

노랑초파리의 난자형성 및 발생과정중의 단백질 양상의 변화

李 陽 林·文 英 花·鄭 淑 淵
(梨花女子大學校·生物學科)

Changes in Protein Patterns During Oogenesis and Development of
Drosophila melanogaster

Yang Rim Lee, Young-Wha Moon and Sook Yeon Chung
(Dept. of Biology, Ewha Womans University)
(Received November 14, 1980)

SUMMARY

Protein patterns at various stages of pre- and post-fertilization in *Drosophila melanogaster* were analyzed using polyacrylamide gel electrophoresis. Ovaries at various times after hatching, embryos, larvae and pupae were collected and used for protein analysis. The protein patterns were found to vary qualitatively and quantitatively during oogenesis as well as during embryogenesis and metamorphosis. Yolk proteins, which were found to be synthesized in fat body and transferred into the oocytes, appeared in three bands in the gel in the early stages, but these proteins seemed to be converged into a single band in the late stage of oogenesis. The protein patterns in the post fertilization stages seemed to be abruptly changed at two different stages; between embryonic and larval stages and between the second and third instar stages. The pattern in the pupal stages was not very much different from that of the third instar.

서 론

대부분 곤충의 배는 체세포와는 달리 외부로부터 영양물질을 공급받지 않고, 초기의 독립적인 발생을 위해 필요한 단백질이나 핵산과 같은 고분자물질을 난자형성시기에 미리 합성하여 저장한다고 알려졌다 (John and Allen, 1972; Chan and Gehring, 1971). 또한 초기 배발생동안은 유사분열이 너무 빠르게 일어나므로 (Sonnenblick, 1947), 초기 발생중 단백질합성에 필요한 t-RNA, m-RNA, ribosome이 미수정난에 있다고 보고되었다 (Goldstein

and Synder, 1973). 그리고 난자형성이 진행되는 동안 egg chamber의 모든 세포 즉, 여포 세포와 조세포들에서 단백질이 합성된다고 밝혀졌다 (King and Burnett, 1959; Zalokar, 1960).

이와같이 성숙한 난자는 수정과 함께 활성화된 모계의 m-RNA로부터 단백질을 합성하며, 포배기 이후에 합성되는 대부분의 단백질은 오히려 수정후 새로 전사된 m-RNA에 기인한다고 하였다 (Robertz and Graziosi, 1977). 따라서 수정 전과 후에 만들어진 m-RNA에 의한 단백질합성은 수정후 낭배기에 이르기까지 급격한 변화를 계속 보여준다고 하였다 (Goldstein and Synder, 1973). 더구나 포배기에 이미 유충을 구성할 세포와 성체의 각 기관을 형성할 성체원기세포가 결정되고 (Gehring, 1976), 후기 유충시기에 성체원기세포가 기하급수적으로 증가 및 분화하는 것과 같은 발생학적인 변화와 병행하여 단백질합성양상의 변화도 따른다고 하였다 (Arking, 1978).

따라서 난자형성시기와 발생과정 전반을 거쳐 고분자물질의 변화를 관찰하는 것은 발생학적인 면에서 대단히 의의가 크다고 하겠다. 특히 본 연구에서는 전기영동법을 이용하여 여러 단계의 난소와 발생배에서 변화되는 단백질양상을 관찰함으로써 발생학적 사건에 따른 물질의 변화를 추정해 볼려고 하였다.

재료 및 방법

재료 : 노랑초파리 (*Drosophila melanogaster*) Oregon-R 계통 (이화여대 과학교육과 유전학 연구실)을 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 항온실에서 사육하여 재료로 사용하였다.

난자형성에 따른 성숙단계가 같은 난소를 채취하기 위하여 번데기가 있는 사육병에서 성체를 제거한 후 1시간 간격으로 새로 우화되는 성체를 모아, 여러 단계의 시간별로 사육하여 난소를 채취하였다. 노랑초파리의 난소를 구성하는 난모세포의 단계를 현미경으로 관찰하여 Cumming and King (1969)이 조사한 각 단계의 난모세포에서 일어나는 변화를 종합하였다 (Table 1). Table 1의 단계분류에 따라 분류된 시간동안 사육된 초파리의 난소를 재료로 사용하였다.

또한 발생단계가 동일한 수정난을 채취하기 위해 Majumdar and Novy (1972)의 수정난 수집방법을 수정하여 이용하였다. 1령유충은 1시간동안 채취된 알을 항온실에서 24시간 배양함으로써 얻었고, 2령유충은 1령유충을 표준배지에 옮겨 24시간 배양함으로써 얻었다. 3령유충은 알이 산란된지 96시간 후에, 번데기는 120시간 지난 후의 노란 색을 띠울 때를 기준으로 하여 각각 채취하였다.

단백질추출 및 전기영동법 : 본 실험은 Laemmli (1970)에 의한 polyacrylamide 전기영동법을 이용하였다.

전기영동을 위한 단백질 시료의 추출에는 노랑초파리 한 쌍의 난소를 난소당 3-5 μl , 알과 유충을 그 개체당 0.5 μl , 3령유충과 번데기를 개체당 3 μl 의 lysis 용액 (0.625 M tris: pH 6.8, 2% SDS, 10% glycerol, 5% 2-mercaptoethanol, 0.01% bromphenol blue)을 사용하여 분쇄하였다. 각 시료를 2분동안 끓는 lysis용액 속에서 분쇄시킨 후, 4°C 에서 10,000 rpm으로 15~45분간 원심분리시켜 상등액을 취하여 -20°C 에서 보관하였다가 전기영동분석에 사용하였다. 전기영동을 위한 기구는 Knowland (1970)에 의한 두개의 유리판 ($18 \times 14 \text{ cm}$)을

Table 1. Oogenetic events occurring in the adult females at various times after hatching.

Time after hatching (hrs)	Oogenetic stage	Oogenetic events
$0 \pm \frac{1}{2}$	1~ 4	previtellogenesis
$2 \pm \frac{1}{2}$	1~ 6	previtellogenesis
$16 \pm \frac{1}{2}$	1~ 8	yolk sphere synthesis
$24 \pm \frac{1}{2}$	1~10	vitelline membrane synthesis
$30 \pm \frac{1}{2}$	1~12	endochorion synthesis
$48 \pm \frac{1}{2}$	1~14	matured eggs synthesis

이용한 slab gel을 사용하였다. Gel은 10% polyacrylamide gel을 사용하였고 gel당 10 ml의 일정한 전류로 5~6시간동안 15°C에서 전기영동하였다. 전기 영동이 끝난 gel은 methanol: acetic acid: H₂O (5 : 1 : 5)에 녹여서 만든 0.1% Coomassie brilliant blue로 실온에서 2시간 동안 염색하였으며, 상술한 과정을 거쳐 얻어진 단백질 전기영동상을 사진 찍은 후 gel을 절단하여 파장 550 nm에서 Beckman Model R-112-F densitometer로 기록하였다.

Fluorography: 노랑초파리 난소의 단백질합성양상을 조사하기 위하여 적출한 난소를 ³H-leucine (Amersham/England, sp. Act.; 50.6 Ci/mM이 포함된 표준배지 내에서 4시간동안 표지한 후 전기영동하여 자기 방사선 사진법으로 새로 합성되는 단백질합성양상을 조사하였다 (Bonner and Lasky, 1974). 자기방사선 사진을 얻기 위하여 우선 전기영동이 끝난 gel용적의 20배 가량되는 dimethyl sulfoxide (DMSO)에 한차례에 30분씩 세차례 담가서 탈수시킨 다음 gel용적의 4배에 해당하는 20% PPO-in-DMSO에서 3시간동안 천천히 흔들어 주었다. PPO-in-DMSO를 제거시키고 gel을 증류수에 약 1시간동안 담갔다가 여러 차례 증류수로 씻어준 다음 여과지(Whatman filter paper No. 3)로 건졌다. Gel을 담은 여과지를 건조기 틀에 옮겨 저기 압으로 제습하고, 60°C로 가열하면서 여과지에 밀착시켜 건조시켰다. 건조된 gel을 Lasky and Mill (1975)의 방법으로 preflash한 XR/1X-Ray film (Kodak, Royal PPXO mat, 5×7 in)에 밀착시켜 -70°C에서 45시간동안 노출시켰다.

결 과

1. 난자형성에 따른 난소의 단백질양상

난자형성기간중에 변화하는 단백질양상을 조사하기 위하여, Table 1에서 분류한 6단계의 난소로부터 단백질을 추출하여 전기영동법으로 분석연구하였다. 전기영동상은 Fig. 1에, densitometer에 의한 기록은 Fig. 2에 제시하였다.

Fig. 1-a는 우화된 직후 채취된 난소의 단백질양상이며 총 band의 수는 48개로 나타났다. 우화 후 2시간 경과된 것은 49개의 band가 관찰되었고 (Fig. 2-b), 16시간 지난 것 (Fig. 1-c)은 54개의 band를, 24시간 후에는 49개 (Fig. 1-d), 30과 48시간 경과 후는 37개로 관찰되었다 (Fig. 1-e, f). Table 1.에 제시한 바와 같이 각 단계의 난소는 특정된 난자형성시기의 단계만이 아니라 그 단계보다 이른 시기에 속한 모든 난자를 포함하고 있음을 의미한

다. 예를들면 우화후 24시간이 지난 개체의 난소(24시간 난소)는 난자형성단계 1에서 10에 이르는 모든 난모세포로 구성되어 있다. 일반적으로 난자형성 초기에 더 많은 전기영동상의 band가 검출되었고, 난자형성 후기에 접어들면서 단백질의 수가 급격히 감소되는 현상을 볼 수 있었다. 우화 후 48시간 경과된 난자의 단백질수는 우화 직후의 난소 및 16시간 경과된 난소에 비해 각각 11개, 14개의 단백질이나 감소된 37개의 단백질 band를 보여주고 있었다. 우화 후 48시간 경과된 난소에서 검출된 37개의 단백질 band는 거의 초기에서부터 공통적으로 합성누적된 것으로 보였다. 단백질양상은 전기 영동상의 band의 수적인 면에서만 아니라 양적인 면에서까지도 난자형성시기를 통하여 변화가 큰 것으로 보였다.

난자형성기간동안 합성누적되는 단백질 중 비록 기능적으로는 연관성이 없을지 모르지만 전기영동 위치상으로는 인접한 3개의 단백질군 A, B, C를 선정하여 좀더 자세히 분석하였다 (Fig. 2). A군은 1, 2, 3, 4, 5로 표시된 5개의 단백질 peak로 되어있

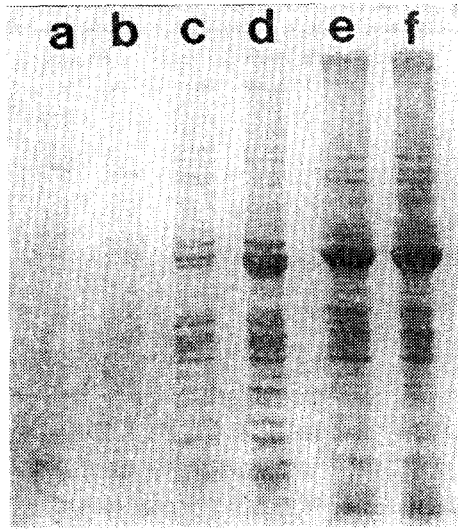


Fig. 1. Electrophoretic gel patterns of ovaries collected from adults at various times after hatching. (a; 0+0.5 hours, b; 2+0.5 hours, c; 16+0.5 hours, d; 24+0.5 hours, e; 30+0.5 hours, f; 48+0.5 hours)

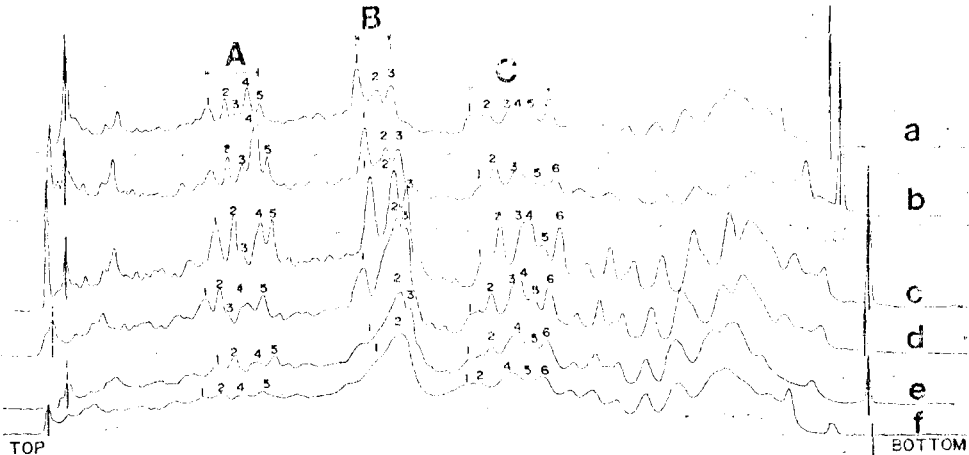


Fig. 2. Densitometric scans of electrophoretic gel patterns of the proteins of the ovaries isolated at various times hatching, (a) 0+0.5 hours; (b) 2+0.5 hours; (c) 16+0.5 hours; (d) 24+0.5 hours; (e) 30 +0.5 hours; (f) 48+0.5 hours. Vertical lines were used to indicate the same locations of the various gels. Variations in the electrophoretic bands located at three specific loci of the gels (A, B and C) were analyzed.

었다. 단백질 A-1과 A-2는 16시간까지는 상대적일 양에 있어서 증가하나 그 이후에는 감소하고, 단백질 A-3은 시간이 경과함에 따라 감소하여 없어지며, 단백질 A-4는 A-5에 비

해 처음 2시간동안 상당히 증가하지만 16시간 이후에는 상대적으로 감소하는 경향을 띠고 있었다. C군은 1, 2, 3, 4, 5, 6으로 표시된 6개의 단백질로 구성되었으며, 단백질 C-1은 시간 경과에 따라 감소하고 단백질 C-2는 16시간까지 증가하고 그 이후에는 감소하며, 단백질 C-3과 C-4는 계속 증가하다가 30시간이 되면서 단백질 C-3은 없어지고 C-4는 감소한다. 단백질 C-5와 C-6도 16시간까지 증가하나 그 이후에는 감소하는 것으로 나타났다.

B군은 1, 2, 3으로 표시된 3개의 단백질로 되어있다. 단백질 B-1은 16시간까지는 증가하나 단백질 B-2가 증가함에 따라 단백질 B-3과 더불어 감소하는 현상을 보이고 있었다. 특히 B군의 단백질들은 시간에 따라 변화하는 양상을 살펴볼 때 단순히 전기영동상으로 인접한 위치에 있다는 관련 뿐 아니라, 기능적으로도 연관이 있는 것 같다고 생각되어 초파리 난소에서 새로 합성되는 단백질합성양상을 조사함으로써 이들 단백질의 기능을 확인하려고 하였다. 우화 후 24시간된 난소를 분리하여 시험관 내에서 ³H-leucine으로 4시간동안 표지한 단백질을 전기영동한 후 fluorography법으로 분석하였다. 그 결과는 Fig. 3에 제시하였는데, Fig. 3-a는 24시간 난소의 ³H-leucine으로 표지되지 않은 단백질양상으로 세계의 화살표로 표시한 부분의 전기영동상 band는 Fig. 2 B군의 단백질에 해당한다. Fig. 3-b가 바로 ³H-leucine으로 표지된 단백질양상으로 세계의 화살표로 표시된 부분이 Fig. 3-a에서 화살표로 표시된 단백질 혹은 Fig. 2의 B군 단백질에 해당하는 부분이다. 이러한 결과에 의하면 이들 단백질 band는 난소에서 합성되는 것이 아니며 오히려 난소의 다른 기관에서 합

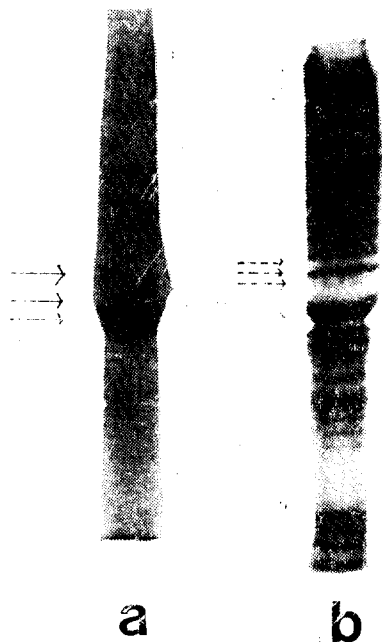


Fig. 3. Comparison of fluorography and electrophoretic gel pattern of 24 hours ovaries. (a; electrophoretic gel pattern, b: fluorogram, —; yolk proteins, - - -; sites of yolk protein)

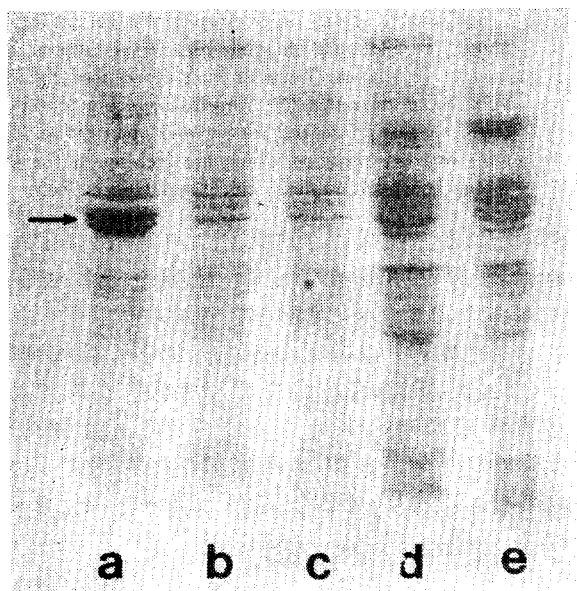


Fig. 4. Protein patterns at various stages of development in *Drosophila*. (a; 4-hours old embryos, b; 1st instar larvae, c; 2nd instar larvae, d; 3rd instar larvae, e; pupae, —; indicates proteins specific to 4-hours-old embryos.)

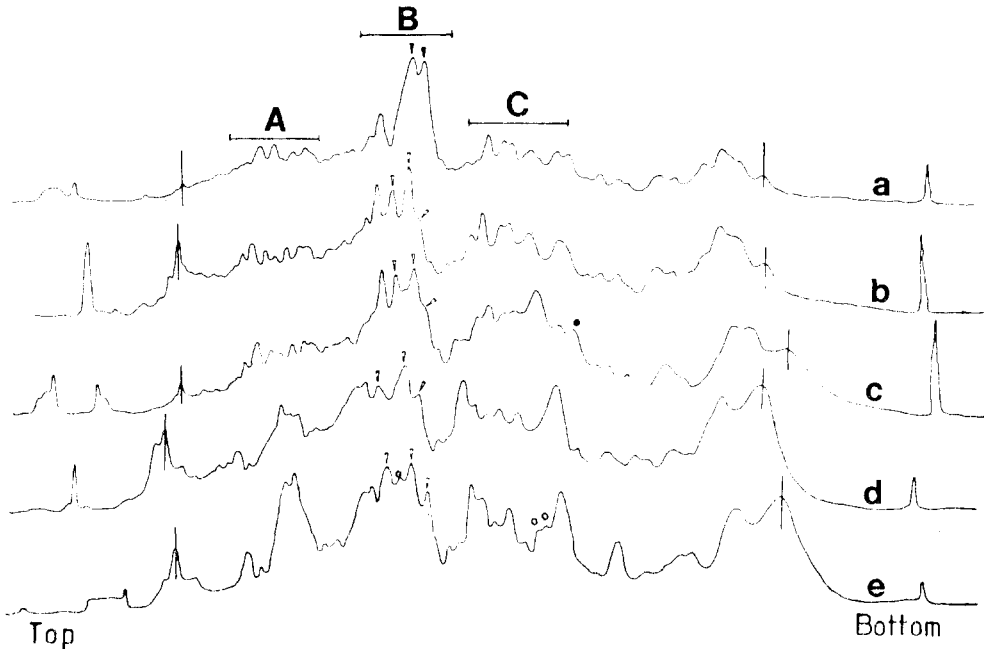


Fig. 5. Densitometric scans of electrophoretic gel patterns of the proteins at various developmental stages. (a) 4-hours old embryos; (b) 1st instar larvae; (c) 2nd instar larvae; (d) 3rd instar larvae; (e) pupae. Vertical lines were used to indicate the same locations of the various gels. Solid triangles (▼) indicate specific proteins to 4-hours old embryos, solid circle (●) those specific to second larvae and open circle (○) those specific to pupae. Open triangles (▽) indicate proteins which are lacking in the embryonic stage but present from the first instar larvae throughout the pupal stages. Refer to Fig. 2. legends for A, B, and C.

성되어 난소로 투입되는 것으로 생각되었다. 24시간 난소에서 검출된 3개의 peak가 모두 fluorogram (Fig. 3-b)에서 나타나지 않은 것은 이들 단백질들이 기능적으로 서로 연관된 것이 아닌가 사료된다. 지금까지 난소에서 합성되지 않으며 난자에서 필요로 하는 단백질로는 난황단백질이 알려져 있으므로 보아 이들 단백질을 난황단백질로 추정하였다.

결과적으로 단백질양상은 몇몇 단백질이 새로 생성되거나 없어지는 band의 수적인 변화, 즉 질적인 변화 뿐 아니라 시간의 경과에 따른 단백질의 상대적인 양에 있어서도 난자형성 시기를 통하여 변화가 큰 것으로 나타났다. 또한 난황단백질은 3가지 다른 종류의 단백질로 나타났으며, 난자형성기간동안 난소에서 합성되지 않는 단백질을 확인하였다.

2. 초기발생배의 단백질양상

난자형성시기를 거쳐서 성숙된 초파리의 알이 수정되어 산란된 후, 5단계의 발생배 (4시간된 알, 1령유충, 2령유충, 3령유충, 번데기)에서의 단백질양상을 전기영동법으로 관찰하였다 (Fig. 4). 4시간된 알에서는 44개의 단백질 band가 관찰되었다 (Fig. 4-a). 산란 직전 상태인 우화 후 48시간 경과된 난소에서 검출된 37개의 단백질 band와 비교해보면 수정 후 4시간이 지난 알에서 7개의 단백질 band가 증가된 셈이다. 이와 같은 현상은 초파리의 초기발생이 빠르게 진행되어 수정 후 4시간에는 기관형성단계에 이르게 되므로 4시간동안에

알에서 일어나는 여러 사건에 따른 단백질의 변화로 생각된다. 특히, 우화 후 24시간 경과된 난소에서 난황단백질로 검정된 단백질이 2개로 분리되었다가 48시간 난소에서 1개의 band로 나타나는데 (Fig. 1-f), 4시간된 알에서는 같은 위치의 단백질이 2개의 band로 관찰되었다 (Fig. 4). 4시간된 알의 단백질 전기영동상을 densitometer로 기록한 것 (Fig. 5-a)에서도 상술한 바와 같이 ▼로 표시된 난황단백질이 두개의 band로 나타났다. 이 단백질은 4시간된 알이 가지고 있는 단백질중에서 가장 큰 peak로 검출되어 다른 단백질에 비해서 많은 양이 알에 존재하는 것으로 생각되었다. 1령유충에서 관찰된 단백질 band는 46개이며 (Fig. 4-b), 4시간된 알에서 ▼로 표시된 2개의 단백질 band가 1령유충의 단백질 전기영동상에서는 보이지 않았다. densitometer로 기록된 것 (Fig. 5)에서 인접해 있는 3개의 단백질군 A, B, C를 4시간된 알의 것 (Fig. 5-a)과 1령유충의 것 (Fig. 5-b)을 비교해 보면 두 단계의 A군 및 C군의 단백질들은 유사한 것으로 관찰되었다. 반면에 B군 단백질에서는 4시간된 알에서 나타나는 난황단백질과는 다른 종류의 단백질로 생각되는 3개의 band (▽)가 나타났다. 이 단백질 band들은 계속 유충기와 번데기시기를 거쳐 나타나고 있는 것으로 보아 유충기에 따른 특이한 단백질로 생각되었다. 2령유충에서는 45개의 단백질 band (Fig. 4-c)가 관찰되었으며 그 중에서 44개가 1령유충의 것과 공통적인 것으로 보였다. 2령유충의 단백질은 densitometer의 기록 (Fig. 5-c)에서 보아도 A, B, C 3군의 단백질이 모두 1령유충의 것과 유사한 것으로 관찰되었다. 특히, 2령유충에서 1령유충에서는 없었던 ○로 표시된 단백질이 새로 나타나고 있지만 2령유충의 많은 단백질이 1령유충의 것과 공통적으로 나타났다.

3령유충에서는 전기영동상에 검출된 단백질 band가 43개로서, 2령유충의 것과 그 양상이 많은 차이를 보여주었다 (Fig. 4-d). Densitometer의 기록 (Fig. 5-d)에서도 3령유충의 단백질 양상이 2령유충의 것과는 현저한 차이가 있음을 알 수 있었다. A군의 단백질들도 비록 같은 위치에 나타나고 있으나, 두 단계의 유충시기 사이에는 질적 및 양적인 차이를 나타내고 있는 것으로 보였다. C군 단백질들은 A군 단백질들과 마찬가지로 2령유충의 것들과 질적 및 양적인 차이를 나타내고 있었다. 특히 3령유충기에서 나타나는 단백질양상은 1령 및 2령유충기의 것과는 현저한 차이가 있고, 이와같은 차이는 초파리의 발생이 진행됨에 따라 일어나는 생리적 및 발생적 변화를 암시하고 있는 것으로 추측된다.

번데기에서는 42개의 단백질 band가 관찰되었는데, 전반적으로 3령유충의 것과 유사했을 뿐만 아니라 A, B, C군의 양상에 있어서 거의 유사하였다 (Fig. 4-e, Fig. 5-e). 그러나 B군 및 C군의 단백질중에는 3령 유충에서 볼 수 없었고, 번데기시기에 새로 합성되어 나타난 단백질 (O)로 보이는 band가 관찰되었다.

초기 발생과정을 통하여 번데기시기까지의 단백질양상은 알의 시기에서 유충기로의 전환점에서와 2령기에서 3령기로 전환되는 점에서 큰 변화를 보여주었다. 알에서부터 2령유충기까지 (Fig. 5, a-c) A군 및 C군의 단백질양상이 유사한 점으로 보아 초파리 발생중, 2령기까지는 난자형성시기에 합성된 단백질이 잔존하거나, 합성되는 단백질양상도 유사하다고 생각된다. 특히, 2령기에서 3령기로의 단백질양상의 변화는 번태를 위한 기본적인 물질적 조건을 마련하는 일련의 생리적인 변화로 생각된다.

고찰

본 연구결과는 노랑초파리의 난자형성기간중 단백질양상이 질적 및 양적으로 다양하게 변하고 있음을 보여주었다. 비록 난자의 시기를 일양하게 얻을 수 없어 여러 단계의 난모세포를 포함한 난소를 시료로 사용하기는 하였지만, 점진적인 변화를 보이고 있는 것은 분명히 난자형성기간중에 단백질의 합성양상이 일양하지 않음을 보여주고 있는 것이다. 지금까지 초파리 난자에서의 단백질합성에 대하여 연구보고된 경우가 별로 많지 않다. Bier (1963)은 일반 집파리류의 난모세포에서, King and Burnett (1959)는 초파리에서 방사선동위원소로 표지된 단백질 전구물질을 사용하여 자기방사선사진법으로 연구한 결과, 난모세포는 고분자물질을 합성하는데 있어서 비활동적이며 오히려 이를 물리싸는 조세포와 여포세포에서 활발한 합성능을 나타내며 이 합성산물들이 난모세포로 이동된다고 보고하였다. 이러한 보고에 비추어 볼 때, 본 연구에서 나타난 난자형성에 따른 단백질의 점진적인 변화는 난자형성단계에 따라 나타나는 조세포와 여포세포의 유전인자 발현의 차이에 기인하는 것이라고 생각된다.

난황단백질이 난소외의 다른 기관에서 합성되어 난모세포로 이동한다는 것이 본 연구에서도 밝혀졌다. 난황단백질이 지방체에서 합성되어 hemolymph를 따라 난소로 이동한다는 사실은 이미 밝혀진 바 있다 (Gelti-Douka *et al.*, 1973, 1974; Gingeras, 1973; Bownes and Hames, 1977). 특히 Bownes and Hames (1977)은 성숙한 난소에서 단백질을 추출하여 분리해본 결과, 난황단백질은 일차원전기영동상에서 3개의 band로 나타남을 관찰하였고, Gelti-Douka *et al.* (1974)은 면역화학적 전기영동법을 이용하여 암초파리 지방체에 있는 난황단백질을 분리한 결과 2개의 난황단백질을 관찰하였다. 반면에 본 연구에서는 난자형성초기에는 3개의 band로 나타났으나 난자형성이 점차 진행됨에 따라 3개의 band가 한개의 넓은 band로 전환하는 경향을 관찰하였다. Bownes and Hames (1977), Gelti-Douka *et al.* (1974)과 본 연구의 결과는 난황단백질이 다른 기관에서 만들어져 난모세포로 이동한다는 점에서는 동일하나, Bownes and Hames (1977)가 관찰한 3개의 band가 성숙된 난모세포에서 계속 존속한다는 결과와, Gelti-Douka *et al.* (1974)이 2개의 band로 관찰한 결과, 그리고 본 연구에서 관찰된 3개의 band가 한개의 band로 전환한다는 결과에서 차이가 나는 것으로 보였다. Bownes and Hames (1977)는 단백질을 추출시 30분동안이나 80°C에서 가열을 하였고 sonicate까지 하였으므로 단백질 변성의 가능성도 있을 것이다. Gelti-Douka *et al.* (1974)은 토끼의 antiserum을 이용하여 난황단백질을 추출함에 있어서 순수한 난황단백질만을 얻을 수 없었다는 데 문제가 있었던 것으로 추측된다. 이와같이 난황단백질에 대한 결과가 저자에 따라 일양하지 않은 것은 실험방법상의 차이로 인한 것 같다. 아직 이들중 어떤 것으로도 단정할 수는 없으나 본 실험결과에 의하면 일단 난모세포까지 들어온 난황단백질이 난자형성이 끝나고 수정될 때까지 일정한 형태로 보존되기 위해 전환되는 것처럼 보였다. 이와같은 예는 양서류의 난모세포에 축적되는 난황단백질의 경우에서 볼 수 있다. 즉 vitellogenin이라고 칭하는 난황단백질이 간에서 estrogen의 영향을 받아 분자량이 약 50만이나 되는 분자의 크기로 합성된 후 혈관을 따라 난소로 이동되고 다시 난모세포로 투과해 들어간다는 것이다 (Tata, 1977). 일단 난모세포로 들어간 난황단백질은 그대로 존속하지

않고, phosvitin과 lipovitelline으로 분해된 후 다시 결합하여 분자량이 작은 새로운 형태의 vitellogen으로 전환하여 수정되기까지 존속함을 관찰하였다. 즉 난황단백질이 난모세포로 이동한 후 단백질의 구조상 변화됨을 보여주었다. 이러한 관찰에 근거하면 초파리의 난모세포에서도 난황단백질의 변화는 어느정도 추측이 가는 현상이라고 하겠다.

4시간된 알에서부터 번데기에 이르는 발생과정동안, 단백질양상은 급격한 변화가 있는 것으로 생각된다. 즉 알의 시기에서 유충기로 전환될 때와 2령기에서 3령기로 전환되는 점에서 단백질양상의 큰 변화가 나타났다. 일부 단백질이 알시기와 2령기에 유사한 점으로 보아 난자형성시기에 만들어진 단백질이 2령기 유충까지 잔존한다해도 (Fig. 5-a, c), 발생이 진행됨에 따라 단백질양상의 급격한 변화가 일어남을 보아 (Fig. 5-b), 발생중 새로 전사되었거나 혹은 masked되어있던 mRNA가 활성화됨으로서 새로운 단백질이 발생단계에 따라 합성되는 것으로 보였다. 더구나 2령기에서 3령기로 발생이 진행되면서 새로운 단백질의 출현이 많아지는 것으로 보아, 2령기까지는 뚜렷한 생리적인 변화를 보이지 않던 유충이 3령기로 접어들면서 놀라운 내적 변화를 보여주고 있는 것으로 생각되었다. 지금까지 본 연구에서 얻은 바와 같은 실험결과를 보고한 예는 없으나 2령기에서 3령기로 발생이 진행되는 동안 상당한 생화학적인 변화가 있을 것이라고 형태적 및 실험적인 연구를 근거하여 추측된 바 있다. 즉 Gehring (1976)은 번데기발생하는 초파리에 있어서 유충 초기의 성체원기에 보였던 계획이 유충 후기의 형태적인 분화를 시작할 때까지 표현되지 않는다고 하였고, Mindek & Noethiger (1973)은 3령기동안에 성체원기에 일어나는 형태적인 분화를 이끌어 갈 내적인 변화가 있다고 암시하였다. Arking (1978)에 의하면 단백질합성양상의 차이는 조직의 종류가 다르기 때문만이 아니라 오히려 같은 조직일지라도 발생단계에 따라 더 급격한 변화를 보인다고 하였다. 따라서 3령기로 들어서면서 급격한 변화를 일으키는 것은 당연히 기대되는 현상이라고 하겠다. 최근 성체원기의 단백질합성양상에 대하여 보고된 바 있다 (Rodger & Allen, 1977; Arking, 1978). 성체원기가 형성되는 과정에서 뿐만 아니라 성체원기가 분화되는 과정에서도 단백질합성의 차이를 보이고 있음을 조사하였다. 번데기로 발생이 진행하면서는 특별한 변화를 보이지 않고 있는데, 이것은 성체형성을 위한 준비가 3령기에서 거의 완성되는 것이 아닌가 추측된다. 번데기시기에 일어나는 변화에 대하여 특별히 연구보고된 바가 없기 때문에 비교 고찰할 수 없으나, 본 연구결과에 따르면 3령기까지 합성누적된 단백질의 종류가 변화없이 번데기시기를 거쳐 남아있는 것이 틀림없는 것 같다.

적 요

노랑초파리 (*Drosophila melanogaster*) 난자형성단계에 따른 난소와, 수정 후 발생에 따른 발생배, 유충 그리고 번데기의 단백질양상을 polyacrylamide gel 전기영동법으로 조사하였다. 초파리 난자형성단계에 따른 난소의 단백질양상과, 수정 후 발생단계에 따른 단백질양상은 각 단계가 진행됨에 따라 전기영동상에서 band의 차이로 나타나는 질적인 면과 상대적인 양에 있어서 다양한 변화를 보여 주었다. 특히 난자형성 초기단계에서는 3개로 나타났던 난황단백질이 후기에는 한개의 단백질로 전환해가는 현상을 나타내었다. 그리고 번데기시기까지의 단백질양상은 알의 시기에서 유충시기로의 전환점과 2령기에서 3령기로 전

환되는 점에서 큰 변화를 보여 주었다.

REFERENCES

- Arking, R., 1978. Tissue-, age-, and stage-specific patterns of protein synthesis during the development of *Drosophila melanogaster*. *Develop. Biol.* **63**:118-127.
- Bier, K., 1963. Autoradiographische Untersuchungen über die Leistungen des Follikelepithels und der Nahrzellen bei der Dotterbildung und Eiweissynthese in Fliegenovar. *Roux Arch.* **154**:552-575.
- Bonner, W.M. and R.A. Laskey, 1974. A film detection method for tritium-labelled proteins and nucleic acids in polyacrylamide gels. *Eur. J. Biochem.* **46**:83-88.
- Bownes, M. and B.D. Hames, 1977. Accumulation and degradation of three major yolk proteins in *Drosophila melanogaster*. *J. Exp. Zool.* **200**:149-156.
- Chan, L.N. and W. Gehring, 1971. Determination of blastoderm cells in *Drosophila melanogaster*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **68**(9):2217-2221
- Cummings, M.R. and R.C. King, 1969. The cytology of the vitellogenic stages of oogenesis in *Drosophila melanogaster*. I. General staging characteristics. *J. Morphol.* **128**:427-442.
- Gehring, W.J., 1976. Developmental genetics of *Drosophila*. *Ann. Rev. Genet.* **10**:209-252.
- Gelti-Douka, H., T.R. Gingeras and M.P. Kambyssellis, 1973. Site of yolk protein synthesis in *Drosophila silvestris*. *Drosophila Inform. Serv.* **50**:161-162.
- Gelti-Douka, H., T.R. Gingeras and M.P. Kambyssellis, 1974. Yolk proteins in *Drosophila*; Identification and site of synthesis. *J. Exp. Zool.* **187**:167-172.
- Gingeras, T.R., H. Gelti-Douka and M.P. Kambyssellis, 1973. Yolk protein in *Drosophila*. *Drosophila Inform. Serv.* **50**:58.
- Goldstein, D.S. and L.A. Synder, 1973. Protein synthesis and distribution of ribosomal elements in ovarian oocytes and early developmental stages of *Drosophila melanogaster*. *Exp. Cell Res.* **81**:47-56.
- John, D.B. and W.S. Allen, 1972. Oogenesis. University Park Press, London.
- King, R.C. and R.G. Burnett, 1959. Autoradiographic study of uptake of tritiated glycine, thymidine, and uridine by fruit fly ovaries, *Science* **129**:1674-1675.
- Knowland, J.S., 1970. Polyacrylamide gel electrophoresis of nucleic acids synthesized during the early development of *Xenopus laevis* (Daudin). *Biochem. Biophys. Acta* **204**:416-429.
- Laemmli, U.K., 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T₄. *Nature* (London) **227**:680-685.
- Laskey, R.A. and A.D. Mills, 1975. Quantitative film detection of ³H and ¹⁴C in polyacrylamide gels by fluorography. *Eur. J. Biochem.* **56**:335-341.
- Majumdar, S.K. and D.S. Novy, 1972. A very simple device for the collection of large number of eggs *Drosophila melanogaster*. *Drosophila Inform. Serv.* **48**:150.
- Mindek, G. and R. Nöthiger, 1973. Parameters influencing the acquisition of competence for metamorphosis in imaginal disks of *Drosophila*. *J. Insect Physiol.* **19**:1711-1720.
- Roberts, D.B. and G. Graziosi, 1977. Protein synthesis in the early *Drosophila* embryo; analysis of the protein species synthesized. *J. Embryol. exp. Morph.* **41**:101-110.

- Rodgers M.E. and S. Allen, 1977. Patterns of protein synthesis in imaginal discs of *Drosophila melanogaster*. *Cell* 12:915-921.
- Sonnenblick, B.P., 1947. Synchronous mitosis in *Drosophila*, their intensity rapid rate and the sudden appearance of the nucleus. *Rev. Gen. Soc. Am.* 16:52.
- Zalokar, M., 1960. Sites of ribonucleic acid and protein synthesis in *Drosophila*. *Exptl. Cell. Res.* 19:184-186.