

CENNIK

BADANIA NASIENIA ZWIERZĄT

Cennik badania nasienia	Ceny brutto [zł]
KOMPUTEROWO WSPOMAGANA OCENA NASIENIA (CASA)	65
OCENA ZMIAN APOPTOTYCZNYCH I NEKROTYCZNYCH W PLEMNIKACH	85
OCENA TRANSBŁONOWEGO POTENCJAŁU MITOCHONDRIALNEGO PLEMNIKÓW	85
CYTOMETRYCZNA OCENA INTEGRALNOŚCI BŁON KOMÓRKOWYCH PLEMNIKÓW	85
OCENA CHROMATYNY PLEMNIKOWEJ	85
USZKODZENIA OKSYDACYJNE W PLEMNIKACH (METODA LUMINESCENCYJNA)	100
OCENA POZIOMU ATP W PLEMNIKACH (AKTYWNOŚĆ METABOLICZNA)	85

W przypadku zlecenia większej ilości badań niż tylko podstawowe (CASA) ceny podlegają negocjacji.

Zakład Biotechnologii Rozrodu i Kriokonserwacji

ul. Krakowska 1

32-083 Balice k. Krakowa

Kontakt: badanienasienia@izoo.krakow.pl

Telefon: +48666081381

BADANIA

NASIENIA ZWIERZĄT

Pracownicy Zakładu Biotechnologii Rozrodu i Kriokonserwacji PIB posiadają bogatą wiedzę i wieloletnie doświadczenie w badaniach dotyczących rozrodu zwierząt. U nas mogą Państwo zlecić podstawowe **badanie jakości nasienia** i w miarę potrzeb rozszerzyć je o **szczegółowe analizy cech plemników**, jak badanie zmian apoptotycznych i nekrotycznych, transbłonowego potencjału mitochondrialnego, chromatyny plemnikowej czy ocena poziomu ATP. Dzięki całościowemu ujęciu stanu biologicznego komórek plemnikowych możemy precyzyjnie określić ich zdolność do zapłodnienia.

KOMPUTEROWO WSPOMAGANA OCENA NASIENIA (CASA)

Komputerowa analiza jakości nasienia (CASA) to podstawowe badanie, dzięki któremu jesteśmy w stanie określić potencjał zapłodniający nasienia oraz uzyskać gwarancje dawek inseminacyjnych najwyższej jakości. Przeprowadzenie tej analizy wpływa pozytywnie na **osiągnięcie sukcesu reprodukcyjnego**.

Podstawowa ocena nasienia wykonywana systemem CASA obejmuje:

- ocenę ruchliwości (ruch całkowity, ruch postępowy) i parametry ruchu plemników
- oszacowanie liczby plemników w dawce inseminacyjnej
- ocenę morfologiczną plemników

Badanie nasienia przeprowadzamy dla następujących gatunków:

- koziół
- knur
- buhaj
- królik
- ogier
- tryk
- kogut
- jeleń
- zwierząt towarzyszących (m.in. pies, kot, fretka)

USZKODZENIA OKSYDACYJNE W PLEMNIKACH

Plemniki ssaków są komórkami szczególnie wrażliwymi na uszkodzenia oksydacyjne czyli takie, które powodowane są przez reaktywne formy tlenu. Dzieje się tak ze względu na wysoką zawartość łatwo ulegających utlenieniu składników komórki - wielonienasyconych kwasów tłuszczowych oraz niską aktywność enzymatycznego układu antyoksydacyjnego, który przeciwdziała szkodliwym procesom.

Kiedy uzupełnić badanie jakości nasienia o ten parametr?

Analiza uszkodzeń oksydacyjnych w plemnikach może być wykonana jeśli podstawowe badanie nie daje jednoznacznej odpowiedzi na temat płodności samca. Przeprowadzenie dodatkowych badań jak analiza uszkodzeń oksydacyjnych, może stanowić bardziej precyzyjną podstawę do określenia zdolności zapładniającej nasienia oraz poprawić **skuteczność inseminacji**.

Metoda badania

Badanie plemników wykonywane jest metodą chemiluminescencyjną (aparat Lumat LB9508). Pozwala ono śledzić zmiany zachodzące w komórkach plemnikowych związane z pogarszaniem się jakości nasienia.

Informacje dotyczące próbki

Badanie nasienia może być przeprowadzane na materiale świeżym lub konserwowanym w stanie płynnym lub mrożonym.

BADANIE CHROMATYNY PLEMNIKOWEJ

Chromatyna plemnikowa to materiał genetyczny wraz z różnymi białkami, które m.in organizują przestrzennie długie nici DNA. To właśnie zawarta w nim informacja znajduje się w jądrze komórkowym i przekazywana jest dalej na kolejne pokolenia warunkując cechy potomków.

Kiedy uzupełnić badanie jakości nasienia o ten parametr?

Analizę chromatyny plemnikowej możemy przeprowadzić wtedy, kiedy na podstawie badania CASA nie potrafimy określić dlaczego występuje niska płodność u samców. Ponieważ **osiągnięcie sukcesu reprodukcyjnego** koreluje z pozytywną oceną struktury chromatyny, znaczne odchylenia od normy mogą sugerować, żeby nie dopuszczać do rozrodu takiego osobnika.

Metoda

Badanie uszkodzeń chromatyny plemnikowej przeprowadzane jest w oparciu o metodę SCSA (Sperm Chromatin Structure Assay). Polega ona na analizie wrażliwości DNA na utratę struktury (denaturację) w podwyższonej temperaturze lub niskim pH.

Informacje dotyczące próbki

Badanie nasienia można przeprowadzić zarówno na nasieniu świeżym jak i mrożonym (można zamrozić nasienie bezpośrednio po pobraniu bez używania rozcieńczalnika mrożeniowego).

OCENA ZMIAN APOPTOTYCZNYCH I NEKROTYCZNYCH W PLEMNIKACH

Apoptoza i nekroza to naturalne procesy śmierci komórkowej. Apoptoza eliminuje zbędne lub patologicznie zmienione komórki. Zjawisko to reguluje również prawidłową spermatogenezę. Badania wskazują, że obecność apoptotycznych/nekrotycznych plemników w ejakulacji koreluje z zaburzeniem płodności.

Kiedy uzupełnić badanie jakości nasienia o ten parametr?

Analizę zmian apoptotycznych i nekrotycznych przeprowadza się wtedy, kiedy na podstawie wyniku ruchliwości plemników uzyskanego podczas badania CASA, nie można uzyskać odpowiedzi, dlaczego występuje niska skuteczność inseminacji.

Metoda

Do oceny apoptozy i nekrozy stosowana jest metoda mikroskopii fluorescencyjnej lub cytometrii przepływowej. Stosuje się dwie metody oceny. Pierwsza z nich pozwala na wczesną diagnostykę apoptozy przy użyciu aneksyny V sprzężonej z izotiocyanianem fluoresceiny (FITC, ang. fluorescein isothiocyanate), która oddziałuje z resztami fosfatydyloseryny na powierzchni błony cytoplazmatycznej, które to podczas śmierci komórki przechodzą z jej strony wewnętrznej na zewnętrzną. Druga zaś diagnozuje apoptozę z użyciem fluorochromu YO-PRO-1, który ma zdolność do przechodzenia do wnętrza komórki i łączenia się z jej DNA, kiedy błona komórkowa ma jeszcze zachowaną integralność. Dodatkowe zastosowanie w tej metodzie jodku propidyny (PI) umożliwia detekcję komórek nekrotycznych.

Informacje dotyczące próbki

Badanie nasienia można przeprowadzić zarówno na nasieniu świeżym jak i konserwowanym w stanie płynnym oraz mrożonym.

OCENA POZIOMU ATP W PLEMNIKACH (AKTYWNOŚĆ METABOLICZNA)

ATP (adenozynotrifosforan) to organiczny związek, który jest uniwersalnym akumulatorem i nośnikiem energii w komórce. Jego poziom w komórce jest wynikiem równowagi pomiędzy procesami tworzenia i wykorzystania energii.

Badania wskazują na ścisły związek poziomu ATP z liczbą plemników w próbce, ich ruchliwością i integralnością błon komórkowych. Uzyskany wynik dostarcza precyzyjnej informacji na temat stanu energetycznego plemników.

Kiedy uzupełnić badanie jakości nasienia o ten parametr?

Analizę poziomu ATP w plemnikach przeprowadza się wtedy, kiedy podstawowe badanie nasienia nie dostarcza nam ostatecznej odpowiedzi na temat zdolności zapłodniającej. Wykonanie dodatkowych testów, może pomóc w rozstrzygnięciu decyzji na temat jego jakości a w rezultacie poprawić skuteczność zapłodnienia.

Metoda:

Pomiar wykonywany jest metodą bioluminescencyjną, która wykorzystuje reakcję lucyferyny z ATP, katalizowaną przez enzym lucyferazę. Reakcji towarzyszy emisja światła o natężeniu wprost proporcjonalnym do ilości ATP. Metoda jest bardzo czuła, szybka i nie wymaga separacji komórek.

Przygotowanie próbki:

Badanie nasienia może być wykorzystane do oceny aktywności metabolicznej plemników konserwowanych w stanie płynnym i mrożonym.

CYTOMETRYCZNA OCENA INTEGRALNOŚCI BŁON KOMÓRKOWYCH PLEMNIKÓW

Reaktywne formy tlenu powodują uszkodzenia błon komórkowych. Ocena ich integralności informuje o odsetku żywych komórek, które zdolne są do zapłodnienia

Kiedy badanie jakości nasienia uzupełniamy o ten parametr?

Ponieważ integralność błon komórkowych plemników jest ściśle skorelowana z ich ruchliwością, ocenę tę najlepiej przeprowadzić w połączeniu z badaniem nasienia metodą CASA. Analizie cytometrycznej poddajemy wtedy tę samą próbkę. Jeżeli pomiędzy wartościami obu analiz są znaczne różnice, przyczyny niepłodności należy szukać gdzie indziej.

Metoda

Badanie wykonuje się przy użyciu cytometru przepływowego Couter CytoFLEK (Beckman). Test przeprowadza się za pomocą dwóch barwników fluoroscencyjnych – barwiących uszkodzone i całe komórki. Dzięki różnicy sygnałów można określić procent plemników z naruszoną ciągłością błony komórkowej.

Informacje dotyczące próbki

Badanie nasienia można przeprowadzić zarówno na nasieniu świeżym (transport musi odbywać się w rozrzedzalniku transportowym) jak i mrożonym (w rozrzedzalniku mrożeniowym).

OCENA TRANSBŁONOWEGO POTENCJAŁU MITOCHONDRIALNEGO PLEMNIKÓW

Mitochondria są strukturami odpowiedzialnymi za przemiany energetyczne w komórce. W plemniku zlokalizowane są we wstawce, gdzie odpowiadają za zaopatrzenie jej oraz główki plemnika w ATP - nośnik energii. Obecność tej cząsteczki jest niezbędna do przeżycia komórki podczas zapłodnienia.

Kiedy badanie jakości nasienia uzupełniamy o ten parametr?

Ocena transbłonowego potencjału mitochondrialnego pozwala scharakteryzować zdolność plemników do zapłodnienia komórki jajowej. Rezultaty tego badania są uzupełnieniem wyników uzyskanych metodą CASA. Analizę potencjału można wykonać w przypadku niezadowolających efektów inseminacji przy pozytywnych wynikach wspomnianej metody. Im wyższy ΔY_m , tym wyższe zdolności zapładniające plemników.

Badania dowodzą, że współczynnik zapładnialności jest wyższy w przypadku plemników, których mitochondria charakteryzują się wysokim potencjałem transbłonowym.

Metoda

Do oceny mitochondrialnego potencjału transbłonowego plemników (ΔY_m) stosuje się barwnik JC-1 (5,5',6,6'-tetrachloro-1,1',3,3' tetraethylbenzimidazolylcarbocyanine iodide/chloride) (Molecular Probes, USA). Analizę przeprowadza się na mikroskopie epifluorescencyjnym. Identyfikowane są dwie subpopulacje plemników: żywe (nieapoptotyczne) oraz plemniki apoptotyczne/nekrotyczne, w których nastąpiła depolaryzacja błony mitochondrialnej i spadek ΔY_m .

Informacje dotyczące próbki

Badanie nasienia może być przeprowadzone na świeżym, kriokonserwowanym bądź przechowywanym materiale. Forma, czas i warunki transportu nasienia uzależniona jest od gatunku zwierzęcia.