

Isletest™-GAD

REF 7009

Qualitativer ELISA-Test zum Nachweis
zirkulierender Autoantikörper
gegen GAD-Antigene

Februar 2018



I. VERWENDUNGSZWECK

Isletest-GAD ist ein qualitativer *in vitro* ELISA-Test (heterogener Enzym-Immunoassay) zum Nachweis zirkulierender Antikörper gegen Glutamat-Decarboxylase (GAD)-Antigene bei prädiabetischen Personen mit hohem Risiko sowie Typ I-Diabetikern.

II. HINTERGRUND

Der Insulin abhängige Diabetes mellitus (IDDM), Typ I, wird durch eine Autoimmunreaktion mit Zerstörung der Beta-Zellen des Pankreas verursacht (1,2). Bei dieser selektiven Autoimmunkrankheit kommt es zu einer vollständigen Einstellung der Insulinausschüttung. Der immunologische Nachweis wurde durch Vorhandensein spezifischer Inselzellautoantikörper in den Patientenserum von Typ I-Diabetikern geliefert (3). Drei Autoantikörper gegen antigene Komponenten der Inselzellen wurden bereits bei Typ I-Diabetikern nachgewiesen. Diese Autoantikörper sind spezifisch gegen eine oder mehrere antigene Komponenten (4) der Inselzellen, Glutamat-Decarboxylase (5) und Insulin (6) gerichtet.

Glutamat-Decarboxylase (GAD) ist das biosynthetische Enzym für den inhibitorischen Neurotransmitter Gamma-Aminobuttersäure (GABA) (7). Zwei Formen der GAD mit Molekulargewichten von 65 kDa und 67 kDa werden von demselben Gen produziert und sind homogen (8-10). 65 kDa GAD und 67 kDa GAD können in Hirn- und Inselzellen nachgewiesen werden, wobei Unterschiede in der Expression von GAD im Pankreas von Mensch, Ratte und Maus vorliegen (11,12).

Da es sich bei Diabetes um eine chronische Autoimmunkrankheit handelt, die mit einer Zerstörung der Beta-Zellen einhergeht, ist eine frühe und genaue Vorhersage des Krankheitsbeginns im präklinischen (asymptomatischen) Stadium entscheidend. So kann gegen die Zerstörung der Inselzellen eingeschritten und die maximal mögliche Beta-Zellmasse erhalten werden. Screenings von Bevölkerungsgruppen mit hohem Risiko in Bezug auf alle drei Autoantikörper (ICA, IAA und GAD) tragen dazu bei, den Ausbruch der Krankheit zu verzögern oder ganz zu verhindern. Eine (asymptomatische) Bevölkerungsgruppe mit hohem Risiko, bei der zwei oder mehr Autoantikörper nachgewiesen werden, wird mit hoher Wahrscheinlichkeit in den nächsten 5 - 7 Jahren einen Typ I-Diabetes entwickeln (13, 14).

III. TESTPRINZIP

Die Vertiefungen der Mikrotiterplatte wurden mit einem gereinigten GAD-Antigen beschichtet. In der Serumprobe vorhandene GAD-spezifische IgG-Antikörper reagieren mit dem Antigen. Überschüssige bzw. nicht gebundene Serumproteine werden aus den Vertiefungen der Mikrotiterplatte gewaschen. Ein enzymbeladener (alkalische Phosphatase) Ziege-Antikörper, spezifisch gegen humanes IgG, wird dem GAD-Antikörperkomplex hinzugefügt. Nach dem Auswaschen des überschüssigen, nicht-reagierenden Enzymkonjugats aus den Vertiefungen der Mikrotiterplatte wird ein Substrat (PNPP) hinzugefügt und die entstehende Farbe spektrophotometrisch gemessen. Die Farbintensität gibt direkten Aufschluss über die Konzentration von GAD-Autoantikörpern in der Serumprobe. Eine GAD-positive und GAD-negative Kontrolle dienen als interne Qualitätssicherung und gewährleisten gültige Ergebnisse.

IV. WARNHINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. Material mit möglicher Gesundheitsgefährdung

Die Matrix der Kalibratoren und Kontrollen besteht aus Humanserum. Die verwendeten Humansen ergaben bei der Prüfung auf HbsAg bzw. Antikörper gegen HIV-1/2 und HCV mit von der amerikanischen Nahrungsmittel- und Drogenbehörde (FDA) lizenzierten Reagenzien ein negatives Ergebnis. Da es jedoch kein Testverfahren gibt, das das Vorhandensein von HIV, Hepatitis B Virus oder anderen infektiösen Erregern mit absoluter Sicherheit ausschließen kann, sind die Reagenzien als potentiell infektiöses Material zu behandeln.

2. Natriumazid

Einige Reagenzien enthalten Natriumazid als Konservierungsmittel. Natriumazid kann mit Blei, Kupfer oder Messing explosive Metallazide bilden. Bei der Entsorgung dieser Materialien sind die speziellen Richtlinien zu beachten.

3. Stopplösung

Bei der Stopplösung handelt es sich um 1N NaOH. Beim Umgang mit dieser starken Base ist Vorsicht geboten. Sie kann Verätzungen verursachen und sollte nur mit Handschuhen angefasst werden. Empfehlenswert sind darüber hinaus Schutzkleidung und Schutzbrille, ein Einatmen ist zu vermeiden. Verschüttete Säure sollte zunächst mit Wasser verdünnt werden, bevor sie mit Papiertüchern aufgenommen wird.

4. Substratlösung

Substratlösung besteht aus para-Nitrophenylphosphaten (PNPP), einem chromogenen Nicht-Protein-Substrat, das in diesem ELISA-Test verwendet wird. Gelegentlich kann das Substrat eine gelbliche Farbe aufweisen. Diese Farbe beeinträchtigt nicht die Testergebnisse.

Vorsichtsmaßnahmen

1. Die Testreagenzien dürfen nicht eingefroren werden. Alle Testkit-Komponenten sind ständig bei 2 - 8° C zu lagern.
2. Positive und negative Kontrollen müssen in jedem Testlauf mitgeführt werden.
3. Es sollten nur klare Serumproben verwendet werden. Übermäßig getrübe, hämolytische oder mikrobiell kontaminierte Proben dürfen nicht verwendet werden.
4. Alle Proben sind in Doppelbestimmung zu analysieren.

5. Reagenzien aus verschiedenen Chargen dürfen nicht gemischt werden.
6. Reagenzien mit abgelaufenem Haltbarkeitsdatum dürfen nicht mehr verwendet werden.
7. Reagenzien nicht über einen längeren Zeitraum bei Raumtemperatur aufbewahren.
8. Die Substratlösung ist im Dunkeln aufzubewahren.
9. Ein sorgfältiges Pipettierverfahren ist notwendig, um reproduzierbare und genaue Ergebnisse zu erzielen.

V. REAGENZIEN UND MATERIALIEN

Im Lieferumfang enthaltene Materialien:

1. **PLA GAD** = GAD-Mikrotiterstreifen (mit Halterung) 12
2. **CONJ ENZ 6X** = GAD-Enzymkonjugat (Konz.) 2 x 1,0 ml
3. **DIL SPE 5X** = Isletest-Probenverdünnungspuffer (Konzentrat) .. 1 x 25,0 ml
4. **CONJ ENZ DIL** = Isletest-Konjugatverdünnungspuffer 1 x 10,0 ml
5. **CAL GAD 1-3** = GAD-Kalibratoren (1,2,3) (Humanserum) 1 x 1,5 ml
6. **CRTL + GAD** = GAD-Positivkontrolle (Humanserum) 1 x 1,5 ml
7. **CRTL - GAD** = GAD-Negativkontrolle (Humanserum) 1 x 1,5 ml
8. **SUBS PNPP** = Isletest-Substratlösung (PNPP) 1 x 15,0 ml
9. **BUF WASH 25X** = Isletest-Waschpuffer (Konzentrat) 1 x 20,0 ml
10. **SOLN STP** = Isletest-Stoppplösung (1N NaOH) 1 x 6,0 ml

VI. WEITERE ERFORDERLICHE, NICHT IM LIEFERUMFANG ENTHALTENE MATERIALIEN

1. Destilliertes oder deionisiertes Wasser.
2. Zellstoff zum Trocknen der Streifen nach dem Waschen sowie Parafilm bzw. Plastikfolie zum Abdecken der Streifen während der Inkubation.
3. Glasröhrchen in passenden Größen zur Serumverdünnung.
4. Mikropipetten mit auswechselbaren Spitzen 10 µl, 50 µl und 100 µl.
5. Ein Plattenwaschgerät oder eine Spritzflasche zum Waschen der Mikrotiterplatten.
6. 5-ml-Pipetten zum Pipettieren von Konjugatverdünnungspuffer.
7. Ein 500-ml-Messzylinder.
8. Mikrotiterplatten-Lesegerät mit einer Absorptionskapazität von 405 nm.
9. Plastiketikettierband zum Verschließen unbenutzter Vertiefungen vor dem Test.

VII. PROBENGEWINNUNG

5-10 ml Blut werden durch Venenpunktion entnommen und in einem Gerinnungsröhrchen (roter Verschluss) gesammelt. Serumseparatoren können verwendet werden. Das Serum wird durch Zentrifugation gewonnen. Serumproben bei 2 - 8° C lagern. Übermäßig hämolytische Proben sowie Proben, die große Gerinnsel enthalten oder durch mikrobielles Wachstum kontaminiert sind, können die Testergebnisse beeinflussen. Wenn die Serumproben nicht innerhalb von 24 Stunden bestimmt werden können, sind sie bei -20°C einzufrieren.

VIII. VORBEREITUNG DER REAGENZIEN UND LAGERUNG

1. Rekonstitution des GAD-Enzymkonjugats:

Exakt 5 ml des Konjugatverdünnungspuffers werden in eine Flasche, die 1,0 ml des Enzymkonjugats (Konzentrat) enthält, überführt. Flasche verschließen und Inhalt durch mehrfaches Umkehren der Flasche gründlich mischen. Verdünntes Konjugat bis zur Verwendung bei 2 - 8°C lagern. Datum der Rekonstitution auf dem Etikett vermerken. **Verdünntes Reagenz 30 Tage nach**

Rekonstitution nicht mehr verwenden. Jede Flasche enthält ausreichend Konjugat für 6 Mikrotiterstreifen. Rekonstitution nach Bedarf.

2. Isletest-Probenverdünnungspuffer:

Falls das Probenverdünnungspuffer-Konzentrat aufgrund einer Lagerung bei Temperaturen unterhalb von 2 °C - 8 °C einen Niederschlag (Präzipitat) enthält, muss dies in einem Wasserbad bei 37 °C für 30 Minuten wieder gelöst werden. Gesamten Inhalt (25 ml) in ein geeignetes Gefäß mit 100 ml destilliertem/deionisiertem Wasser geben. Gründlich mischen, Gefäß mit "Isletest-Probenverdünnungspuffer" beschriften und bei 2 - 8°C lagern. Das verdünnte Reagenz ist bis zu dem auf der Flasche angegebenen Verfallsdatum haltbar. Beachten Sie, dass der möglicherweise im Konzentrat enthaltene Niederschlag keinen Einfluss auf die Testdurchführung hat und in der 1X-Arbeitslösung nicht mehr vorhanden ist.

3. Isletest-Waschlösung:

Sind aufgrund einer Lagerung bei niedrigen Temperaturen (2 bis 8 °C) Kristalle im Waschpuffer-Konzentrat vorhanden, sind die Kristalle durch ein 30-minütiges Platzieren des Gefäßes in ein 37 °C-Wasserbad oder einen Inkubator aufzulösen. Gesamten Inhalt in ein 500-ml-Gefäß mit 480 ml destilliertem/deionisiertem Wasser geben. Gründlich mischen, Gefäß mit "Isletest-Waschlösung" beschriften und bei 2 - 8°C lagern. Das verdünnte Reagenz ist bis zu dem auf der Flasche angegebenen Verfallsdatum haltbar.

4. Vorbereitung der Serumprobe:

Exakt 10 µl (0,010 ml) der Serumprobe werden in 1,0 ml des Probenverdünnungspuffers in ein bereits etikettiertes Glasröhrchen pipettiert. Gründlich mischen.

IX. TESTVERFAHREN

Das Testkit enthält 12 mit gereinigten GAD-Antigenen beschichtete Mikrotiterstreifen. Die Anzahl der in jedem Assay verwendeten Mikrotiterstreifen hängt von der zu testenden Anzahl Serumproben ab. Wenn 12 Mikrotiterstreifen verwendet werden, können mit diesem Testkit insgesamt 42 Patientenseren in Doppelbestimmung getestet werden.

WICHTIGER HINWEIS: Vor Testbeginn müssen alle Reagenzien einschließlich Serumproben auf Raumtemperatur (25°C) gebracht werden. Inkubationstemperaturen, die um mehr als ± 1°C abweichen, beeinflussen nachgewiesenermaßen die Ergebnisse.

1. Die für den Test benötigte Anzahl an Streifen in die mitgelieferte Halterung einsetzen. Die Mikrotiterstreifen müssen an der dafür vorgesehenen Stelle fest einrasten, da sie ansonsten hinausfallen und zerbrechen können.
2. Machen Sie sich mit dem Indexsystem der Vertiefungen vertraut, z.B. A1, B1, C1, D1 usw. Verwendet Streifen mit wasserfestem Stift markieren.
3. 100 µl (0,1 ml) Kalibrator, Positiv und Negativkontrolle sowie die verdünnten Serumproben in die entsprechenden Vertiefungen der Mikrotiterplatte pipettieren. Die Vertiefungen A1 und B1 sind für Serumverdünnungspuffer reserviert und enthalten keine Probe.
4. Platte mit Parafilm oder Plastikfolie abdecken, um eine Kontamination zu vermeiden, und 1 Stunde bei Raumtemperatur (25°C ± 1°C) inkubieren.

5. Flüssigen Inhalt der Mikrotiterplatte nach einstündiger Inkubation ordnungsgemäß entsorgen und Platte vorsichtig auf einem Zelltuch trocken klopfen. Falls ein automatisches Waschgerät verwendet wird, jede Vertiefung dreimal mit 300 µl (0,3 ml) Waschpuffer waschen. Bei Verwendung einer Spritzflasche Vertiefungen sorgfältig mit Waschpuffer füllen und Puffer aus den Vertiefungen wegschütten. Während des Waschvorgangs ist eine Luftbildung in den Vertiefungen zu vermeiden. Waschvorgang zwei Mal wiederholen (insgesamt 3 Waschvorgänge). Platte nach jedem Waschvorgang auf einem Zelltuch trocken klopfen.
6. 100 µl (0,1 ml) rekonstituiertes Enzymkonjugat (siehe VIII. Vorbereitung der Reagenzien und Lagerung, Punkt 1) in jede Vertiefung pipettieren, mit Ausnahme der Vertiefungen A1 und B1.
7. Platte mit Parafilm oder Plastikfolie abdecken und 1 Stunde **im Dunkeln** bei Raumtemperatur (25°C ± 1°C) inkubieren lassen.
8. Mikrotiterplatten nach Abschluss der Inkubation dreimal wie oben beschrieben waschen (vgl. Punkt 5).
9. 100 µl (0,1 ml) Substratlösung in alle Vertiefungen der Mikrotiterplatte, einschließlich der Vertiefungen A1 und B1, pipettieren. Es sollte sichergestellt werden, dass das Substratreagenz schnell und ohne Unterbrechung pipettiert wird. Gelegentlich kann das Substrat eine gelbliche Farbe aufweisen. Diese Farbe beeinträchtigt nicht die Testergebnisse.
10. Platte abdecken und 30 Minuten im Dunkeln bei Raumtemperatur (25°C ± 1°C) stehen lassen.
11. 30 Minuten nach Zugabe des Substrats 50 µl (0,05 ml) Stopplösung schnell und ohne Unterbrechung in alle Vertiefungen pipettieren.
12. Mikrotiterplatten-Lesegerät auf Leerwert einstellen und Absorption für alle Vertiefungen der Platte bei 405 nm messen. Die Vertiefung A1 bzw. B1 können zur Leerwerteinstellung des Lesegeräts verwendet werden. Sie enthalten keine Probe und kein Konjugat, nur Substratreagenz und Stopplösung.
13. Daten gemäß Abschnitt X auswerten.

X. TESTAUSWERTUNG

Für die manuelle Berechnung wird eine Dosis-Wirkungs-Kurve auf Millimeterpapier gezeichnet. Alle Kalibratorwerte (wie auf dem Etikett der Kalibratorflasche angegeben) werden auf der X-Achse und der zugehörige Absorptionwert auf der Y-Achse dargestellt. Die drei Punkte werden mit einer Linie verbunden, die die optimale Ausgleichsgerade darstellt. Der GAD-Wert der einzelnen Patientenserum wird mithilfe seines Absorptionswerts und durch Extrapolation aus der Dosis-Wirkungs-Kurve auf der X-Achse bestimmt.

Für die automatische Berechnung ist die Absorption der einzelnen Serumproben in GAD-Werte zu konvertieren. Dies geschieht mithilfe eines Computerprogramms zur Erstellung der optimalen linearen Regression. **Die auf jedem Kalibratoretikett angegebenen GAD-Werte sind als Standardwerte einzugeben. Die Werte werden als Biomerica-Einheiten pro Milliliter (U/ml) ausgedrückt.**

Der GAD-Wert der einzelnen Proben wird wie folgt interpretiert:

<u>GAD-Wert (U/mL)</u>	<u>Ergebnis</u>
<1,00	Negativ
>1,05	Positiv
1,00-1,05	Nichtdeterminiert (Grenzwert)

Ein positives Ergebnis (> 1,05) zeigt das Vorhandensein von GAD-Autoantikörpern in der Serumprobe des Patienten an. Ein negatives Ergebnis (< 1,00) zeigt die Abwesenheit von GAD-Autoantikörpern an oder ein Ergebnis unterhalb der Nachweisgrenze des Tests. Wird ein nichtdeterminiertes Ergebnis (Grenzwert) ermittelt (1,00 - 1,05), ist die Probe erneut zu testen. Wird bei der Wiederholung des Tests ein negativer Wert ermittelt, ist die Probe als negativ zu betrachten. Wird bei der Wiederholung des Tests ein positiver Wert ermittelt, ist die Probe als positiv zu betrachten. Wird bei der erneuten Durchführung des Tests wieder ein Grenzwert ermittelt, ist eine weitere Probe zu einem späteren Zeitpunkt zu entnehmen. Diese ist gemäß den Anweisungen des Arztes zu testen.

ISLETEST™-GAD-BEISPIELDATEN

Abschnitt A: Kalibratorwerte und Kontrollergebnisse

Kontrollen	Mittl. OD	GAD-Wert	Ergebnis
Kalibrator 1	0,346	0,613	
Kalibrator 2	0,634	1,124	
Kalibrator 3	1,687	2,991	
Negativkontrolle	0,188	0,32	-
Positivkontrolle	1,24	2,2	+

HINWEIS: Diese Daten sind nicht zur Berechnung tatsächlicher experimenteller Werte zu verwenden. Es handelt sich hierbei lediglich um ein Beispiel.

GAD-Wert:	Negativ	< 1,00 U/ml
	Positiv	> 1,050 U/ml
	Nichtdeterminiert	1,00 - 1,050 U/ml (Grenzwert)

U = Units (Biomerica-Einheiten)

Abschnitt B: Ergebnisse der Patientenproben

Probe	Mittl. OD	GAD-Wert	Ergebnis
1	0,375	0,664	-
2	0,273	0,484	-
3	0,662	1,173	+

XI. QUALITÄTSKONTROLLE

Positiv- und Negativkontrollen müssen gemeinsam mit den unbekanntem Serumproben in jedem Testlauf mitgeführt werden, um die Richtigkeit der Ergebnisse zu überprüfen. Die Negativkontrolle sollte einen Wert von < 1,0 U/ml zeigen und der Wert der Positivkontrolle sollte bei > 1,0 U/ml liegen.

XII. LEISTUNGSMERKMALE

Querempfindlichkeit

Interferenzen durch ANA, DNS und Rheumafaktoren wurden nicht in signifikantem Ausmaß festgestellt. Serumproben mit Anti-Tg- und Anti-TPO-Autoantikörpern zeigten geringe bzw. keine Querempfindlichkeit.

Präzision

Die Zuverlässigkeit des Isletest-GAD ELISA von Biomerica wurde durch Untersuchung der Reproduzierbarkeit mithilfe auf GAD-Autoantikörper vorgetesteter klinischer Proben bewertet.

Intra-Assay (innerhalb eines Testansatzes):

Probe	N	Mittl. GAD-Wert	Standardabweichung	%-VK
1	20	0,560	0,038	5,4
2	20	1,771	0,035	4,8

Inter-Assay (unterschiedl. Testansätze):

Probe	N	Mittl. GAD-Wert	Standardabweichung	%-VK
1	10	0,424	0,074	4,6
2	10	1,542	0,040	4,5

Spezifität und Empfindlichkeit

Insgesamt wurden 99 bekannte, d.h. vorgetestete Serumproben auf GAD-Autoantikörper getestet. Von diesen Proben wurden 39 als negativ und die übrigen 60 als positiv bestätigt. Die Ergebnisse des Isletest-GAD ELISA der untersuchten Proben sind in der folgenden Tabelle dargestellt:

Gesamtzahl der getesteten Proben	Insgesamt negativ ¹	Insgesamt positiv ²	Falsch positiv ³	Falsch negativ ⁴
99	34	51	5	9

- (1) Sowohl im Isletest-GAD ELISA als auch im Referenztest negativ.
- (2) Sowohl im Isletest-GAD ELISA als auch im Referenztest positiv.
- (3) Im Isletest-GAD ELISA positiv und im Referenztest negativ.
- (4) Im Isletest-GAD ELISA negativ und im Referenztest positiv.

Genauigkeit in Prozent:	85,8 %
Spezifität in Prozent:	87,1 %
Empfindlichkeit in Prozent:	85,0 %

Wiederfindung

Mit dem Isletest-GAD ELISA wurden mithilfe vorgetesteter Serumproben mit bekannten GAD-Autoantikörperwerten Studien zur Wiederfindung durchgeführt.

Zugefügte Autoantikörper (GAD-Wert)	Gefundene Autoantikörper (GAD-Wert)	Wiederfindung
3,620	3,432	94,5 %
1,491	1,594	106,9 %
0,915	0,825	90,2 %
1,180	1,080	91,5 %









XIII. GRENZEN DES VERFAHRENS UND FEHLERQUELLEN

1. Obwohl ein höherer GAD-Titer zu höheren Werten der optischen Dichte (OD) führt, ist der Test für die semi-quantitative Bestimmung von GAD-Autoantikörpern in Serumproben ausgelegt.
2. Eine schlechte Testreproduzierbarkeit kann folgende Ursachen haben:
 - a. Lieferabweichungen bei Reagenzien
 - b. Unsachgemäße Lagerung der Reagenzien
 - c. Unsachgemäße Rekonstitution der Reagenzien
 - d. Unzureichendes Waschen der Vertiefungen der Mikrotiterplatte
 - e. Substratreagenz ist alt oder wurde dem Licht ausgesetzt
 - f. Unstabiles oder defektes Spektrophotometer
 - g. Fehler beim Befolgen der Angaben zur Assay-Durchführung

XIV. LITERATUR

1. Cooke, A. (1990). An overview on the possible mechanism of destruction of the insulin-producing beta cell. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 164:125-142.
2. Harrison, L.C., I.L. Campbell, P.G. Colman, et al. (1990). Type 1 diabetes: Immunology and Immunotherapy. *Adv. Endocrinol. Metab.* 1:35-94.
3. Bottazzo, G.F., A. Florin-Christensen, and D. Doniach (1974). Islet cell antibodies in diabetes mellitus with autoimmune polyendocrine deficiencies. *Lancet*, ii:1279-1283.
4. Colman, P.G., R.C. Nayak, I.L. Campbell, and g.s. Eisenbarth (1988). Binding of cytoplasmic islet cell antibodies is blocked by human pancreatic glycolipin extract. *Diabetes*, 37:645-652.
5. Baekkeskou, S., J.H. Nielson, and B. Marnier, et al. (1982). Autoantibodies in newly diagnosed diabetic children immunoprecipitate human pancreatic islet cell proteins. *Nature*, 298:167-169.
6. Palmer, J.P., C.M. Aspin, P. Clemons, et al. (1983). Insulin antibodies in insulin-dependent diabetes before insulin treatment. *Science*, 222:1337-1339.
7. Erlander, M.G. and A. J. Tobin (1991). The structure and functional heterogeneity of glutamic acid decarboxylase: a review. *Neurochem. Res.*, 16:215-226.
8. Bu, D.F., M.G. Erlander, B.C. Hitz, N.J. Tillakaratne, et al. (1992). Two human glutamic decarboxylases, 65-kda GAD and 67-kda GAD, are encoded by a single gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 89:2115-2119.
9. Christgau, S., H. Schierbeck, H.J. Aunstoot, L. Aaggard, et al. (1991). Pancreatic B-Cells express two autoantigenic forms of glutamic acid decarboxylase, a 65-kda hydrophilic form and a 64-kda amphiphilic form which can be both membrane-bound and soluble. *J. Biol. Chem.*, 266:21257-21269.
10. Clare-Salzler, M.J., A.J. Tobin, and D.L.O. Kaufman (1992). Glutamate decarboxylase: an autoantigen in IDDM. *Diabetes Care*, 15:132-135.
11. Giorda, R., M. Peakman, K.C. Tan, D. Vergani, and M. Trucco (1991). Clutamic acid decarboxylase expression in islets and brain. *Lancet*, 338:1469-1470.
12. Kim, J., W. Richter, H.J. Aanstoot, Y. Shi, Q. Fu, et al. (1993). Differential expression of GAD 65 and GAD 67 in humans, rat and mouse pancreatic islets. *Diabetes*, 42:1799-1808.
13. Dean, B.M., F. Becker, J.M. McNally, A.C. Tam, et al. (1986). Insulin autoantibodies in the pre-diabetic period: correlation with islet cell antibodies and development of diabetes. *Diabetologia*, 29:339-342.
14. Komalesh, M., A. Karasik, and S. Srikantha (1986). Islet cell antibodies as predictors of insulin-dependent diabetes mellitus. *Pract. Cardiol.*, 12:79-91.

XV. SYMBOLE

	Lagerungstemperatur
	Stapelcode
	Ablauf
	Hersteller
	Autorisierter Vertreter
	Achtung, Siehe Anweisungen
	Für die <i>in vitro</i> -Diagnostik vorgesehen
	Katalog-Nr.

XVI. BEZUGSNACHWEIS

BESTELLUNGEN: Bestellungen sind zu richten an:



BIOMERICA, INC.
17571 Von Karman Avenue
Irvine, California 92614
U.S.A.

2°C/8°C

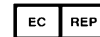


Telefon: +1-(949) 645-2111
Fax: +1-(949) 553-1231
Website: www.biomerica.com
E-Mail: bmra@biomerica.com



67009-05_ger.doc

Februar 2018



gemäß IVDD 98/79/ EC
MDSS GmbH
Schiffgraben 41
D-30175 Hannover
Deutschland