Tripsina 1:250 – 0,05% - 1X
BR30043-01 - 100 mL

Ficha de Instruções de Uso

1. Características

É uma solução balanceada com tripsina de origem suína isenta dos íons Cálcio e Magnésio, pronta-para-uso. Em sua composição o EDTA atua como agente *quelante*, permitindo o "descolamento" das células de frascos de cultivo e/ou desagregando células entre si através de sua propriedade proteolítica sobre proteínas intercelulares, e ainda alterando a estabilidade das membranas ao *quelar* o íon cálcio.

2. Aplicação

Este tampão é indicado na separação de células de órgãos e/ou tecidos, ou mesmo cultivados em mono-camadas ou camadas múltiplas. Como o processo de descolamento e separação de células é feito geralmente ao microscópio, é possível controlá-lo, interrompendo a sua ação, através da adição de meio contendo soro animal ou humano.

3. Componentes e características físico-químicas:

- Tripsina, EDTA, HBSS modificado e bicarbonato de sódio,
- Aspecto: límpido e transparente
- pH: 7,6 +/- 0,4

4. Conservação

Descongelar apenas no momento de uso. Por se tratar de uma enzima proteolítica, ela pode sofrer autodigestão com diminuição de sua atividade. A alteração para valores mais próximos de 7,9 e sua utilização à 37°C provocam um aumento de atividade, ocorrendo o inverso com diminuição do pH e da temperatura. A preparação de alíquotas em volumes menores é uma medida efetiva que ajuda na conservação do produto.

5. Para remover células de culturas aderidas ao frasco

Remover por inversão ou por aspiração todo o meio do frasco de cultivo.

Adicionar aproximadamente 0,1 mL/cm^3 da solução de Tripsina/EDTA para lavar rapidamente a superfície das células. Essa manobra é rápida e serve para remover o soro remanescente. Pode-se utilizar meio de cultura ou solução balanceada em maior quantidade, mas sem soro, o que permitirá maior economia da Solução de Tripsina.

Adicionar aproximadamente 0,05 mL/cm^3 da Solução de Tripsina/EDTA sob a superfície celular e observar ao microscópio. Quando as células adquirirem um aspecto redondo e individualizado, deslocando-se do tubo, pode-se interromper o processo com a adição de 0,2 mL/cm^3 de meio com soro à 10%. Como o soro possui alfa 1-antitripsina, ele neutralizará a ação da tripsina. Quando se trabalha com monocamadas celulares que ocupam todo o frasco, o descolamento pode ser observado a olho nu e o meio se apresentará como se tivesse uma fina areia. É importante que a neutralização com soro se faça logo após o descolamento da camada celular, uma vez que a membrana, por ser lipoprotéica, sofre a ação proteolítica da tripsina.

A seguir, as células são homogeneizadas e contadas para diluição, congelamento, repiques celulares, etc.

6. Para remover células de órgãos ou tecidos

Lavar bem o órgão ou tecido em meio sem soro.

Com o auxílio de uma tesoura de íris, picotar o órgão em pedaços bem pequenos (+/-1mm).

Aspirar todo o sobrenadante (os pedaços geralmente não flutuam).

Adicionar Tripsina/EDTA em volume de 3 a 10 vezes o correspondente do tecido picotado.

Agitar lentamente em um *Erlenmayer*, com o auxílio de um agitador magnético com imã revestido de PTFE e estéril. O tempo de coleta da Tripsina com células pode ser com intervalos de 10, 20 ou 30 minutos.

Após o tempo de ação da solução de Tripsina aspirar o sobrenadante e, vertê-los para tubos contendo meio completo com soro à 10%. A proporção será de volume a um volume, isto é, para cada 10 mL de sobrenadante, misturar outros 10 mL de meio completo com soro. Veja que a extração de células do *Erlenmayer* poderá continuar a ser feita, bastando para isso adicionar mais Tripsina/EDTA.

Centrifugar por 10 minutos à 1.000 RPM os tubos contendo Tripsina com meio completo, desprezar o sobrenadante e adicionar novo meio completo.

Homogeneizar e distribuir as células em frascos de cultivo de acordo com a vitalidade e densidade celular desejada.

7. Armazenamento e transporte

Armazenar e transportar em -20°C

8. Garantia da qualidade

A **NOVA BIOTECNOLOGIA** fornece garantia do produto **Tripsina** por ela fornecido contra defeitos de produção pelo período de validade do produto, salvo especificações em contrário a constar da proposta.

- A garantia abrange defeitos de produção.

  Exceções na garantia:
- Todos os produtos com defeitos oriundos de mau uso, imperícia, conservação ou armazenagem inadequada.
- Quando não for utilizado de acordo com sua finalidade de aplicação.

9. Informações do fabricante

NOVA BIOTECNOLOGIA LTDA
R. PASADENA, 235 - PARQUE INDUSTRIAL SAN JOSE
CEP: 06.715-864 - COTIA/SP - BRASIL
CNPJ: 24.096.423/0001-15

RESPONSÁVEL TÉCNICO
Dra. ELIZABETH CORTEZ HERRERA - CRBM 20951

10. Atendimento ao Consumidor

Tel. +55 (11) 4243-2356
www.novabiotecnologia.com.br
e-mail: assessoria@novabiotecnologia.com.br sac@novabiotecnologia.com.br