

[Klik hier voor de LINK naar de Nederlandse versie](#)

Revision changes

06-05-2019 Time until preparation is changed in time until freezing.

06-05-2019 REMP-tube is change in MATRIX tube.

05-07-2021:

- SOP Format is changed.
- Pre analysis conditions are added.
- Concentration in ng/ul instead of ug/ml.
- Specifications Matrix tube added.
- Removed: After 5 issuances, make a new working solution from the stock solution at the time that the sixth issuance is requested.
- Origin is added to data management.
- Making of working solution the first time the DNA is issued is removed from this SOP and is never done.
- Added: If DNA concentration less than 30 ng/ul the isolation is failed, see Deviations.

1. Goal

To describe how DNA from saliva must be prepared and stored for purposes of the Radboud Biobank (RB), so that:

1. Interested parties including potential users know how the biomaterial has been handled.
2. The laboratory can assess whether they can process the biomaterial as described under paragraph 2 "Preparation".
3. The laboratory knows the requirements for the collection, processing and storage of the biomaterial to enable registration of deviations.
4. The sub-biobank or project knows the requirements for the collection and transport of the biomaterial to ensure correct delivery.
5. The RB is able to couple this procedure to the biomaterial in storage to determine the fitness for purpose.

1.1 Scope of application

This procedure is applicable to all employees concerned at the RB, the Sub-biobank/Project and the Department of Human Genetics of the Radboudumc.

2. Protocol isolation and storage of DNA from saliva

Collection

Preanalysis

Conditions for the collection of saliva for DNA investigations.

- No eating, drinking, smoking, cleaning of teeth or use of mouth wash or chewing gum 30 minutes before collection of saliva.
- Remove lipstick if present.
- Before collecting, rinse mouth out with water and then wait 5 minutes.

Delivery

In collection tube.

Collection

2 ml saliva (or max. 5 "sponges" from Oragene) added to Oragene/saliva vial (Oragene kit; Oragene DNA (OG-500) from DNAgenotek, Ontario, Canada).

Temperature

Keep tubes at room temperature until isolation.

Preparation

Time until freezing

Isolate the DNA as soon as possible.

Title: SOP Isolation and storage of DNA from saliva

One year maximum (shelf-life of the saliva sample after combining with the Oragene-solution).

Isolation protocol DNA isolation from Saliva with ChemagicStar ([Qdoc 084294](#)).
 Estimated yield of approximately 80 µg DNA.

DNA-concentration and volume After isolation determine the DNA-concentration (in ng/ul) and the OD-ratio 260-280 nm from the stock solution and register in the Biobank management system.

Storage

Aliquotation Store the DNA in a 500 ul stock solution (1 aliquot).

Type of tube MATRIX-tube (Matrix™ 2D Barcoded Open-Top Storage Tubes, ThermoFisher Scientific).

Temperature -20°C (Liconic).

Miscellaneous

Data management Register the following data in the biobank management system:
 1. Date the saliva was collected.
 2. Input-date is time of storage at -20°C after DNA-isolation.
 3. Identification number (pseudomised).
 4. Name of sub-biobank/ pearl/ project.
 5. Fraction number.
 6. OD-ratio and DNA-concentration.
 7. Origin of the sample.

Deviations Note all deviations from this procedure in the Biobank management system. If the DNA concentration is less than 30 ng/ul the isolation is failed. Failed isolations must be registered, and the RB must be informed. The stocks are stored in the Liconic.

3. Quality assurance

Review takes place via i) an internal audit (see the [audit year plan](#) in DMS) and ii) 2-monthly performance reviews of deviations registered in the biobank management system (DMS map "[Registraties en controles](#)").

3.1 Performance indicator

95% of the sub-biobank samples have been prepared and stored within the parameters of this procedure.

4. Comments

Although this SOP is used for collection of Parelsnoer DNA, this SOP differs from the standard of Parelsnoer. Parelsnoer wants a minimum of 2 and prefers 3 or 4 aliquots. Given the costs and the frequency DNA is issued the RB decided to store only 1 DNA stock per isolation.

5. Relevant documents

Qdocs, literatuur, wet en regelgeving, website e.d.

Qdocs, literature, legislation and codes of conduct, website etc.

link	Title
Qdoc 083613	Monstermanagement SOP KGCN

Qdoc 045505	PVS 10.05 Primair laboratoriumproces, DNA-isolatiefaciliteit
Qdoc 072370	DNA_NORM_ALLIN
Qdoc 084294	DNA_isolatie_ALLIN
Qdoc 070512	<u>Liconic Bio.Li.X</u>
Qdoc 083792	Liconic vriesrobot, werking koelsysteem en alarmering
Qdoc 069283	Bewaartermijnen Genetica

1. Doel

Vastleggen hoe DNA uit speeksel moet worden bewerkt en opgeslagen wanneer dit binnen de Radboud Biobank (RB) wordt verzameld, zodat:

1. Geïnteresseerden waaronder potentiële uitnemers weten hoe het materiaal verwerkt wordt.
2. Het uitvoerend laboratorium kan beoordelen of zij de bewerking van het materiaal kunnen uitvoeren zoals beschreven onder punt 2 "Bewerking".
3. Het uitvoerend laboratorium weet welke eisen worden gesteld aan de afname, transport, verwerking en opslag van het biomateriaal voor de registratie van afwijkingen.
4. De deelbiobank of project weet welke eisen worden gesteld aan afname en transport zodat gestuurd kan worden op een juiste aanlevering.
5. De RB koppelt deze materiaalbeschrijving aan het opgeslagen biomateriaal voor bepaling van de geschiktheid voor het beoogde doel.

1.1 Toepassingsgebied

Deze procedure is van toepassing voor alle betrokken medewerkers van de RB, de Deelbiobank/Project en de afdeling Genetica van het Radboudumc.

2. Protocol isolatie en opslag DNA uit speeksel

Afname

Preamalyse

Conditie voor de afname van speeksel bedoeld voor DNA isolatie.

- Niet eten, drinken, roken, tanden poetsen en mondspoeling gebruiken 30 minuten voor afname speeksel.
- Verwijder lippenstift.
- Voor afname reinig mond met water en wacht 5 minuten.

Aanlevering

In afnamebuis.

Type afnamebuis

2 ml speeksel (of max. 5 "sponges" van Oragene) toegevoegd aan Oragene/saliva vial (Oragene kit; Oragene.DNA (OG-500) van DNAgenotek, Ontario, Canada).

Temperatuur

Buizen bewaren bij kamertemperatuur (TK) tot DNA isolatie.

Bewerking

Tijd tot invriezen

Afgenomen speeksel zo snel mogelijk isoleren
 Maximaal één jaar (houdbaarheid van het speekselmonster na samenvoegen met de Oragene-oplossing).

Isolatieprotocol

DNA-isolatie uit speeksel (de gehele Oragene/saliva vial) met ChemagicStar ([Qdoc 084294](#)). Geschatte opbrengst ongeveer 80 µg DNA.

DNA-concentratie en volume

Na isolatie bepaal DNA-concentratie (in ng/ul) en de OD-ratio 260-280 nm van de stockoplossing, deze gegevens invoeren in het biobankbeheersysteem.

Opslag

Aliquotering

DNA opslaan als 1 stockoplossing van 500ul (1 aliquot).

Type buis

MATRIX-buis (Matrix™ 2D Barcoded Open-Top Storage Tubes, ThermoFisher Scientific).

Temperatuur

-20°C (Liconic).

Overige

Datamanagement

Registreer de volgende data in het biobankbeheersysteem:

1. Afname datum speeksel.
2. Input-date is het moment na DNA-isolatie wanneer het DNA wordt opgeslagen bij -20°C.

Title: SOP Isolation and storage of DNA from saliva

3. Identificatienummer (gepseudonimiseerd).
4. Naam van deelbiobank/parel/project.
5. Fractienummer.
6. OD-ratio en DNA-concentratie.
7. Origine DNA.

Afwijkingen

Elke afwijking van het bovenstaande noteren in het biobankbeheersysteem. Als de DNA concentratie lager is dan 30 ng/ul dan is de DNA isolatie mislukt. Dit wordt teruggekoppeld naar de RB en vastgelegd in het Biobank management system. Stock blijft in opslag Liconic.

3. Kwaliteitsborging

Toetsing vindt plaats via i) Interne audits (zie [audit jaarplan](#) in DMS) en ii. 2 maandelijkse overzichten van de afwijkingen geregistreerd in het biobankbeheersysteem (DMS map [Registraties en controles](#)).

3.1 Prestatie-indicator

95% van de monsters van de deelbiobank/project zijn bewerkt volgens de eisen van deze SOP.

4. Opmerkingen

Hoewel deze SOP wordt gebruikt voor de verzameling van DNA voor Parelsnoer, wijkt deze wat betreft de aliquotering af van de SOP van Parelsnoer. Hierin staat dat de stockoplossing moet worden opgeslagen in minimaal 2 en bij voorkeur 3 à 4 aliquots. Gezien de kosten en het aantal uitgiftes per stock heeft de RB besloten om maar 1 stock op te slaan per isolatie.

5. Relevante documentatie

Qdocs, literatuur, wet en regelgeving, website e.d.

link	Titel
Qdoc 083613	Monstermanagement SOP KGCN
Qdoc 045505	PVS 10.05 Primair laboratoriumproces, DNA-isolatiefaciliteit
Qdoc 084294	DNA_isolatie_ALLIN
Qdoc 072370	DNA_NORM_ALLIN
Qdoc 070512	Liconic Bio.Li.X
Qdoc 083792	Liconic vriesrobot, werking koelsysteem en alarmering
Qdoc 069283	Bewaartermijnen Genetica
Qdoc 015298	Bloedafname RLD: veneus en capillair