

자외선이 산개구리 (*Rana dybowskii*) embryo의 시원생식세포 수에 미치는 영향

정 해 문 · 김 원 숙  
(서울대학교 사범대학 생물교육학과)

UV Effect on the Number of Primordial Germ Cells in the  
Embryo of *Rana dybowskii*

Hae-Moon Chung and Won-Sook Kim  
(Department of Biology Education, Seoul National University)  
(Received October 10, 1983)

---

SUMMARY

The fertilized eggs of *Rana dybowskii* were irradiated with UV (254 nm wave length) on the vegetal hemisphere to investigate the effects on the primordial germ cells (PGCs) and axis formation. The investigations were carried out in two ways; namely time course and UV dose. Up to 1,600 ergs/mm<sup>2</sup> of UV dose, irradiated at 60 min. after fertilization, there was no effect on the PGC number. However, the number of PGC comparing with that of unirradiated control was decreased more than 40%. As the amount of irradiation was increased, the number of PGC was inversely declined. The maximal dose of irradiation which eliminates PGC completely without inducing any axis abnormality was 4,800 ergs/mm<sup>2</sup>. If the eggs were irradiated earlier with this amount the severer effect could be obtained. Thus the UV effect on the PGC number was most effective when irradiated by 60 min. post fertilization. Thereafter UV effect diminished progressively, and completely disappeared after 8 cell stage.

At UV doses over 9,600 ergs/mm<sup>2</sup> other effects start to appear; namely abnormalities of neural tube and axis formation. Therefore, comparative study on the UV sensitivity of PGC and axis formation was carried out. It was revealed that UV effect on the axis was drastically decreased at the time of 0.7~0.8 between fertilization and 1st cleavage, while the germ plasm was sensitive to UV until 4 cell stage.

## 서 론

수정난의 세포질내에는 특수한 세포나 기관의 분화에 필요한 세포질 요소, 즉 형태형성 요소 (morphogenetic determinants)가 존재하고 있음은 잘 알려진 사실이다. 이들 형태형성 요소들은 지역적으로 불균등하게 분포되어 있어서 난할이 진행됨에 따라 할구의 세포질은 구성에 차이가 일어나게 되고 그 결과 할구들의 운명이 달라진다. 체세포 기관의 분화에 관여하는 세포질 요소의 예로는 ascidian의 yellow crescent (Conklin, 1931), *Dentalium*과 *Illyanassa*의 polar lobe (Clement, 1968), amphibia의 gray crescent (Malacinski *et al.*, 1975)등을 들 수 있다. 생식세포 분화에 필요한 세포질 요소의 예로는 곤충의 polar plasm과 양서류의 germ plasm 등을 들 수 있다. 특히 *Drosophila*난의 polar plasm이 germ cell determinant인 사실은 자외선 실험, microinjection, transplantation실험을 통하여 확인된 바 있으나 아직 확실한 작용기작은 밝혀지지 않고 있다(Geigy, 1931; Okada *et al.*, 1974; Illmense & Mahowald, 1974).

양서류의 germ plasm이 germ cell determinant라는 증거도 *Drosophila*의 경우와 마찬가지로 증명되었다. 즉 germ plasm이 위치하는 식물극의 subcortical 부분을 외과적으로 제거하거나 (Buehr & Blackler, 1970) 자외선을 조사하여 불임의 유도가 가능하다 (Smith, 1966; Tanabe & Kotani, 1974; Ijiri, 1976). 또한 자외선을 받은 난에 정상난의 germ plasm을 microinjection 하거나 (Smith, 1966), tailbud stage 전에 정상 내배엽을 이식하면 (Blackler, 1966) 시원생식세포 수가 정상으로 회복된다. 더구나, 정상난에 germ plasm을 microinjection 하여 control보다 더 많은 수의 생식세포의 유도가 가능함이 보고되었다 (Smith, 1966; Wakahara, 1977, 1978). 자외선의 조사 시기에 따른 영향은 수정후 시간이 경과함에 따라 시원생식세포에 미치는 영향이 감소함이 알려졌으며 (Smith, 1966), 이와 같은 현상은 제 1 분열이 일어나면서 germ plasm이 난할면을 따라 알의 안쪽으로 이동해 들어간다고 풀이되고 있다 (Tanabe & Kotani, 1974; Whittington & Dixon, 1975; Kamimura *et al.*, 1976).

자외선에 의한 시원생식세포 수의 감소원인도 여러 연구를 통하여 설명이 시도되었다. 그 중 하나는 자외선에 의하여 germ plasm이 파괴당함으로써 시원생식세포가 감소했을 가능성이 다 (Ikenishi & Kotani, 1979). 또다른 가능성은 자외선이 조사된 embryo의 시원생식세포가 정상적인 시원생식세포보다 내배엽에서 lateral-dorsal part로의 이동이 저하되고 (Ikenishi & Kotani, 1979), 그 결과 genital ridge에의 도착이 지연된다는 사실이다 (Züst & Dixon, 1975).

한편, 양서류난은 정자침입으로 난의 활성화가 일어나 배/복측의 극성(dorsal/ventral polarity)이 결정된다. 무미 양서류난의 primary organizer 부분의 세포질에 신경관 형성과 축 결정에 관계하는 세포질 요소 (axis morphogen)가 있음은 자외선 조사실험, 이식실험 및 난 회진실험을 통하여 확인된 바 있으며, 이 세포질의 자외선 감응도 또한 조사된 바 있다 (Chung & Malacinski, 1975; Malacinski *et al.*, 1980).

즉 제 1 분열이 일어나기 이전에 양서류난의 식물극에 자외선을 조사하면 신경관 형성이 억제된 embryo가 발생한다. 이때 자외선의 양이 많을수록, 또 자외선의 조사시기가 이를수록 신경관 형성의 억제와 이상발생의 정도가 증가된다. 자외선 조사시기에 대한 민감도는

수정에서 제 1 분열이 일어나기까지의 2/3시기까지 가장 높으며 이 시기부터 감응도가 급격히 떨어져 제 1 분열이 일어난 후에는 자외선의 영향이 거의 없음이 보고되었다 (Malacinski *et al.*, 1975; Malacinski *et al.*, 1978; Chung *et al.*, 1977). 이와 같은 종전의 보고로 germ plasm과 axis morphogen이 자외선에 민감한 시기가 다름을 알 수 있다. 본 연구에서는 생식세포와 축형성에 관계하는 두 morphogen의 작용 mechanism을 규명하는 일환으로 산개구리 난을 재료로 자외선 감응도를 시간적, 수량적으로 보다 정확하게 비교 조사하는데 목적을 두었다. 또한 자외선을 조사한 난과 조사하지 않은 난의 발생양상을 비교함으로써 시원생식세포 형성기작을 규명하고자 하였다.

### 재료 및 방법

재료—본 연구에 사용된 양서류는 한국산 산개구리 (*Rana dybowskii*)로 경기도 마석 지역에서 동면중인 것을 채집하였다. 채집된 개구리는 채집 즉시 암수로 분리하여 4~5 °C에 보관하였다가 실험에 사용하였다.

배란 및 수정—배란과 인공수정은 일반적으로 Hamburger (1960) 방법을 따랐다. 배란은 성숙한 암컷의 복강내에 뇌하수체 현탁액을 주사하여 유도하였고, 배란된 알은 정충현탁액을 뿌려 주어 인공수정시켰다.

자외선 조사—수정된 알들은 jelly층을 제거하여 quartz slide 위에 놓고 10% Steinberg sol.으로 알이 잠기도록 한 후 254 nm 파장의 자외선으로 식물반구를 조사하였다.

시원생식세포의 관찰—자외선을 조사한 난과 자외선을 쬐이지 않은 난들을 10% Steinberg sol.에서 Shumway stage 25까지 발생시켰다. 이때 실내온도는 20 °C로 유지하였고 petri dish 당 개체수를 일정하게 하였다 (20~30마리/dish). 시원생식세포의 수는 올챙이 (Shumway stage 25)의 genital ridge에 배연하고 있을 때 60배로 관찰하였다.

두 morphogen에 대한 자외선의 영향은 크게 두가지 방향으로 조사하였다. 첫째, 자외선의 양이 시원생식세포의 수 및 신경관 형성에 미치는 영향을 조사하였으며, 둘째는 자외선 조사시기에 따른 영향을 조사하였다.

이와 같이 관찰된 시원생식세포는 헤부턴미경 하에서 12배로 사진촬영하였다. 신경관 형성의 억제정도는 종전의 방법대로 0에서 +5까지의 등급 (Malacinski *et al.*, 1975)으로 나누어 조사하여 그 평균치로 나타내었다.

### 결 과

#### 1. 자외선의 조사량이 시원생식세포 수와 신경관형성에 미치는 영향 (UV dose 실험)

자외선을 받지 않은 산개구리 control larva의 genital ridge에서는 평균 약 45~55개의 시원생식세포가 관찰되었다. Table 1은 다른 무미양서류 중의 경우와 비교한 것으로 그 수는 종에 상관없이 대략 비슷하였다.

그러나 관찰된 시원생식세포의 수는 batch에 따라 다르며, 또 같은 batch내에서도 개체에 따라 다소의 변이가 있었다.

자외선의 양과 시원생식세포 수의 관계를 관찰한 결과는 Table 2에 나타난 바와 같다.

**Table 1.** The number of PGCs on the genital ridge of several anuran amphibian species

Species	Stage	No. of PGCs	Reference
<i>R. dybowskii</i>	25(Shumway)	51	Chung & Kim(1984)
<i>R. pipiens</i>	25(Shumway)	56	Subtelny(1980)
<i>R. nigromaculata</i>	25(Shumway)	47	Chung(observation)
<i>R. chensinensis</i>	25(Shumway)	56	Wakahara(1977)
<i>Xenopus laevis</i>	47(Nieuwkoop & Faber)	46	Ikenishi & Kotani(1979)

**Table 2.** UV effect on the number of PGCs (UV dose)\*

Total dose (ergs/mm <sup>2</sup> )	No. of total eggs	No. of survived eggs	No. of PGCs	No. of PGCs (average)	Survival of PGC(%)
400	14	14	58, 27, 43, 35, 27, 57, 33, 39, 53, 38, 57, 45, 51, 44	43.4	97
800	13	13	54, 35, 42, 40, 34, 27, 40, 32, 37, 40, 47, 59, 51	41.4	93
1,200	10	10	70, 34, 30, 36, 66, 48, 46, 24, 29, 36	41.9	93
1,600	10	10	15, 25, 34, 37, 37, 12, 38, 26, 14, 22	26.0	58
3,200	20	15	0, 0, 0, 26, 23, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0	3.3	07
4,800	13	13	0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0	0.0	00
7,200	20	20	0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0	0.0	00
9,600	16	15	0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0	0.0	00
12,000	13	13	0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0	0.0	00
14,400	14	14	0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0	0.0	00
Control	10	9	50, 27, 47, 22, 39, 55, 73, 45	44.7	100

\* UV'd time; 50'~60' post-fertilization. \*1st cleavage; 135'

먼저 수정후 60분경에 400 ergs/mm<sup>2</sup>, 800 ergs/mm<sup>2</sup>, 1,200 ergs/mm<sup>2</sup>의 자외선을 조사했을 때는 97% (43개), 93% (41개), 93% (42개)의 시원생식세포 생존율을 보여 control 개체의 시원생식세포의 평균 수치인 45개와 별다른 차이를 보이지 않았다.

그러나 1,600 ergs/mm<sup>2</sup>의 자외선을 조사하였을 경우 58% (26개) 정도의 시원생식세포 생존율을 보여, 시원생식세포의 수가 상당히 감소됨을 알 수 있었다. 또 3,200 ergs/mm<sup>2</sup>에서는 불과 7%의 생존율만 보였으며, 4,800 ergs/mm<sup>2</sup> 이상에서는 시원생식세포를 관찰할 수 없었다.

지금까지의 경우를 종합하여 보면 4,800 ergs/mm<sup>2</sup> 이하의 자외선을 조사했을 때에는 신경관 형성이 억제된 개체가 거의 관찰되지 않았으나 시원생식세포의 수는 자외선의 양에 반비례하여 감소함을 알 수 있다. 그러나 9,600 ergs/mm<sup>2</sup>부터는 신경관과 축의 형성에 대한 영향이 나타나기 시작하여 자외선의 양이 많을수록 발생결함도 증가하였다 (Table 3). 따라서 4,800 ergs/mm<sup>2</sup>은 신경관 형성에 전혀 영향을 미치지 않으면서 시원생식세포 형성을 완전히 억제시키는 자외선 조사량을 알 수 있었다.

**Table 3.** UV effect on the axis formation(UV dose)

UV dose(ergs/mm <sup>2</sup> )	No. of total eggs	No. of survived eggs	UV syndrome(average)
1,600	17	16	0.00
3,200	13	12	0.00
4,800	13	13	0.00
7,200	13	13	0.15
9,600	35	35	0.49
12,000	35	35	0.77
14,400	35	35	1.37
19,200	35	33	1.49
24,000	35	32	2.25
Control(non-irradiated)	44	41	0.00

**Table 4.** UV effect on the number of PGCs (Time Course)\*

Time of irradiation (min.)	No. of total eggs	No. of survived eggs	No. of PGCs	No. of PGCs (average)	Survival of PGC(%)
30	15	13	0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0	0.0	00
45	15	15	0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0	0.0	00
60	20	17	0, 21, 0, 0, 0, 7, 0, 0, 15, 0, 0, 13, 23, 0, 0, 0, 29	6.4	13
75	14	12	12, 1, 7, 2, 26, 21, 4, 35, 4, 5, 6, 14	11.4	24
90	15	15	20, 7, 8, 20, 30, 12, 21, 12, 16, 7, 6, 17, 37, 0, 8	14.8	33
105	15	15	6, 4, 24, 20, 42, 9, 13, 5, 5, 3, 8, 14, 16, 45	15.8	35
120	17	16	49, 3, 31, 22, 12, 21, 10, 47, 45, 20, 35, 15, 8, 10, 21, 12	22.6	50
135(1st cl.)	20	20	3, 28, 31, 3, 27, 13, 30, 22, 11, 4, 33, 12, 18, 33, 15, 19, 48, 23, 28, 8	20.5	45
165(2nd cl.)	20	16	25, 48, 40, 27, 38, 44, 43, 20, 34, 64, 34, 31, 28, 45, 15, 22	34.7	76
211(3rd cl.)	13	12	46, 51, 50, 42, 55, 61, 14, 53, 46, 65, 36, 26	45.4	100
243(4th cl.)	13	12	35, 68, 57, 54, 42, 51, 56, 44, 24, 48, 37, 40	46.3	100
Control	13	13	57, 46, 38, 47, 44, 44, 57, 35, 67, 45, 44, 37, 43	45.8	100

\*UV dose; 4,800 ergs/mm<sup>2</sup>

## 2. 자외선 조사시기에 대한 시원생식세포 수와 신경관 형성에 미치는 영향 (Time course 실험)

먼저 시원생식세포와의 관계를 알아보는 실험으로 신경관 형성에 관계없이 시원생식세포만 완전히 감소시키는 자외선의 양 (4,800 ergs/mm<sup>2</sup>)을 수정 후 30분에서부터 일정한 간격으로 주어 시간에 따른 자외선의 영향을 조사하였다 (Table 4). 수정 후 30분, 45분, 60분에 자외선을 조사하였을 때 시원생식세포의 수는 각각 평균 0, 0, 6.4개 정도로 대부분의 경우 시원생식세포를 볼 수 없었다 (Fig. 1b).

그러나 60분 이후부터는 자외선 조사시기가 늦을수록 시원생식세포 수의 감소가 차츰 줄어들기 시작하여 (Fig. 1c) 제 3 분열(수정 후 211분)과 제 4 분열(수정 후 243분)시 조사했

을 경우는 각각 45.4, 46.3개가 관찰되어 control개체의 평균 45.8개와 같은 수를 나타내고 있었다. 이와 같이 자외선의 조사시기가 늦을수록 그 감응도가 감소하며, 제 3분열 이후부터는 시원생식세포 형성에 전혀 영향을 미치지 않음을 알 수 있다.

한편 수정 후 50분에 24,000 ergs/mm<sup>2</sup>을 조사한 개체들은 정상적인 낭배운동을 함에도 불구하고 신경관 형성과 축의 길이가 크게 억제되었다. 따라서 시기에 따른 자외선의 감응도를 규명하기 위하여 24,000 ergs/mm<sup>2</sup>의 양을 수정 후 30분에서부터 일정한 시간간격으로 주어 신경관 형성의 억제정도를 조사하였다. 그 결과 수정 후 30분, 45분, 60분에 자외선을 조사한 개체는 각각 2.92, 2.25, 2.23 정도의 발생결함을 보였으며 그 이후에 조사하였을 경우에는 차츰 낮은 정도의 발생결함을 보여 120분이나 제 1분열때 조사한 개체는 자외선에 의한 발생결함이 거의 나타나지 않았다 (Table 5).

Table 5. UV effect on the axis formation (Time Course)\*

Time of irradiation (min.)	No. of total eggs	No. of survived eggs	UV syndrome						Average
			0	+1	+2	+3	+4	+5	
30	30	24	0	5	5	6	5	4	2.92
45	35	32	8	3	2	12	6	1	2.25
60	35	35	13	1	2	8	6	5	2.23
75	40	31	12	4	4	8	2	1	1.58
90	40	33	20	2	1	9	1	0	1.06
105	40	36	23	8	4	0	1	0	0.56
120	40	39	38	1	0	0	0	0	0.03
135(1st cl.)	40	39	39	0	0	0	0	0	0.00
Control	40	38	38	0	0	0	0	0	0.00

\*UV dose; 24,000 ergs/mm<sup>2</sup>

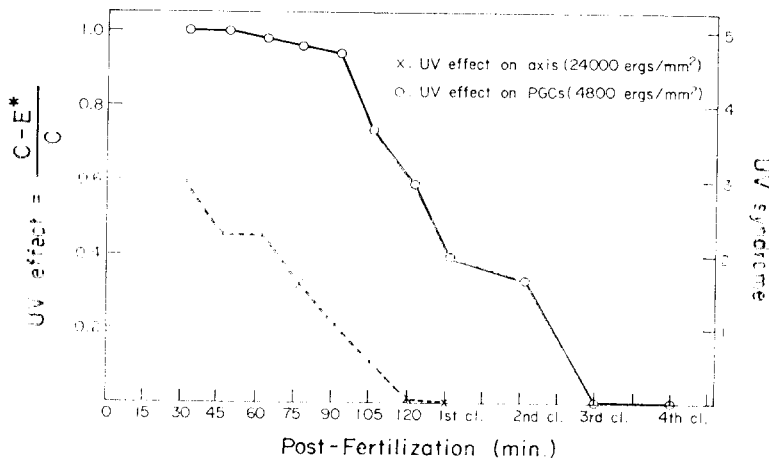


Fig. 2. The relation of the UV effect on the PGCs and the axis (time course).

\* C, PGC no. of control embryos; E, PGC no. of experimental embryos.

위의 결과는 수정에서 제 1분열의 2/3시기에 자외선에 대한 감응도가 급격히 저하된다는 *R. pipiens* (Malacinski *et al.*, 1975)와 *R. nigromaculata* (Chung *et al.*, 1977)를 재료로 한 종전의 결과와 유사한 양상을 보인다.

Fig. 2는 germ plasm과 axis결정요소의 자외선에 대한 감응도를 시간적으로 조사한 결과를 비교한 것이다. 그림에 나타난 바와 같이 시원생식세포는 자외선에 의해 발생결합이 나타나지 않는 제 1분열 때에도 그 수가 감소되었으며 제 3분열 이후에는 거의 영향을 받지 않았다.

한편 자외선을 쬐인 시원생식세포가 genital ridge에 늦게 도착하는지의 여부를 알기 위해서 같은 batch의 tadpole을 몇 마리씩 나누어 며칠의 간격을 두고 genital ridge에 나타나는 시원생식세포의 수 및 특징을 관찰하였다. 그 결과는 stage 25에서 시원생식세포 수의 감소를 보였던 자외선양을 받은 개체들의 genital ridge에 새로운 시원생식세포가 뒤늦게 도착되는 것이 관찰되었다. 그러나 이 세포들은 정상 시원생식세포처럼 뚜렷하지 않으며 또 표면에 완전히 드러나지 않아 그 숫자를 세기가 용이하지 않았다 (Fig. 1과 Fig. 3의 비교). 이 경우 자외선이 조사된 시기가 이룰수록 뒤늦게 도착되는 시원생식세포의 수가 적었으며 (Fig. 3의 a) 반대로 조사된 시기가 늦을수록 그 수가 많았다 (Fig. 3의 b).

본 연구의 또 다른 목적인 자외선에 의한 불임이나 시원생식세포가 genital ridge에 늦게 도착하는 원인을 분석하기 위하여 자외선이 조사된 난과 조사되지 않은 난의 난할양상을 비교 관찰하였다. Fig. 4는 수정후 45분에 불임을 유도하는 4,800 ergs/mm<sup>2</sup>의 자외선을 받은 embryo의 제 1 난할과 초기 포배의 식물반구의 사진으로 정상난의 난할양상과 별다른 차이점을 발견할 수 없었다. 즉, 난할이 시작되는 시간이나 동·식물반구의 할구의 크기가 control개체와 동일하였으며 자외선이 조사된 난의 식물극에서 난할의 억제와 지연이 관찰되지 않았다.

## 논 의

본 실험은 산개구리난의 시원생식세포형성에 미치는 자외선의 영향을 시간적·수량적으로 조사한 것으로 국내 서식종으로는 처음 시도된 것이다.

이 실험에 사용한 *R. dybowskii* 경우 한천층을 벗긴 다음 식물극을 수정후 60분경에 4,800 ergs/mm<sup>2</sup>의 자외선을 조사하였을 때 모든 개체가 불임을 보였다. 그러나 한천층을 벗기지 않은 *Xenopus*의 경우는 식물극에 6,000 ergs/mm<sup>2</sup>의 조사량을 주었을 때 완전한 불임을 보였다 (Ijiri, 1977). 한편, Smith (1966)는 산개구리와 비슷한 북미산 *R. pipiens*의 한천층을 벗긴달에 15,504 ergs/mm<sup>2</sup>을 조사하였을 때 모든 개체가 완전한 불임을 보인다고 보고하였다. 이와같이 불임을 유도하는 자외선의 양이 다른 것은 종간의 차이와 자외선 조사시기 및 한천층을 벗기는 등의 실험방법의 차이에서 기인한다고 생각된다.

본 실험에서 수정 후 30분에서부터 일정한 시간간격으로 *R. dybowskii* 난에 4,800 ergs/mm<sup>2</sup>의 자외선을 조사한 결과 조사시기가 늦을수록 germ plasm의 자외선에 대한 감응도가 떨어져 3분열 이후의 조사는 자외선에 의한 손상이 없는 것으로 관찰되었다.

그러나 *Xenopus*의 수정난을 4,110 ergs/mm<sup>2</sup>의 자외선을 주었을 때 수정 직후가 가장 자외선에 민감하였으며, 그 이후 점진적으로 자외선의 효과가 감소하다가 16~32 cell stage 이

후에는 거의 영향이 없음이 보고되었다 (Ijiri, 1976). 또한 *R. pipiens* 난에 8,000 ergs/mm<sup>2</sup>의 자외선을 일정한 시기에 조사한 결과 1분열 때가 자외선에 가장 민감하였고, 그 이후 차츰 자외선 효과가 감소하여 8 cell stage 경에는 거의 영향이 없음이 보고되었다 (Smith, 1966). 이와 같이 조사된 개체의 종(species)과 조사된 자외선 양이 다름에도 불구하고 수정 후 시기에 따른 자외선 감응도는 유사한 양상을 보였다. 이러한 결과는 식물극의 subcortical 부분에 존재하던 세포질이 germ cell determinant이며, 시간이 경과함에 따라 이 요소가 안으로 이동하기 때문에 자외선에 의한 손상이 줄어들었다고 생각할 수 있다.

본 연구의 목표중의 하나는 자외선이 축형성에 미치는 영향과 시원생식세포에 미치는 영향을 수량적, 시간적으로 비교조사함에 있다. 이러한 비교연구는 두 종류의 morphogenetic determinants의 성질을 규명하는데 의의가 있다고 사료된다. *R. dybowskii* 난의 배/복측 극성결정은 다른 무미양서류에서와 같이 수정과 제 1분열사이에 이루어지며, 일단 극성이 결정되면 자외선 조사가 아무런 영향을 미치지 못함에 비해, 시원생식세포 형성의 자외선에 대한 감응도는 이 보다 훨씬 늦게까지 지속되어 극성결정에는 아무런 영향을 못미치는 1분열 때라도 상당한 정도의 감응도를 나타내고 있다.

한편 stage 25 이후에 뒤늦게 나타나는 시원생식세포는 시간이 경과하여도 현미경하에서 정상적인 시원생식세포와 같이 반짝이게 되지도 않았으며 (Fig. 3), 그 수가 증가하지도 않았다. 이들 희미한 세포들의 위치, 모양, 크기등으로 판단해 볼 때, 시원생식세포일 것으로 생각되나 조직학적인 방법을 통한 확인이 필요하며 이 세포의 이동에 대해 좀 더 정확히 추적할 필요가 있다.

그러나 자외선 조사량이 많거나 조사한 시기가 이른 개체일수록 genital ridge에 뒤늦게 나타나는 희미한 시원생식세포의 수가 적게 관찰된 사실과 불임을 유도할 수 있는 자외선량 (4,800 ergs/mm<sup>2</sup>)으로 조사된 수정난의 발생양상이 정상개체와 같았음은 자외선의 2차적인 영향보다는 germ plasm 자체의 파괴와 같은 1차적인 영향에 의한 가능성이 보다 높다고 보여진다. 양서류난의 germ plasm의 존재와 이동은 보다 직접적인 방법, 예를들어 histochemical method를 통해 확인이 가능하다. 따라서 산개구리뿐 아니라 다른 한국산 무미양서류에 대한 이와같은 연구와 함께 시원생식세포 형성에 관여하는 mechanism을 밝히려는 시도가 계속 되어야 할 것이다.

## 요 약

산개구리의 germ plasm 및 축결정 세포질에 미치는 자외선의 영향을 수량적, 시간적으로 조사하였다. 산개구리 난의 식물극을 수정 후 60분경에 1,600 ergs/mm<sup>2</sup>이상의 자외선을 조사하였을때 40%이상의 시원생식세포의 수가 감소하였으나, 그 이하의 양에서는 전혀 영향이 없었다. 그러나 1,600 ergs/mm<sup>2</sup>부터는 시원생식세포 수의 감소 정도는 자외선의 양에 비례하였다. 또 신경관 형성에 전혀 영향을 미치지 않으면서 시원생식세포의 형성을 완전히 억제시키는 자외선의 양은 4,800 ergs/mm<sup>2</sup>이었다.

이에 4,800 ergs/mm<sup>2</sup>의 자외선을 수정 후 일정한 시간간격으로 조사하여 germ plasm에 미치는 자외선의 영향을 조사하였다. 그 결과 자외선이 조사된 시기가 이룰수록 시원생식세포 수의 감소가 크며, 수정 후 60분부터 차츰 감소율이 줄어들다가 3분열 이후에는 자외선의



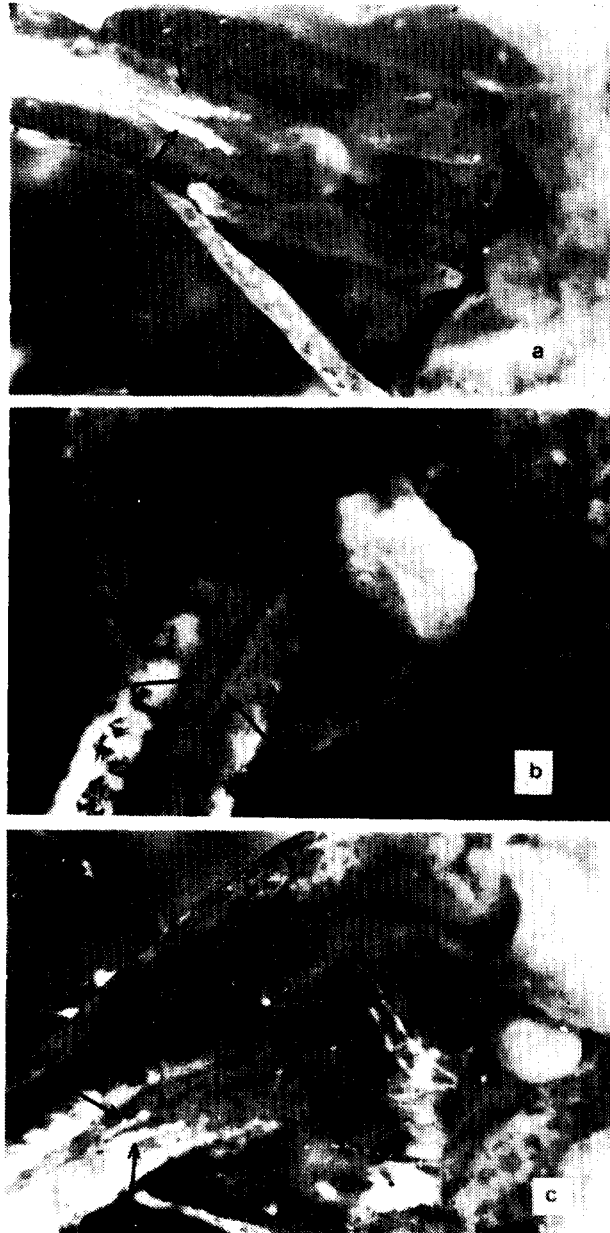
효과가 거의 없음을 관찰하였다.

또한 시원생식세포와 축형성에 미치는 자외선의 영향을 시기적으로 비교한 결과 산개구리난의 축결정이 다른 무미양서류에서와 같이 수정에서 제 1분열 사이의 0.7~0.8시기 이전에 이루어 지므로 그 이후에는 자외선의 감응도가 급격히 저하되었다. 그러나 germ plasm의 자외선에 대한 감응도는 훨씬 늦게까지 지속되어 8구기에 이르기까지 그 영향이 나타났다.

## REFERENCES

- Blackler, A.W. 1966. Embryonic sex cells of Amphibia. *Adv. Reprod. Physiol.* 1:9-28.
- Buehr, M.L. and A.W. Blackler, 1970. Sterility and partial sterility in the South African clawed toad following the pricking of the egg. *J. Embryol. Exp. Morph.* 23:375-484.
- Chung, H.M. and G.M. Malacinski, 1975. Repair of UV damage to a cytoplasmic component of required for neural induction in the amphibian egg. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 72:1235-1239.
- Chung, H.M., G.M. Malacinski and B.G. Kim, 1977. Developmental lesions in Amphibian Embryos induced by UV of fertile egg. *Korean J. Zool.* 20:109-122.
- Clement, A.C., 1968. Development of the vegetal half of the *Illyanassa* egg after removal of most of the yolk by centrifugal force compared with the development of animal halves of similar visible composition. *Develop. Biol.* 17:165-186.
- Conklin, E.G., 1931. The development of centrifugal eggs of ascidians. *J. Exp. Zool.* 60:1-19.
- Geigy, R., 1931. Action de l'ultra-violet sur le pde germinal dans l'oeuf de *Drosophila melanogaster* (Castration at mutabilite). *Rev. Suisse Zool.* 38:187-288.
- Hamburger, V., 1960. A Manual of Experimental Embryology. The University of Chicago Press.
- Ijiri, K., 1976. Stage-sensitivity and dose-response curve of UV effect on germ cell formation in embryos of *Xenopus laevis*. *J. Embryol. Exp. Morph.* 35:617-623.
- Ijiri, K., 1977. Existence of ultraviolet-labile germ cell determinant in unfertilized eggs of *Xenopus laevis* and its sensitivity. *Develop. Biol.* 55:206-211.
- Ikenishi, K. and M. Kotani, 1979. UV effects on presumptive primordial germ cells (pPGCs) in *Xenopus laevis* after cleavage stage. *Develop. Biol.* 69:237-246.
- Illmensee, K. and A.P. Mahowald, 1974. Transplantation of posterior pole plasm in *Drosophila*. Induction of germ cells at the anterior pole of the egg. *Proc. Nat. Acad. Sci., USA* 71:1016-1020.
- Kamimura, M., K. Ikenishi, M. Kotani and T. Matsuno, 1976. Observations on the migration and proliferation of gonocytes in *Xenopus laevis*. *J. Embryol. Exp. Morph.* 36:197-207.
- Malacinski, G.M., H. Benford and H.M. Chng, 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., H.M. Chung and B. Youn, 1978. Further characterization of the effects of ultraviolet irradiation of the amphibian egg. *Experientia* 34:883.
- Malacinski, G.M., H.M. Chung and M. Asashima, 1980. The association of primary embryonic organizer activity with the future dorsal side of amphibian eggs early embryos. *Develop. Biol.* 77:449-462.
- Okada, M., A. Kleinman and H.A. Schneiderman, 1974. Restoration of fertility sterilized *Drosophila*

- eggs by transplantation of polar cytoplasm. *Develop. Biol.* 37:43-54.
- Shumway, W., 1940. Stages in the normal development of *Rana pipiens*. I. External form. *Anatomical Record* 78:139-147.
- Smith, L.D., 1966. The role of a 'germinal plasm' in the formation of primordial germ cells in *Rana pipiens*. *Develop. Biol.* 14:330-347.
- Tanabe, K. and M. Kotani, 1974. Relationship between the amount of the 'germinal plasm' and the number of primordial germ cells in *Xenopus laevis*. *J. Embryol. Exp. Morph.* 31:89-98.
- Wakahara, M., 1977. Partial characterization of 'primordial germ cell-forming activity' localized in vegetal pole cytoplasm in anuran eggs. *J. Embryol. Exp. Morph.* 39:221-233.
- Wakahara, M., 1978. Induction of supernumerary primordial germ cells by injecting vegetal pole cytoplasm into *Xenopus* eggs. *J. Exp. Zool.* 203:159-164.
- Whittington, P. McD and K.E. Dixon, 1975. Quantitative Studies of germ plasm and germ cells during early embryogenesis of *Xenopus laevis*. *J. Embryol. Exp. Morph.* 33:57-74.
- Züst, B. and K.E. Dixon, 1975. The effect of UV irradiation of the vegetal pole of *Xenopus laevis* eggs on the presumptive primordial germ cells. *J. Embryol. Exp. Morph.* 34:209-220.



**Fig. 1.** The primordial germ cells on the genital ridge at stage 25.  
a. Non-UV'd control.  
b. Irradiated at 45 min. after fertilization (UV dose: 4,800 ergs/mm<sup>2</sup>)  
c. Irradiated at 2 cell stage (UV dose: 4,800 ergs/mm<sup>2</sup>)  
Arrows indicate the position of PGCs.

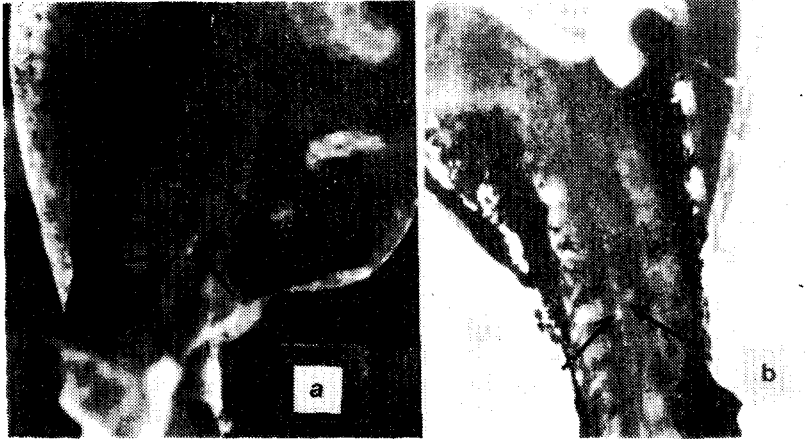


Fig. 3. PCGs arrived 3 days later on the genital ridge at stage 25.

- a. Irradiated at 30 min. after fertilization (UV dose; 4,800 ergs/mm<sup>2</sup>)
  - b. Irradiated at 60 min. after fertilization (UV dose; 4,800 ergs/mm<sup>2</sup>)
- Note that PCGs are not bright as control.

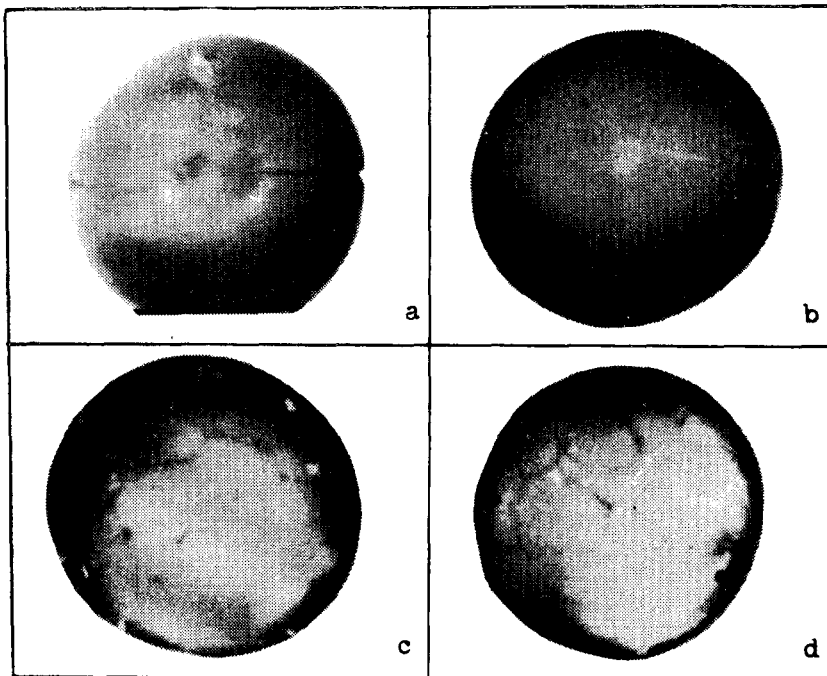


Fig. 4. Cleavage pattern of control and irradiated eggs of *R. dybowskii*.

- a. Vegetal hemisphere of non-irradiated control at 2 cell stage.
  - b. Vegetal hemisphere of irradiated (4,800 ergs/mm<sup>2</sup>, 45 min. after fertilization) at 2 cell stage.
  - c. Vegetal hemisphere of non-irradiated control at early blastula stage.
  - d. Vegetal hemisphere of irradiated at early blastula stage.
- Note that there is no difference between control and irradiated eggs.