

ECNU-NDT 联合实验室

文件类别及编号：(实验) SOP- 3.11 版次：01

小鼠药物动力学实验 (PK) 的标准操作规程		修订年份：2012 年
修 订 人：刘晓庆	审 核 人：	批 准 人：
修订日期：	审核日期：	批准日期：
颁发部门：	分发部门：	生效日期：

小鼠药物动力学实验 (PK) 的标准操作规程

1. 目的：

规范小鼠药物动力学实验方法，步骤及操作规程，研究药物经单剂量给药后在小鼠体内的药代动力学行为，计算得到药物半衰期 ($t_{1/2}$)，表观分布容积(V)，达峰时间(t_{max})，达峰浓度(C_{max})等药物动力学参数，为确定合理的给药方案奠定基础。

2. 适用范围：

ECNU-NDT 联合实验室生物组

3. 责任人：Study director

4. 试剂、设备及材料

4.1 实验动物：Babl/c 小鼠，7-8 周 (20-22g)、雌性，购自北京维通利华 (VTR) 实验动物中心

4.2 仪器、材料和试剂：Matrix 小动物麻醉机、异氟烷、1ml 注射器、0.4 规格的注射针头、75%酒精、分析天平、PBS (pH7.4) 或生理盐水、Marker 笔、小鼠笼、小鼠固定器、计时器。

5. 操作步骤

5.1 根据实验方案，In vivo 实验负责人 与协调员沟通，确定实验所需动物的数量、性别、大小、到达时间等其他信息。

5.2 实验协调员根据要求订购实验动物。

5.3 实验负责人确定实验时间，制备实验数据记录表格，设计给药，采血时间表

格，参见附表 1。

5.4 实验负责人安排接收动物，查验动物数量，规格，发票以及合格证。填写《动物接收登记表》。

5.5 实验前准备。

5.5.1 标签。根据实验方案，制备样品标签。标签内容应包括：实验编号，时间点，动物编号。例如：0212-ECNU-009-MPK, 1h-1。由于样品需要留存外送一份，留存一份，故标签也应准备两套，标签应区分，如留存样品标签为：0212-ECNU-009-MPK, 1h'-1。

5.5.2 EP 管及样品盒。根据 protocol，准备相应数量的 0.5 ml EP 管，贴上标签，置于样品盒中，备用。样品盒盒盖上应注明如下信息：实验编号，样品种类及数量，制备人。

5.6 实验负责人应于开始给药的前一天对动物进行随机分组（体重：20-22g），以保证第二天实验的充足时间。例如：欲将 15 只动物分成 5 组，则将先 15 只动物放入一个鼠笼内，另取五个小笼，分别编号 1、2、3、4、5。随机抓取动物，先按照 1、2、3、4、5 的顺序每笼各放入一只，再按照 5、4、3、2、1 的顺序每组再放入一只，如此循环，直至分完所有动物。填写笼盒标签，随机将各笼动物分配给各实验时间点。

5.7 药物配制：根据 protocol 确定的给药剂量，药物的载药量，动物体重，动物数量，按照 10ml/kg 的给药体积，计算需称取的药物量加入的溶剂体积。加入指定溶剂后，振摇至药物完全溶解后方可进行尾静脉注射。

计算：称取化合物重量 = 给药剂量/1000/载药量×动物体重×动物数量×1.3

配制体积 = 动物体重×动物数量×1.3×给药体积

注意： 药物必需彻底溶解，否则注射会导致动物死亡；

药物配制过程需要两人配合进行，保证 double check；

药物溶液应在配制后 24h 内使用。放置时需于 4℃ 保存；

剩余的药物溶液应于-80℃ 保存，备查。

5.8 给药。具体操作参见《小鼠尾静脉注射操作规程》。根据设计的时间表对每只实验动物进行给药。注射时应根据动物的反应确定给药速度，不宜过快，防止动物猝死。注射完成时，在原始记录—给药采血时间表上记录给药的 actual 时间。

注意：设计时间点时，根据技术人员水平，同组内不同动物应间隔 2-5min 给药，以保证血液采集时有足够的时间处理突发的状况，尤其是短的时间点，如 5min, 15min 的时间点应预留 5min 时间以处理诸如前一只动物血样收集不顺利的突发状况，减少实验误差。

5.9 取样准备。根据预定的时间点，结合实际给药时间，确定取样时间。准备血样收集过程中要用到的注射器，已编号的抗凝 EP 管(1.5ml)及冰盒。

5.10 提前 3min 钟打开并调试好麻醉机，保证氧气分压为 400-600，异氟烷通量调至刻线 2-4.让麻醉盒中充入异氟烷。于取样时间点前 2 min 放入麻醉盒内，根据动物反应情况调节异氟烷通量，于指定时间点取出。

注意：实验人员应打开排气扇并注意通风，做好个人防护，减少实验人员吸入。

5.11 血样收集。以心脏取血法或脸颊取血法收集血样，具体操作参见血液收集标准操作规程。取出 0.4-0.6ml 全血后停止取血，立即转入抗凝管，轻轻翻转抗凝管，保证血液接触到抗凝管内壁的抗凝剂。盖紧盖子，置于冰盒中。

5.12 离心。调节离心温度为 4℃，离心机转速为 4000 rpm，离心时间为 10 min。将取好的血样置于冷冻离心机中，配平后按上述条件离心。

5.13 分离血浆。从离心机中取出样品管（注意不要随意晃动样品管）。以移液器取出血浆（离心后上层清液），分别置于预先贴好标签的样品管中。

注意：血浆样品应准备两份，一份送出去分析，一份留存备用。防止寄送及分析时出现意外带来的损失；

每份样品血浆量应大于 100μl；

分离后的血浆应及时置于冰上保存，之后转入 - 80℃条件下保存。

5.14 样品寄送。填写原始数据表格中样品寄送清单，联系有资质的干冰运输机构，送出样品，并及时与 CRO 收货人确认样品是否安全到达。

5.15 数据分析。根据 CRO 提供的测定结果，利用 Winnolin 对实验数据进行药动力学分析，得到曲线下面积（ $AUC_{0-\infty}$ ），达峰浓度（ C_{max} ）、达峰时间（ t_{max} ）、半衰期（ $t_{1/2}$ ），表观分布容积（V），清除率（CL）等药动力学参数。

5.16 整理原始数据，提交实验报告。