

生物实验室系列

现代实验动物学技术

吴端生 张 健 主编



Chemical Industry Press



化学工业出版社
现代生物技术与医药科技出版中心

生物实验室系列

现代实验动物学技术

吴端生 张 健 主编

田 英 李玉章 余望贻 汤百争 副主编

陈主初 主审



化学工业出版社
现代生物技术与医药科技出版中心

· 北 京 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

现代实验动物学技术/吴端生, 张健主编. —北京:
化学工业出版社, 2006. 8

(生物实验室系列)

ISBN 7-5025-9259-8

I. 现… II. ①吴…②张… III. 实验动物
IV. Q95-93

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 103372 号

生物实验室系列

现代实验动物学技术

吴端生 张 健 主编

田 英 李玉章 余望贻 汤百争 副主编

陈主初 主审

责任编辑: 郎红旗 邵桂林

文字编辑: 尤彩霞

责任校对: 吴 静

封面设计: 关 飞

*

化 学 工 业 出 版 社 出版发行
现代生物技术与医药科技出版中心

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

购书咨询: (010) 64982530

(010) 64918013

购书传真: (010) 64982630

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

北京永鑫印刷有限责任公司印刷

三河市万龙印装有限公司装订

开本 787mm×1092mm 1/16 印张 30 字数 768 千字

2007 年 1 月第 1 版 2007 年 1 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-9259-8

定 价: 65.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

《现代实验动物学技术》编写人员

主 编 吴端生 张 健

主 审 陈主初

副 主 编 田 英 李玉章 余望贻 汤百争

编写人员 (按姓氏笔画排序)

王 艳 尹 胜 甘 露 田 英

田 智 冯金泉 刘 鑫 刘冬娥

汤百争 许金华 苏泽红 李玉章

李斌元 吴端生 余 坚 余望贻

张 红 张 健 张朝晖 张惠英

陈主初 周正适 郑济芳 孟 琼

练高建 姚 峰 黄 耀 蒋东权

谭翔文 潘振球

出版者的话

21 世纪是生命科学的世纪，这已成为人们的共识。

生命科学随着人类对自身和自然的认识、探索而萌芽，随着人类生产和科学实践的进步而发展。现代生命科学包括生物学、医学、农学等传统学科领域，以及生物学、生物技术与环境科学乃至社会科学等其他学科相互渗透、交叉而产生的新型学科体系。20 世纪后叶现代生物科学尤其是分子生物学取得了一系列突破性成就，使得生命科学在自然科学体系中的位置发生了革命性的变化，成为 21 世纪的带头学科。人们对生命科学也寄予了无限的期望，希望能够解决人类社会所面临的人口膨胀、资源匮乏、疾病危害、环境污染和生态破坏等一系列重大问题。

回顾生命科学的发展历程，实验技术一直起着非常重要的促进作用。如 17 世纪 Leeuwenhoek 等人发明并应用显微镜技术，直接催生了“细胞学说”的建立和发展；1973 年 Cohn 和 Boyer 完成了 DNA 体外重组实验，标志着基因工程的肇始；1988 年 Kary Mullis 发明的 PCR 技术甚至使生命科学产生了飞跃性的发展。可以说，生命科学无时无刻离不开实验，实验是开启神奇的生命王国大门的钥匙。没有实验技术的不断进步，也就没有生命科学今天的巨大发展；同时，生命科学的发展又对实验技术提出了更高的要求，进一步刺激了后者的不断进步。生命科学正是在“实验催生和验证着基础理论，理论指导和发展了实验技术”的不断循环中从必然王国走向自由王国。

工欲善其事，必先利其器。为了有助于生命科学工作者更多地了解相关实验技术和仪器设备，更好地设计实验方案，更有效地开展实验过程，更合理地处理实验结果，化工出版社组织出版了“生物实验室系列图书”。系列图书在整体规划的基础上，本着“经典、前沿、实用，理论与技术并重”的原则组织编写，分批出版。

在题材上，系列图书涵盖综合实验技术和单项实验技术两个方面。其中综合实验技术既有以实验目的为题，如“蛋白质化学分析技术”，内容纵向覆盖多项实验技术；也有以某一生命学科领域的综合实验技术为题，如“发酵工程实验技术”、“生物化学实验技术”等。而单项实验技术则以深入介绍某一专项技术及其应用为主，在阐述其基本原理的基础上，横向介绍该项技术在多个领域的应用，如“双向电泳技术”、“流式细胞术”等。

在内容上，系列图书主要有以下两个显著特点。一是强调先进性——除了系统介绍常用和经典实验技术以外，特别突出了当前该领域实验手段的新理论、新技术、新发展，为国内专业人员起到借鉴和引导作用。二是强调可操作性——对于每一项实验技术，系统介绍其原理方法、设备仪器和实验过程，让读者明了实验的目的、方案设计以及具体步骤和结果处理，以期起到实验指南的作用。

本系列图书坚持质量为先，开拓国内和国际两个出版资源。一方面，约请国内相关领域兼具理论造诣和丰富实验室工作经验的专家学者编著；另一方面，时刻关注国际生命科学前沿领域和先进技术的进展，及时引进（翻译或影印）国外知名出版社的权威力作。

“生物实验室系列图书”的读者对象设定为国内从事生命科学及生物技术和相关领域（如医学、药学、农学）的专业研究人员，企业或公司的生产、研发、管理技术人员，以及高校相关专业的教师、研究生等。

我们殷切希望“生物实验室系列图书”的出版能够服务于我国生命科学的发展需要，同时热忱欢迎从事和关心生命科学的广大科技人员不仅对已出版图书提供宝贵意见和建议，也能对系列图书的后续题目设计贡献良策或推荐作者，以便我们能够集思广益，将这一系列图书沿着可持续发展的方向不断丰富品种，推陈出新。

谨向所有关心和热爱生命科学，为生命科学的发展孜孜以求的科学技术工作者致以崇高的敬意！

祝愿我国的科技事业如生命之树根深叶茂，欣欣向荣！

化学工业出版社
现代生物技术与医药科技出版中心

前 言

实验动物学是 20 世纪中叶确立的一门综合性、应用性学科。它伴随着生物医学特别是实验医学的发展而发展。近 50 年来,生命科学各领域的科学家同实验动物学科技工作者携手合作,在培育、生产和使用标准化实验动物的过程中协同作战,相互支持、相互鼓励、相互促进,取得了辉煌的成绩,极大地促进了实验动物学的发展。同时,实验动物学的发展和提高,又促进了生命科学各学科的提高。实验动物学经过近半个世纪的发展,积累了一整套现代实验动物学技术,如实验动物标准化生产管理技术、试管动物培育技术、转基因动物技术、克隆动物技术、单亲纯合二倍体动物育成技术、实验动物胚胎工程技术、实验动物组织工程技术、大规模诱变技术、小鼠基因组技术、分子生物学检测技术、“电子小鼠”技术、实验动物模型的计算机模拟技术等。了解和掌握这些技术,对于生物医学科技工作者来说尤为必要。编者汇集国内外相关资料,总结多年来的实践经验,编写出版此书,其目的就是为广大从事生物医学教学、科研或生产检定的科技工作者提供一本较为全面的介绍现代实验动物学技术的参考书。

本书由长期从事实验动物学教学、科研和检测以及实验动物生产供应的专家教授执笔编写。内容体现了基础理论与技术方法有机结合,理论与生产实践有机结合。以传统的理论知识为基础,由浅到深,着眼于现代发展前沿和现代技术,从而形成本书的以下特点。①系统性和完整性。本书分 7 篇 31 章,内容包括各种、各类和各级实验动物的标准化要求、生物学特性、育种繁殖、饲养管理、饲养与应用条件等基本知识的介绍,还特别介绍了现代实验动物学技术、实验动物伦理学等前沿内容。②新颖性和先进性。书中介绍了先进的转基因动物技术、克隆动物技术、单亲纯合二倍体动物育成技术、实验动物胚胎工程技术、实验动物组织工程技术、分子生物学检测技术、蛋白质组学技术等现代实验动物学技术;与同类书籍相比,第一次比较全面地介绍了动物保护主义、动物保护伦理学、动物福利、“3R”理论等较新颖的内容,这对于帮助和引导相关人员在这方面给予关注或开展这方面的研究是非常有益的,也有助于我国对实验动物福利的立法。③可操作性和实用性。书中介绍的实验动物生产技术、实验动物质量检测技术、动物实验技术和现代实验动物学新技术,均通俗易懂且可操作性强,对于指导实验动物饲养管理和动物实验都非常实用。

在本书编写和出版过程中,得到了湖南省科技厅等政府有关部门和作者所在单位的关心和大力支持,同时也得到了国内实验动物学界许多专家学者的热情帮助,在此一并致谢!并特别感谢陈主初教授提供的指导和帮助。

由于水平有限,加之时间仓促,书中定有不妥之处,敬请广大读者批评指正!

吴端生

2006 年 6 月 23 日

目 录

绪论	1	第二节 实验动物学的发展概况	4
第一节 实验动物学的学科 概念与地位	1	第三节 现代实验动物学技术	6
		参考文献	13

第一篇 实验动物概论

第一章 质量标准化的实验动物	16	第九节 其他实验用动物	65
第一节 实验动物的分类方法	16	参考文献	72
第二节 按遗传学控制程度分类 的实验动物	18	第三章 免疫缺陷动物的生物学特性	73
第三节 按微生物寄生虫学控制 程度分类的实验动物	30	第一节 免疫缺陷动物的概念 及分类	73
参考文献	44	第二节 常用免疫缺陷动物的 生物学特性	74
第二章 常用实验动物的 生物学特性	45	第三节 常见的免疫缺陷病动 物模型	78
第一节 小鼠	45	参考文献	87
第二节 大鼠	49	第四章 转基因动物的生物学特性	88
第三节 豚鼠	51	第一节 转基因动物的概念	88
第四节 家兔	54	第二节 转基因动物的命名	88
第五节 犬	57	第三节 人类疾病的转基因 动物模型	89
第六节 猫	59	参考文献	99
第七节 小型猪	61		
第八节 猕猴	63		

第二篇 实验动物饲养与应用条件

第五章 实验动物环境	102	第三节 特殊动物实验设施	120
第一节 实验动物环境的概念 及其控制的重要性	102	参考文献	123
第二节 环境因素对实验动物 的影响	104	第七章 实验动物笼具及垫料	124
第三节 我国实验动物的环境 标准	113	第一节 屏障笼具	124
参考文献	114	第二节 一般笼具	127
第六章 实验动物设施	115	第三节 垫料	128
第一节 实验动物设施概述	115	参考文献	129
第二节 实验动物屏障设施	117	第八章 实验动物的营养需要与饲料 生产技术	130
		第一节 实验动物的营养需要	130
		第二节 饲料的营养成分及	

作用	132	贮存及运输	137
第三节 实验动物饲料配制 技术	134	第五节 实验动物饮水及消毒	138
第四节 饲料的加工、消毒、		参考文献	139

第三篇 实验动物生产技术

第九章 实验动物育种繁殖技术	142	第六节 兔的饲养管理	170
第一节 实验动物育种繁殖基本 技术	142	第七节 犬的饲养管理	172
第二节 近交系动物的育种繁殖	149	第八节 猴的饲养管理	173
第三节 封闭群动物的育种繁殖	151	第九节 小型猪的饲养管理	174
第四节 杂种一代和重组近交系 的育种繁殖	153	第十节 猫的饲养管理	175
第五节 携带特定基因品系的育 种繁殖	154	第十一节 其他实验用动物的 饲养管理	175
参考文献	157	参考文献	177
第十章 实验动物饲养管理技术	158	第十一章 实验动物疾病诊疗技术 与卫生防疫	178
第一节 实验动物饲养管理概述	158	第一节 病毒性疾病	178
第二节 洁净设施的运行及操作	159	第二节 细菌性疾病	184
第三节 小鼠的饲养管理	166	第三节 真菌性疾病	190
第四节 大鼠的饲养管理	167	第四节 寄生虫病	192
第五节 豚鼠的饲养管理	168	第五节 实验动物的卫生防疫	196
		参考文献	202

第四篇 实验动物质量监测

第十二章 实验动物环境质量检测	204	第二节 实验动物微生物和 寄生虫质量监测	216
第一节 实验动物的环境质量 控制	204	参考文献	219
第二节 实验动物环境及设施 国家标准	204	第十四章 实验动物饲料、饮水、 垫料及笼具质量监测	220
第三节 实验动物环境质量检测	205	第一节 实验动物饲料质量监测	220
参考文献	211	第二节 饮水和垫料质量的监测	222
第十三章 实验动物质量监测	212	第三节 笼具质量检测	223
第一节 实验动物遗传质量监测	212	参考文献	225

第五篇 动物实验技术

第十五章 动物实验的准备	228	第十六章 实验动物的选择	232
第一节 动物实验的设计	228	第一节 实验动物选择的原则	232
第二节 实验动物的购入	229	第二节 常见医学实验中实验 动物的选择	235
第三节 动物实验室的准备	230	参考文献	245
参考文献	231		

第十七章 人类疾病动物模型	246	第十九章 动物实验常用手术	301
第一节 人类疾病动物模型概述	246	第一节 手术前的准备.....	301
第二节 基本疾病病理过程动物模型的复制方法.....	250	第二节 手术基本操作技术.....	302
第三节 几种系统疾病动物模型复制方法.....	257	第三节 动物实验中常用的手术方法.....	303
第四节 中医证候动物模型复制方法.....	262	参考文献.....	306
参考文献.....	266	第二十章 常用指标的检测方法	307
第十八章 动物实验基本技术	267	第一节 生理指标的测定方法.....	307
第一节 实验动物的抓取和固定方法.....	267	第二节 生化指标的测定方法.....	310
第二节 实验动物的编号、标记和分组方法.....	275	第三节 血液学指标的测定方法	315
第三节 实验动物被毛的去除方法.....	279	第四节 免疫学指标的测定方法	318
第四节 实验动物的给药途径和方法及用药量的计算.....	280	第五节 病理解剖学检查.....	320
第五节 实验动物的采血方法.....	284	参考文献.....	326
第六节 实验动物各种体液的采集方法.....	288	第二十一章 动物实验数据的处理与分析	327
第七节 实验动物的处死方法.....	295	第一节 动物实验数据的收集和整理.....	327
第八节 实验动物的麻醉术.....	297	第二节 动物实验数据的分析.....	330
参考文献.....	300	参考文献.....	338
		第二十二章 动物实验报告与论文的撰写	339
		第一节 动物实验报告的撰写.....	339
		第二节 动物实验论文的撰写.....	340
		参考文献.....	343

第六篇 实验动物学现代新技术

第二十三章 实验动物胚胎工程技术 ...	346	参考文献.....	377
第一节 实验动物胚胎工程主要技术原理.....	346	第二十五章 动物克隆技术	379
第二节 试管小鼠和嵌合体小鼠的育成技术.....	351	第一节 动物克隆技术的理论基础及发展简况.....	379
第三节 胚胎工程技术在生物医学研究中的应用.....	354	第二节 动物克隆技术方法.....	384
参考文献.....	361	第三节 动物克隆技术的应用.....	389
第二十四章 转基因动物技术	363	参考文献.....	391
第一节 转基因动物技术的基本原理.....	363	第二十六章 实验动物组织工程技术 ...	392
第二节 转基因方法.....	364	第一节 组织工程技术原理及发展简况.....	392
第三节 基因打靶技术.....	372	第二节 组织工程技术研究的内容.....	394
第四节 转基因动物的应用.....	376	第三节 组织工程技术的应用.....	401
		参考文献.....	403

第二十七章 小鼠基因组技术与分子遗传标记技术..... 405

第一节 小鼠基因组技术..... 405

第二节 分子遗传标记技术..... 409

参考文献..... 412

第二十八章 蛋白质组学技术..... 413

第一节 蛋白质组学的产生及研究背景..... 413

第二节 蛋白质组学研究方法..... 414

第三节 蛋白质组学技术的应用 419

参考文献..... 420

第七篇 实验动物管理

第二十九章 实验动物管理政策与法规..... 422

第一节 国外实验动物管理政策与法规..... 422

第二节 我国实验动物管理政策与法规..... 425

参考文献..... 427

第三十章 动物保护伦理学与动物福利..... 428

第一节 动物保护与动物保护主义..... 428

第二节 动物福利..... 430

第三节 动物保护伦理学与动物实验伦理规范..... 435

参考文献..... 441

第三十一章 “3R”理论及其在生命科学中的应用..... 442

第一节 “3R”理论的形成和发展..... 442

第二节 替代、减少和优化..... 443

第三节 “3R”理论在生命科学研究中的应用..... 445

参考文献..... 448

附 录

附录 1 国家实验动物标准 450

附录 1-1 哺乳类实验动物的遗传质量控制 (GB 14923—2001) ... 450

附录 1-2 实验动物封闭群的繁殖方法 456

附录 1-3 常用近交系小鼠、大鼠的生化标记基因 457

附录 1-4 实验动物环境及设施 (GB 14925—2001) 458

附录 1-5 实验动物微生物学等级及监测 (GB 14922.2—2001) ... 459

附录 1-6 实验动物寄生虫学等级及监测 (GB 14922.1—2001) ... 461

附录 2 实验动物常用生物学数据 463

绪论

当今自然科学领域中最活跃、发展最为迅速的学科是以分子生物学为核心的现代生命科学，它为增进人类健康、促进社会发展提供了前所未有的前景。生命科学研究必须具备四个基本要素，即实验动物 (animal)、设备 (equipment)、信息 (information) 和试剂 (reagent)，通常称 AEIR 要素，实验动物居于首位。实验动物学 (laboratory animal science) 是生命科学领域中重要的基础与应用学科。

第一节 实验动物学的学科概念与地位

一、实验动物学研究对象与范围

1. 研究对象

生命科学研究需要做动物实验，做动物实验需要实验动物。实验动物学研究对象就是实验动物与动物实验。

(1) 实验动物 实验动物虽是动物，但它不同于人们常说的野生动物、经济动物（如家畜、家禽）和观赏动物（如宠物）。实验动物是指经人工饲养，对其携带的微生物、寄生虫实行控制，遗传背景明确或者来源清楚，用于科学研究、教学、生产、检定及其他科学实验的动物。实验动物用于科学实验，获得的实验结果应该具有可靠性、精确性和可重复性。要保证科学实验结果的可靠性、精确性和可重复性，实验动物必须满足科学实验应具备的 4 项基本要求，即：①对实验处理表现出极高的敏感性；②对实验处理的个体反应表现出极强的均一性；③模型性状具有遗传上的稳定性；④动物来源具有易获得性。因此，要求实验动物必须是其先天的遗传性状、后天的繁育条件、微生物和寄生虫携带状况、营养需求以及环境因素等方面受到全面控制的动物。可见，实验动物有它特定的含义，其一是必须经人工培育，遗传背景明确，来源清楚，即遗传限定的动物；其二是对其携带的微生物、寄生虫实行人工控制，即微生物寄生虫限定的动物；其三是主要用于科学实验。

由于实验动物种类和数量有限，目前某些遗传背景不十分清楚，对其携带的微生物、寄生虫未做净化处理的动物也在用于科学实验，但它们只能称作实验用动物 (animal for research 或 experimental animal)。实验用动物是指能用于科学实验的动物，包括实验动物和某些野生动物、经济动物和观赏动物中一些用于实验的动物。其中有的动物未经严格的遗传学控制和微生物寄生虫学控制，标准化控制程度很低。

(2) 动物实验 (animal experiment 或 experimentation on animals) 是以实验动物为实验对象的科学实验，包括以实验动物整体水平的综合性反应为评价指标的实验，以实验动物为对象的观测，以实验动物为材料来源的局部器官及系统的实验，以及以实验动物的各种表现参数作为权衡尺度的实验室工作。对生命科学而言，动物实验结果的准确性及精确性与实验动物的选择、实验的条件、实验的技术与方法等直接相关。

2. 研究范围

实验动物学是融合生物学、动物学、畜牧学、兽医学、医药学等学科，并引用或借鉴了其他学科的研究成果及研究方法而发展起来的。因而它的研究内容十分丰富，研究范围从实

验动物扩展到动物实验。

实验动物学研究实验动物，主要是研究它的生物学特性、育种、保种、繁殖生产、饲养管理、饲料、垫料、设施条件、疾病诊断与防治、质量控制等；实验动物学研究动物实验，主要是研究动物实验的基本条件和基本技术与方法、实验动物的选择与应用、动物模型的建立与应用等，其中包括分别从解剖学、生理学、生物化学、病理学、遗传学、育种学、微生物学、免疫学、养殖学、环境卫生学、建筑学、管理学等角度进行的个性研究和从全方位进行的实验动物和动物实验标准化的共性研究。

二、实验动物学研究的目的是与任务

随着科学的发展与研究水平的提高，科学研究诸要素已经或正在标准化。生命科学也如此，实验动物在标准化，动物实验也在标准化。实验动物学研究的目的，就是培育、维持和生产供应标准化的实验动物，改进或建立标准化的动物实验条件、技术与方法，为科学研究、生产、检定等服务，最终促进科学技术和国民经济发展，提高人民生活质量和健康水平。

从实验动物标准化角度而言，实验动物学由两个相关的理论体系构成，其一为标准化实验动物的培育及饲养、标准化实验动物设施的设计与建立，即实验动物的标准化；其二为标准化的动物实验设施条件、技术与方法的设计与建立、准确地选择和正确地应用标准化实验动物，即动物实验的标准化。实验动物学的根本任务就在于怎样实现实验动物和动物实验的标准化。

三、实验动物学的分支学科

由于研究对象或研究重点不同，实验动物学已派生出一些分支学科。

实验动物遗传育种学 (laboratory animal genetic breeding science) 根据遗传学原理，研究实验动物的遗传改良、遗传控制、遗传特性、品种和品系培育以及实验用的非实验动物的实验动物化。

实验动物微生物学与寄生虫学 (laboratory animal microbiology and parasitology) 研究实验动物携带的微生物与寄生虫的种类、寄生或共生规律以及实验动物的微生物、寄生虫质量控制。

实验动物解剖学与生理学 (laboratory animal anatomy and physiology) 研究实验动物的形态结构和机能以及实验动物的解剖生理特性或模型性状。

实验动物生态学 (laboratory animal ecology) 研究实验动物与其生存环境的相互关系，包括研究房舍、笼器具、空气、温度、湿度、光照、噪声、饲料、饮水、垫料等对实验动物的影响。

实验动物营养学 (laboratory animal nutriology) 研究实验动物的营养需要、饲料营养素及其与动物机能的依附关系、饲料配方及饲料质量控制等。

实验动物医学 (laboratory animal medicine) 研究实验动物的疾病发生发展规律、诊断、预防、治疗以及在生物医学研究中的应用。

比较医学 (comparative medicine) 研究实验动物和人类的基本生命现象，特别是各种疾病的类比，根据生命现象或疾病的异同，建立各种动物模型，应用于生物医学研究。比较医学又分为比较解剖学 (comparative anatomy)、比较生理学 (comparative physiology)、比较病理学 (comparative pathology)、比较胚胎学 (comparative embryology)、比较外科学 (comparative surgery) 等。

实验动物饲养管理 (laboratory animal husbandry) 研究实验动物饲养、繁殖的科学管

理以及生产经营管理等。

动物实验方法学 (methods of animal experimentation) 研究动物实验的基本条件、基本方法与技术以及技术规范等。

实验动物学是一门以实验动物和动物实验为研究对象,以培育、维持和生产供应标准化的实验动物,改进或建立标准化的动物实验条件、技术与方法为目的,以实现实验动物和动物实验的标准化为根本任务的综合性学科。简而言之,实验动物学就是研究实验动物和动物实验的学科。

四、实验动物学的学科地位与应用价值

1. 实验动物学是一门新兴学科

实验动物学是伴随着生物医学的动物实验的发展而发展起来的,虽然动物实验可以认为从公元前4~公元前3世纪亚里士多德(Aristotle, 384~322 BC)解剖动物开始,但从其他学科分化出来作为独立学科的实验动物学的历史还比较短。以正式定名为准,它的存在时间还只有大约半个世纪。以至目前,对该学科名称还有不同提法,如实验动物科学、实验动物学,也有人称之为比较医学甚至小鼠医学等。专门术语也还没有完全统一,理论体系尚待成熟。历史短,知之者甚少,社会理解的不足在所难免。然而,实验动物学能独立成为一门学科,本身就是一种社会需要。作为一门新兴学科,实验动物学正处在方兴未艾的发展时代。

2. 实验动物学是一门综合性学科

由于实验动物学研究的范围广泛,涉及的知识面也就很广泛,需要引入、移植或借鉴其他学科(如生物学、动物学、畜牧学、兽医学、遗传学、微生物学、免疫学、营养学、生态学、消毒学等)、多种工程技术(如胚胎工程、细胞工程、基因工程、建筑工程、环境工程等)和一些软科学(如管理学、经济学、情报科学等)的研究成果及研究方法。所以,实验动物学是一门综合性学科。这种综合性,如果没有实验动物为纽带,很难说实验动物学是一门独立的学科。实验动物学有别于动物学、畜牧学或兽医学,也有别于实验医学或比较医学。虽然它们相互有关联,但各自研究的对象与目的不同,研究方法也不尽相同。实验动物学研究实验动物的目的是服务于动物实验;研究动物实验的前提是服从于实验动物。

3. 实验动物学是一门应用性学科

实验动物学在社会生产和科学实验的许多领域有广泛的应用价值,这主要表现在实验动物和动物实验所起到的作用。

实验动物作为生命科学的支撑条件,其作用可以概括为以下几个方面:①作为生物医学基础研究的标准实验材料;②作为人类疾病研究中人的替身或模型;③作为药品、食品等安全性评价和效果试验的活试剂;④作为生物制剂及制品研制的原材料;⑤作为生物学、医学、畜牧学、兽医学等的教学用具。此外,作为人类的替身,实验动物在农业、轻工业、重工业、环境保护、国防和航天工业等方面也发挥着重要的作用。

动物实验为生物医学研究,特别是实验医学的发展作出了重要贡献。例如,哈维(Willian Harvey, 1578~1657)用蛙、蛇、鱼等动物做实验,发现了血液循环现象;科赫(Robert Koch, 1843~1910)用牛、羊等动物做实验,发现了结核杆菌,提出了科赫原则;巴斯德(Louis Pasteur)用许多发病动物进行实验,在微生物学方面获得了重大成就;巴甫洛夫(Иван Петрович Павлов, 1849~1936)用狗做实验,在心脏生理、消化生理、高级神经活动方面获得重大成就;贝尔纳(Claude Bernard, 1813~1878)用兔、狗做实验,发现了肝脏的产糖功能和血管运动神经。

从历史看,实验动物替代人体受试的地位,没有任何其他技术与方法可以完全取代。同

样,动物实验是生命科学研究及其他一些自然科学研究的重要手段。

总之,实验动物学是现代科学技术不可分割的重要组成部分。这门学科的重要性在于,一方面它作为科学研究的重要手段,直接影响着许多领域研究课题的确立和水平;另一方面,作为一门学科,它的发展和提高,又会把许多领域的课题研究引入新的境地,提高到一个更高的水平。

第二节 实验动物学的发展概况

“Laboratory Animal Science”一词最早于20世纪50年代在文献中出现。这意味着实验动物学作为一门独立的学科此时已经形成,作为一门独立的学科,它的发生和发展必定要经历漫长的演变过程。从研究的对象、范围和所取得的理论成果来看,可以说实验动物学是从生物学、动物学、畜牧兽医学,特别是实验医学中衍生出来的。它源于动物实验,奠基于实验动物的育种繁殖。

一、动物实验的发展

国外最早有文字记载的原始动物实验可追溯到公元前4~公元前3世纪。古希腊哲学家和医学家亚里士多德(Aristotle)的著作中就描述了各种动物的解剖。具有实验科学意义的动物实验是从动物的活体解剖开始。公元2世纪的古罗马医学家盖伦(Galen, 129~199)是动物活体解剖技术的创始人。盖伦总结了前人做过的若干实验,研究动物活着的时候,损伤、毁坏或切除动物某一部分后所产生的后果,以此推断这一部分器官的功能。他通过用猪、猴等动物进行的动物实验,创立了医学知识和生物学知识体系,并提出实验研究是科学发展的基础。在中世纪,由于教会统治,动物实验同人体解剖一样遭到诽谤和禁止,因而在盖伦以后的1400年间,动物实验发展缓慢。随着15世纪西欧的文艺复兴,动物实验才再度兴起。公元17世纪,英国著名生理学家和医学家哈维(Harvey)在研究血液循环的过程中,用狗、蛇、蛙、鱼等动物做动物实验,创立了近代生理学实验方法。哈维的动物实验在技术上比盖伦的动物活体解剖更前进了一大步,这就是既有精细的动物活体解剖和观察,又有数学、物理学上的定量估计和推算。他通过动物实验测算出心脏每次收缩射入动脉的血量,还用结扎腔静脉和结扎主动脉的方法证明血液流动方向。他的动物实验,不仅得出了现代意义的血液循环理论,而且把动物实验本身提高到了—门科学的水平。18世纪以后,动物实验迅速发展,成为生物学和医学研究的基本方法。19世纪以后,动物实验在技术方法上得到了进一步升华。对此有两位科学家功绩卓著。一位是法国生理学家贝尔纳(Bernard),他首次提出了动物实验的内环境和外环境要领。在他晚年写下的《实验医学研究导论》中,特别强调了动物选择和把握动物生理条件的重要性,详细指出了实验动物的种系、性别、体重、年龄、饮食营养等差异和水、温度、空气、压力、化学成分等环境条件对动物实验结果的影响。另一位是俄国生理学家巴甫洛夫,他将动物实验发展为急性动物实验和慢性动物实验。到了20世纪,动物实验进入了更加辉煌的时代。

二、实验动物的发展

19世纪末到20世纪60年代是实验动物学发展的奠基时期。期间,近交系动物、免疫缺陷动物和悉生动物的培育成功为实验动物学独立于其他学科奠定了基础。

1. 近交系动物的培育

近交系实验动物的培育从小鼠开始。20世纪初,科学家根据孟德尔遗传基本规律,认识到肿瘤在小鼠同种异体间移植不成功的原因是由于小鼠个体间的遗传差异造成的。1907

年 Little 采用遗传学原理,以毛色基因为标记,开始小鼠的近亲繁殖,以获得遗传均一性的纯系小鼠。两年以后首次成功地培育出了世界上第一个近交系小鼠 DBA。接着,Bagg 用同样的方法,于 1913 年又成功地培育出了近交系小鼠 BALB/c; Strong 于 1920 年育成了近交系小鼠 C3H 和 CBA; Little 又于 1921 年育成了近交系小鼠 C57BL 和 C57BR。至今,世界各地已培育出数以千计的各种近交系实验动物,其中大鼠和小鼠近交系已有 1500 多个。

近交系实验动物的培育成功,为生物医学科学研究提供了一种遗传几乎完全均一的实验动物,提高了动物实验的准确性和均一性。

以世界上最有权威的实验动物小鼠遗传资源中心——于 1929 年建立于美国缅因州 Bar Harbor 的 Jackson 实验室为例,目前已收集的小鼠近交品系 1000 余个,大鼠 110 余个,地鼠 45 个,豚鼠 14 个,家兔 34 个,鸡 40 个。20 世纪 90 年代以来,每年增加的品系数量达数十种。我国实验动物的研究起步较晚,虽然自 20 世纪 50 年代初就开始了近交系的培育,并先后培育出了 TA1、TA2 和 615 等近交系小鼠,但六七十年代几乎处于停滞状态,80 年代初才作为独立学科被提出来,得到政府的支持并取得快速发展,但到目前为止,全国使用的品种、品系也不足 200 种,从品种数量上与发达国家相比差距还很大。

2. 悉生动物的培育

随着动物实验的发展,对实验动物提出了更高的要求,就是如何消除实验动物自身携带的微生物和寄生虫对动物实验结果的干扰。悉生动物能满足这种要求。悉生动物的发展是随着无菌动物的发展而发展的。

无菌动物的发展已有 100 多年的历史。早在 1885 年, Dudaux 曾将豌豆在无菌条件下进行栽培,证明无菌植物不能利用供给的养分。同年 Pasteur 认为,动物在没有肠道菌参与的情况下不能生存。次年, Nencki 则提出相反的观点。因此,学术界展开了一场无菌动物能否存活的争论,并分头开展实验。约 10 年后(即 1895 年), Nuttall 和 Thierfelder 用剖腹产方法获得豚鼠,置于玻璃罩内用灭菌的牛奶饲喂,第 8 天后处死剖检,其肠道内容物没有检出细菌。1932 年, Glimstedt 终于能把无菌豚鼠养活两个月,取得了初步进展。1945 年 Reyniers 率先培育并繁殖无菌大鼠成功。随后,无菌鸡(1948 年)、无菌小鼠(1955 年)、无菌豚鼠(1959 年)、无菌家兔(1959 年)等相继育成。实验证明,肠道菌的存在不是动物生存的必要条件。

随着无菌动物研究的开展,无菌动物的饲养设施也在不断改进。1915 年, Reyniers 首先研制出金属隔离器,1957 年他又发明了塑料隔离器。隔离器的出现大大促进了无菌动物的发展。

以后,由于饲养管理和实验目的的需要,在无菌动物基础上又发展了已知菌动物和无特定病原体动物。

3. 免疫缺陷动物的培育

1962 年英国 Grist 在非近交系小鼠中偶然发现无毛小鼠。1966 年 Flanagan 证实这种无毛小鼠是由于基因突变造成的,称为裸小鼠,用“*nu*”表示裸基因。1968 年 Pantelouris 证实这种裸小鼠伴有先天性胸腺发育不良。裸小鼠的发现引起了科学家的极大兴趣。1969 年丹麦 Rygaard 和 Povlsen 将人的结肠腺癌组织(或细胞)移植于裸小鼠获得成功,为免疫缺陷动物的研究和应用开创了新局面。

1953 年英国 Rowett 研究所的研究人员首先在大鼠远交群(即封闭群)中发现了裸大鼠,该裸大鼠由于饲养在普通环境下,仅维持到 16 代就断种了。1975 年裸大鼠从原来的群体中再次被发现,交配繁殖后,大多数幼仔在产后第一周死亡,尸体解剖证实无胸腺。1977 年

英国 MRC 实验动物中心建立了裸大鼠种子群。1978 年首次报道了裸大鼠的人癌异种移植。

继裸小鼠和裸大鼠发现之后,又相继发现和培育出具有免疫缺陷的其他动物,如牛、豚鼠、兔、犬、猫等,包括胸腺缺陷、无胸腺、无脾脏、既无胸腺也无脾脏等缺陷。特别是 1983 年美国 Bosman 首先发现 SCID 小鼠之后,免疫缺陷动物研究成为实验动物学研究的又一热点。

4. 实验动物发展的其他成就

如同源导入近交系动物、同源突变近交系动物、重组近交系动物、分离近交系动物、嵌合体动物、单亲纯合二倍体动物、转基因动物、克隆动物等。

三、动物模型的发展

动物模型的发展,最早可追溯到 18 世纪。1798 年英国医学家琴纳 (Jenner, 1749~1823) 首次报道了人感染牛痘后,能避免感染天花病。1876 年科赫 (Koch) 将分离出来的炭疽杆菌接种到小鼠体内,小鼠发生了炭疽病,又从患炭疽病的小鼠体内分离出了炭疽杆菌,证明了细菌与疾病的关系。同一时期,巴斯德 (Pasteur) 研究牛和羊炭疽病、鸡霍乱、狂犬病等,也是早期动物模型应用的实例。

20 世纪 60 年代,学术界正式提出了“动物模型”概念。1961 年,美国国立卫生研究院 (NIH) 首次提出加强开发人类疾病动物模型研究。1965 年,美国 Gajdusck 研究人类 Kuru 病 (一种致死性神经疾病),用病人脑组织提取物注射黑猩猩,成功地复制出了 Kuru 病动物模型,成为最早研究动物模型的经典例子。1982 年 Hegreberg 和 Leatrer 出版的《动物模型目录》一书记载,自发性动物模型有 1289 种,诱发性动物模型有 2707 种。20 世纪 80 年代后,转基因技术被应用到动物模型研究上来,建立了各种转基因动物模型和基因敲除动物模型。有资料记载的自发和诱发的实验动物模型已有 4000 余种,加上利用现代生物技术手段制作的基因工程模型,种类更多,但由于保存技术和经济等方面的原因,真正能够保存下来并得到广泛应用的不足 1/2。

第三节 现代实验动物学技术

自 20 世纪中叶以来,实验动物学博采众长,从遗传学、分子生物学、发育生物学 (含胚胎学)、细胞生物学、畜牧学等学科广泛吸收研究成果,充实和发展自己,从而形成了一整套现代实验动物学技术。如实验动物标准化技术、试管动物培育技术、转基因动物技术、克隆动物技术、单亲纯合二倍体动物育成技术、实验动物胚胎工程技术、实验动物组织工程技术、大规模诱变技术、小鼠基因组技术、分子生物学检测技术、“电子小鼠”技术、实验动物模型的计算机模拟技术等。这些技术不仅充实了实验动物学的内容,而且给实验动物学带来了前所未有的发展空间和广阔前景。

一、实验动物标准化技术

标准化是某一个领域需要达到的统一的标准要求。实验动物的标准化是指对实验动物、饲料、饮水、垫料、设施 (包括建筑物、笼器具等) 及其设施环境 (如温度、湿度、噪声、洁净度等) 制定统一的技术标准,并通过规范或法律措施使在实验动物生产和使用中贯彻实施这些标准的过程。实验动物已被公认为生命科学研究“活的精密仪器”,是因为它是采用实验动物标准化技术培育和繁殖生产出来的标准化实验动物,从而保证了在实验研究中具有良好的敏感性、准确性和重复性。实验动物标准化管理技术和无菌动物技术是实验动物标准化技术极为重要的内容。