



2017.03.29

第 005 期

最新消息

開課資訊

開課時間	開課地點	課程名稱與內容
2017 年 4 月 6 日	實驗動物中心 會議室	非侵入式 3D 超音波影像系統說明會
2017 年 4 月 12 日	實驗動物中心 會議室	Scil Vet Focus 5 血球分析儀說明會
2017 年 4 月 19 日	實驗動物中心 會議室	小鼠非侵入式連續性血壓監測儀 (Visitech BP 2000)說明會
2017 年 4 月 25 日	實驗動物中心 會議室	小動物 X 射線幅照儀(Rad source RS2000)

本期內容	最新消息與公告	1	實驗動物學術研討會專題	8
	焦點人物	3	高階儀器區介紹- 非侵入式超音波影像系統	11
	實驗動物技術學習護照課程天地	4	胚顯微注射針之製備	13
	實驗動物中心手術室介紹	5	獸醫師專欄-小鼠常見脫毛情況	15



最新公告

實驗動物中心公告

✧為提升實驗動物福祉，實驗動物中心於3月6日全面更換新式墊料，請各位研究人員注意以下事項。

1. 因小鼠會使用新式墊料作巢，請注意仔鼠於巢內隱蔽的問題。
2. 新式墊料遇潮濕時顏色變化不明顯，請注意濕氣及漏水問題。
3. 因新式墊料價格較高且較過往墊料耐髒，故各位研究人員可適度減少更換頻率，延長單次使用時間。





焦點人物—李芬姻阿姨

本期專訪的焦點人物是實驗動物中心代養區裡負責中大動物的李芬姻阿姨。想必在實驗動物中心進行實驗的研究人員一定都對於李阿姨十分了解，因為李阿姨對於所有研究人員就像是對待自己的孩子一般，對人一向和善的她，每當研究人員有任何問題，她總是一一細心解答，或是當實驗所有需求的時候求助於她，李阿姨也能夠為所有使用者提供幫助和解決的方法，當然，李阿姨對於實驗動物中心裡的所有人也是如此，當我們生病、身體不舒服的時候，她總是第一個跳出來照顧我們，甚至是親自帶我們去看醫生，替我們煩惱，幾乎實驗動物中心所有的同事都受過李阿姨的幫助。有她在，實驗動物中心更像是一個溫暖的大家庭。



李芬姻阿姨在實驗動物中心裡負責的是代養區裡的中大型動物，在過去動物保護觀念尚未如此興盛的時候，李阿姨就已經對於提升實驗動物的福祉有許多的作為，她細心照料著每一籠每一隻的實驗動物，不論是剛從其他地方新入室到動物中心或是剛做完手術的實驗動物，李阿姨總是特別用心的照顧，長久累積下來的經驗讓她藉由外觀、活動力，甚至是一些細小、些微的地方就能來判斷哪些實驗動物需要特別的觀察與照顧，而這樣的多加呵護，能夠讓這些實驗動物能夠恢復健康進而讓研究人員的實驗進行得更加順利。如今在實驗動物中心的中大型動物區裡充滿巧思，像是豬舍裡面的美妙音樂、各式各樣豐富的环境豐富化物品、玩具等，許多都是透過李阿姨的巧手製作而來。而在兔舍裡的兔子以往總是吃著一成不變的飼料，現在則是有李阿姨所帶來的蘋果和牧草，即使這樣的小細節，李阿姨一點都不馬虎，唯有這樣細心的照料才能將實驗動物的品質更加提升。

李阿姨對於實驗動物中心是如此重要，然而由於已經屆齡，她必須在4月卸下這十幾年的職務，而實驗動物中心也會安排人員與她交接，透過職務的交接不僅僅讓負責中大動物區的人員能夠明瞭自己未來該做些什麼，更重要的是希望能透過這段時間去學習李阿姨過去長久以來所累積的經驗，透過李阿姨的幫助，期盼我們能將此珍貴的經驗傳承累積下去，讓實驗動物中心的服務與品質更加提升。



實驗動物技術學習護照課程天地

實驗動物中心於今年1月份開設由彭貴春老師所授課的骨髓移植以及姚雲欽老師所授課的胰臟癌模式課程。彭老師於講解開始時謙稱自己在骨髓移植這領域並非是專家，所以只是將自己在這領域所得到的資訊和經驗與大家分享，但其實透過彭老師細心的講解和與學員的問答，讓未來對於骨髓移植這項技術與相關研究有所關注的學員能有更多的認識。姚老師則是先進行基本的教學，讓學員對於接下來的步驟有基本的認識，接下來進行實地的操作，最後再由實驗動物中心高階儀器進行實驗成果的確認，透過這些步驟讓學員對於小鼠的胰臟癌模式有所認識，並能在未來確實落實3R的精神。

實驗動物技術學習護照課程照片



← 彭貴春老師透過圖解跟細心的講解，讓學員對於骨髓移植的技術有初步的認識，課後也讓學員盡情發問，並一一的為所有學員解答。

胰臟癌模式結合了動物實驗技術以及高階儀器操作的相關技術，在研究人員進行操作後交由實驗動物中心高階儀器技術員透過非侵入式活體分子影像系統(IVIS)確認注射是否達到預期效果。





實驗動物中心手術室基本介紹

劉芝婷

實驗動物中心手術室為提供有手術實驗需求的研究人員一個完善的操作空間，並有多樣儀器設備可供租借使用，以方便研究人員順利進行實驗。以下簡單介紹手術室設施。

可調式手術台與攝影式手術燈

(1) 不鏽鋼製手術台，除可承重一百公斤以上之重量，同時可調整高低傾斜角度和桌面方向，方便各項實驗手術操作。各位研究人員欲使用手術室各式手術台，請確實提前於實驗動物中心網頁上預約，以免發生實驗期間無手術台可使用的情形。

(2) 無影手術燈配有鏡頭，可同步投影影像於螢幕，方便教學操作或記錄實驗。



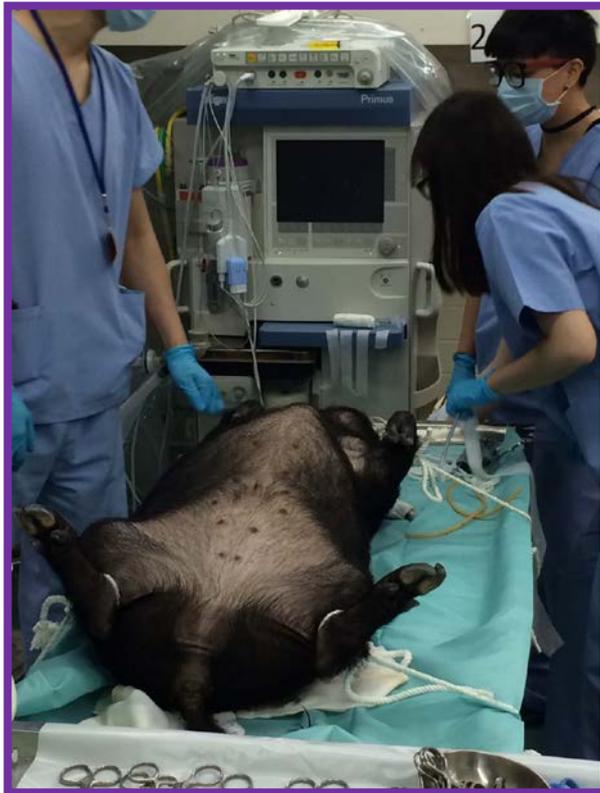


實驗動物中心手術室基本介紹

劉芝婷

大型動物麻醉機與監測系統

人醫等級麻醉機與監測系統搭配中央氣體系統，讓大型動物手術更安全快速。此外亦搭配落地移動式吸引器、手術電射刀儀器與移動式麻醉氣體監測器。



小型動物麻醉機

小型動物(老鼠、兔子)專用麻醉機，適合開胸手術、微型手術以及長時間手術，可增加手術的安全性，研究人員可依據自己的手術需求，進行小型動物麻醉機 sop 設定。



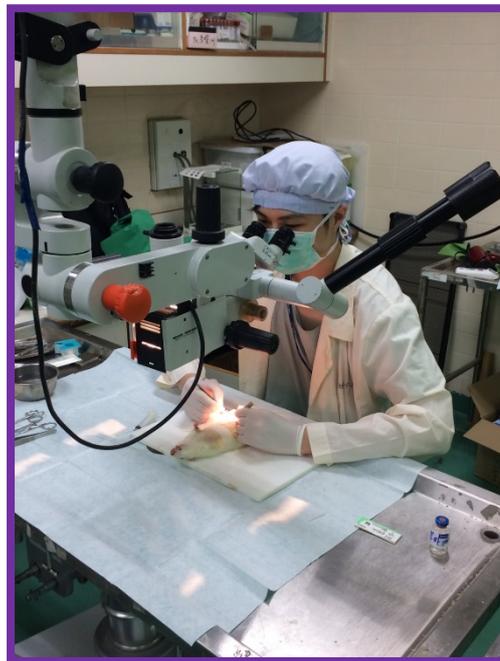


實驗動物中心手術室基本介紹

劉芝婷

顯微手術用顯微鏡

供使用者進行顯微手術需求實驗(如：血管縫合或眼角膜手術等)。另有教學鏡頭以及外接鏡頭，自備接頭即可投影於螢幕或是將實驗結果存入電腦。



由於手術室目前使用者眾多，請各位研究人員務必遵守手術室使用規則。並維持使用環境整潔、確實登記儀器使用記錄，兔子及豬隻麻醉需填寫麻醉記錄單供日後查詢使用。未來實驗動物中心手術室也會繼續改善及精進手術室內的環境與設備，期許能帶給各位研究人員更完善的實驗空間。



2016 年實驗動物學術研討會專題

獸醫區 鍾佩蓉

實驗動物再利用課程心得

為解決人類健康上的問題，藥品、醫療器材的研發與疾病機轉的探討會使用最佳的動物模式作測試，例如研究自發性或感染性疾病、免疫系統疾病與腫瘤發生相關性的研究可利用免疫缺乏動物模式；藥物之抑癌效能及致癌安全性會利用癌症動物模式來評估；脊椎骨植入所運用的骨板、骨材，選用體型、體重和人相似的羊來做測試；果蠅則常應用於遺傳學的實驗。新藥在臨床前需要用動物實驗測試是否安全，有沒有效用，因此，人類的健康往往靠實驗動物作非常重要的安全把關。

近年來，重視動物保護逐漸成為世界趨勢，善待動物並提供友善的飼養環境，已經成為普世的價值觀，動物保護的議題熱絡的在國際會議中被討論，並逐年訂定相關計畫與措施，而動物實驗的 3R 原則：取代(Replacement)、減量(Reduction)、精緻化(Refinement)，也不斷的被重新檢討與修正。

「實驗動物再利用」於科學研究的思維下，考量動物取得不易，在不影響試驗與經濟等因素，而被用作減量的替代實踐方式，然而在動物福祉的評估下，不同試驗的進行是否會重覆對動物造成疼痛與不適，損及精緻化的精神，影響動物福祉則是實驗動物再利用一直不斷被挑戰的議題。對於實驗動物再利用的評估標準，哪種類型的試驗、試驗間的時間與可再利用動物的狀態評估標準，目前國內法源並沒有詳細的規範。因此，實驗動物之人道管理與動物倫理 3R 精神的遵循有賴各動物試驗機構的實驗動物照護及使用委員會(IACUC)來協助與監督，則 IACUC 與獸醫師的角色非常重要，必須不斷提升 IACUC 功能及獸醫師專業以強化機構內實驗動物的管理。

會議中講者也分享自己在國家實驗動物中心實驗動物再利用的評估與經驗，讓大家在討論中學習如何於實驗動物再利用的 harm 與 benefit 取得最好的平衡。案例中蘭嶼迷你豬在計畫一的實驗中進行超音波顯影劑醫材開發，做藥效學與藥動學的測試，掃超音波與靜脈給藥及採血，而後提出再利用的實驗計畫二作實驗豬的飼育照護、基本技術與儀器設備操作教育訓練，內容為麻醉、施打靜脈留置針、頸動脈採血與 CT 照射，評估的方向是未有造成動物極度侵入性與疼痛的實驗操作後，動物的生理與心理經獸醫師的評估通過才能作動物的再利用，並且於實驗過程對人員技術教育訓練進行評量。因此，實驗動物再利用前需作完整性的評估，動物生理與心理狀態是否能承受下一次的試驗、再利用的試驗是否能真正獲得研究的結果、所需要的經費等方面思考，也期待未來能夠訂定更明確能依循的規範，以提升動物福祉，達到動物 3R 精神的落實。



2016 年實驗動物學術研討會專題

代養區 鍾偉恩

實驗室生物安全規範課程心得

我國自 92 年 SARS 發生後，在台灣、中國大陸、新加坡等地接二連三的發生實驗室感染 SARS 事件，遂引發各國對實驗室生物安全的重視，以確保實驗工作人員健康及社區與環境安全。

周文祥管理師在演講中簡述了相關的法規、病原菌定義與風險、病原菌特質、實驗安全分類及軟體管理，而其中安全分類更是我國目前積極推動的重點之一，有助於全面提升實驗室生物安全水準。

演講中首先提到的是，88 年 6 月 23 日通過了傳染病防治法，主要就是為了杜絕傳染病的發生、傳染及蔓延，而法中的第 34 條更是與動物實驗息息相關。接著介紹 RG 分級：RG1 與人類健康成人之疾病無關，RG2 很少引起人類嚴重疾病，通常有預防及治療方法，RG3 可引起人類嚴重或致死疾病，可能有預防及治療方法，RG4 可引起人類嚴重或致死疾病，通常無預防及治療方法。最後簡單介紹實驗室生物安全等級之分級：BSL-1 只需要遵從標準微生物規範，備有實驗工作台及洗手槽即可，但 BSL-2 則需加入生物危害警告標識等，且須備有高壓滅菌器，而 BSL-3 更是要管制進入等且實驗室還須為負壓氣流，最後 BSL-4 不只要更衣、淋浴且需要獨立建物或隔離區域並有專用之進氣、排氣、抽真空及除污系統。

演講中周管理師也提供了幾個例子，講述實驗室感染事件的發生，像是在 2004 年西伯利亞病毒實驗室的研究人員，在意外被含有致命伊波拉病毒的針頭刺到後死亡，在意外發生後，任何曾與其接觸的人都要接受觀察三個星期，由此可知，各實驗室都應該訂定緊急應變計畫，應包括：災害預防、生物危害風險評估、人員意外暴露之處理及除汙醫療、人員及實驗動物之緊急疏散及撤離、暴露人員之醫療監視與臨床管理、流行病學調查及事故後復原處理等，而訂定計畫時，應考慮：高度危害性病原微生物之鑑別、高度危害性區域之位置、有感染風險的工作人員及民眾之鑑別、負責人員及其責任之鑑別、列出能安置已暴露或受感染人員進行治療及隔離之設施、已暴露過受感染人員之運送、利出免疫血清等物資、緊急裝備之供應等。

最後周管理師也提到，做實驗最重要的事，就是保護自己、環境、同伴的安全，也唯有如此才能讓實驗順利進行。





2016 年實驗動物學術研討會專題

組員 林依璇

我國獸醫師法規與獸醫教育課程心得

獸醫師執行業務常用的主要法規有獸醫師法(獸醫師執行業務之基本規範)、動物傳染病防治條例(包括防疫、檢疫規定及通報義務)、畜牧法及其他(動物用藥品管理法、動物保護法、管制藥品管理條例等)。我國獸醫師法規於 104 年 12 月 30 日修正部分條文，其中影響幅度較大的部分包括獸醫師執業登記、獸醫佐執業之落日條款、獸醫師及獸醫佐之業務區分以及獸醫師法第 5 條修訂為未來獸醫師執業必須每 6 年完成繼續教育規定積分並且辦理執照更新，每 6 年繼續教育積分合計至少達 120 分，課程內容包括：A. 專業領域 B. 專業品質 C. 專業倫理及相關法規 (B+C>12 分，超過 24 分以 24 分記)。

我國目前獸醫養成教育包含有 4 所大學獸醫院系(台灣大學、中興大學、嘉義大學、屏東科技大學)，並且未來將比照國外趨勢改為 6 年制；105 年度新增亞洲大學之學士後獸醫系(最短修業年限為 4 年)。另外臺灣大學及中興大學獸醫系已被港澳政府承認，該系的畢業生只要取得畢業證書，回港後向香港獸醫管理局申請為註冊獸醫，就能夠在香港執業。在獸醫課程內容的調整上，朝向 OIE(World Organisation for Animal Health, 世界動物衛生組織)所建議之核心課程建議及畢業後首日技能(Day one competence)與加強實習教育為努力方向，以期提升我國獸醫教育品質。





高階儀器區介紹 非侵入式超音波影像系統

獸醫區 林欣誼、鍾佩蓉

非侵入式超音波影像系統(Ultrasound)-Visual Sonics, Vevo 770

超音波成像原理是利用高頻率的音波(>30 MHz)射出後，穿過動物體時在不同組織介面對聲波的反射程度不同，並將這些反射的訊號收集後，經過電腦的精密運算處理以形成影像。另外，超音波無法在空氣中傳遞，必需藉由含水超音波膠作為介質來傳導，而骨頭與肺部組織為音波的不良導體，超音波在這些組織的穿透力很差，故無法進行這兩個組織的造影。



在活體動

物實驗中適用於小鼠內部臟器及腫瘤研究，而RMV708相較於

目前中心所購買的探頭有 RMV704 及 RMV708，

	中心頻率 MHz	解析度 μ	焦距 mm	FOV mm
RMV704	40	40	6	14.5
RMV708	55	30	4.5	10.9

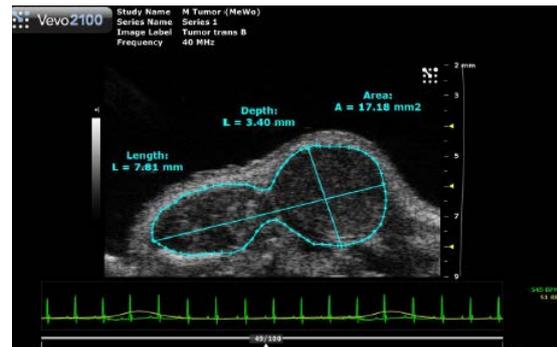
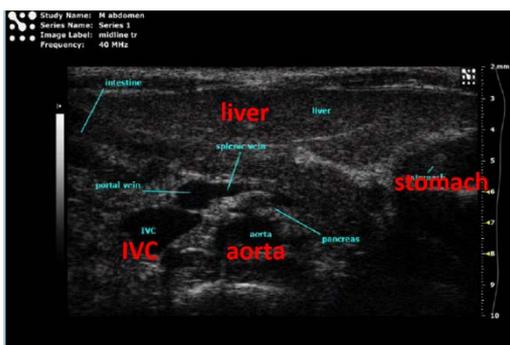
RMV704 較適合觀察表淺層的組織及血管。而在非活體的實驗中，超音波可應用於超音波顯影劑的研發。

超音波的優點包括能得到即時影像，並能在不犧牲動物的前提下作時間點的觀察，減少實驗個體間的差異，並有效減少動物使用量，進而達到 3R 的目的及確保實驗結果的準確性。

儀器功能模式介紹與應用

1. B-mode 提供解剖學上的 2D 影像

可用超音波探頭掃描有興趣的範圍並擷取影像，便能獲得組織的大小與形狀，下圖左為腹部臟器與血管分佈狀況，下圖右是皮下腫瘤的照影，再利用分析軟體針對腫瘤的長寬進行測量，並可計算面積。





高階儀器區介紹 非侵入式超音波影像系統

獸醫區 林欣誼、鍾佩蓉

2. Pulse wave Doppler mode 可量測血流的流向以及流速

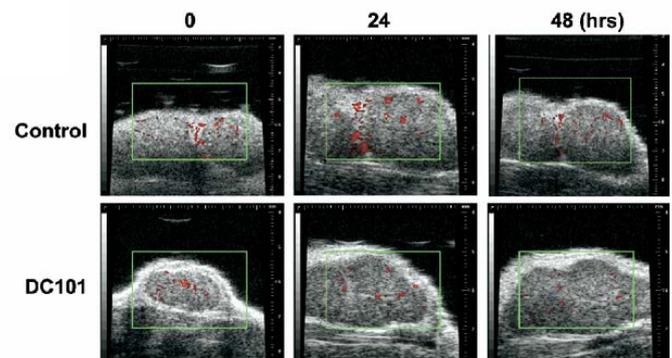
先在 B mode 模式下找到欲照影的血管，下圖左為小鼠的右頸動脈在 B mode 下的影像，再轉換至 Pulse wave Doppler mode(下圖右)，即可於畫面下方波峰所對應的讀值得知血流流速。



3. Power Doppler mode 觀察血管內血流的分布情形

右圖為控制組和實驗組在 0、24、48 小時皮下腫瘤生長情況的超音波圖，利用 Power Doppler mode 偵測血流訊號來觀察血管增生的情況。由圖可得到的結論是，在第 48 小時，實驗組腫瘤內的血流訊號相較於控制組少。

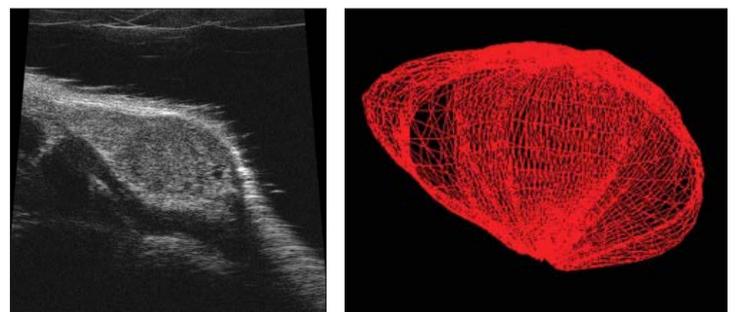
另外，可以利用此模式觀察動物血管 ligation 實驗後，血流阻塞的情況。



4. 3D-mode 可重建特定區域內的 3D 影像

如欲計算腫瘤的體積，可利用超音波在 B mode 找到位置後，設定掃描範圍進行 3D 影像擷取，再利用分析軟體圈選出腫瘤位置即可得到 3D 的影像及體積。

下圖左為皮下腫瘤在 B mode 的影像，下圖右為分析後的腫瘤 3D 示意圖。





胚顯微注射針之製備

代養區 駱亞欣區長

基因轉殖動物產製的影響因素很多，如DNA之濃度、顯微操作之熟練度及注射針所注射位置等，在原核顯微注射技術中，顯微注射針及胚移置用針之製備，為基因注入後胚存活及基因轉殖成功與否之重要因子。所以介紹三種胚操作時使用的針之製作方法



1. 基因注射針 (injection pipette) 之製備

使用內壁具凹槽 (internal glass filament) 之薄壁毛細管，方便於DNA溶液之裝填。首先利用水平式拉管儀 (puller, Narishige PN-3, Japan) 依Heat、Pull、Velocity、Time、Pressure設定好的條件即可拉成兩支針。所拉出之注射針尖端需在 $1\ \mu\text{m}$ 以下，因開口過大將導致胚之損傷及裂解。



毛細管被拉成二支針後，即可將DNA溶液以由後端置入基因注射針內壁，利用內壁凹槽之毛細現象，將DNA溶液吸至針尖。即可安裝於顯微操作作用之注射器上，供注射之用。

2. 固定吸胚針 (holding pipette) 之製備

取長度10cm毛細管，以水平式拉管儀在適當之條件下拉成兩支針。再利用燒針器 (microforge, Narishige MF-9, Japan) 取適當的位置，以電烙絲前端之熱玻璃球截切。鼠胚操作為例，外徑 $80\sim 100\ \mu\text{m}$ 處切平，並將切口處燒成圓滑狀，使內徑在 $10\sim 15\ \mu\text{m}$ 間。即可安裝於顯微操作作用之固定器上，供固定胚用。





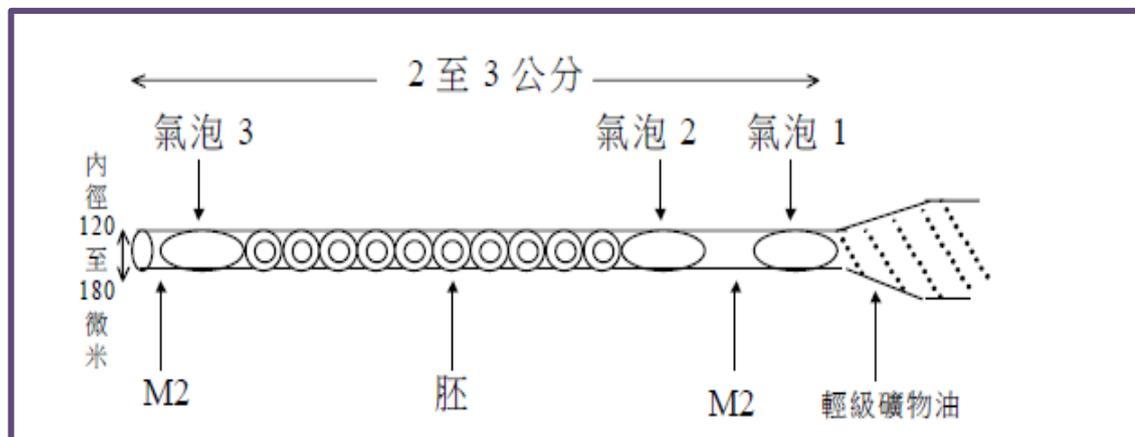
胚顯微注射針之製備

代養區 駱亞欣區長

3. 胚移置用微管 (embryo transfer pipette) 之製備

準備毛細吸管，以酒精燈拉製成二支針後，截切內徑為 $120\sim 180\ \mu\text{m}$ 之口徑為胚移置用針，尖端過火燒鈍 (burn polish) 後，配合口吸管 (mouth pipette) 即可作為鼠胚輸卵管胚移置用針。

經DNA注射後之原核胚，將小鼠胚依圖所示方式排列於胚移置玻璃針中，每側移置胚數一般在 $10\sim 20$ 個之間。



資料來源

吳信志、張南驥、錢嘉韻、陳文貴、楊天樹、沈朋志、李坤雄。1995。建立小鼠胚原核基因顯微注射技術。中畜會誌24:181-189。

吳信志、鄭登貴。1999。小鼠胚原核基因顯微注射—細胞組織培養與轉殖。pp. 45-60。國立台灣大學，生物技術研究中心。台北，台灣。

教育部顧問室「生物技術科技教育改進計畫」動物基因轉殖技術與實驗

Hogan, B., R. Beddington, F. Costantini and E. Lacy. 1994. Manipulating the Mouse Embryo, 2nd ed., pp. 173-175, 232-235. Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY, USA.

獸醫師專欄—小鼠常見脫毛情況

獸醫區 郭玉琴獸醫師

脫毛(Alopecia)：在小鼠很常見，尤其近交品系，診斷時必須各種原因皆考慮，一般無特殊症狀。



脫毛
BALB/c 小鼠，口鼻部脫毛。



脫毛
C3H/HeJ 小鼠，全身脫毛。



C57BL/6J 小鼠，遺傳性背部脫毛。



外傷
尾部多發外傷，BALB/c ByJ 小鼠僅 1 隻尾部正常無外傷，明顯併籠攻擊為元凶。其他 3 隻皆有明顯尾部外傷。



外傷
臀部皮膚脫毛，尾部出血性壞疽。



外傷
頸部、背部皮膚脫毛，傷口結痂。



獸醫師專欄—小鼠常見脫毛情況

獸醫區 郭玉琴獸醫師

脫毛依皮膚病變區部位，其可能原因不同：1.理毛行為-口鼻部、頸背部及臉部。2.打架-背部、臀部、尾根部及生殖器。3.籠架外傷-四肢。4.遺傳-例如 C57BL/6 常出現脫毛。以下依常見病變分別說明：

➤ Barbering 理毛

病因：小鼠理毛是一種與基因型相關的行為，大都常發生在母鼠，可歸因於主導行為、性過度疏導、產婦哺乳期小鼠，理髮和應激誘發理髮。

發生率：理毛是常見的。

臨床症狀：在口鼻周邊區域或背側頸區的頭髮最常發生。呈現裸露的皮膚是完好和正常的外觀，並無發炎紅腫或角質增厚脫落等病變。



➤ Fight wounds 打架傷口



病因：小鼠(尤其是雄性)可能因打架造成嚴重創傷。繁殖期的雌性也可能會打。有些品系如 DBA/2、FVB、BALB/c、SJL 及 C57BL/6 小鼠通常都會打。

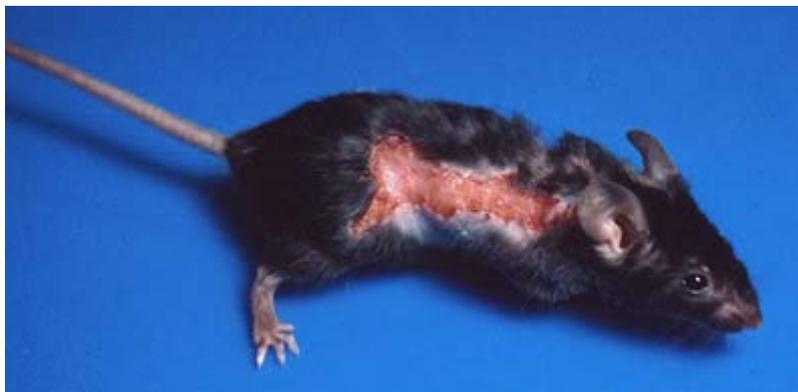
發生率：常見，尤其在公鼠間。

臨床症狀：傷口是通常位於面部、背部和生殖器部位上。如果尾巴咬出現，尾巴可能成為壞疽和脫落。傷口可能感染，併發展成膿腫。

病理症狀：常見多發局部性皮膚外傷。

診斷：診斷特徵沿著背部軀幹表面可見開放及和癒合的傷口。

➤ Ulcerative Dermatitis Syndrome 潰瘍性皮膚炎症候群



病因：潰瘍性皮膚炎症候群沒有已知原因。似乎是多因素的和可能與遺傳因素、強迫症、飲食、環境、性別和年齡有關。

發生率：潰瘍性皮膚炎的發生率是常見的 C57BL/6 小鼠或 C57BL/6 背景品系的品系。

臨床症狀：C57BL/6 小鼠是容易常常因過度搔抓進展到表皮潰瘍的脫髮患皮膚炎。老鼠會多次沿頭部、頸部、肩膀和腋間等部位抓傷。表皮病變經常因感染致病菌提高刺激，引起持續反覆發炎和感染。有慢性病變，潰瘍的領域可以留疤痕，導致皮膚攣縮和對活動的限制。

病理症狀：小鼠潰瘍性皮膚炎發展成由中性粒細胞、巨噬細胞、肥大細胞和偶爾的淋巴細胞混合真皮炎症細胞浸潤局部性潰瘍，另可見周邊表皮增生。

診斷：由皮膚肉眼病變和組織病理學觀察可以做出診斷。

資料來源：

1. <http://dora.missouri.edu/mouse/mouse-hepatitis-virus-mhv/>。
2. 陳憲全、梁鍾鼎、洪昭竹。小鼠常見疾病圖譜。國科會國家實驗繁殖及研究中心編印。1996。



發行人:張俊彥 院長

總編輯:呂佩融 主任

執行編輯:陳宗熙、林孟奇、方榮華、駱亞欣、鍾佩蓉、林欣誼、郭玉琴、李芬嫻、林依璇、劉芝婷

發行單位:國立成功大學醫學院實驗動物中心

電話: 2353535#5660

電子郵件: em75660@email.ncku.edu.tw

地址:台南市東區大學路1號12F動物中心