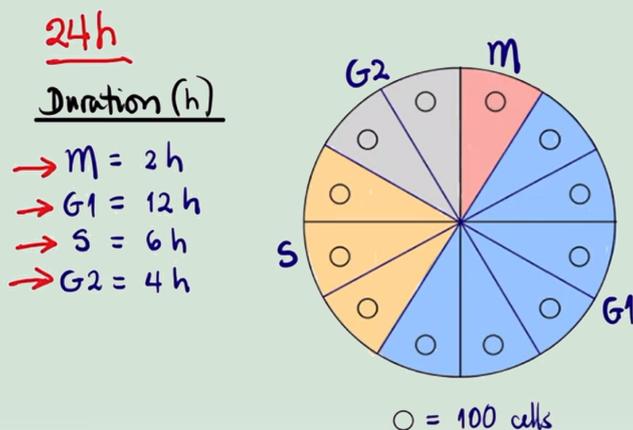


# 🌀 双Thymidine细胞同步化

Thymidine是一种DNA合成阻断剂, 可以将细胞阻滞在S期前, 通常使用两轮Thymidine处理+释放获得同步化的细胞。本Protocol是实验室常规做法, 可以针对于HeLa和U-2 OS细胞做同步化

## 关于HeLa细胞细胞周期



- Thymidine每次加入后处理细胞16-24小时, 即可保证细胞全部被阻滞在S期, 第一轮阻滞后释放9小时, 可确保细胞全部离开S期, 从而全部被第二轮阻滞捕获
- 通常, Thymidine处理释放11小时后(10.5-11.5小时), 获得较多的分裂期细胞
- 实验室Thymidine为250 mM储液, 100×使用, 使用前提前半小时化冻溶解, 或提前几分钟用Parfilm膜封口放在在37°C水浴锅中融化

1. 第一天晚上铺片子, 六孔板,  $1.5 \times 10^5$ 个细胞/孔
2. 第二天下午16点, 待细胞贴壁后加入Thymidine
3. 第三天早晨8点, 在Thymidine处理16小时后, 释放同步化阻滞, 吸出培养基, 用PBS涮洗两次后补上新的培养基
  - ! 如果需要转染, 选择在释放1小时(9点)进行比较合适, 转染36小时后分裂期细胞富集
4. 第三天下午5点, 换培养基, 加入Thymidine作第二轮同步化
5. 第四天早晨9点, 释放同步化阻滞(收G1/S期细胞样品), S期细胞8小时后收(下午5点), G2期细胞释放阻滞9.5小时候后收(下午6点半)
6. 第四天晚上20点, 释放后11小时后, 镜检, 收取分裂期细胞