



細胞轉移能力分析器 試驗說明書

本說明適用於本公司產品:GHE228-A/ GHE228-A1。

(全程請戴手套操作, 以免污染 PC 膜)。

細胞轉移試驗 (Modified Boyden chamber)

一. Migration 測試:

在博登細胞移行器(Boyden chamber, 真興)的 bottom chamber 置入 22ul 的 10 % FBS-DMEM 培養液。並由下至上依序組裝 bottom chamber、polycarbonate membranes(Neuro probe, 8um pore, PVP free)、橡膠片和 up chamber, 並鎖緊螺絲。上層以 0.5% FBS-DMEM 培養液懸浮細胞, 並計數 A549 細胞每毫升 7×10^5 顆細胞濃度, 取 500ul 的細胞懸浮液與不同濃度 500ul FIP-gts(溶於 0.5% FBS-DMEM 培養液)混合, 四重複分裝至每孔取約 50 ul 加到 up chamber 之後, 培養於有 5 % CO₂ 的 37°C 恆溫培養箱培養。A549 細胞培養 9 小時後, 取出 polycarbonate membranes, 使用預冷的 95%乙醇固定下層細胞 10 min, 在室溫下待乾, 再將下層細胞經由 10 % Giemsa stain 染色 30 min。待乾之後, 使用沾有酒精的棉花棒刮去上層(未 migration 的細胞)細胞, 再用顯微鏡 100 X 拍照並計數細胞數目。

二. Invasion 測試:

MatrigelTM Basement Membrane Matrix (BD Biosciences CATALOG NUMBER 354234), 是萃取含有豐富基底膜表現的 EHS

(Engelbreth-Holm-Swarm) 老鼠癌細胞, 主要成份有 laminin, collagen I, entactin, and heparan sulfate proteoglycan(perlecan), growth factors, matrix metalloproteinases (MMPs), 和其他蛋白分解酵素 (plasminogen activators [PAs]), 和許多未定義的化合物所組成。首先把 Matrix Gel 拿出放在冰上退冰。將原始濃度為 9.2mg/ml, 用 1 X PBS 稀釋成 0.2mg/ml, 並分裝成 100 ul 一管, 並在將作測試之前, 放置冰上退冰。再將博登細胞移行器(Boyden chamber)的 bottom chamber 置入 22 ul 的 10 % FBS-DMEM 培養液。並由下至上依序組裝 bottom chamber、polycarbonate membranes、橡膠片和 up chamber, 並鎖緊螺絲。在 up chamber 注入 10 ul 的 Matrix Gel, 放置在無菌操作台中 4h, 待其凝固。上層以 0.5%FBS-DMEM 培養液懸浮細胞, 並計數 A549 細胞每毫升 7×10^5 顆細胞濃度, 取 500 ul 的細胞懸浮液與不同濃度 500 ul FIP-gts (溶於 0.5 % FBS-DMEM 培養液) 混合, 四重複分裝至每孔取約 50 ul 加到 up chamber 之後, 培養於有 5 % CO₂ 的 37°C 恆溫培養箱培養。A549 細胞培養 9 小時後, 取出 polycarbonate membranes, 使用預冷的 95 % 乙醇固定下層細胞 10 min, 在室溫下待乾, 再將下層細胞經由 10 % Giemsa stain 染色 30min。待乾之後, 使用沾有酒精的棉花棒刮去上層(未 invasion 的細胞)細胞, 再用顯微鏡 100 X 拍照並計數細胞數目。