

安徽实验动物信息

ANHUI LABORATORY ANIMAL INFORMATION

2024 年第 5 期总 59 期

安徽省实验动物学会

2024 年 8 月 29 日

目 录

[热点资讯]

安徽省实验动物地方标准首次发布..... 1

[热点关注]

世界卫生组织发布重点病原体清单..... 2

新药研发回暖信号渐现，实验动物产业或先行复苏..... 4

[综合资讯]

写在《实验动物管理条例》发布实施三十周年系列篇之三十三——斑马鱼的科研应用和标准化研究..... 9

责任编辑：孙嵩 周宁 严尚学

电话：0551-65165122

地址：合肥市梅山路 81 号

邮编：230031

E-mail: song.sun@ihm.ac.cn, 632333919@qq.com, 522679648@qq.com

热点资讯

安徽省实验动物地方标准首次发布

在省科学技术厅的委托和支持下，在省市场监督管理局的指导下，由安徽省医学科学研究院联合安徽省疾病预防控制中心、安徽医科大学、安徽农业大学、安徽公界山农业科技有限公司共同起草制定的两项安徽省地方标准——《实验动物 环境条件》（DB34/T 4815-2024）和《实验用猪 微生物学和寄生虫学等级及监测》（DB34/T 4816-2024），于 2024 年 7 月 30 日经省市场监督管理局批准发布，2024 年 8 月 30 日开始实施。

《实验动物 环境条件》（DB34/T 4815-2024）涵盖了羊、牛、鸭的普通、屏障、隔离环境指标；鸡的普通环境指标；鱼（斑马鱼、剑尾鱼）的普通、屏障环境指标。

《实验用猪 微生物学和寄生虫学等级及监测》（DB34/T 4816-2024），涵盖了猪（小型猪、猪）的普通级、SPF 级动物指标。

下一步，安徽省医学科学研究院将逐步开展上述地标内容实验室检测项目扩项工作，待获得资质认证后，需求单位即可申领相应实验动物品种的生产和使用许可证。

此次安徽省实验动物地方标准的首次发布，填补了安徽省实验动物地方标准的空白，将为我省实验动物行政管理提供技术支撑，也会有力地推动安徽省实验动物产业的发展。

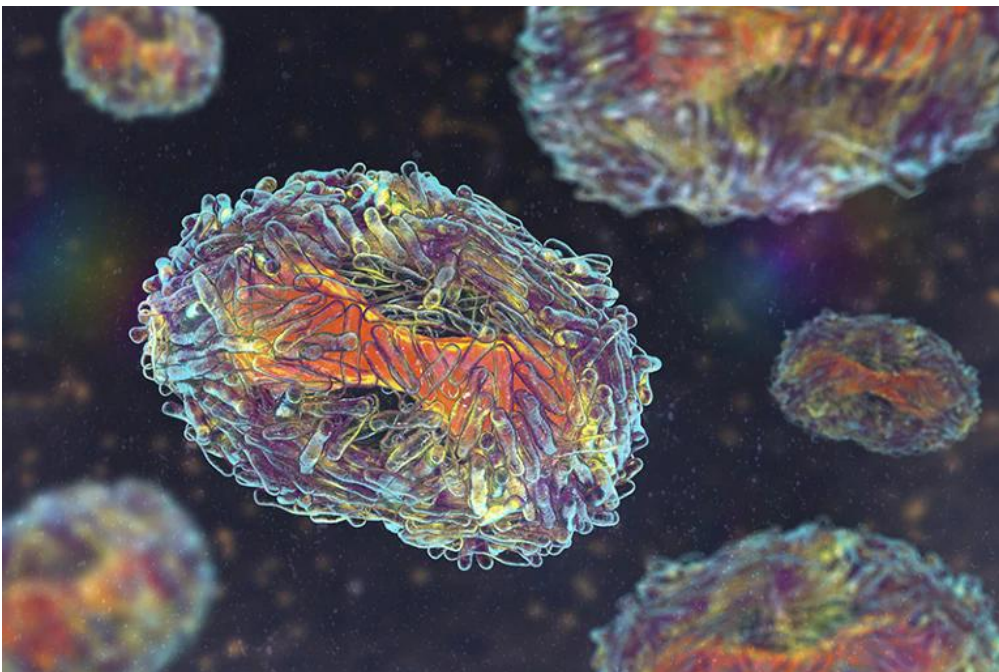
（安徽省医学科学研究院 供稿）

热点关注

世界卫生组织发布重点病原体清单

根据世界卫生组织（WHO）近日发布的最新名单，可能引发下一次大流行的病原体数量已经增加到 30 多种，包括甲型流感病毒、登革热病毒和猴痘病毒等。

据《自然》报道，科学家认为这份“重点病原体”清单将帮助各组织决定在开发治疗方法、疫苗和诊断方法时把重点放在哪里。



猴痘病毒被世界卫生组织列入重点病原体清单。图片来源：Kateryna Kon/Science Photo Library/Getty

“这是非常全面的。”参与这项工作的斯里兰卡斯里贾亚瓦德纳普拉大学免疫学家 Neelika Malavige 说。她研究黄病毒科病毒，其中包括引起登革热的病毒。

登上这份清单的病原体是根据其可能对人类造成全球公共卫生紧急情况而选定的。基于证据表明，这些病原体具有高度传染性和毒性，而且获得疫苗和治疗的机会有限。WHO 在 2017 年和 2018 年共确定了大约 12 种重点病原体。

编写该报告的 WHO 流行病研发蓝图团队负责人 Ana Maria Henao Restrepo 表示：“优先排序过程有助于确定急需解决的关键知识差距”，并确保资源有效利用。

最新的研究发现了整个病毒和细菌家族中的危险病原体，扩大了研究范围。200 多名科学家花了大约两年时间评估了 1652 种病原体的证据，其中大多数是病毒，还有一些细菌，以决定将哪些病原体列入名单。

在 30 多种重点病原体中，有一组病毒名为沙贝冠状病毒，包括导致全球新冠大流行的新型冠状病毒和导致中东呼吸综合征的梅贝冠状病毒。之前的清单包括引起严重急性呼吸综合征（SARS）和中东呼吸综合征的特定病毒，但不包括它们所在的整个亚属。

清单上的新成员还有猴痘病毒。该病毒在 2022 年引发了全球猴痘疫情，并持续在中非部分地区传播，因此被认为是重点病原体。猴痘病毒的“亲戚”天花病毒也在清单上。尽管天花病毒在 1980 年已被根除，但由于人们不再定期接种疫苗，因此无法对其产生免疫力，天花病毒的意外释放可能带来大流行。

这份清单上有包括 H5 亚型在内的 6 种甲型流感病毒。H5 亚型已经在美国的牛中暴发，新加的 5 种是能够引起霍

乱、鼠疫、痢疾、腹泻和肺炎的菌株。清单还增加了两种啮齿动物病毒。

参与分析评估工作的英国 Pirbright 研究所病毒学家 Naomi Forrester-Soto 表示，许多重点病原体目前仅限于特定地区，但有可能在全球范围内传播。“其实没有哪个地方的风险最大。”

除了重点病原体清单外，研究人员还创建了一份单独的“原型病原体”清单，这些病原体可以作为基础科学研究以及治疗方法和疫苗开发的模型物种。

(转自《中国实验动物信息网》)

新药研发回暖信号渐现，实验动物产业或先行复苏

新药研发过程中，动物实验不可或缺，围绕动物实验所形成的实验动物养殖销售、模式动物（经筛选后的标准化实验动物）研发，成为临床前 CRO 产业的重要组成部分。

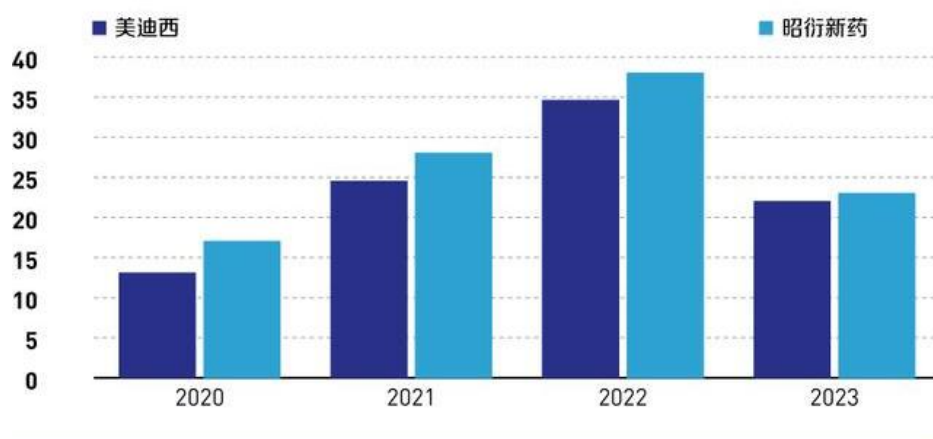
作为新药提交临床试验申请（IND）前必经的环节，实验动物产业对于行业的复苏更为敏感，相比药理服务也具有更高的行业门槛。业内人士认为，随着新药研发回暖信号陆续浮现，实验动物产业复苏或先行一步；与此同时，随着国内实验动物头部企业更多聚焦自身细分赛道，行业竞争烈度有望下降。

一、实验动物企业 2023 年来业绩下降

根据 2023 年年报和 2024 年一季报，国内实验动物产品及服务供应商整体业绩表现较弱，行业代表性企业美迪西、昭衍新药净利润均大幅下降。此前，两家公司由于实验猴价格飙升引发生物资产价值波动，一度大受市场追捧。

随着上游研发需求降温，2023 年两家公司临床前业务新签订单规模出现明显回落，昭衍新药全年归母净利润同比下降 63.04%，美迪西则同比下降 109.82%，近十年来首度出现亏损。2024 年一季度，这一趋势仍未改变，其中，昭衍新药出现营收和净利润双降，主营收入同比下降 12.07%，归母净利润同比减少 244.98%，单季度亏损规模排名行业首位。

**2020-2023 年美迪西与昭衍新药
新签订单变化趋势（亿元）**



资料来源：公司公告，第一财经整理

相比之下，其他实验动物供应商收入波动相对平缓，但整体盈利能力并不强。其中，药康生物（688046.SH）、南模生物（688265.SH）在 2023 年加速扩张步伐，由于收入的增长未能覆盖成本，净利润出现下滑；港股上市公司百奥赛图（02315.HK）2023 年收入规模和盈利能力有所增强，但整体依然处于亏损之

中。

2016-2023年主要实验动物上市公司
净利润变化趋势（亿元）



资料来源：公司公告，第一财经整理

全球投融资趋冷，被认为是导致国内实验动物产业业绩疲软的重要原因。百奥赛图相关负责人对第一财经表示，受宏观经济环境影响，全球药物研发投入趋于谨慎，很多公司陆续砍掉了非核心的药物管线，导致整个新药开发链条受到不同程度影响，其中处于前端的药物发现和实验动物环节所受影响程度还是相对较低的。

某投资机构研究员解释称，由于多数创新药企业并不赚钱，药物研发管线主要依靠投融资来支撑，融资受阻使得药企资金链愈发紧张，砍管线、缩减研发是创新药企逆境求生的必然选择。

二、新药研发需求回暖信号已现

2023年年底以来，全球投融资环境出现回暖迹象，创新药研发需求也有回升趋势。与此同时，国内从中央到地方，

陆续出台了一系列创新药产业的支持政策，旨在解决创新药审批难、入院难等问题。

上述研究员表示，目前行业投融资环境已经过了最差的时候，基本处于底部平稳运行的状态，后续如果创新药支持政策能够落地到位，创新药投资热情有望被显著激活，为整个临床前 CRO 产业带来新订单。

药理、毒理测试以及药代动力研究是新药提交临床试验申请（IND）前必经的环节。通俗来讲，就是对研发中的新药进行有效性和安全性的评估，并对药物在体内的吸收、分布、代谢和排泄过程进行研究。由于这些研究无法直接在人体上进行，因此无论药企选择自研还是外包，进行动物实验都是不可或缺的。

百奥赛图上述相关负责人表示，随着创新药研发投入逐渐回稳，作为药理药效、毒理等实验环节的重要材料，实验动物产品需求的恢复势必更早于临床前 CRO。他透露，2023 年百奥赛图主要业务收入中，实验动物产品销售收入增长就已显著强于药理服务收入，而这并不是该公司所独有的现象。

三、实验动物玩家战略现差异化

百奥赛图上述相关负责人告诉第一财经，此前 PD-1 靶点的爆火给全球创新药产业带来了难得的发展机遇，一大批创新药研发企业应运而生，也使得包括实验动物在内的临床前 CRO 产业迎来了快速发展。但目前为止还未出现能与 PD-1 相媲美的新靶点，在下一个风口来临之前，后来企业将很难复制现有的成功经验，并在发展规模和发展速度上实

现赶超。

上述负责人表示，实验动物作为一种科研产品，客户对实验动物的养殖环境、定制化程度等均有较高的要求，行业壁垒相对较高，导致国内实验动物产业的高端玩家并不多，各家公司凭借独特的技术优势已逐渐在业内站稳脚跟。

随着技术优势的不断积累，国内实验动物企业发展战略逐渐差异化。例如在模式动物这一细分赛道，药康生物持续专注于实验动物模型的研究，目前已陆续推进了“野化鼠”“无菌鼠及悉生鼠”“药筛鼠”“斑点鼠”等多个研发项目；南模生物在标准化小鼠模型品系库方面进行了大量研发投入，已拥有了超过 11000 余种自主研发的标准化模型；百奥赛图在完成“千鼠万抗”计划后，已形成针对 1000+靶点的超 40 万个全人抗体库，并逐渐形成对外规模化转让早期抗体序列分子为主，转让少量优选 PCC 分子为辅的商业模式。

上述负责人认为，差异化竞争策略之下，实验动物高端玩家有望凭借各自独特的产品，在细分赛道获得竞争优势。

值得注意的是，为进一步提升盈利能力，美迪西、昭衍新药等多家实验动物上市公司都在年报中不约而同地表示将加大对海外市场的布局力度。相比国内市场，海外客户多为工业客户，订单规模更大，市场需求更为广阔。同时海外客户采购单价较高，对于实验动物的新颖程度要求也更高，海外业务整体的盈利能力相对更强。

(转自《第一财经》)

综合资讯

写在《实验动物管理条例》发布实施三十周年系列篇 之三十二—斑马鱼的科研应用和标准化研究

摘要： 1988 年《实验动物管理条例》发布实施，在实验动物工作规范化、法制化管理，保障实验动物和动物实验的质量，推动我国科技发展和民生保障等方面发挥了重要作用。特别是在实验动物资源标准化、新品种/品系开发和动物模型创制方面，取得了令人瞩目的成果。为此，借“科技资讯”之窗，陆续推出我国实验动物专家在此领域所作的工作及取得的应用成果。

编者：资源增量是实验动物科技发展的核心任务，是实验动物对生命科学研究提供支撑和服务的基础和保障。自上世纪 80 年代以来，我国老一辈实验动物科学家苦心孤诣，在实验动物资源研发工作中取得的多项开创新成果。

1988 年《实验动物管理条例》发布实施，在实验动物工作规范化、法制化管理，保障实验动物和动物实验的质量，推动我国科技发展和民生保障等方面发挥了重要作用。特别是在实验动物资源标准化、新品种/品系开发和动物模型创制方面，取得了令人瞩目的成果。

为此，借“科技资讯”之窗，陆续推出我国实验动物专家在此领域所作的工作及取得的应用成果。

斑马鱼的科研应用和标准化研究

谢训卫，潘鲁媛，熊凤，李阔宇，柳力月，张昀，李玲璐，孙永华
中国科学院水生生物研究所，淡水生态与生物技术国家重点实验室，

自上世纪 90 年代斑马鱼被引入中国实验室以来，斑马鱼相关研究在中国呈现爆发式增长，现已成为继美国之后的全球第二大斑马鱼研究大国。国内已经有超过 500 个以上的研究团队在以斑马鱼为工具开展科研工作，涵盖了生命科学，健康科学和环境科学等众多研究领域。斑马鱼全基因组测序自 2011 年启动以来，已发布了 11 个拼接版本，斑马鱼基因组与人类基因组拥有较高的同源性，可以利用斑马鱼为工具进行人类疾病的病理学研究，构建疾病模型。中国目前保存有超过 13 个实验动物物种，斑马鱼是其中发展最快的一个模式生物，它的标准化研究显得尤为重要。斑马鱼等水生鱼类目前尚只有地方标准可循，国家斑马鱼资源中心（China Zebrafish Resource Center, 简称 CZRC）将有助于斑马鱼品系资源的标准化，着眼于现有品系资源的整合，开发新品系和相关技术，促进资源的优化配置和共享服务。

关键词：斑马鱼，标准化研究，国家斑马鱼资源中心，资源，技术，服务

1、斑马鱼的主要生物学特性

斑马鱼是一种原产于印度半岛和孟加拉国的热带淡水鱼类。在 20 世纪 70 年代，George Streisinger 首次利用单体诱变技术建立纯合斑马鱼品系(Streisinger, 1981)。这一时期，斑马鱼主要用于脊椎动物的发育研究。到了 90 年代，分别在德国和美国启动的大规模 ENU 诱变，产生了上千个对胚胎早期发育产生影响的突变品系，奠定了斑马鱼作为模式生物的基础。

斑马鱼属于硬骨鱼类，作为一种优良的低等脊椎动物模式生物，优势众多。首先斑马鱼全基因组测序已经完成，和人类基因组的相似度超过 87%，71% 的人类基因可以在斑马鱼基因组上找到同源基因，因此可以利用斑马鱼为工具进行人类疾病的病理学研究。目前已知的 3000 多个人类疾病相关基因有 82% 可以在斑马鱼基因组中有同源基因，可以利用斑马鱼构建各种疾病模型，并以此进行药物筛选(Howe et al., 2013; R, 2013)。

斑马鱼可以四季产卵，每周可产卵数百枚，繁殖力非常高，这是其他实验动物所无法比拟的，这也使得以斑马鱼胚胎为工具开展高通量高内涵的药物筛选工作成为一种新趋势。

斑马鱼胚胎发育十分迅速，大约 24 小时就可以完成早期发育，此外斑马鱼进行体外受精，整个发育过程在体外进行，并且其胚胎在早期是透明的，这将有助于我们进行活体原位观察其内部结构。它们的器官具有与人类相同的主要特征，成为研究人类的发育过程的优良模型。这些特性使斑马鱼在一些应用上明显优于其他实验动物，尤其是哺乳动物的胚胎一般在体内发育，无法对其进行实时跟踪观察。

斑马鱼的体型很小，易于养殖，成本相对较低，它们的养殖模式可以比较容易进行复制，这也是越来越多的科研工作者使用斑马鱼进行研究工作的重要原因之一。

2、斑马鱼的科研应用

斑马鱼的优势出众，是全球众多模式生物中发展最快的，增长速度甚至赶超小鼠，以斑马鱼为工具进行的研究呈

现快速增长的趋势(Stewart et al., 2014; Xiong et al., 2018)。

斑马鱼胚胎获取十分容易,针对胚胎的基因操作技术发展较为成熟,通过注射 DNA,引入外源基因或标记基因在体内表达,或采用特异性启动子实现在胚胎中的组织特异性表达。日益强大且完善的基因编辑技术,尤其是 CRISPR/cas9 技术的出现,使得在斑马鱼基因组上实现定点敲除或编辑成为可能。

中国引入斑马鱼研究是在 20 世纪 90 年代,到了 2000 年,斑马鱼在国内已被广泛应用于早期胚胎发育研究,且一度成为斑马鱼研究增长的热点,并逐渐在其他学科得到推广。近年来,斑马鱼在国内的应用更多地偏重于生化与分子生物学,毒理学,环境科学和海洋淡水生物学等学科。相对而言,在神经科学,发育生物学和遗传学方面的研究群体需要得到进一步的壮大(Xie et al., 2015)。

斑马鱼在科学界近 40 年的系统研究和应用,产生了一大批优质的品系资源,包括野生品系,突变品系和转基因品系。特异组织细胞表达荧光蛋白的转基因品系,被广泛应用于遗传学、发育生物学、医学、环境毒理学和水产育种学等研究领域。

从 2000 年开始,斑马鱼转基因模型在药物筛选方面逐渐得到了较广的应用,斑马鱼体型小,产卵量大,其胚胎可以模拟体内互作环境并可直接暴露于包含小分子化合物的溶液中,故可方便地使用 96 孔板同时进行上千种小分子化合物的药效筛选。斑马鱼胚胎在体外发育,发育快,早期是透明的,便于对胚胎发育过程中表型的改变进行实时监测,

十分有利于开展高通量高内涵的药物筛选。通过胚胎的死亡率和孵化率的统计，胚胎发育过程中器官大小和形状的改变监测，心脏缺陷所致心率变化的监测，行为学检测和荧光标记检测等，来评估小分子化合物对机体功能的影响。

在血管生成和抗癌药物筛选的工作中，应用得较多的是一些血管特异表达的转基因品系，还有一些是特定器官表达荧光的品系，可以用于跟踪纳米级药物递送系统，或者是测试药物对器官的功效(Kessler et al., 2015)。比较熟知的一个应用典范是 Tg (BMP4:EGFP)转基因品系，其心肌细胞被绿色荧光标记，该品系常被用于心脏毒性药物的临床前功能筛选(Lee et al., 2017)。结合先进的成像工具，还可以使用斑马鱼跳动的心脏的假动力学 3D 图像来分析药物递送后心脏功能的变化(Grunow et al., 2015)。对于其他的器官模型，这些方法同样适用。

在组织再生研究方面，科学家利用斑马鱼模型获得了一系列有特色的成果。目前已知的斑马鱼可以快速修复的器官有尾鳍，视网膜，肝脏，纤毛细胞，部分心脏和大脑等。斑马鱼胚胎的心脏在激光损伤后 24 小时后可以再生，并恢复心脏功能，再生能力十分惊人(Matrone et al., 2017)。科学家利用斑马鱼组织再生模型进行药物筛选时发现，传统中药成分丹参酮 IIa (Tanshinone IIa)在不影响中性粒细胞在损伤部位的聚集的情况下，可以促进中性粒细胞的凋亡和反向转移，从而有效减少炎症的发生(Robertson et al., 2014)。

早期的自然突变品系的鉴定筛选，大规模 ENU 诱变，以及近年来大热的基因组编辑技术的出现等，斑马鱼的突变

品系资源日渐丰富。斑马鱼的基因组与人类基因组拥有较高的相似性，同为脊椎动物，发育模式有较高的相似性，人类疾病相关基因有 82% 可以在斑马鱼基因组上找到同源基因，故可利用斑马鱼构建丰富的人类疾病模型。斑马鱼的基因组目前已经发现了 26,000 多个蛋白编码基因，这是已测序脊椎动物中数目最多的(Howe et al., 2013)。大约 38% 的蛋白编码基因已经通过各种突变方法和功能研究确定其在斑马鱼中的作用(Kettleborough et al., 2013)。在斑马鱼基因组中引入致癌基因或抑癌基因如 P53、APC、PTEN、BRAF 等的人类致病突变，就有可能得到类似症状的疾病模型，在此基础上进行研究，可为人类疾病的发生机理和治疗方案带来新的曙光。目前的斑马鱼模型主要可以分为遗传发育类疾病模型、癌症模型、心血管与血液发生类模型、感染与免疫相关模型、肌肉与骨骼相关模型、组织再生类模型和神经系统模型等。例如，黑色素瘤是皮肤癌的高致死原因之一，皮肤、粘膜或内脏等器官中的黑色素细胞发生恶变，最常见的内部诱因是癌基因 BRAF 基因的突变所致。在斑马鱼中引入人类致病突变 BRAF V600E，可引发黑色素瘤表型，在此模型基础上进行药物筛选，来氟米特(leflunomide)在 2000 多个药物中脱颖而出，可以在一定程度上抑制黑色素瘤的发生(White et al., 2011)。斑马鱼神经系统发育过程中存在着大量与人类相似的信号传导途径，多种人类神经系统疾病可以在斑马鱼建立对应的疾病模型，如斑马鱼中的独眼针头表型对应人类的无脑症，利用斑马鱼进行研究确定是由 CFC1 基因突变造成的(Bamford et al., 2000)。

3、斑马鱼标准化研究国家斑马鱼资源中心建设

实验动物资源是支撑国家科技创新与发展的基础性、公益性的重要战略生物资源。全球范围内实验动物资源建设的佼佼者是美国,美国 NIH 支持建立了国家级的实验动物资源保存和技术服务机构,共有 36 个中心和资源库,保存了 200 多个实验动物物种,占全球总物种的 60%。我国目前仅保存有 13 个物种的实验动物,从 20 世纪 90 年代起,实验动物的质量标准化被提上日程。实验动物的质量标准化是资源建设的重要组成部分,是实验动物应用的基础和前提条件,斑马鱼相关研究在国内发展势态良好,但目前斑马鱼仅有地方标准可以遵循。

CZRC 于 2012 年在中国科学院水生生物研究所成立,经过 6 年时间的发展,成为国际学术界公认的全球三大斑马鱼资源库之一。通过资源交换、引进和自主创建等方式,CZRC 保存的斑马鱼品系超过 1400 个,其中有超过 200 个突变和转基因品系是由 CZRC 自主创建。除了品系资源,CZRC 还保藏有 2000 多个 DNA 探针、150 个质粒、61 个斑马鱼抗体和 2 个斑马鱼细胞系等相关资源。所有的资源信息均可以在中心网站进行查询(<http://zfish.cn>)。CZRC 的建立在我国斑马鱼学界中架构起良性沟通的渠道,有力地促进斑马鱼品系资源的标准化,促进资源的优化配置和共享服务,为国家科技创新与发展提供优质的资源和技术服务。我国的斑马鱼的质量标准化将主要从存量优化,增量建设和共享服务这三个方面着手,旨在促进斑马鱼在我国研究与应用领域的进一步普及,和应用的规范化。

3.1 存量优化

国内的斑马鱼研究正在高速发展阶段，研究体量在逐年增加，由本世纪初的不足 2% 迅速发展 to 2017 年的 23%，成为继美国之后的第二大斑马鱼研究大国(Xie et al., 2015)。一方面，大量具有自主知识产权的新品系和新资源在中国斑马鱼学界不断产出，另一方面，科研工作者对相关研究资源、技术服务方面的需求也在不断扩大。斑马鱼品系的安全保藏和便利分享，必然即是领域内研究者的迫切需求，CZRC 作为中国唯一的国家级斑马鱼资源平台，自然承担起双方面的工作，承接起中国斑马鱼学界沟通桥梁的重任。此外放眼全球，在国际斑马鱼研究领域，相关研究起步早，尤其是上世纪 90 年代在斑马鱼中启动的大规模诱变筛选工作，研究人员已构建了数万种遗传突变和转基因斑马鱼品系，这些品系大部分都保存在美国的国际斑马鱼资源中心和德国的欧洲斑马鱼资源中心。这其中包含有众多的重要的动物模型，但是目前活体动物进出口程序十分复杂，获取知识产权授权困难重重，故大多数品系都不能为国内研究者所用。CZRC 致力于为国内研究者提供优良斑马鱼相关资源，目前已经和 ZIRC 建立正式合作，将有计划地从 ZIRC 批量引进斑马鱼品系(Xiong et al., 2018)。

经过半个世纪的研究与发展，斑马鱼的生物学特性，如种群动态特征，遗传检测，种群性别比例变化规律，生长模式，生理生化指标，繁殖启动时间，肠道寄生生物指标等已陆续测定。2015 年，广东省实验动物监测所、中国科学院水生生物研究所（国家斑马鱼资源中心）等单位开展合作，研制斑马鱼遗传、营养、环境、病原等质量控制的国家标准。斑马鱼研究在我国日渐普及，制订其质量控制标准具有重要

意义，接下来我们将对斑马鱼质量控制标准的主要内容进行简要的介绍。

3.1.1 遗传质量控制

斑马鱼采取的是体外受精、体外发育的发育模式，繁殖用种鱼必须遗传背景明确，来源清楚，有较完整的资料（包括品系名称、传代代数、遗传基因特点及主要生物学特征等）。

在 CZRC，野生型斑马鱼品系采用封闭群的传代方式，至少使用 25 对及以上的亲本种鱼，这样可以保证了生物特性的多样性，保持封闭群动物的遗传基因的稳定，避免近亲交配常出现的种质退化现象。对于一般的实验室，建议引种种鱼数不得少于 25 对，种鱼应来自于基础封闭群。

CZRC 也曾针对两种常用的斑马鱼野生品系,AB 和 TU, 筛选并选取了 20 个微卫星位点，应用部分筛选的微卫星位点成功地对这两种品系进行了遗传结构分析。

3.1.2 病原学等级及监测

针对斑马鱼的病原监测不仅要监测和消除养殖设备和水环境的潜在病原体，还有外来品系的隔离检疫管理。监测的重点主要有品系鱼的来源，水环境的指标，饲养管理规范，实验操作规范，斑马鱼日常观察等。对于已存在或潜在的鱼病，应及时处理，分离异常表现斑马鱼，隔离观察、改善水环境指标，详细记录异常情况及其变化情况。不管是非感染性或感染性疾病，均会对斑马鱼的健康造成危害，影响实验结果的准确性，尤其是感染性疾病，常常可形成大面积的爆发性感染，需要严加防范。

按照病原，斑马鱼的主要感染性疾病可以分为病毒性疾病，细菌性疾病，真菌和藻类引起的疾病和原生动物引起的疾病。斑马鱼鱼病应以预防为主，关键在于日常标准化和规范化的饲养管理和实验操作(Liu et al.,2016)。对于引进的外来品系，采取隔离检疫和消毒措施，引进的活体先进行健康检查，隔离饲养期间（一般为 2 周）相关检查结果为阴性的品系，可进行传代并将胚胎消毒后转移至主养殖系统中，用于生产和相关研究，尽量减少其携带和传播病原的风险。

日常管理中，应制定良好的饲养操作与日常管理规范，减少鱼病的发生，保证培育工作的顺利进行，杜绝种质污染。排除常见的人类共患病病原，以保障实验动物管理和实验人员的健康与安全。排除对鱼类危害大的病原，以保障斑马鱼培育工作和实验的正常进行。排除对实验结果具潜在干扰的主要病原如支原体等，以确保动物实验结果的可靠性。

3.1.3 饲料

不同发育时期的幼鱼或成鱼应根据其自身特点选择合适口径的活体或颗粒饵料进行投喂。幼鱼早期的喂养与管理方式对成活率有重大影响。刚孵出的幼鱼口裂小，喜好摄食活饵，开口饵料一般可选用草履虫、轮虫、人工饲料等小口径饵料。人工饲料不便于水质管理，轮虫等活饵容易寄生病原体，故最常用的是草履虫。

半月龄左右的幼鱼可以开始摄食卤虫幼虫或大口径颗粒饲料。活体饵料与颗粒饵料相比，由于幼鱼的视觉系统与消化系统逐步发育的缘故，前者营养全面，适口性高，可大幅提高幼鱼的存活率，如果能同时辅以颗粒饲料，补充蛋白

质、脂肪、糖、无机盐和维生素等营养物质，可以进一步提高幼鱼的存活率。

3.1.4 环境条件

环境条件最重要的内容之一就是养殖水环境的水质控制，水质因素主要有水温、溶解氧、非离子氨、亚硝酸态氮、pH、硬度等，其中水温、溶解氧、氨氮值等与养殖过程管理关系较大。斑马鱼的最适生长温度是 28.5℃，在 20℃~28℃ 温度区间可以正常生长，温度过低或过高都容易生病或出现死亡。溶解氧是鱼类赖以生存的必要条件，直接影响呼吸，间接影响鱼类的摄食和消化活动而影响生长发育。通过空气压缩机使空气中的氧气溶解于水中或采取循环水体来增加溶氧量，都可以在一定程度上加速了水中有机物质的分解，有利于水质改善。氨氮主要来源于鱼类的排泄物和食物残渣等含氮有机物的分解作用，对鱼类有害，可对其鳃部表皮细胞造成损害，严重的会使其丧失免疫力，引发感染。养殖水体需要及时排污，可有效降低氨氮值。水质控制最重要的就是做好循环养殖系统的日常管理。

其次是设施环境，循环养殖系统的材质和设备陈设安排等都应按斑马鱼的体型和生活习性而尽量优化。设施所处空间要求光线充足，通风良好，排污排水设施齐全，配备照明设备和加温系统，配备增氧和过滤系统。主要的水质参数应配备相应的探头进行实时监测，强大而有效率的配套设施是水质稳定的重要支持。CZRC 在综合考虑所有因素，参考了国际和国内的斑马鱼研究同行的平台，建立了安全规范的斑马鱼养殖和健康平台，并在此基础上，建立了高效的基因操

作平台和稳定高效的精子冻存平台。CZRC 占地 600 平米，由一流标准的斑马鱼资源保藏区和遗传学实验室组成。其中，资源保藏区包括主鱼房、外来鱼隔离房、育苗室、显微注射室和精子超低温保藏室等功能区域。主养鱼房面积为 350 平米，最大养殖容量超过 20 万尾成年斑马鱼(Li KY, 2014)。在已保存的 1400 多种斑马鱼品系中，有约 400 种以活体形式养殖在鱼房内，有 1200 多种已通过超低温精子冻存的方式进行保藏。2015 年着手建立斑马鱼精子冻存库系统，配备有 2 个大型液氮储藏罐，可容纳 5 万管以上的精子冻存样本，现有冻存精子样品超过 10000 管，平均复苏受精率 54%，最好的纪录超过 90%，精子样品复苏受精率达到全球最佳水平。

CZRC 的斑马鱼品系资源主要来源依次为收集整理国内学者创制的斑马鱼品系，CZRC 自主创制斑马鱼品系，以及由海外实验室和资源中心引进。这三种来源的斑马鱼品系占全部保藏资源的比例依次为 55%，30%和 15%，整体上超过 80%的品系资源是由中国的斑马鱼实验室独立创制后提交保藏，拥有自主知识产权，在全球范围内为 CZRC 所独有。2018 年，我国斑马鱼研究相关实验室已超过 500 家，为了有效收集这些实验室自主创制的斑马鱼相关资源，CZRC 每年都会对集中调研中国斑马鱼学界的论文发表情况，收集已发表论文的斑马鱼相关新资源的信息，力求争取整合这些新资源到 CZRC，并在斑马鱼研究领域共享。

3.2 增量建设

在斑马鱼品系资源增量建设的道路上，我们要重视掌握

和研究最新的斑马鱼品系开发技术，积极创制具有自主知识产权的新品系资源，尤其是可以作为疾病模型和研究新工具的基因突变品系和转基因品系。在国际上，最大规模的斑马鱼品系和基因资源集中储备在位于美国俄勒冈大学的国际斑马鱼资源中心（Zebrafish International Resource Center，简称 ZIRC），由于接管了欧美数家研究机构进行的大规模基因组诱变项目的成果，其保藏斑马鱼品系数量已超过 3 万种。与之相类似，位于德国的欧洲斑马鱼资源中心（European Zebrafish Resource Center，简称 EZRC）也已保藏各类斑马鱼品系 2 万多种。EZRC 保藏的斑马鱼品系资源在短短 6 年时间里从 200 多种增加到 1400 多种也主要得益于 2013 年启动的斑马鱼 1 号染色体全基因敲除计划（简称 ZKO 计划）。ZKO 计划由中国科学院水生生物研究所、北京大学和清华大学等单位的 38 家实验室共同参与，历时近 3 年，本项目共计构建特异性的斑马鱼突变品系 714 个，全部品系信息都在 EZRC 网站和国际斑马鱼信息中心数据库公开。项目产生品系全部保藏在 EZRC 斑马鱼精子冻存库中，并对国内外学术界公开(<http://www.zfish.cn/TargetList.aspx>)。这是我国斑马鱼学界第一次进行大规模的系统诱变筛选，项目的进展和成果已取得了全球性的关注和影响力。

EZRC 在发展初期建立了基于 TALEN 技术的基因敲除平台和基 CRISPR/Cas9 技术的基因敲除平台，以及基于 Tol2 的转基因操作平台。随后结合斑马鱼原始生殖细胞操作技术，分别建立了高效、特异的斑马鱼原始生殖细胞转基因操作平台和基于 CRISPR/Cas9 技术的斑马鱼原始生殖细胞基因敲除平台。这两个平台中，外源 DNA 或 mRNA 偏好作用

于生殖细胞，整合外源基因或被打靶编辑，故可相对更快速地筛选出具有可遗传性状的子代。截止目前，CZRC 利用基因组编辑技术和转基因技术成功地自主创制了超过 200 个基因突变品系和转基因品系。CZRC 将持续为各个领域的研究者提供特异性品系构建服务，在未来 2 年，CZRC 将进一步创建具有自主知识产权的人类疾病模型，并建设高通量斑马鱼药物筛选平台。建成后，该平台将可服务于环境监测、药物药效评估、新药筛选和各种斑马鱼行为学研究的科研和应用领域。

3.3 共享服务

斑马鱼品系资源的持续扩容优化和便于分享，将极大地促进中国斑马鱼研究的深化发展，CZRC 在中国斑马鱼学界负责起品系收集和共享，信息沟通的重任。相比于美国的 ZIRC 和欧洲的 EZRC 两大斑马鱼资源平台，CZRC 具有特殊的技术服务优势，除了为国内外用户提供标准的斑马鱼品系资源，还可以为斑马鱼研究者提供 品系构建、技术培训、信息共享、科研及技术咨询等方面的服务，促进了斑马鱼相关养殖和研究新技术等在国内斑马鱼学界的信息共享。

CZRC 自成立以来为全国 29 个省区市 180 多家机构提供各类斑马鱼相关资源服务 800 多批次。此外，为日本、韩国、美国、德国和瑞士等国家的 16 家机构提供资源 26 批次。提供的品系要求符合实验动物标准，遗传背景清晰，资料信息齐全。品系资源运输也是严格遵照活体运输规范执行，保证容器的安全，保持水温的相对恒定，控制容器的氧气含量，选择最快捷的运输方式，以确保活体品系的健康安全送达。

CZRC 的服务获得了国内外研究同行的高度认可,截至目前,由 CZRC 提供品系资源所发表的相关文献累计已超过 140 篇。

CZRC 提供的技术服务主要包括构建特异性转基因及基因敲除品系、举办全国性斑马鱼技术培训班、斑马鱼养殖技术咨询、斑马鱼鱼病咨询等。2013 年以来总共提供品系构建服务 40 余次,构建了 70 多个特异性转基因或基因突变品系,为一线科研课题提供了有力的技术支撑。技术培训班采用采用理论课与实验课相结合的方式,现已举办 8 期,参训学员 200 多人次,培训专题包括斑马鱼鱼房建设和健康养殖、原位杂交、显微注射、精子冻存和基因组编辑技术等斑马鱼实验技术。CZRC 从建立开始即努力为斑马鱼相关科研人员提供斑马鱼养殖健康和鱼病等咨询服务,介绍科学的养殖参数和养殖要点,及常见鱼病预防和处理措施等。CZRC 希望通过这种咨询服务可以在一定程度上提高鱼房管理人员的科学养殖技术水平,加强国内斑马鱼鱼房的健康发展。

除此之外,CZRC 在学术服务方面也做了很多努力。每两年举办“中国斑马鱼 PI 大会”,成为领域内资深科学家交流的重要平台。2016 年 9 月,CZRC 参与筹建的中国动物学会斑马鱼分会正式成立,学会将依据斑马鱼的学科特点和国际发展趋势,开展相关工作。从 2017 年开始建设“中国斑马鱼信息中心”平台 (www.zfin.cn)。

该平台将涵盖中国斑马鱼学会网站、学界信息人员交流平台、斑马鱼品系资源管理和资源共享等方面的功能。CZRC 力求能为中国斑马鱼研究领域各类资源信息保藏、交

流和共享提供有力的支持。

CZRC 将利用自身优势，持续扩大斑马鱼相关资源的收集、保藏和分享规模。首先 CZRC 拥有全球最佳水平的斑马鱼精子冻存保藏系统，可利用此系统为全国的斑马鱼学界提供品系冻存支持并同时收集我国研究者创制的品系资源。其次，CZRC 有全国最丰富的斑马鱼基因编辑及转基因技术经验，不仅可为各个领域的研究者提供特异性品系构建服务，还将持续自主创制服务于最新科研方向各类斑马鱼品系及模型。第三，CZRC 正在建设的“中国斑马鱼信息中心”系统，将不仅实现更便捷的网上资源服务流程，同时还将为中国的斑马鱼学界提供学科内资讯、人员情况、科研交流及斑马鱼品系管理方面的网络共享服务。

参考文献详见：国家实验动物专家委员会简报 2018 年第 53 期

(转自《中国实验动物信息网》)

报：省民政厅、省科协、省科技厅

送：理事会、常务理事、党委、监事会
