Product sheet

Κύτταρα Caco-2 | 300137

Γενικές πληροφορίες

Description	Τα κύτταρα Caco-2 χρησιμεύουν ως ένα προηγμένο in vitro μοντέλο για τον ανθρώπινο εντερικό φραγμό, κυρίως λόγω της διαφοροποίησής τους σε μια κυτταρική μονοστιβάδα που μοιάζει πολύ με τα εντεροκύτταρα που επενδύουν το λεπτό έντερο. Κατά την καλλιέργεια της κυτταρικής σειράς Caco2 σε ένθετα φίλτρων ιστοκαλλιέργειας με πολυκαρβονικά φίλτρα, τα κύτταρα Caco-2 υφίστανται αυθόρμητη διαφοροποίηση. Η διαφοροποίηση των κυττάρων Caco2 έχει ως αποτέλεσμα την έκφραση εξειδικευμένων κυτταρικών τύπων, συμπληρωμένων με microvilli, ένζυμα και μεταφορείς, παραλληλίζοντας τα πολύπλοκα χαρακτηριστικά και τους μηχανισμούς που απαντώνται σε μια in vivo κατάσταση. Στο πλαίσιο των μοντέλων μελέτης της εντερικής απορρόφησης, τα κύτταρα Caco-2, τα οποία προέρχονται από ασθενή με αδενοκαρκίνωμα του παχέος εντέρου, είναι καθοριστικής σημασίας λόγω της ικανότητάς τους να αναπτύσσουν υψηλές τιμές TEER, που σηματοδοτούν άθικτες στεγανές συνδέσεις και λειτουργία επιθηλιακού φραγμού. Αυτές οι ιδιότητες είναι ζωτικής σημασίας για δοκιμασίες όπως η δοκιμασία εκροής χοληστερόλης και για έρευνες σχετικά με την κυτταρική μεταφορά, συμπεριλαμβανομένης της μετακίνησης λιπιδικών νανοσωματιδίων και της ανίχνευσης πρωτεϊνικών αλληλεπιδράσεων. Τα κύτταρα Caco-2 είναι ζωτικής σημασίας για τις μελέτες εντερικής απορρόφησης, παρέχοντας μια αξιόπιστη in vitro προσέγγιση του εντερικού επιθηλίου. Μιμούμενα τα εντερικά εντεροκύτταρα, τα κύτταρα αυτά διευκολύνουν τις αναλύσεις της από του στόματος απορρόφησης φαρμάκων προσομοιώνοντας τον εντερικό φραγμό. Οι ερευνητές χρησιμοποιούν τα κύτταρα Caco-2 για να προβλέψουν τον τρόπο με τον οποίο οι ουσίες διαπερνούν τον εντερικό βλεννογόνο, κάτι που είναι απαραίτητο για τη φαρμακοκινητική σκιαγράφηση των από του στόματος χορηγούμενων φαρμάκων. Επιπλέον, αποτελούν βασικό εργαλείο για τη διερεύνηση της εντερικής πρόσληψης, ομοιόστασης και μεταφοράς χοληστερόλης, οι οποίες είναι ζωτικής σημασίας διαδικασίες για την κατανόηση του μεταβολισμού των λιπιδίων και των σχετικών ασθενειών. Τα κύτταρα Caco-2 παραμένουν ακρογωνιαίος λίθος στην έρευνα για το καρκίνωμα του παχέος εντέρου και την τοξικολογία, όχι μόνο για τη σημασία τους στις μελέτες του ανθρώπινου γαστρεντερικού συστήματος, αλλά και για τον ρόλο τους στην παροχή λεπτομερών γνώσεων σχετικά με τη χολική οδό, τον μεταβολισμό των ξενοβιοτικών εντός του παχέος εντέρου, την έρευνα για τον καρκίνο και την τοξικολογία.
Organism	Ανθρώπινο
Tissue	Κόλον
Disease	Αδενοκαρκίνωμα
Applications	Μοντέλο του γαστρεντερικού σωλήνα, μέτρηση της διαεπιθηλιακής/ενδοθηλιακής ηλεκτρικής αντίστασης (TEER). Τα κύτταρα Caco-2 αναπτύσσουν υψηλές τιμές TEER έως και 2000 cm2 (όπως μετράται με CLS χρησιμοποιώντας το CellZscope, nanoAnalytics, Münster, Γερμανία).
Synonyms	CaCo-2, CACO-2, Caco 2, CACO 2, CACO2, CACO2, CaCo2, CaCO2, Caco2, Caco-II

Χαρακτηριστικά

Age	72 χρόνια

Κύτταρα Caco-2 | 300137

Gender	Άντρας
Ethnicity	Καυκάσιος
Morphology	Επιθηλιοειδής
Growth properties	Προσκολλημένο

Ρυθμιστικά δεδομένα

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

Βιομοριακά δεδομένα

Receptors expressed	Θερμοσταθερή εντεροτοξίνη (Sta, E. coli), επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (EGF), πρωτεΐνη δέσμευσης ρετινοϊκού οξέος I και πρωτεΐνη δέσμευσης ρετινόλης II, θετική κερατίνη.
Antigen expression	Ομάδα αίματος O, Rh+, HLA class II αρνητικό
Isoenzymes	Me-2, 1, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, G6PD, B.
Tumorigenic	Ναι, σε γυμνά ποντίκια. Σχηματίζουν μέτρια διαφοροποιημένα αδενοκαρκινώματα που συνάδουν με πρωτογενή του παχέος εντέρου (βαθμός II)
Virus resistance	Ιός της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας (HIV, LAV)
Ploidy status	(P14), υπερτετραπλοειδής
MSI-status	Σταθερό (MSS)

Χειρισμός

Κύτταρα Caco-2 | 300137

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-γλουταμίνη, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (αριθμός άρθρου Cytion 820100a)
Supplements	Συμπληρώστε το μέσο με 10% FBS και 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	60 έως 70 ώρες
Subculturing	Αφαιρέστε το παλιό μέσο από τα προσκολλημένα κύτταρα και πλύντε τα με PBS που δεν περιέχει ασβέστιο και μαγνήσιο. Για φιάλες T25, χρησιμοποιήστε 3-5 ml PBS και για φιάλες T75, χρησιμοποιήστε 5-10 ml. Στη συνέχεια, καλύψτε πλήρως τα κύτταρα με Accutase, χρησιμοποιώντας 1-2 ml για φιάλες T25 και 2,5 ml για φιάλες T75. Αφήστε τα κύτταρα να επωαστούν σε θερμοκρασία δωματίου για 8-10 λεπτά για να αποκολληθούν. Μετά την επώαση, αναμείξτε απαλά τα κύτταρα με 10 ml μέσου για να ανασυσταθούν και, στη συνέχεια, φυγοκεντρίστε στα 300xg για 3 λεπτά. Απορρίψτε το υπερκείμενο υγρό, ανασυστάστε τα κύτταρα σε φρέσκο μέσο και μεταφέρετέ τα σε νέες φιάλες που περιέχουν ήδη φρέσκο μέσο.
Seeding density	1 x 10^4 κύτταρα/cm^2 θα οδηγήσει σε 90% συγκλίνουσα μονοστρωματική επίστρωση σε περίπου 4 ημέρες.
Post-Thaw Recovery	Μετά την απόψυξη, τοποθετήστε τα κύτταρα σε πλάκα με πυκνότητα 5 x 10^4 κύτταρα/cm^2 και αφήστε τα κύτταρα να αναρρώσουν από τη διαδικασία κατάψυξης και να προσκολληθούν για τουλάχιστον 24 ώρες.
Freeze medium	Ως μέσο κρυοσυντήρησης, χρησιμοποιούμε πλήρες μέσο ανάπτυξης (συμπεριλαμβανομένου του FBS) + 10% DMSO για επαρκή βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, ή CM-1 (αριθμός καταλόγου Cytion 800100), το οποίο περιλαμβάνει βελτιστοποιημένα ωσμοπροστατευτικά και μεταβολικούς σταθεροποιητές για την ενίσχυση της ανάκαμψης και τη μείωση του στρες που προκαλείται από την κρυοσυντήρηση.

Κύτταρα Caco-2 | 300137

Thawing and Culturing Cells

1. Επιβεβαιώστε ότι το φιαλίδιο παραμένει βαθιά παγωμένο κατά την παράδοση, καθώς τα κύτταρα αποστέλλονται σε ξηρό πάγο για να διατηρούνται οι βέλτιστες θερμοκρασίες κατά τη μεταφορά.

2. Κατά την παραλαβή, είτε αποθηκεύστε το κρυοφιαλίδιο αμέσως σε θερμοκρασίες κάτω των -150°C για να διασφαλίσετε τη διατήρηση της κυτταρικής ακεραιότητας, είτε προχωρήστε στο βήμα 3 εάν απαιτείται άμεση καλλιέργεια.

3. Για άμεση καλλιέργεια, αποψύξτε γρήγορα το φιαλίδιο βυθίζοντάς το σε υδατόλουτρο 37°C με καθαρό νερό και αντιμικροβιακό παράγοντα, αναδεύοντας απαλά για 40-60 δευτερόλεπτα μέχρι να παραμείνει ένα μικρό σβόλο πάγου.

4. Εκτελέστε όλα τα επόμενα βήματα υπό αποστειρωμένες συνθήκες σε απορροφητήρα ροής, απολυμαίνοντας το κρυοφιαλίδιο με 70% αιθανόλη πριν από το άνοιγμα.

5. Ανοίξτε προσεκτικά το απολυμασμένο φιαλίδιο και μεταφέρετε το εναιώρημα των κυττάρων σε ένα σωληνάριο φυγοκέντρησης των 15 ml που περιέχει 8 ml θρεπτικού μέσου καλλιέργειας σε θερμοκρασία δωματίου, αναμειγνύοντας απαλά.

6. Φυγοκεντρίστε το μείγμα στα 300 x g για 3 λεπτά για να διαχωριστούν τα κύτταρα και απορρίψτε προσεκτικά το υπερκείμενο που περιέχει το υπόλοιπο μέσο κατάψυξης.

7. Επανασυσσωματώστε απαλά το κυτταρικό σφαιρίδιο σε 10 ml φρέσκου μέσου καλλιέργειας. Για προσκολλημένα κύτταρα, μοιράστε το εναιώρημα σε δύο φιάλες καλλιέργειας T25- για καλλιέργειες εναιωρήματος, μεταφέρετε όλο το μέσο σε μία φιάλη T25 για να προωθήσετε την αποτελεσματική αλληλεπίδραση και ανάπτυξη των κυττάρων.

8. Τηρείτε τα καθιερωμένα πρωτόκολλα υποκαλλιέργειας για τη συνεχή ανάπτυξη και διατήρηση της κυτταρικής σειράς, εξασφαλίζοντας αξιόπιστα πειραματικά αποτελέσματα.

Incubation Atmosphere

37°C, 5%$_{CO2}$, υγροποιημένη ατμόσφαιρα.

Flask Coating

Για βέλτιστη προσκόλληση και βιωσιμότητα μετά την απόψυξη, συνιστούμε τη χρήση **φιαλών ή πλακών με επικάλυψη κολλαγόνου**.

Freezing Procedure

Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.

Κύτταρα Caco-2 | 300137

Shipping Conditions	Οι κρυοσυντηρημένες κυτταρικές σειρές αποστέλλονται σε ξηρό πάγο σε επικυρωμένη, μονωμένη συσκευασία με επαρκές ψυκτικό μέσο για τη διατήρηση περίπου των -78 °C καθ' όλη τη διάρκεια της μεταφοράς. Κατά την παραλαβή, επιθεωρήστε αμέσως τον περιέκτη και μεταφέρετε τα φιαλίδια χωρίς καθυστέρηση στην κατάλληλη αποθήκη.
Storage Conditions	Για μακροχρόνια συντήρηση, τοποθετήστε τα φιαλίδια σε υγρό άζωτο σε φάση ατμών σε θερμοκρασία περίπου -150 έως -196 °C. Η αποθήκευση στους -80 °C είναι αποδεκτή μόνο ως σύντομο ενδιάμεσο βήμα πριν από τη μεταφορά σε υγρό άζωτο.

Ποιοτικός έλεγχος / Γενετικό προφίλ / HLA

Sterility	Η μόλυνση από μυκόπλασμα αποκλείεται με τη χρήση τόσο των δοκιμασιών που βασίζονται στην PCR όσο και των μεθόδων ανίχνευσης μυκοπλάσματος με βάση τη φωταύγεια. Για να διασφαλιστεί ότι δεν υπάρχει μόλυνση από βακτήρια, μύκητες ή ζύμες, οι κυτταροκαλλιέργειες υποβάλλονται σε καθημερινές οπτικές επιθεωρήσεις.
HLA αλληλόμορφα	**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