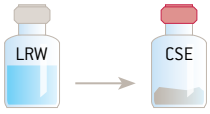
Pharma&Biotech

Guide de référence pour l'essai PyroGene™ portant sur le Facteur-C recombinant

Ce guide décrit étape par étape comment réaliser l'essai PyroGene™ portant sur le Facteur-C recombinant. Avant de commencer la procédure d'essai, placer les flacons de réactifs à température ambiante. Le lecteur de microplaques doit également être allumé et un modèle de plaque doit être créé dans le logiciel WinKQCL™.

Étape 1

Reconstituer un flacon d'endotoxine contrôle (CSE) à l'aide de l'eau LAL (LAL Reagent Water-LRW) pour produire une solution contenant 20 EU/ml.



Étape 2

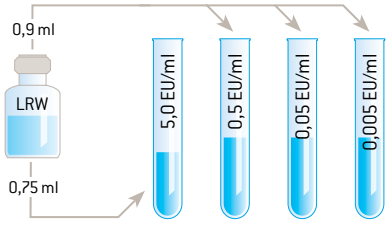
Vortexer le flacon pendant 15 minutes.

Étape 3

Identifier les tubes selon les concentrations appropriées d'endotoxine et ajouter 0,75 ml de LRW dans le tube de 5,0 EU/ml.

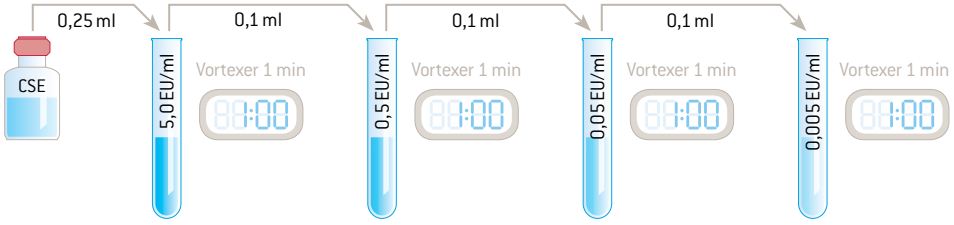
Ajouter 0,9 ml de LRW dans chacun des tubes restants.

(Exemple basé sur un essai avec une courbe étalon de 0,005 à 5,0 EU/ml)



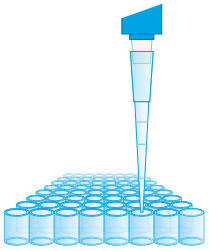
Étape 4

Préparer une série de standards d'endotoxine.



Étape 5

Dispenser 100 µl de LRW (contrôle négatif), de standards d'endotoxine, d'échantillons de produit, de contrôles positifs, etc. dans les puits appropriés de la microplaque.

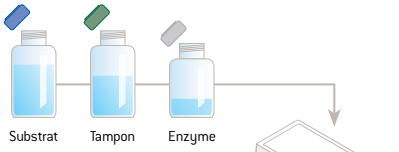


Étape 6

Pré-incuber la plaque pendant ≥10 minutes à 37°C ± 1°C dans le lecteur de microplaques.

Étape 7

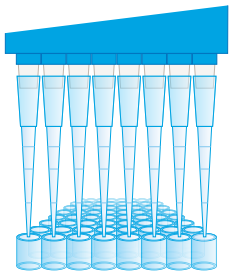
Pendant la période d'incubation, préparer le réactif, constitué d'une solution de substrat fluorogène, de solution tampon et de solution enzymatique rFC, dans un rapport de 5:4:1 respectivement. Ajouter l'enzyme en dernier lieu dans le substrat tamponné.



ordre d'addition	1	2	3
Rapport	5	4	1

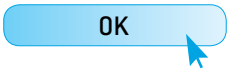
Étape 8

Utiliser une pipette à huit canaux pour dispenser 100 µl de réactif dans les puits appropriés de la microplaque.



Étape 9

Lancer le test en cliquant sur le bouton **OK** du logiciel WinKQCL™.



www.lonza.com/pharmabiotech
www.lonza.com/pyrogene

Accessoires, équipement et documents requis

Réactifs
- Solution enzymatique rFC
- Substrat fluorogène
- Tampon d'essai rFC
- Endotoxine contrôle (CSE)
- Eau LAL (LRW) (# W50-640, W50-100, W50-500)

Veuillez contacter votre représentant local pour de plus amples informations.

Accessoires
- Tubes de dilution en verre (# N207)
- Embout/Tips 2-200 µl (#BE25-413) et 1250 µl (#BE25-414)
- Plaques de 96 puits (# BE25-340)
- Bacs à réactif (# 00190035)

Veuillez utiliser des accessoires apyrogènes certifiés pour tests d'endotoxine.

Besoins en matériel et logiciel
- Pipette huit canaux
- Lecteur de fluorescence pour microplaques
- Logiciel WinKQCL™
- Pipette
- Chronomètre
- Agitateur vortex

Documents de référence
- Certificat d'analyse (CoA), www.lonza.com/coa
- Notice PyroGene™ de l'essai de détection d'endotoxines avec le Facteur-C recombinant

⚠ Consignes à observer
- Utiliser des réactifs compatibles
- Utiliser des tubes en verre pour les dilutions d'endotoxines (les tubes en plastique ne sont pas recommandés)
- Respecter les temps suggérés pour l'agitation au vortex des endotoxines
- Utiliser des accessoires apyrogènes certifiés pour tests d'endotoxine
- Amener les réactifs à la température ambiante avant leur utilisation
- Ne pas vortexer le substrat fluorogène et la solution enzymatique
- Éviter la formation de bulles lors de l'ajout du réactif dans la plaque à 96 puits
- Éviter de contaminer les échantillons, les standards, le LRW et les accessoires
- Utiliser des équipements qui ont été correctement installés, validés et entretenus

Amérique du Nord
Service clients : +1 800 638 8174 (numéro gratuit)
order.us@lonza.com
Support scientifique : +1 800 521 0390
(numéro gratuit)
order.us@lonza.com

Europe
Service clients : +32 87 321 611
order.europe@lonza.com
Support scientifique : +32 87 321 611
scientific.support.eu@lonza.com

International
Contactez le service à la clientèle de votre
représentant Lonza local : +1 301 898 7025
Fax : +1 301 845 8291
scientific.support@lonza.com

Les informations ci-incluses sont jugées correctes et correspondent au niveau de connaissance scientifique et technique le plus récent. Cependant, aucune garantie n'est offerte, expresse ou implicite, quant à leur exactitude ou aux résultats à obtenir de l'utilisation de ces informations. Certains produits peuvent ne pas être disponibles sur tous les marchés ou pour tous les types d'application. Tout utilisateur est tenu de s'assurer par lui-même et de vérifier que les produits fournis par Lonza Group Ltd, de même que les informations et les recommandations fournies par Lonza Group Ltd sont (i) adaptés aux processus ou objectifs, (ii) conformes aux règles liées à l'environnement, la santé et la sécurité, et (iii) n'enfreindront pas les droits de propriété intellectuelle d'une tierce partie.

© 2014 Lonza Ltd
TS-RT-DS015-FR 10/14