

Neues Verfahren zur Vitrifizierung in vitro produzierter Rinderembryonen

A. Lucas-Hahn, K. Korsawe, E. Lemme und H. Niemann
Forschungsbereich Biotechnologie
Institut für Tierzucht (FAL), Mariensee
31535 Neustadt

Die Kryokonservierung von Rinderembryonen aus dem SOF-System stellt nach wie vor noch ein Problem dar. Die Modifizierung des In vitro Kultursystems brachte keinen durchschlagenden Erfolg (Lucas-Hahn et al., 2003). Nach konventionellem Tiefgefrieren und Auftauen mit 1,5 M Ethylenglycol wurden hier Reexpansionsraten von 39-71% und Schlupfraten nach 48-stündiger in vitro Kultur von 14-38% erzielt.

In der vorliegenden Studie wurde das Vitrifikationsverfahren CVM-65 mit Kryoloops (Fa. Consarctic, Schöllkrippen) als Gefrierbehälter zur Kryokonservierung von in vitro produzierten SOF-Embryonen eingesetzt. Blastozysten und expandierte Blastozysten wurden an den in vitro Kulturtagen 7 und 8 gewonnen und vitrifiziert. Als Kryoprotektiva wurden DMSO und Ethylenglycol bis zu einer Endkonzentration von jeweils 20% eingesetzt. Die Äquilibration erfolgte in zwei Schritten. Pro Kryoloop wurden 3-5 Embryonen in einer Kryoglasperle vitrifiziert. Zum Auftauen wurden die Kryoglasperlen in 39°C vorgewärmtes Medium (0,2M Sucrose) verbracht. Reexpansion und Schlupf der Embryonen wurden nach einer bzw. 48 Stunden in vitro Kultur beurteilt. Die Ergebnisse dieser Studie werden in folgender Tabelle dargestellt.

Kulturtag	Entwicklungsstadium (n)	Reexpansionsrate	Schlupfrate
7	Expandierte Blastozyste (30)	100%	83,3%
7	Blastozyste (23)	91,3%	38,1%
8	Expandierte Blastozyste (51)	98,0%	50,0%
8	Blastozyste (44)	86,4%	21,0%

Nach Anwendung des Vitrifikationsverfahrens CVM-65 wurde in allen Gruppen nach dem Auftauen eine hohe Reexpansionsrate der Embryonen beobachtet. Das höchste Entwicklungspotential (Schlupf) ist bei den expandierten Blastozysten erkennbar. Tag 7 Embryonen zeigten höhere Überlebensraten als Tag 8 Embryonen. Zusammenfassend ist festzustellen, dass die Vitalität in vitro produzierter Rinderembryonen nach Vitrifikation verglichen mit dem traditionellen Tiefgefrierverfahren wesentlich verbessert werden konnte. Es ist geplant, in einem weiteren Versuch die in vitro Ergebnisse in vivo zu überprüfen wobei vitrifizierte in vitro Blastozysten auf Empfängertiere übertragen werden sollen.