

| | | |
|---|---|--|
|  | Instruction | Réf. : IT-07 |
| | Préparation du milieu (Z+Si+Vitamines) | Version : 1 Date : 28/11/2011 Page : 1/3 |

Référence : basé sur la formule de Z, du CHU-10 (UTCC), vitamines F/2 (UTCC)

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 :

- ZSV1 : $\text{Na}_2\text{SiO}_3, 5 \text{H}_2\text{O}$ à 21,2 g/L
- ZSV 2 : NaNO_3 à 85 g/L
- ZSV 3 : $\text{MgSO}_4, 7 \text{H}_2\text{O}$ à 25 g/L
- ZSV 4 : $\text{K}_2\text{HPO}_4, 3\text{H}_2\text{O}$ à 40,62 g/L ou (K_2HPO_4) à 20 g/L
- ZSV 5 : $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2, 4 \text{H}_2\text{O}$ à 20 g/L
- ZSV 6 : Na_2CO_3 à 21 g/L
- ZSV 7 : Solution de Fe-EDTA (*)
- ZSV 8 : Solution d'oligo-éléments (**)
- ZSV 9 : Solution de vitamine B12 (*Cyanocobalamine*) à 0,0001 g/L (***)
- ZSV 10 : Solution de Biotine à 0,01 g/L
- ZSV 11 : Solution de Thiamine à 0,1 g/L

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

(a) Solution de EDTA- $\text{Na}_2, 2 \text{H}_2\text{O}$:

Dans une fiole jaugée de 500 ml peser 323,52 mg de EDTA- $\text{Na}_2, 2 \text{H}_2\text{O}$ 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 : | | | |

| | | |
|---|---|--|
|  | Instruction | Réf. : IT-07 |
| | Préparation du milieu (Z+Si+Vitamines) | Version : 1 Date : 28/11/2011 Page : 2/3 |

(**) 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 a.

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

Ceci est la solution 9.

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

| | | |
|---|---|--|
|  | Instruction | Réf. : IT-07 |
| | Préparation du milieu (Z+Si+Vitamines) | Version : 1 Date : 28/11/2011 Page : 3/3 |

Préparation d'un litre de milieu de culture Z+Si+Vitamines :

| 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) |
|-------------------------|---|--|---|
| ZSV1 | Na ₂ SiO ₃ , 5 H ₂ O | 21,2 | 2,65 |
| ZSV2 | NaNO ₃ | 85 | 5,50 |
| ZSV3 | MgSO ₄ , 7 H ₂ O | 25 | 1 |
| ZSV4 | K ₂ HPO ₄ , 3 H ₂ O | 40,62 | 1,2 |
| ZSV5 | Ca (NO ₃) ₂ , 4 H ₂ O | 20 | 2,95 |
| ZSV6 | Na ₂ CO ₃ | 21 | 1 |
| ZSV7 | Solution de Fe-EDTA | - | 10 |
| ZSV8 | Solution d'oligo-éléments | - | 0,080 |
| ZSV9 | Solution de vitamine B12 | 0,0001 | 0,1 |
| ZSV10 | Solution de Biotine | 0,01 | 0,1 |
| ZSV11 | Solution de Thiamine | 0,1 | 2 |

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

Puis filtrer le milieu (Z+Si+Vitamines) 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 : | | | |