

RCR 2020

ISTITUTI VIRTUALI NAZIONALI

DEMENZE

**MALATTIA DI PARKINSON E DISORDINI DEL MOVIMENTO
SCLEROSI MULTIPLA E DISORDINI NEUROIMMUNOLOGICI**

WP3

SOP Dosaggio dei Neurofilamenti su Piattaforma Ella™

Istituto Virtuale Nazionale
Malattie Neurologiche Rare

SOP adottata da IVN Malattie Neurologiche Rare
Progetto 2021 - WP5, Task 3 –

Documento redatto da:

- Federico Verde
- Luisa Benussi

WP3

Biochimica – Armonizzazione delle metodiche di analisi dei campioni biologici per studio di biomarcatori

SOP dosaggio dei neurofilamenti su piattaforma Ella™

Indice

- I. Scopo e applicazione
- II. Procedura
- III. Bibliografia

I. Scopo e applicazione

La presente SOP si riferisce al dosaggio su liquor, plasma e siero dei neurofilamenti (catena leggera, NFL, e catena pesante, NFH) mediante immunoassay sulla piattaforma microfluidica Ella™ (ProteinSimple). La piattaforma è caratterizzata da un elevato grado di automazione. I neurofilamenti sono proteine strutturali degli assoni neuronali: condizioni patologiche caratterizzate da degenerazione cronica o danno acuto degli assoni determinano una fuoriuscita dei neurofilamenti e conseguentemente una elevazione dei loro livelli liquorali e, di riflesso, ematici (plasmatici e sierici). I neurofilamenti sono pertanto biomarcatori neurochimici di degenerazione o danno neuroassonale. La piattaforma Ella consente di dosare sia NFL sia NFH, ognuno con un kit specifico.

II. Procedura

1. Portare i campioni di liquor, plasma o siero a temperatura ambiente.
2. Scansionare il codice a barra della cartuccia Ella con il lettore dell'apparecchio Ella. NB: esistono cartucce di diverse dimensioni (che consentono di misurare un diverso numero di campioni).
3. Diluire i campioni (in maniera diversa per kit NFL e kit NFH), come segue.
 - 3-a (NFL). I campioni vanno diluiti 1:2. Per questo utilizzare una piastra normale da 96 pozzetti e dispensare nei pozzetti (in un numero di pozzetti dipendente dalla dimensione della cartuccia Ella che si sta utilizzando) 35 uL di sample diluent e 35 uL di campione.
 - 3-b. NFH. I campioni di liquor vanno diluiti 1:4, i campioni di plasma e siero vanno diluiti 1:2. Utilizzare una piastra normale da 96 pozzetti e dispensare nei pozzetti (in un numero di pozzetti dipendente dalla dimensione della cartuccia Ella che si sta utilizzando) le quantità necessarie di sample diluent e di campione. Per i campioni di liquor (diluizione

1:4), dispensare nei pozzetti della piastra 20 uL di liquor e 60 uL di sample diluent. Per i campioni di plasma e siero (diluizione 1:2), dispensare nei pozzetti della piastra 35 uL di sample diluent e 35 uL di campione.

4. Utilizzando una pipetta multicanale, trasferire 50 uL di ogni campione diluito dalla piastra nella quale è stata effettuata la diluizione alla cartuccia Ella.

5. Dispensare nella cartuccia Ella il buffer di lavaggio (la quantità dipende dal tipo di cartuccia utilizzata).

6. Avviare la corsa.

III. Bibliografia

- Gauthier A, Viel S, Perret M, et al. Comparison of Simoa TM and Ella TM to assess serum neurofilament-light chain in multiple sclerosis. *Ann Clin Transl Neurol* 2021;8:1141-1150. doi: 10.1002/acn3.51355.
- Halbgebauer S, Steinacker P, Verde F, et al. Comparison of CSF and serum neurofilament light and heavy chain as differential diagnostic biomarkers for ALS. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2022;93:68-74. doi: 10.1136/jnnp-2021-327129.
- Minikel EV, Zhao HT, Le J, et al. Prion protein lowering is a disease-modifying therapy across prion disease stages, strains and endpoints. *Nucleic Acids Res* 2020;48:10615-10631. doi: 10.1093/nar/gkaa616.