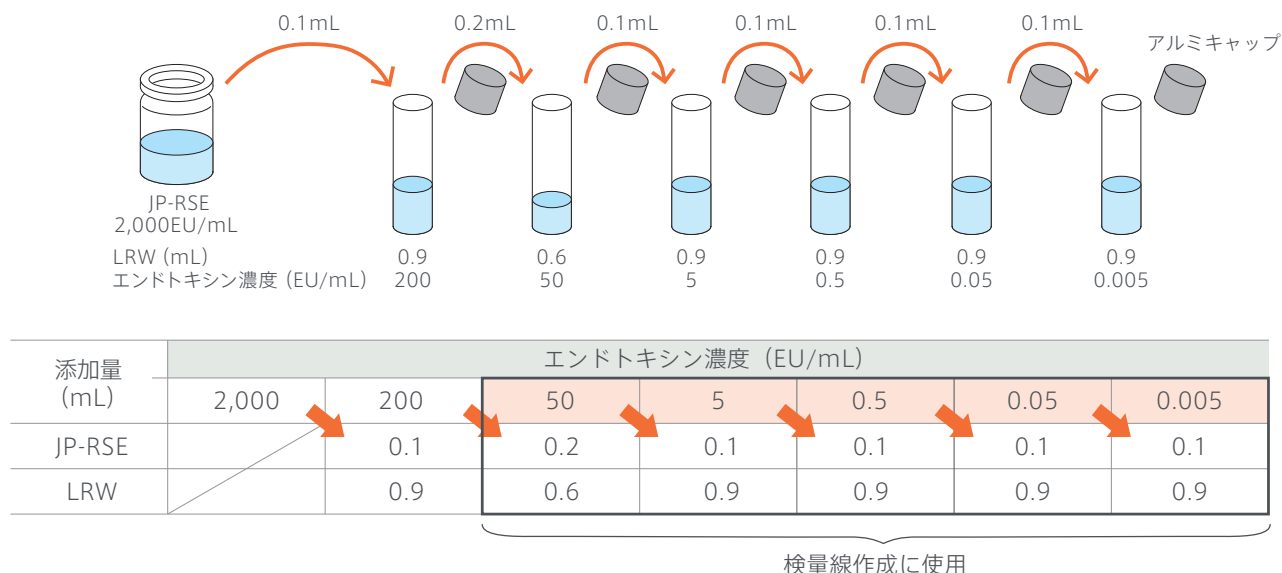


## ■ 予備試験

### 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 (2,000 EU/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倍希釈し、200 EU/mLを調製後、4倍希釈し、50 EU/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。



#### 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。

**ウェルパターン例：予備試験 (検量線の信頼性確認試験)**

ENDOMEASURE Method: 検量線の信頼性確認 Reagent: PyroSmart NextGen User ID: skka

Step 1: 検量線選択 Step 2: パラメーター確認

Plate 1 Plate 2 Plate 3 Plate 4 Plate 5

ウェルパターン例: B1k (LRW), S1k~S5k (エンドトキシン標準溶液)

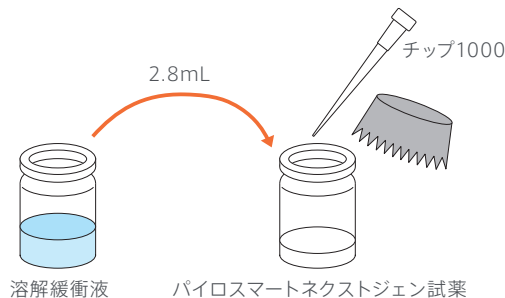
検量線信頼性確認試験の操作画面。左側にはウェルパターンが示され、B1kはLRW、S1k~S5kはエンドトキシン標準溶液の5濃度を示す。右側にはパラメーター設定が示され、測定方法、測定時間、測定温度、測定波長などが設定されている。

検量線信頼性確認試験の結果画面。左側にはウェルパターンが示され、B1kはLRW、S1k~S5kはエンドトキシン標準溶液の5濃度を示す。右側にはパラメーター設定が示され、測定方法、測定時間、測定温度、測定波長などが設定されている。

検量線信頼性確認試験の結果画面。左側にはウェルパターンが示され、B1kはLRW、S1k~S5kはエンドトキシン標準溶液の5濃度を示す。右側にはパラメーター設定が示され、測定方法、測定時間、測定温度、測定波長などが設定されている。

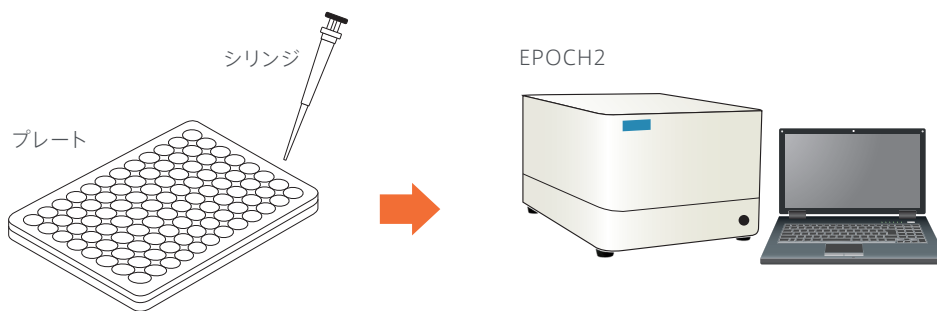
### 1-3 パイロスマートネクストジェン試薬の調製

- (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。  
・パイロスマートネクストジェン試薬および溶解緩衝液は、使用前に少なくとも30分間置いて、室温の平衡状態にしてください。
- (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。  
・泡立ると感度低下を招くことがありますので、激しい攪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をエンドトキシン測定に影響を与えないことが確認されたシリンジ（以下、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10秒間攪拌され、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の条件設定については、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) 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) 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。

