

CÁ VẦN (*Danio rerio*) VÀ CÁ MEDAKA (*Oryzias latipes*) LÀM MÔ HÌNH NGHIÊN CỨU BỆNH TRÊN NGƯỜI

Tô Thanh Thúy^{1,*}, Vũ Thị Thu¹, Trần Đức Long¹

TÓM TẮT

Cá vằn (*Danio rerio*) và cá medaka (*Oryzias latipes*) là hai loài cá xương nhỏ sống tự nhiên ở những ruộng lúa, mặt nước ở Việt Nam, các nước Nam Á và Đông Nam Á. Hai loài cá này có nhiều ưu thế của động vật thí nghiệm, có thể bổ trợ và thay thế một phần cho mô hình động vật có vú. Chúng có bộ gen và cơ chế của các quá trình sinh học rất giống với người nên đã được sử dụng ngày càng nhiều để làm động vật mô hình cho các nghiên cứu y sinh và dược học, đặc biệt là làm mô hình hầu hết các bệnh trên người như bệnh thần kinh, nội tiết, tim mạch, ung thư, miễn dịch, bệnh xương; các mô hình bệnh này đã và đang được dùng rất hiệu quả cho việc sàng lọc phát triển thuốc. Nhiều thành tựu khoa học từ nghiên cứu trên cá đã được ghi nhận. Một ưu thế không nhỏ là chi phí nuôi và duy trì cá cho nghiên cứu thấp hơn nhiều so với chi phí cho động vật có vú. Tuy nhiên, ở Việt Nam, việc dùng các loài cá này làm mô hình thí nghiệm còn ít được biết đến. Bài viết này giới thiệu đặc các điểm sinh học, kỹ thuật nghiên cứu ưu thế và tổng quan các nghiên cứu gần đây sử dụng hai loài cá làm mô hình các bệnh trên người. Qua đây, chúng tôi mong muốn giới thiệu và phát triển việc sử dụng hai loài cá mô hình có hiệu quả khoa học và kinh tế cao này tới cộng đồng nghiên cứu ở Việt Nam.

Từ khóa: cá vằn (*Danio rerio*), cá medaka (*Oryzias latipes*), động vật mô hình bệnh.

1. GIỚI THIỆU VỀ CÁ VẦN VÀ CÁ MEDAKA

Mô hình động vật là công cụ không thể thiếu cho các nghiên cứu tìm hiểu các bệnh trên người để tìm ra thuốc và các liệu pháp điều trị bệnh. Động vật được chọn làm mô hình phải có mức độ tương đồng với người cao, do vậy động vật có vú đã được sử dụng, phổ biến nhất là chuột. Tuy nhiên, vài chục năm lại đây, cá vằn (*Danio rerio*) và cá medaka (*Oryzias latipes*) (Hình 1) được dùng ngày càng nhiều vì chúng cho thấy mức độ

tương đồng đáng kể so với người; hơn nữa chúng còn có những ưu điểm nổi trội có thể bổ sung và thay thế phần nào cho mô hình động vật có vú [1], [2], [3], [4].

Cá vằn (*Danio rerio*), tên tiếng Anh là zebrafish (Hình 1 A, C-E), là loài cá nước ngọt kích thước nhỏ, sống ở các ruộng lúa, sông, suối nhỏ vùng Đông Á. Từ 1980, loài cá này bắt đầu được nghiên cứu tại Đại học Oregon, Hoa Kỳ [2]. Cho đến nay, nó là loài cá được dùng nhiều nhất làm mô hình nghiên cứu bệnh trên người. ZFIN, một cơ sở dữ liệu khổng lồ cho các nghiên cứu về cá vằn thường xuyên được cập nhật; đặc biệt, mới đây ZFIN đã có chuyên trang cập nhật và cung cấp thông tin về bệnh trên người, các khám phá mới từ các nghiên cứu sử dụng cá làm mô hình [3]. Ngoài ra, Trung tâm cá vằn Quốc tế tại Đại học Oregon (USA) là nơi cung cấp các dòng cá, thông tin và vật liệu.

¹ Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

* Tác giả chịu trách nhiệm khoa học

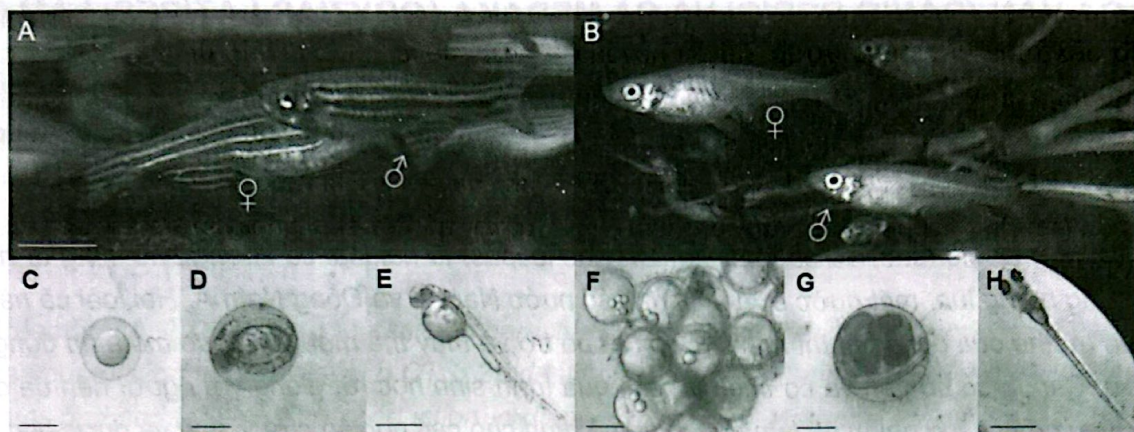
Tô Thanh Thúy

Email: tothanhty@hus.edu.vn

Ngày tiếp nhận: 15/11/2020

Ngày phản biện: 16/11/2020

Ngày chấp nhận đăng: 4/12/2020



Hình 1. Cá vằn và cá medaka

Cá vằn trưởng thành (A); trứng cá vằn khi mới được thụ tinh (C), phôi (D) và ấu trùng mới nở (E); Cá medaka trưởng thành (B), trứng mới thụ tinh kết thành chùm (F), phôi (G) và ấu trùng cá 1 tuần tuổi (H). ♂ cá đực, ♀ cá cái. Scale bar ở A (dùng cho A, B): 1cm, Scale bar ở C-H: 1mm

Medaka (*Oryzias latipes*), tên tiếng Anh là "Japanese rice fish" hay "Japanese killifish", là loài cá xương, kích thước khoảng 3-4cm (Hình 1B, F-H), sống tự nhiên tại các ruộng lúa, mặt nước lợ vùng Đông Á và Đông Nam Á, trong đó có Việt Nam. Các đặc điểm sinh học của loài cá này được nghiên cứu tại Nhật Bản từ hàng trăm năm trước [4]. Tuy được sử dụng ít và muộn hơn cá vằn nhưng medaka ngày càng được dùng nhiều hơn, bổ sung cho mô hình cá vằn để tìm hiểu các bệnh trên người. Các cơ sở dữ liệu cho nghiên cứu về medaka đã được tổng kết rất đầy đủ trong bài tổng quan của S. Kirchmaier và cộng sự (cs.) năm 2015 [5], trong đó

medaka (<https://www.shigen.nig.ac.jp/medaka/>) là tổ chức bao gồm những trung tâm nghiên cứu hàng đầu Nhật Bản có vai trò thu nhận, duy trì và cung cấp các dòng cá medaka chủng đại và biến đổi gen, cung cấp dữ liệu và vật liệu cho nghiên cứu sử dụng cá [5].

Kết quả giải trình tự sơ bộ cho thấy hệ gen của cá medaka có kích thước khoảng 700 triệu cặp nucleotide với ước tính 20.141 gen, trong đó 11.617 (57,7%) gen có chung nguồn

gốc (ortholog gene) với người [6]. Hệ gen của cá vằn đã được giải trình tự hoàn chỉnh có kích thước khoảng 1,41 tỉ cặp nucleotide với 26.206 gen mã hóa cho protein, trong đó 18.029 (69%) gen có ít nhất một ortholog ở người [7]; đặc biệt, có đến 84% gen liên quan đến bệnh trên người cũng được tìm thấy ở cá vằn [7].

Tuy có vùng phân bố tự nhiên khá giống nhau, so với cá vằn thì cá medaka có sức sống tốt hơn, có thể tồn tại ở dải nhiệt độ rộng từ 4-42°C, chịu được độ muối cao hơn như ở các vùng nước lợ; yêu cầu về điều kiện môi trường sống của medaka cũng không quá nghiêm ngặt [4, 5]. Hai loài cá này đều có những đặc điểm sinh học rất ưu việt để làm động vật thí nghiệm, có thể khắc phục được nhược điểm của động vật có vú, như thời gian trưởng thành sinh dục ngắn (~3 tháng), thụ tinh ngoài, phôi phát triển rất nhanh, phôi trong suốt nên có thể quan sát quá trình phát triển phôi dễ dàng; hơn nữa, các kỹ thuật biến đổi di truyền như chuyển gen, tạo đột biến có thể được thực hiện trên cá khá đơn giản [2], [4].

Các thí nghiệm thực hiện chủ yếu trên giai đoạn phôi và ấu trùng của cá (Hình 1D, E, G,

H). Cá medaka đẻ trứng hàng ngày, mỗi ngày một cá cái có thể cho 20-30 trứng. Cá vẫn đẻ trứng hàng tuần, mỗi lần 100-200 trứng. Những lợi thế không nhỏ là chi phí duy trì cá thấp hơn nhiều và các quy định đạo đức sinh học trên cá cũng đơn giản hơn rất nhiều so động vật có vú [2, 4]. Do vậy, cá trở thành mô hình đặc biệt phù hợp cho những nghiên cứu sàng lọc *in vivo* một lượng lớn các chất tiềm năng để phát triển thuốc [8, 9].

2. MỘT SỐ CÔNG CỤ, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU TRÊN CÁ VẦN VÀ CÁ MEDAKA

2.1. Phương pháp tạo đột biến

* Phương pháp tạo đột biến ngẫu nhiên

Đột biến ngẫu nhiên có thể tạo bằng hóa chất N-ethyl-N-nitrosourea (ENU). Cá được xử lý với ENU để gây đột biến thay thế nucleotide trong tinh trùng, sau đó được lai với cá cái chủng đại để tạo ra cá F1 mang rất nhiều đột biến ngẫu nhiên. Hàng ngàn cá medaka và cá vằn đột biến đã được xác định từ phôi thể hệ F3. Phương pháp TILLING (Targeting Induced Local Lesions IN Genomes) được dùng để sàng lọc đột biến, trong đó cá F1 được sàng lọc bằng cách phân tích trình tự các gen quan tâm để tìm ra đột biến, sau đó kiểu hình của cá mang gen đột biến được kiểm tra [10]; cũng có thể giải trình tự toàn bộ exon của hệ gen cá để xác định hơn 85 nghìn đột biến gen khác nhau, chiếm khoảng 75% số gen mã hóa protein [11]. Hiện nay, dự án đột biến cá vằn (Zebrafish Mutation Project) đang có nguồn cá với gần 38 nghìn alen đột biến và khoảng một nửa số này đã sẵn sàng để cung cấp cho các nghiên cứu. NBRP Medaka đang có gần sáu trăm dòng cá đột biến, chuyển gen, chủng đại các loại và gần sáu nghìn mẫu cá dùng cho TILLING.

Đột biến ngẫu nhiên cũng có thể được tạo ra bằng retrovirus. Retrovirus đã bị biến đổi

làm mất khả năng nhân lên trong tế bào được tiêm vào phôi cá, chèn hệ gen của nó vào hệ gen cá, gây ra đột biến ở điểm chèn [12]. Lợi thế của việc sử dụng retrovirus so với ENU là ADN của retrovirus có thể dùng làm chỉ thị để xác định vị trí chèn trong hệ gen, cho phép lựa chọn các dòng đột biến ở gen quan tâm [13]. Bộ sưu tập đột biến này ở cá vằn hiện có gần bốn nghìn đột biến của hơn ba nghìn gen (Zebrafish Insertion Collection, truy cập 10/09/2019).

* Phương pháp tạo đột biến đặc hiệu

Trong những năm gần đây, với sự phát triển của công nghệ chỉnh sửa ADN *in vivo* như TALEN (Transcription Activator-Like Effector Nuclease) và RGEN (RNA-Guided EndoNuclease), việc chỉnh sửa đặc hiệu gen cá đơn giản hơn nhiều [14, 15]. TALE là yếu tố hoạt hóa phiên mã của vi khuẩn với nhiều domain lặp lại, mỗi đoạn lặp dài ~34 axit amin, trong đó sự đa hình ở axit amin thứ 12-13 khiến mỗi loại domain có thể bám đặc hiệu với một loại nucleotide [16]. Bằng cách ghép nhiều domain liên kế thành một protein dài, protein được tạo ra sẽ bám đặc hiệu với một trình tự nucleotide nhất định [16]. Protein tái tổ hợp này được gắn với *FokI* endonuclease để tạo thành enzym giới hạn có thể cắt đặc hiệu trình tự nucleotide theo mong muốn [17]. RNA thông tin (mRNA) mã hóa cho TALEN hoặc TALEN protein được tiêm vào phôi cá để tạo ra các đứt gãy ADN ở vị trí đặc hiệu đã thiết kế trong hệ gen. Đứt gãy mạch kép sau đó được tế bào sửa chữa bằng cách ghép nối đầu mút không tương đồng (NHEJ) gây ra các loại đột biến thêm/mất nucleotide hoặc sửa chữa bằng cơ chế tái tổ hợp tương đồng (HDR) với các trình tự được tiêm cùng để đưa các trình tự mong muốn vào hệ gen. Cơ chế sửa chữa nối đầu không tương đồng tạo ra nhiều đột biến mất/thêm nucleotide ở vị trí TALEN cắt. Ngoài ra, TALEN có thể thiết kế để cắt bỏ hoàn toàn một gen khỏi hệ gen.

Kỹ thuật CRISPR RGEN (CRISPR/Cas9) được phát triển từ hệ thống miễn dịch CRISPR/Cas9 của vi khuẩn [18]. Vi khuẩn tổng hợp CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats: các đoạn lặp xuôi ngược giống nhau ngắn, cách đều nhau và xếp thành cụm) RNA dài và sau đó biến đổi thành các crRNA ngắn có trình tự nucleotide bổ sung với trình tự ADN của virus. Cùng với một RNA nhỏ khác là tracrRNA, crRNA là đầu dò để giúp enzym Cas9 nhận biết ADN của virus, cắt và phân hủy hệ gen của virus [18]. Trong kỹ thuật CRISPR/Cas9, crRNA và tracrRNA được thay thế bằng một RNA khoảng 100 nucleotide (guide RNA hay gRNA) được thiết kế và tổng hợp nhân tạo và để gắn với vị trí mong muốn trong hệ gen của cá [19]. Guide RNA được tiêm cùng với mRNA mã hóa Cas9 hoặc protein Cas9 vào phôi cá để cắt ADN tại các vị trí đặc hiệu và tạo đột biến [14]. Những phát triển gần đây cho phép điều chỉnh sửa chữa đứt gãy ADN mạch kép bằng tái tổ hợp tương đồng, đưa gen thay thế vào hay tạo ra đột biến đặc hiệu giống với các dạng đột biến gen ở người, tạo mô hình bệnh người ở cá vằn và cá medaka [20].

2.2. Phương pháp tạo cá chuyển gen

Cá medaka và cá vằn chuyển gen có thể được tạo ra bằng transposon (gen nhảy) hoặc enzym meganuclease với hiệu quả rất cao. Meganuclease thường được dùng để tạo cá chuyển gen là I-SceI. Gen chuyển được đưa vào giữa hai trình tự nhận biết của I-SceI trong một vectơ chuyển gen và tiêm cùng với enzym I-SceI vào phôi cá, tỉ lệ F1 mang gen chuyển có thể đạt 50% ở một số dòng [21]. Khi sử dụng transposon, gen chuyển được đưa vào transposon và plasmid tái tổ hợp được tiêm cùng mRNA mã hóa transposase vào phôi cá. Một số transposon hay dùng gồm Tol2 [22], Sleeping Beauty [23], Ac/Ds [24]. Cá chuyển gen tạo ra nhờ meganuclease hoặc transposon thường có gen chuyển được

chèn ngẫu nhiên vào hệ gen. Tuy nhiên, gen chuyển có thể được chèn vào vị trí xác định nhờ PhiC31 integrase [25] gây đứt gãy ADN mạch kép và sửa chữa tái tổ hợp tương đồng [20]. Hiện nay, hàng nghìn dòng cá chuyển gen đang được các phòng thí nghiệm, trung tâm tạo ra, lưu giữ và cung cấp cho nghiên cứu. Trung tâm cá vằn Quốc tế (<http://zebrafish.org/home/guide.php>) hiện có gần 12.000 dòng cá này.

2.3 Phương pháp chụp ảnh hiển vi

Phôi, ấu trùng cá medaka và cá vằn trong suốt, rất thuận lợi cho kỹ thuật hình ảnh, đặc biệt là ảnh hiển vi huỳnh quang để quan sát các quá trình sống *in vivo* từ lúc thụ tinh, phát triển phôi tới khi các cơ quan hình thành và hoạt động [26]. Ảnh có thể được chụp ở các mức độ phóng đại khác nhau để quan sát toàn bộ cơ thể, một hệ cơ quan hay từng tế bào, cấu trúc trong tế bào [27–29]. Các thí nghiệm chụp ảnh phôi, ấu trùng cá có thể tiến hành trong thời gian vài phút, vài giờ hoặc thậm chí vài ngày [27–29]. Phôi hoặc ấu trùng cá được gây mê (thường bởi tricaine, Sigma MS-222) và giữ cố định trong agarose có nhiệt độ nóng chảy thấp (low melting agarose) trong suốt thời gian chụp ảnh [27–29].

2.4. Phương pháp đánh giá độc tính và hoạt tính của các chất

Cá medaka và cá vằn đẻ nhiều trứng, thụ tinh ngoài, phát triển nhanh chóng, phôi và ấu trùng kích thước nhỏ nên thuận lợi cho việc đánh giá độc tính hay ảnh hưởng của chất có hoạt tính trong sàng lọc thuốc, có thể đánh giá ở nhiều giai đoạn phát triển khác nhau với quy mô lớn [30, 31]. Phôi, ấu trùng được giữ trong nước nuôi có bổ sung chất thử ở từng giếng riêng lẻ của đĩa nuôi 96 giếng hoặc 384 giếng. Chúng có thể sống vài ngày không cần cho ăn nhờ dự trữ dinh dưỡng trong noãn hoàng. Với sự phát triển của các kỹ thuật và công nghệ biến đổi gen, nhiều mô hình bệnh

đã được tạo ra trên cá medaka, cá vằn và dùng cho sàng lọc thuốc [8, 9].

3. CÁC MÔ HÌNH BỆNH NGƯỜI ĐÃ ĐƯỢC NGHIÊN CỨU TRÊN CÁ MEDAKA

3.1. Bệnh thần kinh

Cá vằn và cá medaka đã và đang được dùng làm mô hình nghiên cứu cho rất nhiều bệnh thần kinh, từ thoái hóa thần kinh đến những rối loạn hành vi và tâm thần. Bệnh Alzheimer (Alzheimer's disease - AD) là bệnh thoái hóa thần kinh gây mất trí nhớ phổ biến nhất đã được nghiên cứu rất nhiều trên mô hình cá vằn. Năm 2014, Newman và cộng sự (cs.) đã thống kê được 98 bài báo xuất bản trong 10 năm trước đó khám phá vai trò của các gen presenilin (PSEN1, PSEN2) và amyloid beta precursor (APP) liên quan đến bệnh Alzheimer dạng yếu tố gia đình FAD trên cá [32]. Chức năng và độc tính của protein amyloid beta mà sự tích tụ của nó ở não được cho là nguyên nhân gây bệnh dạng ngẫu nhiên (sporadic AD-SAD) cũng được đánh giá. Các nghiên cứu này đã cho những kết quả tương đồng cũng như không tương đồng với kết quả thu được trên mô hình chuột; đặc biệt có những kết quả mới mà nghiên cứu trên mô hình chuột không tìm ra được [32].

Rất nhiều mô hình bệnh thoái hóa thần kinh vận động cũng đã được tạo ra trên cá vằn nhờ các kỹ thuật điều khiển biểu hiện các gen tương ứng với gen liên quan đến bệnh trên người. Babin và cs. đã phân tích, đánh giá chi tiết và tổng kết các mô hình bệnh này [33], trong đó có thể kể đến bệnh xơ cứng teo cơ một bên (*amyotrophic lateral sclerosis* hay *bệnh Lou Gehrig*), bệnh liệt hai chi dưới cơ cứng di truyền (*hereditary spastic paraplegias*), bệnh thoái hóa cơ tủy (*spinal muscular atrophy*) [33]. Đặc biệt, mô hình bệnh bệnh teo cơ Mác (*Charcot-Marie-Tooth*) do thoái hóa dây thần kinh ngoại vi thiết lập

thành công trên cá vằn đã mô phỏng được đúng thời điểm phát bệnh là cá trưởng thành non tương đương với tuổi thanh niên ở người, trong khi trên mô hình chuột, bệnh xuất hiện rất sớm, gây khó khăn cho nghiên cứu [34]. Hơn nữa, mô hình các bệnh do rối loạn hành vi và tâm thần như trầm cảm, tâm thần phân liệt, tăng động giảm khả năng tập trung (*Attention deficit hyperactivity*) cũng đã được xây dựng trên cá vằn và được tổng kết ở các bài tổng quan mới đây [35].

Trên cá medaka, mô hình bệnh Parkinson được nhóm nghiên cứu của Takahashi, Đại học Kyoto Nhật Bản xây dựng, phát triển và viết tổng quan trong bài báo năm 2014 [36]. Các triệu chứng bệnh có thể được tạo ra trên cá bằng cách xử lý hóa chất, hay làm biến đổi di truyền. Các hóa chất như 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,4-tetrahydropyridine (MPTP), 6-hydroxydopamine (6-OHDA), tunicamycin và các chất ức chế proteasome/lysosome (proteasome/lysosome inhibitors) có thể tạo ra một số triệu chứng bệnh như mất neuron thuộc hệ dopamine, làm giảm vận động tức thời (spontaneous movement) và một số chất làm xuất hiện thể Lewy. Cá đột biến kép hai gen *PTEN-induced putative kinase 1* (*Pink1*) và *Parkin* bị mất tế bào hệ dopamine và có thể bị kết dính, mất chức năng. Cá đột biến gen *ATP13A2* cũng có thể tạo ra một số triệu chứng bệnh khác [36].

3.2. Bệnh nội tiết

Các nghiên cứu về sự phát triển và chức năng của các tổ chức và tuyến nội tiết của cá vằn tương đương với của người như vùng dưới đồi, tuyến yên, tuyến thượng thận [37], tuyến giáp, tuyến cận giáp, tuyến tụy, tuyến sinh dục [38, 39] đã chỉ ra sự tương đồng đáng kể trong hoạt động chức năng, các tế bào tiết cũng như mạng lưới các gen điều khiển phát triển các tuyến nội tiết của cá và người [39]. Streptozocin (STZ) là chất độc với tế bào beta của tụy được dùng gây mô hình

bệnh đái tháo đường trên chuột cũng được dùng để gây mô hình bệnh này trên cá vằn trường thành bằng cách tiêm [40]. Cá mô hình có các biểu hiện bệnh giống như trên người như biến chứng võng mạc, thần kinh, rối loạn quá trình làm lành vết thương và tái tạo vây đuôi [40]. Hơn nữa, hiện tượng tái sinh mô tụy bị tổn thương và khôi phục tình trạng đường huyết trở lại bình thường ở bệnh nhân ghép tụy cũng có thể quan sát được trên cá mô hình [40].

3.3. Bệnh tim mạch

Một số bài tổng quan đã phân tích khá đầy đủ về sự tương đồng trong sự phát triển tim của cá vằn và người cũng như tổng kết các mô hình bệnh tim sử dụng cá vằn [41, 42]. Các ưu thế lớn là phôi cá có thể sống khi chức năng tim mạch bị suy giảm trầm trọng vì oxy có thể khuếch tán vào cơ thể cá do kích thước phôi nhỏ; hơn nữa, tim cá có khả năng tái tạo trong suốt cuộc đời, cho phép thực hiện nhiều nghiên cứu mà trên động vật khác khó có thể thực hiện được [41]. Cá vằn mang gen mã hóa cho enzym *integrin-linked kinase* bị biến đổi có sự suy giảm chức năng tim trầm trọng tương tự với bệnh phình đại cơ tim ở người [42]. Cá vằn có tên 'gridlock' hay 'grl' mang gen *hey2* đột biến làm mô hình bệnh hẹp eo động mạch chủ ở người [43] cũng là mô hình bệnh trên cá đầu tiên được sử dụng để sàng lọc được chất *in vivo*.

3.4. Bệnh ung thư

Hầu hết các loại ung thư trên người đều có thể tạo được trên mô hình cá. Các kỹ thuật để tạo cá ung thư bao gồm xử lý bởi hóa chất gây ung thư, ghép tế bào ung thư người vào phôi cá, dùng kỹ thuật forward genetics tạo và sàng lọc đột biến hay reverse genetics bất hoạt gen bằng các kỹ thuật di truyền hoặc tạo cá chuyển gen biểu hiện gen ngoại sinh [44].

Năm 2013, nhóm nghiên cứu của Gong, Đại học Quốc gia Singapo đã tạo được mô hình cá vằn bệnh ung thư gan có tên TO(Myc)

bằng cách chuyển gen Myc của chuột đặc hiệu đến các tế bào gan trên cá [45]. Biểu hiện quá mức gen Myc trên cá đã làm tăng sinh tế bào gan, dẫn đến u tuyến và ung thư tế bào gan (*hepatocellular adenoma and carcinoma*), giống như xảy ra trên chuột và người [45]; điều này khẳng định vai trò của gen Myc trong bệnh sinh ung thư gan ở các động vật có xương sống. Các mô hình ung thư khác đã được tạo trên cá vằn, có thể kể đến ung thư máu (*leukemia*), ung thư tế bào hắc tố (*melanoma*) và ung thư mô liên kết (*embryonal rhabdomyosarcoma*) [46].

3.5. Bệnh máu và miễn dịch

Thiếu máu nguyên hồng cầu bẩm sinh (*congenital sideroblastic anaemia*) [47] là mô hình bệnh đầu tiên được xây dựng trên dòng cá vằn đột biến có tên "sau" (viết tắt từ sauternes), được tạo ra từ kỹ thuật forward genetics. Bằng kỹ thuật positional cloning, gen đột biến gây bệnh này được tìm ra là ALAS2, tương đồng với gen của người, là gen mã hóa cho một enzym tham gia vào quá trình tổng hợp hemoglobin của hồng cầu. Nhiều phát hiện mới về vai trò của các gen điều khiển quá trình tạo máu cũng được tìm ra và đã được tổng quan [48]; cá đột biến gen *c-cbl* có thể làm mô hình cho bệnh tăng sinh tủy ác tính (*Myeloproliferative neoplasms*) [49]. Năm 2018, Rissone A và Burgess SM đã tổng kết nghiên cứu về các bệnh máu di truyền hiếm gặp sử dụng mô hình cá vằn, trong đó có bệnh thiếu máu *Diamond Blackfan*, chứng thiếu máu "ma cà rồng" (*Erythropoietic protoporphyria* - EPP), bệnh tế bào Mast (*Mast cell disease*) và các bệnh thiếu hụt miễn dịch tiên phát như bệnh reticular dysgenesis, hội chứng Wiskott-Aldrich, hội chứng WHIM, bệnh tạo u hạt mãn tính (*Chronic Granulomatous Disease*), bệnh thiếu hụt kết dính bạch cầu (*Leukocyte Adhesion Deficiency*), bệnh suy giảm miễn dịch ZAP70 (*ZAP70 deficiency*) [50].

Trên cá medaka, dòng cá có tên “who” mang đột biến gen *alad* [51] mã hóa cho enzym *delta-aminolevulinic acid dehydratase* tham gia vào quá trình tổng hợp nhân Hem có kiểu hình của bệnh thiếu máu nhược sắc (*Hypochromic anemia*) [51].

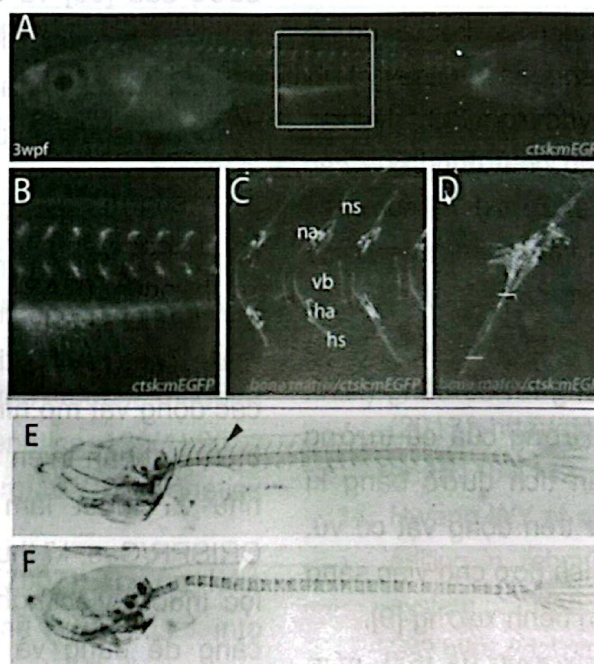
3.6. Bệnh thận

Tính ưu việt và hiệu quả của việc dùng cá làm mô hình nghiên cứu về chức năng của thận và bệnh thận, đặc biệt là các bệnh thận do di truyền được khẳng định qua số lượng ngày tăng của các công bố trên Pubmed [52].

Bệnh thận đa nang (*Polycystic kidney disease*) là một trong những nguyên nhân chính dẫn đến suy thận giai đoạn cuối (*End-*

stage kidney disease). Dòng cá medaka ‘pc’ mang gen *glis3* đột biến [53] hay cá bị bất hoạt/mất gen *zmynd10* [54] cho thấy là các mô hình rất có triển vọng, đặc hiệu cho bệnh này vì người bị đột biến các gen trên còn có các biểu hiện suy giảm chức năng tuyến tụy dẫn đến tiểu đường [53]. Trên cá vằn, Huang và cs. đã gây bất hoạt gen *wnt5a* bằng kỹ thuật Morpholino (*Morpholino knockdown*) tạo được mô hình bệnh này [55].

Cá medaka mô hình bệnh thận do béo phì (*Obesity-related glomerulopathy*) tạo được bằng chế độ ăn giàu chất béo [56] sẽ giúp hoàn thiện nghiên cứu các bệnh do rối loạn trao đổi chất.



Hình 2. Cá medaka sống và cá cố định được đánh dấu tế bào xương và nhuộm xương (A-D: Hình ảnh cải biến từ [27])

A-D: Cá medaka chuyển gen *ctsk:mGFP* 3 tuần tuổi (A) có tế bào hủy xương trên các cung xương quanh đốt sống được đánh dấu huỳnh quang màu xanh (B-D) bằng cách chuyển gen và xương được nhuộm thuốc nhuộm huỳnh quang màu đỏ (C,D). ns: gai thần kinh; na: cung thần kinh; vb: thân đốt sống; ha: cung mạch máu; hs: gai mạch máu;

wpf: tuần sau thụ tinh; E, F: Ấu trùng cá medaka 11 ngày tuổi được nhuộm xương cố định. E. cá chủng đại bình thường có các xương cung thần kinh nguyên vẹn nằm trên các đốt sống (đầu mũi tên đen); F. cá chuyển gen *rankl:HSE:CFP* bị sốc nhiệt bị mất các cung xương này (đầu mũi tên trắng)

3.7. Bệnh xương

Nghiên cứu của chúng tôi và một số nhóm trên thế giới đã cho thấy cá medaka và cá vằn có thể làm mô hình rất tốt để nghiên cứu về xương và các bệnh liên quan đến xương [27–29, 57–59]. Các kết quả khẳng định cơ chế phân tử và tế bào của quá trình tạo xương và hủy xương ở hai loài cá này và người là rất tương đồng [27–29, 59]. So với cá vằn, hệ xương của cá medaka phát triển nhanh hơn. Một điều thú vị là sự già hóa ở cá medaka cũng đi kèm với suy giảm estrogen và suy giảm mật độ, cấu trúc xương; cột sống (lưng) cá bị cong khi cá già, nhất là ở cá cái, tương tự như loãng xương do mãn kinh ở phụ nữ [60].

Phôi phát triển ngoài, trong suốt, ấu trùng cá nhỏ, kĩ thuật chuyển gen dễ dàng cho phép đánh dấu các tế bào xương bằng huỳnh quang và ghi lại hình ảnh hoạt động của các tế bào tạo xương và hủy xương *in vivo* [27–29, 57]. Sụn và xương của ấu trùng và cá trưởng thành có thể được nhuộm *in vivo* trên mẫu đã được cố định hay trên cá sống bằng thuốc nhuộm huỳnh quang rất dễ dàng (Hình 2, [27, 63]). Hơn nữa, xương của cá trưởng thành cũng có thể phân tích được bằng kĩ thuật micro CT [58] như trên động vật có vú. Mô hình cá do vậy rất thích hợp cho việc sàng lọc các dược chất điều trị bệnh xương [9].

Ngoài mô hình bệnh xương đá [57], năm 2012, Tô Thanh Thúy và cs. tại Đại học Quốc gia Singapo đã tạo ra dòng cá medaka chuyển gen *rankl:HSE:CFP* biểu hiện Rankl (*Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand*), yếu tố kích thích biệt hóa và hoạt động của tế bào hủy xương dưới tác dụng của sốc nhiệt làm mô hình bệnh loãng xương (osteoporosis). Ở dòng cá này, Rankl ngoại sinh đã kích thích tạo tế bào hủy xương phá hủy mô xương của cá ở giai đoạn phát triển rất sớm (Hình 2F, [27]).

Từ năm 2013, dòng cá này và một số dòng cá chuyển gen đánh dấu tế bào xương đã được đưa về phòng thí nghiệm của chúng tôi tại Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội để tiếp tục hoàn thiện và sử dụng làm mô hình cho các nghiên cứu về xương và sàng lọc chất có hoạt tính chống loãng xương. Chúng tôi đã thiết lập được hệ thống phòng nuôi, xác định được sự ổn định của gen chuyển, duy trì ổn định và tách dòng dòng cá ban đầu thành các dòng có mức độ tổn thương xương khác nhau [62–64], mở đầu việc dùng cá làm mô hình bệnh ở Việt Nam. Đã có những kết quả bước đầu [65] và chúng tôi hi vọng sẽ khai thác được nguồn dược liệu tự nhiên dồi dào của đất nước, tìm ra những chất có hoạt tính có thể phát triển thành thuốc chống loãng xương.

4. KẾT LUẬN

Cá vằn và cá medaka đã được sử dụng làm mô hình cho hầu hết các loại bệnh trên người và đã cho thấy những ưu thế so với các động vật mô hình khác. Cùng với sự phát triển và hoàn thiện rất nhanh của các kĩ thuật như kĩ thuật làm biến đổi bộ gen bằng CRISPR/Cas, kĩ thuật hình ảnh, kĩ thuật sàng lọc thuốc, việc nghiên cứu trên cá sẽ ngày càng dễ dàng và phát triển, cho hiệu quả khoa và học kinh tế cao, hứa hẹn mang đến các khám phá mới về thuốc cũng như liệu pháp điều trị bệnh.

Lời cảm ơn

Các tác giả xin cảm ơn Lê Thị Ngọc Huệ với ảnh chụp cho Hình 1, cảm ơn Phạm Văn Cường đã đọc và hiệu đính bản thảo. Bài viết được hỗ trợ từ đề tài 106-YS.06-2014.15 của Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia NAFOSTED.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hirata H, Atsuo Iida (2018), Zebrafish, medaka and other small fishes, new model animal in Biology, medicine and beyond. Springer.
2. Westerfield M (2007), The zebrafish book, A guide for the laboratory use of zebrafish (*Danio rerio*). University of Oregon Press.
3. Bradford YM, Toro S, Ramachandran S, Ruzicka L, Howe DG, Eagle A et al. (2017), Zebrafish models of human disease: Gaining insight into human disease at ZFIN. ILAR J. 58(1):4-16. <https://doi.org/10.1093/ilar/ilw040>
4. Naruse K, Tanaka M, Takeda H (2011), Medaka - A Model for Organogenesis, Human Disease, and Evolution. Science. <http://doi.org/10.1007/978-4-431-92691-7>
5. Kirchmaier S, Naruse K, Wittbrodt J, Loosli F (2015), The genomic and genetic toolbox of the teleost medaka (*Oryzias latipes*). Genetics. 199(4):905–918. <http://doi.org/10.1534/genetics.114.173849>
6. Kasahara M et al. (2007), The medaka draft genome and insights into vertebrate genome evolution. Nature. 447:714–719. <http://doi.org/10.1038/nature05846>
7. Howe K et al. (2013), The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. Nature. 496:498–503. <http://doi.org/10.1038/nature12111>
8. Strange K. (2016), Drug discovery in fish, flies, and worms. ILAR J. 57(2):133-143. <http://doi.org/10.1093/ilar/ilw034>
9. Laizé V, Gavaia PJ, Cancela ML. (2014), Fish: A suitable system to model human bone disorders and discover drugs with osteogenic or osteotoxic activities. Drug Discov. Today Dis. Model. 13:29-37. <http://doi.org/10.1016/j.ddmod.2014.08.001>
10. Taniguchi, Y et al. (2006), Generation of medaka gene knockout models by target-selected mutagenesis. Genome Biol. 7, R116.
11. Kettleborough RN W et al. (2013), A systematic genome-wide analysis of zebrafish protein-coding gene function. Nature. 496: 494–497
12. Amsterdam A, Varshney GK, Burgess S (2011), Retroviral-mediated Insertional Mutagenesis in Zebrafish. Methods Cell Biol. 104:59–82. <http://doi.org/10.1016/B978-0-12-374814-0.00004-5>
13. Varshney GK et al. (2013), A large-scale zebrafish gene knockout resource for the genome-wide study of gene function. Genome Res. 23:727–35 (2013). <http://doi.org/10.1101/gr.151464.112>
14. Hwang WY et al. (2013), Efficient genome editing in zebrafish using a CRISPR-Cas system. Nat Biotechnol. 31:227–239. <https://doi.org/10.1038/nbt.2501>
15. Wang T, Hong Y (2014), Direct gene disruption by TALENs in medaka embryos. Gene. 543:28–33. <http://doi.org/10.1016/j.gene.2014.04.013>
16. Boch J et al. (2009), Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors. Science. 326(5959):1509-1512. <http://doi.org/10.1126/science.1178811>
17. Christian, M et al. (2010), Targeting DNA double-strand breaks with TAL effector nucleases. Genetics. 186(2):757-61. <http://doi.org/10.1534/genetics.110.120717>

18. Jinek, M et al. (2012), A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science* (80-.). 337:816–21. <http://doi.org/10.1126/science.1225829>
19. Jinek, M et al. (2013), RNA-programmed genome editing in human cells. *eLife*. 2:e00471. <https://doi.org/10.7554/eLife.00471>
20. Annekatrien B, Hanna DS, Wouter S, Bert C et al. (2018), CRISPR/Cas9-mediated homology-directed repair by ssODNs in zebrafish induces complex mutational patterns resulting from genomic integration of repair-template fragments. *Dis Model Mech*. 11:dmm035352. <https://doi.org/10.1242/dmm.035352>
21. Thermes V et al. (2002), I-SceI meganuclease mediates highly efficient transgenesis in fish. *Mech. Dev*. 118(1-2):91–98. [https://doi.org/10.1016/s0925-4773\(02\)00218-6](https://doi.org/10.1016/s0925-4773(02)00218-6)
22. Kawakami K, Shima A, Kawakami N. (2000), Identification of a functional transposase of the Tol2 element, an Ac-like element from the Japanese medaka fish, and its transposition in the zebrafish germ lineage. *PNAS*. 97(21):11403–11408. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.21.11403>
23. Davidson AE et al. (2003), Efficient gene delivery and gene expression in zebrafish using the Sleeping Beauty transposon. *Dev. Biol*. 263(2):191-202. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2003.07.013>
24. Emelyanov A, Gao Y, Naqvi NI, Parinov S (2006), Trans-kingdom transposition of the maize Dissociation element. *Genetics*. 174(3):1095–1104. <https://doi.org/10.1534/genetics106.061184>
25. Ishikawa T, Ansai S, Kinoshita M, Mori K (2018), A Collection of Transgenic Medaka Strains for Efficient Site-Directed Transgenesis Mediated by phiC31 Integrase. *G3Genes, Genomes, Genet*. 8(8):2585–2593. <https://doi.org/10.1534/g3.118.200130>
26. Keller PJ, Schmidt, AD, Wittbrodt J, Stelzer EHK (2008), Reconstruction of zebrafish early embryonic development by scanned light sheet microscopy. *Science* (80-.). 322(5904):1065–9. <https://doi.org/10.1126/science.1162493>
27. To TT et al. (2012), Rankl-induced osteoclastogenesis leads to loss of mineralization in a medaka osteoporosis model. *Development*. 139(1):141–150. <https://doi.org/10.1242/dev.071035>
28. Yu T et al. (2016), Live imaging of osteoclast inhibition by bisphosphonates in a medaka osteoporosis model. *Dis. Model. Mech*. 9(2):155-63. <https://doi.org/10.1242/dmm.019091>
29. Büttner A, To TT, Winkler C, Chan SJH, Renn J. (2013), A col10a1_{nl}GFP transgenic line displays putative osteoblast precursors at the medaka notochordal sheath prior to mineralization. *Dev. Biol*. 381(1):134-43. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2013.05.030>
30. Padilla S et al. (2009), Use of Medaka in toxicity testing. *Curr. Protoc. Toxicol*. Chapter 1:Unit1.10. <https://doi.org/10.1002/0471140856.tx0110s39>
31. Ali S, van Mil HGJ, Richardson MK. (2011), Large-Scale assessment of the zebrafish embryo as a possible predictive model in toxicity testing. *PLoS One*. 6(6):e21076. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021076>

32. **Newman M, Ebrahimie E, Lardelli M. (2014)**, Using the zebrafish model for Alzheimer's disease research. *Frontiers in Genetics*. 5:189. <https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00189>
33. **Babin PJ, Goizet C, Raldúa D. (2014)**, Zebrafish models of human motor neuron diseases: Advantages and limitations. *Progress in Neurobiology*. 118:36-58. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2014.03.001>
34. **Chapman AL, Bennett EJ, Ramesh TM, De Vos KJ, Grierson AJ. (2013)**, Axonal Transport Defects in a Mitofusin 2 Loss of Function Model of Charcot-Marie-Tooth Disease in Zebrafish. *PLoS One* 8(6):e67276. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067276>
35. **Fontana BD, Mezzomo NJ, Kalueff AV, Rosemberg DB. (2018)**, The developing utility of zebrafish models of neurological and neuropsychiatric disorders: A critical review. *Exp. Neurol.* 299(Pt A):157-171. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.10.004>
36. **Matsui H, Uemura N, Yamakado H, Takeda S, Takahashi R. (2014)**, Exploring the pathogenetic mechanisms underlying Parkinson's disease in medaka fish. *J. Parkinsons. Dis.* 4(2):301-10. <https://doi.org/10.3233/JPD-130289>
37. **To TT et al. (2007)**, Pituitary-Interrenal Interaction in Zebrafish Interrenal Organ Development. *Mol. Endocrinol.* 21(2):472-85. <https://doi.org/10.1210/me.2006-0216>
38. **Löhr H, Hammerschmidt M. (2011)**, Zebrafish in Endocrine Systems: Recent Advances and Implications for Human Disease. *Annu. Rev. Physiol.* 73:183-211. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-012110-142320>
39. **McGonnell IM, Fowkes RC. (2006)**, Fishing for gene function - Endocrine modelling in the zebrafish. *J. Endocrinol.* 189(3):425-39. <https://doi.org/10.1677/joe.1.06683>
40. **Intine RV, Olsen AS, Sarras MP Jr. (2013)**, A Zebrafish Model of Diabetes Mellitus and Metabolic Memory. *J. Vis. Exp.* (72):e50232. <https://doi.org/10.3791/50232>
41. **Bournele, D., Beis, D. (2016)**, Zebrafish models of cardiovascular disease. *Heart Fail. Rev.* 21(6):803-813. <https://doi.org/10.1007/s10741-016-9579-y>
42. **Nguyen CT, Lu Q, Wang Y, Chen JN. (2008)**, Zebrafish as a model for cardiovascular development and disease. *Drug Discovery Today: Disease Models.* 5(3):135-140. <https://doi.org/10.1016/j.ddmod.2009.02.003>
43. **Weinstein BM, Stemple DL, Driever W, Fishman MC. (1995)**, Gridlock, a localized heritable vascular patterning defect in the zebrafish. *Nat. Med.* 1(11):1143-7.
44. **Regneri J, Klotz B, Scharf M. (2016)**, Genomic and Transcriptomic Approaches to Study Cancer in Small Aquarium Fish Models. *Adv. Genet.* 95:31-63.
45. **Li, Z et al. (2013)**, A transgenic zebrafish liver tumor model with inducible Myc expression reveals conserved Myc signatures with mammalian liver tumors. *Dis. Model. Mech.* 6(2):414-23.
46. **Yen J, White RM, Stemple DL. (2014)**, Zebrafish models of cancer: Progress and future challenges. *Current Opinion in Genetics and Development.*

- 24(100):38-45.
47. **Brownlie A et al. (1998)**, Positional cloning of the zebrafish *sauternes* gene: A model for congenital sideroblastic anaemia. *Nat. Genet.* 20(3):244-50.
 48. **Sood R, Liu P. (2012)**, Novel insights into the genetic controls of primitive and definitive hematopoiesis from Zebrafish models. *Adv. Hematol.* 2012:830703. <https://doi.org/10.1155/2012/830703>
 49. **Peng X et al. (2015)**, A point mutation of zebrafish *c-cbl* gene in the ring finger domain produces a phenotype mimicking human myeloproliferative disease. *Leukemia.* 29(12):2355-65. <https://doi.org/10.1038/leu.2015.154>
 50. **Rissone A, Burgess SM. (2018)**, Rare genetic blood disease modeling in zebrafish. *Front. Genet.* 9:348.
 51. **Sakamoto D et al. (2004)**, A mutation in the gene for δ -aminolevulinic acid dehydratase (ALAD) causes hypochromic anemia in the medaka, *Oryzias latipes*. *Mech. Dev.* 121:747-52.
 52. **Elmonem M et al. (2018)**, Genetic Renal Diseases: The Emerging Role of Zebrafish Models. *Cells* 7(9):130. <https://doi.org/10.3390/cells7090130>
 53. **Hashimoto H et al. (2009)**, Polycystic kidney disease in the medaka (*Oryzias latipes*) *pc* mutant caused by a mutation in the *Gli-Similar3 (glis3)* gene. *PLoS One.* 4(7):e6299.
 54. **Kobayashi D et al. (2017)**, Loss of zinc finger MYND-type containing 10 (*zmynd10*) affects cilia integrity and axonemal localization of dynein arms, resulting in ciliary dysmotility, polycystic kidney and scoliosis in medaka (*Oryzias latipes*). *Dev. Biol.* 430(1):69-79.
 55. **Huang L et al. (2014)**, A Possible Zebrafish Model of Polycystic Kidney Disease: Knockdown of *wnt5a* causes Cysts in Zebrafish Kidneys. *J. Vis. Exp.* (94):52156.
 56. **Ichimura K et al. (2013)**, Medaka fish, *Oryzias latipes*, as a model for human obesity-related glomerulopathy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 431(4):712-7. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2013.01.053>
 57. **To TT, Witten PE, Huysseune A, Winkler C. (2015)**, An adult osteopetrosis model in medaka reveals the importance of osteoclast function for bone remodeling in teleost fish. *Comp. Biochem. Physiol. Part - C Toxicol. Pharmacol.* 178:68-75.
 58. **Charles JF et al. (2017)**, Utility of quantitative micro-computed tomographic analysis in zebrafish to define gene function during skeletogenesis. *Bone.* 101:162-171.
 59. **Witten PE, Harris MP, Huysseune A, Winkler C. (2017)**, Small teleost fish provide new insights into human skeletal diseases. *Methods Cell Biol.* 138:321-346.
 60. **Shanthanagouda AH et al. (2014)**, Japanese medaka: A non-mammalian vertebrate model for studying sex and age-related bone metabolism in vivo. *PLoS One.* 9(2):e88165.
 61. **Walker MB, Kimmel CB. (2007)**, A two-color acid-free cartilage and bone stain for zebrafish larvae. *Biotech. Histochem.* 82(1):23-8.
 62. **Trần Thị Thùy Trang, Phạm Văn Cường và cộng sự. (2017)**, Thời gian sốc nhiệt và mức độ tổn thương xương của ấu trùng cá medaka chuyển gen *rankl*: HSE: CFP dòng *c1c8* làm mô hình bệnh loãng xương. *Tạp chí Khoa học ĐHQGHN Khoa học Tự nhiên và*

Công nghệ. 33(2S):248–255.

63. Phạm Văn Cường, Phạm Thị Thanh, Nguyễn Thúy Hoa, Trần Đức Long, Tô Thanh Thúy (2015), Tách dòng cá medaka chuyển gen rankl:HSE:CFP dùng làm mô hình nghiên cứu bệnh loãng xương. Tạp chí Khoa học Tự nhiên và Công nghệ ĐHQGHN. 31:24–34.

64. Lại Thị Nguyệt, Phạm Thị Thanh, Phạm Văn Cường, Trần Đức Long, Tô Thanh Thúy (2012), Tính ổn định

của gen chuyển rankl ở dòng cá medaka chuyển gen rankl:HSE:CFP làm mô hình bệnh loãng xương. Tạp chí Sinh lý học Việt Nam. 19:10–17.

65. Pham VC, Pham TT, Lai TT, Trinh CD et al. (2020), Icarin reduces bone loss in a Rankl-induced transgenic medaka (*Oryzias latipes*) model for osteoporosis. J. Fish Biol. 1-10. <https://doi.org/10.1111/jfb.14241>

SUMMARY

ZEBRAFISH (*Danio rerio*) AND MEDAKA (*Oryzias latipes*) AS ANIMAL MODELS OF HUMAN DISEASES

To Thanh Thuy, Vu Thi Thu, Tran Duc Long

Faculty of Biology, VNU University of Science, Vietnam National University, Hanoi

Zebrafish (Danio rerio) and medaka (Oryzias latipes) are small teleost fish native to the rice paddies and small water bodies in South and Southeast Asia including Vietnam. These two fish species have shown excellent experimental advantages that make their use as animal models complementary to mammals. They share high similarity to human in protein coding genes and biological processes, therefore have been increasingly used as animal models for research in biology and biomedicine, especially as models for most of human diseases such as diseases and disorders in the nervous, cardiovascular, endocrine, immune systems, cancer, and bone diseases; these disease models have showed high effectivity in drug screening and development. There are numerous findings in biomedicine and drug discovery based on research using these fish models. It is noteworthy that the cost for laboratory maintaining of these fish is much lower than that for traditional mammalian models like mice. However, in Vietnam, the use of fish as animal models is still largely unknown. Here we describe biological characteristics, common experimental techniques and review recent human disease models generated in these two fish. We would like to introduce the use of these fish to research community in Vietnam and hope for its development in near future.

Keywords: animal models of human disease, medaka fish (*Oryzias latipes*), zebrafish (*Danio rerio*)