

1 Native-PAGE活性染色法

泳動ゲル中のでんぷんをアミラーゼが分解するので
数種類のアミラーゼを一斉分析できる方法

ポリアクリルアミドゲル(可溶性デンプン含有)
限外ろ過後の試験溶液+サンプルバッファー



(氷水中) 200V 定電圧



ゲルを反応液に浸して40°Cで保温

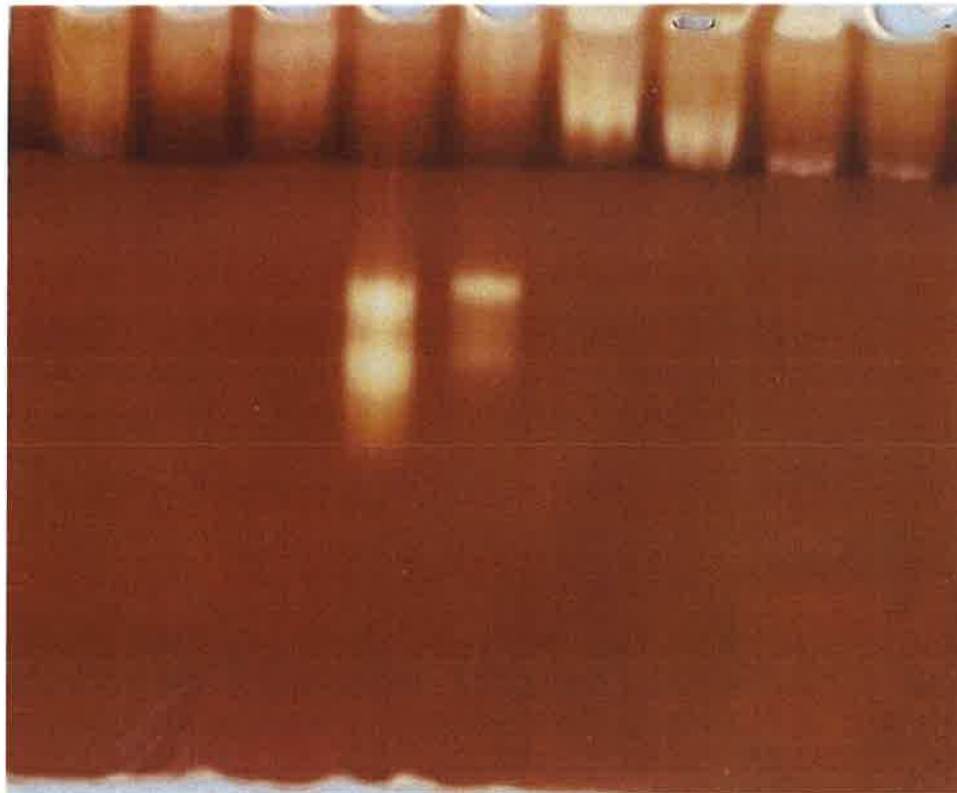
反応液: 酢酸緩衝液及び塩化ナトリウム溶液の混液



ヨウ素溶液に変えて発色させる

Native-PAGEの活性染色～結果例～

① ② ③ ④ ⑤ ⑥ ⑦ ⑧ ⑨



① }
② } ミツバチアミラーゼのみ
③ }

④ }
⑤ } 外来アミラーゼA

⑥ }
⑦ } 外来アミラーゼB

⑧ }
⑨ } 外来アミラーゼC

2 LC-qTOF/MS-タンパク質解析ソフトによる確認

蜂蜜をリン酸緩衝液に溶解後，遠心分離で不溶物を除去



限外ろ過膜で糖などの低分子化合物を除去



タンパク分解酵素で断片化



LC-MS/MSで網羅的にペプチドを測定



タンパク質解析ソフトで検出したタンパク質を特定

