ICS 点击此处添加 ICS 号
CCS 点击此处添加 CCS 号

T/CHC

团 体 标 准

T/CHC XXXX—XXXX

斑马鱼用于保健食品功能检测技术规程

Technical procedures for assessing functions of health foods with zebrafish model

（征求意见稿）

XXXX－XX－XX 发布 XXXX－XX－XX 实施

中国保健协会 发 布

前　　言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则　第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由杭州环特生物科技股份有限公司提出。

本文件由中国保健协会归口。

本文件起草单位：杭州环特生物科技股份有限公司、云南贝泰妮生物科技集团股份有限公司、华熙生物科技股份有限公司、北京东方红航天生物技术股份有限公司、黑龙江飞鹤乳业有限公司、北京姿美堂生物技术有限公司、东阿阿胶保健品有限公司、漳州片仔癀药业股份有限公司、浙江养生堂天然药物研究所有限公司、健合（中国）有限公司、石家庄君乐宝乳业有限公司、碧生源控股有限公司、广东完美生命健康科技研究院有限公司、北京世标认证中心有限公司、中国标准化研究院、农业农村部食物与营养发展研究所、中国疾病预防控制中心营养与健康所、中国中医科学院中药研究所、首都医科大学附属北京中医医院、中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所、中国保健协会行业认证分会、中国保健协会健康服务与研究专业委员会。

本文件主要起草人：李春启、赵琳、徐熙明、朱大洲、丁刚强、林如海、赵海誉、徐霄龙、邱静、王飞飞、郭珈均、谢瑶、郑成栋、孙阳恩、陈志亮、张正方、张华、柴艳兵、张耀广、黄森、宫建辉、周邦勇、李萍、李永波、孙茵、李霞、张丽丽、李妍、廉琳、朱晓宇、徐懿乔、戴明珠、朱家乐。

斑马鱼用于保健食品功能检测技术规程

1 范围

本文件确立了斑马鱼用于保健食品功能检测流程，规定了试验方案确认与准备、斑马鱼准备、预试验、正式试验、结果评价、数据分析、试验报告撰写/审核等阶段的操作指示，以及上述阶段之间的转换条件，描述了记录、标记、审核等追溯方法。

本文件适用于普通食品、保健食品及其原料和配方的功能评价。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 39649 实验动物 实验鱼质量控制

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

斑马鱼 zebrafish

一种脊椎动物，生物分类学上属于脊椎动物门、硬骨鱼纲、鲤鱼目、鲤科、斑马鱼属、斑马鱼种，可用于教学和科研的模式动物。

3.2

受精后小时数/受精后天数 hour(s) post-fertilization, hpf/day(s) post-fertilization, dpf

受精卵受精后的小时数/天数。

3.3

无可观察效应浓度 no observed effect concentration, NOEC

与对照相比，对试验生物未产生显著效应的最高受试样品浓度。

4 基本流程

斑马鱼用于保健食品功能检测流程包括试验方案确认与准备、斑马鱼准备、预试验（受试样品处理、确定NOEC）、正式试验（分组、造模、受试样品处理、死亡判断、数据采集）、结果评价（统计学分析、结果判定、结果有效性分析）、数据分析、试验报告撰写/审核等阶段。程序流程图如图1所示。

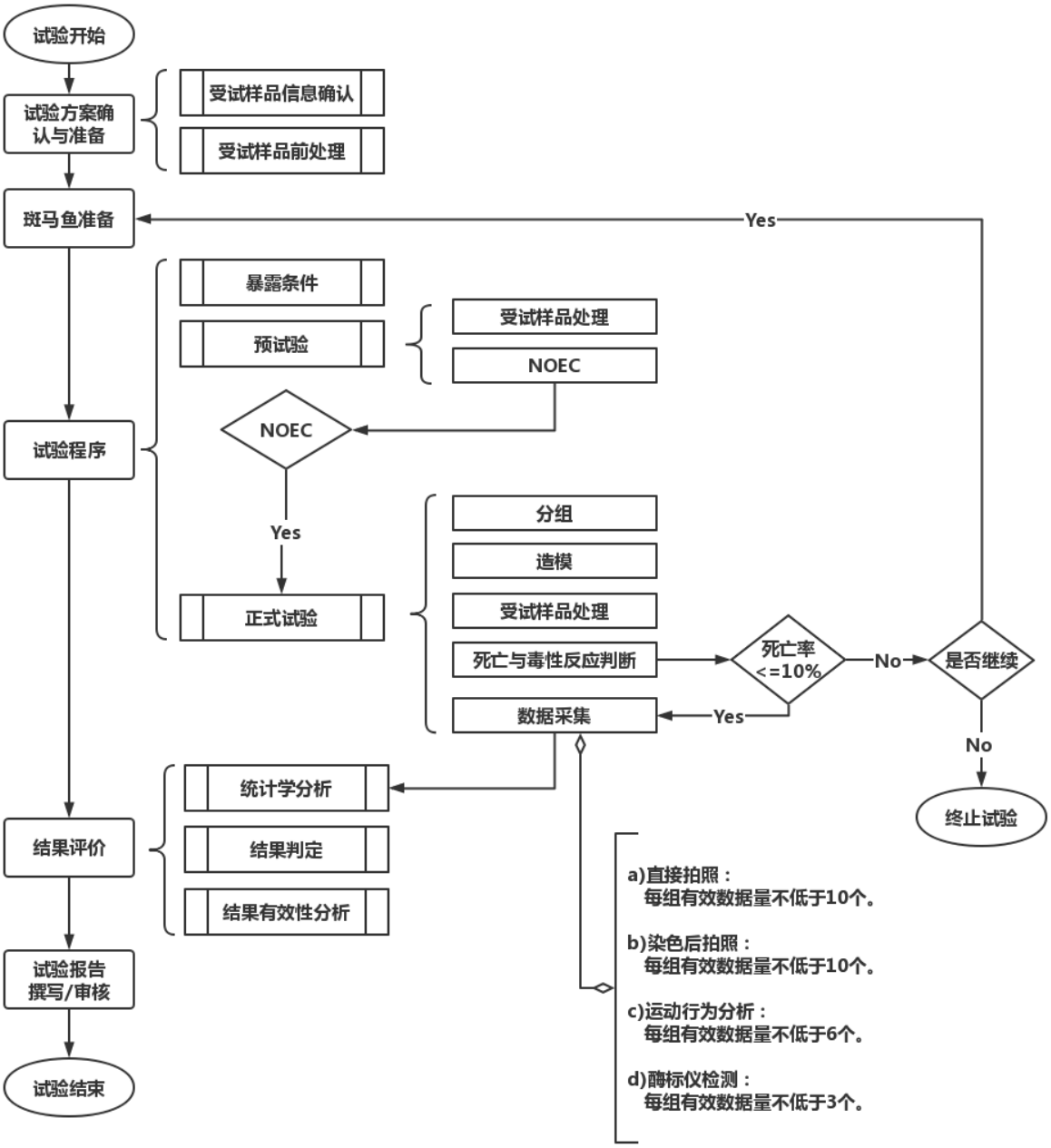


图1　斑马鱼用于保健食品功能检测流程图

5　试验方案确认与准备

5.1　受试样品信息确认

应从样品提供方获得如下样品信息：

a)　受试样品的名称、批号、规格、数量、颜色性状、保存条件、保质期、申请单位名称、理化性质、保健功能等信息；

b)　受试样品为单体成分时，还应提供相应的化学信息，包括分子量等；

c)　受试样品的溶剂信息，以及在溶剂中的溶解性，在水中、光中、实验条件下的稳定性；

d)　整个周期所用受试样品批号应一致。

5.2 受试样品前处理

5.2.1 按照表 1 的方法对不同类型受试样品进行前处理。

表1 不同类型受试样品前处理方法

样品类型		前处理方法
原料类		依次经过粉碎、提取、超声、均质等步骤制得受试样品
固体类	颗粒剂	依次经过粉碎、溶解、超声、均质制得受试样品
	片剂	依次经过去除包衣、内容物粉碎、溶解、超声、均质制得受试样品
	硬胶囊	依次经过去除胶囊壳、内容物粉碎、溶解、超声、均质制得受试样品
	粉剂	依次经过溶解、超声、均质制得受试样品
	硬糖/软糖	依次经过粉碎、提取、溶解、超声、均质制得受试样品
	袋泡茶	依次经过加热水、提取、溶解制得受试样品
液体类		直接稀释的方式溶解得到受试样品
油性类		依次经过去除软胶囊壳、内容物减压干燥制得受试样品

5.2.2 受试样品储备液宜用标准稀释水（标准稀释水的配制见附录 A）配制，受试样品难以用水溶解时可考虑使用低毒的助溶剂或分散剂。推荐的溶剂有：二甲基亚砜、乙醇、 甲醇、二甲基甲酰胺、三甘醇。适合的分散剂有：聚氧乙烯化脂肪酸甘油酯、吐温 80、0.01%的纤维素甲醚、聚氧乙烯化氢化蓖麻油。

5.2.3 储备液配制完成的受试样品应做标识，包括受试样品名称、受试样品浓度、溶剂名称、配制日期、配制人。

5.2.4 经前处理且做好标识的受试样品进入斑马鱼准备阶段。

6 斑马鱼准备

6.1 按照 GB/T 39649 的规定执行斑马鱼质量控制。

6.2 根据功能选择斑马鱼模型，不同斑马鱼模型的推荐品系、发育阶段选择建议见附录 B 和附录 C。

6.3 选择出发育状况一致的斑马鱼进入试验程序阶段。

7 试验程序

7.1 暴露条件

功能评价斑马鱼模型暴露条件如下：

a) 持续时间：功能评价斑马鱼模型暴露推荐时间见附录 B；
b) 更换试验溶液：通常暴露时间在 24 h 及以内不需要更换溶液。如受试样品富含营养物质，试验溶液容易腐败变质，可考虑换液，换液频率宜根据水质情况调整；
c) 光照：暴露期间避光处理，避免光照对受试样品稳定性的影响；
d) 水温：26～28.5 ℃；
e) 溶解氧：6 mg/L 饱和溶解氧；
f) pH：6.8～7.5。

7.2 预试验

预试验用于确定受试样品的NOEC浓度，为后续正式试验的浓度设置提供参考。

7.2.1 受试样品处理

选取发育正常的斑马鱼，放入培养板中，在不伤害斑马鱼的情况下除去培养板中的养鱼水，然后加入相应体积的受试样品储备液。

a) 将受试样品储备液用标准稀释水以几何级数稀释成一组适宜的浓度系列，备用。宜设置 3～5 个浓度组，以几何级数浓度系列设置受试样品浓度梯度，浓度的间隔系数≤3.2，宜设为 2；
b) 如果必须使用助溶剂，所有组别中的助溶剂浓度应保持相同，同时还应设置一个相应的溶剂对照组。

7.2.2 确定 NOEC

实时观察并清除异常的斑马鱼，对斑马鱼的死亡和其它毒性效应进行记录，确定受试样品的NOEC。斑马鱼异常表现如下：

a) 死亡判断标准：静止不动、无心脏跳动、躯干呈白色不透明颜色、对机械刺激无反应。
b) 异常表型：心包水肿、静脉瘀血、血流缺失/减少、出血、脑变性/萎缩/水肿、下颌畸形、眼畸形/水肿、肝脏变性/肿大/萎缩、卵黄囊吸收延迟、肠道发育异常、躯干弯曲/缩短/水肿、肌肉变性、鳔未充气。异常表型的典型图见附录 D。
c) 异常行为学指标：身体侧翻、游动不协调、游动剧烈和反常的静止。

7.2.3 只准许已经确定 NOEC 的受试样品进入正式实验阶段。

7.3 正式试验

7.3.1 试验分组

正式试验按照以下方法挑选斑马鱼于微孔板中进行分组：

a) 正常对照组：含斑马鱼及标准稀释水；
b) 模型对照组：含有模型诱导剂和斑马鱼。根据功能评价类型选择设置模型对照组（见附录 B）；
c) 阳性对照组：含有阳性对照样品、模型诱导剂和斑马鱼。每次试验设置一个阳性对照组即可；
d) 受试样品测试组：含有受试样品、模型诱导剂和斑马鱼。将受试样品储备液用标准稀释水以几何级数稀释成一组适宜的浓度系列，备用。宜设置 3～5 个浓度组，以几何级数浓度系列设置受试样品浓度梯度，浓度的间隔系数≤3.2，宜设为 2；
e) 溶剂对照组：含有助溶剂、模型诱导剂和斑马鱼。当受试样品配制过程中使用了助溶剂，应设置该组，助溶剂浓度应该保持一致，且浓度不大于 1%（W/V 或 V/V）。

7.3.2 造模

选择受精后一定天数的斑马鱼，用诱导剂处理一段时间，建立斑马鱼功能评价模型。根据保健食品功能选择合适的斑马鱼模型，不同斑马鱼模型的建立方法选择建议见附录B。

7.3.3 受试样品处理

根据试验需求，预先筛选好足够数量且发育状况一致的斑马鱼胚胎，并随机分配到试验容器中，每孔斑马鱼数量至少为10尾。用模型诱导剂建立斑马鱼模型，然后向试验容器中加入一定体积的受试样品溶液（饲养密度宜为1尾/100 μL）、阳性对照样品。充分混匀后，用铝箔纸包裹，在28℃生化培养箱中避光孵育至终点。

7.3.4 死亡与毒性判断

当所有试验组斑马鱼死亡率≤10%时，准许进入数据采集阶段；当有试验组斑马鱼死亡率＞10%时，应判断是否继续试验，如继续试验，应重新进入斑马鱼准备阶段，如不再继续试验，应终止试验。

7.3.5 数据采集

应根据不同斑马鱼功能评价模型的具体评价指标选择合适的数据采集方式（见附录B），数据采集具体方式如下：

a) 直接拍照：孵育结束后，从表型正常的斑马鱼中随机选取至少 10 尾斑马鱼，用三卡因麻醉后，将斑马鱼用 3%甲基纤维素固定（甲基纤维素应提前在室温放置至少 30 分钟），在体视显微镜或荧光显微镜（转基因荧光斑马鱼品系相关的试验）下观察、拍照并保存。所有试验组斑马

鱼拍照应在相同的仪器和环境条件下完成，且斑马鱼体位保持一致。利用图像处理软件测量累积光密度（体视显微镜）或荧光强度（荧光显微镜），每组的有效数据量不低于 10 个。

b) 染色后拍照：孵育结束后，试验容器中的斑马鱼用养殖水清洗 3 次，采用特异性荧光染料或组织化学染料对各组斑马鱼进行染色。染色后各组至少取 10 尾斑马鱼，用 3%甲基纤维素固定。特异性荧光染料染色的斑马鱼用荧光显微镜观察、拍照并保存，组织化学染料染色的斑马鱼用体视显微镜观察、拍照并保存。利用图像处理软件对图像进行分析，测量累积光密度（体视显微镜）或荧光强度（荧光显微镜），每组的有效数据量不低于 10 个。

c) 运动行为分析：孵育结束后，试验容器中的斑马鱼用养殖水清洗 3 次，每个试验组随机选择 10 尾斑马鱼转移至 96 孔板中，每孔 1 尾，利用行为分析仪记录斑马鱼的运动轨迹，记录时间宜为 20 min～1 h，每组的有效数据量不低于 6 个。

d) 酶标仪检测：孵育结束后，试验容器中的斑马鱼用养殖水清洗 3 次，每个试验组随机选择斑马鱼转移至 96 孔板中，每孔 1～3 尾，按照试剂盒检测说明书进行试验操作，利用酶标仪测定 OD 值、荧光值或生物光值。选择符合检测试剂要求的激发波长和发射波长，检测时间宜为 20 min～1 h，每组的有效数据量不低于 3 个。

8 结果评价

8.1 统计分析

8.1.1 利用统计分析软件进行相关图表制作与统计学分析。计算各组试验的平均值（Mean）及标准误差（Standard Error，SE），统计学处理结果用 Mean ± SE 表示。宜采用方差分析，按方差分析的程序先进行按方差分析的程序先进行正态性检验（P值）和方差齐性检验（F 值）。

8.1.2 当 $F<0.05$，$P<0.05$ 时，各组均数间组间至少有一组有显著性差异，宜采用非参数检验。

8.1.3 当 $F\geq0.05$，$P\geq0.05$ 时，采用单因素方差分析，选择事后两两比较的结果进行统计。

8.1.4 对非正态或方差不齐的数据进行适当的变量转换，待满足正态或方差齐要求后，用转换后的数据进行统计。

8.1.5 若变量转换后仍未达到正态或方差齐的目的，改用秩和检验进行统计。

8.2 结果判定

在试验满足有效性（见8.3）的基础上，使用统计分析软件对数据进行方差分析，比较受试样品各浓度组与模型对照组原始数据的统计学差异，$P<0.05$表示具有统计学差异。

8.3 结果有效性分析

8.3.1 正常对照组（当使用了助溶剂，也包括溶剂对照组）斑马鱼的死亡率或异常率不得超过 10%，超过 10%则该次试验结果视为无效。

8.3.2 模型对照组与正常对照组之间的原始数据存在统计学上的显著性差异，阳性对照组与模型对照组之间的原始数据存在统计学上的显著性差异，否则该次试验结果视为无效。

8.3.3 当使用了助溶剂，溶剂对照组与正常对照组之间的原始数据不能存在统计学上的显著性差异，否则该次试验视为失败。

8.3.4 只准许有效试验结果进入试验报告撰写/审核阶段。

9 试验报告撰写

试验报告应包括以下内容：

a) 检测依据；
b) 受试样品和阳性对照的信息，包括与试验操作相关的理化性状；
c) 斑马鱼来源和品系等相关信息；
d) 试验条件和方法，包括试验具体步骤；
e) 试验开始至完成的日期；

f) 试验结果，包括测定数据、计算值、图像数据等；
g) 数据处理与统计方法；
h) 结论。

附　录　A
（资料性）
40×标准稀释水配制方法

A.1　分别称取以下试剂：

a）　碳酸氢钠：称取 2.59 g 碳酸氢钠（$NaHCO_3$，CAS 号：144-55-8）；

b）　氯化钾：称取 0.23 g 氯化钾（KCl，CAS 号：7647-14-5）；

c）　氯化钙：称取 11.76 g 二水合氯化钙（$CaCl_2$•$2H_2O$，CAS 号：10035-04-8）；

d）　硫酸镁：称取 4.93 g 七水合硫酸镁（$MgSO_4$•$7H_2O$，CAS 号：10034-99-8）。

A.2　将 A.1 称取的试剂混合后用去离子水定容至 1 L。用于配制标准稀释水的试剂均为分析纯试剂，去离子水电导率应小于或等于 10 μS/cm。

附　录　B
（资料性）
用于评价保健食品功能的斑马鱼模型的推荐参数

斑马鱼用于保健食品功能及新功能评价的推荐指标、品系、阶段、诱导剂、造模浓度分别见表B.1和表B.2。

表 B.1 用于评价保健食品功能的斑马鱼模型的推荐参数

序号	功能	推荐指标	推荐斑马鱼品系	推荐阶段	推荐诱导剂	推荐造模浓度	推荐数据采集方式
1	有助于增强免疫力功能	中性粒细胞数量	转基因中性粒细胞荧光斑马鱼	2～3 dpf	长春瑞滨	2 ng/尾	直接拍照（荧光显微镜）、图像分析软件
		巨噬细胞数量	转基因巨噬细胞荧光斑马鱼	3～7 dpf			
		巨噬细胞吞噬功能	野生型 AB 品系	3～7 dpf			
		T 细胞数量	转基因 T 细胞荧光斑马鱼	4～5 dpf			
2	有助于抗氧化功能	ROS 荧光值	野生型 AB 品系	3～4 dpf	甲萘醌	2 μM	ROS 荧光染料染色（荧光显微镜）、图像分析软件
3	有助于改善睡眠功能	行为学（觉醒活动量、休息回合数）	野生型 AB 品系	5～6 dpf	咖啡因	200 μM	行为分析仪
4	缓解体力疲劳	行为学	野生型 AB 品系	4～5 dpf	亚硫酸钠	8 mg/mL	行为分析仪
		乳酸含量					乳酸试剂盒（酶标仪）
		ATP 含量					ATP 试剂盒（酶标仪）
5	耐缺氧功能	运动距离	野生型 AB 品系	4～5 dpf	亚硫酸钠	8 mg/mL	行为分析仪
6	有助于调节体内脂肪功能	定量卵黄囊荧光强度	黑色素等位基因突变斑马鱼	2～4 dpf	不需要	-	尼罗红染色（荧光显微镜）、图像分析软件
7	有助于改善骨密度功能	骨密度定量	野生型 AB 品系	3～7 dpf	泼尼松	75 μg/mL	钙黄绿素染色（荧光显微镜）、图像分析软件
8	改善贫血功能	红细胞数量	野生型 AB 品系	2～3 dpf	苯肼	1.56 μM	邻联茴香胺染色（体视显微镜）、图像分析软件
9	有助于调节肠道菌群功能	定量肠道菌群荧光强度	野生型 AB 品系	5～6 dpf	益生菌	10^8 CFU/mL	CM-DII 标记细菌（荧光显微镜）、图像分析软件
10	有助于润肠通便功能	肠道荧光强度	野生型 AB 品系	5～6 dpf	不需要	-	尼罗红染色（荧光显微镜）、图像分析软件
11	辅助保护胃粘膜功能	胃肠道中性粒细胞数量	转基因中性粒细胞荧光斑马鱼	3～7 dpf	三硝基苯磺酸（TNBS）	0.0125%	直接拍照（荧光显微镜）、图像分析软件

		胃肠道面积					直接拍照（体视显微镜）、图像分析软件
12	有助于维持血脂健康水平（胆固醇/甘油三酯）功能	血甘油三酯含量	黑色素等位基因突变斑马鱼	5～7 dpf	葡萄糖+蛋黄粉	0.15%蛋黄粉+3%葡萄糖	油红 O 染色（体视显微镜）、图像分析软件
		血总胆固醇含量	野生型 AB 品系	5～7 dpf	葡萄糖+蛋黄粉		胆固醇荧光探针（荧光显微镜）、图像分析软件
13	有助于维持血糖健康水平功能	血糖水平	野生型 AB 品系	5～7 dpf	葡萄糖+蛋黄粉	0.15%蛋黄粉+3%葡萄糖	血糖仪
14	对化学性肝损伤有辅助保护功能	肝脏变性程度	黑色素等位基因突变斑马鱼	3～5 dpf	无水乙醇	1.5%	直接拍照（体视显微镜）、图像分析软件

表 B.2. 用于评价保健食品新功能的斑马鱼模型的推荐参数

序号	新功能	推荐指标	推荐斑马鱼品系	推荐阶段	推荐诱导剂	推荐造模浓度	推荐数据采集方式
1	有助于解酒功能	行为学	野生型 AB 品系	5～6 dpf	无水乙醇	1%	行为分析仪
		酒精性脂肪肝的保护作用	黑色素等位基因突变斑马鱼	3～5 dpf	无水乙醇	1.5%	油红 O 染色（体视显微镜）、图像分析软件
2	辅助降尿酸	尿酸含量	尿酸氧化酶敲除斑马鱼	5～6 dpf	氧嗪酸钾+黄嘌呤钠盐	10 mM + 500 μM	尿酸试剂盒（酶标仪）
3	辅助抗肿瘤	肿瘤大小	野生型 AB 品系	2～5 dpf	人类肿瘤细胞	200 个	CM-DII 标记肿瘤细胞（荧光显微镜）、图像分析软件
4	有助于改善心功能	心包水肿面积	野生型 AB 品系	2 dpf	盐酸维拉帕米	60 μM	直接拍照（体视显微镜）、图像分析软件
		静脉淤血面积					
		心输出量					心跳血流分析系统
		血流速度					
5	有助于肾保护功能	肾性水肿	野生型 AB 品系	2～4 dpf	马兜铃酸	60 nM	直接拍照（体视显微镜）
		肾小球滤过率					Dextran 染色（荧光

							显微镜）、图像分析软件
6	辅助软骨损伤修复	软骨荧光强度	转基因软骨荧光斑马鱼	2～5 dpf	乙酸地塞米松	25 μM	直接拍照（荧光显微镜）、图像分析软件
7	辅助抗炎	感染性炎症（中性粒细胞荧光强度）	转基因中性粒细胞荧光斑马鱼	3 dpf	脂多糖（LPS）	10 nL/尾	直接拍照（荧光显微镜）、图像分析软件
		神经性炎症（中性粒细胞荧光强度）	转基因中性粒细胞荧光斑马鱼	3 dpf	硫酸铜	10 μM	
		损伤性炎症（中性粒细胞荧光强度）	转基因中性粒细胞荧光斑马鱼	3 dpf	机械损伤	-	
8	辅助抗肺炎	细菌性肺炎（肺部中性粒细胞荧光强度）	转基因中性粒细胞荧光斑马鱼	5 dpf	脂多糖（LPS）	10 nL/尾	直接拍照（荧光显微镜）、图像分析软件
		病毒性肺炎（肺部中性粒细胞荧光强度）	转基因中性粒细胞荧光斑马鱼	5 dpf	聚肌胞苷酸（Poly(I:C)）	100 ng/尾	

附　录　C
（资料性）
不同年龄段斑马鱼挑选典型图

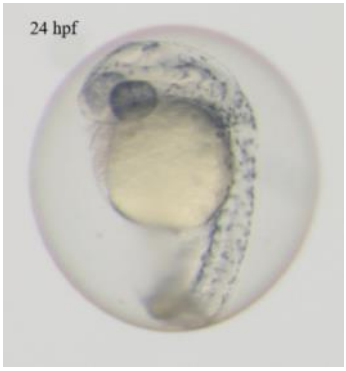
C.1　2.25 hpf：始于 128 个细胞排列成高的细胞堆叠，位于卵黄细胞之上，呈紧密半球形，见图 C.1。

图 C.1 2.25hpf 斑马鱼典型图

C.2　6 hpf：受精卵达到 50%外包后的数分钟内出现了一个增厚的外围区域，称作胚环（germ ring），几乎与此同时完全包围了囊胚边缘。此时，可去除未受精的卵或死卵、发育迟缓以及其他各种畸形的鱼卵，并且挑选出发育阶段一致的鱼卵，见图 C.2。

图 C.2 6hpf 斑马鱼典型图

C.3　24 hpf：去除死亡胚胎，包括无心跳、卵凝结（图 A）、体节未形成（图 B）、尾部未分离（图 C，红色箭头指向尾部未分离），挑选体节形成、尾部分离、出现黑色素的斑马鱼，并可根据脑部、眼部发育的情况进一步筛选发育阶段一致的胚胎，见图 C.3。



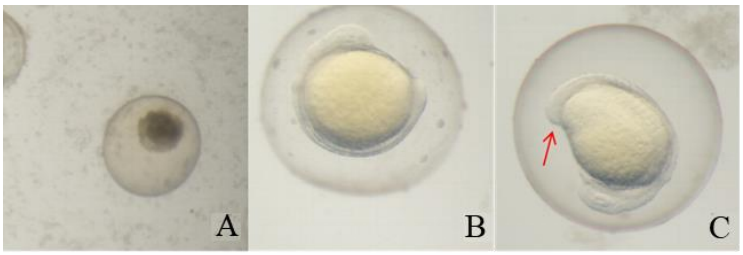


图 C.3 24hpf 斑马鱼典型图

C.4　2 dpf（dpf，受精后数天）：背部黑素条纹此时很明确且密集。镜下挑选无心包水肿，卵黄囊大小一致的斑马鱼，见图 C.4。

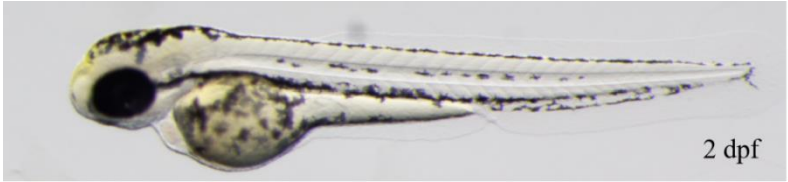


图 C.4 2dpf 斑马鱼典型图

C.5　3 dpf：去除死亡胚胎、未出膜胚胎并及时去除养鱼用水中的绒膜。整个背部的黄色色调加深，卵黄囊逐渐萎缩呈椭圆形，全身无出血或淤血，体长无短小、畸形，见图 C.5。

图 C.5 3dpf 斑马鱼典型图

C.6　4 dpf：挑选鱼鳔开始充气，卵黄囊未完全吸收，肠道开始发育的斑马鱼，见图 C.6。

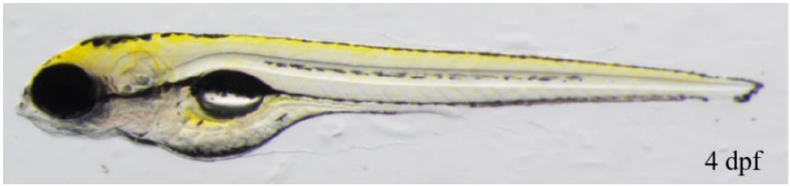


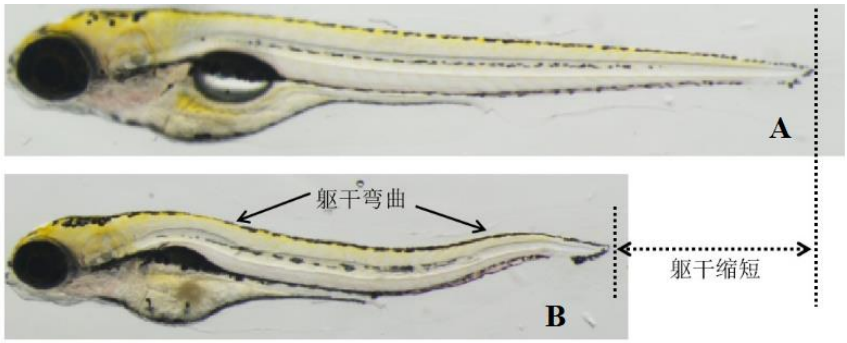
图 C.6 4dpf 斑马鱼典型图

C.7　5-7 dpf：挑选鱼鳔充气充分，卵黄囊基本吸收完全，肠道发育良好的斑马鱼，见图 C.7。

图 C.7 5-7dpf 斑马鱼典型图

附　录　D
（资料性）
斑马鱼典型图

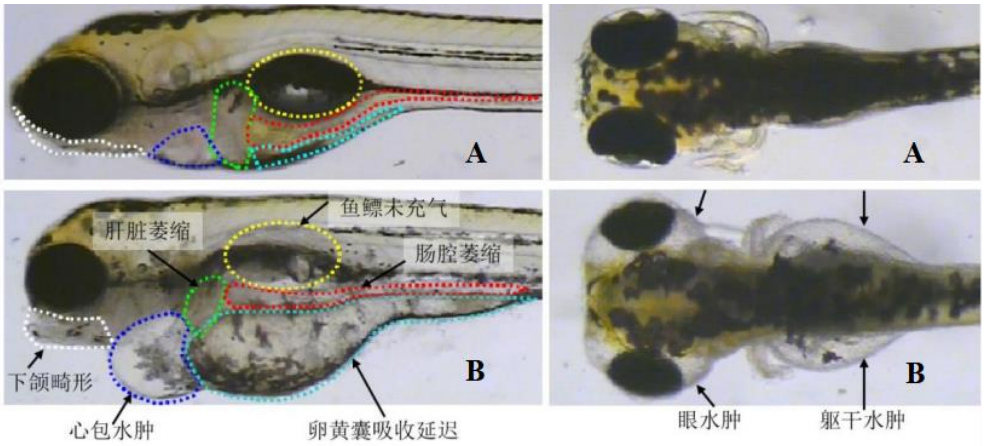
D.1　斑马鱼整体特征见图 D.1。



注：图 A 为正常斑马鱼，图 B 的斑马鱼出现躯干缩短和弯曲。

图 D.1 斑马鱼整体图

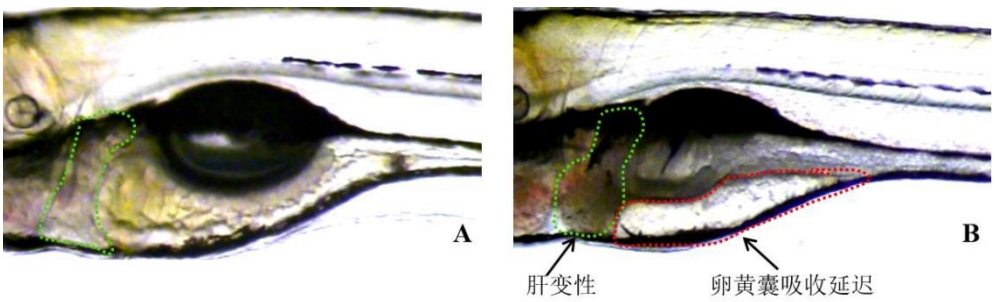
D.2　斑马鱼主要器官特征见图 D.2。



注：图 A 为正常斑马鱼，图 B 为表型异常斑马鱼。白色虚线所示为下颌，蓝色虚线所示为心脏，绿色虚线所示为肝脏，青色虚线所示为卵黄囊，红色虚线所示为肠道，黄色虚线所示为鱼鳔。

图 D.2 斑马鱼主要组织器官示意图

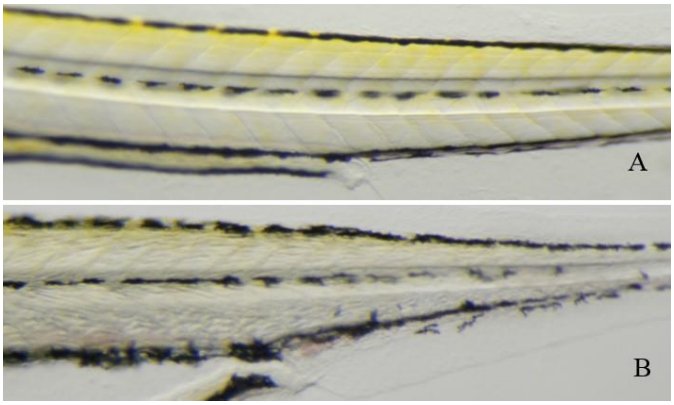
D.3　斑马鱼肝脏特征见图 D.3。



注：A 图为正常斑马鱼，B 图斑马鱼出现肝脏发黑（变性）和卵黄囊吸收延迟。绿色虚线所示为肝脏，红色虚线所示为卵黄囊。

图 D.3 斑马鱼肝脏局部图

D.4　斑马鱼肌肉变型特征见图 D.4。



注：A 图为正常斑马鱼，B 图斑马鱼出现肌肉变性（肌肉纹理不清晰、表面不平整、颜色偏暗）。

图 D.4 斑马鱼肌肉变性典型图

参 考 文 献

[1] 钱星文，谭转换，朱晨，等. 益身清对斑马鱼的肠道蠕动促进作用研究[J]. 中医药导报，2020, 361(15): 25-27.

[2] 陈荷清，夏欢，林生，等. 蜂胶降脂方对高脂血症模型斑马鱼的降血脂作用研究[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2020, 22(05): 1629-1635.

[3] 李风玲，李陈钦瑶，段秀英，等. 三峡阳菊叶水提物的抗炎作用研究[J]. 药物评价研究，2021, 44(8): 1600-1606.

[4] 但成丽，张艳焱，张永萍，等. 基于转基因斑马鱼炎症模型的血人参提取物抗炎活性筛选研究[J]. 时珍国医国药, 2016(11): 2617-2620.

[5] 郑岚，马耀宏，孟庆军，等. 黑蒜多糖的斑马鱼体内抗氧化、抗炎症活性分析[J]. 中国食品学报, 2020, 20(8): 65-75.

[6] 王荣春，韩利文，何秋霞，等. 利用斑马鱼模型研究姜黄素抗炎的分子机制[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2016, 30(10): 1031.

[7] 何林燕，包萝艳，曾庆敏，等. 大麻叶提取物的抗炎功效研究[J]. 香料香精化妆品，2021(04): 51-54+58.

[8] 吕婧，高燕，李晨，等. 基于斑马鱼模式生物的西洋参皂苷类成分增强免疫作用研究[J].中草药, 2020, 51(14): 3728-3733.

[9] 顾晓群，余黎，武相，等. 补肾益智方治疗阿尔茨海默病斑马鱼模型的作用及机制研究[J].南京中医药大学学报, 2020, 36(01): 56-62.

[10] Brugman, Sylvia. The zebrafish as a model to study intestinal inflammation[J]. Developmental and comparative immunology, 2016, 64: 82-92.

[11] Zhou J, Guo SY, Zhang Y, et al. Human prokinetic drugs promote gastrointestinal motility in zebrafish[J]. Neurogastroenterol Motil. 2014, 26(4): 589-595.

[12] Den BMJ, Kopylova VA, Kamminga LM, et al. Zebrafish as a Model to Study the Role of Peroxisome Proliferating-Activated Receptors in Adipogenesis and Obesity[J]. PPAR Res, 2015, 2015(2): 1-11.

[13] Liang JX, Zhang QQ, Huang YF, et al. Comprehensive chemical profiling of monascus-fermented rice product and screening of lipid-lowering compounds other than monacolins. J Ethnopharmacol, 2019, 238: 111879.

[14] Caro M, Sansone A, Amezaga J, et al. Wine lees modulate lipid metabolism and induce fatty acid remodelling in zebrafish[J]. Food Funct. 2017, 8(4): 1652-1659.

[15] Pardal D, Caro M, Tueros I, et al. Resveratrol and Piceid Metabolites and Their Fat-Reduction Effects in Zebrafish Larvae[J]. Zebrafish, 2014, 11(1): 32-40.

[16] Tainaka T, Shimada Y, Kuroyanagi J, et al. Transcriptome analysis of anti-fatty liver action by Campari tomato using a zebrafish diet-induced obesity model[J]. Nutr Metab, 2011, 8(1): 88-99.

[17] Wang X, Robertson AL, Li J, et al. Inhibitors of neutrophil recruitment identified using transgenic zebrafish to screen a natural product library[J]. Dis Mod Mech, 2014, 7(1): 163-169.

[18] Brogi L, Marchese M, Cellerino A, et al. β-Glucans as Dietary Supplement to Improve Locomotion and Mitochondrial Respiration in a Model of Duchenne Muscular Dystrophy. Nutrients, 2021, 13(5): 1619.