Product sheet

Komórki Caco-2 | 300137

Informacje ogólne

Description	Komórki Caco-2 służą jako zaawansowany model in vitro dla ludzkiej bariery jelitowej, głównie ze względu na ich różnicowanie do monowarstwy komórkowej, która ściśle przypomina enterocyty wyścielające jelito cienkie. Podczas hodowli linii komórkowej Caco2 na wkładach filtracyjnych do hodowli tkankowej z filtrami poliwęglanowymi, komórki Caco-2 ulegają spontanicznemu różnicowaniu. Różnicowanie komórek Caco2 skutkuje ekspresją wyspecjalizowanych typów komórek, wraz z mikrokosmkami, enzymami i transporterami, co odpowiada złożonym cechom i mechanizmom występującym w warunkach in vivo. W kontekście modeli badań wchłaniania jelitowego, komórki Caco-2, które pochodzą od ludzkiego pacjenta z gruczolakorakiem jelita grubego, są instrumentalne ze względu na ich zdolność do osiągania wysokich wartości TEER, co oznacza nienaruszone połączenia ścisłe i funkcję bariery nabłonkowej. Właściwości te są kluczowe dla testów takich jak test wypływu cholesterolu i badań transportu komórkowego, w tym ruchu nanocząstek lipidowych i wykrywania interakcji białek. Komórki Caco-2 odgrywają kluczową rolę w badaniach wchłaniania jelitowego, zapewniając wiarygodne przybliżenie nabłonka jelitowego in vitro. Naśladując enterocyty jelitowe, komórki te ułatwiają analizę wchłaniania leków doustnych poprzez symulację bariery jelitowej. Naukowcy wykorzystują komórki Caco-2 do przewidywania, w jaki sposób substancje przechodzą przez błonę śluzową jelit, co jest niezbędne do profilowania farmakokinetycznego leków doustnych. Co więcej, są one kluczowym narzędziem w badaniu wchłaniania, homeostazy i transportu cholesterolu w jelitach, które są istotnymi procesami dla zrozumienia metabolizmu lipidów i związanych z nim chorób. Komórki Caco-2 pozostają kamieniem węgielnym w badaniach nad rakiem jelita grubego i toksykologią, nie tylko ze względu na ich znaczenie w badaniach nad ludzkim układem pokarmowym, ale także ze względu na ich rolę w zapewnianiu szczegółowego wglądu w szlak żółciowy, metabolizm ksenobiotyków w okrężnicy, badania nad rakiem i toksykologią.
Organism	Człowiek
Tissue	Colon
Disease	Gruczolakorak
Applications	Model przewodu pokarmowego, pomiar przezbłonowego/śródbłonkowego oporu elektrycznego (TEER). Komórki Caco-2 rozwijają wysokie wartości TEER do 2000 cm2 (mierzone za pomocą CLS przy użyciu CellZscope, nanoAnalytics, Münster, Niemcy).
Synonyms	CaCo-2, CACO-2, Caco 2, CACO 2, CACO2, CaCo2, CaCO2, Caco2, Caco-II

Charakterystyka

Age	72 lata
Gender	Mężczyzna

Komórki Caco-2 | 300137

Ethnicity	Kaukaski
Morphology	Podobny do nabłonka
Growth properties	Adherent

Dane regulacyjne

Citation	CaCo-2 (numer katalogowy Cytion 300137)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0025

Dane biomolekularne

Receptors expressed	Termostabilna enterotoksyna (Sta, E. coli), naskórkowy czynnik wzrostu (EGF), białko wiążące kwas retinowy I i białko wiążące retinol II, keratyna dodatnia.
Antigen expression	Grupa krwi O, Rh+, HLA klasa II ujemna
Isoenzymes	Me-2, 1, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, G6PD, B.
Tumorigenic	Tak, u nagich myszy. Tworzą umiarkowanie dobrze zróżnicowane gruczolakoraki zgodne z pierwotnym rakiem okrężnicy (stopień II)
Virus resistance	Ludzki wirus niedoboru odporności (HIV, LAV)
Ploidy status	(P14), hipertetraploidalny
MSI-status	Stabilny (MSS)

Obsługa

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-glutamina, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (numer artykułu Cytion 820100a)

Komórki Caco-2 | 300137

Supplements	Uzupełnić podłoże 10% FBS i 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	60 do 70 godzin
Subculturing	Usuń starą pożywkę z przylegających komórek i przemyj je PBS, który nie zawiera wapnia i magnezu. W przypadku kolb T25 należy użyć 3-5 ml PBS, a w przypadku kolb T75 5-10 ml. Następnie całkowicie pokryj komórki Accutase, używając 1-2 ml dla kolb T25 i 2,5 ml dla kolb T75. Pozwól komórkom inkubować w temperaturze pokojowej przez 8-10 minut, aby je oddzielić. Po inkubacji delikatnie wymieszaj komórki z 10 ml pożywki, aby ponownie je zawiesić, a następnie odwiruj przy 300xg przez 3 minuty. Odrzucić supernatant, ponownie zawiesić komórki w świeżej pożywce i przenieść je do nowych kolb zawierających już świeżą pożywkę.
Split ratio	Zalecany jest stosunek 1:2 do 1:3
Seeding density	1 x 10^4 komórek/cm^2 spowoduje powstanie 90% zlewającej się monowarstwy w ciągu około 4 dni.
Post-Thaw Recovery	Po rozmrożeniu umieść komórki na płytce w ilości 5 x 10^4 komórek/cm^2 i pozostaw je na co najmniej 24 godziny, aby mogły się zregenerować po procesie zamrażania i przylgnąć do podłoża.
Freeze medium	Jako pożywki do kriokonserwacji używamy kompletnej pożywki wzrostowej (w tym FBS) + 10% DMSO w celu zapewnienia odpowiedniej żywotności po rozmrożeniu lub CM-1 (numer katalogowy Cytion 800100), która zawiera zoptymalizowane osmoprotektanty i stabilizatory metaboliczne w celu zwiększenia regeneracji i zmniejszenia stresu wywołanego kriokonserwacją.

Komórki Caco-2 | 300137

Thawing and Culturing Cells

1. Upewnij się, że fiolka pozostaje głęboko zamrożona w momencie dostawy, ponieważ komórki są wysyłane w suchym lodzie, aby utrzymać optymalną temperaturę podczas transportu.

2. Po otrzymaniu należy natychmiast przechowywać fiolkę w temperaturze poniżej -150°C, aby zapewnić zachowanie integralności komórek, lub przejść do kroku 3, jeśli wymagana jest natychmiastowa hodowla.

3. W przypadku natychmiastowej hodowli należy szybko rozmrozić fiolkę, zanurzając ją w łaźni wodnej o temperaturze 37°C z czystą wodą i środkiem przeciwdrobnoustrojowym, delikatnie mieszając przez 40-60 sekund, aż pozostanie niewielka grudka lodu.

4. Wykonaj wszystkie kolejne kroki w sterylnych warunkach w kapturze przepływowym, dezynfekując fiolkę 70% etanolem przed otwarciem.

5. Ostrożnie otworzyć zdezynfekowaną fiolkę i przenieść zawiesinę komórek do 15 ml probówki wirówkowej zawierającej 8 ml podłoża hodowlanego o temperaturze pokojowej, delikatnie mieszając.

6. Wirować mieszaninę z prędkością 300 x g przez 3 minuty w celu oddzielenia komórek i ostrożnie odrzucić supernatant zawierający pozostałości pożywki do zamrażania.

7. Delikatnie ponownie zawiesić osad komórek w 10 ml świeżego podłoża hodowlanego. W przypadku komórek przylegających, rozdzielić zawiesinę pomiędzy dwie kolby hodowlane T25; w przypadku hodowli zawiesinowych, przenieść całą pożywkę do jednej kolby T25 w celu promowania skutecznej interakcji i wzrostu komórek.

8. Przestrzegaj ustalonych protokołów podhodowli w celu ciągłego wzrostu i utrzymania linii komórkowej, zapewniając wiarygodne wyniki eksperymentów.

Incubation Atmosphere

37°C, 5% $_{CO2}$, nawilżona atmosfera.

Flask Coating

Brak

Freezing Procedure

Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.

Komórki Caco-2 | 300137

Shipping Conditions	Linie komórkowe poddane kriokonserwacji są wysyłane w suchym lodzie w zatwierdzonych, izolowanych opakowaniach z wystarczającą ilością czynnika chłodniczego, aby utrzymać temperaturę około -78°C przez cały czas transportu. Po otrzymaniu przesyłki należy natychmiast sprawdzić pojemnik i bezzwłocznie przenieść fiolki do odpowiedniego miejsca przechowywania.
Storage Conditions	W celu długotrwałego przechowywania należy umieścić fiolki w ciekłym azocie w fazie lotnej w temperaturze od -150 do -196 °C. Przechowywanie w temperaturze -80 °C jest dopuszczalne tylko jako krótki etap przejściowy przed przeniesieniem do ciekłego azotu.

Kontrola jakości i analiza molekularna

Sterility	Zanieczyszczenie mykoplazmą jest wykluczane przy użyciu zarówno testów opartych na PCR, jak i metod wykrywania mykoplazmy opartych na luminescencji. Aby upewnić się, że nie ma zanieczyszczenia bakteriami, grzybami lub drożdżami, hodowle komórkowe są poddawane codziennym kontrolom wizualnym.
Profil STR	**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
Allele HLA	**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