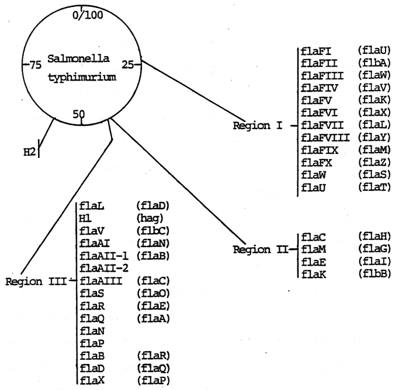
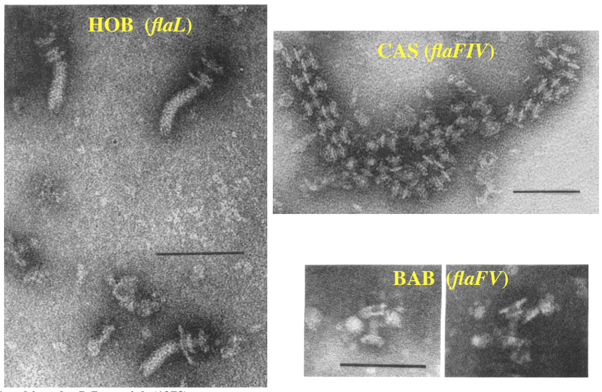
Chromosomal map of the ganes essential for flagellar formation in *Salmonella typhimurium*.

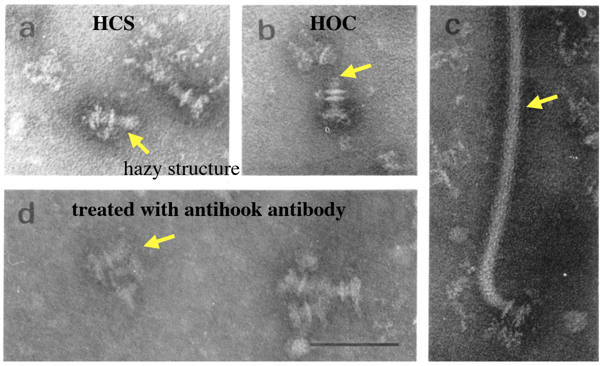


Flagellar partial structures I



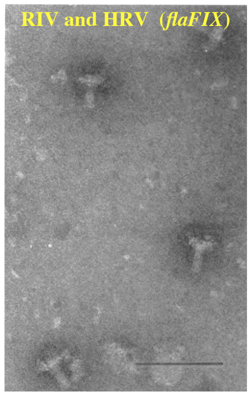
Suzuki et al., J. Bacteriol. (1978)

Flagellar partial structures II: from a *flaFVIII* mutant



Suzuki et al., J. Bacteriol. (1978)

Flagellar partial structures III



Suzuki et al., J. Bacteriol. (1978)

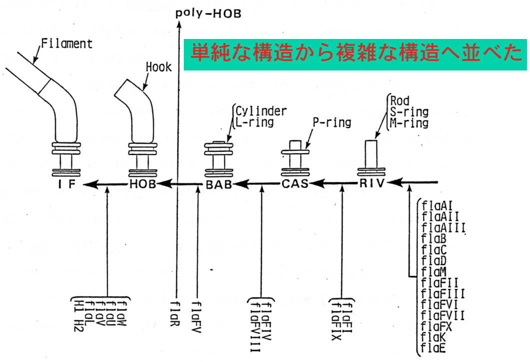
Frequencies of flagellar structures detected in nonflagellate mutants[a]

Determination	Structural entity								
	IF	HOB	BAB	CAS	RIV	RCT	HCS	HRV	HOC
Flagellate parent	++[b]	+[c]	+	+ or −[d]	+	+ or −	−	−	−
H1⁻, *H2*⁻	−	++	+	+ or −	+	−	−	−	−
flaL	−	++	+	+ or −	+	−	−	−	−
flaU	−	++	+	+ or −	+	−	−	−	−
flaR	−	++[e]	+	+ or −	+	−	−	−	−
flaFV	−	−	+	+	++	++	−	−	−
flaFVIII	−	−	−	+	+	−	++	+ or −	+
flaFI	−	−	−	−	++	−	−	++	−
flaFIX	−	−	−	−	++	−	−	++	−
flaFIV	−	−	−	++	+	−	−	−	−
flaAI	−	−	−	−	−	−	−	−	−
flaAII	−	−	−	−	−	−	−	−	−
(*motC*)	++[f]	+	+	+ or −	+	−	−	−	−
flaAIII	−	−	−	−	−	−	−	−	−
flaB	−	−	−	−	−	−	−	−	−
flaC	−	−	−	−	−	−	−	−	−
flaD	−	−	−	−	−	−	−	−	−
flaE	−	−	−	−	−	−	−	−	−
flaFII	−	−	−	−	−	−	−	−	−
flaFIII	−	−	−	−	−	−	−	−	−
flaFVI	−	−	−	−	−	−	−	−	−
flaFVII	−	−	−	−	−	−	−	−	−
flaFX	−	−	−	−	−	−	−	−	−
flaK	−	−	−	−	−	−	−	−	−
flaM	−	−	−	−	−	−	−	−	−

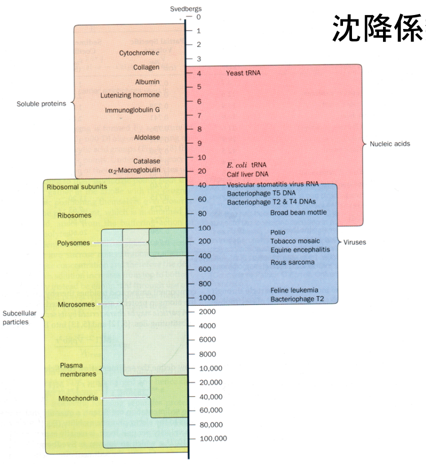
[a] The frequencies of IF and flagellar basal structures detected in fraction BMII of flagellate parents and nonflagellate mutants are shown.
[b] ++, The count of each structural entity from ⅕ to 5× the count of IF in its flagellate parent.
[c] +, The count of each structural entity from 1/250 to ⅕ the count of IF in its flagellate parent.
[d] −, The count of each structural entity less than 1/250 the count of IF in its flagellate parent.
[e] Polyhook basal body complexes were detected.
[f] Paralyzed flagella, which were not discriminated morphologically from the IF of their flagellate parent.

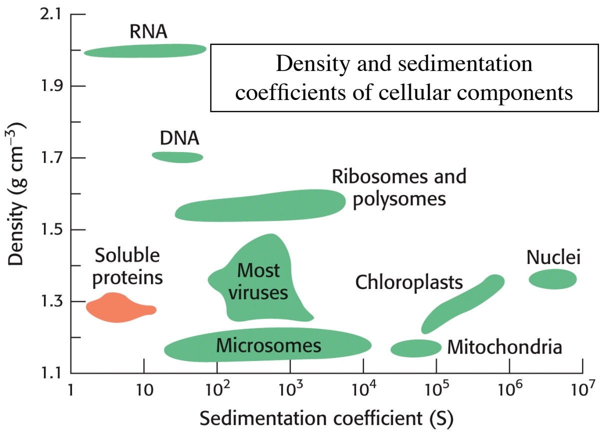
Suzuki et al., J. Bacteriol. (1978)

Stepwise process of flagellar morphogenesis in *Salmonella* inferred from the flagellar structures detected on nonflagellate mutants.

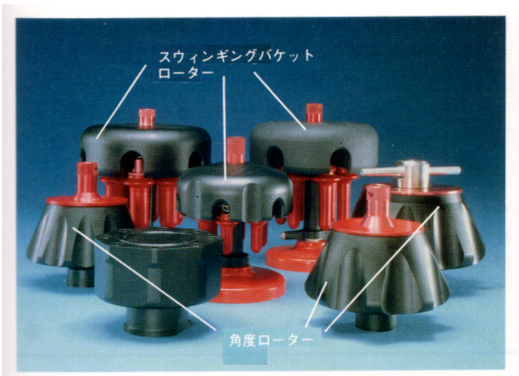


沈降係数





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(×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)：１０,０００,０００

遠心分離 I

沈降速度

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 m/ s^2

r = 10 cm　　6,000 rpm ⇒0.1 ・$(2\pi \cdot 100)^2$= 39,438 m/s^2 = 4,024 g

30,000 rpm ⇒0.1 ・$(2\pi \cdot 500)^2$ = 985,960 m/s^2 =100,608 g

沈降力　は　遠心力から　浮力を引いたもの

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

Vp = 体積
ρ = 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

従って　$m\omega^2 r - V_p \rho \omega^2 r = vf$

m = M(分子量）/ N(アボガドロ数)
Vp = $\bar{V}$・m
$\bar{V}$ = 偏比容≒密度の逆数

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

１ｇの粒子を無限大溶溶媒に溶かしたときの溶液増加

２０℃のDWに蛋白質を溶かしたとき⇒約0.73cm^3g^{-1}

遠心分離 II

Vp = $\bar{V}$・m；$\bar{V}$ = 偏比容≒密度の逆数

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

沈降係数 s を定義する　　10^{-13}s = 1S(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

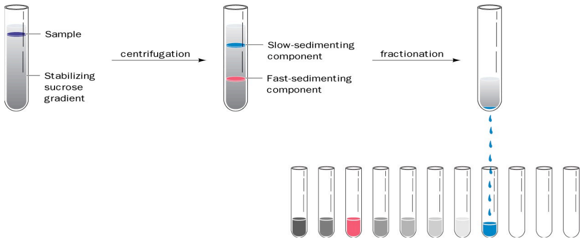
η= 粘度

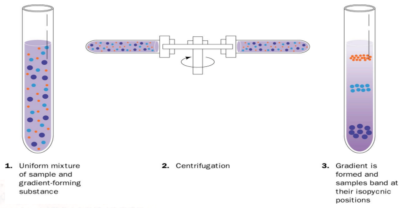
$$f = 6\pi\eta r_p$$

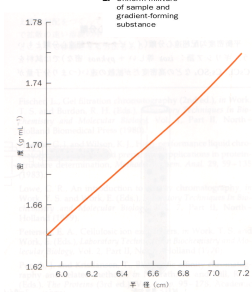
fと fo（最小摩擦係数：水和していない球体）を求めることで分子形が推定出来る

Figure 6-30 Zonal ultracentrifugation.

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





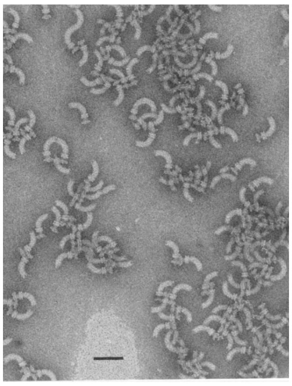


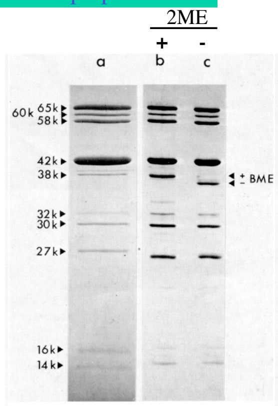
CsCl 1.7g/mlの初期濃度で39,460 rpmで遠心する

蛋白質＝約1.3g/ml
DNA=約1.7g/ml

密度勾配遠心

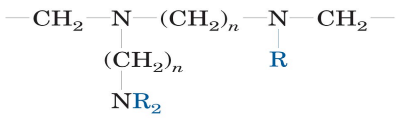
EM and SDS gels of HBB preparations





CBB　Silver

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。

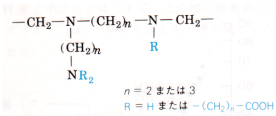


$n = 2$ or 3
$R = H$ or $-(CH_2)_n-COOH$

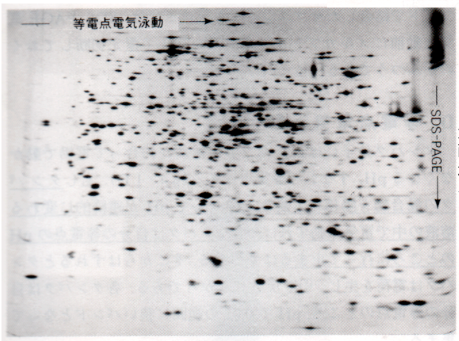
Figure 6-26 General formula of the ampholytes used in isoelectric focusing.

2次元電気泳動

（O'Farrellの電気泳動）

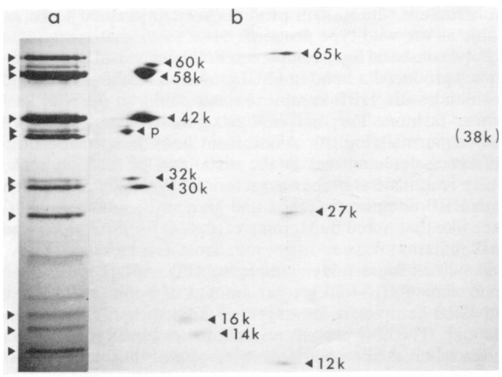


アンホライト
（両性電解質）



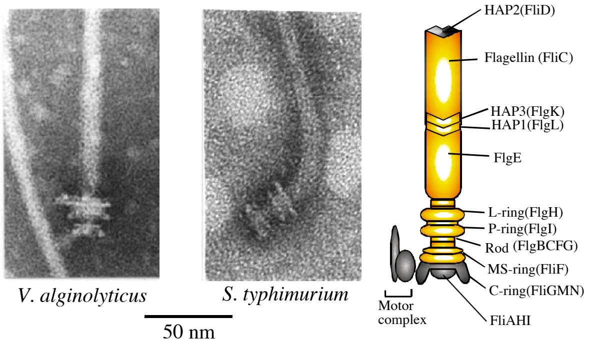
大腸菌を[14C]アミノ酸でラベルし、電気泳動後、オートラジオグラフィーで検出

^{35}S-labeled HBB preparation

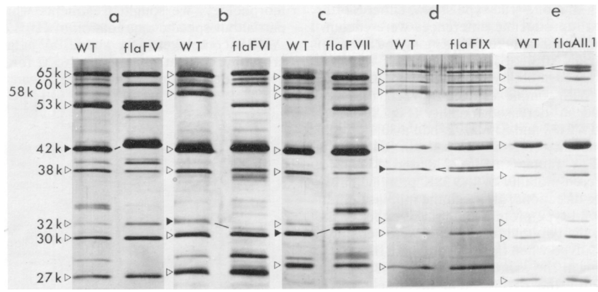


Aizawa et al., J. Bacteriol. (1985)

Flagellar Structure Observed by Electron Microscopy



SDS gels to identify HBB gene products in the ts *fla* mutants



Aizawa et al., J. Bacteriol. (1985)