

金澤醫科大學病理學教室

(杉山教授指導)

周核顆粒及周核網 (Perinucleo-granula et -reticula) ニ關スル研究 (第三報)

其化學的性狀ニ就テ

八 木 義 一

(昭和6年3月19日受附)

目 次

緒 論	第二項 n/100アムモニアノミテ作用セル實驗
第一章 實驗材料及實驗方法	第三項 n/100鹽酸ヲ作用シ次テ n/100アムモニアニテ後處置セル實驗
第二章 實驗成績	第四項 n/100アムモニアヲ作用シ次テ n/100鹽酸ニテ後處置セル實驗
第一節 血液塗抹標本ノ「アルコール固定後ニ於ケル實驗	第四節 周核顆粒ト「ヒストン」トノ關係
第一項 糖原質ニ就テノ實驗	第五節 周核顆粒ト「プロタミン」トノ關係
第二項 脂肪質ニ就テノ實驗	第六節 周核顆粒ト「ヌクレイン酸」トノ關係
第三項 蛋白質ニ就テノ實驗	第七節 周核顆粒ト「ヌクレイン酸ヒストン」トノ關係
第二節 「アルコール固定前ニ藥液ヲ作用セシメタル實驗	第三章 總括及ビ考按
第一項 血液纖維素ニ就テノ實驗	結 論
第二項 糖原質ニ就テノ實驗	文 獻
第三項 脂肪質ニ就テノ實驗	
第四項 蛋白質ニ就テノ實驗	
第三節 酸及「アルカリ試験並ニ「クロマチン網」トノ關係	
第一項 n/100鹽酸ノミテ作用セル實驗	

緒 論

細胞顆粒ニ關スル研究ハ1878年 Ehrlich⁽⁹⁾ノ白血球顆粒ニ關スル精細ナル業績發表セラレシ以來、顆粒ニ關スル研究ハ年ト共ニ旺トナリ、幾多ノ新細胞顆粒又ハ新核顆粒ノ發見相次デ現ハレタリ。就中 Altmann(1893)⁽³⁾ノアルトマン氏顆粒、Golgi(1898)⁽²⁾ノゴルギー氏内網装置及ビ Benda(1898)⁽⁷⁾⁽⁸⁾又ハ Meves(1910)⁽²¹⁾等ノ「ミトコンドリア」又ハ「プラストソーム」等ノ發見ハ實ニ細胞學ノ發達ニ一新機軸ヲ示シタルモノニシテ、尙 Arnold(1899)⁽⁵⁾、Heidenhein(1907)⁽¹³⁾、Masing(1910)⁽²⁰⁾、Saguchi(1913)⁽²⁵⁾、Schreiner(1919)⁽²⁶⁾、Feulgen(1924)⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾、Alden B. Dewson(1929)⁽²⁾等其他多數ノ研究者ニヨリ益々是等顆粒ノ細胞病理學及ビ細胞化學上ノ意義ハ高メラレ、細胞學上重要ナル地位ヲ占ムルニ至リタリ。

最近吾ガ杉山教授(1926)⁽³⁰⁾ニヨリテ發見セラレタル周核顆粒ハ、前述セル顆粒トハ全ク別種ノモノニシテ、既往文獻上未ダ見ザル一新核顆粒ナル事ハ、前回報告第一編⁽³¹⁾ニ於テ既ニ記述セル所ナリ。而シテ余ハ第一編⁽³¹⁾ニ於テ血液塗抹標本ニ於ケル「プリラントアズリン染色法ニ就テ研究シ、第二編⁽³¹⁾及ビ第二回報告⁽³²⁾ニ於テ「フィロゲニー」及ビ「オントゲニー」ノ方面ニ於ケル其形態學的研究ヨリ周核顆粒ノ出現狀態、即チ其配列及ビ形態ニ一定型アルヲ認メ得タリ。然レドモ其本態ニ關シテハ未ダ全ク不明ナルガ故ニ、茲ニ「プリラントアズリン」ニ染色サル、核物質ヲ理化學的方面ヨリ檢索シ、以テ周核顆粒ノ化學的本態ノ一端ヲ窺ハントス。

元來個々ノ染色ニ就テ其原理ヲ充分解明スルコトハ甚ダ困難ニシテ、殊ニ細胞ノ顆粒染色ノ本質ニ至ツテハ、既存物質ノ染色ナルカ、或ハ單ナル人工的產物ナルカヲ區別スル事スラ困難ナルコト多シ。今之レヲ周核顆粒ニ就テ觀ルニ、各細胞種乃至各種動物ニ就テ夫々特有ナル形態ヲ有スルコト(第二編參照)、或ハ夫ガ染色ニ際シ酸ニ甚ダ鋭敏ナルコト(第一編參照)等ヨリ考フルニ單ナル人工的產物ニ非ズシテ、一定ノ核物質ノ「プリラントアズリン色素ニ依リテ染色サルモノナルコトハ略々推定シ得ル處ナリ。而シテ該周核顆粒ガ該色素ニ依リテ染色サレタル特種核物質ナリトスレバ、ソハ從來知ラレタル核物質ナリヤ、或ハ未ダ知ラレザル物質ナリヤ、將タ又兩者ノ結合ニヨル複雑ナル物質ナリヤガ、該顆粒ノ本態ヲ明カニスベキ主要ナル問題ナリト思考ス。而シテ之レヲ完全ニ決定スルニハ該可染性物質ヲ核ヨリ化學的ニ分離シ、該分離物質ニ就テ檢索スレバ最モ確實且完全ナル結果ヲ得ベキモ、ソハ甚ダ至難ノ業ニシテ、假令可染性物質ヲ分離シ得タリトスルモ、ソガ果シテ細胞内ニ於テ染色サレタル物質ノ凡テニシテ、且純粹ナルモノナルヤヲ證明スルコトモ亦甚ダ困難ナル業ナラント思惟ス。

茲ニ於テ余ハ先ヅ「プリラントアズリン」ニ染色サル、核物質ノ諸種藥液ニ對スル化學的反應ヲ檢シテ其化學的性状ノ概略ヲ究メ、次イデ先進諸家ノ細胞核ニ關スル Makrochemie 及ビ Mikrochemie ノ研究ニ基キ核物質ト色素トノ關係ヲ攻究シ、以テ此等ノ總括的觀察ヨリ周核顆粒ノ化學的本態ノ一端ヲ解明セント試ミタリ。

第一章 實驗材料及ビ實驗方法

實驗材料 實驗動物トシテハ家鷄、家兔、小牛及ビ鱈等ヲ使用シタリ。而シテ家鷄及ビ家兔ニ於テハ其血液細胞殊ニ有核赤血球、白血球及ビ紡錘形細胞等ノ周核顆粒ニ就テ、小牛胸腺ノ組織細胞及ヒ鱈精細胞等ノ周核顆粒ニ就テ實驗セリ。

染色ニ用フル「プリラントアズリン B 色素ハ Farbenfabrikanten I.orn. Frieder & Co., (Lever kussen bei Köhr) 製品ニシテ、杉山教授ガ獨逸國ニ於テ求メラレシモノヲ使用セリ。化學試驗ニ供セシ藥品中枸橼酸ナトリウム、アセトン及ビ食鹽ハ Merck 會社製品ニシテ、「ペプシン」(後藤)、弗化ナトリウム(林)等ヲ除キ、其他ノ藥品ハ主トシテ日本藥局法ノモノヲ選ビタリ。尙「パバイン」ハ本醫化學教室須藤教授ノ御惠與下サレシモノニシテ又「リパーゼ」溶液作製ニ要スル「リチナス種子」ハ本學附屬藥學專門學校植物學教室ヨリ分與テ受ケタルモノナリ。茲ニ附記シテ深甚ノ謝意ヲ表ス。

實驗方法

血液細胞ニ於ケル化學試驗ハ

(1), 其塗抹標本ヲ「アルコール固定後ニ藥液ヲ作用セルモノ,

(2), 該固定前ニセルモノトアリ。前者ハ先ヅ採血部位ヲ70%「アルコール」ニテ消毒シ, 家鷄ハ翼下小靜脈ヨリ, 家兎ハ耳翼小靜脈ヨリ取りタル血液ヲ以テ塗抹標本ヲ作り, 「メチールアルコール」又ハ無水アルコール」ニテ數分乃至數十分間固定シ, 其後之ヲ所要藥液中ニ所要時間浸漬シ, 次デ之ヲ蒸溜水ニテ輕ク藥液ヲ洗ヒ去リ, 次テ「プリラントアズリン染色ヲ施シテ檢鏡ス。而シテ其周核顆粒ノ出現狀態ニヨリ, 試藥ノ之レニ及ボス影響ヲ檢シタリ。又「アルコール固定前ニ行ヘルモノハ直接新鮮ナル血液ニ所要藥液ヲ混和作用セシメテ, 其混和液ノ塗抹標本ヲ「アルコール」ニテ固定シ, 「プリラントアズリン染色ニテ前記同様其周核顆粒ノ出現狀態ヲ檢シタリ。

(3), 酸鹽基試驗ハ血液塗抹アルコール固定標本ニn/100鹽酸又ハn/100アムモニア」ヲ作用セシメテ, 是等藥液ノ周核顆粒ニ及ボス影響ヲ檢セリ。

(4). 前記實驗ノ他周核顆粒ト「ヒストン」, 「プロタミン」及ビ「ヌクレイン酸等ノ核分質トノ關係ニ就テノ檢索方法ハ便宜上實驗成績ノ條下ニ於テ記述スルコトトセリ。尙「プリラントアズリン・エオジン染色液ノ内容及ビ其染色法ハ既ニ第一編及ビ第二編ニ記載セルヲ以テ茲ニ之レヲ詳略ス。

第二章 實驗成績

第一節 血液塗抹標本ノ「アルコール」固定後ニ於ケル實驗

本實驗ハ主トシテ有機物質ニ就テノミ考察シタリ。元來無機物質ノ染色ハ甚ダ困難ナルモノニシテ, 「プリラントアズリン染色ノ如キ單純ナル染色法ニヨリテ現出スル周核顆粒ハ, 其形態ノ所見カラ觀ルモ無機物質ナリトハ思考シ得ザル所ニシテ, 恐ラク有機物質ナリト思惟スルハ至當ナル可シ。之レ即チ先ヅ有機物質ニ就テ研究ノ歩ヲ進メシ所以ナリ。就中ソガ糖原質ナリヤ, 脂肪質ナリヤ, 將タ又蛋白質ニ屬スルモノナリヤヲ檢センガ爲メ, 次ノ實驗ヲ行ヘリ。

第一項 糖原質ニ就テノ實驗

周核顆粒ハ其染色前「アルコール固定ニ依リテ變化セズ, 又水ニモ溶解セザルガ故ニ「アルコール」又ハ水ニ溶解シ得ル糖原質トハ思考セラレザルモ, 念ノ爲メ次ノ試驗ヲ試ミタリ。

(1) 「ヂアスターゼ試驗

血液塗抹標本ヲ「アルコール」ニテ固定シタル後, 之レヲ攝氏37度ニ調節セル保溫箱内ニ於テ, 1.0%「タカヂアスターゼ」水溶液中ニ約1時間乃至8時間浸漬シ, 次デ蒸溜水ニテ洗ヒ, 其乾燥スルヲ待チテ「プリラントアズリン染色ヲ施シ, 以テ周核顆粒ノ出現狀態ヲ檢シタルニ, 何等正常ト異ナル所ヲ認メ得ザリキ。

(2) 蒸溜水試驗

前記血液塗抹「アルコール固定標本ヲ前記「タカヂアスターゼ」ノ代リニ純蒸溜水中ニ攝氏37度ニ於テ1乃至8時間浸シタル後, 同様ノ方法ニテ周核顆粒ヲ檢シタルニ正常ト異ナル所ヲ認メズ。

要之、周核顆粒物質が「デアスターゼ」ニヨリテ消化セラレズ、又水ニモ溶解セザルコトハ糖原質ニ非ザルコトヲ證スルモノナリ。

第二項 脂肪質ニ就テノ實驗

(1) 「アルコール試驗

「アルコール」ノミニ依ル試驗ハ既ニ固定ノ際ニ用フルヲ以テ、之レヲ檢スルノ要無キガ如キモ、念ノ爲メ血液塗抹標本ヲ攝氏37度ニ調節セル保溫箱内ニ於テ、無水アルコールニ約1時間乃至8時間浸漬シタル後、「プリラントアズリン染色ヲ施シテ檢シタルニ、其周核顆粒ハ正常ト全ク異ナル所ナカリキ。次ニ尙「アルコール・エーテル」、「アルコール・アツェトン」、「アルコール・クロロフォルム」及ビ「リパーゼ液等ニ就テ實驗セリ。

(2) 「アルコール・エーテル試驗

血液塗抹標本ヲ前記同様攝氏37度ノ保溫箱内ニ於テ、先ヅ數分間浸シ、次イデ「アルコール・エーテル液（「アルコール」及ビ「エーテル」ヲ略々等量ニ混和セル液）ニ約1時間乃至8時間浸シ、其乾燥後「プリラントアズリン染色ニテ周核顆粒ヲ檢セルニ、正常ト殆ンド異ナル事無ク、寧ろ稍々明瞭ニ出現セリ。

(3) 「アルコール・アツェトン試驗

前記「アルコール・エーテル試驗ト同方法ニテ、唯ダ「アルコール・エーテル」ノ代リニ「アルコール・アツェトン液（「アルコール」ト「アツェトン」トノ略々等分混和液）ヲ作用セシメテ檢シタルニ、周核顆粒ハ何等變化セルヲ認メザリキ。

(4) 「アルコール・クロロフォルム試驗

前記「アルコール・エーテル」又ハ「アルコール・アツェトン」ノ代リニ「アルコール・クロロフォルム」（無水アルコールト「クロロフォルム」トノ略々等分混和液）ヲ用ヒテ前法ト同様ニシテ、攝氏37度ニ於テ約1時間乃至8時間作用セシメテ檢セルニ、是レ亦周核顆粒ニ變化ヲ認メ得ザリキ。

(5) 「リパーゼ試驗

「リチヌス種子ヲ細挫シ、之レニ炭酸曹達グリセリン溶液（1.0%炭酸曹達水溶液一容積、「グリセリン」九容積）ヲ加ヘテ數時間浸漬シ、其濾液即チ「リパーゼ溶液ニ就テ試驗セリ。血液塗抹アルコール固定標本ヲ前記ノ如クシテ作レル「リパーゼ溶液ニ、37度ニ調節セル保溫箱内ニ於テ約1時間乃至8時間浸シ、其後之レヲ輕ク蒸溜水ニテ洗ヒ、其乾燥ヲ待チテ「プリラントアズリン染色ヲ施シテ檢シタルニ周核顆粒ハ正常ト異ナル處無カリキ。

要之、周核顆粒物質ハ「アルコール」、「アルコール・エーテル」、「アルコール・アツェトン」、「アルコール・クロロフォルム」及ビ「リパーゼ溶液等ニヨリテ影響ヲ受ケズ、即チ脂肪質ニ非ザルコトヲ證スルモノナリ。

第三項 蛋白質ニ就テノ實驗

(1) 「ババイン試驗

「ババイン」0.2瓦ヲ蒸溜水ノ少量ニ混入シ、磁製乳鉢ヲ用ヒテ充分研和シテ乳狀液トナ

シ、更ニ蒸溜水ヲ加ヘテ 0.2%「パバイン」水溶液ヲ作りタルモ、尙溶解シ難キ過剩「パバイン」ハ濾過紙ヲ用ヒテ濾過シ、其濾液「パバイン」水溶液ヲ使用セリ。該「パバイン」水溶液ヲ豫メ攝氏37度ニ調節セル保温箱ニ容レテ同溫度ニ温メ置キ、其藥液中ニ被檢血液塗抹アルコール固定標本ヲ1時間乃至8時間浸シタル後、之ヲ取り出シ蒸溜水ニテ洗ヒ、「グリラントアズリン」染色ヲ施シテ檢シタルニ周核顆粒ハ次ノ如キ變化ヲ呈セリ。

1時間後所見。周核顆粒ハ一般ニ膨大シ、且染色淡クシテ不正圓形ノ斑紋狀ヲ呈スルモノ多シ。尙其斑紋ハ核ヨリ原形質中ニ膨隆シ、恰モ該顆粒物質ガ溶解シテ核ヨリ核外ニ流出セル階梯ノ染色セルガ如キ觀ヲ呈ス。

2時間後所見。前記斑紋狀顆粒ハ更ニ膨大シテ、原形質内又ハ時トシテ細胞外ニマデ盡キ出サレタル像ヲ呈シ、且其染色モ極メテ淡シ。又單ニ淡キ瀾蔓性核染色トシテ、殆ンド核顆粒ノ形ヲ認メザルモノアリ。

4時間後所見。本所見ニ於テハ一部ノ細胞ニハ全ク核顆粒ノ消失スルモノアリ。又前記ノ如キ斑點、或ハ膨大セル斑紋狀ヲ呈シテ現ハル、モノモ多數ニ存スレドモ、其染色ハ一層淡クシテ、一般ニ其變化ハ前記所見ヨリ更ニ進行セルヲ認ム。

8時間後所見。前記所見ト同様ナル斑紋狀ニ膨大セル核顆粒モ少數ニ存在スレドモ、大部分ノ細胞ニ於テハ全ク核顆粒ハ消失スルニ至ル。

尙對照試驗トシテ單ナル蒸溜水ニ同ジク攝氏37度ニ於テ、1乃至8時間該血液塗抹固定標本ヲ容レテ、然ル後前記同方法ニテ檢セルニ核顆粒ハ何等變化ヲ認メザリキ。即チ前記ノ變化ハ「パバイン」ノ作用ナルコトヲ示スモノナリ。

(2) 「ペプシン」試験

「ペプシン」ノ消化作用ハ周知ノ如ク鹽酸ペプシントナリテ、其効顯著ナルヲ以テ、鹽酸ペプシントシテ使用セリ。尙鹽酸ペプシンヲ作ルニ當リ、鹽酸ノミノ核顆粒ニ對スル作用ヲ考慮シ、豫備試驗トシテ其影響ヲ檢セルニ、n/1000鹽酸水ノ如キ稀薄ナル濃度ヲ以テシテモ尙該顆粒ハ僅カニ影響ヲ蒙ルモノニシテ、其濃度n/2000溶液ニ至リ始メテ影響無キコトヲ知レリ。即チ核顆粒ニ影響ヲ及ボサル最高鹽酸濃度ハn/2000溶液ナリ。依テ本試験ハ「ペプシン」0.2瓦ヲn/2000鹽酸水溶液100.0ccニ溶解シテ作レル鹽酸ペプシン水溶液ヲ用ヒタリ。血液塗抹アルコール固定標本ヲ該鹽酸ペプシン水溶液中ニ攝氏37度ニ於テ1時間乃至8時間浸シタル後、前記「パバイン」試験ト同様ニ處置シテ檢セルニ周核顆粒ハ次ノ如キ變化ヲ呈セリ。

1時間後所見。周核顆粒ハ其染色稍々淡クシテ、且膨大シ、個々ノ顆粒ハ互ニ癒合シテ殆ンド一塊トナリ核全面ニ瀾蔓ス。又一部原形質中ニマデ擴大セル像ヲ呈ス。

2時間後所見。核顆粒ハ殆ンド其形ヲ消ヒ、一般ニ淡キ瀾蔓性核染色トシテ現ハレ、且核周ニ一致シテ原形質内ニ擴ガリ、殆ンド其大半部ヲ被蔽ス。又一部細胞ニハ淡キ斑紋トシテ現ハル、モノアリ。

4時間後所見。前記瀾蔓性核染色ハ更ニ其染色淡クシテ、核周ノミ稍々濃染スレドモ、其

中央部ハ2時間後所見ニ比シ甚ダ淡シ。尙斑點又ハ斑紋狀ヲ呈スルモノモ認メ得レドモ、其變化一般ニ強シ。

8時間後所見。核顆粒ハ全ク消失セルモノ多數ニ認メラレ、又前記瀰蔓性斑紋ヲ呈スルモノモ可成リ多數ナレドモ、一般ニ其染色淡ク、且其變化更ニ進行セルヲ認メタリ。

尙對照試驗トシテ前記被檢標本ヲ單ナルn/2000鹽酸水溶液中ニ攝氏37度ニ於テ1乃至8時間浸シタル後、前記ト同方法ニテ檢セルニ、周核顆粒ハ何等變化ヲ認メ得ザリキ。即チ前記ノ變化ハ「ペプシン」ノ作用ニ由ルコトヲ示スモノナリ。

尙前記第一項乃至第三項ノ實驗ノ結果ヲ簡明ニスベク表示スレバ次ノ如シ。

第一表 「アルコール固定後ニ於ケル實驗

假想物質	藥液	溫度	作用時間	周核顆粒ノ變化
糖原質	1%「タカジアスターゼ」	37°C	1—8時間	變化ナシ
〃	蒸溜水	37°C	1—8時間	〃
脂肪質	「アルコール」	37°C	1—8時間	〃
〃	「アルコール・エーテル」	37°C	1—8時間	〃
〃	「アルコール・アツェトン」	37°C	1—8時間	〃
〃	「アルコール・クロホルム」	37°C	1—8時間	〃
〃	「リパーゼ溶液」	37°C	1—8時間	〃
蛋白質	0.2%「ババイン」水溶液	37°C	1時間	顆粒膨大シテ斑紋狀トナル。其染色モ淡ク、恰モ顆粒物質ノ溶解セル階梯ノ染色セルガ如シ。
〃	〃	37°C	2時間	斑紋狀顆粒ハ更ニ膨大シ、原形質又ハ細胞外ニマテ擴ガル。殆ンド核顆粒ノ形ヲ認メズ。
〃	〃	37°C	4時間	核顆粒ハ斑點又ハ斑紋狀トナルモノ多數ニ存在スレドモ、一部ノ細胞ニハ該顆粒全ク消失スルモノアリ。
〃	〃	37°C	8時間	淡キ斑紋狀顆粒モ存在スレドモ、又全ク顆粒ノ消失セルモノモ多數ニ存ス。
〃	0.2%ペプシンn/2000鹽酸溶液	37°C	1時間	核顆粒ノ染色淡クシテ膨大シ、其一部原形質内ニマテ膨隆スルモノアリ。
〃	〃	37°C	2時間	核顆粒ハ殆ンド其形ヲ失ヒ、一般ニ瀰蔓性核染色トシテ現ハル。又一部ノモノハ淡キ斑紋狀トナル。
〃	〃	37°C	4時間	上記ノ如ク瀰蔓性核染色又ハ斑紋狀トナルモノアレドモ、一般ニ其染色甚ダ弱クシテ其變化上記所見ヨリ一層強シ。
〃	〃	37°C	8時間	核顆粒斑紋狀ヲ呈スルモノモアレドモ、又全ク消失セルモノモ多數ニアリ。其變化更ニ強シ。

要之、周核顆粒物質ハ「ヂアスターゼ」又ハ蒸溜水等ノ作用ニヨリテ變化セラレザルヲ觀レバ糖原質ニハ非ザル可ク、又「アルコール」、「アルコール・エーテル」、「アルコール・クロロ

ホルム」,「アルコール・アツェトン」及ビ「リパーゼ」等ノ試験ニヨリテ,影響ナキヲ觀レバ脂肪質ニモ非ズシテ,「パバイン」及ビ「ペプシン」ノ作用ニヨリテ變化サル、ヲ以テ觀レバ,核顆粒物質ハ恐ラク蛋白質ナラント思考ス。

第二節 「アルコール」固定前ニ藥液ヲ作用セシメタル實驗

前節ノ實驗ハ凡テ血液塗抹標本ノ「アルコール」固定後ニ於ケル實驗ナレバ,之レヲ更ニ正確ナラシメンガ爲メ,本節ニ於テハ新鮮ナル血液ニ直接試験藥液ヲ混入シ,該混合液ノ塗抹標本ニ就テ其周核顆粒ノ出現状態ヲ檢索セリ。

第一項 血液纖維素ニ就テノ實驗

(1) 弗化ナトリウム試験

家鶏ニ於テハ其鶏冠ヲ又家兎ニ於テハ其耳翼ヲ70%「アルコール」ニテ消毒シ,乾燥スルヲ待テテ,其部ニ0.2%弗化ナトリウム水溶液ノ1滴ヲ點ジ,其上ヨリ小刀ヲ以テ,鶏冠ニテハ小切創ヲ加ヘ,家兎耳翼ニテハ其小靜脈ヲ穿刺シテ出血セシメ,弗化ナトリウム水溶液ト血液トヲ混和シ,其混和液ヲ以テ塗抹標本ヲ作り,型ノ如ク無水アルコール」ニテ固定シ,「ブリラントアズリン」染色ヲ施シテ,其周核顆粒ヲ檢シタルニ正常ト異ナル所ヲ認メ得ザリキ。

(2) 枸橼酸ナトリウム試験

本試験ハ前記弗化ナトリウム試験ト同様ナル方法ニテ,唯ダ同液ノ代リニ0.2% 枸橼酸ナトリウム水溶液ヲ用ヒ,其流出スル血液ト同藥液ヲ混和シ,其混和液ノ塗抹標本ニ就テ周核顆粒ヲ檢シタルニ何等變化ヲ認メザリキ。尙該藥液ノ作用ヲ充分ナラシメンガ爲メ,煮沸消毒セル「プラワツ注射器」ニ0.2%枸橼酸ナトリウム水溶液5ccヲ充タシ置キ,次デ家鶏ハ其翼下ノ小靜脈ヨリ,家兎ハ其耳翼小靜脈ヨリ同量ノ血液ヲ吸引シ,充分ニ混和シ,採血後1時間ヨリ4時間ニ亙リ,毎時其混和液ノ塗抹標本ニ就テ前記同方法ニテ檢シタルニ,周核顆粒ハ各時間共ニ何等變化セルモノヲ認メザリキ。

要之;弗化ナトリウム,枸橼酸ナトリウム等ヲ血液ニ混ズレバ血液ノ凝固ヲ豫防シ得ルガ故ニ,前記二種ノ試験ニ於テ何等影響ヲ受ケザル周核顆粒ハ血液纖維素ニ非ザル事ヲ證スルモノナラン。

第二項 糖原質ニ就テノ實驗

(1) 「ヂアスターゼ」試験

本試験モ前記同様採血部位ハ「アルコール」ニテ消毒シ,乾燥ヲ待テテ1%タカヂアスターゼ水溶液ノ1滴ヲ點ジ,其上ヨリ穿刺出血セシメ能ク混和シ,其混和液ノ塗抹標本ヲ「アルコール」固定,ブリラントアズリン染色ニ依リテ檢シタルニ周核顆粒ハ正常ト異ナル所無カリキ。又豫メ採取セル新鮮ナル血液ニ同量ノ「タカヂアスターゼ」水溶液ヲ混ジタルモノニ就テモ同様周核顆粒ノ變化ヲ認メザリキ。

第三項 脂肪質ニ就テノ實驗

(1) 「リパーゼ」試験

「リチヌス」種子ヲ細挫シ、之レニ炭酸曹達グリセリン溶液(1.0%曹達水溶液一容積、「グリセリン」九容積)ヲ加ヘテ數時間浸漬シ、其濾液即チ「リパーゼ溶液ヲ用ヒテ試験セリ。前記同様ノ方法ニテ被檢血液ニ同量ノ「リパーゼ溶液ヲ混ジ、其混和液ニ就キテ檢セルニ周核顆粒ニ何等變化ヲ認メ得ザリキ。

第四項 蛋白質ニ就テノ實驗

(1) 「ババイン」試験

「ババイン」水溶液ハ既ニ前章ニ於テ記述セル如クニシテ、0.2%「ババイン」水溶液ヲ作り、之レヲ濾過シテ用ヒタリ。尙本試験ハ比較ノ長時間ニ亙リ觀察セルヲ以テ、被檢血液ハ豫メ其纖維素ヲ除去シタリ。又「ババイン」ハ水溶液ナルガ故ニ之レニ血液ヲ混ズレバ、2時間以後ニ於テハ溶解現象ヲ起シ、タメニ漸次其所見ハ明確ナラザルニ至ルヲ以テ、該「ババイン」水溶液ニ0.85%ノ比ニ食鹽ヲ附加シ、即チ「ババイン」食鹽水液ヲ作りテ使用セリ。尙豫備試験ニ於テ該食鹽ノ附加セルモノト、然ラザルモノトノ對照試験ヲ行ヒ、核顆粒ニ對スル「ババイン」ノ作用ハ食鹽ノ附加ニ何等影響ヲ受ケザルコトヲ確メ置キタリ。又被檢血液ニ同量ノ0.85%食鹽水ノミヲ加ヘタルモノニ就テモ亦(8時間後ニ於テ)周核顆粒ノ變化ヲ認メザリキ。

前記「ババイン」水溶液又ハ「ババイン」食鹽水液ニ同量ノ脱纖維素血液ヲ混ジ、攝氏37度ニ調節セル保溫箱ニ容レ、其直後(約1分間後)、1時間後、2時間後、4時間後及ビ8時間後ノ五回ニ分チテ其混合液ノ塗抹標本ヲ作り、型ノ如ク「アルコール」固定及ビ「プリラントアズリン」染色ヲ施シテ檢シタルニ其周核顆粒ハ次ノ如キ變化ヲ呈セリ。

直後(約1分間後)所見。周核顆粒ハ直後ニ於テ既ニ全ク消失スルモノモ少數ニ認メリ。一般ニ淡キ斑紋狀ニ膨大セル像ヲ呈ス。又個々ノ顆粒ハ互ニ癒合シテ塊狀ヲナシテ現ハル、モノアリ。又正常ノ形ト全ク變ラザルモノモ存在スレドモ、斯クノ如キ顆粒ハ一般ニ其數甚ダ少シ。1時間後所見。殆ンド凡テノ細胞ニ於テ、其核顆粒ハ染色淡ク、且膨大シテ斑紋狀ヲ呈シ、一部顆粒ハ核ヨリ原形質中ニ擴ガリ、恰モ顆粒物質ノ溶解セルカノ如キ觀ヲ呈ス。

2時間後所見。前記膨大セル斑紋ハ其染色一層淡クシテ、且原形質内又時トシテ細胞外ニマデ擴ガレルモノアリ。又甚ダ淡キ且小ナル斑點トナリテ、2乃至3個核内ニ認メ得ルコトアリ。又殆ンド顆粒ノ痕跡ヲモ認メズシテ唯ダ核周ノミ染色シ、其中央部ハ全ク無染色ナルモノアリテ其變化甚ダ強シ。

4時間乃至8時間後所見。4時間乃至8時間後ニ至レバ少數ノ細胞ニアリテハ前記ノ如キ淡キ膨大セル斑紋狀ヲナスモノモ尙存在スレドモ、一般ニ其染色極メテ微弱ニシテ、又全ク顆粒ノ痕跡ヲモ認メ得ザルモノモ多數ニ現ハレ、明カニ顆粒ノ漸次消失スルヲ認ム。

(2) 「ペプシン」試験

本試験ニ於テモ亦其觀察ハ比較ノ長時間ヲ要スルヲ以テ被檢血液ハ脱纖維素血液ヲ用ヒ、又「ペプシン」ハ其0.2瓦ヲn/2000鹽酸水溶液100ccニ溶解シ、更ニ0.85%ノ比ニ食鹽ヲ加ヘタル鹽酸ペプシン食鹽水液ヲ使用セリ。而シテ該鹽酸ペプシン食鹽水液ニ略々同量ノ脱纖

維素血液ヲ混ジ、攝氏37度ニ於テ其直後(約1分間後)、1時間後、2時間後、4時間後及ビ8時間後ノ五回ニ亙リ其混合液ノ塗抹標本ヲ作り、前記同様ノ方法ニテ其周核顆粒ヲ檢シタリ。其所見次ノ如シ。

直後(約1分間後)所見。核顆粒ハ其直後ニ於テ既ニ其染色弱クシテ、且膨大セル斑紋狀トナル。又個々ノ顆粒ハ互ニ癒合シテ1乃至2個ノ塊狀ヲ呈シテ現ハル。又全ク顆粒ノ消失セルモノモ少數ニ存在セリ。

1時間後所見。斑紋狀顆粒ハ更ニ膨大シ、且其一部ハ原形質又ハ細胞外ニ擴ガリ、其染色ハ甚ダ微弱ナリ。又瀾蔓性ノ單ナル淡キ核染色トシテ現ハル、モノアリ。又稍々小ナル且甚ダ淡キ斑點トシテ核内ニ2乃至3個認め得ラル、モノアリ。尙少數ノ細胞ニ於テハ其核顆粒ノ全ク消失セルモノアリ。

2時間後所見。前記斑紋狀顆粒又ハ斑點等ノ染色一層微弱トナリ、且其變化更ニ強ク、又全ク核顆粒ヲ現ハサル細胞モ漸次増加ス。

4時間乃至8時間後所見。少數ノ細胞ニ於テハ尙前記ノ如キ膨大セル斑紋狀顆粒ヲ現ハスモノアレドモ、其大半部ノ細胞ニ於テハ核顆粒ハ殆ンド全ク消失スルヲ見ル。尙對照試驗トシテ「ペプシン」ヲ加ヘザル n/2000 鹽酸食鹽水液ニ同量ノ脫纖維素血液ヲ混和セルモノニ就テ、同様ナル方法ニテ檢セル其核顆粒ハ8時間後ニ於テモ尙何等變化セルヲ認め得ザリキ。即チ前記ノ變化ハ「ペプシン」ノ變化ニ由ルコトヲ示スモノナリ。

尙本節ニ於ケル第一項乃至第四項ノ實驗成績ヲ表示スレバ次ノ如シ。

第二表 「アルコール固定前ニ於ケル實驗

假想物質	藥液	溫度	作用時間	周核顆粒ノ變化
血液纖維素	0.2% 弗化ナトリウム	37°C	約1分間	變化ナシ
〃	0.2% 枸橼酸ナトリウム	37°C	約1分間	〃
〃	〃	37°C	1-4時間	〃
糖原質	1%「タカジアスターゼ」溶液	37°C	約1分間	〃
〃	〃	37°C	1-4時間	〃
脂肪質	「リパーゼ」溶液	37°C	約1分間	〃
〃	〃	37°C	1-4時間	〃
蛋白質	0.2%「パパイーン」溶液	37°C	約1分間	核顆粒ハ一般ニ淡キ斑紋狀ニ膨大ス。
〃	〃	37°C	1時間	一般ニ顆粒ノ染色甚ダ弱クシテ、斑紋狀ニ膨大セル核顆粒ハ其一部原形質内ニ擴ガル。

"	"	37°C	2 時間	染色一層弱キ斑紋狀又ハ斑點トナリ、又全ク顆粒ノ痕跡ヲモ認メザルモノアリ一般ニ其變化上記所見ヨリ一層強シ。
"	"	37°C	4-8時間	膨大セル斑紋狀顆粒ハ少數ノモノニ於テノミ見ラレ、大多數ノモノハ顆粒全ク消失ス。
"	0.2% ペプシン n/2000 鹽酸溶液	37°C	約1分間	核顆粒ハ染色淡ク、且膨大セル斑紋狀トナル。
"	"	37°C	1 時間	斑紋狀顆粒ハ更ニ膨大シ、且其一部ハ原形質又ハ細胞外ニマデ擴ガレ。
"	"	37°C	2 時間	上記斑紋狀顆粒ハ其染色一層淡ク且其變化モ更ニ増強ス。又全ク顆粒ノ消失スルモノモ可成リニ多シ。
"	"	37°C	4-8時間	少數ノ細胞ニ於テハ上記ノ如キ斑紋狀顆粒ヲ現ハスモノアレドモ、大部分ノ細胞ニハ殆ンド全ク消失ス。

要之、本節ニ於テモ前節血液塗抹アルコール固定標本ニ就テ實驗セル結果ト同様ニシテ、周核顆粒物質ハ「ヂアスターゼ」又ハ「リパーゼ」等ニヨリテ變化セラレザルヨリ觀レバ糖原質ニモ又脂肪質ニモ非ラズシテ、「パバイン」及ビ「ペプシン」ニヨリテ變化セラレ得ル蛋白質ナル可シ。尙弗化ナトリウム」及ビ枸橼酸ナトリウム」等ノ試驗ニ依リテ血液纖維素ニテモ非ザルコトヲ確メ得タリ。

第三節 酸及「アルカリ」試驗並ニ「クロマチン」網トノ關係

本實驗ハ家鷄ノ血液塗抹標本ヲ「アルコール」ニテ固定後、弱キ酸、又ハ弱アルカリ」ヲ作用セシメ、「ブリラントアズリン」染色、又ハ「ハライト」氏染色ヲ施シテ周核顆粒及ビ「クロマチン」ノ染色状態ヲ檢シタリ。尙酸ニハ n/100 鹽酸水溶液ヲ又「アルカリ」ニハ n/100 アムモニア水溶液ヲ選ビ、次ノ如キ四項ニ分チテ實驗セリ、

第一項 n/100 鹽酸ノミヲ作用セル實驗

血液塗抹標本ヲ無水アルコール」又ハ「メチールアルコール」ニテ數分乃至數10分間固定シタル後、室溫(攝氏15度)ニ於テ n/100 鹽酸水溶液ニ浸シ、之レヲ時々輕ク左右ニ動カシテ藥液ノ變化ヲ可及的效果多カラシメ、之レヲ5秒後、10秒後、20秒、40秒、80秒後ノ五回ニ分チテ取り出シ、直チニ豫メ用意セル蒸溜水ニ容レ、輕ク動カシテ藥液ヲ洗ヒ去リ、乾燥スルヲ待チテ「ブリラントアズリン」染色又ハ「ハライト」氏染色ヲ施シテ、周核顆粒又ハ「クロマチン」染色ヲ檢シタリ。其所見ハ次ノ如シ。

(1) 5秒後ノ所見

「ブリラントアズリン」染色ニ依ル周核顆粒ハ膨大セル淡キ斑點トシテ現ハル。又一部ノ顆粒ハ瀰蔓性ニ擴ガリ核外原形質ニマデ淡染セル不正圓形ノ斑紋ヲ畫クモノアリ、其他種々ノ不正形ニ變化セル顆粒ヲ見ル。要スルニ斯ル變化ハ顆粒物質ノ一部溶解シ、核外ニ瀰蔓セル階梯ニ於テ染色サレタル像ナラント思考ス。次ニ「ハライト」氏染色ニヨル「クロマチン」像ニハ變化セルモノヲ認メ得ザリキ。

(2) 10秒後ノ所見

一部ノ周核顆粒ハ前記ノ如キ淡キ斑點、又ハ稍々大ナル斑紋ヲナセルモノアレドモ、一般

ニ該斑紋膨大シテ核ヨリ原形質ノミナラズ細胞外ニマデ彌蔓スルヲ見ル。尙或ル部ノ細胞ニ於ケル周核顆粒ハ全ク消失シテ、唯ダ淡キ平等ナル核染色トシテ現ハレ、且該染色ハ核全面ヨリ核周原形質ノ一部ニ擴ガリ、核周ノミ輪狀ニ濃染セリ。要スルニ周核顆粒ノ變化ハ前記所見ヨリ一層進行セル像ヲ示ス。但シライト氏染色ニ依ル「クロマチン像ニハ變化ヲ認メズ。

(3) 20秒後ノ所見

「ブリラントアズリン染色ニ就テ觀ルニ、少數ノ細胞ニ於ケル周核顆粒ハ5秒後所見ノ如ク斑點、又ハ斑紋狀ニ變化セルモノモ認メ得ルモ、大部分ノ細胞ニ於テハ顆粒狀ノ像形消失シテ、平等ナル淡キ核染色トナリ、且該染色ハ核周ニ沿ヒテ核周外ノ原形質ノ半バヲ被覆ス。尙核周ノ濃染部ハ前記10秒後所見ニ比シ甚ダ淡シ。要スルニ周核顆粒ノ變化ハ漸次著シクナルヲ認メタリ。之レニ反シライト氏染色ニ依ル「クロマチン像ハ變化ヲ認メズ。

(4) 40秒後ノ所見

一部ノ周核顆粒ハ尙5秒後所見ノ如キ像ヲ呈スルモノ少數ニ存在スレドモ、大部分ノ細胞ニ於ケル夫レハ顆粒ノ像形消失シ、平等ナル淡キ彌蔓性染色トシテ現ハレ、前記20秒後所見ヨリ一層淡染色トナル。但シ「クロマチン染色ニハ變化ヲ認メズ。概シテ前記所見ト略々相似タリ。

(5) 80秒後ノ所見

此時間ニ於ケル「ブリラントアズリン染色ハ可成著シキ變化ヲ示シ、周核顆粒ハ淡キ斑點トシテ殘ルモノモ極メテ稀レニシテ、殆ンド凡テノ細胞ニ於ケル夫レハ全ク消失シテ、唯ダ平等彌蔓性ノ核染色ヲ呈スルノミ。而シテ該染色モ極メテ淡ク、尙核周ニ於ケル濃染部モ殆ンド消失セルモノ多シ。之レニ反シライト氏染色ニヨル「クロマチン像ニハ變化ヲ認メ得ザリキ。

以上ノ所見ヲ簡明ニスベク表ニ示セバ次ノ如シ。

第三表 $\frac{n}{100}$ HCl ノミヲ作用セル實驗

試験薬液	温度	作用時間	周核顆粒ノ變化	「クロマチン網ノ變化
$\frac{n}{100}$ HCl	15°C	5 秒	核顆粒ハ淡キ斑點又ハ膨大シテ斑紋狀ヲ呈ス	變化ナシ
〃	〃	10 秒	上記斑點又ハ斑紋ハ更ニ其染色減弱シ、且膨大シテ原形質又ハ細胞外ニ擴ル。	〃
〃	〃	20 秒	殆ンド全ク顆粒ノ形ヲ失ヒ、平等ナル淡キ核染色トシテノミ認メラル。	〃
〃	〃	40 秒	略々上記所見ト同様ナルモ、其染色更ニ微弱トナリ、其變化一層增強ス。	〃
〃	〃	80 秒	少數ノ細胞ニ於テ淡キ斑點トナリテ存スレドモ、大部ノモノニハ核顆粒殆ンド消失ス。	〃

附記 周核顆粒ハ「ブリラントアズリン染色ニヨリ、又クロマチン網ハライト氏染色ニ依レルモノナリ。

要之、 $n/100$ 鹽酸水溶液ヲ作用セシメタル血液塗抹アルコール固定標本ニ於テハ、「ブリ

ラントアズリン染色ニヨル周核顆粒ハ室温(攝氏15度)ニ於テ僅カニ5秒後ヨリ既ニ其形態ノ變化ヲ認メラレ、10秒後ニ於テハ漸次其變化著明トナリ、1分20秒後ニ於テハ殆ンド消失スルニ至ル。之レニ反シ、ライト氏染色ニ依ル「クロマチン像ハ何等正常ト異ナル所ヲ認メ得ザリキ。

第二項 n/100 アムモニア」ノミヲ作用セル實驗

血液塗抹アルコール固定標本ヲ前記n/100鹽酸水溶液ノ代リニn/100アムモニア水ニ浸シテ其作用ヲ檢セルモノニシテ、5秒後、10秒後、20秒後、40秒後、80秒後ノ五回ニ亙リ、前様同「ブリラントアズリン染色及ピライト氏染色ニテ、周核顆粒及ビ「クロマチン網ヲ檢セリ。

(1) 5秒後ノ所見

周核顆粒ニハ變化ヲ認メザルモ、ライト氏染色ニヨル「クロマチン像ハ其染色淡クシテ、且一般ニ不明瞭トナリ。一部ノ細胞ニアリテハ平等ナル瀰蔓性ノ核染色トナルモノモ認メラル。尙一部ノ細胞ニ於テハ正常ニ近キ「クロマチン網ノ形ヲ呈スルモノモ少數ニ存在セリ。

(2) 10秒後ノ所見

周核顆粒ハ正常ト異ナラザルモ、「クロマチン網ハ甚ダ不明瞭トナリ。一部ノ細胞ハ全ク「クロマチン像ハ認メ得ズシテ、平等ナル核染色トシテ現ハレ、核周ノミ輪狀ニ濃染シテ中央部ハ淡ク染色セリ。即チ「クロマチン像ハ前記ヨリ稍々強ク變化セリ。

(3) 20秒後ノ所見

ライト氏染色ニヨリテ「クロマチン像ハ認メ得ズ。一般ニ平等ナル瀰蔓性ノ核染色ニシテ、前記同様核周ノミ濃染セルモ、前記ニ比シ一般ニ染色微弱トナル。「ブリラントアズリン染色ニ於テハ周核顆粒ノ變化セルモノナシ。

(4) 40秒後ノ所見

ライト氏染色ニヨル「クロマチン像ハ殆ンド認メ得ズ。核染色一般ニ甚ダ淡ク、殊ニ核ノ中央部ハ殆ンド染色ノ色ヲ認メザルモノアリ。即チライト氏染色所見ハ其變化漸次強クナレドモ、「ブリラントアズリン染色ニ於ケル周核顆粒ハ依然トシテ殆ンド變化ナシ。

(5) 80秒後ノ所見

「クロマチン像ハ全ク認メラレズ。其核染色モ極メテ淡ク、唯ダ核周ニ稍々濃染セル細キ輪狀部ヲ認メ得ルニ過ギズ。之レニ反シ周核顆粒ハ「ブリラントアズリン染色ニヨリ著明ニ認メ得ラル。

尙表ヲ以テ示セバ次ノ如シ。

第四表 $\frac{n}{100}\text{NH}_4\text{OH}$ ノミヲ作用セル實驗

試験薬液	温度	作用時間	周核顆粒ノ變化	クロマチン網ノ變化
$\frac{n}{100}\text{NH}_4\text{OH}$	15°C	5秒	變化ナシ	「クロマチン網ハ其染色淡クシテ、一般ニ不明瞭トナル。

"	"	10 秒	"	上記ヨリ更ニ不明瞭トナリ、一部ノ細胞ハ「クロマチン網像ハ全ク認メ得ズシテ平等ナル核染色トナルモノアリ。
"	"	20 秒	"	「クロマチン像ハ認メラレズシテ、一般ニ平等ナル瀾蔓性核染色トナル、且其染色モ甚ダ淡シ。
"	"	40 秒	"	「クロマチン像ハ認メラレズシテ上記ノ如キ瀾蔓性核染色ナリ、其染色更ニ淡クシテ一般ニ其變化上記ニ比シ増強セリ。
"	"	80 秒	"	「クロマチン網ハ全ク認メラレズ唯核周ノミ僅カニ染色セリ。

附記. 周核顆粒ハ「ブリラントアズリン染色ニヨリ、又「クロマチン網ハライト氏染色ニ依リタリ。

要之、n/100 アムモニア水溶液ヲ以テ處置セル血液塗抹固定標本ニ於テハ、ライト氏染色ニ依ル「クロマチン像ハ著シク變化スルモ、「ブリラントアズリン染色ニヨル周核顆粒ハ正常ト何等異ナル所ナシ。

以上ノ實驗ニ就テ觀レバ、周核顆粒ハn/100 鹽酸水溶液ニヨリテ、又「クロマチン網ハn/100「アムモニア水溶液ニヨリテ變化セラレタリ。尙之レテ正確ナラシメンガため、n/100 鹽酸水溶液ヲ以テセル實驗ハ之レテ同濃度ノ「アムモニア水及ビ「アムモニア水溶液ヲ以テセルモノハ同濃度ノ鹽酸水溶液ニテ豫メ中和シ、然ル後之レテ染色シテ檢セル事次ノ如シ。

第三項 n/100 鹽酸ヲ作用シ次デ n/100「アムモニア」ニテ後處置セル實驗

血液塗抹標本ノ「アルコール固定後、之レテ n/100 鹽酸水溶液 (攝氏15度)ニ、5 秒乃至80 秒間浸シ、次デ同秒間 n/100「アムモニア水溶液ニ浸シテ之レテ中和シ、更ニ蒸溜水ニテ輕ク藥液ヲ洗ヒ、「ブリラントアズリン染色ヲ施シテ周核顆粒ノ變化ヲ檢シタリ。

(1) 5 秒後所見

周核顆粒ハ膨大シ、淡染セル斑點又ハ稍々大ナル斑紋ヲ畫キ、又其一部原形質内ニ膨隆セルモノアリ。一般ニ輕度ノ變化ヲ認メタリ。

(2) 10秒後所見

略々前記所見ト相似タルモ、一般ニ前記所見ニ比シ其變化稍々強ク、大ナル斑紋ヲ畫キ原形質内及ビ時トシテ細胞外ニマデ擴ガルモノ多ク、又少數ノ細胞ニ於テハ更ニ斑紋モ消失シテ、全ク平等ナル核染色トシテ現ハル、モノアリ。概シテ其變化稍々強シ。

(3) 20秒後所見

周核顆粒ハ一般ニ平等ナル核染色トシテ、原形質ノ大半ニ瀾蔓性ニ擴ガリ、其色甚ダ淡ナリ。稀レニ斑點又ハ斑紋狀ニ顆粒ノ膨大セルモノモ認メラル。漸次其變化ノ進行ヲ示ス。

(4) 40秒後所見

殆ンド凡テノ細胞ハ核及ビ原形質ニ擴ガル瀾蔓性染色ニシテ、其染色モ一層淡クナリ、斑點又ハ斑紋狀様ノモノモ殆ンド認メラレズ。

(5) 80秒後所見

顆粒ハ全ク其痕跡モ認メ得ズ。前記ノ如キ平等瀾蔓性染色ニシテ、其色極メテ淡ク、尙一

部ノ細胞ニ於テハ全ク核染色ヲ呈セザルモノアリ。其變化甚ダ高度ナリ。

以上所見ヲ表ニ示セバ次ノ如シ。

第五表 $\frac{n}{100}$ HCl ヲ作用シ次デ $\frac{n}{100}$ NH₄ OH ニテ後處置セル實驗

作用薬液	中和薬液	温度	作用時	周核顆粒ノ變化
$\frac{n}{100}$ HCl	$\frac{n}{100}$ NH ₄ OH	15°C	5 秒	周核顆粒ハ一般ニ膨大シ、淡染セル斑點又ハ大ナル斑紋狀トナル。
"	"	"	10 秒	核顆粒ノ變化上記ヨリ稍々強クシテ、斑紋狀顆粒ハ原形質又ハ細胞外ニマテ膨隆セリ。
"	"	"	20 秒	漸次其變化増強シ、染色モ更ニ淡クナリ、一部ノ細胞ハ全ク顆粒ノ形ヲ呈セズシテ平等ナル核染色トシテ現ハル。
"	"	"	40 秒	殆ンド凡テノ細胞ハ平等ナル核染色ニシテ且其染色一層淡クナル。
"	"	"	80 秒	核顆粒ハ殆ンド其痕跡モ認め得ザルニ至リ、一般ニ極メテ淡キ核染色ヲ呈スルニ過ギズ。

要之、 $n/100$ 鹽酸水溶液ノ作用ニヨル周核顆粒ノ變化ハ、同濃度ノ「アムモニア水溶液ニテ後處置セルモノニ於テモ、第一項實驗ト略々同様ニシテ、漸次變化セラレ得ルコトヲ認めタリ。

第四項 $n/100$ アムモニア」ヲ作用シ次デ $n/100$ 鹽酸ニテ後處置セル實驗

本實驗ハ血液塗抹アルコール固定標本ニ初メ $n/100$ アムモニア水溶液ヲ作用セシメ、次デ $n/100$ 鹽酸水溶液ニテ後處置ヲ施シテ、ライト氏染色ニヨリ其核ニ現ハル、「クロマチン像」ヲ檢シタリ。尙他方ニハ「ブリラント染色ニヨリ周核顆粒ノ變化モ併セ檢セルモ、前記第一項又ハ第三項實驗ノ所見ト略々同様ナルヲ以テ、茲ニ之レヲ省略セリ。次ニライト氏染色ニヨル「クロマチン像」ノ變化ヲ5秒、10秒、20秒、40秒、及ビ80秒ノ五回ニ分チテ檢セル所見ノ概略ヲ記述セリ。

(1) 5秒後所見

「クロマチン像ハ一般ニ染色弱ク、稍々不明瞭ナリ。

(2) 10秒後所見

「クロマチン像ハ甚ダ不明瞭トナリ、一部ノ細胞ニハ平等ナル核染色トシテ現ハレ、「クロマチン像」ハ殆ンド認め得ズ。

(3) 20秒後所見

殆ンド凡テノ細胞ニ「クロマチン像」ハ認め得ズ。平等ナル且一般ニ甚ダ淡キ核染色ニシテ、唯ダ核周ノミ輪狀ニ濃染セリ。

(4) 40秒乃至80秒後所見

「クロマチン像ハ全ク認め得ズ、核染色モ極メテ淡クナリ、核周ノミ圓ヲ畫キテ僅カニ濃染セルノミニシテ、核ノ中央部ハ殆ンド染色セザルモノ多シ。

上記所見ハ略々第二項實驗ノ「クロマチン染色所見ト相似タリ。即チ「クロマチン像ハ $n/100$ アムモニア水溶液ノ作用ニヨリ變化セラレ、尙之レヲ $n/100$ 鹽酸水溶液ニテ中和セルモノニテモ亦同様ナリ。

前記所見ヲ表ニ示セバ次ノ如シ。

第六表 $\frac{n}{100}$ NH_4OH ヲ作用シ次デ $\frac{n}{100}$ HCl ニテ後處施セル實驗

作用薬液	中和薬液	温度	作用時間	「クロマチン網ノ變化」
$\frac{n}{100}$ NH_4OH	$\frac{n}{100}$ HCl	15°C	5 秒	「クロマチン像ハ其染色弱クシテ一般ニ不明瞭トナル
〃	〃	〃	10 秒	「クロマチン像ハ一層不明瞭トナリ一部ノ細胞ニハ全ク認め得ザルニ至ル
〃	〃	〃	20 秒	「クロマチン網ハ殆ンド凡テノ細胞ニ認め得ズシテ、唯ダ平等ナル核染色ヲ呈スルノミ。
〃	〃	〃	40 秒	「クロマチン像ハ全ク認め得ズ、一般ニ核染色モ甚ダ微弱ナリ。
〃	〃	〃	80 秒	略々上記所見ト同様ナルモ其染色更ニ微弱トナリ、其變化一層増強ス。

附記 本實驗ハライト氏染色ニテ檢シタルモノナリ。

要之、周核顆粒ハ $n/100$ 鹽酸水溶液ノ如キ弱酸ニヨリテハ影響ヲ受クルモ、 $n/100$ アムモニア水溶液ノ如キ弱鹽基ニヨリテハ影響ヲ蒙ラズ。即チ該顆粒物質ハ恐ラク鹽基性物質ニシテ、之レヲ前述第一節及ビ第二節ノ實驗ノ結果ト總括シテ考察スレバ鹽基性蛋白質ナラント思考セラル。尙ライト氏染色ニヨル「クロマチン像ハ、 $n/100$ アムモニア水溶液ニヨリテ影響ヲ蒙ルモ、 $n/100$ 鹽酸水溶液ニテハ何等變化セラレズシテ、周核顆粒ト全ク其性状相反ス。

第四節 周核顆粒ト「ヒストン」トノ關係

前記實驗ノ結果ヲ綜合スルニ、周核顆粒ハ略々鹽基性蛋白質ナルベキコトガ推定セラル。今核物質中既知ナル鹽基性蛋白質ニハ其代表的ナルモノトシテ「ヒストン」及ビ「プロタミン」アリ。而シテ有核赤血球及ビ白血球等ノ核ニハ「ヒストン」ノ存在スル事ハ既ニ Kossel⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾及ビ Lilienfeld⁽¹⁸⁾等ノ研究ニヨリテ證明セラレタリ。此故ニ核ノ有スル鹽基性蛋白質ト推定シタル周核顆粒ト、同ジク核中ニ存在スル鹽基性蛋白質ナル「ヒストン」トノ關係ニ就テ檢索スルハ敢テ無意義ニ非ラザルベシト思考ス。是レ余ノ本實驗ニ著手セル所以ナリ。尙「ヒストン」ノ比較的多量ニ含有スルハ胸腺ナルガ故ニ(Kossel 及ビ Lilienfeld 等ノ研究)、豫備實驗トシテ健康ナル小牛ノ胸腺組織ノ塗抹標本ヲ作り、「アルコール固定後、「グリラントアズリン染色ヲ施シテ檢セルニ、周核顆粒ハ血液細胞ノ夫レヨリ遙カニ強ク、且多數ニ出現セリ。即チ本實驗ニハ甚ダ好適ナル材料ナルガ故ニ特ニ小牛ノ胸腺ヲ選ビタリ。

實驗方法ハ殆ンド Kossel 及ビ Kutscher⁽¹²⁾等ノ案出ニ依ル「ヒストン」分離法ヲ應用セルモノニシテ、

- (1) 胸腺細碎物ニ鹽酸ヲ以テ、其浸出液ト残渣物トニ分離シ、

- (2) 次デ浸出液ヲ「アムモニア」ニテ沈澱セシメ、其沈澱物ト然ラザルモノトニ分離シ、
 (3) 尙其沈澱物ヲ「アルコール」及ビ「アルコール・エーテル」ニテ浸出シ、浸出液ト其殘渣物トニ分離シタリ。

此處ニ分離サレタル該渣物ハ即チ「ヒストン」ニシテ、該「ヒストン」及ビ「ヒストン」以外ノ前記各分離物質ト「ブリラントアズリン染色液」トノ關係ヲ檢シタリ。

第一項 鹽酸ヲ以テノ分離

胸腺ヲ肉碎器ヲ用ヒテ細碎シ、之レニ2倍量ノ水ヲ容レ、次デ鹽酸ヲ0.8%ニナル様ニ加ヘ、乳鉢ニテ充分研和シ、尙室溫ニテ數時間抽出シ、次デ遠心器ニテ抽出液ト殘渣物トニ分離シ、其殘渣物ハ塗抹標本ヲ作り「アルコール固定後」ブリラントアズリン染色ヲ施シテ檢シタルニ、周核顆粒ハ殆ンド全ク出現セザリキ。他方抽出液ハ次ノ實驗ニ供シタリ。尙念ノ爲メ胸腺ノ一局部ヲ瑪瑙乳鉢ニ容レ、約2倍量ノ0.8%鹽酸水溶液ヲ加ヘテ充分研和シ、遠心器ニテ其殘渣物ヲ分離シ、上記ト同方法ニテ周核顆粒ヲ檢セルニ該顆粒ハ全ク認め得ザリキ。此實驗ニ依テ胸腺ノ周核顆粒物質ハ鹽酸ニ依リ全ク抽出サルルコトヲ確メタリ。

附記本實驗ニ使用セシ瑪瑙乳鉢ハ特ニ本學醫化學教室須藤教授ヨリ貸與セラレタルモノナリ。茲ニ同教授ニ對シ深謝ス。

第二項 「アムモニア」ニ依ル分離

前記ノ如クニシテ分離セル抽出液ニ適當量ノ「アムモニア」(適當量トハ沈澱ヲ生ズルマデノ量)ヲ加ヘテ沈澱ヲ生ゼシム。該沈澱物ヲ尙充分「アムモニア水」ニテ洗ヒ、濾過シテ沈澱物ト濾液トニ分離ス。此濾液ノ一定量ニ約同量ノ「ブリラントアズリン染色液」ヲ混和セルモ、何等色素ト抽出物質トノ沈澱物ヲ生ゼザリキ。尙食鹽ヲ3%ニナル様ニ加ヘタルモ(「ブリラントアズリン染色」ニハ3%ノ食鹽濃度ヲ必要トスルコトハ既ニ第一編⁽⁸¹⁾ニ記述セリ)同様何等色素沈澱ヲ生ゼザリキ。即チ該濾液中ニモ「ブリラントアズリン色素」ト結合シ得ベキ物質ヲ證明シ能ハザリキ。他方「アムモニア」ニ依リ沈澱物ニ就テハ次ノ實驗ニ讓ル。

第三項 「アルコール」及ビ「アルコール・エーテル」ニヨル分離

前記ノ如クニシテ得タル沈澱物ヲ「アルコール」及ビ「アルコール・エーテル」ヲ以テ充分浸出シ、濾過シテ其浸出液ト殘渣物トニ分離ス。茲ニ生ジタル殘渣物ハ Kossel 及ビ Kutscher⁽¹²⁾等ノ「ヒストン」分離法ニヨル「ヒストン」ナリ。先ヅ「アルコール」及ビ「アルコール・エーテル」浸出液ニ就テ吟味センニ、既ニ(第二章第一節第三項ニ於テ)記述セル脂肪質ニ關スル「アルコール・エーテル」試驗ニヨリテ明ナルガ如ク、周核顆粒物質ハ「アルコール」及ビ「アルコール・エーテル」ニ溶解セザルモノナルガ故ニ該浸出液ニ就テハ之レヲ檢スルノ要ナルカバシ。故ニ他方殘渣物即チ「ヒストン」ニ就テ次ノ如キ實驗ヲ行ヘリ。

第四項 「ヒストン」ト「ブリラントアズリンB色素」トノ關係

小牛胸腺ヨリ分離セル「ヒストン」0.5瓦ヲ少量ノ蒸溜水ヲ以テ磁製乳鉢ヲ用ヒテ充分研和シ、更ニ2乃至3滴ノ稀鹽酸ヲ加ヘテ研和溶解シ、尙蒸溜水ヲ以テ之レヲ100ccトナス。次デ「アムモニア」ニテ一程度(沈澱ヲ起サヌ程度)マデ中和シテ、可及的酸性度ヲ減弱セル弱酸

性ノ約0.5%「ヒストン溶液」ヲ作り、尙之レヲ濾過シテ用ヒタリ。該「ヒストン水溶液」ニ同量ノ0.5%「ブリラントアズリン染色液」(3%ノ比ニ食鹽ヲ含有スルモノ)ヲ加フレバ、暗紫堇色ノ沈澱物ヲ生ジ、暫時之レヲ放置スレバ完全ニ沈降シ、其上澄液ハ無色(但シ色素過剩ナレバ淡紫色)トナル。是レ恐ラク「ヒストン」ト「ブリラントアズリン色素」ト結合シテ、一種ノ鹽様物質ヲ形成セルモノナラン。尙右「ブリラントアズリン染色液」ハ3%ノ比ニ食鹽含有スルヲ以テ、次ニ食鹽ノ無キ色素水溶液及ビ6%ノ比ニ食鹽ヲ加ヘタル色素液トヲ作り、各別ニ「ヒストン水溶液」ニ混入セルニ、何レモ前記同様ノ沈澱ヲ生ジタリ。即チ右結合物ハ食鹽ニ何等關係ナクシテ生ズルモノナリ。

尙以上ノ實驗ノ結果ヲ總括的ニ表示セバ次ノ如シ。

$$X. \text{ (胸腺)} \begin{cases} a. \text{ (殘査物)} \\ X_1 \text{ (鹽酸浸出液)} \end{cases} \begin{cases} b. \text{ (濾液)} \\ X_2. \text{ (「アムモニア」沈澱物)} \end{cases} \begin{cases} c. \text{ (「アルコール・エーテル」浸出液)} \\ d. \text{ (殘査物即チ「ヒストン」)} \end{cases}$$

$X = a + X_1 = a + b + X_2 = a + b + c + d$ ニシテ a, b 及ビ c ハ色素ト結合セズシテ d ノミ結合シ得タリ。

要之、胸腺ヨリ分離セル「ヒストン溶液」ニ「ブリラントアズリン染色液」ヲ加フレバ著明ナル沈澱現象ヲ起ス。コハ色素ト「ヒストン」トノ結合ニ依ルモノニシテ、「ヒストン」以外ノ分離物質中ニハ該色素ト結合シ得ベキモノヲ證明シ得ザリキ。由是觀之、恐ラク胸腺ニ於ケル周核顆粒物質ハ「ヒストン」ガ其主要物質ヲナスニ非ラズヤト思考セラル。而シテコハ第一節乃至第三節ニ於テ證明シタル所ノ核顆粒ガ鹽基性蛋白ナル事實ト一致ス。但シ血液細胞ニ於ケル「ヒストン」ニ就テハ尙研究ノ餘地アルモノナラン。

第五節 周核顆粒ト「プロタミン」トノ關係

前節ニ於テハ周核顆粒ト「ヒストン」トノ關係ニ就テ檢索セルヲ以テ、本節ニ於テハ同ジク鹽基性蛋白質ノ一種タル「プロタミン」トノ關係ヲ檢セントス。

「プロタミン」ハ Miescher (1872) ニヨリテ發見セラレ、Kossel⁽¹⁸⁾ 等ノ研究ニヨリテ或種魚類ノ精細胞核ニ含有サル、事ハ既ニ周知ノ事ニシテ、本實驗ハ其魚類ノ一種鱈ノ「シラコ」ニ就テ檢索ヲ行ヘルモノナリ。

第一項 鱈ノ精細胞ニ於ケル周核顆粒ニ就テ

鱈ノ「シラコ」ノ塗抹標本ヲ型ノ如ク「アルコール」ニテ固定シ「ブリラントアズリン染色」ヲ施シテ檢セルニ、胸腺組織細胞ニ於ケル如キ多數ナル顆粒ハ存在セザリシモ、可成リ明カナル周核顆粒ヲ認メ得タリ。尙之レニ關スル精細ナル研究ハ次回報告ニ譲リ、茲ニハ單ニ精細胞ニ於テモ亦周核顆粒ヲ證明シ得ラル、事ノミヲ記述スルニ止メン。次デ「プロタミン」ヲ分離シテ「ブリラントアズリン色素」トノ關係ヲ檢シタリ。

第二項 「プロタミン」ト色素トノ關係

「プロタミン」ノ分離ハ Hammarsten 氏方法⁽¹²⁾ニ據レリ。即チ鱈ノ「シラコ」ヲ乳鉢ニ入レテ摩擦細挫シ、「エーテル・アルコール」(「エーテル」三容積ニ「アルコール」一容積ノ比)ヲ

加ヘテ充分研和ス(之レヲ二回繰リ返ス)。次ニ「エーテル・アルコール」ヲ除キ其残渣ヲ1乃至2%ノ硫酸ニテ抽出シ、次デ之レヲ濾過シ、其濾液ニ「アルコール」ヲ3乃至4倍ノ比ニ加フレバ沈澱ヲ生ズ。更ニ之レヲ24時間放置シ、再ビ濾過シ、其残渣ヲ集メテ水ニ溶解シ、再ビ「アルコール」ニテ沈澱シ、尙之レヲ三乃至四回繰リ返シタル後其沈澱物ヲ取りテ空氣中ニテ乾燥ス。斯クシテ得タルモノハ硫酸「プロタミン」ナリ(故ニ本實驗ニハ硫酸「プロタミン」ヲ使用セリ)。該「プロタミン」ノ0.5%ノ水溶液ヲ作り、其任意量ニ同量ノ「ブリラントアズリン染色液」ヲ混ズレバ直チニ深藍色ノ沈澱物ヲ生ズ。是レ「ヒストン」ノ實驗ニ於ケルガ如ク、「プロタミン」ト色素酸根ト結合シテ一種ノ鹽様物質ヲ作りタルモノナラン。即チ「プロタミン」モ亦「ブリラントアズリン色素」ト結合シ得ルコトヲ認メ得タリ。而シテ前記ノ如ク鱈精細胞ニモ周核顆粒ノ出現スルヲ觀レバ、精細胞ニ於ケル周核顆粒ハ少クトモ其一部ハソガ含有スル「プロタミン」ニモ關係アルモノナラント思考セラル。

第六節 周核顆粒ト「ヌクレイン酸」トノ關係

前節ニ於テハ核物質中ノ鹽基性蛋白質タル「ヒストン」及ビ「プロタミン」ニ就テ檢索スル處アリタリ。依テ本節ニ於テハ更ニ鹽基性蛋白質ニハ非ザルモ、核物質ノ主要成分タル「ヌクレイン酸」ト周核顆粒トノ關係ニ就テ檢セントス。

「ヌクレイン酸」ニ關シテハ爾來多數ノ先進諸家ニヨリ研究セラレタル所ニシテ、其染色上ノ研究ニ就テモ亦多數ノ業績アリ。今其主ナル二、三ニ就テ觀ルニ Heidenhein (1902)⁽¹³⁾ ハ

(1) 遊離セル「ヌクレイン酸」溶液ニ鹽基性色素 Rosanilins, Neutralrots, Nilblaus 等ノ溶液ノ2乃至3滴ヲ加フレバ直チニ美麗ナル色素鹽ノ色(Salzfärbung)ヲ呈ス。之レハ遊離「ヌクレイン酸」ト遊離色素鹽基ト結合シテ、Nukleinsäures Rosanilin, Nukleinsäures Neutralrot, Nukleinsäures Nilblau 等ノ色素鹽ヲ作ル爲メナリト。

(2) 尙同氏ハ Rosanilin-acetat 又ハ Brillantgrün-sulfat 等ノ如キ鹽基性色素鹽ノ稀薄ナル溶液ニ、「ヌクレイン酸」溶液ノ2乃至3滴ヲ加フレバ變色シテ特有ナル色ヲ呈ス。是レ亦前記同様ニシテ「ヌクレイン酸」ト色素鹽基トノ結合ニヨリ色素鹽ヲ形成スルガ爲メナリト報告セリ。

(3) 又前記鹽基性色素液ノ稀薄ナルモノノ代リニ濃厚ナル液ヲ用フレバ沈澱ヲ生ズ。之レハ「ヌクレイン酸」ト色素鹽基トノ結合ニヨル色素鹽ノ沈澱ナルコトヲ證明セリ。即チ以上ハ化學的實驗ナリ。

次ニ固定標本ノ染色ニ就テノ實驗ニシテハ Zacharies 氏ハ

(1) 鱈精虫ノ固定標本ニ0.3%鹽酸水ヲ作用セシメタル後 Fuchsin 及ビ Methylenblau ノ混合色素液ニテ染色スレバ、精虫頭部ハ光輝アル青色ニ染色ス。是レ鹽酸ニヨリテ核ニ結合セル蛋白質ガ溶解セラレ、遊離セル「ヌクレイン酸」ノ存在スル爲メニシテ、該染色ハ「ヌクレイン酸」ト鹽基性色素鹽基トノ結合セルモノナリト。

(2) 之レニ反シ前記被染色物質ニ鹽酸ヲ作用セシメズシテ、染色スレバ其染色甚ダ弱シ、是レ即チ鹽酸ノ作用ナキ爲メ中性ノ「ヌクレイン酸」トシテ存在スルガ故ナリト云

へリ。

余モ亦是等諸家ノ意見ニ同意スルモノニシテ、次ニ略々同様ナル實驗ヲ行ヒタリ。

(1) 遊離セル「ヌクレイン酸 (Merck製)」ヲ蒸溜水ニ溶解シテ 0.2%水溶液ヲ作り、其小量ニ約同量ノ 0.2%「メチレン青水溶液」ヲ混和スレバ、直チニ深青色ノ沈澱ヲ生ジタリ。是レ前記 Heidenheien 氏ニ依リテ證明セラレタル如ク、「ヌクレイン酸」ト「メチレン青」ノ色素鹽基根ト結合シテ一種ノ鹽様物質ヲ形成セルモノナリ。

(2) 次ニ家鷄血液 (主トシテ有核赤血球ニ就テ檢シタリ) ノ塗抹標本ヲ「アルコール固定後、n/50 鹽酸水溶液ニ室温(攝氏15度)ニ於テ、約 2 乃至 3 分間作用セシメタルモノ」ヲ「メチレン青水溶液」ニテ染色スルニ、其核染色ハ鹽酸ヲ作用セシメザルモノト何等變ル所ナキカ又ハ稍々強シ。コハ前記 Zacharias 氏ノ研究ニヨレバ、斯カル「メチレン青」染色ハ主トシテ「ヌクレイン酸」ノ染色ニシテ、該「ヌクレイン酸」ハ弱鹽酸ニヨリテ其染色上ニ影響ヲ蒙ラザルノミナラズ、却テ其鹽酸ヲ作用セシメタルモノハ然ラザルモノニ比シ、其染色ノ增強スルヲ證スルモノナリ。

(3) 血液塗抹アルコール固定標本ヲ前記鹽酸ノ代リニ n/50 アムモニア水溶液ニテ作用セシメタル後(攝氏15度ニテ約2.3分間)、之レヲ「メチレン青」ニテ染色スレバ、一般ニ核染色甚ダ弱ク且不明瞭ニシテ、殊ニ「クロマチン像」ハ殆ンド全ク消失ス。是レ「ヌクレイン酸」ノ變質ニ歸因スルモノナル可シ。

以上ノ所見ヲ「ブリラントアズリン」染色ニヨル周核顆粒ノ性狀ト比較スルニ、周核顆粒ハ前實驗(第三節參照)ニ於テ既ニ記述セル如ク、弱鹽酸ニヨリテ強ク障害セラレ、弱「アムモニア」ニヨリテ何等影響ヲ蒙ラズ。之レニ反シテ核ノ「メチレン青」ニヨル「ヌクレイン酸」染色ハ、弱鹽酸ニ依リテ作用サレザルモ「アムモニア」ニ依リテ障害セラル。即チ周核顆粒ノ染色反應ト「ヌクレイン酸」ノ夫レトハ全ク相反スルコトヲ知リタリ。

第七節 「ヌクレイン酸ヒストン」ト周核顆粒トノ關係

前記第一節乃至第三節ノ實驗ニヨリテ、周核顆粒ハ略々鹽基性蛋白質ナルコトガ推定セラレ、尙第四節ノ實驗ニ由レバ核物質中ノ鹽基性蛋白質タル「ヒストン」ハ「ブリラントアズリン」色素ト結合シテ、一種ノ鹽様物質ヲ作り得ルモノニシテ、他方「ヒストン」ヲ多量ニ含有スル胸腺ノ塗抹固定標本ニ於テハ該核顆粒ノ甚ダ著明ニ出現スルコト、並ニ胸腺ニ於ケル「ヒストン」分離試驗ニ於テ、「ヒストン」以外ノ物質ニハ「ブリラントアズリン」色素ト結合シ得ベキモノヲ證明シ能ハザリシコト等ヨリシテ、周核顆粒物質ハ「ヒストン」ト重要ナル關係アルモノナラント思考セリ。

尙核中ニ存スル「ヒストン」ハ Kossel⁽¹⁸⁾ 及ビ Lilienfeld⁽¹⁹⁾ 等ノ研究ニ依レバ遊離シテ單獨ニ存在スルモノニ非ズシテ、主トシテ「ヌクレイン酸」或ハ其他ノ或種核物質ト結合シ、「ヌクレオプロテイド」トナリテ存スルモノナリト云ヘリ。斯カル核中ニ存スル「ヌクレオプロテイド」ハ種々ノ核成分ノ結合シテナレル甚ダ複雑ナル物質ニシテ、到底之レヲ人工的ニハ作り得ザルモノナランモ、稍々之レニ近キ物質トシテ化學的ニ作レル「ヌクレイン酸ヒストン」

ト周核顆粒トノ關係ニ就テ、余ハ次ノ如キ小實驗ヲ試ミタリ。

「ヒストン」ハ Kossel u. Kutscher⁽¹²⁾ノ「ヒストン分離法ニヨリテ小牛胸腺ヨリ分離シ、ソノ0.5瓦ヲ前述(第四節第四項參照)ノ方法ニテ、先ヅ少量ノ蒸溜水ヲ以テ磁製乳鉢内ニテ充分研和シ、次デ微量ノ稀鹽酸ヲ加ヘテ溶解シ、尙蒸溜水ヲ以テ略々0.5%「ヒストン」水溶液ヲ作りタリ。之レニ「ヌクレイン酸(Merck製)0.5瓦ヲ蒸溜水100ccニ溶解シテ作レル0.5%「ヌクレイン酸水溶液」同量ヲ加フレバ直チニ乳白色ニ濁濁シ、暫時ニシテ同色ノ沈澱物ヲ生ズ。該沈澱物ハ「ヒストン」ト「ヌクレイン酸」トノ結合ニヨル「ヌクレイン酸ヒストン」ナリ。斯クノ如クニシテ作レル「ヌクレイン酸ヒストン」溶液ヲ2個ノ試験管ニ分チ置キ、他方「ブリラントアズリン色素ノ1%水溶液ト、尙之レニ6%ノ比ニ食鹽ヲ加ヘタル「ブリラントアズリン色素食鹽液」トノ二種ヲ作りタリ。次デ第一ノ「ヌクレイン酸ヒストン」溶液ニハ食鹽ナキ1%「ブリラントアズリン色素水溶液」同量ヲ加ヘ(色素濃度ハ0.5%トナル)、他方ノ「ヌクレイン酸ヒストン」溶液ニハ6%ノ比ニ食鹽ヲ含有スル色素液ヲ加ヘ(色素濃度ハ0.5%トナリ食鹽濃度ハ3%トナル)、室溫(攝氏18度)ニ於テ其反應ヲ兩者比較對照セルニ、前者ニ於テハ何等色素ト反應スル現象ハ認め得ザリキ。反之、後者ニ於テハ暗深藍色ノ沈澱物ヲ生ジ、恰モ前記第四節第四項實驗ノ「ヒストン水溶液」ト「ブリラントアズリン色素溶液」トノ混合ノ際ニ認め得タルガ如キ沈澱物ヲ生ジタリ。

斯カル現象ヲ説明スルコト甚ダ困難ナリ。然レドモ少クモ次ノ如キ疑問ヲ生ジ來ルモノアリ。即チ

(1) 色素ト「ヌクレイン酸ヒストン」トノ結合ヲ食鹽ガ媒染劑トシテ之レヲ助クルカ、又ハ食鹽ガ「ヌクレイン酸ヒストン」ニ作用シテ之レヲ溶解シ、其溶液ト色素トノ反應ナルカ、

(2) 食鹽ガ「ヌクレイン酸ヒストン」ニ作用シテ之レヨリ「ヒストン」ヲ分離セシメテ色素ト結合スルモノナルカ、

(3) 食鹽ソレ自身ガ色素ヲ析出スルモノナルカ、又ハ色素ト「ヌクレイン酸ヒストン」トノ存在ガ色素ソノモノノ沈澱ヲ起シタルモノナルカナリ。但シ前者ハ次ノ實驗ニヨリ然ラザルコト明カナリ。

斯クノ如ク前記現象ニ關シテ尙種々ノ問題殘サレ居ルモノノ解決ハ單純ナル實驗ニテハ闡明ニシ得ザル問題ナルヲ以テ、後日ノ精細ナル研究ニ待ツコト、シ、茲ニハ唯ダ該現象ハ周核顆粒ノ「ブリラントアズリン染色」ニ際シ、3%濃度ノ食鹽ヲ必要トスルコト、彼此相似タル事實ヲ記述セルニ留メン。

次ニ食鹽濃度ト「ヒストン水溶液」、「ヌクレイン酸ヒストン水溶液」及ビ「ブリラントアズリン色素水溶液」等トノ關係ニ就テ檢セリ。

先ヅ豫メ食鹽ノ1%, 2%, 4%, 6%, 8%, 10%, 12%, 14%, 16%, 18%及ビ20%水溶液等合計十一種ノ各濃度ヲ有スル食鹽水溶液ヲ作りタリ。他方0.5%「ヒストン水溶液」、1%「ブリラントアズリン色素水溶液」及ビ0.5%「ヒストン水溶液」ト0.5%「ヌクレイン酸水溶液」ノ同量ヲ以テセル「ヌクレイン酸ヒストン水溶液」ノ三種ヲ作り、其各種水溶液ニ前記各種濃度

ノ食鹽水溶液ヲ混入シテ、室溫(攝氏18度)ニ於テ其反應ヲ檢シタリ。之レヲ表示スレバ第七表ノ如シ。

第七表 各種濃度ノ食鹽水溶液ト「ヒストン」、
「ヌクレイン酸ヒストン」
及ビ「ブリラントアズリン」色素等ノ各水溶液トノ混合實驗

實驗 番號	溫度	食鹽原 液ノ濃 度	混合液 ノ食鹽 濃度	被 檢 液 及 ビ 其 反 應		
				0.5%「ヒスト ン」水溶液	「ヌクレイン酸ヒ ストン」水溶液	1%「ブリラントアズ リン」色素水溶液
1	18°C	1%	0.5%	何等沈澱物ヲ認メ ズ	變化ナシ	沈澱物ヲ認メズ
2	"	2%	1%	同 上	同 上	同 上
3	"	4%	2%	"	"	"
4	"	6%	3%	淡キ白濁ヲ生ジ暫 時ニシテ僅カニ沈 澱物ヲ生ズ	乳白色ノ濁濁ハ其色淡クナ ル、但シ全ク透明ニハナラ ズシテ尙淡キ白濁ヲ殘ス	"
5	"	8%	4%	殆ンド同上稍々沈 澱物ヲ増ス	同 上	"
6	"	10%	5%	漸次白濁強ク沈澱 物ヲ増ス	"	"
7	"	12%	6%	白濁漸次迅ニシテ 且強ク、沈澱物モ 亦増加ス	殆ンド同上食鹽ノ濃度増加 シテモ白濁ノ程度ハ上記ト 同様ナリ	"
8	"	14%	7%	白濁強クシテ沈澱 現象モ迅カニシテ 且強シ	同 上	"
9	"	16%	8%	同 上	"	色素ノ沈澱物ヲ生ズ。
10	"	18%	9%	"	"	色素ノ沈澱物増加シ 且色素液ノ色甚ダ淡 クナル。
11	"	20%	10%	"	"	同 上

上記第七表ヲ通覽スルニ

(1) 「ヒストン」水溶液ハ食鹽濃度0.5乃至2%マデニ於テハ何等沈澱物ヲ生ズルコトナキモ、其3%濃度ニ至リ始メテ淡キ白濁ヲ生ジ、僅カニ沈澱スルヲ認メタリ。而シテ斯ル沈澱現象ハ食鹽濃度ノ増加ト共ニ漸次著明トナルヲ認メ得タリ。

(2) 「ヌクレイン酸ヒストン」水溶液ハ實驗前ニ於テ既ニ乳白色ニ濁濁シ、「ヌクレイン酸ヒストン」ノ沈澱ヲ起シオルモノニシテ、之レニ1乃至4%ノ食鹽水溶液ヲ加ヘテ其混合液ノ食鹽濃度ヲ0.5乃至2%トナセルモ何等ノ變化モ認メ得ザリキ。然ルニ該食鹽濃度ノ3%以上ニ於テハ其白濁ハ著シク減ジ、一部溶解スルヲ認メタリ。但シ全ク透明ニハ至ラズ。而シテ斯カル現象ハ食鹽濃度ノ3%以上ニ於テハ最早其濃度ニ關係無ク、即チ10%食鹽濃度ニ於テモ其所見ハ3%ノ夫ト殆ンド同様ナルヲ認メタリ。

(3) 「ブリラントアズリン」色素水溶液ハ食鹽濃度0.5乃至7%マデハ何等沈澱現象ヲ生ゼザリシモ、8%食鹽濃度ニ於テ色素ノ沈澱現象ヲ認メタリ。而シテ9%乃至10%食鹽濃度ニ

於テハ該沈澱現象更ニ增強セリ。

要之、本節ニ於テハ「ヒストン水溶液ト「ヌクレイン酸水溶液トヲ以テセル「ヌクレイン酸ヒストン」溶液ニ「ブリラントアズリン」ノ6%食鹽水溶液ヲ加ヘテ、其食鹽濃度ヲ3%ニスル時ハ、同色素ニ染色セル沈澱物ヲ生ズルモノニシテ、斯カル現象ノ現ハル、理由ハ不明ナルモ、周核顆粒ノ「ブリラントアズリン染色ノ際ニ於テ一定濃度ノ食鹽ヲ必要トシ、殊ニ其濃度ハ3%ガ良好ナルコト、比較シ、兩者甚ダ相似タル現象ナルコトヲ思ハシメタリ。唯核中ノ「ヌクレオプロテイド」ハ極メテ複雑ナル物質ニシテ、到底人工的ニ作レル「ヌクレイン酸ヒストン」トハ比スベキモノニ非ズ。從ツテ周核顆粒ト「ヌクレオプロテイド」トノ關係及ビ「ブリラントアズリン染色ノ際ニ一定濃度ノ食鹽ヲ必要トスル理由等ニ關シテハ尙此後幾多ノ精細ナル研究ヲ要スルモノニシテ、輕々ニ斷ジ得ザルモノナルガ故ニ、本節ニ於テハ唯ダ前記ノ小事實ノミヲ列舉シ、後日ノ研究ノ一資料トシテ記述セルニ過ギザルナリ。

第三章 總括及ビ考按

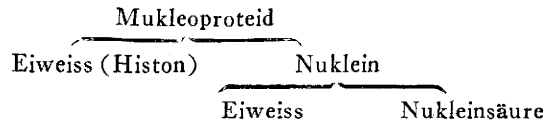
本章ニ於テハ前章實驗成績ノ結果ヲ總括シ、之レヲ先進諸家ノ細胞核物質ニ關スル生化學的研究ト比較研究シ、以テ周核顆粒ノ本態ニ就テ考察ヲ試ミントス。

既ニ記述セル如ク周核顆粒ハ「ブリラントアズリン染色ニヨリテ染色スル核物質ナルガ故ニ、前記ノ實驗ハ同色素ニヨリ染色シ得ル核物質ニ就テ檢索セルモノニシテ、該核顆粒ハ其血液塗抹標本ノ「アルコール固定後ニ於ケル實驗及ビ其「アルコール固定前即チ新鮮ナル血液ニ直接ニ藥液ヲ作用セル實驗ニ於テ共ニ、「タカヂアスターゼ」ニヨリテ作用セラレズ、又水ニモ溶解セラレザルニ由リテ觀レバ糖原質ニハ非ザル可ク、又塗抹アルコール固定標本ニ於テ「アルコール」、「アルコール・エーテル」、「アルコール・クロ、ホルム」、「アルコール・アツェトン」及ビ「リパーゼ」等ニヨリ抽出又ハ消失セラレズ、又新鮮血液ニ作用セル「リパーゼ」試驗ニヨリテ、影響無キヲ觀レバ脂肪質ニモ非ズ。又新鮮血液ニ作用セル弗化ナトリウム試驗及ビ枸橼酸ナトリウム試驗ニ於テ、該二種ノ藥液ニヨリ何等影響ヲ受ケザル周核顆粒ハ血液纖維素ニテモ非ザルコトヲ證明セリ。次デ血液塗抹標本ノ「アルコール固定後並ニ固定前ニ於テ、「バ、イン」試驗及ビ「ペプシン」試驗ニヨリテ共ニ周核顆粒ハ變化セラレタルヲ觀レバ核顆粒物質ハ恐ラク蛋白質ナル可キコトヲ認メタリ。且又酸及ビ「アルカリ」試驗ニ於テ、該核顆粒ハn/100鹽酸水溶液ノ如キ極メテ弱キ酸ニヨリ室溫(攝氏15度)ニ於テ短時間ニ其影響ヲ蒙ルモ、n/100「アムモニア」水溶液ノ如キ鹽基ノ作用ニヨリテハ影響ヲ蒙ラザルヲ觀レバ、該顆粒物質ハ恐ラク鹽基性物質ニシテ、之レヲ前記ノ結果ト比較考察スレバ鹽基性蛋白質ナル可キモノト思考セリ。

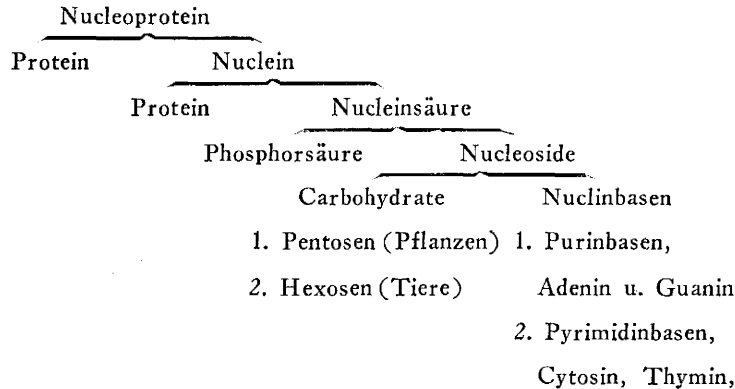
茲ニ於テ該鹽基性蛋白質ハ從來知ラレタル核物質ナルカ、將又新物質ナルカヲ吟味スベク先進諸家ノ生化學的方面ニ於ケル細胞核物質ノ研究業績ヲ徵シタリ。今其概略ヲ記セバ左ノ如シ。

1871年 Miescher 氏⁽¹⁴⁾ハ膿球ヨリ「ヌクレイン」ヲ人工的ニ分離シ、其翌年(1872)同氏

ハ鮭ノ精虫ニ關スル研究ニ於テ、其頭部ヨリ「ヌクレイン」ト結合セル鹽基性蛋白質「プロタミン」ヲ分離セリ。次デ Altmann (1889) ⁽⁴⁾ ハ同ジク鮭精虫ヨリ「ヌクレイン酸」ヲ分離スルコトヲ得タリ。又 Kossel (1883) ⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾ ハ鳥類ノ有核赤血球ヨリ「ヒストン」ヲ分離シ、次デ Lilienfeld ⁽¹⁹⁾ ハ白血球及ビ胸腺等ニ於テモ「ヒストン」ノ存在スルコトヲ發見シタリ。爾來 Kossel, Miescher, Lilienfeld, Kutscher 等其他多數ノ熱心ナル研究者ニヨリ是等ノ有機物質以外ニ磷酸、鐵、「カルチウム」、「カリウム」等ノ如キ無機物質モ漸次證明セラレテ、細胞核ノ化學的成分モ解明スルニ至リタリ。今核成分ノ分類ニ就テ觀ルニ、Kossel 及ビ Lilienfeld 等ハ細胞核物質ハ一般ニ「ヌクレオプロテイド」ナルコトヲ提唱シ、之レヲ次ノ如ク分類セリ。



即チ「ヌクレオプロテイド」ハ「ヒストン」又ハ「プロタミン」等ノ如キ鹽基性蛋白質ト「ヌクレイン」トノ結合ヨリナリ。尙「ヌクレイン」ハ「ヌクレイン酸」ト一種ノ蛋白質トノ結合ヨリナルモノナルコトヲ示セリ。其後 Scherman (1918) 及ビ Wilson (1925) ⁽¹³⁾ 等ノ研究ニヨリ、殊ニ其「ヌクレイン酸」ニ就テノ精細ナル研究ノ結果、最近ニ於テハ次ノ如ク分類セラル、ニ至リタリ。



斯クノ如ク細胞核ノ生化學的研究モ著シク微細トナリ、殊ニ「ヌクレイン酸」ニ關シテハ可成リ精細ナル成分ガ發見セラル、ニ至リタリ。反之、核物質中ニ存スル蛋白質ニ關シテハ未ダ精細ナル研究無ク、尙解明セラレザルモノ多シ。就中「ヌクレイン」ト結合セル蛋白質ハ鹽基性蛋白質ニシテ、主トシテ「ヒストン」又ハ「プロタミン」ノ如キ蛋白質ナラントハ諸家ノ研究一致セル處ナレドモ、尙夫レ以外ニ異種蛋白質ノ結合セルモノ無キヤ否ヤハ未ダ明瞭ナラザルモノノ如シ。又「ヌクレイン酸」ト結合セル蛋白質ニ就テモ恐ラク其大半ハ鹽基性蛋白質ナラントハ諸家ノ均シク推想セル所ナレルモ、如何ナル蛋白質ナリヤ、又其他ニ酸性ノ蛋白質モ結合シ居ルヤ否ヤ、又其數量的關係等ハ今尙未解決ノ問題ニシテ、將來ノ研究ニ待ツ可キモノ多シ。

茲ニ於テ是等既知ノ核物質ト前章實驗成績ノ結果トヲ比較センニ、第一「ヌクレイン酸ハ前章第六節ノ實驗ニヨリ「ブリラントアズリン」ニ依ル染色核物質ト其染色反應ハ全ク相反セルモノニシテ、兩者關係ナキコトヲ認メ得タリ。次ニ鹽基性蛋白質タル「ヒストン」ニ就テハ胸腺ニ於ケル實驗ニ依リ「ヒストン」以外ノ物質ニ「ブリラントアズリン色素ノ結合シ得ベキ物質ヲ證明シ能ハザリシノミナラズ、分離セル「ヒストン」ハ甚ダ強ク「ブリラントアズリン色素ト結合シテ一種ノ鹽様物ヲ作ルコトヲ證明シタリ。之レニ由リテ鹽基性蛋白質トシテ主ニ「ヒストン」ヲ有スル胸腺ニ於テハ該「ヒストン」ガ其「ブリラントアズリン染色物質即チ周核顆粒ノ主要物質ナランカト推定セラレタリ。尙此ノ實驗ヨリ推シテ、又他方有核赤血球及ビ白血球等ニモ「ヒストン」ノ存在スル事實ヨリ考フレバ、是等ノ血液細胞核ニ存スル「ヒストン」モ亦其周核顆粒ノ一成分ヲナスモノナラント想像シ得ラル、モノニシテ、少クトモ關係ナシトノ立證ハ見出シ得ザリキ。然レドモ血液細胞核ニ含有スル「ヒストン」ハ胸腺ニ於ケルソレノ如ク多量ナラズシテ、其他ノ鹽基性蛋白質モ存在スルモノナレバ、尙ソレ等ノ蛋白質ト色素トノ關係ハ未ダ不明ナルガ故ニ該血球ニ於ケル周核顆粒ハ「ヒストン」ガ主要成分ナリヤ。又ハ「ヒストン」以外ノ蛋白質ガ主成分トシテ、「ヒストン」ハ其一部ニノミ關係スルモノナリヤハ今直チニ決定シ能ハズ。コハ核物質ノ尙精細ナル生化學的研究ト相待チテ漸次解明セラル、モノナラント思惟ス。尙魚類精虫ノ頭部ニ含有スル核物質ノ鹽基性蛋白質タル「プロタミン」モ亦「ブリラントアズリン」色素ト結合シテ、一種ノ鹽様物質ヲ作り得ル性狀ヲ有シ、他方其精細胞ニモ周核顆粒ノ現ハル、コトヨリ考フレバ、是等ニ於ケル周核顆粒ハ其一部「プロタミン」ノ存在ニ關係アル可シト略々想像セラル、モ、其精細ナル研究ハ次回ニ於ケル一般組織ノ研究編ニ於テ報告スル處アラントス。

要之、周核顆粒ハ略々鹽基性蛋白質ニシテ、且胸腺ヨリ分離セル「ヒストン」ノ鹽基性蛋白質ガ「ブリラントアズリン色素ト結合シテ一種ノ鹽様物ヲ作り得ルヲ以テ、胸腺ニアリテハ恐ラク「ヒストン」ガ核顆粒ノ主成分ヲナスモノナラント思惟ス。尙血液細胞ニ於テモ亦「ヒストン」ガ其核顆粒成分ノ一部ナラント思考セラル、モ、他種ノ鹽基性蛋白質トノ關係ニ就テハ今後核物質ノ精細ナル生化學的研究ト相待チテ決定セラルベキモノナリ。

結 論

余ハ本研究ニ於テ家鷄赤血球、家兎白血球、牛胸腺及ビ鱈精虫等ニ現ハル、周核顆粒ノ本性ニ就テ、化學的實驗ヲ行ヒ次ノ如キ成績ノ結果ヲ得タリ。

(1) 周核顆粒ハ「タカデアスターゼ」ニ由リテ消化セラレズ。且水ニモ溶解セラレザルヲ以テ糖原質ニ非ザル可ク、且「アルコール・エーテル」、「アルコール・クロ、ホルム」、「アルコール・アツェトン」及ビ「リパーゼ」等ニ由リテ抽出又ハ消失セラレザルヲ以テ脂肪物質ニテモ非ザルベク、或ハ弗化ナトリウム及ビ枸橼酸ナトリウム等ヲ以テ作用セラレザルヲ以テ纖維素ニモ非ザル可シ。反之、核顆粒ハ「バ、イン」及ビ「ペプシン鹽酸」ニ由リテ略々消化サル、ヲ以テ蛋白質ニ屬スルモノト思考ス。

(2) 核顆粒ハ $n/100$ 鹽酸水溶液ニ由リテ溶解サレ、 $n/100$ 「アムモニア」ニ由リテ何等作用ヲ受ケザルヲ以テ、核顆粒ハ鹽基性物質ニ屬スルモノト思考ス。而シテ第一項ノ事實ト對照スレバ本顆粒物質ハ鹽基性蛋白質ナルベシ。

(3) 胸腺實質細胞ハ極メテ著明ナル周核顆粒ヲ現ハス。今胸腺組織ヲ細挫シ、鹽酸ニテ抽出スル時ハ其殘渣ヨリ「ブリラントアズリン」ニ反應スル物質ヲ認メズ。又其濾液ニ「アムモニア」ヲ加ヘテ沈澱ヲ生ゼシムル時ハ其濾液ニハ右色素ト反應スル物質ヲ認メズ。反之、其沈澱物ヲ「アルコール」及ビ「アルコール・エーテル」等ニテ洗滌シテ得タル白色粉末ハ是レ即チ Kossel u. Kutscher 等ノ所謂「ヒストン」ニシテ、「ヌクレオプロテイド」ニ含有スル鹽基性蛋白質ナリ。而モ該物質ノ溶液ニ「ブリラントアズリン水溶液」ヲ加フル時ハ反應シ、沈澱ヲ生ズ。

以上三項ニ述ベタル實驗成績ノ結果ヲ綜合スルニ核顆粒物質ハ鹽基性蛋白質ニシテ、殊ニ少クトモ胸腺實質細胞ニ於テハ其成分トシテ「ヒストン」ヲ含有スルモノト思考ス。

(4) 鱒精虫ヨリ化學的ニ分離シタル鹽基性蛋白質ナル「プロタミン」ハ又「ブリラントアズリン」ト反應ス。故ニ該細胞ニ於ケル核顆粒染色ハ恐ラク「プロタミン」ノ存在ニ關係アル可シ。

(5) 周核顆粒ト染色反應ヲ全ク異ニスルハ嗜鹽基性ノ核クロマチンナリ。即チ「クロマチン」ハ弱酸ノ作用ニヨリ其鹽基性メチレンブラウ染色ニ變化ヲ來ササルカ。又ハ多少染色増強シ。弱アルカリノ作用ニヨリテハ却ツテ染色微弱トナルニ反シ、核顆粒ハ弱酸ニヨリ消失シ、弱アルカリニヨリテ影響ヲ受ケズ。而シテ化學的ニ純粹ナル「ヌクレイン酸ハ「メチレンブラウ」トヨク反應スルモ、「ブリラントアズリン」トハ全ク反應セズ。蓋シ「クロマチン」ノ嗜鹽基性ガ其含有スル「ヌクレイン酸」ニ由來スルコトハ Zacharies, Schumacher⁽²⁰⁾ 其他多數先進諸家ノ主張スル處ナリ。

本研究ニ於テ本學學長須藤教授ヨリ種々御懇切ナル御指導ヲ仰ギ且試薬ノ分與ヲ辱フシタルコトヲ深く感謝ス。尙同醫化學教室松本助教並ニ遠藤、田中兩博士ヨリ度々有力ナル御助言ヲ賜リ茲ニ深甚ノ敬意ヲ表ス。

尙本研究ハ文部省自然科學獎勵金ノ補助ヲ受ケタルコトヲ附記ス。

文 獻

- 1) **Abderhalden, E.** : Lehrbuch d. Physiol. Chemie. Auflage, 4. Teil, I. P. 692-694. 2)
- Alden B. Dawson** : Chondriome and Vacuome of the differentiating erythrocyte of Necturus and their relation to the so-called Golgie substance of erythrocytes. The Anatomical Record Vol. 48. No. 3. 1930, S. 281. 3) **Altmann, R.** : Die Granulalehre u. ihre Kritik. Arch. f. Anat. u. Phys. 1893. 4) **Altmann, R.** : Ueber Nukleinsäuren. Arch. f. Anat. u. phys. 1899. 5)
- Arnold, J.** : Der Farbenwechsel der Zellgranula, insbesondere der acidophilen. Centralbl. f. allg. path. Bd. X. 1899, P. 841-846. 6) **Arnold, J.** : Ueber feinere Struktur der Zellen unter normalen und pathologischen Bedingungen. Virch. Arch. Bd. 77. 1879, P. 181. 7) **Benda,**

- C. : Die Mitochondria. *Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgesch.* Bd. 12. 1903. 8) **Benda, C.** : Die Bedeutung d. Zelleibstruktur für d. pathologie. *Verh. d. Deut. Path. Ges.* 1914, P. 5.
- 9) **Ehrlich, P.** : Ueber die specifischen Granulationen des Blutes. *Verh. d. physiol. Ges.* 1878.
- 10) **Feulgen, R. u. Rossenbeck, H.** : Mikroskopische-chemischer Nachweis einer Nucleinsäure von Typus der Thymnucleinsäure in mikroskopischen Präparaten. *Hoppe-Seyler's Zeitschr. f. Physiol. Chemie.* Bd. 135. 1924, P. 203. 11) **Feulgen, R. u. K. Voit** : Ueber den Mechanismus der Nuclealfärbung. *Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiol. Chemie.* Bd. 135. 1924, P. 249. 12) **Fränkel** : Histon aus thymusdrüse nach Kosel u. Kutscher. *Praktikum d. medizinische chemie.* 1922, P. 225. 13) **Heidenhein, M.** : Chemie des Kernes, Makrochemisches u. Mikrochemisches. *Bardeleben Handbuch d. Anat. Plasma u. Zelle.* Bd. VIII. Tell. I. 1907, P. 121-132. 14) **平野啓司** : 脊椎動物ノ胃腸粘膜ニ於ケルアルトマン氏顆粒ノ意義及ビ本態ニ就テ (第7回報告) 第7篇, アルトマン氏顆粒ノ意義及ビ本態ニ就テ, 日本微生物, 第20卷, 第11號, 大正15年, P. 2293. 15) **加藤壽一** : 血液中ニ於ケル「スピロヘータ」様物質ニ就テ, 十全會雜誌, 第30卷, 第4號, 大14年. 16) **Kossel, A.** : Zur Chemie des Zellkernes. *Zeitschr. f. physiol. chemie.* Bd. 7. Heft. I. 17) **Kossel, A.** : Weitere Beiträge zur Chemie des Zellkernes. *Zeitschr. f. physiol. chemie.* Bd. 10. 1886, P. 248. 18) **Kossel, A. u. Pringle, H.** : Ueber Protamine und Histone. *Zeitschr. f. physiol. Chemie.* Bd. 49. 1906, P. 301. 19) **Lilienfeld, L. u. Monti, A.** : Ueber die mikrochemische Lokalisation des Phosphors in den Geweben. *Zeitschr. f. Physiol. Chemie.* Bd. 17. 1893, P. 410. 20) **Masing, E.** : Ueber das Verhalten der Nucleinsäure bei der Furchung des Seeigleis. *Zeitschr. f. Physiol. Chemie.* Bd. 67. 1910, P. 161. 21) **Meves, F.** : Zur Einigung zwischen Faden- und Granulalehre des Protoplasma Beobachtungen an weissen Blutzellen. *Arch. f. Mikr. Anat.* Bd. 75. 1910, P. 642. 22) **Möllendorff, W.** : Der Zellkern. *Handbuch d. Mikro. Anat. d. menschen.* Bd. I. Teil. I. 1929, P. 111-116. 23) **野手雅信** : 超生體染色ニ於ケル白血球ノ周核顆粒ニ關スル知見補遺, 十全會雜誌, 第35卷, 第11號, 昭和5年11月. 24) **Oppenheimer** : *Handbuch d. Biochemie I.* P. 306-308. 25) **Saguchi, S.** : Ueber Mitochondrien (chondrien) und mitochondriole Stränge in den Epidermiszellen der Anurenlarven nebst Bemerkungen ueber die Frage der Epidermis Cutisgrenze. *Arch. f. Mikr. Anat.* Bd. 83. 1913, p. 177. 26) **Schreiner, K. E.** : Zur Kenntnis der Granula. *Arch. f. Mikr. Anat.* 1919. Bd. 92. P. 1. 27) **Steudel, H.** : Die Zusammensetzung der Nucleinsäuren aus Thymus und aus Heringsmilch. *Zeitsch. f. physiol. chemie.* Bd. 49. 1906. P. 406. 28) **Sugiyama, S. Note, M.** : Perinucleo-granula and Perinucleo-reticula, Discovered by Supravital Staining Technique and also Demonstrable in Fixed Cells. *Transac. Jap. Pathol. Soc.* Vol. 18, 1929. 29) **Schumacher, J.** : Zur Färbung der Zellfärbung u. über Farbstoff nukleinsäure. *Archiv. f. Derm. u. Syph.*, Bd. 132, S. 178, 1921. 30) **杉山繁輝** : 細胞核超生體染色ニ就テ, 超生體染色ノ研究 (共11), 日本微生物, 第18卷, P. 1775, 大正13年. 31) **八木義一** : 周核顆粒及周核網ニ關スル研究 (第1報), 各種動物ノ血液塗抹標本ニ於ケル其証明法及所見ニ就テ, 十全會雜誌, 第36卷, 第3號, 昭和6年3月. 32) **八木義一** : 同上 (第二報), 家鷄「エムブリカ」ヨリ取りタル幼若血球ノ周核顆粒ニ就テ, 同誌, 同卷, 第5號, 昭和6年5月.