



Guter Rat ist Roth.

Technische Info

ACCUTASE™

Für die Zelldissoziation – eine schonende Alternative zu Trypsin

Das Ablösen von Zellen von Kulturgefäßen zur weiteren Kultivierung oder für Zell-Analysen ist ein unumgänglicher Schritt in der Zellkultur. Herkömmliche Dissoziationsreagenzien wie Trypsin- oder Trypsin/EDTA-Lösungen sind als gängiges Werkzeug in der Routine Zellkultur weit verbreitet. Dennoch greifen Trypsin-Lösungen die Zelloberfläche an und beeinflussen die Vitalität der Zellen. Um Zellschäden weitestgehend zu minimieren, muss nach der Trypsinierung ein Inhibitionsschritt dieses Enzyms erfolgen.

Die Zelldissoziation im Allgemeinen ist für die Zellen ein stressbehafteter Prozess. Auch wenn die meisten Zellen sich wieder erholen, sollte der Zellstress möglichst gering gehalten werden. Hierfür gibt es bereits Alternativen zu Trypsin, wie die Accutase-Lösung.

Accutase™ ist ein natürliches Gemisch aus proteolytischen und kollagenolytischen Enzymen der Crustaceen (Krebstiere). Die Wirkungsweise ist damit vergleichbar mit der Wirkungsweise von Trypsin und Kollagenase gleichzeitig und kann somit als direkten Ersatz beider Enzyme eingesetzt werden. Die Wirkung von Accutase™ findet demnach nicht nur auf die Zelle, sondern auch stark auf die Proteine und Kollagene der extrazellulären Matrix statt. Neben der Zellablösung von Kulturoberflächen, wird die Accutase™ demnach auch zur Isolation von Zellen aus tierischem Gewebe verwendet.

Wieso ist Accutase™ die sanftere Wahl der Zelldissoziation?

Aufgrund der weitaus höheren Effizienz im Vergleich zu Trypsin und Kollagenase, kann Accutase™ in einer viel niedrigeren Konzentration eingesetzt werden. Die Zelloberfläche wird dadurch deutlich weniger angegriffen, sodass die Membranproteine intakt bleiben. Damit wird nicht nur eine hohe Zellausbeute erzielt, sondern auch eine hohe Zellviabilität für effizientere Anschluss-Analysen wie z.B. FACS. Ein anschließender Inhibitionsschritt durch Trypsin-Inhibitoren oder Serum ist nicht notwendig. Durch die Zugabe von frischem Kulturmedium ist die Accutase-Konzentration bereits so niedrig, dass keine Wirkung mehr stattfindet.

Accutase™ wirkt nachweislich auch sehr effizient auf sensitive Zellen, wie embryonale und neuronale Stammzellen.

Die ROTI®Cell Accutase-Lösung ist eine *ready-to-use* Lösung, was einen direkten Einsatz ermöglicht. Im Vergleich zu Trypsin-Lösungen ist sie zwei Monate bei +4°C stabil, sodass kein aliquotieren erforderlich ist.

Die Vorteile auf einem Blick:

- Direkter Ersatz für Trypsin und Kollagenase
- Schonenderes Ablösen von Zellen, auch für sensitive Zellen geeignet
- Reduzierter Zellstress mit maximaler Erholung und Ausbeute
- Membranproteine bleiben intakt für nachfolgende Analysen
- Kein Neutralisationsschritt durch Inhibitoren notwendig
- Ohne Säugetier-Bestandteile
- Bei +4°C zwei Monate stabil

Getestete Zelllinien:

Fibroblasten, Keratinozyten, vaskuläre Endothelzellen, Hepatozyten, vaskuläre glatte Muskelzellen, Vorläuferzellen von Hepatozyten, primäre neuronale Zellen von Hühnerembryonen, Stammzellen aus dem Knochenmark, Menschliche embryonale Stammzellen, adhärenente CHO- und BHK-Zellen, Makrophagen, 293-Zellen, L929-Zellen, immortalisierte Hodenkeimzellen der Maus, 3T3-, Vero-, COS-, HeLa-, NT2-, MG63-, M24- und A375-Metastasen-Melanomzellen, Gliome U251 und D54, HT 1080-Fibrosarkomzellen und Sf9-Insektenzellen.



Guter Rat ist Roth.

Technische Info

Empfohlenes Protokoll:

Die ROTI®Cell Accutase-Lösung kann in jeglichen Zell-Dissoziations-Protokollen direkt an Stelle von Trypsin-Lösungen eingesetzt werden. Ein detailliertes Beispiel-Protokoll zur Zellpassage / Subkultivierung von Zellen finden Sie auf den Produktseiten unserer Trypsin-Lösungen unter Downloads.

Abweichungen bei der Anwendung von Accutase™ im Vergleich zu Trypsin:

1. Tauen Sie eine Flasche Accutase™ niemals bei 37 °C auf. Eine aufgetaute Flasche Accutase™ kann aus dem Kühlschrank genommen und sofort auf die Zellen gegeben werden.
2. Volumen und Inkubationszeiten: 2,5 bis 5 ml auf 25 cm² Zellrasen (je nach Konfluenz und Dichte der Zellen) bei Raumtemperatur (RT) für 5 bis 10 Minuten bis maximal 1 Stunde inkubieren.
3. Zentrifugations- und Inhibitionsschritt nicht erforderlich. Zellsuspension kann direkt in neue Zellkulturflaschen mit frischem Medium gegeben werden.

Zusammensetzung der ROTI®Cell Accutase-Lösung:

Bestandteile	Konzentration mg/L
EDTA·4Na	220
KCl	200
KH ₂ PO ₄	200
NaCl	8000
Na ₂ HPO ₄	1150
Phenolrot	3
Accutase	1x konz.

LH, 24.01.23