

(90×190mm Size)

FUJIFILM

Wako

コード No. 038-17851 (100 mg)
032-17854 (1 g)

コラーゲナーゼ タイプV

起 源: *Clostridium histolyticum*
形 状: 褐色の粉末又はフレーク
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(L-ロイシンとして)をニンヒドリン試液により発色させる。

2. 試 薬

- 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 ぐえん酸緩衝液、pH 5.0
ぐえん酸一水和物 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 A 液で 50 mL とする。

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(吸光光度分析通則)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。

標準液の試験

試薬	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〕

コードNo.	包 装
038-17851	100 mg
032-17854	1 g

製造発売元

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