

노랑초파리의 날개성체원기의 결정성에 관한 연구
I. 정상종과 흔적시의 성체원기에서의 단백질 합성

李 陽 林·朴 聖 淳
(梨花女子大學校 生物學科)

Studies on the Determination of the Imaginal Wing Discs of
Drosophila melanogaster. I. Protein Synthesis in the Wing
Discs of the Normal and Vestigial Strains.

Yang Rim Lee, Sungsoon Park
(Department of Biology, Ewha Womans University)
(Received march 18, 1982)

SUMMARY

Proteins, which may be closely related to differentiation of a cell group into a predestined fate, were investigated using imaginal discs of a wing mutant, vestigial of *Drosophila melanogaster*. The wing discs of the mutant fail to differentiate into normal wings, even though the third instar larvae form wing discs, which are very similar to those of the normal strain in size and shape.

Patterns of proteins of accumulated or synthesized in the discs of the third instar larvae of the normal and mutant strains were analyzed by acrylamide gel electrophoresis. The patterns of accumulated proteins were found to be slightly different between two strains in quantity rather than in quality. The patterns of proteins synthesized at various times of the third instar were found to be very similar to each other, even though there were a few proteins specific to the normal or to the mutant strain.

서 론

노랑초파리의 날개성체원기는 포배기에 일정수의 세포로부터 이미 성체의 구조를 갖출 수 있는 (분화할 수 있는) 잠재력을 갖게 된다 (Bryant, 1970, 1974, 1975; Bryant & Schneiderman, 1969; Chan & Gehring, 1971; Garcia-Bellido & Merriam, 1971; Schubiger *et al.*, 1977; Underwood *et al.*, 1980; Wieschaus & Gehring, 1976). 또한, 하나의 단위로서의 성체원기에 대한 분화의 결정과 아울러 각 성체원기 자체도 부위에 따라 성체 구조의 형성 부위가 다르며 (Bryant, 1974, 1975; Gehring, 1967; Kauffman, 1979) 재생 능력도 다

르다는 것이 알려졌다 (Bryant, 1971; Haynie & Bryant, 1976; Fain & Schneiderman, 1979; Karlsson, 1980; Kauffman & Ling, 1981; Reinhardt *et al.*, 1977).

이런 점에서 볼 때, 본 실험에서 사용된 노랑 초파리의 혼적시는 유충 시기에 정상적인 형태의 날개성체원기를 지니고 있으면서도 성체 날개로의 분화에 실패하고 있으므로, 정상적인 날개를 갖는 정상종의 날개 성체원기와 비교해 봄으로써 분화에 관련된 요인을 설명하는데 있어 한 가지 가능성을 제시할 수 있다고 하겠다.

그런데 지금까지의 성체원기에 대한 연구는 주로 형태학적인 관찰 (Fristrom, 1976; Fristrom & Chihara, 1978; Fristrom & Fristrom, 1975)과, 분화 과정에 관여하는 곤충의 moulting hormone의 효과에 대한 것 (Borst *et al.*, 1974; Fristrom *et al.*, 1974; Guillimet & Mandaron, 1980; King, 1972; Martin & Shearn, 1980; Milner, 1977; Milner & Sang, 1974; Siegel & Fristrom, 1974)이 대부분을 이루고 있는 반면, 생화학적인 측면에서는 많은 연구가 이루어지지 않고 있다. 그 중, Rodger & Shearn (1977)은 노랑 초파리의 다리, 날개, 눈—촉각에 해당하는 각각의 성체원기에서 단백질 양상에 차이가 난다고 보고하고 있으나, Seybold & Sullivan (1978), Utsumi & Natori (1980) 등은 이와 상반된 보고를 하고 있다.

본 실험에서는 이와 같은 연구 보고들을 바탕으로, 노랑 초파리의 정상종과 날개돌연변이종인 혼적시 (*vestigial*)의 성체 날개의 형태적 변이를 지배하는 요인을 고분자 물질인 단백질 수준의 차이로써 밝혀보고자 한다.

재료 및 방법

1. 재 료

본 실험에서 사용한 실험 재료는 노랑 초파리 (*Drosophila melanogaster*)의 정상종인 Oregon-R 계통과 날개돌연변이종인 혼적시 (*vestigial*)의 3령 유충에서 채취한 날개성체원기이었다. 초파리들은 표준배지 (yeast 60 g: sugar 140 g: corn meal 240 g: agar 52 g: water 3,200 ml: propionic acid 20 drops)를 사용하여 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 항온실에서 사육되었다. 정상종과 혼적시의 발생단계가 동일한 성체원기를 얻기 위해서 초파리 300마리 정도를 표준배지에 두시간 동안 산란시킨 후 사육병에서 성체를 제거하고, 그 알로부터 깨어나 120시간 경과된 유충을 *Drosophila Ringer*액 (Ephrussi & Beedle, 1936) 내에서 절개하였다.

2. 날개성체원기의 크기 측정.

날개 성체원기 (이하 성체원기라 함)의 크기는, 성체원기를 해부현미경 하에서 watch maker's forcep으로 베어낸 후 광학현미경을 통해 측미계로서 성체원기의 최장 길이와 폭을 각각 재어 측정하였다.

3. 1차원 전기영동법

누적된 단백질의 분석을 위해서 성체원기 100개를 채취하여 50 μl 의 Laemmli (1970)의 lysis buffer를 넣고 2분간 끓이면서 분쇄한 후 -20°C 에 보관하였다.

전기영동을 위한 겔로서는 9~15%의 acrylamide exponential gradient slab gel을 사용하였으며, 총길이 9 cm의 겔을 전기영동하는데 9°C 에서 12.5 mA로 5.5시간 걸렸다. 전기영동이 끝난 겔을 탈색용액 (methanol: glacial acetic acid: water=5:1:5)에 녹인 0.2%의 Coomassie Brilliant Blue 용액에 2시간 이상 염색시킨 후 탈색용액에 넣어 단백질 이외의 부분

을 탈색시켰다.

4. H³-leucine에 의한 성체원기의 표지.

Drosophila Ringer액에 100개 정도의 성체원기를 모은 후, Ringer액을 제거하고 minimal medium for evagination (MME) (Fristrom *et al.*, 1973)으로 씻어 냈다. H³-leucine (Amersham/England, Sp. Act. 50.6 Ci/m mole) 50 μ l와 2배로 농축시킨 MME 50 μ l를 섞은 표지 용액을 성체원기가 들어 있는 용기에 넣고 rotator 위에서 30분 간격으로 30초 내지 60초 동안 흔들어주면서 2.5시간 동안 25 \pm 1°C 항온기에서 표지시켰다. 표지된 성체원기를 MME로 여러번 씻고 microhomogenizing tube에 옮긴 다음 잔여 용액을 제거하고 isoelectric focussing lysis buffer (urea 9.5 M: NP-40 2%: 2-Me 5%: pH 5-7 ampholine 1.6%: pH 3-10 ampholine 0.4%) 30 μ l를 넣어 분쇄한 후 -20°C에 보관하였다.

5. 2차원 전기영동법

본 실험은 O'Farrell (1975)의 2차원 전기영동법을 기본으로 하였다.

Isoelectric focussing (IEF)은 길이 128 mm, 직경 2.4 mm의 disc겔을 사용하였으며, 시료를 넣기 전에 200 V에서 15분, 300 V에서 30분, 400 V에서 30분간 prerunning시켰다. Prerunning이 끝난 후, H³-leucine으로 표지된 시료 30 μ l를 IEF겔 위에 얹은 다음 25°C에서 550 V로 15시간, 800 V로 1시간 동안 IEF시켰다. IEF가 끝난 겔은 5 ml의 equilibration buffer에 넣어 -20°C에 보관하였다.

2차원 전기영동을 위한 겔은 9~15%의 acrylamide exponential gradient slab gel (길이 9 cm)을 사용하였으며, IEF겔을 전기영동겔에 부착시킨 후 High SDS compartment buffer를 사용하여 실온에서 20 mA로 20분간 prerunning 시켰다. 본 전기영동은 9°C에서 12.5 mA로 5.5시간 걸렸으며, 전기영동이 끝난 후 겔을 7.5% acetic acid에 고정시켰다.

6. Fluorography

Fluorography는 Bonner & Lasky (1974)의 방법을 사용하였다.

겔을 dimethyl sulfoxide (DMSO)에서 탈수시킨 후 DMSO에 녹인 20% PPO 용액에 하루 동안 담갔다. 여과지 (Whatman filter paper No. 3) 위에 놓고 55°C에서 10시간 동안 저기압으로 제습하면서 건조시켰다. 여과지에 건조된 겔을 Lasky & Mills (1975) 방법으로 pre-flash한 XR/2 X-ray film (Kodak, RP X-Omat, 5 \times 7 in), 혹은 XAR/5 X-ray film (Kodak, X-Omat AR 5 \times 7 in)에 밀착시켜 -70°C에서 노출시킨 후 X-ray film 현상액 (Kodak)으로 현상하였다.

결 과

1. 성체원기의 성장속도

노랑초파리의 성체원기는 3령 유충시기까지 성장한 후 3령 말기에 성숙된 성체원기로 완성되고 그후 번데기 시기를 거치는 동안 세포수에는 거의 변화없이 성체구조로 분화하는 것으로 알려져 있다 (Bodenstein, 1950; Bryant, 1974). 그러나 성체원기의 정확한 성장속도, 즉 시간과 성장의 상호관계를 알지 못하여 단백질 분석에 필요한 성체원기를 분리해 낼 유충의 시기를 정확히 정할 수가 없었다. 따라서 성장속도를 측정함으로써 실험체료로 사용할

성체원기의 시기를 정하였다. 3령 초기인 산란 후 72시간이 되는 유충시기부터 120시간이 되는 유충시기에 이르기까지 4시간 간격으로 성체원기를 분리하여 길이와 폭을 광학현미경 하에서 측정하였다. 성체원기의 모양이 쉽게 계산해낼 수 있는 모양이 아니기 때문에 성체원기의 최장의 길이와 폭을 측정하여 상대적 넓이를 산출함으로써 성체원기의 크기의 변화를 조사하였다.

이러한 조사결과에 의하면 72시간 유충에서의 성체원기는 길이 0.144 mm, 폭 0.099 mm로서, 넓이는 0.014 mm²이었다 (Table I). 길이와 폭은 88시간의 유충시기에 이를 때까지 완만히 증가하여 넓이는 약 2배가량 증가하나 88시간에서 96시간 사이에 길이와 폭이 각각 3배가량씩 증가하여 넓이는 88시간의 넓이에 비해 약 10배 가량 즉 0.217 mm²로 급격히 증가함을 보여주었다. 96시간에서 120시간까지는 성체원기의 미소한 증가만을 보여주었다. 이상과 같은 결과에 의하면 3령 초기인 72시간에서 3령 말기인 120시간까지의 3령 유충이 48시간 동안에 3단계의 성체원기 성장속도의 변화를 보여주었다.

Table 1. Average sizes of the imaginal wing discs in the third instar larvae of normal and vestigial strains of *Drosophila melanogaster*.

| Strains | No. of discs | Average value (mm) | | Area (mm ²) |
|-----------|--------------|--------------------|-------------|-------------------------|
| | | Length | Width | |
| normal | 20 | 0.453±0.035 | 0.390±0.022 | 0.217±0.020 |
| vestigial | 20 | 0.453±0.035 | 0.347±0.013 | 0.190±0.015 |

이러한 3단계의 성장시기는 성체원기의 형태적인 변화와도 다소 관계가 있는 것으로 보였다. 즉 72시간부터 96시간까지 성체원기는 거의 투명하며 주름의 상태도 고르지 않으나 120시간이 경과된 유충의 성체원기에서는 peripodial membrane으로 둘러싸인 뚜렷한 주름을 보여주었다.

2. 정상종과 혼적시의 성체원기의 비교

정상종은 물론 혼적시의 3령유충에서 날개성체원기가 관찰되었으므로, 이들 두종의 성체

Table 2. Average sizes of the imaginal wing discs in the normal third instar larvae at various times after oviposition.

| Hr. after oviposition | No. of discs | Mean value (mm) | | Area (mm ²) |
|-----------------------|--------------|-----------------|-------------|-------------------------|
| | | Length | Width | |
| 72 | 16 | 0.144±0.006 | 0.099±0.005 | 0.014±0.001 |
| 76 | 16 | 0.140±0.007 | 0.105±0.005 | 0.015±0.002 |
| 80 | 16 | 0.150±0.004 | 0.095±0.002 | 0.014±0.002 |
| 84 | 18 | 0.166±0.007 | 0.112±0.003 | 0.020±0.002 |
| 88 | 16 | 0.155±0.010 | 0.135±0.003 | 0.021±0.002 |
| 92 | 20 | 0.287±0.025 | 0.214±0.020 | 0.061±0.027 |
| 96 | 20 | 0.453±0.035 | 0.390±0.022 | 0.217±0.020 |
| 120 | 20 | 0.558±0.018 | 0.391±0.017 | 0.224±0.013 |

원기가 형태적으로 차이가 있는지를 알아보았다. 산란 후 120시간이 경과한 3령 말기의 유충으로부터 성체원기를 채취하여 광학현미경으로 관찰한 결과, 전체적인 윤곽과 주름의 모양이 다소 차이가 있어 보이나 정상종과 혼적시 간에 뚜렷한 차이를 찾아볼 수 없었다 (Fig. 1). 이와같은 사실은 지금까지 실험에 사용하기 위하여 약 200마리의 3령기 유충으로부터 성체원기를 채취할 때 재확인된 바 있다.

크기에 있어서도 두 종 간의 성체원기는 매우 유사했다. 산란 후 96시간이 경과한 혼적시의 성체원기 크기를 정상종의 성체원기와 비교해 본 결과, 길이에는 차이가 없었고 혼적시의 성체원기의 폭이 정상종의 것보다 다소 좁았다 (Table 1, Table 2). 따라서 전체적인 면적도 혼적시의 것이 정상종의 것보다 약 14% 적었다.

3. 단백질 양상의 비교

정상종과 혼적시의 산란 후 120시간이 경과된 3령 유충의 성체원기 세포에 누적된 단백질을 1차원 전기영동으로 분석 비교하여 단백질 양상의 차이를 점검하여 보았다.

이러한 실험의 결과를 전기영동상 (Fig. 2)과 densitometer기록 (Fig. 3)으로 제시하였다. 전기영동상에서 보여주는 바와 같이 전반적인 단백질 양상에는 정상종과 혼적시 사이에 큰 차이가 없으나, 화살표 (→)로 표시한 비교적 분자량이 큰 단백질의 양적 차이를 비롯하여 다소의 차이가 있음을 보여주었다.

이러한 미소한 차이를 바로 판단하기 위하여 전기영동상을 densitometer로 기록하였다 (Fig. 3). 정상종과 혼적시의 단백질 양상을 비교함에 있어 특별히 동질 단백질간의 양적 차이를 좀 더 자세히 분석하기 위하여, 두 종 간에 동질 단백질이라고 간주되는 densitometric peak끼리 번호로 표시하였다.

전반적으로 보아 단백질 양상의 질적 차이는 크게 두드러져 보이지 않으나 양적 차이를 보이는 수종의 단백질을 볼 수 있었다. Fig. 3A에서 *로 표시한 두 개의 peak는 정상종에서 우세하게 존재하는 반면 Fig. 3B에서 ▲로 표시한 다섯 개의 peak는 혼적시에서 양적으로 우세한 단백질임을 보여주었다. 이러한 양적 차이가 질적 차이까지 내포하고 있는 것인지는 알 수 없으나 전반적으로 보아 단백질 양상은 두 종간에 두드러진 질적 차이는 보이지 않은 것 같았다.

4. 정상종과 혼적시 성체원기에서의 단백질합성 양상

혼적시 3령 유충에 성체원기가 형성되지만 그후 날개로 분화하지 못하는 것이 단순히 유전적인 결함때문이라면 두 종의 성체원기에서 합성되는 단백질의 양상에 차이가 있을 것이라고 기대되었다. 산란 후 120시간과 144시간이 경과한 정상종과 혼적시의 성체원기를 분리하여 ³H-leucine으로 *in vitro*에서 표지한 후 이차원 전기영동법으로 분리하여 자기방사법 (fluorography)으로 새로 합성된 단백질을 검출하였다. 먼저 120시간 경과한 두 종의 성체원기에서 합성된 단백질의 분석 결과를 Fig. 4에 제시하였다.

전반적인 전기영동상을 알아보기 쉽게 하기 위하여 공통적으로 검출되는 단백질들을 숫자로 표시하였다. 종이나 발생단계 특유의 단백질을 알파벳 (a, s, t, u 등)로 표시하고 각 단계에서 두 종간의 질적 혹은 양적 차이가 나는 단백질은 별표 (*)로 표시하였다. 혼적시에 없는 정상종 특유의 단백질로 일관성있게 검출되는 단백질은 a단백질 1종이며, 혼적시 특유의 단백질은 t단백질 뿐이었다. s와 u 단백질은 120시간과 144시간의 정상종에서는 찾아볼 수 없는 단백질이었으나 Fig. 6A에서는 동정하기 힘든 것들이었다. Fig. 4A와 4B에

*로 표시한 단백질들은 일관성은 없으나 정상종과 혼적시 간에 질적 혹은 양적으로 다소 다르게 나타난 것들이었다. 산란 후 144시간이 경과한 정상종과 혼적시의 유충 성체원기에서 합성되는 단백질 양상도 같은 방법으로 살펴보았다. Fig. 5A는 144시간이 경과한 정상종의 성체원기에서 합성된 단백질 양상으로서 120시간의 것과 (Fig. 4A) 거의 유사하였다. 7번 위치와 8번 위치에 있는 단백질들의 합성정도가 다른 종류의 것에 비해 훨씬 감소한 것이 눈에 띄었을 뿐 120시간과 144시간의 차이를 볼 수 없었다. a-단백질들은 혼적시에서 찾아 볼 수 없는 것으로 120시간의 유충시기부터 정상종 특유의 단백질로 지적되어 온 것이다. Fig. 5B는 144시간이 경과한 혼적시의 성체원기에서 나타나는 합성 양상으로서 120시간의 것과 (Fig. 4B) 매우 유사하다. 역시 7번과 8번 위치에 있던 단백질들의 합성정도가 144시간의 유충시기에서는 현저하게 감소하는 경향을 볼 수가 있었다. 120시간 유충시기에 혼적시 특유의 단백질중 t단백질만이 계속 144시간 유충시기에도 남아있는 것으로 보였다. 그러나 144시간에서 야생종과 혼적시의 특유의 단백질로 p와 q가 각각 나타나며, 혼적시에서는 s와 u단백질이 계속 합성되었다.

Fig. 4와 5의 결과에 의하면 성체원기에서 합성되는 단백질 양상이 두 종 간에 매우 흡사한 것으로 나타났다. 단지 야생종에서는 a단백질과 혼적시에서는 t단백질만이 각 종의 특유의 단백질로 나타났다. 이와같은 결과를 재확인하기 위하여 새로운 시료를 prepupa가 되기 직전의 3령 말기의 유충으로 부터 채취하여 분석하였다. Fig. 6에 결과를 제시하고 있는 바, 처음에는 Fig. 4와 5의 전기영동상과 매우 다른 것처럼 보였으나 자세히 살펴보면 거의 차이가 없었다. Fig. 4와 5의 것보다 pH gradient가 다소 오른쪽으로 기울어진 것과 전기영동이 좀 더 길게 된 점이 다르다고 하겠다. 7번과 8번 위치의 단백질들이 거의 혹은 전연 나타나지 않는데, 이러한 단백질의 합성시기는 오히려 산란 후 120시간의 유충시기에서 나타나는 것으로 보이며 점차 감소하고 결국은 prepupae 직전에 합성되지 않는 것으로 생각된다. 특별히 Fig. 4와 5의 전기영동상과 다른점은 Fig. 6의 A와 B에서 1, 5, 9, 7을 잇는 4각형의 부위에 나타난 여러개의 단백질들의 합성이라고 하겠다. Fig. 6에서도 정상종의 a단백질과 혼적시의 t단백질이 계속 나타나고 있는 것으로 보인다. 이 시기에 특별히 정상종과 혼적시 특유의 단백질로 지적되는 것은 m과 n단백질이었다. *로 표시한 단백질은 이 시기에서만 양적 혹은, 불확실하지만 질적으로 차이가 있는 것으로 보이는 단백질들이었다.

고 찰

정상종과 혼적시에서 산란 후 120시간부터 약 150시간까지 주로 3령 말기에 해당하는 시기에 단백질 합성의 변화가 있었다고 하겠다. 즉, 120시간과 144시간 시기에 7번 위치와 8번 위치의 단백질이 크게 감소하고 prepupa시기에 Fig. 6에서 보여주는 바와 같이 새로운 단백질이 다수 합성되는 것으로 보아 시기적으로 단백질 합성의 번이가 있는 것으로 보인다. Arking (1978)은 노랑 초파리에서 성체원기의 종류와 발생 단계 특유의 단백질이 합성된다고 보고하였다. Rodger & Shearn (1977)도 일단 성숙한 성체원기 종류에 따라 합성되는 단백질의 종류가 상당히 차이가 있음을 보고하였다.

그러나, 본 실험에서 나타난 바와 같이 정상종과 혼적시 사이에 날개성체원기에서 합성되는 단백질 합성 양상에는 큰 차이가 보이지 않았다. 동시에 수행한 실험에서는 정상종과

혼적시 간에 다소 차이를 보였으나, 여러 차례 반복된 실험을 통해서 살펴본 결과 일관성 있게 나타나는 차이는 보이지 않았다고 하겠다. 이러한 산만한 차이를 발생단계에 따른 특이성이라고 할 수도 있겠으나 반드시 그렇지만은 않은 것 같다. 왜냐하면, Fig. 4에 보여준 결과는 동일한 시료로 두 차례 반복한 실험의 결과로서 그 중 일부만을 보여주고 있지만, 분석에는 두 차례 실험 결과를 적용하였는데, 이 때 두 차례의 실험 결과에도 다소 산만한 차이점을 볼 수 있었기 때문이다. 이렇게 정상종과 혼적시의 날개성원기에서의 단백질 합성 양상에 큰 차이가 없다는 결과와 유사한 결과를 보고한 예는 없으나, 비록 서로 다른 성체원기에서 합성되는 단백질일지라도 그 양상이 매우 유사하다는 결과가 각각 초파리와 쉬파리과의 일종인 *Sarcophaga peregrina*의 성체원기를 재료로 분석 발표된 경우가 있다 (Seybold & Sullivan, 1978; Utsumi & Natori, 1980).

3령 유충 말기에 정상종과 혼적시의 날개성체원기에서 합성되는 단백질의 양상이 유사하다는 사실이 어느 시기에서나 단백질 합성의 유사성을 대표하는 것이라고는 할 수 없으나, 일단 이러한 유사성을 가정한다면, 단백질 합성 내지는 유전자 발현의 양상이 이 두 종 간에 유사함에도 불구하고 ‘왜 날개돌연변이종인 혼적시에서는 날개로서의 분화에 실패하는 것일까?’ 하는 질문에 대한 답을 현재로서는 찾을 길이 없으나, 그 원인을 두 가지 방향으로 추리해 볼 수 있을 것 같다. 첫째 가능성으로서는 그 원인이 날개성체원기 밖에 있으면서 날개성체원기의 분화를 조절하는 경우이다. 둘째 가능성으로서는 그 원인이 날개성체원기 내에 있지만 현존하는 기술로서는 검출하기 힘들 정도의 차이에 의해서 분화가 조절되는 경우이다. 첫번째 가능성이 옳다고 할 지라도, 이차적으로 성체원기 세포 내에 어떠한 변화가 일어나야만 분화의 방향성이 정해질 것이기 때문에, 아직도 두번째 가능성이 타당한 것처럼 보인다. Fristrom (1968)이 보고한 바에 의하면 혼적시 3령 말기의 날개성체원기 세포는 소포들이 다량 세포질 내에 있게 되는데, 이러한 현상은 혼적시의 날개성체원기가 퇴화하는 증상이며, 결과적으로는 세포 자체가 소멸된다고 하였다. 이와 같은 전자현미경적 관찰은 그 원인이 오히려 성체원기세포 내에 있음을 강하게 암시하는 것으로 생각된다.

요 약

노랑 초파리 3령 유충의 날개성체원기와 같은 세포군의 분화와 단백질 합성이 관계가 있는지 살펴 보았다.

3령기에 혼적시의 성체원기는 비록 정상종의 성체원기의 크기와 형태가 매우 유사하지만 정상적인 날개로 분화하지 못한다. 이러한 노랑초파리 (*Drosophila melanogaster*)의 정상종과 날개돌연변이종인 혼적시 유충 3령기의 성체원기에 축적되었거나 합성되는 단백질을 전기영동법으로 분석하여 비교하여 보았다.

누적된 단백질의 양상은 두 종 간에 다소 차이를 보이기는 했으나, 질적이기 보다는 오히려 양적인 차이로 생각되었다. 합성된 단백질 양상을 3령의 여러 단계에서 분석해 본 결과, 비록 소수의 단백질이 정상종, 혹은 혼적시 특유의 단백질로 나타났지만, 전반적으로 그 양상이 매우 유사하였다.

REFERENCES

- Arking, R. (1978), Tissue-, age-, and stage-specific patterns of protein synthesis during the development of *D. melanogaster*. *Devel. Biol.* 63:118-127.
- Bodenstein, D. (1950), The postembryonic development of *Drosophila*. In: Biology of *Drosophila*. ed. by M. Demerec, New York-John Wiley & Sons, Inc., 257-363.
- Bonner, W.M. and R.A. Lasky (1974), A film detection method tritium-labelled proteins and nucleic acids in polyacrylamide gels. *Eur. J. Biochem.* 46:83-88.
- Borst, W.B., W.E. Bollenbacher, J.D. O'Connor, S.D. King and J.W. Fristrom (1974), Ecdysone levels during metamorphosis of *D. melanogaster*. *Devel. Biol.* 29:308-316.
- Bryant, P.J. (1970), Cell lineage relationships in the imaginal wing disk of *D. melanogaster*. *Devel. Biol.* 22:389-411.
- Bryant, P.J. (1971), Regeneration and duplication following operations *in situ* on the imaginal discs of *D. melanogaster*. *Devel. Biol.* 26:606-615.
- Bryant, P.J. (1974), Determination and pattern formation in the imaginal discs of *Drosophila*. In: Current topics in Developmental Biology. Vol. 8:41-80.
- Bryant, P.J. (1975), Patterns formation in the imaginal wing disc of *D. melanogaster*: Fate map, regeneration and duplication. *J. Exp. Zool.* 193:49-78.
- Bryant, P.J. and H.A. Schneiderman (1969), Cell lineage, growth and determination in the imaginal leg discs of *D. melanogaster*. *Devel. Biol.* 20:263-290.
- Chan, J.N. and W. Gehring (1971), Determination of blastoderm cells in *D. melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 68:2217-2221.
- Ephrussi, B. and G.W. Beedle (1936), A technique of transplantation for *D. melanogaster*. *Amer. Naturalist* 70:218-225.
- Fain, M.J. and H.A. Schneiderman (1979), Wound healing and regenerative response of fragments of the *Drosophila* wing imaginal disc cultured *in vitro*. *J. Insect Physiol.* 25:913-924.
- Fristrom, D. (1968), Cellular degeneration in wing development of the mutant *vestigial* of *Drosophila melanogaster*. *J. Cell Biol.* 39:488-491.
- Fristrom, D. (1976), The mechanism of evagination of imaginal discs of *D. melanogaster*. III. Evidence for cell rearrangement. *Devel. Biol.* 54:163-171.
- Fristrom, D. and C. Chihara (1978), The mechanism of evagination of imaginal discs of *Drosophila melanogaster*. V. Evagination of disc fragments. *Devel. Biol.* 66:564-570.
- Fristrom, D. and J.W. Fristrom (1975), The mechanism of evagination of imaginal discs of *Drosophila melanogaster*. *Devel. Biol.* 43:1-23.
- Fristrom, J.W., T.L. Gregg and J. Siegel (1974), The effect of β ecdysone on protein synthesis in imaginal discs of *D. melanogaster* cultured *in vitro*. I. The effect on total protein synthesis. *Devel. Biol.* 41:301-313.
- Fristrom, J.W., W.R. Logan and C. Murphy (1973), The synthetic and minimal culture requirement for evagination of imaginal discs of *Drosophila melanogaster in vitro*. *Devel. Biol.* 33:441-456.
- Garcia-Bellido, A. and J.R. Merriam (1971), Genetic analysis of cell heredity in imaginal disc of *Drosophila melanogaster*, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 68:2222-2226.

- Gehring, W. (1967), Clonal analysis of determination dynamics in cultures of imaginal disks in *D. melanogaster*. *Devel. Biol.* **16**:438-456.
- Guillemet, C. and P. Mandaron (1980), *In vitro* imaginal disc development and moulting hormone. *J. Embryol. Exp. Morph.* **57**:107-118.
- Haynie, J.L. and P.J. Bryant (1976), Intercalary regeneration in imaginal wing disk of *Drosophila melanogaster*. *Nature* **259**:659-662.
- Karlsson, J. (1980), Distal regeneration in proximal fragments of the wing disc of *Drosophila*. *J. Embryol. Exp. Morph.* **59**:315-323.
- Kauffman, S.A. (1979), The compartmental and combinatorial code hypotheses in *Drosophila* development. *Bioscience* **29**:581-588.
- Kauffman, S.A. and E. Ling (1981), Regeneration by complementary wing disc fragments of *Drosophila melanogaster*. *Devel. Biol.* **82**:238-257.
- King, D.S. (1972), Ecdysone metabolism in insects. *Amer. Zool.* **12**:343-345.
- Laemmli, U.K. (1970), Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of Bacteriophage T₄. *Nature* **227**:680-685.
- Laskey, R.A. and A.D. Mills (1975), Quantitative film detection of H³ and C¹⁴ in polyacrylamide gels by fluorography. *Eur. J. Biochem.* **56**:335-341.
- Martin, P. and A. Shearn (1980), Development of *Drosophila* imaginal discs *in vitro*: Effects of ecdysone concentration and insulin. *J. Exp. Zool.* **211**:291-302.
- Milner, M.J. (1977), The time during which β -ecdysone is required for the differentiation *in vitro* and *in situ* of wing imaginal discs of *Drosophila melanogaster*. *Devel. Biol.* **56**:206-212.
- Milner, M.J. and J.H. Sang (1974), Relative activities of α -ecdysone and β -ecdysone for the differentiation *in vitro* of *Drosophila melanogaster* imaginal discs. *Cell* **3**:141-143.
- O'Farrell, P.H. (1975), High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *J. Biol. Chem.* **250**:4007-4021.
- Reinhardt, C.A., N.M. Hodgkin and P.J. Bryant (1977), Wound healing in the imaginal discs of *Drosophila*. I. Scanning electron microscopy of normal and healing wing discs. *Devel. Biol.* **60**:238-257.
- Rodgers, M.E. and A. Shearn (1977), Patterns of protein synthesis in imaginal discs of *Drosophila melanogaster*. *Cell* **12**:915-921.
- Schubiger, G., R.C. Moseley and W.J. Wood (1977), Interaction of different egg parts in determination of various body regions in *D. melanogaster*. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **74**:2050-2053.
- Seybold, W.D. and D.T. Sullivan (1978) Protein synthetic patterns during differentiation of imaginal discs *in vitro*, *Devel.* **65**:69-80.
- Siegel, J.G. and J.W. Fristrom (1974), The effect of β ecdysone on protein synthesis of imaginal discs of *Drosophila melanogaster* cultured *in vitro*. II. The effect on synthesis of specific cell fractions. *Devel. Biol.* **41**:314-330.
- Underwood, E.M., F.R. Turner and A.P. Mahowald (1980), Analysis of cell movements and fate mapping during early embryogenesis in *Drosophila melanogaster*. *Devel. Biol.* **74**:286-301.
- Utsumi, K. and S. Natori (1980), Analysis of imaginal disc proteins of *Sarcophaga peregrina* by two dimensional gel electrophoresis. *Insect Biochem.* **10**:29-36.
- Wieschaus, E. and W. Gehring (1976), Clonal analysis of primordial disc cells in the early embryo of *Drosophila melanogaster*. *Devel. Biol.* **50**:249-263.

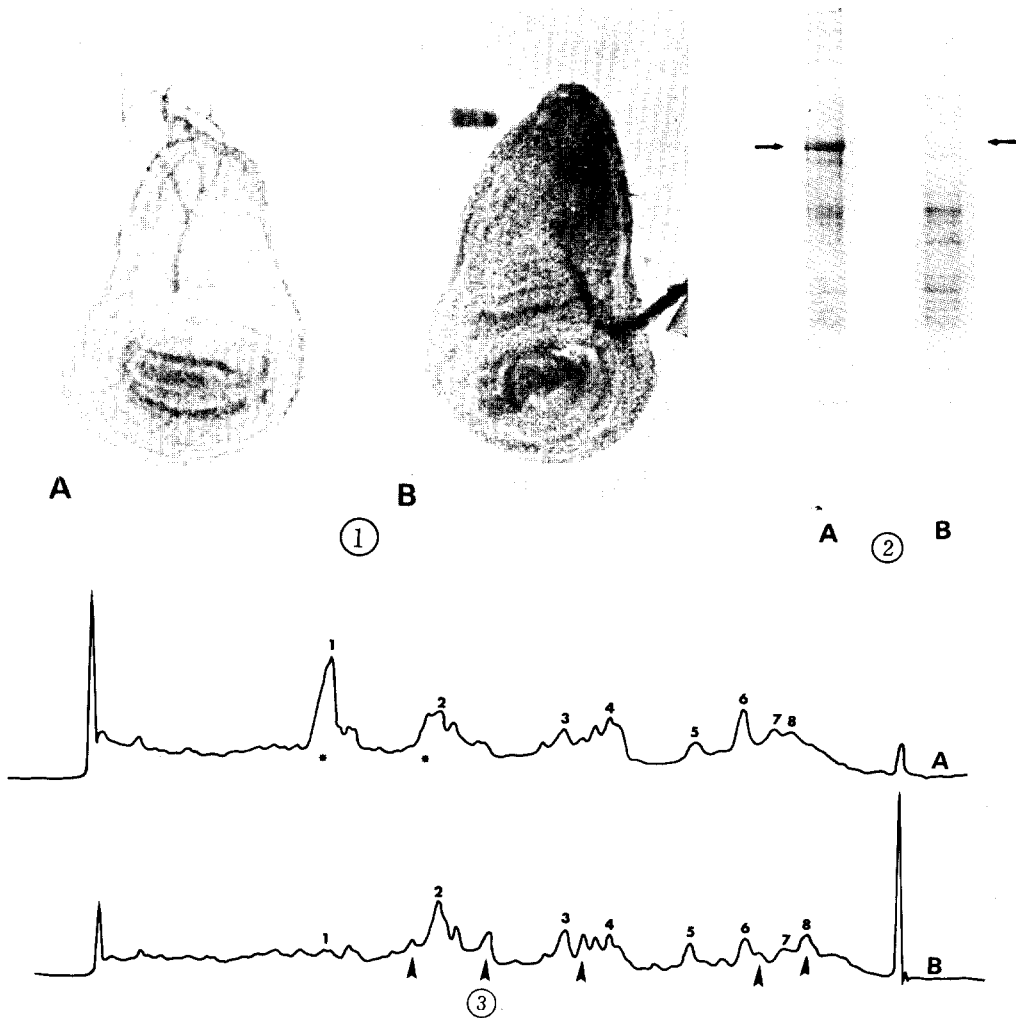


Fig. 1. Imaginal wing discs of normal (A) and vestigial (B) strains of *Drosophila melanogaster* dissected from the 120 hour-old third instar larvae. Photographs were taken at the same magnification (100 \times).

Fig. 2. Electrophoretic patterns of accumulated proteins in the imaginal wing discs of normal (A) and vestigial (B) strains of *Drosophila melanogaster* in the 120 hour-old larvae after oviposition.

Fig. 3. Densitometric recordings of the electrophoretic patterns of accumulated proteins analyzed in Fig. 2.

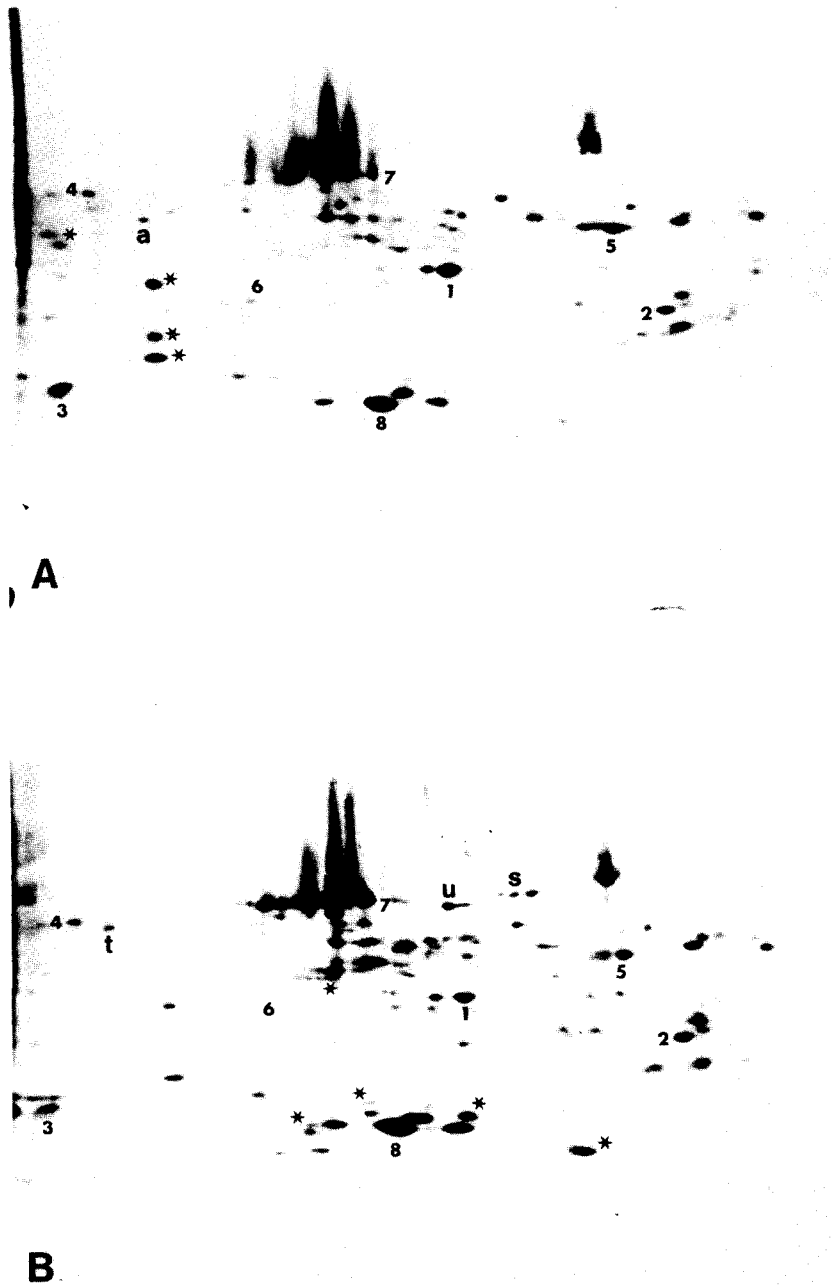


Fig. 4. Fluorograms of proteins synthesized in the imaginal wing discs of the 120 hour-old third instar larvae of the normal (A) and mutant strains (B) of *Drosophila melanogaster*.

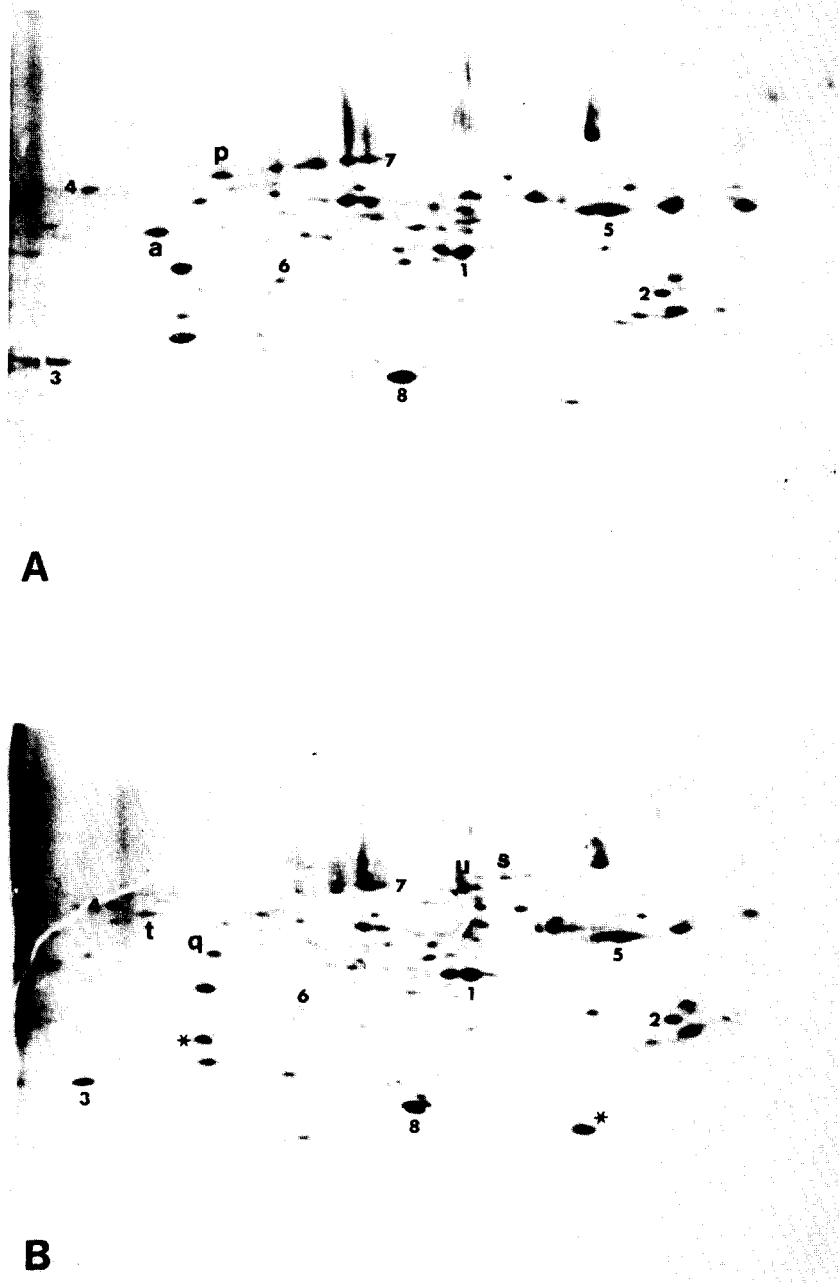


Fig. 5. Fluorograms of proteins synthesized in the imaginal wing discs of the 144 hour-old third instar larvae of the normal (A) and mutant strains (B) of *Drosophila melanogaster*.

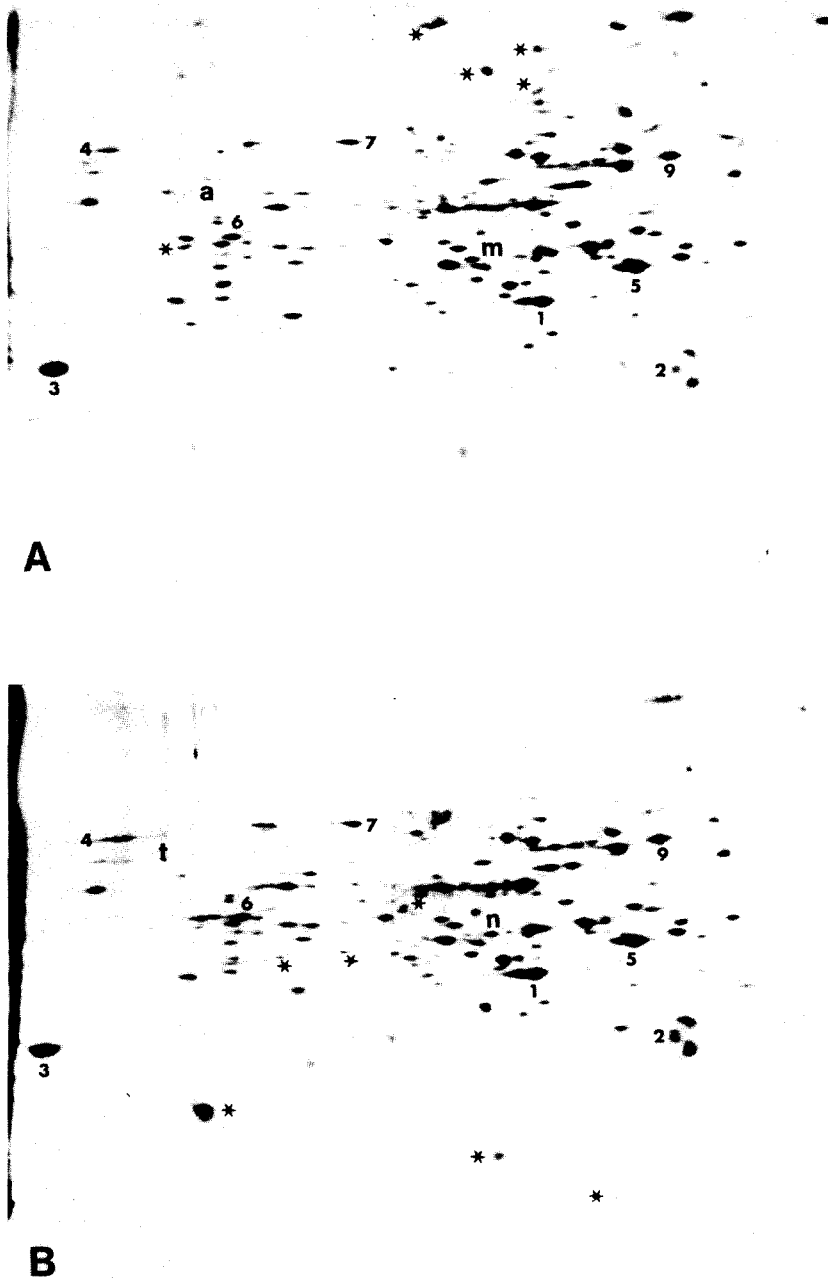


Fig. 6. Fluorograms of proteins synthesized in the imaginal wing discs of the prepupae of the normal (A) and mutant strains (B) of *Drosophila melanogaster*.