

Conservation à long terme des échantillons Oragene®•DNA

Solutions Oragene-DNA/échantillons de salive non purifiés	ADN purifié tiré des échantillons Oragene-DNA
1. Les échantillons non purifiés peuvent être conservés à la température ambiante pendant une durée pouvant atteindre cinq ans.	1. Conservez l'ADN purifié dans un tampon TE 1 x (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8,0 ou supérieur).
2. Il est préférable de congeler les échantillons à -20 °C pour une conservation à long terme d'une durée indéfinie dans la mesure où la congélation minimise l'évaporation des échantillons liquides.	2. Conservez l'ADN congelé à -20 °C.
3. Pour réduire l'espace nécessaire au stockage, on peut diviser les échantillons en parties aliquotes et les conserver dans des tubes de microcentrifugeuse.	3. Divisez l'ADN en plusieurs parties aliquotes pour minimiser le nombre de cycles de congélation/décongélation.

Tableau 1 : Recommandations pour la conservation à long terme des échantillons Oragene•DNA

Introduction

La préservation et la conservation des échantillons d'ADN sont des points importants à envisager pour les études moléculaires d'épidémiologie et de population. Le tableau 1 résume les recommandations portant sur la conservation à long terme des échantillons de salive purifiés ou non purifiés prélevés à l'aide du kit d'auto-prélèvement Oragene•DNA. Le présent bulletin explique également les raisons de ces recommandations.

Conservation des mélanges Oragene-DNA/échantillons de salive non purifiés

Conservation à la température ambiante

L'ADN tiré de la salive est stable dans une fiole de prélèvement Oragene•DNA pendant une durée pouvant atteindre cinq ans ou jusqu'à six mois à 50 °C (réf. 1). Cette stabilité est obtenue grâce à des réactifs déposés qui inactivent les bactéries et les nucléases de la salive et minimisent l'hydrolyse chimique de l'ADN.

Conservation des échantillons congelés

Les mélanges Oragene•DNA/échantillons de salive peuvent également être conservés à -20 ou -80 °C. Les échantillons peuvent subir au moins cinq cycles de congélation/décongélation sans présenter de signes de dégradation (réf. 2). Bien que la fiole de prélèvement Oragene•DNA soit conçue pour assurer une fermeture hermétique, la conservation à l'état congelé peut réduire encore davantage l'évaporation du milieu liquide pendant une conservation à long terme.

Parties aliquotes en tubes de microcentrifugeuse

La fiole de prélèvement Oragene•DNA est conçue pour faciliter le prélèvement de salive par les donneurs. Cependant, au laboratoire, une conservation dans des tubes plus compacts peut être préférable. Pour réduire l'espace de stockage, la solution Oragene•DNA/échantillon de salive peut être partagée en quatre parties aliquotes de 1 ml chacune conservée dans des tubes de microcentrifugeuse de 1,5 ml à bouchon vissé. Il est conseillé d'utiliser des tubes à joint torique pour assurer l'étanchéité et minimiser les pertes à long terme par évaporation.

References

1. Birnboim, H.C., Long-Term Stability of DNA from Saliva Samples Stored in Oragene•DNA. *DNA Genotek*. PD-WP-005.
2. Ballard, R., Anderson, M., Birkett, N., Hansen, M. et Birnboim, H.C. Saliva as a source of genomic DNA for banking and molecular epidemiology studies. *Soumis pour publication*.
3. O'Brien, D. (2002). High-throughput DNA purification. *Modern Drug Discovery*. 5(3), 25-26.
4. Kasper, Y. et Lenz, C. (2004). Stable 8-year storage of DNA purified with the QIAamp DNA Blood Mini Kit. *QIAGEN News*. 2004 e10.
5. Biobanks for health: Optimising the use of European biobanks and health registries for research relevant to public health and combating disease. *Rapport et recommandations d'un atelier de l'UE tenu à l'hôtel Voksenåsen Hotel, Oslo, 28-31 janvier 2003*.
6. Sample handling and storage: Subgroup protocol and recommendations. Version 1.0. *UK Biobank*. 7 juillet 2004.

Conservation de l'ADN purifié tiré des échantillons Oragene•DNA

Prévention de la dégradation de l'ADN

Il existe trois causes principales de la dégradation de l'ADN dans un échantillon purifié (réf. 3). Les échantillons peuvent être contaminés accidentellement par des bactéries, mais une conservation à une température inférieure ou égale à -20 °C minimise le métabolisme bactérien et la libération des nucléases. Des ADN-ases de la peau peuvent être introduites par inadvertance dans les échantillons, mais cela peut être minimisé par le port de gants lors des manipulations. Des cycles répétés de congélation et de décongélation peuvent également contribuer à la dégradation de l'ADN. Cela peut être minimisé en séparant l'ADN purifié en plusieurs parties aliquotes qui seront décongelées une à la fois. Veuillez noter qu'il n'est pas recommandé de conserver à 4 °C les échantillons Oragene•DNA.

Comparaison entre le tampon TE et l'eau

Kasper et Lenz (2004) ont réalisé une étude de huit ans sur la conservation de l'ADN dans de l'eau ou dans un tampon AE (TrisHCl à 10 mM ; EDTA à 0,5 mM, pH 9,0). Des électrophorèses sur gel ont montré que l'ADN conservé dans du tampon AE à -20 °C ou entre 2 et 8 °C ne présente aucune dégradation et que cet ADN est correctement amplifié lors d'un essai de PCR. Dans l'eau, l'ADN reste intact lorsqu'il est conservé à -20 °C, mais les échantillons se dégradent lorsqu'ils sont conservés entre 2 et 8 °C et ils se comportent mal dans un dosage par PCR. L'eau pure n'a pas de pouvoir tampon et un pH acide peut provoquer l'hydrolyse de l'ADN.

Recommandations pour les banques biologiques

Un atelier de l'UE sur les banques de matériels biologiques (réf. 5) recommande la congélation des échantillons d'ADN pour éviter les contaminations bactériennes et minimiser l'évaporation des échantillons. Un tampon Tris-EDTA (TE) possède un pouvoir tampon suffisant pour éviter l'hydrolyse acide de l'ADN. De même, la banque biologique UK Biobank (réf. 6) recommande la conservation de l'ADN dans un environnement inhibiteur des nucléases à une température de -20 °C, car aucune augmentation notable de la stabilité n'est observée à des températures inférieures à -20 °C.