

Trypsin-EDTA

In DPBS

(Cell Culture Grade)

Ordering info

TBZ0342, Trypsin-EDTA 1x, 100 mL

TBZ0344, Trypsin-EDTA 10x, 100 mL

Description

Trypsin-EDTA is a well-known solution used as standard cell detachment solution to detach cells from standard tissue culture plastic ware and adhesion coated plastic ware. It contains pancreatic porcine trypsin at 0.05% (1x) or 0.5% (10x) in DPBS pH=7.3 ± 0.3. Trypsin is a serine protease that hydrolyzes proteins at the carboxyl side of the Lysine or Arginine. EDTA presence enhances trypsin action, and reduces the required trypsin concentration for effective hydrolysis. The solution does not include calcium and magnesium.

Storage

Store at -20°C. Stable 2 years. Defrost at 4°C !

The product is shipped on blue ice.

Material required (not included)

- PBS 1x pH=7.4 (TBB0360, TBB0361)
- PBS 1x pH=7.2 (TBB0366, TBB0367)
- Specific Growth Media
- Serum
- Trypan Blue Cell Viability Indicator (TBB0402, TBB0403)

Features

- Sterile (by filtration).
- Ready to use.
- Composition 10x: 0.5% Porcine Trypsin in Dulbecco' PBS pH=7.3 ± 0.3.
- Ca²⁺ and Mg²⁺ free solution.
- Colorless solution.

Applications

- Dissociating adherent cells from surfaces.
- Routine cell passage.
- Create single cell suspension for accurate cell counting.

PROTOCOL

1. Prewarm **Trypsin-EDTA 1x** and **PBS 1x** at 37 °C.
2. Carefully, aspirate all the culture media off.
3. Wash the cells with **PBS 1x**.

The cells should be thoroughly covered with PBS 1x. This rinse is instantaneous but the solution can remain on the cells for up to 4 hours.

4. Pour off the PBS rinsing solution.
5. Add **Trypsin-EDTA 1x** to each vessel as follows:

Flasks	Volume
25 cm ²	0.5 - 1 mL
75 cm ²	2.5 - 5 mL
150 cm ²	5- 10 mL

6. Incubate at 37 °C for 2-3 minutes*.

** Check cell morphology under microscope to verify if cell have detached; they look rounded and refractile. If not, continue incubation for another 2 minutes and check the cells again. Avoid exposures longer than 10 minutes. The time depends on cell type, density, culture age, etc. Ever exceed 10 minutes.*

7. Once cells are detached, hit the flask against the palm of the hand to ensure all cells have been dislodged.
8. To inhibit trypsin activity, add prewarmed **Growth media containing serum**. Add at least 10 times the volume of Trypsin-EDTA used.
For serum free cultures, inhibit trypsin activity adding an equimolar concentration of soybean trypsin inhibitor.
9. By gentle pipetting, recover the cells in a fresh tube.
10. Centrifuge at 100-300 g for 5-10 minutes and discard the supernatant.
11. Resuspend the cell pellet with prewarmed growth medium.
12. Determine cell viability using **Trypan Blue Cell Viability Indicator** (TBB0402-0403).

Trypsin-EDTA

En DPBS

(Grado Cultivo Celular)

Referencias

TBZ0342, Trypsin-EDTA 1x, 100 mL

TBZ0344, Trypsin-EDTA 10x, 100 mL

Descripción

Trypsin-EDTA es una solución bien conocida utilizada como solución estándar para el desprendimiento de células de soportes plásticos estándar usados en cultivo celular y soportes plásticos recubiertos. Contiene tripsina porcina pancreática al 0,05% (1x) o 0,5% (10x) en DPBS con pH=7,3 ± 0,3. La tripsina es una serina proteasa que hidroliza proteínas en el carboxilo de la lisina o la arginina. La presencia de EDTA potencia la acción de la tripsina y reduce la concentración de tripsina necesaria para una hidrólisis efectiva. La solución no incluye calcio ni magnesio.

Características

- Estéril (por filtración).
- Listo para usar.
- Composición (10x): 0,5% Tripsina Porcina en Dulbecco PBS pH=7,3 ± 0,3.
- Solución libre de Ca²⁺ and Mg²⁺.
- Solución incolora.

Aplicaciones

- Disociación de células adherentes de la superficie soporte.
- Pases de rutina de células en cultivo.
- Obtención de suspensiones unicelulares para un conteo preciso de las células.

Almacenaje

Conservar a -20°C. Estable 2 años. Descongelar a 4 °C!
El producto es enviado en hielo azul.

Material requerido (no incluido)

- PBS 1x pH=7,4 (TBB0360, TBB0361)
- PBS 1x pH=7,2 (TBB0366, TBB0367)
- Medio de Cultivo Específico
- Suero
- Trypan Blue Cell Viability Indicator (TBB0402, TBB0403)

PROTOCOLO

1. Precalentar a 37 °C **Trypsin-EDTA 1x** and **PBS 1x**.
2. Cuidadosamente, aspirar todo el medio de cultivo.
3. Lavar las células con **PBS 1x**.

Las células deben quedar totalmente cubiertas con el PBS 1x. Este lavado es instantáneo pero la solución puede permanecer sobre las células hasta un máximo de 4 horas.

4. Decantar la solución de PBS 1x.
5. Añadir **Trypsin-EDTA 1x** a cada frasco según se indica en la siguiente tabla:

Frascos	Volumen
25 cm ²	0,5 - 1 mL
75 cm ²	2,5 - 5 mL
150 cm ²	5- 10 mL

6. Incubar a 37 °C durante 2-3 minutos*.

** Comprobar la morfología de las células al microscopio para verificar si las células se han desprendido; se ven redondeadas y refringentes. Si no es así, continúe la incubación por otros 2 minutos y verifique las células nuevamente. Evite exposiciones superiores a 10 minutos. El tiempo depende del tipo de célula, densidad, edad del cultivo, etc. Nunca exceda los 10 minutos.*

7. Una vez que las células estén desprendidas, golpee el frasco contra la palma de la mano para asegurar que todas las células se hayan despegado.
8. Para inhibir la actividad de la tripsina, añadir **Medio de Cultivo con Suero** atemperado a 37 °C. Añadir al menos 10 veces el volumen de Trypsin-EDTA empleado.

Para cultivos libres de suero, inhiba la actividad de la tripsina añadiendo una concentración equimolar de inhibidor de tripsina de soja.

9. Mediante suave pipeteo, recoger las células en un tubo limpio.
10. Centrifugar a 100-300 g durante 5-10 minutos y eliminar el sobrenadante.
11. Resuspender el pellet de células con Medio de Cultivo atemperado a 37°C.
12. Determinar la viabilidad celular usando **Trypan Blue Cell Viability Indicator** (TBB0402-0403).