

ИНСТРУКЦИЯ

ПО СБОРУ ОБРАЗЦОВ ДЛЯ НЕИНВАЗИВНОГО
ПРЕИМПЛАНТАЦИОННОГО ГЕНЕТИЧЕСКОГО
ТЕСТИРОВАНИЯ В ЛАБОРАТОРИИ ООО «ГЕНОМЕД»

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

Для тестирования подходит любая среда для культивирования (производителей Vitrolife, Origio, Sage, Global и др.).

Допускается схема группового культивирования эмбрионов до 3 или 4 дня, после чего каждый эмбрион должен культивироваться отдельно вплоть до сбора образцов для исследования.

Допускается схема культивирования эмбрионов с заменой культуральной среды на 3, 4 день или ранее.

Использование ИКСИ для оплодотворения является рекомендованным методом (не обязательным), так как уменьшает риски контаминации материала.



ВАЖНО

Эмбрион должен культивироваться в среде не менее 24 часов перед ее забором для исследования.

Необходимо максимально очистить ооцит/эмбрион от клеток кумулюса.

Образцы среды для культивирования эмбрионов должны быть собраны незамедлительно после переноса эмбриона из среды культивирования и заморожены при -20°C .

ОЧИСТКА ОТ КЛЕТОК КУМУЛЮСА, КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ЭМБРИОНОВ, СМЕНА СРЕДЫ

1

Перед процедурой ИКСИ необходимо полностью очистить ооциты от кумулюсных клеток (рис 1). Допускаются физические (с использованием стрипперов), химические (растворы с гиалуронидазой) или комбинированные методы.

2

Замена среды культивирования эмбрионов:

■ **ВАЖНО!** При замене среды оцените наличие клеток кумулюса на zona pellucida. Очистите эмбрион полностью от клеток кумулюса, если они остались.

Отмойте эмбрионы в промывочных каплях и переложите в чистые капли среды для культивирования (рис. 2, 3).

■ При однократной смене среды, рекомендуется заменять культуральную среду, именно на 4 день культивирования эмбрионов

■ Если протокол культивирования эмбрионов предполагает две замены среды, то процедуры описанные в п.2.1 (см. выше) необходимо повторить при каждой замене среды.

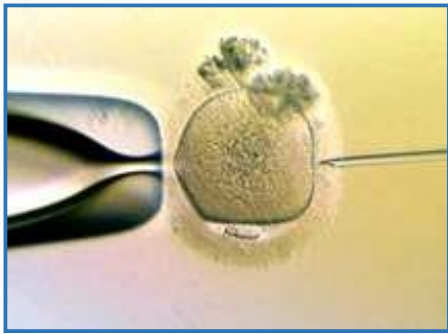
■ Если niPGT проводится на размороженных эмбрионах, то необходимо помнить, что эмбрион должен культивироваться в среде не менее 24 часов перед ее забором для исследования.

3

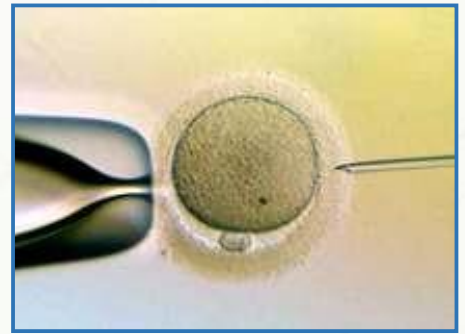
Когда бластоциста разовьется до стадии 4 (обычно 5, 6 день культивирования), соберите культуральную жидкость. Допускается забор среды на ранних стадиях развития бластоцисты, если она культивировалась в среде не менее 24 ч. В направлении укажите, пожалуйста стадию и качество бластоцисты.

Пожалуйста, свяжитесь с нами для адаптации используемого в вашей клинике протокола культивирования для сбора культуральной среды

Рисунок 1:



Ооцит с остаточными кумюльными клетками (слева),



Правильно очищенный ооцит без кумюлюса (справа)

Рисунок 2:

Эмбрионы с остаточными клетками кумюлюса на 3 день культивирования

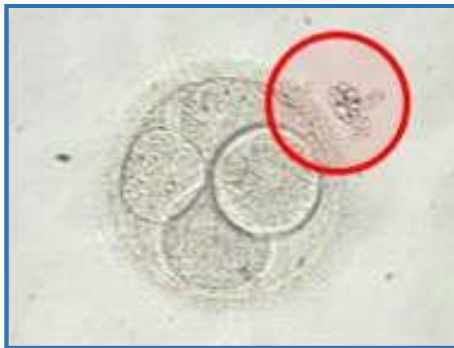


Рисунок 3:

Эмбрионы, очищенные от клеток кумюлюса.



СБОР КУЛЬТУРАЛЬНОЙ СРЕДЫ

Рекомендуется собирать весь объем среды в стерильную 0,2 мл пробирку для ПЦР, при этом минимальный объем 10 мкл, оптимальный 20-30 мкл, не более 50 мкл. Сбор образцов допустимо проводить при комнатной температуре или на холодном штативе/льду.

ВАЖНО

- После сбора образцы должны быть незамедлительно заморожены при -20°C .
- Необходимо использовать новый чистый наконечник для сбора среды каждого образца.
- Перед началом сбора образцов держать пробирки закрытыми.
Не открывать несколько пробирок одновременно при сборе образцов.

- 1 Подготовить пробирки объемом 0,2 мл для сбора образцов, полученные от лаборатории «Геномед».
- 2 Пробирки для сбора неинвазивных образцов должны быть пустые.
- 3 Промаркировать пробирку/пробирки в соответствии с требованиями маркировки ниже.
- 4 По возможности поместить пробирки на $+4^{\circ}\text{C}$.
- 5 Новым чистым наконечником перенести весь объем среды на дно пробирки.
- 6 Поместить пробирку на -20°C .
- 7 Повторить пункты 1-5 для сбора всех образцов.
- 8 После сбора все пробирки с образцами должны быть замороженными до ожидания курьера лаборатории.

ПРАВИЛА МАРКИРОВКИ

Общие требования:

- 1 Маркировка должна наноситься на крышку пробирки и сбоку пробирки.
- 2 Для каждого типа образца указывается свой префикс - NI (неинвазивный), T (трофэктодерма).
- 3 Нумерация пробирок должна быть сквозной внутри каждой партии.
- 4 Если одновременно со сбором среды делается биопсия трофэктодермы нумерация эмбрионов для неинвазивных образцов должна совпадать для неинвазивного образца и образца трофэктодермы. Например: если от цельного эмбриона взят биоптат, то он маркируется как T-12,
- 5 Если от этого же эмбриона взят образец среды культивирования, то он маркируется как NI-12;
- 6 Если неинвазивный образец берется от эмбриона, который в дальнейшем не биопсируется/ не передается в лабораторию Геномед, нумерация эмбриона для него должна быть сквозной с остальными эмбрионами.
- 7 Маркировка для каждого образца должна указываться в направлении с описанием образцов, которую передают в лабораторию Геномед вместе с каждой партией образцов.
- 8 Вместе с партией образцов в лабораторию Геномед передаются направления, содержащее информацию об образцах, сканы направлений отправляются на почту: rs@genomed.ru