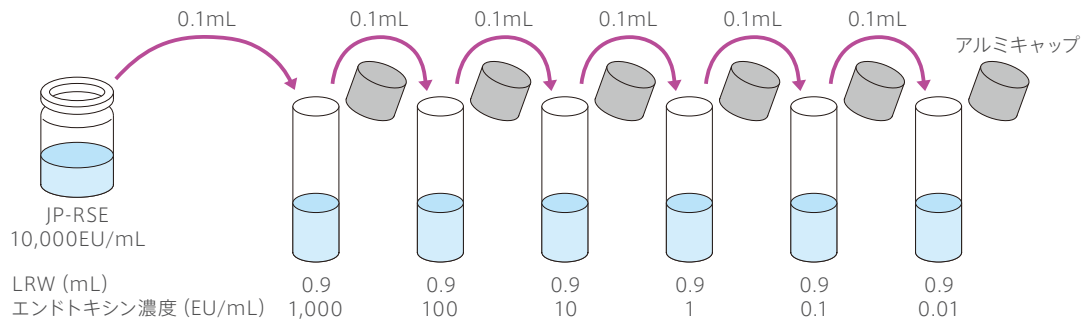


## ■ 予備試験

### 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て、0.1EU/mLを調製する。
- (3) さらに、10倍段階希釈を2回繰り返して、エンドトキシン標準溶液 3濃度 (1, 0.1, 0.01 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。

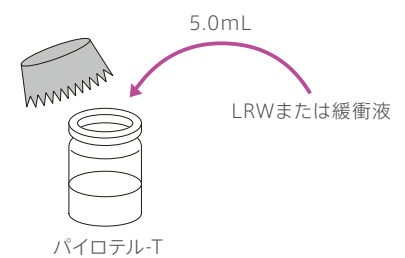


添加量 (mL)	エンドトキシン濃度 (EU/mL)						
	10,000	1,000	100	10	1	0.1	0.01
JP-RSE		0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
LRW		0.9	0.9	0.9	0.9	0.9	0.9

検量線作成に使用

#### 1-2 ライセート試液の調製

- (1) パイロテル-Tのバイアルを軽く叩いて、飛散した粉末を底に落とす。
- (2) ピンセットを使って栓を無菌的に持ち上げ、真空状態を解除します。栓は廃棄する。
- (3) LRWまたは緩衝液 (グルカシールドまたはパイロソルインジケータなし) 5.0mLをトキシペットチップ1000で加え、バイアルの口に乾熱滅菌アルミ箔をかぶせる。
- (4) 手でゆっくり円を描くように間欠的に攪拌する。  
・溶解用のLRWまたは緩衝液の吸引・吐出はゆっくりと行ってください。  
・試験管ミキサーは泡立ちの原因になりますので、使用しないでください。  
・凍結乾燥粉末が完全に溶解するまで数分かかります。  
・溶解後の試薬は2~8℃で保存し、24時間以内に使用してください。



### 1-3 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 3濃度 (1, 0.1, 0.01 EU/mL) の各0.1mL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。

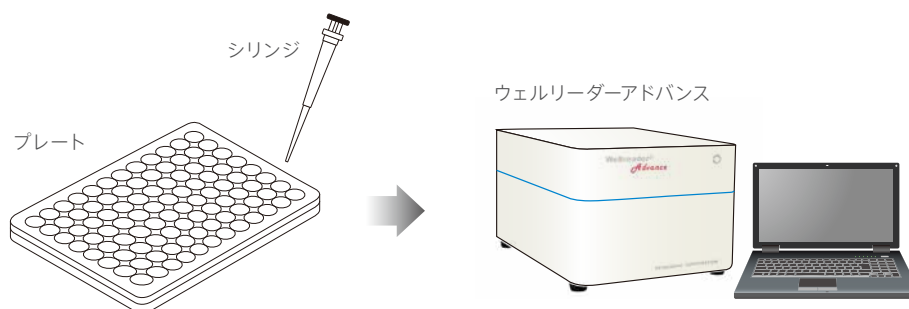
ウェルパターン例：予備試験（検量線の信頼性確認試験）



blk : LRW  
St1~St3 : エンドトキシン標準溶液

### 1-4 ライセート試液の添加および測定

- (1) 完全に溶解したライセート試液 0.1mL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.44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— **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。