

Lonza

QCL-1000®

Limulus Amebocyte Lysate (LAL)

U.S. License No.1775

カタログ番号:50-647U

注意:試験を実施される前に必ずよくお読み下さい。

製品の用途

この製品はヒト及び動物の非経口薬、生物製剤、医療機器に対する最終製品の *In Vitro* エンドトキシン試験に使用できるように作られています。本製品は臨床検体中のエンドトキシンの検出またはヒト疾患の診断には使用できません。このテストは比色法でエンドトキシンを検出するために Modified Limulus Amebocyte Lysate 試薬と発色合成基質を使用します。

1987年12月、アメリカ合衆国食品医薬品局(FDA)は「ヒト及び動物の非経口薬、生物製剤、医療機器に関する最終製品のエンドトキシン検査としてのLALテストの検証および使用のためのガイドライン」⁸を発行しました。このガイドラインは、1) 医薬品及び医療機器のエンドトキシン規格値の確立、2) 最終製品のエンドトキシンテストとしてのLALの使用の妥当性確認、3) ルーティンテスト手順の作成、にあたりFDAが必要と考える手順の概要をまとめたものです。

この説明書に述べられる手順はFDAガイドラインに基づいたものです。エンドポイント比色法における同様の性能要求規定は米国薬局方で公表され定期的に更新されています。⁹

警告

In Vitro 検査のみに使用してください。ヒトのエンドトキシン血症の *In Vitro* 診断には使用しないで下さい。LAL試験はFDAによるヒト及び動物の非経口薬、生物製剤、医療機器の最終製品試験のガイドラインに沿って使用された場合、USPのウサギを用いたパイロジェン試験の代用とすることができます⁸。

背景

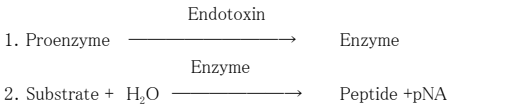
エンドポイント比色法 LAL 試験はグラム陰性細菌エンドトキシンの定量試験です。検体をキット中の LAL 試薬と混合した後、37°C (±1)°C で 10 分間インキュベーションします。その後、基質溶液を添加し、更に 37°C (±1)°C で 6 分間インキュベーションした後、反応は反応停止液で停止されます。もしエンドトキシンが存在すれば、検体は黄色く発色します。検体の吸光度は分光光度法により 405~410nm で測定することができます。この吸光度はエンドトキシン量と直接比例するため、エンドトキシン濃度を検量線から算出することが可能です。

エンドトキシン検出におけるLALの使用は、アメリカカプトガニ(*Limulus polyphemus*)がグラム陰性細菌に感染すると致命的な血管内凝固を引き起こすという Bang¹ の観察から発展したものです。その後 Levin と Bang^{2,3} は、この凝固は、エンドトキシンとカプトガニの体内を循環するアメーバ

細胞(amebocyte)の凝固タンパクとの反応であると立証しました。カプトガニの血液に適した抗凝固剤の開発後、Levin と Bang⁴ はエンドトキシンの存在に対して非常に高い感度を示すアメーバ細胞(amebocyte)抽出成分のライセートを調整しました。Solum^{5,6} と Young, Levin と Prendergast⁷ は LAL から凝固タンパクを精製してその特性を明らかにし、エンドトキシンと酵素反応を起こすことを示しました。

この LAL 比色法は、LAL エンドトキシン反応の初期部分を利用し活性化された酵素が発色基質に働き、p-ニトロアニリン(pNA)を遊離し、黄色の色を発するものです。

原理



グラム陰性細菌のエンドトキシンは LAL 中の酵素前駆体の活性化を触媒させます。⁷活性化の初期速度は存在するエンドトキシンの濃度によって決定されます。活性化された酵素は無色の基質 Ac-Ile-Glu-Ala-Arg-pNA から pNA が遊離されるのを触媒します。反応を反応停止液で停止した後、遊離されたpNAは測光法により405~410nmで計測されます。吸光度とエンドトキシン濃度の相関は 0.1~1.0 EU/ml の範囲で直線となります。検体中のエンドトキシン濃度は既知量のエンドトキシンを含んだスタンダード溶液の吸光度から算出されます。

キットに含まれる試薬と保存条件

カタログNo.	試薬	エンドトキシン	基質	エンドトキシン試験用水
50-647U	5 バイアル	1 バイアル	2 バイアル	2 バイアル

Limulus Amebocyte Lysate (LAL)

LAL 試薬は凍結乾燥されたアメリカカプトガニ *Limulus polyphemus* の体内を循環するアメーバ細胞(amebocyte)から調整されたライセートを含んでいます。使用の直前に各バイアルを 1.4 ml のエンドトキシン試験用水で溶解して下さい。

もし複数のバイアルの使用を必要とする場合は、内容物をブルーしてからご使用下さい。泡立つのを避けるために穏やかにバイアルを回して下さい。凍結乾燥された LAL は 2~8°C で保存して下さい。長時間光に晒すのは避けて下さい。

溶解された LAL 試薬は直ちに使用して下さい。溶解されたライセートは、溶解後直ちに凍結すれば-10°C 以下で最長一週間保存可能です。凍結・融解は一回のみ可能です。

E. coli Endotoxin

各バイアルには 15~40 EU の凍結乾燥されたエンドトキシンが入っています。室温に安定させたエンドトキシン試験用水 1.0 ml で溶解して下さい。これをエンドトキ

シン原液とします。バイアルの実際の濃度は Certificate of Analysis (COA、試験成績表)に表記された値より求められます。例えば、もしバイアルの値が 24 EU の場合、1.0 ml の試験用水で溶解すればエンドトキシン原液は 24 EU/ml になります。最低 15 分間ボルテックス等で攪拌して下さい。

凍結乾燥されたエンドトキシンは 2~8°C で保管して下さい。溶解されたエンドトキシン原液は 2~8°C で最長 4 週間安定です。使用前には必ず室温に戻し 15 分強く攪拌して下さい。エンドトキシンはガラスに付着しやすいのでこれは重要です。

このエンドトキシンはユーザーの利便性のために提供されるものです。他のエンドトキシンをスタンダードとして使用することも可能ですが、その場合そのエンドキシンの比色法における性能を Reference Standard Endotoxin (RSE、エンドトキシン標準品)を基準として決定する必要があります。

警告: 人由来の物質を含んでいます。

COA は下記のページよりはダウンロードしてください。

http://www.lonza.co.jp/products/endotoxin/exam_record.html

Chromogenic Substrate

各バイアルには約 7 mg の凍結乾燥された基質が入っています。6.5 ml のエンドトキシン試験用水を加えて濃度が~2 mM の溶液として下さい。凍結乾燥された発色性基質は 2~8°C で保存して下さい。溶解後は、微生物やエンドトキシンの汚染がなければ、基質溶液は 2~8°C で最長 4 週間安定です。**長時間光に晒されるのを避けて下さい。**

LAL Reagent Water (各 30 ml)

全ての試薬の溶解および陰性コントロール(ブランク)として使用されます。エンドトキシン試験用水は 2~8°C で保存して下さい。

キット以外に必要な材料及び装置

1. 反応停止液。例:酢酸、25%(v/v) 氷酢酸、または 10 g/100ml ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)
2. 検体の pH 調整が必要であれば、エンドトキシンフリーの 0.1N 塩酸もしくは 0.1N 水酸化ナトリウム溶液
3. エンドトキシンフリーのガラス試験管(検体希釈用)(13x100mm、ロンザ製品 N207 か同等のもの)
4. 個別包装のメスピペット
5. 自動ピペットとエンドトキシン試験用チップ(ロンザ製品 25-415、25-416、25-417 か同等のもの)
6. アッセイに試験管を使用する場合:エンドトキシンフリーのガラス試験管、10 mm x 75 mm(ロンザ製品 N201、N205 か同等のもの)
7. アッセイにマイクロプレートを使用する場合:使い捨ての無菌マイクロプレート

注意:ルーティン使用に先立ち、マイクロプレートが各ライセートのロットについて、下記の「パフォーマンス特性」に記述されている直線性の基準を満たしているかの確認が必要です

8. 8 チャンネルピペッター
9. 試薬リザーバー(ロンザ製品 25-364 か同等のもの)
10. ドライバスかマルチブロックヒーター(37°C±1.0°C)
11. タイマー及びボルテックス
12. アッセイに試験管を使用する場合:分光光度計(405~410 nm)
13. アッセイにマイクロプレートを使用する場合:マイクロプレートリーダー(405~410 nm)(ELx808 か同等のもの)

検体の採取及び調整

微生物またはエンドトキシンにより汚染されないように注意して下さい。検体または試薬に接触する器具は全てエンドトキシンフリーでなければなりません。清潔なガラス器具を 250°C で 30 分間乾熱処理を行うと、エンドトキシンフリーになります。適切な予防措置を取り、二次的な環境汚染から脱パイロジェン化した器具を保護して下さい。

経験上、滅菌個別包装プラスチックピペット及びピペットチップのほとんどはエンドトキシンフリーですが、通常使用前に試験して下さい。

エンドトキシンフリーの水酸化ナトリウムまたは塩酸を使用して、検体の pH を 6.0~8.0 の範囲に収まるよう調整する必要がありますがあるかもしれません。必ず検体の一部を取り分けて pH を測定し、検体全体が pH メーターの電極によって汚染されないようにして下さい。非緩衝液の pH は調整しないで下さい。

試験される検体は、全細菌活性が停止するように保存されなければなりません。そうしないと、時間の経過とともにエンドトキシン値が上昇する可能性があります。例えば、検体を 2~8°C で保存する場合、その保存時間は 24 時間未満とし、24 時間以上保存する場合は凍結して下さい。

もし試薬を溶解する希釈液の容器が開封済みあるいはロンザ製品でない場合は、希釈液単独でエンドトキシン汚染の試験を実施して下さい。

試薬の調整

試薬は使用する前に室温に戻しておいてください。各アッセイにおいて、4 濃度のスタンダード溶液が必要です。以下の表はキットのエンドトキシンを用いたスタンダードの調整案を示したものです。他の希釈案やこのキットに含まれるもの以外のエンドトキシンの使用も可能です。エンドトキシンの原液の最初の希釈は、エンドトキシンのバイアルの濃度を X とした場合 1/X となり、これで 1.0 EU/ml のエンドトキシン溶液が得られます。例えば、もし力価が 23 EU/ml の場合、最初の希釈は 1/23、あるいは 0.1 ml のエンドトキシン原液を 2.2 ml のエンドトキシン試験用水に加えます。

エンドトキシン濃度 EU/ml	エンドトキシン原液	エンドトキシンスタンダード溶液 1 EU/ml	エンドトキシン試験用水
1.0	0.1 ml	(X-1)/10 ml	ml
0.5		0.5 ml	0.5 ml
0.25		0.5 ml	1.5 ml
0.1		0.1 ml	0.9 ml

X = バイアル (エンドトキシン原液) のエンドトキシン濃度

- 0.1 ml のエンドトキシン原液を、X をバイアルのエンドトキシン濃度として、(X-1)/10 ml のエンドトキシン試験用水で希釈して 1.0 EU/ml のエンドトキシン溶液を調整して下さい。この溶液は次のステップに進む前に最低 1 分間は強くボルテックスにかけて下さい。例えば、X = 23 EU/ml の場合、0.1 ml のエンドトキシン原液を (23-1)/10 = 2.2 ml のエンドトキシン試験用水で希釈して下さい。
- 0.5 ml の 1.0 EU/ml 溶液を 0.5 ml のエンドトキシン試験用水に加えて、0.5 EU/ml として下さい。次のステップに進む前に、この溶液を最低 1 分間は強くボルテックスにかけて下さい。
- 0.5 ml の 1.0 EU/ml 溶液を 1.5 ml のエンドトキシン試験用水に加えて、0.25 EU/ml として下さい。次のステップに進む前に、この溶液を最低 1 分間は強くボルテックスにかけて下さい。
- 0.1 ml の 1.0 EU/ml 溶液を 0.9 ml のエンドトキシン試験用水に加えて、0.1 EU/ml として下さい。次のステップに進む前に、この溶液を最低 1 分間は強くボルテックスにかけて下さい。

試験の手順

LAL 試験における全ての試薬の添加方法は一定でなくてはなりません。全ての試験管またはマイクロプレートのウェルは、適切なエンドトキシン濃度を測定するために全く同様に扱われなければなりません。試験管あるいはウェルに試薬を同じ順番、同じ速さで添加して下さい。

以下の表は試験の手順の概要をまとめたものです。

	検体	ブランク
検体あるいはスタンダード (20~25°C)	50 μ l	
エンドトキシン試験用水		50 μ l
LAL 試薬	50 μ l	50 μ l
攪拌して 37 \pm 1°C でインキュベーション	10 分	10 分
37 \pm 1°C に加温した基質	100 μ l	100 μ l
攪拌して 37 \pm 1°C でインキュベーション	6 分	6 分
反応停止液	100 μ l	100 μ l
直ちに攪拌		

試験管を用いる方法

- 37°C \pm 1°C のヒートブロックあるいはウォーターバスに設置したエンドトキシンフリーの試験管に、50 μ l の検体あるいはスタンダードを、注意深く分注して下さい。ブランクと 4 濃度のスタンダードを N=2 で用意して下さい。ブランクの試験管には検体の代わりにエンドトキシン試験用水を入れて下さい。全ての試薬の添加とインキュベーション時間は同一にして下さい。
- T = 0 において、50 μ l の LAL 試薬を試験管に加えて下さい。LAL 試薬を最初の試験管に加えた瞬間から時間を計って下さい。試験管に同じ順番で、速さを一定に保って試薬を加えることが重要です。溶液の十分な混合は必要ですが、ボルテックスはしないで下さい。
- T = 10 分において、予め 37°C \pm 1°C に温めた基質溶液を各試験管に 100 μ l ずつ加えて下さい。ステップ 2 と同じ試験管の順番ならびに速度で試薬を加えて下さい。試験管の中身を十分に混合して下さい。
- T = 16 分において、100 μ l の反応停止液を加えて下さい。ステップ 2、3 と同じ試験管の順番ならびに速度で試薬を加えて下さい。十分に混合して下さい。
- 蒸留水で分光光度計のゼロを調節し、各試験管の吸光度を 405~410 nm で読取って下さい。

マイクロプレートを用いる方法

- ヒートブロックでマイクロプレートを 37°C \pm 1°C に安定させてください。(注意 * キャビネット型のインキュベーターは使用しないで下さい。)
- マイクロプレートを 37°C \pm 1°C に保った状態で、50 μ l の検体もしくはスタンダードをそれぞれのウェルに加えて下さい。ブランクと 4 濃度のスタンダードを N=2 で用意して下さい。ブランクのウェルには検体の代わりに 50 μ l のエンドトキシン試験用水を入れて下さい。全ての試薬の添加とインキュベーション時間は同一にして下さい。
- T = 0 において、最初のウェルに、あるいはもし 8 チャンネルのピペッターとリジエントリザーバーを使用

- する場合は最初の列に、50 μ l の LAL 試薬を加えて下さい。LAL 試薬を最初のウェルに加えた時点から時間を計って下さい。同じ順番ならびに速度でウェルからウェルへまたは列から列へ試薬を加えて下さい。LAL 試薬を検体またはスタンダードの入っている全てのウェルに加え終わったら、マイクロプレートを短時間ヒートブロックから外し、プレートの脇を軽く指でトントンと叩いて液を混合させて下さい。プレートはヒートブロックに戻して蓋をして下さい。
- T = 10 分において、予め 37°C \pm 1°C に温めた基質溶液を各ウェルに 100 μ l ずつ加えて下さい。ステップ 3 と同じウェルの順番ならびに速度で試薬を加えて下さい。基質を全てのウェルに加え終わったら、マイクロプレートを短時間ヒートブロックから外し、プレートの脇を軽く指でトントンと叩いて液を混合させて下さい。プレートはヒートブロックに戻して蓋をして下さい。
 - T = 16 分において、100 μ l の反応停止液を加えて下さい。ステップ 3、4 と同じウェルの順番ならびに速度で反応停止液を加えて下さい。反応停止液を全てのウェルに加え終わったら、マイクロプレートをヒートブロックから外し、プレートの脇を軽く指でトントンと叩いて液を混合させて下さい。プレートはヒートブロックに戻して蓋をして下さい。
 - T = 16 分において、100 μ l の反応停止液を加えて下さい。ステップ 3、4 と同じウェルの順番ならびに速度で反応停止液を加えて下さい。反応停止液を全てのウェルに加え終わったら、マイクロプレートをヒートブロックから外し、プレートの脇を軽く指でトントンと叩いて液を混合させて下さい。プレートはヒートブロックに戻して蓋をして下さい。
 - 蒸留水でマイクロプレートリーダーのゼロを調節し、各ウェルの吸光度を 405~410 nm で読取って下さい。注意: マイクロプレートリーダーによっては検体の液量 300 μ l 未満が適切なものもあります。その場合反応停止液を各ウェル 50 μ l に減らしてもテスト結果に悪影響はありません。

パフォーマンス特性直線性

ライセート試薬の各ロットについて、試薬に規定されているエンドトキシンの濃度範囲で検量線の直線性を確認する必要があります (いわゆる初期品質確認試験)。ブランクと共に、意図する濃度範囲にわたって最低 4 濃度のスタンダードを N=4 で測定する必要があります。通常のアッセイ条件では、「試薬の調整」に記述されているように 0.1~1.0 EU/ml のエンドトキシンスタンダードでいいでしょう。スタンダードの各平均吸光度変化量 (Δ A) (最低 16 ポイント) vs. それぞれに対応するエンドトキシン濃度 (以下の「エンドトキシンの濃度の計算」参照) の相関係数 $r \geq 0.980$ でなくてはなりません。

再現性

優れた技術と小さな変動係数 (C.V.) を確立するために、同じ検体を複数回 (N) 測定する必要があります。変動係数 (C.V.) は集団の標準偏差を平均で割って 100 をかけたものに等しく、% で表記されます。吸光度の C.V. (%) は 10% 以下でなくてはなりません。経験があれば、初期品質確認試験において 1 EU スタンダードの未補正の吸光度を測定すると、3~4% 程度が得られる筈です。

エンドトキシンの濃度の計算

標準的な条件下では、405~410 nm の吸光度は 0.1~1.0 EU/ml のエンドトキシンと一次直線を示します (「パフォーマンス特性」参照)。検体中のエンドトキシン濃度を測定する方法はいくつかあります。ブランクの平均吸光度をスタンダードと検体の平均吸光度から差し引いて、平均吸光度変化量 (Δ A の平均) を算出して下さい。

- グラフによる方法
エンドトキシン濃度 (EU/ml) を X 軸に、対応する濃度の Δ A の平均を Y 軸にスタンダードをプロットし、それらの点全てに最もフィットする直線を引いて、グラフから検体のエンドトキシン濃度を定量して下さい。
- 計算機による方法
直線回帰機能が備わった計算機を使用できます。スタンダードの 4 濃度とそれぞれ対応する濃度の Δ A の平均を入力して下さい。直線回帰により検体のエンドトキシン濃度を定量して下さい。

データ例

試験管ウェル	検体	吸光度 405 nm	平均吸光度	平均 Δ A
1	エンドトキシン試験用水	0.080		
2	(ブランク)	0.084	0.082	-
3	0.1 EU/ml	0.160		
4	スタンダード	0.180	0.170	0.088
5	0.25 EU/ml	0.309		
6	スタンダード	0.325	0.317	0.235
7	0.5 EU/ml	0.570		
8	スタンダード	0.557	0.564	0.482
9	1.0 EU/ml	1.052		
10	スタンダード	1.012	1.032	0.950
11		0.372		
12	製品 (1)	0.392	0.382	0.300
13		0.916		
14	製品 (2)	0.912	0.914	0.832

グラフと計算については英語の使用説明書 p.11~13 をご覧ください。

注意

検体のエンドトキシン濃度が 1.0 EU/ml よりも高い場合は、検体をエンドトキシン試験用水で 5 倍に希釈したうえで、再度テストしてください。希釈した検体の濃度を計算し、5 をかけて原液のエンドトキシン濃度を定量して下さい。

製品による阻害

製品中の物質が LAL 反応を阻害することがあります。比色法 LAL 試験の場合、この阻害は低い最終吸光度変化量(ΔA)、つまり実際に検体中に存在するよりも低いエンドトキシンレベルを示すこととなります。各検体について、原液のままか原液を適切な濃度に希釈して、反応阻害がないことを確認する必要があります。

製品による阻害がないことを確認するために、検体(あるいは検体の希釈)の一部を既知量のエンドトキシン(例: 0.4EU/ml)でスパイクします。スパイクされた溶液はスパイクなしの検体とともにアッセイされ、それぞれのエンドトキシン量が定量されます。両者の定量されたエンドトキシン値の差が、既知量のスパイクの±25%以内であれば阻害はないとみなされます。

スパイクされた検体は以下のように調整することができます。

1. スタンダードエンドトキシンの原液から 1.0 EU/ml のエンドトキシン溶液を調整して下さい。原液の濃度を X EU/ml とすると 1/X に希釈します。検体、あるいは検体の希釈物を希釈液として使用して下さい。次の手順に進む前にこの溶液を 1 分間強くボルテックスして下さい。例えば、エンドトキシン原液の濃度が 24 EU/ml の場合、最初に 1/24 に希釈するか、0.1 ml のエンドトキシン原液を 2.3 ml の検体(あるいはその希釈物)を加えて、1.0 EU/ml として下さい。
2. 検体(あるいはその希釈物)で 0.4 EU/ml のエンドトキシン溶液を調整する場合、検体(あるいはその希釈物)を希釈液として 1.0 EU/ml 溶液を 1/2.5 に希釈して下さい。1.0ml の 1.0 EU/ml 溶液を 1.5 ml の検体(あるいはその希釈物)で希釈すると 0.4 EU/ml になります。次の手順に進む前に溶液を 1 分間強くボルテックスして下さい。

もし検体(あるいはその希釈物)が LAL 反応を阻害することがわかった場合、検体は阻害が克服されるまで更なる希釈が必要となるでしょう。

阻害を示さない希釈の決定の例

検体の希釈	算出されたエンドトキシン濃度 (EU/ml)		
	A. スパイクなし	B. スパイクあり	B-A
1/10	0.18	0.28	0.10 阻害あり
1/20	0.11	0.36	0.25 阻害あり
1/40	<0.1	0.44	0.44 阻害なし

はじめに検体を 10 倍希釈系列で試験するとよいでしょう。阻害を生じないおおよその希釈率が決定されたら、その周辺を 2 倍単位の希釈系列で試験をしてより正確な希釈倍率を求めて下さい。

測定の限界

LAL 反応の阻害と促進の程度は製品の濃度によります。同じ製品をいくつかの異なる濃度で測定する場合、それぞれのパフォーマンス特性を確立することが必要となります。

従来のゲル化試験とは異なる阻害や促進の傾向が見られるかもしれません。

阻害を克服するために、エンドトキシンフリーの水酸化ナトリウムまたは塩酸で検体の pH を 6.0~8.0 に調節する必要がありますかもしれない。

色のついた検体

比色法試験においては、濃い色のついた検体には特別な注意を必要とします。また、25%酢酸を反応停止液として使用する場合、ある組織培養の培地のように酸性の環境下で黄色になる製品があることにご留意下さい。

製品自身の色が考慮されるべき程度であるかを簡単に決定する方法には擬似反応試験があります。50 μl の検体、150 μl のエンドトキシン試験用水、および 100 μl の反応停止液を混ぜて下さい(インキュベーションなし)。405~410 nm で吸光度を讀取って下さい。もし吸光度がエンドトキシン試験用水のそれよりも著しく高ければ、製品の色を考慮する必要があります。

アッセイの時に、50 μl の検体、150 μl のエンドトキシン試験用水、および 100 μl の反応停止液を混ぜて(インキュベーションなし)検体ブランクを調整して下さい。更に、スタンダードとエンドトキシン試験用水(ブランク)とともに、製品をアッセイして下さい。検体の ΔA を算出するには、検体ブランクの吸光度およびエンドトキシン試験用水(ブランク)の平均吸光度を差し引いて下さい。ただし、エンドトキシンのスタンダードおよび無色の製品の ΔA を算出する場合はエンドトキシン試験用水(ブランク)の値のみを差し引いて下さい。

バックグラウンドの色が有意である場合(>0.5A)、検体を希釈して再度アッセイする必要があります。エンドトキシン濃度を定量する最終的な計算には希釈倍率も含めて下さい。

他の試験方法との相関

アメリカ合衆国においては FDA が LAL 試験の公式の使用を規制しています。FDA は LAL 試験の標準化において大きな支援となる公式の LAL とエンドトキシンの調整品を有しています。FDA 標準 LAL は比色法向けに調整されたものではないため、この試験には使用されません。しかしながら、公式のエンドトキシンはこのキットに含まれるエンドトキシンを標準化するために使用されています。異なるエンドトキシンの調整品の力価は従来のゲル化法においても比色法においてもばらつきが見られます。このキットに含まれるエンドトキシンスタンダードは比色法を用いて FDA エンドトキシン標準品(FDA Reference Standard Endotoxin, RSE)と比較され、その力価は Certificate of Analysis(試験成績表、COA)に記載されています。このスタンダードから希釈された検量線は RSE における 0.1~1.0 EU/ml の範囲を得ます。しかしながら、従来のゲル化法は 2 倍ごとの希釈によ

り標準化されており、従ってそのばらつきは、標準化が連続的であればばらつきが少ない比色法 LAL 試験に比べると大きくなることにご留意下さい。

アメリカ合衆国以外のお客様へ

各国の監督機関がその司法権に従った他の試験実施基準を設けているかもしれませんのでご注意ください。

参考文献

1. Bang, F.B. A bacterial disease of *Limulus polyphemus*. Bull. Johns Hopkins Hosp. 98:325 (1956).
2. Levin J. and F.B. Bang. The role of endotoxin in the extracellular coagulation of *Limulus* blood. Bull. Johns Hopkins Hosp. 115:265(1964).
3. Levin. J. and F.B. Bang. A description of cellular coagulation in the *Limulus*. Bull. Johns Hopkins Hosp. 115:337 (1964).
4. Levin. J. and F.B. Bang. Clottable protein in *Limulus*: its localization and kinetics of its coagulation by endotoxin. Thromb. Diath. Haemorrh. 19:186 (1968).
5. Solum. N.O. Some characteristics of the clottable protein of *Limulus polyphemus* blood cells. Thromb. Diath. Haemorrh. 23:170 (1970).
6. Solum. N.O. The coagulogen of *Limulus polyphemus* hemocytes. A comparison of the clotted and non-clotted forms of the molecule. Thromb. Res. 2:55 (1973).
7. Young. N.S., J. Levin and R.A. Prendergast. An invertebrate coagulation system activated by endotoxin: Evidence for enzymatic mechanism. J. Clin. Invest. 51:1790 (1972).
8. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Food and Drug Administration, "Guideline on Validation of the Limulus Amebocyte Lysate test as an End-product Endotoxin Test for Human and Animal Parenteral Drugs, Biological Products, and Medical Devices" (1987).
9. Chapter <85> Bacterial Endotoxins. Rockville, MD: United States Pharmacopeia.

特許

この製品の構成品は U.S. Patent 4510241,4322717 で保護されています。

商標

ELx808™ は BioTek Instruments 社の商標です。特別に表記された場合を除いて、ここにおける全ての商標は Lonza グループもしくはその系列のものです。

輸入発売元: ロンザジャパン株式会社
東京都中央区新川 2-20-8
協和新川ビル 8 階
電話 03-5566-0612 (代表)
FAX 03-5566-0619
http://www.lonza.co.jp

製造元: Lonza Walkersville, Inc
8830 Biggs Ford Road, Walkersville
Maryland
http://www.lonza.com