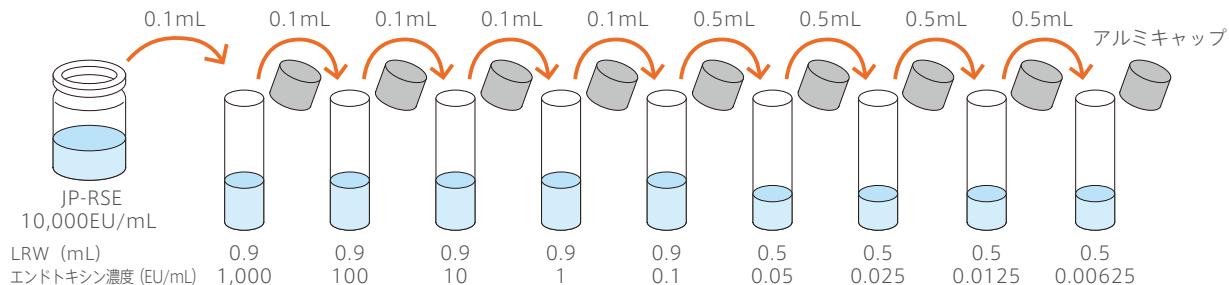


## ■ 予備試験

### 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 (mL)	エンドトキシン濃度 (EU/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。

#### 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	希釈倍率	添加濃度
St-01 0.00625	* 1.00	Tr-01 0.05
St-02 0.0125	* 1.00	Tr-02 0.05
St-03 0.025	* 1.00	Tr-03 0.05
St-04 0.05	* 1.00	Tr-04 0.05
St-05 0.1	* 1.00	Tr-05 0.05
St-06	* 1.00	Tr-06 0.05
St-07	* 1.00	Tr-07 0.05
St-08	* 1.00	Tr-08 0.05

検体名 (LIMS依頼番号):

試薬: バイロスマートネクストジェン

溶媒: 溶解緩衝液

標準品: 日本薬局方エンドトキシン標準品

ロット番号: PNGXXXX

ロット番号: XXXXXXXX

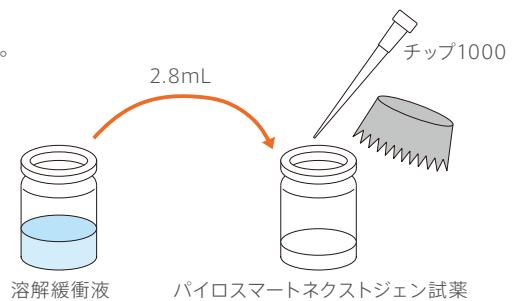
ロット番号: ControlXXXXXX

blk : LRW

St1~St5 : エンドトキシン標準溶液

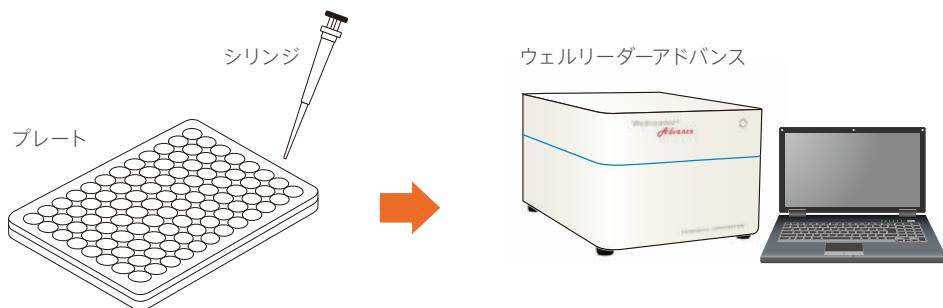
### 1-3 パイロスマートネクストジェン試薬の調製

- (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、バイアルの口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、泡立てるとき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 - **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 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。

