N1-EXP-01 · Struttura N1 (Svizzera) · 2021 · in corso · Protocollo A

Vetrificazione di linee germinali rettiliane

Dr.ssa Ursula Brunner, Dr. Matthias Vogel, Dr.ssa Helena Roth

Biobanca N.1 — Basilea, Svizzera

ABSTRACT

Contesto: La conservazione a lungo termine del germoplasma di rettili minacciati richiede protocolli che evitino la nucleazione di ghiaccio intracellulare, principale causa di danno durante il congelamento. Metodo: Ovociti e frammenti di tessuto gonadico di iguana sono stati sottoposti a vetrificazione mediante crioprotettori penetranti combinati (etilene glicole e dimetilsolfossido) ad alta concentrazione, con raffreddamento ultrarapido per immersione diretta in azoto liquido a -196°C e riscaldamento rapido controllato. La vitalità post-scongelamento è stata valutata con saggi di integrità di membrana, potenziale di membrana mitocondriale e ripresa metabolica. Risultati: Il 71% degli ovociti ha mantenuto integrità morfologica e di membrana; tuttavia una quota rilevante ha mostrato depolarizzazione mitocondriale residua ed elevata produzione di specie reattive dell'ossigeno, indicando stress ossidativo non del tutto prevenuto. Conclusioni: La vetrificazione consente una crioconservazione priva di ghiaccio efficace per le linee germinali rettiliane, ma la riduzione del danno mitocondriale richiede l'ottimizzazione delle rampe termiche e l'integrazione di antiossidanti nel mezzo crioprotettore.

OBIETTIVO

Preservare a lungo termine ovociti e tessuto gonadico di specie a rischio senza formazione di cristalli di ghiaccio.

METODO

Vetrificazione con crioprotettori penetranti (etilene glicole/DMSO) e raffreddamento ultrarapido in azoto liquido a -196 gradi.

RISULTATI E CONCLUSIONI

Vitalità post-scongelamento del 71% su ovociti di iguana, con danno mitocondriale residuo ancora da ridurre.

BIBLIOGRAFIA

[1] Rall W.F., Fahy G.M. (1985). Ice-free cryopreservation of mouse embryos at -196 °C by vitrification. Nature 313(6003):573-575. https://doi.org/10.1038/313573a0

[2] Kuwayama M., Vajta G., Kato O., Leibo S.P. (2005). Highly efficient vitrification method for cryopreservation of human oocytes. Reproductive BioMedicine Online 11(3):300-308. https://doi.org/10.1016/S1472-6483(10)60837-1

[3] Fahy G.M., Wowk B. (2015). Principles of cryopreservation by vitrification. Methods in Molecular Biology 1257:21-82 (Springer). https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2193-5_2

[4] Comizzoli P. (2017). Biobanking and fertility preservation for rare and endangered species. Animal Reproduction 14(1):30-33. https://doi.org/10.21451/1984-3143-AR889

Opera di finzione. Autori e risultati sono immaginari; la bibliografia elenca opere reali a solo scopo di contesto scientifico. © Eden Exotic — universo 47B1