

- 2<sup>ème</sup> passage : 25 % MSS + 75 % MSU
- 3<sup>ème</sup> passage : 10 % MSS + 90 % MSU
- 4<sup>ème</sup> 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.

## 2 - Ultroser SF

### 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 habituellement utilisé en présence de SVF. Le substitut de sérum **Ultroser SF** 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,

 **Les substituts de sérum **Ultroser HY** et **SF** contiennent 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, ces produits doivent être potentiellement considérés comme des agents infectieux lors de toute manipulation.**

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

La technique est la même que pour le substitut de sérum **Ultroser HY** (voir page 1).

### Conservation

Le produit sous forme lyophilisée (**Ultroser HY**) est expédié à température ambiante, et doit être ensuite conservé à 2 – 8 °C.

Le produit sous forme congelée (**Ultroser HY** et **SF**) est expédié en cabloglace, et doit être conservé à -20 °C à l'arrivée.

Une fois reconstituées, les solutions doivent être utilisées immédiatement, ou elles peuvent être aliquotées et congelées à -20 °C pendant plusieurs semaines.

Ne pas recongeler plusieurs fois le produit.

### Références produit

Produit	Cond.	Réf. produit
<b>Ultroser HY</b> (lyophilisé)	20 mL	66029-018
<b>Ultroser HY</b> (congelé)	400 mL	12038-022
<b>Ultroser SF</b> (congelé)	10x10 mL	12039-012



#### New York - USA

+1 516.484.5400 tel.  
+1 516.801.9548 fax  
pharmafilter@pall.com

#### Portsmouth - UK

+44 (0)23 9230 3303 tel.  
+44 (0)23 9230 2506 fax  
BioPharmUK@europe.pall.com

#### Cergy - France

+33 (0)1 34 20 78 00 tel.  
+33 (0)1 34 20 78 78 fax  
bioseprainfo@pall.com

Filtration. Separation. Solution.<sup>SM</sup>

[www.pall.com/biopharmaceutical](http://www.pall.com/biopharmaceutical)

 Pall, BioSeptra, Ultroser sont des marques de Pall Corporation.

**Filtration. Separation. Solution.** est une marque de service de Pall Corporation.

® indique une marque enregistrée aux Etats-Unis.

© Pall Corporation 2006

Rev. 02/2006



# Ultroser<sup>®</sup> HY and Ultroser SF

## Serum Substitutes for Cell Culture

### ■ Presentation

**Ultroser HY** and **SF** are serum substitutes successfully used to replace FBS (Fetal Bovine Serum) in cell culture media.

**Ultroser HY** serum substitute is used for growth of hybridoma and lymphoblastoid cells. It is available as a lyophilized powder corresponding to 20 mL of substitute, and in frozen form, in 400 mL vials.

**Ultroser SF** serum substitute is used in the *in vitro* culture of many anchorage-dependent cells which require a low steroid content medium. It is available in frozen form, in 10 mL vials.

Their biological activity is 5 times that of FBS.

### ■ Preparation

#### 1 - Lyophilized product (HY): 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.

#### 2 - Frozen product (HY and SF): Thawing

Before use, leave the frozen vial at room temperature for a few hours. To speed up the thawing, cool water (30 °C) can be run over the vial continuously.

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. The product must be used up immediately after thawing.

### ■ Concentration

After reconstitution, **Ultroser G** and **HY** serum substitutes have a biological activity 5 times greater than that of FBS. They 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** 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 **Ultroser** concentration, nor in correlation with the results obtained with FBS in the same conditions of use.

### ■ Method of culture

#### 1 - Ultroser HY

##### Culture medium

Depending on cell requirements, different basal media such as Iscove (IMDM), RPMI, HAM's F12 or a HAM's F12 / RPMI mix may be used.

##### 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 **Ultroser HY** serum substitute,
- 2/ Or after an adaptation period by progressively reducing the quantity of serum, over a few passages:

- 1<sup>st</sup> passage: 50 % medium supplemented with serum (MSS) + 50 % medium supplemented with **Ultroser HY** serum substitute (MSU) in the optimum concentration.

- 2<sup>nd</sup> passage: 25 % MSS + 75 % MSU
- 3<sup>rd</sup> passage: 10 % MSS + 90 % MSU
- 4<sup>th</sup> 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  $7.2 \pm 0.1$ . Sodium bicarbonate or a synthetic buffer (HEPES) may be added to improve the buffering power of the medium.

## 2 - Ultrosor SF

### 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 currently used with FBS. **Ultrosor SF** 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 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, aprotinin..., at a

 **Ultrosor HY and SF serum substitutes contain 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, these products should be considered as potentially infectious agents during handling.**

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

The technique for cell transfer is the same as that used for **Ultrosor HY** serum substitute (see Page 1).

## Storage

The lyophilized product (**Ultrosor HY**) is shipped at ambient temperature and must then be stored at 2 – 8 °C.

The product in frozen form (**Ultrosor HY** and **SF**) is shipped in dry ice and must be stored at -20 °C on arrival.

Once reconstituted, the solutions must be used up quickly. Otherwise they can be aliquoted and stored frozen at -20 °C for several weeks.

Frequent freezing and thawing must be avoided.

## Ordering Information

Product	Pack size	Cat. No.
<b>Ultrosor HY</b> (lyophilized)	20 mL	66029-018
<b>Ultrosor HY</b> (frozen)	400 mL	12038-022
<b>Ultrosor SF</b> (frozen)	10x10 mL	12039-012

# Ultrosor® HY et Ultrosor SF

## Substituts de sérum pour culture cellulaire

### ■ Présentation

**Ultrosor HY** et **SF** sont des substituts de sérum utilisés avantageusement pour remplacer le SVF (Sérum de Veau Foetal) dans les milieux de culture cellulaire.

Le substitut de sérum **Ultrosor HY** est conçu pour la culture des hybridomes et des cellules lymphoblastoïdes. Il est fourni sous forme de poudre lyophilisée correspondant à 20 ml de substitut et sous forme congelée, en flacon de 400 ml.

Le substitut de sérum **Ultrosor SF** est employé pour la culture *in vitro* de nombreuses cellules adhérentes nécessitant un milieu appauvri en stéroïdes. Il est fourni sous forme congelée correspondant à 10 ml de substitut.

Leur activité biologique est cinq fois celle du SVF.

### ■ Préparation

#### 1 - Forme lyophilisée (HY) : 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.

#### 2 - Forme congelée (HY et SF) : Décongélation

Placer le flacon à température ambiante quelques heures avant utilisation. Pour accélérer la décon-

gélation, le flacon pourra être passé sous l'eau chaude (30°C). La solution est claire et de couleur rose. Filtrer la solution à travers une membrane stérilisante de porosité 0,22 µm. Cette opération n'entraîne aucune perte d'activité. Utiliser le produit immédiatement.

### ■ Concentration

Une fois reconstitués, les substituts de sérum **Ultrosor HY** et **SF** possèdent une activité biologique cinq fois supérieure à celle du SVF. Ils doivent être utilisés 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** 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**, ni en corrélation avec les résultats obtenus avec le SVF dans les mêmes conditions d'utilisation.

### ■ Méthode de culture

#### 1 - Ultrosor HY

##### Milieu de culture

Selon les cellules cultivées, on utilisera différents milieux de base tels que : Iscove (IMDM), le RPMI, le HAM F12 ou le mélange HAM F12/RPMI.

##### 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 HY**,
- 2/ Ou après un temps d'adaptation en réduisant progressivement la quantité de sérum en plusieurs passages :

- 1<sup>er</sup> passage : 50 % de milieu supplémenté en sérum (MSS) + 50 % de milieu supplémenté en **Ultrosor HY** (MSU) à concentration optimale

#### New York - USA

+1 516.484.5400 tel.  
+1 516.801.9548 fax  
pharmafilter@pall.com

#### Portsmouth - UK

+44 (0)23 9230 3303 tel.  
+44 (0)23 9230 2506 fax  
BioPharmUK@europe.pall.com

#### Cergy - France

+33 (0)1 34 20 78 00 tel.  
+33 (0)1 34 20 78 78 fax  
bioseprainfo@pall.com