

Tripsina 1:250 – 0,25% - 1X
BR30042-05ATB/ATM - 500 mL
Ficha de Instruções de Uso

1. Descrição

É uma solução balanceada com tripsina de origem suína isenta dos íons Cálcio e Magnésio. 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. Contém antibiótico e antimicótico, a saber gentamicina e anfotericina B.

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 antibiótico/antimicótico,
- 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.

Recomenda-se preparar alíquotas com volumes menores, para evitar repetidos ciclos de descongelamento do frasco original.

5. Para remover células de Cultura Aderidas ao Frasco

1. Remover por inversão ou por aspiração todo o meio do frasco de cultivo.
2. Adicionar aproximadamente 0,1 mL/cm³ 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.
3. Adicionar aproximadamente 0,05 mL/cm³ 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/cm³ 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.
4. A seguir, as células são homogeneizadas e contadas para diluição, congelamento, repiques celulares, etc.

6. Para remover células de órgãos ou tecidos

1. Lavar bem o órgão ou tecido em meio sem soro.
2. Com o auxílio de uma tesoura de íris, picotar o órgão em pedaços bem pequenos (+/-1mm).
3. Aspirar todo o sobrenadante (os pedaços geralmente não flutuam).
4. Adicionar Tripsina/EDTA em volume de 3 a 10 vezes o correspondente do tecido picotado.

5. 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.
6. 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 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.
7. Centrifugar por 10 minutos à 1.000 RPM os tubos contendo Tripsina com meio completo, desprezar o sobrenadante e adicionar novo meio completo.
8. Homogeneizar e distribuir as células em frascos de cultivo de acordo com a vitalidade e densidade celular desejada.

7. Armazenamento e transporte

Armazenar e transporte em -20°C

8. Garantia da Qualidade

A **NOVA BIOTECNOLOGIA** fornece garantia do produto **Tripsina 1:250 – 0,25% - 1X** 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