Product sheet

Caco-2-solut | 300137

Yleisiä tietoja

Description	Caco-2-solut toimivat kehittyneenä in vitro -mallina ihmisen suolistoesteelle, mikä johtuu pääasiassa siitä, että ne erilaistuvat solukerrokseksi, joka muistuttaa läheisesti ohutsuolta vuorivia enterosyyttejä. Kun Caco-2-solulinjaa viljellään kudosviljelysuodatinlevyillä, joissa on polykarbonaattisuodattimet, Caco-2-solut erilaistuvat spontaanisti. Caco2-solujen erilaistuminen johtaa erikoistuneiden solutyyppien ilmentymiseen mikrovillien, entsyymien ja kuljettajien kera, mikä vastaa in vivo -tilanteessa esiintyviä monimutkaisia ominaisuuksia ja mekanismeja. Suoliston imeytymistutkimusmallien yhteydessä Caco-2-solut, jotka on saatu ihmisen paksusuolen adenokarsinoomapotilaasta, ovat tärkeitä, koska ne kykenevät kehittämään korkeita TEER-arvoja, mikä merkitsee ehjiä tiukkoja yhteyksiä ja epiteelin esteen toimintaa. Nämä ominaisuudet ovat ratkaisevan tärkeitä kolesterolin efflux-testin kaltaisissa määrityksissä ja solukuljetuksen tutkimisessa, mukaan lukien lipidin nanohiukkasten liikkuminen ja proteiinien vuorovaikutusten havaitseminen. Caco-2-solut ovat keskeisiä suolen imeytymistutkimuksissa, sillä ne tarjoavat luotettavan in vitro -lähestymistavan suolen epiteelille. Nämä suolen enterosyyttejä jäljittelevät solut helpottavat suun kautta tapahtuvan lääkeaineen imeytymisen analysointia simuloimalla suolistoesteen toimintaa. Tutkijat käyttävät Caco-2-soluja ennustamaan, miten aineet läpäisevät suolen limakalvon, mikä on välttämätöntä suun kautta otettavien lääkkeiden farmakokineettisessä profiloinnissa. Lisäksi ne ovat keskeinen väline tutkittaessa suoliston kolesterolin ottoa, homeostaasia ja kuljetusta, jotka ovat elintärkeitä prosesseja lipidimetabolian ja siihen liittyvien sairauksien ymmärtämiseksi. Caco-2-solut ovat edelleen paksusuolen karsinooman ja toksikologian tutkimuksen kulmakivi, ei ainoastaan siksi, että ne ovat merkityksellisiä ihmisen ruoansulatuskanavan tutkimuksissa, vaan myös siksi, että ne tarjoavat yksityiskohtaista tietoa sappireitistä, ksenobioottien aineenvaihdunnasta paksusuolessa, syövästä ja toksikologisesta tutkimuksesta.
Organism	Ihminen
Tissue	Paksusuoli
Disease	Adenokarsinooma
Applications	GI (ruoansulatuskanavan) malli, jossa mitataan trans-epiteliaalinen/endoteeliaalinen sähköinen resistanssi (TEER). Caco-2-solut kehittävät korkeita TEER-arvoja, jopa 2000 cm2 (mitattuna CLS:llä CellZscope-laitteella, nanoAnalytics, Münster, Saksa).
Synonyms	CaCo-2, CACO-2, Caco 2, CACO 2, CACO2, CACO2, CaCo2, CaCO2, Caco2, Caco-II

Ominaisuudet

Age	72 vuotta
Gender	Mies

Caco-2-solut | 300137

Ethnicity	Kaukasialainen
Morphology	Epiteelin kaltainen
Growth properties	Tarttuva

Sääntelytiedot

Citation	CaCo-2 (Cytionin luettelonumero 300137)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0025

Biomolekyylitiedot

Receptors expressed	Lämpöstabiili enterotoksiini (Sta, E. coli), epiderminen kasvutekijä (EGF), retinohappoa sitova proteiini I ja retinolia sitova proteiini II, keratiini positiivinen.
Antigen expression	Veriryhmä O, Rh+, HLA-luokka II negatiivinen
Isoenzymes	Me-2, 1, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, G6PD, B.
Tumorigenic	Kyllä, alastomilla hiirillä. Muodostavat kohtalaisen hyvin erilaistuneita adenokarsinoomia, jotka ovat sopusoinnussa paksusuolen primaarin kanssa (aste II)
Virus resistance	Ihmisen immuunikatovirus (HIV, LAV)
Ploidy status	(P14), hypertetraploidinen
MSI-status	Vakaa (MSS)

Käsittely

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamiini, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytionin artikkelinumero 820100a)

Caco-2-solut | 300137

Supplements	Täydennetään elatusainetta 10 % FBS:llä ja 1 % NEAA:lla
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	60-70 tuntia
Subculturing	Poista vanha väliaine tarttuneista soluista ja pese ne PBS:llä, josta puuttuu kalsiumia ja magnesiumia. Käytä T25-pulloissa 3-5 ml PBS:ää ja T75-pulloissa 5-10 ml. Peitä sitten solut kokonaan Accutase-valmisteella, käyttäen 1-2 ml T25-pulloissa ja 2,5 ml T75-pulloissa. Anna solujen inkuboitua huoneenlämmössä 8-10 minuuttia solujen irtoamiseksi. Inkuboinnin jälkeen solut sekoitetaan varovasti 10 ml:n väliaineella niiden resuspendoimiseksi ja sentrifugoidaan sitten 300xg:n nopeudella 3 minuutin ajan. Hävitä supernatantti, suspendoi solut uudelleen tuoreeseen väliaineeseen ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.
Seeding density	1 x 10^4 solua/cm^2 tuottaa 90 %:n konfluenttisen monokerroksen noin 4 päivässä.
Post-Thaw Recovery	Sulattamisen jälkeen levitä solut 5 x 10^4 solua/cm^2 ja anna solujen toipua pakastusprosessista ja kiinnittyä vähintään 24 tunnin ajan.
Freeze medium	Kryosäilytysmediana käytämme täydellistä kasvualustaa (mukaan lukien FBS) + 10 % DMSO:ta riittävän sulatuksen jälkeisen elinkelpoisuuden varmistamiseksi tai CM-1:tä (Cytionin luettelonumero 800100), joka sisältää optimoituja osmoprotectantteja ja metabolisia stabilisaattoreita, jotka parantavat elpymistä ja vähentävät kryosäilytyksen aiheuttamaa stressiä.

Caco-2-solut | 300137

Thawing and Culturing Cells	1. Varmista, että injektiopullo pysyy syväjäädytettynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäässä, jotta optimaalinen lämpötila säilyy kuljetuksen aikana. 2. Vastaanotettaessa kryopullo joko säilytetään välittömästi alle -150 °C:n lämpötilassa solujen eheyden säilyttämiseksi tai edetään vaiheeseen 3, jos tarvitaan välitöntä viljelyä. 3. Välitöntä viljelyä varten sulata injektiopullo nopeasti upottamalla se 37 °C:n vesihauteeseen, jossa on puhdasta vettä ja mikrobilääkettä, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäästä on jäljellä pieni jäämöhkäle. 4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisella etanolilla ennen avaamista. 5. Avaa desinfioitu injektiopullo varovasti ja siirrä solususpensio 15 ml:n sentrifugiputkeen, joka sisältää 8 ml huoneenlämpöistä elatusainetta, varovasti sekoittaen. 6. Sentrifugoi seosta 300 x g:n voimakkuudella 3 minuutin ajan solujen erottamiseksi ja hävitä varovasti supernatantti, joka sisältää jäännöspakastusmediumia. 7. Suspendoidaan solupelletti varovasti uudelleen 10 ml:aan tuoretta elatusainetta. Jos solut ovat tarttuvia, jaa suspensio kahden T25-kolvin kesken; jos kyseessä ovat suspensioviljelmät, siirrä kaikki väliaine yhteen T25-kolviin solujen tehokkaan vuorovaikutuksen ja kasvun edistämiseksi. 8. Noudata vakiintuneita aliviljelyprotokollia solulinjan jatkuvan kasvun ja ylläpidon varmistamiseksi ja luotettavien kokeellisten tulosten varmistamiseksi.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, kostutettu ilmakehä.
Flask Coating	Ei mitään
Freezing Procedure	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.
Shipping Conditions	Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäässä validoidussa, eristetyssä pakkauksessa, jossa on riittävästi kylmäainetta, jotta lämpötila pysyy noin -78 °C:ssa koko kuljetuksen ajan. Pakkaus on tarkastettava välittömästi sen vastaanottamisen jälkeen ja injektiopullot on siirrettävä viipymättä asianmukaiseen varastoon.

Storage Conditions	Pitkäaikaissäilytystä varten injektiopullot asetetaan höyryfaasissa olevaan nestemäiseen typpeen noin -150 - -196 °C:een. Säilytys -80 °C:ssa on hyväksyttävää vain lyhyenä välivaiheena ennen siirtoa nestemäiseen typpeen.

Laadunvalvonta ja molekyylianalyysi

Sterility	Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrityksillä että luminesenssiin perustuvilla mykoplasman osoitusmenetelmillä. Bakteeri-, sieni- tai hiivakontaminaation välttämiseksi soluviljelmät tarkastetaan päivittäin silmämääräisesti.
HLA-alleelit	**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