

Caco-2-celler | 300137

Allmän information

Description

Caco-2-celler fungerar som en avancerad in vitro-modell för den mänskliga tarmbarriären, främst på grund av att de differentieras till ett cellmonolager som är mycket likt enterocyterna i tunntarmen. Vid odling av Caco2-cellinjen på filterinsatser för vävnadsodling med polykarbonatfilter genomgår Caco-2-cellerna en spontan differentiering. Differentieringen av Caco2-celler resulterar i uttryck av specialiserade celltyper, kompletta med mikrovilli, enzymer och transportörer, vilket motsvarar de komplexa egenskaper och mekanismer som finns i en in vivo-situation.

När det gäller modeller för studier av tarmabsorption är Caco-2-celler, som härrör från en human kolorektal adenocarcinom-patient, viktiga eftersom de har förmågan att utveckla höga TEER-värden, vilket tyder på intakta tight junctions och epitelbarriärfunktion. Dessa egenskaper är avgörande för analyser som kolesterol efflux assay och undersökningar av cellulär transport, inklusive förflyttning av lipidnanopartiklar och detektering av proteininteraktioner.

Caco-2-celler är centrala för studier av tarmabsorption, eftersom de ger en tillförlitlig in vitro-liknande bild av tarmepitelet. Dessa celler, som efterliknar tarmens enterocyter, underlättar analyser av oral läkemedelsabsorption genom att simulera tarmbarriären. Forskare använder Caco-2-celler för att förutsäga hur substanser passerar tarmslemhinnan, vilket är avgörande för den farmakokinetiska profileringen av orala läkemedel. Dessutom är de ett viktigt verktyg för att undersöka upptag, homeostas och transport av kolesterol i tarmen, vilket är viktiga processer för att förstå lipidmetabolismen och därmed förknippade sjukdomar.

Caco-2-celler är fortfarande en hörnsten i forskningen om tjocktarmscancer och toxikologi, inte bara för sin relevans för gastrointestinala studier på människa utan också för sin roll när det gäller att ge detaljerade insikter i gallvägarna, metabolismen av xenobiotika i tjocktarmen, cancer och toxikologi.

Organism Människan

Tissue Kolon

Disease Adenocarcinom

Applications Modell av GI (gastrointestinala) kanalen, mätning av TEER (Trans-Epithelial/Endothelial Electrical Resistance). Caco-2-celler utvecklar höga TEER-värden på upp till 2000 cm² (enligt mätning med CLS med hjälp av CellZscope, nanoAnalytics, Münster, Tyskland).

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

Egenskaper

Age 72 år

Gender Man

Ethnicity Kaukasisk

Caco-2-celler | 300137

Morphology Epitelliknande

Growth properties Följsam

Lagstadgade uppgifter

Citation CaCo-2 (Cytion katalognummer 300137)

Biosafety level 1

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_0025

Biomolekylära data

Receptors expressed Värmestabilt enterotoxin (Sta, E. coli), epidermal tillväxtfaktor (EGF), retinoic acid binding protein I och retinol binding protein II, keratinpositiv.

Antigen expression Blodgrupp O, Rh+, HLA klass II negativ

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

Tumorigenic Ja, i nakna möss. Bildar måttligt völdifferentierade adenokarcinom som överensstämmer med primär koloni (grad II)

Virus resistance Humant immunbristvirus (HIV, LAV)

Ploidy status (P14), hypertetraploid

MSI-status Stabilt (MSS)

Hantering

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

Supplements Komplettera mediet med 10% FBS och 1% NEAA

Caco-2-celler | 300137

Dissociation Reagent Accutase

Doubling time 60 till 70 timmar

Subculturing Ta bort det gamla mediet från de adherenta cellerna och tvätta dem med PBS som saknar kalcium och magnesium. Använd 3-5 ml PBS för T25-kolvar och 5-10 ml för T75-kolvar. Täck sedan cellerna helt med Accutase, använd 1-2 ml för T25-kolvar och 2,5 ml för T75-kolvar. Låt cellerna inkubera i rumstemperatur i 8-10 minuter så att de lossnar. Efter inkubationen, blanda cellerna försiktigt med 10 ml medium för att resuspendera dem och centrifugera sedan vid 300xg i 3 minuter. Kassera supernatanten, resuspendera cellerna i färskt medium och överför dem till nya kolvar som redan innehåller färskt medium.

Split ratio Ett förhållande på 1:2 till 1:3 rekommenderas

Seeding density 1×10^4 celler/cm² ger ett 90 % konfluent monolager på cirka 4 dagar.

Post-Thaw Recovery Efter upptining, plattlägg cellerna med 5×10^4 celler/cm² och låt cellerna återhämta sig från frysprocessen och fästa i minst 24 timmar.

Freeze medium Som kryokonservationsmedium använder vi komplett tillväxtmedium (inklusive FBS) + 10% DMSO för adekvat viabilitet efter upptining, eller CM-1 (Cytion katalognummer 800100), som innehåller optimerade osmoprotektanter och metaboliska stabilisatorer för att förbättra återhämtningen och minska kryoinducerad stress.

Caco-2-celler | 300137

Thawing and Culturing Cells

1. Bekräfta att flaskan är djupfryst vid leverans, eftersom cellerna skickas på torris för att bibehålla optimala temperaturer under transporten.
2. Vid mottagandet ska du antingen förvara kryovialen omedelbart vid temperaturer under $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ för att säkerställa att cellernas integritet bevaras, eller gå vidare till steg 3 om omedelbar odling krävs.
3. Vid omedelbar odling ska injektionsflaskan snabbt tinas genom att den sänks ned i ett $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ vattenbad med rent vatten och ett antimikrobiellt medel och omrörs försiktigt i 40-60 sekunder tills en liten isklump återstår.
4. Utför alla efterföljande steg under sterila förhållanden i en flödeshuv och desinficera kryovialerna med 70 % etanol innan de öppnas.
5. Öppna försiktigt den desinficerade flaskan och överför cellsuspensionen till ett 15 ml centrifugrör som innehåller 8 ml rumstempererat odlingsmedium och blanda försiktigt.
6. Centrifugera blandningen vid $300 \times g$ i 3 minuter för att separera cellerna och kassera försiktigt supernatanten som innehåller resterande frysmedium.
7. Resuspendera försiktigt cellpelleten i 10 ml färskt odlingsmedium. För adherenta celler, fördela suspensionen mellan två T25-kulturkolv; för suspensionskulturer, överför allt medium till en T25-kolv för att främja effektiv cellinteraktion och tillväxt.
8. Följ fastställda subkulturprotokoll för fortsatt tillväxt och underhåll av cellinjen, vilket säkerställer tillförlitliga experimentella resultat.

Incubation Atmosphere

$37\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5% CO_2 , befuktad atmosfär.

Flask Coating

Ingen

Freezing Procedure

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Shipping Conditions

Kryopreserverade cellinjer skickas på torris i validerade, isolerade förpackningar med tillräckligt med kylmedel för att hålla cirka $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ under hela transporten. Vid mottagandet ska behållaren omedelbart inspekteras och flaskorna utan dröjsmål överföras till lämplig förvaring.

Caco-2-celler | 300137

Storage Conditions

För långtidsförvaring, placera flaskorna i flytande kväve i ångfas vid ca -150 till -196 °C. Förvaring vid -80 °C är acceptabelt endast som ett kort mellanliggande steg innan överföring till flytande kväve.

Kvalitetskontroll / Genetisk profil / HLA

Sterility

Mykoplasmakontaminering utesluts med hjälp av både PCR-baserade analyser och luminiscensbaserade metoder för mykoplasmadiagnostik.

För att säkerställa att det inte finns någon kontaminering av bakterier, svamp eller jäst utsätts cellkulturerna för dagliga visuella inspektioner.

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