

Ultroser® G

Sustituto del suero para cultivos de células animales

Presentación

Ultroser G es un sustituto del suero, utilizado exitosamente para sustituir al FBS (Suero Bovino Fetal) en medios de cultivo de células animales. **Ultroser G** se emplea con éxito para el cultivo *in vitro* de numerosas células adherentes. También se utiliza en el diagnóstico prenatal, en el cultivo de células de líquido amniótico para estudiar los cariotipos.

La actividad biológica es cinco veces la del FBS. **Ultroser G** se suministra en forma de polvo liofilizado que equivale a 20 mL de sustituto.

Preparación - Solubilización

El polvo liofilizado se solubiliza en 20 mL de agua destilada estéril y apirógena (agua PPI: para preparación inyectable) del siguiente modo:

- Abrir el vial rompiendo la cápsula de cierre.
- Introducir el volumen de agua adecuado para el cultivo celular ya sea:
 - con la ayuda de una pipeta estéril y apirógena, habiendo retirado previamente el tapón
 - con la ayuda de una jeringuilla estéril y apirógena, inyectándola a través del tapón

Estas dos operaciones deben efectuarse en condiciones estériles.

Dejar que el liofilizado se hidrate durante 10 ó 15 minutos. La solubilidad se produce rápidamente agitando suavemente el frasco o con aspiraciones sucesivas usando la pipeta o la jeringuilla

La solución así reconstituida queda clara y de color rosado. Para más seguridad, filtrar la solución obtenida a través de una membrana de esterilización con un tamaño de poro de 0,22 µm. Esto no implica ninguna pérdida de actividad.

Concentración

Ultroser G, una vez reconstituido, posee una actividad biológica cinco veces superior a la del FBS. Se debe utilizar a concentraciones comprendidas entre 0,5 % y 4 % (o sea 2,5 % al 20 % de FBS). Generalmente se emplea una concentración del 2 % (10 % de FBS). Para obtener una concentración estándar del 2 %, mezclar un 2 % de **Ultroser G** en un 98 % de medio de

cultivo de base. Para cada tipo celular, se deben probar diferentes concentraciones, entre 0,5 % y 4 %, para determinar las condiciones de crecimiento óptimas. Los efectos sobre el crecimiento celular no son forzosamente proporcionales a la concentración de **Ultroser G**, ni están correlacionados con los resultados obtenidos con el FBS en las mismas condiciones de uso.

Medio de cultivo

El medio de cultivo se usará generalmente para el cultivo en presencia de FBS (MEM, etc...). Sin embargo, se recomienda utilizar un medio enriquecido como HAM's F12, DMEM, IMDM, o RPMI.

Soporte de cultivo

El soporte de cultivo es el mismo que se utiliza en presencia de FBS. **Ultroser G** contiene factores de adhesión. Por lo tanto es posible utilizar **Ultroser G** para preincubar las placas en el medio antes de añadir las células. Sin embargo, para determinados tipos celulares difíciles de cultivar, será necesario, para favorecer la adhesión y la diferenciación, utilizar cajas cuya superficie haya sido tratada con un producto apropiado como:

- la poli-D-lisina,
- el colágeno,
- una matriz extracelular,
- factores de adhesión como la fibronectina.

Tripsinización

Las técnicas de tripsinización de tejidos y de monocapas celulares son idénticas a las utilizadas con el FBS. Sin embargo, la duración de la tripsinización debe ser lo más corta posible para minimizar el daño sobre la membrana celular. Cuando proceda, eliminar con precaución cualquier residuo de tripsina antes de dispersar las células añadiendo un inhibidor de la tripsina (extracto de haba de soja, aprotinina,...) a una concentración de 0,5 a 1 mg/mL. Si después de la tripsinización las células permanecen agregadas, se puede hacer pasar la suspensión celular a través de un tamiz celular de malla de 40 µm.

Transferencia celular

En el caso de subcultivos a partir de un medio que contiene FBS, se pueden emplear dos técnicas:

1/ Transferir directamente las células a un medio suplementado con **Ultroser G**,

2/ O, tras un tiempo de adaptación, reduciendo progresivamente la cantidad de suero en varios pases:

- 1^{er} pase: 50 % de medio suplementado con suero (MSS) + 50 % de medio suplementado con **Ultroser G** (MSU) a una concentración óptima
- 2^o pase: 25 % MSS + 75 % MSU
- 3^{er} pase: 10 % MSS + 90 % MSU
- 4^o pase: 100 % MSU

Esta segunda técnica permite una mejor adaptación de las células al nuevo medio de cultivo.

Antes de sembrar las células, comprobar el pH del medio final y ajustarlo, si fuese necesario, a pH 7,2 ± 0,1. Para mejorar el poder de tampón del medio, se puede añadir bicarbonato de sodio o un tampón sintético (HEPES).

Conservación

Ultroser G está disponible en forma de polvo liofilizado. El producto se envía a temperatura ambiente, y se debe conservar a 2 – 8 °C. Una vez reconstituida, la solución debe utilizarse inmediatamente o se puede dividir en alícuotas y congelar a -20 °C durante varias semanas.

No congelar el producto varias veces.

Bibliografía

Le clonage des cellules du liquide amniotique, aide dans l'interprétation des mosaïques chromosomiques en diagnostic prénatal.
Boué, J., et al., Ann. Genet. 22, n°1 (1979) 3.



Ultroser G contiene una proteína humana probada y que se ha demostrado que no reacciona con:

- el antígeno de superficie (HBs Ag) de la Hepatitis B
- los anticuerpos HIV I, HIV II, anti-HCV
- la sífilis

según las pruebas aprobadas por la FDA.

Sin embargo, este producto debe considerarse potencialmente como un agente infeccioso durante toda la manipulación.

Fabricante

Pall BioSeptra - 48 avenue des Genottes
95800 Cergy-Saint-Christophe, France
Tel. +33 (0)1 34 20 78 00

Símbolos utilizados en la etiqueta



Fabricante



Referencia del catálogo



Código del lote



Válido hasta



Límite de temperatura



Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*



Riesgos biológicos



Consultar el manual de instrucciones

Referencias del producto

Producto	Envase	Ref. del producto
Ultroser G	20 mL	15950-017



Ultrosor® G

Serum substitute for animal cell culture

Introduction

Ultrosor G is a serum substitute used to replace FBS (Fetal Bovine Serum) in animal cell culture media. **Ultrosor G** BioSeptra serum substitute is successfully used in the *in vitro* culture of many anchorage-dependent cells. It is also used in prenatal diagnostics for the culture of amniotic fluid cells for karyotype study.

The biological activity is 5 times that of FBS. **Ultrosor G** serum substitute is supplied as a lyophilized powder corresponding to 20 mL of substitute.

Preparation - Solubilization

The lyophilized powder is solubilized in 20 mL sterile distilled pyrogen-free water (water for injection) as follows:

- Open the vial by breaking the tip of the capsule
- Introduce the appropriate volume of water either using:
 - a sterile pyrogen-free pipette after first having removed the stopper,
 - or a sterile pyrogen-free syringe by injection through the stopper.

These two operations must be performed under sterile conditions.

Allow the lyophilisate to swell for 10 to 15 minutes. Solubilization is rapidly obtained by gently shaking the flask or by successive aspirations using a pipette or syringe.

The reconstituted solution should be clear and pink-coloured. For greater safety, the solution may be filtered through a sterilizing membrane of 0.22 µm pore diameter. This will not result in any loss of activity.

Concentration

After reconstitution, **Ultrosor G** serum substitute has a biological activity 5 times greater than that of FBS. It should be used at concentrations between 0.5 % and 4 % (2.5 % to 20 % of FBS). A concentration of 2 % (10 % of FBS) is generally

used. To obtain a standard concentration of 2 %, mix 2 % **Ultrosor G** serum substitute with 98 % base culture medium. For each cell type, various concentrations from 0.5 % to 4 % will have to be evaluated to determine the optimal growth conditions. The effects on cell growth are not always proportional to the concentration of **Ultrosor G** serum substitute, nor in correlation with the results obtained with FBS in the same conditions of use.

Culture medium

The culture medium may be the one generally used for culture with FBS (MEM, etc.). However, the use of an enriched medium such as HAM's F12, DMEM, IMDM, or RPMI is recommended.

Culture support

The culture support is the same as that used with FBS. **Ultrosor G** serum substitute contains adhesion factors. Therefore, it can be used for pre-incubation of the plastic dishes in the medium prior to adding the cells. However, for particular cell types which are difficult to grow, it may be necessary, to improve adhesion and differentiation, to coat the plastic dishes with one of the following products:

- poly-D-lysine,
- collagen,
- an extracellular matrix,
- adhesion factors such as fibronectin.

Trypsinization

The trypsinization techniques for tissues and monolayered cells are the same as those used with FBS. However, the trypsinization period should be as short as possible, to minimize cell damage. To remove any residual trypsin, it may be necessary to add a trypsin inhibitor such as soya bean extract, aprotinin..., at a concentration of 0.5 to 1 mg/mL, before dispersing the cells. If the cells still remain aggregated to each other, the cell suspension may be passed through a 40 µm cell sieve.

Cell transfer

Two techniques may be employed for sub-culture from a medium containing FBS:

- 1/ Direct transfer of the cells in the medium supplemented with **Ultrosor G** serum substitute,
- 2/ Or after an adaptation period by progressively reducing the quantity of serum, in several passages:

- 1st passage: 50 % medium supplemented with serum (MSS) + 50 % medium supplemented with **Ultrosor G** serum substitute (MSU) in the optimum concentration

- 2nd passage: 25 % MSS + 75 % MSU

- 3rd passage: 10 % MSS + 90 % MSU

- 4th passage: 100 % MSU

This second technique allows better adaptation of the cells to the new culture medium.

Before seeding the cells, check the pH of the final medium and, if necessary, adjust to 7.2 ± 0.1. Sodium bicarbonate or a synthetic buffer (HEPES) may be added to improve the buffering power of the medium.

Storage

Ultrosor G serum substitute is available as a lyophilized powder. The product is shipped at ambient temperature and must then be stored at 2–8 °C. Once reconstituted, the solution must be used up quickly. Otherwise it can be aliquoted and stored frozen at -20 °C for several weeks.

Frequent freezing and thawing must be avoided.

Reference

Le clonage des cellules du liquide amniotique, aide dans l'interprétation des mosaïques chromosomiques en diagnostic prénatal.
Boué, J., et al., Ann. Genet. 22, No.1 (1979) 3.



Ultrosor G serum substitute contains a human protein that has been tested and found to be non-reactive to:

- Hepatitis B surface antigens (HBsAg),
- HIV I, HIV II, anti-HCV antibodies,
- syphilis,

in accordance with FDA-approved tests. However, this product should be considered as a potentially infectious agent during handling.

Manufacturer

Pall BioSeptra - 48 avenue des Genottes
95800 Cergy-Saint-Christophe, France
Tel. +33 (0)1 34 20 78 00

Symbols used on the label

- Manufacturer
- Catalog number
- Batch code
- Use by
- Temperature limitation
- In vitro* diagnostic medical device
- Biological risks
- Consult instructions for use

Ordering Information

Product	Volume	Cat No.
Ultrosor G	20 mL	15950-017



Ultrosor® G

Substitut de sérum pour culture de cellules animales

Présentation

Ultrosor G est un substitut de sérum utilisé avantageusement pour remplacer le SVF (Sérum de Veau Fœtal) dans les milieux de culture de cellules animales. Le substitut de sérum **Ultrosor G** est employé avec succès pour la culture *in vitro* de nombreuses cellules adhérentes. Il est aussi utilisé en diagnostic prénatal pour la culture des cellules du liquide amniotique pour étudier les caryotypes.

L'activité biologique est cinq fois celle du SVF. Le substitut de sérum **Ultrosor G** est fourni sous forme de poudre lyophilisée correspondant à 20 ml de substitut.

Préparation - Solubilisation

La poudre lyophilisée est solubilisée dans 20 ml d'eau distillée stérile et apyrogène (eau PPI : pour préparation injectable) comme suit :

- Ouvrir le flacon en déchirant l'opercule de la capsule,
- Introduire le volume approprié d'eau pour culture cellulaire :
 - soit à l'aide d'une pipette stérile et apyrogène en ayant enlevé au préalable le bouchon,
 - ou à l'aide d'une seringue stérile et apyrogène par injection à travers le bouchon.

Ces deux opérations doivent être effectuées dans des conditions stériles.

Laisser le lyophilisat s'hydrater 10 à 15 minutes. La solubilisation est obtenue rapidement par une agitation douce du flacon ou par aspirations successives à l'aide de la pipette ou la seringue

La solution ainsi reconstituée est claire et de couleur rose. Pour plus de sécurité, filtrer la solution obtenue à travers une membrane stérilisante de porosité 0,22 µm. Ceci n'entraîne aucune perte d'activité.

Concentration

Le substitut de sérum **Ultrosor G** une fois reconstitué possède une activité biologique cinq fois supérieure à celle du SVF. Il doit être utilisé à des concentrations comprises entre 0,5 % et 4 % (soit 2,5 % à 20 % de SVF). Une concentration de

2 % (10 % de SVF) est généralement employée. Pour obtenir une concentration standard de 2 %, mélanger 2 % d'**Ultrosor G** à 98 % de milieu de culture de base. Pour chaque type cellulaire, différentes concentrations entre 0,5 % et 4 % devront être testées pour déterminer les conditions optimales de croissance. Les effets sur la croissance cellulaire ne sont pas forcément proportionnels à la concentration en **Ultrosor G**, ni en corrélation avec les résultats obtenus avec le SVF dans les mêmes conditions d'utilisation.

Milieu de Culture

Le milieu de culture sera celui généralement utilisé pour la culture en présence de SVF (MEM, etc...). Néanmoins, il est recommandé d'utiliser un milieu enrichi tel que HAM's F12, DMEM, IMDM, ou RPMI.

Support de Culture

Le support de culture est le même que celui utilisé en présence de SVF. Le substitut de sérum **Ultrosor G** contient des facteurs d'adhésion. Il est donc possible de l'utiliser pour pré-incuber des boîtes dans le milieu avant d'ajouter les cellules. Cependant, pour certains types cellulaires difficiles à cultiver, il sera nécessaire, pour favoriser l'adhésion et la différenciation, d'utiliser des boîtes dont la surface a été traitée avec un produit approprié tel que :

- la poly-D-lysine,
- le collagène,
- une matrice extracellulaire,
- des facteurs d'adhésion tels que la fibronectine.

Trypsinisation

Les techniques de trypsinisation des tissus et des monocouches cellulaires sont identiques à celles utilisées avec le SVF. Cependant, la durée de trypsinisation doit être aussi courte que possible pour minimiser les dommages sur la membrane cellulaire. Le cas échéant, éliminer avec précaution tout résidu de trypsine avant de disperser les cellules, en ajoutant un inhibiteur de trypsine (extrait de fève de soja, aprotinine, ...) à la concentration de 0,5 à 1 mg/ml. Si après trypsinisation les cellules

restent agrégées entre elles, la suspension cellulaire peut être passée à travers un tamis cellulaire de maille 40 µm.

Transfert cellulaire

Dans le cas de sous-culture à partir d'un milieu contenant du SVF, deux techniques peuvent être employées :

1/ Transfert direct des cellules dans un milieu supplémenté en substitut de sérum **Ultrosor G**,

2/ Ou après un temps d'adaptation en réduisant progressivement la quantité de sérum en plusieurs passages :

- 1^{er} passage : 50 % de milieu supplémenté en sérum (MSS) + 50 % de milieu supplémenté en **Ultrosor G** (MSU) à concentration optimale

- 2^{ème} passage : 25 % MSS + 75 % MSU

- 3^{ème} passage : 10 % MSS + 90 % MSU

- 4^{ème} passage : 100 % MSU

Cette seconde technique permet une meilleure adaptation des cellules au nouveau milieu de culture.

Avant d'ensemencer les cellules, vérifier le pH du milieu final et, si nécessaire, l'ajuster à 7,2 ± 0,1. Pour améliorer le pouvoir tampon du milieu, du bicarbonate de sodium ou un tampon synthétique (HEPES) peuvent être ajoutés.

Conservation

Le substitut de sérum **Ultrosor G** est disponible sous forme de poudre lyophilisée. Le produit est expédié à température ambiante, et doit être ensuite conservé à 2 - 8 °C. Une fois reconstituée, la solution doit être utilisée immédiatement, ou elle peut être aliquotée et congelée à -20 °C pendant plusieurs semaines.

Ne pas recongeler plusieurs fois le produit.



Le substitut de sérum Ultrosor G contient une protéine humaine testée et trouvée non réactive :

- à l'antigène de surface (HBs Ag) de l'Hépatite B,
 - aux anticorps HIV I, HIV II, anti-HCV,
 - à la syphilis,
- selon les tests approuvés par la FDA.**
Néanmoins, ce produit doit être potentiellement considéré comme un agent infectieux lors de toute manipulation.

Référence

Le clonage des cellules du liquide amniotique, aide dans l'interprétation des mosaïques chromosomiques en diagnostic prénatal.

Boué, J., et al., Ann. Genet. 22, N°1 (1979) 3.

Fabricant

Pall BioSeptra - 48 avenue des Genottes
95800 Cergy-Saint-Christophe, France
Tel. 01 34 20 78 00

Symboles utilisés sur l'étiquette

- Fabricant
- Référence du catalogue
- Code du lot
- Utiliser jusque
- 2°C - 8°C Limite de température
- Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
- Risques biologiques
- Consulter le manuel d'utilisation

Référence produit

Produit	Cond ^t	Réf. produit
Ultrosor G	20 ml	15950-017



Ultroser® G

Serumersatz für tierische Zellkulturen

Beschreibung

Ultroser G ist ein Serumersatz, der in tierischen Zellkulturmedien problemlos als Ersatzlösung für FBS (fötales Kälberserum) verwendet werden kann. **Ultroser G** wird erfolgreich in der *In-vitro*-Kultivierung zahlreicher adhärenter Zellen eingesetzt. Zudem dient es in der Pränataldiagnose zur Kultivierung von Fruchtwasserzellen zur Bestimmung von Karyotypen.

Es weist eine fünffach stärkere biologische Aktivität als FBS auf. Lieferform von **Ultroser G** ist ein lyophilisiertes Pulver, das 20 mL Ersatzlösung entspricht.

Herstellung - Auflösung

Das lyophilisierte Pulver wird wie folgt in 20 mL sterilem und pyrogenfreiem, destilliertem Wasser (Aq. pro injectione: Wasser für Injektionszwecke) gelöst:

- Das Fläschchen durch Aufreißen des Deckels der Kapsel öffnen.
- Die entsprechende Menge Wasser für Zellkulturen einfüllen:
 - entweder nach Entfernen des Stopfens mithilfe einer sterilen und pyrogenfreien Pipette
 - oder mithilfe einer sterilen und pyrogenfreien Spritze durch Injektion durch den Stopfen

Beide Schritte müssen unter sterilen Bedingungen ausgeführt werden.

10 bis 15 Minuten warten, bis sich das Lyophilisat resuspendiert. Schnellere Auflösung wird durch sanftes Schütteln des Fläschchens oder mehrmaliges Aufziehen und Ausblasen mittels Pipette oder Spritze erreicht.

Die so rekonstituierte Lösung ist durchsichtig rosa. Für erhöhte Sicherheit die hergestellte Lösung durch eine Sterilmembran mit 0,22 µm Porosität filtern. Dadurch bleibt die gesamte Aktivität erhalten.

Konzentration

Das rekonstituierte **Ultroser G** besitzt eine fünffach stärkere biologische Aktivität als FBS. Es muss in Konzentrationen im Bereich von ca. 0,5 % bis 4 % (2,5 % bis 20 % bei FBS) verwen-

det werden. Generell wird eine Konzentration von 2 % (10 % FBS) verwendet. Um eine Standardkonzentration von 2 % zu erhalten, 2 % **Ultroser G** mit 98 % Basiskulturmedium mischen. Für jeden Zelltyp müssen unterschiedliche Konzentrationen zwischen 0,5 % und 4 % getestet werden, um die optimalen Wachstumsbedingungen zu ermitteln. Die Wirkung auf das Zellenwachstum ist nicht unbedingt proportional zur Konzentration von **Ultroser G** und steht nicht im Zusammenhang mit den Ergebnissen, die mit FBS unter den gleichen Einsatzbedingungen erreicht werden.

Kulturmedium

Als Kulturmedium wird generell das Medium verwendet, das auch für die Kultivierung mit FBS eingesetzt wird (MEM usw.). Es wird jedoch die Verwendung eines angereicherten Mediums wie HAM's F12, DMEM, IMDM oder RPMI empfohlen.

Nährboden

Es wird der gleiche Nährboden wie bei FBS verwendet. **Ultroser G** enthält Adhäsionsfaktoren. Daher kann **Ultroser G** zur Vorinkubation von Schalen im Medium genutzt werden, bevor die Zellen dazu gegeben werden. Allerdings ist es bei bestimmten Zelltypen, die schwierig zu kultivieren sind, notwendig, zur Förderung der Adhäsion und Differenzierung Schalen zu verwenden, deren Oberfläche mit einem passenden Produkt vorbeschichtet wurde, wie:

- Poly-D-Lysin,
- Collagen,
- eine extrazelluläre Matrix,
- Adhäsionsfaktoren wie Fibronectin.

Trypsinierung

Die Trypsinierungsverfahren von Zellgeweben und konfluenten Monolayern sind identisch zu denen, die bei FBS genutzt werden. Die Dauer der Trypsinierung muss allerdings so kurz wie möglich sein, um Beschädigung der Zellmembran zu minimieren. Falls vorhanden, alle Trypsinreste durch Zusetzen eines Trypsin-Inhibitors (Sojabohnen, Aprotinin ...) mit einer Konzentration von 0,5 bis 1 mg/mL vorsichtig eliminieren, bevor die Zellen

dispargiert werden. Falls nach der Trypsinierung Zellen aggregiert bleiben, kann die Zellsuspension durch ein Zellsieb mit Maschenweite 40 µm filtriert werden.

Überführung der Zellen

Bei einer Subkultur aus einem Medium, das FBS enthält, können zwei Verfahren angewendet werden:

1. Direkte Überführung der Zellen in ein mit **Ultroser G** supplementiertes Medium,
2. Oder nach einer Adaptationszeit mit schrittweiser Reduzierung der Serummenge in mehreren Passagen:
 - 1. Passage: 50 % mit Serum supplementiertes Medium (SSM) + 50 % mit **Ultroser G** supplementiertes Medium (USM) mit optimaler Konzentration
 - 2. Passage: 25 % SSM + 75 % USM
 - 3. Passage: 10 % SSM + 90 % USM
 - 4. Passage: 100 % USM

Das zweite Verfahren erlaubt eine bessere Adaptation der Zellen an das neue Kulturmedium.

Vor dem Einbringen der Zellen den pH-Wert des Endmediums überprüfen und ggf. auf 7,2 ±0,1 einstellen. Um die Pufferkapazität des Mediums zu verbessern, können Natriumbicarbonat oder eine Puffersubstanz (HEPES) hinzugegeben werden.

Lagerung

Ultroser G wird als lyophilisiertes Pulver geliefert. Das Produkt wird bei Umgebungstemperatur versandt und ist nach Erhalt bei 2 – 8 °C zu lagern. Nach Rekonstitutionierung ist die Lösung sofort zu verwenden oder sie kann aliquotiert und mehrere Wochen lang bei -20 °C eingefroren werden.

Nach dem Auftauen das Produkt nicht wieder einfrieren.



Ultroser G enthält ein menschliches Protein, das sich in Tests als nicht reaktiv erwiesen hat mit:

- Oberflächenantigenen (HBs-Ag) wie Hepatitis B
 - Antikörpern Anti-HIV I/II, Anti-HCV
 - Syphilis,
- und zwar in gemäß von der FDA zugelassenen Tests. Dennoch sollte das Produkt als potenzielles Infektionsmittel bei jeglicher Handhabung betrachtet werden.

Literaturhinweis

Le clonage des cellules du liquide amniotique, aide dans l'interprétation des mosaïques chromosomiques en diagnostic prénatal.
Boué, J., et al., Ann. Genet. 22, Nr. 1 (1979) 3.

Hersteller

Pall BioSeptra - 48 avenue des Genottes
95800 Cergy-Saint-Christophe, France
Tel. +33 (0)1 34 20 78 00

Auf dem Etikett verwendete Symbole

- Hersteller
- Bestellnummer
- Losnummer
- Mindestens haltbar bis
- Temperaturgrenzen
- Produkt zur *In-vitro*-Diagnostik
- Biologische Gefahren
- Siehe Gebrauchsanweisung

Produktreferenzen

Produkt	Verpackungseinheit	Bestellnr.
Ultroser G	20 mL	15950-017

