

FUJIFILM

Wako

コード No. 031-17601 (100 mg)  
037-17603 (500 mg)  
035-17604 (1 g)

## コラーゲナーゼ タイプ I

起 源: *Clostridium histolyticum*  
形 状: 褐色の結晶性粉末  
活 性: ラベルに記載  
分 子 量: 約 110,000  
至 適 pH: 7~9  
至 適 温度: 37℃

### 酵素活性測定法

#### 1. 原 理

コラーゲンを基質として生じたアミノ酸を(L-ロイシンとして)ニンヒドリン試液により発色させる。

#### 2. 試 液

- A. 0.05 mol/L TES緩衝液、pH 7.5  
トリス(ヒドロキシメチル)-メチル-2-アミノエタンスルホン酸5.74 g、塩化カルシウム二水和物0.026 gを水400 mLに溶解する。5 mol/L水酸化ナトリウム溶液でpH 7.5に調整後、水で500 mLにする。
- B. 0.2 mol/L くえん酸緩衝液、pH 5.0  
くえん酸一水和物2.1 gを水30 mLに溶解する。5 mol/L水酸化ナトリウム溶液を用いてpH 5.0に調整後、水で50 mLにする。
- C. ニンヒドリン試液  
塩化すず(II)二水和物0.08 gを[ニンヒドリン・2-メトキシエタノール溶液(40 g/L)]に溶解し50 mLとする。試液B 50 mLと混合し、うすい黄色になるまでかき混ぜる(窒素封入後遮光保存)。
- D. 50 vol % 1-プロパノール
- E. 基質溶液  
コラーゲン、ウシアキレス腱由来0.5 gを試液A 100 mLに溶解し、水浴中で10分間加熱溶解後、冷却し、ろ紙(5種C)でろ過する。
- F. 酵素溶液  
本品10 mgを精秤し、試液A 10 mLに溶解する。その2 mLを試液Aにて30 mLとする。
- G. 500 μg/mL L-ロイシン標準溶液  
L-ロイシン0.5 gを精秤し、水に溶解し50 mLとする。その2.5 mLを試液Aで50 mLとする。

- 1/2 -

### 3. 手 順

#### 本試験

試 液	本 試 験	空 試 験
E	5 mL	5 mL
	37℃、15分間予備加温	
F	0.1 mL	—
A	—	0.1 mL
	37℃の水浴中で、4.5時間振とう後、30分間静置	
	その0.2 mL	その0.2 mL
C	1.0 mL	1.0 mL
	沸騰水浴中、ガラス球で管口を覆い20分間反応後、25℃の水浴中で5分間冷却	
D	5.0 mL	5.0 mL
	15分間放置	

JIS K 0115 (吸光度分析通則)によって、吸収セル10 mmを用い、波長660 nmにおける吸光度を試液Dを対照液として測定

#### 標準液の試験

試液	空試験	標準1	標準2	標準3	標準4
G	0 mL	0.2 mL	0.5 mL	1.0 mL	2.0 mL
A	5.0 mL	4.8 mL	4.5 mL	4.0 mL	3.0 mL
	各々その0.2 mL				
C	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL	1.0 mL
	沸騰水浴中、ガラス球で管口を覆い20分間反応後、25℃の水浴中で5分間冷却				
D	5.0 mL	5.0 mL	5.0 mL	5.0 mL	5.0 mL
	15分間放置				

JIS K 0115 によって、吸収セル10 mmを用い、波長600 nmにおける吸光度を試液Dを対照液として測定し検量線を作成する。

### 4. 単位の定義

pH 7.5、37℃で、5時間にコラーゲンよりL-ロイシン1 μmolを生じる酵素量を1 unit とする。

#### 計算(活性)

$$A = \frac{a}{131.17} \times \frac{1}{S \times \frac{2}{10} \times \frac{0.1}{30} \times \frac{0.2}{5.1}}$$

ここに、A : 活性(units/mg)

a : 検量線から求めたろ液0.2 mL中のL-ロイシンの量(μg)

S : 量り取った本品の質量(mg)

131.17 : L-ロイシンの分子量

〔貯 法〕 2~10℃保存・遮光保存

〔包 装〕 031-17601 100 mg    037-17603 500 mg  
035-17604 1 g

製造発売元

富士フイルム 和光純薬株式会社  
大阪市中央区道修町三丁目1番2号  
Tel : 06-6203-3741

- 2/2 -

1801KA1