

### C57BL/6 小鼠皮下成瘤实验

(1) 从公司购买 4 周龄的 C57BL/6 10 只，在 SPF 级动物房中继续饲养 3-5 d。

(2) 将 10 只 C57BL/6 鼠分为两组，每组 5 只。细胞接种前 1d，使用电动剃毛器将小鼠下肢背部的毛剃去，使小鼠下肢背部皮肤暴露。

(3) 在 C57BL/6 小鼠的下肢背部分别注射敲低 NQO1 表达的对照细胞 Hepa1-6-NC (5 只) 和敲低 ETV5 表达的 HCC 细胞 Hepa1-6-shNQO1 (5 只)，每只小鼠接种  $5 \times 10^6$  细胞，混悬在 100  $\mu$ L PBS+100  $\mu$ L 基质胶中，注意应在冰上操作防止基质胶凝固。

(4) 用 75%酒精对进针部位进行擦拭消毒，使用 1 mL 规格的一次性注射器吸取细胞并排出针头内的空气。从进针部位沿皮下向前穿刺 1 cm。注射完毕后，缓慢退出针头以防漏液。

(5) 一般 10 d 后可观察到小鼠成瘤实验是否成功。待小鼠成瘤后，使用游标卡尺定期测量小鼠肿瘤的长径 (L) 和短径 (W)，计算瘤体体积： $V=0.5 \times L \times W^2$ ，绘制肿瘤生长曲线。对于成瘤实验，在任何一个维度肿瘤直径超过 20 mm 前，对小鼠实行安乐死，剥离瘤体组织。

(6) 测量瘤体质量并记录数据，对瘤体分组，拍照记录结果。