

ユムシ *Urechis unicinctus* (von Drasche) における受精の研究

(第 II 報) 卵膜および受精膜に対する尿素の作用*

大 川 真 澄 (横浜市立大学文理学部生物学教室)

昭和 30 年 12 月 1 日 受領

ウニの卵では卵黄膜や過度期の受精膜は 1 M 尿素液で簡単にとけてしまうが、完成後の受精膜は全くとけない (但しコシダカウニの受精膜は例外……石田 ('50) による) といわれている。この著名な事実はウニの卵において受精膜のできる過程を考究する場合の有力な参考事実になつてゐることは周知のとおりである。しかし、Chase ('35) によればユムシ *Urechis caupo* の卵では受精膜は勿論、卵黄膜も、どちらも 1 M 尿素液で短時間処理したのではとけない。これらを溶解させるためには 15~24 時間位の間尿素液につけておくことが必要であると。この観察から、ウニ卵の卵黄膜は完全な受精膜になつて、はじめて、尿素に対して抵抗性をもつた、いわば硬い膜になるのであるが、ユムシ卵の卵膜は、はじめから相当尿素に対して抵抗性を持つた硬い膜であると考えられている。ところが、著者が今回日本産のユムシ *Urechis unicinctus* の卵について観察した結果によると、Chase の成績とはちがつて、このユムシでは卵黄膜は言うまでもなく受精膜もまた、どちらも割合短い時間の尿素処理でとけることが知られた。ただ尿素液が弱酸性或は中性になると溶解に長い時間がかかる。また卵膜も受精膜も溶解するときには膜が二枚に離れることがあるなども見られた。本論文では、卵膜の構造や受精膜のできる過程などは一応論議の外において、観察して得られた結果だけを報告することにする。

実 験 の 方 法

主として使用した尿素液は pH 8.2 の 1 M のものである。しかし、このほかにも N/10 HCl や N/10 NaOH などでも適当な pH 値にした尿素液をも使つて、尿素作用に及ぼす pH 効果をも見た。また 5/9 M NaCl, 5/9 M KCl および 11/27 M CaCl₂ (すべて pH 8.2) などの所定量を尿素液に加えた溶液でも観察して、尿素作用と無機塩類との関係をも調べた。各尿素液 (25~50 cc) の中に卵を多く含む卵浮遊液を少量 (約 0.05~0.1 cc) 入れて、そのまま水浸レンズで観察したのであるが、これでも膜の有無 (以下有形的な膜が見えない場合を膜は溶解したという言葉で言い現わす) は明らかに判定できる。しかし、必要に応じては処理卵を蒸留水に入れて、その細胞分解の起り方を見て、膜の有無を確認した。すべての実験は室温 12°~23°C の間で行つた。実験のたびに特に恒温に保つための処置はしなかつたので長い時間を要した実験のときには 2°C ほどの室温の変動のあつた事もあつた。そのような場合には中間の室温をとつて、その温度の附近としておいた。

実 験 の 結 果

(I) 未受精卵の卵膜

(a) pH 8.2 の尿素液の場合。未受精卵を尿素液に入れると多くの卵が 3 分以内に、未受精卵の特徴的な形であるくぼみを消失して、卵は球状になる。この時卵の長径は短くなる。正常の受精のときには卵の球形化は徐々に起り、かつ一匹の雌からとつた多数の未受精卵の中には、球形化するまでに、卵の外形の変化の過程から見て 3 種類の卵が混在している (Tyler, '32; 大川, '52) けれども、この場合には大部分の未受

* 本報文の内容は 1954 年 5 月 22 日名古屋大学青島臨海実験所における、海産動物の卵における受精、卵割及び初期発生の問題に関するシンポジウムにおいて発表した。

精卵が数十秒の間にいつきに球状になつてしまう。ただ極めて、少数の未受精卵で、いわゆる第 II 型の経過、すなわち、1 度球状になつてから、再びくぼみを作り、そのあとで完全に球状になるのが見られた。卵が球状になつた後、尿素液に入れてからでは、3~6 分すると、卵膜の各所に凸凹が生じる。6~10 分すると卵黄膜は卵表から分離しはじめ、その後球形になり、受精膜様の外観を呈するようになる (Fig. I. a. b. g) その間に、或はそのあとで、早い卵では 9 分頃、おそい卵でも 20 分頃、卵膜は膨潤して、明らかに内外二

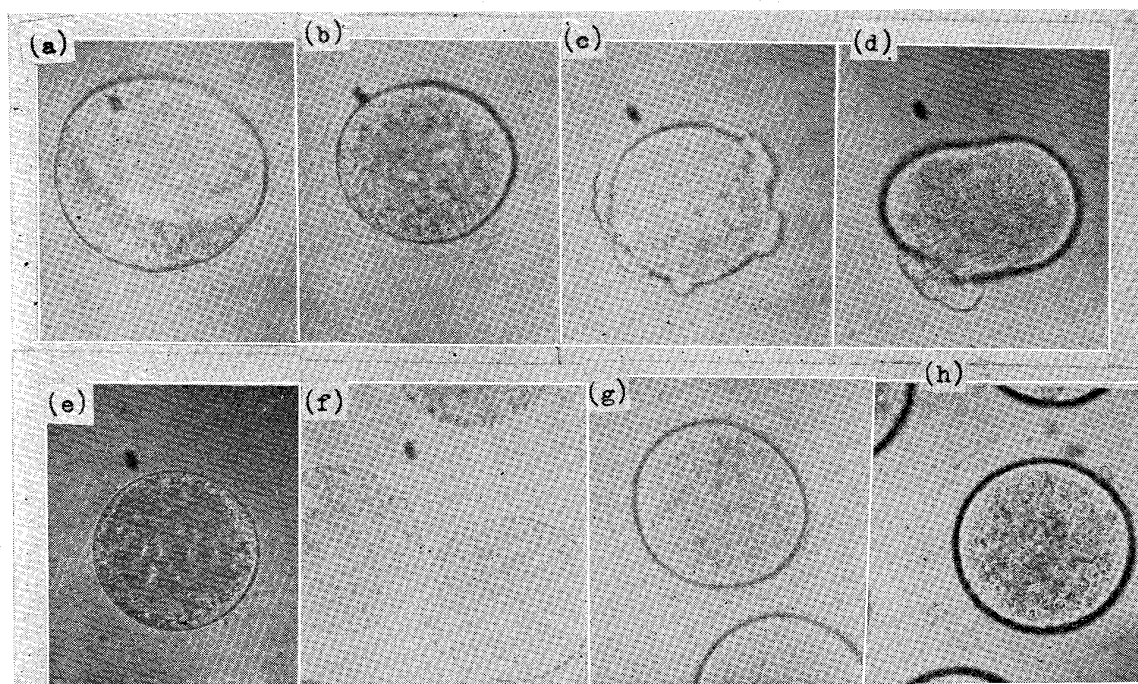


Fig. I. Changes of the vitelline membrane in 1 M urea solution (pH 8.2).

(a) After 3 min., (b) After 7 min., (c) After 16 min. Many blisters are formed on the egg surface. (d) After 25 min., (e) After 30 min., (f) After 70 min., (g) After 10 min. in another egg the vitelline membrane is divided in two thin membranes. (h) After 35 min., the outer membrane is partially dissolved.

枚の膜に分れて来る (Fig. I. c, d)。膜全体が一樣に膨れてくるのが多いのであるが、時には卵膜の各所に小さい膨みができ、それが結合して、膜全体が 2 枚に分れるものも見られた。卵膜が 2 枚に分離すると外側の膜は早いものでは 15 分頃から、おそい例では 30 分位すると、各所で切れてくる。すなわち、とけはじめる。そして結局内側の膜だけが残る (Fig. I. e, h) 残つた内側の膜も間もなく一端からとけはじめ、早いものでは 20 分で全く見えなくなる。おそい例でも 2 時間以内には全く消失して、裸出卵を得る (Fig. I. f)。このように外側の膜が各所から見えなくなり、そのあとで内側の膜が一部分からとけはじめて結局裸出卵を得るような形式 (これを仮りに“溶解型”と呼ぶ) とは違って、外側の膜の 1 ケ所が切れ、それから残つた外側の膜が徐々に内側の膜につつまれた卵からはがれ、内側の膜とほぼ同じ位の時間を費して、或は内側の膜よりおくれて消失するものもある (以下この形式を“剝離型”の溶解と呼ぶ) (Fig. I. h)。

卵膜がどのような形式で溶解するにしろ、尿素液につけてから裸出卵の出現する割合を 10 分おきに調べた結果を Table I (A). に示しておいた。表中の数字は裸出卵の出現率であるから完全な卵膜の溶解の時間関係をば現わさない。けれども卵膜の一部分の溶解の時間は示している。実際裸出卵を得ると間もなく (時には数十分おくれることもあるが) 卵膜も完全に消失するものが多いから、この数字はほぼ卵膜溶解の時間関係を現わしているものと見做してよいであろう。すなわち *Urechis unicinctus* の未受精卵の卵膜 (或は卵膜と想定される膜) は、個卵差、温度差もあるけれども大体 1 M 尿素 (pH 8.2) によつて 40 分から 2 時

Table I. Percentages of the denuded unfertilized eggs, treated with 1 M urea solution
(A) In 1 Mol. urea solution (pH 8.2)

Exptl. No.	Duration of immersion (minutes)										Room temp. (°C)
	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	
15	0	26	100								22-23
1	59	98	100								"
6	7	38	90	100							20-21
2	0	25	98	100							"
5	0	7	30	80	100						"
9	0	3	57	95	100						"
7	3	32	89	99	100						"
3	0	3	57	93	100						18-19
4	0	6	63	95	100						"
8	0	0	8	28	41	58	98	100			16-18
12	0	0	0	6	93	100					15-16
14	0	0	6	98	100						"
10	0	0	0	0	0	2	5	15	98	100	14-16
11	1	0	2	15	95	100					13-14
13	0	0	0	21	98	100					"

(B) Effect of acidity of urea solutions
Room temperature 19-20°C.

pH of 1 Mol. urea solutions	Duration of immersion (hours)							
	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0
8.2	7	100						
7.8	0	28	100					
7.4	0	0	88	100				
7.0	0	0	0	20	85	100		
6.6	0	0	0	0	0	3	56	100

間位でとけ去るということが出来る。上述のような卵膜の変化と平行して卵自身にも次のような変化が見られる。まず上述のように未受精卵は球形化する。その後早いものでは4分頃から卵表の各所から透明な小さい水泡が出てくる (Fig. I. c)。間もなく1個或は2個の水泡の中へ卵原形質の小顆粒が流れ込む。それと同時に他の水

泡は引込んで、結局1個ないし2個、或は数個の小さい水泡だけが卵表に残るようになる (Fig. I. d)。受精卵では卵表全体から細い原形質糸様の突起がでて受精膜の内面に附着しているのが見られるが、この場合には糸状の突起は残った水泡の近くの卵表だけからしかでていない。しかも突起は短く、やや太く、扛挙した卵膜には付いていない。しかし、時には全く水泡の現われない卵も見られる。このような卵では卵表の全体から短い糸状の突起がでてい。水泡が卵膜の完全になくなる頃迄卵表に見られた卵も少数あつたけれども、大多数の卵では残った水泡も再び引込んで見られなくなつた (Fig. I. e)。故に卵膜の溶解のおそい卵では一時受精卵と区別出来ない (糸状突起を別にしては) 位の外見を呈する時期がある。裸出卵もはじめは球形であるものが多いが、その後間もなく多くの裸出卵はやや細長くなつたり、2つにくびれてきたりして来る。そして早いものでは50分、頃おそいものでも数時間で崩壊する。

(b) 尿素液の pH 値を変えた場合。(a) の実験を試みたのちに pH 6.6 の尿素液で卵膜の溶解を観察したところ、溶解に pH 8.2 のときの数倍の時間を要することを知つたので pH のちがつた5種類の1M. 尿素液において裸出卵の出現率を測定した。5種類の尿素液には必ず同じ個体からの未受精卵を入れて観察

した。室温 $19^{\circ}\sim 20^{\circ}\text{C}$ での実験の 1 例の成績を Tabel I (B) に掲げておいた。この場合にも溶解の形式には溶解型もあり、剝離型もあつたが、時間の関係以外には (a) の場合とちがつた点は見られなかつた。作用時間には個卵差や温度差が見られた。pH の同じ尿素液でも室温が比較的低い時には高い時に比較して、卵膜の溶解には長い時間を要していた。例えば pH 6.6 の尿素液で、 20°C 附近では 4 時間で 100% に裸出卵を得ると同時に完全に卵膜もとけ去つて見られなかつたが、 16°C 附近では 12 時間で 100% の裸出卵を得た例もあり、23 時間するも 30% しか裸出卵を数えることの出来なかつた例もあつた。一般的にいつて、弱酸性或は中性附近で、かつ比較的低温の時には尿素の作用がのびる事が知られた。

(II) 受精膜に対する作用。

媒精後 1 時間で充分に受精膜のあがつた受精卵を pH 8.2 の 1 Mol. 尿素液に入れて観察した。受精膜も卵膜と大差ない経過で尿素液にとける (Fig. 2)。1 例での変化を見ると次のようであつた。尿素液に入れてから 20 分位すると受精膜も卵膜のように膨潤して 2 枚の膜に分離する (Fig. 2. b, c)。25 分頃外側の膜の各所に凸凹が生じ、次で内側の膜から離れて 2 枚の膜の間隔はひろがる (Fig. 2. d, e)。45 分頃外側の膜の 1 部はとけて、切れ目ができる (Fig. 2. f)。66 分頃までには溶解は外側の膜の半分位にまで及ぶ。その後外側の膜はとけながら、未受精卵での剝離型と同じ様になつて、内側の膜につつまれた受精卵からはがれ、別に透明な小さい塊になつた。(Fig. 2. i, j, k)。内側の膜は 120 分頃からとけはじめ、140 分頃で完全に消失してしまつた。小塊になつた外側の膜も徐々に小さくなり、3 時間位で全く見られなくなつた。この例は室 16°C 温附近で観察されたものであるけれども、同じ雌からの未受精卵の卵膜は 80 分で完全に溶解型で消失した。どの例でも常に受精膜が卵膜よりおくれで溶解してはいない。ほぼ同時に溶解した例も相当あつた。受精膜がとけるときにも、その溶解に要する時間には個卵差や温度差が見られた。すなわち、上の例とはちがつて室温 21°C 附近での例において 70 分で完全に卵膜も受精膜もとけはじめ、100% に裸出卵を得たものもあつた。以上のような受精膜の変化と平行して受精卵にも次のような変化が見られた。卵表の各所から小さい水泡が、ときには極体様の 1 個の大きい水泡が、生じる (Fig. 2. a~f)。しかし、間もなく、この水泡は引込んで卵表は一樣になる (Fig. 2. g)。卵表から出ている原形質糸様の突起は受精膜から離れる。 16°C 附近での観察例で、尿素液に入れてから 1 時間半~2 時間位すると 2 細胞期様に 2 つに分れ、さらに 1 時間程した後は 4 細胞期様に 4 つに分れたものも若干見られた (Fig. 2. i, j, k)。長く尿素液につけておくと細胞は崩壊する。

卵膜の場合と同じ様に弱酸性或は中性に近い尿素液でい受精膜の消失には長い時間がかかる。例えば室温 16°C 附近の 1 例では、pH 8.2 の尿素液で 2 時間 20 分 pH 7.0 のそれでは 3 時間 30 分、pH 6.6 のそれでは 7 時間で全卵が裸出した。しかし、pH 6.6 の尿素液での他の実験例 (16°C 附近) で 10 時間後にもなお 50% 程の裸出卵しか得なかつたものもあつた。やはり溶解時間には個体差、個卵差が見られた。

(III) 尿素作用に対する塩類の影響。

ウニの卵では尿素液による受精膜の形成でも、受精膜なしの卵嚢形成のときでも、ともに少量の無機塩類の附加によつて、その尿素作用が阻害ないし阻止されることが知られている (相山 '50)。 *Urechis unicinctus* の卵膜や受精膜に対する上述のような尿素の作用も無機塩類の附加によつて阻害ないし阻止されるか、どうかを見るために次の実験を行つた。1 M 尿素液 (pH 8.2) 25 cc に 5/9 M NaCl, 或は 5/9 M KCl (いずれも pH 8.2) の 1 cc, 2 cc, 3 cc, 4 cc, 5 cc を加えた 10 種類の尿素液と 1 M 尿素液 25 cc に 11/27 M CaCl_2 (pH 8.2) を 0.1 から 1.0 cc まで 0.1 cc 増しに加えた 10 種類の尿素液とに少量の浮遊液を入れて卵膜及び受精膜の溶解の有様を観察した。なお、尿素液 25 cc に蒸溜水 5 cc (pH 8.2) を加えた希釈尿素液でも観察して、希釈による尿素作用をも見て、その結果を NaCl, KCl 附加の場合と比較した。どの液の場合にも、卵膜と受精膜との間に特にちがつた成績は得られなかつたので一括して述べることにする。

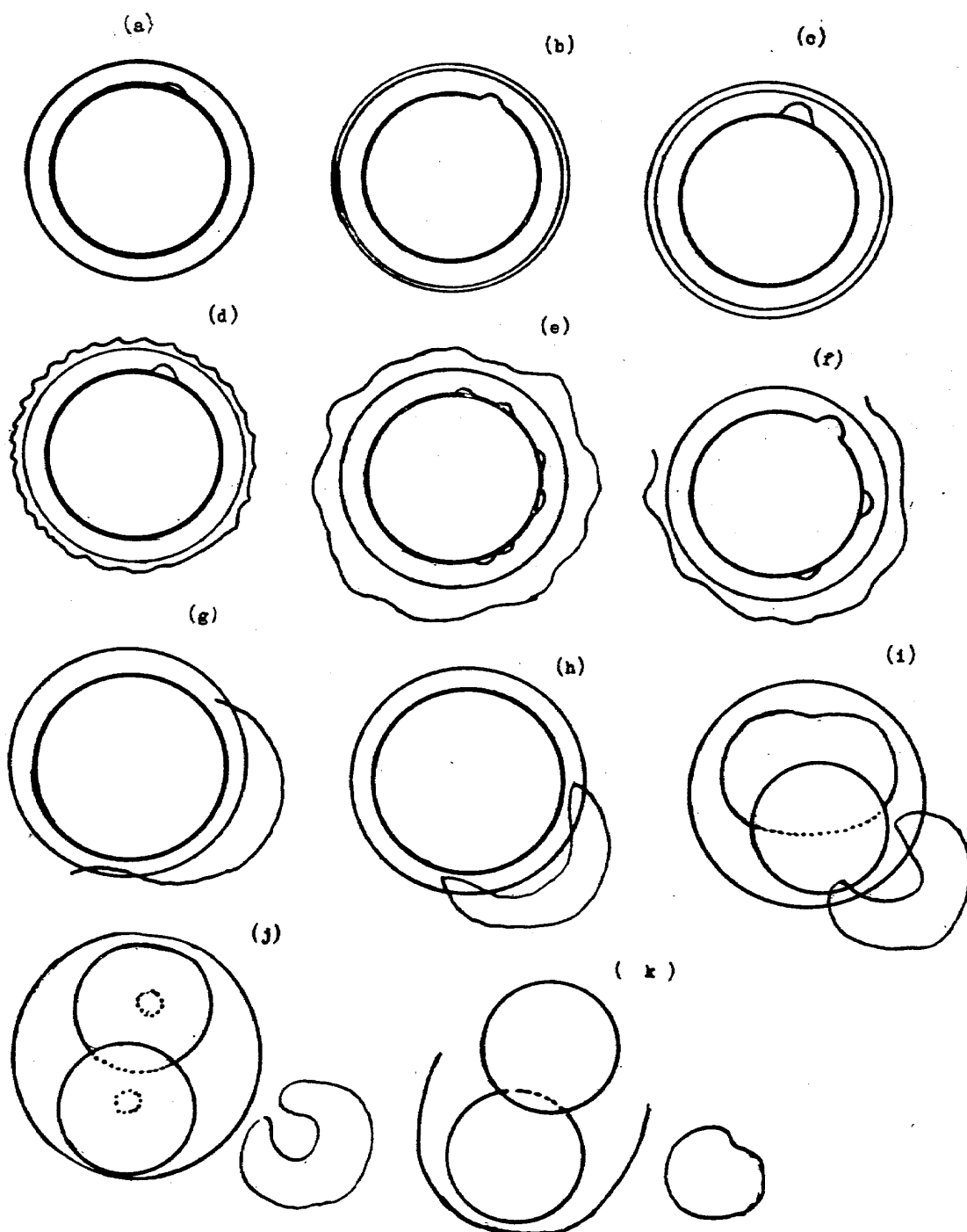


Fig. 2. Changes of the fertilization membrane in 1 M urea solution (pH 8.2). Aspects after (a) 5 min., (b) 20 min., (c) 22 min., (d) 28 min., (e) 30 min., (f) 45 min., (g) 60 min., (h) 70 min., (i) 80 min., (j) 90 min., (k) 2 hrs.

3種の無機塩類はどれも、その附加量が適当であれば尿素作用を阻害ないし阻止することが出来る。NaCl, KClの附加の場合には、阻害と認められる影響はあつたけれども、完全に溶解作用を阻止することは観察できなかった。それに反して CaCl_2 の場合には、少量で阻害が強く現われ、0.6~0.7 cc 附加ではほぼ完全に尿素の作用の阻止されているのが見られた (Table 2. A 及び B)。3種の無機塩類附加による結果を概括

的に見ると次のようになっている。塩類溶液の附加量が少量である間は阻害も見られない。(I) 及び (II) で述べたと同様に溶解型或は剝離型で卵膜も受精膜もとける。が附加量が適当に増すと阻害が現われる阻害が現われると、膜は先に述べた様にふくれて 2 枚の膜に分れないで、1 枚としか見えない膜のまま 1 部分だけが溶解し、切れて、そこから卵が脱け出てくる (Fig. 3)。(以下この様な型を“脱出型”と呼ぶ)。そして卵の脱出した残りの膜はそのまま仲々消失しない。CaCl₂ の場合には、その附加量が 0.6~0.7 cc 以上になると脱出型にもならず、卵膜も受精膜も完全なまま卵の外側に残っている。つまり尿素の作用は阻止されたものと考えられる。塩類附加の影響はまず膜の膨潤の阻害、続いて膜の溶解の阻止というように現われる。Table 2 中の A は尿素液に KCl, NaCl を加えたとき、100% に裸出卵を得るまでの時間の限界を

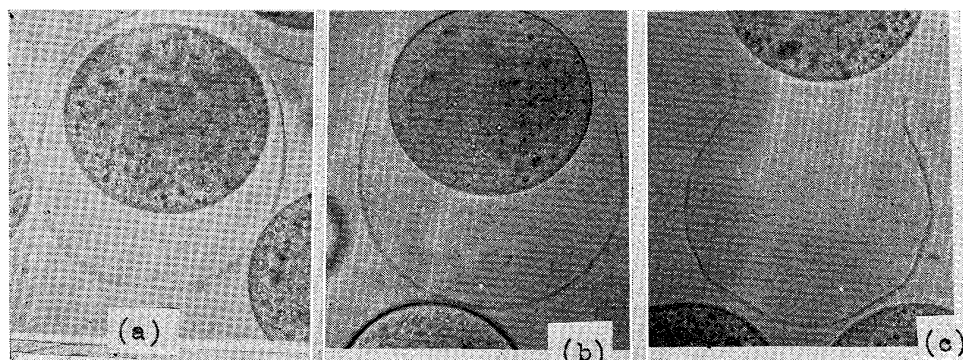


Fig. 3. Partial dissolution of the vitelline membrane in urea solution containing salt (25 cc 1 M urea sol. + 5 cc 5/9 M KCl sol.) pH 8.2, Room temp. 14~16°C. (a) After 2 hrs., (b) After 2.5 hrs. (c) After 3 hrs.

現わしたものである。この時、3 cc 以下の塩類附加では膜は溶解型或は剝離型でとけるが、3 cc 附加ではこれらの型式のものと脱出型のものとが混合して見られる。4~5 cc の塩類附加ではほとんど全卵が脱出型で裸出卵になる。しかし、この種の実験でも個体差、個卵差、温度差があつて、2 cc の塩類附加で全卵が脱出

Table 2. Effects of salts upon the activities of 1 M urea solutions (pH 8.2) concerning the membrane dissolution

(A) Effect of NaCl and KCl

Amount (cc) of salts and distilled water added to 25 cc of 1 mol. urea solution.		Time required to obtain 100 per cent denuded eggs	
		Vitelline membrane	Fertilization membrane
$\frac{5}{9}$ M. NaCl (pH 8.2)	0.0	0.7 hrs	1.5 hrs
	1.0	1.5	2.5
	2.0	2.5	3.0
	3.0	2.5	3.0
	4.0	3.0	3.5
	5.0	3.0	3.5
		(16°~17°C)	(14°~16°C)
Dist. water (pH 8.2)	5.0	2.0	3.0
		(16°~17°C)	(14°~16°C)
$\frac{5}{9}$ M. KCl (pH 8.2)	0.0	0.7	1.0
	1.0	1.0	1.5
	2.0	1.5	2.0
	3.0	2.0	2.0
	4.0	3.0	2.0
	5.0	3.0	2.0
		(14°~16°C)	(19°~20°C)
Dist. water (pH 8.2)	5.0	2.5	1.5
		(14°~19°C)	(19°~20°C)

(B) Effect of CaCl_2 .

(Figures indicate percentages of denuded eggs)

Amount (cc) of CaCl ₂ sol. ad- ded to 25 cc of 1 mol. urea solution.		Duration of immersion (hours)												Room temperature	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10.....	23	24		
Vitelline membrane	0.0	100												18°~20°C	
	0.1	0	100												
	0.2	0	88	100											
	0.3	0	10	100											
	0.4	0	0	8	85	100									
	0.5	0	0	5	40	61	90	100							
	0.6	0	0	0	0	0	3	6.....			20	24			
	0.7	0	0	0	0	0	0	0.....			0	0			
	0.8	0	0	0	0	0	0	0.....			0	0			
	0.9	0	0	0	0	0	0	0.....			0	0			
1.0	0	0	0	0	0	0	0.....			0	0				
Fertiliza- tion membrane	0.0	0	100										18°~20.5°C		
	0.1	0	6	20	100										
	0.2	0	0	24	100										
	0.3	0	1	10	100										
	0.4	0	0	0	8	100									
	0.5	0	0	0	2	50	75	91	100						
	0.6	0	0	0	0	5	25	60	87	100					
	0.7	0	0	0	0	0	0	0	0.....		8	10			
	0.8	0	0	0	0	0	0	0	0.....		2	2			
	0.9	0	0	0	0	0	0	0	0.....		0	0			
1.0	0	0	0	0	0	0	0	0.....		0	0				

型裸出卵となつたものもあり、5 cc 附加が脱型と他の形式とが混合していた例もあつた。脱出型で裸出卵ができた場合、卵から離れた膜は、卵膜でも、受精膜でも、附加塩類の量が少ないときには後に完全に消失するけれども、附加量が多くなると容易にとけなで残っている。例えば NaCl 及び KCl の 4 cc 附加の 1 例 (16°C 附近) では 28 時間後にもなお相当多数の膜が 1 部が切れたままで他の部分は残っていた。Table 2 の B は CaCl_2 附加の実験の 1 例における裸出卵の出現率である。0.4~0.7 cc 附加ではすべて脱出型で裸出卵を得たが、 NaCl , KCl の附加の場合に比べて遙に長い時間を要している。0.6~0.7 cc 附加では 24 時間しても極めて僅かの裸出卵しか見られなかつた。ウニ卵に対する尿素作用と同様に Ca^{++} は、この場合の尿素作用にも、強く阻害作用を示していることが知られる。

考 察

Chase ('35) は *Urechis caupo* の卵において、受精膜は勿論、卵膜も 1 M 尿素液には容易にとけなく、15~24 時間位尿素液に浸しておくどどちらの膜もとける事を報告している。著者の知る限りではユムシの卵膜や受精膜に対する尿素の作用に関する報文は彼の論文がただ 1 つしかない様である。しかし、*Urechis unicinctus* の卵での著者の観察によると卵膜は勿論のこと受精膜も、ともに 1 M 尿素液 (pH 8.2) に比較的短い時間 (40 分から 2 時間) のうちにとけ去る事が知られた。ただ、尿素液が弱酸性或は中性であつた

り、比較的溫度が低いときなどには膜の溶解に長い時間を要していた。平岩、川村 ('34, '35a, '35b, '36) 及び川村 ('51) の *Urechis unicinctus* の卵に就いての多くの実験成績と A. Tyler 及びその共同研究者等 ('31a, '31e, '37, その他) の *Urechis caupo* の卵での成績とを比較すると、相当違つた点がある。尿素の卵膜や受精膜に対する作用もちがつていても一応種の相違としてもうなずけるけれども、Chase の使用した尿素液の pH や実験温度等が不明であるから (彼の論文には記載がない) 連断はできない。

ウニの卵の尿素による色々な反応は尿素の非電解質としての特性によつて現われるのであるという有力な意見がある。しかし、中埜 ('52) のバフンウニの卵に対する尿素の作用に関する詳細な研究によると、尿素作用のすべてが、尿素の非電解質なる特性においてのみ現われるのではなく、尿素の蛋白質に対する特異作用の結果現われる反応もあり、卵膜の尿素による溶解はイオン附加でも影響を受けないという。尿素によるユムシの卵膜及び受精膜の溶解する現象は NaCl や KCl の附加でも或る程度影響を受けるが、特に CaCl_2 附加ではその影響は強く現われる。尿素がユムシの卵膜や受精膜をとかすときには、先ず膜の膨潤をおこし、それから部分的に、或は全面的に徐々に膜をとかす様であるけれども、無機塩類は膨潤作用を阻害し、次で溶解作用を阻止するようである。尿素によつて膜が膨潤して 2 枚の膜に分れることは卵膜の構造を考えた場合非常に興味深い点である。今回の観察では卵膜と受精膜とで、尿素液に対する反応上取りたてていう程の相違が見られなかつた。しかし、上述の様に尿素液に未受精膜を入れると間もなく、未受精卵は受精卵ないしは付活卵様に変化して卵膜も受精膜様にあがつてくるので、実は卵膜が受精膜様のものになり、眞の卵膜でなくなつたのではないかという疑問もある。何れにしろ、この点だけからユムシの受精膜形成をウニ卵の受精膜形成と比較して云云する事は出来ない。そのためにはなおデーターが不足であり、将来の研究にまたねばならない多くの点が残つている。

結 論

(1) ユムシ *Urechis unicinctus* の卵黄膜及び受精膜に対する 1 M 尿素液 (主として pH 8.2) の作用を観察した。また同時に尿素液の pH を変えた場合の作用の変化や NaCl, KCl, CaCl_2 等を加えて尿素作用に対する無機塩類の影響等をも観察した。

(2) 未受精膜の卵黄膜は 1 M 尿素液 (pH 8.2) に入れると、早いものでは 40 分、おそいものでも 2 時間以内に完全に溶解して見られなくなる。卵黄膜が溶解するときは、まず膜が膨潤して内外 2 枚の膜に分れ、そのあとで外側の膜からとけはじめ続いて内側の膜がとけるのが一般的傾向である。しかし、外側の膜が内側と同時にとけることもあり、また外側の膜の方がおくてとけることもある。

(3) 尿素液が弱アル性であると卵黄膜の消失は早くおこるが、弱酸性ないし中性 (pH 6.6~7.0) であつたり、比較的低い温度のときには溶解に長い時間を要する。

(4) 受精膜も 1 M 尿素液 (pH 8.2) 中で、ほぼ卵膜と同じ経過をへ、且つ卵膜とほぼ同じ位の時間ととける。受精膜は必ずしも卵膜より尿素に対して抵抗性が強くない。受精膜も弱酸性ないし中性の尿素液や比較的低温のときには溶解に長い時間を要する。

(5) 卵膜及び受精膜の尿素による溶解は NaCl, KCl, CaCl_2 等の無機塩類の適当量の附加によつて阻害ないしは阻止される。特に CaCl_2 は少量でも阻害ないし阻止作用を強く現わす。無機塩類を尿素液に加えるとまず膜の膨潤が阻害され、次いで膜の溶解が阻止される。

文 献

- Chase, H. Y. '35 Biol. Bull., 69, 159. 平岩馨邦・川村智治郎 '34. 科学, 4, 245. ———— '35 動雑. 47, 380. Hiraiwa, Y. K. and T. Kawamura '35 J. Sci. of the Hiroshima Univ. B. I. 4, 35. ———— '36 Biol. Bull., 70, 314. 石田寿老 '50 受精, 149. 中埜栄三 '51 実形形態学 7, 74. 大川真澄 '52 横浜市立大学紀要. Series C-3, No.4. 梶山正雄 '47 動雑 57, 79. Tyler A., '31

Biol. Bull., **60**, 187. ——— '31 *ibid.* **61**, 45. ——— '32 *ibid.* **63**, 218 Tyler, A. and H. Bauer '37 Biol. Bull., **73**, 161.

Résumé

Studies on the Fertilization in an Echiuroid,

Urechis unicinctus (von Drasche)

II. Effects of Urea upon the Vitelline and Fertilization Membranes

Masumi OHKAWA

Biological Institute, Faculty of Humanities and Sciences, Yokohama Municipal Univ.

Chase ('35) reported that in an attempt to dissolve the membranes of the *Urechis caupo* eggs, not only their fertilization membrane but also their vitelline membrane are not easily soluble in 1 M urea solution, and that both fertilization and vitelline membranes do not come to dissolve in any solutions until they are soaked in urea solution for a long time such as from 15 to 24 hours.

The author recently performed the same kind of experiments on the eggs of *Urechis unicinctus* and obtained the following results:

- (1) The vitelline membrane dissolves in 1 M urea solution (pH 8.2) for a comparatively short time, namely, from 40 minutes to 2 hours. Time is more necessary for the membrane to be dissolved when the urea solution is weak acid or neutral, or the solution is kept at lower temperature (Table 1. A & B).
- (2) The vitelline membrane, during the time of dissolution, becomes swollen and breaks up into two layers, inside and outside. In most of the eggs, then, the external thin membrane begins to dissolve and next occurs the disappearance of the internal thin membrane. However, in a considerable number of eggs, the two thin membranes completely disappear at the same time (Fig. 1).
- (3) The fertilization membrane also dissolves in 1 M urea solution (pH 8.2) through almost the same process as the vitelline membrane. The fertilization membrane has not necessarily stronger resistance against the urea solution than the vitelline membrane. The time required for dissolution is about the same (Fig. 2). Even in the dissolution of the fertilization membrane, time is more needed provided the urea solution is weak acid or neutral, or the solution is kept at lower temperature.
- (4) Dissolution of the vitelline and fertilization membranes by urea solution is either hindered or inhibited by means of adding appropriate quantities of inorganic, isotonic salt solutions as NaCl, KCl, and CaCl₂ to the urea solutions. Addition of only a small amount of CaCl₂ solution shows a strong hindrance or inhibition (Table 2).