

## Trypsin-EDTA Solution (10X)

Contains 0.5% porcine trypsin (1:250) and 5.3 mM EDTA·4Na in HBSS without Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup>

With phenol red

Sterile-filtered

Porcine parvovirus tested

Cell culture tested

Endotoxin tested

Catalog Number **LS 015-02**

Store at less than 0°C

### 제품설명

부착성 세포를 배양하는 경우, 배양용기 (dish 또는 T-flask)로부터 세포를 떼어내기 위하여 또는 세포-세포 간의 부착을 떨어뜨리기 위하여 일반적으로 Trypsin 또는 Trypsin-EDTA (ethylene diamine tetra-acetic acid)를 사용한다. Trypsin은 단백질 분해효소로서 세포가 배양용기에 잘 부착하도록 coating되어 있던 collagen 등의 섬유성 단백질 및 세포 표면에서 부착에 관여하는 당단백질을 분해한다. Ca<sup>2+</sup>과 Mg<sup>2+</sup> 등의 양이온과 착화합물을 형성하는 EDTA는 세포의 부착에 필요한 양이온과 결합함으로써 세포의 부착을 방해한다. 부착성 세포를 계대 배양하기 위해서는 Trypsin 또는 EDTA가 필요하지만 높은 농도 또는 오랜 시간 동안 처리를 하게 되면 세포 표면 단백질의 과다 변성 또는 세포에 기본적으로 필요한 양이온의 부족 등으로 인한 세포 성장률이 감소하게 된다. 세포의 종류마다 그 처리 농도, 처리시간 및 방법이 다르다.

**LS 015-02 (10X)**에는 0.5% (w/v)의 porcine trypsin (**LS015-05**)과 5.3 mM의 EDTA·4Na가 0.9% sodium chloride (**LS 011-01**)에 녹여져 있다. 10X 짜리 용액을 사용하기 위해서는 Ca<sup>2+</sup>과 Mg<sup>2+</sup>이 없는 HBSS (**LB 003-03**) 등에 무균적으로 원하는 농도로 희석하여 사용한다. 적절한 농도의 Trypsin-EDTA를 선택하기 위해서는 (1) 배양할 세포 종류, (2) 배양용기, 그리고 (3) 세포성장 특성 등을 고려해야 한다. 또한 참고문헌을 기초로 하여 배양액에 혈청, 첨가물, 그리고 기타 물리적 조건 등을 최적화 함으로써 계대 배양 하고자 하는 세포의 특성에 맞는 Trypsin-EDTA 용액을 사용할 수 있다.

### 보관 및 안정성

-5~-20°C에서 가능한 빛을 차단하여 보관하여야 한다. 1~2주 정도는 2~8°C 보관하여 사용할 수도 있다. 용액 시약의 변성은 (1) 침전물 또는 부유물, (2) 용액의 탁해짐, (3) 색의 변화, 그리고 (4) pH의 변화, 그리고 (5) 활성 온도 변화 등으로 나타날 수 있다. 유효기간은 제품 라벨에 표시되어 있다.

### 생물학적 특성

Trypsin-EDTA가 세포를 떼어내는 능력 및 세포 배양 능력은 10%의 FBS를 포함하는 액상배지에 적합한 부착성 세포주를 배양하면서 시험한다. 성장 속도는 세번의 계대 배양을 통하여 측정하고 표준품으로 시험한 것과 비교한다. 시간에 따른 세포수의 변화를 측정하고 seeding efficiency, doubling time, 그리고 최종 세포농도를 결정한다. 시험을 하면서 현미경으로 세포의 형태 변화와 cytotoxicity의 현상이 나타나는지 관찰한다.

### 사용방법

1. 세포 배양액을 모두 제거 한다.
2. Ca<sup>2+</sup>와 Mg<sup>2+</sup>가 첨가되지 않은 DPBS (**LB 001-02**) 또는 HBSS (**LB 003-03**)로 세포 단층을 세척한다.
3. 적당량의 Trypsin-EDTA 용액을 넣고 세포 단층 전면에 묻힌다.
4. Trypsin-EDTA 용액을 제거하고 배양 용기 뚜껑을 닫고 37°C에서 2~5분간 정치한다.
5. 현미경으로 Trypsin-EDTA 용액의 작용을 확인한다.
6. 혈청이 함유된 배지로 조심스럽게 세포를 현탁한다. 이때 혈청은 Trypsin 활성을 저해한다.

### 주의

For *In Vitro* Use Only

Product Profile	LS 015-02 (10X)
Porcine Trypsin	0.5% (w/v)
EDTA·4Na	5.3 mM
Phenol Red	11 mg/L
Solvent agent	0.9% NaCl
Appearance	Red transparent solution
pH at RT	7.1 ~ 7.7
Osmolality	288 ~ 352 mOsm/kg H <sub>2</sub> O
Endotoxin	≤ 1.0 EU/ml
Sterility	Sterilized by 0.2 μm filtration system. Sterility tests are performed in accordance with protocols described in USP.

### 참고문헌

Freshney, R.I., Culture of Animal Cells ; A manual of Basic Technique, Freshney, R.I.-3<sup>rd</sup> edi., A John Wiley & Sons, INC., 1994, New York, USA.  
 Lodish, H. et. Al., Molecular Cell Biology, Darnell, J.E.-3<sup>rd</sup> edi., Scientific American Books, INC., 1995, New York, USA.  
 Darling, D.C. and Morgan, S.J., Animal Cells; Culture and Media; Essential Data, Rickwood, D. and Hames, B. D.-edi, John Wiley and Sons, Inc., 1994, Chichester, UK.