

DESENVOLVIMENTO DA TÉCNICA DE RADIOIMUNOENSAIO (RIE) PARA A DETERMINAÇÃO DE PRÓ-INSULINA NO SORO HUMANO A PARTIR DE REAGENTES PREPARADOS NOS LABORATÓRIOS DO IPEN-CNEN/SP.

Nascimento M. 1^{xx}, Borghi U.C. 1, Wajchenberg B.L. 2

¹Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN-CNEN/SP) e ²Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (LIM 25).

O desenvolvimento da tecnologia de DNA recombinante permitiu a obtenção de proinsulina humana (hPI) e conseqüentemente o desenvolvimento de técnicas para sua quantificação direta no soro. Este trabalho descreve o preparo dos reagentes e o desenvolvimento do RIE a partir da hPI fornecida pela Eli Lilly & Co (USA). O antissoro específico foi obtido em cobaia, não apresentando após sua purificação, reação cruzada com o peptídeo-C (até 10 pmol/ml) ou com a insulina e o glucagon (ambos até 1.000 pmol/ml). O traçador (¹²⁵I-hPI) foi preparado pela técnica de marcação com iógeno e purificado em QAE-Sephadex A25. Padronizou-se um ensaio do tipo não-equilíbrio, incubando-se a hPI padrão ou o soro (200 ul) com o antissoro (50 ul diluído a 1:5.000) por 24 hs a 4°C. A seguir, incubou-se com a ¹²⁵I-hPI (50 ul contendo 10.000 cpm) por mais 3 hs a 4°C. O ensaio foi separado por meio do 2º antissoro assistido pelo PEG incubado durante 1 h a 23°C. A sensibilidade do ensaio, determinada por sua dose mínima detectável, foi de 0.009 pmol/ml e a ED₅₀ de 0.10 pmol/ml. Portanto, o desenvolvimento deste RIE de curta duração, sensível e específico, está permitindo a realização de estudos dos níveis de hPI circulante em nosso meio.

Apoio financeiro: CNPq, FAPESP

MN, bolsista da CAPES