Product sheet

Caco-2-Zellen | 300137

Allgemeine Informationen

Description	Caco-2-Zellen dienen als fortschrittliches In-vitro-Modell für die menschliche Darmbarriere, vor allem aufgrund ihrer Differenzierung zu einem Zellmonolayer, der den Enterozyten, die den Dünndarm auskleiden, sehr ähnlich ist. Bei der Kultivierung der Caco2-Zelllinie auf Gewebekultur-Filtereinsätzen mit Polycarbonatfiltern kommt es zu einer spontanen Differenzierung der Caco-2-Zellen. Die Differenzierung der Caco2-Zellen führt zur Expression spezialisierter Zelltypen mit Mikrovilli, Enzymen und Transportern, die den komplexen Merkmalen und Mechanismen entsprechen, die in vivo anzutreffen sind. Im Zusammenhang mit Studien zur intestinalen Absorption sind Caco-2-Zellen, die von einem menschlichen Patienten mit kolorektalem Adenokarzinom stammen, aufgrund ihrer Fähigkeit, hohe TEER-Werte zu entwickeln, was auf intakte tight junctions und eine intakte epitheliale Barrierefunktion hinweist, von großer Bedeutung. Diese Eigenschaften sind entscheidend für Tests wie den Cholesterin-Efflux-Assay und Untersuchungen zum zellulären Transport, einschließlich der Bewegung von Lipid-Nanopartikeln und des Nachweises von Proteininteraktionen. Caco-2-Zellen sind von zentraler Bedeutung für Studien zur intestinalen Absorption, da sie eine zuverlässige In-vitro-Annäherung an das Darmepithel darstellen. Diese Zellen, die Darm-Enterozyten nachahmen, erleichtern die Analyse der oralen Arzneimittelabsorption durch die Simulation der Darmbarriere. Forscher nutzen Caco-2-Zellen, um vorherzusagen, wie Substanzen die Darmschleimhaut durchqueren, was für die Erstellung pharmakokinetischer Profile von oral verabreichten Medikamenten unerlässlich ist. Darüber hinaus sind sie ein wichtiges Instrument zur Untersuchung der Aufnahme, der Homöostase und des Transports von Cholesterin im Darm, die für das Verständnis des Lipidstoffwechsels und der damit verbundenen Krankheiten von entscheidender Bedeutung sind. Caco-2-Zellen sind nach wie vor ein Eckpfeiler in der Kolonkarzinom- und Toxikologieforschung, nicht nur wegen ihrer Relevanz für Studien zum menschlichen Magen-Darm-Trakt, sondern auch wegen ihrer Rolle bei der Erlangung detaillierter Einblicke in den Gallengang, den Stoffwechsel von Xenobiotika im Kolon sowie in die Krebs- und Toxikologieforschung.
Organism	Menschen
Tissue	Doppelpunkt
Disease	Adenokarzinom
Applications	Modell des GI-Trakts (Magen-Darm-Trakt), Messung des Trans-Epithelial/Endothelial Eletrical Resistance (TEER). Caco-2-Zellen entwickeln hohe TEER-Werte von bis zu 2000 cm2 (gemessen durch CLS mit dem CellZscope, nanoAnalytics, Münster, Deutschland).
Synonyms	CaCo-2, CACO-2, Caco 2, CACO 2, CACO2, CaCo2, CaCO2, Caco2, Caco-II

Merkmale

Age	72 Jahre

Caco-2-Zellen | 300137

Gender	Männlich
Ethnicity	Kaukasisch
Morphology	Epithelähnlich
Growth properties	Adhärent

Regulatorische Daten

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

Biomolekulare Daten

Receptors expressed	Hitzestabiles Enterotoxin (Sta, E. coli), epidermaler Wachstumsfaktor (EGF), Retinsäure-bindendes Protein I und Retinol-bindendes Protein II, Keratin positiv.
Antigen expression	Blutgruppe 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	Ja, in Nacktmäusen. Bilden mäßig gut differenzierte Adenokarzinome, die mit dem Primärkolon übereinstimmen (Grad II)
Virus resistance	Humanes Immundefizienz-Virus (HIV, LAV)
Ploidy status	(P14), hypertetraploid
MSI-status	Stabil (MSS)

Handhabung

Caco-2-Zellen | 300137

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion-Artikelnummer 820100a)
Supplements	Ergänzen Sie das Medium mit 10% FBS und 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	60 bis 70 Stunden
Subculturing	Entfernen Sie das alte Medium von den adhärenten Zellen und waschen Sie sie mit PBS, das kein Kalzium und Magnesium enthält. Für T25-Kolben 3-5 ml PBS und für T75-Kolben 5-10 ml verwenden. Anschließend werden die Zellen vollständig mit Accutase bedeckt, wobei 1-2 ml für T25-Kolben und 2,5 ml für T75-Kolben verwendet werden. Lassen Sie die Zellen 8-10 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren, um sie abzulösen. Nach der Inkubation mischen Sie die Zellen vorsichtig mit 10 ml Medium, um sie zu resuspendieren, und zentrifugieren sie dann 3 Minuten lang bei 300xg. Den Überstand verwerfen, die Zellen in frischem Medium resuspendieren und in neue Kolben überführen, die bereits frisches Medium enthalten.
Split ratio	Empfohlen wird ein Verhältnis von 1:2 bis 1:3
Seeding density	1 x 10^4 Zellen/cm^2 führen in etwa 4 Tagen zu einer zu 90 % konfluenten Monoschicht.
Post-Thaw Recovery	Nach dem Auftauen die Zellen mit einer Dichte von 5 x 10^4 Zellen/cm^2 ausplattieren und die Zellen mindestens 24 Stunden lang vom Gefrierprozess erholen und adhärieren lassen.
Freeze medium	Als Kryokonservierungsmedium verwenden wir komplettes Wachstumsmedium (einschließlich FBS) + 10 % DMSO für eine angemessene Lebensfähigkeit nach dem Auftauen oder CM-1 (Cytion Katalognummer 800100), das optimierte Osmoprotektoren und Stoffwechselstabilisatoren enthält, um die Erholung zu verbessern und kryoinduzierten Stress zu reduzieren.

Caco-2-Zellen | 300137

Thawing and Culturing Cells

1. Vergewissern Sie sich, dass das Fläschchen bei der Lieferung tiefgefroren ist, da die Zellen auf Trockeneis versandt werden, um während des Transports optimale Temperaturen zu erhalten.
2. Lagern Sie das Kryofläschchen nach Erhalt entweder sofort bei Temperaturen unter -150 °C, um die Unversehrtheit der Zellen zu gewährleisten, oder fahren Sie mit Schritt 3 fort, wenn eine sofortige Kultivierung erforderlich ist.
3. Für eine sofortige Kultivierung tauen Sie das Fläschchen schnell auf, indem Sie es in ein 37°C warmes Wasserbad mit sauberem Wasser und einem antimikrobiellen Mittel eintauchen und 40-60 Sekunden lang vorsichtig schütteln, bis ein kleiner Eisklumpen zurückbleibt.
4. Führen Sie alle weiteren Schritte unter sterilen Bedingungen in einer Abzugshaube durch und desinfizieren Sie das Kryo-Fläschchen vor dem Öffnen mit 70%igem Ethanol.
5. Das desinfizierte Fläschchen vorsichtig öffnen und die Zellsuspension unter vorsichtigem Mischen in ein 15-ml-Zentrifugenröhrchen mit 8 ml Kulturmedium bei Raumtemperatur überführen.
6. Zentrifugieren Sie das Gemisch 3 Minuten lang bei 300 x g, um die Zellen abzutrennen, und verwerfen Sie den Überstand mit dem restlichen Gefriermedium vorsichtig.
7. Das Zellpellet vorsichtig in 10 ml frischem Kulturmedium resuspendieren. Bei adhärenten Zellen die Suspension auf zwei T25-Kulturflaschen aufteilen; bei Suspensionskulturen das gesamte Medium in eine T25-Flasche überführen, um eine effektive Zellinteraktion und ein effektives Wachstum zu fördern.
8. Halten Sie sich an die festgelegten Subkulturprotokolle, um ein kontinuierliches Wachstum und die Aufrechterhaltung der Zelllinie zu gewährleisten und zuverlässige Versuchsergebnisse zu erzielen.

Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, befeuchtete Atmosphäre.
Flask Coating	Keine
Freezing Procedure	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.

Caco-2-Zellen | 300137

Shipping Conditions	Kryokonservierte Zelllinien werden auf Trockeneis in einer validierten, isolierten Verpackung mit ausreichend Kühlmittel versandt, um während des gesamten Transports eine Temperatur von etwa -78 °C aufrechtzuerhalten. Prüfen Sie den Behälter bei Erhalt sofort und bringen Sie die Fläschchen unverzüglich in ein geeignetes Lager.
Storage Conditions	Zur Langzeitkonservierung werden die Fläschchen in flüssigem Stickstoff bei etwa -150 bis -196 °C gelagert. Eine Lagerung bei -80 °C ist nur als kurzer Zwischenschritt vor der Überführung in flüssigen Stickstoff akzeptabel.

Qualitätskontrolle und molekulare Analyse

Sterility	Eine Kontamination mit Mykoplasmen wird sowohl durch PCR-basierte Assays als auch durch lumineszenzbasierte Mykoplasmen-Nachweisverfahren ausgeschlossen. Um sicherzustellen, dass keine Kontamination mit Bakterien, Pilzen oder Hefen vorliegt, werden die Zellkulturen täglich visuell überprüft.
STR-Profil	**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
HLA-Allele	**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