

21

世纪

吕国蔚 主编

高等医学院校教材

# 实验神经 生物学



科学出版社

21世纪高等医学院校教材

# 实验神经生物学

吕国蔚 主编

科学出版社

2002

## 内 容 简 介

神经生物学是生命科学的前沿,是应用神经解剖学、神经生理学、神经化学和分子生物学等多学科现代技术,对神经系统进行多层次综合研究的实验性科学。本书作为《医学神经生物学》的姊妹篇,遵循理性思维与实际操作相结合的原则,书中全面而系统地介绍了神经生物学实验研究的方法学(第1篇),并将编著者20余年的有关科研成果转化为可操作的实验指导(第2篇),以及提供可供参考的有关实验研究信息(第3篇)。

本书适用于高等医学院校研究生、七年制和五年制医学生及从事神经生物学的研究人员使用,对于普通高等院校生物系研究生与本科生及生物学工作者亦有很好的参考价值。

### 图书在版编目(CIP)数据

实验神经生物学/吕国蔚主编.-北京:科学出版社,2002.3

21世纪高等医学院校教材

ISBN 7-03-009858-7

I. 实… II. 吕… III. 人体生理学:神经生理学-实验-  
医学院校-教材 IV. R338-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2001)第079208号

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>

新 蕾 印 刷 厂 印 刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2002年3月第 一 版 开本:850×1168 1/16

2002年3月第一次印刷 印张:35 1/2 插页:1

印数:1—3 000 字数:1 089 000

定 价:69.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换(新欣))

## 《实验神经生物学》作者名单

**主 编** 吕国蔚

**副主编** 李云庆 李菁锦

**编著者** (以拼音为序)

安仰原	崔秀玉	董苍转	高翠英
韩 松	李菁锦	李 凌	李云庆
利 梅	梁元晶	刘 亮	刘晓红
吕国蔚	罗菊华	罗 蕾	倪同尚
史美棠	王 丹	王海薇	王 文
王亚云	王永宁	王智明	武建宏
武胜昔	于 昌	张 肃	张晓非
张海燕	赵兰峰	朱 敏	

# EXPERIMENTAL NEUROBIOLOGY

**LU Guowei**

With the collaboration of  
LI Yunqing and LI Qingjin

## **Contributors**

AN Yangyuan	CUI Xiuyu	DONG Cangzhan
GAO Cuiying	HAN Song	LI Qingjin
LI Ling	LI Yunqing	LI Mei
LIANG Yuanjing	LIU Liang	LIU Xiaohong
LU Guowei	LUO Juhua	LUO Lei
NI Tongshang	SHI Meitang	WANG Dan
WANG Haiwei	WANG Wen	WANG Yayun
WANG Yongning	WANG zhiming	WU Jianhong
WU Shengxi	YU Chang	ZHANG Su
ZHANG Haiyan	ZHANG Xiaofei	ZHAO Lanfeng
ZHU Min		

# 序

---

神经生物学是21世纪的前沿学科之一。从19世纪末 Golgi 和 Cajal 创立真正意义的神经解剖学和 Sherrington 等人开创的神经生理学,到近代的神经系统超微结构学、束路学、化学神经解剖学、细胞及分子神经生物学、发育神经生物学以及认知科学的发展,每一重要进展无不是与各种实验技术方法的发展创新密切相关,每项实验技术的创新都使我们对脑的结构和功能的认识向前迈出了一大步。

吕国蔚、李云庆和李菁锦三位神经生物学家组织编写的这部《实验神经生物学》是吕国蔚教授主编并刚刚问世的《医学神经生物学》的姊妹篇,内容涵盖了神经生物学实验技术与方法中常用的神经电生理学、神经化学、神经解剖学、分子神经生物学等部分。该书由方法论、具体实验和神经生物学资料三部分组成,从理论到实践深入浅出地介绍了当代神经生物学实验的主要手段和部分研究成果,尤其可贵的是大多数实验方法中都融合了作者们多年亲手所从事实验研究工作的心得体会。

《实验神经生物学》一书是我国第一部此类著作,目前非常需要,它的出版无疑将会促进我国神经生物学研究的发展。我相信广大的神经生物学工作者,尤其是年轻的同道和学员将会从这部著作中得到全新的感受和很大的裨益。

鞠 躬

于第四军医大学全军神经科学研究所

2000年10月



# FOREWORD

---

Neurobiology will be one of the frontier disciplines in the coming 21st century. Elegant progresses have been made since set up of neuroanatomy in its true sense by Golgi and Cajal and the establishment of neurophysiology by Sherrington in the last 19th century and up to the development of modern ultra architecture and tract tracing in the nervous system, chemical neuroanatomy, cellular and molecular neurobiology, developmental neurobiology as well as recognition neuroscience. None of these advances is not closely related to the development and creation of various experimental techniques and methods. Great insights into structure and function of the brain has thus been stepped forward by each creation in experimental techniques.

The book “Experimental Neurobiology” edited by Drs. LU Guowei, LI Yunqing and LI Qingjin is the companion volume of the newly published “Medical Neurobiology” edited by Professor LU Guowei . Its content covers techniques and methods in common use in the fields of *electroneurophysiology*, *neurochemistry*, *neuroanatomy* and *molecular neurobiology*. The book includes three parts consisting of methodology, specific experiments and appendices and introducing major means in neurobiological experiments and partial achievements in research in a way of deeply going in and easily coming out. It should be treasurable that the most experimental methods presented in the book are well permeated with experience and appreciation of authors themselves engaged in their research.

“Experimental Neurobiology” is unique in its topic option based on up-to-date and original ideas. Academically, the writing is powerful and excellent and seems to be the first and a very important work in relevant areas at present in our country. Its publication would undoubtedly promote the development of neurobiology. I am confident that it would be great beneficial to vast internal neurobiologists and young colleagues and students in particular. These readers would be impressed with all refreshment and novelty shown in the book.

JU Gong

Institute for Neuroscience, The Forth Military Medical University

October, 2000

# 前 言

---

神经生物学(亦称神经科学或脑科学)是近年在神经解剖学、神经生理学、神经化学、分子生物学以及认知神经科学等多学科基础上发展起来的一门新兴的综合科学。神经生物学的任务是研究脑和神经的解剖构筑、工作原理以及神经系统生、老、病、死的发生机制及其病损的防治策略,借以揭示脑的奥秘、提高人类的智力活动水平和达到控制人类神经系统病损的目的。

神经生物学是应用神经解剖学、神经生理学、神经化学和分子生物学等多学科现代技术手段对神经系统进行多层次研究的一门实验性科学。同其他生物医学的发展轨迹一样,神经生物学也主要是沿着还原论的方向,逐步逼近神经活动的分子基础和理化本质;与此同时,也必然要沿着合成论的方向,对神经活动进行综合和整合,从整体上把握生命活动的规律与本质。

作为一种尝试,我们编著了这部《实验神经生物学》,以期能够体现神经生物学源于实验研究。本书共分3篇23章。第1篇可视为本书的总论,依次介绍有关科学思维、实验设计、结果分析以及电刺激、电记录、化学解剖学、神经形态学和分子神经生物学等技术方面的理论基础。第2篇相当于通常意义上的实验指导,可视为本书的各论,依次介绍神经行为学、神经电生理学、神经化学、神经形态学和分子生物学等一个个具体的实验。第3篇为神经生物学资料,介绍一些可供读者参考的有关实验研究的其他信息。

本书的第1篇侧重方法论,通过理性思维,去把握尚未感知到的神经生物学具体实验的本质与规律,在突然、必然、或然三种水平上获得对实验原理的认识。本书第2篇侧重实验运作、转化与再现我们的部分科研成果。每一个实验均有明确的目的和可据以操作的步骤;均附有典型的结果示例,供实验者参照或对比;均附有文献出处,有据可查;均备有思考题,供实验者手脑并用,从而使实验者能全面地完成一个实验过程。此外,我们还致力于内容的共性与个性、全面性与系统性、科学性与可读性以及言简意赅与图文并茂的诸多方面的统一与和谐。

本书是由首都医科大学神经生物学研究室和第四军医大学解剖学教研室的同志们,在首医大讲义《神经生物学实验》和两校有关著述的基础上,共同编写完成的。由此而产生的这部书的个性与局限,自然是在所难免的。另外,当今神经科学实验研究发展之迅猛,也远非我们的认识和经验所能匹配的。对于本书的尝试与局限,渴望得到读者和同道的评说。

值此本书出版之际,我代表两位副主编和全体编著者,向我国著名的神经科学家、中国科学院院士、第四军医大学全军神经科学研究所所长鞠躬教授致以最真挚的谢忱,感谢他百忙中欣然挥笔为本书作序。对于本书编写过程中曾被我们参阅和引用的国内外专家学者也深表谢意,是他们的有关著述使本书得以充实。最后,我们还要感谢科学出版社的同志们为出版本书所付出的辛劳和所给予的支持。

吕国蔚

于首都医科大学神经生物学系

2000年9月



# PREFACE

---

Neurobiology ( Neural Science or Brain Science ) is a new synthetic discipline recently developed on the basis of multidisciplinary sciences including neuroanatomy, neurophysiology, neurochemistry, molecular neurobiology, and recognition science. Its task is to study anatomical architecture and working principle of the brain and nerves, genesis, development, aging, diseases and death in the nervous system and strategy in prevention and treatment of its disorders and damages. Neurobiology is aimed at exploring the mystery of the brain, improving human intelligence activity and controlling human diseases in the nervous system.

Neurobiology is an experimental science studying the nervous system at multilevel of the brain using modern multidisciplinary techniques of neuroanatomy, neurophysiology, neurochemistry and molecular neurobiology. Similar to the trajectory of development of other fields in biomedicine, neurobiology is also mainly coming along the reductionism and gradually approaching to molecular basis and physicochemical essence of neural activity. In the meantime it also consequently synthesizes and integrates the neural activity along the way of compositionism and grasps the law and essence of life activity as a whole.

As a try, the book "Experimental Neurobiology" was written by us in terms of showing, by any case, that neurobiology came from experimental research. The book includes three parts and 23 chapters. Part I describes experimental principle in general, subsequently introducing theoretical basis related to scientific thinking, experimental design, outcome analysis and methodology of electrostimulation, electrorecording, chemical neuroanatomy, neuromorphology as well as molecular neurobiology. Part II corresponds to a laboratory manual, describing separately every concrete experiment in field of behavior, neuroelectrophysiology, neurochemistry, neuromorphology and molecular neurobiology. Part III is providing relevant data and information in experimental research for reference to readers.

Part I of the book focus on methodology, as mentioned above, trying to grasp the law and essence of concrete experiments in neurobiology not yet be experienced by readers through theoretical thinking and gaining knowledge on experimental principle at levels of real, necessity and probability. In part II, experimental protocols are followed and mainly based on transformation and reproduction of some research achievements done by ourselves. Each experiment has its distinct goals, operational procedures and one or two typical examples of illustrations for reference to experimenters; cited references are given for further reading;

questions are provided for simultaneously using both hands and brain of readers; and the experimental procedures would thus be comprehensively completed by experimenters. Moreover, the authors of this book tried to make a combination and harmony between generality and individuality, comprehensiveness and systematicness, scientific background and readability, and easy language and ample pictures.

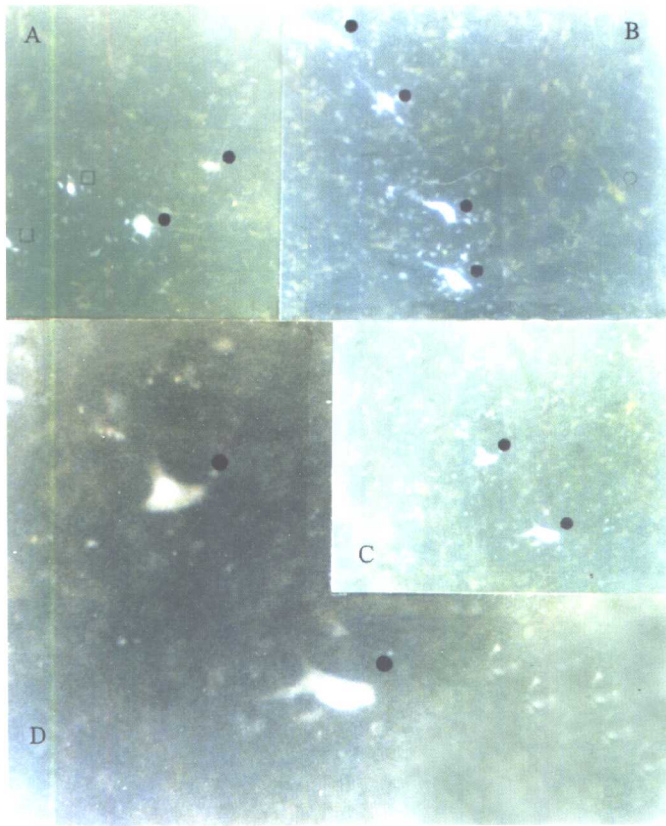
The book was written together by colleagues in Department of Neurobiology, Capital University of Medical University and Department of Anatomy, The Forth Military Medical University based on the reading material "Experiments in Neurobiology" used in the Capital University of Medical University and other publications made by our two Universities. The recent development of experimental research in Neurobiology is so fast that our knowledge and experience are far to match. Limitations are thus unavoidable in the writing. Comments and suggestions are thus greatly expected from colleagues and readers.

Upon the publication of the book, we are greatly indebted to Professor JU Gong, Member of Chinese Academy of Science, Director of Institute for Neuroscience, The Forth Military Medical University for his kind writing of the foreword for this book. Gratitude is extended to all authors whose publications are referenced in the book. We are also would like to thank editors in Science Press for their efforts in the publication of this book.

LU Guowei

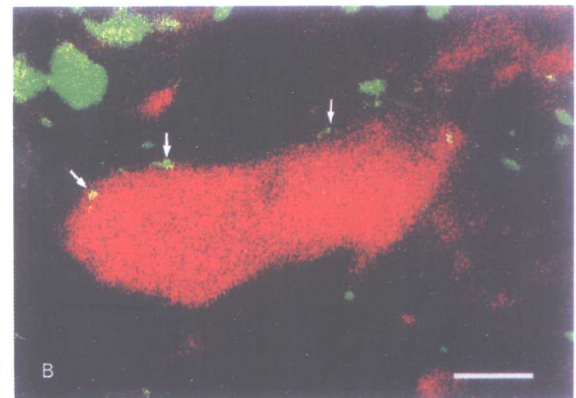
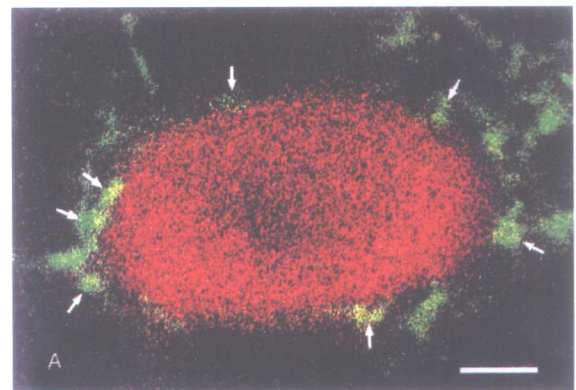
Department of Neurobiology, Capital University of Medical Sciences

September, 2000



彩图 1-1-8 右 左侧腰髓背角IV层内的荧光标记细胞

■: Bb 单标细胞; ▲: PI 单标细胞; ●: PI-Bb 双标细胞。A、B、C:  $\times 100$ ; D 为 C 的放大:  $\times 200$



彩图 2-4-3 Vc 内的 CB 样阳性神经元和 SP 样阳性终末  
Vc 浅层 (I、II 层) 内的部分 CB 样阳性胞体 (红色) 周围有  
SP 样阳性终末 (黄绿色, 箭头)。标尺 =  $5\mu\text{m}$  (李云庆等, 1999)

# 目 录

## 序 前言

1 神经生物学实验方法学 .....	1
1.1 科学思维方法学 .....	1
1.1.1 科学技术的历史动力 .....	1
1.1.2 辩证地去求索 .....	3
1.1.3 辩证地去思考 .....	6
1.1.4 辩证地去验证 .....	16
1.1.5 辩证地去训练 .....	22
1.2 实验设计方法学 .....	27
1.2.1 选题 .....	27
1.2.2 专业设计 .....	41
1.2.3 对照设计 .....	50
1.2.4 统计设计 .....	58
1.3 实验分析方法学 .....	73
1.3.1 数据整理 .....	73
1.3.2 统计分析 .....	82
1.3.3 专业分析 .....	92
1.3.4 论文书写 .....	100
1.4 电刺激方法学 .....	107
1.4.1 电刺激的基本原理 .....	108
1.4.2 电刺激的物理特性 .....	109
1.4.3 神经制备的生物特性 .....	113
1.4.4 选择性刺激 .....	116
1.4.5 刺激电流扩散 .....	120
1.5 电记录方法学 .....	124
1.5.1 容积导体内记录 .....	124
1.5.2 诱发电位记录 .....	131
1.5.3 单单位记录 .....	137
1.5.4 计算机辅助的记录 .....	144
1.5.5 细胞内记录 .....	148
1.5.6 膜片钳记录 .....	159
1.5.7 神经纤维速度谱测定 .....	163

1.5.8 轴突分叉点位置测定 .....	167
1.5.9 压脚痛阈测定法 .....	171
1.6 神经化学方法学 .....	174
1.6.1 组织细胞破碎法 .....	174
1.6.2 突触体制备 .....	177
1.6.3 电泳法 .....	181
1.6.4 色谱法 .....	187
1.6.5 高效液相色谱法 .....	196
1.6.6 微透析技术 .....	204
1.7 化学神经解剖学方法学 .....	210
1.7.1 免疫细胞化学技术 .....	211
1.7.2 原位杂交组织化学技术 .....	219
1.7.3 受体定位技术 .....	227
1.7.4 免疫电子显微镜技术 .....	228
1.8 神经形态学方法学 .....	231
1.8.1 辣根过氧化物酶示踪技术 .....	232
1.8.2 荧光素示踪技术 .....	238
1.8.3 放射性核素示踪技术 .....	239
1.8.4 顺行示踪技术 .....	246
1.8.5 激光扫描共聚焦显微镜技术 .....	248
1.8.6 定量及分析细胞学技术 .....	253
1.9 分子神经生物学方法学 .....	257
1.9.1 核酸分子杂交技术 .....	258
1.9.2 蛋白质免疫印迹分析技术 .....	265
1.9.3 DNA 重组技术 .....	271
1.9.4 聚合酶链式反应技术 .....	279
1.9.5 DNA 序列测定技术 .....	286
1.9.6 mRNA 差异显示技术 .....	294
1.9.7 基因芯片技术 .....	299
1.9.8 转基因动物技术 .....	304
1.10 脑成像 .....	308
1.10.1 计算机辅助体层摄影 .....	308
1.10.2 磁共振成像 .....	311
1.10.3 放射性核素断层成像 .....	317
1.10.4 超声成像 .....	320
<b>2 神经生物学实验与示教 .....</b>	<b>322</b>
2.1 神经行为学实验 .....	322
2.1.1 一足致炎大鼠双足痛感受性的变化 .....	322
2.1.2 甲醛溶液致炎大鼠疼痛行为的观察 .....	324
2.1.3 神经反射在一足致炎大鼠非致炎足痛阈变化中的作用 .....	325
2.1.4 体液因素在一足致炎大鼠非致炎足痛阈变化中的作用 .....	327

2.1.5	急性缺氧预适应对小鼠缺氧耐受性的影响 .....	329
2.1.6	麻醉与兴奋小鼠缺氧耐受性的变化 .....	331
2.1.7	大鼠脊髓横断及半横断模型的复制 .....	333
2.2	神经生理学实验 .....	334
2.2.1	家兔外周神经干复合动作电位记录 .....	334
2.2.2	家兔后肢传入神经纤维速度谱 .....	336
2.2.3	扩张肛门对猫骶神经后根放电的影响 .....	338
2.2.4	大鼠脊髓节段性及下行性诱发电位记录 .....	340
2.2.5	脊髓节段性缺血时脊髓诱发电位的变化 .....	341
2.2.6	家兔大脑皮质体感诱发电位记录 .....	343
2.2.7	脑缺血对家兔大脑皮质诱发电位的变化 .....	345
2.2.8	蟾蜍离体脊神经节神经元静息膜电位与动作电位记录 .....	347
2.2.9	大鼠培养脑细胞膜的电学特性 .....	349
2.2.10	大鼠在体脊神经节神经元动作电位的细胞内记录 .....	351
2.2.11	猫脊髓背索突触后神经元的细胞内与细胞外记录 .....	354
2.2.12	猫脊颈束-背索突触后神经元的顺、逆向反应 .....	355
2.2.13	大鼠脊髓背角神经元电活动的细胞内记录 .....	357
2.2.14	大鼠脊孤束-背索突触后神经元对躯体与内脏传入的反应 .....	359
2.2.15	家兔中缝大核对外周传入刺激的反应 .....	361
2.2.16	家兔丘脑腹后外侧核电活动的细胞外记录 .....	362
2.2.17	躯体内脏传入在脊髓背角的相互作用 .....	364
2.2.18	缺氧预适应鼠脑提取液对 ATP 敏感性钾电流的作用 .....	365
2.3	神经化学实验 .....	372
2.3.1	缺氧耐受小鼠脑匀浆提取液的抗缺氧作用 .....	372
2.3.2	急性重复缺氧小鼠脑单胺类含量的变化 .....	374
2.3.3	不同强度躯体刺激对家兔脑脊液中 $Ca^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$ 含量的影响 .....	377
2.3.4	不同强度躯体刺激对家兔脑脊液中单胺类含量的影响 .....	380
2.3.5	兔脑内腺苷的微透析法测定 .....	383
2.3.6	缺氧对小鼠大脑皮层突触体 LDH 透出率的影响 .....	384
2.3.7	低氧预适应小鼠脑匀浆提取液对 PC12 细胞的保护效应 .....	386
2.4	神经组织免疫细胞化学实验 .....	388
2.4.1	延髓背角和中缝大核内的 P 物质样阳性结构 .....	388
2.4.2	大鼠三叉神经节内阿片 $\mu$ 受体与降钙素基因相关肽共存的阳性神经元 .....	391
2.4.3	大鼠延髓背角浅层内 P 物质样阳性终末与含钙结合蛋白神经元的联系 .....	393
2.4.4	面口部注射甲醛溶液后大鼠延髓背角内的 FOS 样阳性神经元观察 .....	395
2.4.5	大鼠中缝核簇内 5-羟色胺样阳性神经元表达 FOS 蛋白 .....	397
2.4.6	大鼠延髓背角内向丘脑投射的 FOS 样阳性神经元 .....	399
2.4.7	大鼠三叉神经节内钙结合素 mRNA 阳性神经元的分布 .....	402
2.4.8	大鼠中脑导水管周围灰质内的 5-羟色胺样阳性亚微结构 .....	405
2.4.9	大鼠孤束核内 GABA 能纤维终末与 P 物质受体样阳性神经元的突触联系 .....	408
2.4.10	大鼠延髓背角内 GABA 能神经元与 P 物质能纤维终末的突触联系 .....	410

2.5 神经形态学实验 .....	413
2.5.1 大鼠脊髓灰质向孤束核的投射 .....	413
2.5.2 猫脊髓背角神经元向外侧颈核和背索核的分支投射 .....	415
2.5.3 大鼠脊孤束-背索突触后神经元的超(亚)微结构 .....	416
2.5.4 大鼠脊孤束-背索突触后神经元对躯体感觉核与内脏感觉核的分支投射 .....	418
2.5.5 大鼠脊髓立体定位磁控过半夹断模型 .....	420
2.5.6 大鼠臂旁核向杏仁中央核的投射 .....	421
2.5.7 大鼠中脑导水管周围灰质向伏核的 5-羟色胺能投射 .....	424
2.5.8 大鼠延髓背角内 P 物质受体样阳性神经元向丘脑胶状核投射 .....	427
2.5.9 大鼠中缝大核向脊髓背角和延髓背角的分支投射 .....	429
2.5.10 中脑导水管周围灰质和中缝背核内 5-羟色胺能神经元的下行分支投射 .....	431
2.5.11 大鼠三叉神经脊束核吻侧亚核向三叉神经运动核的投射 .....	434
2.5.12 大鼠延髓背角浅层向臂旁核及丘脑腹后内侧核的投射 .....	437
2.5.13 大鼠中脑导水管周围灰质-中缝大核-三叉神经感觉核簇的间接投射 .....	439
2.5.14 大鼠中脑导水管周围灰质-中缝大核-三叉神经脊束核尾侧亚核的间接投射 .....	442
2.5.15 大鼠延髓背角向丘脑投射神经元与 5-羟色胺阳性终末的突触联系 .....	444
2.5.16 大鼠孤束核-臂旁核-中央杏仁核的间接投射通路 .....	447
2.6 分子神经生物学实验 .....	450
2.6.1 用差异显示法分离特异表达的基因片段 .....	450
2.6.2 慢性缺氧培养细胞中缺氧诱导因子-1 的提取与检测 .....	454
2.6.3 大鼠三叉神经节总 RNA 的提取及 cDNA 的制备 .....	457
2.6.4 5-HT <sub>3</sub> 受体亚型 mRNA 在大鼠三叉神经节的表达 .....	459
2.6.5 乙酰胆碱转移酶在大鼠纹状体的表达及其 DNA 片段的回收 .....	462
2.6.6 乙酰胆碱转移酶 DNA 片段的亚克隆 .....	464
2.6.7 ChAT-pGEM 重组质粒 DNA 的制备及限制酶切分析 .....	466
2.6.8 ChAT-pGEM 重组质粒 DNA 序列的测定 .....	469
2.6.9 乙酰胆碱转移酶表达蛋白的 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳分析 .....	472
2.6.10 乙酰胆碱转移酶在大鼠纹状体分布的 Western blot 检测 .....	475
2.6.11 性激素对周围伤害性刺激诱导脊髓 PPD mRNA 表达上调的影响 .....	478
2.6.12 坐骨神经部分切断后初级感觉神经元(背根节)的差异表达基因克隆 .....	481
<b>3 神经生物学资料 .....</b>	<b>486</b>
3.1 神经生物学常见概念 .....	486
3.1.1 生物电学常见概念 .....	486
3.1.2 生物化学常见词汇 .....	492
3.1.3 细胞培养常见词汇 .....	495
3.1.4 分子生物学常见词汇 .....	498
3.2 常用的实验方法 .....	502
3.2.1 电生理学仪器方法 .....	502
3.2.2 动物实验的实施 .....	509
3.3 实验动物常用数据 .....	519
3.3.1 实验动物常用生理数据 .....	519



---

3.3.2 实验动物常用麻醉剂与肌肉松弛剂 .....	520
3.4 常用试剂、缓冲液、储存液与酶的配制 .....	523
3.4.1 组织培养常用试剂 .....	523
3.4.2 电泳缓冲剂 .....	524
3.4.3 常用贮存液 .....	525
3.4.4 常用酶的配制 .....	527
3.5 常用限制酶识别序列 .....	528
3.6 常用细胞系、细胞培养基、抗生素 .....	533
3.6.1 细胞系 .....	533
3.6.2 常用培养液成分及配方 .....	535
3.6.3 抗生素 .....	537
3.7 核酸、蛋白质常用数据及分子量标准参照物 .....	537
3.7.1 常用核酸的长度与分子量 .....	537
3.7.2 常用蛋白质分子量标准参照物 .....	537
3.8 赫尔辛基宣言Ⅱ .....	538

# Contents in Brief

## Foreword

## Preface

<b>1 Experimental Methodology in Neurobiology</b> .....	1
1.1 Methodology of Scientific Thinking .....	1
1.1.1 Historical impetus of science and technology development .....	1
1.1.2 Dialectically to seek .....	3
1.1.3 Dialectically to think .....	6
1.1.4 Dialectically to verify .....	16
1.1.5 Dialectically to train .....	22
1.2 Methodology of Experimental Design .....	27
1.2.1 Project option .....	27
1.2.2 Professional design .....	41
1.2.3 Control design .....	50
1.2.4 Statistical design .....	58
1.3 Methodology of Experimental Analysis .....	73
1.3.1 Data manipulation .....	73
1.3.2 Statistical analysis .....	82
1.3.3 Professional analysis .....	92
1.3.4 Paper writing .....	100
1.4 Methodology of Electrical Stimulation .....	107
1.4.1 Basic principle of electrical stimulation .....	108
1.4.2 Physical properties of electrical stimulation .....	109
1.4.3 Biological properties of neural preparation .....	113
1.4.4 Selective stimulation .....	116
1.4.5 Stimulating current spread .....	120
1.5 Methodology of Electrical Recording .....	124
1.5.1 Recording in volume conductor .....	124
1.5.2 Evoked potential recording .....	131
1.5.3 Single unitary recording .....	137
1.5.4 Computer associated recording .....	144
1.5.5 Intracellular recording .....	148
1.5.6 Patch clamp recording .....	159