

H9细胞说明书

Cat NO.: CL-0890

1. 售前须知：

培养该细胞请提前做好准备好基质胶、抑制剂和干细胞消化液。

2. 基本信息：

中文名称	人胚胎干细胞
细胞简称	H9
细胞别称	WA 09; WA-09; WA9; H9; H9.hESCs; H9 ESC; H9 hES; 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(CM-0890) 培养条件：气相：空气，95%；CO ₂ ，5%；温度：37
冻存条件	90%胚胎干细胞培养基+10%DMSO 液氮
传代步骤	1.吸出原培养液； 2.加入2mL左右PBS，轻轻晃动培养瓶润洗细胞,吸出PBS丢弃； 3.加入1mL左右0.25%胰蛋白酶溶液（含EDTA），轻轻晃动培养瓶使之浸润所有细胞； 4.放入培养箱消化，显微镜下看到细胞块中间的细胞明显变圆有间隙时可终止，全程不要拍打培养瓶； 5.加入3mL含血清的培养基终止消化，吹打细胞使之脱壁并在液体里反复吹打使细胞尽量呈单颗细胞的悬浮液； 6.收集细胞悬液离心，1200rpm/min 3分钟，离心完吸出上清丢弃； 7.加入新鲜培养基，吹打几下混匀细胞即可，按比例接种到新培养瓶，补足培养基，拧松瓶盖或使用透气瓶盖进行培养。
消化时间	5-10 min
传代比例（密度）	1:6-1:8



换液频次

3-4次/周

收货注意事项

1) 准备工作：将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℃溶解，铺胶的过程要快速。温度超过10℃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℃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℃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干细胞完全培养基（相对于冻存体积300 μL）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含有干细胞凋亡抑制剂的新鲜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含有干细胞凋亡抑制剂新鲜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℃、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×PBS洗涤细胞1-2次，以去除残余的培养液。

2) 加入0.5 mL的干细胞消化液，轻轻晃动板并使干细胞消化液完全浸过细胞，37℃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。

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 μL干细胞冻存液和0.15 μL的干细胞凋亡抑制剂，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℃冰箱过夜，第二天放到液氮罐中冻存。

3. 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



从人类早期胚胎内细胞团分离出来，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。

发表[中文论文]请标注：H9 (CL-0890)由武汉普诺赛生命科技有限公司提供；

发表[英文论文]请标注：H9 (CL-0890) were kindly provided by Wuhan Pricella Biotechnology Co.,Ltd.

