

웅성발생

한국양식 편집부

하나의 정자는 개체를 만드는 데 최소로 필요한 염색체를 1세트 가지고 있다. 따라서, 이론적으로는 하나의 정자로부터 개체를 만드는 것도 가능하다. 웅성발생은 방사선 조사 등에 의해 난핵(卵核)을 파괴시켜 알을 단순한 배 발생에 필요한 성분을 포함하는 주머니로 생각하여, 정자로부터 개체를 만드는 기술이라고 할 수 있다. 이 기술이 개발되면, 다음과 같이 다양한 응용이 가능해지고, 극히 이용가치가 높은 기술로 된다.

1) 종의 보존 : 최근 환경 파괴로 인해 일부분의 어종에 있어서 그 개체수가 현저하게 감소하였으며, 그 일부는 절멸의 위기에 처해있다. 어류의 알은 일반적으로 대형이기 때문에 수정란이나, 배의 상태로 냉동 보존하는 기술은 확립되어 있지 않고, 가까운 장래에 있어서도 실현의 가능성은 적다. 그러나, 정자를 냉동 보존하는 것은 비교적 쉽고, 어종에 있어서는 이미 실용화되어 있다. 정자로부터 개체가 만들어진다고 한다면, 절멸에 처한 종을, 개체단위 또는 배의 상태로 보존할 필요가 없어지며, 정자의 형태로 반영구적으로 보존할 수 있을 것이다. 불행히도 정자 보존 중에 그 종이 멸종하였다 할 지라도 가까운 종의 알을 빌려 다시 그 종을 부활시킬 수 있다.

2) 유전자 자원의 보존 : 야생 생물이 가진 풍부한 유전자 자원을 보존하는 것은 육종에 있어

서 극히 중요하다고 할 수 있다. 특히, 현대와 같이 개발이 진행되어 야생 생물의 모습이 점차 사라지고 있는 시대에 있어서는 유전자 자원의 보존은 긴급을 요하는 과제이다. 식물에서는 종자에 의한 보존법이 확립되어져 있으며, 세계 각지로부터 유전자 자원의 수집과 그 계통적 보존이 이루어지고 있다. 한편, 동물에서는 특별한 보존법이 없으며, 지금까지는 개체 단위의 보존이 되어져 오고 있다. 그러나, 개체 단위의 보존은 많은 공간과, 유지에 있어서 많은 경비가 필요하여, 보존양에 한계를 가져온다. 여기서, 이 기술에 의해 정자 보존에 의한 동물의 새로운 유전자 자원 보존법이 확립되면, 이 분야에 있어서 큰 공헌을 할 것이다. 불과 1ml의 정액 속에 정자는 약 10억 개가 포함되어 있으므로, 보존의 공간을 차지하지 않는 이상적인 보존법이라고 할 수 있겠다.

3) 전수컷 어류의 생산 : 암수의 분리 생산은 축산 및 수산에 있어서 중요한 과제이다. 전암컷 어류의 생산은 이미 성전환 기술이나, 자성발생 기술을 이용함으로써 실현 가능하게 되었다. 한편, 웅성발생 기술을 이용하면 Y 정자로부터 만들어지는 개체는 YY의 초웅으로 되고, 정상의 암컷(XX)과 교배하면 자손은 모두 수컷(XY)으로 되어 전수컷 어류 생산이 실현된다.

4) 클론 작성 : 유전적으로 균일한 생물을 생산

하는 것은, 실험동물로서 유용 형질의 유전적 고정법으로서, 더욱이 규격이 균일화된 양식어를 만드는데 있어 매우 중요하다. 정자로 부터 개체를 형성할 때 정자 유래 염색체를 배수화하여 2 세트로 하면, 그것은 세포분열시에 염색체 복제를 이용하기 때문에, 모든 유전자가 동형접합체가 된다. 따라서, 그 개체가 다시 배우자를 형성할 때, 유전적 분리가 일어나지 않아 클론화된 배우자가 생산된다. 다음 세대도 다시 단위발생으로 자손을 만들면, 그 자손은 모두 부모의 유전적 복사가 되어 클론을 만들 수 있다. 또 응성 발생 개체는 완전 동형접합체이기 때문에, 악성의 열성 유전자가 모두 존재하게 되어, 이것을 용이하게 배제할 수 있다.

5) 핵·세포질 잡종 : 다른 종의 알을 빌려 정자로 부터 개체를 작성하면, 정자의 종과 난자의 종간의 핵·세포질 잡종이 된다. 이와 같은 잡종은 알의 핵 제거와 핵 이식 등 섬세한 수술에 의해 만들어져 왔으나, 이 방법으로 어려운 조작 없이 대량 생산이 가능하다. 핵·세포질 잡종은 유전자의 발현과 세포질 관계 또는 세포질 유전의 연구에 도움이 될 뿐만 아니라 새로운 생물 작성에 의한 육종에 큰 공헌을 할 것으로 생각된다.

지금까지의 자성발생에 관한 보고에 비하면, 응성발생에 관한 것은 극히 적다. 이것은 응성발생 2배체의 생산이 어렵기 때문이라고 여겨진다. 응성발생이 어려운 이유로는 다음의 두 가지가 있다. 첫째는, 난핵을 파괴하기 위한 자외선 대신에, 투과력이 큰 X선이나 γ 선 조사가 일반적으로 행해지고 있으나, 정자와는 달리 알에서는 핵 이외에 배가 발생 성장하는데 필요한 핵산·효소·단백질, 지질 그 외의 것이 다량 포함되어 있고,

이것들의 일부가 조사의 영향을 받아 발생률을 낮추기 때문이라고 생각된다. 둘째는, 염색체를 배화할 때 비교적 용이한 제2 감수분열 저지법을 채용할 수 없고, 상당히 어려운 제1 난할 저지법을 택하지 않으면 안된다는 점이다.

1. Hertwig 효과

정자에 γ 선 등의 방사선을 조사할 때 조사하는 선량을 증가시켜 가면, 그 정자로 수정시킨 배의 생존율은 저하하지만, 어떤 선량(線量)을 넘어서면 생존율은 반대로 회복한다. 생존율이 가장 회복된 선량에서 자성발생을 유도하고 있다. 이 현상은 Hertwig 효과라고 잘 알려져 있으며, 자성발생을 유도할 때의 적정 선량을 결정하는 데 있어 중요한 지표로 된다. 예를 들면, 연어의 정자에 γ 선을 조사할 때 전형적인 Hertwig 효과가 나타나 20일 후의 생존율은 대조군에서 99.5%, 10^3 rad에서 40%, $10^{3.5}$ ~ 10^4 rad에서는 10% 이하로 저하하지만 $10^{4.4}$ rad를 넘으면 회복하여 10^5 rad에서는 90% 이상이 생존하게 된다.

이것과 동일하게, 응성발생을 일으키기 위한 적정 선량을 결정할 때에도 Hertwig 효과의 분석은 불가피하다. 알에 조사할 때에는 10^3 rad까지는 현저한 생존율의 저하는 나타나지 않고, 그 후 10^4 rad에 있어서는 생존율의 급격한 저하가 나타난다. 또 다시 선량을 올리면 $10^{5.4}$ rad까지 생존율이 회복된다(그림 6.1). 그러나 10^5 rad의 생존율은 20일 후에 40%로, 정자에 조사했을 때와 비교하여 1/2 이하로 낮고, 30일째의 배체 형성율은 3.2%로 극히 낮았다. 10만 rad에서도 난할 개시율은 76%로 높은 것으로 보아 대부분의 알은 도중에 발생을 중지한 것으로 여겨진다. 생존

율이 회복되는 $10^{4.4}$ rad 이상의 선량에서 30일 후 배체 형성율은 $10^{4.7}$ rad에서 가장 높은 8.9% 이었다. 다섯 마리의 무지개송어로 부터 채란하여

각각의 개체 알을 3등분하여 정상 수정(대조), 자성발생 및 음성발생 시켰을 때의 배체 형성율을 친어 각각에 비교한 결과를 표 6.1에 나타내었다.

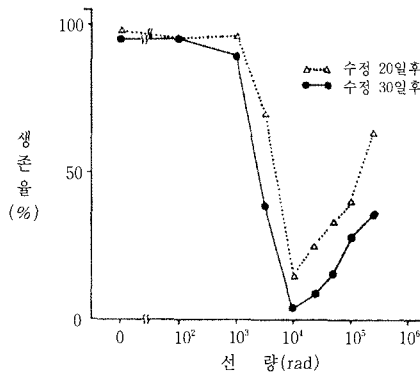


그림 1. 연어알의 다양한 선량의 γ 선을 조사한 경우 나타나는 Hertwig 효과.

표 1. 무지개송어의 자성발생 및 음성발생(수정 후 20일째)

	암컷 어미의 개체 번호	사용한 알의 수	죽은 알의 수	%	생존한 알				
					발생한 알				미수정난
					총수	%	정상	%	
대조	1	143	13	9.1	127	88.8	126	99.2	3
	2	75	0	0	74	98.7	73	94.8	1
	3	81	1	1.2	80	98.8	77	96.3	0
	4	80	0	0	80	100	77	94.0	0
	5	90	6	6.7	84	93.3	79	97.1	0
	합 계	469	20	4.3	445	94.9	432	0	4
자성 발생	1	365	102	27.9	201	55.1	0	0	62
	2	247	105	42.5	130	52.6	0	0	12
	3	291	117	40.2	162	55.7	0	0	12
	4	250	97	38.3	143	57.2	0	0	10
	5	368	116	31.5	237	64.4	0	0	15
	합 계	1521	537	35.3	873	57.4	0	0	111
음성 발생	1	329	288	87.5	30	9.1	0	0	11
	2	281	184	65.5	89	31.7	0	0	8
	3	326	299	91.7	17	5.2	0	0	10
	4	224	207	92.4	13	5.8	0	0	4
	5	370	311	84.1	58	15.7	0	0	1
	합 계	1530	1289	84.2	207	13.5	0	0	34

대조의 배체 형성율은 모두 거의 90% 이상으로 높았고, 자성발생에 있어서도 52.6~64.4%로 편차는 적었다.

한편, 응성발생의 배체 형성율은 어미에 따라 큰 편차를 나타내었고, 자성발생에 비해 발생률이 낮았다. 배체 형성율의 저하는 조사할 때 배체 형성에 필요한 알 성분이 조사에 의해 영향을 받았기 때문일 것이다. 알을 조사할 때의 Hertwig 효과는 미꾸라지, 열기(brook trout), 산천어 및 무지개송어에서 보고되고 있다. 미꾸라지와 열기에서는 전형적인 Hertwig 효과가 나타나지만, 후자의 두 종에서는 회복은 나타나지만, 회복 효과는 낮아 연어의 결과와 유사하였다. 미꾸라지, 산천어에서는 5만 rad, 열기에서는 8.8만 rad, 한편, 무지개송어에서는 3만 rad가 적정선량으로 결론지어졌다. 이러한 선량은 자성발생의 적정선량 10만 rad에 비교하면 상당히 낮다. 또 열기에서도 친어의 알을 각각 분리하여 조사하면, 동일 선량이라도 그룹에 따라 생존율에 큰 차이가 있는 것이 지적되고 있다. 이러한 차이가 알의 무엇에 의한 것인가는 앞으로 밝혀져야 할 필요가 있다.

2. 정자 유래 계통의 배화

응성발생 배는 반수체이기 때문에, 부화 전후의 시기에서 모든 개체가 사망한다. 생존성의 개체를 얻기 위해서는, 배수비(倍數比) 처리에 의해, 2배체로 할 필요가 있다. Parson와 Thorgaard는 무지개송어의 응성발생 배를 배수화할 때의 배수처리 개시시간, 수압 량, 수압 처리 시간을 검토한 결과, 10°C로 배양한 경우, 수정 후 345분 후에 9,000 psi(=644 kg/cm²)의 수압을 3분간 처리하는 것이 적합하다고 결론지었다. 한편, 열기에

서는 수정 450분 후(10°C)~8,500 psi(=350~595 kg/cm²)의 수압을 3분간 처리한 경우에 최대 발안율(發眼率)을 나타내고 있다. 그러나, 최적 조건에서 정상 부화 자어의 출현율에 대해서는 기술되어 있지 않기 때문에 불명확하다. 한편, 응성발생을 유발한 산천어 알의 배수화 처리 개시 시간에 대한 검토 결과는 그림 2와 같다.

수압은 650 kg/cm²를 6분간 처리하였다. 산천어에서는 수정 후 260~350분에 걸친 시간대에 정상 배가 출현하였고, 현저한 피크는 나타나지 않았다. 처리 시간은 무지개송어와 열기의 두 종류 모두 3분이 적당하였으며, 1분 처리에서도 높은 생존율을 나타내었다. 제2 감수분열 저지 조건과 비교하면, 수압량은 양자에서 거의 일치하였으나, 처리 시간에 관해서는 큰 차이를 나타내었다. 즉, 무지개송어의 제2 감수분열을 저지하기 위해서는 650 kg/cm²의 수압을 적어도 5분 이상 처리 할 필요

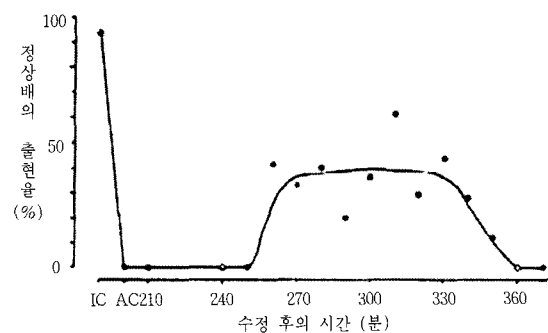


그림 2. 산천어의 응성발생난에 배수화를 위한 수압처리(650 기압, 6분간)를 했을 때의 수정 후 처리 개시까지의 시간과 정상배 출현율(정상 배수/전체배수×100)의 관계.

가 있고, 10분간 처리하여도 높은 배수화율을 유지하고 있었다. 양자간의 차이는 무엇을 기준으로 하고 있는 것일까? Dasgupta는, *Rana pipiens*

에서 수압 처리가 방추사를 탈중합(脫重合)시켜 그 기능을 잃게 되어 배수화를 유발하는 것으로 추정하고 있다. Onozato도 연어에서 수압처리가 방추사를 소실시키는 것을 관찰하여, 그것을 지지하고 있다. 따라서 제2 감수분열과 제1 난황 저지 조건의 차이는, 방추사의 성질이 양자간에 다른 것으로 생각된다. 적어도 전자의 분열 장치는 후자의 그것에 비해 소형이며, 정상체도 적고, 형태적으로 큰 차가 있는 것으로 알려져 있다.

3. 응성발생 개체의 성

응성발생 개체는 정자에서 유래된 계놈을 배화하여 얻을 수 있다. 따라서 성 결정이 옹호모형의 ZW형에서는 응성발생 개체의 성염색체 조합은 ZZ로 되어 모두 수컷이 된다. 한편 암컷 동형 접합형에 포함되는 XY형, X₁X₂Y형 및 XO형에서는 자성발생에 따라 얻어지는 개체의 성염색체는 각각 XX 또는 YY, X₁X₁X₂X₂ 또는 YY 및 XX로

되어 전자의 두 염색체에서는 암수가 1:1이고 후자에서는 전암컷이 될 것으로 예상된다. 이것들 중에 응테테로형의 XY형 또는 X₁X₂Y형에 있어서 초웅이라고 불리는 YY가 응성발생에 의해 직접 생산되는 것은 성의 제어 즉, 전수컷 어류 생산에 있어서 매우 유용하다.

지금까지의 초웅은 두 단계 과정을 거쳐 생산되고 있다. 즉, 제1 단계로는 유전적 수컷(XY)을 호르몬 처리하여 성 전환시켜 표현형을 암컷으로 한다. 두 번째 단계로는 그 성전환 암컷(XY)에 정상적인 수컷을 교배하면 1/4의 확률로 초웅을 얻을 수 있다. 그러나 제1 단계에서는 성전환 암컷을 정상 암컷으로부터, 2 단계에서는 초웅을 다른 수컷으로부터 구별할 필요가 있다. 특히, Y 염색체의 표지가 되는 유전자가 알려져 있지 않은 경우에는, 이것들을 외관으로 구별하는 것은 어렵기 때문에, 다음 세대의 성비 판별로 구별하였다. 그렇기 때문에 어미 각각의 차 세대를 분리 사육하지 않으면 안되었고 성 성숙에 많은 시간

표 2. 산천어의 자성발생 수컷과 정상 암컷을 교배했을 때 F₁ 성의 분리

암컷 어미의 개체 번호	수컷 어미	조사한 개체수	♂	♀
1	정상 수컷	10	6	4
2		10	4	6
3		10	4	6
4		10	5	5
5		10	6	4
계		50	25	25
1	응성발생 수컷	10	0	10
2		10	0	10
3		10	0	10
4		30	4	26
5		46	0	46
계		106	4	102

을 요하는 종에서는 성 성숙할 때까지 검정이 불가능하였던 번거로움이 있었다. 웅성발생에 의한 경우, 이론상 초대에 수컷이 모두 초웅으로 되기 때문에 검정할 필요가 없다. 포유류에서는 YY는 치사성으로 알려져 있으나 다행히도 어류에서는 금붕어, 송사리에서 YY가 생존성이라는 것이 알려져 있다. 여기서 웅성발생에 의해 만들어진 개체가 성숙 연령까지 생존이 가능한가 불가능한가, 성숙 연령에 달했을 때 그 차세대를 만들 수 있는가 없는가는 전혀 알려져 있지 않았다.

저자가 생산한 산천어의 웅성발생 2배체 중 1년 이상 생존한 4마리 중 1마리가 만 3년 뒤에 성숙된 수컷이었다. 이 수컷을 정상 암컷 5마리와 교배하여 그 차 세대의 성을 조사하여 웅성발생 수컷이 이론대로 YY로 되었는가를 검정하였다(표 6.2). 대조로서는 5마리 암컷 개체 각각의 알 일부에 정상 수컷 정자를 수정하여 그 차 세대에서의 성 분리를 보았다. 그 결과 대조에서는 모든 암컷 어미의 차 세대로 암수가 거의 1:1로 분리되었다. 이것에 비해 웅성발생의 수컷 차 세

대는 순조롭게 성장하여, 그 성은 5마리 중 4마리의 암컷 어미 차 세대는 모두 수컷이었다. 그러나 남은 1마리 어미의 차 세대는 30마리 중 26마리가 수컷이었고, 4마리는 암컷이었다. 이 암컷이 왜 출현하였는가에 대해서는 확실하지 않지만, 이 결과로 산천어의 웅성발생 수컷은 이론대로 초웅이 되어 있다는 것이 명확하다. 어중에 있어서 전수컷 어류 생산은 전암컷 어류 생산과 동일하게 극히 중요한 것이다. 특히 틸라피아에서는 수컷의 성장이 암컷에 비해 빠를 뿐더러 수컷의 단성 양식은 과도한 번식을 방지할 수도 있기 때문에, 전수컷 어류 생산에 가장 적합한 어종이기도 하다. 대만에서는, 종간의 교잡에 의해 수컷의 비율을 높여 웅성호르몬으로 남은 암컷을 수컷화하는, 두 단계로 전수컷 어류 생산이 행해지고 있지만, 이렇게 해도 암컷이 발생하고 암컷 발생의 완전한 방지는 실현할 수 없었다. 틸라피아 이외에도 무지개송어의 0년어의 수컷은 암컷에 비해 성장이 빠른 것이 알려져 있고, 한편, 산천어에서는 소금 구이용으로 스포르트화하기 어려운

표 3. 홍송어의 알을 이용한 연어 속의 웅성발생

모 계	부 계	동결 보존	웅성 발생	관찰한 알 수	난할 개시 알 수	%
	홍송어	-	-	25	24	96
	홍송어	+	-	24	12	50
	홍송어	-	+	25	1	4
	홍송어	+	+	25	4	16
홍송어 ×	연어	+	-	25	12	48
	연어	+	+	25	2	8
	산천어	+	-	25	22	88
	산천어	+	+	25	5	20
	곱사연어	+	-	25	21	84
	곱사연어	+	+	25	10	40

수컷이 종묘로서 좋은 것도 있고, 어중에 있어서 동일 어종이라도 목적에 따라 암수의 분리 생산은 앞으로 점점 중요시 될 것으로 예상된다.

4. 다른 종의 알을 이용한 응성발생

정자의 냉동 보존에 의해 보존하고 있던 희소

종이 멸종해 버린 경우, 이것을 부활시키는 경우에는, 다른 종의 알을 이용한 응성발생이 불가피하다. 마찬가지로 핵·세포질 잡종을 생산할 때에도 다른 종의 알을 이용하게 된다. 어류는 비교적 종간 교잡이 용이하고 많은 종에서 종간 또는 속간 교잡이 만들어지고 있다. 그러나 이 경우 계놈의 절반은 알에서 유래한다. 그러나 응성

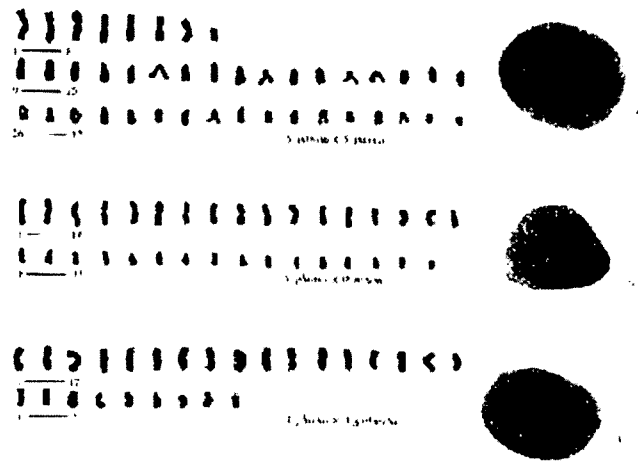


그림 3. 홍송어를 이용한 응성발생 배의 염색체.

발생의 경우에는 계놈의 모든 것이 알과는 다른 종 유래로 된다. 이 때 발생이 가능한지 불가능한지에 관한 정보는 없다. 여기서 홍송어의 알을 이용하여 γ 선을 조사한 후, 냉동 보존해 놓은 연어 속 정자를 수정하여 발생이 개시되는지 어떤지를 조사하였다(표 3). 그 결과 연어 속의 연어, 산천어, 곱사연어 모두에서 난할이 관찰되고 발생을 개시하는 것이 확인되었다.

다음 이들 응성발생 배의 염색체를 조사하였다(그림 6.3). 홍송어의 정자를 수정시킨 배는 염색체 수 42로 8개가 양완(兩腕), 남은 34개가 단완(單腕)이었다. 산천어에서는 염색체수가 33개로

양완 17개, 단완 16개이었으며, 곱사연어의 경우에는, 염색체수가 26개로 모두 양완이었다. 어느 것이나 염색체 수는 수컷 어미수의 절반과 일치하고, 더욱이 핵형은 수컷 어미의 종류와 일치하였다. 이상의 결과는, 속이 다른 알을 이용하더라도 조합에 따라서는 응성발생을 유발하는 것을 보여주고 있다. 다음으로 γ 선을 조사한 산천어의 알에 무지개송어의 정자를 수정시켜 배수화 처리를 행한 결과, 0.2%로 낮은 비율이었지만, 정상적인 치어를 얻었다. 이러한 치어는 성장에 따라 붉은 실점이 생기고, 더욱이 파 마크(연어 과 어류의 체표에 생기는 특유의 점)는 대형으로 한줄

로 줄지어, 수는 암컷어미의 산천어에 비해 명확히 적고 완전하게 수컷 어미의 무지개송어의 형질을 나타내었다.

이와 같이 다른 종의 알을 사용하여도 응성발생에 의해 개체가 얻어질 수 있는 것이 명확해졌다. 따라서 응성발생이 종의 보존이나 핵·세포질 잡종의 생산에 충분히 응용할 수 있는 것이 증명되었다. 그런데 γ 선 조사에 의해 미토콘드리아 DNA가 어느 정도 파괴되어 있는지 흥미 있는 점이지만, 최근 공동 연구자인 Oohara는 10만 rad이하의 조사에서는 거의 영향이 없는 것을 밝혔다. 따라서 유사한 종의 알을 빌려 냉동 보존 종의 정자로부터 그 종을 부활시킬 때, 핵·세포질 잡종이 되어버릴 가능성이 크다. 그러나 개체의 전 DNA중 세포질 DNA를 포함하는 비율은 1% 이하로 되어있기 때문에, 세포질 유래 유전자의 혼입(混入)은 별다른 문제가 되지 않을 것이다.

5. 장래 전망

응성발생 개체를 얻는데 문제가 되고 있는 조사(照射)가 미치는 세포질에 대한 악영향을 제거하기 위해, 레이저 광선 등으로 난 핵만을 선택적으로 파괴시키는 방법의 개발이 필요하다. 또 다른 장에서 취급하고 있는 정자의 융합을 응성발생에 응용하는 것으로, 배수화 처리가 이루어질 가능성도 나오고 있다. 또 지금까지의 방법도 조건을 더욱 검토하는 것에 의해 성공률은 더욱 더 높일 수 있다고 확신한다. 응성발생은 그 응용 가능성이 아주 높기 때문에 하루라도 빨리 실용화까지 이루어질 수 있는 기술로써 조속히 확립 되어져야 할 필요가 있다.

※본 내용은 「수산양식과 염색체조작」(제주대학교출판부, 2000년 2월)의 일부 내용을 재편집한 것입니다. 게재를 허락하여주신 제주대학교의 여인규 교수님과 국립수산물연구원 남제주 배양장의 최미경 박사님께 감사드립니다.