

μ FLUX 測定における GIT 滴下量の影響②

フィジオマキナ株式会社 白濱茜

【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。アプリケーションノート No. 19-Mf では塩基性化合物であるカルバマゼピンを用いて検証を行ったため、本試験では、酸性化合物であるワルファリンナトリウムを用いて検証を行った。

【検討手順】

1. FaSSIF にワルファリンナトリウムを溶解させ、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。

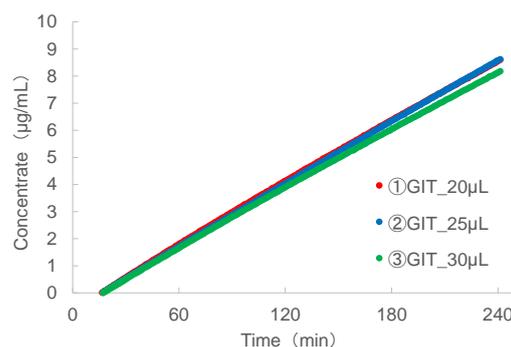


図 1 アクセプター溶液濃度プロファイル

表2 アクセプターにおける 240 分の濃度

GIT 滴下量	濃度
① 20 μ L	約 8.6 μ g/mL (約 8.5~8.6 μ g/mL)
② 25 μ L	約 8.6 μ g/mL (約 8.5~8.8 μ g/mL)
③ 30 μ L	約 8.2 μ g/mL (約 7.8~8.4 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③30 μ Lのみわずかに濃度が低い結果となった。しかし、最大値と最小値の差はわずか 0.4 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。

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

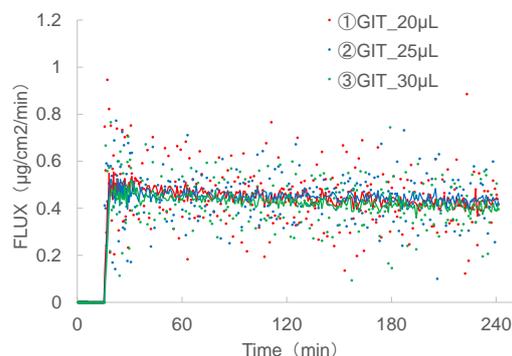


図2 FLUX

GIT 滴下量に関わらず、FLUX は同程度の推移を示した。

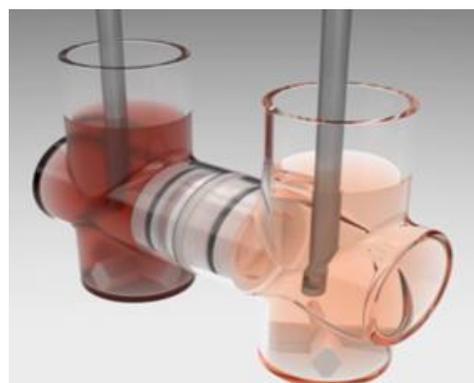
【結論】

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

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



μ FLUX のガラスチャンバー