

両生類無尾目の卵黄粒結晶構造のX線回折 ならびに電子顕微鏡的研究

金沢大学大学院医学研究科解剖学第一講座(主任: 本陣良平教授)

嶋 崎 重 一

(昭和39年11月5日受付)

両生類卵黄粒が偏光検索において弱い重屈折性を示すことから、配向性をもつた超微構造の存在が示唆されたが (Holtfreter, 1946 a, b, c), 近年, 電子顕微鏡 (以下「電顕」と略記) の発達によつて, この方面から多くの検索がなされ, 卵黄粒内に規則正しい周期をもつた超微的結晶構造が存在することが明らかにされた (Kemp, 1956; Eakin & Lehmann, 1957; 柄崎, 1957; Wischnitzer, 1957; 本陣 & 津田, 1958; Karasaki & Komoda, 1958; 津田 & 高橋, 1958; Karasaki, 1959; 津田, 1961; 本陣 & 中村, 1961; 本陣 & 嶋崎, 1961; Ringle & Gross, 1962; Ward, 1962; Wartenberg, 1962; Karasaki, 1963 a, b; Wallace & Karasaki, 1963). 一方, X線回折ならびに電顕による研究によつて, 本陣 & 中村 (1961), 本陣 & 嶋崎 (1961) は卵黄粒内に結晶格子の存在を明らかにした. 最近, 電顕ならびに物理化学的知見を基にして, 卵黄粒結晶の立体構造について二, 三のモデルが提案されているが, その内容は推論的な要素を多く含み, 事実と矛盾する点が少ない (Karasaki, 1959; 1963a; Wartenberg, 1962; Wallace, 1963 b).

著者はモリアオガエル (*Rhacopholus schlegelii* var. *arborea*) の初期胚子の新鮮ならびに凍結乾燥 (以下「凍乾」と略記) 卵黄粒について, X線小角散乱法により実験を行ない, 得られた回折線を基に結晶構造の解析を試み, 次に同一材料の電顕検索によつて得られた像について幾何学的考察を加え, X線回折所見と比較検討し, さらに加熱ならびに中性塩類溶液処理による結晶構造の変化について検索し新知見を得たのでここに報告する.

材料と方法

材料は無尾目・モリアオガエル (*Rhacopholus schlegelii* var. *arborea*) の初期発生段階の胚子の卵黄

粒を用いた. X線回折実験のための新鮮材料は, 泡状卵塊から胚子を取り出し, 4°C に冷やした Holtfreter 氏液 (1946 a) または 磷酸緩衝液 (0.05M KH_2PO_4 -NaCl, pH 7.0) と共に遠心分画法 (Essner, 1954) を行なつて得た. 凍乾材料は胚子を目の細かな金網上で軽くおしつぶし, 濾過された卵黄を集めてドライアイス投入したアセトン溶液 (-86°C) で瞬間的に凍結させたのち真空乾燥したものを用いた. 試料は $1 \times 1 \times 10$ mm の真鍮製試料台に充填し, 新鮮材料の場合は乾燥を防ぐためにポリエステル合成樹脂薄膜 (Mylar) およびゴムパッキングで密封した. ポリエステル薄膜は試料を通過する1次X線ならびに回折X線の強度に有意の減少をおこさないことを確かめた.

X線回折実験装置として, 理学電機社製「強力X線回折装置 D-2F 型」の小角散乱装置を使用した (平松, 1964). X線源は Cu 対陰極密閉式管球を用い, Ni フィルターで $K\beta$ 線および連続X線を除去した $K\alpha$ 線 ($\lambda=1.542 \text{ \AA}$) を使用した. 2次電圧および2次電流は, pinhole collimating 系では $40\text{kV} \cdot 20\text{mA}$ の条件下に行なつた. 粉末X線回折写真は, 小角 pinhole カメラ法および小角 slit-collimated カメラ法により撮影した. 試料・フィルム間距離は, slit カメラを用いた新鮮材料の場合 200mm, 凍乾材料の場合 300mm とした. 露出時間は, pinhole カメラで1.5時間, slit カメラを用い新鮮材料の場合は1.5時間, 凍乾材料の場合は5時間とした. フィルムは富士X線フィルム200号を用いた. その他, 回折角の計測には Geiger 計数管を装置した diffractometer (理学電機社製) を用い, 自動記録計により $+5^\circ \sim -5^\circ$ の間の回折角および回折X線量をチャート上に記録した.

測定は写真法の場合では試料とフィルム面との距離 L , 中心点から回折スポットまでの距離 l から回折角 2θ を次の式 (1) より求めた.

X-ray Diffraction and Electron Microscopic Studies on the Crystal Structure of the Yolk Platelets of Amphibian Anura. Shigekazu Shimasaki, Department of Anatomy (Director: Prof. R. Honjin), School of Medicine, Kanazawa University.

$$\tan 2\theta = \frac{l}{L} \dots\dots\dots(1)$$

diffractionmeter より得たチャートの場合、チャート上に同時に記録された角度目盛より回折線と透線との間の回折角 2θ を求め、チャートの左右の 2θ の平均値を回折角とした。個々の回折角 2θ に相応する面間隔 d の値は Bragg の条件式 (2) によつて得た。

$$2d \sin \theta = n\lambda \dots\dots\dots(2)$$

ここに、 n は反射の次数、 λ は使用X線の波長、 θ は Bragg 角 (照射角 および反射角)、 d は面間隔を表わす。

加熱実験は凍乾材料を用い、そのままの乾燥状態の場合と水中に投じ湿潤状態とした場合とについて行なつた。乾燥状態の加熱実験は $70^{\circ}\sim 150^{\circ}\text{C}$ の間は自動温度調整器付の孵卵器中に試料を置いて行ない、 $150^{\circ}\sim 250^{\circ}\text{C}$ の間の加熱は試料を入れた試験管を oil-bath 中に浸して常に温度を監視しながら実験を行なつた。湿潤状態における加熱実験は自動温度調整器付の water-bath を使用し、蒸溜水を入れた試験管に試料を投入して $40^{\circ}\sim 70^{\circ}\text{C}$ の間について加熱し、種々の実験時間を経たのち濾過によつて材料を分離し冷風乾燥した後それぞれX線回折を行なつた。

中性塩類溶液についての実験は凍乾材料を用いた。中性塩類溶液として $\text{NaCl}\cdot\text{KCl}\cdot\text{CaCl}_2\cdot\text{MgCl}_2$ の溶液を用いた。それぞれの塩溶液の $1\text{M}\cdot 1/2\text{M}\cdot 1/4\text{M}\cdot 1/8\text{M}\cdot 1/32\text{M}\cdot 1/128\text{M}\cdot 1/256\text{M}$ 濃度の溶液に試料を浸し1昼夜室温に放置後、上澄をとり除いて沈澱を冷風乾燥したものについてX線回折を行なつた。回折図形をとつたのち、これらの試料について透析を行なつた。透析はセロファン紙を用い、蒸溜水で1昼夜以上透析を行なつたのち試料を冷風乾燥し、再び回折図形をとつた。さらに、対照実験として、両生類 Ringer 氏液 (NaCl 0.65, KCl 0.025, CaCl_2 0.3g. ad. Aq. dest. 100cc) の新しい溶液と古い溶液について上記と同様の実験を行なつた。

電顕材料は遠心分画法によつて分離したX線回折の場合と同一の新鮮な試料を Holtfreter 氏液で等張となし Veronal acetate 緩衝液で pH 7.25 にした 1% OsO_4 に投じ、氷室内で5分ないし1時間固定、エタノール脱水後メタアクリレート樹脂またはスチレン・メタクリレート樹脂に包埋し、 $50^{\circ}\sim 60^{\circ}\text{C}$ で24時間重合した。超薄切片の作成にはガラスナイフを装着した JUM-5 ウルトラ・ミクロトームを使用した。切片は醋酸鉛 および 醋酸ウラニウムで電子染色を行なつた。HU-11型電顕を用いて電顕写真を撮つた。直接倍率は 12,000—30,000倍とし、必要に応じて拡大陽画を作製

した。超微構造の計測は投影器によつて原板を10倍に拡大して行なつた。

結 果

I) 新鮮卵黄粒の回折図形

写真1に示すチャートは新鮮卵黄粒の小角散乱像であるが、回折線 (2), (3), (4), (5), (6) の回折角 2θ が測定できる。pinhole カメラによる図形には同心円状の回折線 (2), (5) が認められる (写真2)。このような同心円状の図形は、試料中に卵黄粒がいろいろな方向に位置していることを示している。slit カメラによる粉末図形 (写真3) には8本の回折線(1—8)が識別される。チャートから求めた面間隔の値は写真法の計測による値と殆んど一致しており、発生段階の各時期を通じて回折図形に相違が認められなかつた。各回折線の面間隔は 100.8\AA , 82.8\AA , 75.7\AA , 63.3\AA , 56.3\AA , 53.5\AA , 43.9\AA , 39.1\AA で、その相対強度は (2), (3), (6) の回折線において大であつた (表1)。

II) 凍結乾燥卵黄粒の回折図形

写真4に示すチャートは凍結卵黄粒の小角散乱像であるが、回折線 (2), (3), (4), (5), (6), (7), (8) の回折角 2θ が測定できる。回折線のピークは新鮮材料の場合に比べて顕著になつている。slit カメラによる粉末図形 (写真5) には8本 (1—8) の回折線が識別される。チャートから求めた面間隔の値と写真法の計測による値と殆んど一致しており、発生段階の各時期を通じて回折図形に相違が認められなかつた。各回折線の面間隔は 123.0\AA , 74.6\AA , 67.8\AA , 51.9\AA , 48.7\AA , 46.3\AA , 40.6\AA , 36.2\AA で、その相対強度は (2), (3), (5) の回折線において大であつた (表3)。

III) 加熱による回折図形の変化

a) 湿潤状態での加熱

$40^{\circ}\text{C}\cdot 10$ 分から $60^{\circ}\text{C}\cdot 10$ 分の加熱では回折図形に殆んど変化がみられない (写真6, 7, 8, 9)。 $60^{\circ}\text{C}\cdot 1.5$ 時間で回折図形は回折線ピークがなだらかとなり、(2)の回折線は認められるが、(3), (5), (6)の回折線が認められなくなる (写真10)。 $70^{\circ}\text{C}\cdot 1$ 分で (2) の回折線も不著明となり (写真12)、 $70^{\circ}\text{C}\cdot 10$ 分では回折線が全く認められなくなり、回折図形は双曲線状となる (写真13)。

b) 乾燥状態での加熱

$70^{\circ}\text{C}\cdot 10$ 分から $150^{\circ}\text{C}\cdot 1.5$ 時間の加熱による回折図形の変化は認められない (写真14, 15, 16, 17, 18, 19, 20)。 $200^{\circ}\text{C}\cdot 1.5$ 時間の加熱で試料はコーヒー色に変化し、回折図形は回折線が消失して双曲線状となる (写真21)。 200°C 以上の加熱では試料に炭化がみ

れた。

IV) 中性塩類溶液処理ならびに透析による回折図形の変化

a) NaCl および KCl 溶液

1M から 1/16M の濃度では回折線が認められない(写真22, 23, 24, 25, 26). 1/32M 以下の低濃度では殆んど凍乾材料の回折図形と変わらない(写真27, 28). 1M 濃度で処理したものは、その後透析を行なつても回折線はみられず(写真29), 1/2M 以下の濃度で処理したものでは、透析によつて回折図形の再現がみられる(写真30, 31, 32). より低濃度で処理されたものほど回折図形の再現がより著明であり、1/16Mの透析試料の回折図形は、殆んどもとの凍乾材料の回折図形を示している(写真33). NaCl 処理のものとの KCl 処理のものとの間に差を認めなかつた。

b) CaCl₂ および MgCl₂ 溶液

1M から 1/32M の濃度では回折線が認められず(写真34, 35), 1/64M 以下の低濃度で回折線が認められる(写真36). 1/128M よりも 1/256M の回折図形の方が凍結材料の回折図形に近いパターンを示している(写真37, 38). CaCl₂ 処理のものとの MgCl₂ 処理のものとの間に差を認めなかつた。透析による回折図形の再現は、NaCl や KCl の場合に比べて不著明であつた(写真39, 40, 41).

c) 両生類 Ringer 氏液

古い Ringer 氏液を用いた場合には回折線が認められない(写真42). 新しい Ringer 氏液の場合には回折線のピークはやや低くなだらかにみえる(写真43). 透析後の回折図形の再現は両者共に著明である(写真44, 45). 写真44・45の回折図形は明らかに凍乾材料の回折図形に一致したパターンを示している。

V) 卵黄粒の電子顕微鏡像

卵黄粒は通常厚さ約 100Å の限界膜を有し、その内側に径約 50Å の細顆粒の集つた細顆粒層があり、これにとり囲まれて楕円形もしくは紡錘形、時に亀甲型をした卵黄粒主体が 1 個、稀に 2—3 個みられる。卵黄粒主体は時として平坦な側面をもち、全体としてやや長い六角形ないし菱形を呈することもある。限界膜と細顆粒層は遠心分離処理のため破壊され、形骸を止どめるにすぎないことが多い。卵黄粒主体を高倍率写真でみると結晶性の構造が示される。正確に準焦された主体の多数の電顕像は次の 3 型に分類できる。すなわち、(1) 小顆粒の六方形配列を示す六方顆粒配列 hexagonal dot pattern (写真46). (2) 電子密度大な線と密度小な線が交互に並んで層状を示す線状配列 line pattern (写真47). (3) なんら構造を示さない均質像

homogeneous pattern である。

六方顆粒配列は、球状ないし僅かに楕円形の径 45~50Å の均等大きさの小顆粒が六方形に配列し、小顆粒は互に密度小な間隙によつて隔てられたものである。時として顆粒の配列がやや歪んだ六方形配列を示すことがあり、これを偽六方顆粒配列と呼ぶ。それぞれの顆粒は写真では 3 方向に線状に並んでみえ、その中の線状の一つは主体の長軸に平行に位置する。同一方向に走る顆粒の線は互に平行に並び、線の中央から中央までの距離は 65~90Å である。六方顆粒配列は極めて少なく、全体の約 8% にすぎない。六方顆粒配列は電子染色を施さない切片にも認められたが、染色を施こしたものでは像がよくみえた。

線状配列は極めて多く(73%), これは真直な平行した密度大な線と密度小な線の交互に現われているもので、その周期は 65~85Å である。電子密度大な線の幅は約 50Å かこれよりやや大である。六方顆粒配列と線状配列の間には種々の移行型がみられる。多くの例において、主体の周辺部における六方顆粒配列が、主体の中心部で線状配列に移行しているのがみられた。また、線状配列と均質像との間にも移行がみられた。このような電顕像における主体の像の変化は、切片作製の際の結晶格子の方向と切断角との相関によるものと考えられる。

線状配列の多くは一方のみに線状構造がみられるが、かなりの例で第 1 の線状構造系と 30°~90° の角度で交叉する第 2 の線状構造がみられる(写真48). 第 2 の線状構造は第 1 のそれに比べてやや不著明である。交叉角には大きな変化があるが、大部分は 45°, 60°, 90° 附近の 3 群に分けることができる。90° に近いものは織物の目をみるような観がある(写真49). 残る 19% は薄切片とし準焦を入念に行なつても均質で特定の構造はみられなかつた。同一視野に存在する個々の卵黄粒で、しばしばこれらの 3 種の像がみられ、また時として、同一の主体においても数種の像が混在しているのを見る。種々の発生段階における卵黄粒において、電顕でみられる結晶構造に大差が認められなかつた。

VI) 新鮮卵黄粒主体の結晶構造解析

自然界のすべての結晶構造は 7 種類の結晶系(立方晶・正方晶・斜方晶・三方晶または菱面体晶・六方晶・単斜晶・三斜晶)のいずれかに属するが、著者は新鮮卵黄粒主体中の結晶構造の単位格子の形と大きさを決定するために、X線回折図形を基として、試謬法により吟味を進め、各回折線に正しい Miller 指数 (*hkl*) をあてはめ、いわゆる「指数付け」を行なおうとした。

そのため $\sin^2 \theta$ 比率法, 計算尺法 (Guinier, 1956), Hull-Davey の図表による 図上法 (Hull & Davey, 1921) などを行なった. 指数付けが正確に行なわれるためには, できるだけ多くの回折線が必要なので, 粉末写真法による回折図形を基とし, チャートによる回折線は回折線強度の判定の基礎とするに止どめた.

表 1 および表 2 は粉末写真より得た各回折線についての相対強度 および 面間隔の実測値 d (obs.), $1/d^2$ (obs.) ならびに $\sin^2 \theta$ (obs.) の値を示す. 7つの結晶形のうち, 斜方晶・単斜晶・三斜晶の物質はパラメーターの数が多いため粉末図形が複雑となり, 図上法で指数付けを行なうことが殆んど不可能な結晶であるので, 結晶系の吟味から除外した. また, 三方晶は容易に六方晶に転換可能なので, これも吟味から除外した.

A) 結晶系の吟味

1) 立方晶系

立方晶では未知の格子定数は立方格子の各稜 a のみである. 一般に, 立方晶は各回折線の $\sin^2 \theta$ が Bragg の条件式 (2) と立方晶系における面間隔を表わす式 (3) を組合せてできる次の式 (4) を満足させるような回折線を与える.

$$d = \frac{a}{\sqrt{h^2 + k^2 + l^2}} \dots\dots\dots(3)$$

$$\frac{\sin^2 \theta}{h^2 + k^2 + l^2} = \frac{\sin^2 \theta}{S} = \frac{\lambda^2}{4a^2} \dots\dots\dots(4)$$

ここに, d は面間隔, hkl は Miller 指数, a は格子定数である. $h^2 + k^2 + l^2 = S$ は常に整数であり, $\frac{\lambda^2}{4a^2}$ は定数であるので商が常に一定であるような整数 S の一組が見出されれば, 各回折線の面指数 hkl は Miller 指数の 2 次形を示す表 (Culity, 1962) より簡単に求められる. (3) 式を変形して式 (5), 式 (6) が得られる.

$$\log d = \log a - \frac{1}{2} \log S \dots\dots\dots(5)$$

$$\frac{1}{d^2} = \frac{1}{a^2} \cdot S \dots\dots\dots(6)$$

表 2 に示した d (obs.), $1/d^2$ (obs.) および $\sin^2 \theta$ (obs.) の値を用い, $\sin^2 \theta$ 比率法および計算尺法で検討したが, すべての式を満足せしめるような一組の整数 S は見出されなかつた. また, 立方晶系に関する Hull-Davey の図表上で $1/a=1$ (このときその立方晶は立方晶に相当する) の場所で図上法による指数付けを行なったが, 満足すべき結果が得られなかつた. それ故, 卵黄粒の結晶格子は立方晶には属しないと判断した.

2) 正方晶系

正方晶の面間隔を表わす式 (7) は 2 個の未知の格子定数 a および c を含んでいる.

$$d = \frac{a}{\sqrt{h^2 + k^2 + \left(\frac{l}{c}\right)^2}} \dots\dots\dots(7)$$

(7) 式は次の式 (8) のように書き換えられる.

$$\frac{1}{d^2} = \frac{1}{a^2} \left[(h^2 + k^2) + \frac{l^2}{(c/a)^2} \right] \dots\dots\dots(8)$$

(8) 式において両辺の対数をとると,

$$2 \log d = 2 \log a - \log \left[(h^2 + k^2) + \frac{l^2}{(c/a)^2} \right] \dots\dots\dots(9)$$

となり, 式 (9) は Bragg の条件式 (2) と組合せることにより, 式 (10) が得られる.

$$\log \sin^2 \theta = \log \frac{\lambda^2}{4a^2} + \log \left[(h^2 + k^2) + \frac{l^2}{(c/a)^2} \right] \dots\dots\dots(10)$$

いま, 式 (9) について任意の 2 種類の面間隔 d_1 と d_2 に関して 2 つの算式を得, それぞれ接尾字 1, 2 を附して書き表わし, 2 つの式の左辺と右辺について各々の差をとると式 (11) が得られる.

$$2 \log d_1 - 2 \log d_2 = -\log \left[(h_1^2 + k_1^2) + \frac{l_1^2}{(c/a)^2} \right] + \log \left[(h_2^2 + k_2^2) + \frac{l_2^2}{(c/a)^2} \right] \dots\dots\dots(11)$$

式 (11) は任意の 2 種類の面間隔の $2 \log d$ の値の差が a に無関係であり, ただ軸率 c/a と各面の面指数 hkl のみに依存することを示している. このことは Hull-Davey (1921) により正方晶の粉末図形の 図上法による指数付けの基礎として用いられた. したがって, 著者は表 1, 2 に示した d (obs.) と $\sin^2 \theta$ (obs.) の値に基づき, Hull-Davey の図表上に適当な位置を求めたが, 結果は回折図形の指数付けを行なうことができなかった. このことは卵黄粒の結晶が正方晶系に属さないことを示している.

3) 六方晶系

六方晶の単位格子は正方晶の場合と同じように 2 個の未知の格子定数 a および c によつて決定されるので, 図上法で指数付けが可能である. 六方晶の面間隔を表わす式 (12) は次のように示される.

$$d = \frac{a}{\sqrt{\frac{4}{3}(h^2 + hk + k^2) + \left(\frac{l}{c}\right)^2}} \dots\dots\dots(12)$$

式 (12) は Bragg の条件式 (2) と組合せることにより, $\sin^2 \theta$ を求める式 (13) に書き換えられる.

$$\sin^2 \theta = \frac{\lambda^2}{4a^2} \left[\frac{4}{3}(h^2 + hk + k^2) + \frac{l^2}{(c/a)^2} \right] \dots\dots\dots(13)$$

式 (13) より式 (14) が導かれる.

$$\frac{1}{d^2} = \frac{1}{a^2} \left[\frac{4}{3} (h^2 + hk + k^2) + \frac{l^2}{(c/a)^2} \right] \dots\dots (14)$$

式 (14) の両辺の対数をとると式 (15) が得られる。

$$2 \log d = 2 \log a - \log \left[\frac{4}{3} (h^2 + hk + k^2) + \frac{l^2}{(c/a)^2} \right] \dots\dots\dots (15)$$

式 (15) は正方晶系における式 (9) と全く同じ形であり、したがって六方晶系に対する Hull-Davey の図表は c/a に対する $\log \left[\frac{4}{3} (h^2 + hk + k^2) + \frac{l^2}{(c/a)^2} \right]$ の変化を図表に記入することによつて作られる。回折実験より得られた d (obs.) の値を用いて吟味した結果、軸率 $c/a=2.1$ の位置で 8 本の回折線がすべて図表の hkl 曲線を満足することを見出した。そこで曲線から各回折線の面指数 hkl を読みとり指数付けを行なつた。また、六方晶の間隔を表わす式 (12) について面指数 hkl の値を入れて計算を行ない、格子定数 a および間隔の計算値 d (cal.) を求めた (表 1)。各回折線について求めた a の 8 つの値について算術平均値を求め、 $a=117 \text{ \AA}$ を得た。図表から求めた軸率のおおよその値は $c/a=2.1$ であるから、これより c の値を計算すると、 $c=245.7 \text{ \AA}$ となる。これらの値は図表より求めた c/a の値を基にしているの、さらに正確な格子定数が計算によつて求められねばならない。

B) 格子定数の精密決定

Bragg の条件式 (2) によつて、Bragg 角 θ が測定されれば d が求められるが、 d の精度は $\sin \theta$ の精度に依存している。一般に、回折ビームの角位置は θ が大きいときは間隔の変化に対して鋭敏である。ゆゑに回折図形の各々の回折線について計算された格子定数 a の値は 2θ の値が大きいほど精度が高いとい

得る。したがつて、著者の得た 8 本の回折線のうち反射角の大きな (8), (7) の回折線を基にして得た a の値が他のものより比較的精度が高いと考えられる。式 (13) を書き換えると、次の式 (16) が得られる。

$$\sin^2 \theta = \frac{\lambda^2}{4} \left[\frac{4}{3} \cdot \frac{h^2 + hk + k^2}{a^2} + \frac{l^2}{c^2} \right] \dots\dots\dots (16)$$

表 2 において、回折線 (7), (8) の $\sin^2 \theta$ (obs.) について (16) 式から連立方程式 (17), (18) をつくり、これを解けば格子定数 a および c のより正確な値が求められる。

$$\left\{ \begin{aligned} 0.000304 &= \frac{\lambda^2}{4} \left(\frac{4}{3} \cdot \frac{1}{a^2} + \frac{25}{c^2} \right) \dots\dots\dots (17) \\ 0.000389 &= \frac{\lambda^2}{4} \left(\frac{4}{3} \cdot \frac{4}{a^2} + \frac{16}{c^2} \right) \dots\dots\dots (18) \end{aligned} \right.$$

ここに、CuK α 線では $\lambda^2/4=0.595 \text{ \AA}^2$ である。上記の連立方程式を解くと、 $a=117.0 \text{ \AA}$, $c=245.8 \text{ \AA}$, $c/a=2.10$ となる。これらの値は図上法によつて求めた値に殆んど一致し、このことは図表による指数付けがかなり正確に行なわれたことを示している。

正確な格子定数を基に式 (13) および式 (14) より求めた $\sin^2 \theta$ (cal.), $1/d^2$ (cal.) の値と実測値より求めた $\sin^2 \theta$ (obs.), $1/d^2$ (obs.) の値を表 2 に示した。両者はよい一致を示しており、指数付けが正しかつたことを裏付けている。 $a=117.0 \text{ \AA}$ を基に計算した間隔の計算値 d (cal.) も実測値 d (obs.) とよく似た値を示している (表 1)。

以上で新鮮卵黄粒結晶は六方晶であり、六方単位格子の格子定数 a および c は $a=117.0 \text{ \AA}$, $c=245.8 \text{ \AA}$, 軸率 $c/a=2.10$ であると結論される。

VII) 凍結乾燥卵黄粒結晶の構造決定

A) 結晶系の吟味

一般に、結晶格子が変形して格子定数に変化をきた

表 1 新鮮卵黄粒の X 線回折データ

回折線	強度	d (obs.) (\AA)	$h \cdot k \cdot l$	$\sqrt{\frac{4}{3} (h^2 + hk + k^2) + \frac{l^2}{(c/a)^2}}$	a (\AA)	d (cal.) (\AA)
1	<i>w</i>	100.8	100	1.153	116.3	101.5
2	<i>vs</i>	82.8	003	1.428	118.3	81.9
3	<i>s</i>	75.7	102	1.496	113.2	78.0
4	<i>w</i>	63.3	103	1.846	116.8	63.4
5	<i>vw</i>	56.3	111	2.056	115.9	56.8
6	<i>m</i>	53.5	112	2.216	118.6	52.8
7	<i>w</i>	43.9	105	2.645	116.2	44.3
8	<i>vw</i>	39.1	204	2.993	116.8	39.2

d (cal.) は $a=117.0 \text{ \AA}$ を基にして計算した間隔を示す。 $\sqrt{\frac{4}{3} (h^2 + hk + k^2) + \frac{l^2}{(c/a)^2}}$: 六方格子の間隔を表わす式。 *w*: weak *s*: strong *m*: medium *v*: very

表2 新鮮卵黄粒のX線回折データ

回折線	$\sin^2 \theta$ (obs.)	$\sin^2 \theta$ (cal.)	$1/d^2$ (obs.)	$1/d^2$ (cal.)
1	0.000058	0.000058	0.000098	0.000097
2	0.000088	0.000089	0.000145	0.000149
3	0.000104	0.000097	0.000175	0.000164
4	0.000148	0.000147	0.000249	0.000246
5	0.000187	0.000184	0.000315	0.000310
6	0.000208	0.000213	0.000349	0.000359
7	0.000304	0.000304	0.000518	0.000517
8	0.000389	0.000389	0.000653	0.000654

$\sin^2 \theta$ (cal.) および $1/d^2$ (cal.) の値は $a=117.0\text{\AA}$, $c=245.8\text{\AA}$ を基にして計算した。

す場合、変形の程度が強ければ結晶格子の対称性が低くなり、したがって回折線の数が増すので回折図形は複雑となる。しかし格子の変形が僅かである場合には回折図形は殆んど変わらず、もとの結晶格子の回折図形に似かよつた図形を示す。

凍乾卵黄粒結晶の回折図形は新鮮卵黄粒結晶の回折図形によく似ている。このことから凍乾による結晶格子の変化は、さほど著しくないことが推定され、結晶は六方晶に属すると仮定した。Hull-Davey の六方晶

の図表を用いて、すべての回折線に指数付けが可能かどうかを検討した。この際、回折線(2)の相対強度が最も強いので、新鮮材料の回折図形と対比してみても回折線(2)は(003)面からの反射である可能性が強いと考えられる。そこで図表上で常に回折線(2)の印が(003)の曲線上に存在するように注意しながら、他のすべての回折線を満足させる位置を探した結果、軸率 $c/a=1.6$ の位置でうまく一致が得られる。表3に各回折線の面指数を示した。次いで六方晶の面間隔を

表3 凍結乾燥卵黄粒のX線回折データ

回折線	強度	$d(\text{obs.})$ (\AA)	$hk\cdot l$	$\sqrt{\frac{4}{3}(h^2+kk+k^2)+\frac{l^2}{(c/a)^2}}$	a (\AA)	$d(\text{cal.})$ (\AA)
1	<i>m</i>	123.0	100	1.153	141.8	124.0
2	<i>vs</i>	74.6	003	1.876	140.0	76.1
3	<i>vs</i>	67.8	111	1.095	142.0	68.2
4	<i>m</i>	51.9	104	2.753	142.9	51.8
5	<i>s</i>	48.7	203	2.975	144.9	47.9
6	<i>w</i>	46.3	121	3.117	144.3	45.8
7	<i>vw</i>	40.6	301	3.521	143.0	40.5
8	<i>vw</i>	36.2	124	3.941	143.0	36.1

d (cal.) は $a=142.8\text{\AA}$ を基にして計算した。

表4 凍結乾燥卵黄粒のX線回折データ

回折線	$\sin^2 \theta$ (obs.)	$\sin^2 \theta$ (cal.)	$1/d^2$ (obs.)	$1/d^2$ (cal.)
1	0.000040	0.000039	0.000066	0.000065
2	0.000108	0.000103	0.000179	0.000173
3	0.000128	0.000128	0.000217	0.000216
4	0.000225	0.000221	0.000371	0.000372
5	0.000250	0.000258	0.000421	0.000434
6	0.000278	0.000283	0.000476	0.000477
7	0.000361	0.000362	0.000609	0.000608
8	0.000454	0.000455	0.000763	0.000765

$\sin^2 \theta$ (cal.) および $1/d^2$ (cal.) の値は $a=142.8\text{\AA}$, $c=228.7\text{\AA}$ を基にして計算した。

表わす式 (12) について面指数 hkl の値を入れて計算を行ない、格子定数 a および面間隔の計算値 $d(\text{cal.})$ を求めた (表 3)。

各回折線について求めた a の 8 つの値について算術平均値を求め、 $a=142.7\text{\AA}$ を得た。先に図表より求めた軸率 $c/a=1.6$ から c を計算すると、 $c=228.3\text{\AA}$ となる。これらの値は図表より求めた c/a の値を基にしているため、さらにより正確な格子定数が計算によつて求められなければならない。

B) 格子定数の精密決定

表 4 において、最も反射角の大きな 2 本の回折線 (7), (8) の $\sin^2 \theta$ (obs.) について (16) 式から次に示す連立方程式 (19), (20) をつくり、これを解いて格子定数 a および c の正確な値を求めた。

$$\begin{cases} 0.000361 = \frac{\lambda^2}{4} \left(\frac{4}{3} \cdot \frac{9}{a^2} + \frac{1}{c^2} \right) \dots\dots\dots (19) \\ 0.000454 = \frac{\lambda^2}{4} \left(\frac{4}{3} \cdot \frac{9}{a^2} + \frac{16}{c^2} \right) \dots\dots\dots (20) \end{cases}$$

上記の連立方程式を解くと、 $a=142.8\text{\AA}$ 、 $c=228.7\text{\AA}$ 、 $c/a=1.60$ となる。これらの値は図上法によつて求めた値と殆んど一致し、このことから図表による指数付けが、かなり正確に行なわれたことを示している。正確な格子定数を基にして、式 (13) および式 (14) から計算した $\sin^2 \theta$ (cal.), $1/d^2$ (cal.) の値と実測値の値 $\sin^2 \theta$ (obs.), $1/d^2$ (obs.) を表 4 に示したが、両者はよい一致を示しており、指数付けが正しかつたことを裏付けている。 $a=142.8\text{\AA}$ を基に計算した面間隔の計算値 d (cal.) も実測値 d (obs.) とよく似た値を示している (表 3)。

以上で凍乾卵黄粒結晶は六方晶であり、六方単位格子の格子定数 a および c は、 $a=142.8\text{\AA}$ 、 $c=228.7\text{\AA}$ 、軸率 $c/a=1.60$ であると結論される。このように凍結乾燥により卵黄粒の結晶構造に変化がおり、格子定数および軸率に変化が現われることは注目すべきであろう。

考 察

I) 卵黄粒結晶の電顕像と結晶モデル

両生類卵黄粒にみられる結晶構造について電顕による多くの報告がある。*Triturus pyrrhogaster* (柄崎, 1957; Wischnitzer, 1957; 本陣 & 津田, 1958; Karasaki & Komoda, 1958; 津田 & 高橋, 1958; 津田, 1961; Karasaki, 1959, 1963 a, b), *Rana pipiens* (Kemp, 1956; Ward, 1959, 1962; Ringle & Gross, 1962; Karasaki, 1963 a, b; Wallace & Karasaki, 1963), *Rhacopholus schlegelii* var. *arborea* (本陣 & 津田, 1958; 津田, 1961), *Triton alpestris*,

Xenopus laevis, *Rana temporaria*, *Rana esculenta*, *Ambystoma mexicanum* (Wartenberg, 1962), *Diemictylus viridescens*, *Rana nigromaculata*, *Bufo vulgaris* (Karasaki, 1963a) などの種類について、それぞれの卵黄粒に結晶様の構造が存在することが指摘されたが、このような各種両生類における結晶様の構造は極めて類似し (Karasaki, 1959, 1963 a, b; 津田, 1961; Wartenberg, 1962), さらにそれらは発生の段階において著しい差を示さない (Karasaki, 1959; 津田, 1961)。このことはモリアオガエル以外の他の両生類 (トノサマガエル *Rana nigromaculata nigromaculata*, ニホンヒキガエル *Bufo vulgaris japonicus*, アカハライモリ *Triturus pyrrhogaster*, クロサンショウウオ *Hydromantes nigrescens*, ヒダサンショウウオ *Hynobius kimurai*) の卵黄粒についての X線回折からも明らかにされている (本陣, 中村 & 嶋崎, 未発表)。

電顕所見に基づき、Wischnitzer (1957) は初めて卵黄粒内の微細構造に対して “crystalline lattice pattern” という表現をし、Karasaki (1957) は卵黄粒内の線状構造が干渉縞であるとし、さらにその後 (Karasaki & Komoda, 1958; Karasaki, 1959) これ “fringe-system” よりなるものであると想定した。本陣 & 津田 (1958), 津田 (1961) は結晶格子構造について、顆粒状の macromolecules によつて作られる最密構造をもつた三次元的モデルが考えられることを示唆し、Wartenberg (1962) は電顕像に顆粒配列および線状配列を見出し、このような像の変化が平行に並んだ細長い柱状ミセルの切断角の差異によるとした。彼は卵黄粒の微細構造モデルとして径 35\AA の “long cylindrical micellae” を提案した。確かに macromolecules の結晶格子の電顕像はその切断角や観察角に依存する。しかし今日著者の得た X線回折データは明らかに六方晶における c 軸の長さを明示しているので、Wartenberg のモデルを否定することができる。最近 Ward (1962) は電顕像に径約 $35\sim 40\text{\AA}$ の顆粒の配列を認め、それらの顆粒が hexagonal packing をなしている可能性を暗示した。また Karasaki (1963 a) と Wallace (1963 b) は電顕所見に基づき新しいモデルとして “simple hexagonal lattice” を提案した。何故ならば彼らの電顕所見にも六方顆粒配列が見出され、以前の彼らの fringe system モデルではこれが説明困難となつたためと思われる。

著者は電顕像において卵黄粒の結晶構造が、径約 $45\sim 50\text{\AA}$ の電子密度大な球状ないし僅かに楕円形の顆粒が六方配列をなしていることを確かめた。電顕検索に

際し、卵黄粒主体の切片は、その六方晶の軸に斜めに切られる確率が、直角または平行、あるいはそれに近く切られるものに比して、はるかに大であることが容易に推定できる。200 Å の厚さで斜めに切られた切片では顆粒の重積像が現われ、線状配列や均質像が出現する。このことは3種の像の間に移行型がみられることをよく説明している。事実、3種の像の出現頻度を調べた結果、六方顆粒配列が最も少なく約8%を示し、線状配列が最も多く約73%みられ、19%が均質像を示した。この事実は上記の推定をさらによく裏付けているものである。切断面が軸を僅かにはずれると偽六方顆粒配列を示すものであろう。顆粒配列が卵黄粒の主体の辺縁部によくみられることは Ward (1962), Karasaki (1963a) の記載があり、著者も大きな結晶では辺縁部に顆粒配列をよく認めたが、内部へゆくにつれて不明瞭となり、線状配列に移行している像をしばしばみた。反対に、小さな結晶では結晶全体に六方顆粒配列をみることが多かつた。以上の所見から、主体を構成する物質に対する Os 固定による Os の沈着が、電顕像に大なる関係を有し、その浸透作用が辺縁部のみ充分で、内部に不充分なとき顆粒配列を生ずるとの推論も不可能ではないが、六方顆粒配列はホルマリン固定の電顕像でも認められている (Ward, 1962) ので、Os の作用のみでは説明がつけられないように思われる。著者の今回得た新鮮材料の X 線回折所見は、新鮮状態において六方格子の存在を示すものである。ただ Os 固定やその後の電子染色によつて顆粒の像が鮮明となることは事実で、顆粒に相当する物質が Os や電子染色に対して強い親和性を有することは確実である。

顆粒の中心間距離は、六方顆粒配列で 80~85 Å であり、この値は Karasaki (1963a) の 70~90 Å (平均 81 Å) に一致する。また、顆粒の並びによつてできる線と線との間の周期は約 70 Å 前後であるが、この値も従来の諸家の報告に一致している。線状配列の際に、線間の周期に大きな差異がみられることは、各種切断角における結晶格子の投影像によつて生ずるものである。2方向に交叉してみえる交叉性線状配列の交叉角に関しては、45° (津田 & 高橋, 1958; Karasaki, 1959; 津田, 1961), 65° (Ward, 1962) の記載がある。Karasaki (1963a) は 20°~90° の変化を認め、中でも 60°~90° が多くと報告している。著者の所見も彼らのあげた数値とよく一致しており、50°~60° 前後が最も多く、次いで 80°~90° 附近が多くみられた。このような交叉角における変化も、切断角の変化によつて充分説明できる。

II) 新鮮卵黄粒結晶格子の立体モデル

電顕ならびに X 線回折所見より径 40~50 Å の電子密度大な顆粒が六方配列をなすことは明らかであるが、この密度大な顆粒の外表面には密度小な物質が顆粒を囲んで存在し、全体として球体に近い形をなし、各々の球体がパッキングを作つていと推定される。そこで球体のパッキングによつて生ずる構造について検討した。一般に、結晶学的にみて等大球の積み重ねによつてつくられる最密パッキング構造には、①最密立方パッキング (CCP 構造) と ②最密六方パッキング (CHP 構造) の2種類がある。

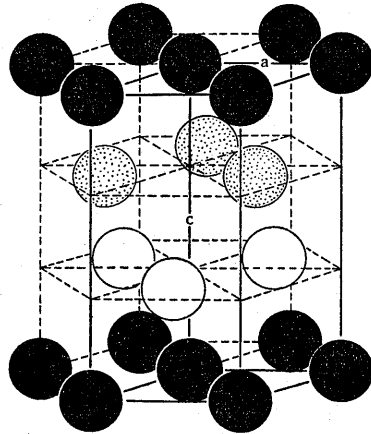


図 1 新鮮卵黄粒結晶の格子モデル
六方単位格子は $a=117.0\text{Å}$, $c=245.8\text{Å}$,
軸率 $c/a=2.10$ 球体は phosvitin 分子を
表わしている。

一平面内で球を互にできるだけ押しつけると六方格子に配列する。この格子が積み重ねられるとき、それぞれの面間の距離が最小になるためには、第2層の球 (B) の位置は第1層の隣り合った3つの球 (A) の中心を結んでできる正三角形の重心からの垂線上にある。第3層の球 (C) の配置には2通りあり、1つは第1層の球の真上にくる場合で、層の繰返しは第3層目に第1層と同じ球の配列がみられる。したがって、この場合は C は A の繰返しで、A と C は空間的に同値といえる。これを記号で表わすと ABAB……となる。このような構造は CHP 構造であり、幾何学的計算から軸率 $c/a=1.633$ の六方格子であることが知られている。他の配置の仕方は、第1層の正三角形の重心のうち第2層で占められていない重心の真上に第3層の球 (C) がくるもので、第4層の球は第1層の球の真上に位置することになる。これを記号で表わすと ABCABC……となる。このような構造は CCP 構造と呼ばれ、面心立方格子であるが、これは特定の六方格子とも考えられ、六方格子として考える場合には軸率

$c/a=2.45$ と計算される。

卵黄粒結晶格子は新鮮状態では軸率 $c/a=2.10$ の六方格子であることが判つたが、もし卵黄粒の結晶構造が上記の CHP 構造をとるとすると ABAB…… の繰返しがあるはずで、回折線の Miller 指数に (002) のものが得られるはずである。しかし著者のデータには上記のように相対強度の強い (003) の反射が得られ、(002) の反射はみられなかつた。このことは格子が CHP 構造でないことを示している。(003) の反射が最も強いことから、六方単位格子の c 軸に直行し、 c 軸を 3 等分する面が考えられる。しかもこの面には電子密度大な顆粒が含まれ、これを包む物質と共に macromolecules をつくり、これらのパッキングによる積み重ねの繰返しは ABCABC……である可能性が強い。しかし軸率 2.1 を考慮すると面心立方格子ではない。さらに結晶学的にみて、構造因子の計算から導かれる面の消滅則より、面心立方格子では面指数が (100), (110)……などのような奇数と偶数が混合している回折線は存在しないことより、著者のデータからも面心立方格子は否定できる。卵黄粒の重屈折性の存在に関しては、偏光顕微鏡による検索で弱い重屈折性が認められることが確かめられているが (Holtfreter, 1946 a, b, c), 一般に、面心立方格子の物質は光学的等方性を示すので、この点からも面心立方格子の可能性は否定し得る。六方格子は一軸性結晶に属し、光学的異方性を示すから重屈折性を充分説明できる。

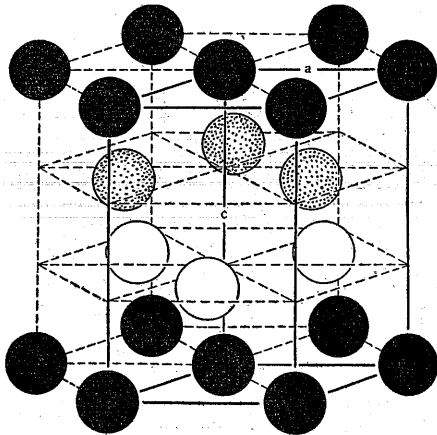


図 2 凍結乾燥卵黄粒結晶の格子モデル
六方単位格子は $a=142.8 \text{ \AA}$, $c=228.7 \text{ \AA}$,
軸率 $c/a=1.60$ 球体は phosvitin 分子を表わ
している。

結論として、卵黄粒結晶の構造は面心立方格子ではなく、 c 軸の方向に macromolecule が 3 層に最密パッキングを形成した六方格子で、その軸率は 2.1 である。以上の考察を基にして卵黄粒結晶のパッキングモデルを作つた。図 1 はその格子モデルの模式図である。この種のパッキング構造は自然界に多くみられるもので、金属元素ならびに結晶化合物 (桐山, 1952; Pauling, 1950) や Virus 結晶 (Labaw & Wyckoff, 1958; Bernal & Carlisle, 1948; Bergold, 1963) など安定な構造を作つていることから考えて、卵黄粒結晶構造の安定性を説明する上に有力な根拠となると考えられる。

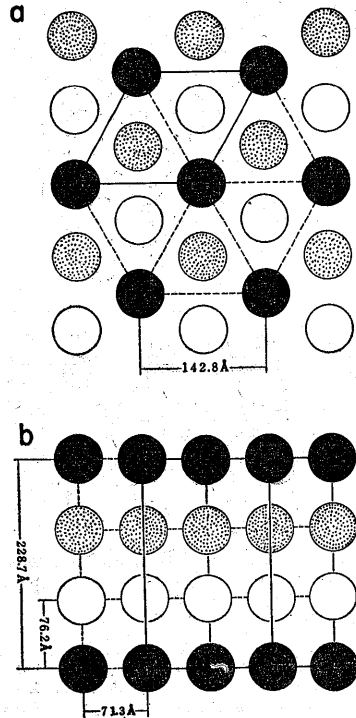


図 3 a: 図 2 のモデルの (001) 面への投影像。
b: 図 2 のモデルの (100) 面への投影像。黒球は
第 1 層および第 4 層を示す。白球は第 2 層を示す。
点を附した球は第 3 層を示す。

III) 凍結乾燥卵黄粒結晶格子の立体モデル

新鮮卵黄粒の結晶格子モデル作製と同一の処理により、凍乾卵黄粒結晶格子の X線回折データに基づいて、その立体モデルを作つた。すでに述べたように、凍乾卵黄粒結晶格子は六方格子で、格子定数 $a=142.8 \text{ \AA}$, $c=228.7 \text{ \AA}$, 軸率 $c/a=1.60$ である。したがつて、凍乾モデルは新鮮モデルに比べ、単位格子が c 軸方向に縮み、 a 軸方向に伸長した六方格子となつた。図 2, 3 はモデルの模式図である。

IV) 卵黄粒結晶格子モデルの幾何学的投影像と電子顕微鏡像の相似性

電顕の超薄切片は厚さ 200~500 Å であるから、卵黄粒結晶格子の単位格子は切片の厚さに充分含まれる。そこで格子モデルについて、顆粒の種々の面への投影像を描き、幾何学的計算を行なつて、顆粒の中心間の距離、顆粒の並びによつてできる線間の周期間隔、交叉角などを求め、電顕像との相似性について検討を加えてみた。その際、顆粒の大きさを径 45 Å とし、新鮮ならびに凍乾結晶格子モデルについて吟味した結果、凍乾結晶格子モデルの投影像の方が数値的に電顕像をよく説明しうることが判つた。電顕処理による結

晶構造の変化が、新鮮状態と異なることは当然予想されるところであるが、以上の所見は電顕処理による変化が凍乾による変化に類似していることを示すものである。本陣 & 中村 (1961) は卵黄粒の X 線回折実験によつて、 OsO_4 固定により結晶格子の面間隔が凍乾材料の面間隔に近づくことを示しているが、この知見は今回の著者の考え方を支持するものである。図 4 は格子モデルの投影像の模式図であるが、それぞれ電顕像によく似ており、周期間隔や交叉角などもよく一致している。

1) (001) 面への投影像

図 4 A に示すように顆粒の中心間距離は、82.4 Å，

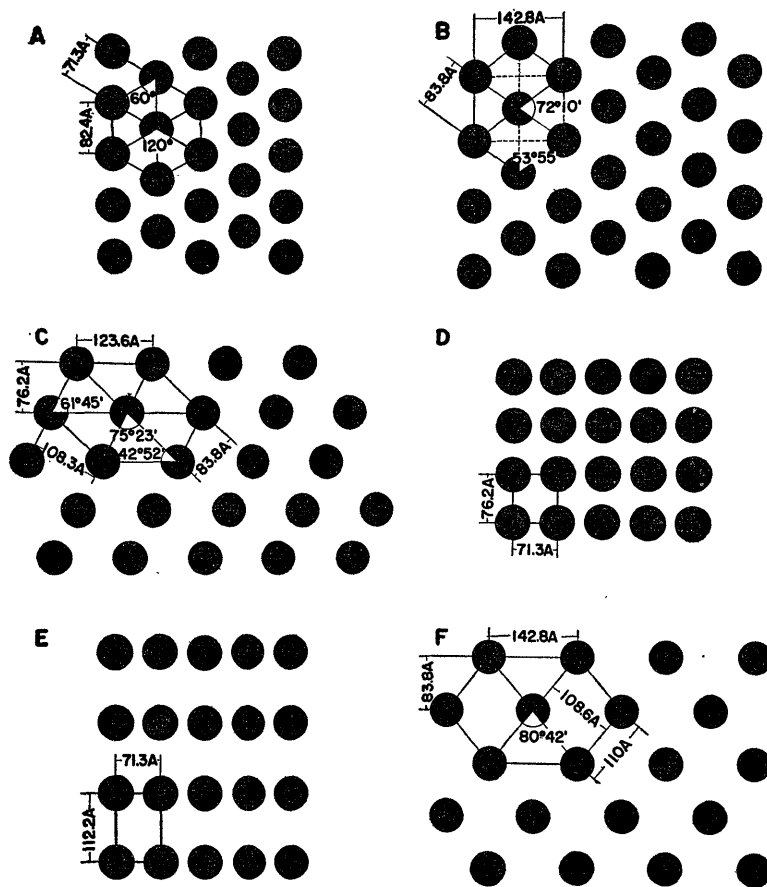


図 4 凍乾乾燥卵黄粒結晶格子モデルの幾何学的投影像の模式図。A) (001) 面への投影像、図 3a に一致する。電顕でみられる六方顆粒配列に相当すると考えられる。B) (102) 面と (110) 面との交線の方向に投影された像。電顕でみられる偽六方顆粒配列に相当すると考えられる。C) (110) 面への投影像。電顕でみられる偽六方顆粒配列に近い像である。D) (100) 面への投影像。図 3b に一致する。電顕でみられる 90° に近い交叉性線状配列に相当するものと考えられる。E) (101) 面と (110) 面との交線の方向に投影された像。電顕でみられる 90° に近い交叉性線状配列の一つと考えられる。F) (110) 面と (102) 面との方向に投影された像。電顕でみられる 90° に近い交叉性線状配列に似た像を示す。

周期間隔は 71.3\AA で、電顕像でみられる六方顆粒配列に一致する。切片の切断方向がわずかにずれると、顆粒の重積投影によつて、周期 71.3\AA の一方向性の線状配列または交叉角 60° の2方向性に交叉した交叉性の線状配列になる可能性もある。

2) (102) 面と (110) 面との交線の方向に投影された像

図4 Bに示すように電顕像では偽六方顆粒配列として現われる。切片の切断方向がわずかにずれると顆粒の重積投影によつて、周期 83.8\AA の一方向性の線状配列または交叉角 $72^\circ 10'$, $53^\circ 55'$, $36^\circ 05'$ のうちのいずれか2方向に交叉してみえる交叉性線状配列を示す可能性もある。

3) (110) 面への投影像

図4 Cに示すように電顕像では偽六方顆粒配列として現われる。切片の切断方向がわずかにずれると顆粒の重積投影によつて、周期 76.2\AA , 83.8\AA , 108.3\AA の平行した一方向性の線状配列、または交叉角が $75^\circ 23'$, $61^\circ 45'$, $42^\circ 52'$ のうちのいずれか2方向に交叉してみえる交叉性線状配列を示す可能性がある。

4) (100) 面への投影像

図4 Dに示すように顆粒の中心間距離は a 軸方向に 71.3\AA , c 軸方向に 76.2\AA であり、電顕像でみられる 90° に近い交叉性の線状配列を示すと考えられる。切断方向がわずかにずれると顆粒の重積投影によつて、周期 71.3\AA および 76.2\AA の一方向性線状配列になる可能性が大きい。

5) (101) 面と (110) 面との交線の方向に投影された像

図4 Eに示すように顆粒の中心間距離は、短い方が 71.3\AA , 長い方が 112.2\AA であり、電顕像でみられる 90° に近い交叉性線状配列の一つと考えられる。切断方向がわずかにずれると顆粒の重積投影によつて、周期 71.3\AA および 112.2\AA の一方向性の線状配列を示すことも考えられる。

6) (101) 面と (102) 面との交線の方向に投影された像

図4 Fに示すように電顕像には 90° に近い交叉性線状配列を示すと考えられる。交叉角は $80^\circ 42'$ である。切断方向がわずかにずれると顆粒の重積投影によつて、周期 83.6\AA または 108.6\AA の一方向性線状配列を示す可能性がある。

以上のX線回折データの解析から得たモデルの投影像の解析は、線状配列の出現頻度が極めて多いことを示し、これは電顕像における出現頻度とよく一致する。線状配列の周期間隔も $70\sim 100\text{\AA}$ 前後がみられる

が、 $70\sim 80\text{\AA}$ 前後が多いと思われる。六方顆粒配列としてみられる場合は限定され、このことから電顕像で顆粒配列の出現頻度の低いことと一致する。均質像は顆粒が投影面または電顕写真乾板の全面に散布されて投影されたものである。

V) 卵黄粒結晶構造の生化学的構成成分

近年 Wallace (1963 a, b) は *Rana pipiens* の卵黄粒の生化学的解析データを基にして、電顕像 (Karasaki 1963 a) ならびにX線回折データ (本陣 & 中村, 1961) を考慮に入れ、卵黄粒結晶構造モデルとして “simple hexagonal lattice” を示した。彼によれば、卵黄粒主体は phosvitin (component S) と lipovitellin (component F) からなり、phosvitin は lipovitellin に比べて密度が大である。phosvitin は球状分子と考えると、その直径は 40\AA となり、この大きさは電顕でみられる電子密度大な顆粒に一致するので、卵黄粒主体の結晶格子として phosvitin 分子による単純六方格子を想定した。この単純六方格子は、電顕像でみられる六方顆粒配列の顆粒間の距離 81\AA を基にしており、結晶学的にみると、格子定数 $a=81\text{\AA}$, $c=81\text{\AA}$ で、軸率 $c/a=1.0$ の六方格子である。にも拘らず、Wallace は “structural unit” として $a=81\text{\AA}$, $c=162\text{\AA}$ の大きさの単位格子を考えているが、これは結晶学的にみて同意しがたい。今回の著者のX線回折による検索によれば、卵黄粒主体の結晶格子は、 $a=117.0\text{\AA}$, $c=245.8\text{\AA}$, $c/a=2.10$ の六方格子であり、Wallace と Karasaki らのモデルとは根本的に異なる。さらに、Wallace (1963 b) によれば、phosvitin と lipovitellin の分子数の比が $2:1$ であることから、phosvitin 2分子が lipovitellin 1分子にとり囲まれたものを構造単位と考え、全体が米俵型をした “cylindrical rods” がその長軸方向に end-to-end の形で積み重ねられ side-to-side の方向に最密パッキングをなしているモデルが想定されるという。このような物質の積み重ね方は、長軸方向に関しては、単なる積み木のような構造であり、極めて不安定なものと考えられ自然界には非常に稀なものである。卵黄粒主体の結晶構造が結局は栄養物として崩壊するとしても、かなり長期の発生期間にわたつて安定に維持されることを考えると、著者のパッキングモデルが当を得ていると考えられる。また lipovitellin 分子の中で、2分子の phosvitin が互に 81\AA の間隔を保つて存在し、しかも構造単位の長さが 164\AA となるとする Wallace と Karasaki の考え方には、単位格子のとり方に無理な思考過程があり、論理的に納得のゆく説明がなされていない。

Wallace と Karasaki らは *phosvitin* 1 分子の直径が 40 \AA であることから、電顕像でみられる顆粒の大きさに一致しているが、著者は彼らの考え方とは異なる一つの仮定をなした。すなわち、*phosvitin* 2 分子がダイマーをなしていると考え、この場合、*phosvitin* 2 分子がダイマーになつて球状の顆粒を作つているとすると、その直径は次のように計算される。Wallace (1963 b) によれば、*phosvitin* 1 分子の容積は $32.4 \times 10^{-21} \text{ ml}$ であるから、2 分子では $64.8 \times 10^{-21} \text{ ml}$ となり、球体の体積を求める式： $V = \frac{4}{3} \pi r^3$ にあてはめて計算すると、 $r = 24.9 \text{ \AA}$ となり、したがつて直径は 49.8 \AA となる。この大きさは電顕像でみられる顆粒の径 $45 \sim 50 \text{ \AA}$ の値にほぼ一致する。換言すれば、*phosvitin* 2 分子がダイマーをなして顆粒状を呈すると考えても差つかえないと思われる。そこで次に 2 分子の *phosvitin* よりなる顆粒を含む *lipovitellin* 1 分子の球体を考えてみると、その直径は以下のように計算で求められる。すなわち、*lipovitellin* 1 分子の容積は $537 \times 10^{-21} \text{ ml}$ (Wallace, 1963b) であるから、求める球体の容積は $(537 + 64.8) \times 10^{-21} \text{ ml}$ となり、球体の体積を求める式より $r = 52.3 \text{ \AA}$ となる。したがつて求める球体の直径は 104.6 \AA となる。しかしこの値は分子が乾燥状態にあるものとしての値で、もしもこれらの化学物質が新鮮または水を保有する状態にあるとすると、いくらか大きくなると推定される。2 分子の *phosvitin* ダイマーの直径 49.8 \AA と *phosvitin* ダイマーを含む *lipovitellin* 分子の直径 104.6 \AA は、著者の電顕像でみられた顆粒の直径約 50 \AA および X 線回折よりの六方格子の a 軸の長さ 117 \AA とほぼ一致する。卵黄粒の六方格子における軸率 2.1 より、これらの分子が回転楕円体の形をもつたものであろうと推定される (Honjin, Nakamura & Shimasaki, 1964) またこれらの回転楕円体の短軸は結晶格子の c 軸に平行であると考えられる。このことは Holtfreter (1946 a, b, c) が示した卵黄粒にみた弱い重屈折性を理解する上にも極めて妥当と考えられる。

電顕像でみられる電子密度大な顆粒が *phosvitin* であろうという想定は Karasaki (1963a) によつてなされているが、*phosvitin* が本来電子密度大な物質であることは Wallace (1963 b) の生化学的データからも明らかである。すなわち、*phosvitin* の偏比容 (\bar{v}) は 0.61 であり、*lipovitellin* は 0.77 であるので、その比重は $\frac{1}{\bar{v}}$ から求められる。したがつて *phosvitin* の比重は約 1.64 、*lipovitellin* の比重は約 1.3 となる。このことから *phosvitin* が *lipovitellin* に比べて電

子密度大な物質であるといえる。また Ward (1962) は *Rana pipiens* の卵黄粒のホルマリン固定電顕像で電子密度大な顆粒の配列を認めているので、*phosvitin* 分子が電顕でみられる顆粒に一致すると考えられる。さらにウラニウム電子染色は核酸のような磷酸基を多く含む物質を優先的によく染める方法であることが知られているが、著者の場合にもこの電子染色によつて顆粒の電子密度が大となることが認められた。これは *phosvitin* 分子中に含まれる磷酸基に同様に結合したものと考えられ、このことから電顕像の顆粒が *phosvitin* に相当することが考えられる。

球体の最密パッキングを考える場合に、いま一つの特異な構造として NaCl 型構造 (Pauling, 1950) が上げられる。元来この構造は大きなイオン半径を有する陰イオン (例えば、 Cl^-) と小さなイオン半径を有する陽イオン (例えば、 Na^+) とが互に最密パッキングをなして結晶を作つているもので、半径比は $0.41 \sim 0.73$ の範囲が許される (桐山, 1959)。いま、このような構造が *macromolecules* のオーダーにも許されるとすれば、以下の仮定が考えられる。すなわち、Wallace (1963 b) によると、*lipovitellin* の直径は 101 \AA であるから、いま仮に、*phosvitin* 2 分子からなる径 49.8 \AA の小球と径 101 \AA の *lipovitellin* の大球を考え、これら大小の球がパッキングをなして NaCl 構造をとると仮定すると、*phosvitin* 分子によつてつくられる六方格子は $a = 106.6 \text{ \AA}$ 、 $c = 261 \text{ \AA}$ 、 $c/a = 2.45$ となる。六方格子の大きさから考えると、一応このような NaCl 型構造も考慮されてよいように思われるが、自然界には *macromolecules* のオーダーで、まだこの種の結晶構造は存在しないので、先に述べた *phosvitin* 分子の周囲を *lipovitellin* 分子がとり囲んでいる構造単位がより自然なように思われるので、ここには可能性としてあげるに止どめる。

VI) 加熱および中性塩類溶液の影響

1) 加熱による結晶構造の変化

先に本陣 & 中村 (1961) は、水中で 80°C 以上の加熱で回折図形が消失し、乾燥状態で 150°C の加熱ではまだ回折図形がみられることを報告した。著者が行なつた実験から、卵黄粒結晶構造は乾燥状態における加熱では比較的安定であり、 $150^\circ\text{C} \cdot 1.5$ 時間の加熱に耐え結晶構造を保っているが、湿潤した状態で加熱した場合は $70^\circ\text{C} \cdot 10$ 分で結晶構造が失われることが判明した。一般に、蛋白の変性凝固をおこす温度は各蛋白に特有のものではなく、通常 60°C 以上で急激に変性がおきる。結晶状態にある球状蛋白は加熱しても結晶形を失わないものが多く、変性すると結晶性が消失す

る(荒谷, 1950). 周囲に水が存在する場合には, 蛋白質の形態を維持しているペプチド結合の間の水素結合や, 側鎖間の2次的結合が破れ易く, 蛋白質のペプチド鎖がほぐれて, ルーズな形態をとるようになる. すなわち, 変性がおこり易いと考えられる.

純粋に抽出された *phosvitin* は熱に対して安定な物質で, 100°C で数時間加熱しても変化しないという(鶴上 & 博谷, 1954). しかし *phosvitin* 分子によって構成される格子構造自体は, *lipovitellin* 分子の存在を無視しては考えられない. *lipovitellin* 分子は電子密度小なるために, 電顕でその形態はとらえがたいが, *phosvitin* 分子との間になんらかの結合が保たれていると考えられる. それ故, *phosvitin* 分子自体は熱に安定な物質であっても, *lipovitellin* 自体および *phosvitin* と *lipovitellin* との間の結合が熱によって影響を受けることも考えられる. とにかく卵黄粒結晶が乾燥状態での加熱によって結晶性を失いにくく, H₂O の共存下では 70°C・10分ですでに結晶構造の崩壊をきたすことは注目されてよいであろう.

2) 中性塩類溶液の結晶構造におよぼす変化

Holtfreter (1946a) は *Rana pipiens* の卵黄粒を中性塩類溶液中に 1 昼夜 おくと 卵黄粒の溶解がみられ, この際, 1 価と 2 価の陽イオンの作用を比較すると, 2 価の陽イオンの作用が同一濃度では 1 価の陽イオンの作用より強く, 低濃度でも溶解作用があることを光学顕微鏡観察により確かめた. 彼によれば, NaCl・KCl など 1 価の陽イオン溶液では, 1/8M 以下の濃度でもはや溶解作用がなくなり, 2 価の陽イオン溶液である CaCl₂・MgCl₂ では, 1/128 M~1/256M あたりの低濃度でなお溶解作用を認めたという.

本陣 & 中村 (1961) は 5% NaCl 溶液で処理した場合に, 回折図形が消失することから結晶構造の崩壊を示唆したが, 著者の実験においても, NaCl・KCl など 1 価の陽イオン溶液で処理した場合は 1M~1/16M の濃度で結晶構造が消失した. また, 1/32M 以下の低濃度では結晶構造に殆んど変化がみられない. CaCl₂・MgCl₂ などの 2 価陽イオン溶液の場合は, 1 価の陽イオンに比べてより低濃度でも結晶構造を消失せしめる作用があると思われる.

Ringle & Gross (1962) は *Rana pipiens* の卵黄粒が 0.4M NaCl および 0.05M CaCl₂ 溶液に溶け, さらに溶液を希釈すると沈澱を生ずることを見出した. これらの沈澱は電気泳動法により 2 つの要素からなることが示され, また沈澱が塩濃度の条件によって再び溶解したり, 再び沈澱を生じたりする可逆的な現象がみられることを明らかにした.

著者は透折実験によつて, 1 価の陽イオン溶液によつて結晶構造が消失した試料を透折すると, 再びもとの結晶構造が復活することを確かめた. 高濃度の塩溶液で処理された場合には, 透折による結晶構造の再現がみられないが, これは結晶構造の構成成分である *lipoprotein* になんらかの変化が起きたためと考えられる. Nass (1962) によれば, *Rana pipiens* の卵黄粒を高濃度の塩溶液で処理したのちに希釈・透折して得られた沈澱は, もはや卵黄粒のフラクションの特徴を失っているという.

2 価の陽イオン溶液で処理した場合には, 透折を行なつても回折図形に変化がみられなかつたが, このことは低濃度の塩溶液においては, 1 価と 2 価の陽イオンが結晶構造におよぼす作用が本質的に異なることを示すものである. Ringle & Gross (1962) によれば, Ca⁺⁺ 溶液に長時間浸すと 卵黄蛋白の溶解性が変化し, もはや希釈によつて沈澱を生じなくなるといふ. Holtfreter (1946a) も CaCl₂ および MgCl₂ の希薄溶液に長時間浸した卵黄粒は, KOH や HCl などの高濃度溶液中に入れても壊れず, 抵抗性をもつようになることを明らかにしている.

Gross (1954) は卵黄粒が Ca⁺⁺ の存在で溶解する系に "calcium-activated enzyme" の存在を仮定した. Palmer & Schmitt (1941) は牛の脊髄より抽出した *lipid emulsion* の X 線回折的研究により, 電解質にはその荷電量と濃度によつて *lipid* の 2 分子層間の水の量を減少せしめる作用があると推定し, Ca⁺⁺ の効果は Na⁺・K⁺ より強いことを示した. Folch et al (1957) によれば, 陽イオンが *lipid* と結合したり, 他のイオンを追い出したりする作用や, *lipid emulsion* を凝固させたりする作用は, Ca⁺⁺・Mg⁺⁺ > Na⁺・K⁺ であるという. このように 2 価の陽イオンの作用は 1 価の陽イオン作用よりも強大であり, したがつて, *lipid* などとの結合における安定性にもかなりの差があると考えられる. 2 価の陽イオンの方がより安定な結合をなしているとすれば, 透折によつて 2 価の陽イオンより 1 価の陽イオンの方が除かれ易いために, 結晶構造の復活は 1 価の陽イオン処理の場合にみられる可能性が大きいと考えられる.

両生類 Ringer 氏液は NaCl の濃度に関しては, 0.12N NaCl 溶液に相当するが, 得られた回折図形は 1/4M~1/8M NaCl 処理の場合に一致しており, 古い液では NaCl 濃度がやや高くなつていても考えられる. また新しい液では, NaCl の効果が不著明であるが, 透折後の回折図形が一層著明となることから考えて, Na⁺ の作用が結晶構造に多少影響しているこ

とがうかがわれる。Holtfreter 氏液は 0.06N NaCl 溶液に相当するが、中性塩類溶液としての作用がみられないことはすでに実験的に明らかにされた。両生類の等張液 (0.6~0.65%生理的食塩水) は 0.1~0.12N NaCl 溶液に相当するが、この NaCl 濃度は回折図形 (写真25)からも明らかのように、結晶構造に変化を与える濃度である。

以上のことから、生体液中の電解質濃度と 1 価および 2 価の陽イオンバランスなどが、卵黄粒結晶の溶解ならびに再結晶生成の現象に何か重要な意義をもっているように思われる。

Wallace (1963a) によれば、卵黄粒は乾燥重量で 78%の protein と 14%の lipid からなり、phosvitin は磷を 8.4% 含む phosphoprotein であり、lipovitellin は 17% の lipid を含む lipoprotein であるという。lipovitellin は中性塩類溶液に溶解、塩類の濃度を薄くすると沈澱を生ずる性質がある。また、lipovitellin に含まれている脂質はレシチンとケファリンであろうといわれている (鶴上 & 博谷, 1954)。

大豆レシチン (phosphatide 95%) に対する中性塩類溶液の効果を X線回折法によつて検索したが、1M NaCl・KCl 溶液処理でレシチンの回折図形が消失し、透析によつて再びもとの回折図形に近いパターンが得られることが確かめられている (本陣 & 嶋崎, 未発表)。

磷脂質分子中の極性基は、水分子によつて水和されており、陽イオンもまた同様に水分子によつて水和されている。陽イオンが結合し得るのは磷脂質分子中の磷酸基である。両者の結合は静電力および配位結合に基づくもので、通常の化学結合ほどに安定なものでなく、水分子および他の陽イオンによつて容易に置換されると考えられる。磷脂質は水中でその極性基を水の方に向け、非極性基を内側へ向けた、いわゆる 2 分子層の膜を形成するが、この膜は陽イオンの影響を受けて 2 分子層が壊れ、lipid 分子は非極性を中心の方へ向け、極性基を外へ向けた球状の会合体をなして水中に分散すると考えられている。透析によつて陽イオンを除くと、極性基間の相互作用が復活し、再び 2 分子層が形成される可能性が考えられる。2 価の陽イオンは負の極性基の結合の仲介をすることにより、2 分子層の安定化に役立つとも考えられ、透析により 1 価の陽イオンが 2 価の陽イオンより除去され易いので、2 分子層の復活がおり易いと考えられる。

一度溶解して結晶構造を失っていた状態から、再び lipoprotein の結晶がつくられる現象は、生体内での蛋白結晶の生成と消失ならびに生体内イオンとの関連

において甚だ興味深い重大な問題であると思われる。

lipovitellin 中の脂質と蛋白の結合はエーテルやアセトンでは切断できず、エタノールを用いると初めて結合を離すことができるという (鶴上 & 博谷, 1954)。卵黄粒にアセトンやエーテルなどを作用させても回折図形に変化をみないが、エタノールおよびメタノールを作用させると回折線が消失する (本陣 & 嶋崎, 1961)。この事実より、卵黄粒結晶構造の維持において lipovitellin が重要な役割を果していることが推定される。

結 論

モリアオガエル (*Rhacopholus schlegelii* var. *arborea*) の卵黄粒の超微構造について、X線小角散乱法ならびに電子顕微鏡的検索を行なつた。X線回折法は CuK α X線を用い、粉末写真法ならびに diffractometer 法により回折図形をとつた。遠心沈澱によつて得た新鮮卵黄粒および凍結乾燥卵黄粒の粉末写真法による回折図形を基にし、 $\sin^2 \theta$ 比率法・計算尺法・Hull-Davey の図表による図上法などを用いて構造解析を試み、それぞれの結晶格子を決定した。結晶格子モデルをつくり、モデルの幾何学的投影像と卵黄粒電顕像とを対比して論じた。さらに、加熱および中性塩類溶液による回折図形の変化について検索し以下の結論を得た。

1) 新鮮卵黄粒結晶構造は六方晶系に属し、単位格子は $a=117.0\text{\AA}$, $c=245.8\text{\AA}$, 軸率 $c/a=2.10$ の六方格子である。

2) 凍結乾燥卵黄粒結晶構造は六方晶系に属し、単位格子は $a=142.8\text{\AA}$, $c=228.7\text{\AA}$, 軸率 $c/a=1.60$ の六方格子である。

3) 電子顕微鏡観察により、卵黄粒結晶は径約 50 \AA の電子密度大な顆粒が密につまつた構造をなしていることが明らかとなつた。高倍率の電子顕微鏡像から、次の 3 つのパターンを認めた。すなわち、(1) 六方顆粒配列、(2) 線状配列、(3) 均質像である。線状配列はさらに 1 方向性のもと 2 方向性に交叉してみえるものの 2 種類がある。結晶格子モデルの幾何学的投影像と対比して検討した結果、凍結乾燥の格子モデルが電子顕微鏡像を最もよく説明することができた。

4) 加熱による結晶構造の変化は、乾燥状態で $150^\circ\text{C} \cdot 1.5$ 時間加熱しても結晶構造に変化をみないが、湿潤な状態で $70^\circ\text{C} \cdot 10$ 分加熱すると結晶構造の消失がみられた。

5) 中性塩類溶液による結晶構造の変化は、1 価の陽イオン溶液 (NaCl・KCl) の場合、1M~1/16M、

2 価の陽イオン溶液 ($\text{CaCl}_2 \cdot \text{MgCl}_2$) の場合, 1M~1/32M の濃度範囲で結晶構造の消失がみられた。また, 2 価の陽イオンの方が 1 価の陽イオンに比べて, より低濃度で結晶構造を消失させる強い作用をもっている。透析による結晶構造の復活は, 1 価の陽イオン溶液ではより低濃度で処理されたものほど著明にみられた。また, 2 価の陽イオン溶液ではこのような現象がみられなかつた。両生類 Ringer 氏液の効果は含有されている NaCl の濃度に関して 1 価の陽イオン溶液の作用に似ている。

稿を終るにあたり, 御指導と御校閲を賜った恩師本陣良平教授に対し謹んで感謝の意を表します。また, 研究期間中有益なる御助言を頂いた中村俊雄助教授, 平松京一博士に感謝致します。さらに, X線回折装置の使用にあたって多大の便宜を与えられた金沢大学理学部竹村松男教授, 同理学部杉浦精治助教授, 大阪大学蛋白質研究所角戸正夫教授に対し深甚の謝意を表します。また終始御鞭撻下さった津田宏信ならびに高橋 暁両博士に対し敬意を表します。

文 献

- 1) 荒谷真平 : 蛋白質とその変性, 総合医学新書8, 35頁, 東京, 日本医学雑誌, 1950. 2)
- Bergold, G. H. : J. Ultrastruct. Res., 8, 360 (1963). 3) Bernal, J. D. & Carlisle, C. H. : Nature, 162, 139 (1948). 4) Culy, B. D. : X線回折要論 (松村源太郎訳), 第3版, 302頁, 東京, アグネ, 1962. 5) Eakin, R. M. & Lehmann, F. E. : Roux' Arch. Entw. Mech. 150, 177 (1957). 6) Essner, E. S. : Protoplasma, 43, 79 (1954). 7)
- Folch, J., Lees, M. & Sloane-Stanley, G. H. : Metabolism of the nervous system, edited by D. Richter, p. 174, Pergamon Press, London, New York, Paris & Los Angeles, 1957.
- 8) Gross, P. R. : Protoplasm, 43, 416 (1954).
- 9) Guinier, A. : X線結晶学の理論と実際 (高良・細谷・土井・新関共訳), 189頁, 東京, 理学電機図書出版, 1960. 10) 平松京一 : 十全会誌, 70, 45 (1964). 11) Holtfreter, J. : J. Exp. Zool., 101, 355 (1946a). 12) Holtfreter, J. : J. Exp. Zool., 102, 51 (1946b).
- 13) Holtfreter, J. : J. Exp. Zool., 103, 81 (1946c). 14) 本陣良平・中村俊雄 : 解剖誌, 36, 369 (1961). 15) Honjin, R., Nakamura, T. & Shimasaki, S. : J. Ultrastruct. Res., in press (1964a). 16) 本陣良平・中村俊雄・嶋崎重一 : (1964b) 未発表.
- 17) 本陣良平・嶋崎重一 : 解剖誌, 37, (2)付: 7 (1961). 18) 本陣良平・嶋崎重一 : (1964) 未発表. 19) 本陣良平・津田宏信 : 解剖誌, 33, 238 (1958). 20) Hull, A. W. & Davey, W. P. : Phys. Rev., 17, 549 (1921).
- 21) 柄崎脩一 : 電子顕微鏡, 6, 93 (1957).
- 22) Karasaki, S. : Embryologia, 4, 247 (1959). 23) Karasaki, S. : J. Cell Biol., 18, 135 (1963a). 24) Karasaki, S. : J. Ultrastruct. Res., 9, 225 (1963b). 25) Karasaki, S. & Komoda, T. : Nature, 181, 407 (1958). 26) 桐山良一 : 構造無機化学 I (共立全書 16), 第7版, 53頁, 東京, 共立出版, 1961. 27) Kemp, N. E. : J. Biophys. Biochem. Cytol., 2, 281 (1956). 28) Labaw, L. W. & Wyckoff, R. W. G. : J. Ultrastruct. Res., 2, 8 (1958). 29) Nass, S. : Biol. Bull., 122, 232 (1962). 30) Palmer, K. J. & Schmitt, F. O. : J. Cell and Comp. Physiol., 17, 385 (1941). 31) Pauling, L. : 化学結合論 (小泉正夫訳), 第3版, 407頁, 東京, 共立出版, 1951. 32) Ringle, D. A. & Gross, P. R. : Biol. Bull., 122, 263 (1962).
- 33) 津田宏信 : 解剖誌, 36, 106 (1961).
- 34) 津田宏信・高橋 暁 : 解剖誌 33(6):付7(1958).
- 35) 鶴上三郎・博谷和男 : 蛋白質化学3 (赤堀・水島編), 138頁, 東京, 共立出版, 1954. 36) Wallace, R. A. : Biochim. et Biophysica Acta, 74, 495 (1963a). 37) Wallace, R. A. : Biochim. et Biophysica Acta, 74, 505 (1963b).
- 38) Wallace, R. A. & Karasaki, S. : J. Cell Biol., 18, 153 (1963). 39) Ward, R. T. : J. Cell Biol., 14, 309 (1962). 40) Wartenberg, H. : Z. Zellforsch. und mikr. Anat., 58, 427 (1962). 41) Wischnitzer, S. : J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 3, 1040 (1957).

Abstract

The ultrastructure of the main body of the yolk platelet of amphibian *Anura, Rhacopholus schlegelii* var. *arborea*, at the various embryonic stages, was examined by both low-angle X-ray diffraction and electron microscopy. The isolated fresh yolk platelets were prepared by homogenization-centrifugation method (Essner, 1954) in Holtfreter's solution or phosphate buffer solution at 4°C. X-ray diffraction patterns were taken with powder photographic method and diffractometer using Ni-filtered copper $K\alpha$ radiation. The electron microscopic preparations were fixed with 1% OsO_4 and embedded in methacrylate or styren-methacrylate and stained with lead or uranyl acetate. The unit cell dimensions of the fresh and frozen-dried materials were determined from powder photographs by the $\sin^2 \theta$ ratio method, slide rule method, or graphical procedure with Hull-Davey's chart. Both the electron microscopic observations of yolk crystal and the projected images of the model of crystal lattice were discussed. The effect of heating, water-bathing and electrolytes on the frozen-dried yolk platelet were also investigated. The results obtained were summarized as follows.

1) The crystal structure of the fresh yolk platelet belongs to the hexagonal system and its unit cell has $a=117.0\text{Å}$, $c=245.8\text{Å}$ and an axial ratio $c/a=2.10$.

2) The crystal structure of the frozen-dried yolk platelet belongs to the hexagonal system and its unit cell has $a=142.8\text{Å}$, $c=228.7\text{Å}$ and an axial ratio $c/a=1.60$.

3) In electron microscopy the main body of the yolk platelet is seen to consist of closely packed electron-dense particles about 50 Å in diameter under high magnification. The following types of pattern can be seen, dot pattern, line pattern and homogeneous pattern. These patterns are sufficiently explained with the projected images of the crystal model of the frozen-dried yolk platelet.

4) The crystal structure was still maintained after heating at 150°C for 1.5 hours in dry state and was destroyed at 70°C for 10 minutes in water-bathing.

5) The crystal structure was destroyed in the solutions of the chlorides of various mono- and bivalent cations ranging in 1 mol. to 1/16 mol. (NaCl, KCl) and 1 mol. to 1/32 mol. ($CaCl_2$, $MgCl_2$). When these specimens treated with the solutions of monovalent cations were dialysed against distilled water during overnight, it was proved that the original crystal structure was reconstituted more remarkably at lower concentration than higher, but in the case of bivalent cations such phenomenon could not be observed. It seems that amphibian Ringer's solution (0.12 N with respect to NaCl) has the same effect of solution of NaCl.

写真説明

Plate I

写真 1 新鮮卵黄粒の diffractometer により記録された小角散乱像のチャート。

写真 2 新鮮卵黄粒の pinhole カメラによる粉末図形。

写真 3 新鮮卵黄粒の slit-collimated カメラによる粉末図形。

写真 4 凍結乾燥卵黄粒の diffractometer により記録された小角散乱像のチャート。

写真 5 凍結乾燥卵黄粒の slit-collimated カメラによる粉末図形。

Plate II, III

写真 6-13 湿潤状態で加熱した場合の回折図形の変化を示すチャート。6) 40°C・10分, 7) 50°C・20分, 8) 50°C・40分, 9) 60°C・10分, 10) 60°C・1.5時間, 11) 65°C・10分, 12) 70°C・1分, 13) 70°C・10分。

写真14-21 乾燥状態で加熱した場合の回折図形の変化を示すチャート。14) 70°C・10分, 15) 90°C・10分, 16) 120°C・10分, 17) 150°C・10分, 18) 150°C・30分, 19) 150°C・1時間, 20) 150°C・1.5時間, 21) 200°C・1.5時間。

写真22-28 1価陽イオン溶液 (NaCl・KCl) 処理による回折図形の変化を示すチャート。22) 1M, 23)

1/2M, 24) 1/4M, 25) 1/8M, 26) 1/16M, 27) 1/32M, 28) 1/64M

写真29—33 写真22—26の試料をさらに透析して得られたそれぞれの回折図形の変化を示すチャート。

写真34—38 2価陽イオン溶液 ($\text{CaCl}_2 \cdot \text{MgCl}_2$) 処理による回折図形の変化を示すチャート。34) 1/4M, 35) 1/32M, 36) 1/64M, 37) 1/128M, 38) 1/256M

写真39—41 写真34—36の試料をさらに透析して得られたそれぞれの回折図形の変化を示すチャート。

写真42—43 両生類 Ringer 氏液で処理した場合の

回折図形の変化を示すチャート。42) 古い Ringer 氏液, 43) 新しい Ringer 氏液。

写真44—45 写真42と43の試料を透析して得られた回折図形の変化を示すチャート。

Plate IV

写真46—49 卵黄粒結晶構造の電子顕微鏡写真。

×200,000 スケールは 0.1μ を示す。46) 六方顆粒配列, 47) 1方向性の線状配列。48) 2方向性の交叉性線状配列。交叉角約 43° 49) 2方向性の交叉性線状配列。交叉角約 83°

Plate I

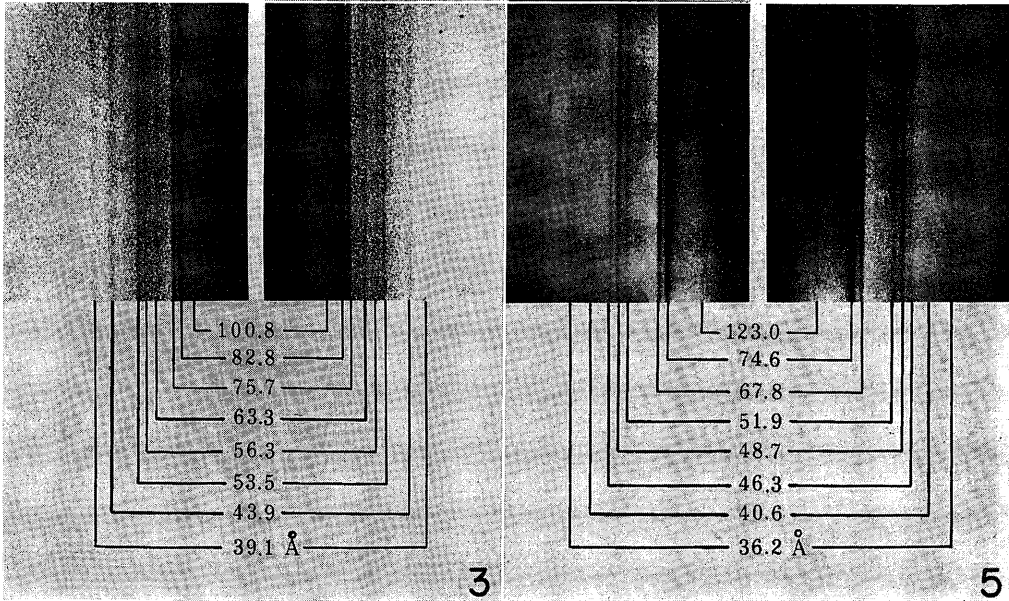
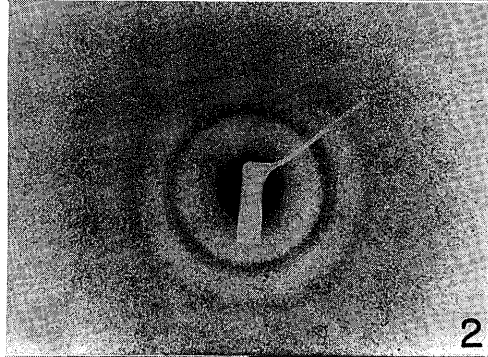
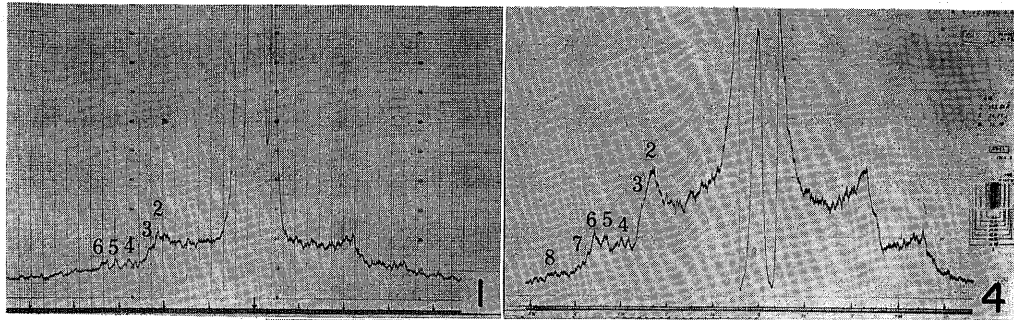


Plate II

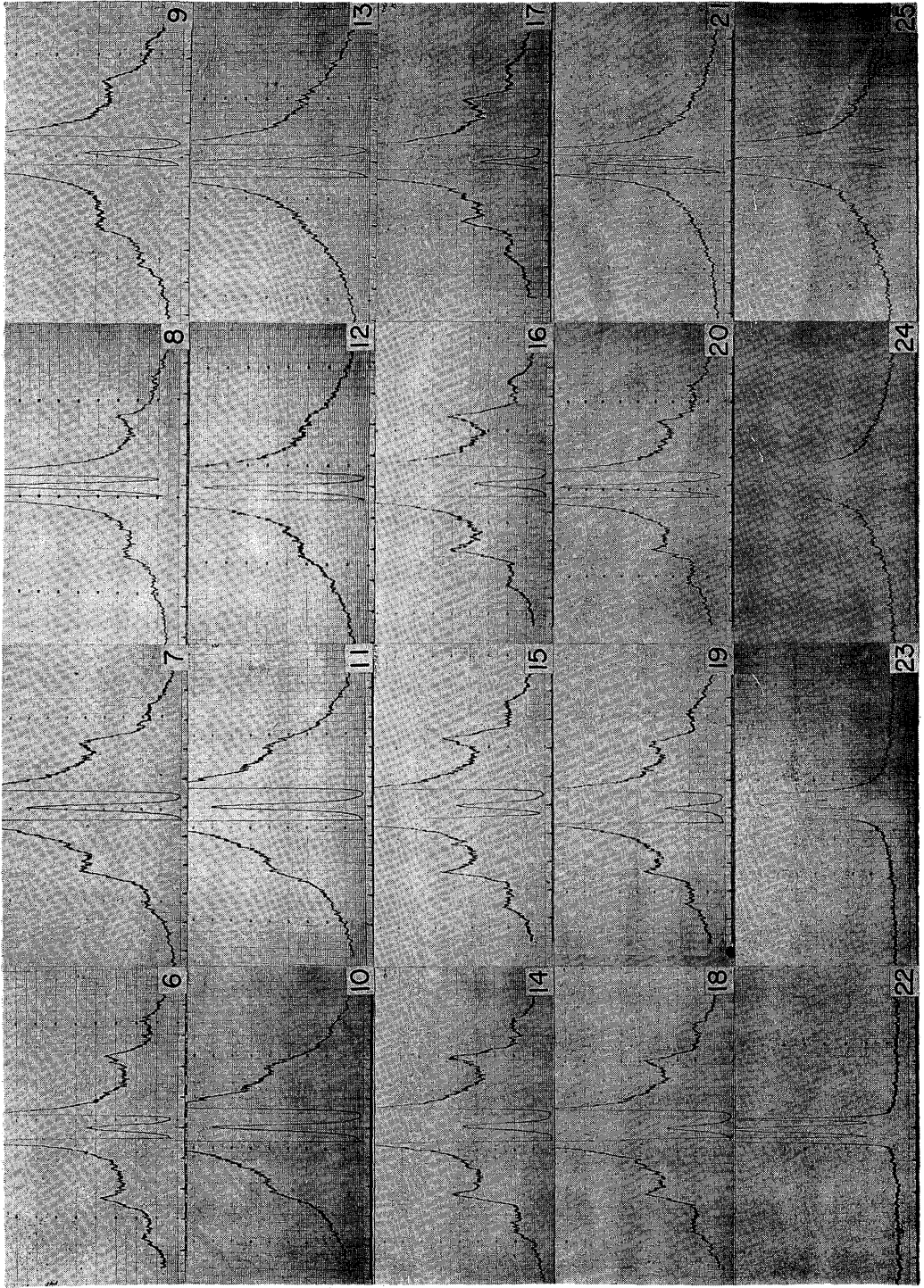


Plate III

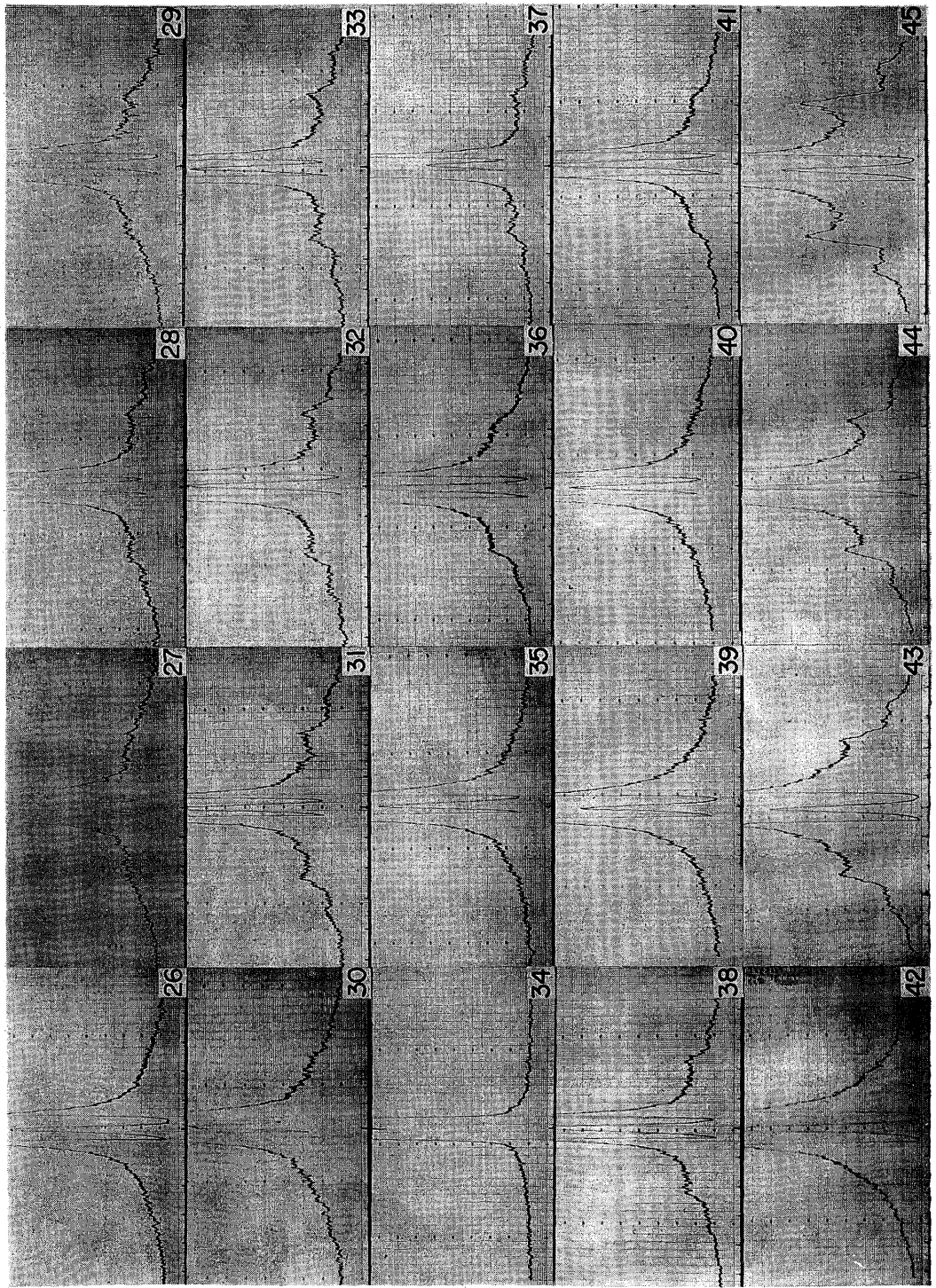


Plate IV

