

## ニワトリの卵殻の構造と組成について

久保田 陽子\*1 佐俣 哲郎\*2

### はじめに

生物は、鉱物種、形態、存在部位の異なる多くの生体鉱物を造る。生体鉱物は、体の支持や保護を始めとして、生体内の電解質バランス調節の働き等を持つ。生体鉱物の内でもとくにカルシウムを含む化合物が重要であるが、その大部分は炭酸カルシウム系カルシウム系カルシウム系の鉱物である。炭酸カルシウム系の生体鉱物は、コッコリスの殻体、有孔虫の殻体、サンゴの骨格や骨針、軟体動物の殻体、ウニの骨片や刺等として無脊椎動物に広く分布している。これに対してリン酸カルシウム系の生体鉱物は、骨や歯等を始めとして主に脊椎動物に広く分布している。生体鉱物と生物の系統の関係を考える上で興味深いのは腕足類で、有関節綱には炭酸カルシウムが、無関節綱には主にリン酸カルシウムが分布している。一方、卵殻と耳石は脊椎動物の持つ生体鉱物であるにもかかわらず、炭酸カルシウムからできている点で興味深い。

炭酸カルシウムには、方解石 (calcite)、アラレ石 (aragonite)、バテライト (vaterite)、非結晶性炭酸カルシウム (amorphous calcium carbonate) 等の多形が存在するが、生体鉱物として存在するのはほとんど前2者である。卵殻は、鳥類以外にも軟体動物の腹足類、軟骨魚類のサメ、は虫類のヘビ・トカゲ・カメ・ワニ、哺乳類の単孔類のカモノハシ等に出現する。軟体動物の腹足類の卵殻や卵鞘の多くは、ゼラチン状の有機物から成るが、そのうちの一部は石灰化している。Tompa (1976) は、陸生のカタツムリの *Stylommatophora* 属の65種中36種が、主に方解石からなる卵殻を持つことを明らかにした。またサメはキノン化合物で硬化された卵鞘を持つが、ここにカルシウムやマグネシウム等が含まれているため、卵鞘の鉱化が言われている (Koob & Cox, 1989)。一方、は虫類以上の分類群の卵殻では鉱物種の分化が進み、カメ類はアラレ石の、ワニやヤモリ類は方解石の卵殻を持ち、鳥類も方解石の卵殻を持つ。しかし、炭酸カルシウムの鉱物種と生物の系統との関係についての詳しい検討は未だ

行われていない。

鳥類の高度に石灰化した卵殻は、1) 抱卵中の物理的影響から卵の中味を守る 2) 乾燥気候下での卵の乾燥を防ぐ 3) 雛の骨格形成のためのカルシウム源となる 4) 卵殻表面に発達する気孔を通してガスと水の交換を行う等の多くの機能を有している。また、卵殻の厚さが比較的薄いため、低温下での抱卵中の親鳥との間での温度交換も可能である。鳥類の卵殻の色、表面の模様、形態、大きさ等は分類単位ごとに大きく異なっている。このうち、卵殻の色や表面の模様は捕食者から卵を守るために進化の過程で獲得されてきたものと考えられており、営巣場所と深い関係を持つ。また卵殻の大きさは、雌の体の大きさに比例しているが、卵重と体重の比は大きな鳥ほど小さい (斎藤, 1991)。家禽であるニワトリ (採卵鶏) の卵管は、卵巣に近い部位から順に漏斗部 (infundibulum)、膨大部 (magnum)、峡部 (isthmus)、卵殻腺部 (shell gland)、膣部 (vagina) の5部位から成り、膣部は総排出口に通じている。採卵鶏の卵管の全長は約70~75 cmで、卵がここを通過するのに約24~27時間を要する。卵の排卵から放卵までの過程は以下のように要約できる。卵巣の卵胞から排卵された卵黄は、漏斗部先端のぜん動運動によって受け取られて膨大部に到達し、そこで卵黄の周りに卵白が形成される。さらに峡部で、卵黄と卵白の周りに卵殻膜が形成された後、子宮部 (卵殻腺部) で卵殻が形成される (古賀, 1988)。子宮部の分泌腺 (卵殻腺) は、カルシウム塩を高濃度で含む分泌液を出し、この分泌液から炭酸カルシウムが析出して卵殻膜上で結晶化したものが卵殻となる。卵殻腺部での卵の滞留時間は約18~22時間とされ、滞留時間に比例して卵殻が厚くなると言われている。卵殻の結晶化の状態は卵殻の形成に要した時間に関係するが、沈積するカルシウムの量は、最初の3~5時間は少なく、その後急激に増加した後、一定になるとされている (田中ら, 1982)。一般に連産の長い鶏は短いものよりも卵管内の滞留時間が短い (佐藤, 1980)。卵殻腺部で分泌

Yoko Kubota and Tetsuro Samata: The structure and composition of the hen's eggshell.

\*1麻布大学獣医学研究科, 動物応用科学科

\*2麻布大学生物科学総合研究所

されるカルシウムは、血液中のカルシウムが移行したものであるが、その結晶化の仕組みについては不明である。このカルシウムは、飼料から吸収したものと骨(骨髄骨)から移行したものである。産卵鶏は、飼料中のカルシウムを腸管から吸収して骨に貯蔵し、必要に応じて骨から血液中に放出する。腸管でのカルシウムの吸収にはビタミンDが関与している。卵殻の形成された卵は、膣部で放卵されやすいように粘液が付着した後に放卵される(江口, 1984)。

鳥類の卵は、卵黄部、卵白部、卵殻部の3つの部分に分けられ、卵殻部はさらに、卵殻膜(shell membrane)、卵殻(egg shell)、クチクラ(cuticle)から構成される。佐藤(1980)による卵殻部の横断面の模式図を図1に示す。卵殻部の各部位について以下に概説する。卵殻膜の厚さは約70 $\mu\text{m}$ で、外卵殻膜(約50~70 $\mu\text{m}$ )と内卵殻膜(約15~17 $\mu\text{m}$ )に2分される。内卵殻膜は卵白を包み、それに続く外卵殻膜は卵殻の乳頭核と接している。このため、卵殻膜の組織の形態が卵殻の構造に大きな影響を与える。卵殻膜の特性については、Candlish(1972)が総括している。卵殻はおもに炭酸カルシウムからなり、厚さは約200~370 $\mu\text{m}$ であるが、ニワトリの品種、月齢、飼育条件、飼育季節により変化する。無機成分やビタミンの不足によって卵殻が薄くなるが、一般に冬期には厚くなり、夏期には薄くなるとされている(今井ら, 1989)。卵殻は、乳頭層(mamillary layer)とスポンジ層(spongy layer)から成るが両層ははっきりとは区別できない。前者はさらに、乳頭核(mamillary core)と乳頭節(mamillary knob)に2分できる。卵殻部では、外卵殻膜と乳頭核が接しており、この乳頭核から結晶が放射状に成長して乳頭層を形成する。石灰化が進むと隣接した乳頭層同士が結合してスポンジ層を形成するに至る。スポンジ層には、無数の気孔が貫通しており、気孔を通してガスの交換や水分の調節が行われている。気孔の数は、鈍端部に多く、鋭端部には少ない。卵殻の98%は無機物であり、残りの2%が有機物である。無機物の内の95%以上は炭酸カルシウムで、その他、微量の炭酸マグネシウムを含むとされている。有機物は有機基質として存在し、タンパク質や糖等を含む(Cooke & Balch, 1970)。クチクラは、膣部で卵殻表面に付着した粘液が乾燥して不定形の薄膜になったもので、主に糖タンパク質から構成される。クチクラの役目は、卵殻の気孔部を閉管して、外部からの微生物の卵内への混入や水分の流出を防ぐとともにガス交換の調節も行っている。

卵殻の形成機構の研究は、ニワトリの雌の生体を対象とした、畜産学的あるいは生理学的なものが主である。この中には、餌料の組成の違いによる卵殻形成の

変化(古田ら, 1964; 三得ら, 1973)や、子宮部に滞留している卵を経時的に摘出して卵殻の形成過程を調べたもの(Baumgartner, 1978)、さらに卵核形成の進行に伴う体内無機質の経時変化の研究(Watanabe *et al.*, 1992)等もある。一方で、卵殻を生体鉱物の一つと考え、その形成機構を追及するというアプローチが考えられる。生体鉱物の形成過程は、細胞内の遺伝子によって制御され、有機基質をなかだちとした生物学的にきわめて厳密なものであるが、その詳細については未だ不明な点が多い。その中でも、卵殻の形成機構に関する情報はきわめて少ない。ニワトリの雌の体内での卵殻腺液の分泌と有機基質の合成阻害が卵殻形成の阻害につながることは知られており(Roland, 1982)、卵殻形成における有機基質の重要性がうかがえるものの、有機基質に関する情報は少ない。他の生物の生体鉱物中の有機基質では、その構造解析が進み、石灰化におけるその機能にまで言及している研究もあるが、卵殻中の有機基質については、可溶性有機基質の分画や成分分析が行われているにすぎず(Bacher *et al.*, 1961; Cortivo, 1982; Roland, 1982)、しかもその分析結果は報告ごとにばらつきが大きい。

このため筆者らは、鳥類の卵殻中に含まれる有機基質の構造と機能を明らかにするための第一段階として、卵殻中の有機基質の電気泳動を行い、基質成分の分子量とアミノ酸組成を明らかにすることを試みた。炭酸カルシウムからなる卵殻の形成機構を解明することは、他の炭酸カルシウム系の生体鉱物の形成機構の解明の一助となると思われる。また、卵殻の形成機構の解明は、卵殻の硬化の問題にもつながる。卵殻の硬化の対策が立てられれば、卵の運搬中の破損による損失や産卵時の落下による損失の減少につながり、その経済上の意義も大きい。今後有機基質の存在形態や含有成分の結晶誘導能等の機能を解明することを含めて、卵殻の形成機構の分子レベルでの解明に結び付けたい。さ

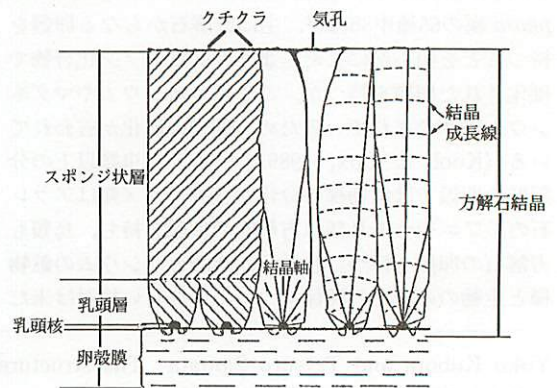


図1 鳥類の卵殻の横断面の模式図(佐藤, 1980)

らに、卵殻の構造や組成の分析をより多くの鳥類の系統で行うことによって、鳥類の系統や進化の関係にまで踏み込んだ議論が可能となるであろう。

#### 分析試料

本分析には、ニワトリ、*Gallus domesticus* (白色レグホーン) の卵殻を用いた。この試料は、麻布大学獣医学部動物応用学科、家畜行動管理学研究室よりご提供いただいた。

#### 分析方法

##### 走査型電子顕微鏡 (SEM) とエネルギー分散型 X 線分析 (EDX)

卵殻断片は、表面を DW で十分に洗浄後、乾燥してから SEM 観察用の試料台に両面テープで貼り付けた。この試料をイオンスパッタリング (JFC-1100E, 日本電子) で金蒸着してから、JSM-5400LV 走査型電子顕微鏡 (日本電子) で観察した。また、卵殻中の元素分析には、JED-2001 エネルギー分散型 X 線分析装置 (日本電子) を用いた。

##### X 線回折分析法

卵殻の主成分である炭酸カルシウムの結晶形を決定するために、卵殻粉末を JDX-8010 X 線回折分析計 (日本電子) で分析した。

##### 有機基質の抽出方法

ニワトリの新鮮な卵殻から中味を除去し、殻体外表面に残存するクチクラ層と殻体内表面に付着する卵殻膜を注意深く剥ぎとった後、1% NaClO に 2 分間浸して有機物残査を完全に除去した。その後、DW で洗浄、乾燥、粉碎してから、10% EDTA (pH7.8) 中で脱灰した。脱灰液は、透析チューブ内で DW に対して十分に透析した。透析後の試料は、エバポレーターで一定量まで濃縮後、遠心分離して (12000G, 20 分間)、水可溶性基質と水不溶性基質とに分け、凍結乾燥して分析用の試料とした。

##### 電気泳動法

電気泳動は、Laemmli (1979) の方法に基づいて SDS-PAGE で行った。卵殻中から抽出した有機基質 0.5mg に、100 $\mu$ l のサンプルバッファを加え、100 $^{\circ}$ C で 1 分間加熱したものを泳動用の試料とした。泳動用のゲルには、レディーメイドの濃度勾配ミニスラブゲル (Pagel, NPG-1020L, アトー) を用い、20mA で約 90 分間泳動した。ゲルの染色はクマジーブリリアントブルー染色 (C.B.B.)、銀染色 (Silver stain II Kit Wako, 和光純薬)、ステインズオール染色 (S.A.) の 3 通りの方法で行った。染色された各バンドの分子量の推定には、電気泳動用標準タンパク質 (Molecular Weight Marker, Low Range, Bio-Rad Lab.) を用いた。

#### アミノ酸組成分析法

本研究では、SDS-PAGE 後の各タンパク質成分のアミノ酸組成をダブス法により分析した。ダブス法でのアミノ酸組成分析には、1) ゲルから PVDF 膜へのタンパク質成分の転写 2) 膜の加水分解 3) 加水分解後の膜からのアミノ酸の抽出 4) アミノ酸のダブシル化の前処理操作が必要である。

泳動後のゲルは、ウェスタンブロット用転写装置 (Poly Brod, Transfer System Model SBD-1000, American Bionetics Inc.) を用いて PVDF 膜 (Transblot, PVDF Membrane, Bio Rad Lab.) に転写した。転写は、ゲル面積 1cm<sup>2</sup> 当たり 2mA の定電流で、約 90 分間行った。転写後の PVDF 膜は再蒸留水で十分に洗浄後、C.B.B. で染色し、脱色後乾燥した。この乾燥した膜からタンパク質のバンドを切り出し、小バイアルに入れ、この小バイアルをさらに 6NHCl の入ったアンプル管中に入れて、110 $^{\circ}$ C, 24 時間気相加水分解した。加水分解試料から 50% メタノール中でアミノ酸を抽出し、抽出液を減圧乾固してからダブシル化を行った。ダブシル化試料はアミノ酸自動分析器 (System Gold, Beckman) で分析した。

#### 結果と討論

##### SEM 観察

SEM による横断面の観察から、ニワトリの卵殻は、従来から言われているように乳頭層とスポンジ層の典型的な 2 層構造をしていることが明らかになった (図版 1-1)。ニワトリの卵殻の厚さは平均約 300 $\mu$ m であり、乳頭層の高さは約 80~120 $\mu$ m、横幅は約 80 $\mu$ m であり、卵殻全体における乳頭層の高さの割合は約 1/3, 75 であった。一方、乳頭層はさらに結晶の主部をなす乳頭節と、結晶成長の核になる乳頭核からなるとされているが、図版 1-1 のブロック状部分が乳頭節に相当し、乳頭節下部の基底外卵殻膜と接した部分に乳頭核が存在する。乳頭核の形状をより詳しく検討するために、外卵殻膜を除去した試料で卵殻を内側から観察した (図版 1-2)。ここでは、乳頭節先端部分に窪みが存在するが、この部分が外卵殻膜と連結していた乳頭核のあった部位であると考えられる。一方、外卵殻膜最上部の乳頭節に接している部分をはぎとり、卵殻外側から観察すると、不定形の盛り上がった部分の存在が確認された (図版 1-3)。この乳頭核部分が、図版 1-2 の凹部にはまりこんで乳頭層ができあがっていると考えられる。乳頭節は不定形の小単位から形成されているが、小単位同士の連結状態は種ごとに大きく異なっている。ニワトリでは、一つ一つの単位が互いに離れて、個々独立して存在する特徴を持っていた。

一方、卵殻表面には、気孔の開口部として無数の亀

裂の存在が認められた。ニワトリの生息環境は比較的穏やかであり、外気温によって卵内部が乾燥する恐れがないため、無数の亀裂が存在するこの様な卵でも十分に水分の蒸発が防げるものと考えられる。これがエミウやレアの様に、外気温がかなり高い乾燥気候に生息する種類では、卵殻表面の黒斑部にのみ気孔開口部が存在して、水分蒸発を防ぎながら必要最小限のガス交換を可能にしていると思われる。また、ニワトリの卵殻がダチョウ類等の卵殻よりも薄くて弱いことは、卵殻表面の亀裂の存在や卵殻中でのスポンジ層の割合が低いこと、さらには、乳頭層の構造が脆弱であること等の構造に表れている。

#### EDX 分析

ニワトリの卵殻のスポンジ層のEDX分析から、卵殻を構成する主な元素はカルシウムであり、その他に、微量のマグネシウム、リン、硫黄、アルミニウムなどが含まれていることがわかった。カルシウム以外の元素の中で、特にマグネシウムは卵殻の強度と関係があると言われており(佐藤, 1980)、卵殻中での分布も均一ではない。今回の分析でも、マグネシウムは卵殻表面—内面—中心部の順で少なくなる傾向が認められた。このような分布の不均一性の意味について、マグネシウム含量と卵殻強度との関係を考える上で、今後検討を加える必要がある。

#### X線回折分析

ニワトリの卵殻はX線回折分析から、炭酸カルシウムの方解石でできていることが判った。しかし、卵殻

試料と方解石の標準試料とでは、各ピークの位置に若干の違いがあり、また、卵殻試料の47.2付近に、標準試料にはない小さなピークが出現するなどの相違も認められた。これは、卵殻を構成する方解石が標準のものやや異なる結晶構造を持っていることを示しており、今後のより詳細な検討が必要である。また、ニワトリの卵殻は乳頭層とスポンジ層の2層から構成されているため、この2層を分離して別々に分析することでより詳細な情報が得られると思われる。

#### SDS-PAGE

SDS-PAGEによる泳動結果について図2に示す。C.B.B.染色では、合計で12本のバンドが確認できた。それぞれの推定分子量は、大きい順に、75kD (C1), 62kD (C2), 60kD (C3), 45kD (C4), 38kD (C5), 32kD (C6), 30kD (C7), 25kD (C8), 23kD (C9), 21kD (C10), 17kD (C11), 14kD (C12)であった。このうち最も濃く染色されたメインバンドは、C11の17kDのバンドであった。銀染色では、C.B.B.では十分に染まらないいくつかの付加的なバンドの存在も明らかにできた。それらは、58kD (S1), 46kD (S2), 40kD (S3), 27kD (S4), 12kD (S5)であった。一方、S.A.による染色では、可視バンド数はC.B.B.染色の場合よりも少なかったものの、赤と青の2系統の色に染色されるバンドが区別できた。このうち7本が青色に染色された。それらは高分子量から順に、75-62kD付近、45kD, 38kD, 32kD, 17kD, 14kD, 12kDであった。このうち、高分子量の75-62kD付近のバンドが最も

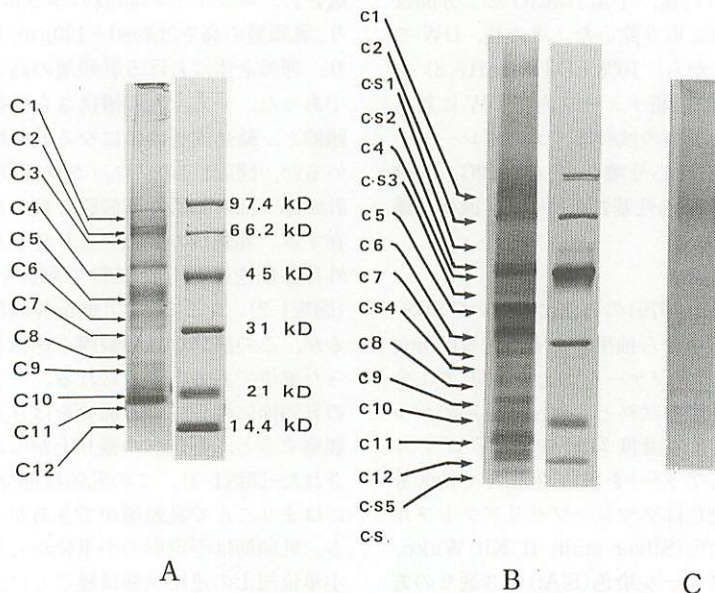


図2 ニワトリの卵殻中の可溶性有機基質のSDS-PAGE  
A. C.B.B.染色, B. 銀染色, C. S.A. 染色

濃く染色された。

今回の分析によって、ニワトリの卵殻中の可溶性基質成分が少なくとも10以上の多くの成分から構成されていることが判った。またこれらの成分が、75kDから12kDの間の非常に広い範囲の分子量を持つことも明らかにできた。これらの成分の染色性は、メインバンドを含め、各バンド間でそれほど大きな違いがなく、各成分の基質中での含有量が比較的均一であることが想像される。これに対して、久保田(1993)の行ったエミウとレアの卵殻中の可溶性基質成分のSDS-

PAGEでは、可視バンド数が少ない上に、14kDから17kD付近のメインバンドが他のバンドよりはるかに濃く染色された。このことは、卵殻の種類ごとに異なる基質成分を含んでいることを示唆しており、全ての卵殻中に、殻体形成に関与するもの普遍的な成分が存在するのかどうかを確認することが今後の課題となる。今回の分析では、ゲルのS.A.染色を試みた。この染色法では、リン酸基を持つタンパク質とCaイオンと結合するタンパク質が特異的に青色に染色されるとされている(Campbell *et al.*, 1983)。ニワトリの

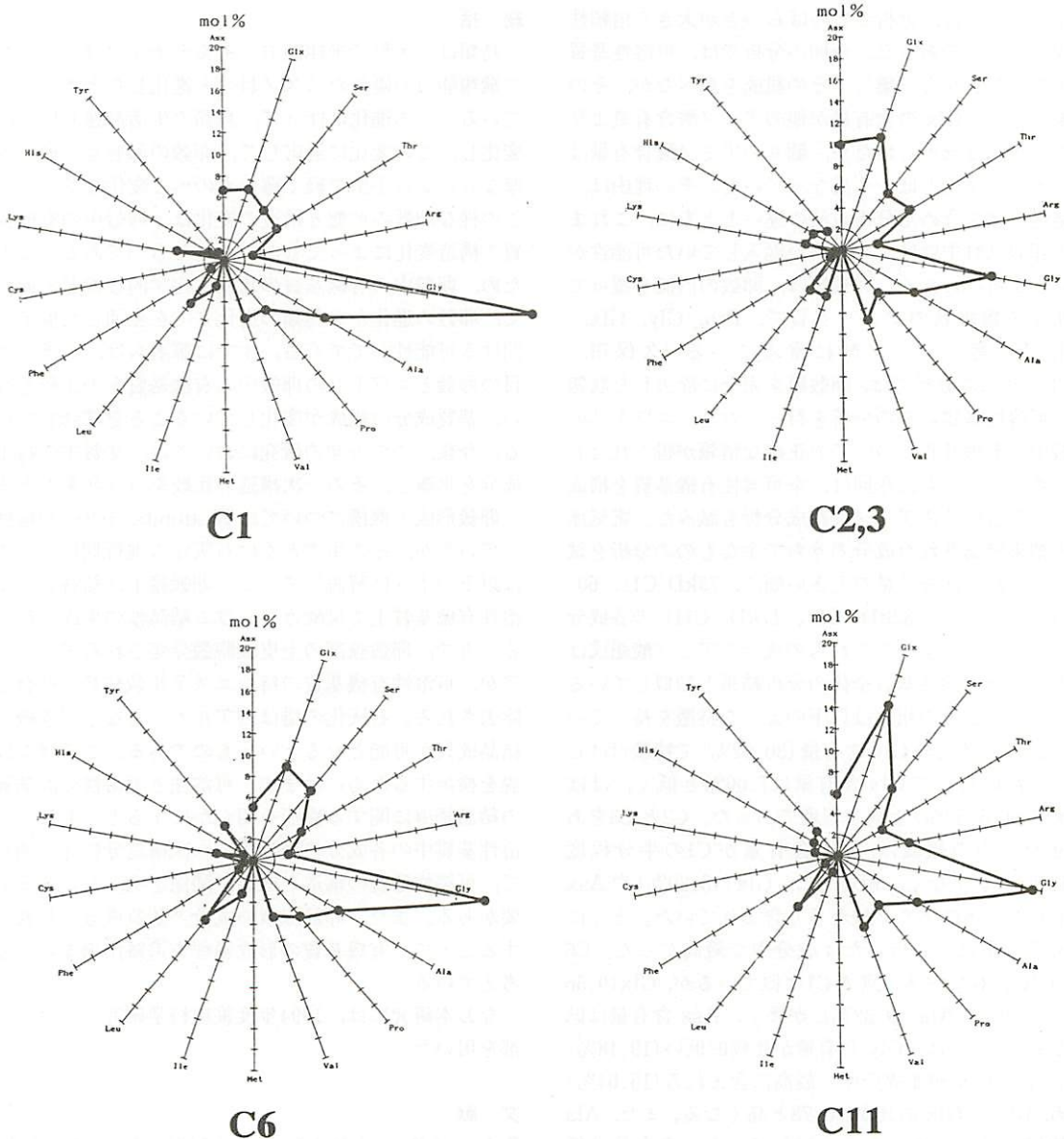


図3 ニワトリの卵殻中の可溶性有機基質の主要4成分の氨基酸組成

基質成分として青色に染色されたものがあつたことは、この成分中に Ca イオン結合タンパク質が存在する可能性を暗示している。

#### アミノ酸組成分析

ニワトリの卵殻中の可溶性有機基質のアミノ酸組成は、これまでもいくつか報告されている (Cortivo *et al.*, 1982; Somiya *et al.*, 1990)。しかし、その全てが、可溶性基質と不溶性基質とを分離しない、全基質についての分析結果である。これまでの結果では、Gly が最も多く、次いで Glx が多いという特徴を持っていたが、Gly と Glx の含有量及びそれ以外のアミノ酸含有量については、分析ごとのばらつきが大きく信頼性に欠けるものであつた。今回の分析では、可溶性基質を不溶性基質から分離してその組成を調べたが、その結果、Gly と Glx の含有量が他のアミノ酸含有量よりも高い傾向は認められたが、個々のアミノ酸含有量はこれまでの報告とはやや異なつていた。その理由は、前処理方法を含めた分析方法の違いとともに、これまでの卵殻試料中には、卵殻膜が混入していた可能性が高い点があげられる。卵殻膜は、卵殻の内側を覆つて分布する繊維状のタンパク質で、Pro, Gly, Glx, Val, Asx 等のアミノ酸に富んでいる (久保田, 1993)。今回の分析では、卵殻膜を完全に除去した状態で、可溶性基質のみの分析を行つており、ニワトリの卵殻中の有機基質についての正確な情報が得られたものとする。さらに今回は、全可溶性有機基質を構成している各成分のアミノ酸組成分析も試みた。電気泳動の結果確認された成分のうちで主なものの分析を試みた。それらは分子量の大きい順に、75kD (C1), 60-62kD (C2+C3), 32kD (C6), 17kD (C11) の各成分である。図 3 に示したこれらの成分のアミノ酸組成は、基本的には可溶性基質全体の分析結果と類似しているものの、各成分の組成は以下のような特徴を持っていた。C1 は、多量の Gly 含有量 (30.62%) で特徴付けられ、これに対して Glx 含有量は 7.00% と低く、ほぼ Asx の値 (6.50%) と同じ程度であつた。C2 と C3 をあわせたものの組成は、Gly 含有量が C1 の半分程度 (16.85%) しかなく、相対的に、Glx (13.20%) や Asx (10.18%) 等のアミノ酸が多く含まれていた。とくに Asx 含有量は、分析した 4 成分中で最高だつた。C6 は、Gly 含有量が多い点で C1 に似ているが、Glx (9.56%) に次いで Ala (9.32%) が多く、Asx 含有量は低くなる。C11 では、Gly 含有量が比較的低い (19.18%) のに対し、Glx が 4 成分中で最高に含まれる (15.04%) ため、Gly と Glx の比が、0.78 と高くなる。また、Ala も比較的多く含まれるのに対して、Asx 含有量は低い。このように、4 成分を通じて Gly が最も多く、次いで Glx が多く含まれるが、Gly と Glx の含有量の比

は各成分ごとにばらつきがあり、また、高分子量成分から低分子量成分に向かつて、Asx が減り、Ala が増える傾向が認められた。

以上の卵殻中の可溶性有機基質のアミノ酸組成は、炭酸カルシウム系の硬組織中では、サンゴや軟体動物等の無脊椎動物の基質成分に特有の Asx を中心とした酸性アミノ酸に富む組成とは異なり、ウニ骨針の基質の組成 (Benson *et al.*, 1986) や魚類の耳石の基質の組成 (Samata & Takahashi, M.S.) に近いものである。

#### 総括

鳥類は、大形で飛翔能力の劣るダチョウ目か、小型で飛翔能力の優れたスズメ目へと進化したと考えられている。この進化に伴つて、鳥類の生活形態も様々に変化し、この変化に適応して、卵殻の形態も大形で厚いものから小型で軽く薄いものへと変化してきた。このような卵殻の形態と構造の変化は、卵殻中の有機基質の構造変化によつてもたらされたものである。このため、卵殻中の有機基質の比較生化学的な検討を通じて、卵殻の進化から鳥類の進化までを見通した展望が開ける可能性がでてくる。すでに筆者らは、ダチョウ目の卵殻とニワトリの卵殻中の有機基質との比較を行い、基質成分の組成が変化していることを確認している。今後、この方向の研究においては、基質中の特定成分を単離し、その一次構造の比較を行う必要がある。

卵殻形成の機構については Krampitz (1988) が総括しているが、その中でとくに石灰化の進行期については以下のように解説している。卵殻膜上に結合した不溶性有機基質上で炭酸カルシウム結晶核の生成が起こる一方で、卵殻腺部の上皮細胞分泌されるアンモニアが、可溶性有機基質の持つエステル硫酸基と結合し除去される。石灰化の場合は弱アルカリとなり引き続き結晶成長が可能となるというものである。このような仮説を検証するためにはまず、可溶性と不溶性の両基質の結晶誘導に関する機能を明らかにするとともに、可溶性基質中の各成分の糖分析、一次構造分析等を通じて、可溶性基質の構造と機能の関係を明らかにする必要がある。また、卵殻腺液の成分と基質成分の比較をすることで、有機基質の形成過程を追跡出来ないかと考えている。

なお本研究には、1994年度笹川科学研究助成金の一部を用いた。

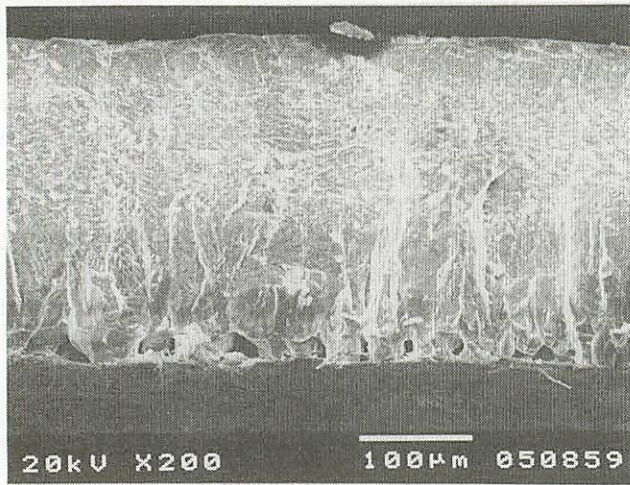
#### 文献

Baker, J.R. and Balch, D.A. (1961) A study of the organic material of hen's egg shell. *The Biochem. Jour.*, 82, 352-361.

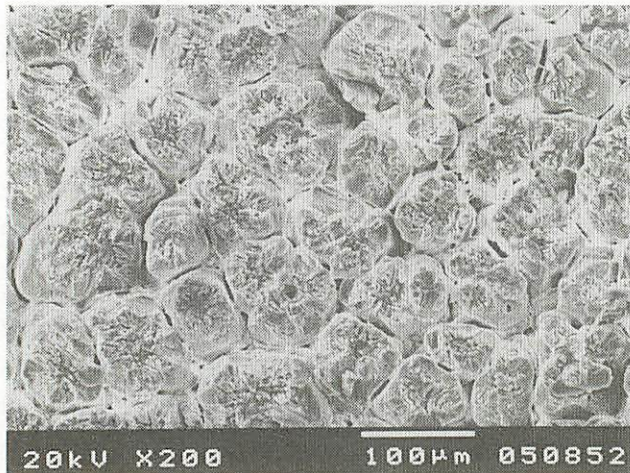
- Baumgartner, S.G. (1978) Examination of early events of shell formation in *Gallus domesticus*. M. S. Thesis, Pennsylvania State Univ.
- Benson, S.C., Benson, N.C., and Wilt, F. (1986) The organic matrix of the skeletal spicule of sea urchin embryos. *Jour. Cell Biol.*, 102, 1878-1886.
- Campbell, K.P., MacLennan, D.H. and Jorgensen, A. O. (1983) Staining of the Ca<sup>2+</sup>-binding proteins, calsequestrin, calmodulin, troponin C and S-100, with the cationic carbocyanine dye "Stainsall". *Jour. Biol. Chem.*, 258(18), 11267-11273.
- Candlish, J.K. (1970) The outer membrane of the avian egg shell as a reticular structure. *British Poultry Sci.*, 11, 419-422.
- Cooke, A.S. and Balch, D.A. (1970) The distribution and carbohydrate composition of the organic matrix in hen egg shell. *British Poultry Sci.*, 11, 353-365.
- Cortivo, R., Castellani, I., Martelli, M., Michelotto, G. and Asatangelo, G. (1982) Chemical characterization of the hen eggshell matrix isolation of an alkaline-resistant peptide. *Jour. Chromato.*, 237, 127-165.
- 江口郁夫 (1984) 卵の形成と産卵. 採卵養鶏概論, (株) 鶏の研究社, 東京, pp. 67-77.
- 古田賢治・中沢 稔・窪田大作 (1964) 産卵鶏のカルシウム・リン要求量に関する研究 II カルシウムおよびリン給与量が卵殻の質におよぼす影響. 日本家禽学会誌, 1, 47-53.
- 今井忠平・南羽悦悟 (1989) 鶏卵の成分と栄養. 卵の知識, 幸書房, 東京, pp. 31-47.
- 小林桂助 (1967) 卵. 標準原色図鑑全集, 鳥, 保育社, 大阪, pp. 113-130.
- Koob, T.J. and Cox, D.L. (1989) Accumulation of calcium and magnesium in *Raja erinacea* egg capsule during formation and after oviposition. *Bull. Mount Desert Island Biol. Lab.*, 124-125.
- 古河 脩 (1988) 家禽の繁殖. 新家畜繁殖学, 朝倉書店, 東京, pp. 183-188.
- Krampitz, G. and Graster, G. (1988) Molecular mechanism of biomineralization in the formation of calcified shells. *Angewandte Chemie.*, 27(9), 1145-1156.
- 久保田陽子 (1993) 卵殻中に含まれる有機基質の生化学的研究. 麻布大学獣医学部卒業論文.
- Laemmli, U.K. (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-687.
- 三徳四十四・目加田博行・奥村純市・横田浩巨 (1973) 産卵鶏の夏期の卵殻質におよぼす各種カルシウム源の影響. 日本家禽学会誌, 10, 232-237.
- Roland, M.L.Jr. (1982) Biochemistry of the organic matrix of the eggshell. *Poultry Sci.*, 61, 2040-2047.
- 齊藤隆史 (1991) 鳥の卵. 週刊朝日百科, 動物たちの地球, 朝日新聞社, 東京, pp. 94-96.
- 佐藤泰 (1980) 食卵の科学と利用, 地球社, 東京, pp. 1-392.
- Somiya, H., Meyer-Rochow, V.B. and Samata, T. (1991) The water-soluble organic matrix in the egg shells of the extinct Moa and extant Rhea. In; Suga, S. & Nakahara, H. (eds.), *Mechanism and phylogeny of mineralization of biological systems*. Springer Verlag, Tokyo, pp. 63-67.
- 田中克英・古賀 脩 (1982) 産卵機能. 田先和夫・山田行雄・森田琢磨・田中克英編, 新版養鶏ハンドブック, 養鶏社, 東京.
- Tompa, A.S. (1976) A comparative study of the ultrastructure and mineralogy of calcified land snail eggs (Pulmonata: Sdytommataphora). *J. Morph.* 150, 861-888.

## Abstract

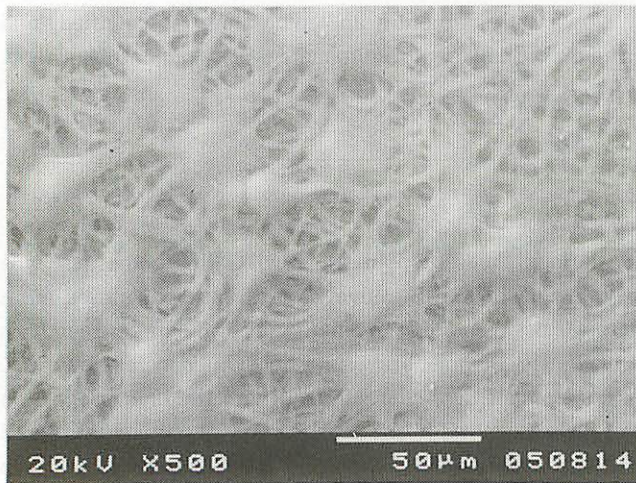
Water soluble organic matrix, isolated from the egg shells of domestic fowl *Gallus domesticus*, was electrophoresed by SDS-PAGE. The following staining with C.B.B., Silver and Stainsall identified more than 12 bands in the wide molecular weight range between 75kD and 12kD. The amino acid analysis was carried out on the 4 main bands, blotted on the PVDF membrane and dabsylated before analysis. Although they possessed a fundamentally the same composition, characterized with the high proportion of Gly, Glx, Asx and Ala, a slight difference was also recognized in the proportion of Asx and Ala. Based on these biochemical analyses and additional analyses with SEM, EDS and XDA, we took a first step toward the understanding of the mechanism of egg shell formation.



1



2



3

#### 図版 1

- 1 ; ニワトリの卵殻の横断面  
 上半部の層状構造がスポンジ状層に、下半部のブロック状構造が乳頭節に相当する。
- 2 ; ニワトリの卵殻の乳頭節  
 乳頭節先端部分の卵殻内側からの写真。乳頭節結晶塊の中心部の凹部に乳頭核がはまりこんでいたが、外卵殻膜を除去した時に外れた。
- 3 ; ニワトリの卵殻の外卵殻膜と乳頭核網状構造部分が外卵殻膜に、盛り上がって見える部分が乳頭核に相当する。この乳頭核が、写真2の凹部にはまりこむ。