**Wound Healing assay**

**一、 種細胞**

1. 豬鼻子照UV至少15分鐘

2. 鑷子用Hood內的，噴酒精擦拭或泡在裝滿酒精的15cc離心管內消毒

3. 用鑷子將豬鼻子夾到6 well的中央黏好，每一個組別壓的緊度要一致

可固定上中下左右各壓一次，若黏不緊則換一面，只有一面有黏性

4. 在dish的底部用奇異筆畫記豬鼻子的上中下，到時候拍照就拍在線中間，比較不會迷失方位

5. 一個豬鼻子有兩個well (鼻孔)，單個well種2x104個細胞，total體積盡量<70μl

若細胞很稀導致體積超過70μl的話total <90μl都還裝得下，但會很容易溢出

為避免種不平均，一定要pipette均勻或tip伸到底部種，也可以多種一點點

細胞和medium可先配好70μl再一次load到一個well裡會比較平均

6. 豬鼻子以外的區域加入平常cell culture的medium量

7. 約6-8hr細胞貼附後可將豬鼻子拔起來 拔的時候要直直往上拔不要摩擦到dish

※注意：細胞要貼著豬鼻子的邊長滿再拔，拔掉的時候空隙的線才會很直

每種細胞生長情況不一樣，拔豬鼻子的時間要測試

8. 拔起來後馬上拍0hr，接下來拍12hr, 24hr…等（拍照天數要小於此cell line的doubling time）

**二、 拍照與分析**

1. 以進culture room左邊那台顯微鏡為例，要將倍率轉到10X 0.25，鏡頭調到Ph1

按鈕扳到相機端，亮度調到最亮，調整粗&細調節輪對焦

2. 將記憶卡換成我們家的放在伊純的抽屜內，插入位子在相機左側方

3. 拍照時用手機打開0hr的相片作為對照，才能讓每次拍的位子一模一樣

4. 用image J分析細胞migration能力：<http://llai.cm.ntu.edu.tw/media/869>

**三、 清洗豬鼻子**

1. 放入裝滿酒精的eppendorf內泡overnight

2. 拿出來後用水稍微沖洗過，避免上面有卡細胞

3. 放入dish，再放到Hood內照UV overnight

4. 用parafilm將dish封口