

Chitin の研究

(3) 蛔虫未受精卵中の chitin と受精卵の卵殻形成についての考察

坂田 六郎

岐阜県立医科大学寄生虫学教室 (森下哲夫教授)

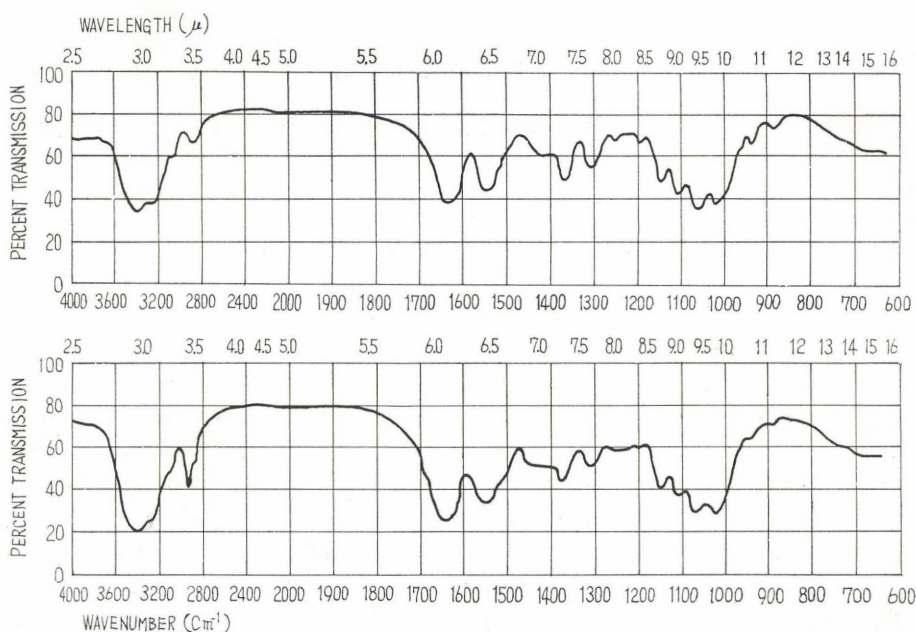
(昭和 39 年 7 月 31 日受領)

はじめに

蛔虫未受精卵の chitin については、未受精卵に個々の卵殻が存在するかどうかの問題が関係する。いわゆる protein coat の下に第 1 報の蛔虫受精卵の場合の様に chitin の卵殻があるかどうかを未受精卵について考察検討した。即ち、各種薬品で処理して得た分離精製分割を赤外分光光度計で測定すると、受精卵殻の chitin 分割と同じ吸収スペクトルを示すものが未受精卵細胞に存在するらしいことを証明出来た。この事実によつて、受精に伴つて作られる chitin 卵殻の chitin 質は未受精卵細胞内にも存在することを化学的に確認した。一般に受精卵の chitin 様卵殻形成は受精管内の未受精卵に精子侵入と云う動機によつて、原形質膜の透過性が高まり、卵細胞内の顆粒が原形質膜より放出されて、chitin 様卵殻が形成されるものであると考えられている。しかしその chitin 様物質が化学的に chitin であるかどうかは確認されていなかった。更に受精卵殻の chitin 質の形成過程を知る為未受精卵細胞を分離精製し、赤外吸収スペクトルによつて比較検討を試みた。

蛔虫卵殻の構造については、各方面から広く研究されている。我が国では、井田(1930)は酸、アルカリ処理から、受精卵殻は蛋白被膜、4層に分けられる卵殻、卵黄膜から構成されているとし、森田(1953)は、初めて電子顕微鏡で観察し、受精卵殻を protein coat と homogeneous membrane としての chitin shell から構成されていることを確認している、堀江(1953)は偏光顕微鏡で観察し、受精卵、未受精卵の卵殻を、蛋白被膜と chitin 様卵殻に分けている。石川(1953)は受精卵を位相差顕微鏡で観察し、卵殻は蛋白被膜と、4層に分けられる卵殻から構成されていると報告している。柳沢(1955)は酸、アルカリ処理から受精卵殻を蛋白被膜、3層より成る卵

殻、卵黄膜に分け、未受精卵を蛋白被膜と卵殻に分けている。分山(1959)は電子顕微鏡により受精卵殻を蛋白被膜と4層に分けられる卵殻、未受精卵殻は蛋白被膜と2層に分けられる卵殻とから成るとし、只野(1961)は組織化学的に観察し受精卵殻は5層より構成されていると報告している。稲臣(1962)は電子顕微鏡で受精卵を観察し、卵殻は protein coat と、その limiting membrane と内、外2層に分けられる chitinous shell より構成されているとしている。外国の研究では、Chitwood(1938)によれば、受精卵殻は protein coat, chitinous shell, lipid 又は vitelline membrane から構成されているとし、Rogers(1956)は電子顕微鏡で観察し、受精卵殻は protein coat, limiting membrane, chitinous shell (the outer surface and the inner surface), lipid membrane より構成されているとし、生きた卵で見られる lipid membrane (vitelline membrane) は、電子顕微鏡では認められないと述べている。Donald Fairbairn(1957)の綜説によれば受精卵殻は protein coat, hard shell (a protein layer and chitin layer), lipid membrane で構成されていると一般に認められていると述べている。以上を総合して一般的には受精卵殻は最外層の蛋白被膜、中層、内層の3層から構成されており、未受精卵殻は最外層の蛋白被膜と、内層から構成されているとされている様である。この様に多くの研究にもかかわらず受精卵殻の構造について種々の論議があり、その卵殻の主成分である chitin 質の物理化学的な性質、卵殻 chitin 質の単離、定量分析がされていないし、また *in vitro* で人工受精が成功されていない。著者は卵殻 chitin を主標として、卵殻を物理化学的に、細胞化学的に、生物学的に観察した結果、受精卵の卵殻は最外層の蛋白被膜と、その下の蛋白被膜の基礎となる膜、中層の硬化され



第1図 chitin fraction のスペクトル DS-301 型赤外分光光度計(日本分光)

試料 3 mg, KBr 500 mg 錠剤法で測定

上: 蛔虫受精卵卵殻より分離精製 下: 蛔虫未受精卵より分離精製

た chitin 層, 最内層は chitin 質のコロイド状の層と, この層の基定となる膜から構成されていることと. 未受精卵殻は最外層の蛋白被膜と, その基礎膜とから構成されているらしいことを知つたのでここに報告する次第である.

未受精卵中の chitin

屠殺場で採取した生鮮な雌蛔虫のみ寄生していた場合の豚蛔虫 (*Ascaris lumbricoides* var. *suum*) を生理的食塩水に入れて持ち帰り, その雌虫体の卵巣, 輸卵管, 受精管, 子宮を取り出し, 各部位毎に虫卵の塗抹標本を作り普通光学顕微鏡 (倍率 100 倍, 400 倍, 1,000 倍) で観察した.

次に第1報の chitin 分離精製方法に従い chitin の存在をしらべた. 摘出子宮下部の卵を顕微鏡で観察し未受精卵であることを確認し, この未受精卵を有する子宮を集め, 20 倍容以上の 10% 水酸化カリウム液中で, 室温 (17°C) で処理すると子宮及び虫卵の protein coat は溶解し, 未受精卵卵殻は膨脹して来る, 更に 10% 水酸化カリウム液で1時間煮沸処理すると, 膨脹した未受精卵卵殻は溶解して卵細胞のみとなる. この処理した卵を visking tube で流水中に24時間透所すると, 卵細胞は

破れて, 顆粒状を呈する, この透析された卵を 3,000rpm 10分間遠沈し, その沈渣を2倍容の濃塩酸で 10°~15°C の範囲の温度で処理し, 3,000 rpm 10分間遠沈し, その下方に沈んだ透明な溶解液を20倍容の50%冷アルコール液に混入, 十分攪拌し, -15°C の冷凍室に24時間静置すると白濁を生ずる, この白濁液を, -5°C, 12,000 rpm 25分間冷遠沈沈すると白色膠状の沈渣を得る, この沈渣を visking tube に入れて24時間, 流水中で透析し, 次に真空冷凍乾燥して得た試料の内3mgを500mgのKBrを使つて錠剤とし, 日本分光株式会社製, DS-301型, 赤外分光光度計で吸収スペクトルを求めたところ, 同様の方法で得た受精卵殻からの分離精製 chitin 分割と同一吸収スペクトルを得た.

別に雌虫体から取り出した輸卵管を含まない卵巣約30gに20倍容の10%水酸化カリウム液を加えて処理した後, 遠沈し, 沈渣を2倍容の濃塩酸で処理し再び遠沈し, 下方に沈んだ透明な溶液に50%冷アルコールを注入して攪拌したが, 白濁又は白色膠質状の沈濁を生じなかつた. 依つて, 蛔虫の成熟未受精卵の卵細胞には, 受精卵の chitin と同一赤外吸収スペクトルを示す物質即ち chitin が存在するが, 卵巣内の未成熟未受精卵には

chitin は存在しないことを知った。同時に成熟未受精卵の protein coat と基礎膜は chitin を含まないことがわかった。

受精卵の卵殻中の chitin

普通光学顕微鏡で観察すると、子宮下端内の完成受精卵の外形は、短楕円形(長径 0.06 mm, 短径 0.04 mm)で、卵殻は三重層輪を形成し、最外層は不整形、不等大の多数の突起を有する蛋白被膜で被われ (protein coat), 中層は硬くて薄い透明な chitin の層, 内層は厚く透明な層 (chitin を含むらしい) であり、卵殻と卵細胞の間には囲卵腔が認められる。子宮下端内の完成未受精卵の外形は長楕円形(直径 0.07 mm, 短径 0.05 mm)で、外層は不整形、不等大の多数の突起を有する蛋白被膜で被われ (protein coat), 内層は薄く透明であり卵殻と卵細胞の間に観察時間の経過と共に囲卵腔様の間隙を認めることが出来る様になる。

次に chitin は強酸に可溶、アルカリに不溶である化学的特性をもっている。10%水酸化カリウム液中で完成受精卵及び未受精卵を室温 (17°C) で処理すると、両者の protein coat は溶解し、受精卵殻の中層の外表面から薄い膜が膨脹して来る、同様に未受精卵の薄い卵殻も膨脹して来るが、100°C の温度で処理すると、この両者の膨脹した膜は溶解する、この膜を protein coat の基礎膜と仮りに名付けた。

受精管内の成熟未受精卵の原形質膜は、10%水酸化カリウム及び濃塩酸に不溶である。また完成受精卵殻の chitin 層の基となる膜、即ち卵殻内層の内側面 (卵細胞側) は、10%水酸化カリウム液及び濃塩酸に不溶であるので、この膜は、chitin 層とは化学的性質の異なる膜と考えられる。これは受精後出来た後形質の膜であるが、原形質膜と化学的に類似するので原形質膜の遺残した膜と考えられ、この内層の基礎膜と仮りに名付ける。この膜の存在することに依つて、受精によつて組成される卵殻の chitin は、卵細胞の原形質膜を通して放出され、形成されるものと考えられ、また未受精卵でも卵細胞内に chitin が存在することから、卵殻 chitin 層は受精によつて出来ることが分る。このことを組織化学的に追求して次の結果を得た。

chitin の Schulze 反応即ちヨード性塩化亜鉛染色液 (ヨード 6.1g, ヨードカリ 10g, 水 10g 及び塩化亜鉛 60g, 水 14g) で虫卵を生体染色すると、受精卵殻の厚い透明な内層と基礎膜は紫色に好染するが、蛋白被膜、基礎膜、受精卵の中層、未受精卵殻は染まらない。

受精卵殻を分離精製してえた chitin の Schulze 反応を調べると、chitin は紫色に好染するが、醋酸で acetylation すると紫色に染まらない様になる。acetylation 後 0.1 規定の水酸化カリウム液で saponification すると、その処理時間、温度によつて褐色から紫色の色調に染め出されて来る、これらの反応機序は不明であり Schultze 反応で卵殻の中層が紫色に染まらないこと等 Schultze 反応と chitin の関係には不可解の点もある。

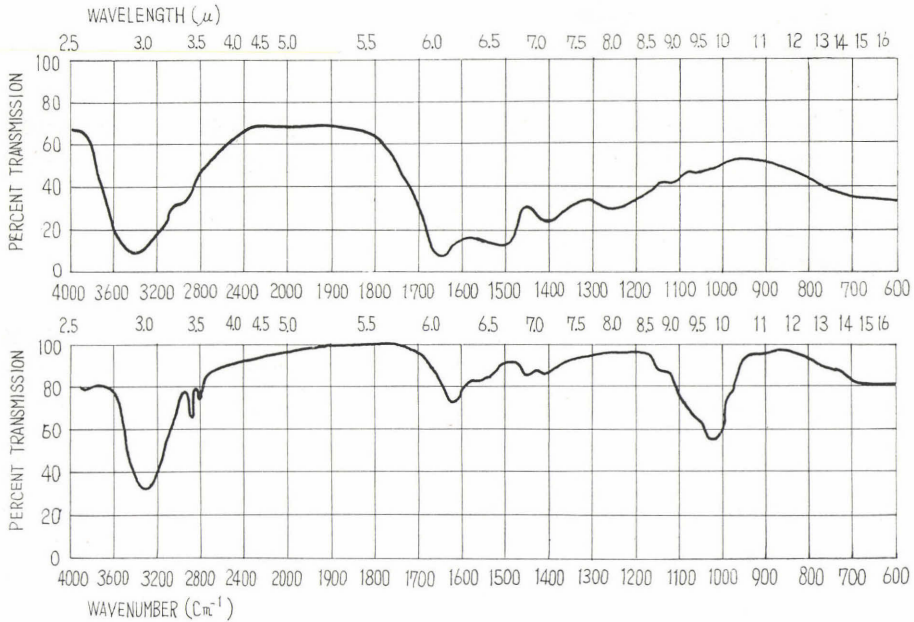
完成受精卵をヨード性塩化亜鉛染色液で生体染色して、紫色に好染する卵殻の内層を人工的に顕微鏡下で押しつぶして破裂させると卵殻外に流れ出す像が観察出来ることは、この最内層が流出性の構造を示すもので、膠質系としての基礎的性質を有する、この紫色好染した流出層を醋酸で処理すると脱色されて透明となるが溶解しないので、同じ染色液で紫色に好染する chitosan ではないらしい。chitosan ならば醋酸に溶解する筈である。以上のことからこの紫色好染する内層は、chitin 呈色反応陽性を示す膠質層である。

脂肪染色液である、ズダン III, ズダンブラックで受精卵を生体染色すると、内層は染色されない、即ち内層は脂肪染色陰性である。従来このものが lipid membrane 又は vitelline membrane と呼ばれているが脂肪と関係のないものの様にも考えられる。

脂質溶媒であるアルコールで受精卵を処理すると、内層の厚い透明な層は、卵殻中層の方に収縮して、その著明な殻層が認められなくなる。

受精卵を 80~100°C の高温で処理すると、この厚い透明な卵殻内層は、中層と区別出来なくなり、1つの層の様になってしまう。この処置受精卵を人工的に破裂させても内層の剝離流出はなく、膠質層が硬化したものと考えられる。

受精管と子宮移行部を結紮し、その結紮部の下端の内卵を鏡し、受精膜を有するが、未だ一定の厚さの卵殻に發育していない虫卵の存在を確認した。この様な虫卵を得るために更に上方 5 cm の所で受精管を結紮しその上下結紮部の夫々上方及び下方で切断して結局両端結紮された受精管を得た。このものを等張リンゲル液 (ストレプトマイシン 0.3g/l, 及びペニシリン 33,000 単位/l を含む) 中で、37°C で処置すると、2日から3日目に完成された受精卵と同じ厚さの卵殻を有する虫体に發育する。5日から7日で、卵殻は、内、外層に分離し、囲卵腔を形成し、protein coat と、その基礎膜を欠除した完成受精卵に發育させることが出来る。



第 2 図 10 % KOH 溶解 fraction のスペクトル 第 1 図と同じ方法で測定
 上 : *Fasciola hepatica* 下 : *Taenia saginata*

別に子宮上端部の一定の厚さの卵殻を有する。未完成受精卵を、37°C で、等張リンゲン液(ストレプトマイシン 0.3 g/l, ペニシリン 33000 単位/l を含む)で培養すると 3 日から 5 日で、protein coat を欠除し、しかし基礎膜は認められ囲卵腔を有する、受精卵に発育することが観察出来た。以上の人工培養実験から、不正形、不等大の胞状形の protein coat と、その基礎膜は子宮壁からの分泌物質に由来するものであり、中、内層の卵殻は卵細胞から由来するものと考えられる。

第 2 報でも述べたが肝蛭、無鉤条虫の卵殻中には chitin は認められない。即ち虫体を 10 % 水酸化カリウム処理すると虫体、卵は崩れ溶解するが、遠沈し、その沈渣を蒸留水で 5 回洗滌後、真空凍結乾燥し得た試料を、赤外分光光度計で所定の如く曲線を求めると第 2 図の如く chitin 様物質のないことが証明された。

卵殻の形成と構造

受精卵殻の最外層に不正形、不等大の胞状小突起を備える protein coat があり、その下に protein coat の基礎膜となる薄くて透明な堅い膜が存在する。中層は薄く透明な硬化した chitin を含む層で、最内層は厚く透明な colloidal chitin を含む層と、その基礎膜から構成されている。

未受精卵殻の最外層は不正形、不等大の胞状小突起を備える protein coat で、その下の内層は薄く透明な堅い層からなっている。未受精卵の卵殻の外層の部分は受精卵殻の protein coat と同じで、内層は、受精卵殻の基礎膜に相当するものと考えられる。受精することによって受精卵殻の中層の chitin を含む層と、最内層の colloidal chitin を含む層が、基礎膜に加わることにな

第 1 表 卵殻の溶解と染色テスト

虫 卵	卵 殻	10% KOH, 処置	ヨード性塩化亜鉛生体染色
受 精 卵	外層	protein coat + 17°C	—
	中層	基礎膜 +100°C	—
	内層	chitin —	—
		colloidal chitin —	紫色
		基 定 膜 —	
未受精卵	外層	protein coat + 17°C	—
	内層	基礎膜 +100°C	—

+ 溶解, — 不溶解, 不染色

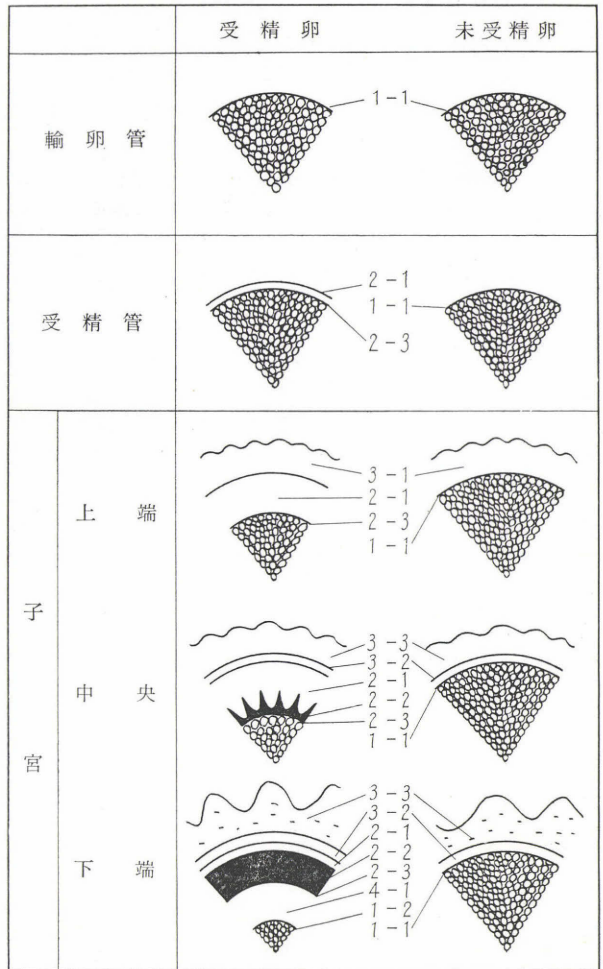
る。受精管及び子宮各部位の生卵を卵殻形成を追って、10%水酸化カリウム処理及びヨード性塩化亜鉛染色液生体染色を行ない受精卵殻及び未受精卵殻の形成過程をしらべた結果、第 1 表、第 3 図の様な成績が得られた。

輸卵管、受精管内の成熟未受精卵は卵殻が認められな

いが、受精管内の受精卵は、卵細胞の外表面に薄い受精膜を形成して、子宮部に入つて急に、受精膜は膨脹して一定の厚さの卵殻になり、この卵殻は10%水酸化カリウムに抵抗性を有する chitin 層である。この chitin 層は子宮から分泌された厚い不規則な粘液様の被膜で被われ、子宮中央に近づくに従つて、一定の厚さの chitin 層は、層の内縁から外側に向つて放射状に、ヨード性塩化亜鉛に紫色に好染する colloidal chitin の層の形成が見られ、同時に10%水酸化カリウム液で室温(17°C)処理すると膨脹する protein coat の基礎膜が薄く形成されて来る、そして粘液様被膜は、不等大、不正形の胞状突起を備え、protein coat を完成して来る。子宮下部に至るに従つて、chitin 層は中層、内層に分かれ、中層は薄くて透明な硬化した chitin を含む層となり、ヨード性塩化亜鉛に紫色に好染する内層は、放射状に厚さを増して透明な厚い colloidal chitin を含む層即ち卵殻内層を形成する。そして中層及び内層の chitin の層の厚さは常に一定である。protein coat の基礎膜も厚さを増し、卵細胞の原形質膜は、卵殻内層の内縁に遺残し、chitin を含む卵殻の基礎膜を形成する。卵細胞は体積を減じ、卵殻と卵細胞の間に囲卵腔を形成し、卵細胞の原形質膜は新製されて完成受精卵となる。

未受精卵の場合は子宮上部における卵細胞は子宮からの分泌物の厚い不規則な粘液様の被膜で被われているが、子宮中央に近づくに従つて、10%水酸化カリウム液の室温(17°C)処理で膨脹する卵殻を形成して来る。子宮下部では、卵殻は透明で厚くなり、粘液様被膜は、不等大、不正形の胞状突起を備える protein coat により完成未受精卵を形成するが、生卵標本では時間の経過と共に、卵殻と卵細胞の間に、間隙を認める様になる。

ヨード性塩化亜鉛生体染色をした受精卵は、完成受精卵に近づくに従つて、卵細胞内のマホガニー褐色に好染する大小不同の顆粒が減少して来る事が認められる。未受精卵殻形成過程に於ては、マホガニー褐色に好染する卵細胞内の顆粒の減少は見られない。この事実によつて、この顆粒は、恐らく chitin 質を含む顆粒ではないかと考えられ、chitin 卵殻は卵細胞より出来ることを形態学的に確認したとも考えられる。



第3図 卵殻の形成と構造

1-1: 原形質膜, 1-2: 新製された原形質膜, 2-1: chitin 中層, 2-2: 内層 colloidal chitin, 2-3: colloidal chitin 層の基礎膜, 3-1: 粘液様被膜, 3-2: protein coat の基礎膜, 3-3: 外層 protein coat, 4-1: 囲卵腔

考 按

蛔虫卵殻の構造については色々な説がある。顕微鏡で受精卵の卵殻の観察をし chitin らしい層の存在につき報告されたものも多い。

偏光顕微鏡で初めて観察した Schmidt (1936) そして更に堀江(1953)は蛔虫受精卵殻の完成と共に著しい複屈折性を示し、この複屈折性は、卵殻を構成している物質の分子が光学的に異方体の性状を有し、それが密に一定方向に配列していることを示すものであり、その物質が chitin 質に由来するものであろうと述べている、このこ

とは著者が赤外吸収スペクトルで証明した受精卵殻の chitin 様物質がミセルの状態で卵殻内に存在していることと一致していると考えられる。実験により受精卵殻の最内層は膠質様の構造を有していることは明確であり、この膠質層は、コロイド状態としてのタクトイド(tactoid)ではないかと推論される、即ち tactoid は一般に糸状あるいは紡錘状の形をなし、偏光顕微鏡で観察すると強い複屈折を示す、したがって細長い粒子が長軸に沿って平行に配列しているものであると云われている。また卵殻を電子顕微鏡で観察した、森田、Roger、分山、稲臣らは chitinous shell は繊維状の網目構造を有していると、一致して述べていることは、膠質状態の糸状 chitin 分子が互に結合した網目状の基礎構造を持つていると考えられる。位相差顕微鏡で観察した石川は、protein coat と4層に分けられる卵殻が認められるとしている。

蛔虫受精卵殻 chitin 層の完成が進むにつれて、chitin 染色と考えられているヨード性塩化亜鉛液に好染する層の出現することは、水平(1951)のオタマジャクシの真皮線維の発生とその配列の染色性の研究と類似している。すなわち水平は膠原線維を染める染色法で染まらない時期の線維は全く複屈折性をもたないが、発生が進むにつれて、染色されるようになると次第に屈折性があらわれ変態後期に入ると膠原線維として立派に成熟し、強い複屈折性を示すようになるのを見ている。一般に多糖類はアセチル基の有無、分子結合状態によつて、その好染性を異にすることが知られている。蛔虫受精卵殻の分離精製 chitin のヨード性塩化亜鉛染色性の反応は、著者の実験の結果の様に acetylation によるアセチル基の閉鎖により好染性を失ない、saponification によつて好染性を復活することは、マホガニー褐色に染まる卵細胞内の顆粒、紫色に染まる colloidal chitin 層、非染色性の硬化 chitin 層のヨードに対する染色性が、恐らく chitin 質のアセチル基の有無、分子結合状態によつて好染性を異にするものと考えられる。

完成未受精卵殻は、protein coat と薄くて透明な卵殻から構成されていることは、各研究者の認める所であるが、卵殻の構造と形成についての研究は少ない。堀江は偏光顕微鏡で観察し、未受精卵殻は子宮上部では薄く、下部では厚くなつてはいるが、複屈折性は弱い卵殻に chitin があるのではなからうかと述べている、分山は、電子顕微鏡で観察し、未受精卵殻は chitin 繊維の網状構造が認められないから chitin 様物質はないのではないかと述べている。著者の実験の結果未受精卵殻は10

%水酸化カリウム液に可溶性であるから chitin を含まない。故に、網状構造、強い複屈折も認められないことと一致すると考えられる。

chitin 卵殻は受精卵殻の中層、内層であることがわかつたが、chitin を含む層は電子顕微鏡で観察した、森田 Roger、分山、稲臣等の chitinous shell と一致し、組織化学的に観察した、只野の卵殻3、4層に相当し、化学処理から観察した、井田の卵殻2、3、4層及び卵黄膜や柳沢の卵殻2、3層及び卵黄膜に相当し、更に位相差顕微鏡で観察した、石川の卵殻の2、3層に当る。Chitwood の卵殻では chitinous shell 及び lipid membrane に相当し、Fairbairn の卵殻では chitin layer、lipid membrane に相当している。

受精卵殻の最内層、即ち一般に認められている lipid membrane と称する vitelline membrane は、アルカリ、酸に対する強い抵抗性と、気体、脂質溶媒をのぞく、全物質に対する高い非浸透性に基いて生理的な性質から lipid 層と云われている、しかし詳細な構造及び成分については不明な点が多い。またこの層は、生きた虫卵の塗抹標本では観察出来るが、死んで変性した卵、各種固定をした虫卵や凍結標本ではうまく観察出来ない。電子顕微鏡によつてもこの層を認めることは出来ないことは、卵殻の中層及び内層は chitin 様物質を含む層であることを考えさせる。内層は colloidal chitin を含む層で、化学的に強い抵抗性を有し、アルコールで収縮し、chitin 染色に好染する層であることから、最内層は、従来のリポイド層という概念とは異なつて、膠質状態をしている chitin を含む層ではないかと考えられる。

卵殻中の chitin の形成は、卵細胞内の顆粒によつて形成されることは、形態学的に詳しく研究されている。Wottge(1937)は卵細胞内の cytoplasmic vacuole が、柳沢は卵細胞内の小顆粒が、Rogers は電子顕微鏡で卵原形質内の dark granules が、水平(1958)は組織化学的に、mann 染色で藍青色に染まる顆粒と電子顕微鏡で卵内の endoplasmic reticulum が、分山は電子顕微鏡で卵細胞内の電子密度の高い顆粒が、只野は組織化学で、卵細胞内のヤースス緑好染顆粒、液胞、透明原形質が chitin 卵殻を形成する物質であると述べている。しかも筆者のヨード性塩化亜鉛染色にマホガニー褐色に好染する卵細胞内の大小不同の顆粒が chitin 卵殻を形成するものであることと一致する。完成未受精卵細胞より chitin 様物質を赤外吸収スペクトルにより化学的に証明出来たことは、卵殻の chitin は卵細胞より出来ることを明確にし、

た、

まとめ

1. 雌蛔虫の下部子宮内の未受精卵の卵細胞内には chitin 様物質が存在することを赤外吸収スペクトルで証明出来た。輸卵管を含まない卵管を対照として卵細胞内の chitin を求めたが赤外吸収スペクトルでは認められなかった。未受精卵の卵殻には chitin 様物質は存在しない。

2. 受精卵の卵殻の構造は、外層は protein coat で、その内側に基礎膜があり、中層には硬化した chitin を含む層があり、内層には colloidal chitin を含む層と、その基底膜が存在する。

未受精卵の卵殻は外層 protein coat と、その基礎膜の層から構成されている。これらのものは共に子宮壁から分泌されて添加されたものと考えられる、このことは受精卵の場合も同じで未受精卵には受精卵の卵殻の中、内層に当るものはない。

3. 受精膜は chitin を含む層(中層、内層)とその基底膜からなつていてと考えられる。

4. 卵殻の chitin は卵細胞から作られる。

5. chitin を含む層の基底膜は、原形質膜の遺残した膜と考えられる。囲卵腔の内側にある卵細胞を包む原形質膜は新しく作られたものと考えられる。

文 献

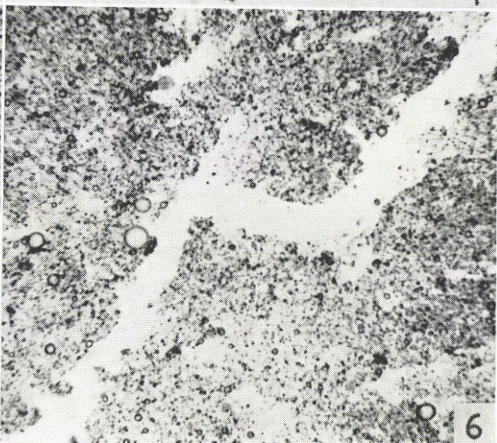
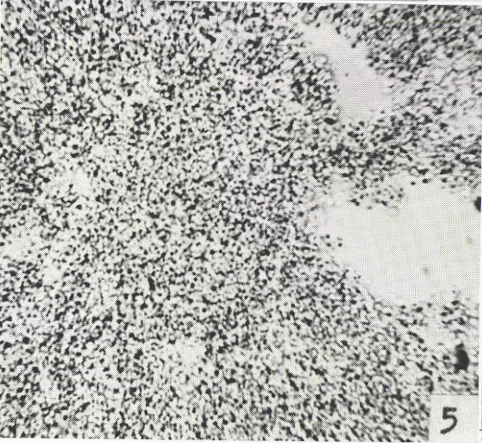
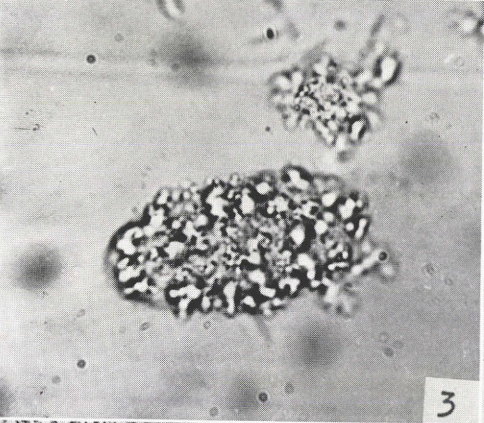
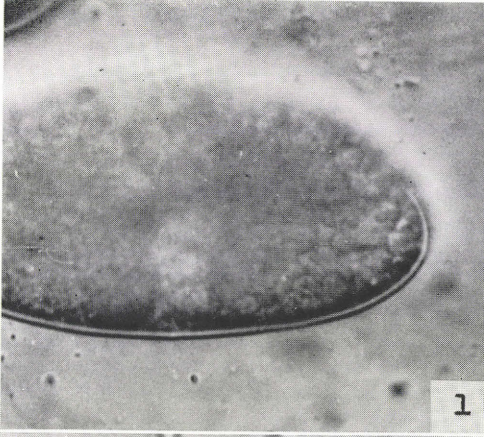
- 1) Chitwood, B. G. (1938): Further studies on nemec skeletoides and their significance in the chemical control of nemec peste. Proc. Helm. Soc. Wash., 5(2), 68-75.
- 2) Fairbairn, D. (1957): Parasitological reviews, section, The biochemistry of ascaris. Exptl. Parasitol., 6, 491-554.
- 3) 堀江祐司・水平敏知(1953): 偏光顕微鏡による

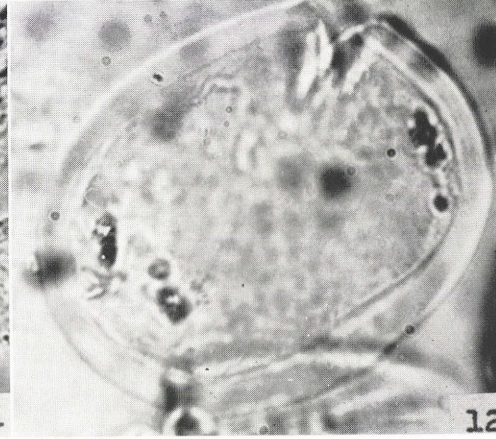
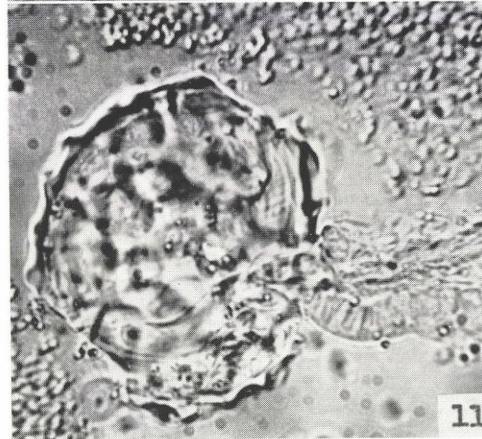
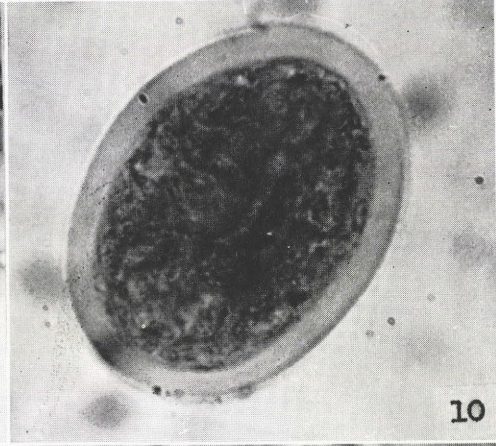
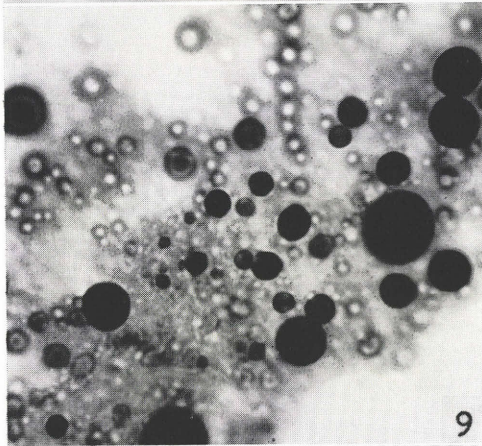
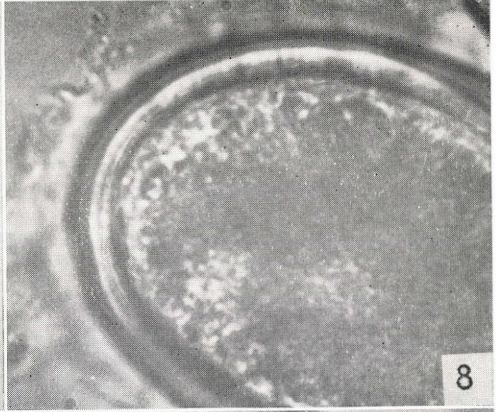
蛔虫卵の観察. 位相差研究会誌, 5, 16-22.

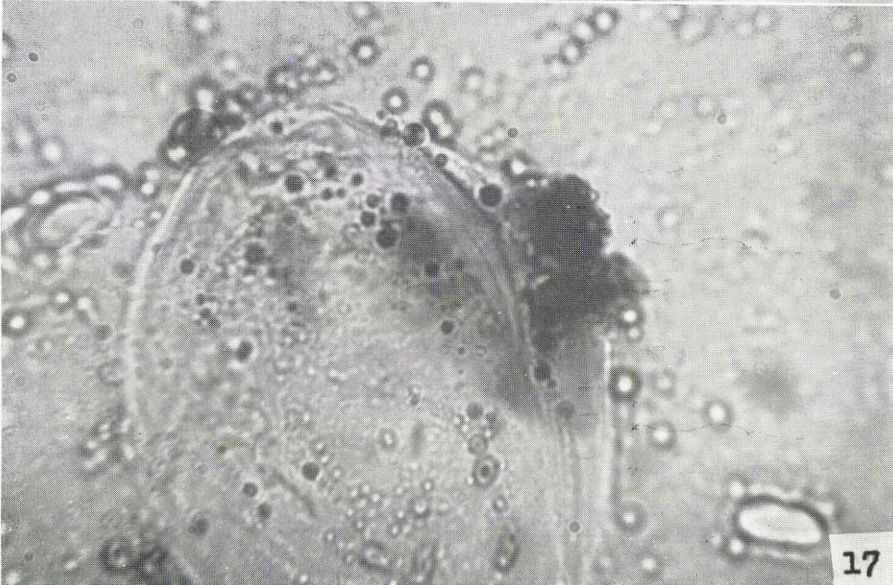
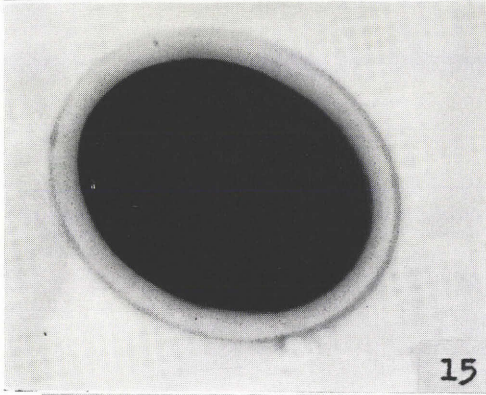
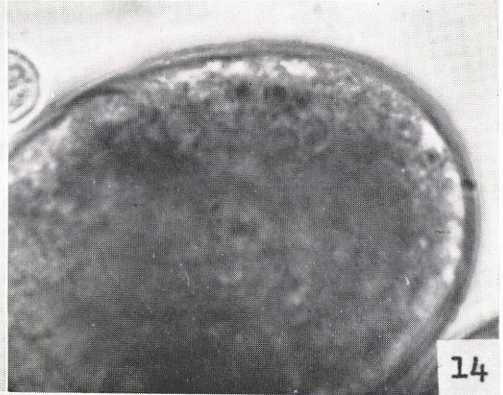
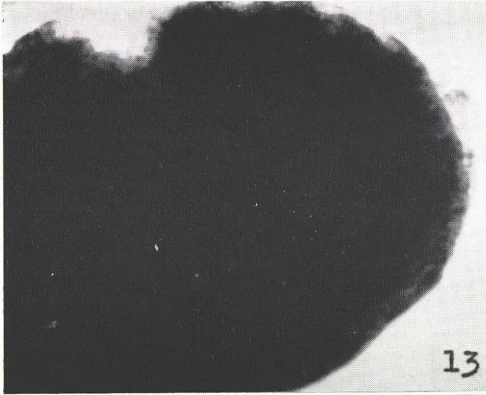
- 4) 井田正二(1930): 蛔虫の卵殻構成に就いて. 慶応医学, 10(6), 965-983.
- 5) 稲臣成一(1962): 寄生虫卵殻の構造について. 岡山医学, 74(1), 31-49.
- 6) 石川道雄(1953): 蛔虫卵の位相差顕微鏡所見, (1) 受精卵の観察. 寄生虫誌, 2(1), 104.
- 7) 水平敏知(1951): オタマジャクシの真皮線維の出現機構. 日本組織学記録, 11(4), 445.
- 8) 水平敏知・矢崎俊政・平井五郎(1958): 蛔虫卵殻膜形成顆粒. 寄生虫誌, 7(3), 211.
- 9) Morita, S. (1953): The electron microscope of cell membrane. (1) The homogeneous membrane of the egg cell from *Ascaris megaloccephala*. Med. J. Osaka Univ., 3(4), 669-673.
- 10) Rogers, R. A. (1956): A study of egg of *Ascaris lumbricoides* var. *suum* with the electron microscope. J. Parasit., 42(2), 97-102.
- 11) 坂田六郎(1963): Chitin の研究, (1) 蛔虫卵殻の Chitin の赤外吸収曲線について. 寄生虫誌, 12(6), 471-473.
- 12) 坂田六郎(1963): Chitin の研究, (2) 蛔虫体腔液中の酵素と白癬菌の Chitin. 寄生虫誌, 12(6), 471-473.
- 13) Schmidt, W. J. (1936): Doppelbrechung und Feinbau der Eischalale von *Ascaris megaloccephala*. Ztscher Zellforsch., 25(2), 181-203.
- 14) 只野柳(1961): 蛔虫卵の卵膜及び原形質膜の形成とその機構に関する研究. 寄生虫誌, 10(5), 563-573.
- 15) 分山志郎(1959): 蛔虫卵の電子顕微鏡的研究. 熊本医学, 33(補冊 12), 3324-3337.
- 16) Wottge, K. (1937): Die stofflichen Veränderungen in der Eizellen von *Ascaris megaloccephala* nach Befruchtung. Protoplasma., 29, 31-59.
- 17) Yanagisawa, T. (1955): On the structure and formation process of the egg-shell of *Ascaris ova*. Sci & Biol., 8, 379-390.

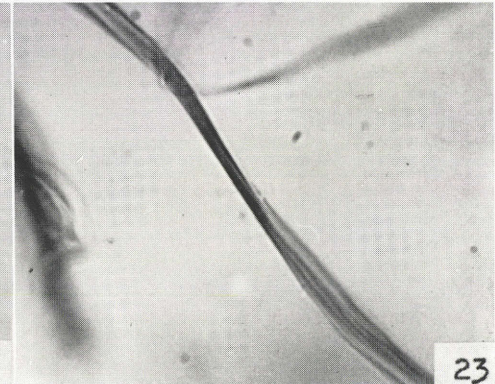
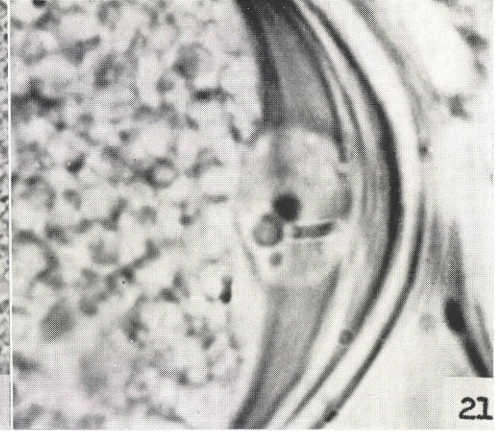
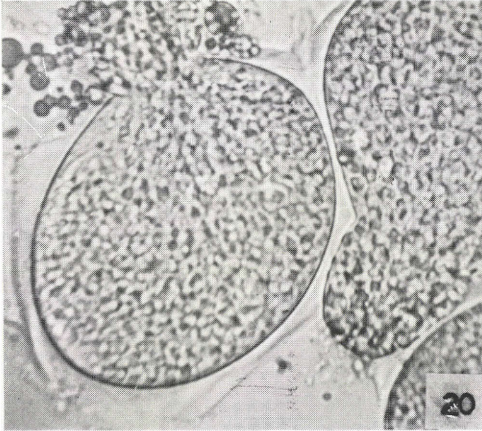
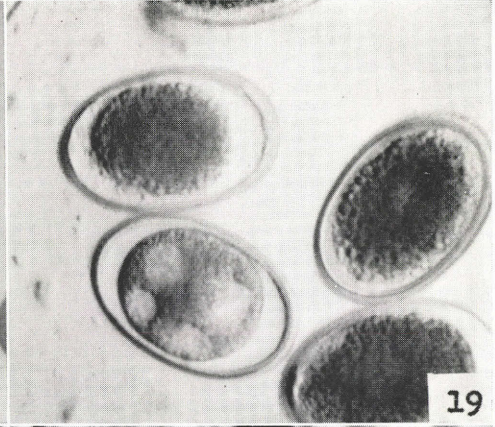
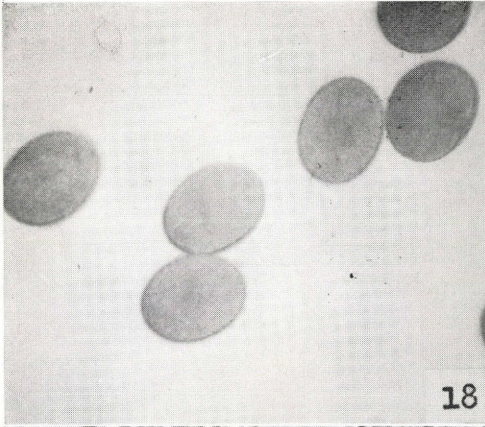
写真説明

1. 子部下部内の未受精卵，生鮮塗抹標本，
2. 子部下部内の未受精卵，塗抹標本製作後 15 分経過，卵殻と卵細胞の間に間隙を生ずる。
3. 10% KOH, 100°C にて処置した子宮下部内の未受精卵，protein coat 内層は溶解を示す。
4. 10% KOH, 室温 (17°C) にて処置した子宮下部内の未受精卵，protein coat の溶解，内層の膨脹を示す。
5. 10% KOH, 100°C にて処置後，visking tube にて透析した未受精卵の沈渣。
6. 同上の沈渣を濃塩酸処置した像。
7. 子宮下部内の生卵塗抹受精卵。
8. ヨード性塩化亜鉛生体染色した，子宮中央部内の受精卵，内層の放射輪状形成を示す。
9. ヨード性塩化亜鉛生体染色した，子宮内の未受精卵，押しつぶし破裂させて，卵殻の外に流出したマホガニー褐色に染った大小不同の顆粒を示す。
10. 10% KOH, 室温にて処置して protein coat を溶解除去し，アルコール処置後，ヨード性塩化亜鉛染色した子宮下部内の受精卵，卵殻は一層を示す。
11. 子宮下部内の受精卵を桑実期迄に培養した卵を，ヨード性塩化亜鉛生体染色し，押しつぶして破裂させて，卵殻外に原形質，紫色の内層を流出させ，醋酸滴下により紫色の内層は退色した像を示す。
12. 10% KOH, 室温にて処置，protein coat は溶解，次にアルコール処理，押しつぶして破裂した子宮下部内の受精卵，内層の流出示さず。
13. ヨード性塩化亜鉛生体染色された，受精管内の褐色に好染した未受精卵。
14. ヨード性塩化亜鉛生体染色された，受精管内の受精卵。
15. ヨード性塩化亜鉛生体染色された，子宮上部の受精卵，卵細胞は褐色に好染，卵殻は一層を示す。
16. ヨード性塩化亜鉛生体染色された，子宮下部内の受精卵，卵殻は protein coat, 中層の chitin 層，紫色に好染した colloidal chitin の内層を示す。
17. ヨード性塩化亜鉛生体染色された，子宮下部内の受精卵を押しつぶして破裂させ卵殻外に流出した，紫色に好染する内層の colloidal chitin を示す。
18. 子宮移行部内の生卵塗抹受精卵。
19. 子宮移行部を結紮培養した，7 日目の受精卵，protein coat 未形成を示す。
20. 子部上部内の粘液様被膜を有す未受精卵。
21. 卵殻と極体を示す。(生卵塗抹標本)
22. 10% KOH, 100°C 処置中の受精卵，protein coat 溶解，基礎膜の膨脹を示す。
23. 受精卵殻より分離精製した chitin, 顕微鏡倍率 100 倍像を示す。ヨード性塩化亜鉛染色液に紫色に染る。









STUDIES ON CHITIN

III. INVESTIGATIONS ON THE CHITIN IN THE UNFERTILIZED EGG
AND SHELL FORMATION OF FERTILIZED EGG OF HOG ASCARIS

ROKURO SAKATA

(Department of Parasitology, Gifu Prefectural Medical School, Gifu, Japan)

1. It was proved by means of a infrared spectrophotometer that the unfertilized egg cell in the lower part of uterus of *Ascaris lumbricoides* var. *suum* contains a chitinous substance and that no chitinous substance was found in the egg cell in the ovary without the oviduct. The shell of unfertilized egg does not contain such a chitinous substance.

2. The shell of fertilized egg is composed of three layers, the outer layer with protein coat and its basement membrane, the middle layer with hardened chitin, and the inner layer with colloidal chitin and its basement membrane. The shell of unfertilized egg, however, consists of only the outer layer with protein coat and its basement membrane. In both fertilized and unfertilized eggs, it is conceivable that the outer layer is originated from the wall of uterus.

3. The fertilization membrane is composed of the middle and inner layers with chitin and those basement membrane.

4. Chitin of the egg shell originates from the egg cell.

5. It would seem that the basement membrane with chitin is the ghost of the plasma membrane and that the plasma membrane of egg cell in the perivitelline space is newly developed.