

Transwell 细胞侵袭(二)

一、实验目的

本实验旨在利用 Transwell 侵袭实验检测 T₂₄ 细胞株及低、中、高耐药 T₂₄-RC48 细胞株的侵袭能力，探究耐药性与细胞侵袭行为的关系。

二、实验内容

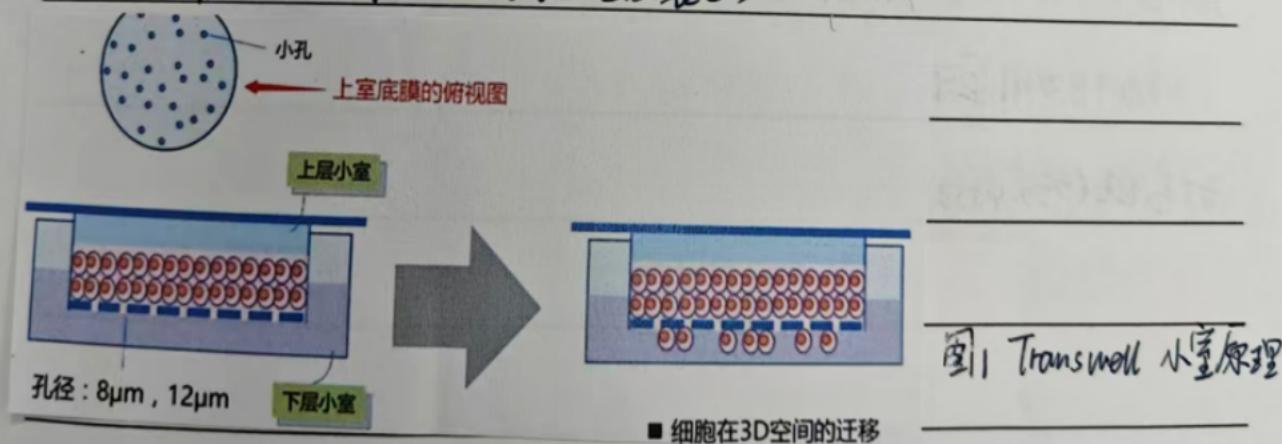
2.1 实验设计：T₂₄ 细胞株及低、中、高耐药 T₂₄-RC48 细胞株

细胞密度：每孔 50000 个细胞。

重复次数：每组 3 个复孔

基质胶：Transwell 小室预先包被 Matrigel 基质胶 (1:8 稀释)

2.2 测定原理 同 Transwell 细胞侵袭(一)



三、材料与试剂 同 Transwell 细胞侵袭(一)

四、实验仪器 同 Transwell 细胞侵袭(一)

五、实验步骤

5.1 将 T₂₄ 细胞株及低、中、高耐药 T₂₄-RC48 细胞株分别接种于 25 培养瓶

5.2 至 5.4 同 Transwell 细胞侵袭(-)

5.5 孵育后将上室中多余液体吸掉，加入基础培养基 $100\mu\text{l}/\text{小室}$ ，置于培
于培养箱 30min ，进行基底膜水化。

5.6 下室加入 20% 血清 McCoy's 5A 培养基 $600\mu\text{l}/\text{孔}$ ，然后用镊子将 Transwell 小室
置于 24 孔板内。

5.7 用胰酶消化处理后的细胞，制备成单细胞悬液，调整细胞浓度为 $5 \times 10^5 \text{ 个}/\text{ml}$ 。

5.8 至 5.14 同 Transwell 细胞侵袭(\rightarrow)(\rightarrow)(箭头，，，)。

六、实验结果

结晶紫染色结果显示，迁移细胞呈均匀分散状态，单个细胞边界清晰，无
显著重叠(图1)，通过 ImageJ 定量分析发现，T24 野生型 细胞迁移数量为 $(721.0 \pm 74.39 \text{ 个}/\text{视野})$ ，低耐药 T24-RC48 细胞为 $(808.7 \pm 98.99 \text{ 个}/\text{视野})$ ，中耐药 T24-RC48
细胞为 $(1075 \pm 141.6 \text{ 个}/\text{视野})$ ，高耐药 T24-RC48 细胞为 $(1304 \pm 115.0 \text{ 个}/\text{视野})$ (图2)。

统计学分析显示：野生型与高耐药组($p < 0.000$)之间显著差异；野生型与低
耐药组($p = 0.4558$)间无统计学差异。

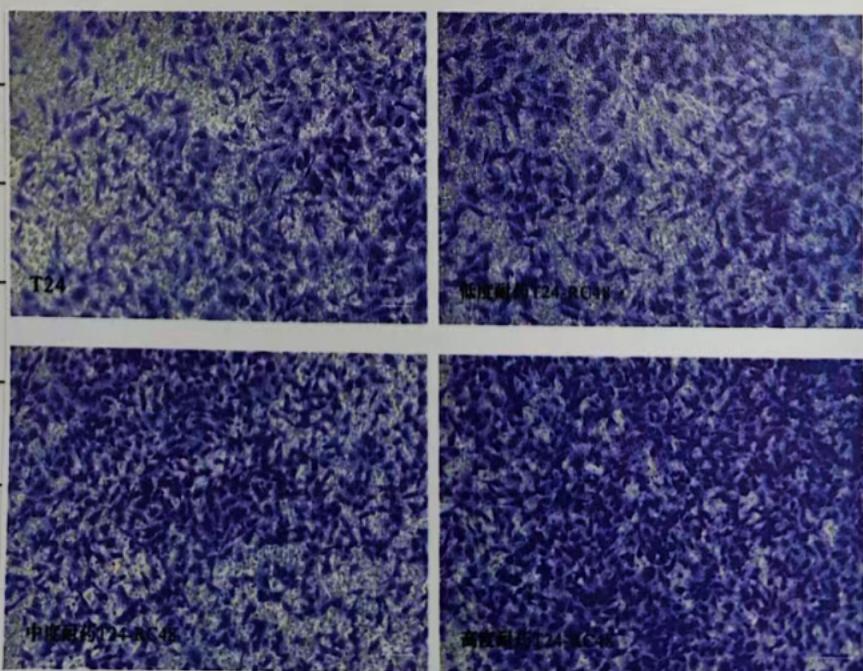
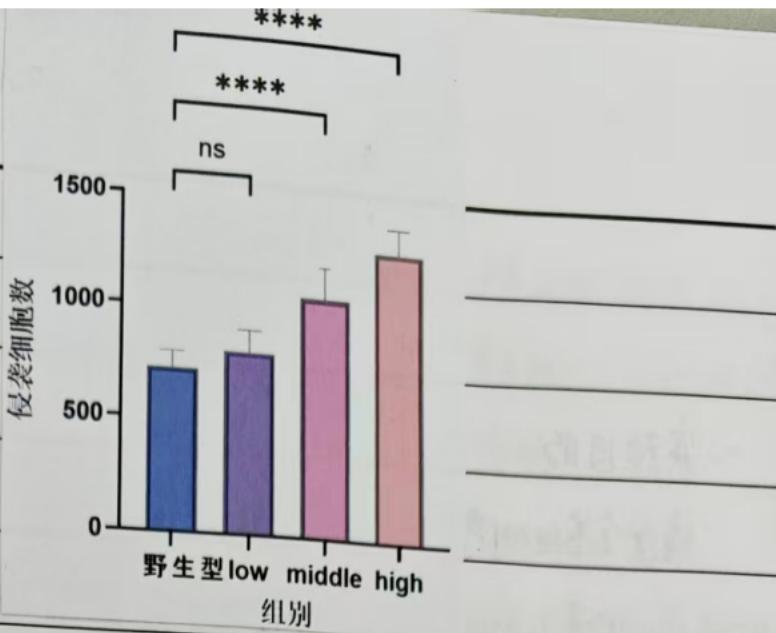


图 1 倒置相差显微镜下细胞迁移染色后的显微照片



七、结果分析

实验结果表明, T24-RC48耐药细胞株的侵袭能力随耐药性增强呈现显著上升趋势, 其中高耐药组细胞侵袭细胞数量最高, 提示耐药性与细胞侵袭能力呈正相关。相较于首次实验(细胞侵袭(-)), 本次通过以下改进显著提升了实验灵敏度与数据可靠性:

- (1) 将每孔接种量从10000增至50000个细胞, 避免因细胞数量不足导致的假阴性结果。
- (2) 下室血清浓度提高至20%, 形成更显著的趋化梯度, 有效驱动细胞迁移。
- (3) 采用全新Transwell小室, 降低背景干扰, 染色后细胞观察更为清晰。

进一步分析提示耐药性增强可能伴随细胞代谢重编程或蛋白酶分泌能力的上调, 从而提升其降解基质胶及迁移效率。

本实验为解析膀胱癌ABC药物耐药机制提供了新视角, 表明耐药性可能通过增强细胞侵袭能力加速肿瘤转移进程, 这对临床干预策略的优化具有潜在指导意义。