Product sheet

Celice Caco-2 | 300137

Splošne informacije

Description	Celice Caco-2 so napreden in vitro model za človeško črevesno pregrado, predvsem zaradi njihove diferenciacije v celični monosloj, ki je zelo podoben enterocitom, ki obdajajo tanko črevo. Pri gojenju celične linije Caco2 na filtrirnih vložkih za tkivne kulture s polikarbonatnimi filtri se celice Caco-2 spontano diferencirajo. Diferenciacija celic Caco2 povzroči izražanje specializiranih celičnih tipov z mikroviliji, encimi in prenašalci, kar je podobno zapletenim značilnostim in mehanizmom, ki jih najdemo v razmerah in vivo. V okviru modelov študij črevesne absorpcije so celice Caco-2, ki so bile pridobljene iz človeškega bolnika z adenokarcinomom debelega črevesa in danke, koristne zaradi svoje sposobnosti doseganja visokih vrednosti TEER, kar kaže na nepoškodovane tesne spoje in funkcijo epitelijske pregrade. Te lastnosti so ključne za teste, kot je test izliva holesterola, in raziskave celičnega transporta, vključno s premikanjem lipidnih nanodelcev in ugotavljanjem interakcij med beljakovinami. Celice Caco-2 so ključne za študije absorpcije v črevesju, saj zagotavljajo zanesljiv in vitro približek črevesnega epitelija. Te celice, ki posnemajo črevesne enterocite, olajšajo analize peroralne absorpcije zdravil, saj simulirajo črevesno pregrado. Raziskovalci uporabljajo celice Caco-2 za napovedovanje, kako snovi prehajajo črevesno sluznico, kar je bistveno za farmakokinetično profiliranje peroralnih zdravil. Poleg tega so ključno orodje pri raziskovanju črevesnega privzema, homeostaze in transporta holesterola, ki so ključni procesi za razumevanje presnove lipidov in z njo povezanih bolezni. Celice Caco-2 ostajajo temelj raziskav karcinoma debelega črevesa in toksikologije, ne le zaradi njihovega pomena za študije prebavil pri ljudeh, temveč tudi zaradi njihove vloge pri zagotavljanju podrobnega vpogleda v žolčno pot, presnovo ksenobiotikov v debelem črevesu, raziskave raka in toksikologijo.
Organism	Človek
Tissue	Debelo črevo
Disease	Adenokarcinom
Applications	Model gastrointestinalnega trakta, merjenje transepitelijskega/endotelijskega električnega upora (TEER). Celice Caco-2 razvijejo visoke vrednosti TEER do 2000 cm2 (izmerjeno s CLS z uporabo CellZscope, nanoAnalytics, Münster, Nemčija).
Synonyms	CaCo-2, CACO-2, Caco 2, CACO 2, CACO2, CaCo2, CaCO2, Caco2, Caco-II

Značilnosti

Age	72 let
Gender	Moški
Ethnicity	Kavkaški

Morphology	Epitelijam podobni
Growth properties	Pripadajoče

Regulativni podatki

Citation	CaCo-2 (kataloška številka Cytion 300137)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0025

Biomolekularni podatki

Receptors expressed	Toplotno stabilni enterotoksin (Sta, E. coli), epidermalni rastni faktor (EGF), protein I, ki veže retinojsko kislino, in protein II, ki veže retinol, keratin pozitiven.
Antigen expression	Krvna skupina O, Rh+, HLA razreda II negativen
Isoenzymes	Me-2, 1, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, G6PD, B.
Tumorigenic	Da, na golih miših. Tvorijo zmerno dobro diferencirane adenokarcinome, ki so skladni s primarnim debelim črevesom (razred II)
Virus resistance	Virus človeške imunske pomanjkljivosti (HIV, LAV)
Ploidy status	(P14), hipertetraploidni
MSI-status	Stabilno (MSS)

Ravnanje s spletno stranjo

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamin, w: 2,2 g/L NaHCO3, w: EBSS (številka izdelka Cytion 820100a)
Supplements	Gojišče dopolnite z 10 % FBS in 1 % NEAA

Celice Caco-2 | 300137

Dissociation Reagent	Accutase
Doubling time	60 do 70 ur
Subculturing	Odstranite staro gojišče z adherentnih celic in jih sperite s PBS, ki ne vsebuje kalcija in magnezija. Za bučke T25 uporabite 3-5 ml PBS, za bučke T75 pa 5-10 ml. Nato celice popolnoma prekrijte z Accutase, pri čemer uporabite 1-2 ml za bučke T25 in 2,5 ml za bučke T75. Celice pustite inkubirati pri sobni temperaturi 8-10 minut, da se ločijo. Po inkubaciji celice nežno premešajte z 10 ml gojišča, da se ponovno suspendirajo, nato jih 3 minute centrifugirajte pri 300xg. Zavrzite supernatant, ponovno suspendirajte celice v svežem gojišču in jih prenesite v nove bučke, ki že vsebujejo sveže gojišče.
Seeding density	1 x 10^4 celic/cm^2 bo v približno 4 dneh povzročilo 90 % konfluentno monoslojno plast.
Post-Thaw Recovery	Po odmrzovanju celice razporedite na ploščo v gostoti 5 x 10^4 cel^{ic}/cm^2 in jim pustite, da si opomorejo od zamrzovanja in se prilepijo na ploščo, vsaj 24 ur.
Freeze medium	Kot gojišče za kriokonzervacijo uporabljamo popolno rastno gojišče (vključno s FBS) + 10 % DMSO za ustrezno vitalnost po odmrznitvi ali CM-1 (kataloška številka 800100 podjetja Cytion), ki vključuje optimizirane osmoprotektante in presnovne stabilizatorje za izboljšanje okrevanja in zmanjšanje stresa, povzročenega s kriom.

Thawing and Culturing Cells	1. Prepričajte se, da je viala ob dostavi globoko zamrznjena, saj se celice pošiljajo na suhem ledu, da se med prevozom ohranijo optimalne temperature. 2. Po prejemu kriovial takoj shranite pri temperaturi pod -150 °C, da zagotovite ohranitev celične celovitosti, ali pa nadaljujte s korakom 3, če je potrebno takojšnje gojenje. 3. Za takojšnje gojenje vialo hitro odtalite tako, da jo potopite v vodno kopel s čisto vodo in protimikrobnim sredstvom pri 37 °C ter 40-60 sekund nežno mešate, dokler ne ostane majhen ledeni kepica. 4. Vse nadaljnje korake izvajajte v sterilnih pogojih v pretočni nape, pred odprtjem pa kriovial razkužite s 70 % etanolom. 5. Previdno odprite razkuženo vialo in celično suspenzijo prenesite v 15-mililitrsko centrifugirno epruveto, ki vsebuje 8 ml gojišča sobne temperature, ter nežno premešajte. 6. Mešanico centrifugirajte pri 300 x g 3 minute, da ločite celice, in previdno zavrzite supernatant, ki vsebuje ostanke zamrzovalnega gojišča. 7. Pelet celic nežno ponovno suspendirajte v 10 ml svežega gojišča. Pri adherentnih celicah suspenzijo razdelite med dve bučki T25; pri suspenzijskih kulturah prenesite vse gojišče v eno bučko T25, da spodbudite učinkovito interakcijo in rast celic. 8. Upoštevajte uveljavljene protokole subkultur za nadaljnjo rast in vzdrževanje celične linije ter tako zagotovite zanesljive rezultate poskusov.
Incubation Atmosphere	37 °C, 5 % $_{CO2}$, vlažno ozračje.
Flask Coating	Nič
Freezing Procedure	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.
Shipping Conditions	Kriokonzervirane celične linije se pošiljajo na suhem ledu v potrjeni, izolirani embalaži z zadostno količino hladilnega sredstva, da se med prevozom vzdržuje približno -78 °C. Ob prejemu takoj preglejte embalažo in viale nemudoma prenesite v ustrezno skladišče.

Storage Conditions	Za dolgotrajno shranjevanje viale postavite v tekoči dušik v parni fazi pri približno -150 do -196 °C. Shranjevanje pri -80 °C je sprejemljivo le kot kratek vmesni korak pred prenosom v tekoči dušik.

Kontrola kakovosti in molekularna analiza

Sterility	Kontaminacija z mikoplazmo se izključi z uporabo testov na podlagi PCR in metod za odkrivanje mikoplazme na podlagi luminiscence. Da se zagotovi, da ni kontaminacije z bakterijami, glivami ali kvasovkami, se celične kulture dnevno vizualno pregledujejo.
Aleli 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