

# マイクロ流路による新規急速混合法の開発

## ■研究者のプロフィール

富山県産業技術研究開発センター  
生活工学研究所 生活資材開発課  
主任研究員

たかた こうじ  
**高田 耕児**

TEL : 0763-22-2141

E-mail : takata@itc.pref.toyama.jp

URL : http://www.itc.pref.toyama.jp



## 研究シーズの概要

### マイクロ流路による急速混合

マイクロメートルスケールの微細な流路（マイクロ流路）は、デバイスの小型化やサンプルの少量化などにおいて利点があるほか、流体を急速混合する場合にも利用されます。

一般にマイクロ流路では層流になりやすく、図1Aに示すように、液体の流れの中に同じ流速で異なる液体を注入すると、液体は平行な層状となって流れます。この場合、層と層の間に乱れは生じず、拡散による混合のみが起こります。一方、図1Bに示すように、中央の層の幅を、中央の入口とその両側の入口の流量比を変えることで細く絞り、その状態で拡散させることにより急速混合する方法が知られています。また、図1Cに示すように、流路に溝を掘ってその凹凸で層流を乱すことにより急速混合する方法が知られています。

しかし、これらの方法では幅が狭くて長い流路を用いる必要があり、流量を上げることができないという問題があります。

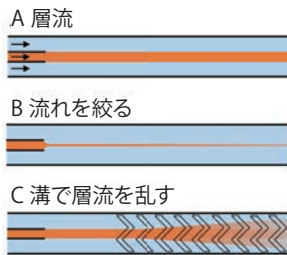


図1 層流と従来の混合法

一方、流量を上げることができる方法の一つとして、図2A左に示すように、3本の入口流路の間隔を広くした状態で混合流路へと注入させることにより、微小渦を発生させる方法（微小渦法）が知られています。しかし、微小渦法は、微小渦が生じる部分とその外側の部分との混合が不十分であるという問題がありました。そこで、3本の入口流路（幅0.1mm、深さ0.2mm、間隔0.35mm）と1本の混合流路（幅1mm、深さ0.2mm）から成るマイクロ流路を作製し、中央の入口からエタノールを、その両側の入口から純水を注入（流量比はエタノール1に対して純水10）したところ、図2A右側の写真に示すように、総流量6.6mL/minの場合は対称な微小

渦が確認されました。

しかし、興味深いことに、総流量を7.7mL/minとした場合、図2Bに示すように、微小渦が自発的に非対称化しました。また、数値シミュレーションによって、入口近傍に極微小渦（図2左側に黄矢印で示す。屈折率変化が小さいため右の写真では見えない）が存在すること、この極微小渦も非対称化することがわかりました。そして、さらに18.5mL/minに総流量を上げると、図2Cに示すように、極微小渦は一方に極端に偏り、それに伴い、2つの流体（この場合はエタノールと水）の境界が消失しました。このことは均一な混合が起きていることを示しています。

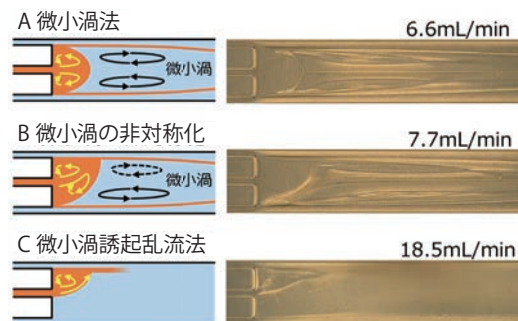


図2 微小渦法、微小渦の非対称化、微小渦誘起乱流法

新しく発見したこの混合法を「微小渦誘起乱流法」または「AMT (Asymmetrized Microvortices-induced Turbulence) 法」と命名するとともに、国際特許を出願しました (PCT/JP2024/031996)。従来の急速混合法には、流れを乱す構造を設ける方法や分岐と合流を繰り返す方法などがありますが、微小渦誘起乱流法は極めてシンプルな構造の流路で急速混合が可能となる新しい選択肢を示すものです。

### 微小渦誘起乱流法 (AMT法) による脂質ナノ粒子の作製

従来の方法では作製が困難であった「10nm（ナノメートル）サイズの脂質ナノ粒子」について、微小渦誘起乱流法を用いて作製を検討しました。脂質



ナノ粒子は、新型コロナワクチンなどのワクチンや薬をカプセル化して体内に届けるために利用されています。そして、安定化したカプセルを作製するために、長い脂肪酸鎖を持つリン脂質であるDSPC (1,2-distearoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine)<sup>※1</sup>がよく利用されます。しかし、DSPCは凝集しやすい性質を持つため、小さい(20nm未満の)脂質ナノ粒子を作製することは困難でした。

一方、高密度リポタンパク質(HDL)<sup>※2</sup>は、私たちの体内に存在する約10nmのタンパク質結合脂質ナノ粒子であり、マイクロ流路によるHDL模倣ナノ粒子( $\mu$ (マイクロ)HDL)の作製も報告されています。しかし、DSPCを用いた $\mu$ HDL(DSPC- $\mu$ HDL)はこれまでに報告されていません。そこで、微小渦誘起乱流法の急速混合が可能であるという特長を生かしてDSPC- $\mu$ HDLの作製を検討しました。

上述の微小渦を発生させるマイクロ流路の中央の入口からDSPCのエタノール溶液を、その両側の入口からアポリポタンパク質A-I<sup>※3</sup>(N末端の43アミノ酸を欠損させた変異体)の水溶液を注入(流量比はエタノール溶液1に対して水溶液10)しました。微小渦法では総流量5.5mL/min、微小渦誘起乱流法では総流量55mL/minとしました。

図3はサイズ排除クロマトグラフィー(粒子の大きさによる分離技法)の結果です。カラム(分離するための長細い管)への保持時間が長いほど小さな粒子であることを示しています。微小渦法では保持時間45分の大きい粒子(動的光散乱法による測定では直径約30nm)と保持時間78分の混合後に残ったタンパク質(動的光散乱法では測定不能)が検出されました。微小渦誘起乱流法では保持時間62分の小さい粒子(動的光散乱法による測定では直径約10nm)が検出され、混合後に残ったタンパク質はほとんど見られませんでした。

このことは微小渦誘起乱流法により、直径約10nmの脂質ナノ粒子が高い収率で作製できたこと

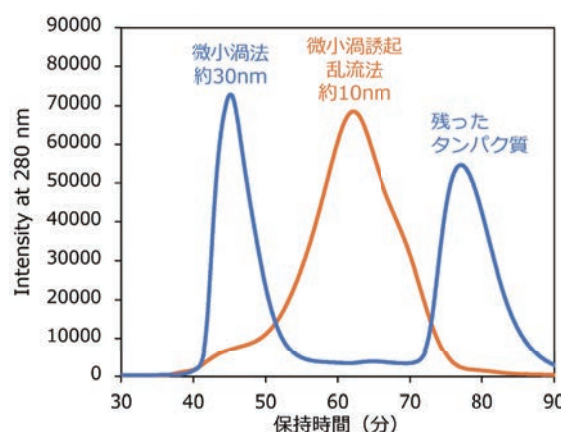


図3 脂質ナノ粒子の分析結果(サイズ排除クロマトグラフィー)

を示しています(収率96%)。さらに、アポリポタンパク質A-Iを使わずに、DSPCとコレステロールで脂質ナノ粒子の作製をしたところ、約30nmの脂質ナノ粒子を作製することができました。以上のことから、微小渦誘起乱流法は、 $\mu$ HDLを高収率で作製するのに有用であるとともに、さまざまな脂質ナノ粒子の作製に応用できると考えられます。

### 他分野への応用可能性

急速混合が可能であり、その混合速度の調節も可能であるという微小渦誘起乱流法の特長を生かして、脂質ナノ粒子の作製だけでなくさまざまな応用が可能と考えられます。上記の脂質ナノ粒子の作製は、基本的にはエタノールに溶解した脂質を水で急速に希釈することにより、脂質のナノ粒子が生成するというものでした。脂質やエタノールに限らず、溶媒に溶解した物質を非溶媒で急速に希釈することにより、さまざまなナノ粒子を作製することができると考えられます。また、反応性のある物質と反応開始剤とを急速に混合して均質な反応を起こすために利用することができます。さらに2つ(以上)の流体を急速に混合する技術として広く利用できる可能性があります。

- ※1 1,2-ジステアロイル-*sn*-グリセロ-3-ホスホコリン。長い脂肪酸鎖を持つリン脂質で、脂質ナノ粒子の構造を安定化させる。  
 ※2 High-density lipoprotein 脂質とタンパク質から成り、余剰コレステロールを肝臓に運ぶ機能や動脈硬化防止作用がある。  
 ※3 脂質代謝に関与するタンパク質で、HDLの主要な構成タンパク質。「アポ」は切り離した、「リポ」は脂質の意。

### 研究キーワード

- ◎ 急速混合 ◎ マイクロ流路 ◎ ナノ粒子  
 ◎ 脂質ナノ粒子 ◎ ドラッグデリバリー

### 利用が見込まれる分野

- ◎ 製薬 ◎ 化学合成 ◎ 流体混合

### 産業界へのメッセージ

この新しい混合法を、脂質ナノ粒子の作製だけではなく、さまざまな流体の急速混合に応用していきたいと考えていますので、ぜひご連絡をお願いいたします。

産官連携をお考えの方は当研究所までお問い合わせください。

◎北陸経済研究所 米屋 TEL: 076-433-1134