

# 建立具有小气道上皮生理区域特性的培养模型

PneumaCult™-ALI-S培养基

## 为体外分化培养小气道而优化的培养基

气-液界面 (Air-liquid interface, ALI) 培养是一种著名的体外培养模型，能够表现出人呼吸道形态学和功能性的特征。例如，ALI培养的气管 (tracheal) 和支气管 (bronchial) 上皮细胞能够分化并形成具有上皮屏障功能 (epithelial barrier functions) 以及代表异质性的假复层上皮 (pseudostratified epithelium)。来自患有呼吸系统疾病 (哮喘, 囊性纤维化, 以及COPD) 供体的原代细胞经过ALI培养后, 具有原始疾病相应的特征。

迄今为止, ALI培养的临床和基础科学应用主要集中于构建人支气管上皮 (多种呼吸道疾病都会对其造成损伤) 的体外培养模型。然而, 越来越多的证据表明小气道上皮 (small airway epithelium, SAE, 位于第8节支气管后) 与主流肺部疾病 (如COPD, 哮喘, 特发性肺纤维化, CF和大多数肺癌) 的发病机制有千丝万缕的关系。与大气道的假复层上皮相比, 小气道上皮厚度更薄, 基底由立方状的单层细胞构成, 其细胞能够分泌稀薄液体, 具有纤毛, 并表达表面活性蛋白。此外, 小气道中的细胞群在构成比例以及生物学特性上都与大气道中的细胞群不同。小气道中的细胞群含有更多纤毛细胞 (ciliated cells) 和产生分泌球蛋白 (secretoglobulin-producing club cells) 的棒状细胞, 但其产生黏液的杯状细胞 (mucus-producing goblet cells) 的含量较少。考虑到大气道和小气道之间的生理位置差异, 构建小气道上皮的体外培养模型需要根据其生长环境定制优化的培养条件。

PneumaCult™-ALI-S培养基是一种不含血清及牛垂体提取物 (BPE) 的分化培养基, 为ALI培养人小气道表皮细胞 (human small airway epithelial cells, HSAEC) 而进行特别优化。HSAEC分别在PneumaCult™-Ex Plus中扩增, 并在PneumaCult™-ALI-S中培养, 经历了彻底的粘膜纤毛分化, 形成了薄薄的, 由立方状细胞组成的上皮组织, 表现出人体内小气道的形态学和功能性的特征。综上所述, PneumaCult™-ALI-S和PneumaCult™ Ex Plus共同构成了完整的, 构建人小气道体外模型的培养系统 (不含血清及牛垂体提取物)。该系统功能强大, 结果可靠, 为基础呼吸研究, 毒性研究和药物开发提供了重要的科研工具。

## PneumaCult™-ALI-S的优势

**高生理区域特异性。**分化的ALI培养物具有小气道上皮细胞的形态学和构成比例。

**高生理学相关性。**体外培养的小气道上皮培养物保留人体内小气道的形态学以及功能性特征。

**优化的实验流程。**全程使用PneumaCult™-Ex Plus进行扩增, 培养, 以及分化。

**实验结果可重复。**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  
不含血清及牛垂体提取物, ALI培养HSAEC的培养基

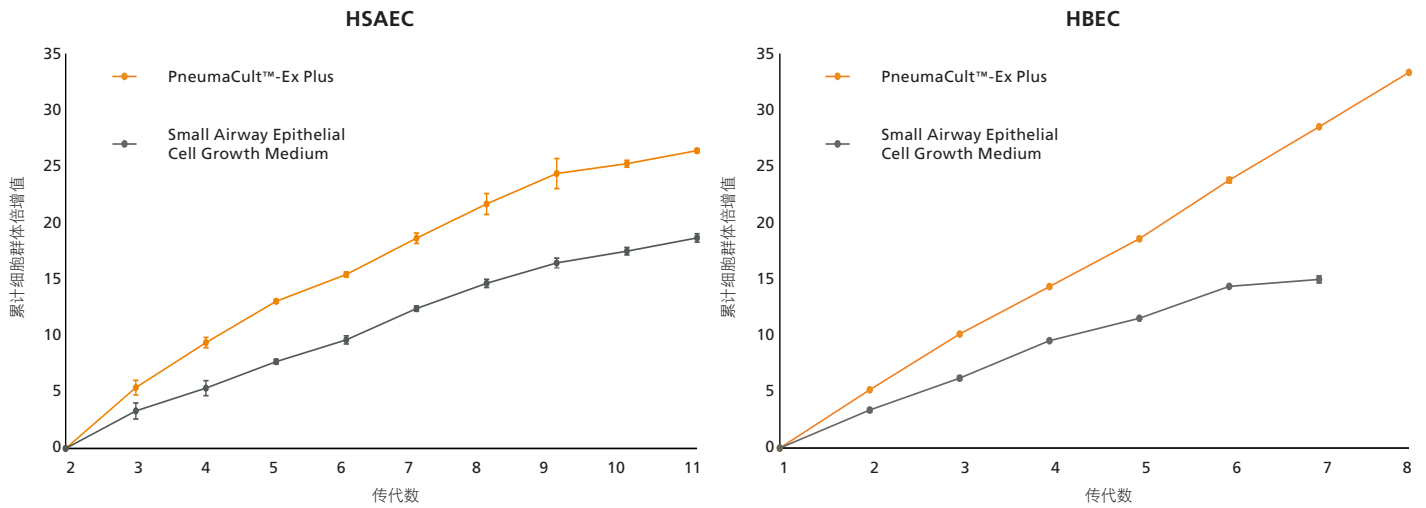


图1. 在PneumaCult™-Ex Plus培养基中培养时，HSAEC和HBEC的扩增速率更高

相比于小气道上皮细胞生长培养基 (Small Airway Epithelial Cell Growth Medium)，在PneumaCult™-Ex Plus培养基中培养的HSAEC和人支气管上皮细胞 (human bronchial epithelial cells, HBEC) 在每次传代中均表现出更高的增殖率。实验所用细胞为商品化、冷冻保存的P2代HSAEC以及P1代HBEC。

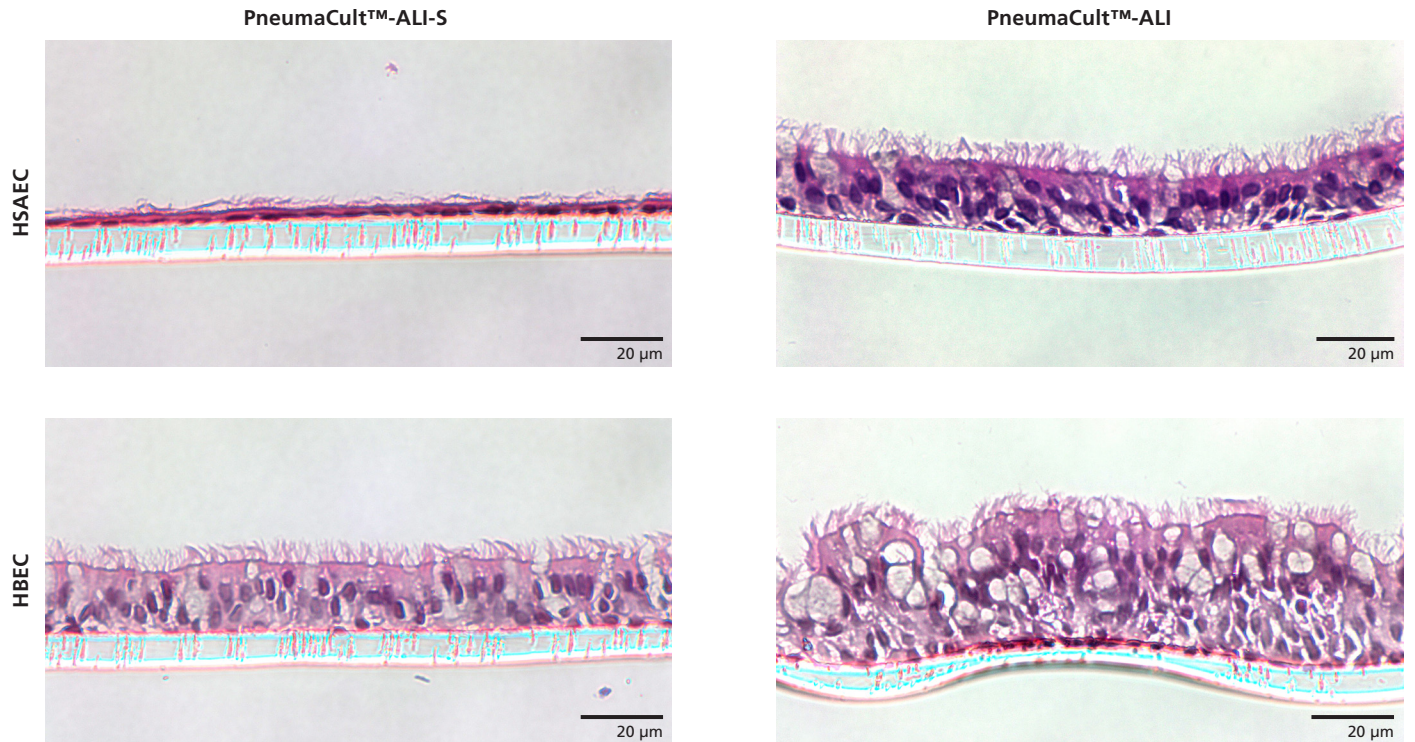


图2. 使用PneumaCult™-ALI-S培养基，ALI培养的HSAEC分化形成具有小气道上皮代表形态的结构

第3代HSAEC和HBEC分别在PneumaCult™-ALI-S或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，表现出体内小气道上皮的特征；HBEC在PneumaCult™-ALI中分化形成假复层上皮，表现出体内支气管上皮的特征。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。比例尺=20 µm。

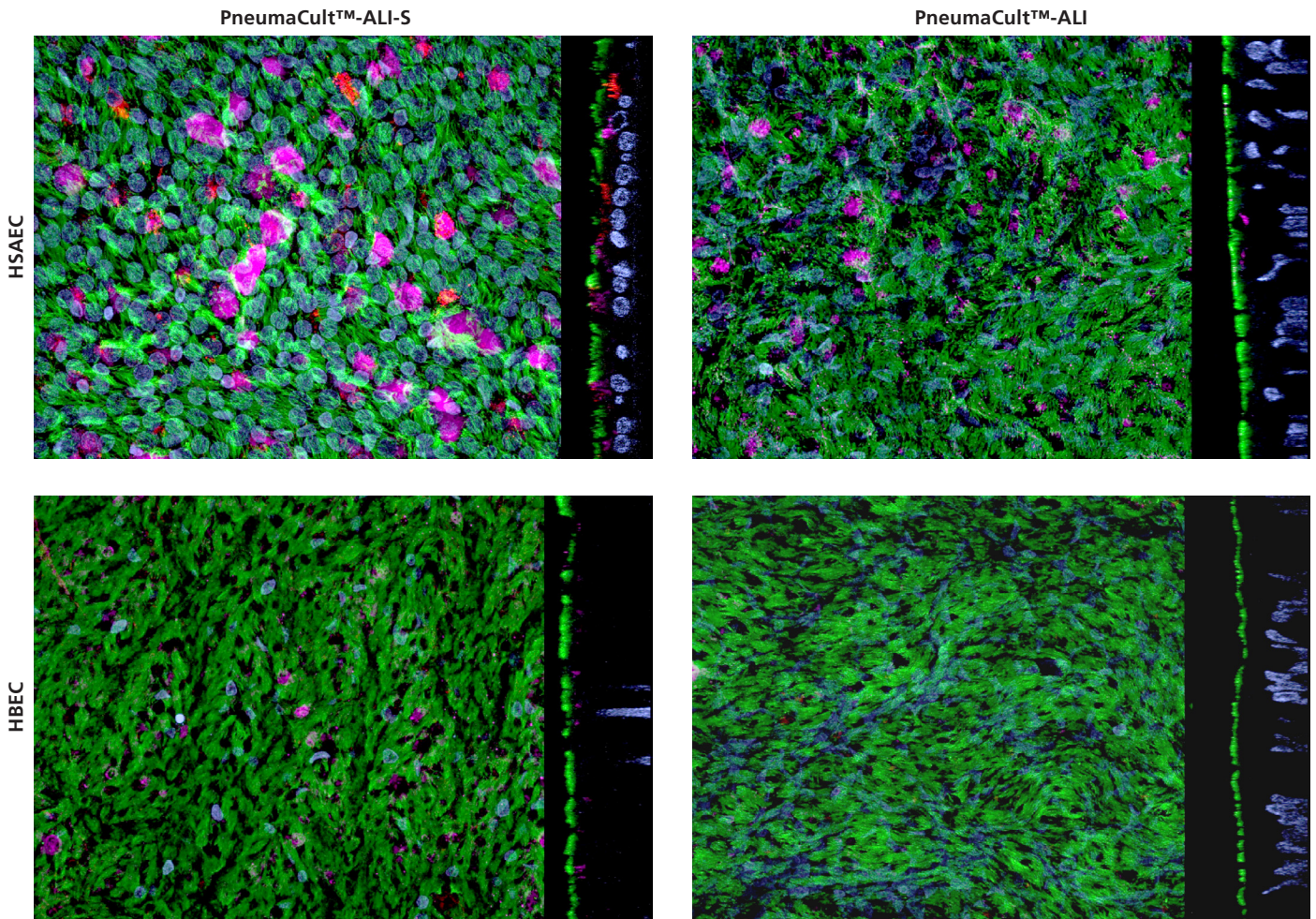


图3. 在PnumaCult™-ALI-S培养分化下的HSAEC表达小气道上皮标志物

第3代HSAEC和HBEC分别在PnumaCult™-ALI-S或PnumaCult™-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，并用纤毛细胞抗体染色 (Actubulin; 绿色)，杯状细胞 (SCGB1A1; 品红色)，以及分泌蛋白 (SCGB3A2; 红色)。细胞核用DAPI (蓝色) 复染。小气道标志物SCGB1A1和SCGB3A2，在PnumaCult™-ALI-S培养下HSAEC中的表达量高于在PnumaCult™-ALI培养下的HSAEC以及在PnumaCult™-ALI-S或PnumaCult™-ALI培养下的HBEC。所有图像采用63倍物镜拍摄。

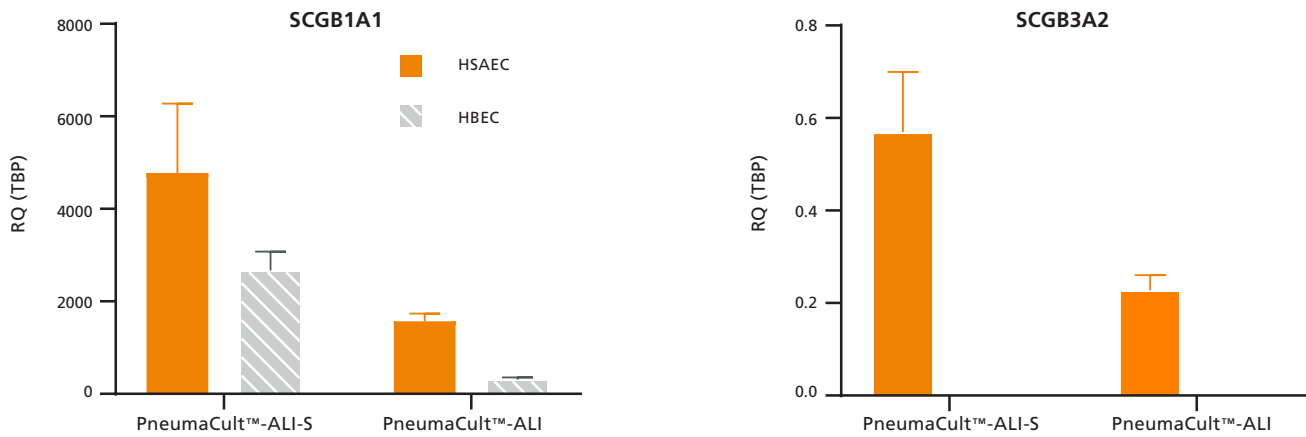


图4. 使用qPCR分析小气道表皮标志物，PnumaCult™-ALI-S培养下的HSAEC相对表达量高于在PnumaCult™-ALI培养下的HSAEC相对表达量

第3代HSAEC和HBEC分别在PnumaCult™-ALI-S或PnumaCult™-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 (SCGB1A1和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PnumaCult™-ALI-S培养下HSAEC中的相对表达量高于在PnumaCult™-ALI培养下的HSAEC以及在PnumaCult™-ALI-S或PnumaCult™-ALI培养下HBEC中的相对表达量。未检测到SCGB3A2在HBEC (PnumaCult™-ALI-S或PnumaCult™-ALI培养) 中的相对表达量。

## 产品信息

产品名	产品号 #
PneumaCult™-ALI-S培养基	05050
PneumaCult™-Ex Plus培养基	05040
Costar® 12 mm Transwell®, 0.4 µm Pore Polyester Membrane Inserts	38023
Costar® 6.5 mm Transwell®, 0.4 µm Pore Polyester Membrane Inserts	38024
Animal Component-Free Cell Dissociation Kit	05426
Heparin Solution	07980
Hydrocortisone Stock Solution	07925

## 参考文献

1. Bérubé K et al. (2010) Human primary bronchial lung cell constructs: the new respiratory models. *Toxicology* 278(3): 311–318.
2. Prytherch Z et al. (2011) Tissue-specific stem cell differentiation in an in vitro airway model. *Macromol Biosci* 11(11): 1467–1477.
3. Ostrowski LE et al. (2012) Interferon  $\gamma$  stimulates accumulation of gas phase nitric oxide in differentiated cultures of normal and cystic fibrosis airway epithelial cells. *Lung* 190(5): 563–571
4. Comer D et al. (2013) Airway epithelial cell apoptosis and inflammation in COPD, smokers and nonsmokers. *Eur Respir J* 41(5): 1058–1067.
5. Crystal R et al. (2008) Airway epithelial cells: current concepts and challenges. *Proc Am Thorac Soc* 5(7): 772–777.
6. 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.
7. 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): 340–352.



### 学术资源中心

了解更多气道建模相关信息

[www.stemcell.com/airway-modeling](http://www.stemcell.com/airway-modeling)



### 精美挂图

呼吸道系统的细胞分子学以及生理学特性

[www.stemcell.com/forms/wallchart-respiratory-system.html](http://www.stemcell.com/forms/wallchart-respiratory-system.html)

版权所有© STEMCELL Technologies Inc. 2020。保留一切权利，包括图形和图像。STEMCELL Technologies及其设计及徽标，以及Scientists Helping Scientists，PneumaCult，均是STEMCELL Technologies Canada Inc.的注册商标。Costar与Transwell是Corning Incorporated的注册商标。其他商标分属于其相应版权方。尽管STEMCELL尽一切努力保证STEMCELL及其供应商提供的信息正确，我们免除此类信息准确性或完整性的声明及保证。

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。



微信ID: STEMCELLTech



STEMCELL Technologies China Co. Ltd.

电话: 400 885 9050 E-MAIL: [INFO.CN@STEMCELL.COM](mailto:INFO.CN@STEMCELL.COM) 网站: [WWW.STEMCELL.COM](http://WWW.STEMCELL.COM)

文档号 #27174CN 版本 1.0.0 2020年02月