

I 型コラゲナーゼアッセイキット

(TypeI collagenase assay kit, Code No.AK37)



平成 25 年 9 月 2 日改訂

※本品は、研究目的にのみご使用ください。

I 型コラゲナーゼは、9 種類知られているコラーゲンファミリーの一つである I 型コラーゲンを 1/4 および 3/4 のフラグメントに分解する酵素として知られており、コラーゲン代謝の重要な役割を担っております。

本キットは、蛍光標識コラーゲンを基質とした I 型コラゲナーゼ活性測定キットです。炎症部位の組織液などのコラゲナーゼ活性測定にご利用下さい。

《I-1. キット構成》

内 容	容量	本数	保存温度	危険表記および取扱上の注意
蛍光標識コラーゲン	6ml	2 本	4～10℃	成分は労働安全衛生法に非該当ですが、取扱う際には眼鏡・手袋などの保護具を着用の上、人体の接触を避けるよう十分に配慮してください。
緩衝液 A	100ml	1 本	4～10℃	
緩衝液 B	150ml	1 本	4～10℃	(成分としてエタノールを 41.6%含む) 労働安全衛生法 第 57 条の 2 に該当 危険    ・引火性の高い液体及び蒸気 ・強い眼刺激 ・遺伝性疾患のおそれ ・肝臓の障害 ・眠気またはめまいのおそれ ・呼吸器への刺激のおそれ ・生殖能または胎児への悪影響のおそれ

※本製品は、蛍光分光光度計(セミマイクロセル利用)で 240 検体分、蛍光プレートリーダー利用で 480 検体分測定することができます。

※本製品の測定は、蛍光（蛍光試薬 FITC）を測定できる機器が必要になります。

※精製水を別途にご用意願います。

《I-2. キットの特徴》

- ・I 型コラゲナーゼ活性を測定することができる。

《II. 試薬調製》

(1) 基質液

蛍光標識コラーゲンと緩衝液 A を等量混合し、使用するまで遮光した状態で氷冷します。用事調製のため必要量調製してください。

(2) 検体希釈液

緩衝液 A と精製水を等量混合し、使用するまで氷冷します。

《III. 測定方法-セミマイクロセルを使用した蛍光分光光度計の測定の場合》

はじめに測定する検体の本数および 2 本(反応基質総量用、ブランク用)のチューブを用意します。

- (1) 各チューブに基質液を 100 μ l ずつ分注する。
- (2) 基質液が入っているチューブに検体 100 μ l を加えてよく混合させる。反応基質総量用およびブランク

用のチューブには検体希釈液 100 μ l を加えてよく混合させる。検体に含まれる酵素量が多い場合は検体希釈液で希釈してから添加する。

- (3) 反応基質総量用チューブを除く全てのチューブを **35°C** でインキュベートする (1~3 時間程度)。反応基質総量用チューブのみ **80°C** で 3 分間インキュベートする。
- (4) 全ての各チューブに冷却した緩衝液 B 600 μ l を加え、強く攪拌し氷上で 15 分間静置した後、冷却遠心(4°C、10,000rpm、10 分間)する。
- (5) 上清を回収し、励起フィルター (Excitation filter) : 495nm, 蛍光フィルター (Emission filter) : 520nm で蛍光を測定してください。
- ※蛍光プレートリーダーで測定する場合は、上記の試薬容量を全て半量にしてご使用ください。

《IV. コラゲナーゼ活性の計算方法》

I 型コラゲナーゼの活性(unit)は、1 分間に 1 μ g のコラーゲンを消化するものと定義されています。基質液中に含まれるコラーゲン濃度は 0.5mg/ml になりますので以下のように求めることができます。

コラゲナーゼ活性(units/ml) =

$$\frac{(\text{検体の蛍光強度}) - (\text{ブランクの蛍光強度})}{(\text{反応基質総量の蛍光強度}) - (\text{ブランクの蛍光強度})} \times \frac{50(\mu\text{g:コラーゲン})}{\text{反応時間 (分)}} \times \frac{1}{0.1(\text{ml:検体量})}$$

※基質液 100 μ l、検体 100 μ l で測定した場合の計算式になります。

《本製品をご利用になられた文献、発表データ》

本製品をご利用いただいて投稿された論文、学会発表パネルなどを送付いただきましたお客様に粗品を進呈させていただきます。ご提供いただきました論文などは、WEB やカタログ、技術資料を通じて多くの研究者の方への技術情報として利用させていただく場合がございます。是非皆様のご協力をお願いいたします。

送付方法

〒063-0061 北海道札幌市西区西町北 12 丁目 1-12 YS ビル
コスモ・バイオ株式会社 プライマリーセル事業部 あて郵送
または primarycell@cosmobio.co.jp あて PDF ファイル送信



コスモ・バイオ株式会社
COSMO BIO CO., LTD.

〒135-0016 東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル
URL : <http://www.cosmobio.co.jp/>

● 営業部 (お問い合わせ)
TEL : (03) 5632-9610 FAX : (03) 5632-9619
TEL : (03) 5632-9620

● プライマリーセル事業部 (技術的なお問い合わせ)
TEL : (011) 667-5911 FAX : (011) 667-5912
E-mail : primarycell@cosmobio.co.jp
URL : <http://www.primarycell.com/>