

## Nem-invazív mintavételi eljárások alkalmazása DNS vizsgálatok során

A különböző állatfajok természetben élő populációinak genetikai feltérképezése fontos, ugyanakkor idő igényes folyamat. A genetikai vizsgálatok során sok információt megtudhatunk egy populáció jellemzőiről, pl. ivararány, beltenyésztettség mértéke, az egyes lókuszokon lévő allélek előfordulási aránya.

A genetikai vizsgálatokra irányuló mintavételezési eljárásokat három csoportba soroljuk: destruktív, invazív és nem-invazív eljárások.

A destruktív mintavételezés a begyűjtött egyedek elpusztításával jár.

Invazív mintavételezéskor az állatot be kell fogni (pl. vérvétel). Ez nagy stresszel járhat az állatok számára. (Érdemes figyelembe venni, hogy az ilyenkor gyakran szokásos parazita eltávolítással befolyásolhatjuk a befogott egyedek túlélési esélyeit a többi egyeddel szemben.) Ilyen esetekben populációméret becslést legegyszerűbb jelölés-visszafogásos módszerrel végezni.

Nem-invazív mintavételi eljárások alkalmazásával elkerülhető az állatok befogása, zavarása. Ilyenkor az állatok által hátrahagyott képleteket (pl. vedlett toll, ürülék, szőr) gyűjtik be, és abból nyernek DNS mintát. Ilyenkor is lehetőség van a populációméret becslésére, mikroszatellita fragmenseken alapuló egyedi azonosítás révén. Tudni kell azonban, hogy ezek az eljárások gyakran csak nagyon kis mennyiségű és jelentősen degradált mintát nyújtanak. Viszonylag gyakori az „allélkiesés” (PCR reakció után heterozigóta egyedek tévesen homozigótának értékelünk) illetve a műtermék („hamis allél”) jelensége.

Madarak esetén a vedlett tollak összegyűjtésével szoktak nem-invazív módon DNS mintához jutni. Az ilyen gyűjtések megtervezésénél figyelembe kell venni a vedlési időszak kezdetét, mivel ebben az időszakban lehet friss, jó minőségű tollakhoz jutni. Az összegyűjtött tollakból a leghatékonyabb módon a superior umbilicus kimetszésével nyerhetünk DNS-t, mivel a tollak növekedésekor a tollat tápláló artéria visszahúzódik, de ezen a területen vérrögöt hagy maga után. A kimetszett darabot

enzimátikusan emésztik, ezután kivonható belőle a DNS. A tollak preparálásakor ügyelni kell a kontamináció elkerülésére, ezért minden tollhoz tiszta gumikesztyűt, pengét és papírt kell használni (Horháth és mtsai, 2005).

Emlősök vizsgálatok az ürülékből vett minták alkalmazása az egyik leggyakoribb módszer. Ilyenkor elsősorban az ürülékben található levált hámszövetből vonható ki az állat DNS-e. A gyűjtés után szilika golyókkal szokás tárolni a mintát (4 egység szilika : 1 egység ürülék arányban (Sigma, St Louis, MO, USA)). Mivel ennél az eljárásnál (akárcsak a szőr vizsgálatok) a kinyert DNS mennyisége nagyon változó lehet, PCR vizsgálat előtt célszerű lehet megmérni mintánként a DNS koncentrációját, és ehhez igazítani a bemért mennyiségeket, hogy elkerüljük az oldat híg állapotából eredő „allélkieséseket” (ha túlságosan híg az oldat, előfordulhat, hogy valamelyik allélja nem kerül a PCR csőbe a felszaporítandó DNS szakaszak a bemért mennyiség kis mérete miatt) (Taberlet and Luikart, 1999).

Néhány alapszabály a nem-invazív mintavételi eljárásokból származó DNS minta vizsgálatához (Taberlet and Luikart, 1999):

- 1, A PCR vizsgálat előtti és utáni folyamatok fizikai, térbeni elkülönítése (külön helyiség)
- 2, A DNS kivonásra szolgáló helyiségben a koncentrált DNS kivonatok elkerülése
- 3, Minden mintához külön, aeroszol-rezisztens pipetta hegy használata
- 4, A reagensek folyamatos megfigyelése a DNS szennyeződésének elkerülése érdekében: negatív kontroll használata (ilyenkor az egyik PCR csőbe a DNS mennyiségeknek megfelelő mennyiségű nukleáz-mentes vizet teszünk DNS helyett, minden más reagenst ugyanúgy adunk hozzá, mint az egyes mintákhoz).

Annak ellenére, hogy ezek az eljárások sok nehézséggel járnak, ami miatt a laborköltségek is megnövekedhetnek, széles körben alkalmazzák őket, mert a stresszre érzékenyebb fajok esetén is kockázatmentesen használhatók.

**Felhasznált irodalom:**

Taberlet and Luikart: Non-invasive genetic sampling and individual identification (2009)

Murphy et al: The impact of time and field conditions on brown bear (*Ursus arctos*) faecal DNA amplification (2006)

Horváth és mtsai: An overlooked DNA source for non-invasive genetic analysis in birds (2005)

Vili Nóra et al: Alternatív mintavételi módszer gyakorlati alkalmazhatósága madárgenetikai vizsgálatokban: parlagi sasok ivarmeghatározása, mikroszatellitákon alapuló egyedi azonosítása és mtDNS-ének vizsgálata (2009)