

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 17 日現在

機関番号：12608

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26630062

研究課題名(和文) 生体内マグネタイト微粒子氷晶モデルに基づいた無針状氷晶凍結技術の向上

研究課題名(英文) Improvement of needless ice freezing method based on the model of ice formation on the biological magnetite in the tissue.

研究代表者

小林 厚子 (Kobayashi, Atsuko)

東京工業大学・地球生命研究所・研究員

研究者番号：50557212

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：生体内マグネタイト微粒子(Fe_3O_4)が氷晶核となり得ることに注目して、“生体内マグネタイト微粒子氷晶モデル説”を提唱し生物組織の破壊を阻止する技術を進めた。マグネタイト微粒子を取り除いた超純水では、融解熱の放出が測定され過冷却氷晶を形成する。マグネタイト微粒子を添加した水あるいは水道水(マグネタイトが不純物として存在する)では、この融解熱を放出しないで凍結することが検証された。過冷却が促進するか否かは、試料水に含まれるマグネタイト微粒子の含有量に依存することも明らかになった。凍結する前と後での体積変化率を調べてみた結果、過冷却が促進した場合は、氷晶の体積変化が小さいことも明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Our theory holds that these weak magnetic fields could be inhibiting ice-crystal nucleation on the nanocrystals of biological magnetite (Fe_3O_4 , an inverse cubic spinel) that are present in many plant and animal tissues by causing them to oscillate. Here we report that the addition of finely-dispersed magnetite to ultrapure water samples reduces the incidence of supercooling, as measured with multiple-thermocouple experiments conducted using a standardized freezing apparatus. The probability of achieving supercooling in water samples also decreases with increasing levels of ferromagnetic contamination as measured through superconducting moment magnetometry. We also report an interesting relationship between the volume change of ice and the initial degree of supercooling, that may indicate lower degassing during the crystallization of supercooled water.

研究分野：環境熱工学

キーワード：生体内マグネタイト 氷晶核 残留磁化測定 過冷却

1. 研究開始当初の背景

細胞組織を破壊しない無氷晶凍結は、食料保存・医学治療技術の進歩において中心課題の一つである。最近、ABI 社が CAS システムという自社開発機能を備えた冷凍庫を販売している。低周波数の電磁場下(10 ガウス以下)で試料内の水分子を振動させることによって過冷却が促進され、細胞組織の破壊が最小限に抑えられる凍結保存が可能になったとしている。ところが一方、CAS の効果が得られない試料の存在、またその物理的な矛盾が指摘されてきている。というのは水は反磁性を示すので、10 ガウス程度の電磁場下では、熱運動以外の影響を受けるとは考えられない。この矛盾の起因は水の氷晶過程が正しく理解されていないことにある。

2. 研究の目的

これまでに申請者等は、磁性細菌・ヒトの脳組織・がん組織から粒子径 40~80nm の強磁性体マグネタイト(Fe_3O_4)を検出し、組織 1 cm^3 に約 4~10ng のマグネタイト微粒子が存在することを報告した。そこで申請者等は生体内マグネタイト微粒子が氷晶核となりえることに着目し、「生体内の磁性体微粒子氷晶モデル」を提唱した。本研究は、このモデルを検証することによって、CAS システムの物理的な矛盾がどこにあるかを明らかにすることから始めた。マグネタイト微粒子が振動磁場下で振動することに注目した“生体内マグネタイト微粒子氷晶モデル説”を提唱し、針状の氷晶形成を阻止する凍結技術の向上を図ることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 通常の水と磁性体微粒子を取り除いた超純水を用いて、CAS システムの過冷却効果を実験的に検証し、生体内の磁性体微粒子凍結モデル説を実証する。

(2) 試料の磁性体微粒子含有量を知る為に、超電導量子干渉素子 (SQUID) 測定法を用いて試料中の残留磁化曲線を測定し、その曲線か

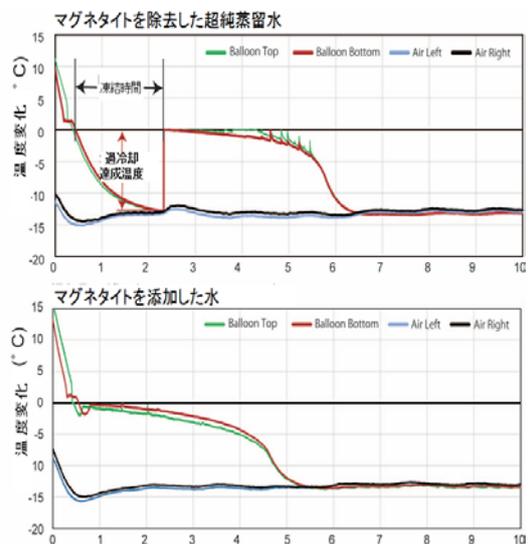
ら磁性体の種類、粒子含有量等を推定していく。使用予定の SQUID 装置は、多くが岩石の残留磁性を測る古地磁気学分野で使用されている。縦型 SQUID 装置は、測定中、試料の凍結状態を保つために、測定下部位に液体窒素を常時流すダクトを設置することが可能である。本研究では、カリフォルニア工科大学の縦型 SQUID 装置を使用することになるので、連携研究者である Kirschvink 教授から協力をいただいた。

(3) 過冷却が生じる場合と生じない場合の体積変化を測定し、そのマグネタイト微粒子の氷晶核としての効果を検証する。

4. 研究成果

過冷却実験：図 1 は、過冷却・凍結実験の結果を示す。凍結過程において、過冷却状態から部分的な凍結への移行は、熱の放出による急激な温度上昇によって明らかである。マグネタイト微粒子を含有する試料水では、零度付近に達すると融解熱(80cal/g)を放出し、氷晶を形成し凍結状態に移行する。一方、マグネタイト微粒子を除去した超純水から熱を奪い続けると、水クラスターの熱運動が止まるまで過冷却が促進する。運動が止まる瞬間に、融解熱を放出し凍結温度に達する急激な温度上昇が観察された後、零度付近で過冷却氷晶凍結を形成しながら凍結状態に移行することが明らかになった。

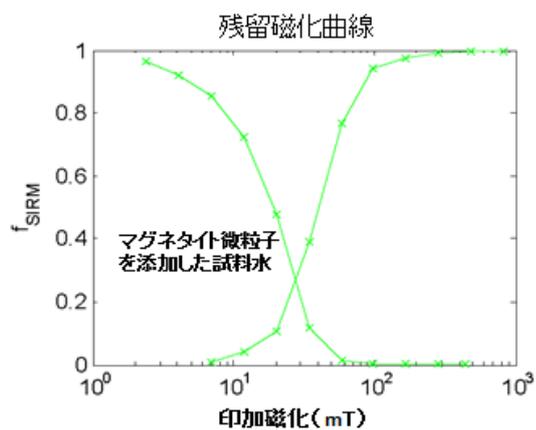
(図 1) は、凍結過程における温度変化を示す。



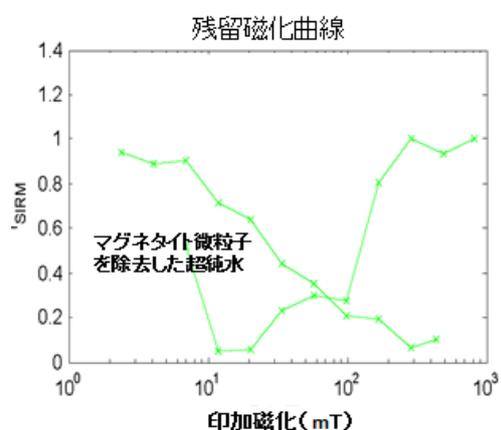
この実験から、マグネタイト微粒子が氷晶モデルとなることが明らかになった。

超電導量子干渉素子(SQUID)による残留磁化曲線測定： 試料中に混在するマグネタイト微粒子の含有量を知るために、縦型超電導量子干渉素子装置で測定した。測定に用いたガラス容器のすべては、一晚塩酸に浸して洗浄し、容器に付着している磁性体微粒子を取り除いた。マグネタイト微粒子を除去した超純水を凍らせ、試料内の強磁性体微粒子の含有量を測定した結果、洗浄したガラス容器本体と同じ程度の信号を得た(約~2ppb 含有量、図2) 超純水試料水には、マグネタイト微粒子が除去されていると断定できた。次に、マグネタイト微粒子の混入水の作成段階で、添加するマグネタイト微粒子の量が非常に微量で計量することができないため、超純水に市販のマグネタイト微粒子(粒子径平均0.05~0.08 ミクロン)を混合させた試料水の残留磁化値を測定することにした。そして、その測定濃度に応じて、超純水で希釈したものを試料水とした。本実験では約70ppb(図3) 含有量の試料水を用いた。

(図2)

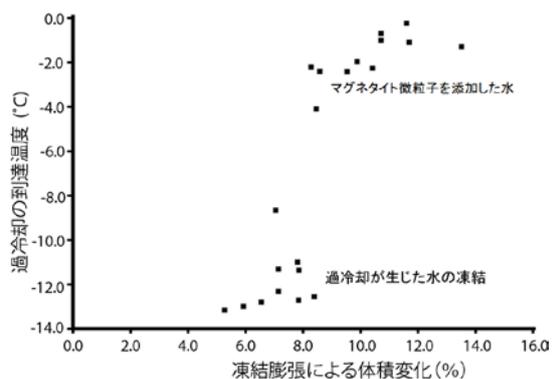


(図3)



氷晶の体積変化率： 一般的に水が凍結するとその体積は10%程度膨張することが知られている。そこで過冷却が生じた超純水と過冷却が生じなかったマグネタイト微粒子含有試料水の体積変化率を調べてみた。その結果を図4に示す。

(図4)



驚いたことに、過冷却が生じないマグネタイトを添加した水では、その体積変化率は、19%から14%程度になる。ところが、過冷却が生じる超純水の体積変化率は、5%から8%前後でしかない。つまり、過冷却が生じると、体積膨張率は小さいので、結果的に見て細胞組織への損傷が少ないといえる。また残留磁化曲線測定により、試料中に含有するマグネタイト微粒子の量は、試料に依存することがわかる。以上のことをまとめると、低周波数の電磁場下でCASシステムの効果があるのは、水分子の影響ではなく、試料中のマグネタイト含有量に依存するというのが正しい物理的理解である。過冷却の促進が現れない試料もあると予測され、今後、本研究を更に発展させることによって、計画的な食糧保存・適切な医療への貢献が期待できる。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① Kobayashi Atsuko, Harry N. Golash and Kirschvink L. Joseph, "A First Test of the Hypothesis of Biogenic Magnetite-based

ず Heterogeneous Ice-Crystal Nucleation in Cryopreservation”, Cryobiology. 72 (3), 216-224. DOI:10.1016/j.cryobiol.2016.04.003 (査読有)

[学会発表] (計 1 件)

① Atsuko Kobayashi, On the mechanisms for the action of electric and magnetic fields in cryopreservation. World Forum on biology CRYO2014, (6. 2014), Savanna, GA USA.

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称 : Magnetite-based Heterogeneous ice crystal nucleation

発明者 : Atsuko Kobayashi & Joseph L.Kirschvink

権利者 : 同上

種類 : 特許

番号 : Provisional patent 15/406,603

出願年月日 : 2017 年 1 月 13 日

国内外の別 : 米国

○取得状況 (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小林 厚子 (Kobayashi, Atsuko)

東京工業大学・地球生命研究所・WPI 研究員

研究者番号 : 50557212

(2) 連携研究者

カーシュビンク ジョセフ (Kirschvink, Joseph)

東京工業大学・地球生命研究所・教授

研究者番号 : 80721258