

Vježba 3 Stanična sinkronizacija mitotskom selekcijom (2025.):

Napomena: Radili smo s MDA-MB-231 (<https://www.atcc.org/products/htb-26>).

Što sve treba biti u rezultatima vježbe 3:

- I.) Opisati **izgled stanica** prije i nakon mitotske selekcije.
- II.) **Fotografski prikaz svih faza mitoze** (profaza, prometafaza, metafaza, anafaza i telofaza – eventualno neke međufaze ako ih uspijemo pronaći).
- III.) Označiti na fazama mitoze **vidljive dijelove stanice**: npr. sestrinske kromatide, kromosomi, centromera, centrosomi, diobeno vreteno i stanična membrana.
- IV.) Izračunati **mitotski indeks**.

Što sve treba biti u diskusiji vježbe 3:

- I.) Diskutirajte **vrijednost mitotskog indeksa** – ima li smisla dobiveni broj, da li je vrijednost realna?
- II.) Što je sve moglo utjecati na rezultat mitotskog indeksa i **kako biste dobili precizniji broj**?
- III.) Postoji li **bolja metoda za sinkronizaciju stanica**? Pronađite neki primjer i usporedite prednosti i mane s metodom koju smo koristili na vježbama.

Zadatak za vježbu 3 koji se treba riješiti iza diskusije i referenca:

Nasadili ste stanice fibroblasta koje su nastale kao primarna kultura iz kože miša. Iako ste stanice uzgajali u visoko hranjivom mediju DMEM with high glucose tjedan dana bez presađivanja, uočili ste da primjenom metode mitotske selekcije skoro uopće nije bilo stanica koje su se odijepile od podloge. Kada ste stanice pogledali na mikroskopu vidjeli ste da je konfluentnost T-boce 98%.

a) Što točno znači pojava fenomena da se stanice nisu odlijepile od podloge metodom mitotske selekcije?

b) Zašto se javio ovaj fenomen ako znate da imate dovoljno hranidbenog medija i seruma u petrijevoj zdjelici čak i tjedan dana nakon zadnjeg presađivanja stanica? Objasnite što mislite u koju fazu staničnog ciklusa su stanice ušle nakon tjedan dana i zašto.

c) Kada biste umjesto fibroblasta na isti način uzgajali staničnu liniju HeLa, da li bi se one odlijepile od podloge mitotskom selekcijom kada se ne bi presađivale tjedan dana ako je riječ o istom eksperimentu i istim uvjetima? Zašto?