

腹水专用佐剂

货号	规格
KX0210048-10	10mL
KX0210048-500	500mL

贮存：4℃，避免阳光直射（有效期3年）

产品介绍：

腹水专用佐剂是一种预先注入机体内，能增强机体对抗原的免疫应答能力或改变免疫应答类型的辅助物质。主要用于在单克隆抗体腹水制备中，在小鼠腹腔内接种杂交瘤细胞前，注射本佐剂到腹腔内，可以诱导杂交瘤细胞在腹腔内快速增殖，并产生和分泌更多的抗体。使用该佐剂小鼠腹水会比普通佐剂晚出 1.5 天-2 天，但通常情况下腹水的量是普通佐剂出量的 1.5-2 倍，且单抗腹水效价不变。

腹水制备操作步骤：

- 1 致敏：将佐剂提前取出恢复至室温，建议每组细胞准备 2-3 只 8-10 周龄雌性 Balb/c 小鼠，每只小鼠腹腔注射 0.3~0.5mL 腹水专用佐剂。
- 2 诱导：致敏 15 天（一般 12-18 天）后，将筛选出来的杂交瘤细胞株进行扩大培养后接种到 Balb/c 小鼠腹腔内：
 - 2.1 推荐收集对数生长期细胞，1000rpm 5min 离心，1×PBS 反复洗涤 2-3 次，弃掉上清液；
 - 2.2 用无菌的 1×PBS 缓冲液或生理盐水，将单克隆的杂交瘤细胞重悬；
 - 2.3 将细胞数调至约 $0.8\sim 1\times 10^6$ 个每只，0.5mL/只腹腔注射小鼠左侧或右侧的下腹部，避开肝脏和较低中腹部膀胱，沿腿的角度穿透腹膜，1mL 注射器针头进入 1/3 左右，有刺空感。
- 3 腹水收集：注射细胞 7 天左右小鼠腹部会开始肿胀，此时每日都应进行观察，以防小鼠突然死亡。当小鼠出现腹部明显膨大、进食困难、行走不便、毛色暗沉时将小鼠处死，进行一次性腹水的提取：
 - 3.1 小鼠脱颈椎处死，于 75%酒精浸泡消毒 5min；
 - 3.2 用镊子提起小鼠腹部外皮，用手术剪将小鼠腹部剪开一个小口，剥离周围皮肤露出

1 / 2

腹腔，随后用 5mL 注射器吸出腹腔内全部腹水，或将腹腔剪开一个小口，将胶头滴管伸入腹腔内将积液吸取至干净的 15mL 离心管内。

3.3 3000rpm, 10min 离心，无色透明的中间层即为腹水，勿吸取上层中的油状物及离心管底部的血细胞。

4 储存：离心后可以将腹水转移至新的离心管内-20℃冻存，也可与灭菌甘油等比混匀后放于-20℃冰箱长期保存，若存储时间较长，也可转移至-80℃冰箱。同一株细胞诱导收集的不同小鼠腹水可以合并储存。

常见问题解答：

常见问题	解决方案
腹水少或者无腹水产生	<ul style="list-style-type: none"> ✧ 致敏不正确，不正确的使用致敏剂，或者致敏时间与接种杂交瘤的时间相差太久，一般是 7-14 天，具体看小鼠的腹部情况 ✧ 杂交瘤细胞或者致敏剂的接种位置不正确，没有打到腹腔，而是打到了皮下 ✧ 接种的杂交瘤细胞数量太少，太多或者细胞状态不好。一般不少于 50 万个细胞左右为宜 ✧ 建议使用母鼠或者生育过的母鼠制备腹水
腹水抗体效价低	<ul style="list-style-type: none"> ✧ 制备腹水的杂交瘤极不稳定，打到小鼠身上之前就失去抗体分泌能力或者打到腹腔内就失去了分泌能力 ✧ 致敏小鼠时采用了错误的致敏剂 ✧ 接种的杂交瘤细胞数量太少，或者细胞状态不好 ✧ 由于注射方式和部位错误，形成了实体瘤
形成了实体瘤	<ul style="list-style-type: none"> ✧ 杂交瘤细胞量太大，或者杂交瘤细胞“毒性”比较强，需要适当减少杂交瘤数量 ✧ 杂交瘤细胞被微生物污染，注射的杂交瘤细胞不纯，这个情况需要取杂交瘤细胞加 5x 抗生素重新进行亚克隆化，然后再进行腹水制备
注射佐剂时阻力较大，出现脱针	<ul style="list-style-type: none"> ✧ 请注意恢复至室温使用 ✧ 我们的腹水专用佐剂和常规的佐剂成分不同，会相对粘稠，若恢复至室温仍出现脱针，可以尝试使用无橡胶塞或者防脱针的注射器（螺口注射器）