Product sheet

Caco-2 sejtek | 300137

Általános információk

Description	A Caco-2 sejtek a humán bélgát fejlett in vitro modelljeként szolgálnak, elsősorban azért, mert olyan sejtmonoréteggé differenciálódnak, amely nagyon hasonlít a vékonybélben található enterocitákra. A Caco2 sejtvonal polikarbonát szűrővel ellátott szövettenyésztési szűrőbetéteken történő tenyésztésekor a Caco-2 sejtek spontán differenciálódnak. A Caco2 sejtek differenciálódása specializált sejttípusok kifejeződését eredményezi, mikrovillákkal, enzimekkel és transzporterekkel kiegészítve, párhuzamosan az in vivo helyzetben található komplex jellemzőkkel és mechanizmusokkal. A bélabszorpciós vizsgálatok modelljeivel összefüggésben a Caco-2 sejtek, amelyek egy humán vastagbél adenokarcinómás betegből származnak, fontos szerepet játszanak, mivel képesek magas TEER-értékek kialakítására, ami intakt szoros kötéseket és epiteliális barrierfunkciót jelez. Ezek a tulajdonságok döntő fontosságúak az olyan vizsgálatokhoz, mint a koleszterin efflux vizsgálat, valamint a sejtszállítással kapcsolatos vizsgálatokhoz, beleértve a lipid nanorészecskék mozgását és a fehérje kölcsönhatások kimutatását. A Caco-2 sejtek kulcsfontosságúak a bélrendszeri felszívódási vizsgálatokban, mivel megbízható in vitro közelítést nyújtanak a bélhámhoz. Ezek a sejtek a bél enterocitákat utánozva, a bélgát szimulálásával megkönnyítik az orális gyógyszerfelszívódás elemzését. A kutatók a Caco-2 sejteket arra használják, hogy megjósolják, hogyan haladnak át az anyagok a bélnyálkahártyán, ami elengedhetetlen az orális gyógyszerek farmakokinetikai profiljának meghatározásához. Továbbá kulcsfontosságú eszköznek számítanak a bélrendszeri koleszterinfelvétel, homeosztázis és transzport vizsgálatában, amelyek létfontosságú folyamatok a lipidanyagcsere és a kapcsolódó betegségek megértéséhez. A Caco-2 sejtek továbbra is a vastagbélrák és a toxikológiai kutatások sarokkövei, nemcsak a humán gyomor-bélrendszeri vizsgálatok szempontjából, hanem azért is, mert részletes betekintést nyújtanak az epeúti útvonalba, a xenobiotikumok metabolizmusába a vastagbélben, a rák és a toxikológiai kutatásokba.
Organism	Emberi
Tissue	Vastagbél
Disease	Adenokarcinóma
Applications	A GI (gasztrointesztinális) traktus modellje, a transzepithelialis/endothelialis elektromos ellenállás (TEER) mérése. A Caco-2 sejtek magas, akár 2000 cm2 -es TEER-értékeket fejlesztenek ki (CLS-sel mérve a CellZscope, nanoAnalytics, Münster, Németország).
Synonyms	CaCo-2, CACO-2, Caco 2, CACO 2, CACO2, CACO2, CaCo2, CaCO2, CaCO2, Caco2, Caco-II

Jellemzők

Age	72 év
Gender	Férfi

Caco-2 sejtek | 300137

Ethnicity	Kaukázusi
Morphology	Epithelszerű
Growth properties	Adherent

Szabályozási adatok

Citation	CaCo-2 (Cytion katalógusszám: 300137)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0025

Biomolekuláris adatok

Receptors expressed	Hőstabil enterotoxin (Sta, E. coli), epidermális növekedési faktor (EGF), retinsavkötő fehérje I és retinolkötő fehérje II, keratin pozitív.
Antigen expression	O vércsoport, Rh+, HLA II. osztály negatív
Isoenzymes	Me-2, 1, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, G6PD, B.
Tumorigenic	Igen, meztelen egereken. Mérsékelten jól differenciált adenokarcinómákat képeznek, amelyek megfelelnek a vastagbél elsődleges (II. fokozatú) kolon primerének
Virus resistance	Humán immunhiányos vírus (HIV, LAV)
Ploidy status	(P14), hipertetraploid
MSI-status	Stabil (MSS)

A kezelése

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (Cytion cikkszám: 820100a)

Caco-2 sejtek | 300137

Supplements	A táptalajt 10% FBS-szel és 1% NEAA-val kell kiegészíteni
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	60-70 óra
Subculturing	Távolítsa el a régi táptalajt a megtapadt sejtekről, és mossa őket kalcium- és magnéziummentes PBS-szel. T25-ös lombikokhoz 3-5 ml PBS-t, T75-ös lombikokhoz pedig 5-10 ml-t használjunk. Ezután fedjük be a sejteket teljesen Accutase-zal, T25 lombikok esetében 1-2 ml-t, T75 lombikok esetében 2,5 ml-t használva. A sejteket 8-10 percig hagyjuk szobahőmérsékleten inkubálni, hogy leváljanak. Az inkubálás után óvatosan keverjük össze a sejteket 10 ml tápfolyadékkal, hogy reszuszpendáljuk őket, majd centrifugáljuk 300xg-nél 3 percig. Dobja el a felülúszót, szuszpendálja újra a sejteket friss tápfolyadékban, és helyezze át őket új lombikokba, amelyek már friss tápfolyadékot tartalmaznak.
Seeding density	1 x 10^4 sejt/cm^2 körülbelül 4 nap alatt 90%-os konfluens monoréteget eredményez.
Post-Thaw Recovery	Felolvasztás után helyezze a sejteket 5 x 10^4 sejt/cm^2 sűrűséggel lemezre, és hagyja, hogy a sejtek felolvadjanak és legalább 24 órán át tapadjanak.
Freeze medium	Krioprezerváló táptalajként teljes növekedési táptalajt (beleértve az FBS-t) + 10% DMSO-t használunk a megfelelő kiolvasztás utáni életképesség érdekében, vagy CM-1-et (Cytion katalógusszám: 800100), amely optimalizált ozmoprotektánsokat és metabolikus stabilizátorokat tartalmaz a regenerálódás fokozása és a krio-indukált stressz csökkentése érdekében.

Caco-2 sejtek | 300137

Thawing and Culturing Cells	1. Ellenőrizze, hogy az injekciós üveg a szállításkor mélyhűtött marad-e, mivel a sejteket szárazjégen szállítják, hogy a szállítás során az optimális hőmérsékletet fenntartsák. 2. Átvételt követően vagy azonnal tárolja a krioampullát -150 °C alatti hőmérsékleten a sejtek integritásának megőrzése érdekében, vagy folytassa a 3. lépéssel, ha azonnali tenyésztésre van szükség. 3. Azonnali tenyésztés esetén gyorsan fel kell olvasztani az injekciós üveget úgy, hogy tiszta vízzel és antimikrobiális szerrel ellátott 37 °C-os vízfürdőbe merítjük, és 40-60 másodpercig óvatosan kevergetjük, amíg egy kis jégcsomó nem marad. 4. Az összes további lépést steril körülmények között, áramlásos elszívóban végezzük el, és nyitás előtt fertőtlenítsük a kriofülkét 70%-os etanollal. 5. Óvatosan nyissa fel a fertőtlenített fiolát, és a sejtszuszpenziót óvatosan összekeverve helyezze át egy 15 ml-es centrifugacsőbe, amely 8 ml szobahőmérsékletű táptalajt tartalmaz. 6. Centrifugáljuk az elegyet 300 x g-n 3 percig a sejtek szétválasztásához, és óvatosan dobjuk el a maradék fagyasztóközeget tartalmazó felülúszót. 7. Óvatosan szuszpendáljuk újra a sejtpelletet 10 ml friss táptalajban. Adhezív sejtek esetében ossza a szuszpenziót két T25-ös tenyésztőlombik között; szuszpenziós kultúrák esetében az összes tápfolyadékot tegye át egy T25-ös lombikba a hatékony sejtkölcsönhatás és növekedés elősegítése érdekében. 8. A sejtvonal folyamatos növekedése és fenntartása érdekében tartsa be a megállapított szubkultúra protokollokat, biztosítva a megbízható kísérleti eredményeket.
Incubation Atmosphere	37°C, 5%$_{CO2}$, párásított légkör.
Flask Coating	Nincs
Freezing Procedure	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.
Shipping Conditions	A kriokonzervált sejtvonalakat szárazjégen, validált, szigetelt csomagolásban szállítják, elegendő hűtőközeggel, hogy a szállítás során a hőmérsékletet körülbelül -78 °C-on tartsák. Átvételkor azonnal vizsgálja meg a tárolóedényt, és haladéktalanul helyezze át az injekciós üvegeket a megfelelő tárolóhelyre.

Storage Conditions	Hosszú távú tartósítás céljából helyezze az üvegeket gőzfázisú folyékony nitrogénbe, körülbelül -150 és -196 °C közötti hőmérsékleten. A -80 °C-on történő tárolás csak rövid átmeneti lépésként fogadható el a folyékony nitrogénbe való átvitel előtt.

Minőségellenőrzés és molekuláris elemzés

Sterility	A mikoplazma-szennyeződést mind a PCR-alapú vizsgálatokkal, mind a lumineszcencia-alapú mikoplazma-kimutatási módszerekkel kizárják. A bakteriális, gombás vagy élesztőgombás szennyeződés elkerülése érdekében a sejtkultúrákat napi vizuális ellenőrzésnek vetik alá.
HLA allélok	**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