

## 人类胚胎干细胞H1

Cat No.:JY-J971



### Description

种属	人
别称	WA01
疾病	内细胞团
完全培养基配置	H1细胞完全培养基 500ml H1细胞消化液 500ml H1细胞专用冻存液100ml H1细胞铺底工作液100ml
简介	人胚胎干细胞H1，曾用名WA01。P33代左右，每支细胞可复苏至一个T25，3至4天后会形成30至40个克隆。将H1（SCSP-301）细胞使用mTeSR1（STEM CELL）培养液驯化后得到，培养时无需饲养层。
形态	球形克隆
STR	D5S818:9,11; D13S317: 8,11; D7S820: 8,12; D16S539: 9,13; vWA: 15,17; TH01: 9.3,9.3; Amelogenin: X,Y; TPOX:8,11; CSF1PO: 12,13.
培养条件	气相：空气，95%；二氧化碳，5%。温度：37摄氏度，培养箱湿度为70%-80%。
冻存条件	H1细胞专用冻存液
产品使用	仅限于科学研究，不可作为动物或人类疾病的治疗产品使用。

#### 细胞接收处理流程：

- 1：观察有无破损漏液情况，如有请拍照及时联系客服。
- 2：酒精消毒培养瓶表面后显微镜下观察细胞状态，观察拍照后不用打开培养瓶盖 放入培养箱静止2-3小时稳定 细胞状态。
- 3：请按照细胞操作指南进行第一次传代冻存处理。
- 4：产品随货会附带细胞说明书、细胞培养操作指南、细胞鉴定、支原体检测报告。
- 5：若产品有异常或其他疑问，可随时联系客服；转至技术支持。

## 2.2.复苏

在开始复苏前，将所有试管、预热后的培养基和培养皿准备好，已确保尽快完成复苏过程。

1. 将冻存管从液氮中取出，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。从水浴槽取出冻存管，70%乙醇擦拭进行消毒。
2. 使用移液管将冻存管中含有H1细胞的冻存液轻轻转移至一个含有5-6mL已经预热的完全培养基的15mL离心管中，过程必须轻柔防止吹散细胞团。
3. 室温300g离心5min。
4. 吸出培养基，确保细胞团完整。
5. 然后缓慢加入1mL完全培养基，用手指轻弹离心管底部，使细胞团脱离底部并分散。
6. 轻轻的将此1mL细胞悬液转移至已包被的培养皿/板/瓶，根据最终培养细胞的液体体积，加入ROCK inhibitor Y27632，终浓度为10 $\mu$ M。
7. 将培养皿/板/瓶置于37°C培养箱中，每天更换培养基（换液不需要再添加Y27632，但培养基需提前预热）。

## 2.3.传代

当集落变得较大、中心变得密集、明亮（对比边缘），相邻的集落开始融合时，此时可进行传代。

1. 传代前，准备 37 °C 预热好的无钙镁 PBS 溶液及消化液，完全培养基。
2. 吸走上清，并加入 37°C 预热好的 PBS 溶液清洗1次。
3. 加入适量（按 6 孔板每孔加 1mL，6cm 皿加 2mL，10cm 皿加 3mL 的量）的 37°C 预热好的消化液。
4. 37°C 放置1-2min，用手指轻弹皿/板/瓶身，显微镜下观察到大部分克隆边缘开始脱离培养皿/板底，克隆内部大部分细胞成团脱落。
5. 加入适量的完全培养基终止消化。
6. 移入离心管，300g离心5min。
7. 离心后重悬（重悬步骤参照复苏4-5步）。
8. 传代比例为 1：6—1：8，根据最终培养细胞的液体体积，加入ROCK inhibitor Y27632，终浓度为10 $\mu$ M。
9. 将培养皿/板/瓶置于37°C培养箱中，每天更换培养基（换液不需要再添加Y27632，但培养基需提前预热）。

## 2.4.冻存

当集落变得较大、中心变得密集、明亮（对比边缘），相邻的集落开始融合时，此时可进行传代。

1. 传代前，准备 37 °C 预热好的无钙镁 PBS 溶液及消化液，完全培养基。
2. 吸走上清，并加入 37°C 预热好的 PBS 溶液清洗 1 次。
3. 加入适量（按 6 孔板每孔加 1mL，6cm 皿加 2mL，10cm 皿加 3mL 的量）的 37°C 预热好的消化液。
4. 37°C 放置 1-2min，用手指轻弹皿/板/瓶身，显微镜下观察到大部分克隆边缘开始脱离培养皿/板底，克隆内部大部分细胞成团脱落。
5. 加入适量的完全培养基终止消化。
6. 移入离心管，300g 离心 5min。
7. 离心后重悬（重悬步骤参照复苏 4-5 步）。
8. 使用预冷的冻存液轻轻的重悬细胞团，然后将细胞悬液转移至冻存管，冻存按 6 孔板每孔冻 1 支，6cm 皿冻 2-4 支，10cm 皿冻 6-12 支。