

후 보

한국동물학회 1970년도 춘계연구발표회 및 강연회

일시 : 1970년 5월 9일

장소 : 이화여자대학교

특별강연

Amphibians as Research Animals and Models of Disease

미국 Michigan 대학

Dr. George W. Nace

現代生物學의 발달에 따라서 發生學분야에서도 장족의 발전을 거듭하여 왔으며 특히 雜種誘導, 形態遺傳學 및 遺傳子의 작용과 遺傳子의 조절기작에 대한 動的이고 복잡한 일련의 과정을 해명하는데 많은 공헌을 하여왔다. 그러나 遺傳子의 작용기구는 單細胞生物에서만 밝혀지고 있을 뿐이고 後生生物의 경우는 원시적인 시점에서 탈피하지 못하고 있는 형편이다. 형태적인 遺傳현상에 대한 遺傳子의 조절기작에 대한 극히 한정된 부분에서만 겨우 성공을 거두고 있으며 이와같이 연구가 부진한 중요한 이유의 하나는 형태적인 遺傳현상이 가장 잘 알려진 生物인 遺傳현상자체를 연구하는 데는 부적당한 것으로 생각되고 있기 때문이다. 그러므로 형태적인 遺傳현상이 잘 알려진 生物을 遺傳을 연구하는데 쓰기에 적합하도록 만들어야 할 것이다.

이와같은 점을 고려할 때 兩棲類가 적합하다고 생각되는 것이다. 即 兩棲類는 기재적이고, 분석적이면서 이 동물의 발생과정은 化學的인면에서 퍽이나 상세하게 구명되고 있다는 사실을 들 수 있다. 또 모든 발생 과정을 통해서 다량으로 실험자료를 얻기가 쉬우며 系統發生學의으로 뚜렷한 상호관계를 갖는 種이 많이 있다는 사실등이 이를 실증하고 있다. 그러던 兩棲類가 현대 실험생물학의 중요한 문제점등을 해결하는데 쓰이지 않은 이유는 무엇이겠는가?

이에 대한 해답은 이 재료가 너무 평범하게 쓰여져 왔다는 사실이다. 즉 兩棲類는 오랫동안 교육이나 연구에 쓰여져 왔지만, 목적하는 바 명확한 해답을 얻지 못하는 경우가 많았는데 이는 동물을 同定하고 命名

하기가 힘들었기 때문이다. 재료상에서 부르는 이름을 그대로 믿을 수는 없다. 예를 들어 어떤 특정한 兩棲類를 주문하게 되면 여러가지 종이 혼합되어있는 경우가 있는데 가령 *Rana pipiens*, *R. clamitans* 등이 섞여 있거나 또는 많은 寄生蟲이 기생하고 있거나 병들어 있을 때가 많다. 그리하여 이와같은 재료를 써서 실험한 것을 그대로 믿기란 곤란한 문제인 것이다.

그러던 어찌서 生物學의으로나 遺傳的으로 뚜렷한 양서류의 품종을 얻을수가 없는가 하는 의문을 갖게 된다. 여기서 연구용으로 많이 쓰이고 있는 刺추동물은 길들인 종류로서, 사람과 생활을 같이 할 수 있고 감식성이기 때문에 실험실에서 키우기가 손쉽다는 점에 유의할 필요가 있다. 그러나 양서류는 이와같은 조건에 들어맞지 않는다. 그들의 식성은 발육시기에 따라서 달라지며 대개 괴팍한 복잡성을 가지고 있고 살아있는 먹이를 요구하는 종류가 많다. 실험실에서는 강제급식을 해야 할 경우도 있으며 몇가지 종류만이 전 생애를 물속에서 생활하고 살아있지 않은 먹이로 키울수가 있는데, 여기에 속하는 종류가 有尾類이지만 전문가가 아니고서는 생활사가 복잡하여 사육하기가 좀 힘들다. 그런데 무미류의 일종인 *Xenopus* 만이 위에 든 특징을 지니고 있어서 실험실에서 흔히 키우면서 사용하고 위다.

무미류를 여러 代에 걸쳐서 유지하는 데 성공을 거둔 이는 廣島大學의 총장인 Kawamura 박사로서, 여러 종류의 개구리, 청개구리 및 무당개구리 등과 이들 종류를 核移植과 雜種形成 등의 방법을 써서 만들어

넌 여러가지 系統을 가지고 있다. 이중 몇가지 系統의 種은 실험실 내에서 8세대나 계속 유지되고 있다. 그의 연구결과로 보아 無尾類를 실험실에서 키워서 실험 재료로 이용할 수 있음을 알 수 있다.

兩棲類가 발생하는 과정을 分子수준에서 연구하여 그 목적이 이루어짐에 따라 관독할만한 발전을 가져올 수 있음을 알게 되었다. 먹이의 조절방법, 생식생리 및 실험실에서의 습성등에 대한 경험을 통해서 *R. pipiens*를 값싸게 유지할 수 있게 되었고 National Science Foundation을 통해서 Amphibian Facility를 갖게 되었는데 이 시설은 Kawamura 博士와의 美日科學協力計劃에 의해서 뒷받침 되었다. 그가 쓰는 方法중 몇가지는 그대로 미국에서도 適用할 수 있었으나 기후조건이나 노동조건이 다르고 사육하려는 동물의 종류도 또한 달라서 거의 모든 方法을 수정하여 사용하지 않으면 안되었다.

본 강연의 목적은 Amphibian Facility와 시간과 노력을 가장 적게 들이고 여러가지 兩棲類를 실험실에서 키우는 효과적인 方法을 간단히 소개하려는 것이다.

동물의 종류

각 類종의 동물은 개인적으로 채집을 하거나 재료를 통해서 구입하였으며 種名은 아래와 같다.

R. pipiens, *R. palustris*, *R. clamifans*, *R. sylvatica*, *R. catesbiana*, *R. japonica*, *R. nigromaculata*, *Bombina orientalis*, *Bufo fowleri*, *B. americana*, *B. marinus*, *Xenopus laevis*와 몇 종의 *Hyla*였다.

현재 실험실에 있는 有尾類는 *Ambystoma laterale*, *A. tremblayi*, *A. maculatum*, *A. mexicanum*, *A. tigrinum*, *A. talpoideum*, *Gyrinophilus dunni*, *Desmognathus quadramaculatus*, *Notophthalmus viridescens*, *Plethodon cinereus*, *Plethodon glutinosus*, *pleurodeles walflu*이다.

야외에서 채집된 모든 成체는 실험실에 옮기면 곧 염소성분이 6ppm이 되도록 맞춘 물속에 10분동안 담가 두었고 다음 처리는 계절에 따라서 달리 한다. 여름철에는 실온에서 격리된 용기속에 넣어두고 먹고 남을 정도의 먹이를 주었다.

자료의 기록

Amphibian Facility를 설립한 주목적이 유전학적으로 규정할 수 있는 系統을 얻는 것이므로 각 개체를 정확하게 同定하고 완전한 자료를 기록할 수 있도록 서식을 갖추고 있어야 한다. 동물에 표식을 하는때는

이른바 문신을 하는데, 작은 개구리살갓에 문신을 하 기란 불가능 하며 成체의 경우는 문신이 4-5개월만 지나면 살갓과 더불어 지워 지고 만다. 낙인을 찍는 方法은 문신법에 비해서 하기가 쉬우며 등에 선명한 표식을 남길 수 있으나 역시 5-6개월 밖에 지속하지 못한다. 이와같은 표시방법이 때로는 유효하지만 가장 효과적인 方法은 동물의 피부의 모양을 略號로 기재하여 두는 것이다. 이렇게 해 두면 분명하고 죽을 때까지 식별이 가능하며 손쉽게 편치카드에 수록하거나 전자계산기에 결수가 있는 것이다.

번식법

관계적인 번식법은 최근에 개량이 된 progesterone 주사를 보강한 Rugh의 기술을 이용하는 것이다. 독특하고 혼하지 않은 동물, 특히 숫컷을 번식시킬 때는 뇌하수체 주입으로 자연적인 번식행동을 유발시키고 있다. 여러마리의 암컷이 산란한 알속에 혼치 않은 숫컷의 정충을 넣어줄 필요가 있을 때는 한쪽 또는 반쪽 교환을 절제하여 인공수정에 쓰고 또 다른 번식에 이용할 수 있도록 한다.

어떤 명백한 系統을 얻는 가장 중요한 方法은 雌性發生에 의존하는 것이다. 보통 쓰는 方法으로 알을 얻어서 목적에 따라서 차이는 있으나, 자의선을 쪼인 정충을 가지고 수정시켜 활성화시킨다. 섭식 18도에서 20분간 처리한 수정란을 37도에 4분간 넣었다가, 다시 18도에 옮긴다. 이같은 열처리로 상당한 비율의 알이 제2극체를 지니고 있게 되고 교차가 일어난 부위를 제외 한 나머지 모든 부위가 同質인 倍數性 동물을 얻게 된다. 감수분열을 하는 동안에 독립적으로 분리가 되므로 雌性發生에 의해서 야생 암컷의 자손가운데서 가장 많은 번이가 일어나게 되고 한편 雌性發生에 의해서 생긴 암컷의 자손가운데서 가장 많은 同質접합체를 발견할 수가 있다. 雌性發生의 둘째 代에서 분명해지는 異質접합체는 첫번째나 두번째 雌性發生단계에서 交叉에 의해서 생겨나게 된다.

야생종 암컷을 실험실내에서 사육한 결과, 지금까지 세번이나 배란을 하였는데 Amphibian Facility에서의 보다 좋은 환경조건 밑에서는 한병처리나 동면기를 제외하고는 3-5개월 간격을 두고 계속적인 배란현상을 볼 수가 있다.

수분공급

물의 공급은 양서류를 성공리에 키우는데 가장 결정적인 요인이 된다. (1) 공급량은 충족하여야 하고

(2) 염소를 가한 물과 가하지 않은 물의 두가지가 필요하다 (3) pH는 약간 산성이어야 하고 (4) 수온은 일정하여야 하고 또한 조절이 가능하여야 하며 (5) 수도관의 수압은 일정하여서 각 용기에 들어가는 물의 미소한 흐름도 조절할 수 있어야 한다.

유생기에 수중 생활을 하는 종류는 염소를 가한 물에 견디지 못한다. 따라서 공업용 활성화된 탄염소기로서 염소분을 제거하여야 한다. 반육서동물이나 허파호흡을 영위하는 성체는 4ppm까지의 염분도에서 장기간 노출되어도 해를 입지 않으며 오히려 박테리아성 병에 대한 피해를 면할 수도 있는 것이다. 물의 유속은 수압조절관이 달린 탱크로 조절하고 수온은 적당한 가열기와 공업용 용량 혼합판을 써서 섭씨 20-22도 정도를 유지시키고 pH는 초산을 자동적으로 도입시켜 6-7에 맞추고 있다.

먹이섭취

無尾類의 유생은 여러가지 먹이를 먹여 키울수가 있는데 올챙이 사육병의 종류에 따라서 적당한 먹이를 사용하고 있다. 먹이는 수표면에 떠오르거나 거품이 일어서 기계교환을 억제시켜서는 안된다. 그리고 사육병의 칸막이인 그물을 통해서 가라앉거나 물이 계속적으로 흘러 넘칠때 흘러나가도 곤란한 것이다. 또한 연중 동일한 사료를 사용할 수가 있어야 하는데 시금치는 많은 양서류에 있어서 신장결석을 일으키는 요인이 되므로 사료로 쓰는 일은 삼가야 한다. 가장 알맞는 사료는 romaine 상추나 escarole 상추이다. 상추는 가압기를 써서 손쉽게 연화시킬 수 있으며 필요에 따라서는 냉동보존이 가능하고 분해가 용이한 이점도 지니고 있다. 큰 올챙이는 먹이 섭취량이 많기 때문에 하루에 두번 급식을 요하며 너무 많이 주면 올챙이를 죽일 수도 있으니 조심하여야 된다. 단백질질을 공급하려면 한 주일에 두세차례 생 간이나 익힌 간을 주면 된다.

번태를 막 거친 개구리는 강제급식을 하지않으면 안되는데 이것은 영양상으로 볼 때 부적당 하며 시간이 걸리는 일이다. 이를 위해서는 산 곤충을 마련하여야 되는데 흔히 거저리의 유충이 상용되고 있다. 많은 작은 거저리의 유충을 나누어 넣는 일은 퍽이나 성가신 일이며 습기에 약하여 쉬 죽는 결점이 있다. 그래서 거저리의 유충을 쓸 경우는 급식기간 동안은 개구리를 마른 그릇에 옮겨야 되는데 이 일 역시 성가시고 시간을 잡아먹는 일인 것이다. 초파리를 사료로 쓰는 예가 흔히 있는데 生物량이 적고 습한 환경에 약하기 때문

에 별로 적당한 사료라고는 생각할 수 없다.

Kawamura 박사는 야생 모기 채집용 장치를 번태를 한 개구리 사육상자에 넣어 두고 있는데 그렇게 함으로써 아주 작은 개구리 까지도 손쉽게 모기를 잡아 먹을 수가 있다. Amphibian Facility에서는 홍도기를 사료로 쓰고 있는데 이 모기의 영양원으로는 메추리리를 이용하고 있다.

작은 개구리는 모기를 먹어로 하여 자라지만 번태를 끝낸 *R. pipiens*는 퍽이나 커서 검정파리를 먹을 수 있게 되며, 이것을 먹었을 때 가장 생장이 빠르다. 이와같이 급식하였을 경우 자연상태에 있어서의 생장율과 같다는 결론을 얻고 있다.

여러가지 조사 결과에 의하면 강제급식을 하면 산란한 어미 개구리로 하여금 생식적인 성숙을 되찾게 만들기 까지도 하지만 수정율은 낮다. 생장율의 조사 결과를 보면 산 곤충으로 키운 어린 개구리는 강제급식을 한 것에 비해서 약 2배정도의 성장율을 나타내고 있다. 그리고 강제급식에 소비되는 시간이란 막대한 것이 되므로 파리나 귀뚜라미를 먹이는 것이 아주 편하다. 먹이로 쓰는 증은 *Sarcophaga bullata*, *Phoenicia serccata*, *Achdta domestica* 등으로서 이와같은 종류는 보통 야생 개구리의 위속에서 볼 수 있는 것이다. 경험에 의하면 *R. pipiens*의 체장은 8cm 정도가 되어 하루 걸러 25-50마리의 파리나 귀뚜라미를 섭취한다.

야생 無尾類는 거의 전부를 위와 같은 먹이로서 사육하였는데 *R. palustris*와 *R. sylvatica*는 실험실에서 그리 잘 자라지 못하였으며 그 이유를 정확히 알수는 없었지만 비타민 결핍에 기인하는 것이 아닌가 여겨진다. 영양의 결핍이 일어난다는 하나의 증거로는 실험실내에서 사육한 암컷이 난소의 성숙과 더불어 산란율이 증가한다. 그러나 야생종의 암컷이 배란한 것은 85-99%가 발생을 하지만 실험실에서 키운 암컷이 배란한 것은 40-50%의 발생율을 나타내는데 지나지 않으며 알의 빛갈도 특이하다. 이와같은 관찰결과로 미루어 비타민 결핍증이 아닌가 여겨지고 있다.

비타민 D 결핍증의 증거로는 구루증이 나타나는 것을 보아 알수 있으며 *R. pipiens*, *R. sylvatica*, *R. japonica* 등에서 실예를 볼수 있으며 *Xenopus*에서도 볼수 있었다. 한편 비타민 A 나 D의 결핍증이 실험실에서 사육하는 동물에서 나타났다는 보고도 있다.

따라서 비타민을 투여하는 것은 바람직한 일이지만 많은 동물에게 주사로 주입하거나 위관을 통해서 투여

하기란 거의 불가능한 일이다. 그래서 보통 pervinal (비타민 A, D, 및 Ca, Mg 을 포함해서 10가지 비타민을 함유하는 분말제제)을 먹이에 발라서 급여하여 보

았더니 비타민 결핍증에 효과가 있었으므로 사육하기 어려운 종류도 사육이 가능할 것으로 생각되는 바다. (전집간사 초역)

연구발표 논문 및 요지

眼前房 內에서 성숙한 卵子의 受精能力에 관한 연구

서울대·文理大 趙完圭·金文奎

眼前房 內에서 성숙시킨 생쥐(A-strain)의 濾胞卵子를 paraffin oil 속에 띄운 modified Krebs-Ringer solution(0.4%의 牛血清蛋白 첨가) 내에 옮기고 이 속에 슛컷 생쥐의 子宮內 精子나 副精巢內 精子를 섞어 in vitro 로 受精을 誘導하는 실험을 행하였다.

이 실험 결과 비록 그 率은 낮으나 眼前房內에서 성숙한 卵子가 능히 受精을 일으킴을 알 수 있었다. 精子가 일단 子宮液과 접촉 하여야만 受精力을 획득할 수 있고 이때야 受精을 이룰 수 있다는 주장은 생쥐의 경우 합당하다고 볼 수 없으며 精子가 틀어 있는 배양액을 조절해 줌으로써 受精力을 부여할 수 있다는 것도 알게 되었다. 眼前房內에서 성숙한 卵子이거나 혹은 인위적으로 排卵시킨 卵子이나 간에 모두 비슷한 率로 수정이 일어나는 것으로 보아 이들 卵子들 사이에는 精子를 받아들이는 능력에 별로 차이가 없는 것으로 볼 수 있다.

FSH와 Actinomycin D가 培養中인 트키 유리여포의 호르몬 및 난자성숙에 미치는 영향에 대해서

서울대·文理大 趙完圭·裴仁河

本實驗은 in vitro 에서 FSH(여포자극호르몬)와 Act-D(actinomycin-D)가 여포세포의 代謝에 미치는 영향 및 여포 內 난자의 성숙과정에 어떤 영향을 주고 있는가를 구명코자 토끼난소의 여포를 유리시켜 기관배양법(organ culture method)으로 배양하여 산소 호흡을 측정하였다.

FSH를 처리한 群에서 FSH가 여포 內 난자에 대해서는 여포群보다 난자성숙을 억제시켰다는 결론이 나

오고 여포세포의 호흡율은 난자에 대한 영향과는 달리 호흡율을 늘린 경향으로 나타나고 있다.

Act-D를 처리한 群에서는 난자성숙율이 FSH 처리 群과 대조群보다 같이 낮은 비율을 보이고 있으며 여포세포의 호흡율은 대조群보다는 높고, 처리群보다는 낮은 경향을 나타내고 있다.

in vitro 에서 FSH는 여포세포의 대사과정을 촉진시키고 Act-D는 여포세포의 대사과정에 미치는 효과는 크지 않고 난자성숙을 억제 내지 정지(停止)시킨다고 할 수 있겠다.

인삼의 효과에 관한 세포생리학적 연구

IV. 포도당의 투과에 미치는 영향

延世大·理工大 鄭魯八·申吉相

Glucose broth medium에 인삼 수추출물과 saponin을 부가하여 *Saccharomyces cerevisiae*를 배양한 후 원심분리하여 상등액의 포도당을 정량하므로써, 포도당의 막투과성에 미치는 인삼의 효과를 검토하였다.

1. 인삼 수추출물을 배지에 부가하여 0.04%, 0.08%, 0.16%, 0.32%, 0.64%의 인삼액이 되게 하여 1시간 배양하였을 때, 각각 전 배지에 포함된 포도당의 4.76%, 7.96%, 10.19%, 9.08%, 7.48%의 투과증가를 일으켰다.

2. Saponin을 배지에 부가하여 $10^{-2}\%$, $10^{-3}\%$, $10^{-4}\%$, $10^{-5}\%$, $10^{-6}\%$ 의 saponin액이 되게 하여 1시간 배양하였을 때, 각각 전 배지에 포함된 포도당의 2.87%, 4.44%, 5.88%, 5.57%, 3.82%의 투과증가를 일으켰다.

3. 인삼과 saponin의 최고촉진율은 각각 10.19%, 5.89%로서 인삼이 약 2배의 촉진율을 나타내었는데, 인삼에 함유된 saponin 성분과 그 밖에 다른 성분이 막투과성에 관여할 것으로 사료된다.