



**Eurobio Scientific**

7, Avenue de Scandinavie

ZA de Courtabœuf

91940 Les Ulis

Tél.: +33(0)1 69 79 64 80

Fax : +33(0)1 69 79 05 35

e-mail : info@eurobio-scientific.com

**REF** : CM1DME60-01  
CM1DME60K-BP  
CM1DME68-01

## MILIEUX ESSENTIEL MINIMUM DE EAGLE MODIFIE PAR DULBECCO IVD (DMEM)

### 1/ INTRODUCTION-DESCRIPTION :

Le Milieu de Dulbecco (DMEM) est la modification la plus utilisée du Milieu Essentiel Minimum de Eagle (MEM). La principale caractéristique de ce milieu est de contenir quatre fois plus d'acides aminés que le Milieu de Base de Eagle (MBE) et quatre fois plus de vitamines que le MEM, quelques acides aminés non essentiels et du nitrate ferrique. La formulation originale contient 1 g/L de glucose. D'autres formulations, avec un taux de glucose de 4,5 g/L ont été développées pour permettre la croissance de cultures primaires de diverses lignées cellulaires normales ou transformées, tels que les fibroblastes primaires, les neurones, les cellules gliales, les cellules HUVEC et les cellules musculaires lisses, ainsi que les lignées cellulaires telles que HeLa, 293, Cos-7 et PC-12. La formulation originale du DMEM ne contient pas de pyruvate de sodium. Le Milieu DMEM peut être supplémenté en pyruvate de sodium à raison de 110 mg/L.

### 2/ STABILITE-CONSERVATION :

Conserver les milieux DMEM à +2°C/+8°C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

### 3/ PROCEDURE D'UTILISATION (à titre indicatif) :

#### Entretien de cellules VERO (cellules adhérentes) :

- Observer les flasks au microscope et visualiser les cellules (quantité, morphologies...).
- Si tout est conforme, vider le milieu par retournement se trouvant dans la flask dans la poubelle sous la hotte.
- Rincer avec 10mL de solution de PBS (CS1PBS01-0U) en agitant légèrement le milieu sur le fond de la flask.
- Vider la solution de PBS dans la poubelle sous la hotte par retournement.
- Ajouter 5mL de Trypsine-EDTA (CEZTDA01-0U) en agitant légèrement la flask afin de répartir sur la totalité du tapis cellulaire la solution de trypsine.
- Vider par retournement la solution de trypsine
- Tapoter légèrement la boîte pour décoller les cellules du fond de la boîte.
- Lorsque toute les cellules sont décollées, ajouter 20mL de milieu de base supplémenté
- Ajouter 20mL de milieu de base supplémenté dans une nouvelle flask
- Agiter la flask avec les cellules décollées puis prélever 2mL de la suspension cellulaire de l'ancienne flask.
- Ajouter les 2mL prélevé dans la nouvelle flask.
- Prélever 2mL de milieu de base supplémenté et les mettre dans l'ancienne flask pour avoir de nouveau un volume de 20mL.
- Incuber à 37°C sous 5% CO<sub>2</sub> la nouvelle flask et l'ancienne. Le bouchon doit être légèrement dévissé.

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

### 4/ CONTROLE QUALITE :

#### **Contrôles physico chimiques :**

Le pH et l'osmolarité sont mesurés par un pH-mètre et un osmomètre étalonnés avec des solutions standards raccordés à des étalons nationaux.

## Contrôles biologiques :

### -Cinétique relative de croissance

Ce test permet d'évaluer de façon générale la capacité de chaque lot de milieu à favoriser la culture de cellules. Les essais sont conduits sur plusieurs lignées cellulaires normales et transformées représentatives des principaux critères d'exigences de culture et de sensibilité aux carences nutritionnelles et aux éléments cytotoxiques. Ce test permet la comparaison qualitative et quantitative de la multiplication cellulaire, durant la phase exponentielle de croissance. Une culture de cellules entretenue avec le milieu à tester est comparée à une culture de cellule entretenue avec un milieu de référence.

### -Permanence d'efficacité

Plusieurs sous cultures consécutives de lignées cellulaires connues pour leur sensibilité aux carences nutritionnelles et aux éléments cytotoxiques sont effectuées.

Pour chaque sous culture, le degré de prolifération des cellules et l'absence de signes de cytotoxicité sont contrôlés.

## **5/ CONDITIONNEMENT :**

### **Milieu Essentiel Minimum modifié par Dulbecco (D-MEM), faible concentration en glucose (1.0 g/L)**

Produit	Référence	Condit.
<b>Milieu Essentiel Minimum modifié par Dulbecco, 1.0 g/L glucose</b> Avec bicarbonate de sodium, Sans L-glutamine, Liquide 1X	CM1 DME70-01 CM1 DME70K-BP	500 ml 12 x 500 ml

### **Milieu Essentiel Minimum modifié par Dulbecco (D-MEM), haute concentration en glucose (4.5 g/L)**

Produit	Référence	Condit.
<b>Milieu Essentiel Minimum modifié par Dulbecco, 4.5 g/L glucose</b> Avec bicarbonate de sodium, Sans L-glutamine	CM1DME60-01 CM1 DME60K-BP CM1DME60K-BT	500 ml 12 x 500 ml 24 x 100 ml
<b>Milieu Essentiel Minimum modifié par Dulbecco, 4.5 g/L glucose</b> Avec bicarbonate de sodium, Avec L-glutamine	CM1DME68-01	500 ml

## **6/ LIVRAISON :**

Température ambiante. En effet un transit temporaire à température ambiante n'altère pas les caractéristiques du produit.

## **7/ CARACTERISTIQUES ET FORMULATIONS :**

Composant mg/l	CM1DME60 Liquide 1X	CM1DME70 Liquide 1X	CM1DME68 Liquide 1X
CaCl <sub>2</sub> anh.	200	200	200
Fe(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> 9H <sub>2</sub> O	0,1	0,1	0,1
KCl	400	400	400
MgSO <sub>4</sub> anh.	97,7	97,7	97,7
NaCl	6400	6400	6400
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> anh.	109	109	109
NaHCO <sub>3</sub>	3700	3700	3700
L-arginine-HCl	84	84	84
L-cystine	48	48	48
Glutabio	-	-	584
Glycocolle	30	30	30
L-histidine HCl H <sub>2</sub> O	42	42	42

L-isoleucine	105	105	105
L-leucine	105	105	105
L-lysine HCl	146	146	146
L-méthionine	30	30	30
L-phénylalanine	66	66	66
L-serine	42	42	42
L-thréonine	95	95	95
L-tryptophane	16	16	16
L-tyrosine	72	72	72
L-valine	94	94	94
D-glucose	4500	1000	4500
Rouge de phénol ml/L	1.5	1,5	1.5
D-Ca-panthothénate	4	4	4
Chlorure de Choline	4	4	4
Acide Folique	4	4	4
I-inositol	7,2	7,2	7,2
Nicotinamide	4	4	4
Pyridoxine HCl	4	4	4
Riboflavine	0,4	0,4	0,4
Thiamine HCl	4	4	4

#### **8/ PRECAUTIONS ET RECOMMANDATIONS :**

Les milieux liquides 1X, sauf expressément mentionné, ne contiennent pas de L-glutamine afin d'augmenter leur stabilité et leur durée de conservation. Des suppléments peuvent être ajoutés stérilement à la solution. La nature des suppléments pourra affecter les conditions de stockage et la durée de vie du milieu. Ne pas utiliser le produit si l'emballage individuel est endommagé.

#### **9/ MATERIELS ET REACTIFS NON FOURNIS :**

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

#### **10/ 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.
- ❑ 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 différentiation 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.

**11/ DESTRUCTION :**

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