

ECNU-NDT 联合实验室

文件类别及编号：（技术）SOP-2.7

版次：01

皮下细胞接种及瘤块接种标准操作规程		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：

皮下细胞接种及瘤块接种标准操作规程

1. 目的：掌握皮下细胞接种和瘤块接种方法

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 皮下细胞接种

(1) In vitro 工作人员将细胞送到动物实验室。

(2) 由 In vitro 工作人员负责抽取细胞，供 In vivo 工作人员使用。每次抽取 0.3ml 细胞悬液，接种 2 只动物，每只接种 0.1ml，剩下的细胞退回到 EP 管中。注意：在抽取细胞前，应将细胞充分摇匀，不得出现肉眼可见团块。抽取细胞的工作人员应密切配好细胞接种工作人员的节奏，抽入注射器内的细胞应及时使用。

(3) 细胞接种的人员以抓起裸鼠，以酒精棉球消毒接种部位皮肤。将注射针扎到皮下，向前推行约 1cm 距离，可试探性地左右晃动一下针头，以确定针的位置在皮下（皮内和肌肉不能自由晃动）。将针头轻轻挑起约 30 度角度，推注 0.1ml 细胞悬液，之后将针头旋转 180 度（由针尖朝上转至针尖朝下），驻针 1 秒，从皮下退出注射针头。

4.2 瘤块接种

(1) 无菌条件下，将从肿瘤裸鼠身上取下的肿瘤标本立即置于生理盐水或 PBS 溶液中（也有置于 DMEM 缓冲液中，个别需加基质胶），选择生长良好，无坏死，呈鱼肉状瘤组织，切成小块（约 4*4*4mm），装入套管针。

(2) 固定好裸鼠，用酒精棉球将裸鼠后肢腋部皮肤擦拭一下，用手术剪刀剪一个小口，先用不锈钢细针从小口插入，顺着皮下插到要接种的部位，左右轻摆几下，使撑开一点皮下空间，便于套管针插入，将针抽出。用套管针顺着不锈钢针的轨迹插入皮下到接种部位，推针将肿瘤块打出，抽出，轻轻地除掉气泡即口。

(3) 也可用 50ml 离心管塞点棉花倒点乙醚使棉花浸润，将裸鼠置于管中迷晕；把裸鼠从管中拉出，口鼻置于管口，背部朝上，在头颈部开一小口，将装好瘤块的套管针顺着皮下插到要接种部位，打出瘤块，抽出；再用缝合线将开口缝好。此方法所用套管针与上一方法所用的不同，是不带尖头的。

整个过程尽量在肿瘤切除后 1 小时内完成。