Product sheet

Buňky Caco-2 | 300137

Obecné informace

Description	Buňky Caco-2 slouží jako pokročilý in vitro model lidské střevní bariéry, především díky své diferenciaci do buněčné monovrstvy, která se velmi podobá enterocytům vystýlajícím tenké střevo. Při kultivaci buněčné linie Caco-2 na filtračních vložkách pro tkáňové kultury s polykarbonátovými filtry dochází ke spontánní diferenciaci buněk Caco-2. Diferenciace buněk Caco2 vede k expresi specializovaných buněčných typů, doplněných o mikroklky, enzymy a přenašeče, což odpovídá komplexním vlastnostem a mechanismům, které se vyskytují v situaci in vivo. V kontextu modelů pro studium střevní absorpce jsou buňky Caco-2, které byly odvozeny z lidského pacienta s kolorektálním adenokarcinomem, užitečné díky své schopnosti vyvinout vysoké hodnoty TEER, což znamená neporušené těsné spoje a funkci epiteliální bariéry. Tyto vlastnosti jsou klíčové pro testy, jako je test na výtok cholesterolu, a pro výzkum buněčného transportu, včetně pohybu lipidových nanočástic a detekce interakcí proteinů. Buňky Caco-2 jsou klíčové pro studie střevní absorpce, protože poskytují spolehlivou in vitro aproximaci střevního epitelu. Tyto buňky napodobují střevní enterocyty a usnadňují analýzy perorální absorpce léčiv tím, že simulují střevní bariéru. Vědci využívají buňky Caco-2 k předpovědi, jak látky procházejí střevní sliznicí, což je nezbytné pro farmakokinetické profilování perorálních léčiv. Kromě toho jsou klíčovým nástrojem při zkoumání střevního příjmu, homeostázy a transportu cholesterolu, což jsou zásadní procesy pro pochopení metabolismu lipidů a souvisejících onemocnění. Buňky Caco-2 zůstávají základním kamenem výzkumu karcinomu tlustého střeva a toxikologie, a to nejen pro svůj význam pro studium lidského gastrointestinálního traktu, ale také pro svou úlohu při poskytování podrobných poznatků o žlučové dráze, metabolismu xenobiotik v tlustém střevě, výzkumu rakoviny a toxikologie.
Organism	Člověk
Tissue	Střeva
Disease	Adenokarcinom
Applications	Model gastrointestinálního traktu, měření trans-epiteliální/endoteliální elektrické rezistence (TEER). Buňky Caco-2 dosahují vysokých hodnot TEER až 2000 cm2 (měřeno metodou CLS pomocí přístroje CellZscope, nanoAnalytics, Münster, Německo).
Synonyms	CaCo-2, CACO-2, Caco 2, CACO 2, CACO2, CaCo2, CaCO2, Caco2, Caco-II

Charakteristika

Age	72 let
Gender	Muži

Buňky Caco-2 | 300137

Ethnicity	Kavkazský
Morphology	Epitelu podobné
Growth properties	Adherentní

Regulační údaje

Citation	CaCo-2 (katalogové číslo Cytion 300137)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0025

Biomolekulární data

Receptors expressed	Tepelně stabilní enterotoxin (Sta, E. coli), epidermální růstový faktor (EGF), protein vázající kyselinu retinovou I a protein vázající retinol II, keratin pozitivní.
Antigen expression	Krevní skupina O, Rh+, HLA II. třídy negativní
Isoenzymes	Me-2, 1, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, G6PD, B.
Tumorigenic	Ano, na nahých myších. Tvoří středně dobře diferencované adenokarcinomy odpovídající primárnímu tlustému střevu (stupeň II)
Virus resistance	Virus lidské imunodeficience (HIV, LAV)
Ploidy status	(P14), hypertetraploidní
MSI-status	Stabilní (MSS)

Zpracování

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/l NaHCO3, w: EBSS (číslo článku Cytion 820100a)

Buňky Caco-2 | 300137

Supplements	Doplňte médium o 10 % FBS a 1 % NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	60 až 70 hodin
Subculturing	Odstraňte staré médium z adherovaných buněk a promyjte je PBS bez vápníku a hořčíku. Pro baňky T25 použijte 3-5 ml PBS a pro baňky T75 5-10 ml. Poté buňky zcela zakryjte přípravkem Accutase, přičemž použijte 1-2 ml pro baňky T25 a 2,5 ml pro baňky T75. Nechte buňky inkubovat při pokojové teplotě po dobu 8-10 minut, aby se oddělily. Po inkubaci jemně promíchejte buňky s 10 ml média, aby byly znovu suspendovány, a poté je odstřeďte při 300xg po dobu 3 minut. Supernatant vyhoďte, buňky znovu rozpusťte v čerstvém médiu a přeneste je do nových baněk, které již obsahují čerstvé médium.
Split ratio	Doporučuje se poměr 1:2 až 1:3
Seeding density	1 x 10^4 buněk/cm^2 bude mít za následek 90% konfluentní monovrstvu za přibližně 4 dny.
Post-Thaw Recovery	Po rozmrazení naneste buňky v množství 5 x 10^4 buněk/cm^2 a nechte je alespoň 24 hodin zotavit se z procesu zmrazení a přilnout.
Freeze medium	Jako kryokonzervační médium používáme kompletní růstové médium (včetně FBS) + 10 % DMSO pro zajištění dostatečné životaschopnosti po rozmrazení nebo CM-1 (katalogové číslo 800100 společnosti Cytion), které obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory pro zlepšení regenerace a snížení stresu způsobeného kryo.

Thawing and Culturing Cells	1. Ověřte si, že lahvička zůstane při dodání hluboce zmražená, protože buňky se přepravují na suchém ledu, aby se během přepravy udržely optimální teploty. 2. Po obdržení kryovialku buď okamžitě uložte při teplotě nižší než -150 °C, abyste zajistili zachování buněčné integrity, nebo přejděte ke kroku 3, pokud je nutná okamžitá kultivace. 3. Pro okamžitou kultivaci rychle rozmrazte lahvičku ponořením do vodní lázně o teplotě 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálním prostředkem a jemně ji míchejte po dobu 40-60 sekund, dokud nezůstane malý ledový chuchvalec. 4. Všechny další kroky provádějte za sterilních podmínek v průtokové digestoři a před otevřením kryovialku dezinfikujte 70% ethanolem. 5. Opatrně otevřete dezinfikovanou lahvičku a přeneste buněčnou suspenzi do 15 ml centrifugační zkumavky obsahující 8 ml kultivačního média o pokojové teplotě a jemně promíchejte. 6. Směs odstřeďujte při 300 x g po dobu 3 minut, aby se buňky oddělily, a supernatant obsahující zbytky mrazicího média opatrně zlikvidujte. 7. Pelety buněk jemně resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačního média. U adherentních buněk rozdělte suspenzi mezi dvě kultivační baňky T25; u suspenzních kultur přeneste veškeré médium do jedné baňky T25, abyste podpořili účinnou interakci a růst buněk. 8. Dodržujte zavedené subkultivační protokoly pro kontinuální růst a udržování buněčné linie, čímž zajistíte spolehlivé výsledky experimentů.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, zvlhčená atmosféra.
Flask Coating	Žádný
Freezing Procedure	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.
Shipping Conditions	Kryokonzervované buněčné linie se přepravují na suchém ledu v ověřených, izolovaných obalech s dostatečným množstvím chladiva, aby se po celou dobu přepravy udržovala teplota přibližně -78 °C. Po obdržení ihned zkontrolujte obal a neprodleně přeneste lahvičky do vhodného skladu.

Storage Conditions	Pro dlouhodobé uchování umístěte lahvičky do kapalného dusíku v plynné fázi při teplotě přibližně -150 až -196 °C. Skladování při -80 °C je přijatelné pouze jako krátký přechodný krok před přemístěním do kapalného dusíku.

Kontrola kvality a molekulární analýza

Sterility	Kontaminace mykoplazmaty je vyloučena jak pomocí testů založených na PCR, tak pomocí luminiscenčních metod detekce mykoplazmy. Aby se zajistilo, že nedojde ke kontaminaci bakteriemi, plísněmi nebo kvasinkami, jsou buněčné kultury denně podrobovány vizuálním kontrolám.
Profil STR	**Amelogenin**: x,x **CSF1PO**: 11 **D13S317**: 11, 13, 14 **D16S539**: 12, 13 **D5S818**: 12, 13 **D7S820**: 11, 12 **TH01**: 6 **TPOX**: 9, 11 **vWA**: 16, 18 **D3S1358**: 14, 17 **D21S11**: 30, 32 **D18S51**: 12 **D8S1179**: 12, 14 **FGA**: 19 **D1S1656**: 15, 16 **D2S1338**: 17, 25 **D12S391**: 17, 23 **D19S433**: 15
Alely HLA	**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