



国家水生生物种质资源库 (NABRC)
讲座二：
斑马鱼的早期胚胎发育及研究应用

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

潘鲁媛

www.zfish.cn

国家水生生物种质资源库

国家斑马鱼资源中心

luyuanpan@ihb.ac.cn

- 斑马鱼早期胚胎发育
 - 发育阶段及命名
 - 胚胎发育进程简介
- 斑马鱼研究应用
 - 基础研究应用举例
 - 人类疾病及药物筛选应用举例
 - 环境毒理学应用举例

- 斑马鱼早期胚胎发育
 - 发育阶段及命名
 - 胚胎发育进程简介
- 斑马鱼研究应用
 - 基础研究应用举例
 - 人类疾病及药物筛选应用举例
 - 环境毒理学应用举例

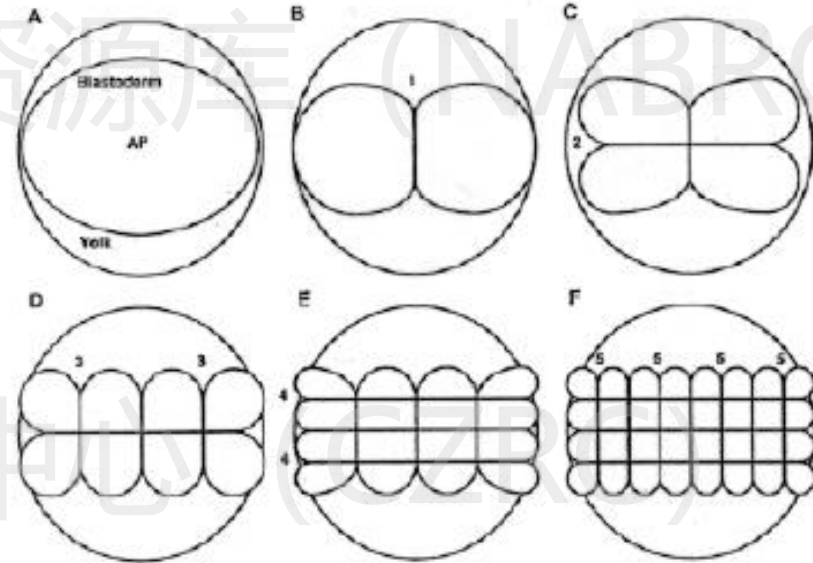
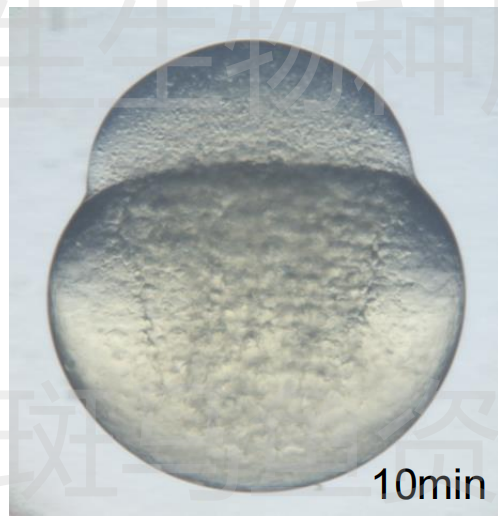
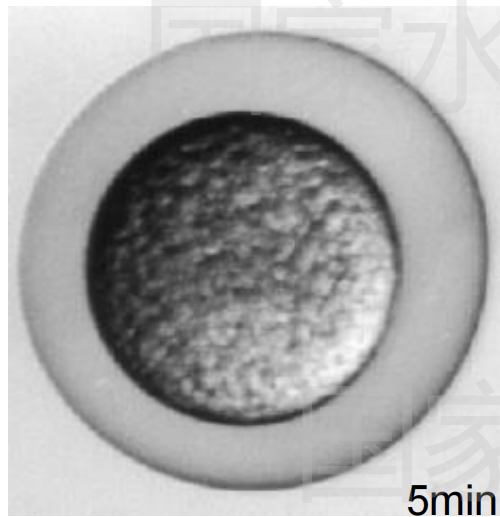
斑马鱼发育阶段



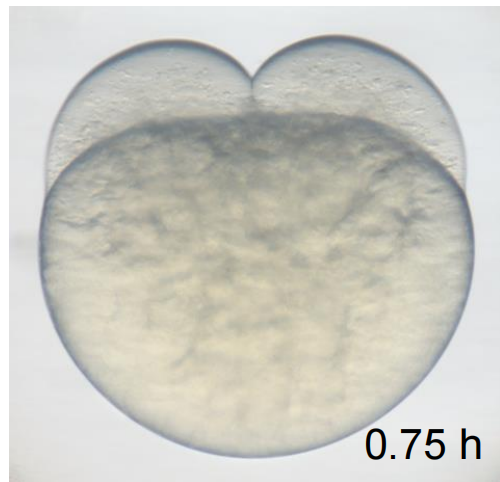
斑马鱼主要胚胎发育阶段

- 胚胎期 (Embryo) 可分为7个时期 (Period)
 - 合子期 (Zygote) : 0-0.75hpf
 - 卵裂期 (Cleavage) : 0.75-2.25hpf
 - 囊胚期 (Blastula) : 2.25-5.25hpf
 - 原肠胚期 (Gastrula) : 5.25-10hpf
 - 体节期 (Segmentation) : 10-24hpf
 - 咽胚期 (Pharyngula) : 24-48hpf
 - 孵化期 (hatching period) : 48-72hpf
- 发育速度受水温(**28.5 °C**)及密度的影响
(50枚 / 90mm平皿)
- 时期内分阶段 (stage), stage name
- 一般命名:
 - hpf* (hours post fertilization)
 - dpf* (days post fertilization)
- 幼苗期 (larval) : 5-15dpf
- 幼鱼期 (juvenile) : 15dpf-3m
- 成鱼期 (adult) : >3m
- 了解发育阶段的重要性

胚胎发育阶段: Zygote to Cleavage

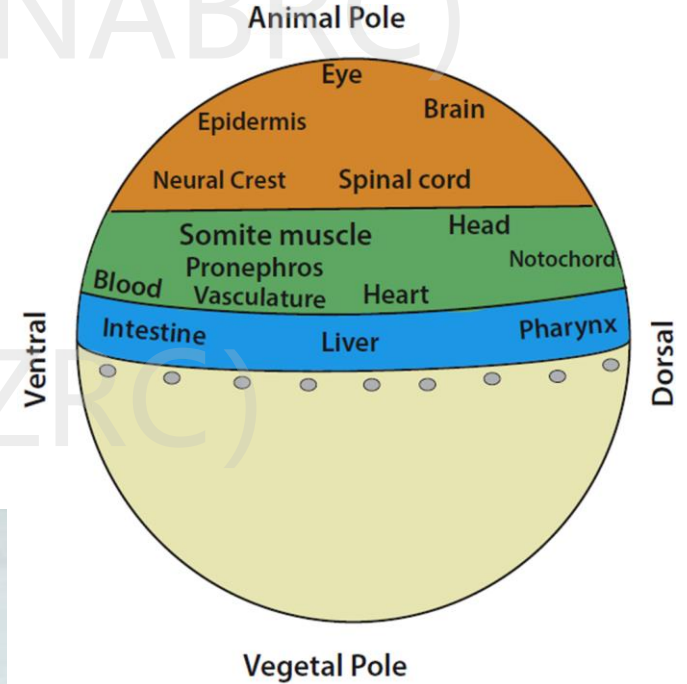
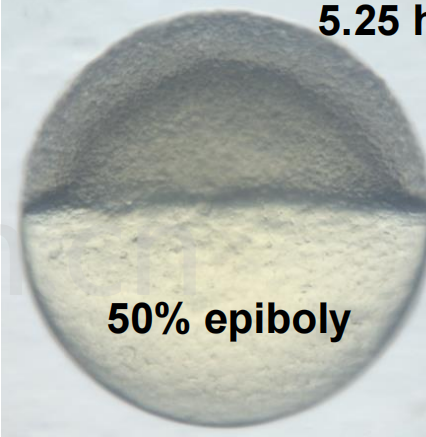
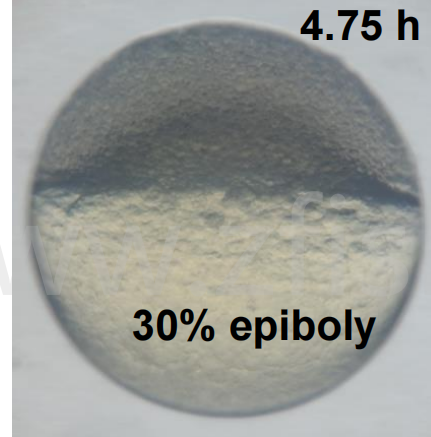
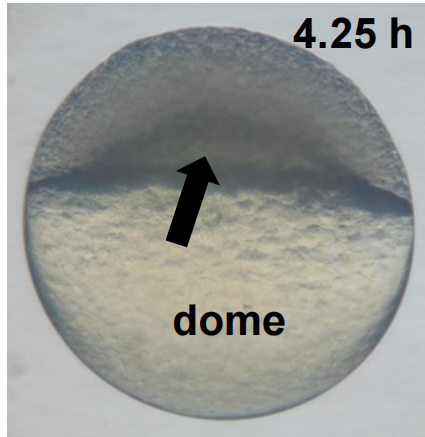
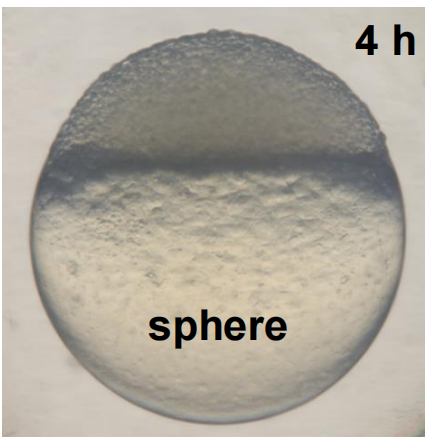
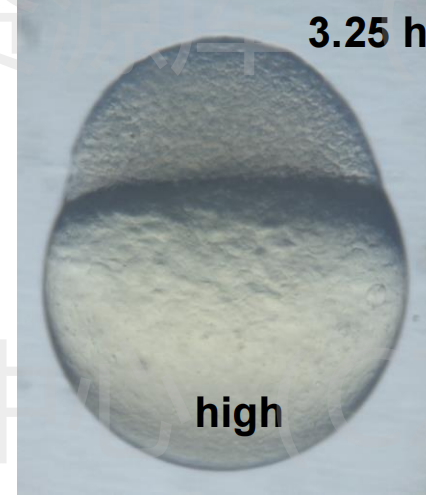
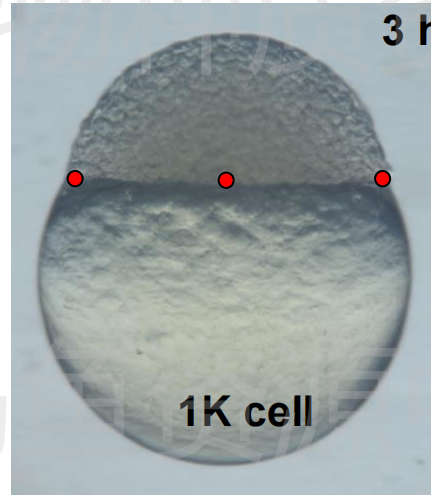
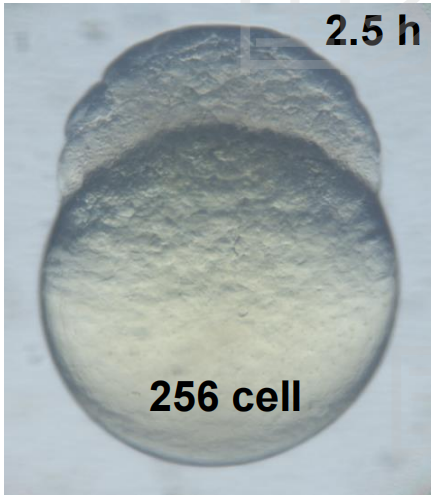


Kimmel et al, 1995



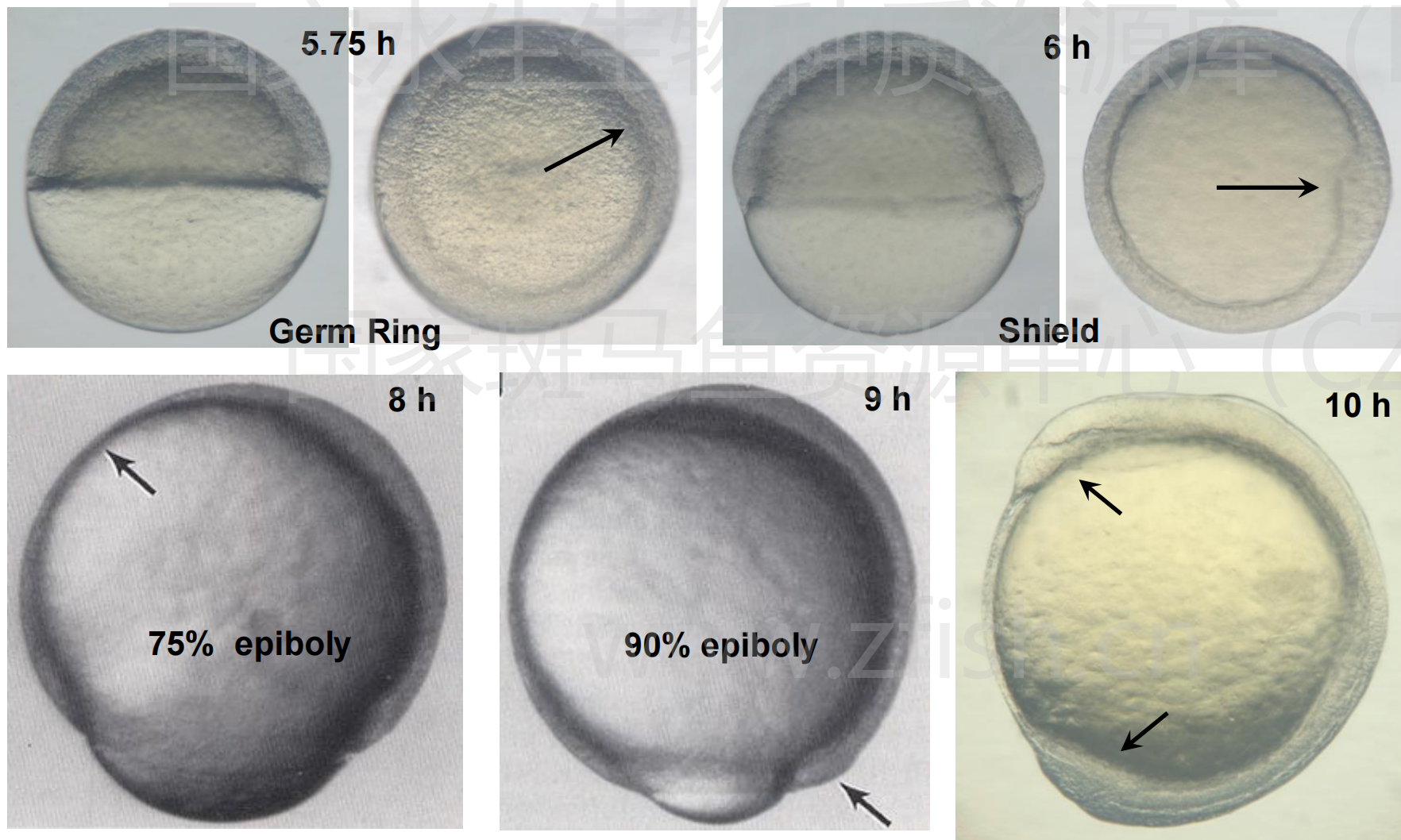
Zygote/0-0.75 hpf/1 cell
Cleavage/0.75-2 hpf/2-64 cell

胚胎发育阶段: Blastula Period



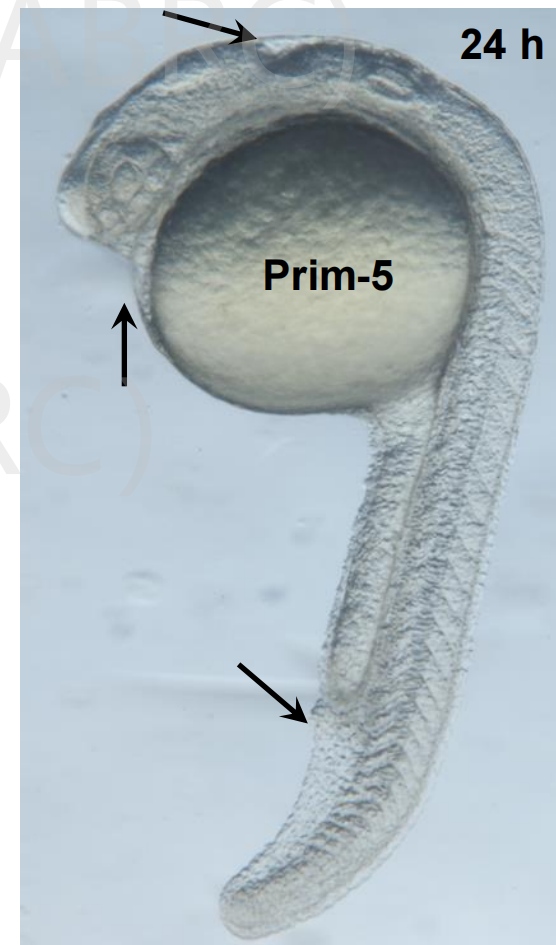
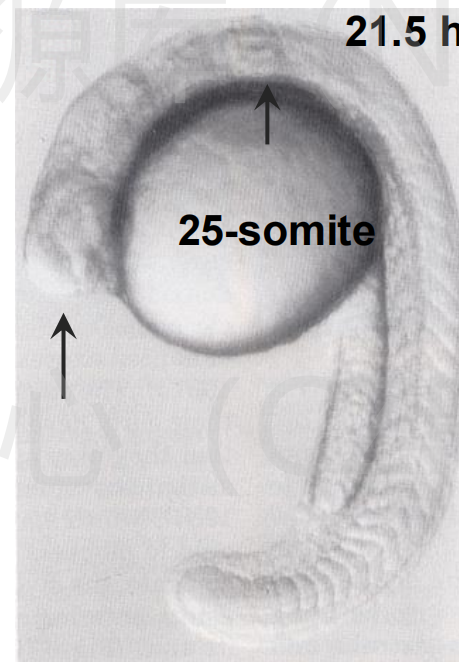
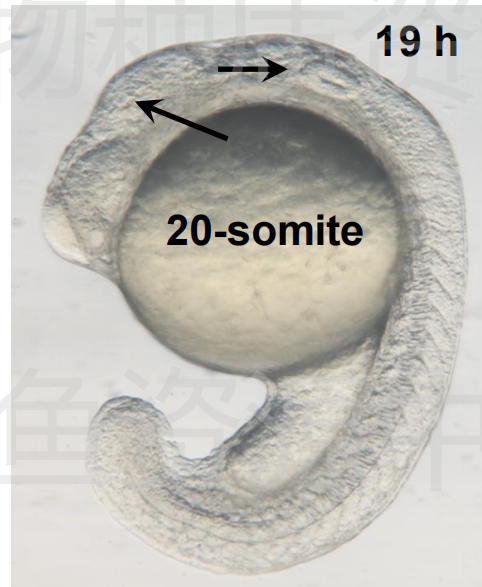
**Balstula/2.25-5.25 hpf/
128 cell-50% epiboly**

胚胎发育阶段: Gastrula Period



Gastrula/5.25-10 hpf/
50% epiboly-bud

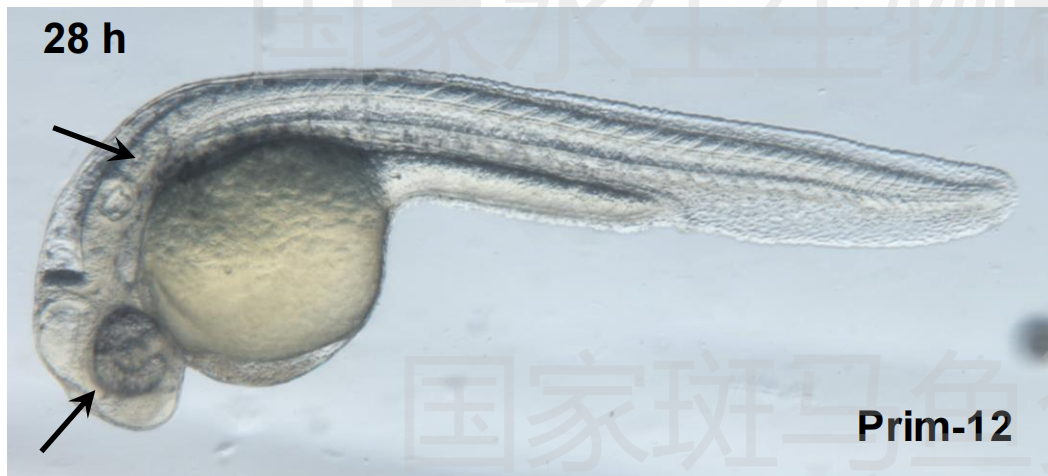
胚胎发育阶段: Segmentation Period



Segmentation/10-24 hpf/ bud-prim 5

www.zfish.cn

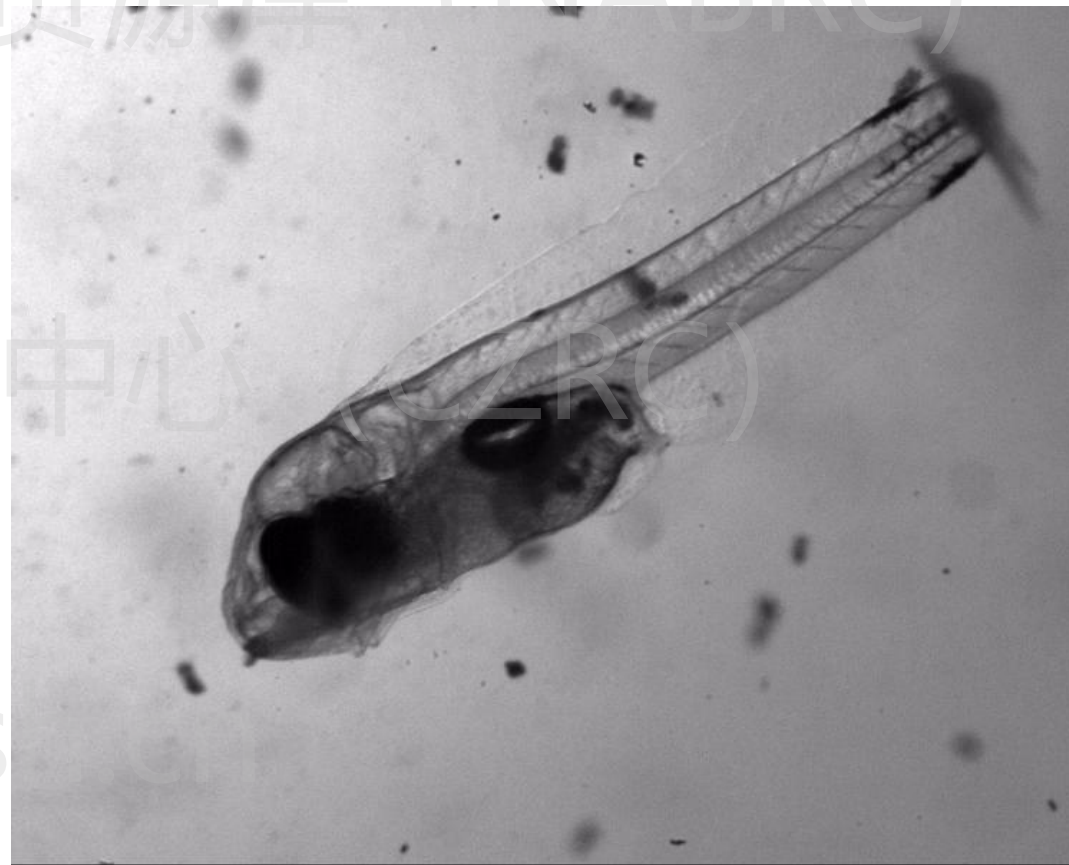
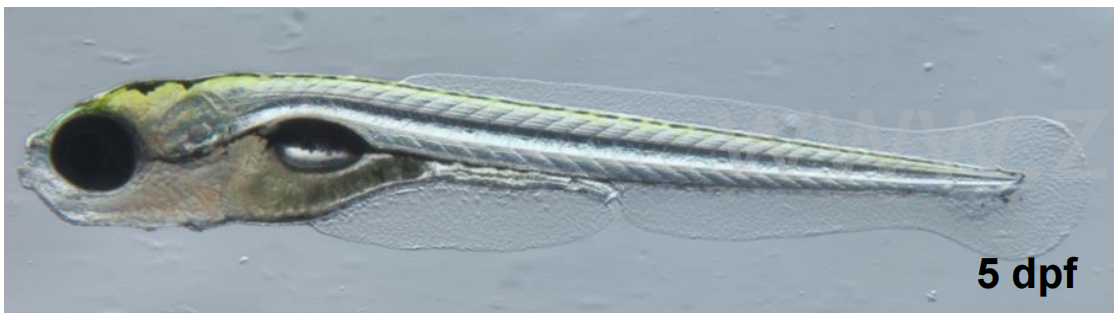
胚胎发育阶段：Pharyngula Period



Pharyngula/24-48 hpf/
prim 6 – long pec

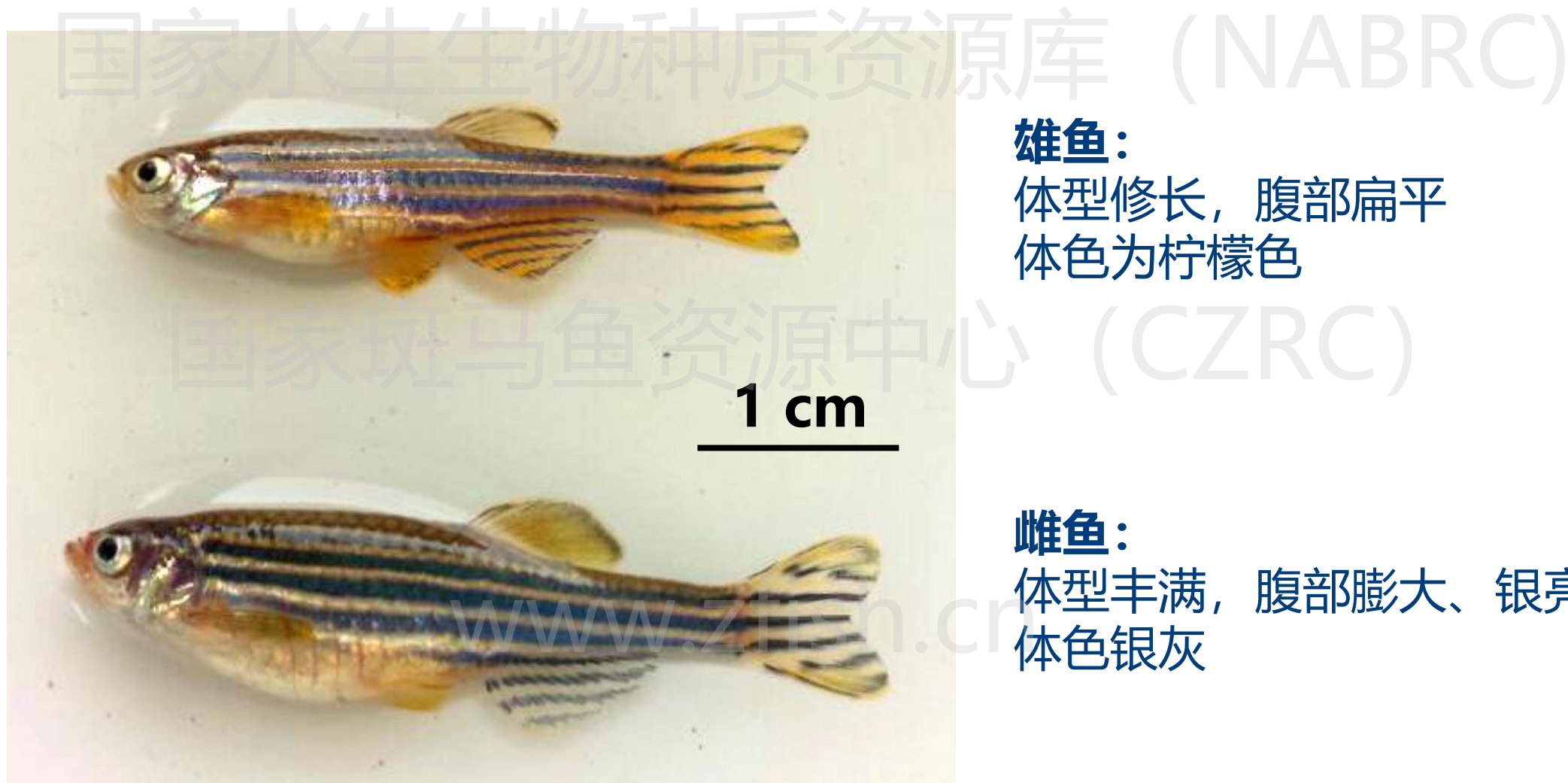


胚胎发育阶段：Hatching



幼苗第5天开口，及时喂食对存活很重要

实验养殖环境下，三个月性成熟



雄鱼：

体型修长，腹部扁平
体色为柠檬色

雌鱼：

体型丰满，腹部膨大、银亮
体色银灰

- 斑马鱼早期胚胎发育
 - 发育阶段及命名
 - 胚胎发育进程简介
- 斑马鱼研究应用
 - 基础研究应用举例
 - 人类疾病及药物筛选应用举例
 - 环境毒理学应用举例

斑马鱼的生物学特性及优势

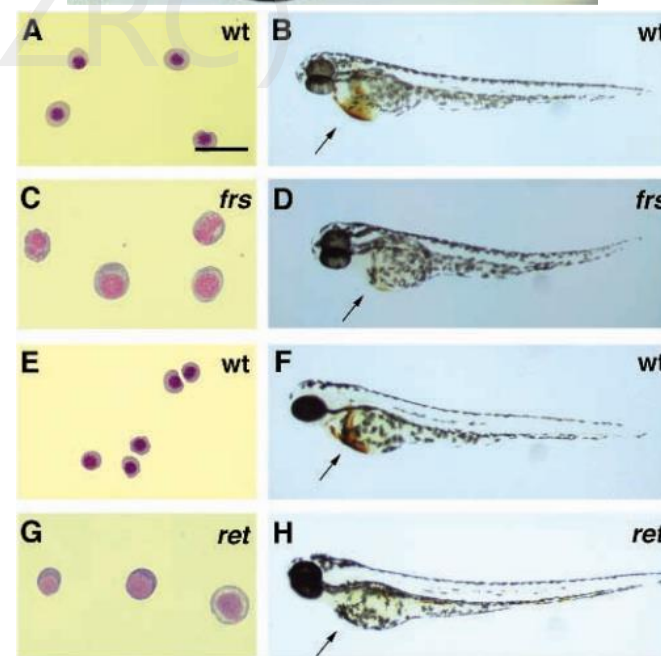
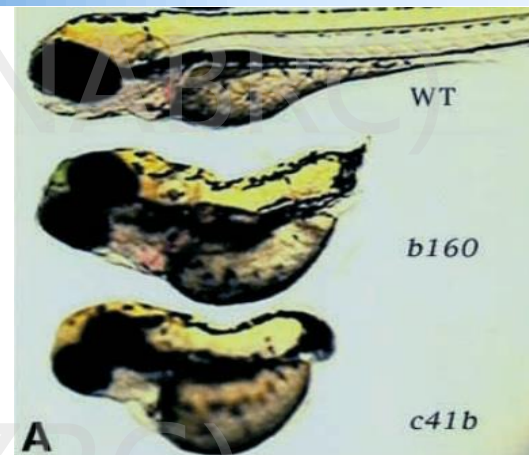
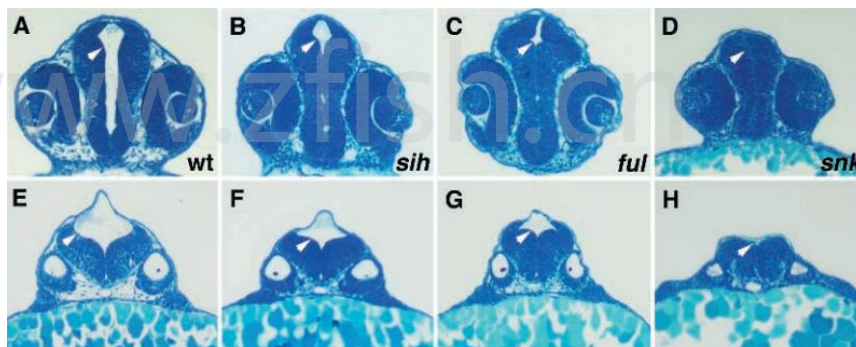
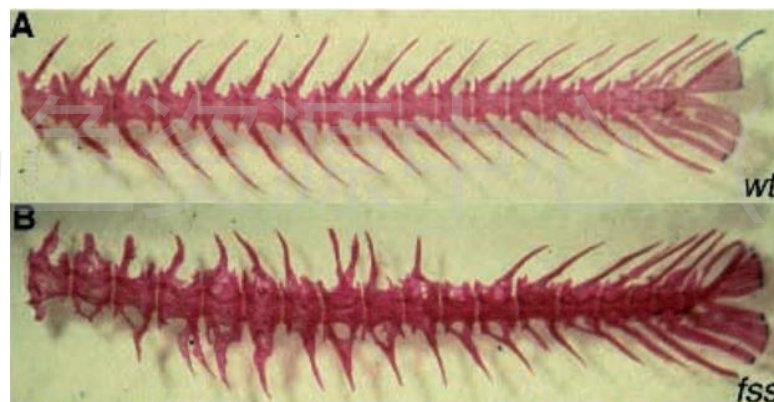
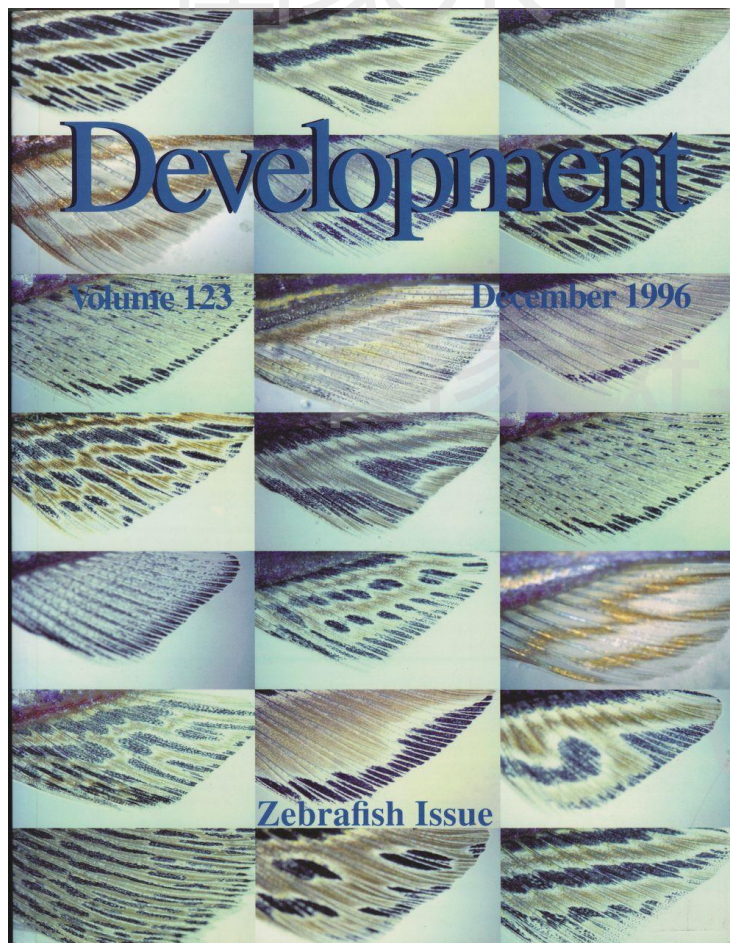
- 体型小（成鱼2-5厘米、养殖密度10条/L、占用空间小）
- 易于养殖（低成本、低硬件门槛、高样品数）
- 发育快（24hpf完成早期发育、3个月可性成熟）
- 四季产卵、产卵量大（>200枚/对，每周可交配产卵，实验方便）
- 体外受精、体外发育（易于实现多样的实验操作）
- 胚胎透明（易于操作，易于进行活体观察）
- 与人类基因组同源性高（利于建立各类人类疾病模型）

斑马鱼的研究应用领域

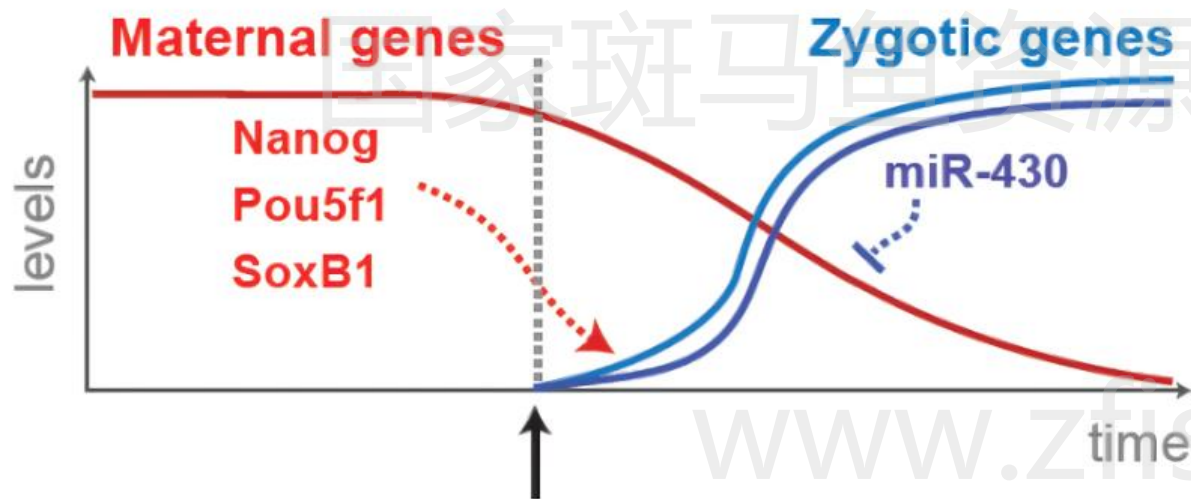
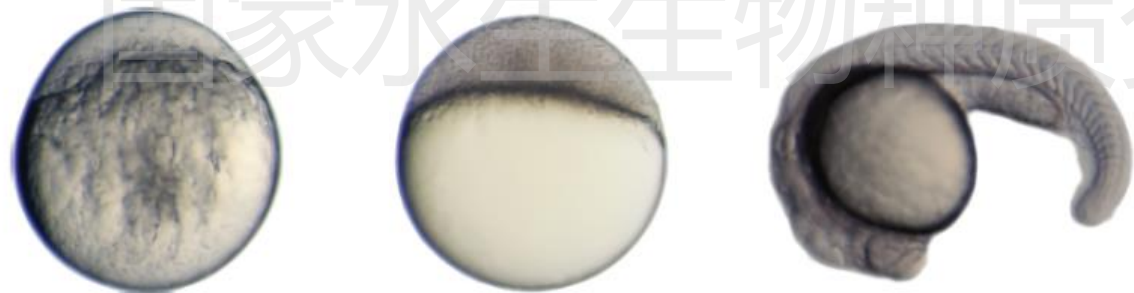
- 发育生物学
- 遗传学
- 分子遗传学
- 细胞生物学
- 神经生物学
- 基因组学
- 感染与免疫
- 损伤和再生科学
- 细胞自噬
- 生物节律
- 人类疾病模型
- 动物行为学
- 环境生物学
- 毒理学
- 化合物筛选
- 进化生物学
- 鱼类遗传学
- 鱼类育种

1990s: The Tübingen/Boston Screens

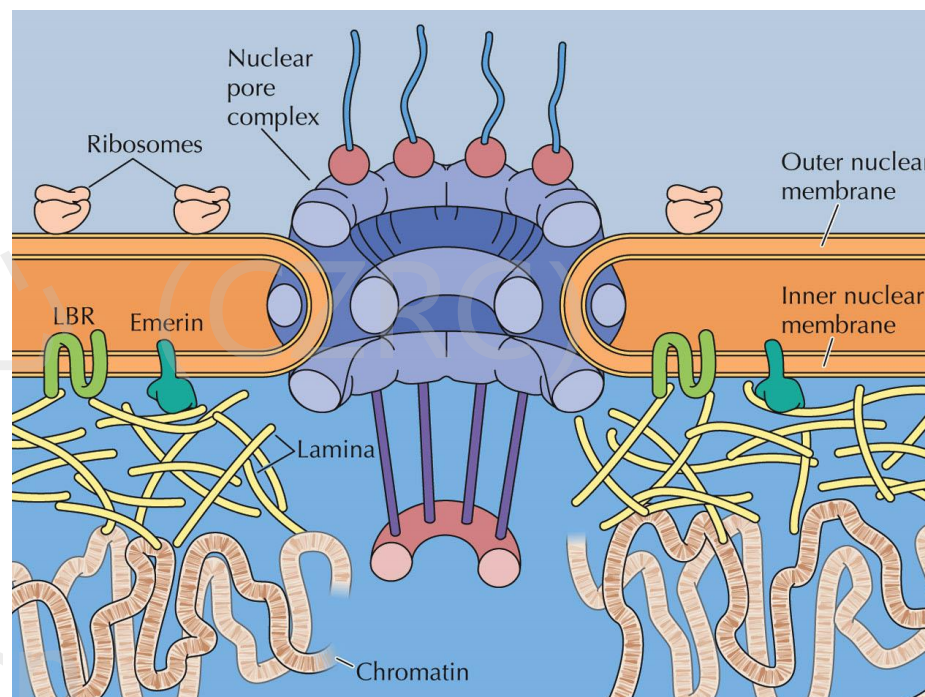
the big screen



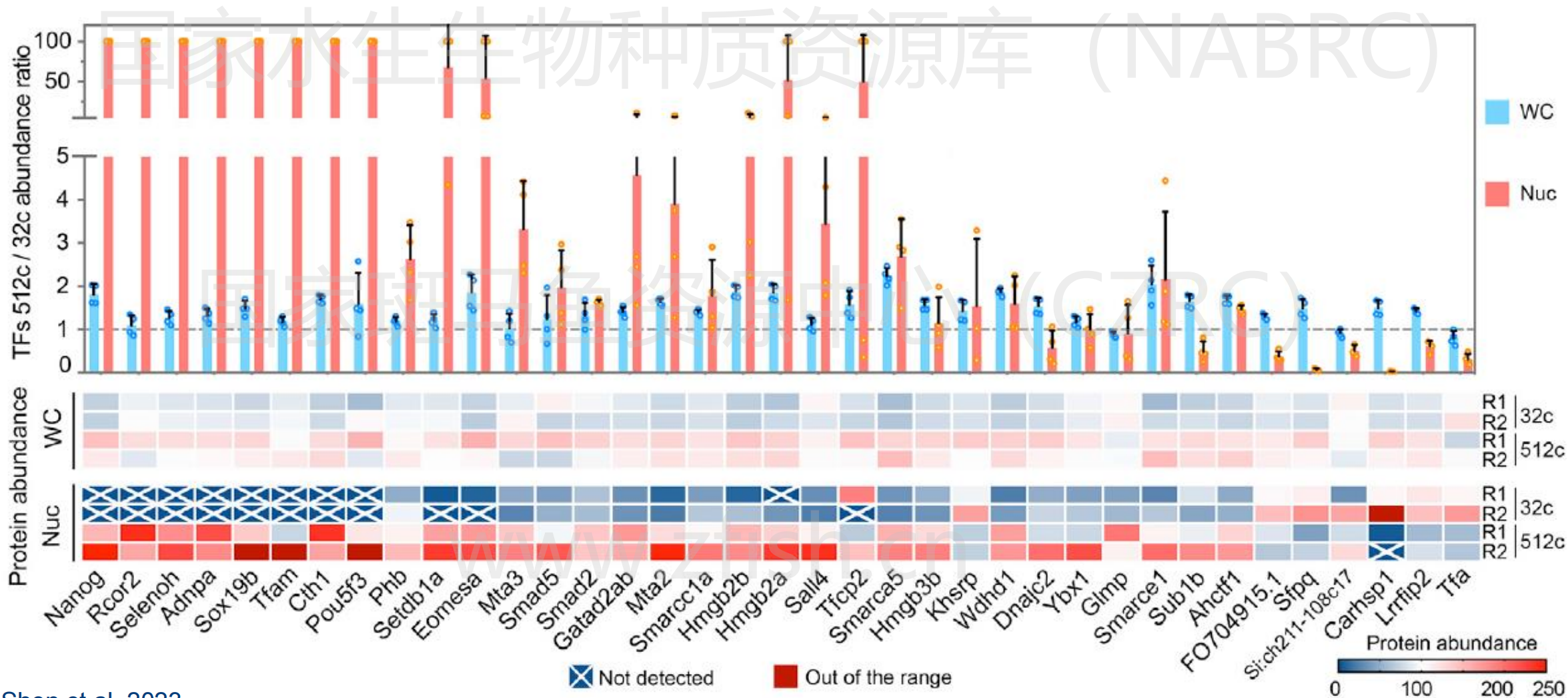
基础研究：脊椎动物早期胚胎发育

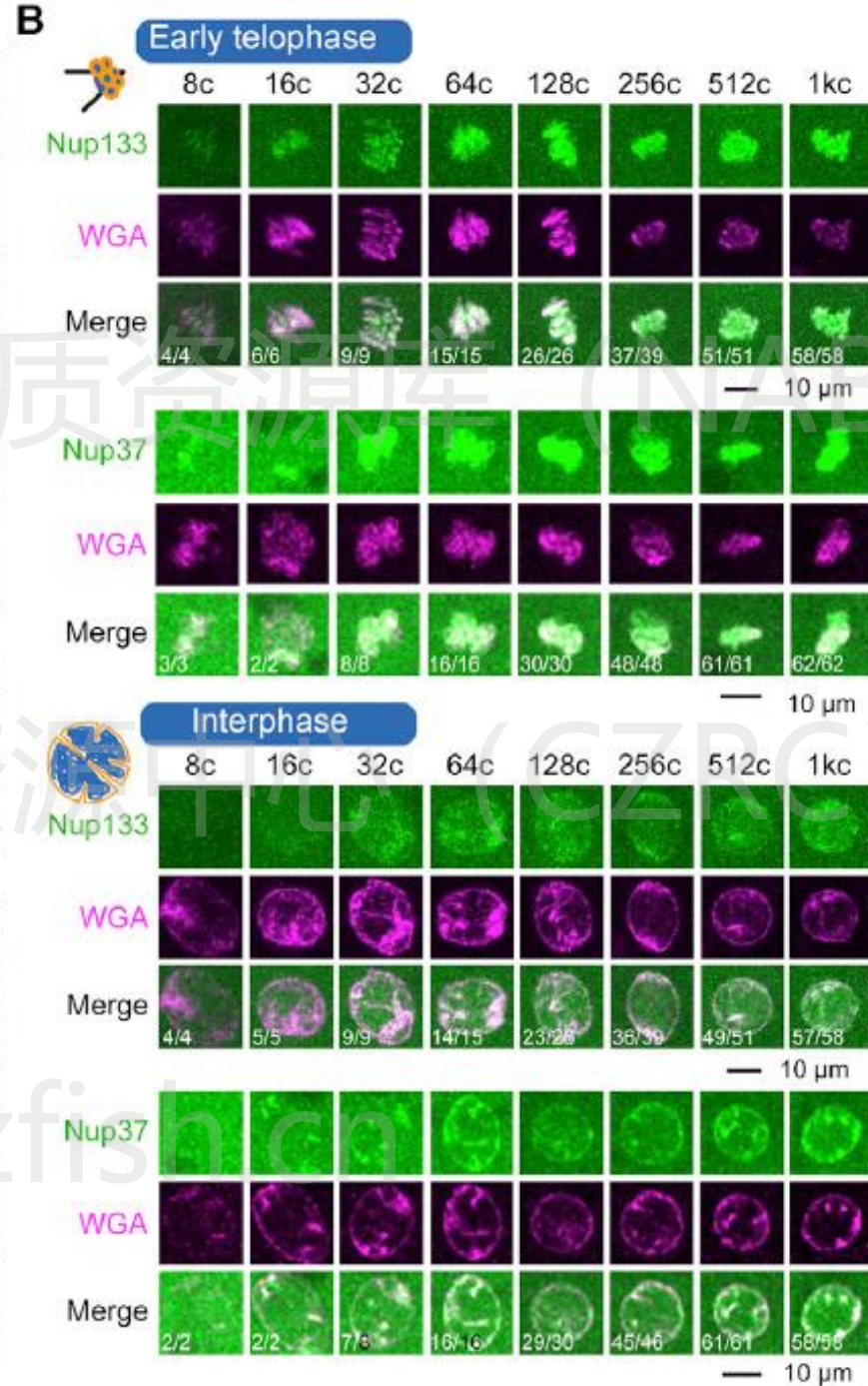
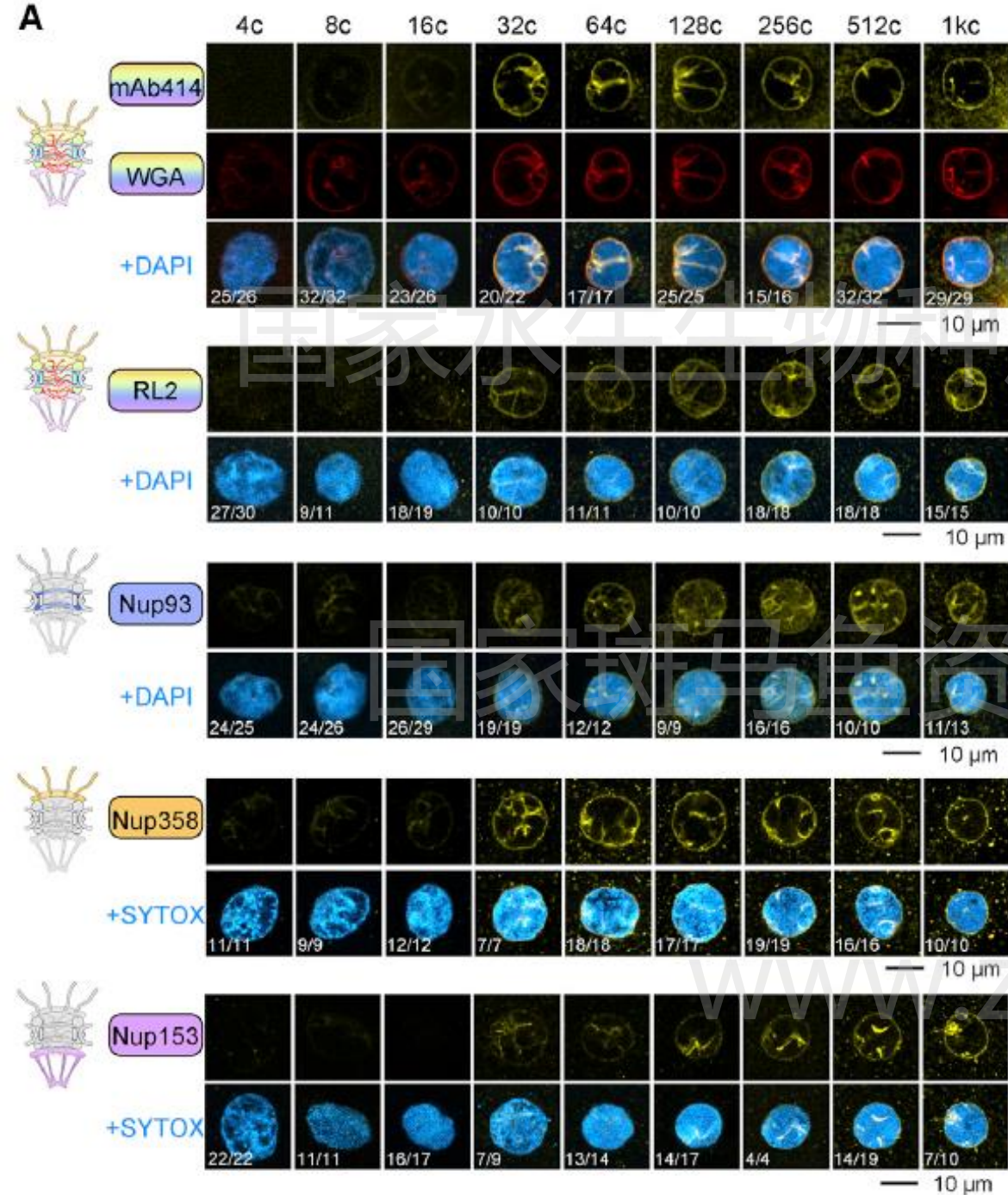


Zygotic genome activation **(ZGA)**



基础研究：大量TF核内聚集启动ZGA

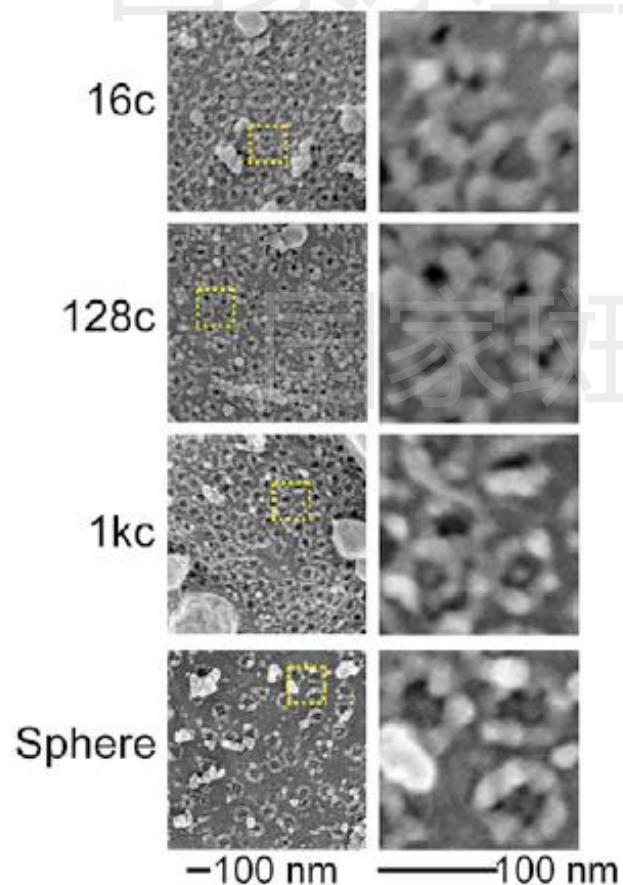




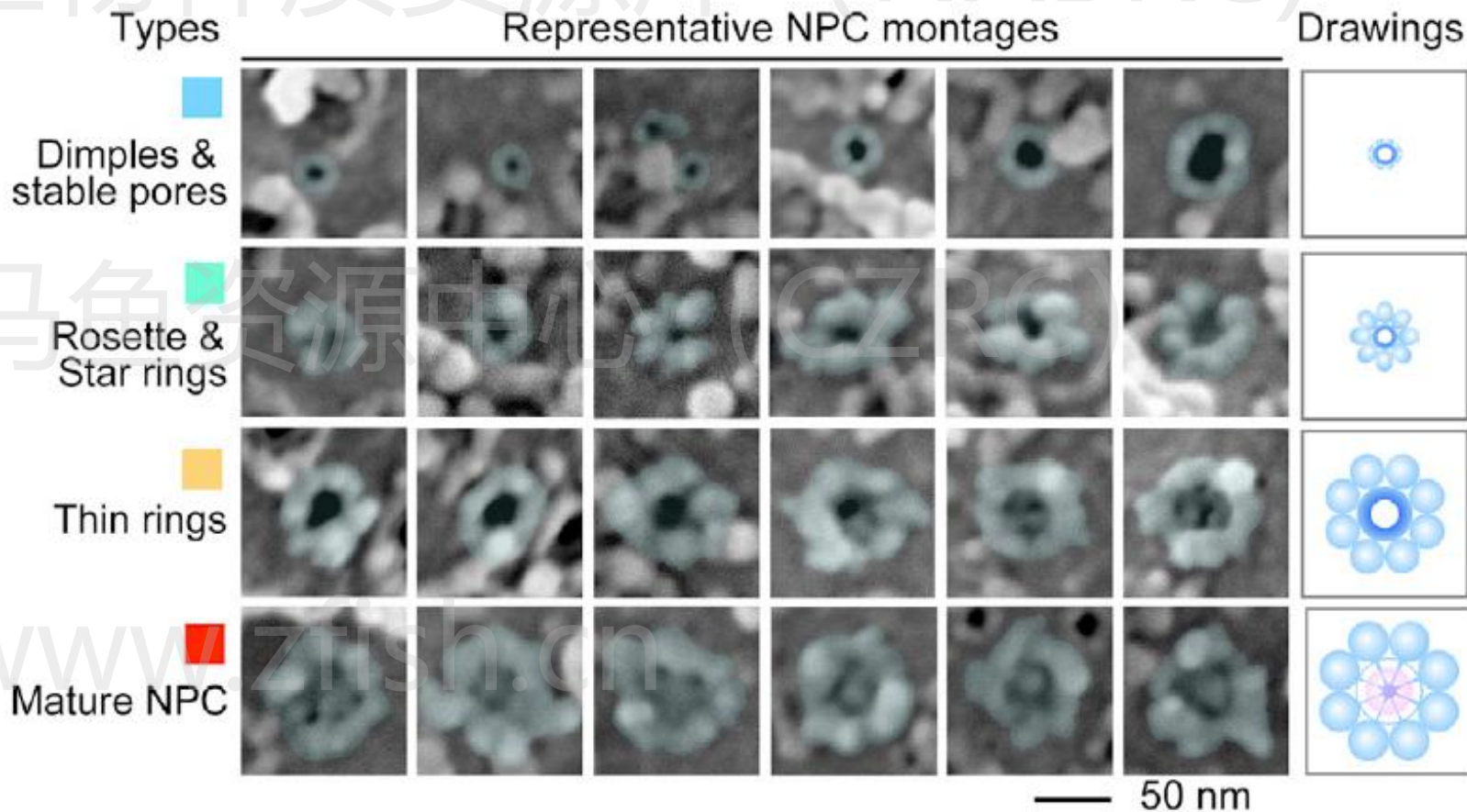
在发育过程中，
核孔蛋白逐渐聚集并成熟

基础研究：核孔成熟调控胚胎发育进程

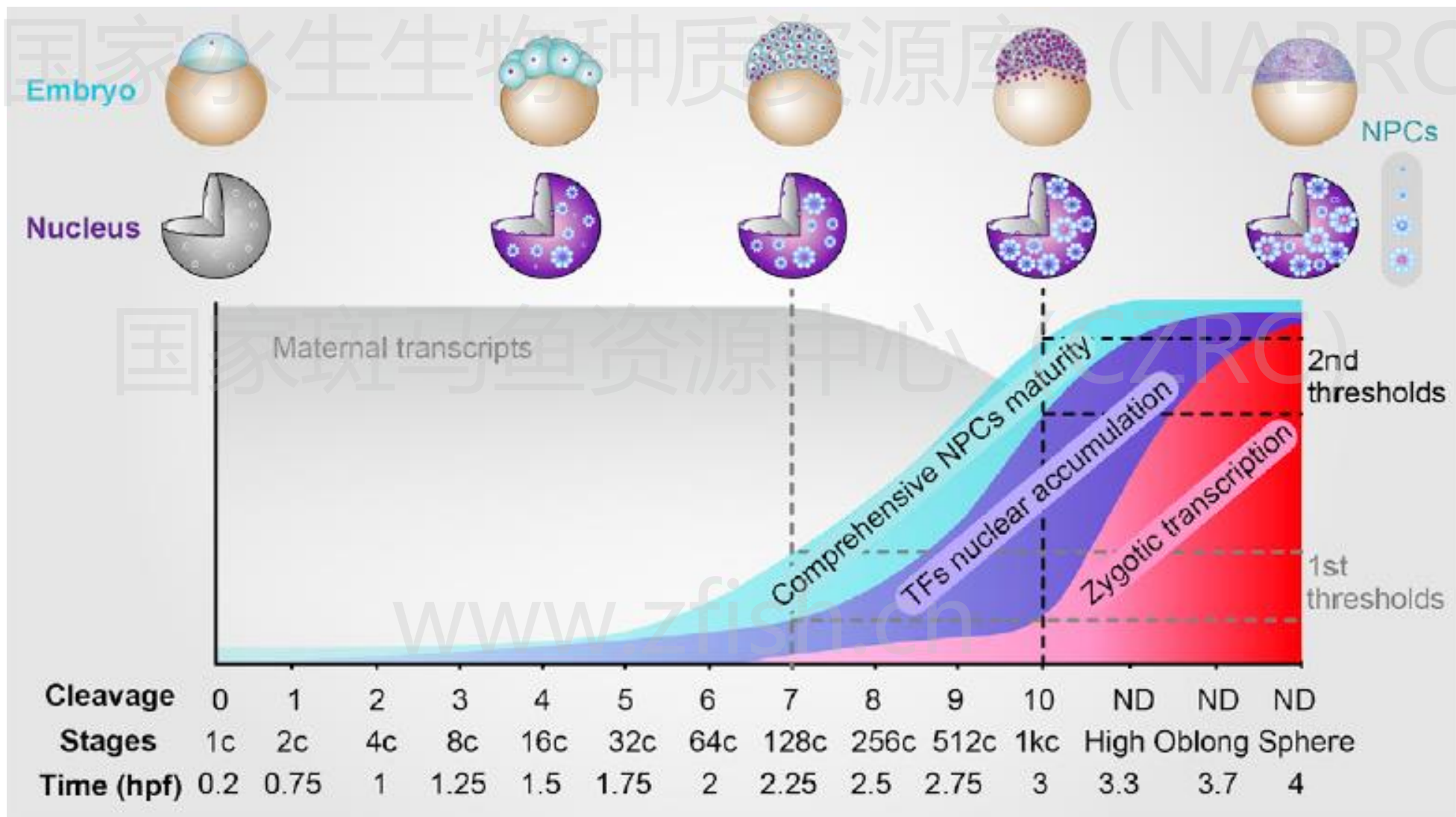
F



G

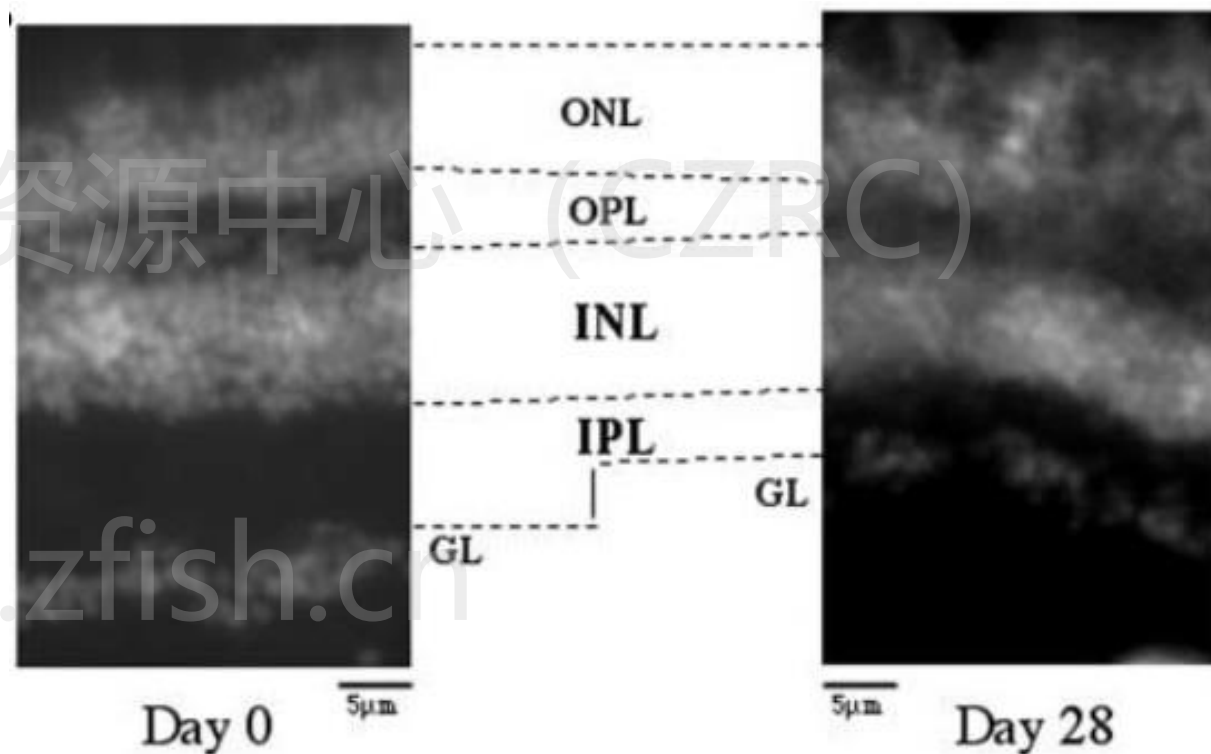


核孔蛋白成熟在ZGA中扮演生物钟



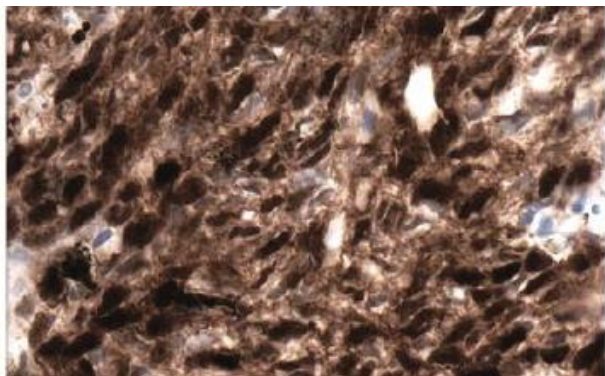
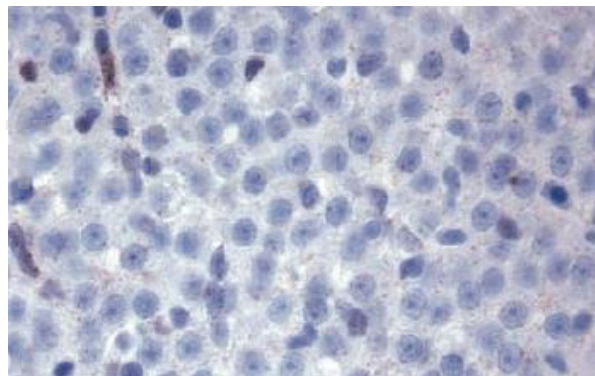
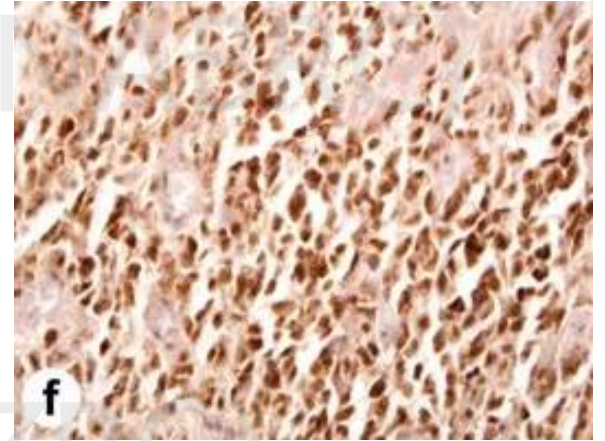
临床研究：构建人类疾病模型

- 遗传发育类疾病
 - 癌症
 - 心血管疾病
 - 肝/肾/代谢相关疾病
 - 感染与免疫模型
 - 肌肉/骨骼相关疾病
 - 血液发生/血液健康类疾病
 - 炎症/凝血/组织再生类疾病
 - 神经系统疾病
- 最简单的疾病模型——以葡萄糖溶液浸泡斑马鱼胚胎
 - 处理28天后，观察糖尿病视网膜膜病变

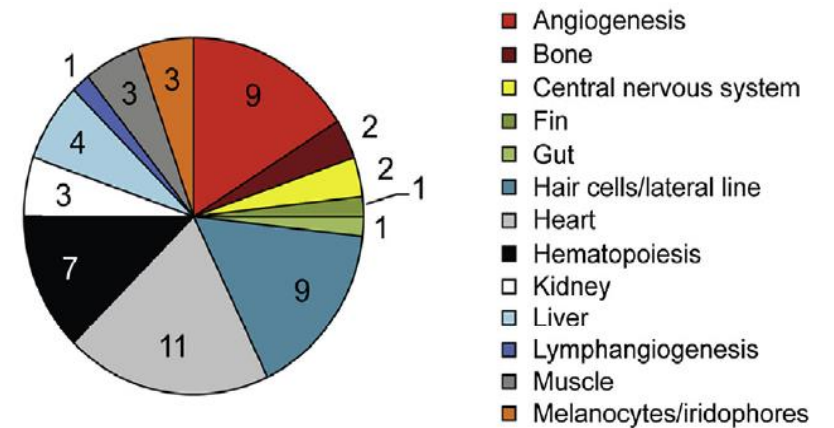
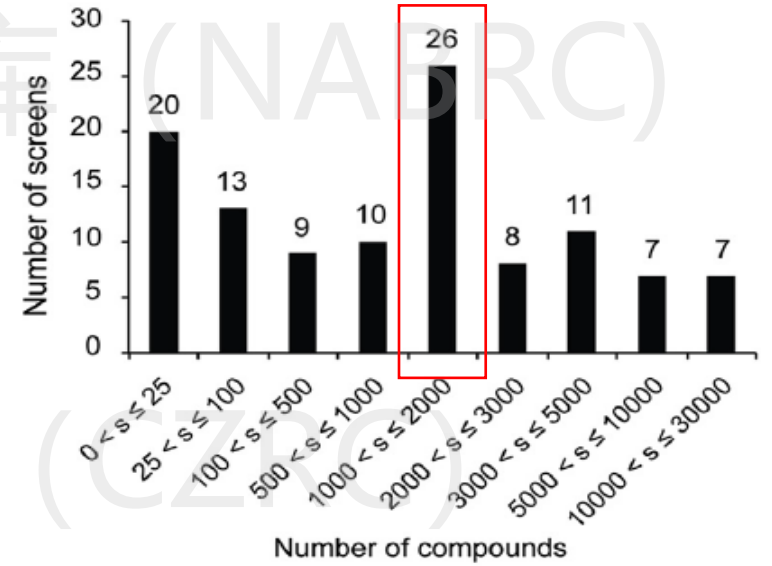
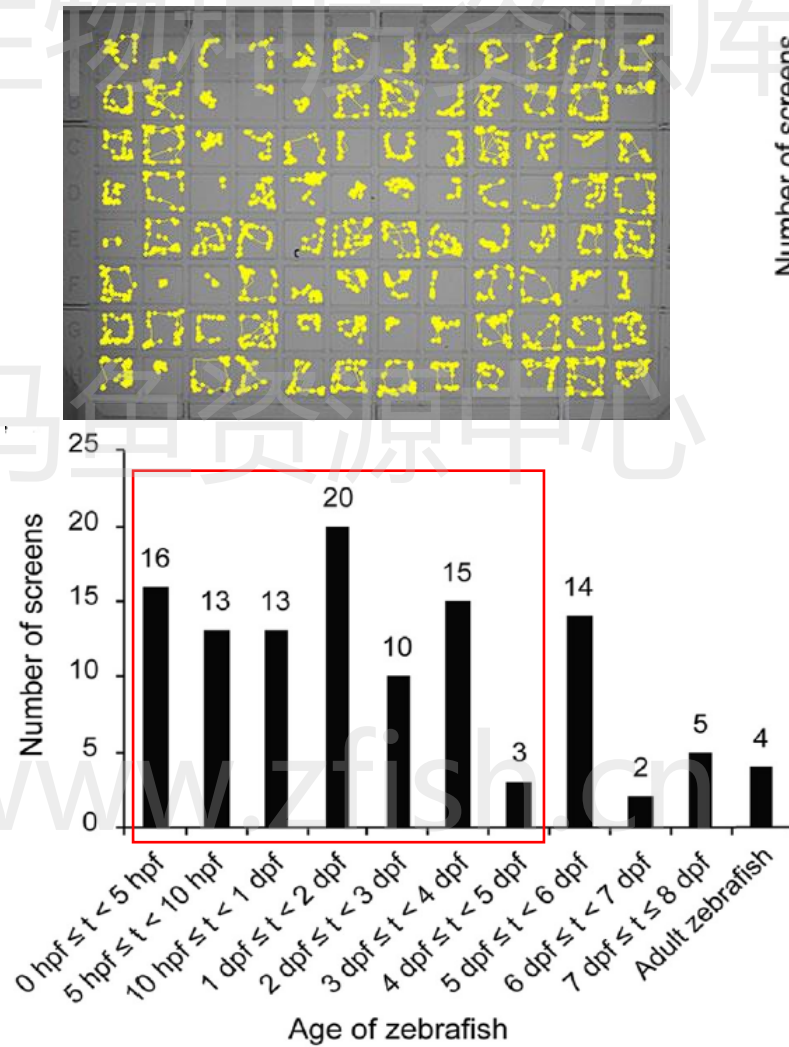
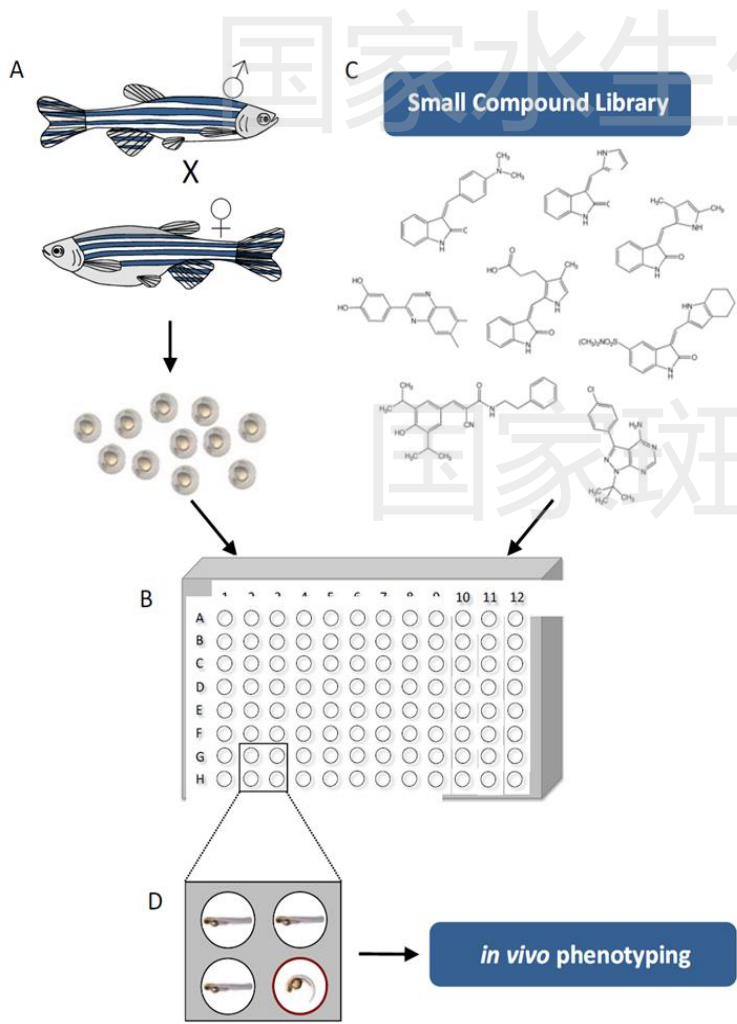


临床研究：构建人类疾病模型

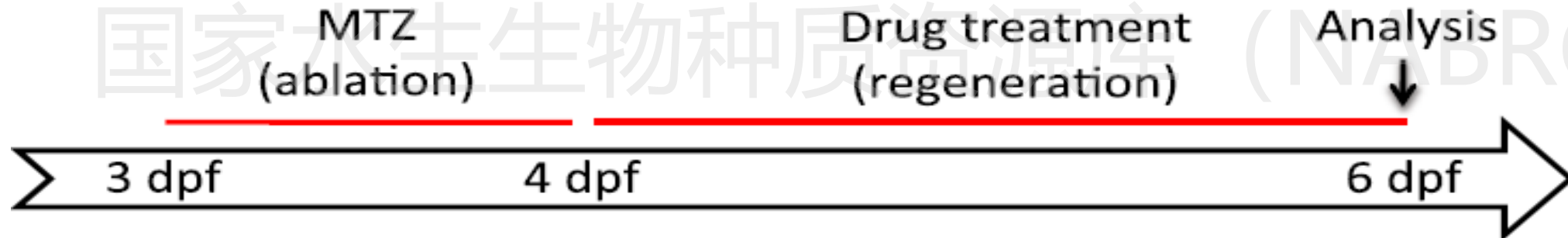
- 遗传发育类疾病
- 癌症
- 心血管疾病
- 肝/肾/代谢相关疾病
- 感染与免疫模型
- 肌肉/骨骼相关疾病
- 血液发生/血液健康类疾病
- 炎症/凝血/组织再生类疾病
- 神经系统疾病



应用研究：新型药物的筛选



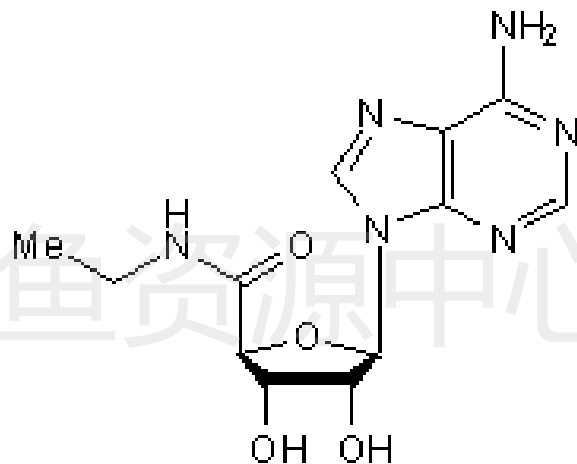
人类疾病模型构建



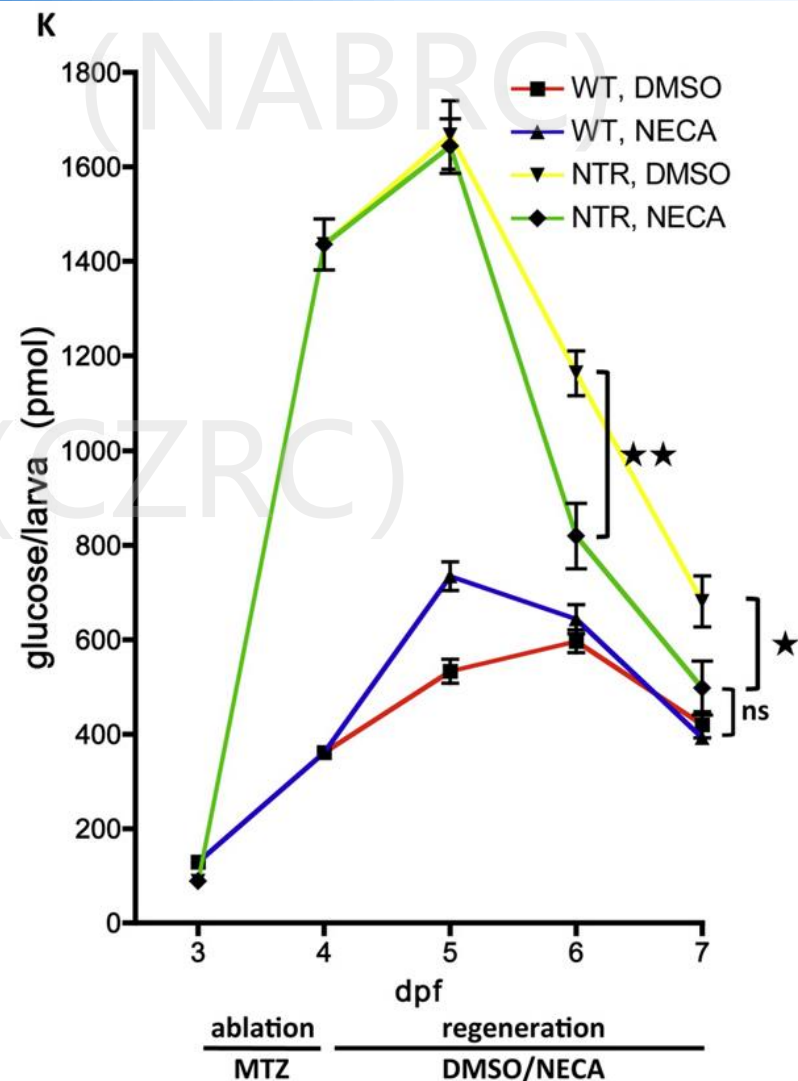
- 斑马鱼在发育的第一周，只有一颗胰岛
- 双重转基因品系：特异性标记胰岛细胞，和特异性在胰岛中产生硝基还原酶（NTR）
- 以甲硝哒唑（Mtz）处理特异性杀灭表达NTR的细胞
- 用药物处理胰岛被破坏的鱼，观察胰岛细胞的再生情况

新型药物筛选

- 7,186 compounds
- ~ 100,000 larvae
- 5 compounds doubled the number of β cells
- 4 of 5 converge on the adenosine signaling pathway
- NECA increases regeneration, not survival by promoting cell proliferation
- NECA helps restoration of a normal free glucose level

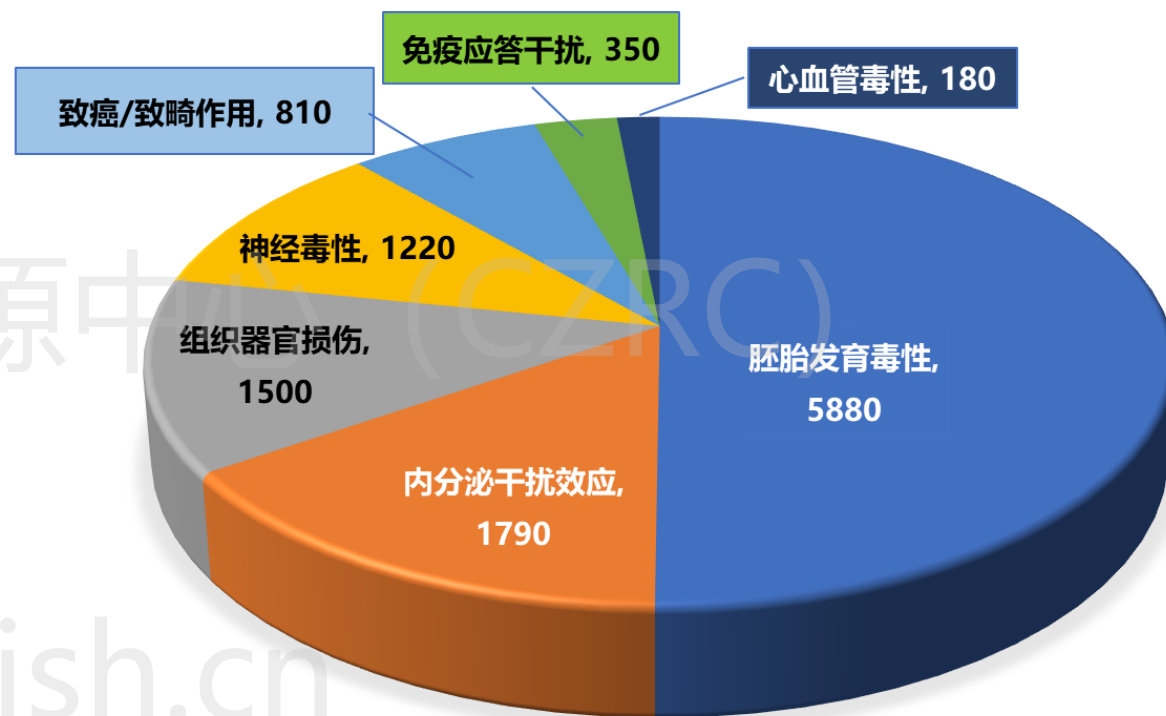
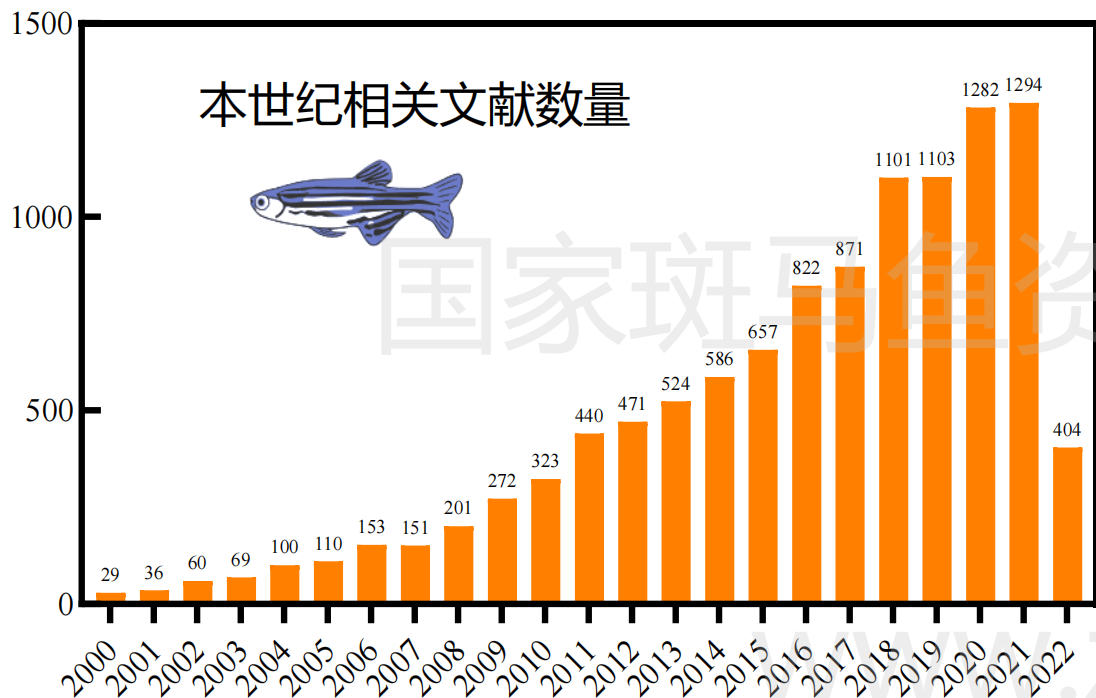


50-N-ethylcarboxamidoadenosine (NECA)



斑马鱼在环境毒理学中应用

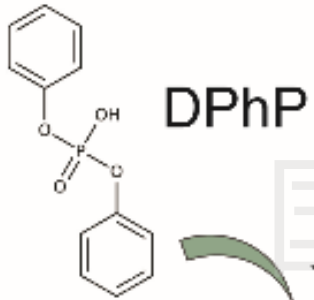
国家水生生物种质资源库 (NABRC)



斑马鱼在环境毒理学中应用

毒性	检测手段举例	参考文献
发育毒性/致畸	发育进程、形态、指标	19486937 20544698
心脏毒性	心律、钙和电压图谱、hERG活性抑制检测	14678746 20657579
肝毒性	肝细胞死亡/功能标志物、肝细胞转录变化	20353558 24388745
肾毒性	组织学检测、胞外体积稳态检测、肾小球过滤荧光标记	21519251 31701443
神经毒性	行为学、神经细胞凋亡/形态、功能成像	20081854 20075256
胃肠道毒性	肠道运动、肠道功能、组织学	18585469 19140958
肌毒性	组织学、他汀药物致病	17992259
致癌性	组织学、形态学、体内肿瘤	17557959 33987182

Life cycle exposure

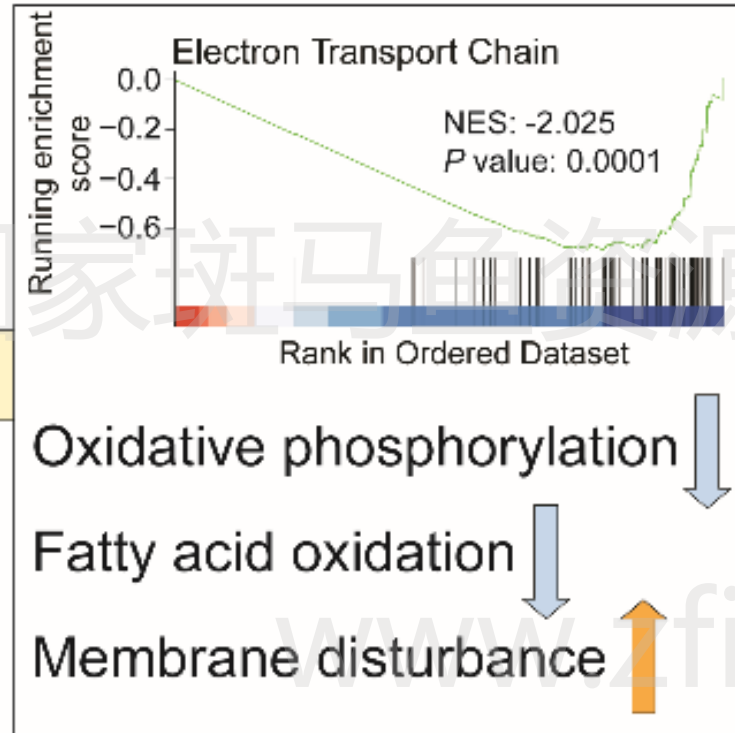


Male

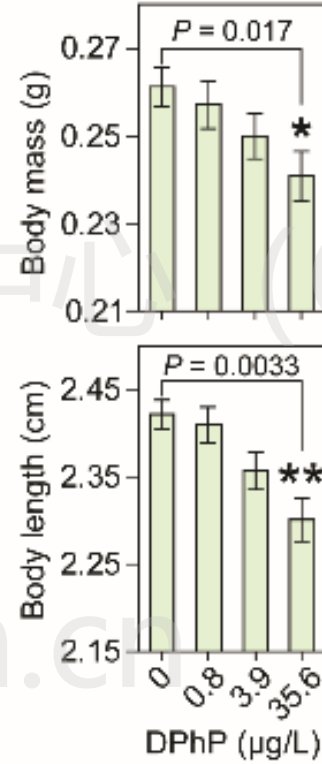


Environmental Concentrations
120 days

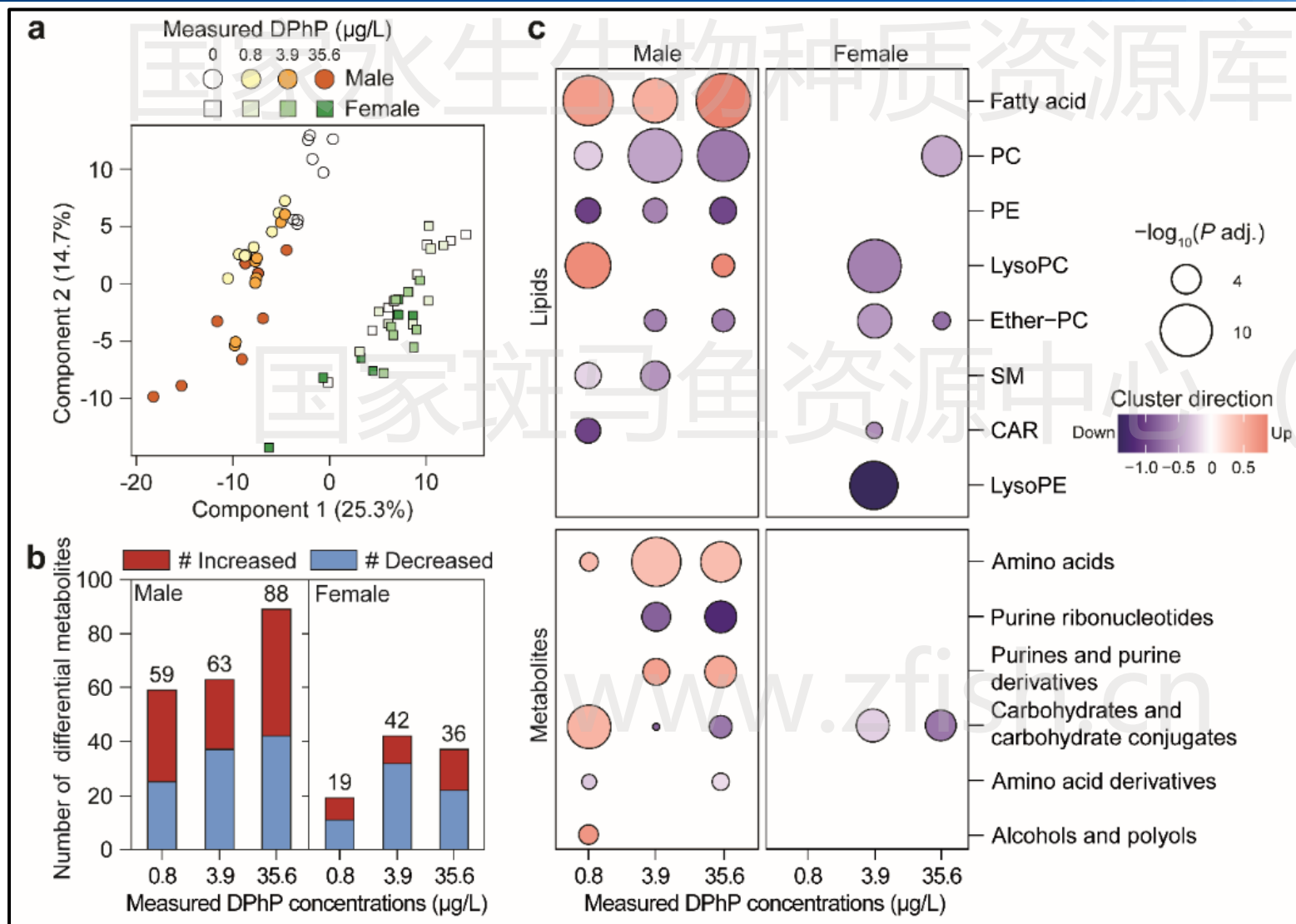
Molecular mechanisms

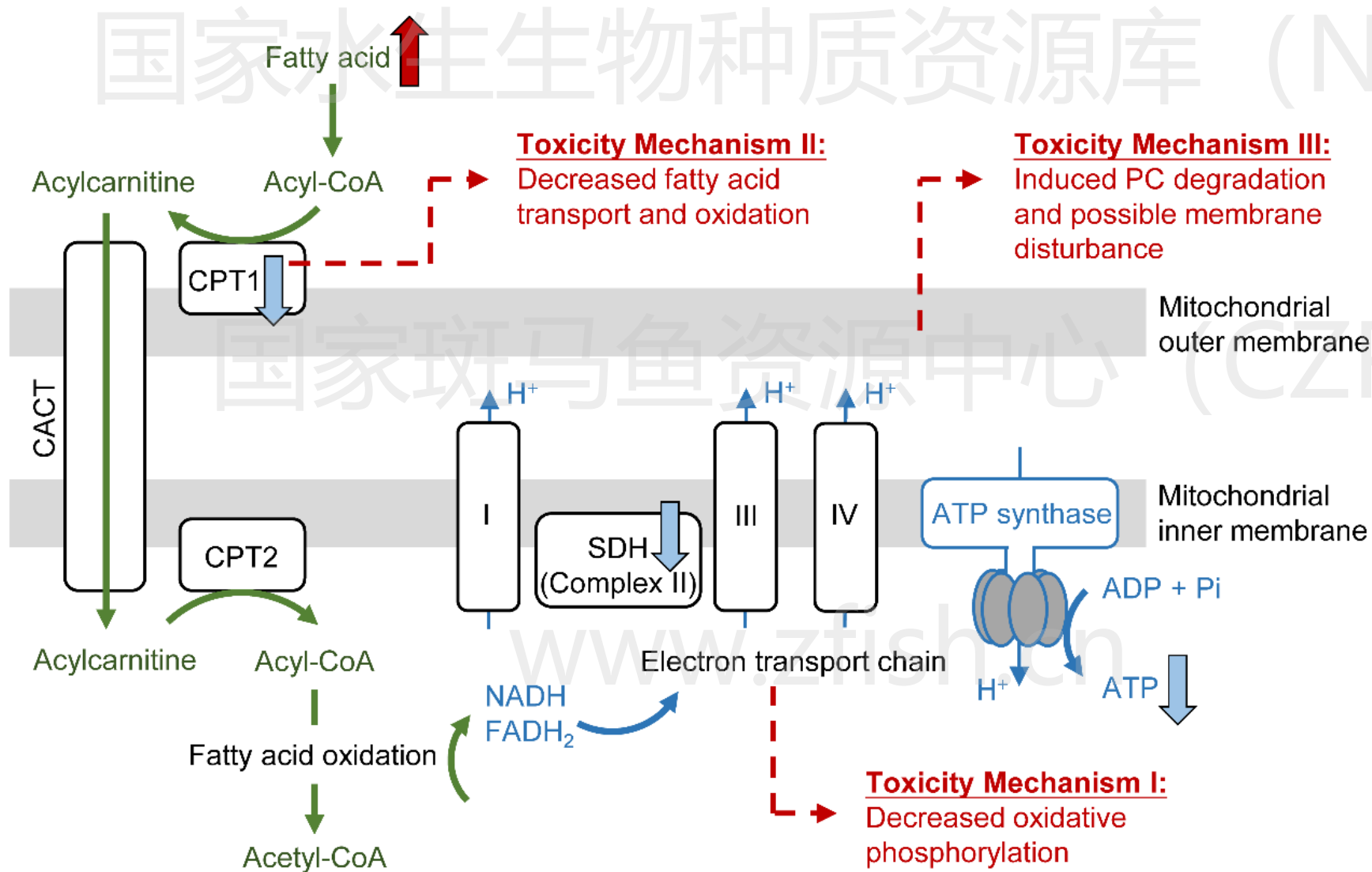


Growth retardation



- OPEs是一类重要的有机磷阻燃剂
- DPhP 是一种新型的 OPEs, 还是多种 OPEs 的降解产物
- DPhP在人体样本(血液和尿液)、室内灰尘、河水、污水处理厂污泥及生活污水中被频繁检出





讲座一、二

- 模式生物斑马鱼的概况
- 斑马鱼的研究历史
- 斑马鱼基因组及遗传学命名
- 斑马鱼研究常用网络资源
- 斑马鱼早期胚胎发育
- 斑马鱼在各类科学研究中的应用

国家水生生物种质资源库 (NABRC)

本讲内容完毕

欢迎交流

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)



国家斑马鱼资源中心
CHINA ZEBRAFISH RESOURCE CENTER



中国斑马鱼信息中心