

Abb. III.7:

Reduzierter osmotischer Druck π/c_m des Proteins Aldolase in Pufferlösung bei neutralem pH sowie seiner Untereinheiten in 6 M Guanidinhydrochlorid als Funktion der Konzentration (nach: F.J. Castellino, O.R. Barker, Biochemistry 7 (1968) 2207).

Tabelle III.8:Reibungskoeffizienten f für einige idealisierte Molekülformen.

Teilchenform

 f Kugel mit Radius R :

$$6\pi\eta R = f_0$$

Ellipsoid (a große Halbachse, b kleine Halbachse):

stäbchenförmig:

$$6\pi\eta(ab^2)^{1/3} \cdot \frac{(1 - b^2/a^2)^{1/2}}{(b/a)^{2/3}} \cdot \left[\ln \left(\frac{1 + (1 - b^2/a^2)^{1/2}}{(b/a)} \right) \right]^{-1}$$

scheibenförmig:

$$6\pi\eta(a^2b)^{1/3} \cdot \frac{(a^2/b^2 - 1)^{1/2}}{(a/b)^{2/3} \cdot \arctan(a^2/b^2 - 1)^{1/2}}$$

Zentrifugenkammer

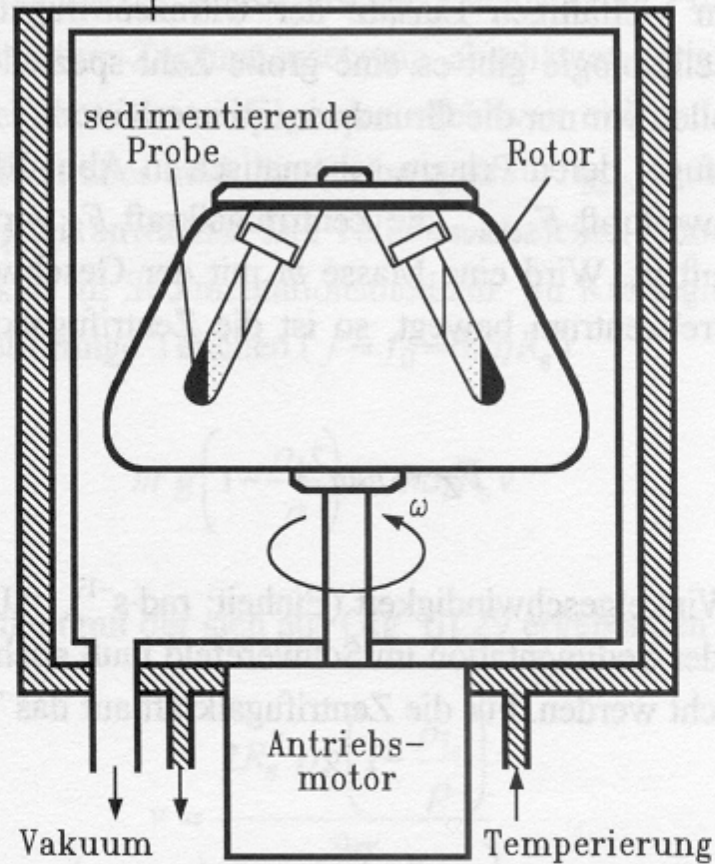


Abb. III.20:

Eine Ultrazentrifuge besteht im Prinzip aus einem Zylinder, der mit sehr hoher Geschwindigkeit um seine Achse rotiert. Die zu untersuchende Probe befindet sich in Röhrchen, die im äußeren Teil des Zylinders eingesetzt werden. Im Verlaufe des Sedimentationsvorgangs bildet sich vom Meniskus der Füllung ausgehend ein Bereich teilchenfreier Lösung. Die Grenze zwischen diesem Bereich und der die Teilchen enthaltenden Suspension kann mit optischen Verfahren sichtbar gemacht werden.

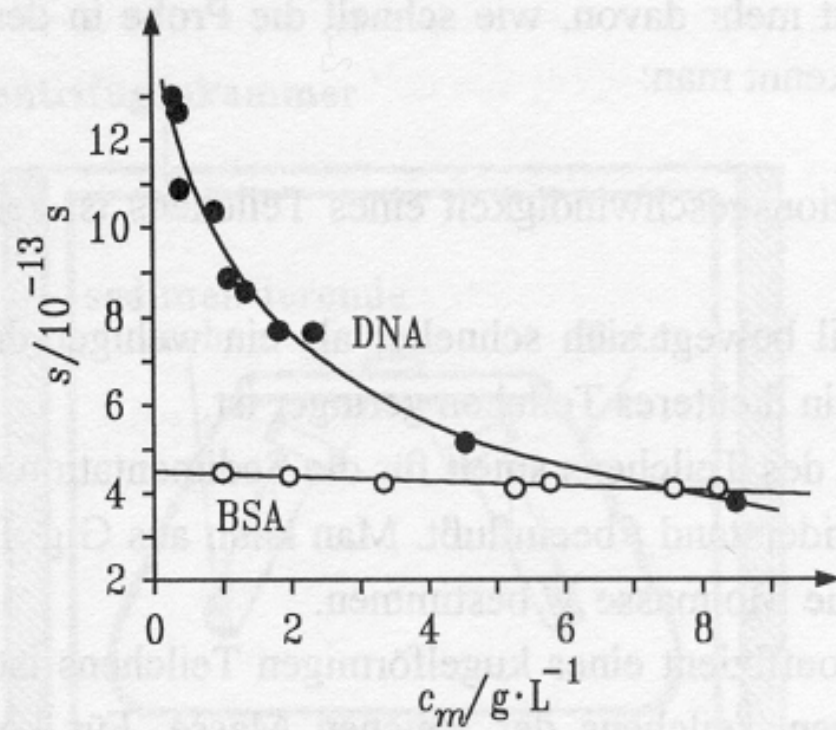


Abb. III.21:

Konzentrationsabhängigkeit des Sedimentationskoeffizienten s für DNA (●) und ein Protein (BSA) (○).

Tabelle III.9:

Sedimentationskoeffizienten s° , Diffusionskoeffizienten D° und partielle spezifische Volumina \bar{V} auf $T = 293$ K und reines H_2O als Lösungsmittel umgerechnet, und die daraus ermittelte Molmasse einiger Proteine und Viren.

Biomolekül	$s^\circ/10^{-13}$ s	$D^\circ/10^{-11}$ $\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$	$\bar{V}/\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$	$M/\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$
Lipase	1,14	14,5	0,732	6 667
Ribonuclease	1,64	11,9	0,688	12 400
Lysozym	1,87	10,4	0,751	14 100
Myoglobin	2,04	11,3	0,741	16 900
Chymotrypsin	2,54	9,5	0,721	23 200
β -Lactoglobulin	2,83	7,8	0,721	35 000
Ovalbumin	3,55	7,7	0,748	45 000
Hämoglobin	4,31	6,9	1,749	60 000
Serumalbumin	4,3	5,9	0,734	66 000
Fibrinogen	7,9	2,0	0,706	330 000
Urease	18,6	3,5	0,73	480 000
Bushy-Stunt-Virus	132	1,1	0,74	10 700 000
Tabak-Mosaik-Virus	170	0,3	0,73	40 000 000

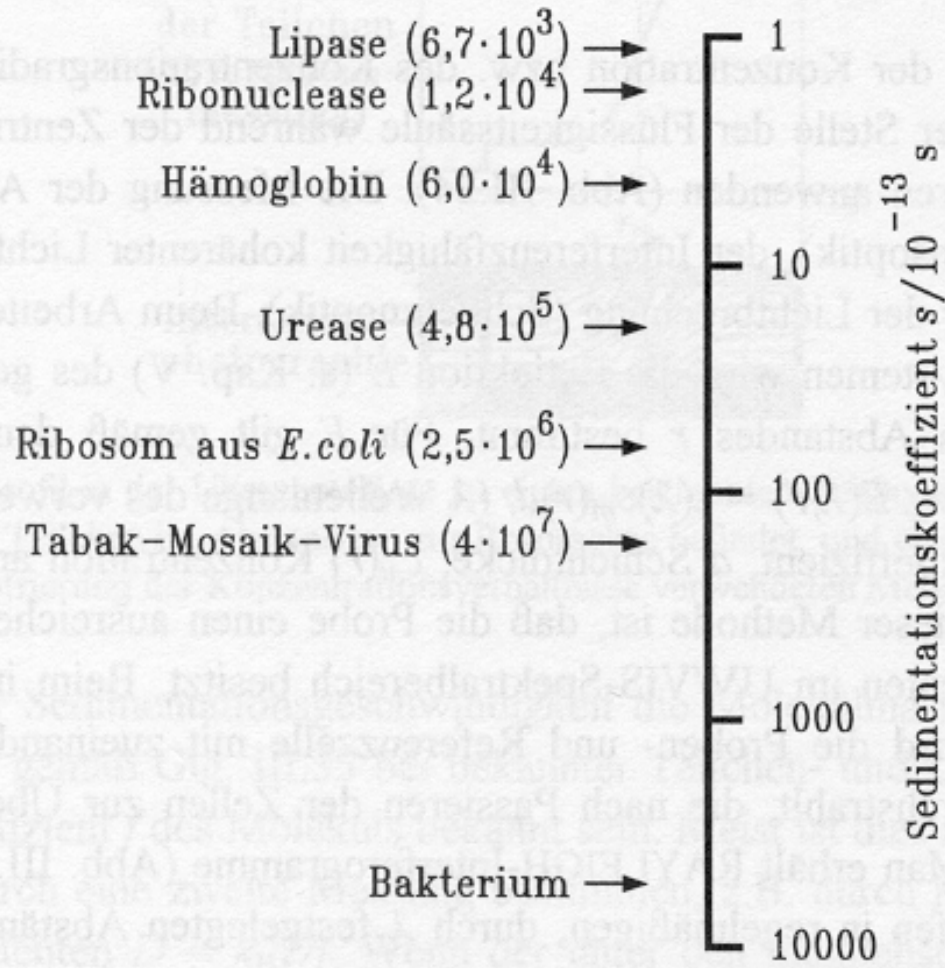
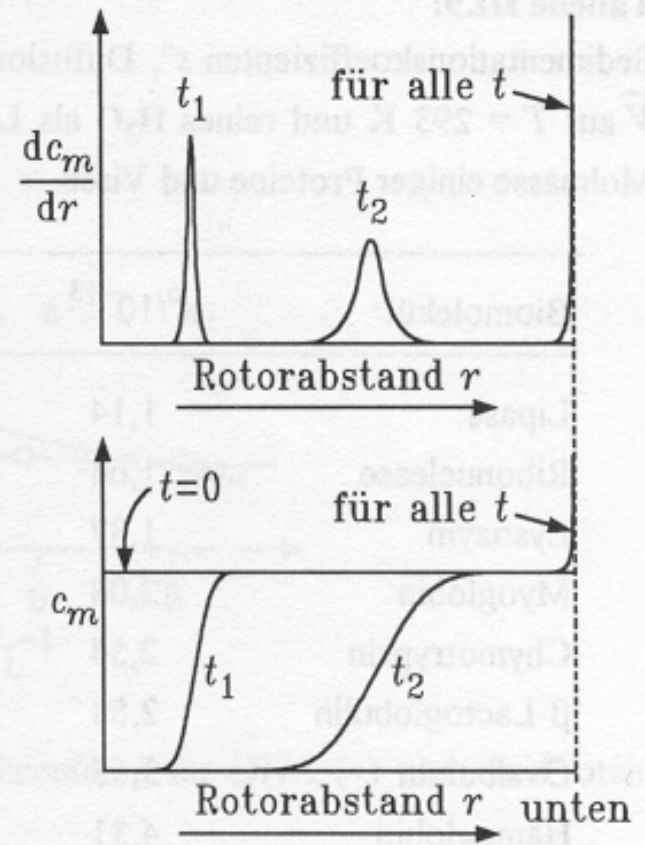
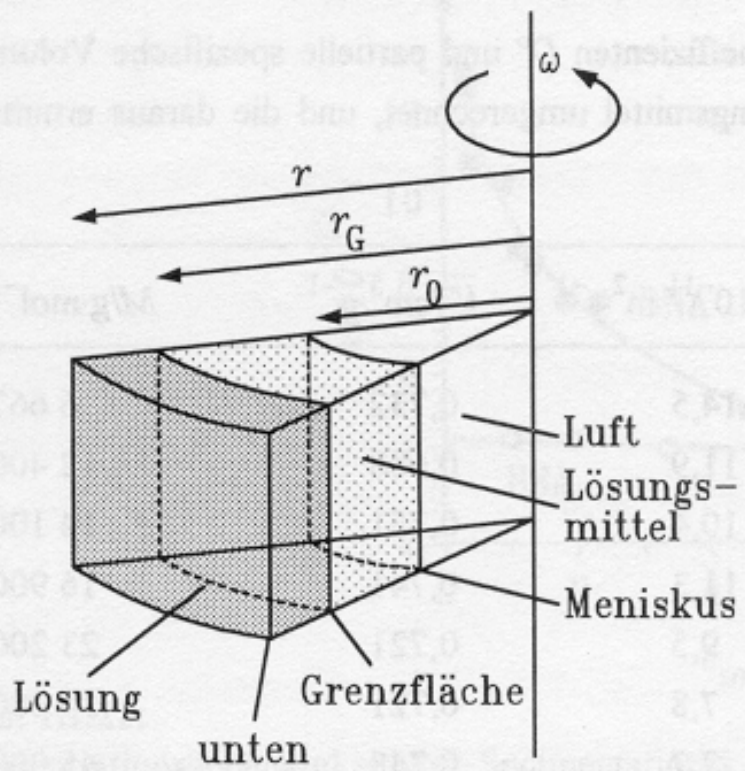


Abb. III.22:

Spannweite der Werte für den Sedimentationskoeffizienten s von Biomolekülen und Zellen. In Klammern sind die relativen Molmassen der Moleküle angegeben.



a)

b)

Abb III.23:

a) Zentraler Schnitt durch die Ultrazentrifugenzelle mit einem sektorförmigen Ausschnitt, in dem sich die Lösung befindet. Die Zentrifugalkraft bewirkt die Sedimentation in Richtung auf den Unterteil der Zelle (außen); b) Konzentration c_m und Konzentrationsgradient dc_m/dr während des Sedimentationsvorgangs in der Ultrazentrifuge. Zur Zeit t_1 ist die Grenzlinie noch relativ scharf, bei t_2 aufgrund des Diffusionsprozesses schon verbreitert.

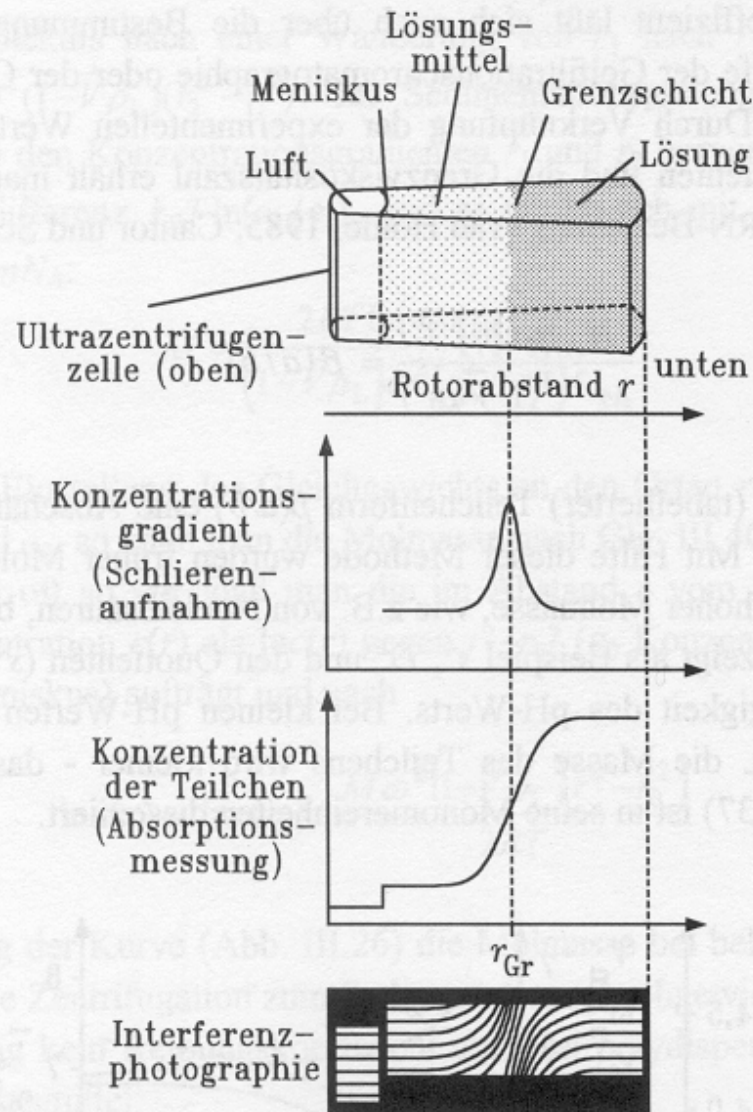
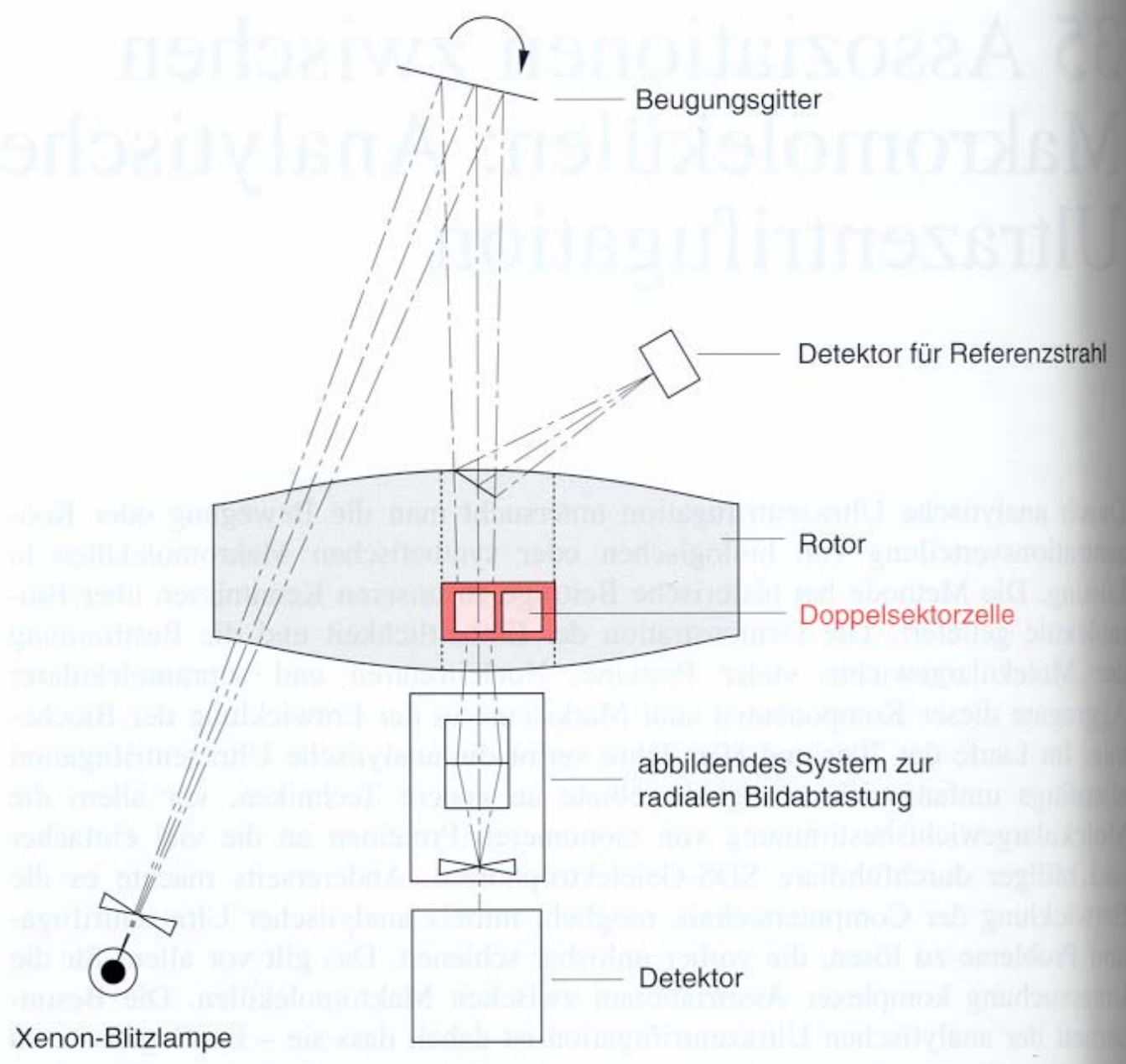


Abb. III.24:

Konzentrationsprofil in der Ultrazentrifuge zu einem bestimmten Zeitpunkt t , zu dem sich die Grenzfläche der Teilchen im Abstand r_{Gr} zur Rotorachse befindet, und eine Zusammenstellung der für die Registrierung der Konzentrationsverhältnisse verwendeten Meßmethoden.



Orf56 (*Sulfolobus islandicus*)



$$M_r = 6655 \times 2 = 13310 \text{ g/mol}$$

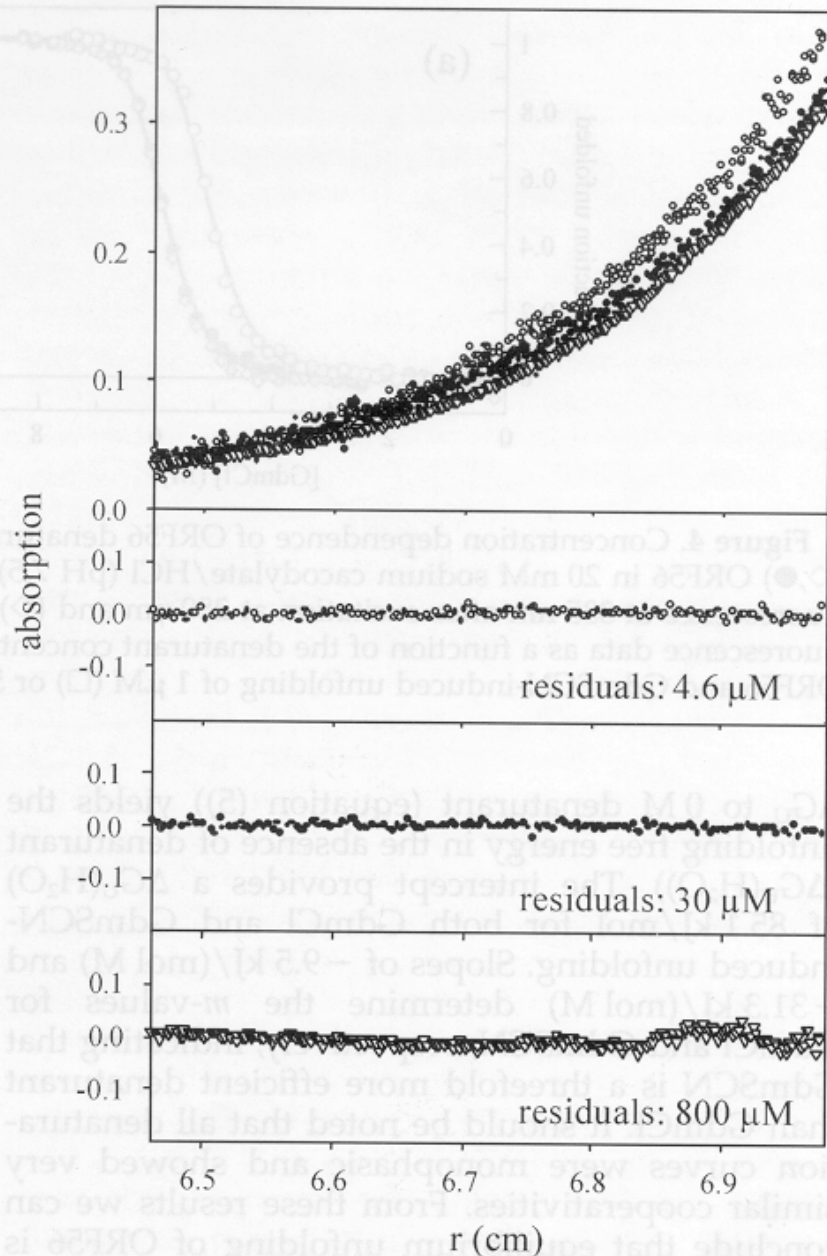


Figure 3. The dimeric state of ORF56 as determined by analytical ultracentrifugation. ORF56 in 50 mM potassium phosphate (pH 7.5) was analyzed by sedimentation equilibrium at 20,000 rpm, 25 °C. The protein was used at monomer concentrations of 4.6 μM (\circ), 30 μM (\bullet), and 0.8 mM (∇). Data were collected at 230 nm (4.6 μM), 280 nm (30 μM), and 300 nm (0.8 mM), respectively. A global fit yielded a molecular mass of $M_r = 14,060(\pm 600)$, independent of the protein concentration.

Sedimentationskoeffizient:

$$1.85 \times 10^{-13} \text{ s} = 1.85 \text{ S}$$

entspricht

$$13 \text{ kDa} = 13.000 \text{ D} = 13.000 \text{ g/mol}$$

Zeeb, M., Lipps, G., Lilie, H.,
Balbach, J. (2003) *J. Mol. Biol.*
336, 277-240.

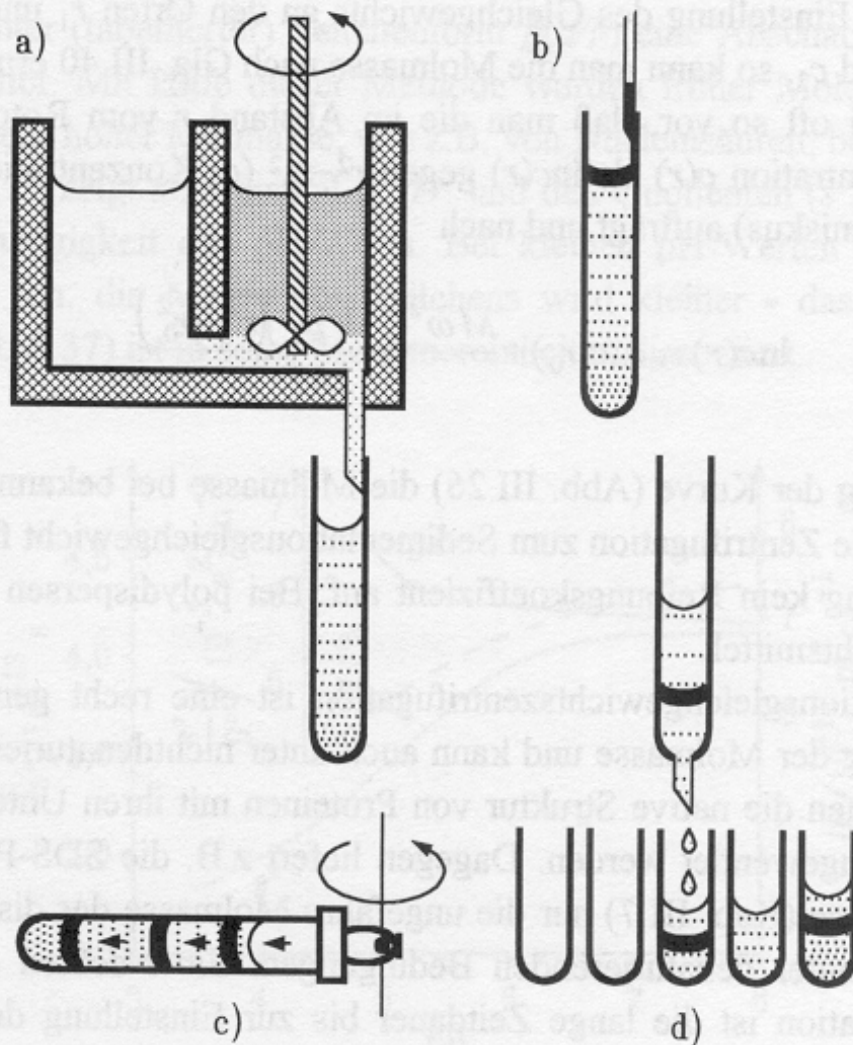


Abb. III.27:

Schematische Darstellung der Zonenzentrifugation im vorgeformten Dichtegradienten. Nach der Herstellung eines Dichtegradienten im Gradientenmischer (a) wird die Probe aufgetragen (b). Das Proberöhrchen wird zentrifugiert (c), wodurch die Makromoleküle entsprechend ihrer Dichte sedimentieren. Anschließend werden mehrere Fraktionen entnommen (d).

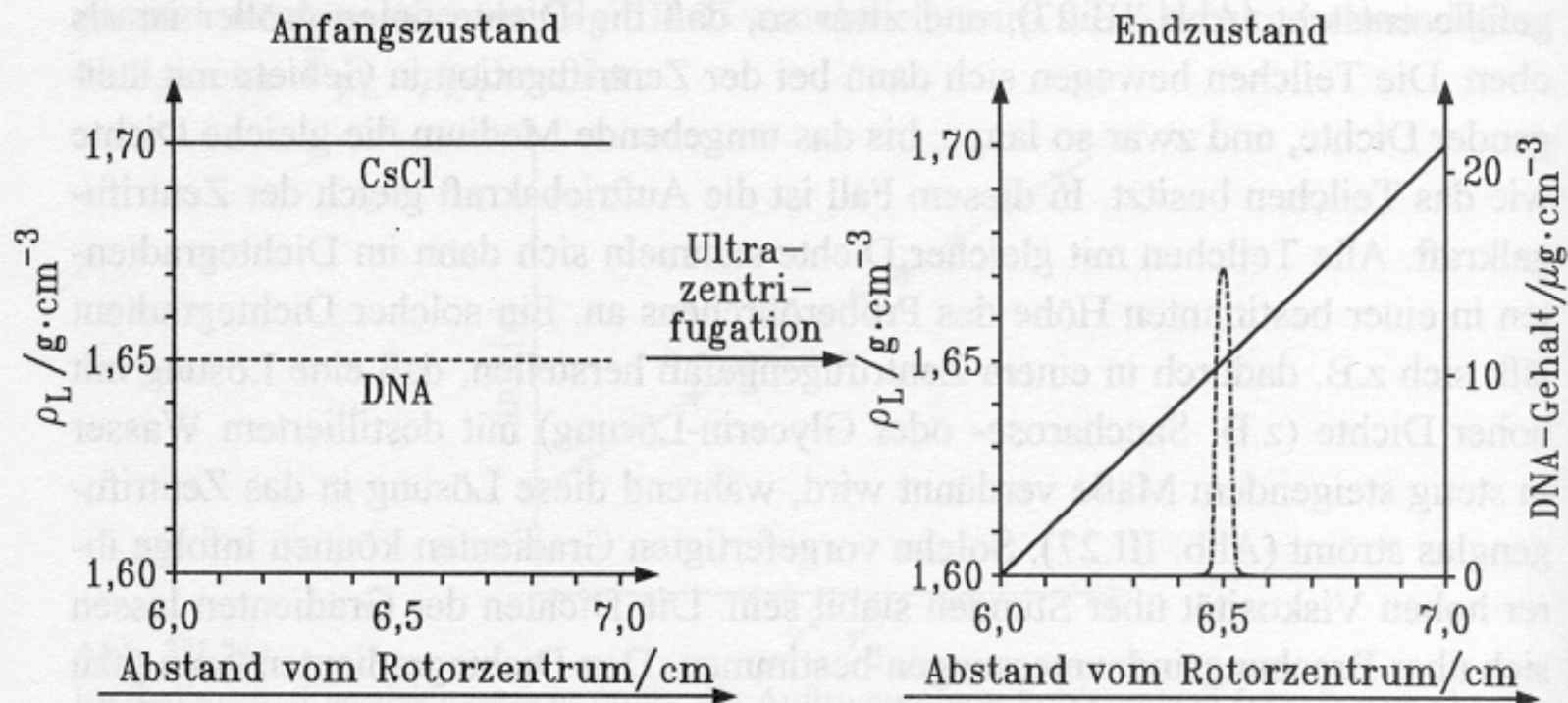


Abb. III.28:

CsCl-Dichtegradienten-Gleichgewichtszentrifugation von DNA bei 45 000 Upm bei Beginn der Zentrifugation (links) und nach Erreichen des Gleichgewichtszustandes (rechts) (nach: J. Vinograd, J.E. Hearst, Fortsch. Chem. Org. Naturstoffe **20** (1962) 372).