

划痕实验

一、准备工作

6孔板（大小合适）、20微升枪头（灭菌）、PBS、无血清或低血清（血清浓度低于2%）的培养基

二、操作步骤

1、在六孔板中每孔接种 3×10^5 个细胞，每孔总体积为 2 mL，大约 48h 后细胞可以铺满；

注意：每种细胞的生长速率不同，可根据具体情况自行调整培养时间，细胞铺满孔底时划痕的效果比较好。

2、用枪头在培养孔底划横线，枪头要垂直，尽量不要倾斜。（一般6孔板的一个孔可以划6条横线）

3、吸去培养上清，用 PBS 洗 2-3 次，去除划下的细胞。

注意：加液体时应小心，要让液体沿着孔壁缓慢流下，不能对着孔内细胞直接冲击，否则容易使细胞脱壁。

4、每孔加入 2mL 无血清或低血清培养基。

注意：划痕后用无血清培养基培养细胞，意在说明在监测的 24 小时内，划痕的缩小是细胞迁移作用的结果，将细胞增殖造成细胞迁移的影响降到最低。但如果细胞用无血清培养基培养后大量死亡，导致无法观察划痕大小，则可改用低血清培养基（血清浓度低于2%）。

5、放入培养箱中培养。按 0h、6h、12h、24h 取样拍照，观察细胞迁移性的变化。

注意：拍照的速度应该尽量快，避免细胞离开培养箱太久时间。