

# TC4-SOP 1-1m

# 小鼠免疫注射

名稱: \_\_\_\_\_

## MATERIALS:

- 小鼠 x \_\_\_\_\_
  - BALB/c Birth Date: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_
- 三向閥 (Nipro)
- 抗原: \_\_\_\_\_
  - \_\_\_\_\_  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ , \_\_\_\_\_  $\mu\text{L}$   \_\_\_\_\_  $\mu\text{g}$
  - Powder  Gel  liquid, 溶於 \_\_\_\_\_
- 佐劑 (Adjuvant)
  - Complete Freund's Adjuvant (CFA)  Incomplete Freund's Adjuvant (IFA)
  - 其他: \_\_\_\_\_  不使用佐劑
- 注射針筒 (Terumo, 27 GX1/2" , 1 mL)
- 石臘膜 (Parafilm)
- PBS buffer (1X)

## METHODS:

- 免疫抗原量 100  $\mu\text{g}/\text{隻}$ ，第二次起注射抗原量減為 50  $\mu\text{g}/\text{隻}$ ，計算所需總抗原量，以 PBS 稀釋 antigen，將體積調整成 250  $\mu\text{L}/\text{隻}$ 。  
(取 \_\_\_\_\_  $\mu\text{L}$  抗原，補 PBS 至 250  $\mu\text{L}$ )
- 以 Tips 吸取抗原加入 1 mL 注射針筒，針頭取下備用，去除氣泡擦淨接頭後，將針筒裝上三向閥其中一端，壓緊後以石臘膜確實封住。
- 吸取同體積佐劑加入另一注射針筒，針頭丟棄，去除氣泡擦淨接頭後，將針筒裝上三向閥另一端，壓緊後以石臘膜確實封住。
- 旋開三向閥開關，使其兩接針筒端通透，**將水相的抗原推入油相佐劑端針筒**中，較易推送。
  - 針筒活塞部分先加 1 滴佐劑較不容易卡住。
  - 勿用蠻力，避免爆開!
- 反覆用雙手推放兩端針筒，直至乳化完全 (約 15~30 min 可完成)。
  - 可感覺推放間黏度增加，完全乳化為牙膏狀，或滴在水中不會散開。
- 將所有乳化完成之樣品推到其一針筒。
  - 小鼠每次注射量原則上不超過 500  $\mu\text{L}$ ，由於乳化過程會有些許損失，因此乳化後的體積會與預計的不同
- 保定小鼠使其便於注射。
- 以右手小指於左手腕為支點，注射入小鼠體內
  - 針插入一半，以免傷及臟器 (腹腔:  左  右)
- \* **注意**: 14 天 boost 一次，第一次 boost 使用 CFA，後續 boost 使用 IFA，最後 boost 可不加佐劑以加強免疫效價。

### Reference:

John E. C., Barbara E. B., David H. M., Ethan M.S., and Warren S. (eds.) 2009. *Current Protocol in immunology*. John Wiley and Sons. Inc.

日期	操作者	QC