



Eurobio Scientific
7, Avenue de Scandinavie
ZA de Courtaboeuf
91940 Les Ulis
Tél.: +33(0)1 69 79 64 80
Fax : +33(0)1 69 79 05 35
e-mail : info@eurobio-scientific.com

REF : CEZTDA00-0U
CEZTDA01-0U
Cdt : 100 ml

Trypsine-EDTA

1/ INTRODUCTION :

C'est la protéase la plus utilisée en culture cellulaire. Isolée du pancréas de porcs et de bovins, elle catalyse la réaction de clivage au niveau de la lysine ou de l'arginine. Son pH d'action optimal est de 8,0; elle ne requiert pas la présence d'ions spécifiques ou de cofacteurs. Elle est insensible à la présence d'EDTA qui est utilisée en association pour le détachement des cellules. L'action de la trypsine est inhibée par le sérum et les ions bivalents. La trypsine est utilisée pour la préparation de cellules et des tissus de mammifères et est en association avec l'EDTA pour le détachement des cellules.

2/ STABILITE-CONSERVATION :

Les solutions de Trypsine doivent être conservées à -15°C/-22°C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. La livraison s'effectue en carboglace.

3/ PROCEDURE D'UTILISATION :

- Dilution 10X de la Trypsine
- Rincer les cellules avec un peu de Trypsine dilué
- Recouvrir totalement les cellules avec de la Trypsine préalablement chauffé à 37°C au bain marie
- Incuber le mélange à 37°C jusqu'au décollement du tapis cellulaire.

Le produit est destiné à être utilisé en in-vitro, ne pas l'utiliser en thérapie humaine ou applications vétérinaires

4/ CONTROLE QUALITE :

Les solutions salines liquides sont soumises à des tests de contrôle de qualité et de contrôles microbiologiques. Les solutions de Trypsine sont contrôlées pour les Mycoplasmes.

Contrôles physico chimiques :

Le pH et l'osmolarité sont mesurés par un pH-mètre et un osmomètre étalonnés avec des solutions standards. Et selon des procédures standardisées.

Contrôles microbiologiques:

Les contrôles de stérilité bactérienne et fongique sont réalisés selon le protocole. Les échantillons à tester sont préalablement incubés à deux températures (20°C et 35°C) pendant 14 jours. A la fin de la période d'incubation, une sous culture directe est réalisée.

Les milieux de cultures utilisés sont :
-pour germes aérobies BTCS
-pour germes anaérobies Thioglycolate

En parallèle, des contrôles sont ensemencés pour vérifier que les milieux sont en mesure de permettre la croissance d'un petit nombre d'organisme et qu'il n'y a pas d'effet inhibiteur du milieu. Les signes d'une éventuelle croissance bactérienne sont recherchés à intervalles réguliers.

Contrôles biologiques:

L'absence de cytotoxicité des solutions salines est vérifiée sur des cellules MRC5 cultivées en monocouche et connues pour leur sensibilité aux éléments cytotoxiques. Après plusieurs lavages, les cellules entretenues avec la solution saline à tester sont observées pendant 48 heures afin de s'assurer de l'absence de signes de cytotoxicité.

5/ CONDITIONNEMENT-CARACTERISTIQUES :

Le conditionnement est de 100ml pour toutes les références. Différentes compositions et concentrations sont disponibles.

Description	Composition	Réf.
Trypsine-EDTA (Versene) 1X, Stérile	0,5g/l trypsine et 0,2 g/l EDTA sans rouge de phénol	CEZTDA00-0U
Trypsine-EDTA (Versene) 10X, Stérile	5g/l trypsine et 2g/l EDTA sans rouge de phénol	CEZTDA01-0U

6/ PRECAUTIONS ET RECOMMANDATIONS :

Reprendre dans une solution saline équilibrée sans Ca ni Mg pour les concentrations 10X.
Ne pas utiliser le produit si l'emballage individuel est endommagé.

7/ MATERIELS ET REACTIFS NON FOURNIS :

En fonction de l'application, du matériel non fourni peut-être requis (pipettes, flasques, micropipettes...)

8/ BIBLIOGRAPHIE :

- ❑ Balk, S.D., Lestourgeon, D. and Mitchell, R.S. 5-methyltetrahydrofolic acid, 5-formyltetrahydrofolic acid (folinic acid), and folie acid requirements of normal and Rous sarcoma virus-infected chicken fibroblasts. *Cancer Res.*, 1978, 38, 3966-3968.
- ❑ Carrel, A. and Burrows, M.T. Cultivation of adult tissues and organs outside of the body. *J. Am. Med. Ass.*, 1910, 55, 1379-1381.
- ❑ Eagle, H. The specific amino acid requirements of a human carcinoma cell (strain HeLa) in tissue culture. *J. Exp. Med.*, 1955, 102, 37-48.
- ❑ Eagle, H. The minimum vitamins requirements of the L and HeLa cells in tissue culture, the production of specific vitamin deficiencies and their cure. *J. Exp. Med.*, 1955, 102, 595-600.
- ❑ Eagle, H. Nutrition needs of mammalian cells in tissue culture. *Science*, 1955, 122, 501-504.
- ❑ Eagle, W.R. Production of malignancy in vitro-IV the mouse fibroblast cultures and changes seen in the living cells. *J. Nat. Cancer. Inst.*, 1943, 4, 165-212.
- ❑ Fischer, A., Astrup, P., Ehrens-Vård, G. and Ohlenschlager, V. Growth of animal tissue cells in artificial media. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1948, 67, 40-46.
- ❑ Gey, G.O. An improved technique for massive tissue culture. *Ai'n. J. Cancer*, 1933, 17, 752-756.
- ❑ Graham, A.F. and Siminovitch, L. Prolifération of monkey kidney cells in rotating cultures. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1955, 89, 326-327.
- ❑ Griffith, J.B. and Pirt, S.J. The uptake of amino acids by mouse cells (strain LS) during growth in batch culture and chemostat culture : the influence of cell growth rate. *Proc. Roy. Soc. Serie B*, 1967, 168, 421-438.
- ❑ Ham, R.G. Clonal growth of mammalian cells in chemically defined medium. *Proc Natl. Acad. Sci.*, 1965, 53, 288-293.
- ❑ Me Keehan, W.L., Mc Keehan, K.A., Hanunon, S.L. and Ham, R.G. Improved media for clonal growth of human diploid fibroblasts at low concentration of serum protein. *In vitro*, 1977, 13, 399-416.
- ❑ Monard; D., Solomon, F., Rentsch, M. and Gysin, R. Glia-induced morphological différentiation in neuroblastoma cells. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1973, 70, 1894-1897.
- ❑ Morgan, J.F., Morton, H.J. and Parker , R.C. Nutrition of animal cells in tissue culture. I. Initial studies on a synthetic medium. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1950, 73, 1-8.
- ❑ Moscona, A. Cell suspensions from organ rudiments of chick embryos. *Exp. Cell Res.*, 1952, 3, 535-539.
- ❑ Reitzer, J.L., Wice, B.M. and Kennell, D. Evidence that glutamine, not sugar, is a major energy source of cultured HeLa cells.. *J. Biol. Chem.*, 1979, 254, 2669-2676.
- ❑ Rous, P. and Jones, F.A. A method of obtaining suspensions of living cells from the fixed tissues and from the plating out of individual cells. *J. Exp. Med.* 1916, 23, 549-555.
- ❑ Waymouth, C. Osmolality of mammalian blood and media for culture of mammalian cells. *In vitro*, 1970, 6, 109-127.
- ❑ F. Devreker, K. Hardy, M. Van den Bergh, A.S. Vannin, S. Emiliani and Y. Englert Amino acids promote human blastocyst development in vitro .*Human Reproduction Vol.16, No.4 pp. 749-756, 2006.*

□ Mitalipov SM1, White KL, Farrar VR, Morrey J, Reed WA. Development of nuclear transfer and parthenogenic rabbit embryos activated with inositol 1,4,5-Trisphosphate. Biol Reprod. 1999 Apr;60(4):821-7.

9/ DESTRUCTION :

Eliminer tous les déchets conformément à la législation sur les DASRI.