

H9 细胞说明书

Cat NO.: GCL-0890

1. 售前须知:

1. 培养该细胞请提前做好干细胞培养包被液 (1×) (GPB180537)、Y-27632 二盐酸盐溶液 (10 mM) (GPB180609) 和干细胞消化液。2. 仅提供冻存管, 不适合常温运输。

2. 基本信息:

中文名称	人胚胎干细胞
细胞简称	H9
细胞别称	WA09; WA-09; WA9; H9; H9.hESCs; H9 ESC; H9hES; H9ES; GE09; WAe003-A; WICELLE003-A; WAe009-A; WA09-PCBC; PCBC02hse2014030502; SC14-067; UKERe008-A
细胞形态	球形克隆
生长特性	贴壁细胞
培养方案 A (默认)	生长培养基: H9 细胞专用培养基 (GCM-0890) 培养条件: 气相: 空气, 95%; CO ₂ , 5%; 温度: 37°C
冻存条件	90%胚胎干细胞完全培养基+10% DMSO+Y-27632 二盐酸盐溶液 (10 mM) (GPB180609) 液氮
消化时间	5-10 min
传代比例 (密度)	1:2-1:4
换液频次	1 次/天
收货注意事项	该细胞培养过程中碎片较多, 需及时换液清洗; 准备工作完成后再复苏细胞培养。

3. 细胞培养指南

(1) 准备工作

将干细胞完全培养基提前置于室温预热; 6 孔板需要铺干细胞培养包被液 (1×) (GPB180537), 一个孔中加入 1 mL 干细胞培养包被液 (1×) (GPB180537), 摇匀使底面均匀覆盖。放置于 37°C 两小时后可以。 (如不立即使用, 培养板必须密封, 以防止脱水, 包被后的培养板可在 2-8°C 下储存 7 天。如在 2-8°C 储存后使用, 需提前在 37°C 放置 30 分钟, 在使用前需要吸出多余的基质胶, 注意枪头不要刮到已包被的表面。)

(2) 细胞复苏

1) 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。

- 2) 在超净台内用单道移液器吸取 5 mL 干细胞完全培养基（相对于冻存体积 500 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，室温离心 300 g、3 min 收集细胞。
- 3) 超净台内小心吸去上清，吸取 1 mL 含有 Y-27632 二盐酸盐溶液（10 mM）（GPB180609）的新鲜干细胞完全培养基重悬细胞至细胞悬液，再转移至装有 1 mL 含有 Y-27632 二盐酸盐溶液（10 mM）（GPB180609）新鲜干细胞完全培养基的 6 孔板中的一个孔中，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。

(3) 细胞传代-常规传代

- 1) 细胞长至 70%-80% 汇合度即可传代。在超净台内将 6 孔板中的培养液吸弃至废液缸，用 1 mL 1×PBS 洗涤细胞 1-2 次，以去除残余的培养液。
- 2) 加入 0.5 mL 干细胞消化液，轻轻晃动 6 孔板使干细胞消化液完全浸润细胞，37°C 培养箱孵育 3-5 min，待在显微镜下观察到大部分细胞有明显回缩的状态，弃去干细胞消化液。用新鲜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（**注意：首次按照 1:4 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。**）。

(4) 细胞冻存

- 1) 以 6 孔板一个孔为例，细胞汇合度至 70%-80% 可冻存，不能长到 100%。
- 2) 在超净台内将 6 孔板中的培养液吸弃至废液缸，用 1 mL 1×PBS 洗涤 1-2 次，加入 0.5 mL 干细胞消化液，消化 5-10 min，吹成细胞悬液，加入培养基终止反应。所有液体转移到一支 15 mL 或 50 mL 离心管中。
- 3) 室温离心 300 g、3 min，离心后，打开盖子吸去上清，加入 1000 μ L 干细胞冻存液和 1 μ L Y-27632 二盐酸盐溶液（10 mM）（GPB180609），分装成 2 管（**规定 6 孔板 1 个孔冻 2 管**）。
- 4) 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，第二天转移至液氮罐中储存。

4. 参考资料(来源文献):

细胞背景描述	H9 人胚胎干细胞系是国际上最通用胚胎干细胞系之一，该细胞是从人类早期胚胎内的细胞团中分离出来的，具有体外培养无限增殖、自我更新和多向分化的特性，可为干细胞相关研究提供可靠的实验材料。
倍增时间	24 hours
年龄（性别）	女性；胚泡期
组织来源	胚胎
细胞类型	胚胎干细胞



生物安全等级	BSL- 1
细胞保藏中心	WiCell; wa09

细胞株培养扩增技术服务申明

本公司受贵单位委托，进行细胞株的技术服务工作，并收取相应细胞株技术服务费用，细胞株技术服务具体项目清单见订购合同。本公司提供完善的技术支持及售后服务，收到产品后 处理方式及相应售后条款参见《细胞售后条例》。

收到常温细胞后如何处理？

(细胞培养详细操作步骤请参照 [《普诺赛细胞培养操作指南》](#))

1. 收到常温细胞后，及时拍照记录有无漏液/瓶身破损现象。
2. 用 75%酒精擦拭细胞培养瓶表面，显微镜下观察细胞状态。先不要打开培养瓶盖，将细胞置于细胞培养箱内静置培养 2-4 小时，以便稳定细胞状态。
3. 仔细阅读细胞说明书，了解细胞相关信息，如贴壁特性（贴壁/悬浮）、细胞形态、所用基础培养基、血清比例、所需细胞因子、传代比例、换液频率等。
4. 静置完成后，取出细胞培养瓶，镜检、拍照，记录细胞状态（所拍照片将作为后续服务依据）；建议细胞传代培养后，定期拍照、记录细胞生长状态。
5. 若观察到异常或者对细胞有疑问，请及时跟代理商或我们联系；对于细胞培养操作及培养注意事项有疑问的，可跟我们的技术支持交流。

