

Instructions For Use (IFU)

Ultroser™ G

Serum Substitute for Animal Cell Culture

1. Introduction

Ultroser G is a semi-defined serum substitute that can be used as a replacement for FBS (Fetal Bovine Serum) in animal cell cultures. It is designed for *in vitro* culture of anchorage- dependent cells. The biological activity is 5 times that of FBS. The product is supplied as a lyophilized powder corresponding to 20 mL of substitute. Ultroser G is for research use only and not for use in diagnostic procedures.

2. Preparation and 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 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 0.2 µm pore diameter. This will not result in any loss of activity.

3. Concentration

After reconstitution, Ultroser 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% Ultroser 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 Ultroser G serum substitute, nor in correlation with the results obtained with FBS in the same conditions of use.

4. 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.

5. Culture Support

The culture support is the same as that used with FBS. Ultroser 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, or adhesion factors such as fibronectin.

6. Trypsinization

The trypsinization techniques for tissues and mono layered 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 or 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.

7. Cell Transfer

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

- Direct transfer of the cells in the medium supplemented with Ultroser G serum substitute,
- 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 Ultroser 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.

2730265-000-00



8. Storage

Ultroser G serum substitute is available as a lyophilized powder. The product is shipped at ambient temperature and must then be stored between 2 and 8 °C. Once reconstituted, the solution must be used up quickly. Other wise it can be aliquoted and stored frozen at -20 °C for several weeks. Frequent freezing and thawing must be avoided.

9. Manufacturer

Sartorius Stedim Chromatography Resins SAS
48 avenue des Genottes
95800 Cergy Saint Christophe
France
Phone +33 1 34 20 78 00
Emergency phone (Global) +44 1865 407 333 (Sartorius 29003)

10. Symbols Used on the Label

Manufacturer	Temperature limitation
Catalog number	For Research Use Only
Batch code	Consult instructions for use
Use by	

11. Ordering Information

Product	Pack Size	Part Number
Ultroser G	20 mL	15950-017

Instructions d'utilisation

Ultroser™ G

Substitut de sérum pour culture de cellules animales

1. Présentation

Ultroser G est un substitut de sérum semi-défini qui peut être utilisé en remplacement du SVF (Sérum de Veau Foetal) dans les milieux de culture de cellules animales. Il est conçu pour la culture *in vitro* de cellules adhérentes. L'activité biologique est cinq fois celle du SVF. Le produit est sous forme de poudre lyophilisée correspondant à 20 ml de substitut. Ultroser G est à usage de recherche uniquement et ne peut être utilisé dans des procédures de diagnostic.

2. 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 0,2 µm. Ceci n'entraîne aucune perte d'activité.

3. Concentration

Le substitut de sérum Ultroser 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'Ultroser 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 Ultroser G, ni en corrélation avec les résultats obtenus avec le SVF dans les mêmes conditions d'utilisation.

4. 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.

5. Support de culture

Le support de culture est le même que celui utilisé en présence de SVF. Le substitut de sérum Ultroser 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, ou des facteurs d'adhésion tels que la fibronectine.

6. 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 trypsineavant 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, lasuspension cellulaire peut être passée à travers un tamis cellulaire de maille 40 µm.

7. Transfert cellulaire

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

- Transfert direct des cellules dans un milieu supplémenté en substitut de sérum Ultroser G,
- 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 Ultroser 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.

8. Conservation

Le substitut de sérum Ultroser G est disponible sous forme de poudre lyophilisée. Le produit est expédié à température ambiante, et doit être ensuite conservé entre 2 et 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.

9. Fabricant

Sartorius Stedim Chromatography Resins SAS
48 avenue des Genottes
95800 Cergy Saint Christophe
France
Phone +33 1 34 20 78 00
Emergency phone (Global) +44 1865 407 333 (Sartorius 29003)

10. Symboles utilisés sur l'étiquette

Fabricant	Limite de température
Référence du catalogue	Pour la recherche uniquement
Code du lot	Consulter le manuel d'utilisation
Utiliser jusque	

11. Référence produit

Produit	Conditionnement	Réf. Produit
Ultroser G	20 ml	15950-017

