Product sheet

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-cellijn 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 Eletrische 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 resuspenderen en vervolgens centrifugeren 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 x 10^4 cellen/cm^2 resulteert in een 90% confluente monolaag in ongeveer 4 dagen.
Post-Thaw Recovery	Na ontdooien, de cellen op een plaat aanbrengen met een dichtheid van 5 x 10^4 c^{ellen}/cm^2 en de cellen minstens 24 uur laten herstellen van het invriesproces en zich hechten.
Freeze medium	Als cryoconserveringsmedium gebruiken we volledig groeimedium (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 °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 °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 x 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°C, 5% $_{CO2}$, 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 °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 °C te handhaven. Inspecteer de verpakking onmiddellijk na ontvangst en breng de flacons onverwijld over naar de juiste opslagplaats.

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 en moleculaire analyse

Sterility	Mycoplasmaverontreiniging wordt uitgesloten met zowel PCR-gebaseerde testen als op luminescentie gebaseerde mycoplasmadetectiemethoden. 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