Product sheet

Клітини Caco-2 | 300137

Загальна інформація

Description	Клітини Caco-2 слугують вдосконаленою моделлю кишкового бар'єру людини in vitro, в першу чергу завдяки їх диференціюванню в клітинний моношар, який дуже нагадує ентероцити, що вистилають тонкий кишечник. При культивуванні клітинної лінії Caco2 на фільтрувальних вставках з полікарбонатними фільтрами клітини Caco-2 піддаються спонтанній диференціації. Диференціація клітин Caco2 призводить до експресії спеціалізованих типів клітин, укомплектованих мікроворсинками, ферментами і транспортерами, паралельно зі складними особливостями і механізмами, виявленими в умовах in vivo. У контексті моделей дослідження кишкової абсорбції клітини Caco-2, отримані від пацієнта з колоректальною аденокарциномою людини, відіграють важливу роль завдяки своїй здатності розвивати високі значення TEER, що свідчить про неушкоджені щільні з'єднання та функцію епітеліального бар'єру. Ці властивості мають вирішальне значення для таких аналізів, як аналіз відтоку холестерину та дослідження клітинного транспорту, включаючи рух наночастинок ліпідів і виявлення білкових взаємодій. Клітини Caco-2 є ключовими для досліджень кишкової абсорбції, забезпечуючи надійне наближення до кишкового епітелію in vitro. Імітуючи кишкові ентероцити, ці клітини полегшують аналіз абсорбції пероральних препаратів, імітуючи кишковий бар'єр. Дослідники використовують клітини Caco-2 для прогнозування того, як речовини проникають через слизову оболонку кишечника, що має важливе значення для фармакокінетичного профілювання пероральних лікарських засобів. Крім того, вони є ключовим інструментом у дослідженні поглинання, гомеостазу та транспорту холестерину в кишечнику, що є життєво важливими процесами для розуміння ліпідного обміну та пов'язаних з ним захворювань. Клітини Caco-2 залишаються наріжним каменем у дослідженнях карциноми товстої кишки і токсикології не тільки через їхню актуальність для вивчення шлунково-кишкового тракту людини, але й через їхню роль у забезпеченні детального розуміння жовчовивідних шляхів, метаболізму ксенобіотиків у товстій кишці, дослідженнях раку і токсикології.
Organism	Людина
Tissue	Двоєточие
Disease	Аденокарцинома
Applications	Модель шлунково-кишкового тракту, вимірювання транс-епітеліального/ендотеліального електричного опору (TEER). Клітини Caco-2 розвивають високі значення TEER до 2000 см2 (виміряні методом CLS з використанням CellZscope, nanoAnalytics, Мюнстер, Німеччина).
Synonyms	CaCo-2, CACO-2, Caco 2, CACO 2, CACO2, CaCo2, CaCO2, Caco2, Caco2, Caco-II

Характеристики

Age	72 роки

Клітини Caco-2 | 300137

Gender	Чоловік
Ethnicity	Кавказець
Morphology	Епітеліальноподібні
Growth properties	Адепт

Нормативні дані

Citation	CaCo-2 (номер за каталогом Cytion 300137)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_0025

Біомолекулярні дані

Receptors expressed	Термостабільний ентеротоксин (Sta, E. coli), епідермальний фактор росту (EGF), білок, що зв'язує ретиноєву кислоту I і білок, що зв'язує ретинол II, кератинопозитивний.
Antigen expression	Група крові O, Rh+, HLA клас II негативний
Isoenzymes	Me-2, 1, PGM3, 1, PGM1, 1, ES-D, 1, AK-1, 1, GLO-1, 1, G6PD, B.
Tumorigenic	Так, у голих мишей. Утворюють помірно добре диференційовані аденокарциноми, що відповідають первинному раку товстої кишки (ступінь II)
Virus resistance	Вірус імунодефіциту людини (ВІЛ, LAV)
Ploidy status	(P14), гіпертетраплоїдний
MSI-status	Стабільний (MSS)

Обробка

Клітини Caco-2 | 300137

Culture Medium	EMEM (MEM Eagle), w: 2 мМ L-глутамін, w: 2,2 г/л NaHCO3, w: EBSS (цит. номер 820100a)
Supplements	Додайте до середовища 10% FBS та 1% NEAA
Dissociation Reagent	Аккутаза
Doubling time	60-70 годин
Subculturing	Видаліть старе середовище з прилиплих клітин і промийте їх PBS, в якому бракує кальцію і магнію. Для колб T25 використовуйте 3-5 мл PBS, а для колб T75 - 5-10 мл. Потім повністю покрийте клітини аккутазою, використовуючи 1-2 мл для колб T25 і 2,5 мл для колб T75. Залиште клітини інкубуватися при кімнатній температурі протягом 8-10 хвилин, щоб відокремити їх. Після інкубації обережно змішайте клітини з 10 мл середовища, щоб ресуспендувати їх, а потім центрифугуйте при 300xg протягом 3 хвилин. Викиньте надосадову рідину, ресуспендуйте клітини у свіжому середовищі та перенесіть їх у нові колби, які вже містять свіже середовище.
Seeding density	1 x 10^4 клітин/$см^2$ призведе до утворення 90% конфлюентного моношару приблизно за 4 дні.
Post-Thaw Recovery	Після розморожування висійте клітини з щільністю 5 x 10^4 клітин/^{см2} і дайте клітинам відновитися після процесу заморожування та прикріпитися протягом щонайменше 24 годин.
Freeze medium	Як середовище кріоконсервування ми використовуємо повне живильне середовище (включаючи FBS) + 10% ДМСО для адекватної життєздатності після відтавання або CM-1 (номер за каталогом Cytion 800100), до складу якого входять оптимізовані осмопротектори та метаболічні стабілізатори для прискорення відновлення та зменшення кріоіндукованого стресу.

Клітини Caco-2 | 300137

Thawing and Culturing Cells	1. Переконайтеся, що віал залишається глибоко замороженим після доставки, оскільки клітини транспортуються на сухому льоду для підтримання оптимальної температури під час транспортування. 2. Після отримання негайно зберігайте кріовіал при температурі нижче -150°C, щоб забезпечити збереження клітинної цілісності, або перейдіть до кроку 3, якщо потрібне негайне культивування. 3. Для негайного культивування швидко розморозьте віал, зануривши його у водяну баню з чистою водою і антимікробним засобом при температурі 37°C, обережно перемішуючи протягом 40-60 секунд, поки не залишиться невелика крижана грудка. 4. Всі наступні кроки виконуйте в стерильних умовах у проточній витяжній шафі, дезінфікуючи кріовіал 70% етанолом перед відкриттям. 5. Обережно відкрийте продезінфікований флакон і перенесіть клітинну суспензію в 15 мл центрифужну пробірку, що містить 8 мл культурального середовища кімнатної температури, обережно перемішуючи. 6. Відцентрифугуйте суміш при 300 x g протягом 3 хвилин, щоб відокремити клітини, і обережно викиньте надосадову рідину, що містить залишки заморожувального середовища. 7. Обережно ресуспендуйте осад клітин у 10 мл свіжого культурального середовища. Для адгезивних клітин розділіть суспензію між двома культуральними колбами T25; для суспензійних культур перенесіть все середовище в одну колбу T25, щоб сприяти ефективній взаємодії та росту клітин. 8. Дотримуйтесь встановлених протоколів субкультивування для продовження росту і підтримання клітинної лінії, забезпечуючи надійні результати експерименту.
Incubation Atmosphere	37°C, 5% $_{CO2}$, волога атмосфера.
Flask Coating	Ні
Freezing Procedure	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і негайно перемістіть віали у відповідне місце для зберігання.

Клітини Caco-2 | 300137

Shipping Conditions	Кріоконсервовані клітинні лінії транспортуються на сухому льоду в перевіреній ізольованій упаковці з достатньою кількістю холодоагенту для підтримання температури приблизно -78 °C під час транспортування. При отриманні негайно огляньте контейнер і без зволікань перемістіть флакони у відповідне місце зберігання.
Storage Conditions	Для тривалого зберігання помістіть флакони в парофазний рідкий азот при температурі від -150 до -196 °C. Зберігання при -80 °C допустиме лише як короткий проміжний етап перед перенесенням у рідкий азот.

Контроль якості та молекулярний аналіз

Sterility	Зараження мікоплазмою виключається за допомогою аналізів на основі ПЛР та люмінесцентних методів виявлення мікоплазми. Щоб переконатися у відсутності бактеріального, грибкового або дріжджового забруднення, клітинні культури піддаються щоденному візуальному контролю.
HLA алелі	**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