

III. TÜRK VETERİNER JİNEKOLOJİ KONGRESİ (ULUSLAR ARASI KATILIMLI)
23-26 EKİM 2008, LARA /ANTALYA

PARTENOGENETİK SIĞIR BLASTOSİSTLERİNİN OPEN PULLED STRAW (OPS) VİTRİFİKASYON YÖNTEMİ İLE DONDURULMASI VE ÇÖZÜNDÜRÜLMESİNDE KULLANILAN FCS MİKTARLARININ BLASTOSİST CANLILIK ORANLARI ÜZERİNE ETKİSİ

Tolga AKKOC*, Arzu TAŞ*, Gaye ÇETİNKAYA*, Haydar BAĞIŞ*, Sezen ARAT*

Embriyoların dondurularak saklanması ve çözündürülmesi sonrasında canlılıklarını sürdürebilmesi, kriyobiyojoloji alanında önemli yer tutmaktadır. Embriyoların dondurulmasında çeşitli vitrifikasyon yöntemleri kullanılmaktadır. Bunların başında Open Pulled Straw (OPS) vitrifikasyon yöntemi gelmektedir. OPS yöntemi ile embriyolarda toksisite, ozmotik ve donmanın getirdiği zararlar diğer dondurma yöntemlerine göre daha az olmaktadır. Bu çalışmada, partenogenetik aktivasyon sonrası elde edilmiş siğir blastosistleri, iki farklı Fetal Calf Serum (FCS) oranı içeren temel medyum (TCM 199-Hepes) kullanılarak dondurulmuş, saklanmış, çözündürülmüş ve blastosistlerin çözündürme sonrasındaki canlılık oranları araştırılmıştır. Blastosistler, %7,5 Etilen Glikol (EG), %7,5 Dimetil Sülfoksit (DMSO) içeren ekilibrasyon medyumunda 3 dakika ekilibre edildikten sonra %16,5 EG, %16,5 DMSO ve 0,5 M Sükroz içeren dondurma medyumunda 20 saniye bekletilip payetlere çekilerek direkt sıvı azota daldırma yöntemiyle donduruldular. Donmuş blastosistlerin çözündürülmeleri, payetlerin çözündürme medyumuna direk daldırılmasıyla gerçekleştirildi. Çözündürme medyumunda sükrozdan arındırılan blastosistler SAGE-Blastosist Medyumunda bir gün kültüre alındılar. %30 FCS içeren temel medyum kullanıldığında çözündürme sonrası canlılığını koruyan Blastosist oranı %44 olmakla beraber, %20 FCS kullanıldığında elde edilen sonuç %62'dir. Her iki grup arasında istatistiksel olarak fark bulunmuş ($P < 0.05$) ve OPS vitrifikasyon yönteminde kullanılan temel medyuma %20 FCS eklendiği zaman blastosist canlılık oranlarının daha iyi olduğu gözlemlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: OPS, FCS, Vitrifikasyon, Blastosist.

Bu çalışma TÜBİTAK KAMAG, 106G005 no'lu proje tarafından desteklenmiştir.

Dondurulan Blastosist	FCS ORANI	KÜLTÜR SONRASI CANLI BLASTOSİST	KÜLTÜR SONRASI CANLILIK ORANI
15	%30	7	% 44 ^a
14	%20	8	% 62 ^b

İletişim: Doç. Dr. Sezen ARAT (sezen.arat@mam.gov.tr)

*TUBİTAK MAM-Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Enstitüsü (GMBE) Gebze/Kocaeli

III. TÜRK VETERİNER JİNEKOLOJİ KONGRESİ (ULUSLAR ARASI KATILIMLI)
23-26 EKİM 2008, LARA /ANTALYA

THE EFFECT OF FCS AMOUNT THAT USED FREEZING AND THAWING WITH OPEN PULLED STRAW (OPS) METHOD ON SURVIVE RATE OF PARTHENOGENETIC BOVINE BLASTOCYST

Tolga AKKOÇ*, Arzu TAŞ*, Gaye ÇETİNKAYA*, Haydar BAĞIŞ*, Sezen ARAT*

Embryo Cryopreservation and keeping viability after thawing processes are important in Cryobiology researches. Various vitrification methods have been used in freezing of embryos. Open Pulled Vitrification (OPS) method is mainly used for vitrification of bovine embryos. Comparing to other vitrification methods; OPS method circumvents less toxicity, chilling injury and osmotic damage. In this study, parthenogenetic bovine blastocysts were cryopreserved in base medium (TCM-199+HEPES) that contains two different FCS proportion. Then they were stored in a liquid nitrogen and warmed. After warming the viability of thawed blastocysts were investigated. Blastocysts were equilibrated for 3 min in equilibration medium containing 7.5 % Ethylene Glycol (EG), 7.5% Dimethyl Sulfoxide (DMSO), than they were transferred into vitrification medium containing 16.5% EG, 16.5% DMSO and 0.5 M Sucrose for 20 sec. Blastocysts were immediately loaded into the straw and submerged into liquid nitrogen. Warming was performed by placing the end of the straw directly into the thawing medium. Thawed blastocysts were purified from sucrose than they were cultured in SAGE-Blastocyst Medium for 1 day. In base medium containing 30% FCS Blastocyst surviability rate was 44%, however base medium containing 20% FCS, Blastocyst viability rate was 62%. There were statistically differences ($P<0.05$) between both groups. Once 20% FCS was added into base medium employed for OPS vitrification method, it is observed that; blastocyst viability rate was better.

Key Words: OPS, FCS, Vitrification, Blastocyst.

This study was supported by a grant from TUBITAK-TUBITAK KAMAG, 106G005 project.

Vitrified Blastocyst	FCS Rate	Live Blastocyst Afeter Culture	Viability Rate After Culture
15	%30	7	% 44 ^a
14	%20	8	% 62 ^b

Contact: Assoc. Prof. Sezen Arat (sezen.arat@mam.gov.tr)

*TUBITAK, Marmara Research Center (MRC), Genetic Engineering and Biotechnology Institute (GEBI), Transgenic Core Facility, Kocaeli-Turkey.