

H9 人类胚胎干细胞

使用说明书

细胞名称 Cell name	H9 人类胚胎干细胞
货号 NO.	ZQ 0271
描述 Description	人类胚胎干细胞，每支细胞可复苏至一个 T25。饲养层为 CF-1 MEF (SCSP-105C、SCSP-105R 或 SCSP-110R)
种属 Species	人
组织来源 Tissue	人胚胎内细胞团
形态 Morphology	球形克隆
培养特性 Culture Properties	贴壁
安全性 Safety	所有肿瘤和病毒转染的细胞均视为有潜在的生物危害性，必须在二级生物安全台内操作，并注意防护
培养基 Culture Medium	配套完全培养基: (品牌: 中乔新舟 货号: J10001-3) 温度: 37°C 气相: 95%空气, 5%二氧化碳 消化液: Dispase
细胞复苏 Cell Thawing	注意: 1. 低温保存的细胞非常脆弱，请将冻存管放入 37°C 的水浴中解冻，尽快复苏细胞。 2. 提前室温预热培养基。 1. 在无菌区准备好 15ml 离心管和已经包被的 T-25 培养瓶分别加入约 3ml 和 5ml 培养基。 2. 快速在 37°C 水浴槽中解冻，轻柔持续地摇动冻存管，直到只剩下一个小冷冻团。从水浴槽中取出冻存管，擦干并喷洒 75% 乙醇，移至无菌区。 3. 小心地拆卸盖子，不要碰到里面的螺纹，用移液枪轻轻吸出细胞，加入到准备好的 15ml 离心管中，过程必须轻柔防止吹散细胞团，1000rpm, 5min 离心。 4. 吸出培养基，使细胞团保持完整。轻轻地将细胞重新悬浮在 1-2 mL 培养基中，并转入 T-25 培养瓶中，轻轻摇动培养瓶使细胞均匀分布。 5. 轻轻晃动培养瓶均匀地将细胞团分布在培养瓶中，将培养瓶放入 CO ₂ 培养箱中培养。 6. 过夜后，观察细胞形态和数量，及时换液。
传代 Subculturing	收到细胞后，请对细胞培养瓶外表进行消毒，将细胞置于培养箱中进行 1-2 小时的缓冲，待细胞恢复基本生长状态后，进行后续细胞实验。 在倒置显微镜下观察整个细胞生长情况： (一) 细胞未长至 85% 时，用 75% 酒精喷洒整个瓶消毒后放到生物操作台内，严格无菌操作，打开细胞培养瓶，若培养瓶上无特殊标注，吸去剩余培养液，只留 6-8ml 培养液继续培养。 (二) 细胞已长满 (达 85-95%)。即可进行传代，具体步骤如下：

	<p>1. 弃去培养液，用 PBS 洗涤 1-2 次；</p> <p>2. 加入 1.0ml 胰酶消化液，37℃消化约 3min，显微镜下观察细胞消化情况，若细胞回缩变圆、透亮、轻拍瓶壁呈流沙样脱落，则迅速拿回操作台，加入至少双倍的含 10% 血清的完全培养液，终止消化并轻轻吹打细胞，使其变成单细胞悬液；</p> <p>3. 将细胞收集于离心管中离心 1000rpm/5min，弃上清，轻弹管底，将细胞弹散；</p> <p>4. 加入新鲜培养基重悬细胞，进行传代；</p> <p>5. 如果没有特别说明，建议收到细胞后的第一次传代比例为 1:2。</p> <p>注：1. 观察细胞密度最好用（4X 物镜）低倍镜观察，以便正确的判断细胞密度；观察细胞形态请用（10X 或 20X）高倍镜观察；</p> <p>2. 推荐使用 0.25% 胰酶/EDTA 消化液；</p> <p>3. 瓶中运输的培养液不能重复使用，请换新鲜培养液培养；</p> <p>4. 有些细胞贴壁不牢，如发现贴壁细胞有脱落，可离心重悬后接种到新瓶内。</p>
<p>保存 Storage</p>	<p>冻存条件：70%基础培养液+20%胎牛血清+10%DMSO</p> <p>保存条件：液氮存储</p>
<p>供应限制 Product Use</p>	<p>仅供研究之用</p>
<p>常见问题及解决方案 Questions and solutions</p>	<p>1. 在收到细胞后先观察培养瓶是否破裂，漏液等，如遇到上述问题请及时拍照并与我们联系。</p> <p>2. 贴壁细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，如细胞大部分又贴回瓶底，表明细胞活力正常，剩余少量漂浮的细胞可以去掉，留 8-10ml 培养液培养观察，细胞生长至汇合度到达 85% 左右，进行消化传代；如细胞仍不贴壁，将细胞离心收集转到新培养瓶，原培养瓶加部分培养液继续培养，注意观察。如细胞仍不能贴壁，请用台盼蓝染色鉴定细胞活力，并请及时拍照（多倍数多视野），包括染色照片，并联系我们。（以上仅为贴壁细胞处理方法）</p> <p>3. 悬浮细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞及培养液分批离心（1000rpm, 5min），加入适量培养基，根据离心后的细胞量进行放回培养或分瓶培养。（以上仅为悬浮细胞处理方法）</p> <p>4. 半悬细胞：培养瓶不开封，显微镜下检查细胞状态，瓶口酒精擦拭后平躺放置在培养箱。1-2 小时后观察，将整瓶细胞培养液上层悬浮细胞离心（1000rpm, 5min），重悬细胞后加入原培养瓶培养至传代。细胞数量较大，可将贴壁细胞消化下来，与上层悬浮细胞混匀传代。重悬上层悬浮细胞时必须保持下层贴壁细胞的营养条件，防止贴壁细胞缺乏营养。（以上仅为半悬细胞处理方法）</p> <p>如遇到细胞培养问题请及时拍照并与我们联系，我们的技术人员会一直跟踪指导。</p>