

安徽实验动物信息

ANHUI LABORATORY ANIMAL INFORMATION

2021 年第 3 期总 42 期

安徽省实验动物学会

2021 年 5 月 12 日

目 录

[工作动态]

心怀敬意，感恩有你—安徽高校“世界实验动物日”科普活动集锦····· 1

[热点关注]

国药新冠疫苗数据首次公开，世卫组织揭开细节；Nature 综述中国批准的 5 个疫苗····· 9

[综合资讯]

写在《实验动物管理条例》发布实施三十周年系列篇之十六—非人灵长类模式动物····· 14

责任编辑：田军 刘骅 周宁

电话：0551-63368779

地址：合肥市梅山路 69 号

邮编：230031

E-mail: 945651787@qq.com ahmulh@163.com 632333919@qq.com

工作动态

心怀敬意，感恩有你—安徽高校“世界实验动物日” 科普活动集锦

编者：4月24日是世界实验动物日（The World LabAnimal Day）。实验动物对人类健康事业作出了巨大的贡献和牺牲，尤其2020年新冠疫情爆发以来，实验动物更是担当了“抗疫英雄”的角色，在新冠疫苗研制及检测中奉献了生命。2021年4月24日，中国科学技术大学、安徽医科大学、安徽中医药大学、安徽农业大学等合肥知名高校实验动物中心举办了“世界实验动物日”科普活动，以铭记实验动物对人类健康事业做出的贡献。

感恩医路有你 致敬动物英雄

—“世界实验动物日”纪念活动

2021年4月24日上午，安徽医科大学举办了“世界实验动物日”纪念活动，安徽医科大学党委副书记刘群英出席并致辞。他向师生介绍了“世界实验动物日”的来历，并高度评价了实验动物对人类健康事业作出的巨大贡献和牺牲，尤其2020年新冠疫情爆发以来，实验动物更是“抗疫英雄”，在新冠疫苗研制中厥功至伟。

“致敬奉献，致敬生命”，数以千万的实验动物为了人类医药事业的发展“向死而生”，担当人类的“替难者”，我们必须感恩它们的奉献，回馈它们的牺牲。



学会理事长李俊教授与安徽医科大学党委副书记刘群英共同为安徽医科大学实验动物纪念碑揭幕,安徽省实验动物中心主任黄德武、安徽医科大学相关部门负责人参加此次活动,百余名师生向纪念碑依次献花,为动物英雄们送上崇高的敬意与深深的悼念。

“落其实者思其树,饮其流者怀其源”,此次活动旨在倡导广大师生在学习工作中怀以感恩之心,铭记实验动物,自觉遵循 3R 原则,合理规范地使用实验动物,用实际行动尊重和善待实验动物,维护动物福利。

(安徽医科大学 供稿)

“世界实验动物日”科普活动

一心怀敬意,感恩有你!

4 月 24 日是世界实验动物日(The World LabAnimal Day)。2021 年 4 月 24 日,中国科学技术大学实验动物中心举办“世界实验动物日”科普活动——心怀敬意,感恩有你!

活动主要分为两部分：

1. 带领同学在宣誓墙前宣誓。
2. 对世界实验动物日进行宣传。

让同学们和科研工作者了解到实验动物这些可爱的小生灵，是人类的替难者，用它们最宝贵的生命，推动人类健康和生命科学进步，筑就了人类的健康壁垒，汇成了五彩斑斓的科学世界。

以下为活动照片：

宣誓





宣传



(中国科学技术大学实验动物中心 供稿)

安徽农业大学举行“世界实验动物日”宣传活动

为提高我校实验动物的管理水平，保障实验动物福利，结合“世界实验动物日”，安徽农业大学实验动物中心于 2021 年 4 月 24 举办了“关爱实验动物我们在行动”科普宣传活动。从事动物相关实验的教师和学生参加了此次活动。会议由校实验动物管理委员会常务副主任谢忠稳教授和校实验动物管理委员会秘书李庄老师共同主持。

谢忠稳教授强调实验动物为人类健康和医学事业的发展献出宝贵的生命。特别是在新冠病毒非人灵长类疫苗的研发中起着关键的作用。校实验动物中心是学校的生命科学、动物科学和食品营养与健康等学科的教学和研究重要的平台。“世界实验动物保护日”，是 1979 年由英国反活体解剖协会发起、经联合国认定的实验动物保护节日，旨在倡导科学、人道地开展动物实验，铭记实验动物为人类健康事业所做出的巨大贡献和牺牲，尊重和善待实验动物，维护实验动物福利和伦理，遵循 3R（替代、减少和优化）原则，规范和合理地使用实验动物。

李庄老师指出随着生命科学的不断发展，人们逐渐选育出专门用于科学实验的动物，它们被称为“实验动物”。动物的遗传背景明确或者来源清楚，由人工饲养，对其携带的微生物实行控制。只有“身体健康、身世清白”的实验动物，才能专门用于科学研究、教学、生产、检定以及其他科学实验。

本次“关爱实验动物我们在行动”科普宣传活动的成功举办，对推动我校动物实验的管理水平，普及实验动物的伦理和福利知识起到积极的作用。倡导广大师生在实验动物研究中铭记实验动物作为为人类健康事业和医学事业做出的贡献，自觉遵循 3R 原则，用实际行动维护实验的福利。



(安徽农业大学实验动物中心 供稿)

科研实验中心举办“动物实验伦理及实验动物福利保障” 科普宣传活动

为推进动物实验伦理工作，保障实验动物福利，结合“世界实验动物日”，安徽中医药大学科研中心党支部联合科研实验中心实验动物管理科于 2021 年 4 月 28 日举办了“动物实验伦理及实验动物福利保障”科普宣传活动。从事动物相关实验的教师和学生参加了此次活动。会议由科研中心党支部组织委员杨沫老师和实验动物管理科王丽娜老师共同主持。

杨沫老师强调，根据《中共安徽中医药大学机关第二委员会关于印发<开展党史学习教育实施方案>的通知》要求，本次科

普活动是科研中心党支部扎实开展“学党史，我为群众办实事”实践系列活动之一，用实际行动擦亮党员名片，着力为群众办实事、办好事。王丽娜老师汇报了近年来我校动物实验伦理审查工作进展情况和存在问题，并借助线上视频教学平台，围绕“科学发展与敬畏生命的平衡”、“动物实验伦理及实验动物福利保障”、“实验动物那些事儿”的主题进行生动讲解，强调了动物福利的“3R 原则”，培训内容详实丰富，使全体师生对动物实验伦理及实验动物福利保障有了更加深入全面的了解。视频教学培训后，实验动物管理科王丽娜、王堃老师现场讲解安徽中医药大学实验动物伦理办理流程，并为有需要的师生办理动物伦理审查申请，切实解决实际问题。

本次“动物实验伦理及实验动物福利保障”科普宣传活动的成功举办，对我校动物实验伦理及实验动物福利保障工作和研究起到了推动作用，并倡导广大师生在学习工作中铭记实验动物作为“活的精密实验仪器”为人类和动物健康事业做出的贡献，自觉遵循 3R 原则，合理规范地使用实验动物，用实际行动尊重和善待实验动物，维护动物福利。



科研中心党支部组织委员杨沫老师和实验动物管理科王丽娜老师共同主持会议



全体师生观看《动物实验伦理及实验动物福利保障》视频



实验动物管理科现场办理安徽中医药大学动物伦理审查申请

(安徽中医药大学科研实验中心 供稿)

热点关注

国药新冠疫苗数据首次公开，世卫组织揭开细节； Nature 综述中国批准的 5 个疫苗

国药集团疫苗灭活病毒疫苗 BBIBP-CorV 首次公布保护力数据详情。

国药集团向世界卫生组织（WHO）申报了北京生物制品研究所疫苗 BBIBP-CorV 的数据。报告中显示，在阿联酋、巴林、埃及和约旦开展的 III 期试验共入组 45,000 人。疫苗接种组和安慰剂组各 13,765 人，并随访 112 天。

中期分析确诊病例疫苗接种组 21 例，安慰剂组 95 例，保护力为 78.1%（95%CI 64.9-86.3%）。

WHO 的评估报告已经公开，并很可能在后面几周内将该疫苗纳入到 WHO 紧急使用授权中，从而进一步通过 WHO 的 COVID-19 疫苗全球获取（COVAX）计划为世界其他国家提供疫苗。

同时进行评估的还有中国科兴生物的疫苗 CoronaVac。

两份报告的原始文件链接见本文最后的参考文献。

WHO 对国药集团数据的证据质量陈述（statement on quality of evidence）显示：国药集团的 BBIBP-CorV 对 18-59 岁且无合并危险因素的成年人，预防 PCR 确诊 COVID-19 的保护效力，证据可信度高、安全性（严重不良事件）的证据可信度中；对于老年人和伴有危险因素人群，保护力和安全性的证据可信度均为极低。

对18-59岁成年人的保护效力和安全性，证据可信度高/中；对老年人和伴有危险因素的人群保护效力和安全性，证据可信度极低。

GRADING of Evidence	Statement on quality of evidence	SAGE Working Group Judgement
Efficacy against PCR confirmed COVID-19 (Adults) 保护效力	High level of confidence	We are very confident that 2 doses of BBIBP-CorV are efficacious in preventing PCR confirmed COVID-19 in adults (18-59 years).
Safety-serious adverse events (Adults) 安全性	Moderate level of confidence	We are moderately confident that the risk of serious adverse events following one or two doses of BBIBP-CorV in adults (18-59 years) is low.
Efficacy PCR confirmed COVID-19 (Older adults)	Low level of confidence	We have low confidence in the quality of evidence that 2 doses of BBIBP-CorV are efficacious in preventing PCR confirmed COVID-19 in older adults (≥60 years).
Safety-serious adverse events (Older adults)	Very low level of confidence	We have very low confidence in the quality of evidence that the risk of serious adverse events following one or two doses of BBIBP-CorV in older adults (≥60 years) is low.
Efficacy PCR confirmed COVID-19 (Individuals with comorbidities or health states that increase risk for severe COVID-19)	Very low level of confidence	We have very low confidence in the quality of evidence that 2 doses of BBIBP-CorV are efficacious in preventing PCR confirmed COVID-19 in individuals with comorbidities or health states that increase risk for severe COVID-19 as included in the clinical trial.
Safety-serious adverse events (Individuals with comorbidities or health states that increase risk for severe COVID-19)	Very low level of confidence	We have very low confidence in the quality of evidence that the risk of serious adverse events in individuals with comorbidities or health states that increase risk for severe COVID-19 following one or two doses of BBIBP-CorV is low.

Hanson 临床科研

需要说明的是，证据可信度极低，不代表无效；而是因为那个观察组临床试验纳入的受试者人数太少，所以得到的结论不可靠。



2021 年 5 月 4 日，Nature 杂志特别发表了 Smriti Mallapaty 对中国批准的 5 个（3 类）疫苗进行的概述。

国药和科兴的疫苗是目前中国接种疫苗的主要组成部分。

到 5 月 4 日 3pm 的统计显示，中国内地已经接种了 2.8 亿剂疫苗，占世界所有已接种疫苗的 23%；最近一周，中国每天接种 720 万剂疫苗，是第二名的美国的 3 倍多。

Global Vaccination Campaign

Countries and regions	Doses administered ▼	Enough for % of people	% of population		Daily rate of doses administered
			given 1+ dose	fully vaccinated	
Global Total	1,192,648,458	-	-	-	19,783,155
China	279,905,000	10.0	-	-	7,202,286
U.S.	246,780,203	38.4	44.4	31.8	2,223,038
India	160,418,105	5.9	9.5	2.2	1,813,007
EU	155,039,482	17.4	25.3	9.3	2,903,615
U.K. 国	50,297,911	37.6	51.9	23.4	464,646
Brazil	48,391,067	11.5	15.3	7.7	681,008
Germany	30,623,902	18.4	28.7	8.1	675,899

Hanson 临床科研

(图源：彭博社)

除了中国之外，还有其他 45 个国家和地区使用了中国的灭活病毒疫苗预防 COVID-19。

WHO 通过紧急使用授权批准的疫苗，将可以被 COVAX 采购，供给经济欠发达国家。所以 COVAX 对疫苗的要求主要包括：

供应量大、易于运输、价格便宜和获得 WHO 批准。

迄今为止，COVAX 已经签署了 20 亿剂疫苗的供给计划，主要是阿斯利康和强生生产的腺病毒疫苗；其中 10 亿剂是由印度生产的阿斯利康疫苗。但由于印度近期出现 COVID-19 危机，出口疫苗计划已经暂停。所以目前仅仅运送了约 5,000 万剂疫苗。

在这种情况下，中国疫苗对于 COVAX 的疫苗供应可能非常关键。



中国是最早研发 COVID-19 疫苗的国家，在灭活病毒疫苗、腺病毒载体疫苗、重组蛋白疫苗和 mRNA 疫苗等不同类别均有研发。

但这些研发项目普遍存在一个重要的问题：临床试验结果尚未发表，甚至尚未公开。

公开透明的数据，是临床科研的基本要求，也是获得批准的基本条件。

相对来说，中国科兴生物在数据公开方面做的最好。

Nature 杂志对中国的 5 个疫苗汇总结果如下：

Vaccines:	Sinopharm (Beijing)	CoronaVac	Sinopharm (Wuhan)	Convidecia	Anhui Zhifei
	国药-北京	科兴	国药-武汉	康希诺	智飞
Produced by	Sinopharm's Beijing Institute of Biological Products	Sinovac Biotech	Sinopharm's Wuhan Institute of Biological Products	CanSino Biologics; Academy of Military Medical Sciences	Anhui Zhifei Longcheng Chinese Academy of Sciences
Efficacy preventing COVID-19	79–86% (2 doses)	50–84% (2 doses)	73% (2 doses)	65–69% (1 dose)	Unavailable (2–3 doses)
Technology	Inactivated virus	Inactivated virus	Inactivated virus	Adenovirus vector	Protein-based
Total doses distributed	>100 million*	260 million	>100 million*	Unavailable	Unavailable
Countries/regions reached	>55 (~50 million doses)*	>40 (~156 million doses)	>55 (~50 million doses)*	Unavailable	Unavailable
Production goal in 2021	1 billion doses*	2 billion doses	1 billion doses*	100 million doses	Unavailable
Phase III clinical trials	UAE, Peru, Argentina, Bahrain, Jordan, Egypt	Chile, Indonesia, Brazil, Turkey, Philippines, China	UAE, Peru, Bahrain, Jordan, Egypt, Morocco	Pakistan, Russia, Chile, Uzbekistan, Mexico	China, Uzbekistan, Clinical Research

该资料显示，中国仅两款灭活病毒疫苗公司在 2021 年的预计生产能力就可达到 40 亿剂，不仅仅足够国内使用，更可以提供 10 多亿剂疫苗供应其他国家。

世卫组织的评估结果提供了更详细的中国两款灭活疫苗的保护力。

国药集团北生所的疫苗预防有症状 COVID-19 的的总体保护力为 78.1%，预防住院的保护力为 78.7%。

但仅在 18-59 岁且不合并危险因素的成年人更可靠。

EVIDENCE ASSESSMENT BBIBP-CoV 国药集团北生所疫苗保护力汇总

Key evidence to inform policy recommendations on the use of BBIBP-CoV

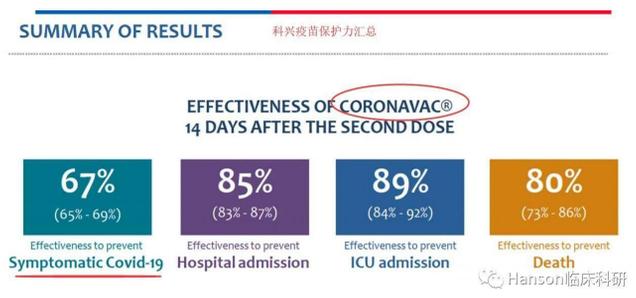
Vaccine efficacy in multi-country Phase 3 Trial (median follow up time 112 days)

Group/Subgroup	BBIBP-CoV Group		Placebo Group		Vaccine Efficacy % (95% CI)
	No. at risk	No. of cases	No. at risk	No. of cases	
Overall	13,765	21	13,765	95	78.1 (64.9, 86.3)
Hospitalization	13,765	3	13,765	14	78.7 (26.0, 93.9)
Severe	13,765	0	13,765	2	NE
Sex					
Male	11,598	18	11,642	83	78.4 (64.1, 87.0)
Female	2,167	2	2,123	13	75.6 (13.3, 93.1)
Age group					
18-59 years	13,556	21	13,559	95	78.1 (64.9, 86.3)
≥60 years	209	0	206	0	NE
Comorbidities					
Hypertension	374	0	367	4	NE
Diabetes	300	2	308	6	63.7 (-79.8, 92.7)
Obesity	3,040	7	3,080	36	80.7 (56.7, 91.4)
Baseline SARS-CoV-2 serostatus					
Baseline positive	NR	0	NR	1	NE
Baseline negative	NR	16	NR	83	80.8 (67.2, 88.9)

(图源：WHO 报告)

科兴疫苗对预防有症状 COVID-19 的保护力为 67%，对预防住院的保护力为 85%，对预防病死的保护力为 80%。

该保护力在 18-59 岁且不合并危险因素的成年人，结论很可靠；对于老年人或者合并危险因素的成年人评估为可靠。



(图源：WHO 报告)

科兴疫苗评估报告汇总		
GRADEing of Evidence	Statement on quality of evidence	SAGE Working Group Judgement
Efficacy against PCR confirmed COVID-19 (Adults)	High level of confidence	We are very confident that 2 doses of CoronaVac are efficacious in preventing PCR confirmed COVID-19 in adults (18-59 years).
Safety-serious adverse events (Adults)	Moderate level of confidence	We are moderately confident that the risk of serious adverse events following one or two doses of CoronaVac in adults (18-59 years) is low.
Efficacy PCR confirmed COVID-19 (Older adults)	Moderate level of confidence	We are moderately confident that 2 doses of CoronaVac are efficacious in preventing PCR confirmed COVID-19 in older adults (≥60 years).
Safety-serious adverse events (Older adults)	Low level of confidence	We have low confidence in the quality of evidence that the risk of serious adverse events following one or two doses of CoronaVac in older adults (≥60 years) is low.
Efficacy PCR confirmed COVID-19 (Individuals with comorbidities or health states that increase risk for severe COVID-19)	Moderate level of confidence	We are moderately confident that 2 doses of CoronaVac are efficacious in preventing PCR confirmed COVID-19 in individuals with comorbidities or health states that increase risk for severe COVID-19 as included in the clinical trial.
Safety-serious adverse events (Individuals with comorbidities or health states that increase risk for severe COVID-19)	Low level of confidence	We have low confidence in the quality of evidence that the risk of serious adverse events in individuals with comorbidities or health states that increase risk for severe COVID-19 following one or two doses of CoronaVac is low.

(图源：WHO 报告)

编者按：

世卫组织公布的数据，为我们提供了关于国药集团和科兴生物灭活疫苗的更多数据。

国药集团 BBIBP-CorV 对预防有症状 COVID-19 的保护力为 78.1%。这个结论仅在 18-59 岁且不合并危险因素的人群中得到高可靠性验证。

科兴生物 CoronaVac 对预防有症状 COVID-19 的保护力为 67%。这个结论在 18-59 岁且不合并危险因素的人群中得到高可靠性验证；对于老年人或者合并危险因素的成年人得到中可靠性验证。

目前 WHO 已经通过紧急使用授权先后批准了英国阿斯利康的腺病毒载体疫苗、美国辉瑞/德国 BioNTech 的 mRNA 疫苗，美国强生的腺病毒载体疫苗和美国 Moderna 公司的 mRNA 疫苗等四个疫苗。

如果中国国药集团和科兴疫苗被 WHO 批准，则将成为第五个获得批准的疫苗，也将是第一个灭活病毒疫苗。

这对于中国疫苗通过世卫组织向其他国家提供是必要的一步。

我们经常收到后台留言，我们总提的数据是指什么？是否就是最后的那个保护力的数字。

对于数据（data），维基百科说的很清楚：

Data are units of information, often numeric, that are collected through observation. In a more technical sense, data are a set of values of qualitative or quantitative variables about one or more persons or objects.

翻译过来，就是：数据是经观察而收集起来的一组信息，通常由数值组成。从更专业的角度讲，数据是关于一个或多个个体/事物的定性或定量参数构成的一组数值。

所以，数据不仅仅是 78.1%这个数字，更包括其后面详细的参数；由此才能判断这个数字是否可靠。

公开透明的数据是临床试验和疫苗/药物批准的最基本要求。

参考资料：

- 1.https://cdn.who.int/media/docs/default-source/immunization/sage/2021/april/2_sage29apr2021_critical-evidence_sinopharm.pdf
- 2.https://cdn.who.int/media/docs/default-source/immunization/sage/2021/april/5_sage29apr2021_critical-evidence_sinovac.pdf

(转自《中国实验动物信息网》)

综合资讯

写在《实验动物管理条例》发布实施三十周年 系列篇之十六—非人灵长类模式动物

摘要：资源增量是实验动物科技发展的核心任务，是实验动物对生命科学研究提供支撑和服务的基础和保障。自上世纪

80 年代以来，我国老一辈实验动物科学家苦心孤诣，在实验动物资源研发工作中取得了多项开创新成果。

编者：资源增量是实验动物科技发展的核心任务，是实验动物对生命科学研究提供支撑和服务的基础和保障。自上世纪 80 年代以来，我国老一辈实验动物科学家苦心孤诣，在实验动物资源研发工作中取得了多项开创新成果。

1988 年《实验动物管理条例》发布实施，在实验动物工作规范化、法制化管理，保障实验动物和动物实验的质量，推动我国科技发展和民生保障等方面发挥了重要作用。特别是在实验动物资源标准化、新品种/品系开发和动物模型创制方面，取得了令人瞩目的成果。

为此，借“科技资讯”之窗，陆续推出我国实验动物专家在此领域所作的工作及取得的应用成果。

非人灵长类模式动物

非人灵长类动物为社群性动物，具有明显的社会等级关系和复杂的行为活动，相对于常用的啮齿类实验动物，非人灵长类在生理、解剖、行为和生物学特性上更接近于人类，是医学和生命科学研究中的高级实验动物，在人类疾病防控的疫苗研制研发、人类脑功能与神经系统疾病研究中具有其他实验动物难以替代的作用。随着对人类医药和健康研究的深入，低等模式动物在一些领域已经不能满足研究的需要，迫切需要建立诸如猴等进化上与人类更接近的动物模型。

一、非人灵长类模式动物构建技术发展简史和面临的问题

哺乳动物转基因技术依赖于辅助生殖和胚胎操作。小鼠上早在上个世纪 80 年代就已经建立基因原核注射的过表达转基因技术和基于胚胎干细胞的基因敲出和敲入技术。这不仅仅是因为小

鼠是最常用的实验动物,早在上个世纪初就培养了大量遗传背景一致的近交系,还因为小鼠具有多胎生殖、性成熟和繁殖周期短等天然优势。而最为广泛使用的非人灵长类实验动物食蟹猴和恒河猴不仅遗传背景复杂,且为有月经周期的单胎生殖,即每个月经周期排卵 1-2 枚,而其性成熟时间更是长达 4 年以上,加上近半年的怀孕期(约 160-170 天),这样整个繁殖周期要在 5 年以上,同时,目前也没有得到可生殖系传代的胚胎干细胞。在胚胎资源有限和低繁殖能力这一天然劣势的限制下,非人灵长类模式动物构建技术进展相对缓慢。2001 年,美国俄勒冈健康科学大学的 Schatten 教授团队利用高滴度的逆转录病毒载体成功将外源基因导入恒河猴的胚胎,获得了世界上首只转基因灵长类动物 ANDi(意指 inserted DNA),虽然在其得到的 3 只出生个体中仅有 1 只检测到了外源基因 GFP 的整合和嵌合表达,但这一开创性的工作标志着转基因非人灵长类技术的诞生。同年 7 月, Wolfgang 等同样利用慢病毒载体转染恒河猴囊胚期胚胎后移植,也得到了在胎盘组织中整合了外源 eGFP 的转基因恒河猴。这两个开创性的工作说明转基因非人灵长类技术实现了从理想到现实的转变。他们都选择绿色荧光蛋白作为转入的目标基因,其主要目的还是用来探讨转基因非人灵长类技术的可行性。在这些工作发表 7 年后,美国佐治亚州亚特兰大埃默里大学 Anthony Chan 团队于 2008 年报道利用慢病毒转染技术得到了世界上首批亨廷顿舞蹈症转基因恒河猴。亨廷顿疾病是一种显性的神经性病变疾病,主要是因为人亨廷顿基因 (HTT) 第一个外显子中 CAG 重复扩增,导致表达的亨廷顿蛋白中含有多聚谷氨酰胺,从而引发运动机能损伤、认知功能退化和精神失调等一系列病症,患者发病 10-15 年后就会死亡。虽然也有亨廷顿疾病啮齿类转基因

动物模型,但这些模型都不能很好地模拟亨廷顿疾病在人体的表型特征。在亨廷顿转基因恒河猴的工作中,作者把人 **HTT** 基因的 第一个外显子上后面链接 **84** 个 **CAG** 重复序列,并把这段重组序列包装到慢病毒载体中,得到高滴度的慢病毒颗粒 (滴度 $>109\text{PFU/mL}$)。通过卵母细胞透明带下注射把病毒粒子注射到恒河猴 **MI** 期卵母细胞的卵周隙。之后,再通过单精注射让卵母细胞受精和胚胎移植,成功得到转基因恒河猴。分析结果显示转基因猴不仅表达了外源基因,而且出现了神经纤维网聚集、核内含物,同时,表现出肌无力和舞蹈症等亨廷顿舞蹈症病人的典型标志表型。作为第一个非人灵长类疾病动物模型,亨廷顿疾病转基因恒河猴模型的意义之大是不言而喻的。该模型可以让人们更好、更深入地了解亨廷顿疾病,研究其发病机制和致病机理,从而研发出相对应的治疗方案和药物。同时,该模型的建立也证明了构建其他非人灵长类疾病模型的可行性。其后,2009 年日本科学家 **Sasaki** 等利用绒猴性成熟时间相对较短的特性,通过慢病毒载体转染技术成功得到了可生殖系传递的 **GFP** 转基因绒猴。我国虽然在非人灵长类辅助生殖和转基因技术上起步较晚,2008 年华东师范大学报道了国内首例试管食蟹,这足足比美国晚了 24 年 (第一只试管猴出生于 1983 年),但经过近 10 年的发展已经逐渐赶上并超过了美国、日本等国,处于领跑地位。

在过表达转基因猴构建工作上,2010 年中国科学院昆明动物研究所报道了国内首例转基因猴;2016 年中科院神经科学研究所非人灵长类研究平台孙强团队与仇子龙组报道了用慢病毒转染方法将人的自闭症相关致病基因 **MeCP2** 成功转入食蟹猴个体得到了多只有类似人类自闭症表型的转基因食蟹猴,并利用灵长类研究平台首创的猴精巢异种移植技术提早得到了转基因猴

的 F1 代。通过慢病毒载体介导得到的非人灵长类转基因技术只能完成外源基因的过表达操作,致其应用范围有限。由于在非人灵长类上还未建立可生殖系整合的猴胚胎干细胞系,因此还不能像通过胚胎干细胞基因打靶操作获得基因敲除小鼠模型那样来构建基因敲除猴模型。随着人工核酸酶技术的出现,尤其是高效的 CRISPR-Cas9 核酶的出现,使得我们可以跨过非人灵长类无胚胎干细胞用于进行同源重组基因打靶的这一技术障碍,直接通过早期猴胚胎注射用于靶向特定基因的分子核酶对靶基因进行编辑,进而获得相应靶基因突变的猴模型,这使得非人灵长类基因编辑成为了可能。

2014 年,来自昆明理工大学和中国科学院神经科学研究所的两个团队分别通过受精卵注射靶向食蟹猴 *Mecp2* 基因的 TALEN 质粒和 mRNA 得到了 *Mecp2* 基因突变食蟹猴。随后南京大学、南京医科大学和昆明理工大学联合报道了使用 CRISPR/Cas9 技术获得了基因编辑的食蟹猴。该工作通过将针对 *Ppar-γ*、*Rag1* 和 *Nr0b1* 三个基因的 5 条 sgRNA 和 Cas9 mRNA 混合注入食蟹猴受精卵的卵胞质并将注射后的胚胎移植到代孕受体,最后得到了 *Ppar-γ* 和 *Rag1* 基因编辑食蟹猴。之后,来自中国的多个实验室报道了多种不同的基因编辑猴,而日本科学家利用 ZFN 和 TALEN 成功获得了 *IL2RG* 基因编辑绒猴。至此,过表达和基因编辑这两项主要的模式动物构建技术在非人灵长类的主要物种恒河猴、食蟹猴和绒猴上都获得了成功。

二、如何实现非人灵长类模式动物构建的标准化

然而,慢病毒载体介导外源转基因通常是以多位点多拷贝整合的方式整合到宿主基因组中,而通过基因编辑技术构建的首建猴个体多数为嵌合体突变,这导致我们很难得到基因型一致的转

基因或基因编辑首建个体。而这种基因型的多变，也使得我们很难精确地将转基因或目的基因突变和潜在表型对应起来。因此，利用这些方法得到的首建猴并不能称之为标准的动物模型。

为了有效解决这一问题，建立基于体细胞核移植的非人灵长类模式动物构建技术成为了必然。这是因为在核移植前，可对体细胞进行转基因或（和）基因编辑操作以得到含有目的基因修饰的细胞，在将基因修饰后的细胞作为供体核进行核移植，就可得到一批遗传背景一致的基因修饰克隆动物。然而，这一技术建立的前提是首先攻克非人灵长类的体细胞核移植技术，并得到健康的克隆猴个体。

自 1996 年，首个体细胞核移植哺乳动物多莉羊出生以来，利用该技术已经得到了包括马、牛、羊、猪和骆驼等在内大型家畜，也得到了包括小鼠、大鼠、兔、猫和狗在内的多种实验动物。非人灵长类体细胞核移植的研究工作从 2002 年就开始有报道，尽管有国内外多家机构不断尝试，但是这些研究最终都没有成功得到体细胞核移植来源的克隆猴。2003 年，美国匹兹堡医学院 Schatten 教授操作了 700 枚猴卵，并移植 16 只受体，没能得到一只怀孕受体。2007 年美国俄勒冈国家灵长类研究中心教授 Mitalipov 接受采访时指出，他前后共利用了 15000 枚卵母细胞用于克隆猴实验，但得到的最好结果也仅仅是怀孕 81 天后的流产组织。国内外多家顶级实验室在此领域连续受挫，使得科学家们逐渐失去了对该领域继续攻关的信心。之前的体细胞克隆猴研究之所以一直没有获得成功，主要有两方面的原因。一是非人灵长类体细胞核移植技术要求高，无论是卵母细胞去核还是体细胞的注入，灵长类核移植技术操作难度远高于目前已经成功的其他哺乳动物。二是，克隆胚胎发育效率低，灵长类体细胞克隆胚胎

的发育效率远远低于其他哺乳动物。

为了建立非人灵长类体细胞核移植技术并得到健康存活的克隆猴，中科院神经科学研究所非人灵长类研究（苏州）平台孙强团队经过多年积累，熟练的掌握并改进了猴体细胞核移植的一系列显微操作技巧，同时针对多种能够提升哺乳动物体细胞核移植效率的方法，进行了逐一验证并筛选得到了可以明显提升猴体细胞核移植胚胎发育效率的方法，在联合使用组蛋白（H3K9me3）去甲基化酶 Kdm4d 和去乙酰化酶抑制剂 TSA 的条件下，成功将食蟹猴体细胞克隆胚胎的体外囊胚发育率从 13.8% 提升到了 44.7%，同时囊胚的质量也有了显著的提高。在此基础上，以胎猴成纤维细胞为供体细胞，进行了克隆猴胚胎构建和移植，成功得到了世界上首批健康存活的体细胞克隆猴“中中”和“华华”。此项技术突破为非人灵长类模式动物构建提供了重要的技术支持，被《Cell》杂志主编 Emilie Marcus 称赞为“生物技术领域近 20 年来的里程碑事件”。

体细胞克隆技术的建立对于开展非人灵长类基因编辑动物模型研究至关重要。首先，在体细胞上可实现复杂的遗传操作；其次，通过严格筛选可去除脱靶；最后，可在一个孕周期（160 天）内获得遗传背景和基因型都一致遗传修饰猴，这也有效克服了非人灵长类实验动物无遗传背景一致的近交系和传代时间过长的问题，使得非人灵长类遗传修饰动物称为真正意义上可以广泛应用的标准化的模式动物。

三、非人灵长类模式动物的应用前景

针对特定遗传相关疾病的转基因动物模型可以让科学家更好的理解疾病发生发展的过程和机制。如在神经退行性疾病如阿尔茨海默氏病和帕金森病的动物模型构建中，由于啮齿类动物在

认知和行为上与灵长类的巨大差异,使其在病理学与行为学特征的模拟以及药物疗效评价等方面都存在着无法弥补的缺陷,这也在一定程度上延缓了神经退行性疾病的研究和药物研发进程。借助于非人灵长类动物模型来研究神经系统疾病有望在较大程度上弥补这些缺陷。在生殖与健康领域,非人灵长类中的食蟹猴和恒河猴都是有月经周期的实验动物,且其平均周期也是 28 天,在月经周期内的生殖相关调控激素如促卵泡素、促黄体生成素、雌二醇和孕激素等的表达时相和变化规律与人类高度相似,因此是研究生殖内分泌调控的最理想实验动物模型。此外,恒河猴和食蟹猴都有较长的青春期,也是用于研究青春期启动和调控机制的理想动物模型。

随着免疫疗法在肿瘤患者的治疗中产生了非常好的疗效,伴随而来的免疫因子风暴和脑水肿等副作用也成为不可回避的问题,而小鼠模型很难模拟这些病理进程,今年初在 **cancer discovery** 上的一篇报道,用恒河猴模型成功模拟了 CAR-T 处理后的免疫因子风暴和脑水肿症状,因此可以预见,在不就的将来非人灵长类模式动物将在这个领域也发挥重要作用。此外诸如 HIV, Ebola, Zika 等感染性疾病的防控及疫苗研发也离不开非人灵长类模式动物,类似糖尿病、高血压等慢性疾病,发病时间长,也同样需要有较长寿命的非人灵长类动物模型。而通过结合基因编辑和体细胞核移植技术构建的标准化的非人灵长类模式动物,必将在这些研究领域发挥重要做成,从而更好地促进人类健康事业发展。

参考文献

- [1]Chan AW, Chong KY, Martinovich C, et. al. *Science*. 2001; 291:309–12.
- [2]Yang SH, Cheng PH, Heather B, et. al. *Nature*. 2008; 453:921–25.
- [3]Liu Z, Cai YJ, Sun Q. *Chin J Biotech*, 2017, 33(10): 1665–1673.

- [4]Liu Z, Li X, Zhang JT, et al. Nature, 2016, 530(7588): 98–102.
[5]Niu YY, Shen B, Cui YQ, et al. Cell, 2014, 156(4): 836–843.
[6]Sun Q, Dong J, Yang WT, et al. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(35): 12956–12960.
[7]Sasaki E, Suemizu H, Shimada A, et al. Nature, 2009, 459(7246): 523–527.
[8]Liu Z, Zhou X, Zhu Y, et al. Neurosci Bull, 2014, 30(3): 381–386.
[9]Liu Z, Nie YH, Zhang CC, et al. Cell Res, 2016, 26(1): 139–142.
[10]Liu Z, Cai YJ, Wang Y, et al., 2018, Cell 172, 881–887
[11]Taraseviciute A, Tkachev V, Ponce R, et al. Cancer Discov. 2018 Jun;8(6):750-763.。

(转自《中国实验动物信息网》)

报：省民政厅、省科协、省科技厅

送：理事长、本会各位领导、常务理事、理事、会员
