

Células Caco-2 | 300137

Informações gerais

Description

As células Caco-2 constituem um modelo avançado in vitro da barreira intestinal humana, principalmente devido à sua diferenciação numa monocamada de células que se assemelha muito aos enterócitos que revestem o intestino delgado. Ao cultivar a linha de células Caco2 em inserções de filtro de cultura de tecidos com filtros de polycarbonato, as células Caco-2 sofrem uma diferenciação espontânea. A diferenciação das células Caco2 resulta na expressão de tipos de células especializadas, completas com microvilosidades, enzimas e transportadores, em paralelo com as características e mecanismos complexos encontrados numa situação in vivo.

No contexto dos modelos de estudos de absorção intestinal, as células Caco-2, que foram derivadas de um doente com adenocarcinoma colorrectal humano, são fundamentais devido à sua capacidade de desenvolver valores TEER elevados, o que significa junções estanques intactas e função de barreira epitelial. Estas propriedades são cruciais para ensaios como o ensaio de efluxo de colesterol e investigações sobre o transporte celular, incluindo o movimento de nanopartículas lipídicas e a deteção de interações proteicas.

As células Caco-2 são fundamentais para os estudos de absorção intestinal, proporcionando uma aproximação fiável in vitro do epitélio intestinal. Imitando os enterócitos intestinais, estas células facilitam a análise da absorção oral de medicamentos, simulando a barreira intestinal. Os investigadores utilizam as células Caco-2 para prever a forma como as substâncias atravessam a mucosa intestinal, o que é essencial para a caracterização farmacocinética dos medicamentos orais. Além disso, são uma ferramenta fundamental para investigar a absorção, a homeostase e o transporte do colesterol intestinal, que são processos vitais para compreender o metabolismo dos lípidos e as doenças associadas.

As células Caco-2 continuam a ser uma pedra angular na investigação do carcinoma do cólon e da toxicologia, não só pela sua relevância para os estudos gastrointestinais humanos, mas também pelo seu papel no fornecimento de informações pormenorizadas sobre a via biliar, o metabolismo dos xenobióticos no cólon, o cancro e a investigação toxicológica.

Organism Humano

Tissue Cólon

Disease Adenocarcinoma

Applications Modelo do trato GI (gastrointestinal), medição da Resistência Eléctrica Trans-Epitelial/Endotelial (TEER). As células Caco-2 desenvolvem valores elevados de TEER de até 2000 cm² (medidos por CLS utilizando o CellZscope, nanoAnalytics, Münster, Alemanha).

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

Caraterísticas

Age 72 anos

Células Caco-2 | 300137

Gender	Masculino
Ethnicity	Caucasiano
Morphology	De tipo epitelial
Growth properties	Aderente

Dados regulamentares

Citation	CaCo-2 (número de catálogo Cytion 300137)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0025

Dados biomoleculares

Receptors expressed	Enterotoxina estável ao calor (Stx, E. coli), fator de crescimento epidérmico (EGF), proteína de ligação ao ácido retinóico I e proteína de ligação ao retinol II, queratina positiva.
Antigen expression	Tipo sanguíneo O, Rh+, HLA classe II negativo
Isoenzymes	Me-2, 1, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, G6PD, B.
Tumorigenic	Sim, em ratinhos nus. Forma adenocarcinomas moderadamente bem diferenciados, consistentes com o primário do cólon (grau II)
Virus resistance	Vírus da imunodeficiência humana (VIH, VLA)
Ploidy status	(P14), hipertetraplóide
MSI-status	Estável (MSS)

Manuseamento

Células Caco-2 | 300137

Culture Medium EMEM (MEM Eagle), com: 2 mM L-Glutamina, com: 2,2 g/L NaHCO₃, com: EBSS (número de artigo Cytion 820100a)

Supplements Completar o meio com 10% de FBS e 1% de NEAA

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 60 a 70 horas

Subculturing Retirar o meio antigo das células aderentes e lavá-las com PBS sem cálcio e magnésio. Nos frascos T25, utilizar 3-5 ml de PBS e, nos frascos T75, 5-10 ml. Em seguida, cobrir completamente as células com Accutase, utilizando 1-2 ml para os frascos T25 e 2,5 ml para os frascos T75. Deixar as células incubar à temperatura ambiente durante 8-10 minutos para as destacar. Após a incubação, misturar suavemente as células com 10 ml de meio para as ressuspender e, em seguida, centrifugar a 300xg durante 3 minutos. Deitar fora o sobrenadante, ressuspender as células em meio fresco e transferi-las para novos frascos que já contenham meio fresco.

Seeding density 1×10^4 células/cm² resultará numa monocamada 90% confluenta em cerca de 4 dias.

Post-Thaw Recovery Após o descongelamento, coloque as células em placas a uma densidade de 5×10^4 células/cm² e deixe-as recuperar do processo de congelamento e aderir durante pelo menos 24 horas.

Freeze medium Como meio de criopreservação, utilizamos um meio de crescimento completo (incluindo FBS) + 10% DMSO para uma viabilidade pós-descongelamento adequada, ou CM-1 (número de catálogo Cytion 800100), que inclui osmoprotectores otimizados e estabilizadores metabólicos para melhorar a recuperação e reduzir o stress induzido pela crio.

Células Caco-2 | 300137

Thawing and Culturing Cells

1. Confirme que o frasco permanece profundamente congelado aquando da entrega, uma vez que as células são enviadas em gelo seco para manter as temperaturas ideais durante o transporte.
2. Após a receção, armazenar o frasco criogénico imediatamente a temperaturas inferiores a -150°C para garantir a preservação da integridade celular, ou avançar para o passo 3 se for necessária uma cultura imediata.
3. Para uma cultura imediata, descongelar rapidamente o frasco imergindo-o num banho de água a 37°C com água limpa e um agente antimicrobiano, agitando suavemente durante 40-60 segundos até ficar um pequeno aglomerado de gelo.
4. Efetuar todos os passos subsequentes em condições estéreis numa capela de fluxo, desinfectando o frasco criogénico com etanol a 70% antes de o abrir.
5. Abrir cuidadosamente o frasco desinfectado e transferir a suspensão de células para um tubo de centrifugação de 15 ml contendo 8 ml de meio de cultura à temperatura ambiente, misturando suavemente.
6. Centrifugar a mistura a $300 \times g$ durante 3 minutos para separar as células e eliminar cuidadosamente o sobrenadante que contém o meio de congelação residual.
7. Ressuspender suavemente o pellet de células em 10 ml de meio de cultura fresco. No caso de células aderentes, dividir a suspensão entre dois frascos de cultura T25; no caso de culturas em suspensão, transferir todo o meio para um frasco T25 para promover uma interação e um crescimento eficazes das células.
8. Cumprir os protocolos de subcultura estabelecidos para o crescimento e manutenção contínuos da linha celular, garantindo resultados experimentais fiáveis.

Incubation Atmosphere

37°C , 5% CO_2 , atmosfera humidificada.

Flask Coating

Nenhum

Freezing Procedure

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78°C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Células Caco-2 | 300137

Shipping Conditions

As linhas celulares criopreservadas são expedidas em gelo seco em embalagens validadas e isoladas com refrigerante suficiente para manter aproximadamente -78 °C durante o transporte. Aquando da receção, inspecionar imediatamente o recipiente e transferir sem demora os frascos para um local de armazenamento adequado.

Storage Conditions

Para conservação a longo prazo, colocar os frascos em azoto líquido em fase de vapor a uma temperatura entre -150 e -196 °C. O armazenamento a -80 °C é aceitável apenas como um curto passo intermédio antes da transferência para azoto líquido.

Controlo de qualidade / Perfil genético / HLA

Sterility

A contaminação por micoplasma é excluída utilizando ensaios baseados em PCR e métodos de deteção de micoplasma baseados em luminescência.

Para garantir que não há contaminação bacteriana, fúngica ou de leveduras, as culturas de células são sujeitas a inspecções visuais diárias.

Alelos 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