

ИНСТРУКЦИЯ ПО СБОРУ ОБРАЗЦОВ ДЛЯ НЕИНВАЗИВНОГО ПРЕИМПЛАНТАЦИОННОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТЕСТИРОВАНИЯ В ЛАБОРАТОРИИ ООО "ГЕНОМЕД"

1. Общие принципы

Неинвазивное преимплантационное тестирование (niPGT) подразумевает использование неинвазивных образцов – среды культивирования эмбрионов содержащей ДНК клеток, высвобождаемую эмбрионом в среду культивирования.

- Эмбрион должен культивироваться индивидуально не менее 24 часов до сбора среды.
- Рекомендуемый объем для культивирования - 20 мкл.
- Перед этим эмбрион должен быть максимально очищен от клеток кумулюса.
- Среда собирается из последней индивидуальной капли.
- Допускается схема группового культивирования эмбрионов до 3/4 дня культивирования.
- Допускается схема с заменой среды для культивирования эмбрионов на 3/4 день культивирования или ранее.
- Использование ИКСИ для оплодотворения является рекомендованным методом, так как уменьшает риски контаминации материала.
- Образцы среды для культивирования эмбрионов должны быть собраны незамедлительно после переноса эмбриона из среды культивирования и заморожены.

2. Подготовка к забору биоматериала.

- а) Перед процедурой ИКСИ очистите ооциты от кумулюсных клеток как можно лучше (рис 1). Допускаются физические (с использованием стрипперов), химические (растворы с гиалуронидазой) или комбинированные методы.
- б) Замените среду в день, когда это предусмотрено используемым протоколом. При замене среды оцените наличие клеток кумулюса во внеклеточном гликокаликсе окружающем эмбрион (zona pellucida). Если остаются клетки кумулюса их необходимо удалить (рис. 2). Если протокол предполагает две замены среды, то проделайте процедуру оценки наличия клеток кумулюса и их удаление при каждой смене среды.
- в) При однократной смене среды рекомендуется заменять среду для культивирования эмбриона именно на 4 день культивирования. Это способствует лучшему очищению от оставшихся клеток кумулюса. Заморозка и разморозка (криопрезервация) эмбрионов до сбора неинвазивных образцов способствует лучшему очищению от клеток кумулюса.
- д) На 4 день культивирования необходимо промыть эмбрион в трёх чистых каплях и перенести в новую индивидуальную каплю объемом **20 мкл** (для замороженных эмбрионов 10-15 мкл среды). С этого момента начинается накопление ДНК. Эту среду необходимо **не менять не менее 24 часов**.

Внимание! Свяжитесь с нами для адаптации используемого в вашей клинике протокола культивирования для сбора культуральной среды.

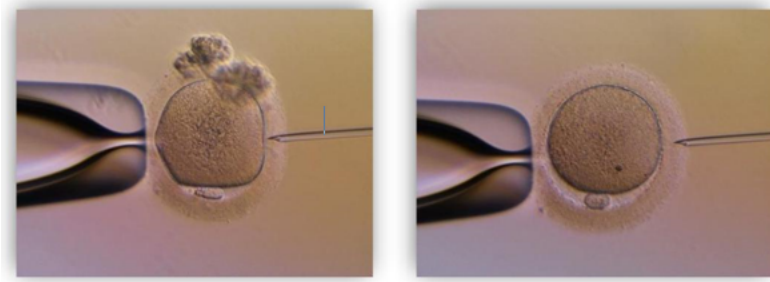


Рисунок 1 - Ооцит с остаточными кумулюсными клетками (слева), правильно очищенный ооцит без кумулюса (справа)

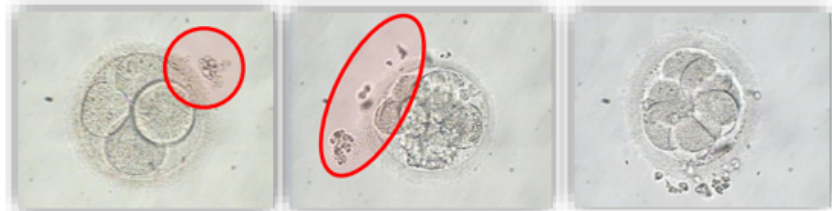


Рисунок 2 - Эмбрионы с остаточными клетками кумулюса на 3 день культивирования

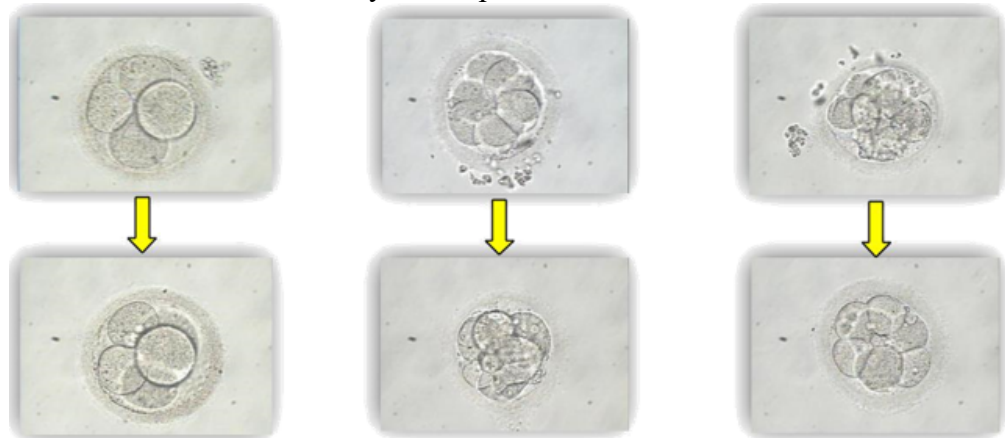


Рисунок 3 - Эмбрионы, очищенные от клеток кумулюса

3. Забор материала для анализа.

Сбор выполняется сразу после переноса эмбриона из капли среды. Сбор образцов допустимо проводить при комнатной температуре или на холодном штативе/льду.

Важно:

- После сбора образцы должны быть незамедлительно заморожены.
 - Менять наконечник после каждого образца.
 - Перед началом сбора образцов держать пробирки закрытыми. Не открывать несколько пробирок одновременно при сборе образцов.
 - Используйте маску, шапочку и стерильные перчатки.
- a) Подготовьте по 4 пробирки для ПЦР, полученные от лаборатории «Геномед» объемом 0,2 мл для каждого образца.
 - b) Промаркируйте пробирки в соответствии с требованиями маркировки ниже. По возможности поместите пробирки на +2...+8°C или сразу на -20°C (не выше).

- c) Новым чистым наконечником пипетируйте каплю 3 раза. Далее перенесите 5 мкл образца на дно первой пробирки, 5 мкл образца на дно второй пробирки, 10 мкл образца на дно третьей пробирки, оставшийся объем среды поместить на дно четвертой пробирки. Осадите содержимое быстрым центрифугированием (**не вортексировать**).
- d) Поместить пробирки на -20°C. Повторите для сбора всех образцов. После сбора все пробирки с образцами должны быть замороженными до ожидания курьера лаборатории.

4. Правила маркировки.

- a) Маркировка должна наноситься на крышку пробирки (№ образца) и сбоку пробирки (ФИО и № образца). Все 4 повтора подписать аналогично. Для пробирки, где содержится 5 мкл среды дополнительно использовать префикс NI перед номером образца на крышке.
- b) Нумерация эмбрионов должна быть сквозной для каждой пациентки.
- c) Маркировка для каждого образца должна указываться в направлении с описанием образцов, которое передают в лабораторию Геномед вместе с каждой партией образцов.

5. Условия хранения.

При -20°C перед отправкой или при -80 °C для более длительного хранения.