

Caco-2 šūnas | 300137

Vispārīga informācija

Description

Caco-2 šūnas kalpo kā moderns cilvēka zarnu barjeras in vitro modelis, galvenokārt tāpēc, ka tās diferencējas šūnu monoslānī, kas ir ļoti līdzīgs tievo zarnu gļotādas enterocītiem. Kultivējot Caco-2 šūnu līniju uz audu kultūru filtru ieliktniem ar polikarbonāta filtriem, Caco-2 šūnas spontāni diferencējas. Caco2 šūnu diferenciacijas rezultātā veidojas specializēti šūnu tipi ar mikrovilielām, enzīmiem un transportētājiem, kas atbilst sarežģītām iezīmēm un mehānismiem, kas sastopami in vivo apstākļos.

Saistībā ar zarnu absorbcijas pētījumu modeļiem Caco-2 šūnas, kas iegūtas no cilvēka kolorektālās adenokarcinomas pacienta, ir ļoti noderīgas, jo tās spēj sasniegt augstas TEER vērtības, kas liecina par neskartiem hermētiskiem savienojumiem un epitēlija barjeras funkciju. Šīs īpašības ir ļoti svarīgas tādiem testiem kā holesterīna izplūdes tests un pētījumi par šūnu transportu, tostarp lipīdu nodaļiņu kustību un proteīnu mijiedarbības noteikšanu.

Caco-2 šūnas ir ļoti svarīgas zarnu uzsūkšanās pētījumos, jo tās nodrošina uzticamu zarnu epitēlija in vitro tuvinājumu. Imitējot zarnu enterocītus, šīs šūnas atvieglo zāļu absorbcijas analīzi iekšķīgi, imitējot zarnu barjeru. Pētnieki izmanto Caco-2 šūnas, lai prognozētu, kā vielas šķērso zarnu gļotādu, kas ir būtiski perorāli lietojamo zāļu farmakokinētiskajai profilēšanai. Turklāt tās ir galvenais rīks holesterīna uzņemšanas, homeostāzes un transportēšanas pētniecībā zarnās, kas ir būtiski procesi, lai izprastu lipīdu metabolismu un ar to saistītās slimības.

Caco-2 šūnas joprojām ir stūrakmens resnās zarnas karcinomas un toksikoloģijas pētījumos ne tikai tāpēc, ka tās ir nozīmīgas cilvēka kuņģa un zarnu trakta pētījumos, bet arī tāpēc, ka tās sniedz detalizētu ieskatu par žultsceļu, ksenobiotiku metabolismu resnajā zarnā, vēža un toksikoloģijas pētījumos.

Organism Cilvēks

Tissue Resnās zarnas

Disease Adenokarcinoma

Applications Kuņģa un zarnu trakta modelis, transepitēliālās/endotēlija elektriskās pretestības (TEER) mērīšana. Caco-2 šūnām ir augstas TEER vērtības līdz pat 2000 cm² (izmērīts ar CLS, izmantojot CellZscope, nanoAnalytics, Minstere, Vācija).

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

Raksturojums

Age 72 gadi

Gender Vīrieši

Ethnicity Kaukāzietis

Caco-2 šūnas | 300137

Morphology Epitēlijveidīgs

Growth properties Adherent

Normatīvie dati

Citation CaCo-2 (Cytion kataloga numurs 300137)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0025

Biomolekulārie dati

Receptors expressed Termiski stabils enterotoksīns (Sta, E. coli), epidermālais augšanas faktors (EGF), retinoskābi saistošais proteīns I un retinolu saistošais proteīns II, keratīns pozitīvs.

Antigen expression O asinsgrupa, Rh+, HLA II klase negatīva

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

Tumorigenic Jā, kailām pelēm. Veidojas vidēji labi diferencētas adenokarcinomas, kas atbilst kolīta primārajām (II pakāpes)

Virus resistance Cilvēka imūndeficīta vīruss (HIV, LAV)

Ploidy status (P14), hipertetraploīds

MSI-status Stabils (MSS)

Darbs ar

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

Supplements Papildināt barotni ar 10% FBS un 1% NEAA

Caco-2 šūnas | 300137**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 60 līdz 70 stundas**Subculturing** Noņem veco barotni no pielipušajām šūnām un mazgāt tās ar PBS, kurā nav kalcija un magnija. T25 kolbām izmantojiet 3-5 ml PBS, bet T75 kolbām - 5-10 ml. Pēc tam pilnībā pārklājat šūnas ar Accutase, izmantojot 1-2 ml T25 kolbām un 2,5 ml T75 kolbām. Ļaujiet šūnām inkubēties istabas temperatūrā 8-10 minūtes, lai tās atdalītos. Pēc inkubācijas uzmanīgi samaisiet šūnas ar 10 ml barotnes, lai tās atkārtoti suspendētu, pēc tam centrifugējiet 3 minūtes ar 300xg. Izmetiet supernatantu, atkārtoti suspendējiet šūnas svaigā barotnē un pārvietojiet tās jaunās kolbās, kurās jau ir svaiga barotne.**Seeding density** 1×10^4 šūnas/cm² radīs 90 % konfluentu monoslāni aptuveni 4 dienu laikā.**Post-Thaw Recovery** Pēc atkausēšanas izklidējiet šūnas uz šķīvja ar blīvumu 5×10^4 šūnas/cm² un ļaujiet šūnām atgūties no sasaldēšanas procesa un pielipt vismaz 24 stundas.**Freeze medium** Kā kriokonservēšanas barotni mēs izmantojam pilnvērtīgu augšanas barotni (ieskaitot FBS) + 10 % DMSO, lai nodrošinātu pietiekamu dzīvotspēju pēc atkausēšanas, vai CM-1 (Cytion kataloga numurs 800100), kas ietver optimizētus osmoprotektorus un metaboliskos stabilizatorus, lai uzlabotu atveseļošanu un samazinātu krioinducēto stresu.

Caco-2 šūnas | 300137**Thawing and
Culturing Cells**

1. Pārliecinieties, ka pēc piegādes flakons paliek dziļi sasaldēts, jo šūnas tiek sūtītas uz sausā ledus, lai pārvadāšanas laikā saglabātu optimālu temperatūru.
2. Pēc saņemšanas vai nu nekavējoties uzglabāt kriovialu temperatūrā, kas zemāka par -150 °C, lai nodrošinātu šūnu integritātes saglabāšanu, vai arī turpināt 3. posmu, ja nepieciešama tūlītēja kultivēšana.
3. Tūlītējas kultivēšanas gadījumā ātri atkausējiet flakonu, iegremdējot to 37°C ūdens vannā ar tīru ūdeni un antibakteriālu līdzekli, viegli maisot 40-60 sekundes, līdz paliek neliels ledus gabaliņš.
4. Visas turpmākās darbības veiciet sterilos apstākļos plūsmas nosūcējā, pirms atvēršanas dezinficējot kriovialu ar 70% etanolu.
5. Uzmanīgi atveriet dezinficēto flakonu un pārnesiet šūnu suspensiju 15 ml centrifūgas mēģenē, kurā ir 8 ml istabas temperatūras barotnes, uzmanīgi samaisot.
6. Centrifugējiet maisījumu ar 300 x g 3 minūtes, lai atdalītu šūnas, un uzmanīgi izmetiet virskārtu, kas satur saldēšanas barotnes atlikumus.
7. Viegli resuspendēt šūnu granulas 10 ml svaigas barotnes. Adhēzijas šūnu gadījumā suspensiju sadalīt divās T25 kolbās; suspensijas kultūrām visu barotni pārnest vienā T25 kolbā, lai veicinātu efektīvu šūnu mijiedarbību un augšanu.
8. Ievērojiet noteiktos subkultūru protokolus, lai nodrošinātu nepārtrauktu šūnu līnijas augšanu un uzturēšanu, tādējādi nodrošinot uzticamus eksperimentu rezultātus.

**Incubation
Atmosphere**

37°C, 5% CO_2 , mitrināta atmosfēra.

Flask Coating

Neviens

**Freezing
Procedure**

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Caco-2 šūnas | 300137

Shipping Conditions

Kriokonservētas šūnu līnijas tiek sūtītas uz sausā ledus apstiprinātā, izolētā iepakojumā ar pietiekamu dzesēšanas šķidrums daudzumu, lai visā transportēšanas laikā uzturētu aptuveni -78 °C temperatūru. Pēc saņemšanas nekavējoties pārbaudiet iepakojumu un nekavējoties pārvietojiet flakonus uz atbilstošu uzglabāšanas vietu.

Storage Conditions

Ilgstošai uzglabāšanai flakonus ievietojiet šķidrā slāpekļī ar tvaika fāzi aptuveni -150 līdz -196 °C temperatūrā. Uzglabāšana -80 °C temperatūrā ir pieļaujama tikai kā īss starposms pirms pārvietošanas uz šķidro slāpekli.

Kvalitātes kontrole / Ģenētiskais profils / HLA

Sterility

Mikoplazmas piesārņojums tiek izslēgts, izmantojot gan uz PCR balstītus testus, gan uz luminiscenci balstītas mikoplazmas noteikšanas metodes.

Lai pārliecinātos, ka nav baktēriju, sēnīšu vai rauga piesārņojuma, šūnu kultūras katru dienu vizuāli pārbauda.

HLA alēles

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