

第1单元 实验基础知识与基本操作技术

一、实验课的基本要求

1. 实验课的目的

通过运动生理生化实验课的学习,掌握相关实验技术,加深对理论的理解,培养辩证唯物主义的观点以及求实、严谨、认真的科学态度和工作方法,为今后科学地组织体育教学、体育锻炼以及从事科学研究奠定基础。

2. 实验课的要求

(1) 实验台、试剂药品架必须保持整洁,仪器药品摆放井然有序。实验完毕,须将药品、试剂排列整齐,仪器洗净倒置放好,实验台面抹拭干净,经教师验收仪器后,方可离开实验室。

(2) 使用和洗涤仪器时,应小心谨慎,防止损坏仪器。使用精密仪器时,应严格遵守操作规程,发现故障应立即报告教师,不要自己动手检修。

(3) 仪器损坏时,应如实向教师报告,认真填写损坏仪器登记表,然后补偿一定金额。

(4) 使用仪器、药品、试剂和各种物品必须注意节约,应特别注意保持药品和试剂的纯净,严防混杂污染。

(5) 在实验过程中要听从教师的指导,严肃认真地按操作规程进行实验,并简要、准确地将实验结果和数据记录在实验记录本上。课后写出实验报告,由课代表收齐交给教师。

3. 实验报告的要求

实验结束后,应及时整理和总结实验结果,写出实验报告。按照实验内容,实验可分为定性和定量两大类。实验报告的格式依次为:实验序号、实验名称、目的和要求、内容与原理、主要仪器及试剂配制、操作方法与实验步骤、结果与讨论。

定性实验报告中的实验名称和目的要求是针对该次实验课的全部内容而必须达到的目的和要求。在完成实验报告时,可以按照实验内容分别写原理、操作方法、结果与讨论等。原理部分应简述基本原理。操作方

法(或步骤)可以流程简图的方式或自行设计的表格来表示。结果与讨论包括实验结果及观察现象的小结、对实验课遇到的问题和思考题进行探讨以及对实验的改进意见等。

定量实验报告中,目的和要求、原理以及操作方法部分应简单扼要地叙述,但是对于实验条件(试剂配制及仪器)和操作的关键环节必须写清楚。对于实验结果部分,应根据实验课的要求将一定实验条件下获得的实验结果和数据进行整理、归纳、分析和对比,并尽量总结制成各种图表,如原始数据及其处理的表格、标准曲线图以及比较实验组与对照组实验结果的图表等。另外,还应针对实验结果进行必要的说明和分析。讨论部分可以包括:关于实验方法(或操作技术)和有关实验的一些问题,如实验的正常结果和异常现象以及思考题进行探讨;对于实验设计的认识、体会和建议;对实验课的改进意见;等等。



二、常用实验仪器与操作技术

(一) 运动生理学

1. 常用手术器械

(1) 剪刀。

手术剪用于剪肌肉、筋膜和结缔组织等;眼科剪用于剪神经、血管和浆膜等细软组织;普通剪或金冠剪用于剪骨或皮肤等粗硬组织。

(2) 镊子。

手术镊子用于夹住或提起组织和牵提切口处的皮肤,以便于剥离、剪断或缝合;眼科镊子用于夹捏神经、血管和浆膜等细软组织。

(3) 注射器和针头。

配合用于注射各种药物、溶液或抽血等。

此外,在哺乳类动物手术器械中还常用的手术器械有:手术刀(用于切开皮肤和肌肉),止血钳(用于分离皮下组织,夹钳血管止血和提起皮肤切口;蚊式止血钳较小,适用于分离小血管及神经周围的结缔组织),动脉夹(用于阻断血管血流),缝针(一般直针用于缝合皮肤,弯针用于缝合深层组织),气管插管(急性动物实验时,用于插入气管,以保证气道畅通),三通开关(急性动物实验时,用于插入动脉的塑料管与血压换能器的连接,并能通过侧孔注射抗凝剂),动静脉插管(静脉插管用于静脉注射药物和溶液,动脉插管用于测量动脉血压)等。



2. 运动负荷器械

(1) 功率自行车。

功率自行车利用现有健身车结构,量化了摩擦带与摩擦轮之间的加载负荷,并通过系统受力分析,确定了加载质量、骑行转速与被测试者输出功率之间的数学关系,从而实现了对被测试者功率消耗的测定,为科学量化运动负荷提供了有效工具。

(2) 运动跑台。

运动跑台是体育科学研究,特别是运动人体的机能测试常用的设备之一。运动跑台可以与运动心肺功能测试系统、运动心电图仪、运动血压计等测试设备相连,为测试提供运动负荷。

3. 人体成分分析仪

人体成分分析仪采用多频生物电阻抗分析法,测试部位通常选择左上肢、右上肢、躯干、左下肢、右下肢进行多阻抗、多节段测量,可输出多项参数指标,包括身体水含量、蛋白质、无机盐、身体骨量、细胞内液、细胞外液、骨骼肌、体脂肪、体重、身高、标准体重、去脂体重、身体质量指数、水分比率、肌肉率、体脂百分比、内脏脂肪等级、机体基础代谢、肥胖诊断、营养评估、体重评估、肥胖评估、目标体重、体重控制、脂肪控制、肌肉控制、健康评分、体成分指数解析、营养膳食指导、运动处方指导等。

4. 等速肌力测试系统

等速肌力测试是指通过等速肌力测试系统对测试关节在整个关节活动范围内以恒定速度进行向心或者离心运动时某一肌肉或肌肉群的力量测试。等速肌力测试作为一种肌肉力量的评定手段,关键在于对测试指标的准确选取和测试数据的合理分析。在体育科研中运用等速肌力测试系统时,主要采用的指标有总功、峰力矩、相对峰力矩、平均功率、峰力矩比、耐力比。等速肌力测试系统的主要应用包括:相同体育项目不同关节之间肌力特征的评价;不同运动项目同一关节肌力特征对比;寻找运动员最佳的运动速度。

5. 运动心肺功能测试系统

心肺功能评价是世界各国各种形式的体质研究和健康体能评价系统中最为重要的内容之一,也是运动员机能评定中重要的指标。心肺运动试验是一种评价心肺储备功能和运动耐力的无创性检测方法,它综合应用呼吸气体监测技术、电子计算机和活动平板或踏车技术,实时检测在不同负荷条件下机体耗氧量和二氧化碳排出量的动态变化,从而客观、定量

地评价心肺储备功能和运动耐力,是人群普查研究、体能评估和运动处方制定的基本评价手段。

该系统使用前须对仪器进行环境、容量和气体定标,定标通过后方可进行测试。测试前需要录入受试者姓名、性别、年龄、身高、是否佩戴心脏起搏器、有无疾病等基本信息,然后受试者熟悉跑台,调节面罩松紧度,佩戴电极片、血压带,查看呼吸商指标,符合要求后,开始测试。测试采用递增负荷运动进行,使用的是 Bruce 运动方案,根据受试者的自我表现及运动过程中氧摄入的变化情况,决定何时终止运动。运动过程中,仪器不断收集受试者呼出气体并输入分析泵,定点取样分析。通过与之配套的软件,两个电脑屏幕实时显示受试者心肺功能指标。指标主要包括运动时间、负荷、呼吸频率、心率、血压、每分通气量、摄氧量、二氧化碳排出量、呼吸商、氧脉搏以及各指标的动态变化曲线等。另外,该系统可以进行安静状态下的最大肺活量、补呼气量、深吸气量、潮气量等指标的测定。

6. 人工低氧系统

人工低氧系统是一种便携式、模拟高原训练状态的系统。它可以使用户在睡眠或休息时发展和保持受益于高原训练的生理机能。人工低氧系统通过空气分离设备源源不断地产生受控制的低氧(氧气含量低)空气。空气充入了一个特殊覆盖的舱中,此舱并不是完全密封的,它的多孔结构可限制外部空气的扩散以保持高原状态,其模拟高度可从海拔高度调至 9 000 英尺。还可以利用一个独立的适配器模拟高达 15 000 英尺的高度。每天使用 6~8 小时的人工低氧系统足以刺激“高原”环境适应性,它可产生一系列的生理适应,最终极大地提高运动能力。

7. 生物信号采集系统

生物信号采集系统是研究生物机能活动的主要设备和手段之一,常采用多单片机控制。通过该系统观察到各种生物机体内或离体器官中探测到的生物电信号以及张力、压力、温度等生物非电信号的波形,从而对生物肌体在不同的生理或药理实验条件下所发生的机能变化加以记录与分析。

(二) 运动生物化学

1. 玻璃仪器的洗涤与清洁

(1) 洗涤。

各种玻璃仪器的清洁程度直接影响实验结果的准确性。应根据实验要求、污物性质和玷污程度选用合适的清洁方法。



① 非定量敞口玻璃仪器,如试管、离心管、烧杯等,均可直接用毛刷蘸洗涤剂或洗衣粉刷洗,然后用自来水反复冲洗干净,最后用少量蒸馏水洗三遍。

注意:洗前检查毛刷顶端铁丝是否裸露,洗刷时不可用力过猛,以免损坏仪器。

② 定量玻璃仪器,如滴管、吸量管等,先用自来水冲洗晾干,然后于洗液中浸泡数小时,取出待沥净洗液后,用自来水冲洗,最后用蒸馏水冲洗2~3遍。

③ 比色杯用毕立即用蒸馏水反复冲洗,避免用碱液或强氧化剂清洗,切不可用试管刷或粗布(纸)擦拭。

(2) 清洁的标准。

玻璃仪器洗净后,以倒置后内壁不挂水珠为清洁标准。

2. 吸管的使用

吸管是生物化学实验中最常用的取量容器。用吸管移取溶液时,一般用右手的中指和拇指拿住管颈刻度线上方,把管尖插入溶液内大约1cm处,不得过深或过浅。用洗耳球吸液体至所需刻度上,立即用右手食指按住管口,提升吸管离开液面,使吸管末端靠在盛溶液器皿的内壁上,略微放松食指,使液面平稳下降,直至溶液的弯月面与刻度标线相切(注意,此时溶液凹面,刻度和视线应在一个水平面上),立即用右手食指压紧管,取出吸管,插入接收容器中,吸管垂直,管尖靠在接收器内壁,与接收器成约 15° 夹角,松开食指,使液体自然流出。标有“吹”字的刻度吸管以及奥氏吸管应吹出尖端残留液体,其他吸管则不必吸出尖端残留液体。

量取液体时,应选用取液量最接近的吸管。如欲取1.5mL液体,应选用2.0mL的刻度吸管。另外,在加同种试剂于不同试管中且所取量不同时,应选择一支与最大取液量最接近的刻度吸管。例如,各试管中应加试剂量为0.3mL,0.5mL,0.7mL,0.9mL,则应选用一支量程为1.0mL的吸管。

3. 移液器的使用

(1) 基本原理。

移液器是一种取样量连续可调的精密取液仪器,基本原理是依靠活塞的上下移动来取液。其活塞移动的距离是由调节轮控制螺杆机构来实现的,调节轮推动按钮带动推杆使活塞向下移动,排除了活塞腔内的气体。松手后,活塞在复位弹簧的作用下复位,从而完成一次吸液过程。

(2) 操作方法(参见图1-1)。

- ① 将一个吸液尖装在吸液杆上,推到套紧位置以保证气密性。
- ② 转动调节轮,使读数显示为所要取液体的体积。
- ③ 轻轻按下推动按钮,将推动按钮由位置“0”推到位置“1”。
- ④ 手握移液器,将吸液尖垂直浸入待取液体中,浸入深度为 2 ~ 4mm。
- ⑤ 经 2 ~ 3s 后缓慢松开推动按钮,即从推动按钮位置“1”复位到“0”位,完成吸液过程,停留 1 ~ 2s 后将移液器移出液面。
- ⑥ 用纱布或滤纸将粘在尖头外表面的液体擦掉。注意不要接触到吸液尖头部的孔表面。
- ⑦ 将吸液尖头部放入被分配的容器中,使尖贴着容器的内壁,然后慢慢按下推动按钮至位置“1”,继续按至位置“2”,此时液体应全部排净。
- ⑧ 将吸液尖口部沿着容器内壁滑动几次,然后移走移液器,松开推动按钮,按卸尖按钮推掉吸液尖,即完成一个完全的操作过程(5 000uL 移液器不带卸尖器)。

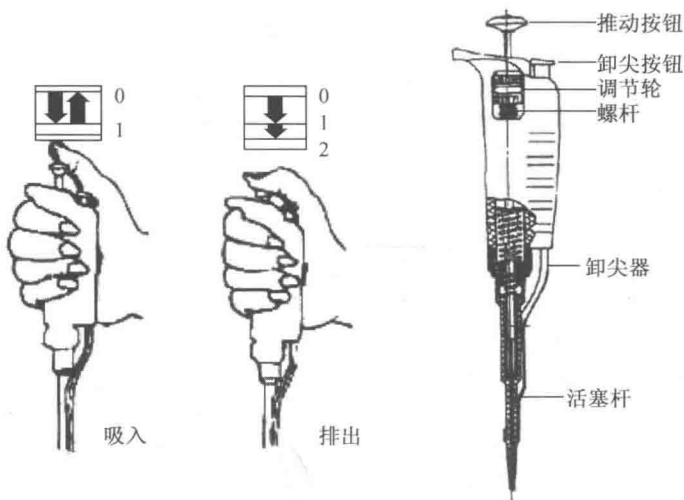


图 1-1 移液器的使用

(3) 使用注意事项。

- ① 移液器属于精密仪器,取液前应先调好调节轮。
- ② 排液时要按动两档至图示位置“2”,以便排净液体。
- ③ 为获得较好的精度,在取液时应先用吸液的方法浸渍吸液尖,以消除误差。因为当所吸液体是血浆类、石油类和有机类液体时,吸液尖的内表面会留下一层薄膜。这个值对同一个吸液尖是一个常数,如果将这



个吸液尖再浸一次,则精度是可以保证的。

④ 浓度大的液体消除误差的补偿量由试验确定,其取液量可通过增加或减少数轮的读数加以补偿。

⑤ 当移液器中有溶剂时,移液器不准放倒,以防止残留液体倒流。

⑥ 吸取少量液体时最好不要用大体积的移液器。

⑦ 使用移液器之前应看清其刻度,不要调节到超过其最大刻度。

4. 离心机

(1) 基本原理。

利用物质的质量、密度、形状等物理性状的差异,在一定介质中通过离心力(场)作用,使物质沉降的过程称为离心。产生离心力的机械是各种类型的离心机。待分离的物质一般被悬浮在一种特殊的液体介质中,盛有这种介质的离子被放置在离心机转头内。转头的中央位于离心机的驱动轴上。离心介质的浮力密度、粘度、阻力影响物体的沉降速度。通过对离心力以及离心介质的选择,可以分离纯化出不同质量大小和物理形状的物质。

(2) 操作方法。

① 离心前应检查:取出所有套管,起动空载的离心机,以检查离心机是否转动平衡;检查套管内软垫是否完好,有无其他异物;离心管与套管是否匹配。

② 平衡:将一对离心管放入套管内,离心管内装等量的待离心溶液,置于天平两侧;如不平衡,用滴管向较轻一侧的离心管与套管之间加水直至平衡。

③ 离心:将等重的两管置于离心机中的对称位置,调节转速钮,逐渐增加转速至所需速度,计时。

④ 离心结束:将套管的水倒净,所有套管放回离心机中。

(3) 使用注意事项。

① 离心的起动、停止都要慢,否则离心管易碎或液体从离心管中溅出。

② 离心过程中,若听到特殊响声,应立即停止离心,检查离心管。若离心管已碎,应清除并更换新管;若管未碎,应重新平衡。

5. 电泳仪

(1) 基本原理。

电泳技术是分子生物学研究不可缺少的重要分析手段。电泳一般分

为自由界面电泳和区带电泳两大类。自由界面电泳不需支持物,如等电聚焦电泳、等速电泳、密度梯度电泳及显微电泳等,这类电泳目前已很少使用。而区带电泳则须用各种类型的物质作为支持物,常用的支持物有滤纸、醋酸纤维薄膜、非凝胶性支持物、凝胶性支持物及硅胶-G薄层等,分子生物学领域中最常用的是琼脂糖凝胶电泳。所谓电泳,是指带电粒子在电场中的运动,不同物质由于所带电荷及分子量的不同,因此在电场中运动速度不同。根据这一特征,应用电泳法便可以对不同物质进行定性或定量分析,或将一定混合物进行组份分析或单个组份提取制备,这在实验研究中具有极其重要的意义。

(2) 操作方法。

① 首先用导线将电泳槽的两个电极与电泳仪的直流输出端连接,注意极性不要接反。

② 电泳仪电源开关调至关的位置,电压旋钮转到最小,根据工作需要选择稳压稳流方式及电压电流范围。

③ 接通电源,缓缓旋转电压调节旋钮直到达到所需电压为止,设定电泳终止时间,此时电泳即开始进行。

④ 工作完毕后,应将各旋钮、开关旋至零位或关闭状态,并拔出电泳插头。

(3) 使用注意事项。

① 电泳仪通电进入工作状态后,禁止人体接触电极、电泳物及其他可能带电部分,也不能到电泳槽内取放东西,如需要应先断电,以免触电。同时要求仪器必须有良好接地端,以防漏电。

② 仪器通电后,不要随时增加或拔掉输出导线插头,以防短路现象发生,虽然仪器内部附设有保险丝,但短路现象仍有可能导致仪器损坏。

③ 由于不同介质支持物的电阻值不同,电泳时所通过的电流也不同,其电泳速度及电泳至终点所需时间也不同,故不同介质支持物的电泳不要同时在同一电泳仪上进行。

④ 在总电流不超过仪器额定电流时(最大电流范围),可以多槽关联使用,但要注意不能超载,否则容易影响仪器寿命。

⑤ 某些特殊情况下须检查仪器电泳输入情况时,允许在稳压状态下空载开机,但在稳流状态下必须先接好负载再开机,否则电压表指针将大幅度跳动,容易造成不必要的人为机器损坏。

⑥ 使用过程中发现异常现象,如较大噪音、放电或异常气味,须立即



切断电源,进行检修,以免发生意外事故。

6. 722 型分光光度计

(1) 基本原理。

分光光度计是应用分光光度法(即比色法)测定物质含量(即浓度)的仪器,具有操作简便,灵敏度高等优点。当利用比色法测定溶液中某种化学成分时,通常需加入某种显色剂,使其产生有色化合物,而且其颜色的深浅与待测化学成分的含量成正比,据此测定待测物的浓度。分光光度法的原理及计算公式均是依据 Lambert-Beer 定律,即一束单色光通过一溶液时,由于溶液吸收一部分光能,使光的强度减弱,若溶液的浓度(或厚度)不变,则溶液的厚度(或浓度)愈大,光线强度的减弱也愈显著。

分光光度计通常是把溶液的厚度固定不变,通过光密度值表现溶质的浓度。若用待测物的纯品配制不同的浓度,测出其光密度,绘出浓度对光密度的工作曲线,便可以此查得未知样品的浓度,还可依据下列公式对未知样品的浓度通过计算得出。

$$\frac{\text{测定管的光密度值}}{\text{标准管的光密度值}} = \frac{\text{测定管的浓度}}{\text{标准管的浓度}}$$

$$\text{测定管的浓度} = \frac{\text{测定管的光密度值}}{\text{标准管的光密度值}} \times \text{标准管的浓度}$$

(2) 操作方法。

① 使用仪器前,使用者应该首先了解本仪器的结构和工作原理,以及各个操作旋钮之功能。在未接通电源前,应该对仪器进行检查,电源线接线应牢固,通地要良好,各个调节旋钮的起始位置应正确,然后再接通电源开关。

② 将灵敏度旋钮调置“1”档(放大倍率最小)。

③ 开启电源,指示灯亮,选择开关置于“T”,波长调置测试用波长。仪器预热 20min。

④ 打开试样室盖(光门自动关闭),调节“0”旋钮,使数字显示为“00.0”,盖上试样室盖,将比色皿架处于蒸馏水校正位置,使光电管受光,调节透过率“100%”旋钮,使数字显示为“100.0”。

⑤ 如果显示不到“100.0”,则可适当增加微电流放大器的倍率挡数,但尽可能倍率置低挡使用,这样仪器将有更高的稳定性。但改变倍率后必须按④重新校正“0”和“100%”。

⑥ 预热后,按④连续几次调整“0”和“100%”,仪器即可进行测定

工作。

⑦ 吸光度 A 的测量:按④调整仪器的“00.0”和“100%”后,将选择开关置于“A”,调节吸光度调零旋钮,使得数字显示为“.000”,然后将被测样品移入光路,显示值即为被测样品的吸光度的值。

⑧ 浓度 C 的测量:选择开关由“A”旋置“C”,将已标定浓度的样品放入光路,调节浓度旋钮,使得数字显示为标定值,将被测样品放入光路,即可读出被测样品的浓度值。

⑨ 如果大幅度改变测试波长时,在调整“0”和“100%”后稍等片刻,(因光能量变化急剧,光电管受光后响应缓慢,需一段光响应平衡时间),当稳定后,重新调整“0”和“100%”即可工作。

⑩ 每台仪器所配套的比色皿,不能与其他仪器上的比色皿单个调换。

仪器数字后盖,有信号输出 0 ~ 1 000mV,插座 1 脚为正,2 脚为负接地线。

(3) 使用注意事项。

① 分光光度计属精密仪器,应精心维护,防震、防潮、防腐蚀。

② 比色杯要保持清洁,其透光面忌用手触摸或接触粗糙物体,比色杯中的液体应适量,外壁应用擦净纸擦干,如杯中溶液为强酸或强碱,应尽快比色,以防腐蚀比色杯。

③ 比色时间应尽量缩短,以防光电系统疲劳。

④ 用后应将所有开关、旋钮移至原位,关闭电源,清洗比色杯,倒置于比色杯架上。

⑤ 比色杯必须成套使用,注意保护。清洗时用 0.1mol/L HCl 和乙醇溶液或稍加稀释的洗涤液浸泡去污,用蒸馏水充分清洗干净,晾干备用。

7. 尿液分析仪

尿液分析仪是测定尿中某些化学成分的自动化仪器,它是尿液自动化检查的重要工具,此种仪器具有操作简单、快速等优点。但是尿液分析仪使用不当和许多中间环节及影响因素都直接影响自动化分析结果的准确性,不仅会引起实验结果的误差,甚至延误诊断。因此要求操作者对自动化仪器的原理、性能、注意事项及影响因素等方面的知识要有充分的了解,在此基础上正确地使用自动化仪器,才能使尿液分析仪得出的结果更可靠、准确。



8. 血乳酸分析仪

主要用于血乳酸浓度的快速测定。一般只需要一滴(0.5 μ L)全血作为测试样品,15秒完成测定,因此具有快速、精确、便携、操作简单等优点。

9. 全自动生化分析仪

全自动生化分析仪是根据光电比色原理测定血清、尿液、脑脊液等样品中某种特定化学成分的仪器。由于其测量速度快、准确性高、消耗试剂量小,故可大大提高常规生化检验的效率。

10. 酶标仪

酶标仪可对以微孔板为体系的实验提供多种“吸收光”、“荧光”等不同模式的检测,广泛应用于低紫外区的DNA、RNA定量及纯度分析(A260/A280)和蛋白定量(A280/BCA/Braford/Lowry),酶活、酶动力学检测,酶联免疫测定(ELISAs),细胞增殖与毒性分析,细胞凋亡检测(MTT),报告基因检测及G蛋白偶联受体分析(GPCR)等。

11. 放射免疫分析仪

放射免疫分析法,是一种灵敏度高、较简便的测量法,几乎可测定生物体内任何物质,包括生物体本身分泌的各种激素,外源性摄入的各种药物,一些病毒抗原等。检测时,将样品和辣根过氧化物(HRP)加入到固相包被有抗体的白色不透明微孔板中,血清中的待测分子与辣根过氧化物酶的结合物和固相载体上的抗体特异性结合。分离洗涤未反应的游离成分。然后,加入发光底液,利用化学反应释放的自由能激发中间体,从基态回到激发态,能量以光子的形式释放。此时,将微孔板置入分析仪内,通过仪器内部的三维传动系统,依次由光子计数器读出各孔的光子数。样品中的待测分子浓度根据标准品建立的数学模型进行定量分析。



三、常用运动实验方法与实验设计

(一) 动物实验

1. 实验动物的捉拿固定

实验动物的正确捉拿和固定,不但可以避免由于过强的刺激和动物的损伤而影响观测结果的正确性,而且还可防止被动物咬伤,从而保证实验的顺利进行。常用的小鼠、大鼠及家兔的捉拿固定方法如下:

(1) 小鼠。

用右手抓住鼠尾,提出后立即放在铁丝笼或粗糙的板面上,而后右手将小鼠缓缓后拉,恰好与鼠要向前爬行的力相反而使其固定,此时可用左手的拇指和食指捏住小鼠耳后枕颈部皮肤即可提起,掌心向上而将鼠体置于掌心中,用无名指和小指将鼠尾压住。此时小鼠即被固定好,可以进行各种实验操作。操作熟练后,可采用左手一手抓取法,更为方便,右手可不必放下注射器等器具。

(2) 大鼠。

捉取大鼠时,不宜突然袭击式地去抓它,这样手指容易被咬伤。取用时,应轻轻抓住其尾巴后提起,置于实验台上,将其放入大鼠固定盒将鼠固定,这样可进行尾静脉取血或注射。如要作腹腔注射或灌胃操作时,实验者应戴上帆布手套,右手轻轻抓住大鼠的尾巴向后拉,左手抓紧鼠二耳和头颈部的皮肤,并将鼠固定在左手中,右手即可进行操作。

(3) 家兔。

家兔性情一般较温顺而胆小,捉拿动作要轻。家兔二耳较长,但并不能承担全身重量,因此捕捉家兔不能抓其两耳,使它疼痛而挣扎。从笼内捉兔时,先轻轻打开笼门,勿使受惊,随之将手伸入笼内,从头前阻拦它跑动,兔便伏地不动,此时用右手把二耳轻轻地压于手心内,抓住颈部的被毛与皮,提起兔,然后用左手托住它的臂部,兔身的重量大部分落于左手上。家兔的固定按实验要求而定,如在耳血管采血、注射、观察瞳孔及呼吸变化时,可将家兔装入能使头部露出的特制木箱。做心脏抽血时,可将其仰卧固定在简易木质手术台上,头部用特制兔头夹固定,四肢用活结粗棉扁带缚在台边。

2. 实验动物的标记方法

确定作为实验用的动物,应分别进行编号登记。选择何种编号、登记的标记方法,则依据实验动物数量、观察时间长短而定。

(1) 皮毛涂色法。

常用于大鼠、小鼠、豚鼠等实验动物。即以苦味酸饱和酒精溶液(黄色)代表个位数;中性红(或品红)溶液(红色)代表十位数,涂在动物体表特定部位的皮毛上,不同部位代表不同数目,如图 1-2 所示。

(2) 剪耳标记法。

在动物耳朵边缘不同部位剪口或耳朵不同部位剪一小孔,以代表一定的数码。此种标记方法清楚,保存时间长,适用于较长期进行试验观察时采用。

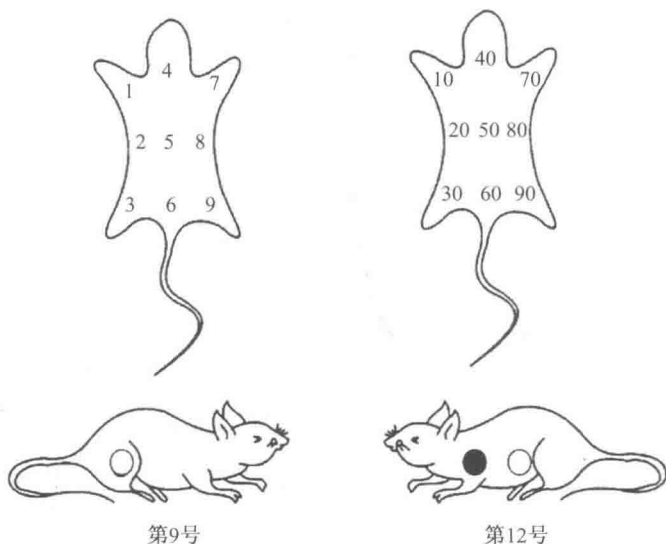


图 1-2 大白鼠和小白鼠的标记图示

(3) 烙印法。

用刺激钳在动物耳上刺上号码,然后用棉签蘸着溶在酒精中的墨黑在刺号上加以涂抹,烙印前最好对烙印部位预先用酒精消毒。

(4) 用金属制的号牌固定于实验动物的耳上,大动物可系于颈上。

对于猴、狗、猫等大动物有时可不作特别标记,只记录它们的外表和毛色即可。

3. 实验动物性别鉴别

受试物不同性别可有不同的毒性作用,或由于目的要求不同,往往需选用不同性别的动物进行试验观察。

大鼠和小鼠的性别鉴定,见表 1-1。

表 1-1 雌鼠和雄鼠的鉴别

雄性(♂)	雌性(♀)	备注
生殖器离肛门较远,阴部有毛;生殖器呈圆尖形突出;会阴处有睾丸,有时升入腹腔	生殖器离肛门较近,生殖器和肛门间无毛;生殖器呈圆形且有凹槽和阴道开口;胸腹部有明显的乳头(大鼠 6 对,小鼠 5 对)	仔鼠性别主要以生殖器距肛门远近来鉴别,雄性距离远,雌性距离近

4. 实验动物的分组

实验时,在动物数量较多的情况下,必须进行分组。为避免主观上有意或无意地偏见,减少因其他个体因素带来的偏差,使实验结果比较准确

可靠,实验动物均应采用随机分组的方法。常用的随机分组方法有:

(1) 随机区组法。

例如,欲将42只大鼠分配于7个组内,每组6只鼠,可按如下方式进行。将大鼠逐个称体重,体重接近的7只鼠同置于一笼中(每鼠做上记号并登记体重)为一个区组,共计6个区组。然后从1~7号编7个签,于第一笼内任取一鼠,同时抽签得3号,此鼠则放入第3组内,依次抽完7个签,则第一笼内大鼠随机分配于7个组内。第二到第六笼大鼠按同样方法抽签分配于实验组。这样各组动物分配比较均匀,平均体重亦很接近。

(2) “随机数字表”分组法。

如有动物18只,按其体重轻重次序编号为1,2,3,4...18号,试用随机方法将其分配到甲、乙、丙三组中去。

查“随机数字表”得18个数字,各数字一律以3除之,将余数为第3行,余数为1者分入甲组,余数为2者分入乙组,除尽者写上除数3,分入丙组,结果如表1-2所示。

表 1-2 完全随机设计举例(分3组)

动物编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
随机数字	14	23	49	46	21	62	45	34	22	19	22	64	61	73	20	63	83	76
以3除后余数	2	2	1	1	3	2	3	1	1	1	1	1	1	1	2	3	1	2
组别	乙	乙	甲	甲	丙	乙	丙	甲	甲	甲	甲	甲	甲	甲	乙	丙	甲	乙

甲组动物号为: 3,4,8,9,10,11,12,13,14,17(10只)

乙组动物号为: 1,2,6,15,18(5只)

丙组动物号为: 5,7,16(3只)

如果要求3个组动物数相等,则须将甲组中动物随机抽出1只到乙组中去,抽出3只到丙组中去,按下法进行。

从“随机数字表”查得4个数字(因要从甲组调出4只动物),48,62,91,73,分别以10,9,8,7除之(因要使原分配到甲组中的10只动物都有被调出的可能,并要依次使剩下的9,8,7只动物都有被调出的可能),取得数据如实验表1-3所示。

表 1-3 完全随机设计举例(调组)

随机数字	48	62	91	73
除数	10	9	8	7
余数	8	8	3	3



即应把甲组 10 只动物中的第 8 只(即 13 号)调入乙组,剩下 9 只中的第 8 只(即 14 号)调入丙组,剩下 8 只动物中的第 3 只(即 8 号)调入丙组,剩下 7 只动物中的第 3 只(即 9 号)调入丙组,经调整后为:

甲组动物号为:3,4,10,11,12,17

乙组动物号为:1,2,6,13,15,18

丙组动物号为:5,7,8,9,14,16

该分组法比较麻烦,建议使用第一种。

5. 实验动物的牺牲方法

实验动物对人类的科学研究付出了生命代价,实验动物的牺牲方法总的要求是死亡尽量快速,不使动物机体发生与毒理实验无关的病理变化,操作简便为原则。动物处理的常用方法,依实验的目的要求及动物种类不同而定。

(1) 脱颈椎法。

适用于对小动物(大、小白鼠)处死。用左手拇、食指捏住头颈部,右手抓住尾巴用力向后拉,使脊髓与颈椎处拉断,动物立即死亡。

(2) 断头法。

适于对大、小白鼠进行处理。

(3) 麻醉法。

将动物放入预先洒有麻醉剂(如氯仿或乙醚)的密闭容器内,使动物麻醉致死。大动物则须用注射麻醉剂法进行。

(4) 空气栓塞法。

用注射器向动物静脉内迅速注入一定量的空气,使动物血管内形成大量气栓而致死。此法适用于大动物的处理。

6. 实验动物的解剖检查

(1) 动物的解剖操作。

在进行解剖检查前,首先复查动物的编号、实验组别、称体重,然后进行一般的体表状况的观察。将动物放在解剖台(板)上仰卧固定用纱布蘸取 5% 来苏尔液或普通水,湿润胸和腹部的皮毛。左手用有齿镊子将耻骨联合前的皮肤提起剪一横口,然后用圆头剪刀从开口处沿腹中线直至颈部,剪开皮肤和胸腹部肌肉,并以这条线起向四肢剪开,分别翻开至两侧,以暴露腹腔,仔细观察及记录腹膜、肝脏、胃、脾、肠、两肾、肠系膜等脏器的情况,如有无出血、化脓、粘连、颜色异常、渗出液的量及性质、肿块等。随之用圆头剪以倒“V”字形剪口开至肋骨,自下而上斜至颈部,剪下

前胸部分,仔细地观察及记录胸部各脏器的情况。

(2) 内脏器官的摘出。

观察各脏器的位置、形态、外观情况后,可采用一起移出或按一定顺序个别摘除方法取出。一起移出方法,首先是从喉头处将气管及食管、血管一起切断,而后用止血钳夹住拉起,从背脊部和胸腹腔壁自上而下逐步剥离一起取出。若按个别器官顺序摘除,则从腹腔开始,先取脾脏,然后从横膈处切断食管及近肛门的直肠,将胃、胰、肠一起取出,最后取肝脏及肾脏。胸腔脏器则先摘除心脏,再取肺及甲状腺等。脑的摘出系使动物取俯卧位固定于板上,用剪自鼻至枕部沿正中中线剪开皮肤并剥离而露出整个颅壳,而后依据动物大小,用正中矢状切口或水平环状切口,将颅骨切开,用镊子小心地将一块块的颅骨剔除,致使脑整个露出。用眼科剪刀剪断脊髓及颅底各神经,即可取出脑。

(3) 内脏器官的肉眼观察检查。

实质器官重点是观察脏器的颜色、形状大小、有无肿胀、肿块、充血、出血、坏死、软硬度、表面及边缘有无异常;切开后切面有无外翻、粘连,各种结构层次是否清晰等。空腔器官主要是观察其内容物的量和性质,粘膜有无水肿、充血、溃疡、坏死等变化。动物经解剖及脏器观察检查后,即可选取标本进行固定,留待制作组织切片进行显微镜观察。

(二) 动物运动实验设计

在运动人体科学研究领域中常用动物实验来模拟某种人体运动状态。应用动物开展各种运动实验,可根据研究目的获取任何样品,因此在研究中被广泛采用。首先应确定动物种系,不同的研究目的应用不同种系的动物进行研究。在选择实验动物时,应遵循以下原则:选择在解剖学、生理学及代谢方面与人类相似的动物;选择对实验敏感的品种或品系的实验动物;选择靶器官效应好的实验动物;选择科研、检定等生产中传统使用的动物;选择有利于实验结果解释的动物级别;选择容易进行运动训练的实验动物。目前广泛使用的动物是大鼠和小鼠。动物运动实验的常用方法,包括跑台、转轮、游泳、爬梯等,其中最常用的是游泳和跑台训练。

1. 游泳

由于鼠是天然的游泳能手,在接受游泳训练时不会产生强烈的抵触情绪,被认为是一种掺入“情感因素”最少的训练方式。此外,游泳方法易维持运动强度在较高水平,而所需设备大多简便易得,通过给予适宜水



温和充足的运动空间,可以使大鼠的运动能力得以充分的发挥。

2. 跑台

动物跑台与人用的跑步机结构基本相同,为适应动物的体型设计成了不同的大小。动物跑台通常附带一个透明的塑料盖,防止动物跳出跑台。跑台的主要部分是一个滚动的传送带,表面的材质有利于动物抓地。分隔板将跑台划分成若干通道,通道的后壁安装有刺激电极和/或发声装置,各个通道的刺激装置是彼此独立的。当动物拒绝跑动或者跑速低于实验要求时,就会在传送带上退行而碰触到后壁的刺激装置,较强的电刺激或声音刺激将迫使动物按照跑台的速度奔跑。除此之外,还可以应用其他方式,如光刺激。但是过多的刺激会引起生理上的变化,如肾上腺素升高;不同的刺激方式也会对实验结果造成影响,电刺激的强度比机械刺激大,有研究发现在达到相同的疲劳标准时,两种刺激所造成的疲劳对动物机体糖代谢的影响是有区别的。因此,在跑台实验中应当尽量降低刺激强度和刺激频率。

实验动物采用跑台的方式进行运动的主要优点在于:(1)运动方式符合实验动物日常的运动情况;(2)动物在各个通道内独立运动,不会受到干扰,彼此之间的限制因素较少;(3)与游泳和自主转笼运动相比,跑台运动可以更加准确地控制运动负荷,跑台的坡度和速度都是可以人工调节的;(4)随着电子信息技术的高速发展,一些跑台采用了完全的计算机控制系统,可以准确地控制动物的状态,计算动物运动过程中做功并进行数据处理,能够实时获取实验数据,同时提高了实验数据的分析效率,是动物生理机能定量分析的发展趋势。

(三) 人体运动实验设计

人体实验应尽可能地用实际运动或训练的方式进行研究,如果需要,可在实验室进行控制运动强度、运动量的研究,一般收集血、尿、唾液等样品,进行无创性检测,也可对气体代谢状况进行分析。

为了更好地分析人体在运动过程中的生理生化反应和运动适应状况,常采集相对安静状态、定量负荷状态、极量负荷状态下的生理学、生物化学参数进行分析。

具体实验设计方法详见第4单元设计性实验。