



Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem

Szent István Campus

Mezőgazdasági Biotechnológus Szak

JUH EMBRIÓK *IN VITRO* ELŐÁLLÍTÁSA

Belső konzulens: Dr. Bodó Szilárd
Tudományos Tanácsadó

Készítette: Debnár Viktória Johanna
GKCJ6J
levelező tagozat

Intézet/Tanszék: MATE ÁTI PÁTÁB

Gödöllő

2023

A ZÁRÓDOLGOZAT/SZAKDOLGOZAT/DIPLOMADOLGOZAT

TARTALMI KIVONATA

Juh embriók *in vitro* előállítása

Debnár Viktória Johanna

Mezőgazdasági biotechnológus Szak

MATE ÁTI PÁTÁB

Dr. Bodó Szilárd, Tudományos Tanácsadó, MATE ÁTI PÁTÁB

Kutatásaim során olyan kísérleteket végeztem el, amelyek elengedhetetlenek ahhoz, hogy a későbbiekben *post mortem* eljárással kinyert gamétákat sikeresen alkalmazzunk *ex situ* génmegőrzés hatékonyságának javítására.

Kísérleteim során elsőként a spermiumok szelekciós módszerének beállításával kezdtünk. A műhüvellyel kinyert ejakulált spermaminták 2014. és 2017. között lettek mélyhűtve, amelyek minta felolvasztás után nem érte a 40%-os motilitási értéket, selejtezésre kerültek. Ezekkel a leselejtezett mintákkal kezdtem a SU beállítását, ahol 3 különböző médiumot, az IVFTALP, STALP és USTALP-ot használtam. A tápközegek használatánál fontos paraméterek voltak: a motilitási, progresszív motilitási és a különböző termékenyítésre utaló értékek, a WOB, LIN, STR és BCF érték. Ezeket az értékeket CASA vizsgálattal határoztam meg közvetlen felolvasztás előtt, majd a különböző időkben végzett SU után. Párhuzamosan eltartást végeztem a felolvasztott mintákkal és a SU idejének lejártaival azokat is CASA-val értékeltem.

Miután sikeres eredményeket értem el ejakulált spermamintákkal, mellékhere eredetű spermiumokkal is elvégeztem a különböző idejű SU eljárást a három különböző médiummal. Ahhoz, hogy mellékhere eredetű spermiumokkal tudjak dolgozni, vágóhídról beérkezett

mellékherékből kinyertük a spermiumot, amit aztán mélyhűtöttünk. A felolvasztás után a mintákat az ejakulált spermiumokkal megegyező módon vizsgáltam.

Eredményeink alapján kijelenthetjük, hogy a SU során az IVFTALP minden esetben megnövelte a motilitás, progresszív motilitás és egyéb mozgás karakterét jellemző paraméterek, mint a BCF, LIN, WOB és STR értékeit. Ezek a értékek a termékenyítőképességre utaló adatok, a spermium mozgáskarakteristikájáról adnak információt és elengedhetetlen a sikeres termékenyítéshez. Vizsgálatokat végeztem, hogy ezeket a javító hatású értékeket a spermiumban a SU, vagy maga a médium okozza, ezért 30 és 60 perces IVFTALP eltartást végeztem. Az eredmények alapján megállapítottuk, hogy a SU-nak van javító hatása, azok a sejtek képesek átjutni a felülúszóba, amelyek megfelelnek az egyenes vonalú előrehaladó mozgásnak. A SU idejének lerövidítésével végzett vizsgálat során a 30 perces SU-al nagyobb spermiumszámot tudtunk elérni, ejakulált és mellékhere eredetű spermiumoknál is.

További vizsgálatokat végeztem a spermaminták felolvasztás utáni kezelésére, ahol az IVF-BIOCSIENCE által forgalmazott SemenPrep spermamosó médiumot használtam, azonban a sejtek motilitási, progresszív motilitási százaléka alulmúlta az eredeti minta értékeit.

A petesejtek IVEP eljárása során megállapítható, hogy a juhok petefészekéből átlagosan 4,3 darab morfológiai követelményeknek megfelelő petesejtet tudtam kinyerni, ezekből pedig összesen 27 darab fejlődött morula stádiumba, ami azt jelenti, hogy 1 darab petefészekből, 1,038 darab petesejt tudott továbbfejlődni.

A termékenyítéshez használt ejakulált spermiumok a petesejtek 38,3 %-át, a mellékhere eredetű spermiumok pedig a 13,63 %-át tudta termékenyíteni és jutott el morula állapotig.

A 18 darab ejakulált spermiummal termékenyített és a 9 darab mellékhere eredetű spermiummal termékenyített embriókat kétféle mélyhűtési eljárással sikeresen eltároltuk.

Az elvégzett kísérletek sorozata egy előtanulmány volt, további ismételésekre lesz szükség a módszerek fejlesztése érdekében, de az IVFTALP-al való SU az IVF előtt mindenképpen sikeresnek mondható, a továbbiakban ajánljuk ennek a használatát.