

karlo.miscec@biol.pmf.hr

Vježba 1 Krivulja rasta (2025.):

Napomena: Radili smo s dva tipa stanica:

- 1.) HEK293 (<https://www.atcc.org/products/crl-1573>) - presađivanje
- 2.) Imortaliziranim ljudskim fibroblastima (<https://cancertools.org/cell-lines/immortalised-human-fibroblast-154112/>) - mjerenje broja stanica u cijeloj petrijevoj zdjelici; dan 4. – četvrtak i dan 5. – petak za krivulju rasta.

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 HEK293**.
- III.) Izračunati **originalan broj stanica** iz petrijeve zdjelice **imortaliziranih fibroblasta 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 da zašto da, 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 očekivanjem, 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 mali 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 (Imortalizirani ljudski fibroblasti) - broj stanica:

1. dan

nasadeno: 5×10^4

prihvaćeno: $4,45 \times 10^4$

2. dan

$5,5 \times 10^4$

$5,8 \times 10^4$

3. dan

$7,7 \times 10^4$

4. dan

$1,07 \times 10^5$

$1,07 \times 10^5$

$$1,04 \times 10^5$$

$$1,3 \times 10^5$$

$$7 \times 10^4$$

$$1 \times 10^5$$

$$2,6 \times 10^4$$

$$4 \times 10^4$$

$$1,2 \times 10^5$$

5. *dan*

$$4,1 \times 10^5$$

$$2,4 \times 10^5$$

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

$$2,0 \times 10^5$$

$$1,0 \times 10^5$$

$$2,4 \times 10^5$$

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

$$1,12 \times 10^5$$