H1 细胞使用说明书

细胞基本信息

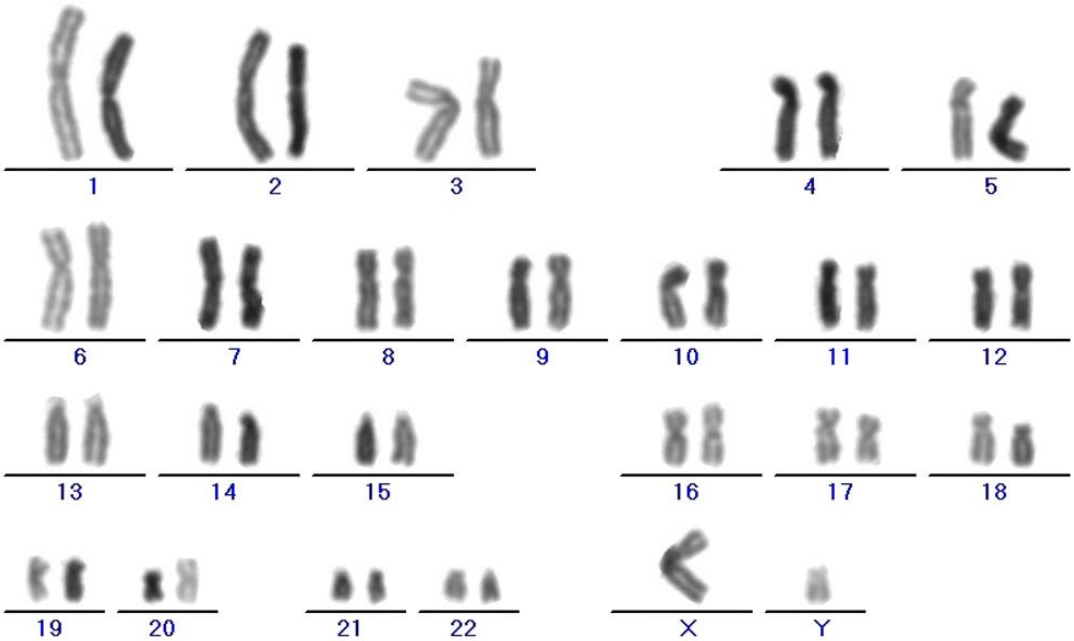
产品货号	YC-C096		
细胞名称	H1	中文名称	人类胚胎干细胞
细胞形态	球形克隆	传代比例	1:6-1:8
培养体系	EZ-Stem 干细胞完全培养基（EZ-Stem Complete Medium）； 源井细胞培养未加双抗，客户可视实际情况选择添加。		
冻存液体系	EZ-Stem 干细胞冻存液（EZ-Stem Cryopreservation Medium)		
特殊备注	1 mL EZ-Stem 干细胞完全培养基加入 0.25 μL 的 EZ-Stem 干细胞凋亡抑制剂（EZ-Stem Apoptosis inhibitor Medium）可用于复苏和单细胞传代。		

STR 鉴定

Loci	送检细胞 STR 信息 送检细胞名：H1			细胞库细胞 STR 信息 细胞库细胞名：WAe001-A-16		
	Allele1	Allele2	Allele3	Allele1	Allele2	Allele3
D5S818	9	11		9	11	
D13S317	8	11		8	11	
D7S820	8	12		8	12	
D16S539	9	13		9	13	
VWA	15	17		15	17	
TH01	9.3	9.3		9.3	9.3	
AMEL	X	Y		X	Y	
TPOX	8	11		8	11	
CSF1PO	12	13		12	13	

* 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



H1 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℃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℃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 EZ-Stem 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 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℃、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 1mL 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 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℃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 μL EZ-Stem 干细胞冻存液和 0.15 μL 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℃冰箱过夜，第二天放到液氮罐中冻存。