

OBSAH

PODĚKOVÁNÍ	7
ZKRATKY	9
1. ÚVOD	11
2. LITERÁRNÍ PŘEHLED	13
3. CÍLE HABILITAČNÍ PRÁCE	22
4. MATERIÁL A METODY	23
4.1. Roztoky, pufrý a fixativa	23
4.2. Laboratorní zvířata	24
4.3. Chirurgické techniky	24
4.3.1. Anestézie	24
4.3.2. Odběr fetální tkáně	25
4.3.3. Transplantace C6 gliomu a fetálních tkání do CNS potkanů	25
4.3.4. Značení bromodeoxyuridinem	25
4.4. Buněčné suspenze a tkáňové kultury	26
4.4.1. Kultivace fetálních nervových buněk	26
4.4.2. Kultivace NPCs	26
4.4.3. C6 gliom	27
4.5. Imunohistochemie	27
4.5.1. Ošetření řezů, LSAB metoda	27
4.5.2. Seznam použitých primárních protilátek	28
4.5.3. Katalyzovaná amplifikace signálu (csa)	29
4.6. Detekce buněčné smrti	29
4.6.1. Metoda TUNEL (TdT-mediated biotin-dUTP Nick End Labelling)	29
4.6.2. Propidium jodid	29
4.7. Histologické zpracování materiálu pro světelnou mikroskopii ..	30
4.8. Transmisní elektronová mikroskopie (TEM)	30
4.9. Světelná mikroskopie, obrazová analýza, statistika a fotografie	30

5. VÝSLEDKY HABILITAČNÍ PRÁCE	32
5.1. Lokalizace neurálních prekursorových buněk in situ.	
Diferenciace neurálních buněk in vivo	32
5.1.1. Vývoj savčího CNS	33
5.1.2. Subependymální zóna (SEZ)	38
5.1.3. Imunofenotypizace buněčných typů v CNS potkana za vývoje a v dospělosti	40
5.2. Kultivace fetálních buněk	50
5.2.1. Kultivace fetálních nervových buněk	51
5.2.2. Kultivace fetálních dopaminergních (DA) nervových buněk	55
5.2.3. Kultivace ostatních fetálních buněk	58
5.3. Kultivace neurálních prekursorových buněk (NPCs)	59
5.3.1. Izolace NPCs	59
5.3.2. Chování neurosfér in vitro	62
5.3.3. Vnitřní struktura sferoidů různého stáří	64
5.3.4. Diferenciace NPCs uvnitř sferoidů	68
5.3.5. Buněčná smrt uvnitř sferoidů generovaných NPCs	70
6. DISKUSE	74
7. ZÁVĚRY HABILITAČNÍ PRÁCE	90
8. LITERATURA	92
9. SOUHRN HABILITAČNÍ PRÁCE	107
10. OBRAZOVÁ PŘÍLOHA	109