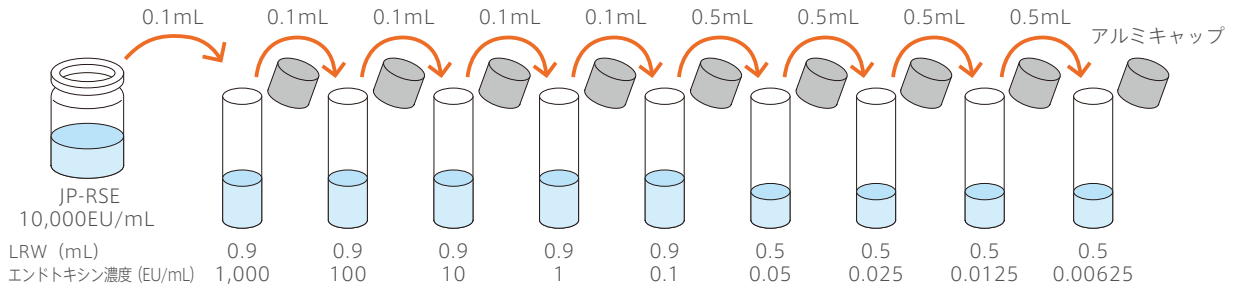


■ 予備試験

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	0.1	0.5	0.5	0.5	0.5
LRW		0.9	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)

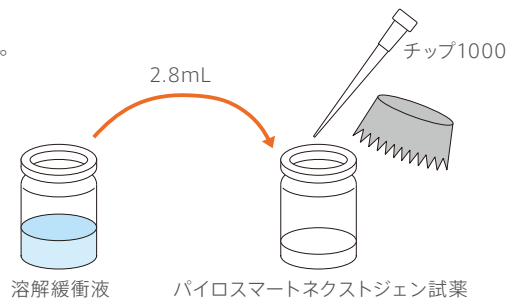


blk : LRW
 St1~St5 : エンドトキシン標準溶液

1-3 パイロスマートネクストジェン試薬の調製

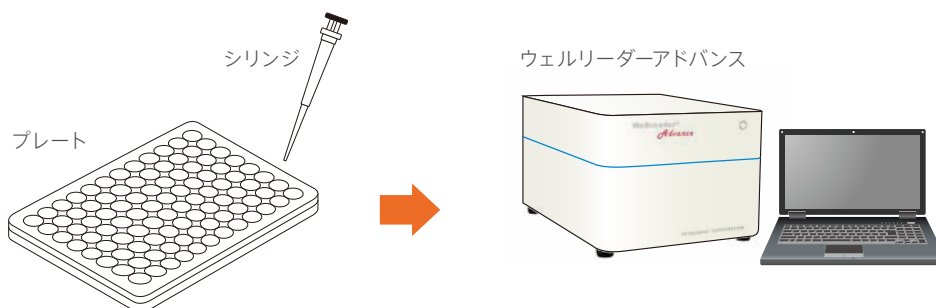
- (1) パイロスマートネクストジェン試薬のバイアルを軽く叩いて、飛散した粉末を底に落とす。
- (2) ピンセットを用いて栓を無菌的に持ち上げ、真空状態を解除する。栓は廃棄する。
- (3) パイロスマートネクストジェン添付の溶解緩衝液2.8mLをトキシベットチップ1000で加え、バイアルの口に乾熱滅菌アルミ箔をかぶせる。
- (4) 手で小さな円を描くように1分間攪拌して完全に溶解させる。
細かい泡が消えるまで少なくとも2分間放置する。

- ・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。

