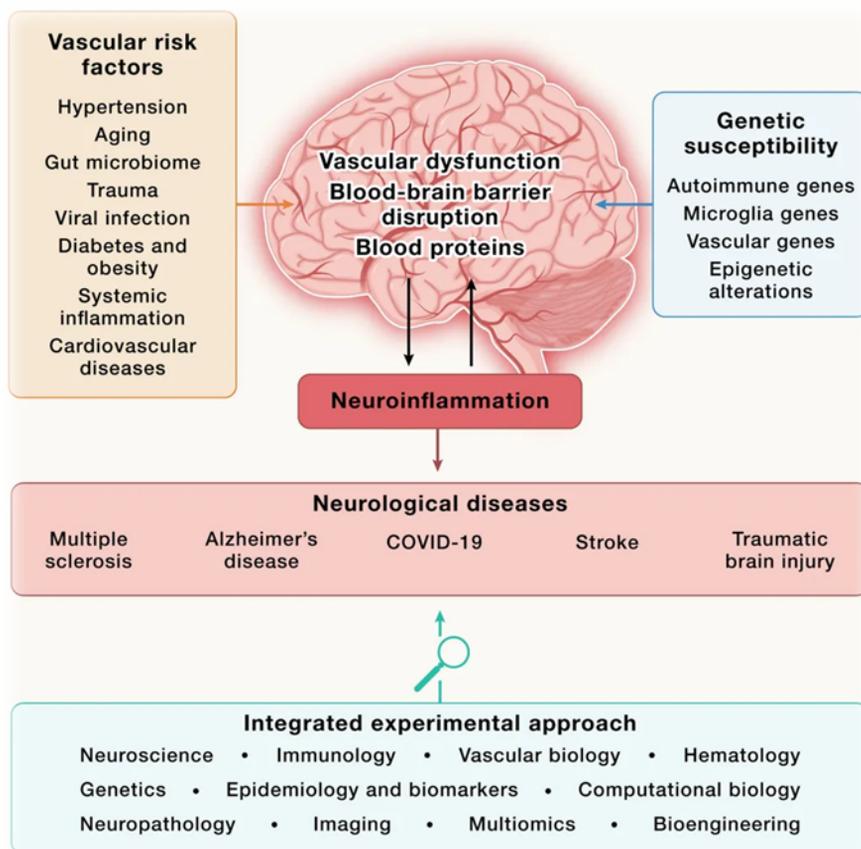


蜂巢

总第12期
2024 10月



开启血脑-免疫接口治疗神经系统疾病的新时代
(Cell, 2024, DOI: 10.1016/j.cell.2024.09.018)

服务内容与形式

蜂巢

2024/10



委托
检测

仪器
共享

项目
合作

技术
培训

科研
咨询



平台
管理

平台
建设

实验
教学

人才
培养

技术
研发



□ 实验技术	
• 浅谈免疫共沉淀技术	1
• Caco-2细胞培养及扫描电镜观察	2
• 肝纤维化动物模型构建	3
• 蛋白质组学质谱分析	5
□ 仪器推荐	
• 东芝TBA-40FR全自动生化仪	7
□ 实验室安全	
• 实验动物和人兽共患病	9
• 设施中的“假”寄生虫的辨识与控制	11
□ 周边实验资源介绍	
• 动物活体影像平台	13

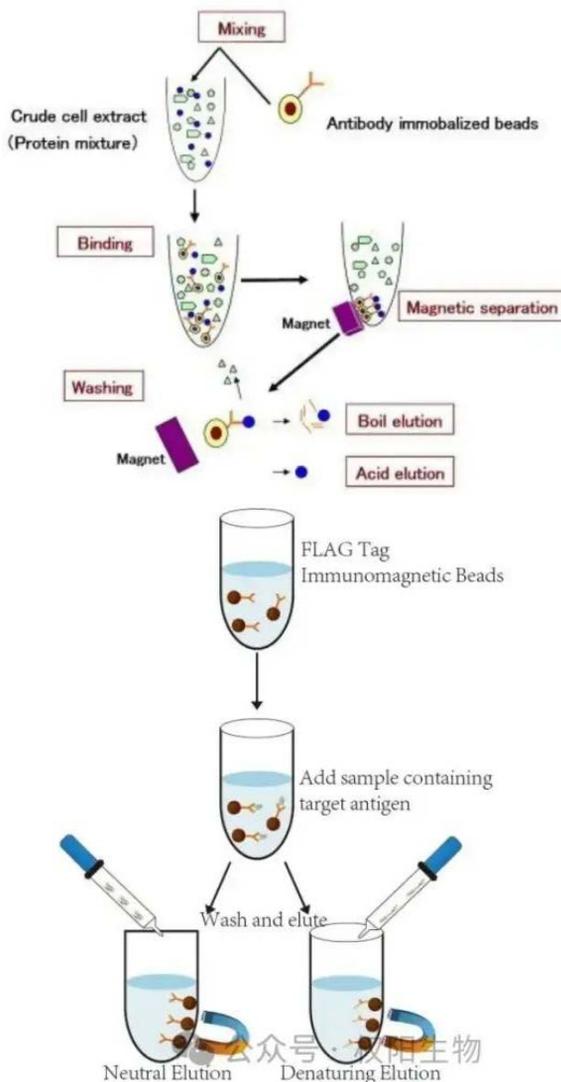


浅谈免疫共沉淀技术 (Co-IP)

病毒与免疫实验室/王晓宇

1 Co-IP实验原理

免疫共沉淀 (Co-Immunoprecipitation) 是以抗体和抗原之间的专一性作用为基础的用于研究蛋白质相互作用的经典方法。是确定两种蛋白质在完整细胞内生理性相互作用的有效方法。用预先固化在琼脂珠子或免疫磁珠上的蛋白质A的抗体免疫沉淀A蛋白，那么与A蛋白在体内结合的蛋白质B也能一起沉淀下来，再通过western blot对B蛋白进行检测，即可证明两者间的相互作用。



2 免疫共沉淀技术优势

- 这种方法得到的目的蛋白是在细胞内与兴趣蛋白天然结合的，符合体内实际情况，得到的结果可信度高。
- 可以得到天然状态下的互作蛋白复合物。

3 免疫共沉淀技术优势

- 这种方法得到的目的蛋白是在细胞内与兴趣蛋白天然结合的，符合体内实际情况，得到的结果可信度高。
- 可以得到天然状态下的互作蛋白复合物。

4 Co-IP技术疑点分析

- Co-IP可不可以用珠子做？比如His GST的琼脂糖？
答：Co-IP是通过磁珠与抗体形成的复合物进行富集，His GST的琼脂糖这些柱料不适用。
- 请问Co-IP如何选择合适的Input对照和同型对照？有什么要求和原则吗？
答：Co-IP使用Input阳性对照即可，Input即实验使用的细胞裂解液。
- 互作验证一定要western吗？纯化的蛋白可见呢？
答：可见蛋白只能判断蛋白大小，还是需要WB确定就是目的蛋白。
- Co-IP时，Input的带型不够亮，怎么解决？
答：可以瞬转过表达处理。
- 两个蛋白，哪个适合IP有要求吗？
答：有IP级别抗体的蛋白优先考虑作为诱饵蛋白。
- 请问Co-IP，INPUT的加样量是多少？那IgG和IP的上样量相应有什么要求吗？
答：通常上样量50 ug/100 ug。
- 免疫共沉淀如何避免假阳性？
答：Co-IP选择抗体尤为关键，特异性抗体可以排除非特异性结合进而排除假阳性。同时可以结合Co-IP反向验证进一步排除假阳性。若抗体浓度过高，则降低抗体浓度；若抗体特异性不好，则更换抗体。

(注：资料来源于网络)

Caco-2细胞培养及扫描电镜观察

细胞生物与组织病理学实验室/胡娜

Caco-2细胞模型是一种人克隆结肠腺癌细胞，结构和功能类似于分化的小肠上皮细胞，具有微绒毛等结构，并含有与小肠刷状缘上皮相关的酶系，可以用来进行模拟体内肠转运的实验。

1 Caco-2细胞培养及传代

1.1 细胞培养

Caco-2细胞培养在含有10%的胎牛血清，1%的非必需氨基酸，1%谷氨酰胺，1%青霉素(100 U/mL)-链霉素(100μg/ml)双抗液以及0.1%的抗支原体的高糖DMEM培养液中。在浓度为5%的CO₂恒温培养箱中培养。每3-5天用胰酶消化传代。将Caco-2细胞按照 6×10^5 个/cm²的密度种在多聚碳酸酯膜中，生长21天后形成单层细胞，后使用电阻仪检测电阻，各孔跨膜电阻值均大于1000Ω，即可用于实验。

1.2 细胞传代

待细胞长满培养皿的95%左右吸弃培养基，加入2ml PBS清洗，吸弃PBS，加2ml 0.25%的胰酶摇晃均匀，放入二氧化碳培养箱中消化5min，加入2ml培养基终止消化，吹打细胞，使细胞分散均匀，转移至15ml离心管中，离心1000r/min 3min，弃上清，加3ml DEME吹打均匀，吸取悬液0.35ml，加新鲜的培养基7ml于培养皿中。

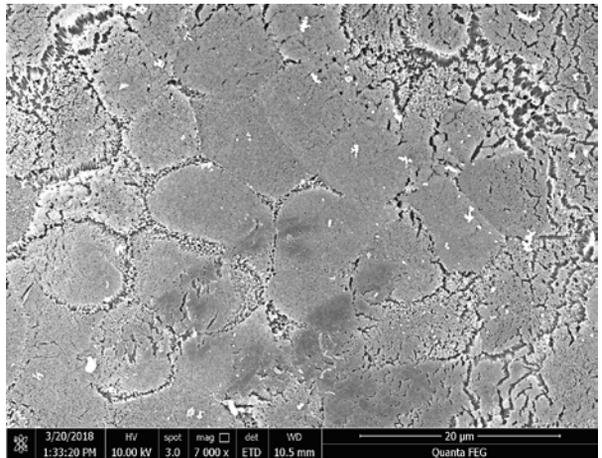
2 Caco-2细胞的冻存

细胞长满培养皿95%左右，吸弃培养基，加入2ml PBS清洗，吸弃PBS，加2ml胰酶摇晃均匀，放入二氧化碳培养箱中消化5min，加入2ml培养基终止消化，吹打细胞使细胞分散均匀，转移至15ml离心管中，离心：3min，1000r，弃上清，加入1ml冻存液（胎牛血清：DMSO=9:1），吹打均匀后转移至冻存管中，每管1ml。4℃冰箱降温30min后，放入-20℃降温1h后，-80℃过夜，第二天放入液氮罐中冻存。

3 Caco-2细胞的复苏

从液氮罐中取出冻存的细胞株，迅速置于37℃水浴，连续晃动使受热均匀，完全融化后在超净台将含有细胞的冻存液转移至含有7ml新鲜培养液的培养皿中，于37℃，5%CO₂培养箱中培养，每48h换液一次，待细胞融合至80%时，常规传代培养。

扫描电镜下观察细胞形态（如下图）：



肝纤维化动物模型构建

医学实验动物室

慢性肝病是指发生在肝脏的病变过程，主要是指肝细胞的损伤和修复的循环过程，一般是指从肝炎到肝癌的过程，其中间环节为肝纤维化，而肝纤维化的核心机制在于肝星状细胞（HSC）的活化和凋亡，HSC的过量活化使得辅助生成胶原细胞和基底外细胞的物质大量形成，从而加速了肝纤维化的进程，使得肝纤维化向着肝硬化等不可逆的方向发展。而非酒精性肝病（NAFLD）是慢性肝病发病的重要影响因素，其中发生炎症性病变的脂肪组织称为“毒脂”对发展至肝炎之后肝纤维化病理过程中肝细胞的损伤和修复大有影响。

目前，制作肝纤维化模型可效仿肝硬化模型的分类方法，但需针对目前肝纤维化病变以非酒精性原因增多为主进行针对性造模。近年来，许多学者主力制作标准的肝纤维化模型，多使用大鼠、小鼠或家兔，但本着动物造模应与人类的病变基本相似、肝纤维化分期过程明显、造模的可重复性和简便性等特点，故多使用大鼠进行肝纤维化造模。

◆ 造模方法

1 胆汁淤积致肝纤维化

1.1 胆总管结扎法

胆汁淤积是急慢性肝脏疾病引起肝纤维化及肝硬化的主要原因之一。胆总管结扎是复制胆道梗阻性胆汁淤积肝纤维化模型最常用的方法。

将8-10周小鼠麻醉，开腹后游离胆总管进行双重结扎，并在两处结扎线间离断，以确保胆总管完全阻断，之后手术线缝合，关闭腹腔。

胆总管结扎后小鼠进食量减少，皮毛散乱无光泽，行动变少且对外界刺激（如声、光等）的反应减弱，尿液颜色加深，深红带黄，似浓茶样改变。

第15天时，肝脏开始明显改变，肝脏明显肿大，谷丙转氨酶、谷草转氨酶升至正常肝脏水平的10倍以上，经HE染色及天狼星红染色后，胆总管结扎小鼠肝组织可见明显改变：肝脏汇管区及胆管周围肝细胞肿胀、破裂、空泡变性，炎症细胞浸润表现明显，门静脉周围及窦周纤维化明显。

胆总管结扎法复制小鼠肝纤维化模型，操作简单，成模率高，肝纤维化明显，指标稳定，短期内纤维化不会自行逆转。

实验过程中要严格无菌操作，避免后期感染，必要时可在术中或术后给予少量抗菌药物预防。胆总管结扎要熟练、扎实，以防手术线脱落，胆汁或肠内消化液流入腹腔，造成腹腔炎症引起实验动物死亡。

1.2 免疫诱导法

胆管损伤也可以通过给予免疫诱导剂，引起小鼠自身免疫反应，诱发免疫性胆管损伤、阻塞，引起胆汁淤积。如2-辛基酸偶联牛血清白蛋白磷酸盐溶液，加入含H37RA结核分枝杆菌全弗氏佐剂充分混合后，小鼠腹腔注射给药，8周后可出现明显改变。

1.3 改良饲料法

通过饲喂改良后的饲料或添加剂，也可以诱导小鼠引起胆汁淤积肝脏损伤模型。5-二乙氧基羰基-1,4-二氢二氢吡啶（DDC）和 α -萘异硫氰酸盐（ANIT）。每日给予小鼠含0.1%DDC饲料，1周后在胆管上皮细胞中可见血管细胞黏附的表达分子、骨桥蛋白和肿瘤坏死因子- α 上调。持续8周导致胆卟啉增多，胆管周围肌成纤维细胞活化，引起胆道纤维化与人类硬化性胆管炎相似。每日给予小鼠0.025%ANIT，饲喂数天后，就可引起胆汁淤积性损伤，引起胆管上皮细胞损伤，胆管上皮扩张，轻度肝细胞损伤和门静脉周围炎症导致肝纤维化。

2 化学性损伤诱导致肝纤维化

化学性肝纤维化是由能造成肝毒性的化学物质所引起的肝细胞损伤和修复交替出现导致肝内结缔组织异常增生的直接结果。造模所使用的常用药物试剂为四氯化碳（CC14）、二甲基亚硝胺（DMN）等物质，这类物质具有强烈的肝损害性，能够在不同程度破坏肝脏细胞导致肝内结缔组织异常增生。

2.1 CC14

四氯化碳（CC14）是一种无色有机溶剂，对任何油脂具有极强的溶解性，尤其是动物油脂，因此，在人体表现为强肝毒性。CC14法用于复制肝脏损伤模型的常用方法。CC14模型复制方法成熟，成功率高达89.33%，简单易行、经济安全。一般从第2周开始，就可出现不同程度肝纤维化程度，平均4.9%，至第8周可达到平均9.2%的纤维化，能很好地模拟人类肝纤维化S0-S4期的病理特征，且与乙肝病毒感染所致肝纤维化的病理特征相似。该方法现已广泛应用于研究鼠类肝纤维化发生机制、筛选血清标志物以及开发抗纤维化药物等。但该方法由于CC14处理后的肝毒性剧烈，死亡率较高。总体来说，该方法在某程度上基本可以满足实验需求，同时也需要改进来弥补缺点。

2.2 DMN

DMN是一种世界公认的致癌有机化合物中间体成分，具有肝毒性、肾毒性和基因毒性等，其代谢后产物对肝脏细胞损伤较大，且易加速其纤维化速度，若不及时中止肝纤维化的过程，最终则形成肝细胞坏死致肝硬化。

DMN具有肝毒性，能引起肝损伤并可导致肝纤维化，并具有致突变和致癌性。注射DMN2周后，就可出现明显的肝纤维化（3.72%），第4周时，肝纤维化程度为3.73%。该方法操作简单，模型复制时间短，纤维化程度稳定。但由于DMN的毒性，该方法存在小鼠死亡率较高等弊端，同时，由于DMN的强挥发性，工作人员应注意防护。

3 高脂类肝纤维化动物模型

高脂类肝纤维化是指主要由于营养失调性引起的非酒精性脂肪性肝病，患者由于饮食习惯和生活方式的改变而长期摄入过量的含脂肪类物质，从而导致肝脏脂肪过度沉积改变肝脏内肝细胞的构造形成肝纤维化。由于现代人物质生活越来越好，摄入过多的脂肪、糖类等物质的机率逐渐增加，所以，建立高脂类肝纤维化动物模型用于研究人类脂肪性肝病有着极为相通的病变基础。高脂类肝纤维化动物模型的建造一般采用雄性SPF级小鼠，体重在20g左右为宜，也可采用家兔造模。一为配方合成高脂饲料造模：配方常以饲料为基本营养来源所占比例约为80%，再加入10%-15%油类物质如调和油、1.5%胆固醇和0.5%胆盐及微量元素等，造模6周后取小鼠血清，检验肝功能、甘油三酯和总胆固醇等指标验证造模结果，若出现肝组织内弥漫性分变脂肪滴分布全肝，可视为造模成功。二为配方元素缺乏高脂饲料造模：一般采用60%-80%的高脂胆碱缺乏饲料，先适应性喂养，随后分别在第4周、8周、16周随机处死5只小鼠验证造模结果，一般于第6周开始出现肝纤维化。此种造模方式简单易行，可重复性强，其动物模型与人体内肝脏的内环境病变及其相似，可有效的进行高脂类肝纤维化肝病的病理机制和用药研究。

4 酒精性肝纤维化

酒精性肝病（ALD）是指主要是受酒精损害较大使肝脏细胞出现脂肪的堆积、纤维化形成并逐步向肝硬化发展，如若在肝硬化之前不及时逆转，则最终导致肝细胞不可逆死亡，还可发展为肝癌。因此，利用已知的肝病临床症状，在与人体有相似机制的动物身上建模，研究其发病机制和病因，对现代肝病的分型和治疗具有极大的意义。现代实验研究，以急性酒精性肝纤维化动物造模和慢性酒精性肝纤维化动物造模，均多以小鼠造模为主，并且以急性酒精灌胃法造模较优，此种造模方法能在短时间内使肝内细胞出现炎症反应，引起肝血清酶ALT和AST的轻度升高，从而出现肝纤维化的病变，从而，也能有效的把动物模型控制在肝病可逆性强的肝纤维化的阶段。而慢性酒精性肝纤维化小鼠造模因违反了动物天生厌恶酒精的天性，所以成模率低。

有研究表明，ALD动物模型主要只涉及轻度

肝损伤（即脂肪变性和轻中度炎症）而人类严重的酒精性肝炎往往发生在肝硬化环境中，甚至更严重者可发展至肝衰竭而导致死亡。因此，在现实中的酒精性肝纤维化动物造模，往往需要运用大鼠在慢性酒精性肝纤维化的基础上，造成急性酒精性肝损伤，从而模拟现实人类复杂的肝病发生环境进行同等条件下模拟造模，但由于其操作程序的复杂性，造模成功率也较低，此方法也难以在实验室环境下应用。

5 复合型损伤肝纤维化模型

随着社会生活水平的发展，现代人的生活具有一定的复杂性，从而导致肝病的因素复杂多变，甚至是多种复合性因素共同影响肝病的形成和发展，尤其是肝纤维化是肝病的转归发展的中心环节。因此，建立复合型损伤的肝纤维化动物模型极具临床必要性和符合肝病流行病学发展的需求。建立复合型肝纤维化模型采用乙醇灌胃、高脂饲料喂养、高糖饮水等复合因素，并结合腹腔注射CC14的改良版联合方法造模。采用标准SD级大鼠，体重在200g左右，在适应性喂养1周之后用此方法分组造模8周，在第4周和第8周分组随机抓取5只大鼠取标本进行病理学、肝功能指标检测，第8周后模型组、对照组大鼠均形成肝纤维化。此种造模方法的优点是可以在短时间内建立可重复性高、稳定性强的肝纤维化模型。同时，在一定程度上解决了单一因素的动物模型与现代临床患者病情有差距的问题，复合型肝纤维化动物模型的成模率高，动物在造模期间的病死率较低。

小结

简单来说，建立动物模型的对研究人类疾病有着很好的帮助。但是，由于动物本身和人体系统还是具有一定的生物学，导致动物模型也不能完全代替人体用来进行更精确的病程研究。近来，有数据表明，人体机体的老化也会影响慢性肝病，特别是对慢性肝病晚期的血液循环和肝纤维化产生影响。然而，我们目前较为成熟和广泛应用的肝纤维化动物模型绝大部分是使用成年或幼年的小鼠、大鼠或家兔进行基础建模，此种方法下建立的肝纤维化模型是否能有效研究老年化肝纤维化病变的发展仍未可知。随着现代对建模方式的不断改良，有望建立客观、可控性强和可重复性高的肝纤维化动物模型，能更好的研究肝纤维化的发病机制，寻求更好的逆转纤维化进程的的药物，从而及时截断肝纤维化向肝硬化甚至慢性肝病的终末病程发展的大趋势。

蛋白质组学质谱分析：样品前处理流程及注意事项

分析测试实验室/庄小禹

随着蛋白质组学的快速发展，生物质谱技术在蛋白质组学中的应用不断深入，逐渐成为这一领域的核心技术。质谱技术凭借其高通量、高精度、高灵敏度以及仪器灵活性等特点，在生物学研究、生物制药表征以及诊断检测等多个领域展现出广泛的应用潜力。质谱可以通过揭示化合物的结构和化学性质，实现对已知与未知化合物的准确识别和精准定量。借助多种电离方式与检测手段，质谱技术能够分析质量范围从50 Da至300,000 Da、样品量从埃摩尔 (attomole) 到纳摩尔 (nanomole) 级别的样品。然而，要成功实施基于质谱的蛋白质组学分析，恰当的样品前处理、有效的色谱分离，以及适合的仪器和软件选择均是至关重要的。

本文将简要概述蛋白质组学实验中质谱分析前样品处理的一般流程及关键注意事项。

细致且针对性的样品前处理对于获得高质量的质谱数据是必不可少的。蛋白质组学样品前处理的步骤旨在保持蛋白质的稳定性、减少认为因素导致的蛋白降解和修饰、避免角蛋白等污染物的混入、确保所有目标蛋白质的有效提取，同时去除干扰物质，并将蛋白质充分降解为适合质谱检测的肽段。

理想的样品应满足以下要求

- 使用尽可能温和的处理方法，以避免剧烈的组织破坏；
- 低温条件下快速执行分离步骤，以减少蛋白质降解；
- 使用能够维持适当pH值和离子强度、同时稳定样品的缓冲液；
- 添加蛋白酶抑制剂或淬灭剂，保护分析物的完整性；
- 采用针对性的提取、富集及色谱分离方法，以提高目标蛋白的含量；
- 在质谱分析前进行充分的除盐处理；
- 确保待测样品中不含有去垢剂、PEG等干扰质谱检测的物质。

蛋白质样品前处理一般流程包括：

1 样品获取与保存

样品的来源可以是细胞、组织或体液，样品获取后需要立即采取妥善的保存措施，以防止蛋白质降解。常见的保存方法包括迅速冷冻 (-80°C) 或使用蛋白酶抑制剂，这些措施能够确保样品中蛋白质的完整性和稳定性。

2 样品裂解与蛋白质提取

细胞裂解往往是蛋白质提取、组分分离及纯化的第一步。细胞裂解和蛋白质提取目前通常采取机械破碎、物理破碎和化学裂解的联合方法。

机械破碎包括液氮研磨、匀浆、珠磨、剪切等；物理破碎涵盖超声破碎、反复冻融及压力破碎等。为了提高蛋白质提取效率，往往会在机械、物理裂解的同时加入化学试剂（如去垢剂、变性剂、水解酶等），在破坏细胞及细胞器脂膜的同时增加蛋白质的溶解度。根据实验目的、样品类型以及样品量的不同，选择合适的裂解手段与裂解液，将有助于提高蛋白质组研究的深度与广度。

常用的去垢剂可按其性质可分为离子型、两性离子型及非离子型三大类。最常添加的非离子型去垢剂有Triton X-100和NP-40，二者可使蛋白质最小化变性；离子型的去垢剂SDS，可完全溶解细胞膜，实现高效的蛋白提取，但会导致蛋白质完全变性失活。去垢剂对裂解效果和质谱分析的影响较大，应根据实验需求选择合适的去垢剂和浓度，并在后续步骤中确保去垢剂的完全去除。此外，常用的蛋白变性剂如尿素和盐酸胍，能够断裂蛋白质的氢键，使其发生不同程度的变性，同时增大疏水氨基酸残基在水相中的溶解度，从而便于后续的蛋白质分析与检测。

3 样品蛋白质含量测定

在蛋白质提取完成后，定量是不可或缺的步骤。常用的定量方法包括BCA法、Bradford法和荧光法。定量的目的在于确保后续实验中所用的蛋白质量保持一致，从而保证实验的重复性和可靠性。

4 蛋白质水平的预分级

在复杂的蛋白质混合物中，高丰度蛋白质的存在往往会掩盖低丰度蛋白质的信号，导致后者难以被有效检测。而通过预分级策略，根据蛋白质的理化性质，以及生物特异性，对样品中的蛋白质进行初步分离，从而显著降低样品的复杂度。这样，质谱仪在后续分析过程中能够识别出更多的低丰度蛋白质，进而大幅增加检测到的蛋白质种类。在实际操作中，常见的预分级手段包括沉淀、离心、超滤、SDS-PAGE、HPLC、凝胶电泳以及免疫共沉淀等方法。

5 蛋白质还原与烷基化

目前蛋白质组学研究广泛采用“自下而上”的分析策略，即通过分析肽段而非完整蛋白质来实现更多蛋白质的检测。因此，在进行分析之前，蛋白质必须经过变性、还原、烷基化和酶解的处理过程。具体而言，需要使用还原剂（如二硫苏糖醇，DTT）来打开蛋白质的二硫键，随后使用碘乙酰胺 (IAA) 对游离巯基进行烷基化保护，防止二硫键在后续处理中重新形成。这一步骤对于提高肽段的覆盖率和质谱检测的准确性必不可少。

6 蛋白质酶解

在质谱分析之前，需要使用蛋白酶对蛋白质进行酶解处理，将其转化为分子量较小的肽段。胰蛋白酶（Trypsin）是最常用的酶解酶，它能特异性识别并剪切赖氨酸和精氨酸C端的肽键，将蛋白质酶解为适宜质谱检测的肽段长度。同时，酶解产生的肽段因具有赖氨酸和精氨酸侧链，因此会带有正电荷，更利于质谱检测中肽段的离子化。

对于某些赖氨酸和精氨酸分布过多或过少的蛋白，或者希望鉴定到的肽段尽量多地覆盖全蛋白序列时，也可以考虑换用其他蛋白酶或采用多种蛋白酶分别或顺序进行酶切处理，以产生合适的肽段。此外，酶解条件的精确控制（如酶与蛋白质的比例、温度、时间等）也是确保酶解效率和均一性的关键因素。

7 肽段水平的预分级和翻译后修饰的富集

这一环节的主要目的也是在质谱分析之前，对复杂肽段混合物进行简化和分离，从而降低检测的难度，以得到更多的肽段/蛋白鉴定结果。翻译后修饰（如磷酸化、乙酰化、糖基化等）在调控蛋白质功能、蛋白质定位与相互作用中发挥关键作用。然而这些修饰在复杂样本中的丰度通常较低，直接分析往往难以捕捉到，因此，需要从肽段混合物中富集出这些低丰度的修饰肽段。

肽段水平的分级是根据肽段的不同性质，借助多样化的填料实现分离，比如强阳离子交换（SCX）、强阴离子交换（SAX）、反相液相色谱（RPLC）、亲水色谱（HILIC）及高pH反相分级等。依据样本的复杂程度，通常会将样品分级成10-30个馏分进行检测。至于翻译后修饰的富集技术，主要包括免疫亲和富集（利用特异性抗体捕获修饰肽段）、金属离子亲和色谱和二氧钛富集（主要针对磷酸化修饰）等。

8 肽段纯化及除盐

蛋白样本的前处理过程通常是在含盐缓冲体系中进行的，其中不乏非挥发性盐、去垢剂及其他干扰质谱分析的物质。这些物质不仅可能造成喷雾针堵塞，缩短质谱仪的使用寿命，也可能抑制目标物质的离子化，妨碍目标分子的质谱检测。因此，旨在清除这些杂质的纯化步骤必不可少。常用的除盐手段是利用C18材质的层析柱，但值得注意的是，大多数去垢剂不能通过该方法去除。

9 样品浓缩与上机分析

经过纯化后的肽段样品，通常需要进一步浓缩，以确保肽段浓度足以满足质谱分析的需求。浓缩后的样品，可以通过液相色谱-质谱联用（LC-MS/MS）进行蛋白质组学分析。



东芝TBA-40FR全自动生化仪

分子生物与药理实验室/王凯

全自动生化分析仪是生物医药行业中体外诊断的一个重要分支，简称“全自动生化仪”，它是根据光电比色原理来测量体液中某种特定化学成分的仪器，主要是为各级医院和药物研发机构提供生物化学、血液学、免疫学等多方面的检验项目，在疾病的诊断、治疗、预防和药物研发领域提供重要的科学依据。

日本东芝TBA-40FR全自动生化分析仪是我校公共服务平台的大型仪器之一。它以全自动化代替了繁琐的手工操作，不仅提高分析结果的精密度、准确度，而且简便快捷，可以快速准确地为实验室提供诊断数据。该设备可以设定7种分析方法，可同时检测56个项目，具有试剂用量少、适应开放试剂并具备试剂冷藏功能等特点。能对反应全过程进行监测，并能自动报警，理论分析速度每小时400测试，并具有独特的线性扩展功能，能满足实验室常规检测的需要。

1 检测对象与项目

目前主要检测项目包括：肝功能、肾功能、血糖、血脂、心肌酶谱、电解质、总蛋白、白蛋白、血钙、血氨、镁、铁、氯化物等，用于评价的疾病如急性慢性肝炎、肝硬化、肝癌等引起的肝功能异常，急性慢性肾小球肾炎、肾盂肾炎、尿毒症等引起的肾功能损伤，高脂血症、糖尿病、胰腺炎、心肌梗塞、电解质紊乱等，了解体内营养状况，能够发现体内潜在病变和药物的毒性反应，特别对营养代谢病的评价及各种疾病治疗后的评价具有重要意义。

通常实验动物的血液学、血液生化及尿液检测对象应依据实验室的实际检测范围，检测对象可归类为实验动物的全血和尿液，共2类。可包含所有实验用动物，局限于小鼠、大鼠、豚鼠、仓鼠、兔、犬、猴、禽类及鸟类。

根据CNAS《兽医学领域认可能力范围表述说明》，在血液生化的检测项目方面，哺乳类、禽类/鸟类实验动物的血液生化检测项目各有20项，其中有13项为通用检测项目，包括：

- 血糖即葡萄糖 (glucose, GLU)
- 总蛋白 (total protein, TP)
- 白蛋白 (albumin, ALB)
- 天门冬氨酸氨基转移酶 (aspartate aminotransferase, AST)
- 碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, ALP)
- 谷氨酰转肽酶 (glutamyl transpeptidase, GGT)
- 胆固醇 (total cholesterol, T-CHO)
- 血清钙 (Ca²⁺)
- 无机磷 (PO₄⁻)
- 血清钾 (K⁺)
- 血清钠 (Na⁺)
- 氯化物 (Cl⁻)
- 血清铁 (Fe³⁺)

仅限于哺乳类实验动物的检测项目有7项，包括：

- 总胆红素 (total bilirubin, TBIL)
- 丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)
- 胆碱酯酶 (cholinesterase, CHE)
- 直接胆红素 (direct bilirubin, DBIL)
- 三酰甘油 (triglyceride, TG)
- 低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)
- 高密度脂蛋白胆固醇 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)

仅限于禽类/鸟类实验动物的检测项目有7项，包括：

- 血氨 (blood ammonia)
- 血淀粉酶 (amylases, AMS)
- 血清碳酸氢盐 (HCO₃)
- 胆汁酸 (bile acid, BA)
- 纤维蛋白原 (Fibrinogen)
- 球蛋白 (Globulin)
- 脂肪酶 (lipase, LPS) 等7项。



2 检测质量控制与管理

全自动生化分析仪的检测质量控制及管理必须注意科学地利用该仪器的结构优势与性能特点,严格落实受检样品的质量管理,注重实验室内质控、仪器计量监测和厂家检查校准。

样本在溶血、脂肪浑浊等干扰测定时,用双受检样品是影响检测质量的重要因素。留取标本的基本原则是保持离体标本质量的完整性,主要方法是保持标本新鲜。衡量标本是否新鲜的简单尺度,是从标本采集到检验所允许的时限。标本越新鲜,交叉污染越低,则检测结果更接近受检样品当时的生理或病理实际状况。管理好标本的采集与转运可降低70%的检验差错率。

全自动生化分析仪检测准确度通常利用质控标准品参比、实验室内质控参比、同质资料配对比较验证,其中包括均数和标准差(standard deviation, SD)比较、结合相关分析、正态性检验、离群点检测、X-Y散点图、线性回归等综合分析。

3 检测能力的标准化

标准化是国家对实验动物质量提出的技术性规范,是实验动物生产、使用、检验和监督管理部门共同遵守的依据。

在实验动物研究领域,对实验动物的血液学、血液生化及尿液相关生理指标的标准化制定方面,仍缺少统一的国家标准,部分现行检测项目指标缺乏科学的实验数据支持,这些问题均亟待完善。因此,实验动物血液学及尿液相关的生理、生化指标的规范化检测是相关实验室能力认可领域中一个非常重要的关键环节。





实验动物和人兽共患病 医学实验动物室

前言

回顾进入21世纪以来在全球各地发生流行的传染病，例如非典、甲型H1N1流感、中东呼吸综合征、埃博拉出血热、新冠等等，大多数都是人兽共患病（Zoonoses），有些已经被证实起源于动物。

作为每天和实验动物直接或间接接触的从业人员，我们最关切的问题之一就是：我们所用的实验动物可能携带哪些人兽共患病原体，这些病原体感染人会造成哪些影响，以及在生产和使用过程中我们应该如何防控。

1 啮齿类动物相关主要人兽共患病

虽然多数鼠源的人畜共患病比较罕见和低发，但由于啮齿类实验动物在整个实验动物使用数量上占比超过了90%，因此不可被忽视。

2 犬相关主要人兽共患病

由于犬不仅仅是实验动物，也是伴侣动物中的翘楚，其所携带人畜共患病不仅仅影响实验动物行业，也会对宠物主人产生潜在威胁。

种类	疾病名称	发生概率	人类疾病表现
啮齿类动物相关主要人兽共患病	流行性出血热	我国是流行性出血热发病人数最高的国家，每年约一万例，死亡率不到1%，2000年以来亦发生多起实验大鼠导致的人类感染案例。	肾综合症出血热和汉坦病毒肺综合症（我国主要是前者）
	淋巴细胞脉络丛脑膜炎	美国野鼠中携带率约5%，实验鼠中罕见。	流感样或脑膜炎
	沙门氏菌感染	野鼠是主要传染源，实验鼠中非常罕见。	肠胃炎、伤寒、败血症等。
	鼠咬热	野鼠是主要传染源，实验鼠中罕见。	有小螺菌型和念珠状链杆菌型（我国主要是前者）。发热、皮疹、全身症状等。
	钩端螺旋体感染	猪和野鼠是最重要的传染源，实验鼠引起的案例非常罕见。	头疼、发热、肺出血、黄疸、皮肤黏膜广泛出血等。
	假结核耶尔森菌感染	野鼠是主要传染源，实验鼠中罕见。	感染部位形成结合样肉芽肿，多表现为胃肠炎、肠系膜淋巴结肉芽肿等，偶尔会发展为败血症。
	鼠疫	近年我国每年都有零星报道，主要由野鼠感染引起。	高热、淋巴结肿痛、出血倾向、肺部炎症。高死亡率。
	螨虫叮咬	较为常见	皮肤瘙痒、红肿、过敏等。
犬相关主要人兽共患病	狂犬病	得益于规范的疫苗接种方案和科学管理，实验犬中非常罕见。	恐水、怕风、咽肌痉挛、进行性瘫痪、死亡率99.99%。
	布鲁氏菌病	是造成最多伤亡的实验室感染疾病种类。我国每年约有四万人感染布病，主要是从事与牛、羊、猪等家畜有关工作的人。羊种、猪种、牛种、犬种对人均有致病性，严重程度递减。	亚急性和急性：发热、多汗、乏力、关节炎、睾丸炎等。慢性感染：夜汗、头痛、肌痛及关节痛、疲乏、长期低热等。
	钩端螺旋体病	实验犬非常罕见	头疼、发热、肺出血、黄疸、皮肤黏膜广泛出血等
	皮肤病原真菌病	实验犬中有一定发生概率	体癣、股癣、头癣、手癣、足癣等。
	弓形虫病	我国感染率为0.1-47.3%，农村高于城市，成人高于儿童。与动物相关的职业，如动物饲养员，屠宰人，肉类及动物毛皮加工者，兽医等有较高感染率。	多为隐性感染：发病者临床表现复杂，主要侵犯眼、脑、心、肝、淋巴结等。弓形虫是孕期宫内感染导致胚胎畸形的重要病原体之一。与艾滋病的关系亦密切。

3 兔相关主要人兽共患病

4 非人灵长类相关主要人兽共患病

在所有种类的实验动物中，非人灵长类由于在进化上与人类亲缘关系最近，因此很多人类易感的传染病，它们也极其易感，并且相互传播。

预防措施

1951-1976年，科学家Sulkin和Pike调查了5000多个生物实验室，累计实验室相关感染3921例，证实实验室相关感染主要发生在研究实验室、临床诊断实验室和动物实验室。其中针刺、动物咬伤、食入原因造成的感染只占18%，其余大多是感染性气溶胶扩散造成的。此外，感染性物质飞溅污染黏膜；螨虫、苍蝇等虫媒传播等途径也可造成感染。

针对这些暴露方式，实验动物机构和实验室应该有针对性的采取预防措施，例如优化日常操作，减少气溶胶产生；有风险的操作应在相应的防护设备中进行；穿戴适当的个人防护装备；禁止在实验区饮食；有措施防止苍蝇、螨虫等滋生或进入设施等。

但更重要的预防措施是对进入设施的实验动物进行检疫，确认不携带人兽共患病原后才可接收；也应有有效的措施保证野鼠或其他野生动物无法进入设施；长期饲养的动物则应制定监测计划，定期检查动物的健康状况，结合实验室检测结果，确保动物的微生物质量。

万一发生暴露，应有标准操作规程，指导发生暴露后的处理要求，并应对员工定期进行培训和操作演练，确保其掌握。设施内或实验场所应配备急救处理所需物品，通常包括洗眼器、消毒液、棉球、创口贴、纱布等。必要时还需就医，评估伤口、缝合、接种疫苗或给予适当药物治疗。

种类	疾病名称	发生概率	人类疾病表现
兔相关主要人兽共患病	土拉弗朗西斯菌感染（兔热病）	绝大多数传染源是野兔	高热、浑身疼痛、腺体肿大和咽食困难等。病死率5%。
非人灵长类相关主要人兽共患病	B病毒感染	有记录以来全球发生五十多例人感染B病毒的案例，其中亚洲地区发生两例。猴群中B病毒感染率普遍较高。	伤口疱疹样病变、神经症状、脑炎。死亡率达70-80%。
	结核病	我国是结核高负担国家，2020年有约84万新发病患者，从事结核分枝杆菌相关工作的从业人员感染结核病的概率是普通人群的2-5倍。	可侵入人体全身各种器官，但主要侵犯肺脏，即肺结核，是慢性消耗性疾病。
	疟疾	诺氏疟原虫在所有疟原虫感染猴群中约占11.5%。也是第五种可感染人类的疟原虫，几乎所有东南亚地区的疟疾患者中都存在大量诺氏疟原虫感染患者。	周期性规律发作，全身发冷、发热、多汗、长期多次发作后，可引起贫血和脾肿大。诺氏疟原虫感染者中约10%患者会出现严重并发症，致死率约2%。
	麻疹	人是天然宿主，通常由人传染给猴。动物群体中时有爆发。通过疫苗接种可有效预防。	发热、上呼吸道感染、眼结膜炎、皮肤斑丘疹和颊黏膜有麻疹黏膜斑，疹退后遗留色素沉着伴糠麸样脱屑。可继发多种并发症。
	猴痘	主要发生在非洲部分地区。除了非人灵长类，啮齿类动物也是重要宿主。	临床表现类似天花，但病情较轻。
	埃博拉出血热	主要发生在非洲部分地区	发热、呕吐、腹泻、出血。平均死亡率50%。
	志贺氏菌感染	猴群中带菌率高，应激或免疫低下时才会发病。人群中也常见。	肠胃炎、血痢。
	阿米巴病	实验猴中通常较为少见	腹部不适、腹泻、大便有腐败腥臭味、肝脓肿等。



中华人民共和国生物安全法

2020年10月17日第十三届全国人民代表大会常务委员会第二十二次会议通过。

根据2024年4月26日第十四届全国人民代表大会常务委员会第九次会议《关于修改〈中华人民共和国农业技术推广法〉、〈中华人民共和国未成年人保护法〉、〈中华人民共和国生物安全法〉的决定》修正。

设施中的“假”寄生虫的辨识与控制

医学实验动物室

实验动物的寄生虫种类繁多，可寄生于皮肤、消化道、肺脏、肌肉和细胞内等多个部位，通常会影 响动物健康，或骚扰动物造成不适和行为异常。但也有一些节肢动物常常在设施中检测到，但它们并不以实验动物为宿主，最为常见的是谷 螨和书虱。

谷螨 (Grain Mites) 是一种以谷物和面粉为食的节肢动物，大小约0.3-0.6mm，呈灰白色，幼 螨与成虫外表相似，但只有六条腿，到若虫阶段时，它们就像成虫一样有八条腿。

雌性谷螨一生可以产下800枚卵。谷螨卵呈椭圆形，光滑，白色，长约0.12毫米。喜欢潮湿的环境，在湿度90%温度25度时，其整个生命周期为9-11天；温度18-22度时，生命周期为17天；在10-16度时，则为28天。谷螨卵和幼螨对驱虫药物有更高的耐受性。

由于它们是食物害虫，会污染动物饲料，并可能从食槽上掉落到动物身上，但并不会长时间附着在动物毛发和皮肤上。有时也会被动动物食入，并可能在粪便中发现完整的谷螨，但这些并不意味着谷螨会寄生于动物。



书虱是啮虫目书虱科书虱属昆虫，以谷物、粉屑、霉菌等为食，成虫大小约1-3mm，呈白色或米白色，有较长的触角，卵为光滑细长的卵形或圆柱状，可能为单个的，也可能成群分布。与谷 螨一样，书虱也喜欢潮湿的环境，在湿度持续低于50%-60%时则无法存活。书虱可能会通过附着于纸质产品、灭菌不彻底的饲料和垫料等途径进入动物设施，例如饲料的外包装。书虱对常用的杀虫剂有一定抵抗力，需要针对性地采取有效的杀虫方式去除。



除了以上所述几种节肢动物，还有一些杂质有时也可能被错误诊断为实验动物的寄生虫，例如酵母菌、花粉、植物细胞等。

酵母菌通常是实验动物肠道的共生菌群，它们有时也会被误认为是隐孢子虫，或其他原虫。特别是大量存在于兔子粪便中的复膜孢酵母属，会被误认为寄生虫。



在粪便中可能会发现花粉，和原虫包囊甚至蠕虫虫卵非常相似。虽然花粉比最小的蠕虫虫卵还要小 数倍。花粉通常跟随饲料一起被摄入。由于花粉的外部结构对环境的抵抗力很强，花粉混合入饲料，并可在动物体内保持完整性。

有时在粪便中也见到植物细胞或植物绒毛，这个发现率比花粉要低。因为实验啮齿类动物和实验兔的消化道能够消化植物细胞壁的细胞膜质。植物细胞通常有比较规则的形状（正方形或长方形），而且呈片状，光学各向异性，例如，当多个光源照射时，呈双折射晶体。来自植物根部的绒毛，有较大的结构。在实验啮齿类或实验兔的粪便中，不容易发现植物绒毛。

全面的虫害管理策略是实验动物设施管理的重要组成部分。对动物的常规监测、采样和检测手段不能及时有效地发现本文所述的这类节肢动物。而对这类食物害虫的监测在食品加工和存储过程中则常用直接目视检查和诱捕来实现。诱捕通常通过使用信息素、食物的气味、灯光等。但在实验动物设施中，这类寄生虫并不在常规监测对象的范围内，不太可能设置诱捕装置，因此通常是工作人员巡查过程中通过直接目视检查发现的。

书虱和谷螨可能对常用的驱虫药物产生抗性。例如印度尼西亚某动物设施在用氯菊酯对设施处理后仍然发现书虱的大量繁殖。有文献使用敌敌畏等药物处理并降低房间湿度后取得理想的控制效果。

对这类节肢动物最好的控制办法还是采取有效的预防措施，其中最重要的管理策略之一是保证饲料存储区的卫生，并确保饲料未被污染。控制饲料储存区的温湿度也是一个可选的有效方案。

对于大多数节肢动物而言（也有例外），最适宜的温度是25-33度，小于13度或大于35度气温通常会减缓其发育并最终导致其死亡。另外许多节肢动物对湿度敏感，例如书虱在湿度持续低于50-60%时就难以存活。

总而言之，有一些节肢动物可以出现在实验动物屏障设施中，尽管它们并不寄生于实验动物或以吸食实验动物血液为生，通常而言对实验也没有影响。

但其存在于屏障设施总会带来至少两个方面的风险：一方面可能会引起工作人员的过敏，另一方面它们也很可能成为其它病原微生物的媒介。从屏障设施管理的角度而言，动物设施内出现这些节肢动物也说明物品进入设施前未能有效杀灭所有微生物，这是会带来系统性风险的因素。

因此即使它们不以动物为宿主，也不应出现在屏障设施内，一旦发现应予以杀灭清除。



动物活体影像平台

上海巧和科学仪器有限公司

◆ 11.7T超高场小动物磁共振成像系统



Biospec 117/16 型 11.7T超高场小动物磁共振成像系统及配套的软、硬件设施，可以实现小鼠、大鼠或其它小型动物的活体磁共振成像、脑功能成像(可兼容电生理、光遗传)、波谱实验以及杂核成像。

- 11.7T超屏蔽磁体，无需屏蔽室
- 双发射通道，1H核和杂核（如13C, 19F, 31P等）
- 四通道接收，实现并行成像
- 所有经过优化脉冲序列和后处理软件
- 自动识别线圈系统
- 小鼠脑超低温线圈(cryoprobe)
- 大小鼠动物床
- 专用动物麻醉系统
- 专用动物生理监控和同步触发系统
- 专用动物保温系统

◆ 9.4T小动物磁共振成像系统

- 磁场强度9.4Tesla, 30cm孔径
- 梯度和匀场线圈: B-GA12S HP
- 配备小动物头部、心脏、身体、光遗传学等射频线圈
- 大鼠头部低温探头 (MRI CryoProbe)
- 杂核线圈 (如13C, 19F, 31P, 23Na, 17O等)
- 配有8个并行接收通道
- 磁共振兼容的小动物麻醉、生理监测系统，可实时监控动物生理参数
- 大、小鼠动物床，大动物动物床（直径15cm）
- ParaVision 360 磁共振高级工作站



高分辨率神经解剖结构，功能磁共振成像，分子影像成像，猴脑成像，肿瘤PET/MRI成像，神经系统PET/MRI成像，心脏PET/MRI成像，SWI磁敏感成像。

◆ 正电子发射计算机断层成像系统 (PET/CT)

- 型号: INVISCAN IRIS
- 示踪剂: 正电子核素或其标记的示踪剂，正电子核素有18F、11C、13N、15O、68Ga等
- 高分辨率、高灵敏度、低剂量快速CT扫描
- 扫描视野: 径向视野8cm, 轴向视野9cm
- CT空间分辨率最高可达73 μ m@10%MTF, 电流1-1000 μ A可调, 最快扫描速度8s
- 检测对象: 活体大鼠/小鼠全身或离体动物器官和组织, 包括大脑, 心血管, 脊椎, 神经, 腹部, 骨关节等

上海市分子影像学重点实验室
上海巧和科学仪器有限公司

联合测试服务平台
联合共建实验室

QIAOHE 巧和 上海健康医学院



◆ 东软医疗PET/CT系列小动物PET/CT

- **NeuSR-400 超高端**
超高分辨率探头
空间分辨率: 0.42mm
轴向视野: 15.3cm
- **NeuSR-500 高端型**
高分辨率探头
空间分辨率: 0.6mm
轴向视野: 15.3cm
- **NeuSR-600 基础型**
高分辨率探头
空间分辨率: 0.5mm
轴向视野: 15.3cm



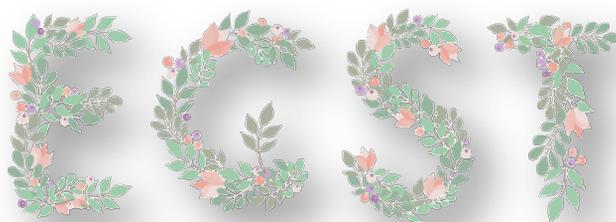
服务优质
共享开放
管理先进
运行高效





工匠精神

精益求精 追求卓越
传承弘扬 专心专注



服务理念

团结敬业 协作奉献
奋进探索 求实创新



声明：《蜂巢》为内部学术参考资料汇编，每月汇编一期，由上海中医药大学科技实验中心编写并仅在上海中医药大学系统内部科研人员中推送、传播，仅供内部科研人员参考使用，不得用于商业宣传。

欢迎投稿。



《蜂巢》编辑工作组：

主编：王宇

主审：可燕

编委：任艳、陆雄、杨扬、张超超

编辑排版：周莉、张文超

组稿：刘聪颖

宣传：张文超

仪器预约网址：<https://kjsyzx.shutcm.edu.cn>

投稿信箱：kjsyzx_shutcm@163.com

地址：蔡伦路1200号，上海中医药大学创新楼6楼

邮编：201203

电话：021-51322387