

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 16 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25600081

研究課題名(和文) 界面素過程の非線形性に起因する結晶成長の自発成長振動 - 宇宙実験による検証 -

研究課題名(英文) Oscillatory growth of ice crystal induced by nonlinear process of interfacial kinetic-Direct verification by space experiments

研究代表者

古川 義純 (FURUKAWA, Yoshinori)

北海道大学・低温科学研究所・特任教授

研究者番号：20113623

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：結晶の成長速度は、結晶周囲に対流などの擾乱がなければ時間的な変動は単調に推移するため、時間的な振動は観察されない。一方、不純物の分子が成長界面と相互作用する場合は状況が異なり、成長速度が周期変動する可能性がある。しかしながら、地上では必ず成長結晶の周囲には熱対流などの擾乱が存在するので、これを検証することは困難である。

国際宇宙ステーションの無重力環境において実施された、微量の不凍糖タンパク質を含む過冷却水中での氷結晶の成長実験2により、成長速度の周期的な変動が検出された。すなわち、成長界面での吸着分子の挙動の非線形性によって引き起こされた結晶の振動成長が、世界で初めて検証された。

研究成果の概要(英文)：It is an astonishing fact that nobody has directly proved yet that oscillation in the growth rate occurs for any crystal. The main reason for this lack comes from the ineluctable fluctuation of growth rate generated by natural convection around the growing crystal. Free growth experiments of ice crystals in supercooled water containing the antifreeze glycoprotein, which is a bio-macromolecule with a freezing-prevention function, were carried out under the nearby zero gravity condition realized in the International Space Station. From long-term measurements of growth rates using an interferometer, the direct evidence of periodic-oscillatory growth of the basal faces of ice crystals were obtained for the first time. This oscillation is probably driven by a novel kinetic process which relates the growth enhancement of the basal face to the adsorption of AFGP molecules, in conjunction with variations in interfacial supercooling.

研究分野：結晶成長学

キーワード：振動成長 結晶成長 氷結晶 不凍糖タンパク質 宇宙実験 微小重力

1. 研究開始当初の背景

(1) 鉱物結晶を輪切りにすると、その切り口にはしばしば縞模様が観察される。これは、ストリーションと呼ばれるもので、結晶内部での不純物濃度が周期変動することに対応している。このような縞模様は、結晶の成長に伴って導入されるもので、成長界面における不純物の実効分配係数と結晶の成長速度とが非線形的に相互作用するため、結晶に取り込まれる不純物の量が変動することがその要因と考えられ、いくつかのモデルが提案されている。この時、結晶の成長速度も変動することが期待されるので、結晶成長速度の周期振動を検出することが、結晶成長に対する不純物分子の効果を検証する上で極めて重要である。しかしながら、実際に成長している結晶界面において、成長速度や界面形状は本当に振動しているのかどうかを示す直接的な証拠は、これまで提示されていなかった。

(2) その原因は、結晶成長速度の時間変動を精密に測定することの困難性と、地上の重力下での実験では結晶成長に伴って発生する自然対流(流れ)に起因する成長速度の変動を排除することが出来ないことにある。このような困難を排除して、成長速度変動の精密な実験を行うためには、国際宇宙ステーションなどで実現される長時間無重力環境の利用が不可欠である。

(3) 不純物を含む過冷却水中での氷結晶の成長は、海水の生成や生体の凍結などと関連が深く、近年注目を集めている。特に、魚や昆虫などの変温動物の体液中に含まれる不凍(糖)タンパク質は、氷の結晶成長を制御する物質として極めて重要である。研究代表者は、不凍糖タンパク質の水溶液中での氷結晶の成長実験を行い、タンパク質分子の氷成長界面への吸着が結晶成長を制御することを直接観察することに成功している。地上実験では、不凍糖タンパク質を含む過冷却水中で氷結晶を自由成長させると、成長速度が周期的に変動する現象が観察されるが、対流効果は排除できていないので確証は得られていない。微小重力環境において実験を行うことで、この現象を検証可能であるため、国際宇宙ステーション「きぼう」を利用して氷の結晶成長実験を推進した。

2. 研究の目的

(1) 宇宙実験により取得された氷結晶成長の鑑賞顕微鏡による観察動画を詳細に解析することで、氷結晶ベール面の成長速度を高精度で測定し、その時間変動を長時間にわたり解析する。この宇宙実験データは、対流などの擾乱の効果が完全排除されていることが保証されるので、このデータにより成長速度の周期振動の検出を試みる。

(2) 一般的な結晶成長モデルは、成長界面前

方での熱または物質の拡散と界面での原子や分子の取り込み(カイネティクス)とが保存論的に釣り合うことを前提として構築され、本質的に線形の振る舞いを示す。しかし、結晶化のプロセスで何らかの非線形的要素を持つ素過程が存在すると、成長速度の変動が生じる。振動成長の実験的な検証を試みることで、新たな結晶成長の振動モデルの構築と新しい結晶成長メカニズムの解明を目指し、この分野の新たな課題に挑戦する。

3. 研究の方法

(1) 研究代表者は、2008年12月から約3カ月にわたり、「きぼう」において過冷却状態にある純水中での氷結晶の自由成長実験を実施した。この実験は、「きぼう」の運用開始直後に実施されたものであり、多くの困難に見舞われたが、最終的に大きな成功をおさめた。これがもとになり、2013年には不凍糖タンパク質を含む過冷却水からの氷結晶自由成長実験を実施する機会を再び取得した。実験に使用する実験装置は新規に設計・製作された。本装置は、地上からの遠隔操作のみで実験を繰り返すことができ、自然対流などの擾乱を完全に排除した環境で、結晶成長速度の高精度測定を可能にする。

(2) 「きぼう」での宇宙実験は、当初2013年8~10月に実施される予定であった。しかしながら、実験開始直後に「きぼう」の実験支援システムに不具合が発生したため、2度にわたって実験が中断した。2013年末に実験が再開したが、当初予定よりも8か月遅れて2014年6月に終了した。さらに、実験装置の光学系にも問題が発生し、位相差顕微鏡画像が失われ、干渉計画像のみによる観察が行われた。氷の結晶成長装置は正常に作動し、124回の実験が繰り返された。実験の遅れに伴い、本研究課題の進行にも遅れが生じたため、研究期間を1年延長することとなった。

(3) 宇宙実験で得られた結晶成長の動画データは、地上にダウンリンクされた。全124回のうち20回の実験で干渉縞画像が取得され、画像解析により成長速度の時間変動を解析するために使用された。この実験の成功率は、宇宙実験での実験制御はすべて遠隔操作で行われること、干渉縞画像を取得するためには成長する氷結晶の向きを正確に制御する必要があることなどを考慮すると、極めて高いと言える。

4. 研究成果

(1) 宇宙実験で取得された干渉縞の挙動を示す動画をスペース・タイム法により詳細に解析した。図1(a)は、動画のスナップショット画像で、干渉縞の見える部分が氷結晶のベール面に対応する。動画では、この縞々のパターンが縞に直交する方向に移動する様子が捉えられている。図1(b)は、干渉顕微鏡の光

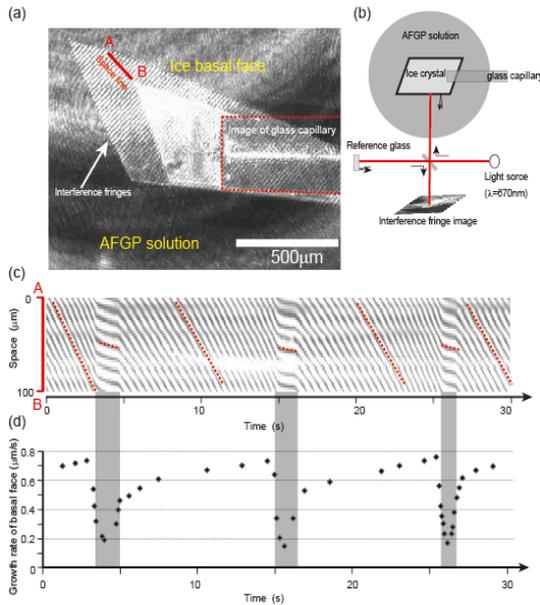


図1 宇宙実験で得られた氷結晶自由成長の動画の解析。実験条件は、不凍糖タンパク質の初期濃度 0.07mg/mL、成長開始時の初期過冷却度 0.3K。(a)動画から切り出された干渉縞画像。干渉縞の見える部分が氷結晶ベーサル面。(b)干渉縞像を得るための反射干渉光学系。氷/水の界面の光の反射係数はガラス表面野その1/500 であるが、十分なコントラストの干渉縞が得られている。(c)本動画を、(a)に示すライン S-S'に沿って解析して得られたタイム・スペースプロット。(d)タイム・スペースプロットから得られた成長速度の時間変動。極めて周期的な変動が観察された。

学系の模式図であるが、観察された干渉縞は観察面（ベーサル面）と参照ミラーからの反射光で生じるもので、干渉縞の移動速度はその観察面の成長速度に比例することがわかる。図1 (c)は、(a)に示された A-B ラインでのスペース・タイム解析の結果である。この図で見られる縞は、干渉縞の移動を示しており、縞が静止している場合は水平に延びるはずである。一方、干渉縞が移動する場合はその移動速度に比例する傾きを持つ。すなわち、縞の傾きが観察面の法線方向の成長速度となる。成長時間に対する成長速度の変化は図1 (d)に示されるが、成長速度の周期的な変動が明確に観察される。さらに、成長速度の振れ幅は、0.08-0.78μm/s で極めて大きいことや成長速度の変動履歴が周期毎にほとんど同一であることが特徴である。この解析により、成長速度の変動をもたらす最大要因である対流の擾乱が排除された環境において、結晶の成長速度は自発的に振動し得ることが、初めて実証された。

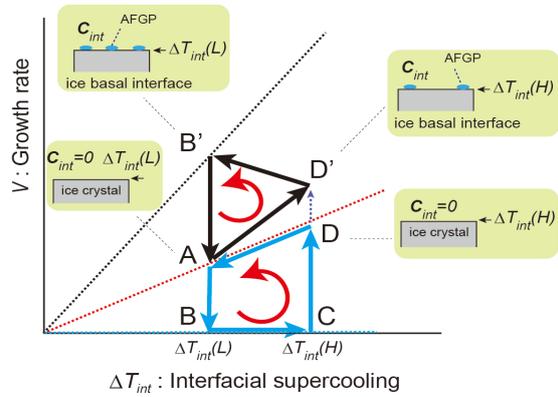


図2 結晶の振動成長を説明する模式図。青い矢印で示されるループは、不純物効果により結晶の成長が抑制される場合。黒い矢印で構成されるループが、本研究で明らかになった振動成長を説明する新しいループ。

(2) 純水中で成長する氷結晶の形状は、薄い円盤または樹枝上であることはよく知られている。すなわち、氷のベーサル面の成長速度は、プリズム面などの他の面より極めて小さい。しかしながら、不純物として不凍糖タンパク質が含まれると、ベーサル面の成長速度が促進されることが明らかになった。通常、結晶成長における不純物の効果は、結晶の成長速度の低下をもたらすと考えられている。したがって、本成果は不純物効果により結晶成長が促進されることを示す初の観察例である。これにより、結晶成長速度の振動は、成長速度が小さい時は不凍糖タンパク質の影響が小さく、速度の速い時により強い影響を受けていることを示唆する。

(3) 従来の結晶成長モデルでは、成長界面前方での熱または物質の拡散と界面での原子や分子の取り込み（カイネティクス）とが保存論的に釣り合うことが前提で、本質的に線形の振る舞いを示す。しかし、結晶化のプロセスで何らかの非線形的素過程が存在すると、このモデルは破綻する。近年、この非線形プロセスを考慮した結晶成長に振動モデルが提案されているが、これは不純物効果により結晶成長が抑制される（あるいは、成長が停止する）ことを前提として構築されている。前項(2)で示したように、氷ベーサル面に対する不凍糖タンパク質の効果は、この前提とは完全に異なる。したがって、この系での振動成長を説明するには新たなモデルの構築が必要である。

(4) 結晶成長の駆動力である界面過冷却度に対する成長速度の周期的な変化の仕方を、模式的に示したものが、図2である。赤の破線は、不純物効果が存在しない場合の成長速度の過冷却度依存を示す。不純物効果により結晶の成長が抑制される場合の従来のモデルで

は、界面に吸着した不純物分子の量により成長速度が周期的に変化することが、図の青矢印で構成されるループ ABCDA で説明される。すなわち、A 点では、界面に不純物分子は存在しないが、成長の進行とともに吸着量が増加し、ある臨界の吸着量に達すると不純物分子のピン留め効果により、成長が停止する (B 点)。成長が停止すると、界面からの潜熱の放出も停止するので界面過冷却度は増加する (C 点)。ある臨界の過冷却度に達すると不純物分子によるピン留め効果が解消するため成長が再開する (D 点)。成長が開始すると潜熱の放出により界面過冷却度が低下する (A 点)。このようにして、成長速度の周期変動が完成する。

(5) 一方、不純物効果により結晶成長が促進される場合については、AD'B'A で示されるループにより結晶成長速度の振動が可能である。すなわち、A 点から成長が継続すると界面への不純物分子の吸着量が増加し成長が促進される (D'点)。同時に吸着量の増加に伴いさらに成長速度が増加すると、潜熱の放出のため界面過冷却度は減少する (B'点)。界面への吸着量が何らかの原因で減少すると成長速度も急減し、A 点に戻る。このループによる結晶の振動成長は、これまで知られていない不純物効果を示唆する新しい結晶成長機構であり、理論モデルの構築と数理科学的な解析の推進が今後極めて重要となる。

(6) 本研究で取り扱った系は、生体高分子に代表されるマクロ分子 (タンパク質、アミノ酸などの分子) に制御される新しい結晶成長機構の理解に直結するものである。すなわち、近年研究の推進が著しいバイオクリスタリゼーションの研究分野に直結している。このことから、本研究は挑戦的萌芽研究として十分な成果を得ることができた。現在、成果を論文誌の公表するための準備を進めており、近々投稿を行う予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① Y. Furukawa, E. Yokoyama, I. Yoshizaki, H. Tamaru, T. Shimaoka, T. Sone, Crystal Growth Experiments of Ice in Kibo of ISS, International Journal of Microgravity Science and Application, Vol. 31, 93-99, 2014. 査読有 . <http://www.jasma.info/journal/?report=crystal-growth-experiments-of-ice-in-kibo-of-iss>

[学会発表] (計 12 件)

- ① Y. Furukawa, K. Nagashima, S. Nakatsubo, I. Yoshizaki, H. Tamaru, T. Shimaoka, T. Sone, T. Maki, A. Yamamoto, H. Asakawa, G. Saza

ki, Growth Oscillation of ice in water including antifreeze glycoprotein under microgravity in ISS, 31th Annual Meeting of the American Society for Gravitational and Space Research, 2015 年 11 月 11-14 日, The Westin Alexandra Hotel, Alexandra (USA).

- ② Y. Yeh, Y. Furukawa, Effect of antifreeze proteins at water/ice interface under microgravity on the ISS, JSPS Alumni Meeting USA (招待講演), 2015 年 11 月 5-6 日, UC. Davis, Sacramento (USA).
- ③ 古川義純, 長嶋剣, 横山悦郎, 田丸晴香, 吉崎泉, 島岡太郎, 不凍糖タンパク質が制御する氷の振動成長 (招待講演), 第 45 回結晶成長国内会議, 2015 年 10 月 19-21 日, 北海道大学学術交流会館, 北海道札幌市.
- ④ Y. Furukawa, K. Nagashima, S. Nakatsubo, I. Yoshizaki, H. Tamaru, T. Shimaoka, T. Sone, T. Maki, A. Yamamoto, Oscillatory growth of ice crystal observed under microgravity condition in ISS-Kibo, The 22nd ELGRA Symposium and General Assembly, 2015 年 9 月 29 日-10 月 1 日, Corfu Chandris Hotel & Villas, Corfu (Greece).
- ⑤ 古川義純, 長嶋剣, 麻川明俊, 中坪俊一, 村田憲一郎, 佐崎元, 吉崎泉, 田丸晴香, 島岡太郎, 曾根武彦, 真木孝雄, 山本明日佳, 氷の自励振動成長-Ice Crystal 2 実験の成果一, 第 28 回日本マイクログラフィティ応用学会, 2014 年 11 月 25-27 日, イーグレ姫路, 兵庫県姫路市.
- ⑥ 古川義純, 長嶋剣, 麻川明俊, 中坪俊一, 村田憲一郎, 佐崎元, 吉崎泉, 田丸晴香, 島岡太郎, 曾根武彦, 真木孝雄, 山本明日佳, 氷結晶の自励振動成長-国際宇宙ステーション実験の概要, 第 44 回結晶成長国内会議, 2014 年 11 月 6-8 日, 学習院大学百周年記念会館, 東京都目黒区.
- ⑦ Y. Furukawa, K. Nagashima, H. Asakawa, G. Sazaki, S. Nakatsubo, I. Yoshizaki, H. Tamaru, T. Shimaoka, T. Sone, Self-oscillatory growth of ice-Ice crystal 2 experiments carried out in "Kibo" of ISS, 10th Asian Microgravity Symposium, 2014 年 10 月 28-31 日, President Hotel, Seoul (Korea).
- ⑧ Y. Furukawa, Oscillatory growth of ice crystal induced by effect of antifreeze glycoprotein (招待講演), FMSP Tutorial Symposium on Mathematics for Various Discipline 13, "Mathematical Aspects of Surface and Interface Dynamics VII, 2014 年 10 月 22-24 日, 東京大学, 駒場, 東京都目黒区.
- ⑨ Y. Furukawa, K. Nagashima, S. Nakatsubo, I. Yoshizaki, H. Tamaru, T. Shimaoka, T. Sone

e, E. Yokoyama, T. Maki, A. Yamamoto, H. Asakawa, K. Murata, G. Sazaki, Oscillatory growth of ice basal face observed in supercooled water with antifreeze glycoprotein-Ice crystal 2 experiments, 6th International Symposium on Physical Sciences in Space, 2014年9月14-18日, 同志社大学, 京都市.

- ⑩ Y. Furukawa, Oscillatory growth of ice crystal in the solution of antifreeze glycoprotein(招待講演), 2nd Ice Binding Protein Conference, 2014年8月4-7日, 北海道大学学術交流会館, 札幌市北区.
- ⑪ Y. Furukawa, Self-oscillatory growth of ice crystal-Microgravity experiment in Kibo of ISS, 24th AACG Western Section Conference on Crystal Growth & Epitaxy (招待講演), 2014年6月8-11日, Stanford Sierra Camp, Fallen-Leaf Lake(USA).
- ⑫ Y. Furukawa, G. Sazaki, K. Nagashima, H. Asakawa, E. Yokoyama, S. Zepeda, Y. Nishimura, Oscillatory growth of ice crystal in the solution of antifreeze glycoprotein, 13th International Conference on the Physics and Chemistry of Ice, 2014年3月17-20日, Dartmouth College, Hanover(USA)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0件)

○取得状況(計 0件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

古川 義純 (FURUKAWA Yoshinori)

北海道大学・低温科学研究所・特任教授

研究者番号：20113623