

FUJIFILM

Code No. 165-19811 (200mg)
161-19813 (1g)

Wako

プロテアーゼ

起 源：*Streptomyces griseus*

活 性：(ラベルに記載)

酵素活性測定法

1. 原理

カゼイン加水分解に伴うトリクロロ酢酸可溶性成分の増加をフェノール法で測定。

2. 試薬

A. 0.066mol/L リン酸緩衝液、pH 7.5

リン酸水素二カリウム2.3gを水に溶かし200mLにする。
また、リン酸二水素カリウム1.8gを水に溶かし200mLにする。両液を用い、pH7.5に調整する。

B. 基質溶液

カゼイン、乳由来1gにA液35mLを加え、加温し、放冷した後、0.1mol/L水酸化ナトリウム溶液を用いてpH7.5に調整し、水を加え50mLにする。

C. トリクロロ酢酸溶液

トリクロロ酢酸1.53g、酢酸ナトリウム2.72gに酢酸1.1mLを加え、水を加え100mLにする。

D. 0.4mol/L 炭酸ナトリウム溶液

炭酸ナトリウム4.24gを水に溶かし、100mLにする。

E. 25μg/ml L-チロシン標準液

L-チロシン25mgを正しく量り取り、全量フラスコ100mLに入れ、0.2mol/L塩酸に溶かし100mLにする。その1mlを全量ピペットを用いて量り取り、全量フラスコ10mLに入れ、0.2mol/L塩酸を加え10mLにする。

F. Folin試薬

フェノール試薬5mLに水10mLを加える。

G. 本品溶液 (10μg/mL)

本品10mgを正しく量り取り、全量フラスコ50mLへ入れ、A液に溶かし50mLにする。その1mlを全量ピペットを用いて量り取り、全量フラスコ20mLに入れ、A液を加え20mLにする。

3. 手順

試 薬	本試験	空試験	標準試験	標準試験の空試験
G	1mL	1mL	－	－
C	－	2mL		
	40℃で5分間予備加温	－		
B	1mL	1mL		
	40℃で正確に10分間反応	－		
C	2mL	－		
	40℃で20分間放置後、ろ紙(5種c)でろ過			
	ろ液1mL	ろ液1mL	E液1mL	0.2mol/L塩酸1mL
D	5mL	5mL	5mL	5mL
F	1mL	1mL	1mL	1mL
	直ちに混合し、40℃で20分間放置			
	吸収セル10mmを用い、波長660nmにおける吸光度を水を対照液として測定。			

4. 単位の定義

前記の条件下、1分間に25μgのチロシンに相当するFolin
試薬呈色物質を生成する酵素量を1unitとする。

(計算)

$$\text{units/mg} = \frac{E_1 - E_0}{E_s - E_{s0}} \times \frac{\frac{S_2}{25}}{S_1 \times \frac{1}{50} \times \frac{1}{20} \times \frac{1}{4}} \times \frac{1}{10}$$

- E₀：空試験の吸光度
- E₁：本試験の吸光度
- E_s：標準試験の吸光度
- E_{s0}：標準試験の空試験の吸光度
- S₁：量り取った本品の質量 (mg)
- S₂：量り取った標準品の質量 (mg)

貯 法：2～10℃保存
包 装

165-19811	200mg
161-19813	1g

参考文献

1. Narahashi,Y., Shibuya,K. and Yanagita,M. : *J. Biochem.*, 64,427(1968)

2. Jaeschke,H., Bautista,A.P., Spolarics,Z. and Spitzer,J.J. : *J. Leukoc. Biol.*, 52, 377(1992)

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