

bEnd.3 细胞产品说明书

Cat. No.: FNC0023

➤ 细胞基本信息：

细胞名称：	bEnd.3 小鼠脑微血管内皮细胞
种 属：	Mouse
组 织：	Brain; Cerebral cortex
生长/形态特性：	贴壁生长，上皮细胞样
传代方法：	1:3~1:4 传代, 2~3 天换液 1 次
培养条件：	90% DMEM+10% FBS 37°C, 5%CO ₂
保存条件：	70%基础培养基+20%FBS +10%DMSO 液氮存储

操作指南：**1. 冻存细胞：**

- 1) 从液氮容器中取出冻存管，直接浸入37°C温水中并不时摇动令其尽快融化；
- 2) 从37°C水浴中取出冻存管，离心，1000rpm，5min；
- 3) 冻存管外壁消毒后开盖，弃去上清液，用1ml完全培养基重悬细胞；
- 4) 将细胞接种到培养瓶/皿中，37°C 5%CO₂细胞培养箱中培养；
- 5) 次日更换一次培养液，继续培养。

2. 瓶装细胞：

- 1) 收到细胞后，首先观察细胞培养瓶是否完好，如有破裂、培养基渗漏、培养基浑浊等现象，请拍照并及时联系我们；
- 2) 对细胞培养瓶进行表面消毒。可在显微镜下初步镜检观察细胞状态。运输过程可能导致细胞脱落，属于正常现象，此时请将未开封细胞放入细胞培养箱中静置2小时左右，等待细胞重

新贴壁，状态稳定；

- 3) 静置后，再次镜检确认细胞贴壁情况。待大部分细胞贴壁后，移除部分培养基，保留6ml培养基，拍照记录细胞状态，放入37℃，5%CO₂细胞培养箱继续培养；
- 4) 待细胞密度达到80%以上时传代操作。

3. 细胞传代：

- 1) 传代前将细胞培养液、PBS和胰蛋白酶温浴至37℃；
- 2) 吸去细胞培养液；
- 3) 用PBS漂洗两次；
- 4) 加入适量胰蛋白酶，轻轻晃动细胞瓶，使胰蛋白酶均匀覆盖细胞，吸去胰蛋白酶，将培养瓶放置在细胞培养箱中，37℃消化1-2min。加入细胞培养基，用吸管轻柔吹打分散细胞；
- 5) 按1:3 到1:5 接种细胞。

4. 细胞冻存：

- 1) 配制含10%DMSO或甘油、10~20%胎牛血清的细胞冻存液；
- 2) 冻存的细胞应为状态好，生长旺盛的细胞；
- 3) 按细胞传代方法消化细胞，用适量细胞培养液终止消化，重悬细胞；
- 4) 室温1000rpm，离心5min 收集细胞，用冻存液重悬细胞，并调节浓度至大约 1×10^6 个细胞/ml，分装到细胞冻存管；
- 5) 冻存：标准的冻存程序为降温速率-1~-2℃/ min；当温度达-25℃以下时，可增至-5℃~-10℃/min；到-100℃时，则可迅速浸入液氮中。可将细胞冻存管放入程序降温盒，-80℃过夜，再移入液氮容器内；或者4℃放置30min~2h，-20℃放置30min~2h，-80℃过夜，再移入液氮容器内。