

重庆邮电大学实验动物福利伦理审查申请表

受理编号: CQVPT2018016

申请日期: 2018年 1 月 1 日

一、申请人基本情况

课题名称: 力生长因子促肌腱细胞迁移的新机制: 细胞核力学特性变化及分子基础

经费来源: 国家自然科学基金

执行期限: 3 年

项目负责人: 张冰玉

电话: 13036388062

Email: zhangbingyu@cqupt.edu.cn

联系人: 张冰玉

电话: 13036388062

Email: zhangbingyu@cqupt.edu.cn

二、所需实验动物

品种、品系: SD 大鼠

周龄或体重: 4 周

等级: ☐ 普通级 ☐ 清洁级 ☒ SPF 级 ☐ 无菌级

数量及性别: 100 只 (♀: 50 只 ; ♂: 50 只)

注: 上述实验动物信息可附页

实验动物来源

☐ 1. 本校实验动物中心统一采购或提供;

☒ 2. 国内其他正规饲养繁殖单位: 中国人民解放军第三军医大学 (陆军军医大学)

☐ 3. 国外引进: _____

☐ 4. 其他: _____

动物实验地点: ☐ 本校实验动物中心 ☒ 自己实验室 ☐ 其他: _____

三、请以实验动物“3R”原则为考虑重点, 说明进行动物实验的必要性 (包括非动物模型的不合适性及选择该动物品种的理由)。

A 使用动物的理由

☐ 1. 一些生物学过程和机理不能在体外研究。

☐ 2. 已进行体外实验, 现须进行体内实验。

☐ 3. 体外实验需要动物组织。

☒ 4. 其它, 请具体说明: 原代细胞的分离提取

B 使用某品种动物的理由

☐ 1. 该品种的生理学、解剖学、身体大小等特点最适于本研究。

☒ 2. 该品种是本实验公认的理想动物模型。

☐ 3. 利用该品种已获得大量的相关数据, 本研究进一步扩展该品种相关数据。

☐ 4. 从其它品种动物扩展相关数据到该品种。

☐ 5. 其它, 请具体说明: _____

C 请说明使用动物数量的充分理由

项目持续时间为3年,涉及肌腱细胞和干细胞相关生物学行为和分子机制的检测,平均每个月需要2-3只SD大鼠。

四、描述动物实验的设计

选用SD大鼠肌腱细胞进行实验,其分离、培养和鉴定已是本实验室的常规细胞培养工作,课题组已熟练掌握。简要操作步骤如下:取SD大鼠,断颈处死后酒精浸泡15 min。分离出后肢跟腱,将其剪成 $1.0\sim 2.0\text{ mm}^3$ 小块,随后将小组织块均匀贴附于 25 cm^2 的培养瓶底部,加入4 mL L-DMEM完全培养基后将培养瓶倒置于细胞箱中培养,12 h后将其正置继续培养,待细胞从组织块中爬离出来后每3天换1次液。实验用P2-P4代细胞。

取SD大鼠,断颈处死后,酒精浸泡15 min。在超净工作台中,分离出股骨和胫骨,去除周围组织,暴露出骨髓腔。用一次性针管吸取培养基,冲洗出骨髓腔中的骨髓,并轻轻吹打,使其变为细胞悬液。将细胞悬液加入预先装有Percoll工作液的离心管中,2500 r/min,离心30 min,取交界面白膜层。PBS离心洗两遍后,加入完全培养基,以 1×10^6 个/mL密度接种于培养瓶中,置于 37°C 、5% CO_2 、95%湿度条件下的细胞培养箱中培养。24 h后换液,除去未贴壁的细胞,记为P0代。以后每隔三天换一次液。

五、实验过程导致的疼痛

- ☐ A. 无疼痛。
- ☒ B. 一过性疼痛。
- ☐ C. 轻微疼痛。
- ☐ D. 有疼痛,但能够解除。
- ☐ E. 不能缓解的疼痛。

六、人道主义结束动物生命

A 处死方法

- ☐ 1. 迅速断头。
- ☒ 2. 头颈部迅速脱臼(体重 $<1\text{ kg}$)。
- ☒ 3. 二氧化碳或二氧化碳/氧气混合气体。
- ☐ 4. 在全身麻醉下放血(适合猫、犬和猪等)。
- ☐ 5. 腹腔注射安乐死药剂。
- ☐ 6. 静脉注射安乐死药剂。
- ☐ 7. 过量吸入麻醉剂(氟烷、异氟醚、甲氧氟烷等)。
- ☐ 8. 其它,具体说明: _____

B 动物尸体、组织、或体液的最终处理

- ☐ 1. 制作标本。
- ☒ 2. 袋装后冷冻，由校实验动物中心统一作无公害化处理。
- ☐ 3. 其它，具体说明：_____

八、承诺：

项目负责人承诺书

我承诺该申请使用表的内容准确无误。

我承诺遵守中华人民共和国国家科学技术委员会制定的《实验动物管理条例》、中华人民共和国科学技术部发布的《关于善待实验动物的指导性意见》和重庆市人民政府发布的《重庆市实验动物管理办法》。

我承诺包括我自己在内的该申请使用表中提及的与实验动物有接触的人员，已经参加了重庆市实验动物中心要求的相关培训，掌握了申请使用表中涉及的动物实验方法，都有能力完成动物实验，并且深知使用这些活体动物及动物组织所存在的风险。

我清楚作为该项目的负责人，有责任承诺本课题组所有成员在本研究工作中均会遵循人道主义原则，确保实验动物的福利伦理。承诺在动物实验的全过程随时接受学校实验动物伦理委员会的监督与检查。

项目负责人签字：张冰杰

日期：2018年1月28日

单位审查意见：

审查通过。

