E-9

우렁쉥이 배발생 과정에서 유도신호와 중배엽 형성 위치

김길중
강릉대학교 해양생명공학부

서론

인간과 같은 척삭동물문에 속하는 우렁쉥이 (*Halocynthia roretzi*)의 유생은 척추동물의 체제를 매우 단순화시킨 구조를 하고 있다 (Nishida, 1997). 유생은 약 10여종의 세포들로 구성되며, 미부 중앙에 척삭과 그 위에 신경관의 원형 (prototype)을 갖는다. 모든 배 (embryo)들은 초기 발생과정에서 언제나 동일한 세포분열과 발생운명 양식을 나타낸다. 또한, 해부현미경을 이용하여 수정란으로부터 초기 원장배에 이르기까지 원하는 하나의 할구만을 분리, 제거 및 재결합하는 등의 micromanipulation 실험이 가능하다.

우렁쉥이 유생의 주요한 중배엽 조직으로 척삭, 근육 및 간충직을 들 수 있다. 초기 배의 식물극 정중앙에 내배엽 전구세포가 위치하고, 전방의 신경삭 전구세포와 내배엽 사이에 척삭 전구세포가, 후방의 근육 전구세포와 내배엽 사이에 간충직 전구세포가 형성된다. 척삭과 간충직의 형성은 32세포기에 내배엽 전구세포로부터 방출되는 신호에 의하여 내배엽과 인접한 위치에 유도된다 (Nakatani and Nishida, 1994; Kim and Nishida, 1999). 척삭과 간충직 형성에 있어서 난자의 후방 식물극 세포질 (posterior vegetal cytoplasm; PVC)에 존재하는 모성 세포질 결정인자가 중요한 역할을 하고 있음이 시사되었다 (Kim et al., 2000). PVC는 간충직세포의 형성에 반드시 필요하지만, 척삭세포의 분화는 PVC의 이식에 의하여 억제된다. 그러나, 유도원 (inducer)으로부터 방출되는 유도신호에 의하여 직접적으로 척삭 및 간충직이 유도되는지, 유도신호를 받아들이는 신경삭-척삭 및 근육-간충직 전구세포내에 세포분화와 관계되는 어떠한 차이가 존재하는지에 대해서 명확한 규명이 필요한 상태이다.

본 연구에서는 모델 실험동물 우렁쉥이 배에서 내배엽으로부터 방출되는 유도신호에 의하여 중배엽 세포들의 형성위치가 결정되는 과정에 관하여 연구하였다. 중배엽 세포들의 형성이 유도신호를 직접 받는 조건에 의하여 조절되는지 아니면 내부의 조건에 의존하는지를 조사했다.

재료 및 방법

우렁쉥이는 동해안에 서식하는 자연산 및 양식산을 사용하였다. 수정란은 수온 13도에서 발생시켰고, 약 16시간만에 신경판기 배로, 약 36시간만에 유생으로 부화하였다. 우렁쉥이 32세포배에서 미세한 유리섬유를 사용하여 내배엽 전구세포를 분리, 전방의 표피 전구세포를 제거한 별개의 초기 32세포배의 신경삭-척삭 전구세포의 신경삭세포쪽에 이식했다. 이들은 척삭세포가 형성될 위치에 원래의 내배엽이, 신경삭이 형성될 위치에 이식한 내배엽이 위치하게 된다. 실험군들은 110세포기 또는 신경판기까지 키운 후, 고정하여 *in situ* hybridization을 실시하였다. 신경삭과 척삭 세포의 분화 여부를 판정하기 위하여 사용한 분화 markers는 각각 *HrETR-1* 및 *HrBra*이다.

결과 및 요약

32세포배에서 전방 표피세포를 제거한 후 다른 배에서 유래한 내배엽 전구세포를 신경삭-척삭 전구세포의 신경삭세포쪽에 이식한 결과, 정상적인 경우 신경삭세포가 형성될 위치에서 신경삭세포의 형성이 억제되었다 (39.3%, n=28). 조절실험으로 표피 전구세포를 이식한 경우 신경삭의 분화 억제효과는 낮았다 (9.1%, n=11). 또한, 같은 방법으로 실험을 실시한 결과, 정상적인 경우 신경삭이 형성될 위치에 이소적인 (ectopic) 척삭 세포의 형성이 관찰되었다 (30.0%, n=30). 표피 전구세포를 사용한 조절실험에서는 이소적인 척삭세포의 유도가 전혀 관찰되지 않았다 (0%, n=11). 따라서, 척삭의 형성위치는 내배엽세포에서 유래하는 유도신호의 방향성에 의존한다는 것이 시사된다. 현재, 배의 후방에서 근육 및 간충직 세포가 형성되는 경우에서도 유사한 메카니즘이 작용하는지 아닌지를 확인하고 있다. 또한, 내배엽에서 유래하는 유도신호의 실체와 그 분자 메카니즘을 규명하는 것이 앞으로의 중요한 연구과제로 사료된다.

참고문헌

Kim G. J. and Nishida H. (1999) Suppression of muscle fate by cellular interaction is required for mesenchyme formation during ascidian embryogenesis. *Dev. Biol.* 214, 9-22.

Kim G. J., Yamada A. and Nishida H. (2000) An FGF signal from endoderm and localized factors in the posterior-vegetal egg cytoplasm pattern the mesodermal tissues in the ascidian embryo. *Development* 127, 2853-2862.

Nakatani Y. and Nishida H. (1994) Induction of notochord during ascidian embryogenesis. *Dev. Biol.* 166, 289-299.

Nishida H. (1997) Cell fate specification by localized cytoplasmic determinants and cell interactions in ascidian embryos. *Int. Rev. Cytol.* 176, 245-306.