

Vježba 1 Krivulja rasta (2026.):

Napomena: Radili smo s dva tipa stanica:

- 1.) A1235 glioblastomi (https://www.cellosaurus.org/CVCL_7002) – brojanje stanica za krivulju rasta
- 2.) HeLa (<https://www.atcc.org/products/ccl-2>) – presađivanje stanica

Što sve treba biti u rezultatima vježbe 1:

- I.) Opisati **morfološki izgled** stanica prije i poslije tripsinizacije.
- II.) Prikazati **puni izračun** kako ste nasadili stanice HeLa.
- III.) Izračunati **originalan broj stanica** iz petrijeve zdjelice A1235 za 4. ili 5. dan za krivulju rasta. (Dovoljan je računski prikaz samo jedne petrijeve zdjelice).
- IV.) Prikazati krivulju rasta (i **tablično**; prikažite sve točke u tablici i označite koje ste uzeli za izračun srednje vrijednosti po danu; i **grafički**) te označiti na grafu vrijeme udvostručenja. Krivulja se mora prikazati na 2 načina: **dekadski** (ovisnost broja stanica o danima) te **semilogaritamski** (ovisnost log (stanica) o danima). – napomena: tu će vam pomoći dokument krivulja rasta (odaberite dvije točke na eksponencijalnom dijelu grafa gdje se udvostručio broj stanica i na temelju te dvije točke ćete dobiti vrijeme udvostručenja).
- V.) **Vrijeme udvostručenja** trebate izračunati na dva načina prema dvije skale (dekadskoj i semilogaritamskoj) te taj izračunati podatak morate naznačiti na grafu.
- VI.) Izračunati **plating efficiency (PE)** – formula se nalazi u skripti.

Što sve treba biti u diskusiji vježbe 1:

- I.) Objasniti izgled stanica **nakon tripsinizacije**.
- II.) Opisati **dobivenu kinetiku grafa**, vide li se sve faze? Ako ne zašto ne?
- III.) **Kada počinje koja faza na grafu?** Što je točno vrijeme udvostručenja? Usporediti vrijeme udvostručenja iz dekadskog i semilogaritamskog prikaza (jesu li vrijednosti iste ili se razlikuju).

IV.) Usporediti **plating efficiency s literaturom** ukoliko postoje podaci te objasniti važnost ovog podatka. *Napomena:* ukoliko nema podataka za vaš tip stanica, diskutirajte u usporedbi s nekim sličnim stanicama.

V.) Usporediti **Vaše vrijeme udvostručenja** s literaturnim podacima.

VI.) Što biste napravili da dobijete preciznije rezultate, ako oni nisu u skladu s očekivanim, te općenito objasniti sve fenomene i pojave za koje smatrate da je potrebna diskusija.

Zadatak za vježbu 1 koji se treba riješiti iza diskusije i referenca:

Ako smo na hemocitometru izbrojali 90 000 st/ml, a originalno smo imali 10 ml stanične suspenzije u velikoj petrijevoj zdjelici, koliko smo ukupno imali stanica u petrijevoj zdjelici koju smo tripsinizirali? Kako biste nasadili 5 petrijevih zdjelica sa 2×10^5 stanica u volumenu od 4 ml medija DMEM + 10% FBS ukoliko je moguće nasaditi 5 petrijevih zdjelica. Ukoliko nije, koliko maksimalno petrijevih zdjelica možete rasaditi?

Podaci za krivulju rasta (A1235) - broj stanica:

1. dan

nasadeno: 5×10^4

prihvaćeno: $4,2 \times 10^4$

2. dan

$5,1 \times 10^4$

$5,3 \times 10^4$

3. dan

$6,7 \times 10^4$

4. dan

$7,46 \times 10^5$

$2,6 \times 10^5$

$2,73 \times 10^5$

$$2,27 \times 10^5$$

$$1,17 \times 10^5$$

$$1,66 \times 10^5$$

$$2,8 \times 10^5$$

$$1,67 \times 10^5$$

$$3,4 \times 10^5$$

5. dan

$$2,8 \times 10^5$$

$$2,72 \times 10^6$$

$$2,7 \times 10^5$$

$$2 \times 10^5$$

$$3,07 \times 10^5$$

$$5,53 \times 10^5$$

$$1,47 \times 10^6$$

$$3,84 \times 10^5$$

$$3,54 \times 10^5$$