

讲座七：

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



22

Chinese | English

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

用户名: 密码: 验证码: a941 登录 密码找回 注册

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

当前位置: 首页 > 信息浏览

国家斑马鱼资源中心 (CZRC) 技术资料

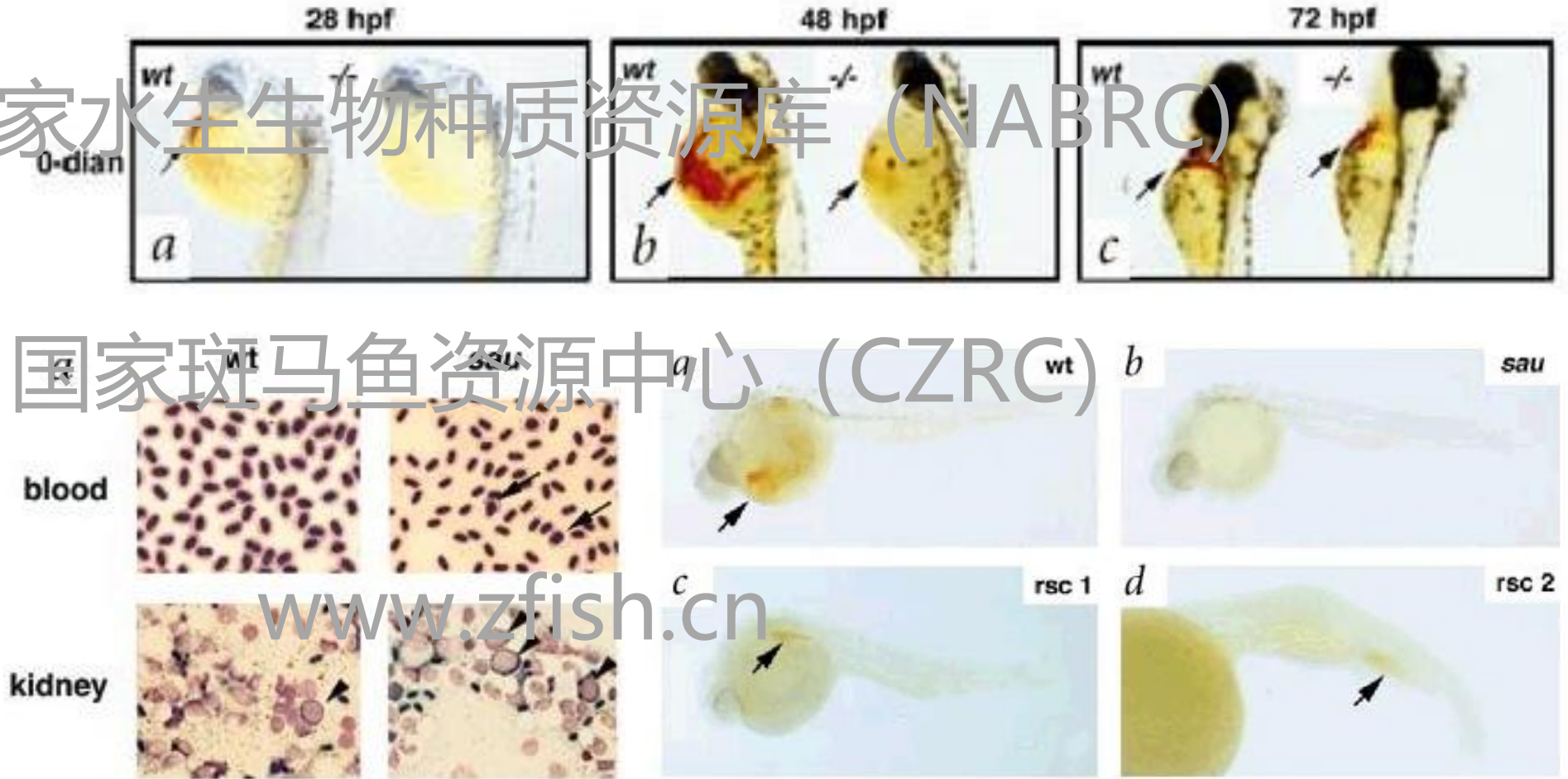
第二十二届全国斑马鱼技术专项培训 (2024年4月) 资料

- 讲座一 模式动物斑马鱼概论
- 讲座二 斑马鱼基因突变技术及遗传鉴定
- 讲座三 斑马鱼转基因及显微注射技术
- 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 斑马鱼常用研究资源介绍
- 讲座八 斑马鱼的发育及研究应用

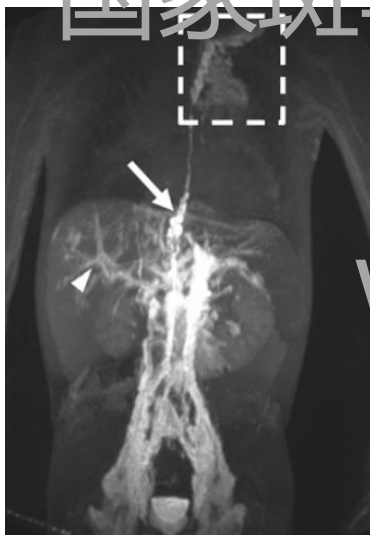
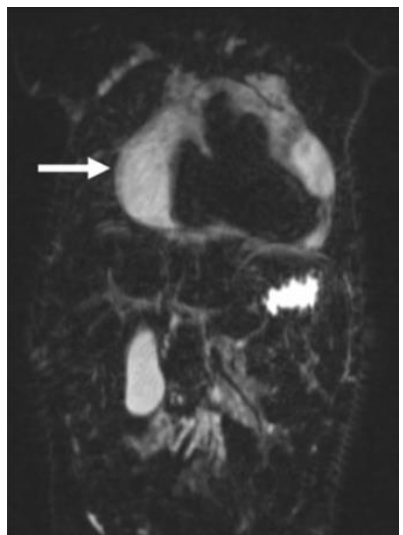
www.zfish.cn

第一个人类疾病斑马鱼模型

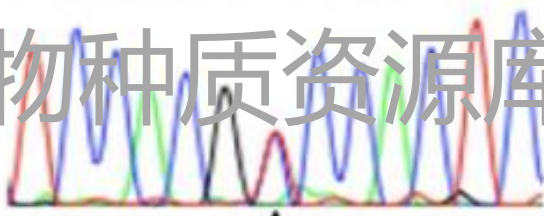
斑马鱼 *sau*
(*alas2*) 突变:
先天性铁粒
幼细胞贫血症
(congenital
sideroblastic
anaemia) 模
型



斑马鱼模型应用于精准医疗



T C C A C G Y C C A C T C



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

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

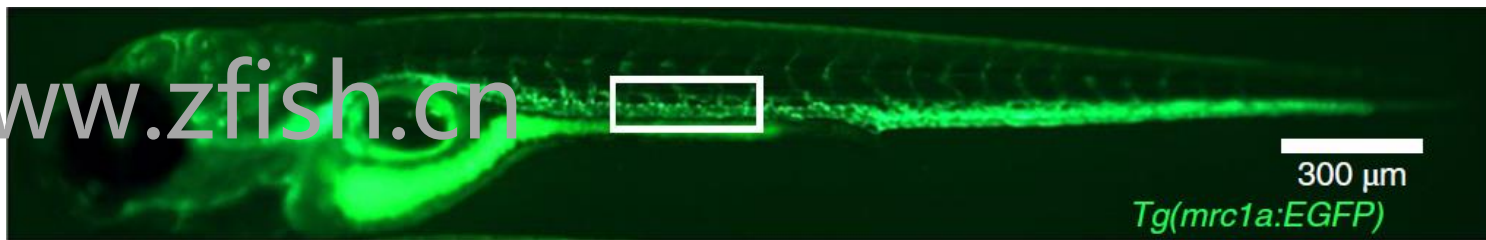


Human
Rhesus
Mouse
Dog
Elephant
Xenopus tropicalis
Zebrafish

PLQRIRST	S	TPNVHMV
PLQRIRST	S	TPNVHMV
PLQRIRST	S	TPNVHMV
PLQRIRST	S	TPNVHMV
PLQRIRST	S	TPNVHMV
PLQRIRST	S	TPNVHMV
SLQRHRST	S	TPNVHID
--QRLRST	S	TPNVTML

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

www.zfish.cn



斑马鱼模型应用于精准医疗

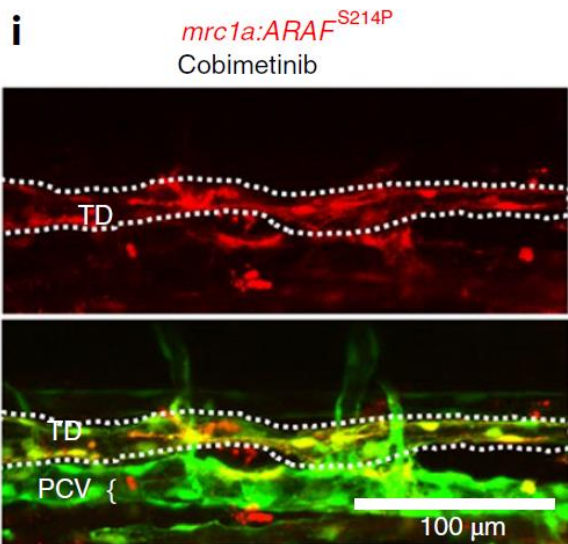
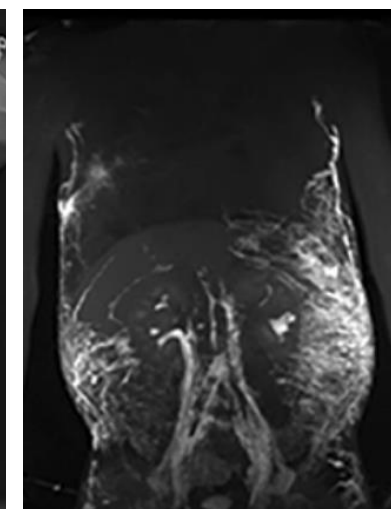
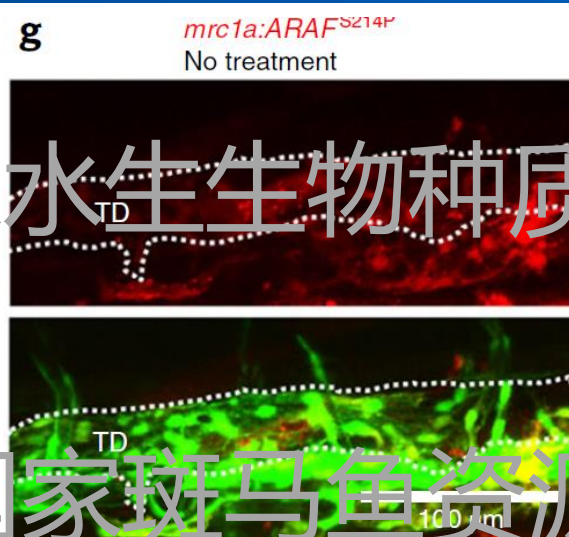
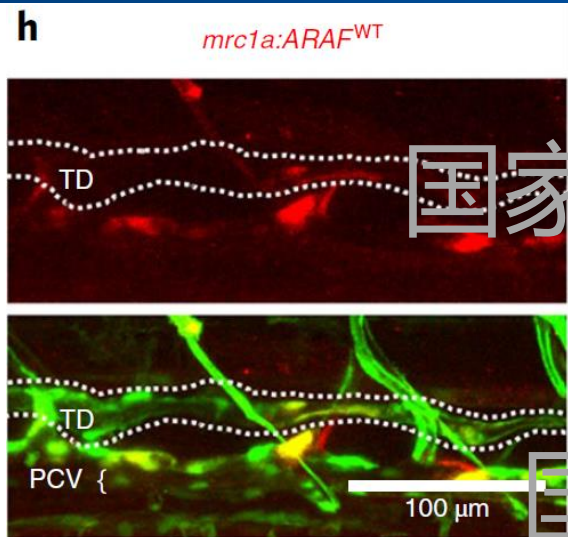


Table 1 | Mutations identified in individuals with lymphatic disorders

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_001389122:c.1714T>C:p.(L537Gfs*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}, Charilly Kao¹, Christoph Seiler², Erin Pinto³, Leticia S. Matsuoka¹, Mark R. Battig¹, Elizabeth J. Bhoj¹, Tara L. Wenger⁴, Lifeng Tian¹, Nora Robinson¹, Tiancheng Wang¹, Yichuan Liu¹, Brant M. Weinstein⁵, Matthew Swift⁶, Hyun Min Jung⁴, Courtney N. Kaminski¹, Rosetta Chiavacci¹, Jonathan A. Perkins⁷, Michael A. Levine^{8,9}, Patrick M. A. Sleiman^{1,9}, Patricia J. Hicks⁹, Janet T. Strausbaugh⁹, Jean B. Belasco^{9,10}, Yoav Dori^{3,9} and Hakon Hakonarson^{1,9,11*}

斑马鱼：强大的人类疾病模型

- Aging
- Cancer
- GI Metabolism
- Hematological
- Infection & Inflammation
- Muscle & Cardiac
- Neural
- Skeletal
- Toxicology
- Drug Discovery

国家水生生物种质资源库

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

www.zfish.cn



Current Topics in
Developmental Biology,
Volume 124, 2017

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

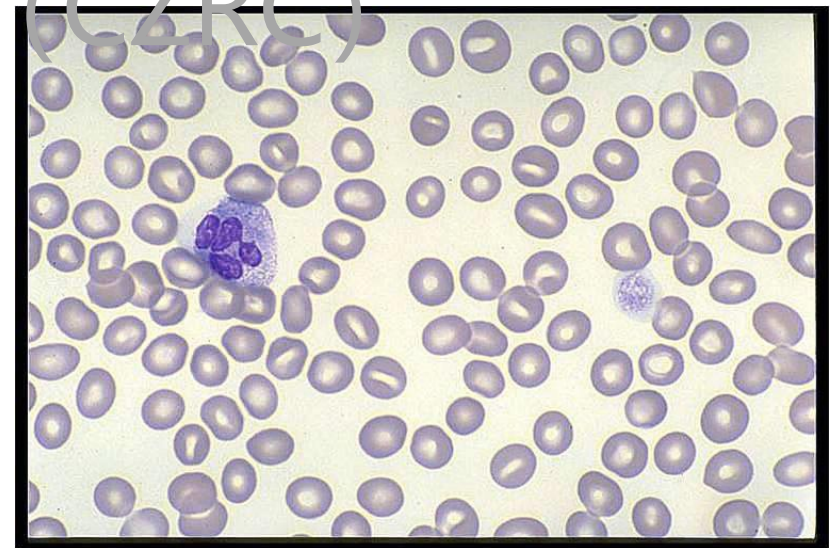
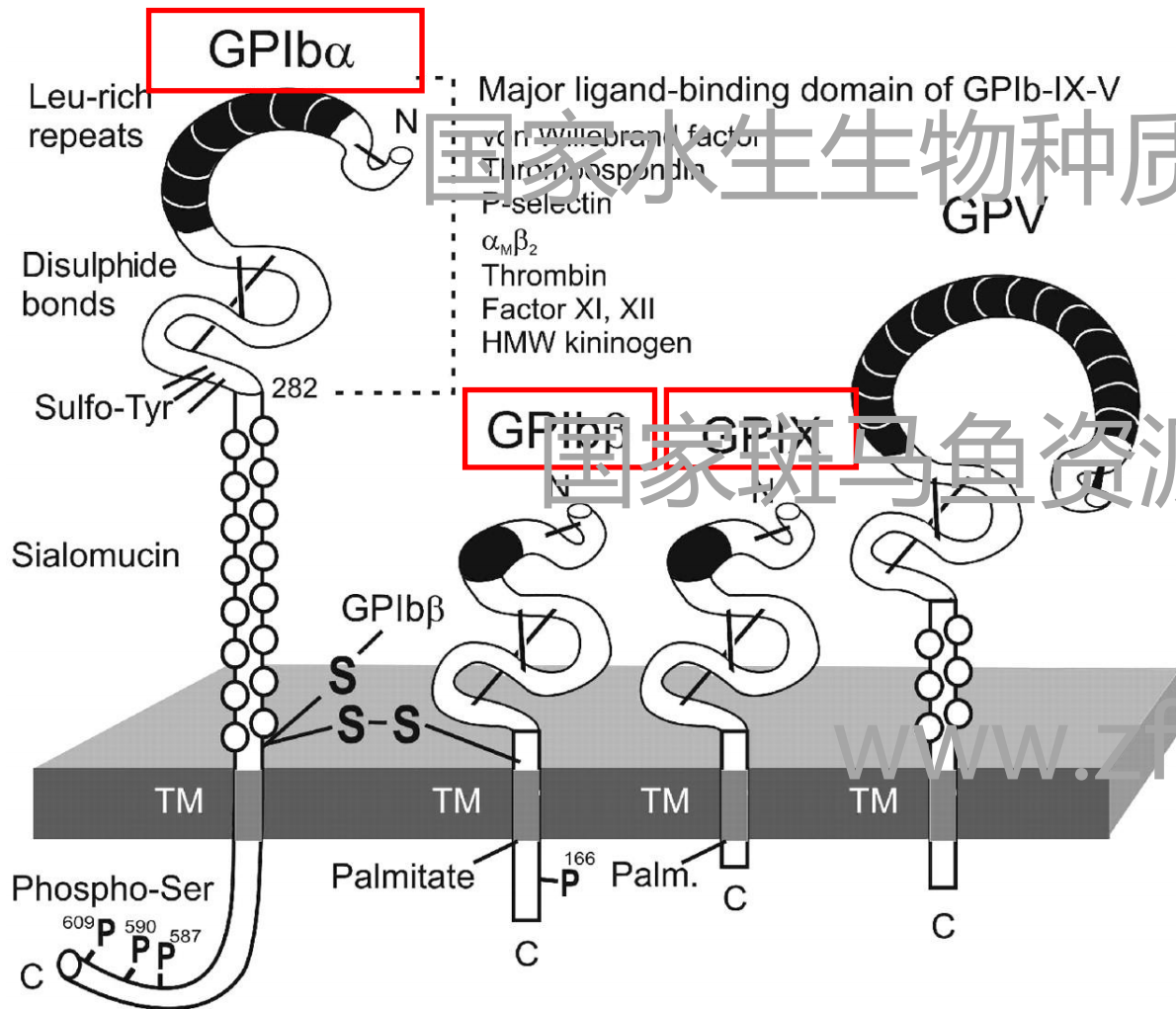
人类疾病构建方式

- 构建人类致病基因的同源基因的突变 (NABRC)
- 人源化模型
- 转基因模型 (致病工具) (CZRC)
- 转基因模型 (致病工具)
www.zfish.cn
- 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 (NABRC)
国家水生生物种质资源库
- 人源化模型
- 转基因模型 (致病工具)
国家斑马鱼资源中心 (CZRC)
- 转基因模型 (致病工具)
www.zfish.cn
- 外部干预性模型

突变模拟人类疾病: $gp9^{smu15}$

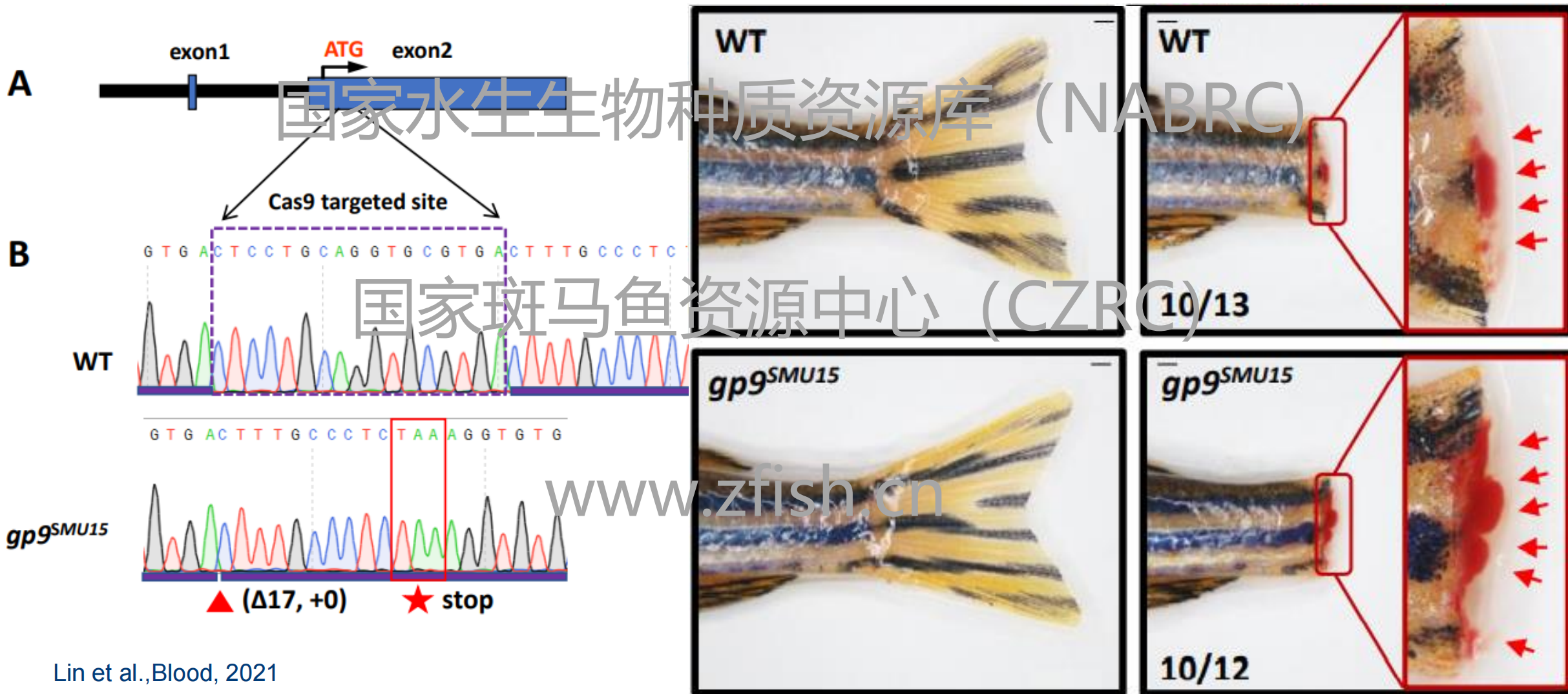


国家水生生物种质资源库 (NABRC)

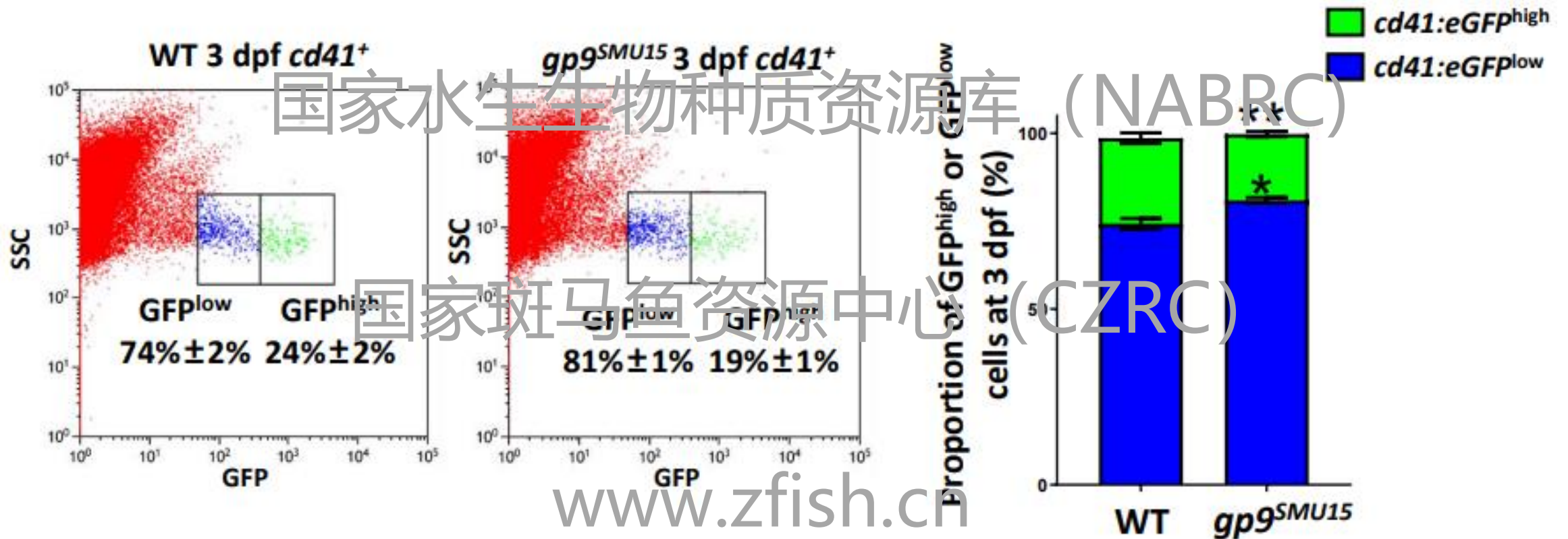
国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

www.zfish.cn

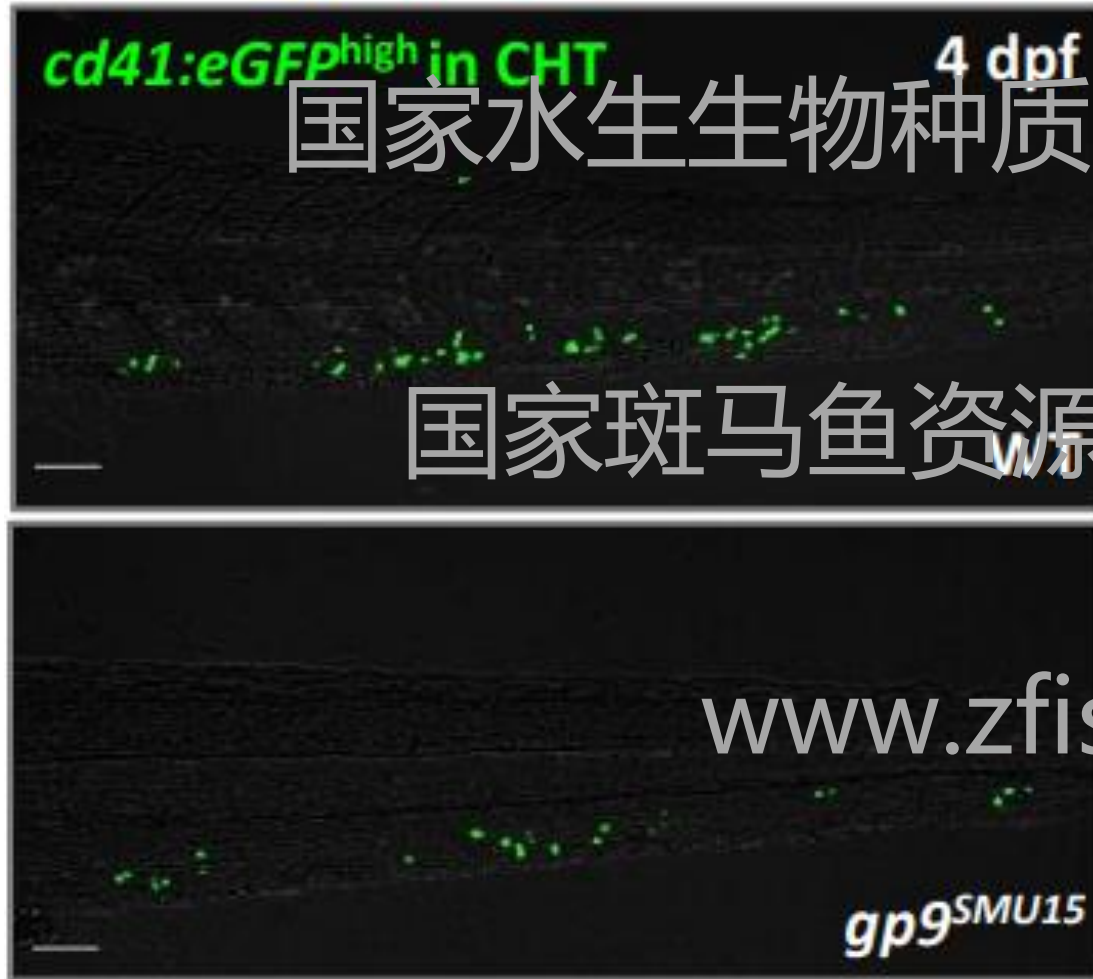
突变模拟人类疾病: $gp9^{smu15}$



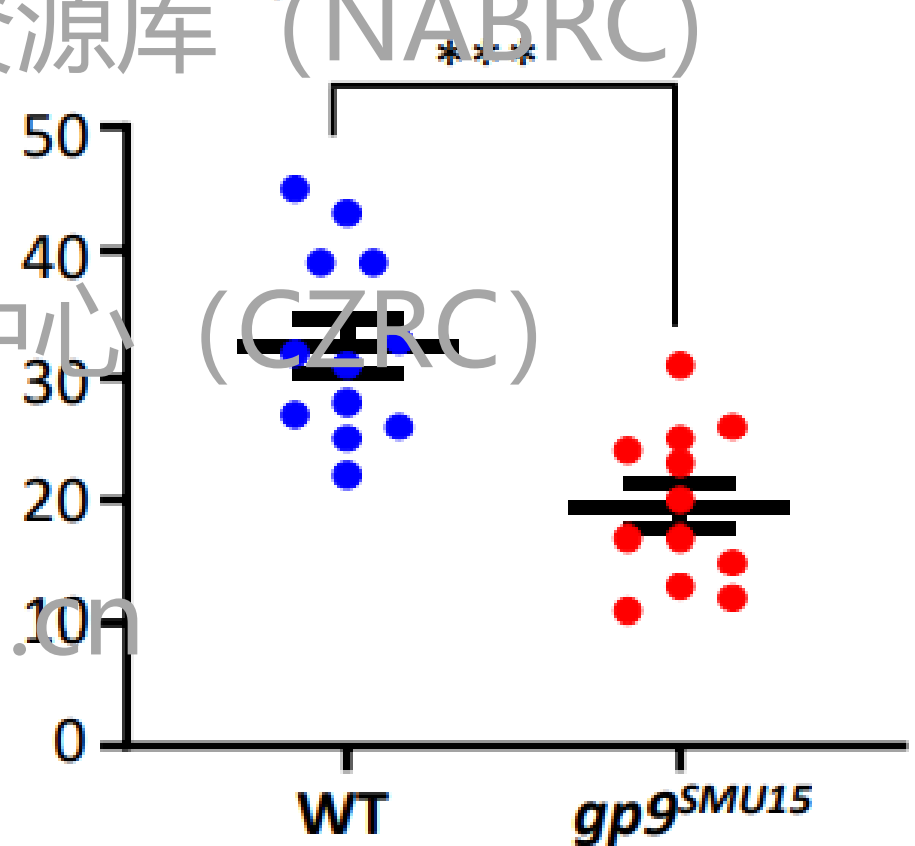
突变模拟人类疾病: $gp9^{smu15}$



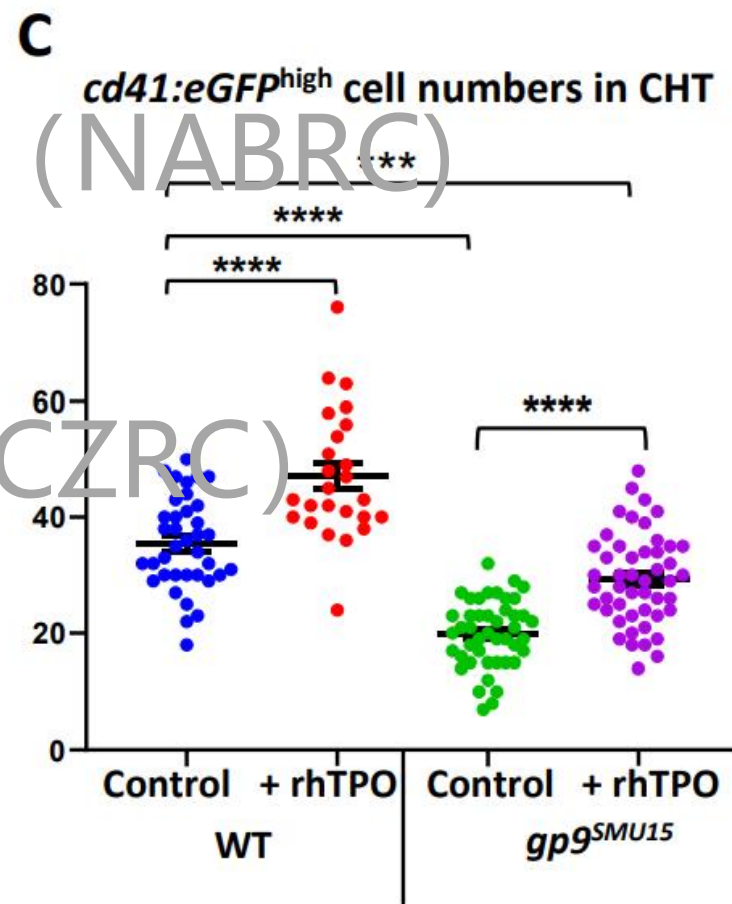
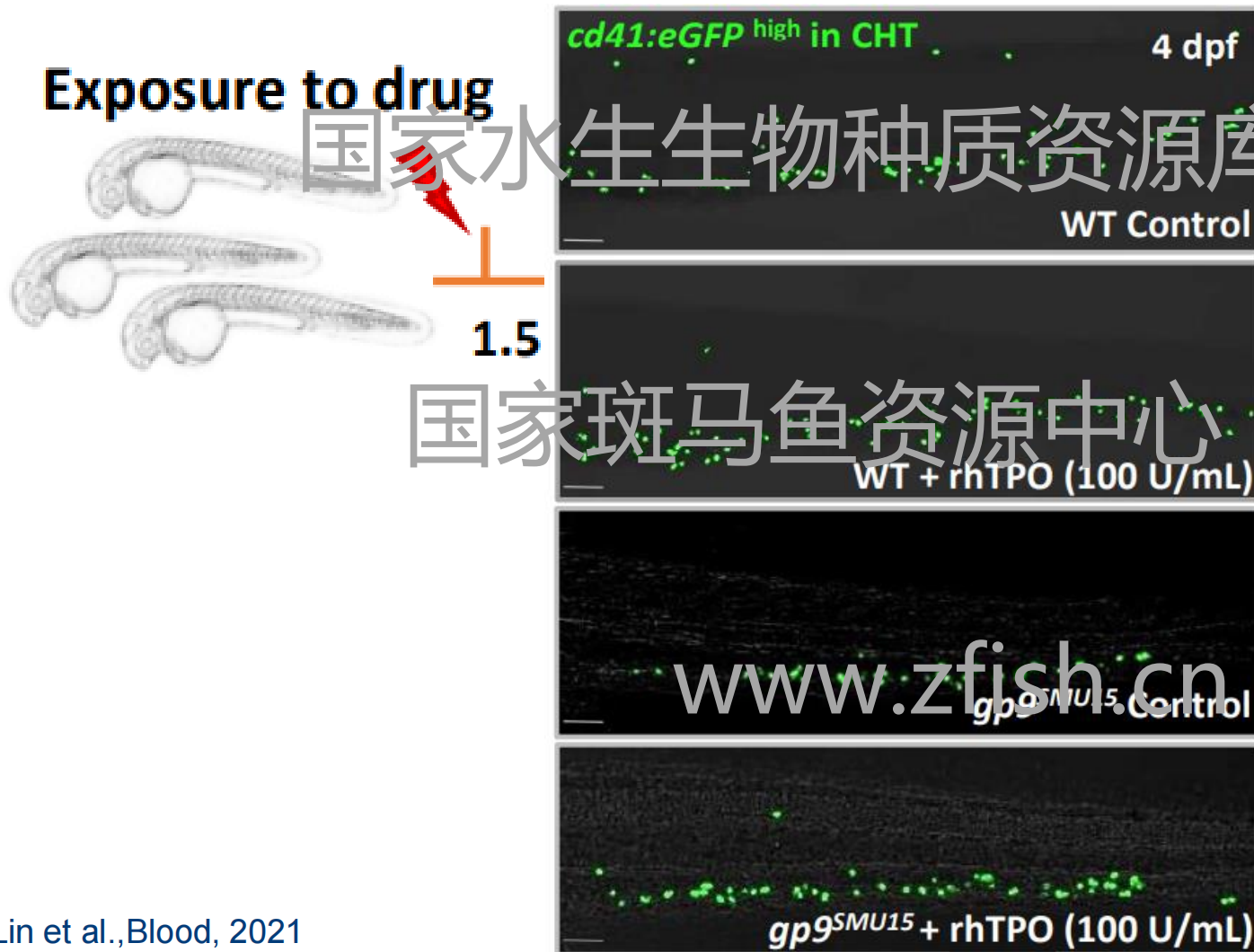
突变模拟人类疾病: $gp9^{smu15}$



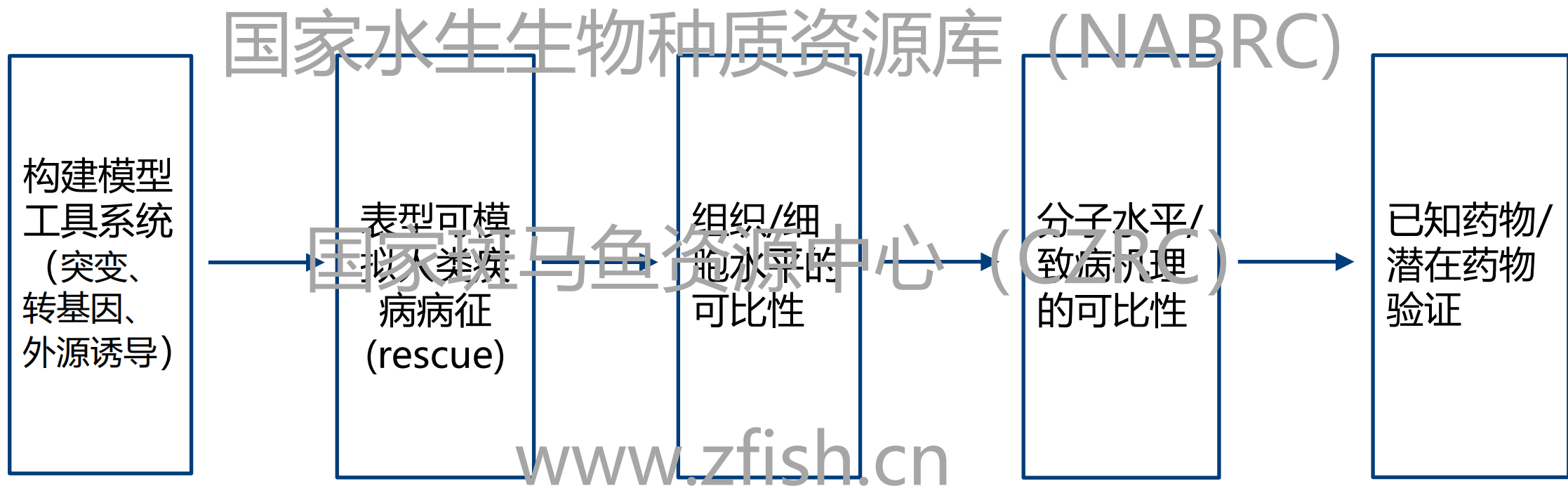
No. of 4 dpf cd41:eGFP^{high} in CHT



突变模拟人类疾病: $gp9^{smu15}$



疾病模型的基本要素

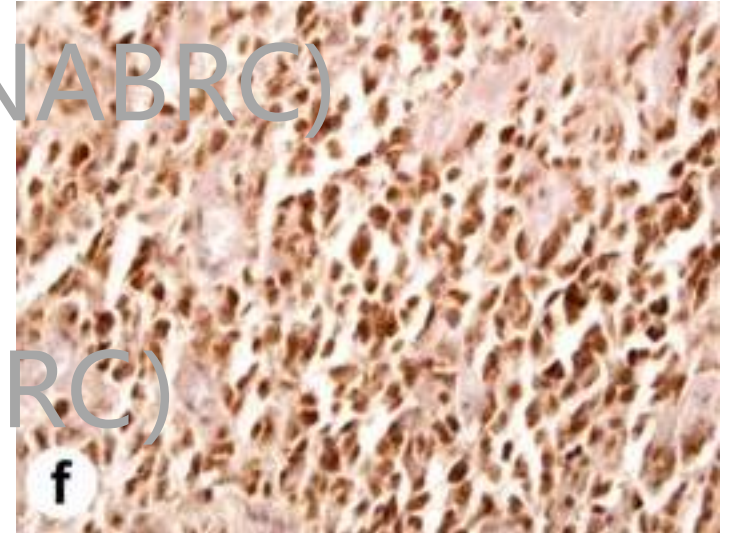
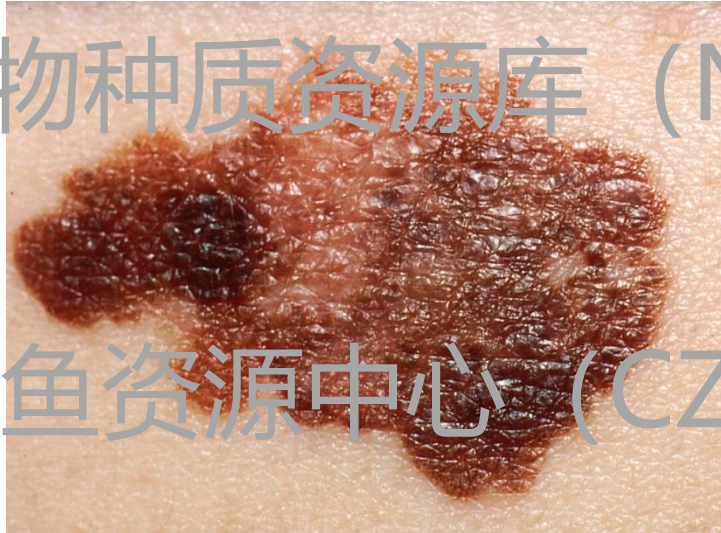


人类疾病构建方式

- 构建人类致病基因的同源基因的敲除
国家水生生物种质资源库 (NABRC)
- 人源化模型
- 转基因模型 (致病工具)
国家斑马鱼资源中心 (CZRC)
- 转基因模型 (致病工具)
www.zfish.cn
- 外部干预性模型

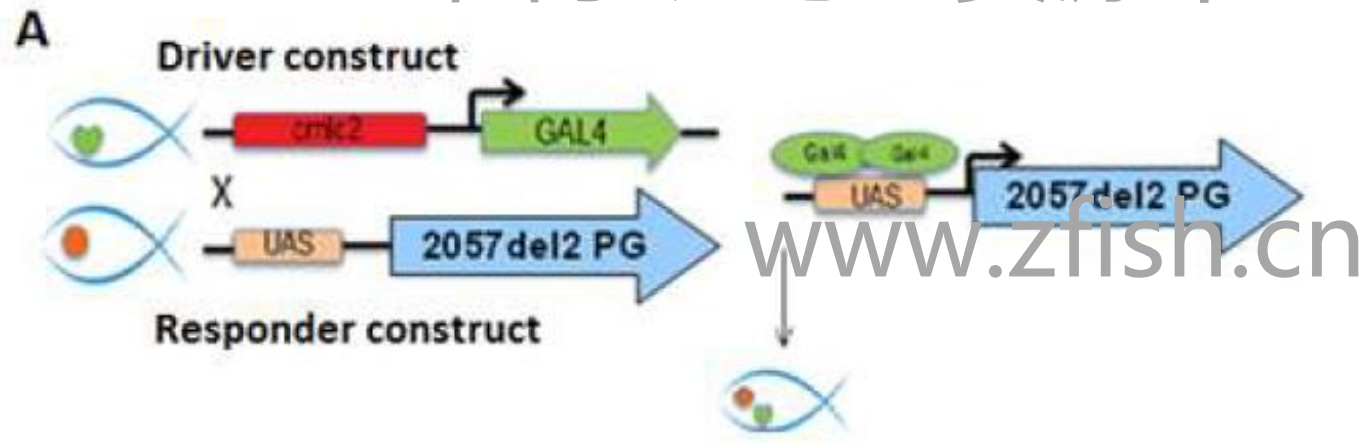
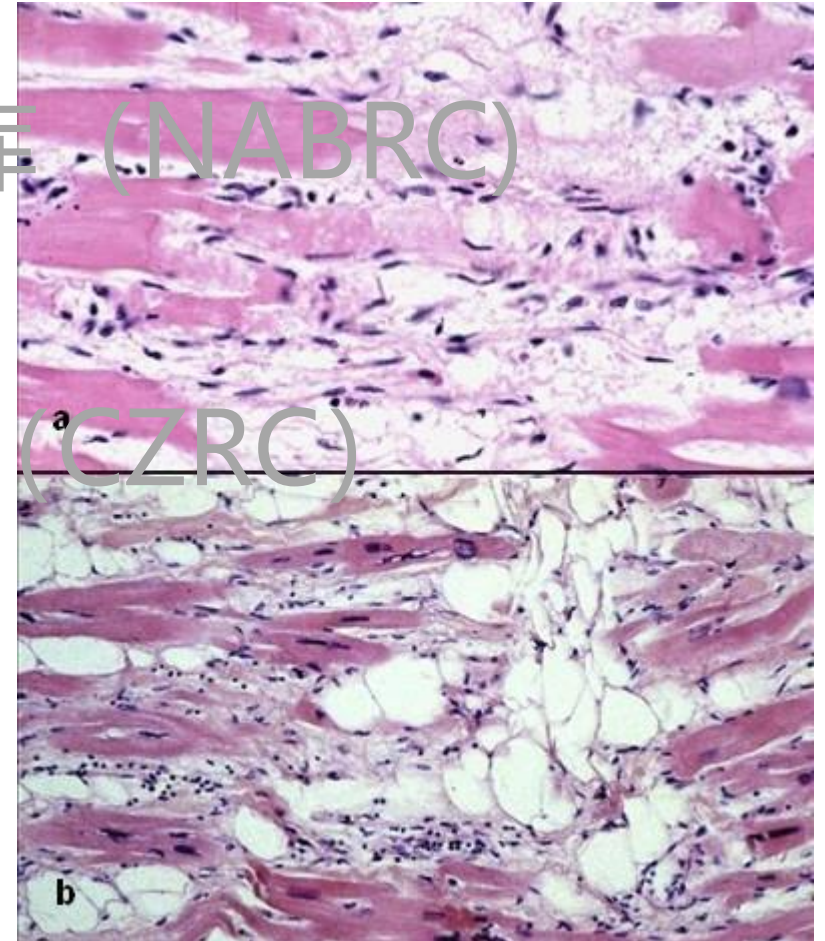
人源化模型： $BRAF^{V600E}$

- 黑色素瘤：黑色素细胞恶变，可发于皮肤、黏膜、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

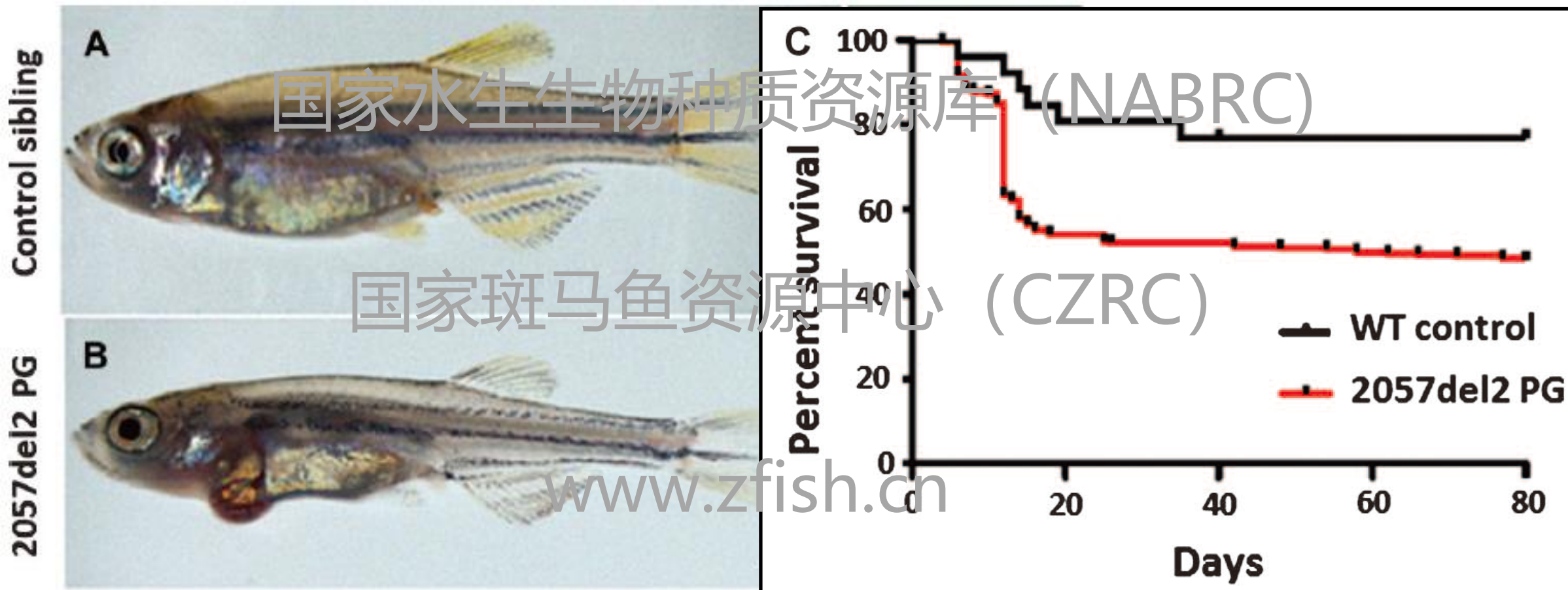


人源化模型： $JUP^{2057del2}$

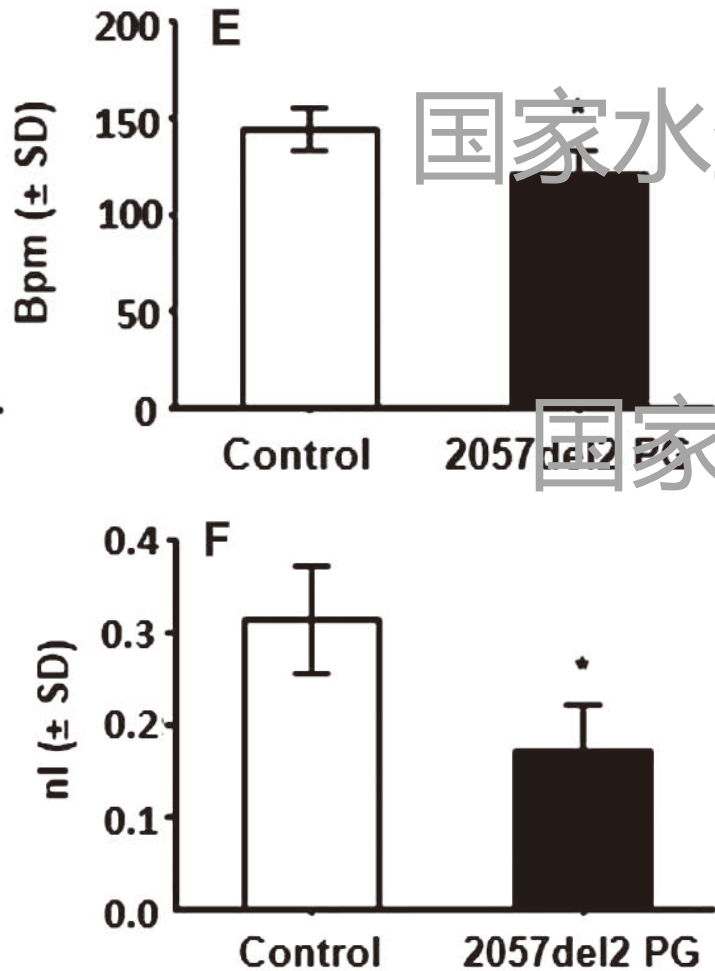
- 致心律失常性心肌病 (ACM), 是青年人猝死的一种重要病因
- 已知细胞桥粒蛋白 (*plakoglobin*, JUP) 的变异, 引发心肌细胞病变, 是ACM的重要原因



人源化模型: $JUP^{2057del2}$



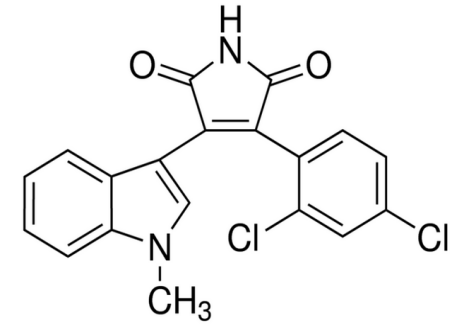
人源化模型: *JUP*^{2057del2}



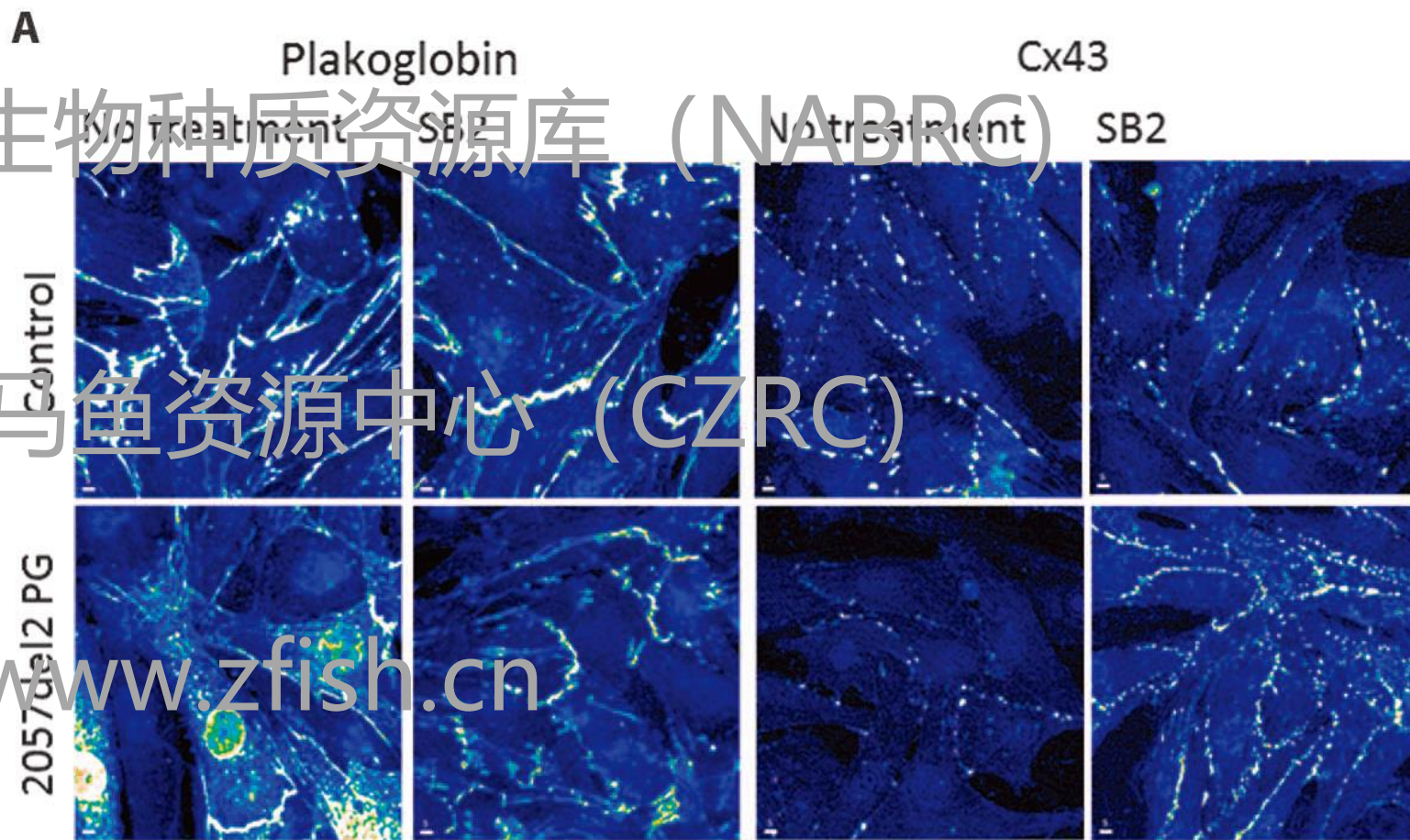
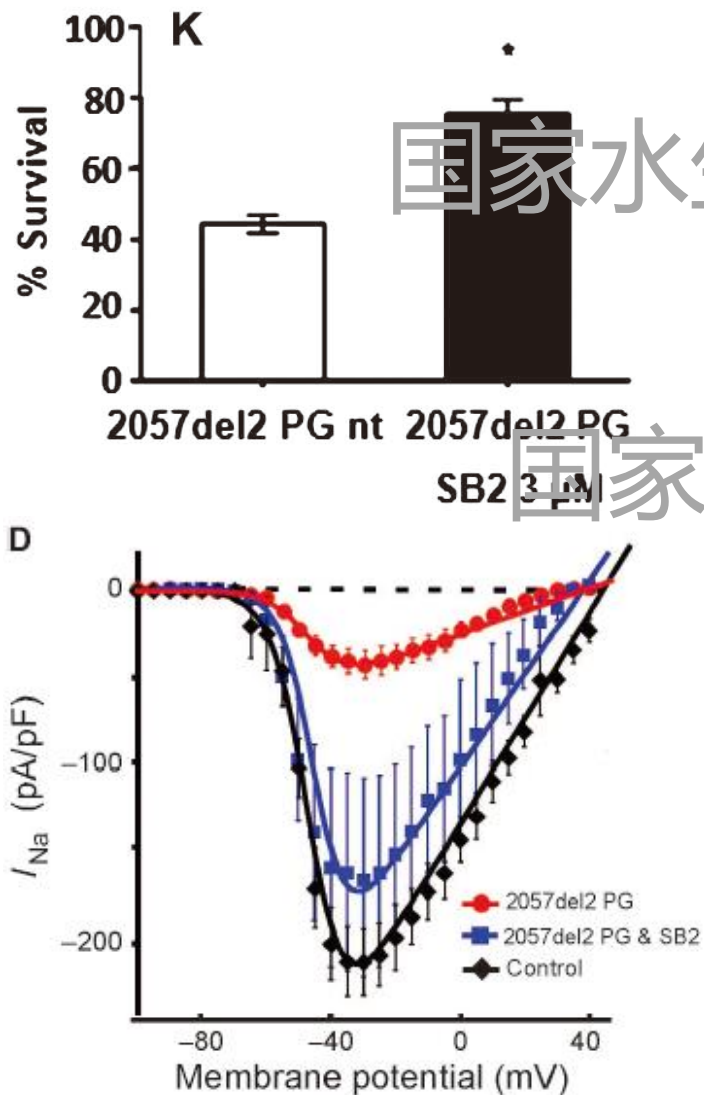
国家水生生物种质资源库 (NABRC)

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

- 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
国家水生生物种质资源库 (NABRC)
- 人源化模型
- 转基因模型 (致病工具)
国家斑马鱼资源中心 (CZRC)
- 转基因模型 (致病工具)
www.zfish.cn
- 外部干预性模型

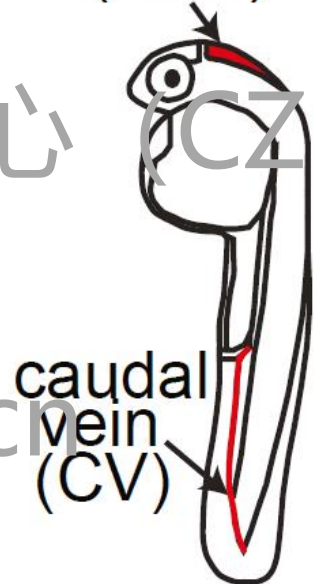
转基因工具：荧光标记免疫学过程



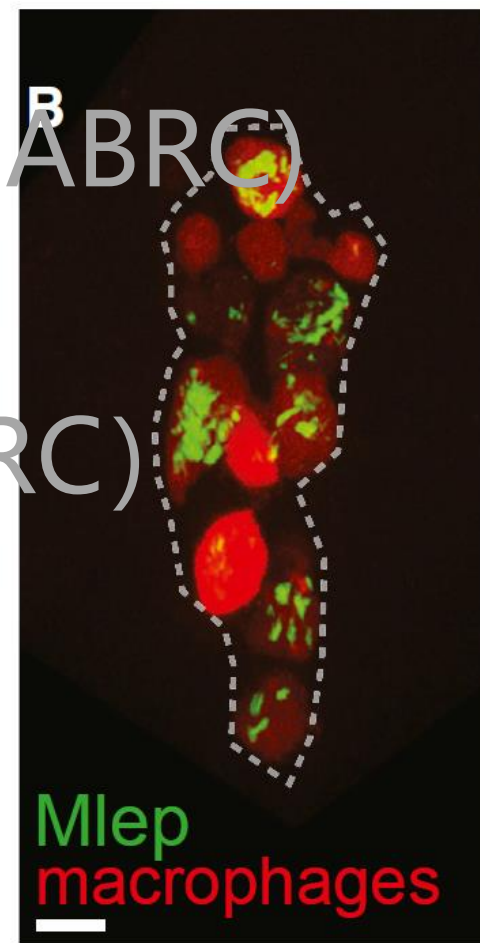
国家水生生物种质资源库 (NABRC)

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

A
hindbrain
ventricle
(HBV)

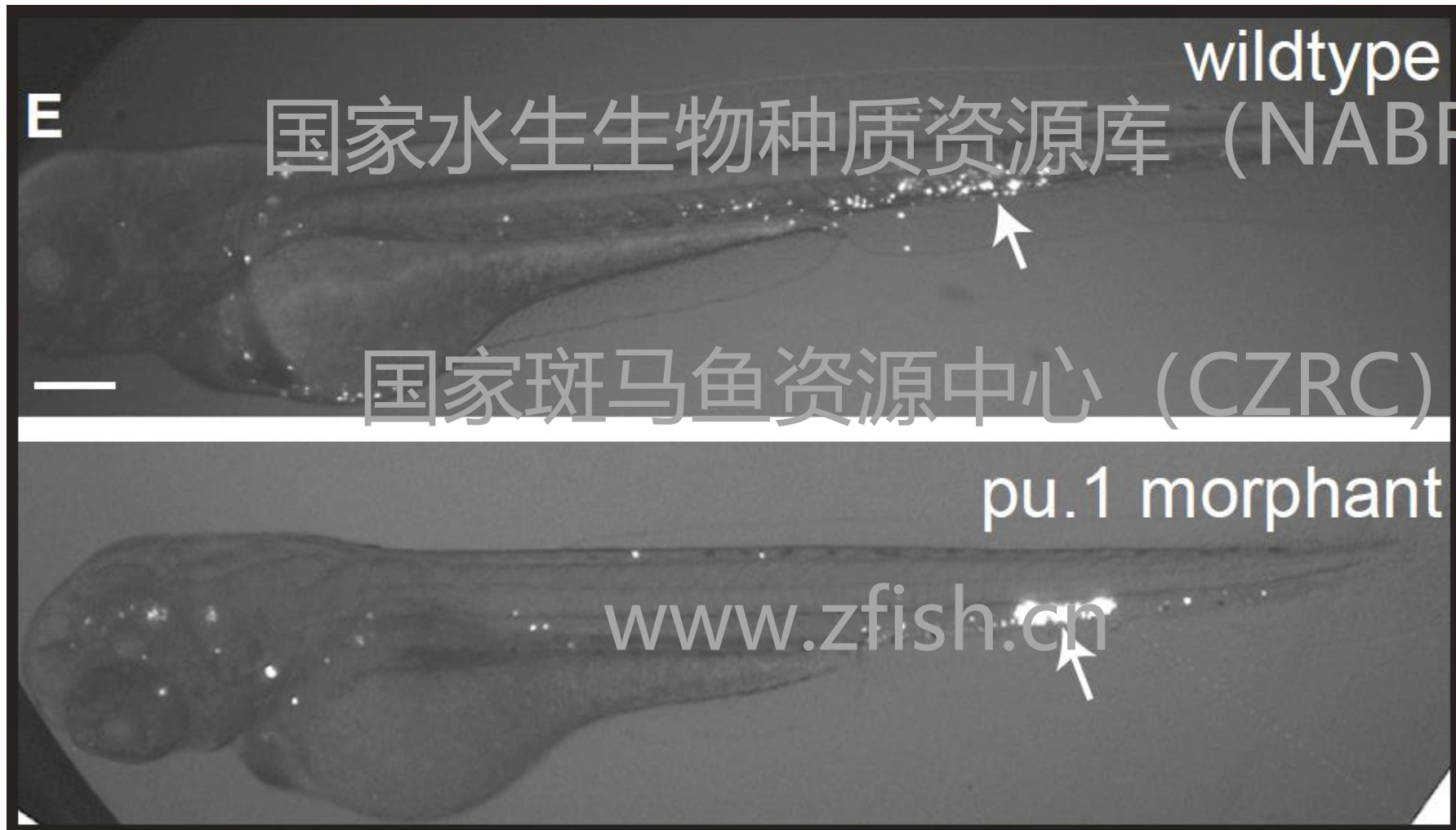


B
caudal
vein
(CV)

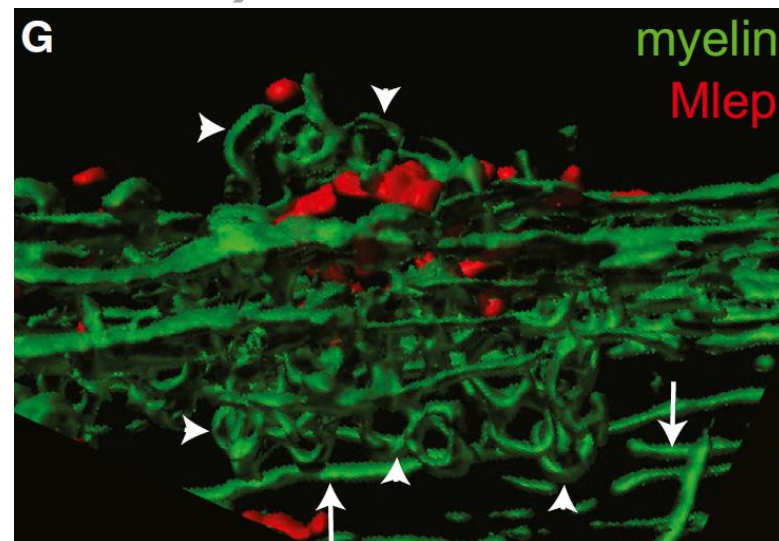
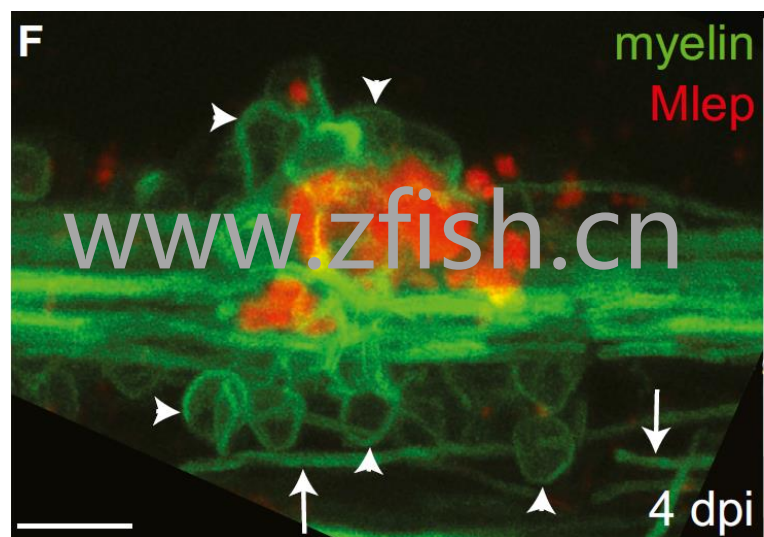
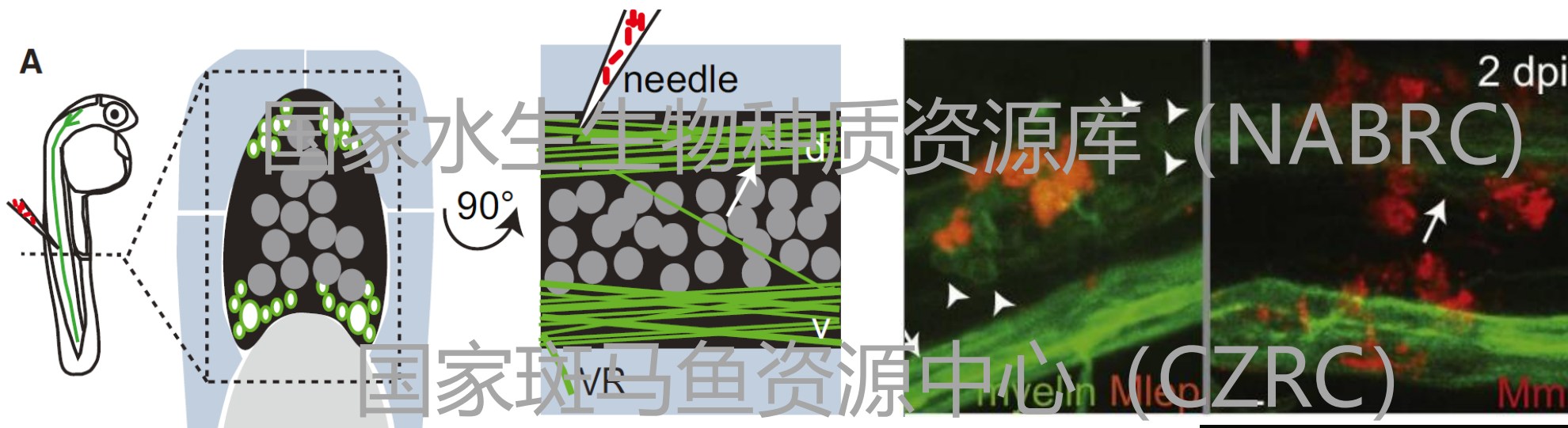


- 血管标记: *Tg(kdrl:dsRed)*
- 成髓鞘胶质细胞: *Tg(mbp:CAAX-GFP)*
- 巨噬细胞: *Tg(mpeg1:Brainbow)*
- 中性粒细胞: *Tg(lyz:EGFP)*
- 巨噬细胞: *Tg(mpeg1:YFP)*
- 荧光标记细菌

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

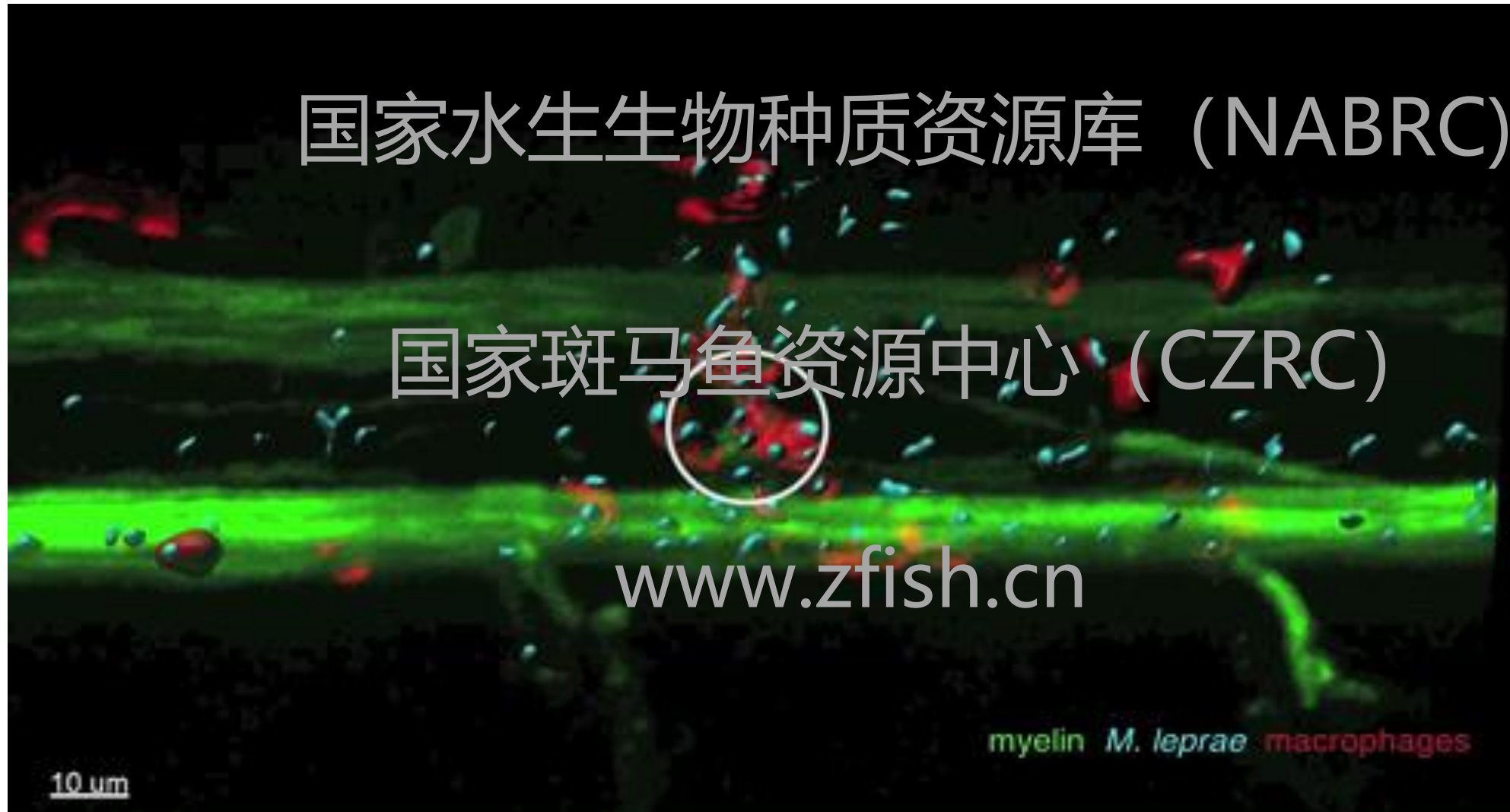


转基因工具：荧光标记免疫学过程

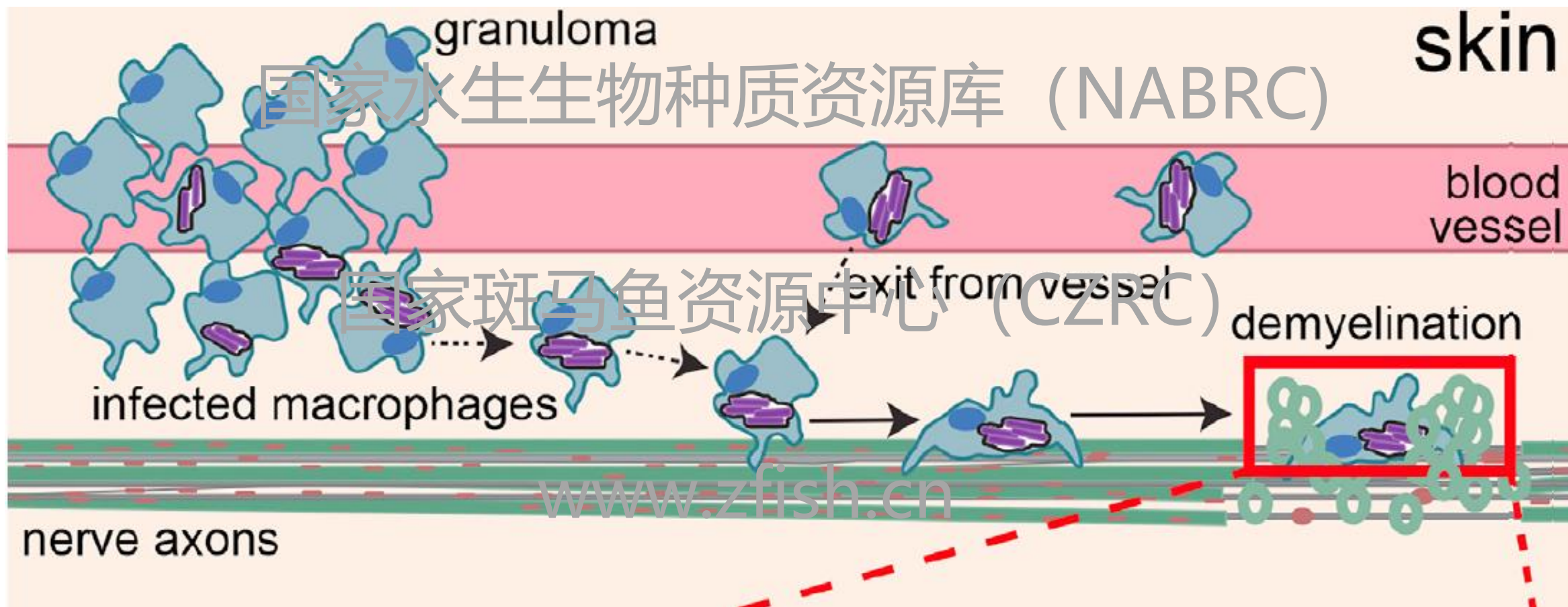
国家水生生物种质资源库 (NABRC)

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

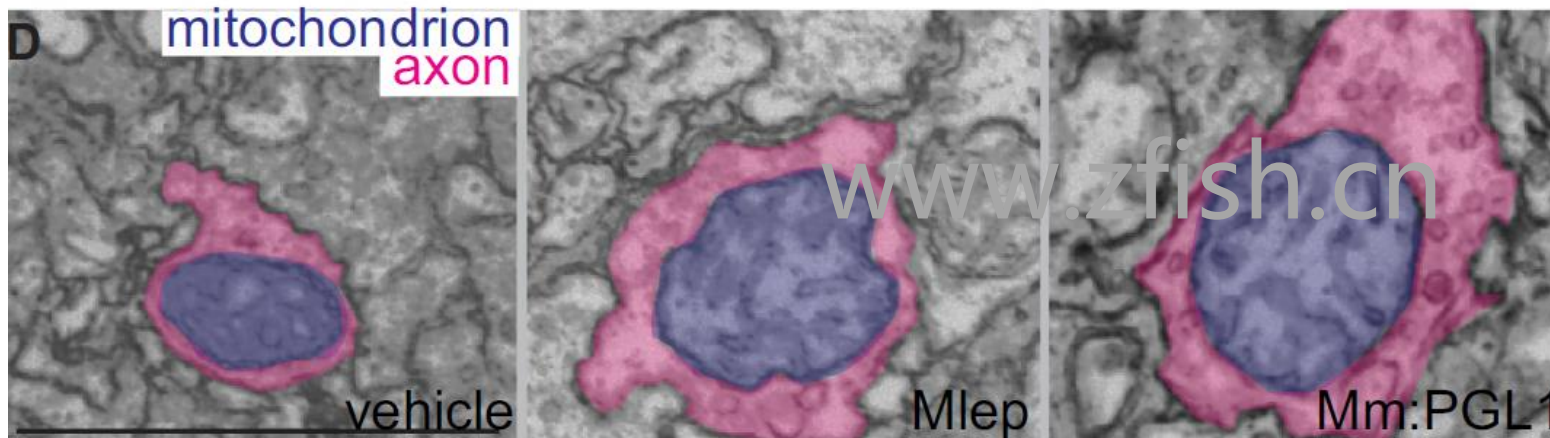
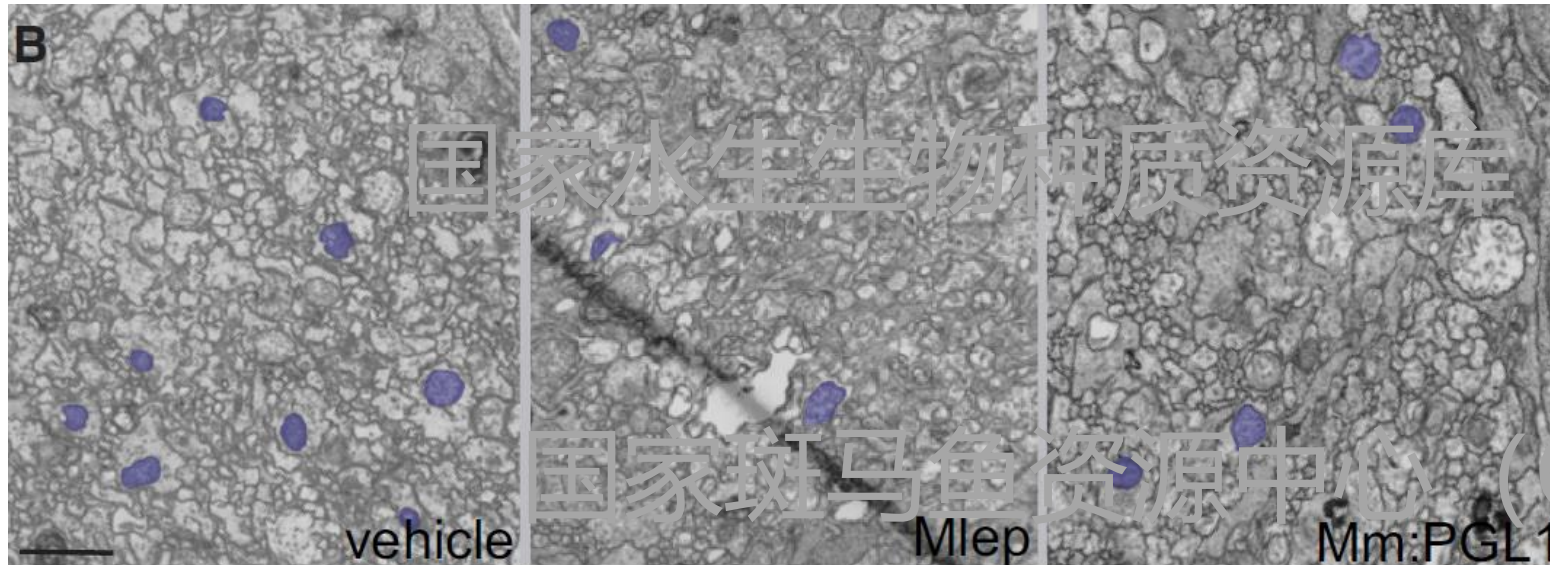
www.zfish.cn



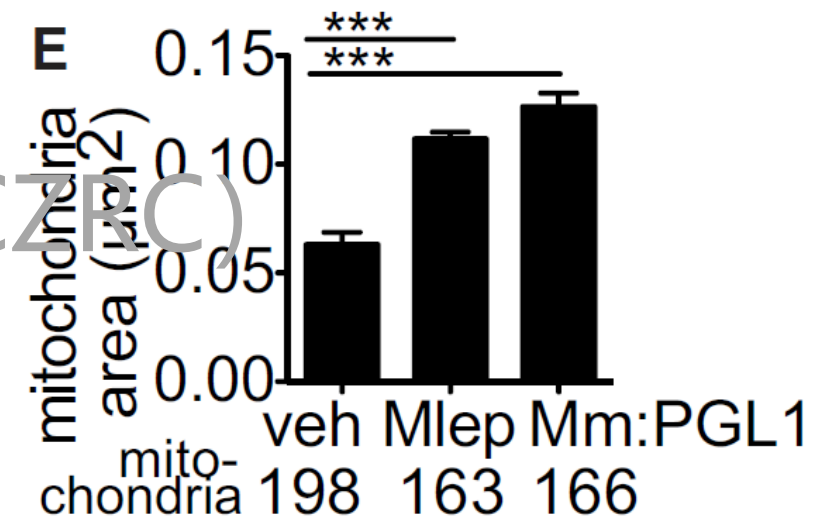
转基因工具：荧光标记免疫学过程



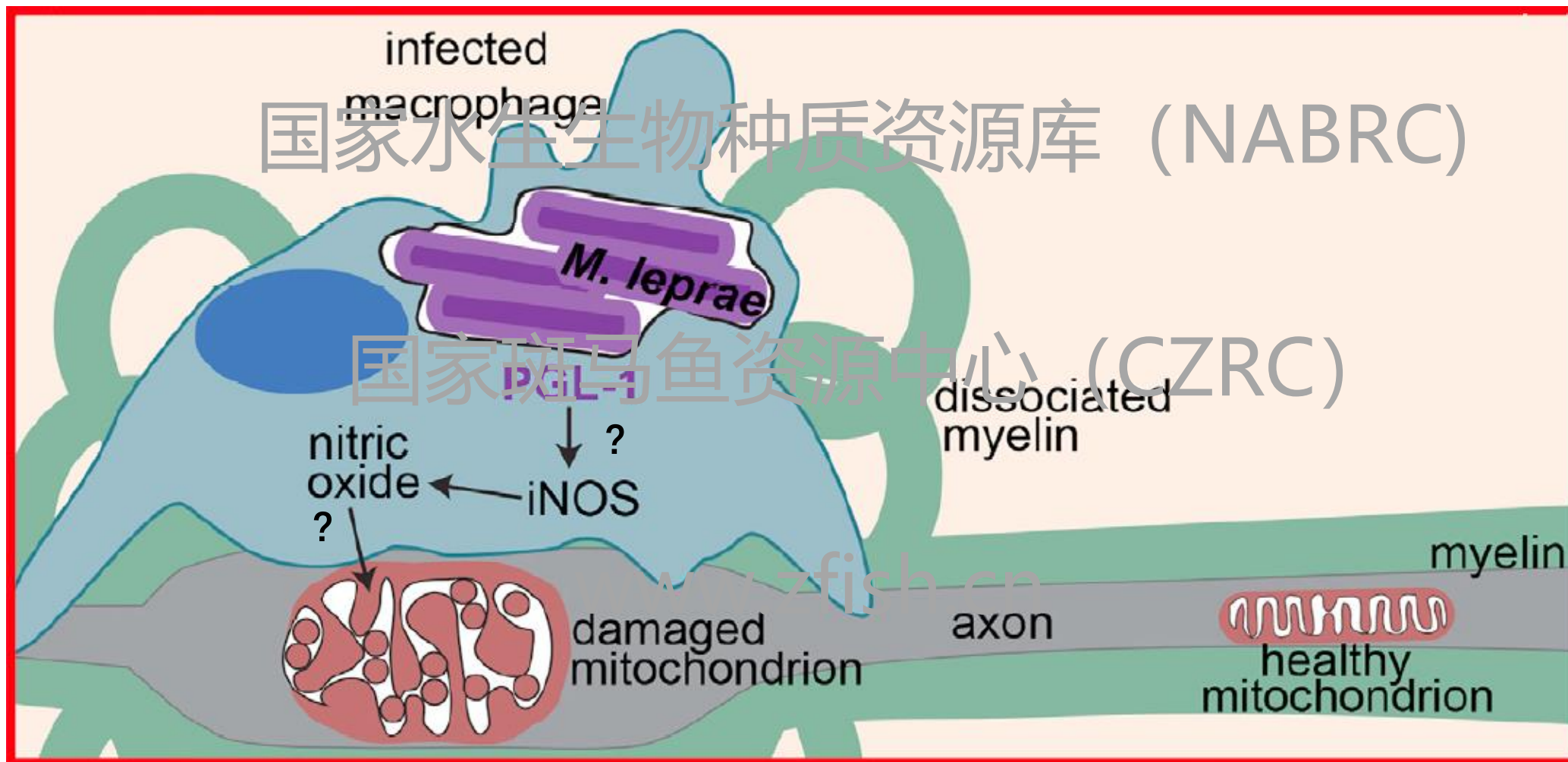
Axonal Damage Is Associated with Mitochondrial Swelling



(NABRC)



转基因工具：荧光标记免疫学过程



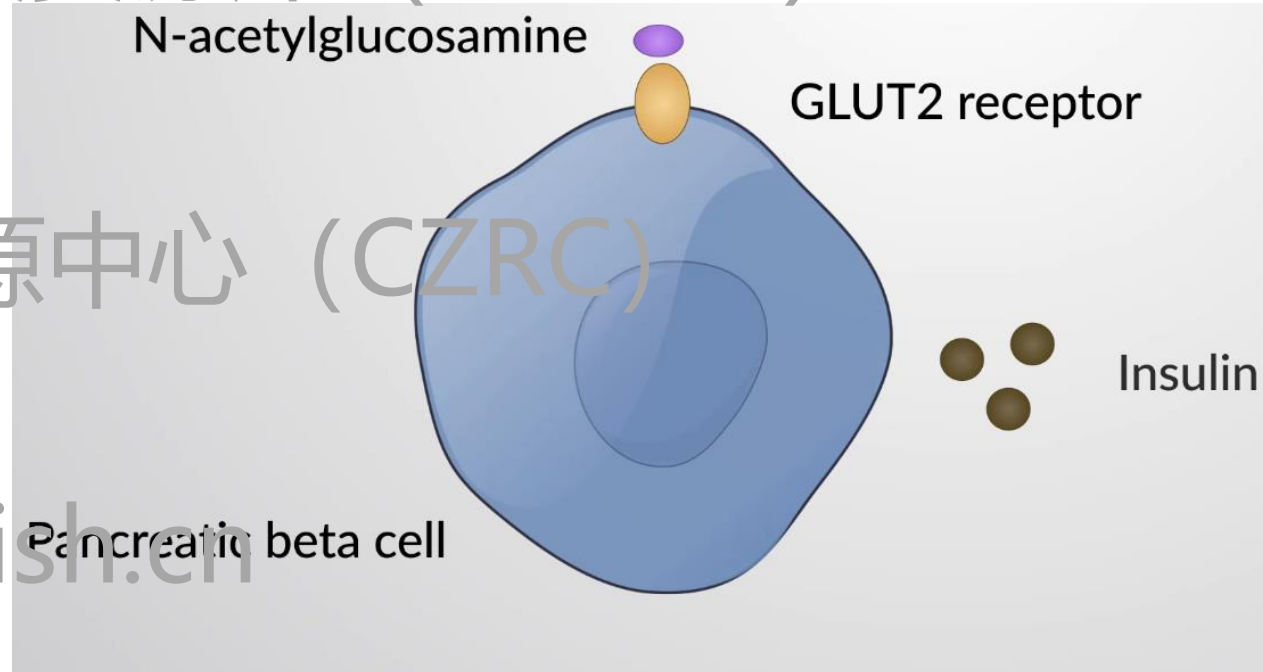
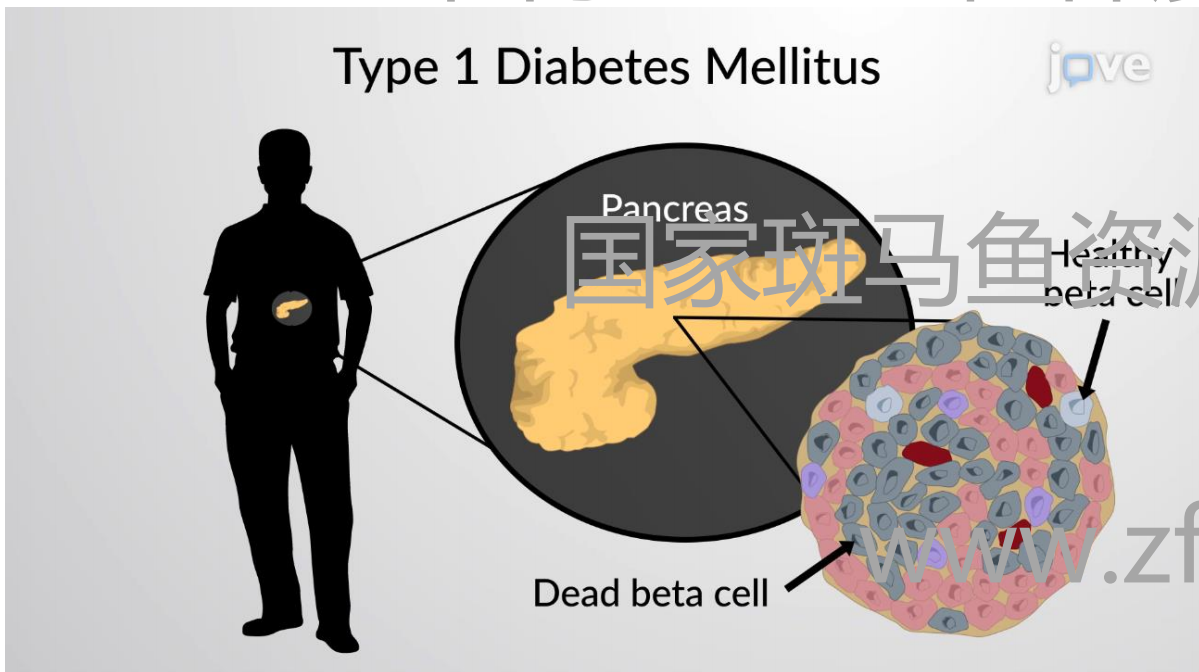
人类疾病构建方式

- 构建人类致病基因的同源基因的敲除
国家水生生物种质资源库 (NABRC)
- 人源化模型
- 转基因模型
国家斑马鱼资源中心 (CZRC)
- 转基因模型 (致病工具)
www.zfish.cn
- 外部干预性模型

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

国家水生生物种质资源库 (NABRC)



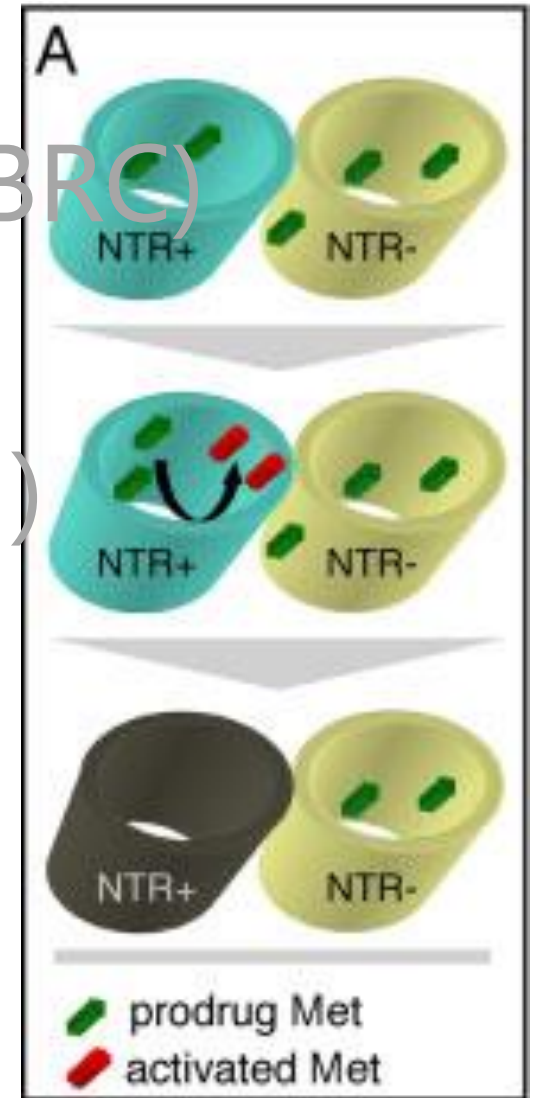
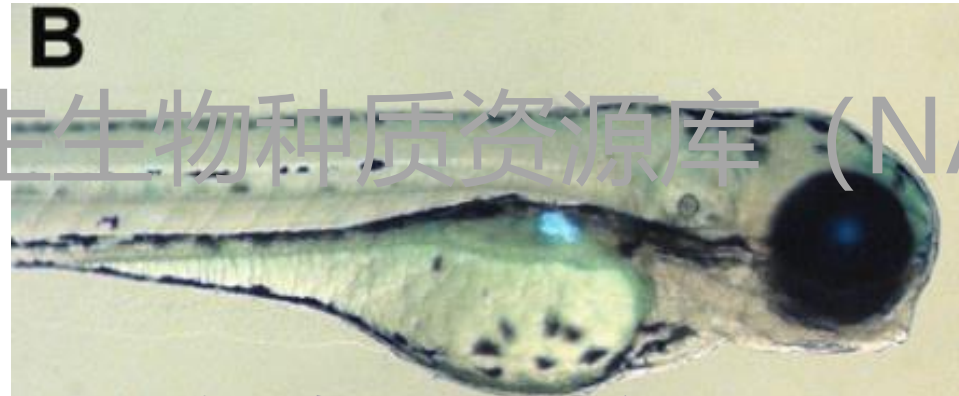
转基因模型：致病工具

- I型糖尿病：胰腺β细胞自身免疫性破坏

- 斑马鱼在48hpf发育的第一周，只有一颗胰岛

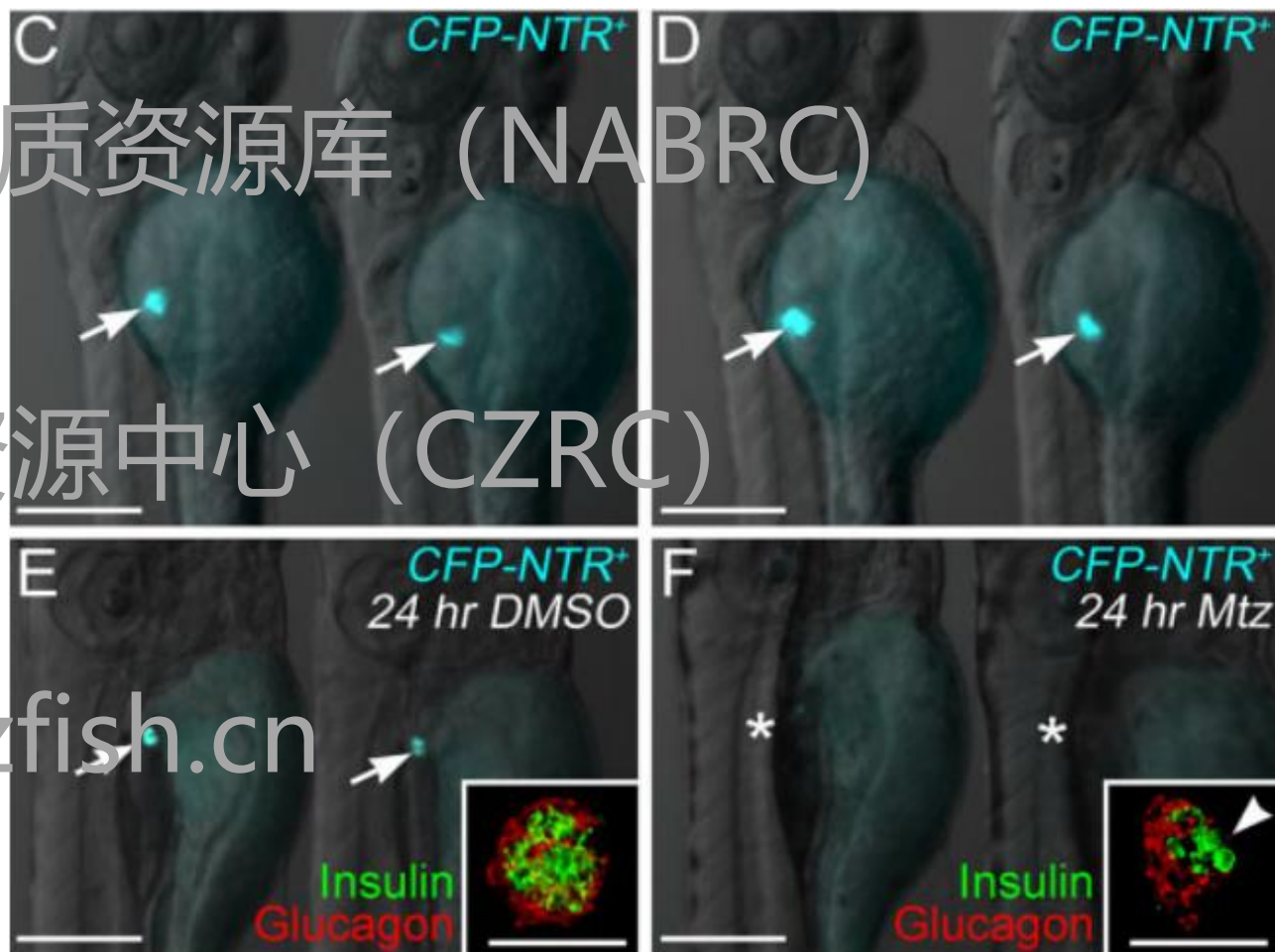
- 双重转基因品系：特异性标记胰岛细胞，和特异性在胰岛中产生硝基还原酶（NTR）

- 以甲硝唑（Mtz）处理特异性杀灭表达NTR的细胞

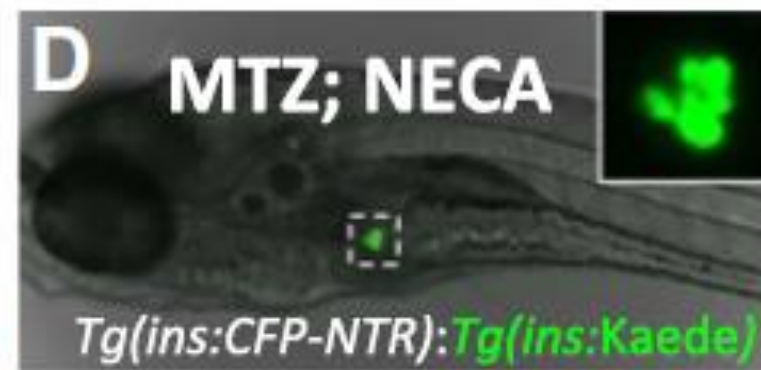
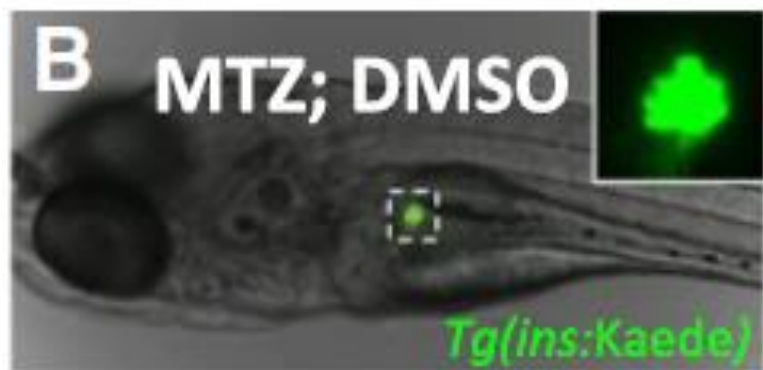
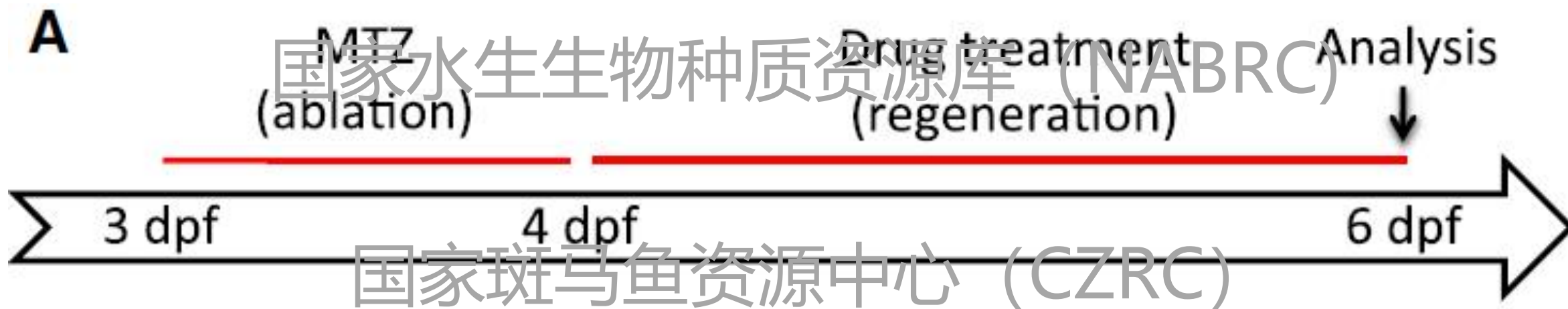


转基因模型：致病工具

- 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

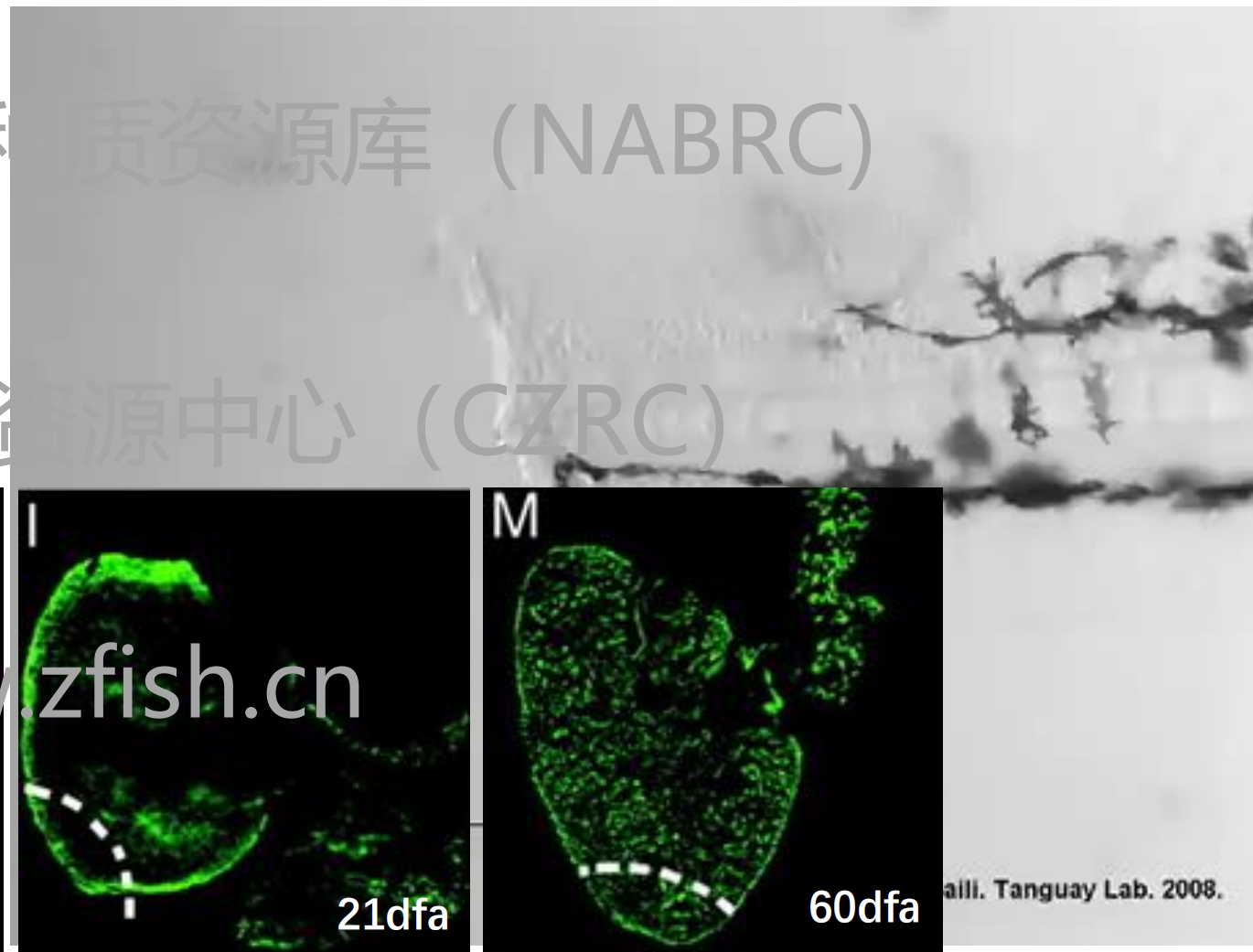


人类疾病构建方式

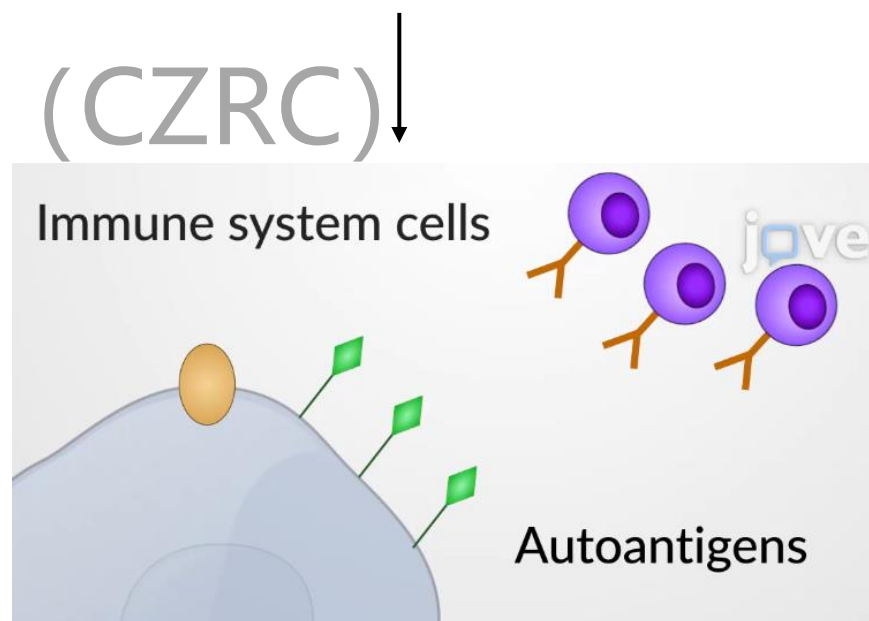
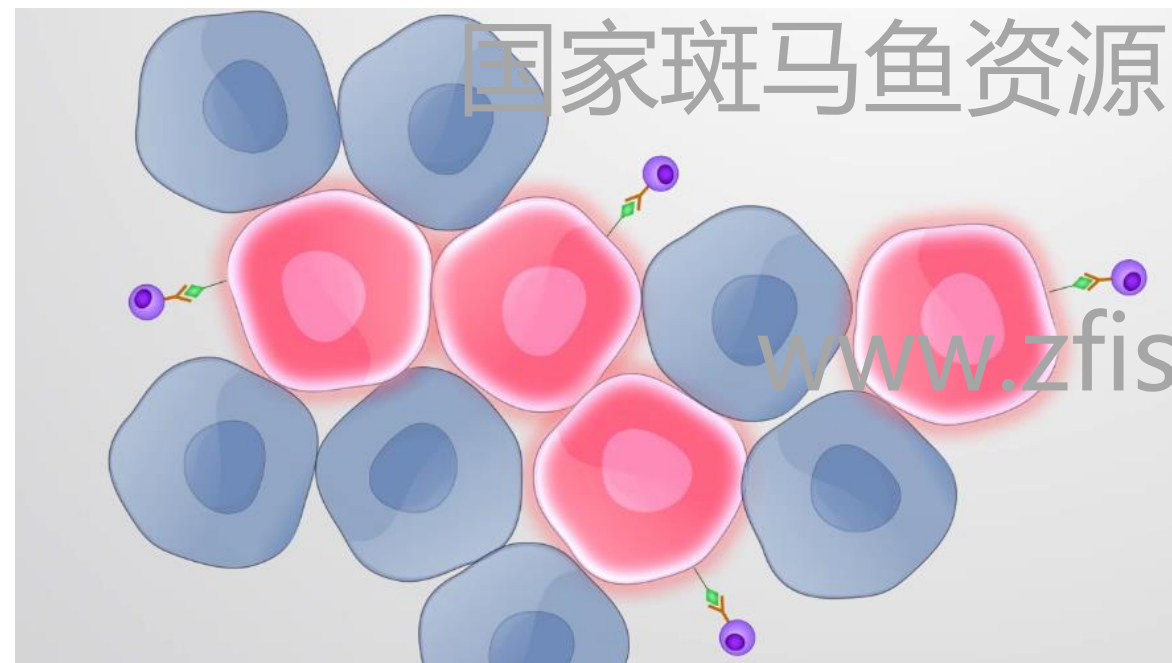
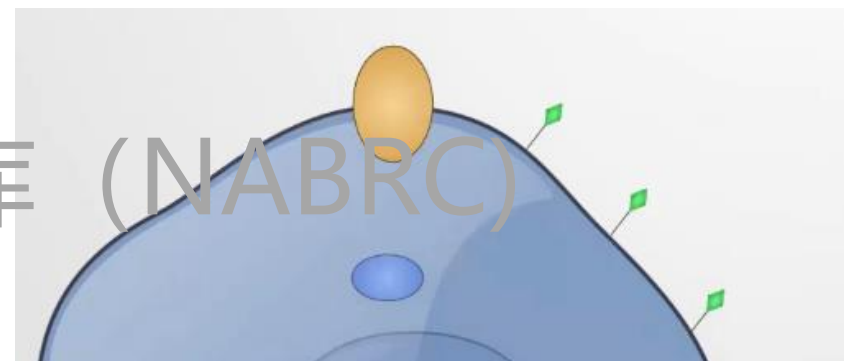
- 构建人类致病基因的同源基因的敲除
国家水生生物种质资源库 (NABRC)
- 人源化模型
- 转基因模型 (致病工具)
国家斑马鱼资源中心 (CZRC)
- 转基因模型 (致病工具)
www.zfish.cn
- 外部干预性模型

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



I 型糖尿病模型—Streptozocin处理

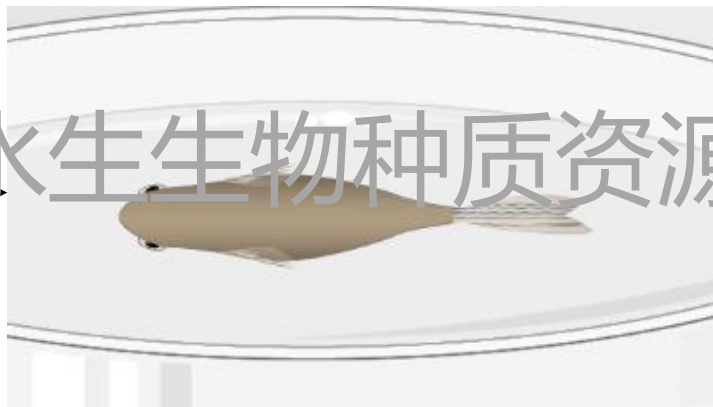


国家水生生物种质资源库 (NABRC)

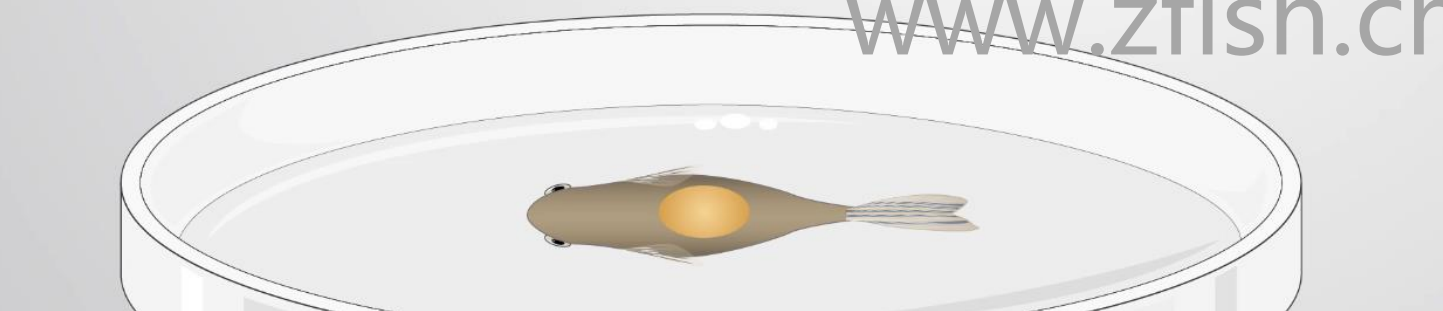
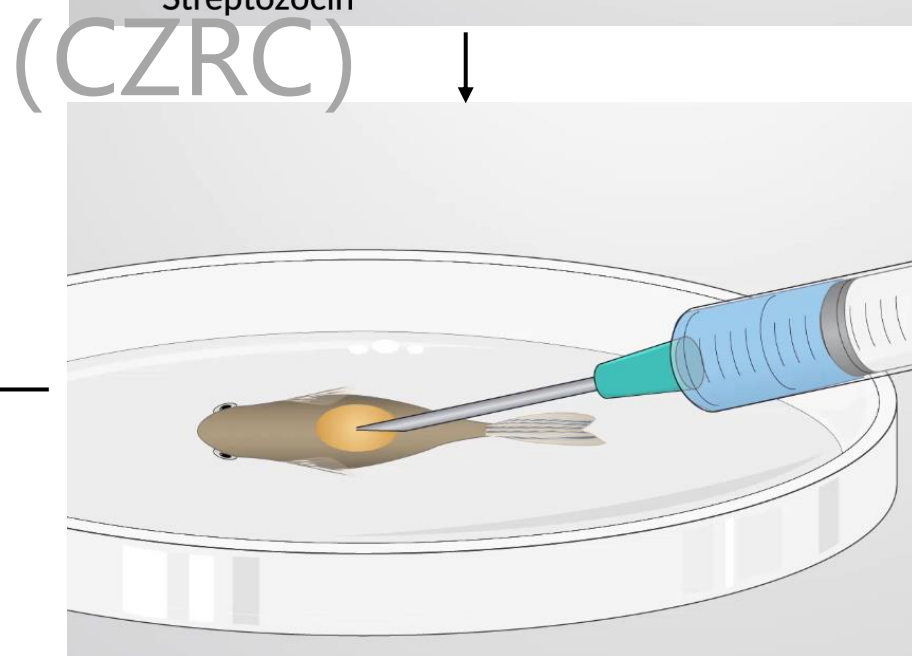
国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

www.zfish.cn

I 型糖尿病模型—Streptozocin处理



国家水生生物种质资源库



www.zfish.cn

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

- Aging
- Cancer
- GI Metabolism
- Hematological
- Infection & Inflammation
- Muscle & Cardiac
- Neural
- Skeletal
- Toxicology
- Drug Discovery

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

www.zfish.cn

国家水生生物种质资源库 (NABRC)

欢迎交流

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)



www.zfish.cn

中国斑马鱼信息中心