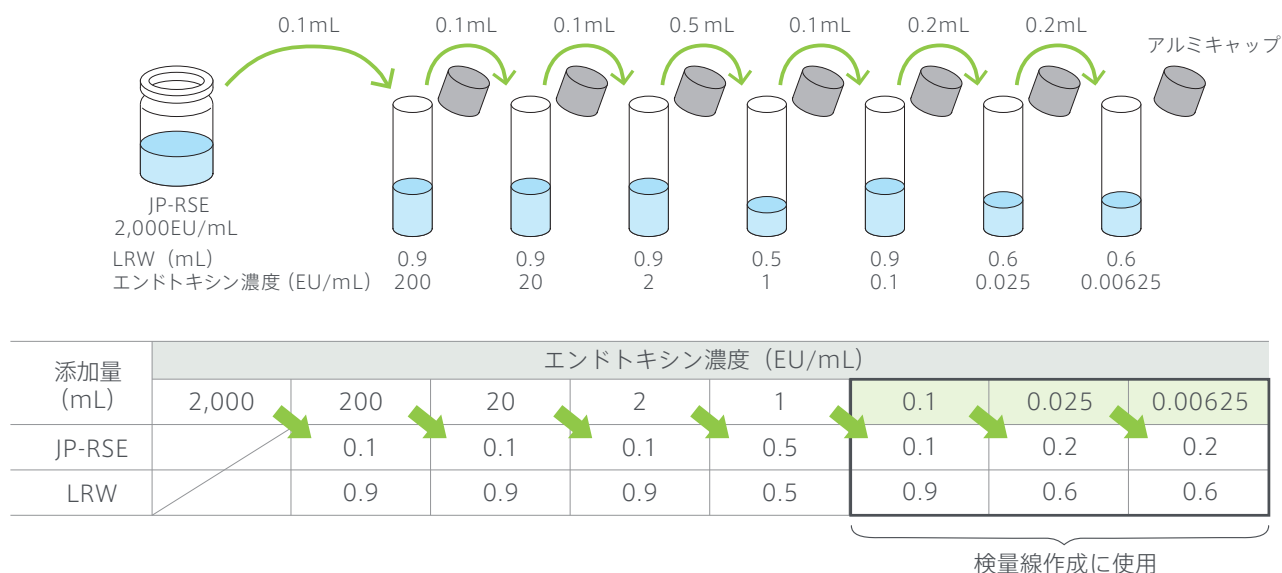


■ 予備試験

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 (2,000EU/mL) (p.7参照) を試験管ミキサーで3分間攪拌する。
 - (2) LRWを用いて10倍段階希釈を繰り返し、2EU/mLを調製後、2倍希釈し、1EU/mLを調製する。
 - (3) さらに、10倍希釈後、4倍段階希釈を2回繰り返し、エンドトキシン標準溶液 3濃度 (0.1, 0.025, 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。



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 3濃度 (0.1, 0.025, 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。

ウェルパターン例：予備試験 (検量線の信頼性確認試験)

ウェルパターン

タイトル: 予備試験 (検量線の信頼性確認試験) 濃度の単位: EU/mL

標準の濃度: St-01 0.00625, St-02 0.025, St-03 0.1

希釈倍率: T-01 ~ T-08 * 1.00

添加濃度: Tr-01 ~ Tr-08 0.05

検体名 (LIMS依頼番号): T-01 ~ T-08

試薬: エンドスペシー ES-50Mセット ロット番号: ES1XXXX

溶解液: 緩衝液 ロット番号: XXXXXX

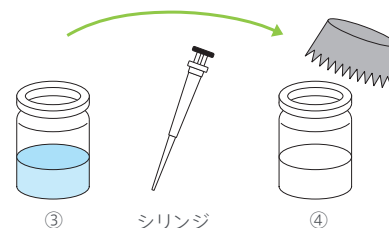
標準品: 日本薬局方エンドキシン標準品 ロット番号: Control_XXXXXXX

Blk : LRW

St1~St3 : エンドトキシン標準溶液

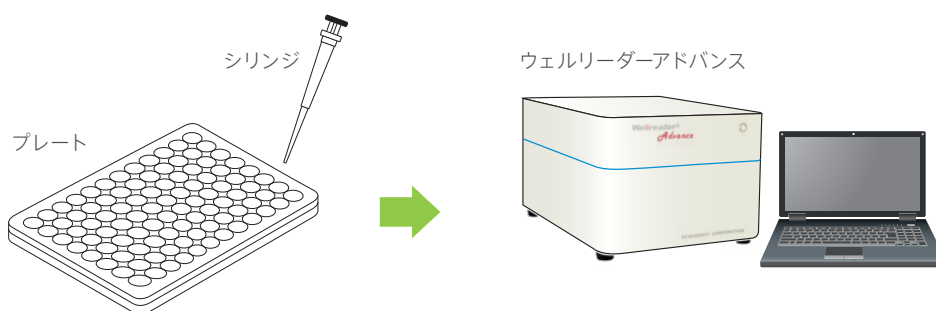
1-3 ライセート試液の調製

- (1) ES-50Mセットのライセート試薬 (④) 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) 添付の緩衝液 (③) の全量をシリンジで加え、バイアルの口に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して溶解する。
 - ・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。
 - ・通常5分程度で溶解します。溶解後15分以内に使用してください。



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 0.05mL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.1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。

2 反応干渉因子試験

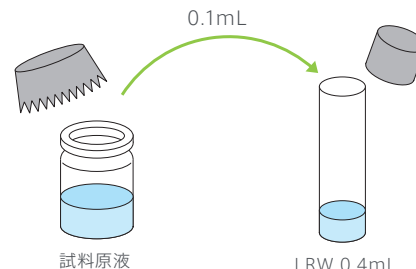
2-1 エンドトキシン標準溶液の調製

- (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 3濃度 (0.1, 0.025, 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。



2-3 試料添加用エンドトキシン標準溶液の調製

検量線の中点濃度 (または中点付近濃度) のエンドトキシンの2倍濃度溶液を調製します。

検量線用に調製したエンドトキシン標準溶液のうち、0.1EU/mLエンドトキシン標準溶液を試料添加用エンドトキシン標準溶液として使用します。