

Behandlung und Versand von Probenmaterial für genetische Analysen

A. Allgemeine Hinweise

Es gibt zahlreiche Möglichkeiten, Gewebematerial für nachfolgende DNA-Analysen aufzubewahren. Zu beachten ist bei allen unten dargestellten Methoden, dass die Probenahme und -lagerung für eine erfolgreiche genetische Analyse von entscheidender Bedeutung ist. Sie sollte daher stets mit höchster Sorgfalt erfolgen. Ein verfälschtes Analyseergebnis durch Kontamination mit Fremd-DNA ist häufig nicht auf Fehler bei der Laboranalyse, sondern auf unzureichende Vorsichtsmaßnahmen bei der Probenentnahme zurückzuführen. Daher sollten folgende drei Grundregeln immer beachtet werden:

1. Bei allen Probenahme-Schritten werden Einweghandschuhe⁶ getragen. Dies dient auch dem Schutz vor Krankheitserregern, die insbesondere durch Kotproben von Wildtieren übertragen werden können.
2. Nach jeder Probenentnahme müssen alle verwendeten Materialien, die in Kontakt mit dem Material gekommen sein könnten, ausgetauscht bzw. gründlich gereinigt werden. Die Verwendung von Einwegpinzetten⁹, -skalpellen⁸, etc. ist stets zu bevorzugen. Ist dies nicht möglich, müssen Pinzetten und andere Geräte gründlich mit Wasser UND Ethanol gereinigt und zusätzlich (z. B. mit einem Gasbrenner) abgeflammt werden.
3. Proben sollten möglichst schnell in den unten beschriebenen Zustand überführt werden (getrocknet, tiefgefroren, in Ethanol konserviert). Niemals sollte Probenmaterial in unbehandeltem Zustand verschickt werden.

Wir empfehlen, die auf der Rückseite angegebenen Empfehlungen zur Probenkonservierung genau zu beachten. Nach Rücksprache können wir Ihnen auch Probenpakete zusammenstellen und zusenden.

Bitte kontaktieren Sie uns per Email oder Telefon, bevor Sie uns eine Probe schicken. Wir senden Ihnen dann ein elektronisches Probeneingangsformular zu, welches Sie uns ausgefüllt zurückschicken. Wir können leider keine Proben ohne Vorhandensein eines ausgefüllten Eingangsformulars bearbeiten.

Kontaktdaten:

Telefon Wildtiergenetik: 06051-61954-3138

Email Wildtiergenetik: wildtiergenetik@senckenberg.de

Versandadresse für Proben:

**Probenannahme Wildtiergenetik
Senckenberg Außenstelle Gelnhausen
Clamecystrasse 12, 63571 Gelnhausen**

Alternativ können Proben auch nach Görlitz geschickt werden. Dies ergibt insbesondere dann Sinn, wenn (nach Rücksprache) Proben morphologisch vorsortiert oder Nahrungsanalysen vorgenommen werden sollen.

Für nähere Informationen hierzu wenden Sie sich bitte an:

**Prof. Dr. Hermann Ansorge
Senckenberg Museum für Naturkunde Görlitz
Am Museum 1, 02826 Görlitz
Telefon: 03581-47605400
email: hansorge@senckenberg.de**

Bestellinformation Verbrauchsmaterial für Probenentnahme

- ¹ Medishop, Mehrzweck-Becher 70 ml gelb, SAR759922721, 100Stck 58,12 €
- ² Carl Roth, FTA[®]-Karten, CL93.1, 25Stck. 103 €
- ³ Carl Roth, Rotilabo[®]-Probenbeutel, P279.1, 500Stck, 16,95 €
- ⁴ Carl Roth, Trockenmittelbeutel Silica Gel Orange, N077.2, 75Stck 23,80 €
- ⁵ Carl Roth, FTA[®]-Karten mit Farbindikator, CL94.1, 25Stck. 130 €
- ⁶ Carl Roth, Rotiprotect-Latex puderfrei, L950.1, 100Stck. 9,95 €
- ⁷ Carl Roth, Rotilabo[®]-Rundfilter, AP80.1, 100Stck. 9,20 €
- ⁸ Carl Roth, Einmal-Skalpelle Cutfix[®], X006.1, 10Stck. 4,90 €
- ⁹ Carl Roth, Rotilabo[®]-Einmal-Pinzetten steril, KL05.1, 100 Stck.26,00 €
- ¹⁰ Carl Roth, Ethanol 96 % (reinst), P075.3, 1L 55,25 €
- ¹¹ Carl Roth, Wattestäbchen aus Holz, steril, EH12.1,100 Stck. 8,95 €.

www.medishop.de, www.carl-roth.de

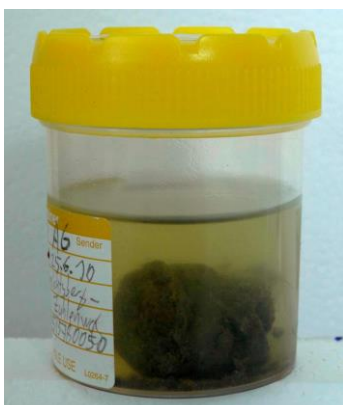


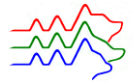
Abb. 1: Probengefäß¹ mit Lösungsprobe in 96% Ethanol¹⁰



Abb. 2: Blutprobe auf einer FTA-Karte²



Abb. 3: Ziplock-Beutel³ zur Aufbewahrung von Haarproben mit Filterpapier⁷, Trocknungsmittel⁴ und Probenbeschriftung.



B. Hinweise zur Behandlung unterschiedlicher Probenarten für genetische Analysen

Gewebe wird in kleinen Stücken (etwa 2-5 g) in ein mit etwa 40 ml 96% Ethanol¹⁰ gefülltes Plastikgefäß¹ gegeben und bei Raumtemperatur oder im Kühlschrank gelagert. Bei längeren Lagerzeiten (mehrere Monate- Jahre) empfiehlt sich die Lagerung in der Tiefkühltruhe. Achtung: größere Mengen an Probengefäßen dürfen nur in explosionsgeschützten Kühl-/Gefrierschränken gelagert werden, daher empfiehlt sich eine Lagerung bei Senckenberg. Sind keine geeigneten Probengefäße vorhanden, kann das Gewebe notfalls auch in anderen Alkohol-gefüllten (möglichst hochprozentig!) Gefäßen gelagert oder (besser) tiefgefroren werden. Alternativ können auch Gewebeabstriche mittels FTA-Karten² erfolgen, da sie einfach zu verschicken sind. Hierzu wird ein Stück Gewebe auf eine Filterpapierkarte gequetscht und anschließend getrocknet. Die Proben können dann in einem Ziplock-Beutel³ mit Trocknungsmittel⁴ mit einem einfachen Briefkuvert verschickt werden. Ist nichts zur Hand, empfiehlt sich die Trocknung kleiner Gewebestücke in der Sonne.

Blut wird am einfachsten konserviert und verschickt, indem man wenige Tropfen auf das Feld einer FTA-Karte² träufelt und trocknen lässt (Abb. 2). Das Papier wird dann in einen Ziplock-Beutel³ mit Trocknungsmittel⁴ gegeben und bei Raumtemperatur gelagert. Die Proben können dann einfach in einem Briefkuvert verschickt werden. Sind keine FTA-Karten² zur Hand, können Blutproben im Freiland auch in handelsüblichen EDTA-Röhrchen (Gerinnungshemmer) gesammelt werden, wie es die bei Veterinären übliche Praxis ist. Die Proben müssen dann allerdings sofort und möglichst kühl verschickt werden. Noch besser ist es, die Proben gleich wegzufrieren und auch im gefrorenen Zustand zu versenden. Alternativ dazu kann Blut mit 3 Volumenanteilen reinem (mind. 96%) Ethanol¹⁰ versetzt und bei Raumtemperatur gelagert und verschickt werden. Ist nichts zur Hand, kann Blut mit einem Taschentuch o. Papierstück aufgenommen und getrocknet werden.

Losungsproben werden in ein mit 40 ml 96% Ethanol gefülltes Plastikgefäß¹ gegeben und bei Raumtemperatur oder im Kühlschrank gelagert (Abb. 1). Bei längeren Lagerzeiten (mehrere Monate bis Jahre) empfiehlt sich die Lagerung bei -20°C. Es muss darauf geachtet werden, dass eine Gesamtfüllmenge von 50ml nicht überschritten wird, so dass ein Endverhältnis von etwa 5 Teilen Ethanol zu 1 Teil Losung gegeben ist. Idealerweise benutzt man einen sterilen Gegenstand (Skalpell, Pinzette, gesäuberte, abgeflamte Klinge eines Taschenmessers; auch ein zurechtgeschnittenes Holzstäbchen ist geeignet; so verhindert man eine Kreuzkontamination über eine unsaubere Klinge, wenn keine geeigneten Reinigungsmöglichkeiten vorhanden sind). Bei größeren Kothaufen sollte ein Teil vom Rand der Losung („Anfang“ oder „Ende“) abgetrennt und in das Ethanol-gefüllte Probengefäß gegeben werden. Häufig ist an der Oberfläche der Losung eine glänzende Schleimschicht (Mucus) der Darmschleimhaut vorhanden. Diese Schicht ist besonders gut für DNA-Analysen geeignet und sollte unbedingt mit in das Probengefäß überführt werden. Beim Abkratzen von oberflächennahen Schichten sollte Material bevorzugt werden, welches keinen direkten Bodenkontakt hat.

Haare werden am besten in ein gefaltetes Filterpapier⁷ (oder ein einfaches Stück Papier oder ein weißer Kaffeefilter) gegeben und anschließend in einem Ziplock-Beutel³ mit Trocknungsmittel⁴ dunkel und bei Raumtemperatur gelagert (siehe Abb. 3). Notfalls können Haare auch im trockenen Zustand ohne Trocknungsmittel verschickt werden. Grundsätzlich ist bei Haaren zu beachten, dass die Anzahl an trocken gelagerten Haaren mit Haarwurzel für den Erfolg der genetischen Analyse entscheidend ist. Niemals dürfen Haare von einem Stück Fell mit einer Schere abgeschnitten werden, da dann die Wurzeln nicht mitgenommen werden. Bei tiefgefrorenen Kadavern brechen die Haare ab, wenn man sie ausreißt. Hier sollte möglichst ein kleines Stück Fell samt Hautstücken gesammelt und in Ethanol konserviert oder gefroren aufbewahrt werden. Ist dies nicht möglich, sollte der Kadaver einige Minuten bei Raumtemperatur verbleiben, bis die obersten Hautschichten aufgetaut sind. **Bitte keine Haare auf Klebeflächen fixieren, da dies die späteren Analysen behindern kann.** Das Fixieren der Haare auf Klebestreifen etc. ist nur in Ausnahmefällen nützlich (z.B. wenn man Flächen auf Haar- und Gewebereste absucht, etwa bei forensischen Untersuchungen).

Risse Um Speichelproben an Rissen zu gewinnen, werden an geeigneten Stellen am Riss (Wunden, Kehlbiß, Hals nahe der Bissstelle) Abstriche mit sterilen Wattestäbchen¹¹ gemacht. Wattestäbchen werden hierfür vor dem Abstreichen mit sterilem Wasser oder besser TE-Puffer angefeuchtet (durch die hohe Kontaminationsgefahr empfehlen wir, Gefäße mit Puffer über uns zu beziehen). Nach der Beprobung wird der Tupfer in ein gefaltetes Filterpapier⁷ und anschließend in einen Ziplock-Beutel³ mit Trocknungsmittel⁴ gegeben und bei Raumtemperatur gelagert. Die Abstriche sollten immer mehrfach mit verschiedenen Tupfern an unterschiedlichen Stellen erfolgen, um die Wahrscheinlichkeit einer erfolgreichen Bearbeitung zu erhöhen. Dabei wird der Tupfer mehrfach hin- und her gerieben, um möglichst viel Material aufzunehmen und dann umgehend an der Luft getrocknet, falls kein Trockenmittel im Ziplock-Beutel ist. Zur Beprobung eignen sich auch die von diversen Herstellern angebotenen Tupfer für forensische Analysen, die bereits steril in einem Gefäß zur Lagerung versandt werden (praktisch, aber teuer, und leider oft ohne Trocknungsmittel, dann nicht geeignet). Wichtig ist, dass eine **Beprobung so schnell wie möglich** geschieht, möglichst innerhalb von 24 h; nach > 48 h ist eine erfolgreiche Analyse unwahrscheinlich. Bitte die Probe möglichst rasch an uns versenden.

Sonstiges: Knochen u. Zähne werden in einen Ziplock-Beutel³ mit Trocknungsmittel⁴ gegeben und bei 20° C gelagert. **Speichel** wird mittels FTA-Karten² oder Wattestäbchen¹¹ gesammelt. Die behandelte Stelle des Filterpapiers sollte dabei mit einem Stift umkreist werden. Besser eignen sich hierfür FTA-Karten mit Farbindikator⁵. **Urin** ist nur in größeren Mengen als Probenmaterial geeignet. Im Winter lassen sich oft größere Mengen an Urin im Schnee gewinnen. Urinproben werden in Plastikgefäßen¹ (keine Gefrierbeutel o.ä.) gesammelt und rasch eingefroren. Am besten gefroren verschicken.