

高等医药院校基础医学实验教学规划教材

医学生物学实训指导

主编 曾凡龙



科学出版社

高等医药院校基础医学实验教学规划教材

医学生物学实训指导

主 编 曾凡龙

副主编 卫荣华 阮绪芝

编 委 (按姓氏笔画排序)

王 燕 王晓雯 朱 敬 刘丹丹

杜伯雨 李 琛 沈君豪 张勇洪

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本教材精心提炼医学细胞生物学、医学遗传学和医学生物学的经典实验内容和实验方法,教材共分为五篇,分别为:实验基本技能和实验要求、医学细胞生物学实验实训、医学遗传学实验实训、医学实验动物实验实训、医学生物学知识实训。前四篇以实验内容为主,其中实验流程图可以帮助学生快速建立起实验的全局观;详细的实验内容指导可以使学生扎实地掌握基本实验方法和技能;学生实验后通过实验结果图和彩图的直接比较,可以客观分析自己实验成功或失败的原因,掌握必需的实验方法。第五篇以习题为主,学生在实验课后,可以通过习题训练复习巩固所学知识、强化记忆。本教材提供必要的理论内容、实训素材、创新思维方法和明确可行的实验指导,可帮助低年级医学生尽快适应大学学习。

本教材可供医学院校本科基础、临床等专业学生使用。

图书在版编目(CIP)数据

医学生物学实训指导 / 曾凡龙主编. —北京: 科学出版社, 2018.6
高等医药院校基础医学实验教学规划教材

ISBN 978-7-03-057780-1

I. ①医… II. ①曾… III. ①医学—生物学—高等学校—教材
IV. ①R318

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2018) 第 123609 号

责任编辑: 周 园 / 责任校对: 郭瑞芝

责任印制: 赵 博 / 封面设计: 陈 敬

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

北京市密东印刷有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2018 年 6 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2018 年 6 月第一次印刷 印张: 10 1/2 插页 2

字数: 259 000

定价: 38.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

高等医药院校基础医学实验教学规划教材

编写指导委员会

主 任	李 和					
副 主 任	李 涛	严世荣				
委 员	(按姓氏笔画排序)					
	付 勇	朱名安	阮绪芝	严世荣	李 和	
	李 涛	李文春	杨 虹	金志雄	赵万红	
	郭 阳	郭怀兰	唐 微	彭吉林	曾凡龙	
丛 书 主 编	李文春	阮绪芝	朱名安			
丛书副主编	金志雄	赵万红	郭 阳			
编 委	(按姓氏笔画排序)					
	丁演鹂	卫荣华	卢 敏	付 勇	朱名安	
	阮绪芝	李 珊	李 琛	李文春	杨 虹	
	杨 靖	余贤军	邵 鑫	金志雄	赵俊杰	
	郝雪艳	姚淞元	郭 阳	郭怀兰	唐 杰	
	唐 微	黄正亮	彭吉林	曾凡龙		

总 序

随着现代生命科学及其各种实验技术的飞速发展和高校教学模式的改革,现代高等医学教育更加强调培养学生的探索精神、科学思维、实践能力和创新能力。这就要求从根本上改变实验教学依附于理论教学的传统观念,要从人才培养体系的整体出发,建立以能力培养为主线,分层次、多模块、相互衔接的科学实验教学体系,使实验教学与理论教学既有机结合又相对独立。同时,必须加大对实验项目、实验条件、实验教学体系的改革力度,改革传统的以教研室为单位的教学实验室模式,整合完善现代医学实验室功能和管理,从而提高医学实验教学质量。

本系列实验教材由湖北医药学院组织编写,共9册,包括《人体解剖学实训指导》《系统解剖学实训指导》《局部解剖学实训指导》《医学显微形态学实训指导》《医学微生物学实训指导》《医学免疫学实训指导》《医学生物化学与分子生物学实训指导》《医学生物学实训指导》《预防医学实训指导》。系统介绍了系统解剖学、局部解剖学、组织胚胎学、医学微生物学、医学免疫学、生物化学与分子生物学、医学细胞生物学和医学遗传学、预防医学的实验研究所必需的知识与技术。此套教材编写工作是按照建设国家实验教学示范中心要求的实验教学模式,借鉴国内外同类实验教材的编写方法,力求做到体系创新、理念创新及制作精美。内容上将基础医学实验教学按照基础医学实验体系进行重组和有机融合,按照实验教学逻辑和规律,将实验内容按模块层次进行编写,基本上包括:①实验操作及常用仪器使用;②基本实验或经典验证性实验;③综合性实验;④研究创新性实验;⑤习题。不同层次学生可按照本专业培养特点和要求,对不同板块的必选实验项目和自选实验项目进行适当取舍。

其基本理念和设计思路具有以下特点:

1. 明确目标, 准确定位 本系列实验教材编写过程中增加了临床应用多、意义较大的实验内容,适当选编新的内容,力求突出基础医学知识在医学相关专业临床工作中的应用。

2. 突出能力, 结合专业 以“自主学习能力、临床执业能力”培养为根本,将各学科的相关知识与临床实践应用“链接”为一体,增强学生学习兴趣,突出应用能力培养,提高学生自主学习能力和学习效果。教材重视生命科学研究中如何发挥学生观察、分析与思辨能力的培养,主要任务是使大学生通过动手,得到实验技术的基本操作技能训练、科学思维和创新能力的培养,同时也要使他们初步了解或掌握先进技术和方法,与迅速发展的学科前沿接轨。

3. 增减内容, 突出重点 本系列实验教材在编写过程中,坚持基本理论和基本知识以“必须、实用、够用”的原则。实验内容去旧增新,删繁就简。将原来一些经典实验与现代科学思维相结合,适当压缩,并进行内容和教学方法的改革。对原书的插图进行了精选。对所开设的每一个实验要求达到的培养目标作了清晰而明确的阐述。

4. 整体优化, 彰显特色 教材在整体结构上,既考虑到教与学的传统习惯,力求整体系统化,又考虑到教材内容的创新,体现教材的思想性和先进性;在教材内容的编写上突出专业特色,体现专业特点,强化知识应用,部分教材增加实验流程图以及实验要点和实验结果图,使规划教材具有更广泛的适应性;在结构及内容编排上条理清楚,层次分明,充分体现规范化特点。为扩大学生的知识面,启发其思维,根据每个部分的内容在临床工作中的应用情况,精选与临床密切相关的学科知识和有应用前景的新进展和新技术,将各相关学科有机结合在一

起,具有基础扎实、应用性强、科研创新性突出的优势。

本规划教材的使用对象以本科临床医学专业为主,兼顾预防、麻醉、口腔、影像、药学、检验、护理、康复、生物科学与生物技术、公共事业管理、信息管理与信息系统等专业需求,涵盖全部医学生的基础医学实验教学。

由于基础医学实验教学模式尚存在地区和校际间的差异,本规划教材可能存在偏颇之处,也会有不足和疏漏,敬请广大医学教育专家和同学提出宝贵意见,以便修订再版。

湖北医药学院

高等医药院校基础医学实验教学规划教材 编委会

2018年5月

前 言

高等学校实验课改革,要求开设基本验证性实验、综合设计性实验、研究创新性实验。在实验手段上注重实验操作,同时,增加虚拟仿真实验方法,做到“能实不虚、虚实结合”。医学生物学实验是医学生最基本的动手操作实验,绝大多数实验适合实际操作,通过实际训练来培养学生的直观认知能力并增强学生的动手能力。结合图片展示、操作模拟,可以为低年级医学生建立必要的关于实验动物、实验方法的感知和认知。

本书在前版的基础上,优化实验步骤、整合实验项目,重点保留基本实验和必不可少的动手操作实验,能够满足医学细胞生物学、医学遗传学和医学生物学等课程的实验要求。根据多年的教学实践经验,我们发现明确实验结论且动手机会多的实验非常受学生欢迎,这些实验能够极大地提高学生的学习兴趣,达到较好的实验效果。本书的实验内容中,尽量编排适量的使用实验动物的项目,让学生通过亲自操作学到知识和技能,同时,每次的实验动物用量不多,做到够用而不浪费。

为了使学生对所做实验内容有全面的掌握和了解,能够顺利高效地完成实验,本书依照我们以前的实践经验和做法,继续使用实验流程图。学生通过实验流程图,可以快速了解实验全貌,使实验过程顺畅、高效。这些实验流程图,还可以帮助开展自主实验和设计创新性实验的同学快速了解实验过程,做到心中有数,从而提高实验设计效率和成功率。

学生的实验结果,直接关系到学生的学习兴趣 and 实验获得感。对于基本和经典的实验,本书提供真实的实验结果图片和操作指导图,为学生实验提供重要参考。同时,教师在实验课堂上还可提供实时实验结果比对,或者查询和观看以前学生做的优秀实验结果,作为比较和参考。学生通过与他人实验结果比对,可以及时发现问题,更好地掌握所学知识。

综合设计性实验和研究创新性实验的开设需要老师和同学付出更多的时间和精力,没有固定的模式可寻。所以,本书这部分实验项目只是可以用来开展这些实验的实验技术,并没有专门设立相应的实验项目。

医学生物学实验课开设对象是刚入大学不久的新生,中学的学习方法和思维不太适合大学学习。本书在编写实验实训的同时,还编写了医学生物学理论知识的实训内容,作为中学到大学的过渡性训练,帮助学生深入细致地理解医学生物学的理论知识,进而更好地理解和掌握实验知识。理论知识实训部分的编排,既尊重理论教材的体系,又考虑实训的实际需求做了少量调整,力求重点一目了然、训练方便有效。

本书力争做到全面实用,满足医学生对实验实训和理论实训的需要。但是由于编者水平有限,难免会有考虑不周之处,恳请使用本书的老师和学生不吝指出,以便将来改正和完善。

曾凡龙

2018年3月30日

目 录

第一篇 实验基本技能和实验要求	1
第一章 实验要求	1
第一节 实验室规则和要求	1
第二节 实验类型和实验报告	1
第二章 实验技能	3
第一节 生物显微绘图知识	3
第二节 生物解剖知识	3
第三节 实验动物知识	4
第二篇 医学细胞生物学实验实训	8
第三章 细胞经典验证性实验	8
实验一 显微镜的结构和使用	8
实验二 细胞形态结构的观察	16
实验三 细胞显微测量	18
实验四 细胞器的观察	21
实验五 细胞核的分离和鉴定	22
实验六 细胞有丝分裂标本制备和观察	24
第四章 细胞综合设计性实验	26
实验七 DNA 和 RNA 的显示	26
实验八 酸性蛋白、碱性蛋白和过氧化物酶的显示	27
实验九 血涂片制备和瑞氏染色显示白细胞	29
实验十 细胞融合	32
第五章 细胞研究创新性实验	34
实验十一 巨噬细胞的异物吞噬作用	34
实验十二 细胞凋亡的诱导和检测	35
第三篇 医学遗传学实验实训	37
第六章 遗传经典验证性实验	37
实验十三 X 染色质标本的制备	37
实验十四 小鼠骨髓嗜多染红细胞微核检测	38
实验十五 小鼠骨髓细胞染色体的制备和观察	41
实验十六 人体外周血淋巴细胞培养和染色体标本制备	43
实验十七 人类染色体核型分析	45
实验十八 染色体显带技术	48
实验十九 人类的皮肤纹理分析	50
第七章 遗传综合设计性实验	54
实验二十 ABO 血型测定及其基因频率分析	54

实验二十一 苯硫脲尝味试验及其基因频率分析	55
实验二十二 系谱分析	58
第八章 遗传研究创新性实验	64
实验二十三 人类性状的遗传学分析	64
实验二十四 遗传咨询	66
第四篇 医学实验动物实验实训	70
第九章 动物经典验证性实验	70
实验二十五 医药动物分类	70
实验二十六 家兔的解剖	74
第五篇 医学生物学知识实训	83
第十章 生命现象的一般描述	83
第一节 生命的特征与起源	83
第二节 生命的延续	86
第三节 生命的个体发育	90
第四节 生命多样性及其形成机制	97
第五节 生物分类的方法与分类系统	98
第六节 生命的进化	101
第七节 生物与环境	102
第十一章 生命的基本单位——细胞	105
第十二章 生命的遗传和变异	126
第十三章 现代生物学和现代医学	135
第一节 疾病的生物学机制	135
第二节 克隆与医学	137
第三节 人类基因组计划与功能基因组学	140
第四节 神经医学	141
第五节 生殖医学	143
第六节 预测医学	146
第七节 干细胞与医学	148
附录	155
附录1 常用试剂和药品配制	155
附录2 细胞和组织染色方法	156
附录3 显微标本制备方法	158

彩图

第一篇 实验基本技能和实验要求

第一章 实验要求

第一节 实验室规则和要求

一、实验指导思想

实验开设的目的是培养和训练学生的动手能力，开拓学生的思维，使理论与实践相结合，并在实践中巩固理论知识获取新的知识和技能。老师要鼓励学生多动手操作，多思考、多提问题，在探索和学习基本实验操作的同时，灵活运用实验设备和材料，设计实验，探讨和探索感兴趣的问题。学生要主动学习和自主学习，多和老师交流，敢于设计实验方案，勇于实践，探索未知问题，在实践中获取知识、增长能力。

学生设计实验，要在参照本书实验项目的同时，大胆设问、谨慎求证，在老师的帮助和指导下，有效地完成实验，以充分利用时间，提高学习效率。

二、实验室规章制度

实验室制度是保证实验有序进行和维持实验室环境的重要保障。学生必须做到：

(1) 实验室座位经教师排定后即为固定座位，不要随意更换，实验室须保持安静，不得高声喧哗或随意走动。

(2) 应用显微镜观察的实验，必须使用固定号码的显微镜，不得随意挪用他人的显微镜。

(3) 示范标本观察时，不可任意移动，以免损坏或妨碍别人观察。

(4) 应当尽量节省实验材料，爱护一切实验仪器和用具，如有损坏应立即报告老师，不得自行拆修，损坏东西按学校有关规定处理；药品使用完毕后要放回原处，不可乱置，以免影响其他同学使用。

(5) 轮流做好值日工作，保持实验室的清洁卫生和正常的教学秩序。

(6) 实验完毕后，要将标本用具放回原处，自己用过的器具要按要求清理和清洁，解剖后的动物尸体，应集中放在指定地点，不得随意丢弃。

第二节 实验类型和实验报告

一、实验类型概述

本书把实验分为经典验证性实验、综合设计性实验、研究创新性实验三类。经典验证性实验是指经长期教学实践证明对医学生理解医学学科理论有很好辅助作用的传统实验项目。内容

反映基本知识和基本理论,具有基础性、入门性、规范性特点。综合设计性实验是指学生在对各相关实验知识和方法有初步认识的基础上,多层面或多学科知识交叉融合,充分利用现有实验技术条件,开展的具有初始探索性的实验。研究创新性实验是指在已有的知识和技能基础上,以个人兴趣和科研目标为导向的自主设计实验及科研训练。本书中所列该类实验,是指可以用作综合设计性实验和研究创新性实验设计的实验技术,实施时,需要教师的指导。随着虚拟仿真实验的普及,我们有些实验也有相应的实验手段;学生应该把虚拟仿真实验和实验教学微课、视频、课件等作为实验预习和复习的有效补充,在教师的指导下,充分利用这些资源来改变自己的学习方法和环境,提高学习效率。

二、实验研究方法

根据所研究的问题进行设计实验,控制好环境因素的变化,使实验环境相对简单,通过对可重复的实验现象进行观察、分析、归纳和总结,从而发现规律。实验研究方法大致分为如下几个方面:①提出问题或假设;②理论分析可行性;③设计和实施实验;④收集实验数据和现象;⑤分析数据和得出结论。

初期实验技能不够熟练的学生,可以用本书中的实验方法训练自己,对已知的实验进行设计改造,变成探索某些问题的设计性实验,既可以学习和训练技能,又可以锻炼思维,增加设计经验。待到具备一定的知识和技能后,可与指导教师商讨研究创新性实验的设计和实施方案。

三、实验报告格式

1. 通用报告 包括:①实验项目;②实验目的或原理;③实验方法或步骤;④实验结果;⑤讨论和结论;⑥日期和实验者署名。

2. 探究报告 包括:①题目;②材料和方法;③结果和讨论;④结论;⑤参考资料;⑥日期和研究者署名。

3. 论文格式 包括:①题目;②研究者署名;③摘要;④引言;⑤材料和方法;⑥结果和讨论;⑦结论;⑧感谢;⑨参考文献。

在写通用报告时,要写清楚实验方法和步骤,从而锻炼学生的归纳总结能力。实验结果要记录真实和准确,养成良好的科学学习习惯。讨论和结论的书写,反映了学生的思维能力和分析技能。长期、规范的训练,有助于学生更好地成长。

探究报告和论文的书写,是学生进行综合设计性实验和研究创新性实验后的工作。研究题目是点睛之笔,具有很强的概括性,言简意赅。材料和方法部分反映了实验者的实验思路和实验准备情况,以及实验过程的记录,是实验成败的关键部分。结果和讨论部分,记录了实验的结果和实验成败的原因分析,以及对实验结果的综合分析,参照他人类似实验和相关实验,得到什么提示和启迪,以及对本研究问题解决的作用等。通过归纳总结,得出结论。参考资料,表明本实验的设计来源和依据。感谢帮助过自己实验的人,这种行为不仅是一种美德,而且是将来更好工作的基础。

(曾凡龙)

第二章 实验技能

第一节 生物显微绘图知识

- (1) 绘图基本工具为铅笔(HB、2H)、小刀、尺、橡皮、绘图纸等。
- (2) 生物绘图必须真实,应选择优良有代表性的、典型的标本,按照实物的形状、各部分的比例、位置及毗邻关系进行描绘。
- (3) 用较硬的铅笔绘出标本中图像或结构的轮廓,用较软的铅笔以打点的方式绘出其他部分。
- (4) 绘图要注意布局,整齐美观,大小适中。图的注释应从各部分结构向右引出水平线(或者有规律地引出并行线、等分线、辐射线等视觉美观的线条),结构名称写于引线末端;图的下方注明该图的名称和染色方法及放大倍数,书写要整齐、美观。
- (5) 当要表明标本明暗度和立体感时,只能在图上用铅笔打细而圆的小点表示,不能涂阴影或线条。
- (6) 标本颜色,注明在结构名称后方。不使用彩色铅笔绘图和标注。

第二节 生物解剖知识

常用的器械有解剖刀、解剖剪、解剖镊、骨剪、血管钳及解剖盘(板)等。

一、解 剖 刀

解剖刀用作各种切口以及剥离和剔除组织。解剖刀的执刀法一般可分为三种:

1. 执琴弓式 以拇指与其余四指相对握持,与执提琴弓的手法相似。这是做一般切口时的持刀法(图 2-1A)。

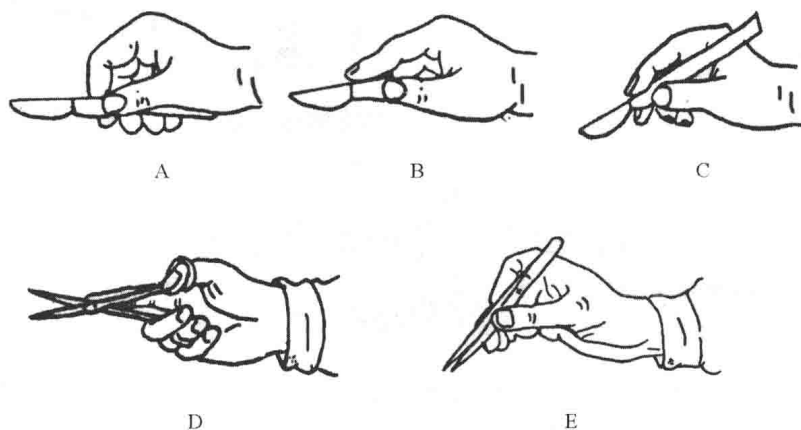


图 2-1 解剖器械使用

2. 执餐刀式 将食指(示指)放在刀背上,拇指与其余三指相对握持,如同持餐刀一样。

这是做较大切口时的持刀法（图 2-1B）。

3. 执笔式 以拇指和食指与中指相对握持，如同执笔一样。这是做小切口或一般解剖时最常用的执刀法（图 2-1C）。

用解剖刀分离皮肤时，应将刀刃朝向皮肤一边，这样便不至于损伤皮下的肌肉和血管。

二、解 剖 剪

解剖剪用来剪开各种软组织（如皮肤、肌肉等）。其大小和样式也有多种。执解剖剪的方法，一般以拇指和环指伸入柄环内，并以食指和中指将其支持和固定（图 2-1D）。

用解剖剪做皮肤和腹壁的切口时，应使剪刀尖翘向体表方向，这样才不会损伤血管及内脏器官。

三、解 剖 镊

解剖镊用来钳住和提起皮肤或其他组织，以便进行剥离。在剔除结缔组织和脂肪以暴露血管和神经时，镊子也是常用的工具。动物解剖常用的镊子主要有尖头镊子、钝头镊子及弯头镊子三类。镊子的使用方法是用拇指、食指和中指相对握持（图 2-1E），不应握于掌心。在剔除脂肪和结缔组织时，应同时用两把镊子，两手各执一把，以左手的镊子拉住一部分组织，用右手的镊子一点一点地将组织剔除。当用尖头镊子清理血管时要小心地进行，不要碰破血管。

四、骨 剪

骨剪专门用来剪骨。其头短，刀刃厚，形如老虎钳。使用方法是拇指与其余四指相对握持。

五、血 管 钳

血管钳主要用来夹住断裂的血管，以防止出血。其形式有直头和弯头两种。执血管钳的方法与解剖剪相似。

六、解 剖 盘

进行动物解剖时，应将动物置于解剖盘中，使动物标本固定以便于解剖。同时也避免血污染实验桌。

第三节 实验动物知识

一、实验动物分类

根据实验动物的遗传限定性，将实验动物分为近交系和封闭群。近交系是指具有相同基因类型的一群动物，它的品系有：同源突变近交系、同源导入近交系、分离近交系、重级近交系和杂交 F_1 代。封闭群是指具有不同基因类型的一群动物，它的品种有远交种和突变种。

二、动物分级

国际上按照动物的微生物被控制的程度,把实验动物分为四种:普通动物、SPF 动物、悉生动物和无菌动物。

普通动物 (conventional animals, CV): 饲养在开放系统,不携带所规定的人畜共患病的病原体和动物烈性传染病的病原体。对微生物带有状况不明确。

SPF 动物 (specific pathogen free animals, SPF): 饲养在屏蔽系统中,不带有指定的致病性微生物和寄生虫,带有非特异性的微生物和寄生虫。

悉生动物 (gnotobiotic animals, GN): 饲养在隔离系统中,确知已带的微生物丛,经无菌条件饲养。

无菌动物 (germ free animals, GF): 饲养在隔离系统中,以封闭的无菌技术获得,用现有的方法不能检出任何微生物和寄生虫。

按照实际情况制定的我国实验动物等级为四级。

一级:普通级动物 (CV)。

二级:清洁级动物 (clean animals, CL)。根据我国国情而设定的等级动物,除普通级动物应排除的病原体外,不携带对动物危害大和对科学实验研究干扰大的病原体。比 SPF 级动物需要排除的病原体种类少,因此,较 SPF 动物容易达到标准。

三级:无特定病原体动物 (SPF)。

四级:无菌动物 (GF) 和悉生动物 (GN)。

三、实验前动物的处理

(一) 实验动物的麻醉方法

为消除动物实验过程中的疼痛和不适感,以利于操作,常常要对实验动物进行麻醉。由于动物种属间的差异等情况,所采用的麻醉方法和选用的麻醉剂亦有所不同。

1. 常用的麻醉剂

(1) 挥发性麻醉剂:包括乙醚、氯仿等。乙醚较为常用,其安全度大,麻醉深度容易掌握,而且麻醉后苏醒较快。缺点是对局部刺激较大,可引起上呼吸道黏膜分泌液增多,进而影响呼吸、血压和心搏活动,严重者可导致窒息。所以在乙醚麻醉时,要有人照看,以防麻醉过深发生意外。

(2) 非挥发性麻醉剂:这类麻醉剂种类较多,包括苯巴比妥钠、戊巴比妥钠、硫喷妥钠、氨基甲酸乙酯,氯胺酮和水合氯醛等。这些麻醉剂使用方便,一次给药可维持较长时间,麻醉过程平稳,缺点是苏醒较慢。

(3) 中药麻醉剂:在动物实验中有时也用到洋金花和氢溴酸东莨菪碱等中药麻醉剂,但由于其作用不够稳定,而且常需加佐剂才能达到麻醉效果,故使用较少。

2. 全身麻醉

(1) 吸入法:选用一个密闭的玻璃箱或广口瓶(加盖),先用棉球蘸上乙醚放入其中,然后放入待麻醉的动物,5 分钟左右即可使动物麻醉。立即取出动物进行实验。如实验过程较长,在动物麻醉变浅时,要随时在鼻部加放蘸有乙醚的棉球或纱布。此法常用于大、小鼠的短期麻醉。

(2) 注射法: 非挥发性麻醉剂均可采用此法。常采用腹腔注射、静脉注射、皮下注射及肌肉注射。这种方法操作简便, 是动物实验最常用的麻醉方式。由于各麻醉剂的作用及毒性差别, 所以在注射时要注意药量。

3. 局部麻醉 常用的局部麻醉剂有普鲁卡因、可卡因等, 多采用浸润麻醉。一般将麻醉剂注射于皮内、皮下组织或手术视野的深部组织, 以阻断用药局部的神经传导, 使痛觉消失。猫、犬的局部麻醉一般用 0.5%~1.0% 的盐酸普鲁卡因注射, 黏膜表面可用 2% 的盐酸可卡因; 兔在眼球手术时, 可于结膜囊滴入 0.02% 的盐酸可卡因溶液, 数秒内可出现麻醉。局部麻醉一般可维持 30 秒~4 分钟。

4. 麻醉注意事项

(1) 有些麻醉药, 如乙醚, 是挥发性很强的液体, 易燃, 使用时应远离火源。平时应装在棕色玻璃瓶中, 储存于阴暗干燥的地方。

(2) 所有麻醉药均可导致动物中毒甚至死亡。使用时应特别注意给药途径和剂量。有时可先用保守剂量, 麻醉不够时, 可中途再补加麻醉剂。

(3) 麻醉过程中要随时观察动物的呼吸、反射等情况, 出现危险时, 可用咖啡因、苏醒灵和肾上腺素等注射抢救。

(二) 实验动物的处死方法

处死实验动物应遵循动物安乐死的基本原则, 尽可能缩短动物的致死时间, 尽量减少其痛苦反应, 尽量避免无关人员参加。学生不得拍照留念和散布网络。

1. 化学药物注射法 常用 10% 的氯化钾静脉注射或心脏注射, 其致死量为犬 10~30ml、猫 5~8ml、兔 5~10ml, 亦可皮下注射的士宁溶液, 其致死量为豚鼠 3.0~4.4mg/kg、兔 0.5~1.0mg/kg、犬 0.3~0.42mg/kg、猫 1.0~2.0mg/kg。

2. 断髓法 (断颈法) 即用外力使颈椎脱臼, 大、小鼠常用此法。将动物放在粗糙的平面上, 左手拇指和食指用力向下按住鼠头, 右手抓住鼠尾及后躯往后拉, 将脊髓与脑髓拉断, 鼠便立即死亡。

3. 空气栓塞法 即向动物的静脉内注入一定量的空气, 使之发生栓塞而死亡。此法常用于较大动物, 其注入量为兔 5~10ml、猫 20~40ml、犬 80~150ml。由于该法注射量大, 致死时间较长, 故不常采用。

4. 急性失血法 对鼠类常可用眼眶动脉和颈静脉急性大失血而致死亡。犬等大动物要先麻醉后放手术台, 暴露股三角区, 用刀片在三角区横切 10cm 左右的切口, 使股动脉、股静脉被切断而大失血致死。

5. 击打法 此法适用于大鼠、家兔等。抓住动物的尾部, 提起, 用力摔击头部, 或用木槌用力捶后脑部, 即可将动物处死。

6. 断头法 此法适用于鼠类小动物。直接用大剪刀将鼠头剪断即可。

四、实验后动物的处理

(一) 动物福利

在实验过程中使用动物的基本原则为负责任、合乎道德地使用动物, 确保动物在实验过程中享有合理的福利。

动物的福利条例和法规的主要内容是

(1) 条例所管辖的动物包括犬、猫、非人灵长类动物、豚鼠、仓鼠、家兔、水生哺乳动物或其他温血动物。

(2) 动物经销商和使用者均需持有许可证, 动物实验必须由合格的生物学家、行为学家和医学家亲自或在其临场监督下执行。

(3) 动物饲养设施、关养设备(笼具)、卫生、喂养、管理和护理应由符合资格的人员负责; 动物的房舍、饲料、垫料和运输方式必须符合有关规定要求, 应舒适、安全, 同时要重视动物的社会性及行为需求。

(4) 必须确保动物在麻醉、镇痛和镇静剂的作用下进行实验, 最大限度地减轻动物的痛苦, 不使其遭受不必要的伤害或痛苦, 麻醉剂的种类和剂量必须被专人认可和管理。

(5) 需要处死的动物须用人道的方法实施, 并确保其死亡后才可以焚化处理或埋葬。

(6) 有关监督机构应定期进行检查, 对违反动物福利条例的单位和个人给予处罚。

实验设计和使用动物时应尽量遵循“3R”原则:

替代原则(replacement), 尽可能使用低等实验动物或非实验动物替代实验动物进行实验。

减少原则(reduction), 尽可能少用实验动物, 不应盲目增大动物样品数量或重复实验以获取满意的统计结论, 而应着重提高实验的精确性, 动物实验在统计时应权衡统计学满意程度与伦理学及节约之间的关系。

优化原则(refinement), 应优化实验设计和操作, 以减轻动物的痛苦。

(二) 尸体回收

实验完毕后, 不能抢救活的或不必要抢救的动物应尽快将其处死, 处死动物时要选择快速的处死方法, 以减少动物临死前的痛苦。实验动物的尸体要集中存放, 交由教师或动物房工作人员, 集中焚烧或掩埋。杜绝将实验用过的动物直接抛掷到垃圾桶里或弃尸荒野的野蛮行为。

(阮绪芝 曾凡龙)

第二篇 医学细胞生物学实验实训

第三章 细胞经典验证性实验

实验一 显微镜的结构和使用

【实验目的】

- (1) 熟悉光学显微镜的结构。
- (2) 了解显微镜的成像原理。
- (3) 掌握显微镜的使用方法。

【实验原理】

(一) 光学显微镜

光学显微镜(简称光镜)是生物学研究中的常用仪器,是观察微小生物及细胞结构的主要工具。同时,也广泛应用于医学基础研究、临床检验及其他有关方面。

显微镜发明于16世纪,17世纪开始应用于生物学领域。几百年来,经过不断改革,其分辨率不断提高,目前使用的复式显微镜放大倍数已达到1600倍,最大分辨率可达 $0.2\mu\text{m}$ 。但是受到镜口率(最大为1.4)和可见光波长(最短为 400nm)的影响,光学显微镜的放大倍数受到了限制。

光学显微镜是根据光学成像原理,采用一组玻璃透镜制作而成(图3-1)。外来光线由其中的反射镜将光线聚集在被观察的标本处(A-B),使标本明亮。当光线透射穿过标本进入物镜后,经半五角棱镜,光轴被倾斜 45° ,然后被物镜汇聚。此时位于物镜物方焦点之外的标本被物镜放大成倒立的实像,在目镜的物方焦点($B' - A'$)上。该像经目镜进入人的眼睛,在视觉上得到一个放大的虚像并定位于无穷远或明视距的 250mm 外,成为显微镜的观察图像 $B'' - A''$ 。

(二) 透射电子显微镜

电子显微镜(以下简称电镜)是一种以电子束作为光源,电磁透镜作为聚焦和放大器件,利用电子束与被观察样品作用后产生的信号进行显微放大成像的大型精密电子光学仪器,由于电镜具有很高的分辨能力,为细胞生物学的不断发展提供了重要的技术手段。根据成像方式的不同,一般将电镜分为透射电镜和扫描电镜。

用照明光源透过样品后放大成像的电镜称为透射电镜,其分辨能力在 0.2nm 左右,适用

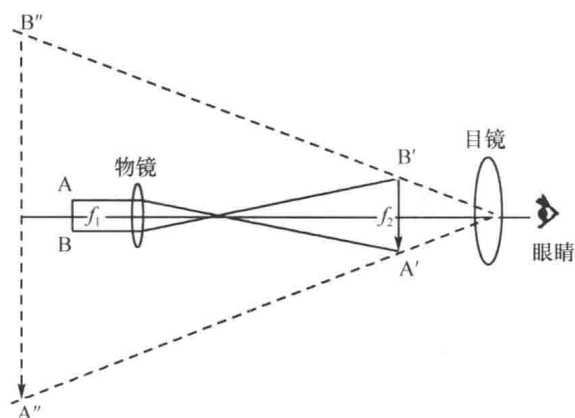


图3-1 光学显微镜成像原理