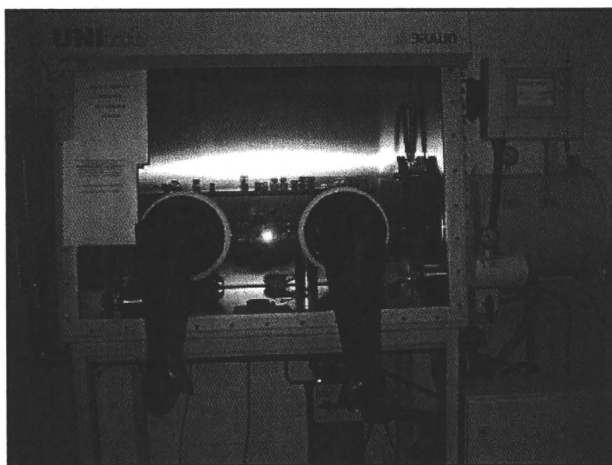


安全キャビネットの分類

<p>クラス I</p>	<p>クラス I 前面開口部から空気を流入させてエアロゾルの排出を防止する構造になっており、実験従事者を保護することを目的し、実験装置などの隔離用に用いられます。キャビネット内部は無菌状態ではない。</p>	<p>クラス II A</p>
<p>クラス II B</p>	<p>クラス II A クラスIIの安全キャビネットは、実験従事者およびキャビネット内の実験試料を保護することを目的としている。循環空気の割合が70%程度となっている。</p>	<p>クラス II B</p>
<p>クラス III</p>	<p>クラス II B クラスIIAとほぼ同じ構造になっている。循環空気の割合が30%で、残り70%が室外に排出される。化学発癌剤などの有害化学物質や低レベルの放射性物質を用いる実験に用いられる。</p>	<p>クラス III</p>
<p>クラス II A</p>	<p>クラス III このタイプの安全キャビネットは、完全密閉式になっており、内部は陰圧に保たれ、キャビネットに取付けられた手袋を用いて実験を行なう。P4実験室で用いる安全キャビネット。</p>	<p>クラス III</p>



エンドトキシン (Endotoxin: 内毒素)

- エンドトキシンは、グラム陰性桿菌の細胞壁外膜の構成成分の1つであり、リポ多糖体 (Lipopolysaccharide: LPS) である。パイロジェンと同義語として用いられている。
- エンドトキシンは、菌体の形状保持だけでなく、外部からの攻撃に対して、細胞内部を保護する役割を有している。
- エンドトキシンが非経口的投与により体内に入ると、発熱やショック、白血球増多など多彩な生体作用を引き起こし、致死に至ることもある。
- エンドトキシンは熱に安定であり、通常の滅菌処理では除去できないので、原料段階から汚染管理が必要である。
(250°C、30分間の乾熱滅菌でエンドトキシンは分解可能)

エンドトキシンの定量

リムルス試験

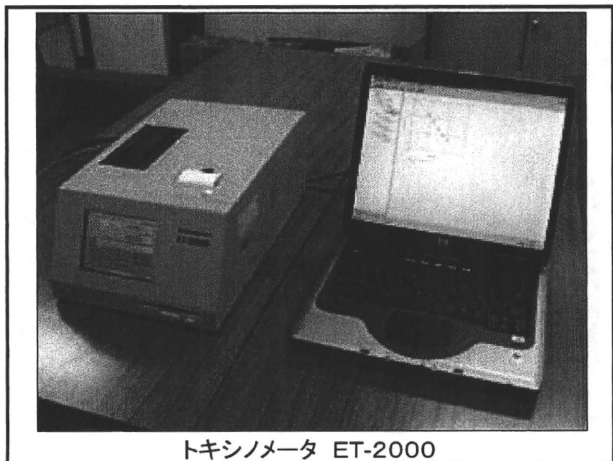
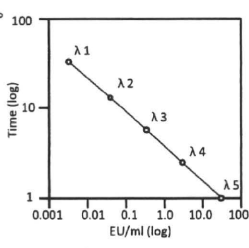
- カプトガニの血液成分 (Limulus Amoebocyte) とエンドトキシンとが反応し凝固することを応用した試験。
- エンドトキシンの単位として重量単位の「pg」と、力価を示す「EU」が用いられる。
- E. Coli の UKT-8 株では、125pg が 1EU に相当するが、グラム陰性菌の菌種によって力価は異なっている。

日本薬局方 (JP) では、医薬品に含まれるエンドトキシン量に関して厳密な規定を設けている。

エンドトキシン規格値の設定 (第15改訂 JP)	
投与経路	(EU/kg)
静脈内	5.0
静脈内: 放射性医薬品	2.5
脊髄腔内	0.2

エンドトキシン測定標準操作法

- 検量線の作成
使用するリムルス試薬の測定範囲内で、少なくとも3濃度以上の標準液を使って検量線を作成する。
- 検量線の信頼性確認
検量線を作成して相関係数「r」を求める。「r」の絶対値は、0.980 以上でなければならない。
- 反応干渉因子試験
試料中のエンドトキシンを測定する場合には、既知の濃度のエンドトキシンを添加し、その回収率を調べ、反応に影響を及ぼす因子の有無を試料ごとに調べる必要がある。



トキシノメータ ET-2000

文書番号 HHS-01-01	試薬・器材の準備・確認の手順書 および記録書	改定番号	1
		2頁の内 1頁	
製造番号:	製造年月日: 年 月 日	承認:	

試薬・器材の確認

記載されている試薬・器材のロット番号・使用期限または製造年月日を記載する。

試薬	容量	メーカー	物品番号
<input type="checkbox"/> DMEM	500mL	SIGMA	D6046
<input type="checkbox"/> ペニシリン・ストレプトマイシン	500mL	Wako	168-23191
<input type="checkbox"/> FBS	500mL	Hyclone	SH30396.03
<input type="checkbox"/> TrypLE Select	100mL	GIBCO	12653-011
<input type="checkbox"/> トリパンプルー溶液	100mL	Wako	207-17081
<input type="checkbox"/> PBS(-)	500mL	Wako	166-23555

試薬	ロット番号	使用期限
<input type="checkbox"/> DMEM		
<input type="checkbox"/> ペニシリン・ストレプトマイシン	FPJ7030	2012/07
<input type="checkbox"/> FBS		
<input type="checkbox"/> TrypLE Select		
<input type="checkbox"/> トリパンプルー溶液	EPF7004	2012/10
<input type="checkbox"/> PBS(-)	EPH7007	2012/08

逸脱記録: _____

日付 _____ 年 月 日

確認者 _____

文書番号 HHS-01-01	試薬・器材の準備・確認の手順書 および記録書	改定番号	1
		2 頁の内 2 頁	
製造番号:	製造年月日: 年 月 日	承認:	

器 材	容量	メーカー	物品番号
<input type="checkbox"/> ピペット	2mL	BD Falcon	356507
<input type="checkbox"/> ピペット	5mL	BD Falcon	356543
<input type="checkbox"/> ピペット	10mL	BD Falcon	356551
<input type="checkbox"/> ピペット	25mL	BD Falcon	356525
<input type="checkbox"/> 遠沈管	15mL	旭テクノグラス	2325-015
<input type="checkbox"/> 遠沈管	50mL	旭テクノグラス	2345-050
<input type="checkbox"/> 注射器	2.5mL	テルモ	
<input type="checkbox"/> 注射針	18G	ニプロ	01-001
<input type="checkbox"/> エンドトキシン用チューブ			
<input type="checkbox"/> 100mm培養皿		旭テクノグラス	3020-100
<input type="checkbox"/> 滅菌チューブ(1.5mL)		Eppendorf	0030 121.589

器 材	ロット番号	製造年月日
<input type="checkbox"/> ピペット 2mL	_____	_____
<input type="checkbox"/> ピペット 5mL	_____	_____
<input type="checkbox"/> ピペット 10mL	_____	_____
<input type="checkbox"/> ピペット 25mL	_____	_____
<input type="checkbox"/> 遠沈管 15mL	_____	_____
<input type="checkbox"/> 遠沈管 50mL	_____	_____
<input type="checkbox"/> 100mm培養皿	_____	_____

器 材	ロット番号	使用期限
<input type="checkbox"/> 注射針 18G	_____	_____
<input type="checkbox"/> 注射器 2.5mL	_____	_____
<input type="checkbox"/> エンドトキシン用チューブ	_____	_____
<input type="checkbox"/> 滅菌チューブ(1.5mL)	_____	_____

逸脱記録: _____

日付 _____ 年 _____ 月 _____ 日

確認者 _____

文書番号 HHS-01-02	細胞播種の手順書および 記録書	改定番号	1
		4頁の内 1頁	
製造番号:	製造年月日: 年 月 日	承認:	

試薬・器材の準備

* 安全キャビネット内に入れる

試薬	容量	メーカー	物品番号	数量	備考
<input type="checkbox"/> * DMEM	500mL	SIGMA	D6046	1	
<input type="checkbox"/> * ペニシリン・ストレプトマイシン	500mL	Wako		1	
<input type="checkbox"/> * FBS	500mL	Hyclone		1	
<input type="checkbox"/> * TrypLE Select	100mL	GIBCO	12653-011	1	
トリパンプルー溶液	100mL	Wako	207-17081	1	
PBS(-)	500mL	Wako	166-23555	1	
器材	容量	メーカー	物品番号	数量	備考
<input type="checkbox"/> * ピペットエイド		ファルコン		1	
マイクロピペット	200uL	Gilson	P-200	1	
マイクロピペット	1000uL	Gilson	P-1000	1	
滅菌イエローチップ				1箱	
滅菌ブルーチップ				1箱	
<input type="checkbox"/> * ピペット	2mL	BD Falcon	356507	3	
<input type="checkbox"/> * ピペット	5mL	BD Falcon	356543	6	
<input type="checkbox"/> * ピペット	10mL	BD Falcon	356551	3	
<input type="checkbox"/> * ピペット	25mL	BD Falcon	356525	2	
<input type="checkbox"/> * 100mm培養皿		旭テクグラス	3020-100	5	細胞播種時に安全キャビネット内に入れる
<input type="checkbox"/> * 遠沈管	15mL	旭テクグラス	2325-015	2	
<input type="checkbox"/> * ストレージボトル	500mL	Corning	430282	1	廃液用
<input type="checkbox"/> * 滅菌チューブ(1.5mL)		Eppendorf	0030 121.589	3	1本を安全キャビネット内に入れる
セルカウントプレート		OneCell	OC-C-S02	1	
カウンター					
計算機					
はさみ					
マジック					
<input type="checkbox"/> * チューブ立て 15mL用				1	
<input type="checkbox"/> * チューブ立て 50mL用				1	
<input type="checkbox"/> * チューブ立て 1.5mL用				1	
<input type="checkbox"/> 滅菌敷布				1	
<input type="checkbox"/> ワイプ				1包	
<input type="checkbox"/> 70%アルコールスプレー				1	
<input type="checkbox"/> オートクレーブバッグ Lサイズ				1	
<input type="checkbox"/> 記録書					

日付 _____ 年 _____ 月 _____ 日

確認者 _____

文書番号 HHS-01-02	細胞播種の手順書および 記録書	改定番号	1
		4 頁の内 2 頁	
製造番号:	製造年月日: 年 月 日	承認:	

試薬の調整

- DMEM 培地 (500mL) に FBS (55mL) とペニシリン-ストレプトマイシン (5mL) を加える。

逸脱記録: _____

細胞数計測

1. 細胞の観察

- 培養皿を顕鏡し細胞を観察する。

2. 培養皿からの細胞解離

- 培養皿の培地をピペット(10mL)で廃液用ストレージボトル(500mL)に移す。
- TrypLE Select をピペット(5mL)で 3mL 加え、37°C, 5% CO₂ インキュベーター内に 5 分静置する。
- 遠沈管(15mL)、滅菌チューブ(1.5mL)に必要な事項を記入する。
- 顕微鏡視下に培養皿から細胞が剥がれたのを確認する。(細胞が剥がれていない場合は、再びインキュベーター内に静置する。)
- ピペット(5mL)で培養皿の表面を洗うようにして細胞懸濁液を回収し、遠沈管(15mL)に移す。
- 1000rpm, 5 分, 室温で遠心する。
- ピペット(5mL, 2mL)で上清を吸引し、廃液用ストレージボトル(500mL)に移し廃棄する。
- ペレットに、ピペット(5mL)で FBS 入り DMEM 培地を 3mL 加え懸濁する。
- 細胞懸濁液を十分攪拌する。

逸脱記録: _____

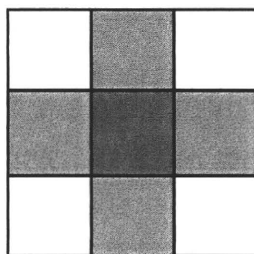
文書番号 HHS-01-02	細胞播種の手順書および 記録書	改定番号	1
		4 頁の内 3 頁	
製造番号:	製造年月日: 年 月 日	承認:	

2. 細胞数及び生存率の測定

- 細胞懸濁液をピペット(2mL)で滅菌チューブ(1.5mL)に約 0.2mL 分注する。

ここから細胞懸濁液を 100uL 採取し滅菌チューブ(1.5mL)に入れる。PBS(-)を 400uL 加え攪拌し細胞希釈液とする。(5 倍希釈) 細胞希釈液を 100uL 採取し滅菌チューブ(1.5mL)に入れ、トリパンブルー100uLと攪拌する(10 倍希釈)

セルカウントプレートを用いて倍率 100 倍で生細胞数(染色されていない細胞)と死細胞数(青く染色された細胞)を計測する。



1mL あたりの生細胞数

$$= \boxed{} + \boxed{} + \boxed{} + \boxed{} / 4 \times 10 \times 10^4 = \underline{\hspace{2cm}} \text{個/mL}$$

1mL あたりの死細胞数

$$= \boxed{} + \boxed{} + \boxed{} + \boxed{} / 4 \times 10 \times 10^4 = \underline{\hspace{2cm}} \text{個/mL}$$

- 細胞懸濁液量 mL
- 生細胞数 個
- 死細胞数 個
- 総細胞数 個
- 細胞生存率 %

文書番号 HHS-01-02	細胞播種の手順書および 記録書	改定番号	1
		4頁の内 4頁	
製造番号:	製造年月日: 年 月 日	承認:	

3. 細胞の播種

培養皿(100mm) 1枚あたりの生細胞数 = 5.0×10^5 個 となるように細胞を播種する.

- 培養皿(100mm 培養皿面積 55 cm^2)を 5枚準備する.
- 生細胞数 5.0×10^5 個/mL となる様に FBS 入り DMEM で希釈する.

細胞懸濁液量 _____ mL
 FBS 入り DMEM _____ mL 合計 _____ mL

- 培養皿(100mm) にピペット(25mL)で FBS 入り DMEM 培地を 9mL ずつ加える.
- ピペット(2mL)で細胞懸濁液(生細胞数 5×10^5 個/mL)を 1mL ずつ加え、ゆるやかに攪拌する.
- 37°C , 5% CO_2 インキュベーター内に静置する.

終了時刻 : _____ 時 _____ 分

逸脱記録: _____

日付 年 月 日

 作業者 _____
 記録者 _____

文書番号 HHS-01-03	第1回細胞数計測及び培地交換の 手順書および記録書	改定番号	1
		3頁の内 1頁	
製造番号:	製造年月日: 年 月 日	承認:	

試薬・器材の準備

* 安全キャビネット内に入れる

	容量	メーカー	物品番号	数量	備考
<input type="checkbox"/> * FBS入りDMEM	500mL			1	
<input type="checkbox"/> * TrypLE Select	100mL	GIBCO	12653-011	1	
トリパンプルー溶液	100mL	Wako	207-17081	1	
器 材					
	容量	メーカー	物品番号	数量	備考
<input type="checkbox"/> * ピペットエイド		ファルコン		1	
マイクロピペット	200uL	Gilson	P-200	1	
マイクロピペット	1000uL	Gilson	P-1000	1	
滅菌イエローチップ		BM機器	BM3040	1箱	
滅菌ブルーチップ		BM機器	BM3070	1箱	
<input type="checkbox"/> * ピペット	2mL	BD Falcon	356507	2	
<input type="checkbox"/> * ピペット	5mL	BD Falcon	356543	3	
<input type="checkbox"/> * ピペット	10mL	BD Falcon	356551	2	
<input type="checkbox"/> * ピペット	25mL	BD Falcon	356525	1	
<input type="checkbox"/> * 遠沈管	15mL	旭テクグラス	2325-015	2	
<input type="checkbox"/> * ストレージボトル	500mL	Corning	430282	1	
<input type="checkbox"/> * 滅菌チューブ(1.5mL)		Eppendorf	0030 121.589	4	2本を安全キャビネット内に入れる
セルカウントプレート		OneCell	OC-C-S02	1	
カウンター					
計算機					
はさみ					
<input type="checkbox"/> * マジック					
<input type="checkbox"/> * チューブ立て 15mL用				1	
<input type="checkbox"/> * チューブ立て 50mL用				1	
<input type="checkbox"/> * チューブ立て 1.5mL用				1	
<input type="checkbox"/> 滅菌敷布				1	
<input type="checkbox"/> ワイプ				1包	
<input type="checkbox"/> 70%アルコールスプレー				1	
<input type="checkbox"/> オートクレーブバッグ Lサイズ				1	
<input type="checkbox"/> 記録書					

日付 年 月 日

確認者 _____

文書番号 HHS-01-03	第1回細胞数計測及び培地交換の 手順書および記録書	改定番号	1
製造番号:	製造年月日: 年 月 日	3頁の内 2頁	
		承認:	

第1回細胞数計測 (播種後 ____ 日目)

1. 細胞の観察

- 培養皿を鏡し細胞を観察する。そのうち 2 枚を細胞数計測に用いる。

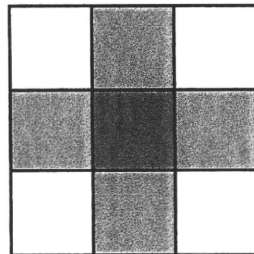
2. 培養皿からの細胞解離

開始時刻 : ____ 時 ____ 分

- 培養皿の培地をピペット(10mL)で廃液用ストレージボトル(500mL)に移す。
- TrypLE Select をピペット(5mL)で 3mL ずつ加え、CO₂ インキュベーター内に 5 分静置する。
- 遠沈管(15mL)、滅菌チューブ(1.5mL)に必要事項を記入する。
- 顕微鏡視下に培養皿から細胞が剥がれたのを確認する。(細胞が剥がれていない場合は、再びインキュベーター内に静置する。)
- ピペット(5mL)で培養皿の表面を洗うようにして細胞懸濁液を回収し、遠沈管(15mL)に移す。
- 細胞懸濁液を十分攪拌する。

3. 生細胞数の測定

- 細胞懸濁液をピペット(2mL)で滅菌チューブ(1.5mL)に約 0.2mL 分注する。ここから細胞懸濁液を 100 μ L 採取し、滅菌チューブ(1.5mL)の中でトリパンプルー100 μ L と攪拌する(2 倍希釈)。
- セルカウントプレートを用いて倍率 100 倍で生細胞数を計測する。
- (染色されていない細胞のみを計測する)



ディッシュ — 1

1mL あたりの生細胞数

$$= \boxed{} + \boxed{} + \boxed{} + \boxed{} / 4 \times 2 \times 10^4 = \underline{\hspace{2cm}} \text{個/mL}$$

- 生細胞数 = 1mL あたりの細胞数 \times 3 mL 合計 個

ディッシュ — 2

1mL あたりの生細胞数

$$= \boxed{} + \boxed{} + \boxed{} + \boxed{} / 4 \times 2 \times 10^4 = \underline{\hspace{2cm}} \text{個/mL}$$

- 生細胞数 = 1mL あたりの細胞数 \times 3 mL 合計 個

文書番号 HHS-01-03	第1回細胞数計測及び培地交換の 手順書および記録書	改定番号	1
		3頁の内 3頁	
製造番号:	製造年月日: 年 月 日	承認:	

逸脱記録: _____

日付 年 月 日

作業者 _____

記録者 _____

培地交換

1. 培養細胞の培地交換

- ピペット(25mL)を用いて 10mL の培地を吸引し廃液用ストレージボトル(500mL)に移し廃棄する。
FBS 入り DMEM 培地をピペット(25mL)を用いて 10mL ずつ加える。
- 37°C, 5% CO₂ インキュベーター内に静置する。

逸脱記録: _____

日付 年 月 日

作業者 _____

記録者 _____

文書番号 HHS-01-04	第2回細胞数計測の手順書 および記録書	改定番号	1
		3頁の内 1頁	
製造番号:	製造年月日: 年 月 日	承認:	

試薬・器材の準備

* 安全キャビネット内に入れる

試薬	容量	メーカー	物品番号	数量	備考
<input type="checkbox"/> * FBS入りDMEM	500mL	Hyclone	SH30396.03	1	
<input type="checkbox"/> * TrypLE Select	100mL	GIBCO	12653-011	1	
トリパンプルー溶液	100mL	Wako	207-17081	1	
PBS(-)	500mL	Wako	166-23555	1	
器材	容量	メーカー	物品番号	数量	備考
<input type="checkbox"/> * ピペットエイド		ファルコン		1	
マイクロピペット	200uL	Gilson	P-200	1	
マイクロピペット	1000uL	Gilson	P-1000	1	
滅菌イエローチップ		BM機器	BM3040	1箱	
滅菌ブルーチップ		BM機器	BM3070	1箱	
<input type="checkbox"/> * ピペット	2mL	BD Falcon	356507	2	
<input type="checkbox"/> * ピペット	5mL	BD Falcon	356543	3	
<input type="checkbox"/> * ピペット	10mL	BD Falcon	356551	1	
<input type="checkbox"/> * 遠沈管	15mL	旭テクノグラス	2325-015	2	
<input type="checkbox"/> * 遠沈管	50mL	旭テクノグラス	2345-050	1	
<input type="checkbox"/> * ストレージボトル	500mL	Corning	430282	1	廃液用
<input type="checkbox"/> * 滅菌チューブ (1.5mL)		Eppendorf	0030 121.589	8	2本を安全キャビネット内に入れる
セルカウントプレート		OneCell	OC-C-S02	1	
カウンター					
計算機					
はさみ					
マジック					
* チューブ立て 15mL用				1	
* チューブ立て 50mL用				1	
* チューブ立て 1.5mL用				1	
<input type="checkbox"/> * 注射器	10mL	テルモ		1	
<input type="checkbox"/> * 注射針	18G	ニプロ	01-001	1	
<input type="checkbox"/> * エンドトキシン用チューブ				1	
<input type="checkbox"/> 滅菌敷布				1	
<input type="checkbox"/> ワイプ				1包	
<input type="checkbox"/> 70%アルコールスプレー				1	
<input type="checkbox"/> オートクレープバッグ	Lサイズ			1	
<input type="checkbox"/> 記録書					

日付 _____ 年 _____ 月 _____ 日

確認者 _____

文書番号 HHS-01-04	第2回細胞数計測の手順書 および記録書	改定番号	1
		3頁の内 2頁	
製造番号:	製造年月日: 年 月 日	承認:	

第2回細胞数計測（播種後 ____日目）

1. 細胞の観察

- 培養皿を顕鏡し細胞を観察する。そのうち 2 枚を細胞数計測に用いる。

2. 培地の吸引 開始時刻： ____時 ____分

- ピペット(10mL)で培地を吸引し培地検査用遠沈管(50mL)に移す。この培地をシリンジ(2.5mL)でエンドキシン検査用チューブに入れる。

回収培地 HHS-01-04-

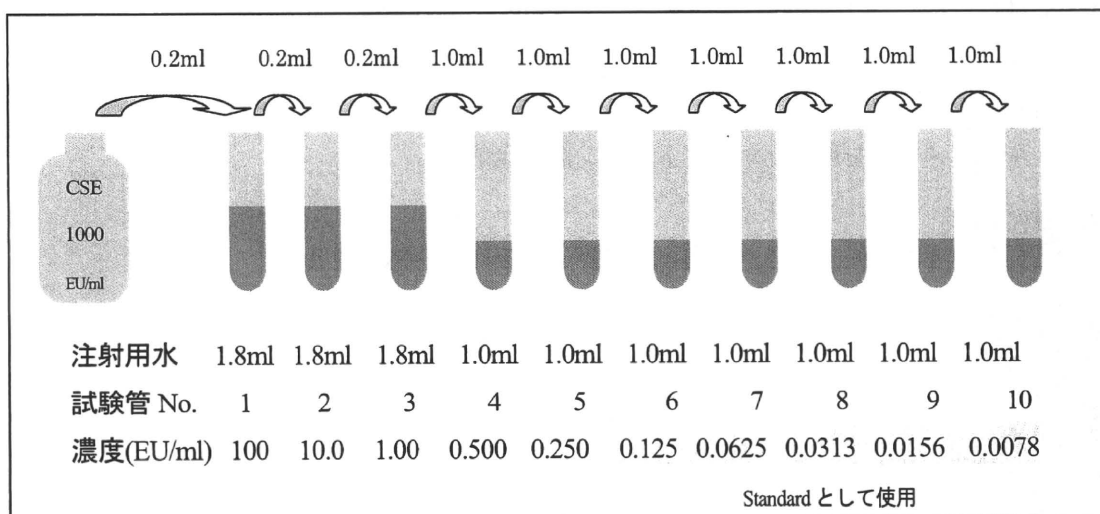
逸脱記録: _____

3. 培養皿からの細胞解離

- TrypLE Select をピペット(5mL)で 3mL ずつ加え、CO₂ インキュベーター内に 5 分静置する。
- 顕微鏡視下に培養皿から細胞が剥がれたのを確認する。（細胞が剥がれていない場合は、再びインキュベーター内に静置する。）
- 遠沈管(15mL)、滅菌チューブ(1.5mL)に必要事項を記入する。
- ピペット(5mL)で培養皿の表面を洗うようにして細胞懸濁液を回収し、遠沈管(15mL)に移す。
- 細胞懸濁液を十分攪拌する。

文書番号 CCMT- C03- 〇〇〇〇	エンドトキシン測定に関する 手順書	改定番号 0	2 頁の内 1 頁
-------------------------	----------------------	-----------	-----------

1. 目的
トキシノメーターを用いたエンドトキシン測定に関する手順。
2. 適応範囲
トキシノメーターを用いたエンドトキシン測定全般。
3. 責任体制
品質管理者の責任の下で、作業担当者がこの手順書を使用する。
4. 遵守事項
当該の製品標準書に基づきエンドトキシンを測定する際に下記の手順を遵守する。
5. 準備
 1. 試薬（リムルステスト）の Lot が更新された時には、測定に先立ちキャリブレーションを実施する。
 2. 使用するチップや希釈用チューブは全てエンドトキシンプリーの資材を使用する。
 - リムルス試薬（リムルス ES-II シングルテスト Wako）
 - コントロールスタンダードエンドトキシン
 - 1000 μ l ピペッター（1 本）
 - 200 μ l ピペッター（1 本）
 - 1000 μ l ピペッター用チップ
 - 200 μ l ピペッター用チップ
 - 5ml ファルコンチューブ
 - 希釈液（注射用蒸留水） 20ml \times 1 本
6. 手順
 - ① キャリブレーション
 1. トキシノメーターの電源投入（光源が安定するまで、20~30 分程掛かる）。
 2. ノート PC の電源を投入後、pass word を入力する。
 3. サンプル配置の設定を行う（NC、PC、STD（5 濃度）、いずれも二重測定）。
 4. 10 本の希釈用チューブを準備し、1 から 10 の番号を記入する。
 5. 1 番から 3 番のチューブに注射用水を 1.8ml（0.9ml \times 2 回）分注する。
 6. 4 番から 10 番のチューブに注射用水を 1.0ml 分注する。
 7. C S E を 1000EU/バイアルとなるように注射用水で溶解する（溶解日付記入）。
 8. 約 2 分間、ボルテックス。
 9. 溶解済みの C S E を使用する場合には、約 1 分間ボルテックス。
 10. C S E（1000EU）から 0.2ml を取り 1 番に添加し、約 30 秒間ボルテックス。
 11. 1 番から 0.2ml を取り 2 番へ添加し、約 30 秒間ボルテックス。
 12. 2 番から 0.2ml を取り 3 番へ添加し、約 30 秒間ボルテックス。
 13. 3 番から 1.0ml を取り 4 番へ添加し、約 30 秒間ボルテックス。
 14. 4 番から 1.0ml を取り 5 番へ添加し、約 30 秒間ボルテックス。
 15. 5 番から 1.0ml を取り 6 番へ添加し、約 30 秒間ボルテックス。（Conc 0.1250）
 16. 6 番から 1.0ml を取り 7 番へ添加し、約 30 秒間ボルテックス。（Conc 0.0625）
 17. 7 番から 1.0ml を取り 8 番へ添加し、約 30 秒間ボルテックス。（Conc 0.0313）
 18. 8 番から 1.0ml を取り 9 番へ添加し、約 30 秒間ボルテックス。（Conc 0.0156）
 19. 9 番から 1.0ml を取り 10 番へ添加し、約 30 秒間ボルテックス。（Conc 0.0078）



20. 検量線用には、6番から10番を使用する。
21. トキシノメーターの温度 ($37.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$) を確認する。
22. トキシノメーターのスタートボタンを押す。
23. ノートPCの測定開始ボタンを押す(担当者名と日付を入力)。
24. NC (注射用水)、PC (Conc 0.0078)、各標準液を $200 \mu\text{L}$ ずつライセート試薬チューブへ1本ずつ分注する。
25. 約5分間ボルテックス (泡立てないこと)
26. チューブの汚れを拭き取り、トキシノメーターの緑色のランプがついているウェルへチューブをセットする。反応は、約1時間で終了する。
27. 検量線を作成して相関係数を求め、その絶対値が0.980以上を合格とする。

② 検体測定

1. トキシノメーターの電源投入 (使用可能になるまで、20~30分程掛かる)。
2. ノートPCの電源を投入後、pass wordを入力する。
3. サンプル配置の設定を行う (NC、PC、試料はいずれも二重測定)。
4. PCには、検量線用の Conc 0.0078 を使用する。
5. 添加回収試験のため、被検試料 $270 \mu\text{L}$ に Conc 0.500 の標準液 $30 \mu\text{L}$ を加える。
6. トキシノメーターの温度 ($37.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$) を確認する。
7. トキシノメーターのスタートボタンを押す。
8. ノートPCの測定開始ボタンを押す (担当者名と日付を入力)。
9. NC (注射用水)、PC (Conc 0.0078)、各試料を $200 \mu\text{L}$ ずつライセート試薬チューブへ1本ずつ分注する。
10. 約5分間ボルテックス (泡立てないこと)。
11. チューブの汚れを拭き取り、トキシノメーターの緑色のランプがついているウェルへチューブをセットする。反応は、約1時間で終了する。

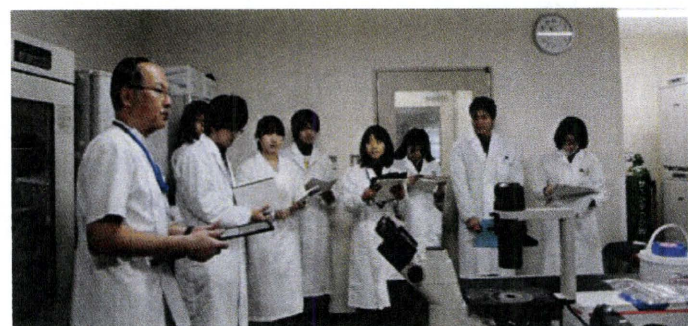
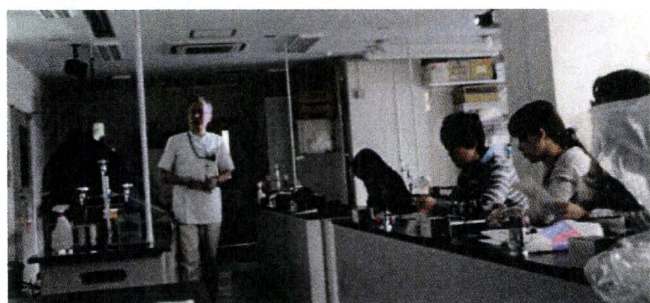
7. 関連する文章

トキシノメーター取扱説明書

トキシノメーター用 アプリケーションソフトウェア取り扱い説明書

細胞育成学実践論実習風景

無菌培養の基礎



機器説明



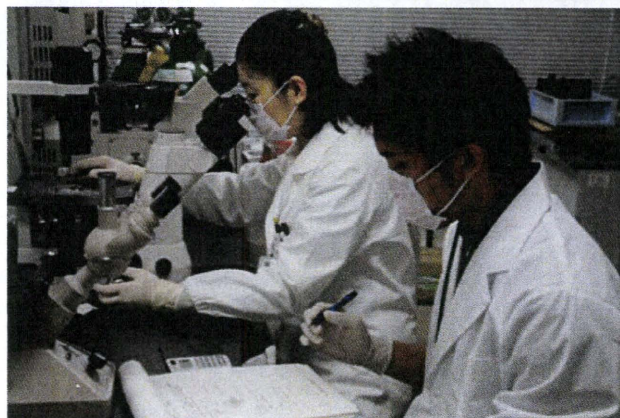
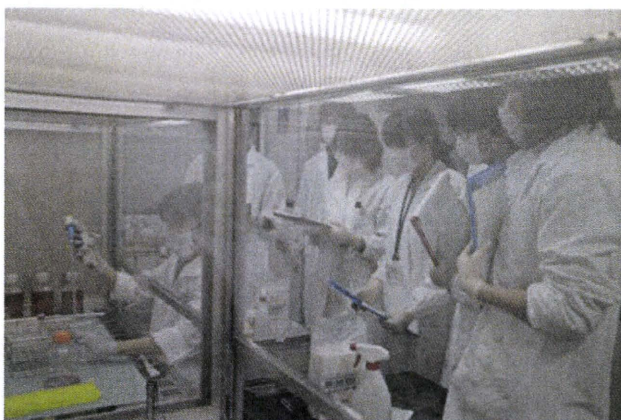
試薬説明、ロット管理



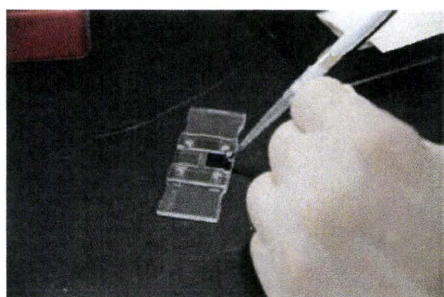
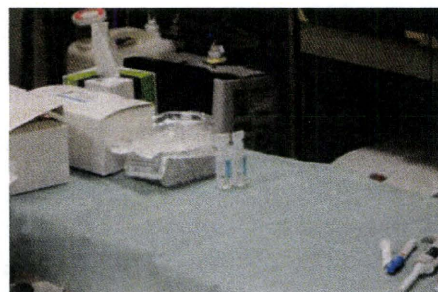
無菌培養の実践講義



細胞培養実習



品質管理



CPC(FIT)見学



2011.2.14~2.18 細胞育成学実践論 実習結果

	X日目の細胞数 (q1)	Y日目の細胞数 (q2)	q2/q1	PD	X日目とY日目の時間の差 (t2-t1)	doubling time (時間)	上清中のエンドトキシン (EU/ml)
Saos2-11-01	4.375	14.825	3.3886	1.7607	48.1	27.319034	< 0.078
Saos2-11-02	7.125	14.85	2.0842	1.0595	47	44.360505	< 0.078
U2OS-11-01	2.25	3.9	1.7333	0.7935	48	60.487749	< 0.078
U2OS-11-03	6.53	32.6	4.9923	2.3197	48.5	20.907722	< 0.078
U2OS-11-04	3.2	12.3	3.8438	1.9425	47.5	24.452842	< 0.078
U2OS-11-05	8.325	44.25	5.3153	2.4102	47.2	19.5838	< 0.078
U2OS-11-06	4.65	13.8	2.9677	1.5694	47.83	30.477282	< 0.078
U2OS-11-07	3.5	23.4	6.6857	2.7411	48	17.511335	< 0.078