

닭 발생 관찰을 통한 양막류 발생의 이해

장수철¹, 강두나², 전상학²

¹송문고등학교, 서울특별시 121-809

²서울대학교 생물교육과, 서울특별시 151-742

Understanding of Amniotic Development through Observation of Chick Development

Soo Cheol Jang¹, Doo Na Kang², Sang-Hak Jeon^{2*}

¹Soong Moon High School, Seoul 121-809, Korea

²Department of Biology Education, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

초 록

동물의 발생에 대한 단원은 용어가 많고 복잡한 내용을 담고 있어 학생들이 어려워하는 영역 중의 하나이다. 따라서 실험적인 접근 방법은 이러한 어려움을 극복하는데 많은 도움을 줄 수 있을 것이다. 척추동물들이 독특한 형태로 발생하지만 초기 배아 발생 과정은 많은 공통점을 갖는다. 닭 발생은 사람과 함께 양막류에 속하면서 초기 발생 과정이 유사하여 사람 발생에 대한 메커니즘을 이해하는데 큰 도움을 준다. 사람의 발생 과정은 실험을 통해서 이해할 수 없기 때문에 닭 발생 관찰은 양막류의 발생을 관찰할 수 있는 대안이 될 수 있다. 닭의 유정란은 우리 주변에서 구입이 매우 쉽고, 부란기를 이용하면 쉽게 발생을 시킬 수 있다. 닭의 유정란은 37℃~39℃에서 21일이 지나면 병아리로 깨어난다. 발생 중인 달걀 속의 배아의 위치는 검란 상자를 이용하여 효율적으로 확인할 수 있으며, 쇄톱으로 달걀 껍질을 제거하는 방법을 이용하면 달걀이 깨져 내용물이 쏟아지는 실수를 최대한으로 줄일 수 있었다. 닭의 배이는 산란 시 이미 배반엽 단계(포배기에 해당)이기 때문에 난황을 볼 수 없는 단점이 있지만 생료인 neutral red를 이용하여 배아를 염색함으로써 뇌, 심장, 눈, 체절(somites), 날개 및 다리 원기, 혈관 등의 구조들을 쉽게 확인할 수 있었다. 본 연구 과정이 현장에 적용된다면 교사와 학생들이 닭의 발생 과정을 보다 더 잘 이해하는데 많은 도움이 될 것이다.

주제어: 닭 발생, 양막류, neutral red, 기관형성

서 론

7차 교과 과정에서 발생 영역은 사람의 발생에 초점을 맞추면서 실험을 통하여 이해하기가 어렵다. 사람의 발생 과정을 직접 관찰한다는 것은 거의 불가능하며, 따라서 사람이 속한 포유류 중 생쥐의 발생 과정에 대한 관찰이 종종 대학 수준의 실

험 과정에서 수행 되고 있지만 중고등학교에서는 어렵다고 생각된다.

전통적으로 개구리 발생을 관찰함으로써 발생에 대한 기본 지식을 습득하였는데 환경오염과 토지 개발 등으로 개구리의 서식지가 줄어들면서 구입이 쉽지 않게 되었다. 더욱이 9학년에서 개구리 발생에 대하여 발생 단계만 잠깐 다룰 뿐(이성목, 2001), 10학년부터는 사람의 발생에 초점을 맞추고 있고 더 이상 타 동물에 대한 발생은 다루지 않는다(우규환, 2001; 이상인, 2002). 따라서 탐구실험을 통해 발생을 이해할 수 있는 방

*교신저자: jeonsh@snu.ac.kr

+제1 저자인 장수철과 제2 저자인 강두나는 동등하게 기여함.

•2008년 2월 7일 접수, 2008년 2월 26일 통과.

법이 없다. 닭의 발생 과정은 사람의 초기 발생 과정과 매우 유사한 부분이 있기 때문에 간접적이기는 하지만 닭의 발생 과정 관찰은 인간의 발생 과정을 이해하는데 훌륭한 대안이 될 수 있다고 생각된다.

1651년 하비(William Harvey)는 닭의 배반엽(blastoderm)을 처음으로 관찰하였고, 1672년 말피기(Marcello Malpighi)는 현미경 관찰을 통해서 닭 발생에 대하여 매우 진보된 관찰 결과를 보여주었다(Gilbert, 2006). 닭이 발생 관찰에 좋은 점은 계란이 싸고 구하기가 쉬우며, 성체가 되기까지 시간이 짧고, 원하는 시간의 배 발생 단계를 쉽게 예측할 수 있기 때문이다. 또한 외과적으로 다루기가 쉬우며, 조류 발생의 양상이 포유류와 비슷하다는 점이다. 조류와 포유류는 진화적으로 파충류를 공통조상으로 하고 있다.

닭은 체내수정을 하는 동물로 수정은 수란관에서 일어나며, 수란관을 따라 회전하면서 내려온다. 난자 속에 여러 개의 정자가 들어가지만 최종적으로 한 개의 정자 핵만 난자의 핵과 융합하여 접합자(zygote)인 이수체 핵(2n)을 구성하고 나머지 정자는 사라진다. 산란 시 배아는 이미 수많은 할구로 되어 있는 포배기 상태에 있다. 닭의 포배를 특별히 배반엽이라고 부른다. 배반엽 상태의 달걀은 온도를 37~39℃에 맞추어주고 적절하게 수분을 제공해 주면 발생이 재개된다. 닭의 난할 과정은 체내에서 일어나므로 관찰하기에 어렵다. 그러나 낭배형성 과정부터 발생의 역동적인 과정이 체외에서 일어남으로 관찰하기에 용이하다. 닭은 사람과 같이 양막류(amniote)에 속해 있고, 발생의 기본 과정이 사람과 상당히 유사하므로 발생의 기본 과정을 이해하는데 유용하다. 닭과 사람의 발생 중에 원조(primitive streak)가 형성되고, 이를 통해서 내배엽과 중배엽 세포들이 안으로 들어가며, 중추신경계가 형성되는 과정 및 체절(somite)이 형성되는 것도 매우 유사하다. 체절은 뒤에 등뼈(척추), 근육 및 진피가 된다.

따라서 사람의 발생 과정을 살펴볼 수 없는 상황에서 닭의 발생 과정을 실험 탐구를 통해서 이해하면서 사람의 발생 과정을 함께 연관 지어 살펴보는 것은 매우 중요한 의미가 있다고 할 수 있다. 그림 1은 초기 발생 단계에서 사람 발생과 닭 발생이 매우 유사함을 보여 준다(Gilbert, 2006).

본 연구에서는 닭 발생 과정을 부란기를 이용한 유정란(fertilized egg)의 발생 및 영구슬라이드 표본의 관찰 등을 통해서 초기 닭 발생 과정을 상세하게 살펴보고, 이를 통해 사람의 발생 과정을 이해하기 위한 하나의 대안을 제공하고자 한다.



그림 1. 사람 및 닭의 초기 발생 비교. 사람과 닭의 초기 발생이 매우 유사하지만 발생이 진행되면서 패턴 형성 과정을 통해 자신의 독특한 특징으로 발달한다(Gilbert, 2006, p9). (A) 사람, (B) 돼지, (C) 닭.

실험 재료, 시약 및 기구

재료

달걀(폴무원), 닭 발생 슬라이드표본(생물나라)

시약

0.1% neutral red (1g/1000ml 증류수, Acros, USA), 0.9% 생리식염수(약국, 혹은 실험실 제조)

기구

실체현미경(Olympus), 광학현미경(Olympus), 쇄툼, 소형부란기(R-Com, 그림 2A), 중형부란기(새실산업, 그림 2B), 슬라이드

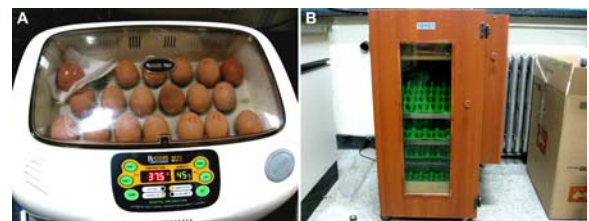


그림 2. 부란기. (A) 소형부란기, (B) 중형부란기. 습기를 제공해 주는 것 이외에는 부란기가 모든 과정을 자동적으로 수행한다. 달걀에 날짜를 기록하여 발생 정도를 알 수 있도록 하였다.

이드글라스, 커버글라스, 여과지, 가위, 검란상자(혹은 손전등), 달걀 고정판, 턱이 낮은 유리 사발(finger bowl), 가위, 핀셋, 페트리접시.

〈검란상자 제작법〉

① 20 cm × 20 cm 크기의 나무판 중앙에 백열등 소켓을 부착시킨다(그림 3).

② 가운데에 달걀이 빠지지 않을 정도의 타원형 구멍이 파여진 판자로 나무 상자를 덮는다. 위의 뚜껑은 전구가 고장 났을 때 갈아 끼울 수 있도록 개폐가 가능하도록 할 필요가 있다.

③ 검란상자의 내부 면에는 알루미늄박을 붙여 백열등 빛의 효율을 최대한으로 높인다.

검란 상자를 제작하는 것이 번거로우면 손전등을 이용하면 훨씬 간편하게 달걀 속의 발생 중인 배아를 찾을 수 있다.

록 안정화시킨다.

② 검란 상자에 전원을 넣고 부화 중인 달걀을 검란 상자의 좁은 구멍 위에 올려놓는다.

③ 달걀의 밑에서 올라 온 빛을 통해 배아의 위치를 파악하고, 좀 더 명투한 옆에서 공기주머니의 위치를 확인한다.

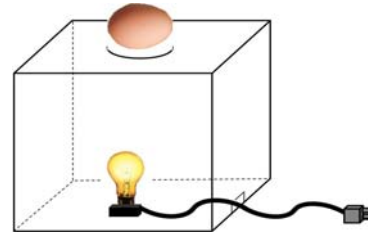


그림 3. 검란상자 모식도. 네모 상자 안에 전구 소켓을 설치하고, 위쪽에는 달걀이 빠지지 않도록 타원형의 구멍을 뚫는다. 발생 중인 달걀을 올려놓고 관찰하면 껍질 속의 배아와 공기주머니가 관찰된다.

실험 방법

검란

① 부란기에서 꺼낸 달걀은 약 5~10분 동안 움직이지 않도록

배아의 관찰

① 달걀을 그림 4A에서처럼 수평판의 구멍에 옆으로 안정하게 뉘여 놓는다.

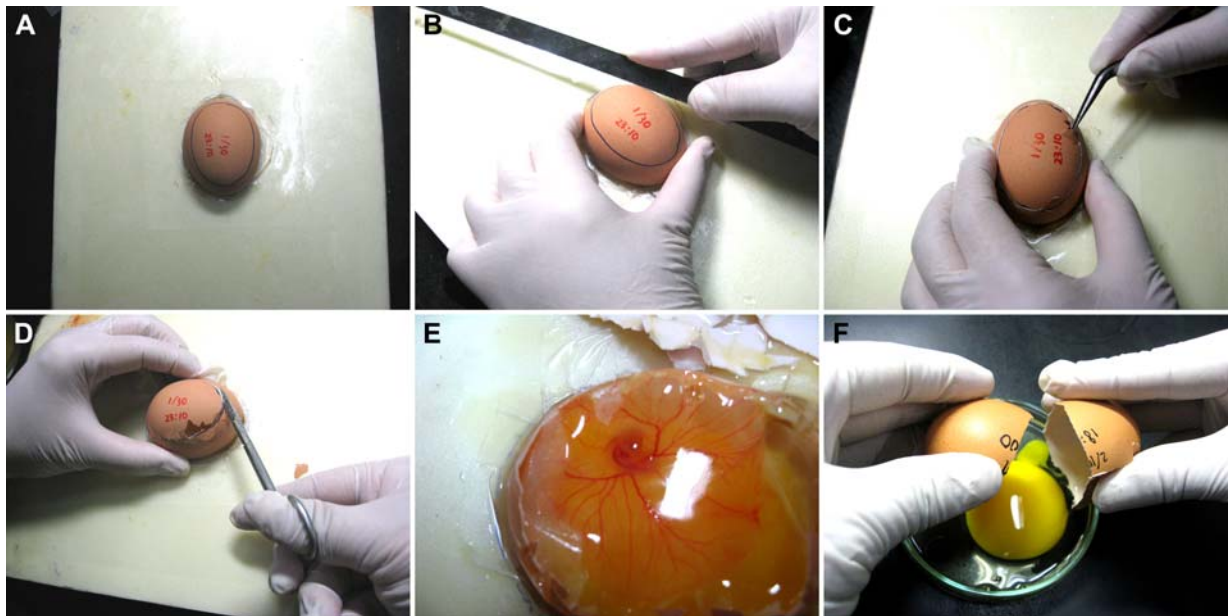


그림 4. 달걀 껍질 제거를 통한 배아 발생 과정 관찰. (A) 쇠턑으로 자를 부위를 원으로 표시하기. (B) 쇠턑으로 달걀 껍질 자르기. 조심스럽게 쇠턑으로 달걀 껍질에 흠집이 날 정도로만 톱질한다(원을 따라 약 2-3회 정도 톱질). (C) 핀셋으로 자른 경계면 뜯어주기. 가위로 잘 잘리도록 경계면의 쇠턑으로 자른 부위의 껍질을 제거한다. (D) 가위로 껍질 바로 아래 있는 막(shell membrane) 자르기. (E) 달걀 깨기 전 배아 관찰. 배아의 윗부분만 껍질을 제거하고 관찰할 수 있다. (F) 페트리 접시에서의 배아 관찰. 달걀 껍질을 양손으로 잡고 조심스럽게 깬 후 배아를 포함한 내용물을 식염수가 들어 있는 페트리 접시에 넣는다.

② 달걀 위에서 아래 방향으로 약 1/3 지점에서 원을 그리고 이 원을 따라 쇠톱으로 홈집을 내는 정도로 가볍게 톱질한다. 이 때 난황이 터지지 않도록 조심스럽게 다룬다(그림 4B).

③ 잘라낸 껍질 부위를 조심스럽게 들어내고 실체 현미경 혹은 돋보기를 이용하여 배아를 관찰한다(그림 4C~E).

④ 또한, 껍질을 깨고 페트리 접시에 넣어 관찰할 수 있다. 이 때 껍질 아래 부분을 보통 달걀을 깨 때처럼 모서리 부분에 충격을 주어 금이 가게 한 후 페트리 접시 위에서 양손으로 당겨서 달걀을 깨어 배아를 접시 속으로 넣는다(그림 4F).

배아의 분리를 통한 낭배 및 신경배의 관찰

닭의 낭배 및 신경배는 염색을 하여 관찰하지 않으면 관찰이 매우 어렵다. 따라서 배아를 분리 한 후 염색을 하고 실체현미경으로 관찰하는 것이 필요하다. 위의 배아 관찰의 ①~③이 끝난 후 배아를 페트리접시에 넣지 않고 다음과 같이 준비한다(그림 5A~F). 여과지를 이용하여 배아를 분리하고자 할 때는 부란 40시간 이후의 배아를 이용하는 것이 좋다.

① 직경이 약 3 cm 크기의 원형의 여과지를 준비한 후 안쪽에 직경이 1.8 cm(신권 10원짜리 동전 직경)인 구멍을 뚫는다(그림 5A).

② 여과지를 배아 위에 조심스럽게 올려놓고, 핀셋으로 난황

막을 찢어 막고 여과지를 잡고, 다른 손에 가위로 난황막을 올려낸다(그림 5B, C).

③ 여과지에 붙어 있는 배아를 새로운 식염수가 들어 있는 페트리접시에서 씻어 주면서 난황을 제거한다(그림 5D). 배아를 슬라이드글라스 위에 오도록 올려놓는다. 이 때 등쪽이 위로 오도록 한다(그림 5E).

④ 배아를 0.1% neutral red로 10분 동안 염색하고 식염수로 2~3회 씻어준 후 관찰한다. 2차 염색이 필요하다면 보통 막을 제거하고 약 5분 동안 짧게 염색한다(그림 5F).

⑤ 영구슬라이드 표본을 함께 관찰함으로써 실험 효과를 높인다. 본 연구에서는 배반엽, 신경배, 체절 형성 및 뇌형성 시기의 슬라이드를 이용하였다.

실험 결과 및 논의

본 실험에서는 2 종류의 부란기를 이용하여 실험을 수행하였다. 우리가 이용한 소형부란기는 20개 들어가는 것으로 학교 현장에서 한 학년을 대상으로 하기에는 부족하지만 매우 편리하게 이용할 수 있는 장점이 있다. 중형부란기는 한꺼번에 90개 정도 들어가는 것으로 한 학년을 대상으로 실험을 할 수 있을 만큼의 달걀 수를 단계적으로 발생시킬 수 있는 것을 이용

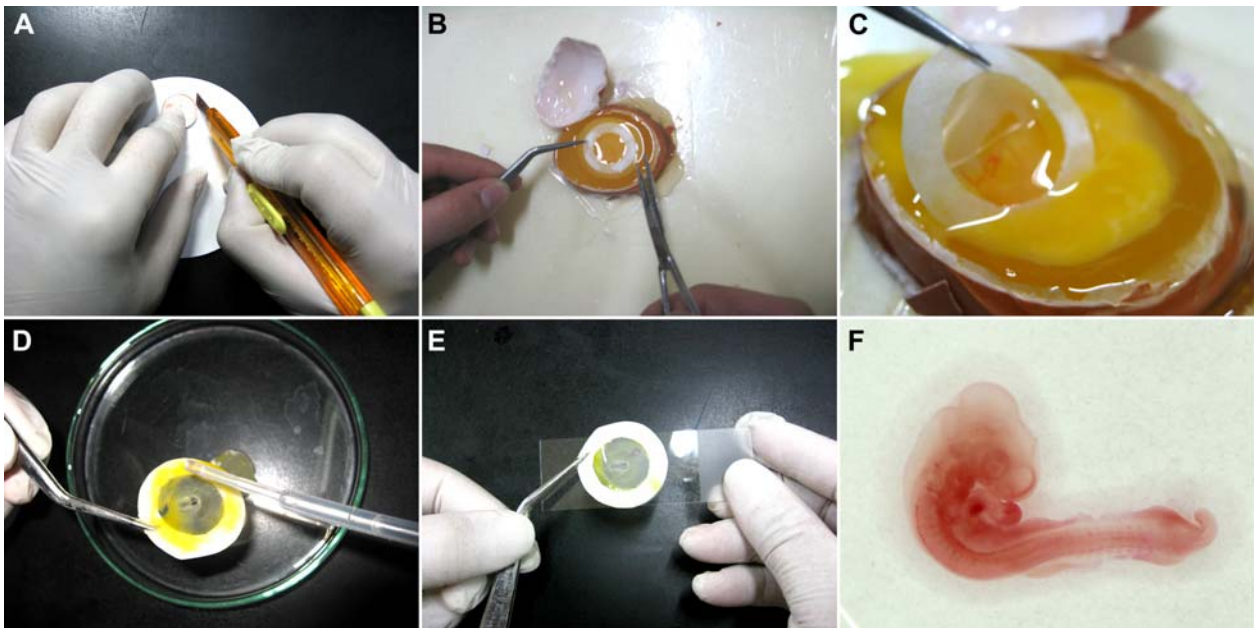


그림 5. 배아의 분리. (A) 여과지 준비. 안쪽 직경이 약 1.8 cm(신권 10원 짜리 동전크기)의 구멍을 갖는 여과지를 준비한다. (B) 여과지에 배아 붙이기. 여과지를 배아 위에 올려놓고 주변을 가위로 자른다. (C) 배아 들어내기. (D) 난황을 식염수로 씻어 주기. (E) 배아를 슬라이드 글라스에 올려놓기. (F) 배아 염색. 배아를 neutral red로 염색한 후 씻어준다.

하였다. 달걀의 초기 발생률은 판매하는 회사에 따라 다르게 나오는데 가장 좋은 결과를 보여주는 것은 풀무원의 유정란으로 약 85% 정도였다. 유정란은 가능하면 산란일자가 얼마 되지 않은 것을 사용하는 것이 더 좋은 것으로 나타났으며, 구입 후 직사광선을 피해 10~16℃ 정도의 온도와 75% 습도로 유지된 환경에서 보관하는 것이 좋으나 냉장보관을 하더라도 실험 결과에는 큰 차이가 없었다. 그러나 냉장 기간이 길어지면 발생 속도가 늦어지거나 발생률이 떨어졌다.

검란 상자를 이용한 닭 배아의 관찰

검란 상자를 이용하면 배아(embryo)의 위치를 쉽게 확인할 수 있다. 배아 관찰 시 자주 나오는 질문이 달걀을 켜면 배아가 항상 위에 놓여 있느냐이다. 검란 상자를 통해서 살펴보면 배아가 다른 부분들보다 더 불투명하게 나타남으로 그 위치를 확인할 수 있다. 배아가 있는 위치를 옆으로 눕혀 놓으면 배아가 서서히 위쪽으로 이동하는 것을 관찰할 수 있다. 혈관이 형성된 경우 혈관이 뻗어 나간 것도 관찰된다. 달걀의 양 끝 중 덜 뾰족한 쪽에 공기주머니가 있는 것도 관찰된다. 배아의 머리 방향은 달걀의 뾰족한 곳 즉, 공기 주머니 있는 방향으로 살짝 기울어져 있다. 이는 배아의 뒤쪽이 중앙 쪽에서 생기고 앞쪽이 달걀의 한 쪽 끝을 향하기 때문이다.

배아가 항상 위에 놓여 있는 것은 노른자 즉, 난황이 무겁기 때문에 난황이 아래로 이동하면서 반대로 배아는 위로 오기 때문이다. 닭에서 난황은 난황이 적게 분포하고 있는 노른자 윗 부분에서만 진행되기 때문에 부분할(incomplete cleavage)이다. 닭의 배아에서는 개구리에서처럼 동물반구와 식물반구가 뚜렷이 존재하지 않는다.

달걀의 양 끝 중 한쪽에는 공기주머니가 있다. 공기주머니는 중앙에 위치하고 있는 배아와 상당한 거리에 있고, 그 사이는 점액성이 큰 흰자가 차지하고 있다.

달걀 껍질을 제거한 후 생리식염수에서 배아의 관찰

달걀을 구입할 때 따라오는 달걀관에 고정한 후 쇄톱을 이용하여 그림 4B처럼 달걀껍질을 제거하였다. 조심스럽게 톱질로 껍질을 잘라내는 데에는 보통 약 3~5분 정도의 시간이 소요되었다. 배아를 이 상태에서 관찰하거나 껍질을 완전히 깨고 페트리접시에 담아 관찰하였다. 페트리접시에서 관찰할 경우에는 37℃의 생리식염수를 준비하고 달걀 껍질의 아래 부분을 보통 달걀을 깨 때처럼 모서리 부분에 충격을 주어 금이 가게 한 후 페트리접시 위에서 양손으로 당겨서 달걀을 깨어 배아를 접시 속으로 넣음으로써 노른자가 파괴되는 것을 최소화하였다.

무정란은 약 1 mm 정도의 흰 점으로만 보이지만 부란 전 수 정란은 배반엽 단계(직경 4 mm)가 육안으로 관찰이 가능하였다. 무정란에서는 노른자와 흰자 그리고 알끈 정도를 구별할 수 있었다. 24시간, 48시간, 72시간 및 96시간 배아의 발생 과정을 neutral red로 염색 전(그림 6A~E)과 염색 후(그림 6F~J)를 비교하였다. 달걀을 깨 상태에서 바로 염색한 배아는 염색하지 않는 배아에 비해 윤곽이 뚜렷하고 배아의 구조들도 일부 관찰되었다. 따라서 시간적인 제약이 있다면 여과지로 배아를 자를 필요 없이 달걀을 깨 후 바로 염색하여 관찰하여도 무방하다. 이 때 2~3시간 정도 경과한 후 관찰하면 더 뚜렷한 모습을 볼 수 있다. 달걀을 깨고 여과지로 덮어 배아를 잘라낸 후 염색하면 배아를 가장 뚜렷하게 관찰할 수 있었다.

37℃에서 발생을 시킬 경우 부란 후 약 60시간부터 심장의

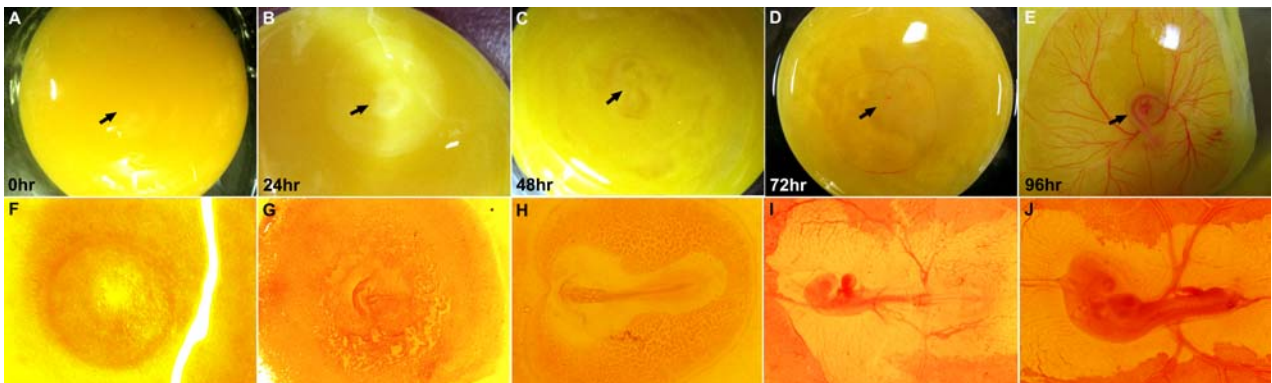


그림 6. 페트리접시에서 염색 전과 후에 살펴본 닭 배아의 발생. (A-E) 염색 전 배아. (A) 부란전 배아. 포배상태의 배반엽. (B) 부란 24시간 후 배아. (C) 부란 48시간 후 배아. (D) 부란 72시간 후 배아. (E) 부란 96시간 후 배아. (F-J) 염색 후의 배아. (F) 부란 전 배아, (G) 부란 24시간 후 배아, (H) 부란 48시간 후 배아, (I) 부란 72시간 후 배아, (J) 부란 96시간 후 배아.

박동이 관찰되었는데 심장 박동은 온도가 내려가면 느려지는 경향이 있었다. 따라서 관찰 도중에 온도가 내려가는 것을 막기 위해서는 피펫으로 기존의 식염수를 일부 제거하고, 37°C의 생리식염수로 대체하는 것이 필요하다. 다른 방법으로는 스탠드 광원을 가까이에서 비추어 줌으로써 온도를 유지할 수 있었다. 배이는 작기 때문에 돋보기를 이용해서 관찰하거나 혹은 실체현미경을 이용하여 관찰하면 훨씬 뚜렷하게 배아의 구조를 확인할 수 있다.

발생이 진행되면서 환자는 점액성을 많이 잃고 묽어지며, 4일차 이상을 해부해 보면 기포 방울들이 많이 형성되어 있었다. 또한, 발생이 진행되면서 노른자가 영양분으로 이용되면서 노른자 부위가 많이 묽어졌다.

생체염색액(vital dye)인 neutral red를 이용한 배아의 관찰

초기 발생 단계에서 배아의 구조를 좀 더 잘 관찰할 수 있는 방법은 염색약을 이용하여 관찰하는 것이다. 본 연구에서는 메틸렌블루, 아세토올세인, neutral red를 이용하여 배아를 염색하였다. 메틸렌블루나 아세토올세인은 핵을 염색하기 때문에 배아 전체를 관찰하기에는 적합하지 않았으나 neutral red는 여

러 조직과 기관을 관찰하기에 적합하였다. neutral red는 생체 염색액으로 세포 계보를 추적하기 위하여 이미 20세기 초부터 많이 이용되어 왔다(Gilbert, 2006). neutral red는 약한 양이온 염색액(cationic dye)이지만 비이온성 확산에 의해 세포막을 쉽게 통과할 수 있고 세포소기관인 리소솜(lysosome) 내의 음이온 물질과 결합하여 축적된다(Babich and Borenfreund, 1990).

가장 뚜렷하게 구별이 가능한 배아염색을 위해서 배아를 여과지에 붙여 떼어 내는 방법을 이용하였다. 실험 방법에서 설명한 것처럼 달걀 껍질을 벗겨낸 배아 위에 준비한 여과지를 올려놓고 그 주변을 가위로 잘라내고, 이 배아를 식염수로 2~3회 정도 씻어 주어 난황을 제거하였다. 배아를 염색하지 않고 현미경으로 관찰하면 배아의 전체 윤곽은 관찰할 수 있으나 그 외의 구체적인 구조를 구별할 수 없다(그림 7A). 그러나 배아를 0.1% neutral red로 10분 정도 염색하여 관찰하면 초기 배아의 발생 과정을 매우 잘 관찰할 수 있다. 슬라이드 글라스 위에 배아를 올려놓고 염색을 한 후 배아를 실체현미경으로 관찰하였다. 0.1% neutral red를 이용하여 염색하면 배아의 심장이 뛰는 것으로 보아 neutral red는 독성이 강하지 않을 뿐만 아니라,

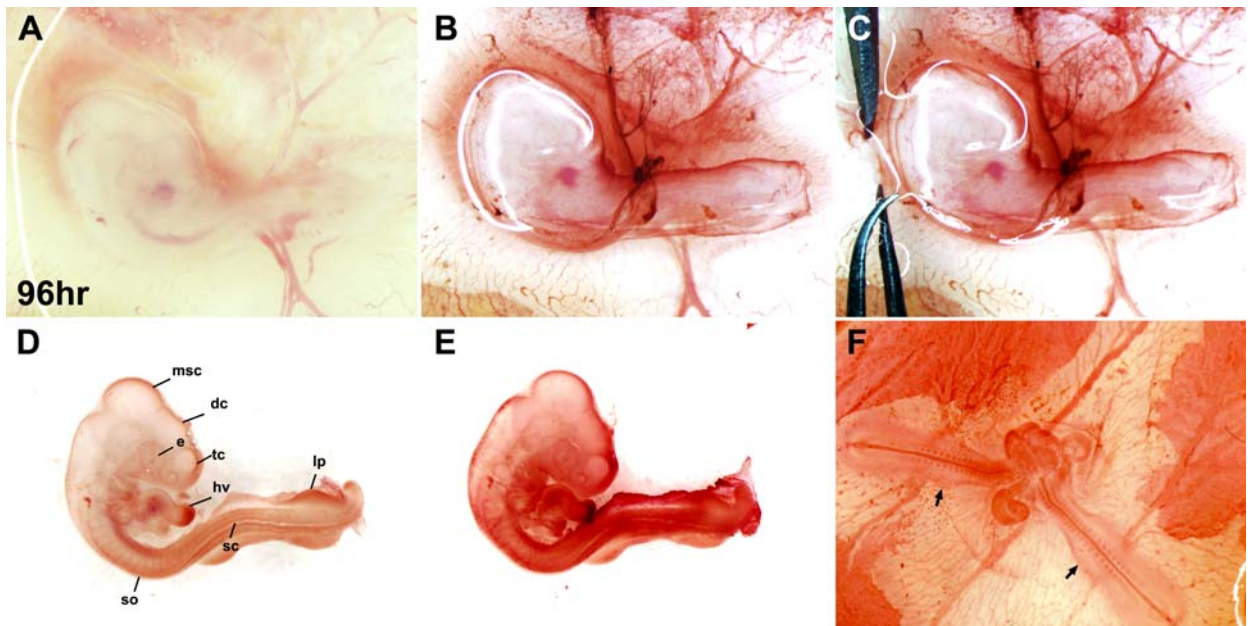


그림 7. neutral red로 염색 전과 후에 살펴본 배아. 좌측이 머리 부분이며, 우측이 꼬리 부분이다. (A-F)는 모두 96시간 배아이며 37°C에서 배양되었다. (A) 염색하지 않은 배아. 혈관을 볼 수 있지만 배아의 구조를 뚜렷하게 보기는 어렵다. (B) 모든 막이 있는 상태에서 염색한 배아. 염색을 하지 않은 배아보다 훨씬 윤곽을 더 잘 볼 수 있지만 막으로 인해 염색이 부분적으로 이루어졌다. (C) 배외막의 제거. 핀셋을 이용하여 배외막을 제거한다. (D) 염색된 배아의 배외막 제거 후의 모습. 배아의 구조를 비교적 잘 볼 수 있다. (E) 2차 염색한 배아. 배아를 한 번 더 염색하면 각 조직들이 선명하게 보이지만 너무 강하면 오히려 구조를 보기 어렵다. (F) 한 달걀 내에 두 배아의 발생. 드물게 한 달걀에서 이처럼 두 배아가 발견되었다. [msc: 중뇌, dc: 간뇌, tc: 단뇌, e: 눈, hv: 심장의 심실, so: 체절, sc: 척추]

막 투과성이 우수한 것으로 판명되었다. 염색된 배아에서 심장 박동이 매우 잘 관찰되었으며, 이에 대한 동영상 자료는 홈페이지(<http://gdlab.snu.ac.kr>) 자료실에서 볼 수 있다.

닭은 양막류이기 때문에 배이는 양막에 의해 둘러싸여 있으며, 양막은 염색약의 투과성을 떨어뜨린다. neutral red는 부란 2일째에는 머리 쪽에서 투과성이 떨어지기 시작하지만 양막이 완전히 형성된 것이 아니기 때문에 다른 부위를 통해서 염색약이 침투할 수 있어 배아의 기본적인 구조를 파악하는데 큰 어려움이 없었다. 그러나, 부란 3일째부터는 염색약의 투과성이 떨어졌으며, 4일째에는 배아의 대부분이 막으로 덮이면서 염색약의 투과성이 크게 떨어지는 것이 관찰되었다. 1차 염색 후 양막을 벗기어 다시 염색약으로 약 5분 정도 재염색을 하면 배아를 훨씬 잘 볼 수 있다. 양막이 발달한 지역은 염색이 잘 되지 않은 반면, 아직 양막이 발달하지 않은 지역은 염색이 잘 되었다. 융모막(chorion)은 제거하는 것이 비교적 쉬웠지만(그림 7C), 양막은 배아의 하단부에 연결되어 있어 제거할 때 배아의 하단부가 조금 찢어지기도 하였다. 양막을 제거한 후 염색을 하면 배아의 여러 기관들 및 구조를 비교적 잘 볼 수 있는 반면에 혈관이 제거되는 단점이 있었다(그림 7D와 E). 좀 더 좋은 염색상을 얻기 위해서는 배아를 고정(fixation)하고 탈색(decoloring)하는 과정을 거쳐야 한다. 하지만 이 과정은 많은 시간이 소요되기 때문에 중고등학교 현장에서는 활용하기가 어

렵다.

심장의 심실은 항상 몸 중심의 오른쪽 방향에서 관찰되었다. 또한, neutral red 염색으로부터 머리, 심장, 혈관, 양막, 눈, 체질, 팔다리 원기 등이 선명하게 관찰되었다(그림 7D). 머리 부분에서는 전뇌, 중뇌, 후뇌의 구별이 가능하였다(그림 7D). 동맥은 등쪽에서 몸의 중심부로부터 양쪽으로 뻗어나가고, 정맥은 머리 쪽으로부터 배아의 복면에 있는 심실로 들어온다. 드물게 쌍둥이 배아도 관찰되었다(그림 7F).

영구슬라이드 표본으로 살펴본 닭 발생

영구슬라이드 표본은 계란 부화를 통해서 볼 수 없었던 닭의 초기 발생 과정과 기관 발생 과정을 자세하게 관찰할 수 있는 기회를 제공해 준다. 과학 기자재 판매회사에서 구입한 슬라이드표본을 이용하여 그림 8~10에서처럼 10단계(16시간, 18시간, 20-22시간, 27-29시간, 33시간, 56시간, 60-70시간, 72시간, 80시간, 96시간)의 배아를 관찰하였다. 이 슬라이드에서 관찰된 배아는 우리가 관찰한 배아보다도 같은 시간대에서 훨씬 더 발생한 모습을 보여주었다. 이는 우리가 좀 더 낮은 온도인 37℃에서 배양했기 때문으로 생각한다. 닭은 39℃에서 좀 더 빠르게 발생이 되었다.

그림 8A는 16시간 배아로 명역(area pellucida, ap)과 암역(area opaca, ao)을 볼 수 있다. 명역은 중앙부위의 심층세포들

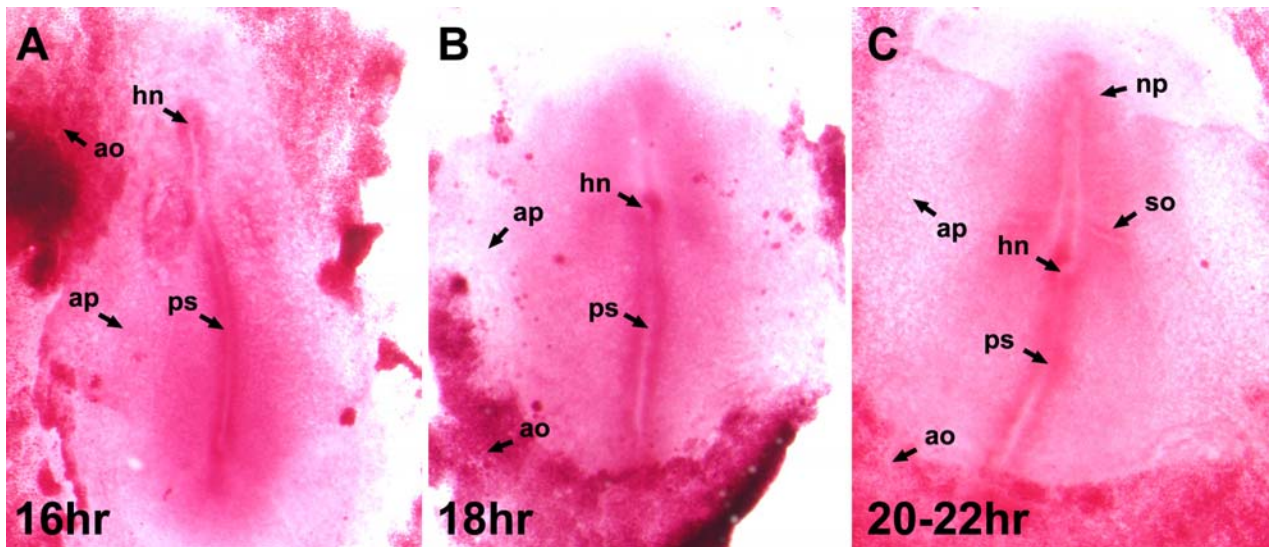


그림 8. 슬라이드표본으로부터 살펴본 배아 발생(16시간~33시간). 발생 시간은 부란 시작 후의 시간이다. 위쪽이 머리가 형성되는 부위이며, 아래쪽이 꼬리가 형성될 부분이다. (A) 16시간 배아. 명역, 암역, 헨센결절 및 원조가 관찰된다. (B) 18시간 배아. 머리가 형성되며, 헨센결절이 꼬리 쪽을 향해 이동하는 것이 관찰된다. (C) 20-22시간 배아. 머리 형성 과정이 꽤 진행되었고, 체질이 보이기 시작한다. [hn: 헨센결절, ps: 원조, ap: 명역, ao: 암역, np: 신경관, so: 체질]

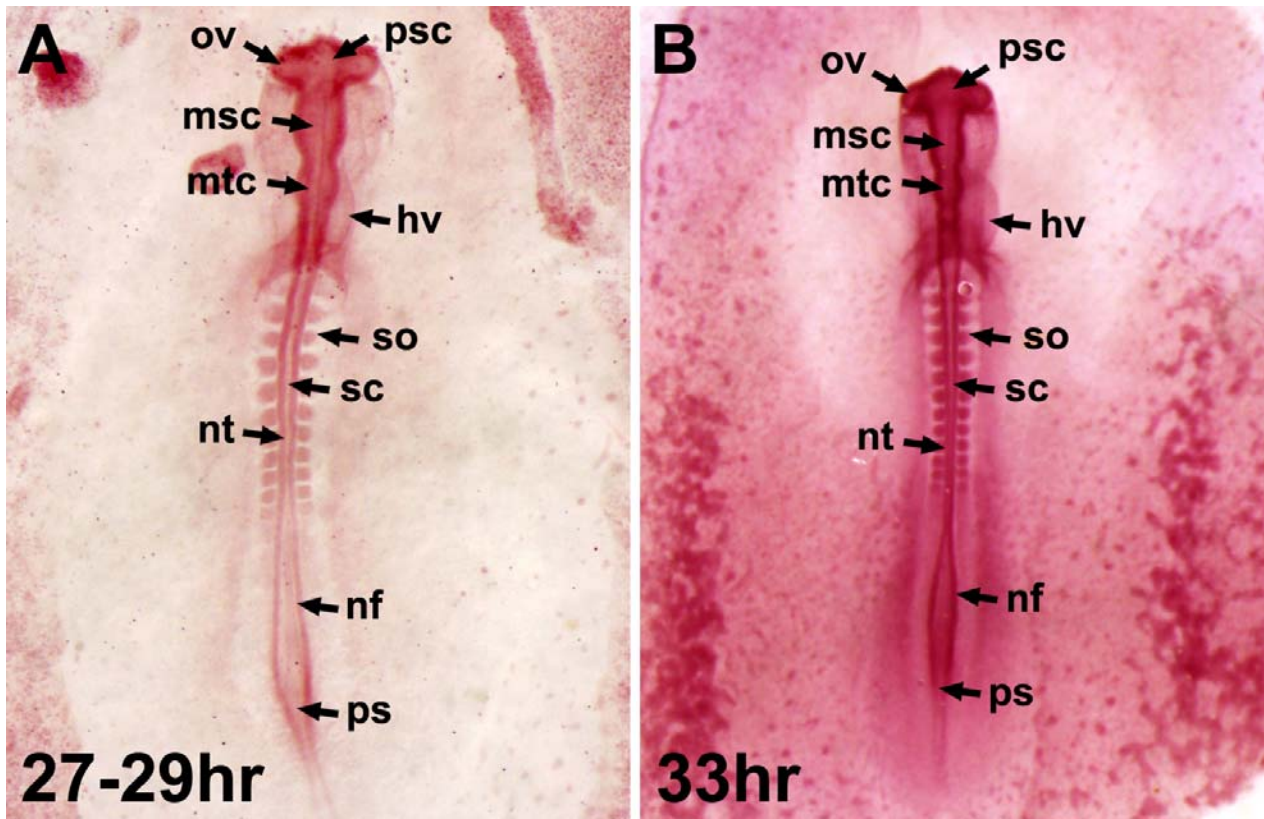


그림 9. 슬라이드표본으로부터 살핀 배아 발생(27시간 ~ 33시간) (A) 27-29시간 배아. 중추신경계의 뇌와 척수의 초기 형태가 관찰되며, 10쌍의 체절이 관찰된다. (B) 33시간 배아. [hn: 헨젤결절, ps: 원조, psc: 전뇌, msc: 중뇌, mtc: 후뇌, hv: 심방의 심실, ov: 안포, sc: 척수, nt: 신경관, nf: 신경습, so: 체절]

이 떨어져나가 1개의 세포층인 투명부위를 나타내며, 암역은 배반엽이 난황과 만나는 지점으로 불투명하게 보인다. 또한, 이 시기 배아는 낭배형성과정의 특징을 보여준다. 개구리의 원구에 해당하는 원조(primitive streak, ps)를 통해서 세포들이 내부(포배강)로 들어간다. 이곳을 통해서 중배엽 및 내배엽 세포들이 들어간다. 원조의 맨 앞부분을 헨젤결절(hensen's node, hn)이라고 한다. 원조는 처음에 뒤쪽에서 형성되며, 세포들이 원조로 모여들며 따라 원조 내에서 함몰이 일어난다. 이 함몰부위를 원조구(primitive groove)라고 한다. 원조가 처음 생기는 쪽이 뒤쪽이고, 반대쪽이 앞쪽이 되며, 원조를 중심으로 좌우 축을 구분할 수 있다.

헨젤결절은 개구리의 원구배순부(dorsal blastopore lip)에 해당한다. 개구리의 원구배순부를 떼어서 반대편에 이식하면 새로운 개체가 만들어지는 것처럼 헨젤결절 부위를 다른 배아에 이식하면 새로운 개체가 유도된다. 원조는 뒤쪽에서 만들어져 앞으로 이동하였다가 발생이 진행되면서 다시 뒤로 후퇴한다. 헨젤결절을 통해서 들어간 세포들은 후에 척삭(notochord,

nc)이 된다. 척삭은 척삭동물문의 중요한 특징으로 척삭 위에 있는 외배엽을 신경관으로 유도한다. 헨젤결절이 뒤로 이동하면 앞쪽에서는 뇌구조를 포함하는 머리 형성이 일어난다. 개구리와는 달리 닭에서는 머리부터 먼저 형성되고 순차적으로 척수가 형성된다.

20-22시간 배아에서는 헨젤결절과 원조가 뒤쪽으로 후퇴하면서 척삭 및 체절(somite, so)이 형성되는 것을 관찰할 수 있다(그림 8C). 체절로부터 등뼈, 근육 및 진피가 만들어진다. 이 시기에 신경계 형성 초기 단계인 신경판(neural plate, np)도 관찰된다.

27-29시간 배아에서는 뇌 발달이 크게 진전되어 3개의 1차 소포 즉, 전뇌(prosencephalon, ps), 중뇌(mesencephalon, msc), 후뇌(metencephalon, mtc)가 관찰된다(그림 9A). 또한 눈의 형성 과정에서 관찰되는 안포(optic vesicle)가 나타나며, 신경관(neural tube, nt), 척수(spinal cord, sc), 신경습(neural fold, nf) 등이 관찰되어 다른 기관들보다 신경계가 가장 빠르게 형성되는 것을 알 수 있다. 이 시기에 체절의 수는 10쌍이

보인다. 33시간 후의 배아에서는 뇌가 더 복잡하게 발달하여 5개의 2차 뇌포가 관찰되며, 체절 수도 14개 정도 관찰된다(그림 9B).

56시간 배아에서는 전뇌의 앞쪽인 단뇌(telencephalon, tc)와 간뇌(diencephalon, dc)가 관찰된다(그림 10A). 단뇌로부터 대뇌가 형성되며, 간뇌로부터 시상 및 시상하부가 형성된다. 이 시기에는 심장 발달이 관찰된다. 심장의 심실(heart ventricle, hv) 및 심방(heart atrium, ha)이 구별되며, 체벽(body wall, bw)과 체강(body coelom, bc) 또한 관찰된다. 60-70시간 배아에서는 매우 초기이기는 하지만 날개의 원기(wing primordia, wp)와 다리 원기(leg primordia, lp)가 관찰된다(그림 10B). 72시간, 80시간 및 96시간 배아에서는 기존에 관찰되었던 구조들이 점점 더 복잡하게 발달되어가는 것을 알 수 있다(그림 10C~E).

결론 및 제언

사람의 발생은 수정~2주까지의 선배아, 3주~8주까지의 배아, 9주~출산 때까지의 태아 시기로 구분된다. 현행 7차 교과과정에서 사람의 발생은 난할 과정, 배아 및 태아의 발생 및 출산 등이 소개되어 있다(우규환 등, 2001). 포배와 낭배 부분은 대부분 빠져 있고, 주로 난할 과정 및 기관형성 과정을 보여준다. 교과서에서 소개하는 배아의 기관이나 구조들로는 척삭, 신경관, 체절, 심장, 뇌, 팔 및 다리, 손가락, 귀 등을 들 수 있다. 교과서에서 소개하는 이러한 구조들을 교육 현장에서 실제 관찰하는 것은 불가능하기 때문에 같은 양막류에 속하는 조류의 발생 과정을 살펴봄으로써 양막류의 기본 발생과정을 이해할 수 있다.

닭 발생은 난할 과정을 살펴 볼 수 없지만 양막류의 낭배형

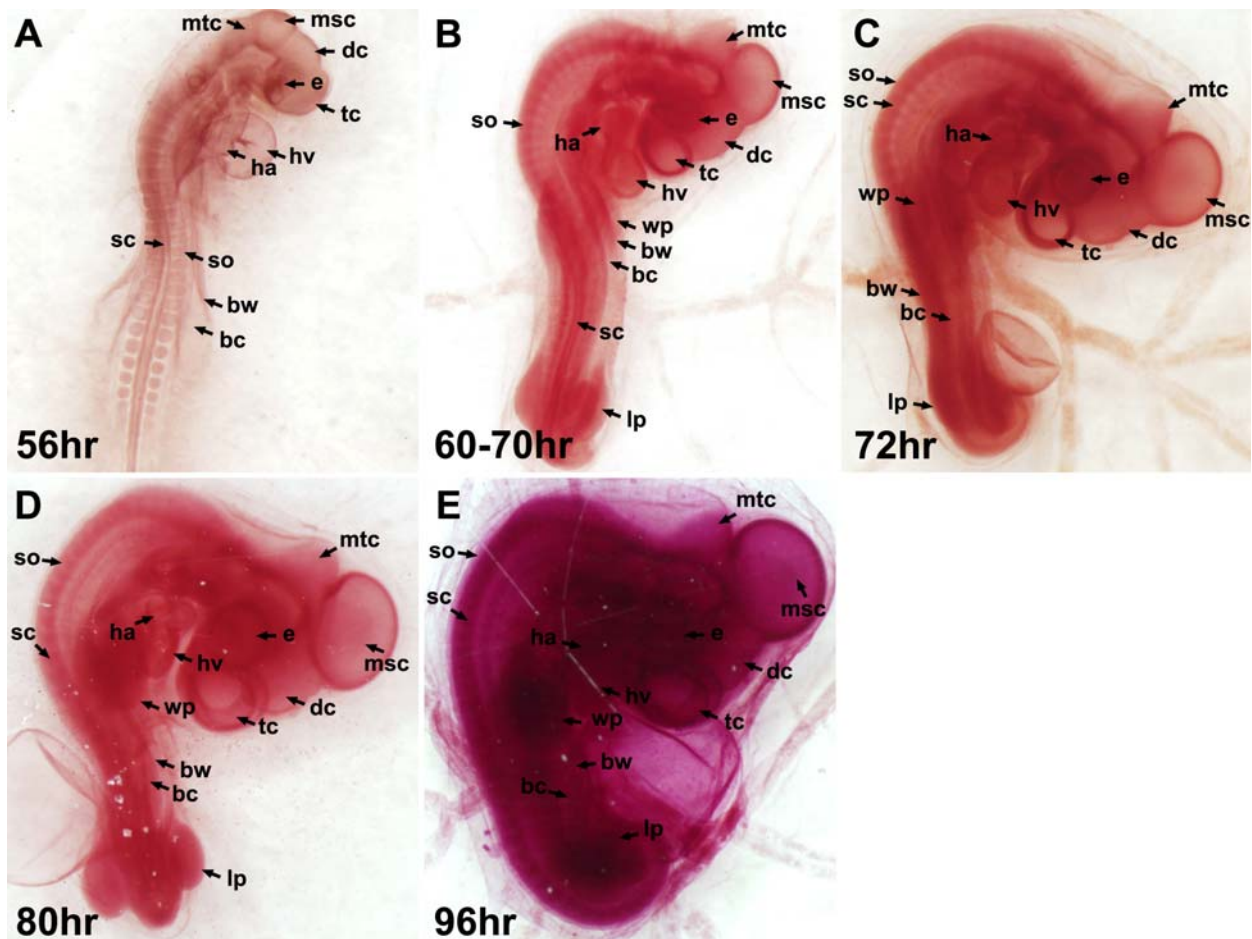


그림 10. 슬라이드표본으로부터 살펴본 배아 발생(56시간~96시간). 위쪽이 머리이며, 아래쪽이 꼬리를 나타낸다. (A) 56시간 배아. (B) 60~70시간 배아. (C) 72시간 배아. (D) 80시간 배아. (E) 96시간 배아. [dc: 간뇌, tc: 단뇌, msc: 중뇌, mtc: 후뇌, sc: 척수, e: 눈, hv: 심장의 심실, ha: 심장의 심방, so: 체절, ze: 날개 원기, lp: 다리 원기, bw: 체벽, bc: 배아 체강]

성과정, 머리 형성, 신경관, 뇌와 척수의 형성, 심장, 팔과 다리, 체절 등 사람의 발생을 이해하는데 필요로 하는 기본 구조들을 모두 볼 수 있는 훌륭한 실험 재료이다. 이러한 목적을 위해서는 부란기, 배아에 대한 염색기술 및 영구슬라이드표본이 필요하고, 또한 광학 및 실체 현미경이 필수적이다. 부화율이 좋은 유정란을 구입하는 것도 실험 성공률을 높이는 요인이다. 닭 발생 관찰 전략은 위의 실험에서 제시된 것처럼 수행할 수 있을 것이다. 첫째, 검란 상자를 이용하여 배아 및 공기주머니를 관찰한다. 둘째, 톱으로 달걀 껍질을 벗겨내 관찰하거나, 페트리접시에 배아를 담아 관찰한다. 셋째, 배아를 neutral red로 염색하여 관찰한다. 넷째, 영구슬라이드표본으로 관찰하여 각 구조를 세부적으로 자세하게 이해한다. 현장에서는 첫 번째와 두 번째 단계까지는 쉽게 할 수 있으며, 한 단계 더 나아가 neutral red를 이용하여 염색된 배아를 관찰한다면 초기 배아의 발달 과정을 더 구체적으로 이해할 수 있을 것이다.

교과과정을 고려하면 궁극적으로 동물 발생의 전 과정을 이해하기 위한 또 다른 실험 재료의 개발이 절실히 요구된다. 즉, 닭 발생에서 관찰하지 못하였던 난할 및 개구리 등에서 관찰되는 전형적인 낭배 과정에 대한 개념을 이해할 수 있는 실험 재료를 개발함으로써 동물 발생의 전반을 이해할 수 있을 것이다.

감사의 글

닭 발생에 대하여 많은 정보를 제공해 주신 서강대학교의 김원선 교수님께 감사드립니다. 또한, 배 발생 관찰에 대한 여러 아이디어를 제공해 주신 숭문고등학교 전석천 선생님께도 감사드립니다.

Abstract

Animal development area is one of subjects that students feel difficult because of many terms and complicate contents. So experimental inquiry class will help students to understand basic developmental process. Although vertebrate animals are developed as their own unique feature through different developmental process, the basic developmental process are

very similar. As human and chick belong to amniote and shows very similar developmental pattern during embryogenesis, observation of chick development will give a good opportunity to understand the development of amniotes. The fertilized chick eggs can be easily purchased in the market and it takes about 21 days to hatch at 37~39°C. Embryos in egg shell could be located using an inspection box and egg shell could be easily removed with a hacksaw. Although we could not see cleavage steps, neutral red-stained embryos showed many structures including brain, heart, eye, somites, wing and leg primordia, blood vessels, etc, which could not be hardly recognized without staining. Taken together, our study will help teachers and students to better understand the developmental processes on chick.

참고문헌

- 우규환, 이춘우, 오두환, 김영유, 경제복, 이경훈, 박태윤, 이영직, 백수관, 김병인, 김봉래, 이기영 (2001) 고등학교 과학. (주) 중앙교육진흥연구소.
- 이상인, 신영준, 동효관, 백승용 (2002) 생물 I. (주) 지학사.
- 이성목, 채광표, 김기대, 이문원, 권석민, 손영운, 노태희, 정지오, 서인호, 김영수, 김윤택, 이세영 (2001) 중학교 과학3 (주) 금성출판사
- Babich H and Borenfreund E (1990) Applications of the neutral red cytotoxicity assay to in vitro toxicology. Alternives to Laboratory animals 18: 103-179.
- Gilbert SF (2006) Developmental Biology. Chapter 1 and chapter 11. 8th ed. Sinauer Associates Inc.
- Gilbert FG and Raunio AM (1997) Embryology, constructing the organism. Chapter 21. Sinauer.
- Mathews WW (1986) Atlas of descriptive embryology. pp 103-179. 4th edition, Macmillan.
- Richardson MK, Hanken J, Selwood L, Wright GM, Richards RJ, Pieau C and Raynaud A (1998) Haeckel, embryos, evolution. Science 280: 983-984.