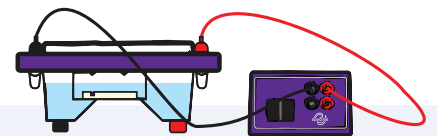


당뇨병 임상진단

Detecting the Silent Killer: Clinical Diagnosis of Diabetes

ED280



☎ 02-929-1110 ✉ info@koreasci.com

🛒 www.koreasci.com

※ 이 문서는 교육적 목적으로만 사용되어야 하며 그 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

실험 목표

전 세계적으로 3억 8천만명이 고혈당으로 발전할 수 있는 만성질환인 당뇨병에 시달리고 있습니다. 유전적 요인과 고칼로리, 낮은 활동량으로 그 수는 계속 증가하고 있습니다. 당뇨병을 조기에 발견하지 않으면 심각한 합병증이 생길 수 있습니다. 이 키트로 학생들은 소변의 포도당 검사와 ELISA를 사용해 환자 세 명의 당뇨병을 진단합니다.

제품 구성품

A	Urinalysis Powder 1	소변 분석 분말 1
B	Urinalysis Powder 2r	소변 분석 분말 2
C	Urinalysis Powder 3	소변 분석 분말 3
D	Diabetic Urine Powder	당뇨병 환자 소변 분말
E	Yellow Dye	노란색 염료
F	10X ELISA Wash Buffer	10X ELISA 세척 완충액
G	ELISA Dilution Buffer	ELISA 희석 완충액
H	Antigen (lyophilized)	항원 (동결건조)
I	Primary Antibody (lyophilized)	1차 항체 (동결건조)
J	Secondary Antibody (lyophilized)	2차 항체 (동결건조)
K	ABTS (lyophilized)	ABTS (동결건조)
L	ABTS Reaction Buffer	ABTS 반응 완충액

- Microtiter plates
- Snap-top Microcentrifuge tubes (1.5 mL)
- Screw-top Microcentrifuge tubes (1.5 mL)
- 15 mL conical tubes
- Transfer pipet

필요 장비 및 준비물

- * 증류수 또는 탈이온수
- * 비커
- * 37°C 인큐베이터
- * 99°C 항온수조
- * 피펫 펌프 또는 피펫 필러
- * 실험용 유리 기구
- * 일회용 실험용 장갑
- * 보안경
- * 권장 사항: 마이크로 피펫 (0-50 μ L, 100-1000 μ L), 피펫팁

배경지식

침묵의 살인자 당뇨병 임상 진단 시뮬레이션

일반적으로 "침묵의 살인자"라고 불리는 당뇨병은 혈액 내 당(포도당) 수치를 증가시키는 만성 질환입니다. 미국 인구의 8.3%가 당뇨병 환자로 추정되며, 그중 700만 명은 진단되지 않은 상태입니다. 또한, 이 질환은 전 세계 수백만 명의 사람들에게 영향을 미치며, 연령에 관계없이 발병합니다.

혈당 수치는 췌장의 베타 세포에서 합성되고 분비되는 호르몬인 인슐린에 의해 조절됩니다. 성숙한 인슐린은 이황화 결합으로 연결된 두 개의 별개의 단백질 사슬로 구성됩니다. 그러나 인슐린은 처음에는 preproinsulin이라는 단일 단백질 사슬로 합성되며, 이는 신호 펩타이드, 카르복실 말단 A 사슬, 아미노 말단 B 사슬, 그리고 두 말단을 연결하는 C-펩타이드의 네 가지 영역으로 구성됩니다 (Figure 1). 아미노 말단의 신호 펩타이드는 preproinsulin이 소포체로 이동하여 인슐린을 처리하도록 돕습니다. 소포체 내에서 신호 펩티다아제라는 효소는 신호 펩타이드를 제거하여 proinsulin을 형성합니다 (Figure 1A). 그 후, A 및 B 사슬 사이에 이황화 결합이 형성됩니다. 다음 절단은 엔도펩티다아제라는 효소에 의해 발생하며, proinsulin에서 C-펩타이드를 제거하여 (Figure 1B) 성숙한 형태의 인슐린을 생성합니다 (Figure 1C).

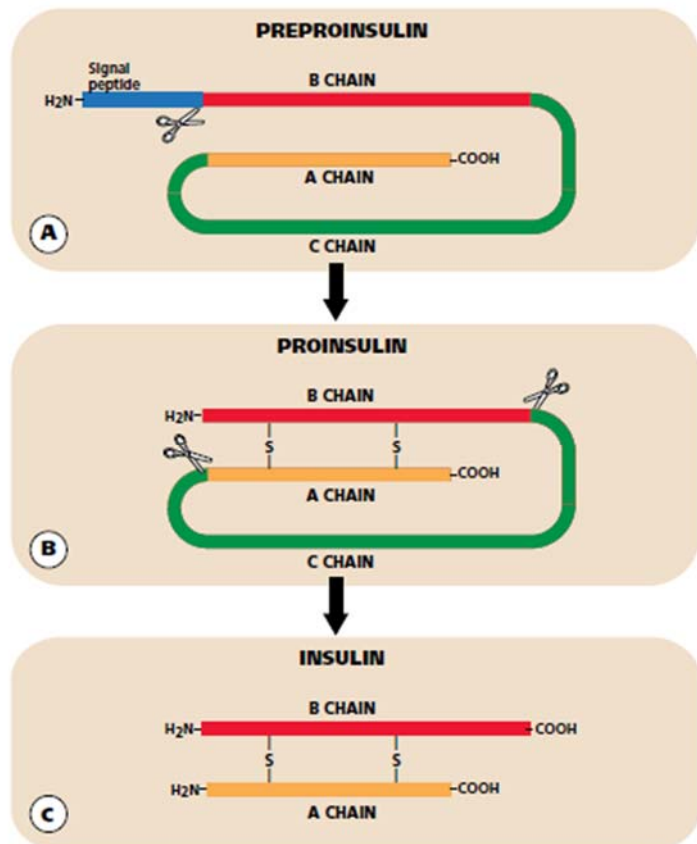


Figure 1: Maturation of Insulin.

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

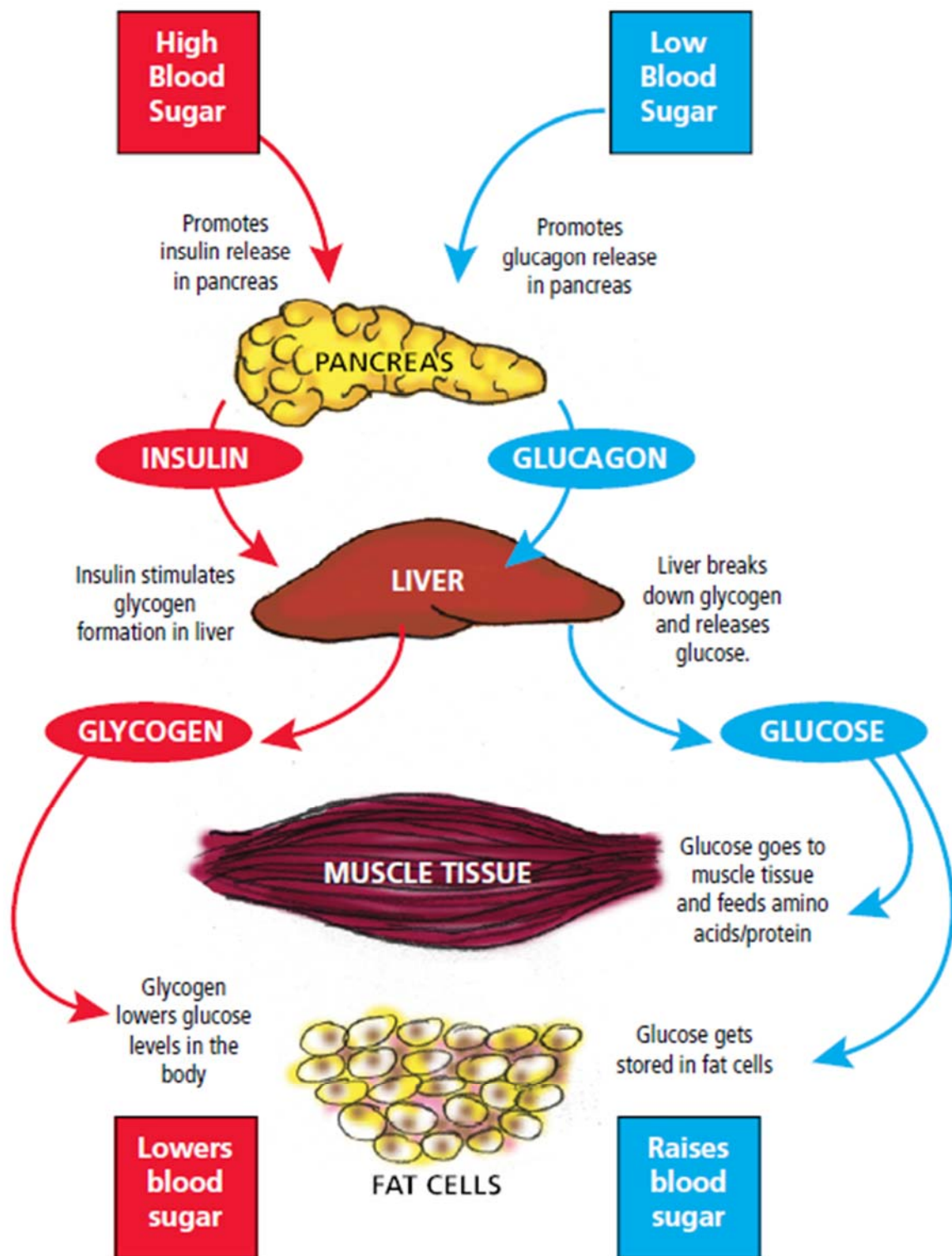


Figure 2: Glucose Homeostasis.

건강한 사람의 경우, 혈당 수치가 상승하기 시작할 때까지 (예: 식후) 인슐린은 췌장에 저장됩니다. 이때 인슐린이 분비됩니다 (Figure 2). 혈류로 들어가면 인슐린은 주변 세포에 포도당을 흡수하라는 신호를 보냅니다 (Figure 3A). 세포는 에너지를 생성하기 위해 즉시 포도당의 일부를 분해합니다. 과잉 포도당은 일반적으로 글리코겐과 트리아실글리세롤의 두 가지 형태 중 하나로 저장됩니다. 포도당 단량체는 글리코겐이라는 분자 다당류 분자로 조립될 수 있으며, 이는 간 및 근육 조직에 저장됩니다. 과잉 포도당은 유리 지방산을 트리아실글리세롤로 전환시켜 지방 조직에 지방으로 저장됩니다. 포도당 수치가 낮을 때, 글루카곤 호르몬은 간, 근육 및 지방 조직에서 저장된 에너지의 방출을 자극합니다 (Figure 2).

당뇨병은 신체가 혈액 내 포도당 수치를 조절할 수 없을 때 발생합니다. 가장 흔한 형태의 당뇨병은 제1형 및 제2형 당뇨병입니다. 제1형 당뇨병은 소아 당뇨병 또는 인슐린 의존성 당뇨병이라고도 하며, 어린 시절에 발생하고 더 심각합니다. 제1형 당뇨병에서는 베타 세포가 점진적으로 자가면역 파괴를 겪고 췌장은 인슐린을 거의 또는 전혀 방출하지 않습니다 (Figure 3b). 이로 인해 신체는 지방 세포에 저장된 지방의 분해에서 파생된 에너지에 의존하기 시작합니다. 케톤은 지방이 대사될 때 부산물로 형성됩니다. 체내에 과도한 케톤은 케톤산증이라는 상태를 초래하며, 이는 당뇨병성 혼수 상태 또는 심지어 사망으로 이어질 수 있습니다. 이를 방지하기 위해 제1형 당뇨병 환자는 적절한 포도당 대사를 위해 매일 인슐린 주사에 의존합니다. 제1형 당뇨병의 증상으로는 과도한 갈증 (다음), 빈뇨 (다뇨), 고혈당 (고혈당증), 피로 및 체중 감소가 있습니다.

제2형 당뇨병은 신체가 인슐린에 내성을 갖거나 췌장에서 충분한 인슐린을 생산하지 않을 때 발생합니다 (Figure 3C). 제2형 당뇨병의 증상은 제1형과 유사하지만, 질병의 느린 진행으로 인해 종종 인식되지 않습니다. 제2형 당뇨병에 걸린 사람은 당뇨병에 대한 유전적 소인이 있을 수 있지

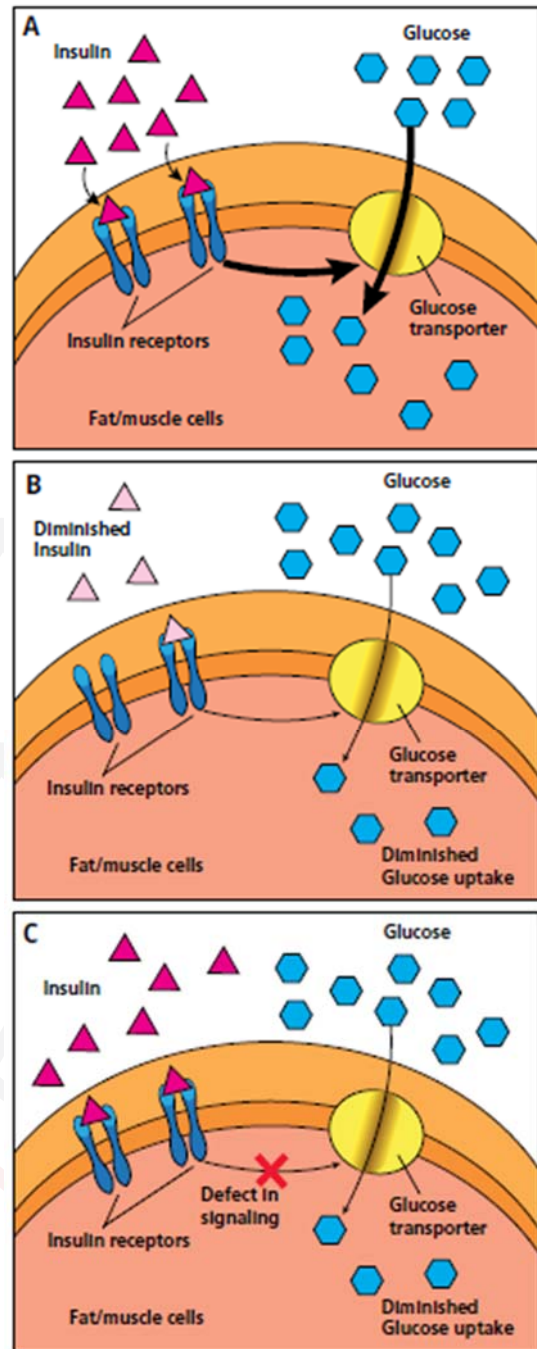


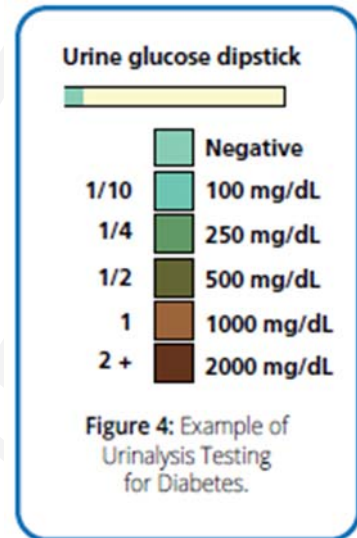
Figure 3: The effect of insulin levels on glucose uptake.

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

만, 건강하지 못한 생활 방식과 같은 환경적 요인도 이 평생 질환의 발병을 유발합니다. 앉아서 생활하는 생활 방식과 패스트푸드점의 편리함으로 인해 40세 이상의 많은 과체중 성인 (>25 BMI) 은 제2형 당뇨병 발병 위험이 높습니다. 제2형 당뇨병 환자 중 일부는 생활 방식 변화를 통해 상태를 조절할 수 있지만, 대부분은 포도당 대사를 위해 매일 인슐린 주사에 의존할 것입니다.

당뇨병 진단

만약 환자가 당뇨병을 시사하는 증상을 경험한다면, 의사는 먼저 환자의 혈당이 높은지 확인합니다. 높은 수준의 포도당은 신장에서 재흡수될 수 없기 때문에 간단한 소변 검사로 혈당 수치를 모니터링할 수 있습니다. 따라서 과잉 포도당은 소변으로 배출됩니다 (당뇨). 환자의 소변 샘플은 포도당 및/또는 케톤의 존재 하에 화학적 변환을 겪어 극적인 색상 변화를 일으키는 시약을 사용하여 분석됩니다. 샘플의 최종 색상은 소변에 존재하는 포도당 수준을 나타냅니다 (Figure 4). 건강한 사람은 공복 혈당 수치가 데시리터당 약 75-100 밀리그램 (mg/dL)입니다. 소변 검사에서 당과 케톤 수치가 상승한 것으로 나타나면 (일반적으로 약 125mg/dL), 공식 진단을 내리기 전에 혈액을 채취하여 추가 분석을 위해 보냅니다.



효소 결합 면역흡착 분석법 (ELISA)은 항체를 사용하여 복잡한 샘플에서 특정 생체 분자 (즉, 펩타이드, 단백질, 항원 및 호르몬)의 존재를 감지합니다. 이 고감도 분석법은 환자의 혈액 샘플에서 C-펩타이드의 존재를 감지할 수 있습니다. 제1형 당뇨병 환자는 인슐린을 전혀 생산하지 않기 때문에 혈액 샘플에서 C-펩타이드가 검출되지 않습니다. 대조적으로, 제2형 당뇨병 환자는 여전히 적은 양의 인슐린을 생산하므로 검사에서 혈액 내 C-펩타이드의 적은 양을 감지합니다. 이러한 방식으로 ELISA를 사용하여 제1형 및 제2형 당뇨병을 구별할 수 있습니다.

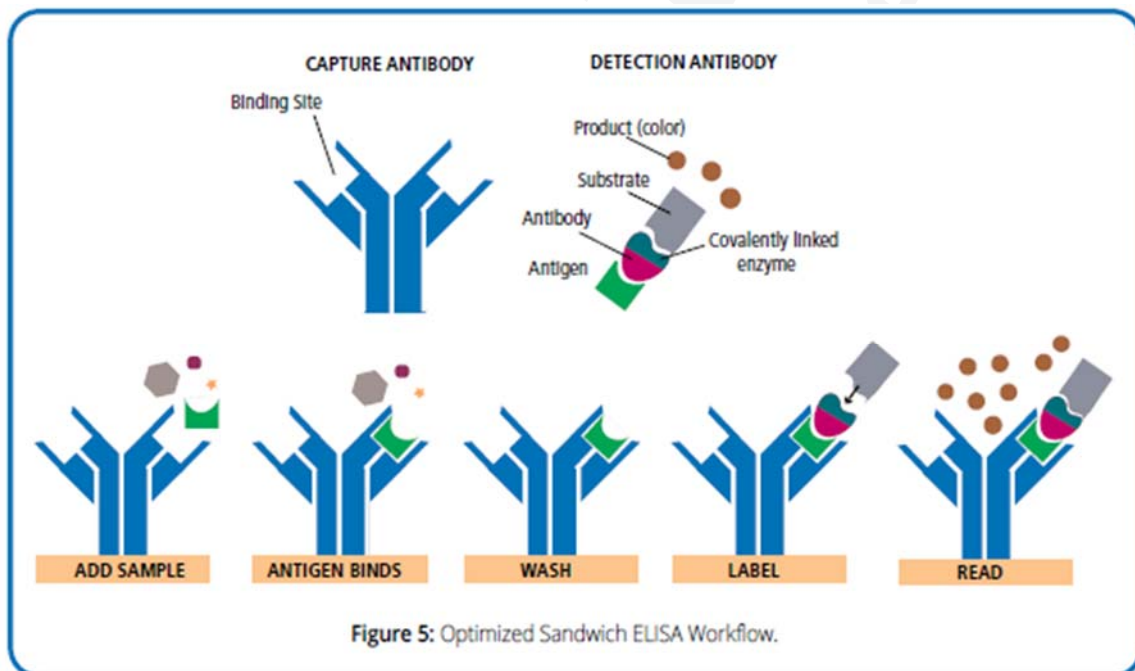
가장 민감한 ELISA 기술 중 하나는 샌드위치 ELISA로, 별도의 두개의 항체를 사용하여 항원을 감지합니다. 하나는 항원을 "포획"하기 위해 플레이트에 결합된 항체이고, 다른 하나는 항원을 감지하는 데 사용됩니다 (Figure 5). 먼저, 포획 항체는 투명한 플라스틱 마이크로 역가 플레이트의 웰에 추가됩니다. 항체는 소수성 및 정전기적 상호 작용을 통해 플라스틱에 비특이적으로 부착됩니다. 결합되지 않은 항체는 비반응성 완충액으로 씻어냅니다. 다음으로, 샘플과 플라스틱 웰 사이의 비특이적 상호 작용을 방지하기 위해 단백질 함유 완충액 (일반적으로 카제인 또는 소 혈청 알부민)으로 웰을 "차단"합니다. 차단 단계 후에 환자 샘플을 웰에 추가합니다. 결합된 항체는 C-펩타이드의 특정 영역 (에피토프라고 함)을 인식하고 비공유 결합합니다. 배양 기간 후에 웰을 세척하여 결합하지 않은 과잉 샘플을 제거합니다.

다음으로, 정제된 검출 항체를 추가하여 항원과 결합하도록 합니다. 짧은 배양 기간 후에, 결합하

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

지 않은 항체는 완충액으로 씻어냅니다. 검출 항체는 항체-항원 복합체의 검출을 가능하게 하는 서양고추냉이 과산화효소(HRP)와 같은 효소에 공유 결합되어 있습니다. 과산화수소와 ABTS(2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid))를 포함하는 투명하고 무색의 기질 용액을 각 웰에 추가합니다. 2차 항체가 존재하는 웰에서 HRP는 과산화수소를 $H_2O + O_2$ 로 변환합니다. 이것은 ABTS를 산화시켜 투명한 기질 용액을 녹색으로 바꿉니다. HRP는 1초당 10^6 개 이상의 기질 전환율을 가진 높은 촉매 활성을 가지므로 아주 적은 양의 C-펩타이드도 빠르게 감지할 수 있습니다.

다음 실험은 의사가 제1형 또는 제2형 당뇨병을 진단하기 위해 수행하는 의료 검사를 시뮬레이션합니다. 환자의 병력을 수집한 후(모듈 I), 학생들은 환자의 모의 소변 샘플을 받아 화학 시약을 사용하여 당뇨병 및 비당뇨병 상태를 구별합니다(모듈 II). 실험의 마지막 부분(모듈 III)에서 학생들은 ELISA를 사용하여 환자 샘플에서 C-펩타이드의 존재를 감지합니다. 세 가지 모듈에서 수집된 데이터를 통해 학생들은 환자를 건강, 제1형 또는 제2형 당뇨병으로 진단할 수 있습니다.



★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

실험전 준비

모듈 I: 환자 병력

- 모듈 I의 환자 병력 페이지를 인쇄하거나 복사합니다.
- 학생들은 제공된 표 또는 학생 노트에 있는 유사한 표에 환자 병력을 기록합니다.

모듈 II: 소변 포도당 검사

포도당 검사 시약 준비:

1. 150mL 비커에 튜브 A와 B를 50mL 증류수에 녹입니다.
2. 별도의 비커에 튜브 C를 25mL 증류수에 녹입니다.
3. 성분 C 용액 전체를 튜브 A/B 용액이 담긴 비커에 천천히 넣습니다. 잘 섞어줍니다.
4. 포도당 검사 시약 6mL를 15mL 튜브에 분배합니다. 각 학생 그룹은 하나씩 받습니다.

모의 소변 샘플 준비:

1. 1.5mL 스크류 캡 미세 원심분리 튜브 50개에 다음과 같이 라벨을 붙입니다.
 - a. 10개 - 양성 대조군 (+)
 - b. 10개 - 음성 대조군 (-)
 - c. 10개 - 환자 1 (P1)
 - d. 10개 - 환자 2 (P2)
 - e. 10개 - 환자 3 (P3)
2. 작은 플라스크 또는 비커에 튜브 E를 증류수 6ml에 녹입니다.
3. 음성 대조군 및 환자 1 샘플 튜브 각각에 100 μ L 용액을 분배합니다.
4. 남은 용액에 튜브 D를 녹입니다. 잘 섞어줍니다.
5. 양성 대조군, 환자 2 및 환자 3 튜브 각각에 100 μ L 용액을 분배합니다.

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

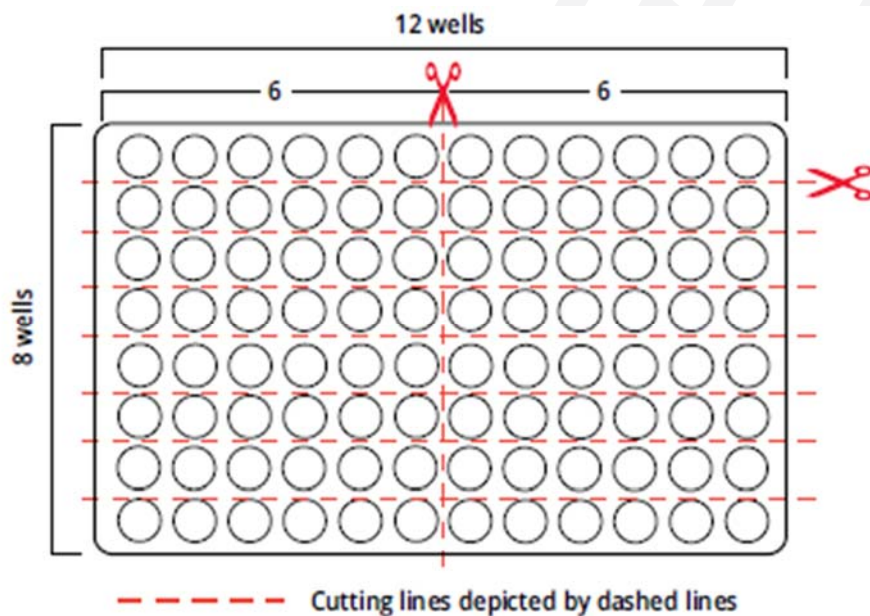
각 학생 그룹은 다음 물품을 받아야 합니다.

1. 포도당 검사 시약 6mL가 담긴 15mL 코니컬 튜브 1 개
2. 대조군 및 환자 샘플 (+, -, P1, P2, P3) 100 μ L가 담긴 1.5mL 스크류 캡 미세 원심분리 튜브 5 개
3. 작은 피펫 1 개

모듈 III: ELISA

마이크로타이터 플레이트 준비

8 x 12 웰 마이크로타이터 플레이트를 조심스럽게 잘라 (아래 그림 참조) 6 웰 조각 16 개를 만듭니다. 각 그룹은 1 개 조각을 받게 됩니다.



세척 완충액 준비

1. 10x ELISA 세척 완충액 (튜브 F) 전체를 증류수 180 mL에 넣고 잘 섞습니다. "세척 완충액"으로 표시합니다.
2. 각 실험 그룹을 위해 작은 비커에 18 mL씩 분배합니다.

"부착 항체" 준비

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

1. ELISA 희석 완충액 (튜브 G) 7 mL 를 15 mL 코니컬 튜브에 옮깁니다. 튜브에 "항원"이라고 표시합니다.
2. 동결건조 항원 (튜브 H) 바이알의 마개를 조심스럽게 제거하고 위의 1 단계 튜브에서 ELISA 희석 완충액 약 0.5 mL 를 옮깁니다. 마개를 닫고 바이알을 부드럽게 흔들어 섞습니다.
3. 재구성된 항원의 전체 내용물을 1 단계의 15 mL 튜브에 다시 옮깁니다. 잘 섞습니다.
4. 10 개의 마이크로 원심분리 튜브에 "CAP"이라고 표시하고 각 튜브에 650 μ L 씩 분배합니다.

환자 및 대조군 샘플 준비

1. 50 개의 1.5 mL 원심분리 튜브에 다음과 같이 라벨을 붙입니다.
 - a. 10 개 - 양성 대조군 (+)
 - b. 10 개 - 음성 대조군 (-)
 - c. 10 개 - 환자 1 (P1)
 - d. 10 개 - 환자 2 (P2)
 - e. 10 개 - 환자 3 (P3)
2. 음성 대조군 (-) 및 환자 2 (P2) 튜브에 ELISA 희석 완충액 (튜브 G) 100 μ L 를 분배합니다.
3. ELISA 희석 완충액 7 mL 를 15 mL 코니컬 튜브에 옮깁니다. 튜브에 "1°AB"라고 표시합니다.
4. 동결건조 1차 항체 (튜브 I) 바이알의 마개를 조심스럽게 제거하고 3 단계 튜브에서 ELISA 희석 완충액 약 0.5 mL 를 옮깁니다. 마개를 닫고 바이알을 부드럽게 흔들어 섞습니다.
5. 재구성된 1차 항체의 전체 내용물을 1 단계의 15 mL 튜브에 다시 옮깁니다. 잘 섞습니다.
6. 양성 대조군 (+), 환자 1 (P1) 및 환자 3 (P3) 튜브에 1차 항체 100 μ L 를 분배합니다.

검출 항체 준비

(실험 당일에 필요에 따라 준비하십시오.)

1. ELISA 희석 완충액 (튜브 G) 7 mL 를 15 mL 코니컬 튜브에 옮깁니다. 튜브에 "2°AB"라고 표시합니다.

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

2. 동결건조된 2 차 항체 (튜브 J) 바이알의 마개를 조심스럽게 제거하고 1 단계 튜브에서 ELISA 희석 완충액 약 0.5 mL 를 옮깁니다. 마개를 닫고 바이알을 부드럽게 흔들어 섞습니다.
3. 재구성된 2 차 항체의 전체 내용물을 1 단계의 15 mL 튜브에 다시 옮깁니다. 잘 섞습니다.
4. 10 개의 마이크로 원심분리 튜브에 "DET"라고 표시합니다. 튜브당 650 μ L 씩 분배합니다.

ABTS 기질 준비

1. ABTS 반응 완충액 (튜브 L) 10 ml 를 15 mL 코니컬 튜브에 옮깁니다. 튜브에 "ABTS"라고 표시합니다.
2. 동결건조된 ABTS (튜브 K) 바이알의 마개를 조심스럽게 제거하고 1 단계 튜브에서 ABTS 약 0.5 mL 를 옮깁니다. 마개를 닫고 바이알을 부드럽게 흔들어 섞습니다.
3. 10 개의 마이크로 원심분리 튜브에 "SUB"라고 표시합니다. 튜브당 650 μ L 씩 분배합니다.

모듈 III 실험을 위한 학생 그룹별 준비물:

6-well microtiter plate 1 개

세척 버퍼(wash buffer) 약 18mL 가 담긴 비커 1 개

대조군 및 환자 샘플 (+, -, P1, P2, P3) 100 μ L 씩 담긴 튜브 5 개 (뚜껑이 있는 마이크로 원심분리 튜브)

흡착 항체 Capture Antibody (CAP) 650 μ L 가 담긴 튜브 1 개 (뚜껑이 있는 마이크로 원심분리 튜브)

실험 당일 준비된 탐지항체 Detection Antibody (DET) 650 μ L 가 담긴 튜브 1 개 (뚜껑이 있는 마이크로 원심분리 튜브)

ABTS Substrate (SUB) 650 μ L 가 담긴 튜브 1 개 (뚜껑이 있는 마이크로 원심분리 튜브)

작은 피펫(transfer pipet) 9 개

마이크로피펫 및 피펫팁 (선택 사항)

"폐기물"이라고 표시된 빈 비커 또는 튜브 1 개

모듈 1: 환자 기록

실험 전 환자 병력을 검토

세 명의 환자는 의사에게 찾아가 검진했으며, 다음과 같은 증상이 확인되었습니다.

환자 1: 50 세 남성, 평균 체중, 과도한 배뇨 증상. 환자는 매우 활동적입니다. 마지막 건강검진에서 고혈압이 나타났습니다.

환자 2: 12 세 여성, 저체중, 과도한 갈증 및 급격한 체중 감소 증상. 부모는 아이가 수업 중에 자주 잠든다고 보고했습니다.

환자 3: 50 세 남성, 과체중, 과도한 배뇨 증상. 환자는 주로 앉아서 생활합니다. 마지막 건강검진에서 혈당이 경계선상에 있음이 나타났습니다.

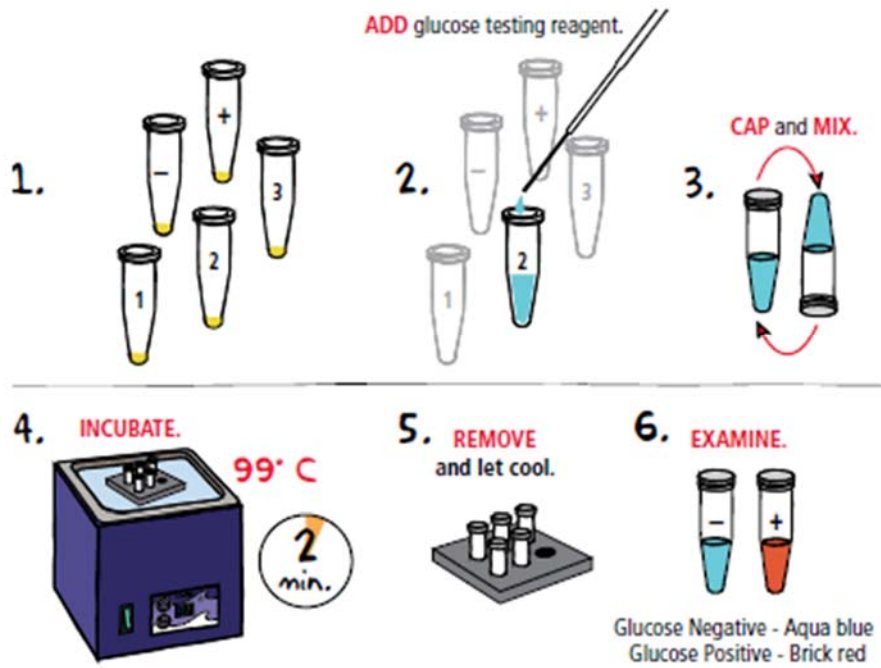
각 환자는 여러 증상을 보이며, 일부는 당뇨병을 나타내는 증상입니다. 이러한 증상 때문에 주치의는 진단을 내리기 전에 추가 검사를 권장했습니다. 의료 검사를 수행하기 전에 표 1 에 당뇨병을 시사하는 증상을 기록하십시오.

환자가 추가 검사를 위해 도착하면 분석을 위해 소변 샘플(모듈 II)과 혈액 샘플(모듈 III)을 제공합니다. 실제로 환자들은 당뇨병 검사 전 12 시간 동안 금식해야 합니다. 이를 통해 의사는 환자의 기준 혈당 수치를 설정할 수 있습니다. 환자가 검사 직전에 식사를 하면 신체의 음식 반응으로 인해 혈당 수치가 높아집니다. 이는 고혈당의 존재를 숨길 수 있습니다.

표 1: 환자 진료 기록

	증상	소변검사	ELISA	진단
환자 1				
환자 2				
환자 3				

모듈 II : 소변 포도당 검사



1. 선생님께서 환자 샘플을 받습니다. 샘플은 다음과 같이 표시되어야 합니다:

(-) 음성 대조군

(+) 양성 대조군

(1) 환자 1

(2) 환자 2

(3) 환자 3

2. 각 시험관에 포도당 검사 시약 750 μ L 를 넣습니다.

3. 뚜껑을 닫고 샘플을 뒤집어 섞습니다.

4. 샘플을 99°C 항온 수조에서 2 분 동안 배양합니다.

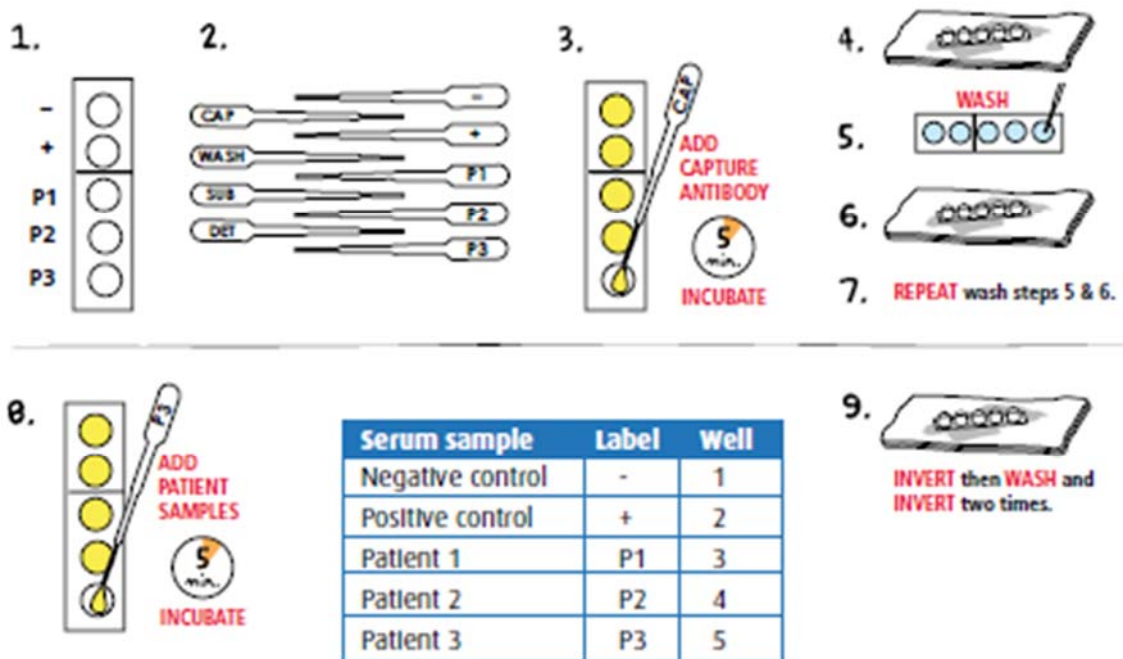
5. 수조에서 샘플을 조심스럽게 꺼내 실험대 위에 올려 식힙니다.

6. 샘플을 관찰합니다. 음성 샘플은 파란색을 유지하고 양성 샘플은 빨간 벽돌색으로 변합니다. 결과를 이전 페이지 표 1 환자 진료기록에 기록합니다.

참고: 샘플에 갈색 침전물이 나타날 수 있습니다. 샘플을 잘 섞어 데이터 분석을 진행하세요. 결과에 영향을 미치지 않습니다.

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

모듈 III : ELISA 를 이용한 C-Peptide 탐지



- 그림과 같이 마이크로타이터 플레이트의 각 웰에 샘플을 기록합니다.
- 그림과 같이 피펫에 아래 ()안의 문자를 기록합니다. 이 피펫은 해당 웰에서만 샘플을 추가하고 제거하는 데 사용됩니다.

- (-) 음성 대조군 (CAP) 포획 항체용
- (+) 양성 대조군 (WASH) 세척 완충액용
- (P1) 환자 1 (SUB) 기질용
- (P2) 환자 2 (DET) 검출 항체용
- (P3) 환자 3

- 모든 웰에 50 μ L의 부착 항체 용액 (CAP)을 추가합니다. (피펫을 사용하는 경우 3방울이 약 50 μ L입니다.) 플레이트를 실온에서 5분 동안 배양합니다.
- 싱크대 또는 종이 타월 위에 스트립을 뒤집어 샘플을 제거합니다. 새 종이 타월에 스트립을 4-5회 부드럽게 두드리세요. 젖은 종이 타월은 버립니다.
- WASH 피펫을 사용하여 각 웰에 세척 완충액을 가득 채우되, 너무 많이 채우지 않도록 주의합니다..

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

참고: 교차 오염을 최소화하려면 완충액이 주변 웰에 넘어가지 않도록 하는 것이 중요합니다.

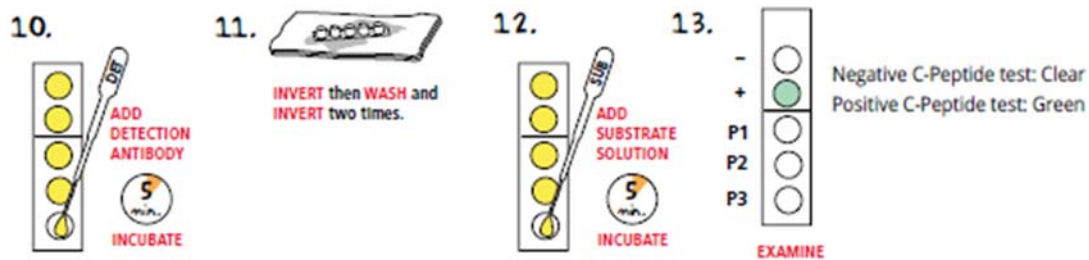
6. 4 단계를 반복하여 세척 완충액을 제거합니다.

7. 동일한 피펫을 사용하여 세척을 두 번째로 반복하고 새 종이 타월에 스트립을 뒤집어 두드립니다.

8. 적절한 피펫을 사용하여 각 대조군 및 환자 샘플 50 μ L 를 해당 웰에 넣습니다. (위 표 참조). 플레이트를 실온에서 5 분 동안 배양하세요.

9. 종이 타월에 뒤집어 두드립니다. 4-7 단계와 같이 웰을 두 번 세척합니다

*선택적 중단 지점: 밤새 보관하려면 각 웰에 200 μ L 의 PBS 를 추가합니다. 샘플을 조심스럽게 덮고 플레이트를 실온에 둡니다. 실험은 다음 실험 시간에 재개해야 합니다. 10 단계를 계속하기 전에 PBS 를 제거합니다.



10. 각 well 에 50 μ L 의 탐지 항체 용액 (DET)을 첨가합니다. 플레이트를 실온에서 5 분간 배양합니다.

11. 종이 타월에 뒤집어 가볍게 두드립니다.

4-7 단계와 같이 well 을 두 번 세척합니다.

12. 각 well 에 50 μ L 의 기질 용액 (SUB)을 첨가합니다. 플레이트를 실온에서 5 분간 배양합니다.

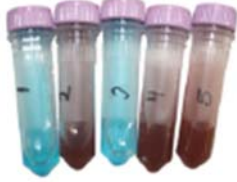
13. 결과를 확인합니다. 음성 테스트는 투명하게 유지되고 양성 테스트는 녹색으로 나타납니다.

11 페이지의 표 1 에 결과를 기록합니다.

★ 이 문서의 사용은 교육적인 목적으로만 사용되어야 하며 권리는 EDVOTEK, Inc. 에 있습니다.

실험결과: 모듈 II

MODULE II:



Sample	Color	Interpretation
Negative Control (-)	Blue	Glucose absent
Positive Control (+)	Brick Red	Glucose present
Patient 1 (P1)	Blue	Glucose absent
Patient 2 (P2)	Brick Red	Glucose present
Patient 3 (P3)	Brick Red	Glucose present

환자의 소변에서 갈색으로 나타나는 포도당의 존재(present)는 환자의 혈당이 높다는 것을 의미합니다. 당뇨병 진단을 위한 추가 검사가 권장됩니다.

실험결과: 모듈 II



Sample	Color	Interpretation
Negative Control (-)	Clear	C-peptide absent
Positive Control (+)	Green	C-peptide present
Patient 1 (P1)	Green	C-peptide present
Patient 2 (P2)	Clear	C-peptide absent
Patient 3 (P3)	Green	C-peptide present

환자의 혈액에서 녹색으로 나타나는 C-Peptide 의 존재는 환자가 인슐린을 생산하고 있음을 의미합니다. 고혈당 환자의 경우 C-Peptide 가 없으면(absent) 제 1 형 당뇨병을, 있으면(present) 제 2 형 당뇨병을 나타냅니다.