

Kokkuvõte

Aluselise heeliks-ling-heeliks domääniga transkriptsioonifaktor 4 (TCF4) on üks imetaja kolmest E-valgust. Mutatsioone TCF4 geenis on seostatud mitmete haigustega, sealhulgas sügavat vaimset puuet põhjustava Pitt-Hopkinsi sündroomiga. *Drosophila melanogaster* (edaspidi *Drosophila*) ehk äädikakärbes omab imetajate TCF4 ortoloogi, transkriptsioonifaktor Daughterless-i (Da), mis võimaldab modelleerida selle geeniga seotud haigusi äädikakärbes.

Käesolevas töös loodi CRISPR/Cas9 süsteemi kasutades homosügootne GFP-Da liitvalku ekspresseeriv äädikakärbe liin, mida on võimalik kasutada edaspidises Da ekspressiooni ja lokaliseerimisega seotud teadustöös. GFP-Da liitvalgu abil on palju lihtsam viia läbi immunohistokeemilisi uuringuid, sest olemasolevad Da-vastased antikehad pole piisavalt efektiivsed ja spetsiifilised. Lisaks on edaspidi GFP valgumärgise abil võimalik vaadelda elusaid organisme ning jälgida Da ekspressiooni ja lokaliseerimist *Drosophila* igas eluetapis. Samuti saab loodud kärbseliiniga viia läbi käitumiskatseid ning ristata GFP-Da valku ekspresseeriv järjestus Pitt-Hopkinsi sündroomi taustsüsteemi.

GFP-Da ekspressiooni kontrolliti immunohistokeemilise värvimisega nii äädikakärbe embrüo, vagma kui ka täiskasvanu arengustaadiumis. GFP insertiooni suhtes homosügootsed äädikakärbed on elu- ja paljunemisvõimelised ning ekspresseerivad edukalt GFP-Da liitvalku. Samuti ei häiri GFP kodeeriva järjestuse lisamine *da* kodeeriva ala algusesse märgatavalt *Drosophila* närvisüsteemi arengut. Tuvastati mitmeid rakke ja kudesid vagma- ja täiskasvanu äädikakärbe kesknärvisüsteemis ja piirdenärvisüsteemis, milles ekspresseeriti GFP-Da liitvalku. Täiskasvanu äädikakärbe optilises sagaras olid nähtavad GFP-Da-d ekspresseerivate rakkude kehad, mis tuvastati sarnaselt 3xFLAG-Da liitvalku ekspresseeriva äädikakärbe liinis.