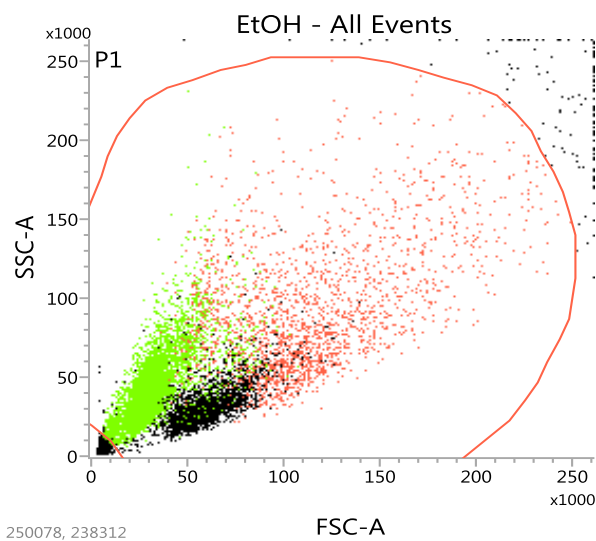
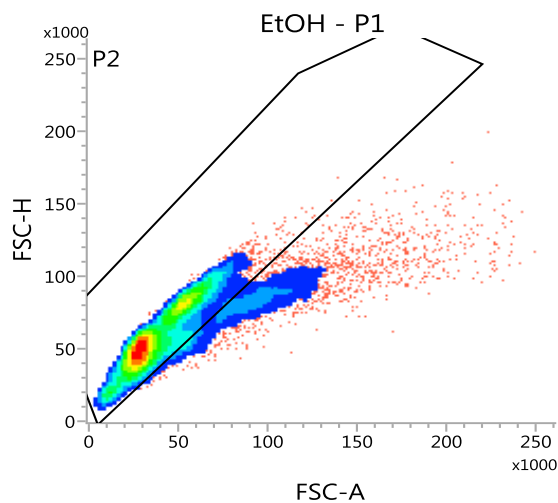


Na tomto listu máte grafy, které (až na ten třetí, ten už je specifický pro naši úlohu) využíváme při ka
 Průtokový cytometr analyzuje každou buňku ve vzorku zvlášť a každá tečka tak představuje jednu bu
 Pustte si prosím video, jak cytometr funguje a co se při analyzování buňky zobrazuje na obrazovce p
<https://www.youtube.com/watch?v=EQXPJ7eesQ>

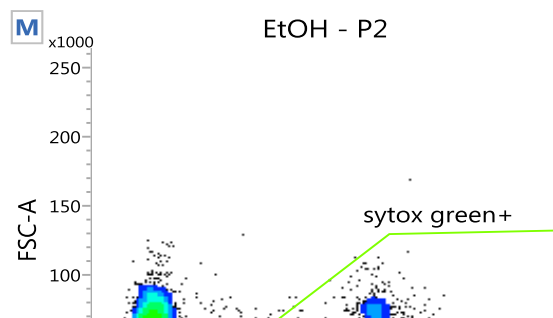


250078, 238312

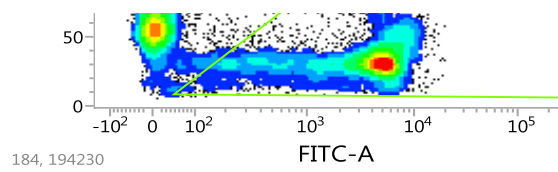
První graf slouží k "zao
 dále analyzovat. Osa x
 buněk, osa y (SSC-A, si
 vzorek s různými buně
 tady populace krásně
 populaci mrtvých buně
 Populace, která je ana



Druhý graf v sobě zah
 buňky, které jsme si c
 Tento graf nám umož
 skutečně samostatně
 takový ten ocásek, kt
 cytometr naměřil sice
 průchod měřícím syst
 větší (FSC-A). Peak p
 pro každou analyzova
 pak jen ta tečka repre
 plochy (A) peaku.



A třetí graf už tady uk
 fluorescenčního signá
 Naše vzorky po induk
 kombinací byly po roz
 barvičkou sytox greer
 Na ose x (FITC-A) je zr
 co svítí, to je mrtvé :-)



Všechny tyto finální g
do prezentace, máte

žádám měření na průtokovém cytometru - tyto grafy jsou jen pro vaši představu, jak to funguje, do prezentační předlohy. Abychom mohli analyzovat každou buňku našich sféroidů zvlášť, je nutné ho rozrušit trypsinem - očitáče - přesně to byste viděli u nás :-)

ořezání" naší buněčné populace, kterou budeme analyzovat (FSC-A, forward scatter) představuje velikost (side scatter) jejich granularitu. Pokud byste měřili různé buňkami typy, např. krevní buňky, pak by se vám oddělily. V našem vzorku vidíte rozlišitelnou populaci (ty zelené tečky) od živých (zbytek). Analyzovaná dále, je ohraničená - tzv. gate.

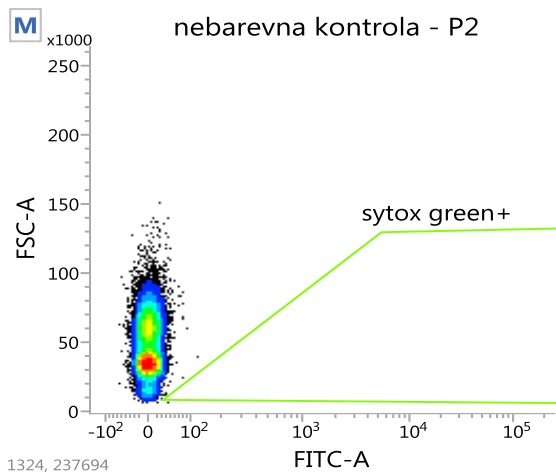
získáme jenom buňky z populace P1 - to jsou ty, které jsme ohraničili na prvním grafu. Dále se snažíme rozlišit buňky, které jsou analyzovány jako singlety a tzv. dublety buněk. Dublety jsou buňky, které jsou mimo další ohraničení - při jejich analýze dávají vyšší signál než běžný signál co do výšky peaku (FSC-H), ale protože trval déle, proto je celková plocha peaku vyšší než u singletů. Vychází z histogramu, který si cytometr vykresluje pro každou jednotku, ale v našem grafu není - tam už je zahrnutá buňka na základě poměru výšky (H) a šířky (W).

získáme analýzu singletů na pozitivitu. Jiné typy analýz by měly jiné grafy. Například EtOH (kontrola), perifosin, NaHCO₃ a jejich zavedení na jednotlivé buňky inkubované s EtOH, která se dostává jen do mrtvých buněk. Získáme názorně intenzitu fluorescence - a jednoduše, analyzujeme je.

grafy vašich analyzovaných sféroidů, které dáte
na druhém listě.

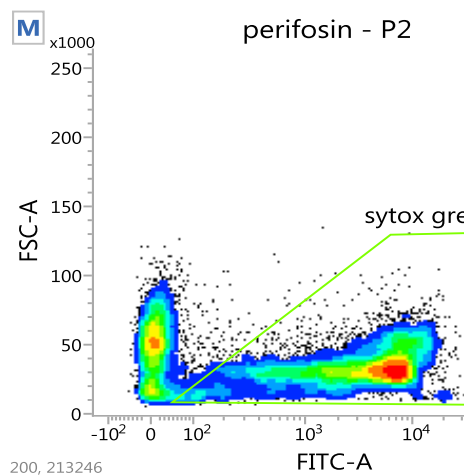
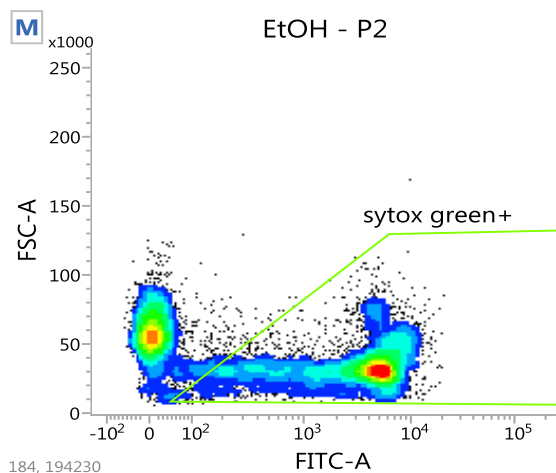
zentace je nedávejte.

jako jste to dělali při přípravě lyzátů na elfo+western.



Nebarvenou kontrolu jsme použili pro nastavení ohraničení buněk, které budou pozitivní na fluorescenční signál - je to ten zelený rámeček pojmenovaný sytox green+

Do prezentace graf taky můžete dát a vysvětlit

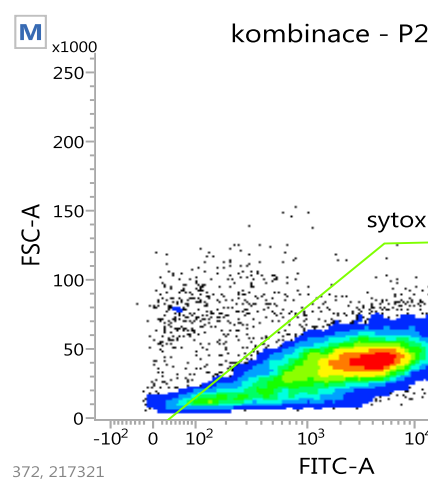
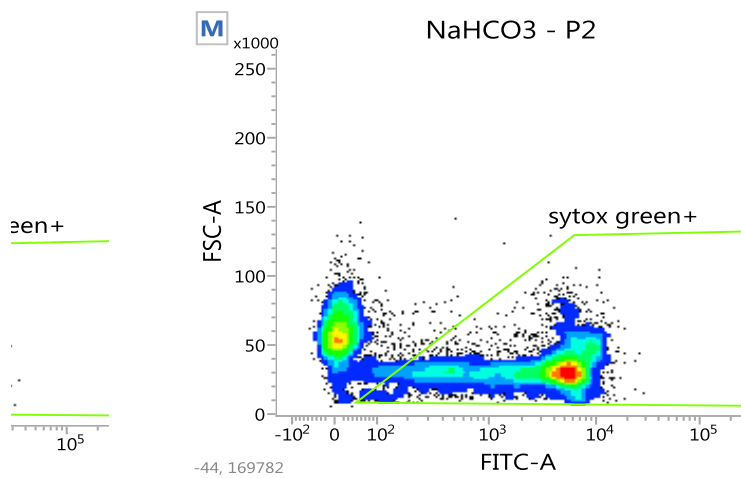


	% sytox green+
EtOH	60.71
perifosin	72.66
NaHCO3	63.77
kombinace	93.08

Cytometr umí říct přesné procentuální zastoupení těch buněk sytox green+. Z těchto hodnot udělejte jednoduchý sloupcový graf a přidejte ho do prezentace ke grafům z cytometru :-)

Závěr je, že i v kontrolním sféroidu se na týdnu kultivace nachází velká množství

**zaver je, ze i v kontrolnim steroidu se po tydni kultivace nachazi velke mnozst
množství sice narůstá, ale teprve v kombinaci s NaHCO_3 , který alkalizuje prost**



úí mrtvých buněk. Ve sféroidu ovlivněném perifosinem pak toto

vi mrtvých buněk. ve steroidu ovlivněném pernosinem pak toto
řadí, dosáhneme zabití téměř všech buněk.

green+

