

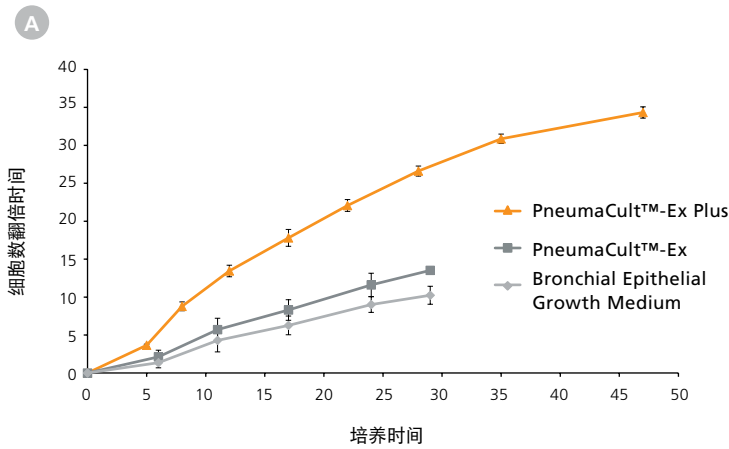


囊性纤维化 气道建模

PneumaCult™-Ex Plus和
PneumaCult™-ALI

前言

囊性纤维化 (CF) 是一种罕见的遗传性疾病, 全球有70,000患者¹。它是由编码囊性纤维跨膜转导调控因子 (CFTR) (上皮组织表面的氯离子通道) 基因突变引起的, 从而导致肺、胰腺和肝脏等其他器官中出现异常的离子迁移和粘液堆积²。CF在呼吸道的症状是气道黏膜纤毛的清除功能受损, 导致慢性感染、炎症、组织损伤和呼吸衰弱。运用动物模型和体外培养方法, 现已研发出创新CFTR基因突变靶向疗法²。原代人体气道上皮细胞的气液界面 (ALI) 培养法在CF研究领域中被广泛采用, 尽管不同的研究小组倾向于不同的培养基配方^{3, 4, 5}。已发现含有Ultrosor® G (一种血清替代品) 的培养基配方, 可预测经美国食品和药物管理局 (FDA) 批准的治疗方法的临床结果^{6, 7}。然而, 鉴于购买这种专有成分的不可靠性, CF研究人员正在试验可产生模拟人体生理环境的电生理读数的替代细胞培养基⁸。PneumaCult™培养基产品不含血清和牛垂体提取物 (BPE), 专为原代人体气道上皮细胞的强力扩增和ALI分化而设计。运用CF气道上皮细胞, 已对从早期传代到晚期传代的各种扩增和ALI分化培养基进行了并排比较。最佳的培养形态和电生理表征是通过运用PneumaCult™-Ex Plus (产品号 #05040) 进行扩增, 然后使用PneumaCult™-ALI (产品号 #05001) 进行分化而获得的。这种最佳培养形态和电生理表征即使在延长传代后仍可获得。



为何使用PneumaCult™进行囊性纤维化研究?

类似人体内部气道。模拟人体生理环境的不同细胞类型的比例。

改进的扩增。每一次传代都能获得更多的细胞。

持续的ALI分化潜能。即使在延长传代后, 仍保持形态和电生理表征。

重复性。无血清和BPE以减少产品批量之间的变化。

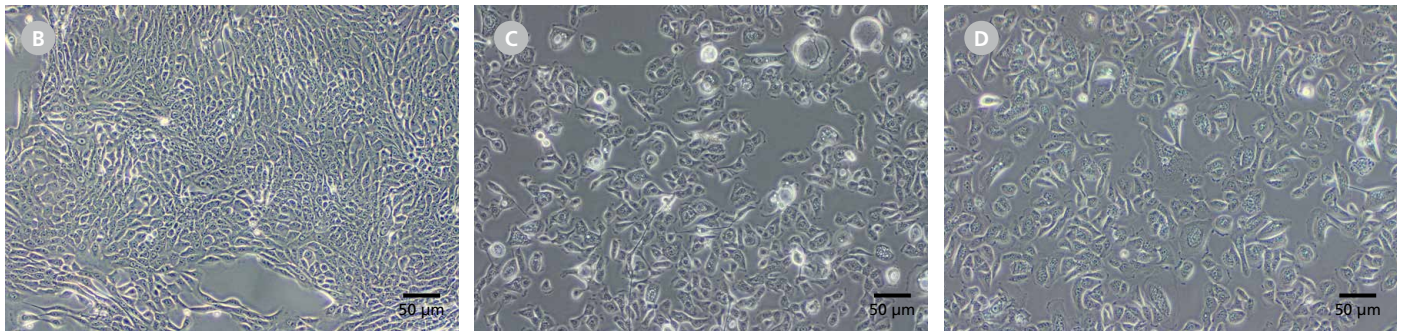
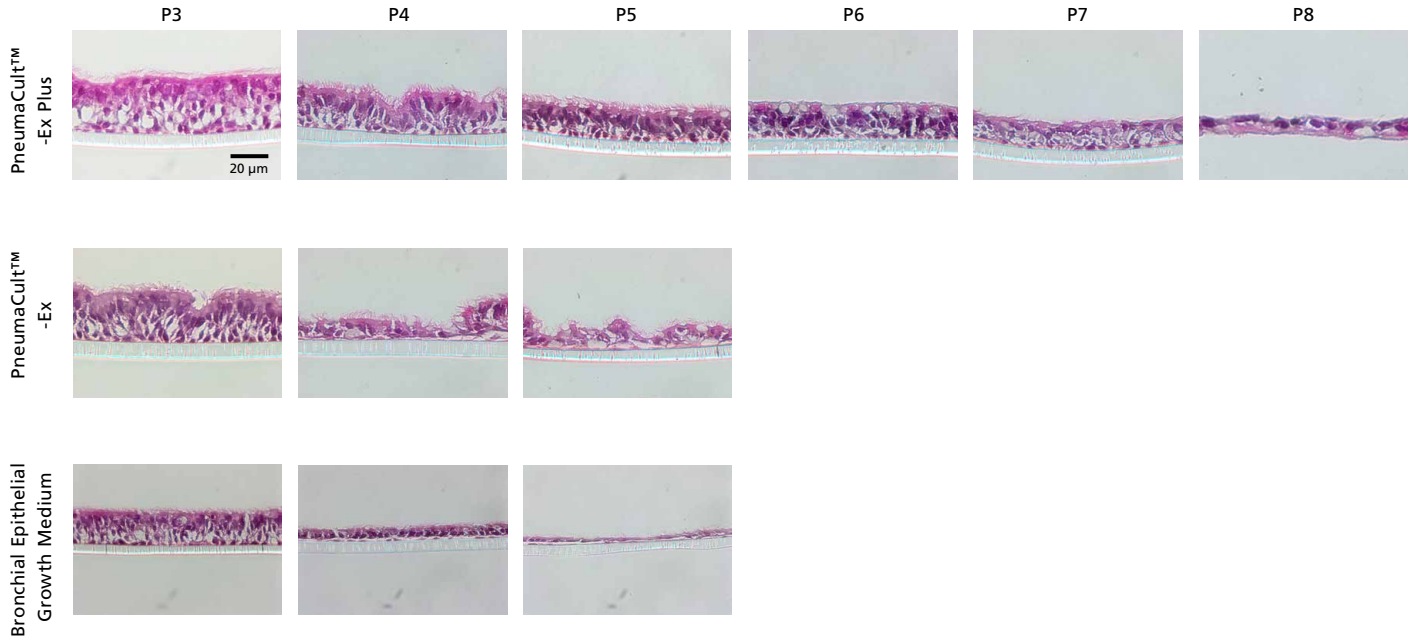


图1. 扩增过程中CF HBECs的生长和形态

将商品化的, 冷冻保存的P2 CF人支气管上皮细胞 (HBECs) 接种入PneumaCult™-Ex Plus、PneumaCult™-Ex或支气管上皮细胞生长培养基 (BEGM, Bronchial Epithelial Growth Medium)。(A) 与任何一种对照培养基 (n = 3) 中的细胞相比, 在PneumaCult™-Ex Plus中培养的细胞在8代以后表现出显著的高生长速率。由于分化潜能下降, 使用PneumaCult™-Ex或BEGM培养的细胞培养在第5代后终止。(B-D) 第4代的CF HBECs的代表性形态在 (B) PneumaCult™-Ex Plus (C) PneumaCult™-Ex或 (D) BEGM中扩增。

PneumaCult™-ALI



Ultrosor® G-Based Formulation

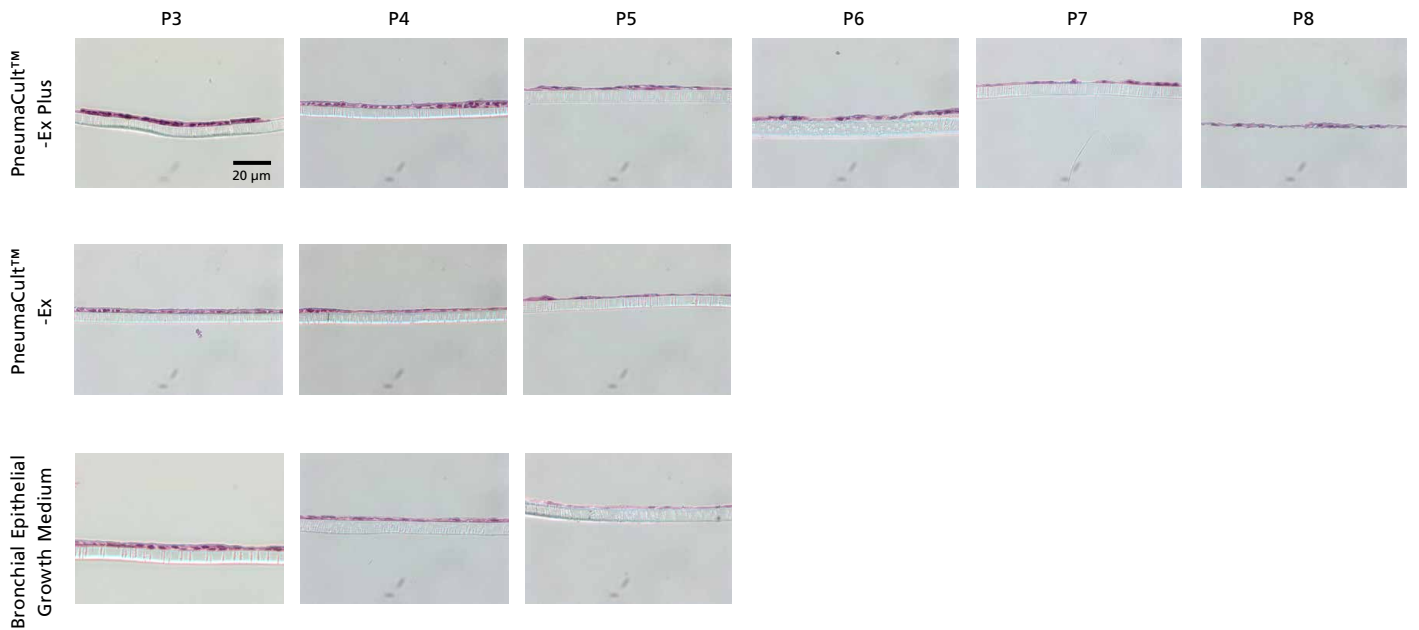
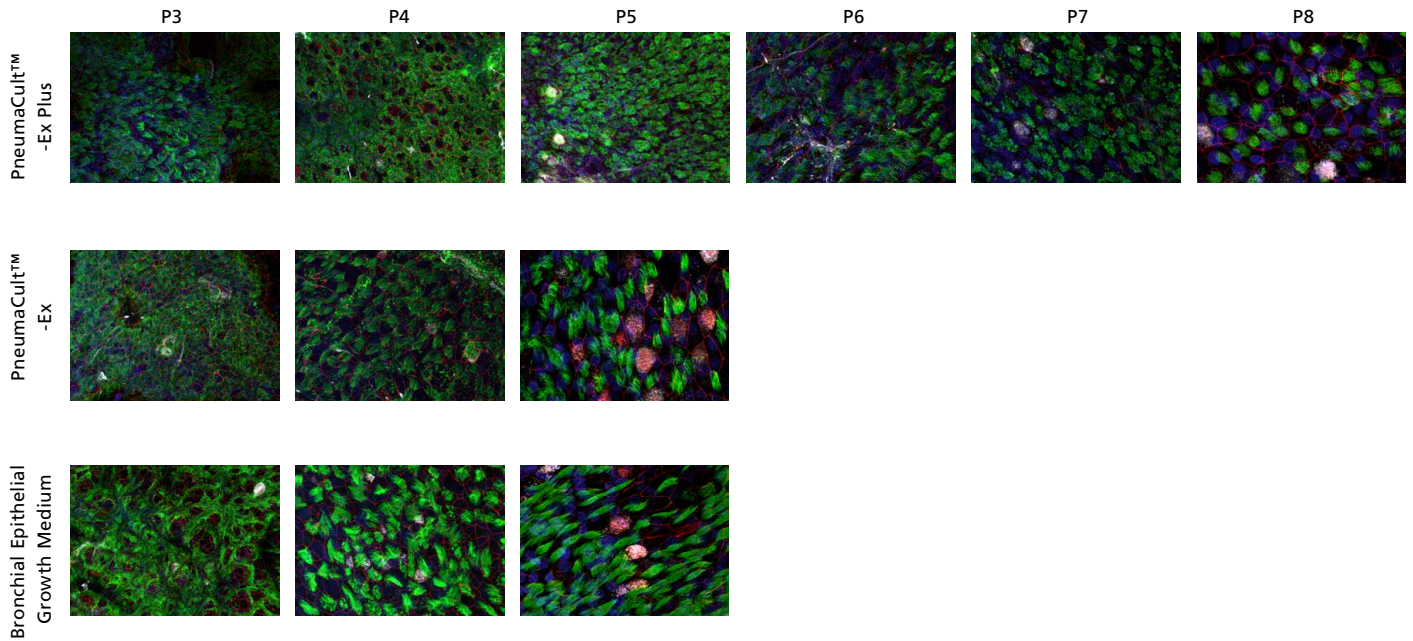


图2. ALI培养物的组织学横切面的代表性图像

第2代CF HBECs在PneumaCult™-Ex Plus、PneumaCult™-Ex或BEGM中扩增，随后在PneumaCult™-ALI或Ultrosor® G-based培养基中的每代进行ALI分化。分化28天后，将ALI培养物固定，石蜡包埋，切片，用H&E染色。所有图像采用40倍物镜拍摄。植入膜厚度为10µm。Ultrosor® G-based培养基是基于一种已发表的配方制成的⁵。

PneumaCult™-ALI



Ultrosor® G-Based Formulation

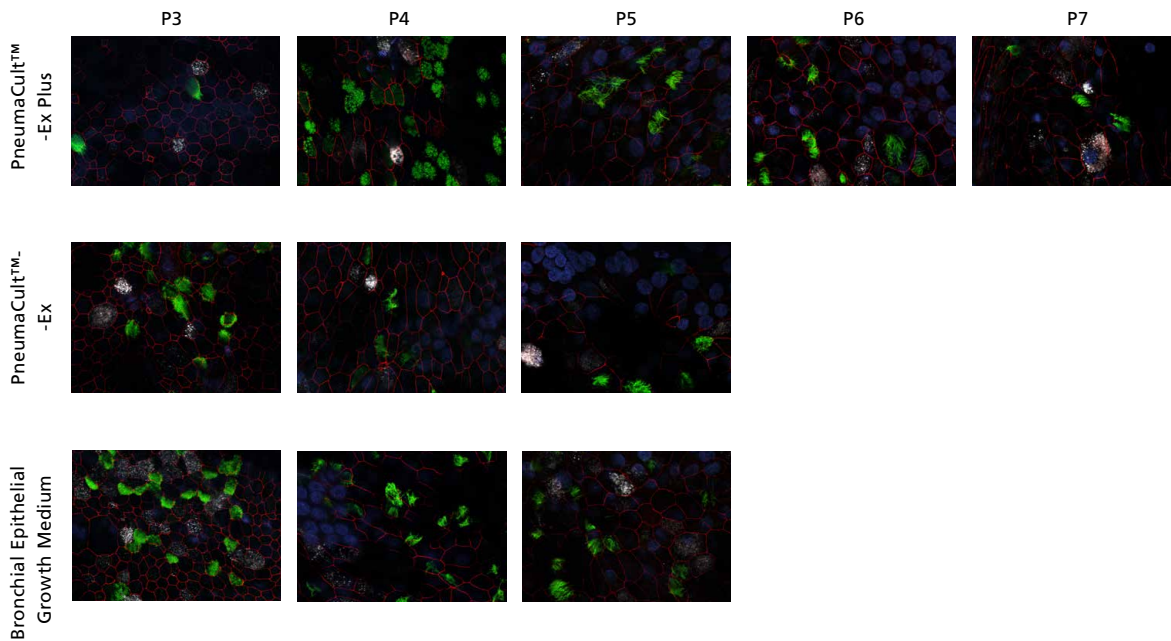
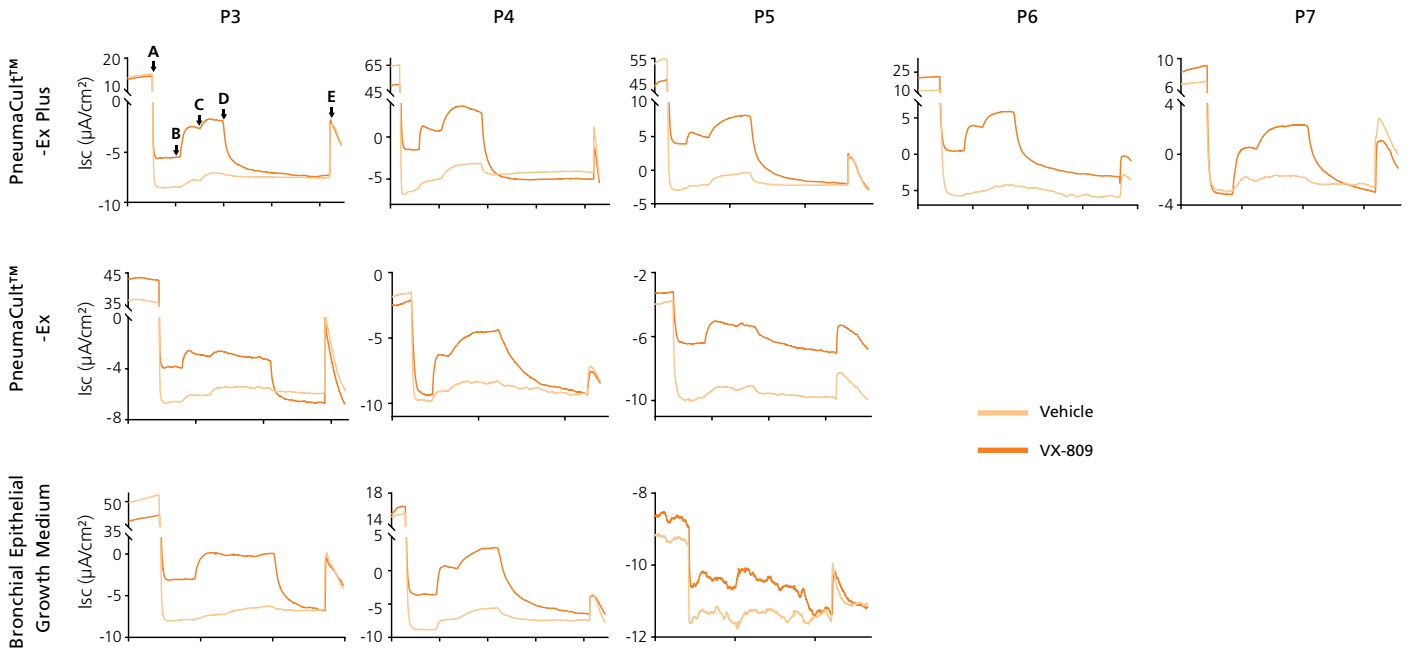


图3. ALI培养物的全嵌入免疫组化染色的Confocal代表性图像

P6、P7第2代CF HBECs在PneumaCult™-Ex Plus、PneumaCult™-Ex或BEGM中扩增，随后在PneumaCult™-ALI或Ultrosor® G-based培养基中的每代进行ALI分化。分化28天后，将ALI培养物固定，并用纤毛细胞抗体染色（Actubulin；绿色），Zo-1（细胞接合；红色）和杯状细胞（Muc5AC；白色）。细胞核用DAPI（蓝色）复染。所有图像采用63倍物镜拍摄。Ultrosor® G-based培养基是基于一种已发表的配方制成的⁵。

PneumaCult™-ALI



Ultrosor® G Based Formulation

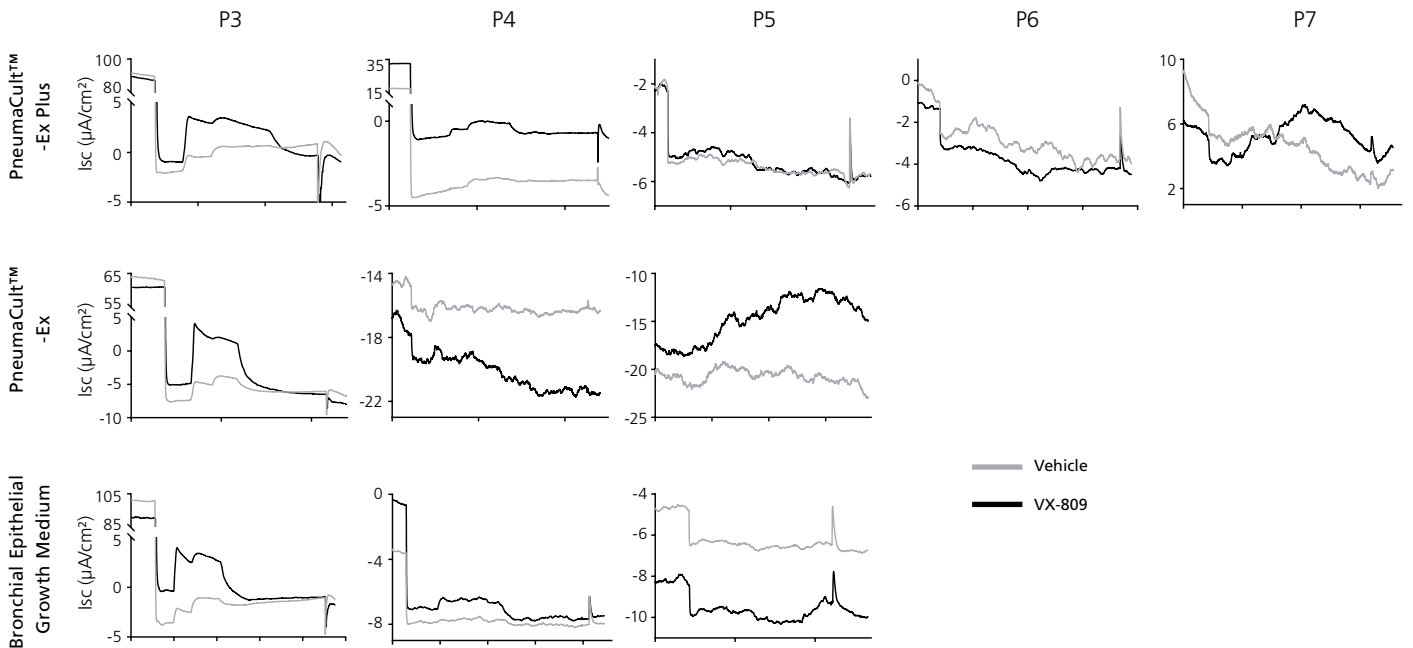


图4. ALI培养物的电生理学表征的代表性图像

P2 CF HBECs在PneumaCult™-Ex Plus、PneumaCult™-Ex或BEGM中扩增，随后在PneumaCult™-ALI或Ultrosor® G-based培养基中的每代进行ALI分化。分化28天后，用VX-809或DMSO赋形剂处理ALI培养物24小时，随后Ussing Chamber（尤斯灌流室）分析。A: Amiloride, ENaC抑制剂。B: IBMX和Forskolin, CFTR活化剂。C: Genistein, CFTR增效剂。D: CFTRinh-172, CFTR抑制剂。E, UTP钙激活氯离子通道（CaCCs）活化剂。Ultrosor® G-based培养基是基于一种已发表的配方制成的⁵。

产品列表

产品	产品号
PneumaCult™-Ex Plus	05040
PneumaCult™-Ex	05008
PneumaCult™-ALI	05001
Costar® 12mm Transwell®, 0.4 µm Pore Polyester Membrane Inserts	38023 for the 12-well format
Costar® 6.5mm Transwell®, 0.4 µm Pore Polyester Membrane Inserts	38024 for the 24-well format
Hydrocortisone Stock Solution	07925, 07926



技术资源中心

了解更多关于支气管上皮细胞培养的信息

www.stemcell.com/lung

参考文献

1. Sosnay PR et al. (2013) Defining the disease liability of variants in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene. *Nat Genet.* (45): 1160–7.
2. Brodlie M, et al. (2015) Targeted therapies to improve CFTR function in cystic fibrosis. *Genome Med.* (7): 101.
3. Whitcutt MJ et al (1988) A biphasic chamber for maintaining polarity of differentiation of cultured respiratory tract epithelial cells. *In Vitro Cell Dev Biol.* 24(5): 420–8.
4. Gray TE et al. (1996) Mucociliary differentiation of serially passaged normal human tracheobronchial epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 14(1): 104–12.
5. Neuberger T et al. (2011) Use of primary cultures of human bronchial epithelial cells isolated from cystic fibrosis patients for the pre-clinical testing of CFTR modulators. *Methods Mol Biol.* 741: 39–54.
6. Clancy JP et al. (2018) CFTR modulator theratyping: current status, gaps and future directions. *J Cyst Fibros.* Epub ahead of printing
7. Goor FV et al. (2009) Rescue of CF airway epithelial cell function in vitro by a CFTR potentiator, VX-770. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 106 (44): 18825–30.
8. Gentsch M et al. (2017) Pharmacological rescue of conditionally reprogrammed cystic fibrosis bronchial epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 56 (5): 568–74.

STEMCELL Technologies Inc. 2019。保留一切权利，包括图形和图像。STEMCELL Technologies和其设计及徽标，以及Scientists Helping Scientists、RapidSpheres、RoboSep、EasyPlate、EasySep和EasyEight均是STEMCELL Technologies Inc.的注册商标。其他注册商标为各自持有人的产权。STEMCELL尽力确保STEMCELL及其供应商提供的信息正确无误，对此类信息的准确性或完整性不作任何保证或声明。

STEMCELL Technologies Inc.的质量管理体系已经过ISO 13485医疗器械标准认证。产品仅供研究使用。除非另行说明，不可用于人或动物的诊断或治疗。

囊性纤维化 气道建模

PneumaCult™-Ex Plus and
PneumaCult™-ALI



STEMCELL Technologies China Co. Ltd.

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

网站: WWW.STEMCELL.COM

微信ID: STEMCELLTech

