

Untersuchungen zur Steigerung der Entwicklungskapazität boviner Oozyten präpuberaler Spendertiere durch In- Vitro Reifung auf Granulosazell- Monolayern adulter Tiere

-Vorläufige Ergebnisse-

S. Ponebšek, K.-G. Hadel, K. Korsawe, C. Wrenzycki und H. Niemann

Institut für Tierzucht (FAL), Forschungsbereich Biotechnologie, D-31535 Neustadt

Mit der ultraschallgeleiteten transvaginalen Follikelpunktion ist es möglich geworden, unreife Oozyten von lebenden Kälbern zu gewinnen. Die Ovum-pick-up-Technologie (OPU) kann dazu beitragen, die genetische Vielfalt und die Leistung in der Rinderzucht zu vergrößern, in dem das weibliche genetische Material schon frühzeitig verstärkt genutzt und gleichzeitig auch das Generationsintervall verkürzt wird.

Aus Oozyten präpuberaler Tiere werden jedoch niedrigere Teilungs- und Blastozystenraten im Vergleich zu denen aus erwachsenen Tieren erzielt. Eine Ursache hierfür ist die mangelhafte zytoplasmatische Reifung der Oozyten. Durch eine Kultur der Kälberoozyten auf Granulosazellmonolayern adulter Tiere soll versucht werden, die Entwicklungskapazität der Oozyten zu verbessern.

Für die vorliegende Untersuchung wurden 42 Kälber im Alter zwischen 7-8 Monaten zweimal wöchentlich in sechs aufeinander folgenden OPU-Sitzungen punktiert.

IVF-taugliche Oozyten wurden 24 Stunden auf Granulosazell- oder Fibroblastenmonolayern in einem Standardmedium (TCM199 mit BSA-Zusatz und HCG und eCG) gereift, bevor sie in Fert-Talp mit Heparin, Hypotaurin, Epinephrin und BSA in vitro fertilisiert wurden. Dazu wurde Tiefgefriersperma eines Bullen verwendet, das auf IVF-Tauglichkeit getestet wurde. Nach 18-20 Stunden erfolgte die In-vitro-Kultur in SOF mit BSA-Zusatz für 7-8 Tage.

Um die Anzahl und Qualität der Kälberoozyten zu verbessern, wurde den Kälbern 48 Stunden vor jeder OPU-Sitzung 60 mg FSH-P i.m. appliziert.

Oozyten von laktierenden Kühen (100mg FSH-P, i.m.) dienten als Kontrolle. Die In-vitro Produktion dieser Embryonen erfolgte nach dem gleichen Prinzip wie die der Kälberkontrollgruppe.

Die vorläufigen Teilungs- und Blastozystenraten zeigen, dass die Reifung von Kälberoozyten auf Granulosazellen ihre Entwicklungskompetenz verbessert (siehe Tabelle).

Die Analyse der Expressionsmuster entwicklungsrelevanter Gene wird zur Zeit mit Hilfe der RT-PCR bei ungereiften und gereiften Oozyten (GDF-9, Hsp70) sowie 8-16 Zellen und expandierten Blastozysten (Glut3, Hsp70) durchgeführt.

Tabelle:

IVP-Resultate von Kälbern und Kühen

GRUPPEN	TEILUNGSRATE MW±SD	BLASTOZYSTENRATE MW±SD
KÄLBER KONTROLLE	54,3% ± 16,8 ^b (143/260)	10,3% ± 10,1 ^c (29/260)
KÄLBER GRANULOSAZELLEN	72,7% ± 21,4 ^a (149/204)	19,9% ± 13,0 ^a (37/204)
KÄLBER FIBROBLASTEN	56,9% ± 15,9 ^b (103/174)	3,8% ± 5,7 ^b (8/174)
KÜHE KONTROLLE	70,5% ± 12,6 ^a (126/180)	17,2% ± 3,4 ^a (31/180)

ANOVA (Student-Newman-Keuls Method) a:b ≤ 0,05; a:b:c ≤ 0,05