

胃癌细胞增殖实验报告

一、实验材料

1. 细胞株

胃癌细胞（北京 Biobw, bio-81816）

2. 主要试剂

RPMI-1640 培养基（武汉普诺赛, PM150110/500 ml）

FBS（武汉普诺赛, 164210/100 ml）

青霉素-链霉素溶液（武汉普诺赛, PB180120）

0.25%胰酶（美国 Hyclone, SH30042.01/100 ml）

PBS（南京生兴生物, SN331）

DMSO（美国 Sigma, C6295-50 ml）

血球计数板（上海求精生化）

MTT（上海 Biosharp, 5 g）

3. 主要仪器设备

超净工作台（苏净集团安泰公司, SW-CJ-1F）

高压灭菌锅（西安仪创公司, BXM-30R）

CO₂ 培养箱（美国 ThermoFisher, 3131）

离心机（美国 Eppendorf, 5417R）

倒置相差显微镜（日本 Olympus, CKX31 型）

酶标仪（美国 ThermoFisher, Multiskan 51119000）

二、实验方法

1. MTT 法检测细胞增殖

(1) 胃癌细胞培养在 RPMI-1640 培养基中，含 10%胎牛血清、100 U/ml 青霉素、100 µg/ml 链霉素，置于 37°C、5% CO₂ 的细胞培养箱中。

(2) 当细胞长至 80~90%时，去除培养基，加入 PBS 洗 1~2 次，去除 PBS 后，加入 1 ml 胰酶消化 1~3 min 后，加入 3 ml 完全培养基中和胰酶终止消化。

(3) 将消化的细胞转移至 15 ml 离心管中，1000 rpm 离心 5 min。

(4) 倒掉上清后，加入 3 ml 培养基重悬细胞，1:3 传代至培养皿中培养。

(5) 将长到培养皿 80%~90%的细胞用胰酶消化下来，1000 rpm 离心，去除上清，加入完全培养基重悬细胞、

(6) 将细胞接种在 6 孔板中，每孔 1×10^6 个细胞，接种后置于 37°C、5% CO₂ 培养箱中培养 12 h 贴壁。

(7) 细胞培养至设定时间 (0、24、48、72 h) 后，每孔分别加入 5 mg/ml 预先配好的 MTT 溶液 20 µl 后继续培养 4 h，去除培养基，每孔加入 150 µl DMSO，摇晃均匀。

(8) 使用酶标仪测定 570 nm 波长下各组细胞的吸光值，以时间为横坐标，以吸光值为纵坐标，绘制细胞生长曲线。

2. 数据处理及统计学方法

实验所得数据采用平均数±标准误 (Mean±SEM) 表示，所有的数据均使用 GraphPad Prism 6 处理及统计分析。两组样本均值之间的比较采用 *t* 检验，多组样本均值之间的比较采用 ANOVA 检验，*P*<0.05 表示差异具有统计学意义。

三、实验结果

MTT 法检测各组细胞增殖能力，结果发现与 Group-1 相比，Group-2 和 Group-3 胃癌细胞的生长在 72 h 内受到明显抑制，其中 Group-3 最为显著（图 1）。

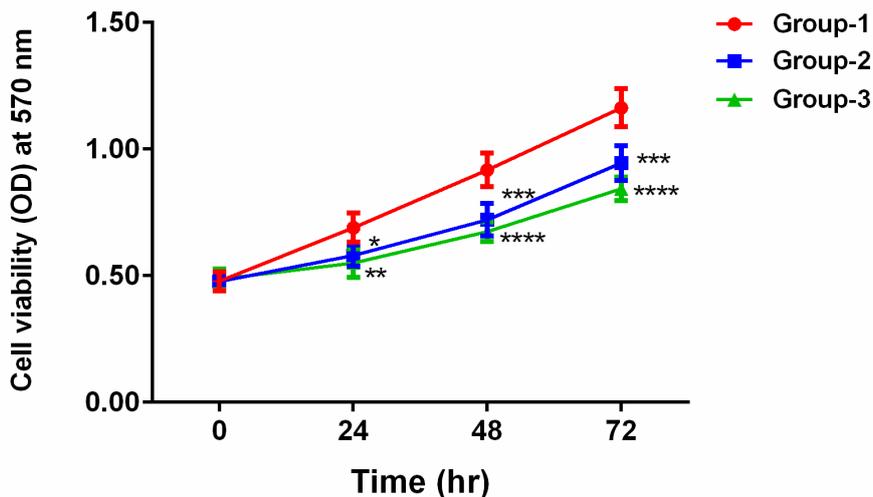


图 1 不同时间点各组胃癌细胞增殖能力比较

(* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ vs Group-1, $n=3$)