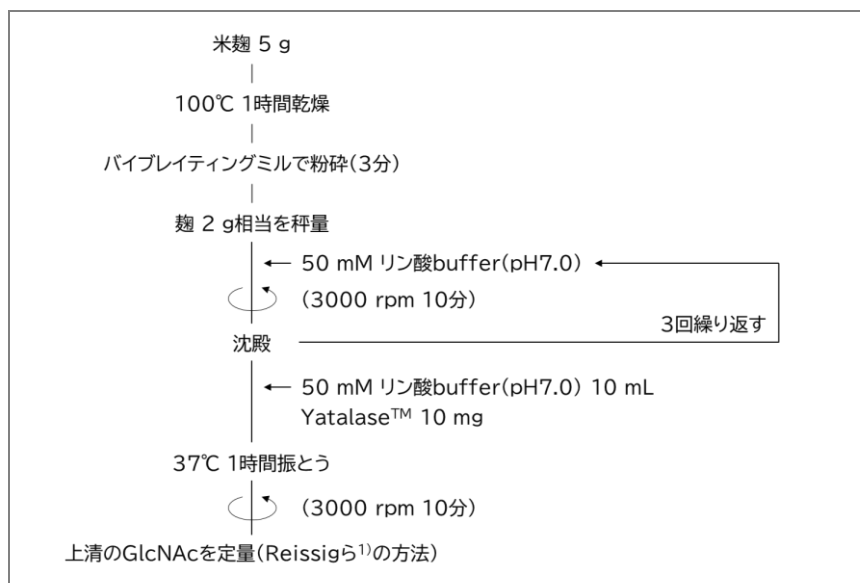


Yatalase を用いた麹菌体量簡易測定法

大関株式会社 総合研究所

1. まず以下の方法で麹菌体から *N*-アセチルグルコサミン (GlcNAc) を遊離させ回収する。



上記方法と同時に、Yatalase 酵素液を 100℃で 5 分ボイルしたものを用いた反応も行い酵素ブランクとする。

米麹、buffer、Yatalase の量および振とう時間の最適条件はサンプルによって異なるため、適宜調整すること。

2. 得られた上清の GlcNAc を測定する。¹⁾

必要な試薬を以下に示す。

(1) ホウ酸塩溶液

4.95 g のホウ酸を 50 mL の蒸留水に溶かす。1N 水酸化カリウムで pH 9.1 に調整後 100 mL にメスアップする。

(2) DMAB (p-Dimethylaminobenzaldehyde) 試薬

DMAB 10 g を 12.5% (v/v) の 10 N 塩酸を含む酢酸 100 mL に溶かす。測定毎に 0, 10, 20, 50, 75, 100 μ g/mL の GlcNAc 標準液で、検量線を作成する。(Y 軸に GlcNAc 濃度、X 軸に OD585 をとり、原点を通る直線を引いた時の傾きを DMAB 係数とする。)

試験管(内径 1.2 cm、長さ 10 cm)に得られた上清 0.5 mL を移し、ホウ酸塩溶液 0.1 mL を添加する。

↓

ビーダマで試験管に蓋をし、沸騰水浴中で正確に 3 分間ボイルする。

↓

氷水で 5 分間急冷する。

↓

DMAB 試薬 0.3 mL と酢酸 2.7 mL を添加する。(大量に測定する場合はあらかじめ DMAB 試薬と酢酸を 1:9 で混合したものを作製する。)

↓

37°C 水浴中で 20 分間静置する。

↓

室温まで水冷する。

↓

OD585nm を測定する。

3. 麴菌体量の計算

サンプル GlcNAc 濃度 ($\mu\text{g/mL}$) = (測定サンプル OD585 - 酵素ブランク OD585) $\times$ DMAB 係数

測定サンプル 5 mL 中(つまり粉碎麴 1 g 相当量)では、

サンプル GlcNAc 濃度 ($\mu\text{g/mL}$) $\times$ 5 (mL) = サンプル GlcNAc 量 (μg /粉碎麴 1 g)
となる。

乾燥菌体量 1 mg 当たりの GlcNAc 量を 139 μg として換算²⁾すると、

サンプル GlcNAc 量 (μg /粉碎麴 1 g) / 139 (μg /1 mg 乾燥菌体量) = 乾燥菌体量 (mg/g 粉碎麴)
となる。

参考文献

1) Reissig, J. L., Strominger, J. L. and Leloir, L. F. (1955) J. Biol. Chem. 217, 959.

2) 藤井史子、尾関健二、神田晃敬、浜地正昭、布川弥太郎 (1992) 醸造協会 87, 757.