



生理活性反応測定装置 (Micro Bioactivity Analyzer)

AMIS-101 データ集



株式会社 バイオエックス

2008年10月

生理活性反応測定装置(Micro Bioactivity Analyzer) AMIS-101 は複雑な発光・発色反応を伴うことなく、酵素反応などの生理活性反応をシンプルに、リアルタイムでの定量測定が可能です。

数マイクロリットルの微量での測定が可能であり、収量の少ないタンパクの代謝機能の解析に威力を発揮します。

当データ集は本測定装置の基本性能を示すために測定例としてまとめたものですが、下記の一覧表に示す通り、幅広い範囲での応用が可能であることがわかります。

| 基質           | 酵素  | 補酵素 | 基質検出感度<br>( $\mu\text{M}$ )                         | 酵素検出感度<br>(20 $\mu\text{l}$ 中の絶対量)   | 検出対象        | ページ |
|--------------|---|-----|---|--------------------------------------|-------------|-----|
| グルコース        | Glucose Oxidase                               |     | 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$<br>(55 $\mu\text{M}$ )   | 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$<br>(1ng) | 過酸化水素+グルコン酸 | 2   |
| グルコース        | Glucose Dehydrogenase                         | NAD | 20 $\mu\text{g}/\text{ml}$<br>(111 $\mu\text{M}$ )  |                                      | プロトン        | 3   |
| グリセロール       | Glycerol Kinase +<br>Glycerophosphate Oxidase | ATP | 1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$<br>(16 $\mu\text{M}$ )  |                                      | 過酸化水素       | 4   |
| エタノール        | Alcohol Dehydrogenase                         | NAD | 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$<br>(217 $\mu\text{M}$ )  |                                      | プロトン        | 5   |
| ホルムアルデヒド     | Formaldehyde Dehydrogenase                    | NAD | 0.3 $\mu\text{g}/\text{ml}$<br>(10 $\mu\text{M}$ )  |                                      | プロトン+蟻酸     | 6   |
| アセトアルデヒド     | Aldehyde Dehydrogenase                        | NAD | 5ng/ml<br>(0.1 $\mu\text{M}$ )                      |                                      | プロトン+酢酸     | 7   |
| ATP          | Alkaline Phosphatase                          |     | 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$<br>(10 $\mu\text{M}$ )    | 0.1unit/ml<br>(0.002unit)            | リン酸         | 8   |
| 尿素           | Urease  |     | 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$<br>(33 $\mu\text{M}$ )    |                                      | アンモニア       | 9   |
| クレアチニン       | Creatinine Deiminase                          |     | 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$<br>(8.8 $\mu\text{M}$ )   | 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$<br>(2ng)   | アンモニア       | 10  |
| オリーブ油        | Lipoprotein Lipase                            |     | 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$                         |                                      | オレイン酸       | 11  |
| リノール酸コレステロール | Cholesterol Esterase                          |     | 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$<br>(300 $\mu\text{M}$ ) |                                      | リノール酸       | 12  |
| DL-BAPNA     | Trypsin                                       |     | 60 $\mu\text{g}/\text{ml}$                          |                                      | アルギニンカルボン酸  | 13  |

なお、当データ集に示すプロトコルはすべて精製された試薬ベースのものであり、実際のサンプルでの測定に際しては精製など各サンプルの状態に応じた前処理と試薬の設計が必要となります。具体的なプロトコルの構築に関しましてはご相談下さい。

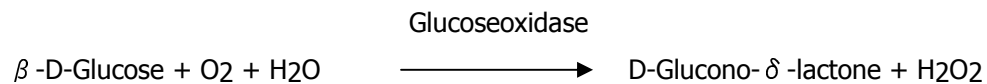
1. グルコース (その1)

酵素 : Glucoseoxidase

基質 : Glucose

Buffer : 1mM Tris-HCl pH6.8 50mM NaCl

反応機構



方法 : ①酵素 Glucoseoxidase を Buffer にて 0.1mg/ml に溶解した。

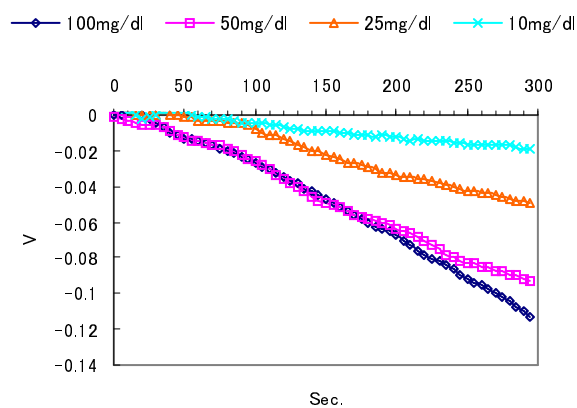
②基質 Glucose を Buffer にて所定の濃度に溶解した。

③センサーA、B に①の酵素溶液を 18 マイクロリットル投入した

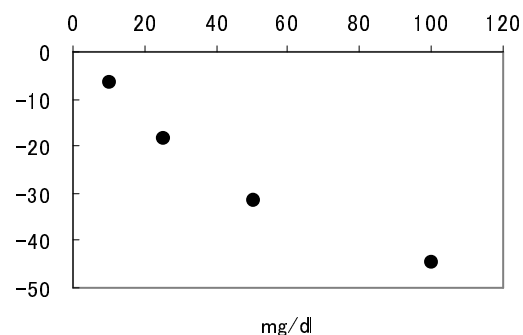
④AMIS-101 にセンサーをセットし、温度が安定したらセンサーA に②の基質を、センサーB に Buffer (Reference) を各 2 $\mu$ リットル加えて測定した。

⑤ (センサーA の出力) - (センサーB の出力)を反応による出力とした。

Output



Analytical Curve (Linear)



## 2. グルコース (その2)

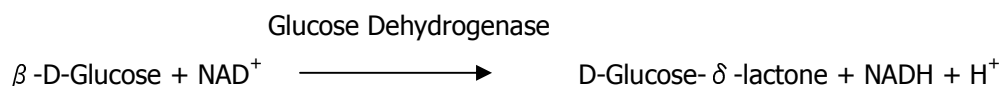
酵素 : Glucosedehydrogenase

補酵素 : NAD

基質 : Glucose

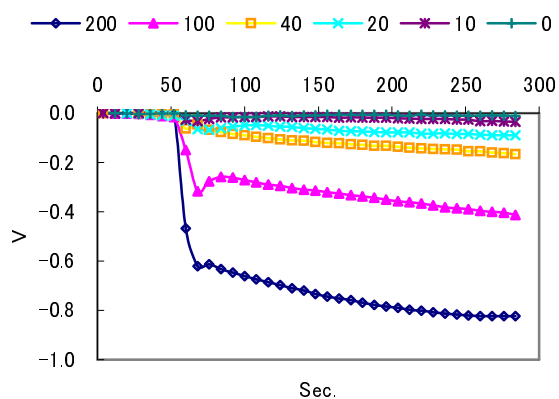
Buffer : 1mM PBS-KOH pH7.0 100mM NaCl

反応機構

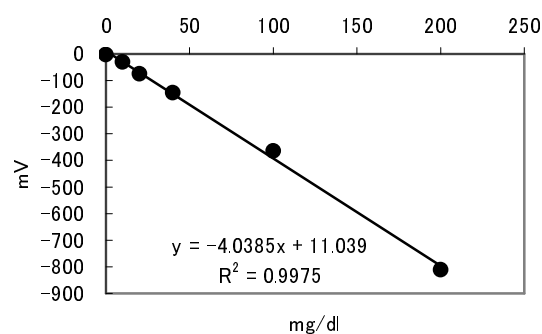


- 方法 : ①酵素 Glucosedehydrogenase を Buffer にて 1.4mg/ml に溶解した  
②補酵素 NAD を Buffer にて 3.5mg/ml に溶解した  
③基質 Glucose を Buffer にて所定の濃度に溶解した  
④センサーA、B に①の酵素溶液を 9 マイクロリットル投入した  
⑤センサーA、B に②の補酵素溶液を 9 マイクロリットル投入した  
⑥AMIS-101 にセンサーをセットし、温度が安定したらセンサーA に③の基質を、  
センサーB に Buffer (Reference) を各 2 $\mu$ リットル加えて測定した。  
⑦ (センサーA の出力) - (センサーB の出力)を反応による出力とした。

Output



Analytical Curve (End Point)



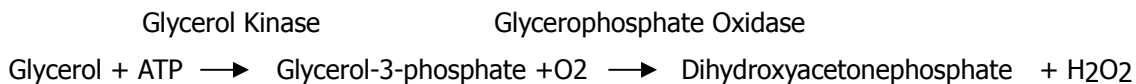
### 3. グリセロール

酵素 : Glycerol Kinase, Glycerol Phosphate Oxidase

基質 : Glycerol

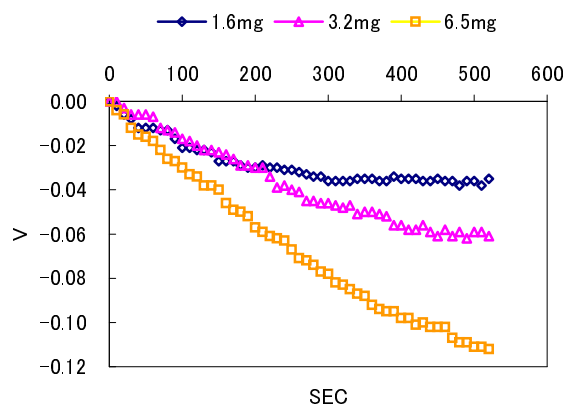
Buffer : 1mM ATP-NaOH pH7.0

反応機構

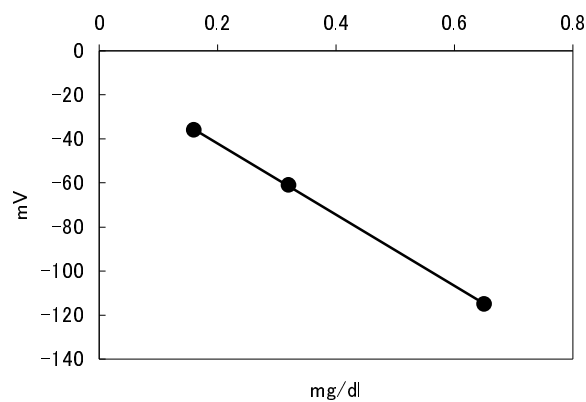


- 方法 : ①酵素 Glycerol Kinase (酵素 1) を Buffer にて 0.2mg/ml g/ml に溶解した  
②酵素 Glycerophosphate Oxidase (酵素 2) を Buffer にて 0.2mg/ml に溶解した。  
③基質 Glycerol を Buffer にて所定の濃度に溶解した  
④センサー A、B に①の酵素 1 溶液を 9 マイクロリットル投入した  
⑤センサー A、B に②の酵素 2 溶液を 9 マイクロリットル投入した  
⑥AMIS-101 にセンサーをセットし、温度が安定したらセンサー A に③の基質を、センサー B に Buffer (Reference) を各 2 μリットル加えて測定した。  
⑦ (センサー A の出力) - (センサー B の出力) を反応による出力とした。

Output



Analytical Curve (End Point)



4. エタノール

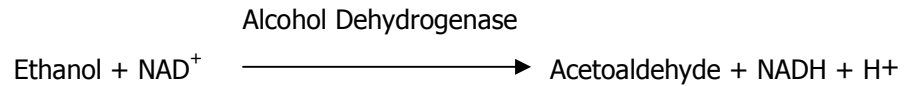
酵素：Alcohol Dehydrogenase

補酵素：NAD

基質：Ethanol

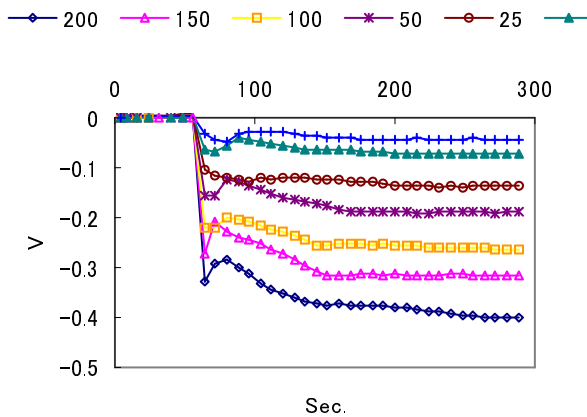
Buffer：1mM K-PBS pH7.0 NaCl 50mM

反応機構

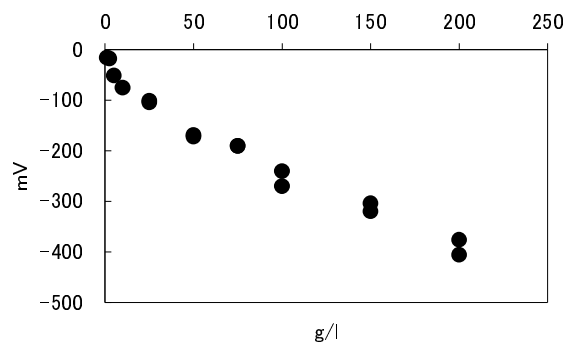


- 方法：①酵素 Alcohol Dehydrogenase を Buffer にて 0.1mg/ml に溶解した  
 ②補酵素 NAD を Buffer にて 1.8mg/ml に溶解した。  
 ③基質 Ethanol を Buffer にて所定の濃度に溶解した  
 ④センサーA、B に①の酵素溶液を 9 マイクロリットル投入した  
 ⑤センサーA、B に②の補酵素溶液を 9 マイクロリットル投入した  
 ⑥AMIS-101 にセンサーをセットし、温度が安定したらセンサーA に③の基質を、  
 センサーB に Buffer (Reference) を各 2 $\mu$ リットル加えて測定した。  
 ⑦ (センサーA の出力) - (センサーB の出力)を反応による出力とした。

Output



Analytical Curve (End Point)



5. ホルムアルデヒド

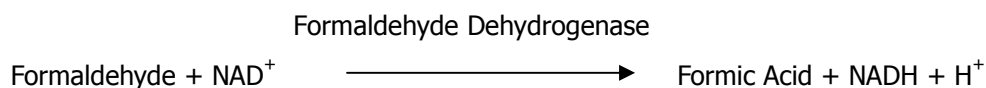
酵素：Formaldehyde Dehydrogenase

補酵素：NAD

基質：Formaldehyde

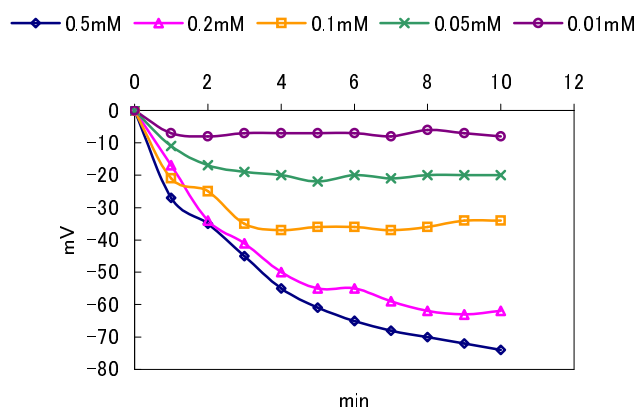
Buffer：1mM Tris-HCl pH8.5

反応機構

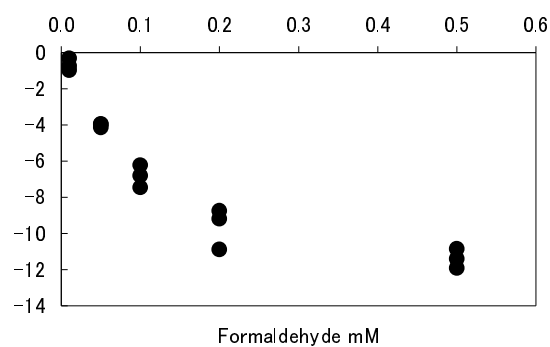


- 方法：①酵素 Formaldehyde Dehydrogenase を Buffer にて 0.1mg/ml に溶解した  
 ②補酵素 NAD を Buffer にて 1.8mg/ml に溶解した。  
 ③基質 Formaldehyde を Buffer にて所定の濃度に溶解した  
 ④センサーA、B に①の酵素溶液を 9 マイクロリットル投入した  
 ⑤センサーA、B に②の補酵素溶液を 9 マイクロリットル投入した  
 ⑥AMIS-101 にセンサーをセットし、温度が安定したらセンサーA に③の基質を、  
 センサーB に Buffer (Reference) を各 2 $\mu$ リットル加えて測定した。  
 ⑦ (センサーA の出力) - (センサーB の出力)を反応による出力とした。

Output



Analytical Curve (Linear)



## 6. アセトアルデヒド

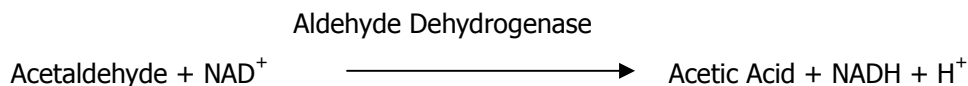
酵素：Aldehyde Dehydrogenase

補酵素：NAD

基質：Acetaldehyde

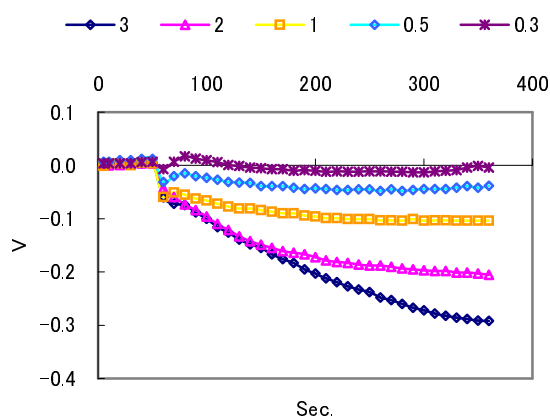
Buffer：1mM K-PBS pH7.0

反応機構

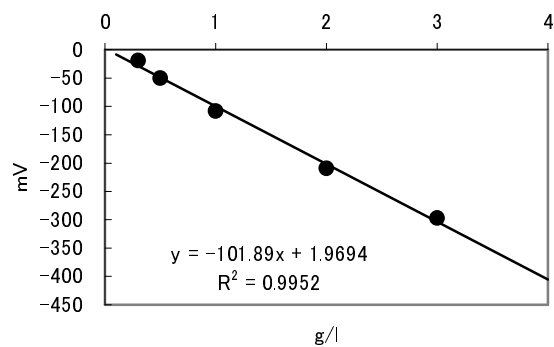


- 方法：①酵素 Aldehyde Dehydrogenase を Buffer にて 0.1mg/ml に溶解した  
②補酵素 NAD を Buffer にて 1.8mg/ml に溶解した。  
③基質 Acetaldehyde を Buffer にて所定の濃度に溶解した  
④センサーA、B に①の酵素溶液を 7.5 マイクロリットル投入した  
⑤センサーA、B に②の補酵素溶液を 7.5 マイクロリットル投入した  
⑥AMIS-101 にセンサーをセットし、温度が安定したらセンサーA に③の基質を、  
センサーB に Buffer (Reference) を各 5 $\mu$ リットル加えて測定した。  
⑦ (センサーA の出力) - (センサーB の出力)を反応による出力とした。

Output



Analytical Curve (End Point)





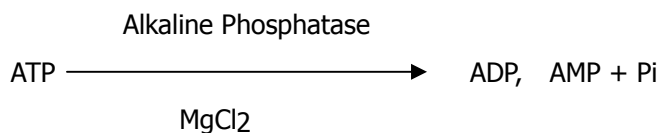
## 7. ATP(アデノシン三リン酸)

酵素 : Alkaline Phosphatase

基質 : ATP(Li)

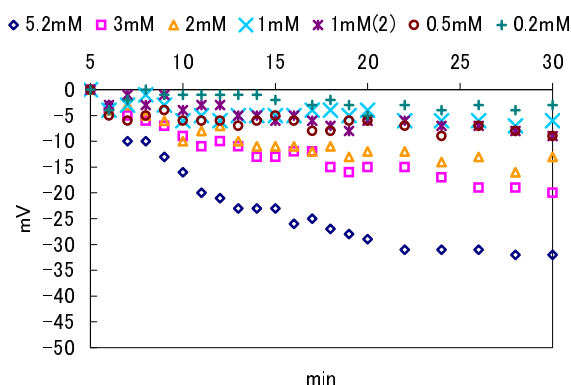
Buffer : 10mM Mops-Tris pH7.4 2mM MgCl<sub>2</sub>

反応機構

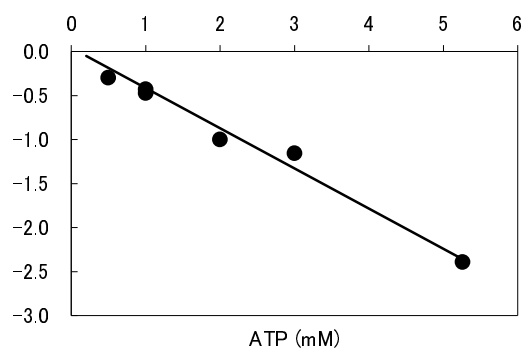


- 方法 : ①酵素 Alkaline Phosphatase を Buffer にて 60u/ml に溶解した  
②基質 ATP Li 塩を Buffer にて所定の濃度に溶解した  
③センサーA、B に①の酵素溶液を 18 マイクロリットル投入した  
④AMIS-101 にセンサーをセットし、温度が安定したらセンサーA に②の基質を、  
センサーB に Buffer (Reference) を各 2 $\mu$ リットル加えて測定した。  
⑤ (センサーA の出力) - (センサーB の出力)を反応による出力とした。

Output



Analytical Curve (Linear)



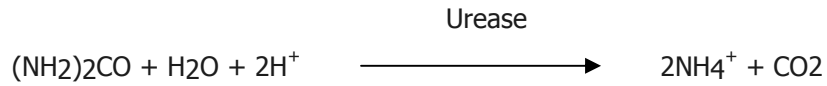
## 8. 尿素

酵素 : Urease

基質 : Urea

Buffer : 1mM Tris-HCl pH8.0 50mM KCl

反応機構



方法 : ①酵素 Urease を Buffer にて 0.075mg/ml に溶解した

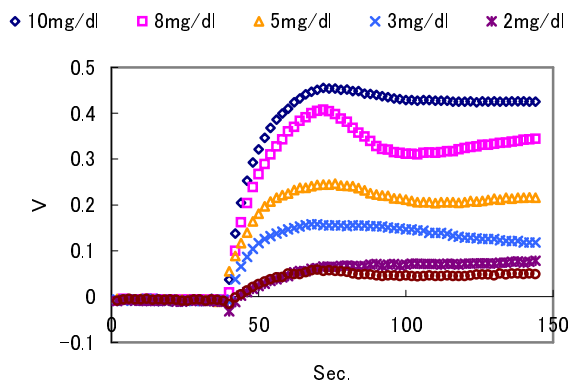
②基質 Urea を Buffer にて所定の濃度に溶解した

③センサーA、B に①の酵素溶液を 15 マイクロリットル投入した

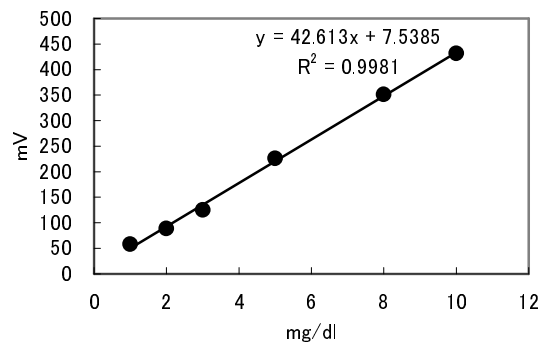
④AMIS-101 にセンサーをセットし、温度が安定したらセンサーA に②の基質を、センサーB に Buffer (Reference) を各 5  $\mu$  リットル加えて測定した。

⑤ (センサーA の出力) - (センサーB の出力)を反応による出力とした。

Output



Analytical Curve (End Point)



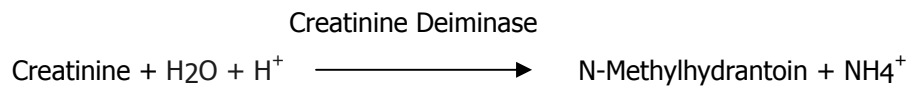
## 9. クレアチニン

酵素：Creatinine Deiminase

基質：Creatinine

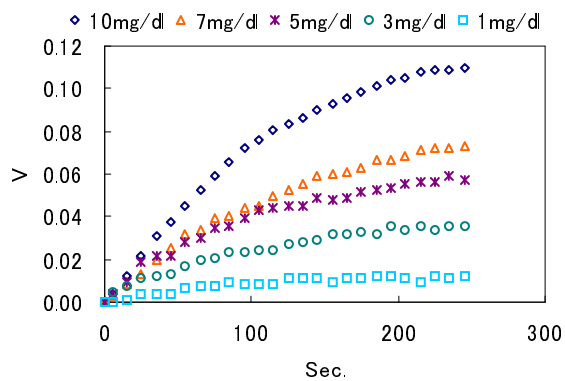
Buffer：1mM Tris-HCl pH7.5 50mM NaCl

反応機構

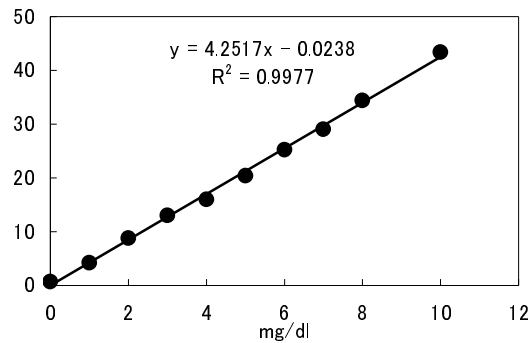


- 方法：①酵素 Creatinine Deiminase を Buffer にて 0.1mg/ml に溶解した  
②基質 Creatinine を Buffer にて所定の濃度に溶解した  
③センサーA、B に①の酵素溶液を 18 マイクロリットル投入した  
④AMIS-101 にセンサーをセットし、温度が安定したらセンサーA に②の基質を、  
センサーB に Buffer (Reference) を各 2 $\mu$ リットル加えて測定した。  
⑤ (センサーA の出力) - (センサーB の出力)を反応による出力とした。

Output



Analytical Curve (End Point)



## 10. オリーブ油

酵素 : Lipoprotein Lipase

基質 : Olive Oil

Buffer : 5mM K-PBS pH7.0

反応機構

Lipoprotein Lipase によるオリーブ油の加水分解の結果生じるオレイン酸を検出

方法 : ①酵素 Lipoprotein Lipase を Buffer にて 0.1mg/ml に溶解した

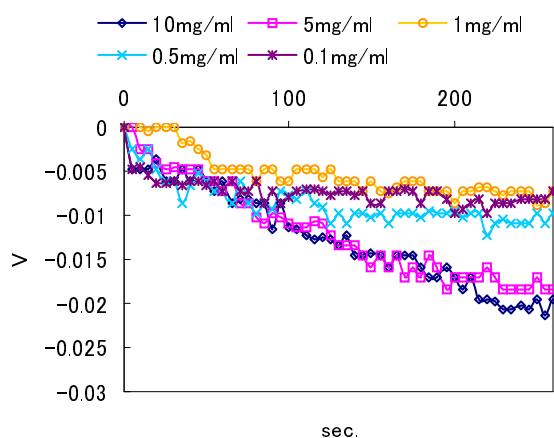
②基質オリーブ油を Buffer にて所定の濃度に溶解し、超音波処理を行った。

③センサーA、B に①の酵素溶液を 18 マイクロリットル投入した

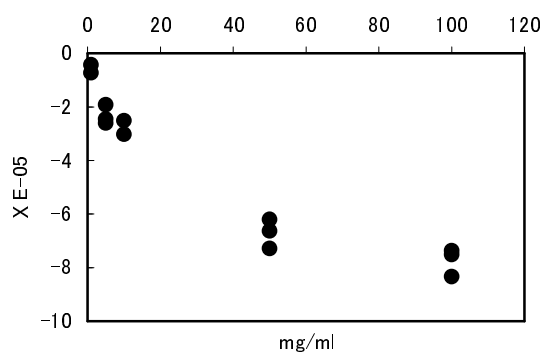
④AMIS-101 にセンサーをセットし、温度が安定したらセンサーA に②の基質を、センサーB に Buffer (Reference) を各 2 $\mu$ リットル加えて測定した。

⑤ (センサーA の出力) - (センサーB の出力)を反応による出力とした。

Output



Analytical Curve (Linear)



## 11. リノール酸コレステロール

酵素 : Cholesterol Esterase

基質 : Cholesteryl Linoleate

Buffer : 1mM Tris-HCl pH7.5

反応機構

Cholesterol Esterase による Cholesteryl Linoleate 分解反応の結果生じるリノール酸を検出

方法 : ①酵素 Cholesterol Esterase を Buffer にて 0.1mg/ml に溶解した

②基質 Cholesteryl Linoleate を IPA に溶解し Buffer にて所定の濃度に希釈し、過熱して IPA を蒸発させた後超音波処理を行った。

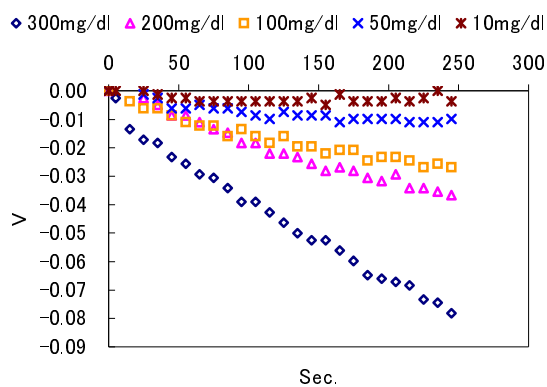
③センサーA、B に①の酵素溶液を 18 マイクロリットル投入した

④AMIS-101 にセンサーをセットし、温度が安定したらセンサーA に②の基質を、センサーB に Buffer (Reference) を各 2 $\mu$ リットル加えて測定した。

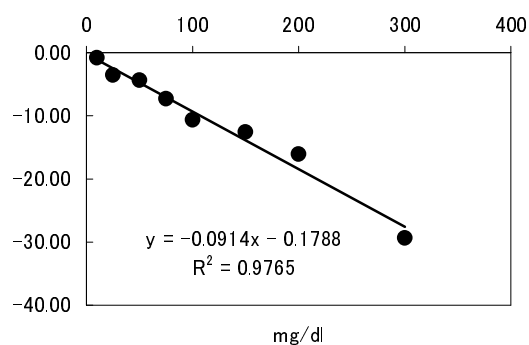
⑤ (センサーA の出力) - (センサーB の出力)を反応による出力とした。

---

Output



Analytical Curve (Linear)



## 12. DL-BAPNA (合成基質)

酵素 : Tripsin

基質 :  $N_{\alpha}$ -Benzoyl, L-arginine 4-nitroanilide hydrochloride (DL-BAPNA)

Buffer : 2.5mM Tris-HCl pH8.3

反応機構

酵素 Tripsin による 基質  $N_{\alpha}$ -Benzoyl, L-arginine 4-nitroanilide hydrochloride (DL-BAPNA) の分解反応の結果生じるをアルギニンカルボン酸を検出

方法 : ①酵素 Tripsin を Buffer にて 1mg/ml に溶解した。

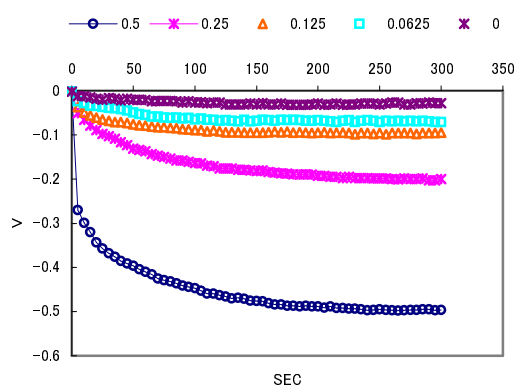
②基質 DL-BAPNA を Buffer にて所定の濃度に溶解した。

③センサーA、Bに②の DL-BAPNA 溶液を 18 マイクロリットル投入した

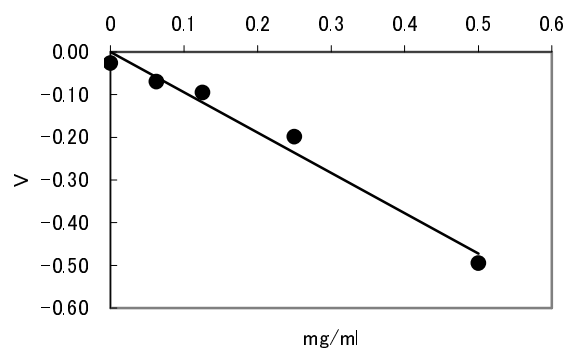
④AMIS-101 にセンサーをセットし、温度が安定したらセンサーAに①の酵素溶液を、センサーBに Buffer (Reference) を各 2 $\mu$ リットル加えて測定した。

⑤ (センサーA の出力) - (センサーB の出力)を反応による出力とした。

Output



Analytical Curve (End Point)





## 株式会社バイオエックス

〒610-0121

京都府城陽市寺田今堀 121-17

TEL 0774-27-2422 / FAX 0774-54-3561

Email [info@bio-x.co.jp](mailto:info@bio-x.co.jp)

Web <http://www.bio-x.co.jp/>