

Инструкция для эмбриолога по биопсии для ПГД методом ПЦР и WGA

1. Для биопсии на стадии cleavage (3-дневные эмбрионы) следует брать из эмбриона одну **клетку с хорошо визуализирующимся ядром в минимальном объеме среды**.
2. При биопсии трофэктодермы бластоцист (5-дневные эмбрионы) при лизисе клеток трофэктодермы обязательна смена биопсийной и холдинговой игловок перед биопсией следующей бластоцисты для исключения контаминации ДНК из разрушенных клеток.
3. Если во время биопсии замечены какие-то проблемы, в эмбриорепорте следует сделать пометку (треснула или упала пробирка, в поле зрения помимо эмбриона визуализируются посторонние включения или сперматозоиды и т.п.)
4. Биопсия производится с использованием **пробирок с лизирующим буфером или буфером для WGA**, предоставленных лабораторией ПГД для конкретного кейса (пациента). Лизирующий буфер для ПЦР и буфер для WGA - **неравноценны**. Использование буфера и пробирок из других источников недопустимо.
5. Пробирки с буфером для биопсии можно брать только **в чистых перчатках** (ими нельзя прикасаться к предметам за пределами чистой зоны, при необходимости менять) и ставить только в специальный чистый штатив (предоставляется вместе с пробирками). Штатив всегда должен находиться в чистой зоне (ламинар) и брать его также следует только в перчатках. Для транспортировки штатив упаковывается в чистый (новый, неиспользованный) пластиковый пакет.
6. Для переноса клеток, контролей в пробирки нужно использовать одноразовые стерильные капилляры с обязательной их сменой перед каждым новым переносом в новую пробирку. При использовании одного и того же капилляра происходит кроссконтаминация проб и контролей ДНК разных эмбрионов, что приведет к ошибочному результату из лаборатории или его отсутствию.
7. Для каждого эмбриона нужно предоставить **контроль** – пробу (1-2 микролитра) среды из последней (обычно третьей) промывочной капли в ряду промывочных капель. Для контроля нужно брать такие же пробирки с буфером, что и для биопсированных клеток.
8. Маркировать пробирки необходимо следующим образом:
В и номер эмбриона из эмбриопротокола – для биопсийного материала (от «blastomere»),
С и номер эмбриона из эмбриопротокола – для контроля на этот эмбрион. Например, для эмбриона номер 8 пробирок должно быть две, В8 с бластомером и С8 с контролем.
При биопсии бластоцист используется сокращение **Т** (от «trophectoderm»), при биопсии полярных телец – **РВ N-1, РВ N-2**, где **N** – номер эмбриона из эмбриопротокола, а **1 и 2** – первое и второе полярное тельце соответственно.
9. Две из неоткрытых пробирок нужно пометить **NC** – negative control (контроль на контаминацию лизирующего буфера).
10. После биопсии пробирки нужно отцентрифугировать в чистой центрифуге и заморозить в штативе.
11. Крышку штатива промаркировать: ФИО эмбриолога, ФИО пациента, дата, тип биопсийного материала, показание к ПГД (например: HLA + анемия Швахмана-Даймонда)
12. Вместе с пробирками эмбриолог должен отправить в лабораторию ПГД (или отдать врачам) две копии заполненного бланка **эмбриорепорта** с указанием ФИО и даты рождения пациента, типа пробиопсированных клеток, оценки качества эмбрионов. Нужно пометить, сколько клеток взято из каждого эмбриона и были ли в них видны ядра.
13. Одна копия эмбриорепорта прилагается к штативу с пробирками, вторая пересылается в ПГД лабораторию.
14. Для биопсии трофэктодермы рекомендуются эмбрионы стадии развития, начиная с 3ВВ (Эмбрионы grade C - допускается биопсия по согласованию с пациенткой, с разъяснением, что шансов пережить биопсию и прижиться у этого эмбриона практически нет, биопсия может быть проведена для выяснения причин плохого развития, а не для переноса).
15. Биопсию бластомера рекомендуется проводить только от эмбрионов, состоящих из не менее чем из 6-ти клеток.