

## 大鼠附睾上皮细胞

Cat NO.: CP-R335

### 一、产品简介

1. 产品名称：大鼠附睾上皮细胞
2. 组织来源：附睾
3. 细胞简介：

大鼠附睾上皮细胞分离自附睾组织；附睾（Epididymis）是一个由曲折、细小的管子构成的器官，一端接着输精管（Ductus deferens），一端接着睾丸（Testis）的曲细精管，具体结构主要包括输出小管和附睾管。附睾紧贴睾丸的上端和后缘，可分为头、体、尾三部。精子离开睾丸后通过输出小管进入附睾。附睾具有暂存精液并分泌附睾液营养精子的功能，以促进精子的进一步成熟。附睾的功能是暂存精子，促进精子的进一步成熟。精子在附睾内获得运动能力，总共停留8~17天，最终达到功能上的成熟。在这个过程中，精子除了自身的因素，还受到附睾微环境的影响，这包括了一系列的物理、化学变化和精子形态的改变。可以说，附睾微环境正常稳定是附睾发挥促成熟这一功能的必要条件。若附睾的功能发生异常，精子则不能成熟，引起不育。附睾上皮含有主细胞、基细胞、亮细胞等几种类型细胞。基细胞，其顶部离附睾管腔有一定距离，在附睾各部分，其形态没有差别，一般认为是储备细胞；另一种主细胞，是维持附睾生理功能的物质基础，在各区段的主细胞形态结构差别很大，这也反映出各区段的生理功能的差异。除上皮细胞外，附睾的管壁组织结构也有规律性的变化，附睾管起始段平滑肌有自发地节律性收缩，而尾部平滑肌就没有这种特点，仅在射精一瞬间出现强烈的节律收缩。作为负责提供适合精子成熟微环境的附睾，具有活跃的分泌与吸收功能。其中，附睾上皮的电解质和水分的转运，对保持附睾内合适的离子浓度和酸碱度，为精子成熟提供适宜的环境起着相当重要的作用。睾丸的支持细胞每天能产生大量睾网液，如一只公羊每天约能分泌40毫升睾网液，而从附睾排出的只不过几百微升，也就是说睾丸分泌液有99%被附睾上皮重新吸收回体内。动物实验表明，结扎输精管时睾丸不会肿胀，但若结扎睾丸输出小管，睾丸第二天就会肿胀，这就充分证实了附睾存在着强有力的吸收功能，但是重新吸收的意义尚不清楚。体外培养附睾上皮细胞对精子的发育、成熟，不孕不育，附睾生理基础功能研究具有重要意义。

### 4. 方法简介：

普诺赛实验室分离的大鼠附睾上皮细胞采用胶原酶消化结合差速贴壁法制备而来，细胞总量约为 $5 \times 10^5$  cells/瓶。

### 5. 质量检测：

普诺赛实验室分离的大鼠附睾上皮细胞经PCK免疫荧光鉴定，纯度可达90%以上，且不含有HIV-1、HBV、HCV、支原体、细菌、酵母和真菌等。

### 6. 培养信息：



包被条件	鼠尾胶原 (2-5 μg/cm <sup>2</sup> )
培养基	含FBS、EGF、Hydrocortisone、肾上腺素、甲状腺素、Insulin、Transferrin、Selenium Solution、Penicillin、Streptomycin等
产品货号	CM-R335
换液频率	每2-3天换液一次
生长特性	贴壁
细胞形态	上皮细胞样
传代特性	可传1-2代
传代比例	1:2
消化液	0.25%胰蛋白酶
培养条件	气相：空气，95%；CO <sub>2</sub> ，5%

大鼠附睾上皮细胞体外培养周期有限；建议使用普诺赛配套的专用生长培养基及正确的操作方法来培养，以此保证该细胞的最佳培养状态。

## 二、细胞培养状态

发货时发送细胞电子版照片

## 三、使用方法

大鼠附睾上皮细胞是一种贴壁细胞，细胞形态呈上皮细胞样，在普诺赛技术部标准操作流程下，细胞可传1-2代；建议您收到细胞后尽快进行相关实验。

客户收到细胞后，请按照以下方法进行操作。

1. 取出T25细胞培养瓶，用75%酒精消毒瓶身，拆下封口膜，放入37℃、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的细胞培养箱中静置3-4h，以稳定细胞状态。
2. 贴壁细胞消化
  - 1) 吸出T25细胞培养瓶中的培养基，用PBS清洗细胞一次；
  - 2) 添加0.25%胰蛋白酶消化液1mL至T25培养瓶中，轻微转动培养瓶至消化液覆盖整个培养瓶底后，吸出多余胰蛋白酶消化液，37℃温浴1-3min；倒置显微镜下观察，待细胞回缩变圆后，再加入5mL完全培养基终止消化；
  - 3) 用吸管轻轻吹打混匀，按传代比例接种T25培养瓶传代，然后补充新鲜的完全培养基至5mL，置于37℃、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的细胞培养箱中静置培养；
  - 4) 待细胞完全贴壁后，培养观察，用于实验；之后再按照换液频率更换新鲜的完全培养基。
3. 复苏操作说明
  1. 准备好37度水浴锅，预热至37度；
  2. 准备好T25培养瓶，加入8-10ml完全培养基（培养基量必须大于冻存液10倍体积）；



3. 取出干冰内冻存细胞管，用EP手套包裹冻存管（防止管内进水导致污染），迅速放于水浴锅内，于1min内融化完全；
4. 取出冻存管，酒精喷洒消毒后擦干，置于超净台内；
5. 吸取冻存管内细胞悬液，加入步骤2中准备好的T25培养瓶内，8字缓慢摇匀；
6. 培养瓶放于37度CO<sub>2</sub>恒温培养箱内，静置培养24h，更换新鲜换培养基（注意贴壁细胞、悬浮细胞不同换液操作方法）。

#### 4. 细胞实验

因原代细胞贴壁特殊性，贴壁的原代细胞在消化后转移至其他实验器皿（如玻璃爬片、培养板、共聚焦培养皿等）时，需要对实验器皿进行包被，以增强细胞贴壁性，避免细胞因没贴好影响实验；包被条件常选用鼠尾胶原（ $2-5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ），多聚赖氨酸PLL（ $0.1\text{mg}/\text{ml}$ ），明胶（0.1%），依据细胞种类而定。悬浮/半悬浮细胞无需包被。

#### 四、注意事项

1. 培养基于4℃条件下可保存3个月。
2. 在细胞培养过程中，请注意保持无菌操作。
3. 消化过程中，胰酶消化时间不宜过长，否则会影响细胞贴壁及其生长状态。
4. 建议客户收到细胞后前3天每个倍数各拍几张细胞照片，记录细胞状态，便于和普诺赛技术部沟通；由于运输的原因，个别敏感细胞会出现不稳定的情况，请及时和我们联系，详尽告知细胞的具体情况，以便我们的技术人员跟踪、回访直至问题得到解决。
5. 该细胞只可用于科研。

备注：由于实验所用试剂、操作环境及操作手法的不同，以上方法仅供各实验室参考

