

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(10) 国際公開番号

WO 2011/115145 A1

(43) 国際公開日

2011 年 9 月 22 日 (2011.09.22)

PCT

- (51) 国際特許分類 :
C04B 38/00 (2006.01) B01J 20/08 (2006.01)
B01D 39/16 (2006.01) B01J 20/26 (2006.01)
B0W 39/20 (2006.01) B01J 20/28 (2006.01)
B01J20/02 (2006.01) B01J 20/30 (2006.01)
B01J 20/06 (2006.01)
- (21) 国際出願番号 : PCT/JP201 1/056146
- (22) 国際出願日 : 2011年3月16日 (16.03.2011)
- (25) 国際出願の言語 : 日本語
- (26) 国際公開の言語 : 日本語
- (30) 優先権データ :
特願 2010-059807 2010年3月16日 (16.03.2010) JP
- (71) 出願人 (日本についてのみ) : 独立行政法人産業技術総合研究所 (NATIONAL INSTITUTE OF ADVANCED INDUSTRIAL SCIENCE AND TECHNOLOGY) [JP/JP]; 〒1008921 東京都千代田区霞が関一丁目3番1号 Tokyo (JP).
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について) : 株式会社ニチレイフーズ (NICHIREI FOODS INC.)

[JP/JP]; 〒1048402 東京都中央区築地六丁目19番20号 Tokyo (JP).

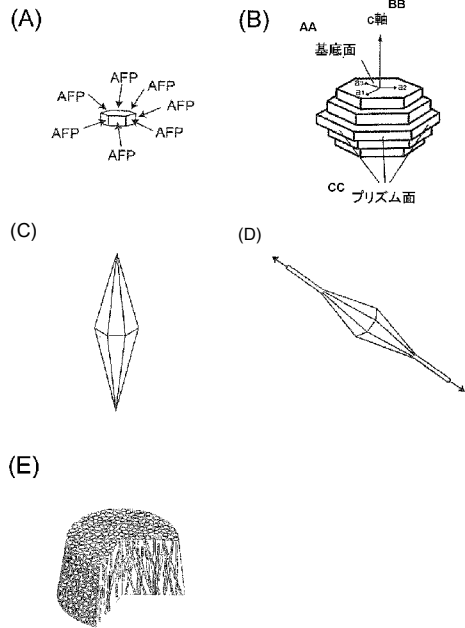
(72) 発明者 ;および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ) : 福島学 (FUKUSHIMA Manabu) [JP/JP]; 〒4638560 愛知県名古屋市守山区大字下志段味字穴ヶ洞2266番地の98 独立行政法人産業技術総合研究所 中部センター内 Aichi (JP). 吉澤友一 (YOSHIZAWA Yuichi) [JP/JP]; 〒4638560 愛知県名古屋市守山区大字下志段味字穴ヶ洞2266番地の98 独立行政法人産業技術総合研究所 中部センター内 Aichi (JP). 村山宣光 (MURAYAMA Norimitsu) [JP/JP]; 〒4638560 愛知県名古屋市守山区大字下志段味字穴ヶ洞2266番地の98 独立行政法人産業技術総合研究所 中部センター内 Aichi (JP). 津田栄 (TSUDA Sakae) [JP/JP]; 〒0628517 北海道札幌市豊平区月寒東2条17丁目2番1号 独立行政法人産業技術総合研究所 北海道センター内 Hokkaido (JP). 小泉雄史 (KOIZUMI Takeshi) [JP/JP]; 〒2618545 千葉県千葉市美浜区新港9番地 株式会社ニチレイフーズ 研究開発部内 Chiba (JP). 井上敏文 (INOUE Toshifumi) [JP/JP]; 〒2618545 千

[続葉有]

(54) Title: METHOD FOR MANUFACTURING POROUS MATERIAL USING ANTIFREEZE PROTEIN

(54) 発明の名称 : 不凍タンパク質を用いる多孔体の製造方法

[図1]



AA base surface
BB c-axis
CC prism surfaces

(57) Abstract: Provided is a method for manufacturing a porous material, in which porosity can be adjusted to 50% or higher by means of a freezing process, pore size can be adjusted to 10 μm to 300 μm, and pore diameter distribution is uniform. In the method, a mixture of water and a source material containing any of at least a ceramic material, a resin, a metal, and precursors thereof is frozen from a predetermined portion of the mixture so as to form a frozen material having ice crystals as pore origins. Ice is then removed from the frozen material to obtain a dry material, and the dry material is heat-treated to obtain a porous material. The method is characterized by antifreeze protein being included in the mixture of the water and the source material or in the frozen material.

(57) 要約 : 凍結法により気孔率が50%以上で制御可能であり、細孔のサイズが10 μm ~ 300 μmで制御可能であり、細孔径分布が均一であること特徴とする多孔体の製造方法を提供する。少なくともセラミックス、樹脂、金属及びそれらの前駆体のいずれかを含む原料体と水との混合物を特定部位から凍結させ、その際に生じる氷結晶を細孔源とし、その後、凍結体から氷を除去することで得られる乾燥体を熱処理する多孔体の製造方法であって、不凍タンパク質を原料体と水との混合物あるいは凍結体内に含有させることを特徴とする。

W 2 11/11 14 1



千葉県千葉市美浜区新港 9 番地 株式会社ニチ
レイフーズ 研究開発部内 Chiba (JP).

(74) 代理人 : 平木祐輔 , 外 (HIRAKI Yusuke et al); 〒
1050001 東京都港区虎ノ門 4 丁目 3 番 2 0 号
神谷町 M T ビル 1 9 階 Tokyo (JP).

(81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保
護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA,
BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO,
CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS,
JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR,
LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW,
MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH,
PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST,

SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ,
VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保
護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW,
MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア
(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ
(AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR,
GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT,
NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR,
NE, SN, TD, TG).

添付公開書類 :

- 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

明 細 書

発明の名称 : 不凍タンパク質を用いる多孔体の製造方法

技術分野

[0001] 本発明は、多孔質構造をもつセラミックス、金属、樹脂などの工業材料を製造する際に用いる凍結法において、細孔のサイズ分布を一様にする成分として不凍タンパク質を原料体と水との混合物に含有させる多孔体の製造方法に関する。

背景技術

[0002] 多孔体は、細孔を含む構造体として、その細孔構造を活用したフィルター、流体透過部材、触媒担体、吸着材、断熱材など工業材料として広く利用されている。特に、一方向貫通孔を有する多孔体は、フィルター、流体透過部材などとして広く用いられている。このような用途展開では、大容量の流体透過、捕集効率、部材サイズの大型化が課題となっている。

[0003] 一方向貫通孔を有する多孔体の製造方法としては、原料の相分離を利用、特に原料に含まれる水分を凍結させ乾燥により氷を除去する方法、すなわち氷を細孔源とする方法が提案されている。この方法は、例えば原料体である粉粒と水とを混合してスラリーとし、これを鋳型に注いで鋳型の底部から凍結させ氷を成長させ、氷の形成した部位を乾燥により除去し細孔として付与する方法である。

[0004] このようなものとしては、これまでに以下に示すような提案がなされている。

[0005] 例えば、原料体であるセラミックス粉末を水中に分散させるスラリーを調製した後、得られたスラリーを特定方向から凍結させ氷の成長を促して、凍結したスラリーを真空凍結乾燥し氷を昇華させて、マクロ孔を有するセラミックス成形体を得る製造方法である（特許文献1）。

[0006] 一方、水溶性有機モノマーの重合物と層状に剥離した水膨潤性粘土鉱物との三次元網目構造を形成させ、含有する溶媒を凍結乾燥により除去すること

により、樹脂多孔体を得る製造方法が提案されている（特許文献2）。

[0007] また、水酸アパタイト／コラーゲン複合繊維と緩衝液とを混合し、凍結処理により氷結晶を成長させ、乾燥により一方向性細孔を付与する多孔質生体材料の製造方法も提案されている（特許文献3）。

[0008] さらに、セラミックス前駆体水溶液を凍結させ、水分を一方向へ柱状に凍結成長させ、その後氷を乾燥除去し、一方向細孔を有する多孔質セラミックス材料の製造方法が挙げられる（特許文献4）。

[0009] 本発明者らも、ゲル化と凍結を組み合わせた新たなセラミックス多孔体成形法に関する提案を行っている（特許文献5）。

[001 0] この方法によれば、ゲル化を工程に加えることで既存の技術に比べて成形性が向上し、樹枝状氷結晶の成長が抑制される。また、ゲル化剤が水分を保水するため極めて高い細孔率を付与することが可能になる。

[001 1] これら上記の凍結法、すなわち原料体と水との混合物を特定部位から凍結させる方法では、冷媒と接している部位は温度が低く、冷媒から離れるに従って温度が高くなるため凍結体で温度が不均一になる。一般的に氷結晶は低温ほど微細になり、高温で形成すると粗大な氷結晶が形成する（非特許文献1）。

[001 2] そのため冷媒と接している部位の氷サイズは微細であるが、冷媒から離れるにしたがって粗大な氷結晶となってしまうという問題があった。更に、氷が形成される際には凍結に伴う潜熱が放出されるため、冷媒から離れるほど氷形成温度が高くなるという問題があった。

[001 3] また、多孔体成形過程で凍結体内部に発生する氷の再結晶化を抑制しにくいことも従来からの問題であった。氷の再結晶化とは、氷結晶の全体又は一部が溶解した後に再び結晶化することである。より平易には、氷同士がくつつくことである。例えば、ゲルやアイスクリームなど特に水分含量の高い含水物を凍結すると、その内部では容易に氷の再結晶化が起こる。ゆっくりと一方向凍結を行う場合には、氷の再結晶化が起こる十分な時間があるために容易に氷の束が形成されてしまう。含水物の組成や凍結温度などに細心の注

意を払ってもこのような氷の再結晶化を容易に抑制できないことが、当該技術の実施を妨げる原因になっていた。

- [001 4] 上記のように、凍結法は一方向配向性細孔を付与できる点で優れた方法であるものの、原料体やゲル内部に作成した氷の大きさや太さが不均一になるという問題があった。

先行技術文献

特許文献

- [001 5] 特許文献1 :特開2001—192280号公報
特許文献2 :特開2004—359747号公報
特許文献3 :特開2007—98117号公報
特許文献4 :特開2009—46341号公報
特許文献5 :特開2008—201636号公報

非特許文献

- [001 6] 非特許文献1 :露木英男 :食品加工学第2版—加工から保蔵まで— 14 _ 16 , 共立出版 , 東京 .
非特許文献2 :Comparison of functional properties of two antifreeze proteins from *Antarctomyces psychrotrophicus* and *Typhula ishikariensis*. Nan Xiao, Keita Suzuki, Yoshiyuki Nishimiya, Hidemasa Kondo, Ai Miura, Sakae Tsuda, and Tamotsu Hoshino. (2010) FEBS Journal, 277, 394-403.
非特許文編 :Antifreeze proteins: an unusual receptor-ligand interaction. Zongchao Zia and Peter Davies (2002) TRENDS in Biochemical Sciences, 27 (2), 101-106.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [001 7] 上記のような凍結現象を利用した氷の相分離により細孔を付与する方法によれば、凍結用の冷媒に近接する部位は温度が低く微細な氷結晶が形成し、

冷媒から離れるに従って温度が高くなるため粗大な氷結晶が形成してしまう。そのため、部材全体で氷結晶のサイズを均一にすることが困難であった。

[001 8] また、凍結スラリーや凍結ゲル内部に発生する氷の再結晶化を抑制する技術も必要であった。ゲル中の氷が再結晶化を起こし、さまざまな太さの氷柱を発生させてしまうことが未解決の問題であった。

[001 9] 以上のような従来技術の状況からも、複雑な操作を必要とせずに、試料内でムラのない細孔径分布を有する高气孔率多孔体を製造できる新たな方法の開発が望まれていた。

[0020] そこで、本発明は、凍結法により気孔率が50%以上で制御可能であり、細孔のサイズが10 μ m～300 μ mで制御可能であり、細孔径分布が均一であること特徴とする多孔体の製造方法を提供することを課題としている。

課題を解決するための手段

[0021] 本発明者らは、前記課題を解決するために鋭意研究を重ねた結果、原料体と水との混合物に不凍タンパク質を添加した後に、これを凍結することにより、細孔源となる氷柱が細さを保ちながら伸長することを見出した。さらに、このようにして凍結させた混合物を乾燥させて氷結晶を除去することにより、細孔のサイズが均一になった多孔質成形体を製造することができることを見出し、この知見に基づいて本発明を完成した。

[0022] すなわち、本発明の多孔体の製造方法は以下のことを特徴としている。

[0023] 第1に、少なくともセラミックス、樹脂、金属及びそれらの前駆体のいずれかを含む原料体と水との混合物を特定部位から凍結させ、その際に生じる氷結晶を細孔源とし、その後、凍結体から氷を除去することで得られる乾燥体を熱処理する多孔体の製造方法であって、不凍タンパク質を原料体と水との混合物あるいは凍結体内に含有させる。

[0024] 第2に、上記第1の発明の多孔体の製造方法において、不凍タンパク質が、氷の結晶成長及び再結晶化を阻害する機能を有する物質である。

[0025] 第3に、上記第1の発明の多孔体の製造方法において、原料体と水との混合物に、ゲル化可能であって、乾燥中に凍結以前の組織に戻らない非可逆的

ゲル化高分子であるゲル化可能な水溶性高分子を含有させる多孔体の製造方法である。

[0026] 第4に、上記第3の発明の多孔体の製造方法において、ゲル化可能な水溶性高分子が、アクリルアミド系高分子、アルギン酸系高分子、ポリエチレンイミン系高分子、メチルセルロース系高分子、多糖類ゲル、タンパク系ゲル、ゼラチン、寒天の少なくともいずれかである。

[0027] 第5に、上記第1の発明の多孔体の製造方法において、原料体が、炭化ケイ素、窒化ケイ素、アルミナ、ジルコニア、水酸アパタイト、フェノール、アクリル、ポリスチレン、ナイロン、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリ塩化ビニル、テフロン（登録商標）、鉄、アルミニウムの少なくともいずれかである。

[0028] 第6に、上記第1から第5の発明の多孔体の製造方法によって製造された多孔体である。

発明の効果

[0029] 上記第1の発明によれば、少なくともセラミックス、樹脂、金属を含む原料体と水との混合物を特定部位から凍結する際に生じる氷結晶を細孔源とする製造方法において、不凍タンパク質を原料体と水との混合物あるいは凍結体内に含有させることにより、氷のサイズムラを低減することが可能となる。

[0030] 上記第2から第5の発明によれば、氷のa軸方向への成長と再結晶化を強く抑制し、細孔のサイズが一様で連通性に優れた細孔を有する多孔体を製造することができる。

[0031] そして第6の発明によれば、上記第1から5の発明の製造方法により、気孔率が50%～99%であり細孔サイズが10μm～300μmの多孔体とすることができる。

[0032] 本明細書は本願の優先権の基礎である日本国特許出願第2010-059807号の明細書及び／又は図面に記載される内容を包含する。

図面の簡単な説明

[0033] [図1] (A) は氷の単結晶を示し、AFP (不凍タンパク質) が結晶表面に強く吸着する状態を示す模式図である。(B) は氷の単結晶がAFPの吸着によって六方両錘体型へと変化するときを示す模式図である。(C) はAFPが表面に吸着している六方両錘体型氷結晶の模式図である。(D) は六方両錘体型氷結晶の先端部分から針状の氷が伸長する様子を表した模式図である。(E) は(D)を細孔源として作成した多孔体の模式図である。

[図2] ゲル化凍結法により凍結温度 -40°C を適用して作製したアルミナ多孔体の、凍結方向に対して平行方向の走査型電子顕微鏡(SEM)写真である。試料高さは1cmであり、(A)は冷媒付近、(B)は冷媒から0.9mm離れた部位の微細構造を示す。

[図3] ゲル化凍結法により作製したアルミナ多孔体の凍結方向に対し垂直方向のSEM写真である。(A)は凍結温度 -20°C を適用して作成したものであり、(B)は凍結温度 -40°C を適用して作成したものである。試料高さは1cmであり、上下4mmずつ研削し中心部位の微細構造を示す。

[図4] スラリー凍結法により凍結温度 -40°C を適用して作製したアルミナ多孔体の、凍結方向に対して平行方向のSEM写真である。試料高さは1cmであり、(A)は冷媒付近、(B)は冷媒から0.9mm離れた部位の微細構造を示す。

[図5] (A)は魚肉夾雑タンパク質水溶液中に観察された氷結晶の顕微鏡写真である。(B)は精製された不凍タンパク質試料について観察された六方両錘体型氷結晶の顕微鏡写真である。

[図6] 不凍タンパク質を0.25体積%となるように原料体、水、ゲル化剤に加えゲル化凍結法により作製したアルミナ多孔体の、凍結方向に対し垂直方向のSEM写真である。(A)は凍結温度 -20°C を適用して作成したものであり、(B)は凍結温度 -40°C を適用して作成したものである。試料高さは1cmであり、上下4mmずつ研削し中心部位の微細構造を示す。

[図7] 不凍タンパク質を0.5体積%となるように原料体、水、ゲル化剤に加えゲル化凍結法により凍結温度 -40°C を適用して作成したアルミナ多孔体

の、凍結方向に対し平行方向のSEM写真である。(A)は冷媒付近、(B)は冷媒から0.5cm離れた部位、(C)は冷媒から0.9mm離れた部位の微細構造を示す。

[図8]不凍タンパク質を3.0体積%となるように原料体、水、ゲル化剤に加えゲル化凍結法により凍結温度 -40°C を適用して作成したアルミナ多孔体の、凍結方向に対し平行方向のSEM写真である。(A)は冷媒付近、(B)は冷媒から0.5cm離れた部位、(C)は冷媒から0.9mm離れた部位の微細構造を示す。

[図9]不凍タンパク質を0.25体積%となるように原料体、水に加えスラリー凍結法により凍結温度 -40°C を適用して作製したアルミナ多孔体の、凍結方向に対して平行方向のSEM写真である。(A)は冷媒付近、(B)は冷媒から0.5cm離れた部位、(C)は冷媒から0.9mm離れた部位の微細構造を示す。

[図10]不凍タンパク質を0.25体積%となるように原料体、ゲル化剤に加えゲル化凍結法により凍結温度 -40°C を適用して作製したジルコニア多孔体の、凍結方向に対し平行方向のSEM写真である。(A)は冷媒付近、(B)は冷媒から0.9mm離れた部位の微細構造を示す。

[図11]不凍タンパク質を0.25体積%となるように原料体、ゲル化剤に加えゲル化凍結法により凍結温度 -40°C を適用して作製したフェノール多孔体の、凍結方向に対し平行方向のSEM写真である。(A)は冷媒付近、(B)は冷媒から0.9mm離れた部位の微細構造を示す。

発明を実施するための形態

[0034] 以下、本発明を実施するための形態について説明する。もちろん、以下の説明は、発明の趣旨をより良く理解可能とするためのものであり、本発明を限定するものではない。

[0035] 本発明の多孔体の製造方法は、原料体と水との混合物を凍結させ、その際に生じる氷結晶を細孔源とし、その後、凍結体から氷を除去するものである。

。

- [0036] 本発明に用いられる原料体は、少なくともセラミックス、樹脂、金属及びそれらの前駆体のいずれかを含むものである。
- [0037] セラミックスを用いる場合には、通常公知のセラミックスの粉粒体であれば制限なく用いることができ、これらのものとしては、例えば、アルミナ系、ジルコニア系、アパタイト系、炭化ケイ素系、窒化ケイ素系、窒化ホウ素系、グラファイト系のセラミックスを挙げることができる。また、通常公知のセラミックス前駆体として、シリカ系、アルミナ系、ジルコニア系、チタニア系、ポリシラン系のアルコキシドや無機高分子を用いることもできる。
- [0038] また、樹脂としては、フェノール系、アクリル系、ポリスチレン系、ナイロン系、ポリエチレン系、ポリプロピレン系、塩化ビニル系、ポリカーポネート系、ポリイミド系、テフロン（登録商標）系樹脂等を用いることができる。
- [0039] また、金属としては、通常公知の金属粉であれば制限なく用いることができ、これらのものとしては、例えば、鉄系、アルミニウム系等のものを挙げることができる。そして、上記原料体は1種又は2種以上組み合わせて使用することができる。
- [0040] 原料体の平均粒子径は、 $300\mu\text{m}$ 以下、好ましくは $0.1\mu\text{m}\sim 300\mu\text{m}$ 、特に好ましくは $1\mu\text{m}\sim 100\mu\text{m}$ の範囲内である。
- [0041] 原料体の平均粒子径が $300\mu\text{m}$ より大きな粒子であると水中での分散性が悪くなり、沈降してしまう可能性があるため好ましくない。また、小さい粒子を用いる場合には、凝集粒子の壊砕や分散性を向上させるために分散剤を添加することもできる。
- [0042] 例えば、セラミックス粉粒体を原料体に用いる場合には、均一に分散させるために粒子径は $1\mu\text{m}$ 以下の粒子が好ましく、より好ましくは $0.8\mu\text{m}$ 以下、さらに好ましくは $0.6\mu\text{m}$ 以下である。特に $0.1\mu\text{m}$ 以下の粒子を適量含有することにより、焼結が促進してセラミックス焼結体としての強度が増す。
- [0043] 本発明は、出発原料の種類に依存せず高気孔率かつ細孔径分布が均一な

多孔体を製造することを特徴としている。そのため原料体の形状は特に制限されるものではなく、使用される環境を考慮して選定することができる。

[0044] 本発明の原料体には、本発明の効果を阻害しないものであれば上記以外の他の成分、例えば、微量の焼結助剤等を適宜選択的に添加することができる。

[0045] 次に本発明に用いられる不凍タンパク質について詳述する。

[0046] 本発明に用いる不凍タンパク質とは、氷結晶の表面に吸着して氷の結晶成長を抑制する機能及び、再結晶化を抑制する機能をもつタンパク質のことである。

[0047] これら2つの機能は、例えばマイナス温度域に試料温度を設定できる光学顕微鏡を用いることによって容易に確認することができる（非特許文献2参照）。即ち、注目する物質が不凍タンパク質であるか否かは顕微鏡観察等により容易に判定することができ、これまでに魚類、植物、昆虫、菌類等が不凍タンパク質を有していることが明らかになっている。

[0048] 通常、不凍タンパク質の呼称は、熱ヒステリシスタンパク質あるいは抗凍結タンパク質など様々な名称で呼ばれる場合がある。また、不凍蛋白質、抗凍結蛋白質、氷結晶結合蛋白質、再結晶化阻害蛋白質などと表記される場合がある。また、Antifreeze Protein (AFP)、Ice Binding Protein (IBP)、Ice Structuring Protein (ISP) など複数の呼び名がある。本発明においては、これらを全て含めて不凍タンパク質とする。

[0049] また、アミノ酸残基数が20～30の小さなタンパク質をペプチドと呼ぶ場合があるが、本発明の不凍タンパク質は、氷結晶の表面に吸着してその結晶成長及び再結晶化を抑制する機能を有するペプチド、また、魚類、植物、昆虫、菌などの天然資源から抽出し精製したもの、菌培養と遺伝子組換え技術を用いて生産したものと及び化学合成によって生産したものも包含する。

[0050] 不凍タンパク質には、アミノ酸組成や高次構造の異なる様々なバリエーションが存在する。例えば魚類由来の不凍タンパク質には、Alaに富むひらせん構造からなる分子量約3000～5000の「 β 1、Cタイプレクチン様

の構造モチーフからなる分子量約 14000 ~ 24000 の八「 β 」複数の β 構造を含む球状構造からなる分子量約 7000 の AFP II しひらせんを束ねた構造からなる分子量約 12000 の八「 β 」IV、及び-Ala-Thr-Ala-の3残基の繰り返し構造から構成され、この中のThr残基の側鎖が糖鎖修飾を受けている分子量約 3000 ~ 24000 の AFPがある（非特許文献3参照）。

[0051] 本発明における不凍タンパク質はAFP I~III及びAFPを包含する。 β ヘリックス構造から成る分子量約 7000 ~ 12000 の昆虫由来の不凍タンパク質や、新たに発見され組成解析や構造解析が進められている植物や菌類由来の不凍タンパク質などもある。また同じ型に分類されている不凍タンパク質であっても、生物種に依存してアミノ酸の一部組成や部分配列、局所構造などが異なることが知られている。

[0052] 例えば、魚類のケムシカジカとシチロウオはどちらもAFP IIを有するが、それらのアミノ酸配列の相同性は約60%である。本発明における不凍タンパク質は、これらの分子をすべて包含するものである。

[0053] 本発明に用いられる不凍タンパク質としては、上記の種々のものが使用可能であり、以下に詳述する不凍タンパク質の機能としての成長抑制、氷結晶の再結晶化抑制、氷サイズの均一化、溶質の均一分散化、凝固点降下の目的であれば、不凍タンパク質の種類や形状に制限されることなく、氷の形状やサイズなどを考慮して選択的に用いることができる。

[0054] 次に、本発明における不凍タンパク質の機能について詳述する。

[0055] 水を0℃以下に冷却すると、やがて核となる氷結晶が自然発生する。この氷結晶の構造は、図1(A)に表されるような扁平な六角の板状であり、6枚の等価な氷結晶面（図1(B) a1軸~a3軸に垂直な面）はプリズム面と呼ばれ、2枚の等価な氷結晶面（同c軸方向に垂直な面）は基底面と呼ばれる。プリズム面と基底面はともに周囲の冷えた水分子を吸着して結晶成長する性質を有している。

[0056] プリズム面はより効率的に水分子を吸着するため、不凍タンパク質が無い

ときには a 1 軸 - a 3 軸 (以下まとめて a 軸と略称する) 方向の氷結晶成長速度は c 軸方向の氷結晶成長速度に比べて約 100 倍速い。不凍タンパク質は成長する氷結晶の表面を構成している特定の水分子の組に対して強く結合する (図 1 (A)、図中の AFP は不凍タンパク質を表す)。

[0057] どの組に結合するかは不凍タンパク質の種類によるが、殆どの場合プリズム面又はそれを含む結晶成長面上に不凍タンパク質が集積する結果となり、やがて a 軸方向への氷結晶成長が停止する。

[0058] その結果、基底面の上に新たな板状氷結晶が積み上がるようにして c 軸方向への氷結晶成長が起こるが、積み上がった板状氷結晶の a 軸方向の成長も不凍タンパク質の集積によって止まるため、少しサイズの小さな板状氷結晶が新たに積み上がる (図 1 (B))。

[0059] こうして、結晶学的には六方両錘型 (bipyramidal Crystal) と呼ばれる、図 1 (C) に示すような 2 つの六角錐を底面で貼り合わせた独特の形状の氷結晶が、現在までに発見されたほぼ全種類の不凍タンパク質について観察されている。

[0060] 図 1 (C) に示すような六方両錘型の氷結晶は以下に示す 2 つの特徴をもつと推察できる。

[0061] 第 1 の特徴は、六方両錘型氷結晶の表面に不凍タンパク質が集積していることである。このために、六方両錘体型の氷結晶は互いに結びつきにくい性質、すなわち再結晶化しにくい性質を有していると考えられる。

[0062] 第 2 の特徴は、冷却によって六方両錘型の氷結晶を生成させた後に更に低い温度まで冷却を続けると、やがてこの氷結晶の 2 つの先端部分から鋭い針状の氷結晶が飛び出すことである (図 1 (D) 参照)。六方両錘型氷結晶の先端部分は不凍タンパク質がもたらした a 軸方向への成長阻害によって極端に領域を狭められた基底面であり、冷却によってこの部分だけが結晶成長を強いられる結果、針状の氷結晶成長が起こると考えられる。

[0063] 六方両錘型の氷結晶が有する上記 2 つの特徴を生かすことによって、図 1 (E) に示すような均一な細孔径を有する多孔質成形体を製造することがで

さる。

[0064] 本発明で不凍タンパク質を用いるのは、以上詳述した不凍タンパク質の機能を活用することにより、すなわち針状氷結晶を一定の細さで伸張させることにより、原料体、水、不凍タンパク質を包含する水溶性高分子ゲル内において、凍結時における氷結晶に配向性を付与することを可能とし、結果として細孔のサイズ分布を均一にすることを目的としているためである。

[0065] 本発明では、原料体、水及び不凍タンパク質の混合物にゲル化剤を添加してゲル体を作成し、ゲル化凍結法を適用して多孔体を製造することもできる。

[0066] この場合に用いられるゲル化剤としては、ゲル化可能な水溶性高分子であつて、一旦凍結した後は凍結以前の組織構造に戻らない非可逆的ゲル高分子を用いるのが好ましい。

[0067] このようなゲル化剤としては、例えば、N_アルキルアクリルアミド系高分子、N_イソプロピルアクリルアミド系高分子、スルホメチル化アクリルアミド系高分子、N—ジメチルアミノプロピルメタクリルアミド系高分子、ポリアルキルアクリルアミド系高分子等のアクリルアミド系高分子、アルギン酸系高分子、ポリエチレンイミン系高分子、でんぷん、カルボキシメチルセルロース、ヒドロキシメチルセルロース、ポリアクリル酸ナトリウム、ポリビニルアルコール、ポリエチレングリコール、ポリエチレンオキシド、多糖類ゲル、タンパク系ゲル、ゼラチン、寒天などを挙げることができる。これらゲル化剤のうち、常温付近や大気中でゲル化することが好ましい。ゲル化剤の種類、添加量は、粉粒体の水への分散性などにより適宜選択して用いることができる。

[0068] 以下に、本発明の多孔体の製造方法について詳述する。

[0069] まず、原料体、水、不凍タンパク質を混合して、スラリーを調製する。

[0070] 最終的に得られる多孔体の気孔率を50体積%以上とするためには、原料体の含有量を50体積%以下、水の含有量を49.9体積%以下、不凍タンパク質の含有量を0.01~10体積%とするのが好ましい。不凍タンパク

質の含有量は0.1～5体積%が特に望ましく、0.1～5体積%程度の微量の含有であっても氷結晶の成長抑制、氷結晶の再結晶化、サイズの均一化、溶質の均一分散化、凝固点降下に効果がある。原料体の含有量は30～40体積%が特に好ましく、この範囲であれば多孔体の気孔率が60～70体積%となり、多孔体としての強度と気孔率を両立することができる。

[0071] ゲル化剤を添加してゲル体とする場合は、高气孔率化が可能であるため原料体の含有量が1～28体積%とすることができる。この場合、水の含有量を72～97.9体積%、ゲル化剤の含有量を1～10体積%、不凍タンパク質の含有量を0.1～5体積%とするのが好ましい。

[0072] ゲル体を作製するには、まず、原料体と水、不凍タンパク質とを混合してスラリーとし、これにゲル化剤を添加して、上記した体積%となるスラリーを調製する。

[0073] そして、このスラリーを成型型に流し込み、水をゲル中に保持させた状態で固化してゲル化させる。このゲル化により原料体がゲル中に固定される。このゲル状成型体は、最終製品となる多孔体の形状としておくのが後工程を簡略化できるので好ましい。その他に、ゲル化剤が添加されたスラリーを一旦適当な大きさの形状の鋳型に鋳込み、ゲル化させ、ゲル体を得て、このゲル体に成型型を押し当てるなどしてゲル状成型体を形成する方法も採用することができる。

[0074] また、ゲル体作製時に不凍タンパク質を添加せずに、ゲル体を得た後に不凍タンパク質をゲル体に含有させることもできる。得られたゲル体を不凍タンパク質水溶液に浸漬し、ゲル体に含有させてもよい。不凍タンパク質水溶液の濃度と浸漬時間は、例えば濃度は0.01以上30重量%以内の濃度で、浸漬時間は15分以上100時間以内とすることができる。

[0075] 氷結晶の成長抑制、氷結晶の合体抑制、サイズの均一化、溶質の均一分散化、凝固点降下を強く促進させたい場合は、20重量%の濃度の不凍タンパク質水溶液にゲル体を72時間浸漬することによりゲル体に十分に不凍タンパク質をしみこませることができる。

- [0076] 次に、錶型に錶込んだスラリーあるいはゲル体を凍結させる。
- [0077] 70%程度以下の気孔率を有する多孔体を成形する場合は、スラリー凍結法を用い、それ以上の高气孔率体を成形する場合はゲル化凍結法を用いるのが望ましい。
- [0078] スラリー凍結法では、気孔率を70%以上に上げようとする、真空乾燥中に成形体が破砕され形状を維持できない、ハンドリングが困難である等の問題が生じることがある。ゲル化凍結法を用いて、70%以上の高气孔率体を成形する際には、原料体と水との混合物をゲル化させゲル体を凍結させる。
- [0079] 本発明の凍結方法では、スラリー又はゲル体を特定部位から凍結させる。具体的には、錶型の一部、例えば底部から冷却することにより、スラリー又はゲル体内に氷が一方向に配向した凍結体を得ることができる(図1(E)参照)。冷却は、通常の冷凍庫、急速凍結庫、過冷却凍結庫等、公知の方法を用いることができ、いずれの方法でも錶型の外部から冷却する。
- [0080] 凍結体を作製するための凍結温度は、水が凍結する温度であれば特に限定されるものではないが、氷の生成温度領域が $-1 \sim -10^{\circ}\text{C}$ の範囲であるので、凍結温度を氷の生成温度領域よりも低くして、冷却の途中で氷が必要以上に成長しないようにするため、 -10°C 以下にすることが好ましい。
- [0081] 次に凍結体から氷を除去し、乾燥し、熱処理又は焼成する。
- [0082] 凍結成形体中に形成された氷結晶を除去することにより、除去された部分が細孔となるため、凍結状態の原料粉体の骨格構造を崩さないようにして氷のみを除去することが重要となる。即ち、寸法変化が少なく試料の破壊の恐れが少ない氷の除去方法が望ましい。
- [0083] 寸法変化や試料破壊の恐れが少ない乾燥方法としてフリーズドライ法を用いることができる。すなわち、真空又は減圧下で、凍結体中の氷を直接昇華させ、氷のみを除去する方法である。この方法は、氷の融解に伴う水の移動がなく、成形体表面から氷が蒸発するため寸法変化が少なく好ましい。
- [0084] 乾燥後の熱処理には、一般的には、原料体の種類等に応じて、得られる多

孔体の強度を確保する目的から、加熱温度や加熱時間を定めることができる。例えば、炭化ケイ素や窒化ケイ素の場合は、1500～2200℃、2時間程度の焼成が望ましい。アルミナの場合は、1100～1600℃、2時間程度の焼成、ジルコニアの場合は1200～1600℃、2時間程度の焼成、水酸アパタイトの場合は900～1200℃、2時間程度の焼成が望ましい。

[0085] アクリル系の樹脂粉体を利用した場合は、約200℃、30分程度の熱処理が望ましい。ポリエチレン、ポリプロピレンの場合は約100～130℃、30分程度が望ましい。また、6ナイロン、66ナイロンの場合は、約180～200℃、30分程度、更にはポリスチレンの場合は約150～190℃、30分程度が望ましい。

[0086] 鉄の場合は800～1300℃、2時間程度の焼成、アルミニウムの場合は400～600℃、2時間程度の焼成が望ましい。記載した熱処理温度のように融点の5割以上9割以下の温度で熱処理しなければ、強度ある多孔体を得ることができない。また、熱処理では、使用する原料粉体、その粒子径及び目標とする気孔率によって、温度、時間は適宜調整する必要がある。

[0087] 凍結法による本発明の多孔体製造方法によれば、原料体と水からなるスラリー又はゲル体に不凍タンパク質を含ませることで、凍結時の氷結晶の成長抑制、氷結晶の合体抑制、サイズの均一化を達成し、最終的に得られる多孔体の気孔率が高く、細孔のサイズが一樣である多孔体を製造することが可能となる。

実施例

[0088] 次に、実施例に基づいて本発明を具体的に説明する。本発明は、原料体の種類に依存せずに高気孔率かつ細孔径の均一な多孔体を製造できることを大きな特徴としている。そのため、以下の実施例によって限定されることはなく、種々の原料体に対して有用である。

< 不凍タンパク質の調製 >

不凍タンパク質の調製を以下の手順で行った。調製の方法は、特許第42

28066号及び第4332646号に記載の「魚類由来の不凍タンパク質」の調製方法に従って行った。

[0089] 不凍タンパク質の採取源としてカレイを用いた。その魚肉300gに等量(v/w)の水を加えた後にジューサーミキサーを用いて攪拌し魚肉すり身懸濁液を調製した。

[0090] この懸濁液を6,000回転/分で30分遠心分離し不凍タンパク質を含有する上澄み液を得た。この上澄み液を70℃で10分間熱処理し、不凍タンパク質以外の夾雑タンパク質を熱変性させ沈殿させた。その後、6,000回転/分で30分遠心分離し、沈殿した夾雑タンパク質を取り除いた。

[0091] 夾雑タンパク質を水に溶解した試料についてライカ社製DMLB型顕微鏡を用いて氷結晶形状を観察し、夾雑タンパク質については図5(A)に示すように六方両錘体型の氷結晶が観察されないこと、すなわち不凍タンパク質活性が無いことを確認した。

[0092] 一方、この操作によって得た上澄み液の方を凍結乾燥することによって約1グラムの試料粉末を得た。この試料には図5(B)に示すように六方両錘体型の氷結晶が観察され、これによりこの試料粉末が不凍タンパク質であることが確認された。

[0093] 以上の手順により得た不凍タンパク質粉末試料を以下の実施例に用いた。

[0094] < 実施例 1 >

ひ—アルミナ粉体 (大明化学製 TM_DAR、平均粒径0.2 μ m) 10体積%、蒸留水86.75体積%、不凍タンパク質0.25体積%を混合してスラリーを作製し、これにゼラチン粉末 (和光純薬株式会社製) 3体積%を添加しスラリーの調製を行った。

[0095] スラリーは遊星型混合機 (シンキー製、ARE-310) にて1分間混合し、錶型にキャストし冷蔵庫内にてゲル化を行った。ゲル化後、錶込み型ごと凍結槽 (トーマス科学機器 (株) TRL-080II-LM型) で-20℃及び-40℃にて1時間冷却した。

[0096] 凍結体を錶込み型からはずし、フリーズドライ装置 (東京理科器械FDU

- 2100 凍結乾燥機) で12時間乾燥した。その後、焼成炉により1200°Cで2時間焼成した。

[0097] 本実施例で作製した多孔体のSEM写真(凍結方向に対して垂直方向の断面構造)を図6(A)(-20°C)及び図6(B)(-40°C)に示す。これは試料高さ1cm、上下4mmずつ研削し中心部位を観察したものである。

[0098] < 実施例 2 >

ひーアルミナ粉体(大明化学製 TM_DAR、平均粒径0.2 μ m)10体積%、蒸留水86.5体積%、不凍タンパク質0.5体積%を混合してスラリーを作製し、これにゼラチン粉末(和光純薬株式会社製)3体積%を添加しスラリーの調製を行った。

[0099] スラリーは遊星型混合機(シンキー製、ARE-310)にて1分間混合し、鋳型にキャストし冷蔵庫内にてゲル化を行った。ゲル化後、鋳込み型ごと凍結槽(トーマス科学機器(株) TRL-080II-LM型)で-40°Cにて1時間冷却した。

[0100] 凍結体を鋳込み型からはずし、フリーズドライ装置(東京理科器械FDU-2100凍結乾燥機)で12時間乾燥した。その後、焼成炉により1200°Cで2時間焼成した。

[0101] 本実施例で作製した多孔体のSEM写真を図7に示す。(A)は冷媒付近、(B)は冷媒から0.5mm離れた部位、(C)は冷媒から0.9mm離れた部位の微細構造を示す。

[0102] < 実施例 3 >

ひーアルミナ粉体(大明化学製 TM-DAR、平均粒径0.2 μ m)10体積%、蒸留水84体積%、不凍タンパク質3体積%を混合してスラリーを作製し、これにゼラチン粉末(和光純薬株式会社製)3体積%を添加しスラリーの調製を行った。

[0103] スラリーは遊星型混合機(シンキー製、ARE-310)にて1分間混合し、鋳型にキャストし冷蔵庫内にてゲル化を行った。ゲル化後、鋳込み型ごと

と凍結槽（トーマス科学機器（株） TRL-080II-LM型）で -40°C にて1時間冷却した。凍結体を鋳込み型からはずし、フリーズドライ装置（東京理科器械FDU-2100凍結乾燥機）で12時間乾燥した。その後、焼成炉により 1200°C で2時間焼成した。

[0104] 本実施例で作製した多孔体のSEM写真を、図8に示す。(A)は冷媒付近、(B)は冷媒から 0.5mm 離れた部位、(C)は冷媒から 0.9mm 離れた部位の微細構造を示す。

[0105] < 実施例4 >

ひーアルミナ粉体（大明化学製 TM-DAR、平均粒径 $0.2\mu\text{m}$ ）30体積%、蒸留水66.75体積%、バインダー（ユケン工業製 AP2）3体積%、不凍タンパク質 0.25 体積%を混合してスラリーの調製を行った。

[0106] スラリーは遊星型混合機（シンキー製、ARE-310）にて1分間混合し、鋳型にキャストし冷蔵庫内にてゲル化を行った。ゲル化後、鋳込み型ごと凍結槽（トーマス科学機器（株） TRL-080II-LM型）で -40°C にて1時間冷却した。

[0107] 凍結体を鋳込み型からはずし、フリーズドライ装置（東京理科器械FDU-2100凍結乾燥機）で12時間乾燥した。その後、焼成炉により 1200°C で2時間焼成した。

[0108] 本実施例で作製した多孔体の凍結方向に対して平行方向の断面構造のSEM写真を図9に示す。(A)は冷媒付近、(B)は冷媒から 0.5mm 離れた部位、(C)は冷媒から 0.9mm 離れた部位の微細構造を示す。

[0109] < 実施例5 >

3Yジルコニア粉体（東ソー製 TZ-3YE、比表面積 $16\text{m}^2/\text{g}$ ）10体積%、蒸留水86.75体積%、不凍タンパク質 0.25 体積%を混合してスラリーを作製し、これにゼラチン粉末（和光純薬株式会社製）3体積%を添加しスラリーの調製を行った。

[0110] スラリーは遊星型混合機（シンキー製、ARE-310）にて1分間混合

し、鋳型にキャストし冷蔵庫内にてゲル化を行った。ゲル化後、鋳込み型ごと凍結槽（トーマス科学機器（株） TRL-080II-LM型）で -40°C にて1時間冷却した。

[0111] 凍結体を鋳込み型からはずし、フリーズドライ装置（東京理科器械FDU-2100凍結乾燥機）で12時間乾燥した。その後、焼成炉により 150°C で2時間焼成した。

[0112] 本実施例で作製した多孔体のSEM写真を図10に示す。（A）は冷媒付近、（B）は冷媒から 0.9mm 離れた部位の微細構造を示す。

[0113] < 実施例6 >

フエノール粉体（昭和高分子製 BRP8552、平均粒径 $5\mu\text{m}$ ）を10体積%、蒸留水86.75体積%、不凍タンパク質0.25体積%を混合してスラリーを作製し、これにゼラチン粉末（和光純薬株式会社製）3体積%を添加しスラリーの調製を行った。

[0114] スラリーは遊星型混合機（シンキー製、ARE-310）にて1分間混合し、鋳型にキャストし冷蔵庫内にてゲル化を行った。ゲル化後、鋳込み型ごと凍結槽（トーマス科学機器（株） TRL-080II-LM型）で -40°C にて1時間冷却した。

[0115] 凍結体を鋳込み型からはずし、フリーズドライ装置（東京理科器械FDU-2100凍結乾燥機）で12時間乾燥した。その後、最高 140°C で30分間熱処理した。

[0116] 本実施例で作製したフエノール樹脂多孔体のSEM写真を図11に示す。（A）は冷媒付近、（B）は冷媒から 0.9mm 離れた部位の微細構造を示す。

[0117] < 比較例1 >

ひーアルミナ粉体（大明化学製 TM-DAR、平均粒径 $0.2\mu\text{m}$ ）10体積%、蒸留水87体積%を混合してスラリーを作製し、これにゼラチン粉末（和光純薬株式会社製）3体積%を添加し、スラリーの調製を行った。

[0118] スラリーは遊星型混合機（シンキー製、ARE-310）にて1分間混合し

、錶型にキャストし、錶込み型ごと凍結槽（トーマス科学機器（株） TRL-080II-LM型）で -20°C 又は -40°C にて1時間冷却した。

[0119] 凍結体を錶込み型からはずし、フリーズドライ装置（東京理科器械FDU-2100凍結乾燥機）で12時間乾燥した。その後、焼成炉により 1200°C で2時間焼成した。

[0120] 本比較例で作製した多孔体（ -40°C ）の凍結方向に対して平行方向の断面構造のSEM写真を図2に示す。試料高さは1cmであり、（A）は冷媒付近、（B）は冷媒から0.9mm離れた部位の構造を示す。また、図3に凍結方向に対して垂直方向の断面構造のSEM写真（図3（A）（ -20°C で凍結）、図3（B）（ -40°C で凍結））を示す。これは、試料高さ1cm、上下4mmずつ研削し中心部位を観察したものである。

[0121] < 比較例2 >

ひ—アルミナ粉体（大明化学製 TM-DAR、平均粒径 $0.2\mu\text{m}$ ）30体積%、蒸留水67体積%、バインダー（ユケン工業製 AP2）3体積%を混合してスラリーの調製を行った。

[0122] スラリーは遊星型混合機（シンキー製、ARE-310）にて1分間混合し、錶型にキャストし冷蔵庫内にてゲル化を行った。ゲル化後、錶込み型ごと凍結槽（トーマス科学機器（株） TRL-080II-LM型）で -40°C にて1時間冷却した。

[0123] 凍結体を錶込み型からはずし、フリーズドライ装置（東京理科器械FDU-2100凍結乾燥機）で12時間乾燥した。その後、焼成炉により 1200°C で2時間焼成した。

[0124] 作製した多孔体（ -40°C ）の凍結方向に対して平行方向の断面構造のSEM写真を図4に示す。（A）は冷媒付近、（B）は冷媒から0.9mm離れた部位の微細構造を示す。

[0125] < 評価結果 >

（1）気孔率

作製した熱処理体の開気孔率を表1にまとめて示す。開気孔率は、アルキ

メデス法で算出した。熱処理体の寸法と重量からかさ密度を算出し、真密度で除した値を1から減ずることで算出された全気孔率の値は、アルキメデス法で算出された開気孔率とよく一致していた。また、いずれの試料も閉気孔率は1%以下であった。閉気孔とは何れの細孔とも連通していない細孔を意味し、

$$\text{全気孔率} = (\text{開気孔率}) + (\text{閉気孔率})$$

の計算により算出される。

ほ 1]

実施例	原料体含有量 (体積%)	不凍クハク質含有量 (体積%)	開気孔率 (%)
1	10	0.25	88
2	10	0.50	87
3	10	3.00	88
4	30	0.25	68
5	10	0.25	75
6	10	0.25	87

[01 26] 特開 2 0 0 8 _ 2 0 1 6 3 6 号公報記載の通り、スラリー凍結法 (実施例 4) に比べ、ゲル化凍結法 (実施例 1、2、3、5、6) により得られた多孔体は高気孔率成形が可能であった。また、強度確保の目的で高温焼成を行った試料 (実施例 5) は気孔率が焼成収縮により低下している。以上のように、気孔率はAFP添加量の有無に関係なく原料含有量と焼成温度に依存していた。

[01 27] (2) 組織・構造

図 2 及び図 4 からわかるように、比較例 1、2 の従来法により凍結、乾燥、焼成を経て多孔体を作製した場合は、凍結方向に対して平行方向において細孔径のサイズが不均一であった。氷結晶は低温で形成する際には微細であり、高温で形成する際には粗大である。得られた組織は部材内で冷媒から離れるほど細孔径が粗大になっており、冷媒付近と冷媒から離れた部位とで凍結時の温度勾配が顕著であることを意味している。

[01 28] また、比較例 1 の図 3 からわかるように凍結に対して垂直方向の断面においても、従来法では不均一な細孔径分布が観られた。氷結晶形成時の潜熱放出により局所的に温度が高い部位、低い部位が存在し、氷結晶のサイズに差が生じたことを示している。これと比較すると、実施例 1 の本発明により得られた多孔体の組織写真図 6 の細孔径分布は非常に均一である。

[01 29] 一方、図 7 ～ 図 11 で示されるように、本発明で見出した不凍タンパク質を含み凍結を施した部材の場合は、凍結方向に対して平行方向において細孔径のサイズムラが低減され、組織が非常に均一であった。これは、氷結晶のサイズが均一で成長していること、合体及び a 軸方向への成長が抑制されていることを裏付けている。また、原料であるセラミックスや樹脂の種類に関わらず、不凍タンパク質の導入効果が確認された。

産業上の利用可能性

[01 30] 以上説明したように、本発明は、凍結法を用いた多孔体の製造方法に係るものであり、得られる多孔体は、従来達成できなかった凍結時の氷結晶のサイズ分布を均一にするものである。

[01 31] 本発明により、高度な製造技術や、大型で高価な設備を用いずに、所望の特性を有する多孔体を製造する方法を提供できる。

[01 32] また、本発明は各種の原料体に適用可能であり、フィルター、吸着材、消臭材、リアクター、ディフューザー、衝撃吸収材、加工用部材、軽量材、固体触媒、断熱材、生体材料、など汎用的な用途に幅広い応用が期待される。

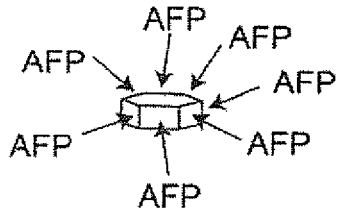
[01 33] 本明細書で引用した全ての刊行物、特許および特許出願をそのまま参考として本明細書にとり入れるものとする。

請求の範囲

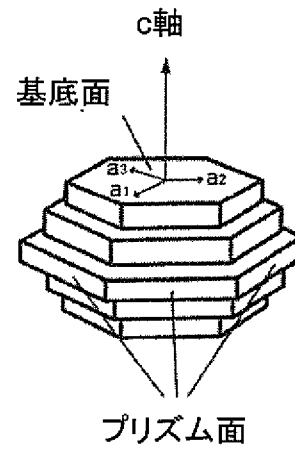
- [請求項1] 少なくともセラミックス、樹脂、金属及びそれらの前駆体のいずれか1つを含む原料体と水との混合物を特定部位から凍結させて氷結晶を生じさせる工程と、凍結体から氷結晶を除去する工程と、凍結体から氷結晶を除去する工程で得られる乾燥体を熱処理する工程とを含む、氷結晶が多孔体の細孔源である多孔体の製造方法であって、原料体と水との混合物あるいは凍結体が不凍タンパク質を含有することを特徴とする多孔体の製造方法。
- [請求項2] 不凍タンパク質が、氷の結晶成長及び再結晶化を阻害する機能を有する物質であることを特徴とする請求項1記載の多孔体の製造方法。
- [請求項3] 請求項1に記載の多孔体の製造方法において、原料体と水との混合物が、ゲル化可能であって、乾燥中に凍結以前の組織に戻らない非可逆的ゲル化高分子であるゲル化可能な水溶性高分子をさらに含有することを特徴とする多孔体の製造方法。
- [請求項4] ゲル化可能な水溶性高分子が、アクリルアミド系高分子、アルギン酸系高分子、ポリエチレンイミン系高分子、メチルセルロース系高分子、多糖類ゲル、タンパク系ゲル、ゼラチン及び寒天の少なくともいずれか1つであることを特徴とする請求項3に記載の多孔体の製造方法。
- [請求項5] 原料体が、炭化ケイ素、窒化ケイ素、アルミナ、ジルコニア、水酸アパタイト、フェノール、アクリル、ポリスチレン、ナイロン、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリ塩化ビニル、テフロン（登録商標）、鉄及びアルミニウムの少なくともいずれか1つであることを特徴とする請求項1記載の多孔体の製造方法。
- [請求項6] 請求項1から5のいずれか1項に記載の方法によって製造された多孔体。

[図1]

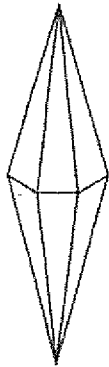
(A)



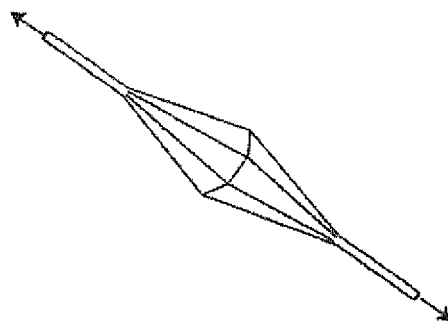
(B)



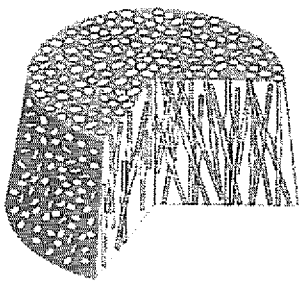
(C)



(D)

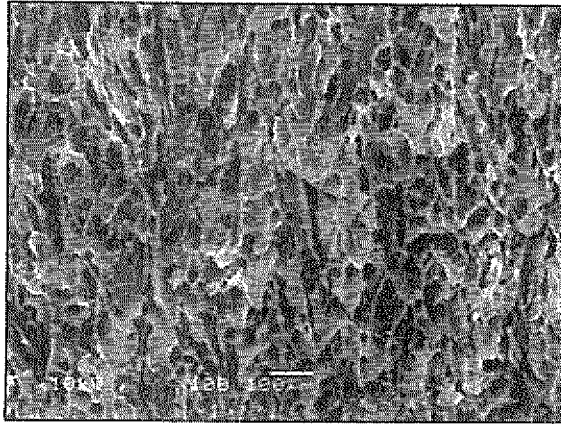


(E)

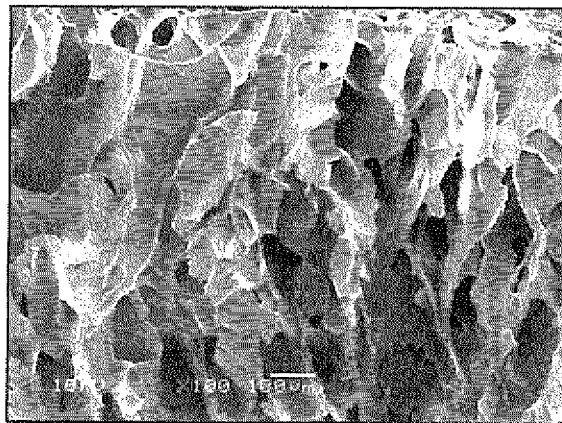


[図2]

(A)

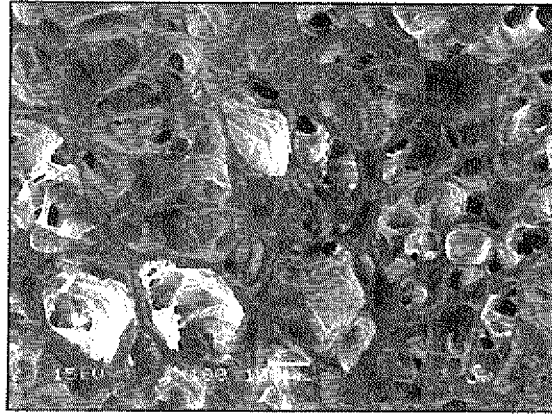


(B)

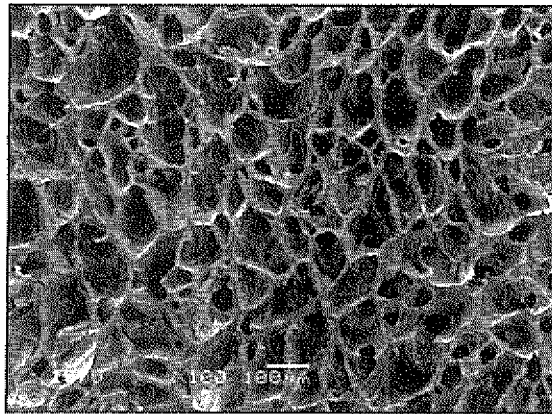


[図3]

(A)

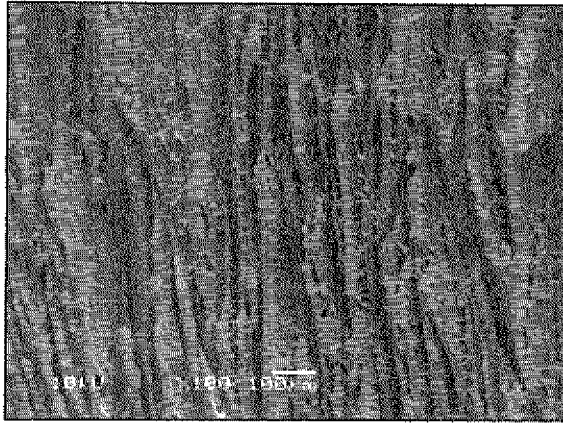


(B)

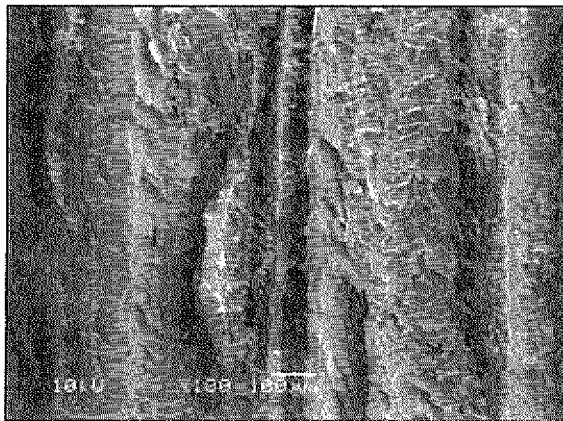


[図4]

(A)

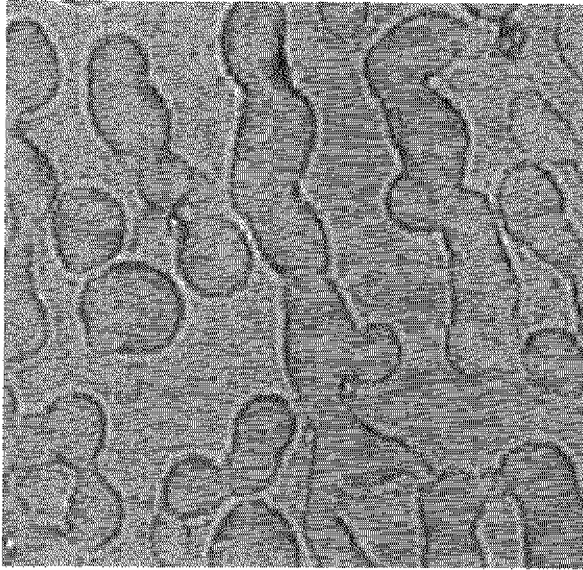


(B)

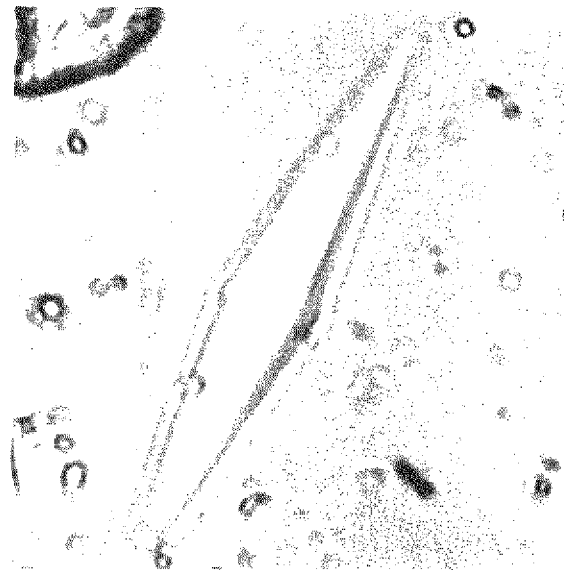


[図5]

(A)

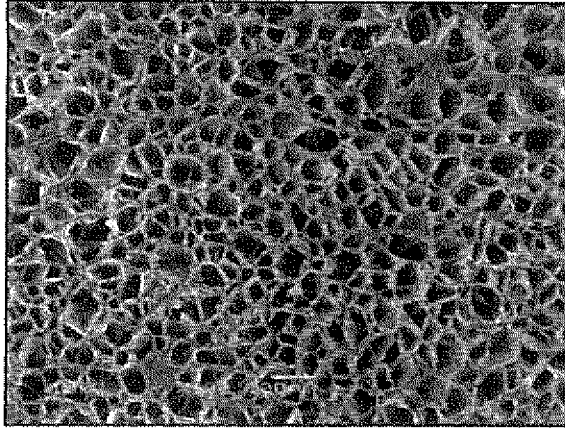


(B)

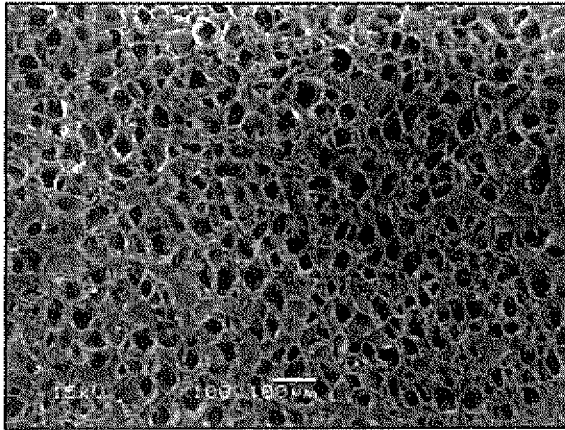


[図6]

(A)

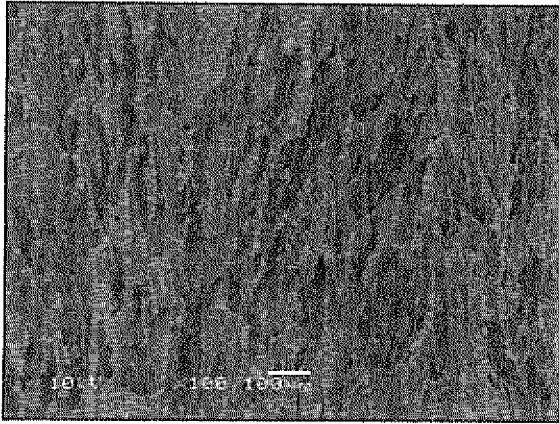


(B)

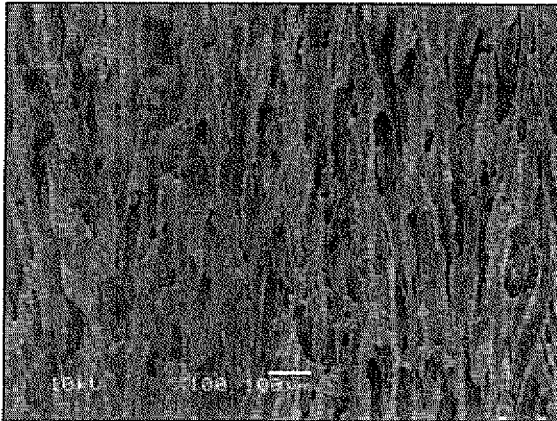


[図7]

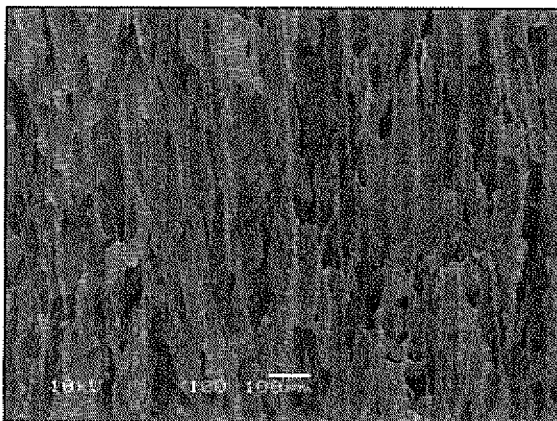
(A)



(B)

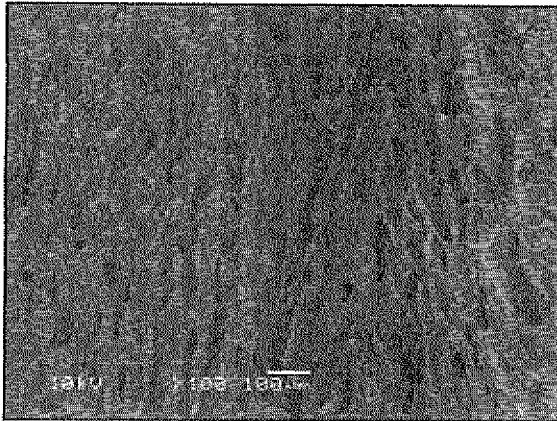


(C)

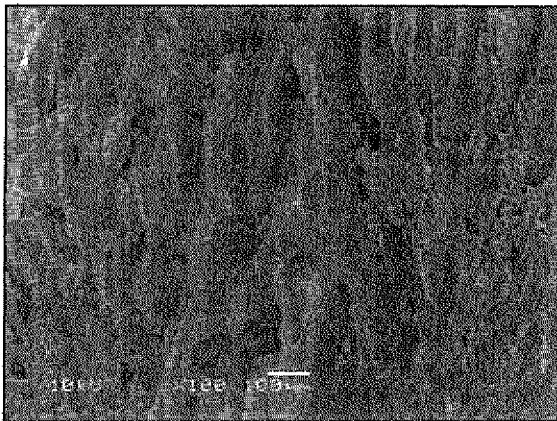


[図8]

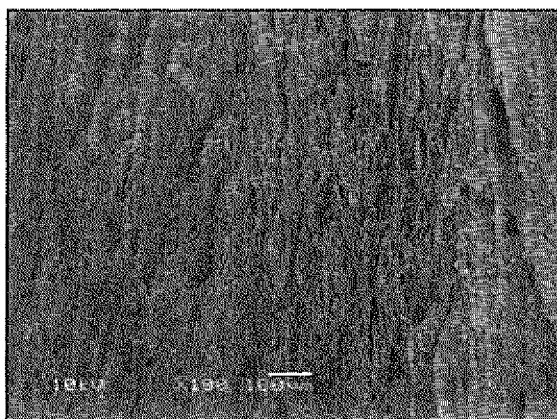
(A)



(B)

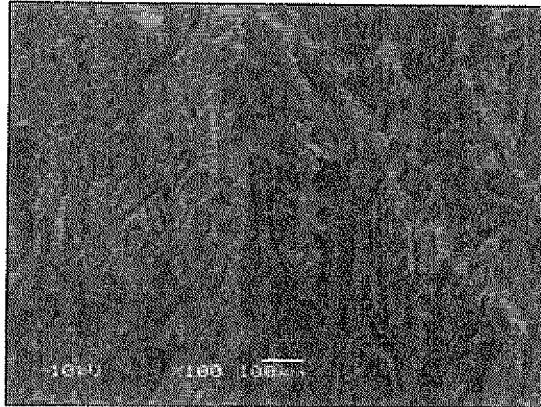


(C)

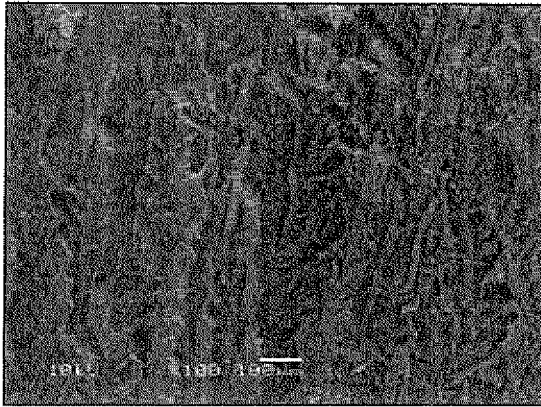


[図9]

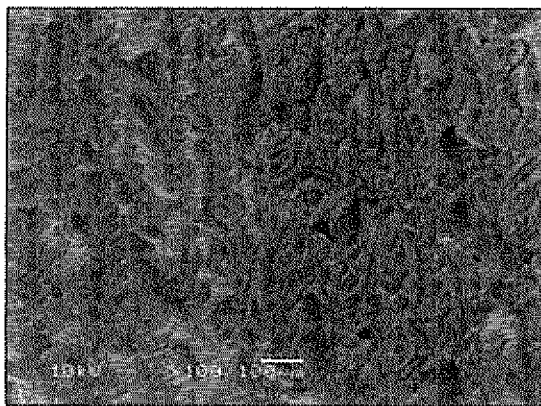
(A)



(B)

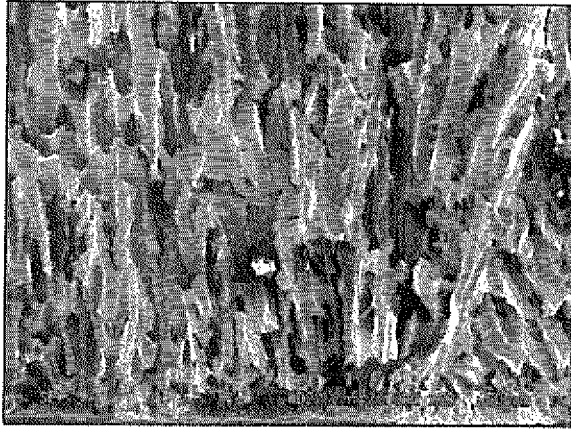


(C)

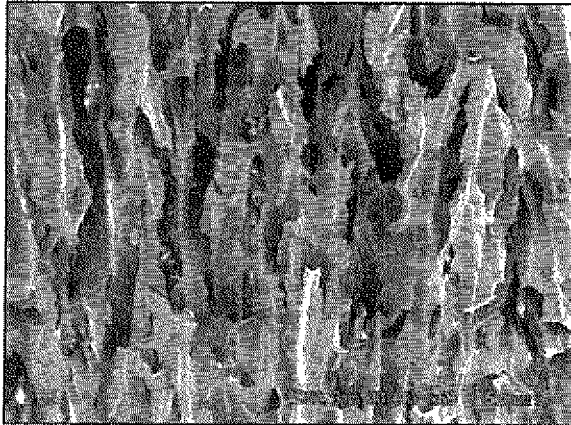


[図10]

(A)

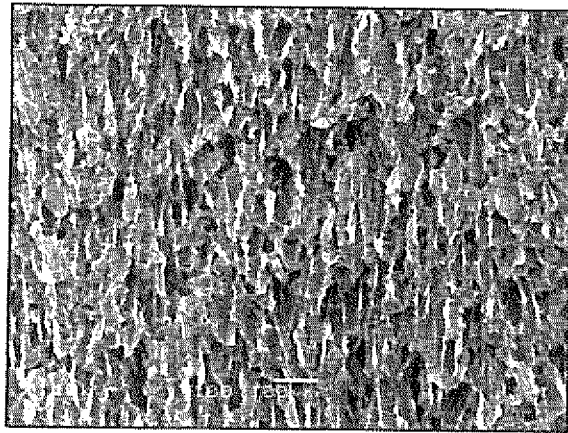


(B)

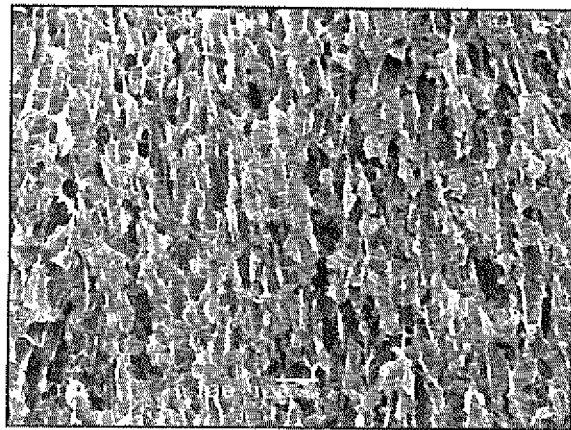


[図11]

(A)



(B)



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT / JP2 011 / 056146

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER C04B3 8/00 (2006.01) i, B01D39/16 (2006.01) ± f, B01D39/20 (2006.01) i, B01J20/02 (2006.01) i, B01J20/16 (2006.01) i, B01J20/28 (2006.01) i, B01U20/30 (2006.01) i, According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C04B38/00-38/10, B01D39/16-39/20, B01J20/00-20/34		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2011 Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2011 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994 - 2011		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	J P 2008-201636 A (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology), 04 September 2008 (04.09.2008), claims 1 to 12; paragraphs [0011] to [0019], [0029] to [0041] & US 2010/0099547 A1 & EP 2133317 A1	1-6
A	J P 2010-18459 A (Kyoto University), 28 January 2010 (28.01.2010), claims 1 to 4; paragraphs [0001] to [0011] (Family: none)	1-6
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 30 March, 2011 (30.03.11)	Date of mailing of the international search report 12 April, 2011 (12.04.11)	
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer	
Facsimile No.	Telephone No.	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT / JP2 011 / 056146

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2005-1943 A (Independent Administrative Institution National Institute for Materials Science), 06 January 2005 (06.01.2005), claims 1 to 9; paragraphs [0014], [0020], [0021], [0035], [0036] (Family: none)	1- 6
A	JP 2007-182421 A (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology), 19 July 2007 (19.07.2007), claims 1 to 12; paragraphs [0001] to [0010] & US 2007/0134647 A1 & 1829890 A1	1- 6
A	JP 2009-167292 A (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology), 30 July 2009 (30.07.2009), claims 1 to 6; paragraphs [0001] to [0011] (Family: none)	1- 6
A	JP 2003-169845 A (Japan Science and Technology Corp.), 17 June 2003 (17.06.2003), claims 1 to 10; paragraphs [0001] to [0005] (Family: none)	1- 6

<p>A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))</p> <p>IntCl. C04B38/00 (2006. 01) i, B01D39/16 (2006. 01) i, B01D39/20 (2006. 01) i, B01J20/02 (2006. 01) i, B01J20/06 (2006. 01) i, B01J20/08 (2006. 01) i, B01J20/26 (2006. 01) i, B01J20/28 (2006. 01) i, B01J20/30 (2006. 01) i</p>														
<p>B. 調査を行った分野</p> <p>調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))</p> <p>IntCl. C04B38/00- 38/10, B01D39 八 6- 39/20 , B01J20/00- 20/34</p>														
<p>最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの</p> <p>日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2011年 日本国実用新案登録公報 1996-2011年 日本国登録実用新案公報 1994-2011年</p>														
<p>国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)</p>														
<p>C. 関連すると認められる文献</p> <table border="1" style="width:100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width:10%;">引用文献の カテゴリー*</th> <th style="width:70%;">引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示</th> <th style="width:20%;">関連する 請求項の番号</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>A</td> <td>JP 2008-201636 A (独立行政法人産業技術総合研究所) 2008. 09. 04, 請求項 1-12, [0011]-[0019], [029]-[0041] & US 2010/0099547 A1 & EP 2133317 A1</td> <td>1-6</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>JP 2010-18459 A (国立大学法人京都大学) 2010. 01. 28, 請求項 1-4, [0001]-[0011] (ファミリーなし)</td> <td>1-6</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>JP 2005-1943 A (独立行政法人物質・材料研究機構) 2005. 01. 06, 請求項 1-9, [0014], [0020], [0021], [0035],</td> <td>1-6</td> </tr> </tbody> </table>			引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号	A	JP 2008-201636 A (独立行政法人産業技術総合研究所) 2008. 09. 04, 請求項 1-12, [0011]-[0019], [029]-[0041] & US 2010/0099547 A1 & EP 2133317 A1	1-6	A	JP 2010-18459 A (国立大学法人京都大学) 2010. 01. 28, 請求項 1-4, [0001]-[0011] (ファミリーなし)	1-6	A	JP 2005-1943 A (独立行政法人物質・材料研究機構) 2005. 01. 06, 請求項 1-9, [0014], [0020], [0021], [0035],	1-6
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号												
A	JP 2008-201636 A (独立行政法人産業技術総合研究所) 2008. 09. 04, 請求項 1-12, [0011]-[0019], [029]-[0041] & US 2010/0099547 A1 & EP 2133317 A1	1-6												
A	JP 2010-18459 A (国立大学法人京都大学) 2010. 01. 28, 請求項 1-4, [0001]-[0011] (ファミリーなし)	1-6												
A	JP 2005-1943 A (独立行政法人物質・材料研究機構) 2005. 01. 06, 請求項 1-9, [0014], [0020], [0021], [0035],	1-6												
<p><input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。</p>														
<p>* 引用文献のカテゴリー</p> <p>IA 「特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの」</p> <p>IE 「国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの」</p> <p>I 「優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)」</p> <p>IO 「口頭による開示、使用、展示等に言及する文献」</p> <p>IP 「国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献」</p> <p>け 「国際出願日又は優先日後に公表された文献であつて出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの」</p> <p>X 「特に関連のある文献であつて、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの」</p> <p>Y 「特に関連のある文献であつて、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの」</p> <p>& 「同一パテントファミリー文献」</p>														
<p>国際調査を完了した日</p> <p style="text-align: center;">30. 03. 2011</p>	<p>国際調査報告の発送日</p> <p style="text-align: center;">12. 04. 2011</p>													
<p>国際調査機関の名称及びあて先</p> <p style="text-align: center;">日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号 100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号</p>	<p>特許庁審査官 (権限のある職員)</p> <p style="text-align: center;">末松 佳記</p> <p>電話番号 03-3581-1101 内線 3465</p>	<table border="1" style="width:100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width:20%; text-align: center;">4T</td> <td style="width:80%; text-align: center;">3443</td> </tr> </table>	4T	3443										
4T	3443													

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
	【0036】 (ファミリーなし)	
A	JP 2007-182421 A (独立行政法人産業技術総合研究所) 2007. 07. 19, 請求項 1-12, 【0001】 - 【0010】 & US 2007/0134647 A1 & 1829890 A1	1-6
A	JP 2009-167292 A (独立行政法人産業技術総合研究所) 2009. 07. 30, 請求項 1-6, 【0001】 - 【0011】 (ファミリーなし)	1-6
A	JP 2003-169845 A (科学技術振興事業団) 2003. 06. 17, 請求項 1-10, 【0001】 - 【0005】 (ファミリーなし)	1-6