

## ISS・きぼう利用ミッション 「生体高分子の関与する氷結晶成長—自励振動成長機構の解明(Ice Crystal 2)」

### 研究成果概要書

代表研究者: 古川義純(北海道大学名誉教授)

平成29年2月

氷の結晶成長に対する不純物効果として、極限寒冷環境である氷点下の温度条件で生体の凍結を防ぐ機能を持つ凍結抑制タンパク質(本研究では、その代表として不凍糖タンパク質、Antifreeze glycoprotein, AFGP [1]を使用)の機能を解明するために、「きぼう」の微小重力環境下で氷結晶の自由成長実験を行った。宇宙実験を実現するために、新たに Ice Crystal Cell 2、ICG2と呼ばれる氷結晶成長観察装置を開発し、AFGP を不純物として含む過冷却水中で成長する氷結晶の成長速度の時間変動を反射型のマイケルソン干渉顕微鏡で精密測定した。

124回の実験を繰り返し、このうち22回で成長速度測定に不可欠な成長界面からの反射による干渉縞画像(図1(a))の取得に成功した。成功確率は18%で、氷結晶成長や干渉計の制御の困難さを考慮すると、驚くほどの高率である。ダウンリンクされた干渉縞画像を精密に解析すると、AFGP を含む水中では氷のベーサル面の成長速度が大幅に促進され、さらに成長時間に対して周期的変動(振動)することが明らかになった(図1(c))。このような成長促進と振動現象は、干渉縞の観察された22の実験ビデオのすべてで観察された。地上での実験では、自然対流などの擾乱より結晶の成長速度は簡単に変動してしまうため、このような現象は覆い隠されてしまうため、検出が困難である。すなわち、この現象は、擾乱

が完全に排除された微小重力実験で初めて明らかになったもので、AFGP 分子の普遍的な機能特性と直接関連している。

図1(c)に示す結晶の成長速度の時間変動は、の最小成長速度(A')から急に速度上昇(D')し、さらに徐々に成長速度が速くなり、成長速度が最大(B')に達すると、突然急減する。速度の最大値は最小値の10倍にも達し、この周期変動が繰り返し現れる。さらに、成長速度の平均値を取ると、純水中での成長速度に比べて3~5倍も速くなっている。

結晶成長に対する不純物効果は、すでに多くの研究がなされている。しかし、これまでは成長界面に吸着した不純物分子が成長ステップの移動をピン留めする効果により、成長が抑制されると理解されてきた。不純物として無機の小分子を考える場合は、このモデルで良く説明される。これに対し、生体高分子の一つである

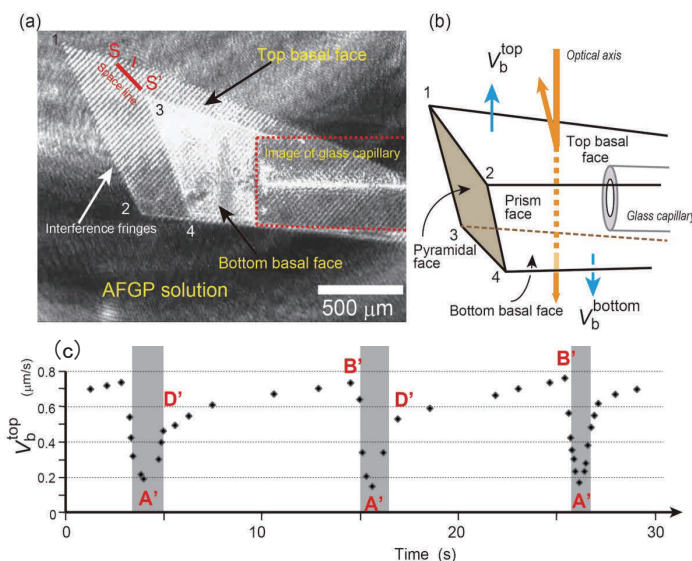


図1(a) 宇宙実験で得られた干渉縞画像の一例。(b) 観察された結晶の外形。(c) ベーサル面の成長速度の時間変動。

AFGP が不純物である場合は、これまでの結晶成長に対する不純物効果とは全く異なる現象が起きることが示されたことは、これまで予想されていなかった新しい発見である。

では、最初に AFGP による氷結晶成長の促進は、どのようにして発現するのであろうか。これまでに明らかになっている氷結晶成長に対する AFGP の効果は、AFGP 分子は氷のプリズム面、またはピラミッド面に選択的に吸着すること[1]、このプリズム面では吸着が起きると成長が停止する[3]ことなどが明らかになっている。さらに、その仕組みは、吸着した AFGP 分子がその面の成長をピン留めするためと考えられている。すなわち従来の不純物分子によるピン留め効果がここでも援用されている。一方、ベーサル面には AFGP 分子は吸着せず、その効果も考える必要がないとされてきた。しかし、純水から成長する場合でも氷のベーサル面は常に平らで、成長ステップによる層状成長をされると考えられている。ここで、ベーサル面上の成長ステップのエッジ面に注目すると、ここはプリズム面またはピラミッド面が露出している。すなわち、AFGP 分子は、ベーサル面のテラス面には吸着できないが、エッジ面には優先的に吸着することが可能である。AFGP 分

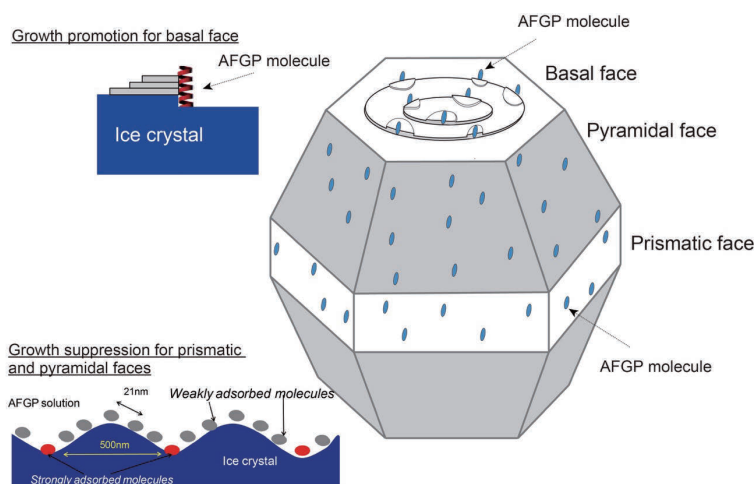


図2 氷のベーサルとプリズム面への AFGP 分子の吸着特性とその異方的機能。前者はステップの新たな発生源、後者は結晶面の前進をピン留めする効果。

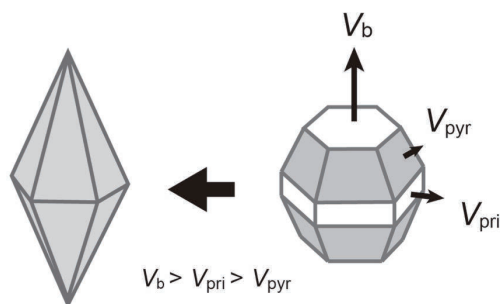


図3 氷結晶界面の成長速度の異方性と結晶外形とに関連。12面体になると成長が停止。

やすいのはピラミッド面であり、成長を完全に抑制するので、結晶外形が12面体になるとそれ以上は成長できない。しかし、この外形が実現されるまでは、氷の結晶は図3右に示すようにベーサル面、プリズム面、ピラミッド面で囲まれた多面体である。このような多面体結晶では、成長速度の速い面は外形から消失し、最終的に最も成長速度の遅い面で囲まれるという原理がある。この原理に従うと、ベーサルは成長速度が速く、やがて消失し、最後はピラミッド面のみで囲まれ、これ以上の凍結の進行を許さない。すなわち、AFGP の機能が異方的であることが、生体の凍結抑制の本質である。

AFGP やその他の凍結抑制タンパク質は、氷結晶の成長を抑制して水を過冷却状態に保つことができる機能性タンパク質であり、医療分野、食品分野、エネルギー分野などで今後の活用が期待されている。本研究により、これらのタンパク質が単に成長抑制だけではなく、成長促進や周期変動を起こす機能も持つことが明らかになり、その活用範囲がより広がったことが期待される。また、これらのタンパク質に制御された氷結晶の成長は、生体内で起きる結晶成長の典型的な例の一つであり、生体に倣うバイオ・クリスタリゼーションの基本原理にも直結する。

参考文献 [1] Y. Yeh, R.E. Feeney, *Chem. Rev.*, 96 (1996) 601–618; [2] C.A. Knight, et al., *Biophys. J.*, 64 (1993) 252–259; [3] S. Zepeda, et al., *Cryst. Growth Des.*, 8 (2008) 3666–3672.

#### 主要発表論文

Oscillations and accelerations of ice crystal growth rates in microgravity in presence of antifreeze glycoprotein impurity in supercooled water, Y. Furukawa, K. Nagashima, S. Nakatsubo, I. Yoshizaki, H. Tamaru, T. Shimaoka, T. Sone, E. Yokoyama, S. Zepeda, T. Terasawa, H. Asakawa, K. Murata, G. Sazaki, *Scientific Reports*, 7:43157, doi:10.1038/srep43157 (201702).

子の大きさは、3nm 程度であるため氷の単位ステップの高さ(0.37nm)よりも圧倒的に大きいので、エッジに吸着した分子はステップから大きく飛び出すことになる。このような分子は、氷ベーサル面上での新たな成長ステップの発生源となるので、氷のベーサル面の成長は加速される。

すなわち、氷の結晶成長に対する AFGP の効果は、ベーサル面とプリズム面(ピラミッド面)では、成長の促進と抑制という全く逆の効果を示す。このことは、全く同一な不純物分子であっても、その吸着面によって異方的な機能を発現する場合があることを示すものである。

また、成長速度の振動現象についても、不純物分子による成長抑制効果を前提とした数理モデルが提案されるなど、近年急速に理解が

進んできた。しかし、実際の結晶成長の系で成長速度の振動現象を明確に示した実験例は、これまで全く報告されていない。今回の宇宙実験で観察された振動は初めての例であり、しかも成長の促進現象と同時に起きるといふ新発見の現象である。成長促進に伴う振動のメカニズムの解明を目指すモデル化は今後に残された結晶成長分野の新しい課題である。

ここで明らかになった氷結晶成長に対する AFGP の異方的な機能性は、氷点下の環境で生体の凍死を避けるための凍結抑制機能の発現と密接に関連している。すなわち、氷点下にある生体の血漿中には、氷結晶は12のピラミッド面に囲まれた12面体の外形(図3左)を保って存在していることが知られている。AFGP 分子が最も吸着し