

令和 6 年 6 月 5 日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K04304

研究課題名(和文) マグネタイト氷晶モデルに基づいた遺伝子資源の氷晶損傷防止技術

研究課題名(英文) Inhibition of Heterogeneous Ice Nucleation in Genetic Resources based on Biogenic Magnetite

研究代表者

小林 厚子 (KOBAYASHI, ATSUKO)

高知大学・海洋コア国際研究所・特任教授

研究者番号：50557212

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：植物には細胞膜の外側に硬い細胞壁があるため、凍結保存では間隙の水分膨張が細胞膜を損傷するので、個体再生が不能である。そこで、本研究は、歳差磁場下で植物細胞内に過冷却を促進・持続させて耐寒温度を下げれば、多発休眠の覚醒期間が遅れることに注目した。植物遺伝資源の長期低温貯蔵技術を確立することを目的として、植物球根株をもちいて、振動磁場下で任意の低温温度設定で植物株を歳差運動させ、植物株の過冷却状態が長時間持続し、且つ植物株の成長点が再生した。植物球根株を超伝導量子干渉素子装置と磁化特性測定システムにより、球根株には約5～10ngのマグネタイトが存在しすることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

農産物種の資源保護・安定供給に向けて、胚芽・種など遺伝資源を管理君間で超低温保存する方法が研究されている。しかし植物には細胞膜の外側に硬い細胞壁があるため、凍結保存では間隙の水分膨張が細胞膜を損傷するので、個体再生が不能である。そこで本研究は、歳差磁場下で植物細胞内に過冷却を促進し、耐寒温度を下げた状態を長時間持続させて、かつ植物株の成長点が再生したことが確認された。またこの過冷却操作可能な氷晶核因子が磁性体微粒子マグネタイトであることを同定した。この学術的知見は、今後の長期低温貯蔵技術の発展に大いに貢献する。

研究成果の概要(英文)：When suitable surfaces are present, ice crystals will nucleate from supercooled water in plant tissues, causing frost damage. These ice nucleating particles (INPs) limit the ability of supercooling to preserve food without harm. Recent studies have shown that magnetite (Fe₃O₄) nanoparticles are powerful INPs for heterogeneous ice nucleation, and that they are present at trace levels in many tissues. In particular, cloves of garlic (*Allium sativum*) are known to remain supercooled down to temperatures as low as -13 °C, yet superconducting magnetometry indicates that large numbers of magnetite nanoparticles are present that should have initiated freezing at higher temperature. By developing a temperature-dependent survivability analysis, combined with the use of oscillating magnetic fields designed to disturb the ice nucleating process on magnetite nanoparticles, we found that weak oscillations raise the freezing temperature, but stronger oscillations reduce it.

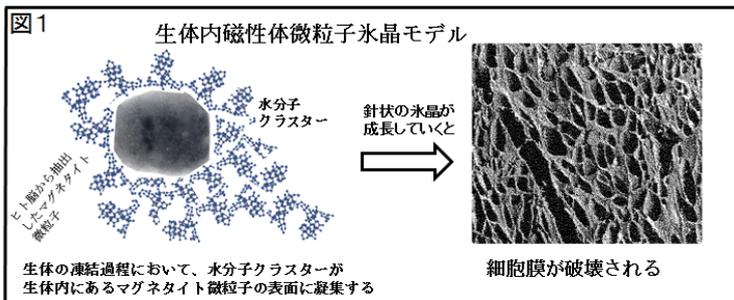
研究分野：顕微鏡科学

キーワード：過冷却操作可能な氷晶因子 生体由来のマグネタイト 長期低温貯蔵技術 歳差磁場下

1. 研究開始当初の背景

マグネタイト氷晶モデルに基づいた遺伝子資源の氷晶損傷阻止技術

弱い電磁場を暴露すると組織内の水分子が振動し、細胞の凍結損傷を防ぐという CAS 冷凍システムの物理的な疑問が呈されていた。水は弱反磁性であり、弱い電磁場下では影響を受けないからである。これまで申請者等は、多くの生体組織に約 4~10ng/cm³ のマグネタイト微粒子が存在することを報告してきた。そして提唱する新しい仮説“生体内マグネタイト微粒子氷晶モデル説”に基づいて、マグネタイト微粒子が凍結氷晶形成・細胞膜破壊を操作可能なミネラルであり (図1 参照)、開発中の歳差磁場による過冷却促進の程度は、試料内に存在するマグネタイト微粒子の粒子径・コロイド濃度に依存することを明らかにした (図2 参照)。

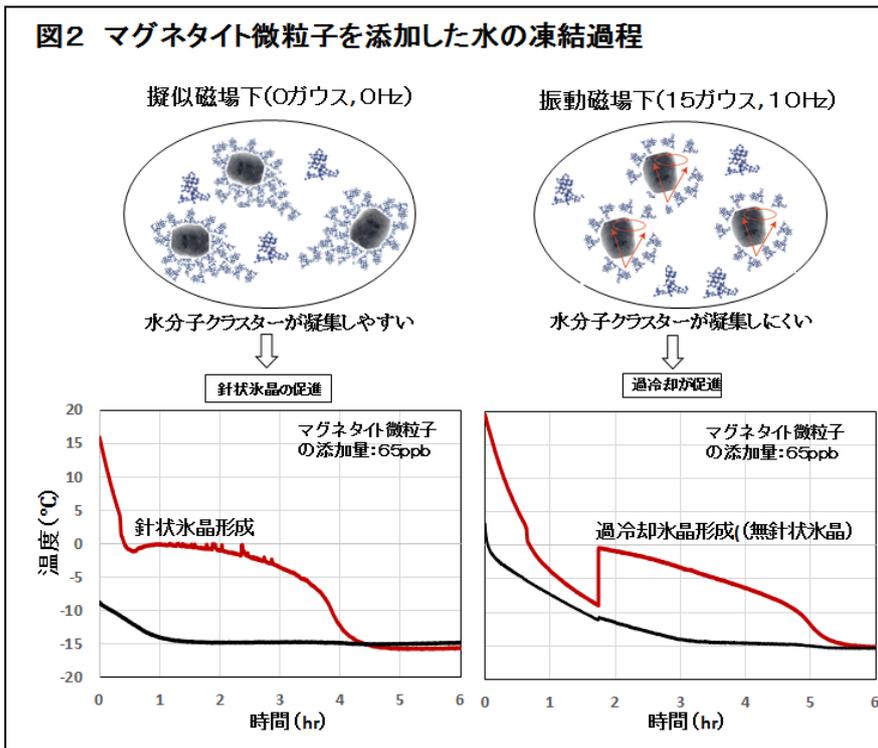


生体の凍結過程において、水分子クラスターが生体内にあるマグネタイト微粒子の表面に凝集する

一方で、植物資源の生殖細胞種の保存として、急速凍結保存法があるが、凍結時の針状氷晶形成が細胞壁を損傷するため、その解凍後の成長点は破壊されている。歳差磁場による植物再生細胞の過冷却凍結促進手法は期待できないという問題があった。

一方で、植物資源の生殖細胞種の保存として、急速凍結保存法があるが、凍結時の針状氷晶形成が細胞壁を損傷するため、その解凍後の成長点は破壊されている。歳差磁場による植物再生細胞の過冷却凍結促進手法は期待できないという問題があった。

図2 マグネタイト微粒子を添加した水の凍結過程

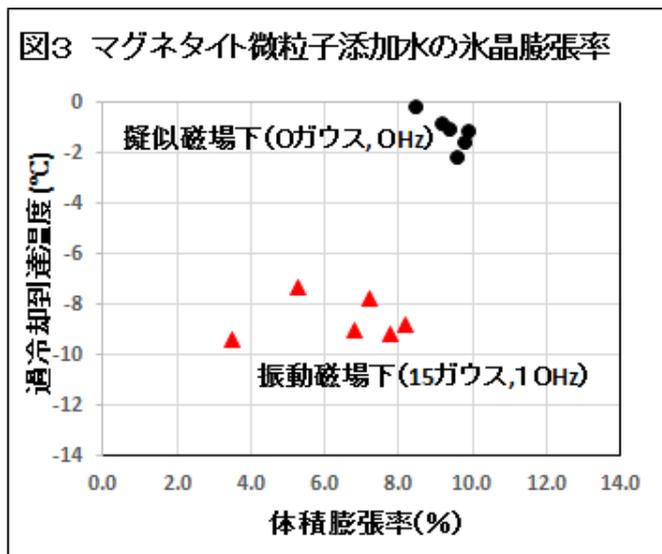


2. 研究の目的

マグネタイト微粒子を添加した水を擬似磁場下における通常凍結の場合と、振動磁場下で過冷却を生じた場合の体積膨張率を調べ、促進される過冷却の効果を調べてみた。その結果、驚いたことに、振動磁場下では、氷晶時の体積膨張率が約 3%~8%程度と非常に低くなり (図3 参照)、振動磁場による生体内マグネタイト微粒子による過冷却促進効果が期待された。

農産物種の資源保護・安定供給に向けて、胚芽・種など遺伝資源を管理君間で超低温貯蔵する

方法が研究されている。生体内マグネタイト微粒子氷晶モデル説による過冷却促進効果の応用を研究目的としたが、しかし植物には細胞膜の外側に硬い細胞壁があるため、凍結保存では間隙の水分膨張が細胞膜を損傷するので、個体再生が不能であることが明らかになった。そこで本研究は、歳差磁場下で植物細胞内に過冷却を促進し、耐寒温度を下げた状態を長時間持続させることによって、植物株の成長点の長期保存法を確立することを目的とした。



3. 研究の方法

本研究では、植物株組織内に分散存在するマグネタイト微粒子を振動磁場下で制御する技術開発に取り組んだ。

4. 研究成果

農産物や水産物の過冷却温度付近による低温貯蔵が注目されている。低温化で細胞組織の破壊を最小限に抑える貯蔵保存技術を開発するには、細胞内の水を過冷却状態で制御する技術が不可欠であると考えられる。本研究では、細胞株内に凝集する周辺の水クラスターを振動磁場下で振り払うことにより、植物細胞内に過冷却を促進し、耐寒温度を下げた状態を長時間持続させて、植物株の成長点が再生するか否かの検証実験を行った結果、細胞株が凍結すると、ほぼ成長点は再生しないことが明らかになった。そして凍結しない細胞株の成長点は再生することも確認された。また S Q U I D (超伝導量子干渉素子) 磁気測定装置による試料内の残留磁化値の測定により、この過冷却操作可能な氷晶核因子が磁性体微粒子マグネタイトであることを同定した。この学術的知見は、生物遺伝資源低温保存技術の基盤技術および鮮度保持が困難な農産物の低温輸送や長期保管技術といった今後の実用技術開発の発展に大いに貢献する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	田中 大介 (Tanaka Daisuke)	農業・食品産業技術総合研究機構・基盤技術研究本部・遺伝資源研究センター	
研究協力者	木原 久美子 (Kihara Kumiko)	熊本高専・生物化学システム工学科	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関