

DyDo online shop

60代・60代・70代 これからも元気に歩みたいあなたに!

グルコサミン・コンドロイチンの
約26倍以上のパワー!

新成分成分[※]
プロテオグリカン 配合
DyDo ヘルスケア 『ロコモプロ』

コンドロイチン グルコサミン プロテオグリカン

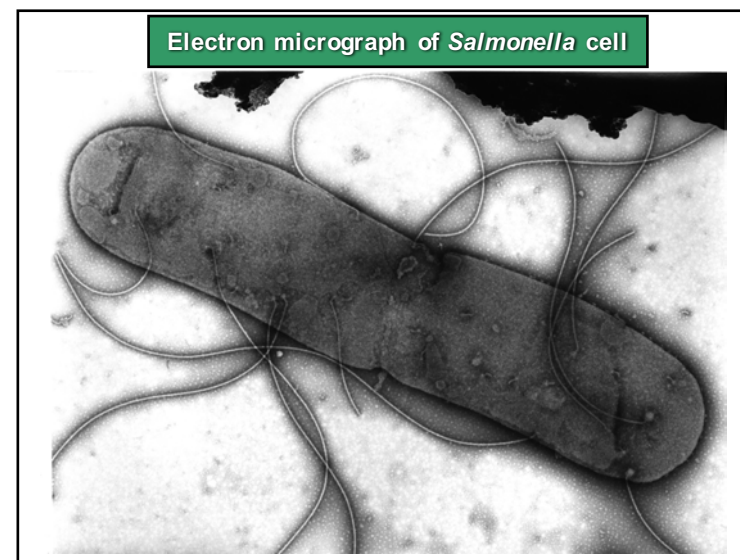
50-60代の注文絶対! 「プロテオグリカン」商品 売上日本 **No.1!**

DyDo ヘルスケア 「ロコモプロ」
初回限定お試しタイプ 約67% OFF

通常価格 2,970円(税込)
15日分 半額以下 980円(税込) 送料別

15日分 半額以下 980円(税込) 送料別

今すぐ試してみる!



Flagellar Structure Observed by Electron Microscopy

V. alginolyticus *S. typhimurium*

50 nm

Motor complex

HAP2(FliD)
Flagellin (FliC)
HAP3(FlgK)
HAP1(FlgL)
FlgE
L-ring(FlgH)
P-ring(FlgI)
Rod (FlgBCFG)
MS-ring(FliF)
C-ring(FliGMN)
FliAHI

べん毛の単離プロトコール

- 1) 菌体の回収 (低速遠心)
- 2) ショ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

$CH_3-(CH_2)_{11}-OSO_3^- Na^+$
Sodium dodecyl sulfate (SDS)

$CH_3-(CH_2)_n-CH_2-N^+(CH_3)_3 Br^-$
 $n=10$ **Dodecyltriethylammonium bromide (DTAB)**
 $n=15$ **Cetyltrimethylammonium bromide (CTAB)**

$CH_3-(CH_2)_{11}-(O-CH_2-CH_2)_n-OH$
Polyoxyethylenelauryl ether
 $n=4$ **Brij 30**
 $n=25$ **Brij 35**

$CH_3-C(CH_3)_2-CH_2-C(CH_3)_2-C_6H_4-(O-CH_2-CH_2)_n-OH$
Polyoxyethylene-p-isooctylphenyl ether
 $n=5$ **Triton X-20**
 $n=10$ **Triton X-100**

$X=H, Y=COO^- Na^+$ **Sodium deoxycholate**
 $X=OH, Y=COO^- Na^+$ **Sodium cholate**
 $X=OH, Y=CO-NH-(CH_2)_2-N^+(CH_3)_2-SO_3^-$ **CHAPS**

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	工程用
濃縮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
両せきけん分 (高級脂肪トリウム)	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	水軟化剤
アミンスルホン酸トリウム	安定化剤
アルコキシ化ポリエチレングリコール	分散剤
エチルアルコール	安定化剤
ホウ酸	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
アルコキシ化ポリエチレングリコール	洗浄剤
香料	香料
プロピレングリコール	安定化剤
糖類	糖類
DTMP塩	金属調整剤
水素化メチレン	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?種類のアルコキシ化ポリエチレングリコールを使用

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

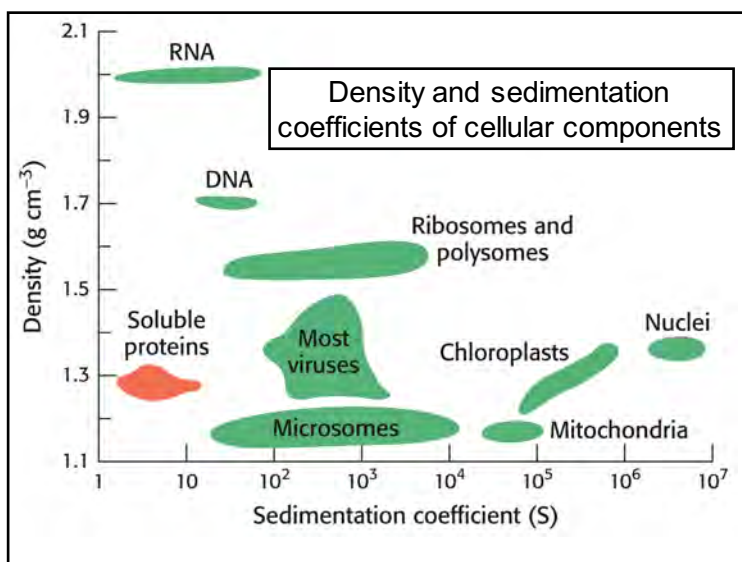
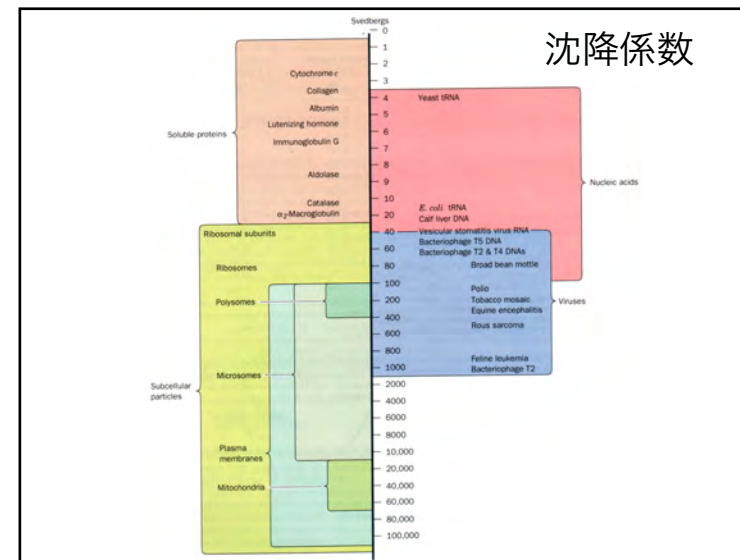
- ▲生体脂質:10⁻⁶ M以下
- ♥デオキシコール酸(415).....:約5 mM (会合数 4~10)
- ◆TritonX-100(628).....:約0.25 mM (0.016%) (会合数 ~100)
- ▲ドデシル硫酸ナトリウム(288):約6 mM(0.17%) (会合数 ~60)

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	ミセル分子重 (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 - 2304	> 100	容易
CHAPS	両イオン性	10	6,149	615	8 - 10	0.4920 - 0.6150	> 100	容易
CHAPSO	両イオン性	11	6,940	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):

定価 800万円

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) = $\omega = d\theta/dt$

加速度 = $\alpha = r\omega^2$ 半径 = r

加速度 $g = 9.8 \text{ m/s}^2$

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

沈降力 は 遠心力から 浮力を引いたもの $V_p =$ 体積
 $F_s = m\omega^2 r - V_p \rho \omega^2 r$ $\rho =$ 溶液の密度
 $m =$ 質量

摩擦力 $F_f = v f$ $v =$ 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 $m\omega^2 r - V_p \rho \omega^2 r = v f$ $\bar{V} =$ 偏比容 = 密度の逆数

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

1g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 \Rightarrow 約0.73cm³g⁻¹

遠心分離 II

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

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

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


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

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


Physical Constants of Some Proteins.

Protein	Molecular Mass (kD)	Partial Specific Volume, V_{sp} (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	0.750	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
Hemoglobin (human)	340	0.725	7.03	2.336
Hemocyanin (squid)	612	0.734	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

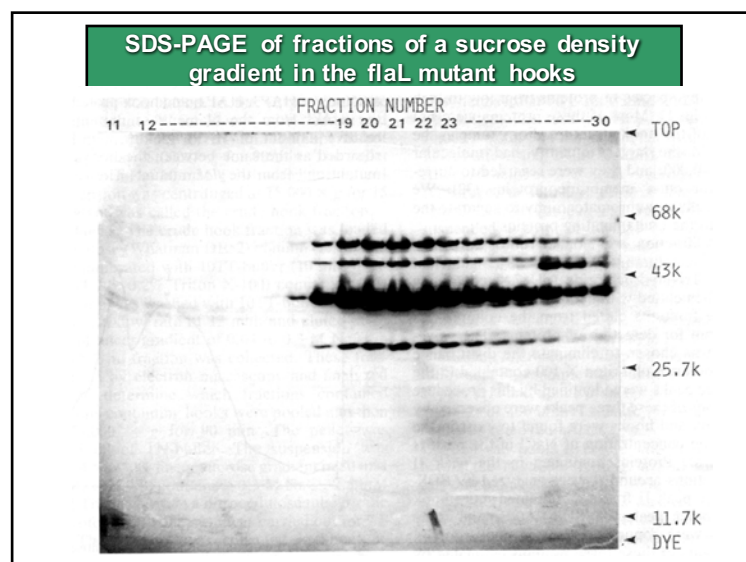
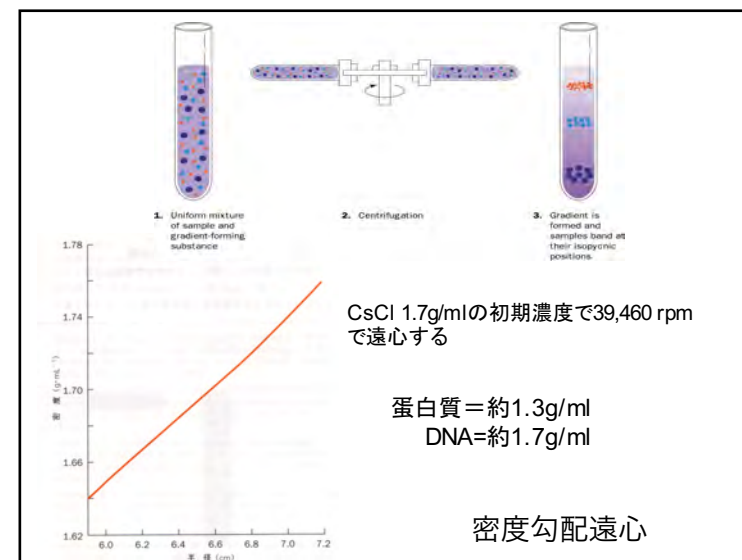
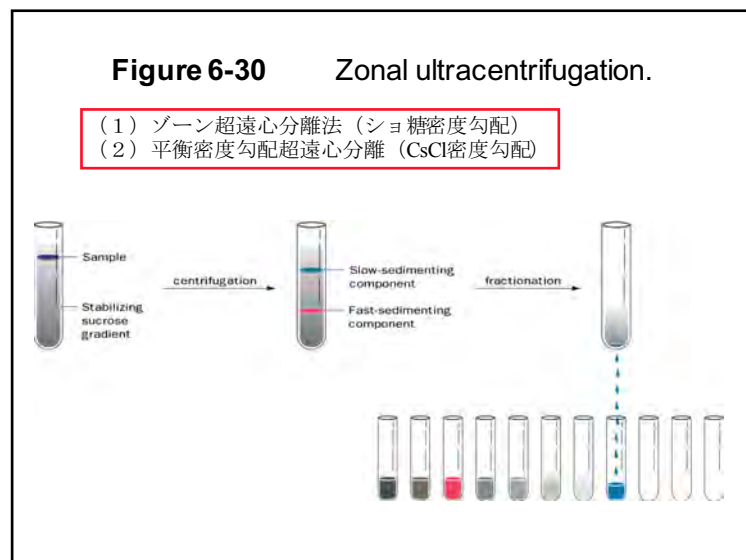
Source: Smith, M.H., in Sober, H.A. (Ed.), *Handbook of Biochemistry and Molecular Biology* (2nd ed.), p. C-10. CRC Press (1970).



BOVINE PANCREATIC RIBONUCLEASE A VARIANT (106A)



BOVINE CHYMOTRYPSIN COMPLEXED TO BPTI



電気泳動の原理

F_c (静電力) = qE E = 電場の強さ (電位)
 q = 電荷

F_f (摩擦力) = vf v = イオンの速度
 f = 摩擦係数

一定の電場では2つの力が釣り合うことになる。

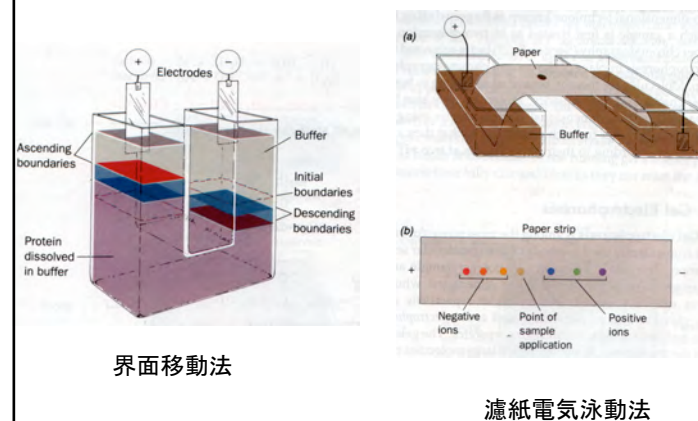
$qE = vf$ μ (移動度) = $\frac{v}{E} = \frac{q}{f}$

v/E は電場の強さに対するイオンの速度を表す。理論的な状態での話、蛋白質溶液の現実とは離れている。

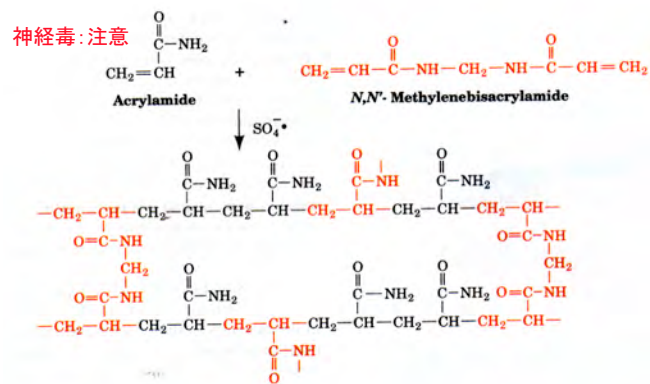
電気泳動の実際 I

- ♥**界面移動法**: 管に蛋白質溶液を含む緩衝液を入れ、直流電圧をかけて分離する。
 ↳キャピラリー電気泳動法として発展
- ◆**ゾーン電気泳動法**: 濾紙, ゲルなどの支持体中で試料を移動する。
 - 1) 濾紙電気泳動法
 - 2) ゲル電気泳動法: ポリアクリルアミド・アガロース電気泳動
 - 3) SDS-ポリアクリルアミド電気泳動
 - 4) 等電点電気泳動法

電気泳動の実際 II

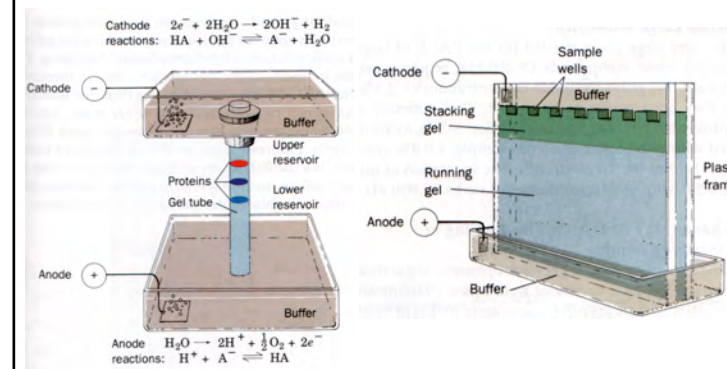


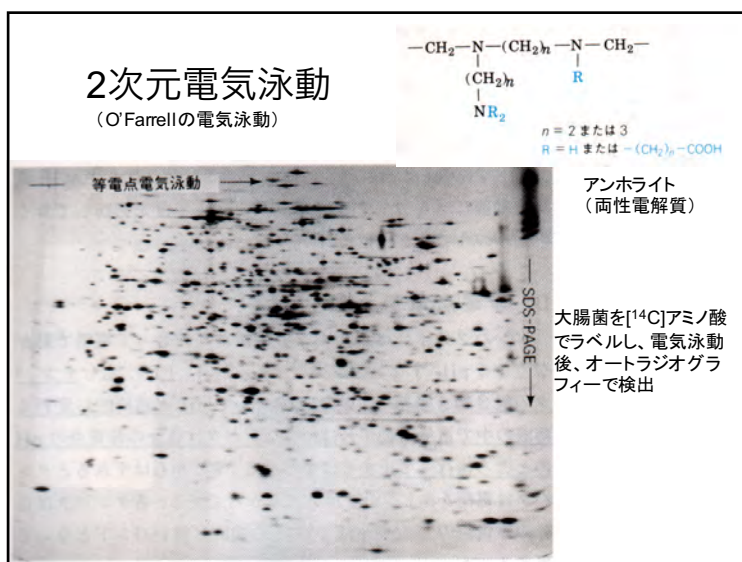
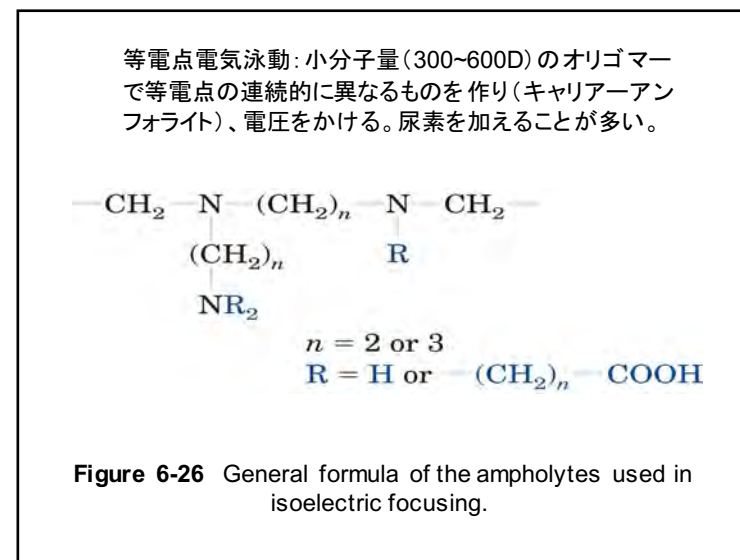
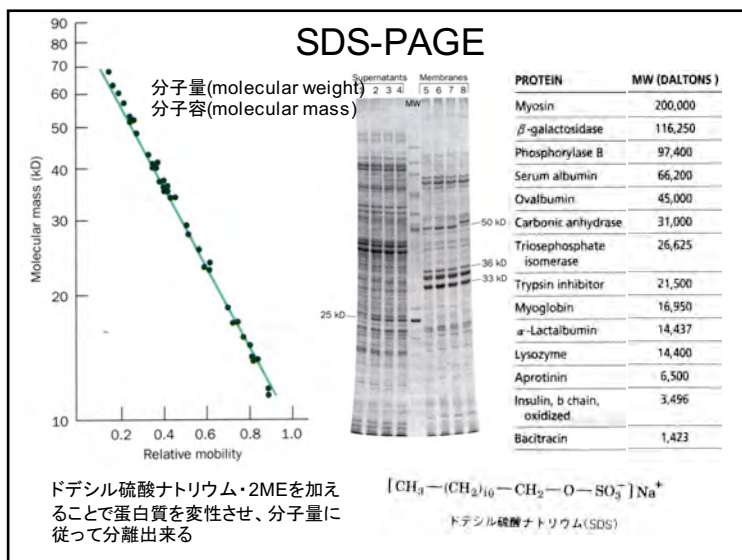
電気泳動の実際 III



Ammonium persulfate ($\text{S}_2\text{O}_8^{2-} \rightleftharpoons 2\text{SO}_4^{\cdot-}$) + N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine
 によって遊離ラジカルで重合反応開始

電気泳動の実際 IV





Protocol for the isolation of hook

Bacterial pellet (late log phase)

- | suspended in 50TN homogenizer
- | 10,000 x g for 20 min
- Sup
- | 78,000 x g for 90 min
- Ppt
- | suspended in 50TNET
- | 0°C for 30 min
- | 15,000 x g for 15 min
- Sup
- | 78,000 x g for 90 min
- Ppt
- | suspended in 10T
- | 15,000 x g for 15 min
- Sup (crude hook)
- | DEAE-cellulose
- | 0.04 to 0.3 M NaCl
- Hook fraction

