

基于微流控芯片 - 线虫模型的镉中毒和解毒的研究*

薛雪, 邓立芬, 陈柳生, 蔡自由**

(广东食品药品职业学院, 广州 510520)

摘要 **目的:** 以秀丽隐杆线虫为实验对象研究金属镉的毒性以及解毒药物的筛选。**方法:** 以微流控芯片技术作为药物筛选平台, 采用 96 孔板暴露预试验, 以同期化后 L₄ 期的线虫, 设置 K - medium 空白组, 采用环境相关浓度为 0.25 ~ 15.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的重金属镉设置暴露组, 采用维生素 C 和乙二胺四乙酸二钠钙分别拮抗镉作为解毒组。每个孔板中加入线虫 (10 ± 2) 条, 在显微镜下观察记录线虫数量, 观察线虫阴门结构的变化, 实验数据均以 origin 2019b 软件进行操作处理, 结合所得结果对数据进行分析。**结果:** 通过与空白组相比, 24 h 后暴露组线虫在 0.25、1.50、5.0、10.0、12.5、5.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ mL 浓度下的致死率分别为 0%、1.67%、4.76%、67.46%、100%、100%; 线虫阴门结构有明显畸形变化, 出现轻微凸起到严重凸起, 甚至有瘤状物凸起, 最后破裂。解毒组致死率与暴露组相比均有不同程度的减少。**结论:** 通过与空白对照组相比, 随着镉暴露浓度和暴露时间的增加, 镉元素对线虫的存活具有抑制作用, 对线虫阴门结构有不同程度的损害。解毒组实验表明维生素 C 对金属镉的解毒作用较小; 乙二胺四乙酸二钠钙与镉络合后可在较大程度上延长线虫的存活时间。

关键词: 秀丽隐杆线虫; 镉中毒; 维生素 C; 乙二胺四乙酸二钠钙; 微流控芯片; 解毒; 药物筛选

中图分类号: R 917 文献标识码: A 文章编号: 0254 - 1793(2024)06 - 1024 - 07

doi: 10.16155/j.0254 - 1793.2024.06.13

Research on cadmium poisoning and detoxification based on microfluidic chip - nematode modeling*

XUE Xue, DENG Li - fen, CHEN Liu - sheng, CAI Zi - you**

(Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou 510520, China)

Abstract **Objective:** To study the toxicity of heavy metal cadmium and screen detoxification drugs base on *Caenorhabditis elegans*. **Methods:** The microfluidics chip technology was used as the drug screening platform. The 96 - well plate exposure pretest was used, and K - medium blank group was set up. The exposure group consisted of nematodes exposed to heavy metal cadmium at the environmental relevant concentration of 0.25 - 15.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}$ after homogenization. Vitamin C and calcium disodium ethylenediamine tetraacetate were selected as detoxification group. (10 ± 2) nematodes were added into each orifice plate. The number of nematodes was observed and recorded under a microscope, and paid attention to the changes in the structure of the vulva. The experimental data were processed and analyzed by origin 2019b software. **Results:** Compared with blank group, the fatality rates of *C. elegans* in exposed group were respectively 0%, 1.67%, 4.76%, 67.46%, 100% and 100% at 0.25,

* 广东省高校特色创新项目(2021KTSCX240);广州市科技计划(202102021276);广东省中医药局项目(20211284);广东省中医药局(20231247)

** 通信作者 Tel:(020)28896419;E-mail:ziyoutsai@163.com

第一作者 Tel:18825185735;E-mail:snow-angel-xuexue@163.com

1.50, 5.0, 10.0, 12.5, 15.0 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ concentration, compared with blank group. The structure of the nematode vulva was deformed, from slight protrusion to severe protrusion, and even a tuberos protrusion, and finally ruptured. The mortality of detoxification group was reduced to different degrees compared with exposure group.

Conclusion: Compared with blank control group, with the increase of cadmium exposure concentration and exposure time, cadmium can inhibit the survival of *C. elegans*, and damage the structure of *C. elegans* vulva to varying degrees. The results of detoxification group showed that vitamin C had little detoxification effect on cadmium. The complexation of calcium disodium ethylenediamine tetraacetate with cadmium could prolong the survival time of *C. elegans* to a large extent.

Keywords: *Caenorhabditis elegans*; cadmium poisoning; vitamin C; calcium disodium; ethylenediamine tetraacetate; microfluidic chip; detoxify; drug screen

镉(Cd)是不具有生理功能的重金属,非人体必需元素,毒性较大,在自然界中主要以二价离子存在。在上世纪50年代日本曾出现由镉引起的“痛痛病”,引起国内外的关注。1993年国际癌症研究机构表明重金属镉会致使人类和动物前列腺癌和肺癌的一种致癌物质^[1]。我国在“十二五”规划已将镉作为重金属污染防治中第一类重点防治对象^[2]。重金属镉在机体中代谢极度缓慢、生物半衰期长达10~35年,可经过呼吸、接触和食用等途径进入人体,随着蓄积时间和浓度的增加,最终引发多种疾病^[3-4]。镉

污染的主要原因是冶金、采矿、镉镍电池和颜料的制造,由于环境中的镉无法被生物降解,随着工业的不断发展,镉的使用量和排放量不断增加,环境分布范围不断扩大,镉的污染也在不断的上升,使环境恶化日趋严重,成为严重危害人体健康的一重大问题^[5]。有研究表明,镉进入机体后会影体内多种酶的活性、抑制细胞内钙离子通道、引起DNA链断裂的同时还破坏DNA链的修复功能,影响线粒体功能,最终造成细胞凋亡^[6]。对于镉中毒的防治药物见表1。

表1 防治镉中毒药物及其作用机制

Tab.1 Drugs for preventing and treating cadmium poisoning and their mechanism of action

防治药物(preventive)	作用机制(mechanism of action)
EDTA络合剂(EDTA complexing agent)	与镉形成络合物排出体外(forming a complex with cadmium excreted from the body)
锌、硒(zinc and selenium)	减少游离镉的分布(reducing the distribution of free cadmium)
钙(calcium)	减少镉在机体组织内的蓄积(reduce the accumulation of cadmium in the body tissue)
维生素类(vitamin)	增加镉的排泄量(increasing the excretion of cadmium)
黄芪注射液(astragalus injection)	降低血镉含量(increasing the excretion of cadmium)

微流控芯片的芯片是由微米级别大小的微通道组成,称为芯片实验室^[7-9]。可将常规实验室中所涉及的实验操作集成在1块仅有10 cm²的芯片上,排污极少,又被称为是一种绿色技术。聚二甲基硅氧烷(polydimethylsiloxane)是制作本实验涉及的微流控芯片装置的主要材料,内部包括线虫进样池,线虫培养池以及浓度梯度生成器(concentration gradient generator)构成^[10]。相对于传统的生物培养皿或多孔板,微流控芯片的微型通道及微量池使线虫的进样、操控,溶液的自动混合、再分配于一体。PDMS具有

良好的透气性,可保证线虫生存有充足的氧气,也适用线虫的长期培养^[11]。本实验采用的芯片可同时完成4种作用药物、32种浓度梯度的检测,已被广泛应用于各个研究领域。

微流控芯片技术用于环境毒性评估、药物筛选以及生命科学研究时可以克服传统方法的耗时耗力的缺点,具有高效率,自动化,低成本和低损耗等多重优势^[12]。毒性研究的重要环节便是筛选药物的过程,在这现代技术快速发展的时代,药物筛选要求不断提高。从而研发适合体内试验、经济且高效迅速

的技术对于大量药物筛选或毒性的研究是迫切的。传统动物实验不仅实验周期长,实验成本高,还存在着动物伦理的问题,即使实验结果有参考意义,但想完成快速、高通量的药物暴露实验仍然存在难度。对于药物筛选实验,微流控线虫芯片可快速完成线虫的分配、溶液的梯度稀释以及快速给药。相比于传统配制不同剂量的药物和给药处理的方法,微流控技术可以优化操作烦琐,工作量大的前处理工作^[13]。秀丽隐杆线虫(*Caenorhabditis elegans*, *C. elegans*)分类上是属于小杆目、小杆总科、隐杆线虫属^[14]。有肌肉和各种系统,包括消化、神经、生殖和排泄系统^[15]。当线虫遇到如食物匮乏、生存空间过于拥挤和高温等恶劣生存环境时,均会由 L₁ 期直接进入一种持久的幼虫(dauer)期,该时期的线虫较其他幼虫期的线虫更加瘦小,停止发育且不会老化,可保持该形态数月从而对抗逆境。当生存条件有利时,线虫可以从 dauer 期直接进入 L₄ 期,再次进入正常的发育周期^[16]。国内外有涉及关于镉金属毒性及药物筛查的研究报道中,受试动物有鱼类如斑马鱼、哺乳动物中包括小鼠、仓鼠、猪、羊等的研究,而利用线虫对镉毒性及解毒研究具有更大的优势。秀丽隐杆线虫遗传背景清楚,与人类基因组有60%~80%相似^[17]。本研究以秀丽隐杆线虫为研究对象,探究线虫在镉暴露中的毒性反应及筛选解毒药物,为评估镉暴露的健康风险和开展相关的工作提供参考。

1 仪器与试剂

TLE104 万分之一电子分析天平(梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司);SW-CJ-1FD 单人单面超净工作台(苏州安泰空气技术有限公司);YDS-100 微流控芯片系统(重庆奥特光学仪器有限公司);BDS400 倒置生物显微镜(重庆奥特光学仪器有限公司);DM0412 台式低速离心机(大龙兴创实验仪器(北京)股份公司);YDS-100 微量注射泵(重庆奥特光学仪器有限公司)等。

琼脂(分析纯,西陇科学股份有限公司);蛋白胨(分析纯,北京奥博星生物技术有限责任公司);胰蛋白胨(分析纯,北京奥博星生物技术有限责任公司);氯化钠(分析纯,天津市大茂化学试剂厂);氢氧化钠(分析纯,广州化学试剂厂);胆固醇(分析纯,上海麦克林生化科技有限公司);无水乙醇(分析纯,天津市大茂化学试剂厂);五氟尿嘧啶(分析纯,上海麦克林

生化科技有限公司);维生素 C(规格:100 mg;批号:5220661,东北制药集团沈阳第一制药有限公司);乙二胺四乙酸二钠钙(分析纯,上海毕得医药科技有限公司);磷酸氢二钾(分析纯,西陇科学股份有限公司);磷酸二氢钾(分析纯,天津市北辰方正试剂厂)等。

2 方法与结果

2.1 实验步骤

秀丽隐杆线虫虫株为野生型 N2,采用 L₄ 期至成年期秀丽隐杆线虫进行相关实验,通过预实验选择镉染毒剂量为 0.25 ~ 15.0 mg · mL⁻¹,染毒时间至 72 h。

2.2 溶液的配制

2.2.1 5 mg · mL⁻¹ 胆固醇 称取胆固醇 0.5 g,加无水乙醇定容至 100 mL,使其充分溶解后在无菌的超净工作台内使用 0.22 μm 微孔滤膜过滤,分装,置于 4 °C 冰箱备用。

2.2.2 1 mol · L⁻¹ 磷酸盐缓冲液 称取磷酸二氢钾 108.3 g 和磷酸氢二钾 35.6 g,加双蒸水定容至 1 L,搅拌均匀后放入灭菌锅 121 °C 高压灭菌 30 min。

2.2.3 线虫裂解液 按 7:2:1 比例量移取 K 培养基、5% 次氯酸钠、5 mol · L⁻¹ 氢氧化钠混匀,现配现用。

2.2.4 LB 培养基 称取胰蛋白胨 0.5 g、酵母抽提物 0.5 g 和氯化钠 0.5 g 放入锥形瓶中,加超纯水至 100 mL,高压灭菌后得到 LB 液体培养基。

2.2.5 NGM 培养基 称取氯化钠 3.0 g,胰蛋白胨 2.5 g,琼脂 17.0 g 于 1 L 的锥形瓶中,加入双蒸水 975 mL 配置成 1 L NGM 培养基,充分混匀后,121 °C 高压灭菌 30 min,待灭菌锅温度降至 60 °C 以下时取出培养基,在紫外照射 20 ~ 30 min 后的超净工作台下加入 1 mol · L⁻¹ 磷酸钾缓冲液 25 mL,1 mol · L⁻¹ 氯化钙 1 mL,1 mol · L⁻¹ 硫酸镁 1 mL 和 5 mg · L⁻¹ 胆固醇 1 mL,而后混匀培养基,倒入培养皿中并等待培养基冷却凝固。

2.3 大肠杆菌的纯化和培养

2.3.1 大肠杆菌的纯化 在超净工作台中,用接种环蘸取大肠杆菌浓缩液在固体培养基的表面上相继划线,稀释大肠杆菌浓度,再放置于培养箱中 37 °C 恒温培养 12 ~ 24 h 后可以分离得到单个大肠杆菌菌落,即为纯化后的 OP50,如图 1 所示。

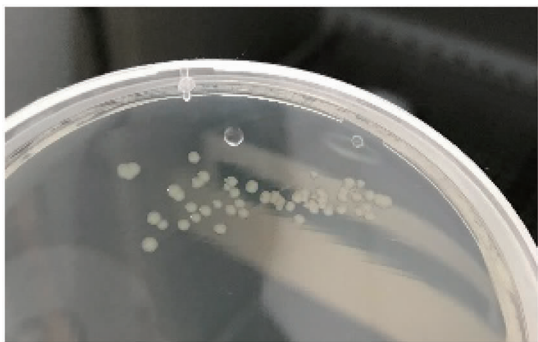


图1 纯化后的大肠杆菌

Fig. 1 Purified *Escherichia coli*

2.3.2 大肠杆菌的培养 在无菌环境下,用接种针挑取单个纯化后的大肠杆菌菌落,放入 LB 培养基中,在恒温振荡培养箱中 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ $200\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 培养 $8\sim 12\text{ h}$ 后,可吸取 $150\text{ }\mu\text{L}$ 滴入 90 mm 的 NGM 培养基表面,用涂布器均匀涂开, 48 h 后菌液测试无杂菌生长即可使用。

2.4 秀丽隐杆线虫的纯化和培养

本研究所用的线虫为野生型 N2 虫株,先将虫株接种在事先涂有 OP50 的 NGM 培养基中,在 $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温条件下孵化几代后,便可实验。

实验所用线虫必需同步为相同周期,即 L_4 期。由于成虫和虫卵在裂解时间和耐受性方面的差异,通常获得虫卵是取怀孕期间的线虫在次氯酸钠碱性溶液中卵裂,然后同时孵化为 L_1 期幼虫。

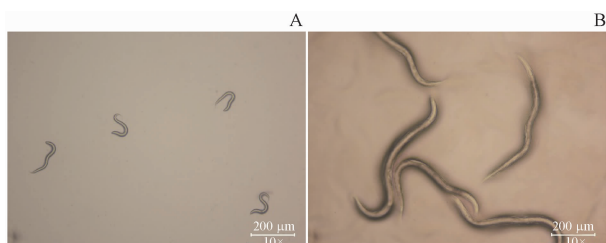
A. L_1 期 (L_1 period) B. L_4 期 (L_4 period)

图2 经同化期处理的线虫

Fig. 2 Nematodes treated in assimilation period

2.5 96 孔板预实验

采用 96 孔板进行线虫的暴露预实验观察如图 3 所示,设置 K - medium 空白组,暴露组每孔加入 K - medium $50\text{ }\mu\text{L}$ 和金属镉混合溶液 $50\text{ }\mu\text{L}$,以终浓度为 $0.25\sim 15.0\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的金属镉溶液暴露同化后的线虫。筛选解毒药物以 $100\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 维生素 C 溶液

和 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 乙二胺四乙酸二钠钙溶液拮抗镉的毒性。每孔放入 (10 ± 2) 条经同化处理的 L_4 期线虫,在显微镜下观察并记录线虫的死亡数量及阴门结构的变化。实验中,可加入 5 - 氟尿嘧啶 (5 - FUDR) 抑制线虫产卵,减少实验干扰。



图3 显微镜下观察 96 孔板

Fig. 3 Observe 96 - well plate under microscope

2.6 微流控芯片的实验操作

在使用微流控芯片前,先通入 75% 酒精冲洗微通道 30 min ,再用含有 $0.02\text{ wt}\%$ Triton X100 的 K 液冲洗通道,以增加 PDMS 材质芯片的亲水性。先用 K 液冲洗 NGM 培养板上同化至 L_4 期的线虫,使其悬浮于 K 液中,在芯片中央室以 $10\text{ }\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速度将线虫注入,并交替注入 K 液避免线虫在通道口处堆积,此外,使用微量注射泵辅助引入,控制每孔线虫数量 (10 ± 2) 条。然后,以 $10\text{ }\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速度将金属镉溶液与缓冲液同时注入芯片中,溶液经过浓度梯度微通道后在线虫培养室自动形成 8 个浓度梯度。线虫镉暴露后以同样步骤通入解毒药物。最后将芯片置于 $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下,定期观察并记录线虫生存情况。如图 4 所示。

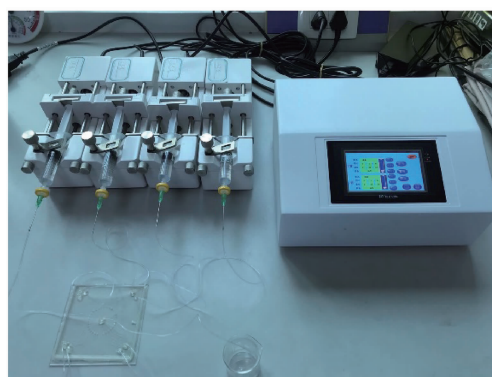


图4 微流控芯片装置搭建实物图

Fig. 4 Microfluidic chip device to build physical diagram

2.7 致死率的测定

在显微镜下观察,线虫的体型僵直,身体浑浊或发黑,咽喉停止抽动即判定线虫死亡。实验数据由 Microsoft Office Excel 2019 进行前期处理,应用 origin 2019 软件对数据进行作图分析。结果表明 L₄期线虫于 0.25 ~ 15 μg · mL⁻¹暴露浓度下随着暴露时间的增加,线虫致死情况如表 2 所示。重金属镉不同染毒时间对线虫的毒性的时间 - 效应关系如图 5 所示。

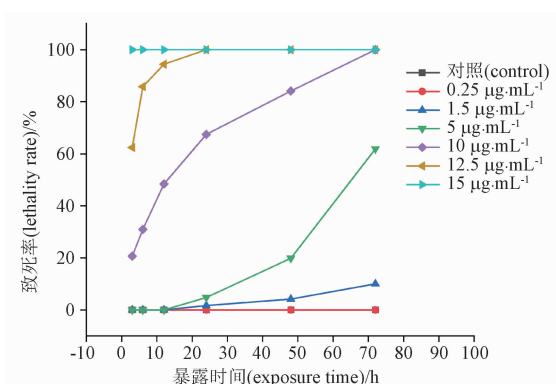


图 5 线虫不同时间 - 浓度镉暴露下的致死率

Fig. 5 Lethal rate of nematodes exposed to cadmium at different time and concentration

2.8 阴门结构变化

在显微镜观察下可知,Cd 暴露 24 h 下线虫的阴门结构与空白组相比有明显的畸形变化,对照组线虫产卵器表面相对平滑,如图 6 所示。随着镉浓度的增加,阴门结构由轻微凸起到严重凸起,甚至有瘤状物凸起,最后破裂。不同浓度的金属镉对线虫生殖腺的影响如图 7 所示。

3 讨论

24 h 药物作用实验结果如图 8 所示,48 h 药物作用如图 9 所示,维生素 C 与 EDTA 络合剂在不同金属镉暴露浓度下均有不同程度的拮抗作用。当暴露浓度大于 5 μg · mL⁻¹时致死率增加幅度逐渐变大,药物拮抗作用较为明显。当浓度升高到 15 μg · mL⁻¹高浓度时 2 种药物均无显著的解毒作用。乙二胺四乙酸二钠钙在不同的镉暴露浓度下,24 h 与 48 h 后药物拮抗作用均大于维生素 C。维生素 C 的作用是促进线虫排泄镉离子,乙二胺四乙酸二钠钙的作用机制是与镉离子络合,从根本上减少镉离子浓度。

与空白组相比,当镉的浓度为 0.25 μg · mL⁻¹时线虫致死率最小,与空白组相同。当镉的浓度为 15 μg · mL⁻¹时线虫致死率最大,与染毒时间无线性

表 2 不同时间 - 浓度下线虫致死情况

Tab. 2 Lethal situation of nematodes under different time - concentration

Cd 浓度 (concentration of Cd)/(μg · mL ⁻¹)	线虫总数(条) (nematode population)	3 h 死亡虫数 (3 h number of dead insects)	6 h 死亡虫数 (6 h number of dead insects)	12 h 死亡虫数 (12 h number of dead insects)	24 h 死亡虫数 (24 h number of dead insects)	48 h 死亡虫数 (48 h number of dead insects)	72 h 死亡虫数 (72 h number of dead insects)
0	130	0	0	0	0	0	0
0.25	123	0	0	0	0	0	0
1.5	120	0	0	0	2	5	12
5	126	0	0	0	6	25	78
10	126	26	39	61	85	106	126
12.5	125	78	101	118	125	125	125
15	120	120	120	120	120	120	120

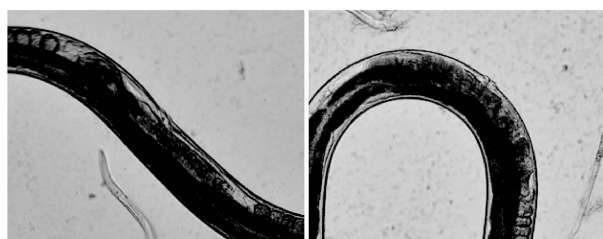
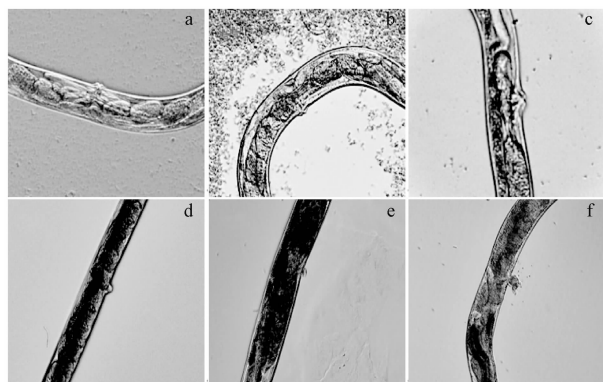


图 6 24 h 空白组线虫阴门结构

Fig. 6 Structure of vulva of nematodes in 24 h blank group

关系。当镉的浓度在 1.5 ~ 12.5 μg · mL⁻¹下,线虫致死率随着染毒时间的延长,染毒浓度的增加,线虫的致死率有线性关系。线虫暴露在重金属镉溶液中时,由于镉可以通过饮食消化道进入,也可以通过表皮接触渗入线虫体内,线虫体内镉的量在时间浓度呈递增的情况下,蓄积进入体内的量也呈现上升趋势。实验结果中线虫死亡数量也在不断增加,致死率在相同浓度下,与染毒时间呈正相关;在相同



a. $0.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ b. $1.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ c. $5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$
d. $10 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ e. $12.5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ f. $15 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$

图 7 24 h 不同浓度镉暴露下线虫阴门结构的变化

Fig. 7 Changes of Nematode's vulva structure under different concentrations of cadmium exposure for 24 h

时间下,与溶液中重金属浓度也存在正相关的关系。证明重金属对线虫的毒性反应是具有明显的时间-效应关系。重金属镉会导致线虫生殖腺的畸形,随着镉暴露浓度的增加,线虫阴门结构由空白组的相对平滑状态出现轻微凸起到严重凸起,甚至有瘤状物凸起,最后破裂。毒性反应具有浓度依赖性。乙二胺四乙酸二钠钙溶液和维 C 对低浓度镉暴露后的线虫均有一定救治作用,当暴露浓度增加到 $15 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,解毒作用相对不明显。乙二胺四乙酸二钠钙作用机制是与重金属络合,减少暴露环境中镉离子含量。维生素 C 是促进镉离子排出体外,随着暴露时间的增加,由于线虫处于暴露环境中,维生素 C 的作用相对小于乙二胺四乙酸二钠钙。

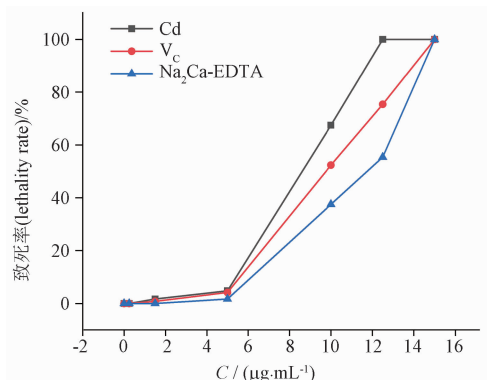


图 8 药物作用下致死率变化

Fig. 8 Changes of mortality rate under the action of drugs for 24 h

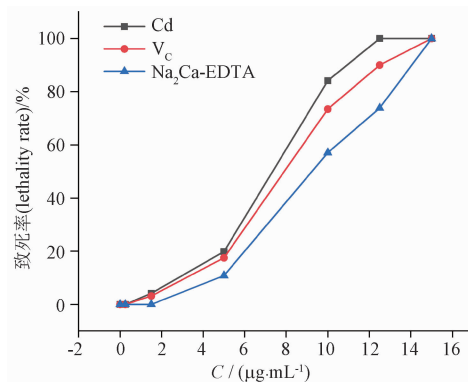


图 9 48 h 药物作用下致死率变化

Fig. 9 Changes of mortality rate under the action of drugs for 48 h

4 结论

本研究提出了微流控芯片新方法可以避免传统研究方法中的不足,开拓了重金属暴露实验研究思路 and 提供更多的选择。线虫的培养、重金属暴露实验、药物的筛选、结果的显微成像等实验过程中仍存在一定的不足之处:一是研究规模小,试验样本量较少;二是重复试验次数少,收集的数据存在一定的误差性;三是研究所用的芯片结构上,由于芯片微通道宽度仍然大于线虫体宽,少量线虫不可控的进出培养室。也是造成误差的因素之一。为解决本研究存在的不足之处,提出对未来的发展方向:第一,扩大实验样本量,减少实验的误差性;第二,重复试验,使研究结果更加准确,实验更有统计学意义;第三,可在微流控芯片的中央室通向培养室的通道口处增加微门阀的设计,用于控制线虫的数目,当线虫进样时,较大的液压可以使芯片发生变形,微型通道暂时扩大,线虫由中央进样池挤过通道,被关闭停留在培养池中,随后液压减小,阀门关闭。线虫不易返回中央进样室中。此外在培养池的药液入口处设计错开的更狭窄的通道,即可保证线虫不会进入浓度梯度生成器部分中,也可控制药液的正常流通,减少变量因素。

总之,微流控芯片是由几个单元技术组合而成,整体可控和规模集成的新技术。由于具有自动化,低成本和低损耗等多重优势,在医学领域、环境监测以及药物筛选方面都适当当前发展趋势,有着广阔的应用前景。

参考文献

[1] 张晓华,肖雄斌. 镉毒性作用机制及临床防治进展[J]. 实用

- 预防医学, 2012, 19(11):1761
ZHANG XH, XIAO XB. Mechanisms and clinical prevention and treatment progress of Cadmium poisoning[J]. *Pract Prevent Med*, 2012, 19(11):1761
- [2] 张汉文,林家进,黄月娥,等. 基于秀丽线虫的5种重金属生物毒性评价[J]. *环境与健康杂志*, 2018, 35(10):890
ZHANG HW, LIN JJ, HUANG YE, *et al.* Biototoxicity of five heavy metals to *Caenorhabditis elegans* [J]. *J Environ Health*, 2018, 35(10):890
- [3] 丁通,骆骄阳,杨世海,等. 天然药物防治镉中毒的现代研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(10):2006
DING T, LUO JY, YANG SH, *et al.* Recent research progress on natural medicines in treatment of Cadmium toxicit [J]. *China J Chin Mater Med*, 2018, 43(10):2006
- [4] 王晶晶,许安. 二氧化钛纳米颗粒的沉降过程促进重金属对秀丽隐杆线虫的生物积累与毒性效应[C]//中国化学会环境化学专业委员会. 第二届全国环境纳米技术及生物效应学术研讨会会议手册. 2018:102
WANG JJ, XU A. The sedimentation process of titanium dioxide nanoparticles promotes the bioaccumulation and toxic effects of heavy metals on *Caenorhabditis elegans* [C]//Environmental Chemistry Professional Committee of the Chinese Chemical Society. Handbook of the Second National Symposium on Environmental Nanotechnology and Biological Effects. 2018:102
- [5] 张守申. 二氧化钛纳米与重金属 Cd 离子相互作用降低 Cd²⁺ 对秀丽隐杆线虫的毒性[D]. 济南:山东大学, 2014
ZHANG SS. Absorption on TiO₂ Nanoparticles Reduced the Toxicity of Cd²⁺ to *Caenorhabditis elegans* [D]. Jinan: Shandong University, 2014
- [6] 刁书永,张立志,袁慧. 镉中毒机理研究进展[J]. *动物医学进展*, 2005(5):49
DIAO SY, ZHANG LZ, YUAN H. Progress in the toxicity mechanism of cadmium[J]. *Progr Veter Med*, 2005(5):49
- [7] WU L, AI Y, XIE R, *et al.* Organoids/organs - on - a - chip; new frontiers of intestinal pathophysiological model [J]. *Lab Chip*, 2023, 23(5):1192
- [8] HUANG D, WANG J, NIE M, *et al.* Pollen - inspired adhesive multilobe microparticles from microfluidics for intestinal drug delivery[J]. *Adv Mater*, 2023, 35(8):e2301192
- [9] 艾永建,何梦崎,梁琼麟. 基于微流控技术的药物分析新进展[J]. *药物分析杂志*, 2023, 43(10):1631
- AI YJ, HE MQ, LIANG QL. Recent advances in microfluidics - based pharmaceutical analysis[J]. *Chin J Pharm Anal*, 2023, 43(10):1631
- [10] YANG J, CHEN Z, CHING P, *et al.* An integrated microfluidic platform for evaluating *in vivo* antimicrobial activity of natural compounds using a whole - animal infection model [J]. *Lab Chip*, 2013, 13(17):3373
- [11] 尹方超,温慧,朱国丽,等. 基于微流控芯片技术的秀丽隐杆线虫研究进展[J]. *色谱*, 2016, 34(11):1031
YIN FC, WEN H, ZHU GL, *et al.* Advances of *Caenorhabditis elegans* research on microfluidic device [J]. *Chin J Chromatogr*, 2016, 34(11):1031
- [12] 李偶连,刘翠,陈缙光,等. 微流控芯片技术及在药物分析中的应用研究进展[J]. *分析科学学报*, 2008(4):473
LI OL, LIU C, CHEN ZG, *et al.* The progress of microfluidic chip and its application in pharmaceutical analysis [J]. *J Anal Sci*, 2008(4):473
- [13] 吴佳颖,李栋基,陈翔,等. 基于微流控芯片技术的秀丽隐杆线虫药物筛选体系研究进展[J]. *药物分析杂志*, 2021, 41(6):929
WU JY, LI DJ, CHEN X, *et al.* Advances in drug screening of *C. elegans* based on microfluidic chip techniques [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2021, 41(6):929
- [14] 赵晴,蒋滢滢. 秀丽隐杆线虫研究综述[J]. *安徽农业科学*, 2010, 38(19):10092
ZHAO Q, JIANG TT. Overview of the Nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. *J Anhui Agr Sci*, 2010, 38(19):10092
- [15] 翟畅,叶波平. 秀丽隐杆线虫与药物筛选[J]. *药物生物技术*, 2017, 24(5):464
ZHAI C, YE BP. *Caenorhabditis elegans* in drug screening [J]. *Pharm Biotechnol*, 2017, 24(5):464
- [16] 魏召艺. 两种药物对秀丽隐杆线虫生命周期的影响研究[D]. 郑州:河南大学, 2019
WEI ZY. Effect of Two Drugs on *Caenorhabditis elegans* Lifespan [D]. Zhengzhou: Henan University, 2019
- [17] 李栋基,吴佳颖,李闯,等. 用于秀丽隐杆线虫毒理学实验的类桥式微流控芯片平台[J]. *药物分析杂志*, 2020, 40(7):1160
LI DJ, WU JY, LI C, *et al.* An bridge - like microfluidic chip based platform for toxicity testing of *Caenorhabditis elegans* [J]. *Chin J Pharm Anal*, 2020, 40(7):1160

(本文于2023年9月26日收到)