

# INZULIN [<sup>125</sup>I] IRMA készlet (REF: RK-400CT)

Az inzulín [<sup>125</sup>I] IRMA készlet humán szérumban inzulín tartalmának direkt meghatározására szolgál. A készlet 100 meghatározásra elegendő reagenst tartalmaz, amellyel két párhuzamos mérés esetén 42 minta inzulín koncentrációja határozható meg, a 0-500 µIU/ml mérési tartományban.

## Bevezetés

Az inzulín könnyű polipeptidhormon (molekulasúly:~6000), amely a hasnyálmirigy β-sejtjeiben képződik egy 86 aminosavból álló prekurból, a proinzulinból. A proinzulin enzimetikusan felhasad inzulínra és C-peptidre, amelyek ekvimoláris mennyiségben tárolódnak a hasnyálmirigyben, illetve szabadulnak ki onnan a véráramba. Az inzulín két polipeptidmolekulából, az A (21 aminosav) és B (30 aminosav) láncból tevődik össze, amelyek két diszulfidhíddal kapcsolódnak egymáshoz. Míg a C-peptid aminosav-szekvenciájában a különböző emlős fajoknál igen nagy eltérések észlelhetők, az inzulinnál ugyanezek az eltérések csekélyek. Így például a sertés-, illetve marhainzulín mindössze egy, illetve három aminosavban különbözik az emberi inzulintól.

Az inzulín a legfontosabb anyagcserehormon, amely számos közvetlen és közvetett hatást gyakorol a szervezetre. Általános hatása az, hogy stimulálja az energiaellátásban és az anyagcsere-folyamatok szabályozásában szerepet játszó makromolekulák szintézisét és felhalmozódását. Növeli a glükóz átáramlási sebességét a sejtmembránokon keresztül. Segíti más monoszacharidok, aminosavak, zsírsavak, K<sup>+</sup> és Mg<sup>2+</sup> ionok bejutását a sejtekbe.

Az inzulín elősegíti továbbá a glükóz hasznosítását és oxidációját, a glikogenezist, a lipogenezist és proteogenezist, valamint az ATP, DNS és RNS képződését. Az inzulín stimulálja ezeket a folyamatokat az izmokban, a májban és a zsírszövetekben, de nem stimulálja a glükóztranszportot a vörösvérsejtekbe és az agyba, reabszorpcióját a vesetubulusokban és a bélnyálkahártyán.

## A mérés elve

A mérőkészlet a szilárd fázisú immunoradiometrikus assay (IRMA) működési elvét alkalmazza. Ehhez két olyan monoklonális antitest szükséges, amelyek a molekula két különböző epitópját ismerik fel. A két antitest egyike radiojóddal jelzett ("szignál" antitest), a másikuk jelöletlen (ún. "capture" antitest). A bevont csöves rendszerek jelen változatában az antigénnek a két antitesttel kialakult immunkomplexe ("szendvics") reaktív kémcső felületén, mint szilárd fázison kötődik meg. 2 órás reakcióidőt követően a reakcióelegyet a kémcsőből kiöntjük, és pufferes mosás után gamma-számlálással mérjük a radioaktivitást. A kémcsőekben mért radioaktivitás egyenesen arányos a rendszerben lévő hormon koncentrációjával. Az ismert koncentrációjú standardok kötési értékei alapján szerkesztett kalibrációs

görbéről az ismeretlen minták koncentrációit kötési értékeik alapján visszaolvassuk.

## A készlet tartalma

- 1 flakon <sup>125</sup>I-TRACER, felhasználásra kész Radioaktivitása <980 kBq, 21 ml pufferes oldat, 0,1 % nátrium-azidot tartalmaz.
- 6 üveg STANDARD (S0-S5), liofilizált. Ló szérumban, 0,1 % NaN<sub>3</sub> tartósítóval. Rekonstituálendő 0,5ml desztillált vízzel. Konc.:0, 5, 15, 50, 150, 500 µIU/ml.
- 1 üveg ELLENŐRZŐ SZÉRUM, liofilizált., human szérumban, 0,1 % NaN<sub>3</sub> tartósítóval. Rekonstituálendő 0,5 ml desztillált vízzel. Várható értékeiket a minőségellenőrzési bizonylat tartalmazza.
- 2 doboz BEVONT CSŐ, 2x50 db, 12x75 mm-es szabvány RIA kémcső, zárt műanyag dobozban.
- MOSÓPUFFER KONCENTRÁTUM, (20 ml), 0,1 % NaN<sub>3</sub> tartósítóval, 1000 ml desztillált vízzel hígítandó.

1 db Minőségellenőrzési bizonylat

1 db Használati utasítás

## A készlet felhasználásához szükséges anyagok és eszközök

műanyagcsövek és csőtartó, adagoló pipetták; 100, és 200 µl-es eldobható műanyag hegyekkel, rázógép, papírvatta, gamma-számláló.

*Ajánlott:* sorozat-adagoló (ismétlő) pipetta, orbitális keverő.

## A mérendő minták gyűjtése és tárolása

A vizsgálandó szérummintákat a más, ugyancsak szérumban igényelt laboratóriumi vizsgálatoknál követett módon készítjük el. Amennyiben a meghatározás a mintavétel követő 1-2 napon belül megtörténik, a mintákat 2-8 °C-on, későbbi felhasználás esetén -18 °C-on mélyhűtve tartjuk. Kerüljük az ismételt visszafagyasztást.

Lipémiás, hemolizált, vagy más szempontból rendellenes szérumban ne használjunk mérésre.

## A reagensek előkészítése, tárolása

A készlet komponensei az első felnyitást követően 2-8°C -on tárolhatók a készlet lejárati idején belül. A pontos lejárati idő a kísérő bizonylaton és a dobozcímkén van feltüntetve.

A mosóoldat koncentrátumot öntsük hozzá 1000 ml desztillált vízhez. A hígított mosóoldatot 2-8°C -on tároljuk a készlet lejárati idejéig. Adjunk a liofilizált standardhoz és ellenőrző szérumhoz 0,5 ml desztillált vizet, és homogénizáljuk örvénykeverővel. Ügyeljünk a habzás elkerülésére. A rekonstituált oldatot legalább 20 percig még ne használjuk fel.

A rekonstituált standardok és az ellenőrző szérumban -20°C-on tárolandó amennyiben a rekonstituálás és a készlet teljes felhasználása közötti idő nagyobb mint 3 nap.

**FIGYELEME** méréskor megkezdése előtt a reagens oldatokat, és a mérendő mintákat is engedjük szobahőmérsékletre melegedni majd alaposan homogénizáljuk őket, de kerüljük el a habzást.

## A meghatározás menete

### Folyamatábra

(ld. Folyamatábra, 1. Táblázat)

- 1) Jelöljük meg két-két bevont csövet a standardok, a kontrollok és a minták számára. A total beütésszám mérésére két nem bevont csövet célszerű feliratozni.
- 2) Homogénizáljunk minden reagenst és a mérendő mintákat enyhe vortexeléssel, ügyelve a habzás elkerülésére.
- 3) Pipetázunk be 100 µl standardot, kontrollt és mintát a megfelelően jelölt bevont csövek aljába. Használjunk olyan csőtartó állványt, amely szorosan tartja, elmozgás-mentesen a csöveket.
- 4) Pipetázunk be 200 µl tracet minden csöbe. A total csöveket ezután tegyük félre, mert csak a gamma számlálásnál lesz szükség rájuk.
- 5) A csőtartó állványt rögzítsük a rázógép tálcájára, gumi leszorítóval vagy más módon stabilan. A beállított RPM érték 400 – 600 között adja a legal-kalmasabb keverési módot, de a rázógép típusától függően ettől eltérhetünk.
- 6) Inkubáljunk 2 órán át, rázás közben szobahőmérsékleten (20 – 28 °C).
- 7) Adagoljunk 2 ml hígított mosópuffert minden csöbe. Ezt követően vízsugár szivattyúval leszívathatjuk a csöben levő folyadék egyet vagy egyszerűen dekantálhatjuk a csöveket. Dekantálás: csőtartót fejjel lefelé fordítva, egyetlen határozott, gyors mozdulattal öntsük le a felülűsöt. A tartót változatlan helyzetben (visszafordítás nélkül!) tegyük papírvattára 2 percig. Győződjünk meg arról, hogy a cső peremén nem maradtak folyadék cseppek.
- 8) Ismételjünk meg a 7-es lépést még kétszer.
- 9) Mérjük meg az egyes csövek radioaktivitását gammaszámlálóval legalább 1 perces számlálási idővel.
- 10) Értékeljük ki a minta koncentrációkat grafikus módon vagy a számláló szoftvere segítségével.

## Az eredmények számítása

számítás menetét jellemző mérési adatokkal szemléltetjük. A kapott számadatoknak, és a kalibrációs görbének hasonlítaniuk kell a 2. Táblázathoz, illetve az 1. ábrához. Számítsuk ki a párhuzamos csövek beütésszámainak középértékét. Log-log papíron ábrázoljuk a standard koncentrációkhoz tartozó átlag cpm értékeket. Olvassuk le a mérendő minták koncentrációit a standard görbéről az átlag cpm értékek alapján. Egyes adatkértékelésekhez, rendszerint minőségellenőrzési célból, szükség lehet a specifikus kötési értékekre. Erre a B/T értékek használhatók, amelyek számításához a standardok, illetve minták NSB-vel (azaz az S0 beütésszámával) korrigált értékeket osztjuk a total aktivitással az alábbi egyenlet szerint:

$$B/T (\%) = \frac{S_{2-6}/M_x (\text{cpm}) - S_1 (\text{cpm})}{T (\text{cpm})} \times 100$$

A korszerű mérőkészülékek lehetővé teszik a radioaktivitás-mérést követő azonnali ("online") számítógépes adatfeldolgozást is.

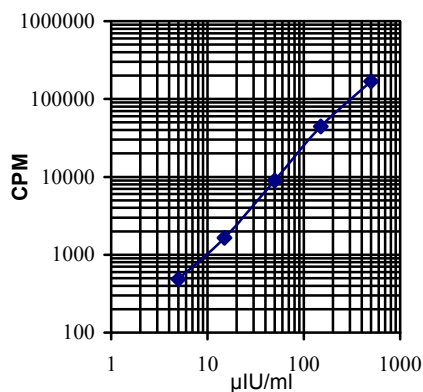
### Folyamatábra, pipetázási kalauz (térfogatok mikroliterben)

	T	S0-S5	C	M
Standard		100		
Ell. szérumban			100	
Minta				100

Tracer	200	200	200	200
Kevertetés, 2 óra szobahőmérsékleten				
Folyadék leöntése, szárítás itató papíron				
Mosópuffer		2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itató papíron				
Mosópuffer		2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itató papíron				
Mosópuffer		2000	2000	2000
Folyadék leöntése, szárítás itató papíron				
Radoaktivitás mérés (min. 60 sec/cső)				
Adatfeldolgozás				

### Jellemző mérési eredmények

Cövek	cpm	Átlag cpm	B/T %	μIU/ml
T	384407 380750 379270	381475		
S0	141 114 117	124	0	
S1	497 470 483	484	0.1	
S2	1663 1662 1624	1650	0.4	
S3	9028 8961 8975	8988	2.4	
S4	44420 43739 44724	44294	11.6	
S5	173001 167052 167520	169191	44.4	
C	6708 6601 6724	6678		40.1



Jellemző standard görbe

## Minőségi jellemzők

### Az assay jellemző paramétere

$$B_{\max}/T\% \quad 45 \pm 10 \%$$

### Kalibráció

A készlet munka-standardjai az NIBSC 66/304 nemzetközi referencia-preparátumra kalibráltak.

### Analitikai érzékenység

Jelen készlettel az analitikai érzékenység a 0-standarddal 15 párhuzamos mérésből meghatározva 0,6 μIU/ml. Értéke egyenlő a 0-standard B+2\*SD kötési értékéhez tartozó koncentrációval.

### Specifitás

Proinzulin 40,0 %  
Marha inzulin 50,3 %

Patkány inzulin 49,0 %

### Ismert mennyiség visszanyerése ("recovery")

Egyéni szérummintákhoz ismert mennyiségű inzulint adva, a visszanyerés (recovery) 72,0 és 101,5 % közöttinek bizonyult.

### Hígítási teszt (linearity)

Egyéni szérumminták nulla standarddal végzett sorozat-hígításakor a várt és a mért koncentráció érték között az eltérés 73,5 és 105,3 % között volt.

### Pontosság és reprodukálhatóság

Az intra-assay pontosságot 15 párhuzamosan egy sorozaton belül, az inter-assay pontosságot 2 párhuzamosan, 16 független mérésben értékelve az alábbi adatokat kaptuk.

Intra-assay		Inter-assay	
átlag (μIU/ml)	CV %	Átlag (μIU/ml)	CV %
5,4	4,2	4,7	17,1
13,8	2,4	20,9	4,5
45	0,8	40,5	2,4
89	4,4	65,0	2,4
149	0,8	102,1	3,2
		152,6	3,2

### Várható referens tartomány

Reggeli érték(éhyomri): 6 - 44 μIU/ml

Nappali érték: 6 - 134 μIU/ml

A megadott referens tartomány csak tájékoztató adatnak tekintendő, és nem helyettesítheti a készletet felhasználó laboratóriumok saját területükre jellemző normálértékének megállapítását.

### Hook effektus

Nem lép fel nagy dózisu hook effektus 2500 μIU/ml inzulin koncentrációig.

### Átszámítás az SI mértékegységről

1 ng/ml = 28,7 μIU/ml

1 nmol/l = 166,69 μIU/ml

1 μIU/ml = 5,99 pmol/l

### Egyéb tudnivalók

A reagensok a gyártástól számítva általában legalább 8 hétig felhasználhatók. A pontos lejárati idő a kísérő bizonylaton és a dobozcímkén van feltüntetve.

Felhívjuk a figyelmet arra, hogy a különböző gyártási számú készletek egyes komponensei nem helyettesíthetők sem egymással, sem más gyártó készletének komponenseivel.

## Biztonsági óvórendszabályok

### Radioaktivitás









A készlet radioaktív anyagot tartalmaz. A felhasználó laboratóriumok felelőssége, hogy munkájuk során ill. a védőcsomagolás esetleges sérülése esetén a radioaktív anyagok tárolására, felhasználására, és kezelésére vonatkozó törvényi szabályozás és hatósági előírások szerint járjanak el.

### Fertőzésveszély

A készletben lévő humán szérumot tartalmazó komponensek előállításához felhasznált szérum HIV-Ab és HBsAg vizsgálatra negatív eredményt adott. Ennek ellenére a humán szérumot tartalmazó komponenseket potenciálisan fertőzőként kell kezelni, és az erre vonatkozó általános laboratóriumi higiénés szabályokat be kell tartani.

## Mérgező anyagok

A készlet komponensei tartósítószerként nátrium-azidot tartalmaznak. A készlet összes nátrium-azid tartalma 45 mg. A nátrium-azid nemcsak mérgező anyag, de belőle rézzel, vagy ólommal érintkezve robbanásveszélyes azidok is keletkezhetnek. A mérgezés a laboratóriumi munkák általános biztonsági előírásainak betartásával kerülhető el. A nehézfém-azidok keletkezésének megakadályozására a nem-radioaktív hulladék reagenset nagy mennyiségű vízzel öblítve juttassuk a csatornahálózatba.

	Lejárati idő	<input type="checkbox"/> LOT	Gyártási szám
	2-8°C-on tárolandó	<input type="checkbox"/> CONTROL	Kontrol
	Vigyázat, lásd kapcsolódó dokumentumok	<input type="checkbox"/> CAL	Standard
	Biológiai veszély	<input type="checkbox"/> TRAC	Tracer
	Lásd használati utasítás	<input type="checkbox"/> WASHB	Mosópuffer
	In vitro diagnosztikai eszköz		
	Gyártó		
<input type="checkbox"/> REF	Katalógus szám		
	Radioaktív anyag		



WEB oldal: <http://www.izotop.hu>

Technikai email: [immuno@izotop.hu](mailto:immuno@izotop.hu)

Kereskedelmi email: [commerce@izotop.hu](mailto:commerce@izotop.hu)

**IZOTOP**

IZOTÓP INTÉZET Kft.

1535 Budapest, Pf.: 851.

Tel.: 392-2577, Fax: 395-9247