家蚕の卵及び複眼の色素に関する遺伝生化学的研究*

川瀬茂實・有賀久雄

東京大学農学部養蚕学教室

昭和 28 年 11 月 28 日受理

UDC 595. 787 : 575. 1

緒 言

家蚕の卵及び複眼の色素形成に関する遺伝生化学的研究は既に数多く報告されており(吉川, '43, '48, '51, '52, '53, 平田, '50, その他), また *Drosophila*, *Ephesia* 等でも多くの成果が収められており(Becker '39, Ephrussi '44 その他), これらの色素が tryptophane から kynurenine, 3-hydroxykynurenine を経て形成されることが判明している. しかしながら, これらの昆虫間の色素の異同, 或は 3-hydroxykynurenine から色素になるまでの過程等については現在のところ殆んど判明していない. 近時 melanin 色素と tryptophane 系色素並びに pterin 系色素との関連が問題となっており, それらの点からも卵及び複眼色素の究明は重要と考えられる.

著者等は卵, 複眼色素抽出液を蟻酸を溶媒として paper chromatography で展開すると, その構成色素が鮮明に分離することを見出し, それによつて家蚕の数種の卵, 眼色突然変異並びに 2, 3 の野蚕を供試して, これらの色素の異同, 分布をしらべると共に, またその再抽出液について, Beckmann の spectrophotometer によつて吸収曲線をしらべ, 化学的性質についても調査し, 突然変異間の相違, 色素の形成過程等について若干の知見を得たのでここに報告する. 本稿を草するにあたり, 猩々蠅を御分譲下さった都立大学, 森脇教授に感謝する. なお本研究の一部は文部省の科学研究費によつて行つたものである.

材料及び方法

家蚕の卵色, 眼色突然変異については, 当教室保存の $w_1(S)$, w_2 , $w_2(T)$, w_3 , w_3w^{α} , w^{α} , $od(T)$, $od(K)$, スペイン(褐卵)及び *re* 等を, 正常系としては支 110 号, 支 115 号等を用いた. *Drosophila* は野生型並びに *bw* を, 野蚕として天蚕, 柞蚕, 橘蚕, 樟蚕及びヒマ蚕等を供試した. 色素の抽出には, Becker, Ephrussi 等の使用した塩酸メタノール(A.M.A.)及び塩酸エタノール(A.E.A.)を用いたが主として前者を使用した. 即ち卵, 複眼共に蒸留水でよく洗滌後磨碎し, メタノールで数回遠心分離を繰返して洗滌し, この残渣に A.M.A. (メタノール 100 cc に対し濃塩酸 5 cc の割に加えたもの)を加え, よく攪拌して遠心分離しその上清を使用した. この抽出を数回繰返して殆んど色素の脱色するまで行つたが, たゞ卵の場合には赤紫色色素は塩酸メタノールに対する溶解度の低いためか或る程度残存する. *Drosophila* については, 頭部を 1~2 昼夜 A.M.A. 中に 30°C で保存し溶出した色素を用いたが, A.E.A. 抽出液をも供用した. これらの抽出色素を蟻酸原液を溶媒として paper chromatography によつて分別した.

吸収曲線は, 上記の様にして得られた各色素帯を別々に切りとり, それぞれ蟻酸で再抽出を行い, 取扱上測定直前に水を加えて 75% 蟻酸溶液として測定した.

系統による比較は, 一定量の卵或は複眼について上記の方法で全く同じ操作を加えて抽出した色素溶液を paper chromatography によつて分離し, その濃度, spot の大きさから比較判定した.

これらの各々の色素の化学的性質をしらべるためには, 塩酸メタノール抽出液に直接反応させた場合と, 展開後に試薬を噴霧する方法, 並びに試薬で処理した後展開する方法を併用した. なお操作はなる

* 本報告の概要は 1953 年 11 月第 25 回日本遺伝学会にて発表した.

べく暗所で行うようにし、新鮮な試料を用いた。

組織学的観察には通常のパラフィン切片法を用い、切片の厚さは 8~10 μ で無染色のまゝ、或は蟻酸、A.M.A. 等で色素を脱色して観察した。

実験結果

1. 系統による色素の差異及びその形成過程。

家蚕の数種の眼色突然変異、野蚕及び *Drosophila* の複眼色素の paper chromatography による調査の結果は第 1 表及び第 2 表の通りである。

Table 1. Comparison of the eye pigment components in some mutants of the silkworm

Color	Rf value	Strain	+	w_1	w_2	w_3	$w_3 w^{ol}$	re	od
		Color Kind of pigment	black	white	white	black	dark red	red	black
orange	0.82	+ chrome-I	++	—	—	++	+	+++	+~++
red	0.76	+ chrome-II	+~++	—	—	+~++	+	—	+
reddish purple	0.50	+ chrome-III	++	—	—	++	+	—	+~++

Table 2. Comparison of the eye pigment components in the wild-silkworms

Species	Color	brownish orange	orange	red	red	reddish purple
	Kind of pigment	brown pigment	+ chrome-I	red pigment	+ chrome-II	+ chrome-III
	Rf value	0.82	0.82	0.78	0.76	0.50
<i>Bombyx mori</i> L. (+)		—	++	—	+~++	++
<i>Antheraea Pernyi</i> Guérin		—	++	—	+~++	++
<i>Antheraea Yamamai</i> Guérin		—	++	—	+~++	+++
<i>Philosamia cynthia ricini</i> Butler		—	++	—	+~++	++
<i>Dictyoploca japonica</i> Butler		—	++	—	+~++	++
<i>Samia cynthia pryeri</i> Butler		—	++	—	+~++	++
<i>Drosophila melanogaster</i> (wild)		++	—	++	—	—

上表で明かなように、正常蚕では Rf 0.82, 0.76 及び 0.50* に orange, red 及び reddish purple の 3 色素が認められ、0.76 の red は他に比してやややすい。そこで一応これらの 3 色素を +chrome I, II 及び III とよぶことにした。3 色素の各突然変異に於ける分布をみると、 w_1 , w_2 には I, II, III 共に認められず、 w_3 は正常型と異ならない。 od 油蚕は 3 色素共に正常型よりやや少く、また $w_3 w^{ol}$ では肉眼的にも色調が赤みを帯びているが、やはり 3 色素共に少い。 re では I だけが正常型より多いのに反し、II 及び III は全然認められない。

次に野蚕では、天蚕、柞蚕、ヒマ蚕、樺蚕及び樟蚕は何れも 3 色素を有し、そのうち天蚕は +chrome III がやや他に比して多い。

* Rf 値は気温、展開条件等によつて多少変動する。一応 25°~28°C 30 cm 展開の場合を標準にした。

Drosophila の野生型では Rf 0.82 及び 0.78 のところに orange (乃至 brownish orange) 並びに red の色素が認められたが、吸収曲線及び化学的性質から前者が *Drosophila* で一般によばれている brown pigment, 後者が red pigment である事が明かとなった。

卵色素については、家蚕の卵色突然変異を供試して行つた実験結果では第 3 表のようになる。

Table 3. Comparison of the egg pigment components in some mutants of the silkworm

Color	Rf value	Strain Color Kind of pigment	+	w ₁	w ₂	w ₃	re	od	spain	Kambo-jyn	N.H.E.**
			dark purple	yellow	yellowish orange	dark yellow	red	pale purple	brown	orange	orange
orange	0.82	+chrome-I	++	—	—~±*	—~±*	+++	+	±	±*	±*
red	0.76	+chrome-II	+~++	—	—	—	—	+	±	—	—
purple	0.50	+chrome-III	+++	—	—	—	—	+	±	—	—

* These orange pigments have not yet been identified.

** Colored nonhybernating egg treated by carbon dioxide.

複眼の場合と同様に正常型の卵には 3 種の色素が認められ、Rf 値も複眼の場合と大体一致した*が、+chrome III に相当する部分は色調が多少異り purple である。そこで一応これらに +chrome I, II' 及び III' と命名して吸収曲線、化学的性質等について +chrome I, II 及び III と比較したところ、+chrome I と I', II と II', III と III' は全く一致したのでこれらは各々ほぼ同一物質と考えてよいようである。ただ III と III' は色調がやや異なるが、今後はこれらをすべて +chrome I, +chrome II 及び +chrome III (III') と呼ぶことにする。

第 3 表でも明かなように、re は複眼の場合と同じく +chrome I が極めて多いのに反して II, III を缺き、od, スペインは 3 色素共に少い。また w₂, w₃, カンボージュ及び正常型の不越冬卵を人工的に着色せしめた場合等には orange 色の spot を認めたが、これらの色素と +chrome I とが全く同じものかどうかは現在調査中である。次に正常蚕及び re の複眼色素を蟻酸と A.M.A. を使用して 2 次元で展開してみたところ第 1 図のようになった。

Fig. 1. Paper chromatogram of the egg pigments of + and re.

* 場合によつて複眼に比して Rf 値が低くなる事がある。

この図から明かなように、+chrome I は蟻酸, A.M.A. の 2 次元法による展開では横に拡がりしかも色調が多少異つている二つの部分が見られるので、おそらく少し組成の異つた色素の集合体ではないかと考えられ、厳密には +chrome Ia, Ib の如く区別せねばならないかも知れないが、この点については今後の検討にまち、現在のところこれらを総合して +chrome I と呼ぶことにする。既に平田 ('50) は蚕卵の漿液膜中の色素をクロマトグラフで分離し、これが 3 種以上の色素から成つていることを報告しているが、この結果は著者等の行つた結果と一致している。次にこの様な色素がどのような過程を辿つて形成されてくるかを知る目的で、複眼及び卵の着色に伴う色素形成の時間的変化をしらべたところ、第 4 表のような結果が得られた。

Table 4. Pigment formation on the egg serosa and compound eye

Eye						Egg					
Strain	Time before eclosion	150 h.	120 h.	40 h.	Moth	Strain	Time after laying	0 h.	40 h.	50 h.	70 h.
	Kind of pigment						Kind of pigment				
+	+chrome-I	—~±	+~++	++	++	+	+chrome-I	—	+~++	+~++	++
	+chrome-II	—	±	+~++	+~++		+chrome-II	—	—~±	+	+~++
	+chrome-III	—	±	+	+++		+chrome-III	—	—~±	±	+++
re	+chrome-I	—~±	++	+++	+++	re	+chrome-I	—	+~++	+++	+++
	+chrome-II	—	—	—	—		+chrome-II	—	—	—	—
	+chrome-III	—	—	—	—		+chrome-III	—	—	—	—

即ち正常蚕の複眼、卵の何れに於ても、これら 3 色素の形成は先ず +chrome I が出来、次第に +chrome II, III が後から形成されることが明かに認められるが、re に於ては +chrome I のみが漸増してくる。

2. 3 色素の吸収曲線並びに化学的性質.

(A) +chrome I

+chrome I は水、メタノール、エタノールにも僅かながら溶解するが、酸性アルコール、蟻酸には溶けやすい。色調は橙色乃至赤橙色である。吸収曲線は第 2 図の如く 450 mμ に吸収極大があり、*Drosophila* の brown pigment に極めて近似している。

+chrome I は濾紙上でのアムモニア噴霧で極めて淡色となり、Hydrosulfite で還元すると赤色の沈澱を生じ、また H₂O₂ で酸化すると黄色となる点からも *Drosophila* の brown pigment と同様であり、この両者は同一物か或は極めて近似の化学構造を有するものと思われる。

(B) +chrome II

Fig. 2. Absorption curve of +chrome I

+chrome II は水、メタノールには不溶で、塩酸アルコールに溶けるが蟻酸には一層溶けやすい。色調はくすんだ赤色で、アンモニアで褐色となり、Hydrosulfite によつて変化しない。

H_2O_2 で酸化すると無色となり、熱には比較的不安定である。吸収曲線は第 3 図のようになり、300~540 $m\mu$ の間でははつきりした吸収極大が認められず、480 $m\mu$ 附近に shoulder があるが、これは濃度が比較的うすいためであるかも知れない。

Drosophila の所謂 red pigment は、tryptophane に由来しないのでこの色素と異なることはいうまでもないが、著者等の研究結果からも、両者は色調がやや異なり、+chrome II には *Drosophila* の red pigment と異つて蛍光もなく、また吸収曲線も異つている。

(C) +chrome III (III')

これらは水、メタノールに不溶で、酸性アルコールに溶解するが、+chrome II と同様に蟻酸には容易に溶解する。色調は III が赤紫色、III' は紫色である。化学的性質は +chrome II に極めて類似し、Hydrosulfite で変化せず、 H_2O_2 によつて無色となり、熱に比較的不安定である。吸収極大は何れも 520 $m\mu$ にある。

Fig. 3. Absorption curve of +chrome II.

Fig. 4. Absorption curve of +chrome III.

3 組織学的所見.

卵及び複眼の着色に伴う変化を組織学的に追究したところ、正常型の複眼では化蛾 4~5 日前の蛹のものでは円錐晶体部に赤色の色素粒が密に存在するが、網膜細胞部、桿状体部は未だよく形成されておらず色素粒も認められないが、化蛾日の近づくにつれて次第に網膜細胞部、桿状体部に色素が多量に蓄積されてくる。色調は桿状体部の色素は概して紫色がかつている。しかるに *re* に於ては、完成された複眼に於ても色素は主として円錐晶体部に赤色の色素粒が密に存在するのみで、網膜細胞部、桿状体部

なお、これらの色素の卵に於ける催青開始から蟻蚕に至るまでの変化は、正常型に於て点青卵~催青卵の時期に+chrome II, III は大部分消失するが、orange の色素のみは比較の後期(発蟻後 2~3 日)迄明かに残存する。不越冬卵(不着色)では最初3色素共に無いのに反して蟻蚕になると orange の色素が認められるようになるが、白卵系では蟻蚕に於ても見出せない。現在この色素と蟻蚕内皮色素との関係について検討中であるが、この orange の色素と +chrome I とが全く同一物であるかどうかについては今後更にしらべる必要がある。

には極めて粗に赤色色素粒が点在するに過ぎず、正常型の化蛾 4~5 日前の蛹の色素粒分布に近似する。*od*, *w₃w^{ol}* では色素粒の分布区域は正常型と大差ない。次に卵の漿液膜に於ては、正常型には紫褐色の色素粒が密に分布するが、*re* では赤色色素粒が密に分布する。

考 察

以上の結果から次の事が考えられる。先ず昆虫複眼色素の構成は、鱗翅目である家蚕及び野蚕が大体に於て類似し、さらに +chrome I と *Drosophila* の brown pigment とが極めて類似の色素であることは、これまで考えられていたように昆虫の眼色の発現が 3-hydroxykynurenine 以後の過程に於て或る程度共通したものであることを物語っている。ただここで注目すべきことは、家蚕正常型の各色素の形成過程が +chrome I が最初に生じ、その増加が止つた頃 II が出現し、次に III が最後に形成されて増加してくる点であり、これは Mori ('37) の *Drosophila* に於ける red pigment と brown pigment の形成に関する報告に於て、大体両色素が最初から平行的に増加してくる点と異つている。*Drosophila* の場合は、brown pigment と red pigment とはその起原を各々異にしていることから考えて、家蚕の場合と異なることも当然考えられるわけである。家蚕に於ける卵及び複眼の 3 色素の形成機構は、これらの色素が 3-hydroxykynurenine から形成されてくるのが現在までに判明している事実から次の場合が考えられる。

勿論、A と B とが組合さり二つの反応過程に分れる場合も考えられる。正常型の卵では paper chromatography によつて相当量の +chrome I, II が存在していることが判明しており、その +chrome I は *re* の赤色色素粒に含まれているものと同じものであることも既述した。もし正常型に於てこれらの 3 色素が卵漿液膜細胞中に別々の色素粒として存在していたらば、当然顕微鏡によつてこれらの色素粒の存在が認められねばならぬ筈である。しかるに今迄のところ顕微鏡で紫褐色色素粒以外には認められない点から、+chrome I, II, III の色素は正常の場合にはその存在様式の如何にかかわらず 1 色素粒中に同時に存在していると考えより他になさそうである。ただ上記の (A) と (B) の何れがより妥当であるかに就いては未だ充分の実験結果が得られていないので、断定を下す段階に来ていない。*re* に於て +chrome I が極めて多量に存在するにもかかわらず II, III の存在しないことは、*re* が +chrome II, 及び III を形成する能力を欠いているわけであり、その原因としては酵素或は酵素類似物質の缺除、酵素の阻害物の存在、或は生体内環境、その他種々の場合が考えられるが、これらの点に就いては今後の研究にまきたい。

od 油蚕、褐卵, *w₃*, *w^{ol}* 等については、以上述べた結果からだけでは未だ何とも言えないが、*w₃*, *w^{ol}* となつた場合複眼色素の減少してくることは *w^{ol}* の油蚕性に由来するのではないかと考えられる。また不越冬卵を炭酸ガス処理によつて人工的に着色せしめた場合、或はカンボージュ, *w₂*, *w₃* の卵にみられる色素は、Rf 値、色調は大体 +chrome I に近似するが吸収曲線が異つていようであり、これらの同定はなお検討の餘地がある。

最近 Goodwin 等 ('50) は、ばつたの 1 種 (*Locusta*) を使用してその皮膚、眼等に存在する色素が *Drosophila* の brown pigment, *Ephestia* の複眼色素と區別出来ないものであり、酸化型は orange、還元型は purple の色調をもち pyrrole が含まれていると報じている。そしてこの色素を insectubin と命名し昆虫に広範に分布する色素であることを示している。著者等の行つた実験結果からみて、

+chrome I は insectrubin の酸化型にほぼ一致しているが、その還元型が +chrome II 或は III と多少異っている点から考えて、+chrome I, II 及び III と insectrubin との関係はこれらの材料を使用して今後追試するつもりである。なお Maas ('48) は、クロマトグラフ法によつて *Drosophila* の red pigment は少くとも 8 種の異つた組成からなることを見出しており、また Chan 等 ('50, '51) はこの赤色素を化学的に研究し、これが pterin 誘導体である可能性を暗示している。著者等の行つた場合には、paper chromatography により *Drosophila* の red pigment も明かに 1 点に集つたが、なおクロマトパイルで微細に分別すると以上の諸色素も更に細かく区分されることも予想される。

摘 要

家蚕の数種の卵色、眼色突然変異並びに数種の野蚕、*Drosophila* などを試供して、これらの複眼及び卵の色素を抽出し蟻酸を溶媒として paper chromatography によつて識別し、次の結果を得た。

1. 家蚕正常型の卵、複眼並びに野蚕の複眼には、何れも Rf 値 0.82, 0.76, 0.50 にそれぞれ orange, red, purple の 3 色素が認められた。これらを再抽出して吸収曲線を比較し、更に化学的性質を調べた結果から考えて、これらの卵の 3 色素はみな複眼中の 3 色素と同じものであることが判明し、これらの色素を仮に +chrome I, II 及び III と命名した。

2. 家蚕の各種眼色突然変異間のこれら 3 色素の異同についてみると、 w_1 , w_2 は 3 色素を全く缺き、 w_3 は + と異ならず、 re は +chrome I のみ + より多量に存在するが II, III を缺き、 od , w_3^{al} では 3 色素共に + より少い。野蚕では天蚕、柞蚕、ヒマ蚕、櫛蚕及び樟蚕等の何れに於ても 3 色素が認められた。

3. 家蚕卵の漿液膜に於ては、 w_1 は 3 色素を缺き、 re は複眼と同様に I を有するのみで II, III が存在せず、 od , スペイン (褐卵) は 3 色素共に少く、 w_2 , w_3 , カンボージュ及び不越年卵の人工着色卵では +chrome I に似た orange の色素を微量有する。

4. これらの 3 色素の複眼、卵の着色に伴う形成順序は、+chrome I が最初に形成され、次第に II, III が後から形成されるが、その状態は卵、複眼共に同じである。

5. +chrome I は $450\text{ m}\mu$ に吸収極大があり、Hydrosulfite で還元すると赤色の沈澱を生じ、 H_2O_2 で酸化すると黄色となり *Drosophila* の brown pigment, Goodwin の所謂 insectrubin の酸化型と極めて類似する。+chrome II は $300\sim 540\text{ m}\mu$ の間で吸収極大が認められず、III は $520\text{ m}\mu$ に極大値があり、何れも Hydrosulfite によつて不変で H_2O_2 で酸化すると無色となる。

6. 組織学的観察では、 re の複眼の色素粒分布は + の化蛾数日前のそれに近似する。また正常型の卵漿液膜には紫褐色色素粒が密に分布するのに反して、 re には赤色素粒が密に分布する。

7. 以上の事実から、これらの色素は 3-hydroxykynurenine から +chrome I, II 及び III が形成れ、 re は II 或は III またはその両者に至る酵素或は酵素類似物を缺除するのか、或はその他の条件によつて、II, III の色素が形成されない突然変異であろうと考えられる。

文 献

- 有賀久雄・吉武成美・江口正治 1952. 油蚕性並びに黄体色性遺伝子の発現機構に関する研究 (I) 蚕卵に於ける油蚕性並びに黄体色性遺伝子の発現について. 日本蚕糸学雑誌 21: 255—263.
- Becker, E. 1939. Über die Natur des Augenpigments von *Ephestia kühniella* und seinen Vergleich mit den Augenpigmenten anderer Insekten. Biol. Zbl. 59: 597—627.
- Chan, F.L., Heymann, H. and Clancy, C.W. 1951. Chemical composition of the red eye pigment of *Drosophila melanogaster*. J. Amer. chem. Soc. 73: 5448—5449.

- Ephrussi, B. and Herold, J.L. 1944. Studies of eye pigments of *Drosophila*. I. Method of extraction and quantitative estimation of the pigment components. *Genetics* 29: 148—175.
- Goodwin, T.W. and Sprisukh, S. 1950. Biochemistry of locusts. 3. Insectrubin: The redox pigment present in the integument and eyes of the desert locust (*Schistocerca gregaria* Forsk.), the African migratory locust (*Locusta migratoria migratoriodes* R. and F.) and other insects. *Biochem. J.* 47: 549—554.
- Heymann, H., Chan, F.L., and Clancy, C. W. 1950. Partition chromatography of red eye pigment of *Drosophila melanogaster*. *J. Amer. chem. Soc.* 72: 1112—1117.
- 平田義正 1950. 蚕卵色素の遺伝生化学的研究. 遺雑 25: 235.
- 吉川秀男 1943. 家蚕に於ける卵色の起源と其の発現機構. 蚕糸試験場報告 11: 311—345.
- 1948. 家蚕のトリプトファン系色素に就て. 生物学の進歩 3: 36—70.
- 1951. 家蚕の遺伝生化学的研究. 遺伝の総合研究 II. 173—177.
- Kikkawa, H. 1953. Biochemical genetics of *Bombyx mori* (Silkworm). *Adv. Genet.* V. 107—140.
- Maas, W.K. 1948. Spectrophotometric and chromatographic adsorption analysis of the red eye pigment of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 33: 177—190.
- Mori, K. 1937. A study on the development of pigments in various eye color mutants of *Drosophila*. *Jap. Jour. Gen.* 13: 81—99.
- 西郷力 1936. 家蚕の不越冬卵色に及ぼす炭酸ガスの影響. 日本蚕糸学雑誌 7: 291—300.
- 鈴木簡一郎 1943. 家蚕の卵色及び複眼色に関する遺伝学的研究. 蚕糸試験場報告 11: 125—196.
- 八木誠政 1938. 2化螟蛾複眼の構造及び機能に就いて農事試験場彙報 3: 183—206.

Résumé

KAWASE, S. AND H. ARUGA: BIOCHEMICAL GENETICS ON THE PIGMENT IN EGGS AND COMPOUND EYES IN THE SILKWORM.

A.M.A. (Acid Methyl Alcohol) extracts of the egg and eye pigment components of some egg and eye color mutants of the silkworm, several wild-silkworms and *Drosophila melanogaster* have been discriminated by paper chromatography using formic acid as a solvent. The results obtained are as follows:

1. Three pigments (orange, red and purple) with R_f values of 0.82, 0.76 and 0.50 are found in the eyes of the normal type of the silkworm, and denominated as +chrome-I, +chrome-II and +chrome-III respectively. It has been ascertained from the investigations on the absorption curve and some other biochemical properties that these three pigment components are also found in the egg of normal silkworm and the eye of the wild-silkworm.

2. The compound eyes of w_1 (white-1) and w_2 (white-2) do not contain those three pigments, but the compound eye of w_3 (white-3) contains three pigments as that of normal. The eye of *re* (red) contains large amounts of +chrome-I, containing no +chrome-II and III, while *od* (distinct oily) and w_3w^{ol} strains contain a little three pigments.

3. On the serosa of the silkworm egg, w_1 lacks the three pigments and *re* contains +chrome-I only as in the eye, and both *od* and *spain* (brown color egg) contain small quantities of those three pigments. The eggs of w_2 , w_3 and non-hibernating normal, colored by CO_2 treatment, have an orange pigment, which is similar to +chrome-I, though not yet has been identified.

4. As to the appearances of these three pigments in the egg and eye, it is observable that at first +chrome-I is formed, which is followed by the formation of +chrome-II and +chrome-III.

5. As +chrome-I has a peak at $450\text{ m}\mu$ and it changes to yellow on addition of H_2O_2 and a pink precipitate is formed on reduction with sodium hydrosulfite, so the +chrome-I is closely similar to the brown pigment of *Drosophila*. But +chrome-II does not show any peak between $300\text{-}540\text{ m}\mu$, though +chrome-III has a peak at $520\text{ m}\mu$, and both pigments become colorless on addition of H_2O_2 , showing no change by the treatment of hydrosulfite.

6. From the histological investigation on the pigments in the compound eye, it has been ascertained that *re* contains most of the red pigment granules in the crystalline part and few in the reticular cell and rhabdomal part, and this feature of the pigment distribution is resembled to that of the eye of normal pupa expected to eclose in four or five days. Although only red pigment granules are distributed in the egg serosa of *re*, but in the normal egg brownish purple pigment granules are observable showing no existence of red pigment granules, notwithstanding the existence of orange and red pigments distinguishable by paper chromatography. From the above mentioned results, it may be concluded that *re* is a mutant whether lacking the enzyme or enzyme like substance converting precursor into +chrome-II and III or impossible to form II and III owing to some other unknown factors.