



## TAMPON PBS DE DULBECCO

### 1/ INTRODUCTION :

Les solutions salines sont composées de sels inorganiques et sont utilisées en l'état pour les dilutions, les lavages ou pour servir de complément inorganique pour les milieux synthétiques. Les solutions salines permettent de contribuer au maintien des constantes physico-chimiques nécessaires à la culture in vitro des cellules.

Les ions Calcium, Sodium, Potassium, Magnésium, Phosphate, Carbonate et Chlore constituent la base de toutes les solutions salines.

Les solutions salines sont utilisés essentiellement sur des cellules de mammifères et développées pour la dissociation ou la mise en suspension et la culture en suspension sont formulées sans Ca ni Mg afin de diminuer l'aggrégation des cellules et l'attachement au support et favoriser ainsi l'action de la trypsine.

### 2/ STABILITE-CONSERVATION :

Les tampons PBS de Dulbecco doivent être conservés à +15°C/+30°C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

Les tampons PBS formulés avec Ca & Mg doivent être conservés à l'abri de la lumière.

### 3/ UTILISATION :

La solution saline tamponnée au phosphate de Dulbecco (DPBS) est une solution de sel équilibrée utilisée pour une variété d'applications de culture cellulaire, telles que le lavage des cellules avant la dissociation, le transport des cellules ou des échantillons de tissus, la dilution des cellules pour le comptage et la préparation des réactifs. Des formulations sans calcium et magnésium sont nécessaires pour rincer les chélateurs de la culture avant la dissociation cellulaire

### 4/ LIVRAISON :

Température ambiante.

### 5/ CONTROLE QUALITE :

#### **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. Un mirage des conditionnements est réalisé avant libération.

#### **Contrôles microbiologiques:**

Les contrôles de stérilité bactérienne et fongique sont réalisés selon les prescriptions de la Pharmacopée Européenne. Les échantillons sont incubés à deux températures (20-25°C et 30-35°C) pendant 14 jours.

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.

### 6/ CONDITIONNEMENT :

Différents conditionnements ainsi que différentes formes sont disponibles.

**Pour les tampons PBS de Dulbecco, Sec :**

Description	Conditionnement	Réf.
Tampon PBS Sans Ca et Mg	1 litre	CS0PBS01-07
Tampon PBS Sans Ca et Mg	5 litres	CS0PBS01-08

**Pour les tampons PBS de Dulbecco, Liquide :**

Description	Conditionnement	Réf.
Tampon PBS 1X	6 X 100 ml	CS1PBS00-6U
Tampon PBS 1X	500 ml	CS1PBS00-01
Tampon PBS 1X	12 X 500 ml	CS1PBS00K-BP
Tampon PBS Sans Ca et Mg, 1X	6 X 100 ml	CS1PBS01-6U
Tampon PBS Sans Ca et Mg, 1X	500 ml	CS1PBS01-01
Tampon PBS Sans Ca et Mg, 1X	12 X 500 ml	CS1PBS01K-BP
Tampon PBS 10X	500 ml	CS3PBS00-01
Tampon PBS Sans Ca et Mg, 10X	6 X 100 ml	CS3PBS01-6U
Tampon PBS Sans Ca et Mg, 10X	500 ml	CS3PBS01-01

**7/ CARACTERISTIQUES :**

**Formulation :**

Composants (g/l)	CS1PBS00	CS3PBS00	CS0PBS01	CS1PBS01	CS3PBS01
CaCl <sub>2</sub> anh.	0.1000	1.0000	-	-	-
KCl	0.2000	2.0000	0.2000	0.2000	2.0000
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.2000	2.0000	0.2000	0.2000	2.0000
MgCl <sub>2</sub> 6 H <sub>2</sub> O	0.1000	1.0000	-	-	-
NaCl	8.0000	80.0000	8.0000	8.0000	80.0000
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> anh.	1.15000	11.5000	1.15000	1.15000	11.5000

**8/ PRECAUTIONS ET RECOMMANDATIONS :**

**-Pour les solutions salines poudre :**

Les solutions salines en poudre sont extrêmement hygroscopiques et doivent être protégées de l'humidité atmosphérique. La totalité de la poudre contenue dans le conditionnement doit être utilisée immédiatement après ouverture, en une seule fois.

La préparation de solutions salines sous forme concentrées n'est pas recommandée car des précipités peuvent se former. Les solutions salines en poudre ne contiennent pas de bicarbonate de sodium.

**-Pour les solutions salines liquides :**

Les solutions salines 1X sont prêtes à l'emploi.

L'utilisateur peut être amené à réajuster le pH d'utilisation des solutions salines concentrées.

Les solutions prêtes à l'emploi sont marquées IVD.

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

**9/ PRÉPARATION A PARTIR DES POUDRES:**

Réaliser toutes les opérations à température du laboratoire.

- Mesurer 90% du volume final d'Eau de Qualité Culture Cellulaire. L'eau devra être à température ambiante.
- Tout en agitant doucement l'eau, ajouter le milieu en poudre. Agiter jusqu'à dissolution. Ne pas chauffer.
- Rincer l'emballage d'origine avec une petite quantité d'eau pour collecter toutes traces de poudre.
- Ajouter les eaux de lavage à la solution.
- A la solution, ajouter la quantité de bicarbonate
- en tenant compte de la référence de votre produit. Agiter jusqu'à dissolution.
- Tout en agitant, ajuster le pH à 0,1-0,3 unités en dessous du pH désiré (le pH augmente lors de la filtration).

L'utilisation d'HCl 1 N ou de NaOH 1 N est recommandée.

- Ajuster le volume final de milieu par adjonction d'eau qualité culture cellulaire.
- Stériliser immédiatement par filtration en utilisant une membrane de porosité de 0,2 µm ou moins et sous pression positive.

Répartir stérilement la solution dans des récipients stériles. Stocker le milieu liquide au réfrigérateur à 4°C et à l'obscurité.

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

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

#### **11/ 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 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.
- ❑ 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

#### **12/ DESTRUCTION :**

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