

Isoelektrische Fokussierung – Stand und Perspektiven einer neuen Methode

Von B. J. Radola^[*]

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. Darauf 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 granulierte 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 Ansärfung 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.

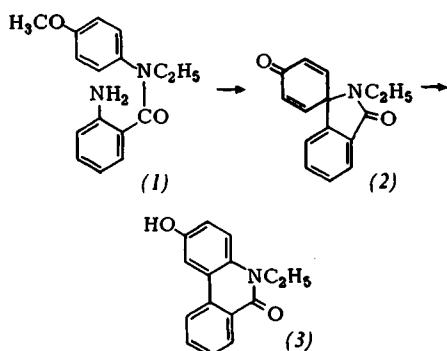
Die isoelektrische Fokussierung zählt derzeit zu den leistungsfähigsten Trennverfahren der Proteinchemie. Neben der analytischen und präparativen Austrennung von Proteinen wird in Zukunft der Einsatz dieser Methode bei der Bestimmung der isoelektrischen Punkte sowie in Untersuchungen über die Konformation 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 Spirodiens 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 Circular dichroismus (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-d⁶-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]