

pH Äquilibrationsdauer in 2 verschiedenen Embryo-Kulturschalen

Dr. Paul Gaßner, Minitüb GmbH

Die Minitüb 5-well Schale wird wie die 4-well Schalen anderer Hersteller für Verfahren der assistierten Reproduktion eingesetzt. Gebräuchlich ist sie vor allem zum Sammeln von Eizellen, für die Insemination bei konventioneller IVF sowie zur Embryokultur.

Für die normale Entwicklung des Embryos in vitro und damit für den Behandlungserfolg spielt neben der Zusammensetzung und Osmolarität des Kulturmediums auch der pH-Wert eine zentrale Rolle. Zur Vorbereitung einer Kulturschale werden ihre Vertiefungen mit Medium gefüllt, das mit hochreinem Paraffin- oder Mineralöl überschichtet wird. Die Schale wird in den Inkubator gestellt, wo das Medium während der sog. Äquilibrationszeit allmählich die Solltemperatur und einen stabilen pH-Wert erreicht. Der physiologische pH-Wert stellt sich als Gleichgewicht zwischen der CO₂-Atmosphäre des Inkubators und dem Puffersystem des Mediums ein.

Die Äquilibrationszeit bis zum Erreichen des Soll-pH hängt u. a. von den physikalischen Eigenschaften der Kulturschale ab, z.B. vom Spaltmaß zwischen Deckel und Bodenteil oder vom Durchmesser der mediengefüllten Vertiefungen und damit von der Kontaktfläche zwischen Gasatmosphäre und Kulturmedium. Eine möglichst kurze Äquilibrationszeit kann in der Praxis von Vorteil sein.

Diese Untersuchung hatte das Ziel, die Äquilibrationszeit der Minitüb 5-well Schale und einer 4-well Schale (Fremdfabrikat) zu vergleichen.

Material und Methoden

Zur berührungsfeien Dauermessung des pH-Wertes im Medium wurde ein „pH-1 micro“ pH-Meter eingesetzt (PreSens Precision Sensing GmbH, Regensburg / Deutschland). In die Vertiefungen der getesteten Kulturschalen wurden dazu pH-Sensorspots eingebracht, die eine fluorometrische pH-Messung mit einer Genauigkeit von ca. $\pm 0,03$ pH erlauben. Danach wurden die Schalen resterilisiert.

Jeweils eine Vertiefung der Kulturschalen wurde mit 700 µl HTF Medium, versetzt mit 10 % (Vol/Vol) Serum Substitute Supplement befüllt (FUJIFILM Irvine Scientific, Santa Ana / USA). Die offenen Schalen wurden ohne Ölüberschichtung des Mediums für 20 Minuten der Raumatmosphäre ausgesetzt, um den pH des Mediums in die Höhe zu treiben. Danach wurde das Medium mit 400 µl sterilem Mineralöl (Oil for Embryo Culture, FUJIFILM Irvine Scientific) überschichtet.

Die pH-Messung aus dem Medium wurde gestartet, sobald die Schalen in den Inkubator überführt waren und erfolgte in 5 Minuten-Intervallen über einen Zeitraum von bis zu 20 Stunden. Von beiden Schalentypen wurden je drei Schälchen in identischen Durchläufen getestet. Alle pH-Messungen wurden in einem 14 Liter-Inkubator (Galaxy 14 S, Eppendorf, Hamburg / Deutschland) bei 37°C und 5,3 % CO₂ durchgeführt.



Minitüb 5-well Schale

Ergebnisse

In den Minitüb 5-well Schalen stellte sich ein stabiler pH-Wert etwa 5 Stunden nach dem Ansetzen der Kulturschalen ein, wohingegen die 4-well Schalen der Fremdmarke im Durchschnitt 10 Stunden zur Äquilibration benötigten (siehe Diagramm).

Die deutlich kürzere Äquilibrationszeit der Minitüb-Schalen ist vermutlich auf den größeren Durchmesser der Vertiefungen zurückzuführen (19 anstatt 16 mm). Die Kontaktfläche zwischen Medium und CO₂-Atmosphäre des Inkubators ist bei den 5-well Schalen um 40 % größer als bei den 4-well Schalen.

Fazit

Minitüb 5-well Schalen sind nach deutlich kürzerer Vorinkubationszeit einsatzfähig als gängige 4-well Schalen von Fremdmarken. Entsprechend dürfte nach vorübergehender Entnahme und Exposition der Schale gegen Raumatmosphäre auch die pH-Erholzeit nach dem Zurückstellen in den Inkubator verkürzt sein.

