

Einfluß der Kuhfamilie auf die Effizienz von Ovum pick-up und Kerntransfer

**S. Hiendleder¹, K. Brüggerhoff¹, H. Wenigerkind², H.-D. Reichenbach³,
K. Prella¹, M. Stojkovic¹, G. Brem²⁺⁴, V. Zakhartchenko¹, E. Wolf¹**

- 1. Lehrstuhl für Molekulare Tierzucht und Biotechnologie, Genzentrum der Ludwig-Maximilians-Universität München;*
- 2. Bayerisches Forschungszentrum für Fortpflanzungsbiologie (BFZF), Oberschleißheim;*
- 3. Bayerische Landesanstalt für Tierzucht, Poing-Grub;*
- 4. Institut für Tierzucht und Genetik, Veterinärmedizinische Universität Wien*

Die ultraschallgestützte transvaginale Follikelpunktion (OPU) hat sich in den letzten Jahren insbesondere für die kommerzielle Anwendung in der ex vivo Gewinnung boviner Oozyten durchgesetzt. In zahlreichen Studien konnten verschiedene, die Punktionseffizienz beeinflussende Faktoren nachgewiesen werden. Eine der bedeutendsten Einflußgrößen stellt das Spenderindividuum selbst dar. Die vorliegende Untersuchung hatte das Ziel, zusätzlich den Einfluß der maternalen Herkunft des Spendertieres, d.h. der Kuhfamilie, auf die Effizienz des OPU zu untersuchen. Daneben sollten Zytoplasmaeffekte beim Kerntransfer überprüft und die Kombination von OPU und Kerntransfer zur Erzeugung von Rindern mit definiertem Kern- und Mitochondrien-Genom getestet werden.

Für den OPU wurden 13 weibliche Nachkommen von zwei Kuhfamilien der Rasse Fleckvieh aus einem MOET-Programm verwendet. Die ausschließlich maternal vererbte Mitochondrien-DNA (mtDNA) der beiden Familien wies Sequenzunterschiede auf, die ein genetisch verschiedenes Zytoplasma belegten und eine molekulargenetische Überprüfung der mütterlichen Abstammung der Tiere ermöglichten. Beide Gruppen umfaßten trockenstehende Tiere nach der ersten Abkalbung sowie Kalbinnen. Alle Tiere wurden in zwei aufeinander folgenden Versuchsdurchgängen zunächst 1x dann 2x wöchentlich punktiert. Die Punktion aller Tiere erfolgte jeweils randomisiert am gleichen Tag.

An 17 Punktionstagen wurden insgesamt 1342 Oozyten gewonnen und klassifiziert. Der Reproduktionsstatus der Spender hatte keinen Einfluß auf die OPU-Ergebnisse. Das Spenderindividuum selbst übte lediglich bei der Anzahl der gewonnenen Oozyten einen signifikanten Einfluß aus ($p < 0,05$). Als hochsignifikant in der Varianzanalyse erwies sich neben der Aspirationsfrequenz ($p < 0,001$) insbesondere die Kuhfamilie ($p < 0,001$). Die

Tiere der beiden Familien zeigten signifikante ($p < 0,001$) Unterschiede sowohl in der Anzahl der gewonnenen KOKs als auch in der Zahl der gewonnenen Oozyten guter Qualität. Die Punktionsergebnisse der Familie A waren mit $8,22 \pm 0,83$ (Oozyten/Tier) und $4,16 \pm 0,45$ (Klasse 1/2 Oozyten/Tier) doppelt so hoch wie die Ergebnisse für Familie B mit $4,52 \pm 0,48$ (Oozyten/Tier) und $1,70 \pm 0,31$ (Klasse 1/2 Oozyten/Tier).

Diese kuhfamilienspezifischen Unterschiede ($p < 0,05$) konnten auch in bezug auf die Anzahl der durch Kerntransfer erzeugten transfertauglichen Embryonen am Tag 7 beobachtet werden, wo Familie A 65 und Familie B 19 transfertaugliche Embryonen (17% und 11% bezogen auf die fusionierten Oozyten) lieferte.

Die ermittelten Daten weisen einen signifikanten Einfluß der Kuhfamilie auf die Effizienz des OPU und einen Zytoplasmaeinfluß bei der Erzeugung von Kerntransfer-Embryonen nach. Ursache für die beobachteten Unterschiede zwischen den Familien könnte die unterschiedliche Ausstattung mit Mitochondrien (und dadurch bedingte Beeinflussung von Parametern wie z.B. der Steroidsynthese) bzw. die ausschließlich maternal vererbte mtDNA selbst, aber auch andere im Zytoplasma vorhandene Faktoren (z.B. MPF) sein. Die Ergebnisse zeigen auch, dass über die Kombination von OPU und Kerntransfer Rinder mit definiertem Kern- und Mitochondrien-Genom erzeugt werden können.