



细胞划痕实验报告

一、实验器材及试剂

1、实验器材

名称	厂家	型号
立式冷藏柜	海尔	SC-332
台式高速冷冻离心机	湖南恒诺仪器设备有限公司	2-16R
超净工作台	苏净安泰	SW-CJ-1FD
CO2 细胞培养箱	Thermo	4131
倒置荧光显微镜	徕卡	DMi8

2、主要实验试剂及耗材

耗材	厂家	货号
1.5 ml 离心管	安徽科兔生物科技有限公司	KTL-15-W
2 ml 研磨管	安徽科兔生物科技有限公司	KTL-20-W
10 μ l 移液器	安徽科兔生物科技有限公司	KTY-10
100 μ l 移液器	安徽科兔生物科技有限公司	KTY-100
200 μ l 移液器	安徽科兔生物科技有限公司	KTY-200
1000 μ l 移液器	安徽科兔生物科技有限公司	KTY-1000
5000 μ l 移液器	安徽科兔生物科技有限公司	KTY-5000
T25	安徽科兔生物科技有限公司	KTP-25-T
胰酶	安徽科兔生物科技有限公司	RG-CE-18
PBS 缓冲液	安徽科兔生物科技有限公司	RG-RT-01
DMEM 培养基	安徽科兔生物科技有限公司	RG-CE-2
血清	安徽科兔生物科技有限公司	CG-SR-02

二、实验步骤

1、**细胞准备**：选择状态良好、处于对数生长期的细胞进行实验。实验前观察细胞形态，确认细胞贴壁良好、无污染、无明显死亡或漂浮细胞。根据实验设计设置不同处理组，如对照



组、模型组、药物处理组、基因过表达组或敲低组等。

2、**细胞接种**：将细胞消化、计数后，按适当密度接种于 6 孔板、12 孔板或 24 孔板中。接种密度以细胞在实验当天能够形成均匀、完整的单层细胞为宜。一般要求划痕前细胞融合度达到 90%–100%。

3、**实验前处理**：根据实验目的，可在划痕前进行药物处理、转染处理或模型刺激。若实验主要观察细胞迁移能力，建议在划痕前或划痕后使用低血清培养基，必要时加入丝裂霉素 C 抑制细胞增殖，以减少细胞增殖对迁移结果的干扰。

4、**制备划痕**：待细胞形成均一单层后，用无菌 200 μL 枪头垂直于培养板底部，在每孔中央匀速划出一条直线划痕。划痕时应保持力度一致，尽量使各孔划痕宽度相近。

5、**清洗脱落细胞**：划痕完成后，用无菌 PBS 轻轻清洗 2–3 次，去除脱落细胞和细胞碎片。清洗过程中动作应轻柔，避免进一步破坏细胞层。

6、**加入培养基及处理因素**：加入无血清或低血清培养基，并按照实验分组加入相应药物、刺激因子或处理试剂。若前期已完成处理，也可在划痕后继续维持相应处理条件。

7、**拍摄 0 h 图像**：划痕后立即在显微镜下拍摄初始划痕图像，记为 0 h。建议在培养板底部做好标记，保证后续不同时间点拍摄同一区域。每孔至少选取 3 个固定视野进行拍照。

8、**继续培养并定时拍照**：将细胞置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中继续培养。根据细胞迁移速度，在 12 h、24 h、36 h 或 48 h 等时间点拍摄相同位置的划痕图像。具体时间点应根据细胞类型和实验目的确定。

9、**图像分析**：使用 ImageJ、Image-Pro Plus 或其他图像分析软件测量不同时间点的划痕面积或划痕宽度。计算细胞迁移率或划痕愈合率。

常用计算公式为：

$$\text{划痕愈合率}(\%) = [\text{0 h 划痕面积} - \text{某时间点划痕面积}] / \text{0 h 划痕面积} \times 100\%$$

或：

$$\text{迁移率}(\%) = [\text{0 h 划痕宽度} - \text{某时间点划痕宽度}] / \text{0 h 划痕宽度} \times 100\%$$

三、结果判读：

1、**正常迁移结果**：若随着培养时间延长，划痕区域逐渐变窄，细胞从划痕两侧向中央迁移，说明细胞具有一定迁移能力。划痕愈合率越高，提示细胞迁移能力越强。

四、注意事项：

1、**划痕宽度要一致**：各孔划痕应尽量保持方向、力度和宽度一致。建议同一实验由同一人



完成划痕，减少人为误差。

2、**划痕方向要固定：**划痕时可沿培养板底部标记线操作，后续拍照时也应固定观察位置，保证不同时间点对比的是同一区域。