

Fiche Technique Trypsine-EDTA



Trypsine-EDTA

REF CEZTDA00-0U
CEZTDA01-0U
CE **IVD**

CEZDTA00-01 – Version 5.01 + Juillet 2022



Fiche technique
Disponible sur www.eurobio-scientific.com

Fiche Technique Trypsine-EDTA

Table des matières

Table des matières.....	2
1. Informations générales	4
2. Destination du dispositif	4
3. Symboles.....	5
4. Conditionnement	5
5. Caractéristiques et Formulations	6
6. Conservation et stockage	6
7. Livraison.....	6
8. Matériel requis non fournis	6
9. Mises en garde et précautions	6
10. Protocole.....	6
11. Contrôle qualité.....	7
12. Elimination des déchets	7
13. Déclaration d'incident	7
14. Assistance technique	8
15. Bibliographie.....	8
Table of contents.....	11
1. General Information	13
2. Intended use.....	13
3. Symbols.....	14
4. Packaging.....	14
5. Characteristics	15
6. Conservation and Storage	15
7. Shipping.....	15
8. Required material non provided	15
9. Warnings and precautions	15
10. Protocole.....	16
11. Quality control	16
12. Waste disposal	16
13. Incident report.....	17
14. Technical assistance	17
For assistance with our products, please contact our technical support	17

Fiche Technique Trypsine-EDTA

Eurobio Scientific customer service can be reached by e-mail at adv@eurobio-scientific.com or by phone at +33 (0)1.69.79.64.80 17

15. Bibliography 17

Fiche Technique Trypsine-EDTA

1. Informations générales

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.

2. Destination du dispositif

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.

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

La trypsine-EDTA doit être utilisée par du personnel de laboratoire d'analyse de biologie médicale qualifié.

Fiche Technique Trypsine-EDTA

3. Symboles



Référence



Numéro de lot



Limite de température



Date d'expiration



Fabricant



Produit marqué CE



Pour usage in vitro



Consulter la notice d'utilisation



Attention, lire la notice d'utilisation



Date de fabrication



Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé

4. Conditionnement

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

Description	Cond.	Réf.
-------------	-------	------

Fiche Technique Trypsine-EDTA

Trypsine-EDTA (Versene) 1X, Stérile	100 mL	CEZTDA00-0U
Trypsine-EDTA (Versene) 10X, Stérile	100 mL	CEZTDA01-0U

5. Caractéristiques et Formulations

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. Conservation et stockage

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

La durée de conservation après ouverture du dispositif est de 1 mois.

7. Livraison

La livraison s'effectue en carboglace.

8. Matériel requis non fournis

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

9. Mises en garde et précautions

Reprendre dans une solution saline équilibrée sans Ca ni Mg pour les concentrations 10X.

L'utilisateur doit vérifier en amont que toute utilisation avec un autre réactif n'impacte pas les performances du dispositif.

Le dispositif doit être manipulé avec précaution par l'utilisateur de façon à conserver l'état microbiologique vérifié du produit.



Ne pas utiliser le produit si l'emballage individuel est endommagé.

10. Protocole

Fiche Technique Trypsine-EDTA

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

11. Contrôle qualité

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.

12. Elimination des déchets

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

13. Déclaration d'incident

Tout incident grave survenu en lien avec le dispositif fait l'objet d'une notification à EURO BIO et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

Fiche Technique Trypsine-EDTA

14. Assistance technique

Pour obtenir une assistance sur nos produits, merci de contacter notre support technique.

Le service clients d'EUROBIO est joignable par voie électronique (mail), à l'adresse adv@eurobio-scientific.com ou par téléphone au +33 (0)1.69.79.64.80



7, avenue de Scandinavie
91940 Les Ulis
FRANCE

15. 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.

Fiche Technique Trypsine-EDTA

- 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 differentiation 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.

Instructions for use Trypsin EDTA



Trypsin EDTA

REF CEZTDA00-0U
CEZTDA01-0U
CE **IVD**

CEZDTA00-01 – Version 5.01 – July 2022



Instructions for use
Available on www.eurobio-scientific.com

Instructions for use Trypsin EDTA

Table of contents

Table des matières	2
1. Informations générales	4
2. Destination du dispositif	4
3. Symboles.....	5
4. Conditionnement	5
5. Caractéristiques et Formulations	6
6. Conservation et stockage	6
7. Livraison.....	6
8. Matériel requis non fournis	6
9. Mises en garde et précautions	6
10. Protocole.....	6
11. Contrôle qualité.....	7
12. Elimination des déchets	7
13. Déclaration d'incident	7
14. Assistance technique	8
15. Bibliographie.....	8
Table of contents.....	11
1. General Information	13
2. Intended use.....	13
3. Symbols.....	14
4. Packaging.....	14
5. Characteristics	15
6. Conservation and Storage	15
7. Shipping.....	15
8. Required material non provided	15
9. Warnings and precautions	15
10. Protocole.....	16
11. Quality control	16
12. Waste disposal	16
13. Incident report.....	17
14. Technical assistance	17
For assistance with our products, please contact our technical support	17
Eurobio Scientific customer service can be reached by e-mail at adv@eurobio-scientific.com or by phone at +33 (0)1.69.79.64.80	17

Instructions for use Trypsin EDTA

15. Bibliography 17

Instructions for use Trypsin EDTA

1. General Information

This is the most widely used protease in cell culture. Isolated from pig and bovine pancreas, it catalyzes the cleavage reaction at the lysine or arginine level. Its optimal pH of action is 8.0; it does not require the presence of specific ions or cofactors. It is insensitive to the presence of EDTA which is used in combination for cell detachment. The action of trypsin is inhibited by serum and divalent ion.

2. Intended use

Trypsin is used for the preparation of mammal cells and tissues and is in combination with EDTA for the detachment of cells.

The product is intended for in-vitro use, not for human therapy or veterinary applications.

Trypsin-EDTA should be used by qualified medical laboratory personnel.

Instructions for use Trypsin EDTA

3. Symbols

	Reference
	Batch number
	Temperature limit
	Expiration date
	Manufacturer
	CE marked product
	In vitro diagnostic medical device
	Instructions for use
	Warning, read the instructions for use
	Date of manufacture
	Do not use if the packaging is damaged

4. Packaging

The packaging is 100ml for all references. Different compositions and concentrations are available.

Instructions for use Trypsin EDTA

Description	Packaging	Ref.
Trypsin-EDTA (Versene) 1X, Sterile	100 mL	CEZTDA00-0U
Trypsin-EDTA (Versene) 10X, Sterile	100 mL	CEZTDA01-0U

5. Characteristics

Description	Composition	Ref.
Trypsin-EDTA (Versene) 1X, Sterile	0,5g/l trypsin and 0,2 g/l EDTA without phenol red	CEZTDA00-0U
Trypsin-EDTA (Versene) 10X, Sterile	5g/l trypsin and 2g/l EDTA without phenol red	CEZTDA01-0U

6. Conservation and Storage

Store the Trypsin-EDTA solution at -15°C/-22°C until the expiration date indicated on the label.

After opening the bottle, store the digestive solution at -15°C/-22°C for 1 month.

7. Shipping

The delivery is made in dry ice.

8. Required material non provided

Depending on the application, not supplied materials may be required (pipets, flasks, micropipettes...).

9. Warnings and precautions

The solution must be taken up in balanced saline solution without Ca or Mg for 10X concentrations.

The user should check in advance whether the use with another reagent affects or not the performance of the device.

The device should be handled with care by the user in order to maintain the verified microbiological status of the product.

Instructions for use Trypsin EDTA



Do not use if the packaging is damaged.

10. Protocole

1	10X dilution of Trypsin
2	Rinse the cells with a little diluted Trypsin
3	Cover the cells completely with Trypsin previously heated to 37°C in a water bath
4	Incubate the mixture at 37°C until the cell mat is detached.

11. Quality control

The Liquid saline solutions undergo quality control tests and microbiological controls. Trypsin solutions are controlled for mycoplasma.

Physical and chemical controls:

pH and osmolarity as well as density are measured by standard equipment and standards. And according to standardized procedures.

Microbiological controls:

Bacterial and fungal sterility controls are performed according to the protocol. The samples to be tested are previously incubated at two temperatures (20°C and 35°C) for 14 days. At the end of the incubation period, a direct sub-culture is performed.

The culture media used are:

- for aerobic germs BTCS
- for anaerobic germs Thioglycolate

In parallel, controls are sown to check if the media are able to allow the growth of a small number of organisms and that there is no inhibiting effect of the medium. Signs of bacterial growth are checked at regular intervals.

Biological controls:

The absence of cytotoxicity of the saline solutions is verified on MRC5 cells grown in monolayer and known to be sensitive to cytotoxic elements. After several washes, the cells maintained with the saline solution to be tested are observed for 48 hours to ensure the absence of signs of cytotoxicity.

12. Waste disposal

Eliminate all waste according to local legislation.

Instructions for use Trypsin EDTA

13. Incident report

Any serious incident occurring in connection with the device shall be notified to EUROBIO SCIENTIFIC and to the competent authority of the Member State in which the user and/or patient is established.

14. Technical assistance

For assistance with our products, please contact our technical support.

Eurobio Scientific customer service can be reached by e-mail at adv@eurobio-scientific.com or by phone at +33 (0)1.69.79.64.80



7, avenue de Scandinavie
91940 Les Ulis
FRANCE

15. Bibliography

- Balk, S.D., Lestourgeon, D. and Mitchell, R.S. 5-methyltetrahydrofolic acid, 5-formyltetrahydrofolic acid (folinic acid), and folate 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. *Amer. 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.

Instructions for use Trypsin EDTA

- 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 differentiation 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.