

国家水生生物种质资源库 (NABRC)

斑马鱼转基因技术

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

熊凤

www.zfish.cn

国家水生生物种质资源库
国家斑马鱼资源中心

xiongfeng@ihb.ac.cn

国家水生生物种质资源库 (NABRC)

一、斑马鱼转基因品系的应用

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

二、斑马鱼转基因品系的构建

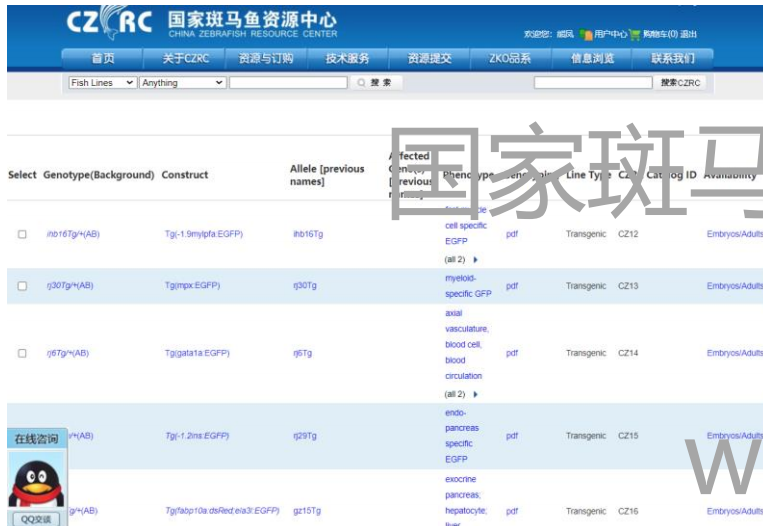
三、斑马鱼转基因品系的鉴定

一、斑马鱼转基因品系的应用

转基因斑马鱼广泛应用于遗传学、发育生物学、细胞生物学、医学、环境毒理学、水产育种学等多种研究领域。

国家水生生物种质资源库 (NABRC)

斑马鱼中心保存的转基因品系:



Select	Genotype(Background)	Construct	Allele [previous names]	Affected Genotype [previous names]	Phenotype	Genotype	Line Type	Cat	log ID	Availability
<input type="checkbox"/>	00167g*(AB)	Tg(-1.9myipfa:EGFP)	00167g		cell specific EGFP	pdf	Transgenic	CZ12		Embryos/Adults
<input type="checkbox"/>	0307g*(AB)	Tg(mpx:EGFP)	0307g		myeloid-specific GFP	pdf	Transgenic	CZ13		Embryos/Adults
<input type="checkbox"/>	0679g*(AB)	Tg(gata1a:EGFP)	0679g		axial vasculature, blood cell, blood circulation	pdf	Transgenic	CZ14		Embryos/Adults
<input type="checkbox"/>	0914g*(AB)	Tg(-1.2ms:EGFP)	0914g		endo-pancreas specific EGFP	pdf	Transgenic	CZ15		Embryos/Adults
<input type="checkbox"/>	0915g*(AB)	Tg(fabp10a:dsRed:eia3:EGFP)	0915g		exocrine pancreas, hepatocyte, liver	pdf	Transgenic	CZ16		Embryos/Adults

1. 过表达靶基因进行**基因功能研究**
2. 特异组织细胞**标记**
3. 构建含有特异性启动子的生物感应器, 用于**环境监测**
4. 构建斑马鱼**疾病模型**进行人类疾病研究和**药物筛选**

• <http://www.zfish.cn/>

1. 过表达靶基因进行基因功能研究

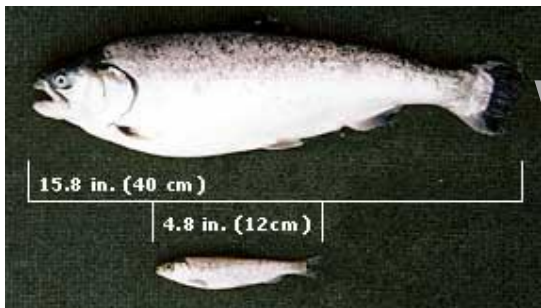
转基因技术是将人工分离和修饰过的基因导入到生物体基因组中，由于导入基因的表达，引起生物体的性状产生可遗传的修饰。

国家水生生物种质资源库 (NABRC)



1983年，世界首例转基因鱼的诞生

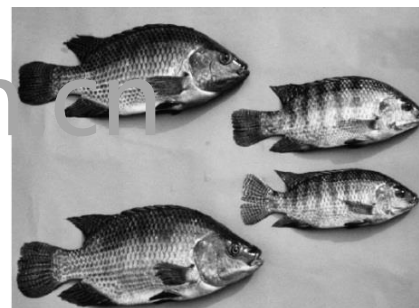
1990纽约时报相关报道



Devlin et al., 2001



Fletcher, et al, 2004



Rahman, 2001



Nam et al., 2002

1. 过表达靶基因进行基因功能研究



国家水生生物种质资源库国家斑马鱼资源中心
China Zebrafish Resource Center (CZRC)
National Aquatic Biological Resource Center (NABRC)

pd1Tg/+ (A3) (CZRC catalog ID: CZ34)

国家水生生物种质资源库 (NABRC)

Nature of the transgene

The *pd1Tg* allele was generated by random integration of pT2(hsp70l:dnfgr1a-EGFP) construct.

Genotyping assay

Genotyping of the *pd1Tg* allele is based on the PCR assay.

Primers:

F: 5' TGAGCAAGGGCGAGGAGC 3'

R: 5' CTCGATGCGGTTCCACCAG 3'

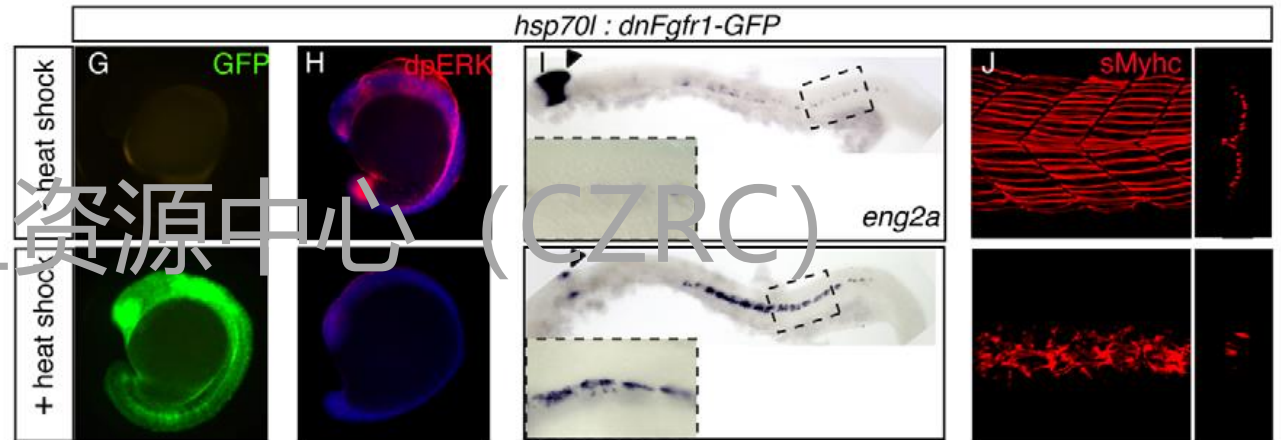
PCR program:

1. 94°C for 3 min
2. 94°C for 30 sec
3. 60°C for 30 sec
4. 72°C for 50 sec
5. Go to step 2 (above) for 29 cycles
6. 72°C for 5 min
7. 12.0°C hold

Product size: 371bp.

Reference:

Nguyen-Chi, M.E., Bryson-Richardson, R., Sonntag, C., Hall, T.E., Gibson, A., Sztal, T., Chua, W., Schilling, T.F., and Currie, P.D. (2012). Morphogenesis and cell fate determination within the adaxial cell equivalence group of the zebrafish myotome. *PLoS Genet* 8, e1003014.



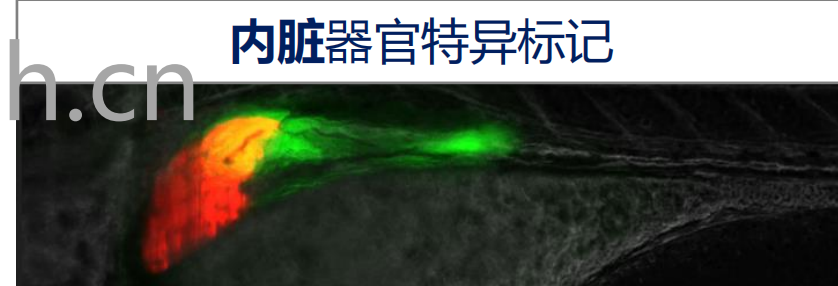
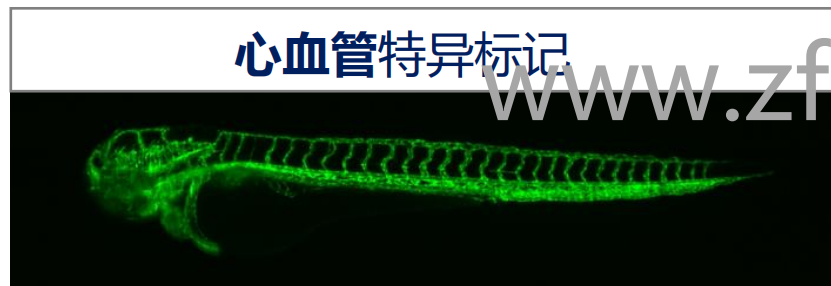
www.zfish.cn

(Nguyen-Chi, M.E., et al., *PLoS Genet*, 2012)

2. 特异组织细胞标记

利用特异性基因启动子调控荧光蛋白在特定的器官或细胞中表达而建立的转基因斑马鱼品系，可实现对某一特定器官或细胞的示踪。

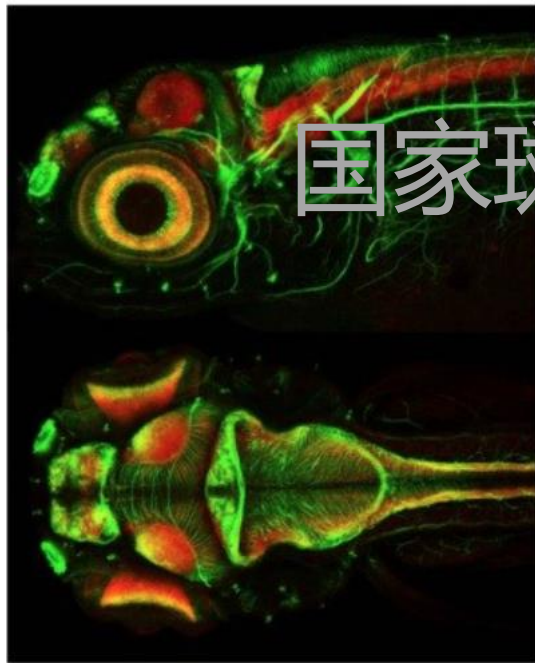
目前斑马鱼中心已开发了一系列标记特异细胞的荧光蛋白标记转基因斑马鱼品系，使得在体内三维环境中追踪特异细胞的发育和迁移成为可能，实现了特异细胞的可视化。



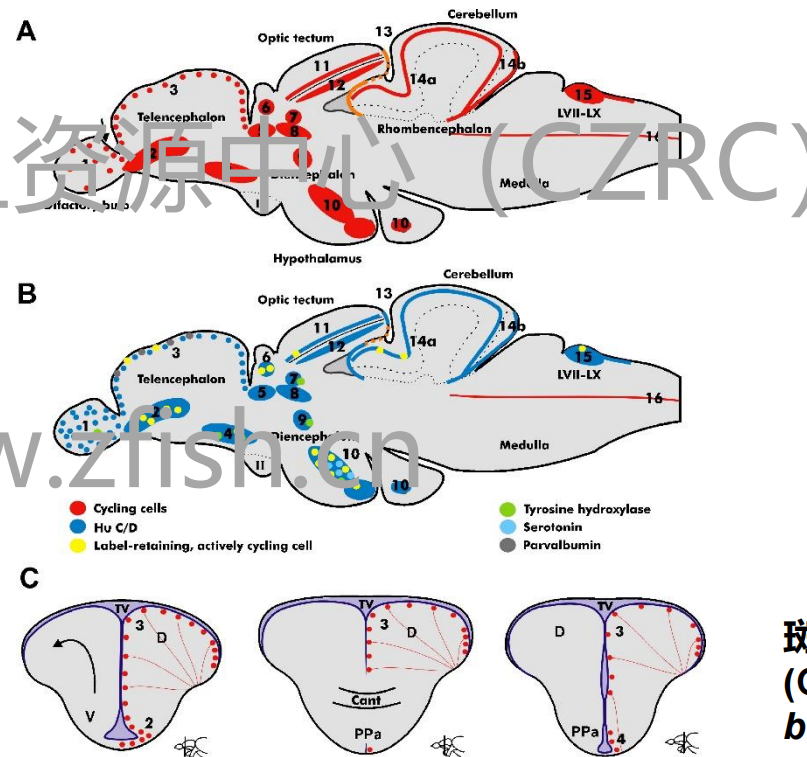
2. 特异组织细胞标记

2.1 神经特异标记的转基因斑马鱼品系

斑马鱼胚胎体外发育，胚胎透明，易于活体观察，是研究神经系统发育、功能和组织修复的理想模型。得益于各种特异性表达荧光蛋白的转基因品系，帮助我们标记目标组织和细胞，可以清晰直观地观察到活体神经细胞的动态生物学过程。



双色荧光标记的斑马鱼神经系统



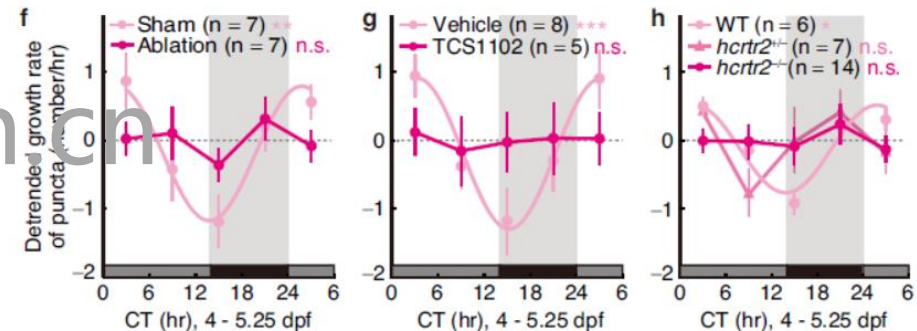
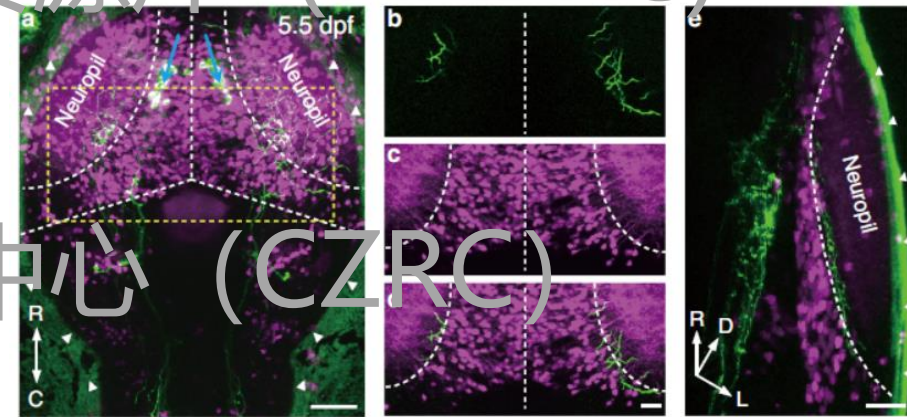
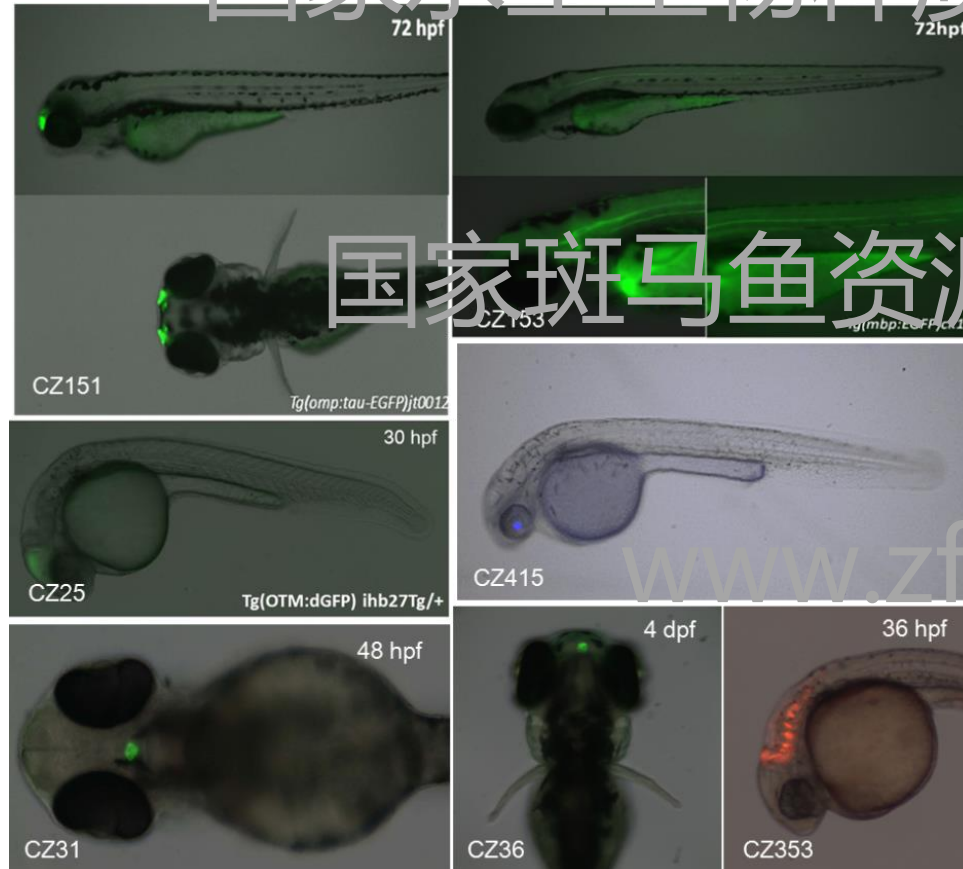
斑马鱼神经系统
(Grandel et al., *Developmental biology*, 2006)

2. 特异组织细胞标记

2.1 神经系统特异标记的转基因斑马鱼品系

斑马鱼中心保存的神经相关品系: <http://www.zfish.cn/Article/1387.html>

国家水生生物种质资源库 (NABRC)

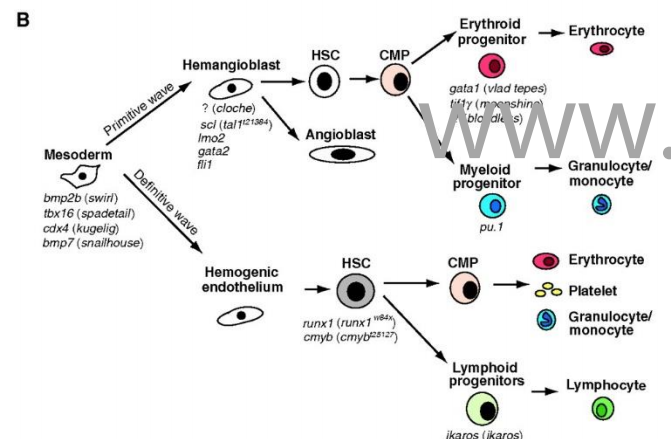
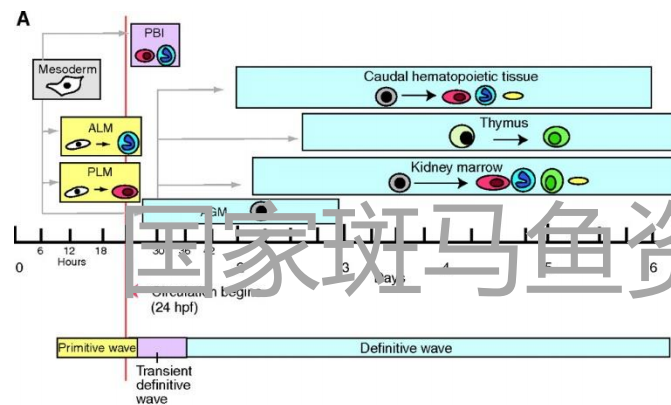


探究突触发育的昼夜节律性及其调节机制
(Du et al., *Nat Commun*, 2023)

2. 特异组织细胞标记

2.2 血液特异标记的转基因斑马鱼品系

斑马鱼的免疫系统与人类的非常相似，斑马鱼造血系统相关的转录因子同人类具有高度的同源性，因此斑马鱼已经成为研究体内造血系统发育、功能及相关疾病的理想选择。



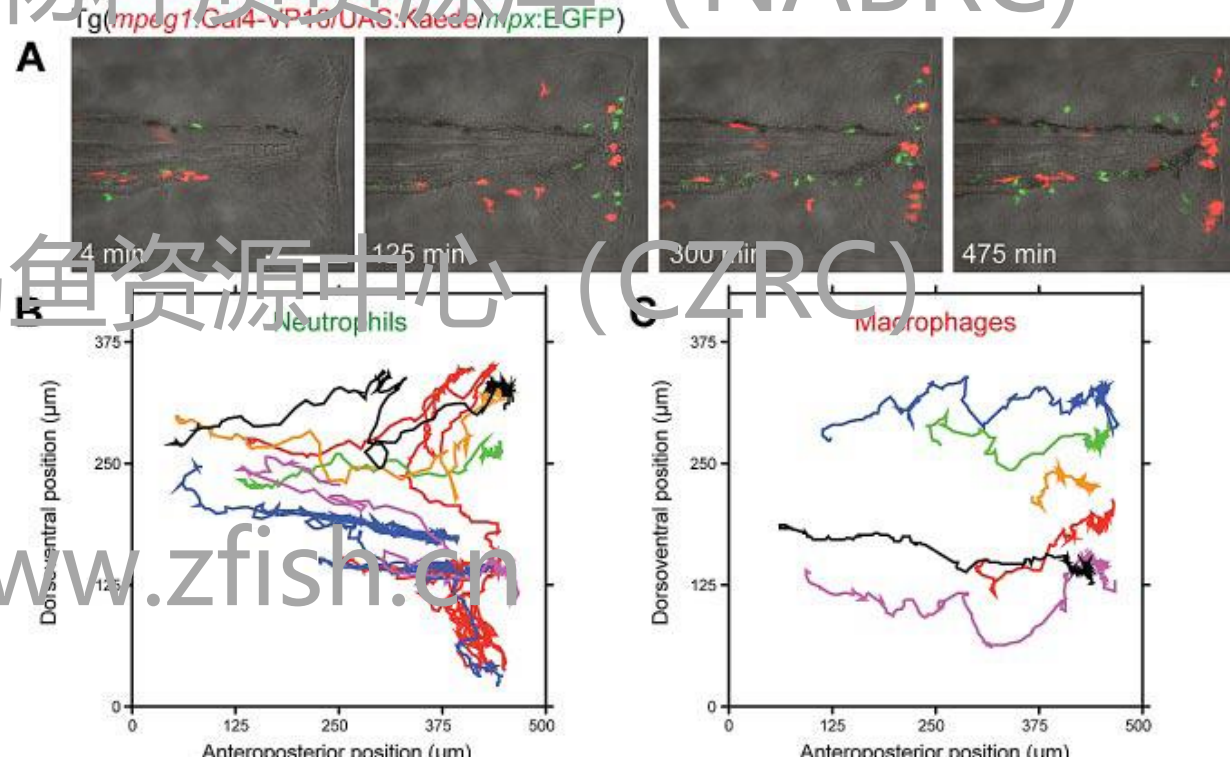
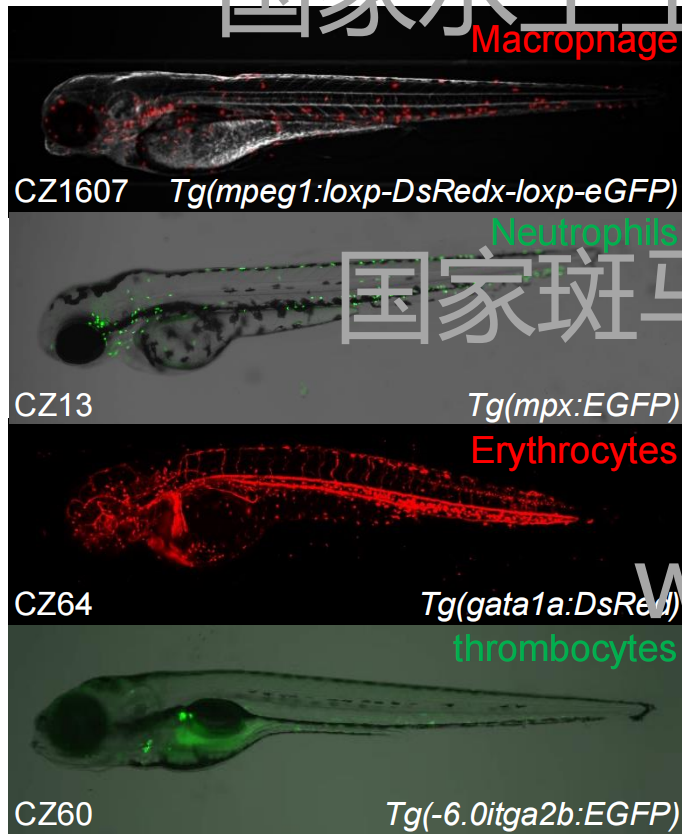
斑马鱼造血过程分为两个阶段：
 11hpf, 开始原始造血。
 30hpf, 斑马鱼开始定向造血。

斑马鱼血液系统发育
 (Jing L., et al., *Dis Model Mech*, 2011)

2. 特异组织细胞标记

2.2 血液细胞特异标记的转基因斑马鱼品系

斑马鱼中心保存的血液相关品系: <http://www.zfish.cn/Article/1418.html>

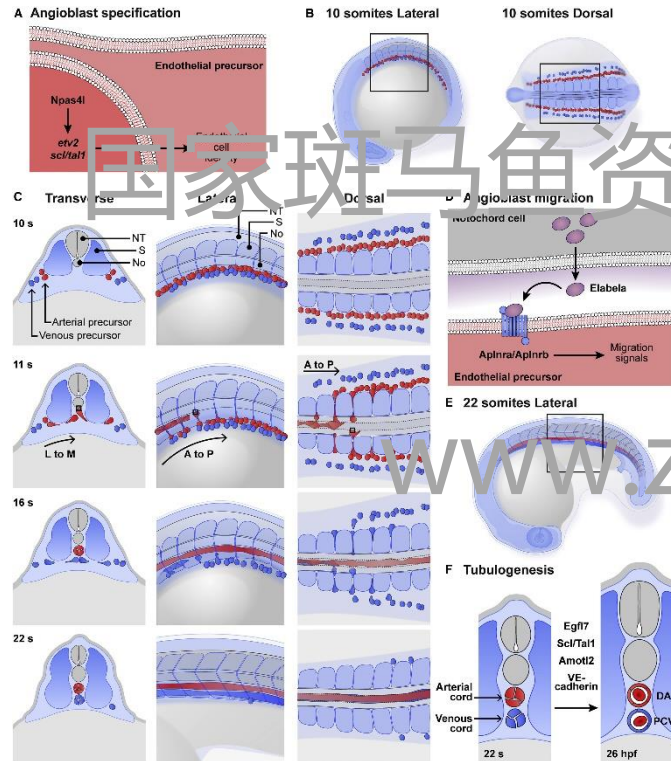


炎症、感染和再生研究
(Ellett, F., et al., *Blood*, 2011)

2. 特异组织细胞标记

2.3 心血管特异标记的转基因斑马鱼品系

斑马鱼胚胎可以靠被动扩散供氧生存相当长时间，因而具有严重心血管发育缺陷的胚胎也能够早期发育中存活。荧光蛋白标记心血管系统的转基因斑马鱼品系在心血管发育、疾病发生、损伤再生、肿瘤发生、癌细胞迁移等诸多研究中成为不可或缺的工具。

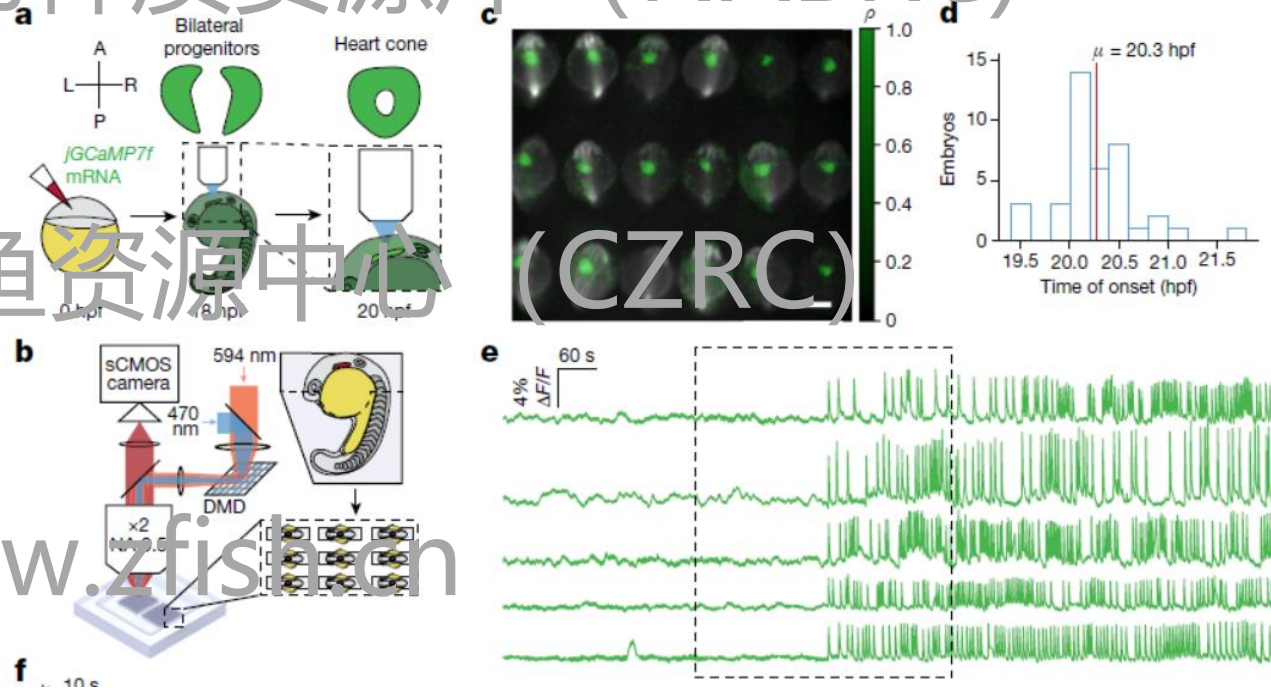
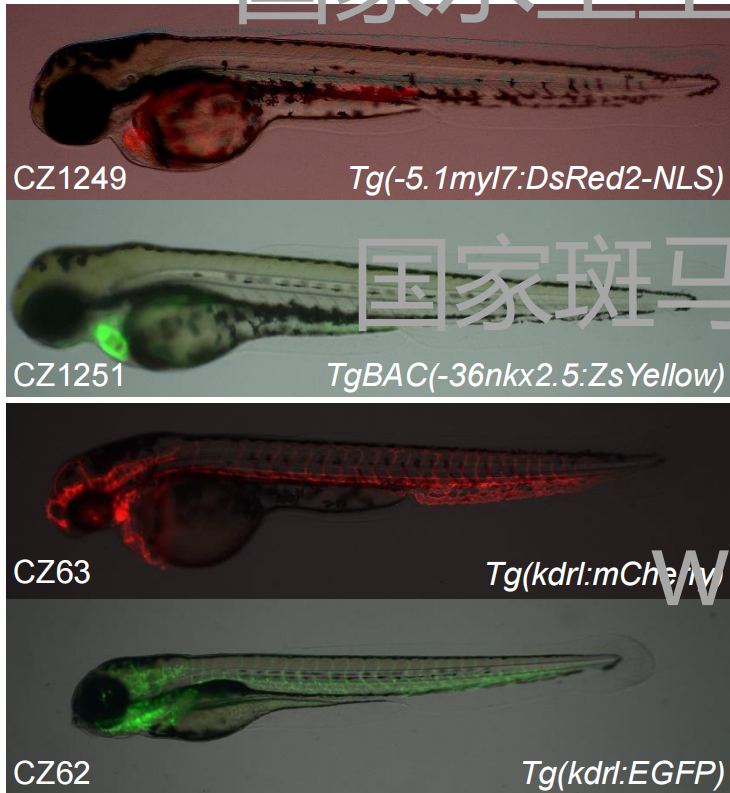


斑马鱼胚胎的心血管发育
(Hogan BM., et al., *Dev Cell*, 2017)

2. 特异组织细胞标记

2.3 心血管特异标记的转基因斑马鱼品系

斑马鱼中心保存的心血管相关品系: <http://www.zfish.cn/Article/1401.html>

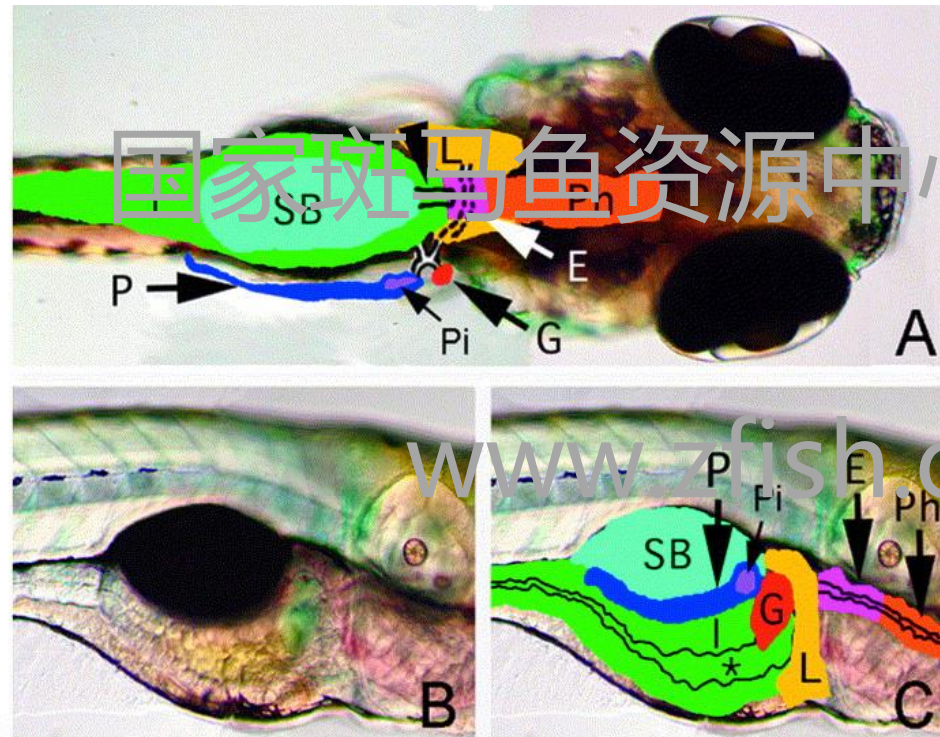


斑马鱼心脏最初的跳动进行记录，并对这跳动背后的电生理特征等进行分析。
(Bill Z Jia et al., *Nature*, 2023)

2. 特异组织细胞标记

2.4 内脏器官特异标记的转基因斑马鱼品系

脊椎动物的器官形成是一个错综复杂的发育过程。斑马鱼胚胎通体透明的优势，加上转基因模型所提供的组织特异荧光蛋白表达使得研究者能够对研究目标进行标记和实时观察，这就像黑暗中的灯光照亮了鱼类内脏团中器官发育、免疫应答、疾病防治中难以观察到的细节。



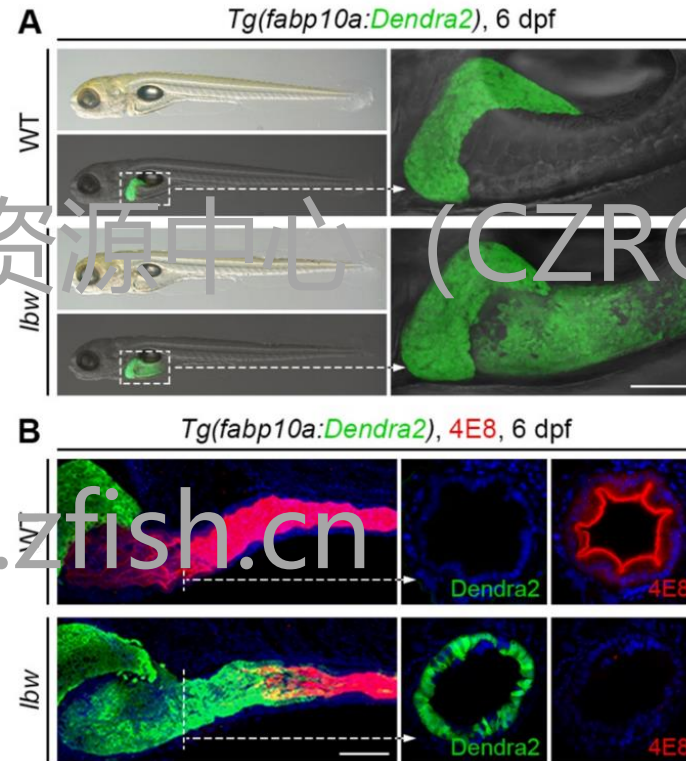
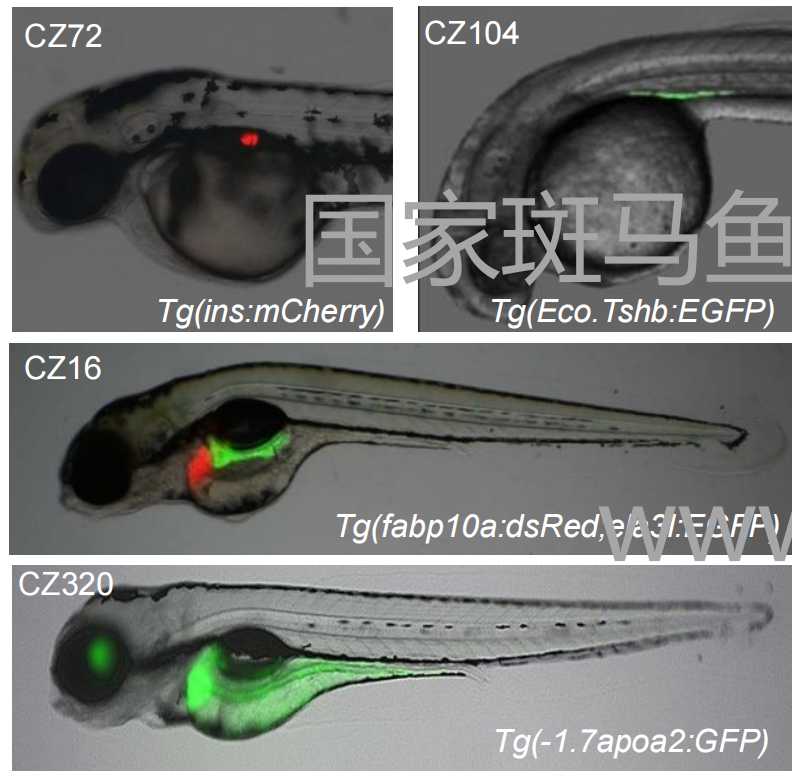
5dpf 斑马鱼胚胎消化系统模式示意图
(Wallace KN et al., *Developmental biology*, 2003)

2. 特异组织细胞标记

2.4 内脏器官特异标记的转基因斑马鱼品系

斑马鱼中心保存的内脏相关品系: (<http://www.zfish.cn/Article/1429.html>)

国家水生生物种质资源库 (NABRRC)



深入理解肝脏和肠道细胞谱系的协同建立和竞争平衡机制发挥着重要作用 (Yang et al., *PNAS*, 2022)

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

www.zfish.cn

3. 含有特异性启动子的生物感应器，用于环境监测

有些特异性启动子能够被一些化合物特异激活，从而可以构建对这些化合物敏感荧光转基因斑马鱼模型，提供一种可直观地监测水中污染程度的生物检测方法。以斑马鱼作为生物模型对水质进行评估的方法不仅简单经济，且具有即时性和可靠性。



Original Article | Published: 26 September 2015
 Generation of *Tg(cyp1a:gfp)* Transgenic Zebrafish for Development of a Convenient and Sensitive In Vivo Assay for Aryl Hydrocarbon Receptor Activity
 Hongyan Xu, Caixia Li, Yan Li, Grace Hwee Boon Ng, Chunsheng Liu, Xiaoyan Zhang & Zhiyuan Gong
Marine Biotechnology 17, 831–840 (2015) | Cite this article

gz337g/+ (AB) (CZRC Catalog ID: CZ 250)

Nature of the transgene
 The *gz337g* allele was generated by random integration of pT2(*cyp1a:gfp*) construct.

Genotyping assay
 Genotyping of the *gz337g* allele is based on the PCR assay.

Primers:
 F: 5' TGAGCAAGGGCGAGGAGC 3'
 R: 5' CTCGATCGGGTTCACCAG 3'

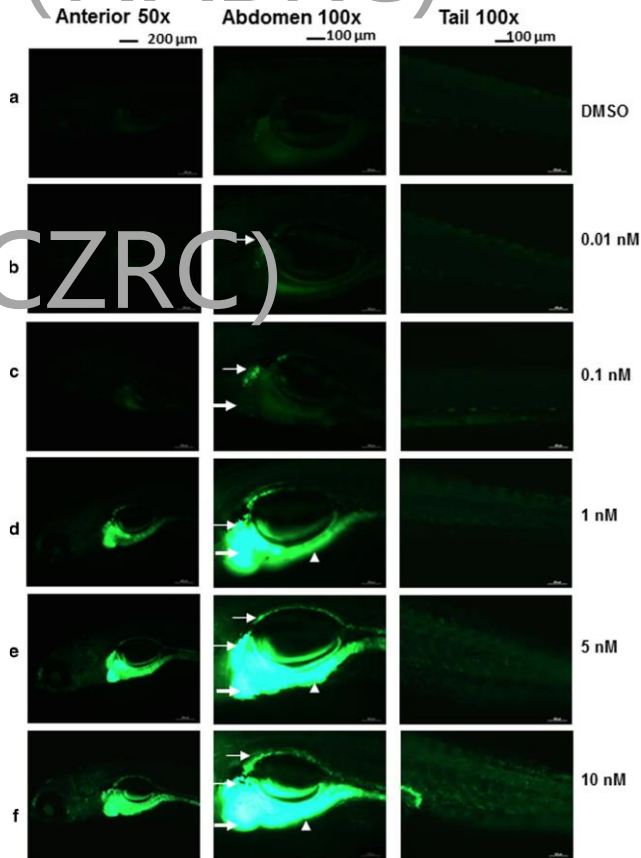
PCR program:
 1. 94°C for 3 min
 2. 94°C for 30 sec
 3. 50°C for 1 sec
 4. 72°C for 10 sec
 5. Go to step 2 (above) for 25 cycles
 6. 72°C for 5 min
 7. 12.0°C hold

Product size: 371 bp.

Reference:
 Xu, H., Li, C., Li, Y., Ng, G.H., Liu, C., Zhang, X., Gong, Z. (2015) Generation of *Tg(cyp1a:gfp)* Transgenic Zebrafish for Development of a Convenient and Sensitive In Vivo Assay for Aryl Hydrocarbon Receptor Activity. *Marine biotechnology* (New York, N.Y.), 17(6):831-40

www.zfish.cn

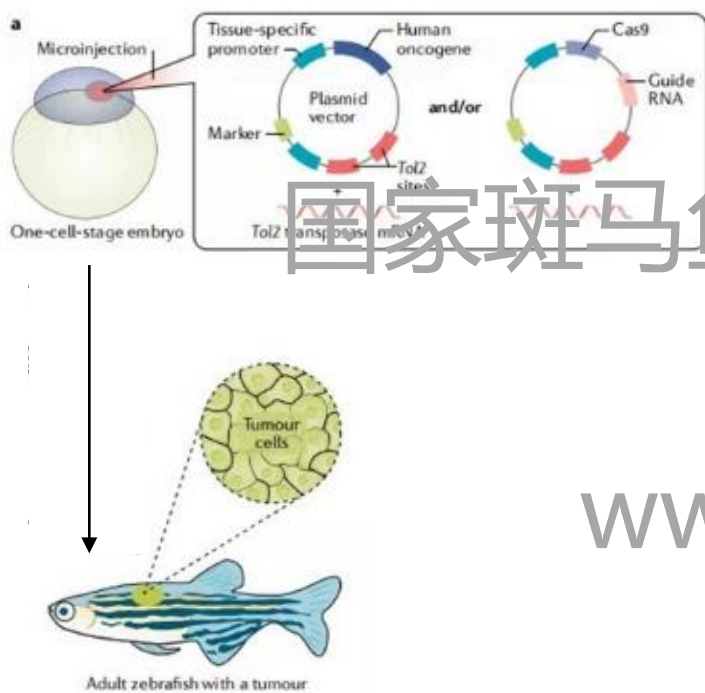
国家水生生物种质资源库 (NABRC)



直观地动态监测环境中TCDD的污染情况
 (Xu et al., *Mar Biotechnol* (NY), 2015)

4. 斑马鱼疾病模型，进行人类疾病研究和药物筛选

斑马鱼的基因组和疾病信号通路与人类具有高度同源性，器官发生、疾病生理与人类相似度较大，随着多种斑马鱼疾病 (如癌症、免疫性系统疾病等) 模型的建立，利用斑马鱼的疾病模型来研究人类相关疾病的机制和筛选药物已经成为热门科研趋势。



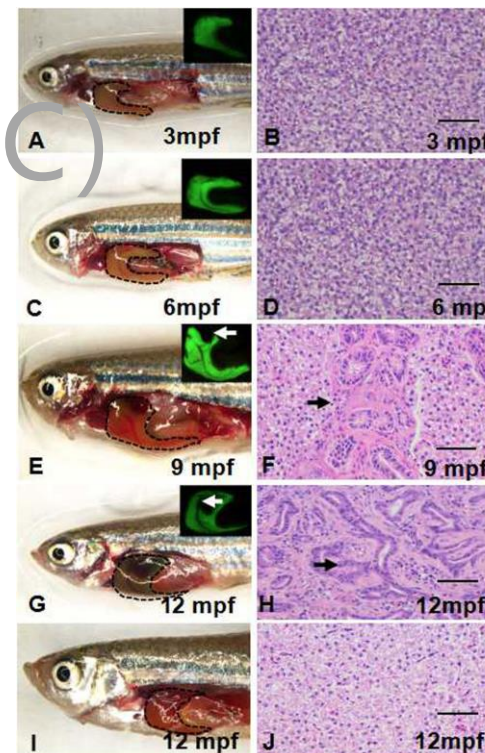
斑马鱼癌症模型

Article | Open access | Published: 17 October 2017

The construction of intrahepatic cholangiocarcinoma model in zebrafish

Jing Wang, Xiaoqian Leng, Guiping Wang, Xiaoyang Wan & Hong Cao

Scientific Reports 7, Article number: 13419 (2017) | Cite this article



Tg(fabp10:Nras61K-GFP)^{ihb198Tg} (AB) (CZRC Catalog ID: CZ 85)

Nature of the line

The *ihb198Tg* allele is a transgenic line and the transgenic construct contains a *Nras61K-GFP* expression cassette driven by *fabp10* promoter.

Genotyping assay

Genotyping of the *ihb198Tg* allele is based on the PCR assay.

Primers:
 F: 5' TGAGCAAGGGGAGGAGC 3'
 R: 5' TCGATGCGTTCACCAG 3'

1. 94°C for 30 sec
 2. 94°C for 30 sec
 3. 60°C for 30 sec
 4. 72°C for 50 sec
 5. Go to step 2 (above) for 29 cycles
 6. 72°C for 5 min
 7. 12.0°C hold
- Product size:** 371bp.

Reference:

Wang J, Leng X, Wang G, et al. The construction of intrahepatic cholangiocarcinoma model in zebrafish. *Sci Rep.* 2017; 7: 13419

模拟人类肝内胆管癌的典型特征
 (Wang et al., *Sci Rep.*, 2017)

国家水生生物种质资源库 (NABRC)

一、斑马鱼转基因品系的应用

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

二、斑马鱼转基因品系的构建

三、斑马鱼转基因品系的鉴定

二. 斑马鱼转基因品系的构建

1.1 转基因载体

转基因载体是承载外源基因，携带靶基因进入斑马鱼胚胎细胞，并将目的基因整合到斑马鱼基因组使其稳定维持的DNA分子。



When & where

- 决定基因在哪个发育阶段表达
- 决定基因表达的组织特异性(组成型、组织特异型、诱导型)

What

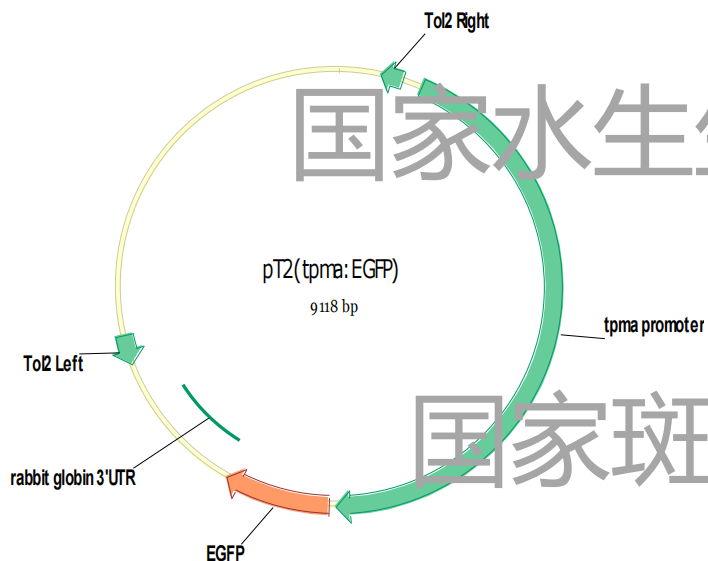
- 决定表达的内容

3'UTR

- 提供转录终止信号
- 决定基因表达的组织特异性

1. 斑马鱼转基因载体

以质粒样品pT2(tpma:eGFP-UTRglobin)为例:



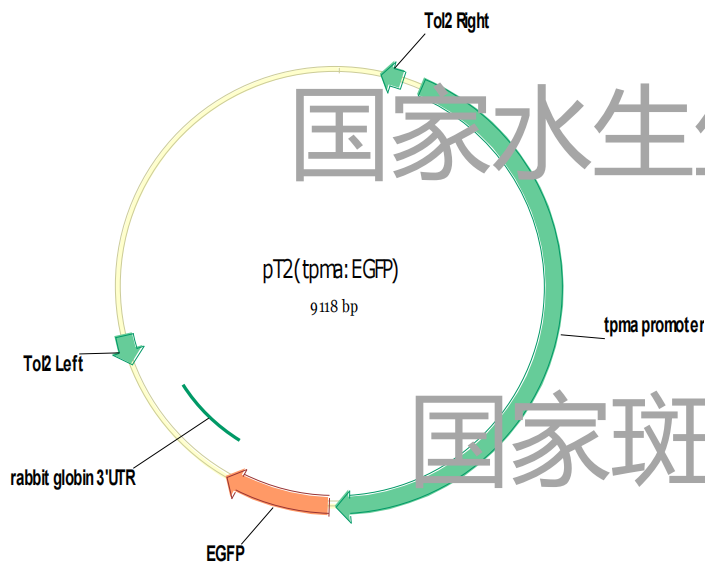
转基因载体的元件:

- ① 启动子: *tpma*;
- ② 目的基因: *eGFP*;
- ③ 终止子: *globin 3'UTR*;
- ④ 其它元件: Tol2转座子。

www.zfish.cn

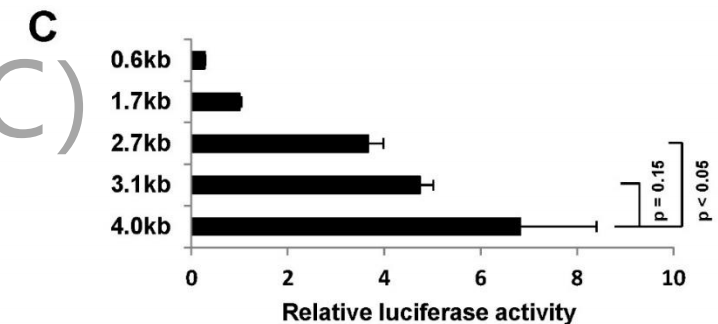
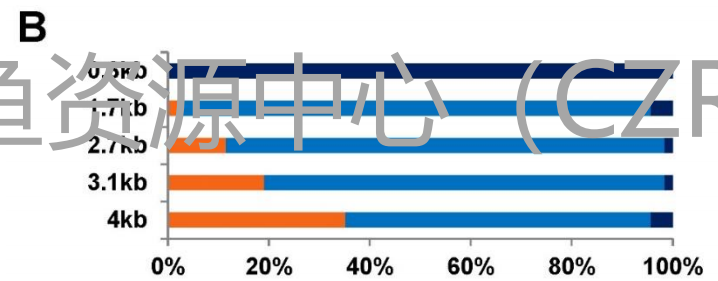
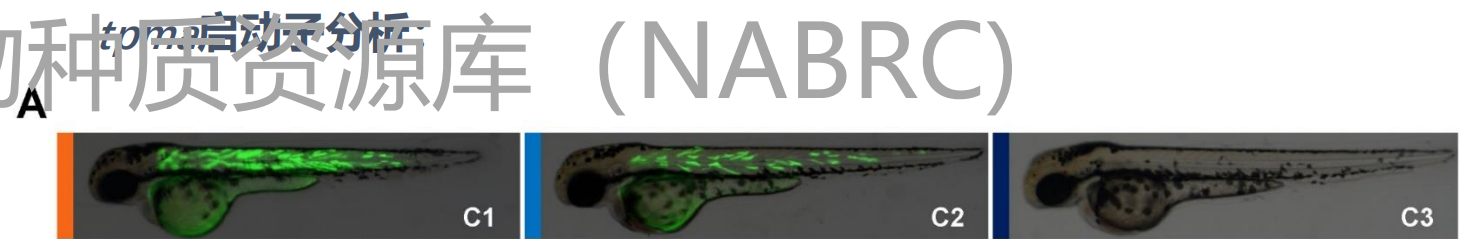
1. 斑马鱼转基因载体

以质粒样品pT2(tpma:eGFP-UTRglobin)为例:



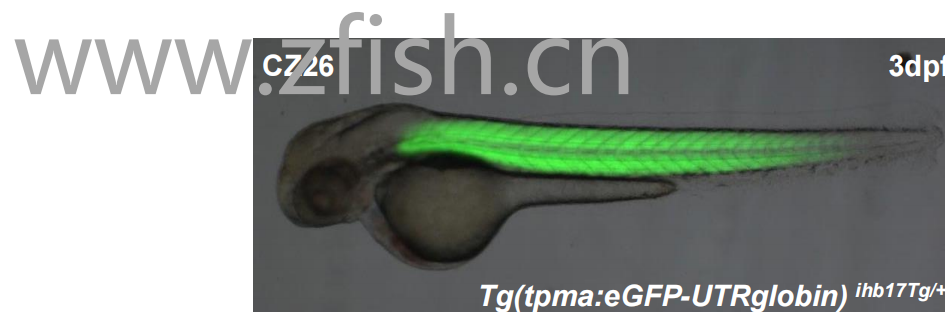
国家水生生物种质资源库 (NABRC)

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)



转基因载体的元件:

- ① 启动子: *tpma*;
- ② 目的基因: *eGFP*;
- ③ 终止子: *globin 3'UTR*;
- ④ 其它元件: Tol2转座子。



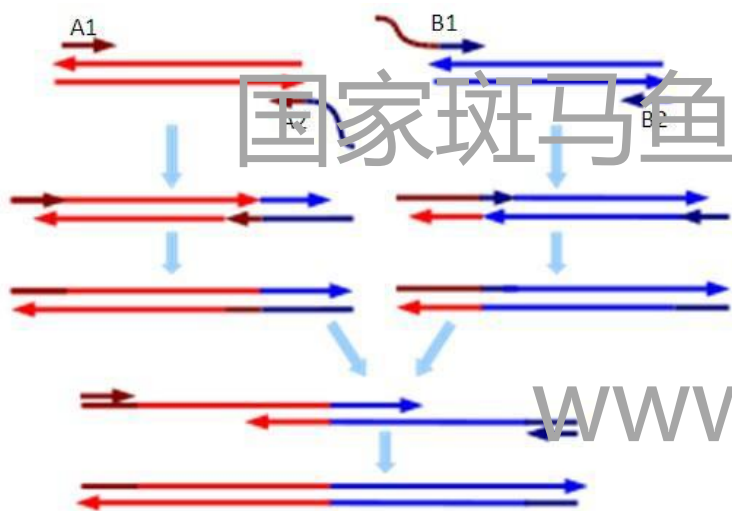
(Pang et al., *Mar Biotechnol* (NY), 2015)

1. 斑马鱼转基因载体

1.2 转基因载体的构建方法：

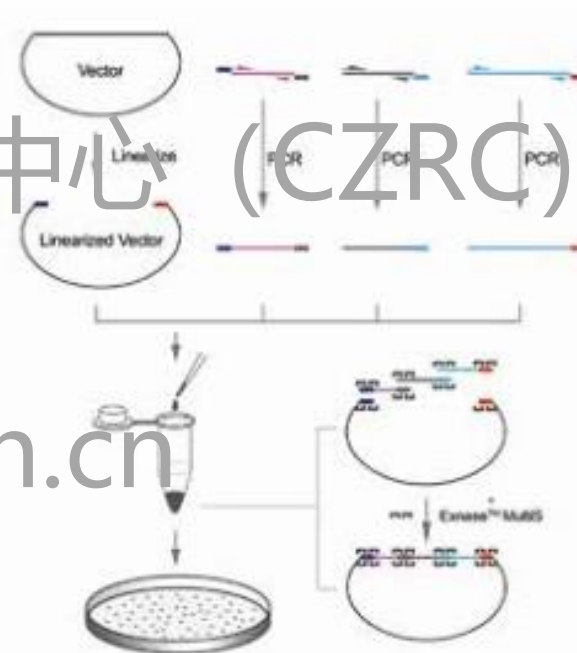
- ① 传统的酶切连接技术 (结合搭桥PCR)
- ② 无缝克隆技术 (基于重组酶、E-CRIII的切割)

➤ 搭桥PCR：



(Heckman et al., *Nat Protoc*, 2007)

➤ 无缝克隆技术：

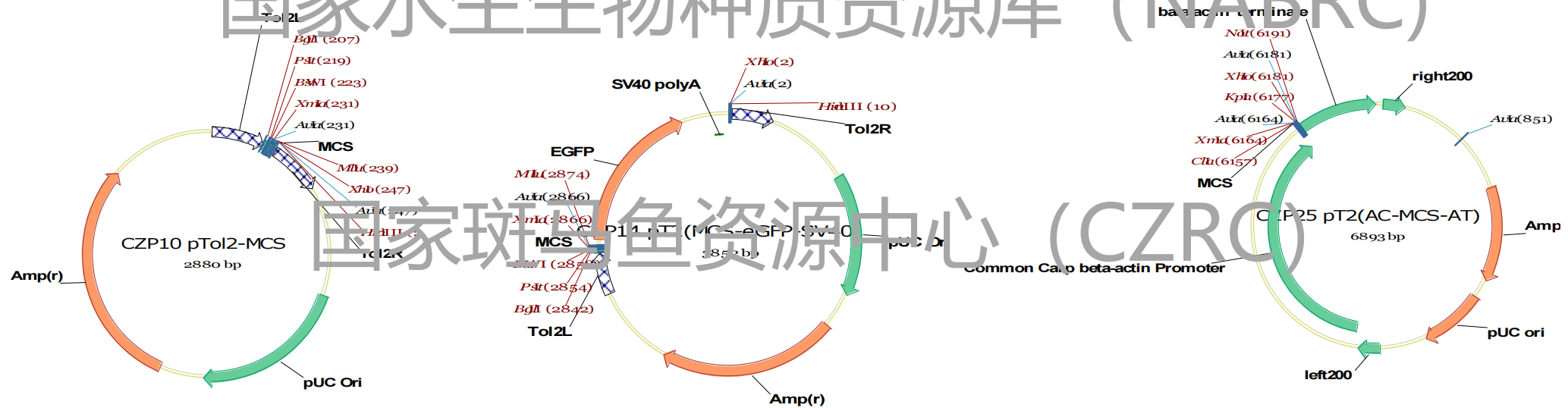


(<https://www.vazyme.com/corpvideo/2/>)

1. 斑马鱼转基因载体

斑马鱼中心收藏有多种构建转基因载体的工具质粒：

国家水生生物种质资源库 (NABRC)



国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

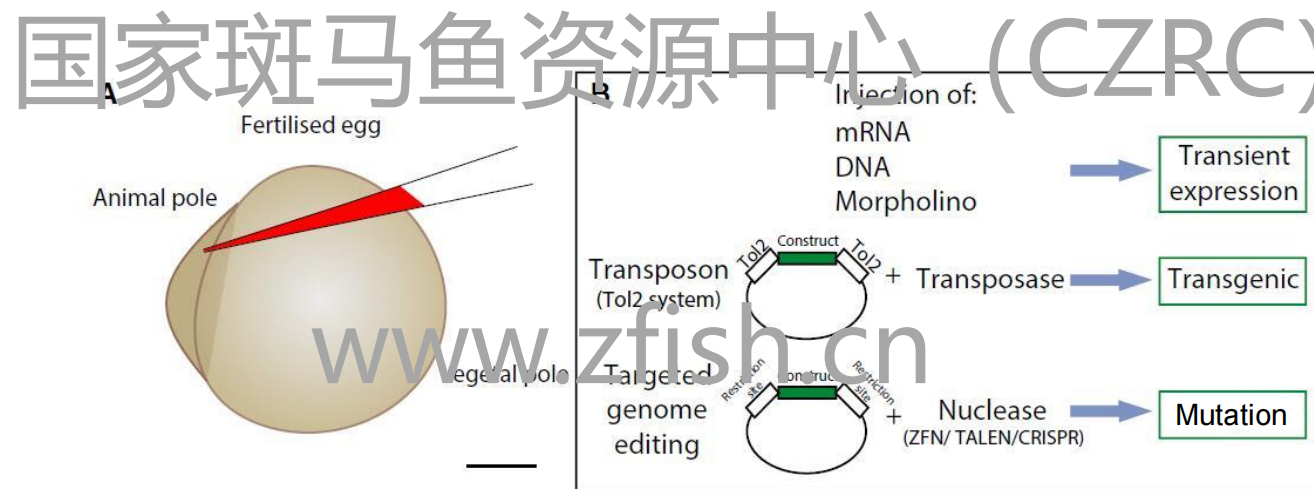
www.zfish.cn

<http://www.zfish.cn/Products/OtherProductList.aspx?cid=001006>

2. 斑马鱼转基因品系的构建

斑马鱼胚胎显微注射技术

在显微镜下，利用显微操作系统，将实验材料直接注射到1至4细胞期的斑马鱼胚胎中。由于胚胎发育早期没有膜分隔动物极和卵黄，注入的溶液将扩散至整个胚胎中。通过注射不同类型的实验样品，可以实现基因的短时间过表达、表达敲降、以及制备转基因或基因突变斑马鱼品系等实验目标。



(Wyatt et al., *Eur J Neurosci*, 2015)

斑马鱼胚胎显微注射技术

国家水生生物种质资源库 (NABRC)



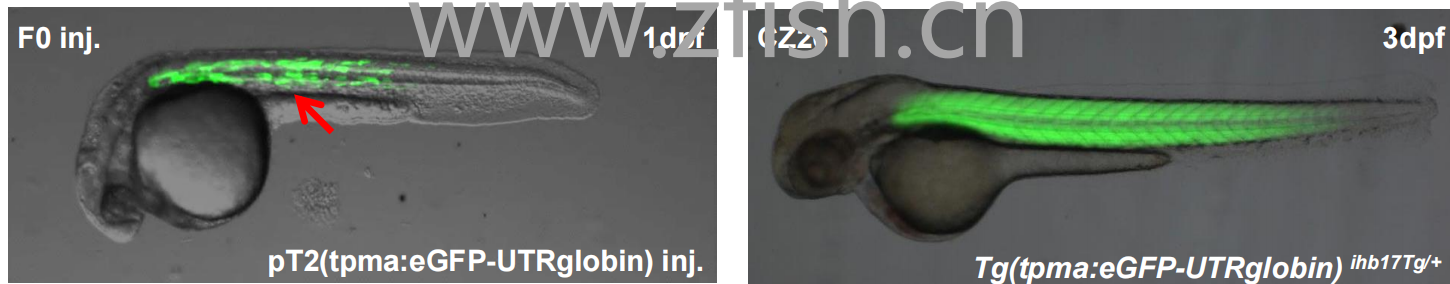
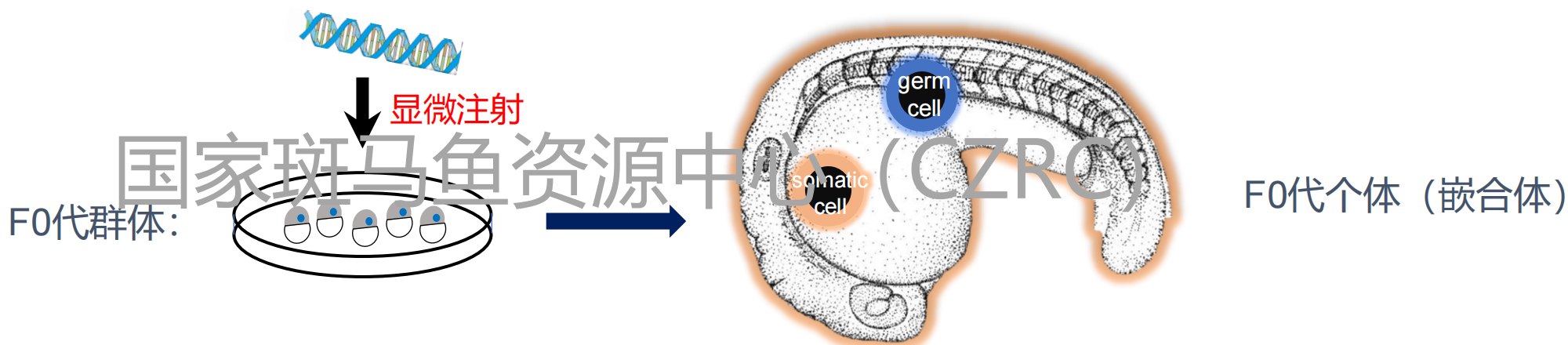
国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

www.zfish.cn

2. 斑马鱼转基因品系的构建

2.1 构建F0代转基因斑马鱼

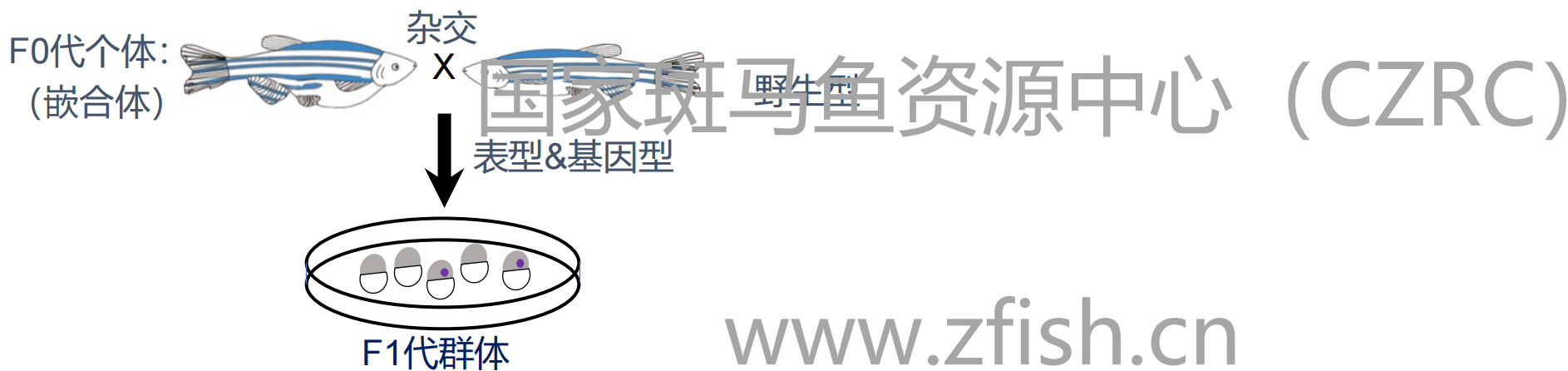
嵌合体 (Chimera)：遗传学上用以指不同遗传性状融合或混杂表现的个体。
 国家水生生物种质资源库 (NABRC)



2. 斑马鱼转基因品系的构建

2.2 筛选F0代转基因斑马鱼

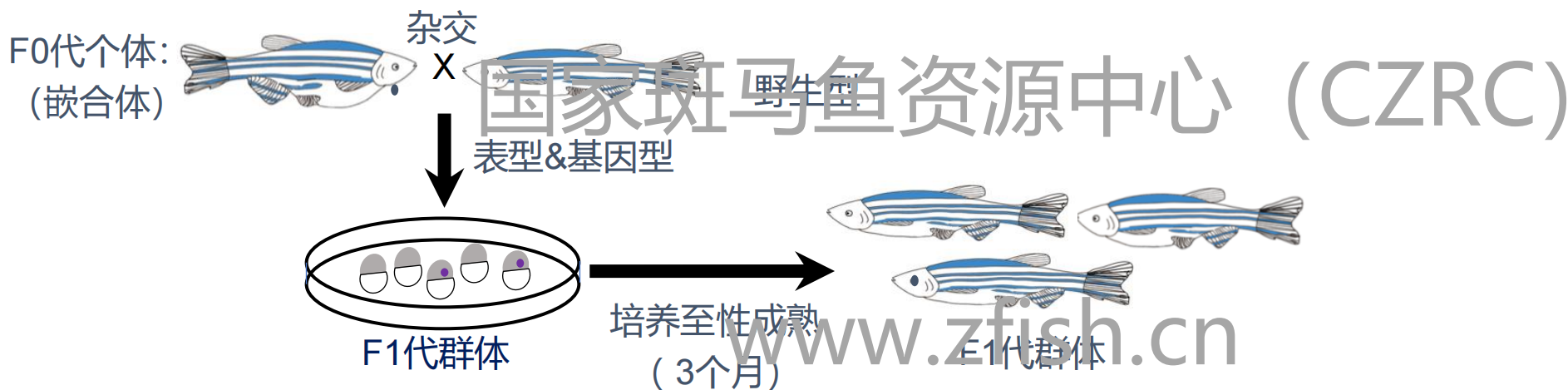
- ① 将F0代转基因群体培养至性成熟 (3个月)
- ② 取转基因斑马鱼逐条与野生型品系侧交, 收集胚胎作遗传检测, 筛选出能够稳定遗传转基因片段的F0个体。



2. 斑马鱼转基因品系的构建

2.3 筛选F1代转基因斑马鱼

- ① 将能够稳定遗传转基因片段的F0个体与野生型品系侧交，繁殖出F1代群体胚胎。
- ② F1代个体的筛选鉴定：基因型和表型鉴定。



2. 斑马鱼转基因品系的构建

2.4 稳定遗传的转基因品系获得

- ① 繁殖F2代胚胎。将转基因阳性的F1代个体与野生型品系侧交，制备转基因F2代胚胎。
- ② 纯合子构建。F2代转基因阳性鱼自交获得F3代，其中1/4中纯合子。

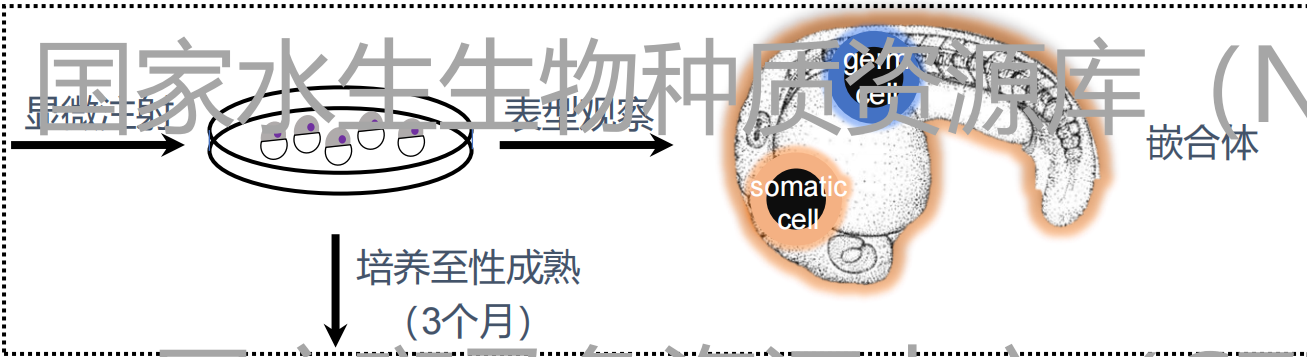


2. 斑马鱼转基因品系构建方法-小结

1. 载体构建



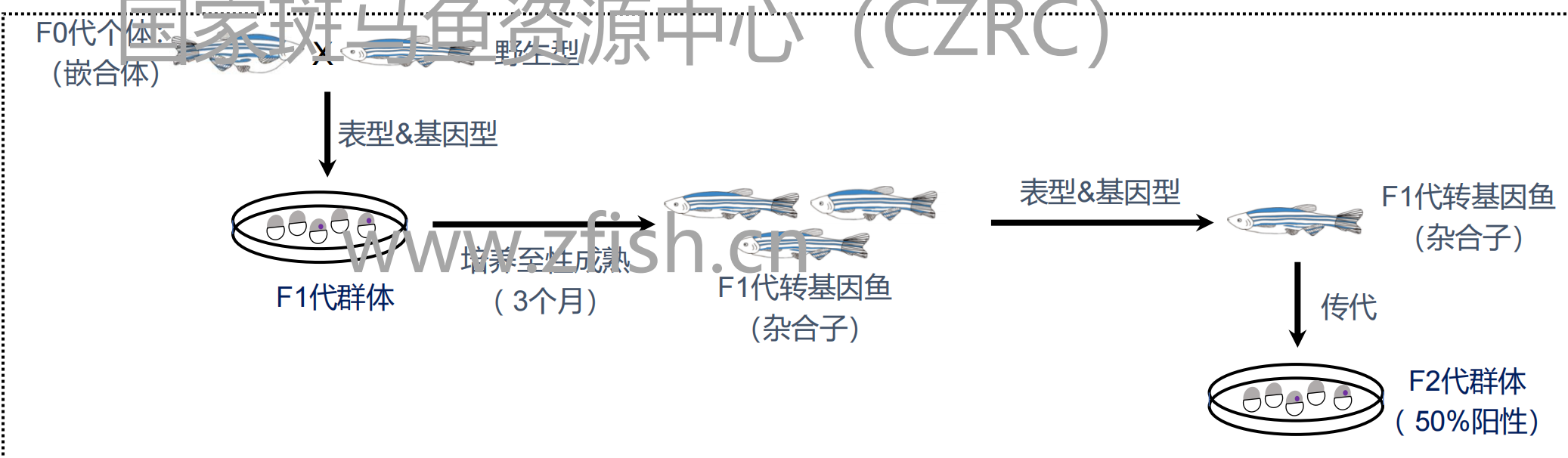
2. F0代构建



国家水生生物种质资源库 (NABRC)

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

3. 遗传筛选



2. 斑马鱼转基因品系的构建

转基因斑马鱼技术服务平台

有关技术服务咨询，请联系 熊凤 博士 (xiongfeng@zrc.ac.cn)

平台服务描述

转基因技术是将人工分离和修饰过的基因导入到生物体基因组中，由于导入基因的表达是制作转基因斑马鱼过程中最常用的方法，它是在显微镜下将外源基因通过显微注射导入受精卵的基因组中，从而建立可稳定遗传转植基因的转基因品系。转基因斑马鱼广泛应用于毒理学、水产育种学等研究领域。

中心是我国唯一的国家级斑马鱼资源平台，拥有规模最大和规格最高的单体斑马鱼养殖，最高质量和最高效率完成相关技术服务。



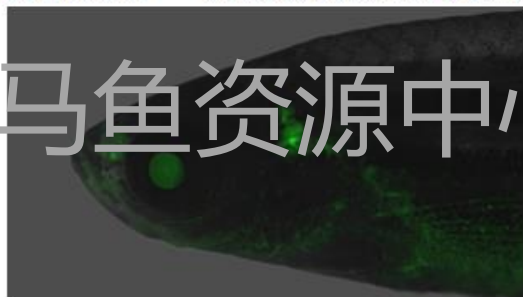
中心养殖系统

CZRC
国家斑马鱼资源中心
地址：武汉市武昌区东湖南路7号中科院水藻所 邮编：430072
电话：027-68780370 邮箱：zefish@zrc.ac.cn 网址：http://www.zfish.cn

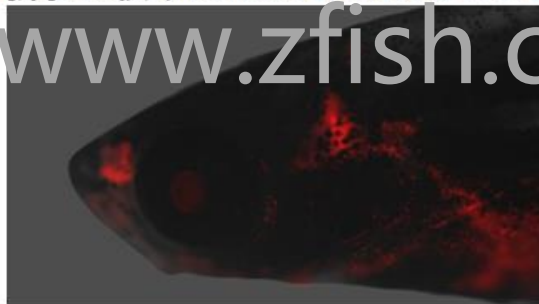
Tg(mpeg1:EGFP)、*Tg(mpeg1:mCherry)*、*Tg(mpeg1:EGFP)*、*Tg(mpeg1:mCherry)*、*(AB)^(h21)Tg* 转基因
斑马鱼研制项目报告

1. 2013年12月，F1代转基因鱼 *Tg(mpeg1:mCherry)* 和 *Tg(mpeg1:EGFP)* 长至2月龄，转基因阳性的F1代斑马鱼在胸鳍处特异性地表达荧光，分别筛选出20尾阳性F1代 *Tg(mpeg1:mCherry)* 转基因鱼，25尾阳性F1代 *Tg(mpeg1:EGFP)* 转基因鱼。

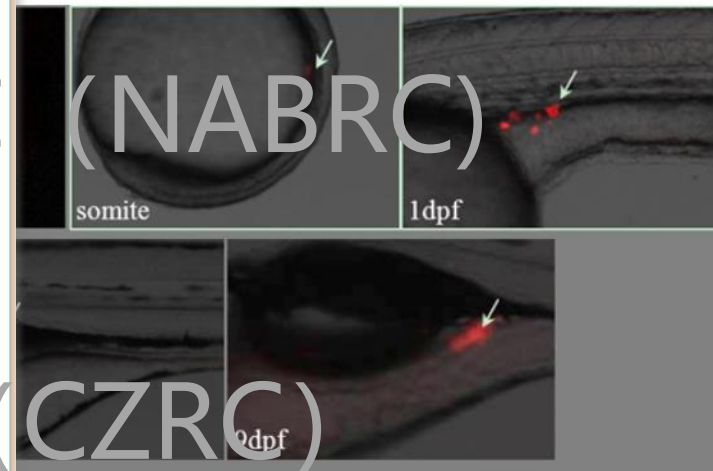
2. *Tg(mpeg1:EGFP)* (*AB*)^{h21}*Tg*⁺ 的阳性F1代转基因鱼的特异荧光表达如下所示：



3. *Tg(mpeg1:mCherry)* (*AB*)^{h21}*Tg*⁺ 的F1代转基因鱼的特异荧光表达如下所示：



效、特异的斑马鱼原始生殖细胞 (PGC) 操作平台，可在胚胎发育期高效、快速筛选出生殖细胞
转植基因在转基因鱼中的表达效率和生殖传递效率。



特异、高效的斑马鱼PGC操作平台

秀，AB是最为普遍使用的标准纯遗传背景之一，直接保证了委托方得到纯净背景的转基因斑马
U以及其它遗传背景的转基因斑马鱼服务。

讨论，双方签订技术服务合同。

设计到构建的一站式技术服务。

表型，与预期表型进行对照（2-3天）。

选出能将转基因传递给子代的P0代转基因斑马鱼（3个月）。

斑马鱼杂交建立F1代，鉴定F1代斑马鱼的基因型，及阳性F1代转基因斑马鱼胚胎的表型特征（2-3

进行逐尾鉴定），鉴定转基因阳性的F1代个体，交付委托方（2个月）。

国家水生生物种质资源库 (NABRC)

一、斑马鱼转基因品系的应用

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

二、斑马鱼转基因品系的构建

三、斑马鱼转基因品系的鉴定

三.斑马鱼转基因品系的鉴定

转基因的遗传信息传递:

国家水生生物种质资源库 (NABRC)  转基因在基因组的整合与拷贝数鉴定;

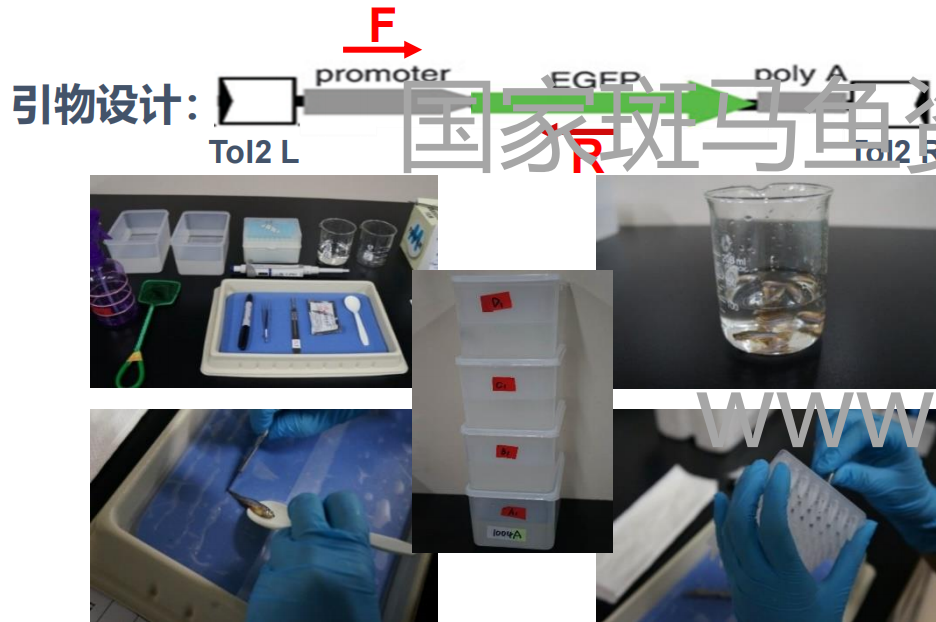
国家斑马鱼资源中心 (CZRC)  转基因在斑马鱼中的转录水平鉴定;

www.zfish.cn  转基因在斑马鱼中的蛋白表达水平鉴定;

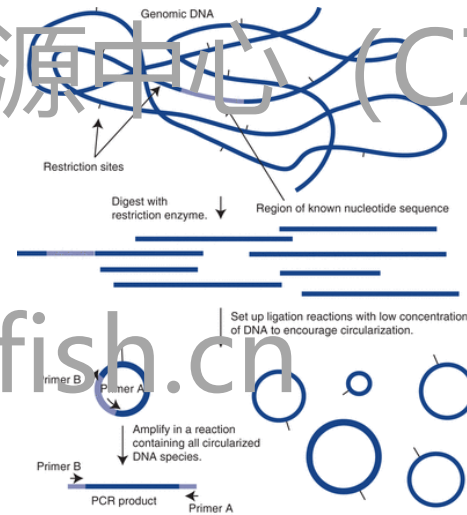
1. 转基因在基因组的整合与拷贝数鉴定

鉴定方法:

- PCR (聚合酶链式反应): 引物跨多元件、提取基因组注意相互污染
- 反向PCR (inverse PCR, IP-PCR): 整合位点
- Southern杂交: 拷贝数



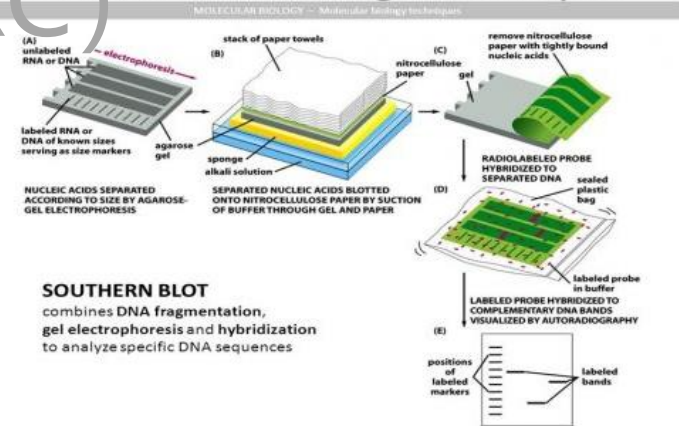
麻醉斑马鱼;剪尾鳍;提取DNA样品



(Michael et al., . *Cold Spring Harb Protoc*, 2019)

反向PCR

Southern Blotting Technique



(<https://www.onlinebiologynotes.com/southern-blotting-principle-procedure-application/>)

Southern印记

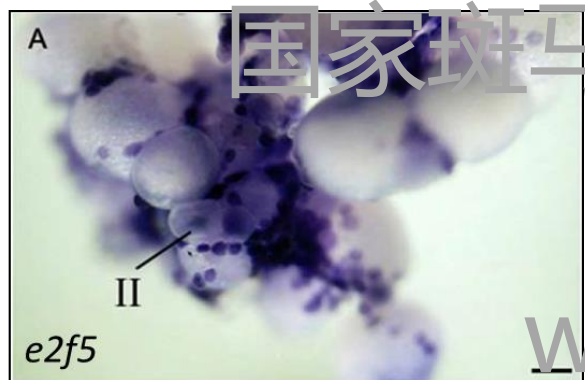
2. 转基因在斑马鱼中的转录水平鉴定

鉴定方法:

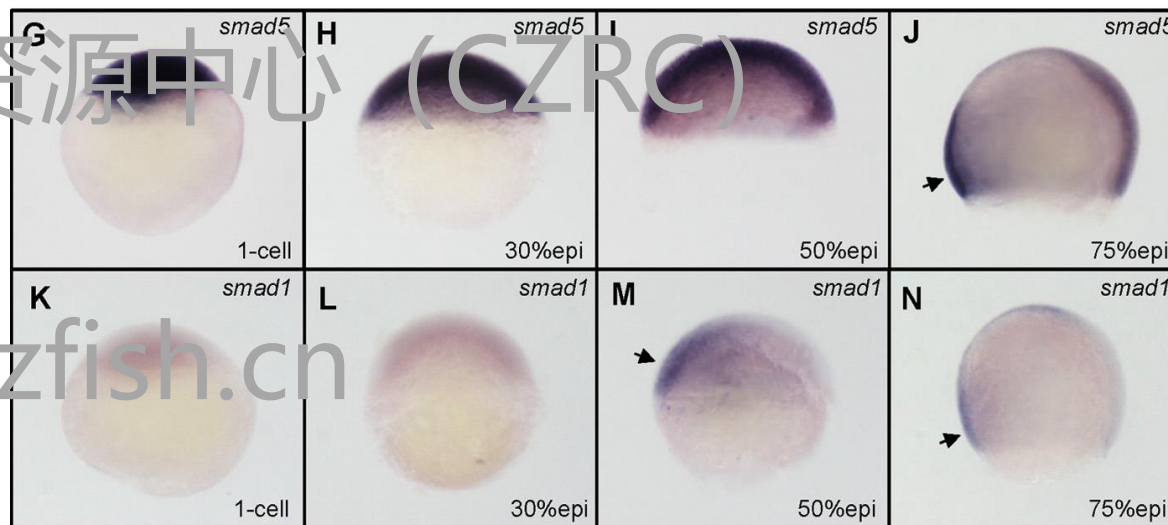
- 原位杂交技术;
- 荧光定量PCR (real-time PCR);

原位杂交技术是利用带标签的反义RNA探针检测胚胎或者组织内基因转录本的原始分布及相对表达水平。该技术能够反映转录本:

- ✓ 位置信息
- ✓ 相对表达水平信息



(Yang et al., *Mol Biol Rep*, 2010)



(Wei et al., *J Biol Chem* 2014)

2. 转基因在斑马鱼中的转录水平鉴定

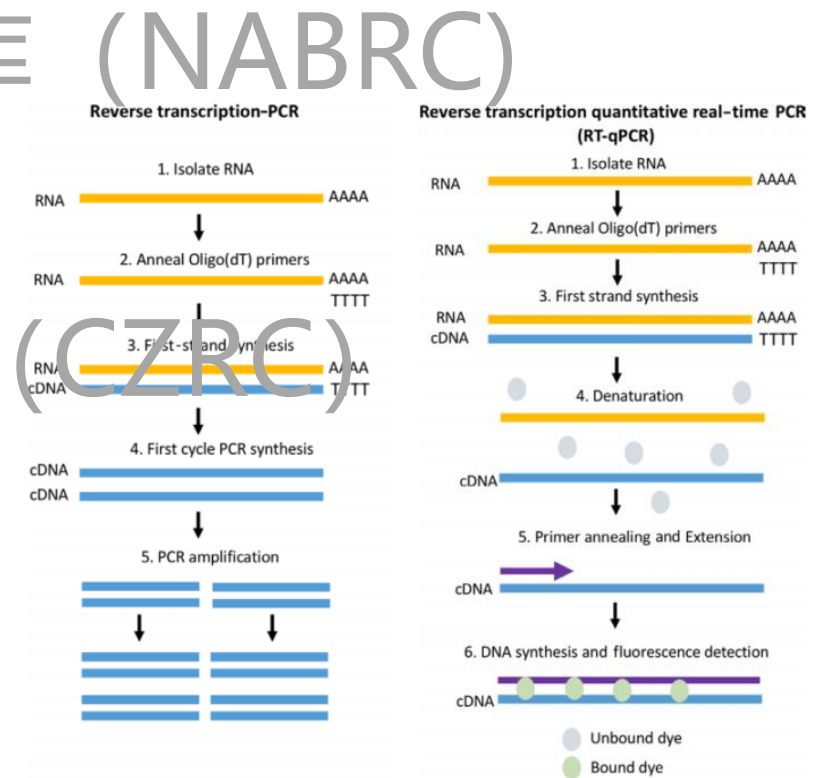
鉴定方法:

- 原位杂交技术;
- 荧光定量PCR (real-time PCR);

- **半定量PCR**是在RT-PCR体系中同时加入内参标基因的引物,使目的基因和内参基因在同一条件下同时扩增。在扩增反映结束之后,可以通过凝胶电泳的方法对扩增产物进行半定量分析。
- **定量PCR**是以一定时间内DNA的增幅量为基础进行DNA的定量分析。

定量PCR技术灵敏度高且用途广泛

www.zfish.cn



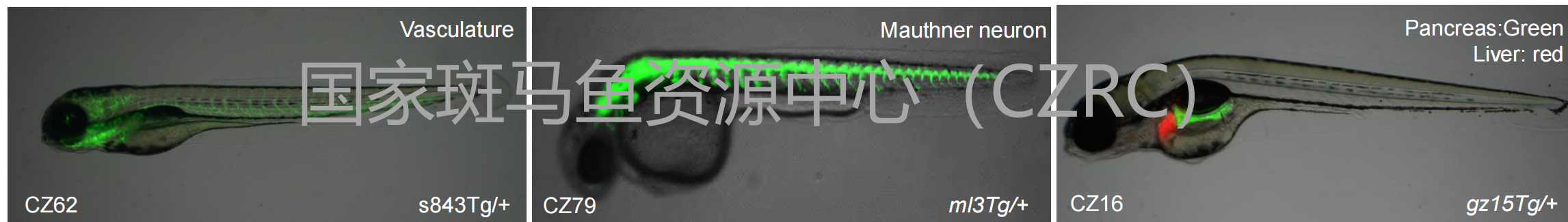
(<https://bio-chaе.com/rt-qpcr-vs-q-pcr/>)

3.转基因在斑马鱼中的蛋白表达鉴定

鉴定方法:

- 表型鉴定 (荧光表达观察);
- ELISA检测
- Western杂交

国家水生生物种质资源库 (NABRC)



荧光表达观察:

荧光报告基因在不同的发育阶段, 不同组织中的特定表达模式是进行此类转基因品系筛选的首选依据。

第一步, 品系调研, 确定荧光报告基因表达的**发育时期**和标记的**组织器官**。

第二步, 收集该品系胚胎, 待胚胎发育到合适的时期, 使用荧光显微镜进行镜检。

3.转基因在斑马鱼中的蛋白表达鉴定

鉴定方法:

- 表型鉴定 (荧光表达观察)
- ELISA检测
- Western杂交

酶联免疫吸附测定 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 首先利用抗原与**抗体**的特异反应将待测物与酶连接, 然后加入酶反应底物, 底物被催化成有色产物, 最后根据颜色的深浅进行定性或定量分析。利用ELISA检测转基因表达蛋白具有方便快捷、特异性高等特点, 但也易出现缺乏标准化、本底高等问题。

Western杂交 (杂交蛋白质印迹法): 与Southern Blot或Northern Blot杂交方法类似, 但Western Blot法被检测物是蛋白质, 采用的是聚丙烯酰胺凝胶电泳, “探针”是**抗体**, “显色”用标记的二抗, 最后通过着色的位置及深度分析特定蛋白在细胞或组织中的表达情况。Western杂交直接反应了目的基因在蛋白水平的表达, 具有重要的意义, 但是该技术步骤繁琐, 费用高, 不适于批量检测。

- 转基因技术是将人工分离和修饰过的基因**导入到生物体基因组中**，由于导入基因的表达，引起生物体的性状产生**可遗传的修饰**。
- 转基因斑马鱼广泛应用于遗传学、发育生物学、细胞生物学、医学、环境毒理学、水产育种学等**多种研究领域**。
- 转基因载体是承载外源基因，携带靶基因进入斑马鱼胚胎细胞，并将目的基因整合到斑马鱼基因组使其稳定维持的DNA分子。**转基因载体的设计决定了转基因品系的效应**。
- 转基因品系研制需要通过**多代筛选**，才能获得**稳定遗传**的转基因品系。
- **荧光表达观察、PCR和原位杂交技术**是常用的转基因品系的鉴定方法。

明日显微注射实验

• 显微注射操作:

准备胚胎:
配鱼、收卵

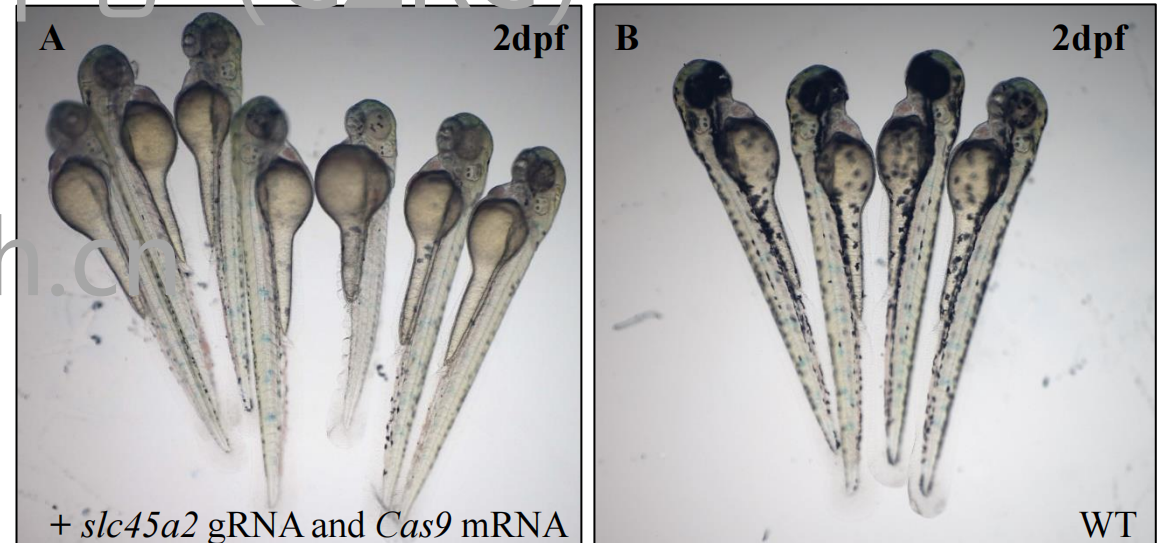
准备注射针:
拉针、上样

国家水生生物种质资源库 (NABRC)

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

注射实验:
仪器调节、破针、
调剂量、注射胚胎

胚胎观察:
荧光、表型、
基因型检测



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