



肺研究工具

专注人呼吸道和肺泡上皮细胞的培养

目录

- 4 [体外人呼吸道和肺泡模型](#)
- 6 [人原代呼吸道上皮细胞的扩增](#)
- 6 [PneumaCult™-Ex Plus培养基](#)
- 10 [人原代呼吸道上皮细胞在气液界面的分化](#)
- 10 [气液界面 \(ALI\) 培养体系](#)
- 11 [PneumaCult™-ALI培养基](#)
- 12 [PneumaCult™-ALI-S培养基](#)
- 15 [细胞培养耗材](#)
- 15 [Transwell®细胞培养小室](#)
- 16 [CELLTREAT®细胞培养小室](#)
- 17 [人原代呼吸道上皮细胞分化为呼吸道类器官](#)
- 17 [呼吸道类器官培养体系](#)
- 18 [PneumaCult™呼吸道类器官试剂盒](#)
- 20 [PneumaCult™外翻型呼吸道类器官培养基](#)
- 22 [肺泡类器官培养](#)
- 22 [肺泡区域建模](#)
- 23 [PneumaCult™肺泡类器官培养基](#)
- 25 [研究方案: 如何从A1II类器官培养肺泡单层细胞](#)
- 27 [hPSC衍生的肺类器官培养](#)
- 27 [STEMdiff™肺祖细胞试剂盒](#)
- 28 [STEMdiff™分支结构肺类器官试剂盒](#)
- 30 [呼吸道培养培训课程](#)
- 31 [相关研究工具](#)
- 32 [其他试剂](#)
- 32 [细胞培养添加物](#)
- 32 [细胞冻存液](#)
- 32 [相关抗体](#)
- 32 [细胞因子](#)
- 32 [细胞染料](#)
- 33 [COVID-19研究工具](#)
- 34 [参考文献](#)

体外人呼吸道和肺泡模型

利用鼻、气管、支气管或肺泡细胞等人原代组织生成的呼吸道体外模型有助于进行呼吸道生物学的研究以及探索相关疾病的潜在机制。传统的2D培养体系仅支持培养具有基底细胞表型的细胞，难以模拟体内人呼吸道上皮细胞的生理状态。气液界面 (ALI) 培养是一种体外培养模型，可模拟体内人呼吸道的复杂形态和功能特征^{1,2}。例如，在ALI中培养的支气管和支气管上皮细胞能分化并形成假复层上皮，具有屏障功能和代表性细胞异质性^{1,2}。此外，源自患有呼吸体系疾病例如哮喘、囊性纤维化 (CF) 和慢性阻塞性肺病 (COPD) 的供体原代细胞的ALI培养物也具备体内疾病的相似特征^{3,4}。

人呼吸道和肺泡类器官的3D培养是一种用于模拟人呼吸道的多功能的培养体系，最大程度上模拟了体内组织的形态和功能，培养的细胞形态类似于生理条件下人呼吸道和肺泡上皮细胞。通过研究这些结构和功能，体外培养的各类器官模型可模拟体内生理或病理环境，可用于呼吸体系疾病潜在机制探索、药物发现和毒性研究以及呼吸道和肺泡上皮细胞的功能研究。与ALI培养相比，人呼吸道类器官和肺泡类器官的培养体系不需要使用细胞培养小室，因此适合高通量药物筛选。

PneumaCult™培养体系

PneumaCult™培养体系可用于体外模拟人呼吸道和肺泡细胞的培养，如：

- PneumaCult™-Ex Plus培养基可对原代人支气管上皮细胞 (HBECs) 或人小呼吸道上皮细胞 (HSAECs) 进行扩增培养；PneumaCult™-ALI培养基或PneumaCult™-ALI-S培养基可对分化后的HBEC或HSAEC的ALI进行培养。
- PneumaCult™呼吸道类器官试剂盒或PneumaCult™ 外翻型呼吸道类器官培养基可进行诱导分化。
- PneumaCult™肺泡类器官培养基可重现体内ATII和ATI细胞的关键特征并模拟人肺泡生理状态。

PneumaCult™培养体系灵活性高兼容性强，适用于呼吸系统的基础研究、毒性研究和药物开发等多种研究领域，且可兼容雪貂⁵、小鼠⁶、猪⁷、大鼠⁸、和恒河猴⁹等种属。

体外气道建模的优势

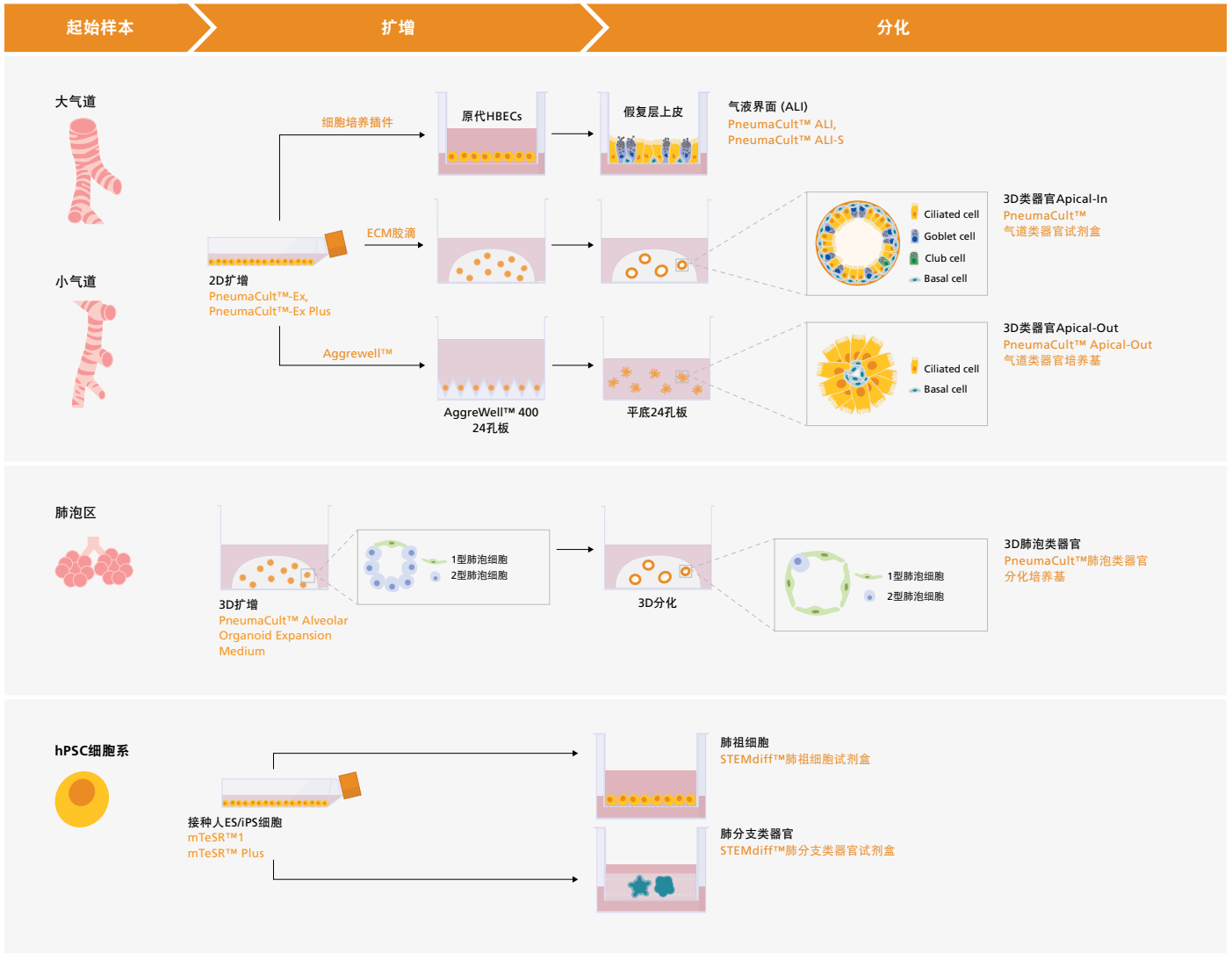
生理相关性。模拟体内生理环境建立人呼吸道体外培养模型

高重复性。通过严格的原材料筛选和质量控制测试保证实验的可重复性

体系完善。涵盖人呼吸道上皮细胞的上游扩增和下游分化

灵活使用。取用灵活，操作简单

用于体外呼吸道和肺泡培养的相关产品



产品
扫码查看完整的产品列表
www.stemcell.com/Pulmonary-Research



产品检索
扫码探索更多肺研究工具
www.stemcell.com/Pulmonary-Product-Finder

人原代呼吸道上皮细胞的扩增

PneumaCult™-Ex Plus培养基

目前用于培养人呼吸道上皮细胞 (HAEC) 的无饲养层扩增培养基在维持粘膜纤毛分化潜能的同时限制了传代次数, 这种局限性限制了研究人员使用原代细胞进行的实验数量。PneumaCult™-Ex Plus培养基是一种不含饲养层和BPE的培养基, 避免了对传代次数的过度限制。PneumaCult™-Ex Plus培养基可以在扩增培养过程中维持细胞的传代次数, 同时在后续的ALI或呼吸道类器官培养过程中保持粘膜纤毛分化潜能, 让研究人员能够利用单份样本进行更多实验探究。

为什么使用PneumaCult™-Ex Plus培养基?

高效。在每次传代获得更多的群体倍增。

维持ALI分化潜能。延长传代后仍保持形态学和电生理学特征。

可靠。成分确定、不含血清和BPE, 维持性能一致性。

PneumaCult™-Ex Plus培养基表现如何?

为比较PneumaCult™与其他培养基的性能, 将第1代 (P1) 的市售原代人支气管上皮细胞 (HBECs) 或第2代 (P2) 的人小呼吸道上皮细胞 (HSAECs) 解冻, 分别接种至含有PneumaCult™-Ex Plus培养基、PneumaCult™-Ex培养基和Bronchial Epithelial Growth培养基或Small Airway Epithelial Cell Growth培养基的T-25 cm²烧瓶中。当细胞达到约50-70%的汇合度时进行消化和传代。

扩增效率: 与在Bronchial Epithelial Growth Medium中培养的HBEC相比, 在PneumaCult™-Ex Plus培养基中培养的HBEC至少出现两次以上的倍数扩增 (图1)。同样, 与在Small Airway Epithelial Cell Growth Medium中培养的细胞相比, 在PneumaCult™-Ex Plus培养基中培养的HSAEC表现出更高的扩增效率 (图2)。在PneumaCult™-Ex Plus培养基中生长的HBEC的特点是细胞体积更小、排列更紧密 (图3), 且这些细胞表达更高水平的基底细胞标志物CD49f和CD271 (图4和5)。即使在多次传代后, 在PneumaCult™-Ex Plus培养基中培养的干细胞样基底细胞仍具有较高水平的ALI分化潜力。

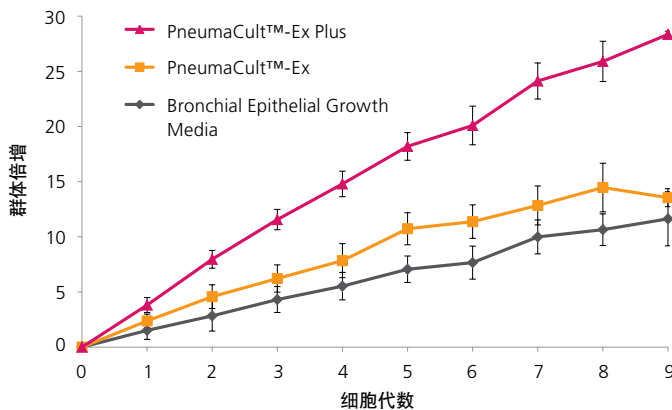


图1. 在PneumaCult™-Ex Plus中培养的HBEC比在PneumaCult™-Ex和Bronchial Epithelial Growth Media中培养的HBEC具有更快的扩增速率

将市售冷冻保存的P1代HBEC分别接种到PneumaCult™-Ex Plus、PneumaCult™-Ex或Bronchial Epithelial Growth Media中。在PneumaCult™-Ex Plus中培养的细胞在9次传代中的扩增速率显著高于在其他两组 (n = 6)。

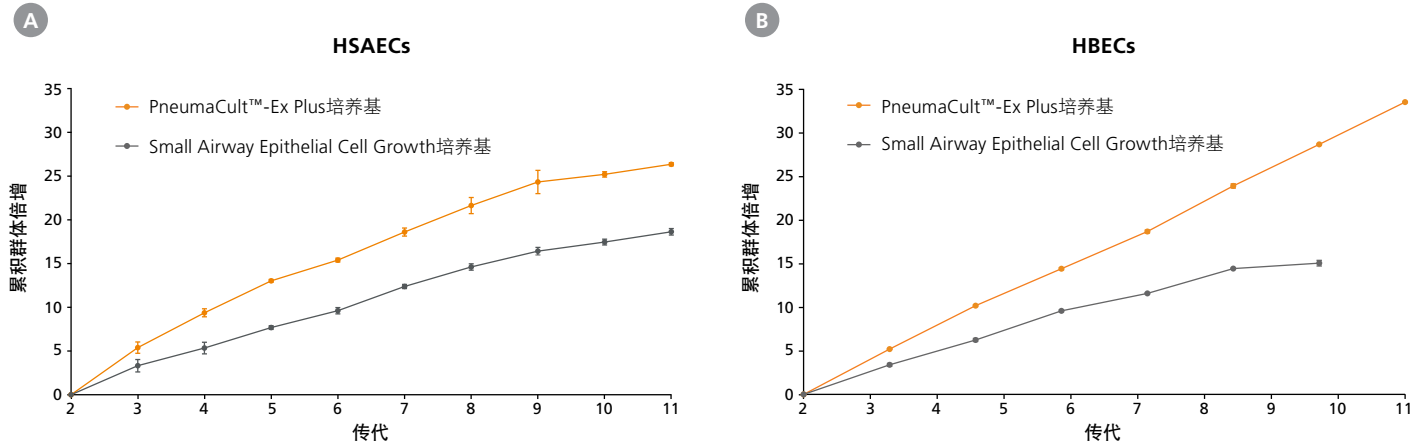


图2. 在PneumaCult™-Ex Plus培养基中培养的人小呼吸道上皮细胞和人支气管上皮细胞扩增速率较高

与在Small Airway Epithelial Cell Growth培养基中培养的细胞相比, 在PneumaCult™-Ex Plus培养基中培养的 (A) HSAEC和 (B) HBEC在每次传代中均表现出更高的扩增速率。(注: HSAEC为市售冷冻保存的第2代细胞, HBEC为第1代。)

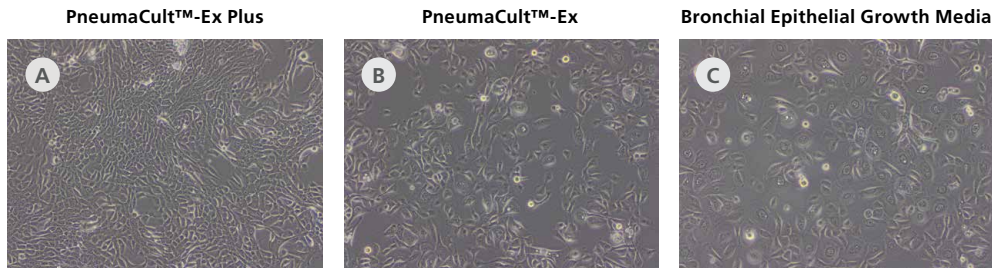


图3. 培养在PneumaCult™和Bronchial Epithelial Growth Media中HBEC的典型形态

图示在PneumaCult™-Ex Plus、PneumaCult™-Ex或市售支气管上皮生长培养基中培养的第4代HBEC的代表性活体培养结果。在 (A) PneumaCult™-Ex Plus中培养的细胞比在 (B) PneumaCult™-Ex或 (C) Bronchial Epithelial Growth Media中培养的细胞体积更小, 且排列更为紧密。(所有图像均使用10倍物镜拍摄。)

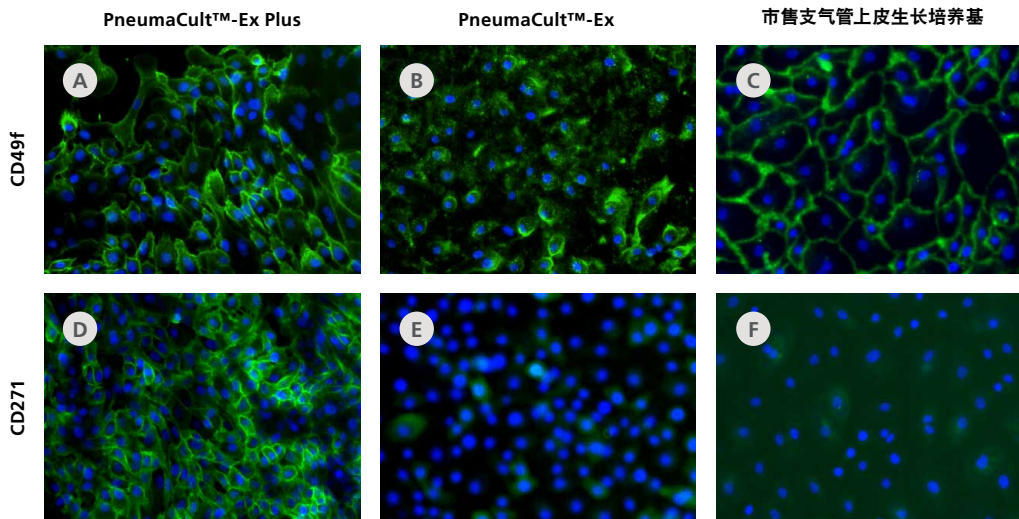


图4. 在PneumaCult™-Ex Plus中培养的HBEC维持基底细胞标志物CD49f和CD271的高水平表达

图示在PneumaCult™-Ex Plus (A和D)、(B和E) PneumaCult™-Ex和 (C和F) 市售支气管上皮生长培养基中培养的第4代HBEC的基底细胞标志物CD49f和CD271的免疫细胞化学检测。每种培养基中培养的细胞均表达以上两种标志物, 但表达水平不一致。(所有图像均使用10X物镜拍摄。)

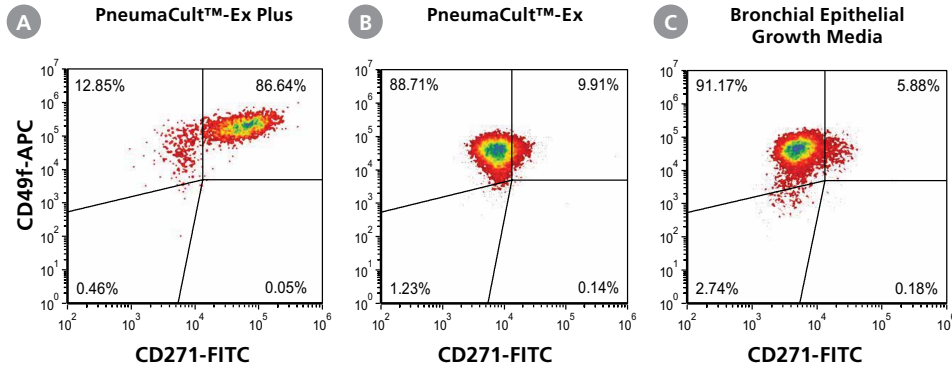


图5. 在PneumaCult™-Ex Plus中培养的HBEC具有更高比例的CD271⁺CD49f⁺细胞

通过流式细胞检测培养在 (A) PneumaCult™-Ex Plus、(B) PneumaCult™-Ex和 (C) Bronchial Epithelial Growth Media中的第4代HBEC的基底细胞标志物CD49f和CD271的表达, 结果显示与其他两组相比, 在PneumaCult™-Ex Plus中培养的HBEC中共表达CD49f和CD271的细胞比例更高。

形态学表现: 无论培养在何种扩增培养基中, HBEC早期传代产生的ALI培养物具有相似的形态。但从第5代 (P5) 开始, 在PneumaCult™-Ex Plus培养基中培养的HBEC状态明显优于培养在Bronchial Epithelial Growth Media中的HBEC, 且展现出更好的假复层粘膜纤毛分化特性, 即纤毛细胞和杯状细胞标志物的表达水平更高 (图6)。

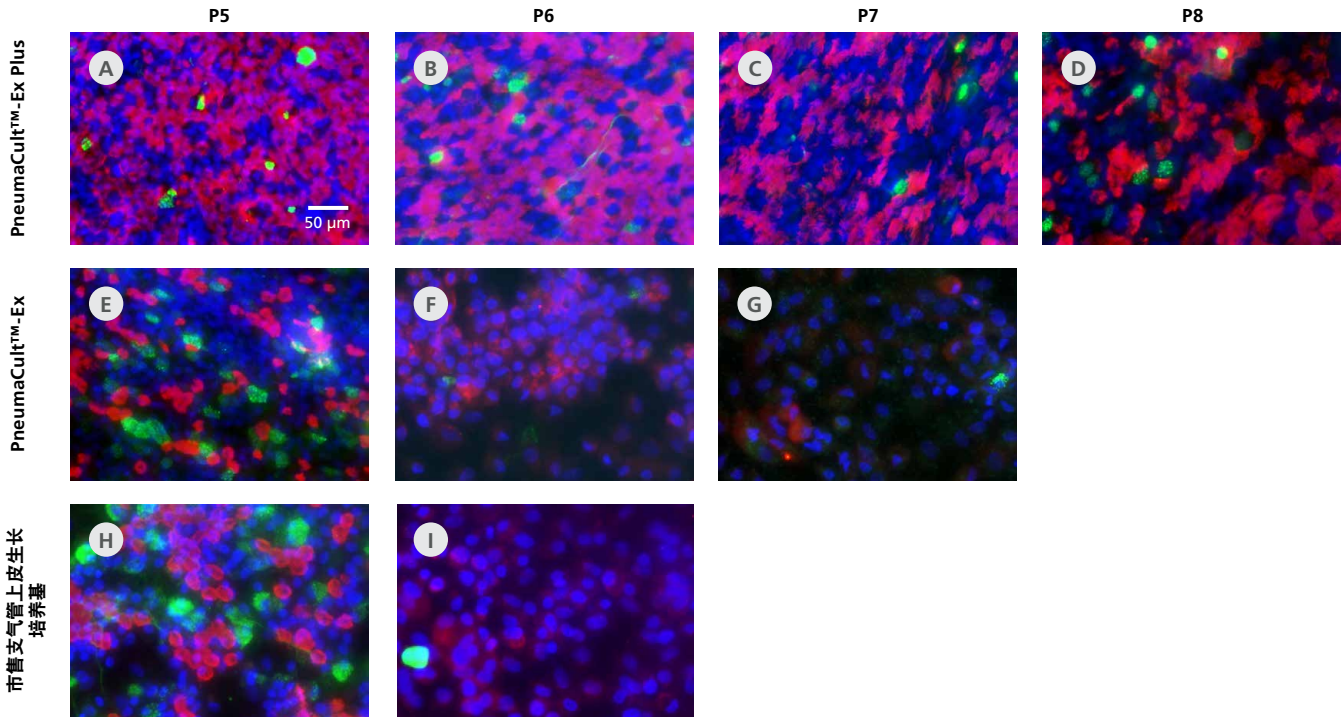


图6. 搭配PneumaCult™-ALI培养基, 在PneumaCult™-Ex Plus中培养的HBEC在后期传代中可分化为假复层粘膜纤毛上皮细胞

在PneumaCult™-Ex Plus、PneumaCult™-Ex或Bronchial Epithelial Growth Media接种和传代第4代HBEC, 然后使用PneumaCult™-ALI培养基在后续传代 (P5-P8) 中进行ALI分化。在ALI培养后28天的ALI培养物被固定, 用纤毛标志物AC-微管蛋白 (红色) 和杯状细胞标志物Muc5AC (绿色) 的抗体染色, 并用DAPI (蓝色) 复染细胞核。所有图像均使用20X物镜拍摄。

电生理功能: 对在不同培养基中培养的HBEC-ALI培养物进行电生理学鉴定, 检测其跨膜上皮电阻 (TEER) 和短路电流 (Isc) 指标, 前者检测汇合上皮层的完整性和细胞健康状态, 后者监测离子跨上皮细胞层的主动转运, 并使用Ussing Chamber进一步检测。ALI分化28天后, 在PneumaCult™-Ex Plus培养基中扩增的HBEC相比另外两组表现出更好的屏障完整性和更强的跨上皮细胞层离子转运活性, 表现为每次传代的TEER值更高 (图7A) 以及更高的药物反应性, 尤其表现在上皮钠通道 (ENaC) 和CFTR通道中 (图7B)。

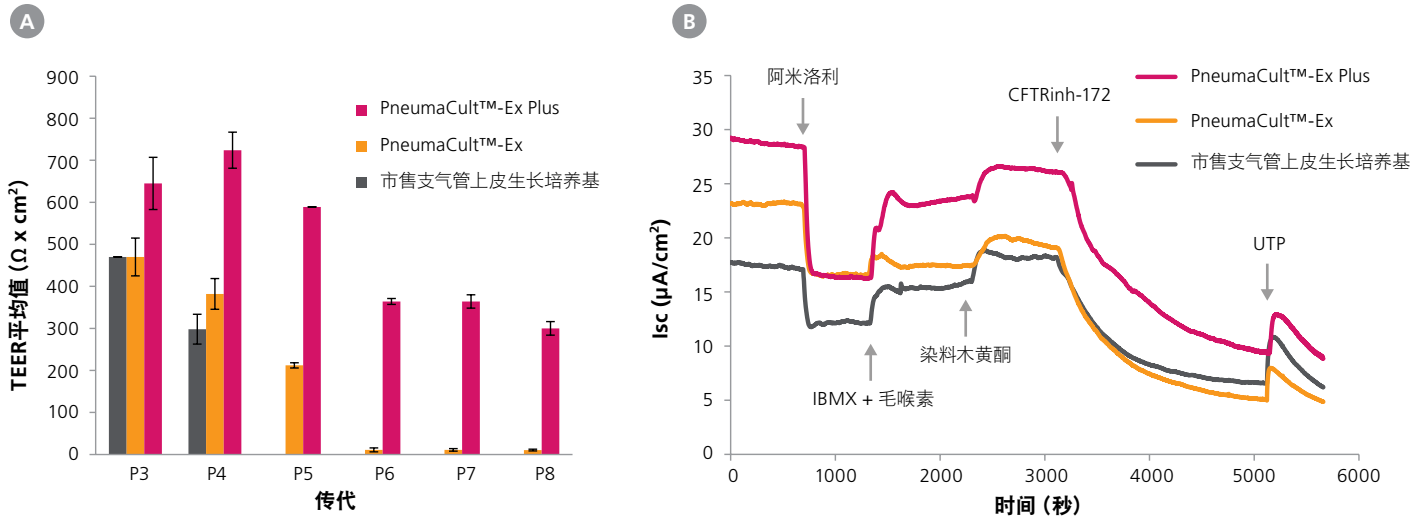


图7. PneumaCult™-Ex Plus中培养的HBEC的跨上皮电阻和离子通道活性更强

在PneumaCult™-Ex Plus、PneumaCult™-Ex或市售支气管上皮生长培养基中扩增的HBEC, 在ALI培养28天鉴定其 (A) 跨上皮电阻 (TEER) 和 (B) ALI培养物离子通道活动的代表性特征。阿米洛利: ENaC抑制剂。IBMX和毛喉素: CFTR激活剂。染料木黄酮: CFTR增效剂。CFTRinh-172: CFTR抑制剂。UTP: 钙激活氯离子通道 (CaCC) 激活剂。所有ALI分化培养使用PneumaCult™-ALI培养基。



操作流程

扫码查看HBEC的扩增培养研究方案

www.stemcell.com/HBEC-Expansion



操作流程

扫码查看如何测量ALI培养物中的TEER

www.stemcell.com/TEER-Protocol

人原代呼吸道上皮细胞在气液界面的分化

气液界面 (ALI) 培养体系

ALI培养是人呼吸道培养最典型的模型之一。使用PneumaCult™-Ex或PneumaCult™-Ex Plus培养基可对原代人支气管上皮细胞 (HBEC) 或人小呼吸道上皮细胞 (HSAEC) 进行浸没培养, 使用PneumaCult™-ALI培养基或PneumaCult™-ALI-S培养基对分化的HBEC或HSAEC进行ALI培养。

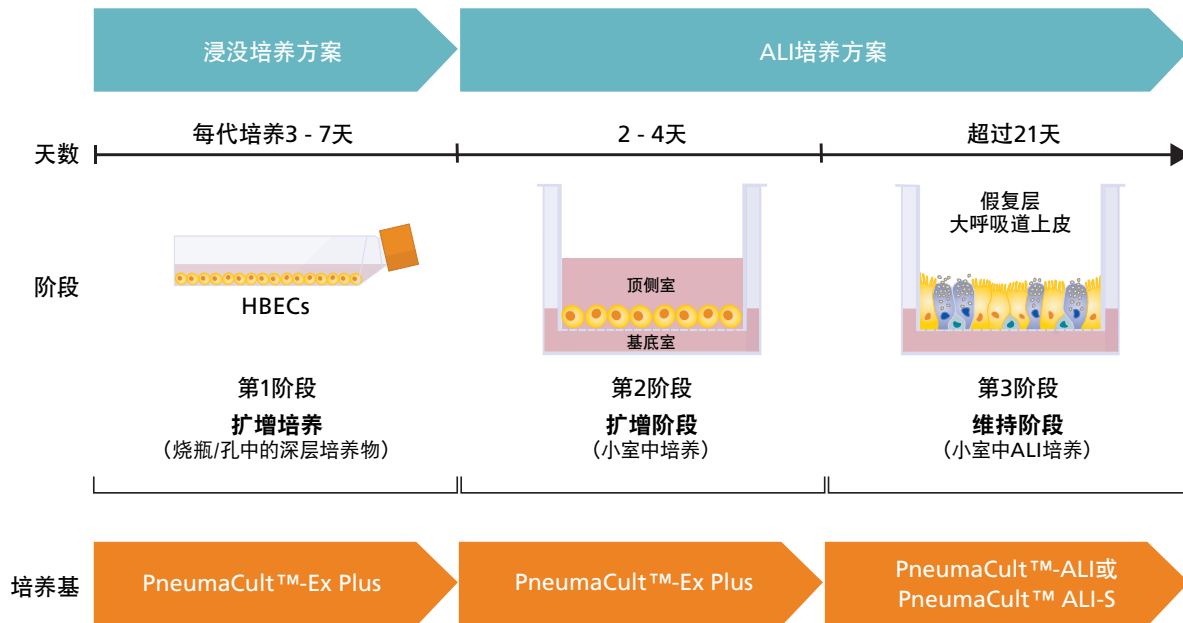


图8. PneumaCult™气液界面培养体系概览

使用PneumaCult™-Ex Plus培养基扩增HBEC或HSAEC。在ALI培养的“扩增阶段”将PneumaCult™-Ex Plus培养基添加至顶侧室和基底室。达到一定细胞汇合度后, 吸出培养基并仅将PneumaCult™-ALI培养基 (适用于HBEC) 或PneumaCult™-ALI-S培养基 (适用于HSAEC) 添加至基底室, 进行气提。培养21-28天后, 细胞分化为假复层 (大呼吸道) 或立方形 (小呼吸道) 粘液纤毛上皮细胞, 并且可以维持一年以上。

PneumaCult™-ALI培养基

PneumaCult™-ALI培养基是一种不含血清和牛垂体提取物 (BPE) 的培养基, 用于在ALI中培养HBEC。在PneumaCult™-Ex Plus培养基中扩增并在PneumaCult™-ALI培养基中分化的HBEC经过粘膜纤毛分化形成假复层上皮 (图9A), 表现出与体内人呼吸道相似的形态和功能特征 (图9B)。

完全分化后, 在PneumaCult™-ALI培养基中分化的HBEC的ALI培养物表达大呼吸道 (气管支气管上皮细胞) 的特征性关键标志物, 包括纤毛细胞、分泌粘液的杯状细胞和顶端紧密连接状态 (图10)。

大呼吸道在体内的一个重要功能是充当阻挡有害物质吸入的保护屏障。通过表达紧密连接蛋白和形成高TEER, 证实使用PneumaCult™-ALI培养基生成的ALI培养物具有与体内人呼吸道相同的上皮屏障功能 (图9A)。

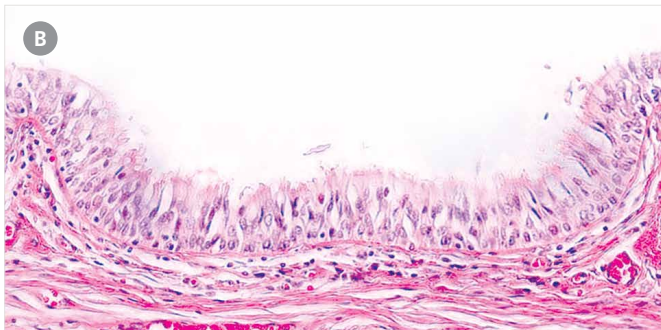


图9. 在ALI培养的原代人支气管上皮细胞与体内组织具有相似的形态和功能特征

苏木精和曙红 (H&E) 染色显示, 在PneumaCult™-Ex Plus培养基中扩增并使用 (A) PneumaCult™-ALI培养基分化的细胞可形成假复层上皮, 再现体内支气管上皮形态 (B)。

为什么使用PneumaCult™-ALI培养基?

生理相关。可高度再现体内人呼吸道的假复层上皮

重复性高。成分确定, 最大限度提高实验可重复性

操作便捷。方法经过优化, 简单易上手

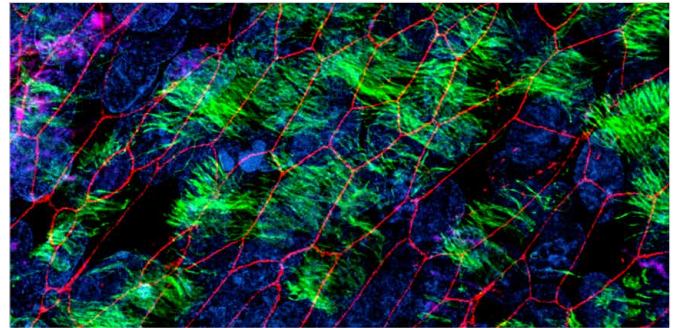


图10. PneumaCult™-ALI培养基能够将人支气管上皮细胞分化为大呼吸道上皮的细胞类型

在PneumaCult™-Ex Plus中扩增的第2代囊性纤维化 HBECs, 用PneumaCult™-ALI培养基进行分化, 28天后进行共聚焦显微镜成像。对ALI培养物进行固定, 对纤毛细胞 (AC-tubulin; 绿色)、ZO-1 (细胞连接; 红色) 和杯状细胞 (Muc5AC; 粉色) 进行染色。细胞核用DAPI (蓝色) 复染。以上图像使用63倍物镜成像。



操作流程

如何分化HBEC

www.stemcell.com/HBEC-Differentiation

PneumaCult™-ALI-S培养基

截至目前，ALI培养的临床和基础科学应用主要集中在构建人支气管上皮细胞的体外培养模型。然而，越来越多的证据表明小呼吸道上皮（SAE）与慢性阻塞性肺病（COPD）、哮喘、特发性肺纤维化、囊性纤维化（囊性纤维化）和大多数肺癌等重大肺部疾病的发病机制息息相关^{17,18}。与大呼吸道的假复层上皮相比，小呼吸道上皮厚度更薄，由基底细胞、分泌细胞、纤毛细胞和表面活性蛋白阳性细胞组成。^{17,18}此外，小呼吸道中的细胞群在构成比例及生物学特性都与大呼吸道中的细胞群不同。小呼吸道细胞群中纤毛细胞和产生分泌球蛋白的棒状细胞占比较高，而产粘液的杯状细胞比例较低^{17,19}。考虑到大呼吸道和小呼吸道之间的生理位置差异，构建小呼吸道研究模型往往需要根据特定的培养条件来优化与改进。

PneumaCult™-ALI-S培养基是一种不含血清和BPE的分化培养基，为ALI培养HSAEC而进行特定优化。HSAEC在PneumaCult™-Ex Plus培养基中扩增并在PneumaCult™-ALI-S培养基中培养，经历完全的粘膜纤毛分化，形成了薄薄的、由立方状上皮细胞组成的上皮组织（图11），表现出体内人小呼吸道相似的形态和功能特征。

PneumaCult™-ALI-S培养基和PneumaCult™-Ex Plus培养基构成一套完整的无血清和无BPE培养体系，用于人小呼吸道的体外培养。

完全分化后，在PneumaCult™-ALI-S培养基中分化的HSAEC的ALI培养物表达小呼吸道上皮的关键标志物，包括纤毛细胞、棒状细胞和分泌蛋白（图12和13）。



实验干货

ALI培养物ICC染色方案

www.stemcell.com/ALI-ICC-Staining



技术视频

如何将TEER值与ALI培养形态相关联

www.stemcell.com/TEER-Video

PneumaCult™-ALI-S的优势

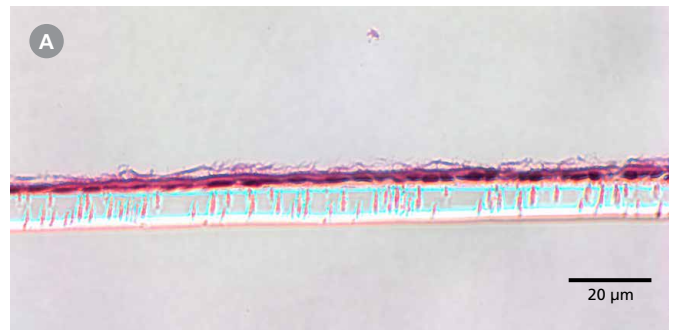
高生理区域特异性。分化的ALI培养物具有小呼吸道上皮细胞的形态学和细胞构成比例。

高生理学相关性。体外培养的人小呼吸道上皮细胞培养物保留体内小呼吸道的形态学和功能性特征。

培养体系完善。PneumaCult™-Ex Plus培养基实现扩增、维持培养和分化小呼吸道上皮细胞。

重复性高。无血清及牛垂体提取物，减少实验误差，确保实验数据一致、可重复。

PneumaCult™-ALI-S培养基



PneumaCult™-ALI培养基

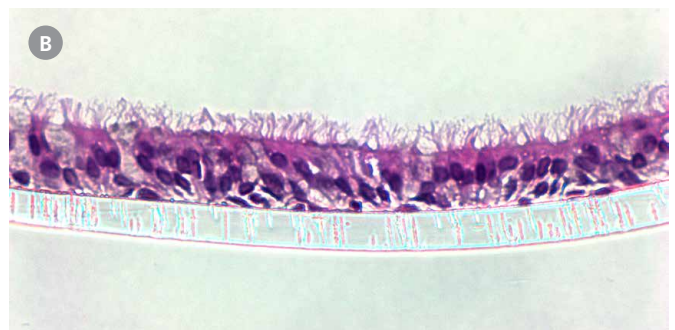


图11. ALI培养的HSAEC分化形成具有小呼吸道上皮特征形态的结构

第3代HSAEC分别在(A) PneumaCult™-ALI-S或(B) PneumaCult™-ALI中进行ALI培养。分化28天后，HSAEC在PneumaCult™-ALI-S中分化形成薄薄的、由立方状细胞组成的上皮组织，表现出体内小呼吸道上皮的特征。将ALI培养物固定，石蜡包埋并切片后用H&E染色。以上图像均使用40倍物镜拍摄。培养小室厚度为10 μm。比例尺 = 20μm。

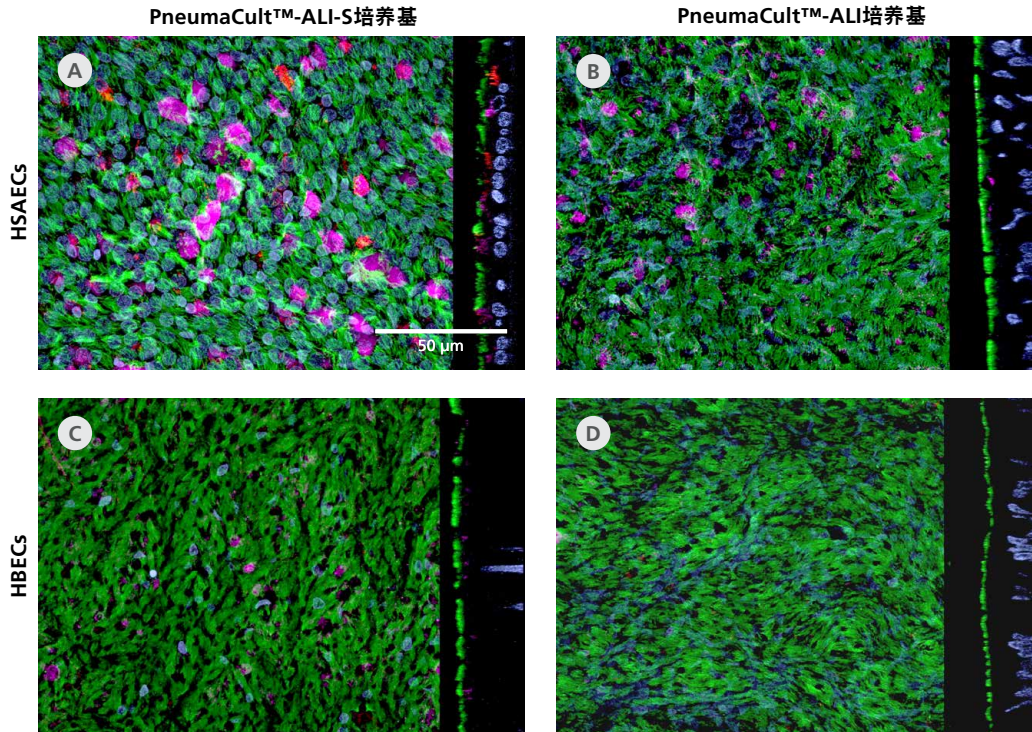


图12. 在PneumaCult™-ALI-S培养分化下的HSAECs表达小气道上皮标志物

第3代HSAECs和HBECs分别在 (A, B) PneumaCult™-ALI-S或 (C, D) PneumaCult™-ALI中进行ALI培养, 分化28天后, 全嵌入免疫组化染色的Confocal代表性图像。将ALI培养物固定, 并用对纤毛细胞 (AC-tubulin; 绿色), club细胞 (SCGB1A1; 品红色), 以及分泌蛋白 (SCGB3A2; 红色) 进行染色。细胞核用DAPI (蓝色) 复染。小气道标志物, SCGB1A1和SCGB3A2, 在PneumaCult™-ALI-S培养下HSAECs中的表达量高于在PneumaCult™-ALI培养下的HSAECs以及在PneumaCult™-ALI-S或PneumaCult™-ALI培养下的HBECs。以上图像均使用63倍物镜拍摄。比例尺 = 50 μm。

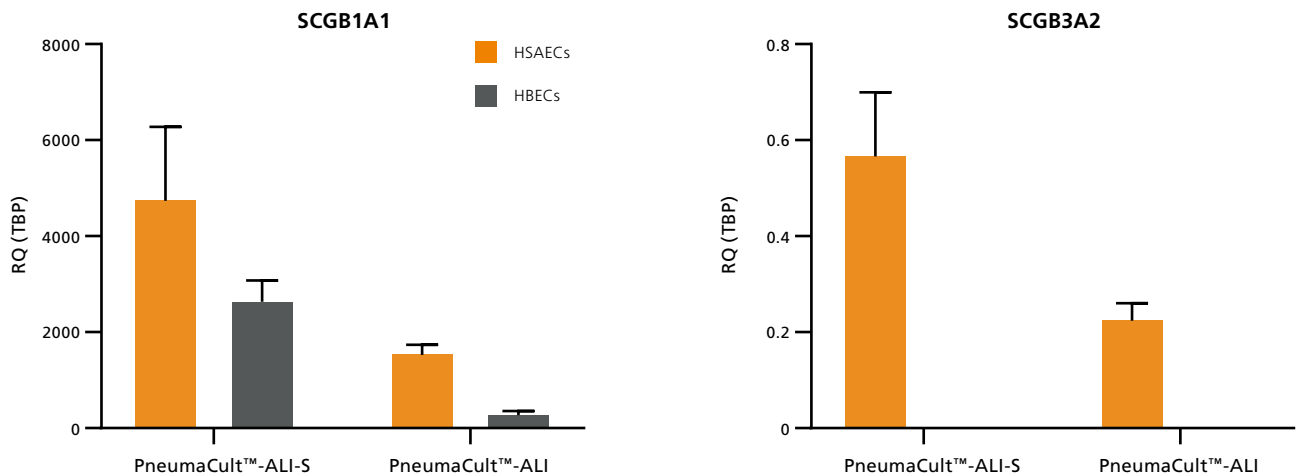


图13. 使用qPCR分析小气道表皮标志物, PneumaCult™-ALI-S培养下的HSAECs相对表达量高于在PneumaCult™-ALI培养下的HSAECs相对表达量

第3代HSAECs和HBECs分别在PneumaCult™-ALI-S或PneumaCult™-ALI中进行ALI培养。分化28天后, 对ALI培养物进行小气道标志物 (A) SCGB1A1和 (B) SCGB3A2的qPCR分析。目的基因表达相对管家基因TBP进行标准化处理, 并表达为相对数量 (relative quantity, RQ)。SCGB1A1和SCGB3A2在PneumaCult™-ALI-S培养下HSAECs中的相对表达量高于在PneumaCult™-ALI培养下的HSAECs以及在PneumaCult™-ALI-S或PneumaCult™-ALI培养下HBECs中的相对表达量。未检测到SCGB3A2在HBECs (PneumaCult™-ALI-S或PneumaCult™-ALI) 中的相对表达量。

PneumaCult™-ALI-S培养基与其他市售的分化培养基相比有何不同?

这里比较HSAECs在PneumaCult™-ALI-S和市售商品化培养基中ALI的分化效果。结果发现, 在PneumaCult™-ALI-S中培养的HSAECs表现出更高的细胞异质性(图14A) 和TEER值(代表分化成熟度, 图14B)。

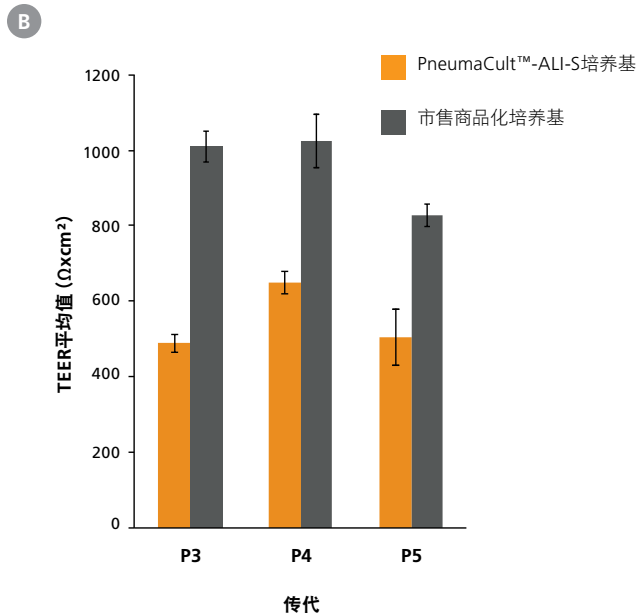
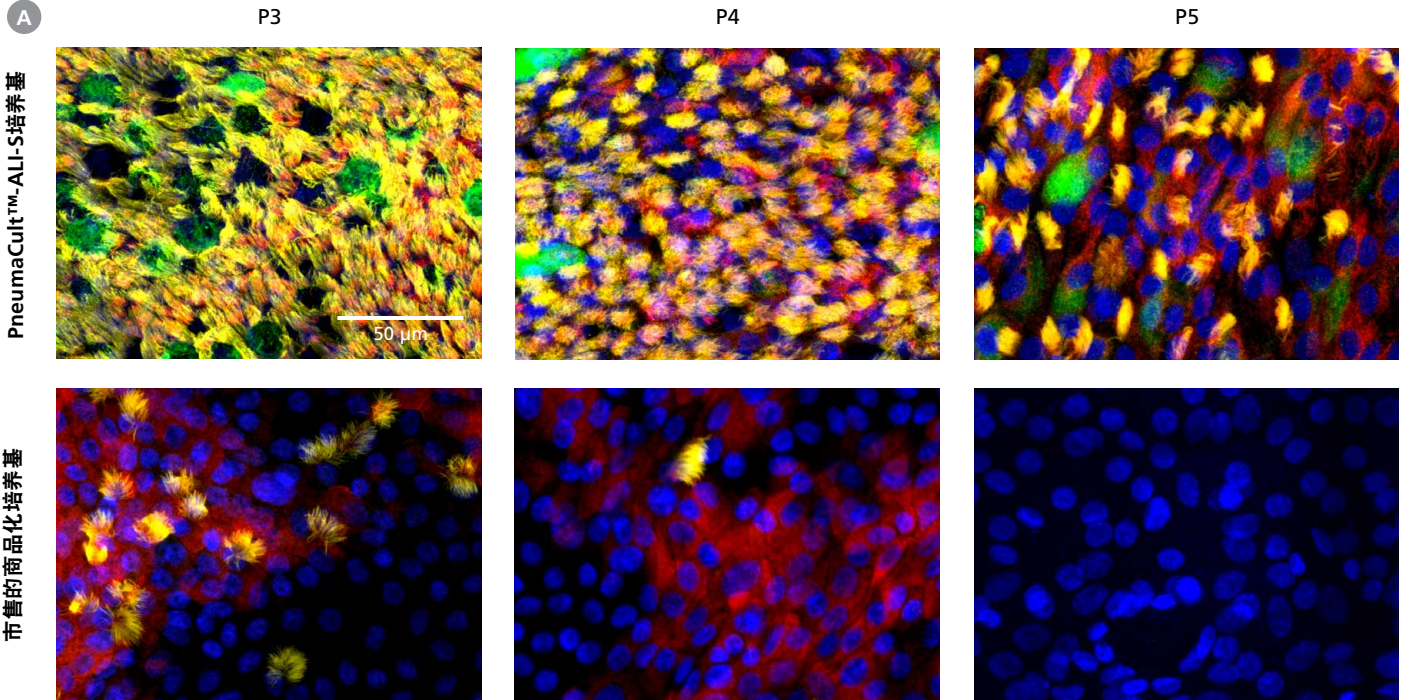


图14. 在PneumaCult™-ALI-S中培养的HSAECs, 显示出更高的细胞异质性和分化成熟度

(A) 第3-5代HSAECs分别在PneumaCult™-ALI-S或市售商品化培养基中进行ALI培养, 分化28天后, 进行共聚焦显微镜成像。ALI培养28天后进行固定, 并对纤毛细胞 (AC-tubulin; 黄色)、club细胞 (CC10; 绿色) 以及分泌蛋白 (SCGB3A2; 红色) 进行染色。细胞核用DAPI (蓝色) 复染。(B) 与市售商品化培养基相比, 在PneumaCult™-ALI-S中培养的HSAECs的TEER值说明其分化成熟度更高。比例尺 = 50 μm。

细胞培养小室

细胞培养小室是ALI培养体系重要组成部分, 细胞培养小室的质量和类型对ALI培养的性能有显著影响。STEMCELL提供多种经过验证与优化的高质量细胞培养小室, 适用于PneumaCult™-ALI培养体系。

Transwell®细胞培养小室

Transwell®细胞培养小室可用于ALI条件下培养呼吸道上皮细胞。比较Transwell®细胞培养小室和市售相同规格和材料的细胞培养小室的性能, 并同样使用PneumaCult™-ALI培养基原代HBECs, 结果发现使用Transwell®细胞培养小室产生的ALI培养物的分化程度更高(图15)。qPCR分析也表明, 在Transwell®细胞培养小室中培养的ALI培养物, 其杯状细胞和纤毛细胞的表达量更高(图16)。

PneumaCult™-ALI培养基搭配Transwell®细胞培养小室的优势

充分验证。高质量的ALI培养形态和上皮细胞标志物的高表达。

兼容性高。搭配PneumaCult™在ALI上构建人呼吸道类器官。

体系完善。可搭配PneumaCult™-Ex Plus和PneumaCult™-ALI 培养基, 对呼吸道进行体外建模。

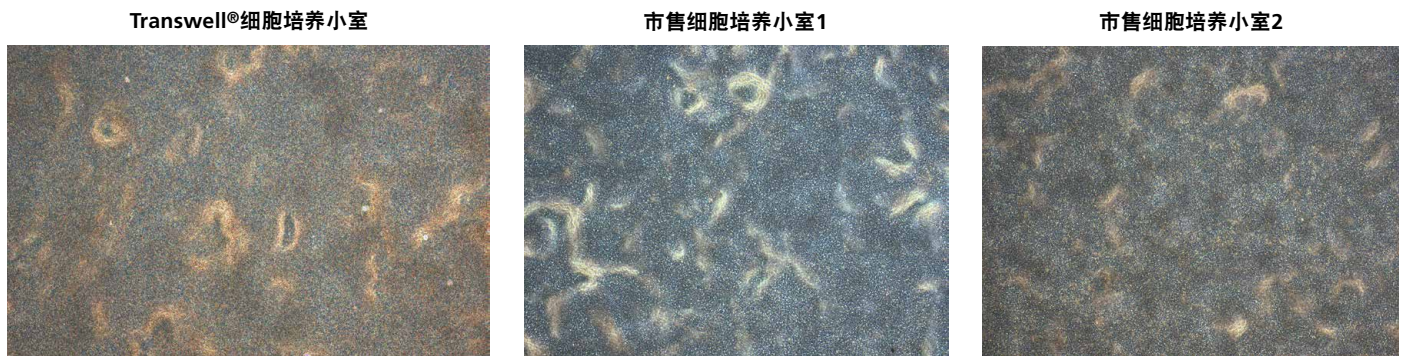


图15. 在Transwell®细胞培养小室上培养的HBECs的分化程度更高

在PneumaCult™-Ex培养基中扩增的HBECs在P3时接种至Transwell®细胞培养小室, 随后在PneumaCult™-ALI培养基中分化21天, 并与相同材料和孔径的其他市售细胞培养小室进行比较。

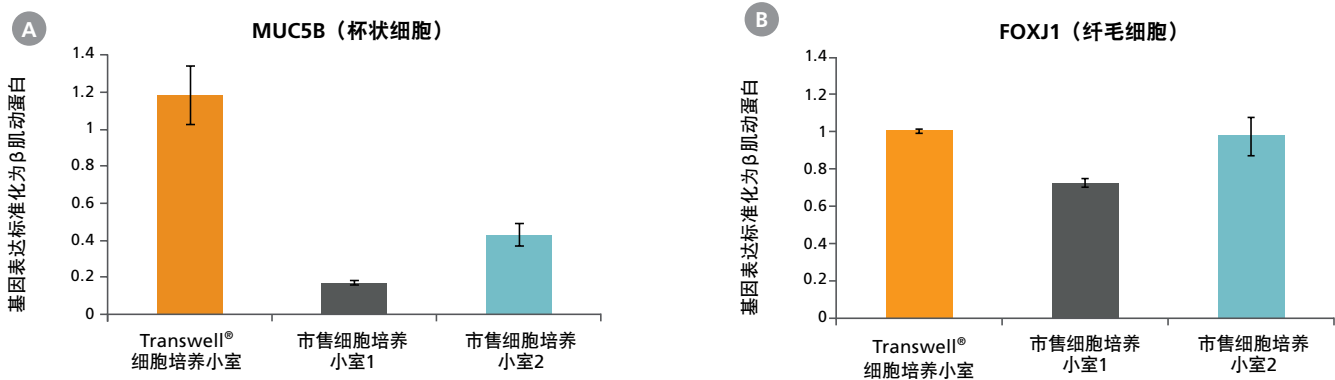


图16. 使用Transwell®生成的HBECs具有更高的上皮标志物表达

在PneumaCult™-Ex培养基中扩增的HBECs在P3时接种至Transwell®细胞培养小室, 并在PneumaCult™-ALI培养基中分化21天。利用qPCR检测(A)杯状细胞(MUC5B)和(B)纤毛细胞(FOXJ1)的基因表达水平, 并用β-actin进行标准化。上图显示与相同材料和孔径的其他市售细胞培养小室进行比较的结果。

CELLTREAT®细胞培养小室

CELLTREAT®聚乙烯膜细胞培养小室支持锚点依赖性和非锚点依赖性细胞的生长, 包括在基底外侧表面或共培养体系中培养的细胞。这些可渗透细胞培养小室被推荐用于在气液界面培养呼吸道上皮细胞, 应用于与传染病和遗传病建模、药物发现、毒性检测和上皮细胞生物学相关的研究。使用CELLTREAT®细胞培养小室生成的ALI培养物产生功能性和生理学相关的假复层柱状上皮, 可用于下游检测。

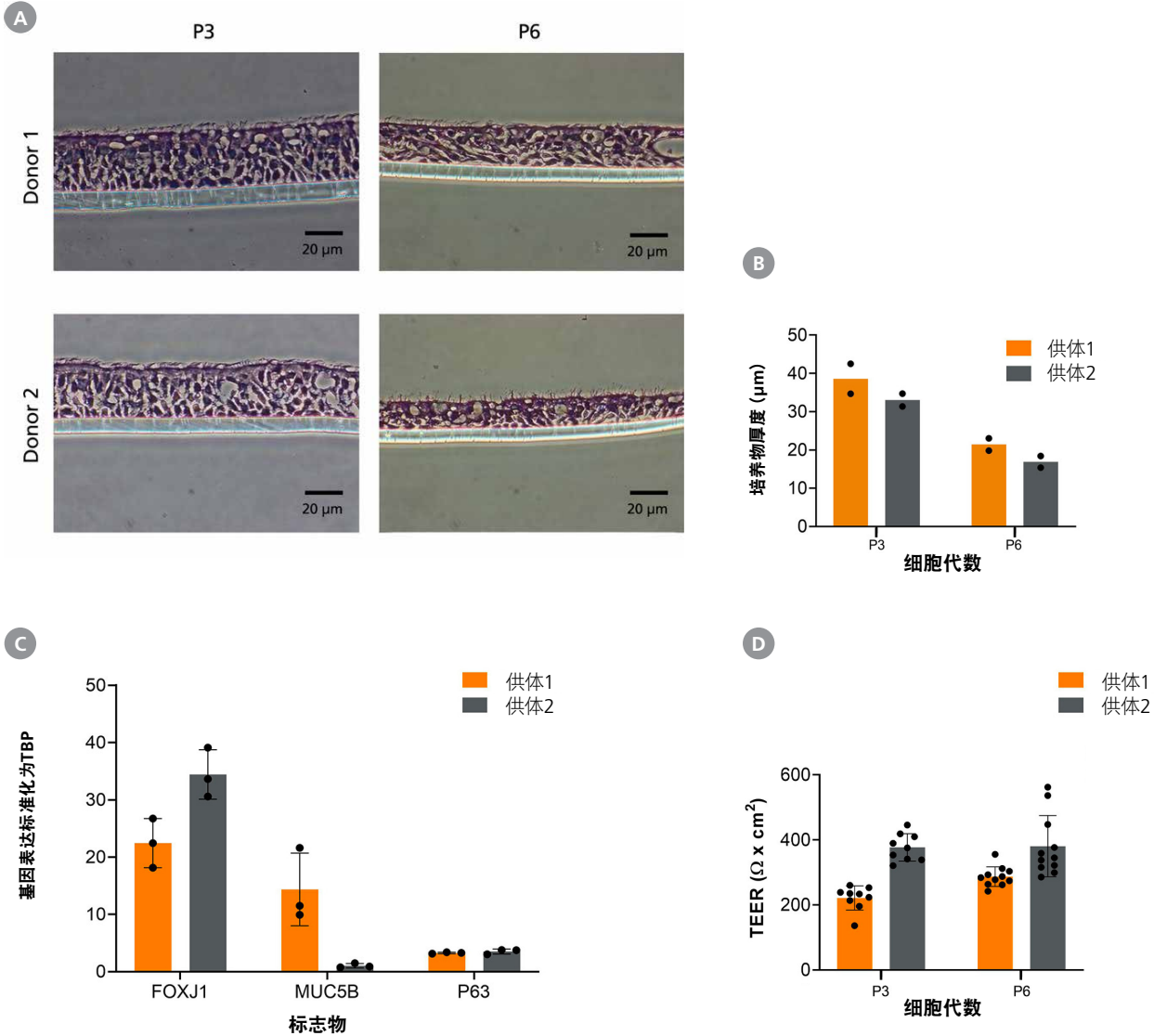


图17. CELLTREAT®细胞培养小室生成的ALI培养物形成假复层柱状上皮, 其中大呼吸道标志物的表达量高并具有最佳屏障功能

在气提4周后, HBEC分化的ALI培养物在早期 (P3) 或后期传代 (P6) 时进行固定。然后将其石蜡包埋、切片, 并用苏木精和曙红 (H&E) 染色。使用CELLTREAT®细胞培养小室生成的培养物在顶端表面出现可见纤毛的假复层柱状上皮。随着HBEC传代次数增加, 观察到ALI培养物厚度变薄。(A) 代表性H&E染色横截面; (B) ALI培养物厚度 (n = 2个来自单个实验的重复孔)。(C) 通过qPCR评估纤毛细胞 (FOXJ1)、杯状细胞 (MUC5B) 和基底细胞 (P63) 的大呼吸道标志物的表达, 并针对管家基因TBP进行标准化。误差线代表标准差 (n = 3个来自单次实验的重复孔)。(D) 在气提后4周, 对早期 (P3) 或后期传代 (P6) 时HBECs分化的ALI培养物进行TEER测量。针对空白孔校正数值。结果显示, 供体的TEER平均值在正常生理水平 (200 - 800 Ω x cm²) 内, 表明培养分化处于较佳状态。误差线代表标准差 (n ≥ 9个来自单次实验的重复孔)。

人原代呼吸道上皮细胞分化为呼吸道类器官

呼吸道类器官培养体系

呼吸道类器官培养体系是模拟体内呼吸大小呼吸道结构和功能的体外模型。这些模型衍生自人原代支气管或呼吸道上皮细胞，可生成3D培养物，与2D培养物相比，3D培养物更符合体内组织的形态和功能。PneumaCult™呼吸道类器官培养体系灵活兼容性强，可根据研究需求分化成特定的类器官。

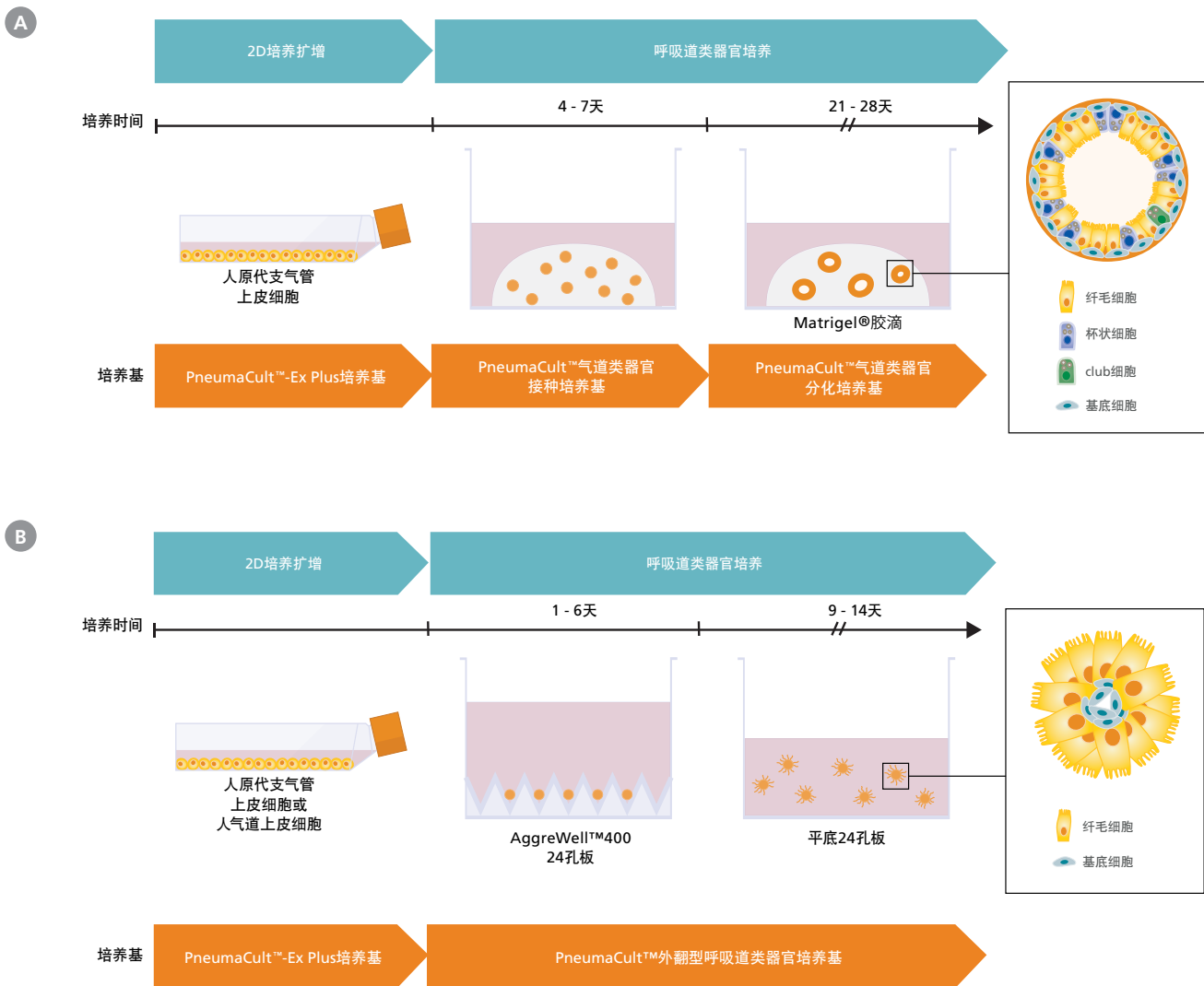


图18. PneumaCult™呼吸道类器官培养体系的概述

(A) 在人呼吸道类器官培养过程的早期2D扩增阶段，使用PneumaCult™-Ex Plus培养基扩增HBECs。然后将HBECs嵌入Matrigel®中并使用PneumaCult™呼吸道类器官接种培养基扩增4 - 7天。扩增完成后使用PneumaCult™呼吸道类器官分化培养基对HBECs再诱导分化21天甚至更长时间。(B) 在外翻型呼吸道类器官培养实验方案的2D扩增阶段，使用PneumaCult™-Ex Plus培养基扩增HBECs或HAECs。然后将HBECs或HAECs涂板至AggreWell™400 24孔板中，并使用PneumaCult™外翻型呼吸道类器官培养基培养1 - 6天。培养结束后将细胞从孔中吸出并将聚集悬液转移到24孔平底板中，并使用PneumaCult™外翻型呼吸道类器官培养基分化9 - 14天，可以生成纤毛跳动的外翻型呼吸道类器官。

PneumaCult™呼吸道类器官试剂盒

PneumaCult™呼吸道类器官试剂盒是一种新型的、不含血清的培养基试剂盒，支持从健康和患病样本中高效生成完全分化的功能性的呼吸道类器官。呼吸道类器官培养提供了一种替代以气液界面 (ALI) 为基础进行体外人呼吸道建模的方法。由于该培养体系不需要使用细胞培养小室,因此适合高通量药物筛选,可用于CFTR调节因子的大规模筛选。完全分化的人呼吸道类器官再现了体内人呼吸道的关键特性,如被极化的呼吸道上皮细胞层包围的含有纤毛细胞和杯状细胞的空心腔。

PneumaCult™呼吸道类器官试剂盒包括PneumaCult™呼吸道类器官接种培养基和PneumaCult™呼吸道类器官分化培养基,前者适用于3D类器官的构建及培养,后者可进一步获得形态上具有代表性和完全分化的人呼吸道类器官。(图19)。

完全分化的人气道器官的形态和功能

使用PneumaCult™-Ex Plus对来自健康和囊性纤维化供者的市售的第一代HAECs进行扩增和连续传代。在第2至5代时,使用PneumaCult™呼吸道类器官接种培养基培养将 2×10^3 HAECs包裹至50 μ L Matrigel®胶滴中(图19A)。扩增7天后,将培养基换成PneumaCult™呼吸道类器官分化培养基(图19B)。细胞分化后,形成的类器官可观察到管腔和管腔内的纤毛跳动(图19C)。

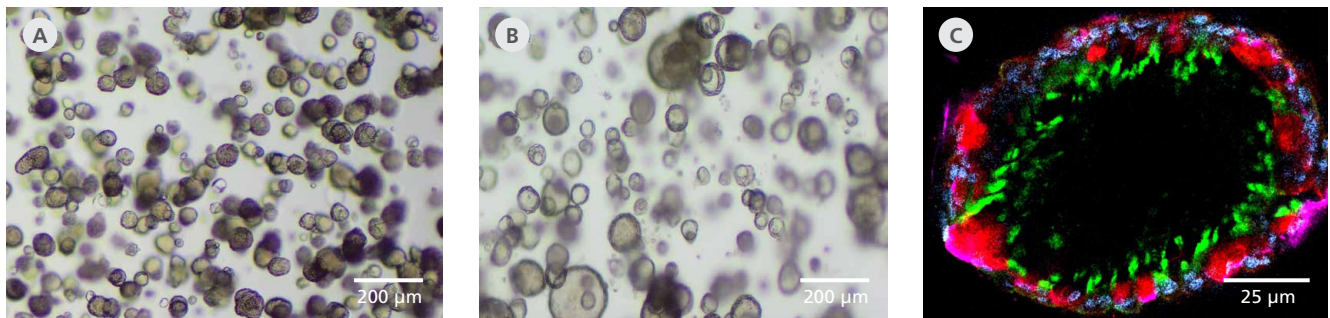


图19. 使用PneumaCult™呼吸道类器官试剂盒生成完全分化的人呼吸道类器官

(A) 在PneumaCult™呼吸道类器官接种培养基中生长的呼吸道类器官的明场图像,在第7天表现出基底细胞球状形态。(B) 在PneumaCult™呼吸道类器官分化培养基中分化的呼吸道类器官,第21天表现出中空的腔体。(C) 使用ZO-1(连接蛋白标志物,红色),MUC5AC(杯状细胞标志物,紫色),ACTubulin(纤毛细胞标志物,绿色),和DAPI(细胞核,蓝色)对呼吸道类器官进行染色。比例尺 = (A - B) 200 μ m和(C) 25 μ m。



技术资源

了解肺类器官培养

www.stemcell.com/lung-organoids

如您将此产品用于商业目的,请通过www.huborganoids.nl官网联系HUB以获得商业使用许可等说明

PneumaCult™呼吸道类器官试剂盒的优势

生理相关。三维体外系统再现了体内人呼吸道。

优化。人呼吸道上皮细胞扩增和分化的完整系统,与PneumaCult™-Ex Plus兼容。

可靠。严格的原材料筛选和广泛的质控测试确保了高度的可重复性和最小的批次间差异性。

方便使用。不依赖于细胞培养小室,操作方便。

利用PneumaCult™呼吸道类器官试剂盒生成健康和囊性纤维化的完全分化的呼吸道类器官，使用DMSO或20 μM amiloride、10 μM forskolin、25 μM genistein对其作用6小时，观察forskolin诱导的膨大现象。测量类器官的表面区域（图20A和20B）。使用预冷的Corning®细胞复苏试剂收集类器官。在ACCUTASE™中酶解成单细胞悬液后进行细胞计数。健康（图21A）和囊性纤维化供者（图21B）来源的类器官中，从P3到P5，纤毛细胞的百分比稳定上升。

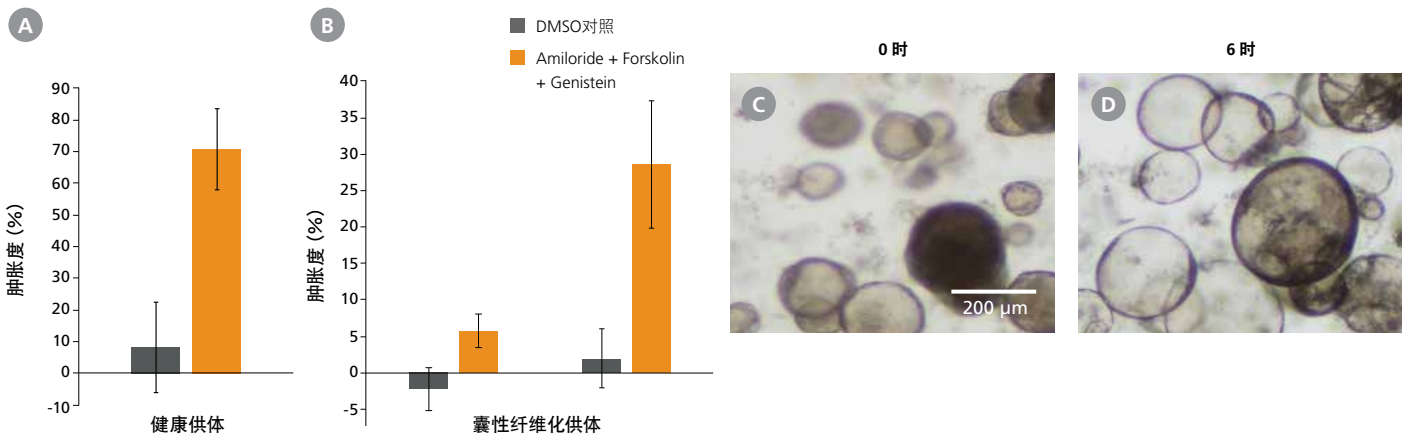


图20. 呼吸道类器官可通过使用forskolin诱导的肿胀试验来评估CFTR蛋白表达

(A) 与DMSO对照组相比，来自健康供者的类器官经forskolin处理后明显膨大，表明CFTR蛋白的功能性表达。(B) 来自CF供体的类器官不具有forskolin诱导的膨大现象，但在VX-809处理的呼吸道类器官中重新建立。误差条代表平均值的±95%置信区间 (n = 3)。在(C) 0小时和(D) 6小时的forskolin膨大实验期间拍摄的呼吸道类器官的明场图像显示，药物治疗后，类器官重新具有了膨胀应答。比例尺 = 200 μm。

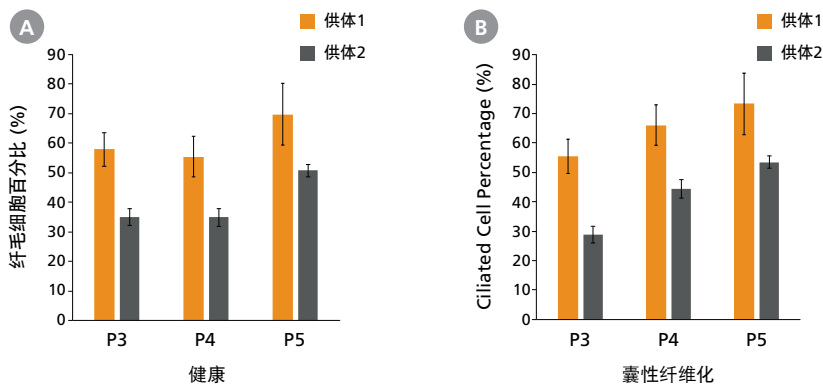


图21. 完全分化的呼吸道器官在传代后依旧保持形态特征

使用PneumaCult™呼吸道类器官试剂盒培养从(A) 健康和(B) 囊性纤维化供者来源的类器官，从P3到P5，纤毛细胞的百分比稳定上升。用细胞计数板进行总细胞和纤毛细胞计数。误差线代表平均值的±95%置信区间 (n = 3)。

PneumaCult™外翻型呼吸道类器官培养基

PneumaCult™外翻型呼吸道类器官培养基是一种不含血清和BPE的细胞培养基,支持在15天内从人支气管上皮细胞(HBEC)或人呼吸道上皮细胞(HAEC)中高度可重复地生成外翻型呼吸道类器官。这些极化的呼吸道类器官具有向外的分化纤毛细胞,因此可以方便作用于呼吸道上皮细胞的顶端,用于进行传染病建模或高通量药物筛选。关于完整的外翻型呼吸道类器官的培养工作流程,可于类器官培养开始之前,首先在PneumaCult™-Ex Plus培养基中扩增HBEC或HAEC。

PneumaCult™外翻型呼吸道类器官培养基的优势

方便。方便作用于呼吸道上皮细胞的顶端侧。

无基质。使用无Matrigel®方案培养的类器官可无缝衔接用于下游应用。

一致性。在不同供体之间生成的类器官具有一致性。

用户友好。使用方便、不依赖于细胞培养小室和易于操作。

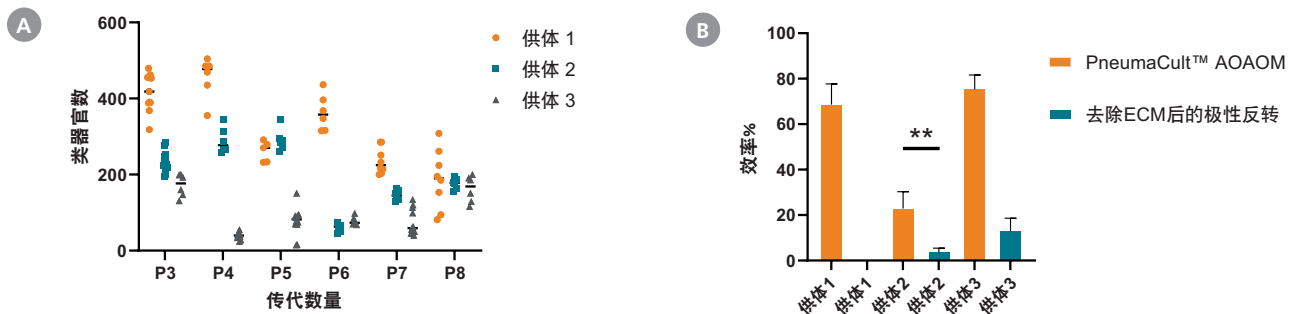


图22. PneumaCult™外翻型呼吸道类器官培养基支持类器官的高效生成

通过接种来自3个供体的第3 - 8代的100个2D扩增细胞来生成外翻型呼吸道类器官。(A) 第15天24孔板每孔生成的类器官数量。每个数据点代表每个独立测量的24孔板的。(B) 两种不同方法(无ECM PneumaCult™外翻型呼吸道类器官工作流程或去除ECM后的极性反转)的效率表示为培养结束时,外翻型呼吸道类器官相对于接种的类器官总数的百分比。

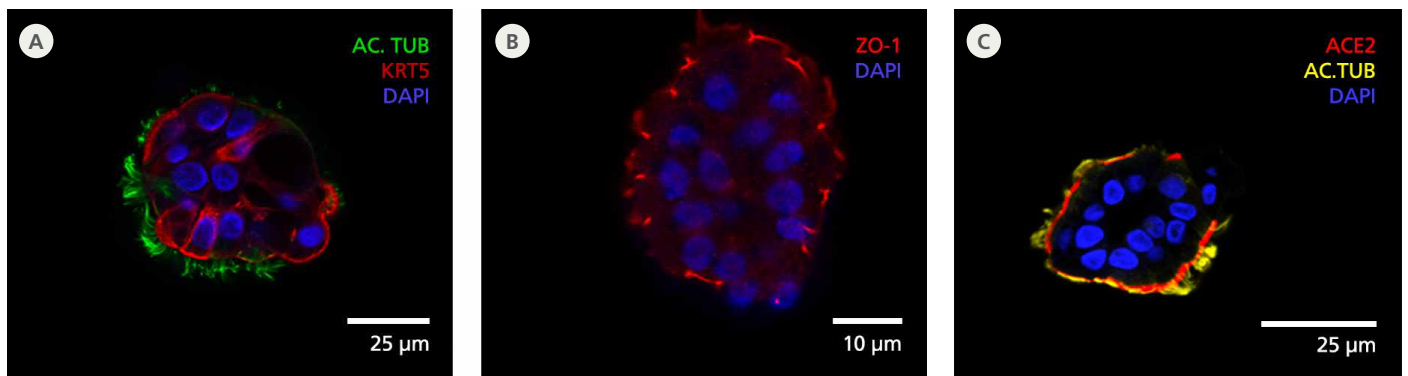


图23. 最终分化的类器官显示出成熟极化的呼吸道上皮

(A) 在PneumaCult™外翻型呼吸道类器官培养基中培养的第15天,外翻型呼吸道类器官含有纤毛细胞,这一点可通过acetylated tubulin (AC. TUB;绿色) 存在于向外的顶端细胞表面上得到证实,而表达角蛋白5 (KRT5;红色) 的基底细胞与纤毛细胞一起存在。(B) 细胞-细胞紧密连接蛋白ZO-1 (红色) 可以很容易地在类器官的顶端可视化。这些结果表明通过多次传代有效地产生了具有顶端向外的类器官。(C) 显示了纤毛细胞标志物acetylated tubulin (AC. TUB;黄色) 和SARS-CoV-2关键进入标志物ACE2(红色)的存在,表明它们可用于模拟SARS-CoV-2引起的呼吸道感染。

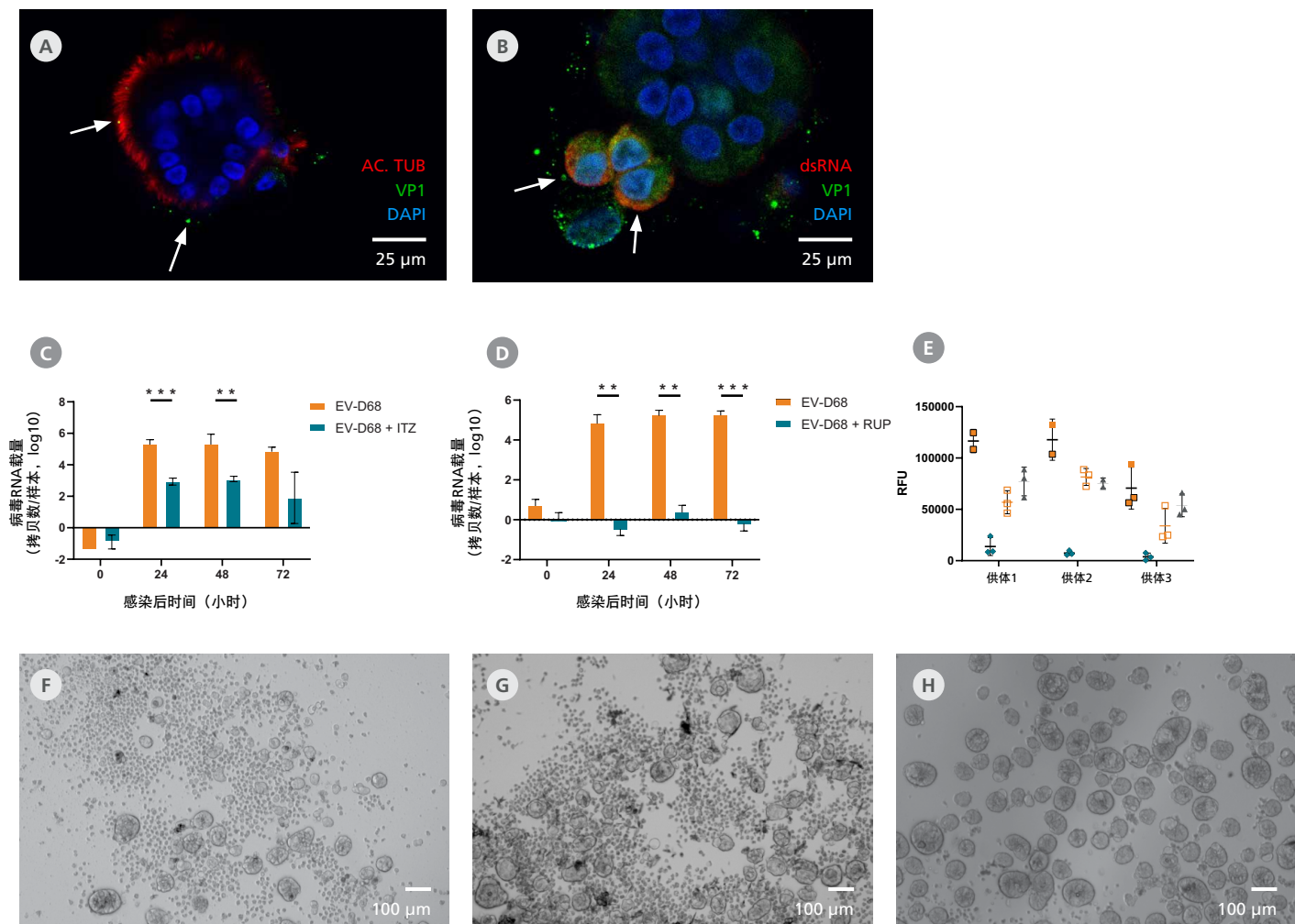


图24. 在伊曲康唑(ITZ)或Rupintrivir(RUP)存在或不存在的条件下,将成熟的类器官与肠道病毒-D68一起孵育以研究抗病毒作用

为了评估PneumaCult™外翻型呼吸道类器官系统是否易感染普通呼吸道病毒,使第15天分化的类器官被肠道病毒D68 (EV-D68) 感染。(A) 在感染后0小时,可以看到EV-D68 (VP1,绿色) 与顶端表面(纤毛细胞;乙酰化微管蛋白;红色)结合。(B) 6小时后,可以识别出含有双链RNA(dsRNA;红色)的细胞,这是病毒复制周期的中间阶段。这些细胞对病毒蛋白呈阳性(VP1,绿色),并且(C和D,橙色条)产生高病毒RNA滴度, E)同时显示细胞病变效应(CPE)。(C,蓝绿色条)用伊曲康唑(ITZ)处理可将病毒RNA水平降低约2个数量级,并且(F)略微改善CPE水平。(D,蓝绿色条)用Rupintrivir(RUP)治疗完全抑制了病毒复制,(G)从而导致没有任何CPE。(H)感染后72小时测量的相对荧光单位(RFU)表明ATP水平和类器官活力发生变化,并显示感染EV-D68后活力急剧下降。使用ITZ能够部分治疗受感染的外翻型呼吸道类器官,而使用RUP则几乎能够完全治疗。**表示 $p < 0.01$, ***表示 $p < 0.001$ ($n = 3$)。

培养肺泡类器官

模拟肺的肺泡区域

肺泡是肺的呼吸单位，位于呼吸道的最远端。肺泡囊由肺泡I型（ATI）和II型（ATII）上皮细胞组成，分别负责气体交换和自我更新。传统的2D贴壁（2D）培养技术由于缺乏维持ATII细胞表型的培养条件，不利于实现长期培养ATII细胞。体外构建肺泡类器官可以用于研究体内人肺泡的区域特异性，适用于肺泡生物学研究、传染病研究和药物筛选。

PneumaCult™肺泡类器官培养基可用于获得成熟和完全分化的类器官，重现体内ATII和ATI细胞的关键特征。

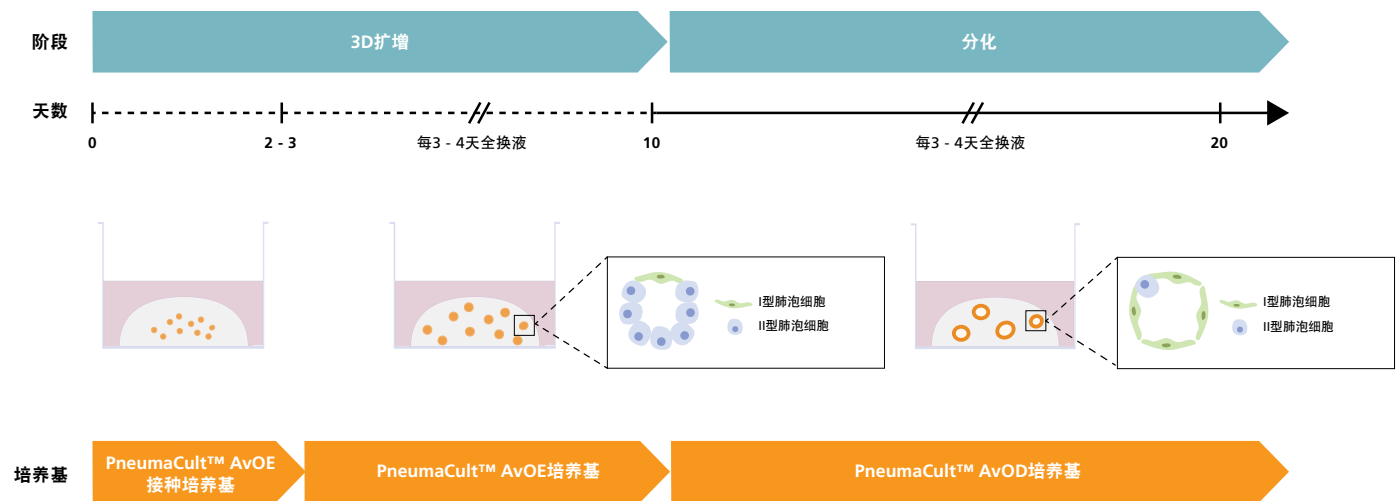


图25. PneumaCult™肺泡类器官体系的概述

PneumaCult™肺泡类器官培养基工作流程是一个两阶段方案。在扩增阶段，将原代分离或冷冻保存的人ATII细胞接种在PneumaCult™肺泡类器官扩增(AvOE)接种培养基中。在第2至3天，在更换全培养基后，使用PneumaCult™ AvOE培养基扩增以获得成熟的ATII类器官。在分化阶段，使用PneumaCult™肺泡类器官分化(AvOD)培养基将ATII类器官再培养10天以生成ATI类器官。

PneumaCult™肺泡类器官培养基

PneumaCult™肺泡类器官扩增 (AvOE) 培养基能够使人肺泡上皮II型 (ATII) 细胞作为类器官长期传代和扩增。这些肺泡类器官保有表明ATII细胞表型的特性,包括自我更新的能力、标志物表达和分化为肺泡上皮I型 (ATI) 细胞的谱系潜力。PneumaCult™肺泡类器官分化 (AvOD) 培养基可在短短10天内将扩增的ATII类器官分化为ATI类器官。分化细胞显示出ATII标志物表达降低和ATI细胞标志物的显著增加。这些肺泡类器官非常适合肺泡生物学研究、传染病研究和药物筛选。PneumaCult™ AvOE和AvOD培养基与原代分离的新鲜或冷冻保存的ATII细胞以及市售的高品质肺泡上皮细胞兼容。

PneumaCult™肺泡类器官培养基的优势

生理相关性。使用体外培养系统模拟人体肺泡生理学,该系统重现了体内ATII和ATI细胞的关键特征。

生物库。利用培养基的生物样本库功能冻存类器官以及重启类器官培养。

高产量。使用支持ATII类器官传代和长期扩增的培养基最大限度地提高初始样本的产量。

简单。使用方便的设计和易于使用的方案生成成熟的ATII和完全分化的ATI类器官。

可靠。使用通过质量控制测试的标准化培养基来确保实验可重复性。

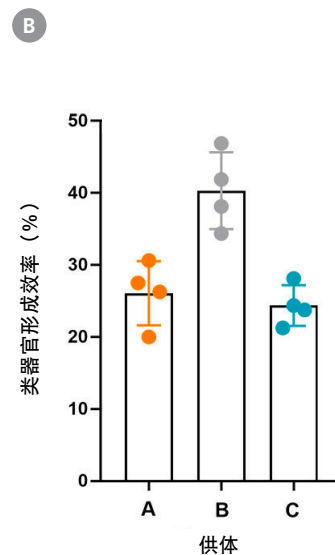
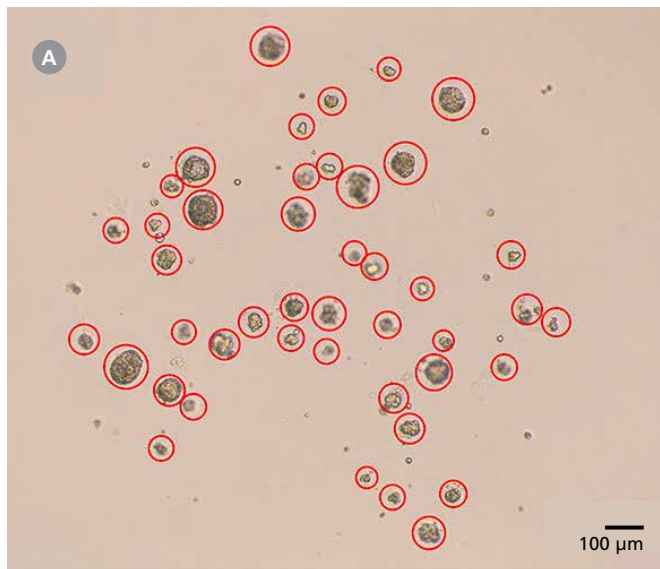


图26. PneumaCult™肺泡类器官扩增培养基支持类器官的高效的类器官形成效率

类器官形成效率 (OFE) 可作为类器官培养物健康状况和培养基性能的功能性衡量指标。ATII类器官在PneumaCult™ AvOE培养基中扩增 (每个胶滴接种160个细胞)。(A) 在第9天使用4X物镜拍摄的明视野图像。图像涵盖整个胶滴,并对形成的每个类器官进行了计数和标记 (总共44个; OFE = 27.5%)。(B) 显示来自三个不同供体的ATII类器官培养物的OFE (平均值±标准差)。OFE = (形成的类器官/接种的细胞) × 100%。



线上研讨会

用类器官模拟肺泡区域

www.stemcell.com/Alveolar-Webinar

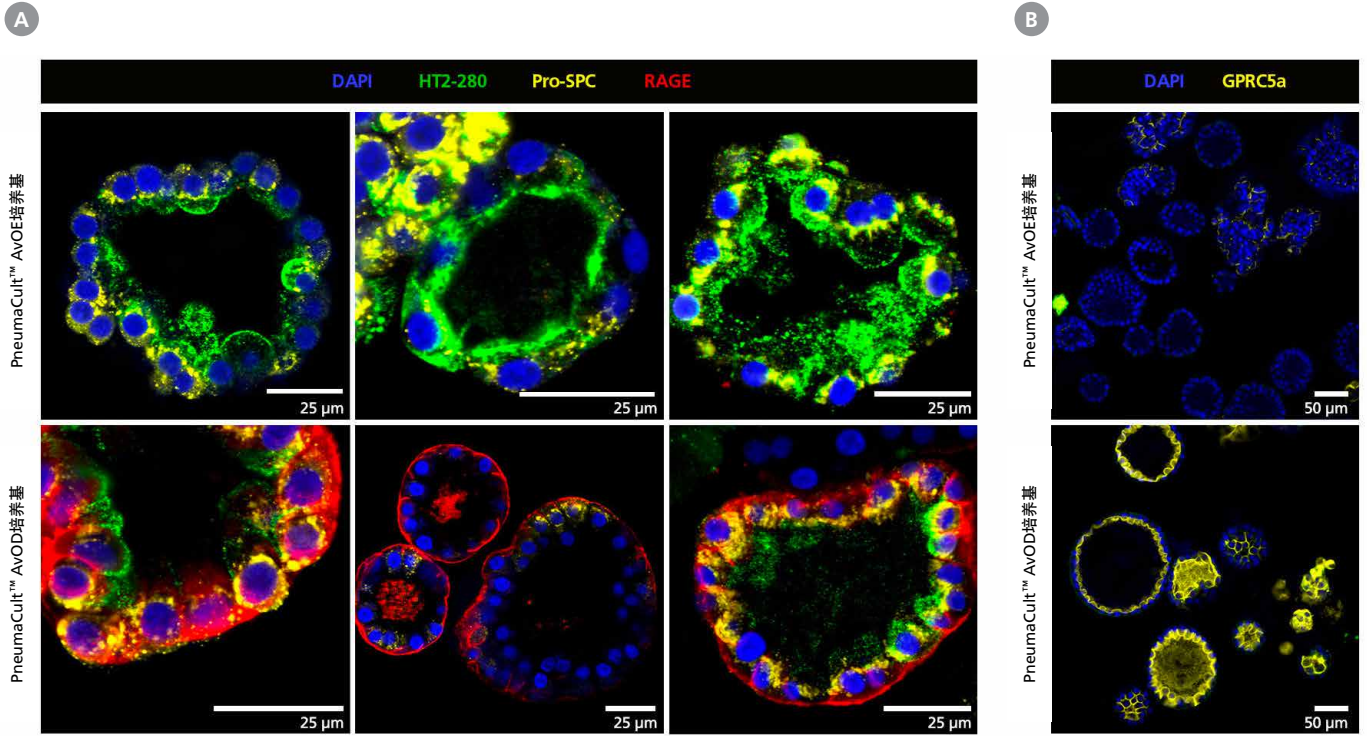


图27. 免疫组织化学实验证实ATII和ATI细胞标志物在肺泡类器官中表达

(A) 来自三个供体的类器官在PneumaCult™ AvOE培养基(上)中扩增,表达ATII标志物HT2-280(绿色)和表面活性剂蛋白C(pro-SPC,黄色)。当在PneumaCult™ AvOD培养基(底部)中进一步分化时,这些ATII标志物的水平被下调,而ATI标志物RAGE(红色)被上调。(B) 分化的类器官也表达高水平的ATI标志物GPRC5a(黄色)。

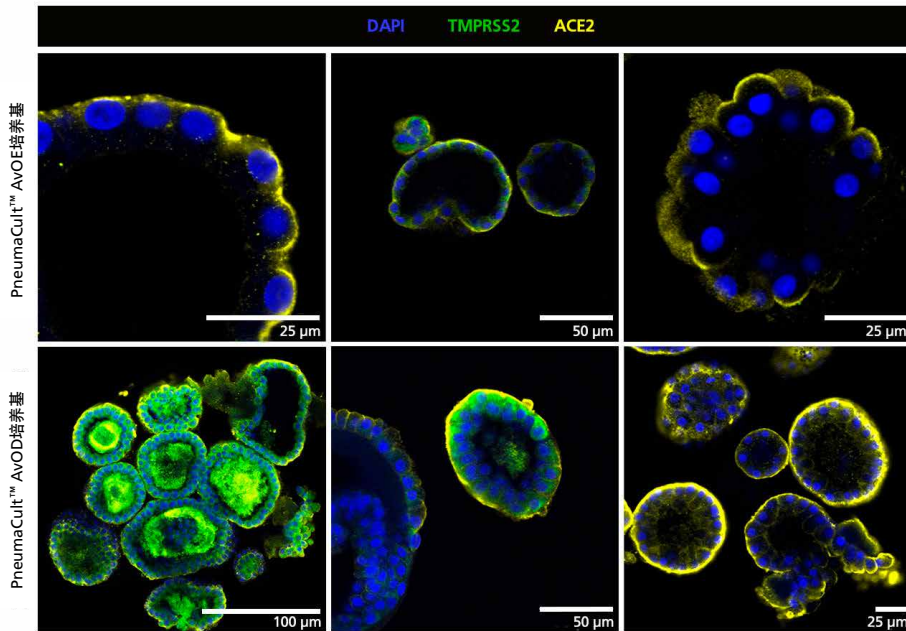


图28. 在PneumaCult™肺泡类器官培养基中培养类器官表达SARS-CoV-2进入的关键标志物,TMPRSS2和ACE2

来自三名供体的类器官在PneumaCult™ AvOE培养基(上)中扩增,并在PneumaCult™ AvOD培养基(下)中分化,表达与SARS-CoV-2进入相关的蛋白质TMPRSS2和ACE2。虽然ACE2在所有供体和条件下均有表达,但TMPRSS2表达依赖于供体。

研究方案: 如何从ATII类器官培养肺泡单层细胞

正确的肺泡模型对于研究有关肺泡间隙的应用至关重要。STEMCELL的PneumaCult™肺泡类器官培养体系, 可以实现从ATII类器官生成肺泡单层细胞以促进气液界面 (ALI) 培养, 并更容易进入顶端表面。

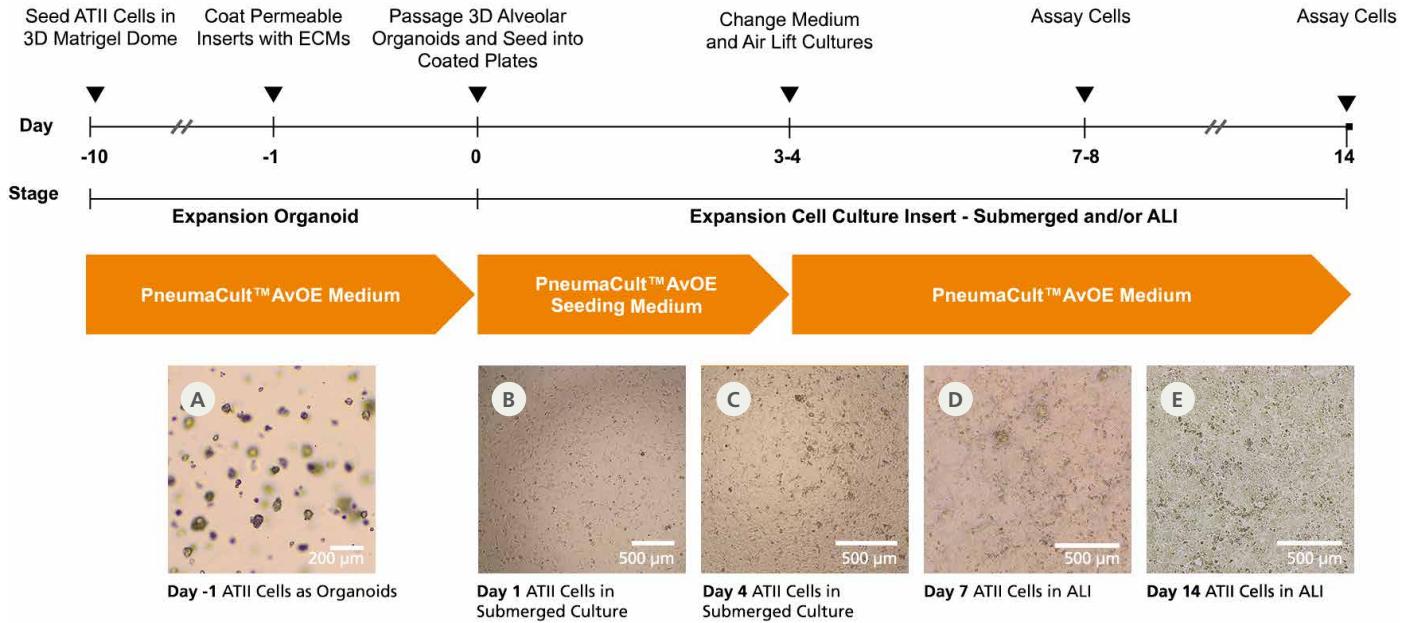


图29. 在气液界面生成ATII培养物

ALI在细胞培养细胞培养小室上生成ATII培养物包含两个阶段实验方案。(A) 在第一阶段, 原代离体或冷冻保存的人ATII单细胞接种在PneumaCult™肺泡类器官扩增 (AvOE) 培养基中, 培养10天。接种之前, 细胞培养小室先进行2种细胞外基质 (ECMs) 的包被。(B) 从扩增的ATII类器官中获得单细胞, 并接种到经处理过的细胞培养小室中, 并在PneumaCult™肺泡类器官接种培养基中培养3 - 4天。(C) 达到一定的细胞汇合度时, 可以进行ALI培养, 并 (D) 在第7天进行检测或 (E) 再培养10天。

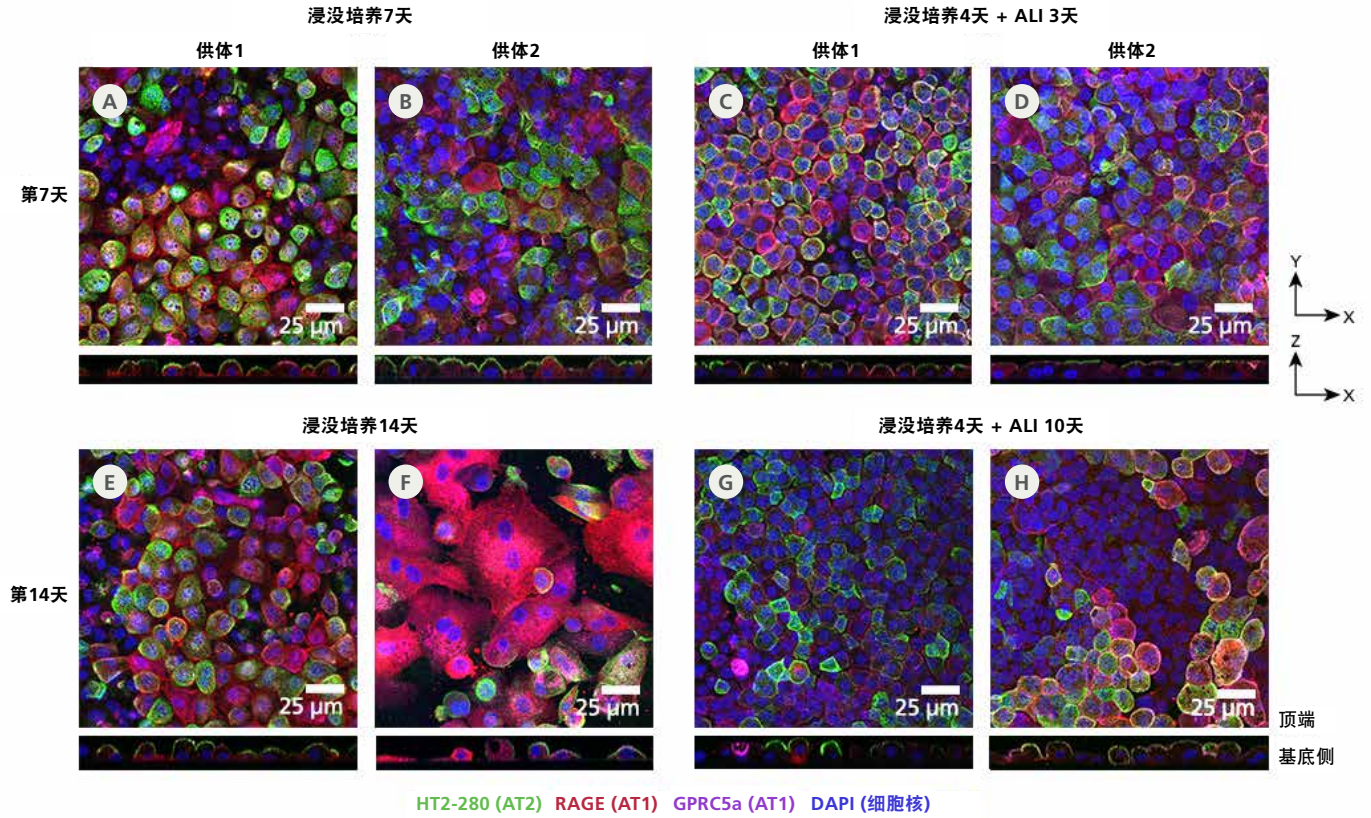


图30. 浸没培养或ALI培养7天时，ATII细胞显示出最佳的标志物表达水平

来自两个不同供体的ATII细胞被接种到ECM包被细胞培养小室中，培养至第7天或第14天。第4天，将培养物置于ALI并再培养（C, D）3天或（G, H）10天。在4% PFA中将细胞固定在膜上，并针对ATII特异性标志物HT2-280（绿色）以及AT1特异性标志物RAGE（红色）和GPRC5a（洋红色）进行染色，并用DAPI（蓝色）进行复染。在（A, B）浸没和（C, D）ALI中培养7天后的两个供体表达HT2-280和RAGE以及少量GPRC5a。在（E, F）浸没培养中额外培养7天后HT2-280减少和RAGE增加，表明其分化为AT1细胞。（G, H）在ALI中再培养7天后HT2-280有所降低，但其表达比在浸没培养条件下更稳定。这些数据表明，ATII细胞在细胞培养小室上的理想培养条件是7天（C和D图所示）；但这些培养物仍然可以维持长达14天（ALI为10天），并且ATII标志物表达变化甚微。其中XY和ZX图的比例相同。



研究方案

如何培养肺泡单层细胞

www.stemcell.com/AT2-Protocol

培养hPSC衍生的肺类器官

STEMdiff™肺祖细胞试剂盒

STEMdiff™肺祖细胞试剂盒是一种无血清培养基体系，用于从人多能干细胞（hPSC，包括ESC和iPSC）中生成肺祖细胞，效率和可重复性高。分化后的细胞表达肺祖细胞的关键标志物NKX2.1，可进一步成熟为近端或远端呼吸道细胞，用于研究肺部疾病和肺部发育。

为什么使用STEMdiff™肺祖细胞试剂盒？

重复性好。 优化后的无血清试剂可最大限度地提高实验的可重复性。

生理相关。 获得能够分化为近端和远端呼吸道细胞的肺祖细胞。

操作方便。 整体实验方案可在15天内完成。

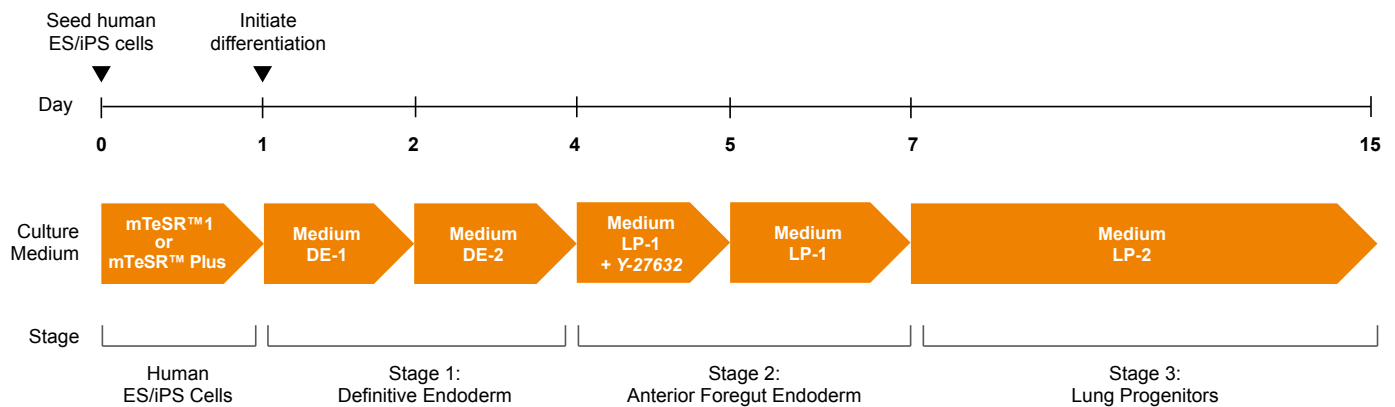


图31. STEMdiff™肺祖细胞试剂盒从hESC/iPSC生成肺祖细胞流程

hPSC生成肺祖细胞分为三个主要阶段。hPSC团块首先接种在mTeSR™1或mTeSR™ Plus培养基中。第1天使用培养基DE-1（含有添加剂MR和添加剂CJ的STEMdiff™内胚层基础培养基）开启分化。第2天和第3天将培养基更换为培养基DE-2（STEMdiff™内胚层基础培养基，含有添加剂CJ）用于定形内胚层。第4天，将内胚层单层细胞在培养基LP-1（STEMdiff™肺基础培养基、肺添加剂（10X）和添加剂1）和Y-27632中传代，开启前肠前端内胚层形成。最后在第7天，使用LP-2培养基（STEMdiff™肺基础培养基、肺添加剂（10X）和添加剂2）将细胞分化为肺祖细胞。



产品信息

探索STEMdiff肺祖细胞试剂盒

www.stemcell.com/STEMdiff-Lung-Progenitor

STEMdiff™分支结构肺类器官试剂盒

STEMdiff™分支结构肺类器官试剂盒可通过四个分化阶段从人ESC和iPSC中高效且可重复地生成有分支结构的肺类器官:

- 定形内胚层
- 前肠前端内胚层
- 肺芽类器官
- 有分支结构的肺类器官

这种无血清培养基系统生成的类器官可形成近端和远端类有分支结构的呼吸道及肺泡上皮结构,并且可以使用STEMdiff™肺类器官成熟试剂盒(产品号 #100-0528)使其成熟,从而进行长期的类器官培养(> 28天)。

为什么使用STEMdiff™分支结构肺类器官试剂盒?

生理相关性。生成可以重现体内呼吸道分支形态形成和近端-远端规格的类器官。

稳定高效。有效地将多种人ES和iPS细胞系分化为有分支结构的肺类器官。

方便。通过可冷冻保存的中间阶段实现实验灵活性。

可重现。使用无血清的确切配方最大限度地提高实验可重复性。

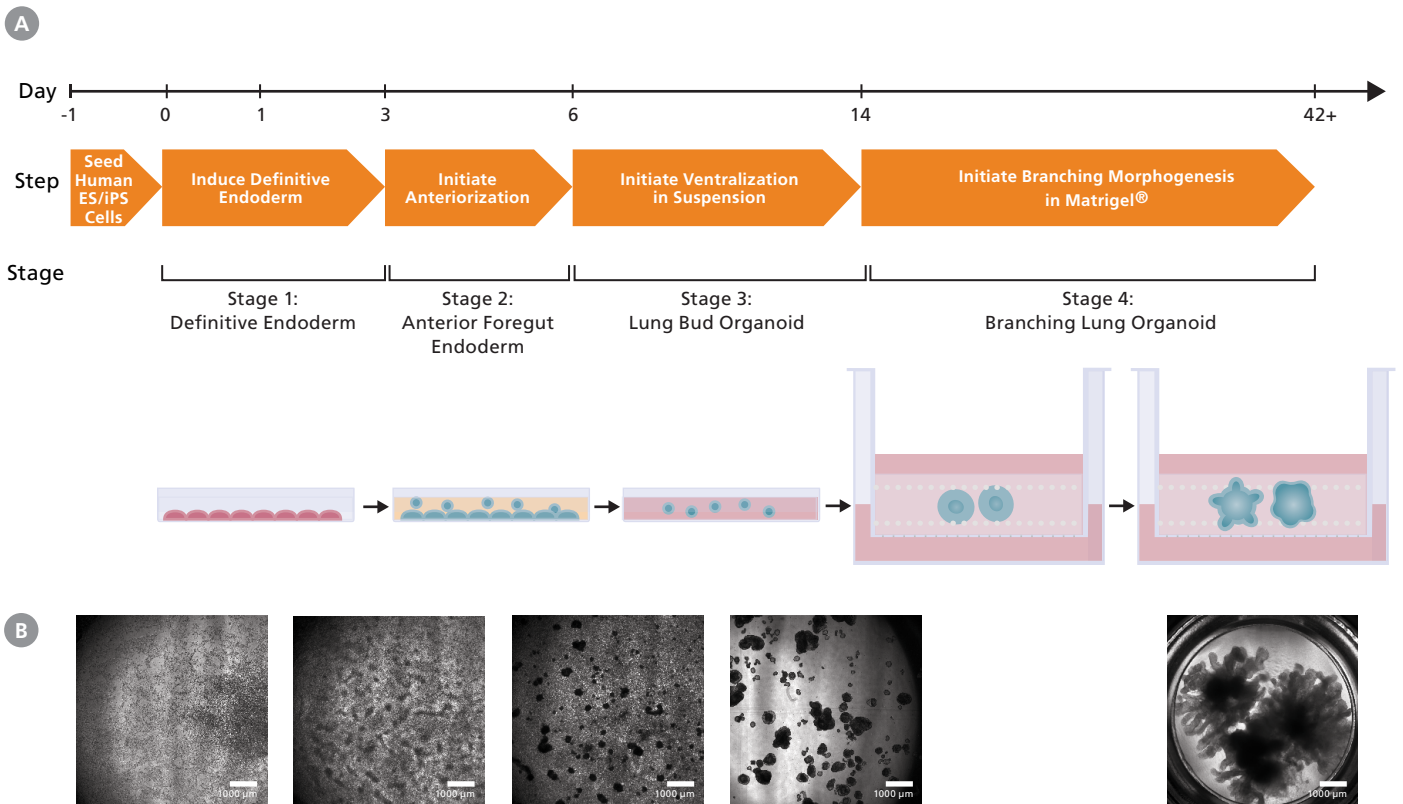


图32. STEMdiff™肺类器官试剂盒支持有分支结构的肺类器官的产生

(A) 人PSC通过四个阶段分化过程产生人有分支结构的肺类器官。在第1阶段结束时(第3天),培养物表现出定型内胚层的典型特征,并且开始前肠分化。在第2阶段(第3 - 6天)前肠前端内胚层芽从单层细胞释放,然后在第3阶段(第6 - 14天)悬浮,形成腹侧肺芽类器官。在第4阶段,肺芽类器官被嵌入Matrigel®基质胶,以成熟为有分支结构的肺类器官。

(B) 不同阶段培养物的形态学。

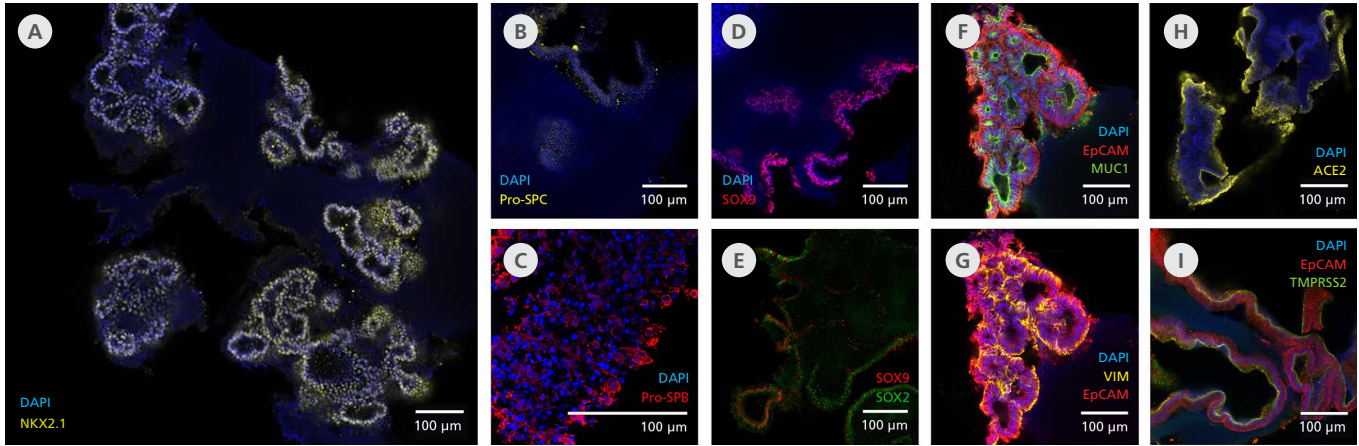


图33. 使用STEMdiff™肺类器官试剂盒培养的有分支结构的肺类器官具有关键蛋白标志物和分支形态

(A) 有分支结构的肺类器官在其分支结构中表达肺祖细胞标志物NKX2.1和 (B, C) 证明存在表达前表面活性蛋白B和C的ATII样细胞。(D, E) 这些类器官经历近端至远端分化, 并由SOX2和SOX9的差异化表达所证明。(F) MUC1可以在腔内表达, 而 (G) 类器官被表达VIM的间充质包围。(H, I) 用STEMdiff™肺类器官试剂盒生成的有分支结构的肺类器官还表达与SARS-CoV-2进入相关的蛋白ACE2和TMPRSS2。在第63天, 通过免疫组织化学和共聚焦显微镜观察有分支结构的肺类器官的蛋白表达。

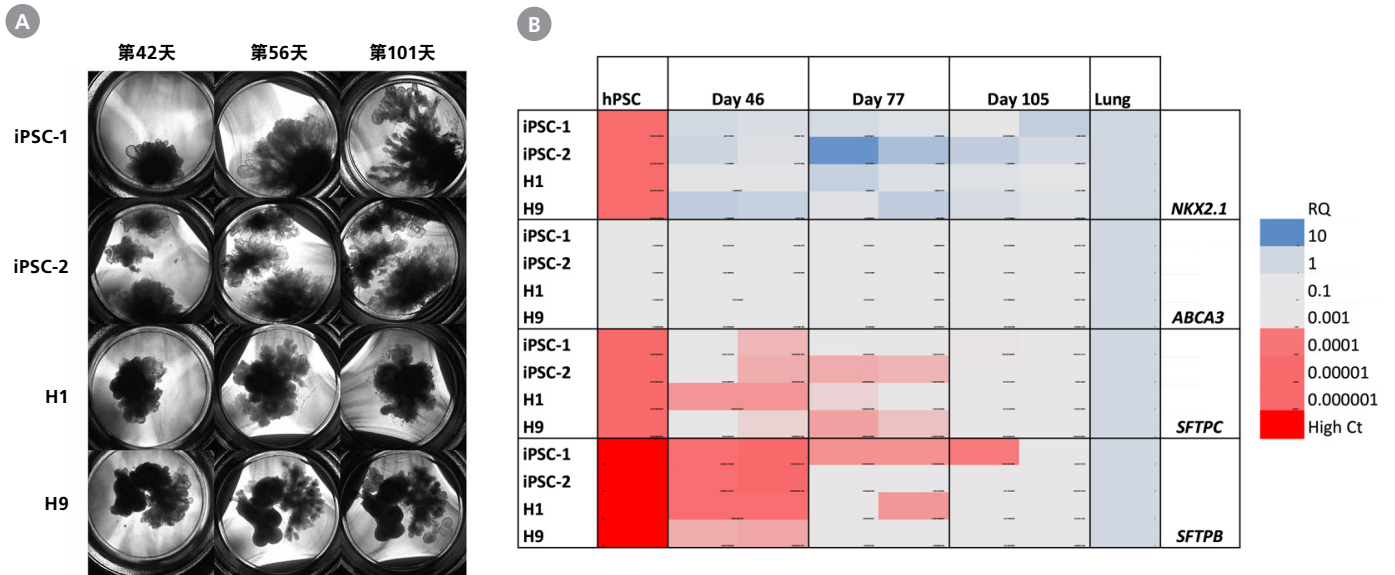


图34. 使用STEMdiff™肺类器官成熟试剂盒长期培养的有分支结构的肺类器官表达更多成熟肺标志物

(A) 来自外周血内皮祖细胞衍生的iPS细胞 (iPSC-1)、外周血单个核细胞衍生的iPS细胞 (iPSC-2) 或胚胎干细胞 (H1和H9) 的有分支结构的肺类器官的分支尖端继续生长和生成分支, 直到第101天。(B) 更成熟的远端肺标志物SFTPC和SFTPB的表达水平随时间增加。通过RT-qPCR评估培养至第105天的有分支结构的肺类器官的形态学和基因表达。将RQ值标准化为TBP, 并与市售的肺RNA进行比较。

呼吸道培养培训课程

STEMCELL推出的呼吸道培养系列培训课程，聚焦人呼吸道上皮细胞培养与肺研究等领域，通过技术专家的讲解与演示，您可以获得更多呼吸道培养的基础技能和研究思路。



人呼吸道上皮细胞培训课程

为期两天的实践培训课程中，STEMCELL的内部呼吸道培养专家为您讲述如何在ALI中培养人呼吸道上皮细胞 (HAECs)。您将了解和学习如何扩增原代HAECs、ALI培养器材、建立HAECs培养物以及在ALI进行下游检测。



On-Demand肺研究培训课程

按照您的时间和需求参加线上培训课程。通过系列讲座、技术实验视频和评估流程，您将学习如何在ALI中扩增和分化人呼吸道上皮细胞来模拟人呼吸道的关键通路。



培训课程

人呼吸道上皮细胞培训课程

www.stemcell.com/HAEC-Training-Course



线上课程

肺研究培训课程

www.stemcell.com/On-Demand-Pulmonary

产品信息

用于扩增人呼吸道上皮细胞的产品

产品	产品号 #
PneumaCult™-Ex Plus培养基	05040
PneumaCult™-Ex培养基	05008

用于人呼吸道上皮细胞细胞分化的产品

产品	产品号 #
PneumaCult™-ALI培养基	05001
PneumaCult™-ALI-S培养基	05050

支持呼吸道培养的产品

产品	产品号 #
Costar® 12 mm Transwell®, 0.4 µm孔径聚酯膜细胞培养小室	38023
Costar® 6.5 mm Transwell®, 0.4 µm孔径聚酯膜细胞培养小室	38024
HTS Transwell®-96, 0.4 µm孔径聚酯膜细胞培养小室	100-0419

为方便使用, PneumaCult™-ALI培养基可以与Transwell®细胞培养小室一起购买, 包括12 mm Transwell®细胞培养小室的12孔形式或6.5 mm Transwell®细胞培养小室的24孔形式。

产品	产品号 #
PneumaCult™-ALI培养基, 带12 mm Transwell®细胞培养小室	05021
PneumaCult™-ALI培养基, 带6.5 mm Transwell®细胞培养小室	05022

用于人呼吸道类器官的产品

产品	产品号 #
PneumaCult™呼吸道类器官试剂盒	05060
PneumaCult™外翻型呼吸道类器官培养基	100-0620
PneumaCult™肺泡类器官扩增培养基	100-0847
PneumaCult™肺泡类器官分化培养基	100-0861

如需从ES和iPS细胞产生肺祖细胞或分支肺类器官, 请查阅用于呼吸系统研究的STEMdiff™产品。

hPSC衍生的肺模型的相关产品

产品	产品号 #
STEMdiff™肺祖细胞试剂盒	100-0230
STEMdiff™肺支气管类器官试剂盒	100-0195
mTeSR™1	85850
mTeSR™ Plus	05825



技术资源

了解有关呼吸道建模的更多信息

www.stemcell.com/airway-modeling



挂图

呼吸系统的细胞组织和生物学

www.stemcell.com/RespiratoryWallchart

其他试剂

细胞培养添加物

STEMCELL的细胞培养添加物可用于体外呼吸道培养的各个阶段, 包括解离、扩增和分化。

产品	规格	产品号 #
无动物源成分的细胞解离试剂盒	1 Kit	05426
肝素溶液	2 mL	07980
氢化可的松储备液	3 mL	07925
	10 x 3 mL	07926

细胞冻存液

冷冻保存是肺研究工作流程的重要组成部分。CryoStor® CS10是一种不含血清和动物成分的冷冻培养基, 在冷冻、储存和解冻过程中为细胞提供安全和受保护的环境。

抗体

经验证的抗体, 适配STEMCELL呼吸道上皮细胞培养试剂用于进行细胞分析等下游研究。

细胞因子

STEMCELL提供系列可适用于呼吸道上皮细胞研究的细胞因子、趋化因子和生长因子用于激活、扩增或分化目的细胞。



产品

查看可用抗体的完整列表
www.stemcell.com/Antibodies



产品

查看可用细胞因子的完整列表
www.stemcell.com/Cytokines

细胞染料和染色剂

GloCell™活细胞/死细胞染色染料

GloCell™可固定活性染料是荧光胺标记染料, 用于哺乳动物细胞的活细胞/死细胞染色, 可以从流式细胞术数据中明确排除死细胞。这些染料耐洗涤和固定, 并与细胞内抗体染色方案兼容。

膜联蛋白V染料

膜联蛋白V是一种特征性细胞死亡标志物, 可用于检测早期和晚期凋亡的哺乳动物细胞。



产品

了解有关GloCell™染料的更多信息
www.stemcell.com/GloCell



产品

了解更多关于膜联蛋白V染料的信息
www.stemcell.com/AnnexinV

COVID-19研究工具

重组蛋白

产品	规格	产品号 #
SARS-CoV-2 Recombinant Nucleocapsid Protein, aa1-419 (E. coli-expressed)	100 µg	100-0590
	1000 µg	100-0591
SARS-CoV-2 Recombinant Nucleocapsid Protein, aa1-419 (HEK293-expressed)	100 µg	100-0592
	1000 µg	100-0593
SARS-CoV-2 Recombinant Spike Protein, aa16-685 (HEK293-expressed)	100 µg	100-0594
	1000 µg	100-0594
SARS-CoV-2 Recombinant Spike Protein, aa319-541 (Yeast-expressed)	100 µg	100-0596
	1000 µg	100-0597
Human Recombinant ACE2 Protein, aa18-740 (HEK293-expressed)	100 µg	100-0598
	500 µg	100-0599

一抗

产品	规格	产品号 #
Anti-SARS-CoV Nucleoprotein Antibody, Clone 001 (Recombinant)	50 µL	100-0529
	100 µL	100-0580
Anti-SARS-CoV Spike Protein S1 Receptor-Binding Domain Antibody, Clone D005 (Recombinant)	50 µL	100-0581
	100 µL	100-0582
Anti-SARS-CoV-2 Spike Protein S1 Receptor-Binding Domain Antibody, Clone Covi-1 (Blocking/Recombinant)	100 µL	100-0583
Anti-SARS-CoV-2 Spike Protein S1 Receptor-Binding Domain Antibody, Clone Covi-2 (Blocking/Recombinant)	100 µL	100-0584

ELISA试剂盒

产品	产品号 #
Human SARS-CoV-2 Nucleoprotein IgG Antibody ELISA Kit	100-0686
Human ACE2 ELISA Kit	100-0687
Mouse ACE2 ELISA Kit	100-0688
Human CD13 (ANPEP) ELISA Kit	100-0689

检测冠状病毒的多肽底物

产品	规格	产品号 #
CoV Protease Substrate-1 TF5	100次检测	100-0505
	1000次检测	100-0506
CoV Protease Substrate-1 EDANS	100次检测	100-0507
	1000次检测	100-0508
CoV Protease Substrate-2 EDANS	100次检测	100-0509
	1000次检测	100-0510
CoV Protease Substrate-2 IF670	100次检测	100-0511
	1000次检测	100-0512

筛选试剂盒

产品	产品号 #
Human SARS-CoV-2 IgM/IgG Rapid Test Kit ¹	100-0685
Human SARS-CoV-2 Spike Protein Inhibitor Screening Kit	100-0700

1. 人SARS-CoV-2 IgM/IgG快速检测试剂盒仅供研究使用，不适用于人类或动物的诊断或治疗用途。

病毒多肽工具

产品	规格	产品号 #
SARS-CoV-2 (Nucleocapsid Protein) Peptide Pool	25 µg/肽	100-0647
SARS-CoV-2 (Spike Protein) Peptide Pool	25 µg/肽	100-0676
SARS-CoV-2 (VME1) Peptide Pool	25 µg/肽	100-0648
Influenza (HLA Class I Control) Peptide Pool	25 µg/肽	100-0672
RSV (HLA Class I Control) Peptide Pool	25 µg/肽	100-0674
EBV (EBNA-1) Peptide Pool	25 µg/肽	100-0669
EBV (BZLF1) Peptide Pool	25 µg/肽	100-0670
EBV (LMP2) Peptide Pool	25 µg/肽	100-0671

如需更多信息或查看我们完整的病毒多肽工具，请访问：

www.stemcell.com/viral-peptide-pools

参考文献

1. Bérubé K et al. (2010) Human primary bronchial lung cell constructs: the new respiratory models. *Toxicology* 278(3): 311–8.
2. Prytherch Z et al. (2011) Tissue-specific stem cell differentiation in an in vitro airway model. *Macromol Biosci* 11(11): 1467–77.
3. Ostrowski LE et al. (2012) Interferon γ stimulates accumulation of gas phase nitric oxide in differentiated cultures of normal and cystic fibrosis airway epithelial cells. *Lung* 190(5): 563–71.
4. Comer D et al. (2013) Airway epithelial cell apoptosis and inflammation in COPD, smokers and nonsmokers. *Eur Respir J* 41(5): 1058–67.
5. Yan et al. (2017) Human bocavirus type-1 capsid facilitates the transduction of Ferret Airways by Adeno-Associated Virus Genomes. *Hum Gene Ther* 28(8): 612–25.
6. Tata et al. (2013) Dedifferentiation of committed epithelial cells into stem cells in vivo. *Nature* 503(7475): 218–23.
7. Dale et al. (2019) Rock inhibitor Y-27632 enables feeder-free, unlimited expansion of *Sus Scrofa* domesticus swine airway stem cells to facilitate respiratory research. *Stem Cells Int* 2019: 3010656.
8. Wethington D et al. (2019) Mathematical modeling identifies the role of adaptive immunity as a key controller of respiratory syncytial virus in cotton rats. *J R Soc Interface* 16(160): 20190389.
9. Engler et al. (2019) Isolation, maintenance and differentiation of primary tracheal basal cells from adult rhesus macaque. *Methods Protoc* 2(4): E79.
10. Matrosovich MN et al. (2004) Human and avian influenza viruses target different cell types in cultures of human airway epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101(13): 4620–4.
11. Hao W et al. (2012) Infection and propagation of human rhinovirus c in human airway epithelial cells. *J Virol* 86(24): 13524–32.
12. Hiemstra PS et al. (2015) The innate immune function of airway epithelial cells in inflammatory lung disease. *Eur Respir J* 45(4): 1150–62.
13. Lin H et al. (2007) Air-liquid interface (ALI) culture of human bronchial epithelial cell monolayers as an in vitro model for airway drug transport studies. *J Pharm Sci* 96(2): 341–50.
14. Tralau T et al. (2012) Drug-mediated toxicity: Illuminating the ‘bad’ in the test tube by means of cellular assays? *Trends Pharmacol Sci* 33(7): 353–64.
15. Andreoli C et al. (2003) A review of in vitro methods to assess the biological activity of tobacco smoke with the aim of reducing the toxicity of smoke. *Toxicol in Vitro* 17(5-6): 587–94.
16. Balharry D et al. (2008) An in vitro approach to assess the toxicity of inhaled tobacco smoke components: nicotine, cadmium, formaldehyde and urethane. *Toxicology* 244(1): 66–76
17. Crystal R et al. (2008) Airway epithelial cells: current concepts and challenges. *Proc Am Thorac Soc* 5(7): 772–7.
18. Guoqing W et al. (2019) Characterization of an immortalized human small airway basal stem/progenitor cell line with airway region-specific differentiation capacity. *Respir Res* 20: 196.
19. Yang J et al. (2017) Smoking-dependent distal-to-proximal repatterning of the adult human small airway epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol* 196(3): 340–52.

版权所有© STEMCELL Technologies Inc. 2024。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, GloCell, STEMdiff和PneumaCult均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的注册商标。Corning, Costar, Matrigel, 以及Transwell是Corning Incorporated的注册商标。CryoStor是BioLife Solutions, Inc.的注册商标。ACCUTASE是Innovative Cell 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。

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。若想了解更多关于产品质量和合规的信息，请访问WWW.STEMCELL.COM/COMPLIANCE。

肺研究工具

专注人呼吸道和肺泡上皮细胞的培养



STEMCELL Technologies China Co. Ltd.

电话: 400 885 9050

E-MAIL: INFO.CN@STEMCELL.COM

网站: WWW.STEMCELL.COM

微信: STEMCELLTech

