

## 纳米抗体库验证，代表性结果

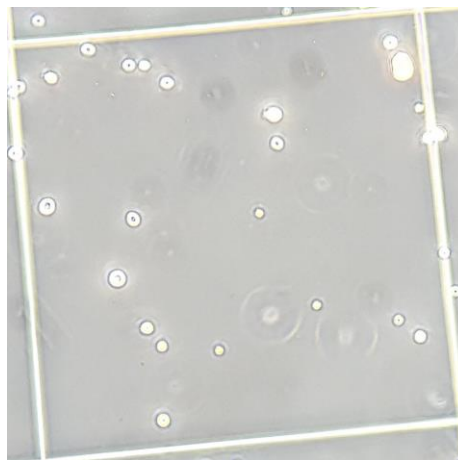
在酵母纳米抗体文库初步扩增并冷冻等分试样后，通过测试细胞活力和污染来验证文库。

### 细胞活力

- 将解冻的文库等分试样 ( $2 \times 10^{10}$  个细胞) 重新悬浮在 1L - Trp + 葡萄糖中后，使用该培养物的系列稀释液接种 1000、100 和 10 个细胞 (每个细胞在 100ul - Trp + 葡萄糖中)
- 30°C 2 天后，对细胞集落进行计数：1000 个细胞中有 184 个、100 个细胞中有 22 个、10 个细胞中有 3 个存活。
- 在 30° C 下第三天后，最终菌落计数为 1000 个中的 186 个、100 个中的 22 个、10 个中的 3 个。
- 平均而言，这相当于约 24% 的细胞活力，这意味着每个文库瓶中总共有约  $4.8 \times 10^9$  个活细胞。
- 这非常接近  $5 \times 10^9$  的最佳生存能力，即是文库多样性的 10 倍

### 污染

- 从 1L 培养物中取出细胞来评估活力后，将剩余的培养物在 30° C、230 rpm 下摇动 48 小时。
- 污染检查一：从培养物中取出少量样品，将  $10^6$  个细胞置于血细胞计数器上，在显微镜下观察。不存在污染 (见右图)。
- 从 1L 培养物中，将 5ml 传代至 50ml - Trp + 葡萄糖并在 30°C 下生长 24 小时。
- 污染检查二：再次在血细胞计数器上观察  $10^6$  个细胞以检查污染情况。不存在污染。
- 从这 50 ml 培养物中，将 5 ml 传代到另一个 50 ml - Trp + 葡萄糖中，并在 30°C 下生长。
- 污染检查三：再次在血细胞计数器上观察  $10^6$  个细胞以检查污染情况。不存在污染。



未受污染的酵母细胞样本

### 检查清单：

- 显微镜下无可见污染 通过
- 每次培养物传代后均无污染 (总共 3 次传代) 通过
- 细胞活力约为文库多样性的 10 倍 通过

这批库现已可以投入使用。