

果蝇低温麻醉设备构建及其在实验教学中的应用

周 杰 刘 艳 孟令军 李臣亮 周毓麟

吉林大学生命科学学院 吉林长春 130012

摘 要: 果蝇是重要的模式生物, 果蝇的麻醉操作在遗传学实验过程中具有重要的地位和作用, 乙醚是用来麻醉果蝇的经典实验试剂, 为了克服乙醚的安全隐患和缺乏环境友好的缺陷, 通过长时间反复的探索与改进, 设计并构建低温果蝇麻醉设备, 该设备在本科实验教学中取得了良好的效果。

关键词: 果蝇; 麻醉; 低温

DOI:10.13492/j.cnki.cmee.2019.05.001

温带生物果蝇作为重要的模式生物, 在遗传^[1]、发育^[2]、衰老^[3]、肿瘤^[4]、神经退行性疾病^[5]等领域具有重要的地位, 是中学及高校本科生物学实验教学中重要的实验对象。对果蝇进行麻醉是完成对果蝇进行观测和挑选的重要步骤。

长期以来, 国内各级院校因廉价和便捷一直采用乙醚作为果蝇的麻醉试剂并在实验室内对果蝇进行麻醉操作, 但是随着科技的发展和人们认知水平的提高, 乙醚作为实验试剂的安全隐患越来越引起人们的注意。乙醚作为国家二级易制毒管控试剂, 具有挥发性并且易燃易爆, 同时对实验操作者具有一定的毒害作用。Van Dijken指出, 乙醚可以在长达400小时的时间内抑制果蝇的行为^[6], 因此探索新的安全、环保的果蝇麻醉方法就成为生物学实验教学的迫切需求。

吉林大学生命科学学院2012级本科生在遗传学实验过程中提出置换乙醚麻醉技术增加生物实验安全性的想法, 申请并获得了吉林大学大学生创新创业训练计划(2014B34084)资助, 在教师指导及硕士研究生协助下完成果蝇低温麻醉设备的设计及试制。

1 果蝇低温麻醉设备的工作原理

目前, 果蝇低温生物学研究认为, 作为温带生物果蝇, 在低温环境下会出现寒意昏迷的现象, 在一定的低温环境中保持一定时间后果蝇转移至常温环境中可以恢复行动能力, 其生殖行为及表观性状不受影响。

基于上述信息, 项目组从麻醉时间、麻醉率、果蝇苏醒时间、苏醒率、24小时生存率、繁殖能力、寿命及攀爬指数等角度探索了相对适合麻醉果蝇的低温操作区间(-10℃)以及麻醉状态保持时间(大于10分

钟); 这在实验安全的基础上, 为针对麻醉果蝇后续的观察及操作提供了足够的时间。

2 低温环境实现的困窘及改进

前期工作中利用冰盐浴, 确定了-10℃可以满足对果蝇进行低温麻醉。但是实验过程中, 发现冰盐浴低温针对果蝇麻醉操作具有温度波动大、稳定性差的缺点, 同时冰盐浴低温操作不可避免地带来实验试剂的排放, 缺乏环境友好性, 为了克服冰盐浴的上述缺点, 设计并构建了共低温舱低温温控设备进行果蝇麻醉的操作^[7]。

该设备极大地满足了硕士研究生及参与大创学习本科生进行果蝇麻醉相关科学研究需求。在该设备应用于本科实验教学过程中, 发现与科学研究中使用该设备不同, 本科实验教学中, 存在操作者人数多、协同性低、仪器使用频率高、持续工作时间长的问题, 已构建的共低温舱设备虽依然可以满足本科生的实验教学需求^[8], 但是出现持续性不足和稳定性差的缺点。

为了进一步弥补低温果蝇麻醉设备的不足, 设计了彼此空间独立的、可以满足多组实验操作者在互不干扰的前提下进行实验操作的低温果蝇麻醉空间, 在吉林大学实验技术项目的支持下, 对已有果蝇低温麻醉设备进行了重构和改造。

3 抗干扰温度稳定果蝇低温麻醉设备的开发

3.1 大冷室及小麻醉室

为了避免多组实验操作者共同高频率使用时对实验设备内低温环境的干扰, 果蝇低温麻醉装置采用

作者简介: 周杰, 理学博士, 副教授; 刘艳, 理学博士, 研究员; 孟令军, 理学硕士, 高级工程师; 李臣亮, 理学硕士, 工程师; 周毓麟, 理学博士, 工程师。

基金项目: 吉林大学实验技术项目“果蝇程序性低温麻醉系统”(编号: 2017JSZD20)。

共冷舱联合独立低温室设计,并克服共低温舱低温麻醉设备易受环境及果蝇麻醉瓶进出带来的热效应的影响,构建了与外界相对隔离的大冷室小果蝇麻醉低温室果蝇低温麻醉装置。果蝇麻醉室与大冷室之间采用金属板进行隔离,果蝇麻醉室总体积小于大冷室体积的1/20。确保设备工作时,果蝇麻醉瓶的进出带来的热效应对大冷室干扰降至最低。

3.2 换热管缠绕和大功率风机联合作用

以金属换热管蛇形缠绕果蝇麻醉室外壁,以大功率风机保持大低温冷室内的空气流动,迅速抵消外来果蝇麻醉瓶及麻醉室舱门开关带来的环境热效应,确保每个麻醉室之间温度一致。

3.3 独立低温果蝇麻醉室

每个麻醉室采用金属传导,换热管紧密缠绕每一个麻醉室,使得每个麻醉室金属壁各处温度基本一致,果蝇麻醉瓶进入低温室内实现果蝇麻醉,通过蛇形换热管的缠绕和封闭共冷舱内冷空气的介导,实现设备每一个麻醉室具有相同的温度,大功率的压缩机和风扇确保设备能急速提高足够的低温补偿果蝇麻醉瓶进入麻醉室带来的热效应(如图1所示)。

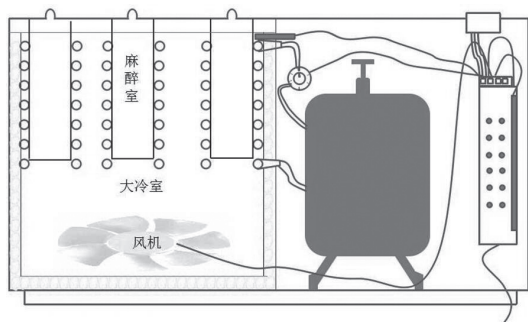


图1 抗干扰温度稳定果蝇低温麻醉设备剖面示意图

4 低温果蝇麻醉设备在本科实验教学中的应用

在吉林大学生命科学学院2012级本科学生实验教学中,低温果蝇麻醉设备首次试用于遗传学实验教学,40名学生共分成20组,其中10组使用低温果蝇麻醉设备,另外10组使用传统的果蝇麻醉技术作为参照。

按照生物学基础实验教程^[10],乙醚麻醉果蝇实验组,学生首先需要把果蝇从培养瓶转至麻醉瓶,然后在麻醉瓶中加入适量乙醚,待果蝇麻醉后,转至表面皿或者显微镜下进行性状观察、雌雄果蝇挑选等操作。由于本科学生实验操作经验不足,挑选果蝇和观察果蝇性状需要更多时间,往往出现后续操作未完成但果蝇已经苏醒的问题,于是不得不进行反复麻醉以

完成实验内容。这样,一方面由于乙醚量加大而使实验对象果蝇的生理行为受到影响;另一方面空气中乙醚浓度增高对实验操作人员的身体健康产生影响;更为麻烦的是,对于易燃药品乙醚的用量难以控制,而使监管难度加大。

低温果蝇麻醉设备使用组,首先实验前设备经预冷1小时后,达到实验所需温度,按照自主专利设定设备果蝇麻醉时间^[7],将果蝇转至麻醉瓶,轻敲瓶底使果蝇落于瓶底后迅速放置于麻醉室内(如图1所示),静置足够时间,取出果蝇麻醉瓶,可见果蝇全部麻醉。按照自主专利程序实施果蝇低温麻醉操作^[11],将其中果蝇转至冰台上的表面皿中,进行性状观察以及雌雄果蝇挑选等操作,果蝇可以长时间保持在麻醉状态下,无须进行反复麻醉。

与乙醚麻醉相比,低温果蝇麻醉技术既节省了实验时间又避免了有毒有害试剂排放。乙醚和低温麻醉在本科学生遗传学实验教学中的试用结果见表1,从表1中可以看出低温果蝇麻醉设备使用后,避免了麻醉操作的反复进行,实验整体完成时间大幅缩短,学生在实验总课时不增加的前提下,除可以完成乙醚麻醉后的果蝇计数、雌雄果蝇挑取任务外,还可以有充裕的时间进行不同突变品系果蝇的性状观察,如棒眼、残翅、焦刚毛等,还可以进行不同突变品系果蝇杂交实验,使学生可以在有限的课时内完成更多的实验操作,学习更多的实验技能,大大提高了学生的实验热情。

表1 几种麻醉方法应用对比

		乙醚麻醉	低温麻醉	
			冰盐浴	低温麻醉设备
监管	实验室环境要求	通风良好	无特殊要求	无特殊要求
	实验课程开设时间限制	5~9月	无特殊要求	无特殊要求
	试剂购置	需经有关监管部门审批	无特殊要求	无特殊要求
	试剂储存	环境温度需低于26℃,并无氧化物	环境干燥	无特殊要求
	试剂使用监管	监管困难	易于监管	无须监管
操作	实验整体完成时间※	90 min	30 min	30 min
	单次麻醉操作耗时	2~3 min	1~2 min	<1 min
	麻醉状态持续时间	2~6 min	4~5 min	>10 min
	麻醉剂消耗量	200 μL/次	200 g/次	无试剂消耗
	是否需要多次麻醉	是	是	否
	方法稳定性	个体差异大	温度波动大	稳定

表1(续)

安全	试剂安全性	易燃、易爆、II类易制毒*、吸入有害	吸入有害、刺激皮肤	安全
	环境友好性	乙醚气体排放、剩余乙醚液体处理	废弃盐溶液直接排放破坏土壤和植被,需经特殊处理	环境友好
	对实验人员潜在伤害	头晕、恶心、呼吸不畅	吸入有害、刺激皮肤	无

注:※仅以40人同时进行实验操作为例; *乙醚属于II类易制毒药品,受公安部管制^[9]

迄今为止,低温果蝇麻醉设备已应用于遗传学实验、研究创新实验、生物工程校内实训实习等实验课程,生物科学、生物技术、制药工程、药物制剂、唐敖庆班以及非生物类专业近2 000名学生因此受益。

5 结语

低温麻醉与传统乙醚麻醉相比具有零排放、环境友好的特点,对实验人员和实验对象均有较高的安全性,设备的高稳定性和可控性为研究果蝇的低温生物学行为提供了有效的技术支持,该设备适用于所有以果蝇为对象的麻醉操作,具有广阔的应用前景(见表1)。

在设备的设计、构建、调试与应用过程中,学生的学习兴趣得到了极大的激发,更多的火花得以碰撞和绽放,3届10余人的本科生大创团队和硕士研究生带着来自实验教学和科学研究中的需求与疑问,通过自身的努力与团队的协作,克服种种困难。从无到有,调整设备设计思路、完善设备细节、使设备进一步适用于果蝇低温生理及行为研究。团队成员申请并获得国家发明专利1项^[11],实用新型专利1项^[7],

发表科研文章1篇^[12],教学改革文章1篇^[8],获得“岛津—华尔达杯”第四届吉林省大学生生命科学创新实验大赛一等奖,陆续还有发明专利、外观设计专利和实用新型专利在撰写和申请中。

参考文献

- [1] 郑向忠,洪伟,俞海菁,等.黑果蝇(*D. virilis*)自然群体遗传多态研究[J].遗传学报,1999,26(3):198-202.
- [2] 袁葵洲,Bodmer R,朱传炳,等.利用RNAi技术研究果蝇心脏发育基因的功能[J].遗传学报,2002,29(1):34-38.
- [3] 张春红,张敏菁,焦文娟,等.果蝇衰老的调控机制[J].昆虫学报,2016,59(1):102-110.
- [4] 霍桂桃,吕建军,屈哲,等.果蝇在肿瘤学研究中的优势及应用前景[J].遗传,2014,36(1):30-40.
- [5] 韩萌,马萍丽,叶春艳,等.阿尔茨海默病果蝇模型中A β 毒性的长度依赖性[J].中国老年学杂志,2015,35(5):1315-1317.
- [6] van Dijken FR, van Sambeek MJPW, Scharloo W Influence of anaesthesia by carbon dioxide and ether on locomotor activity in *Drosophila melanogaster*. [J]. Experientia, 1977(33):1360-1361.
- [7] 周杰,张雪兰,刘艳,等.一种果蝇麻醉装置[P].中国:专利号ZL201420320714.6.2014.
- [8] 刘艳,孟令军,逯家辉,等.低温麻醉技术在果蝇遗传学实验教学中的应用[J].生命的化学,2016,36(1):126-128.
- [9] 中华人民共和国公安部令第87号.易制毒化学品购销和运输管理办法[Z].2006-10-01.
- [10] 滕利荣,孟庆繁.生物学基础实验教程(II):遗传学实验生物、化学实验、分子生物学实验[M].第三版.北京:科学出版社,2008.
- [11] 周杰,张雪兰,刘艳,等.一种对果蝇实施低温麻醉的方法[P].中国:专利号ZL201410267683.7.
- [12] 张雪兰,王亚文,侯杰,等.冰盐浴低温处理对果蝇麻醉效应探索[J].生物学通报,2015,50(5):50-51.

Construction of Low Temperature Anesthesia Equipment for *Drosophila Melanogaster* and Its Application in Experimental Teaching

Zhou Jie, Liu Yan, Meng Lingjun, Li Chenliang, Zhou Yulin

College of Life Sciences, Jilin University, Changchun, 130012, China

Abstract: *Drosophila melanogaster* is an important model organism. The anesthetic operation of *Drosophila melanogaster* plays an important role in genetics experiments and ether is common used for anesthetize. As we all know, ether has certain security risks and is not friendly to the environment. Thus, low temperature anesthesia equipment was designed and constructed, through repeated exploration and improvement over a long period of time. The device has achieved good results in undergraduate experimental teaching.

Key words: *drosophila melanogaster*; anesthesia; low temperature