



Trophektoderm-Biopsie mit OCTAX Laser Shot™

1. Schritt:

Zur Vorbereitung einer Trophektoderm-Biopsie wird bereits im 4- bis 8-Zellstadium oder im frühen Blastozystenstadium die Zona pellucida des Embryos mit zwei Schüssen des OCTAX Laser Shot™ geöffnet, ähnlich wie für Laser-assistiertes "Hatching". Die 20-30µm große Öffnung gegenüber des Embryoblasten ermöglicht den späteren Austritt von einigen Trophektoderm-Zellen.

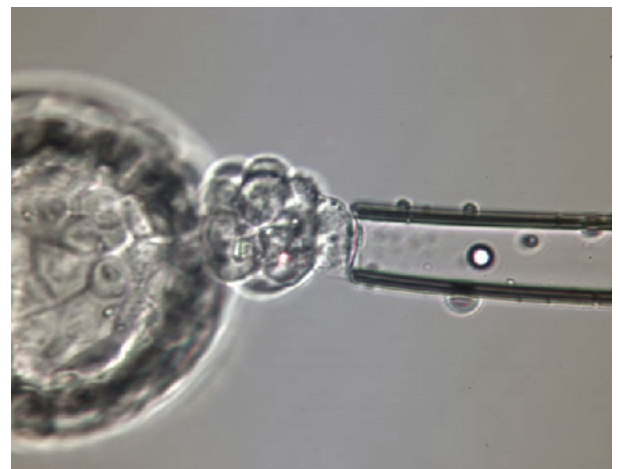
Da sich die Embryonen unterschiedlich schnell entwickeln können, sollte der optimale Zeitpunkt für die Biopsie für jede Blastozyste individuell bestimmt werden.



2. Schritt:

Nach mindestens weiteren 18 – 24h Kultur (bis Tag 5 beim humanen Embryo) sind Blastozysten mit einer Trophektoderm-Hernie zu beobachten. Eine Blastozyste wird mittels der Haltepipette so fixiert, dass die ausgetretenen Trophektoderm-Zellen für die Durchführung der Biopsie in 3-Uhr-Position liegen. Das Verhältnis von ausgetretenem zu innenliegendem Trophektoderm sollte idealerweise ca. 1:10 bis maximal 1:5 betragen.

Das Trophektoderm trägt nicht zur Bildung des Fötus bei. Die Entfernung weniger Zellen führt zu keiner Beeinträchtigung der weiteren Entwicklung von Embryo oder Fötus.



3. Schritt:

Von den herausgetretenen Trophektoderm-Zellen werden ca. 2-9 mit einer Biopsiekapillare (Ø ca. 30 µm) angesaugt, so dass in der Folge Zug auf die verbindenden Zellen ausgeübt werden kann. Dazu wird die Biopsiekapillare vorsichtig von der Blastozyste wegbewegt, so dass die Zellverbindungen gedehnt und gut sichtbar werden. Möglichst dünne Verbindungen sollten für Laserschüsse ausgewählt werden.

Der OCTAX Target Pointer™ (roter LED-Punkt) zeigt dabei auch im Okular sichtbar das Laserziel an.





Trophektoderm Biopsie mit OCTAX Laser Shot™

4. Schritt:

Unter Zug zwischen Halte- und Biopsiekapillare werden Trophektodermzellen durch einen ersten Laserpuls mit OCTAX Laser Shot™ voneinander getrennt. Die Pulsdauer, die für das "Schneiden" der Zellverbindungen eingestellt werden sollte, ist ca. dreimal so lang wie die für das Öffnen der Zona in Schritt 1.

Auf dem Bild sind die vier LED-Punkte zu sehen, mit denen die Zielregion nach Auslösen des Lasers vom OCTAX Target Pointer™ angezeigt wird.



5. Schritt:

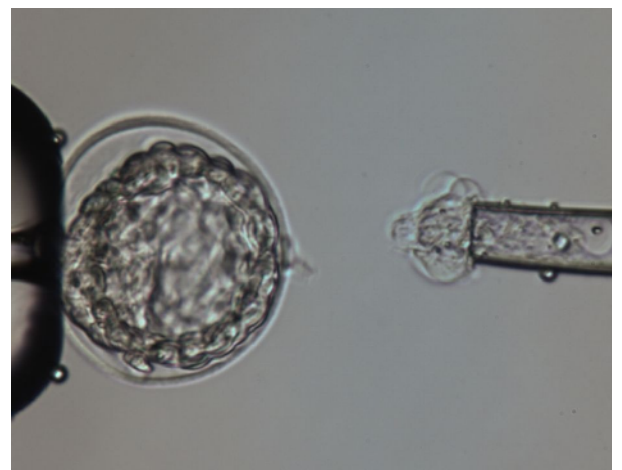
Die Biopsie wird mit der Kapillare von der Blastozyste weg bewegt, wobei noch bestehende Zellverbindungen durch weitere Laserpulse mit OCTAX Laser Shot™ getrennt werden. Dabei ist wichtig, den Zug aufrecht zu halten, sowie jeweils auf eine neue Region zu zielen. Es werden ca. 3-5 Pulse an wechselnden Stellen benötigt, um die Trophektoderm-Biopsie abzutrennen.



6. Schritt:

Die Trophektoderm Biopsie ist beendet. Zur Re-Expansion wird die kollabierende Blastozyste in Einzelkultur in einen Tropfen Kulturmedium zurückgesetzt.

Die Zellen aus der Trophektoderm-Biopsie werden für die anschließende genetische Analyse wie z. B. FISH oder Vergleichende Genomanalyse (Comparative Genomic Hybridisation, CGH) verwendet.



Die hier gezeigten Bilder stammen aus einem Videofilm, der direkt am Mikroskop mit der Videofunktion der OCTAX EyeWare™ MX aufgezeichnet worden war.