

방향족 아미노산이 초기계배에 미치는 영향에 관한 세포생물학적 연구

최임순 · 주충노\* · 최춘근 · 김재원\*  
(연세대학교 이과대학 생물학과, 생화학과\*)

Cell Biological Studies of the Effect of Aromatic Amino Acids on  
Early Development of Chick Embryo\*

Rim Soon Choe, Chung No Joo\*, Choon Keun Choi and Jae Won Kim\*.  
(Dept. of Biology and Dept. of Biochemistry, Yonsei University\*)  
(1985. 7. 15. 접수)

---

ABSTRACT

The effect of aromatic amino acids such as phenylalanine, tryptophan and tyrosine on somitogenesis at the early stage of chick embryo has been investigated morphologically using light and electron microscopy.

Micrographs of aromatic amino acid injected chick embryo showed that an incomplete somite segmentation occurred and some decremental effect on the nervous system were observed. Somites were poorly developed and their size were variable.

Electron micrograph of somatic cells from aromatic amino acid injected chick embryo showed that chromatins were coagulated, some of mitochondria were damaged, and nucleus were transformed considerably in some cases.

The protein and nucleic acid levels and some enzyme activities of 15-day chick embryo which received the injection of 1mg of aromatic amino acid in 0.05 ml of saline 24 hours after the incubation were analyzed. Protein, DNA and RNA levels of the test group were not lowered significantly but the activities of enzymes for basic metabolism, such as lactate dehydrogenase, succinate dehydrogenase, malate dehydrogenase and glucose 6-phosphate dehydrogenase were considerably lowered as compared with those of control.

From the present experimental results, it was tentatively suggested that the administration of amino acid might slow down the yolk granule degradation probably by feed back mechanism resulting in the disturbance of amino acid balance in the cell, which might give rise to impair normal metabolic pattern

leading to abnormal somitogenesis to chick embryo at very early stage of development.

## 서 론

척추동물의 초기배의 체절은 가장 먼저 형성되는 분절 구조로서 척추, 척수신경, 체절간 동맥등으로 발생하며, 특히 체절의 수는 척추의 수를 결정하는데 중요한 구실을 하고 있는 것으로 알려져 있으나, 체절 형성의 메카니즘은 아직도 분명치 않다.

Lipton과 Jacobson(1974a, 1974b)은 초기 배의 중배엽이 체절 형성을 위한 프로그램을 가지고 있을 것으로 추측하였고, Cooke와 Zeeman(1976)은 양서류의 배에 대한 체절 형성 연구로부터 "Clock and Wavefront model"을 주장하였으며 Bellairs(1978)등은 미분절 중배엽과 분절 중배엽을 비교연구하여 체절 형성시 야기되는 세포의 변화를 연구하였다.

최근 Palén(1975, 1981)등은 방향족 아미노산이 초기 계배의 체절형성을 저해한다고 발표하였고, 특히 L-tryptophan의 억제효과는 이것이 serotonin으로 됨으로서 egg yolk granule의 분해를 억제하기 때문이라고 주장하였으나 그 작용기작도 분명치 않다.

본 연구에서는 방향족 아미노산이 초기배발생에서의 체절 형성에 미치는 억제작용과 관련하여, 방향족 아미노산을 계배초기에 투여하였을 때 체절 형성의 전자현미경 관찰과 병행하여 핵산, 단백질 및 몇가지 효소활성을 측정하여 세포 분화에 미치는 방향족 아미노산의 작용을 이해하는데 노력하였다.

## 실험 재료 및 방법

### (1) 실험 재료

정상 사료로 사육한 Abor acres(서울시 오류동 유일농원에서 분양)의 수정란( $65 \pm 5g$ )을 상대습도 70%,  $37.5 \pm 0.5^\circ C$ 의 부란기에서 부란하였다.

### (2) 방향족 아미노산 투여

L-phenylalanine (Merck), L-tyrosine (BDH Chemicals Ltd). DL-tryptophan(순정화학 주식회사)을 0.9% 생리 식염수(0.1 ml)에 용해하여 부란후 24시간만에 난각을 통하여 투여하였다.

아미노산혼합투여의 경우에는 phenylalanine  $500 \mu g$  + tryptophan  $500 \mu g$  phenylalanine  $500 \mu g$  + tyrosine  $50 \mu g$ , 그리고 tyrosine  $50 \mu g$  + tryptophan  $500 \mu g$ 을 같은 방법으로 투여하였다. 효소 활성 및 단백질, 핵산 분석을 위해서는 부란 24시간 후 1 mg의 방향족 아미노산을 0.05 ml의 생리식염수에 녹여 투여하고 15일 후에 분석하였다.

### (3) 광학현미경 및 전자현미경 표본처리

부란 48시간 후에 초기 계배를 적출하여, Nikon FX-35형 광학현미경으로 체절부위를 관찰하였다.

전자현미경 표본은 체절 부위만을 세절하여 2.5% glutarylaldehyde phosphate buffer (0.1 M, pH 7.2)용액으로 전고정한 후, 같은 phosphate buffer로 세척하고 0.1 M phosphate buffer(pH 7.2)로 조정된  $OsO_4$ 에서 2시간 후 고정하였다. 고정된 시료의 탈수는 에탄올의

농도 상승순으로 탈수하고 최종적으로 propylene oxide를 사용하여 치환한다음 epoxy resin으로 포매하였다. 유리칼을 사용하여 LKB-V형 초박절편기로 thick section한 후 염기성 fuchsin toluidine blue로 염색한다음 50~60 nm의 두께로 초박 절편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate용액으로 이중 염색한 후 투사 전자현미경(Hitachi HU-II)으로 관찰하였다.

#### (4) 몇 가지 효소의 활성 측정

부란 15일째에 계배를 적출하여 생리 식염수로 3회 세척한 후 파쇄하고 계배 개체당 최종 부피가 10 ml이 되도록 만든 다음 효소, 핵산, 단백질의 정량에 사용하였다.

(i) Lactate dehydrogenase (LDH, EC. 1, 1, 1, 27)의 활성 측정 (Neilands, 1955) LDH의 활성은 반응액에 효소원을 가한 후 1분동안에 감소되는 NADH의 양을 340 nm에서의 흡광도 감소로 추정하였다. 반응액(전체부피 3 ml)의 조성(최종농도)은 50 mM phosphate buffer (pH 7.4), 0.6 mM sodium pyruvate, 21.3 mM nicotinamide, 0.18 mM NADH와 효소원이었다.

(ii) Malate dehydrogenase(MDH, EC. 1, 1, 1, 37)의 활성 측정 (Joo and Han, 1976) MDH의 활성은 반응액에 효소원을 가하고 상온에서 1분 동안 환원되는 2,6-dichlorophenolindophenol(DICPIP)의 양을 600 nm에서 측정하여 추적하였다. 반응액(전체부피 3 ml)의 조성(최종농도)은 14 mM phosphate buffer (pH 7.4), 0.43 mM NAD<sup>+</sup>, 30 mM nicotinamide, 0.86 mM KCN, 0.034 mM DICPIP, 7.1 mM sodium malate와 효소원이었다.

(iii) Succinate dehydrogenase (SDH, EC. 1, 3, 99, 1)의 활성 측정 (Joo and Han, 1976) SDH의 활성은 반응액에 효소원을 가하고 상온에서 1분동안 환원되는 DICPIP의 양을 600 nm에서의 흡광도 감소로 추적하였다. 반응액(전체부피 3 ml)의 조성(최종농도)은 50 mM phosphate buffer (pH 7.6), 1 mM KCN, 0.04 mM DICPIP, 20 mM sodium succinate와 효소원이었다.

(iv) Glucose 6-phosphate dehydrogenase (G6PDH, EC 1, 1, 1, 49)의 활성 측정 (Lee *et al.*, 1978).

G6PDH의 활성은 반응액에 효소원을 가하고 상온에서 1분동안 생성되는 NADPH의 양을 340 nm에서 흡광도의 증가로 추정하였다. 반응액(전체 부피 3 ml)의 조성(최종농도)은 30 mM Tris-HCl buffer (pH 8.3), 0.67 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.067 mM NADP, 0.83 mM glucose 6-phosphate와 효소원이었다.

#### (5) 단백질, DNA 및 RNA의 정량 (Schneider, 1957)

파쇄액 0.04 ml에 5% trichloroacetic acid(TCA) 3 ml을 가하고 원심분리(3,000 g×5 min)하여 침전물을 얻은 다음 같은 방법으로 2회 세척하였다. Chloroform-methanol 혼합액(2:1, v/v) 3 ml을 가하여 지질을 제거하는 과정을 2회 되풀이 한 후 원심분리하여 얻은 침전물에 1 ml의 0.2 N KOH를 가하고 잘 흔들어 주면서 18시간동안 방치하였다. 이 혼합물에 0.34 ml의 6 N HCl과 1 ml의 5% TCA를 가한 다음, 냉장고에 방치하고 다시 원심분리(3,000 g×5 min)하여 상청액을 RNA정량에 사용하였고, 침전물에는 2ml의 5% TCA를 가하고 90°C에서 15분간 물증탕한 후 원심분리하여 상청액을 DNA정량에 사용하였다. 이때에 얻은 침전물에는 2 ml의 1 N NaOH를 가해 90°C에서 10분간 물증탕하여 완전 용해한 후 단백질 정량에 사용하였다.

#### (i) 단백질의 정량 (Lowry *et al.*, 1951)

단백질은 표준단백질로 bovine serum albumin (BSA) 용액을 사용하여 Lowry 방법으로 정량하였다.

(ii) DNA 정량(Schneider, 1957)

DNA는 calf thymus DNA 용액을 표준용액으로 하여 diphenylamine으로 발색하여 정량하였다.

(iii) RNA 정량(Schneider, 1957)

RNA는 calf liver RNA 용액을 표준 용액으로하여 orcinol로 발색하여 정량하였다.

## 결 과

### (1) 광학 현미경 관찰

대조군의 경우, 직선형의 신경관 양쪽으로 체절이 완전하고, 규칙적으로 형성되어 있으며, 각 체절들의 외곽 경계도 명확히 나타나있다(Fig. 1). 방향족 아미노산을 미량(phenylalanine 500  $\mu$ g, tryptophan 500  $\mu$ g, tyrosine, 50  $\mu$ g)투여 하였을 때에는 신경관의 굴곡현상(Fig. 2), 체절의 부분적결실(Fig. 2), 부분적 형성(Fig. 3), 그리고 체절의 외부 경계가 불확실하게 나타나고(Fig. 4) 방향족 아미노산을 다량(phenylalanine과 tryptophan은 1 mg, tyrosine은 100  $\mu$ g) 투여한 실험군은 위와 같은 현상들이 미량 투여시 보다 심하게 나타나며 신경관의 심한 굴곡 현상(Fig. 5)과, 체절형성이 전체적으로 뚜렷하게 나타나지 않았다(Fig. 6).

각 방향족 아미노산 혼합물을 투여한 경우에는 체절들의 외곽 경계가 불확실하고, 신경관 양쪽 체절의 비대칭, 그리고 현저한 크기의 차이를 나타내고 있어서, 대조군과 외형적으로 큰 차이를 나타내었다(Fig. 7, Fig. 8).

### (2) 전자 현미경 관찰

일반적으로 분열이 왕성한 체절세포에서는 전체세포의 많은 부분을 핵이 차지하고 있으며, 대조군의 체절세포는 핵의 모양이 둥글고, 핵내의 염색질도 고루 분포하고, cristae가 잘 발달된 mitochondria와 핵 주위에 rough endoplasmic reticulum(RER)이 나타나 있고, 세포질 전반에 걸쳐 polysome이 산재되어 있다(Fig. 9, Fig. 10)

방향족 아미노산을 미량 투여한 실험군에서는 핵의 모양은 대체로 둥글게 나타나고 있으나, mitochondria의 cristae가 파괴되어 공포화되었고, 염색질도 응집되어 있다(Fig. 11, Fig. 12).

방향족 아미노산을 다량 투여한 경우에는 mitochondria와 염색질의 변화(Fig. 13, Fig. 14) 이외에도 핵막의 굴곡 상태가 뚜렷하였고(Fig. 15, Fig. 16), 핵 주위의 RER도 부분적으로 팽창되었다(Fig. 16).

또한 방향족 아미노산을 혼합하여 투여했을 때에도 약간 핵모양의 변화가 일어났고(Fig. 17), 염색질도 부분적으로 응집되어 있었으나(Fig. 18) RER은 크게 변화하지 않았다. 그리고 mitochondria의 cristae가 파괴되어 공포화 된 것이 있었다(Fig. 17, Fig. 18).

부탄 24시간 후 1 mg의 방향족 아미노산 [phenylalanine(Phe), tryptophan(Trp), tyrosine(Tyr)]을 0.05 ml의 생리식염수에 녹여 투여하고 15일 후에 계배 전체를 균질화하여 몇가지 효소, lactate dehydrogenase(LDH), succinate dehydrogenase(SDH), malate dehydrogenase(MDH), glucose 6-phosphate dehydrogenase(G-PDH), 단백질 및 핵산(DNA, RNA)

을 분석한 결과는 다음과 같다. LDH활성은 대조군(100%)에 비해 Phe투여군은 78%, Trp투여군은 66%, Tyr투여군은 50%로 활성이 유의성있게 저하되었다(Table 1).

**Table 1.** The effect of aromatic amino acids (Phe, Trp, Tyr) on lactate dehydrogenase activity of whole chick embryo (15-day-old). The reaction mixture contained (final concentration) 50 mM phosphate buffer (pH 7.4), 0.6 mM sodium pyruvate, 21.3 mM nicotinamide, 0.18 mM NADH and enzyme.

Group	Enzyme activity* (unit/chick embryo)	Relative activity** (%)	p
Control	119.2±10.2	100	—
Phenylalanine	93.3±14.9	78	<0.05
Tryptophan	78.8± 7.4	66	<0.001
Tyrosine	60.0± 5.9	50	<0.001

\* One unit of enzyme activity was defined as 0.1 of optical density change per minute under the experimental condition described in the text.

\*\* Relative activities were expressed as percent of control.

**Table 2.** The effect of aromatic amino acids (Phe, Trp, Tyr) on succinate dehydrogenase activity of whole chick embryo (15-day-old). The reaction mixture contained (final concentration) 50 mM phosphate buffer (pH 7.6), 1 mM KCN, 0.04 mM DICPIP, 20 mM sodium succinate and enzyme.

Group	Enzyme activity* (unit/chick embryo)	Relative activity (%)	p
Control	17.6±3.4	100	—
Phenylalanine	14.3±3.6	81	>0.05
Tryptophan	12.8±1.3	72	<0.05
Tyrosine	8.0±1.4	45	<0.01

\* One unit of enzyme activity was defined as 0.1 of optical density change per minute under the experimental condition described in the text.

\*\* Relative activities were expressed as percent of control.

**Table 3.** The effect of aromatic amino acids (Phe, Trp, Tyr) on malate dehydrogenase activity of whole chick embryo (15-days-old). The reaction mixture contained (final concentration) 14 mM phosphate buffer (pH 7.4), 0.43 mM NAD, 30 mM nicotinamide, 0.86 mM KCN, 0.034 mM DICPIP, 7.1 mM sodium malate and enzyme.

Group	Enzyme activity* (unit/chick embryo)	Relative activity** (%)	p
Control	60.0±5.7	100	—
Phenylalanine	47.3±8.1	79	<0.05
Tryptophan	44.0±2.8	73	<0.01
Tyrosine	28.0±2.8	47	<0.001

\* One unit of enzyme activity was defined as 0.1 of optical density change per minute under the experimental condition described in the text.

\*\* Relative activities were expressed as percent of control.

SDH활성은 대조군(100%)에 비해 Phe투여군은 81%로 유의성이 없었으나 Trp, Tyr투여군은 각각 72% 45%로 유의성있게 활성이 저하되었다(Table 2).

MDH활성은 Phe, Trp, Tyr 투여군 각각 79% 73%, 47%로 모두 유의성 있게 활성이 저하되었다(Table 3).

G-6-PDH활성은 대조군에 비해 Phe투여군은 차이가 없었으나 Trp, Tyr는 각각 88%, 82%로 활성이 약간 저하되었으나 유의성은 있었다(Table 4).

단백질량은 대조군(100%)에 비해 Phe, Tyr투여군은 각각 81%, 76%로 약간 유의성 있게 감소 하였으나 Trp투여군은 별 차이가 없었다(Table 5).

**Table 4.** The effect of aromatic amino acids (Phe, Trp, Tyr) on glucose 6-phosphate dehydrogenase activity of whole chick embryo (15-day-old). The reaction mixture contained (final concentration) 0.83 mM glucose 6-phosphate, 0.067 mM NADP, 30 mM Tris-HCl buffer (pH 8.3), 0.67 mM MgCl<sub>2</sub> and enzyme.

Group	Enzyme activity* (unit/chick embryo)	Relative activity** (%)	P
Control	15.8±0.3	100	—
Phenylalanine	15.5±0.2	98	>0.05
Tryptophan	13.8±0.3	88	<0.001
Tyrosine	13.0±0.3	82	<0.001

\* One unit of enzyme activity was defined as 0.1 of optical density change per minute under the experimental condition described in the text.

\*\* Relative activities were expressed as percent of control.

**Table 5.** Protein level of whole chick embryo which had received aromatic amino acids (Phe, Trp, Tyr).

Group	Protein amounts (mg/chick embryo)	Relative amounts* (%)	P
Control	146.97±12.44	100	—
Phenylalanine	118.32±15.71	81	<0.001
Tryptophan	141.62±16.32	96	>0.05
Tyrosine	111.45±10.44	76	<0.001

\* Relative amounts were expressed as percent of control.

**Table 6.** DNA level of whole chick embryo which had received aromatic amino acids (Phe, Trp, Tyr).

Group	DNA amounts (mg/chick embryo)	Relative amounts* (%)	P
Control	3.0±0.3	100	—
Phenylalanine	2.7±0.4	88	>0.05
Tryptophan	2.8±0.3	91	>0.05
Tyrosine	2.6±0.1	85	<0.005

\* Relative amounts were expressed assuming that of control being 100.

**Table 7.** RNA level of whole chick embryo which had received aromatic amino acids (Phe, Trp, Tyr).

Group	RNA amounts (mg/chick embryo)	Relative amounts* (%)	p
Control	10.1±0.7	100	—
Phenylalanine	8.3±0.7	82	<0.01
Tryptophan	9.6±0.1	95	>0.05
Tyrosine	8.3±0.6	83	>0.05

\* Relative amounts were expressed assuming that of control being 100.

DNA 함량은 Tyr 투여군이 대조군(100%)에 비해 88%로 유의성 있게 약간 저하되었을 뿐 Phe, Trp 투여군은 각각 88%, 91%로 약간 감소되었으나 유의성이 없었다. RNA 함량도 Phe 투여군이 82%로 약간 유의성 있게 저하되었을 뿐 Trp, Tyr 투여군에서는 각각 95%, 83%로 유의성이 없었다(Table 6과 Table 7).

## 고 찰

체질의 형성에 미치는 방향족 아미노산의 영향에 대한 연구는 Emanuelsson과 Palén(1975)이 초기계배에 L-tryptophan을 투여하였을 때 뇌와 체질 형성에 기형 발생 현상을 관찰하고 그 주요 원인으로 계배에 투여한 L-tryptophan이 serotonin으로 되어 결과적으로 yolk granule의 분해가 억제된다고 주장하였다. 왜냐하면 형태형성이 세포내 yolk granule의 규칙적인 분해에 의해 조절되고 이 분해과정은 yolk granule 분해시 방출되는 serotonin의 영향을 받기 때문이다. Serotonin과 serotonin생성을 방해하는 물질을 배에 투여하면 yolk granule의 분해가 지연되어 microvilli의 생성과 기능이 저해되고 배 세포의 정상 발달이 저해된다는 것이 알려져 있고, 또 serotonin은 microtubule과 microfilament의 활성을 일차적으로 촉진한다는 증거도 있다.(Palén *et al.*, 1979)

Yolk granule은 tryptophan뿐만 아니라 phenylalanine, tyrosine과 같은 방향족 아미노산을 다량함유하고 있어 L-phenylalanine을 투여한 경우에도 L-tryptophan 투여시와 같은 somite block 현상과 기형현상이 일어난다고 보고되어 있다(Palén and Thoneby, 1981).

이와 같은 비정상적 somite 생성현상은 여러가지 아미노산 analogue를 계배에 투여하였을 때도 관찰된다. Herrmann(1953)은 방향족 아미노산 analogue가 정상 배아의 발생을 억제한다고 보고하였고 Rothfels(1954)는 iso-leucine과 valine의 analogue를 사용한 실험에서 다양한 크기의 somite block이 형성되는 것을 관찰하였으며 이와 같은 아미노산 analogue의 독성효과에 대한 구체적인 설명은 하지 않고 있으나, 배아에서의 단백질 합성억제로 풀이되고 있다.

그러나 phenylalanine을 투여한 경우는 feed back 메커니즘에 의한 정상적인 아미노산 균형에 영향을 미칠 것으로 해석되고 있다. 왜냐하면 초기배아 발생에서는 배에서의 단백질 합성이 yolk granule에 의존하기 때문이다.

Flickinger(1949)와 Mastrangelo(1966)은 phenylalanine의 amphibian, sea urchin의 배아 세포에서의 yolk granule의 분해를 억제한다고 보고하였고 Bruce는 계배를 세포내 yolk

granule의 분해를 방해하는 antiserum이 함유된 배양액에서 배양하면 somite block이 일어난다는 것을 제시하고 있다.

따라서 yolk granule에 비교적 많이 함유된 방향족 아미노산을 계배에 투여하면 feed back 메카니즘으로 yolk granule의 분해가 억제 또는 지연됨으로서 비 정상적인 대사가 진행되어 결과적으로 somite block 기형현상이 예측되는 것이다.

본 연구에서도 tryptophan, phenylalanine, tyrosine을 초기 계배에 투여하였을 때 모두 체절형성을 저해하는 것으로 나타났으며 부란 24시간 후 방향족 아미노산을 1 mg투여하고 15일 후의 계배의 단백질이나 핵산(DNA와 RNA)은 대조군에 비해 크게 저하되지는 않았으나 중요한 효소들의 활성이 크게 저하되었다.

또한 전자현미경적 분석에서도 체절세포의 세포내 소기관과 핵부위에도 영향을 미치는 것으로 나타나고 있다.

이와 같은 시험 결과로부터 계배에 방향족 아미노산을 투여하였을 때, feed back 메카니즘으로 yolk granule의 분해가 저해되고 결과적으로 단백질 합성과 같은 대사에 이상이 초래되어 비 정상적 somite형성이 초래되는 것으로 생각되며 방향족 아미노산 투여와 somite형성메카니즘 등의 관계를 구명하기 위한 많은 연구가 기대되는 것이다.

## 적 요

Phenylalanine, tryptophan, tyrosine 과 같은 방향족 아미노산을 계배 초기에 투여하였을 때 somite형성에 미치는 영향을 광학 및 전자현미경을 사용하여 형태적으로 추구한 결과 아미노산을 투여한 계배에서는 불완전한 체절 분절 현상이 일어나고 신경계에도 감쇠 영향을 미치며 somite의 발생이 불완전하고 그 크기도 다양하였다.

또한 체절 세포는 chromatin이 응축되고 미토콘드리아의 일부는 파괴되었고 핵이 변형된 경우도 있었다.

부란 24시간 후 아미노산을 투여하고 15일간 부란한 계배의 경우 단백질이나 핵산은 대조군에 비해 크게 저하되지는 않았으나 lactate dehydrogenase, succinate dehydrogenase, malate dehydrogenase 및 glucose 6-phosphate dehydrogenase와 같은 기초대사에 중요한 구실을 하는 효소활성은 크게 저하되었다.

이와 같은 실험결과로부터 초기계배에 아미노산을 투여하면 아마도 yolk granule의 분해가 지연되며 결과적으로 세포내의 아미노산 균형이 파괴되어 정상 대사가 이루어지지 못하여 비정상적인 체절형성의 현상이 나타나게 되는 것으로 생각된다.

## REFERENCES

- Bellairs, R., A.S.G. Curtis and E.J. Sanders, 1978, Cell adhesiveness and embryonic differentiation, *J. Embryol. Exp. Morph.*, **46**, 207-213.
- Cooke, J. and E.C. Zeeman, 1976, A clock and wavefront model for the control of the number of repeated structure during animal development, *J. Theoret. Biol.*, **58**, 455-476.
- Emanuelsson, H. and K. Palen, 1975, Effects of L-tryptophan on morphogenesis and growth in the early chick blastoderm, *Wilhelm Roux' Arch. Devl. Biol.*, **177**, 1-17.



- Flikinger, R.A., Jr. 1949, A study of the metabolism of amphibian neural crest cells during their migration and pigmentation *in vitro*, *J. Exp. Zool.* **122**, 465-484.
- Herrmann, H., 1953, Interference of amino acid analogues with normal embryonic development, *J. Embryol. Exp. Morph.* **1**, 291-295.
- Joo, C.N. and J.H. Han, 1976, The effect of ginseng saponins on chicken's hepatic mitochondrial succinate dehydrogenase, malate dehydrogenase and  $\alpha$ -ketoglutarate dehydrogenase, *Korean Biochem. J.* **9**, 43-51.
- Lee, C.Y., C.H. Langley and J. Burkhart, 1978, Purification and molecular weight determination of glucose 6-phosphate dehydrogenase and malic enzyme from mouse and drosophila, *J. Anal. Biochem.*, **86**, 697-706.
- Lipton, B.H. and A.G. Jacobson, 1974, Analysis of normal somite development, *Devl. Biol.*, **38**, 73-90.
- Lipton, B.H. and A.G. Jacobson, 1974, Experimental analysis of the mechanisms of somite morphogenesis, *Devl. Biol.*, **39**, 91-103.
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall, 1951, Protein measurement with the folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.* **193**, 265-275.
- Mastrangelo, M., 1966, Analysis of the vegetalizing action of tryosine on the sea urchin embryo., *J. Exp. Zool.* **161**, 109-128.
- Neilands, J.B., 1955, Lactic dehydrogenase of heart muscle, *Methods Enzymol.* **1**, 449-454.
- Palen, K. and L. Thoneby, 1981, Effects of L-phenylalanine on somite formation in the early chick embryo, *J. Embryol. Exp. Morph.*, **161**, 175-190.
- Palen, K., L. Thoneby and H. Emanuelsson, 1979, Effects of serotonin and serotonin antagonists on chick embryogenesis, *Wilhelm Roux' Archiv. Devl. Biol.*, **187**, 89-103.
- Rothfels, U., 1954, The effects of some amino acid analogues on the development of the chick embryo *in vitro*, *J. Exp. Zool.*, **125**, 17.
- Schneider, W.C., 1957, Determination of nucleic acids in tissue by pentose analysis, *Methods in Enzymol.* **3**, 680-681.

- Fig. 1.** Micrograph of 0.1 ml of 0.9% saline injected chick embryo. The somites were normally developed. ( $\times 40$ )
- Fig. 2.** Micrograph of DL-tryptophan (500  $\mu\text{g}$  in 0.1 ml of saline) injected chick embryo. Detrimental effect on the nervous system and incomplete somite segmentation can be seen. ( $\times 40$ )
- Fig. 3.** Micrograph of DL-tryptophan (500  $\mu\text{g}$  in 0.1 ml saline) injected chick embryo. Poor development of somites was noted. ( $\times 40$ )
- Fig. 4.** Micrograph of L-phenylalanine (500  $\mu\text{g}$  in 0.1 ml of saline) injected chick embryo. The outline of somites was uncertain. ( $\times 40$ )
- Fig. 5.** Micrograph of L-tryosine (100  $\mu\text{g}$  in 0.1 ml of saline) injected chick embryo. Severe detrimental effect on the nervous system can be observed. ( $\times 40$ )
- Fig. 6.** Micrograph of L-phenylalanine (1 mg in 0.1 ml of saline) injected chick embryo. Incomplete somite segmentation was noted. ( $\times 40$ )
- Fig. 7.** Micrograph of DL-tryptophan (500  $\mu\text{g}$ )+L-tryosine (50  $\mu\text{g}$ ) injected chick embryo. Somites were poorly developed and their sizes were variable. ( $\times 40$ )

- Fig. 8.** Micrograph of L-phenylalanine (500  $\mu\text{g}$ ) + DL-tryptophan (500  $\mu\text{g}$ ) injected chick embryo. A poor development of somites was noted. ( $\times 40$ )
- Fig. 9.** Electron micrograph of somite cell from 0.9% (0.1 ml) injected chick embryo. Normal mitochondria (Mi) and nucleus (Nu) were seen. ( $\times 16,750$ )
- Fig. 10.** Electron micrograph of somatic cell from 0.9% saline (0.1 ml) injected chick embryo. Normal mitochondria (Mi), nucleus (Nu), and rough endoplasmic reticulum (rER) were seen. ( $\times 20,000$ )
- Fig. 11.** Electron micrograph of somitic cell from L-phenylalanine (500  $\mu\text{g}$  in 0.1 ml of saline) injected chick embryo. Coagulated chromatins (Chr) were seen in the nucleus and some of mitochondria (Mi) were damaged. ( $\times 6,750$ )
- Fig. 12.** Electron micrograph of somitic cell from DL-tryptophan (500  $\mu\text{g}$  in 0.1 ml of saline) injected chick embryo. Some of mitochondria (Mi) were damaged. ( $\times 10,000$ )
- Fig. 13.** Electron micrograph somitic cell from L-tyrosine (100  $\mu\text{g}$  in 0.1 ml of saline) injected chick embryo. Chromatins (Chr) were coagulated and some of mitochondria (Mi) were damaged. ( $\times 10,000$ )
- Fig. 14.** Electron micrograph of somitic cell from DL-tryptophan (1 mg in 0.1 ml of saline) injected chick embryo. Some of mitochondria (Mi) were damaged and nucleus was transformed. ( $\times 10,000$ ). Arrows indicate the transformed nucleus.
- Fig. 15.** Electron micrograph of somitic cell from L-phenylalanine (1 mg in 0.1 ml of saline) injected chick embryo. Mitochondria (Mi) and nucleus (Nu) were damaged. ( $\times 20,000$ )
- Fig. 16.** Electron micrograph of somitic cell from DL-tryptophan (1 mg in 0.1 ml of saline) injected chick embryo. Mitochondria were damaged and some were vacuolized. Nucleus was transformed considerably. ( $\times 20,000$ ). Arrow indicates the transformed nucleus.
- Fig. 17.** Electron micrograph of somitic cell from L-phenylalanine (500  $\mu\text{g}$ ) + L-tyrosine (50  $\mu\text{g}$ ) injected chick. Some of mitochondria (Mi) were vacuolized and nucleus were slightly transformed. ( $\times 16,750$ )
- Fig. 18.** Electron micrograph of somitic cell from L-tryptophan (500  $\mu\text{g}$ ) + L-tyrosine (50  $\mu\text{g}$ ) injected chick embryo. Mitochondria were damaged and some were vacuolized. ( $\times 10,000$ )



1



3



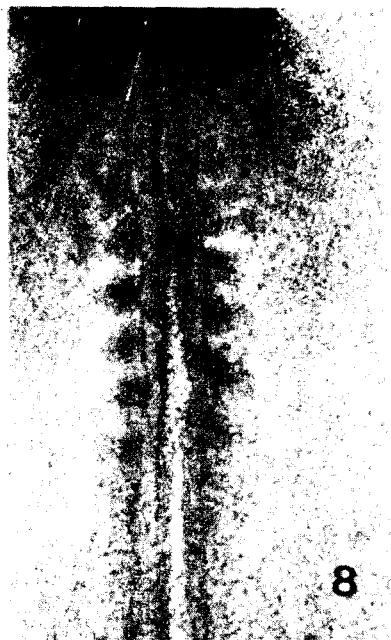
4



6



7



8

