



Sebastian Schulze (Autor)

**Vergleichende Time Lapse Studien and in vivo und in vitro produzierten Schweineembryonen unter Verwendung von flowzytometrisch gesextem Ebersperma**

Aus dem Institut für Tierzucht, Mariensee,  
der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL) Braunschweig  
und der Fakultät für Agrarwissenschaften der Georg-August-Universität Göttingen

Vergleichende Time Lapse Studien an in vivo und in vitro  
produzierten Schweineembryonen unter Verwendung von  
flowzytometrisch gesextem Ebersperma

Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Fakultät für Agrarwissenschaften  
der Georg-August-Universität Göttingen

vorgelegt von  
Sebastian Schulze  
geboren in Hamm

Göttingen, Juli 2005

<https://cuvillier.de/de/shop/publications/2434>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen,  
Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: [info@cuvillier.de](mailto:info@cuvillier.de), Website: <https://cuvillier.de>

<b>1.</b>	<b>    EINLEITUNG</b>	<b>11</b>
<b>2.</b>	<b>    SCHRIFTTUM</b>	<b>12</b>
<b>2.1.</b>	<b>    Präimplantatorische Entwicklung von Säugetierembryonen</b>	<b>12</b>
2.1.1.	Entwicklungsverlauf präimplantatorischer Schweineembryonen bis zum Stadium der geschlüpften Blastozyste	12
2.1.2.	Genomaktivierung und der Übergang von der mütterlichen zur embryonalen Kontrolle im präimplantatorischen Embryo	15
<b>2.2.</b>	<b>    In-vitro-Produktion von Embryonen</b>	<b>19</b>
2.2.1.	Reifung und Befruchtung	19
2.2.2.	In vitro Kultivierung von Embryonen	21
2.2.3.	Einfluss von Glukose, Laktat und Pyruvat auf die präimplantatorische Entwicklung von Säugetierembryonen	22
2.2.4.	Einfluss weiterer Medienzusätze auf die präimplantatorische Entwicklung von in vitro kultivierter Säugetierembryonen	25
2.2.5.	Probleme der In-vitro-Erzeugung von Schweineembryonen	26
<b>2.3.</b>	<b>    Entwicklungsvergleich in vitro bzw. in vivo produzierter Embryonen</b>	<b>28</b>
<b>2.4.</b>	<b>    Entwicklungsdifferenzen männlicher und weiblicher Embryonen in der präimplantatorischen Phase</b>	<b>30</b>
2.4.1.	Allgemeiner Überblick	30
2.4.2.	Geschlechtsdimorphismus in Abhängigkeit von Glukose	35
2.4.3.	Genexpression in Abhängigkeit des Geschlechtes	37
<b>2.5.</b>	<b>    Wirtschaftsfaktor Geschlechtsdifferenzierung</b>	<b>39</b>
2.5.1.	Verfahren zur geschlechtsspezifischen Spermientrennung	40
2.5.2.	Problem der flowzytometrischen Trennung	41
2.5.3.	Zeitdynamische Erfassung frühembryonaler Entwicklungsabläufe	42

<b>3.</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>46</b>
<b>3.1.</b>	<b>Versuchsabschnitt 1: Entwicklungsdifferenzen von in vitro und in vivo erzeugten Schweineembryonen, während der In-vitro-Kultivierung bis zum späten Embryonalstadium</b>	<b>46</b>
3.1.1.	Gewinnung in vivo gereifter und in vivo befruchteter Embryonen	47
3.1.1.1.	<i>Hormonelle Vorbehandlung und Besamung</i>	47
3.1.1.2.	<i>Spermiengewinnung</i>	47
3.1.1.3.	<i>Embryonengewinnung</i>	48
3.1.1.4.	<i>Embryonenbeurteilung</i>	49
3.1.2.	Erstellung in vitro gereifter und in vitro befruchteter Embryonen	49
3.1.2.1.	<i>Gewinnung unreifer porciner Kumulus-Oozyten-Komplexe</i>	49
3.1.2.2.	<i>KOK - Selektierung</i>	50
3.1.2.3.	<i>In-vitro-Reifung der Kumulus-Oozyten-Komplexe</i>	50
3.1.2.4.	<i>Beurteilung der in vitro gereiften KOK</i>	51
3.1.2.5.	<i>In-vitro-Befruchtung</i>	52
3.1.3.	„Mariensee Computerized Time-Lapse-System“ (MCTLS)	53
3.1.3.1.	<i>Aufbau und Funktionsweise des „Mariensee Computerized Time-Lapse-Systems“</i>	53
3.1.3.2.	<i>In vitro Kultivierung von Schweineembryonen</i>	54
3.1.3.3.	<i>Auswertung der embryonalen Entwicklung mit Hilfe des MCTLS</i>	55
<b>3.2.</b>	<b>Versuchsabschnitt 2: Geschlechtsspezifische Entwicklungsdifferenzen von in vivo gereiften und in vitro mit gesextem Sperma befruchteten Schweineoozyten</b>	<b>58</b>
3.2.1.	Superovulationsbehandlung	59
3.2.2.	Oozytengewinnung	59
3.2.3.	Spermiengewinnung	60
3.2.4.	Spermientrennung	60
3.2.5.	In-vitro-Befruchtung	60
3.2.6.	In-vitro-Kultivierung von Embryonen aus in vivo gereiften und in vitro mit gesexten Spermien befruchteten Oozyten im MCTLS	61

<b>3.3.</b>	<b>Versuchsabschnitt 3: Geschlechtsspezifische Entwicklungsdifferenzen von in vitro gereiften und in vitro mit gesextem Sperma befruchteten Schweineoozyten</b>	<b>62</b>
3.3.1.	Gewinnung in vitro gereifter Oozyten	63
3.3.2.	Spermiengewinnung und Trennung in X- und Y-chromosomale Populationen	63
3.3.3.	In-vitro-Befruchtung von in vitro gereiften Oozyten mit gesexten Spermien	63
<b>3.4.</b>	<b>Zytogenetische Färbung zur Zellkernzahlbestimmung</b>	<b>63</b>
<b>3.5.</b>	<b>Statistische Auswertung</b>	<b>64</b>
<b>4.</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>68</b>
<b>4.1.</b>	<b>Entwicklungsstadien in vitro kultivierter Embryonen, die mit ungesexten Spermien befruchtet wurden</b>	<b>68</b>
4.1.1.	Auswertung der Embryonenentwicklung unabhängig von deren Qualität	68
4.1.1.1.	<i>Entwicklungsfähigkeit in vitro und in vivo erzeugter Embryonen, die in vitro im MCTLS kultiviert wurden</i>	68
4.1.1.2.	<i>Beginn der einzelnen Zellstadien in vitro und in vivo erzeugter Embryonen</i>	69
4.1.1.3.	<i>Zellzykluslängen in vitro und in vivo erzeugter Embryonen</i>	70
4.1.1.4.	<i>Rotationsbeginn in vitro und in vivo erzeugter Embryonen</i>	73
4.1.1.5.	<i>Dauer der Rotationen in vitro und in vivo erzeugter Embryonen</i>	73
4.1.2.	Entwicklungsbetrachtung von Embryonen, die mindestens das frühe Blastozystenstadium erreichten	75
4.1.2.1.	<i>Zellzykluslänge und Dauer in vitro und in vivo erzeugter Embryonen, die das frühe Blastozystenstadium erreichten</i>	75
4.2.2.2.	<i>Beginn und Dauer der Rotationen in vitro und in vivo erzeugter Embryonen, die das frühe Blastozystenstadium erreichten</i>	77

4.1.3.	Vergleich von Embryonen, die sich bis zur frühen Blastozyste entwickelten und solchen, die das frühe Blastozystenstadium nicht erreichten	78
4.1.3.1.	<i>Beginn und Dauer der Zellstadien in vitro gereifter und befruchteter Embryonen, die das frühe Blastozystenstadium erreichten, im Vergleich zu denen, die dieses nicht erreichten</i>	78
4.1.3.2.	<i>Beginn und Dauer der Rotationen von in vitro gereiften und befruchteten Embryonen, die das frühe Blastozystenstadium erreichten, im Vergleich zu denen, die dieses nicht erreichten</i>	80
4.1.3.3.	<i>Beginn und Dauer der Zellstadien von in vivo erzeugten Embryonen, die das frühe Blastozystenstadium erreichten, im Vergleich zu denen, die dieses nicht erreichten</i>	81
4.1.3.4.	<i>Beginn und Dauer der Rotationen von in vivo erzeugten Embryonen, die das frühe Blastozystenstadium erreichten, im Vergleich zu denen, die dieses nicht erreichten</i>	82
<b>4.2.</b>	<b>Entwicklungsvergleich männlicher und weiblicher Embryonen, die in vivo gereift und in vitro mit gesexten Spermien befruchtet wurden</b>	<b>83</b>
4.2.1.	Auswertung aller Daten	83
4.2.1.1.	<i>Entwicklungsdaten männlicher und weiblicher Embryonen, die in vivo gereift und in vitro mit gesexten Spermien befruchtet wurden</i>	83
4.2.1.2.	<i>Beginn der Zellzyklen männlicher und weiblicher Embryonen, die in vivo gereift und in vitro mit gesexten Spermien befruchtet wurden</i>	84
4.2.1.3.	<i>Dauer der Zellzyklen männlicher und weiblicher Embryonen, die in vivo gereift und in vitro mit gesexten Spermien befruchtet wurden</i>	85
4.2.1.4.	<i>Beginn und Dauer der Rotationen männlicher und weiblicher Embryonen, die in vivo gereift und in vitro mit gesexten Spermien befruchtet wurden</i>	86

4.2.1.5.	<i>Kollabierungsverhalten männlicher und weiblicher Embryonen, die in vivo gereift und in vitro mit gesexten Spermien befruchtet wurden</i>	87
4.2.1.6.	<i>Zellzahlen männlicher und weiblicher Embryonen, die in vivo gereift und in vitro mit gesexten Spermien befruchtet wurden</i>	90
4.2.2.	Entwicklung männlicher und weiblicher Embryonen, die in vivo gereift und in vitro mit gesexten Spermien befruchtet wurden und mindestens das frühe Blastozystenstadium erreichten	91
4.2.2.1.	<i>Beginn und Zellzykluslänge männlicher und weiblicher Embryonen, die in vivo gereift und in vitro mit gesexten Spermien befruchtet wurden und mindestens das frühe Blastozystenstadium erreichten</i>	91
4.2.2.2.	<i>Beginn und Dauer der Rotationen in vivo gereifter und in vitro mit gesexten Spermien befruchteter Embryonen, die mindestens das frühe Blastozystenstadium erreichten</i>	92
<b>4.3.</b>	<b>Entwicklungsvergleich männlicher und weiblicher Embryonen, die in vitro gereift und in vitro mit gesexten Spermien befruchtet wurden</b>	<b>94</b>
4.3.1.	Auswertung aller Daten	94
4.3.1.1.	<i>Entwicklungsdaten männlicher und weiblicher Embryonen, die in vitro gereift und in vitro mit gesexten Spermien befruchtet wurden</i>	94
4.3.1.2.	<i>Beginn der Zellzyklen männlicher und weiblicher Embryonen, die in vitro gereift und in vitro mit gesexten Spermien befruchtet wurden</i>	95
4.3.1.3.	<i>Zellzykluslängen männlicher und weiblicher Embryonen, die in vitro gereift und in vitro mit gesexten Spermien befruchtet wurden</i>	96
4.3.1.4.	<i>Beginn und Dauer der Rotationen in vitro gereifter und in vitro mit gesexten Spermien befruchteter Embryonen</i>	96
4.3.1.5.	<i>Kollabierungsverhalten in vitro gereifter und in vitro mit gesexten Spermien befruchteter Embryonen</i>	97
4.3.1.6.	<i>Zellzahlen in vitro gereifter und in vitro mit gesexten Spermien befruchteter Embryonen, die sich zur Blastozyste entwickelten</i>	98

4.3.2.	Entwicklung männlicher und weiblicher Embryonen, die in vitro gereift und in vitro mit gesexten Spermien befruchtet wurden und mindestens das frühe Blastozystenstadium erreichten	99
4.3.2.1.	<i>Beginn und Dauer der Zellzyklen weiblicher und männlicher Embryonen, die in vitro gereift und in vitro mit gesexten Spermien befruchtet wurden und mindestens das frühe Blastozystenstadium erreichten</i>	99
4.3.2.2.	<i>Beginn und Dauer der Rotationen weiblicher und männlicher Embryonen, die in vitro gereift und in vitro mit gesexten Spermien befruchtet wurden und mindestens das frühe Blastozystenstadium erreichten</i>	100
<b>4.4.</b>	<b>Entwicklungsvergleich männlicher bzw. weiblicher Embryonen, die in vitro bzw. in vivo gereift und in vitro mit gesexten Spermien befruchtet wurden</b>	<b>101</b>
4.4.1.	Entwicklungsvergleich männlicher Embryonen, die in vitro bzw. in vivo gereift und in vitro mit gesexten Spermien befruchtet wurden	101
4.4.1.1.	<i>Beginn der Zellzyklen männlicher Embryonen, die in vivo bzw. in vitro gereift und in vitro mit gesexten Spermien befruchtet wurden</i>	102
4.4.1.2.	<i>Zellzyklenlänge männlicher Embryonen, die in vivo bzw. in vitro gereift und in vitro mit gesexten Spermien befruchtet wurden</i>	103
4.4.1.3.	<i>Beginn und Dauer der Rotationen männlicher Embryonen, die in vitro bzw. in vivo gereift und in vitro mit gesexten Spermien befruchtet wurden</i>	103
4.4.1.4.	<i>Beginn der Kollabierungen männlicher Embryonen, die in vitro bzw. in vivo gereift und in vitro mit gesexten Spermien befruchtet wurden</i>	104
4.4.1.5.	<i>Vergleich der Zellzahlen männlicher Embryonen, die in vitro bzw. in vivo gereift und in vitro mit gesexten Spermien befruchtet wurden</i>	105
4.4.2.	Entwicklungsvergleich weiblicher Embryonen, die in vitro bzw. in vivo gereift und in vitro mit gesexten Spermien befruchtet wurden	105

4.4.2.1.	<i>Beginn der Zellzyklen weiblicher Embryonen, die in vivo bzw. in vitro gereift und in vitro mit gesexnten Spermien befruchtet wurden</i>	106
4.4.2.2.	<i>Beginn und Dauer der Rotationen weiblicher Embryonen, die in vitro bzw. in vivo gereift und in vitro mit gesexnten Spermien befruchtet wurden</i>	107
4.4.2.3.	<i>Beginn der Kollabierungen weiblicher Embryonen, die in vitro bzw. in vivo gereift und in vitro mit gesexnten Spermien befruchtet wurden</i>	108
4.4.2.4.	<i>Vergleich der Zellzahlen weiblicher Embryonen, die in vitro bzw. in vivo gereift und in vitro mit gesexnten Spermien befruchtet wurden</i>	108
<b>4.5.</b>	<b>Entwicklungsvergleich in vitro gereifter Embryonen, die in vitro mit gesexnten bzw. ungesexnten Spermien befruchtet wurden</b>	<b>109</b>
4.5.1.	Beginn der Zellstadien in vitro gereifter Embryonen, die in vitro mit gesexnten bzw. ungesexnten Spermien befruchtet wurden	109
4.5.2.	Zellzykluslängen in vitro gereifter Embryonen, die in vitro mit gesexnten bzw. ungesexnten Spermien befruchtet wurden	110
4.5.3.	Beginn und Dauer der Rotationen in vitro gereifter Embryonen, die in vitro mit gesexnten bzw. ungesexnten Spermien befruchtet wurden	111
<b>4.6.</b>	<b>Ergebniszusammenfassung</b>	<b>113</b>
<b>5.</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>114</b>
<b>6.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>126</b>
<b>7.</b>	<b>SUMMARY</b>	<b>129</b>
<b>8.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>131</b>
<b>9.</b>	<b>ANHANG</b>	<b>210</b>



<b>10.</b>	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>213</b>
<b>11.</b>	<b>TABELLENVERZEICHNIS</b>	<b>214</b>
<b>12.</b>	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>219</b>