

2.1.2. Метод В. Определение биологической активности инсулина по снижению концентрации глюкозы в крови мышей.

В опыт берут не менее 40 мышей одного пола массой не менее 20,0 г. Животных рандомизируют по массе на 4 группы не менее 10 животных в каждой.

Внутри группы каждую особь нумеруют по порядку. Во время опыта животным должен быть обеспечен свободный доступ к корму и воде.

Непосредственно перед экспериментом из основных растворов СО и ИО готовят по два рабочих раствора (Примечания 1, 2). Рекомендуемые концентрации рабочих растворов, например для самок, могут находиться в диапазоне 0,06 – 3,0 МЕ/мл. При испытании некоторых аналогов инсулина возможно использование более низких концентраций рабочих растворов. Например, 0,03-0,06 МЕ/мл.

Согласно схеме двойного перекреста (Таблица), мышам первой и второй группы подкожно в холку вводят по 0,1 мл/10 г массы тела животного рабочие растворы СО, а третьей и четвертой - такие же объёмы рабочих растворов ИО. Рабочие растворы последовательно вводят каждому животному, в соответствии с нумерацией, через каждые 15 - 20 с. Интервал между введениями рабочих растворов каждой группе животных должен составлять 1-2 мин.

Вторую постановку теста (перекрест) проводят через 24 ч после первой.

После инъекции инсулина через 40 ± 1 мин последовательно в соответствии с номером каждого животного внутри группы из орбитального венозного синуса глаза с помощью стерильного гепаринизированного капилляра берут около 50 мкл крови в микроцентрифужные пробирки объемом 0,5 мл. Необходимо соблюдать те же временные интервалы, что и при введении растворов. Определение концентрации глюкозы в крови животных проводят согласно разделу 4.