■ 予備試験

1 検量線の信頼性確認試験

1-1 エンドトキシン標準溶液の調製

- (1) エンドトキシン標準原液 (10,000EU/mL) (p.3参照) を試験管ミキサーで1分間攪拌する。
- (2) LRWを用いて10倍段階希釈を繰り返し、0.1 EU/mLを調製する。
- (3) さらに、2倍段階希釈を4回繰り返し、エンドトキシン標準溶液 5濃度(0.1, 0.05, 0.025, 0.0125, 0.00625 EU/mL)を調製する。

・段階希釈では各1分間試験管ミキサーで攪拌してください。



添加量	エンドトキシン濃度(EU/mL)													
(mL)	10,000	1,000	100	10	1	0.1	0.05	0.025	0.0125	0.00625				
JP-RSE		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.5	0.5	0.5	0.5				
LRW		0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.5	0.5	0.5	0.5				

検量線作成に使用

1-2 各試料のプレートへの分注

- (1) LRWおよび 1-1 で調製したエンドトキシン標準溶液 5濃度 (0.1, 0.05, 0.025, 0.0125, 0.00625 EU/mL)の 各0.05mLずつをプレートの所定のウェルに分注する (ウェルパターン例参照)。
 - ・調製後のエンドトキシン標準溶液は使用直前に10秒間攪拌してください。
 - ・陰性対照として同時にLRWを測定することをおすすめします。
 - ・試料の分注後、ただちにプレートに蓋をかぶせてください。

2	ঠনা	トル	予	備試	镜(构	计量的	息の住	前朝	非確認		₽)		_	度の単位 FLI/mL		
F			1.4	- murst	~ ` ` `						~		_			
														標準の濃度 □ 希釈倍率 🔽 添加湖	▼ 添加濃度	
	A [1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	St-01 0.00625 St-02 0.0125 St-02 0.025 St-03 0.025 T-01 * 1.00 T-02 * 1.00 T-02 T-03 T-01 Tr-01 Tr-02 Tr-03 Tr-03 Tr-03 Tr-03 Tr-03 Tr-03 Tr-03 Tr-03 Tr-03 Tr-03 Tr-03 Tr-03 Tr-03 Tr-03 Tr-03 Tr-03 Tr-0	0.05	
1	в		bik O	blk O	bik O									St-04 0.05 St-04 0.05 St-05 0.1 T-04 * 1.00 Tr-04 Tr-04 Tr-05	0.05	
	C		St 1	St 1	St 1									St-06 T-06 * 1.00 Tr-06 St-07 * 1.00 Tr-07 St-09 T-07 * 1.00 Tr-07	0.05	
	D		2 St	2 St	2 St									★ 1 - 08 ◆ 1 .00 ◆ 1 17-08 検名 (LIMS依頼番号)	0.00	
i	F		3 St	3 St	3 St									T-01 T-02 T-03		
	G	—	4 St 5	4 St 5	4 St 5									T-04 T-05		
	н	[\square									T-06 T-07 T-08		
1				<i></i>									_			
	試婆	¥.	12.	111/	(7-	1-7	2./1	·9±	2				_	ット番号 PNGXXXX		
1	溶剤	郓液	溶	解緩	寅液									ット番号 XXXXXXXX		
1	檀油	É品	H	本薬,	局方:	ロンド	*	シフォ	曹進品	2			_	yト番号 Control XXXXXXX		

St1~St5:エンドトキシン標準溶液

1-3 パイロスマートネクストジェン試薬の調製

- (1) パイロスマートネクストジェン試薬のバイアルを軽く叩いて、飛散した粉末を底に落とす。
- (2) ピンセットを用いて栓を無菌的に持ち上げ、真空状態を解除する。栓は廃棄する。
- (3) パイロスマートネクストジェン添付の溶解緩衝液2.8mLをトキシペットチップ1000で加え、バイアルの ロに乾熱滅菌アルミ箔をかぶせる。
- (4) 手で小さな円を描くように1分間攪拌して完全に溶解させる。
 細かい泡が消失するまで少なくとも2分間放置する。
 ・使用する直前に、液が均一になるようにバイアルを振り混ぜます。
 ただし、泡立てると感度低下を招くことがありますので、
 激しい撹拌は避けてください。
 ・溶解後、20分以内に速やかに使用してください。



- 1-4 パイロスマートネクストジェンの添加および測定
 - (1) 完全に溶解したパイロスマートネクストジェン 0.05mLをシリンジで所定のウェルに添加する。
 - (2) プレートに蓋をかぶせ、ウェルリーダーアドバンスにセットする。
 - (3) (測定) ボタンをクリックすると、直ちに1分間攪拌され、あらかじめ設定した測定条件で自動的に測定が 開始される。
 - ・ウェルリーダーアドバンスの設定条件については、p.6をご参照ください。



1-5 データ解析

(1) 測定終了後、ファイルは自動的に保存される。

·Software for Wellreader, DIエディションであらかじめ設定した解析条件で、自動解析されます。

1-6 判定

(1) (検量線の表示)ボタンー(検量線の情報)ボタンをクリックし、作成した検量線の相関係数rを求め、その 絶対値 | r | が0.980以上であることを確認する。

2 反応干涉因子試験

2-1 エンドトキシン標準溶液の調製

(1) 1 検量線の信頼性確認試験: 1-1 エンドトキシン標準溶液の調製に従い、エンドトキシン標準溶液 5濃度 (0.1, 0.05, 0.025, 0.0125, 0.00625 EU/mL)を調製する。

2-2 2倍濃度試料溶液の調製

- 例:10倍希釈試料溶液を測定に用いる場合は、試料原液を5倍希釈します。
- (1) 試験管にLRW 0.4mLを入れる。
- (2) 被検試料原液は試験管ミキサーで渦ができるよう1分間攪拌後、0.1mLを
 (1)の試験管に加え、試験管ミキサーで1分間攪拌し、2倍濃度試料溶液とする。

