

Caco-2-celler | 300137**Generell informasjon****Description**

Caco-2-celler er en avansert in vitro-modell for den humane tarmbarrieren, først og fremst fordi de kan differensieres til et celledag som ligner på enterocytene i tynntarmen. Ved dyrking av Caco2-cellelinjen på vevskulturfilterinnlegg med polykarbonatfiltre gjennomgår Caco-2-celler spontan differensiering. Differensieringen av Caco2-celler resulterer i uttrykk av spesialiserte celletyper, komplett med mikrovilli, enzymer og transportører, noe som er en parallell til de komplekse funksjonene og mekanismene som finnes i en in vivo-situasjon.

I forbindelse med modeller for studier av tarmabsorpsjon er Caco-2-celler, som stammer fra en human kolorektal adenokarsinom-pasient, viktige på grunn av deres evne til å utvikle høye TEER-verdier, noe som tyder på intakte tight junctions og epitelbarrierefunksjon. Disse egenskapene er avgjørende for analyser som kolesterolutstrømningsanalysen og undersøkelser av celletransport, inkludert bevegelse av lipidnanopartikler og påvisning av proteininteraksjoner.

Caco-2-celler er avgjørende for studier av tarmabsorpsjon, ettersom de gir en pålitelig in vitro-tilnærming av tarmepitelet. Disse cellene etterligner tarmens enterocytter og gjør det enklere å analysere oral legemiddelabsorpsjon ved å simulere tarmbarrieren. Forskere bruker Caco-2-celler til å forutsi hvordan stoffer passerer tarmslimhinnen, noe som er avgjørende for den farmakokinetiske profileringen av orale legemidler. Caco-2-celler er også et viktig verktøy for å undersøke opptak, homeostase og transport av kolesterol i tarmen, noe som er avgjørende for å forstå lipidmetabolismen og tilknyttede sykdommer.

Caco-2-celler er fortsatt en hjørnestein i forskning på tykktarmskarsinom og toksikologi, ikke bare på grunn av sin relevans for gastrointestinale studier på mennesker, men også fordi de gir detaljert innsikt i galleveiene, metabolismen av xenobiotika i tykktarmen, kreft og toksikologisk forskning.

Organism Menneskelig**Tissue** Colon**Disease** Adenokarsinom**Applications** Modell av mage-tarmkanalen, måling av transepitelial/endotelial elektrisk motstand (TEER). Caco-2-celler utvikler høye TEER-verdier på opptil 2000 cm² (målt med CLS ved hjelp av CellZscope, nanoAnalytics, Münster, Tyskland).**Synonyms** CaCo-2, CACO-2, Caco 2, CACO 2, CACO2, CaCo2, CaCO2, Caco2, Caco-II**Kjennetegn****Age** 72 år**Gender** Mann**Ethnicity** Kaukasisk

Caco-2-celler | 300137

Morphology Epitel-lignende

Growth properties Vedhengende

Regulatoriske data

Citation CaCo-2 (Cytion katalognummer 300137)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0025

Biomolekylære data

Receptors expressed Varmestabil enterotoksin (Sta, E. coli), epidermal vekstfaktor (EGF), retinsyrebindende protein I og retinolbindende protein II, keratinpositiv.

Antigen expression Blodtype O, Rh+, HLA klasse II negativ

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

Tumorigenic Ja, i nakne mus. Danner moderat godt differensierte adenokarsinomer som er forenlige med primærkolon (grad II)

Virus resistance Humant immunsviktivirus (HIV, LAV)

Ploidy status (P14), hypertetraploid

MSI-status Stabil (MSS)

Håndtering

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

Supplements Suppler mediet med 10 % FBS og 1 % NEAA

Caco-2-celler | 300137

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 60 til 70 timer

Subculturing Fjern det gamle mediet fra de adherente cellene, og vask dem med PBS uten kalsium og magnesium. Bruk 3-5 ml PBS for T25-kolber og 5-10 ml for T75-kolber. Dekk deretter cellene helt med Accutase, med 1-2 ml for T25-kolber og 2,5 ml for T75-kolber. La cellene inkubere i romtemperatur i 8-10 minutter for å løsne dem. Etter inkubasjon blandes cellene forsiktig med 10 ml medium for å resuspendere dem, og sentrifuger deretter ved 300xg i 3 minutter. Kast supernatanten, resuspendere cellene i nytt medium, og overfør dem til nye kolber som allerede inneholder nytt medium.

Split ratio Et forhold på 1:2 til 1:3 anbefales

Seeding density 1×10^4 celler/cm² vil resultere i et 90 % konfluent monolag i løpet av omtrent 4 dager.

Post-Thaw Recovery Etter tining, plasser cellene på 5×10^4 celler/cm² og la cellene komme seg etter fryseprosessen og feste seg i minst 24 timer.

Freeze medium Som kryopreserveringsmedium bruker vi komplett vekstmedium (inkludert FBS) + 10 % DMSO for tilstrekkelig levedyktighet etter opptining, eller CM-1 (Cytion-katalognummer 800100), som inneholder optimaliserte osmoprotective midler og metabolske stabilisatorer for å øke utvinningen og redusere kryoundersert stress.

Caco-2-celler | 300137

Thawing and Culturing Cells

1. Kontroller at hetteglasset er dypfrost ved levering, ettersom cellene sendes på tørris for å opprettholde optimale temperaturer under transport.
2. Ved mottak skal hetteglasset enten oppbevares umiddelbart ved temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ for å sikre at cellenes integritet bevares, eller gå videre til trinn 3 hvis umiddelbar dyrking er nødvendig.
3. Ved umiddelbar dyrking tiner du hetteglasset raskt ved å senke det ned i et $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varmt vannbad med rent vann og et antimikrobielt middel, og røre forsiktig i 40-60 sekunder til det blir en liten isklump igjen.
4. Utfør alle påfølgende trinn under sterile forhold i en strømningshette, og desinfiser kryoflasken med 70 % etanol før du åpner den.
5. Åpne det desinfiserte hetteglasset forsiktig, og overfør cellesuspensjonen til et 15 ml sentrifugerør som inneholder 8 ml romtemperert dyrkingsmedium, og bland forsiktig.
6. Sentrifuger blandingen ved $300 \times g$ i 3 minutter for å separere cellene, og kast supernatanten som inneholder rester av frysemedium, forsiktig.
7. Resuspender cellepelletten forsiktig i 10 ml nytt dyrkingsmedium. For adherente celler, del suspensjonen mellom to T25-kulturkolber; for suspensjonskulturer, overfør alt mediet til én T25-kolbe for å fremme effektiv celleinteraksjon og vekst.
8. Følg etablerte subkulturprotokoller for fortsatt vekst og vedlikehold av cellelinjen, noe som sikrer pålitelige eksperimentelle resultater.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5 % CO_2 , befuktet atmosfære.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Shipping Conditions

Kryopreserverte cellelinjer sendes på tørris i validert, isolert emballasje med tilstrekkelig kjølemiddel til å opprettholde en temperatur på ca. $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hele transporten. Ved mottak skal beholderen inspiseres umiddelbart, og hetteglassene skal straks overføres til egnet lagringsplass.

Caco-2-celler | 300137

Storage Conditions

For langtidsoppbevaring plasseres hetteglassene i flytende nitrogen i dampfase ved ca. -150 til -196 °C. Lagring ved -80 °C er kun akseptabelt som et kort mellomtrinn før overføring til flytende nitrogen.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasma-kontaminering utelukkes ved hjelp av både PCR-baserte analyser og luminescensbaserte metoder for påvisning av mykoplasma.

For å sikre at det ikke finnes bakterie-, sopp- eller gjærkontaminering, blir cellekulturene inspisert visuelt hver dag.

STR-profil

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-alleler

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