

Trypsin EDTA 1X in PBS w/o Calcium w/o Magnesium w/ Phenol Red

REF N : L0930

pH théorique : 7.1 ± 0.3

Osmolarité : $280 \pm 10 \%$ mOsm/l

Couleur : solution rose saumon

Conditions de stockage : -20°C

Durée de vie : 24 mois

Tests de Stérilité :

- Bactéries dans des conditions aérobies et anaérobies
- Levures et champignons

Test d'activité : test de détachement des cellules L929

Composition : Diffusé sur le site internet, également disponible sur demande

Recommandation d'utilisation :

Manipuler ce milieu dans des conditions aseptiques.

Le produit est destiné à un usage in vitro en laboratoire uniquement, ne pas en faire un usage thérapeutique, humain ou vétérinaire.

Descriptions :

La trypsine est une enzyme pancréatique issue de porcs communément utilisée pour la dissociation et la désagrégation des tissus et cellules de mammifères adhérentes. La concentration de trypsine nécessaire pour détacher les cellules de leur support dépend de la sensibilité des cellules. L'EDTA est un chélateur d'ions divalents, il augmente l'activité enzymatique en chélatant les ions calciums et magnésiums. Ces ions cachent les liaisons peptidiques sur lesquels la trypsine agit et ils augmentent l'adhésion cellulaire.

Stockage / Stabilité :

Ce produit contient du rouge de phénol. Ce produit est expédié avec de la carboglace et une quantité significative de CO₂ peut pénétrer dans le flacon. Ce CO₂ peut se dissoudre en solution et diminuer légèrement le pH, donnant une couleur orange (aux alentours de pH 6.5) au lieu de rose (aux alentours de pH 7.3).

Une solution orange (acide) reste utilisable sans conséquence pour la majorité des cellules ni pour l'activité de la trypsine, toutefois de l'hydroxyde de sodium peut être rajouté pour ajuster le pH.

Utilisation :

La trypsine EDTA 1X in PBS w/o Calcium w/o Magnesium w/ Phenol Red est une solution prête à l'emploi.

1. La trypsine peut être décongelée à l'aide d'un bain-marie à 37°C ou laissée une nuit entre 2 et 8°C.
2. Aspirer et rejeter le milieu de culture utilisé pour la culture cellulaire.

3. Rincer les cellules avec une petite quantité de solution de trypsine ou une solution sans calcium ni magnésium (solutions ci-dessous), aspirer la solution de rinçage et la jeter.
Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (DPBS) catalogue N° L0615
Hank's Balanced Salt Solution (HBSS) catalogue N° L0611
4. Ajouter la solution de trypsine préchauffée à 37°C avec un bain-marie pour couvrir complètement les cellules.
5. Incuber le flacon de culture à 37°C, ou à 4°C pour les cellules les plus sensibles (le temps d'incubation requis pour détacher les cellules de leur support est dépendant du type cellulaire, de la densité cellulaire, de la concentration en sérum présent dans le milieu de culture, de l'activité de la trypsine et du délai depuis le dernier passage. La trypsine provoque des dommages sur les cultures cellulaires et le temps d'exposition doit être maintenu au minimum).
6. Lorsque la trypsinisation est suffisante, les cellules vont apparaître ronde lors de l'observation sous microscope et la solution dans le flacon apparaîtra trouble. Contrôler souvent le flacon pour éviter une surexposition qui endommagerait les cellules.
7. La trypsine doit être neutralisée par un milieu contenant du sérum ou un inhibiteur de trypsine. Centrifuger doucement la suspension cellulaire et jeter le surnageant contenant la trypsine.
8. Re-suspendre le culot cellulaire avec du milieu frais et effectuer vos comptages ou la culture désirée.

Signes de détérioration :

La solution doit être claire et sans particules ou flocons.

Ne pas utiliser la solution si elle n'est pas limpide ou si elle contient des précipités.

D'autres évidences de détérioration peuvent être un changement de couleur ou une dégradation des caractéristiques physiques ou des performances de la solution.