发[J]. 中国实验动物学报, 2018, 26(4):489-492. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2018.04.013.  
XU R G, WANG X, WANG F, et al. Research techniques and resource development of *Drosophila melanogaster*[J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2018, 26(4): 489-492. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2018.04.013.
- [3] RUBIN G M, SPRADLING A C. Genetic transformation of *Drosophila* with transposable element vectors[J]. Science, 1982, 218(4570):348-353. DOI: 10.1126/science.6289436
- [4] FISH M P, GROTH A C, CALOS M P, et al. Creating transgenic *Drosophila* by microinjecting the site-specific phiC31 integrase mRNA and a transgene-containing donor plasmid [J]. Nat Protoc, 2007, 2(10): 2325-2331. DOI: 10.1038/nprot.2007.328.
- [5] VENKEN K J T, BELLEN H J. Genome-wide manipulations of *Drosophila melanogaster* with transposons, flp recombinase, and  $\Phi$ C31 integrase[J]. Methods Mol Biol, 2012, 859: 203-228. DOI: 10.1007/978-1-61779-603-6\_12.
- [6] Ralph J. Greenspan. Fly Pushing: The theory and practice of *Drosophila* genetics[M]. Second edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 2004:13-15
- [7] STERN D L. Transgenic tools for targeted chromosome rearrangements allow construction of balancer chromosomes in non-melanogaster *Drosophila* species[J]. G3 (Bethesda), 2022, 12(4): jkac030. DOI: 10.1093/g3journal/jkac030.
- [8] TIONG S Y, NASH D. Genetic analysis of the adenosine3 (Gart) region of the second chromosome of *Drosophila melanogaster*[J]. Genetics, 1990, 124(4):889-897. DOI: 10.1093/genetics/124.4.889.
- [9] 邵素娟, 吴薇. 全球果蝇资源库分布现状分析[J]. 南方农业, 2018, 12(26):186-186, 193. DOI: 10.19415/j.cnki.1673-890x.2018.26.091  
SHAO S J, WU W. Analysis on the distribution of *Drosophila* resource bank in the world[J]. South China Agric, 2018, 12(26): 186-186, 193. DOI: 10.19415/j.cnki.1673-890x.2018.26.091.
- [10] 潘吉川, 姜秋实, 刘强, 等. 果蝇信息和种系资源的获得[J]. 中国实验动物学报, 2020, 28(2):286-288. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2020.02.021.  
PAN J C, JIANG Q S, LIU Q, et al. Requirement of *Drosophila* information and stock resources[J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2020, 28(2):286-288. DOI: 10.3969/j.issn.1005-4847.2020.02.021.
- [11] ZIRIN J, HU Y H, LIU L P, et al. Large-scale transgenic *Drosophila* resource collections for loss- and gain-of-function studies[J]. Genetics, 2020, 214(4): 755-767. DOI: 10.1534/genetics.119.302964.
- [12] LUO J, SHEN P P, CHEN J. A modular toolset of phiC31-based fluorescent protein tagging vectors for *Drosophila*[J]. Fly, 2019, 13(1-4):29-41. DOI: 10.1080/19336934.2019.1595999.
- (收稿日期: 2023-07-10 修回日期: 2023-08-14 )  
(本文编辑: 张俊彦, 富群华, 丁宇菁, 王艳君)

#### 【引用本文】

徐龙梅, 沈如凌, 范春, 等. 基于  $\Phi$ C31 整合酶和载体质粒 pUASTattB 的 12 株果蝇转基因阴性对照品系的建立[J]. 实验动物与比较医学, 2023, 43(5): 541-547. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2023.100.  
XU L M, SHEN R L, FAN C, et al. Generation of 12 *Drosophila* transgenic negative control lines based on site-specific  $\Phi$ C31 integrase and pUASTattB vector[J]. Lab Anim Comp Med, 2023, 43 (5): 541-547. DOI: 10.12300/j.issn.1674-5817.2023.100.

\*\*\*\*\*

## 《实验动物与比较医学》有关作者投稿必备信息和材料的说明

《实验动物与比较医学》是我国实验动物科学与比较医学领域创刊最早的专业性学术期刊, 执行严格的同行评议和三甲三校制度。为提高稿件审理效率, 以及规范作者投稿行为, 本刊加大初审力度。从 2021 年 4 月起, 作者从本刊官网 (<http://www.slarc.org.cn/dwyx>) 投稿时, 除提交 Word 格式的完整论文外, 还需提供以下必备信息和材料:

1. 所有署名作者的信息, 包括最高学历、职称、研究方向、E-mail、电话, 以及开放研究者与贡献者身份识别码 (open researcher and contributor ID, ORCID) 等。

2. 第一作者单位盖章的论文审查表或介绍信扫描件, 需承诺本文无版权纠纷、不涉密且符合科研诚信要求。

3. 涉及动物实验的研究性文章还需提供实验动物的生产许可证和质量合格证、实验场所的实验动物使用许可证、该研究的实验动物福利伦理审查表的扫描件。文中注明以上三证一表的准确编号, 并在文末列出本文涉及的医学伦理声明。

4. 填写作者贡献及利益冲突声明表, 并在文末如实列出所有署名作者的贡献情况及利益声明。

5. 研究如有基金资助, 请提供与本文内容相符的基金立项证明, 并在首页注明基金名称、受资助项目名称及编号。

以上 2 ~ 5 材料均请打包后, 作为附件上传至本刊投审稿系统。若材料或信息不齐、造假, 编辑部将直接退稿。

详情可见本刊官网首页的“期刊政策”-“投稿指南”和“投稿必看”-“稿件要求细则”。相关模板可至“投稿必看”-“附件模板下载”获取。

《实验动物与比较医学》编辑部