

Anexo I

Las moscas inyectadas con el vector incorporarán el fragmento al azar en el genoma. Aquí se describen las posibles inserciones en el cromosoma II y III, los cruces y descendencia que se produciría en cada caso.

Cromosoma II:

Posibilidades del 1º Cruce

$$P \quad w^{-}; \frac{Inserto}{+}; \frac{+}{+} \times w^{-}; \frac{If}{Cyo}; \frac{MKRS}{TM6b}$$

$$F1 \quad 1. w^{-}; \frac{Inserto}{If}; \frac{MKRS}{+}$$

$$2. w^{-}; \frac{Inserto}{Cyo}; \frac{MKRS}{+}$$

$$3. w^{-}; \frac{+}{If}; \frac{MKRS}{+}$$

$$4. w^{-}; \frac{+}{Cyo}; \frac{MKRS}{+}$$

$$5. w^{-}; \frac{Inserto}{If}; \frac{TM6b}{+}$$

$$6. w^{-}; \frac{Inserto}{Cyo}; \frac{TM6b}{+}$$

$$7. w^{-}; \frac{+}{If}; \frac{TM6b}{+}$$

$$8. w^{-}; \frac{+}{Cyo}; \frac{TM6b}{+}$$

Cromosoma III:

$$P \quad w^{-}; \frac{+}{+}; \frac{+}{Inserto} \times w^{-}; \frac{If}{Cyo}; \frac{MKRS}{TM6b}$$

$$F1 \quad 1. w^{-}; \frac{+}{If}; \frac{MKRS}{Inserto}$$

$$2. w^{-}; \frac{+}{Cyo}; \frac{MKRS}{Inserto}$$

$$3. w^{-}; \frac{+}{If}; \frac{MKRS}{+}$$

$$4. w^{-}; \frac{+}{Cyo}; \frac{MKRS}{+}$$

$$5. w^{-}; \frac{+}{If}; \frac{TM6b}{Inserto}$$

$$6. w^{-}; \frac{+}{Cyo}; \frac{TM6b}{Inserto}$$

$$7. w^{-}; \frac{+}{If}; \frac{TM6b}{+}$$

$$8. w^{-}; \frac{+}{Cyo}; \frac{TM6b}{+}$$

Los genotipos con el recuadro rojo son los que mostrarán fenotipo de ojos rojos y se emplearán para el segundo cruce.

Posibilidades del 2º Cruce

Cromosoma II:

$$\text{F1} \quad w^{-}; \frac{+}{If \text{ ó } Cyo}; \frac{Inserto}{MKRS \text{ ó } TM6B} \times w^{-}; \frac{If}{Cyo}; \frac{MKRS}{TM6b}$$

$$\text{F2} \quad \begin{array}{l} \boxed{1. w^{-}; \frac{If}{Cyo}; \frac{Inserto}{TM6b}} \\ \boxed{2. w^{-}; \frac{If}{Cyo}; \frac{Inserto}{MKRS}} \end{array} \quad \begin{array}{l} 3. w^{-}; \frac{If}{Cyo}; \frac{+}{TM6b} \\ 4. w^{-}; \frac{If}{Cyo}; \frac{+}{MKRS} \\ 5. w^{-}; \frac{If}{Cyo}; \frac{MKRS}{TM6b} \end{array}$$

Cromosoma III:

$$\text{F1} \quad w^{-}; \frac{Inserto}{If \text{ ó } Cyo}; \frac{+}{MKRS \text{ ó } TM6B} \times w^{-}; \frac{If}{Cyo}; \frac{MKRS}{TM6b}$$

$$\text{F2} \quad \begin{array}{l} \boxed{1. w^{-}; \frac{Inserto}{Cyo}; \frac{MKRS}{TM6b}} \\ \boxed{2. w^{-}; \frac{Inserto}{If}; \frac{MKRS}{TM6b}} \end{array} \quad \begin{array}{l} 3. w^{-}; \frac{+}{Cyo}; \frac{MKRS}{TM6b} \\ 4. w^{-}; \frac{Cyo}{If}; \frac{MKRS}{TM6b} \\ 5. w^{-}; \frac{+}{If}; \frac{MKRS}{TM6b} \end{array}$$

Solo existen 5 posibles genotipos en cada cruce debido a que los cromosomas equilibradores (If, Cyo, MKRS y TM6b) generan letalidad en homocigosis. De esta manera se observa como solo las moscas que no llevan el inserto pueden presentar todos los marcadores.

-Si el inserto está en el cromosoma II: Solo se observarán en moscas rojas uno de los 2 marcadores equilibradores del cromosoma II.

-Si el inserto está en el cromosoma III: Solo se observarán en moscas rojas uno de los 2 marcadores equilibradores del cromosoma III.

Anexo II

Para la preparación de la comida se hacían tandas de 2L según el siguiente procedimiento:

1. Mezclar los siguientes ingredientes en alícuotas:
 - a. 20 g de agar
 - b. 20 g de harina integral de soja
 - c. 120 g de harina de maíz
 - d. 100 g de azúcar
2. Calentar alrededor de 1,2L de agua estéril (tipo II) durante 5 min.
3. Mezclar la alícuota con el agua recién calentada.
4. Pesar 60 g de levadura y añadirsele a la mezcla. Mezclar con una batidora hasta que este uniforme.
5. Tapar la mezcla con papel de aluminio e introducir en el autoclave a 120°C durante 30 min.
6. Una vez esterilizado, dejar enfriar un poco. Añadir 10ml de ácido propiónico y 20ml Nipagin como antibacteriano y antifúngico, respectivamente.
7. Calentar 700ml de agua estéril (tipo II) durante 5 min. Una vez caliente, añadir a la mezcla.
8. Mezclar bien con la batidora hasta que quede homogéneo.
9. Dispensar la comida, utilizando una bomba peristáltica, añadiendo alrededor de 10ml en cada tubo.
10. Tapar los tubos y dejar reposar durante toda la noche. Al día siguiente, colocar los tapones en los tubos y guardar a 4°C.