

1 テセロイキン(遺伝子組換え)

2 定量法を次のように改める。

3 定量法 本品適量を正確に量り、細胞の感度に応じてテセロイ
 4 キン用力価測定用培地を加えて正確に薄め、10～50単位/mL
 5 の一定濃度(推定値)とし、試料溶液とする。別にインターロ
 6 イキン-2標準品に滅菌精製水1 mLを正確に加えて溶かし、
 7 細胞の感度に応じてテセロイキン用力価測定用培地を加えて
 8 正確に薄め、10～50単位/mLの一定濃度とし、標準溶液と
 9 する。テセロイキン用力価測定用培地を、96ウェルマイク
 10 ロプレート(8個のウェルを除く全ウェル)に正確に50 μ Lず
 11 つ加える。試料溶液及び標準溶液を正確に50 μ Lずつ、それ
 12 ぞれについてテセロイキン用力価測定用培地を入れた2個の
 13 ウェルに加える。それら4個のウェルから正確に50 μ Lずつ
 14 を量り、テセロイキン用力価測定用培地を入れた新たな4個
 15 のウェルに加える。さらに、それら4個のウェルから正確に
 16 50 μ Lずつを量り、テセロイキン用力価測定用培地を入れた
 17 新たな4個のウェルに加える操作を繰り返し、試料溶液及び
 18 標準溶液のそれぞれ1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1
 19 /64, 1/128及び1/256の希釈液を2ウェルずつ作る。空
 20 の8個のウェルに標準溶液50 μ Lずつを加え、最大取込み対
 21 照液とする。テセロイキン用力価測定用培地のみを加えたウ
 22 ェル8個を最小取込み対照液とする。テセロイキン用細胞懸
 23 濁液をマイクロプレートの全ウェルに正確に50 μ Lずつを加
 24 えた後、二酸化炭素5%を含む空気を充填した培養器中で、
 25 37°Cで15～17時間放置する。MTT試液をマイクロプレー
 26 トの全ウェルに正確に25 μ Lずつ加えた後、二酸化炭素5%
 27 を含む空気を充填した培養器中で、37°Cで4時間放置する。
 28 マイクロプレートの各ウェルの培養液を、それぞれ空のマ
 29 イクロプレートに移す。培養液を除去して空になったマイク
 30 ロプレートの各ウェルに、塩酸・2-プロパノール試液100 μ L
 31 ずつを加え、マイクロプレートを5分間水平方向に揺り動か
 32 して混ぜ、色素を溶出させる。移しかえた培養液を元の各ウ
 33 ェルに戻した後、各ウェルの液について、波長560 nmにお
 34 ける吸光度と波長690 nmにおける吸光度の差を測定し、そ
 35 れぞれ同一の溶液2ウェル(試料溶液及び標準溶液の希釈液)
 36 又は8ウェル(最大取込み対照液及び最小取込み対照液)の平
 37 均値を求める。横軸に試料溶液のマイクロプレート上での希
 38 釈倍数を対数目盛でとり、縦軸に吸光度をとったグラフに、
 39 試料溶液の各希釈液から得た値をプロットし、標準曲線を作
 40 成する。最大取込み対照液の吸光度と最小取込み対照液の吸
 41 光度の平均値を求め、この値を標準曲線に対応させて、その
 42 希釈倍数 D_T を求める。標準溶液の希釈液についても同様の
 43 プロットを行い、希釈倍数 D_S を求め、次式により、1 mL中
 44 の力価を求める。

45 本品1 mL中のテセロイキンの力価(単位) = $S \times D_T / D_S \times d$

46 S : 標準溶液の濃度(単位/mL)

47 d : 試料溶液を調製したときの希釈倍数

48