

ECNU-NDT 联合实验室

文件类别及编号：（技术）SOP-2.4

版次：01

组织脏器采集（肿瘤、心、肝、脾、肺、肾）标准 操作规程		修订年份：2012 年
修 订 人：周 涛	审 核 人：	批 准 人：
修订日期：2012.9	审核日期：	批准日期：
颁发部门：	分发部门：	生效日期：

组织脏器采集（肿瘤、心、肝、脾、肺、肾）标准操作规程

- 1.目的：掌握小鼠组织脏器采集方法
- 2.适用范围：ECNU-NDT 联合实验室生物组
- 3.责任人：动物实验人员
- 4.实验步骤

4.1 处死小鼠

将小鼠采用颈椎脱臼法或注射戊巴比妥钠处死。

4.2 皮肤消毒

将鼠置于解剖板上仰卧，四肢充分伸展，可用大头钉或是止血钳固定，用酒精棉球将小鼠腹部的皮肤消毒。

4.3 打开腹腔、胸腔，分离脏器

沿腹中线自外生殖器前缘向前剪开腹腔和胸腔，并继续向前剪开颈部皮肤，注意剪刀口向上避免剪破内脏。将剪开的胸腔和腹腔壁向两侧摊开固定，当遇到横膈时，用剪刀小心捅个小口再沿边缘将它剪离，当肋骨妨碍固定时可剪断肋骨。用眼科剪和镊子小心分离脏器：

心脏：呈圆锥状，位于近胸骨端，心尖位于第四肋间；用镊子小心摘起剪下即可。

肝脏：附于膈上，呈暗褐色，分五叶；肝脏分离稍微复杂些，可用镊子夹住

剑突或是附近不相干的组织将小鼠提起使肝脏下垂，用剪刀顺着横膈沿着肝脏根部剪下几刀分离根部，再小心分离肝脏与其它组织粘附的部分，主要是右侧与肠粘附的部位，然后镊子拎起肝脏根部分离出肝脏。注意肝脏相对脆弱动作要轻。

脾：斜卧于胃的左侧，呈暗红色，长条扁平状；镊起剪下即可。

肺：分左右两叶，右肺分为四叶，左肺为一整叶。左肺有一条不太深的沟将其分成两段，似不完整的整叶；肺一般需先从气管灌注约 1.5ml OCT:PBS(1:1)液，再沿根部剪下提起扯掉粘附的组织或是用剪刀剪掉即可。灌肺方法如下：

- a. 剪开小鼠颈部皮肤
- b. 剪掉附于小鼠气管上的组织使气管清晰可见
- c. 小心在气管上剪开一个小口，使可以插入灌注针头，注意不要把气管剪断；最好用镊子夹住开口的部位，以便找准灌注针插入位置
- d. 将吸有约 1.5ml 灌注液的针管顺着肺的方向插入气管，灌注，使肺充盈变大即可，灌注时需用镊子固定住针头以防脱落

肾：在腹腔的背壁，为一对形如蚕豆，呈暗红色的脏器；镊起剪下即可。

肿瘤：一般位于老鼠背部右侧，剪开附于肿瘤上的皮肤将肿瘤暴露，用镊子夹起剪掉粘附的组织即可；有些肿瘤不易剥离则要用剪刀小心撑开皮肤慢慢分离出肿瘤，力求取出完整肿瘤。

有时实验需要可能要对小鼠进行全身灌流再采集脏器。灌流方法如下：

- a. 用 2%戊巴比妥钠，根据老鼠体重的 3 倍，抽取体积（如 20g,抽取 60ul）
- b. 于老鼠腹腔注射
- c. 等待 2 分钟使其麻醉（查看其是否麻醉，可用指甲掐其后腿掌心，如老鼠继续挣扎，需继续等待其麻醉，如不挣扎，麻醉已完成）
- d. 沿腹中线自外生殖器前缘向前剪开腹腔和胸腔，并继续向前剪开颈部皮肤，注意剪刀口向上避免剪破内脏。将剪开的胸腔和腹腔壁向两侧摊开固定，当遇到横膈时，用剪刀小心捅个小口再沿边缘将它剪离，当肋骨妨碍固定时可剪断肋骨
- e. 在心脏左侧心耳处剪小口，然后用 10ML 针插入右心房，开始灌流

4.4 称重

根据实验要求用天平称重相关脏器，保存在相应试剂和器皿中。