产品名称：人食管腺癌细胞 OE-33
产品货号：CXH00694

基本信息

细胞中文名称	人食管腺癌细胞
细胞英文名称	OE-33
细胞生长特性	贴壁细胞
细胞培养条件（推荐）	生长培养基：RPMI-1640+10%FBS+1%P/S
	培养条件：空气，95%；二氧化碳，5%。温度：37℃，饱和湿度
细胞冻存条件	90%FBS+10%DMSO，现配现用
	液氮保存
推荐传代比例	1:2-1:3
推荐换液比例	2-3 次/周

一，常温细胞收货后处理方法

1. 收到常温细胞后，请先核对产品信息，并请仔细观察细胞瓶有无**漏液/瓶身破损等**现象，若有请拍照并及时和我们联系；
2. 用 75%酒精擦拭瓶身，显微镜下观察细胞生长状态，并**拍照/录像记录细胞密度形态等情况**；
3. 如没有发现污染等异常情况，完成观察之后，及时将细胞瓶放入培养箱中**静置 2-4 小时**，稳定和恢复细胞状态；
   - 贴壁半贴壁细胞请平放进行静置；
   - 悬浮细胞可以选择将培养瓶竖直放置培养。
4. 请阅读说明书，了解该细胞培养的相关信息（如培养基成分，细胞生长特性等重要信息），以方便后续细胞的处理及您实验的顺利进行！
5. 静置完成后，如无异常情况，可以进行常规操作：①细胞密度不足 80%可移除多余的培养基，细胞进行正常培养；②若细胞密度超过 80%，按照下述细胞传代步骤对细胞进行传代。
6. 温馨提示：细胞因沿途运输，温度变化或者晃动等而出现体积变小，或者一定量的漂浮等现象，属正常情况！

二，冻存细胞收货后处理方法

1. 收到干冰件后，请检查干冰是否已经完全挥发、冻存管瓶盖是否脱落破裂。如有上述情况请拍照后及时和我们联系；
2. 收到细胞后推荐直接复苏，如果不能直接复苏，可放入-80 ℃冰箱或者液氮罐中保存，并尽快安排复苏；
3. 细胞复苏可参考下述细胞复苏操作方法。

三，常规操作步骤

1. 细胞复苏：

1) 预热水浴锅至 37 ℃，打开生物安全柜的紫外灯照射 30 min；
2) 在准备好的安全柜中，准备无菌离心管、吸管、培养瓶（皿）、完全培养基等；
3) 从液氮中取出正确的细胞冻存管，快速放入 37 °C 水浴锅中（如果水浴锅水洁净度不好，可以将冻存管放入 EP 手套中再放入水浴锅），确保冻存管液面全部浸至水浴锅水面以下，轻摇冻存管使冻存液融化；
4) 融化后，酒精擦拭冻存管外壁，并转移到生物安全柜中，把细胞悬液转移到含有 5 ml 培养基的离心管中（常用 15 ml 的离心管），做标记并离心收集细胞，室温 1000 rpm 离心 3 -5 min；
5) 移除上清，加入新鲜的完全培养基，轻柔吹打重悬细胞，然后将细胞悬液接种到合适的培养瓶或者培养皿中，并做好标记，37 °C、5% CO_2的培养箱进行培养。第二天显微镜下观察细胞生长情况和细胞密度。

2. 细胞传代（以 T25 瓶为例）：

贴壁细胞传代

细胞汇合度达 80%-90%，即可进行传代培养。

1) 打开生物安全柜的紫外灯照射 30 min;
2) 在准备好的安全柜中，准备无菌离心管、吸管、培养瓶（皿）、完全培养基等。
3) 移除原培养液，并用 PBS 漂洗细胞 1-2 次，漂洗时，PBS 完全覆盖细胞，并轻轻晃动培养瓶或者皿，使 PBS 充分接触细胞并进行润洗；
4) 润洗完成之后，移除 PBS，加入适量的可以覆盖细胞的 0.25%胰蛋白酶消化液，轻轻晃动培养瓶使之浸润所有细胞；
5) 置于 37 °C 培养箱进行消化，消化时间因细胞而异（通常 1-3 分钟不等），具体判断以显微镜下看到细胞明显变圆并开始脱落，则终止消化；
6) 加入 3-5 ml 完全培养基终止消化，轻轻吹打使细胞脱落，制成单细胞悬液；
7) 将细胞悬液转移至离心管中，室温 1000 rpm 离心 3 -5 min，观察管底有细胞沉淀之后，弃去上清液；
8) 加入 5 ml 新鲜完全培养基重悬细胞，将细胞悬液按量按需转移到对应的培养瓶或者皿中，补足培养基、做好标记、进行继续培养，传代比例参考细胞说明书。

温馨提示：

①刚复苏的细胞系一般建议传代 2-3 次，细胞形态、活率稳定之后再开展后续实验研究。

②如果实验需要计算细胞存活率，可以选择台盼蓝染色计算细胞存活率（RC0166）。

悬浮细胞传代

半换液传代

1) 打开生物安全柜的紫外灯照射 30 min；
2) 在准备好的安全柜中，准备无菌离心管、吸管、培养瓶（皿）、完全培养基等；
3) 半换法传代时，可直接向培养瓶中添加等体积的新鲜培养液，然后将悬浮细胞轻柔吹打均匀后移入两个新的培养瓶中，做好标记进行培养。

全换液传代

1) 打开生物安全柜的紫外灯照射 30 min；
2) 在准备好的安全柜中，准备无菌离心管、吸管、培养瓶（皿）、完全培养基等；
3) 轻柔吹散细胞团，收集所有培养液至离心管中，室温 1000 rpm 离心 3 -5 min，弃去上清液；

4) 加入新鲜的培养基，轻柔吹打均匀后移入两个新的培养瓶中，做好标记进行正常培养。

3. 细胞冻存：

1) 打开生物安全柜的紫外灯照射 30 min;
2) 在准备好的安全柜中，准备无菌离心管、吸管、冻存液等；
3) 配置冻存液：冻存液配方可以选择 90% FBS+10% DMSO 或者 95% 完全培养基+5% DMSO，特殊配方请参见细胞说明书；
4) 当细胞密度达到 80%以上，按照细胞传代的方式制备细胞悬液，离心收集细胞沉淀，在生物安全柜中，加入适量的冻存液(建议冻存细胞密度为 $5*10^5$~10^6/ml），每管冻存体积建议 0.5-1 ml，冻存管做好标记之后放入程序冻存盒中，放入-80 ℃冰箱过夜，次日转入液氮管进行长期保存。

发表[中文论文]请标注: OE-33（CXH00694）由武汉恩玑生命科技有限公司提供;
发表[英文论文]请标注：OE-33 (CXH00694) were obtained from Wuhan EnkiLife Science& Technology Co., Ltd.

备注：该细胞仅供科研使用!
（后附售后说明）

售后服务说明

一、细胞出现问题，可重发的情况有哪些？判定标准是什么？

1. 细胞运输途中出现的各种问题：细胞丢失、瓶身破损等，免费重发细胞；
2. 常温细胞为 T25 瓶发货，若收到细胞后状态和发货时(请参考细胞发货图片)差异大，细胞活率低，请及时拍照记录，于收货当天提供显微镜下细胞图片给我司人员，经过调整培养一周后，状态未好转的，可免费重发细胞；
3. 细胞污染问题，常温发货的细胞静置 2 小时候且未开封，出现污染，提供清晰的细胞污染照片，可免费重发细胞；
4. 干冰冻存发货的细胞复苏后 3 天，细胞存活率低于 40%，（需提供真实清晰的细胞状态照片）可免费重发细胞；
5. 细胞收到当天以及第 2，3 天请拍照，3 天未告知的，视为产品合格。4-7 天内出现问题，能提供收到细胞前 3 天照片和细胞出现问题时照片以及细胞相关操作的详细步骤的，并跟技术人员沟通的，由双方进行协商处理可以按合同价的 50%收费重发。

二、细胞出现问题，不予以重发的情况有哪些？

1. 收到常温细胞时细胞状态无异常，后续传代培养导致污染、细胞状态差或者细胞冻存之后复苏不活/活力不佳，不予免费重发；
2. 非推荐细胞培养体系导致的细胞状态不好，不予免费重发；
3. 细胞培养出现问题，未在一周内向公司反馈，且未提供真实清晰的收货当天的细胞照片，不予免费重发；
4. 细胞培养时经其它处理导致细胞出现问题的，不予免费重发。

三、其他说明

1. 如果您在细胞培养过程中出现任何疑问，欢迎和我们联系和沟通；
2. 购买细胞以及匹配的专用培养基、血清套餐的产品，自收货之日起 30 天内，若细胞状态出现异常，可以免费发常温细胞一次，或收取干冰费用发冻存细胞一次（不包含原代细胞）；
3. 自收货之日起 30 天内因客户原因导致细胞状态不佳，可以申请一次低折扣补发(原代细胞除外)。