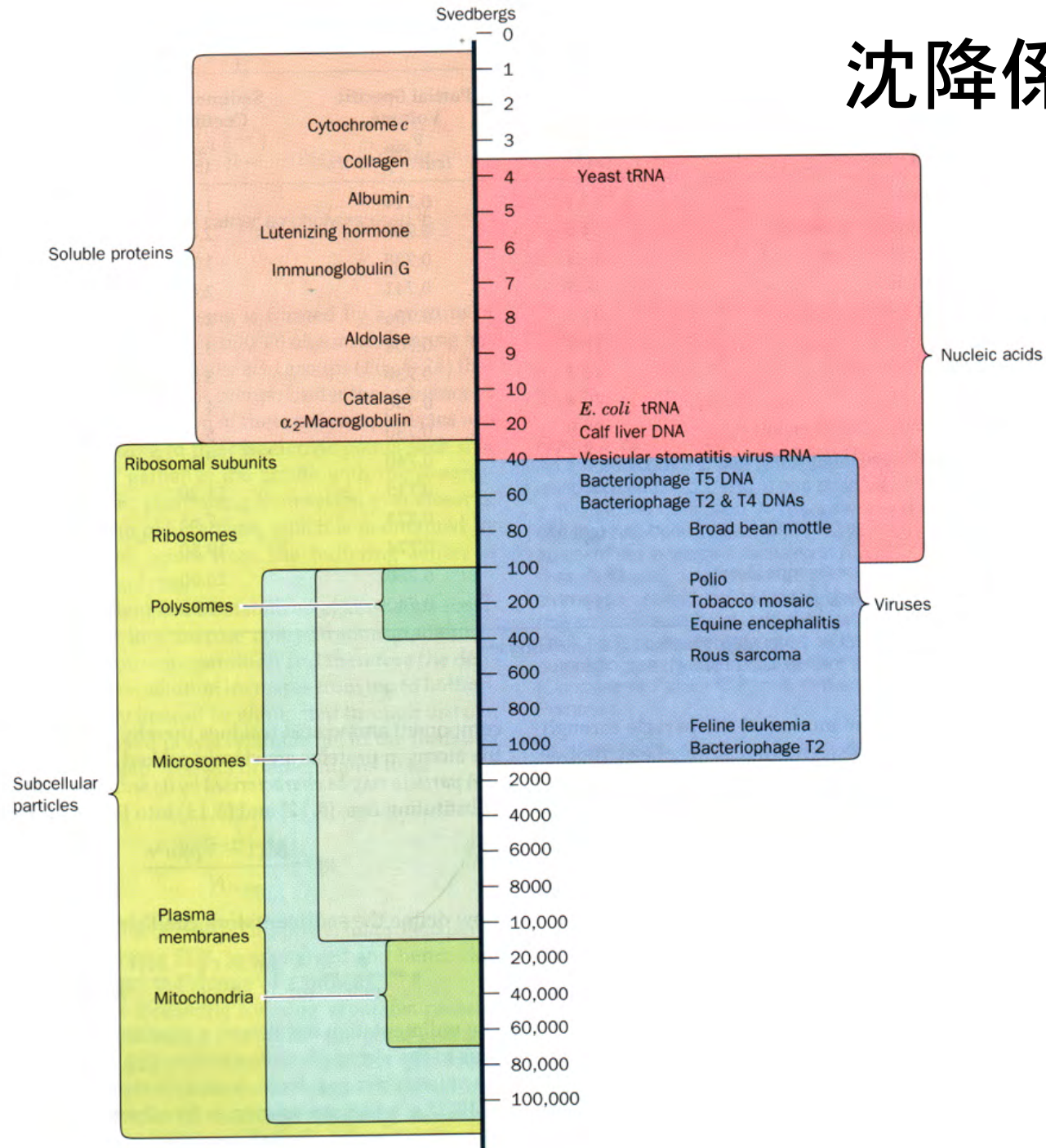
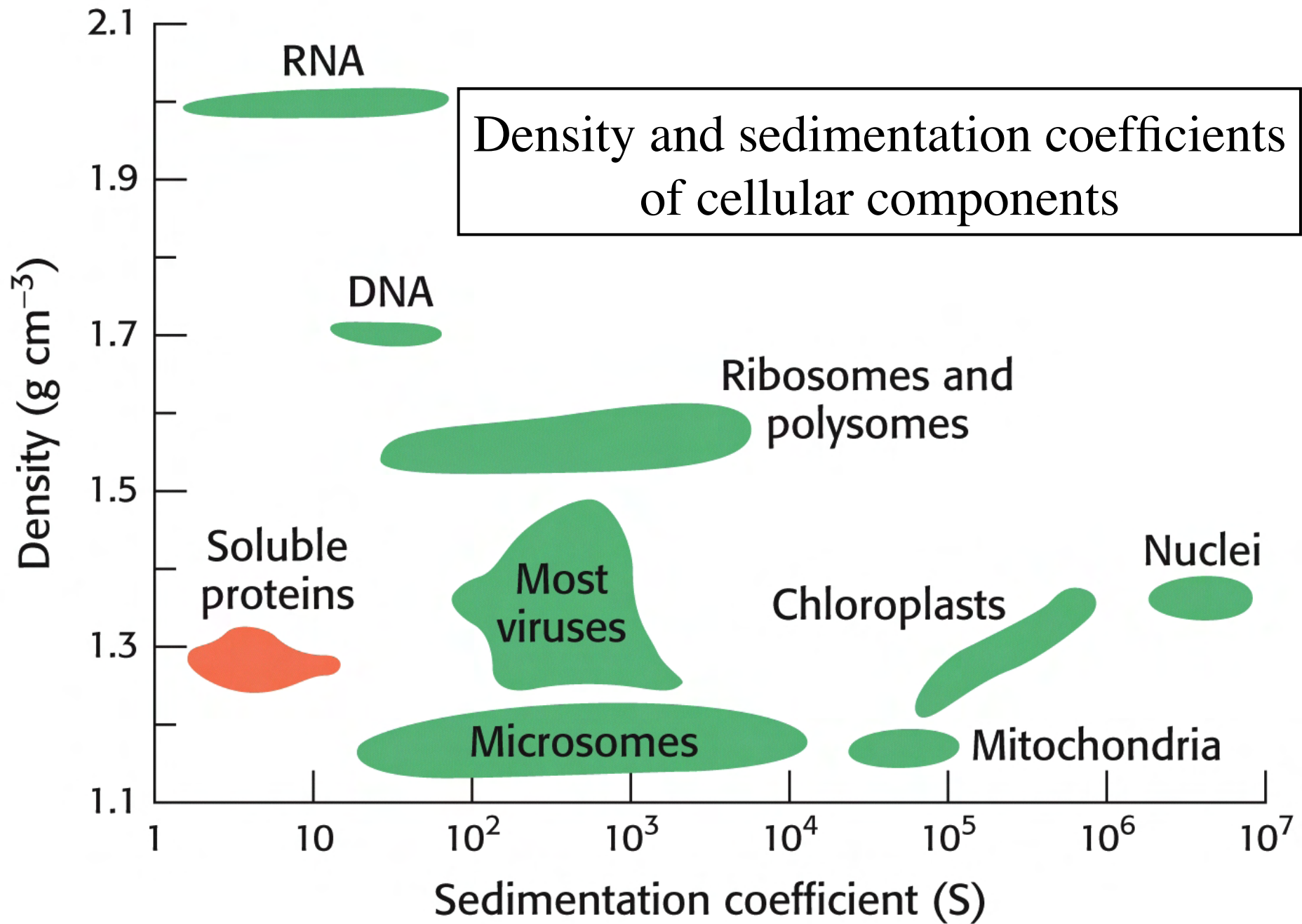


沈降係数





超遠心ローター



超遠心機



型式：CP100MX

最高回転速度(rpm)：100,000

最大遠心加速度(xg)：803,000

回転制御精度(rpm)：±10

加減速時間：0～100,000rpm:5分

温度制御精度/表示：±0.5℃

真空方式：

油回転真空ポンプ＋油拡散真空ポンプ

到達圧力0.13Pa以下

駆動部保証：完全10年間

冷却方式：

フロンレス、サーモモジュール冷却システム

表示

大きさ(mm)：(W)790×(D)690×(H)1,000

質量(Kg)：400

標準価格(円)：

遠心分離 I

遠心力

$$\text{角速度 (rad} \cdot \text{s}^{-1}) = \omega = d\theta/dt$$

$$\text{加速度} = \alpha = r \omega^2 \quad \text{半径} = r$$

$$\text{加速度 } g = 9.8 \text{ m/s}^2$$

$$r = 10 \text{ cm} \quad 6,000 \text{ rpm} \Rightarrow 0.1 \cdot (2\pi \cdot 100)^2 = 39,438 \text{ m/s}^2 = 4,024 g$$

$$30,000 \text{ rpm} \Rightarrow 0.1 \cdot (2\pi \cdot 500)^2 = 985,960 \text{ m/s}^2 = 100,608 g$$

沈降力 は 遠心力から 浮力を引いたもの

$$F_s = m\omega^2 r - V_p \rho \omega^2 r$$

$$V_p = \text{体積}$$
$$\rho = \text{溶液の密度}$$
$$m = \text{質量}$$

摩擦力 $F_f = v f$

$$v = \text{粒子の沈降速度}$$
$$f = \text{摩擦係数}$$

粒子の沈降速度は沈降力と摩擦力が釣り合うまで加速する

$$m = M(\text{分子量}) / N(\text{アボガドロ数})$$

$$\text{従って } m\omega^2 r - V_p \rho \omega^2 r = v f$$

$$\bar{V} = \text{偏比容} \equiv \text{密度の逆数}$$

$$V_p = \bar{V} m = \frac{\bar{V} M}{N}$$

1 g の粒子を無限大溶媒に溶かしたときの溶液増加

20 °C の DW に蛋白質を溶かしたとき \Rightarrow 約 $0.73 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$

遠心分離 II

$V_p = \bar{V} \cdot m$; \bar{V} = 偏比容 \equiv 密度の逆数

$$V_p = \bar{V}m = \frac{\bar{V}M}{N} \quad \longrightarrow \quad v_f = \frac{M(1 - \bar{V}\rho)\omega^2 r}{N}$$

沈降係数 s を定義する $10^{-13}s = 1S$ (スドベリ) として表す

$$s = \frac{v}{\omega^2 r} = \frac{1}{\omega^2} \left(\frac{d \ln r}{dt} \right) = \frac{M(1 - \bar{V}\rho)}{Nf}$$

加速度に対する粒子の沈降速度

半径 r の粒子の f (摩擦係数) はストークの式で計算される

$$f = 6\pi\eta r_p \quad \eta = \text{粘度}$$

f と f_0 (最小摩擦係数: 水和していない球体) を求めることで分子形が推定出来る

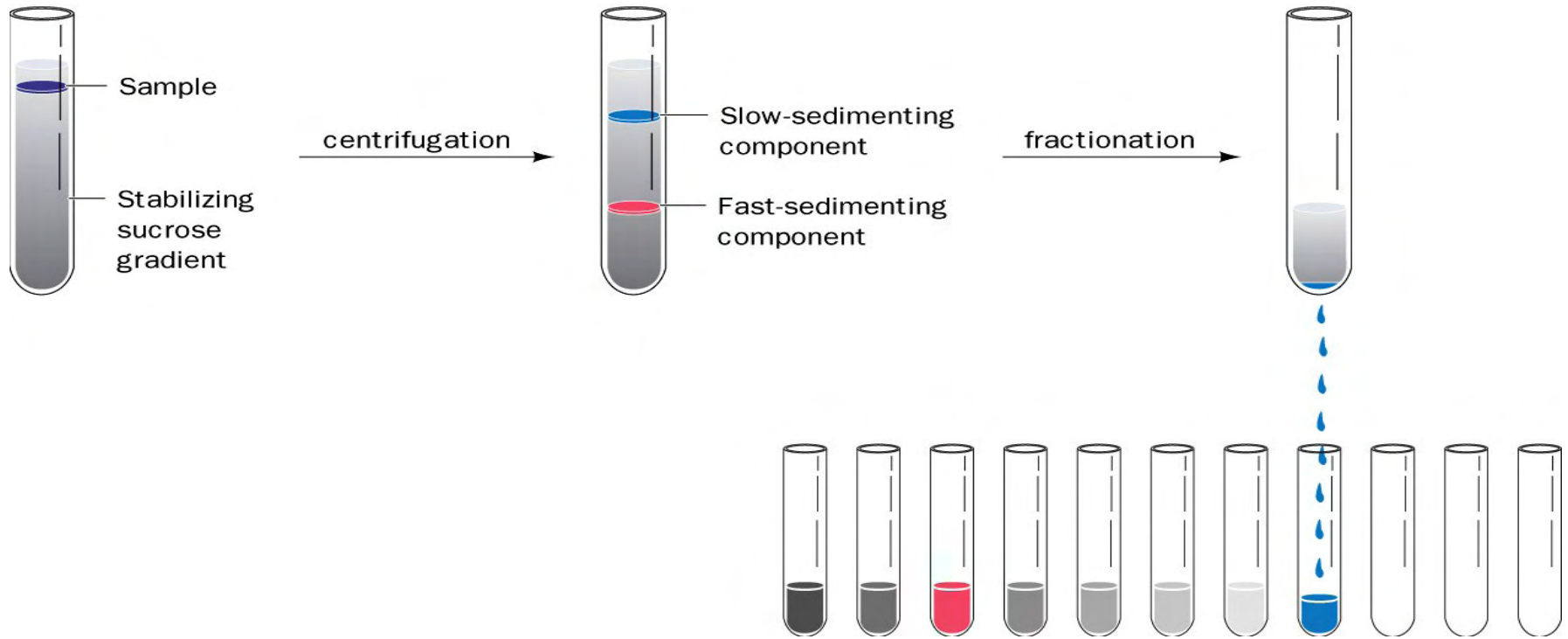
Table 6-5 Physical Constants of Some Proteins.

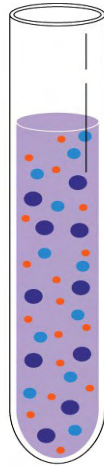
Protein	Molecular Mass (kD)	Partial Specific Volume, $\bar{V}_{20,w}$ ($\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$)	Sedimentation Coefficient, $s_{20,w}$ (S)	Frictional Ratio, f/f_0
Lipase (milk)	6.7	0.714	1.14	1.190
Ribonuclease A (bovine pancreas)	12.6	0.707	2.00	1.066
Cytochrome <i>c</i> (bovine heart)	13.4	0.728	1.71	1.190
Myoglobin (horse heart)	16.9	0.741	2.04	1.105
α -Chymotrypsin (bovine pancreas)	21.6	0.736	2.40	1.130
Crotoxin (rattlesnake)	29.9	0.704	3.14	1.221
Concanavalin B (jack bean)	42.5	0.730	3.50	1.247
Diphtheria toxin	70.4	0.736	4.60	1.296
Cytochrome oxidase (<i>P. aeruginosa</i>)	89.8	0.730	5.80	1.240
Lactate dehydrogenase H (chicken)	150	0.740	7.31	1.330
Catalase (horse liver)	222	0.715	11.20	1.246
Fibrinogen (human)	340	0.725	7.63	2.336
Hemocyanin (squid)	612	0.724	19.50	1.358
Glutamate dehydrogenase (bovine liver)	1015	0.750	26.60	1.250
Turnip yellow mosaic virus protein	3013	0.740	48.80	1.470

Source: Smith, M.H., in Sober, H.A. (Ed.), *Handbook of Biochemistry and Molecular Biology* (2nd ed.), p. C-10, CRC Press (1970).

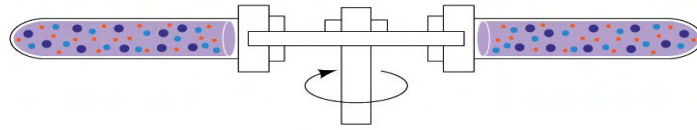
Figure 6-30 Zonal ultracentrifugation.

- (1) ゾーン超遠心分離法 (シヨ糖密度勾配)
- (2) 平衡密度勾配超遠心分離 (CsCl密度勾配)





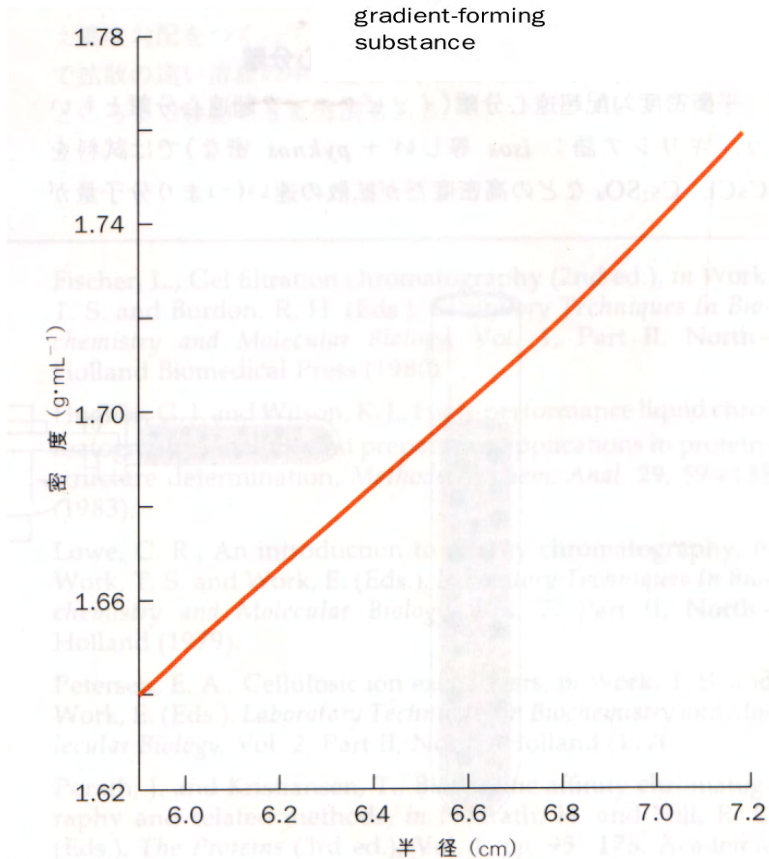
1. Uniform mixture of sample and gradient-forming substance



2. Centrifugation



3. Gradient is formed and samples band at their isopycnic positions

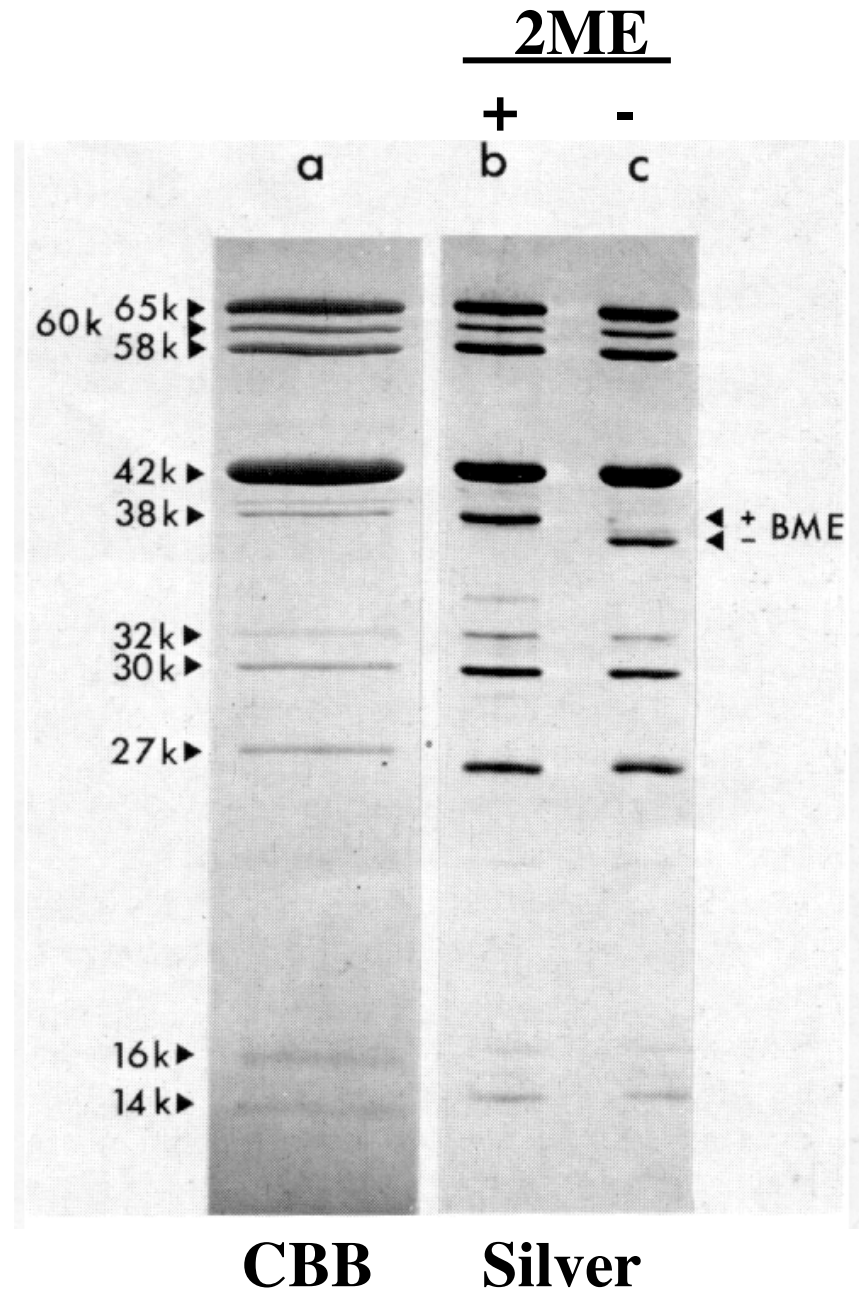
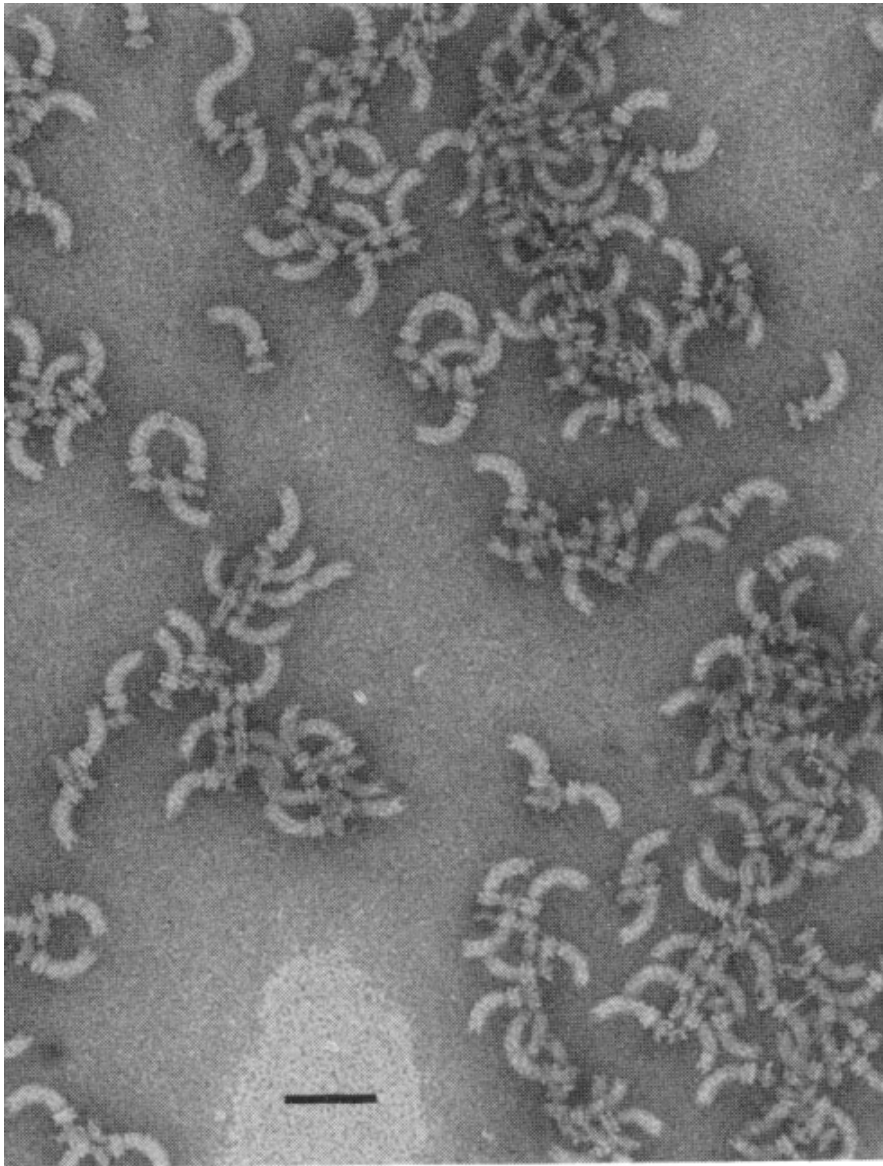


CsCl 1.7g/mlの初期濃度で39,460 rpmで遠心する

蛋白質=約1.3g/ml
DNA=約1.7g/ml

密度勾配遠心

EM and SDS gels of HBB preparations



等電点電気泳動：小分子量（300~600D）のオリゴマーで等電点の連続的に異なるものを作り（キャリアーアンフォライト）、電圧をかける。尿素を加えることが多い。

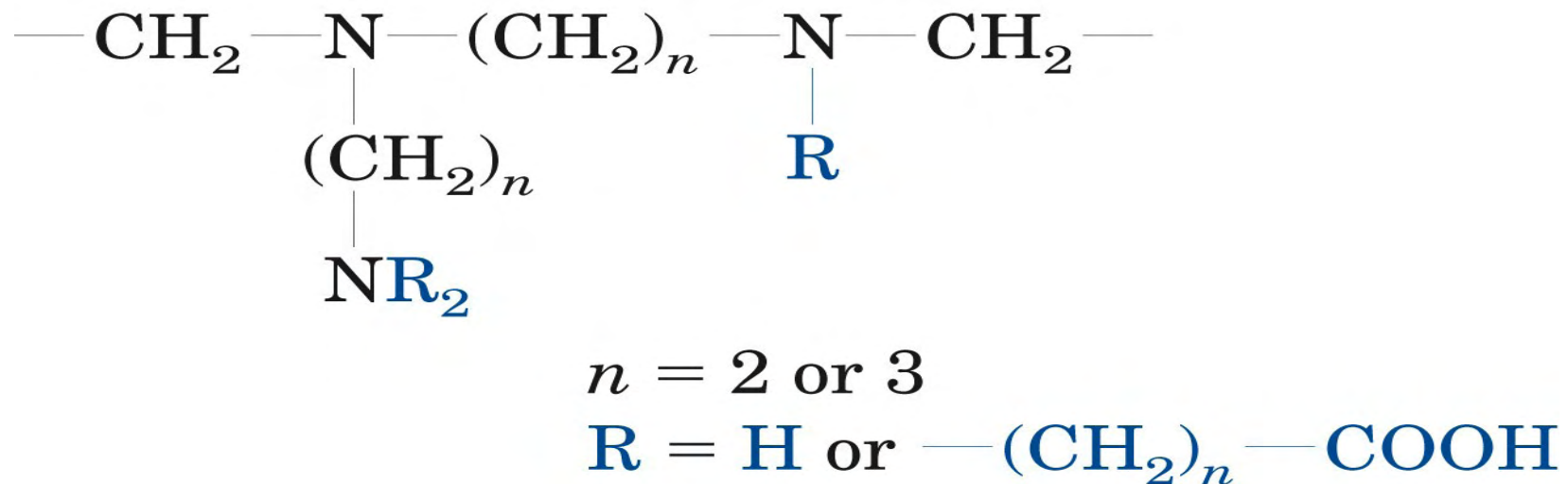
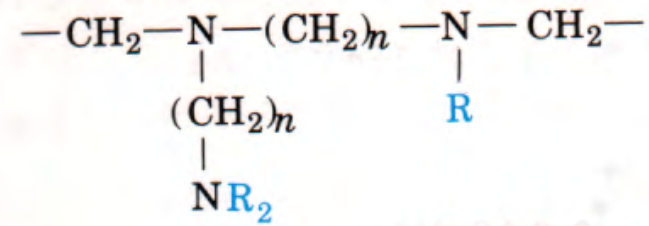


Figure 6-26 General formula of the ampholytes used in isoelectric focusing.

2次元電気泳動

(O'Farrellの電気泳動)

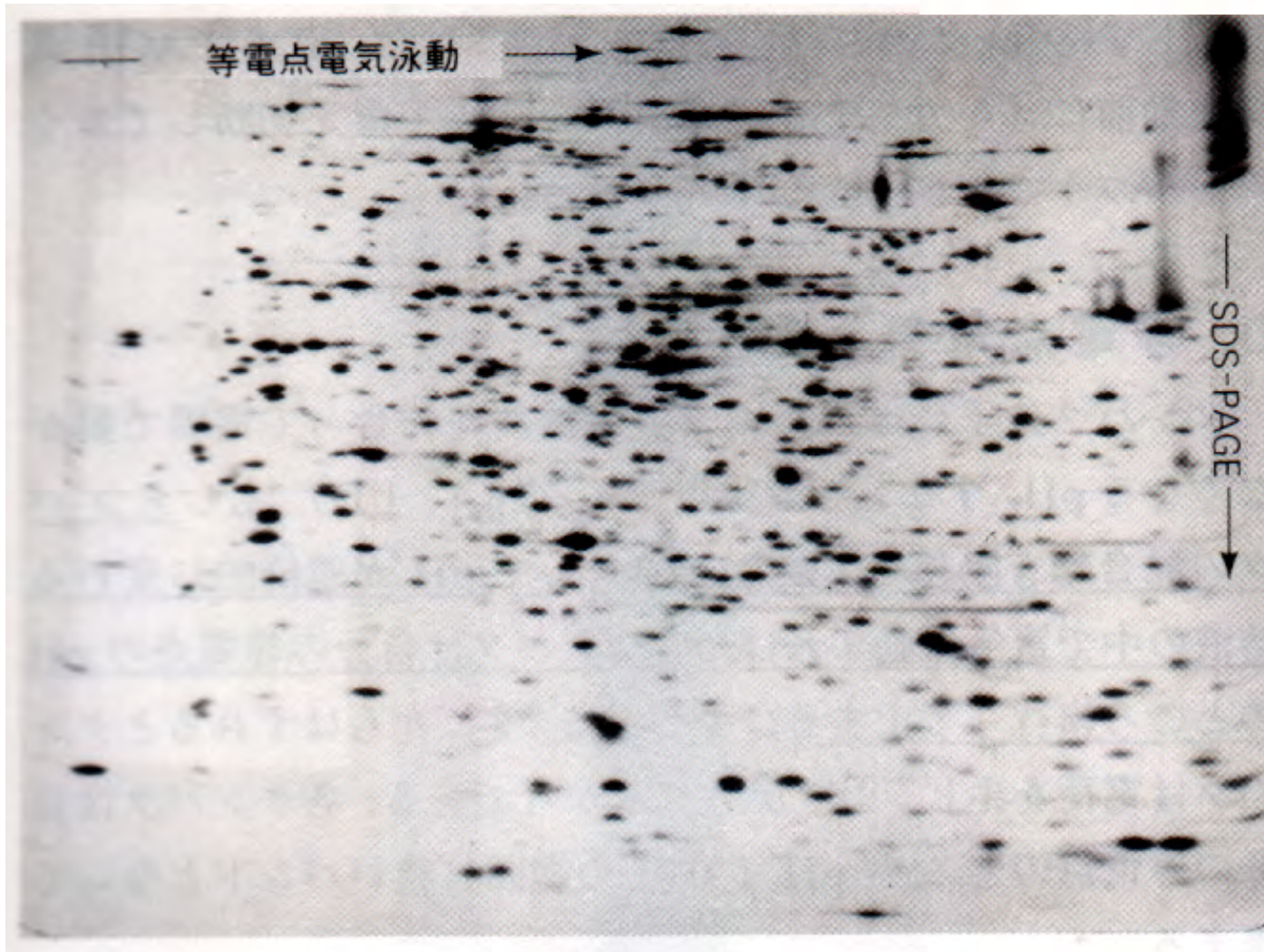


$n = 2$ または 3

$R = \text{H}$ または $\text{---(CH}_2\text{)}_n\text{---COOH}$

アンホライト
(両性電解質)

大腸菌を ^{14}C アミノ酸でラベルし、電気泳動後、オートラジオグラフィで検出



^{35}S -labeled HBB preparation

