

## 细胞凋亡流式检测(二)

### 一. 室

#### 一. 实验目的

利用Annexin V-FITC/PI细胞凋亡试剂盒,检测T24野生型细胞株及低、中、高耐药T24-RC48细胞株的凋亡情况,分析耐药细胞株的耐药性。

#### 二. 实验内容

##### 2.1 实验设计

样本分组:空白对照组;药物处理组(T24野生型及低、中、高耐药T24-RC48细胞株分别用维迪西妥单抗(RC48)处理48小时)。

重复次数:每组3个样本。

##### 2.2 测定原理 同细胞凋亡流式检测(一)

#### 三. 材料与试剂 同细胞凋亡流式检测(一)

#### 四. 实验仪器

超净台(苏州净化设备厂);流式细胞仪(BD公司,非C6型)

台式常温低速离心机(Eppendorf公司)

#### 五. 实验步骤

5.1. 将T24野生型细胞株及低、中、高耐药T24-RC48细胞株分别接种于6孔板中,每种细胞铺6孔,每个孔 $1 \times 10^5$ 个细胞。

5.2 24小时后,每种细胞取3孔正常换液,另外3孔换成含有 $200 \mu\text{g}/\text{ml}$ 维迪西妥单抗的完全培养基处理48小时。

## 5.3至5.12同细胞凋亡流式检测(-)

### 六. 实验结果

如图1所示,各组细胞在加药处理条件下凋亡率均升高。在未加药组中:低度耐药凋亡率显著低于野生型( $p<0.01$ ),中度耐药细胞显著低于低度耐药( $p<0.01$ ),高度显著低于中度( $p<0.05$ );在加药组中:低度耐药凋亡率显著低于野生型细胞( $p<0.001$ ),中度显著低于低度( $p<0.001$ ),高度显著低于中度( $p<0.001$ )。

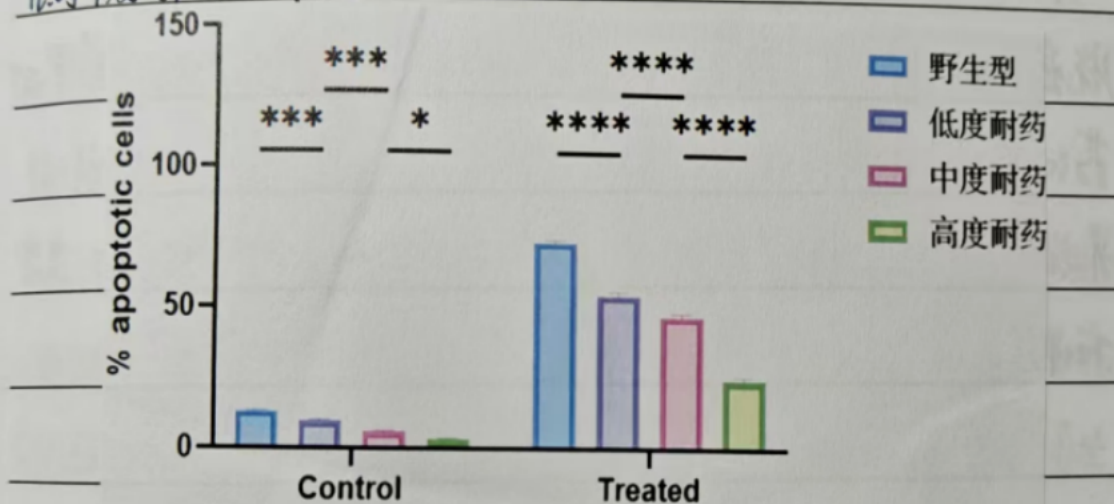


图1 不同耐药程度膀胱癌细胞凋亡率比较柱状图

如图2所示,各组细胞在加药处理条件下细胞存活率均下降。其余在未加药组以及在加药组中结果同图1所得。

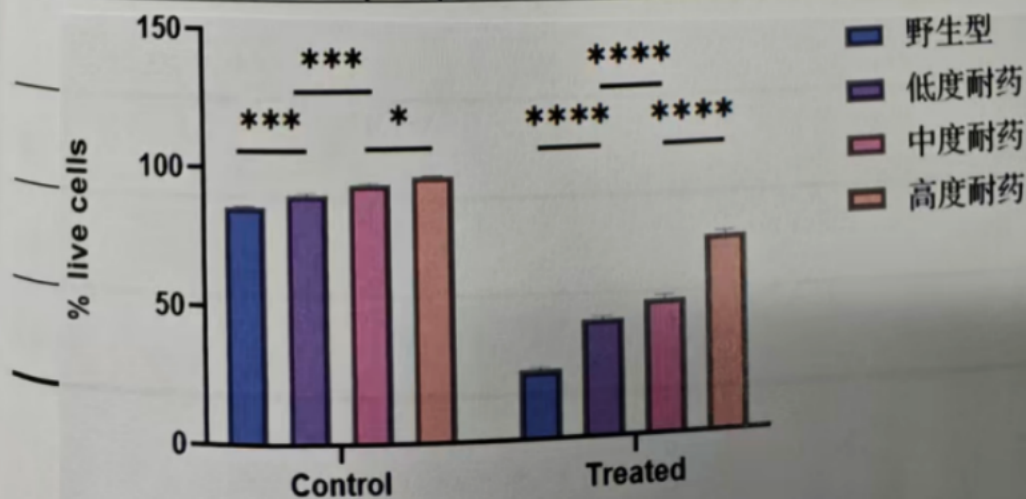


图2 不同耐药程度膀胱癌细胞存活率比较柱状图



## 九. 结果分析

本次实验针对上一次实验做出如下优化改进:

1) 将细胞接种密度调整为  $1 \times 10^6$  / 孔, 减少接触抑制, 提升药物与细胞的作用效率。

2) 将R148处理时间延长至48小时, 确保凋亡进程充分完成。

3) 在消化前先收集培养基中的悬浮细胞, 合并离心后纳入检测, 避免遗漏。

本次实验的改进显著提升了结果的可靠性和科学性。数据表明, 膀胱癌细胞株的耐药程度与凋亡抵抗呈相关。值得注意的是, 尽管耐药细胞对药物产生了适应性, 但其仍保留一定的药物敏感性。这一结果提示, 凋亡抑制可能是膀胱癌细胞对维迪西妥单抗耐药的重要机制之一。