

新冠肽库产品说明

novel coronavirus peptide library

多肽合成

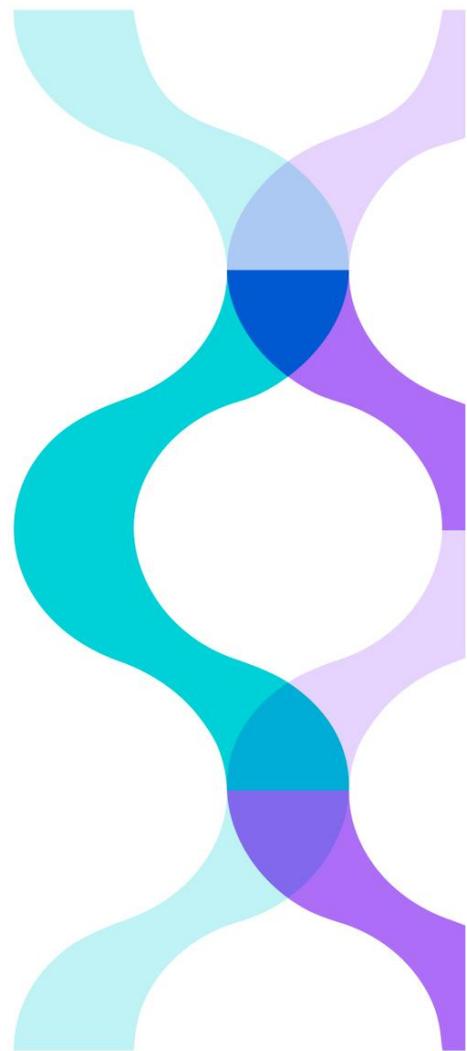
PEPTIDE SYNTHESIS

蛋白表达

PROTEIN EXPRESSION

抗体制备

ANTIBODY CUSTOMIZATION



简介

强耀生物生产的新型冠状病毒肽库系列产品（下称新冠肽库），包含了目前新型冠状病毒的多种主要突变毒株序列。采用科研所需的氨基酸重叠优化排列顺序进行了分段。

新冠肽库试剂可以有效的代替蛋白质（例如重组蛋白质或病原体裂解物）来进行您需要的实验。由于不是经过抗原呈递的外部途径生产所得，新冠肽库试剂提供了比蛋白质抗原更有效的刺激作用。

新冠肽库试剂一般可以用于 T 细胞的抗原特异性刺激实验，强耀生物为国内外各大研究所在新型冠状病毒的基础研究提供了有效的实验产品。这些实验包括抗原特异性 T 细胞的检测、计数或功能分析，增殖研究和 T 细胞扩增研究等。



产品说明

1、新冠肽库

除另有说明外，新冠肽库试剂内每个小编号都包含了指定蛋白质抗原序列的 15 个氨基酸序列，相邻肽之间一般是有 9 个氨基酸重叠。所有肽均经过化学合成、纯化和分析鉴定。

2、存储

无论何种状态和形式下，我们推荐产品尽量都要在 -20°C 或更低的温度下进行保存，原内包装可直接放入低温冰箱。

在此温度下，产品自购买日期起至少可稳定 6 个月。溶解后会降低其长期稳定性。

3、制备储液

制备储备溶液时，最好在室温下将新冠肽库冻干产品溶解在二甲亚砜 (DMSO) 中。我们建议逐步添加 DMSO，每次 $10\ \mu\text{l}$ ，轻微摇晃，直至其完全溶解。有必要情况下可以适当进行超声波助溶，避免加热！如需要，建议分装成小包装，并密封保存在 -20°C 或以下。储备溶液可以用补充培养基进一步稀释。避免重复解冻和冷冻已溶解的新冠肽库试剂。

注意：为避免细胞毒性，在细胞刺激试验中 DMSO 的最终浓度应低于 1% (v/v)。在使用 DMSO 溶解制备新冠肽库储备溶液时应优先考虑这一点。



操作指南

本说明以 T 细胞刺激实验为范本大概说明新冠肽库的常规适用方案，仅供参考。

1、试剂准备

- 用于溶解肽库试剂的二甲基亚砜 (DMSO)
- 用于 PBMC 制备的 Ficoll 溶液
- 用于洗涤细胞的磷酸盐缓冲盐水 (PBS)
- 细胞培养基
- 牛血清白蛋白/胎牛血清/人 AB 血清 补充缓冲液或培养基
- 青霉素/链霉素 (仅用于长期细胞培养)
- Brefeldin A (BFA) 抑制细胞因子的分泌
- 葡萄球菌肠毒素 B (SEB) 作为阳性刺激对照 (或替代品)

试剂	溶剂	浓度
BFA	Ethanol (95%)	5 mg/ml
SEB	DMSO	1 mg/ml

2、细胞刺激实验

PBMC 应重悬于细胞培养基中。我们建议补充 RPMI 1640 含有 2 mmol/l L-谷氨酰胺和 10% (v/v) 热灭活胎牛血清 (“完全培养基”)。长期刺激可能需要抗生素



协议（例如增殖测定），但不一定适用于短期刺激。细胞悬液应调整为 5×10^6 个细胞/ml，使 200 μ l 细胞悬浮液含有 10^6 个细胞。

推荐使用带盖无菌 PE 管（4.5-15ml），为了尽量减少试管之间关于细胞与试剂接触时间的差异，我们建议在添加细胞悬液之前，将所有所需的试剂放置在每个试管中。

2.1 简化步骤：

2.1.1 新冠肽库试剂、阳性和阴性刺激溶液 100 μ l 分别添加到对应的试管中。

2.1.2 每管加入 100 μ l BFA 溶液。

2.1.3 每管加入 200 μ l 体积的细胞悬液。

2.1.4 添加 600 μ l 完全培养基以调整最终体积。最终测定终体积为 1000 μ l。

2.1.5 孵育时间一般为 6-16 小时。

注意：直到孵化时间结束的所有程序都应在无菌条件下进行。

2.2 详细步骤：

2.2.1 准备 T 细胞刺激实验

2.2.1.1 在完全培养基中制备新冠肽库工作溶液。取可完成 25 次测试的新冠肽库试剂溶解在 50 μ l DMSO 中。如果需要少于 25 次测试，请将未使用的储备溶液分装在 -20° C 或更低温度下。通过用完全培养基按 1:50 稀释所需量的新冠肽库储备溶液来制备新冠肽库工作溶液。添加 100 μ l 新冠肽库工作液到每个需要刺激的试管中。

2.2.1.2 在完全培养基中按 1:50 稀释 DMSO，制备阴性对照溶液。将 100 μ l 阴性对照溶液添加到指定为阴性对照的每个试管中。

2.2.1.3 在完全培养基中稀释阳性对照来制备阳性对照溶液。例如，如果您希望使用



终浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的葡萄球菌肠毒素 B (SEB)，而您的储备液为 1 mg/ml ，请在完全培养基中按 1:100 稀释您的 SEB 储备液。将 100 μl 阳性对照溶液添加到指定为阳性对照的每个试管中。

2.2.1.4 由 BFA 储备溶液制备 BFA 工作溶液。我们建议使用终浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 BFA。与阴性和阳性刺激对照一样，您也可以在补充培养基中添加 BFA 原液。如果您的 BFA 储备溶液为 5 mg/ml ，请在完全培养基中按 1:50 稀释。每管加入 100 μl BFA 溶液。不同浓度的储备溶液需要您调整稀释步骤。

注意：如果您在进行肽刺激的同时使用蛋白质或细菌或病毒裂解物进行刺激，则应稍后（至少一小时后）添加 BFA 工作溶液。

2.2.2 进行刺激实验

2.2.2.1 向每个试管中加入 200 μl 细胞悬液，轻轻混匀。向每个试管中加入 600 μl 完全培养基并再次混合。

2.2.2.2 在标准培养箱中培养（37° C，加湿 5% CO_2 ）。盖子可以放在每个管子上，但在孵化过程中不能盖紧，以进行气体交换。根据您的实验需求，可以刺激细胞 6 到 16 小时。

2.2.2.3 如果没有立即加入 BFA，请在所需时间向每管中加入 100 μl 新鲜制备 BFA 工作溶液。

注意：始终使用相同的条件以确保测定之间的可比性。 可选方案在前 2 小时内以 500 μl 的总体积进行检测，2 个小时后添加 500 μl 完全培养基（包含 BFA 工作溶液）。另有方案建议在孵化结束前两小时添加 BFA 工作溶液。 您可以根据自身实验需求制定您自己的实验方案或查阅文献。这些检测方法没有单一的最佳方案。请确保



DMSO 浓度在任何时候都不超过 1% (v/v) 以避免毒性。

2.2.3、结束孵化

2.2.3.1 向每个试管中加入 3 ml 冰 PBS 以停止孵育。离心 (400xg, 8 分钟, 4° C) 去除上清液。如果倒出上清液, 建议在纸巾上吸干管子, 同时将它们保持在倒置位置以去除多余的液体。切勿多次倒置试管以避免细胞损失。

2.2.3.2 小心地将细胞沉淀重新悬浮在剩余的液体中。再次添加 3 ml 2 mM EDTA 溶液 (PBS) 。将所有试管在 37° C (水浴) 下孵育 10 分钟。紧紧关闭管子, 以免水溅到管子里。

2.2.3.3 小心地低速涡旋管子 30 秒, 再次离心 (400xg, 8 分钟, 4° C), 去除上清液。

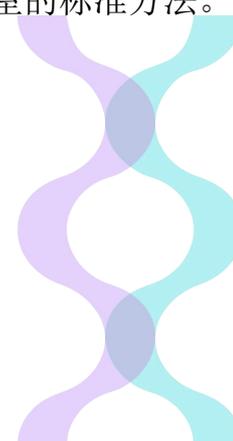
2.2.3.4 用剩余的液体重新悬浮细胞沉淀, 加入 1 ml 含有 0.5% (w/v) 牛血清白蛋白的 PBS。

2.2.3.5 离心 (400xg, 8 分钟, 4° C), 去除上清液。在剩余的液体中重新悬浮细胞沉淀。

2.2.3.6 根据您的首选方案进行表面染色、细胞透化和/或细胞内染色。

2.2.4 数据采集

我们不推荐任何特定的采集或分析方案, 请遵循自身实验室的标准方法。





实在做人 用心做事 匠心研发 严守品质

强耀生物科技有限公司

电话：021-50795728(上海)

0512-63930660 (苏州)

027-65521228 (武汉)

邮箱：inside@chinapeptides.com

地址：上海市浦东新区川沙路5600弄8号楼

微信公众号

