

## Caco-2 rakud | 300137

## Üldine teave

## Description

Caco-2 rakud on inimese soolebarjääri täiustatud in vitro mudeliks, peamiselt tänu nende diferentseerumisele rakumonokihiks, mis sarnaneb väga täpselt peensoolt vooderdavate enterotsüütidega. Caco2 rakuliini kasvatamisel polükarbonaatfiltritega koekultuurifiltri sisestustel toimub Caco-2 rakkude spontaanne diferentseerumine. Caco2 rakkude diferentseerumise tulemuseks on spetsialiseerunud rakutüüpide ekspressioon koos mikrovillide, ensüümide ja transporteritega, mis on paralleelselt in vivo situatsioonis esinevate keeruliste omaduste ja mehhanismidega.

Soolestiku imendumise uuringute mudelite kontekstis on Caco-2 rakud, mis on saadud inimese kolorektaalse adenokartsinoomi patsiendilt, olulised tänu nende võimele arendada kõrgeid TEER väärtusi, mis tähistab intaktseid tihedaid ühendusi ja epiteelbarjääri funktsiooni. Need omadused on olulised selliste analüüside jaoks nagu kolesterooli väljavooluproov ja rakutranspordi uuringud, sealhulgas lipiidide nanoosakeste liikumine ja valkude koostoimete tuvastamine.

Caco-2 rakud on soolestiku imendumise uuringutes keskse tähtsusega, kuna nad pakuvad usaldusväärset in vitro lähenemist soolestiku epiteelile. Soolestiku enterotsüüte jäljendavad rakud hõlbustavad ravimite suukaudse imendumise analüüsi, simuleerides soolebarjääri. Teadlased kasutavad Caco-2 rakke, et ennustada, kuidas ained läbivad soole limaskesta, mis on oluline suukaudsete ravimite farmakokineetilise profiili koostamisel. Lisaks on need rakud peamine vahend kolesterooli soolestiku omastamise, homöostaasi ja transpordi uurimisel, mis on olulised protsessid lipiidide metabolismi ja sellega seotud haiguste mõistmiseks.

Caco-2 rakud on jätkuvalt käärsoole kartsinoomi ja toksikoloogia uuringute nurgakivi, mitte ainult nende tähtsuse tõttu inimese seedetrakti uuringutes, vaid ka nende rolli tõttu üksikasjaliku ülevaate andmisel sapiteede, ksenobiootikumide metabolismi kohta käärsoolestikus, vähi ja toksikoloogia uuringutes.

**Organism** Inimene

**Tissue** Colon

**Disease** Adenokartsinoom

**Applications** Seedetrakti (seedetrakti) mudel, trans-epiteeliale/endoteliaalse elektrilise resistentsuse (TEER) mõõtmine. Caco-2 rakkudel tekivad kõrgeid TEER-väärtusi kuni 2000 cm<sup>2</sup> (mõõdetuna CLS-ga, kasutades CellZscope'i, nanoAnalytics, Münster, Saksamaa).

**Synonyms** CaCo-2, CACO-2, Caco 2, CACO 2, CACO2, CACO2, CaCo2, CaCO2, Caco2, Caco-II

## Omadused

**Age** 72 aastat

**Gender** Mees

**Ethnicity** Kaukaasia

## Caco-2 rakud | 300137

**Morphology** Epiteelilaadsed

**Growth properties** Kinnipeetav

## Regulatiivsed andmed

**Citation** CaCo-2 (Cytioni katalooginumber 300137)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_0025

## Biomolekulaarsed andmed

**Receptors expressed** Kuumastabiilne enterotoksiin (Sta, E. coli), epidermise kasvufaktor (EGF), retiinhapet siduv valk I ja retinooli siduv valk II, keratiin positiivne.

**Antigen expression** Veregrupp O, Rh+, HLA II klassi negatiivne

**Isoenzymes** Me-2, 1, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, G6PD, B.

**Tumorigenic** Jah, alasti hiirtel. Moodustavad mõõdukalt diferentseerunud adenokartsinoome, mis vastavad koloniidi primaarsele (II aste)

**Virus resistance** Inimese immuunpuudulikkuse viirus (HIV, LAV)

**Ploidy status** (P14), hüpertetraploidne

**MSI-status** Stabiilne (MSS)

## Töötlemine

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiin, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (Cytioni artikli number 820100a)

**Supplements** Täiendada söötme 10% FBS ja 1% NEAaga

**Caco-2 rakud | 300137****Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 60-70 tundi**Subculturing** Eemaldage kleepunud rakkudelt vana söötme ja peske neid PBS-ga, milles puudub kaltsium ja magneesium. T25 kolbide puhul kasutage 3-5 ml PBS-i ja T75 kolbide puhul 5-10 ml. Seejärel katke rakud täielikult Accutase'iga, kasutades 1-2 ml T25 kolbide puhul ja 2,5 ml T75 kolbide puhul. Laske rakkudel inkubeerida 8-10 minutit toatemperatuuril, et need eralduksid. Pärast inkubeerimist segage rakud ettevaatlikult 10 ml söötmega, et neid resuspenseerida, seejärel tsentrifugeerige 3 minutit 300xg juures. Visake supernatant ära, suspenseerige rakud uuesti värskes keskkonnas ja viige need uutesse kolvidesse, mis sisaldavad juba värsket keskkonda.**Seeding density**  $1 \times 10^4$  rakku/cm<sup>2</sup> annab umbes 4 päeva jooksul 90% konfluentse monokihi.**Post-Thaw Recovery** Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega  $5 \times 10^4$  rakku/cm<sup>2</sup> ja laske rakkudel külmutamisprotsessist taastuda ja kinnituda vähemalt 24 tunni jooksul.**Freeze medium** Krüosäilitusvedelikusena kasutame täielikku kasvukeskkonda (sh FBS) + 10% DMSO, et tagada piisav elujõulisus pärast sulatamist, või CM-1 (Cytioni katalooginumber 800100), mis sisaldab optimeeritud osmoprotektante ja metaboolseid stabilisaatoreid, et parandada taastumist ja vähendada krüostressi.

**Caco-2 rakud | 300137****Thawing and  
Culturing Cells**

1. Veenduge, et vial jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal.
2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ , et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida.
3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viali kiiresti, kastes selle  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  veevanni puhta vee ja antimikroobse ainega, segades seda õrnalt 40-60 sekundit, kuni alles jääb väike jääklomp.
4. Tehke kõik järgmised toimingud steriilsetes tingimustes vooluhoodis, desinfitseerides krüoviaal enne avamist 70% etanooliga.
5. Avage desinfitseeritud viali ettevaatlikult ja viige raku suspensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda.
6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu  $300 \times g$  juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära.
7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereerivate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötme keskkond ühte T25 kolbi, et soodustada rakkude tõhusat koostoimet ja kasvu.
8. Järgige kehtestatud subkultuuriprotokolle rakuliini jätkuvaks kasvuks ja säilitamiseks, tagades usaldusväärsed katsetulemused.

**Incubation  
Atmosphere**

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$ , niisutatud atmosfäär.

**Flask Coating**

Puudub

**Freezing  
Procedure**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

**Shipping  
Conditions**

Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige vialid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

## Caco-2 rakud | 300137

### Storage Conditions

Pikaajaliseks säilitamiseks asetage viaalid aurufaasis vedela lämmastikuga umbes -150 kuni -196 °C juures. Säilitamine temperatuuril -80 °C on vastuvõetav ainult lühikese vaheetapina enne vedela lämmastikuga üleviimist.

## Kvaliteedikontroll / Geneetiline profiil / HLA

### Sterility

Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminesentsil põhinevate mükoplasma tuvastamise meetodite abil.

Bakteriaalse, seene- või pärmsaaste puudumise tagamiseks kontrollitakse rakukultuure iga päev visuaalselt.

### HLA alleles

**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