

使用実例

必要試薬、機器

- ・ DMSO：一般市販品。例えば、富士フィルム和光純薬株式会社 カタログ商品コード 043-07216。
- ・ 炭酸ナトリウム：一般市販品。例えば、富士フィルム和光純薬株式会社 カタログ商品コード 199-01585。
「0.4M 炭酸ナトリウム溶液の調製方法」
炭酸ナトリウムが最終的に 0.4M になるように蒸留水に溶解させてください。
- ・ HAP-01：ペプチド研究所 商品コード L3781
「2mM HAP-01 ストック液の調製方法」
HAP-01 が最終的に 2mM になるように DMSO に溶解させ、適量分注します。分注品は、遮光下・20℃で 1 年程度は使用実績があります。使用前に、マッキルベイン緩衝液（pH3.0）で 4 倍希釈し、500μM としてから使用してください。
- ・ 分光光度計（光路長 10mm 角型セル）

測定例

Aspergillus oryzae の米麹の酸性プロテアーゼ活性を測定する。

操作

- ・ 国税庁所定分析法に従い、麹抽出液を調製します（透析は不要です）。得られた麹抽出液を酸性プロテアーゼ活性値が 200U/mL 以内となるように蒸留水で希釈してください。ブランクは蒸留水としてください。
- ・ 小試験管に、500μM HAP-01 溶液を 500μL/本分注し、40℃で約 5 分間予備加温します。
- ・ 麹抽出液を 500μL/本加え、よく混合します。
- ・ 40℃で 20min 維持します〔酵素反応〕。
- ・ 酵素反応後、0.4M 炭酸ナトリウム溶液を加え、よく混合します。
- ・ 混合後、沸騰水に入れ、5 分間維持します〔失活反応〕。
- ・ 失活反応後、0.4M 炭酸ナトリウム溶液を 185μL/本加え、よく混合します〔発色反応〕。
- ・ 発色反応液を吸光度測定用セルに入れ、400nm の波長で吸光度を測定します。なお、吸光度測定時のブランクは蒸留水とします。
- ・ 得られた吸光度を以下に示す計算方法で酸性プロテアーゼ活性値に換算します。

酸性プロテアーゼの換算式

$$\text{酸性プロテアーゼ活性 (U/mL)} = (E_s - E_b) \times 240.77 \times D_f$$

E_s ：測定試料の吸光度、 E_b ：ブランクの吸光度、 D_f ：測定試料の希釈率

以上