



MILIEUX RPMI 1640 IVD

1/ INTRODUCTION-DESCRIPTION :

Le milieu RPMI a été développé par Moore et al. au Roswell Park Memorial Institute pour la culture des leucocytes humains et les tests de stimulation à la phytohémmagglutinine. Le milieu RPMI 1640 est destiné à une application sur cellules de mammifères et d'hybridomes, incluant les HeLa, Jurkat, MCF-7, PC 12, PBMC, astrocytes et carcinomes. Aussi pour la croissance de cellules leucémiques humaines dans des cultures en monocouche et en suspension.

2/ STABILITE-CONSERVATION :

Conserver les milieux RPMI 1640 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% CO₂ la nouvelle flask et l'ancienne. Le bouchon doit être légèrement dévissé.

Entretien de cellules JURKAT (cellules en suspensions) :

- Ajouter 8mL de milieu de base supplémenté dans une nouvelle flask identifiée
- Agiter la flask avec les cellules 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 afin d'avoir de nouveau un volume de 10mL.
- Incuber à 37°C sous 5%CO₂ 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.

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/ LIVRAISON :

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

6/ CONDITIONNEMENT :

Description	Cond.	Réf.
Milieu RPMI sans L-glutamine, liquide 1X	6 X 100 ml	CM1RPM00-6U
Milieu RPMI sans L-glutamine, liquide 1X	500 ml	CM1RPM00-01
Milieu RPMI sans L-glutamine, liquide 1X	12 X 500 ml	CM1RPM00K-BP
Milieu RPMI sans L-glutamine sans rouge de phénol, liquide 1X	500 ml	CM1RPM03-01
Milieu RPMI avec HEPES sans L-glutamine sans bicarbonate, Liquide 1X	100 ml	CM1RPM06-0U
Milieu RPMI avec HEPES sans L-glutamine sans bicarbonate, Liquide 1X	500 ml	CM1RPM06-01
Milieu RPMI avec Glutabio, Liquide 1X	500 ml	CM1RPM08-01
Milieu RPMI avec HEPES sans L-glutamine avec bicarbonate(0,85 g/l), Liquide 1X	500 ml	CM1RPMA6-01
Milieu RPMI avec HEPES sans L-glutamine avec bicarbonate(2,00g/l), Liquide 1X	500 ml	CM1RPMB6-01

7/ MATERIELS ET REACTIFS NON FOURNIS :

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

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/ CARACTERISTIQUES ET FORMULATIONS :

Composant mg/l	CM1RPM00 Liquide 1X	CM1RPM03 Liquide 1X	CM1RPM06 Liquide 1X	CM1RPM08 Liquide 1X	CM1RPMA6 Liquide 1X	CM1RPMB6 Liquide 1X
Ca(NO)4HO	100	100	100	100	100	100
KCL	400	400	400	400	400	400
MgSO4anh	48.9	48.9	48.9	48.9	48.9	48.9
NaCl	6000	6000	5500	6000	5500	5500
NaHPO anh.	800	800	800	800	800	800
NaHCO	2000	2000	-	2000	850	2000
L-arginine	248	248	248	248	248	248
L-asparagine	44	44	44	44	44	44
L-aspartique	20	20	20	20	20	20

L-cystine	50	50	50	50	50	50
Glutabio	-	-	-	300	-	-
L-glutamique	20	20	20	20	20	20
Glycocolle	10	10	10	10	10	10
L-histidine	18.28	18.28	18.28	18.28	18.28	18,28
L-hydroxy-proline	20	20	20	20	20	20
L-isoleucine	50	50	50	50	50	50
L-leucine	50	50	50	50	50	50
L-lysine HCl	40	40	40	40	40	40
L-méthionine	15	15	15	15	15	15
L-phénylalanine	15	15	15	15	15	15
Lproline	15	15	15	15	15	15
L-serine	30	30	30	30	30	30
L-thréonine	20	20	20	20	20	20
L-tryptophane	5	5	5	5	5	5
L-tyrosine	36	36	36	36	36	36
L-valine	20	20	20	20	20	20
D-glucose	2000	2000	2000	2000	2000	2000
Glutathion (réduit)	1	1	1	1	1	1
HEPES	-	-	5958	-	5958	5958
Rouge de phénol ml/L	5	-	5	5	5	5
Biotine	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
D-Ca-panthothénate	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
Chlorure de Choline	3	3	3	3	3	3
Acide Folique	1	1	1	1	1	1
I-inositol	35	35	35	35	35	35
Nicotinamide	1	1	1	1	1	1
Acide p-aminobenzoïque	1	1	1	1	1	1
Pyridoxal HCl	1	1	1	1	1	1
Riboflavine	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Thiamine HCl	1	1	1	1	1	1
Vitamine B12	0 ,005	0 ,005	0 ,005	0 ,005	0 ,005	0 ,005

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. *Am. 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 thé fixed tissues and from thé 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.