

## 論 説

## 生体・食品の凍結保存

Cryopreservation of Biomaterials and Foods

白 檜 了\*

Ryo SHIRAKASHI

## 1. はじめに

## ～生体・食品の保存と水の相変化～

生体や食品は、1) 60%以上の水分と有機物が主要な構成物質、2) 常温で化学反応が進行、3) 構成物質の水和の状態や高次構造が機能に著しい影響を与える、といった性質をもつ。つまり、水分を多く含み、常温で劣化し易い性質がある。生体や食品は、人間の健全な生命活動を維持する医療や食事に不可欠な要素であることから、目的や種類に応じて様々な方法で採取・生産されるが、必要に応じて利用するためには貯蔵することが不可欠である。通常、貯蔵は対象を低温にすることで化学反応をおこす分子の運動を極力おさえる手段が最も効果的であると言われている。ところが、生体や食品の機能を大きく左右する水は、低温において容易に凝固（凍結）するので、構成物質の周囲環境は激変し、本来必要としていた機能を喪失する。たとえば水は凍結することで、体積が約1割程度膨脹するので、氷晶に挟まれた周囲の物質は著しく押しつぶされる。また、生体や食品に含まれる水は必ず溶質を含んだ水溶液であることから、水分の一部が凍結することで水溶液は濃縮され、化学的環境は大きく変化する。さらに利用する前には必ず解凍する必要があることから、高濃度の水溶液に長時間さらされないように急速に、対象の局部だけが過熱しないように均一に解凍する必要がある。

生体や食品の保存には、水の相変化を操ることが不可欠なのである。

## 2. 医用生細胞・臓器の凍結保存技術

生物個体から分離された、あるいは活性を失った生体組織・器官などは常温下では腐敗、劣化を速やかにおこし、その本来の機能を期待出来ない。そこで、これらを極低温にして凍結させると生体内水溶液中の分子の移動が極度に小さくなることを利用して、鮮度を維持したまま医用臓器

\*東京大学生産技術研究所 情報・システム部門

を保存する方法が研究されている。医用臓器が長期間保存できるようになることで、1) 移植用臓器の需要と供給のバランスが取れる、2) ハイブリッド臓器等の自己細胞を用いた生体組織の構築が可能になる、等のメリットがある。

生体を構成する細胞は、細胞の膜透過率と周囲の溶液等で決まるある一定の冷却速度でのみ生存率が高いので、大型の臓器を保存する場合、熱伝導に起因する冷却速度の不均一は、臓器全体の活性度を著しく低下させる。

著者の研究室では、細胞の種類や生体の大きさに依存しない医用生体の凍結保存法の具体的方法として、ガラス化法と呼ばれる氷核生成を伴わない方法の開発を目指して、常温で細胞内で分解される高粘性水溶液（ガラス化溶液）の細胞内への導入法の開発や導入プロセスの設計<sup>1)</sup>、細胞状態の予測<sup>2)</sup>等を実験・解析的に研究している。Fig. 1は分子量10,000の糖類（dextran）が、電気穿孔されたヒト肝細胞の内部へ浸透してゆく様子を写した共焦点蛍光顕微鏡写真である<sup>3)</sup>。明るい部分は蛍光でラベルされたdextranで黒い部分は、内部に蛍光が存在しない細胞である。通常

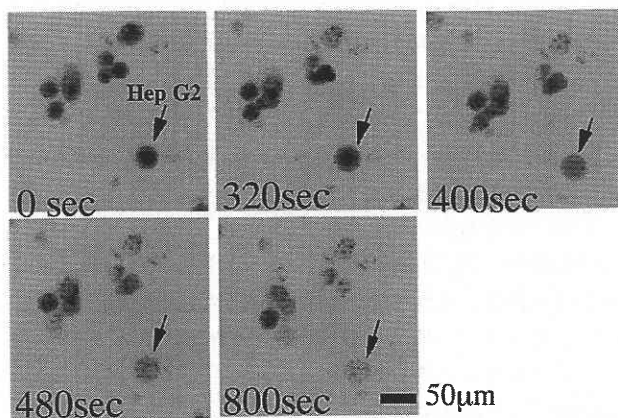


Fig. 1 Laser confocal microscopic images of the Hep G2-cell suspension supplemented with dextran-10,000 Da. The time indicated is a period after the electroporation ( $E=4.8 \text{ kV/cm}$ ,  $\tau=6\mu\text{sec}$ ).

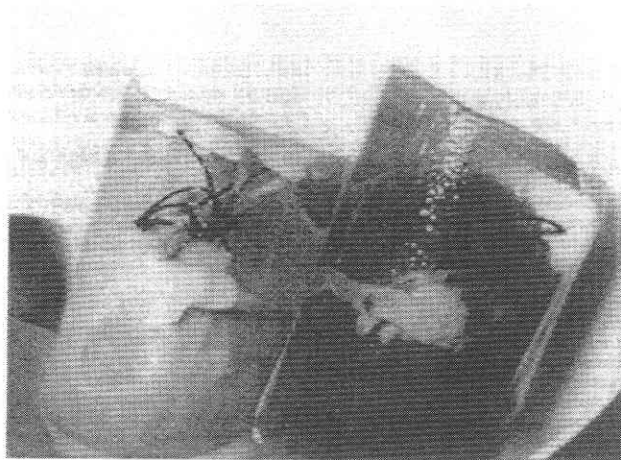


Fig. 2 Vitrified (right) and frozen (left) rabbit kidneys cf. G.M. Fahy *et al.* *Cryobiology* 21, (1984), 421.

は、この様な高分子量で親水性の物質は、細胞膜を透過しない。また、Fig. 2は低濃度と高濃度のDMSO水溶液中で極低温保存した兎の腎臓を示している。一見の如く、左のガラス化していない兎の腎臓は氷晶で覆われているが、ガラス化したものは水飴の様な状態になっている。

### 3. 食品の凍結・貯蔵・解凍技術

食品の品質とは、味、香り、テクスチャーといえる。このうち、味と香りは物質に依存する性質で、代謝や熱分解で損なわれることから、食品の品質を長期維持するために、凍結状態を用いることが多い。しかしながら、テクスチャーは食品のもつ幾何構造と力学特性に依存するものであり、凍結・解凍にともなう氷晶の挙動が重要な鍵となる。

魚・肉等の生鮮食品は素早く冷却・凍結させると、Fig. 3 (a) (b)のように筋細胞内に小さい氷晶が多数生成し、組織の構造を大きく崩すことがない。一方、緩慢に冷却・凍結させると、Fig. 3 (c)にみられるように細胞中の水分が抜け、細胞外で氷晶が成長して筋細胞組織を圧迫する。後者のような状態で保存された組織は、急速冷却した場合と異なり、解凍しても細胞内に水分が回復せず元々の瑞々しさを失う場合が多い。このことから、細かい氷晶による筋細胞組織の形状の維持が凍結保存中の水の好ましい状態といえる。ところが、大きな食材を急速・均一に冷却することは表面から熱伝導で冷却する限り困難である。氷晶の大きさは一義的には過冷却解消時の氷核生成の個数で決定されてしまうので、核生成の抑制または促進が重要なプレイクスルーになると考えられる。

貯蔵中の氷晶のサイズは、貯蔵温度による程度の差はあるが、時事刻々と変化して大きな氷晶となる。上述の様に大きな氷晶は、食品の品質を劣化させることから、簡便且つ非破壊で食品内部の氷晶のサイズをモニタリングする方

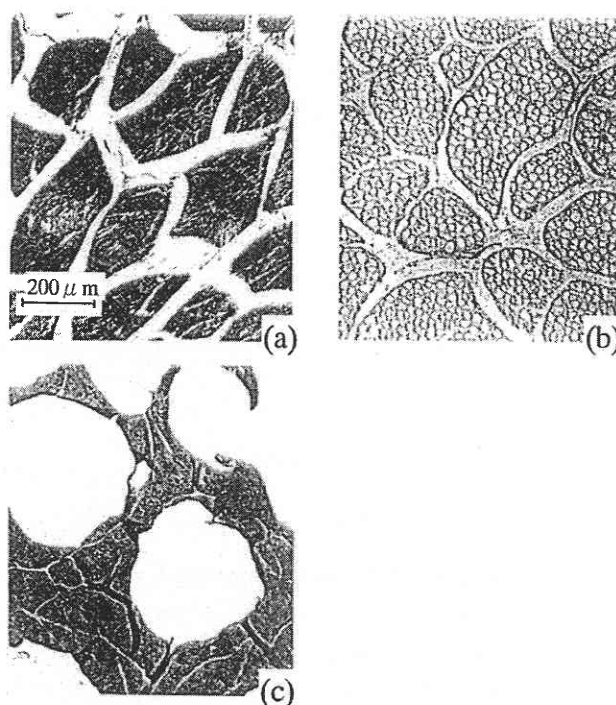


Fig. 3 Cross sections of frozen fish muscles, cf. JAR Hand book Vol. 5, (1993), 40.

法の開発や、氷晶の成長速度を予測することは、貯蔵中の食品の品質を管理する上で重要である。

生体である生鮮食品の代謝や氷晶サイズの変化は温度が高いほど急速に進むため、解凍は食品に対して均一、迅速に行うことが望ましい。ところが、食品の表面から、熱伝導により熱を加える解凍操作（水につける、自然解凍する等）をすると、食品表面と中心部の温度に著しい差が生じて、中心部が解凍するまで表面部分が長時間高い温度にさらされてしまうことがある。このような観点から、マイクロ波による加熱を用いることがあるが、かえって局部的に加熱され温度のむらが激しくなる。

著者の研究室では、上記の様な凍結・貯蔵・解凍現象を大きく左右する氷に着目し、その電気・磁気物性の特徴を利用して、食品中の氷晶の非破壊測定<sup>4)</sup>、均一・急速解凍法<sup>5)</sup>を開発している。

## 4. ま と め

### ～水或いは氷の物性と分子の熱運動～

凍結・貯蔵・解凍という凍結保存に必要な一連の操作において、氷晶の状態を決定している現象は、氷核生成・再結晶・融解（昇華）という3つの現象である。しかし、分子のオーダーでこれらの現象をみると、水素結合の強度の変化に過ぎない。水とは、強固な水素結合により分子の配向が制限された構造を形成している状態である。この時の

氷晶内の分子の回転緩和時間は、およそ  $10^{-3} \sim 10^{-2}$ sec と非常に遅く、室温における水分子が  $10^{-12}$ sec 程度の回転緩和時間で大変目まぐるしく動いていることと比較すればわかる<sup>6)</sup>。また、生体や食品を構成する高分子には多くの水分子が配向して結合しており、その回転緩和時間は、室温で約  $10^{-7} \sim 10^{-6}$ sec で通常 10 万～100 万倍動きが鈍い<sup>6)</sup>。本稿で述べている“相変化を操る”とは、このような運動の緩和時間を操作・利用する行為に他ならない。例えば 2. で紹介したガラス化法は、親水性の高分子を導入することで結合水を増やし、凍結にかかわる自由運動をする水分子を極端に減らす原理を用いている。また、水或いは氷の分子の運動だけを選択的に制御するには、水分子の特徴である強い極性や反磁性を利用することも考えられる。このような物性に基づいて交番電場や磁場を、条件を適切に選んで作

用させると、対象の大きさの制限を越えて水分子に選択的に力を働きかけることができる。例えば、3. で紹介した氷晶の非破壊測定は誘電分散を利用しており、均一・急速解凍は誘電損失分散の温度特性を利用している。

(2001 年 2 月 13 日受理)

#### 参 考 文 献

- 1) 白樫, 棚澤, 日本機械学会論文集 B64, 627 (1998), 3861.
- 2) 白樫, 棚澤, 日本機械学会論文集 B64, 623 (1998), 2362.
- 3) 白樫, 酒井, 日本機械学会論文集投稿中.
- 4) 白樫, 白, 西尾, 熱物性シンポ講演論文集(2000), 256.
- 5) 白, 白樫, 西尾, 日本冷凍空調学会論文集 16, 3 (1999), 263.
- 6) 上平, 逢坂, “生体系の水”, 講談社(1997), 138.