

Caco-2-cellen | 300137

Algemene informatie

Description

Caco-2 cellen dienen als een geavanceerd in vitro model voor de menselijke darmbarrière, voornamelijk door hun differentiatie tot een celmonolaag die sterk lijkt op de enterocyten die de dunne darm bekleden. Bij het kweken van de Caco2-cel lijn op weefselkweekfilterinzetstukken met polycarbonaatfilters ondergaan Caco-2-cellen spontane differentiatie. De differentiatie van Caco2-cellen resulteert in de expressie van gespecialiseerde celtypen, compleet met microvilli, enzymen en transporters, die de complexe kenmerken en mechanismen van een in vivo situatie benaderen.

In de context van intestinale absorptiestudiemodellen zijn Caco-2 cellen, die afkomstig zijn van een menselijke colorectale adenocarcinoma-patiënt, essentieel vanwege hun vermogen om hoge TEER-waarden te ontwikkelen, wat duidt op intacte tight junctions en epitheliale barrièrefunctie. Deze eigenschappen zijn cruciaal voor assays zoals de cholesterol efflux assay en onderzoeken naar cellulair transport, inclusief de beweging van lipide nanodeeltjes en de detectie van eiwit interacties.

Caco-2 cellen zijn cruciaal voor intestinale absorptiestudies en bieden een betrouwbare in vitro benadering van het intestinale epitheel. Deze cellen bootsen enterocyten in de darm na en vergemakkelijken analyses van orale absorptie van geneesmiddelen door de darmbarrière na te bootsen. Onderzoekers gebruiken Caco-2 cellen om te voorspellen hoe stoffen het darmslijmvlies passeren, wat essentieel is voor de farmacokinetische profilering van orale geneesmiddelen. Bovendien zijn ze een belangrijk hulpmiddel bij het onderzoeken van de intestinale cholesterolopname, homeostase en transport, wat vitale processen zijn voor het begrijpen van het vetmetabolisme en gerelateerde ziekten.

Caco-2 cellen blijven een hoeksteen in het onderzoek naar coloncarcinomen en toxicologie, niet alleen vanwege hun relevantie voor onderzoek naar het menselijk maag-darmkanaal, maar ook vanwege hun rol in het verschaffen van gedetailleerde inzichten in de biliary pathway, het metabolisme van xenobiotica in het colon, kanker en toxicologisch onderzoek.

Organism Mens

Tissue Kolon

Disease Adenocarcinoom

Applications Model van het GI (gastro-intestinaal) kanaal, meting van de Trans-Epitheliale/Endotheliale Elektrische Weerstand (TEER). Caco-2 cellen ontwikkelen hoge TEER-waarden tot 2000 cm² (zoals gemeten door CLS met de CellZscope, nanoAnalytics, Münster, Duitsland).

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

Kenmerken

Age 72 jaar

Gender Mannelijk

Caco-2-cellen | 300137**Ethnicity** Kaukasisch**Morphology** Epitheelachtig**Growth properties** Aanhangend**Regelgevende gegevens****Citation** CaCo-2 (Cytion catalogusnummer 300137)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0025**Biomoleculaire gegevens****Receptors expressed** Hittestabiel enterotoxine (Sta, E. coli), epidermale groeifactor (EGF), retinoïnezuurbindend proteïne I en retinolbindend proteïne II, keratine positief.**Antigen expression** Bloedgroep O, Rh+, HLA klasse II negatief**Isoenzymes** Me-2, 1, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, G6PD, B.**Tumorigenic** Ja, in naakte muizen. Vormt matig goed gedifferentieerde adenocarcinomen consistent met colon primaire (graad II)**Virus resistance** Humaan immunodeficiëntievirus (HIV, LAV)**Ploidy status** (P14), hypertetraploïde**MSI-status** Stabiel (MSS)**Omgaan met****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamine, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion artikelnummer 820100a)

Caco-2-cellen | 300137

Supplements Vul het medium aan met 10% FBS en 1% NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 60 tot 70 uur

Subculturing Verwijder het oude medium van de adherente cellen en was ze met PBS zonder calcium en magnesium. Gebruik voor T25-flesjes 3-5 ml PBS en voor T75-flesjes 5-10 ml. Bedek de cellen vervolgens volledig met Accutase, met 1-2 ml voor T25-flesjes en 2,5 ml voor T75-flesjes. Laat de cellen gedurende 8-10 minuten bij kamertemperatuur incuberen om ze los te maken. Na incubatie de cellen voorzichtig mengen met 10 ml medium om ze te resuspenden en vervolgens centrifugerend bij 300xg gedurende 3 minuten. Gooi het supernatant weg, resuspendeer de cellen in vers medium en breng ze over in nieuwe kolven die al vers medium bevatten.

Split ratio Een verhouding van 1:2 tot 1:3 wordt aanbevolen

Seeding density 1×10^4 cellen/cm² resulteert in een 90% confluerende monolaag in ongeveer 4 dagen.

Post-Thaw Recovery Na ontdooien, de cellen op een plaat aanbrengen met een dichtheid van 5×10^4 cellen/cm² en de cellen minstens 24 uur laten herstellen van het invriesproces en zich hechten.

Freeze medium Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedum (inclusief FBS) + 10% DMSO voor voldoende levensvatbaarheid na het ontdooien, of CM-1 (Cytion catalogusnummer 800100), dat geoptimaliseerde osmoprotectanten en metabolische stabilisatoren bevat om het herstel te verbeteren en door cryo geïnduceerde stress te verminderen.

Caco-2-cellen | 300137

Thawing and Culturing Cells

1. Controleer of de flacon bij levering diepgevroren blijft, aangezien de cellen op droog ijs worden verzonden om optimale temperaturen tijdens het transport te behouden.
2. Bewaar het cryoflesje na ontvangst onmiddellijk bij temperaturen lager dan $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ om de integriteit van de cellen te behouden, of ga verder met stap 3 als onmiddellijke kweek vereist is.
3. Voor onmiddellijke kweek: ontdooi de flacon snel door deze onder te dompelen in een waterbad van $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ met schoon water en een antimicrobieel middel, waarbij u 40-60 seconden zachtjes schudt totdat er een klein ijsklontje overblijft.
4. Voer alle volgende stappen uit onder steriele omstandigheden in een stromingskap en desinfecteer de cryoflacon met 70% ethanol voordat deze wordt geopend.
5. Open voorzichtig de gedesinfecteerde flacon en breng de celsuspensie over in een centrifugebuis van 15 ml met 8 ml kweekmedium op kamertemperatuur en meng voorzichtig.
6. Centrifugeer het mengsel gedurende 3 minuten bij $300 \times g$ om de cellen te scheiden en gooi het supernatant met resterend vriesmedium voorzichtig weg.
7. Resuspendeer de celpellet voorzichtig in 10 ml vers kweekmedium. Verdeel voor adherente cellen de suspensie over twee T25-kweekkolven; breng voor suspensiekweken al het medium over in één T25-kweekkolf om effectieve celinteractie en -groei te bevorderen.
8. Houd u aan de vastgestelde subcultuurprotocollen voor continue groei en onderhoud van de cellijn, om betrouwbare experimentele resultaten te garanderen.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , bevochtigde atmosfeer.

Flask Coating

Geen

Freezing Procedure

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Shipping Conditions

Gecryopreserveerde cellijnen worden verzonden op droog ijs in gevalideerde, geïsoleerde verpakkingen met voldoende koelmiddel om gedurende het transport ongeveer $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

Caco-2-cellen | 300137

Storage Conditions

Voor langdurige bewaring plaatst u flesjes in vloeibare stikstof in dampfase bij ongeveer -150 tot -196 °C. Opslag bij -80 °C is alleen aanvaardbaar als korte tussenstap vóór overbrenging naar vloeibare stikstof.

Kwaliteitscontrole / Genetisch profiel / HLA

Sterility

Mycoplasma-verontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasma-detectiemethoden.

Om er zeker van te zijn dat er geen besmetting is met bacteriën, schimmels of gisten, worden de celculturen dagelijks onderworpen aan visuele inspecties.

STR profiel

Amelogenin: x,x
CSF1PO: 11
D13S317: 11, 13, 14
D16S539: 12, 13
D5S818: 12, 13
D7S820: 11, 12
TH01: 6
TPOX: 9, 11
vWA: 16, 18
D3S1358: 14, 17
D21S11: 30, 32
D18S51: 12
D8S1179: 12, 14
FGA: 19
D1S1656: 15, 16
D2S1338: 17, 25
D12S391: 17, 23
D19S433: 15

HLA-allelen

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