

Fabien Ectors¹, Pierre Vanderzwalmen^{2,3}, Nadine Dupuis⁴, Delphine Connan⁴ & Luc Grobet²

¹Plateforme de Transgénése Murine du GIGA, Liège, Belgique; ²Service d'Embryologie, Département de Morphologie et Pathologie, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège, Liège, Belgique; ³ZECH IVF Centers, Bregenz, Austria & CHIREC, Braine l'Alleud, Belgique; ⁴VitriCell S.A., Liège, Belgique

Introduction

La cryopréservation d'embryons est un des outils les plus efficaces, économiques et utiles au niveau éthique pour préserver indéfiniment la génétique des animaux de laboratoire.

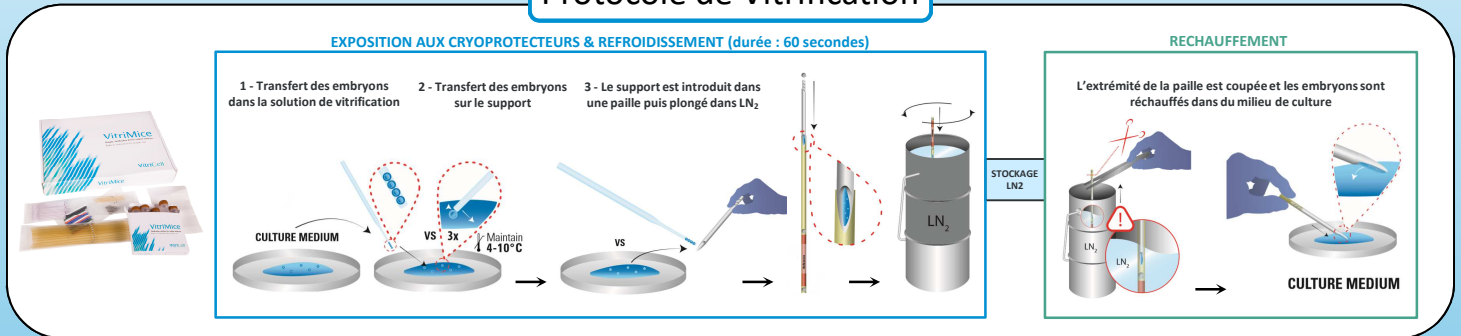
Les bénéfices liés à son utilisation sont nombreux, et incluent la réduction des coûts associés à la pérennisation de lignées, la limitation de l'apparition et de la dissémination de mutations non voulues, la facilité et la sécurité pour les transferts internationaux, et la réduction du nombre d'animaux à élever en captivité.

La vitrification a été démontrée comme étant plus efficace que la congélation lente en procréation médicalement assistée humaine, où elle constitue maintenant la méthode de référence. Il en va de même pour la cryopréservation des embryons de souris, où la vitrification préserve mieux l'intégrité de la chromatine, réduit la pénétration intracytoplasmique d'agents cryoprotecteurs potentiellement toxiques, et *in fine* permet une meilleure survie et un meilleur développement après réchauffement que la congélation lente.

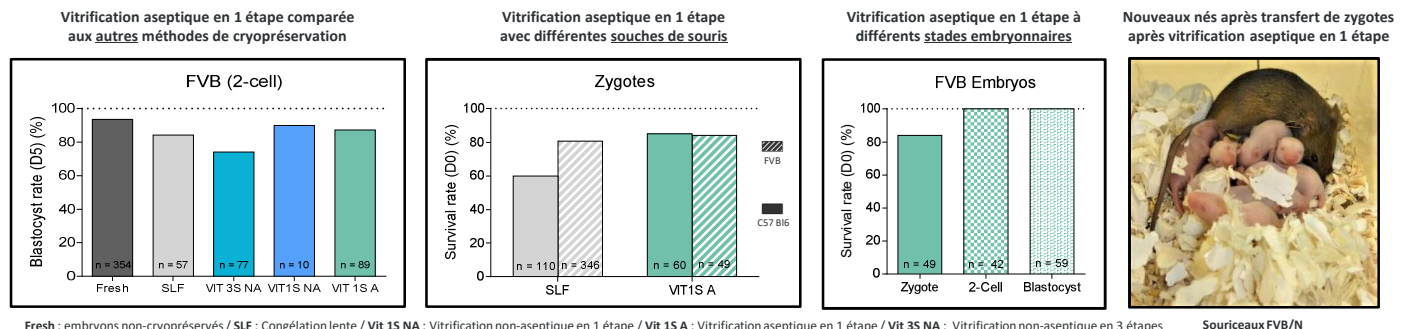
Cependant, pour être efficaces, les méthodes actuelles de vitrification nécessitent plusieurs étapes d'exposition des embryons à des solutions spécifiques avant le refroidissement, mais aussi au cours de leur réchauffement ultérieur. Cette relative complexité peut s'avérer difficile à gérer de manière optimale quand un grand nombre d'embryons doivent être traités au cours d'une même session.

Nous avons développé une technologie de vitrification aseptique en une étape (« One-Step ») afin de résoudre ce problème.

Protocole de Vitrification



Résultats



Fresh: embryons non-cryopréservés / SLF: Congélation lente / Vit 1S NA: Vitrification non-aseptique en 1 étape / Vit 1S A: Vitrification aseptique en 1 étape / Vit 3S NA: Vitrification non-aseptique en 3 étapes

Souriceaux FVB/N

La vitrification aseptique en une étape :

- ✓ Est plus efficace que la vitrification en plusieurs étapes ou que la congélation lente
- ✓ Est aussi efficace que les vitrifications non-aseptiques (en une ou plusieurs étapes)
- ✓ N'est pas influencée par la souche de souris
- ✓ Est adaptée à la cryopréservation d'embryons de souris à différents stades, depuis le zygote jusqu'au stade blastocyste
- ✓ Donne des taux de naissances comparables aux embryons frais (taux de nouveaux-nés vivants = 34,6%, 18/52)

Conclusions

Nous avons développé et breveté une technologie de vitrification aseptique d'embryons en une étape qui est aussi efficace que les meilleures méthodes de vitrification multi-étapes. De plus, nos milieux sont chimiquement définis (sans sérum ni autre composant biologique non défini), et les supports permettant la vitrification aseptique peuvent être utilisés sans perte de rendement.

Notre technologie de vitrification aseptique d'embryons en une étape de rongeurs répond ainsi aux problèmes d'ergonomie liés aux méthodes classiques de vitrification, et fournit ainsi aux scientifiques une solution efficace, biologiquement sûre et facile à utiliser pour la cryopréservation d'embryons de rongeurs.

Elle rend ainsi l'efficacité de la vitrification plus aisément applicable aux rongeurs de laboratoire, contribuant ainsi à la réduction du nombre d'animaux nécessaires à la pérennisation et à la diffusion de lignées ou de colonies utiles.