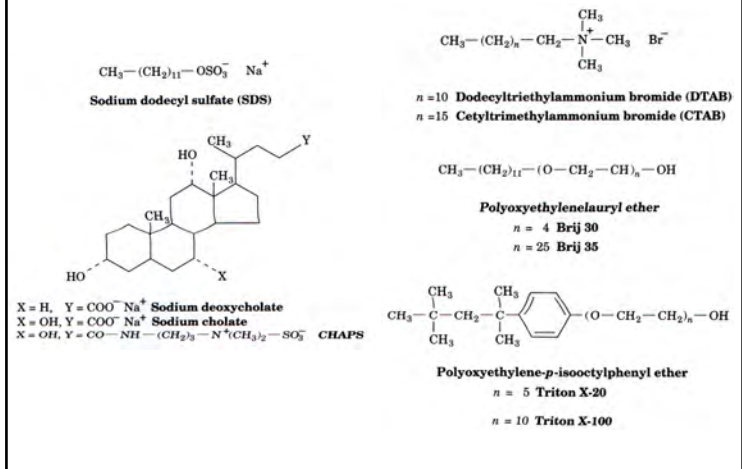


- ### べん毛の単離プロトコール
- 1) 菌体の回収 (低速遠心)
 - 2) しょ糖を含む緩衝液に入れる
 - 3) リゾチーム処理+ EDTA
 - 4) トリトンX-100処理
 - 5) MgSO₄+DNase
 - 6) EDTA
 - 7) 低速遠心
 - 8) 10万gで遠心
 - 9) 沈殿をバッファーに懸濁

生化学で用いられる界面活性剤



アリエール イオンパワージェル



成分名称	機能/配合目的
水	工程物
直鎖アルキルベンゼンスルホン酸塩	界面活性剤
ポリオキシエチレンアルキルエーテル	界面活性剤
精製セッケン分 (脂肪酸トリウム)	界面活性剤
水酸化ナトリウム	pH調整剤
アルキルエーテル硫酸エステル塩	界面活性剤
クエン酸	水酸化剤
クメンルスルホン酸トリウム	安定化剤
アルコキシル化ポリエチレニミン*	分散剤
エチルアルコール	安定化剤
点の酸	安定化剤
アルキルトリメチルアンモニウム塩	界面活性剤
エタノールアミン	pH調整剤
アルコキシル化ポリエチレニミン*	洗浄助剤
香料	香料
プロピレングリコール	安定化剤
酵素	酵素
DTMPH	金属調整剤
水素ヒマシ油	安定化剤
蛍光増白剤	蛍光増白剤
シリコーン	泡調整剤
着色剤	着色剤

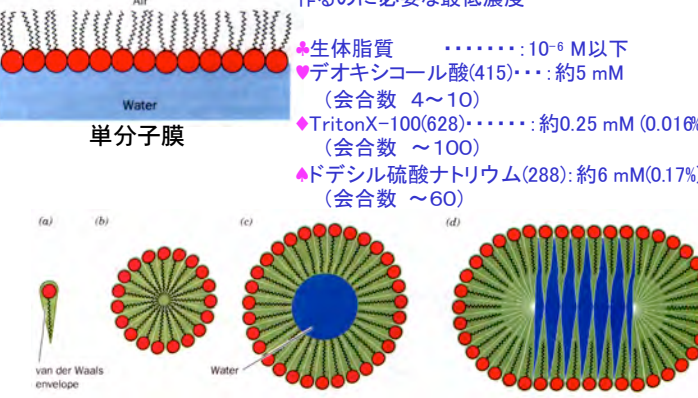
*異なる種類のアルコキシル化ポリエチレニミンを使用

脂質による構造

油が波を静める現象 (小さい波だけ) 臨界ミセル濃度 (cmc): 両親媒性分子がミセルを作るのに必要な最低濃度

単分子膜

- 生体脂質 10⁻⁶ M 以下
- デオキシコール酸(415)..... 約5 mM (会合数 4~10)
- TritonX-100(628)..... 約0.25 mM (0.01%) (会合数 ~100)
- ドデシル硫酸ナトリウム(288): 約6 mM(0.17%) (会合数 ~60)

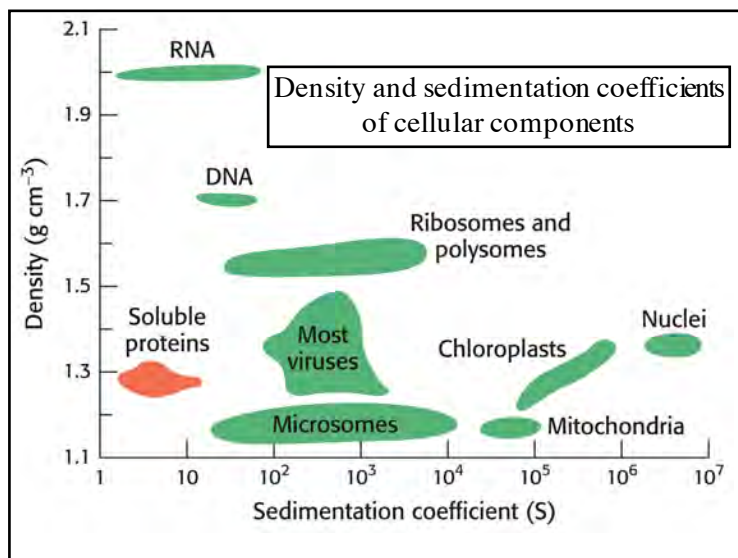
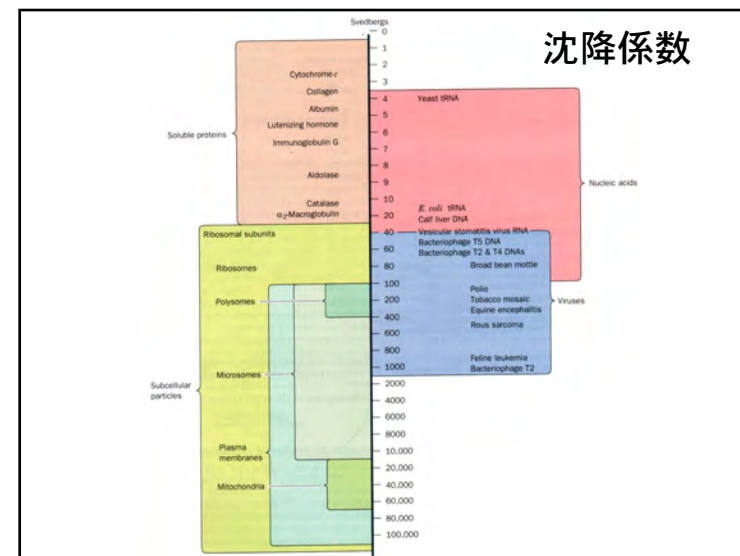


脂質部分の疎水性鎖が 1 本: 球状ミセルを作り易い

表1 代表的な界面活性剤の特徴

界面活性剤	分類	ミセル会合数	ミセル分子量 (Da)	分子量 (Da)	CMC (mM)	CMC (% w/v)	曇り点 (°C)	透析による除去*
Triton X-100	非イオン性	140	90,000	647	0.24	0.0155	64	困難
Triton X-114	非イオン性	-	-	537	0.21	0.0113	23	困難
NP-40	非イオン性	149	90,000	617	0.29	0.0179	80	困難
Brij-35	非イオン性	40	49,000	1225	0.09	0.1103	> 100	困難
Brij-58	非イオン性	70	82,000	1120	0.077	0.0086	> 100	困難
Tween-20	非イオン性	-	-	1228	0.06	0.0074	95	困難
Tween-80	非イオン性	60	76,000	1310	0.012	0.0016	-	困難

Octyl Glucoside	非イオン性	27	8,000	292	23 - 25	0.6716 - 0.7300	> 100	容易
Octylthio Glucoside	非イオン性	-	-	308	9	0.2772	> 100	容易
SDS	陰イオン性	62	18,000	288	6 - 8	0.1728 - 0.2304	> 100	容易
CHAPS	両イオン性	10	8,149	615	8 - 10	0.4920 - 0.6150	> 100	容易
CHAPSO	両イオン性	11	8,940	631	8 - 10	0.5048	90	容易




超遠心機



型式：CP100MX
 最高回転速度(rpm)：100,000
 最大遠心加速度(×g)：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)：

超遠心ローター



70万円
210万円
350万円
700万円
1000万円
1800万円

遠心分離 I

遠心力

角速度 (rad · s⁻¹) = $\omega = d\theta/dt$
 半径 = r
 加速度 = $a = r\omega^2$
 加速度 $g = 9.8 \text{ m/s}^2$

$r = 10 \text{ cm}$ 6,000 rpm $\Rightarrow 0.1 \cdot (2\pi \cdot 100)^2 = 39,438 \text{ m/s}^2 = 4,024 g$
 30,000 rpm $\Rightarrow 0.1 \cdot (2\pi \cdot 500)^2 = 985,960 \text{ m/s}^2 = 100,608 g$

沈降力 $F_s = m\omega^2 r - V_p \rho \omega^2 r$ $V_p =$ 体積
 $\rho =$ 溶液の密度
 $m =$ 質量

摩擦力 $F_f = vf$ $v =$ 粒子の沈降速度
 $f =$ 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
 $m = M(\text{分子量}) / N(\text{アボガドロ数})$
 従って $m\omega^2 r - V_p \rho \omega^2 r = vf$ $V =$ 偏比容と密度の逆数

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

1 g の粒子を無限大溶解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 $\approx 0.73 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$

遠心分離 II

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

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

沈降係数 s を定義する $10^{-13}s = 1S(\text{スドベリ})$ 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
 $f = 6\pi\eta r_p$ $\eta =$ 粘度

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


Physical Constants of Some Proteins.

Protein	Molecular Mass (kD)	Partial Specific Volume, $V_{20,w}$ (cm ³ · 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 c (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
Crototoxin (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	16.5	2.536
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).



BOVINE PANCREATIC RIBONUCLEASE A VARIANT (106A)



BOVINE CHYMOTRYPSIN COMPLEXED TO BPTI