

양서류 초기 **embryo** 활구의 체축 형성 능력에 관한 연구

정 해 문 · 김 윤 경  
(서울대학교 사범대학 생물교육과)

Studies on the Axis Formation Capacity in the Blastomeres of  
Early Amphibian Embryo

Hae Moon Chung and Yoon Kyung Kim  
(Dept. of Biology Education, Seoul National Univerisity)  
(1987. 4. 1. 접수)

---

**ABSTRACT**

In order to investigate the importance of the prospective mesodermal and endodermal blastomeres at 32-cell stage in the axis formation, blastomeres were deleted or transplanted into the ventrovegital site of another normal embryo. The results are as follows:

When the dorsomesodermal or dorsoendodermal blastomeres were deleted, there was a substantial developmental lesion in the axis structure. However, when the ventromesodermal or ventroendodermal blastomeres were deleted, the formation of an axis structure was nearly normal. The dorsomesodermal or dorsoendodermal blastomeres which were transplanted into the ventral side of the normal 32-cell embryo caused the formation of a secondary body axis, and the capacity of the second axis induction in the dorsomesodermal blastomeres was a little higher than that in the dorsoendodermal blastomeres. These results imply that both the dorsomesodermal and dorsoendodermal blastomeres are involved in the formation of a set of dorsal body structures during early embryogenesis.

As well, in order to investigate the axis inducing capacity in the early cleavage embryos, the dorsovegital blastomeres were transplanted into the ventrovegital site at 4-cell, 8-cell and 16-cell stage respectively. As a result, a second body axis was formed. Therefore, it seems that the early cleavage embryo as 4-cell stage dorsal blastomeres contain some informations necessary for the axis formation.

## 서 론

양서류의 미수정란은 멜라닌 색소, 난황립, 생식질 등의 세포질이 동·식물 반구의 위도에 따라 다르게 분포하고 있으나, 양극의 축을 중심으로 보면 방사상칭적 분포를 띄게 된다. 그러나 수정후 난의 활성화와 회전의 결과 동·식물 반구의 극성은 그대로 유지되지만 방사상칭은 좌우대칭으로 대치된다. 좌우 대칭은 배/복측 극성(dorsal/ventral polarity)이 형성됨에 따라 이루어지는데, 그 결과 진후 좌우의 위치도 자연스럽게 결정되며 이로써 수정란의 발생양상과 형태형성의 방향이 정해진다(Malacinski, 1984). 이때 난 피층의 이동으로 제 1분열 전에 회색 신원환이 정자 침입점 반대쪽의 적도면 근처에 나타나는데, 낭베기에 도달하면 이 부분이 합입을 시작하는 원구 배순부로 된다(Pasteels, 1964; Klag & Ubbels, 1975).

Spemann과 Mangold(1924)는 낭베 초기의 원구 배순부 이식 실험을 통하여 이 지역에 이차배를 유도할 능력이 있음을 인지하고 제 1차 형성체(primary organizer)라고 명명한 바 있다. 그 이후로 많은 연구들이 진행되어 왔으나 낭베 이전 시기의 이러한 형성체 지역의 기원과 유도 능력의 획득 시기 및 기작에 대해서는 명확한 정설이 확립되어 있지 않은 상태이다. Spemann(1938)과 Pasteels(1964) 등은 축 형성 요소가 수정 직후부터 결정되어 회색 신원환 지역에 있다고 주장하였고 이를 Curtis(1962)가 피층 이식 실험으로 뒷받침하였다. 그러나 위의 주장은 Chung과 Malacinski의 수정란의 자외선 조사(Malacinski *et al.*, 1975; 1977)와 조직 이식 실험(Malacinski *et al.*, 1980), 수정란 단기간 회전법(Scharf & Gerhart, 1980; Chung & Malacinski, 1980) 및 역위(Chung & Malacinski, 1983) 실험 등으로 부정된 바 있다. 또한 수정란을 이른시기(수정과 제 1분열 사이의 0.4시기)에 동·식물극을 잇는 축에 90° 방향으로 회전할 경우 100% 이차축의 형성이 가능한 사실(Black & Gerhart, 1986)은 배의 축이 회색신원환 부위의 피층에 고정되어 있기 보다는 내부세포질과 피층간의 상대적 위치의 변경으로 결정된다는 설을 강력히 지지하고 있다.

따라서 배측 중간대 부위의 신경관의 유도 능력과 중배엽 분화능력의 시간적, 공간적 획득 기작이 발생학의 중요한 문제점으로 대두하였다. 중배엽의 형성 기작에 대하여는 특정 유도 물질을 계속 이어받음으로 형성된다는 주장(Spemann, 1938; Nieuwkoop, 1977; Slack, 1983)과 위치에 따른 physiological gradient의 고정에 의한다는 주장이 있다(Cooke, 1972; Wolpert, 1971).

한편 세포 생체 표지법에 의하여 32할구기의 *Xenopus*의 발생 예정 지역도가 작성되었으며, 이에 따르면 미래의 중배엽은 동·식물 반구의 중간대에 분포하며(Nakamura & Kishiyama, 1971) 더구나 이들 중배엽의 기원이 되는 세포는 낭베 초기에 동·식물 반구의 중간대의 내부에 위치하던 세포질로부터 유래한다는 것이 밝혀졌다(Keller, 1976; Smith & Malacinski, 1983). 중배엽세포의 기원에 대하여는 Nieuwkoop이 포배와 초기 낭베기의 외배엽과 내배엽을 재조합 한 결과 모든 중배엽성 세포가 내배엽과 인접한 외배엽으로부터 유래하며 또한 중배엽의 배·복측 방향이 모두 식물 반구에 의해 결정됨을 관찰함으로써(Nieuwkoop, 1969b) 내배엽에 의한 중배엽 유도설을 제창하고, 발생 초기에는 중간대도 외배엽성이었으나 나중에 이것이 내배엽의 유도 작용으로 중배엽으로 변환된다고 주장하였

다(Nieuwkoop, 1969a; 1977). 이에 의거하여 Gimlich & Gerhart(1984)는 64할구기에 배측 내배엽성 세포를 2~3개 복부로 이식함으로써 이차축 형성을 유도할 수 있음을 관찰하고 배측 중배엽의 운명이 64와 512세포기 사이에 결정된다고 주장 하였다. 그러나, 낭배 이전에 내배엽과 외배엽의 중간대에 위치하는 중배엽 예정 지역이 어떻게 그 운명을 부여받는지에 대한 기작은 명확하게 밝혀지지 않고 있는 실정이다. 다만 내배엽의 유도 작용으로 외배엽 부분이 점차로 중배엽의 기원이 된다는 가설과(Nieuwkoop, 1977) 처음부터 중배엽 결정소가 수정란의 중간대에 분포되어 있다는 가설로 대립되어 있다. 그러므로 본 연구에서는 축형성에 있어서 내·중배엽성 할구의 중요성을 조사하고 내·중배엽 상호 작용의 기작을 알아보기 위하여, 32할구기에 내배엽성 할구와 중배엽성 할구를 제거 또는 이식하는 실험을 수행하였다. 아울러 4할구기, 8할구기, 16할구기의 배측 식물반구 세포를 복측 식물반구에 이식하여 새로운 축형성을 유도할 수 있는지의 여부를 관찰함으로써 중배엽 기원과 운명의 시간적·공간적 결정 기작에 대한 정보를 얻고자 하였다.

## 재료 및 방법

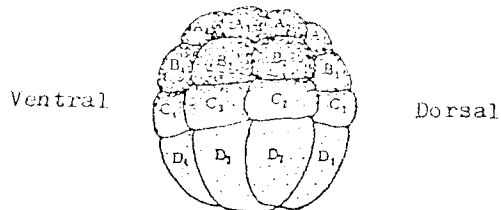
### 1. 수정란의 준비

본 연구의 실험 재료로는 아프리카산 무미 양서류인 *Xenopus laevis*를 사용하였다. 암·수는 교배하기전 배측 림프절에 HCG(Human Chorionic Gonadotrophin; 300 i.u. for ♀, 200 i.u. for ♂)을 주사하여 같은 동속에 넣고 20°C의 어두운 곳에 두어 교미를 시키며, 알은 배란시작 후 일정 간격을 두고 채취하였다. 채취된 수정란은 2.5% cystein-HCl(pH 7.75; Sigma) 용액을 써서 수정막 주위의 한천 층을 제거한 후 10% Steinberg용액(1957)으로 4~5회 씻어 다음 과정에 사용한다.

### 2. 할구 제거와 조직 이식

모든 기구와 용액들은 고압 멸균하고, 고압 처리한 용액에는 다시 penicillin과 streptomycin을 각각 200mg/l씩 첨가하여 사용하였다. 수술은 멸균대에서 행하여 미생물의 감염을 방지하고, 2% agar(Type V, Sigma)로 덮힌 petri dish에서  $Ca^{2+}$ 와  $Mg^{2+}$ 가 포함되지 않은 100% Steinberg용액 안에서 시행하였다. 즉 해부 현미경 하에서 필요한 stage에 이른 embryo중 배측 복측 색소 차이가 뚜렷하고 분열면이 정상적인 것을 골라 수정막(vitelline membrane)을 forceps로 벗기고 예리한 tungsten needle로 특정 할구를 제거하거나 타 지역으로 이식 하였다. 수술 후에는 상처부위의 회복을 촉진하기 위하여 상기 이온이 4배로 포함된 용액을 사용하고, 2~3시간 경과후 embryo의 상처 부위가 완전히 회복된 후 10% Steinberg 용액으로 점차로 갈아주었다(Chung & Malacinski, 1975; Kageura & Yamana 1983).

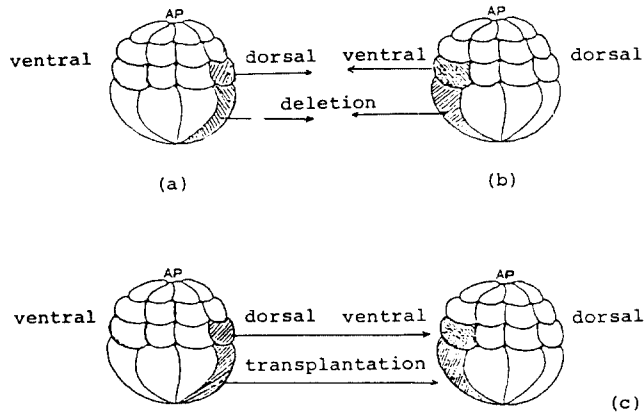
Fig. 1. Nomenclature of the 16 blastomeres on the left side of a *Xenopus laevis* embryo at st. 6.



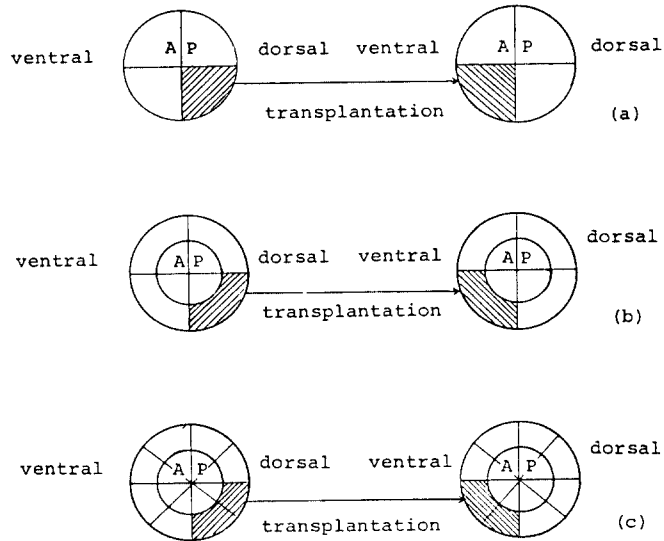
1) 32세포기의 할구 제거와 이식 실험

32할구기의 embryo에서 각 할구의 위치는 Nakamura와 Kishiyama의 방식(1971)대로 동물 반구에서 식물 반구를 따라 A, B, C, D로, 또 배측에서 복측으로 1, 2, 3, 4로 명명하였다 (Fig. 1).

① 배측 중배엽 또는 내배엽성 할구의 제거—32할구기에 배측 중배엽성 할구인 C<sub>1</sub>을 양쪽(오른쪽과 왼쪽)에서 제거하여 embryo의 축 형성의 이상 발생 정도를 관찰하였다. 같은 방법으로 내배엽성 할구인 D<sub>1</sub>을 양쪽에서 제거하여 그 발생 양상을 위의 결과와 비교 분석하였다 (Fig. 2a).



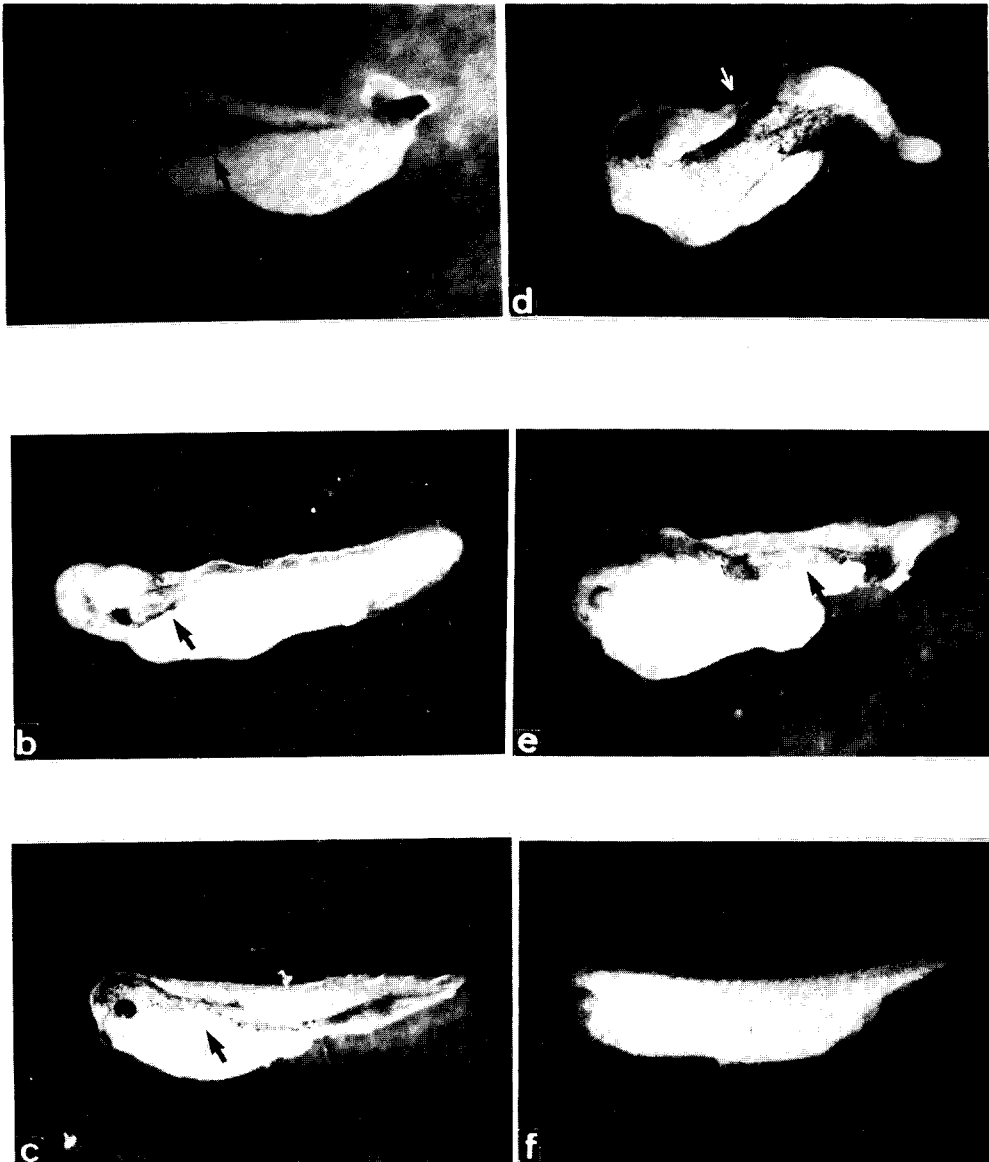
**Fig. 2.** Schematic diagram of the blastomere deletion and transplantation procedure. Side view. (a) Deletions of dorsal blastomeres. (b) Deletions of ventral blastomeres. (c) Transplantations from the dorsal side to the ventral side.



**Fig. 3.** Schematic diagram of blastomeres transplantation procedure in early *Xenopus* embryos. Top view. (a) At 4-cell stage (b) At 8-cell stage. (c) At 16-cell stage.

② 북측 중배엽 또는 내배엽성 할구의 제거—32할구기에 북측 중배엽성 할구인 C<sub>4</sub>와 내배엽성 할구인 D<sub>4</sub>를 위와 같이 제거하여 축 형성 정도를 관찰하였다(Fig. 2b).

③ 기타 중배엽 또는 내배엽성 할구의 제거—중배엽성 할구인 C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub> 내배엽성 할구인 D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>를 각각 제거하여 그 축 형성의 이상 정도를 분석하고 이를 위의 결과와 비교 고찰 하였다(Fig. 2).



**Fig. 4.** Extent of secondary embryo induction. (a) Complete double embryo. (b) Partial double embryo (two heads). (c) Partial double embryo (two notochords). (d) Partial double embryo (two tails). (e) Small double embryo. (f) Normal.

④ 배측 중배엽 또는 내배엽성 할구의 복측 이식—배측 중배엽 또는 내배엽성 할구를 양쪽(오른쪽과 왼쪽) 두개씩 각각 다른 배의 복측으로 이식하여 2차배 유도 여부와 그 정도를 조사하였다. 이에 따른 대조군으로 복측 중배엽 또는 내배엽성 할구를 다른 배의 복측으로 이식하여 여기에서도 2차배가 유도되는지 관찰, 비교하였다(Fig. 2c).

⑤ 4~16세포기의 할구이식—초기 분열 embryo에서 배측 할구의 축 형성 유도능력 유무를 알기 위해 4할구기에 배측 할구 한 개, 8할구기와 16할구기의 배측 식물 반구 할구 두 개씩을 복측으로 이식하여 2차배 형성 여부를 위와 같은 방법으로 관찰하였다(Fig. 3).

2) 실험 결과의 판정—Embryo의 발생단계는 Nieuwkoop과 Faber(1957)의 stage구분에 따랐고 embryo가 stage 30~35에 도달했을 때 10% formalin용액으로 고정하여 조사하였다. 할구 제거실험에 있어서 각 embryo의 발생 결함은 대부분 축형성의 이상을 중심으로 나타나므로 이 실험에서는 편의상 U.V.조사 embryo에서 축 형성 정도를 나타내는 I.A.D. (Index of Axis Deficiency)를 기준으로 하여 그 발생 정도를 분석하였다(Malacinski *et al.*, 1975; 1977, Chung *et al.*, 1977). 즉, 0, 정상: +1, 두부 축소: +2, 심한 두부 축소: +3, 짧은 축: +4, 두부 결실: +5, 신경계 결실 등의 단계로 나누어 축형성 정도를 분류하였다(Chung *et al.*, Fig. 1 참조). 축형성 결함의 평균치는 각 개체가 나타내는 결함의 총화를 개체수로 나눈 값을 의미한다.

이식 실험에 의한 2차배 유도 정도는 완전 2차배(머리와 전체 척색 형성), 부분적 2차배(머리 유도, 척색 유도, 꼬리 유도), 미소한 2차배(새로운 축이 약간 유도), 비정상 2차배(이상 발생 embryo에 2차축 유도) 등으로 나누어 분석하였다(Fig. 4).

## 결 과

### I. 32세포기의 할구 제거와 이식실험

#### 1. 배측 중배엽 또는 내배엽성 할구의 제거

32할구기에 배측 중배엽성 할구인 C<sub>1</sub>을 제거했을 경우는 신경계 형성에 상당한 이상을 초래하여 I.A.D.로 분석한 평균값이 +2.29 정도로, 축이 짧고 두부가 형성되지 않은 개체(+3이상)가 많이(46.4%) 나타났다(Table 1).

내배엽성 할구인 D<sub>1</sub>을 제거했을 경우에도 그 평균 I.A.D.가 +2.36으로, 중배엽성 할구와 마찬가지로 중배엽 형성에 상당한 이상을 초래하며, 축이 짧고 두부가 형성되지 않은 개체도(+3이상) 많이(46.4%) 나타났다.

또한 중배엽성 할구와 내배엽성 할구를 함께 제거했을 경우에는 대부분이 축형성에 심각한 이상을 초래하여 평균 I.A.D.값이 가장 높은 +3.29로 짧은 축 이상의 축 형성 손상 정도를 나타냈다.

이러한 결과로 볼때, 배측 중배엽성 할구와 내배엽성 할구는 축형성에 있어서 공히 중요한 역할을 담당하며, 이들이 결손될 경우에는 축 형성에 심각한 이상이 초래됨을 알 수 있다.

#### 2. 복측 중배엽 또는 내배엽성 할구의 제거

복측 중배엽성 할구인 C<sub>4</sub>를 제거하여 발생시킬 경우에는 대부분이(평균 I.A.D.값 0.19) 정상으로 발생하였다(Table 1).

**Table 1.** Effect of Deletion of blastomeres at 32-cell stage on the axis formation

| Deleted blastomere            | Extent of damage |    |    |    |    |    | Total embryo | Average damage |
|-------------------------------|------------------|----|----|----|----|----|--------------|----------------|
|                               | 0                | +1 | +2 | +3 | +4 | +5 |              |                |
| C <sub>1</sub>                | 3                | 6  | 6  | 7  | 5  | 1  | 28           | 2.29           |
| C <sub>2</sub>                | 10               | 13 | 2  | 1  | —  | —  | 26           | 0.77           |
| C <sub>3</sub>                | 19               | 5  | 1  | —  | —  | —  | 25           | 0.28           |
| C <sub>4</sub>                | 13               | 3  | —  | —  | —  | —  | 16           | 0.19           |
| D <sub>1</sub>                | 3                | 3  | 9  | 7  | 6  | —  | 28           | 2.36           |
| D <sub>2</sub>                | 4                | 9  | 13 | 2  | 7  | 3  | 43           | 1.95           |
| D <sub>3</sub>                | 10               | 9  | 3  | 4  | 1  | —  | 27           | 1.15           |
| D <sub>4</sub>                | 13               | 11 | 8  | 2  | —  | —  | 38           | 1.29           |
| C <sub>1</sub> D <sub>1</sub> | 1                | 1  | 3  | 8  | 7  | 4  | 24           | 3.29           |

Two blastomeres are deleted at each experiment.

복측 내배엽성 할구인 D<sub>4</sub>를 제거시켰을 경우는 평균 두부 축소(+1.29) 정도의 이상 발생율을 나타냈고, 그 중 60%는 거의 정상에 가깝게 축이 형성되었다.

이로 미루어 복측 할구는 배측 할구보다 축 형성에 기여도가 낮으며, 이들이 없어도 embryo의 발생은 비교적 정상적으로 일어날 수 있음을 시사한다. 또한 복측 내배엽성 할구(D<sub>4</sub>)는 중배엽성 할구(C<sub>4</sub>)에 비하여 축 형성에 어느 정도 영향을 미친다는 것을 알 수 있다.

### 3. 기타 중배엽 또는 내배엽성 할구의 제거

중배엽성 할구인 C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>를 각각 제거하여 발생시켰을 경우 축형성 정도가 I.A.D.로 +0.77, +0.28로 두부 형성에 약간 손상을 입는 정도로 발생의 이상이 나타난다.

따라서 중배엽성 할구 제거의 영향을 전체적으로 보면, 배측에서 복측으로 갈수록 그 축 형성에 있어서의 기여도가 낮아진다는 것을 알 수 있다.

내배엽성 할구인 D<sub>2</sub>, D<sub>3</sub>를 제거하였을 경우는 축 형성 정도가 각각 +1.95, +1.15로 두부 축소 이상의 손상도를 나타냈다.

위의 결과를 종합하면 배측에서 복측으로 갈수록 축 형성에의 기여 정도는 낮아지며 내배엽성 할구의 영향이 같은 부위의 중배엽성 할구보다 약간씩 더 높은 경향을 보임을 알 수 있다.

### 4. 배측 중배엽 또는 내배엽성 할구의 복측 이식

배측 중배엽성 할구인 C<sub>1</sub>을 복측의 C<sub>4</sub> 위치에 이식했을 경우 2차배 유도도가 가능한 것으로 나타났다. 그 유도율을 보면 약간의 축구조 유도가 일어났을 경우까지 포함하면 58.6%, 완전 유도와 부분 유도만을 생각하면 41.3%로, 비교적 2차축 유도율이 높았다(Table 2). 반면 복측 중배엽성 할구인 C<sub>4</sub>를 동일 위치에 이식한 sham operation의 경우는 2차축 유도가 전혀 일어나지 않았다. 또한 C<sub>4</sub>를 C<sub>1</sub> 위치에 이식했을 경우에도 2차축 유도는 전혀 일어나지 않았다(data is not shown).

배측의 내배엽성 세포인 D<sub>1</sub>을 복측에 이식했을 경우는 2차축 유도율이 40.7%로 C<sub>1</sub>의 경우보다 조금 낮은 유도율을 나타내고 있으며 또, 2차축의 정도도 C<sub>1</sub>에 비하여 낮은 반면

**Table 2.** Extent of secondary axis formation by the replacement of ventral blastomeres with dorsal blastomeres at 32-cell stage.

| Method of operation                     | Extent of secondary induction |         |   |              | No Induction | Total embryo | Total induction number (%) |
|---|-------------------------------|---------|---|--------------|--------------|--------------|----------------------------|
|   | Complete                      | Partial |   | Small (lump) |              |              |                            |
|   |                               | H       | T |              |              |              |                            |
| 2C <sub>1</sub> →2C <sub>4</sub>        | 3                             | 6       | 3 | 5            | 12           | 29           | 17(58.6)                   |
| 2C <sub>4</sub> →2C <sub>4</sub> (sham) | —                             | —       | — | —            | 18           | 18           | 0 (0)                      |
| 2D <sub>1</sub> →2D <sub>4</sub>        | 3                             | 4       | 4 | 11           | 32           | 54           | 22(40.7)                   |
| 2D <sub>4</sub> →2D <sub>4</sub> (sham) | —                             | —       | — | —            | 14           | 14           | 0 (0)                      |

\* H, and T mean head, and tail, respectively.

**Table 3.** Extent of secondary axis formation by the Replacement of ventral blastomeres with dorsal blastomeres at 4~16 stages.

| Method of operation | Extent of secondary induction |              |            | No induction | Total embryo | Total induction number (%) |
|---------------------|-------------------------------|--------------|------------|--------------|--------------|----------------------------|
|                     | Complete                      | Partial head | Very small |              |              |                            |
| 4 cell 1D→1V        | —                             | 1            | 1          | 3            | 5            | 2(40)                      |
| 8 cell 1DV→1VV      | 2                             | 1            | —          | 6            | 9            | 3(33)                      |
| 16 cell 2DV→2VV     | 2                             | 1            | —          | 3            | 6            | 3(50)                      |

\* D, V, DV, and VV mean Dorsal, Ventral, Dorsovegetal, Ventrovegetal, respectively.

이상 축의 형성을 일으키는 개체가 많았다. 그러나 C<sub>1</sub>와 D<sub>1</sub>의 복측이식에 의한 2차 배의 대부분이 미소하게 유도된 2차축들로 그 정도에 차이가 심하며 어떤 경우에는 두부 또는 꼬리만 발생하며 또 다른 경우에는 단순한 조직괴(lump)로 나타나 2차배로 판정하기 어려운 경우가 많았다. 이에 반하여 적은 숫자이지만 완전한 2차배의 유도가 가능한 점으로 보아 배측의 할구중 중배엽성 할구인 C<sub>1</sub>과 내배엽성 할구인 D<sub>1</sub> 공히 배의 축을 형성하는데 중대한 영향을 나타내고 있음을 알 수 있다.

#### II. 초기분열 embryo의 할구 이식 실험(4~16세포기)

이 실험은 초기 분열 난에서도 배측 할구에 2차배를 유도할 능력을 보유하고 있는지의 여부와 아울러 그 경향성을 알아보기 위하여 수행되었다. Table 3에서 보는 바와 같이 4세포기의 배측 할구와 8세포기, 16세포기의 배측 식물 반구의 할구가 2차축을 유도할 수 있는 능력이 있음을 나타내었다. 2차축의 유도가 일어났을 경우 그 정도를 보면 4할구기에 가장 미약한 것으로 나타났으나 8세포기와 16세포기로 난할이 이루어 지면서 능력이 높아짐을 알 수 있다.

## 고 찰

초기 발생 embryo에 있어서 중배엽의 기원이 어디이며, 언제부터 그 형성 능력이 확립되는지에 관한 연구는 발생학 분야의 중심 과제로 오랜동안 여러가지 방법을 통하여 연구가 되어 왔다(Nakamura, 1978). 본 실험도 그러한 접근법의 일환으로서, 할구 제거와 이식 실험



험을 통하여 embryo에 있어서 중배엽 형성의 근원지가 어디인가에 대하여 조사해 본 것으로 그 결과 이제까지 밝혀진 실험 결과들에 더하여 초기 분열 embryo의 축 형성 기작에 있어서 몇가지 중요한 사실들을 알아낼 수 있었다.

### I. 32세포기 embryo의 할구 제거 실험

32세포기에 있어서 조직과 기관의 예정 지역도(Nakamura, 1971)를 보면 미래에 척색을 형성하게 되는 부위가 주로 배측 중간대인 C<sub>1</sub>부분이고 근절형성 부분이 C<sub>2</sub>와 C<sub>3</sub>, 측판 중배엽(lateral plate)이 C<sub>4</sub>에서 형성되며 D부분 자체는 내배엽으로만 분화된다. 한편 Nieuwkoop은 중배엽이 내배엽에 의해서 외배엽으로 부터 유도된다고 했으므로(Nieuwkoop, 1969 a & b; 1977) 내배엽성 할구인 D부분이 중배엽 형성에 미치는 영향이 어느 정도인지를 알아보는 것은 매우 의미있는 일이라 하겠다. 본 실험 결과로는 C부위나 D부위 모두 배측 할구를 빼어내면 축 형성에 손상을 받는 개체들이 많았고 복측 할구를 제거하면 비교적 정상 발생을 하는 경향을 보였다. 이러한 결과로 볼 때 C<sub>1</sub>부위뿐 아니라 D<sub>1</sub>부위도 중배엽 형성에 중요한 역할을 담당함을 알 수 있다.

이렇게 복측에서 배측으로 갈수록 할구 제거에 의한 축 형성 결함 정도가 점차로 높아지는 것을 볼 때 축 형성 결정 요소가 배측으로 갈수록 많이 분포하게 되어 C<sub>1</sub>에서 극대에 이르는 것으로 나타나며, 이는 32할구기에 세포를 분리하여 발생시켰을 때 배측 세포군이 복측 세포군보다 중배엽 형성률이 높았다는 실험 결과(Nakamura *et al.*, 1970 & Takasaki Mizohatu, 1970)와 일치한다. 그러나 C<sub>1</sub>의 제거시에도 정상이거나 또는 정상에 가까운 +1의 embryo가 32% 발생함을 보아 축 형성 요소가 C<sub>1</sub>에 특정하게 분포되어 있지 않음을 시사하는(Wolpert, 1969) 결과와도 일치한다. 본 실험의 결과로 볼 때 32할구기에는 유도 작용을 하는 배측 내배엽 할구와 자체가 중배엽으로 분화되는 중배엽성 할구 공히 척추 형성에 관여하고 있음을 뚜렷이 보이고 있다.

### II. 32세포기 embryo의 할구 이식 실험

위의 배측 중배엽과 내배엽성 할구 제거 실험에서 양자 모두가 중배엽 형성에 중요한 역할을 한다는 실험 결과를 토대로 다음단계로 이러한 세포들 자체가 실제로 새로운 축 형성을 유도할 능력이 있는지의 여부를 검증해 봄으로써 그들의 중배엽에의 기여도를 확실히 할 수 있으므로 할구 이식 실험을 통하여 이에 대해 알아보았다.

그 결과 배측 중배엽성 할구인 C<sub>1</sub>을 복측으로 이식했을 경우 새로운 축이 형성되었고 배측 내배엽 할구인 D<sub>1</sub>도 정도는 약간 미약하나 2차배를 유도할 수 있었다. 이와 같은 결과는 수정직 후 자의선을 받은 32세포기의 배측 식물반구 할구를 정상할구로 대체시켜 정상 축을 유도하거나 복측 식물반구쪽으로 이식하여 2차배를 유도한 Gimlich(1986)의 결과와도 일치한다. 그러나 이 때의 2차배 유도율은 원구 배순부를 이식(Chung & Malacinski, 1975; Malacinski *et al.* 1980)했을 때(94.4%)보다 훨씬 낮고, 유도 정도도 미약하여 완전한 2차 축이 형성되기 보다는 척색이 두개 형성되거나 또는 부분적인 축이 형성되는 경우가 많았다(완전 유도 : 부분적 유도; C<sub>1</sub>은 3 : 14, D<sub>1</sub>은 3 : 19).

그 원인은 실험 구조 자체에서 파생되는 문제점과 이식된 할구의 유도 능력이라는 두가지 측면으로 나누어 생각할 수 있다.

첫째, 실험 자체의 문제점 면에서 보면 수술 과정에서 이식된 할구가 어느 정도 손상을

입거나 embryo의 상처 부위가 회복되는 과정에서 세포질이 유출될 가능성이 있다. 이는 C<sub>1</sub>과 같이 할구 크기가 작을 경우는 비교적 완전한 이식이 가능하지만 D<sub>1</sub>과 같이 세포 크기가 큰 경우는 일반적으로 그 손상 정도도 커진다.

그러므로 위의 결과로서 C<sub>1</sub>과 D<sub>1</sub>의 축 형성 유도 능력 정도를 양적으로 비교한다는 것은 약간의 무리가 있다고 할 것이다. 또한 embryo에서 배측과 복측 결정은 색소분포의 차이로 하였는데 그 구별에 오차가 생길 가능성이 있다.

둘째, 할구 자체에 축 형성 유도 또는 분화 능력이 배측의 중배엽 할구와 내배엽 할구에 존재하는지 하나 그 정도가 낭배기의 원구배순부보다는 매우 미약하여 대부분 부분적인 이차축을 형성하게 된다고 생각할 수 있다.

### III. 초기분열 embryo의 할구 이식 실험

이 실험은 32할구기 이전의 embryo에도 중배엽 형성을 유도할 수 있는 정보가 배측식물 반구에 존재하는가에 대해 알아보기 위하여 시도되었다. 그 결과 4할구기에서 16할구기까지의 embryo에서 배측 식물 반구 세포를 복측에 이식하면 2차배가 형성될 수 있었다. 그러므로 축 형성을 유도할 수 있는 정보가 4할구기에도 배측 식물 반구에 존재한다는 것을 알 수 있다. 이것은 4할구기에 embryo를 배측 반구와 복측 반구로 나누어 발생시킬 경우 배측 반구에서는 비교적 완전한 embryo를 얻을 수 있는 반면, 복측 반구는 축 형성이 현저하게 저하된 개체로 발생하게 된다는 Cooke & Webber(1985)의 결과와 일맥 상통하며, Kageura & Yamana(1983)의 4할구기 세포 분리 실험 결과 및 복측 식물반구 세포의 이식에 의한 2차 배의 유도 형성(1986)과도 비슷한 결과에 도달하였다.

결론적으로 중배엽 유도 물질이 32세포기에 중배엽성 할구와 내배엽성 할구에 분포하고 있어서 그 상호 작용으로 배의 축이 형성된다고 보아진다. 또한 4할구기 정도의 매우 이른 시기의 embryo에도 중배엽을 유도할 수 있는 정보가 배측 식물 반구에 존재하는데 이는 두 가지 위치적 정보가 있어서 그 하나는 식물극에서 동물극을 향하며, 또 다른 하나는 배측에서 복측을 향하여 전달된다는 double gradient models(Dalcq & Pasteels, 1957; Slack, 1983)로 설명될 수 있을 것이다.

이러한 연구 결과들을 토대로 생각해 볼 때 수정 직후부터 배측 식물 반구 부분에 축 형성을 위한 모종의 정보들이 축적되어 간다고 생각할 수 있으므로 1분열 직전 2할구기 4할구기 등의 초기분열 embryo에서 배측 식물 반구의 세포질을 뽑아내어 복측 식물반구에 주입하여 2차배 형성 여부를 알아봄으로써 그와 같은 사실들을 입증할 수 있을 것이다. 여기에 대해서는 본 연구자가 초기 분열 난에서 세포질을 뽑아내는 실험으로 배측 식물 반구 세포질이 축형성에 있어서 중요한 요소임을 간접적으로 밝혔으나(미발표), 아직 2차배 유도는 성공하지 못하였으므로 지속적인 연구가 요구된다.

아울러 중배엽의 기원을 생물학적 방법에 의해서 추구하는 것은 어느정도 한계가 있으므로 새로운 단계의 도약을 위하여는 생화학적 접근이 필요하다 할 것이다.

## 요 약

양서류의 초기발생기간동안 일어나는 축 형성에서 미래의 중배엽성과 내배엽성 할구의 중요성을 조사하기 위해 32할구기에 이들을 제거하거나 다른 정상 embryo의 복측 식물 반

구에 이식한 결과 다음과 같은 사실을 알게 되었다.

첫째, embryo의 배측 중배엽성 또는 배측 내배엽성 할구를 제거했을 경우 이것이 축 형성능력을 감소시켜 발생에 이상이 초래되었다.

둘째, 복측 중배엽성 또는 복측 내배엽성 할구를 제거했을 경우 축형성은 거의 정상으로 나타났다.

셋째, 배측 중배엽성 또는 배측 내배엽성 할구를 32할구기 embryo의 복측에 이식했을 경우 2차축이 형성되었으며 이차축 유도 능력은 배측 중배엽성 할구가 배측 내배엽성 할구보다 약간 높았다.

위의 결과로 32할구기의 배측 중배엽성 할구와 배측 내배엽성 할구에 모두 제축 형성을 유도할 수 있는 능력이 있음을 알 수 있다.

또한 초기 분열 embryo에서 축 형성 유도 능력을 조사하기 위하여 4할구기, 8할구기, 16할구기에 배측 식물 반구의 세포를 복측 식물 반구로 이식 했을 경우 2차축이 형성되었다.

그러므로 embryo의 배측 식물 반구 세포는 4할구기 정도의 이른 분열 시기에도 축 형성 유도 능력을 보유하고 있음을 알 수 있다.

#### REFERENCES

- Black, S.D. and J.C. Gerhart, 1986. High-frequency twinning of *Xenopus laevis* embryos from eggs centrifuged before first cleavage. *Develop. Biol.* **116**:228-240.
- Chung, H.M. and G.M. Malacinski, 1975. Repair of damage to a cytoplasmic component required for neural induction in the amphibian egg. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **72**:1235-1239.
- Chung, H.M., G.M. Malacinski and B.G. Kim, 1977. Developmental lesions in amphibian embryos induced by ultraviolet irradiation of the fertile egg. *Kor. J. Zool.* **20**:109-122.
- Chung, H.M. and G.M. Malacinski, 1980. Establishment of the dorsal/ventral polarity of the amphibian egg: Use of UV irradiation and egg rotation as probes. *Develop. Biol.* **80**:120-133.
- Chung, H.M. and G.M. Malacinski, 1983. Reversal of developmental competence in inverted amphibian eggs. *J. Embryol. Exp. Morphol.* **73**:207-220.
- Cooke, J., 1972. Properties of the primary organization field in the embryo of *Xenopus laevis*. II. Positional information for axial organization in embryos with two head organizers. *J. Embryol. Exp. Morphol.* **28**:27-46.
- Cooke, J. and J.A. Webber, 1985. Dynamics of the control of body pattern in the development of *Xenopus laevis*. I Timing and pattern in the development of dorsoanterior and posterior blastomere pairs, isolated at the 4-cell stage. *J. Embryol. Exp. Morphol.* **88**:85-112.
- Curtis, A.S. G., 1962. Morphogenetic interactions before gastrulation in the amphibian, *Xenopus laevis* -The cortical field. *J. Embryol. Exp. Morphol.* **33**:147-157.
- Dalcq, A. and J. Pasteels, 1937. Une conception nouvelle des bases physiologiques de la morphogenese. *Archs Biol.* **48**:669-710.
- Gimlich, R.L., 1986. Acquisition of developmental autonomy in the equatorial region of the *Xenopus* embryo. *Develop. Biol.* **115**:340-352.
- Gimlich, R.L. and J.C. Gerhart., 1984. Early cellular interaction promote embryonic axis formation in *Xenopus laevis*. *Develop. Biol.* **104**:117-130.

- Kageura, H. and K. Yamana, 1983. Pattern regulation in isolated halves and blastomeres of early *Xenopus laevis*. *J. Embryol. Exp. Morphol.* **74**:221-234.
- Kageura, H. and K. Yamana, 1986. Pattern formation in 8-cell composite embryos of *Xenopus laevis*. *J. embryol. Exp. Morphol.* **91**:79-100.
- Keller, R.E., 1976. Vital dye mapping of the gastrula and neurula of *Xenopus laevis*. II. Prospective areas and morphogenetic movements of the deep layer. *Develop. Biol.* **51**:118.
- Klag, J.J. and G.A. Ubbels, 1975. Regional morphological and cytological differentiation of the fertilized egg of *Discoglossus pictus* (anura). *Different.* **3**:15-20.
- Malacinski, G.M., H. Benford, and H.M. Chung, 1975. Association of an ultraviolet-irradiation sensitive cytoplasmic localization with the future dorsal side of the amphibian egg. *J. Exp. Zool.* **191**:97-110.
- Malacinski, G.M., A.J. Brothers, and H.M. Chung, 1977. Destruction of components of the neural induction system of the amphibian egg with ultraviolet irradiation. *Develop. Biol.* **56**:24-29.
- Malacinski, G.M., H.M. Chung, and M. Assashima, 1980. The association of primary embryonic organizer activity with the future dorsal side of amphibian eggs and early embryos. *Develop. Biol.* **77**:449-462.
- Malacinski, G.M., 1984. Axis specification in amphibian eggs. In "Pattern formation" (Malacinski, G.M., ed.) Macmillian Publishing Company. pp.435-465.
- Nakamura, O., 1978. Epigenetic formation of the organizer. In "Organizer - A Milestone of a Half-Century from Spemann." (O. Nakamura and S. Toivonen, eds.) pp.179-220. Elsevier/North-Holland, Amsterdam.
- Nakamura, O., and K. Kishiyama, 1971. Prospective fates of blastomeres at the 32-cell stage of *Xenopus laevis* embryos. *Proc. Japan Acad.* **47**:407-412.
- Nakamura, O., H. Takasaki, and T. Mizohata, 1970. Differentiation during cleavage in *Xenopus laevis*. I Acquisition of self-differentiation capacity of the dorsal marginal zone. *Proc. Japan Acad.* **45**:694-699.
- Nieuwkoop, P.D. and J. Farber, 1956. Normal table of *Xenopus laevis*. North-Holland Pub. Company, Amsterdam.
- Nieuwkoop, P.D., 1969a. The formation of the mesoderm in urodelean amphibian. I. Induction by the endoderm. *W. Roux Arch.* **162**:341-373.
- Nieuwkoop, P.D., 1969b. The formation of the mesoderm in urodelean amphibian. II. The origin of the dorsoventral polarity of the mesoderm. *W. Roux Arch.* **163**:298-315.
- Nieuwkoop, P.D., 1977. Origin and establishment of the embryonic polar axis in amphibian development. *Curr. Top. Dev. Biol.* **11**:115-132.
- Pasteels, J., 1964. The morphogenetic role of the cortex of the amphibian egg. *Adv. Morphog.* **3**:363-388.
- Scharf, S.R. and Gerhart, J.C., 1980. Determination of the dorsal/ventral axis of *Xenopus laevis*. Complete rescue of UV impaired eggs by oblique orientation before first cleavage. *Develop. Biol.* **79**:181-198.
- Slack, J.M.W., 1983. From Egg to Embryo: Determinative Events in Early Development (BSDB 13), Cambridge UK: Cambridge University Press.
- Smith, S.C. and G.M. Malacinski., 1983. The origin of the mesoderm in *Xenopus laevis* and the

- axolotl (*A. mexicanum*), a urodel. *Develop. Biol.* **98**:250-254.
- Spemann, H., and Mangold, H. 1924. Über Induction von Embryonanlagen durch Implantation artfremder Organisatoren. *W. Roux Arch.* **100**:599-638.
- Spemann, H., 1983. Embryonic Development and Induction. Yale Univ. Press.
- Steinberg, M., 1957. Carnegie Institute Washinton Year book. **56**:347.
- Wolpert, L., 1969. Positional information and the spatial pattern of cellular differentiation. *J. Theoret. Biol.* **25**:1-47.
- Wolpert, L. 1971. Positional information and pattern formation. *In*: Current Topics in Develop. Biol. **6**:183-223.