Optima eXpert ソフトウエアの活用法

アルブミンの沈降時間の求め方と薬剤の血漿タンパク結合率試験について

for

フロア型超遠心機
Optima™ XPN シリーズ

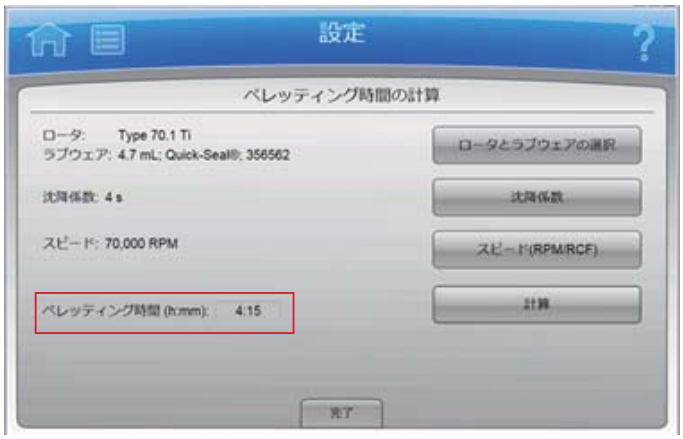
フロア型超遠心機 Optima XPN シリーズに搭載されている Optima eXpert ソフトには、運転履歴自動記録、運転状況リアルタイムプロット、遠心シュミレーション表示、種々の計算機能など多くの機能を装備しています。
計算機能のなかでも、沈降係数 S 値および S 値に基づいたペレッティング時間の計算は無駄な遠心時間の削減に便利で、合理的な実験計画に有効です。ここでは牛血清アルブミンをモデルにして計算値と実際の遠心結果について検証しました。

フロア型超遠心機
Optima XPN-100

アルブミン 66.3kDa の沈降係数を求める

Optima eXpert ソフトウエアでは、タンパク質の分子量から沈降係数を求めることができます。
66.3kDa の牛血清アルブミンの沈降係数は 4.1135 S と計算されます。
(メニュー / 計算 / 分子量から / 球状タンパク) を選択し、分子量を入力すると沈降係数 S 値が得られます。

ロータ・チューブを選択して遠心に必要な時間を求める



Optima XPN シリーズで使用するロータと用途にあったチューブを選択して、沈降係数 S 値と回転数を入力すると、必要な遠心時間が計算されます。
アルブミンの沈降係数は 4.1135 S でしたので、 整数値の 4 S と 5 S で想定し、ロータは Type70.1Ti、チューブは 4.7mL クイックシールチューブ、回転数 70,000rpm での遠心時間を求めました。
4 S と想定した場合の遠心時間は 4 時間 15 分、5 S の場合は 3 時間 24 分と計算されました。

BECKMAN COULTER

アルブミン遠心沈降実験

沈降係数から得られた時間をもとに、1.5mg/mL（A280 ≒ 0.9）のアルブミン溶液を 2 時間（Sample ＃ 1)、3 時間（Sample ＃ 2)、4 時間 15 分（Sample ＃ 3）の遠心を行い、上清中のアルブミン濃度を測定しました。実際の沈降係数より少し小さい 4 S で得られた遠心時間（4 時間 15 分）を使った場合、溶液中のアルブミンはすべて沈殿しました。

	Sample #1	Sample #2	Sample #3
遠心時間	2:00	3:00	4:15
遠心前 A280	0.87	0.9	0.91
遠心後上清　A280	0.19	0.06	0
ペレット中アルブミン%	78.2	93.3	100

実験結果から、eXpert ソフトウエアで求めた遠心時間は正しかったことがわかります。

Optima XPN シリーズ超遠心機による薬剤の血漿タンパク結合率試験

アルブミンの遠心沈降実験と同じ方法で、血中で血漿タンパクと結合している薬剤と、遊離している薬剤に分離するために超遠心機が使用されます。タンパク非結合の遊離薬剤のみが細胞膜を透過して薬効を示すことから、血漿タンパク結合率を検証することは薬物動態を研究する上で非常に重要です。遠心後の上清に遊離薬剤が含まれているので、実際にはこれを LC/MS 等で測定して、その結果からタンパク結合率を算出します。

他のロータを使用した場合の遠心時間の計算

ベックマン・コールターでは様々なニーズに合わせた超遠心機をご用意しています。使用するロータやチューブが変わると遠心に必要な時間も変わってきます。今回の eXpert ソフトウエアで求めた沈降係数 S 値から、他のロータ・チューブの組み合わせで遠心時間を算出することができます。それぞれのロータには個々の κ-factor があります。

κ-factor と遠心時間には

$$T\ (\text{遠心時間}) = \frac{\kappa\ (\kappa\text{-factor})}{S\ (\text{沈降係数})}$$

といった関係があります。

この式にアルブミンの沈降係数 4 S とロータの κ-factor を代入すると、遠心に必要な時間を算出することができます。ロータの κ-factor の値は Web サイトで調べることができます。

ロータ	容量 (mL)	チューブ (製品番号)	κ-factor	最高回転数 (rpm)	最大遠心力 (g)	時間 (hr)
Type 70.1Ti	4.2	356652	17	70,000	450,000	**4.25**
Type 70.1Ti	13.5	342413	36	70,000	450,000	**9**
Type 50.4Ti	6.5	344088	33	50,000	312,000	**10.5**
TLA-110	4.7	361621	12	110,000	657,000	**3.0**
MLA-55	8.9	361623	52	55,000	287,000	**13**

Beckman Coulter、Beckman　Coulter ロゴおよび Optima は、
Beckman Coulter, Inc. の商標です。

ベックマン・コールター株式会社

本　　社：〒135-0063 東京都江東区有明3-5-7 TOC有明ウエストタワー

お客様専用 0120-566-730　☎ 03-6745-4704　FAX 03-5530-2460
e-mail bckkcas@beckman.com　URL http://www.beckmancoulter.co.jp

本内容は予告なく変更する場合がありますのでご了承ください。

2013.11-500（BG）