

高等院校医学实验教学规划教材

# 医学实验动物操作 基本技术

◎ 主编 王春田



科学出版社

高等院校医学实验教学规划教材

# 医学实验动物操作基本技术

主 编 王春田  
副主编 李 敏 王 健 弓 彦 刘 鸿 董婉维  
编 者 (按姓氏笔画排序)  
弓 彦 (辽宁中医药大学)  
王 健 (辽宁中医药大学)  
王生化 (辽宁中医药大学)  
王春田 (辽宁中医药大学)  
卞 勇 (南京中医药大学)  
白 剑 (辽宁中医药大学)  
宁天一 (辽宁中医药大学)  
刘 岳 (辽宁中医药大学)  
刘 鸿 (辽宁中医药大学)  
刘璐菘 (辽宁中医药大学)  
李 敏 (辽宁中医药大学)  
李宝龙 (黑龙江中医药大学)  
吴曙光 (贵阳中医学院)  
陈 金 (辽宁中医药大学)  
苑鹤毅 (辽宁中医药大学)  
孟相泽 (辽宁中医药大学)  
胡进平 (吉林大学)  
董婉维 (中国医科大学)

科 学 出 版 社

北 京

## 内 容 简 介

《医学实验动物操作基本技术》主要讲述实验动物的基础知识及动物实验操作技术。全书分六章,分别详细介绍了实验动物的分类、环境与控制,饲料和营养、常用实验动物、动物实验中实验者的自身保护、动物实验前的准备工作等基本知识;实验动物的性别鉴定、年龄鉴定、实验动物的抓取与固定,实验动物的编号、标记、分组、被毛去除及麻醉,实验动物的给药途径及体液采集技术,实验动物的处死方法及尸体检查,常用实验动物的针灸穴位图谱。附录中对国家关于实验动物方面的法规作了介绍,同时还附录了一些常用的实验动物生理、生化方面的基础数据。

本书主要适合于医学、药学及生物学等专业本科生和研究生使用,也适合用于动物实验研究人员的参考用书。

### 图书在版编目(CIP)数据

医学实验动物操作基本技术 / 王春田主编. —北京:科学出版社,2018.1  
高等院校医学实验教学规划教材  
ISBN 978-7-03-056339-2

I. ①医… II. ①王… III. ①医用实验动物-实验动物学-医学院校-教材 IV. ①R-332

中国版本图书馆CIP数据核字(2018)第010610号

责任编辑:王 颖 / 责任校对:郭瑞芝

责任印制:张欣秀 / 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>

北京建宏印刷有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

\*

2018年1月第一版 开本:787×1092 1/16

2018年1月第一次印刷 印张:11

字数:291 000

定价:39.80元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

# 前 言

实验动物是生命科学研究的基础和条件，而动物实验是现代生命科学研究的一个重要手段。《医学实验动物操作基本技术》一书主要讲述实验动物的基础知识及动物实验操作技术。全书分为六章，分别详细介绍了实验动物的分类、环境与控制，饲料和营养、常用实验动物、动物实验中实验者的自身保护、动物实验前的准备工作等基本知识；实验动物的性别鉴定、年龄鉴定、实验动物的抓取与固定，实验动物的编号、标记、分组、被毛去除及麻醉，实验动物的给药途径及体液采集技术，实验动物的处死方法及尸体检查，常用实验动物的针灸穴位图谱。附录中对国家关于实验动物方面的法规作了介绍，同时还附录了一些常用的实验动物生理、生化方面的基础数据。

本书在编写的过程中，得到了许多实验动物方面的专家和学者的大力支持，在这里深表感谢。本书疏漏之处在所难免，衷心欢迎读者批评指正。

王春田

2018年1月

# 目 录

第一章 基础知识 .....	1
第一节 实验动物的概念及动物福利 .....	1
第二节 实验动物的分类和遗传质量控制 .....	4
第三节 实验动物的环境控制 .....	11
第四节 实验动物的营养控制 .....	24
第五节 常用实验动物 .....	26
第六节 动物实验过程中实验动物的饲养管理常识 .....	57
第七节 动物实验中实验者的自身保护 .....	64
第八节 动物实验前的准备工作 .....	66
第二章 基础操作 .....	73
第一节 健康动物的识别和性别鉴别及年龄鉴别 .....	73
第二节 实验动物的捕捉与固定 .....	78
第三章 实验动物的编号、标记、分组、被毛去除方法及麻醉 .....	83
第一节 实验动物的编号及标记 .....	83
第二节 实验动物的被毛去除方法 .....	84
第三节 实验动物的麻醉 .....	84
第四章 实验动物的给药途径和体液采集方法及手术基本操作 .....	89
第一节 实验动物的给药途径 .....	89
第二节 实验动物体液采集方法 .....	101
第三节 动物实验手术基本技术 .....	106
第四节 常用动物实验设备 .....	111
第五章 实验动物的处死方法及尸体检查 .....	123
第一节 实验动物的处死方法 .....	123
第二节 实验动物的活检与尸检 .....	124
第六章 常用实验动物穴位图谱 .....	128
第一节 家兔的穴位图谱 .....	128
第二节 大鼠的穴位图谱 .....	132
第三节 小鼠的穴位图谱 .....	134
第四节 豚鼠的穴位图谱 .....	135

第五节 猫的穴位图谱 .....	137
第六节 猪的穴位图谱 .....	139
第七节 犬的穴位图谱 .....	143
附录一 实验动物管理条例 .....	147
附录二 实验动物许可证管理办法 .....	150
附录三 实验动物质量管理办法 .....	153
附录四 关于善待实验动物的指导性意见 .....	156
附录五 基本数据 .....	159

# 第一章 基础知识

## 第一节 实验动物的概念及动物福利

### 一、实验动物

实验动物 (laboratory animals) 是指经人工饲养, 对其携带的微生物实行控制, 遗传背景明确或者来源清楚的, 用于科学研究、教学、生产, 检定及科学实验的动物。敏感性较强, 重复性好及一致的反应性。追溯其祖先, 来源于野生动物、家畜家禽或观赏动物, 但却不同于这些动物, 它有自己的特点: 一是必须经过人工培育, 遗传背景清楚。二是对其微生物及寄生虫实行人工控制。三是它的最终用途为科学实验, 为人类的健康服务。

### 二、实验用动物

实验用动物 (animal for research) 是指一切用于科学实验的动物, 包括野生动物、经济动物、观赏动物和实验动物。实验用动物和实验动物尽管都起源于野生动物, 然而两者的概念却不尽相同。区别实验动物与实验用动物, 不仅具有实践意义, 而且具有理论价值。科学家在全世界范围内进行一切科学实践活动, 首先要求不同专业的科学工作者, 在各自不同时间、地点所进行的科学实验, 彼此能有可比性, 可重复性和科学性。因此, 要求他们必须应用同一品系的实验动物进行科学实验, 这样才有可能在无差异的情况下获得相同的实验结果。也就是说, 希望采用同品系动物进行实验时, 能获得如同采用“化学纯”试剂进行化学实验那样所达到的精确实验结果一样, 才有可能使用同类的动物实验获得可比性或可重复性。为此, 必须从遗传学、微生物学、营养和环境生态学上对实验动物进行严格控制。用于一般实验的野生动物、经济学动物和观赏动物, 通常来源于自然环境之中, 没有严格的人工控制, 这些动物种群之间有较大的个体差异和群体差异。采用这样的动物进行实验, 很难有可比性、可重复性, 也就谈不上科学性。

### 三、实验动物科学

实验动物科学 (laboratory animal science) 是一门新兴学科, 是研究实验动物和动物实验的科学。前者是指在一定的条件下人工饲养繁殖, 具有一定的生物学特性, 用于科学研究的动物。动物实验是用标准的实验动物代替人进行科学实验, 研究其生命过程的组织形态、机能反应的变化, 并在天然的动物疾病模型及人工制作的疾病模型中观察疾病发生发展的规律, 研究各种化学、物理等因素的作用, 以满足人类对医学、生物学科学领域的研究需要。

### 四、动物福利

#### (一) 动物福利的概念

实验动物福利的实质是保障其在实验的过程中不受虐待, 并得到合理的照料。一些发达国家如美国、英国、日本等都颁布了有关动物福利的条例及法规, 以确保动物在实验过程中享有合理的待

遇。其基本内容如下：

1. 条例中涉及的动物包括非人灵长类、犬、猫、豚鼠、仓鼠、大鼠、小鼠、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必须持有生产或使用许可证；实验时必须有合格的生物学家、行为学家、医学家亲自或在其临场监督下执行。
3. 动物饲养设施、笼具、卫生、喂饲、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、运输方式必须符合有关规定要求。
4. 必须确保动物在麻醉、镇痛和镇静剂的作用下进行实验，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管兽医师认可。
5. 需要处死的动物须用人道的方法实施，并在确认其死亡后，方可焚化处理。
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或者个人将给予处罚。

## （二）动物实验中提倡的“3Rs”概念

近年来越来越多的人提倡“3Rs”原则，这一概念是由英国动物学家 William M.S.Rusell 和微生物学家 Rex L.Burch 在 1959 年出版的《人道实验技术原则》中提出的，即减少（reduction）、代替（replacement）和优化（refinement）。

1. **减少** 是指如果某一研究方案中必须使用实验动物，同时又没有可靠替代选择方法，则应考虑把使用动物的数量降低到实现科研目的的所需的最小量。在保证科研实验的高质量和可达到正确的实验结果的前提下，减少动物的使用量，使遭受疼痛和不安的动物数量减至最少，避免动物、药品和实验用品等资源的无谓浪费。途径如下：

（1）尽量使动物一体多用：在大的医学教学、科研机构中运用协调机制，使不同的学科、不同的科研课题以及不同的人员尽可能做到动物的一体多用。比如，不同的病理标本的采取、在死亡的动物尸体身上进行外科手术的实习等。

（2）用低等的动物替代高等动物：有些实验，比如肿瘤的研究，尽量采用无脊椎动物（鱼类）来完成，减少高等级动物的使用数量。

（3）尽量使用高质量的动物：高质量的动物是指遗传背景资料清晰、微生物控制水平高的动物。使用遗传背景一致的动物，如同胎动物，可减少动物使用数量。微生物控制级别高的动物，如 SPF 动物，也可减少动物的用量，动物实验中提倡以质量代替数量，反对以数量代替质量。在统计学上用大量的低等级的动物来讨论实验结果，它的结论是一场数字游戏。

（4）优化实验设计和统计学方法：高质量的实验设计和统计学方法是实验成功的前提，同时还可以减少动物的使用数量，比如使用拉丁方设计等交叉分析，的确能减少动物的使用数量，而且得到同样实验结果的目的。如毒性测定方法，从开始的 Draige 实验到经典的 LD<sub>50</sub>，就是使用了恰当的统计学方法减少动物的范例。

2. **代替** 是指在不使用活的脊椎动物进行实验和其他科学研究的条件下，采用一些替代的方法，达到某一确定的研究目的。事实证明，单用计算机演算而不使用动物或其组织器官来验证，目前尚处在初始阶段。多数学者认为“代替”是对动物实验方法的补充。它有助于减少动物的使用数量和改进以后的研究工作，但不可能完全取代整体动物实验。如毒理学研究和危险性评价实验中采用的细胞培养物为例，尽管它具有不同类型的细胞和来自特定组织的细胞研究靶器官特性的优点，但它不能像整体动物模型那样作为完整的生物系统，用于评价不同途径（如呼吸、进食、皮肤接触）和长期染毒的后果，以及用来预测某些毒性作用的可逆性等。



常用的代替研究有两种：相对代替和绝对代替，前者指应用体外培养的脊椎动物细胞、组织或器官等，用有生命的物体代替动物进行研究，后者是完全不使用动物，用物理化学方法及计算机模拟系统来代替动物进行研究。

### (1) 相对代替

1) 用系统发育低级的无脊椎动物代替哺乳动物 如用海洋中无脊椎动物（热带鱼类）进行神经系统的生理学研究、肿瘤学研究以及致畸实验等；用果蝇等低级动物进行遗传学研究；著名的Ames实验就是用鼠的伤寒沙门氏菌培养物来测定化学药物的致畸与致癌性。

2) 用离体培养的器官、组织、细胞培养物及提取物、组织切片、细胞悬液和灌注器官以及细胞亚群等代替动物进行单克隆抗体的生产、病毒疫苗制备、效力及安全实验、药物细胞毒（CPE）、细胞膜研究等，特别是各种人类细胞的广泛应用，不仅是动物的良好替代，而且极大地缓解了物种外推的困难。

### (2) 绝对代替

1) 用物理学或机械学方法模拟动物，甚至高等动物，如心肺复活示教在基础医学中的应用。

2) 用化学方法模拟动物，如采用免疫化学方法，用结合力很高的抗体来搜寻抗原，鉴定毒素的存在，代替小鼠的接种实验。

3) 用计算机来模拟动物模型，如定量的结构-活性关系模型、计算机制图应用、生物医学过程模拟等，把复杂的生物学现象分解为很多互相关联的数学公式，然后再输入待检信息或其他信息，观察所引起的反应，加以翻译。这种方法刚刚起步，韩国和日本开展的很多，相信随着计算机技术的不断发展，部分代替或者整体代替动物的动物模型的目标一定会实现。

**3. 优化** 是指通过提高实验动物质量、改善动物设施、饲养管理和实验条件，优化实验设计方案、提高实验操作技术，减少实验过程中对动物机体的损伤、减轻动物遭受的痛苦和应激反应，使动物实验得到精确的结果。

1) 提高实验动物质量。动物质量直接影响实验的结果，微生物和遗传控制级别高的动物一方面对受试因子具有高度的敏感性，另一方面由于遗传的因素具有反应的一致性，保证了实验结果的可靠性。

2) 改善动物实验设施条件，提高动物实验质量。实验动物的级别必须和动物实验设施的级别相匹配，否则就可以定义为浪费行为。有些人认为只要动物具有正常的生理状态，在哪里做实验都是它的正常条件，但是，大量的研究证据表明，环境因素的改变、动物与实验设施的不匹配行为都可以导致动物的神经内分泌系统、免疫系统和行为生理学方面的异常，用这类动物做实验很可能得不到可靠的结论。

3) 改善控制技术，减少对机体的干扰。在实验过程中首先要控制动物的疼痛反应，使用合适剂量的麻醉剂、镇痛剂或者镇静剂是必要的，否则不但有虐待动物的嫌疑，而且将对动物机体产生影响，进而影响实验结果。另外，在实验观察的过程中。尽量为动物创造舒适的生活环境，注意饲养密度、动物之间的咬斗而引起的应激反应或伤害，以及由交叉传染引起的疾病等，这些都会造成动物的痛苦以及行为生理的异常改变，混淆或干扰对实验处理的反应。

4) 提高动物实验操作技术。动物的抓取固定和实验操作水平也是影响动物福利和动物演出型的重要因素。按常规、正确而熟练的抓取和固定动物，动物就不会剧烈反应，并可被训练调教在特定情况下接受各种不同的实验处理，而突然地强迫它们接受这些处理时，它就会受到强烈的应激与痛苦，甚至引起动物窒息和尾部脱落（如大、小鼠）等，进而导致免疫系统功能

抑制和一系列不真实的实验结果。善待动物是动物实验中花费最小、最易获得、也是最安全有效的手段。实验过程中动物的安定平稳对实验结果能产生巨大影响。

5) 充分利用信息技术, 利用已有的信息, 优化动物的使用。信息和数据的大量检索, 在动物实验开始前是必要的, 对优化动物的使用很有帮助。比如, 杀虫剂在上市前必须经过动物实验来验证其毒性, 其中的某种化合物对小鼠和大鼠来说是十分敏感的, 因此以后就没有必要再用犬来进行实验。

我国的动物实验研究中已有的某些方法或手段, 或多或少都含有 3RS 和动物福利的内容。随着更多的科技工作者对 3RS 和动物福利与科学研究之间的关系重要性的不断认识, 必将进一步开拓人们的科学研究思路, 为推动我国生物医学研究的科学化起到独特的作用。

## 第二节 实验动物的分类和遗传质量控制

### 一、实验动物的遗传学分类

在化学实验中, 要准备很多不同种类和不同纯度的试剂, 按其含有杂质的多少可分为普遍的、实验室的、化学纯的、分析纯的等不同纯度的试剂, 分别用于不同目的和要求的试验。在物理实验中, 亦同样要制造出精密度各不相同的各种测定仪器、电子计算机等, 促使物理学试验达到更加精确、迅速和完整的地步。实验动物被称为“活的试剂”的“活的测定器”。在动物实验时, 就需要有纯度高的、敏感性强的, 适合各种实验目的要求的健康的品系动物。目前, 按遗传学控制方法, 根据基因纯合的程度, 把实验动物分类为: 近交系、突变系、杂交群、封闭群四类, 其规定要求各不相同, 而杂种(mongrel)是未经遗传学控制而进行无计划交配繁殖的动物, 故不属于本分类范围。

#### (一) 品系的概念

在实验动物中, 不同品种的动物, 选择其某一生物学特性, 经过一定的繁殖方式和培育, 使某一特性得到强化, 以后可稳定地遗传下来, 就成为一个品系。品系是实验动物分类的基本单位。作为一个品系, 应具备下列条件:

1. 外貌特征相似 如毛色、头形、耳形、尾长等外貌特征。例如 C<sub>57</sub>BL/6 品系小鼠的毛色是黑色的。当然, 外貌特征相似的不同品系的动物, 它们的其他条件是不同的。

2. 独特的生物学特性 此条件是一个品系存在的基础。例如 G<sub>3</sub>H 小鼠乳腺癌发病率达 99~100%。AKR 小鼠白血病发病率在 95%以上。

3. 稳定的遗传性能 一个品系, 不仅要有相似的外貌特征, 独特的生物学特性, 更重要的是要有稳定的遗传性能, 既在品系的自群繁殖时, 能将其特性稳定地传给后代。

4. 具有共同的遗传来源和一定的遗传结构 任何品系都可追溯到其共同的祖先, 并由此分支经选育而成, 其遗传结构也应是独特的。

#### (二) 近交系动物

1. 近交系的基本概念 理论上将全同胞兄妹连续交配 20 代以上或亲代与子代(父女或母子)之间连续交配 20 代以上的动物, 称为近交系动物(inbred strain animal)。

##### 2. 亚系和支系的概念

(1) 亚系: 育成的近交系可能由于突变和残系杂合基因而导致部分遗传组成的改变, 从而形成亚系。

(2) 支系: 当饲养环境改变时, 或对动物进行某些技术性处理时, 有可能对某些生物学特征产生影响, 这些影响的结果, 形成支系。

### 3. 近交系动物的特点与应用

#### (1) 特点

1) 纯合性: 同一近交系动物的所有基因位点都应该是纯合子, 即它们的基因型一致, 遗传组成和遗传特性也相同。

2) 遗传稳定性强: 近交系动物在遗传上具有高度稳定性, 人为选择不会改变其基因型, 个体遗传变异的概率非常低。

3) 基因型相同: 指一个近交系动物中任意两个个体之间在遗传上是同源的, 用免疫学方法检测个体在各条染色体上的基因标记, 同一近交系内不同个体间的基因位点标记是相同的。

4) 表现型的均一性: 由于近交系动物基因型一致, 因而其个体的血型、组织型以及形态学的特征; 甚至行为特征都趋于一致。

5) 分辨性高: 每个近交品系都有自己的遗传概貌, 掌握了遗传监测方法, 就可以轻而易举地将混群的两个外貌近似的品系区分出来。

6) 遗传组成的独特性能: 每个近交系从物种和整个基因库中, 只获得极少部分基因, 它们构成了该品系基因的遗传组成。因而, 每个近交系在遗传组成上都是独一无二的, 并具有独特的表现型。

7) 国际分布广泛: 目前为止, 大部分近交系动物在世界各地均有分布, 为世界各地的科学家提供了方便的实验条件。

8) 背景资料可查性: 近交系动物在品系培育的过程中都有详细的记录, 世界各地的实验动物饲养场所均有它们的背景资料, 这对实验设计和结果分析是非常重要的。

#### (2) 应用

1) 由于试验中, 个体差异极小, 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, 因此, 可以减少实验组次以及对照组的实验动物数量。

2) 组织或肿瘤移植的实验研究。

3) 由于二十代以上的近交, 使隐性基因纯合性状得以暴露, 可用于复制先天性畸形和其他先天性疾病的动物模型, 如先天性高血压大鼠、先天性糖尿病大鼠等。常用大、小鼠近交系的名称(表 1-1)。

### (三) 封闭群动物

1. 封闭群动物的概念 封闭群动物也称远交系动物。20 世纪 70 年代日本实验动物研究会规定“五年以上不从外部引种, 只在一定的群体中进行繁殖, 为经常提供实验动物而进行生产的群体叫作封闭群。”

#### 2. 封闭群动物的特点与应用

##### (1) 特点

1) 封闭群动物具有杂合性, 避免了近交衰退现象的产生, 具有较强的繁殖力和生活力。

2) 由于封闭群动物保持 5 年以上没有引进新的血缘, 其遗传性及反应性可保持相对稳定; 但群内个

表 1-1 常用大、小鼠近交系

小鼠	大鼠
C <sub>57</sub> BL	F <sub>344</sub>
C <sub>3</sub> H	LEW
BALB/C	BN
DBL	SHR
A	DA
AKR	PVG
N <sub>2</sub> B	ACI
B <sub>10</sub> · D <sub>2</sub>	WF
SJL	WKY

体则具有杂合性，因而其反应性有差异。所以封闭群动物实验的重复性差。

(2) 应用：根据上述特点，封闭群动物广泛用于教学、科研预实验、一般实验及药物筛选和毒理安全试验等。

3. 常用的封闭群动物 常用的封闭群动物主要有：昆明种小鼠、NIH 小鼠、ICD 小鼠、SD 大鼠、Wistar 大鼠、Dunkin Harleg 豚鼠、青紫兰兔、新西兰大耳白兔等。

### (四) 突变系动物

1. 突变系动物的基本概念 具有特殊遗传性状，并由基因符号表示出来的品系，以及基因符号表示虽不明显，但经淘汰和选择后能保持特定遗传性状的品系称为突变系。突变系动物是指正常染色体的基因发生了变异，形成具有各种遗传缺陷的动物。它是通过自然突变和人工定向突变的方法形成的。

#### 2. 突变系动物的应用

(1) 加深人类对哺乳动物遗传机制的认识，以及对生命现象的理解。

(2) 绝大多数突变系动物可以作为人类疾病的动物模型而在基础医学和临床医学研究中应用。例如糖尿病小鼠，其 4 号染色体发生隐性突变 (db)，纯合系小鼠肥胖，并伴有糖尿病，可作为糖尿病模型用于实验。

(3) 常用的突变系动物 (表 1-2)。

表 1-2 常用的突变系动物

动物名称	突变染色体部位	特点	应用研究
联合免疫缺陷小鼠 (Scid)	16 号染色体	纯合子血清中无免疫球蛋白、T、B 淋巴细胞缺乏	用于免疫学、血液病学、器官移植学、肿瘤学及病毒学领域
裸小鼠 (nu)	8 号染色体	纯合子无毛，无胸腺	应用于肿瘤学、免疫功能研究等
尿崩症大鼠 (di)	3 号染色体	纯合子多尿，低尿渗透压	应用于遗传性下丘脑尿崩症模型
侏儒小鼠 (dw)	未知染色体隐性突变	纯合子生长素和促甲状腺素缺乏	应用于侏儒症研究
糖尿病小鼠 (db)	4 号染色体	纯合子肥胖并发糖尿病	遗传性糖尿病的研究
裸大鼠 (run)	未知染色体隐性突变	纯合子体毛稀少，无胸腺，T 细胞功能缺乏，血液无 IgM 和 IgG，淋巴细胞转化实验阴性	应用于肿瘤移植

### (五) 系统杂交动物

1. 系统杂交动物的概念 两个不同的近交系之间杂交所产生的第一代动物称系统杂交动物或 F<sub>1</sub> 动物。而两个以上的品系之间的杂交称三元杂交、四元杂交后生的后代统称为杂交群动物。而我们所说的系统杂交动物是指上述的 F<sub>1</sub> 代动物，如 AKR 和 DBA/2 小鼠交配后的第一代动物为 AKD<sub>2</sub>F<sub>1</sub>，在这里，AKR 和 DBA/2 称为亲本品系，其中一个为父系，另一个为母系。它们的后代的基因型和表现型一致，是医学研究所使用的相同基因型的一种。严格地讲，杂交 F<sub>1</sub> 代动物不是

一个品系或一个品种，因为它不具有育种功能，不能自群繁殖成与杂交  $F_1$  代相同基因型的动物。

## 2. 杂交动物的特点和应用

### (1) 特点

1) 杂种优势明显对疾病的抵抗力强，具有较强的生命力，对环境的耐受性强。繁殖旺盛，寿命长，易饲养，在很大程度上克服了因近交繁殖所引起的各种近交衰退现象。

2) 遗传型和表现型一致，虽然它的基因不是纯合子，但是其与近交系父母具有相似的个体均质性，就某些生物学特性而言， $F_1$  代比近交系动物具有更高的一致性，不容易受环境因素变化的影响。

3) 具有相同的基因型杂交  $F_1$  代动物虽然遗传组成是杂和的，但其基因型是一致的，具有亲代双亲的特点，可接受同为  $F_1$  代个体之间的细胞、组织、器官、肿瘤的移植。

其实验结果重复性好 并广泛用于各种实验研究，便于国际进行重复实验和学术交流。

### (2) 应用

1) 适用于营养学、药理学及病原体和激素的生物评价。

2) 适用免疫学和发育生物学等领域的研究。

## 3. 常用的 $F_1$ 代动物 (表 1-3)

表 1-3 常用的  $F_1$  代动物

序号	父本*母本	$F_1$	序号	父本*母本	$F_1$
1	AKR*DBA/2	AKD <sub>2</sub> F <sub>1</sub>	10	CBA-T6*DBA/2	CBA-T <sub>6</sub> D <sub>2</sub> F <sub>1</sub>
2	C <sub>57</sub> BL*A2G	BA <sub>2</sub> GF <sub>1</sub>	11	BALB/c*C <sub>57</sub> BL/6	CB <sub>6</sub> F <sub>1</sub>
3	C <sub>57</sub> BL*BLAB/C	BCF <sub>1</sub>	12	BALB/c*CBA-T6	CCBA-T <sub>6</sub> F <sub>1</sub>
4	C <sub>57</sub> BL*CBA	BCBAF <sub>1</sub>	13	BALB/c*DBA/3	CC <sub>3</sub> F <sub>1</sub>
5	C <sub>57</sub> BL/6*A	B <sub>6</sub> AF <sub>1</sub>	14	BALB/c*DBA/2	CD <sub>2</sub> F <sub>1</sub>
6	C <sub>57</sub> BL*C <sub>3</sub> H	BC <sub>3</sub> F <sub>1</sub>	15	BALB/c*C <sub>57</sub> L	CLF <sub>1</sub>
7	C <sub>57</sub> BL/6*DBA/1	B <sub>6</sub> D <sub>1</sub> F <sub>1</sub>	16	C <sub>3</sub> H*C <sub>57</sub> BL	C <sub>3</sub> BF <sub>1</sub>
8	BALB/*A	CAF <sub>1</sub>	17	C <sub>3</sub> H*DBA/2	C <sub>3</sub> D <sub>2</sub> F <sub>1</sub>
9	BALB/cCAKR	CAKF <sub>1</sub>	18	C <sub>3</sub> H*C <sub>57</sub> L	C <sub>3</sub> LF <sub>1</sub>

## (六) 转基因动物和嵌合体动物

所谓转基因动物是指用实验方法导入外源基因在其染色体基因组稳定整合并能遗传给后代的动物。

建立转基因动物的方法有：显微注射法、反转录病毒感染法与胚胎干细胞法。这三种方法中最常用的是显微注射法。不管选用哪种方法建立转基因动物，其结果都是使动物基因组内包括一个外源性的 DNA 片段。这种遗传特征是一般培育方法所不能达到的。

转基因动物是现代分子生物学技术的产物，其在生物学中的应用主要表现是：

**1. 基因表达调控** 基因表达调控是一个动态开放系统，它具有自己的整体性和独立性。正常基因的诸要素总是按适时适量表达最终产物的目的构成独立的整体并发挥作用。目前，已有多种基因转移与表达的方法研究基因调控，只有转基因动物实验既能从分子水平上设计，又能包括影响调控的诸因素，以调控系统的各基本特征为线索，从四维空间观察基因调控的整体效应。用转基因动物研究基因表达调控，采用的方法有单基因调控系统、多基因调控系统及基因删除系统。

2. 转基因动物模型 转基因动物模型大致可分为两类,一类是人类疾病相关的转基因动物模型,另一类是与家畜遗传育种有关的转基因动物模型。

3. 用转基因动物生产生物活性物质与药物 据报道,美国一家公司已成功培育出了能大量生产人血红蛋白的转基因猪。其研究表明,将转基因动物看成是合成多肽药物的工厂已经成为现实,它将可能是今后研制活性肽或疫苗的一条新颖而廉价的技术路线。

所谓嵌合体的动物是指将动物早期胚胎进行分割后与同种或并种的胚胎细胞聚合而发育成的个体。

1961年,美国科学家就培育出黑白斑杂的嵌合体小鼠,而后,对嵌合体动物的研究迅速发展,除同种外,种间、属间的嵌合体动物也相继问世。其培育方法有:聚集法、胚胎干细胞移植法等。但其不能进一步繁殖,只能在需要时随时生产。由于其体内带有两种遗传组成不同的细胞,从遗传上讲,是自然界中前所未有的,广泛应用于基因表达、细胞分化、胚胎发育、免疫功能、遗传病等研究领域。

## 二、实验动物的微生物控制分级

目前,国际上通常将实验动物分为四个等级,即:无菌动物(germfree animal, GF),悉生动物(gnotobiotic animal, GN),无特定病原体动物(specific pathogen free animal, SPF),普通动物(conventional animal, CV)。并对其饲养条件和微生物控制程度规定如表 1-4。

表 1-4 按微生物控制程度的分类原则

种类	饲养环境	控制水平
无菌动物 (GF)	隔离系统 isolation system	以无菌技术获得,身体内部及外部不存在任何微生物与寄生虫
悉生动物 (GN)	隔离系统 isolation system	带有明确的微生物,在无菌条件下饲养
SPF 动物	屏障系统 barrier system	不带有指定的致病微生物和寄生虫的动物
普通动物 (CV)	开放系统 open system	不能带有人畜共患的和导致动物烈性传染病的病原体的动物,而其他微生物与寄生虫的携带情况不明

我国实验动物工作在近二十年来发展很快,一九九四年国家技术监督局参照国外标准发布了国家实验动物标准,将医学实验动物分为四级,即:一级,普通动物(conventional animal, CV);二级,清洁动物(clean animal, CL);三级,无特定病原体动物(specific pathogen free animal, SPF);四级,无菌动物(germfree animal, GF)。其微生物控制程度见表 1-5、表 1-6、表 1-7。

### (一) 普通动物

普通动物是指饲养在开放环境中,微生物控制水平低,不携带主要的人畜共患和烈性传染性动物疾病病原体的动物。其标准见本章表 1-5、表 1-6、表 1-7。

普通动物是实验中微生物控制上要求最低的动物,其饲养环境为开放系统,空气未经净化,饲料要求采用符合动物营养要求的全价颗粒饲料,饮水符合城市饮用水标准,并保持在 18~26℃、相对湿度在 40%~70%、照度在 100~200lx、噪声低于 60dB、氨浓度低于 14PPm 等环境因素标准。

普通动物生产成本低,可大批量生产,其广泛用于教学实验、一般科研预实验及某些生物制品的生产中。

## （二）清洁动物

清洁动物是指在普通动物的基础上，不带有与人畜共患病原体，也不带有常见的动物传染病病原体的实验动物。其检测标准表 1-5、表 1-6、表 1-7。

清洁级动物也称二级动物，其微生物控制水平介于普通动物与 SPF 动物之间。二级动物是我国目前发展状况所特有的，在国外，一般的科学实验均采用 SPF 动物或无菌动物。

清洁动物必须饲养在屏障设施内，空气经过一定的净化，饲养室内维持正压，进入饲养室的饲料、垫料、饮水、笼具等物品必须经严格的灭菌处理。饲养人员必须穿戴经过消毒的工作服、工作鞋、手套、口罩等。

## （三）无特定病原体动物

无特定病原体动物（specific pathogen free animal,SPF）指在清洁动物的基础上，要求不携带可能干扰实验的某些病原体和寄生虫，如金黄色葡萄球菌等。其检测标准见表 1-5、表 1-6、表 1-7。

SPF 动物饲养环境为屏障系统，微生物、寄生虫及病毒的控制十分严格。因此该级动物质量很高，在科研实验中可以安全可靠地排除病原体及微生物对实验结果的影响。SPF 动物广泛应用于肿瘤学、药理学、毒理学、免疫学，以及生物学鉴定等方面。

表 1-5 常用实验动物寄生虫检测标准

动物等级		应排除的寄生虫项目	动物种类								
			小鼠	大鼠	豚鼠	地鼠	兔				
无 菌 动 物	无 特 定 病 原 体 动 物	清 洁 动 物	普 通 动 物	体外寄生虫（节肢动物）Ectoparasite	●	●	●	●	●		
		弓形体 Toxoplasma gondii	●	●	●	●	●				
		兔脑胞内原虫 Encephalitozoon cuniculi	○	○	○		●				
		爱美尔球虫 Eimeria spp					●				
		卡氏肺孢子虫 Pneumocystis carinii	○	○		○	●				
		带绦虫幼虫 Taenia sp	●	●		●					
		膜壳绦虫 Hymenolepis sp	●	●		●					
		管状线虫 Syphacia sp	●	●		●					
		四翼无刺线虫 Aspiculuris tetrapiera	●	●		●					
		栓尾线虫 Passalurus sp		●			●				
		鼠膀胱线虫 Trichosomoides crassicauda	●	●			●				
		毛滴虫 Trichomonas sp	●	●			●				
		鼠贾第鞭毛虫 Giardia muris	●	●			●				
		鼠六鞭毛虫 Spironucleus muris	●	●			●				
		小袋鞭毛虫 Balantidium sp		●							
		无任何可查到的寄生虫									

注：●必须检查，要求阴性；○必要时检查，要求阴性。

表 1-6 常用实验动物细菌检测标准

动物等级				细菌	动物种类								
					小鼠	大鼠	豚鼠	地鼠	兔				
无 菌 动 物	无 特 定 病 原 体 动 物	清 洁 动 物	普 通 动 物	沙门菌 <i>Salmonella</i> sp Ectoparasite	●	●	●	●	●				
				单核细胞增多性李氏杆菌 <i>Listeria monocytogenes</i>	○	○	○	○	○				
				假结核耶氏菌 <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	○	○	○	○	○				
				皮肤病原真菌 Pathogenic dermal fungi	●	●	●	●	●				
				多杀巴氏杆菌 <i>pasteurella multocida</i>	●	●	●	●	●				
				支气管败血性波氏杆菌 <i>Bordetella bronchiseptica</i>	●	●	●	●	●				
				小肠结肠炎耶氏菌 <i>Yesinia enetrocolitica</i>	○	○	○	○	○				
				肺炎原体 <i>Mycoplasma pulmonis</i>	●	●							
				鼠棒状杆菌 <i>Corynebacterium kutscheri</i>	●	●							
				泰泽菌 <i>Bacillus piliformis</i>	●	●	●	●	●				
				大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i> 0115 a.C,K ( B )	○								
				啮肺巴氏杆菌 <i>Pasteurella pneumotropica</i>	●	●	●	●	●				
				肺炎克雷伯菌 <i>Klebsiella pneumoniae</i>	●	●	●	●	●				
				金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	●	●	●	●	●				
				肺炎链球菌 <i>Staphylococcus pneumoniae</i>	●	●	●	●	●				
				乙型溶血性链球菌 $\beta$ -hemolytic streptococcus	●	●	●	●	●				
				绿脓杆菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	●	●	●	●	●				
				无任何可查到的寄生虫									

注：●必须检查，要求阴性；○必要时检查，要求阴性。

表 1-7 常用实验动物病毒检测分级

动物等级				病毒	动物种类				
					小鼠	大鼠	豚鼠	地鼠	兔
无 菌 动 物	无 特 定 病 原 体 动 物	清 洁 动 物	普 通 动 物	淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒 <i>Lymphocytic choriomeningitis virus</i>	●		●	●	
				流行性出血热病毒 <i>Epidemic hemorrhagic fever virus</i>	●	●			
				脱脚病病毒（鼠痘病毒） <i>Ectromelia virus (pox virus of mice)</i>	●				
				兔出血症病毒 <i>Rabbit hemorrhagic disease virus</i>					●
				小鼠肝炎病毒 <i>Mouse hepatitis virus</i>	●				
				仙台病毒 <i>Sendai virus</i>	●	●	●	●	
				小鼠肺炎病毒 <i>Pneumonia virus of mice</i>	●	●			



续表

动物等级	病毒	动物种类				
		小鼠	大鼠	豚鼠	地鼠	兔
	呼肠弧病毒Ⅲ型 Reovirus type Ⅲ	●	●	●	●	
	小鼠脑脊髓炎病毒 Mouse encephalomyelitis virus	○				
	小鼠腺病毒 Mouse adenovirus	○				
	小鼠细小病毒 Minute virus of mice	●				
	多瘤病毒 Polyoma virus	○				
	轮状病毒 Rota virus					●
	大鼠细小病毒 H-1 株 Rat parvovirus H-1		●			
	大鼠细小病毒 RV 株 Rat parvovirus RV		●			
	大鼠冠状病毒/大鼠涎泪腺炎病毒 Rat corona		●			
无任何可查到的寄生虫						

注：●必检项目，要求阴性。

#### （四）无菌动物与悉生动物

1. 无菌动物 (germ free animal GF) 是指在无菌的环境下，用无菌饲料、饮水饲养的动物，或经剖腹取胎后，转移到无菌条件下饲养，体表及肠管中均不能检出任何活的微生物和寄生虫，这种动物称为无菌动物。

无菌动物一般饲养在无菌隔离器 (isolator) 内，而进入隔离器的一切物品 (包括饲料、饮水、垫料、笼具等) 均经高压灭菌柜消毒两次，为防止空气被细菌、病毒污染，进入隔离器的空气必须经高效过滤，其过滤程度为 0.3μm 微粒的滤除率达 99.97%。

2. 悉生动物 (gnobiotic animal, GN) 悉生动物又称已知菌动物或已知菌丛动物，指在无菌动物体内人为植入一种或数种微生物的动物。其饲养环境与无菌动物相同。

3. 无菌动物和悉生动物的应用 无菌动物和悉生动物广泛应用于心血管疾病、老年病、微生物学、免疫学、肿瘤学、药理学、毒理学、放射医学等领域的研究。

### 第三节 实验动物的环境控制

#### 一、影响实验动物的环境因素

##### （一）温度

常用的实验动物均为恒温动物，具有在一定的温度范围内可保持体温恒定的生理功能，但温度变化幅度过大则影响动物的生长、繁殖，特别对普通级动物，在冬季，温度过低，如果饲养室内仅靠共用锅炉供暖，而不是动物室自供暖气，势必造成饲养室温度过低，动物的繁殖和生长将会停止。夏季温度过高而不采取降温措施，雄性动物将出现睾丸萎缩，精子成活率低；雌性动物出现性周期紊乱，妊娠率降低产仔数减少等。

动物在实验条件下，温度变化大，将会影响其生理、生化指标，对实验结果产生不可估量的影