

Caco-2-solut | 300137

Yleisiä tietoja

Description

Caco-2-solut toimivat kehittyneenä in vitro -mallina ihmisen suolistosteelle, mikä johtuu pääasiassa siitä, että ne erilaistuvat solukerrokseksi, joka muistuttaa läheisesti ohutsuolta vuorivia enterosyyttejä. Kun Caco-2-solulinjaa viljellään kudosisviljelysuodatinlevyillä, joissa on polykarbonaattisuodattimet, Caco-2-solut erilaistuvat spontaanisti. Caco-2-solujen erilaistuminen johtaa erikoistuneiden solutyypin 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 keskeisessä asemassa suolen imeytymistutkimuksissa, sillä ne tarjoavat luotettavan in vitro -lähestymistavan suolen epiteelille. Nämä suolen enterosyyttejä jäljittelevät solut helpottavat suun kautta tapahtuvan lääkeaineen imeytymisen analysointia simuloimalla suolistosteiden 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 karsinoman 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 paksusuolella, 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
--------------------------	----------

Säätelytiedot

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 NaHCO ₃ , 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 tuoreessa väliaineessa ja siirrä ne uusiin pulloihin, jotka sisältävät jo tuoretta väliaineita.

Seeding density 1×10^4 solua/cm² tuottaa 90 %:n konfluenttisen monokerroksen noin 4 päivässä.

Post-Thaw Recovery Sulattamisen jälkeen levitä solut 5×10^4 solua/cm² 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 syväjäädetyttynä toimitettaessa, sillä solut kuljetetaan kuivajäädessä, 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 antimikrobista ainetta, ja sekoittamalla sitä varovasti 40-60 sekunnin ajan, kunnes jäädästä on jäljellä pieni jäämöhkäle.
4. Suorita kaikki seuraavat vaiheet steriileissä olosuhteissa virtaushupussa ja desinfioi kryopullo 70-prosenttisellä 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 % CO_2 , kostutettu ilmakehä.

Flask Coating

Ei mitään

**Freezing
Procedure**

Kryosäilytetyt solulinjat kuljetetaan kuivajäädessä 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 kuivajäädessä 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.

Caco-2-solut | 300137

Storage Conditions

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

Laadunvalvonta / Geneettinen profiili / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminaatio suljetaan pois sekä PCR-pohjaisilla määrittelyillä 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