

实验动物 应用研究学

Application of Laboratory
Animal Science

褚晓峰 主编



浙江工商大学出版社
ZHEJIANG GONGSHANG UNIVERSITY PRESS

实验动物 应用研究学

Application of Laboratory
Animal Science

褚晓峰 主编



浙江工商大学出版社
ZHEJIANG GONGSHANG UNIVERSITY PRESS

图书在版编目(CIP)数据

实验动物应用研究学 / 褚晓峰主编. —杭州: 浙江工商大学出版社, 2018. 6

ISBN 978-7-5178-2801-3

I. ①实… II. ①褚… III. ①实验动物学 IV.
①Q95-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2018)第 124856 号

实验动物应用研究学

主 编 褚晓峰

责任编辑 郑 建

封面设计 林朦朦

责任印制 包建辉

出版发行 浙江工商大学出版社

(杭州市教工路 198 号 邮政编码 310012)

(E-mail: zjgsupress@163.com)

(网址: <http://www.zjgsupress.com>)

电话: 0571-88904980, 88831806(传真)

排 版 杭州朝曦图文设计有限公司

印 刷 杭州五象印务有限公司

开 本 710mm×1000mm 1/16

印 张 10

字 数 154 千

版 印 次 2018 年 6 月第 1 版 2018 年 6 月第 1 次印刷

书 号 ISBN 978-7-5178-2801-3

定 价 36.00 元

版权所有 翻印必究 印装差错 负责调换

浙江工商大学出版社营销部邮购电话 0571-88904970

编委会

主 编 褚晓峰

副主编 宋晓明 陈振文

编 者 戴方伟 李 巍 卢领群 郭红刚

柯贤福 胡慧颖 吕 宇 刘桂杰

前 言

实验动物是生命科学研究的基础和重要支撑条件。实验动物科学发展的最终目的,就是要通过对动物实验的研究,进而应用到人类临床,探索人类的生命奥秘,控制人类的疾病和衰老,延长人类的寿命。

随着生命科学突飞猛进的发展,实验动物科学已经成为现代科学技术不可分割的重要组成部分,形成了一门独立的综合性基础科学门类。这门科学的重要性在于,作为科学研究的重要手段,它直接影响着许多领域研究课题的确立和成果水平的高低;作为一门科学,它的提高和发展,又会把许多领域课题研究引入新的境地。因此,实验动物科学的重要性可概括为:它是现代科学技术的重要组成部分,是生命科学的基础和条件,是衡量一个国家或一个科研单位科学研究水平的重要标志之一。

实验动物科学是伴随着生物医药科学的研究,经过漫长的动物实验过程而形成的。尤其近几年,实验动物科学发展迅速,其价值已经不仅限于生命科学方面,而且广泛地与许多领域科学实验研究紧密联系在一起,成为现代科学研究必不可少的条件之一。在很多领域的科学研究中,实验动物和动物实验充当着非常重要的安全试验、效果评价和标准检定等的角色。“十一五”“十二五”期间,将实验动物列为重要的平台建设之一,通过此平台的建设,可进一步推动实验动物与动物实验的标准化、规范化和科学化,促进科学技术水平不断提高。

我们组织一批实验动物专家和科技工作者集思广益,在总结从事实验动物科学研究和科学管理经验的基础上,吸收国内外有关实验动物和动物实验的进展和成果,结合教学和培训的需要,精心编写此书,独具特色。此书的出版,可加速推动实验动物科学向更高层次迈进,并培养出一批理论扎实、操作技能娴熟的实验动物科技人才。

褚晓峰

2018.5

目 录

第一章	实验动物学概论 / 001
	第一节 实验动物学的基本概念和研究范畴 / 001
	第二节 实验动物分类及质量控制 / 006
第二章	实验动物科学研究的思维方式 / 013
第三章	实验动物科研设计的一般原则 / 025
	第一节 实验动物课题设计的基本原则和程序 / 025
	第二节 研究设计的基本内容 / 035
第四章	实验动物研究设计的方法 / 041
第五章	实验动物研究的基本途径 / 060
第六章	科学研究中实验动物选择的基本原则 / 066
	第一节 实验动物的选择原则 / 066
	第二节 常见实验中实验动物的选择 / 069
第七章	影响动物实验效果的不同因素 / 075
	第一节 动物因素 / 075
	第二节 环境和营养因素 / 081
	第三节 技术环节因素 / 097

第八章 机构 IACUC 的职责与动物实验方案的伦理审查 / 101

- 第一节 IACUC 的组成 / 101
- 第二节 IACUC 的职责 / 104
- 第三节 IACUC 应制定的政策 / 105
- 第四节 实验动物伦理审查的目的 / 107
- 第五节 伦理审查的申请和受理 / 109
- 第六节 伦理审查的类别和程序 / 110
- 第七节 伦理审查基本原则 / 114
- 第八节 伦理审查的决定 / 117
- 第九节 审查结果传达 / 119
- 第十节 实验项目的跟踪检查管理 / 120

第九章 科研选题 / 122

第十章 科研课题申请书的撰写 / 127

第十一章 科研论文的写作与发表 / 139

- 第一节 科研论文的写作 / 139
- 第二节 科研论文的发表 / 149

第一章 实验动物学概论

实验动物和动物实验是生物医药研究不可缺少的材料和手段,许多生命科学研究不能用人去做实验,必须借助实验动物去探索生命的起源、遗传的奥秘,研究各种疾病与衰老的机理。实验动物作为“人的替身”,去承担药物的安全评价和效果试验,其中实验动物的质量直接影响到研究课题的确立和研究成果的水平。实验动物科学发展的目的是要通过动物本身生命现象的研究,进而应用到人类,探索人类的生命奥秘,控制人类的疾病和衰老,延长人类的寿命。

第一节 实验动物学的基本概念和研究范畴

一、实验动物

1988 年国家《实验动物管理条例》规定了实验动物 (Laboratory Animal) 的定义:经人工饲育,对其携带微生物实行控制,遗传背景明确或来源清楚的,用于科研、教学、生产、检定以及其他科学实验的动物。2000 年国家科学技术部组织专家,对《实验动物管理条例》进行修订补充。其中,将实验动物定义为:经人工培育、遗传背景清楚、对其质量实行控制、用于科学试验及产品生产的动物。

实验动物是先天的遗传性状、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。控制的目的是为了实验应用,保护接触和应用实验动物人员的健康,保证实验结果的可靠性、精确性、均一性、可重复性以及可比较性。

二、动物实验

动物实验是指在已知的和人为控制实验动物的环境条件下,改变其中某种条件,观察并记录动物的变化,以探索或检验生命科学未知因素的专门活动。是使用实验动物进行各种科学试验,也是培育繁殖实验动物的目的,通过科学的动物实验探讨生命科学的课题,包括临床医学、基础医学、预防医学和军事医学等的未知和已知的难题,探索新知从而创造出许许多多用“人的替身”获得的成果,最终为科学的发展、人类的生存和健康服务。

三、实验动物学的研究范畴

实验动物学(Laboratory Animal Science)是以实验动物为主要研究对象,并将培育的实验动物应用于生命科学等研究领域的一门综合性基础学科。概括地讲,实验动物学包括了实验动物繁育和实验动物应用两部分内容。前者主要围绕着实验动物种质培育和保存、生物学特性、生活环境、饲养繁殖与管理、质量控制、野生动物及家畜禽的实验动物化等开展有关研究,使实验动物品种、品系不断增加,质量不断提高,最终达到规范化和标准化的要求。后者主要以各学科的研究目的为目标,研究实验动物的选择,动物实验的设计、试验方法与技术,动物模型的制造,影响动物实验结果各因素的控制以及在试验中实验动物反应的观察和结果外延分析等,以保证科研教学活动中动物实验的质量。

作为科技基础条件之一的实验动物学,其研究内容和研究手段随科技的发展要求和对实验动物科学自身认识的加深而不断丰富和完善。随着科技活动的不断深入,其研究领域的拓展,与其他学科的交叉,以及认识和理论的不断更新,也为实验动物学提供了广阔的发展空间,迫切要求实验动物与学科发展及交叉等相适应。因此,实验动物学的研究领域也处于动态变化和不断扩展之中。实验动物学的研究范畴归纳起来有如下几个方面:

(一)实验动物生物学

实验动物生物学研究是实验动物学的基本内容,了解和掌握实验动

物生物学特性是实验动物应用的前提和基础。不同种类的实验动物,其生物学特性各不相同,这也是实验动物应用广泛的重要内在因素。由于生物学特性的差异,不同种动物或同一种动物不同品系之间对同一实验处理可以产生不同的生物学效应,因此,对生物学的研究至关重要。主要研究内容包括:一般生物学特性、解剖学特点、生理学特点、正常生理生化指标等。

(二)实验动物环境生态学

环境是实验动物赖以生存的一切外在客观条件,包括生物性因素和非生物性因素。实验动物环境生态学是研究在特定的环境条件下,实验动物的生物学特性及其变化规律的科学。由于实验动物是在人工控制的环境中生存的,因此,人们为实验动物营造的各类环境与实验动物自身之间存在密切关系。主要研究内容包括:理化因素(温度、湿度、噪声、换气次数、风速、压力梯度、光照强度、有害气体等),生物因素(微生物、寄生虫、动物密度等),营养因素(饲料、饮水等)。

(三)实验动物遗传学

利用遗传调控原理,按照人类的意愿和科学研究的需要,控制和改造实验动物的遗传特性,培育新的动物品系和各种动物模型,以此阐明动物的外在表现型与遗传特性之间的关系。根据遗传学原理的相关技术应用,开展实验动物遗传监测和特性确定也属于实验动物遗传学的研究范畴。

(四)实验动物营养学

营养是满足实验动物正常生长和繁殖的基本需求。实验动物对营养的需求,因动物种类、品系、年龄、性别以及生长发育、妊娠、泌乳等生理状态的不同而有较大差别。因此,根据实验动物的特点,研究其对营养的需求,制定科学的营养标准,从而研制不同饲料配方和各种不同的饲料是实验动物营养学的主要任务。

(五)实验动物微生物学和寄生虫学

研究不同微生物和寄生虫对实验动物健康的危害性,制定科学合

理的质量标准,采用敏感、特异的检测技术和方法,开展定期的健康检查,对实验动物质量做出评价,作为一项重要措施指导实验动物的生产与管理。

(六)实验动物医学

研究实验动物疾病的发生、发展规律,建立有效的疾病控制和防治体系,利用先进的实验手段,开展疾病诊断和治疗。

(七)比较医学

比较医学是研究动物与人类的生命现象之间的关系,特别是对人类各种疾病进行类比研究的一门新兴综合性基础科学。它以实验动物的自发性 and 诱发性疾病为模式,建立各种实验动物模型来研究人类相应疾病的发生、发展规律和诊断治疗,宿主抗力机制,临床变化,药物、致癌物质、残留毒物的作用等变化规律。

比较医学研究的重要目的就是不同种系动物与人类之间的生理、病理做出有意义的比较,通过建立各种人类疾病的动物模型,对动物与人类疾病的相互类比进行研究,了解人类疾病的发生、发展的规律,用于人类疾病诊断、预防、治疗及病理、生理、药理、毒理等实验,探索人类生命的奥秘,以控制人类的疾病、衰老,延长人类的寿命,直接为保护和增进人类健康服务。

比较医学包括基础性比较医学,如比较生物学、比较解剖学、比较组织学、比较胚胎学、比较生理学、比较病理学等;也包括专科性比较医学,如比较免疫学、比较流行病学、比较药理学、比较毒理学、比较心理学、比较行为学等;还包括系统性比较医学,如人类各系统疾病的比较医学,它是比较医学中的核心内容。

(八)动物实验技术

动物实验技术主要是研究如何利用动物实施各项操作,如何排除一切干扰因素,得到可靠、科学的实验结果。其中包括实验技术、实验方法、实验设备、各项实验操作规程等。

(九)动物实验伦理学

动物实验伦理学,是在保证动物实验结果科学、可靠的前提下,针对人们的活动对动物所产生的影响,从伦理方面提出保护动物的必要性。它是人类对待实验动物所持有的道德观念、道德规范和道德评价的理论体系,它所关注的是人们对与自己的生存和发展密切相关的实验动物抱什么态度的问题。因此,它是实验动物学、动物实验科学和伦理学相结合的产物,也是我们所常说的传统伦理学体系的一个组成部分,是传统伦理学在动物实验和实验动物繁育中的具体体现。

(十)动物实验替代方法学

在满足人类科技活动最终目的的基础上,应用无知觉材料替代有知觉的脊椎动物进行实验;通过科学的设计,减少实验中的动物数量;在必须使用动物时,如何优化实验程序,以降低对实验动物造成的不良影响,这是动物实验替代方法学研究的主要内容。

替代、减少和优化是彼此独立而又相互联系的,实验技术的优化,替代方法的采用,客观上都减少了动物使用量,达到了减少的目的。而减少动物使用量的要求又促进了实验技术的改良,推动了替代方法的研究进程。

(十一)实验动物福利

实验动物的福利问题,即指在生产和使用中对实验动物的一种保护,强调的是对各种不良因素的有效控制和条件改善,而不是那种不宰不杀的极端“动物保护”。

在兼顾科学问题探索和在可能的基础上最大限度地满足维持动物生命、维持健康和提高舒适程度的需求两个方面,研究动物生活环境条件、动物“内心感受”、人道的实验技术等是科学的实验动物福利的主要研究内容。

为动物提供维持生命延续的营养和生存条件,利用现代医学手段和其他措施保证动物健康,是实验动物学一直关注和研究的重点,而如何改善和提高动物生活的舒适程度,则易受到忽视。实验动物福利就是要最大限度地强调后者的作用,视野是全方位的。

第二节 实验动物分类及质量控制

实验动物质量标准是对动物本身质量提出的技术规范,是动物实验最基本的要求,包括遗传学质量和微生物学质量的标准。

实验动物是人类疾病研究的“替身”及生物科学研究的材料。医学研究中需要更为适合的不同类型动物来完成科学实验,其本身的质量问题涉及实验研究的敏感性和反应一致性,而且一些生命科学的成就,必须依靠某种遗传类型的实验动物,就如某科学家说的,如果没有近交系小鼠的出现,免疫学就夭折了。实验动物不同于其他动物,它的质量受到多个条件的限制,人们必须对这些限制做出相应的衡量标准。因此,为了使动物实验结果准确可靠,实验动物就像任何产品一样,从生产至使用的整个过程都需要用实验动物标准严格控制其质量。

一、实验动物的遗传学分类

按遗传学控制原理,实验动物遗传学标准中,一般将实验动物分成近交系、杂交系及远交系。

(一)近交系动物(Inbred Strain Animal)

近交系:指起源于同一对祖先,其下一代个体通过同胞兄妹或亲子间连续繁殖 20 代以上,近交系数(率)达到 99% 以上的动物群体。

1. 近交系动物特点:

(1)基因纯合性:基因组中几乎所有基因位点的两个基因都纯合,包括隐性基因也纯合,品系将保留和表现所有遗传性状,有利于形成疾病模型;

(2)遗传稳定性:每一代纯合子之间繁殖,下一代位点上的基因组成保持恒定,有利于遗传性状长久不变,优良性状得以保持;

(3)品系遗传同源性:品系内所有个体的遗传结构,可以追溯到同一祖先,有利于生物学特性对比;

(4)品系遗传组成和表现性状一致性:由于品系内所有个体与祖先具

有同源性,所以全部个体之间的遗传结构及表现性状也相同,这使得实验研究的结果尽可能一致;

(5)品系间遗传组成和表现性状独特性:由于育种过程中,不同基因分配到各个近交系中,并且加以纯合固定,因此所形成的不同近交系遗传结构存在差异,表现性状也有差别,利于品系多样性,更适合各种不同的实验研究;

(6)品系间遗传概貌可辨认性:各品系间不同生物学性状形成的遗传标记,组成一定的遗传概貌,以利于动物品系的鉴别区分;

(7)对实验反应的敏感性:由于近交衰退,品系某些生理过程中的稳定性降低,对外界因素变化,包括实验刺激更为敏感,增加了近交系动物的灵敏度;

(8)资料完整性:近交系动物品系多,分布广泛,各系间差异大,因此其资料较丰富。另外动物性状稳定遗传,保持的资料有沿用价值。

2. 近交系动物应用特点:

(1)近交系动物个体之间遗传差异很小,对实验反应一致,可以消除杂合遗传背景对实验结果的影响,统计精度高,因此在应用中,只需使用少量动物就能进行重复定量实验;

(2)近交系动物个体间主要组织相容性抗原一致,因此是涉及组织、细胞或肿瘤移植的实验必不可少的动物模型,例如近交系大鼠适合脏器移植;

(3)由于近交,隐性基因纯合,其病理性状得以暴露,可以获得大量先天性畸形及先天性疾病,如糖尿病、高血压等的动物模型。这些动物遗传背景清楚,是进行疾病分子机理研究的理想实验材料;

(4)某些近交系肿瘤基因纯合,自发或诱发性肿瘤发病率上升,并可以使许多肿瘤细胞株在动物上相互移植传代,成为肿瘤病因学、肿瘤药理学研究的重要模型;

(5)同时使用多个近交系,分析不同遗传组成对某项实验的影响,或者观察实验结果是否具有普遍意义,例如研究同一基因在不同遗传背景下的作用,或研究不同基因在同一遗传背景下的功能。

3. 近交系动物命名:

(1)以大写英文字母表示,如: BALB/c、DBA、A 等;

- (2)以阿拉伯数字表示,如 129、615 等;
- (3)大写英文字母和阿拉伯数字合并表示,如 C57BL、C3H 等;
- (4)特殊技术培育动物的命名法,如 CBAfC3H、CBAeC3H、CBAoC3H 分别表示代乳、胚胎移植、卵巢移植培育的近交系动物。

(二)杂交系动物(Hybrids Animal)

杂交 F1 代(Cross F1)指用两个不同的近交系杂交产生的第一代动物。严格地讲,F1 代动物不是一个品系或品种。

1. F1 代动物特点及应用特点:

- (1)具有杂交优势,避免了近交系抵抗力较低的缺点;
- (2)每个个体的遗传物质均等地来自双亲,虽表现杂合性,但个体间遗传均质性好,实验可以重复,表现一致性;
- (3)能将父母品系的显性性状集中遗传到同一个体上;
- (4)血液中有大量干细胞,为相应研究提供了干细胞来源;
- (5)两个祖系经过基因重组,出现新的优势性状和用途,如移植免疫、脾脏增大适于单抗研究,成为新疾病模型。

2. 杂交 F1 代动物命名:品系×品系 F1,如 C3H×C57BL F1。

(三)远交系动物(Outbred Stock Animal)或封闭群动物(Closed Colony Animal)

远交系:又称封闭群,指某个有血缘的群体,在不引进其它品系动物或新血缘的情况下,个体间以随机交配的方式,连续繁殖 4 代以上所形成的动物种群,其群体的近交系数应 $\leq 1\%$ 。

哈代-温伯格(Hardy-Weinberg)定律指出,在一个很大的随机交配群体中,如果没有突变、选择和迁移等因素的影响,则该群体每一代的基因频率和基因型频率总是保持不变,也就是说该群体遗传特异性保持相对稳定。远交系动物个体的遗传结构呈杂合性,而整个动物群体内全部杂合性基因的分布频率,即遗传组成在每一代保持稳定性。杂合性有利于群体携带更多的基因,稳定性保证群体对实验反应呈现最大的重复性。

为了保持远交系动物的这些特性,必须让群体封闭繁殖,随机交配,

有足够大的繁殖种群。

这里用有效群体数 $N_e = (4 \times N_f \times N_m) / (N_f + N_m)$ 及近交系数 $\Delta F_1 = 1/2N_e$ 两个参数,来判断远交群遗传组成是否符合要求。

1. 远交系动物特点:

(1)呈遗传多态性:远交系动物在同一基因位点上,包含更多的等位基因,即具有更高的基因多态性,表现为对较多的外界刺激因子呈现反应;

(2)因远交系动物多数基因处于杂合状态,所以具有较强的杂交优势,表现为抵抗力、生产力及生活力多优于近交系;

(3)对某种特定刺激的反应性及重复性不及近交系,群体遗传接近自然种属特征。

2. 远交系动物应用特点:

(1)人类群体遗传研究,如研究某个基因的遗传规律、基因与疾病的关系;

(2)盲目筛选性实验,如中药有效成分及新化合物的筛选,毒性实验,药理学实验等;

(3)动物使用量大的实验,如小鼠实验;

(4)进行预实验,统计精度要求不高的实验。

3. 远交系动物命名:

远交系以培育人或单位的名称命名,由 2~4 个大写英文字母组成,如 ICR 小鼠、SD 大鼠、DHP 豚鼠等。也可在种群名称前标明维持者的英文缩写,维持者与种群名称之间用比号分开,例如 N : NIH、Lac : LACA 小鼠等。

通过遗传标准分类可见,近交系动物基因单一,特异性好,敏感性强,较适用于制作疾病模型,并近交后形成疾病模型,可用于研究疾病机理;反应一致,用量较少;组织相容性一致,适用于免疫学、肿瘤学及组织器官移植等研究;易自发或诱导肿瘤,是研究肿瘤的适宜材料;提供导入系动物培育的背景材料。突变系动物主要利用其自然人类疾病模型的特点,适用于研究人类疾病机理;对于研究疾病基因的结构、功能、转录、表达、调控及遗传等而言,是很有用的实验材料,转基因动物也类似这种动物。基因杂合的动物基因呈多态性,对较多的物质和抗原具有反应性,适应于