

ODBĚR, UCHOVÁVÁNÍ A TRANSPORT BIOLOGICKÝCH VZORKŮ

určených k izolaci DNA a k dlouhodobé archivaci

Standard kvality nutný pro analýzy na
„Illumina BovineChip-u“ – GENOMICKÁ SELEKCE

I. **KREV** (aktualizovaná verze)

1. **Plná nesrážlivá krev** se odebírá do jednorázové, plastové, odběrové zkumavky s antikoagulačním roztokem

KREV NESMÍ BÝT VYSRÁŽENÁ (celkově ani částečně) !!!

Vhodné antikoagulační roztoky:

citrát sodný (Trisodium citrate), K3EDTA, K2EDTA, Na2EDTA

Nevhodné antikoagulační roztoky:

Heparin, Lithium-Heparin

Pozn.:

Odběrové zkumavky si lze bezplatně vyžádat v Laboratoři imunogenetiky ČMSCH a.s. (telefonicky, e-mailem, poštou - kontakty viz. níže.), nebo lze použít odběrových zkumavek určených k běžným odběrům nesrážlivé krve pro veterinární praxi.

- Lze využít odběrový systém VACUTAINER s vhodným antikoagulačním roztokem.
- **Zcela nevhodný je odběr do tzv. „hemosky“!!!**

2. **Množství krve nutné k analýzám:**

- cca 5ml (včetně objemu antikoagulačního roztoku).

POKUD ZVÍŘE POCHÁZÍ Z DVOJČAT, NELZE KREVNÍ VZOREK POUŽÍT Z DŮVODŮ CHIMERIZMU!!!!

JE NUTNÉ DODAT SPERMA, NEBO VZOREK TKÁNĚ (UŠNÍ CHRUPAVKY).

3. **Technika odběru**

- Každý vzorek krve je nutné odebírat suchou, čistou, sterilní, injekční jehlou tak, aby **nedošlo k hemolýze a ke kontaminaci vzorků**
- Po odběru je nutné krev **důkladně promíchat s antikoagulačním roztokem**, abychom zabránili vysrážení krve.

4. **Krátkodobé uchovávání a transport vzorků**

- Zkumavky po odběru lze před dopravením do laboratoře krátkodobě uchovat **v lednici při 4-8°C**, nejdéle po dobu **3 dnů**.
 - V případě **přepravy zásilkou poštou**, zabalte zkumavky před odesláním do protinázové „bublinkové obálky“, což chrání vzorky před náhlými teplotními výkyvy a mechanickým poškozením během přepravy.
- Vyvarujte se zasílání vzorků ve čtvrtek a pátek**, může dojít ke zdržení zásilkou přes neděli a znehodnocení vzorků.

**VYVARUJTE SE ZAMRAZOVÁNÍ
ODEBRANÝCH VZORKŮ KRVE!**

**IZOLACE DNA ZE ZMRAZENÝCH KREVNÍCH VZORKŮ JE OBTÍŽNÁ,
V NĚKTERÝCH PŘÍPADECH NEMOŽNÁ**

**DNA V KONCENTRACI POTŘEBNÉ K ANALÝZE NA BOVINECHIP-u
NENÍ MOŽNÉ ZÍSKAT Z KREVNÍ SRAŽENINY A KREVNÍ SKVRNY!!!**

II. SPERMA

1. Množství spermatu nutné k analýzám:

- minimálně **2 inseminační dávky (pejety)**, každá o objemu cca 200 μ l (jedna dávka bude využita k izolaci DNA, druhá k archivaci)

2. Uchovávání a transport inseminačních dávek

DÁVKY SPERMATU URČENÉ K IZOLACI DNA NEMUSÍ BÝT UCHOVÁVÁNY V HLUBOCE ZAMRAŽENÉM STAVU!

- Inseminační dávky (pejety) lze před dopravením do laboratoře uchovat:
 - a) **v ledničce (4-8°C)**, nejdéle po dobu **3 dnů**.
 - b) **v běžném mrazícím boxu (cca -16°C)** bez opětovného rozmražení a zmražení, po dobu **cca 1 měsíce**.
- V případě **přepravy zásilky poštou**, zabalte pejety před odesláním do protinárazové „bublínkové obálky“, což chrání vzorky před náhlými teplotními výkyvy a mechanickým poškozením během přepravy.
Vyvarujte se zasílání vzorků ve čtvrtek a pátek, může dojít ke zdržení zásilky přes neděli a znehodnocení vzorků.

DNA V KONCENTRACI POTŘEBNÉ K ANALÝZE NA BOVINECHIP-u NENÍ MOŽNÉ ZÍSKAT Z „PRÁZDNÉ“ PEJETY JIŽ POUŽITÉ K INSEMINACI!!!

III. TKÁNĚ

1. Tkáně VHODNÉ k izolaci DNA:

CHRUPAVKA UCHA

- u živých zvířat při aplikaci ušní známky
- a) chrupavčitou tkáň je nutné důkladně očistit
- b) nechat na vzduchu „zaschnout“
- c) vložit do SUCHÉ zkumavky,
(je možné použít také čistý mikrotenový sáček, nebo dopisní obálku)
- d) odeslat do laboratoře

2. Množství tkáně:

- 2 kousky tkáně o rozměru cca 1 x 1 cm
(jedna dávka bude využita k izolaci DNA, druhá k archivaci)

3. Uchování a transport tkání

- Tkáně lze před dopravením do laboratoře uchovat:
 - a) **v ledničce (4-8°C)**, nejdéle po dobu **3 dnů**.
 - b) **Prosíme, tkáň před izolací nezmrazujte!!!**
- V případě **přepravy zásilky poštou**, zabalte zkumavky (resp. sáčky) před odesláním do protinázorové „bublínkové obálky“, což chrání vzorky před náhlými teplotními výkyvy a mechanickým poškozením během přepravy.
Vyvarujte se zaslání vzorků ve čtvrtek a pátek, může dojít ke zdržení zásilky přes neděli a znehodnocení vzorků.

4. Tkáně NEVHODNÉ k izolaci DNA:

BUKÁLNÍ SLIZNICE, SLINY
MĚKKÉ TKÁNĚ A TĚLNÍ TEKUTINY
MATERIÁL Z KADÁVERŮ

DŮLEŽITÁ UPOZORNĚNÍ:

1. Všechny vzorkovnice s biologickými vzorky (zkumavky, sáčky, pejetý...) musí být pečlivě a nezaměnitelně označeny tak, aby bylo možné vzorky jednoznačně identifikovat a přiřadit k průvodní dokumentaci.
2. Přesné identifikační údaje (ušní číslo zvířete, kodex, st.registr, jméno...) jsou uváděny v průvodní dokumentaci, který je nedílnou součástí zásilky.
3. K identifikaci vzorků v zásilce lze použít běžného „Průvodního tiskopisu skotu“, používaného Laboratoří imunogenetiky ČMSCH a.s. k objednávce rutinních DNA testů.
4. Pokud je vzorek určen k izolaci DNA za účelem genomické selekce, je nutné tuto skutečnost výrazně (nejlépe červeně) uvést v průvodním tiskopisu!!!
5. Při zasílání většího počtu vzorků lze uvést identifikační údaje o vzorcích ve formě přehledného seznamu.

Prosíme o zasílání identifikačních údajů o zvířatech v 15 místném mezinárodním kódu v elektronické formě (EXCEL nebo Word) E- mailem.

KONTAKTY:

pro zasílání odběrových zkumavek a další informace:

LABORATOŘ IMUNOGENETIKY, ČMSCH a.s.
252 09 HRADIŠTKO

kontaktní osoba:

Ing. Daniela SCHRÖFFELOVÁ, CSc.

dschroffel@cmsch.cz

+420 257 896 271