



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology
订货热线: 400-168-3301或800-8283301
订货e-mail: order@beyotime.com
技术咨询: info@beyotime.com
网址: http://www.beyotime.com

弗氏不完全佐剂

产品编号	产品名称	包装
P2031-10ml	弗氏不完全佐剂	10ml
P2031-50ml	弗氏不完全佐剂	50ml

产品简介:

- 碧云天生产的弗氏不完全佐剂(Freunds Incomplete Adjuvant, FICA/FIA/IFA), 参考经典配制方法由石蜡油(paraffin oil)等动物无法代谢的低内毒素高纯度油脂精心配制而成, 不含防腐剂, 是最常用的免疫佐剂之一, 常用于动物免疫制备抗体。
- 弗氏佐剂(Freunds Adjuvant)在20世纪40年代由Jules Freund发明, 通常被认为是目前动物实验中最常用的免疫佐剂, 常用于动物免疫制备抗体。弗氏佐剂可以使抗原持续缓释, 同时又能非特异性地增强机体对抗原的特异性免疫应答, 增强相应抗原的免疫原性或改变免疫反应类型。弗氏佐剂在增强免疫效应的同时, 也容易在注射部位引起局部肉芽肿、炎症等不良反应。弗氏佐剂分两种, 不含结核杆菌的弗氏不完全佐剂(Freunds Incomplete Adjuvant, FICA/FIA/IFA)和含结核杆菌的弗氏完全佐剂(Freunds Complete Adjuvant, FCA/CFA)。除了最常用的弗氏佐剂, 还有一些其它的佐剂, 如微生物佐剂(如分枝杆菌、短小棒状杆菌、百日咳杆菌及细菌脂多糖等)、脂质体佐剂、多聚核苷酸佐剂、无机物佐剂(如明矾及氢化铝等)、药物类佐剂及一些新型佐剂等。
- 弗氏不完全佐剂主要成分为油剂和乳化剂, 和抗原混合后形成油包水乳液(water-in-oil emulsion), 使抗原缓慢释放, 刺激高效长期的抗体产生。弗氏完全佐剂是在弗氏不完全佐剂的基础上添加了结核分枝杆菌。弗氏完全佐剂增强免疫反应的能力更强, 一般用于初次免疫。弗氏不完全佐剂一般用于初次免疫后的加强免疫, 这样可以避免弗氏完全佐剂的副作用, 同时有利于产生高效价的抗体。
- 佐剂的作用机制尚不完全清楚。佐剂可能增加抗原呈递的表面积, 易为巨噬细胞所吞噬; 也可能延长抗原在体内的存留期, 增加与免疫细胞接触的机遇; 也可能增强抗原递呈细胞递呈及处理抗原的能力; 或者诱发抗原注射部位及其局部淋巴结的炎症反应, 从而有利于刺激免疫细胞的增殖。上述这些机制都可能提高初次免疫和加强免疫时机体所产生抗体的效价。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
P2031-10ml	弗氏不完全佐剂	10ml
P2031-50ml	弗氏不完全佐剂	10ml×5
—	说明书	1份

保存条件:

4°C避光保存, 至少一年有效。请勿冻存!

注意事项:

- 本产品需要避光4°C保存, 不可在-20°C或更低温度冻存。
- 抗原如果含有甘油或者尿素会降低乳化效率, 甚至乳化失败。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明:

1. 用生理盐水、磷酸缓冲液等适当缓冲液把抗原稀释至适当浓度。具体抗原用量及注射量请根据免疫要求确定或参考附录。
2. 根据所需注射量和注射点数量确定配制量。一般情况, 抗原和佐剂的比例是1:1。抗原的用量也可以在30-50%之间自行调整。抗原含量为30%时后续乳化后会特别粘稠; 含量为50%时后续乳化后粘稠度相对较低, 后续注射等操作会比较方便。
3. 佐剂与抗原必须混合均匀, 使抗原充分乳化, 制备成“油包水”乳状液。混合乳化后会比较粘稠, 滴加到生理盐水表面时, 不会散开。混合乳化的方法有如下几种:
 - a. Vortex法: 吸取与抗原相同体积的弗氏佐剂到离心管内或容器中, 边vortex边滴加抗原, 使抗原和佐剂充分混匀, 直至形成粘稠的乳剂为止。本方法适用于少量制备。
 - b. 注射器混合法: 将等量的弗氏佐剂和抗原溶液分别吸入两个注射器内(最好不超过注射器的一半容量), 两注射器之间以一细胶管相连, 注意排净空气, 先将抗原推入佐剂中, 然后交替推动针管, 直至形成粘稠的乳剂并很难推动为止。本方法容易做到无菌操作, 抗原损失少, 适用于少量或中量制备。
 - c. 搅拌法: 抗原和佐剂分别加入乳化管, 抗原会慢慢沉入底部, 并和佐剂分层, 然后用搅拌器自上而下慢慢搅拌佐剂入抗原层, 慢慢下移, 这时会发现混合液很快变成乳白色, 且越来越粘。本方法适用于少量或中量制备。

- d. 研磨法：取适量佐剂放入无菌的研钵，缓慢滴加等体积的抗原溶液，边滴边按同一方向研磨，滴加抗原的速度要慢。待抗原全部加入后，继续研磨一段时间，使之成为乳白色粘稠的油包水乳剂。本方法适用于大量制备，缺点是研钵壁上易粘附大量乳剂，抗原损失较大。
- e. 超声：如果有超声破碎仪可选择超声混匀法，但是要控制超声频率和时间，超声容易激发一些自由基，对抗原有未知损害。
4. 选择合适的注射器吸入1:1混合均匀的抗原和佐剂，排除气泡后进行免疫注射。不同物种进行皮下或肌肉注射时，每个注射点的最大用量请参考下表：

Species	Max. volume	Injection site
Mice or hamsters	100µl	subcutaneous (s.c.)
Mice or hamsters	50µl	intramuscular (i.m.)
Guinea pigs	200µl	s.c. or i.m.
Rats	200µl	s.c. or i.m.
Rabbits	250µl	s.c. or i.m.

附录：制备抗体时免疫方案的制定

1. 多抗制备的免疫方案：

- a. **免疫部位。**常见的免疫部位有皮下、肌肉、腹腔、脚垫、静脉、脾脏。大型动物多为皮下或肌肉免疫，小型动物可采用腹腔等其它的免疫部位。制备多抗时，整个流程可采用同一种免疫部位，也可以多种部位联合使用，但是初次免疫都建议在皮下进行。免疫方法可采用背部多点注射法或颈部淋巴结较多的部位，如兔子脊柱两旁选4-6点皮下注射，每点注射0.1ml，加强免疫时再于上述部位选不同点注射(不要选择临近位点，否则溃疡不易愈合)。
- b. **免疫形式。**抗原通常需要与佐剂混合充分后才进行免疫。
- c. **免疫剂量。**免疫剂量根据被免疫的动物、免疫部位以及抗原的本身的特性相差很远。如果用兔制备多抗，首次免疫(皮下)的抗原一般在200-1000µg之间，对于大鼠，首次免疫(皮下)为100-500µg，对于小鼠，首次免疫(皮下)一般在10-100µg之间，加强免疫一般为首次免疫剂量的20%-50%。尾静脉或脾内方式加强免疫则可减至几微克至十微克。对于体型比较大的动物可酌量增加(不能按照体重比增加)，具体的用量请参考文献。
- d. **免疫周期。**首次免疫后，一般在10-15天左右抗体的产量会达到一个峰值，但是此时抗体亲和力不够，并且大部分都是IgM，因此需要进行加强免疫。加强免疫一般在首次免疫后三至四周进行，第二次、第三次加强免疫间隔可以缩短至2-3周。这个时间不太能长也不能太短，太短起不到加强的效果，而且还容易引起免疫耐受，如果相隔太久，则前面的免疫将失去初步刺激的效果。如果是采用脾内免疫，则可以在一定程度上缩短免疫周期。加强免疫的次数一般为3次。

2. 单抗制备的免疫方案：

小鼠是制备单抗使用的主流动物，小鼠的免疫方案大部分与多抗制备相同。单抗制备中，免疫动物的方式一般第一针采用皮下免疫，后面的加强免疫采用腹腔免疫、膻内免疫、皮下免疫或者脾内直接免疫，免疫周期和多抗相似。一般皮下注射每个注射点注射30-50µl左右混有佐剂的抗原，每只小鼠注射6-8个点为宜。首次免疫和加强免疫结束后，在融合前三天一般还要进行一次冲击免疫，以增加脾脏内浆细胞的数量。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
P2031-10ml	弗氏不完全佐剂	10ml
P2031-50ml	弗氏不完全佐剂	50ml
P2036-10ml	弗氏完全佐剂	10ml
P2036-50ml	弗氏完全佐剂	50ml

Version 2017.03.12