Product sheet

Caco-2-celler | 300137

Generel information

Description	Caco-2-celler fungerer som en avanceret in vitro-model for den menneskelige tarmbarriere, primært på grund af deres differentiering til et cellemonolag, der ligner de enterocytter, der beklæder tyndtarmen. Når man dyrker Caco2-cellelinjen på vævskulturfilterindsatser med polykarbonatfiltre, gennemgår Caco-2-celler spontan differentiering. Differentieringen af Caco2-celler resulterer i udtrykket af specialiserede celletyper, komplet med mikrovilli, enzymer og transportører, parallelt med de komplekse funktioner og mekanismer, der findes i en in vivo-situation. I forbindelse med modeller til undersøgelse af tarmabsorption er Caco-2-celler, som stammer fra en human kolorektal adenokarcinom-patient, vigtige på grund af deres evne til at udvikle høje TEER-værdier, hvilket betyder intakte tight junctions og epitelial barrierefunktion. Disse egenskaber er afgørende for analyser som kolesterol efflux-analysen og undersøgelser af cellulær transport, herunder bevægelse af lipidnanopartikler og påvisning af proteininteraktioner. Caco-2-celler er afgørende for undersøgelser af tarmabsorption, da de giver en pålidelig in vitro-tilnærmelse af tarmepitelet. Disse celler efterligner tarmens enterocytter og letter analyser af oral lægemiddelabsorption ved at simulere tarmbarrieren. Forskere bruger Caco-2-celler til at forudsige, hvordan stoffer krydser tarmslimhinden, hvilket er afgørende for den farmakokinetiske profilering af oral medicin. Desuden er de et vigtigt redskab til at undersøge kolesteroloptagelse, -homeostase og -transport i tarmen, hvilket er afgørende processer for at forstå lipidmetabolisme og tilknyttede sygdomme. Caco-2-celler er fortsat en hjørnesten i forskning i tyktarmskarcinom og toksikologi, ikke kun på grund af deres relevans for undersøgelser af mave-tarmkanalen hos mennesker, men også på grund af deres rolle i at give detaljeret indsigt i galdevejene, metabolismen af xenobiotika i tyktarmen, kræft og toksikologisk forskning.
Organism	Menneske
Tissue	Tarm
Disease	Adenokarcinom
Applications	Model af GI-kanalen (mave-tarmkanalen), måling af den trans-epiteliale/endoteliale elektriske modstand (TEER). Caco-2-celler udvikler høje TEER-værdier på op til 2000 cm2 (målt med CLS ved hjælp af CellZscope, nanoAnalytics, Münster, Tyskland).
Synonyms	CaCo-2, CACO-2, Caco 2, CACO 2, CACO2, CaCo2, CaCO2, Caco2, Caco-II

Karakteristika

Age	72 år
Gender	Mand
Ethnicity	Kaukasisk

Caco-2-celler | 300137

Morphology	Epitel-lignende
Growth properties	Vedhæftende

Regulatoriske data

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

Biomolekylære data

Receptors expressed	Varmestabilt enterotoksin (Sta, E. coli), epidermal vækstfaktor (EGF), retinsyrebindende protein I og retinolbindende protein II, keratinpositiv.
Antigen expression	Blodtype O, Rh+, HLA klasse II negativ
Isoenzymes	Me-2, 1, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, G6PD, B.
Tumorigenic	Yeees, i nøgne mus. Danner moderat veldifferentierede adenokarcinomer i overensstemmelse med kolonens primære (grad II)
Virus resistance	Human immundefekt-virus (HIV, LAV)
Ploidy status	(P14), hypertetraploid
MSI-status	Stabil (MSS)

Håndtering

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)
Supplements	Suppler mediet med 10% FBS og 1% NEAA

Caco-2-celler | 300137

Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	60 til 70 timer
Subculturing	Fjern det gamle medium fra de klæbende celler, og vask dem med PBS, der ikke indeholder calcium og magnesium. Brug 3-5 ml PBS til T25-kolber og 5-10 ml til T75-kolber. Dæk derefter cellerne helt med Accutase, brug 1-2 ml til T25-kolber og 2,5 ml til T75-kolber. Lad cellerne inkubere ved stuetemperatur i 8-10 minutter for at løsne dem. Efter inkubationen blandes cellerne forsigtigt med 10 ml medium for at resuspendere dem, og centrifugeres derefter ved 300xg i 3 minutter. Kassér supernatanten, resuspender cellerne i frisk medium, og overfør dem til nye kolber, der allerede indeholder frisk medium.
Seeding density	1 x 10^4 celler/cm^2 vil resultere i et 90 % konfluent monolag på ca. 4 dage.
Post-Thaw Recovery	Efter optøning skal cellerne udplades med 5 x 10^4 celler/cm^2, og cellerne skal have lov til at komme sig efter frysningsprocessen og hæfte sig fast i mindst 24 timer.
Freeze medium	Som kryopræserveringsmedium bruger vi komplet vækstmedium (inklusive FBS) + 10 % DMSO for tilstrækkelig levedygtighed efter optøning eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som indeholder optimerede osmobeskyttende stoffer og metaboliske stabilisatorer for at forbedre genopretningen og reducere kryo-induceret stress.

Caco-2-celler | 300137

Thawing and Culturing Cells

1. Bekræft, at hætteglasset forbliver dybfrosset ved levering, da cellerne sendes på tøris for at opretholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved modtagelsen skal du enten straks opbevare kryohætteglasset ved temperaturer under -150 °C for at sikre, at cellernes integritet bevares, eller gå videre til trin 3, hvis øjeblikkelig dyrkning er påkrævet.
3. Ved øjeblikkelig dyrkning optøs hætteglasset hurtigt ved at nedsænke det i et 37 °C varmt vandbad med rent vand og et antimikrobielt middel og røre forsigtigt i 40-60 sekunder, indtil der kun er en lille isklump tilbage.
4. Udfør alle efterfølgende trin under sterile forhold i en flowhætte, og desinficer kryovialet med 70 % ethanol, før det åbnes.
5. Åbn forsigtigt det desinficerede hætteglas, og overfør cellesuspensionen til et 15 ml centrifugerør, der indeholder 8 ml kulturmedium ved stuetemperatur, og bland forsigtigt.
6. Centrifuger blandingen ved 300 x g i 3 minutter for at adskille cellerne, og kassér omhyggeligt supernatanten, der indeholder resterende frysemedium.
7. Resuspender forsigtigt cellepelleten i 10 ml frisk dyrkningsmedium. For klæbende celler deles suspensionen mellem to T25-kulturkolber; for suspensionskulturer overføres alt mediet til en T25-kolbe for at fremme effektiv celleinteraktion og -vækst.
8. Overhold etablerede subkulturprotokoller for fortsat vækst og vedligeholdelse af cellelinjen, hvilket sikrer pålidelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, befugtet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Shipping Conditions

Kryopræserverede cellelinjer sendes på tøris i valideret, isoleret emballage med tilstrækkeligt kølemiddel til at opretholde ca. -78 °C under hele transporten. Ved modtagelse skal beholderen straks inspiceres, og hætteglassene skal straks overføres til passende opbevaring.

Storage Conditions	For langtidsopbevaring anbringes hætteglas i flydende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Opbevaring ved -80 °C er kun acceptabelt som et kort mellemtrin før overførsel til flydende nitrogen.

Kvalitetskontrol og molekylær analyse

Sterility	Mycoplasma-kontaminering udelukkes ved hjælp af både PCR-baserede assays og luminescensbaserede mycoplasma-detektionsmetoder. For at sikre, at der ikke er nogen bakterie-, svampe- eller gærforurening, underkastes cellekulturerne daglige visuelle inspektioner.
HLA-alleler	**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