C_{57}BL/6J小鼠主要器官的组织学数据库的建立

邓玉江[1],陈俊颖[2],邱全光[3a],王 勇[3b],魏 泓[3b] (1.西南大学生命科学院,重庆 400715;2.解放军第324医院病理科,重庆 400020;3.第三军医大学:a.信息网络管理中心;b.基础医学部实验动物学教研室,重庆 400038)

[摘 要] **目的** 建立C_{57}BL/6J小鼠主要器官的组织学数据库。**方法** 选取C_{57}BL/6J小鼠雌性10只,雄性10只,将其麻醉致死,解剖切取心、肝、脾、肺、肾、胃等45个器官和组织,用10%的中性缓冲福尔马林固定,石蜡切片,常规HE染色,用显微镜观察,图像采集,用计算机对图像进行标注。采用SQLSEVER2000数据库管理系统,C#编程语言,B/S(浏览器/服务器)为系统构架。**结果** 解剖20只C_{57}BL/6J小鼠主要器官和组织,制做了1 589张切片,观察采集了13 578张图片,对1 563张图片进行了标注,建立了容量达7.85 GB的C_{57}BL/6J小鼠主要器官的组织学数据库。**结论** 构建可查询的C_{57}BL/6J小鼠主要器官的形态学数据库,是研究疾病模型小鼠方便快捷的对照图库。

[关键词] C_{57}BL/6J小鼠;组织学;切片;数据库

[中图分类号] Q954.6;C37 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2010)03-0166-02

Establishing a digital histology library of the main organ of the C_{57}BL/6J mice

DENG Yu-jiang, CHEN Jun-ying, QIU Quan-guang, WANG Yong, WEI Hong (Life Science Institute, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: Objective To establish a digital histology library of the main organ of the C_{57}BL/6J mice. **Methods** Twenty C_{57}BL/6J mice (male 10, female 10) were anesthetized deeply, totally 45 organs and tissues were taken and fixed by 10% formalin, including heart, liver, spleen, kidney, stomach, etc. embedded by paraffin and sectioned, stained with haematoxylin and eosin, and observation under microscope. Then the images were marked in computer. The histology library was established by SQLWEVER2000 database management system, C# programming language and Browser/Server. **Results** The main organs and tissues were dissected, 1 589 pieces of sections were got, 13 578 images were observed, and 1 563 pictures were marked. A large histology library (7.85 G) of C_{57}BL/6J mice was established. **Conclusion** The histology library of C_{57}BL/6J mice is benefit for researching disease model mice.

Keywords: C_{57}BL/ 6J mice; histology; section; digital library

小鼠是解析人类基因组功能、研究人类疾病发病机制、进行新药研究、探索新型治疗方法、开展药物安全性评价的最重要的模式生物[1]。目前已建立了约4 000多个小鼠品系,遗传工程小鼠品系共300余种,其中142种为自主培育品系,这些小鼠品系中包括糖尿病、肥胖症、白内障、肢体残废、发育缺陷、心血管系统障碍等多种人类疾病的动物模型。但这些疾病动物模型的研究中都需要以正常小鼠组织学作对照。因此,为了方便比较正常小鼠的各个器官的组织学,本实验选取C_{57}BL/6J小鼠作为实验对象,利用组织学技术和网络技术,对C_{57}BL/6J小鼠的主要器官的组织学进行数据库建立,为实验研究提供参考依据。

[基金项目]国家科技部"十一五"科技支撑计划课题(2006BAI23B04);国家"973"课题(2007CB513007)

[作者简介] 邓玉江(1968-),男,重庆市万州区人,西南大学生命科学院2007级硕士研究生,主要从事动物分子遗传方面的研究。E-mail:120748169@qq.com

[通迅作者] 魏 泓,第三军医大学实验动物学教研室

[收稿日期] 2010-01-20 [修回日期] 2010-02-25

1 材料与方法

1.1 实验动物

采用6周龄C_{57}BL/6J小鼠(南京大学模式动物研究所提供),体重(17±2)g,雌性10只,雄性10只。在SPF级环境中饲养,每笼2只,一雌一雄,自由饮水进食,饲料采用SPF级全价营养普通鼠饲料。动物饲养笼具、饮水瓶定期消毒,所用垫料高压灭菌,饲养房内定期紫外灯消毒。

1.2 主要仪器

TSJ-Ⅲ型自动组织脱水机(常州市中威电子仪器厂);BMJ-Ⅲ型包埋机、BMJ-Ⅲ型病理组织包埋冷冻台(常州中威电子仪器厂);切片机(美国Thermo Shandon公司);HI1210贴片机(德国Leica公司);BX51生物显微镜(日本Olympus公司)。

1.3 标本取材

将小鼠麻醉后处死,用手术剪沿颈部正中线剪开腹腔,取出心、肝、胃、小肠、大肠、脾、肾、肺、气管、食道、眼、耳、舌、舌下腺、颌下腺、腮腺等45个器官和组织,分别装入编号的试管,用10%福尔马林固定。

1.4 组织切片制备

将10%的中性缓冲福尔马林固定的标本经蒸馏水冲洗

0.5 ~ 1 h→70% 酒精浸泡 24 h→80% 酒精浸泡 24 h→95% 酒精Ⅰ浸泡 30 min→95% 酒精Ⅱ浸泡 30 min→100% 酒精Ⅰ浸泡 30 min→100% 酒精Ⅱ浸泡 30 min→100% 酒精与二甲苯混合液(1∶1)浸泡 20 min→二甲苯Ⅰ浸泡 20 min → 二甲苯Ⅱ浸泡 20 min →软蜡浸泡 10 min →硬蜡浸泡 10 min→包埋制成石蜡块→连续切片(厚度为 5 μm)→摊片→60 ℃烤片 1 h→石蜡切片室温保存备用。取不同切面的各个标本常规 HE 染色,细胞核呈蓝色,细胞浆、结缔组织等其他组织呈不同程度的红色。观察不同的组织。从每个标本取 600 μm,每间隔 4 μm 进行石蜡连续切片各 30 张,每间隔 10 张取 1 张行 HE 染色。

1.5 建立数据库

将每一张染好的切片分别在放大倍数为 10 × 4、10 × 10、10 × 20、10 × 40 显微镜下观察,然后在上述各倍数下用数码相机照相,采用 Adobe Photoshop 8.0 应用软件对图片进行处理,调整图片的亮度和对比度,根据不同的视野对图片进行裁剪,突出视野中的主要组织结构。采用数据库管理系统 SQLSEVER2000,C#编程语言,系统 B/S(浏览器/服务器)架构,建立数据库。

2 结果

系统地观察了 20 只 C_{57}BL/6J 小鼠 45 个器官组织,制做了 1 589 张切片,共采集 13 578 张图片,选出清晰的 1 563 张图片,通过 Adobe Photoshop 8.0应用软件对图片进行处理,采用数据库管理系统 SQLSEVER2000,C#编程语言,系统 B/S 架构,构建了既可在局域网,也可以在广域网上浏览的可查询的 C_{57}BL/6J 小鼠主要器官的组织形态学数据库(图 1),容量达 7.85GB。

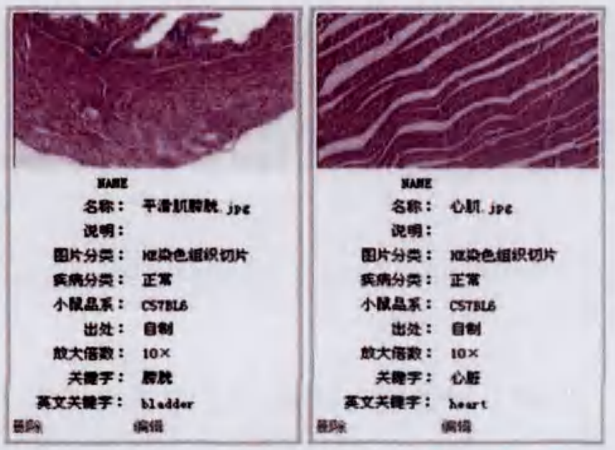


图 1 数据库中输入的组织学图片及标注

3 讨论

遗传工程 C_{57}BL/6J 小鼠为脊椎动物门、哺乳纲、啮齿目、鼠科、鼷鼠属、小鼠种、C_{57}BL/6J 小鼠品系,是可提供研究的活体动物,被广泛地用于各种领域的研究,包括心血管生物学、发育生物学、糖尿病及肥胖症、遗传学、免疫学、神经生物学及感觉生物学等学科的研究。如动脉粥样硬化(atherosclerosis,AS)是多因素导致的严重危害人类健康的常见疾病之一。良好的动物模型是研究 AS 病理过程和药物干预效果的重要手段。利用基因敲除技术成功地复制出的载脂蛋白 E 基因缺陷(ApoE Gene Knockout ApoE2P2)小鼠[2]。在普通饲料喂养条件下,该小鼠可以形成明显的 AS 改变。ApoE 基因敲除小鼠是研究动脉粥样硬化等心血管疾病较好的动物模型。近年来 C_{57}BL/6J 小鼠也被应用于运动与 AS 研究中。有作者应用 C_{57}BL/6J 小鼠证实有氧运动减少动脉 AS 斑块面积[3-5]。但是不管是哪种疾病小鼠做研究都需要正常小鼠作实验对照。因此,为了方便比较正常小鼠的各个器官的组织形态,本研究选用 C_{57}BL/6J 小鼠作为实验对象,选取 C_{57}BL/6J 小鼠的主要器官心、肝、脾、肺、肾、胃等 45 个器官和组织,利用组织切片技术,在显微镜下观察、摄影、图像采集、图像标注,采用 SQLSEVER2000 数据库管理系统,C#编程语言,B/S(浏览器/服务器)为系统构架,建立了容量达 7.85 GB 的 C_{57}BL/6J 小鼠主要器官的组织形态学数据库。再通过网络技术建立了容量达 7.85 GB 的 C_{57}BL/6J 小鼠主要器官的组织学数据库。

本研究采用正常健康生长旺盛期的小鼠,其组织形态处于最佳生长状态,最终建立了以心、胃、肠、肺等为主的小鼠主要器官的组织形态学数据库。构建可查询的 C_{57}BL/6J 小鼠主要器官的形态学数据库,是研究疾病模型小鼠方便快捷的对照图库,作为 C_{57}BL/6J 小鼠疾病模型的组织学参考依据。但是要建立完整的小鼠数据库,还需要进一步的工作。

[参考文献]

[1] 颜 伟,胡厚源,周 林,等. 两种 LXR 激动剂对 ApoE 基因敲除小鼠动脉粥样硬化影响的对照研究[J]. 第三军医大学学报,2005,27(5):381 - 384.

[2] Plump AS, Smith JD, Hayek T, et al. Severe hypercholes2 terolemia and athero-sclerosis in apolipoprotein E-deficient mice created by homologous recombination in ES cells[J]. Cell, 1992,71(3):343 - 353.

[3] Meilhac O, Ramachandran S, Chiang K, et al. Role of arterial wall antioxidant defense in beneficial effects of exercise on atherosclerosis in mice[J]. Arterioscler Thromb VascBiol, 2001,21(10):1681 - 1688.

[4] Napoli C, Williams-Ignarro S, de Nigris F, et al. Long-termcombined beneficial effects of physical training and meta2bolic treatment on atherosclerosis in hypercholesterolemicmice[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004,101(23):8797 - 8802.

[5] Ramachandran S, Penumetcha M, Merchant NK, et al. Exercise reduces preexisting atherosclerotic lesions in LDLreceptor knock out mice[J]. Atherosclerosis, 2005,178(1):33 - 38.

(编辑:郭光金)