Product sheet

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 imendumisuuringute mudelite kontekstis on Caco-2 rakud, mis on saadud inimese kolorektaalse adenokartsinoomi patsiendilt, olulised tänu nende võimele arendada kõrgeid TEER-väärtusi, mis tähendab intaktseid tihedaid ühendusi ja epiteelibarjääri 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-epiteliaalse/endoteliaalse elektrilise resistentsuse (TEER) mõõtmine. Caco-2 rakkudel tekivad kõrged TEER-väärtused kuni 2000 cm2 (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 kataloginumber 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 NaHCO3, 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 tsentrifuugige 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 x 10^4 rakku/cm^2 annab umbes 4 päeva jooksul 90% konfluentse monokihi.
Post-Thaw Recovery	Pärast sulatamist asetage rakud plaadile tihedusega 5 x $10^{4\ rakku}$/cm^2 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 viaal jääb tarnimisel sügavkülmutatud, sest rakud transporditakse kuiva jääga, et säilitada optimaalne temperatuur transpordi ajal. 2. Pärast kättesaamist säilitage krüoviaal kas kohe temperatuuril alla -150 °C, et tagada rakkude terviklikkuse säilimine, või jätkake sammuga 3, kui on vaja koheselt kultiveerida. 3. Kohese kultiveerimise korral sulatage viaali kiiresti, kastes selle 37 °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 viaali ettevaatlikult ja viige rakususpensioon ettevaatlikult segades 15 ml tsentrifuugitorusse, mis sisaldab 8 ml toatemperatuuril olevat kasvukeskkonda. 6. Rakkude eraldamiseks tsentrifuugige segu 300 x g juures 3 minutit ja visake ülejäänud külmutusvedelikku sisaldav supernatant ettevaatlikult ära. 7. Resuspendeerige rakupellet ettevaatlikult 10 ml värskes kasvukeskkonnas. Adhereeruvate rakkude puhul jagage suspensioon kahe T25 kultuurkolvi vahel; suspensioonikultuuride puhul kandke kogu söötmekeskkond 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°C, 5% $_{CO2}$, 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 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.
Shipping Conditions	Krüokonserveeritud rakuliinid transporditakse kuiva jääga valideeritud, isoleeritud pakendis, milles on piisavalt külmutusainet, et säilitada kogu transpordi jooksul ligikaudu -78 °C. Vastuvõtmisel kontrollige konteinerit kohe ja viige viaalid viivitamatult sobivasse hoiuruumi.

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 ja molekulaaranalüüs

Sterility	Mükoplasmakontaminatsioon on välistatud nii PCR-põhiste analüüside kui ka luminestsentsil 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