

肾脏解剖以及培养

一、大小鼠配种

大鼠：在孕鼠模型的鉴定中，常使用阴栓检查法和阴道精子检查法。但由于大鼠的阴栓脱落较早，使用一般阴栓检查法漏检率很高，因此多采用阴道精子检查法；然而，虽然精子检查法准确率较高，但若所需孕鼠量较大时，则有检查程序繁琐，工作量大等不足。经实验证明，我们实验室最终采用托盘阴栓检查法用于大鼠孕鼠模型的鉴定。

- 1、前一天晚上 7 点前后将雌雄鼠放入带托盘的鼠笼
- 2、次日早上拉出鼠盒下的托盘，仔细观察，如发现乳白色（有时全部或部分为粉红色）
- 3、鼠便形、固态胶状颗粒物，即脱落的阴栓，可判定为阳性，否则为阴性
- 4、记录配种日期，若早上发现阴栓则视为怀孕 0.5 天

小鼠：阴栓脱落较晚，可以次日早上直接检查阴道

二、染色法

染色法是用化学药品在实验动物身体明显的部位，如被毛、四肢等处进行涂染，以染色部位、颜色不同来标记区分实验动物，是最常用、最易掌握的方法。

1、常用染色剂

- 1) 3% ~ 5% 苦味酸溶液，可染成黄色
- 2) 0.5% 中性红或品红溶液,可染成红色
- 3) 2% 硝酸银溶液，可染成咖啡色（涂染后在可见光下暴露十分钟）
- 4) 煤焦油酒精溶液，可染成黑色。

2、染色方法

染色法适用于被毛白色的实验动物如大白鼠、小白鼠等。

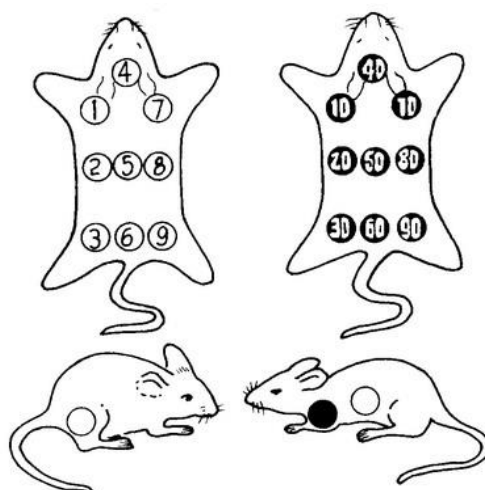
1) 单色涂染法（如图左所示）

单色涂染法是用单一颜色的染色剂涂染实验动物不同部位的方法。常规的涂染顺序是从左到右、从上到下。左前肢为 1 号、左侧腹部 2 号、左后肢 3 号、头部 4 号、背部 5 号、尾根部 6 号、右前肢为 7、右侧腹部 8 号、右后肢 9 号、不

作染色标记为 10 号。此法简单、易认，在每组实验动物不超过 10 只的情况下适用。

2) 双色涂染法 (如图右所示)

如果配的孕鼠较多，则需要采用双色涂染法。双色涂染法是采用两种颜色同时进行染色标记的方法。例如用苦味酸(黄色)染色标记作为个位数，用品红(红色)染色标记作为十位数。个位数的染色标记方法同单色涂染法；十位数的染色标记方法参照单色涂染法，即左前肢为 10 号、左侧腹部 20 号、左后肢 30 号、头部 40 号、背部 50 号、尾根部 60 号、右前肢 70 号、右侧腹部 80 号、右后肢 90 号，第 100 号不作染色标记。比如标记第 12 号实验动物，在其左前肢涂染品红(红色)，在其左侧腹部涂上苦味酸(黄色)即可。双色法可标记 100 位以内的号码。



三、大鼠解剖

- 1、进行实验前一天，将需要用到的手术器械进行灭菌
- 2、实验开始前，先打开实验室安全柜的紫外以及细胞房超净台和房间紫外进行灭菌
- 3、上午带牢固纸盒或者鼠笼去动物房取怀孕 13.5 天的母鼠一只
- 4、关闭实验室安全柜紫外，准备好两个 10cm² 细菌一次性培养皿，各加入 10mL L15 培养基，5 个小培养皿，各加入 1mL L15 培养基，培养皿均放在冰上，如果同时杀多只老鼠则加倍准备
- 5、将母鼠放入塑料密封盒，加入 1mL 乙醚，待母鼠稍晕过去之后拿出母鼠颈椎

脱臼处死母鼠

- 6、立即将母鼠放在报纸上，腹部喷 75%酒精，放入安全柜中，利用大镊子以及大手术剪进行解剖，取出母鼠子宫放入含培养基的 10cm² 培养皿，在此培养基中挤出子宫中 E13.5 的胚胎
- 7、将胚胎转移到另一个 10cm² 含培养基的培养皿中，在此培养皿中取胎鼠后半截组织，即用镊子在后肢前端夹断胚胎
- 8、将后肢部分转移到小培养皿中，每个培养皿约放三个
- 9、将小培养皿放在冰上带入细胞房用体式镜继续进行解剖，取出胎肾
- 10、胎肾全部解剖完之后，取出 transwell，在其中加入配好的 MEM 培养基（MEM + glutamine + antibiotics + 10% FBS）1.2mL，然后盖上膜，在膜的四周边缘等距离种下肾脏。