

Anwendung Trypsin Trockensubstanz und Trypsin/EDTA-Lösungen der Biochrom AG

Information der Biochrom AG vom 20. Dezember 2010

Der Zellverbund tierischer Gewebe wird durch eine komplexe Matrix aus Proteinen (beispielsweise Collagen), Glycoproteinen, Lipiden, Glycolipiden und Mucopolysacchariden gebildet. Zur Isolierung von Einzelzellen oder zur Anlage von Primärkulturen muss diese Matrix mit Enzymen wie beispielsweise Collagenase oder Trypsin schonend angedaut werden, ohne die Zelloberfläche oder die Interzellularstruktur irreversibel zu schädigen.

Das üblicherweise in der Zellkultur verwendete Trypsin bzw. eine Trypsin/EDTA-Lösung greift die Matrix langsam an und schädigt zelluläre sowie auch interzelluläre Mucoproteine. Es kann darüber hinaus auch irreversible Schädigungen der freigesetzten Zellen bewirken. Trypsin kann durch Serum gehemmt werden. Trypsin/EDTA-Lösungen werden in verschiedenen Konzentrationen für das Passagieren von Monolayer-Kulturen eingesetzt.

Angaben zur Aktivität der Trypsin-Trockensubstanz und Hinweise zu den verschiedenen Trypsin- und Trypsin/EDTA-Lösungen sind nachfolgend aufgeführt. Die Trypsin-Trockensubstanz wird vor Freigabe auf Mykoplasmen und Parvoviren geprüft.

1 Spezifikationen der Trypsin-Trockensubstanz

- Lagertemperatur: +2 - +8 °C
- Löslichkeit: 2 % (w/v) in Wasser
- Gewichtseinbuße durch Trocknung $\leq$ 5 %; pH Wert 3,0-4,0.
- Spezifische Aktivität: 275 USP U/mg (+/-25)

Trypsin als Trockensubstanz (Pulver) hat normalerweise eine Aktivität von 1250 USP U/mg^{1,2} (Kat. Nr.: L 2103-20G, Einheit 20 g). Es ist 5-fach stärker in der Aktivität als die Trypsin-Lösung der Biochrom AG, die als Ausgangslösung für die weiteren Verdünnungen eingesetzt wird. Die Aktivität dieser Ausgangslösung entspricht etwa 1:250 (1250:5 = 250) der üblichen Aktivität der Trockensubstanz.

2 Herstellung von Lösungen aus der Trypsin-Trockensubstanz der Biochrom AG

Beispiel: Herstellen von 100 ml einer 1 %-igen Trypsin-Lösung (1:250 U/mg) aus der Trypsin-Trockensubstanz der Biochrom AG (Kat. Nr.: L 2103-20G).

1. 200 mg Trockensubstanz entnehmen
2. lösen in 100 ml PBS ohne Ca^{2+} , Mg^{2+} (Kat. Nr.: L 1825)
3. gelöste Substanz mit 0,22 μm Sterilfilter steril filtrieren

¹ USP: In der Pharmacopoea der USA (USP) wurde der Ausdruck internationale Einheit IU in USP-Einheit geändert.

² Eine USP Einheit ist die Enzymmenge, die die Hydrolyse von BAEE (Benzoylargininethylester) bewirkt, die zu einem Anstieg der Lichtabsorption bei 253 nm von 0,003 Extinktionseinheiten pro Minute bei 25 °C führt.

Die Biochrom AG bietet 0,25 %ige und 2,5 %ige Trypsin-Lösungen aus der Trypsin-Trockensubstanz (Kat. Nr.: L 2103-20G) an.

Tab. 1: Trypsin-Lösungen der Biochrom AG

Lösung	Kat. Nr.	Einheit
Trypsin (1:250), 0,25 % in PBS ohne Ca^{2+} , Mg^{2+} Lagertemperatur: -20 °C	L 2123	100 ml
Trypsin (1:250), 2,5 % in PBS ohne Ca^{2+} / Mg^{2+} Lagertemperatur: -20 °C	L 2133	100 ml

3 Herstellung von Trypsin/EDTA-Lösungen aus der Trypsin-Trockensubstanz der Biochrom AG

Aus der Trypsin-Trockensubstanz der Biochrom AG (Kat. Nr.: L 2103-20G) werden Trypsin/EDTA-Lösungen in verschiedenen Verdünnungen angeboten. Trypsin-Trockensubstanz und EDTA werden dafür in PBS verdünnt.

Tab. 2: Trypsin/EDTA-Lösungen der Biochrom AG

Lösung	Kat. Nr.	Einheit
Trypsin (1:250)/EDTA (0,05 %/0,02 %) in PBS ohne Ca^{2+} / Mg^{2+} Lagertemperatur: -20 °C	L 2143	100 ml
Trypsin (1:250)/EDTA (0,25 %/0,02 %) in PBS ohne Ca^{2+} / Mg^{2+} Lagertemperatur: -20 °C	L 2163	100 ml
(10x) Trypsin (1:250)/EDTA (0,5 %/0,2 %) in (10x) PBS ohne Ca^{2+} / Mg^{2+} Lagertemperatur: -20 °C	L 2153	100 ml

4 Weitere Informationen zu allen Enzymen der Biochrom AG

- Enzyme im Überblick:
<http://www.biochrom.de/produkte/enzyme/>
- Collagenase:
<http://www.biochrom.de/produkte/enzyme/collagenase/>
- Vergleich Collagenase und Trypsin:
http://www.biochrom.de/fileadmin/user_upload/service/produktinformation/deutsch/BC_Katalog_105_Trypsin_2.pdf