

H9 细胞使用说明书

■ 细胞基本信息

产品货号	YC-C097		
细胞名称	H9	中文名称	人类胚胎干细胞
细胞形态	球形克隆	传代比例	1:6-1:8
培养体系	EZ-Stem 干细胞完全培养基 (EZ-Stem Complete Medium) ; 源井细胞培养未加双抗, 客户可视实际情况选择添加。		
冻存液体系	EZ-Stem 干细胞冻存液 (EZ-Stem Cryopreservation Medium)		
特殊备注	1 mL EZ-Stem 干细胞完全培养基加入 0.25 μ L 的 EZ-Stem 干细胞凋亡抑制剂 (EZ-Stem Apoptosis inhibitor Medium) 可用于复苏和单细胞传代。		

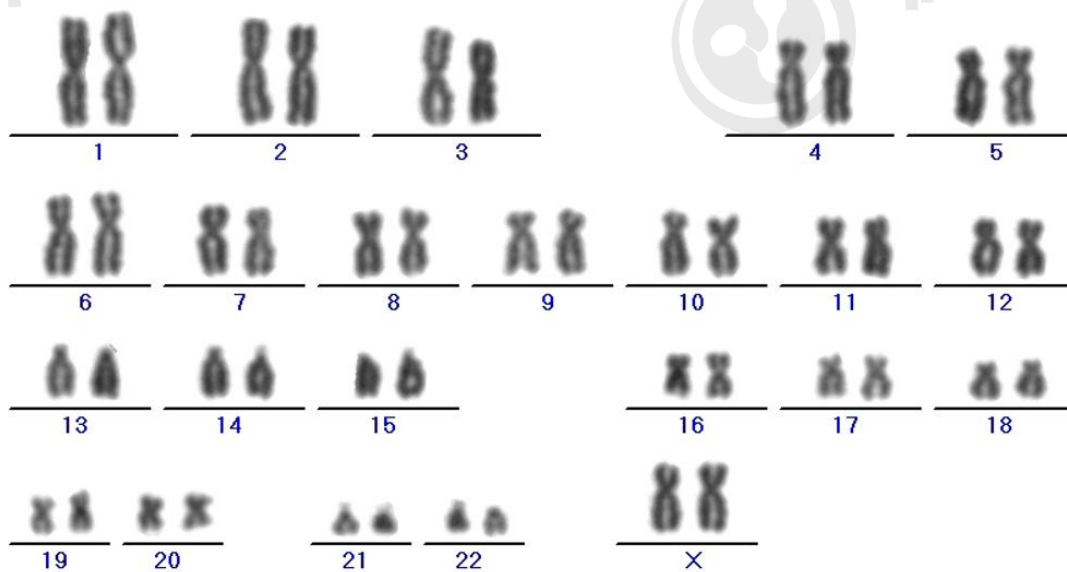
■ STR 鉴定

Loci	送检细胞 STR 信息 送检细胞名: H9			细胞库细胞 STR 信息 细胞库细胞名: WAe009-A-5		
	Allele1	Allele2	Allele3	Allele1	Allele2	Allele3
D5S818	11	12		11	12	
D13S317	9	9		9	9	
D7S820	9	11		9	11	
D16S539	12	13		12	13	
VWA	17	17		17	17	
TH01	9.3	9.3		9.3	9.3	
AMEL	X	X		X	X	
TPOX	10	11		10	11	
CSF1PO	11	11		11	11	

* 该细胞系与收录于 ATCC, DSMZ, JCRB 和 RIKEN 数据库的细胞系 STR 数据匹配。



核型鉴定



H9 细胞染色体排列图 (2n=46)

细胞接收

冻存细胞：如果是干冰运输的冻存细胞，收到后请立即转入液氮储存或短暂 (24H) 放至 -80°C 冰箱保存，或直接进行细胞复苏。

注意：冻存细胞若发现干冰已挥发完、冻存管瓶盖脱落、破损等异常情况，请务必拍照保留，并于收货 24h 内与我们联系 (电话：400-688-9033；<https://www.ubigene.com>)。

细胞复苏 (6 孔板)



1) 准备工作:

将 EZ-Stem 干细胞完全培养基提前置于室温预热, 将冻存的细胞从液氮中取出, 放置在干冰盒中, 放置数分钟让残余液氮挥发;

6 孔板需要铺基质胶, 基质胶一定要在 4°C 溶解, 铺胶的过程要快速。温度超过 10°C 以上, 基质胶很快就会凝固。按照基质胶: DMEM/F12 基础培养基=1:100, 混匀后一个六孔加入 1 mL 的基质胶溶解液, 摇匀使底面均匀覆盖。放置于 37°C 两小时后可以使用。

2) 将细胞从干冰盒中取出, 复苏时稍稍甩动, 去除残留的干冰, 再迅速用镊子夹住盖子放入 37°C 水浴中快速晃动 (注意: 水不能没过盖子), 使其在 1 min 左右完全融化。在超净台内, 用酒精棉球擦拭冻存管外壁消毒, 稍稍晾干。用单道移液器将所有融化的细胞悬液转移到 15 mL 离心管。

3) 在超净台内用单道移液器吸取 5 mL EZ-Stem 干细胞完全培养基 (相对于冻存体积 300 μ L) 逐滴加入装有细胞悬液的 15 mL 离心管中, 盖上盖子, 缓慢温柔的颠倒混匀 3 下, 700 rpm 室温离心 5 min 收集细胞。

4) 超净台内小心倒去上清, 吸取 1 mL 含有 EZ-Stem 干细胞凋亡抑制剂的新鲜 EZ-Stem 干细胞完全培养基重悬细胞至单细胞悬液, 再转移至装有 1 mL 含有 EZ-Stem 干细胞凋亡抑制剂新鲜 EZ-Stem 干细胞完全培养基的 6 孔板中, 写上细胞名称、复苏日期、代次, 放置 37°C、5% CO₂ 饱和湿度培养箱内培养。

■ 细胞传代-常规传代

1) 细胞长至 70%-80% 汇合度即可传代。在超净台内把 6 孔板里的培养液吸弃至废液缸, 用 1 mL 1 \times PBS 洗涤细胞 1~2 次, 以去除残余的培养液。

2) 加入 0.5 mL 的 EZ-Stem 干细胞消化液 (EZ-Stem Passaging Medium), 轻轻晃动板并使 EZ-Stem 干细胞消化液完全浸过细胞, 37°C 培养箱孵育 3-5 min 后, 待在显微镜下观察到大部分细胞有明显回缩的状态, 弃去 EZ-Stem 干细胞消化液。用新鲜 EZ-Stem 干细胞完全培养基轻柔吹打成细胞悬液 (不要吹打成单细胞), 按一定比例传细胞。



3) 首次按照 1: 6-1:8 进行传代, 若细胞在两天内长满可增加传代比例, 若细胞生长三四天还未长满, 可适当缩小传代比例。

■ 细胞冻存

1) 以 6 孔板为例, 细胞汇合度至 70%~80%可冻存, 不能长到 100%。在超净台内把六孔板里的细胞加 1×PBS 洗涤 1~2 次, 加入 EZ-Stem 干细胞消化液消化 5-10 min, 吹成单细胞悬液, 加入培养基终止反应。所有液体转移到一支 15 mL 或者 50 mL 离心管中。

2) 300 g 室温离心 3 min, 离心后, 打开盖子倒去上清, 加入 600 μ L EZ-Stem 干细胞冻存液和 0.15 μ L 的 EZ-Stem 干细胞凋亡抑制剂, 分装成 2 管。(规定 1 个 6 孔冻 2 管)

3) 将冻存管转移到程序降温盒中, 登记细胞冻存记录表, 放到-80°C冰箱过夜, 第二天放到液氮罐中冻存。

