



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	氷結晶成長を支配するタンパク質 : 氷点下に生きる生物はいかにして凍結を回避するか
Author(s)	古川, 義純; Furukawa, Yoshinori; Zepeda, Salvador 他
Description	最近の研究から
Citation	日本物理学会誌, 65(2), 98-103
Issue Date	2010-02-05
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/42707
Rights	© 2010 日本物理学会
Type	journal article
File Information	urukawa_butsuri65.pdf



最近の研究から

氷結晶成長を支配するタンパク質－氷点下に生きる生物はいかにして凍結を回避するか－

古川義純, ZEPEDA Salvador, 宇田幸弘

(北海道大学低温科学研究所 060-0819 札幌市北区北19条西8丁目 frkw@lowtem.hokudai.ac.jp)

寒冷な環境に住む変温生物には、体液を過冷却状態に保ちながら凍結することなく生存できるものがある。彼らは、体内に生成した不凍(糖)タンパク質の氷界面吸着効果で、氷結晶の成長を強制的に抑制するという驚くべきしくみを獲得している。氷結晶成長実験により、氷界面へのタンパク質吸着は、可逆的な二段階のモードで起こることが明らかになった。この特有の吸着特性とその氷結晶成長抑制機構との関連を紹介する。

1. はじめに

水は生物にとって必要不可欠なものであるが、氷点下では凍結して固相に変わり、生物の生存に危害を及ぼす。細胞水が完全に凍結すると、細胞組織は破壊され生物は死滅してしまうが、実際には氷点下の極限環境のなかでも多くの変温生物が生命活動を維持している。彼らは進化の過程でさまざまな耐凍結戦略を獲得しているのである。

その戦略とはいかなるものであろうか？一般には、体液中の糖質や電解質の濃度を高めて、モル凝固点降下によって体液の融点を下げて凍結を防ぐという、平衡論的戦略をとるものが多い。しかし、中には体液の融点を変化させることなく、過冷却状態を保ちながら、

生命を維持できるものもいる。彼らは、体内で“氷結晶の成長を制御する機能”を持つ特殊なタンパク質を生成し、界面に吸着したタンパク質が界面の移動を機械的に阻止するという驚くべき戦略を獲得しているのである。このような戦略の影には、氷の界面構造や結晶成長機構、そしてタンパク質の氷との相互作用など、さまざまな現象が複雑に絡み合っている。しかしながら、このような機能性タンパク質そのものの構造や特性については研究が盛んであるが、氷界面でどのような挙動をとるのか、さらに氷結晶成長をいかにして制御するかについては、未解明な部分が多い。その理由は、氷/水界面（すなわち固液界面）で起きる結晶化のダイナミクスに直接アプローチできるような実験が非常に難しいことにある。我々は、光学的手法を駆使して、この特殊なタンパク質の氷界面吸着特性を解明することを目指している。本解説では、最新の実験成果を紹介し、この興味深い研究分野への誘いとしたい。

2. 氷結晶成長を抑制するタンパク質とその機能の特徴

最初にこのような機能性タンパク質の存在が知られるようになったのは、海水に覆われた極海に住む魚の血液中であった¹⁾。魚の血液の塩濃度（約 1.5%）は、海水の塩濃度（3%）よりも低く、融点はそれぞれ -0.9°C と -1.9°C である。すなわち、魚の血液は約 1 K の過冷却状態にあり、その中には微細な氷結晶が存在しているが、凍結することはない。この血液からは、糖鎖が結合した不凍糖タンパク質（Antifreeze glycoprotein; AFGP）一種と糖鎖が結合しない不凍タンパク質（Antifreeze protein; AFP）四種が同定されている²⁾。分子構造はタイプごとに大きく異なるが、

同様の氷結晶成長抑制機能を発現する³⁾。また、最近では魚以外の陸生の昆虫⁴⁾やバクテリア⁵⁾、さらには植物⁶⁾などでも、新種のAFPが相次いで発見されている。これらの生物は、魚よりもさらに過酷な寒冷環境にさらされる。このため、魚の血液よりも格段に大きな過冷却度で凍結を防ぐことができる、強い凍結抑制機能をもつ。

このように、生体の凍結抑制という同じ機能を持つタンパク質は、これまでに10種類以上が同定されていて、それぞれ異なる構造や特性を持つ。我々の研究室では、いくつかの種類のタンパク質を試料として使って比較検討しているが、混乱を避けるためここでは最も一般的な魚のAFGPに焦点を絞って解説する。

本誌の読者の多くにとって、この現象は大変目新しいものと予測されるので、具体的な解説の前にAFGPの構造や氷結晶成長に対する一般的な特性を簡単にまとめておこう。

- ① AFGPは、アラニン-アラニン-スレオニン (Ala-Ala-Thr)のトリペプチドに糖鎖が結合した糖ペプチドを1ユニットとし、それが4~52個も連なった紐状構造を持つ(図1)。分子量はユニット数に応じて2.6~33kDaで、分子量の大きいものから順にさらに8つのタイプ(AFGP1~8)に分けられる²⁾。分子の液体中での二次構造は、拡張したコイル状構造(extended random coil)が基本できわめて柔軟性が高い⁷⁾。
- ② AFGPを含む過冷却水中で氷の成長は、平衡融点(T_m)よりも低い臨界温度以下にならないと開始しないが、逆に結晶の融解温度は T_m のままである(図2)。すなわち、凍結温度(T_f)と融解温度が異なり(熱ヒステリシス)、その温度内では氷は存在しても成長しない。熱ヒステリシスの大きさ $\Delta T (= T_m - T_f)$

は，水溶液の AFGP 濃度に依存するが，その濃度で予測されるモル凝固点降下の大きさより，一般に 500 倍程度も大きい²⁾。

- ③ 結晶の成長形は，AFGP 濃度や成長温度に依存して大きく変化する⁸⁾。
- ④ 氷の成長抑制機構として，界面に吸着した AFGP 分子が界面の移動をピン止めするというモデルが提案されている⁹⁾。図 2 は，AFGP が吸着した氷界面の構造と熱ヒステリシスの関連を示す模式図である。吸着した分子の周辺で成長する界面は，AFGP 分子のピン止め効果により凸の曲率を持つ。このため，ギブス・トムソン効果 (G-T 効果) (用語解説参照) によって界面の局所融点が低下し，界面の前進が抑制される^{10, 11)}。しかし，温度が T_f 以下では，界面の局所曲率半径が吸着分子間隔の 1/2 より小さくなるのでピン止め効果は無効となり，成長が開始する。界面に移動をピン止めするには，AFGP の界面吸着は強固なものである必要があるので，結晶成長の開始とともに吸着した AFGP は結晶格子内に取り込まれるであろう。

以上のような特性は，大変興味深いものである。しかしながら，AFGP が実際にどのような吸着特性を持つのか，さらにそれが氷の結晶成長ダイナミクスといかなる関連を持つのかに直接言及できるような実験が決定的に不足している¹²⁾。これが，この興味深い現象の更なる理解を妨げている。我々は，氷の成長過程とタンパク質の界面吸着を同時に直接観察することの重要性に注目し，結晶成長その場観察技術を駆使した実験を行った。3 章と 4 章では，2 つの興味深い実験結果を紹介しよう。

3. 蛍光観察による AFGP 分子の氷界面吸着と結晶成長

水中では一様に分散した AFGP 分子は，氷の成長に伴って，氷界面や結晶内部にどのように再配分されるかを可視化して解明するため，蛍光分子 FITC (Fluoresceinisothiocyanate isomer-I) でラベルした AFGP を含む過冷却水中で，氷の自由成長実験を行った¹³⁾．実験装置は，無酸素銅のブロックをくりぬいた円筒型の成長セル（直径 20mm，奥行 10mm）に，セルの外部から中心部までガラス毛細管を挿入した単純なものである．毛細管は，ホルダーにより軸の周りに自由に回転できるよう工夫された．成長セルと毛細管に充てんされた試料水は，銅ブロックに取り付けたペルチエ素子で冷却され， $\pm 5\text{mK}$ の精度で安定した過冷却状態を作り出すことができる¹⁴⁾．

実験は，以下のような手順で行う．まず AFGP を含む水が所定の過冷却温度に達したら，成長セルの外側に突き出した毛細管の端を急冷して氷を核生成させる．生成された多数の結晶粒は，毛細管内部の過冷却水で成長を継続する．この過程で，毛細管の軸方向に早く成長する結晶粒ほど先行するので，後ろの結晶はそのまま取り残される．このしくみで，毛細管内では結晶粒の取捨選択が自動的に進行し，最終的に 1 個の結晶粒のみが生き残る．さらに，氷結晶の成長速度には異方性があるため，生き残った結晶粒の c 軸方向は，毛細管の軸に直交する確率が高くなる．すなわち，毛細管内での成長により，結晶粒と結晶の向きが自動的に制御される．この結晶粒が成長セル側の毛細管先端に達すると，セル内で氷単結晶の自由成長が開始する．毛細管を回転させることで，観察に最も適した方向に結晶の向きを適合させる．

結晶成長の観察には，共焦点顕微鏡を使った．この

顕微鏡は，観察体の中に結んだレーザー光の焦点を走査させて三次元画像を取得するものであるが，我々は二次元平面内の走査に固定して，時間分解能を向上させた．FITCの励起波長のレーザー光を使い，その蛍光波長（520nm）でイメージングすることで観察面内の蛍光強度分布を取得可能である．図3（a）は，AFGP（AFGP4-6の混合試料）を含む過冷却水（濃度 $5\mu\text{g}/\text{mL}$ ；過冷却度 0.05K）中で成長する氷結晶の動画から切り出したスナップショットで，毛細管の先端におよそ $40\mu\text{m}$ の厚みを持つ六角形の薄い板状結晶が観察される．動画を見ると，六角板結晶の側面（プリズム面）を構成する界面1～4のうち，界面2だけは成長を続けているが，その他の界面1，3，4は成長していない（文献¹³⁾のWeb版に，動画が掲載されている）．さらに，成長停止界面では，界面に沿って強い蛍光の輝線が観察されるが，成長中の界面では存在しない．この観察は，AFGPの界面集積が結晶成長の抑制と関連することを直接検証した初めての結果である．

次に，測定される蛍光強度はレーザー光の焦点でのAFGP分子の空間数密度に比例すると仮定して，画像の輝度値からAFGPの濃度分布を解析する．たとえば，図3（a）に示された矩形領域bの輝度値を短軸方向に積算し長軸方向にプロットすると，図3（b）のような蛍光強度分布が得られる．毛細管の領域（左端）と水溶液の領域（右端）では，AFGP濃度が明らかなので，縦軸の蛍光強度は濃度に変換可能である．中央部の結晶領域については，レーザー光の焦点深度内に氷結晶と水溶液の両方が含まれるので，注意が必要である．結晶内にはAFGPはまったく存在しないことが保障される（毛細管の周りに結晶を90度回転させて測定すると，氷結晶内部では蛍光が観察されないことが確認されている¹³⁾．）ので，この領域で測定された蛍光強度

はすべて液中にある AFGP からの寄与である．この領域の蛍光強度から，逆にレーザー光の焦点深度はおよそ $100\ \mu\text{m}$ と推定される．

一方，界面において観察される蛍光強度ピークは，プリズム面に吸着した AFGP からの寄与を反映している．界面の蛍光強度ピークの積算値と結晶の厚み ($40\ \mu\text{m}$) からプリズム面の面積が推定され，この界面への AFGP 分子の吸着間隔は $d = 21.4 \pm 4\text{nm}$ と計算される．

一方，図 3 で示した界面 2 は，成長が停止した界面 1 と 3 に挟まれているので，成長とともに徐々に縮小し，最終的に消失する．しかしながら，その瞬間に驚くべき現象が観察された．これを示す連続写真が図 4 である．図 4 (a) で見られる界面 2 が消失した瞬間に，先端部から界面 3 の上を新しい成長ステップが移動するのが観察され，同時に界面に沿った蛍光の輝線も消失した (図 4 (b))．界面のこの部分はそのまま成長を続けた (図 4 (c))．この観察結果は，結晶成長を停止するほどの界面吸着であっても，成長ステップの移動などで簡単に離脱可能で，依然として可逆吸着の特性を保持していることを示唆する．

以上のように，AFGP の界面吸着と結晶成長との関係は，非可逆的な強い吸着が起きるという従来の予測⁹⁾とは大きく異なるらしい．極めて基礎的な観察であるが，AFGP の氷結晶成長抑制機構を解明するための鍵となるもので，その重要性は計り知れない．

4. 氷界面に吸着した AFGP 分子の二次構造の解析

次に，もう少しミクロな視点で，氷界面に吸着した個々の AFGP 分子がどのような特徴を持つのかを考えてみよう．水中での AFGP 分子は，非常に柔軟で，いわゆる絡まった紐のような二次構造を持つことはすでに述べた⁷⁾．したがって，このままの形では氷結晶

格子との適合性が悪く，簡単に吸着できるとは考えにくい．“AFGP 分子が氷界面に吸着できるのはどうしてなのか？”この疑問に答えるために，我々は ATR 法 (Attenuated Total Reflection) により，氷界面に吸着状態にある AFGP の FTIR スペクトル解析 (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) を試みた¹⁵⁾．

ATR 法とは，赤外波長に透明な ATR プリズムの界面で赤外線を全反射させるとき，反射面後方に生じるエバネセント光をプローブとして使う．我々は，測定面に AFGP を含む D_2O の薄膜試料を置き，温度制御しながら液相と固相の状態にある薄膜から取得した FTIR スペクトルを比較した．

図 5 (a) は，試料から得られたスペクトルの温度変化を示す．まず，室温から温度をゆっくり低下させて測定すると， -15°C で D_2O 分子の O—D 伸縮振動バンドの最大ピーク波数の位置がシフトし，スペクトル形状も変化した．これは， D_2O の液相から固相への変化に相当する¹⁶⁾もので，この温度で試料が凍結したことを示す．逆に，いったん凍結した試料の温度を上昇させながら測定すると， D_2O の融点まで液相に戻らない．また，スペクトルを詳細に解析すると，凍結試料には，一部液相成分も残留し，その量は温度上昇とともに増加した．

一方，AFGP の二次構造に敏感な吸収バンドは， $1600 \sim 1700 \text{ cm}^{-1}$ に現れるアミド I バンド (C—O 伸縮振動バンド) で， D_2O を使うことで水分子に起因するバンドとの区別が可能である．図 5 (b) および (c) に， $+10^\circ\text{C}$ (液相) と -15°C (固相) でのこのバンドの拡大図を示す．スペクトル形状の明確な変化が観察されるが，これは AFGP の二次構造変化に対応するものである．図に示された破線は，このスペクトルを AFGP 分子で検出されるさまざまなタイプの二次構造¹⁵⁾に対応するピーク

周波数をコンポーネントとして分解したもので、それぞれの相対ピーク面積比が、各コンポーネントへの配分比になる。ここで注目されるのは、試料が液相から固相に変化すると、特に α -ヘリックス構造に対応するコンポーネント¹⁷⁾が顕著に増加したことである。また、凍結した試料の温度を上昇させながら測定すると、このコンポーネントの量は減少し、融点で氷結晶が融解すると液相での量に戻った。

このようなスペクトル変化は、何を意味するのであろうか？これを考えるために、ATRプリズムの界面近傍での D_2O 薄膜試料の状態を図 6 に模式的に示す。 D_2O が凍結せず過冷却状態にあるときは、AFGP は一様に分散している (図 6 (a))。しかし、試料が凍結すると多数の氷結晶粒で構成される多結晶体となり、結晶粒界やプリズムとの界面には未凍結の液体膜が残される¹⁷⁾ (図 6 (b))。これは、融点直下での氷表面の融解相転移(表面融解)と同様に、結晶粒界や他物質との界面には擬似液体層 (Quasi-liquid layer, QLL) が存在したほうがエネルギー的に有利である^{19~21)} という現象に起因する。凍結薄膜からの 0-D 伸縮振動バンドスペクトルから得られた残留液相はこの QLL に相当するもので、膜厚は温度上昇とともに増加する。バンドの温度変化の解析から、 $\Delta T=1K$ での膜厚は 17nm と見積もられた¹⁵⁾。

一方、AFGP は氷結晶内には取り込まれないので、すべての AFGP は、凍結後は QLL の中に濃縮されて分散する (図 5(b))。QLL の厚みは、AFGP の分子サイズ(およそ 3nm)より十分に大きいので、QLL に含まれる AFGP のうち、ごく一部が氷界面と相互作用することになる。氷界面から離れた AFGP の二次構造は、液相中と同じはずである。したがって、アミド I バンドで観察された凍結による α -ヘリックス構造のコンポーネントの

増加は，氷界面に吸着した AFGP の構造を反映すると考えられる．QLL の厚みの増加は，QLL 内の AFGP の数密度の低下と氷界面の総面積の減少をもたらすので，界面吸着分子数も減少する．すなわち，温度変化として観察された QLL の厚みと AFGP の 2 次構造変化との関連が説明される．以上のことから，氷界面に吸着状態にある AFGP は， α -ヘリックスの二次構造を持つと結論される．

5. AFGP の氷界面吸着に対する二段階可逆吸着モデル
最後に，これらの基礎実験の結果から，氷界面への AFGP の新しい吸着モデルを提案しよう^{13, 22)}．

まず，氷界面の成長が継続し AFGP の選択的吸着が見られない状況であっても，プリズム面は平らな界面として観察された．純水中では，この界面は常に丸い界面として観察される²³⁾．このことは，結晶成長が停止していなくても，界面と AFGP の間ですでに明らかな相互作用が存在することを示唆している．すなわち，この状態での界面への AFGP の吸着は，吸着脱離平衡が成り立ち，界面の移動を停止するような強い効果は期待できない．一方，界面に吸着した AFGP 分子の一部は，二次構造を変化させ，より強い吸着状態へと遷移する．この状態になると，吸着分子は結晶成長の停止に寄与する．すなわち，AFGP の氷界面への吸着は，まず着脱平衡の成り立つ弱い吸着が起こり，そこからより強い吸着状態へと遷移する二段階で起きる．この強い吸着状態にある AFGP 分子が成長の停止した界面で蛍光輝線として観察されたと考えられる．しかし，実験で明らかのように完全吸着といっても離脱不可能なほどの強い吸着が起きるわけではなく，むしろ可逆的な吸着特性も残されている．我々は，このような特徴を持つ分子吸着を“二段階可逆吸着モデル”と

呼んでいる。このモデルは、生体高分子などのマクロな分子に特有な二次構造の変化を伴って起こる吸着特性を示すものと考えられる。

一方、このような吸着状態にある AFGP が、氷の成長をいかにして抑制するかについては、依然として謎が深い。ここではいくつかの問題点と可能性を指摘するにとどめ、今後の研究の進展に委ねたい。

まず初めに、プリズム面に対して求められた AFGP 吸着間隔から G-T モデルにより界面の局所温度低下を計算すると、 $\Delta T = 6 \text{ K}$ と見積もられる。 ΔT は水溶液の過冷却温度 0.05 K よりも桁違いに大きくなってしまう。また、G-T 効果が作用すると、もともと平らであった界面は、凸凹の多いラフな界面に変わることになるが、実際には逆の変化が起きている(図 2 (a) 参照)。これらの結果は、AFGP による結晶成長抑制機構として提案されてきた G-T 効果による説明がもはや有効ではないことを示唆している。

また、氷と水の界面は、固相と液相が明確に分かれた境界面ではなく、数分子層程度の厚みで固相から液相へと連続的に変化する遷移構造をもつことが知られている²⁴⁾。このような界面への AFGP の吸着は、単に AFGP の二次構造が変化するだけでなく、氷界面の構造そのものにも大幅な変化をもたらす可能性がある²⁵⁾。これを検証するには、氷界面構造の分子レベルでの解析や個々の AFGP 分子の界面吸着挙動を直接観察することが重要であり、観察手法も含めた今後の発展が期待される。

6. おわりに

氷界面への AFGP の吸着の可視化や吸着状態にある AFGP の二次構造解析は、これまで困難とされてきた氷の成長抑制機構の分子レベルでの理解に向けて、大き

なブレークスルーを与える成果である。我々が提案した「二段階可逆吸着モデル」は、生体の耐凍結戦略のメカニズムを理解するための要となる考え方を提供するものである。

最後に、本解説で紹介した現象は、「生体高分子（マクロ分子）による無機結晶（ミクロ分子）の成長制御」という新しい研究分野への発展性を秘めていることを指摘しておきたい。生体内でのさまざまな結晶体の生成は、タンパク質やアミノ酸などの生体高分子によって制御される。このような系での結晶成長制御のメカニズムを理解することは、生体に倣う新しい機能性材料の創製技術に道を開くことにも結びつくであろう²⁶⁾。

参考文献

- 1) P. F. Scholander, L. Van Dam, J. W. Kanwisher, H. T. Hammel and M. S. Gordon: J. Cell. Comp. Physiol. **49** (1957) 5.
- 2) Y. Yeh and R. E. Feeney: Chem. Rev. **96** (1996) 601.
- 3) P. L. Davis and C. W. Hew: FASEB J. **4** (1990) 2460.
- 4) Y-C. Liou, A. Tocilj, and P. L. Davis: Nature **406** (2000) 322.
- 5) N. Muryoi, M. Sato, S. Kaneko, H. Kawahara, H. Obata, M. W. F. Yaish, M. Griffith and B. R. Glick: J. Bacteriol. **186** (2004) 5661.
- 6) M. Griffith and M. W. F. Yaish: Trends Plant Sci. **9** (1004) 399.
- 7) A. N. Lane, L. M. Hays, N. Tsvetkova, R. E. Feeney, L. M. Crone and J. H. Crone: Biophys. J. **78** (2000) 3195.
- 8) K. Harrison, J. Hallett, T. S. Burcham, R. E. Feeney, W. L. Kerr and Y. Yeh: Nature **328** (1987) 241.

- 9) C. A. Knight and A. L. DeVries: *Science* **245** (1989) 505.
- 10) D. Y. Wen and R. A. Laursen: *J. Biol. Chem.* **268** (1993) 16396.
- 11) F. Sicheri and D. S. C. Yang: *Nature* **375** (1995) 427.
- 12) C. A. Knight: *Nature* **406** (2000) 249.
- 13) S. Zepeda, E. Yokoyama, Y. Uda, C. Katagiri and Y. Furukawa: *Crys. Growth Desig.* **8** (2008) 3666.
- 14) S. Zepeda, S. Nakatsubo, Y. Furukawa: *Rev. Sci. Inst.* **80** (2009) in press.
- 15) Y. Uda, S. Zepeda, F. Kaneko, Y. Matsuura and Y. Furukawa: *J. Phys. Chem.* **B111** (2007) 14355.
- 16) D. S. Eisenberg and W. Kauzmann: *The Structure and Properties of Liquid Water*, Oxford. New York (1969).
- 17) Y. N. Chirgadze, O. V. Fedorov, N. P. Trushina: *Biochemistry* **14** (1975) 679.
- 18) V. Sadtchenko and G. E. Ewing: *J. Chem. Phys.* **116** (2002) 4686.
- 19) Y. Furukawa and I. Ishikawa: *J. Cryst. Growth* **82** (1993) 1137.
- 20) A. W. Rampel, E. D. Waddington, J. S. Wettlaufer and M. G. Worster: *Nature* **411** (2001) 568.
- 21) L. Benatov and J. S. Wettlaufer: *Phys. Rev.* **E70** (2004) 061606.
- 22) S. Zepeda, Y. Uda and Y. Furukawa: *J. Jpn Assoc. Cryst. Growth* **35** (2008) 151.
- 23) W. Shimada and Y. Furukawa: *J. Phys. Chem.* **B101** (1997) 617.
- 24) H. Nada and Y. Furukawa: *J. Cryst. Growth* **283** (2005) 242.

25) H. Nada and Y. Furukawa: J. Phys. Chem.

B112(2008)7111.

26) 加藤隆, 西村達也, 坂本健: 日本結晶成長学会

誌 35(2008)146.

図の説明

図 1 AFGP を含む南極タラ(上図)と AFGP の分子構造(下図). だ円で囲ったポリペプチドを 1 ユニットとして, 4~52 ユニットがひも状に連なっている.

図 2 G-T 効果による氷結晶成長抑モデル. 吸着した AFGP 分子により, 界面の成長がピン止めされる. このため, 分子間の氷界面は前方に凸の曲率半径 r を持つ球面となり, 界面の融点は G-T 効果のためにバルクの融点 (T_m) より低下する. 温度がさらに低下し, r が AFGP の分子間距離の半分 (r_{min}) よりも小さくなると, ピン止め効果が消失して界面は成長を開始する. したがって, 結晶成長抑制の最大の過冷却温度は, 曲 $r = r_{min}$ となる温度 T_f で, $\Delta T = T_m - T_f$ が熱ヒステリシスの大きさになる.

図 3 (a) AFGP 水溶液中での自由成長により得られた氷結晶¹³⁾. 界面 2 は成長を継続しているが, 界面 1, 3, 4 は成長が完全に停止している. 右下に示した写真は, 同じ過冷却度の純水中で成長した薄い円盤状の氷結晶. (b) 結晶写真上の矩形枠 b の長軸方向で積算した蛍光強度を長軸方向にプロットしたもの. 左縦軸は蛍光強度であるが, AFGP の濃度に換算可能で, 右縦軸にプロットした. 右下の模式図は, 共焦点顕微鏡の光学系を示す模式図で, 結晶を含むスライス面からの蛍光だけを検出できる.

図 4 図 3 で示した同じ結晶のその後の成長過程¹³⁾. 各写真は, 約 2 秒間隔. (a) 界面 2 が成長を継続. (b) 界面 2 の面積が小さくなりやがて消失する. (c) 界面 2 の消失の瞬間に界面 3 の上を成長ステップが走り, 成長を再開. 同時に, 界面に沿った蛍光の輝線が消失. (d) 界面 3 の成長が継続.

図 5 (a) AFGP 水溶液薄膜から得られた FTIR スペクトルの温度変化¹⁵⁾. (b) および (c) は, Amide I バンドの吸収スペクトル (実線) と, それを各二次構造に対応する波数で分解した結果 (破線). それぞれ, 液相状態の試料と固相状態の試料に対応する. ハッチングを入れたピークは, α -ヘリックス構造の AFGP に対応し, 試料が固相のときに配分比が上昇することが分る.

図 6 ATR プリズム表面近傍での薄膜試料の内部構造の模式図. (a) は水溶液が凍結する前で, AFGP は一様に分布している. (b) は凍結後の試料の構造. 擬似液体層中に AFGP が濃縮されている, 氷界面に吸着した AFGP 分子は, α -ヘリックス構造をとる (下部の界面拡大図参照). d_p はエバネセント光の染出し深さで, およそ $1 \mu\text{m}$.

用語解説

ギブス・トムソン効果: 液体の平衡蒸気圧は水平表面の時より小液滴となったほうが大きい. 同様に, 固体の融点も, 小球となったほうが低下する. これがギブス・トムソン効果 (ケルビン効果とも呼ばれる) で, 固体の融点降下の大きさは $\Delta T = 2\gamma T_e / r\Delta H$ で与えられる. ここで, r , T_e , v , γ , ΔH は, それぞれ界面の曲率半径, 平らな界面の融点, 1 分子あたりの体積, 界面張力, 1 分子あたりの融解潜熱である.

Ice Growth Inhibition Proteins-Why can living organisms survive without freezing under subzero environment?-

Yoshinori Furukawa, Salvador Zepeda and Yukihiro Uda
Institute of Low Temperature Science, Hokkaido
University

Ice crystal growth is strongly inhibited by the adsorption of antifreeze glycoprotein on ice/water interfaces. Growth experiments were carried out to clarify the adsorption states of AFGP and growth prohibition mechanism. A new model for the AFGP adsorption “two-steps reversible adsorption prohibition” was proposed to understand the experimental results.

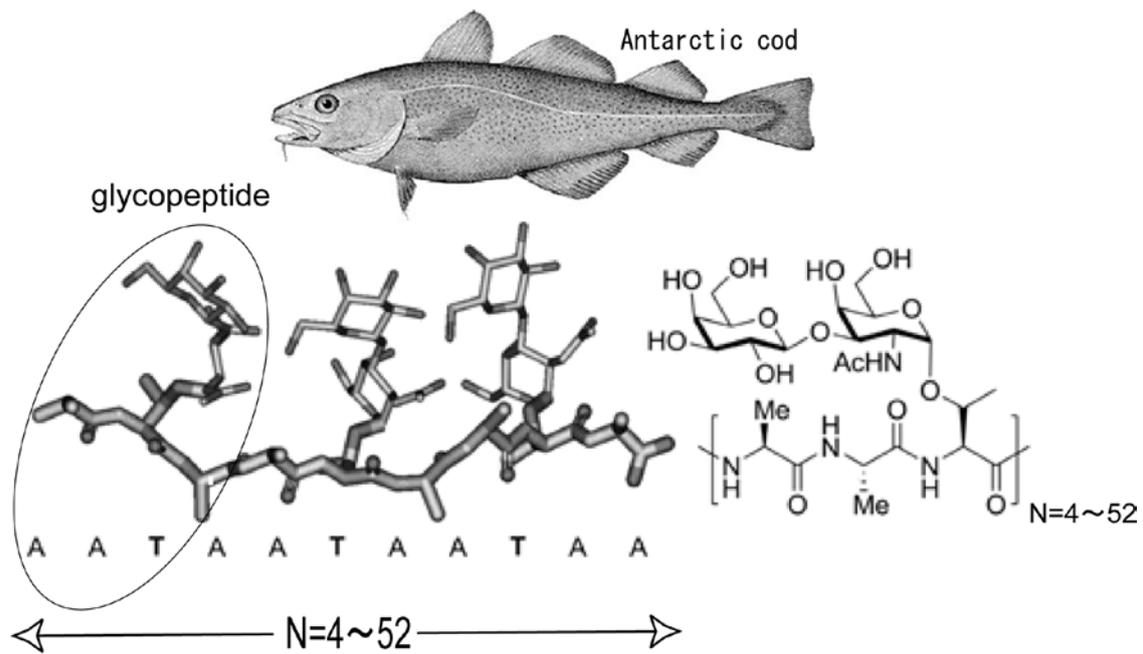


図 1

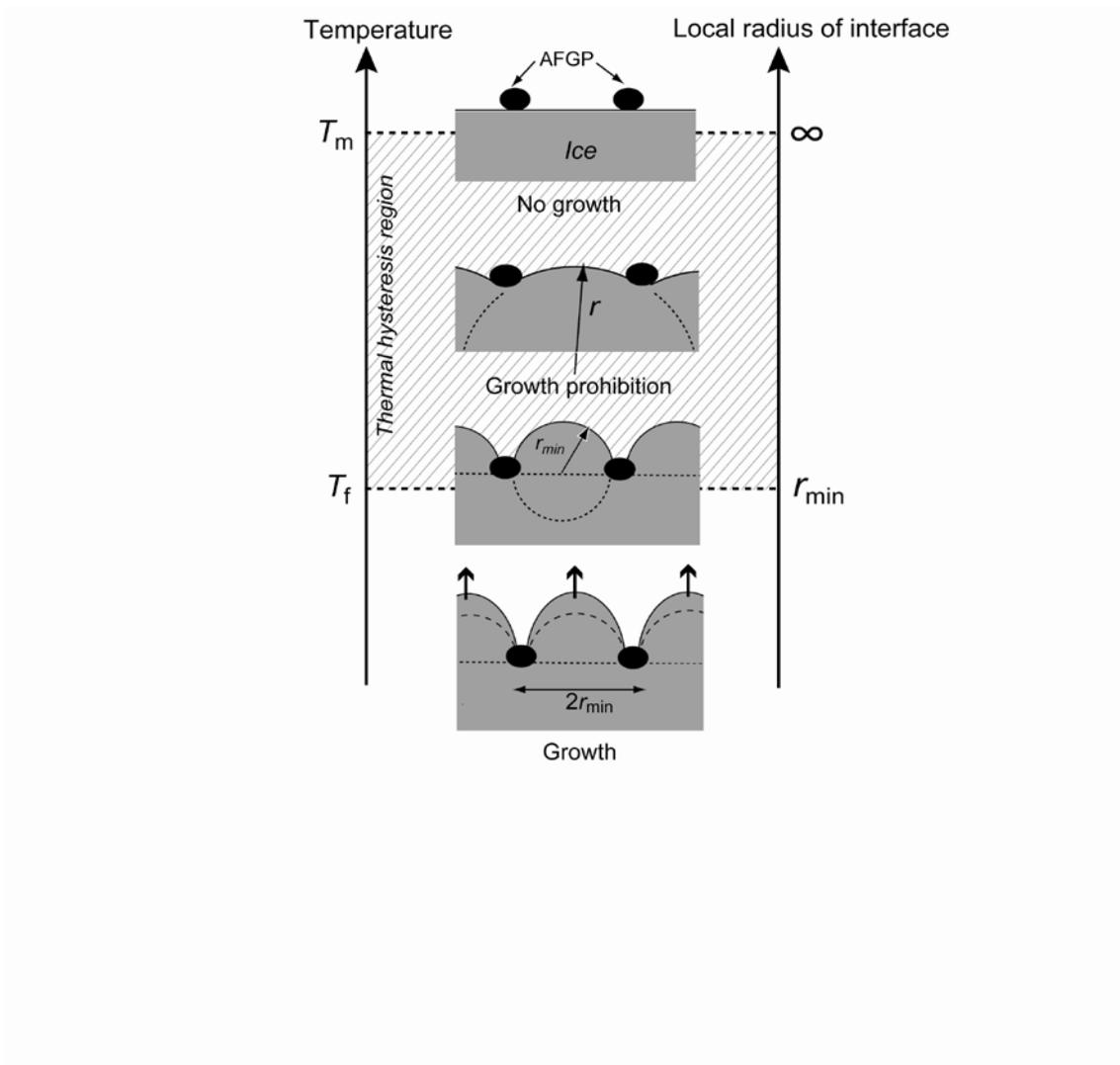


図 2

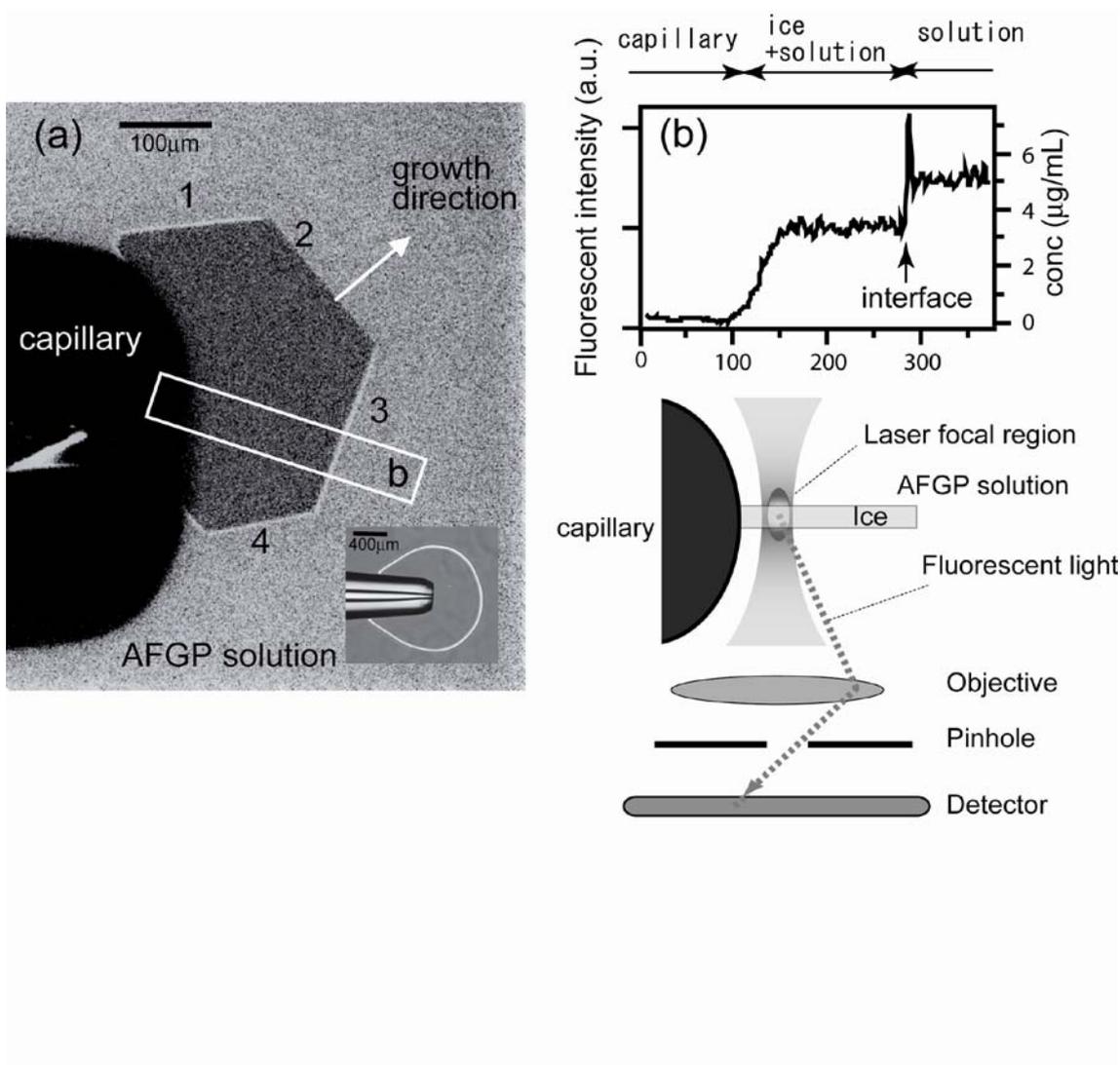


図 3

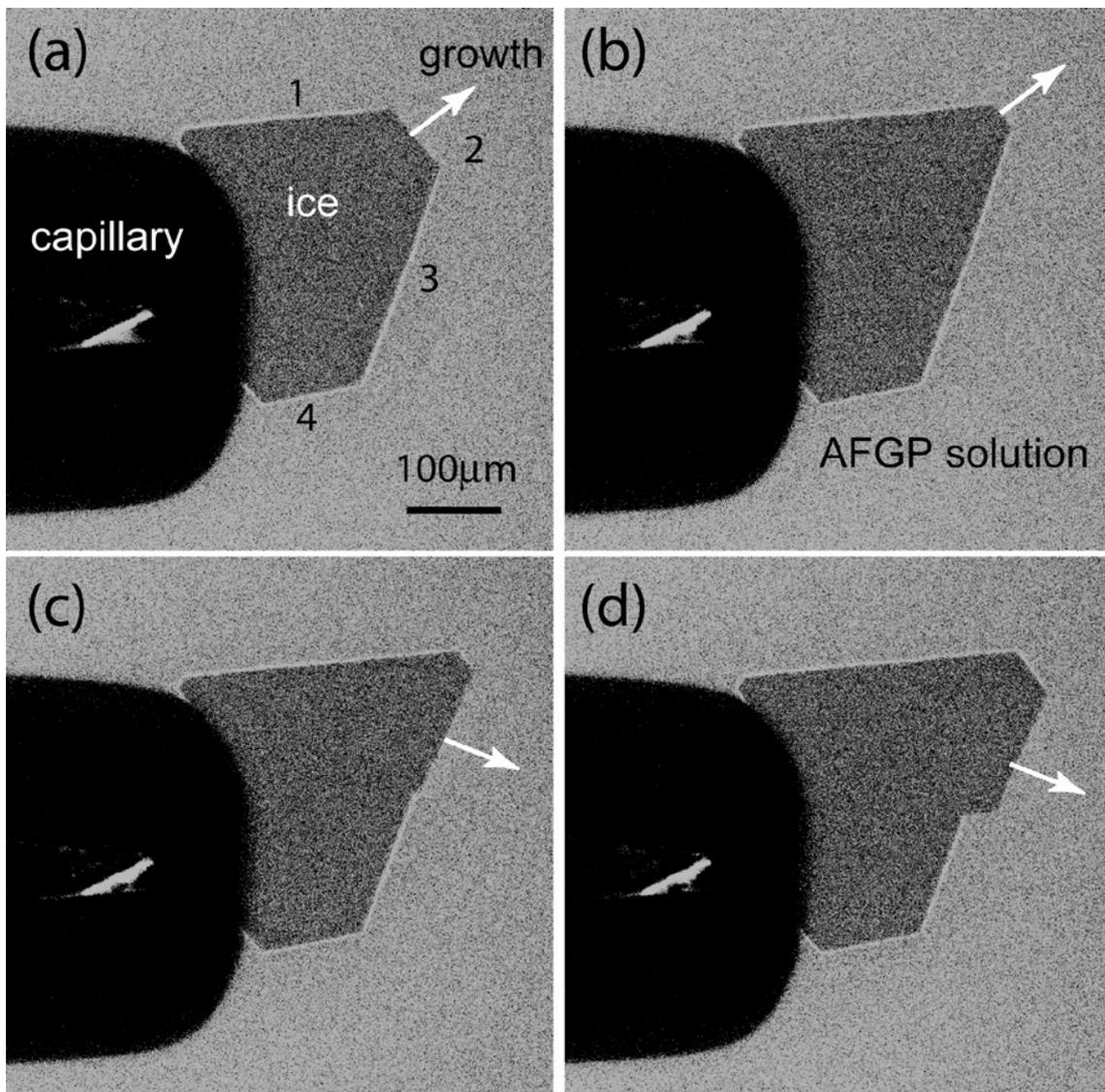


図 4

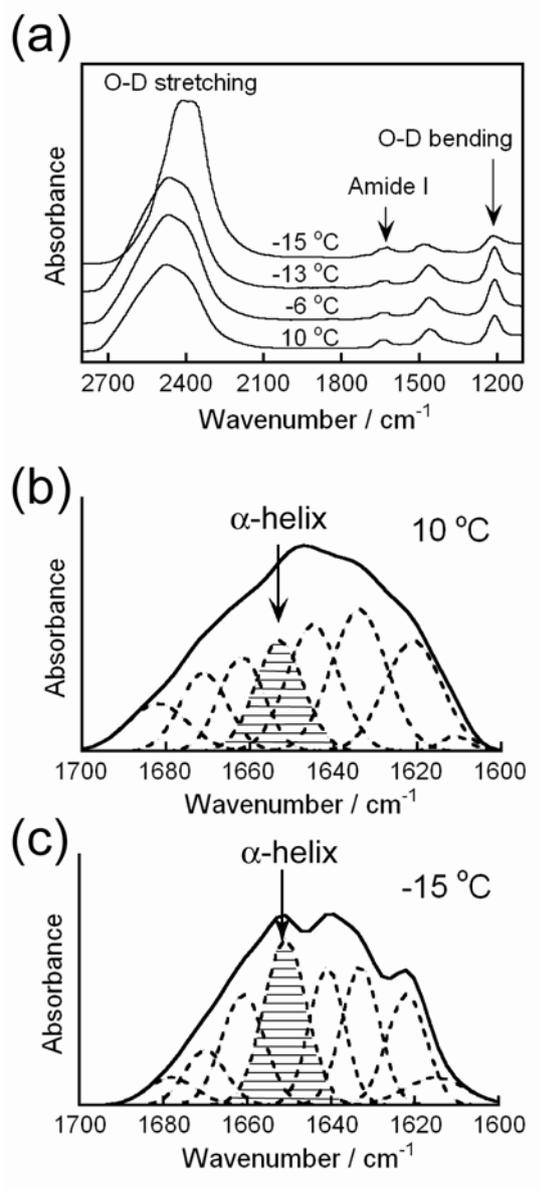


図 5

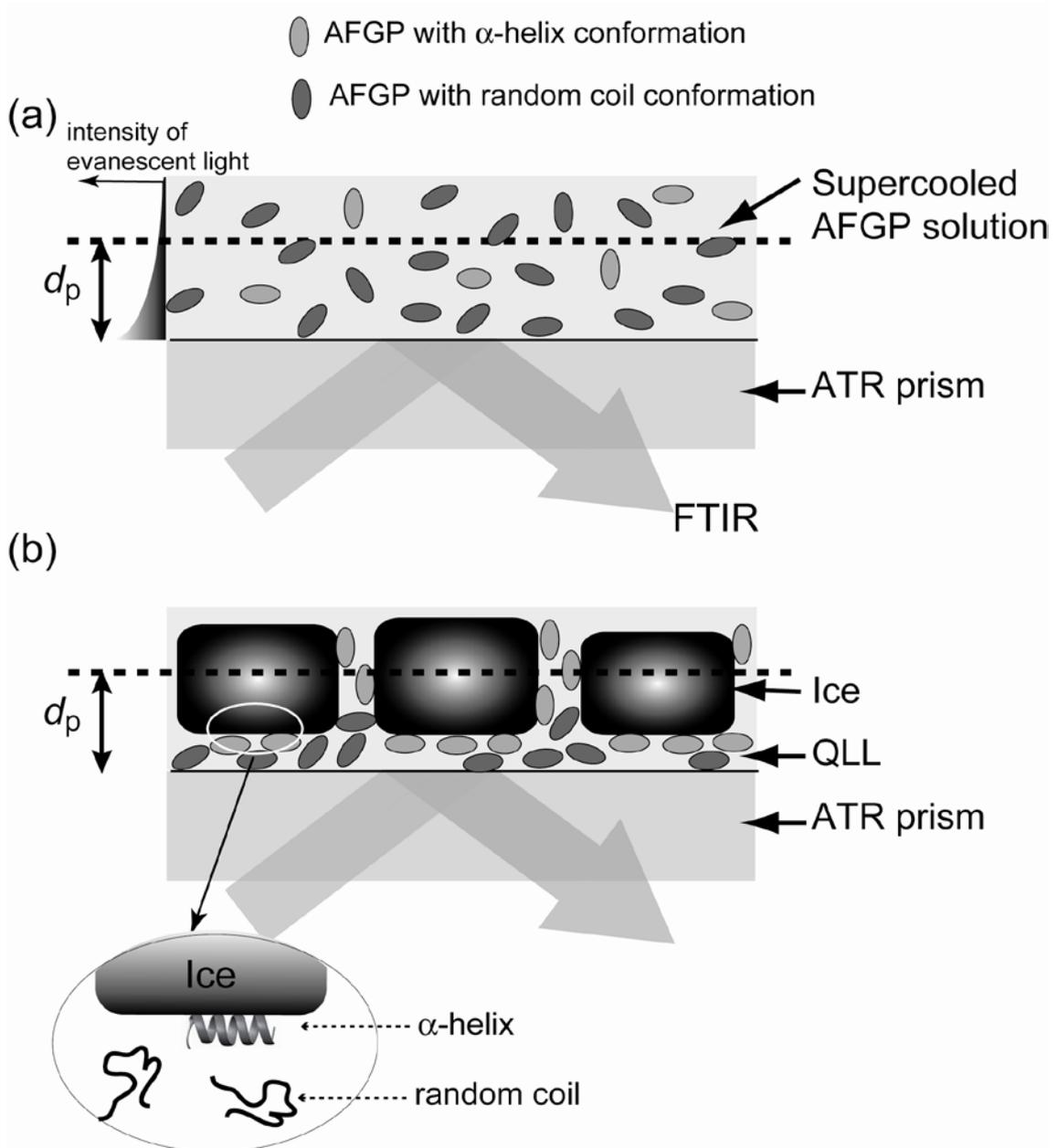


図 6