

Größe und Gestalt der Molekel von Gamma-Globulin

Von Prof. Dr. O. KRATKY und B. PALETTA

Aus dem Institut für theoretische und physikalische Chemie der Universität Graz

Mit Hilfe der Röntgenkleinwinkelmethode konnte ermittelt werden, daß die γ -Globulin-Molekel die Form eines elliptischen Zylinders besitzt. Erstmals konnten hier von einem gelösten korpuskularen Eiweißstoff alle drei Achsenwerte durch direkte Messung angegeben werden.

In einer vorangegangenen Mitteilung¹⁾ war gezeigt worden, daß die Molekel von Gamma-Globulin²⁾ in wässriger Lösung als streuungsäquivalent mit einem elliptischen Zylinder der Länge 230 bzw. 236 Å und den Halbachsen des Querschnittes von 9,5 und 28,5 Å aufgefaßt werden kann. Dieses Ergebnis basierte auf der Bestimmung des Volumens (aus Nullintensität und Invariante) sowie der Analyse des durch Multiplikation der Streukurve mit θ erhaltenen Querschnittsfaktors. Aus seiner extrapolierten Nullintensität und Invariante wurde seine Fläche, aus der Endtangente in der Guinierschen Auftragung sein Streumassenradius gemessen und durch Kombination von Fläche und Streumassenradius die Form ermittelt, die auch durch den Gesamtverlauf des Querschnittsfaktors kontrolliert werden konnte. Der Querschnittsfaktor entspricht allerdings, da die Teilchen nicht „unendlich“ lang sind, nur in seinem äußeren Teil der für eine Ellipse zu erwartenden Form, während der innere Teil in einer quantitativ nicht näher diskutierten Weise davon abweicht. Wir können unser früheres Vorgehen also summarisch etwa so charakterisieren, daß wir aus dem inneren Teil der Streukurve und einer integralen Eigenschaft (Invariante) das Volumen, aus dem äußeren aber die Querschnittsform entnommen haben. Streng genommen ist die Bestimmung des Volumens auf diesem Wege nur bei exakter Kenntnis des Kurvenverlaufes an der Grenze für $x \rightarrow 0$ möglich³⁾; andererseits entspricht der verwendete theoretische Querschnittsfaktor für ∞ lange Teilchen erst in der Grenze für $x \rightarrow \infty$ exakt dem aus der Streukurve für endliche Teilchen durch Multiplikation mit θ erhaltenen. Es ist daher zur unabhängigen Kontrolle zweifellos wünschenswert, die experimentelle Streukurve mit der theoretischen Gesamtstreuung für die in Betracht kommenden Körper, also vor allem dreiachige Ellipsoide und elliptische Zylinder zu vergleichen. Die vorliegende Mitteilung stellt nun einen Versuch in dieser Richtung dar. Die erforderlichen theoretischen Streukurven sind an unserem Institut nach Ansätzen von G. Porod durch J. Sacken berechnet worden. Darüber werden die genannten Autoren an anderer Stelle berichten.

Wir wollen uns hier mit dem Hinweis begnügen, daß nur die theoretischen Streukurven der elliptischen Zylinder voll befriedigen. Für den Formvergleich verwenden wir die Guiniersche Auftragung und beschränken uns auf die Wiedergabe von zwei Reihen.

- 1.) Variation der Länge bei festgehaltenem Querschnitt.
- 2.) Variation des Querschnittes bei festgehaltener Länge.

Zu 1.): Nach allgemeinen Prinzipien wirkt sich bei langgestreckten Teilchen die Variation der Länge bei festgehaltenem Querschnitt vor allem bei kleinen Streuwinkeln aus, während das Verhalten bei großen Winkeln praktisch

¹⁾ O. Kratky, G. Porod, A. Sekora u. B. Paletta, J. Polymer Sci. 16, 163 [1955].

²⁾ Das Präparat wurde von den Behring-Werken, Marburg-Lahn, bezogen.

³⁾ Wir verstehen unter x den in cm gemessenen Abstand vom Nullpunkt der Photometerkurve. Er steht mit dem halben Ablenkungswinkel θ in der Beziehung $\theta = \frac{x}{2r \cdot p}$, wobei r den Abstand Präparat-Film und p das Übersetzungsverhältnis (die Vergrößerung) bei der Herstellung der Photometerkurve bedeutet.

unverändert bleibt. Bei festgehaltenem Verhältnis der Querschnittsachsen von 1:3 wurde nun das Verhältnis der Höhe h zum „Äquivalenzradius“ des \bar{r} Querschnittes⁴⁾ in der Umgebung des vermuteten, und in der vorangegangenen Untersuchung zweifelos schon annähernd richtig erhaltenen Wertes variiert. Bild 1 zeigt, daß bei $h:2\bar{r} = 4$

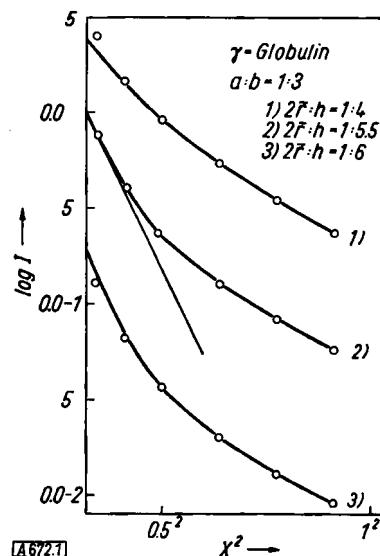


Bild 1. Variation der Länge bei festgehaltenem Querschnitt

die theoretische Kurve innen deutlich zu flach, bei $h:2\bar{r} = 6$ deutlich zu steil verläuft. Schon aus der relativen Größe der beiden Abweichungen müßte man auf einen näher an 6 gelegenen Quotienten schließen. Für $h:2\bar{r} = 5,5$ besteht nun tatsächlich sehr exakte Übereinstimmung zwischen Experiment und Theorie, so daß wir diesen Wert als der Wahrheit sehr nahe kommend ansehen können.

Die theoretischen Streukurven sind so normiert, daß einander entsprechende x -Werte der theoretischen und experimentellen Kurve durch die Beziehung verknüpft sind:

$$\frac{x_{\text{exp.}}}{r_p} \cdot \bar{r} = x_{\text{theor.}} \cdot \frac{\lambda}{2\pi} \quad (1)$$

Zur Anpassung der experimentellen Punkte an die theoretische Kurve mußten nun die $x_{\text{exp.}}$ -Werte mit dem Faktor 0,370 multipliziert werden; also

$$x_{\text{theor.}} = x_{\text{exp.}} \cdot 0,370$$

woraus sich mittels (1) ergibt

$$\bar{r} = 21 \text{ Å}$$

und

$$h = 5,5 \cdot 2\bar{r} = 231 \text{ Å}$$

Zu 2.): Bei festgehaltener Länge und variiertem Querschnitt sind umgekehrt wie bei 1.) Unterschiede nur bei größeren Streuwinkeln zu erwarten, während bei kleineren

⁴⁾ Wir verstehen darunter den Radius jenes Kreises, der den gleichen Streumassenradius hat wie der Querschnitt. Bei einer Ellipse mit den Achsen a und b ist er durch die Beziehung $\bar{r} = \sqrt{\frac{a^2 + b^2}{2}}$ gegeben.

Streuwinkel keine Unterschiede auftreten dürfen. Wir setzen also $h : 2\bar{r} = 5,5$ fest und variieren jetzt das Nebenachsenverhältnis. Bild 2 zeigt, daß, wie immer man durch

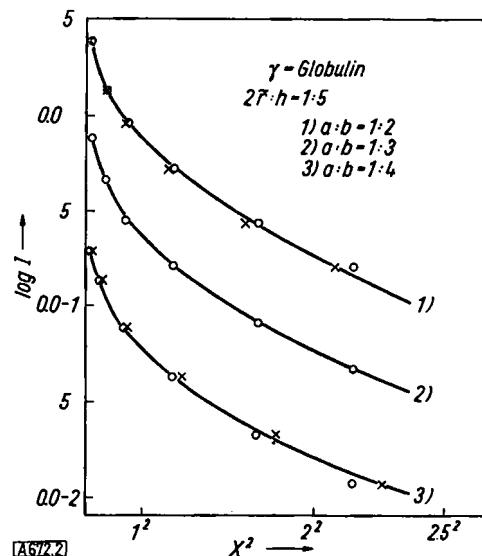


Bild 2. Variation des Querschnittes bei festgehaltener Länge

Dehnung und Stauchung in der Abszissenrichtung die experimentelle Kurve der theoretischen anzupassen sucht, nur beim Nebenachsenverhältnis 1:3 eine Übereinstimmung und zwar eine vollkommene erzielt werden kann. Aus $\bar{r} = \sqrt{\frac{a^2 + b^2}{2}} = 21 \text{ \AA}$ finden wir für $a = 3b$ sofort

$$\frac{b}{a} = 0,33 \quad a = 28,2 \text{ \AA}$$

in praktisch vollständiger Übereinstimmung mit den in der vorhergehenden Mitteilung angegebenen Werten. Natürlich ist zu bedenken, daß wir zwischen einem Nebenachsenverhältnis von z. B. 3 und 3,1 nicht unterscheiden könnten. Erstens steht uns derzeit noch nicht eine genügende Variation in den theoretischen Kurven zur Verfügung und zweitens würde auch die experi-

mentelle Genauigkeit zu einer derart feinen Unterscheidung nicht ausreichen. Wenn man aber die drei Kurven in Bild 2 studiert, so wird man zur Auffassung kommen, daß die Unsicherheit hinsichtlich der Bestimmung des Nebenachsenverhältnisses nicht groß ist.

Wir können jetzt sofort das Volumen ausrechnen:

$$V = h \cdot a \cdot b \cdot \pi = 1,93 \cdot 10^6 \text{ \AA}^3$$

und mit der aus der Literatur entnommenen Dichte⁵⁾ von $\rho = 1,354$ auch das Molekulargewicht:

$$M = 1,57 \cdot 10^5$$

Diese ausschließlich aus der Gestalt der Streukurve erhaltenen Ergebnisse seien mit Angaben anderer Art verglichen. Unsere Länge von $h = 231 \text{ \AA}$ entspricht sehr genau dem aus Strömungsdoppelbrechungs-⁶⁾ und Viskositätsmessungen⁷⁾ berechneten Werten von 230 bzw. 235 \AA . Auch das röntgenographische Molekulargewicht von $1,57 \cdot 10^5$ steht in bester Übereinstimmung mit dem neueren Literaturwert von $1,56 \cdot 10^5$ ⁸⁾ und den gleichen Angaben der Behring-Werke.

Durchaus neu ist die Erkenntnis der Anisotropie des Querschnittes. Es ist wohl erstmalig, daß an einem gelösten korpuskularen Eiweißstoff drei Achsen durch direkte Messung angegeben werden können. Damit ist die hohe Leistungsfähigkeit der Röntgenkleinwinkelmethode zur Gestaltsermittlung gelöster Teilchen kolloidaler Größe unter Beweis gestellt. Sie wird darin von keinem anderen Verfahren erreicht.

Der Rockefeller Foundation sind wir für die Bereitstellung von apparativen Hilfsmitteln zu größtem Dank verpflichtet.

Eingeg. am 9. Juli 1955 [A 672]

⁶⁾ Neurath u. Bailey: „The Proteins“, Bd. I, B, 637 Acad. Press, New York.

⁷⁾ J. I. Edsall u. J. I. Foster, J. Amer. chem. Soc. 70, 1860 [1948]; Neurath u. Bailey: „The Proteins“, Band I, B, 684 Acad. Press, New York.

⁸⁾ J. L. Outley, G. Scatchard u. A. Brown, J. Physic. Colloid Chem. 51, 184 [1947].

⁹⁾ Haurowitz: Fortschritte der Biochemie (1938–1947), S. Karger, Basel; H. Mark: „Makromolekulare Chemie“, S. 652, Akad. Verlags-Ges. Leipzig 1950; „Advances in Protein Chemistry“, 9, 343 [1954].

Röntgenkleinwinkelmessungen an Cellulose

Von Prof. Dr. O. KRATKY und H. SEMBACH

Aus dem Institut für theoretische und physikalische Chemie der Universität Graz

Es wird erstmalig röntgenographisch nachgewiesen, daß auch die Micellen der nativen Cellulose bändchenförmige Gestalt haben. Für Präparate von nativer und regenerierter Cellulose ergeben sich praktisch die gleichen Micelldimensionen. Die Ergebnisse legen die Auffassung nahe, daß bei der Viscoseherstellung die nativen Micellen überhaupt nicht aufgelöst werden.

Die Röntgenkleinwinkelaufnahmen wurden auf photographischem Weg in der von dem einen von uns beschriebenen Anordnung¹⁾ erhalten, welche die Gewähr einer vollständigen Freiheit von Blendestreutung bietet. Zur Monochromatisierung der Strahlung diente ein Monochromator nach Johansson-Guinier²⁾. Da aus Intensitätsgründen ein spaltförmiger Primärstrahl verwendet wurde, war zur Beseitigung des Kollimationsfehlers eine „Entschmierung“ bei der Aufnahme notwendig, was nach bekanntem Verfahren geschah³⁾.

Mit der vorliegenden Mitteilung werden vorangegangene Untersuchungen unseres Arbeitskreises über das gleiche

Thema fortgesetzt^{4, 5)}. Sie stellt durch Verwendung der neuen Anordnung einen Fortschritt in experimenteller Richtung dar (Vermessung bis zu Winkeln entsprechend Braggschen Werten von über 1000 \AA) und bedient sich neuer, bisher noch nicht quantitativ untersuchter Präparate.

I. Messung an einem Micellpulver von Rånby und Ribi⁶⁾

Nach Rånby⁶⁾ ist es möglich, durch partielle Hydrolyse von Cellulose den micellaren Verband unter Beseitigung der amorphen Zwischenbereiche zu lösen und ein lockeres

¹⁾ O. Kratky, Z. Elektrochem. 58, 49 [1954]; O. Kratky u. A. Sekora, Mh. Chem. 86, 660 [1954].

²⁾ T. Johansson, Z. Physik 82, 587 [1933]; A. Guinier, C. R. hebdo. Séances Acad. Sci. 223, 31 [1946].

³⁾ A. Guinier u. G. Fournet, J. physic. Rad. 8, 345 [1947]; J. M. W. du Mond, Physic. Rev. 72, 83 [1947]; O. Kratky, G. Porod u. L. Kahovec, Z. Elektrochem. 55, 53 [1951].

⁴⁾ O. Kratky, Naturwissenschaften 31, 325 [1943]; Kolloid-Z. 120, 24 [1951]; H. Janeschitz-Kriegl u. O. Kratky, Z. Elektrochem. 57, 42 [1953]; O. Kratky u. A. Sekora, Z. Naturforsch. 9b, 505 [1954]; O. Kratky u. G. Porod, Z. Elektrochem. 58, 918 [1954].

⁵⁾ H. Janeschitz-Kriegl, O. Kratky u. G. Porod, Z. Elektrochem. 56, 146 [1952].

⁶⁾ B. G. Rånby, Acta chem. Scand. 3, 649 [1949]; B. G. Rånby u. Ed. Ribi, Experientia 6, 12 [1950].