



MILIEU ESSENTIEL MINIMUM DE EAGLE MODIFIE PAR DULBECCO IVD (DMEM)

REF CM1DME60-01

IVD € CM1DME68-01

CM1DME60/68 + Version 4.01 + Juillet 2022



Fiche technique
Disponible sur www.eurobio-scientific.com

Table des matières

1. Informations générales	3
2. Destination du dispositif	3
3. Symboles.....	4
4. Conditionnement	5
5. Caractéristiques et Formulations	6
6. Conservation et stockage	7
7. Livraison.....	7
8. Matériel requis non fournis	7
9. Mises en garde et précautions	7
10. Protocole.....	7
11. Contrôle qualité.....	8
12. Elimination des déchets	9
13. Déclaration d'incident	9
14. Assistance technique	9
15. Bibliographie.....	10
1. General information	13
2. Intended use.....	13
3. Symbols.....	14
4. Packaging.....	15
5. Characteristics and formulation	16
6. Conservation and Storage	17
7. Shipping.....	17
8. Required material non provided	17
9. Warnings and precautions	17
10. Protocole.....	17
11. Quality control	18
12. Waste disposal	19
13. Incident report.....	19
14. Technical assistance	19
For assistance with our products, please contact our technical support.....	19
EUROBIO Scientific customer service can be reached by e-mail at adv@eurobio-scientific.com or by phone at +33 (0)1.69.79.64.80	19
15. Bibliography.....	20

FICHE TECHNIQUE
MILIEU ESSENTIEL MINIMUM DE EAGLE MODIFIE PAR DULBECCO IVD (DMEM)

1. Informations générales

Le Milieu de Dulbecco (DMEM) est la modification la plus utilisée du Milieu Essentiel Minimum de Eagle (MEM). La principale caractéristique de ce milieu est de contenir quatre fois plus d'acides aminés que le Milieu de Base de Eagle (MBE) et quatre fois plus de vitamines que le MEM, quelques acides aminés non essentiels et du nitrate ferrique.

2. Destination du dispositif

Le Milieu de Dulbecco (DMEM) est utilisé pour une variété d'applications de culture cellulaire. Le DMEM est disponible sous deux formulations. La formulation originale contient 1 g/L de glucose. D'autres formulations, avec un taux de glucose de 4,5 g/L ont été développées pour permettre la croissance de cultures primaires de diverses lignées cellulaires normales ou transformées, tels que les fibroblastes primaires, les neurones, les cellules gliales, les cellules HUVEC et les cellules musculaires lisses, ainsi que les lignées cellulaires telles que HeLa, 293, Cos-7 et PC-12. Le Milieu DMEM peut être supplémenté en pyruvate de sodium à raison de 110 mg/L.

Le Milieu de Dulbecco (DMEM) convient donc pour une utilisation dans les procédures de diagnostic *In Vitro*.

Le Milieu de Dulbecco (DMEM) est un dispositif médical de diagnostic *In Vitro*, il ne peut être recyclé.

Le Milieu de Dulbecco (DMEM) doit être utilisé par du personnel de laboratoire d'analyse de biologie médicale qualifié.

3. Symboles



Référence



Numéro de lot



Limite de température



Date d'expiration



Fabricant



Produit marqué CE



Pour usage in vitro



Consulter la notice
d'utilisation



Attention, lire la
notice d'utilisation



Date de fabrication



Ne pas utiliser si
l'emballage est
endommagé

4. Conditionnement

Différents conditionnements ainsi que différentes formulations sont disponibles.

Milieu Essentiel Minimum modifié par Dulbecco (D-MEM), haute concentration en glucose (4.5 g/L)

Produit	Référence	Condit.
Milieu Essentiel Minimum modifié par Dulbecco, 4.5 g/L glucose Avec bicarbonate de sodium, Sans L-glutamine	CM1DME60-01	500 mL
Milieu Essentiel Minimum modifié par Dulbecco, 4.5 g/L glucose Avec bicarbonate de sodium, Avec L-glutamine stabilisé	CM1DME68-01	500 mL

FICHE TECHNIQUE
MILIEU ESSENTIEL MINIMUM DE EAGLE MODIFIE PAR DULBECCO IVD (DMEM)

5. Caractéristiques et Formulations

Composant mg/L	CM1DME60 Liquide 1X	CM1DME68 Liquide 1X
CaCl ₂ anh.	200	200
Fe(NO ₃) ₃ 9H ₂ O	0,1	0,1
KCl	400	400
MgSO ₄ anh.	97,7	97,7
NaCl	6400	6400
NaH ₂ PO ₄ anh.	109	109
NaHCO ₃	3700	3700
L-arginine-HCl	84	84
L-cystine	48	48
Glutabio	-	584
Glycocolle	30	30
L-histidine HCl H ₂ O	42	42
L-isoleucine	105	105
L-leucine	105	105
L-lysine HCl	146	146
L-méthionine	30	30
L-phénylalanine	66	66
L-serine	42	42
L-thréonine	95	95
L-tryptophane	16	16
L-tyrosine	72	72
L-valine	94	94
D-glucose	4500	4500
Rouge de phénol ml/L	1.5	1.5
D-Ca-panthothénate	4	4
Chlorure de Choline	4	4
Acide Folique	4	4
I-inositol	7,2	7,2
Nicotinamide	4	4
Pyridoxine HCl	4	4
Riboflavine	0,4	0,4
Thiamine HCl	4	4

6. Conservation et stockage

Conserver les milieux DMEM à +2°C/+8°C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
Après ouverture du flacon, conserver les milieux à +2°C/+8°C pendant 1 mois.

7. Livraison

La livraison du dispositif est effectuée à température ambiante. En effet un transit temporaire à température ambiante n'altère pas les caractéristiques du produit.

8. Matériel requis non fournis

En fonction de l'application, du matériel non fourni peut-être requis (pipettes, flasques, micropipettes...).

9. Mises en garde et précautions

Les milieux liquides 1X, sauf expressément mentionné, ne contiennent pas de L-glutamine afin d'augmenter leur stabilité et leur durée de conservation. Des suppléments peuvent être ajoutés stérilement à la solution. La nature des suppléments pourra affecter les conditions de stockage et la durée de vie du milieu.

L'utilisateur doit vérifier en amont que toute utilisation avec un autre réactif n'impacte pas les performances du dispositif.



Ne pas utiliser le produit si l'emballage individuel est endommagé.

Le dispositif doit être manipulé avec précaution par l'utilisateur de façon à conserver l'état microbiologique vérifié du produit.

10. Protocole

PROCEDURE D'UTILISATION (à titre indicatif) :

Entretien de cellules VERO (cellules adhérentes) :

<i>Etapes</i>	<i>Description</i>
1	Observer les flasques au microscope et visualiser les cellules (quantité, morphologies...).
2	Si tout est conforme, vider le milieu par retournement se trouvant dans la flasque dans la poubelle sous la hotte.
3	Rincer avec 10mL de solution de PBS (CS1PBS01-0U) en agitant légèrement le milieu sur le fond de la flasque.

FICHE TECHNIQUE

MILIEU ESSENTIEL MINIMUM DE EAGLE MODIFIE PAR DULBECCO IVD (DMEM)

4	Vider la solution de PBS dans la poubelle sous la hotte par retournement.
5	Ajouter 5mL de Trypsine-EDTA (CEZTDA01-0U) en agitant légèrement la flasque afin de répartir sur la totalité du tapis cellulaire la solution de trypsine.
6	Vider par retournement la solution de trypsine
7	Tapoter légèrement la boîte pour décoller les cellules du fond de la boîte.
8	Lorsque toutes les cellules sont décollées, ajouter 20mL de milieu de base supplémenté.
9	Ajouter 20mL de milieu de base supplémenté dans une nouvelle flasque.
10	Agiter la flasque avec les cellules décollées puis prélever 2mL de la suspension cellulaire de l'ancienne flasque.
11	Ajouter les 2mL prélevés dans la nouvelle flasque.
12	Prélever 2mL de milieu de base supplémenté et les mettre dans l'ancienne flasque pour avoir de nouveau un volume de 20mL.
13	Incuber à 37°C sous 5% CO ₂ la nouvelle flasque et l'ancienne. Le bouchon doit être légèrement dévissé.
	Le produit est destiné à être utilisé en in-vitro, ne pas l'utiliser en thérapie humaine ou applications vétérinaires

11. Contrôle qualité

Contrôles physico chimiques :

Le pH et l'osmolarité sont mesurés par un pH-mètre et un osmomètre étalonnés avec des solutions standards raccordés à des étalons nationaux.

Contrôles microbiologiques :

- Cinétique relative de croissance

Ce test permet d'évaluer de façon générale la capacité de chaque lot de milieu à favoriser la culture de cellules. Les essais sont conduits sur plusieurs lignées cellulaires normales et transformées représentatives des principaux critères d'exigences de culture et de sensibilité aux carences nutritionnelles et aux éléments cytotoxiques. Ce test permet la comparaison qualitative et quantitative de la multiplication cellulaire, durant la phase exponentielle de croissance. Une culture de cellules entretenue avec le milieu à tester est comparée à une culture de cellule entretenue avec un milieu de référence.

- Permanence d'efficacité

Plusieurs sous cultures consécutives de lignées cellulaires connues pour leur sensibilité aux carences nutritionnelles et aux éléments cytotoxiques sont effectuées.

Pour chaque sous culture, le degré de prolifération des cellules et l'absence de signes de cytotoxicité sont contrôlés

12. Elimination des déchets

Eliminer tous les déchets conformément à la législation sur les DASRI.

13. Déclaration d'incident

Tout incident grave survenu en lien avec le dispositif fait l'objet d'une notification à EUROBIO et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

14. Assistance technique

Pour obtenir une assistance sur nos produits, merci de contacter notre support technique.

Le service clients d'EUROBIO est joignable par voie électronique (mail), à l'adresse adv@eurobio-scientific.com ou par téléphone au +33 (0)1.69.79.64.80



7, avenue de Scandinavie
91953 Les Ulis Cedex
FRANCE

15. Bibliographie

- ❑ Balk, S.D., Lestourgeon, D. and Mitchell, R.S. 5-methyltetrahydrofolic acid, 5-formyltetrahydrofolic acid (folinic acid), and folie acid requirements of normal and Rous sarcoma virus-infected chicken fibroblasts. *Cancer Res.*, 1978, 38, 3966-3968.
- ❑ Carrel, A. and Burrows, M.T. Cultivation of adult tissues and organs outside of the body. *J. Am. Med. Ass.*, 1910, 55, 1379-1381.
- ❑ Eagle, H. The specific amino acid requirements of a human carcinoma cell (strain HeLa) in tissue culture. *J. Exp. Med.*, 1955, 102, 37-48.
- ❑ Eagle, H. The minimum vitamins requirements of the L and HeLa cells in tissue culture, the production of specific vitamin deficiencies and their cure. *J. Exp. Med.*, 1955, 102, 595-600.
- ❑ Eagle, H. Nutrition needs of mammalian cells in tissue culture. *Science*, 1955, 122, 501-504.
- ❑ Eagle, W.R. Production of malignancy in vitro-IV the mouse fibroblast cultures and changes seen in the living cells. *J. Nat. Cancer. Inst.*, 1943, 4, 165-212.
- ❑ Fischer, A., Astrup, P., Ehrens-Vård, G. and Ohlenschlager, V. Growth of animal tissue cells in artificial media. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1948, 67, 40-46.
- ❑ Gey, G.O. An improved technique for massive tissue culture. *Am. J. Cancer*, 1933, 17, 752-756.
- ❑ Graham, A.F. and Siminovitch, L. Prolifération of monkey kidney cells in rotating cultures. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1955, 89, 326-327.
- ❑ Griffith, J.B. and Pirt, S.J. The uptake of amino acids by mouse cells (strain LS) during growth in batch culture and chemostat culture : the influence of cell growth rate. *Proc. Roy. Soc. Serie B*, 1967, 168, 421-438.
- ❑ Ham, R.G. Clonal growth of mammalian cells in chemically defined medium. *Proc Natl. Acad. Sci.*, 1965, 53, 288-293.
- ❑ McKeehan, W.L., McKeehan, K.A., Hanunon, S.L. and Ham, R.G. Improved media for clonal growth of human diploid fibroblasts at low concentration of serum protein. *In vitro*, 1977, 13, 399-416.
- ❑ Monard, D., Solomon, F., Rentsch, M. and Gysin, R. Glia-induced morphological differentiation in neuroblastoma cells. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1973, 70, 1894-1897.
- ❑ Morgan, J.F., Morton, H.J. and Parker, R.C. Nutrition of animal cells in tissue culture. I. Initial studies on a synthetic medium. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1950, 73, 1-8.
- ❑ Moscona, A. Cell suspensions from organ rudiments of chick embryos. *Exp. Cell Res.*, 1952, 3, 535-539.
- ❑ Reitzer, J.L., Wice, B.M. and Kennell, D. Evidence that glutamine, not sugar, is a major energy source of cultured HeLa cells. *J. Biol. Chem.*, 1979, 254, 2669-2676.
- ❑ Rous, P. and Jones, F.A. A method of obtaining suspensions of living cells from the fixed tissues and from the plating out of individual cells. *J. Exp. Med.* 1916, 23, 549-555.
- ❑ Waymouth, C. Osmolality of mammalian blood and media for culture of mammalian cells. *In vitro*, 1970, 6, 109-127.
- ❑ F. Devreker, K. Hardy, M. Van den Bergh, A.S. Vannin, S. Emiliani and Y. Englert Amino acids promote human blastocyst development in vitro .*Human Reproduction* Vol.16, No.4 pp. 749-756, 2006.
- ❑ Mitalipov SM1, White KL, Farrar VR, Morrey J, Reed WA. Development of nuclear transfer and parthenogenic rabbit embryos activated with inositol 1,4,5-Trisphosphate. *Biol Reprod.* 1999 Apr;60(4):821-7.



DULBECCO'S MODIFIED EAGLE'S MEDIUM

REF CM1DME60-01

IVD CE CM1DME68-01

CM1DME60/68 + Version 4.01 + July 2022



Instructions for use
Available on www.eurobio-scientific.com

INSTRUCTIONS FOR USE DULBECCO'S MODIFIED EAGLE'S MEDIUM (DMEM)

Table of contents

1. Informations générales	4
2. Destination du dispositif	4
3. Symboles.....	5
4. Conditionnement	6
5. Caractéristiques et Formulations	7
6. Conservation et stockage	8
7. Livraison	8
8. Matériel requis non fournis	8
9. Mises en garde et précautions	8
10. Protocole.....	8
11. Contrôle qualité.....	9
12. Elimination des déchets	10
13. Déclaration d'incident	10
14. Assistance technique	10
15. Bibliographie	11
1. General information	15
2. Intended use.....	15
3. Symbols.....	16
4. Packaging.....	17
5. Characteristics and formulation	18
6. Conservation and Storage	19
7. Shipping.....	19
8. Required material non provided	19
9. Warnings and precautions	19
10. Protocole.....	19
11. Quality control	20
12. Waste disposal	21
13. Incident report.....	21
14. Technical assistance	21
For assistance with our products, please contact our technical support	21
EUROBIO Scientific customer service can be reached by e-mail at adv@eurobio-scientific.com or by phone at +33 (0)1.69.79.64.80	21

INSTRUCTIONS FOR USE
DULBECCO'S MODIFIED EAGLE'S MEDIUM (DMEM)

15.	Bibliography	22
-----	--------------------	----

INSTRUCTIONS FOR USE

DULBECCO'S MODIFIED EAGLE'S MEDIUM (DMEM)

1. General information

Dulbecco's Medium (DMEM) is the most widely used modification of Eagle's Minimum Essential Medium (MEM). The main characteristic of this medium is that it contains four times more amino acids than Eagle's Basic Medium (MBE) and four times more vitamins than MEM, some non-essential amino acids, and ferric nitrate.

2. Intended use

Dulbecco's Medium (DMEM) is used for a variety of cell culture applications. DMEM is available in two formulations. The original formulation contains 1g/l glucose. Other formulations, with a glucose level of 4,5 g/l have been developed to allow the growth of primary culture of various normal or transformed cells lines such as primary fibroblasts, neurons, glials cells, HUVEC cells and smooth muscles cells, as well as cell lines such as HeLa, 293, Cos-7 and PC-12. DMEM medium can be supplemented with sodium pyruvate at 110 mg/L.

The Medium of Dulbecco (DMEM) is therefore suitable for a use in procedures for in vitro diagnostic.

The Medium of Dulbecco (DMEM) is a medical device for in vitro diagnostic, it cannot be recycled.

The Medium of Dulbecco (DMEM) should be used by qualified medical laboratory personnel.

INSTRUCTIONS FOR USE DULBECCO'S MODIFIED EAGLE'S MEDIUM (DMEM)

3. Symbols

	Reference
	Batch number
	Temperature limit
	Expiration date
	Manufacturer
	CE Marked product
	In vitro diagnostic medical device
	Instructions for use
	Warning, read the instruction for use
	Date of manufacture
	Do not use if the packaging is damaged

INSTRUCTIONS FOR USE

DULBECCO'S MODIFIED EAGLE'S MEDIUM (DMEM)

4. Packaging

Different compositions and concentrations are available.

Dulbecco's modified minimum essential (D-MEM), high glucose concentration (4.5 g/L)

Product	Reference	Packaging
Dulbecco's modified minimum essential, 4.5 g/L glucose With sodium bicarbonate, without L-glutamine	CM1DME60-01	500 mL
Dulbecco's modified minimum essential, 4.5 g/L glucose With sodium bicarbonate, with stabilized L-Glutamine	CM1DME68-01	500 mL

INSTRUCTIONS FOR USE
DULBECCO'S MODIFIED EAGLE'S MEDIUM (DMEM)

5. Characteristics and formulation

Components mg/L	CM1DME60 Liquid 1X	CM1DME68 Liquid 1X
CaCl ₂ anhydrous	200	200
Fe(NO ₃) ₃ 9H ₂ O	0,1	0,1
KCl	400	400
MgSO ₄ anhydrous	97,7	97,7
NaCl	6400	6400
NaH ₂ PO ₄ anhydrous	109	109
NaHCO ₃	3700	3700
L-arginine-HCl	84	84
L-cystine	48	48
Glutabio (Glutamine)	-	584
Glycocolle	30	30
L-histidine HCl H ₂ O	42	42
L-isoleucine	105	105
L-leucine	105	105
L-lysine HCl	146	146
L-methionine	30	30
L-phenylalanine	66	66
L-serine	42	42
L-threonine	95	95
L-tryptophan	16	16
L-tyrosine	72	72
L-valine	94	94
D-glucose	4500	4500
Phenol red ml/L	1.5	1.5
D-Ca-panthothenate	4	4
Choline Chloride	4	4
Folic Acid	4	4
I-inositol	7,2	7,2
Nicotinamide	4	4
Pyridoxine HCl	4	4
Riboflavine	0,4	0,4
Thiamine HCl	4	4

INSTRUCTIONS FOR USE DULBECCO'S MODIFIED EAGLE'S MEDIUM (DMEM)

6. Conservation and Storage

Store Dulbecco's Modified Eagle's Medium at +2°C/+8°C until the expiration date indicated on the label.

After opening the bottle, store the medium at +2°C/+8°C for 1 month.

7. Shipping

The delivery can be made at room temperature. Indeed, a temporary transit at room temperature does not alter the characteristics of the product.

8. Required material non provided

Depending on the application, not-supplied material may be required (pipets, flasks, micropipettes...).

9. Warnings and precautions

1X Liquid Media, unless specifically stated, does not contain L-glutamine to increase stability and shelf life. Supplements may be added sterily to the solution. The nature of the supplements may affect the storage conditions and shelf life of the medium.

The user should check in advance whether the use with another reagent affects or not the performance of the device.

The device should be handled with care by the user in order to maintain the verified microbiological status of the product.



Do not use if the packaging is damaged.

10. Protocole

OPERATING PROCEDURE (as an indication):

Maintenance of VERO cells (adherent cells) :

<i>Steps</i>	<i>Description</i>
1	Observe the flasks under the microscope and visualize the cells (quantity, morphologies...).
2	If everything is ok, empty the medium by turning over the flask in the waste garbage can under the hood.

INSTRUCTIONS FOR USE DULBECCO'S MODIFIED EAGLE'S MEDIUM (DMEM)

3	Rinse with 10mL of PBS solution (CS1PBS01-0U) by gently shaking the medium on the bottom of the flask.
4	Empty the PBS solution into the flask under the hood by inverting.
5	Add 5mL of Trypsin-EDTA (CEZTDA01-0U) by gently shaking the flask in order to distribute the trypsin solution over the entire cell mat.
6	Empty the trypsin solution by inverting it.
7	Lightly tap the dish to loosen the cells from the bottom of the dish.
8	When all the cells are detached, add 20mL of supplemented basal medium
9	Add 20mL of supplemented basal medium to a new flask
10	Shake the flask with the detached cells and then take 2mL of the cell suspension from the old flask.
11	Add the 2mL to the new flask.
12	Take 2mL of supplemented basal medium and add it to the old flask to have a volume of 20mL.
13	Incubate at 37°C under 5% CO ₂ the new flask and the old one. The cap should be slightly unscrewed.
	The product is intended for in-vitro use, not for human therapy or veterinary applications.

11. Quality control

Physical and chemical controls

pH and osmolarity are measured by a pH meter and an osmometer calibrated with standard solutions connected to national standards

Biological controls:

- Relative growth kinetics

This test allows a general evaluation of the capacity of each batch of medium to promote cell culture. The tests are conducted on several normal and transformed cell lines representative of main criteria of culture requirements and sensitivity to nutritional deficiencies and cytotoxic elements. This test allows the qualitative and quantitative comparison of cell multiplication during the exponential phase of growth. A cell culture maintained with the test medium is compared to a cell culture maintained with a reference medium.

- Permanence of efficiency

INSTRUCTIONS FOR USE DULBECCO'S MODIFIED EAGLE'S MEDIUM (DMEM)

Several consecutive subcultures of cell lines known to be sensitive to nutritional deficiencies and cytotoxic elements are performed.

For each subculture, the degree of cell proliferation and the absence of signs of cytotoxicity are monitored.

12. Waste disposal

Eliminate all waste according to local legislation.

13. Incident report

Any serious incident occurring in connection with the device shall be notified to EUROBIO SCIENTIFIC and to the competent authority of the Member State in which the user and/or patient is established.

14. Technical assistance

For assistance with our products, please contact our technical support.

EUROBIO Scientific customer service can be reached by e-mail at adv@eurobio-scientific.com or by phone at +33 (0)1.69.79.64.80



7, avenue de Scandinavie
91953 Les Ulis Cedex
FRANCE

INSTRUCTIONS FOR USE DULBECCO'S MODIFIED EAGLE'S MEDIUM (DMEM)

15. Bibliography

- ❑ Balk, S.D., Lestourgeon, D. and Mitchell, R.S. 5-methyltetrahydrofolic acid, 5-formyltetrahydrofolic acid (folinic acid), and folate requirements of normal and Rous sarcoma virus-infected chicken fibroblasts. *Cancer Res.*, 1978, 38, 3966-3968.
- ❑ Carrel, A. and Burrows, M.T. Cultivation of adult tissues and organs outside of the body. *J. Am. Med. Ass.*, 1910, 55, 1379-1381.
- ❑ Eagle, H. The specific amino acid requirements of a human carcinoma cell (strain HeLa) in tissue culture. *J. Exp. Med.*, 1955, 102, 37-48.
- ❑ Eagle, H. The minimum vitamins requirements of the L and HeLa cells in tissue culture, the production of specific vitamin deficiencies and their cure. *J. Exp. Med.*, 1955, 102, 595-600.
- ❑ Eagle, H. Nutrition needs of mammalian cells in tissue culture. *Science*, 1955, 122, 501-504.
- ❑ Eagle, W.R. Production of malignancy in vitro-IV the mouse fibroblast cultures and changes seen in the living cells. *J. Nat. Cancer. Inst.*, 1943, 4, 165-212.
- ❑ Fischer, A., Astrup, P., Ehrens-Vård, G. and Ohlenschlager, V. Growth of animal tissue cells in artificial media. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1948, 67, 40-46.
- ❑ Gey, G.O. An improved technique for massive tissue culture. *Am. J. Cancer*, 1933, 17, 752-756.
- ❑ Graham, A.F. and Siminovitch, L. Proliferation of monkey kidney cells in rotating cultures. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1955, 89, 326-327.
- ❑ Griffith, J.B. and Pirt, S.J. The uptake of amino acids by mouse cells (strain LS) during growth in batch culture and chemostat culture : the influence of cell growth rate. *Proc. Roy. Soc. Serie B*, 1967, 168, 421-438.
- ❑ Ham, R.G. Clonal growth of mammalian cells in chemically defined medium. *Proc Natl. Acad. Sci.*, 1965, 53, 288-293.
- ❑ McKeehan, W.L., McKeehan, K.A., Hanunon, S.L. and Ham, R.G. Improved media for clonal growth of human diploid fibroblasts at low concentration of serum protein. *In vitro*, 1977, 13, 399-416.
- ❑ Monard, D., Solomon, F., Rentsch, M. and Gysin, R. Glia-induced morphological differentiation in neuroblastoma cells. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1973, 70, 1894-1897.
- ❑ Morgan, J.F., Morton, H.J. and Parker, R.C. Nutrition of animal cells in tissue culture. I. Initial studies on a synthetic medium. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1950, 73, 1-8.
- ❑ Moscona, A. Cell suspensions from organ rudiments of chick embryos. *Exp. Cell Res.*, 1952, 3, 535-539.
- ❑ Reitzer, J.L., Wice, B.M. and Kennell, D. Evidence that glutamine, not sugar, is a major energy source of cultured HeLa cells. *J. Biol. Chem.*, 1979, 254, 2669-2676.
- ❑ Rous, P. and Jones, F.A. A method of obtaining suspensions of living cells from the fixed tissues and from the plating out of individual cells. *J. Exp. Med.* 1916, 23, 549-555.
- ❑ Waymouth, C. Osmolality of mammalian blood and media for culture of mammalian cells. *In vitro*, 1970, 6, 109-127.
- ❑ F. Devreker, K. Hardy, M. Van den Bergh, A.S. Vannin, S. Emiliani and Y. Englert Amino acids promote human blastocyst development in vitro .*Human Reproduction* Vol.16, No.4 pp. 749-756, 2006.
- ❑ Mitalipov SM1, White KL, Farrar VR, Morrey J, Reed WA. Development of nuclear transfer and parthenogenic rabbit embryos activated with inositol 1,4,5-Trisphosphate. *Biol Reprod.* 1999 Apr;60(4):821-7.