



MILIEUX RPMI 1640

REF

CM1RPM00-6U/01

CM1RPM06-6U/01

CM1RPM08-01

CM1RPMA6-01



CM1RPM00-06-08-A6 – version 4.01 - Juin 2022



Fiche technique

Disponible sur www.eurobio-scientific.com

Table des matières

Table des matières	1
--------------------------	---

Fiche technique milieu RPMI 1640

1.	Informations générales	3
2.	Destination du dispositif	3
3.	Symboles.....	4
4.	Conditionnement	5
5.	Caractéristiques et Formulations	5
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	8
13.	Déclaration d'incident	8
14.	Assistance technique	9
15.	Bibliographie.....	9
	Table of contents.....	12
1.	General information	13
2.	Intended use.....	13
3.	Symbols.....	14
4.	Packaging.....	15
5.	Characteristics	15
6.	Conservation and storage	16
7.	Shipping.....	17
8.	Required material non provided	17
9.	Warnings and precautions	17
10.	Protocole.....	17
11.	Quality control	18
12.	Waste disposal	18
13.	Incident report.....	18
14.	Technical assistance	19
	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	19
15.	Bibliography.....	19

Fiche technique milieu RPMI 1640

1. Informations générales

Le milieu RPMI a été développé par Moore et al. au Roswell Park Memorial Institute pour la culture des leucocytes humains et les tests de stimulation à la phytohémmagglutinine.

2. Destination du dispositif

Le milieu RMPI 1640 est destiné à une application sur cellules de mammifères et d'hybridomes, incluant les HeLa, Jurkat, MCF-7, PC 12, PBMC, astrocytes et carcinomes. Aussi pour la croissance de cellules leucémiques humaines dans des cultures en monocouche et en suspension.

Le produit est destiné à être utilisé en in-vitro, ne pas l'utiliser en thérapie humain ou applications vétérinaires.

Le milieu RPMI 1640 doit être utilisé par du personnel de laboratoire d'analyse de biologie médicale qualifié.

Fiche technique milieu RPMI 1640

3. Symboles

REF	Référence
LOT	Numéro de lot
	Limite de température
	Date d'expiration/Limite d'utilisation
	Fabricant
	Date de fabrication
	Produit marqué CE
IVD	Pour usage in vitro
	Consulter la notice d'utilisation
	Attention, lire la notice d'utilisation
	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé

Fiche technique milieu RPMI 1640

4. Conditionnement

Description	Cond.	Réf.
Milieu RPMI sans L-glutamine, liquide 1X	6 X 100 ml	CM1RPM00-6U
Milieu RPMI sans L-glutamine, liquide 1X	500 ml	CM1RPM00-01
Milieu RPMI avec HEPES sans L-glutamine sans bicarbonate, Liquide 1X	100 ml	CM1RPM06-0U (échantillon pour essais)
Milieu RPMI avec HEPES sans L-glutamine sans bicarbonate, Liquide 1X	6 X 100 ml	CM1RPM06-6U
Milieu RPMI avec HEPES sans L-glutamine sans bicarbonate, Liquide 1X	500 ml	CM1RPM06-01
Milieu RPMI avec Glutabio, Liquide 1X	500 ml	CM1RPM08-01
Milieu RPMI avec HEPES sans L-glutamine avec bicarbonate (0,85 g/l), Liquide 1X	500 ml	CM1RPMA6-01

5. Caractéristiques et Formulations

Composant mg/l	CM1RPM00 Liquide 1X	CM1RPM06 Liquide 1X	CM1RPM08 Liquide 1X	CM1RPMA6 Liquide 1X
Ca(NO) ₄ HO	100	100	100	100
KCL	400	400	400	400
MgSO ₄ anh	48.9	48.9	48.9	48.9
NaCl	6000	5500	6000	5500
NaHPO anh.	800	800	800	800
NaHCO	2000	-	2000	850
L-arginine	248	248	248	248
L-asparagine	44	44	44	44
L-aspartique	20	20	20	20
L-cystine	50	50	50	50
Glutabio	-	-	300	-
L-glutamique	20	20	20	20
Glycocolle	10	10	10	10

Fiche technique milieu RPMI 1640

L-histidine	18.28	18.28	18.28	18.28
L-hydroxy-proline	20	20	20	20
L-isoleucine	50	50	50	50
L-leucine	50	50	50	50
L-lysine HCl	40	40	40	40
L-méthionine	15	15	15	15
L-phénilalanine	15	15	15	15
Lproline	15	15	15	15
L-serine	30	30	30	30
L-thréonine	20	20	20	20
L-tryptophane	5	5	5	5
L-tyrosine	36	36	36	36
L-valine	20	20	20	20
D-glucose	2000	2000	2000	2000
Glutathion (réduit)	1	1	1	1
HEPES	-	5958	-	5958
Rouge de phénol ml/L	5	5	5	5
Biotine	0,2	0,2	0,2	0,2
D-Ca-panthothénate	0,3	0,3	0,3	0,3
Chlorure de Choline	3	3	3	3
Acide Folique	1	1	1	1
I-inositol	35	35	35	35
Nicotinamide	1	1	1	1
Acide p-aminobenzoïque	1	1	1	1
Pyridoxal HCl	1	1	1	1
Riboflavine	0,2	0,2	0,2	0,2
Thiamine HCl	1	1	1	1
Vitamine B12	0,005	0,005	0,005	0,005

Fiche technique milieu RPMI 1640

6. Conservation et stockage

Conserver les milieux RPMI 1640 à +2°C/+8°C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. La durée de conservation après ouverture du dispositif est de 1 mois.

7. Livraison

La livraison peut être 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.

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



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

10. Protocole

Entretien de cellules VERO (cellules adhérentes) :

- Observer les flasks au microscope et visualiser les cellules (quantité, morphologies...).
- Si tout est conforme, vider le milieu par retournement se trouvant dans la flask dans la poubelle sous la hotte.
- Rincer avec 10mL de solution de PBS (CS1PBS01-0U) en agitant légèrement le milieu sur le fond de la flask.
- Vider la solution de PBS dans la poubelle sous la hotte par retournement.
- Ajouter 5mL de Trypsine-EDTA (CEZTDA01-0U) en agitant légèrement la flask afin de répartir sur la totalité du tapis cellulaire la solution de trypsine.
- Vider par retournement la solution de trypsine
- Tapoter légèrement la boite pour décoller les cellules du fond de la boite.
- Lorsque toutes les cellules sont décollées, ajouter 20mL de milieu de base supplémenté
- Ajouter 20mL de milieu de base supplémenté dans une nouvelle flask
- Agiter la flask avec les cellules décollées puis prélever 2mL de la suspension cellulaire de l'ancienne flask.
- Ajouter les 2mL prélevé dans la nouvelle flask.

Fiche technique milieu RPMI 1640

- Prélever 2mL de milieu de base supplémenté et les mettre dans l'ancienne flask pour avoir de nouveau un volume de 20mL.
- Incuber à 37°C sous 5% CO₂ la nouvelle flask et l'ancienne. Le bouchon doit être légèrement dévissé.

Entretien de cellules JURKAT (cellules en suspensions) :

- Ajouter 8mL de milieu de base supplémenté dans une nouvelle flask identifiée
- Agiter la flask avec les cellules puis prélever 2mL de la suspension cellulaire de l'ancienne flask.
- Ajouter les 2mL prélevé dans la nouvelle flask.
- Prélever 2mL de milieu de base supplémenté et les mettre dans l'ancienne flask afin d'avoir de nouveau un volume de 10mL.
- Incuber à 37°C sous 5%CO₂ la nouvelle flask et l'ancienne. Le bouchon doit être légèrement dévissé.

11. Contrôle qualité

Conformément au système de management de la qualité d'Eurobio, certifié ISO EN 13485, chaque lot du Milieux RPMI 1640 est testé selon des spécifications prédéfinies afin de garantir une qualité constante des produits

Contrôles physico chimiques :

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

Contrôles biologiques :

- 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.

Fiche technique milieu RPMI 1640

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
91940 Les Ulis
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., Ehrensvärd, G. and Ohlenschläger, 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. *Ai'n. 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.

Fiche technique milieu RPMI 1640

- 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 : thé 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.
- Me Keehan, W.L., Mc Keehan, 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 différentiation 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 thé fixed tissues and from thé 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

Instructions for use RPMI 1640 medium



RPMI 1640 medium

REF

CM1RPM00-6U/01

CM1RPM06-6U/01

CM1RPM08-01

CM1RPMA6-01



CM1RPM00-06-08-A6 – version 4.01 - June 2022



Instructions for use

Available on www.eurobio-scientific.com

Instructions for use RPMI 1640 medium

Table of contents

Table des matières	1
1. Informations générales	3
2. Destination du dispositif	3
3. Symboles.....	4
4. Conditionnement	5
5. Caractéristiques et Formulations	5
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	8
13. Déclaration d'incident	8
14. Assistance technique	9
15. Bibliographie.....	9
Table of contents.....	12
1. General information	13
2. Intended use.....	13
3. Symbols.....	14
4. Packaging.....	15
5. Characteristics	15
6. Conservation and storage	16
7. Shipping.....	17
8. Required material non provided	17
9. Warnings and precautions	17
10. Protocole.....	17
11. Quality control	18
12. Waste disposal	18
13. Incident report.....	18
14. Technical assistance	19
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	19
15. Bibliography.....	19

Instructions for use RPMI 1640 medium

1. General information

RPMI medium was developed by Moore et al. at Roswell Park Memorial Institute for human leukocyte culture and phytohemagglutinin stimulation tests.

2. Intended use

RPMI 1640 medium is intended for application to mammalian and hybridoma cells, including HeLa, Jurkat, MCF-7, PC 12, PBMC, astrocytes and carcinomas. Also for the growth of human leukemia cells in monolayer and suspension cultures.

The product is intended for in-vitro use, not for human therapy or veterinary applications.

RPMI 1640 should be used by qualified medical laboratory personnel.

Instructions for use RPMI 1640 medium

3. Symbols

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

Instructions for use RPMI 1640 medium

4. Packaging

Description	Packaging	Réf.
RPMI medium without L-glutamine, liquid 1X	6 X I00 ml	CM1RPM00-6U
RPMI medium without L-glutamine, liquid 1X	500 ml	CM1RPM00-01
RPMI medium with HEPES without L-glutamine without bicarbonate, Liquid 1X	100 ml	CM1RPM06-0U (Sample for test)
RPMI medium with HEPES without L-glutamine without bicarbonate, Liquid 1X	6 X I00 ml	CM1RPM06-6U
RPMI medium with HEPEs without L-glutamine without bicarbonate, Liquid 1X	500 ml	CM1RPM06-01
RPMI medium with L-glutamine, Liquid 1X	500 ml	CM1RPM08-01
RPMI medium with HEPES without L-glutamine with bicarbonate (0,85g/l), Liquid 1X	500 ml	CM1RPMA6-01

5. Characteristics

Components mg/l	CM1RPM00 Liquid 1X	CM1RPM06 Liquid 1X	CM1RPM08 Liquid 1X	CM1RPMA6 Liquid 1X
Ca(NO) ₄ HO	100	100	100	100
KCL	400	400	400	400
MgSO ₄ anhydrous	48.9	48.9	48.9	48.9
NaCl	6000	5500	6000	5500
NaHPO anhydrous	800	800	800	800
NaHCO	2000	-	2000	850
L-arginine	248	248	248	248
L-asparagine	44	44	44	44
L-aspartic	20	20	20	20
L-cystine	50	50	50	50
Glutamine	-	-	300	-
L-glutamic	20	20	20	20
Glycocolle	10	10	10	10
L-histidine	18.28	18.28	18.28	18.28

Instructions for use RPMI 1640 medium

L-hydroxy-proline	20	20	20	20
L-isoleucine	50	50	50	50
L-leucine	50	50	50	50
L-lysine HCl	40	40	40	40
L-methionine	15	15	15	15
L-phenylalanine	15	15	15	15
L-proline	15	15	15	15
L-serine	30	30	30	30
L-threonine	20	20	20	20
L-tryptophan	5	5	5	5
L-tyrosine	36	36	36	36
L-valine	20	20	20	20
D-glucose	2000	2000	2000	2000
Glutathion (reduced)	1	1	1	1
HEPES	-	5958	-	5958
Phenol red ml/L	5	5	5	5
Biotin	0,2	0,2	0,2	0,2
D-Ca-panthothénate	0,3	0,3	0,3	0,3
Choline Chloride	3	3	3	3
Folic acid	1	1	1	1
I-inositol	35	35	35	35
Nicotinamide	1	1	1	1
p-aminobenzoique acid	1	1	1	1
Pyridoxal HCl	1	1	1	1
Riboflavine	0,2	0,2	0,2	0,2
Thiamine HCl	1	1	1	1
Vitamin B12	0,005	0,005	0,005	0,005

6. Conservation and storage

Store RPMI 1640 media at +2°C/+8°C until the expiration date indicated on the label.

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

Instructions for use RPMI 1640 medium

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, materials not supplied 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 sterile 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 that any use with another reagent does not affect 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

Maintenance of VERO cells (adherent cells):

- Observe the flasks under the microscope and visualize the cells (quantity, morphologies...).
- If everything is ok, empty the medium by turning over the flask in the waste garbage can under the hood.
- Rinse with 10mL of PBS solution (CS1PBS01-0U) by gently shaking the medium on the bottom of the flask.
- Empty the PBS solution into the flask under the hood by inverting.
- Add 5mL of Trypsin-EDTA (CEZTDA01-0U) by gently shaking the flask in order to distribute the trypsin solution over the entire cell mat.
- Empty the trypsin solution by inverting it.
- Lightly tap the dish to loosen the cells from the bottom of the dish.
- When all the cells are detached, add 20mL of supplemented basal medium
- Add 20mL of supplemented basal medium to a new flask
- Shake the flask with the detached cells and then take 2mL of the cell suspension from the old flask.
- Add the 2mL to the new flask.
- Take 2mL of supplemented basal medium and add it to the old flask to have a volume of 20mL.
- Incubate at 37°C under 5% CO₂ the new flask and the old one. The cap should be slightly unscrewed.

Instructions for use RPMI 1640 medium

Maintenance of JURKAT cells (cells in suspensions):

- Add 8mL of supplemented basal medium to a new identified flask.
- Shake the flask with the cells then take 2mL of the cell suspension from the old flask.
- Add the 2mL to the new flask.
- Take 2mL of supplemented basal medium and add it to the old flask to have a volume of 10mL.
- Incubate at 37°C under 5% CO₂ the new flask and the old one. The cap should be slightly unscrewed.

11. Quality control

In accordance with Eurobio's quality management system, certified ISO EN 13485, each batch of RPMI 1640 media is tested according to predefined specifications to ensure consistent product quality.

Physical and chemical controls:

pH and osmolarity are measured by a pH meter and an osmometer calibrated with standard solutions.

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 the 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

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 related to waste from healthcare activities with risks of infection.

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

Instructions for use RPMI 1640 medium

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
91940 Les Ulis
FRANCE

15. Bibliography

- Balk, S.D., Lestourgeon, D. and Mitchell, R.S. 5-methyltetrahydrofolic acid, 5-formyltetrahydrofolic acid (folic 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., Ehrensvärd, G. and Ohlenschläger, 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. *Ai'n. 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.

Instructions for use RPMI 1640 medium

- Ham, R.G. Clonal growth of mammalian cells in chemically defined medium. Proc Natl. Acad. Sci., 1965, 53, 288-293.
- Me Keehan, W.L., Mc Keehan, 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 thé fixed tissues and from thé 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)