

μ FLUX 測定における GIT 滴下量の影響

フィジオマキナ株式会社 白濱茜、田中菜由子

【目的】

生体内における膜透過予想システムの 1 つである μ FLUX 測定では、PVDF の膜 (以下、メンブラン) に GIT (脂質成分) を添加することにより人工膜を調製している。 μ FLUX においては、GIT の添加量は「25 μ L」が基本滴下量となっているが、滴下誤差により GIT の滴下量が変わった場合、膜透過への影響があるかを検証することを目的とした。

【検討手順】

1. FaSSIF にカルバマゼピンを溶解させ、均一な溶液を調製した。
2. ガラスチャンバーを使用し、組み立てたガラスペアのメンブランに GIT を滴下した。
3. 手順 2 操作後、5 分以内にアクセプターチャンバーへ ASB を分注した。
4. ドナー対応チャンネルは FaSSIF、アクセプター対応チャンネルは ASB にそれぞれチップを浸し、100%T を取得した。
5. 攪拌開始時にドナーチャンバーへ手順 1 で調製した溶液を分注し、測定を開始した。

手順 2 にて滴下する GIT の添加量を①20 μ L、②25 μ L (基本滴下量)、③30 μ L と変化させ、各添加量にて n=3 で試験を行った。測定条件を表 1 に示す。

表 1 測定条件

| | ドナー | アクセプター |
|------|----------------------|--------|
| 試験液 | FaSSIF | ASB |
| 液量 | 18 mL | |
| 攪拌速度 | 250 rpm | |
| 光路長 | 2 mm | 10 mm |
| 膜面積 | 1.54 cm ² | |
| 試験時間 | 240 分 | |

【結果】

アクセプターにおける溶液濃度プロファイルを図 1 に、240 分時点の各 GIT 滴下量における溶液濃度を表 2 に示す。

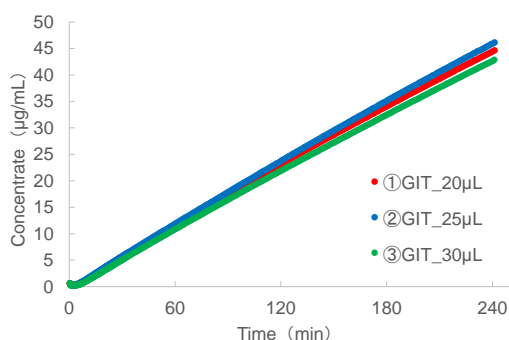


図 1 アクセプター溶液濃度プロファイル

表 2 アクセプターにおける 240 分の濃度

| GIT 滴下量 | 濃度 |
|-------------|---|
| ①20 μ L | 約 45 μ g/mL (約 43~46 μ g/mL) |
| ②25 μ L | 約 46 μ g/mL (約 45~48 μ g/mL) |
| ③30 μ L | 約 43 μ g/mL (約 42~44 μ g/mL) |

アクセプターにおける 240 分時点での溶液濃度を GIT 滴下量で比較すると②25 μ L > ①20 μ L > ③30 μ L の順で濃度が高い結果となった。しかし、最大値と最小値の差はわずか 3 μ g/mL と誤差程度であり、FLUX への影響は非常に少ないと考えられた。式 (1) を用いて計算した、各 GIT 滴下量における FLUX の結果を図 2 に示す。

$$\text{FLUX} = \frac{dm}{A \cdot dt} = \frac{V dc}{A dt} \quad \dots \text{式 (1)}$$

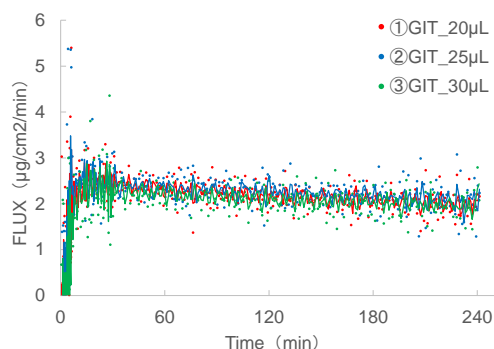


図 2 FLUX

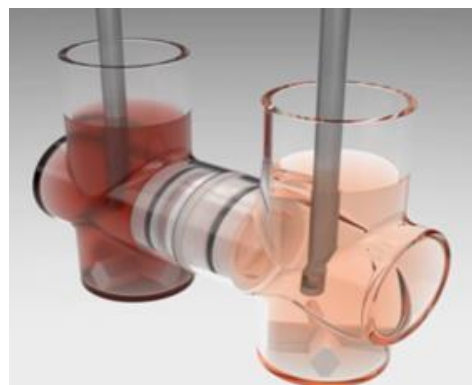
GIT 滴下量に関わらず、FLUX は同程度の推移を示した。

【結論】

GIT の滴下量を基本量の 25 μ L に対し 5 μ L ずつ増減させて μ FLUX 測定を実施したところ、いずれにおいても FLUX は同程度の結果となった。このことから、GIT のわずかな滴下誤差は μ FLUX の測定に影響を及ぼさないとと言える。なお、今回測定した範囲は、25 μ L を基本とした場合の滴下誤差における影響を確認したものであり、本範囲以上の増減による影響は確認していない。



Mini-Bath + Rainbow



μ FLUX のガラスチャンバー

- GIT : GIT-0 Lipid Solution P/N 110669
- ASB : Acceptor Sink Buffer P/N 110139 (250mL) , 121041 (1L)