

东南大学动物实验伦理审查表

Animal Experimental Ethical Inspection
Form of Southeast University


编号 (No): 20190227011

| | | | | | | | | |
|--|--|---------------------------|--|--------------------------|--|--------------------------|--|--------------|
| 申请人填写的相关信息 (Related information filled by applicant) | 申请单位 Name of organization | | 东南大学 | | 经费代码 Funding code | | | |
| | 申请人 Applicant | | 李娜 | | 申请人学历 Education of applicant | | 硕士 | |
| | 技术职称 Professional title | | 住院医师 | | 课题级别 Grade of Project | | 国家自然科学基金 NSFC (Natural Science Foundation of China) | |
| | 实验名称 Experiment title | | CNN3-206 (长链非编码 RNA) 通过吸附 miR-212 激活 Caspase10 促进肠上皮细胞凋亡、自噬介导克罗恩病的通路机制研究 | | | | | |
| | 质量合格证编号 Number of Quality certification | | 暂无 | | 动物实验设施合格证编号 Number of Experimental Facilities certification | | SYXK (苏) 2016-0014 SYXK (Su) 2016-0014 | |
| | 拟进动物情况 | 动物来源 Source of animal | | 安徽医科大学动物实验中心 | | | | |
| | | 品种品系 Species of strain | | SD 大鼠 | 等级 Grade | SPF | 规格 Specifications | 180-220g |
| | | 数量 Number | | ♂ 20 只、♀ 20 只， 共 40 只 | | 申请日期 Application date | | 2019. 02. 27 |
| | | 进驻日期 Entering date | | 2019 年 10 月 | | 结束日期 Ending date | | 2020 年 3 月 |
| | 实验要点，包括实验目的、实验方法、观测指标、实验结束后处死动物的方法等(Aim of experiment , Outline of experiments, experimental methods, observational index, executing animal method, et al) | | | | | | | |
| <p>目的：在动物水平，抑制 lncRNA CNN3-206 的表达水平，观察病理改善情况，验证机制研究结果。</p> <p>方法及观测指标：66 只 6 周龄健康雄性 Wistar 大鼠，随机分为 4 组，其中 3 组 48 组大鼠，采用 2, 4, 6-三硝基苯磺酸 (TNBS) 建立模型，假手术组 16 只以生理盐水灌肠代替 TNBS。TNBS 模型组分为 3 组，每组 15 只大鼠。模型造模后 1h，第 3 组 (15 只) 腹腔内注射 3.0×10^6 PFU 病毒 (如 Ad5-lncRNA)，第 4 组 (15 只) 采取同样方式注射等量对照病毒 (如 Ad5LacZ)；3 天后，两组各采取同样的方法重复注射一次 (参考文献：Viral vectors expressing immunoregulatory cytokines to treat inflammatory bowel disease, gut)。在第 3 天，假手术组和对照组随机取 3 只大鼠，处死，取离肛门 6cm 处的结肠组织，制备石蜡切片，采用 HE 染色观察结肠的病理改变 (模型组组织水肿、炎性细胞浸润、杯状细胞丢失、肠壁增厚等)，判断模型造模成功情况。造模后 1~7d 为急性炎症反应，7~21d 为慢性炎症反应期，慢性炎症反应期开始 模型组各取 15 只大鼠分别以相同浓度的载有空载或 lncRNACNN3-206 过表达质粒经鼠尾静脉，注入小鼠体内，每日 2 次。</p> <p>(1) 结肠的形态观察：质粒注射后第 3 天、6 天、9 天、12 天，3%戊巴比妥钠麻醉各大鼠，取距肛门 4cm 结肠至回盲部结肠，沿肠系膜纵行剖开，用冰的 PBS 缓冲液清洗干净，观察大体形态改变并摄片。取距肛门 6cm 的结肠组织 (长 0.5cm)，经多聚甲醛固定的结肠组织制成石蜡切片 (4μm) 后，进行常规 HE 染色，并进行光镜观察及摄片。</p> <p>(2) 分子检测：血清中分子检测：3%戊巴比妥钠麻醉大鼠，取各组</p> | | | | | | | | |



大鼠腹主动脉血，静置约 0.5h 后离心分离血清，采用 ELISA 试剂盒检测血清中炎性因子水平（Th1 相关因子：IFN- γ 、IL-2；Th2 相关因子：IL-4、IL-13；Th17 相关因子：IL-17、IL-23；Treg 相关因子：IL-10、TGF- β 1）。部分血清提取外泌体，针对外泌体中 RNA，采用 qRT-PCR 检测 lncRNA 的水平。

实验结束后剩余存活老鼠处理：使用 7%的水合氯醛，腹腔注射 0.5ml/100g，约 2min 进入麻醉期，麻醉后吸入二氧化碳致死。

| | | | | |
|---------------------------------|---|-------------------|------------------|-------------|
| 申请人签名 Signature of applicant |  | 联系电话 Telephone | 办公室(O) 移 动(M) | 15062223913 |
|---------------------------------|---|-------------------|------------------|-------------|

（请翻看背面）

大
伦理审查

编号 (No): 20190227011

| | | | | |
|---|--|--|--|--------------------------------|
| <p>Announcement of applicant</p> <p>申请者声明</p> | <p>我将自觉遵守实验动物福利伦理原则，随时接受实验动物伦理委员会的监督与检查，如违反规定，自愿接受处罚。(I will abide by the rules of animal experimental ethics, accept the supervision and inspection of the animal experimental ethics committee, and accept the punishment if any infringement.)</p> <p>声明人签名 (Signature): 李娜</p> <p>2019 年 2 月 27 日</p> | | | |
| <p>Inspection contents</p> <p>审查依据</p> | <p>1. 该项目是否必须用实验动物进行实验，即能否用计算机模拟、细胞培养等非生命方法替代动物或用低等动物替代高等动物进行实验 (Does laboratory animal must be used in the project? Could other methods such as computer simulation, cell culture or using the low-grade animal instead of the high-grade animal?)</p> <p>2. 表中所填申请人资格和所用动物的品种品系、质量等级、规格是否合适，能否通过改良设计方案或用高质量的动物来减少所用动物的数量 (Are the qualification of applicant, species or strain, grade and specifications of animals suitable? Could the quantity of animals be reduced by improving the study design or using high quality animals?)</p> <p>3. 能否通过改进实验方法、调整实验观测指标、改良处死动物的方法，来优化实验方案、善待动物 (Could the study design and animal treatment be refined by ameliorating experimental method, adjusting observational index, executing animal method?)</p> | | | |
| <p>Results of inspection</p> <p>审查结果</p> | <p>课题负责人意见</p> <p>Project director attitude</p> | <p>同意 <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>Agree <input checked="" type="checkbox"/></p> | <p>不同意 <input type="checkbox"/></p> <p>Disagree <input type="checkbox"/></p> | <p>签名 李娜</p> <p>Signature</p> |
| | <p>实验动物伦理委员会意见</p> <p>Attitude of the Animal Care & Welfare Committee</p> | <p>同意 <input checked="" type="checkbox"/></p> <p>Agree <input checked="" type="checkbox"/></p> | <p>不同意 <input type="checkbox"/></p> <p>Disagree <input type="checkbox"/></p> | <p>签名 王悦斌</p> <p>Signature</p> |
| <p>备注 (Remark)</p> | | | <p>东南大学实验动物中心</p> <p>签章 (Stamp)</p> <p>2019 年 2 月 27 日</p> | |

说明:

1. 编号由东南大学实验动物中心分配并填写。
2. 表格所有填写内容请用签字笔填写或电脑打印 (签名处除外)。项目负责人、执行人及合作单位负责人均需在声明人签字栏签字。
3. 需随本表递交相关审查资料如实验方案、课题标书等。要求写明项目的意义、必要性、项目中有关实验动物的用途、饲养管理或实验处置方法、预期出现的对动物的伤害、处死动物的方法、项目进行涉及动物福利和伦理问题的详细描述。