

한국전자현미경학회지 제 7 권 제 1 호 1977.
Kor. Jour. Electron Microscopy, Vol. 7, No. 1, 1977.

痢疾아메바(*Entamoeba histolytica*)의 免疫血清 內에서의 微細構造 變化

滕永健, 鄭坪林*, 張在景* 蘇鎮璋*
延世大學校 醫科大學 電子顯微鏡室, 熱帶醫學研究所*

Ultrastructural Changes of *Entamoeba histolytica* in the Immune Serum.

Young-Kun Deung, Pyung-Rim Chung*, Jae-Kyung Chang* and Chin-Thack Soh*
Electron Microscopy Lab. and Institute of Tropical Medicine*
College of Medicine, Yonsei University

Abstract

Ultrastructural changes of *Entamoeba histolytica*, a concomitant strain YS-9, which was treated in the immune serum was examined. The amoebae in the serum became immobilized state from about 30 minutes of the treatment and recovered at about 60-90 minutes. In the cells of control group, helix structures were scattered throughout the cytoplasm. The particles comprising the helix structure averaged 20 nm in diameter. At the beginning stage of the immobilization, helical aggregates(chromatoid body) which associated with vacuoles appeared abundantly in the cytoplasm, but gradually tended to aggregate along peripheral region of the cell, specially in intactly immobilized state. Each parallel array of aggregates measured about 45 nm in width. When the cells became remobilize, pseudopodia appeared again, but helical aggregates disappeared and numerous helix structures were observed in the cell periphery. Distribution of glycogen particles showed no change, and acid phosphatase activities were seen in both the immobilized and the control group. The reaction was markedly noticed in the vacuoles.

序 論

아메바症(Amebiassiss)에 있어서 痢疾아메바(*Entamoeba histolytica*)를 아메바感染者의 血清과 反應시키면 非働化(Immobilization)하게 되며 일정한 시간이 지난후에는 再働化(Remobilization)하게 됨은 이미 잘 알려진 사실이며(Cho 및 Soh, 1969) 실제로 臨床的으로 아메바症의 診斷에 利用되는 한 가지 方法이기도 하다.

痢疾아메바의 微細構造는 그동안 여러 학자들(Miller 등, 1961; Feria-Velasco 및 Trevino, 1972; Proctor 및 Gregory, 1972; Lowe 및 Maegraith, 1970a, 1970b, 1970c; Cho 등, 1972.)에 의하여 연구되어 왔으며 형태학적으로는 그 구조가 거의 完全히 밝혀졌다고 할 수 있다. 따라서 아메바類의

cyst에서 쉽게 관찰할 수 있는 helices들 즉 chromatoid bodies에 대해서도 많은 연구가 행하여졌는데 Lake와 Slayter(1970) 및 Morgan 등(1968)은 *Entamoeba invadens*를 표본으로 한 연구에서 chromatoid body는 ribosomal 粒子로 構成되어 있다고 하였으며, 또 Lake와 Slayter(1972) 등은 전자현미경 및 光學회절분석(Optical Diffraction Analysis)를 행하고 그 基本 helix 單位는 두개의 subunit로 되어 있으며 이들은 眞核群 生物(Eucaryotic organism)들의 리보솜입자와 매우 類似하다고 報告한바 있고, Barker 및 Swales(1972a)는 cyst에서의 rRNA는 영양형의 rRNA보다 분자량이 훨씬 높다 하였으며 이는 helices內의 리보솜은 encystation하는 동안 합성되는 immature precursor 粒子에 해당하는 것이라고 제시한바 있기도 하다.

한편 아메바類의 영양형(Trophozoite)에서도 가끔

helices 및 helix의 構造가 관찰되기도 하는데 Baker와 Swales(1972b)는 그 미세구조나 회절특성이 cyst에서의 것과 동일하다고 주장하였으며 또 이의 출현빈도, 數 및 量과 세포의 代謝能(metabolic activity)사이의 상관관계에 대하여 연구한 바도 상당히 많아, 예를들면 배양연령이 오랜 것일수록 helix aggregate의 數가 많아지며 (Barker 및 Deutsch, 1958), slow-growing trophozoite는 rapidly-growing trophozoite보다 helical array가 훨씬 많고(Rosenbaum 및 Wittnes, 1970). 또한 成長停止期の trophozoite에서는 chromatoid body와 같은 염색특성을 가진 粒子를 쉽게 관찰할 수 있지만 아메바를 신선한 새로운 배지에 옮겨 배양하면 이러한 粒子는 관찰할 수 없다(Barker 및 Svihla, 1964; Kusamrarn 등, 1975) 등이 있다.

單細胞動物의 細胞內酵素活性에 대한 研究를 살펴보면 Aikawa 및 Thompson(1971)은 *Plasmodium sp.*에서 acid phosphatase 활성의 localization에 대하여 전자현미경을 이용하여 관찰하였고 Esteve(1970)은 *Paramecium caudatum*으로 소화과정에서의 acid phosphatase의 분포에 대하여 연구한 바 있다. 또한 痢疾아메바에 대하여는 Carrera 및 Changus(1948)가 acid phosphatase에 대하여 기술한 바 있으며 Cho 등 (1973)은 痢疾아메바 및 치은아메바(*Entamoeba gingivalis*)의 세포내 acid phosphatase의 활성을 전자현미경을 이용하여 연구, 비교검토한 바 있기도 하다.

한편 현재까지 進行되어온 아메바의 immobilization test에 대하여서는 아메바症의 診斷을 위한 실험으로 Brown 및 Whitby(1955), Biagi-F 및 Buentello(1961) 등이 報告한 바 있고, 또 Biagi-F 등(1966)은 immobilizing antibodies에 노출된 이질아메바의 remobilization에 대하여, 그리고 토끼의 항혈청을 이용하여 시험관 내에서 그 immobilization에 대하여(Cole 및 Kent, 1953) 연구한 바를 찾아 볼 수 있다. 그러나 면역혈청내에서 반응된 아메바의 미세구조 변화에 대한 전자현미경적 연구는 찾아볼 수 없는 형편이다.

이에 본 저자들은 痢疾아메바를 아메바증 患者의 면역혈청에 반응시켜 그 미세구조 변화를 추구 하고, 동시에 그 세포내에서의 acid phosphatase 활성을 전자현미경을 이용하여 관찰하였던 바 결과를 얻을 수 있었기에 보고하는 바이다.

實驗材料 및 方法

1) 實驗에 使用한 아메바 및 血清

本 實驗에 使用한 아메바는 痢疾아메바(*Entamoeba histolytica*) YS-9株이었으며, 培地는 Modified Diphasic Medium(Cho, 1968)을 사용하여細菌存在下에 37°C에서 48시간 배양하였고, 혈청은 AMT(Ameba Immobilization Test)80% 이상, IFA 64X, IHA 32,000X이상인 아메바症 患者의 免疫血清을 使用하였다.

2) 아메바 및 血清의 處理

上記 培養한 痢疾아메바 및 免疫血清을 각 0.5 ml씩 채취하여 test tube內에서 섞어 37°C에서 30分, 60分 및 90分씩 반응 시킨 후 포본을 채취하여 광학현미경으로 아메바의 Immobilization 및 Remobilization을 확인하였다.

3) 電子顯微鏡의 方法

電子顯微鏡표본을 위하여는 상기와 같이 處理한 各試料를 즉시 7.5% sucrose 0.2M phosphate buffer로 완충된 pH 7.2의 2.5% glutaraldehyde로 0~4°C에서 1시간 고정한 후 상기 완충액으로 세척하였다. 다시 저속원침(500r. p. m.)한 후 상층액을 버리고 침사부위를 2% agar로 가포매하고 역시 상기 완충액으로 완충된 pH 7.2의 1% osmium tetroxide에 0~4°C에서 30분 고정을 행하였다. 탈수는 ethanol농도 상승 순으로 행하였으며 Epon 812 (Luft, 1961)에 포매하였다. 초박 절편을 Sorvall MT-2B형 Ultramicrotome으로 glass knife를 사용하여 600Å정도로 만들어 포화 uranyl acetate 및 lead citrate로 2중 염색한 후 Hitachi-HU-IIE형 전자현미경으로 75KV하에서 관찰하였다.

4) Acid phosphatase활성 관찰을 위한 方法

上記 免疫血清과 反應한 痢疾아메바를 각 시간 별로 채취하여 7.5% sucrose 0.2M cacodylate buffer로 완충된 pH 7.2의 2.5% glutaraldehyde로 0~4°C에서 1시간 고정하고 7.5% sucrose 0.2 M cacodylate buffer로 수회 세척하였다. 다시 저속원침(500 r. p. m.)한 후 침사부에 2% agar를 가하여 가포매를 행하고 이를

2%	sodium glycerophosphate	6ml
0.1M	acetate buffer (pH 4.7)	10ml
5%	lead nitrate	4ml
	중류수	80ml

로 조성된 Gomori medium(Eränkö et al., 1952)에 37°C의 항온조에서 1시간 동안 반응시킨 다음 다시 7.5% sucrose 0.2M cacodylate buffer로 세척하고 상기 완충액으로 조절된 1% Osmium tetroxide에 0~4°에서 30분간 후고정하였다. 이후의 방법은 前述한 전자현미경적 방법에 準하였으며 염색하지 않은 상태로 전자현미경으로 검경하였다.

實驗結果

1) 對照群

대조군은 免疫血清과 反應시키지 않은 細胞들로서 核은 2중막으로 둘러싸여 있으며, 2중막의 内部에 연해서는 전자 밀도가 있는 염색질들이 分布하고 있었다. 핵의 내부는 세포질에 비하여 비교적 밝게 보였고 2~數個의 전자밀도가 비교적 강한 소위 button body가 관찰되었다.

세포질에는 大小 크기가 一定치 양은 空胞가 全細胞질을 통하여 산재하여 있었고 空胞들은 細菌을 탐식한 것, small vesicle를 포함한 것, 數층의 막상구조를 갖는 것 등 多樣하게 나타났으며 어떤 空胞들은 아메바의 外연에 존재하고 있는 것도 관찰할 수 있었다.

전 세포질을 통하여 Golgi 복합체, mitochondria 및 小胞體(endoplasmic reticulum)은 관찰되지 않았으나 β -粒子的 構造를 갖는 glycogen과립은 많이 나타났으며 크기가 20nm정도로 측정되는 리보솜양 과립들이 연결되어 있는 것 처럼 보이는 helix구조는 전세포질을 통하여 드물게 관찰되었다(Fig. 1).

2) 非働化群

非働화된 아메바세포는 30분群에서 부터 관찰되기 시작했으며 핵의 미세구조는 2중막 및 그에 連해 존재하는 염색질 및 button body등 대조군과 別 특이한 차이점은 관찰할 수 없었다. 또한 세포질에서도 空胞 및 glycogen粒子들이 전세포질에 산재하여 있는 것도 대조군과 유사하였으나 리보솜양 과립이 연결해 있는 것처럼 보이는 helix구조는 대조군과 비교하여 훨씬 많이 관찰되었다.

非働화가 始作되는 것으로 보이는 세포에서는 세

포의연에 극소적으로, 세포내용물이 없으며 전자 밀도가 均일한 僞足(pseudopodia)으로 간주할 수 있는 돌기물들이 있었고, 이러한 세포의 핵주위 및 세포 중앙부에 존재하는 空胞주위에서는 helix들이 aggregate되어 생겨난 helical aggregates(chromatoid body)들을 多數 관찰할 수 있었다(Fig. 2).

이 helical aggregates(chromatoid body)를 확대하여 보면 cross section 된 표본에서는 크기가 약 45nm정도로 측정되는 개개의 粒子가 일정한 격자 배열을 하고 있었고 longitudinal section된 표본에서는 길이가 일정하지 않으나 넓이 역시 45nm정도로 측정되는 多數의 strand가 일정하게 나란히 배열되어 있었다(Fig. 3).

한편 반응 후 60분된 群에서 보면 시간이 進전됨에 따라 세포가 원형으로 되고 위쪽을 관찰할 수 없는 非働화된 세포에서는 僞足이 있는 세포보다 세포의 중앙부에 있는 空胞주위에 helical aggregates가 훨씬 많아 졌음을 볼 수 있었으며, 또한 세포의연에서는 helix들이 계속 관찰되었다(Fig. 4).

완전히 非働화된 것으로 간주할 수 있는 아메바에서는 세포의 중앙부가 glycogen과립으로 차 있었고, 그 사이에 존재해 있는 空胞들의 주위에서는 helical aggregate(chromatoid body)들은 비교적 적게 나타났었다. 그러나 세포의 外연부에서는 strand모양의 helix는 관찰할 수 없었으나 세포막의 内部에 따라서 다수의 helical aggregates를 볼 수 있었다(Fig. 5).

3) 再働化群

免疫血清과 反應하여 90분된 群에서는 그 세포의 外연에서 세포 내용물이 없으며 전자밀도가 均일한 위쪽으로 볼 수 있는 돌기를 내는 再働화된 세포들을 관찰할 수 있었다. 이러한 群의 세포들에서는 핵, 空胞 및 glycogen과립들은 前述한 것과 동일하게 관찰되었으나 Helical aggregates은 세포의 어느 부위를 막론하고 드물게 또는 거의 관찰할 수 없었으며 그대신 리보솜양과립이 연결된 것 처럼 보이는 helix는 세포질 전체를 통하여 산재하여 있었고 특히 세포의 중앙부 보다는 그 外연에서 많이 관찰되었다(Fig. 6).

4) Acid phosphatase 活性 群

Acid phosphatase 活性 관찰을 위한 표본에서는 대조군의 핵내에 존재하는 button body에 전자밀도가 비교적 강한 침착물이 관찰되었고 세포질에

서는 空胞 특히 탐식한 물질이 들어있는 食胞(Food vacuole)에서는 전자밀도가 강한 침착물이 관찰되어 강한 acid phosphatase의 활성을 나타내었다(Fig. 7).

한편 변역혈청과 반응한 세포들에서는 반응시간에 관계없이 핵내의 button body (Fig. 8) 및 세포질의 食胞 등에서 계속 강한 acid phosphatase 활성을 관찰할 수 있었으나 helix나 helical aggregate (chromatoid body)들에서는 이의 활성을 관찰할 수 없었다(Fig. 9).

考 察

이질아메바(*Entamoeba histolytica*)에 있어서 그 미세구조에 대하여 핵은 2중막으로 構成되어 있으며 세포질보다는 전자밀도가 강하고 또한 핵내에는 직경 110~500nm 정도되는 osmiophilic inclusions 등이 있고 세포질에는 여러가지 크기의 비어 있거나 부분적으로 소화된 세균을 가진 空胞들을 볼 수 있고, 전형적인 미토콘드리아 Golgi복합체 및 소포체는 결여되어 있으며 glycogen과립의 집단은 무균배양의 아메바에서 특징이라 하였다. (Miller 등, 1961; Rosenbaum 및 Wittner, 1970) 또한 세포외연에 세포 내용물이 없는 부분을 僞足(Pseudopodium)이라 하였다(Proctor 및 Gregory, 1972).

본 실험에서 관찰된 아메바의 미세구조는 상기한 바와 같은 형태를 가지고 있어 이에 부합되며(Fig. 1) 결합하여 위족이 없는 원형의 세포들은 非動화된 세포들이며, 局部的으로 작은 僞足を 내놓은 세포는 非動化的 始作 또는 再動화된 세포로 간주할 수 있다.

Ribonucleoprotein (RNP) body는 痢疾아메바에서 짧은 helical fragment 및 기다랗게 평행 배열을 한 helices(chromatoid body)의 두가지 형태로 존재하며, helices를 구성하는 RNP粒子는 직경이 18nm 정도이며 遊離 RNP粒子는 空胞內에서 관찰할 수 없지만 짧은 helices들은 空胞와 깊은 연관을 가지고 존재한다고 Rosenbaum 및 Wittner(1970)가 서술한 바 있다.

Morgan 및 Uzman(1966)는 *Entamoeba invadens*의 chromatoid body는 RNP의 결정배열이며, 5번 회전을 한 12마디의 helix로부터 만들어지며 이 helix는 또한 직경 18nm의 구형들에 의해 세워져 있다 하였다.

Chromatoid body들은 무균적으로 배양된 영양

형에서 찾을 수 있으며 이의 구성성분인 RNP는 heical pattern으로 되어있고 전세포질을 통하여 산재하여 있으며 전자현미경하에서는 평행배열을 한 band나 층판상 구조를 나타낸다고 Siddiqui 및 Rudzinska(1963)이 말하고 각 개개의 층판구조는 넓이 25nm~35nm이며 두 층판구조사이의 거리는 10~15nm이며 또한 그 구조적인 특성때문에 "Chromatoid body"라는 명칭보다는 "Helical RNP bodies"라하는 것이 더 좋다고 주장한 바 있다.

본 연구에서 관찰된 helix구조는 strand로 되어 있으며 개개 입자의 크기는 20nm 정도이며 helical aggregates의 구조도 개개 입자의 크기는 45nm로 측정되었고 橫측 절단표본에서는 격자배열을 하고 있었으며 直切표본에서는 층판상으로 평행배열을 하고 넓이 또한 45nm로 측정되었다(Fig. 3). 따라서 본 연구자들이 관찰한 helical aggregates들은 타연구자들이 서술한 chromatoid body와 형태학적으로 일치됨을 알 수 있다.

아메바의 cyst에서 볼 수 있는 chromatoid body 즉 ribonucleoprotein helices의 aggregate는 ribosomal particle로 구성되어 있으며 (Morgan 등 1968, Lake 및 Slayter 1970, 1972), 이의 미세구조는 전자현미경 및 광학회절분석법에 의해 기본 helix 구성단위는 두개의 subunit로 되어 있으며 이는 眞核群生物(Eucaryotic organism)의 크고 작은 리보솜입자와 유사하다고 Lake 및 Slayter(1972)가 서술한 바 있다. Barker 및 Swales(1972a)는 helix구조가 cyst에서의 monosome과 리보솜의 subunit침강계수는 영양형의 것보다 조금 높으며 cyst의 rRNA분자량은 영양형의 rRNA보다 높다고 말하고 helices에서의 리보솜은 아마도 encystation하는 동안 합성되는 입자의 미성숙 전구물질일 것이라고 제시했다.

Helices나 helical aggregate들은 아메바의 영양형에서도 가끔 관찰되며 그 미세구조와 회절 특성이 cyst에서의 그것과 동일하며 (Barker 및 Swales, 1972b), 배양연령이 많으면 aggregates의 수도 많아지고 (Barker 및 Deutsch, 1958), slow-growing trophozoite는 rapidly growing 세포보다 helical array들은 더 많이 함유한 것을 찾아볼 수 있으며 (Rosenbaum 및 Wittner, 1970), 아메바의 생활환(life cycle)중에서 대사능의 쇠퇴기로 볼 수 있는 cyst때에 실제로 모든 리보솜이 aggregate된다 하였다 (Barker 및 Svihla, 1964; Kusamrarm 등, 1975a). *Entamoeba invadens*의 영양형에 여러가지 단백질의 직접 또는 간접 여체를

질(direct or indirect inhibitor)로 처리하면 다량의 helix aggregate가 형성되어 이의 미세구조나 생화학적인 성상은 cyst에서의 것과 동일하다고 Kusamrarn등(1975b)이 말하였으며, 핵산 및 단백질 합성을 신속하게 또 완전히 정지시키는 NaF처리 15분 경과 후에 helices들과 작은 arrays가 생겨나 세포질 전체에 산재하여 있는 것을 관찰하고 또 이렇게 생겨난 aggregate들은 억제물질이 없는 새로운 배지에 옮기면 사라진다 하였으며 억제물질에 의해 생겨난 helices들은 성숙된 정상 기능을 하는 리보솜으로 구성되어 있고 helix형성은 spontaneous하며 가역적(reversible)이라고 주장하였다.

저자들의 실험에서도 대조군 세포에서 드물게 관찰되었던 helix들이 세포가 非動化 됨에 따라 空胞 주위에 물려 helical aggregate(chromatoid body)를 형성하고 있었으며 (Fig. 2, 3, 4) 완전히 非動化된 세포에서는 그 외연에서 주로 관찰되었고 (Fig. 5), 시간이 진전되어 再動化된 세포에서는 helical aggregates(chromatoid body)는 관찰할 수 없었지만 세포의 외연에서 helix의 구조는 많이 관찰되었다. 이러한 현상은 상기 연구자들이 행한 바와 일치하며 再動化된 세포에서 aggregates들은 관찰할 수 없음을 이러한 aggregate들이 다시 풀려서 原來 형태의 세포로 환원된 것이 아닌가 생각된다.

Cho등(1973)은 이질아메바의 acid phosphatase 활성을 관찰하고 空胞에서의 양성반응 침착상에 따라 5종으로 분류하였으며 세포포내에서의 acid phosphatase 활성 분포는 lysosome양 구조물, 형질내망, 식포등에서 강한 양성반응을 나타냈다고 하였고 핵내에서의 활성은 대조군과 별반 차이가 없다고 하였다. 본 연구에서의 관찰은 세포질에서의 양성반응 부위들은 Cho등(1973)이 행한 것과 일치하나 핵내에서는 button body서 양성반응을 관찰하였으며 (Fig. 8) helix나 helical aggregates 즉 chromatoid body들에서는 양성반응을 관찰할 수 없었다.

이상 본 연구 및 타연구자들의 소견을 종합하여 보면 면역혈청과 反應한 痢疾아메바(*Entamoeba histolytica*)는 非動化하게 되며 이때에 代謝能(metabolic activity)이 잠시 억제되고, 시간이 진전됨에 따라 곧 가역적으로 회복되어 再動化하게 된 것으로 사료되며, helix구조들의 aggregate, 또 이 aggregates가 세포외연에서 많이 관찰된 사실 및 면역혈청과 아메바의 상호작용, 등의 기전

에 대하여는 추후 많은 연구가 있어야 될 것으로 생각된다.

結 論

痢疾아메바(*Entamoeba histolytica*) YS-9株를 免疫血清과 작용하여 非動化 및 再動化된 세포 또 그 acid phosphatase 활성을 전자현미경을 이용 관찰하였던 바의 소견을 요약하면 다음과 같다.

1) 대조군에서는 二重膜을 가진 핵내에 button body가 존재하고 있었으며 세포질에서는 空胞, glycogen과립 및 드물게 helix구조들이 관찰되었다.

2) 非動化가 始作된 세포내에서는 空胞, 주위에 helical aggregates(chromatoid body)가 관찰되었으며 완전히 非動化된 세포에서는 그 細胞周邊部에서 helical aggregates들을 볼 수 있었다.

3) 再動化된 세포에서는 helical aggregates는 관찰할 수 없었으며 세포의 외연에서 많은 helix구조를 볼 수 있었다.

4) Acid phosphatase 활성은 대조군과 별반 차이가 없이 食胞등에서 계속 양성반응을 나타내었다.

참고문헌

- Aikawa, M. and P.E. Thompson, 1971: Localization of acid phosphatase activity in *Plasmodium berghei* and *P. gallinaceum*: An electron microscopic observation, *J. Parasit.*, 57: 603-610.
- Barker, D.C. and K. Deutsch, 1958: The Chromatoid body of *Entamoeba invadens*, *Exp. Cell Res.*, 15:604-610.
- Barker, D.C. and G.J. Svihla, 1964: Localization of cytoplasmic nucleic acid during growth and encystment of *Entamoeba invadens*, *J. Cell Biol.*, 20:389-398.
- Barker, D.C. and L.S. Swales, 1972a: Comparison of trophozoite helical polysomes with cyst ribosomogen microcrystals in *Entamoeba sp.*, *Cell Diff.*, 1:307-315.
- Barker, D.C. and L.S. Swales, 1972b: Characteristics of ribosomes during differentiation of

- trophozoites to cysts in axenic *Entamoeba* sp., Cell Diff., 1:297-306.
- Biagi-F.F. and L. Buentello, 1961: Immobilization reaction for the diagnosis of amebiasis, Exp. Parasit., 11:188-190.
- Biagi-F.F. and P.S. Ortega, 1966: Remobilization of *Entamoeba histolytica* after exposure to immobilizing antibodies, Exp. Parasit., 18:87-91.
- Brown, J.A.H. and J.L. Whitby, 1955: An immobilization test for amebiasis. J. Clinical Pathology, 8:245.
- Carrera, G.M. and G.W. Changus, 1948: Demonstration of acid phosphatase in *Entamoeba histolytica*, Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 68: 610-611
- Cho, K.M., 1968: Experimental studies on the cultivation of *Entamoeba histolytica*, J. Kor. Modern Med., 8:57-76.
- Cho, K.M., H.Y. Cha and C.T. Soh, 1973: Ultrastructural localization of acid phosphatase in *Entamoeba histolytica* and *Entamoeba gingivalis*, Yonsei Rep. Trop. Med., 4:5-18,
- Cho, K.M., C.W. Kim and C.T. Soh, 1972: Electron microscopy of *Entamoeba histolytica* in culture and in intestinal mucosa, Yonsei Rep. Trop. Med., 3:37-59.
- Cho, K.M. and C.T. Soh, 1969: Virulence of *Entamoeba histolytica* according to the strains in Korea(1), Yonsei Med. J., 10:173-179.
- Cole, B.A. and J.F. Kent, 1953: Immobilization of *Entamoeba histolytica* in vitro by antiserum produced in the rabbit, Proc. Soc. Exp Biol. Med., 83:811-814.
- Eränkő, O., M. Niemi. and E. Merenmies, 1952: On the histochemistry of the adrenal medulla of the rat with special reference to acid phosphatase, Acta. Anat. Suppl., 17:1-60.
- Esteve, J.C., 1970: Distribution of acid phosphatase in *Paramecium caudatum*; Its relation with the process of digestion, J. Protozool., 17:24-35.
- Feria-Velasco, A. and N. Trevino, 1972: The Ultrastructure of Trophozoites of *Entamoeba histolytica* with particular reference to spherical arrangements of osmiophilic cylindrical bodies J. Protozool., 19:200-211.
- Kusamrarn, T., P. Sobhon, and G.B. Bailey, 1975b: The mechanism of formation of inhibitor-induced ribosome helices in *Entamoeba invadens*, J. Cell Biol., 65:529-539.
- Kusamrarn, T., K. Vinizchaikul, and G.B. Bailey, 1975a: Comparison of the structure and function of polysomal and helical ribosomes from *Entamoeba invadens*, J. Cell Biol., 65: 540-548.
- Lake, J.A. and H.S. Slayter, 1970: Three dimensional structure of the chromatoid body helix of *Entamoeba invadens*, Nature (London), 227:1032-1037.
- Lake, J.A. and H.S. Slayter, 1972: Three dimensional structure of the chromatoid body helix of *Entamoeba invadens*, J. Mol. Biol., 66:271-282.
- Lowe, C.Y. and B.G. Maegraith, 1970a: Electron microscopy of *Entamoeba histolytica* in culture, Ann. Trop. Med. Parasit., 64:283-291.
- Lowe, C.Y. and B.G. Maegraith, 1970b: Electron microscopy of an axenic strain of *Entamoeba histolytica*, Ann. Trop. Med. Parasit., 64:293-298.
- Lowe, C.Y. and B.G. Maegraith, 1970c: Electron Microscopy of *Entamoeba histolytica* in host tissue, Ann. Trop. Med. Parasit., 64: 469-473.
- Luft, J.H., 1961: Improvements in epoxy resin embedding methods, J. Biophys. Biochem. Cytol., 9:409-414.
- Miller, J.H., J.C. Swartzwelder, and J.E. Deas, 1961: An electron microscopic study of *Entamoeba histolytica*, J. Parasitol., 47:577.
- Morgan, R.S., H.S. Slayter, and D.L. Weller, 1968: Isolation of ribosomes from cysts of *Entamoeba invadens*, J. Cell Biol., 36:45-51.
- Morgan, R.S. and G.B. Uzman, 1966: Nature of the Packing of Ribosomes within chromatoid bodies, Science, 152:214-216
- Proctor, E.M. and M.A. Gregory, 1972: The Ultrastructure of axenically cultivated trophoz-

- ites of *Entamoeba histolytica* with particular reference to an observed variation in structural pattern. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 66:33-338.
- Rosenbaum, R.M. and M.J. Wittner, 1970: Ultrastructure of bacterized and axenic trophozoites of *Entamoeba histolytica* with particular reference to helical bodies, *J. Cell Biol.*, 45: 367-382.
- Siddiqui, W.A. and M.A. Rudzinska, 1963: A helical structure in Ribonucleoprotein bodies of *Entamoeba invadens*, *Nature*, 200:74-75.

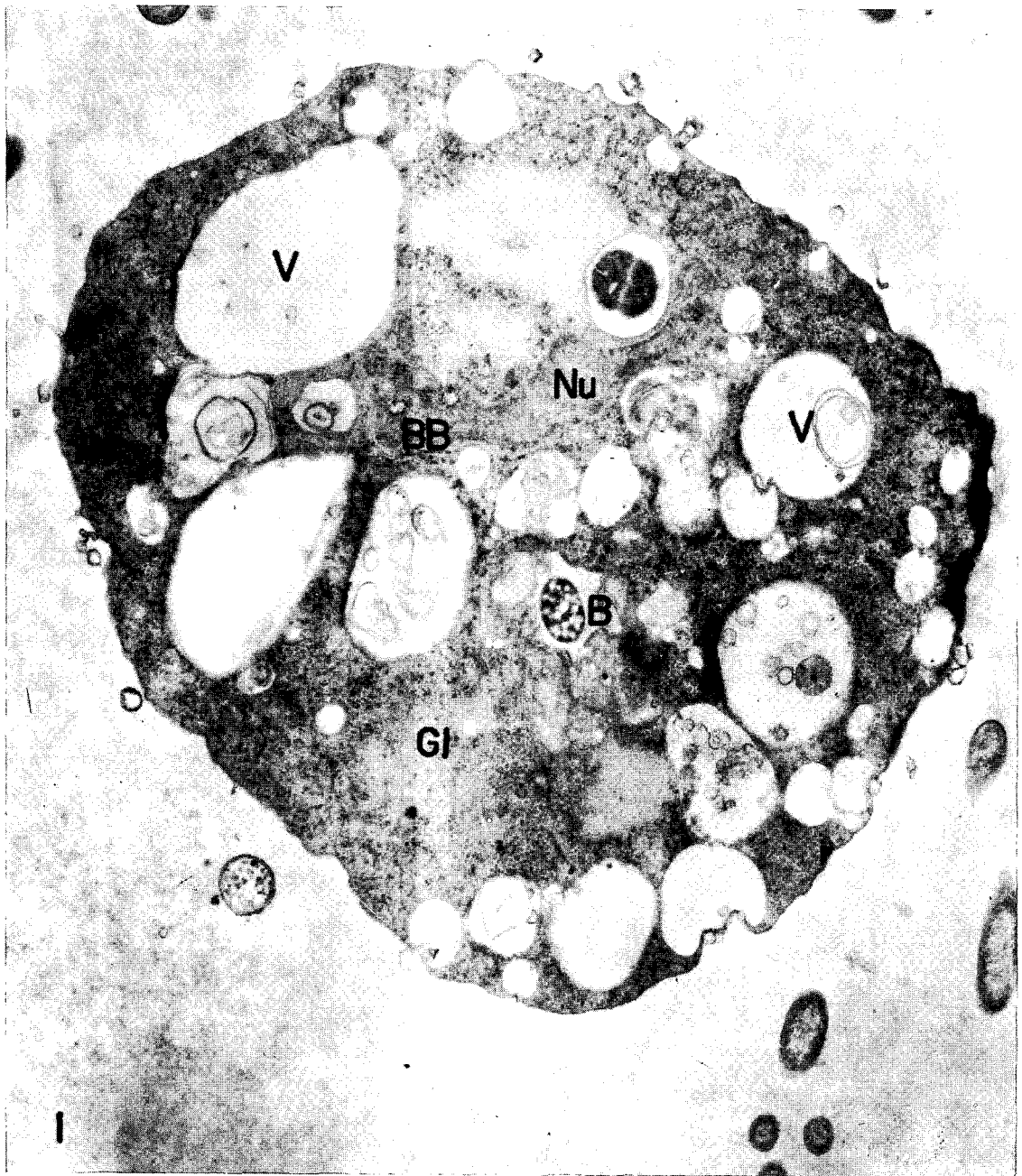


Fig. 1. Electron Micrograph of *Entamoeba histolytica* (Control cell). Nu (Nucleus), BB(Button Body), V(Vacuole), Gl(Glycogen), B(Bacteria), $\times 11,500$.

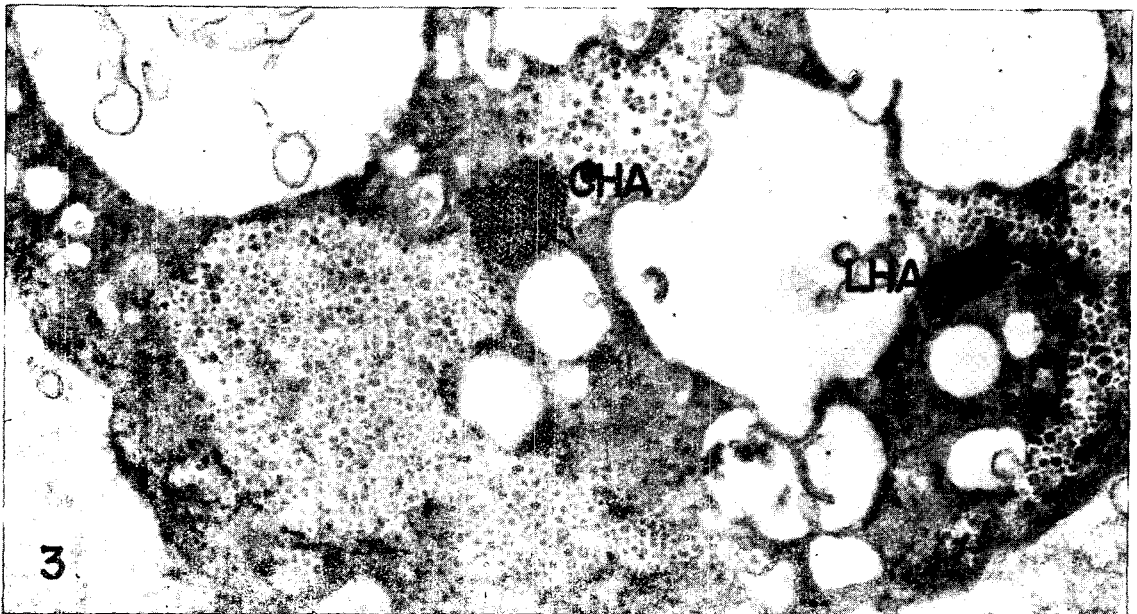


Fig. 2. The cell of **beginning** stage of the immobilization. Nu(Nucleus), BB(Button Body). V(Vacuole), Gl(Glycogen), Ps(Pseudopodia) ↑ (Helical aggregates). $\times 9,000$.

Fig. 3. Showing longitudinal(LHA) and crss(CHA) sectioned helical aggregates. $\times 21,000$.

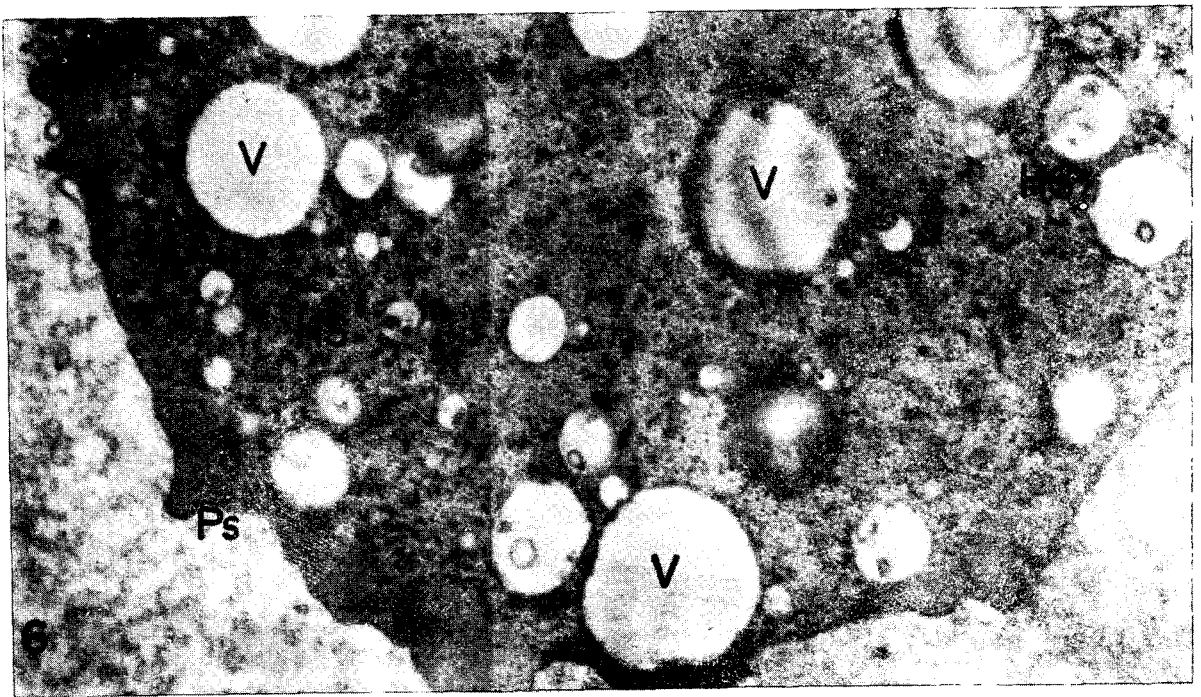
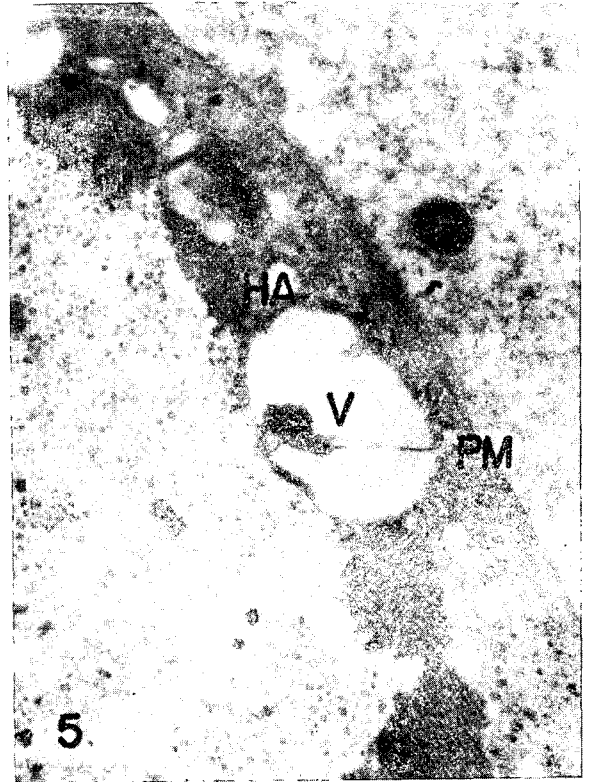
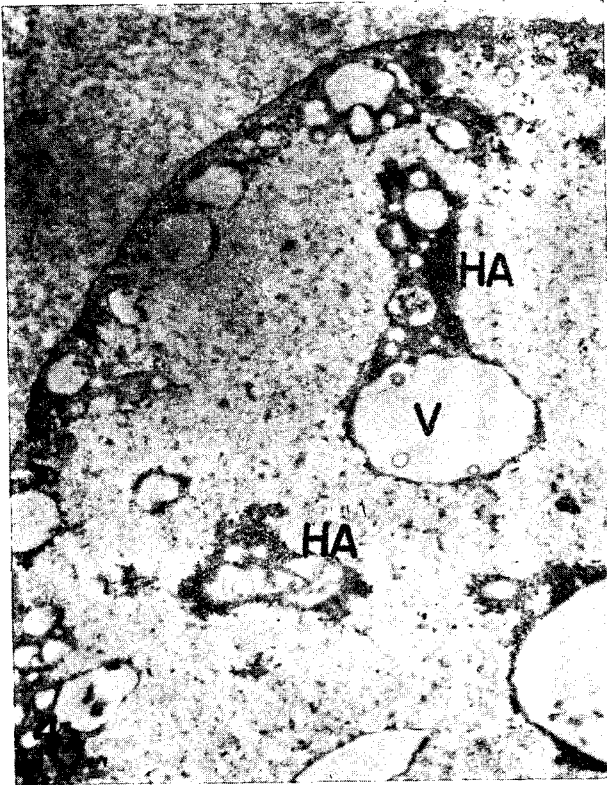


Fig. 4. Numerous helical aggregates (HA) are associated with vacuoles (V). $\times 14,600$.

Fig. 5. The cell in intactly immobilized state. Helical aggregates (HA) are found in the peripheral region. V (Vacuole), PM (Plasma membrane). $\times 23,400$.

Fig. 6. The cell in remobilized state. Numerous helix structures (HS) are observed in the peripheral region of the cell. V (Vacuole), Ps (Pseudopodia). $\times 14,400$.

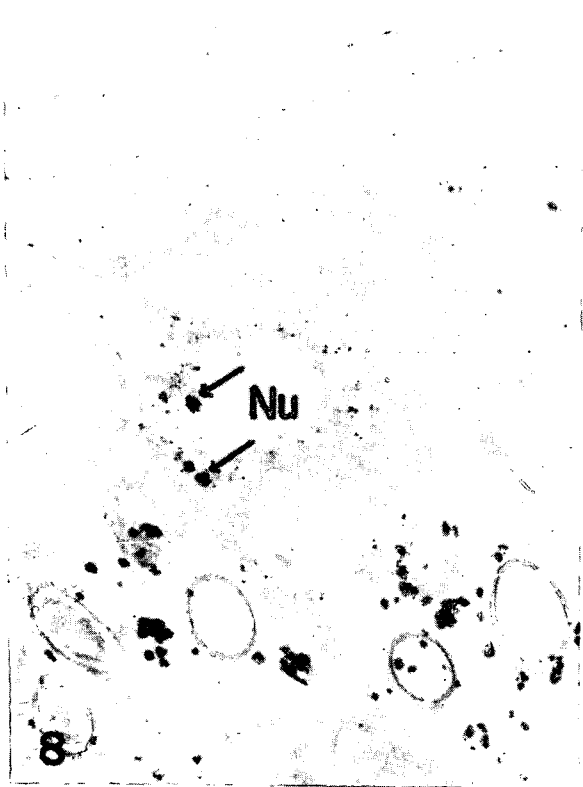
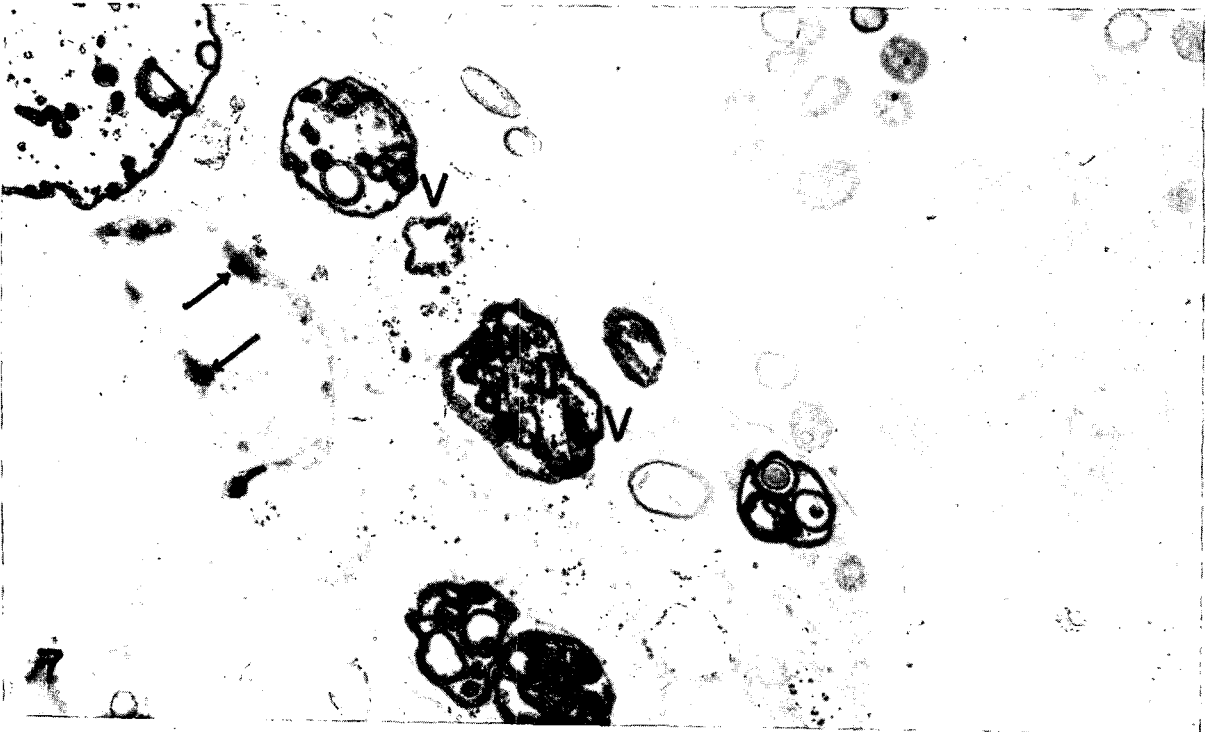


Fig. 7. The control cell showing acid phosphatase activity. The precipitations of reaction are observed in the button bodies (↓) and vacuoles (V). × 9,900.

Fig. 8. The cell of experimental group for demonstration of acid phosphatase. Button bodies (↑) in the nucleus (Nu) showing positive reaction. × 10,500.

Fig. 9. The cell of experimental group for demonstration of acid phosphatase. The