**平板划痕实验**

**（一）平板划痕实验原理：**

平板划痕实验（细胞划痕修复法）是简单测定细胞迁移运动与修复能力的方法，类似体外伤口愈合模型，在体外培养皿或平板培养的单层贴壁细胞上，用微量枪头或其它硬物在细胞生长的中央区域划线，去除中央部分的细胞，然后继续培养细胞至实验设定的时间（例如72ｈ），取出细胞培养板，观察周边细胞是否生长（修复）至中央划痕区，以此判断细胞的生长迁移能力，实验通常需设定正常对照组和实验组，实验组是加了某种处理因素或药物、外源性基因等的组别，通过不同分组之间的细胞对于划痕区的修复能力，判断各组细胞的迁移与修复能力。

**（二）平板划痕实验步骤：**

1. 先用marker笔在3.5cm培养皿背后，用直尺比着均匀地画横线，约每隔0.5至1cm画一条，每皿共画3横条；
2. 在上述培养皿中加入约5\*105个细胞、2ml培养基，接种原则为过夜后融合率达到100％；
3. 第2天，拿出上述装有细胞的培养皿，打开盖子，用200ul枪头比着直尺，**尽量垂直于背后的横线划痕**，枪头要垂直，不能倾斜，速度均匀，力度适中，不同皿之间使用同一只枪头。共划出3条平行线，显微镜下观察、确认；
4. 每皿加入2ml PBS，轻轻摇晃，洗2次，去除划下的细胞，再加入完全培养基；
5. 5．0h拍照，记录初始划痕状态。注意划痕与头一天画的平行线一共有９个交点，每个交点线上线下都可拍照，共可拍18张照片，根据需要拍较清晰、完整的几处即可。每拍一处即记录下拍照位点，下一次需要在相同位点拍照；
6. 放入培养箱培养。到12h，24h时，再次拿出来拍照，拍照位点应该与第一次位点相同。
7. 统计方法：选择每一个时间点的图片5张，使用Photoshop软件打开其中一张后，随机划取反应划痕宽度的水平线6至８条，计算其长度的均值，5张的均值都得到后，再与其它组的结果进行统计学比较。

**其他统计方法：**The void area (VA) of wound was measured by Image-Pro (National Institutes of Health, USA), and the height and the relative width were calculated (Area% = VA/height)

视频参考

[老司机带你解锁ImageJ划痕实验宽度分析！手把手教你 - 哔哩哔哩 (bilibili.com)](https://www.bilibili.com/read/cv9366585/)

[Scratch Assay Tutorial - YouTube](https://www.youtube.com/watch?v=qbyUsSgIieU)