

INTRODUCCIÓN

El uso de animales de experimentación en la investigación biomédica ha aumentado considerablemente debido a las nuevas herramientas metodológicas que se utilizan para generar nuevas líneas murinas modificadas genéticamente y como modelos animales de enfermedades humanas para identificar de manera precisa las células y mecanismos que intervienen en los procesos fisiológicos y el papel que juegan en ellos.

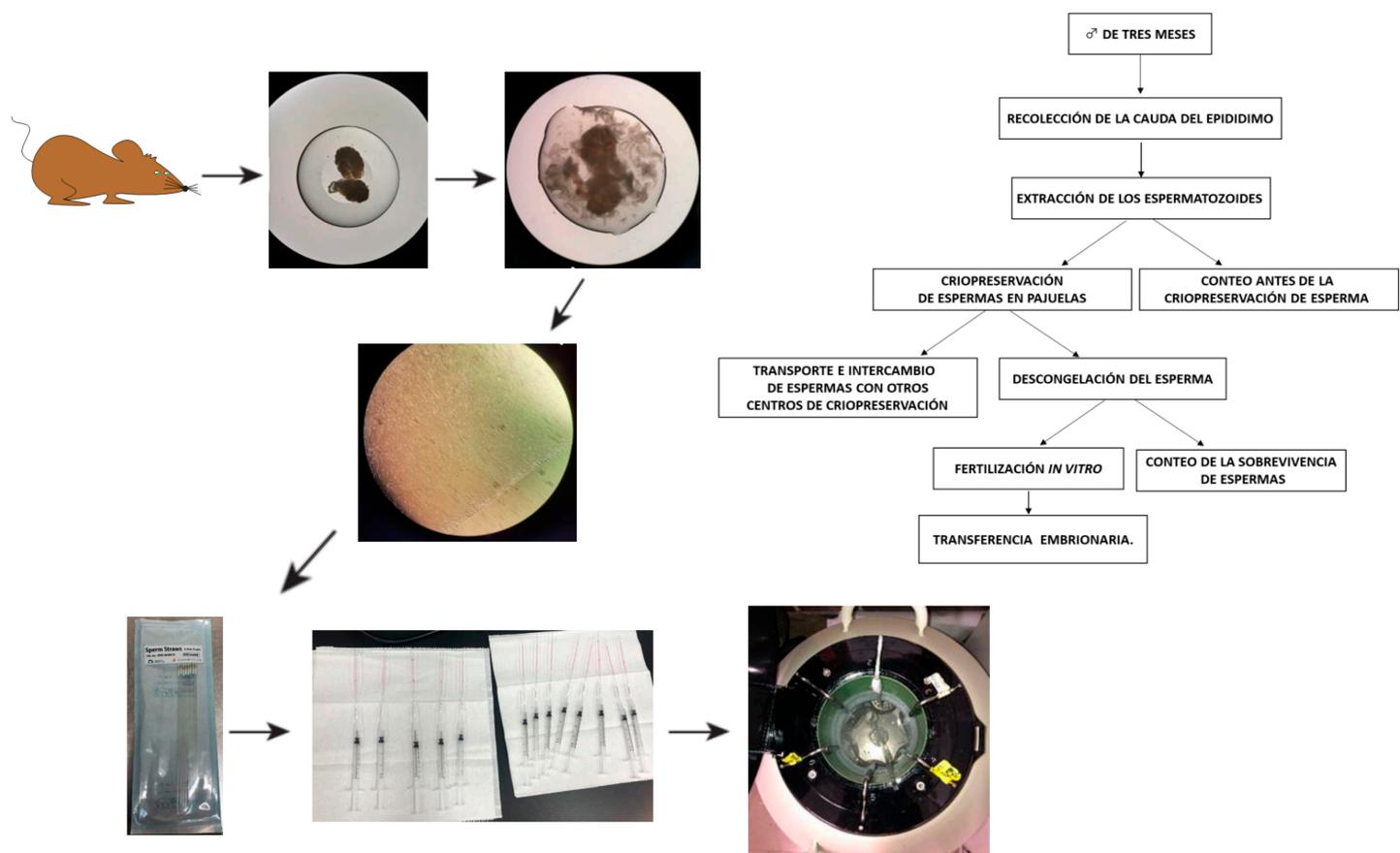
El manejo y mantenimiento de las colonias de ratones transgénicos puede generar costos elevados en los consumibles y ocupar un porcentaje importante del presupuesto de un laboratorio. Es por esta razón la importancia de la criopreservación de esperma. Este método se ha popularizado rápidamente por su éxito y alta eficiencia, además de constituir un ahorro para la investigación biomédica.

OBJETIVOS

- La criopreservación de espermatozoides de líneas transgénicas murinas.
- La generación de un banco de esperma criopreservado de líneas transgénicas murinas.
- Descongelación de espermatozoides criopreservados con una sobrevivencia de más del 70%

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Recolección de la cauda del epidídimo en ratones machos de 12 semanas.
2. Criopreservación de esperma de ratón.
3. Descongelación de esperma criopreservado.
4. Evaluación del porcentaje de sobrevivencia de los espermias criopreservados.



RESULTADOS

Cepa	Condición	Número de espermias antes de congelar	Número de espermias después de descongelar	Porcentaje de sobrevivencia	Tiempo de criopreservación
C57/BL6	Crioprotector CPA	7,140,000	3,900,000	54%	2 semanas
C57/BL6	Crioprotector CPA	4,770,000	2,700,000	56%	2 semanas
5HT3	Crioprotector CPA	6,240,000	4,243,200	68%	3 meses
5HT3	Crioprotector CPA	15,090,000	8,903,100	59%	3 meses

PORCENTAJE DE SOBREVIVENCIA DESPUES DE DESCONGELAR

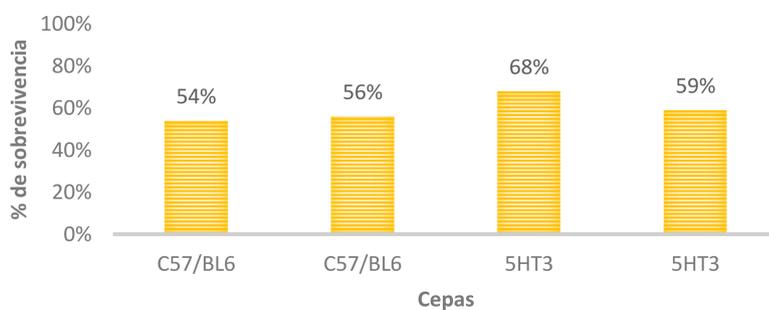


Tabla y Grafico 1. Número de espermatozoides viables antes y después de la criopreservación en pajuelas con el crioprotector CPA. Dos diferentes cepas de ratones y porcentajes de sobrevivencia de espermias criopreservados. El porcentaje de sobrevivencia de esperma criopreservado en pajuelas para la cepa C57/BL6 es de 54% y 56% y para la cepa 5HT3 de 68% y 59%.

CONCLUSIONES.

Nos encontramos estandarizando la criopreservación de esperma murino en pajuelas, tomando de referencia el número de espermatozoides viables antes y después de la criopreservación (N. Nakagata, 2000). Se obtuvieron los porcentajes de sobrevivencia de espermias criopreservados, teniendo una sobrevivencia que va de un 54% a un 68% en pajuelas.

Aunque los porcentajes son bajos aun, estamos trabajando en obtener porcentajes de sobrevivencia más altos.

BIBLIOGRAFÍA.

- Aitken, J. (2013). Sperm capacitation: a distant landscape glimpsed but unexplored. *Molecular Human Reproduction*, Vol.19, No.12 pp. 785–793.
- Center for animal resources and developmen CARD-Kumamoto.
- Fundamentos de Criopreservación, Basic points in cryopreservation, Luz Mabel Ávila-Portillo and et al., 2006.
- Manual de técnicas de ingeniería reproductiva del ratón, Naomi Nakagata; 2015.
- Manipulating the mouse embryo, R. Behringer, M. Gertszenstein, K. Vintersten; A. Nagy; Fourth edition, CSH press, 2014.
- N. Nakagata. (2000) Cryopreservation of mouse spermatozoa. *Mammalian Genome* 11, 572–576. DOI: 10.1007/s003350010109.
- Nakagata, N. (2010). Cryopreservation of Mouse Spermatozoa and In Vitro Fertilization. *Transgenic Mouse Methods and Protocols*, 57–73. doi:10.1007/978-1-60761-974-1_4
- Sperm Competition, Sperm Numbers and Sperm Quality in Muroid Rodents. Laura Gomez Montoto, Concepción Magaña, Maximiliano Tourmente, Juan Martín-Coello, Cristina Crespo, Juan José Luque-Larena, Montserrat Gomendio., Eduardo R. S. Roldan. *Plos one* 2011.

AGRADECIMIENTOS:

A la Unidad de Bioterio del IFC, UNAM. A la MVZ. Claudia Rivera Cerecedo y a el MVZ. Malagón Héctor por el apoyo y cuidado en la reproducción de las cepas murinas. A Alfredo Octaviano Martínez por su apoyo.