

## Isoelektrische Fokussierung – Stand und Perspektiven einer neuen Methode

Von B. J. Radola<sup>1\*)</sup>

Die isoelektrische Fokussierung ist ein neues Trennverfahren, bei dem in einem stabilen pH-Gradienten amphoter Substanzen, insbesondere Proteine, aufgrund von Unterschieden der isoelektrischen Punkte getrennt werden können. Die Methode ist hervorragend wirksam und gestattet die Trennung von Proteinen, deren isoelektrische Punkte sich um nur 0.02 pH-Einheiten unterscheiden. Darüber hinaus ermöglicht die Methode eine Charakterisierung der aufgetrennten Komponenten mit einer physikalisch-chemischen Konstante – dem isoelektrischen Punkt. Erst vor kurzem schaffte die Entwicklung entsprechender „Trägerampholyte“ Voraussetzungen für die praktische Anwendung der Methode. Nach der Art der Stabilisierung des pH-Gradienten gegen Konvektion unterscheidet man mehrere Techniken der isoelektrischen Fokussierung: 1. Fokussierung im Dichtegradienten (z.B. Saccharose), 2. Fokussierung im Polyacrylamid-Gel (entweder in Flachgelen oder in einer der Disk-Elektrophorese entsprechenden Anordnung), 3. Fokussierung in granulierten Gelen (z.B. Sephadex oder Bio-Gel).

Die isoelektrische Fokussierung in Schichten granulierter Gele kann als Dünnschichtmethode für analytische Trennungen auf Platten unterschiedlicher Länge und Breite eingesetzt werden. Bei Erhöhung der Schichtdicke kann in Trögen präparativ gearbeitet werden. Die Auf trennungen erfolgen in einer für die isoelektrische Fokussierung entwickelten Doppelkammer (Desaga, Heidelberg). Nach der

Fokussierung werden die aufgetrennten Komponenten entweder direkt in der Gelschicht densitometrisch nachgewiesen oder in einem Papierabklatsch durch Anfärbung lokalisiert. Enzyme werden mit einem gepufferten, substratimprägnierten Papier sichtbar gemacht. Mit der isoelektrischen Fokussierung in gel-stabilisierten Schichten können Mikrogramm- bis Gramm-Mengen amphoterer Substanzen aufgetrennt werden. Bei einer Reihe von Proteinen und Enzymen ließ sich mit der dünnschicht-iselektrischen Fokussierung eine Heterogenität nachweisen, wie sie bisher mit keiner anderen Methode gefunden wurde. Die präparative isoelektrische Fokussierung in gel-stabilisierten Schichten eröffnet für die Reinigung von Proteinen völlig neue Perspektiven sowohl im Hinblick auf die hervorragende Trennschärfe als auch auf die Kapazität der Methode, die um ein Vielfaches die Kapazität präparativer elektrophoretischer Methoden übertrifft.

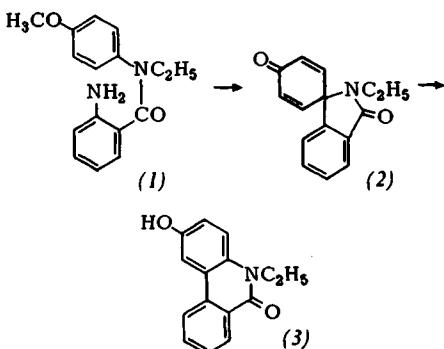
Die isoelektrische Fokussierung zählt derzeit zu den leistungsfähigsten Trennverfahren der Proteinchemie. Neben der analytischen und präparativen Auf trennung von Proteinen wird in Zukunft der Einsatz dieser Methode bei der Bestimmung der isoelektrischen Punkte sowie in Untersuchungen über die Konformation und die Modifizierung von Proteinen mit gruppen-spezifischen Reagenzien zunehmend an Bedeutung gewinnen.

[Kolloquium im Deutschen Wollforschungsinstitut,  
am 18. Februar 1972 in Aachen] [VB 336]

[\*) Dr. B. J. Radola  
Bundesforschungsanstalt für Lebensmittelfrischhaltung  
75 Karlsruhe 1, Engesserstraße 20

## RUNDSCHAU

**Spirodien-Umlagerungen** faßt D. H. Hey in einer Übersicht zusammen. Ein Beispiel für die Bildung eines Spirodien und seine Umlagerung in ein Phenanthridon-Derivat ist die Reaktionsfolge (1) → (2) → (3). Die Reaktion (2) → (3) geht nur in 100-proz. Phosphorsäure bei 170°C vonstatten. – Der Autor befaßt sich eingehend auch mit photochemischen Umlagerungen der Spirodiene und mit anderen Reaktionen der Verbindungen vom Typ (1)



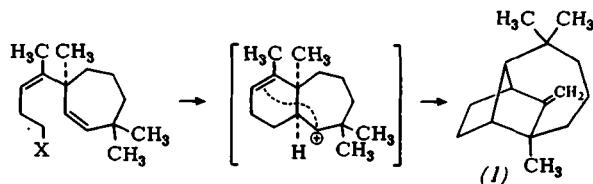
in Abhängigkeit von Substituenten und Reaktionsbedingungen, u.a. mit der Bildung von Dimeren. [Spirodiene Rearrangements. Quart. Rev. Chem. Soc. 25, 483–499 (1971); 18 Zitate]

[Rd 484 –L]

**Mit dem Circulardichroismus (CD) von Kobalt(III)-chelaten** beschäftigt sich eine Arbeit von L. I. Katzin und I. Eliezer. Die CD-Spektren von etwa 150 Chelaten im Spektralbereich der ersten beiden Ligandenfeldübergänge des low-spin-d<sup>6</sup>-Systems sind nach Vorzeichen und Größenordnung qualitativ tabelliert und werden ausführlich diskutiert, insbesondere im Hinblick auf die Ermittlung „absoluter Konfigurationen“ aus CD-Spektren. Die Autoren warnen vor Analogieschlüssen auch zwischen nahe verwandten Verbindungen, solange diese Spektren nicht genauer gedeutet sind und bis mehr Vergleichsdaten aus Röntgen-Strukturuntersuchungen vorliegen. [Bonding Effects in Circularly Dichroic Co(III) Complexes. Coord. Chem. Rev. 7, 331–343 (1972); 65 Zitate]

[Rd 492 –H]

Über den Einsatz eines Computers bei der Syntheseplanung, speziell bei der Planung komplizierter Synthesen, berichtet E. J. Corey. Wesentlich ist der Dialog zwischen Mensch und Computer; zur Verständigung dienen u. a. Strukturformeln. Als Beispiel für die Leistungsfähigkeit des Verfahrens sei die auf diesem Weg konzipierte hypothetische



Synthese von Longifolen (1) angeführt. [Computer-assisted Analysis of Complex Synthetic Problems. Quart. Rev. Chem. Soc. 25, 455–482 (1971); 23 Zitate]

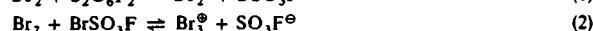
[Rd 483 –L]

Das Züchten großer Diamantkristalle behandeln in einer Übersicht H. M. Strong und R. H. Wentorf jr. Große Kristalle bis 6 mm Durchmesser werden bei hohen Drücken (55–60 kbar) und Temperaturen (1400–1500°C) durch Lösen von Diamantmaterial als Kohlenstoffquelle in einem Katalysatormetall wie Fe, Ni oder Co in einer heißen Zone und Auskristallisieren in einer etwas kühleren Zone erhalten, wobei ein Impfkrystall als Kristallkeim dient. Die Prozedur dauert einige Tage und ist durch mehrere Parameter zu beeinflussen. [The Growth of Large Diamond Crystals. Naturwissenschaften 59, 1–7 (1972); 22 Zitate]

[Rd 480 –M]

Halogen- und Interhalogen-Kationen sind das Thema einer Übersicht von R. J. Gillespie und M. J. Morton. Die stark elektrophilen Kationen lassen sich nur in sehr schwach basischen Lösungsmitteln herstellen und untersuchen, z. B. in Fluoroschwefelsäure, Dischwefelsäure, Antimonpentfluorid und Schwefeldioxid. Stabile kristalline Verbindungen bilden diese Kationen nur mit extrem schwach basischen Anionen wie  $\text{Sb}_3\text{F}_6^{\ominus}$  [siehe Gl. (1)–(4)].

Interhalogen-Kationen sind z. B. auch in den schon länger bekannten Addukten von  $\text{ClF}_3$  und  $\text{AsF}_5$  ( $\text{ClF}_2^{\oplus}\text{AsF}_6^{\ominus}$ ) oder  $\text{BrF}_3$  und  $\text{SbF}_5$  ( $\text{BrF}_2^{\oplus}\text{SbF}_6^{\ominus}$ ) enthalten. – Es wird u. a.



die Kristallstruktur von  $\text{Br}_2^{\oplus}\text{Sb}_3\text{F}_{16}^{\ominus}$ ,  $\text{ClF}_2^{\oplus}\text{SbF}_6^{\ominus}$  und  $\text{BrF}_2^{\oplus}\text{SbF}_6^{\ominus}$  angegeben. [Halogens and Interhalogen Cations. Quart. Rev. Chem. Soc. 25, 553–570 (1971); 50 Zitate]

[Rd 487 –L]

Substitutionsreaktionen an Komplexen des vierwertigen Platins, die durch Platin(II) oder Reduktionsmittel katalysiert werden, behandelt W. R. Mason. Nach Angaben über die allgemeine Geschwindigkeitsgleichung dieser Reaktionen und ihren Mechanismus folgen Tabellen mit kinetischen Daten. Diese werden auf die Abhängigkeit der Reaktivität von den beteiligten Liganden untersucht; auch Mediumeffekte (Lösungsmittel, Ionenstärke) sowie einige häufiger auftretende Nebenreaktionen werden diskutiert. [Platinum(II)-Catalyzed Substitutions of Platinum(IV) Complexes. Coord. Chem. Rev. 7, 241–255 (1972); 41 Zitate]

[Rd 489 –H]

Die Literatur über Mangan-Porphyrin-Komplexe wird in einem Artikel von L. J. Boucher zusammengefaßt. Die stabilsten Verbindungen leiten sich vom dreiwertigen Mangan ab; Komplexe mit zwei- und vierwertigem Mangan sind durch Redoxreaktionen von der dreiwertigen Stufe aus zugänglich. Es folgen kleine Abschnitte über Chlorophyll- und Phthalocyaninabkömmlinge sowie, unter Vergleich mit den entsprechenden Eisenverbindungen, Erörterungen über die Bedeutung dieser Verbindungen bei Untersuchungen biologischer Probleme. [Manganese Porphyrin Complexes. Coord. Chem. Rev. 7, 289–329 (1972); 112 Zitate]

[Rd 491 –H]

## LITERATUR

**Handbook of Chemistry and Physics.** Von R. C. Weast. The Chemical Rubber Co., Cleveland, Ohio/USA 1972. 52. Aufl., XXVII, 2313 S., geb. DM 99.80.

Ein Handbuch – so heißt es sinngemäß im Vorwort zur 52. Auflage des vorliegenden Werkes – ist ein Informations-System im Kleinen, und was man aus diesem System herauszuholen vermag, kann nur so gut sein wie das, was hingestellt worden ist. Daraus folgt für den Herausgeber konsequenterweise zweierlei: das Streben nach Qualität durch fachkundige Beratung (im Vorspann des Buches sind 145 Wissenschaftler namentlich genannt) und das Streben nach Aktualität durch jährlich verbesserte, revidierte und ergänzte Neuauflagen. In der Tat dürfte das

Handbook of Chemistry and Physics (neben Hotelführern und Straßenplänen) eines der wenigen Werke sein, die nur ein Jahr lang gut sind – im nächsten bereits sind sie besser.

Auch die 52. Auflage weist eine Anzahl neuer Tabellen auf, so etwa über die zulässige Aufnahme von Radionucliden durch den Menschen, über die Äquivalentleitfähigkeit wässriger Halogenwasserstoffsäuren, über die thermischen Eigenschaften reiner Metalle oder über Standard-Testsiebe, um nur einige zu nennen, die für den Chemiker von Interesse sind. – Überhaupt steht die Chemie im Titel des Werkes zu Recht an erster Stelle, denn von den insgesamt rund 2300 Seiten des Buches (auf Dünndruckpapier) tragen nahezu zu 70% ausschließlich und der Rest überwiegend Tabellen