

# LumiMAT™ Pyrogen Detection Kit

本品は Monocyte Activation Test (MAT 法) により発熱性物質 (Pyrogen) を検出するためのキットです。

発熱性物質は、動物の体内で体温上昇を引き起こす物質の総称であり、非経口医薬品や血液に触れる医療機器は、発熱性物質に汚染されていないことが求められます。発熱性物質を広く検出する試験として最も早く実用化された方法が、ウサギの静脈内に被験試料を投与し、体温変化を観察することで発熱性物質の有無を判定するウサギ発熱性物質試験です。しかしウサギ発熱性物質試験は、再現性や精度、コストなどの問題があり、代替法として Limulus Amebocyte Lysate 試薬 (LAL 試薬) が広く使われるようになりました。ただ、LAL 試薬は非エンドトキシン発熱性物質を検出できないことから、必要に応じてウサギ発熱性物質試験も使用されています。

MAT 法は、ウサギ発熱性物質試験の代替法として開発された *In vitro* 発熱性物質試験であり、エンドトキシンのみでなく、非エンドトキシン発熱性物質も検出することができます。

	ウサギ発熱性物質試験	LAL 試薬	MAT 法
発熱性物質			
エンドトキシン (グラム陰性菌細胞壁由来)	検出	検出	検出
非エンドトキシン発熱性物質 (グラム陽性菌、ウイルス、真菌などに由来する発熱性物質)	検出	非検出	検出

## 測定原理

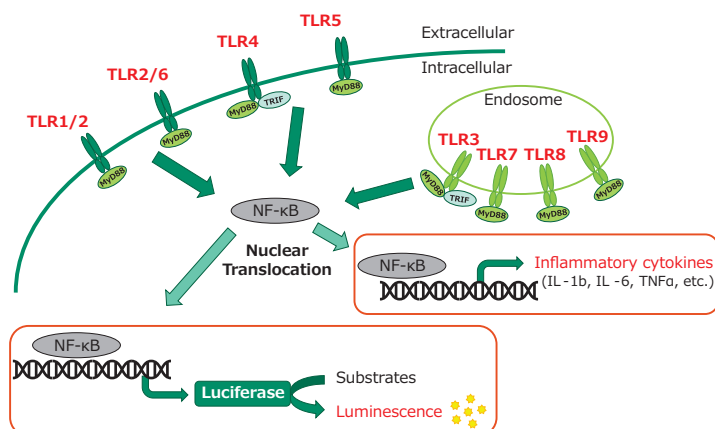
MAT 法は、ヒト単球系細胞が発熱性物質により活性化され、炎症性サイトカイン等を産生することを利用して発熱性物質を検出する方法です。

### ■ 従来の MAT 法

細胞ソースとして PBMC (末梢血単核球) などを用い、細胞と被験検体を混合してマイクロプレートで培養します。発熱性物質に暴露された単球系細胞から放出されるサイトカインを ELISA 法で測定することで検体中の発熱性物質を検出します。

### ■ LumiMAT™

発熱性物質の暴露により活性化される NF- $\kappa$ B シグナルに応答してルシフェラーゼタンパクを発現するシステムを単球系細胞 (NOMO-1) に導入したレポーター細胞を使用します。発熱性物質が Toll-like Receptor (TLR) に結合すると NF- $\kappa$ B シグナルが活性化され、ルシフェラーゼタンパクが発現します。そこに発光基質を加えると発光反応が生じ、発光強度を測定することで発熱性物質を測定することができます。



## アッセイフロー

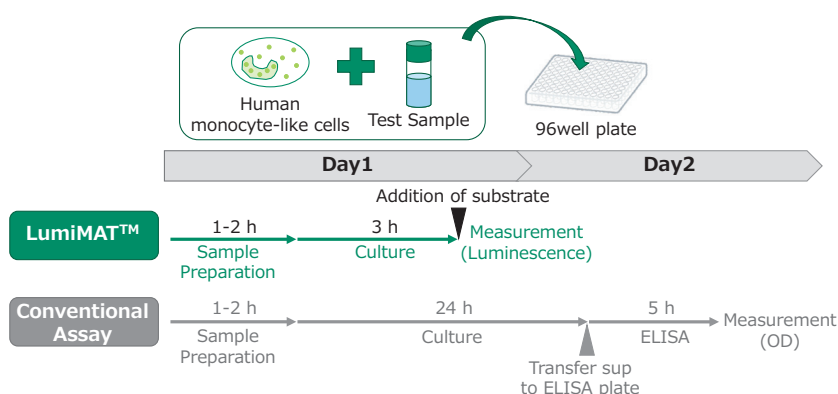
96well プレートに被験検体またはエンドトキシン標準品を分注し、レポーター細胞を加えて 3 時間インキュベーションした後、発光基質を加え、生じた発光をプレートリーダーで測定します。従来の ELISA 測定に比べて、簡便な 1 プレートアッセイで、試験間差を抑制することができます。

また、トータル 5 時間程度で測定結果が得られ、従来法の 1.5 日から大幅に短縮できます。



### 〈操作動画〉

左記 QR コードからアクセス、または  
当社試薬ホームページにて、製品コード  
No.297-96801 で検索して下さい。



## LumiMAT™ の特長

### 従来法

### ヒト血液由来PBMCを用いた試験

試験時間：1.5日

サンプル添加後、検出まで24時間程度培養

検出：ELISA

放出されたサイトカインをELISAで測定  
時間と測定の手間がかかる

細胞：PBMC（末梢血単核球）

ドナーの違いによるロット間差が大きい  
安定供給面での不安

### LumiMAT™

### レポーター遺伝子安定発現細胞を用いた試験

迅速な試験（5時間）

サンプル添加後、  
わずか3時間で検出可能

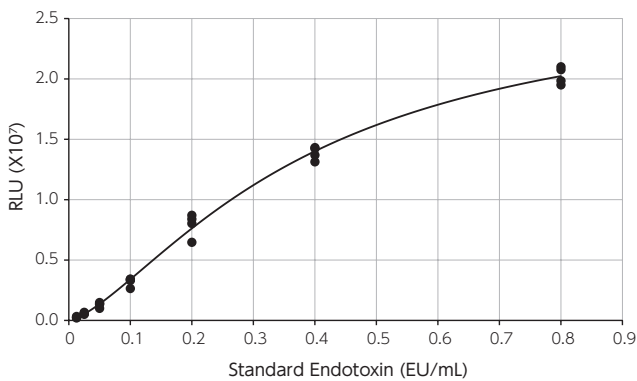
簡便な  
レポーターアッセイ

細胞培養後のプレートに  
発光基質を添加するのみ

ロット間差が少なく、  
安定供給可能な細胞株

レポーター遺伝子を安定発現させた細胞株を使用  
ロット間差が少なく、高い再現性を実現  
マスターセルバンク構築により安定供給可能

## 検量線範囲



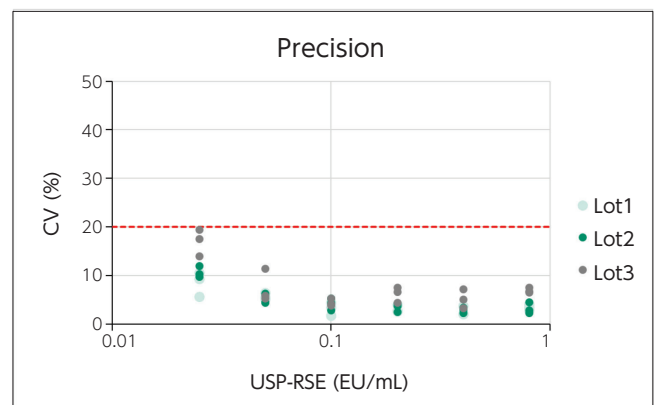
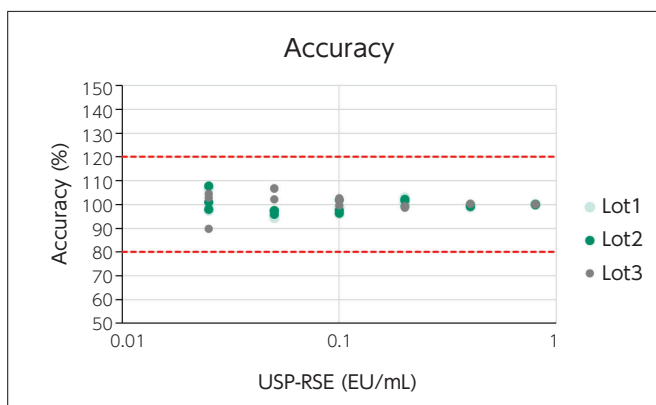
エンドトキシン標準品を用いて標準曲線を作成し、発熱性物質量を Endotoxin Equivalents (EE)/mL として算出します。

検量線範囲：0.0125 ～ 0.8 EE/mL

RLU : Relative Light Unit  
EU : Endotoxin Unit

## 再現性

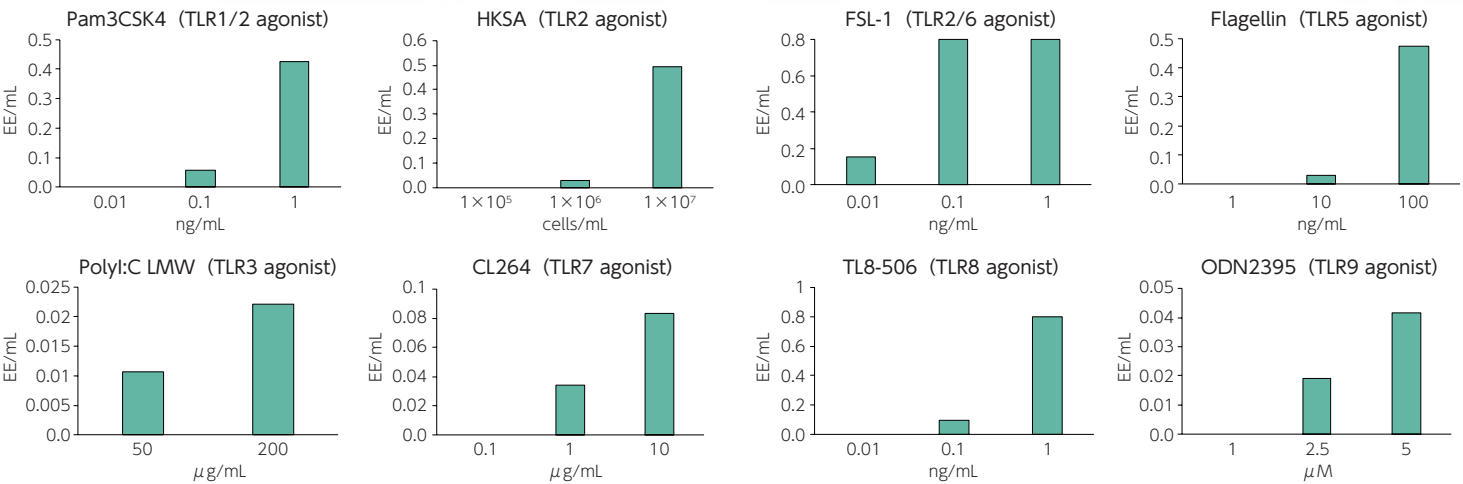
LumiMAT™ 細胞 3 ロットを用いて、真度と精度を測定しました（n=4、各ロット 3 回ずつ試験）。6 濃度のエンドトキシン標準品（USP-RSE）を添加して、検量線から濃度（EU/mL）を算出しました。



いずれのロットにおいても、真度（測定値／真値）：± 10% 以内、精度：CV20% 以下と高い再現性が確認されました。

NEP (Non-Endotoxin Pyrogen) への反応性

各 Toll-like receptor (TLR) に対する NEP を種々の濃度で添加し、検量線から EE/mL として各 NEP の濃度を算出しました。  
縦軸：EE/mL、横軸：添加した NEP 濃度



**いずれの NEP も検出できることが確認されました。**

添加回収試験

1. 市販医薬品を用いた添加回収試験

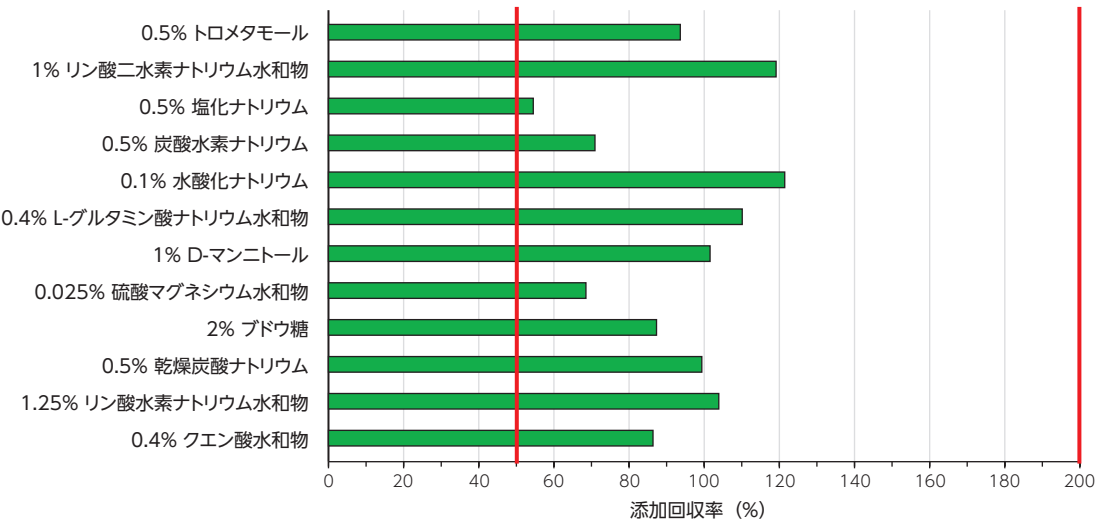
各医薬品にエンドトキシン標準品を添加し、回収率を算出しました。

Drug	MVD *	Fold-dilution	Spike recovery (%) n=3			Interference **
			0.1 EU/mL	0.4 EU/mL	0.8 EU/mL	
Albumin 25% I.V. 5 g/20 mL	480	10	121.6	98.9	97.5	N
		100	134.8	119.4	110.3	N
		400	109.5	110.3	108.0	N
Aciclovir 25 mg/mL	500	10	67.5	63.7	50.2	N
		100	89.7	87.8	82.3	N
		400	96.0	95.6	99.2	N
Epoetin Alfa 750 I.U./0.5 mL	12000	100	99.3	103.1	105.2	N
		500	92.9	100.5	102.6	N
		1000	87.9	98.0	98.9	N
Romosozumab 105 mg/1.17 mL	10200	100	109.9	110.5	112.6	N
		500	94.9	94.3	98.6	N
		1000	95.0	92.0	92.3	N

\* MVD : Maximum Valid Dilution      \*\* No interference : 50 < Recovery (%) < 200

**いずれの医薬品でも MVD 範囲の希釈倍率で、50 ～ 200% の回収率が得られました。**

2. 医薬品原料を用いた添加回収試験



**様々な検体の試験に適用できます。**

製品規格

細胞濃度	5 ± 2 × 10 <sup>6</sup> cells/vial	HKSA 1 × 10 <sup>8</sup> cells/mL 添加時の EE/mL	≥ 0.05
細胞生存率	≥ 85 %	Flagellin 1 μg/mL 添加時の EE/mL	≥ 0.05
LPS LOD	≤ 0.0125 EU/mL	マイコプラズマ試験	陰性
LPS 検量線 R <sup>2</sup>	≥ 0.975	エンドトキシン試験	< 0.0125 EU/mL
Pam3CSK4 10 ng/mL 添加時の EE/mL	≥ 0.05		

キット構成品




LumiMAT™ Pyrogen Detection Kit - Reagent Set		LumiMAT™ Pyrogen Detection Kit - Cells	
細胞用培地	20 mL	LumiMAT™ 細胞	350 μL
希釈用培地	100 mL		
発光アッセイバッファー	12 mL		
発光基質	240 μL		

※アッセイには、LumiMAT™ Pyrogen Detection Kit – Cells、Reagent Set の両方が必要です。

各国薬局方における MAT 法の位置づけ

薬局方	現状
第十八改正日本薬局方	記載なし JaCVAM（日本動物実験代替法評価センター）で評価実施
欧州薬局方（Ph. Eur.）	General Chapter 2.6.30 として収載（2010 年～） 2026 年までにウサギ発熱性物質試験を削除すると発表
米国薬局方（USP）	記載なし FDA ガイダンス文書により代替法として認められている
中国薬局方（ChP）	収載（ChP2020 ～）
インド薬局方（IP）	収載（IP2018 ～）























製品情報

コード No.	品名	容量	希望納入価格（円）
298-36991	 LumiMAT™ Pyrogen Detection Kit - Cells	96 回用	80,000
297-96801	 LumiMAT™ Pyrogen Detection Kit - Reagent Set 	96 回用	80,000

関連製品

コード No.	品名	容量	希望納入価格（円）
296-37031	Toximaster™ FQC1 PC Set J for LumiMAT™	1 セット	1,500,000
—	Infinite® 200 PRO Lumi	1 台	照会

※ NanoLuc® Technology is licensed from Promega Corporation. Licensed patents: U.S. Pat. No. 8557970 and U.S. Pat. No. 8669103, and all patents and patents pending which claim priority to the same priority application(s) as U.S. Pat. No. 8557970 and U.S. Pat. No. 8669103. NanoLuc® is a registered trademark of Promega Corporation.

…2 ～ 10℃保存 …… 20℃保存 …… 80℃保存 …… 150℃保存 表示がない場合は室温保存です。  
特定 …特定毒物 ……毒物 …劇物 …劇物 …劇物 …劇物 …劇物 …劇物 …劇物 …劇物 …劇物 …劇物 …劇物 …劇物 …劇物 …劇物 …劇物 …劇物