

Bunky Caco-2 | 300137**Všeobecné informácie****Description**

Bunky Caco-2 slúžia ako moderný in vitro model ľudskej črevnej bariéry, predovšetkým vďaka ich diferenciácii do bunkovej monovrstvy, ktorá sa veľmi podobá enterocytom vystielajúcim tenké črevo. Pri kultivácii bunkovej línie Caco-2 na filtračných vložkách pre tkanivové kultúry s polykarbonátovými filtrami podliehajú bunky Caco-2 spontánnej diferenciácii. Výsledkom diferenciácie buniek Caco2 je expresia špecializovaných typov buniek, doplnených o mikroklky, enzýmy a transportéry, čo zodpovedá komplexným vlastnostiam a mechanizmom, ktoré sa vyskytujú v podmienkach in vivo.

V kontexte modelov štúdií črevnej absorpcie sú bunky Caco-2, ktoré boli odvodené od ľudského pacienta s kolorektálnym adenokarcinómom, užitočné vďaka svojej schopnosti vyvinúť vysoké hodnoty TEER, čo znamená neporušené tesné spojenia a funkciu epitelovej bariéry. Tieto vlastnosti sú kľúčové pre testy, ako je test na vyplavovanie cholesterolu, a výskumy bunkového transportu vrátane pohybu lipidových nanočastíc a detekcie interakcií proteínov.

Bunky Caco-2 sú kľúčové pre štúdie črevnej absorpcie, pretože poskytujú spoľahlivú in vitro aproximáciu črevného epitelu. Tieto bunky, ktoré napodobňujú črevné enterocyty, uľahčujú analýzy perorálnej absorpcie liečiv tým, že simulujú črevnú bariéru. Výskumníci využívajú bunky Caco-2 na predpovedanie toho, ako látky prechádzajú cez črevnú sliznicu, čo je nevyhnutné pre farmakokinetické profilovanie perorálnych liekov. Okrem toho sú kľúčovým nástrojom pri skúmaní absorpcie, homeostázy a transportu cholesterolu v čreve, čo sú dôležité procesy pre pochopenie metabolizmu lipidov a súvisiacich ochorení.

Bunky Caco-2 zostávajú základným kameňom výskumu karcinómu hrubého čreva a toxikológie, a to nielen pre ich význam pre štúdie ľudského gastrointestinálneho traktu, ale aj pre ich úlohu pri poskytovaní podrobných poznatkov o žlčovej dráhe, metabolizme xenobiotík v hrubom čreve, výskume rakoviny a toxikológii.

Organism Ľudské**Tissue** Colon**Disease** Adenokarcinóm**Applications** Model gastrointestinálneho traktu, meranie trans-epitelového/endotelového elektrického odporu (TEER). Bunky Caco-2 dosahujú vysoké hodnoty TEER až do 2000 cm² (merané metódou CLS pomocou CellZscope, nanoAnalytics, Münster, Nemecko).**Synonyms** CaCo-2, CACO-2, Caco 2, CACO 2, CACO2, CaCo2, CaCO2, Caco2, Caco-II**Charakteristika****Age** 72 rokov**Gender** Muži**Ethnicity** Kaukazský

Bunky Caco-2 | 300137**Morphology** Epitelu podobné**Growth properties** Adherent**Regulačné údaje****Citation** CaCo-2 (katalógové číslo Cytion 300137)**Biosafety level** 1**NCBI_TaxID** 9606**CellosaurusAccession** CVCL_0025**Biomolekulárne údaje****Receptors expressed** Tepelne stabilný enterotoxín (Sta, E. coli), epidermálny rastový faktor (EGF), proteín viažuci kyselinu retinóvu I a proteín viažuci retinol II, keratín pozitívny.**Antigen expression** Krvná skupina O, Rh+, HLA II. triedy negatívna**Isoenzymes** Me-2, 1, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, G6PD, B.**Tumorigenic** Áno, na nahých myšiach. Tvoria stredne dobre diferencované adenokarcinómy zodpovedajúce primárnemu hrubému črevu (stupeň II)**Virus resistance** Vírus ľudskej imunitnej nedostatočnosti (HIV, LAV)**Ploidy status** (P14), hypertetraploidný**MSI-status** Stabilný (MSS)**Spracovanie****Culture Medium** EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)**Supplements** Doplníte médium o 10% FBS a 1% NEAA

Bunky Caco-2 | 300137**Dissociation Reagent** Accutase**Doubling time** 60 až 70 hodín**Subculturing** Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredujte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.**Seeding density** 1×10^4 buniek/cm² bude mať za následok 90 % konfluentnú monovrstvu za približne 4 dni.**Post-Thaw Recovery** Po rozmrazení naneste bunky v koncentrácii 5×10^4 buniek/cm² a nechajte bunky zotaviť sa z procesu zmrazenia a prilnúť aspoň 24 hodín.**Freeze medium** Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie regenerácie a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky Caco-2 | 300137**Thawing and
Culturing Cells**

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

**Incubation
Atmosphere**

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

**Freezing
Procedure**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

**Shipping
Conditions**

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky Caco-2 | 300137

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality / Genetický profil / HLA

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.

Alely 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