

实验10 小鼠糖代谢水平检测—葡萄糖耐量实验

I 基本实验原理

- ▶ **葡萄糖**是生物体内重要的代谢物,血液中葡萄糖（血糖）水平的相对稳定是衡量糖代谢水平的重要指标。
- ▶ 进食或摄入大量葡萄糖时，血糖水平快速升高：
 - 刺激胰岛 β 细胞释放胰岛素，同时抑制胰岛 α 细胞释放胰高血糖素；
 - 促进细胞快速摄取血液中的葡萄糖；
 - 加快葡萄糖氧化降解，增加肝糖原合成，同时抑制糖原降解；
 - 随着葡萄糖被转运到细胞中，循环血中的糖浓度则相应下降。

- ▶ **胰岛素**是动物体内唯一可以降低血糖的激素。
- ▶ 当胰岛不能分泌足够量的胰岛素时，将减慢机体对葡萄糖的运输和利用，造成**高血糖**，甚至糖尿病；
- ▶ 而体内胰岛素含量增高时，将引起血糖下降，严重时会导致动物出现惊厥、肌肉抽搐、休克等**低血糖**现象。
- ▶ 检测糖代谢水平常用的方法主要有：
 - 葡萄糖耐量实验（glucose tolerance test, GTT）
 - 胰岛素耐量实验（insulin tolerance test, ITT）

II 实验目的

- ▶ 学习小鼠抓取和腹腔注射给药的方法
- ▶ 学习测定小鼠血糖的方法
- ▶ 掌握葡萄糖耐量实验的基本原理和过程
- ▶ 了解胰岛素调节血糖水平的机制

III 实验对象与器材

- ▶ **小鼠**：属啮齿目，是目前世界上用量最大、用途最广、品种最多的实验动物。小鼠**繁殖力强**，便于大量人工饲养，可用于需要大量动物的实验如药物筛选、毒性试验、药物效价比较等；**妊娠期短**，可用于避孕药和营养实验；对多种**疾病比较敏感**，可用于实验治疗；等等。

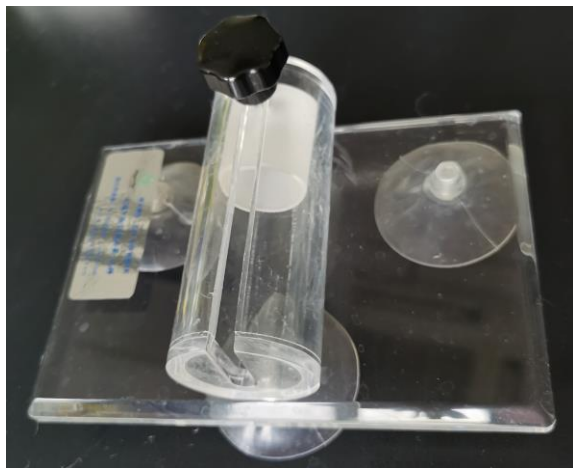


CD-1 (ICR)小鼠

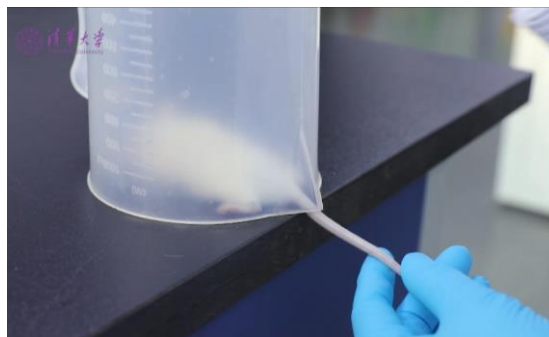


昆明小鼠

- ▶ 鼠笼，小鼠保定器（1L大量杯），1 mL注射器，手术剪（眼科剪），干棉球，**血糖仪**，血糖试纸，防抓咬手套，长柄镊
- ▶ 生理盐水，20 % 葡萄糖注射液



小鼠保定器



血糖仪

▶ 血糖仪的使用：

- 将血糖试纸“**插入仪器端**”插入血糖仪后部插孔内，血糖仪会自动识别并显示试纸型号，有“血滴”闪烁时将血样轻触血糖试纸“**进血端口**”，血滴会自动吸入，**8s后**显示结果。记录结果。
- 拔出血糖试纸，血糖仪自动保存测定结果并关机。
- 如需查看以前的结果，可在关机状态下按“**M**”键。

插入仪器端



进血端口

IV 实验过程

▶ 小鼠分组与标记：

- 对照组和实验组，每组3只，尾部划线编号，称重。

▶ 小鼠空腹血糖测定：

- 用右手抓取鼠尾提起，置于实验台上，快速用1 L大量杯罩住小鼠身体，将鼠尾在实验台边缘从量杯的杯嘴（倾液嘴）处拉出。在小鼠尾部末端剪掉约1 mm，断尾取血，弃去第1滴血，每次取血约2 uL（直径约2 mm的血滴），轻触血糖试纸“**进血端口**”，8s后**读取并记录**血糖数值。

▶ 小鼠抓取：

◦ 双手抓取：

- 提起鼠尾，将小鼠从鼠笼中取出，置于鼠笼顶部。用右手向后轻拉鼠尾，在其向前爬行时，用左手食指与拇指稍用力压住其腰部，并不断向前移动手指，直至小鼠耳部，**紧紧抓住**两耳及耳间皮肤，将小鼠背部置于掌心，以无名指或小指压住尾巴，以中指置于背下，使其身体平直，头部不能自由转动。

▶ 注意：

- 一旦出现抓握不牢固，应立即全部松开小鼠，将置于鼠笼顶部，重新进行抓取。

▶ 小鼠给药：腹腔注射

- 左手握小鼠，使其腹面向上，头部略低，右手持吸好药物的1 mL注射器，沿腹中线与股骨之间的腹部45°角插入腹腔，将药物注射入腹腔后，缓慢退出针头。

分 组	生理盐水, μL	20 % 葡萄糖, μL
对照组	300	——
实验组	——	300

注：小鼠体重约30g，给药量为2g/kg体重

▶ **血糖测定：**

- 在注射药物后 15, 30, 45, 60, 90, 120 min 分别测量并记录小鼠血糖浓度 (mmol/L)。

▶ **数据处理：**

- 统计小鼠血糖数据，绘制图表，推断葡萄糖和小鼠血糖的关系。

(选做)

▶ 小鼠灌胃技术

- 左手抓握小鼠，右手持吸好药液的灌胃器，沿小鼠嘴角轻轻插入口腔，将灌胃器针头前翘，沿咽后壁轻轻滑入食道约2.5~3 cm，将药物轻轻推入胃内后，小心拔出灌胃器。
- 一般小鼠灌胃给药一次给药量为0.1~0.3 mL/10g体重。
- 注意：
 - 灌胃器针头经过喉头时一定要沿咽后壁向下滑，以免误插入气管导致动物窒息死亡。

(选做)

▶ 小鼠尾静脉注射技术:

- 将小鼠放入小鼠保定器，露出鼠尾。可见小鼠尾部有三条主要血管，**尾动脉在尾部正中，尾静脉在尾动脉两侧**，左右各一条。用75%酒精棉球进行擦拭，使尾部血管扩张，表皮角质软化。
- 左手固定鼠尾，右手持吸好药液的注射器，**选择任意一条尾静脉**进行注射给药，一般从**尾末端三分之一处进针**，进针后稍回抽注射器栓塞，如针头基部有回血，则说明进针位置正确。将药液轻轻推入血管后小心退出针头。用干棉球对进针部位进行按压止血。
- 小鼠静脉注射给药一次给药量一般为 0.05~0.1 mL/10g体重。

(选做)

▶ 小鼠无创尾动脉血压测定：

- 选择合适大小的鼠网和鼠袋，将小鼠小心放入鼠网中，用鼠袋布片包裹牢固，只露出鼠尾，将鼠网、鼠袋连同小鼠一起放至预热好的保温桶中，将血压计传感器按正确方向环套至小鼠尾根部，并用手轻拉鼠尾使其保持平直，待小鼠适应并平静后，按下已设定好参数的**智能无创血压计**控制面板上的“start/stop”键，仪器会自动充气给小鼠尾动脉加压，放气减压，并记录小鼠尾动脉的收缩压和舒张压及平均动脉压。
- **注意：**
 - 操作过程中**动作要尽量轻柔**，让小鼠**尽快适应环境并保持平静**，否则将无法准确及时地测出小鼠尾动脉血压。

▶ 小鼠处死：

◦ 颈椎脱臼法：

- 右手捏住小鼠尾根部，将小鼠放在笼盖或粗糙台面上，用左手快速的按住其头部。右手提起鼠尾，使其躯干部与台面成约 45° 夹角，向后上方拉动，使得其第一颈椎与动物肩关节脱位，小鼠立即死亡。

◦ 二氧化碳窒息法：

- 将小鼠放入密闭容器中，持续通入二氧化碳15~20 min，小鼠即可死亡。



颈椎脱臼法



二氧化碳窒息法

V 注意事项

务必注意安全！

- ▶ 实验前小鼠禁食 4~6 h
- ▶ 动物手术时动作要轻柔，尽量避免对动物的刺激或伤害
- ▶ 注射完胰岛素后最好把小鼠放在 30 ~ 37 °C环境中保温
- ▶ 每次测量结果做好记录

VI 本实验需掌握的实验技术

- ▶ 小鼠抓取
- ▶ 腹腔注射技术
- ▶ 小鼠血糖测定方法

VII 关键技术

- 腹腔注射给药量的准确控制
 - 血糖测定时血量的控制
 - 血糖测定时间的控制
- 