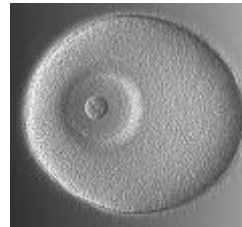
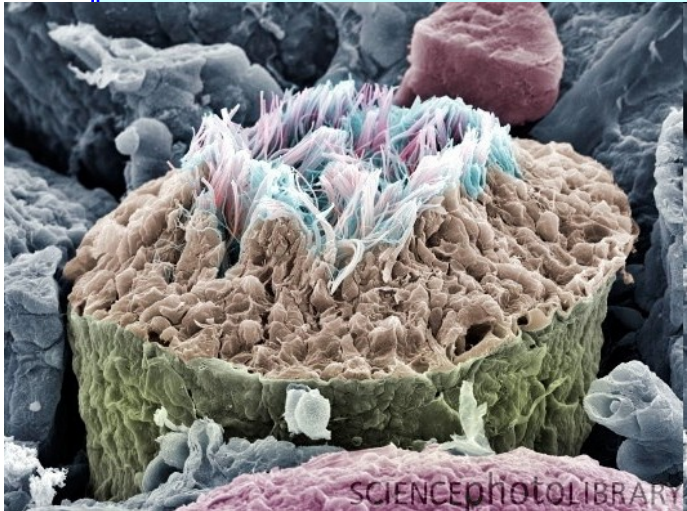
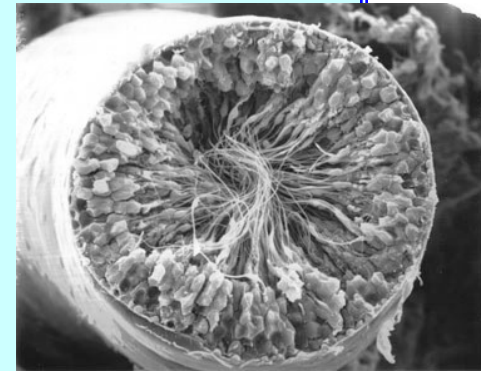
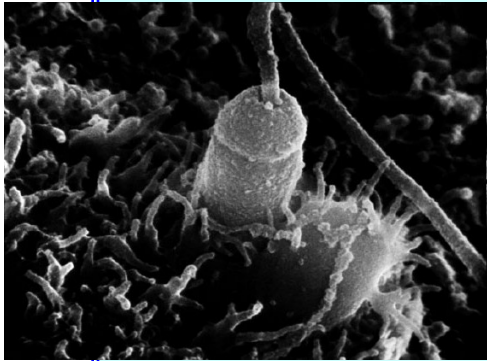


preparace slinných žláz larev pakomára

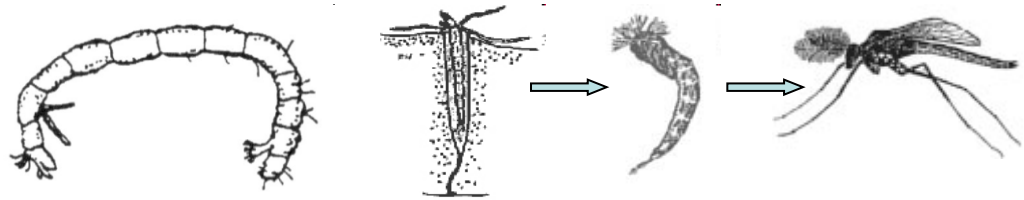
meióza

spermatogeneze

oogeneze

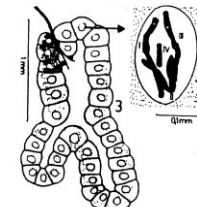
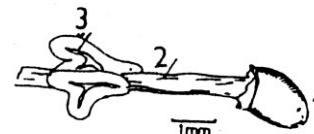
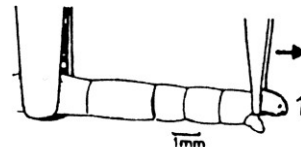
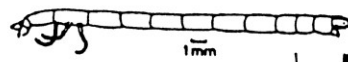
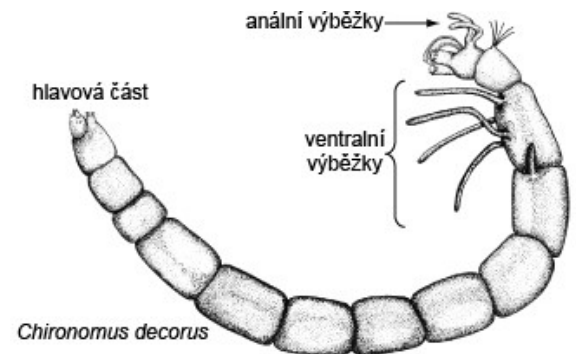


PREPARACE BUNĚK SLINNÝCH ŽLAZ – LARVA PAKOMÁRA



✓ Larva pakomára:

- **Fixace:** Du Noyerova fixáž (96% alkohol a kyselina octová ledová, 3:1)
 - **Barvení:** ORCEIN – larvy v orceinu cca 20-40 min, potom do PBS
- ✓ Na očištěné podložní sklíčko pinzetou přeneseme larvu, přikápneme PBS. **Larva nesmí vyschnout!**
- ✓ Pracujeme pod preparačním mikroskopem.
- ✓ Odstraníme larvě hlavu.
- ✓ Vytlačíme obsah 2-3 tělních článků.
- ✓ Slinné žlázy – viz obrázek.
- ✓ Odstraníme zbytek těla z podložního skla.
- ✓ Slinné žlázy přiklopíme krycím sklíčkem a pozorujeme polyedrické buňky s polytenními chromozómy v jádře.
- ✓ Zakreslíme.



Běžný světelný mikroskop:

Pozorování objektů v procházejícím světle, světlo vstupuje rovnoběžně s optickou osou mikroskopu, kolmo na preparát.

- malá pracovní vzdálenost
- převrácený obraz
- objekty musí být tenké
- obraz plochý



Preparační mikroskop:

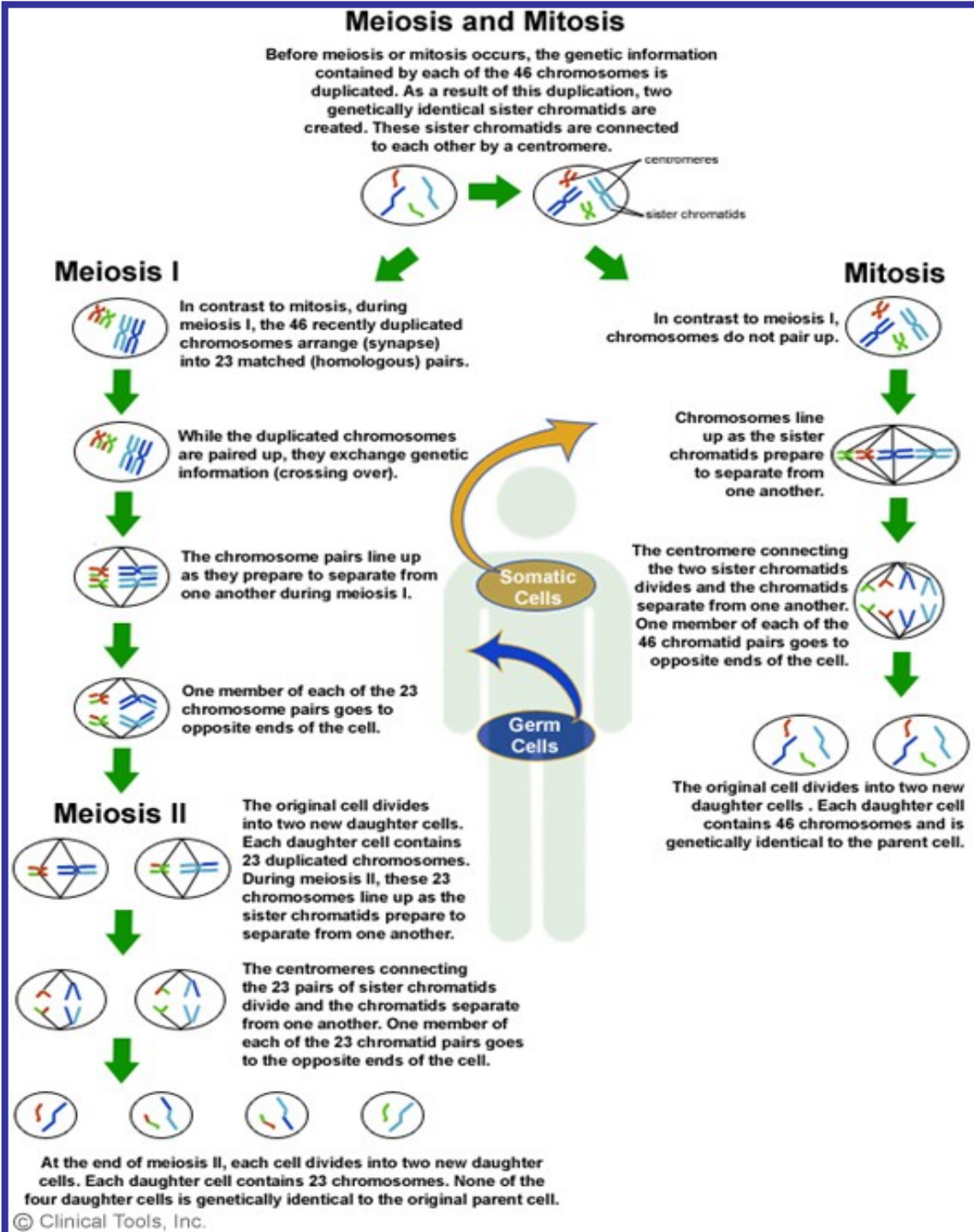
Pozorování objektů v dopadajícím světle, pozorování i velkých objektů, značná hloubka ostrosti – plastický a nepřevrácený obraz povrchu preparátu.

- 2 složené mikroskopy (2 okuláry a 2 objektivy), optické osy svírají ostrý úhel, 2 obrazy různých stran objektu – oko vnímá 1 stereoobraz
- Pod okuláry skleněné hranoly (Porrova prismata) – obracejí převrácený obraz vytvořený objektivy – v oku obraz obraz nepřevrácený
- Světelný zdroj – světlo dopadá pod různými úhly shora (lze osvětlit i zdola). Objekt pozorován v odraženém světle – zobrazení povrchu (reliéf)
- Objektivy s malým zvětšením – velká pracovní vzdálenost
- Světlý nebo tmavý kotouč – světlé nebo tmavé pole

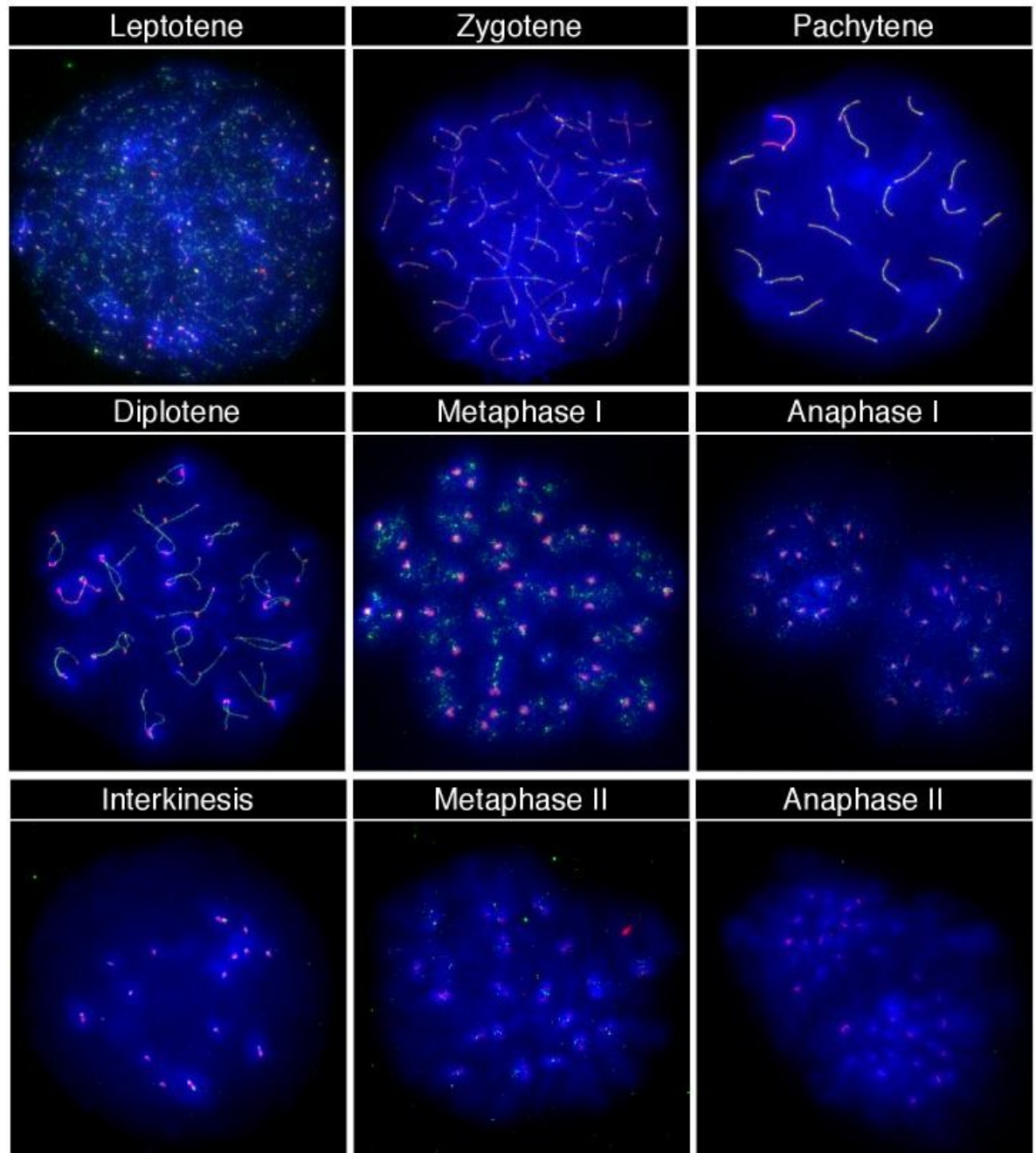
MEIÓZA

- 2 buněčná dělení a pouze 1 replikace DNA
- I. redukční dělení (**heterotypické**)
Profáze: leptotene
zygotene
pachytene
diplotene
diakineze
- II. redukční dělení (**homotypické**)
mitóza haploidních buněk

FILM

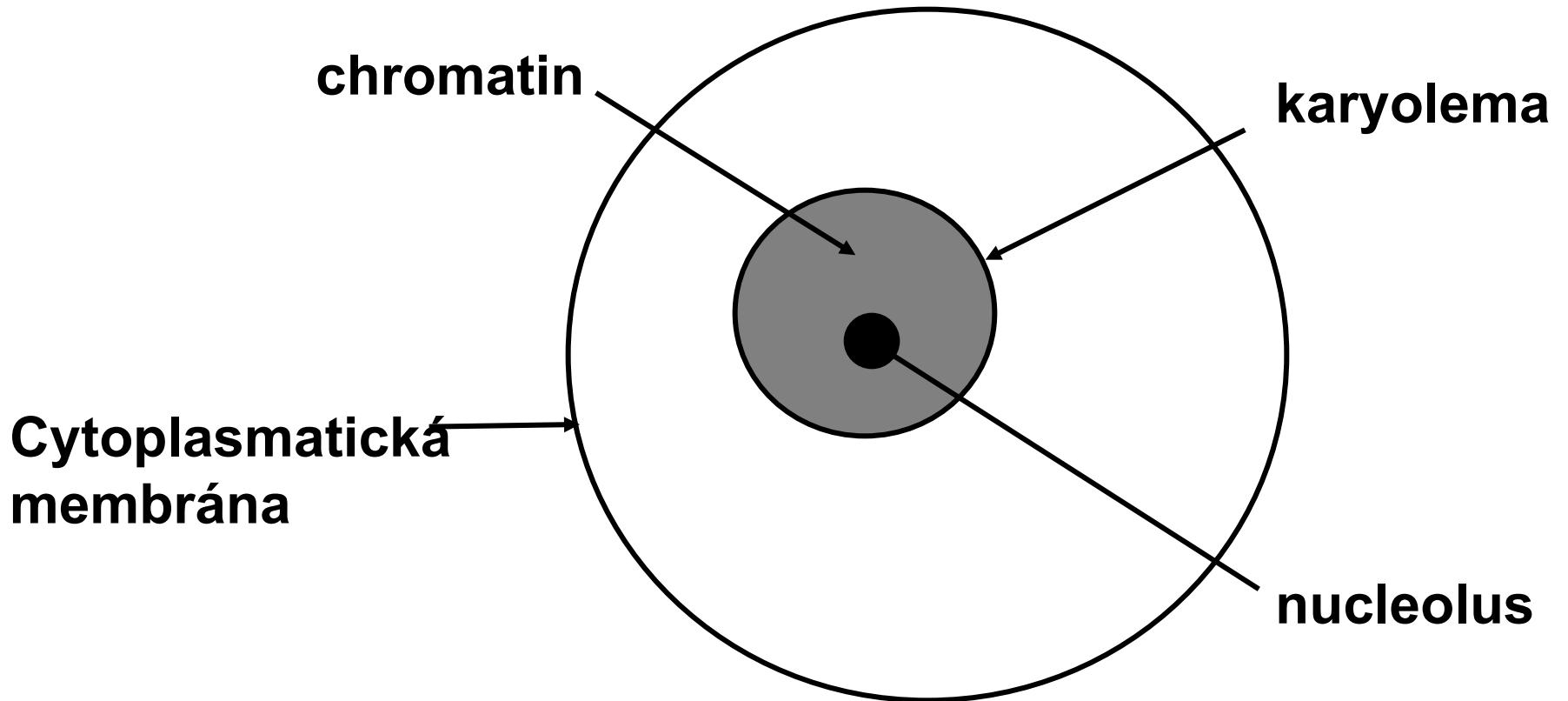


*Chromosomal development during meiotic **prophase** (leptotene, zygotene, pachytene and diplotene) and 2 rounds of meiotic cell division in mouse spermatogenesis. Interkinesis is the secondary spermatocyte in interphase between the first and second meiotic division.*



Interfáze I

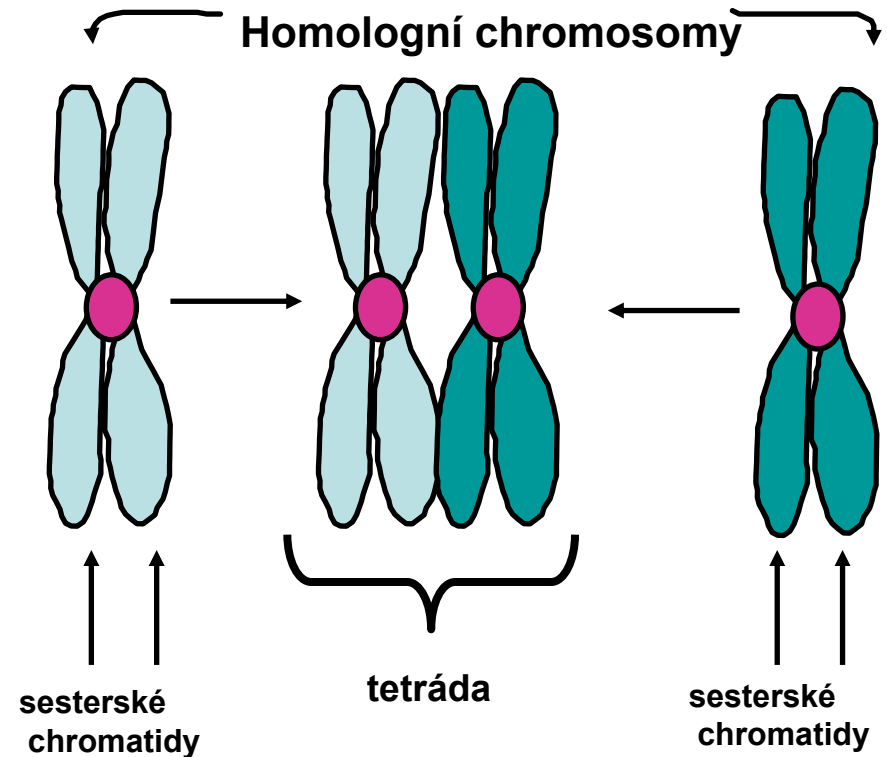
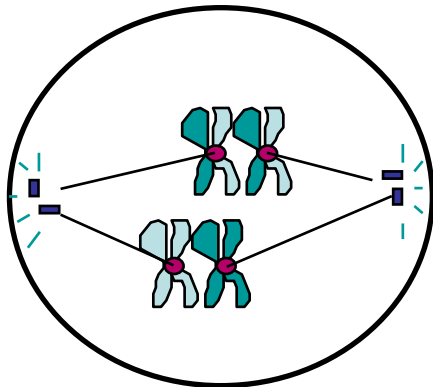
- Jádru a jadérko jsou viditelné.



Meióza I

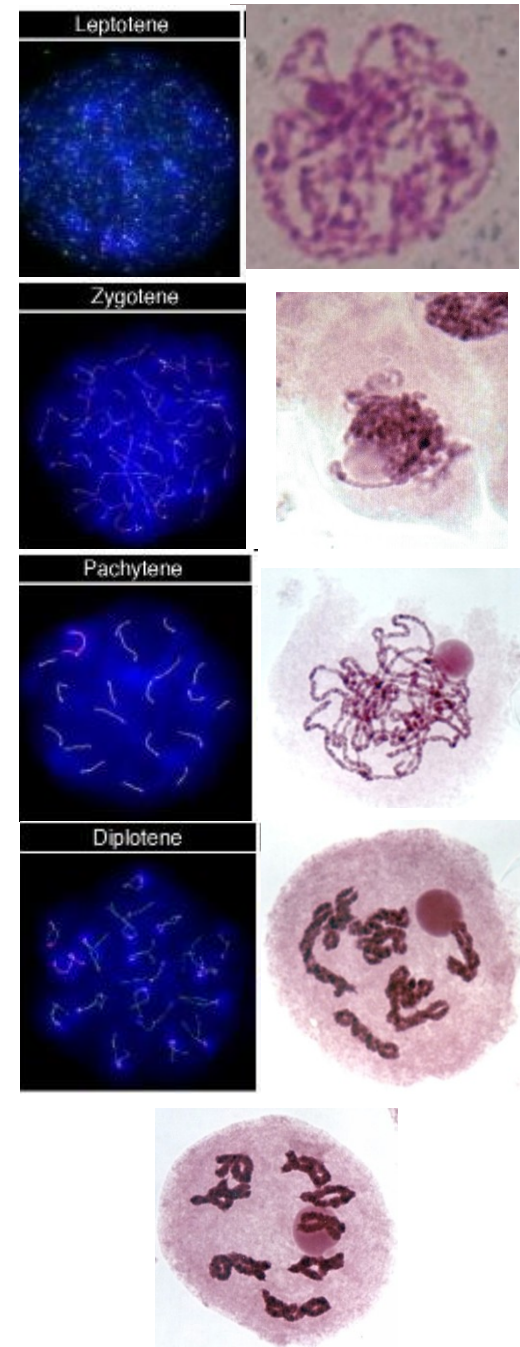
Profáze I

- Nejdelší a nejsložitější fáze (90%).
- Kondenzace chromozomů.
- Homologní chromozomy tvoří tetrády.
- Tetrádu tvoří 2 chromómy tveřené celkem 4 chromatidami (sesterské a nesesterské chromatidy).

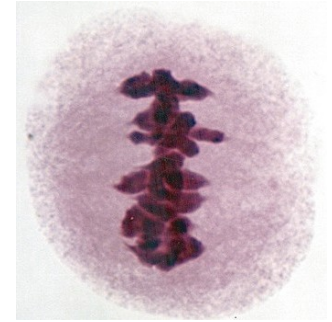


Profáze I

- **Leptotene**
- spiralizace vláken DNA a diferenciací chromozómů
- **Zygotene**
- Homologické chromozomy se přibližují k sobě a spojují se v tzv. bivalenty nebo gemini.
- **Pachytene**
- Chromozomy dokončují spiralizaci a bivalenty jsou pozorovatelné jakožto tzv. **tetrády** - čtyřchromatidové komplexy. Nesesterské chromatidy se proplétají a dochází ke vzniku chiazmat (uzlíků).
- dochází k tzv. crossing-overu (rekombinují se části homologických chromatid)
- **Diplotene**
- Uvolňují se bílkovinné vazby mezi homologickými chromozomy a dochází k jejich postupnému oddalování. Vzniklé uzlíky mezi nehomologickými chromatidy jsou stále spojené.
- **Diakineze**
- přeuspořádání a rozchod homologických chromozómů, chiazmata se posunují na konec chromatid kde zanikají

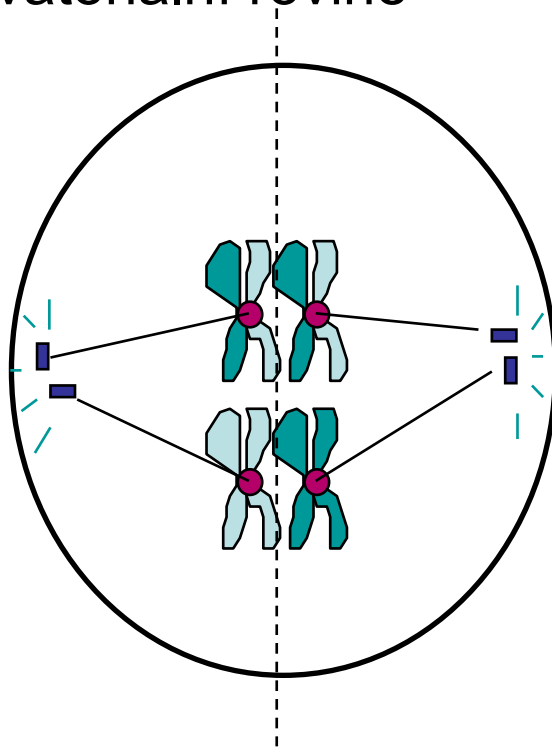


Metafáze I



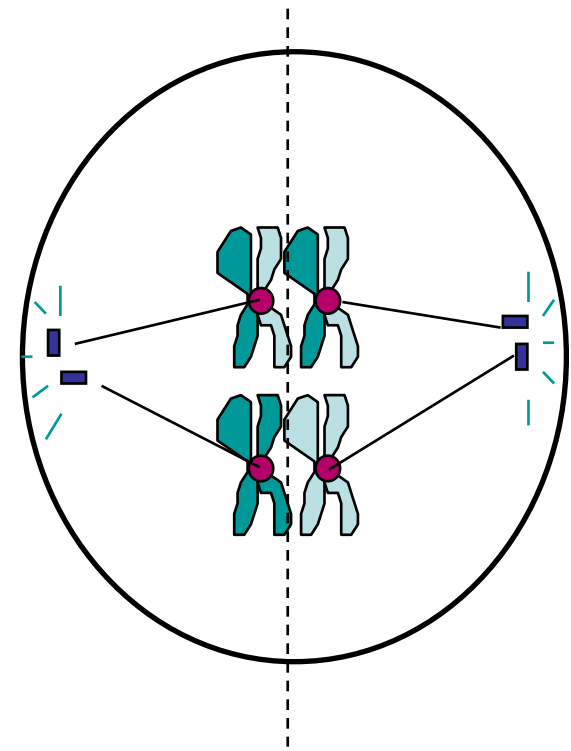
- Nejkratší fáze
- Tetrády seřazeny v ekvatoriální rovině

Orientace homologních párů k pólům je náhodná.



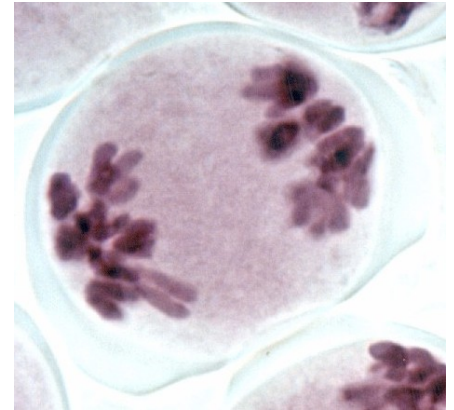
metaphase plate

nebo

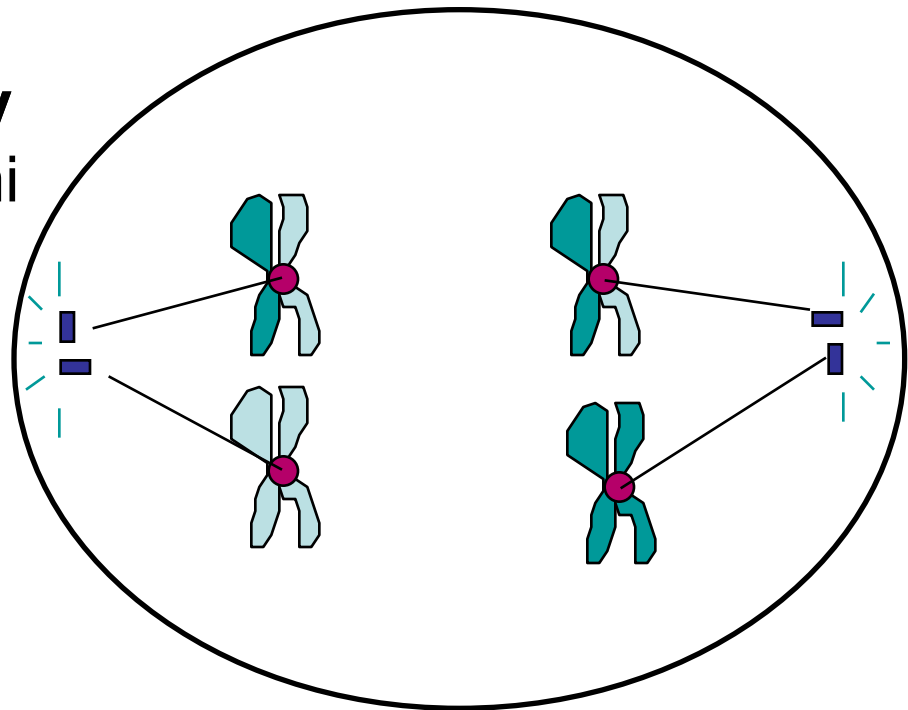
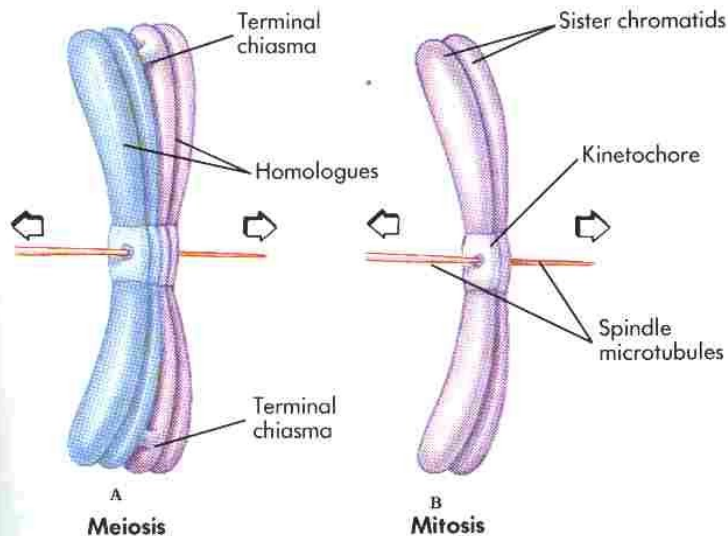


metaphase plate

Anafáze I



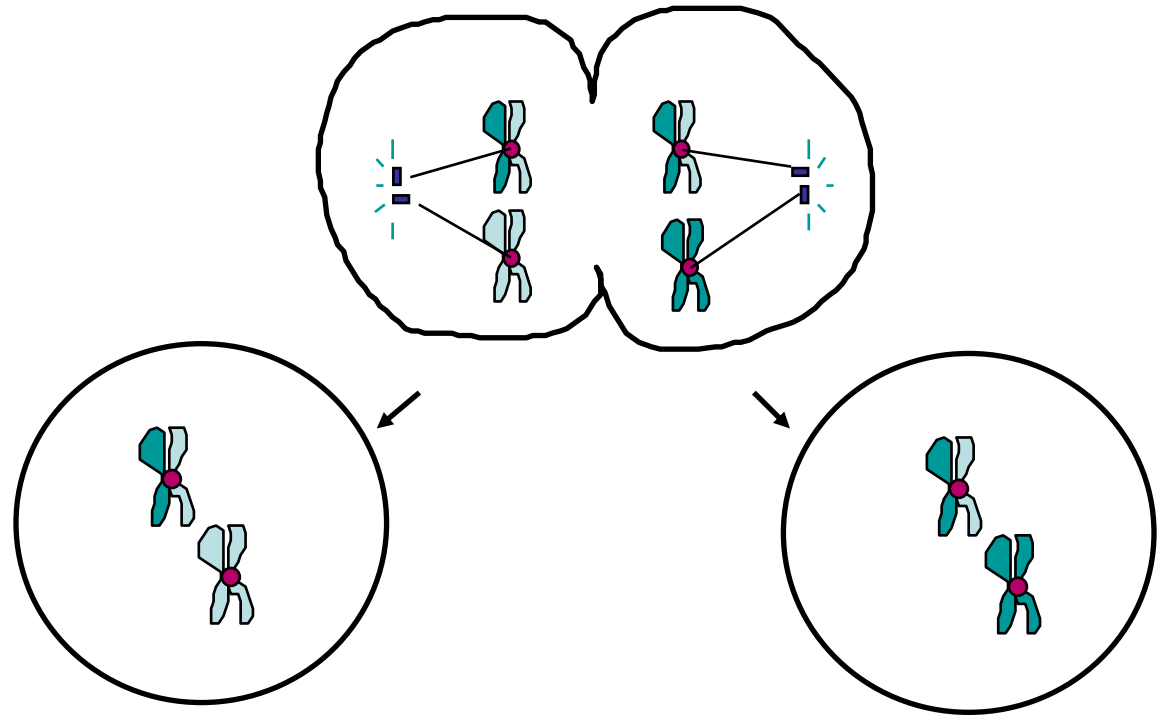
- **Homologní chromosomy** oddeleny a putují směrem k pólům.
- **Sesterské chromatidy** zůstávají spojeny svými centroméry.



Telofáze I



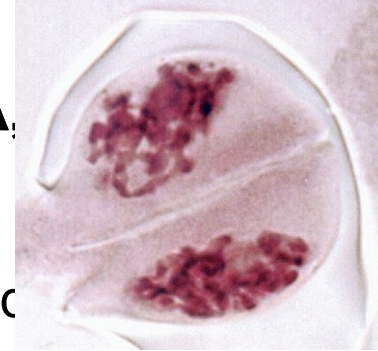
- Každý pól obsahuje **haploidní sadu chromosomů**.
- **Cytokineze** a vznik 2 haploidních dceřinných buňek.



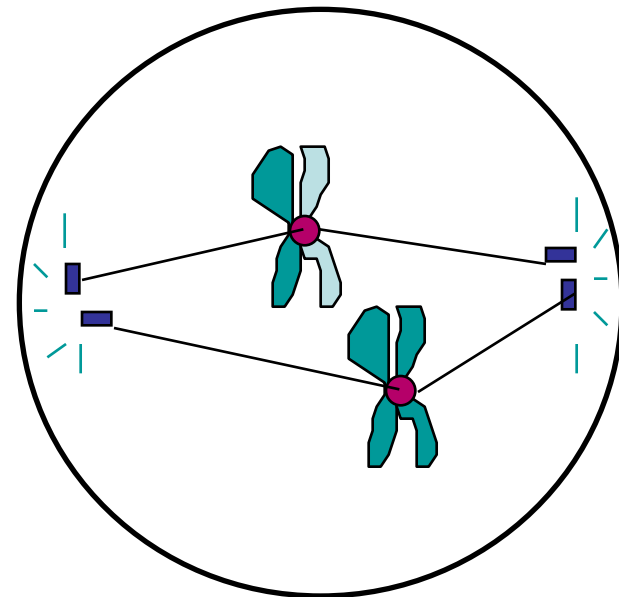
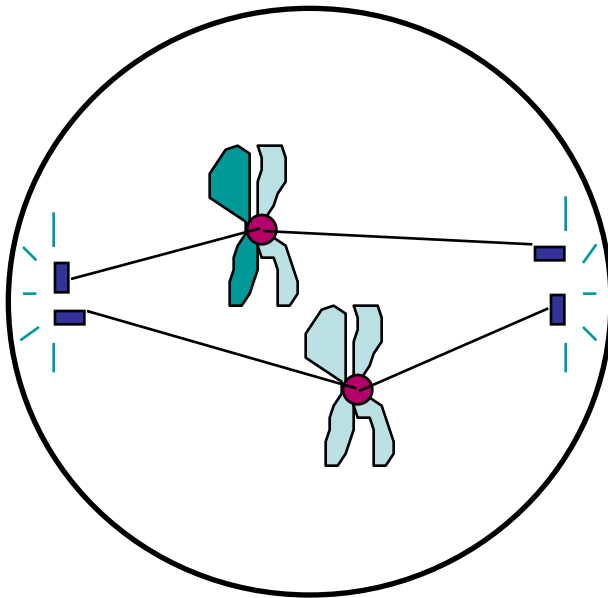
Meióza II

Prophase II

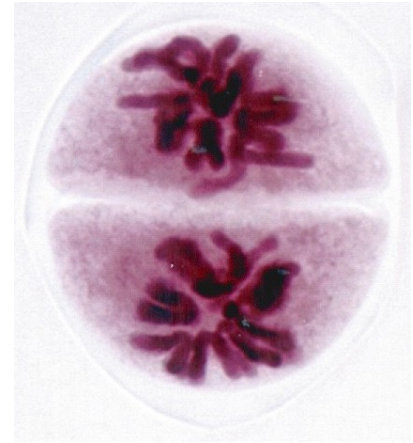
- **BEZ interfáze II nebo velmi krátká (bez replikace DNA, nezduvojuje se!)**
- **Meióza II je podobná mitóze** (jen k ní dochází za haploidních chromozomů)



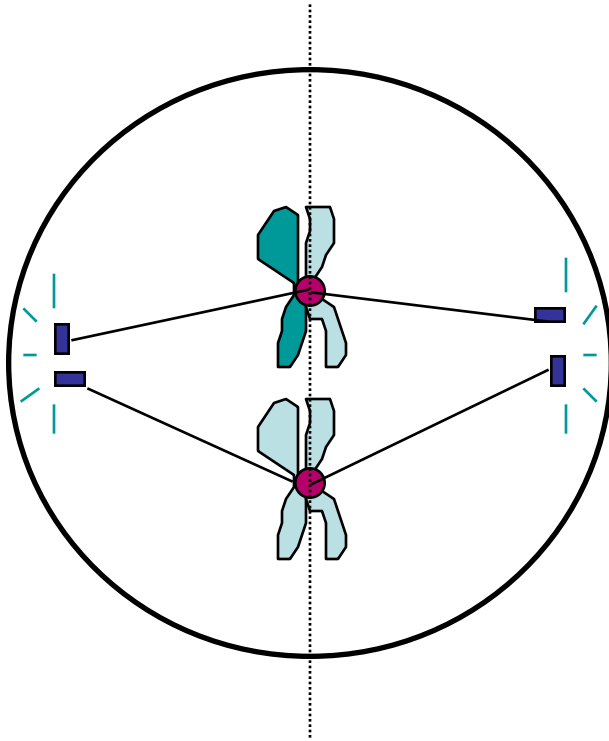
- Jako profáze u mitózy



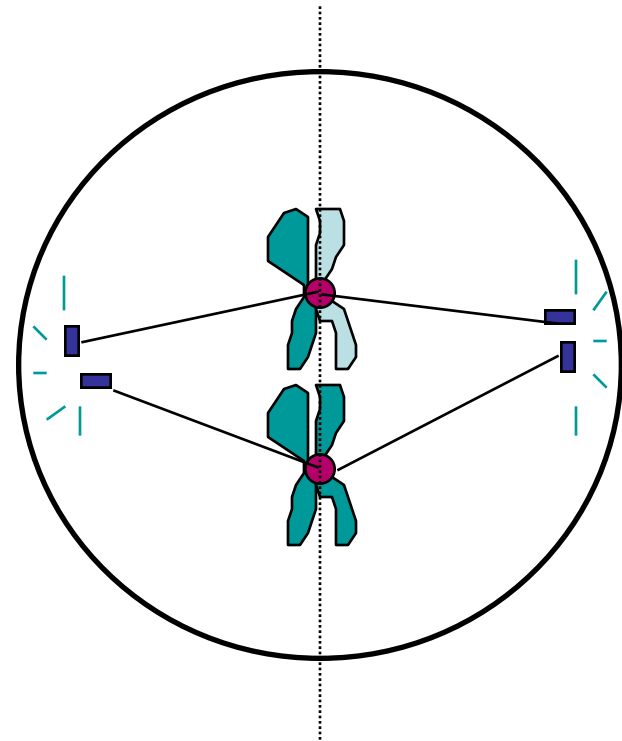
Metafáze II



- Jako metafáze u mitózy



metaphase plate

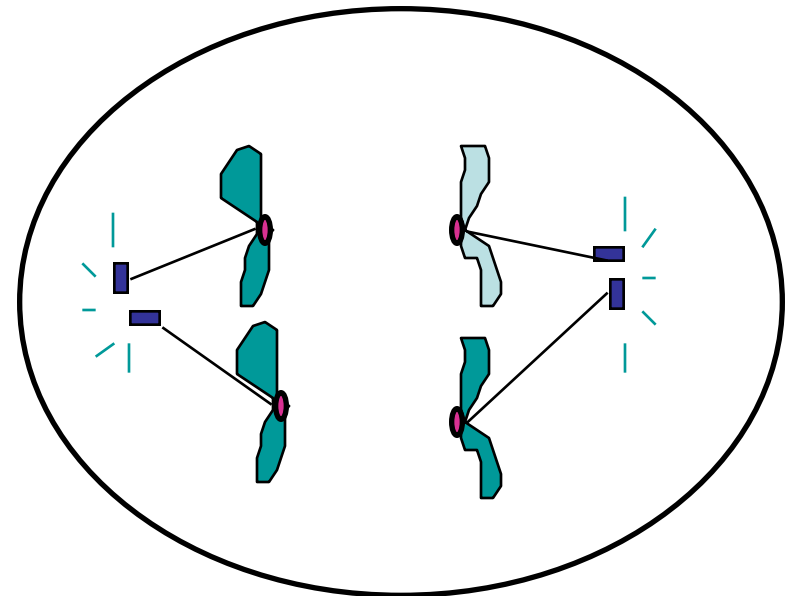
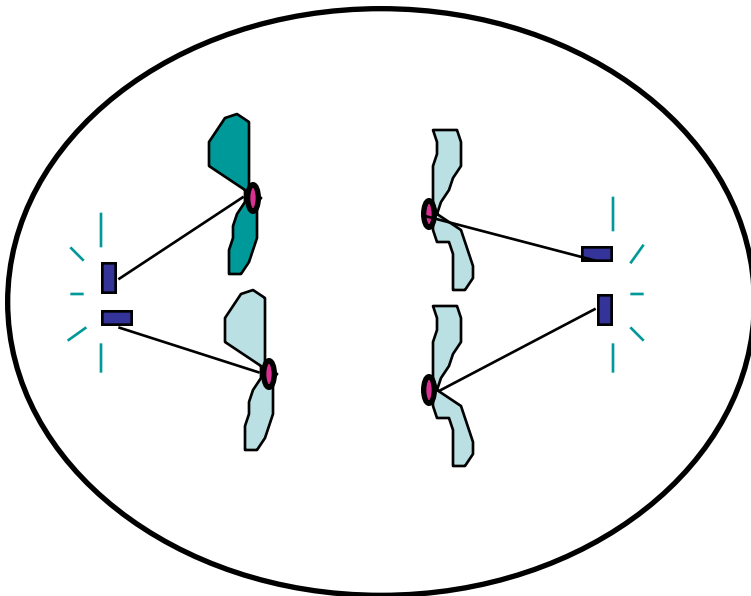


metaphase plate

Anafáze II

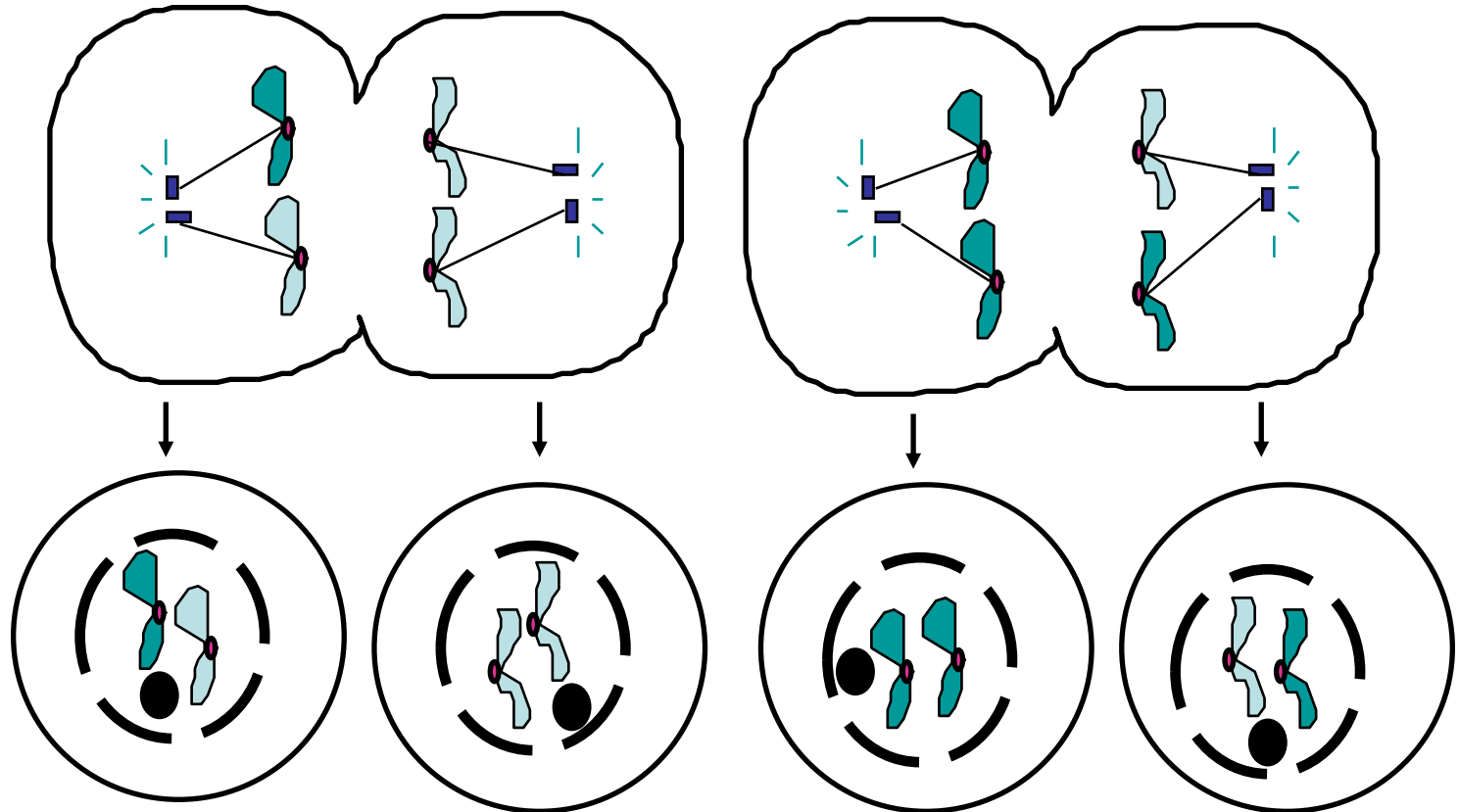
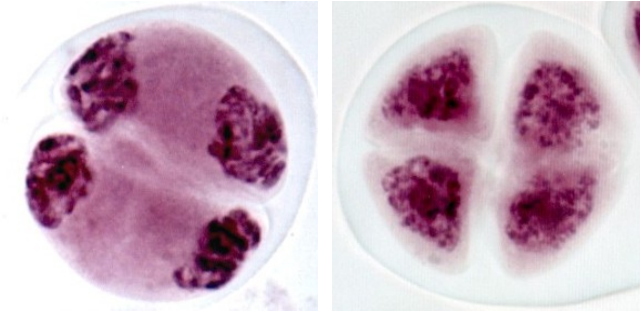


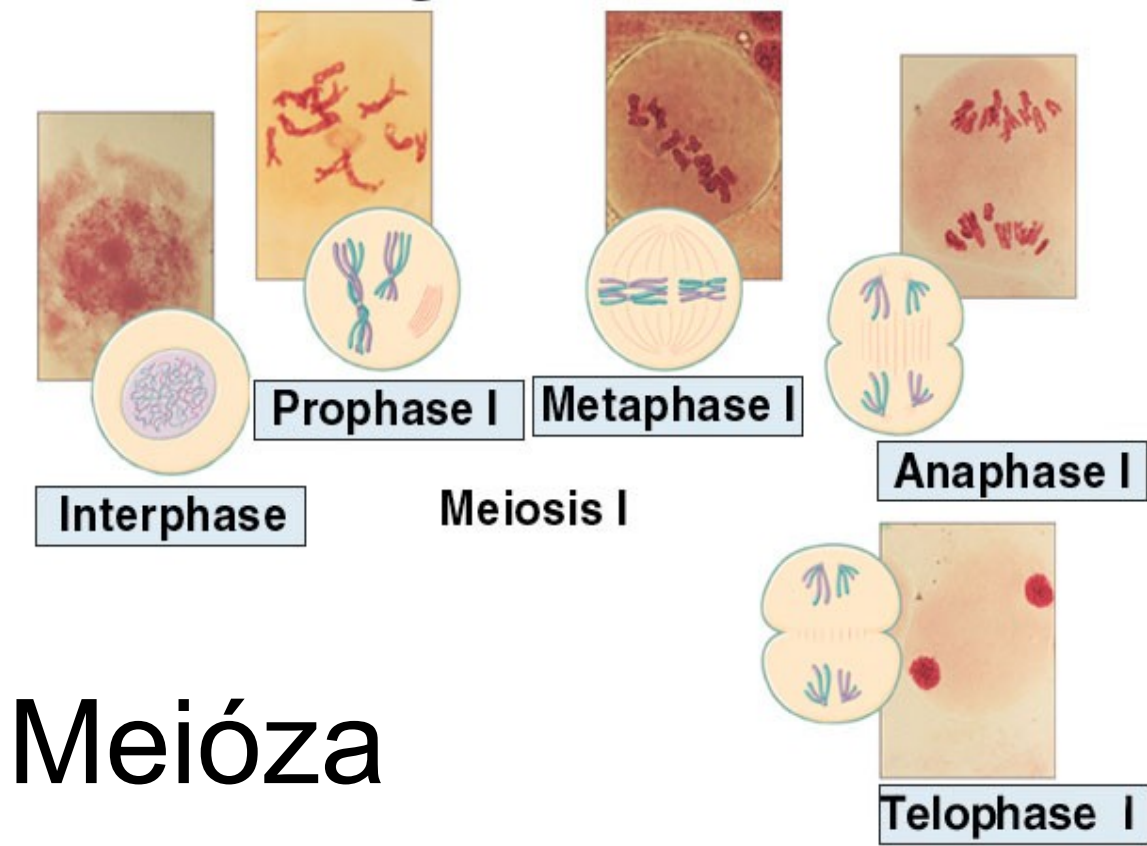
- Jako anafáze u mitózy
- **Sesterské chromatidy se oddělují**



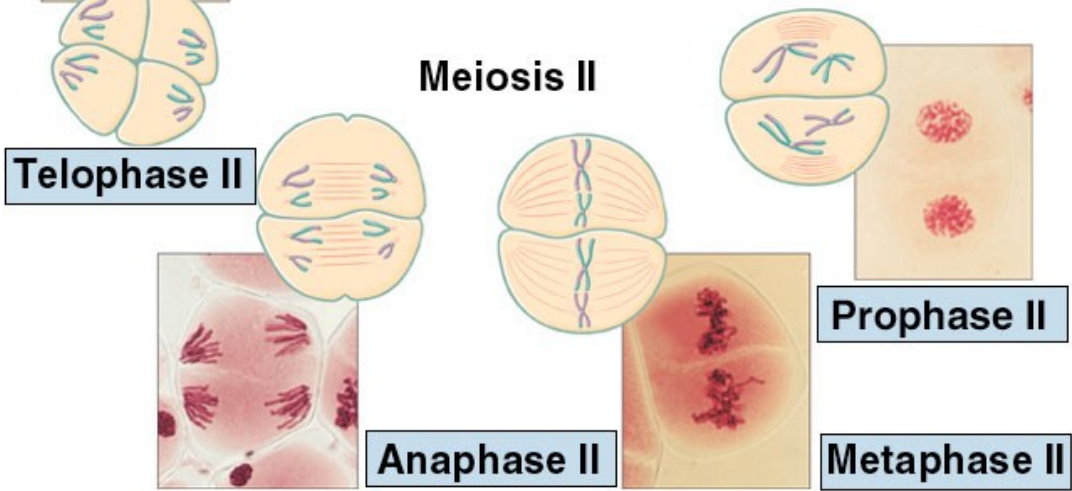
- Jako telofáze u mitózy
- Formace jádra
- **Začátek cytokineze**
- **! Vznik 4 haploidních dceřiných buněk**
- **gamety = spermie nebo vajíčka**

Telofáze II





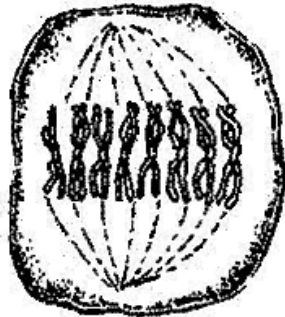
Meióza



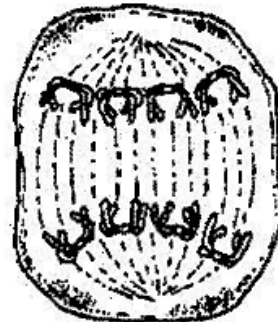
Meiόza



Prophase 1



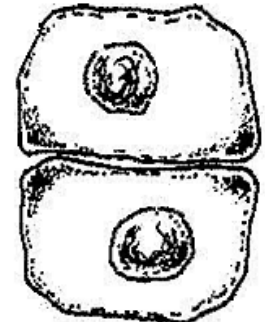
Metaphase 1



Anaphase 1



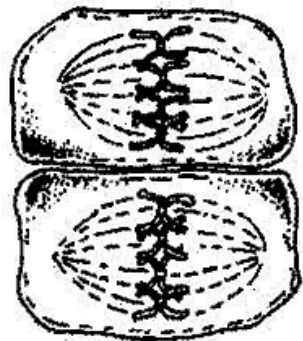
Telophase 1 (early)



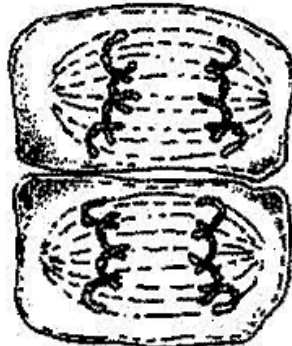
Telophase 1 (late)



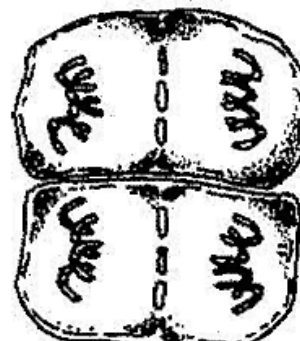
Prophase 2



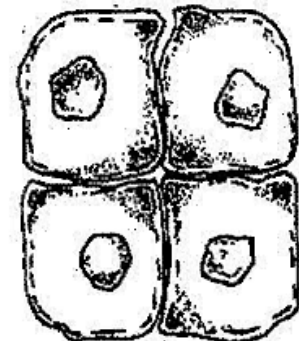
Metaphase 2



Anaphase 2

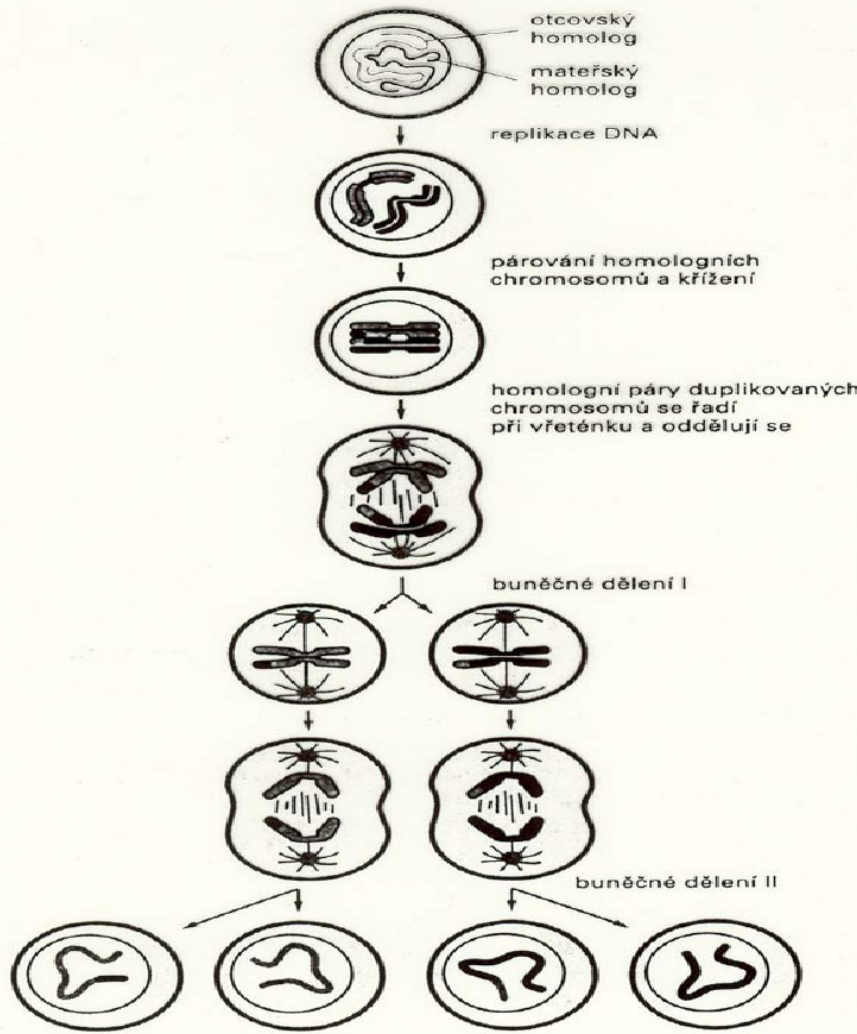


Telophase 2 (early)



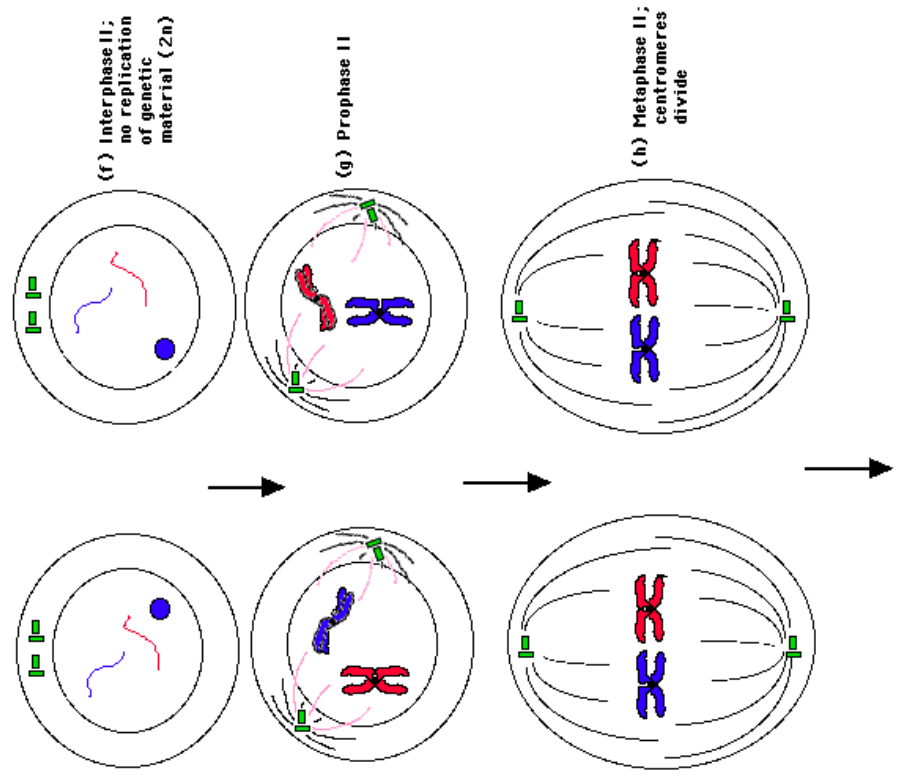
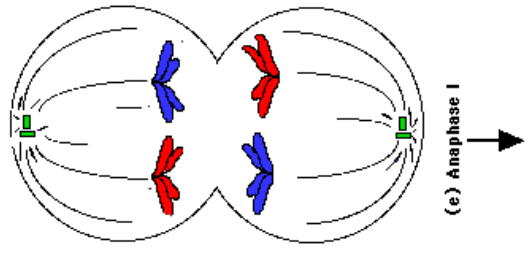
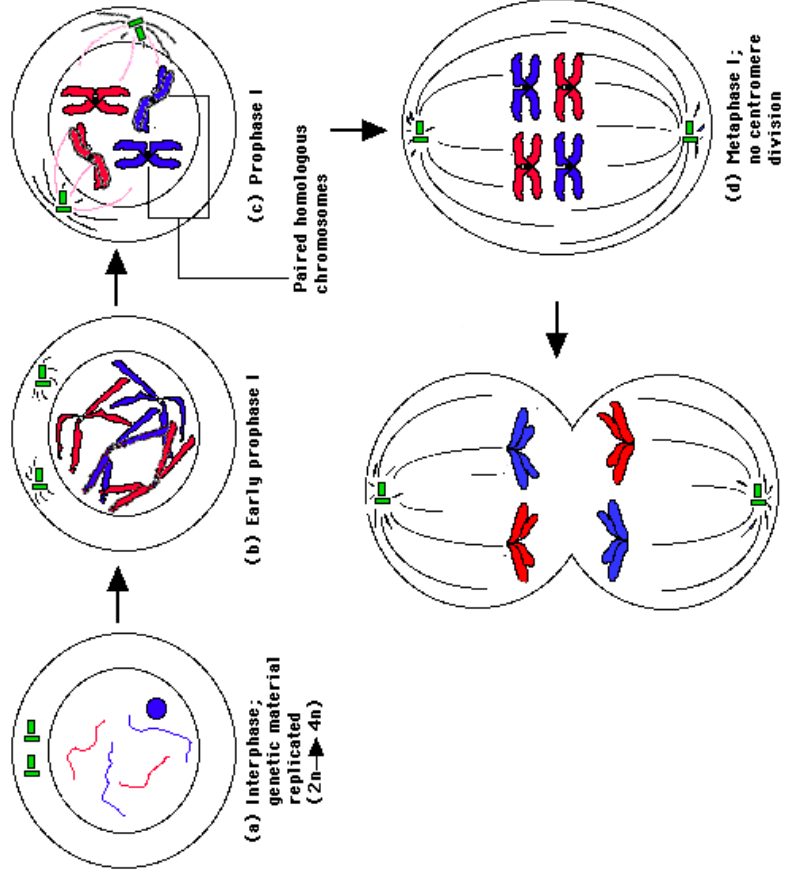
Telophase 2 (late)

MEIOZA



NORMÁLNÍ BUNĚČNÉ DĚLENÍ





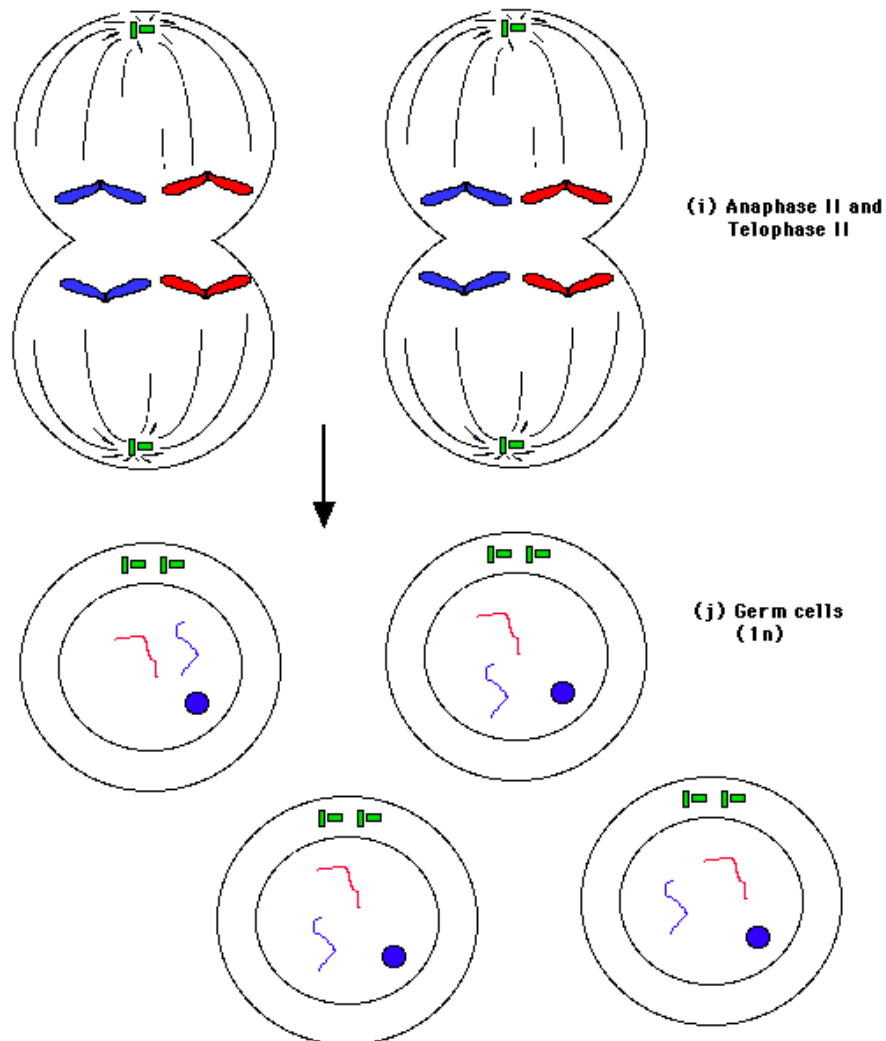


Fig. The steps in meiosis. Steps (a) through (c) are carried out as in mitosis. Metaphase (d) differs in two important ways. Each morphologic chromosome (actually two sister chromatids) aligns at the cell equator with its homologous partner during synapsis, the stage of chromosome pairing that allows exchange (crossing over) between the two. No division of centromeres occurs, however, so one homologue (both sister chromatids) of a morphologic type goes into one cell; the other homologue of that morphologic type goes into the other cell. Which homologue goes to which cell is chosen randomly. Thus the genetic material of each of the two chromosomes of the same morphologic type separates (segregates) independently. Because one of these chromosomes came from an egg and one originally from a sperm, parental characteristics are reassorted randomly into each new sperm and egg at the meiotic stage. In the second meiotic division, the centromeres do divide, and each cell receives one chromosome of each morphologic type, to become haploid (1n).

ZÁRODEČNÝ EPITEL V SEMENOTVORNÝCH KANÁLCÍCH VARLETE

VARLE (TESTIS)

Funkce: produkce spermií, produkce hormonů

Mikroskopická stavba:

Tunica albuginea testis – tuhá pouzdro z kolagenního vaziva

Tunica vaginalis – naléhá na t. a. t. ze zevní strany, serózní obal

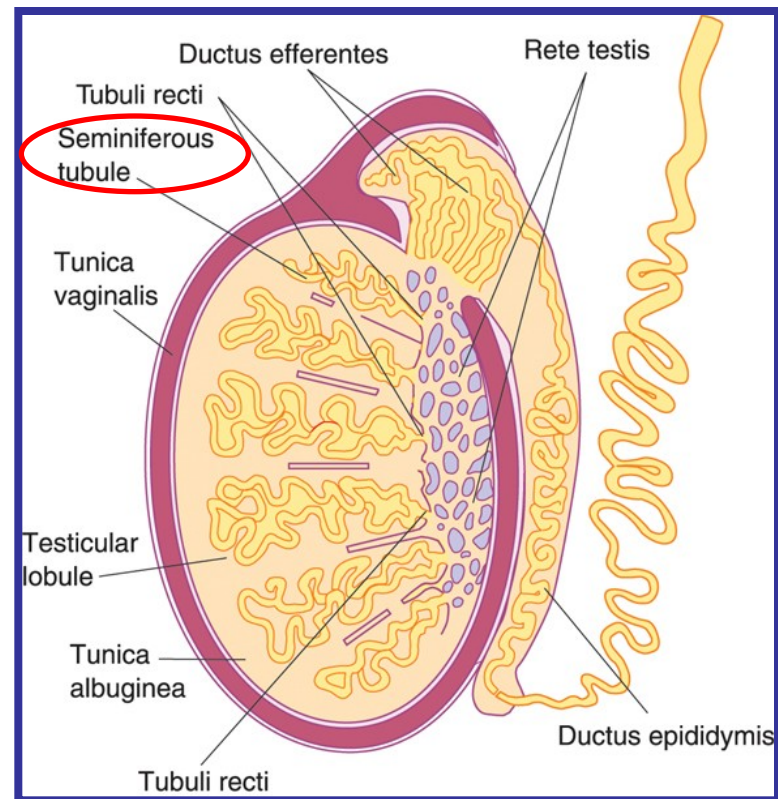
Tunica vasculosa – tenká vrstvička, řídké kolagenní vazivo, krevní cévy

Mediastrum testis – na zadním obvodu, zesiluje t. a. t.

Septula testis – tenké vazivové přepážky, vybíhají z t. a. do varlete, rozdělení varlete na 200 -300 lalůčků = *lobuli testis*

V lalůčcích stočené semenotvorné kanálky – *tubuli seminiferi contorti*, v každém lalůčku 1 – 4 kanálky – vystlány **ZÁRODEČNÝM EPITELEM**

Intersticium varlete – řídké kolagenní vazivo – fibrocyty, migrující buněčné elementy..., endokrinní intersticiální *Leydigovy buňky* – produkce testosteronu



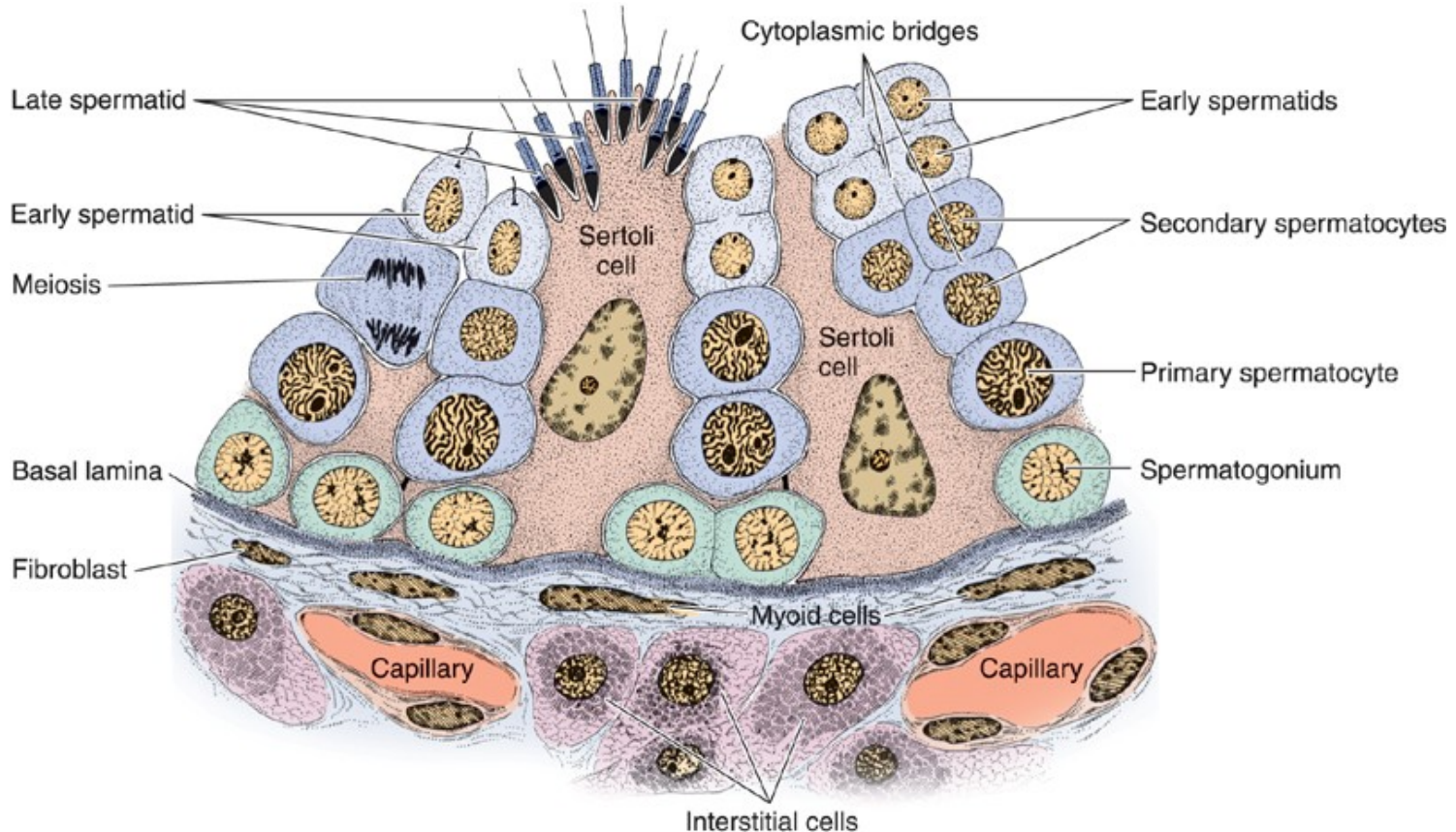
SEMENOTVORNÉ KANÁLKY

Šířka – 0,2 mm, délka 50 – 80 cm, mnohonásobně stočené

Stavba: - **zevní vazivová pochva** (kolagenní a elastické fibrily, fibroblasty)

- **bazální membrána**

- **zárodečný epitel** – vícevrstevný, **spermatogenní buňky**, podpůrné buňky = **Sertoliho buňky** (velké buněčné elementy, nasedají na BM, zasahují až k povrchu epitelu, velké nepravidelné jádro, v apikální části cytoplasma obklopuje hlavně spermatidy – dozrávání, přeměna na spermie)





**Semenotvorné kanálky
(krysa)**



Semenotvorný kanálek (krysa)

Two **Sertoli cells** (elongated cells with oval nuclei and prominent nucleoli) are attached to the basement membrane and stretch into the lumen of the tubule. A pachytene **spermatocyte** lies lower in the seminiferous epithelium than the round **spermatids**. Elongating spermatids at the apex are about to be released into the lumen as some already have.

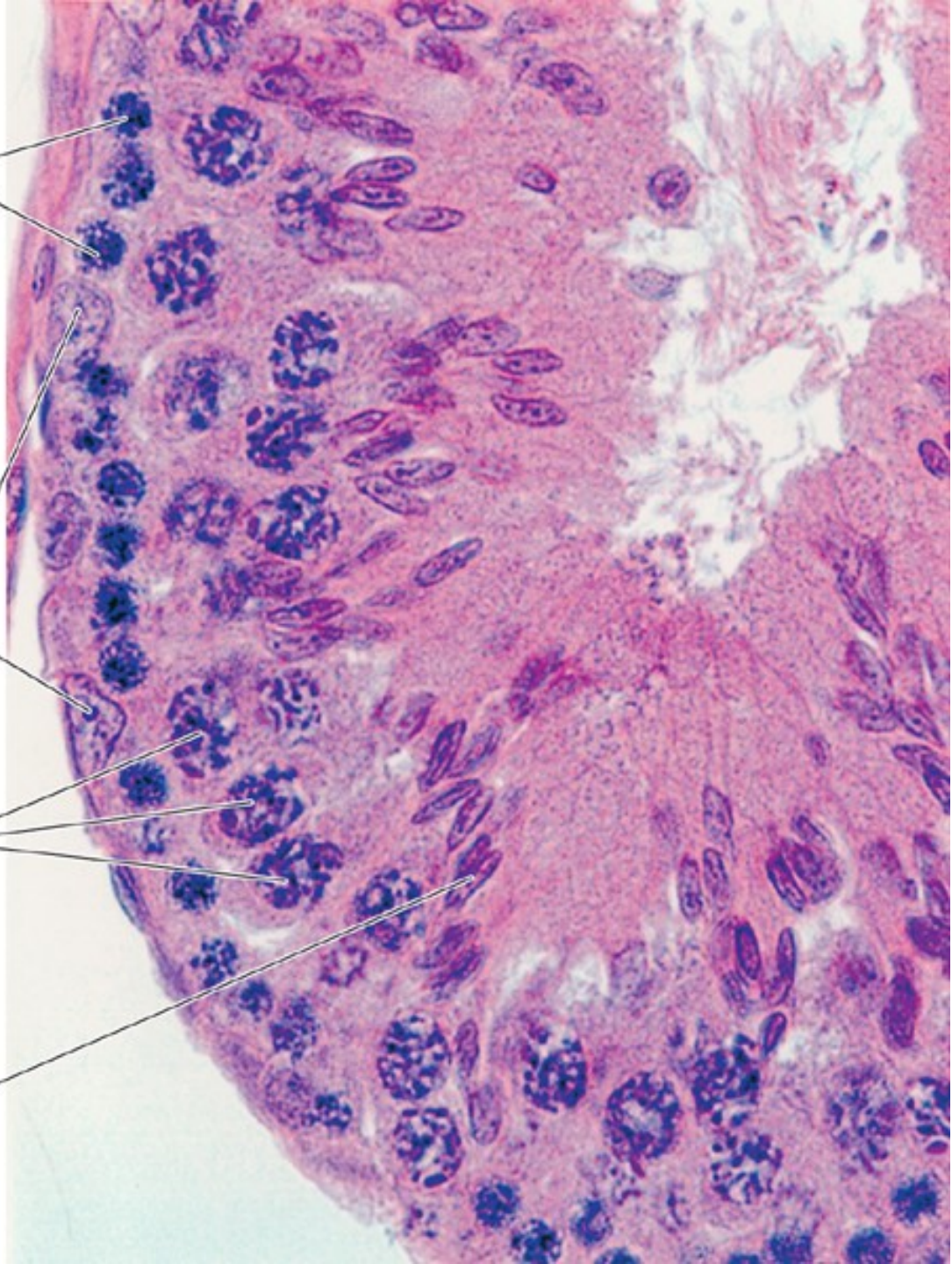
Bar=30 microns

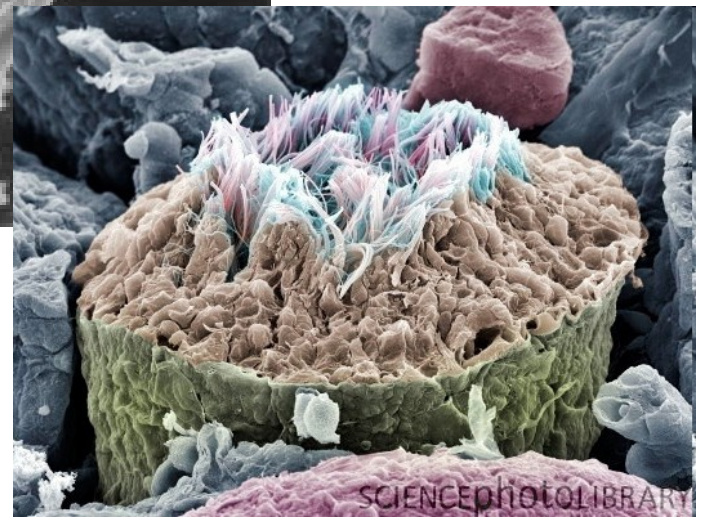
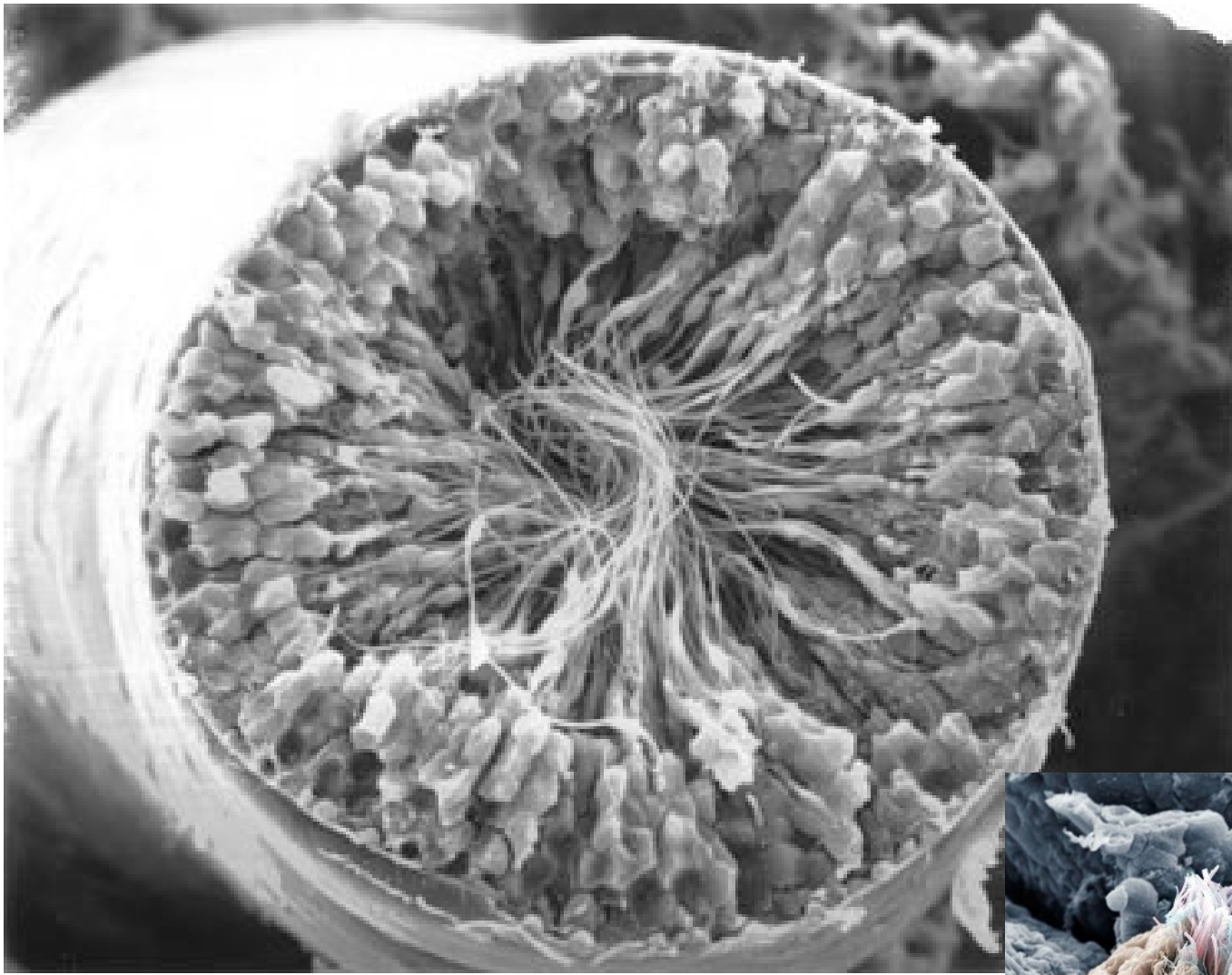
Spermatogonia

Sertoli cells

Spermatocytes

Spermatids





Embryonální období: nediferencované kmenové buňky = gonocyty se diferencují na semenotvorné buňky = spermatogenní, intenzivní proliferace

Po pubertě: začíná plynulá spermatogeneze, během BC se postupně diferencují 3 typy spermatogonií.

- **Spermatogonie A – tmavá**, dočasně neproliferující, rezervní funkce
- Spermatogonie A – světlá, pokračuje v proliferaci, opakovaně BC, udržuje se konstantní populace těchto buněk v zárodečném epitelu
- **Spermatogonie B** – zahajuje diferenciaci, vyčlení se z BC a zahajuje **SPERMATOGENEZI**.

Spermatogonie:

- malé, okrouhlé buňky, uložené u BM
- jediný typ buněk, který se vyskytuje i před pubertou
- okrouhlé jádro se skvrnitě uspořádaným heterochromatinem
- před dělením diploidní ($2n$) počet chromozómů - 46, $2N$ – diploidní množství DNA

SPERMATOGENEZE

Vývoj od nediferencované spermatogonie po zralou spermii (cca 64 dní),
závislost na testosteronu

A. SPERMATOCYTOGENEZE

Rozmnožování buněk mitoticky a meioticky

1. Perioda rozmnožování

Ve stádiu spermatogonie, intenzivní mitotické dělení, přes 2 typy spermatogonií A, spermatogonie B – zahajují vlastní proces spermatogeneze

2. Perioda růstu

Spermatogonie B – dlouhá S-fáze BC, diferenciaci na:

Primární spermatocyt:

- největší buňky zárodečného epitelu, blíž lumenu
- diploidní sada chromozómů 46, množství DNA 4N
- velké okrouhlé jádro s tmavými proužky heterochromatinu (smotaná nit)
- pozorujeme je v profázi 1. meiózy (až 22 dní)

3. První zrací dělení (meiotické)

Profáze I:

Leptotene – ztlušťování chromozómů

Zygotene – chromozomy tvoří homologní páry

Pachytene – chromozomy se zkracují a ztlušťují

Diplotene – synapse chromozómů, crossing-over

Diakineze – oddělování chromozómů

Metafáze I: chromozomové páry se připojují na vlákna vřeténka

Anafáze I: ch. páry putují k pólům, chromatidy v každém chromozómu zůstávají spojené

Telofáze I: haploidní sady ch. se oddělují a buňka se rozdělí na 2 sekundární spermatocyty (22 + X, 22 + Y)

Sekundární spermatocyt:

- Produkt 1. meiotického dělení
- Leží ještě blíže k luminu, na řezech vzácně, po vzniku hned zahajuje 2. meiotické dělení
- Asi poloviční než primární spermatocyt
- Haploidní 23, DNA 2N

4. Druhé zrací dělení

Navazuje bezprostředně na předchozí, probíhá podobně jako mitóza

Výsledek: **4 spermatidy**

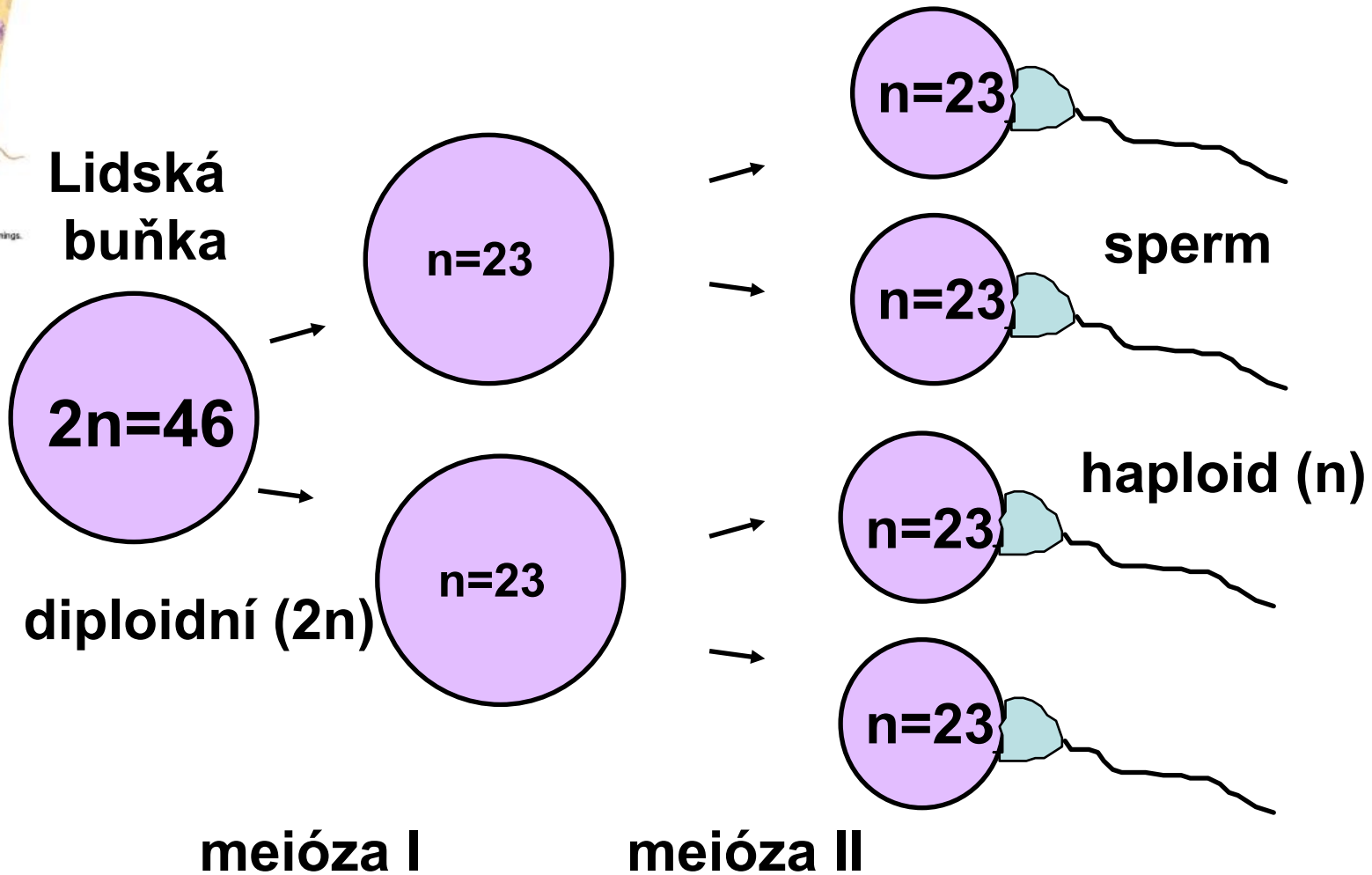
- haploidní počet chromozómů (22+X, 22+Y, 22+X, 22+Y)
- DNA – N
- uloženy kolem luminu
- malé buňky, tmavá jádra, hodně heterochromatinu

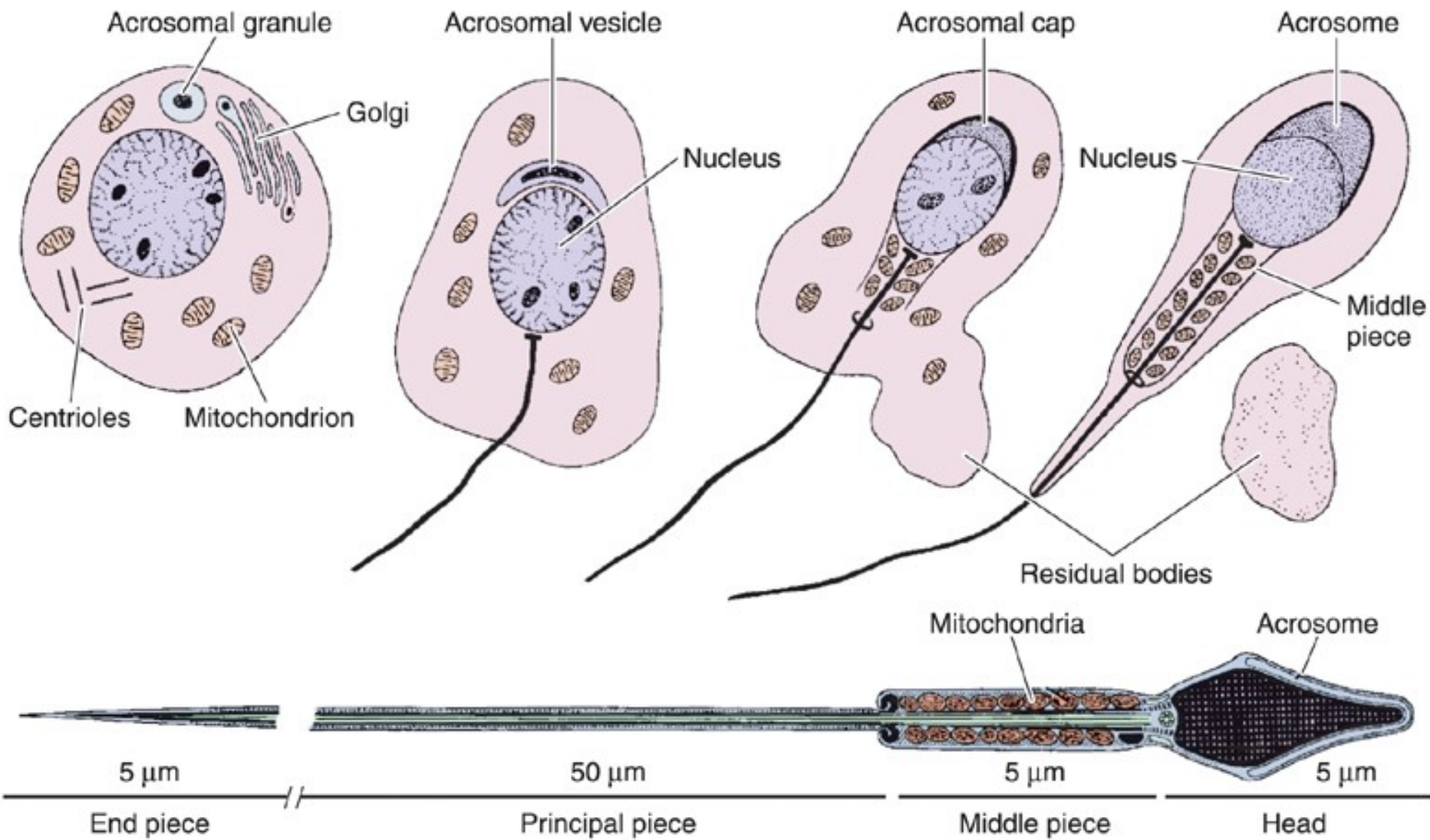
*Pozn. během procesu diferenciacie zárodečných buněk od spermatogonií až po spermatidy – tyto buněčné elementy spojeny **plazmatickými můstky**, samostatné až spermie*

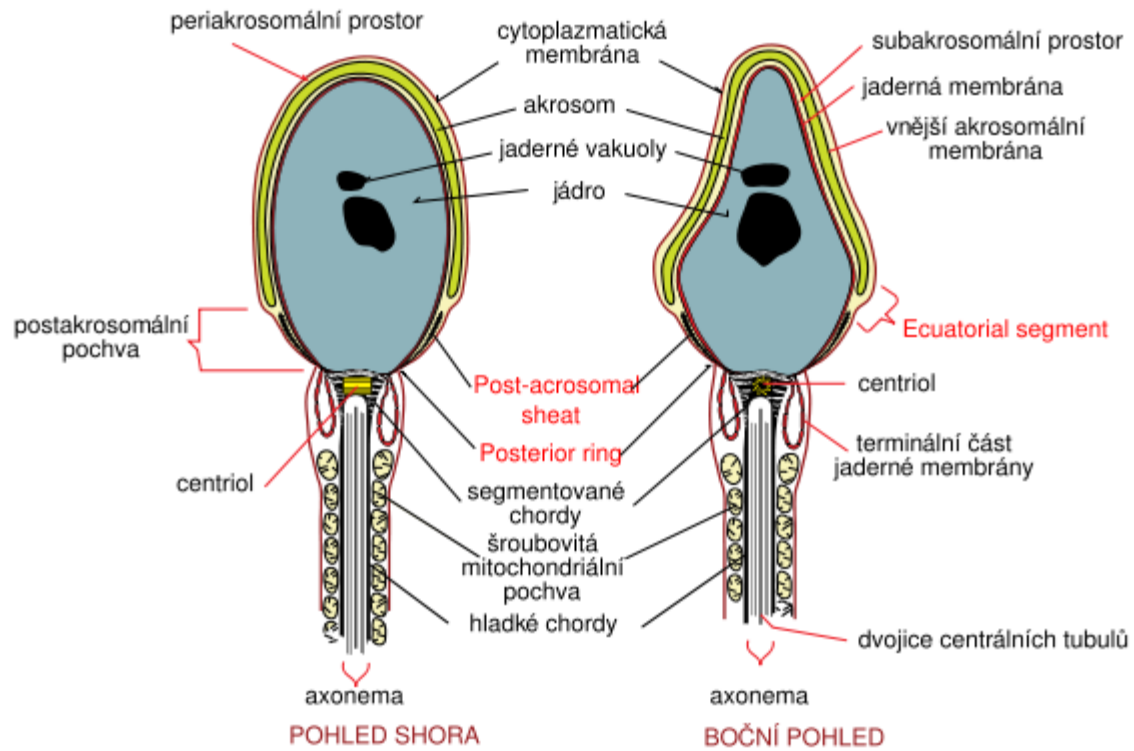
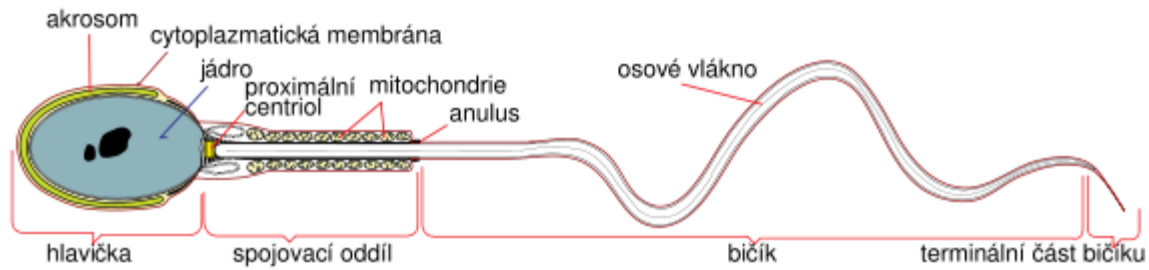
B. SPERMATOHISTOGENEZE (SPERMIOGENEZE)

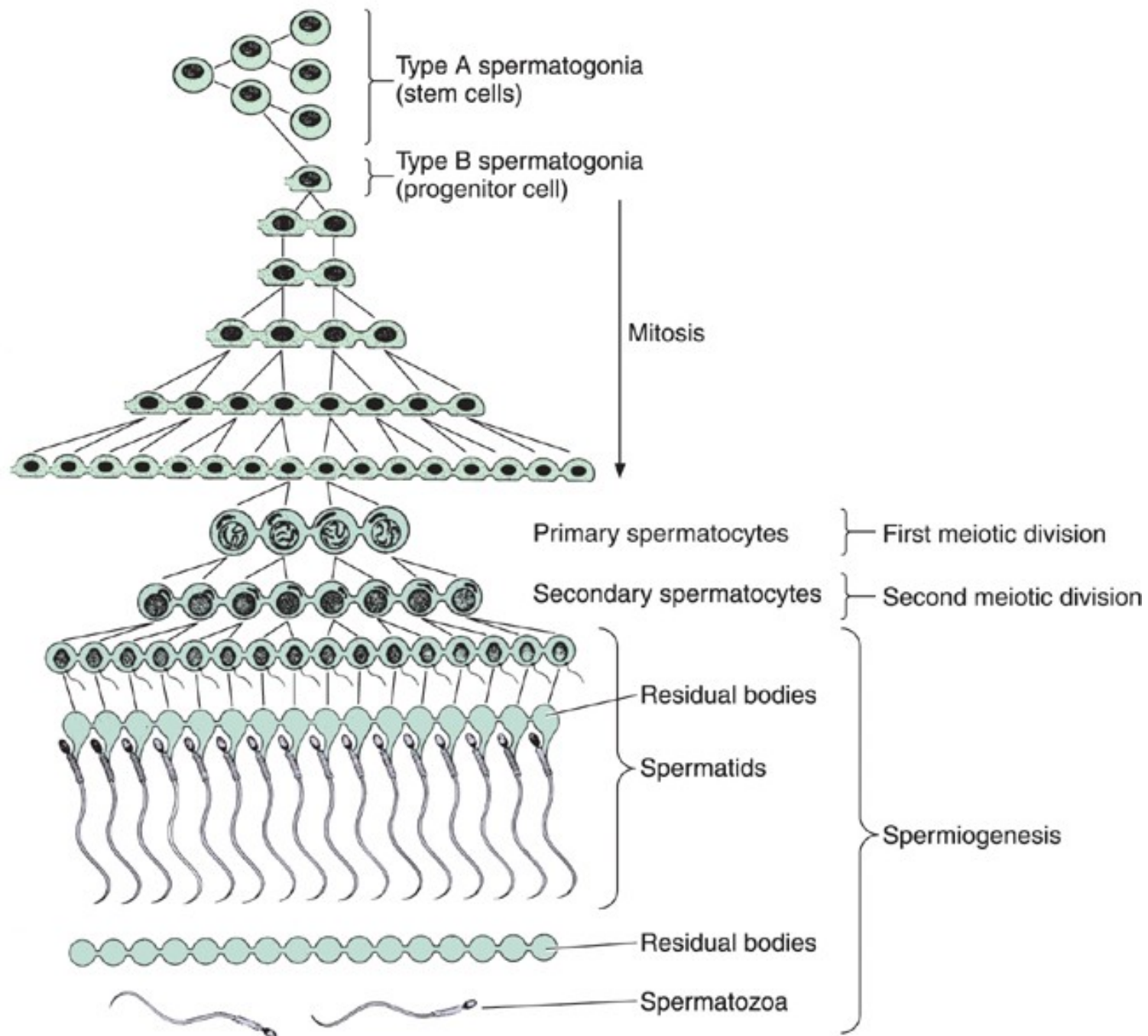
- Buňky se již nedělí
- Spermatidy se diferencují na **zralé spermie**
- Probíhá **v apikální části cytoplazmy Sertoliho buněk** (obklopuje tyto buněčné elementy, dodává výživu)
- Jader. chromatin silně kondenzuje, jádro se mění na **hlavičku** spermie
- Z Golgiho komplexu vzniká plochý váček – **akrosom** (přikládá se na apikální část jádra)
- **Centrioly** se stěhují do krčku, proximální centriol – k bázi hlavičky, distální tvoří bazální tělísko **axonemy** – osového vlákna
- Zralá spermie: hlavička, střední oddíl (krček, spojovací oddíl), bičík (hlavní část, terminální část)

Spermatogeneze









OOGENEZE

VAJEČNÍK (ovarium)

„Zárodečný epitel“ – na povrchu vaječníku, jednovrstevný, plochý až kubický

Tunica albuginea – nepřesně ohraničená vrstva hustého kolagenního vaziva

Kůra vaječníku – řídké kolagenní vazivo, uloženy v něm ovariální folikuly a jejich deriváty v různém stádiu oogeneze

Dřeň vaječníku – husté kolagenní vazivo

Perioda rozmnožování:

Z primordiálních zárodečných buněk – *oogonie*; množení mitotickým dělením

Perioda růstu:

Vznik *primárních oocytů*, + folikulární buňky = primordiální folikuly

Primární oocyty – vstup do prvního zracího meiotického dělení

Po pubertě:

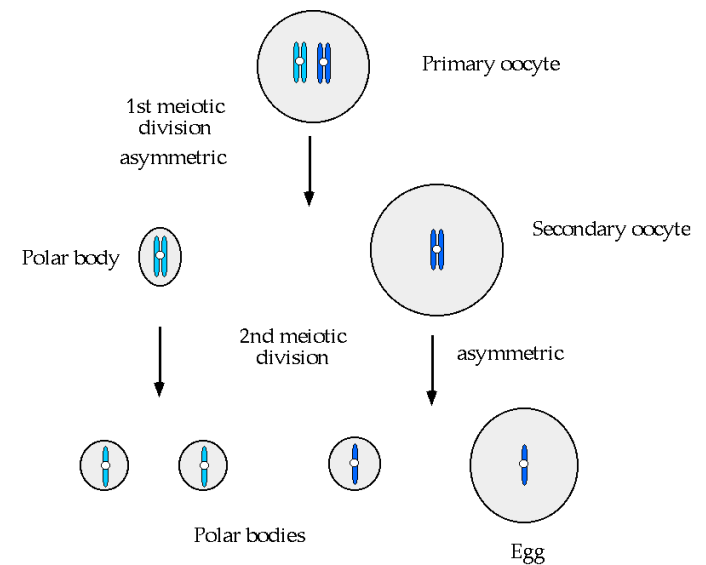
pokračování prvního zracího dělení, změna stavby folikulů

Ovulace:

dokončení prvního zracího dělení, vznik jednoho *sekundárního oocytu*, druhá buňka – *pólocyt I. řádu* – malý, nefunkční

Druhé zrací dělení – zahájeno hned po ovulaci, dokončeno, dojde-li k oplození

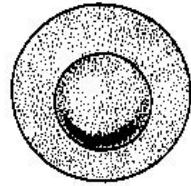
Zralý oocyt + pólocyt II. řádu (může se ještě rozdělit)



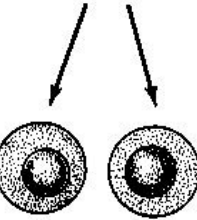
• SPERMATOGENEZE

SPERMATOGONIE

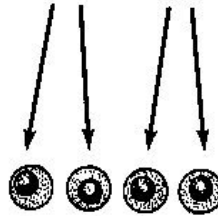
PRIMÁRNÍ SPERMATOCYT



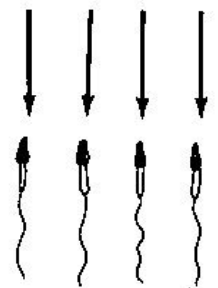
SEKUNDÁRNÍ SPERMATOCYT
SEKUNDÁRNÍ SPERMATOCYT



4 SPERMATIDY
SPERMIOGENEZE



4 SPERMIE

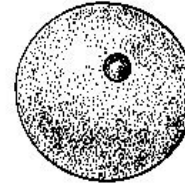


Spermatogenesis

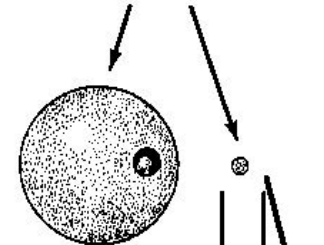
• OOGENEZE

OOGONIE

PRIMÁRNÍ OOCYT



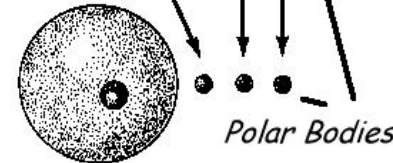
SEKUNDÁRNÍ OOCYT
+
I POLÁRNÍ TĚLÍSKO



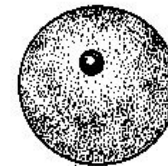
Meiosis I

Meiosis II

OVUM
+
II. POLÁRNÍ TĚLÍSKO
+
POL. TĚLÍSKO + POL. TĚLÍSKO

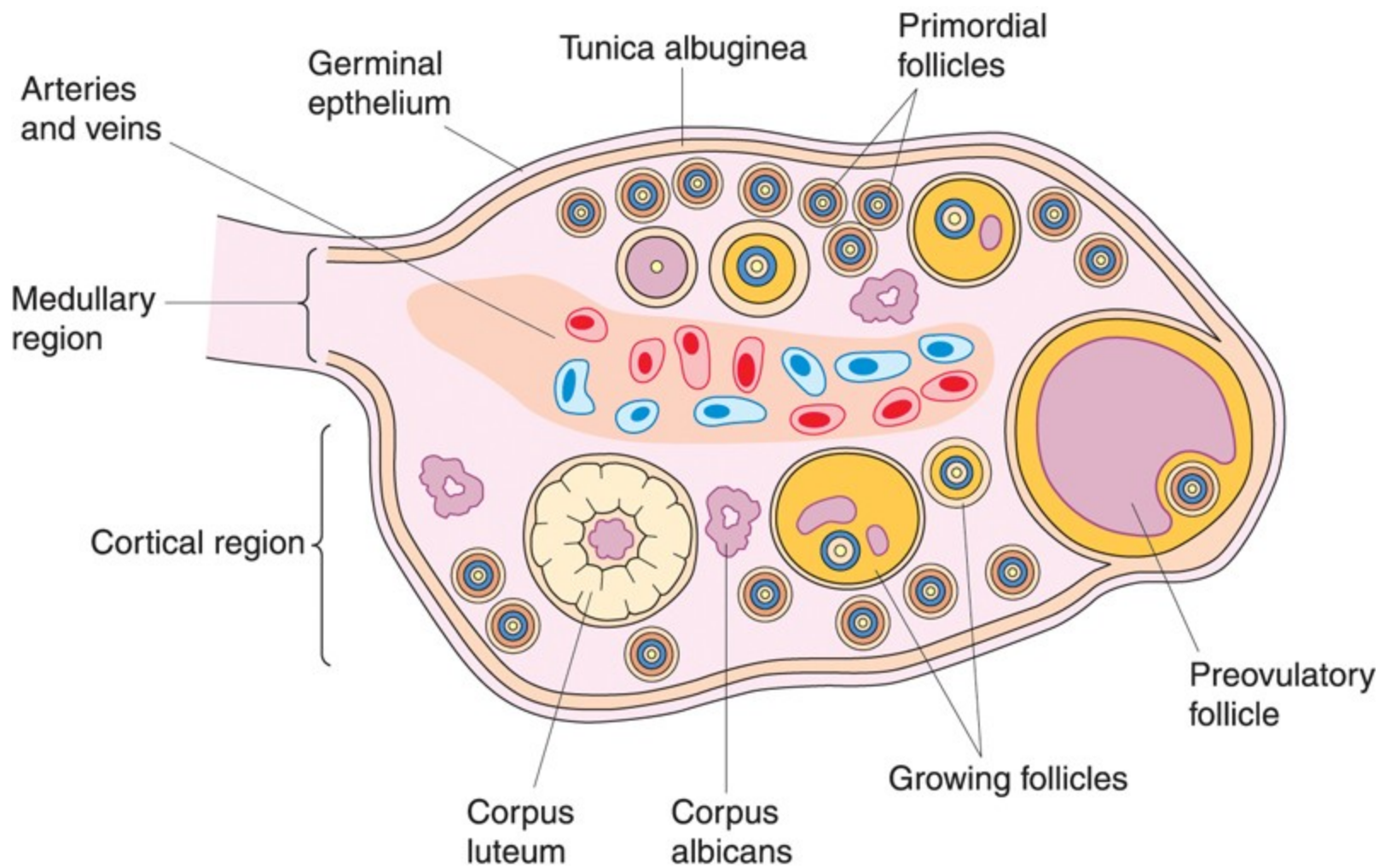


Polar Bodies

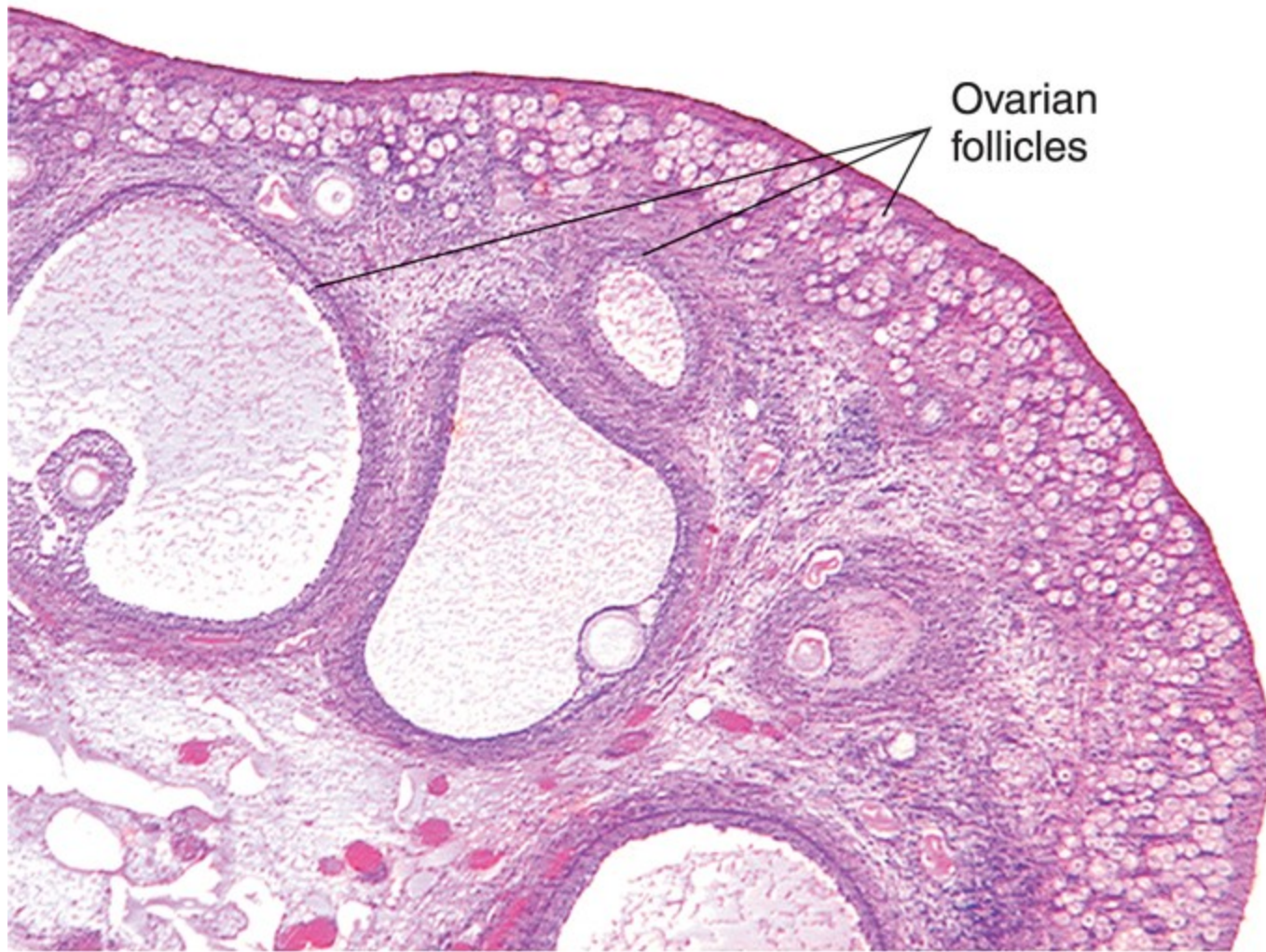


Oogenesis

1 OVUM



Ovarium ženy v reprodukčním věku



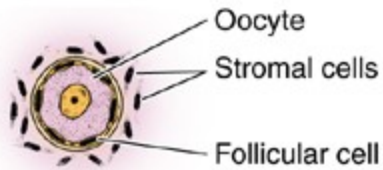
Ovarian
follicles

Medullary
region

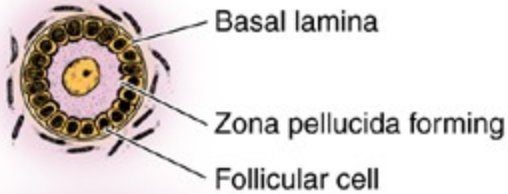
Cortical
region

Část ovaria, barveno H&E

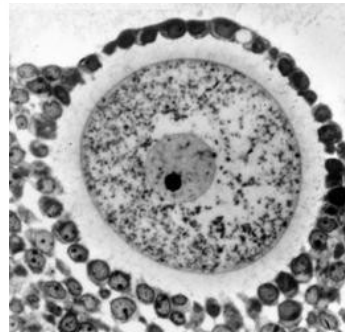
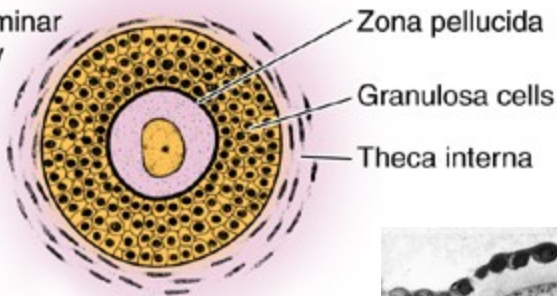
Primordial follicle



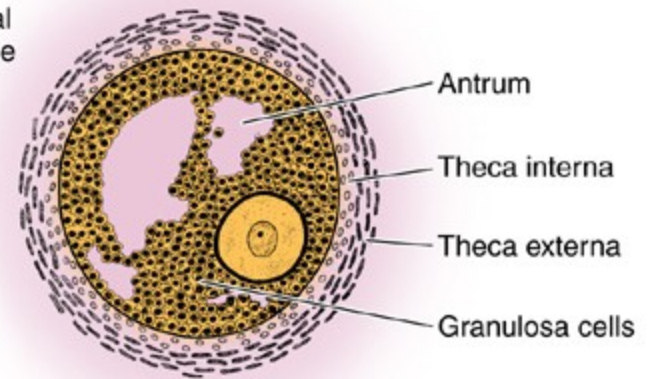
Unilaminar primary follicle



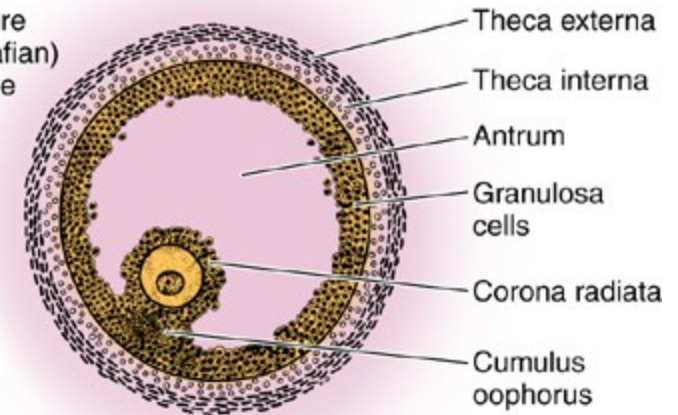
Multilaminar primary follicle



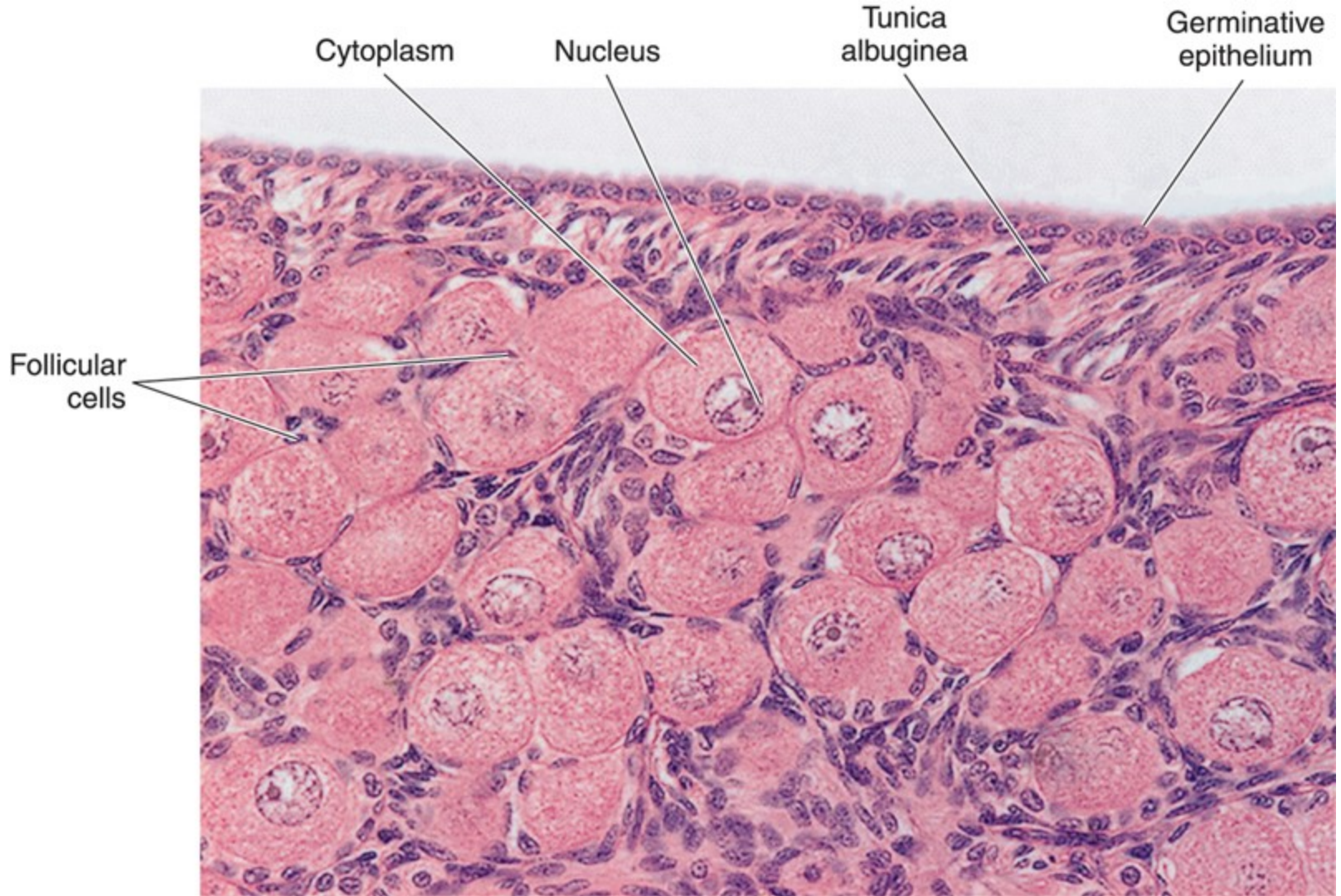
Antral follicle



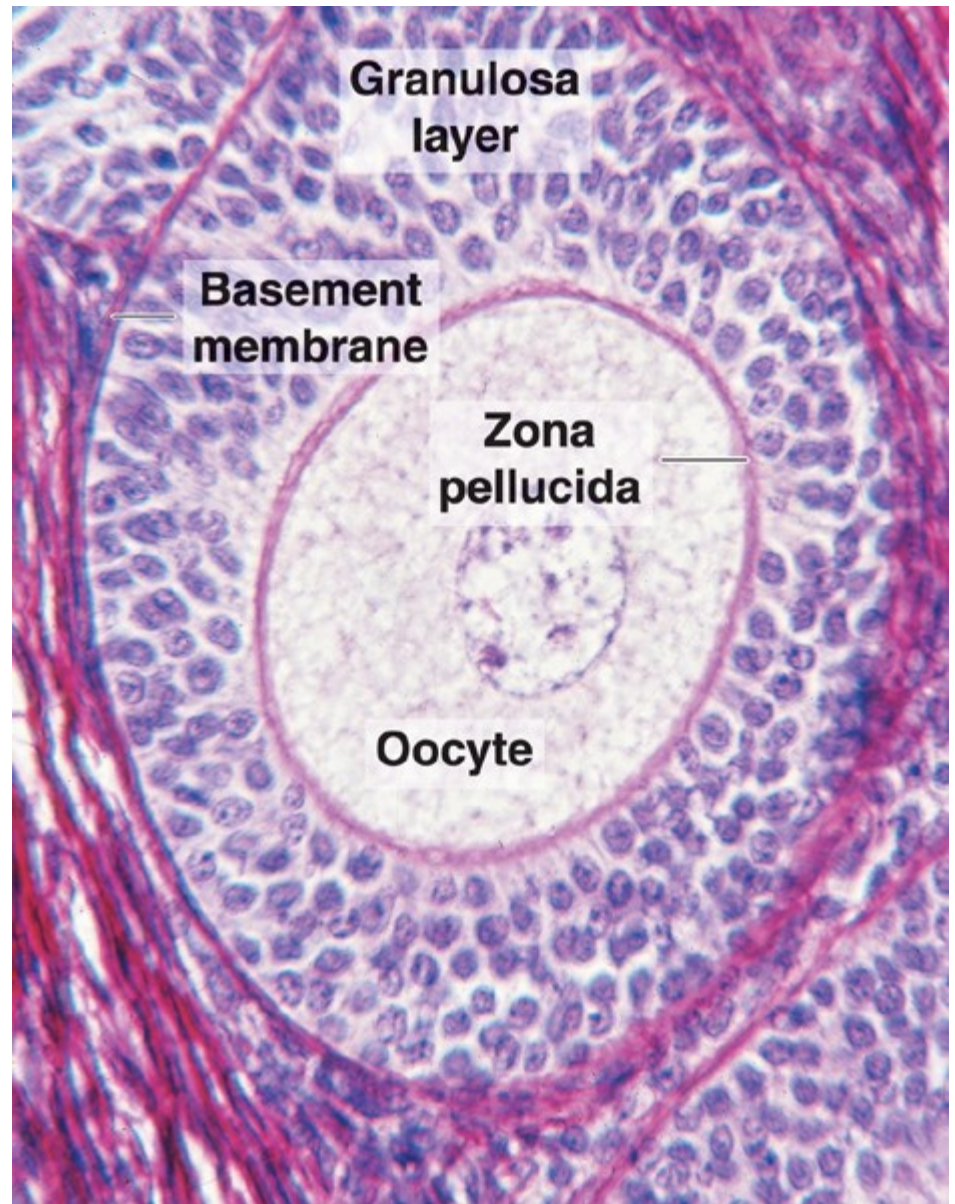
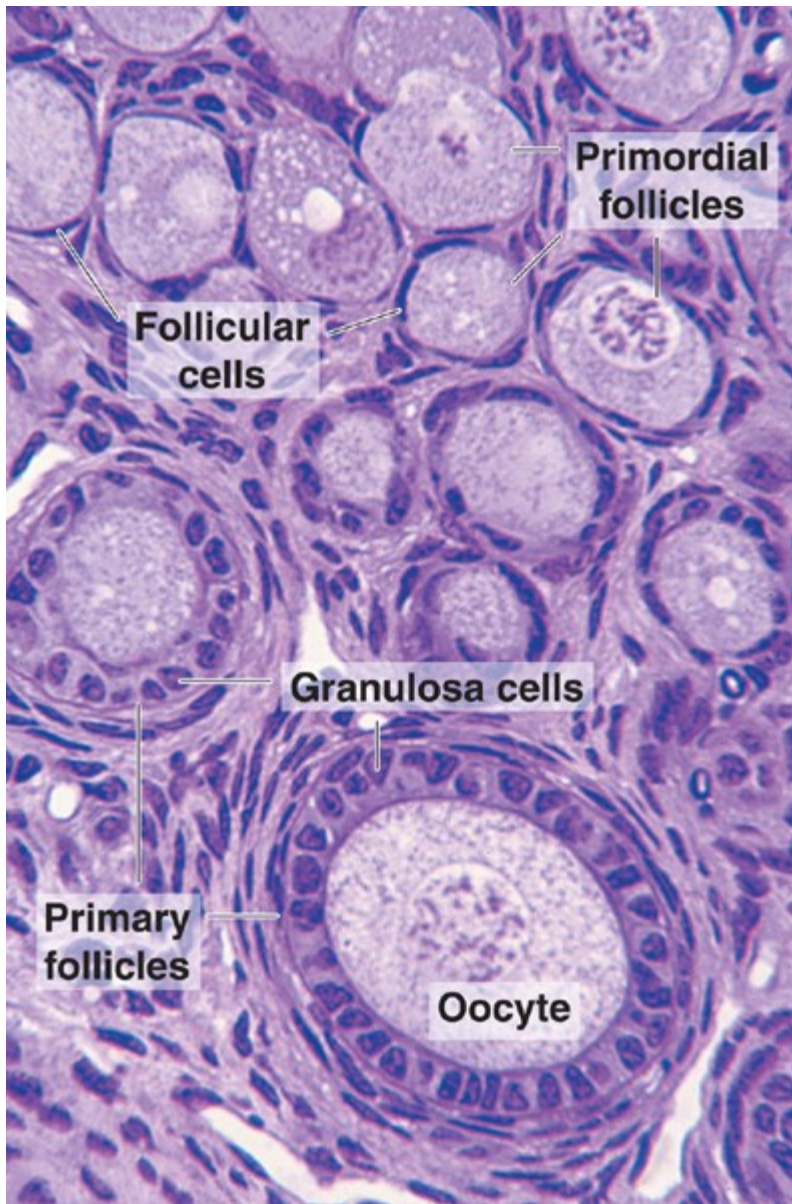
Mature (graafian) follicle



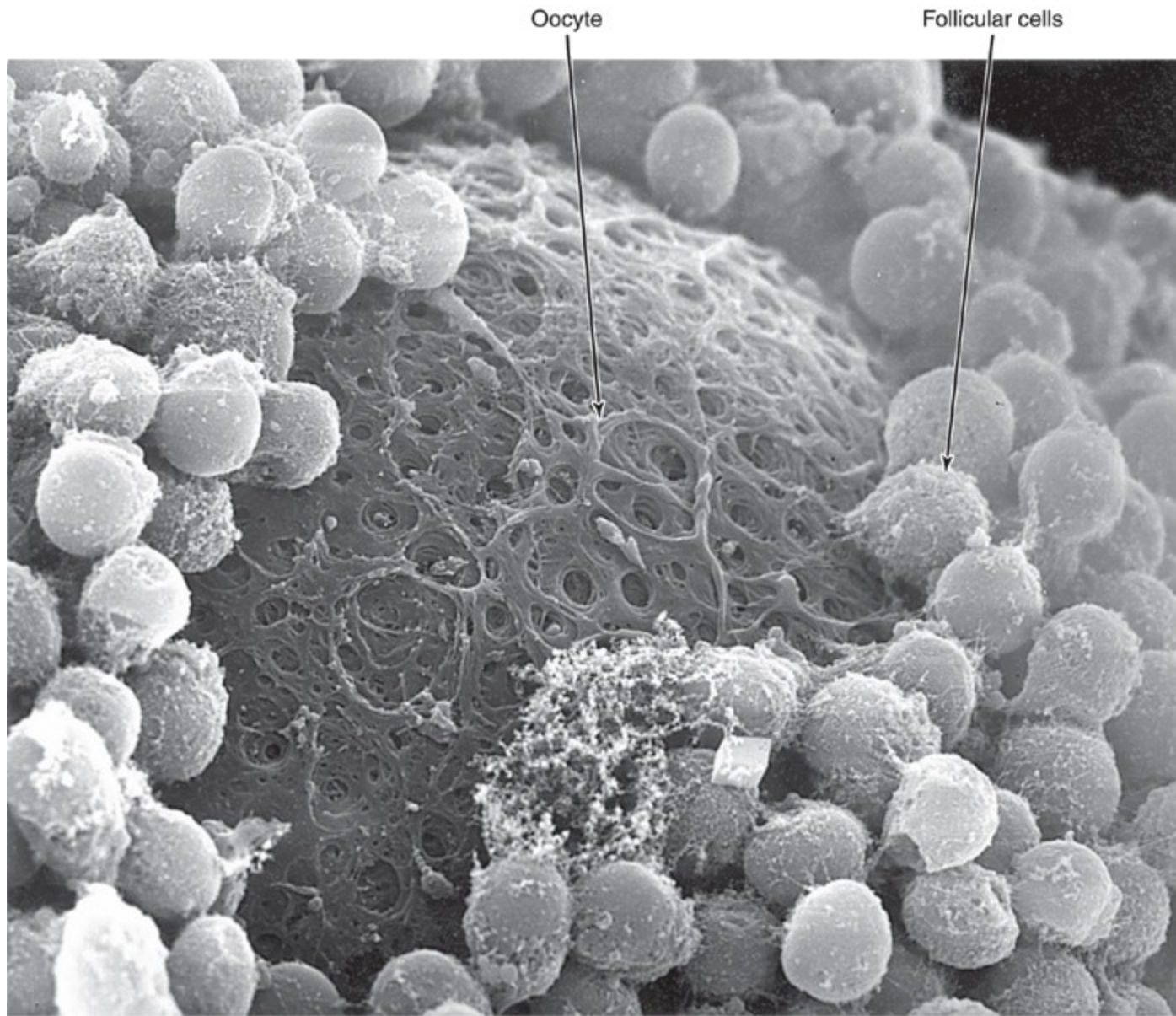
Typy ovariálních folikulů



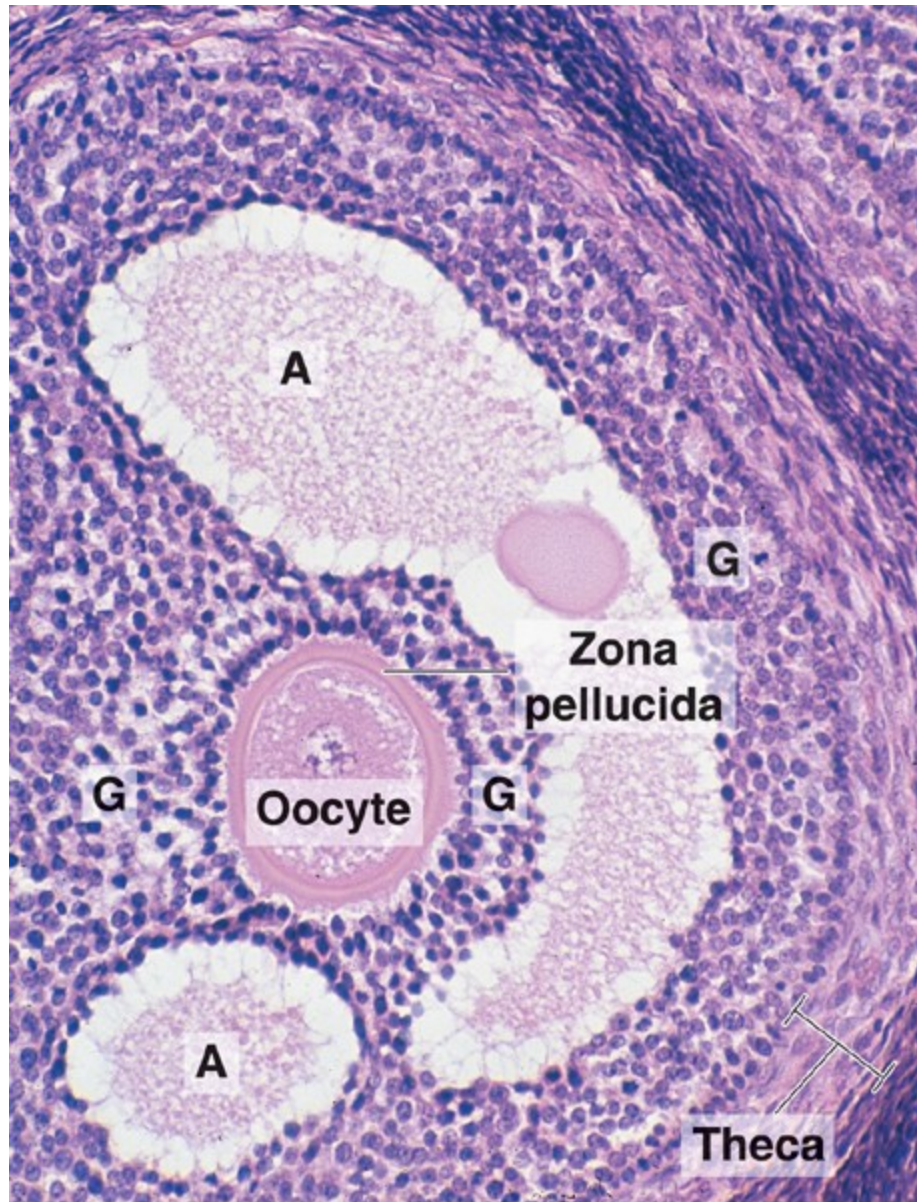
Kortikální oblast ovaria



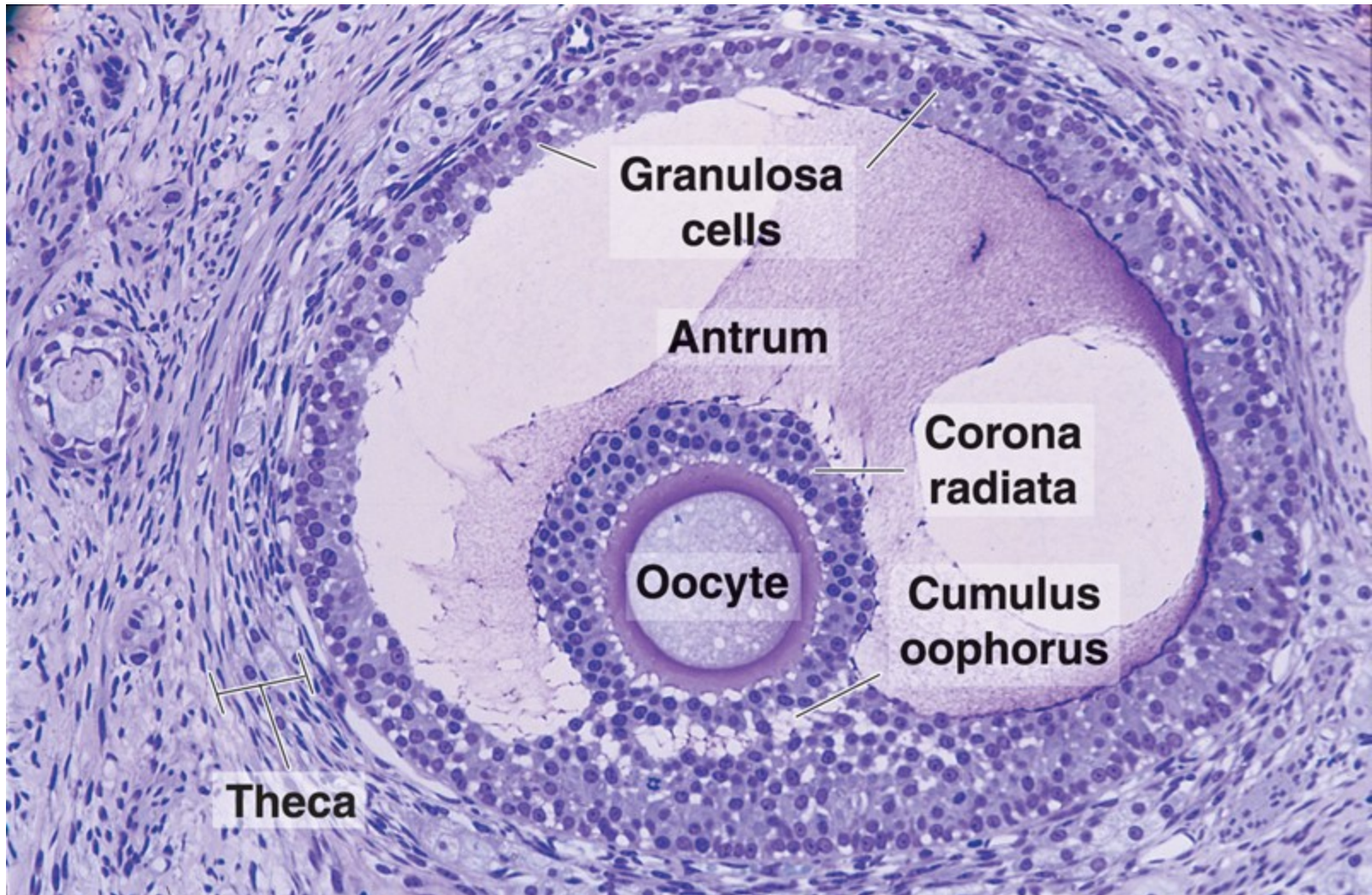
Preantrální folikuly



Oocyt s folikulárními buňkami, SEM



Antrální folikul



Antrální folikul

POZOROVÁNÍ EPITELIÁLNÍCH BUNĚK Z DUTINY ÚSTNÍ + BARROVO TĚLÍSKO

BARROVO TĚLÍSKO (sex chromatin):

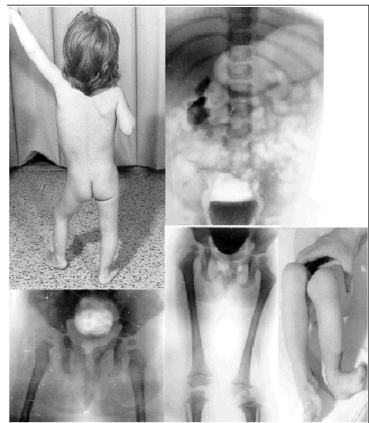
Barvitelný útvar, který lze nalézt v interfázním jádře somatických buněk samic savců.

Jeden z dvou pohlavních chromozómů X je trvale ve stavu heterochromatinu, tzn. je trvale kondenzovaný, tzn. nepřepisuje se.

Dříve: k určování pohlavních odchylek.

Př. Klinefelterův syndrom AXXY

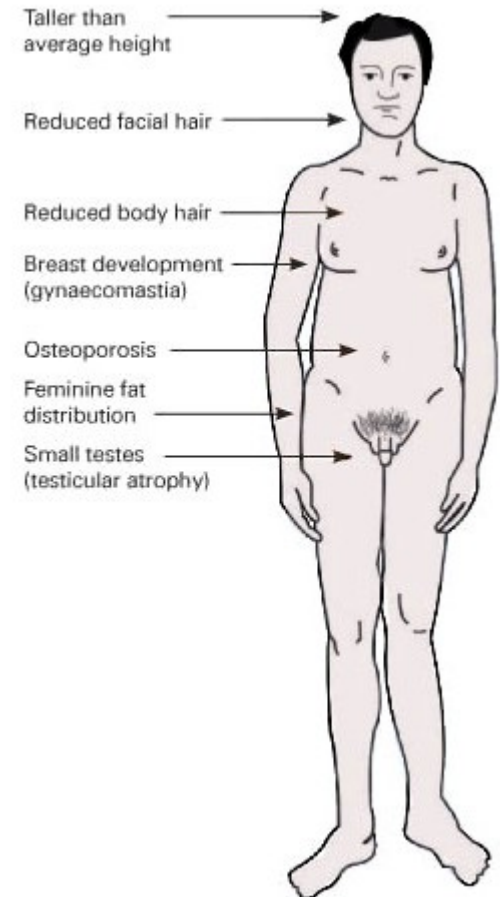
Turnerův syndrom AAX..



Turnerův syndrom

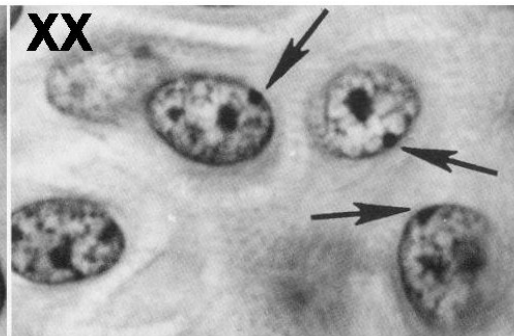
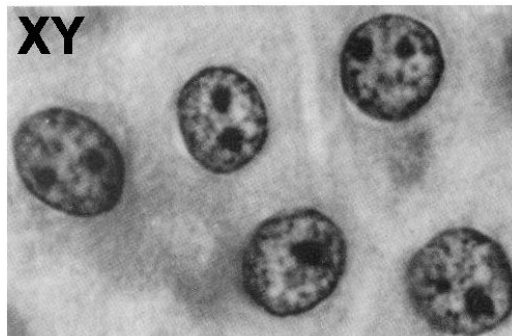


Klinefelterův syndrom



POZOROVÁNÍ EPITELIÁLNÍCH BUNĚK Z DUTINY ÚSTNÍ + BARROVO TĚLÍSKO

- Sterilní špachtlí seškrábneme z vnitřní strany dutiny ústní malý kousek tkáně.
- Přeneseme na podložní sklíčko, popř. zředíme slinami.
- Přikápneme Lugolův roztok.
- Přikryjeme krycím sklíčkem a pozorujeme s imerzí. Polyedrické buňky, barvitelný útvar na vnitřní straně jaderné membrány.



Odkazy

- Flash animace meiózy:
 - <http://www.stolaf.edu/people/giannini/flashanimat/celldivision/meiosis.swf>
 - <http://www.johnkyrk.com/meiosis.html>
 - mitóza vs. meióza:
<http://www.pbs.org/wgbh/nova/baby/divide.html>