Product sheet

Клетки Caco-2 | 300137

Обща информация

Description	Клетките Caco-2 служат като усъвършенстван in vitro модел за човешката чревна бариера, най-вече поради диференцирането им в клетъчен монослой, който много наподобява ентероцитите, покриващи тънките черва. При култивиране на клетъчната линия Caco2 върху филтърни вложки за тъканни култури с поликарбонатни филтри, клетките Caco-2 претърпяват спонтанна диференциация. Диференциацията на клетките Caco2 води до експресия на специализирани клетъчни типове, снабдени с микровили, ензими и транспортери, което наподобява сложните характеристики и механизми, открити в ситуация in vivo. В контекста на моделите за изследване на чревната абсорбция клетките Caco-2, които са получени от пациент с колоректален аденокарцином, са от съществено значение поради способността им да развиват високи стойности на TEER, което означава непокътнати плътни връзки и бариерна функция на епитела. Тези свойства са от решаващо значение за анализи като анализа на холестероловия ефлукс и изследванията на клетъчния транспорт, включително движението на липидни наночастици и откриването на протеинови взаимодействия. Клетките Caco-2 са от основно значение за изследванията на чревната абсорбция, тъй като осигуряват надеждно ин витро приближение на чревния епител. Имитирайки чревни ентероцити, тези клетки улесняват анализите на пероралната абсорбция на лекарства, като симулират чревната бариера. Изследователите използват клетките Caco-2, за да предвидят как веществата преминават през чревната лигавица, което е от съществено значение за фармакокинетичното профилиране на перорални лекарства. Освен това те са ключов инструмент за изследване на чревното усвояване, хомеостазата и преноса на холестерол, които са жизненоважни процеси за разбиране на липидния метаболизъм и свързаните с него заболявания. Клетките Caco-2 остават крайъгълен камък в изследванията на карцинома на дебелото черво и токсикологията, не само поради значението им за изследванията на стомашно-чревния тракт при човека, но и поради ролята им в осигуряването на подробен поглед върху жлъчния път, метаболизма на ксенобиотиците в дебелото черво, изследванията на рака и токсикологията.
Organism	Човек
Tissue	Дебело черво
Disease	Аденокарцином
Applications	Модел на стомашно-чревния тракт, измерване на трансепителиалното/ендотелиалното елетрично съпротивление (TEER). Клетките Caco-2 развиват високи стойности на TEER до 2000 cm2 (измерени чрез CLS с помощта на CellZscope, nanoAnalytics, Мюнстер, Германия).
Synonyms	CaCo-2, CACO-2, Caco 2, CACO 2, CACO2, CaCo2, CaCO2, Caco2, Caco-II

Характеристики

Age	72 години

Клетки Caco-2 | 300137

Gender	Мъжки
Ethnicity	Кавказки
Morphology	Подобни на епител
Growth properties	Придържащи се

Регулаторни данни

Citation	CaCo-2 (каталожен номер 300137 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0025

Биомолекулярни данни

Receptors expressed	Топлинно стабилен ентеротоксин (Sta, E. coli), епидермален растежен фактор (EGF), ретиноиден свързващ протеин I и ретинол свързващ протеин II, кератин положителен.
Antigen expression	Кръвна група O, Rh+, HLA клас II отрицателен
Isoenzymes	Me-2, 1, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, G6PD, B.
Tumorigenic	Да, при голи мишки. Образуват умерено добре диференцирани аденокарциноми, съответстващи на първични колониални (степен II)
Virus resistance	Човешки имунодефицитен вирус (HIV, LAV)
Ploidy status	(P14), хипертетраплоиден
MSI-status	Стабилен (MSS)

Работа с

Клетки Caco-2 | 300137

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (номер на статията в Cytion 820100a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS и 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	60 до 70 часа
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирате, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	1 x 10^4 клетки/cm^2 ще доведе до 90% конфлуентен монослой за около 4 дни.
Post-Thaw Recovery	След размразяване, поставете клетките в плаки с плътност 5 x 10^4 клетки/cm^2 и оставете клетките да се възстановят от процеса на замразяване и да се прикрепят за най-малко 24 часа.
Freeze medium	Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Клетки Caco-2 | 300137

Thawing and Culturing Cells	1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането. 2. При получаване съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150 °C, за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране. 3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антимикробен агент с температура 37°C, като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка. 4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол. 5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбъркате внимателно. 6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда. 7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките. 8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, овлажнена атмосфера.
Flask Coating	Няма
Freezing Procedure	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Клетки Caco-2 | 300137

Shipping Conditions	Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед в утвърдени, изолирани опаковки с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78 °C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.
Storage Conditions	За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196 °C. Съхранението при -80 °C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството и молекулярен анализ

Sterility	Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма. За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.
HLA алели	**A***: '02:01:01 **B***: '15:01:01 **C***: '04:01:01 **DRB1***: '04:04:01 **DQA1***: '03:01:01 **DQB1***: '03:02:01 **DPB1***: '04:01:01 **E**: '01:03:02