

人类疾病斑马鱼模型简介

国家水生生物种质资源库 (NABRC)

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

潘鲁湲

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)

更多了解斑马鱼



19期讲

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

用户名 密码 验证码 1Cqg 登录 密码找回 注册

Chinese | English

首页 关于CZRC 资源与订购 技术服务 资源提交 ZKO品系 信息浏览 联系我们

Fish Lines Anything 搜索 搜索CZRC

模块

斑

斑

斑

斑

信息浏览 >> 当前位置：首页 > 信息浏览

技术资料

第十九期全国斑马鱼技术培训会议（2023年5月）资料
(主题：斑马鱼基础实验技术)

第十九期全国斑马鱼技术培训会议培训手册

讲座一 模式动物斑马鱼概论
讲座二 斑马鱼的早期胚胎发育及研究应用

讲座三 斑马鱼胚胎显微注射技术
讲座四 斑马鱼房的建设
讲座五 斑马鱼的饲养与繁育
讲座六 斑马鱼常见鱼病及日常健康维护
讲座七 斑马鱼基因突变技术及遗传鉴定

www.zfish.cn

举例

第一个人类疾病斑马鱼模型

斑马鱼 *sau*

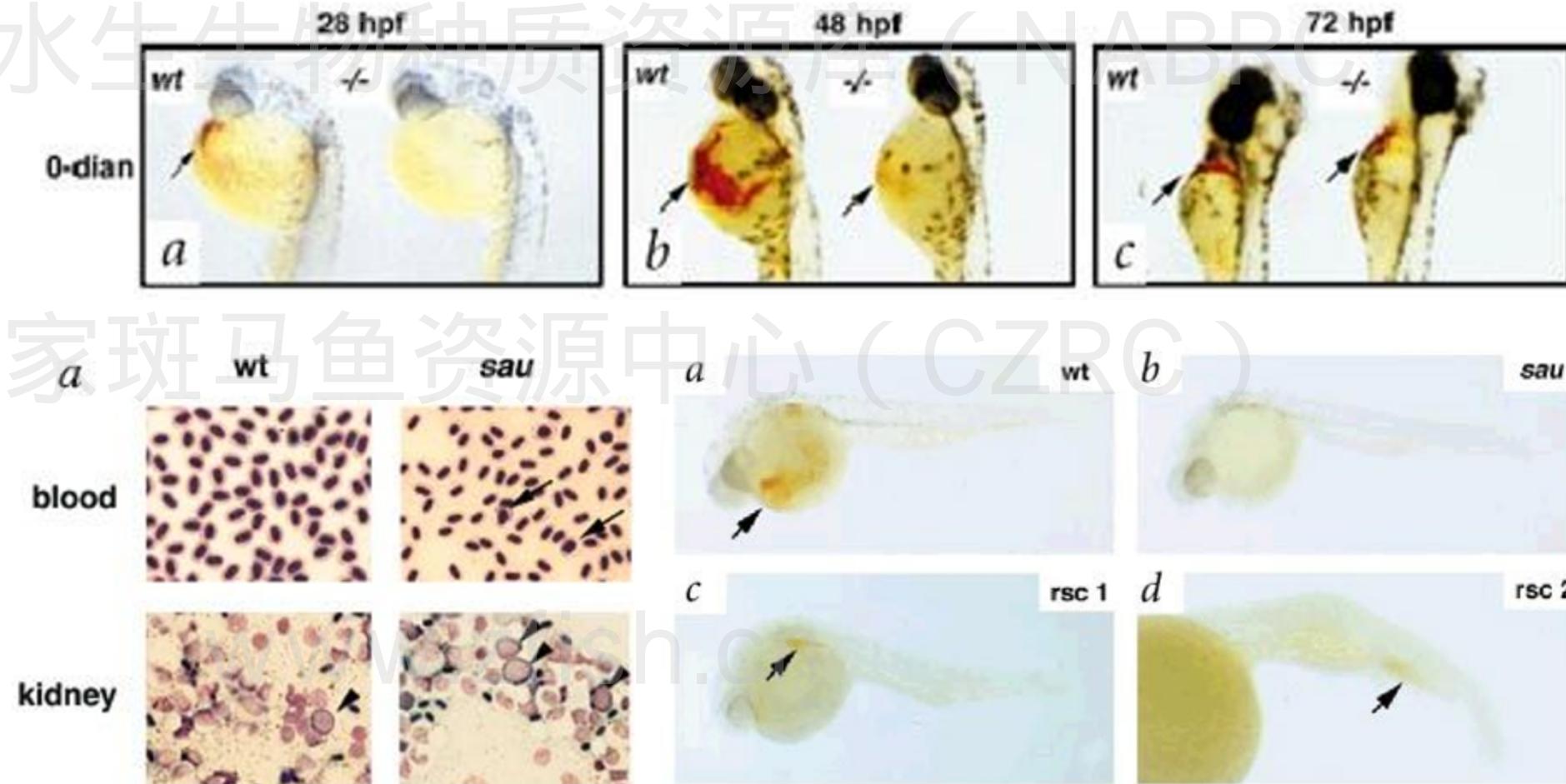
(*alas2*) 突变:

先天性铁粒

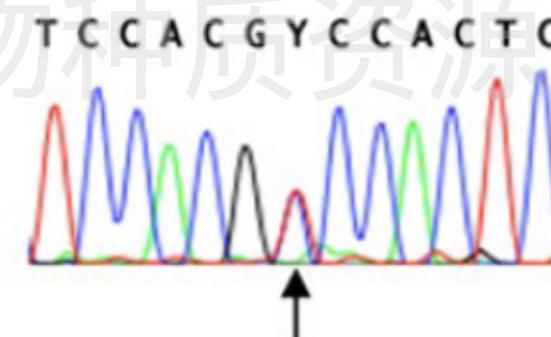
幼细胞贫血症

(congenital
sideroblastic
anaemia) 模

型

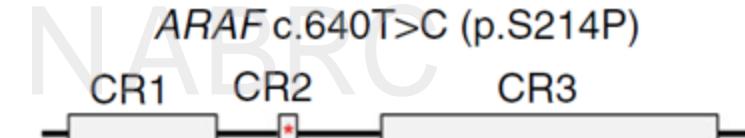


斑马鱼模型应用于精准医疗

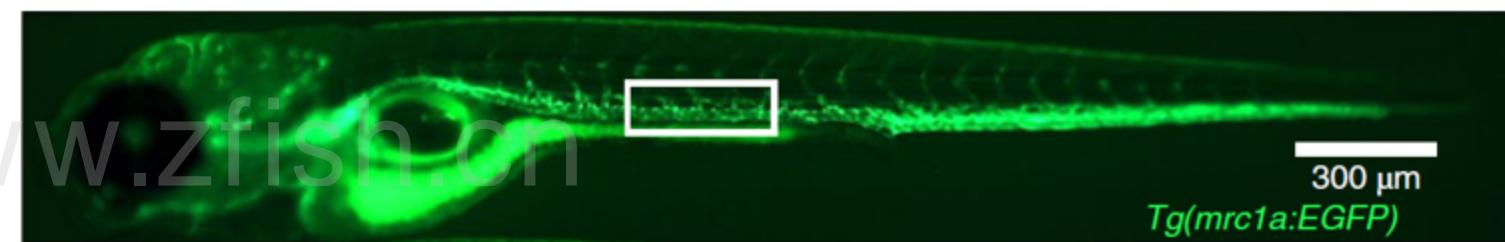


ARAF c.640T>C
(p.S214P)

Human
Rhesus
Mouse
Dog
Elephant
Xenopus tropicalis
Zebrafish



PLQRIRST	S	TPNVHMV
SLQRHRST	S	TPNVHID
--QRLRST	S	TPNVTML



300 μ m

Tg(mrc1a:EGFP)

斑马鱼模型应用于精准医疗

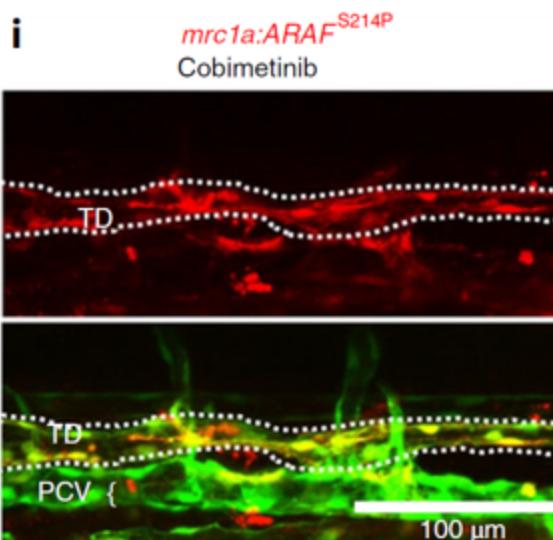
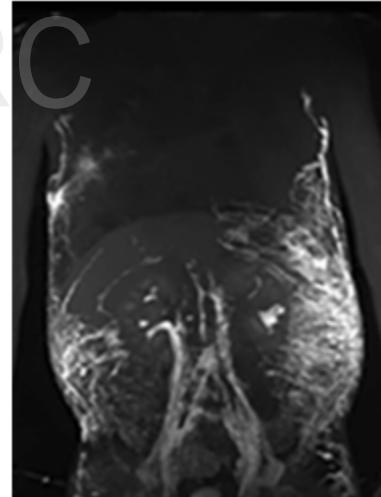
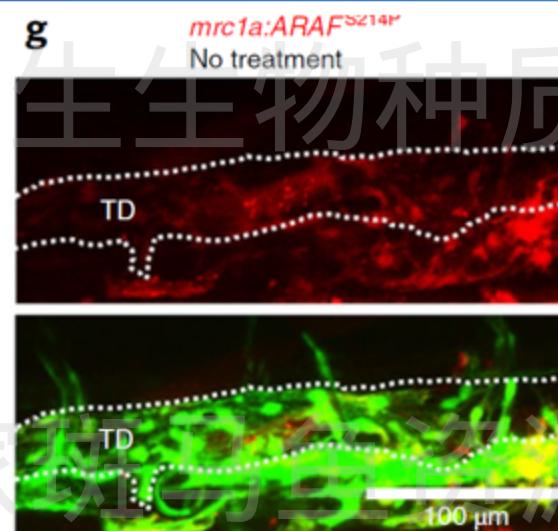
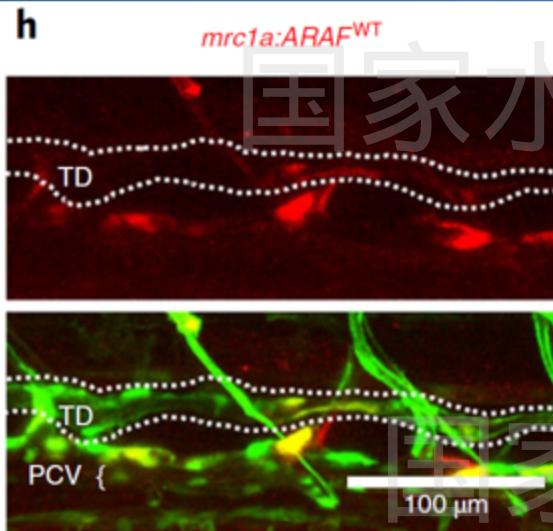


Table 1 | Mutations identified in individuals with lymphatic disorders

Patient	Gene	Mutation	Origin	Gender	Age	Main phenotypic features
3	KRAS	NM_004985.4:c.35G>A:p.(G12D)	Somatic	Male	26 years	Lymphatic abdominal anomaly and protein-losing enteropathy
4	BRAF	NM_004333.4:c.1403T>C:p.(F468S)	Germline	Male	2 months	Lymphatic malformation with cardiofaciocutaneous syndrome and chylothorax
5	RASA1	NM_002890.2:c.475_476del:p.(L159Gfs*20)	Germline de novo	Female	18 months	Lymphatic disorder with chylous pericardial effusion and non-immune hydrops
6	SOS1	NM_005633.3:c.2536G>A:p.(E846K)	Germline de novo	Female	14 years	Noonan syndrome with lymphatic malformation and left pleural effusion
7	PTPN11	NM_002834.3:c.1504T>G:p.(S502A)	Germline de novo	Male	10 months	Noonan syndrome with lymphatic disorder and chronic severe chylothorax
8	PTPN11	NM_002834.3:c.1510A>G:p.(M504V)	Germline	Male	5 years	Noonan syndrome with lymphatic disorder and acute onset of chylous ascites
9	PTPN11	NM_002834.3:c.1530G>C:p.(Q510H)	Germline de novo	Male	17 days	LEOPARD syndrome with lymphangiectasia and respiratory distress

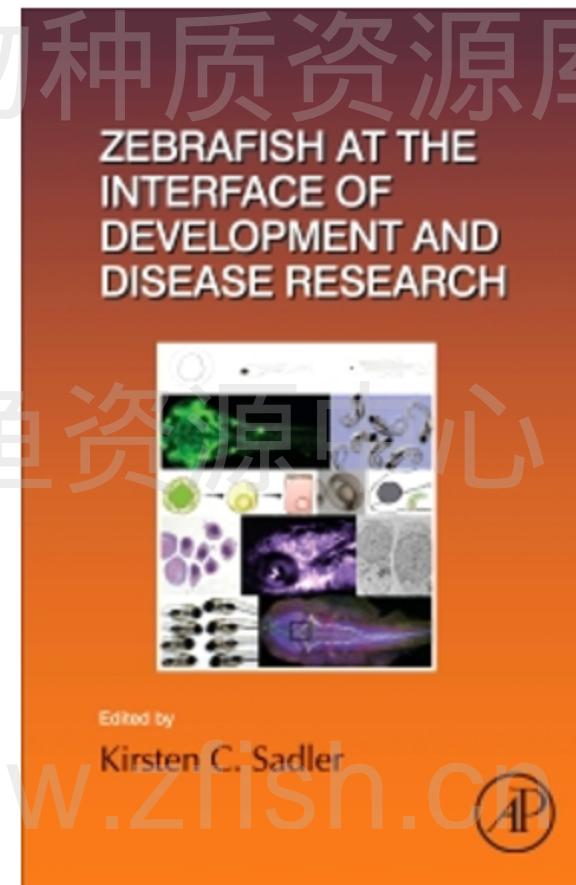
ARAF recurrent mutation causes central conducting lymphatic anomaly treatable with a MEK inhibitor

Dong Li¹, Michael E. March¹, Alvaro Gutierrez-Uzquiza^{1,2}, Charly Kao¹, Christoph Seiler², Erin Pinto³, Leticia S. Matsuoka⁴, Mark R. Battig⁵, Elizabeth J. Bhoj⁶, Tara L. Wenger⁶, Lifeng Tian¹, Nora Robinson⁷, Tiancheng Wang⁸, Yichuan Liu⁹, Brant M. Weinstein¹⁰, Matthew Swift¹¹, Hyun Min Jung⁵, Courtney N. Kaminski¹⁰, Rosetta Chiavacci¹⁰, Jonathan A. Perkins⁷, Michael A. Levine^{5,9}, Patrick M. A. Sleiman¹⁰, Patricia J. Hicks⁹, Janet T. Strausbaugh⁹, Jean B. Belasco^{9,10}, Yoav Dori^{1,8} and Hakon Hakonarson^{1,9,11*}

斑马鱼：强大的人类疾病模型



- 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

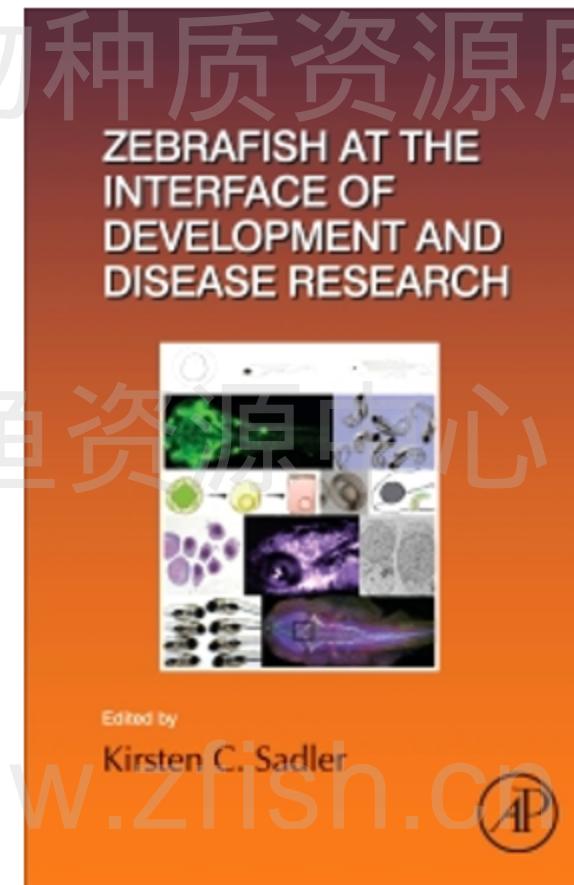


Current Topics in
Developmental Biology,
Volume 124, 2017

- Heart Defects
- Kidney Disease
- Skeletal Diseases
- Hematologic Malignancies
- Liver Regeneration and Disease
- Muscle Disease
- Pancreas and Diabetes
- Infectious Diseases
- Toxicology

斑马鱼：强大的人类疾病模型

- 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



Current Topics in
Developmental Biology,
Volume 124, 2017

- Heart Defects
- Kidney Disease
- Skeletal Diseases
- Hematologic Malignancies
- Liver Regeneration and Disease
- Muscle Disease
- Pancreas and Diabetes
- Infectious Diseases
- Toxicology

人类疾病构建方式



- 构建人类致病基因的同源基因的突变
- 人源化模型
- 转基因模型（标记工具）
- 转基因模型（致病工具）
- 外部干预性模型

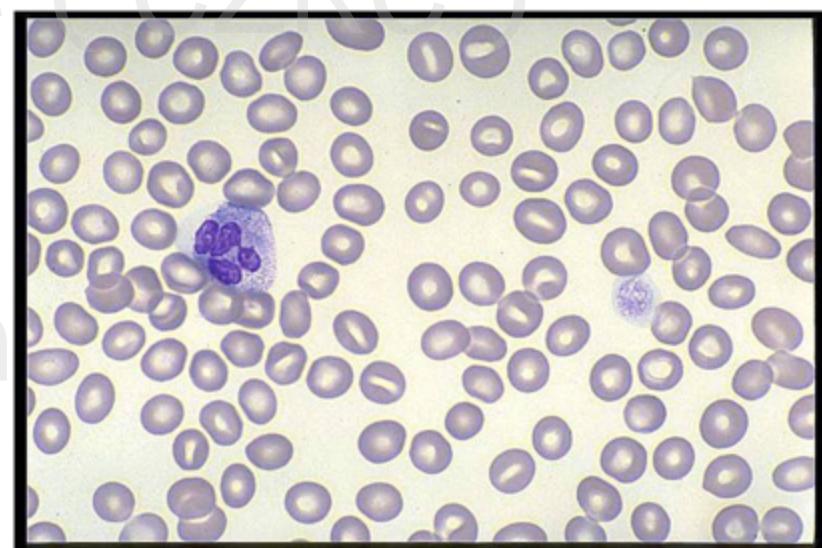
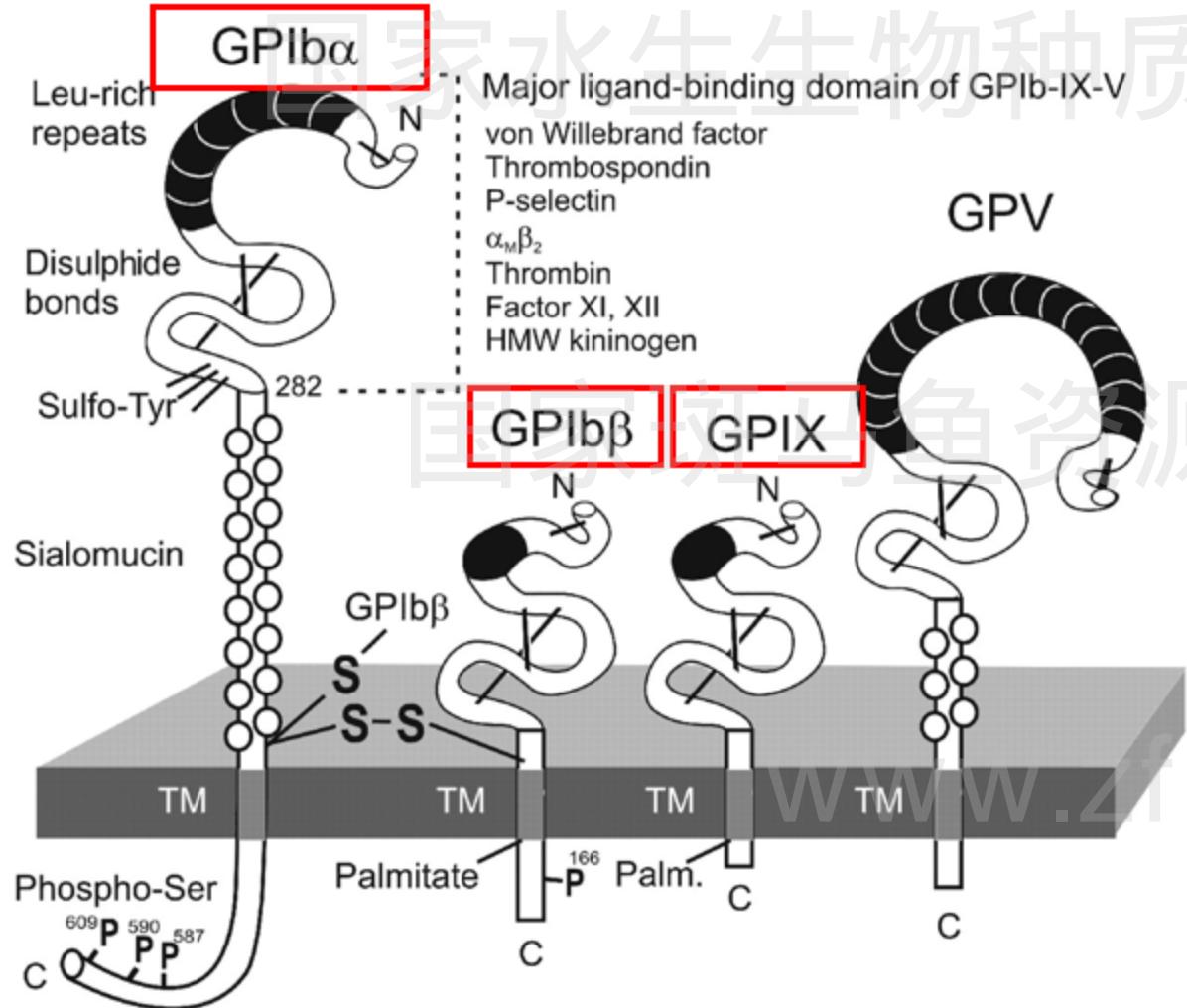
人类疾病构建方式



- 构建人类致病基因的同源基因的敲除
- 人源化模型
- 转基因模型 (标记工具)
- 转基因模型 (致病工具)
- 外部干预性模型

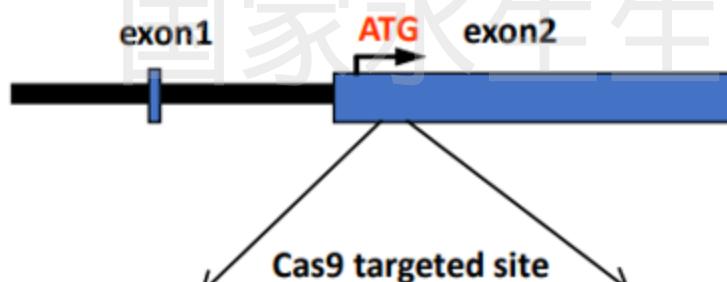
www.zfish.cn

突变模拟人类疾病： $gp9^{smu15}$

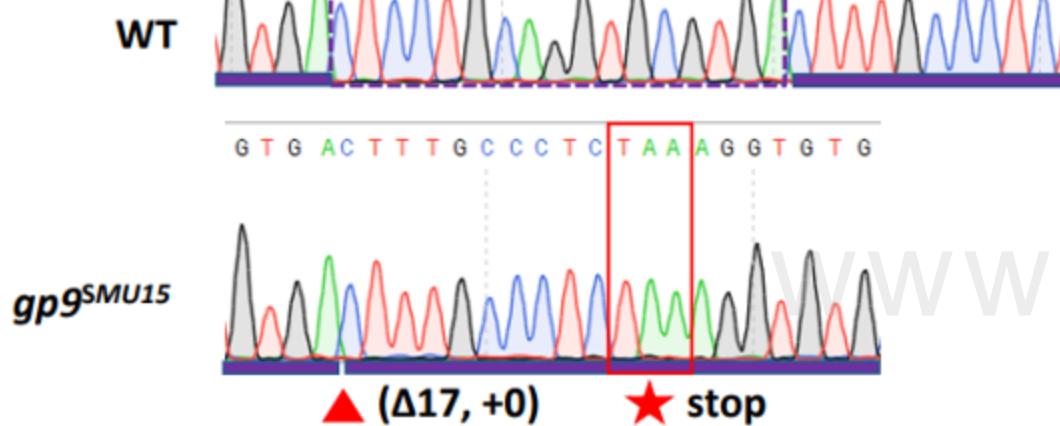


突变模拟人类疾病： $gp9^{smu15}$

A



B



WT

10/13

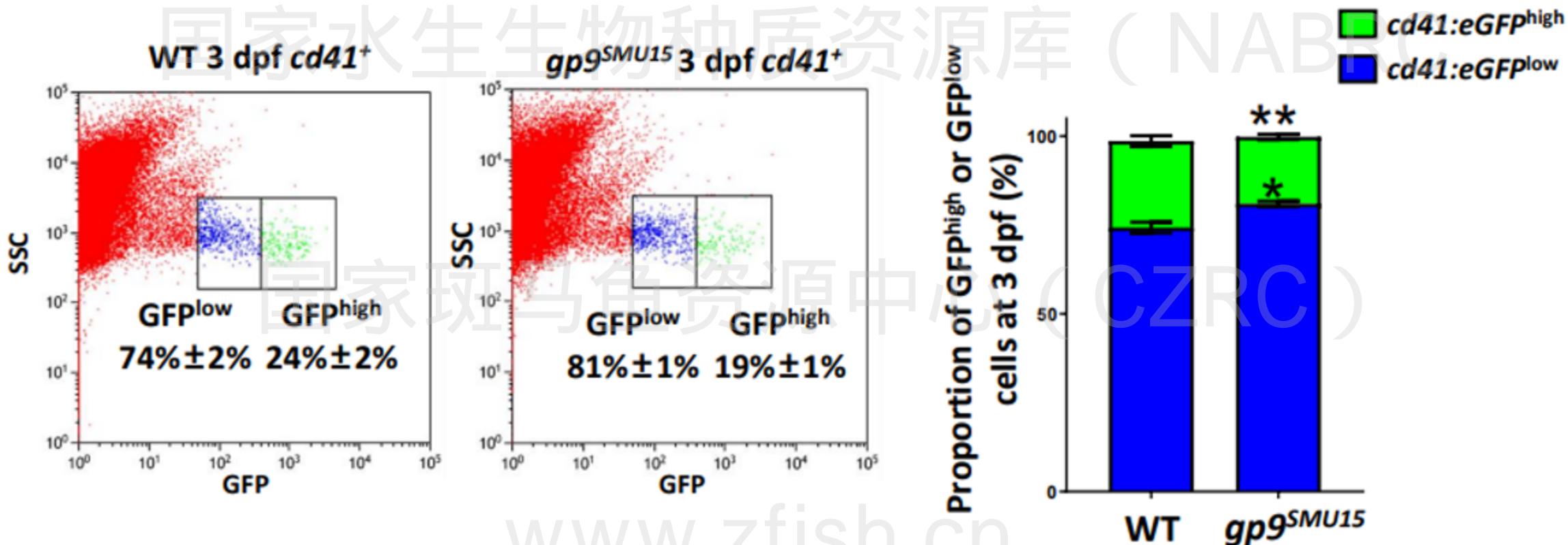
WT



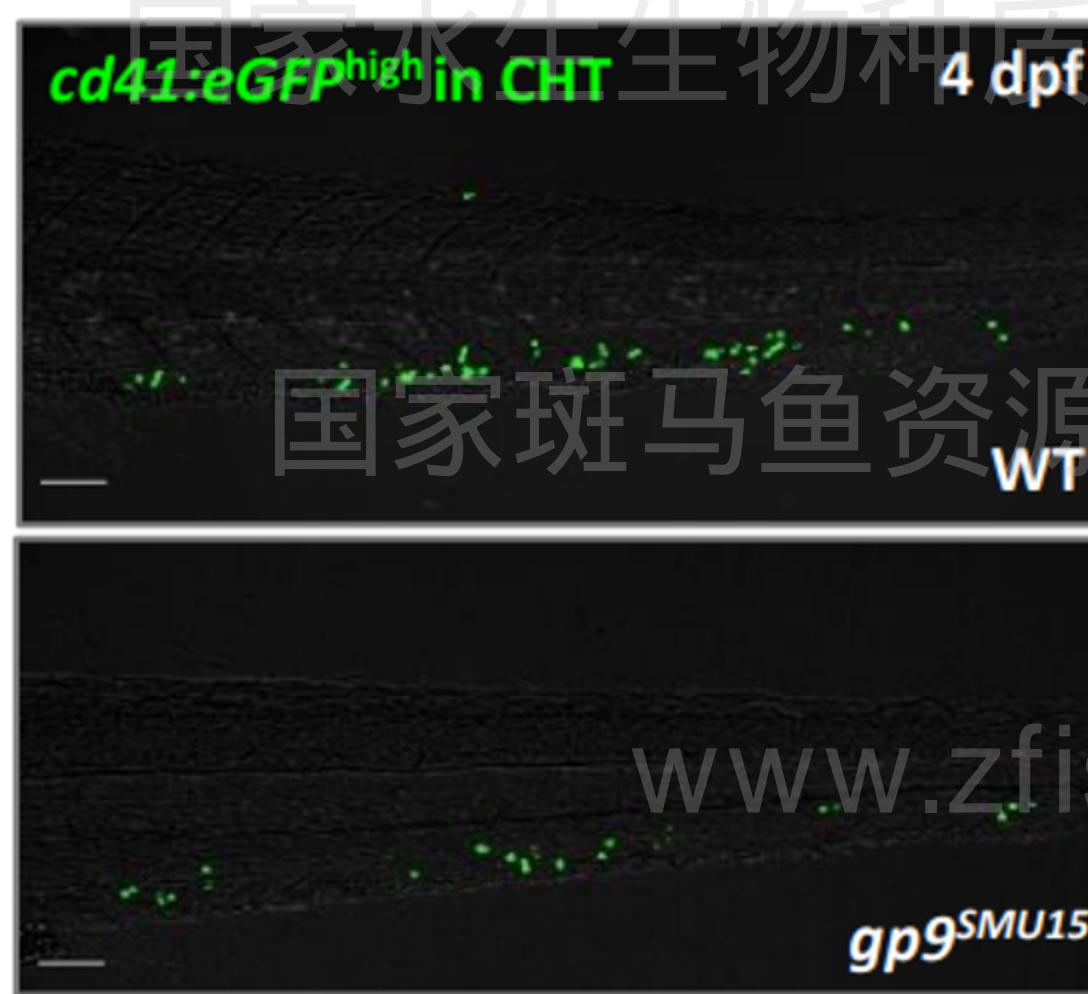
$gp9^{SMU15}$

10/12

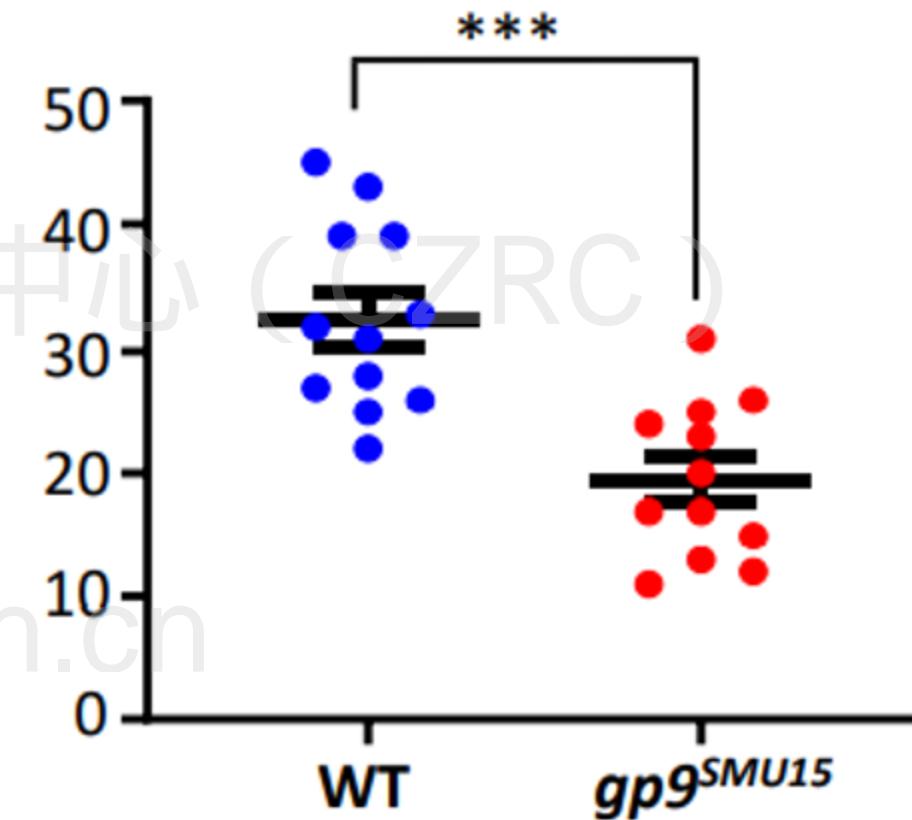
突变模拟人类疾病： $gp9^{smu15}$



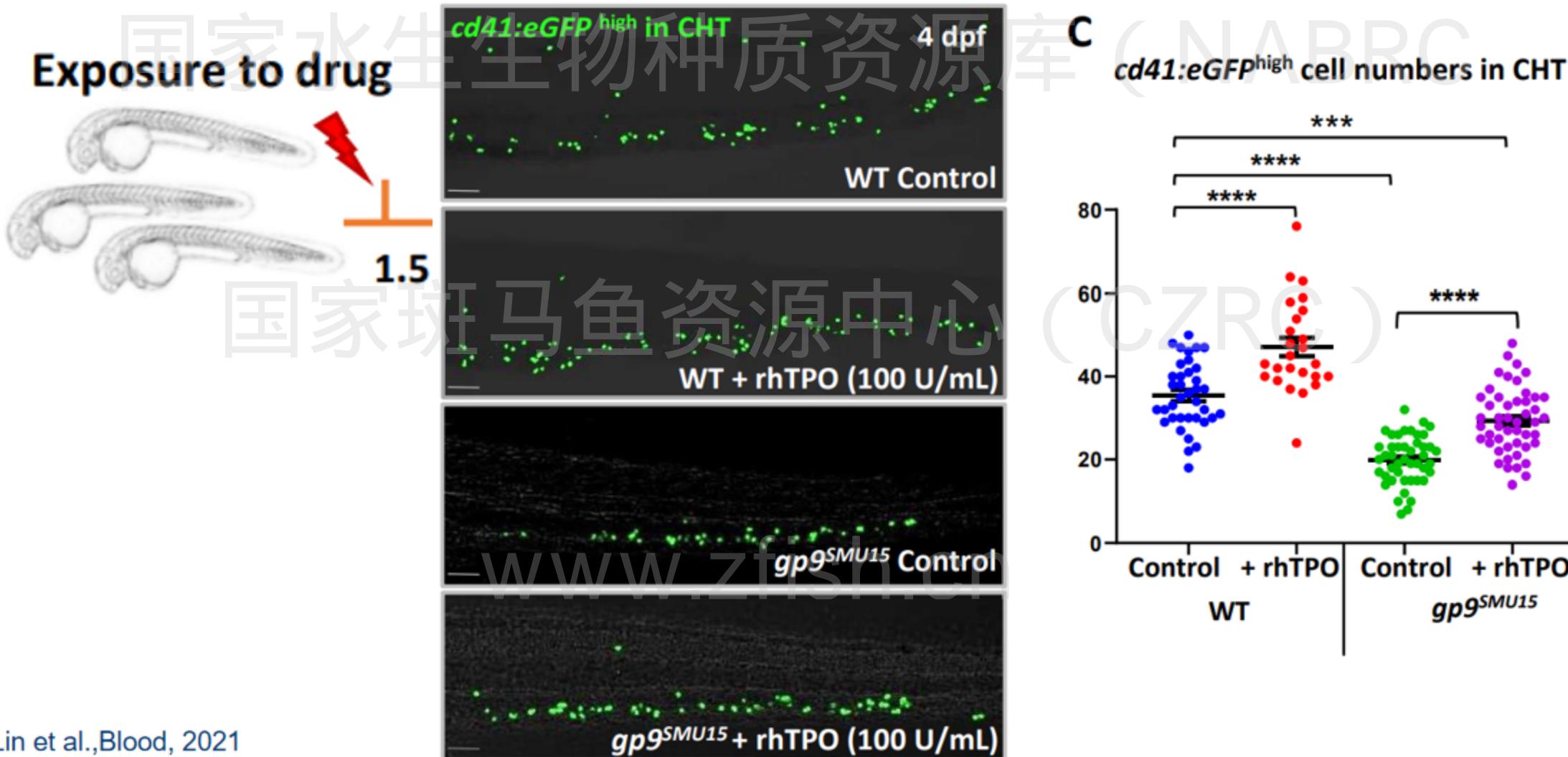
突变模拟人类疾病: $gp9^{smu15}$



No. of 4 dpf $cd41:eGFP^{\text{high}}$ in CHT

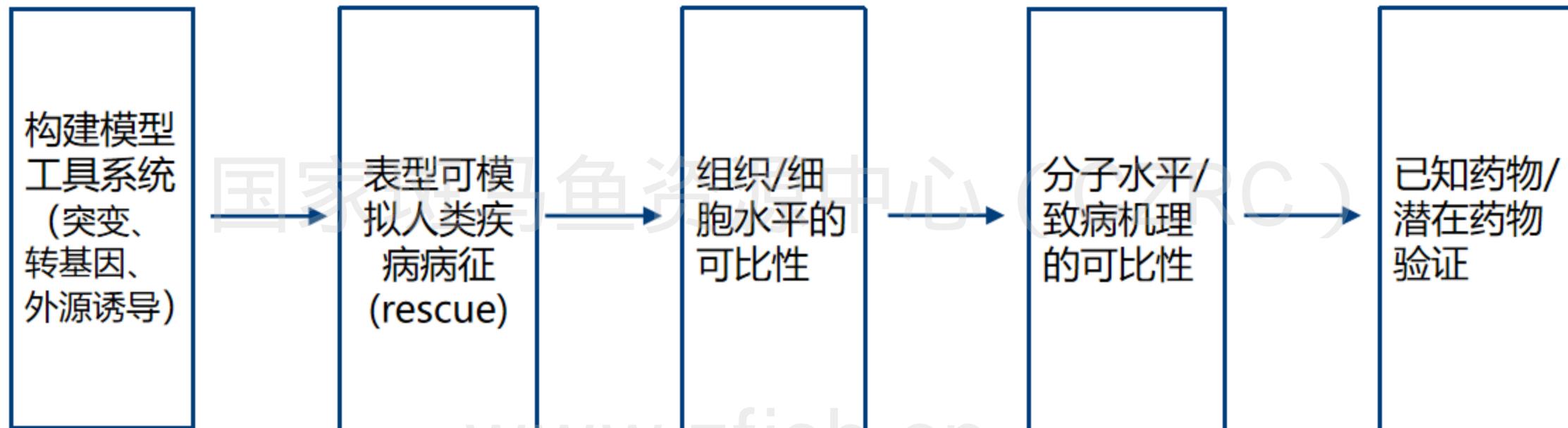


突变模拟人类疾病： $gp9^{smu15}$



疾病模型的基本要素

国家水生生物种质资源库 (NABRC)



人类疾病构建方式

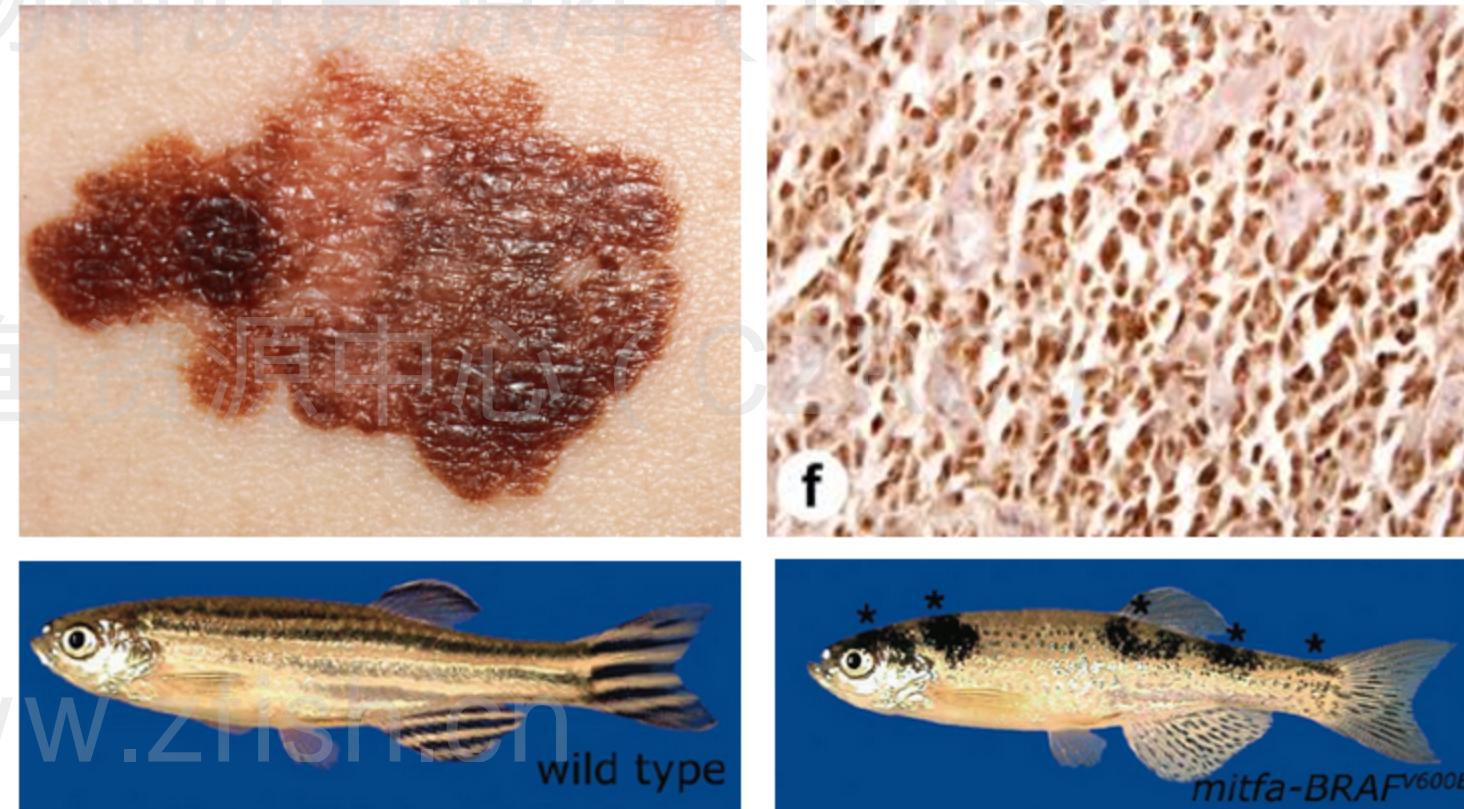


- 构建人类致病基因的同源基因的敲除
- 人源化模型
- 转基因模型 (标记工具)
- 转基因模型 (致病工具)
- 外部干预性模型

www.zfish.cn

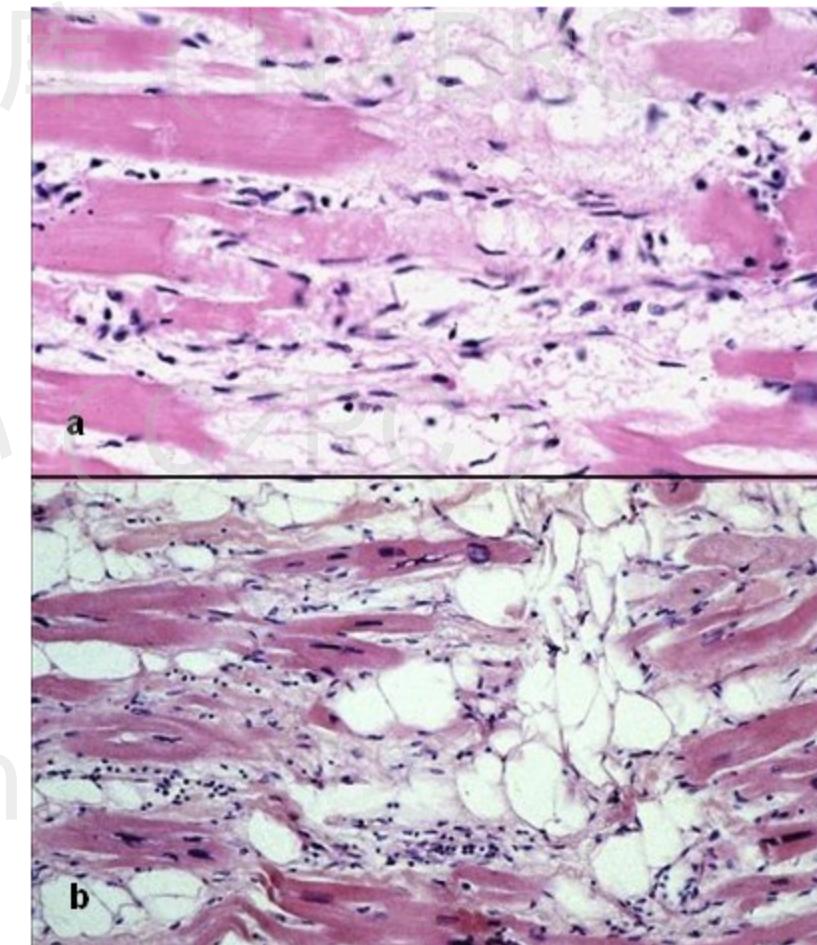
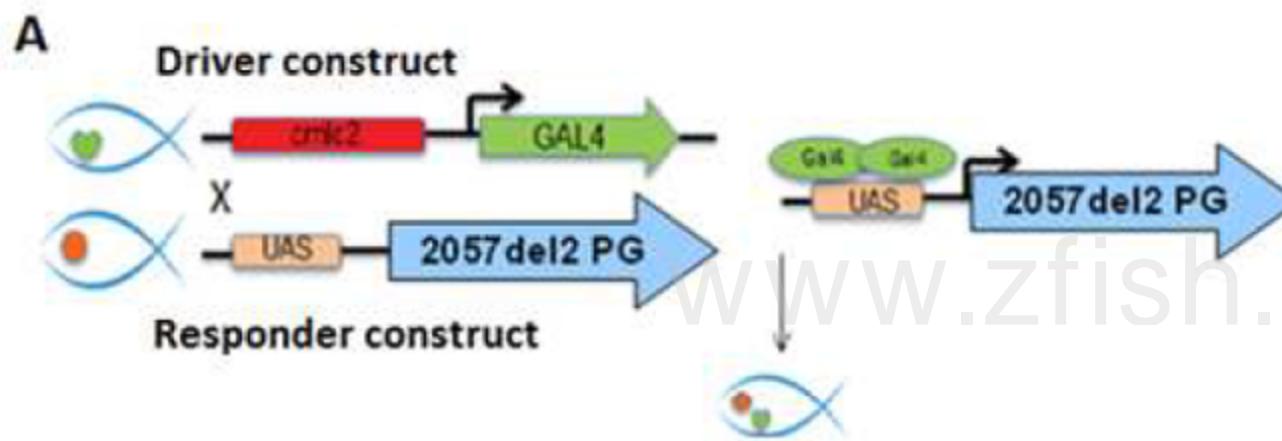
人源化模型： $BRAF^{V600E}$

- 黑色素瘤：黑色素细胞恶变，可发于皮肤、粘膜、内脏
- 已知oncogene, $BRAF$, 是人类黑色素瘤中最常见突变
- 最常见的致癌/抑癌基因，如： $tp53, apc, pten, BRAF$ ，在斑马鱼中都有同源基因
- 在斑马鱼中引入人类 $Tg(mitfa:BRAF^{V600E})$ 突变



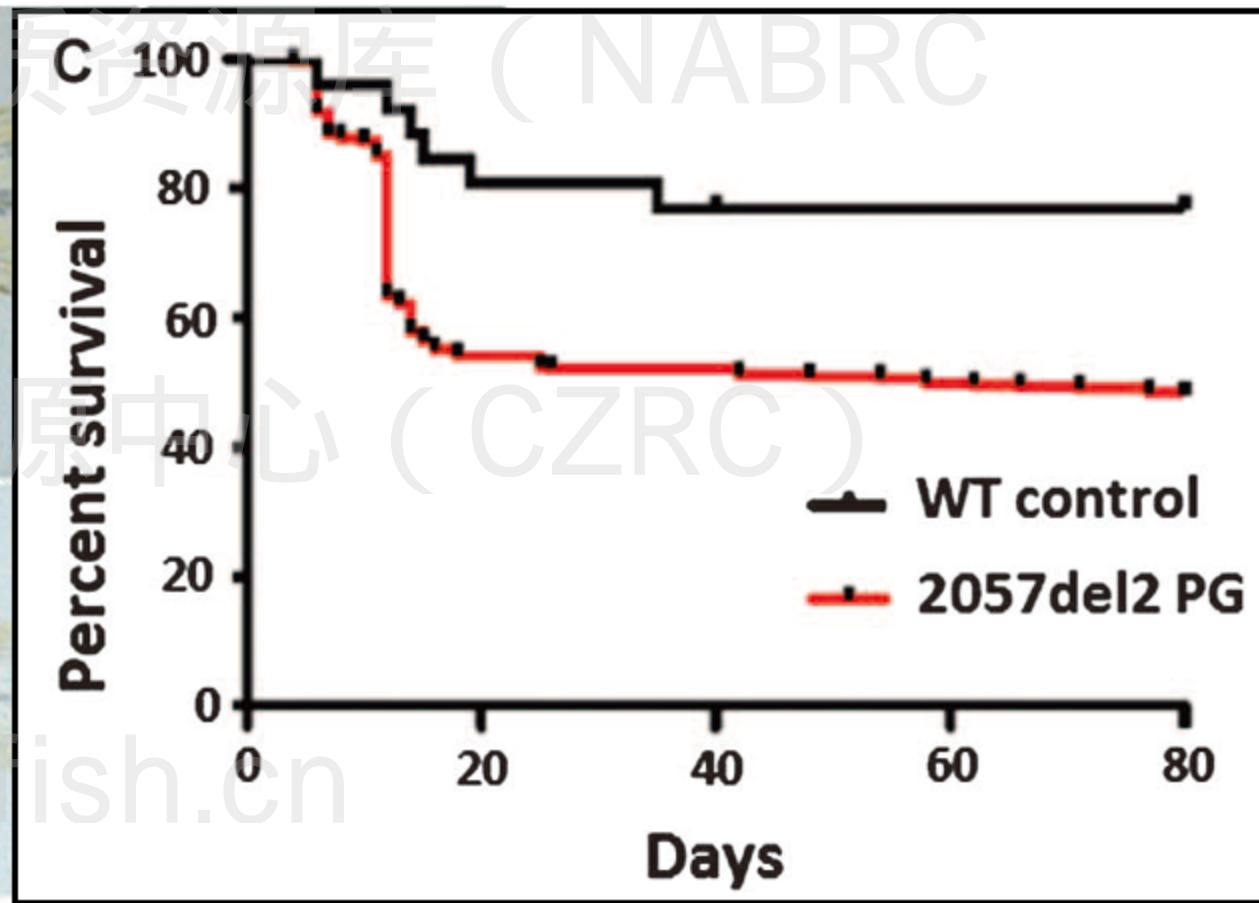
人源化模型： $JUP^{2057del2}$

- 致心律失常性心肌病 (ACM)，是青年人猝死的一种重要原因
- 已知细胞桥粒蛋白 (*plakoglobin*, JUP) 的变异，引发心肌细胞病变，是ACM的重要原因

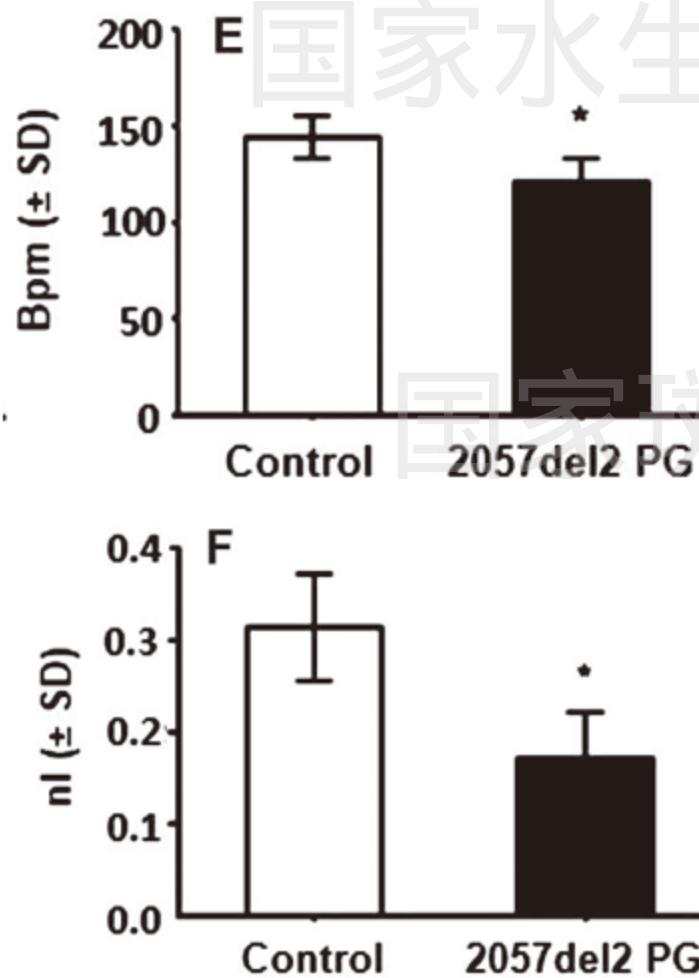


人源化模型： $JUP^{2057del2}$

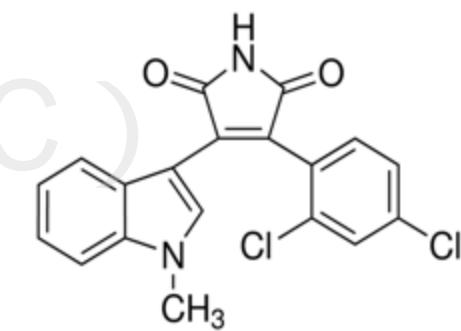
Control sibling
 $2057del2$ PG



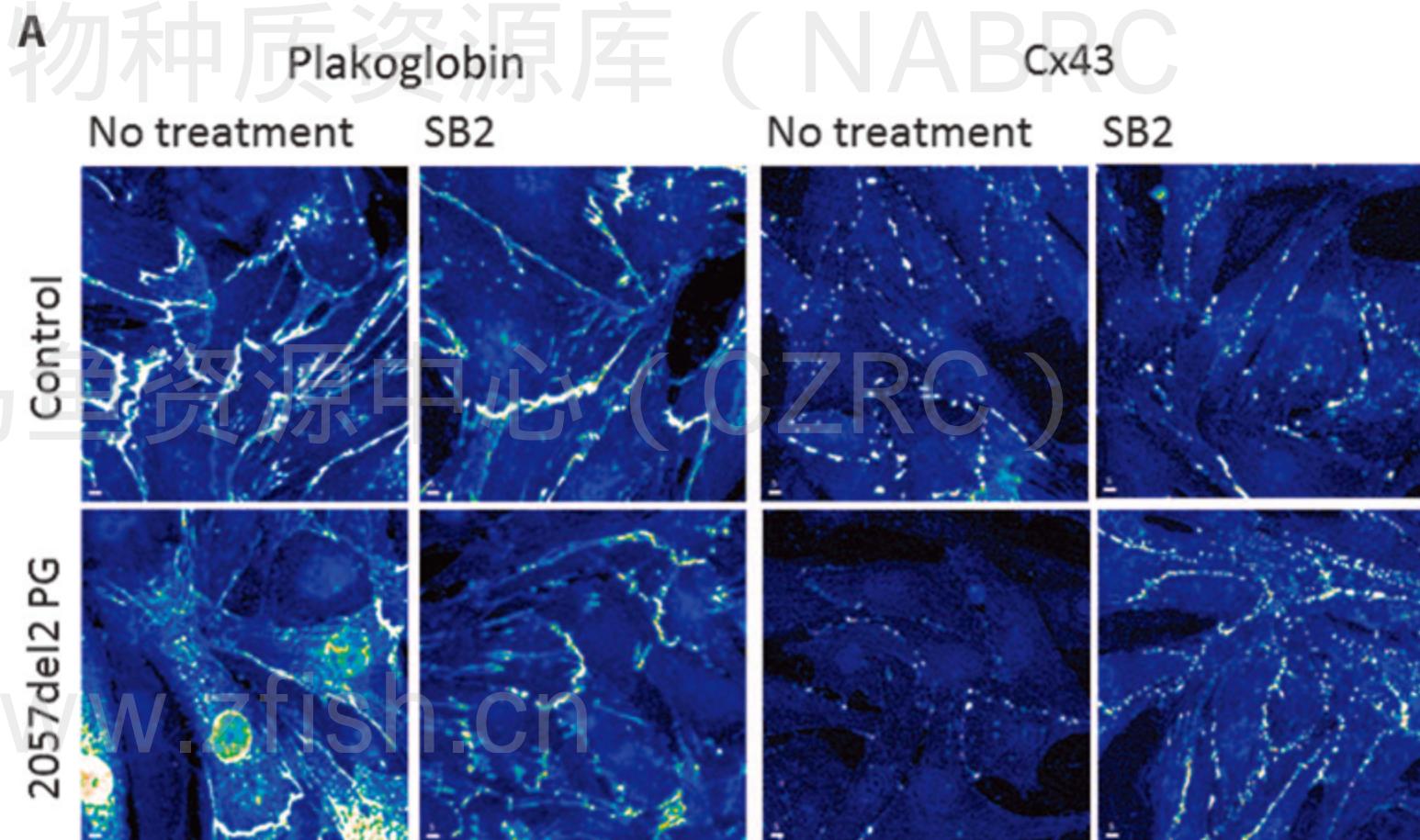
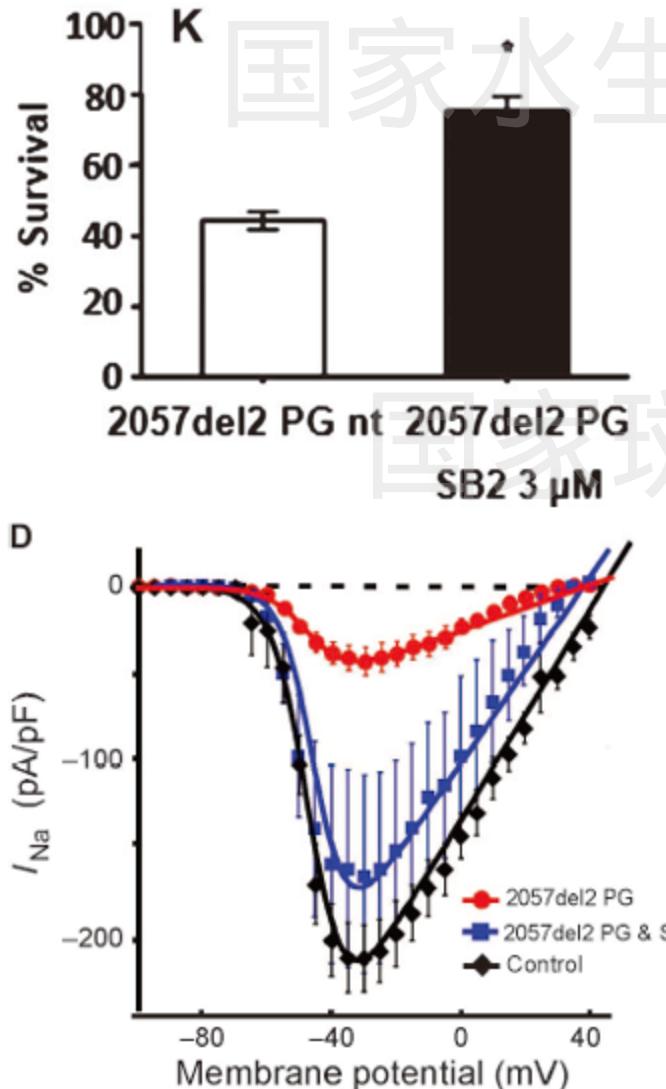
人源化模型： $JUP^{2057del2}$



- 4200 small molecules
- 25 larvae per compound
- 50 hits first round
- >50 larvae per compound in second test
- 3 compounds confirmed
- Best candidate: SB216763



人源化模型： $JUP^{2057del2}$



人类疾病构建方式



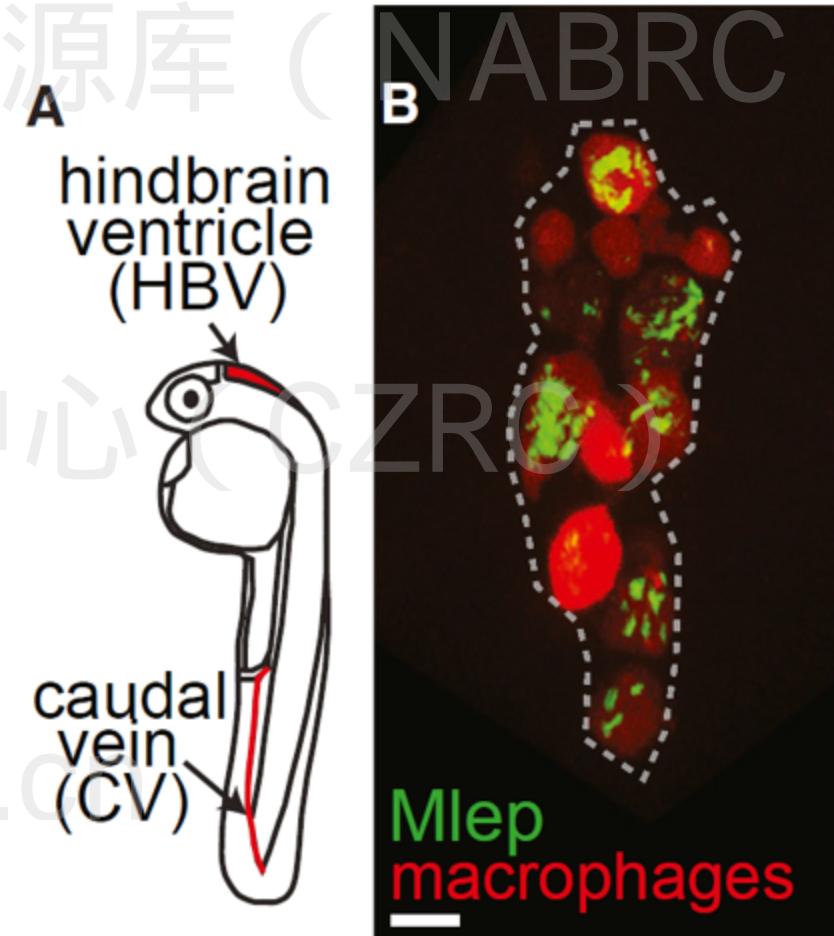
- 构建人类致病基因的同源基因的敲除
- 人源化模型
- 转基因模型 (标记工具)
- 转基因模型 (致病工具)
- 外部干预性模型

www.zfish.cn

转基因工具：荧光标记免疫学过程

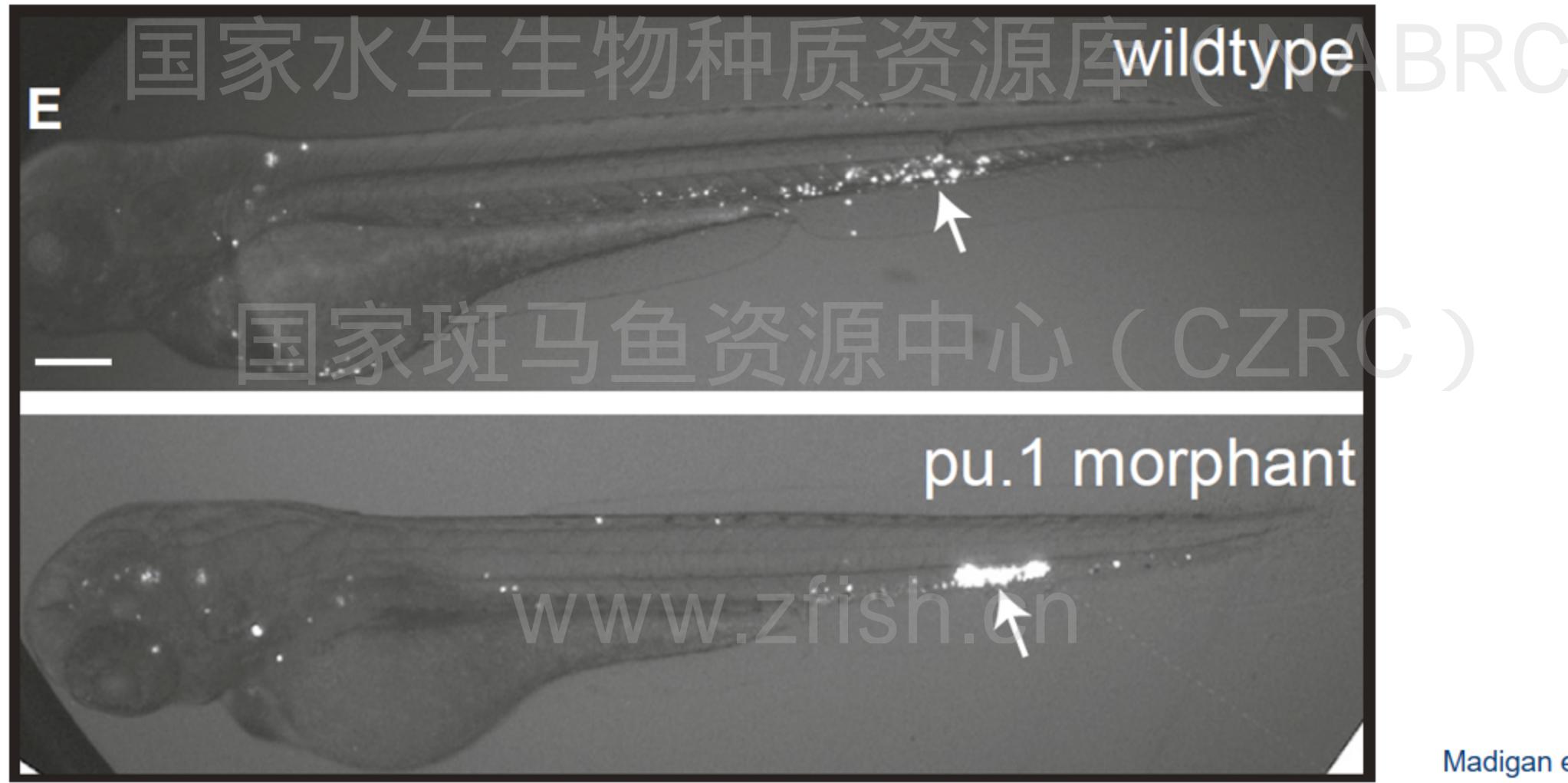


- 血管标记: *Tg(kdrl:dsRed)*
- 成髓鞘鞘胶质细胞: *Tg(mbp:CAAX-GFP)*
- 巨噬细胞: *Tg(mpeg1:Rainbow)*
- 中性粒细胞: *Tg(lyz:EGFP)*
- 巨噬细胞: *Tg(mpeg1:YFP)*
- 荧光标记细菌



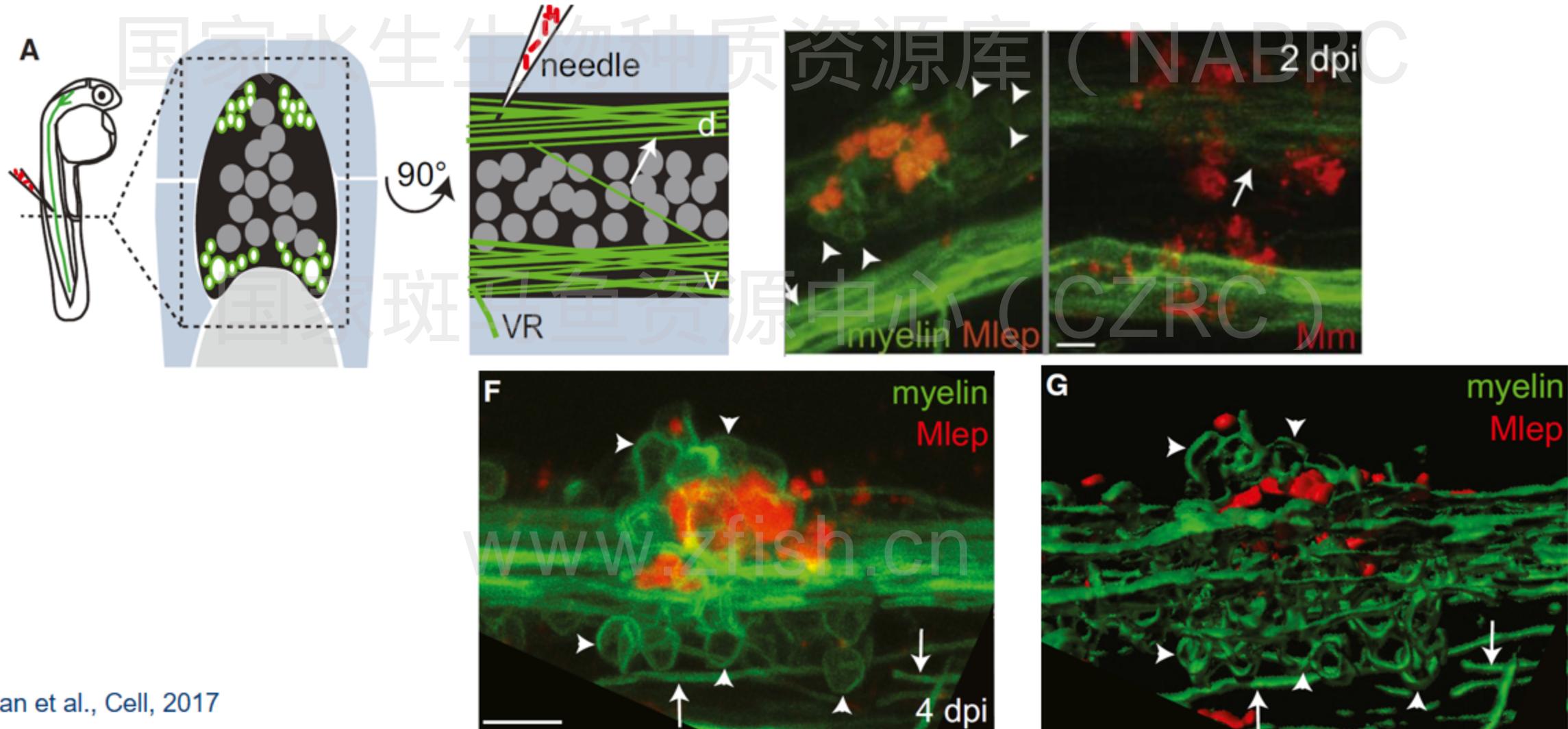
Madigan et al., Cell, 2017

转基因工具：荧光标记免疫学过程



Madigan et al., Cell, 2017

转基因工具：荧光标记免疫学过程



转基因工具：荧光标记免疫学过程



国家水生生物种质资源库 (NABRC)

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

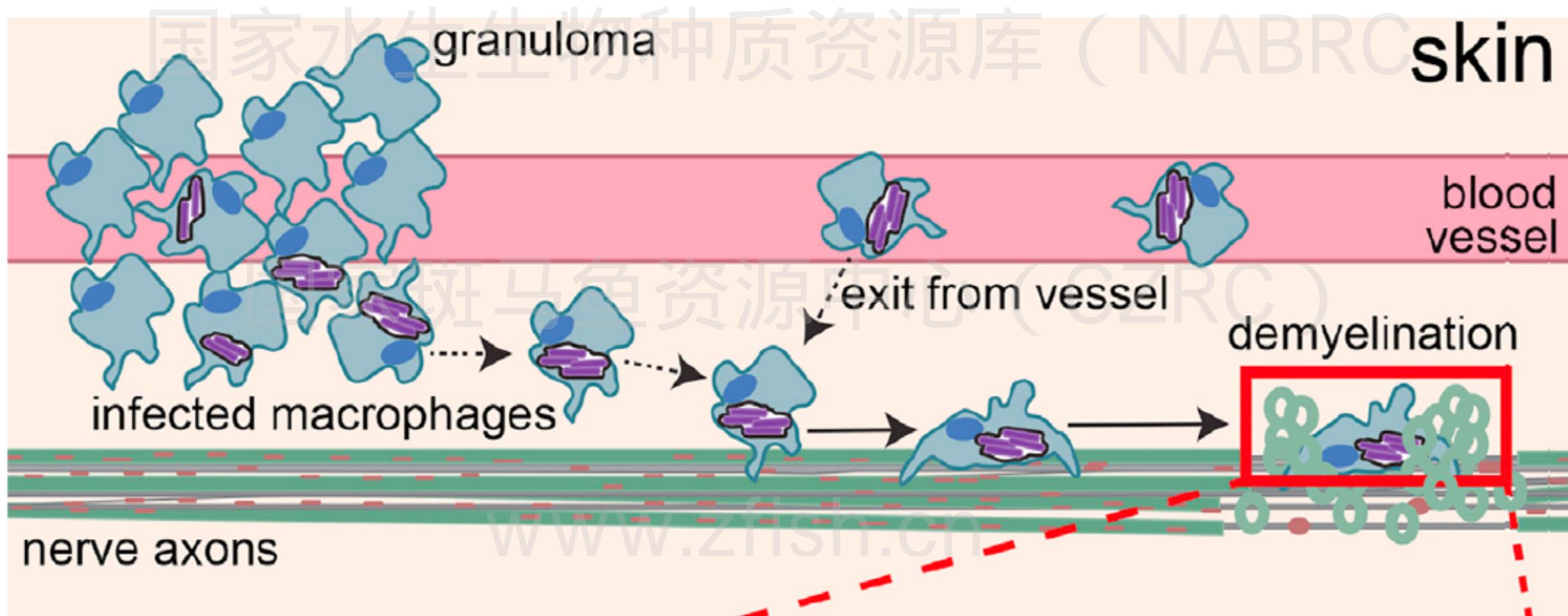
www.zfish.cn

myelin *M. leprae* macrophages

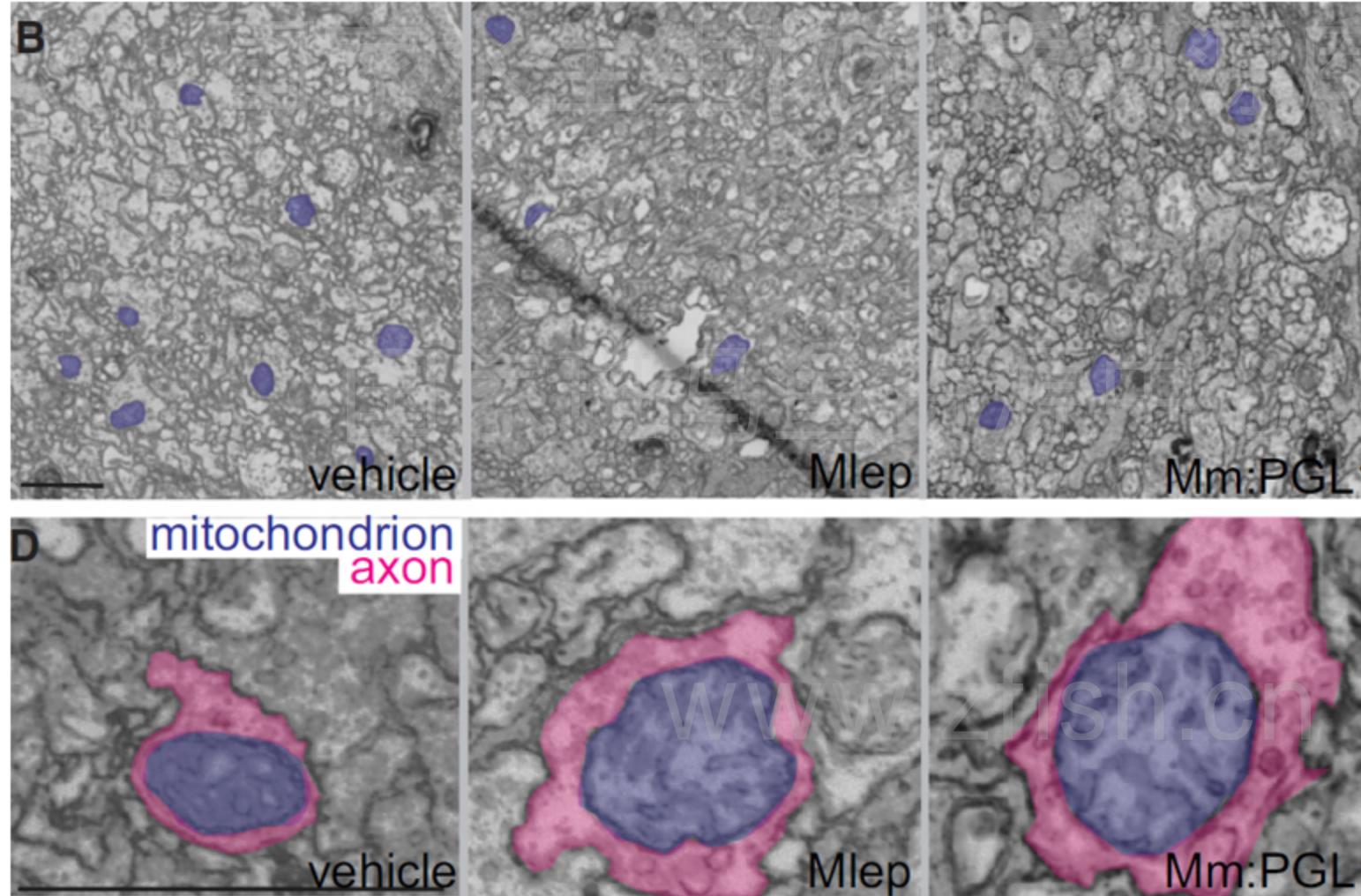
10 μm

Madigan et al.,
Cell, 2017

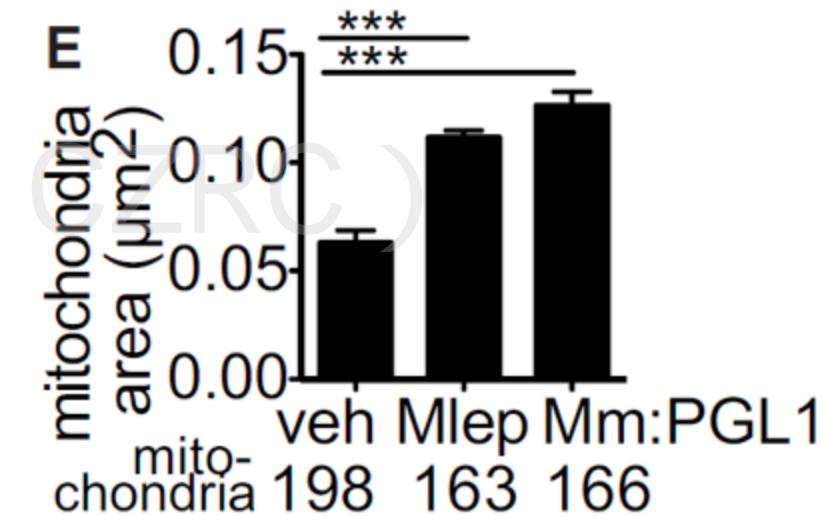
转基因工具：荧光标记免疫学过程



Axonal Damage Is Associated with Mitochondrial Swelling

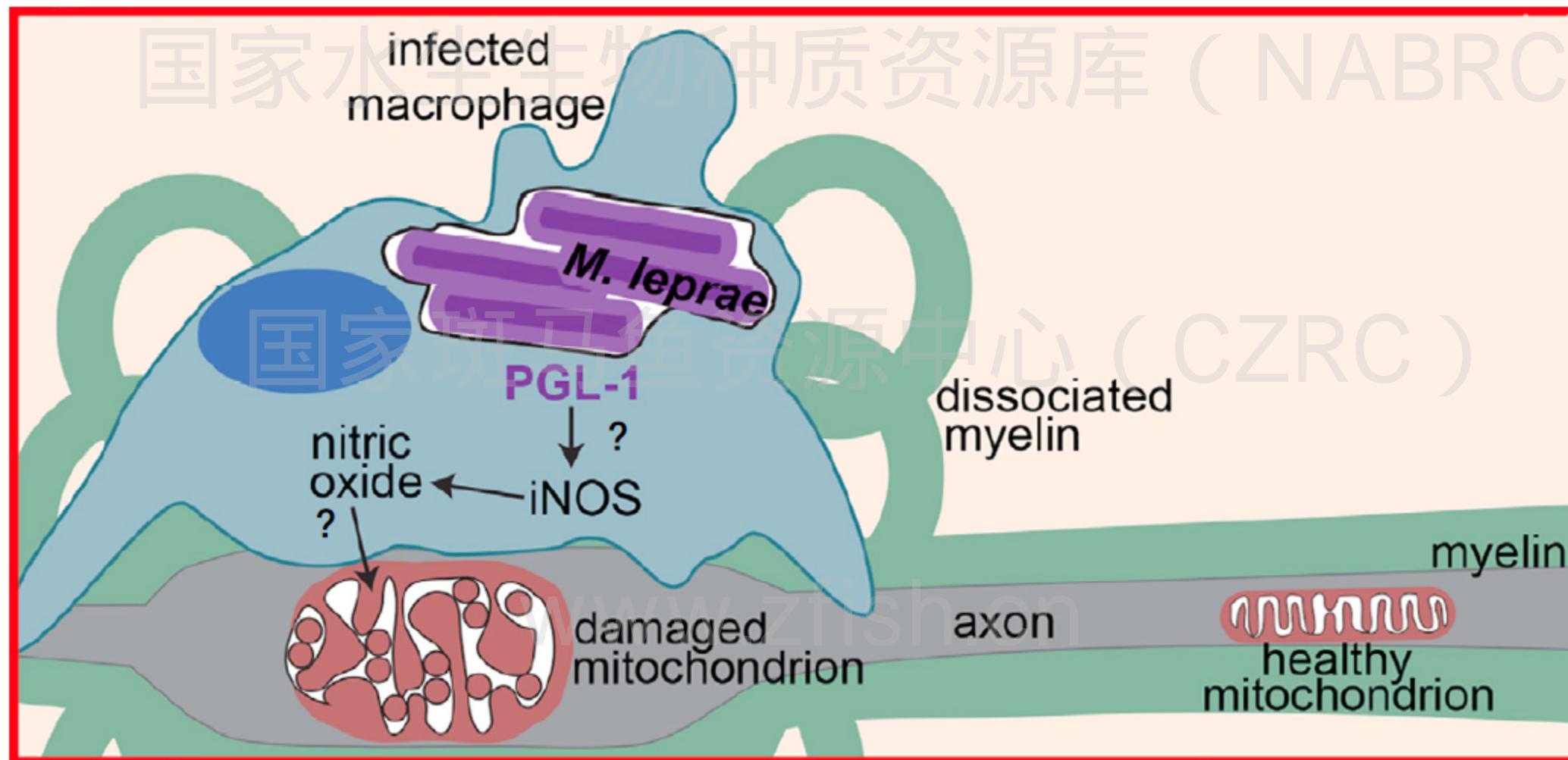


(NABRC)



Madigan et al., Cell, 2017

转基因工具：荧光标记免疫学过程



人类疾病构建方式



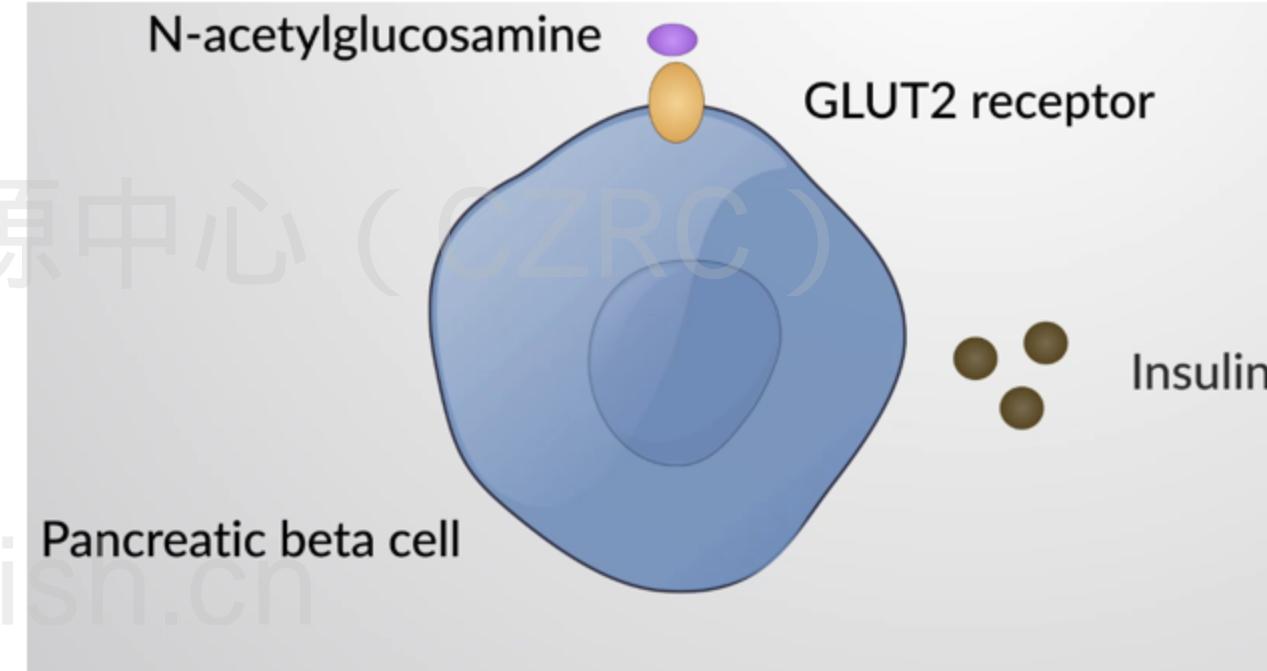
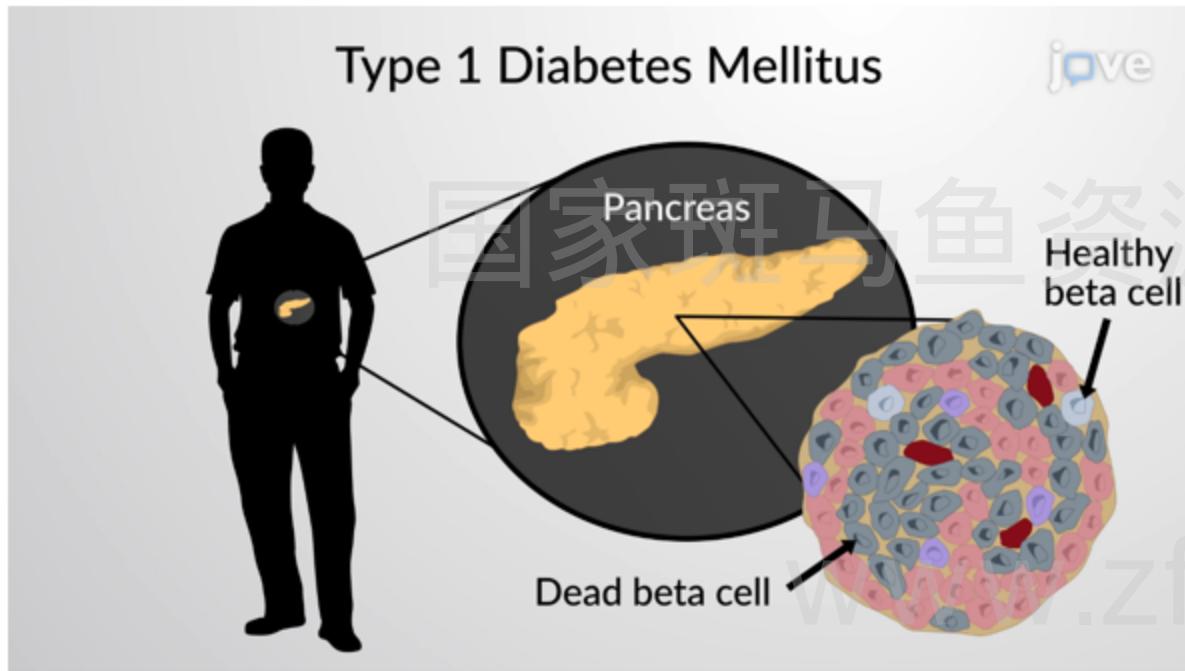
国家水生生物种质资源库 (NABRC)

- 构建人类致病基因的同源基因的敲除
- 人源化模型
- 转基因模型 (标记工具)
- 转基因模型 (致病工具)
- 外部干预性模型

www.zfish.cn

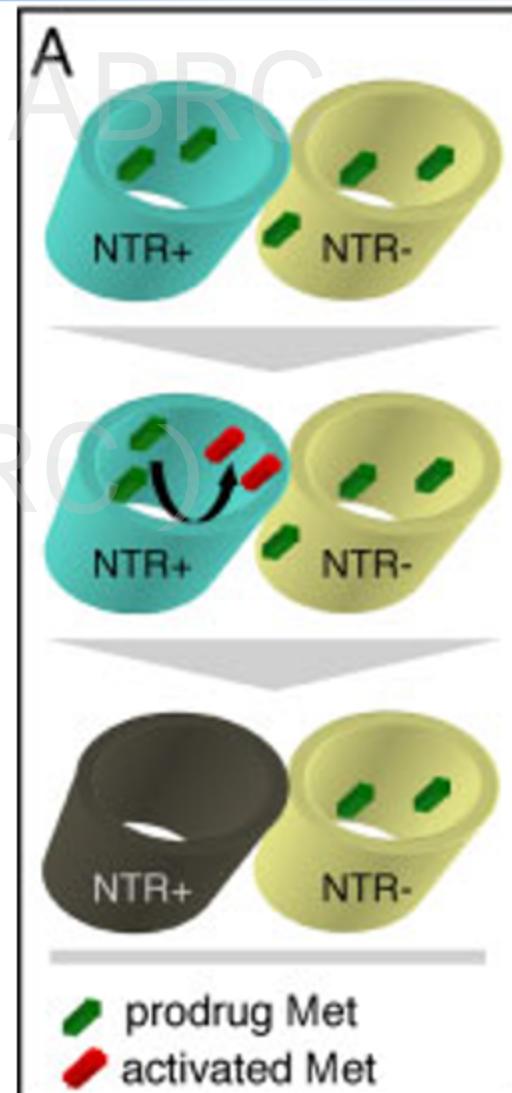
转基因模型：致病工具

- I型糖尿病：胰腺 β 细胞自身免疫性破坏



转基因模型：致病工具

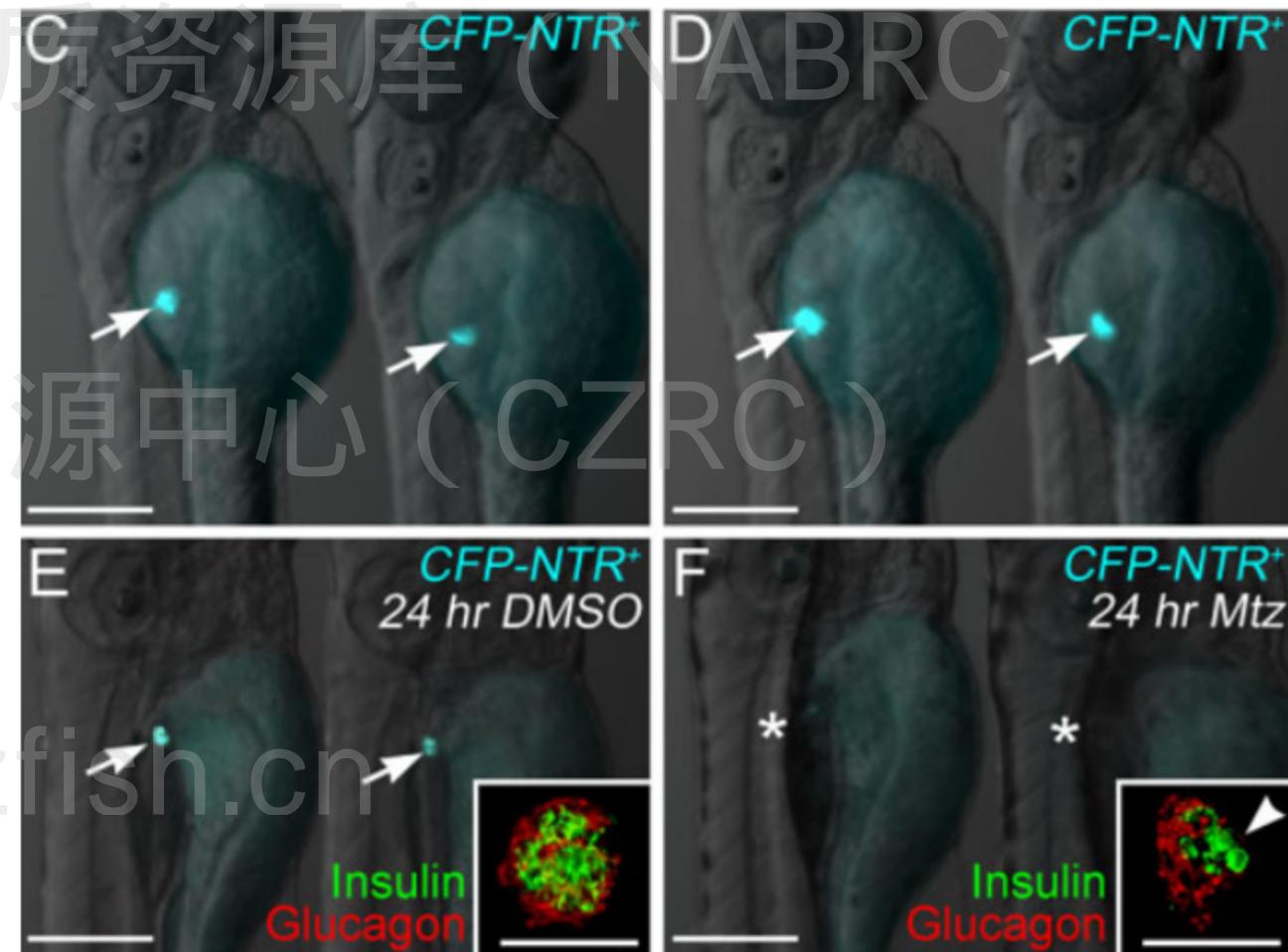
- I型糖尿病：胰腺 β 细胞自身免疫性破坏
- 斑马鱼在发育的第一周，只有一颗胰岛
- 双重转基因品系：特异性标记胰岛细胞，和特异性在胰岛中产生硝基还原酶（NTR）
- 以甲硝哒唑（Mtz）处理特异性杀灭表达NTR的细胞



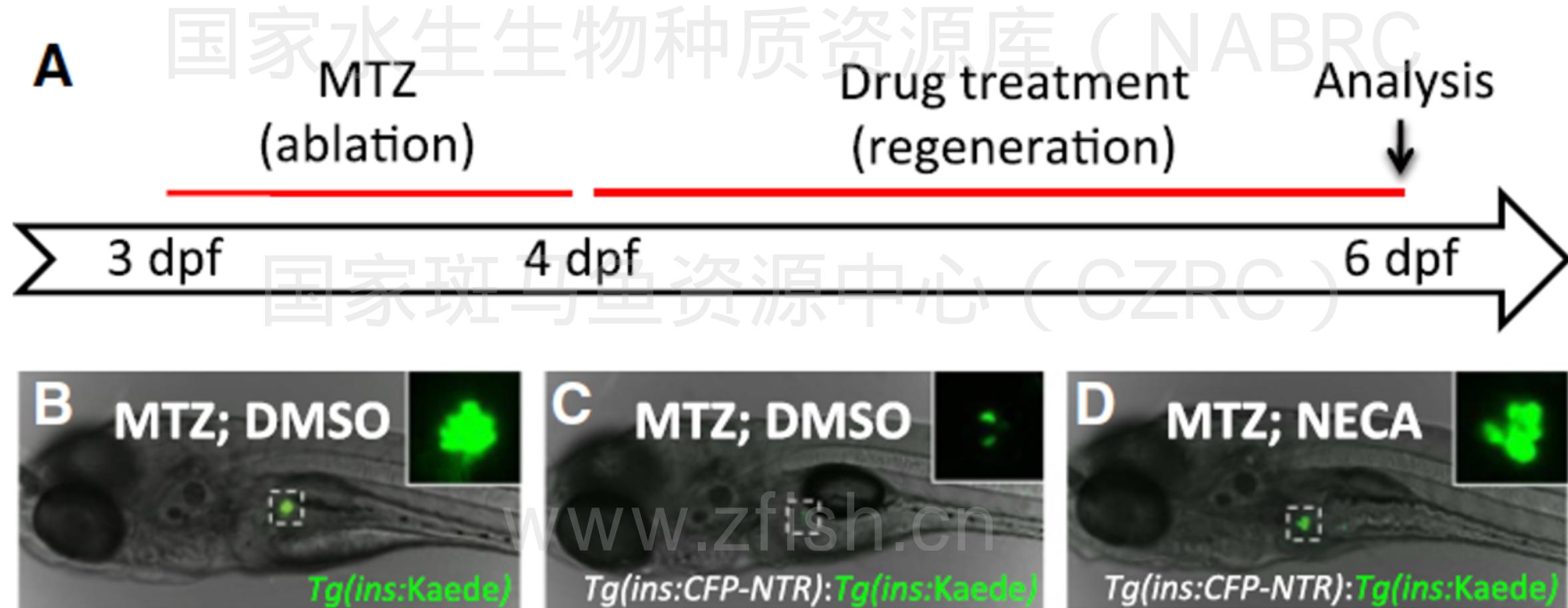
Curado et al., 2007

转基因模型：致病工具

- 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
- 胰岛标记：*Tg(ins:Kaede)*
- NTR表达：*Tg(ins:CFP-NTR)*



转基因模型：致病工具



人类疾病构建方式

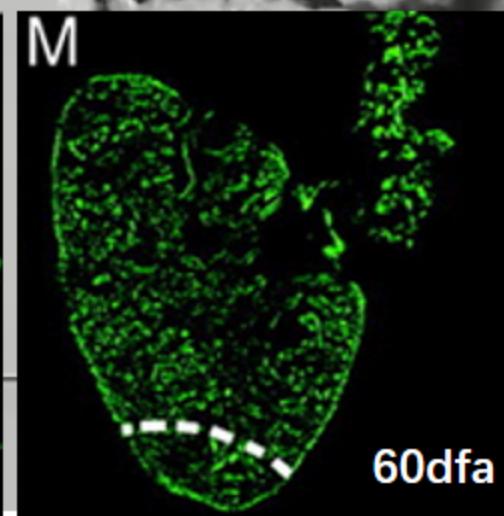
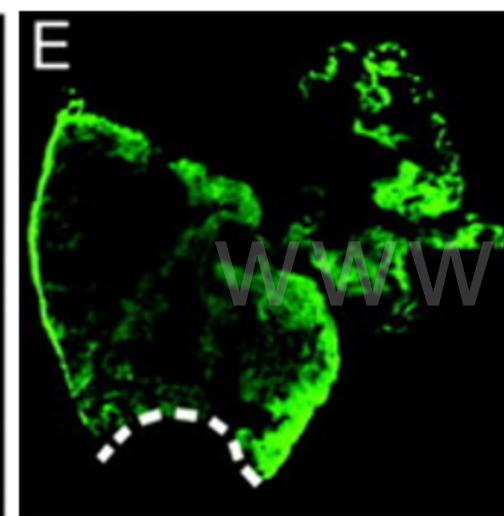
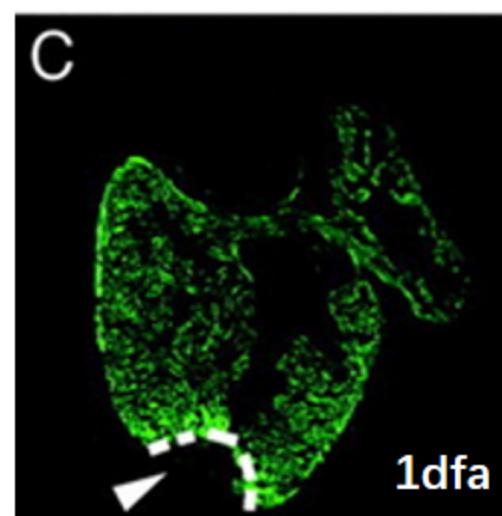


- 构建人类致病基因的同源基因的敲除
- 人源化模型
- 转基因模型 (标记工具)
- 转基因模型 (致病工具)
- 外部干预性模型

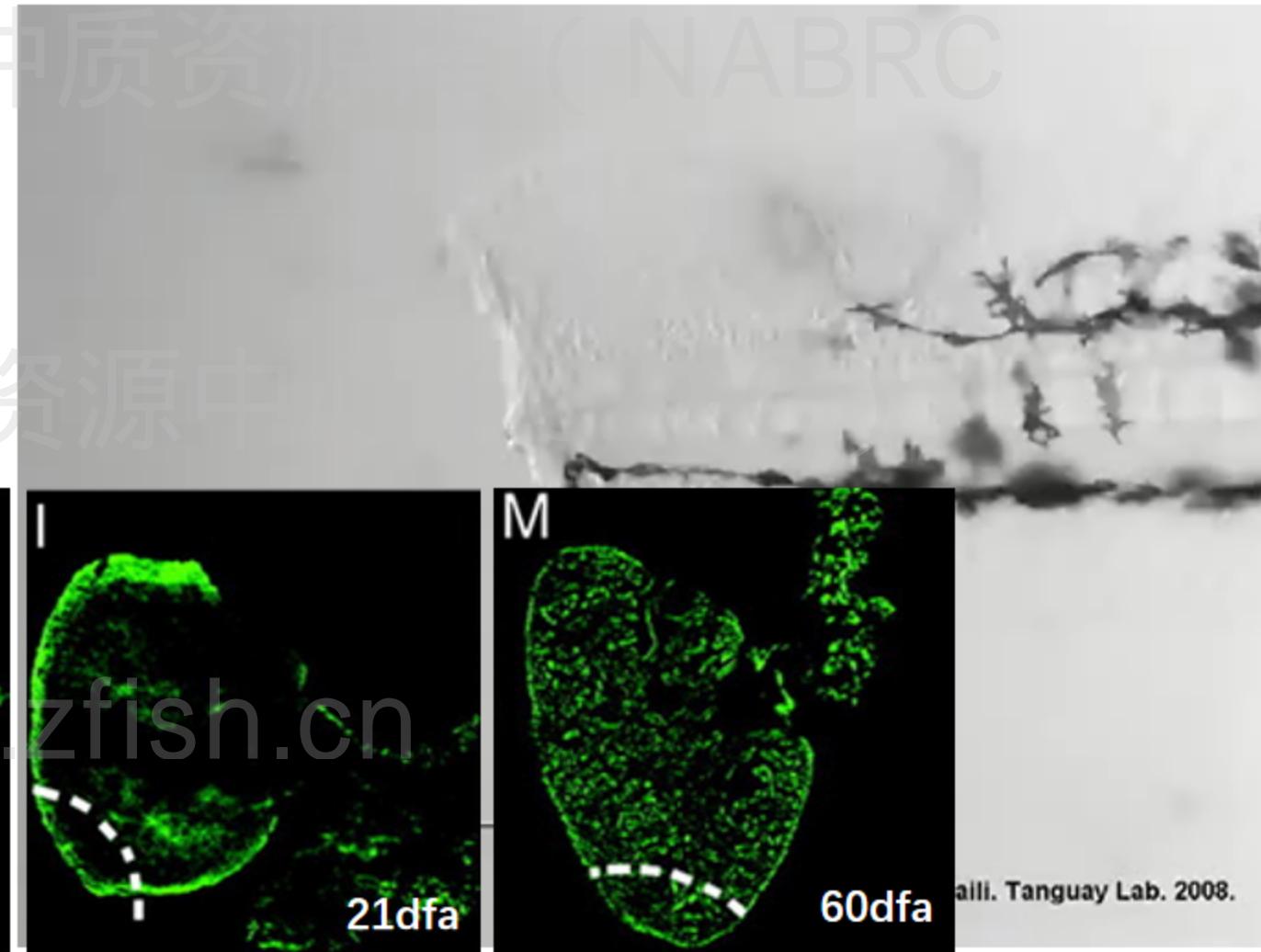
www.zfish.cn

外部干预性模型：物理处理

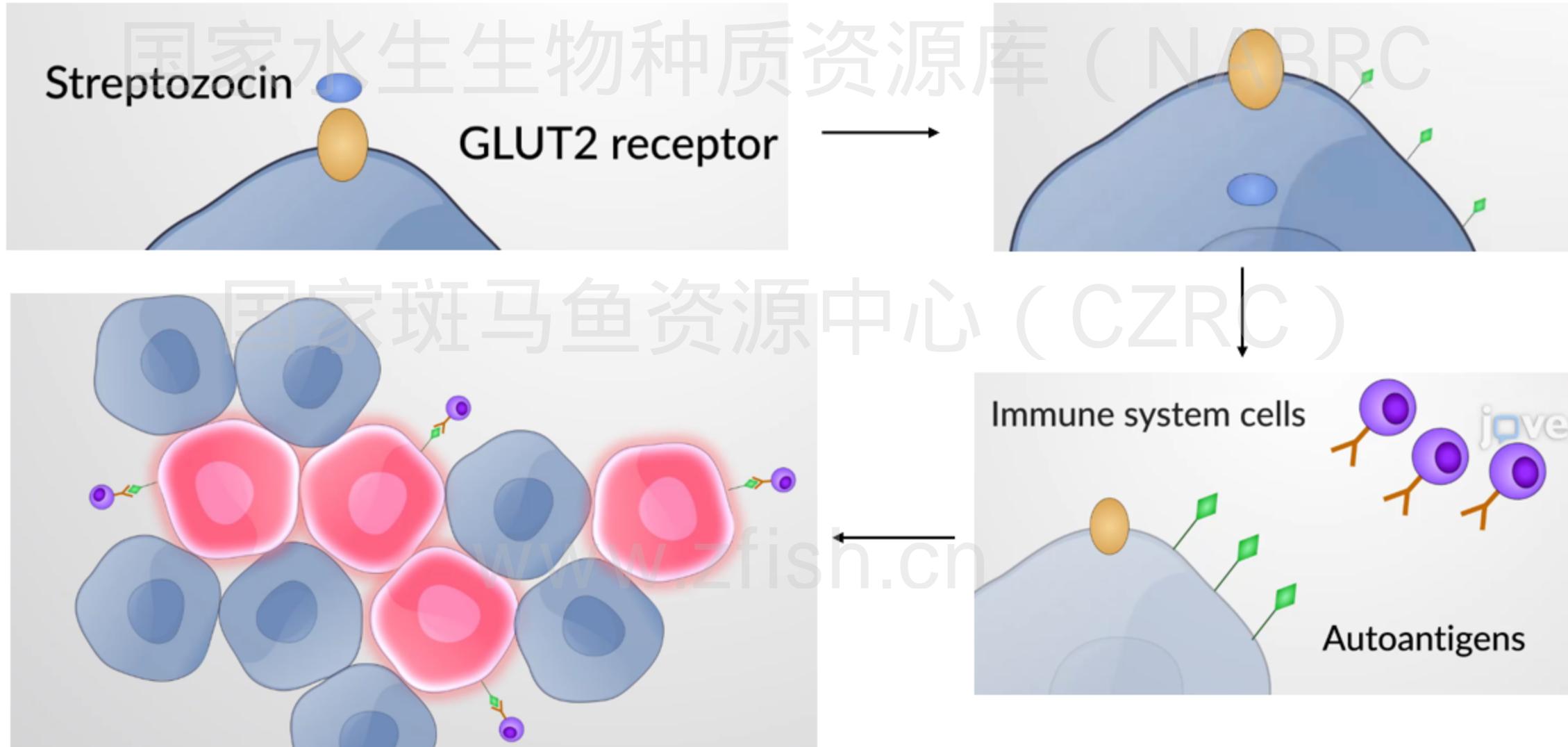
- 斑马鱼是研究损伤修复、组织再生的理想模型
- 已知斑马鱼可以快速修复尾鳍、视网膜、肝脏、纤毛细胞、心脏、神经系统



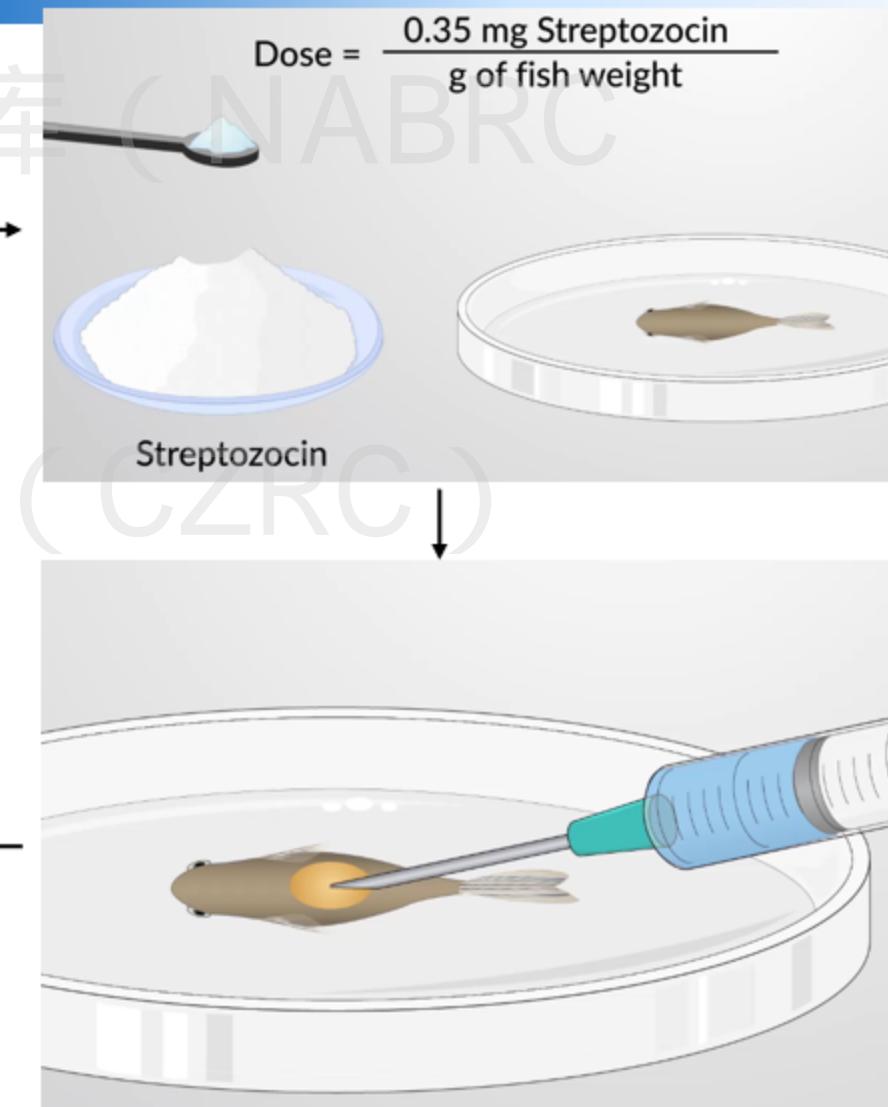
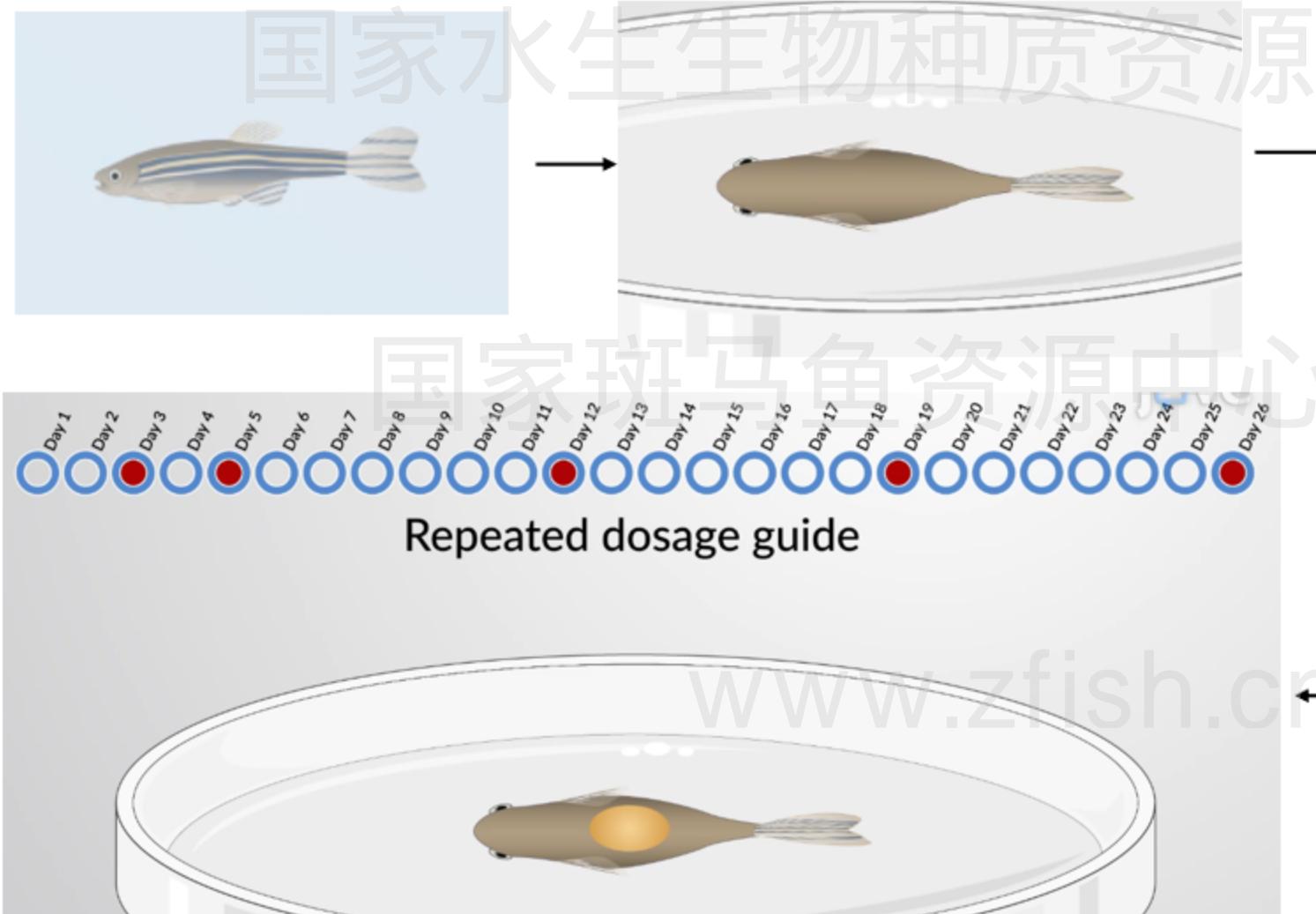
all. Tanguay Lab. 2008.



I型糖尿病模型—Streptozocin处理



I型糖尿病模型—Streptozocin处理



国家水生生物种质资源库（NABRC）

A Zebrafish Model of Type 1 Diabetes Mellitus, JoVE

国家斑马鱼资源中心（CZRC）

www.zfish.cn

斑马鱼人类疾病模型



疾病类型

- 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

模型构建类型

- 构建人类致病基因的同源基因的突变
- 人源化模型
- 转基因模型 (标记工具)
- 转基因模型 (致病工具)
- 外部干预性模型

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