



普通高等教育“十一五”国家级规划教材



动物类

生物科学基础实验

崔言顺 主编



高等教育出版社
Higher Education Press



普通高等教育“十一五”国家级规划教材



动物类

生物科学基础实验

崔言顺 主编



高等教育出版社
Higher Education Press

内容简介

生物学基础实验(动物类)以实验动物为材料,采用解剖学、组织学与胚胎学、生理学、生物化学、微生物学及免疫学等各种方法在实验动物体内或体外进行实验,研究动物实验过程中实验动物的反应、表现及其发生发展规律等问题,并应用到各个学科领域中为生命科学和国民经济服务。本书分六章系统介绍了应用动物进行科学实验时的各种操作技术和实验方法,实践性强,内容丰富。

本书不仅适合高等院校动物科学、动物医学、水产养殖学、动(植)物检疫、(兽药)制药工程等有关专业师生使用,而且也是各级畜牧兽医工作人员、出入境动物检疫人员和食品卫生监督检验人员的一本实用的工具书。

图书在版编目(CIP)数据

生物学基础实验. 动物类/崔言顺主编. —北京:高等教育出版社, 2007. 7

ISBN 978-7-04-021746-9

I. 生… II. 崔… III. ①生物学—实验—高等学校—教材 ②动物学—实验—高等学校—教材 IV. Q-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 088548 号

策划编辑	李光跃	责任编辑	张晓晶	封面设计	张楠	责任绘图	朱静
版式设计	余杨	责任校对	俞声佳	责任印制	朱学忠		

出版发行 高等教育出版社
社 址 北京市西城区德外大街 4 号
邮政编码 100011
总 机 010-58581000

购书热线 010-58581118
免费咨询 800-810-0598
网 址 <http://www.hep.edu.cn>
<http://www.hep.com.cn>

经 销 蓝色畅想图书发行有限公司
印 刷 煤炭工业出版社印刷厂

网上订购 <http://www.landaco.com>
<http://www.landaco.com.cn>
畅想教育 <http://www.widedu.com>

开 本 787×1092 1/16
印 张 29
字 数 650 000

版 次 2007 年 7 月第 1 版
印 次 2007 年 7 月第 1 次印刷
定 价 33.00 元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换。

版权所有 侵权必究

物料号 21746-00

前 言

生物科学基础实验(动物类)是21世纪普通高等院校动物科学、动物医学、水产养殖学、动(植)物检疫、(兽药)制药工程等动物类本科专业新的人才培养方案改革完善后的一门独立的重要的必修专业基础实践课程。

本课程与动物学、动物解剖学、动物组织学与胚胎学、动物生理学、动物生物化学、动物微生物学与免疫学等课程同时开课,从加强基础实践能力培养、提高综合素质的教学目标出发,建立一个科学、合理的生物学实验教学课程体系;使学生通过本课程实验实践教学,不只是加深理解和巩固所学理论知识,而是更能切实掌握生物学基本实验技能,正确使用常规仪器,学会正确记录、分析讨论实验结果,初步综合运用已学实验技术方法设计简单实验;同时对学生进行科学素养和良好的实验室工作习惯的训练;为培养具有创新精神和实践能力的高素质人才奠定良好的基础。

本课程的重新调整与完善,是对传统的单门课程设少量实验课作法的重大改革,是提高学生实验实践能力的重要步骤和措施。本教材的创新之处在于,将原来的六门课程中分散的实验课有机地结合在一起组成一门新的实验课程,减少验证性实验内容,避免重复,增加综合性和创新性设计实践内容,以培养学生理论密切联系实际,分析和解决问题的综合能力。

本书内容注重科学性、实用性和在我国的可行性,文字力求简练、通俗,其教学实用性强。

本书编写人员具体分工为:前言、绪论,崔言顺;第一章,姜世金、柴家前、杨萍萍;第二章,王树迎、尹逊河、丁雷、侯衍猛;第三章,王春阳、郭慧君;第四章,杨景芝;第五章,常维山、柴家前;第六章,姜世金、崔言顺、李建亮。

本书承蒙山东农业大学及其教务处、动物科技学院领导大力关心和支持,崔治中教授指导,刘思当教授主审,深表谢忱!

由于这本教材无范例可循,又是多学科交叉,加之编写时间十分紧促,编者水平有限,难免有疏漏和欠妥之处,恭望广大读者赐教。

编著者

2006年6月

目 录

绪论	1	实验四 鲫鱼的解剖	117
第一章 生物科学基础实验 (动物类)		实验五 青蛙 (或蟾蜍) 的解剖 ...	123
基本操作技术	8	实验六 家鸽的解剖	130
实验一 显微镜的结构与操作	8	实验七 小白鼠的解剖	134
实验二 动物切片技术	13	实验八 动物的一般鉴定方法和 动物标本的制作	140
实验三 显微照相技术	21	实验九 骨骼标本观察	144
实验四 离心技术	27	实验十 关节标本 (模型) 观察 ...	151
实验五 层析技术	37	实验十一 肌肉标本观察	153
实验六 分光光度技术	44	实验十二 被皮系统标本观察	158
实验七 电泳技术	49	实验十三 消化系统标本观察	162
第一部分 醋酸纤维薄膜电泳	52	实验十四 呼吸系统标本观察	171
第二部分 琼脂糖凝胶电泳	54	实验十五 泌尿系统标本观察	174
第三部分 SDS-聚丙烯酰胺凝胶 电泳	57	实验十六 公畜生殖系统标本 观察	177
实验八 免疫酶技术	59	实验十七 母畜生殖系统标本 观察	181
第一部分 酶联免疫吸附试验	60	实验十八 羊的内脏解剖	183
第二部分 免疫酶染色法	62	实验十九 心血管系统标本观察 ...	188
实验九 免疫荧光技术	64	实验二十 淋巴系统标本观察	203
实验十 PCR 技术	69	实验二十一 神经系统标本观察 ...	206
第一部分 模板核酸的制备方法 ...	75	实验二十二 内分泌系统标本 观察	213
第二部分 PCR 扩增目的基因	79	实验二十三 鸡的内脏和脉管 神经解剖	214
实验十一 细菌培养技术	91	实验二十四 上皮组织和结缔 组织	219
第一部分 细菌培养基的制备	91	实验二十五 血液、肌组织和 神经组织	222
第二部分 细菌分离培养及移植 ...	96	实验二十六 循环系统和免疫 系统	226
第二章 动物的形态解剖与分类		实验二十七 被皮和内分泌系统 ...	231
实验技术	101		
实验一 原生动物的培养和观察 ...	101		
实验二 腔肠动物门、扁形动物门、 原腔动物门、环节动物门 代表动物的观察	105		
实验三 对虾和蝗虫的解剖和 观察	112		

II 目录

实验二十八 消化管	235	第四章 动物生化实验技术	317
实验二十九 消化腺和肺	239	实验一 氨基酸的纸上层析	317
实验三十 泌尿、生殖和胚胎	243	实验二 蛋白质的含量测定	319
第三章 动物生理实验技术	252	第一部分 总氮量的测定——	
实验一 腓肠肌标本的制作和		微量凯氏定氮法	319
刺激与反应的关系	273	第二部分 双缩脲法	323
实验二 反射弧分析	276	第三部分 Folin-酚法	324
实验三 血液组成、红细胞比容和		第四部分 考马斯亮蓝 G-250 法 ...	326
红细胞脆性试验及血型		实验三 等电点的测定及牛乳中	
测定	277	酪蛋白的提取	328
实验四 血细胞计数	279	实验四 血清蛋白质醋酸纤维	
实验五 蛙心收缩及期前收缩与		薄膜电泳	330
代偿间歇	283	实验五 核酸的提取与测定	330
实验六 蛙心电图的描记与离体蛙		第一部分 酵母 RNA 的提取及	
心容积导体心电图描记	284	其组分鉴定	330
实验七 离体蛙心灌流实验	286	第二部分 质粒 DNA 的提取与	
实验八 兔心电图描记与动脉		鉴定	332
血压的直接测定及		第三部分 总 DNA 的简易提取——	
其影响因素	289	CTAB 法	336
实验九 呼吸运动的调节	291	第四部分 核酸的琼脂糖凝胶	
实验十 呼吸运动、胸内负压及		电泳	338
膈神经放电的同步观察 ...	294	实验六 酶活性的影响因素——	
实验十一 胃肠运动观察	297	唾液淀粉酶活性的观察 ...	338
实验十二 离体肠段运动的描记 ...	299	实验七 过氧化氢酶 K_m 的测定 ...	341
实验十三 家禽的食管切开术与		实验八 氨基移换作用——	
假饲实验	301	谷丙转氨酶活性的测定 ...	344
实验十四 瘤胃内容物在显微		实验九 维生素 C 含量的测定	346
镜下的观察	303	第一部分 2, 6-二氯酚靛酚滴定	
实验十五 反刍的机制	304	法测定维生素 C	346
实验十六 尿液形成的调节	305	第二部分 紫外分光光度法测定	
实验十七 神经干的动作电位和		维生素 C	348
神经传导速度的测定 ...	307	实验十 还原糖和总糖的测定——	
实验十八 减压神经放电、		3, 5-二硝基水杨酸比色法	
膈神经放电	310	(测定蜂蜜糖、血糖、	
实验十九 大脑皮质运动机能		植物食品糖)	350
定位和去大脑僵直	312	实验十一 糖酵解中间产物的	
实验二十 摘除肾上腺动物的		鉴定	353
观察	315	实验十二 血清总脂的测定	356

实验十三 血清总胆固醇的测定 ——邻苯二甲醛法	357	实验一 DNA 重组技术	405
实验十四 血清脂蛋白琼脂 糖凝胶电泳	359	第一部分 质粒 DNA 的提取	405
第五章 动物微生物学实验技术	362	第二部分 琼脂糖凝胶电泳 检测 DNA	407
实验一 细菌形态学观察技术	362	第三部分 PCR 扩增基因	409
实验二 细菌抹片的制备及 染色	365	第四部分 DNA 重组	411
附: 细菌特殊结构的染色方法	369	第五部分 大肠杆菌感受态细胞的 制备及转化	412
实验三 细菌计数技术	371	实验二 转基因技术	414
第一部分 细菌总数测定	371	实验三 体细胞克隆技术	416
第二部分 菌落总数测定	373	实验四 DNA 指纹图谱技术	418
附: 其他细菌计数技术	376	实验五 动物接种	421
实验四 细菌的生化试验	377	实验六 鸡胚培养技术	423
附: 细菌生化反应常用培养基的 制备	383	实验七 免疫球蛋白的分离与 鉴定	427
实验五 病毒组织培养技术	384	实验八 细胞免疫实验技术	430
实验六 环境因素对微生物的 影响	392	第一部分 淋巴细胞的分离 技术	430
第一部分 干热灭菌	392	第二部分 T 淋巴细胞的分离 技术	433
第二部分 高压蒸汽灭菌	393	第三部分 玫瑰花环试验技术	435
第三部分 紫外线灭菌	395	第四部分 酸性醋酸萘酯酶染色 技术	440
第四部分 微孔滤膜过滤除菌	396	实验九 放射免疫技术	442
实验七 理化因素的诱变效应	397	实验十 细菌自动化鉴定技术	447
实验八 细菌对抗菌类药物的 敏感性试验	400	主要参考文献	452
第六章 研究型实验技术	405		

绪 论

生物科学基础实验（动物类）以实验动物为材料，采用解剖学、组织学与胚胎学、生理学、生物化学、微生物学及免疫学等各种方法在实验动物体内或体外进行实验，研究动物实验过程中实验动物的反应、表现及其发生发展规律等问题，并应用到各个学科领域中为生命科学和国民经济服务，简言之就是应用动物进行科学实验时的各种操作技术和实验方法。

生物科学基础实验（动物类）自诞生以来，经各个领域的科学家们对实验动物本身和动物实验过程中的许多重要因素进行广泛研究和大量资料积累，至今已成为一门具有自己理论体系的独立性学科。

综观生物科学基础实验研究发展的历史，大体可以划分为 3 个时期。

第一时期：经典生物学时期

在远古时代人们就知道使用动物进行试验。例如，在毒药研究中，使用鸟和猴来进行试验；古埃及人为保存尸体用动物制成木乃伊等。

世界上最早有文字记载的动物实验可追溯到公元前 4—公元前 3 世纪，亚里士多德（Aristotle，公元前 384—公元前 322 年）首先用解剖的技术展示了动物的内在差别，对动物形态分类学、胚胎学方面的研究做出了巨大的贡献。埃拉西斯特拉塔（Erasistratus，公元前 304—公元前 258 年）在猪体内确定了气管是吐纳空气的通道，而肺则是呼吸空气的器官，被认为是进行活体动物解剖的创始人。盖伦（Galen，公元 130—200 年）对猪、猴等多种动物进行了解剖检查，他总结了前人做过的若干实验，研究动物活体损伤、毁坏或切除某一器官后产生的后果，以推断器官的功能。他提出，不依据实验而妄断的放矢的论断，无助于科学进步。

在此之后的若干世纪，宗教神权统治了漫长时期，尽管实验仅使用死亡的动物和人体进行解剖，也被当时的教会统治当局所禁止，严重阻碍了自然科学的发展。直至 16 世纪初，科学意识才再度觉醒。A. 韦萨留斯（Andreas Vesalis，1514—1564）利用犬和猪进行了公开解剖学的示范教学。这种活体解剖实验使解剖学和生理学发展产生了一系列的飞跃。17 世纪，英国医生哈维（William Harver，1578—1657）采用犬、蛙、蛇、鱼和其他动物进行了一系列的动物实验，根据大量的实验研究结果，发现了血液循环，并阐明心脏在此过程中的作用。他指出血液受心脏推动，沿动脉流向全身各部，再沿静脉返回心脏，并于 1628 年发表了《动物心血运动的解剖研究》，1651 年发表了《论动物的生殖》。这些成就对于生理学和胚胎学的发展起了很大的作用。恩格斯对哈维的发现给予高度的评价。他曾说：“由于哈维发现血液循环，而把生理学确定为一门科学。”

第二时期：实验生物学时期

公元 19 世纪、20 世纪是动物实验技术发展的鼎盛时期，开创了一个科学医学的黄金时代。在这一时期各种实验技术被引入到生物学的研究领域，促进了生物科学的迅速发展。

2 绪论

巴斯德 (Louis Pasteur, 1822—1895) 是著名的法国微生物学家、化学家和近代微生物学的奠基人。他在病原微生物方面的研究成为人类制备各种防疫疫苗的开端, 奠定了医学微生物的基础。俄国生理学家巴甫洛夫 (Иван Петрович Павлов, 1849—1936), 一生中作了大量的动物实验, 在心脏生理、消化生理和高级神经活动 3 个方面做出了重大的贡献, 在 1904 年获得了诺贝尔生理学 and 医学奖。

1838—1839 年, 两位德国学者施莱登 (M. Schleiden, 1804—1881) 和施旺 (T. Schwann, 1810—1882) 提出了举世闻名的细胞学说。英国伟大的博物学家和思想家达尔文 (Darwin, 1809—1882) 发表了《物种起源》的不朽著作, 他的进化论被恩格斯誉为 19 世纪自然科学的三大发现之一。随着进化论的深入研究, 奥地利学者孟德尔 (G. Mendel, 1822—1884) 发现了遗传定律。摩尔根 (T. H. Morgan, 1866—1945) 等以果蝇为材料研究发现了连锁、互换和伴性遗传规律, 并把遗传学和细胞学结合起来, 确立和发展了染色体遗传学说。

1909 年, C. C. Little 首先采用近亲繁殖而育成的 DBA 近交系小鼠, 成为实验动物科学发展史上第一个近交系动物。1913 年, Begg 用同样的方法培育出了 BALB/c 小鼠。至今世界上已经培育出数以千计的近交系动物, 为生物医学研究提供了各种几乎遗传完全均一的实验动物。1914 年, 日本科学家山极和川市使用沥青长期涂抹家兔耳朵, 成功诱发出皮肤癌, 证实了化学物质的诱癌作用。1921 年, 洛伊 (Otto Loewi) 利用蛙心做实验, 发现了副交感神经的神经介质为乙酰胆碱。

第三时期: 分子生物学时期

20 世纪 30 年代以来, 随着物理学和化学的进一步渗透以及生物实验和遗传学的进步, 生物化学的研究得到迅速发展, 50 年代美国的沃森 (James Watson) 和英国的克里克 (Francis Crick) 合作, 最终于 1953 年使细胞遗传学与生物化学、物理化学相结合, 发展成著名的 Watson-Crick DNA 结构的双螺旋模型, 使染色体中的遗传物质 DNA 的结构得以阐明, 也使 DNA 的复制、遗传信息的传递等问题得到了更精确的解答, 使生物学进入分子生物学研究时期。

自 20 世纪 70 年代以来, 生物科学在分子生物学领域获得突破性成就, 并引入了物理学、化学、计算机科学等概念、方法和技术, 使生物科学在自然科学中的地位发生了革命性的变化。1997 年, 英国爱丁堡大学罗斯林学院 (Edinburgh's Roslin Institute) 的胚胎学家伊恩·威尔马特 (Ian Wilmut) 领导的科研小组从一只成年绵羊的乳腺细胞克隆获得克隆山羊“多莉”。这意味着生物科学的研究进入了一个新的纪元。

一、生物科学基础实验 (动物类) 的性质、任务和作用

(一) 生物科学基础实验 (动物类) 的性质

生物界是一个相互依存、互相制约、错综复杂的整体, 而其中动物是整个生物界不可缺少的组成部分。当今正处于自然科学迅速发展、各类学科相互渗透、高度综合的时代, 作为研究生命科学工具的生物学实验来说, 这是一门规模宏伟、内容丰富的自然学科, 近年来, 不断推出各种新的研究技术和方法, 使得对于生物学的研究一方面从微观的角度越来越深入, 另一方面从宏观的角度也越来越扩大, 可以说是包罗万象。特别是经过近几十

年的蓬勃发展,使它的地位越来越突出,已经成为当今时代的带头学科,以至于不少人认为21世纪是生物科学的时代。这就要求科研人员必须掌握大量丰富的理论知识和经验材料,将各项实验技术进行高度综合并同其他学科相互结合,互相促进、共同发展。

生物科学基础实验(动物类)是一个完整的科学体系,它的研究对象为整个动物界,囊括了从低等动物到高等动物的诸多种类。它应用各种技术和方法研究动物有机体结构及机体同外界因素相互作用而出现形态、生理、生态变化的发生、发展规律,有力地推动了生物科学的迅速发展。

(二) 生物科学基础实验(动物类)的任务

生物科学基础实验(动物类)的任务主要有以下几个方面:

1. 研究各种动物机体的形态、器官结构组成及相互关系

自然界中的各种动物都有其共同的祖先,都是由原始的单细胞生物分化而来,在进化的过程中形态结构发生了一系列的变化,从总体上来说具有多样性、合理性和统一性的特点,都是合乎自然发展规律的。采用解剖、观察描述的方法对在进化上有重要地位的门类以及有广泛代表性的实验动物材料进行比较分析,就可以把握特点,总结规律,对各种动物进行分类,一方面可以更好地了解生物界进化的历史,把握自然规律;另一方面可以利用自然规律,推测自然界的发展变化,减少自然灾害的发生。

2. 研究动物胚胎及个体的生长发育和遗传、变异规律

动物界的系统发育历史说明多细胞动物都是由单细胞的原生动物发展而来,同样,多细胞结构动物的个体发育过程也是从一个受精的卵细胞开始。虽然多细胞动物的胚胎发育因种类不同存在差异,胚胎发育的情况也比较复杂,但胚胎发育早期所经过的几个主要阶段都是相同的。通过实验方法研究动物胚胎发育过程中的变化规律和特点,就可以控制动物的繁殖,在农牧业生产中可以用来改良品种,促进国民经济的发展,同时有助于医学研究的进展。

3. 研究动物在生命活动中的消化、呼吸、循环、排泄、分泌、运动与刺激反应以及生殖等生理功能

动物类生物学实验能在人工严格控制条件下通过实验动物进行精密而准确的观察,因此,更有可能搜集到动物机体的本质和规律性。在实验中可通过巧妙的设计模拟、复制动物的生理、生化特性,在了解动物的生理功能的同时,可以推测人类机体的构成及其功能,为人类医学提供有力的依据。医学的发展历史中,最早也是使用动物模型及实验动物来进行医学研究的,动物实验在人类医学的发展中起到了举足轻重的作用。

4. 研究微生物的形态、生理、作用及其与人类、生态的关系

自然界中存在各种各样的微生物,与人类以及动物机体的关系极为密切。我们可以通过微生物学技术研究各种微生物的形态、结构、新陈代谢、培养和分离鉴定等,掌握微生物的特性和作用,可以使有益的微生物为人类造福,而控制有害微生物对动物及人类的危害,尤其是要严防一些人畜共患病的传播和流行,保障人类的健康。

5. 开发新型检测及监测实验技术

近代动物类生物学实验的发展同近代物理学、近代化学和近代生物化学实验技术的进展是分不开的,而动物类实验技术的发展同时也促进了其他学科的发展。在动物类生物学

4 绪论

实验的研究中,不仅在理论上取得了巨大成就,而且在技术上进行了重大创新并取得了应用价值。包括电子显微镜的应用,标记抗原和标记抗体技术的研究,细胞培养、空斑技术,蛋白质和核酸的提纯技术,核磁共振测定蛋白质和核酸等的分子排列与原子位置,胚胎移植及克隆技术等。总之,现代动物类实验技术正朝着细、精、快、深及用等方面发展,为人类更好地了解动物,研究动物机体提供了有力的工具。

(三) 生物科学基础实验(动物类)的作用

简言之,动物实验是研究动物有机体的科学方法,最终目的在于认识动物体和动物界,从而能更好地利用自然和改善环境,使之为人类发展服务。动物类实验的研究方向反映着人类与自然界之间联系的基本方面。动物界与人类生活的关系,不外乎有益和有害两个方面。随着人类对自然的不断认识以及各门自然科学的迅速发展和科学技术的高度发达,人类要治疗一切疾病、增强体质、健康长寿,要建立人类与环境共同发展的和谐社会,这一切都要建立于生物科学(包括动物类领域)的基础研究。由此可见,生物科学基础实验(动物类)的研究与国民经济和人类生活有着密切的关系,充分利用对人类有益的动物和控制有害的动物是动物研究工作者的任务,而对动物类实验的深入研究必将成为认识动物、改造世界、推动国民经济和人类健康发展的强大武器。

从医学的发展史来看,绝大多数医学研究成果都来自动物实验。实验动物和动物医学实验是获得很多医学研究成果的前提和基础,医学对人类疾病的研究,很多都是通过建立动物模型试验来完成的。而培育和饲养合格的供医学实验用的动物是动物实验的研究目的之一。比较医学就是对不同种类动物的生理和病理现象与人类的生理和病理现象进行类比研究,从而在活体动物上获得根本不可能在人体上做试验而获得的有价值的试验结果,为医学研究积累科学资料,最终推动医学理论和人类疾病临床治疗技术向前发展。如体外受精、胚胎移植、干细胞的定向分化与人类器官移植,都是将动物实验成果用于人类医学和保健的例子。现代生物技术在为人类保健服务方面正在发挥越来越明显的作用,在实践中还有很多问题需要在实验动物上进一步研究来解决。由此可见,动物实验是推动医学和兽医学不断向前发展的重要工具和手段,动物实验向人们展示了生物学及医学研究的美好前景。

近年来,分子生物学技术的迅速发展,几乎渗透到生命科学的整个领域。核酸检测技术已经应用于动物实验的微生物学检测、遗传学监测等领域。以上技术的应用,必将促进实验动物科学的迅速发展,同时作为生命科学发展的基础和条件,动物实验也将更好地服务和有利于生命科学的快速发展。

二、生物科学基础实验(动物类)的基本要求和教学方法

(一) 生物科学基础实验(动物类)的基本要求

生物科学基础实验(动物类)是一门综合性的基础学科,它是在生物学、动物学、兽医学等自然科学的基础上发展起来的,它涉及的知识面很广泛,所包括的内容也极为丰富。它要求学习者不仅要懂动物学、动物解剖学、动物生理学、动物病理学、动物微生物学、动物遗传学、动物育种学、动物营养学、动物免疫学、动物寄生虫学和动物生物化学等基础学科进行深入的理解和掌握,还要对机械工程学、环境卫生学、有机化学、无机化

学以及分析化学等学科进行了解并学会应用,只有掌握了这些基本理论知识和技能,才能将动物类生物学实验做好并对实验方法进行开发创新和研究。

进行动物类生物学实验首先必须要有严谨的科学态度,在实验前要进行周密、细致的考虑,完成实验设计。在操作中必须仔细、认真。鉴于自然界中的各种动物及动物材料与人类的密切关系,在进行动物实验的过程中,要求实验工作者必须注意加强自身防护,防止一些人畜共患病的传染和传播。

近年来,三个“R”原则,正在逐渐被科学界的大多数人所接受,3R即减少(reduction)、替代(replacement)和精细(refinement)。主要内容为,实验中尽可能少用动物,能用其他方法代替的尽量用替代方法,对实验动物的饲养管理和操作尽量采用最佳条件和善待动物,实验设计采用最佳方案。保护动物、保护自然就等于保护我们人类自己。

(二) 生物科学基础实验(动物类)的教学方法

由于动物类实验的研究内容愈来愈多,并且研究的方面也愈来愈广泛、细致和深入,同时需要有很强的动手能力及操作能力,因此动物类实验教学必须要培养学生的动手能力和创新性思维能力,并帮助学生获取和掌握实验技术,提高学生科学素养。这就要求在技术方法的传授与研究人才的培养上必须要有正确、恰当的教学方法。

1. 教会学生进行观察描述,为有关的研究提供必需资料

这是动物实验中最基本的经验方法。主要是通过观察,详细地了解动物的外形特征、机体内部结构、生活习性等,为有关的研究提供有用的第一手资料;主要是选择在进化上有重要地位的门类、有广泛代表性的实验动物作为材料,知识内容涵盖动物的组织、形态解剖、生理发育、遗传进化和生态等各方面。在该方法的教学时必须让学生学会仔细、精密地观察,并准确、有条理地记录。

2. 学会比较分析,寻找特点,把握规律

在动物类实验的教学中,比较分析是极为重要的一种方法。“没有比较就没有鉴别”。没有比较,就无从区分异同,也就不能揭示生命的统一性和多样性之间的联系;没有比较,就无从处理动物界从简单到复杂、从低等到高等的大量资料。因此,在教学的过程中,必须采用比较分析的方法,教会学生通过比较来发现动物个体、器官、组织以及各种细胞之间的异同,从中找出特点,把握规律。

3. 掌握基本实验技能,注重对学生动手能力的培养

在动物实验的教学中,必须加强基本实验技术,包括光学显微镜使用、测微方法、绘图技术、制片技术、解剖技术、微生物学实验技术、免疫学实验技术、基础生理、生态实验方法以及动物测量方法等的传授,使学生在理论知识的指导下熟练掌握基本实验技能,为将来的科学研究以及独立实验打下坚实的基础。

4. 增加综合性和设计性实验,培养学生独立思考和创新性思维能力

综合性和设计性实验是在遵循实验原则的前提下,将传统的实验内容予以扩展,让学生在教师的指导下,在已掌握知识与技能的基础上设计实验,并独立进行实验器具的准备、试剂的配制,直到完成实验报告。力求在培养学生动手能力的同时,理论联系实际地培养学生的独立思考、综合分析能力、科学思维能力和创新意识,全面提高学生的综合素质。

三、实验室规则及安全知识

(一) 实验室规则

实验室是进行实验研究的场所,通过实验不仅可以获取想要的实验结果,同时也是加强基本实验技能训练的重要环节。因此在进入实验室后必须遵守下列规则:

1. 实验室内应保持安静,不得嬉笑打闹和高声谈笑。禁止吸烟、饮食。进入实验室必须穿工作服,注意自身防护。
2. 实验前应查取大量资料,认真预习,明确实验的目的、要求,同时必须熟悉实验的基本原理、操作方法、步骤以及实验中的注意事项。
3. 实验前应先清点实验用品,避免缺损,并进行实验分工,如装置仪器、保定动物、麻醉、记录等,避免实验时手忙脚乱,影响实验的正常进行。
4. 保持桌面和实验室清洁整齐,节约用水、电和试剂药品,对公共仪器和设备用完必须放回原处。火柴梗、废液等必须放入或倒入废液缸,统一处理,严禁随便乱扔,以防阻塞或腐蚀水槽及下水道。
5. 实验中所用动物必须统一严格管理,在饲养过程及实验过程中必须善待动物。
6. 实验时必须严格按照操作规程进行操作,保证实验安全,同时积极思考,仔细观察,如实地记录各种实验现象和数据。不得在实验室内做与实验无关的工作或实验中随意离开实验室。
7. 动物尸体、材料及用过的废弃培养基、生物制品等必须放在指定的容器中,统一处理或放入焚尸炉中焚烧,用过的器械、废料需用消毒液浸泡或进行高压蒸汽灭菌,不得到处乱抛。
8. 实验完毕后,应将所用实验器材收拾干净,归还原位,整理好桌面并打扫实验室;最后关好水龙头、电闸和门窗等。实验室内的一切物品不得带离实验室。

(二) 安全知识

在动物实验中,许多试剂都是易燃、易爆、有毒、有腐蚀性的,而所用的部分动物材料及诊断试剂又具有传染性。此外,实验中还常使用各种电器,若实验过程中操作不当,很可能发生着火、爆炸、中毒、触电等意外事故。为避免事故的发生,保证实验的顺利进行,实验人员除了严格按规程操作外,还必须注意自身防护,熟悉各种仪器、药品、诊断试剂的性能及一般事故的处理等实验室安全知识。

1. 了解实验室内水、电、安全用具放置的位置,并熟练掌握各种安全用具(如灭火器、急救箱等)的使用方法。
2. 实验开始前应先检查仪器是否正常,装置是否正确、平稳,检查电源电压与仪器设备使用电压是否相符,确认后才能使用,以免损坏仪器或引起火灾等事故,使用完毕,及时切断电源。
3. 浓酸、浓碱具有强腐蚀性,使用时应十分小心,且勿洒在桌面、地面、皮肤和衣服上。有毒试剂不得误入口或接触伤口,也不能随便倒入下水道。在嗅试剂或反应产物的气味时,鼻子不能直接对着瓶口或管口,只能用手轻拂气体,扇向自己再嗅。在制备或反应能产生具有刺激性、恶臭或有毒气体时应在通风橱中进行实验。

4. 在进行实验时，必须要穿工作服，尤其是在进行对身体有危险性及危害性的实验时，应穿戴胶靴、围裙、面罩、防护眼镜和手套等防护用具，用后应立即进行消毒清洗，方可再用，有条件的实验室应使用一次性防护工具，严防受伤及一些致病微生物的传染。

5. 在使用实验动物的实验中，必须对动物进行严格管理，对动物尸体、内脏、血液以及废弃的培养基、生物制品、所用器械及实验场地等应进行严格消毒，最好将动物材料用焚尸炉焚烧，彻底防止疫病的传播和流行。

6. 加强自身防护意识，经常接触实验动物尤其是有传染病动物的工作人员，必须接种常见人畜共患病的疫苗。在被实验动物抓伤或咬伤后，立即到医院进行狂犬病、出血热等疫苗的注射，千万不要麻痹大意。

7. 操作过程中，勿以手指或其他器物等接触口唇、眼睛、鼻子等处，万一危险材料滴出或打翻，或发生其他意外，应立即报告指导教师处理。若手指或皮肤受到污染，立即将手浸入消毒液中进行消毒，然后用清水洗净。手和面部有伤口时，应避免危险材料的接触。

8. 实验完毕，应进行严格检查，灯、火、水、电用完后或在离开实验室时必须熄灭或关闭，必须将灯火远离酒精等易燃、易爆物。

第一章 生物科学基础实验（动物类）基本操作技术

实验一 显微镜的结构与操作

一、实验目的要求

1. 掌握普通生物显微镜的机械系统：镜筒、载物台、镜臂、镜座、调节器及各装置的功能，并且能熟练使用。
2. 学习和掌握普通生物显微镜光学系统及其光学原理，掌握各系统的功能及其正确的操作方法。

二、实验基本原理

（一）显微镜的结构

显微镜由机械系统和光学系统两部分构成。其中机械部分包括镜座、镜臂、载物台、镜筒和物镜转换器等。光学部分有反光镜、集光器、光圈和目镜等。从式样上，普通显微镜有直筒和斜筒两类，直筒镜可通过镜臂与镜座间关节调节镜筒的倾斜度，以便于观察。斜筒镜的镜筒角度固定，使用时可适当变换位置以便于观察。目前常用的双目电光源显微镜结构示意图如图 1-1 所示。

（二）显微镜使用原理

标本的放大主要由物镜完成，物镜放大倍数越大，它的焦距越小。焦距越小，物镜的透镜和玻片间距离（工作距离）也越短。油镜的工作距离很短，使用时需格外注意，防止镜头压碎载玻片而导致损伤油镜头。目镜只起放大作用，不能提高分辨率，标准目镜的放大倍数是 10 倍。聚光镜能使光线照射标本后进入物镜，形成一个大角度的锥形光柱，因而对提高物镜分辨率是很重要的。聚光镜可以上下移动，以调节光的明暗，可变光阑可以调节入射光束的大小。

显微镜用光源，包括自然光和灯光两种，以灯光较好，因为光色和强度都容易控制。一般的显微镜可用普通的灯光，质量高的显微镜要用显微镜灯，才能充分发挥其性能。有时候需要很强的照明，如暗视野照明、摄影等，所以显微镜常常使用卤素灯作为光源。

显微镜总的放大倍数是目镜和物镜放大倍数的乘积，而物镜的放大倍数越高，分辨率越高。

显微镜的放大效能（分辨率）由所用光波长和物镜数值口径决定，缩短使用的光波波长或增加数值口径可以提高分辨率。由于可见光的光波幅度比较窄，紫外线波长短可以提高分辨率，但又不能用肉眼直接观察，所以利用减小光波长来提高光学显微镜分辨率是有限的。提高数值口径是提高分辨率的理想措施，要增加数值口径，可以提高介质折射率。当空气为介质时折射率为 1，而香柏油的折射率为 1.51，与载片玻璃的折射率（1.52）相近，这样光线可以不发生折射而直接通过载玻片、香柏油进入物镜，从而提高分辨率，这是显微镜油镜头使用的基本原理。

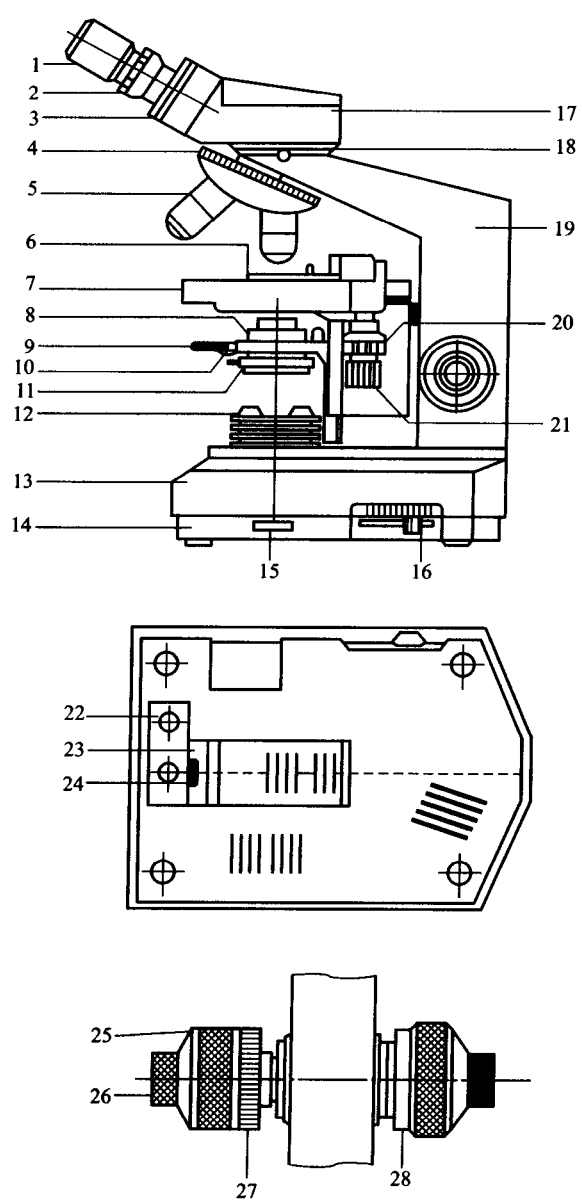


图 1-1 双目电光源显微镜结构示意图

1. 目镜 2. 目镜调节圈 3. 瞳距调节滑板 4. 物镜转换器 5. 物镜 6. 移动尺 7. 载物台
8. 聚光镜 9. 聚光镜固定螺钉 10. 聚光镜调整螺旋 11. 孔径光阑 12. 集光镜
13. 镜座 14. 电器盒 15. 电源开关 16. 光源调节手柄 17. 双目棱镜组
18. 棱镜组紧固螺钉 19. 镜臂 20. 横向移动螺旋 21. 纵向移动螺旋
22. 保险丝 23. 灯架 24. 灯架螺钉 25. 粗调螺旋 26. 细调螺旋
27. 调节螺旋 28. 限位螺旋

三、实验用品

(一) 仪器

普通生物显微镜。

(二) 材料

动物组织切片。

四、实验方法与步骤

(一) 显微镜的安装及调试

1. 将双目棱镜装到镜臂上，用螺钉紧固。
2. 选用目镜插入目镜筒内。
3. 将标本片放在载物台上，用移动尺卡板夹牢，借助纵向移动螺旋及横向移动螺旋将标本移至视野中央。
4. 接通电源（AC220 V），打开电源开关，调节光源调节手柄，即可获得观察所需的亮度。按需要选择适当的滤光片放入集光镜上方孔内。

5. 瞳距调节

① 移动瞳距调节滑板调节目镜筒的间隔可获得适合于观察者的瞳孔距，瞳孔距可以从瞳距调节滑板间的标尺上读出。

② 转动目镜筒上的目镜调节圈使其指数与瞳距相一致。

6. 转动可变光阑，可连续改变聚光镜的孔径角，使之与此时的物镜数值口径对应。聚光镜可升降。聚光镜光轴应与物镜光轴重合（出厂时已校对好），若发现偏整，可通过调节聚光镜支架上三颗螺钉使二者重合。

7. 先用10×物镜观察，转动粗调螺旋，至视场出现模糊像时，再转动细调螺旋，把物像调节清晰，然后再转换其他高倍物镜（100×物镜需使用香柏油），此时只需调节细调螺旋即可获得清晰的物像。40×、100×物镜有弹簧装置，可防止碰坏切片。

8. 松紧调节与限位

① 转动精调松紧调节螺旋，便可得到粗调螺旋合适的松紧度。注意不要将它调得过松或过紧，以免载物台下滑或被锁住。

② 限位螺旋既可提供一个固定的清晰观察位置，又可避免物镜与标本片相碰。将限位手柄向上转动，就可将载物台定位。此时显微镜提供了粗调螺旋的上限位，但细调螺旋仍然可使载物台上升，并不影响细调螺旋调焦。观察结束后，载物台应下降到位，再升载物台时，仍能定在原位，使用方便可靠。

(二) 显微镜的使用方法

1. 取显微镜时应十分小心，一手握镜臂，一手托镜座，尽量保持平稳，防止碰撞及零部件脱落。

2. 使用前应检查零件有无缺损，调节器是否灵敏，镜头有无污点等。如有问题应及时报告。

3. 使用时应将显微镜放于合适的位置，观察者坐姿要端正自然。电光源显微镜要接通电源，打开电源开关，调节光源调节手柄，即可获得观察所需的亮度。

4. 观察切片要先经肉眼观察，再放到镜下观察。放置切片要注意盖玻片在上（放反时高倍镜看不清图像，并易损伤物镜或压碎切片），夹持稳定后将组织推至集光器上方，然后观察。