



MILIEU L 15 DE LEIBOVITZ

1/ INTRODUCTION-DESCRIPTION :

Le milieu L15 (Leibovitz) a été développé pour la culture de lignée cellulaires (HEP-2, L929,MRC-5...) en absence de CO₂ sans tampon bicarbonate. Le milieu L15 est tamponné par une modification de la composition en sels et en acides aminés (non neutralisés) et en remplaçant le glucose par le galactose.

2/ STABILITE/CONSERVATION :

Conserver le milieu L 15 entre +2°C et +8°C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

3/ PROCEDURE D'UTILISATION:

Ajouter 10,25 ml / l de L-Glutamine 200 mM (CAT N °: CSTGLU00-0U) avant d'utiliser ce milieu. Les suppléments, tels que les antibiotiques, devraient être ajoutés comme suppléments stériles au milieu.

Le produit est destiné à être utilisé en in-vitro, ne pas l'utiliser en thérapie humaine 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 :

Produit	Référence	Condit.
Milieu Leibovitz L15 Sans bicarbonate de sodium, Sans L-glutamine	CM1L1500-6U	6 X 100 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	CM1L1500 Liquide 1X
CaCl₂ anh.	140
KH₂PO₄	60
MgCl₂ 6H₂O	200
MgSO₄ anh	97,7
NaCl	8000
Na₂HPO₄ anh.	190
L-alanine	225
L-arginine HCl	605
L-asparagine H₂O	284
L-cystine HCl H₂O	174
Glycocolle	200
L-histidine HCl H₂O	334
L-isoleucine	125
L-leucine	125
L-lysine HCl	93,8
L-méthionine	75
L-phénylalanine	125
L-serine	200
L-thréonine	300
L-tryptophane	20
L-tyrosine	300
L-valine	100
D-galactose	900
Pyruvate Na	550
Rouge de phénol	11
D-Ca-panthothénate	1
Chlorure de Choline	1
Acide Folique	1
I-inositol	2
Niacinamide	1
Piridoxine HCl	1
Riboflavine	0,1
Thiamine HCl	1

8/ PRECAUTIONS ET RECOMMANDATIONS :

Les additifs (L-glutamine, sérum de veau foetal...) peuvent être ajoutés avant l'étape de filtration mais leur nature peut affecter les conditions de stockage et la durée de vie du milieu. Il est donc préférable de les ajouter en conditions aseptiques juste avant l'utilisation des milieux. 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 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.
- ❑ 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
- ❑ Sato, G., Pradee, A.B. and Sirbasku, D.A. (ed.). Growth of cells in hormonally defined media. Cold Spring Harbor, New York, Book A and Book B, 1982, 9, 1214 p.
- ❑ Waymouth, C. Osmolality of mammalian blood and media for culture of mammalian cells. *In vitro*, 1970, 6, 109-127.

10/ DESTRUCTION :

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