

实验动物与行为分析

中国科学院
上海营养与健康研究所

金玫蕾 研究员

Shanghai Institute
of Nutrition and Health
CHINESE ACADEMY OF SCIENCES

1 实验动物和实验动物科学

2 动物行为学在整体动物学水平生命科学研究中的作用

3 实验动物在动物实验中的应用方法

4 动物实验技术、实验动物法规和伦理

1. 实验动物和实验动物科学

1.1 实验动物、实验用动物和实验动物科学

实验动物，是指经人工饲育，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、检定以及其他科学实验的动物。——实验动物管理条例（2017年3月1日修正版）

用于科学实验的动物都可称为实验用动物，包括实验动物，家畜和野生动物等。

实验动物科学包括实验动物和动物实验两个方面的内容，是生命科学中的重要分支。

实验小鼠 (*Mus musculus*) 和 实验大鼠 (*Rattus norvegicus*)



实验兔(*Oryctolagus curiculus*)和 实验豚鼠(*Cavia porcellus*)



实验地鼠

金黄地鼠

(*Mesocricetus auratus*)

中国地鼠

(*Cricetulus griseus*)



实验犬 (*Canis familiaris*) 和 实验猪 (*Sus scrofa domestica*)



实验用非人灵长类动物

左：猕猴（*Macaca mulatta*）

右：食蟹猴（*Macaca fascicularis*）



1.2 实验动物的质量控制

实验动物的质量控制=生产管理+质量检测

实验动物的质量检测包括：

遗传质量监测

微生物质量监测

营养质量监测

环境质量监测

生物学特性质量检测

SPF实验动物设施



屏障室和保种室



大型隔离器饲养室



1.3 当前实验动物科学发展的趋势

从偏重微生物学质量控制到偏重遗传学质量控制。

倡导3R：
替代
Replacement
减少
Reduction
优化
Refinement

与高新技术结合，与多种学科交叉，加强实验动物科学本身的研究。

2. 动物行为学在整体动物学水平生命科学研究中的作用

2.1 动物行为学的基本研究方法

行为学模型的建立和改进应有明确的目的。

行为学实验一定要建立量化指标，才能进行比较研究。

由于整体动物的复杂性以及个体差异，一定要保证经过重复性验证的数据，才能作为下一步实验的基础和依据。

符合正确 (exact)，高效 (efficient)，容易 (easy)，经济 (economic) 的“4E”标准。

2.2 在基因功能研究领域的作用

整体动物学水平上的基因功能研究已经越来越受到国际学术界的重视，这方面的研究与分子生物学相关研究的结合，已经成为阐述基因功能的强有力手段。而实验动物科学在其中所起的作用是不可替代的，实验动物科学将会因基因功能研究的展开而得到进一步的发展。

大规模筛选新基因功能的动物行为学 检测平台的建立和应用

反义核酸技术、RNA干扰技术与动物行为学
实验的结合

功能检测平台的优越性：快速简便直观，可
与遗传工程动物的性状进行比较

动物学与分子生物学、细胞学以及遗传学的
交叉和结合

反义核酸注射

Antisense Oligo Injection



Stereotaxic Microinjection in Mouse Brain

小鼠脑内定位微注射

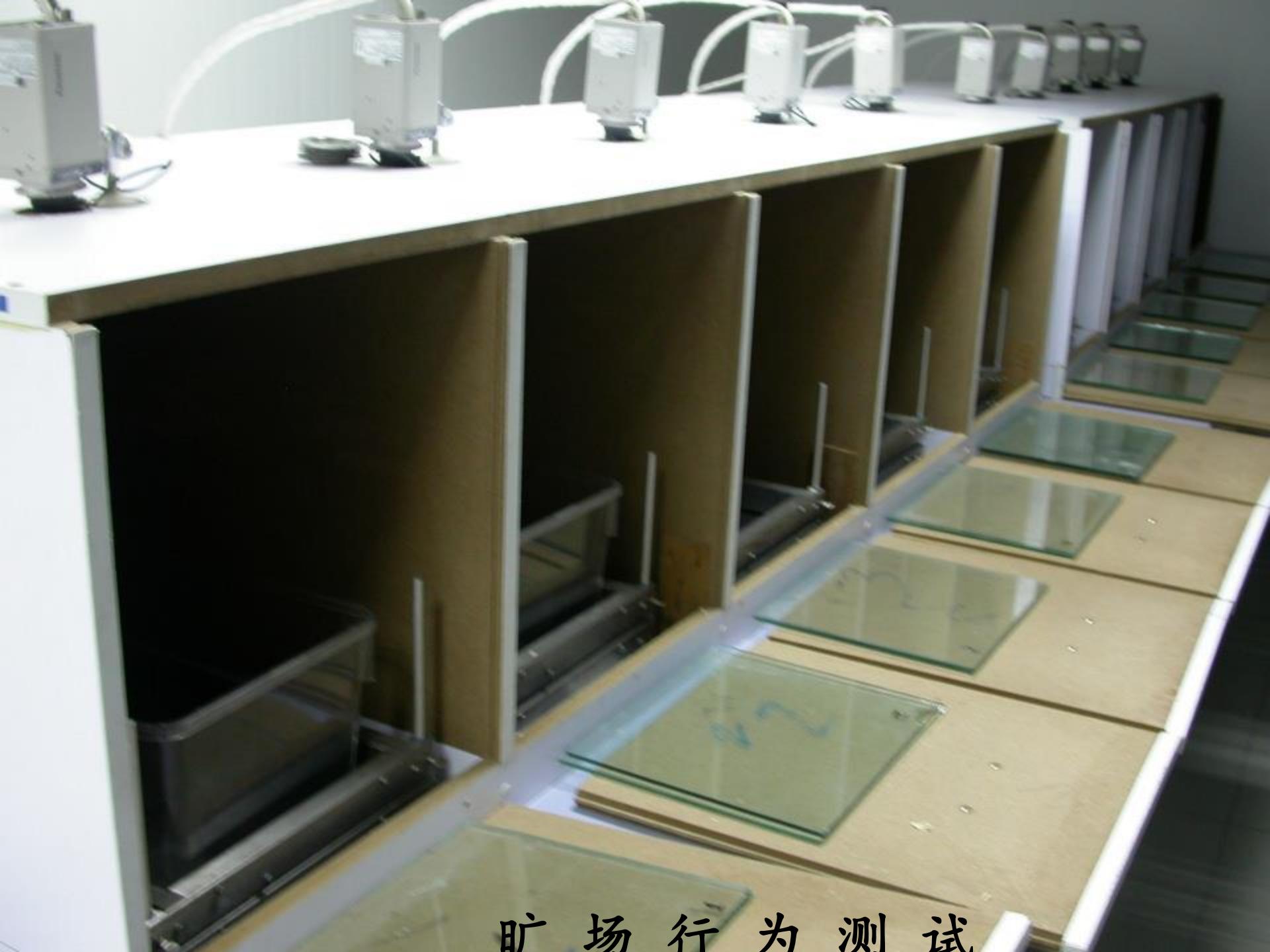


小鼠的行为学检测模型为：

- 考察日常代谢能力的摄食量和摄水量
- 考察Locomotion（移动）和Rearing（直立）的旷场行为
- 考察疼痛阈值的甩尾试验
- 考察认知能力和环境适应性记忆的洞板试验
- 考察记忆能力的步下法实验和步入法实验

代谢能力测定





旷场行为测试





甩尾行为测试





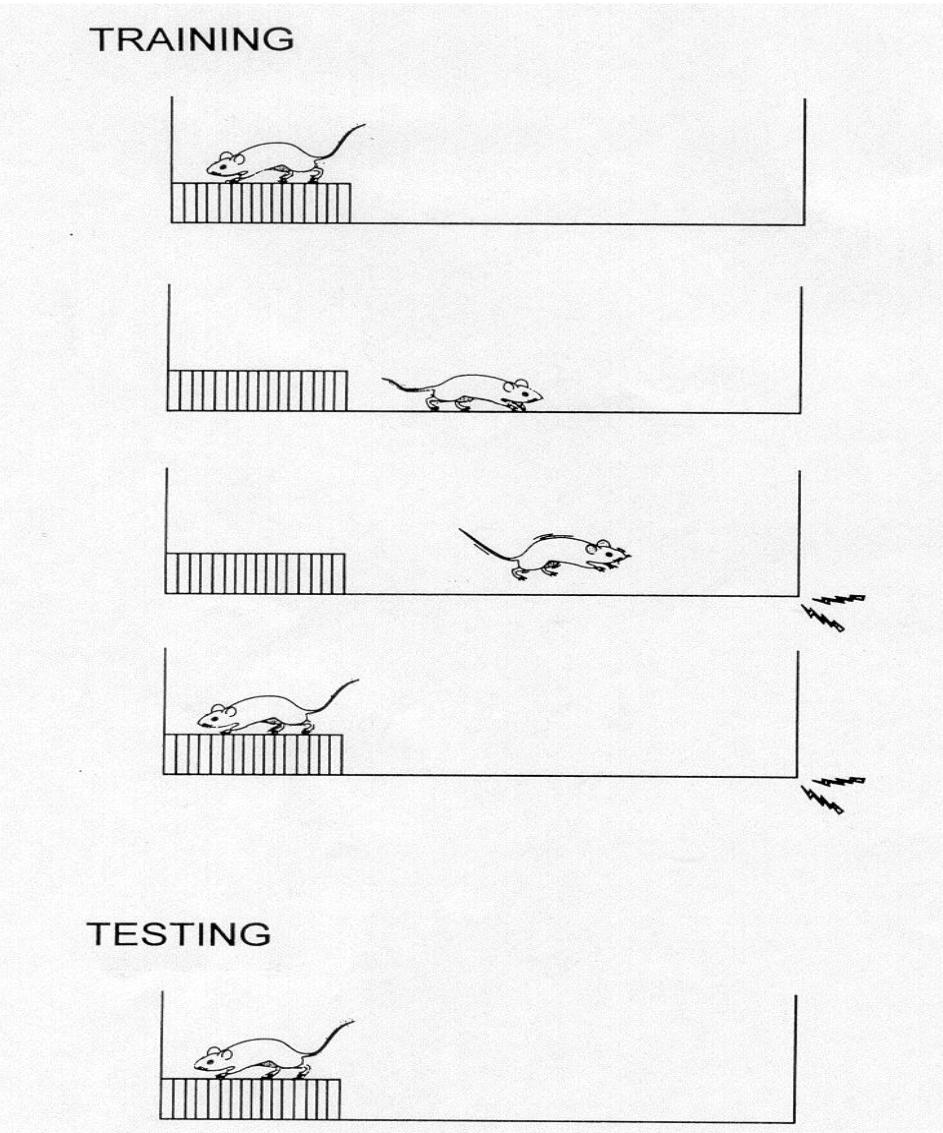


洞板试验



环境恐惧性记忆：步下法

Environmental fear memory



初筛基因结果

初筛基因数		
	41	
实验组与对照组有统计学差异的基因数	24	
其中： 与摄食相关	*	1
	**	6
	***	2
与移动相关	*	4
	**	1
	***	1
与痛觉相关	*	7
	**	2
	***	2
与记忆相关	*	5
	**	3
	***	3

* : obvious difference $P < 0.05$

** : noticeable difference $P < 0.01$

*** : extremely noticeable difference $P < 0.001$

这些基因功能的筛选结果显示：
有50%以上的基因在不同行为学模型
中的实验结果与对照组存在着显著性
差异，预示这些基因有着很好的深入
研究前景。

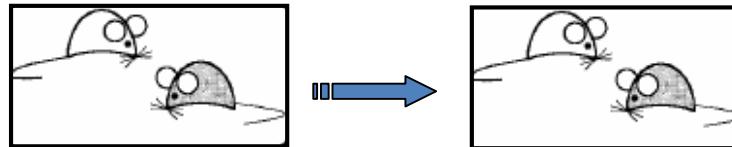
考察社交认知和社交记忆的方法

小鼠在与同伴的初次交往中建立对同伴的认知，如果与认识的同伴再次交往，小鼠对同伴的亲近度下降，即社会探索行为减少；如果再次交往的是新同伴，则亲近度保持不变。小鼠社交行为模型就是利用这一特性，考察小鼠的社交认知和社交记忆。

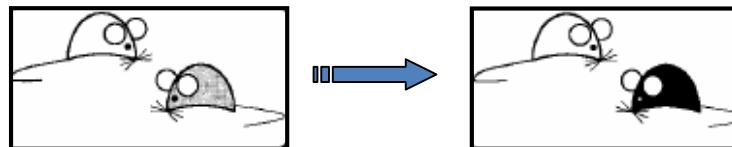
相熟和不相熟同伴实验方案

Familiar/novel encounter paradigm

Familiar group



Novel group

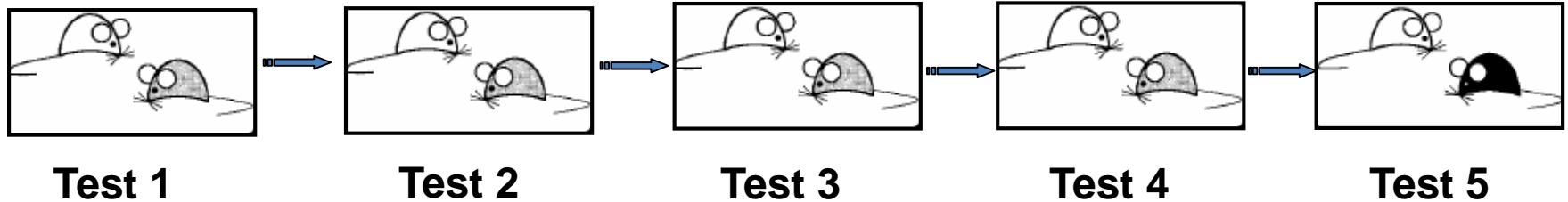


Test 1

Test 2

适应性和非适应性实验方案

Habituation/dishabituation paradigm



2.3 在人类疾病动物模型的建立和疾病机理 研究中的作用

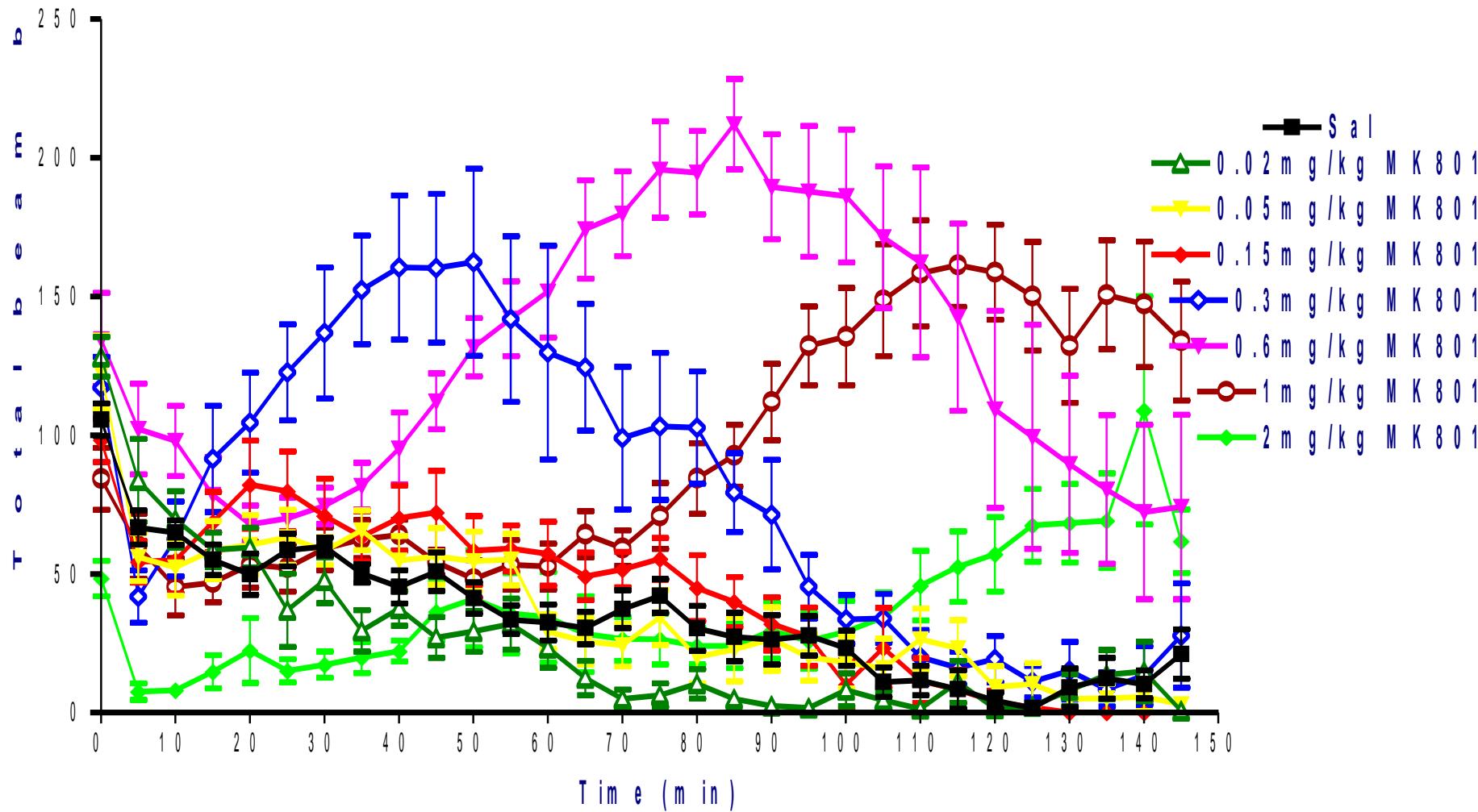
动物模型的分类：自发性模型动物
诱导性模型动物
动物实验模型

生命科学研究离不开动物模型的培育，使
用和研究。

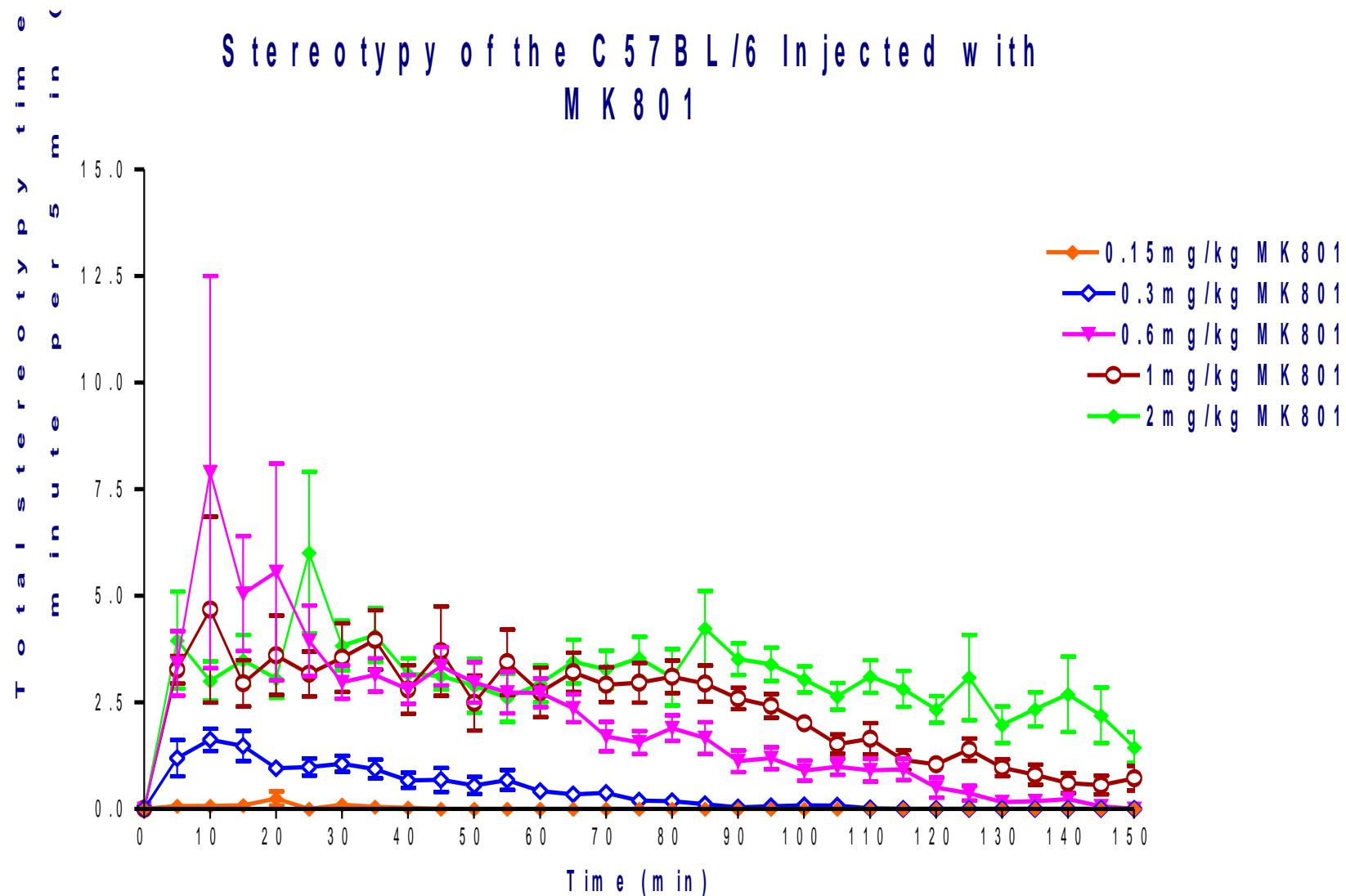
精神分裂症的小鼠模型

用MK-801诱导实验小鼠建立的精神分裂症动物模型可以用来研究该病的发病机理,相关基因以及治疗药物的筛选。

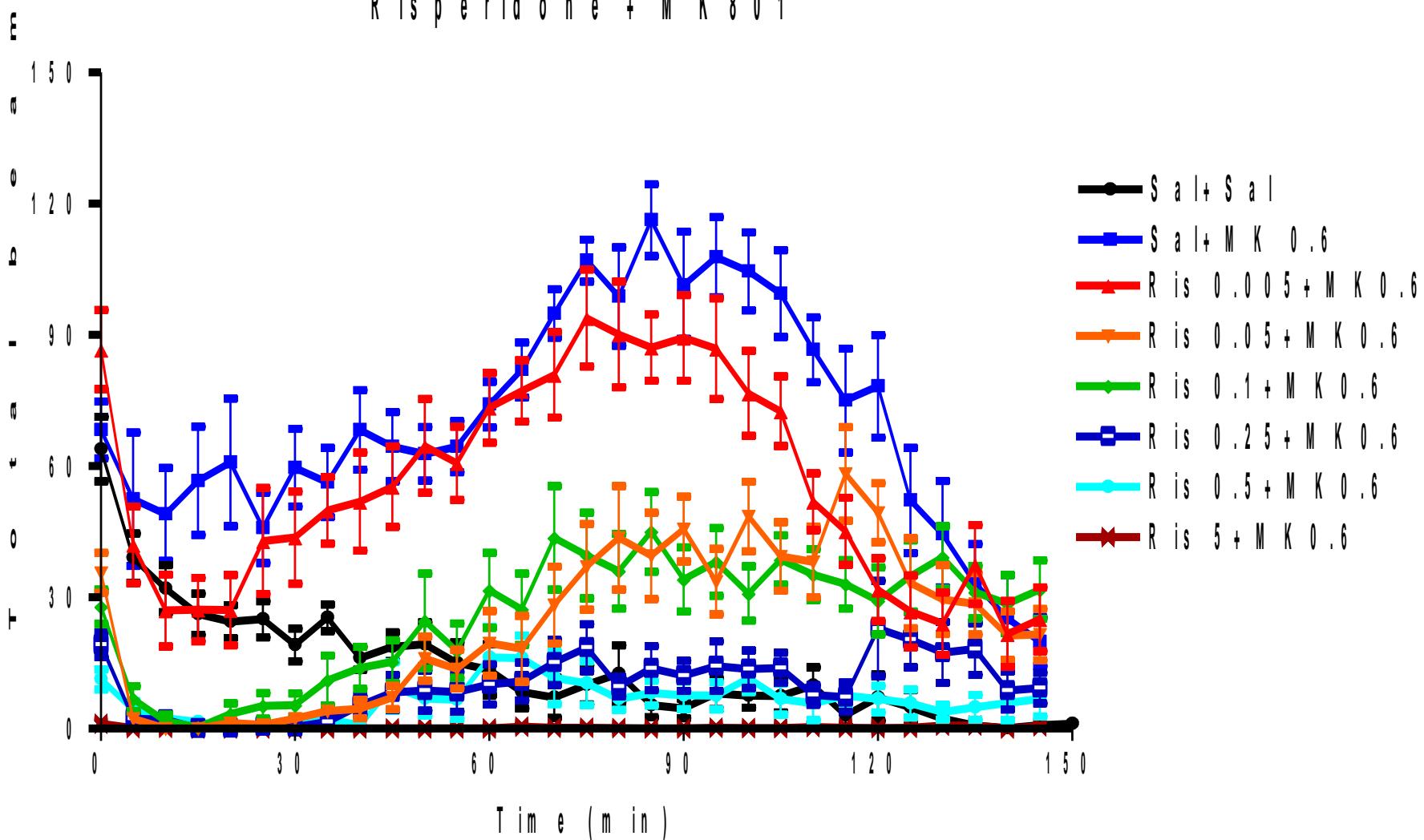
Locomotion of the C57BL/6 Injected with
MK801



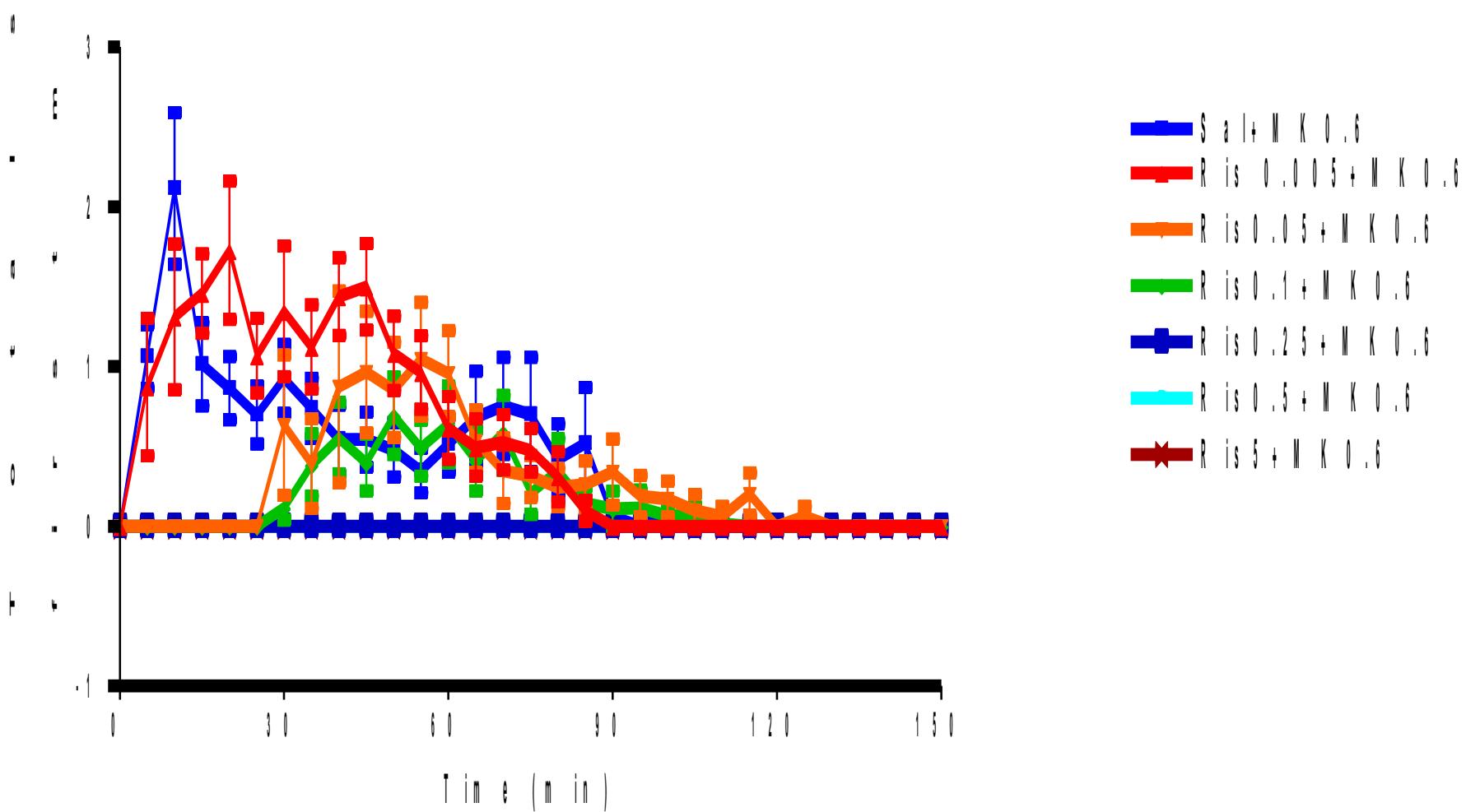
Stereotypy of the C57BL/6 Injected with MK801



Locomotion of the C57BL/6 injected with
Risperidone + MK801

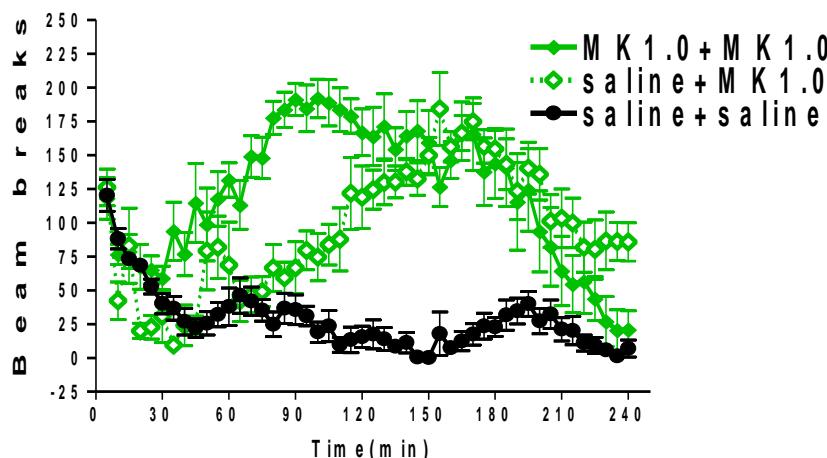
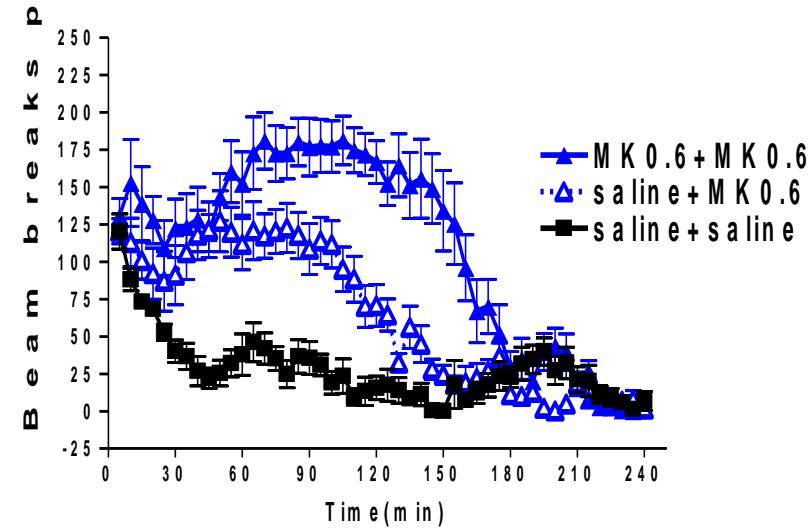
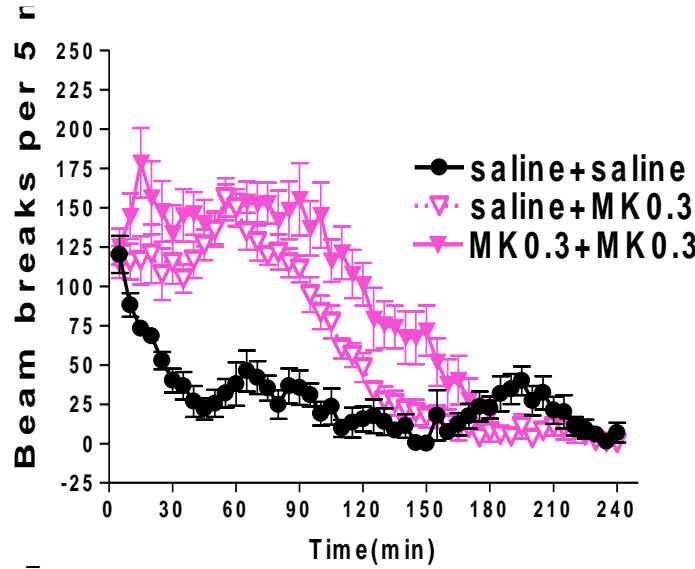


Stereotypy of the C57BL/6 injected with
Risperidone + MK801



MK-801诱导的亚慢性动物模型

Locomotor activities of subchronic vs. acute treatment at various doses of MK-801.



Day1-5给药, Day6-9休息, Day10再次给药。
亚慢性组在强度、持续时间和起效时间上,
hyper locomotion的效应都强于急性组

多种多样的动物模型

- AD (老年痴呆症) 模型
- 帕金森氏症模型
- 不可预知慢性温和应激模型 (抑郁症模型的一种)
- II型糖尿病模型
- 社交行为模型
- 嗜酒精模型
- 疲劳模型
- 代谢模型
- 感染动物模型等

2.4 实验动物在药物研究和新药开发方面的应用

人类疾病动物模型的建立

新药筛选

相关功能基因筛选

毒理研究



3. 实验动物在动物 实验中的应用方法

3.1 实验动物的选择

● 种的选择

不同种的实验动物适合于不同的实验是显而易见的。例如，药物安全性试验一般先要经过小动物试验，然后进行大动物试验，最后才进入临床试验阶段。

● 品系的选择

不同品系的动物由于遗传背景不一，常常导致同一实验结果的差异；因此了解什么样的品系适合于什么样的实验非常重要。

● 动物的数量和分组

如果应用质量高的动物，数量即可减少；例如应用合格的实验小鼠，每组8—10只就可以了。动物实验分实验组和对照组，根据需要实验组设不同的剂量组，对照组分为阳性对照组，阴性对照组和空白对照组等。

3.2 实验动物的正确使用

在动物实验中正确使用实验动物

- 了解动物的特性：如小鼠的昼夜节律，性别差异等
- 克服应激性反应：如甩尾试验时应正确抓取小鼠，避免应激反应
- 识别假象：如由于不同位置温度的差异导致摄食量的差异

3.3 实验动物的表型观察

● 代谢的观察

摄食量，摄水量，粪蛋白含量等的测定

● 行为的观察

运动，痛觉，认知，记忆等行为的观察

● 生理生化反应的观察

血液中总蛋白，球蛋白，白蛋白量的测定，
胆固醇，叶酸，血糖等指标的测定

3.4 实验动物实验数据的分析

生物统计学基础

选择合适的统计学软件

作图的规范化

从纷繁的数据中得出科学的结论

3.5 假象的避免和剔除

避免由于实验动物种类和品系不同引起的差异
避免由于实验动物性别和日龄不同引起的差异
避免由于试剂的生产商和批量不同引起的差异
避免由于参加实验的动物个数不够引起的差异

剔除实验动物中异常个体的实验结果
使用合格的实验动物和试剂
查找实验失败的原因时采用逐个排除法。

4. 动物实验技术、 实验动物法规和伦理

4.1 动物的抓取，保定，麻醉，采血，注射等

- 小鼠的抓取保定

小鼠性情较温顺，挣扎力小，比较容易抓取和保定。
注意：抓小鼠尾巴应抓住尾巴中部或根部，不能仅捏住小鼠尾巴的尾端，因为这时小鼠的重量全部集中到尾端，如果小鼠挣扎，有可能弄破尾端。

在进行解剖、手术、心脏采血、尾静脉注射时，可将小鼠用线绳捆绑在木版上，或固定在尾静脉注射架及粗试管中。

- 引自：Victoria solberg:Laboratory manual for animal technicians

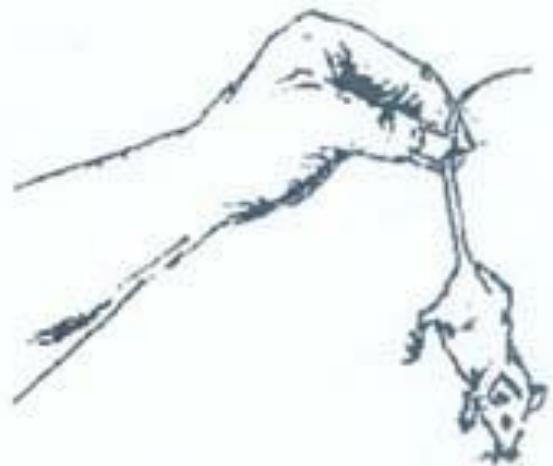


图 11-3 抓尾部提起小鼠

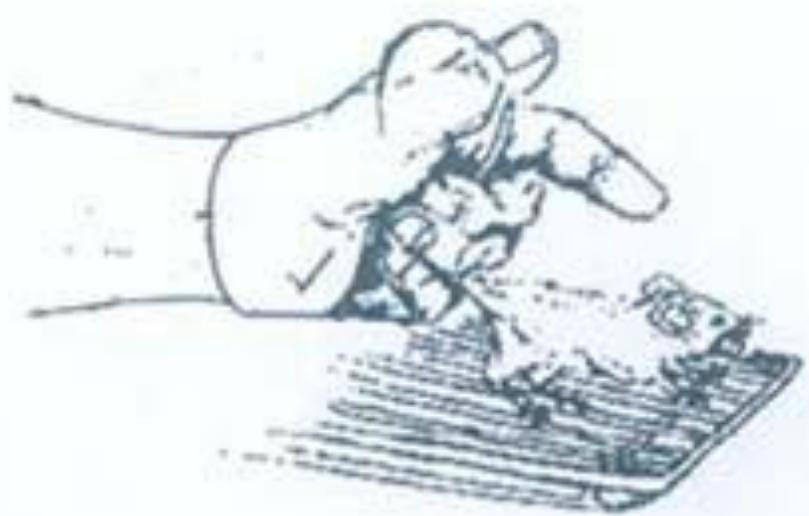


图 11-4 小鼠试图挣脱



图 11-5 提起小鼠

动物的麻醉

选择合适的麻醉药

掌握好麻醉药的药量是麻醉成功的关键

雄性动物对麻醉药更敏感

戊巴比妥钠的用量与麻醉的持续时间

动物种类	用量 (mg/kg)		给药途径
	30min	60min	
小鼠	30	50	腹腔内
大鼠	30	40	腹腔内
沙鼠	30	50	腹腔内
豚鼠	20	30	腹腔内
兔	25	30	腹腔内

- 眼眶采血，尾静脉采血和心脏采血等
- 腹腔注射，皮下注射，侧脑室注射和脊髓注射等

4.2 动物的短期饲养和繁殖

在动物实验开始前以及过程中，经常需要对实验动物进行短期的饲养和繁殖，需要注意：

尽可能保持与实验动物原有生存环境类似的环境

根据实验设计的需要，分笼饲养实验动物

注意实验动物伦理问题，不要在饲养动物的室内做实验，尽量减少动物的痛苦

4.3 抗体制作

选择实验动物：小鼠，兔等

免疫注射方法：腹腔注射，皮下注射等

免疫时间流程（以小鼠为例）：首次免疫后
间隔6周再免疫，以后每隔2周免疫1次，共
免疫3—4次。

免疫注射量：每只小鼠不超过200 μ l

4.4 动物实验中需要注意的问题

- 实验设计要符合实验动物的活动规律
- 选用合适的仪器设备
- 制定科学的实验程序
- 严格执行操作流程
- 避免动物实验差异和动物中途死亡

4.5 实验动物相关法规

《实验动物管理条例》 中华人民共和国国家科学技术委员会令第2号，1988年10月31日国务院批准，1988年11月14日国家科学技术委员会令第2号发布，是我国最早的实验动物相关法规。该条例已于2011、2013和2017年进行了3次修订。

其中第二十九条：从事实验动物工作的人员对实验动物必须爱护，不得戏弄或虐待。（现为第二十七条）

《关于善待实验动物的指导性意见》

2006年国家科技部颁发

- 第一章 总 则
- 第二章 饲养管理过程中善待实验动物的指导性意见
- 第三章 应用过程中善待实验动物的指导性意见
- 第四章 运输过程中善待实验动物的指导性意见
- 第五章 善待实验动物的相关措施
- 第六章 附 则

实验动物质量国家标准

- GB 14924. 1-2001 实验动物 配合饲料通用质量标准
 - GB 14923-2010 实验动物 哺乳类实验动物的遗传质量控制
 - GB 14925-2010 实验动物 环境及设施
 - GB 14922. 2-2011 实验动物 微生物学等级及监测
- 等等，共97项，可在“中国国家标准化管理委员会”网站查看标准的原文。

AAALAC

国际实验动物认证和评估委员会

Association for Assessment and Accreditation of Laboratory
Animal Care International

AAALAC成立于1965年，是一个自发的非赢利性认证组织，旨在以仁慈、负责的养护和应用方式来提高科研、教育和实验质量。该认证组织基于科学实验的重复性、数理统计的合法性需要，提供了一种科学界的强制的规范，以一种国际标准来养护实验动物，以此获得的研究数据可为国际上各实验室所承认，增强了数据的交换率和共享度，这就避免了重复试验的次数。该认证体系的核心就是“3R原则”（替代，减少，优化）。

4.6 实验动物伦理

近年来我国实验动物科学领域内关于伦理问题的进展

- “3R”研究概念的传入

倡导3R 替代 (Replacement)
减少 (Reduction)
优化 (Refinement)

- 实验动物纪念碑的出现

- 2002年4月180次香山科学会议的召开：主题—我国生命科学研究中的伦理问题

- 《实验动物管理条例》修订稿增加了动物福利的相关内容，2006年科技部颁发了《关于善待实验动物的指导性意见》

- 动物实验技术操作的规范化



《等待做实验的猴子》，李风摄影。 2007年美国《国家地理》摄影
奖动物类一等奖

动物伦理学在中国出现的社会原因

- 1、改革开放后经济的快速发展促使人们的观点变化
- 2、与国际的交往促进了东西方文化的交融
- 3、近十几年来教育的结果

我们能为解决这些问题做些什么？

- 1、改善实验动物的生活条件（居住条件和实验条件）
- 2、杜绝虐杀实验动物的现象（淘汰动物的处理等）
- 3、尽快制定和完善相关的法律法规，落实组织措施（立法，法规和规章制度）

- 4、推动“3R”研究的进展（我国“3R”研究的现状及展望）
- 5、成立动物伦理委员会及专家组，加强与国际上的交流（目前的状态）
- 6、加强对社会的宣传，支持爱护动物的行为，注意与动物保护组织的理解及沟通（爱护动物包括爱护实验动物）

实验动物是生命科学不可缺少的支撑条件，是为人类的健康和发展作出贡献和牺牲的生命体。

紀念碑

实验动物

谨以此碑为生育科学研究
而献身的实验动物

The Animal Experiment of Fertility Research
In Memory of the Experimental Animals

谢谢！
Thank You