

腎藏形卵에 있어서 卵殼構造의 解析

盧 時 甲

慶北大學校 農科大學

Analysis of Chorion Structures in Kidney Mutant, *Bombyx mori*

Nho, Si-Kab

College of Agriculture, Kyungpook National University

Summary

The structure *ki* mutant chorion is described by the ultrastructural level with the scanning electron microscope.

The micropyle on the anterior, posterior, lateral and dorsal side region surface patterns do not so much differ from *ki* mutant and normal strains. The surface structure of ventral side of *ki* mutant, which is the presumptive embryonic region in oocytes, were netted part corresponding to the boundary of follicle cells that is similar to lateral side structure of egg-shell. The egg-shell thickness of ventral side on the *ki* mutant is mostly thicker. However, the structure of transverse section of normal and *ki* mutant egg-shell are composed of the outer, middle and inner layers. The *ki* not effects the formation of the lamellar layer in the egg-shell.

It is observed that the characteristic structure in *ki* mutant egg chorion may be attributed to a areal specificity of epithelium in ventral side of egg-shell formation, and it affects the process of the accumulation of secreted chorionic material and the egg-shell architecture.

緒 論

家蠶에는 卵의 形狀이나 크기에 있어서 많은 遺傳의 變異體들이 알려져 있다. 이들 變異體들은 蛹期의 卵形過程에서의 異常에 起因하는 것으로서 그 中에서도 鈴木(1932)에 의해 발견된 腎藏形卵은 劣性遺傳子 *ki*에 의해 發現하는 매우 特異한 異常形質이다. 遺傳樣式은 偽母性遺傳에 의하며 *ki* homo의 암나방이 產卵한 卵은 사람의 腎藏을 닮은 形態를 나타낸다. 受精은 정상적으로 이루어지나 胚子 發生過程에서 異常胚子 發育이 계속되어 孵化하지 못하고 모두 致死한다.

*ki*遺傳子에 關해 正常遺傳子型 및 hetero型的 암나방이 產卵한 卵은 모두가 正常的인 卵形을 나타내며 胚子の 遺傳子型이 *ki* homo 일지라도 正常的으로 發育하여 孵化한다.

한편, 腎藏形卵 遺傳子 *ki*는 第6 連鎖群에 속하며 *E*

複對立遺傳子와 連關關係에 있고 組換價 8.3이라는 事實이 高崎等(1958)에 의해 밝혀졌다.

鈴木·一丸(1955)의 觀察에 의하면, 腎藏形卵의 胚子는 外胚葉性 組織器官의 形成은 不完全하지만은 認定되나 中胚葉性 器官의 分化는 일어나지 않는다고 했다. 또한 MIYA(1967)에 의해서도 胚發生에 關한 組織學의 研究가 行해졌지만 異常卵形의 成因機構나 胚發生過程에서의 胚子致死機構等에 對해서는 아직 不明한 點이 많다.

한편, 河口等(1985)은 腎藏形卵의 卵形成過程에 있어서 包卵皮膜細胞의 變化를 組織學的 的으로 觀察했다. 이에 따르던 腎藏形卵의 腹部部쪽의 包卵皮膜細胞가 長軸방향으로 異常伸長을 하는데 正常卵에서는 이와같은 變化를 認定할 수 없었다. 이 事實은 異常卵形의 成因과도 關係가 있다고 報告했다.

一般的으로 成熟卵의 卵形은 包卵皮膜細胞의 卵殼形成機能에 의존하는 것으로 蛹期 末期의 卵殼形成期에

決定된다.

本研究는 異常卵形을 나타내는 腎藏形卵이 卵形成過程에 있어서 遺傳子의 形質發現機構의 解明을 위한 研究의 一環으로 實施되었다. 즉 腎藏形卵의 卵殼構造 및 卵形構築과 包卵皮膜細胞의 機能과의 關係를 主로 走査型 電子顯微鏡을 利用해서 檢討했다.

本文에 앞서 本研究의 實驗材料로 使用한 系統育成과 飼育에 적극적인 협조를 해주신 日本 九州大學 遺傳子資源研究센터 土井良 教授에게 感謝를 드린다.

材料 및 方法

1. 供試材料

供試蠶으로는 九州大學農學部 遺傳子資源研究센터에서 保存하고 있는 腎藏形卵系統을 使用했다. 正常卵과 腎藏形卵의 選拔은 盧等(1986)의 方法에 準했으며, 두系統의 안나방으로부터 完成卵단을 採取하여 試料로 使用했다.

2. 卵殼構造의 觀察

採取한 正常卵과 腎藏形卵(以下 *ki*卵으로 稱함)을 Carnoy液에 固定(-20°C, 24hr) 한 後 alcohol系에서 脫水했다. Hitachi HCP-2 臨界點乾燥裝置로 臨界點乾燥한 後 一部 試料는 縱軸方向으로 절단하여 卵殼의 斷面構造 觀察用으로 使用했다. 卵의 表面 및 斷面을 炭素와 金으로 二重蒸着한 後 Hitachi H-3010 走査電子像 觀察裝置 및 JEOL JSM-T200 走査電子顯微鏡을 使用해 加速電壓 10~20kV, 100~10,000倍로 觀察했다.

觀察部位는 表面構造의 경우 精孔部, 後極部, 側面部(産卵後 알오목이 形成되는 쪽), 腹面部 및 背面部이고, 斷面構造에서는 腹面部와 背面部이다.

3. 包卵皮膜細胞의 크기 測定

正常卵과 *ki*卵을 上記의 方法으로 準備한 後, 正常卵의 側面部와 *ki*卵의 側面部 및 腹面部의 卵殼表面을 走査電顯을 使用하여 一定倍率로 撮影했다. 이들 部位에는 그물상(網目狀)의 構造가 認定되며 이 그물상구조의 각각의 區劃들은 包卵皮膜細胞의 크기를 反映하는 것이므로(大村等, 1943), 各 區劃의 面積을 測定하여 擴大率을 補正한 後 包卵皮膜細胞의 실제의 크기로 계산했다.

4. 卵殼層의 두께

正常卵과 *ki*卵을 卵殼의 수직방향으로 水平斷面과 橫斷面을 切斷했다. 卵 內容物을 完全히 除去한 後 試料臺위에 兩面 tape로 附着시켰다. 이들 試料들을 走査電顯으로 撮影한 後 寫眞으로부터 各 部位의 卵殼두께를

測定했다.

測定部位는 水平斷面의 경우에는 精孔周邊部, 後極部, 腹面部(胚域側), 背面部이고 模斷面인 경우에는 腹面部, 背面部 및 上下 兩側面이었다.

結 果

1. 卵殼의 表面構造

正常卵의 卵殼表面構造를 Fig. 1에 나타냈다.

精孔部(Fig. 1~2)에 있어서는 家蠶 特有의 構造인 국화花卉狀의 斑紋이 觀察되었다. 花卉의 가장자리 部分은 丘陵狀으로 융기된 構造이고 外側은 圓形이며 2 列째의 花卉과의 사이에 뚜렷한 境界를 形成했다.

卵의 後極部(精孔部の 反對側)의 表面은 形態와 크기가 불규칙한 小瘤狀의 小塊만으로 形成되어 있고 이들 小塊의 높이는 거의 같았다(Fig. 1~4).

側面中央部の 電顯 觀察像을 Fig. 1~3에 나타냈다. 이 部位에서는 包卵皮膜細胞의 境界部에 該當하는 部分의 小塊가 結合하여 形成된 網目狀의 構造를 나타냈다. 그물상 구조에 의해 둘러싸인 區劃內에는 形態와 크기가 不規則한 3~6個의 小塊가 觀察되었다.

受精後 胚子가 形成되는 쪽인 腹面部(Fig. 1~5)와 그 反對쪽인 背面部(Fig. 1~6)의 表面構造에는 差異를 認定할 수 없었다. 즉 거의 같은 높이를 가진 小瘤狀의 小塊들로 만 이루어진 顆粒狀의 構造였으며 側面部에서 觀察되었던 包卵皮膜細胞의 境界部에 該當하는 網目狀構造는 認定할 수 없었다.

한편 *ki*卵의 경우(Fig. 2), 精孔部(Fig. 2~2)의 국화花卉狀 斑紋은 1列째가 9~10個이고 그 配列은 正常卵의 그것에 비해 不規則했다. 또한 花卉의 外側이 角이 진 形態를 나타냈다.

Fig. 2~4에 後極部の 觀察像을 나타냈다. 後極部에는 小瘤狀의 小塊에 의한 顆粒狀構造로써 正常卵의 그것과 거의 同一했다.

側面部(Fig. 2~3)에 있어서는 正常卵과 같은 網目狀의 構造가 觀察되었으며, 區劃內의 小塊의 數가 5~7個인 것 以外에는 正常卵과 거의 同一했다.

Fig. 2~6의 背面部의 表面構造를 보면 Fig. 2~4의 後極部の 構造와 類似한 構造를 나타내며 또한 正常卵의 背面部(Fig. 1~5)와도 同一한 構造였다.

한편, 腹面部(Fig. 2~5)에 있어서는 正常卵의 그것과 比較해서 대단히 相違한 構造를 나타냈다. 즉 正常卵의 腹面部에서는 전혀 認定할 수 없었던 網目狀의 構造가 觀察되었다. 包卵皮膜細胞의 境界部에 該當하는 部分이 높게 隆起되어 隔壁構造를 하고 있으며 이

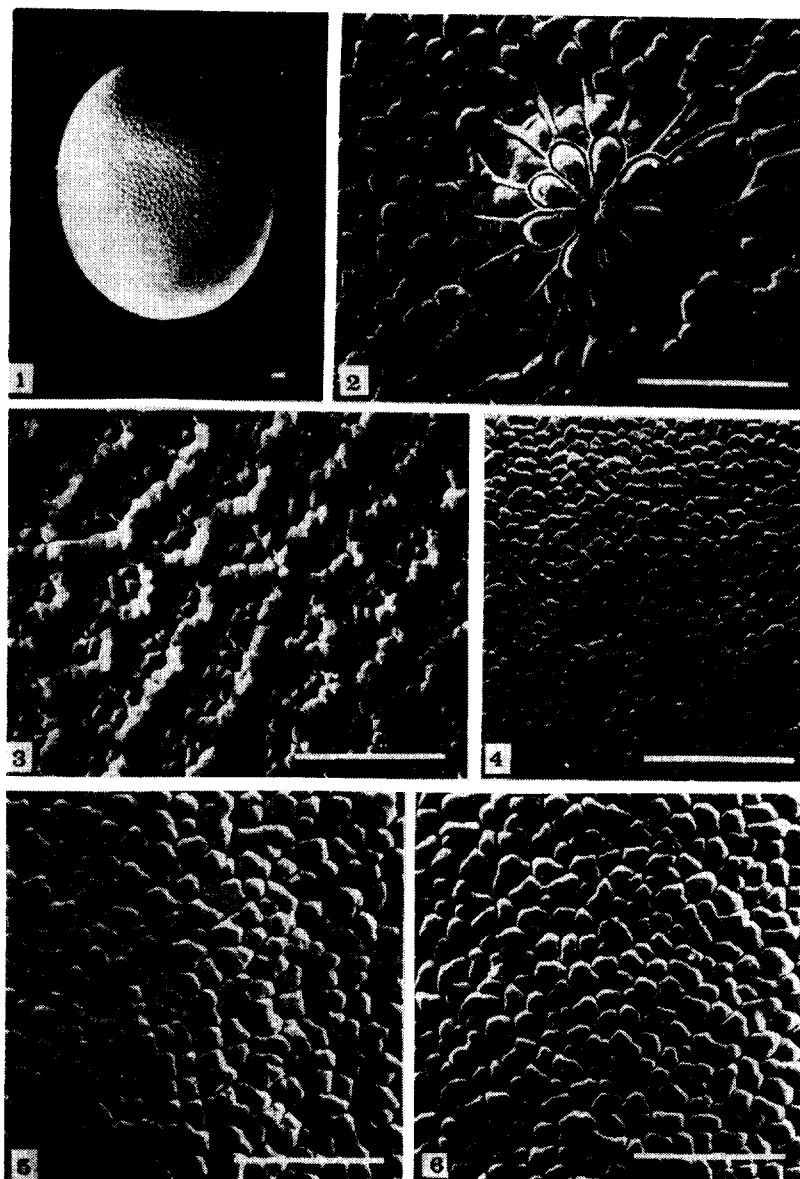


Fig. 1. Scanning electron micrographs of the outer surface of a mature normal egg-shell. 1, whole view (M indicates micropyle); 2, micropyle region; 3, lateral (flat) region; 4, posterior region; 5, ventral region; 6, dorsal region. Scale bar=50 μ m.

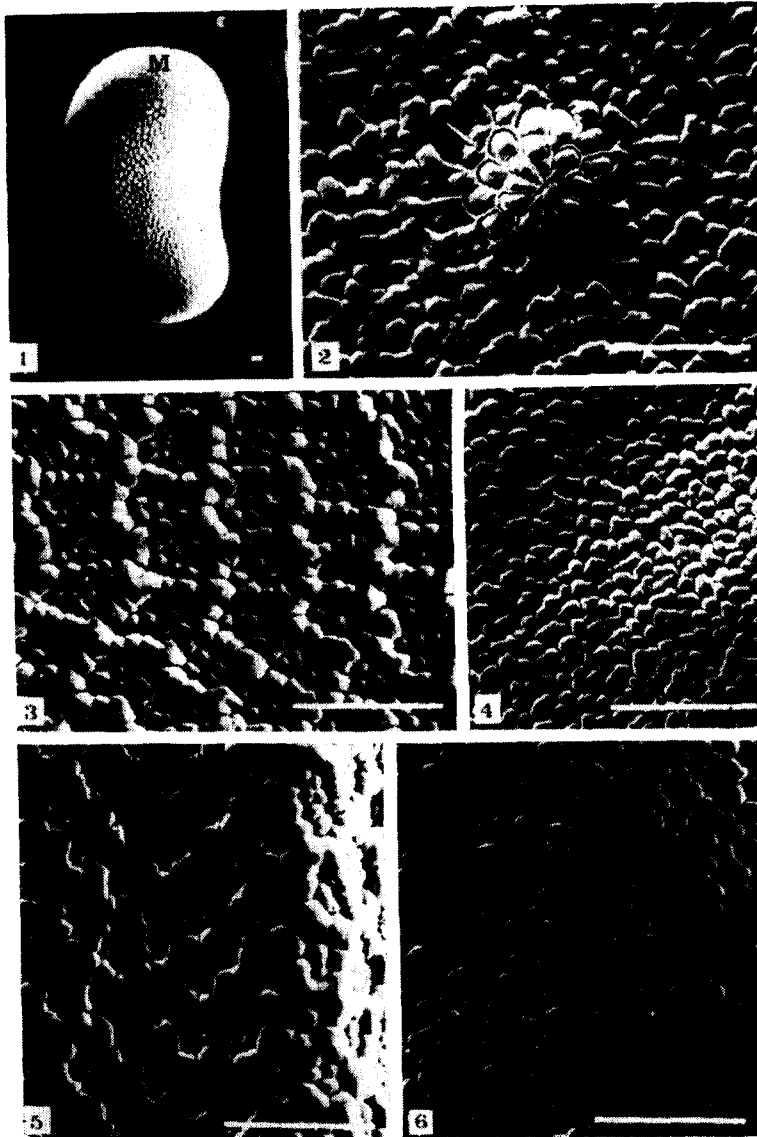


Fig. 2. Scanning electron micrographs of the outer surface of a mature kidney (*ki*) egg-shell. 1, whole view, (M indicates micropyle); 2, micropyle region; 3, lateral (flat) region; 4, posterior region; 5, ventral region; 6, dorsal region. Scale bar=50 μ m.

Table 1. Size of follicle-cell imprint on the surface of the chorion in normal(+) and kidney mutant (*ki*) eggs.

	Average number of follicle-cell imprints per 0.01mm ²	Average area of a single folliclecell (μm ²)	Ratia (%)
Normal(+) (lateral side)	14.3	599±28	100
Kidney (<i>ki</i>) (lateral side)	13.7	620±31	103
Kidney (<i>ki</i>) (ventral side)	15.7	562±87	94

* The number of follicle-cells measured per sample (10 eggs each) using scanning electron micrographs.

隔壁이 그물 構造를 나타내고 있다. 隔壁에 의해 싸여진 區劃內에는 形態와 크기가 不規則한 小瘤狀의 小塊가 2~4個 觀察되었다. 또한 이 部位에는 卵의 縱軸方向으로 2~3本の 주름이 形成되어 있으며 隔壁構造에 의한 網目狀構造의 形態가 側面部の 그것에 비해 細長한 것으로 觀察되었다.

2. 包卵皮膜細胞의 크기

表面構造의 觀察로부터 卵殼의 상당한 部位에는 包卵皮膜細胞의 形態가 多角型의 그물상구조로 밝혀졌다. 이같은 包卵皮膜細胞에 의한 刻印이 認定되는 部位로는 正常卵의 側面部, *ki*卵의 側面部 및 腹面部(胚域部)였다. 이들의 部位에서 觀察된 多角형의 隔壁構造를 직선으로 연결해서 얻어진 各 區劃의 面積은 그 部位를 形成하는 包卵皮膜細胞의 크기를 나타내는 것으로 생각할 수 있다. (大村·片岡, 1943).

Table 1에 이들 各 部位의 包卵皮膜細胞의 크기를 나타냈다. *ki*卵의 側面部가 620μm²로 가장 크고, 正常卵의 側面部, *ki*卵의 腹面部의 順으로 작았다. 그러나 이들 3部位에 있어서의 測定値는 個體間에 變異의 폭이 대단히 크고 또한 統計的인 有意差도 認定할 수 없

었다.

3. 卵殼의 두께

水平斷面과 橫斷面의 各 部位에 있어서 卵殼의 두께를 Table 2에 나타냈다. 正常卵의 경우, 水平斷面に 있어서는 精孔周邊部가 約 10μm로 가장 넓었고 後極部, 腹面部, 背面部는 11~12μm였다. 橫斷면에 있어서는 腹面部와 背面部가 約 10μm이고 側面部의 上下面이 11μm 정도였다.

한편, *ki*卵의 경우 卵殼의 두께는 正常卵과 대단히 相異했다. 즉 水平斷面의 경우, 精孔周邊部와 後極部가 約 9μm이고 背面部가 10μm였으나 腹面部에 있어서는 約 12μm였다. 橫斷면을 보면 側面部의 上下面이 約 11μm이고 背面部가 約 10μm인데 비해서 腹面部는 12μm였다. 以上과 같이 *ki*卵의 卵殼의 두께는 水平斷面과 橫斷面 어느 경우에 있어서도 腹面部 즉 胚域部 쪽이 가장 두꺼웠다.

4. 卵殼의 斷面構造

正常卵과 *ki*卵의 腹面部(胚域側)와 背面部의 卵殼의 斷面構造像을 Fig. 3에 나타냈다. 觀察한 正常卵과 *ki*卵 모두가 卵殼層은 內, 中 및 外層의 3個의 層으로

Table 2. Comparison of the thickness of normal (+) and kidney mutant (*ki*) egg-shells determined from longitudinal and transverse sections cut through the central axis of the eggs.

		Normal (+)	Kidney (<i>ki</i>)	(μm)
Longitudinal section	M*	10.3±0.3	9.0±0.4	
	P	11.9±1.3	9.1±0.5	
	V	11.1±1.5	12.3±0.9	
	D	11.8±0.9	10.1±0.5	
Transverse section	L(a)	11.1±0.5	10.8±0.4	
	L(b)	10.9±0.4	11.2±0.7	
	V	10.3±0.4	12.3±0.6	
	D	10.4±0.4	9.6±0.3	

* M: micropyle region of the egg; P: poserior region of the egg; V: ventral side of the egg; D: dorsal side of the egg; L: lateral sides, that is both of the parallel planes of the egg (a, the top side; b, the bottom side).

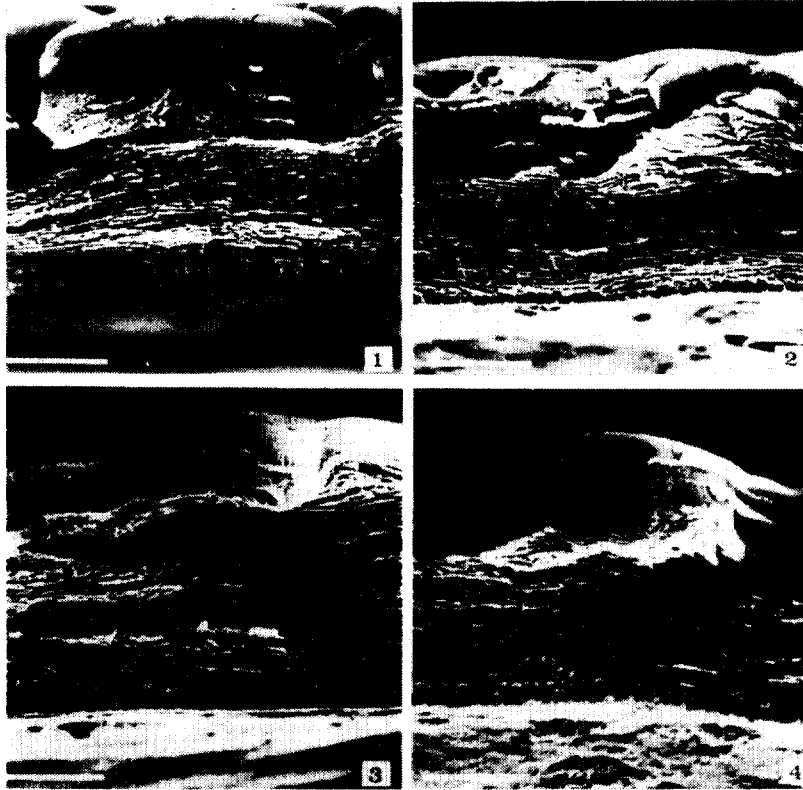


Fig. 3. Scanning electron micrographs of chorions vertically ripped at various regions of mature eggs. 1, ventral side of normal egg; 2, dorsal side of normal egg; 3, ventral side of kidney mutant egg; 4, dorsal side of kidney mutant egg. Scale bar=4 μ m.

형성되어 있는데, 두께 약 1 μ m의 내층과 30~35개의 lamella(層板)가 중첩된 중층 및 16~25개의 lamella로 형성된 외층이 그것이다.

한편 정상卵과 *ki*卵에 있어서 卵殼斷面構造의 構造의 인 差異는 認定할 수 없었다. 또한 정상卵의 腹面部(Fig. 3~1)와 背面部(Fig. 3~2)의 卵殼斷面構造에 있어서 差異는 거의 없었으며, *ki*卵에 있어서도 腹面部(Fig. 3~3)와 背面部(Fig. 3~4)의 斷面構造는 거의 同一했다.

考 察

*ki*卵은 대단히 特異한 卵形을 나타내는 變異體이다. 本研究는 *ki*卵의 卵殼形成機構를 밝히기 위한 것으로 卵殼表面構造의 觀察과 함께 包卵皮膜細胞의 크기, 卵殼層의 두께 및 卵殼層의 斷面構造等を 走査型 電子顯微鏡을 使用해서 觀察을 실시했다.

表面構造의 觀察 結果, *ki*卵은 腹面部-區域側-에 이

어서 正常卵과는 대단히 相異한 構造를 나타냈다. 正常卵의 腹面部에는 小瘤狀의 小塊에 의한 顆粒狀構造를 나타내고 있는데 對해, *ki*卵의 腹面部에서는 側面部의 구조와 동일한 구조가 관찰되었다. 즉 *ki*卵의 腹面部는 包卵皮膜細胞의 境界部가 높게 隆起된 隔壁狀의 구조를 나타내며 이 隔壁構造를 선으로 연결하면 그물상의 소위 다각형 구조를 나타낸다. 또한 腹面部의 卵殼表面에는 縱軸方向으로 形成된 2~3개의 주름이 관찰되었다. 이상의 사실로부터 *ki*卵은 卵形의 異常과 함께 卵殼의 表面構造에 있어서도 正常卵과는 매우 다른 部位特異性이 認定되었다.

卵殼表面의 다각형構造는 包卵皮膜細胞의 押印에 의해 形成되는 것이므로(大村·片岡, 1943) 이것에 의해 包卵皮膜細胞의 形態나 크기의 識別이 可能하게 된다. 그러나 난각의 모든 部位에서 이와같은 識別이 가능하지는 않다. 즉 正常卵의 側面部와 *ki*난의 側面部 및 腹面部에서는 가능하지만 기타 部位에 있어서는 不可能하다. 다각형構造가 관찰된 各 部位에 있어서 그

크기의 平均値는 正常卵의 側面部가 $599\mu\text{m}^2$, *ki*卵의 側面部 $620\mu\text{m}^2$, 腹面部 $562\mu\text{m}^2$ 이지만 이들 사이에 有意差를 認定할 수 없었다. 이와같은 事實은 正常卵의 側面部와 *ki*卵의 側面 및 腹面部를 形成하는 포란피막 세포의 크기는 거의 同一하다는 것을 의미한다.

다음으로, 이들 各 部位의 細胞形態를 보면 3個 部位 모두 6~7邊의 多角型이며 *ki*卵의 腹面部에서는 細長한 長方形이었다. *ki*卵의 腹面部를 形成하는 包卵皮膜細胞가 長方形을 나타내는 원인으로써, 卵殼形成過程에서 腹面部에 對應하는 세포가 上下의 兩側面 細胞들에 의해 압박된 상태였다는 것을 생각할 수 있다. 이 사실은 *ki*卵의 腹面部에서 觀察된 縱軸方向의 주름에 의해서도 說明이 가능하다.

布目(1950), 大槻等(1977)에 의해 正常系統에 있어서 卵殼의 두께는 卵의 部位에 따라 다르다는 것이 알려졌다. 즉 側面中央部가 가장 두껍고 背面部, 腹面部, 後極部의 順으로 얇아지며 精孔周邊部가 가장 얇다. 본 연구의 結果로부터 正常卵에 對해서는 精孔部가 가장 얇다는 점을 제외하면 各 部位間에 뚜렷한 差異는 認定할 수 없었다. 그러나 *ki*卵에 있어서는 이와같은 傾向과는 매우 相異한 것으로 밝혀졌다. 즉 난자의 水平斷面과 橫斷面 어느 경우에 있어도 腹面部가 가장 두꺼웠다. 따라서 *ki*卵의 腹面部 즉 胚域側은 卵殼의 表面構造 뿐만 아니라 卵殼層의 두께에 있어도 部位 特異性이 인정되었다. 이와같은 사실은 난각물질의 分泌能에 있어도 *ki*卵의 包卵皮膜細胞는 正常卵系와는 다른 部位特異性이 있다는 것을 나타내는 것이다.

以上の 結果로부터 *ki*卵의 異常卵形의 形成에 關하여 以下の 事實을 생각할 수 있다. 즉 卵殼의 腹面部를 形成하는 包卵皮膜細胞는 側面部의 그것과 거의 같은 크기이고 따라서 卵殼形成이 이루어질 때 上下 兩側面部의 包卵細胞로부터의 힘과 腹面部의 包卵細胞로부터의 힘이 비슷하게 된다. 이 때문에 卵의 腹面部는 점점 오목하게 되어가고 卵形成過程中 腹面部의 包卵細胞들은 兩側部의 細胞들로부터 압박을 받는다. 그 결과 腹面部의 細胞들은 細長한 長方形으로 되고 이 部位에는 주름까지 形成되게 된다. 따라서 卵殼의 두께는 좁은面積에 相對적으로 많은 量의 卵殼形成物質이 分泌되는 腹面部가 必然적으로 두꺼워지는 것으로 생각된다.

한편 누에의 卵殼은 松崎(1968)도 보고한 바와같이 內·中·外의 3層으로 構成되어 있는데 層狀構造에 表面構造와는 無關하게 일정한 形成過程을 밟는 것으로 생각된다. 卵殼의 表面構造에 있어서 部位特異性을 나타내는 *ki*卵의 경우 卵殼의 層狀構造는 表面構造의 特

異性과는 무관하게 形成된다는 것이 밝혀졌다. 그러나 卵殼의 두께 등에서 나타난 部位特異性은 卵殼形成物質의 分泌過程 혹은 分泌된 chorion蛋白質의 卵殼構築過程에서의 質的인 變化등과의 關連도 完全히 排除할 수는 없다고 생각된다.

摘 要

卵形異常 突然變異體인 腎藏形卵의 卵殼構造를 走査型 電子顯微鏡을 利用해서 觀察했다.

卵의 精孔部, 後極部, 側面部 및 背面部에 있어서는 正常卵과 *ki*卵에 있어서 構造的인 差異를 認定할 수 없었다. 腹面部에 있어서는 *ki*卵의 경우 매우 特異한 部位特異性이 인정되었다. 즉 이 부위에서는 側面部에서 볼 수 있는 것과 같은 polygon型的 그물상구조가 認定되었다. 또한 卵殼의 두께에 있어서도 이 部位가 가장 두꺼운 部位로 나타났다. 그러나 卵殼의 內部構造에 있어서는 어느 部位에 있어도 構造的인 差異는 認定할 수 없었다.

以上の 觀察 結果로부터 *ki*卵은 卵形의 異常뿐 만 아니라 卵殼構造에 있어서도 매우 特異한 部位特異性이 인정되었다. 또한 腎藏形卵의 特異卵形은 腹面部 包卵皮膜細胞의 部位特異的인 存在樣式과 卵殼構造過程에 있어서의 異常에 起因하는 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- 河川 豊·末永 博·藤井 博·坂口 文吾(1985) 腎藏形卵의 卵形成過程における 包卵細胞의 組織學的變化. 日蠶雜 54, 122-127.
- 松崎 守夫(1968) 家蠶卵의 卵殼形成에 關する 電子顯微鏡的研究. 日蠶雜 37, 483-490.
- MITA, K. (1967) Some problems on developmental physiology in the silkworm egg. J. Sericult. Sci. Jpn., 36, 293-296.
- 盧時甲·孫海龍·坂口 文吾(1986) 家蠶 腎藏形卵에 있어서 遺傳子의 發現機構—特히 未受精卵을 中心으로 韓蠶誌 28(2), 15-20.
- 布目 順郎(1950) 家蠶卵殼層의 厚さについて. 日蠶雜 19, 315-322.
- 大村 清之助·片岡 平(1943) 家蠶と桑의 卵紋의 形·大小及びその成因. 日蠶雜 14, 263-275.
- 大槻 良樹·神田 俊男·松村 初太郎(1977) 家蠶의 卵殼의 表面構造卵(Ⅱ. 卵의 部位による 特異性). 日蠶雜

46, 45-50.

鈴木 簡一郎(1932) 家蠶における腎臓形卵の遺傳及び其の胚子の異常發育について. 日蠶雜 3, 316-326.

鈴木 簡一郎・一丸 學(1955) 家蠶における遺傳的 不發

生卵の發生學的研究. 熊大教育學報 2, 177-197.

高崎 恒雄・丸山 一民・宗 從男(1958) 遺傳子座の特異性と複對立遺傳子群(W). 日蠶雜 21, 179.