

# 四川大学华西医院动物试验方案申请表 (仅供 IACUC 审批用)

项目编号 (由 IACUC 填写): 2020007A

1 试验名称: 间充质干细胞与小鼠原代肝细胞共培养形成肝脏类器官 试验 PI: 步宏 项目 SD: 包强

联系人电话/邮箱: 17713417330/314143869@qq.com

## 2 动物实验申请陈述

动物品种 (普通名词/科学名称)	使用动物	使用动物
品系/性别/年龄/体重/	SD 大鼠/雌性/7 周/200g	巴马小型猪/雌性/1 岁/20kg
选择使用动物数量依据	依据实验成功率以及细胞量估算, 共需 20 只	依据去细胞化支架用量估算, 共需 120 头
动物来源	实验动物资源公司购买	实验动物资源公司购买
动物设施要求	SPF	清洁级别
手术间或动物实验室要求	无菌	清洁级别
实验动物有无隔离饲养要求	无	无
有无特殊动物饲养要求	无	无
有无繁殖动物的要求	无	无
动物是否安乐死/安乐死方法	无	无
动物麻醉方法	45mg/kg 戊巴比妥钠腹腔注射	10mg/kg 舒泰(盐酸替来他明、盐酸咪拉西洋)静脉注射
动物尸体处理方法	统一交由华西医院动物实验中心无害化处理	统一交由华西医院动物实验中心无害化处理

## 3 实验方案简述 (试验分组、每组动物数、每组对动物的处理方法等):

本项目重要的动物主要有两个用: 1. SPF 大鼠用于分离原代肝细胞 2. 巴马猪用于制作去细胞化肝脏胞外基质水凝胶。动物数量根据实验的成功率以及对细胞量和材料的需求决定, 约 20 只 SPF 大鼠, 2 只巴马猪。

分离原代肝细胞: 大鼠 45mg/kg 戊巴比妥钠腹腔注射, 麻醉后, 大鼠肝脏原位插管灌注, 先经过 Hanks' A 溶液灌注后, 用含有 0.05% 胶原酶和 0.6 单位胰蛋白酶抑制剂的 Hanks' B 溶液灌注, 然后用剪刀轻轻撕开肝包膜, 让细胞分散, 然后用四叠纱布过滤细胞悬液, 细胞在 4℃ 50g, 5min 离心下, 用洗涤培养基离心清洗 3 次, 分离的原代肝细胞用 4% 台盼蓝染色判定死活。

去细胞化肝脏胞外基质水凝胶制备: 巴马猪 10mg/kg 舒泰(盐酸替来他明、盐酸咪拉西洋)静脉注射, 麻醉后, 取全肝, 然后用 1% Triton X-100, 200ml/min 经肝门静脉灌注 3h, 然后去离子水 3h, 之后, 肝灌注 1% 十二烷基硫酸钠(SDS), 然后去离子水对 3h, 流速 200ml/min。为了去除残留的 SDS, 用 36 L 的 1% Triton X-100 清洗肝脏, 随后, 用 20 L 蒸馏水清洗肝脏以去除残留的洗涤剂, 然后用 200 ml/min 的 PBS 清洗 3 小时, 得到半透明的去细胞支架材料。将去细胞化的肝脏用胃蛋白酶消化 48-72h, 调整 pH 为 7, 得到去细胞化肝脏胞外基质水凝胶。

4 试验负责人承诺: 我保证上述陈述材料完整并真实; 如果方案未被批准, 我承诺在 IACUC 审查修改并通过本实验方案之前, 不进行任何相关动物试验; 保证我试验中每个从事动物相关研究工作的人员接受合适的培训并具有动物操作资质; 方案被批准后, 我承诺按照方案进行动物试验。试验 PI (签名): 步宏, 日期: 2019.12.5, 项目 SD (签字): 包强, 日期: 2019.12.5

注: (以下部分申请人员不用填写)

## 5 IACUC 审查表

初审意见 (主审医)	复审意见 (专家)	IACUC 意见
杨月新	杨凡	高亚南

## 6 委员会结论:

☒ 通过 ☐ 方案需修改后通过 ☐ 动物实验不予通过



# 动物实验伦理审查同意书

Approval of Animal Ethical and Welfare

步宏 教授

经四川大学华西医院实验动物伦理委员会初审和复审审查后，您申报的课题  
间充质干细胞与大鼠原代肝细胞共培养形成肝脏类器官

符合国家实验动物福利伦理的相关规定，给予通过。

伦理备案号： 2020007A

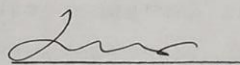
Dear Professor Bu

Animal Ethics Committee have a meeting as scheduled, the participators have  
evaluated the care and use of animals described in the protocol  
of Rat hepatocyte organoid formed by co-cultured with  
mesenchymal stem cells  
and find the procedures described as appropriate and acceptable.

Approval No. 2020007A

华西医院实验动物伦理委员会主席

Signature of Chairman



时间

Date

2020.2.12

