

2.3 裸鼠尾静脉注射

将裸鼠放入已消毒的50ml注射器的针筒中，尾巴暴露在外；用左手抓住小鼠尾巴中部。小鼠的尾部有2条动脉和3条静脉，2条动脉分别在尾部的背侧面和腹侧面，3条静脉呈品字型分布，采用左右两侧的静脉。用75%酒精棉球反复擦拭尾部，以达到消毒和使尾部血管扩张及软化表皮角质的目的。行尾部静脉注射时，以左手拇指和食指捏住鼠尾两侧，使静脉更为充盈，用中指从下面托起尾巴，以无名指夹住尾巴的末梢，右手持4号针头注射器，使针头与静脉平行(小于30°角)，从尾巴的下1/4处进针，开始注入药物时缓慢，仔细观察，如果无阻力，无白色皮丘出现，说明已刺入血管，可正式注入药物。注射量为0.05-0.1ml/10g体重。拔出针头后，用拇指按住注射部位轻压1-2min，防止出血。

2. 4腹腔注射方法

左手提起并固定裸鼠，使鼠腹部朝上，鼠头略低于尾部，右手持注射器将针头在下腹部靠近腹白线的两侧进行穿刺，针头刺入皮肤后进针3mm左右，接着使注射针头与皮肤呈45°角刺入腹肌，穿过腹肌进入腹腔，当针尖穿过腹肌进入腹腔后抵抗感消失。固定针头，保持针尖不动，回抽针栓，如无回血、肠液和尿液后即可注射药液。

2. 5 裸鼠实验性肺转移模型的建立

- 1) 取对数生长期的ACC-M细胞，用0.25%胰蛋白酶充分消化后加入含10%新生牛血清的RPMI1640培养液吹打制备单细胞悬液，用无血清RPMI1640培养液离心洗涤2次(1000转5min)，计数活细胞数，调整细胞密度为 $1 \times 10^7/\text{ml}$ ，用无菌PBS重悬，装入1ml无菌eppendorf管中，备用。
- 2) 每只裸鼠尾静脉注射 $1 \times 10^7/\text{ml}$ 的ACC-M单细胞悬液0.1ml。裸鼠均同期接种肿瘤细胞，饲养于SPF条件下。
- 3) PD98059是用纯DMSO溶解，再用无菌PBS稀释100倍配制而成。为排除PBS和DMSO的影响，接种后第6周将裸鼠按随机数字表随机分为3组，每组8只。分别进行以下处理：PBS组，1%DMSO组，0.1mg/kg PD98059组(DMSO=1%)，经腹腔注射0.2ml，每周2次，连续注射4周。
- 4) 密切观察裸小鼠的生长状况，用电子天平称量裸鼠体重。治疗结束后颈