

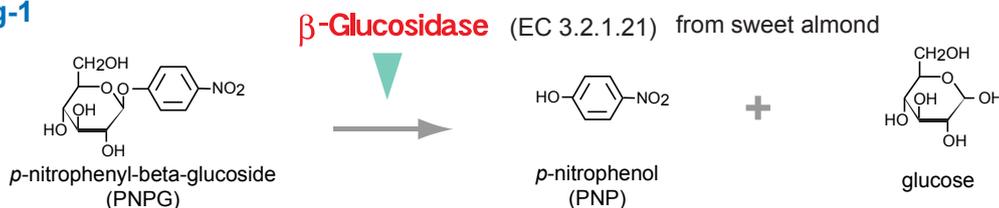
Unison UK-C18

10 x 2 mm

Technical

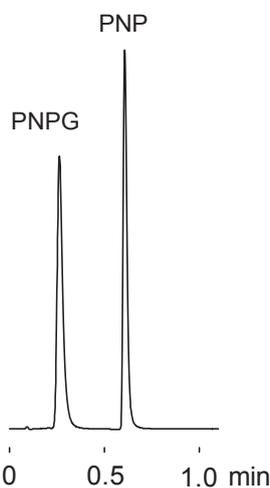
ハイスルーブットカラムの酵素反応解析への応用

Fig-1

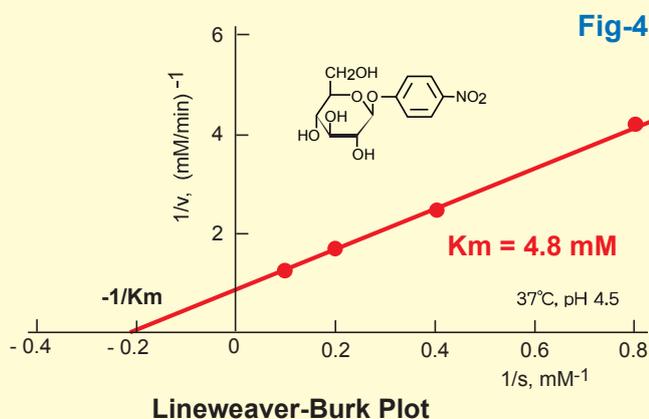
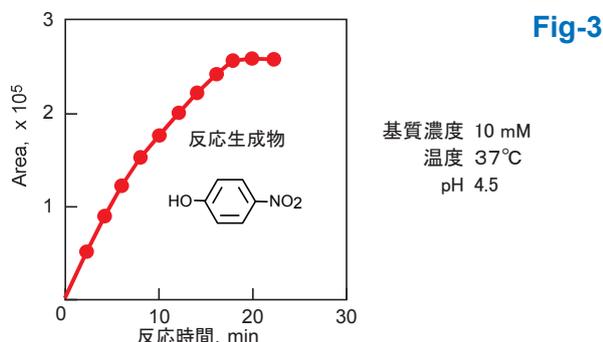


基質と生成物のHPLC

Fig-2



Unison UK-C18
10 x 2 mm
A: 0.1% AcOH
B: acetonitrile
10-90%B (0-1min)
0.5 mL/min
37 deg.C, 320 nm



ハイスルーブットカラムを酵素反応に応用すれば、基質の妨害を受けない選択的な検出や、数十秒単位の高速な反応追跡が可能となります。速い酵素反応を1分単位で追跡することも可能です。

βグルカン加水分解酵素 β-Glucosidase に関して、合成基質を用いたときの反応を Fig-1 に示しました。このときの基質 PNPG と反応生成物 PNP は、Unison UK-C18, 10x2mm により 1 分以内に高速分析が可能です (Fig-2)。この分析系を用いると、生成物の生成速度が簡単に測定できます (Fig-3)。さらに初速度の基質濃度依存性から酵素 (β-Glucosidase) と基質 (PNPG) の親和力を示す Michaelis 定数 (Km) を求めることもできます (Fig-4)。

従来のような分光光度計による混合物の測定とは異なり、生成物そのものを高速 HPLC により追跡することが可能です。さらに、酵素阻害剤探索の効率化への応用も期待できます。

分析時間が数十秒、という超高速 HPLC カラムが酵素化学分野でも活躍します。