



Vortragstagung der DGfZ und GfT am 26./27. September 2007 in Hohenheim


Vitrifikation von Mäuseblastocysten mit der OPS- Methode unter Zusatz verschiedener Saccharosekonzentrationen

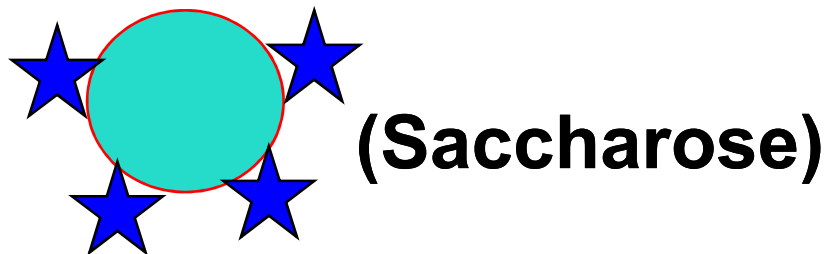
A. Al Yacoub, M. Gauly, J. Reischl, W. Holtz

**Institut für Tierzucht und Haustiergenetik
Georg-August-Universität
Albrecht-Thaer-Weg 3, 37075 Göttingen**

- **Embryoneneinfrieren ist üblich**
- **Entweder Standard verfahren oder Vitrifikation**
-

Vitrifikation

- **Glasartige Verfestigung ohne Eiskristallbildung**
- **Hohe Konzentrationen von Kryoprotektiva**
- **Hohe Abkühl- und Erwärmungsraten**
- **Kryoprotektiva:**  **(EG, DMSO)**

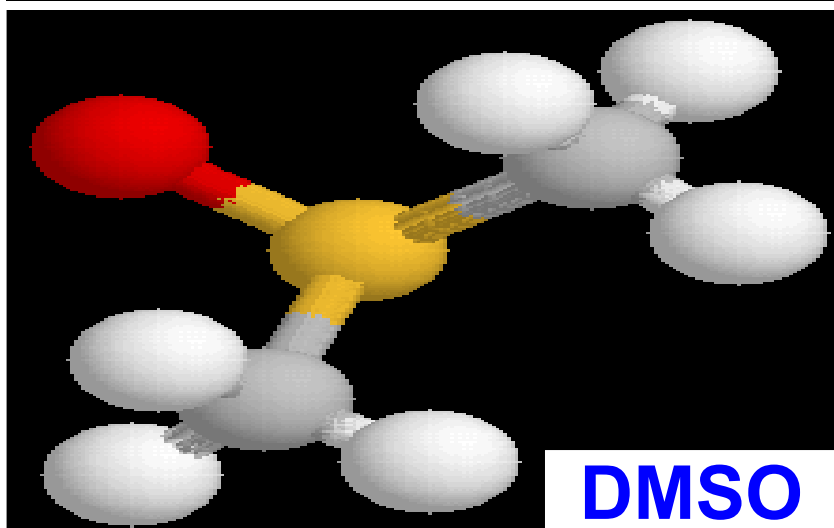
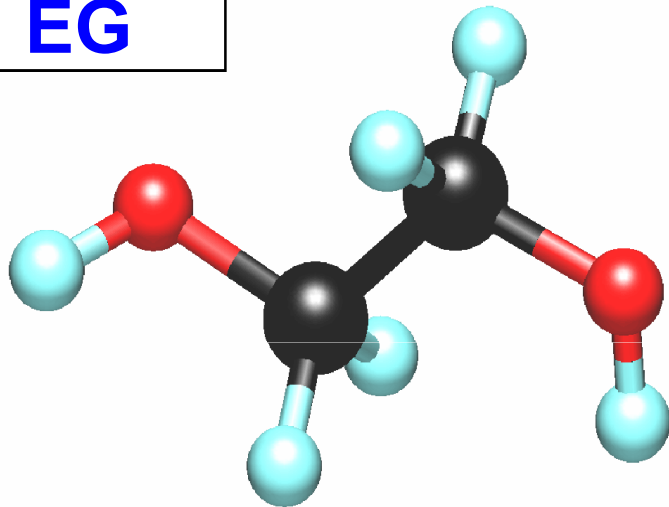


Fragestellung

- Zucker (z.B. Saccharose) in geeigneten Konzentrationen im **Einfriermedium** soll sich positiv auswirken
- Zuckerzusatz zum **Auftaumedium** ist üblich
- Aufgrund eigener Befunde wird dies in Frage gestellt
- Welche Auswirkung hat Zucker (Saccharose) im **Einfriermedium**

PENETRIERENDE

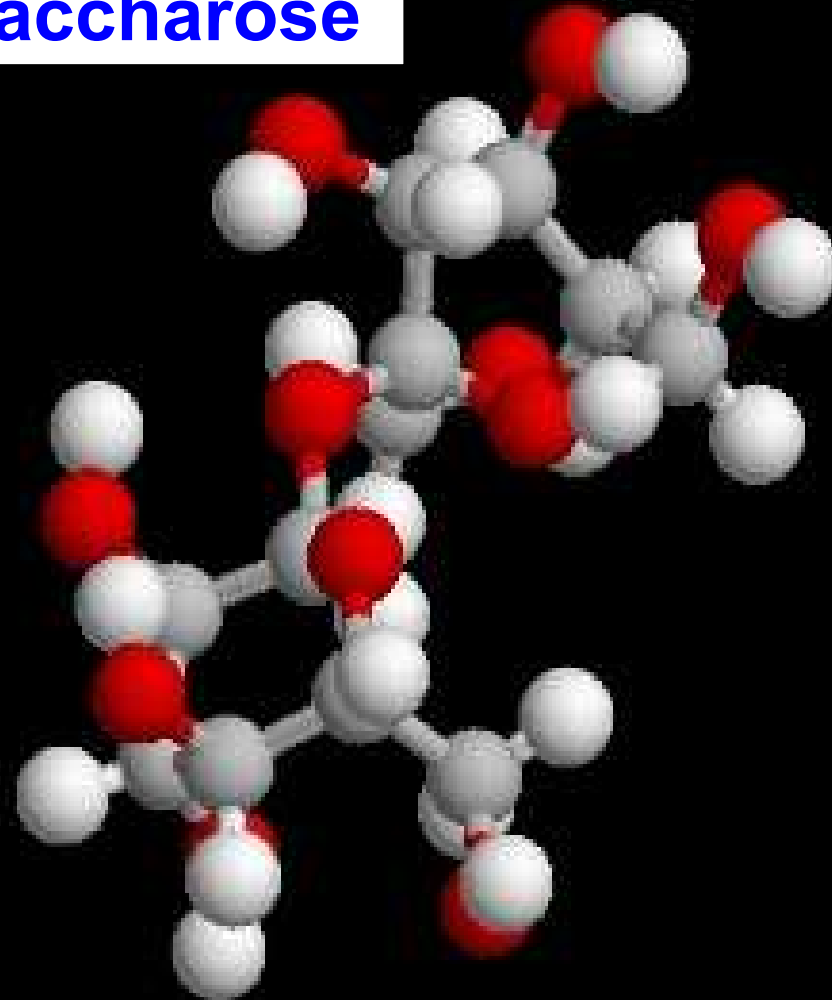
EG



DMSO

NICHT PENETRIERENDE

Saccharose



Material:

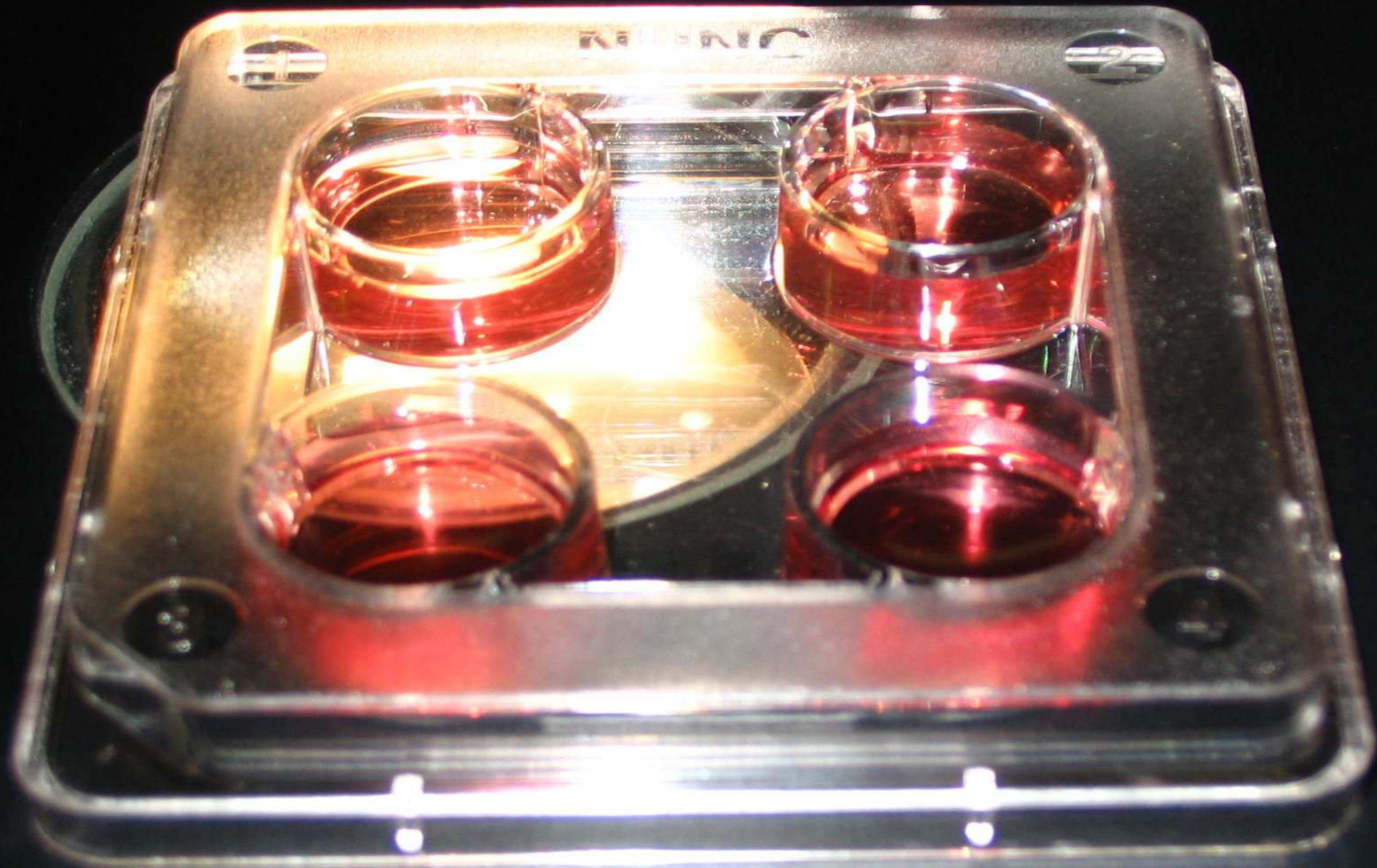
- **Embryonengewinnung von superovulierten Mäusen (eCG, hCG)**
- **Gemischte Embryonen (intakte Blastocysten) mehrerer Mäuse**

Methoden:

Open Pulled Straw (OPS)

- **Vitrifikation: TG- Verfahren von Vajta et al. (1998) entwickelt**
- **0.25 ml Minipailletten über Heizplatte bis zu der Hälfte der Dicke gezogen**
- **An der dünnsten Stelle durchtrennt**

4 Loch Schale



OPS Vitrifkation

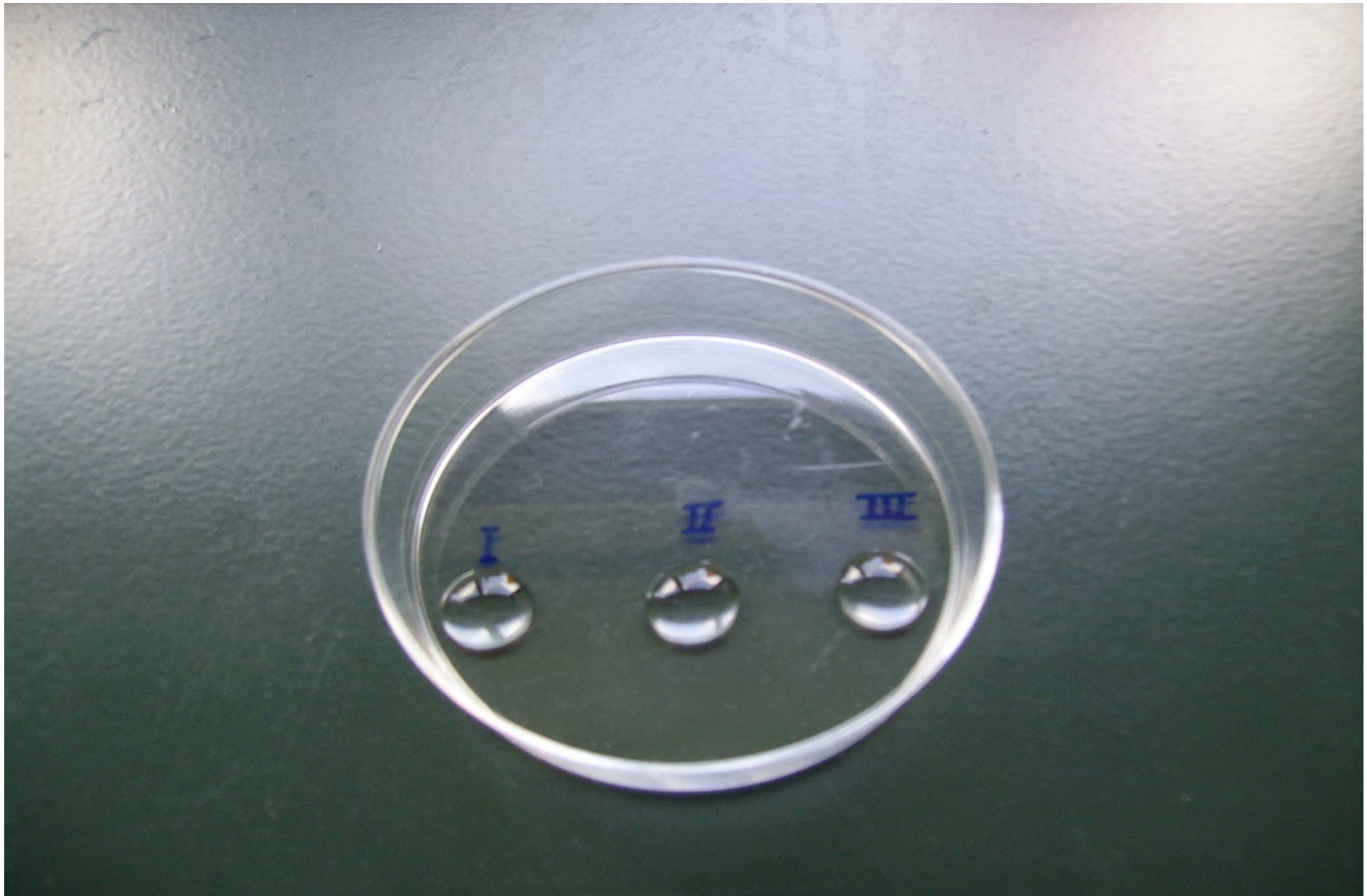
Loch No.	BM	Saccharose Konz. im BM	EG	DMSO	Zeit
1+2	100%	-	-	-	je 3 min
3	80%	-	10%	10%	1 min
4	60%	0.0 M (V1), 0.4 M (V2), 0.8 M (V3),	20%	20%	20 sec.

- Embryonen wurden Innerhalb von 20 s vom engen Ende der OPS durch Kapillarwirkung aufgesogen
- OPS in flüssigem Stickstoff

Auftauen

Loch No.	Saccharose Konz. im BM	KSOM	Zeit	Temp.
1	0.0 M (T1), 0.25 M (T2), 0.50 M (T3),	-	3 min	Raum

Bewertung: 4, 24 und 48 std. nach dem Auftauen



- KSOM(Potassium Simplex Optimized Medium) + Mineral Öl.
- 37°C + 5% CO2





Versuchsplan:

Saccharose-Konz. bei Vitrifikation:

<u>AUFTAUMEDIUM</u>	<u>EINFRIERMEDIUM</u>		
	0.0 M	0.4 M	0.8 M
0.0 M	32	32	31
0.25 M	34	32	32
0.50 M	33	32	35

- Versuchsdurchgänge: 6
- Mäuseblastozysten: 293

Die Ergebnisse

Einfluss der Saccharose-Konz. im **Einfriermedium**.

Parameter	0.0 M	0.4 M	0.8 M
Expansionsrate	80% a	86% a	45% b
Schlupfrate	36% a	50% b	21% c

a,b,c Signifikanter Unterschied (P<0.001)

Einfluss der Saccharose-Konz. im **Auftaumedium.**

Parameter	0.0 M	0.25 M	0.5 M
Expansionsrate	70%	72%	69%
Schlupfrate	36%	31%	41%

Schlussfolgerung

- **Saccharose im Vitrifikationsmedium überflüssig, in hoher Konzentration sogar schädlich**
- **Saccharose in Auftaumedium wirkungslos**
- **In vivo Untersuchungen notwendig**

*Vielen
Dank*

