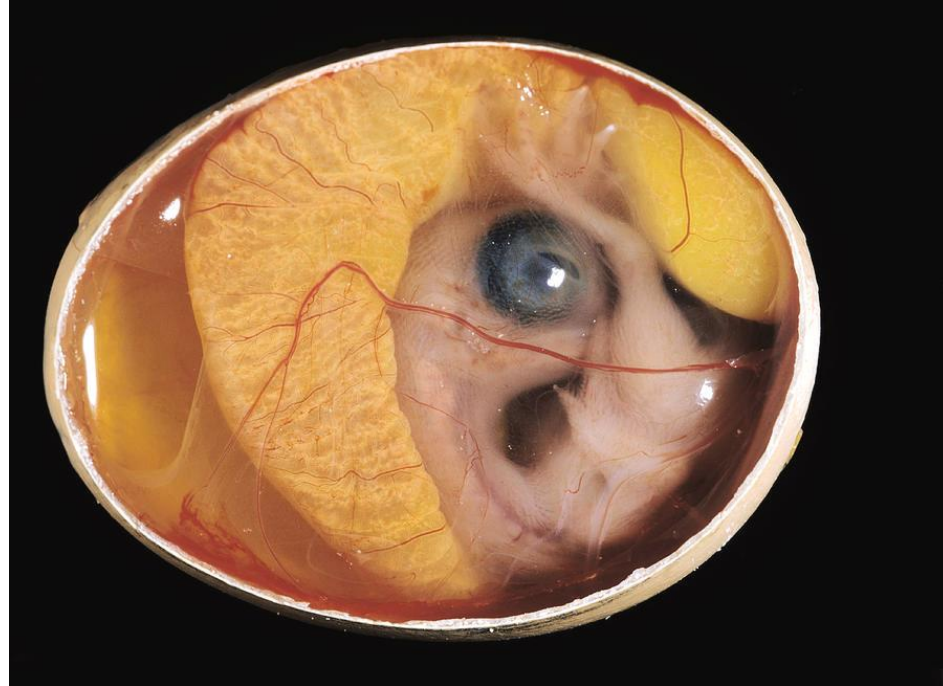


Kuře jako experimentální model - II

Gallus gallus f. domestica – kuřecí embryo

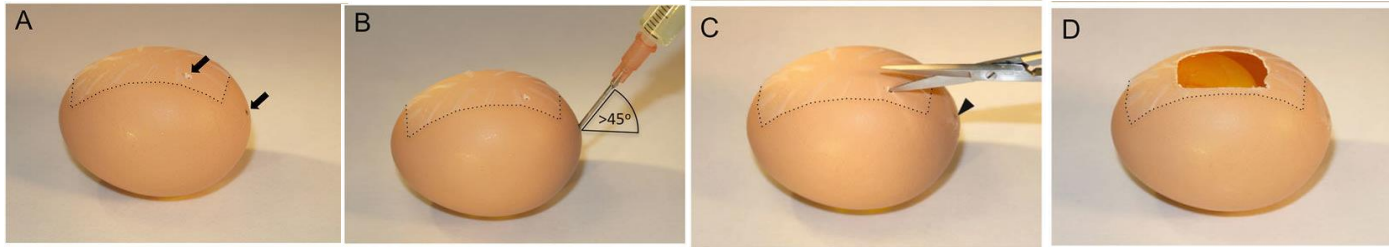


Inkubace kuřecích embryí

- Integra Žabčice
- Oplozená vejce - lednice
- Vývoj embrya v oplodněném vejci začíná vložení vajíček do inkubátoru (37,8 °C, konstantní vlhkost)
- Vejce musí být položena na stranu



Manipulace s kuřecími embryi



- Vejce musí být položeno na stranu (A)
- Po 1,5 dni (cca 36 hodinách = HH 10) odsáváme bílek (embryo klesne) (B), vystříhneme otvor do skořápky (C), který následně přelepíme a vejce vracíme zpět do inkubátoru
- Po cílené manipulaci (injikaci, implantaci, transplantaci..) přelepíme otvor a inkubujeme do odběru (D)



Vyjmutí embrya z vajíčka

- Nejdříve je nutné přerušit cévy a závěsy, posléze embryo vytáhnout pomocí pinzet (když to nejde, výborně poslouží obyčejná plastová lžička)
- Vyjmutí embrya slouží k:
 - Použití embryonálních tkání ke kultivaci (tkání, nebo vytvoření primární buněčné linie)
 - Při ukončení experimentu je nutné embryo vyjmout a dále zpracovat ovlivněné tkáně (histologie, izolace RNA pro stanovení exprese..)

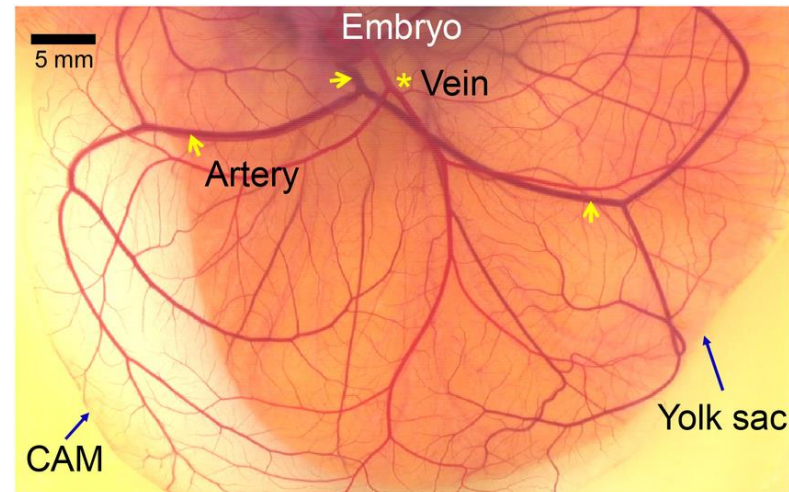
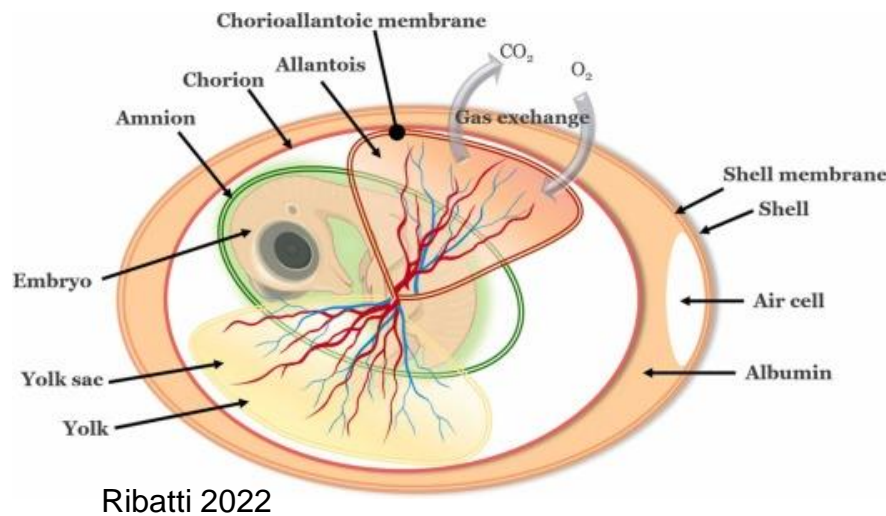


Mikroinjektáž



Chorioallantoic membrane (CAM) assay

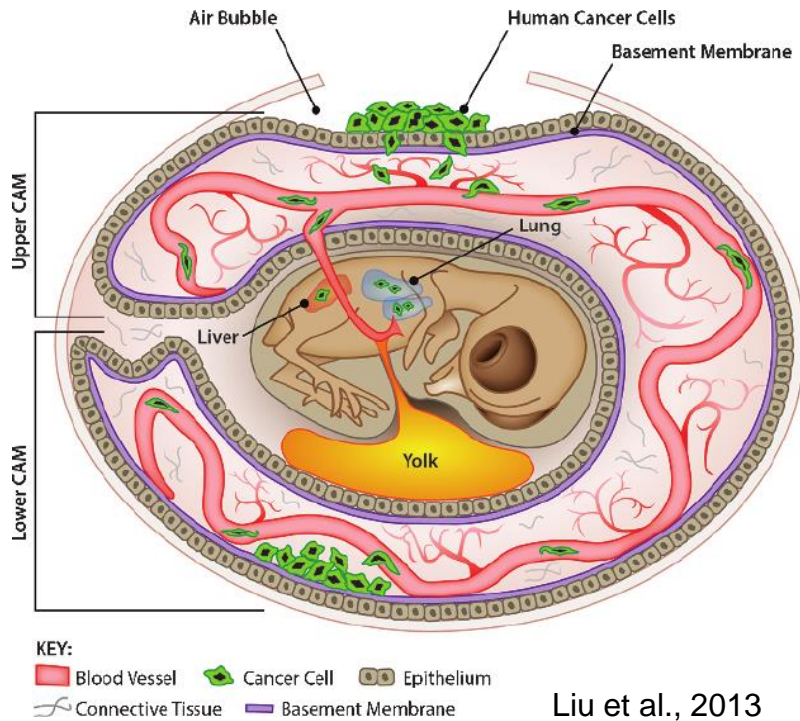
- CAM: allantois a chorion srůstají 6.-7. ED
- Funkce CAM: výměna plynů a příjem vápníku z porézní skořápky, exkrece sodíku a chloridů z allant.vaku, rezervoár odpadních produktů



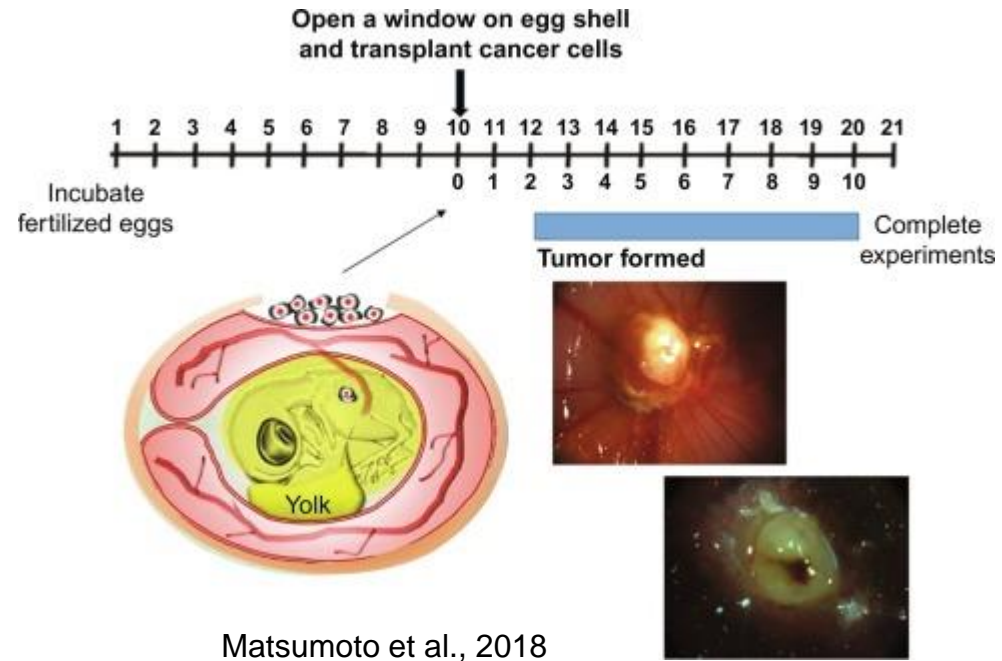
Chorioallantoic membrane (CAM) assay

- Murphy, 1913 – inokulace „Jensen rat sarcoma“ na CAM kuřecího embrya
- Před E18 není imunitní systém kuřat plně vyvinutý - imunodeficientní prostředí
- Studium angiogeneze, růstu a invazivity nádorových buněk a metastazování
- Hodnocení „distribuce“ léků a terapeutických látek

Chorioallantoic membrane (CAM) assay



Liu et al., 2013



Matsumoto et al., 2018

Chorioallantoic membrane (CAM) assay

- Biomateriál namočte ve sterilním PBS (pro lepší viditelnost přibarvit trypanovou modří), umístěte na CAM

