

## **Stabilität kryokonservierter Proben von Mausmutanten**

Gentechnisch veränderte Tiere sind einzigartige Modelle mit enormem wissenschaftlichem Potenzial. Die Kryokonservierung von Präimplantationsembryonen oder Spermatozoen ist ein gängiger Ansatz, um diese Linien zu sichern. Die Züchterhaltung einer Linie kann eingestellt werden, wenn eine ausreichende Anzahl von Proben kryokonserviert wurde. Um die Option der Revitalisierung einer Linie zu erhalten, ist es obligatorisch, die Qualität der kryokonservierten Proben zu kontrollieren und sichere Langzeitlagerbedingungen zu gewährleisten. Hier wurden die Revitalisierungsrate von kryokonservierten Präimplantationsembryonen, die bis zu 158 Monate im Haus gelagert wurden, von importierten (und somit versendeten) Embryonen und von Embryonen, die nach *in vitro*-Fertilisation erhalten wurden, untersucht. Die Lagerzeit hatte keinen Einfluss auf die Revitalisierungsrate, während diese bei importierten Embryonen möglicherweise aufgrund des Versands deutlich reduziert war. Die Genotypen genetisch veränderter Jungtiere, die nach dem Embryotransfer erhalten wurden, waren geringfügig kleiner als nach den Mendelschen Gesetzen erwartet.

In einem gemeinsamen Ansatz mehrerer GDK-Mitglieder, die sich mit ganz unterschiedlichen Materialien befassen, zeigten intensive Untersuchungen des Hygienezustands der kryokonservierten Proben und des verwendeten Materials niemals eine mikrobiologische Kontamination einer Probe innerhalb eines Kryoröhrchens. In den verwendeten Lagerbehältern und Transportgefäßen (Dryshipper) wurden jedoch häufig Umweltkeime gefunden. Da solche Kontaminationen nicht vollständig ausgeschlossen werden können und ein Embryotransfer möglicherweise nicht in allen Fällen zu einer sicheren hygienischen Sanierung führt, sollten Ammen, in die die Embryonen der zu revitalisierenden Linien transferiert werden, sowie der nachfolgende Wurf in einer Zwischenhaltung gehalten und ihre hygienische Qualität überprüft werden, bevor sie in die Zielhaltung eingebracht werden.

## **Stability of Cryopreserved Samples of Mutant Mice**

Genetically modified animals are unique models with enormous scientific potential. Cryopreservation of preimplantation embryos or of spermatozoa is a common approach to save those lines. The breeding of a line can be discontinued if a sufficient number of samples have been cryopreserved. To maintain the opportunity to recover a line, it is mandatory to assess the quality of the cryopreserved samples and to assure safe long-term storage conditions.

Here, we investigated the revitalization rate of cryopreserved pre-implantation embryos stored inhouse up to 158 months, of imported (and shipped) embryos, and of embryos received after *in vitro* fertilization. The storage period did not affect the revitalization rate, whereas the recovery of imported embryos was significantly reduced, possibly due to shipment conditions. The genotypes of genetically modified pups received following embryo-transfer were slightly smaller than expected by Mendelian laws.

In a common approach of several GDK-members dealing with quite different materials, intensive investigations of the hygienic state of the cryopreserved samples and the equipment used never showed microbiological contamination of a sample within a cryo-tube. However, environmental organisms were found frequently in the permanent freezers and dry shippers used. Since such contamination cannot be completely excluded and an embryo-transfer might not lead in all cases to a secure rederivation, foster mothers and revitalized pups should be housed in an intermediate facility and their health assessed before introducing them into the target facility.

Ramin M, Bürger A, Hörlein A, Kerkau D, v. Walcke-Wulffen V, Nicklas W, Schenkel J (2014) Stability of cryopreserved samples of mutant mice. *Biopreserv Biobank* 12(5), 343-350.

