项目结题报告

项目名称：细胞侵袭实验

# 仪器与试剂

## 实验仪器

## 实验试剂

# 实验方法和分组

## 实验方法

实验原理：从细胞外基质入侵是肿瘤转移的一个重要步骤，肿瘤细胞穿过重建基质膜的能力与它的体内侵袭转移能力表现出较好的相关性。侵袭实验通过在聚碳酸酯膜上涂上一层基质胶，模仿细胞外基质，上室种肿瘤细胞，下室加入 FBS 或某些特定的趋化因子，细胞欲进入下室，先要分泌基质金属蛋白酶（MMPs）将基质胶降解，方可通过聚碳酸酯膜，通过计数进入下室的细胞量测定细胞的侵袭能力。

具体步骤：

1、从冰箱 -20℃ 取出 Matrigel，放于 4℃ 融化，将所需数目预冷后的 transwell 小室置于新的 24 孔板中，无菌操作台内放置使其恢复到室温。

2、上室内加入适量融化均匀的 Matrigel，37℃ 培养箱中放置 2 h或过夜，吸去上层液体，不要触碰到胶，上、下小室各加 500 µL 无血清培养基，37℃ 培养箱中放置 2 h 使 Matrigel 基质层再水化。

3、制备无血清细胞悬浮液，并计数，细胞数根据预实验调整，一般为 10的5次方/孔（24孔板）

4、Matrigel 基质层再水化完成后，将小室全部转移至新的孔板中，小心除去上室中培养基并加入 300 µL 细胞悬液，下室内加入 600 µL 30% FBS 培养基。同时使用该细胞悬液铺一块 MTS 96 孔板，每孔约接种 5000 个细胞，接种后即测定 OD570，作为侵袭参照。

5、37℃ 培养箱培养一段时间（具体时间根据预实验调整）。

6、倒扣小室于吸水纸上以去除培养基，用棉拭子轻轻移去小室内非侵袭细胞，滴 1-2 滴染色液（0.1% 结晶紫水溶液）到膜的下表面染色转移细胞 5 min 后，将小室浸泡冲洗数次，空气晾干。

7、显微镜拍照。

## 实验分组

# 结果与讨论

## 数据平均值和标准差

## 显著性差异(t-test)

## 图表绘制

## 原始实验数据

《原始实验数据》文件夹内含有侵袭视野原始结果图。

## 实验结论