

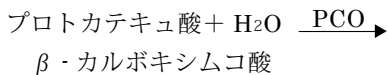
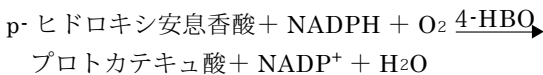
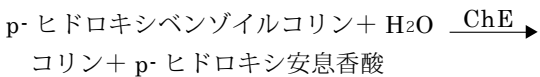
JCCLS による酵素活性測定 of 標準操作法 (SOP) コリンエステラーゼ (ChE)

Standard Operating Procedure(SOP) for the Measurement of Catalytic Concentration of ChE [ChE : Cholinesterase, EC 3.1.1.8] by JCCLS

文献

- 1) 日本臨床化学会：ヒト血清中酵素活性測定
の報告法—コリンエステラーゼ 臨床化学
32:162-179, 2003

反応原理



試料

CHE-ERM

反応液最終濃度

トリス・マレイン酸緩衝液	50 mmol/l
pH (37℃)	8.0 ± 0.1
NADPH	0.20 mmol/l
FAD	2.0 μ mol/l
BSA	0.20 % (w/v)
4-HBO	0.90 U/ml
PCO	0.38 U/ml
pHBC	1.0 mmol/l
サンプル試薬比	0.03333 (1:30)

測定条件 (用手法)

温度	37 °C ± 0.1 °C
波長	340 nm ± 0.5 nm
バンド幅	≤ 2 nm
光路長 (計測値付)	10 mm ± 0.01 mm
予備加温時間	300 秒
待ち時間	60 秒
測定時間	120 秒
読み取り (測定ポイント)	≥ 4

試薬溶液 1 (200 mmol/l マレイン酸溶液)

—マレイン酸 (C₄H₄O₄ MW:116.07) 2.3214g

を秤量する

- 約 800 ml の純水に溶解する
 - 100 ml のメスフラスコへ移す
 - メスフラスコの標線まで純水でメスアップする
- 試薬 I (反応溶液) (62.0 mmol/l Tris-Malate 緩衝液 (pH8.0,37℃), 0.25 mmol/l NADPH, 2.5 μ mol/l FDA, 0.25% (w/v) BSA, 1.12 U/ml 4-HBO, 0.47 U/ml PCO,)

—Tris (hydroxymethyl) aminomethane 7.51g を精製水 900ml に溶解し、37℃ に保ちながら試薬溶液 1 を 67ml 加えて pH を 8.0 ± 0.1 に調整する。

—NADPH 0.227g, FAD 2.1mg, BSA 2.50g, 4-HBD 1.116U, PCO 470 U を加えて溶解する

- 1000 ml のメスフラスコへ移す
 - メスフラスコの標線まで純水でメスアップする
- 試薬 II (反応開始液) (6.2 mmol/l pHBC 溶液)
- pHBC (C₁₂H₁₈O₃NI MW:351.18) 2.18g を精製水に溶解し全量を 1000mL とする。

分析パラメーター

表 1 に分析パラメーターを示した。

表 1 分析パラメーター

代表的な機種での設定	用手法	自動分析法
測定温度 (°C)	37	37
試料 (μ l)	80	8
試薬 I (μ l)	2000	200
試薬 II (μ l)	400	40
総量 (μ l)	2480	248
S/V	1/30	1/30
波長 (nm)	340	(主/副): 340/405
測光ポイント	試薬 II 添加後、1 分間放置後、2 分間の吸光度変化量を測定し、1 分間あたりの吸光度を算出する	

測定操作法（用手法）

試薬 I	2.0 ml
試薬 I を吸収セルに採り、攪拌しながら 37℃ になるまで予備加温する。	
検体	0.08 ml
攪拌しながら 5 分間加温する。	
試薬 II	0.4 ml
37℃ で 5 分間予備加温した試薬 II を添加後、37 ± 0.1℃ で攪拌を続けながら 60 秒間の待ち時間をとった後、波長 340nm で 120 秒間測定し A1/min を算出する。	
試薬ブランクの測定は検体の代わりに生理食塩水を添加する。	
検体	Δ A1/min
試薬ブランク	Δ A2/min

計算

測定された Δ A1/min および Δ A2/min を次式に代入して、CK 活性を計算する。

ただし、試薬・試料容量は実測値を代入して計算する。

CK 活性 (U/l)

$$= \frac{(\Delta A1/\text{min} - \Delta A2/\text{min})}{6.3 \times 10^3} \times \frac{2.48}{0.08} \times 10^6$$