

# Yeast display based Naïve VHH Library from Camel

## 介绍

酵母展示抗体库技术 (yeast display antibody library) 是近年来在抗体工程领域取得的最突出的研究进展之一。该技术主要将抗体分子展示于酵母细胞表面后, 利用靶标抗原分子将表达特异性抗体分子的酵母细胞筛选出来, 并通过基因工程的方法对抗体进行表达和后续的功能鉴定, 从而获得功能性抗体分子。根据用于酵母展示抗体库构建的B细胞是否经过免疫, 可以将构建的酵母抗体库分为免疫库和非免疫库。其中用于构建免疫库的B细胞主要来源于经主动免疫, 或者是病原体体内感染后的记忆性B细胞; 如果是未致敏的B细胞所构建的酵母抗体库, 则被称为非免疫库。由于未致敏的B细胞的多样性取决于用于构建抗体库的B细胞克隆的多样性, 所以非免疫库的容量越大, 越可以筛选到高亲和力的抗体。

本公司出售的天然纳米抗体酵母文库为采集20只未免疫骆驼淋巴细胞所构建, 随机挑取48个克隆PCR验证阳性率为100%, 测序结果显示序列无重复, 多样性良好, 库容量约为 $1 \times 10^9$ 。

## 试剂盒包含

酵母文库细胞1mL (含25%甘油)。

使用前请仔细阅读说明书, 并配置筛选所用的试剂。

## 噬菌体展示抗体库载体说明

本试剂盒采用经改造的质粒pYD1所构建, 此酵母载体设计用来展示羊驼、骆驼Vhh片段, 展示片段与酵母Aga1-Aga2蛋白融合表达并带有HA tag方便展示信号的检测。

**Vector type:** Phagemid vector

**Vector length:** 5300 bp

**Tag:** 6xHis, HA tag

**Promoter:** GAL1

**Resistance:** Amp<sup>+</sup>

**Vector backbone:** pYD1

Backbone size w/o insert (bp) 5100



## 培养基配方

扩增培养基SD-CAA

名称	终浓度
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·12H <sub>2</sub> O	13.62 g/L
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	9.62 g/L
Yeast Nitrogen Base without Amino Acids (无氨基酸、含硫酸铵)	6.7 g/L
casamino acids	5 g/L
葡萄糖	20 g/L
氨苄西林	100 µg/mL
链霉素	100 µg/mL

表达培养基SG-CAA

名称	终浓度
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·12H <sub>2</sub> O	13.62 g/L
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	9.62 g/L
Yeast Nitrogen Base without Amino Acids (无氨基酸、含硫酸铵)	6.7 g/L
casamino acids	5 g/L
半乳糖	20 g/L
葡萄糖	2 g/L
氨苄西林	100 µg/mL
链霉素	100 µg/mL

## 宿主菌复苏及冻存

- 1、复苏: 取一支冻存菌置于30℃水浴约3min至完全融化, 接种于1L SD-CAA培养基中, 摇床30℃、220rpm培养过夜。
- 2、冻存: 准备SD-CAA培养基中新鲜培养至对数生长期的细胞, 加入终体积为25%的甘油混匀, 保存于-80℃。

## 宿主菌培养及诱导

- 1、增殖培养: 接种于SD-CAA液体培养基中, 摇床培养, 30℃, 220rpm, 倍增时间约3-4h; 接种于SD-CAA固体培养基平板, 培养箱30℃约2-3天长出单菌落。
- 2、诱导表达: 摇床培养, 30℃, 220rpm, SD-CAA中培养至对数生长期, 更换SG-CAA培养基, 摇床培养, 20-25℃, 220rpm, 24h。

## 流式分选、鉴定的细胞染色

诱导酵母菌经离心、洗涤后与生物素化靶蛋白孵育结合, 经洗涤后, 再加入亲和素荧光染料标记靶蛋白, 同时加入Anti-HA抗体荧光染料标记HA tag孵育洗涤后上流式仪分选或鉴定。

## 单克隆PCR

扩增引物:

NSF: 5' -AAGCTTCTGCAGGCTAGTGGT-3'

NSR: 5' -TTGTTATCAGATCAGCGGGTT-3'

## 单克隆测序及分析

单克隆PCR产物测序引物: NSF。