

神经所鱼房规范

目 录

杜久林组斑马鱼平台管理条例.....	1
进入平台的基本规范.....	1
鱼房日常操作细则.....	3
斑马鱼平台日常操作注意事项汇总.....	5
斑马鱼平台工作人员注意事项.....	6
斑马鱼平台周末值日细则.....	7
Mating 及收卵.....	8
斑马鱼的使用预订流程.....	8
斑马鱼的养殖.....	9
何杰组鱼房操作规范.....	10

杜久林组斑马鱼平台管理条例

（对外规则部分标记为蓝色）

进入平台的基本规范

1. 转让协议 凡向本平台索要种鱼或胚胎的研究机构和实验室在使用前需要签署 MTA。
2. 用鱼预约 需使用斑马鱼的人员请至少提前一周与平台工作人员联系以确保按时按量有鱼使用；预定时间不得超过 1 个星期；每个课题组一个星期内预定不得超过两次。
3. 鱼的使用 在预定后得到平台工作人员的肯定回复后方能使用；必须使用饲养缸上标记有鱼品系和使用者名字的鱼，如不能找到或未能确定，请及时与平台工作人员联系；请在使用的交配盒上用便签纸或胶带标注使用者名字，避免使用时的混淆，并在使用完后将便签纸或胶带移除；使用者必须在规定

时间(8:30 a.m.~14:00 p.m.)内完成实验;使用完后请及时完成还鱼工作;未经平台工作人员或品系负责人许可,不可私自使用负责范围外的斑马鱼或挪动其位置;使用自己负责范围外的转基因鱼需做登记,并在饲养缸上用白色胶带标注使用时间和雌雄数量;如果是外组人员做显微注射,使用完后及时把放有鱼的交配盒放回原处,方便平台工作人员的还原,不得随意转移放有鱼的交配盒的位置。

4. **平台提供** 平台仅提供胚胎、电极、显微注射仪器,不提供其他任何试剂和实验消耗品,使用人员请各自准备。
5. **进入平台许可** 任何非本平台人员未经许可不得进入平台内;参观平台必须经平台负责人同意并须有平台人员陪同;平台使用者必须在了解平台的使用守则等相关规定并签署 MTA 后方可使用;禁止在鱼房关灯期间(22:30 p.m.~8:30 a.m.)进入养殖房内。
6. **进入前准备** 进入平台前必须换上个人固定胶鞋或鞋套,或穿上一次性鞋套;严格禁止穿实验服和佩戴实验手套进入鱼房(不得以任何理由,诸如手套是干净的,违反!)
7. **试剂禁用** 鱼房中禁止使用 PTU 等任何化学试剂;禁止在养殖房内作任何试剂实验;禁止在鱼房专用恒温培养箱中放置任何加有 PTU 等任何化学试剂的培养皿。
8. **不得擅自动鱼房设备** 任何情况下均不得擅自动鱼房内的设备,包括纯水系统、养殖循环系统、昼夜定时开关、空调遥控器(显微注射房除外)、恒温培养箱、冰箱等,一旦出现问题请及时与平台工作人员联系。
9. **不得擅自将外来的斑马鱼放入系统** 任何人不得在未经平台管理人员许可下将外来的鱼放入鱼房;如需将小鱼(购买来的斑马鱼或者是从其它科研单位运来的斑马鱼)放入系统内养殖,须事先联系鱼房工作人员统一安放,不得私自放入系统。安放后务必检查水闸是否打开,水管是否安插好。
10. **器材使用** 显微注射仪器使用结束后请及时关闭并做好登记工作,最后一个离开的同学负责关闭氮气瓶开关。不得擅自将平台的专用器材如交配盒、烧杯、枪、镊子、鱼网等拿出平台或作任何标记;不属于平台的实验器材和试剂应及时带走并整理所使用的实验台。
11. **平台卫生** 用过的培养皿放在盆子中由阿姨负责清洗,使用过的枪头请扔至垃圾桶,使用后的电极请扔至右侧桌子上的方形纸盒内(由于电极容易扎伤人,需要做特殊回收处理)。
12. **其他** 严禁在鱼房中吃食和打闹。在规定中没有列出的,在未确定时请及时向平台人员询问;如平台人员提出有关要求,请严格执行。

鱼房日常操作细则

1, 鱼缸正面有且仅有一张标签（请贴至水面齐平处）

其余信息一律记在自己的实验本上，品系标签格式如下：

	纯杂及代数信息	
	品系名称	
传代人		传代时间

2, 筛鱼摆放及标签书写

待筛选的鱼可放入鱼架最上层小缸内，标签上至少需要注明：

① 使用人 ②放入时间

另外，为了便于空间利用的最大化，建议在条件允许的情况下一个小缸内放入一雌一雄两条待筛选的鱼。

3, 交配时间登记

交配时间记录的一致转移至鱼房外间的红色本子上，格式本子上都有相应的提示，若找不到本子或者对格式书写不理解的，可来找平台工作人员询问。

仅个人使用的品系不强制要求登记在鱼房记录本上；两人或两人以上共用的品系必须在记录本上登记，平台工作人员会负责每日的检查工作。

另外，为了防止可能出现的漏登记问题，每次交配完鱼后交配盒盖子上都必须有相应标签（标签内容为：使用人名字缩写，使用的品系名称或者缸子位置），平台工作人员会在第二天早上对应标签查看红色登记本，若有人遗漏则及时提醒。

4, AB/WT 使用完请认真清点后放回规定位置

若大家配鱼的时候发现数目有出入，请及时与平台工作人员联系，便于补充或者查找问题。

平台工作人员每天下午会将前一天使用的野生型全部清点一遍，若数目有误且使用人未提前说明的，则会找到当事人予以询问及提醒。

5，培养皿的使用

现实验室内有两个尺寸的培养皿，为了防止交叉污染，小号培养皿（12cm）仅在鱼房内使用，其他房间使用大号培养皿（15cm）

请不要将小号培养皿拿出鱼房，若有同学看到遗落在其他房间的小号培养皿请联系平台工作人员，以便取回。

6，废鱼的处理

工作日期间（周一至周五）

可将废鱼放在交配盒内，置于鱼房孵化间的桌子上，平台工作人员每天 4 点左右会去统一清理，若过了时间段则延后一天处理。

节假日期间（周末或者法定假日）

若有废鱼需要处理，则由当事人自己完成处理工作——将鱼倒入干净的垃圾袋中（无水环境），放入冰箱上层冷冻 5 分钟后拿出扔掉

建议大家尽量把废鱼处理的时间安排在工作日，若实在不行的则需要自己完成处理废鱼的工作。

斑马鱼平台日常操作注意事项汇总

- 进出平台需随手关门（鱼房大门及中间移门）
- 不可带食物进入平台
- 进入养殖房需穿套鞋或鞋套
- 不可穿戴白大褂及实验手套进入鱼房
- 不可私自拿走鱼房设备（交配盒，pico，鱼网等）
- 不可将加有药品的培养皿放置在鱼房培养箱内
- 培养箱内放置的培养皿需写上自己名字和鱼的出生日期
- 电极使用后请扔入指定位置
- 下午 3 点之前完成收鱼工作
- 斑马鱼初次放入系统前，需与平台工作人员联系
- 放入系统的斑马鱼都需使用特定标签书写贴至鱼缸上，并与平台工作人员联系做好登记工作
- 放在最顶排小缸子中的筛选中的鱼，须标注使用人和放入日期，且存放时间不得超过三个月
- 在养殖房内操作时，尽量减少水的洒出
- 在平台亮灯时才可进出（上午 8 点 30 分至晚上 10 点 30 分）
- 周末值班采取轮流制度，做好数据记录，若有问题及时与平台工作人员联系

斑马鱼平台工作人员注意事项

1. **相关记录** 平台工作人员须每天早、晚各查看一遍系统，及时记录循环系统面板数值及水温变化；实时了解斑马鱼产卵情况、草履虫繁殖情况及丰年虾孵化情况；不断更新统计表中斑马鱼的品系、数量和出生日期等信息。
2. **整理鱼架** 平台工作人员须及时关注鱼架上每缸鱼的生长状况，并且根据鱼的生长情况及时调节鱼的密度、鱼缸大小和鱼缸的清洁等。在整理鱼架过程中，如需改变鱼缸位置，须提前告知该品系负责人。
3. **斑马鱼的传代** 平台工作人员须时刻关心平台内各斑马鱼的传代情况。在相关负责人遗忘的前提下进行提醒工作。
4. **耗材更换** 经常检查鱼房耗材使用情况，掌握基本的更新频率（主要有：大系统滤袋 X2 两周一次；小系统滤袋 X2 一月一次；滤膜 X10 半月一次；循环系统紫外线灯管 X8 一年一次；纯水系统滤膜 X2 微滤芯 X2 一年一次；全热空气交换器滤膜 X2 微滤芯 X2 一年一次）
5. **流水通畅** 须每天检查管子是否流水及流速是否合适，如不流水，则须把小水闸拧下，检查内部是否有活性炭等脏物存积；如已损坏，则需更换新的水闸。如发现鱼缸内积水与盖齐高，则需检查插板与缸子后部缝隙间是否积有沉积物，及时清除以保证流水通畅。
6. **开放时间** 周末和节假日不对外开放。

斑马鱼平台周末值日细则

主要事项

- 检查斑马鱼养殖系统工作是否正常
- 斑马鱼喂食

上午

1. 在 **10:30 前** 停止标注为上午的孵化池，静置 **15 分钟** 左右后打开下方水阀放出孵化完成的丰年虾，加入纯净水稀释并静置；待壳沉淀后，将丰年虾用滤网收集，并在喂食时以一定纯水稀释使用。
2. 在静置丰年虾的过程中，清洗使用过的孵化池，并放入系统水至刻度线（10L）及海盐（约一个 250ml 烧杯的盐），打开气石打气，等海盐基本融化并在放开下放水阀呈现流水通畅后（流出的水倒回孵化池内）放入适量的丰年虾卵（由于放入的丰年虾卵数量会经常改变，故值班前需找鱼房阿姨确认具体数量）。
3. 逐缸喂食斑马鱼，在此之前先**关掉该排的灰色水阀（请勿开关或调节每缸上方的蓝色小阀也不要开关每排上方的红色总水阀）**，根据每缸鱼的数量和大小来定喂食的种类和数量，全部喂完后**打开被关闭的灰色水阀，根据水的流速判断水阀开放程度。没有用完的丰年虾可放入冰箱上层冷冻，留作以后使用。**
4. 喂完离开之前检查所有的仪器是否正常，检查所有水阀是否打开，检查所有的出水口是否漏水或渗水。在此过程中需要查看并记录循环系统数值及水温（**盐度 450-550, pH7-8, 温度 28±2 度**），然后锁门离开。

下午

在 **16:00 前** 停止标注为下午的孵化池，此后所有操作与上午相同，不要忘记数据记录

关于关水喂鱼

尽量将喂鱼时间控制在 20 分钟内，若时间太长，可先喂食一部分大系统内的鱼，之后喂食小系统内的鱼，然后回去打开之前喂食过的大系统内的灰色水阀。避免出现喂食时间过长导致水流量低，而系统不出水的情况发生。

关于小鱼

常规喂养：小鱼 5 天开始可饲喂草履虫，10 天开始可饲喂丰年虾，请在值班前跟阿姨确认本周是否有小鱼需要饲喂及具体位置，用烧杯取适量草履虫倾倒入缸中。

非常规喂养：小鱼出膜后即可喂食草履虫，5 天可以加入微量丰年虾与草履虫混喂。注意每天换水。可将小鱼养在交配盒内，在有空时用用吸管吹动养有小鱼的水，让食物浮起，至小鱼进系统即可（此法养殖，小鱼可提前成熟）。

Mating 及收卵

- 1, 配鱼时间为下午阿姨喂完鱼后半小时（一般 3 点半到 4 点左右）至晚上 10 点之间（由于鱼房灯光自动调节，故晚上 10 点之后不建议留在鱼房继续工作），可按照需求选择是否插板。
- 2, 收卵时间为上午 8 点半至下午 3 点之间，请及时将成鱼放回相应鱼缸以方便喂食。收卵时注意用系统水涮一下接卵的容器，防止混入之前参与鱼卵（由于有时候阿姨喂鱼比较早，建议在下午 2 点半前收卵完毕，若有特殊情况来不及收，可以先让阿姨留点鱼虫，等你放鱼的时候自己喂）。
- 3, 使用过的交配盒将水倾倒后，将外盒与内套分开放置于水池边，阿姨会负责清洗。
- 4, 在使用野生型斑马鱼的过程中若发现缸中少鱼，请在订鱼本子上标明，平台工作人员会及时补上。
- 5, 若发生转基因鱼和野生型鱼混淆的情况，请及时提出，避免影响到他人实验，并由转基因鱼的相关负责人完成筛选工作。

斑马鱼的使用预订流程

● 本组成员

- 1, 至少提早一周，最多提早两周，预订之后的野生斑马鱼及显微注射仪器的使用时间（在和组内成员没有冲突的情况下，不限定每周预订次数及数量），在规定时间内预订斑马鱼的本组成员一定能得到斑马鱼使用。
- 2, 可提前一天临时定鱼及机器，但是否能使用得到则要看第 2 天的具体安排。
- 3, 若遇突发情况不能使用，请及时与平台工作人员联系取消预订。建议至少提前 1 天取消。若来不及提前取消也请在当天与平台人员联系报备未使用斑马鱼的实际情况。
- 4, 斑马鱼使用完毕后请归还到相应的鱼缸位置，**注意分清雌雄**。机器使用结束后请记得登记。

● 外组成员

- 1, 只可提早一周预订下周的野生斑马鱼及显微注射仪器的使用时间，周五确定下周预约是否成功。
- 2, 可提前一天临时定鱼及机器，但是否能使用得到则要看第 2 天的具体安排。
- 3, 临时取消预订请提早一天，若错过则依旧算入使用费用
- 4, 斑马鱼的交配和归还由鱼房工作人员来完成。

斑马鱼的养殖

1. **成鱼的饲养** 每天喂食两次，在 **9:00** 和 **15:00** 这两个时间段。2 个半月后的成鱼建议开始分缸（大缸内可放 30~40 条斑马鱼，中缸内可放 10~20 条斑马鱼。数量上请勿过少容易造成雌鱼肚子变大不产卵的情况；也勿过多容易造成成鱼体型过小的情况）。
2. **性别的选择** 在斑马鱼养殖初期的 2 个月内，若加大饲喂量则会造成同一批次内雌鱼数目增多，反之则雄鱼增多；若增大饲养密度则会造成同一批次内雄鱼数目增多，反之则雌鱼增多。请大家按照自己的需求自行调节（主要是饲喂量及养殖密度）。
3. **小鱼的饲养**
 - **0~3 天** 养在玻璃大培养皿内，每日换水一次（换水次数不宜增多，也不可不换），建议使用**含有亚甲基蓝**的系统水饲养（普通的系统水也可以，但在换水不及时的情况下胚胎容易长菌丝）
 - **4~5 天** 换到交配盒内饲养，每日换水一次（可由含亚甲基蓝的系统水换成普通的系统水），并**饲喂少量草履虫**。
 - **6~10 天** 每日换水一次（普通的系统水即可），换水后饲喂**大量草履虫**（一般 1 交配盒内投入 100 至 200ml 密集的草履虫饲养液）。
 - **11 天后** 按照之前的饲喂方式小鱼已全部成长到能食用丰年虾的体型了，每日换水一次，结束后**喂食丰年虾**（量控制在第二天缸底基本没有沉积物，由于丰年虾吃不完沉淀后会缠绕住吃食的小鱼，所以缸底最好没有沉积物）。
 - **20 天后** 可放心的将鱼放入系统内饲养，插上**没有丝袜的插板**，贴上标签，告知阿姨小鱼位置。
4. **外来鱼**
 - **外来成鱼** 可替换去一半的水，换至贴有绿色标签的交配盒内，在鱼房培养箱内静置 1 到 2 天后，若一切正常则放入小系统内。
 - **外来小鱼** 换水倒入贴有绿色标签的交配盒内，对照小鱼饲养方式喂养。保险起见，外来小鱼建议喂养到 1 个月后再放入小系统内饲养。另外，外来的鱼拿至鱼房后，都请先来告知平台工作人员，非常感谢！
5. **标签使用及登记**
 - 任何品系的斑马鱼放入系统内都请先与平台工作人员联系，查看所放位置是否合适
 - 不同颜色的标签代表不同品系，勿拿错（红色：神经元；深蓝：血管；黄色：胶质；天蓝：其他；白色：突变）
 - 标签书写有相关格式，重要信息（品系名称，传代人，传代时间）勿遗漏，请使用马克笔书写
 - 标签请找平台工作人员拿取，使用完后请归还并附上放入品系的标签信息及位置，配合鱼房品系登记工作
6. **死鱼，病鱼，老鱼，及无用鱼的清理**

- 及时清理养殖缸内的死鱼和外形不正常的病鱼，防止水质污染和病菌传染
- 每年年终，请品系负责人按照实验用鱼的处死和尸体处理方法将不再使用的老鱼，和无用的鱼（征得平台负责人同意后）及时清理，并告知平台管理人变更情况。

何杰组鱼房操作规范

- 1.所有使用鱼房的工作实验人员要求开通鱼房门禁。
- 2.进入鱼房前，需换上鱼房专用雨鞋。
- 3.所有工作都必须在光照时间(8:30-22:30)进行。
- 4.饲养系统中斑马鱼每天喂食两次，早上 9:00am 和下午 2:30pm，由鱼房阿姨负责。
- 5.为保证鱼缸洁净，饲养系统鱼缸会定期以每两个月为周期进行清洗。
- 6.鱼房使用者在指定的鱼房空间中维护各自实验鱼系。
- 7.小于 5 天龄的幼鱼饲养于培养皿；培养皿重复使用，由个人负责清洗。
- 8.个人使用 google calendar 登记注射用交配鱼系和数量，由鱼房管理员准备和返回饲养系统。使用注射系统需要在 google calendar 上登记使用哪台注射系统以及注射时间。注射完成后需要将台面整理干净，将注射系统还原到注射前的样子。
- 9.使用荧光显微镜进行筛选时需要在登记本上登记使用的起止时间。荧光显微镜的汞灯应该在使用半小时以后才能关闭，关闭后半小时以后才能重新打开。如果确定后面没人用时，一定要关闭荧光显微镜汞灯。使用完荧光显微镜后，需要将台面整理干净。
- 10.需要处理掉的鱼卵或幼鱼，先倒入稀释的 bleach 液中，才能扔掉。需要处理掉的成鱼，放在标记有 kill 字样的鱼缸中，由实验室管理员统一麻醉冷冻处死。
- 11.实验室公共鱼系的筛选和鉴定由实验室管理员负责；个人建立和使用的鱼系由个人负责筛选和鉴定。
- 12.个人建好的新鱼系，需要在鱼房公共资源库中备份一份，交由鱼房管理员管理。
- 13.个人在使用饲养系统时，一定要将鱼缸放好，并将水管插入鱼缸中，以免造成鱼缸溢水或鱼房淹水事故。

- 14.公共鱼系的扩增由鱼房管理员每 9-12 月进行一次；个人鱼系的扩增由个人负责，管理员提醒。
- 15.整个斑马鱼系统由鱼房管理员负责管理，包括系统的电导率，PH 值，氨氮含量以及系统的整体运行。如果发现系统有任何问题，需要及时联系鱼房紧急联系人。