

Référence : pour les macro-éléments, c'est le 10 de CHU modifié par HUGHES, J.C & LUND, J.W.G.

Note : Utiliser de l'eau Milli-Q fraîche pour la préparation des solutions stocks et du milieu de culture.
Les solutions stocks ainsi que le milieu de culture sont à conserver au réfrigérateur.

Liste des solutions stocks :

- DV1 : Ca (NO₃)₂, 4 H₂O à 20 g/L
- DV2 : K₂HPO₄, 3H₂O à 40,62 g/L ou (K₂HPO₄ à 20 g/L)
- DV3 : MgSO₄, 7 H₂O à 25 g/L
- DV4 : Na₂CO₃ à 21 g/L
- DV5 : Na₂SiO₃, 5 H₂O à 21,2 g/L ou (Na₂SiO₃, 9H₂O à 58 g/L)
- DV6 : Solution de Fe-EDTA (*)
- DV7 : Solution d'oligo-éléments (**)
- DV8 : Solution de vitamine B₁₂ (Cyanocobalamine) à 0,0001 g/L (***)
- DV9 : Solution de Biotine à 0,01 g/L
- DV10 : Solution de Thiamine à 0,1 g/L

(*) Préparation de la Solution de Fe-EDTA :

(a) Solution de EDTA-Na₂, 2 H₂O :

Dans une fiole jaugée de 500 ml, peser 323,52 mg de EDTA-Na₂, 2 H₂O et ajuster à 500 ml avec de l'eau milli-Q.

(b) Solution de HCl 0,1M :

Dans une fiole jaugée de 100 ml, transférer 1 ml de HCl concentré et ajuster à 100 ml avec de l'eau milli-Q.

(c) Solution de FeCl₃, 6 H₂O :

Dans une fiole jaugée de 50 ml, peser 1,351 g de FeCl₃, 6 H₂O puis ajuster à 50 ml avec de l'HCl 0,1 M.

Dans une fiole jaugée de 1 L, transférer 500 ml de la solution (a) et 10 ml de la solution (c) puis ajuster à 1 L avec de l'eau milli-Q.

	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
Nom :	Huguet Isabelle	Chardon Cécile	Rimet Frédéric
Fonction :	Technicienne	Technicienne de Recherche	Ingénieur d'Etudes
Visa :			

(**) Préparation de la Solution d'oligo-éléments :

Dans une fiole jaugée de 500 ml, peser :

Nom de l'élément	Masse à peser (en mg)
H ₃ BO ₃	1550
MnSO ₄ , H ₂ O / MnSO ₄ , 4 H ₂ O	858,5 / 1115
Na ₂ WO ₄ , 2 H ₂ O	16,5
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ , 4 H ₂ O	44
KBr	59,5
KI	41,5
ZnSO ₄ , 7 H ₂ O	143,5
Cd(NO ₃) ₂ , 4 H ₂ O	77
Co(NO ₃) ₂ , 6 H ₂ O	73
Cu SO ₄ , 5 H ₂ O	62,5
Ni(NO ₃) ₂ , 6 H ₂ O / NiSO ₄ (NH ₄) ₂ SO ₄ , 6 H ₂ O	72,9 / 99
Cr(NO ₃) ₃ , 9 H ₂ O / Cr(NO ₃) ₃ , 7 H ₂ O	20,3 / 18,5
NH ₄ VO ₃ / V ₂ O ₄ (SO ₄) ₃ , 16 H ₂ O	5,5 / 17,5
Al(SO ₄) ₂ K, 12 H ₂ O / Al ₂ (SO ₄) ₃ K ₂ SO ₄ , 24 H ₂ O	237 / 237

Puis ajuster au volume avec de l'eau Milli-Q.

(***) Préparation de la solution stock de vitamine B₁₂ (Cyanocobalamine) à 0,0001 g/L :

Dans une fiole jaugée de 100 ml, peser 1 mg de vitamine B₁₂, puis ajuster au volume avec de l'eau Milli-Q. Ceci est la solution 1.

Diluer au 1ml de la solution 1 dans une fiole jaugée de 100 ml avec de l'eau Milli-Q. Ceci est la solution DV8.

	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
Nom :	Huguet Isabelle	Chardon Cécile	Rimet Frédéric
Fonction :	Technicienne	Technicienne de Recherche	Ingénieur d'Etudes
Visa :			

Préparation d'un litre de milieu de culture DV:

N° de la solution stock	Nom de la solution stock	Concentration de la solution stock (g/L)	Volume de la solution stock à prélever (mL)
DV1	Ca (NO ₃) ₂ , 4 H ₂ O	20	2
DV2	K ₂ HPO ₄ , 3H ₂ O	40,62	0,323
DV3	MgSO ₄ , 7 H ₂ O	25	1
DV4	Na ₂ CO ₃	21	0,95
DV5	Na ₂ SiO ₃ , 5 H ₂ O	21,2	2
DV6	Solution de Fe-EDTA	-	10
DV7	Solution d'oligo-éléments	-	0,1
DV8	Solution de vitamine B ₁₂	0,0001	1
DV9	Solution de Biotine	0,01	0,05
DV10	Solution de Thiamine	0,1	1

Compléter à 1 litre avec de l'eau milli-Q fraîche.

Puis filtrer le milieu DV sur un filtre de 0,22µm de diamètre sous la hotte à flux laminaire.

	Rédacteur	Vérificateur	Approbateur
Nom :	Huguet Isabelle	Chardon Cécile	Rimet Frédéric
Fonction :	Technicienne	Technicienne de Recherche	Ingénieur d'Etudes
Visa :			