

Manuel d'utilisation

Vivaspin® 500 et 2

Dispositifs Vivaspin® 500 et 2 3 kDa, 5 kDa, 10 kDa, 30 kDa, 50 kDa, 100kDa, 300 kDa, 1000 kDa et 0,2 µm à des fins de recherche uniquement ; ne pas utiliser pour le diagnostic *in vitro*



85032-539-17



SARTORIUS

Table des matières

1	Vivaspin® 500 und 2 – Présentation	4
1.1	Conditions de stockage Durée de vie.....	4
1.2	Introduction.....	4
1.3	Vivaspin® 2.....	5
1.4	Choix de membranes.....	5
2	Équipement nécessaire	6
3	Fonctionnement	6
3.1	Retrait du corps Vivaspin® 2 du tube de filtrat.....	7
3.2	Centrifugation inverse avec Vivaspin® 2.....	8
3.3	Dessalage Changement de tampon.....	8
4	Spécifications techniques	10
5	Conseils d'utilisation	12
5.1	Débit.....	12
5.2	Rinçage préalable.....	12
5.3	Décontamination des membranes en Polyéthersulfone.....	12
5.4	Compatibilité chimique.....	13
6	Performances	13
7	Compatibilité chimique	15
8	Informations de commande	18
9	Étiquetage du produit	21

1 Vivaspin® 500 und 2 – Présentation

1.1 Conditions de stockage | Durée de vie

Les colonnes à centrifuger d'ultrafiltration Vivaspin® 500 et 2 doivent être conservées entre 15 et 30°C. Les dispositifs doivent être utilisés avant la date d'expiration indiquée sur la boîte.

1.2 Introduction

Les concentrateurs Vivaspin® sont des dispositifs d'ultrafiltration à usage unique destinés à la concentration d'échantillons biologiques. Le Vivaspin® 500 convient aux volumes d'échantillons de 100 à 500 µl et le Vivaspin® 2 aux volumes d'échantillons de 2 ml maximum. Le Vivaspin® 2 s'utilise dans des rotors mobiles ou à angle fixe pouvant accueillir des tubes à centrifuger de 15 ml.

Le design vertical de la membrane et la chambre de concentration à canal étroit brevetés (US 5 647 990) minimisent le colmatage de la membrane et permettent des vitesses de centrifugation élevées, même avec des solutions très chargées en particules.

Le Vivaspin® 500 s'utilise dans une centrifugeuse de paillasse avec rotor à angle fixe pouvant accueillir des tubes à centrifuger de 2,2 ml.

La gamme Vivaspin® 500 et 2 propose 9 seuils de coupure différents (Molecular Weight Cut Off ou MWCO) :

- Dispositif Vivaspin® 500 et 2 3K : 3 000 MWCO
- Dispositif Vivaspin® 500 et 2 5K : 5 000 MWCO
- Dispositif Vivaspin® 500 et 2 10K : 10 000 MWCO
- Dispositif Vivaspin® 500 et 2 30K : 30 000 MWCO
- Dispositif Vivaspin® 500 et 2 50K : 50 000 MWCO
- Dispositif Vivaspin® 500 et 2 100K : 100 000 MWCO
- Dispositif Vivaspin® 500 et 2 300K : 300 000 MWCO
- Dispositif Vivaspin® 500 et 2 1000K : 1000,000 MWCO

– Dispositif Vivaspin® 500 et 2 0,2 µm : 0,2 µm

Les dispositifs de filtration Vivaspin® 500 et 2 sont utilisés à des fins de recherche uniquement et ne doivent pas être utilisés pour les procédures de diagnostic. Les dispositifs Vivaspin® 500 et 2 sont fournis non stériles et sont à usage unique.

1.3 Vivaspin® 2

Le dispositif Vivaspin® 2 a été spécialement conçu avec une surface interne et membranaire faible afin de permettre une récupération maximale des solutions très diluées.

Une autre caractéristique du Vivaspin® 2 est la possibilité de récupérer le concentrat soit par pipettage direct dans la chambre de récupération de sécurité placée au fond du concentrateur soit dans le bouchon de récupération après centrifugation inverse. Le récipient peut également être fermé pour stockage de l'échantillon.

1.4 Choix de membranes

Outre la gamme de membranes en polyéthersulfone (PES) permettant un débit important et recommandées pour la plupart des solutions, le Vivaspin® 2 peut être proposé avec une membrane en triacétate de cellulose (TAC) et en Hydrosart®.

La membrane en TAC est particulièrement recommandée lorsqu'un taux de récupération important dans le filtrat est nécessaire. La membrane Hydrosart® est une membrane en cellulose régénérée, qui a été optimisée pour l'industrie biotechnologique. La membrane Hydrosart® est un polymère stable compatible avec une vaste plage de pH. La membrane Hydrosart® est également extrêmement hydrophile, empêchant ainsi la fixation des protéines, ce qui la rend pratiquement non-colmatante et permet un débit important. Hydrosart® est disponible en 5 kDa, 10 kDa et 30 kDa.

Le comportement de la membrane est fortement dépendant des caractéristiques de la solution à traiter. Sartorius Stedim Biotech recommande aux utilisateurs de tester différentes membranes afin d'optimiser les performances du dispositif par rapport à leur utilisation.

2 Équipement nécessaire

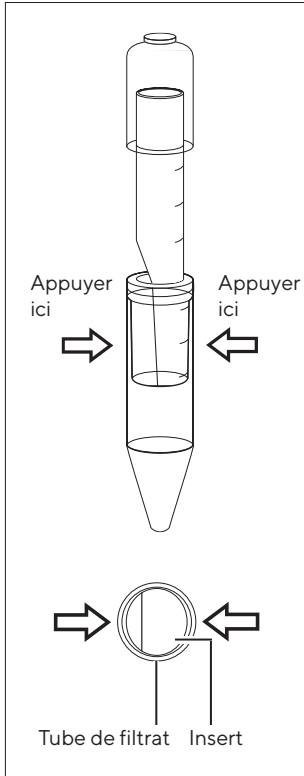
1. Centrifugeuse avec rotor à godet basculant ou à angle fixe (25° minimum).

Dispositif	Support requis
Vivaspin® 500	2,2 ml diam 11 mm
Vivaspin® 2	15 ml diam 17 mm

2. Des pipettes Pasteur ou mieux, d'une micropipette électronique, comme la Picus® de Sartorius, pouvant évaluer le volume de concentrat récupéré si elle est dotée de la fonction de pipetage manuel. pour le dépôt et la récupération de l'échantillon. Pour une récupération maximale, des pointes fines de type chargement des gels sont recommandés.

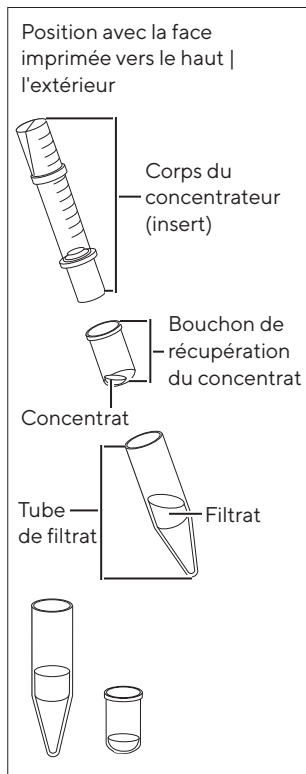
3 Fonctionnement

1. Sélectionner la membrane la plus appropriée à votre échantillon. Pour une récupération maximale, choisir un seuil de coupure inférieur d'au moins 50 % du poids moléculaire de la molécule d'intérêt.
2. Remplir le concentrateur jusqu'au volume maximum indiqué dans le tableau 1. (Vérifier que le couvercle est bien fermé).
3. Insérer l'ensemble du concentrateur dans la centrifugeuse (en cas d'utilisation de rotors à angle fixe, la face imprimée doit être orientée vers le haut/l'extérieur).
4. Effectuer la centrifugation aux vitesses recommandées dans le tableau 2, en prenant soin de ne pas dépasser la force maximale g, variable selon le type de membrane et le seuil de coupure.
5. Dès que la concentration souhaitée est atteinte (voir les tableaux 3a et 3b pour connaître les durées de centrifugation), retirer l'ensemble et récupérer l'échantillon au fond de la chambre de rétention à l'aide d'une micropipette. Le tube de filtrat peut être fermé à des fins de stockage.



3.1 Retrait du corps Vivaspin® 2 du tube de filtrat

L'insert (vu depuis l'extrémité) est ovale dans sa coupe transversale alors que le tube de filtrat est rond pour un meilleur ajustement. Pour retirer le tube de l'insert, le pincer pour l'ovaliser avant de l'enlever par un mouvement de rotation.



Centrifugation inverse avec Vivaspin® 2

3.2 Centrifugation inverse avec Vivaspin® 2

Selon la préférence de l'utilisateur ou le besoin de stockage de l'échantillon, le concentrat peut être récupéré par centrifugation inverse dans le bouchon de récupération (lorsque un rotor à angle fixe est utilisé, la face imprimée du dispositif doit être orientée vers le haut | l'extérieur). Dans cette procédure, le tube de filtrat doit être enlevé, le bouchon de récupération inséré dans le tube de filtrat, puis le concentrateur retourné. Le système complet doit être centrifugé jusqu'à 3 000 g pendant 2 minutes.

3.3 Dessalage | Changement de tampon

1. Concentrer l'échantillon jusqu'au niveau souhaité.
2. Vider le réservoir de filtrat.
3. Remplir à nouveau le concentrateur à l'aide d'un solvant approprié.
4. Concentrer à nouveau l'échantillon et répéter le processus jusqu'à ce que la concentration en sels contaminants soit suffisamment réduite. Habituellement, trois cycles de lavage permettent de réduire de 99 % la teneur en sels initiale.

Équipement nécessaire	Vivaspin® 500	Vivaspin® 2
Centrifugeuse		
Type de rotor	Angle fixe	Godet basculant ou Angle fixe
Angle minimal du rotor	40°	25°
Cavité du rotor	Pour tubes à fond conique de 2,2 ml (diam 11 mm)	Pour tubes à fond conique de 15 ml (diam 17 mm)
Récupération du concentrat		
Type de pipette	A Volume fixe ou variable	A Volume fixe ou variable
Conseil	Pointe fine de type chargement des gels ou pointe longue et effilées	Pointe fine de type chargement des gels ou pointe longue et effilées

4 Spécifications techniques

Tableau 1 : Spécifications techniques

	Vivaspin® 500	Vivaspin® 2
Capacité du concentrateur		
Rotor à godet basculant	ne pas utiliser	3 ml
Rotor à angle fixe	500 µl	2 ml
Dimensions		
Longueur totale	50 mm	126 mm
Diamètre	11 mm	17 mm
Surface active de la membrane	0,5 cm ²	1,2 cm ²
Volume de rétention, membrane et support	<5 µl	<10 µl
Volume mort*	5 µl	8 µl
Matériaux de construction		
Corps (insert)	Polycarbonate	Polycarbonate
Tube de filtrat	Polypropylène	Polycarbonate
Membrane	Polyéthersulfone	PES, CTA, HY

* Le volume minimum récupérable ou volume mort est défini à partir du moule utilisé pour la fabrication de la chambre de récupération. Ce volume peut varier selon l'échantillon, la concentration de l'échantillon, la température de fonctionnement et le rotor de la centrifugeuse.

Tableau 2 : Vitesse de centrifugation recommandée (x g)

Dispositif	Vivaspin® 500	Vivaspin® 2	
Membrane	Angle fixe	Angle fixe	Godet basculant
PES 3-50 000	12 000	8 000	4 000
PES >100 000	12 000	8 000	4 000
TAC 5-20 000	-	8 000	4 000
Hydrosart®	-	8 000	4 000

5 Conseils d'utilisation

5.1 Débit

La vitesse de filtration varie selon plusieurs paramètres, tels que le seuil de coupure, la porosité, la concentration de l'échantillon, la viscosité, la force centrifuge et la température. Il faut s'attendre à des temps de centrifugation beaucoup plus longs pour des solutions initiales de plus de 5 % de solides. À une température de fonctionnement de 4°C, les débits sont environ 1,5 fois plus lents qu'à 25°C. Les solutions visqueuses, comme la glycérine à 50 %, prennent jusqu'à 5 fois plus de temps pour se concentrer que les échantillons dans des solutions tampons.

5.2 Rinçage préalable

Les membranes utilisées dans les concentrateurs Vivaspin® contiennent des traces de glycérine et d'azide de sodium. Si ces produits affectent l'analyse, ils peuvent être éliminés par rinçage en remplissant le l'insert avec une solution tampon ou de l'eau désionisée et en lui faisant traverser la membrane par centrifugation. Éliminer alors filtrat et concentrat avant de traiter l'échantillon à concentrer. Si le dispositif pré-rincé n'est pas utilisé immédiatement, le conserver au réfrigérateur, la surface de la membrane recouverte de tampon ou d'eau. Ne pas laisser la membrane sécher.

5.3 Décontamination des membranes en Polyéthersulfone

Les dispositifs Vivaspin® ne doivent pas être autoclavés car les hautes températures vont augmenter fortement les seuils de coupure des membranes. Pour les décontaminer, utiliser une solution d'éthanol à 70 % ou un mélange gazeux décontaminant.

5.4 Compatibilité chimique

Les concentrateurs Vivaspin® sont destinés à être utilisés avec des fluides biologiques et des solutions aqueuses. Pour obtenir plus d'informations sur la compatibilité chimique, se reporter au tableau 4.

6 Performances

Tableau 3a : Performances Vivaspin® 500

	Temps [min.] pour concentrer jusqu'à 30x à 20°C	Taux de concentrat récupéré en %
Volume initial	500 µl	500 µl
Aprotinine 0,25 mg/ml (6 500 MW)		
PES 3 000 MWCO	30	96 %
BSA 1,0 mg/ml (66 000 MW)		
PES 5 000 MWCO	15	96 %
PES 10 000 MWCO	5	96 %
PES 30 000 MWCO	5	95 %
IgG 0,25 mg/ml (160 000 MW)		
PES 30 000 MWCO	10	96 %
PES 50 000 MWCO	10	96 %
PES 100 000 MWCO	10	96 %

Tableau 3b : Performances Vivaspin® 2

	Temps [min.] pour concentrer jusqu'à 30x à 20°C	Taux de concentrat récupéré en %
Volume initial	2 ml	2 ml
Chaîne d'insuline A 0,1 mg/ml (2 535 MW)		
Hydrosart® 2 000 MWCO	35	95 %
Aprotinine 0,25 mg/ml (6 500 MW)		
PES 3 000 MWCO	50	96 %
BSA 1,0 mg/ml (66 000 MW)		
PES 5 000 MWCO	12	98 %
TAC 5 000 MWCO	50	96 %
Hydrosart® 5 000 MWCO	22	98 %
PES 10 000 MWCO	8	98 %
TAC 10 000 MWCO	10	96 %
Hydrosart® 10 000 MWCO	12	98 %
TAC 20 000 MWCO	5	96 %
PES 30 000 MWCO	8	97 %
Hydrosart® 30 000 MWCO	5	97 %
IgG 0,25 mg/ml (160 000 MW)		
TAC 20 000 MWCO	6	97 %
PES 30 000 MWCO	10	96 %
PES 50 000 MWCO	10	96 %
PES 100 000 MWCO	8	95 %

7 Compatibilité chimique

Tableau 4 : Compatibilité chimique (temps de contact de 2 heures)

Solutions	PES	TAC	HY
Plage de pH compatible	pH 1-9	pH 4-8	pH 1-9
Acide acétique (25,0 %)	OK	NON	OK
Acétone (10,0 %)	NON	NON	NON
Acétonitrile (10,0 %)	NON	NON	NON
Hydroxyde d'ammonium (5,0 %)	?	OK	OK
Sulfate d'ammonium (saturé)	OK	?	?
Benzène (100 %)	NON	NON	NON
n-Butanol (70 %)	?	NON	?
Chloroforme (1,0 %)	NON	NON	NON
Diméthyl formamide (10,0 %)	?	NON	NON
Diméthyl sulfoxide (5,0 %)	OK	NON	NON
Éthanol (70,0 %)	OK	OK	OK
Acétate d'éthyle (100 %)	NON	NON	NON
Formaldéhyde (30 %)	OK	OK	OK
Acide formique (5,0 %)	OK	?	OK
Glycérine (70 %)	OK	OK	OK
Guanidine HCl (6 M)	OK	?	OK
Hydrocarbures aromatiques	NON	NON	NON
Hydrocarbures chlorés	NON	NON	NON
Acide chlorhydrique (1 M)	OK	NON	OK

Solutions	PES	TAC	HY
Plage de pH compatible	pH 1-9	pH 4-8	pH 1-9
Imidazole (300 mM)	OK	NON	?
Isopropanol (70 %)	OK	OK	OK
Acide lactique (5 %)	OK	NON	OK
Mercaptoéthanol (1,0 mM)	NON	NON	OK
Méthanol (60 %)	?	?	OK
Acide nitrique (10,0 %)	OK	NON	NON
Phénol (1,0 %)	?	?	NON
Tampon de phosphates (1,0 M)	OK	OK	OK
Polyéthylène glycol (10 %)	OK	?	?
Pyridine (100 %)	NON	NON	NON
Carbonate de sodium (20 %)	OK	NON	?
Désoxycholate de sodium (5,0 %)	OK	?	?
Dodécylsulfate de sodium (0,1 M)	OK	OK	OK
Hydroxyde de sodium (2,5 M)	NON	NON	NON
Hypochlorite de sodium (200 ppm)	OK	NON	NON
Nitrate de sodium (1,0 %)	OK	?	OK
Acide sulfamique (5,0 %)	OK	NON	?
Tétrahydrofurane (5,0%)	NON	NON	NON

Solutions	PES	TAC	HY
Plage de pH compatible	pH 1-9	pH 4-8	pH 1-9
Toluène (1,0 %)	NON	NON	NON
Acide trifluoroacétique (10 %)	OK	NON	OK
Tween ^{®*} 20 (0,1 %)	OK	OK	OK
Triton ^{®**} X-100 (0,1 %)	OK	OK	OK
Urée (8 M)	OK	?	OK

OK = Acceptable ? = À tester NON = Non recommandé

* Tween[®] est une marque déposée de ICI Americas Inc.

** Triton[®] est une marque déposée de Union Carbide Corp.

8 Informations de commande

Conseils de commande

- Choisir une membrane avec un seuil de coupure (MWCO) 2 à 3 fois inférieur à celui de la molécule à retenir dans le concentrat.
- Choisir par défaut une membrane en polyéthersulfone (PES) pour une concentration plus rapide.
- Choisir une membrane en triacétate de cellulose (TCA) pour l'élimination de protéines | ou la récupération du filtrat.
- Choisir une membrane Hydrosart® pour une récupération maximale de fractions d'immunoglobulines (Ig).

Vivaspin® 500 Polyéthersulfone	Qté par boîte	Référence
3 000 MWCO	25	VS0191
3 000 MWCO	100	VS0192
5 000 MWCO	25	VS0111
5 000 MWCO	100	VS0112
10 000 MWCO	25	VS0101
10 000 MWCO	100	VS0102
30 000 MWCO	25	VS0121
30 000 MWCO	100	VS0122
50 000 MWCO	25	VS0131
50 000 MWCO	100	VS0132
100 000 MWCO	25	VS0141
100 000 MWCO	100	VS0142
300 000 MWCO	25	VS0151
300 000 MWCO	100	VS0152
1 000 000 MWCO	25	VS0161

Vivaspin® 500 Polyéthersulfone	Qté par boîte	Référence
1 000 000 MWCO	100	VS0162
0,2 µm	25	VS0171
0,2 µm	100	VS0172
Pack de démarrage (5 unités de chaque : 5 kDa, 10 kDa, 30 kDa, 50 kDa, 100 kDa)	25	VS01S1

Vivaspin® 2 Polyéthersulfone	Qté par boîte	Référence
3 000 MWCO	25	VS0291
3 000 MWCO	100	VS0292
5 000 MWCO	25	VS0211
5 000 MWCO	100	VS0212
10 000 MWCO	25	VS0201
10 000 MWCO	100	VS0202
30 000 MWCO	25	VS0221
30 000 MWCO	100	VS0222
50 000 MWCO	25	VS0231
50 000 MWCO	100	VS0232
100 000 MWCO	25	VS0241
100 000 MWCO	100	VS0242
300 000 MWCO	25	VS0251
300 000 MWCO	100	VS0252
1 000 000 MWCO	25	VS0261
1 000 000 MWCO	100	VS0262









Vivaspin® 2 Polyéthersulfone	Qté par boîte	Référence
0,2 µm	25	VS0271
0,2 µm	100	VS0272
Pack de démarrage (5 unités de chaque : 5 kDa, 10 kDa, 30 kDa, 50 kDa, 100 kDa)	25	VS02S1

Vivaspin® 2 Triacétate de cellulose	Qté par boîte	Référence
5 000 MWCO	25	VS02U1
5 000 MWCO	100	VS02U2
10 000 MWCO	25	VS02V1
10 000 MWCO	100	VS02V2
20 000 MWCO	25	VS02X1
20 000 MWCO	100	VS02X2

Vivaspin® 2 Hydrosart®	Qté par boîte	Référence
2 000 MWCO	25	VS02H91
2 000 MWCO	100	VS02H92
5 000 MWCO	25	VS02H11
5 000 MWCO	100	VS02H12
10 000 MWCO	25	VS02H01
10 000 MWCO	100	VS02H02
30 000 MWCO	25	VS02H21
30 000 MWCO	100	VS02H22

9 Étiquetage du produit

Le tableau suivant énumère les symboles figurant sur les dispositifs Vivaspin® 500 et 2.

Symbole	Définition
	Référence du catalogue
	Ne pas réutiliser
	À utiliser avant
	Code de lot
	Date de fabrication
	Fabricant
	Limite de température
	Produit non stérile

Sartorius Stedim Lab Ltd.
Sperry Way, Stonehouse Park
GL10 3UT Stonehouse, Gloucestershire, GB

Tél.: +44 1453 821972
www.sartorius.com

Les informations et illustrations contenues dans ce manuel correspondent à la version actuelle. Sartorius se réserve le droit de modifier la technique, les équipements et la forme des appareils par rapport aux informations et illustrations de ce manuel.

Pour faciliter la lecture, les formes masculines ou féminines utilisées dans ce manuel désignent également les personnes de l'autre sexe.

Mention copyright :

Ce mode d'emploi, y compris toutes ses parties, est protégé par des droits d'auteur.

Toute utilisation en dehors des limites prévues dans les droits d'auteur est interdite sans notre accord.

Cela est particulièrement valable pour toute reproduction, traduction et utilisation dans n'importe quel média que ce soit.

Date :
06 | 2021

© 2021 Sartorius Stedim Lab Ltd.
Sperry Way, Stonehouse Park
GL10 3UT Stonehouse, Gloucestershire, UK

AM | Publication No.: SLU6093-f210604