

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

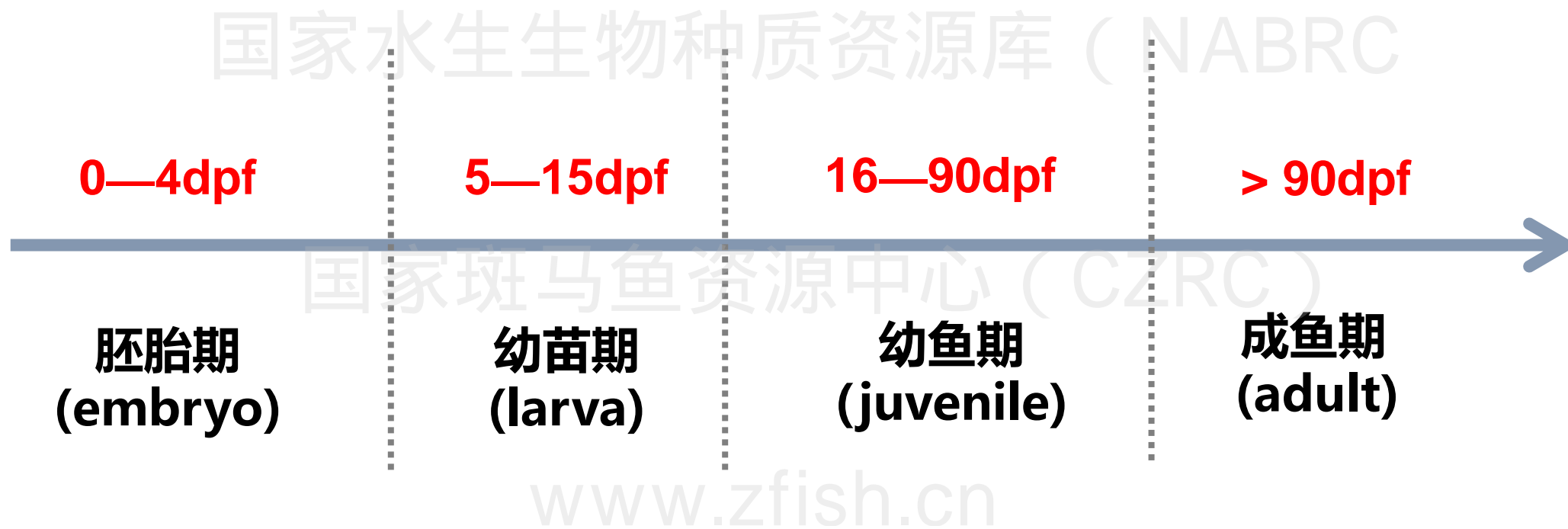
国家水生生物种质资源库

国家斑马鱼资源中心

luyuanpan@ihb.ac.cn



斑马鱼发育阶段

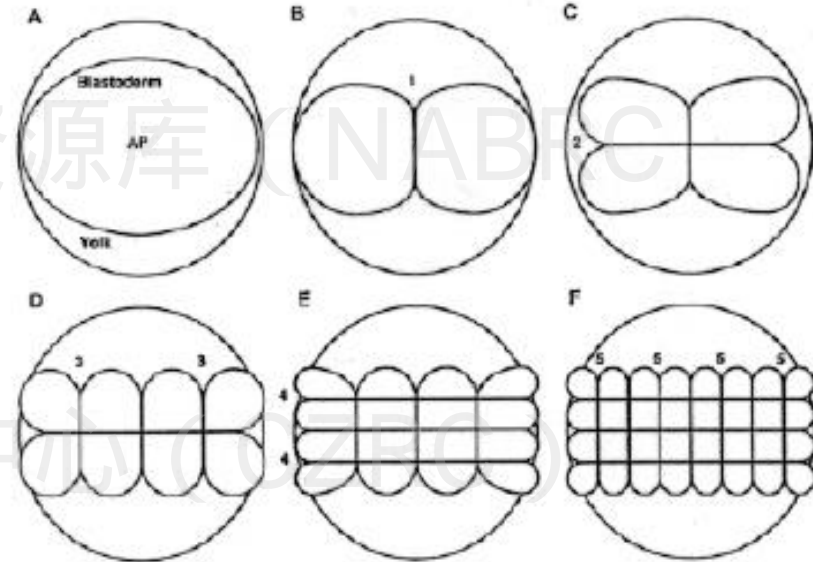
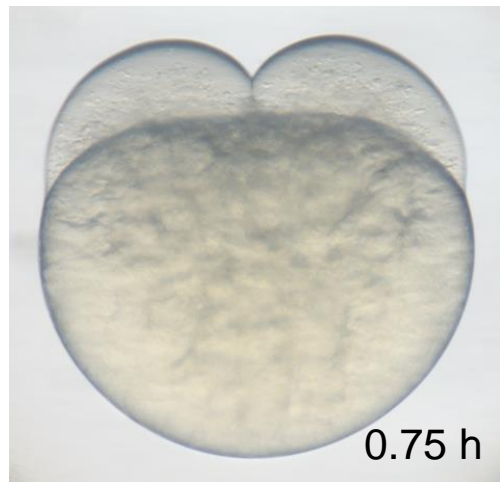
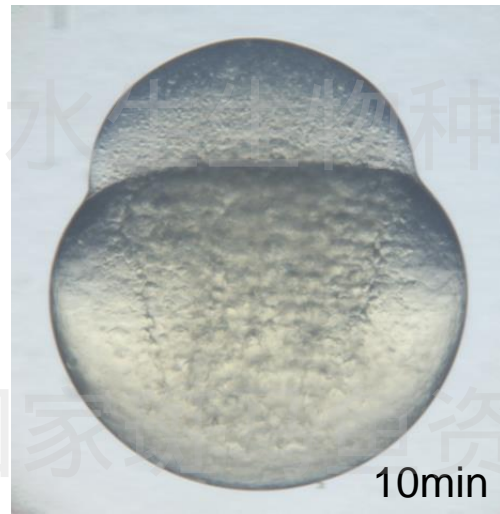
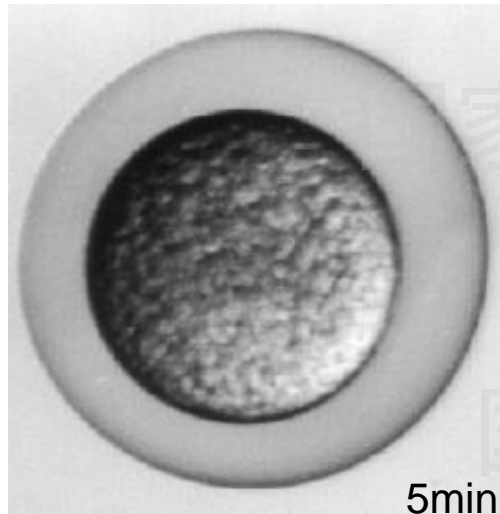


斑马鱼主要胚胎发育阶段

- 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

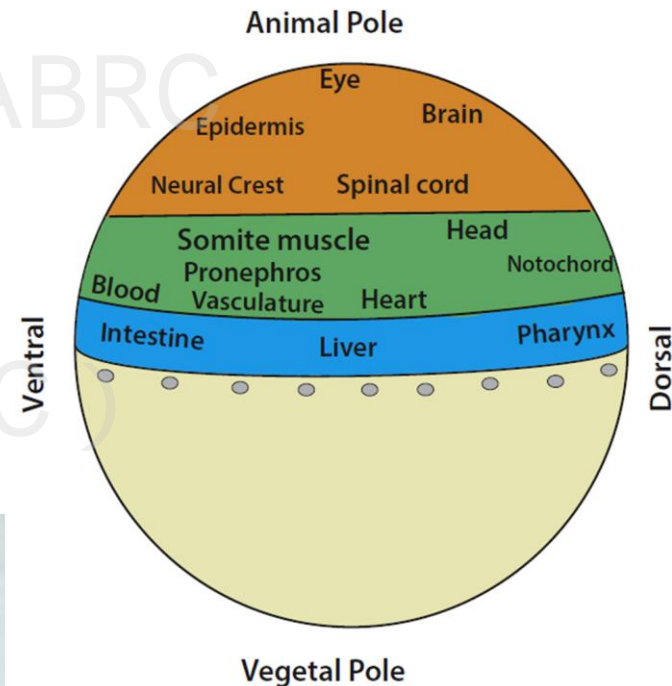
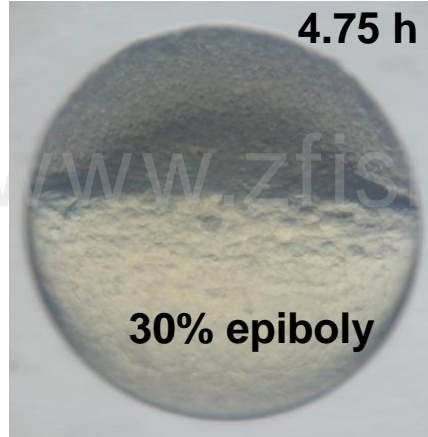
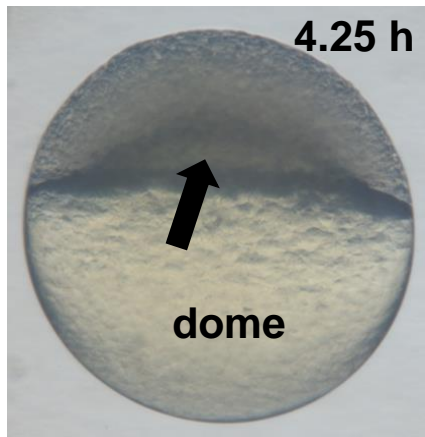
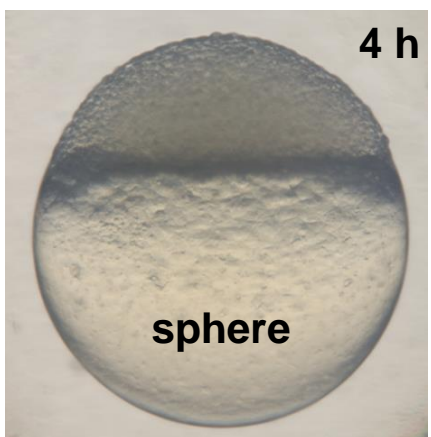
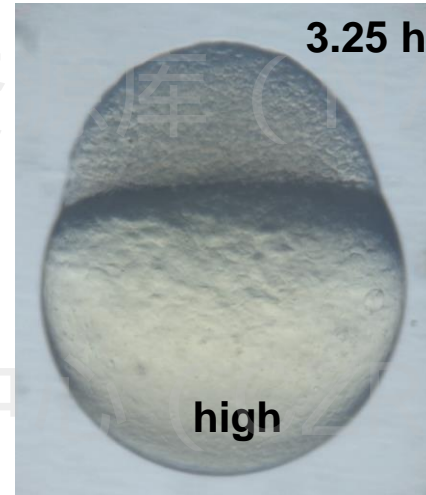
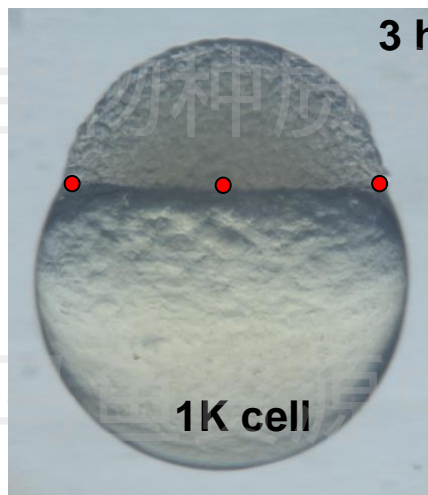
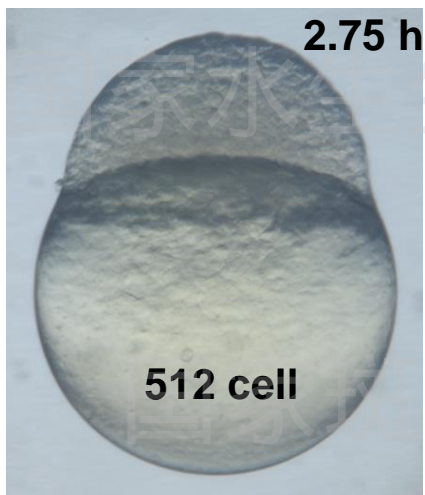


Kimmel et al, 1995

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



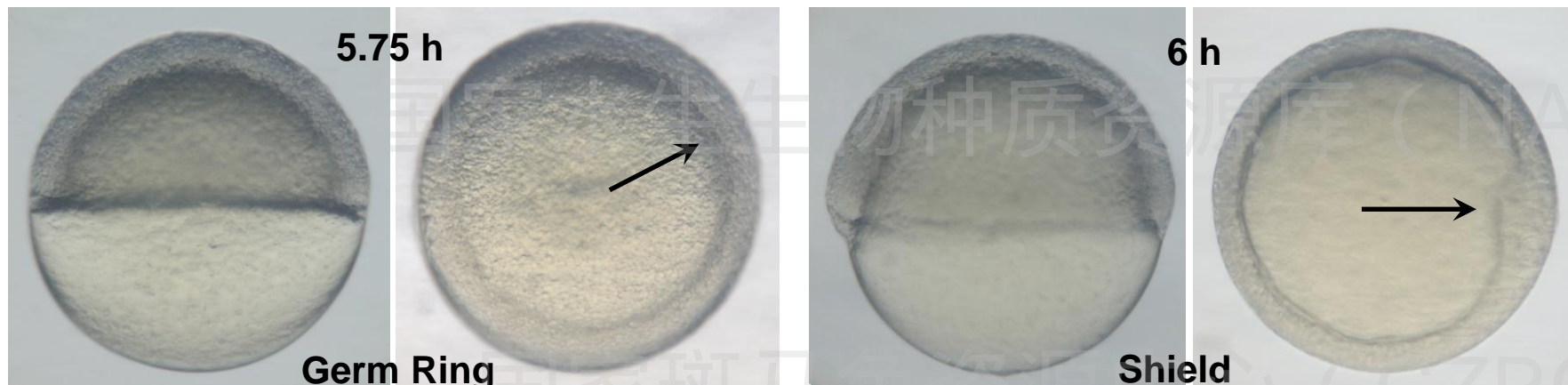
胚胎发育阶段: Blastula Period



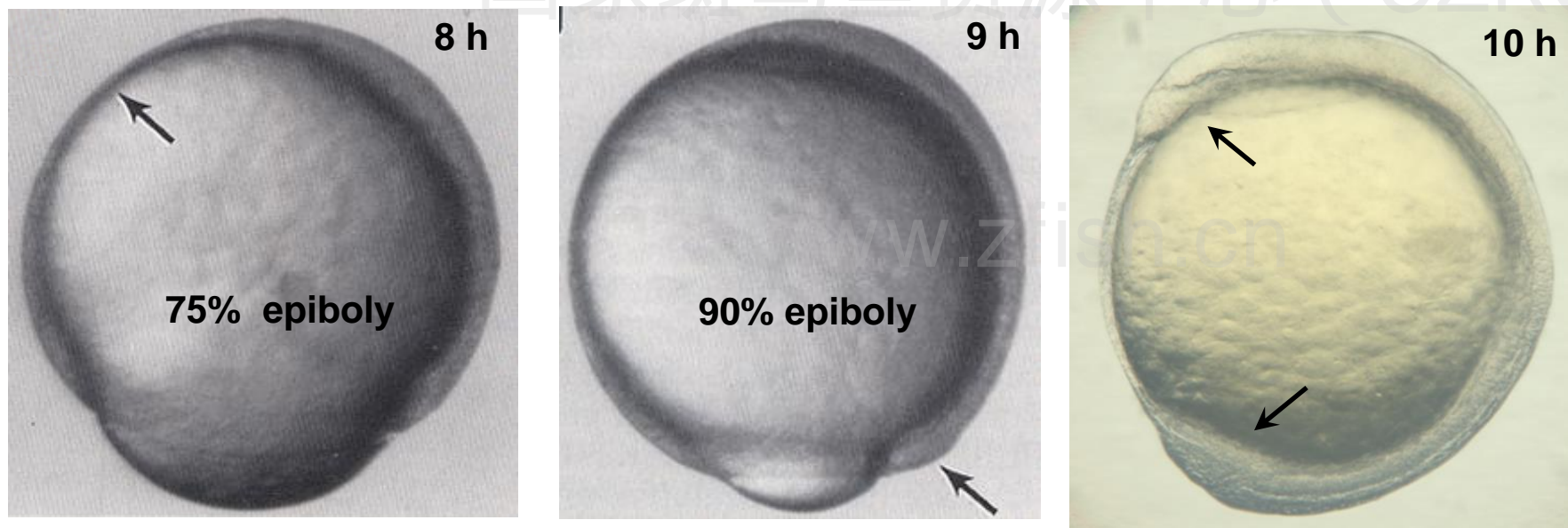
Blastula/2.25-5.25 hpf/
128 cell-50% epiboly



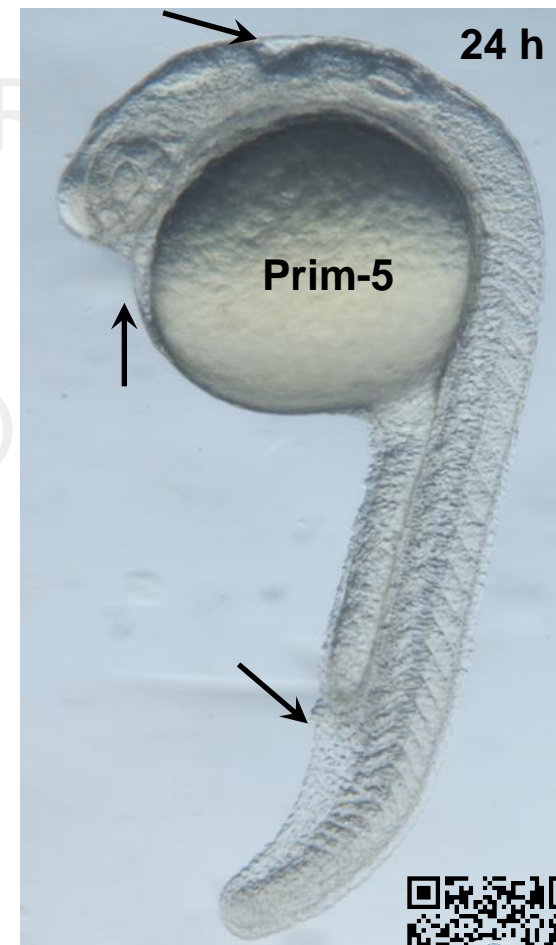
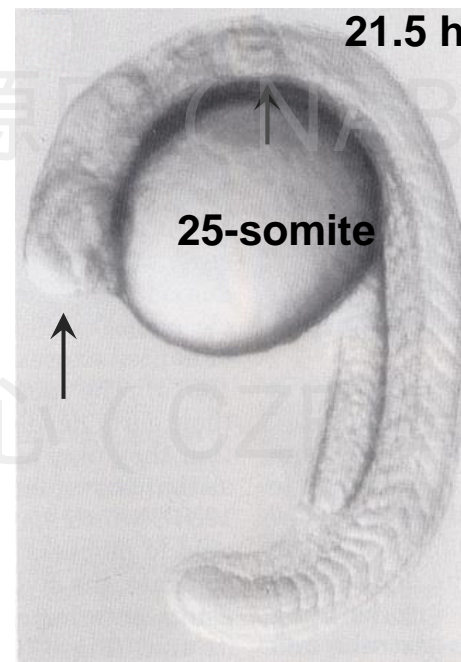
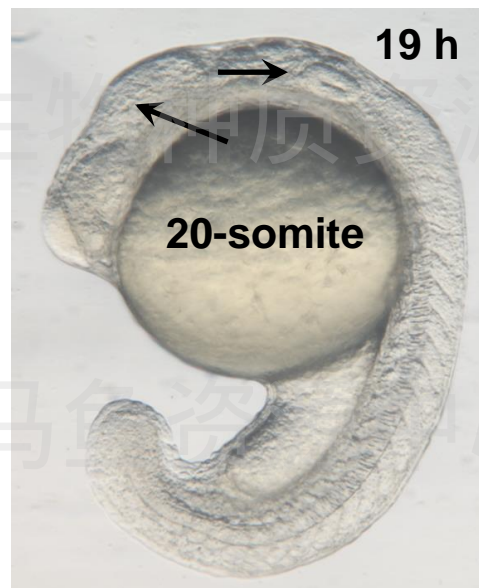
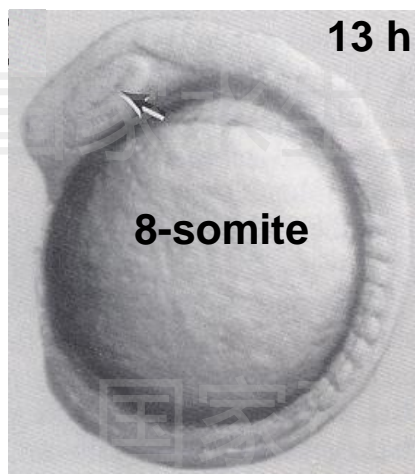
胚胎发育阶段: Gastrula Period



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



胚胎发育阶段: Segmentation Period

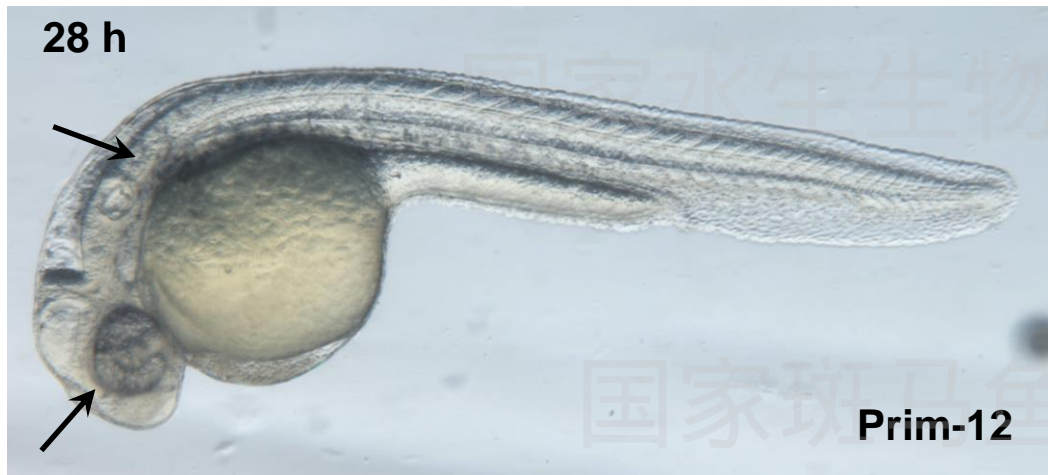


Segmentation/10-24 hpf/ bud-prim 5

www.zfish.cn



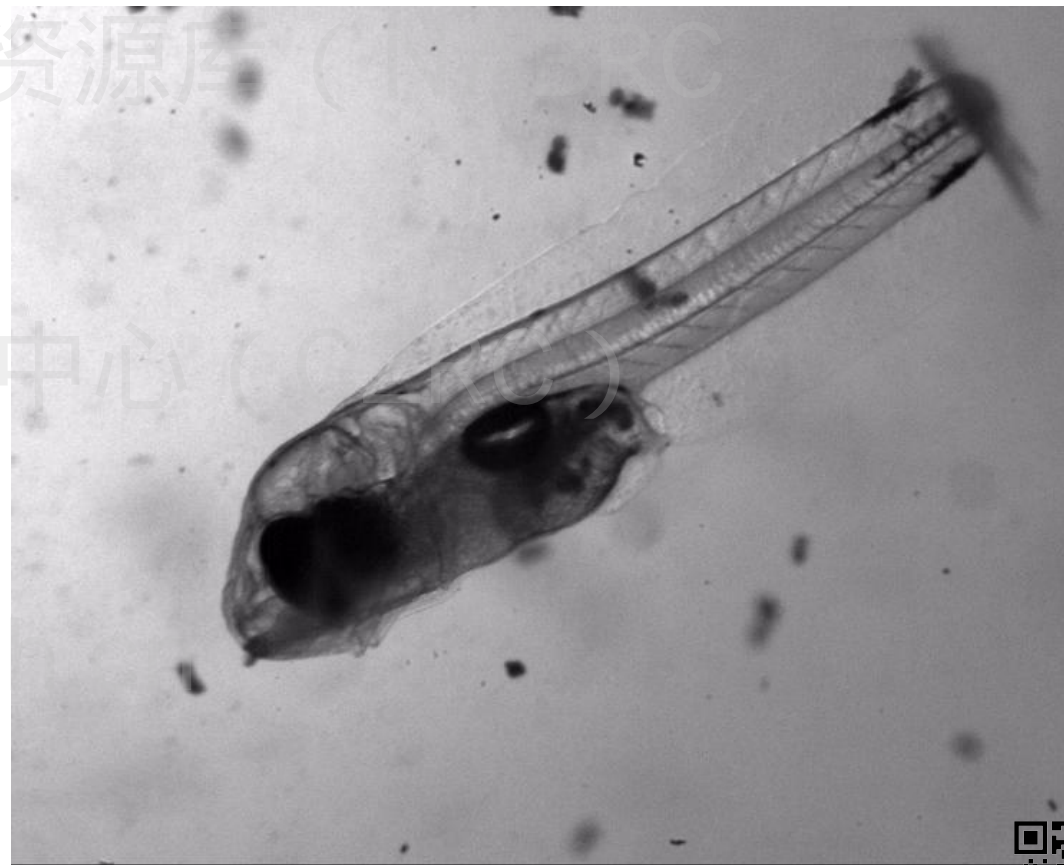
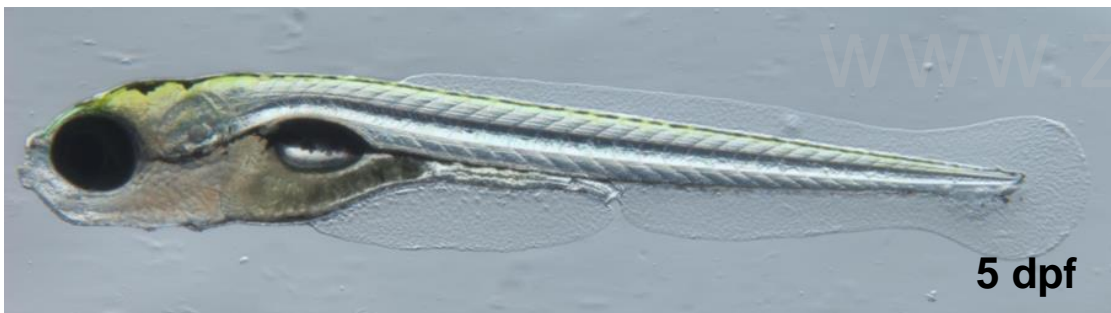
胚胎发育阶段：Pharyngula Period



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



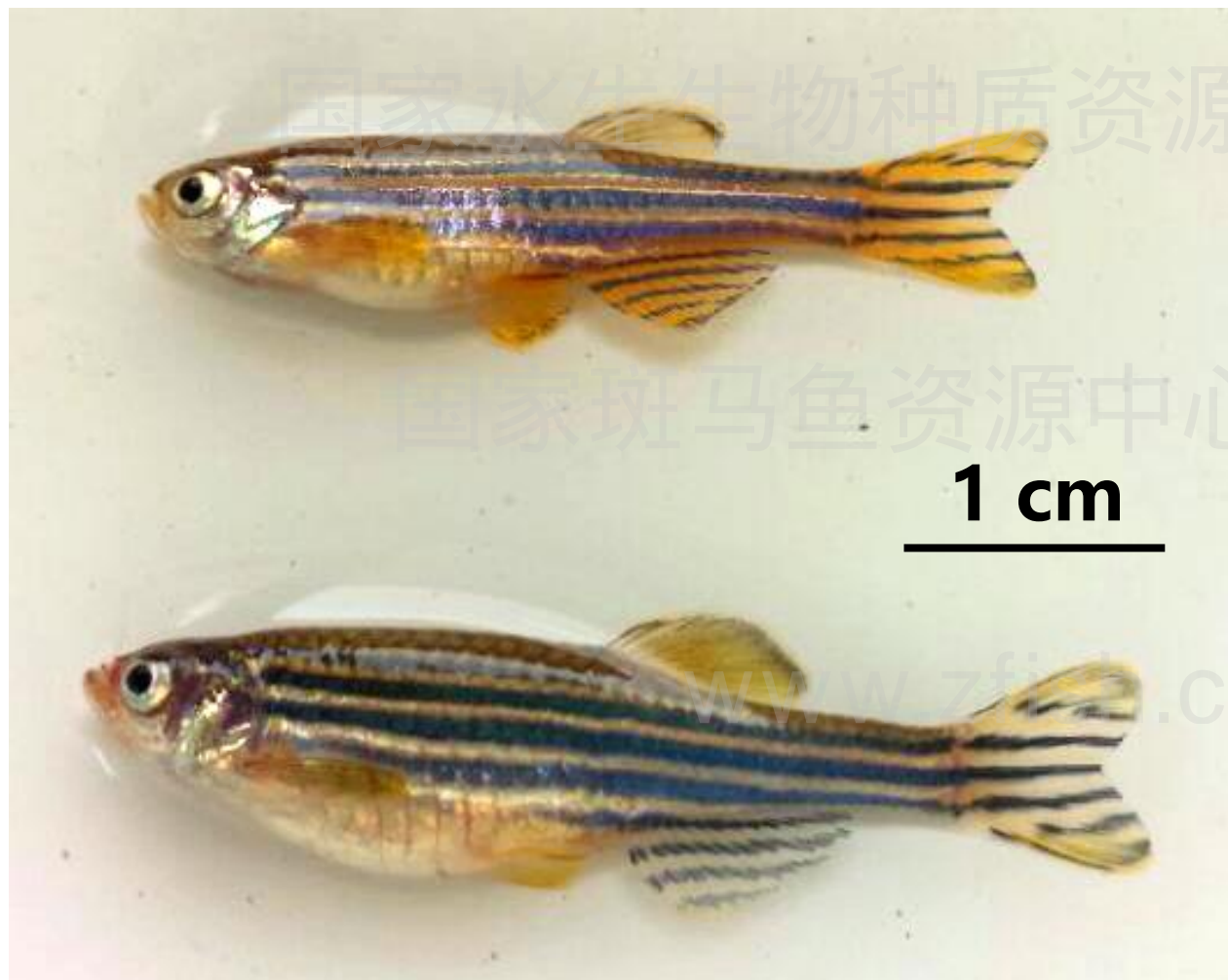
胚胎发育阶段：Hatching



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

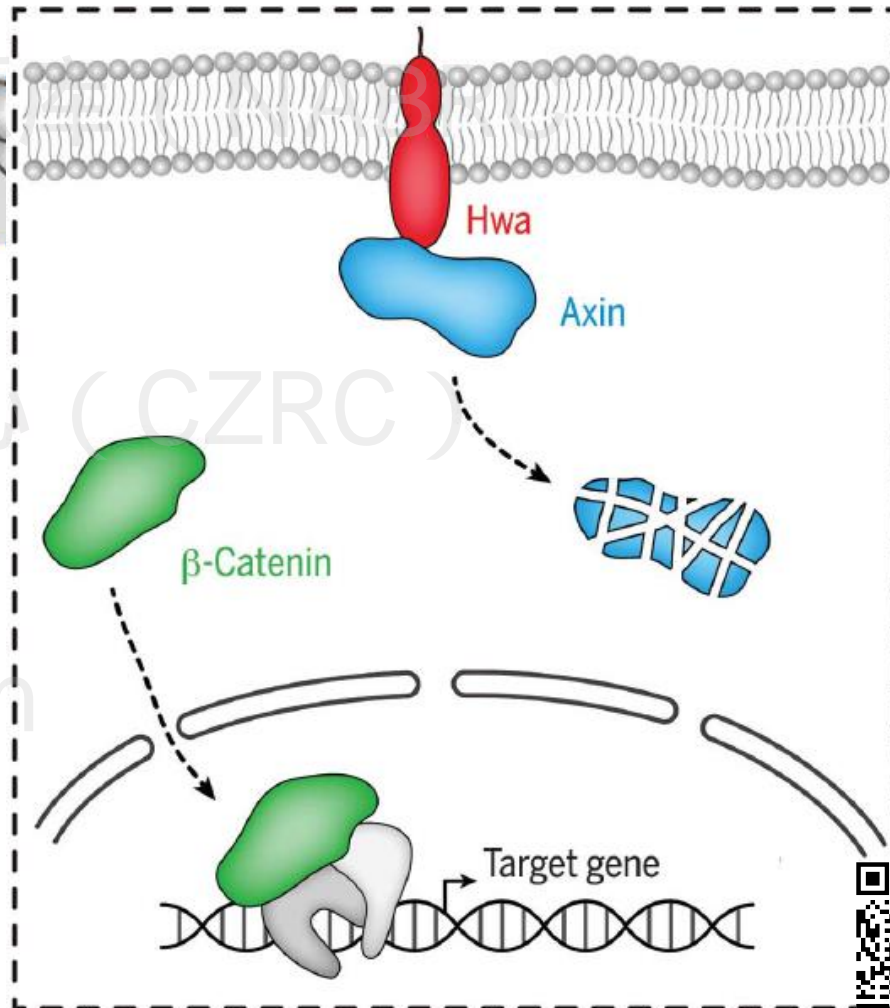
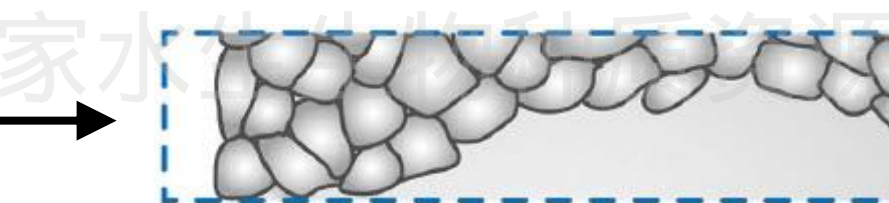
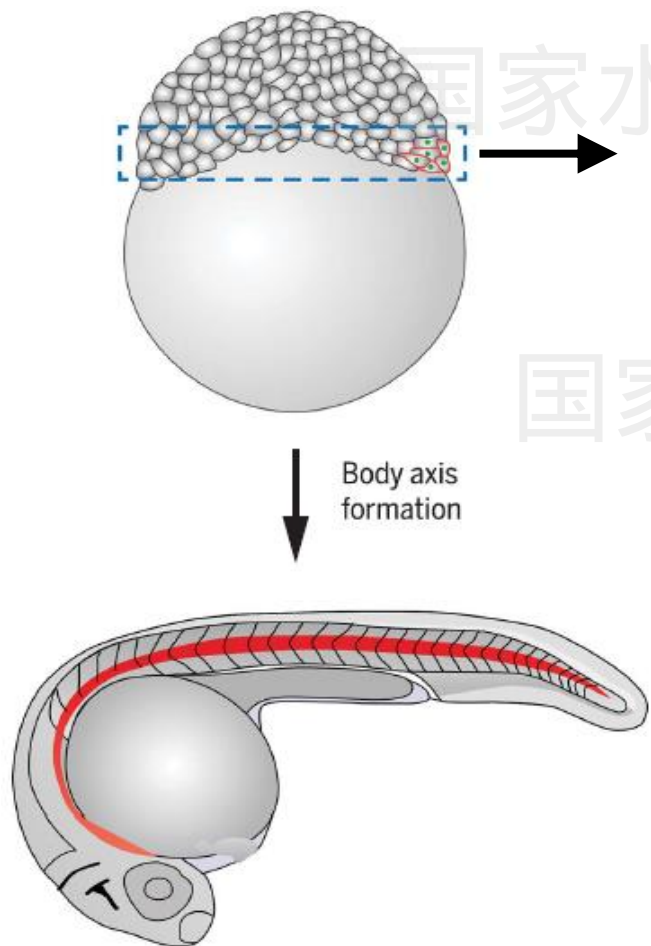


斑马鱼的生物学特性及优势

- 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）



基础研究：脊椎动物早期胚胎发育



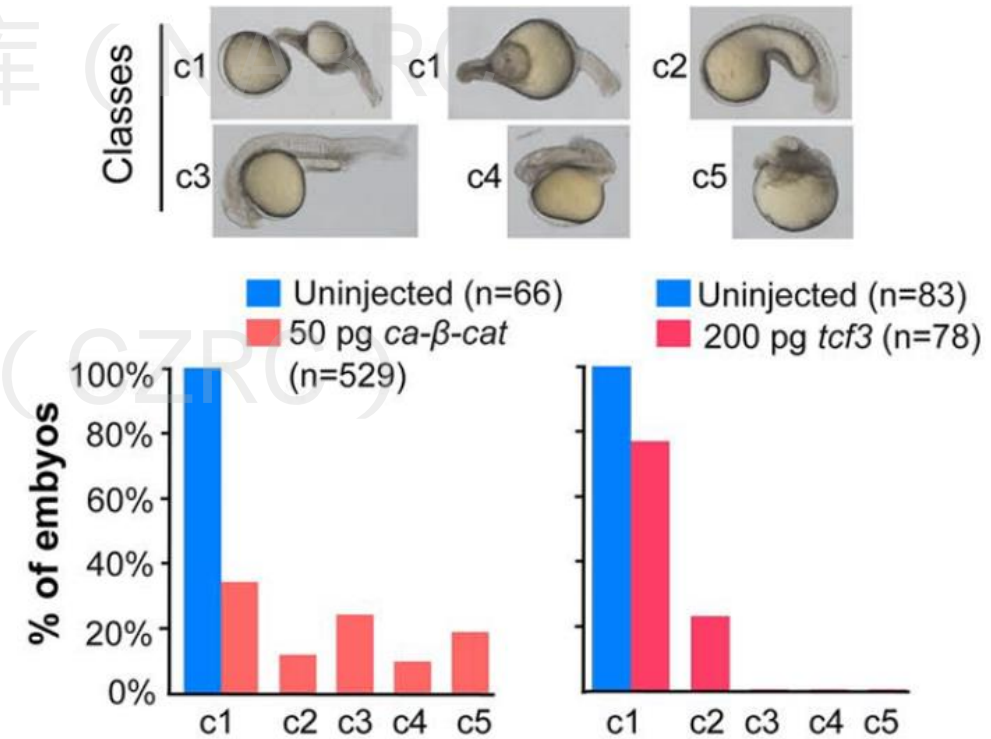
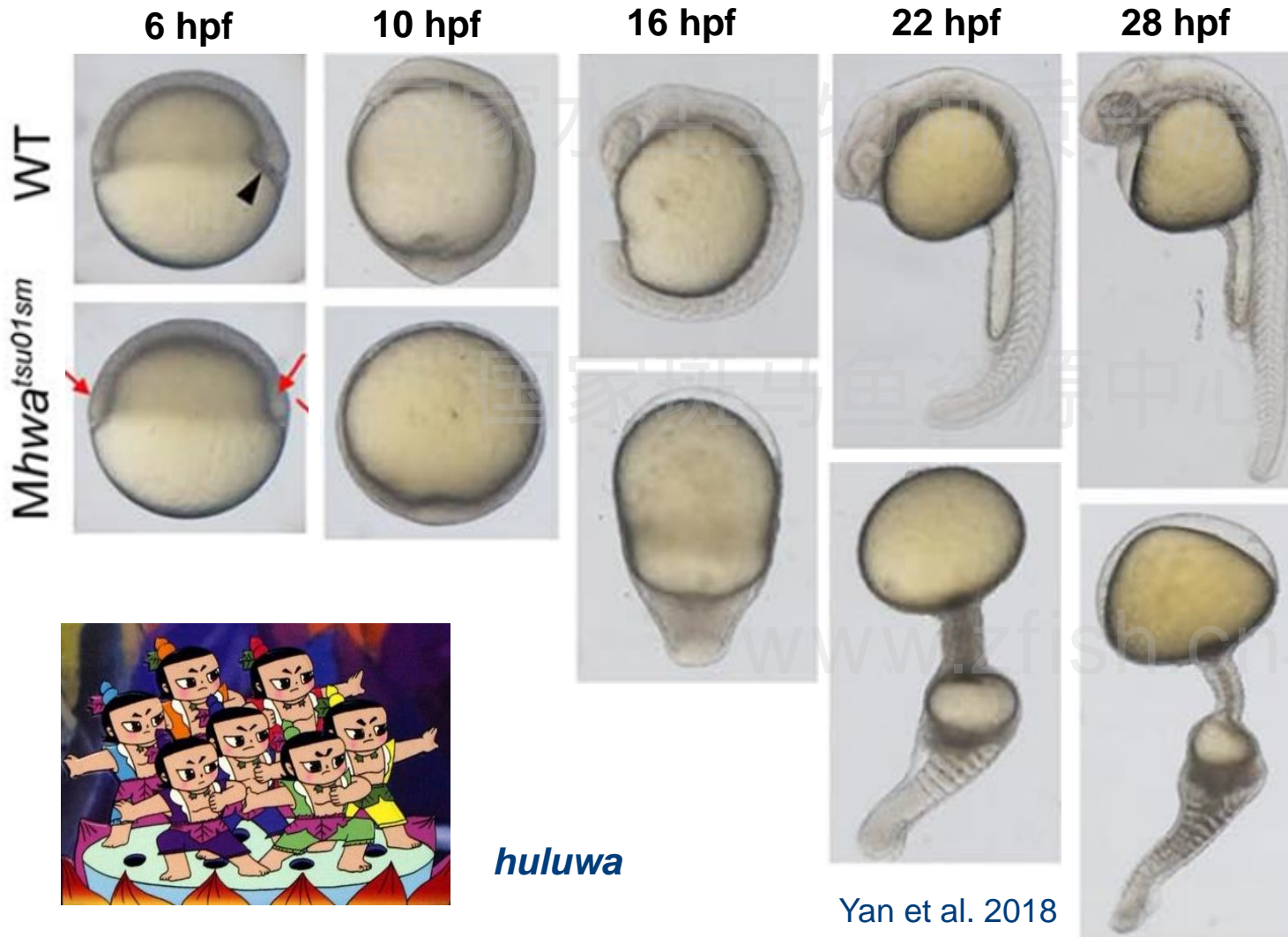
国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

www.zfish.cn

Yan et al. 2018



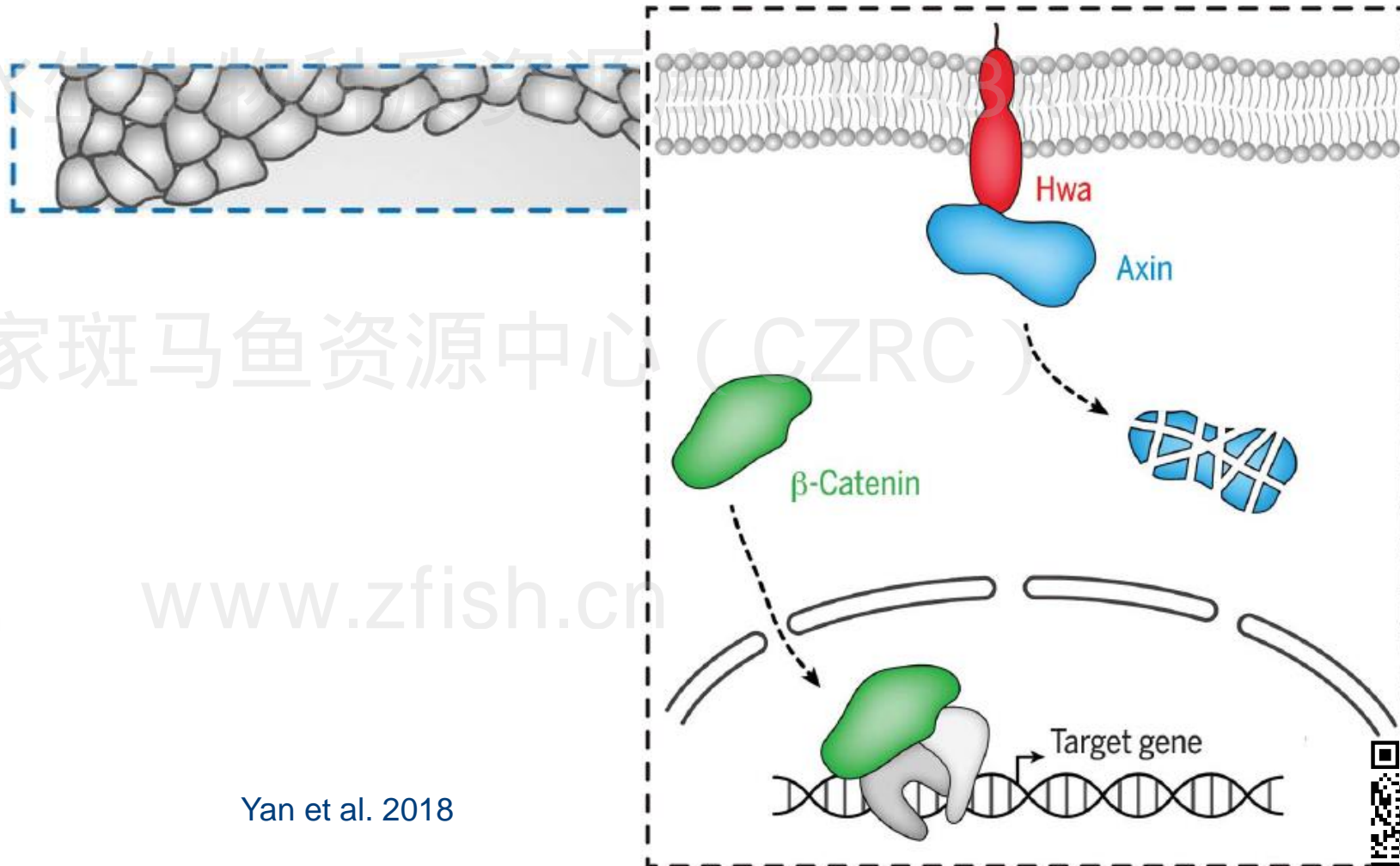
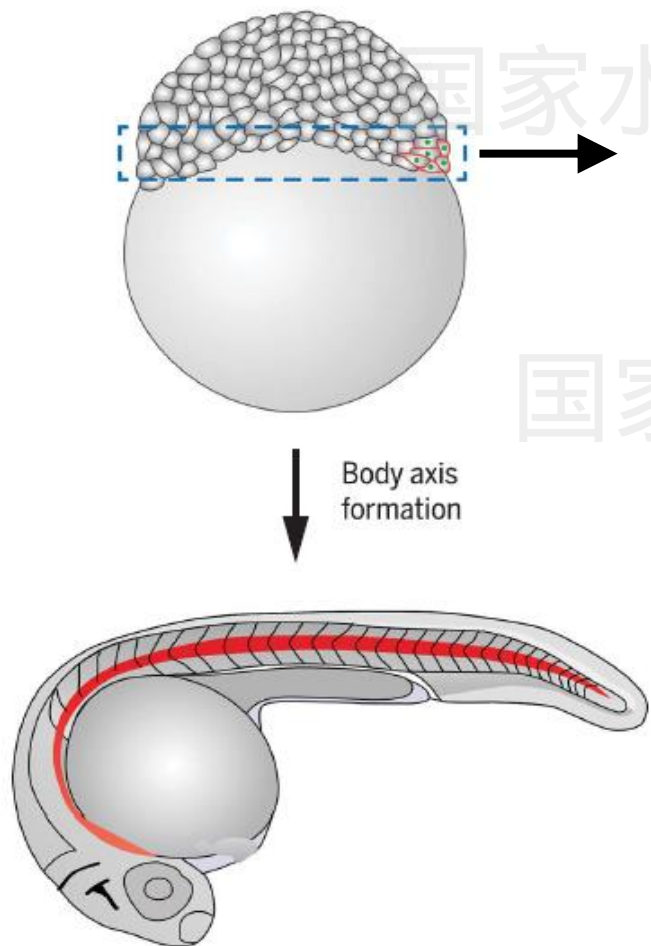
基础研究：脊椎动物早期胚胎发育



Hwa can function through β -catenin in a Wnt ligand/ receptor-independent manner in zebrafish embryos.



基础研究：脊椎动物早期胚胎发育



国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

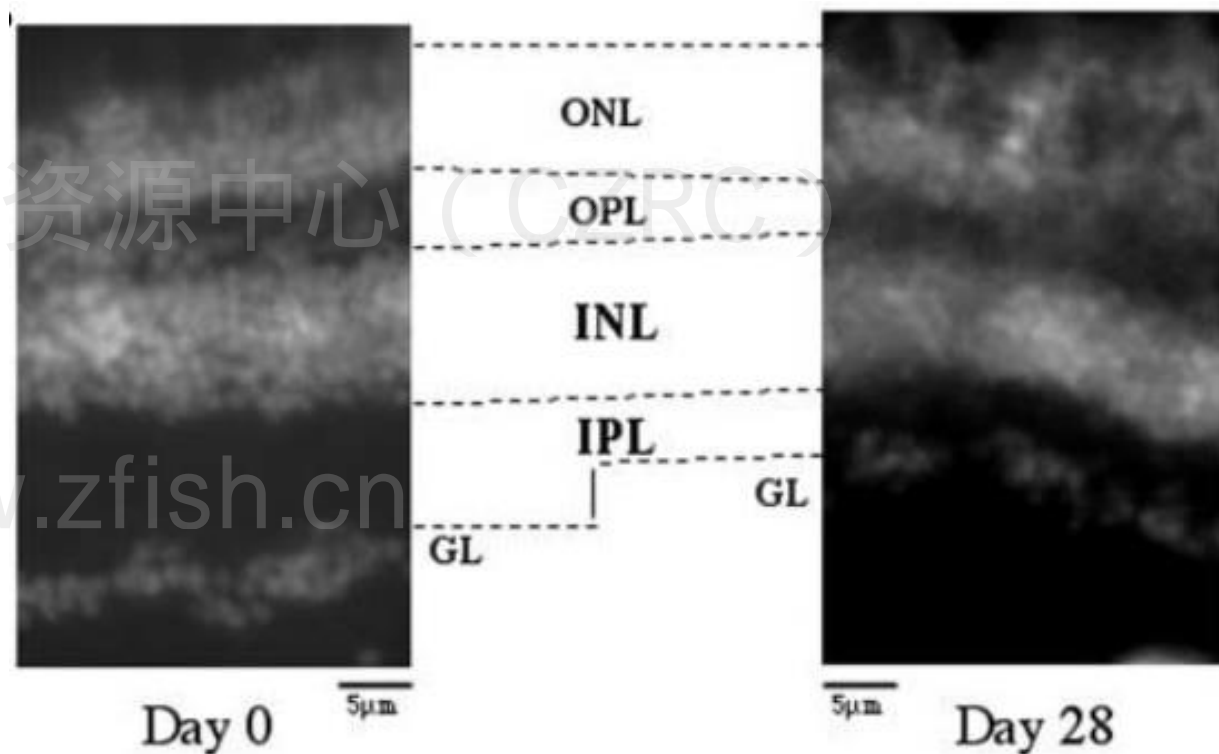
www.zfish.cn

Yan et al. 2018



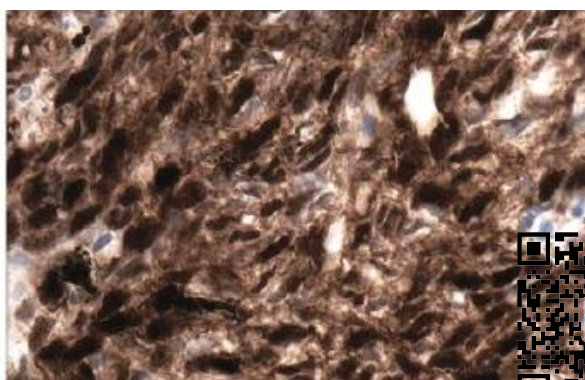
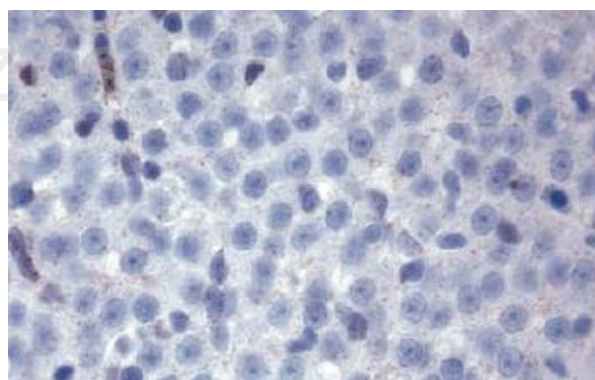
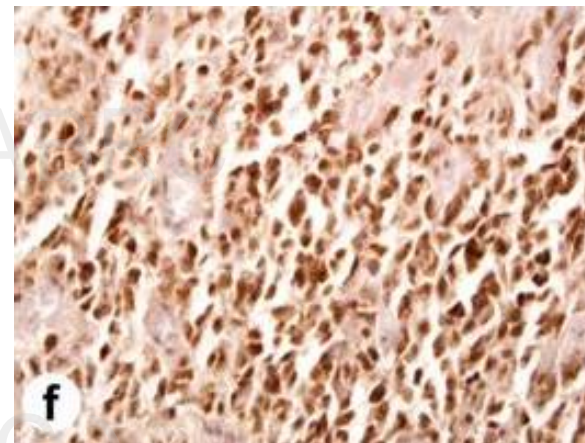
临床研究：构建人类疾病模型

- 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

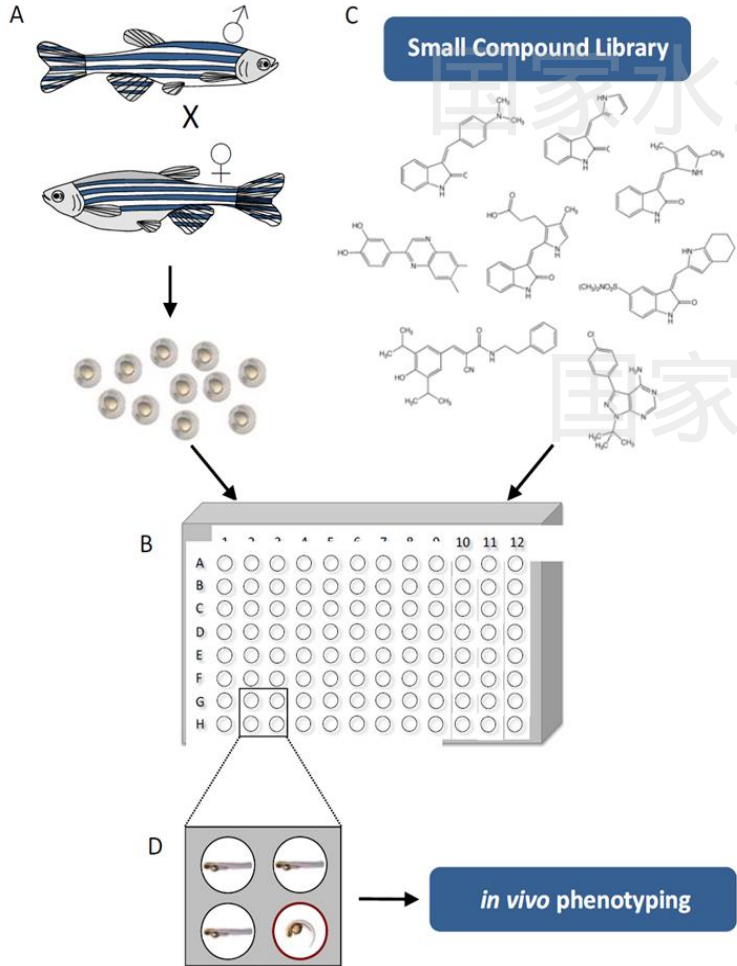
- 遗传发育类疾病
- 癌症
- 心血管疾病
- 肝/肾/代谢相关疾病
- 感染与免疫模型
- 肌肉/骨骼相关疾病
- 血液发生/血液健康类疾病
- 炎症/凝血/组织再生类疾病
- 神经系统疾病



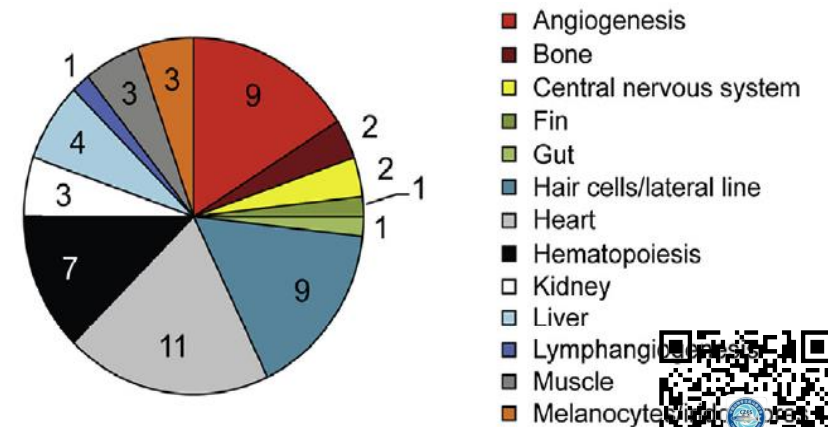
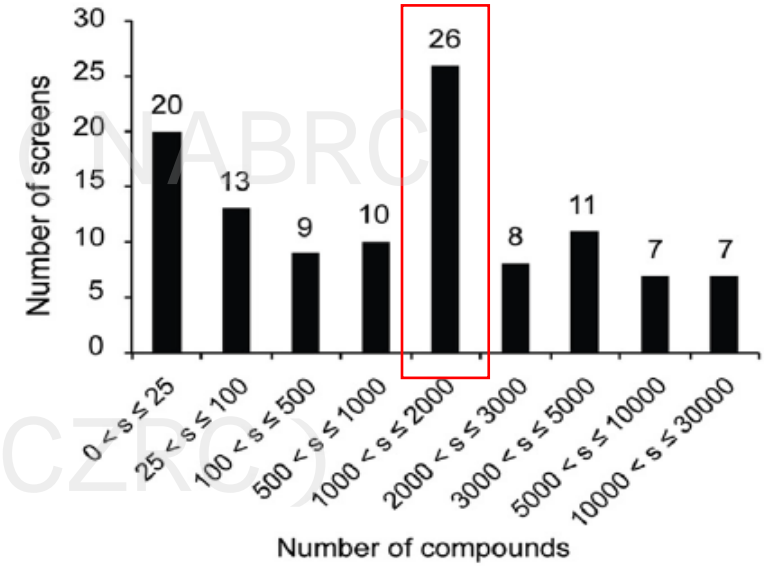
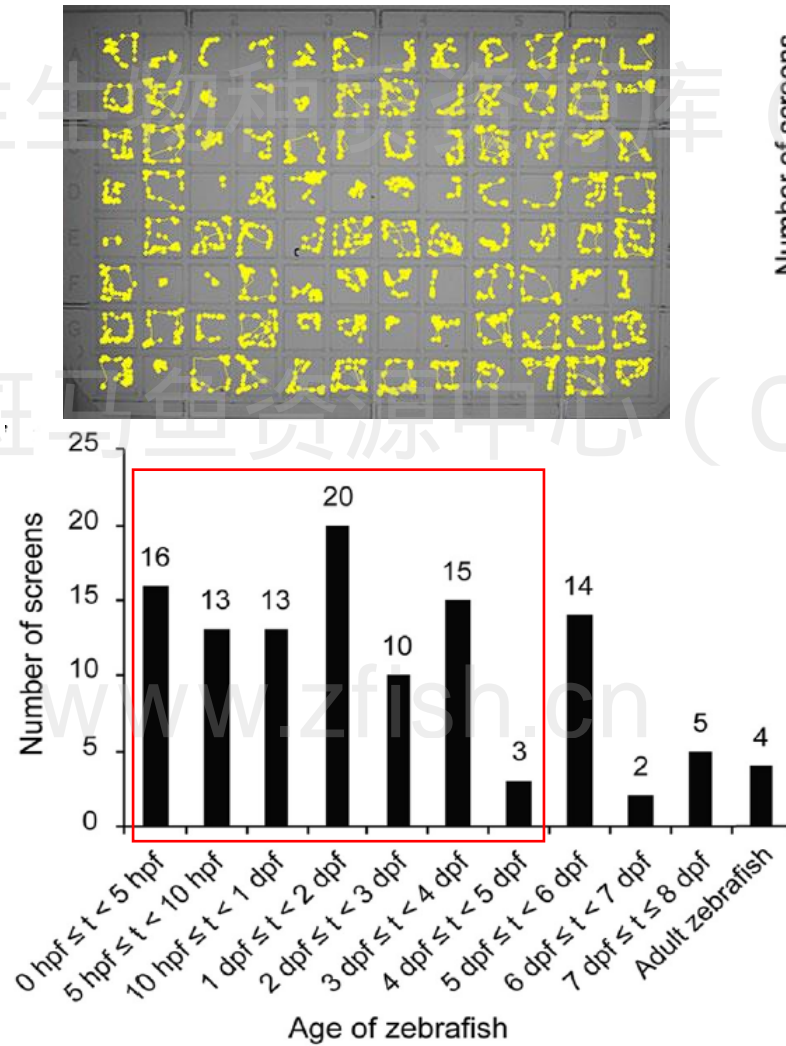
Patton et al. 2005



应用研究：新型药物的筛选



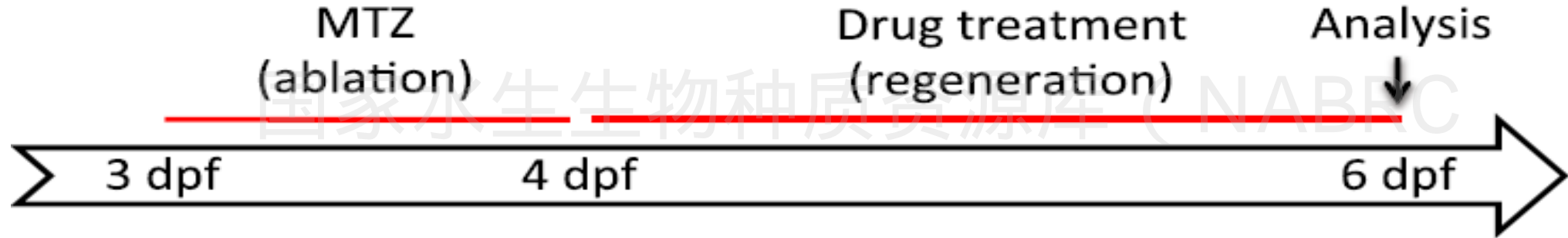
Rennekamp&Peterson, 2015



Zhang&Peterson, 2020



人类疾病模型构建

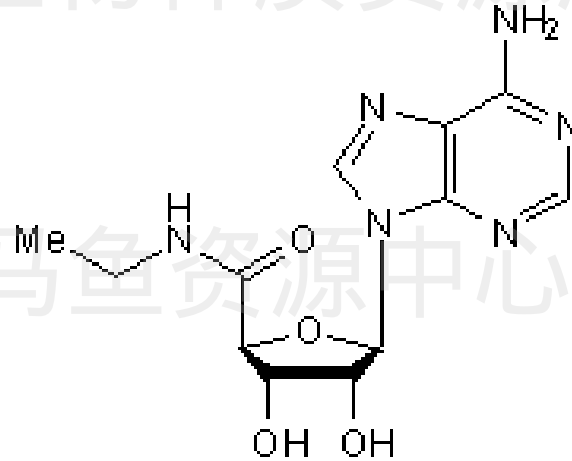


- 斑马鱼在发育的第一周，只有一颗胰岛
- 双重转基因品系：特异性标记胰岛细胞，和特异性在胰岛中产生硝基还原酶（NTR）
- 以甲硝哒唑（Mtz）处理特异性杀灭表达NTR的细胞
- 用药物处理胰岛被破坏的鱼，观察胰岛细胞的再生情况

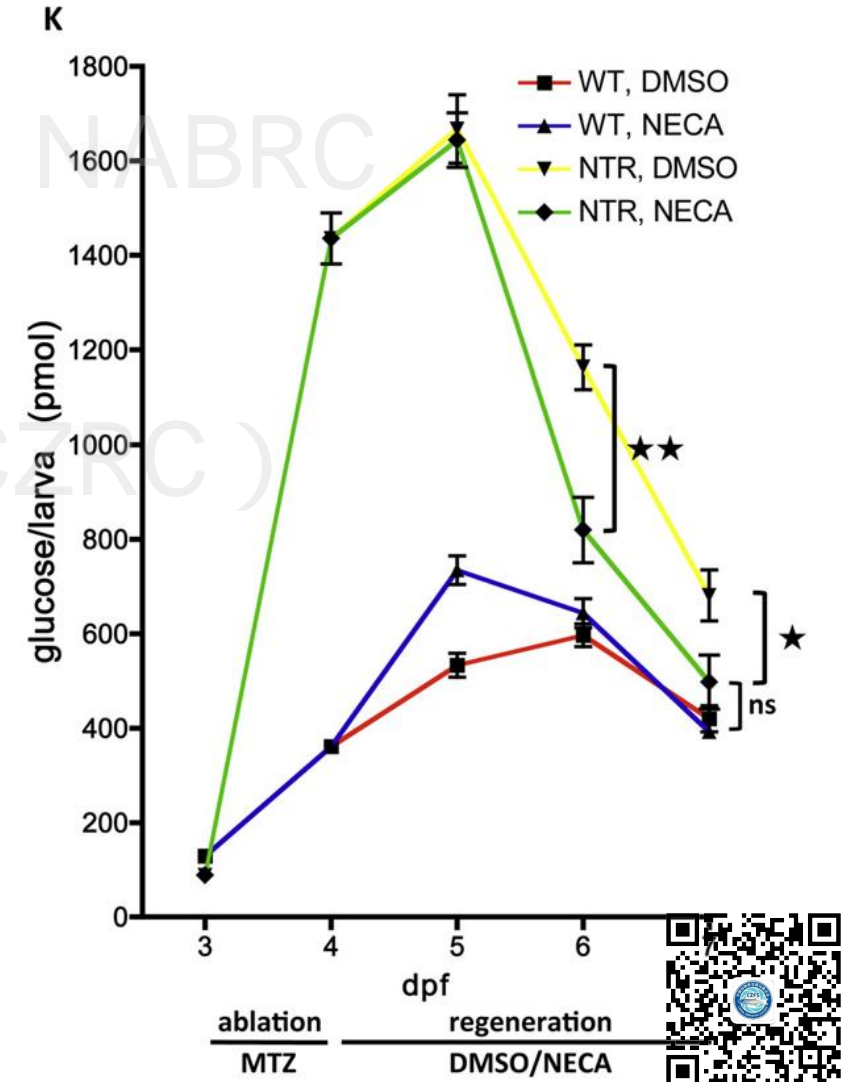


新型药物筛选

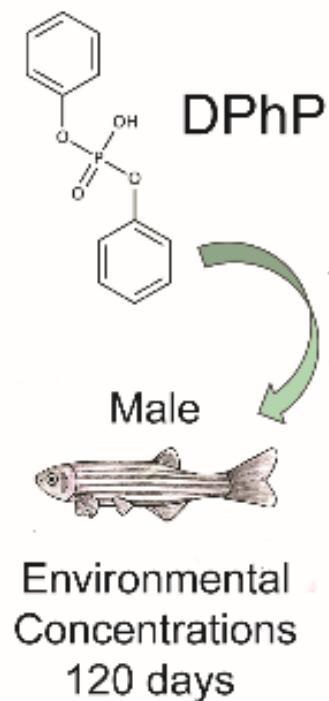
- 7,186 compounds
- ~ 100,000 larvae
- 5 compounds doubled the number of β cells
- 4 of 5 converge on the adenosine signaling pathway
- NECA increases regeneration, not survival by promoting cell proliferation
- NECA helps restoration of a normal free glucose level



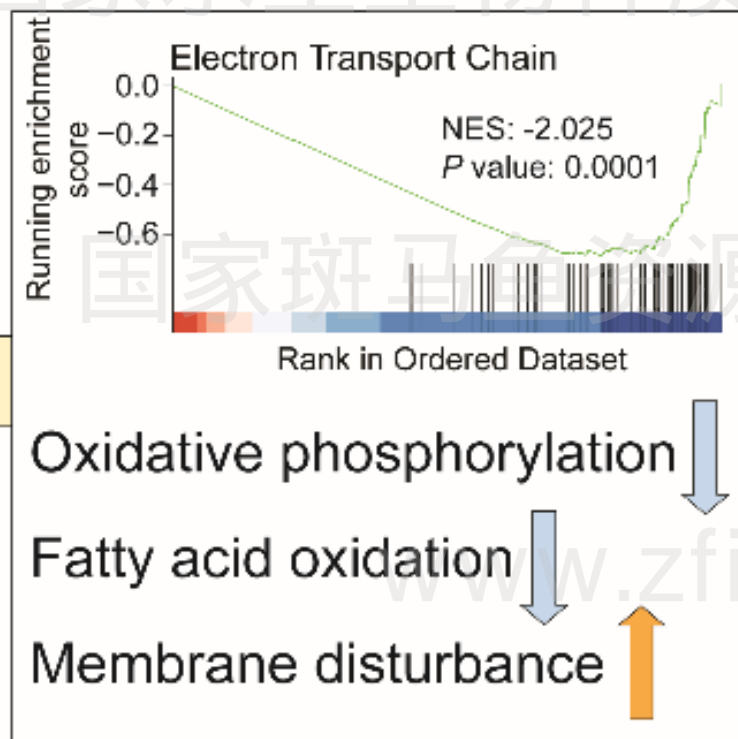
50-N-ethylcarboxamidoadenosine (NECA)



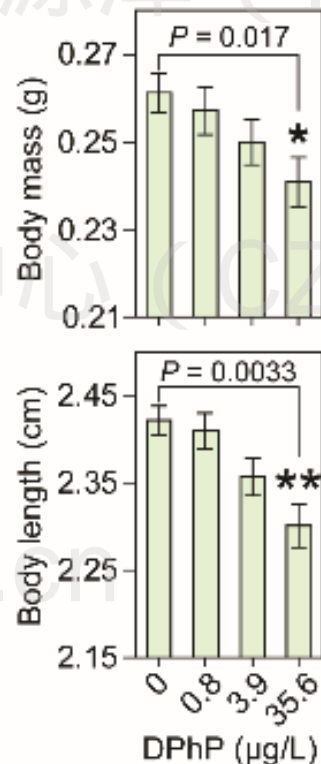
Life cycle exposure



Molecular mechanisms

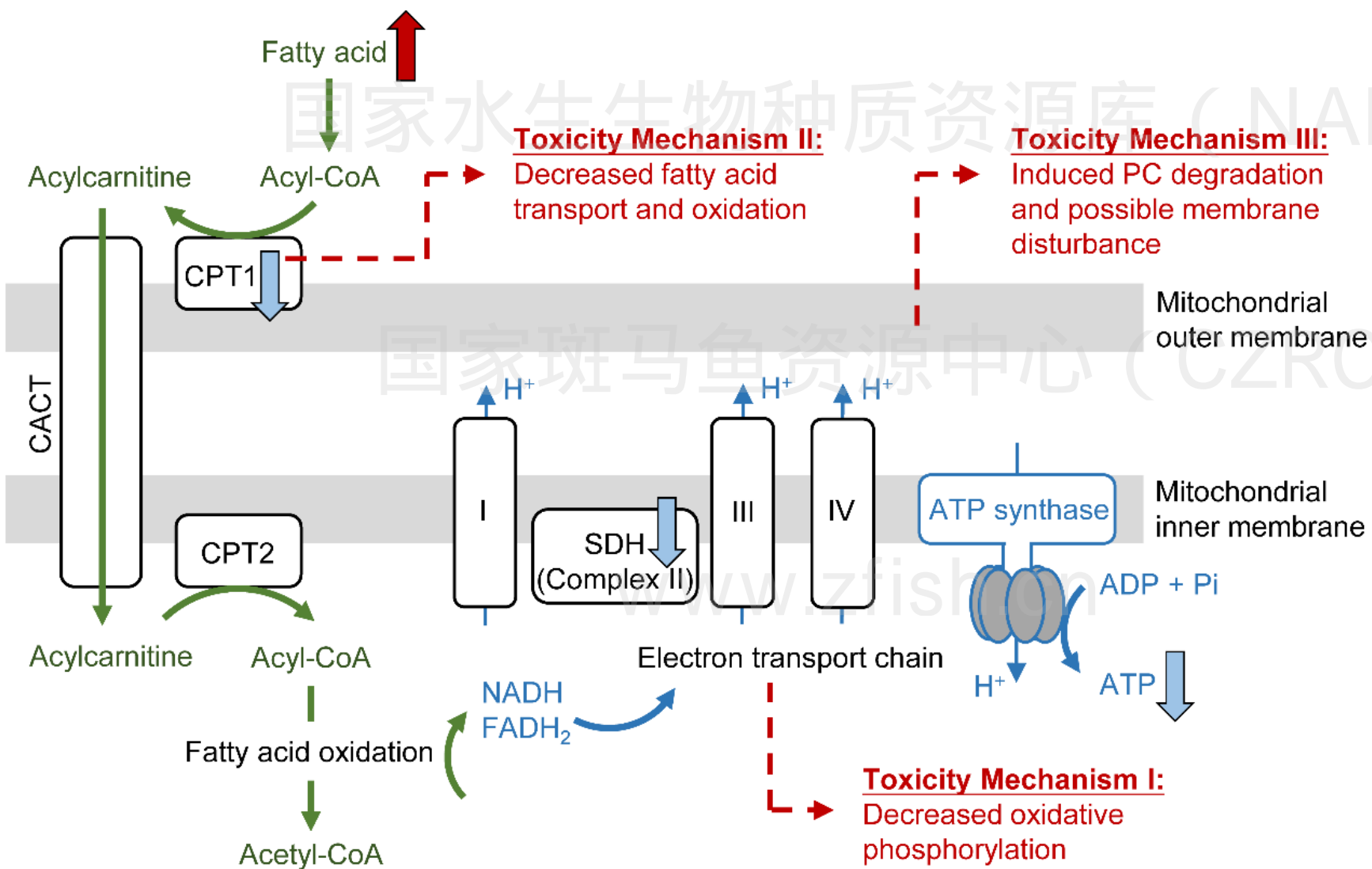


Growth retardation



- 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





第一、二讲

- 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)



中国斑马鱼信息中心

