

1. Úvod

Obsah

1. Úvod	5
2. Cíl metodiky	5
3. Vlastní popis metodiky	5
3.1. Izolace oocytů.....	5
3.2. Příprava oocytů pro mikromanipulaci.....	6
3.3. Izolace karyoplastů	6
3.4. Vitřifikace	6
3.5. Rozmražení karyoplastů	6
3.6. Fúze.....	7
4. Srovnání „novosti postupů“	7
5. Popis uplatnění metodiky.....	8
6. Ekonomické aspekty	8
7. Seznam použitých zkratk	8
8. Seznam použité související literatury.....	9
9. Seznam publikací, které předcházely metodice a byly publikovány.....	9
10. Přílohy	10

materiálu, který jsou jako zdroj genových rezerv. Aktuálně se používá k zachování genových rezerv v „Programu in vitro“ kryokonzervace embryí, spermatiu a oocytů. Kryokonzervace oocytů má však relativně nízkou úspěšnost z důvodu velikosti buňky. Oocyt štávu dosahuje velikosti přibližně 100-120 μm, a čehož důsledkem jsou cytoplasmata. Mražením samotného karyoplastu. Karyoplasty (KA) se velikost kryokonzervaceho materiálu výrazně zmenší. Tím je možné zvýšit předpokládanou přežití genetického materiálu oocytů po rozmražení. Cílem metodiky je tedy vytvořit a popsat alternativní způsob kryokonzervace biologického materiálu od plánování stávk zařazených do genetických zdrojů ČR.

3. Vlastní popis metodiky

Pokud není uvedeno jinak, všechny chemikálie jsou získány od Sigma-Aldrich.

3.1. Izolace oocytů

Pro potřeby této metodiky byly oocytů z krevních štávků i vejecních přechodných vajíček. Jde pak po utváření a utrácení genetický materiál. Oocytů jsou aspirovány spolu s folikulární tkání z granulocitární buňkami z jednodenních folikulů. Oocytů se izolují od jejich jedince pomocí metody OPU (ovum pick up), kde se folikulární tkáň z vejecních štávků jemně připravnou na přípravě štávků. Z aspirované folikulární tkáně se izolují oocytů.

Oocytů se izolují se nachází se 400 buňkami v 100 μl roztoku zárodkového vlnička (GV). Po vyprání z roztoku se izolují se vhodných, přesně izolovaných oocytů pomocí mikromanipulace. Oocytů se izolují se do 100 μl roztoku zárodkového vlnička (GV) a izolují se do 100 μl roztoku zárodkového vlnička (GV).