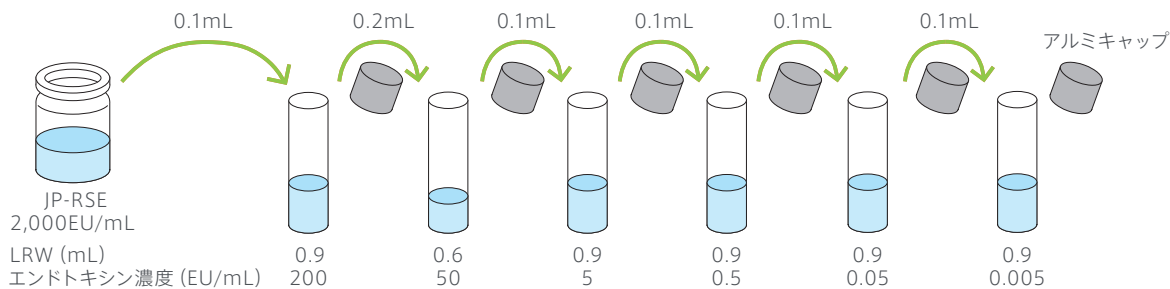


■ 予備試験

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倍希釈を1回行い、200EU/mLを調製後、4倍希釈し、50EU/mLを調製する。
 - (3) さらに、10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 (50, 5, 0.5, 0.05, 0.005 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)							
	2,000	200	50	5	0.5	0.05	0.005	
JP-RSE		0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	
LRW		0.9	0.6	0.9	0.9	0.9	0.9	

検量線作成に使用

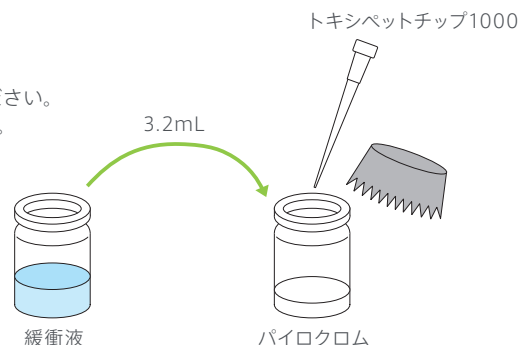
1-2 各試料のプレートへの分注

- (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 (50, 5, 0.5, 0.05, 0.005 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。



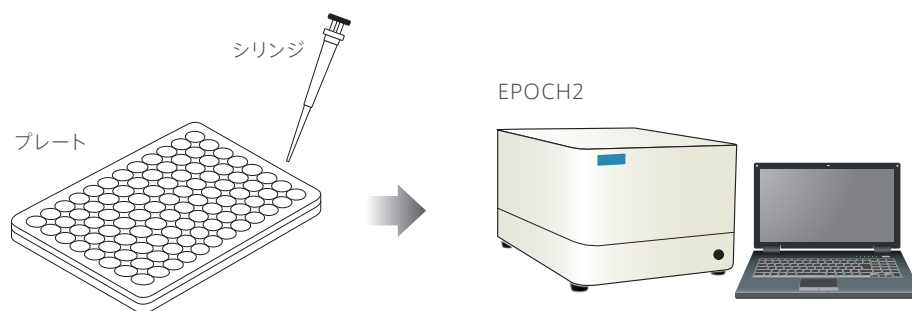
1-3 ライセート試液の調製

- (1) パイロクロム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、真空状態を解除する。栓は廃棄する。
- (3) パイロクロム添付の溶解用緩衝液3.2mLをトキシベットチップ1000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する。
 - ・ 溶解用緩衝液の吸引・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少なくとも5分程度かかります。
 - ・ 調製後は2~8℃で保存し、8時間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、マイクロプレートリーダーEPOCH2にセットする。
- (3) **測定開始** 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。
 - ・ ENDOMEASUREソフトウェア, Type-M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。
 - ・ ENDOMEASUREソフトウェア, Type-M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) **結果管理** 画面にて、**測定データ** - **検量線情報** 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) 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 (50, 5, 0.5, 0.05, 0.005 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) エンドスピーシーES-50Mセットを用いたカイネティック比色法（反応速度法）：2-2 2倍濃度試料溶液の調製（別冊参照）に従い、2倍濃度試料溶液を調製する。