

**BR30054-01ATB/ATM - 100 mL****Ficha de Instruções de Uso****1. Uso pretendido**

É uma solução balanceada com tripsina de origem suína isenta dos íons Cálcio e Magnésio, preparada em solução salina 0,85%. 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. A suplementação com antibiótico e antimicótico garante a esterilidade da solução.

**2. Características do produto**

Este tampão é indicado na separação de células de órgãos e/ou tecidos, ou mesmo cultivados em monocamadas 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.

**2.1. Componentes e características físico-químicas**

Tripsina, EDTA, NaCl 0,85%, antibiótico e antimicótico

- Aspecto: límpido e transparente
- pH: 7,6 +/- 0,4

**3. Armazenamento e transporte**

Armazenamento e transporte em -20°C

**4. Validade e 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. O produto é válido por 24 meses desde que armazenado nas condições ideais de temperatura.

**5. Informações de segurança**

- 5.1 A solução deve ser clara e livre de material particulado e floculante. Não usar se estiver turvo ou se contiver precipitados. Outras evidências de deterioração podem incluir mudança de cor, alteração do pH ou degradação das características físicas ou seu desempenho.
- 5.2 O produto deve ser utilizado somente por pessoal técnico qualificado e devidamente treinado.
- 5.3 Todo o pessoal envolvido na execução do ensaio deve utilizar equipamentos de biossegurança, como recomendado pela legislação em vigor.
- 5.4 O ambiente do laboratório deve ser controlado, a fim de evitar contaminantes como poeira ou agentes microbianos transportados pelo ar.
- 5.5 Após o recebimento do produto, verificar se a embalagem está danificada ou se há vazamento dos líquidos. Proteger-se adequadamente e caso seja necessário realizar a reclamação ao SAC.
- 5.6 Não utilizar componentes danificados, pois eles podem gerar baixo rendimento.
- 5.7 Não utilizar o produto após a data de validade apresentada na etiqueta externa.
- 5.8 Armazenar os componentes e plásticos em condições próprias para uso em laboratório.
- 5.9 Para minimizar risco de contaminações é recomendado trabalhar em cabine de fluxo laminar. Caso sejam necessárias mais informações a respeito do produto, favor entrar em contato com a NOVA BIOTECNOLOGIA.

**6. Protocolo básico para remover células de cultura aderidas ao frasco**

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

**6.2.** Adicionar aproximadamente 0,1 mL/cm<sup>3</sup> 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.

**6.3.** Adicionar aproximadamente 0,05 mL/cm<sup>3</sup> 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<sup>3</sup> 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.

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

## **7. Protocolo básico para remover células de órgãos ou tecidos**

**7.1.** Lavar bem o órgão ou tecido em meio sem soro.

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

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

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

**7.5.** 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.

**7.6.** 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.

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

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

## **8. Garantia da qualidade**

A **NOVA BIOTECNOLOGIA** fornece garantia do produto **Tripsina 1:250 – 0,25%, EDTA - 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](http://www.novabiotecnologia.com.br)

e-mail: [assessoria@novabiotecnologia.com.br](mailto:assessoria@novabiotecnologia.com.br) [sac@novabiotecnologia.com.br](mailto:sac@novabiotecnologia.com.br)