



Title	生物の凍結過程の分析 : VI. 植物細胞液の凍結過程の一様式
Author(s)	朝比奈, 英三; ASAHINA, Eizo
Citation	低温科学, 5, 115-119
Issue Date	1950-12-25
Doc URL	<a href="https://hdl.handle.net/2115/17478">https://hdl.handle.net/2115/17478</a>
Type	departmental bulletin paper
File Information	5_p115-119.pdf



## 生物の凍結過程の分析 VI. 植物細胞液の凍結過程の一様式\*

朝比奈英三

(低温科学研究所 生物學部門)

(昭和23年5月受理)

### I

植物細胞の急速凍結によるフラツシング(1)には二つの様式があり、その一つ即ち液滴式の凍結過程については既に詳述した(2)。残る一様式即ち氷粒式と言ふのは、凍結した細胞の内容が無数の微少な氷粒とその間を埋める一様に透明な氷塊とに區別され、しかもその氷粒はきはめて規則的な球形を呈しているものである(1の第9圖)。生きた細胞で見られる氷粒式の凍結過程を簡単に述べると、細胞の過冷却が破れた瞬間細胞膜のすぐ内側に鈍頭の透明な樹枝状物が現れ、その枝が密に且急速に細胞内一杯にのびひろがり最後に中心部に達する。この枝は伸びながらその根本から次々に分斷して細かい粒となつて行き遂には細胞内全般に分布する氷粒<sup>(1)</sup>となつてしまう。こうなつた時はこの氷粒の間を埋めている部分も既に完全に水である。これは果して氷の枝が最初に出來て、それが切れるのであろうか、又それならば氷粒の間を埋める氷は何時凍つたのであろうか、之等の疑問を解く爲にはその凍結過程を更に詳しく知る必要がある。この爲しぼり出した細胞液の凍結過程を先づ觀察してみた。元來氷粒式のフラツシングを起こすものは柔細胞に極めて多く、柔細胞の内容の大部分を占めるものは細胞液だからである。

### II

材料はテーブル・ビートの葉柄の髓の柔細胞を用ひ、1947年4月及5月に實驗を行つた。この細胞液は自然状態で鮮紅色を呈し、細胞の原形質分離の限界濃度は蔗糖の約0.5モルに當つた。細胞液は、しぼり出されてもその色調には殆んど變化がないが、凝固した細胞質の破片其他の色々な夾雜物を含んでいて、見かけ上の氷點は $-1^{\circ}\text{C}$ 附近にあつた。この細胞液を $600\mu \times 600\mu \times 30\mu$ 位の懸滴とし、流動パラフィンに封じて凍らせる。方法はきはめてゆる

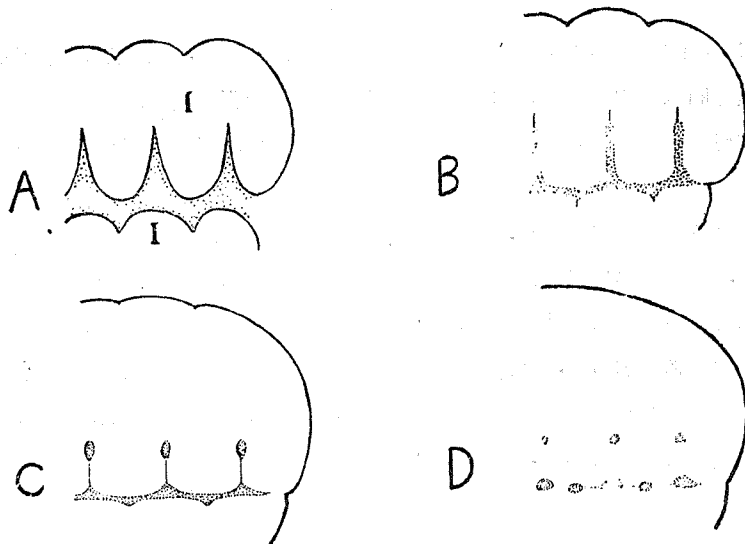
\* 北海道大學低温科学研究所業績 第92號

1) その融解の過程(3)より見てこの粒の主成分は明らかに氷であるから氷粒と假稱する。

2) 常温で少くとも30分間。

やかに冷却してゆき、<sup>1)</sup> 任意の温度に止めて1分間以上保つた後、微少な氷晶を懸滴の一端に接して一即ち植氷して一過冷却を破るのである。この方法で $-4^{\circ}\text{C}$ 以下に過冷却させた場合に氷粒式の凍結を觀る事が出来た。

氷は先づ植氷點に現はれ樹枝状に分岐して懸滴全體にひろがる。この様な第一次の樹枝状氷は最後迄無色透明であつて、紅色の細胞液はこの氷の枝がのびるにつれ枝の間に細かく挟まれて濃縮されてゆく(第1圖A)。その結果鈍頭をなす氷の板が會い接すると最も濃縮された紅色の液はこの場所に脈状のものとして析出される(第1圖B)。脈状の紅色部は始めは枝の少ない樹状又はジクザク形の混棒状であるが、次の瞬間には分斷して粒状となる(第1圖C)。切れた粒は間もなくまるい滑らかな輪廓を持つ様になる(第1圖D, 第2, 第3圖)。凍結する時の温度が低い程切れ方は細かく又少くとも $-6^{\circ}\text{C}$ 位迄では分斷する速さも大きくなる。<sup>2)</sup> しかし夾雜物を多く含んだ粒では球形に近づくに相當時間がかかる(第2, 第3圖)。小形(徑 $5\mu$ 以下)の粒は殆んど皆規則的な球形で無色透明のものが多いが、大形の粒は未だに紅色で且最初細胞液が凍る前にその中に見られた夾雜物の一部を含んでいるものもある。かう



第1圖 氷粒式の凍結過程. 模式圖

A. 第一次の氷 (I) に挟まれて濃縮された細胞液は、B. 脈状のものとして析出され、C. 之がきれて、D. 多數の氷粒となる。

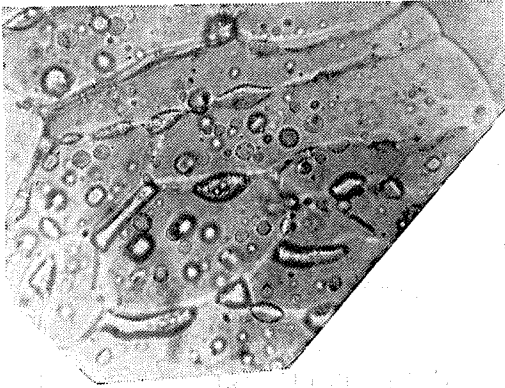
して最後には凍結した細胞液は多數のまるい微粒が、第一次の氷の枝が発達して出来た様に透明な氷塊の中に象眼された形で残つている状態となる。第一次の氷の枝の接合面の痕は次第に消へて行くが主要なものだけは一様な氷の上に最後迄残つている(第3圖)。細胞液の

- 1) 温度 $1^{\circ}\text{C}$ 低下させるのに4分以上かかる様に調節する。尙装置及方法は前報(1)参照。
- 2) 以上の過程は $-6^{\circ}\text{C}$ にて凍結させた時通常2分以内で終り、大部分の粒の大きさは徑 $10\mu$ 内外又はそれ以下である。

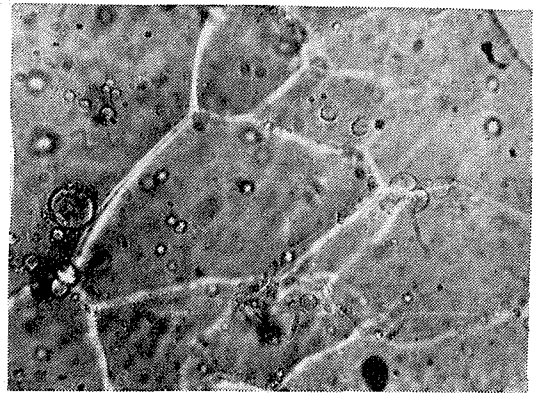
凍結後その中の微粒は透明なものでもその周囲の第一次の氷よりは明らかに暗色である。しかもこの様な暗化は棍棒状物として析出された時既におこり、それ以後は全く色調の變化は見られない。

-4°Cより高い温度で細胞液を凍らせても上に述べた様な結果とならないわけではないが出來た粒は一般に大きく且不安定で數分の間に周囲の様な氷の中に消えてしまう。-4°C以下でも時間の経つにつれ粒の數は減つてくる(第3圖)。粒の中で比較的小さいものは大形のものと同融合したり周囲の氷の中に消えて行くのが見られる。

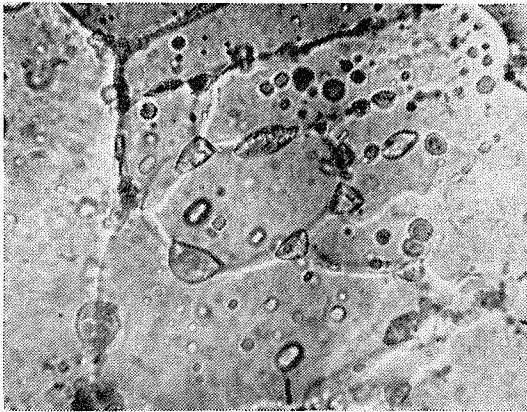
さて凍結した細胞液を融かしてみると、温度の昇るにつれ先づ大形の粒が融け始め、その



第 2 圖



第 4 圖



第 3 圖



第 5 圖

- 第2圖 -6°Cにて植米し凍結させた細胞液の一端。-7°Cに保ちて20分後。  
 第3圖 同一物、更に-10°Cに冷して同温度に保ちて43時間後。米粒は小形のものは減少し、夾雜物を含んだ大形のもの球形に近づく。  
 第4圖 同一物、-10°Cに70時間保つて後、ゆつくりと暖め-1°C附近迄温度が昇つた時の状態。米粒は殆んど消へ夾雜物のみが一樣な氷の所々に残る。  
 第5圖 同一物。すべての氷が融け切つた直後。

(第2, 3, 4圖の右上端の線は第一次の氷の末端を現はす)

1) 變形は-3.5°C附近より始まる。

輪廓の一部が突然ぼんやりと淡くなる。この淡くなつた部分から粒は、恰度満月が日の經つにつれて欠ける様に消へてゆき、遂に周圍の一樣な氷の中に全く消へ去つて、原位置にはその粒の含んでいた夾雜物の殘骸が見られる。殘骸の周圍にはその粒がもつていた紅い色にちんだ様にひろがつて見えるが、その色調は明らかに變つている（第4圖）。小形の粒もやゝ遅れて同じ様な過程を経て消へ去るがその位置には痕跡さへ止めないのが常である。その結果凍結した細胞液は殆んど單一の氷塊のみとなるが、これは粒が消失した後に始めて融解を始め、その行動は純粹の氷の場合と全く同様である。

### III

以上の觀察を生きた植物細胞の氷粒式凍結及其の融解の過程(3)と比較すると、上述の凍結過程が細胞内に於けるそれと完全に同一とは言えないにしても、それと同じ様式の過程をとるものと考へられる。こうして凍結した細胞液の中で第一次の氷は恐らく純粹の氷であるが、二次的に出來た無数の粒は何であろうか。著者は今迄これを一應氷粒と呼んで來たがその本體は未だよくわからない。この粒が偏光を通過させる事や融解の過程等から見て、氷を主とする固形物であろうとは思はれるが、氷の他に多くの物質を含んでいる事は明らかである。

ゲラチンのゲルでは濃度2%乃至40%のものを $-6^{\circ}\text{C}$ 乃至 $-13.5^{\circ}\text{C}$ に露して凍らせると氷とゲラチンよりなる固溶體と濃縮されたゲルを分離すると言はれているが(5)、その凍結状態及び融解の過程は細胞液の場合と相當に異つている。Moran(4)は12%のゲラチンゲルを $-19^{\circ}\text{C}$ 以下で急に凍らせた結果徑 $3\mu$ 位の規則的な微氷球が濃縮されたゲルの中に密に散布している凍結状態を觀察した。又Hardy(5)によれば、Moranの觀た様な微氷球は2%以下のうすいゲラチンゲルを $-3^{\circ}\text{C}$ 以下の低温で凍らせた時現はれるもので、この球は純粹の氷である。著者も1%のゲラチン又は澱粉のゲルを細胞液で行つたと同じ方法で凍らせた時、氷粒式の凍結過程と甚だ類似した現象を觀たが、第一次の氷の間に析出された脈状部は細胞液凍結の場合よりも分斷しにくいのが常であつた。しかしこの様な脈状部は極めて僅か暖める事により容易く切れて粒状となつた。細胞液の場合でも氷粒が形作られるのは、通常氷結による潜熱の放出の爲懸滴の温度が昇りつゝある最中であることは甚だ興味深い。凍結したゲラチンゲルの中に脈状のものから切れて出來た氷粒の融解過程は、凍結した細胞液の中の氷粒の場合と甚だよく似ていて、Hardyの述べた氷粒のそれとは明らかに異り、少くとも著者の觀た氷粒は純粹の氷ではなかつた。

### 摘 要

テーブルビートの葉柄の柔細胞の細胞液を微少な懸滴とし、 $-4^{\circ}\text{C}$ 以下の温度で凍らせる

と次の様な過程が見られる。

1. 植氷点より樹枝状に分枝した氷が懸滴全體にのびひろがる。
2. 細胞液はこの様な第一次の氷の枝に細かく挟まれて濃縮されて行き、氷の會い接した部分に暗色の棍棒状物として析出される。
3. 棍棒状物は間もなく分斷して細かい粒となり、その形は球に近づく。
4. その結果多數のまるい微粒が一様に透明な氷塊の中に象眼された状態となる。

上述の第一次の氷からなる一様な氷塊は恐らく粹純の氷であるが、二次的に出來た微粒は氷の他に色々な物質を含む未だ構造不明の固形物である。融解の過程はこの微氷粒が周圍の一様な氷の中に先づ融けこみ、しかる後に一様な氷が融けて液となる。

## 文 献

1. 朝比奈英三 1950 生物の凍結過程の分析 II. 植物柔組織の凍結過程の顯微鏡的觀察 低温科學 3, 229.
2. 朝比奈英三 1948 生物の凍結過程の分析 V. 植物細胞のフラッシ型凍結の一様式に就いて 同誌 4, 85.
3. 朝比奈英三 未發表
4. Moran, T. 1926 The freezing of gelatin gel. Proc. Roy. Soc. London, A, 112, 30
5. Hardy, W. B. 1926 A microscopic study of the freezing of gel. Ibid. A, 112, 47

## Résumé

The freezing process of "ice particle type" flashing was observed, using the squeezed cell sap of parenchymatous cells of the petiole of red beet. At a temperature below  $-4^{\circ}\text{C}$ , a small drop of the sap freezes as follows; Ice, which has been formed at the inoculated point, grows radially till the whole drop is filled with dendritic ice crystals, and between them the cell sap is condensed. The concentrated sap forms, at first, many zigzag rods of dark colour, and then these are divided into a large number of particles (Fig. 1). These particles become spherical soon after the division. Consequently, the frozen sap drop is everywhere closely studded by minute particles with rounded edges and the space between them is packed with homogeneous ice mass which has been formed by fusion of the dendritic crystals.

When warmed above  $-3.5^{\circ}\text{C}$ , the minute particles fuse in the surrounding homogeneous ice mass before the thawing of the latter begins. On thawing, the homogeneous ice mass which now fills the entire drop behaves likewise as pure ice.

The minute particles in the frozen cell sap are assumably a solid material constituted mainly with ice, though the structure of them is yet unknown in details.