

## Caco-2 ląstelės | 300137

## Bendra informacija

## Description

Caco-2 ląstelės yra pažangus žmogaus žarnyno barjero in vitro modelis, visų pirma dėl to, kad jos diferencijuojasi į ląstelių monosluoksnį, kuris labai panašus į plonąją žarną dengiančius enterocitus. Auginant Caco-2 ląstelių liniją ant audinių kultūrų filtrų įdėklų su polikarbonato filtrais, Caco-2 ląstelės spontaniškai diferencijuojasi. Diferencijuojantis Caco2 ląstelėms, susiformuoja specializuoti ląstelių tipai su mikroelementais, fermentais ir pernešėjais, kurie atitinka sudėtingas in vivo ląstelių savybes ir mechanizmus.

Žarnyno absorbcijos tyrimų modeliuose Caco-2 ląstelės, gautos iš žmogaus, sergančio storosios žarnos adenokarcinoma, yra labai svarbios dėl jų gebėjimo pasiekti aukštas TEER vertes, kurios rodo nepažeistas sandarias jungtis ir epitelio barjero funkciją. Šios savybės labai svarbios atliekant tokius tyrimus kaip cholesterolio nutekėjimo tyrimas ir ląstelių pernašos tyrimai, įskaitant lipidų nanodalelių judėjimą ir baltymų sąveikos nustatymą.

Caco-2 ląstelės yra labai svarbios žarnyno absorbcijos tyrimams, nes jos yra patikimas žarnyno epitelio aproksimacijos in vitro pavyzdys. Šios ląstelės imituoja žarnyno enterocitus, todėl, imituodamos žarnyno barjerą, palengvina geriamųjų vaistų absorbcijos tyrimus. Tyrėjai naudoja Caco-2 ląsteles, norėdami nuspėti, kaip medžiagos keliauja per žarnyno gleivinę, o tai labai svarbu geriamųjų vaistų farmakokinetiniam profiliavimui. Be to, jos yra pagrindinė priemonė tiriant cholesterolio pasisavinimą, homeostazę ir pernešimą žarnyne, o tai yra labai svarbūs procesai, padedantys suprasti lipidų apykaitą ir su ja susijusias ligas.

Caco-2 ląstelės išlieka kertiniu akmeniu storosios žarnos karcinomos ir toksikologijos tyrimuose ne tik dėl jų svarbos žmogaus virškinamojo trakto tyrimams, bet ir dėl to, kad jos padeda išsamiai susipažinti su tulžies keliu, ksenobiotikų metabolizmu storosios žarnos, vėžio ir toksikologijos tyrimais.

**Organism** Žmogus

**Tissue** Storosios žarnos

**Disease** Adenokarcinoma

**Applications** Virškinamojo trakto modelis, matuojamas transepitelinis ir endotelio elektrinis pasipriešinimas (TEER). Caco-2 ląstelės pasižymi didelėmis TEER vertėmis, siekiančiomis iki 2000 cm<sup>2</sup> (matuojama CLS naudojant CellZscope, nanoAnalytics, Miunsteris, Vokietija).

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

## Charakteristikos

**Age** 72 metai

**Gender** Vyras

**Ethnicity** Kaukaziėčių

## Caco-2 ląstelės | 300137

**Morphology** | epitelį panašus

**Growth properties** Priglundęs

## Reguliavimo duomenys

**Citation** CaCo-2 (Cytion katalogo numeris 300137)

**Biosafety level** 1

**NCBI\_TaxID** 9606

**CellosaurusAccession** CVCL\_0025

## Biomolekuliniai duomenys

**Receptors expressed** Šiluminiu požiūriu stabilus enterotoksinas (Sta, E. coli), epidermio augimo faktorius (EGF), retinoinę rūgštį jungiantis baltymas I ir retinolį jungiantis baltymas II, keratinas teigiamas.

**Antigen expression** Kraujo grupė O, Rh+, HLA II klasės neigiama

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

**Tumorigenic** Taip, nuogoms pelėms. Formuoja vidutiniškai gerai diferencijuotas adenokarcinomas, atitinkančias pirmines storosios žarnos (II laipsnio)

**Virus resistance** Žmogaus imunodeficito virusas (ŽIV, LAV)

**Ploidy status** (P14), hipertetraploidinis

**MSI-status** Stabilus (MSS)

## Tvarkymas

**Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutaminas, w: 2,2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, w: EBSS (Cytion gaminio numeris 820100a)

**Supplements** Papildykite terpę 10 % FBS ir 1 % NEAA

**Caco-2 ląstelės | 300137**

**Dissociation Reagent** Accutase

**Doubling time** 60-70 valandų

**Subculturing** Pašalinkite seną terpę nuo prilipusių ląstelių ir nuplaukite jas PBS, kuriame nėra kalcio ir magnio. T25 kolboms naudokite 3-5 ml PBS, o T75 kolboms - 5-10 ml. Tuomet visiškai užpilkite ląsteles "Accutase", naudodami 1-2 ml T25 kolboms ir 2,5 ml T75 kolboms. Leiskite ląstelėms inkubuotis kambario temperatūroje 8-10 minučių, kad jos atsiskirtų. Po inkubacijos atsargiai sumaišykite ląsteles su 10 ml terpės, kad jos vėl suspenduotų, tada 3 minutes centrifuguokite 300xg greičiu. Išmeskite supernatantą, vėl sutirpinkite ląsteles šviežioje terpėje ir perkelkite jas į naujas kolbas, kuriose jau yra šviežia terpė.

**Seeding density**  $1 \times 10^4$  ląstelės/cm<sup>2</sup> per maždaug 4 dienas sudarys 90 % konfluentinį monosluoksnį.

**Post-Thaw Recovery** Atšildžius, išdėliokite ląsteles  $5 \times 10^4$  ląstelių/cm<sup>2</sup> tankumu ir leiskite ląstelėms atsigauti po užšaldymo proceso ir prisitvirtinti bent 24 valandas.

**Freeze medium** Kaip kriokonservavimo terpę naudojame visišką augimo terpę (įskaitant FBS) + 10 % DMSO, kad būtų užtikrintas tinkamas gyvybingumas po atšildymo, arba CM-1 (Cytion katalogo numeris 800100), kurioje yra optimizuotų osmoprotektorių ir medžiagų apykaitos stabilizatorių, kad būtų pagerintas atsigavimas ir sumažintas kriokonservavimo sukeltas stresas.

## Caco-2 ląstelės | 300137

### Thawing and Culturing Cells

1. Patikrinkite, ar pristatant buteliuką jis išlieka gerai užšaldytas, nes ląstelės gabenamos ant sauso ledo, kad gabenimo metu būtų palaikoma optimali temperatūra.
2. Gavę iš karto laikykite kriovialą žemesnėje nei  $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūroje, kad užtikrintumėte ląstelių vientisumo išsaugojimą, arba pereikite prie 3 veiksmo, jei reikia nedelsiant kultivuoti.
3. Jei norite nedelsiant pradėti kultivuoti, greitai atšildykite buteliuką panardindami jį į  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūros vandens vonelę su švariu vandeniu ir antimikrobine priemone, švelniai maišydami 40-60 sekundžių, kol liks nedidelis ledo gabalėlis.
4. Visus tolesnius veiksmus atlikite steriliomis sąlygomis srauto gaubte, prieš atidarydami kriovialą dezinfekuokite jį 70 % etanoliu.
5. Atsargiai atidarykite dezinfekuotą buteliuką ir perpilkite ląstelių suspensiją į 15 ml centrifugos mėgintuvėlį, kuriame yra 8 ml kambario temperatūros mitybinės terpės, atsargiai išmaišykite.
6. Mišinį centrifuguokite 300 x g greičiu 3 minutes, kad atsiskirtų ląstelės, ir atsargiai išmeskite supernatantą su šaldymo terpės likučiais.
7. Švelniai resuspenduokite ląstelių granules 10 ml šviežios mitybinės terpės. Jei ląstelės yra prigludusios, suspensiją padalykite į dvi T25 kolbas; jei tai suspensinės kultūros, visą terpę perkelti į vieną T25 kolbą, kad paskatintumėte veiksmingą ląstelių sąveiką ir augimą.
8. Laikykitės nustatytų subkultūrų protokolų, kad ląstelių linija nuolat augtų ir būtų palaikoma, taip užtikrinant patikimus eksperimentų rezultatus.

### Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 5 %  $\text{CO}_2$ , drėkintoje atmosferoje.

### Flask Coating

Nėra

### Freezing Procedure

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

### Shipping Conditions

Kriokonservuotos ląstelių linijos gabenamos ant sauso ledo patvirtintoje, izoliuotoje pakuotėje su pakankamu kiekiu šaldymo skysčio, kad pervežimo metu būtų palaikoma maždaug  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  temperatūra. Gavę pakuotę, nedelsdami ją apžiūrėkite ir nedelsdami perkelti mėgintuvėlius į tinkamą saugyklą.

## Caco-2 ląstelės | 300137

### Storage Conditions

Norėdami ilgai saugoti, įdėkite buteliukus į garų fazės skystą azotą maždaug -150-196 °C temperatūroje. Laikymas -80 °C temperatūroje yra priimtinas tik kaip trumpas tarpinis etapas prieš perkeliant į skystą azotą.

## Kokybės kontrolė / Genetinis profilis / HLA

### Sterility

Mikoplazmos užterštumas atmetamas taikant PGR pagrįstus tyrimus ir liuminescencinius mikoplazmos aptikimo metodus.

Siekiant užtikrinti, kad nebūtų užteršimo bakterijomis, grybeliais ar mielėmis, ląstelių kultūros kasdien vizualiai tikrinamos.

### HLA aleliai

**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