

Manuel d'utilisation

Vivaspin[®] 6 et 20

Dispositifs Vivaspin[®] 6 et 20 3 kDa, 5 kDa, 10K, 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



85032-539-16



SARTORIUS

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

Table des matières

1	Vivaspin® 6 et 20 – Présentation	4
1.1	Conditions de stockage Durée de vie	4
1.2	Introduction	4
1.3	Fonctionnement par centrifugation	5
1.4	Fonctionnement par pressurisation	5
2	Équipement nécessaire	6
2.1	Compatibilité du rotor	7
3	Fonctionnement	8
3.1	Utilisation par centrifugation VS6 et 20	8
3.2	Retrait du corps Vivaspin® 6 du tube de filtrat	9
3.3	Utilisation sous pression (Vivaspin® 20 uniquement)	10
3.4	Dessalage Changement de tampon	11
3.5	Dessalage avec Vivaspin® 20	11
3.6	Diafiltration avec Vivaspin® 20	12
4	Spécifications techniques	13
5	Conseils d'utilisation	14
5.1	Débit	14
5.2	Rinçage préalable	15
5.3	Décontamination des membranes en Polyéthersulfone	15
5.4	Compatibilité chimique	15
6	Performances	16
7	Compatibilité chimique	18
8	Informations de commande	20
9	Étiquetage du produit	23

1 Vivaspin® 6 et 20 – Présentation

1.1 Conditions de stockage | Durée de vie

Les colonnes à centrifuger d'ultrafiltration Vivaspin® 6 et 20 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 et | ou la purification d'échantillons biologiques. Le Vivaspin® 6 convient aux volumes d'échantillons de 2 à 6 ml et le Vivaspin® 20 aux volumes d'échantillons de 20 ml maximum. Les deux produits intègrent deux membranes verticales pour une vitesse inégalée.

Le Vivaspin® 20 comprend un réservoir de diafiltration permettant l'élimination en une seule étape des sels et autres micromolécules contaminantes, ainsi qu'un mode de pressurisation pour plus de souplesse et de rapidité de traitement.

Les concentrateurs Vivaspin® se distinguent par leur design innovant (brevet américain n° 5 647 990, second brevet en instance), leur facilité d'utilisation, leur rapidité et la récupération exceptionnelle du concentrat.

La gamme Vivaspin® 6 et 20 propose 9 seuils de coupure différents (Molecular Weight Cut Off ou MWCO) :

- Dispositif Vivaspin® 6 et 20 3 kDa : 3 000 MWCO
- Dispositif Vivaspin® 6 et 20 5 kDa : 5 000 MWCO
- Dispositif Vivaspin® 6 et 20 10 kDa : 10 000 MWCO
- Dispositif Vivaspin® 6 et 20 30 kDa : 30 000 MWCO
- Dispositif Vivaspin® 6 et 20 50 kDa : 50 000 MWCO

- Dispositif Vivaspin® 6 et 20 100 kDa : 100 000 MWCO
- Dispositif Vivaspin® 6 et 20 300 kDa : 300 000 MWCO
- Dispositif Vivaspin® 6 et 20 1000 kDa : 1000,000 MWCO
- Dispositif Vivaspin® 6 et 20 0,2 µm : 0,2 µm

Les dispositifs de filtration Vivaspin® 6 et 20 sont utilisés à des fins de recherche uniquement et ne doivent pas être utilisés pour les procédures de diagnostic. Les dispositifs Vivaspin® 6 et 20 et 15 sont fournis non stériles et sont à usage unique.

1.3 Fonctionnement par centrifugation

Les concentrateurs Vivaspin® s'utilisent dans des rotors à godet basculant ou à angle fixe pouvant accueillir des tubes à fond conique standard. En une seule centrifugation, les solutions peuvent être concentrées au moins 100 fois. Les échantillons sont généralement concentrés en 10 à 30 minutes, avec des récupérations macromoléculaires supérieurs à 95 %.

L'orientation longitudinale de la membrane et la chambre de concentration à canal étroit assurent des conditions de flux tangentiel optimales, même avec des solutions chargées de particules. La force centrifuge éloigne les particules et les solides de la membrane et les entraîne vers le fond du dispositif. Les macromolécules sont recueillies dans une chambre imperméable pour concentrât, entièrement moulée sous la surface de la membrane, éliminant ainsi tout risque d'assèchement.

1.4 Fonctionnement par pressurisation

Si aucune centrifugeuse adéquate n'est disponible ou si un seul échantillon doit être traité, le Vivaspin® 20 peut être rempli jusqu'à 15 ml et pressurisée pour obtenir une concentration. Pour accélérer le traitement, la pression peut être associée à la force centrifuge. La « pressio-centrifugation » convient particulièrement aux échantillons visqueux comme le sérum, au traitement à basse température et quand une durée de processus minimale est essentielle.

2 Équipement nécessaire

A. Utilisation par centrifugation

1. Centrifugeuse avec rotor à godet basculant ou à angle fixe (minimum 25°).
2. Des pipettes Pasteur ou u mieux, d'une micropipette électronique, comme la Picus® de Sartorius, pouvant évaluer le volume de concentrat récupéré si elle est doté de la fonction de pipetage manuel. Pour le dépôt et le retrait la récupération de l'échantillon.

Dispositif	Support nécessaire
Vivaspin® 6	15 ml diam 17 mm
Vivaspin® 20	50 ml diam 30 mm

B. Utilisation sous pression (Vivaspin® 20 uniquement)

1. Tête de pression Vivaspin® 20 (réf. VCA200).
2. Valve e chargement pour la tête de pression (réf. VCA005).
3. Contrôleur de la pression d'air (réf. VCA002) ou régulateur équivalent.

Utilisation par pressio-centrifugation

1. L'ensemble du matériel décrit sous les points A. et B. ci-dessus.

Équipement nécessaire	Vivaspin® 6		Vivaspin® 20	
Centrifugeuse				
Type de rotor	Godet basculant	Angle fixe	Godet basculant	Angle fixe
Angle minimal du rotor	-	25°	-	25°
Cavité du rotor	Pour tubes à fond conique de 15 ml (17 mm)		Pour tubes à fond conique de 50 ml (30 mm)	

Accessoires de pressurisation en option pour le Vivaspin® 20

Contrôleur de pression d'air (APC) avec indicateur de pression, régulateur, vanne de sécurité de surpression, connecteur femelle et extension de 1 m (tuyau pneumatique de diam interne 4 mm) avec raccords mâle et femelle et 1 m de tuyau d'entrée de diam interne de 6 mm	Référence VCA002
--	------------------

Valve e chargement	Référence VCA005
--------------------	------------------

Tête de pressurisation VS20	Référence VCA200
-----------------------------	------------------

Récupération du concentrât

Type de pipette	Volume fixe ou variable	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
---------	--	--

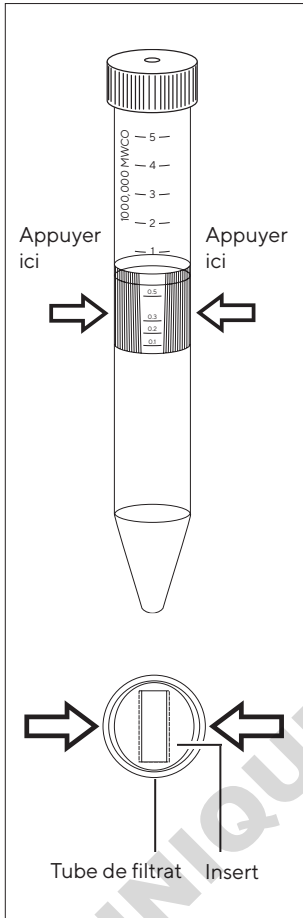
2.1 Compatibilité du rotor

Remarque : le Vivaspin® 20 (30 mm × 116 mm) convient aux rotors pouvant accueillir des tubes à fond conique de type Falcon de 50 ml tels que le Beckman Allegra 25R avec le rotor libre TS-5.1-500 équipé de godets BUC 5 et d'adaptateurs 368327 ; rotor fixe 25° Beckman TA-10.250 avec adaptateurs 356966 ; Heraeus Multifuge 3 S-R avec rotor libre (Heraeus/Sorvall) 75006445 avec godets basculants 75006441 et adaptateurs pour tubes à fond conique de type Falcon de 50 ml.

3 Fonctionnement

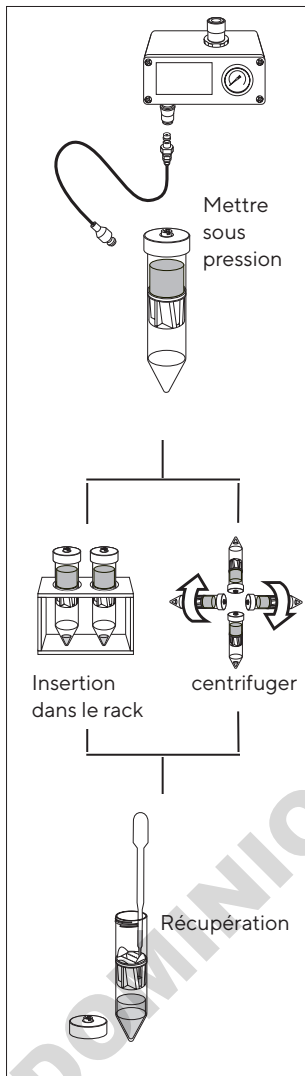
3.1 Utilisation par centrifugation VS6 et 20

1. Sélectionner le seuil de coupure le plus approprié pour 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 bouchon à vis 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 g maximale variable selon 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 poche de concentrât à l'aide d'une pipette.



3.2 Retrait du corps Vivaspin® 6 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 afin de l'ovaliser avant de l'enlever par un mouvement de rotation.



3.3 Utilisation sous pression (Vivaspin® 20 uniquement)

1. Sélectionner la membrane adéquate comme ci-dessus.
2. Remplir le concentrateur (max. 15 ml).
3. Visser la tête de pressurisation (réf. VCA200) manuellement pour assurer l'étanchéité.
4. À l'aide du contrôleur de pression d'air (APC), remplacer le raccord femelle par la alve e chargement (réf. VCA005) sur l'extension de l'APC. Augmenter la pression en adaptant la valve de chargement sur la valve de la tête de pressuriser pour assurer l'étanchéité.
5. Monter l'ensemble dans un rack et centrifuger. Ou, pour un traitement plus rapide, insérer le concentrateur pressurisé dans la centrifugeuse et centrifuger (voir le tableau 1 pour les vitesses de rotation).
6. Dès que la concentration souhaitée est atteinte (voir le tableau 3b pour connaître les durées de concentration), retirer l'ensemble et diminuer la pression en dévissant le bouchon.
7. Retirer le concentrât à l'aide d'une pipette Pasteur ou d'une micropipette.

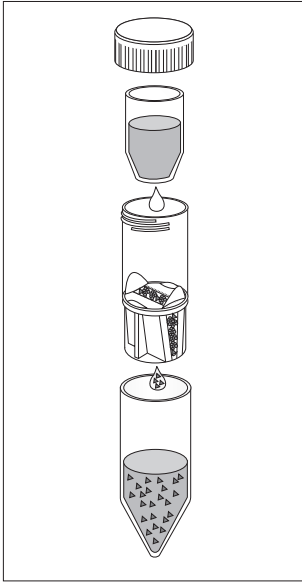
3.4 Dessalage | Changement de tampon

1. Concentrer l'échantillon jusqu'au niveau souhaité.
2. Vider le tube 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.

3.5 Dessalage avec Vivaspin® 20

Une seule étape suffit pour éliminer les sels et les contaminants à l'aide du réservoir de diafiltration spécifique fourni avec le Vivaspin® 20. Cela est dû à l'action de lavage en continu (diafiltration à volume constant) du de tampon dans le réservoir à mesure que celui-ci remplace les solvants et les sels en traversant la membrane d'ultrafiltration.

1. Introduire 2 ml d'échantillon dans le concentrateur. (Les volumes plus élevés peuvent être dessalés en obtenant d'abord une concentration de 2 ml et après élimination du filtrat).
2. Vider le réservoir de filtrat.
3. Introduire le réservoir de diafiltration dans le concentrateur et ajouter 10 ml d'eau déionisée ou de solution tampon. Visser le bouchon bleu sur le réservoir de diafiltration.
4. Répéter le processus de concentration ; plus de 98 % de sels sont éliminés au cours de cette étape.
5. Retirer le réservoir de diafiltration et recueillir l'échantillon concentré et purifié.



3.6 Diafiltration avec Vivaspin® 20

- Le réservoir de diafiltration est rempli avec la solution tampon (réf. : VSA005)
- Pendant la concentration, le solvant de l'échantillon est continuellement remplacé par de la solution tampon fraîche.
- Les sels et les contaminants sont progressivement éliminés par la membrane, vers le réservoir de filtrat.

DOMINIQUE DUTSCHER SAS

4 Spécifications techniques

Tableau 1 : Spécifications techniques

	Vivaspin® 6	Vivaspin® 20
Capacité du concentrateur		
Rotor à godet basculant	6 ml	20 ml
Rotor à angle fixe	6 ml	14 ml
Avec la tête de pressurisation	-	15 ml
Dimensions		
Longueur totale	122 mm	116 mm
	-	125 mm avec la tête de Pressurisation
Diamètre	17 mm	30 mm
Surface active de la membrane	2,5 cm ²	6,0 cm ²
Volume de rétention	<10 µl	<20 µl
Volume mort*	30 µl	50 µl
Matériaux de construction		
Corps du concentrateur	Polycarbonate	Polycarbonate
Tube de filtrat	Polycarbonate	Polycarbonate
Bouchon du concentrateur	Polypropylène	Polypropylène
Tête de pression	-	Acétal/aluminium
Membrane	Polyethersulfone	Polyethersulfone

* 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 (xg)

Vivaspin® 6	Godet basculant	Angle fixe
Membrane	max.	max.
3-50 000 MWCO PES	4 000	8 000
>100 000 MWCO PES	4 000	6 000

Vivaspin® 20	Centrifugation		Pressio- centrifugation
Rotor	Godet basculant	Angle fixe	Godet basculant (5 bar max.)
Membrane	max.	max.	max.
PES 3-50 000 MWCO	4 000	6 000	3 000
PES >100-300 000 MWCO	3 000	6 000	2 000

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 l'insert avec une solution tampon ou de l'eau déionisée et en lui faisant traverser la membrane par centrifugation. Éliminez 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® 6

Rotor	Temps [min.] pour concentrer jusqu'à 30x à 20°C			
	Taux de concentrât récupéré en %			
	Godet basculant		Angle fixe 25°	
Volume initial	6 ml		6 ml	
	Min.	Taux	Min.	Taux
Cytochrome c 0,25 mg/ml (12 400 MW)				
3 000 MWCO PES	-	-	90	97 %
BSA 1,0 mg/ml (66 000 MW)				
PES 5 000 MWCO	20	98 %	12	98 %
PES 10 000 MWCO	13	98 %	10	98 %
PES 30 000 MWCO	12	98 %	9	97 %
IgG 0,25 mg/ml (160 000 MW)				
PES 30 000 MWCO	18	96 %	15	95 %
PES 50 000 MWCO	17	96 %	14	95 %
PES 100 000 MWCO	15	91 %	12	91 %
0,004 % Particules de latex dans DMEM +10 % FCS (0,055 µm)				
300.000 MWCO PES	-	-	25	99 %
0,004 % Particules de latex dans DMEM +10 % FCS (0,24 µm)				
PES 1 000 000 MWCO	-	-	4	99 %
Levure 1,0 mg/ml (<i>S. Cerevisiae</i>)				
PES 0,2 µm	4	97 %	3	97 %

Tableau 3b : Performances Vivaspin® 20

Temps [min.] pour concentrer jusqu'à 30x à 20°C Concentré récupéré en %									
Mode	Centrifugeuse		Centrifugeuse Paillasse		Pressio- centrifugation				
Rotor	Godet basculant		Angle fixe 25°		Sur paillasse		Pression + Godet basculant		
Volume initial	20 ml		14 ml		10 ml		10 ml		
	Min.	Taux	Min.	Taux	Min.	Taux	Min.	Taux	
Cytochrome c 0,25 mg/ml (12 400 MW)									
PES 3 000 MWCO	110	97 %	180	96 %	60	96 %	-	-	
BSA 1,0 mg/ml (66 000 MW)									
PES 5 000 MWCO	23	99 %	29	99 %	50	98 %	14	98 %	
PES 10 000 MWCO	16	98 %	17	98 %	32	97 %	8	97 %	
PES 30 000 MWCO	13	98 %	15	98 %	32	97 %	8	97 %	
IgG 0,25 mg/ml (160 000 MW)									
30 000 MWCO PES	27	97 %	20	95 %	46	94 %	13	97 %	
50 000 MWCO PES	27	96 %	22	95 %	46	93 %	13	96 %	
100 000 MWCO PES	25	91 %	20	90 %	42	88 %	12	94 %	

 0,004 % Particules de latex dans DMEM +10 % FCS (0,055 µm)

PES	20	99 %	35	99 %	10	99 %	-	-
300 000								
MWCO								

 0,004 % Particules de latex dans DMEM +10 % FCS (0,24 µm)

PES	4	99 %	12	99 %	4	99 %		
1 000 000								
MWCO								

 Levure 1,0 mg/ml (*S. Cerevisiae*)

0,2 µm PES	15	95 %	5	95 %	20	95 %	2	95 %
------------	----	------	---	------	----	------	---	------

7 Compatibilité chimique

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

Solutions	PES
Plage de pH compatible	pH 1-9
Acétate d'éthyle (100 %)	NON
Acétone (10 %)	NON
Acétonitrile (10,0 %)	NON
Acide acétique (25,0 %)	OK
Acide chlorhydrique (1 M)	OK
Acide formique (5,0 %)	OK
Acide lactique (5 %)	OK
Acide nitrique (10,0 %)	OK
Acide sulfamique (5,0 %)	OK

Solutions	PES
Plage de pH compatible	pH 1-9
Acide trifluoroacétique (10 %)	OK
Benzène (100 %)	NON
Carbonate de sodium (20 %)	?
Chloroforme (1 %)	NON
Désoxycholate de sodium (5 %)	OK
Diméthyl formamide (10,0 %)	?
Diméthyl sulfoxyde (5,0 %)	OK
Dodécylsulfate de sodium (0,1 M)	OK
Éthanol (70,0 %)	OK
Formaldéhyde (30 %)	OK
Glycérine (70 %)	OK
Guanidine HCl (6 M)	OK
Hydroxyde d'ammonium (5,0 %)	?
Hydroxyde de sodium	NON
Hypochlorite de sodium (200 ppm)	?
Hydrocarbures aromatiques	NON
Hydrocarbures chlorés	NON
Imidazole (500 mM)	OK
Isopropanol (70 %)	OK
Mercaptoéthanol (10 mM)	OK
Méthanol (60 %)	?
n-Butanol (70 %)	OK

Solutions	PES
Plage de pH compatible	pH 1-9
Nitrate de sodium (1,0 %)	OK
Phénol (1,0%)	?
Polyéthylène glycol (10 %)	OK
Pyridine (100 %)	?
Sulfate d'ammonium (saturé)	OK
Tampon phosphates (1,0 M)	OK
Tétrahydrofurane (5,0 %)	NON
Toluène (1,0 %)	NON
Tween®* 20 (0,1%)	OK
Triton®** X-100 (0,1%)	OK
Urée (8 M)	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

Vivaspin® 6 Polyethersulfone	Qté par boîte	Référence
3 000 MWCO	25	VS0691
3 000 MWCO	100	VS0692
5 000 MWCO	25	VS0611
5 000 MWCO	100	VS0612
10 000 MWCO	25	VS0601

10 000 MWCO	100	VS0602
30 000 MWCO	25	VS0621
30 000 MWCO	100	VS0622
50 000 MWCO	25	VS0631
50 000 MWCO	100	VS0632
100 000 MWCO	25	VS0641
100 000 MWCO	100	VS0642
300 000 MWCO	25	VS0651
300 000 MWCO	100	VS0652
1 000 000 MWCO	25	VS0661
1 000 000 MWCO	100	VS0662
0,2 µm	25	VS0671
0,2 µm	100	VS0672
Pack de démarrage (5 de chaque 5 kDA, 10 kDA, 30 kDA, 50 kDA, 100 kDA)	25	VS06S1









Vivaspin® 20 Polyethersulfone	Qté par boîte	Référence
3 000 MWCO	12	VS2091
3 000 MWCO	48	VS2092
5 000 MWCO	12	VS2011
5 000 MWCO	48	VS2012
10 000 MWCO	12	VS2001
10 000 MWCO	48	VS2002

30 000 MWCO	12	VS2021
30 000 MWCO	48	VS2022
50 000 MWCO	12	VS2031
50 000 MWCO	48	VS2032
100 000 MWCO	12	VS2041
100 000 MWCO	48	VS2042
300 000 MWCO	12	VS2051
300 000 MWCO	48	VS2052
1 000 000 MWCO	12	VS2061
1 000 000 MWCO	48	VS2062
0,2 µm	12	VS2071
0,2 µm	48	VS2072
Pack de démarrage (2 de chaque 5 kDA, 10 kDA, 30 kDA, 50 kDA, 100 kDA ; 0,2 µm)	12	VS20S1

Accessoires Vivaspin® 20	Qté par boîte	Référence
Contrôleur de pression d'air (APC)	1	VCA002
Valve de chargement pour la tête de pression	1	VCA005
Réservoirs de diafiltration	12	VSA005
Connecteur femelle	1	VCA010
Connecteur mâle	1	VCA011
Tube pneumatique OD de 4 mm (3 m)	1	VCA012
Tête de pressurisation pour Vivaspin® 20	1	VCA200

9 Étiquetage du produit

Le tableau suivant énumère les symboles figurant sur les dispositifs Vivaspin® 6 et 20.

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.: SLU6092-f210604