

CAPÍTULO REIVINDICATORIO MODIFICADO

1. Un método caracterizado porque comprende las etapas de:
 - obtener embriones de ungulados producidos *in vitro* (IVP); y
 - criopreservar los embriones, en donde el embrión crioconservado logra tasas de preñez de al menos 10% cuando el embrión crioconservado es implantado en ungulados receptores.
2. El método de conformidad con la Reivindicación 1, caracterizado porque la etapa de obtención de embriones producidos *in vitro* comprende las etapas de:
 - recuperar los oocitos de las hembras;
 - madurar los oocitos *in vitro*;
 - fertilizar los oocitos maduros con semen de modo de generar cigotos; y
 - desnudar y cultivar los cigotos.
3. El método de conformidad con la Reivindicación 2, caracterizado porque la etapa de maduración de los oocitos *in vitro* comprende:
 - incubar los oocitos dentro de un intervalo fisiológicamente relevante para al menos una condición seleccionada del grupo que consiste en: temperatura, presencia o cantidad de gas, humedad, pH, osmolaridad y combinaciones de ellos.
4. El método de conformidad con la Reivindicación 1, caracterizado porque la etapa de crioconservación del embrión comprende las etapas de:

incubar embriones en solución de congelación que consiste en 1,0 - 4 M de etilenglicol durante 5 - 30 minutos a una primera temperatura dentro de un intervalo de 10 °C a 38 °C;

cargar los embriones en un receptáculo, donde las burbujas de aire separan los embriones de una solución de descongelación que comprende etilenglicol en un medio diluyente isotónico;

exponer los embriones a una temperatura dentro de un intervalo de -2 a -10 °C durante un período de tiempo dentro de un intervalo de 1 min a 60 minutos;

reducir la temperatura a una tasa dentro de un intervalo de -0,2 a - 0,8 °C por minuto hasta alcanzar una segunda temperatura dentro de un intervalo de -30 a -36 °C; y

sumergir los embriones en nitrógeno líquido para almacenamiento.

5. Un dispositivo caracterizado porque comprende:

un receptáculo;

un embrión crioconservado en solución de crioconservación ubicado dentro de una primera región del receptáculo, cuya primera región está flanqueada por:

segunda y tercera región, cada una de las cuales contiene aire, cuya segunda y tercera región están flanqueadas por:

cuarta y quinta región, cada una de las cuales contiene soluciones de descongelación, cuya cuarta y quinta región están flanqueadas por:

sexta y séptima región, cada una de las cuales contiene aire, cuya sexta y

séptima región están flanqueadas por:

octava y novena región, cada una de las cuales contiene soluciones de descongelación.

6. Un método caracterizado porque comprende las etapas de:

crioconservación de una pluralidad de embriones de ungulados, en donde la pluralidad de embriones de ungulados crioconservados logran tasas de concepción de al menos 30% cuando el embrión crioconservado es implantado en ungulados receptores.

7. El método de conformidad con la Reivindicación 6, caracterizado porque la etapa de crioconservación ubica cada embrión en solución de crioconservación dentro de una primera región de un receptáculo, cuya primera región está flanqueada por:

segunda y tercera región, cada una de las cuales contiene aire, cuya segunda y tercera región están flanqueadas por:

cuarta y quinta región, cada una de las cuales contiene soluciones de descongelación, cuya cuarta y quinta región están flanqueadas por:

sexta y séptima región, cada una de las cuales contiene aire, cuya sexta y séptima región están flanqueadas por:

octava y novena región, cada una de las cuales contiene solución de descongelación.

8. Un método de congelamiento de embriones, caracterizado porque comprende:

exponer los embriones de ungulados a una solución de congelación (SC),

que consiste en 1,0 – 4 M de etilenglicol durante 10 minutos a 35 °C;

ubicar cada embrión en una solución de congelación (SC), dentro de un receptáculo dimensionado como una pajuela, de modo que el embrión en solución de congelación, rodeado por cuatro columnas de solución de descongelación (SD), está intercalado por columnas de aire entre ellas, donde la solución de descongelación comprende 0,75 M de etilenglicol;

exponer el receptáculo a condiciones de temperatura estabilizadas a una temperatura dentro de un intervalo de 0 °C a -10 °C;

cristalizar las columnas por sobre y por debajo del embrión dos minutos después de colocarlo en la congeladora;

mantener el embrión durante 1 a 60 minutos a una temperatura dentro de un intervalo de 0 °C a -10 °C;

reducir la temperatura a una tasa dentro de un intervalo de -0,2 a – 0,8 °C por minuto hasta alcanzar una segunda temperatura dentro de un intervalo de -30 a -36 °C; y

sumergir los embriones congelados en nitrógeno líquido.

9. Un método de descongelación de embriones, caracterizado porque comprende:

exponer un receptáculo que contiene un embrión crioconservado en solución de crioconservación ubicado dentro de una primera región del receptáculo, cuya primera región está flanqueada por:

segunda y tercera región, cada una de las cuales contiene aire, cuya segunda y tercera región están flanqueadas por:

cuarta y quinta región, cada una de las cuales contiene soluciones de

descongelación, cuya cuarta y quinta región están flanqueadas por:

sexta y séptima región, cada una de las cuales contiene aire, cuya sexta y séptima región están flanqueadas por:

octava y novena región, cada una de las cuales contiene soluciones de descongelación en aire de temperatura ambiente durante un primer período de tiempo, cuyo primer período de tiempo es suficiente para comenzar a descongelar los embriones congelados;

exponer el receptáculo a un ambiente de descongelación caracterizado por una temperatura de descongelación dentro de un intervalo de 10 °C a 38 °C durante un segundo período de tiempo, cuyo segundo período de tiempo es suficiente para descongelar la solución de congelación; y

mezclar la solución de descongelación, solución de congelación y embrión dentro del receptáculo.

10. El método de conformidad con la Reivindicación 1, caracterizado porque se logran las tasas de concepción de al menos 30%.