

## 大鼠精原细胞

Cat NO.: CP-R330

### 一、产品简介

1. 产品名称：大鼠精原细胞
2. 组织来源：睾丸组织
3. 细胞简介：

大鼠精原细胞分离自睾丸组织；睾丸呈微扁的卵圆形，表面光滑，覆盖着鞘膜脏层；深部是质地坚韧的白膜，在睾丸后缘增厚并进入睾丸，形成睾丸纵膈，纵膈发出许多睾丸小隔深入睾丸实质，将实质分为睾丸小叶，数量约为100-200。每个小叶内约有2-4条生精小管（也称曲精小管、曲细精管），具有产生精子的作用；生精小管之间的结缔组织中有睾丸间质细胞，具有产生雄激素的作用。生精小管首先汇合成为精直小管（也称直精小管），精直小管进入睾丸纵膈形成睾丸网，之后睾丸网发出12-15条输出小管通过睾丸后上缘进入附睾。生精小管的生精上皮是精子产生的地方，由生精细胞和支持细胞构成，成人的生精小管有30-70 cm长。精子的产生过程包括生精细胞的分化、支持细胞的作用、雄激素的调节等。生精细胞并不是一种细胞，它是多种细胞的统称，包括精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞、精子细胞、精子。前者依次发育分化为后者，且依次从生精上皮的基部到管腔面排列，最终形成精子进入到管腔之中，并借助生精上皮外侧的肌样细胞的收缩作用向下一级管腔移动。精原细胞是指由睾丸精子管上皮的原始生殖细胞经过多次有丝分裂而形成的细胞。原始的胚细胞经分化形成精原细胞，精原细胞经复制形成初级精母细胞，初级精母细胞经过减数第一次分裂后形成次级精母细胞，再经过减数第二次分裂形成精细胞。精细胞经过变形最终形成精子。精原细胞属于雄性生殖细胞的早期发育阶段，能不断地进行有丝分裂，增加细胞数量，并分化为精母细胞。精原细胞贴近基膜，细胞呈圆形，核大而圆，染色深。精原细胞在男性的一生中具有几乎无限分裂的能力，而且分裂过程中能够保持原有的基因性状不变。在增殖过程中，通过精原细胞的分裂和分化，由精原细胞产生精母细胞，进入成熟分裂，因而通过增殖可大大增加精母细胞的数量。按理论推算，一个精原细胞通过数次细胞分裂，可形成上百个初级精母细胞。但在生精过程早期，生精细胞很易发生变性，故实际上少于这个数字。在精原细胞的增殖过程中，有一部分Ad型精原细胞不再继续分裂，而是保留下来，成为新的精原干细胞，因此通过增殖不仅能使精原干细胞不断得到更新，且能使精原干细胞保持一定数量，从而使精子的产生持续地进行下去，不会枯竭。

### 4. 方法简介：

普诺赛实验室分离的大鼠精原细胞采用混合酶多步消化法制备而来，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精原细胞经AP(碱性磷酸酶)免疫组化染色鉴定，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：

培养基	含FBS、生长添加剂、GDNF、Penicillin、Streptomycin等
产品货号	CM-R330
换液频率	每2-3天换液一次
生长特性	贴壁
细胞形态	圆形、椭圆形
传代特性	可传2-3代左右
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%

大鼠精原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

大鼠精原细胞是一种贴壁细胞，细胞形态呈圆形、椭圆形，在普诺赛技术部标准操作流程下，细胞可传2-3代左右；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) 收集T25细胞培养瓶中的培养基至50mL离心管中，用吸管吸取PBS，吹洗细胞培养瓶1-2次，收集清洗液；经1200-1500rpm离心3min，弃上清，收集细胞沉淀；
  - 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，收集细胞悬液至离心管中；经1200-1500rpm离心3min，弃上清，收集细胞沉淀；
  - 4) 吸取5mL新鲜完全培养基，重悬细胞沉淀、细胞沉淀，把、混匀。
  - 5) 用吸管轻轻吹打混匀、分散细胞，按实验需求接种于实验器皿内，然后补充适量新鲜的完全培养基，置于37℃、5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度的细胞培养箱中静置培养；
  - 6) 待细胞状态稳定后，用于实验；可以每2-3天换液一次新鲜的完全培养基。



### 3. 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 $4^\circ\text{C}$ 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

