

Analysis of Complex Cell Cycle Occurring in the Rodent Testis by Laser Scanning Cytometer

박미령, 주학진, 천영신, 이미숙, 김진희
경상대학교 대학원 응용생명과학부 낙농학전공

포유동물의 정자형성과정 (spermatogenesis) 은 유사분열과 감수분열이 동시에 일어나는 매우 복잡하지만, 효율적으로 생식세포를 증식, 분화시키는 시스템이다. 정상적인 spermatogenesis가 일어나는 testis에서는 haploid (1N), diploid (2N), 그리고 tetraploid (4N)과 같은 핵형을 갖는 세포들이 일정한 비율로 존재한다. DNA flowcytometry (DNA FCM) 는 세포의 핵형(ploidy)을 신속·정확하게 측정하여, 1N, 2N 그리고 4N에 대한 비율을 예측할 수 있어서, 생식세포를 포함한 다양한 유형의 세포주기를 분석하는데 적용되어져 왔다. 세포주기 분석법 중 이와 같은 FCM이외에, flow cytometer와 static image cytometer를 결합시켜 새롭게 고안된 laser scanning cytometer (LSC)가 있다. 그리고, 이제까지 LSC를 사용한 spermatogenesis에 관한 연구에 대해서는 보고된 바가 없다. 본 실험은 설치류에 있어 각기 다른 발달단계에 있는 정상적인 정소세포를 분리하여 PI (propidium iodide) 로 DNA를 염색한 후, DNA함량을 LSC로 분석하였다. 이것을 FCM에 의한 정소세포의 DNA분석과 비교·검토하였으며, 이 방법을 정상적인 spermatogenesis 가 일어나지 않는 동물시스템에 적용시켰다. 생식세포를 소멸시키기 위해 항암제인 busulfan과 비타민 A를 결합시켜 이것이 세포주기의 어떤 시점에서 어떻게 작용하여, 생식세포를 소멸시키는지 알아보았다. 위의 실험·분석결과로부터 LSC를 사용한 DNA함량과 핵형의 결정은 FCM과 동일한 수준의 정확성을 제시하였다. busulfan 또는 비타민 A의 결손은 살아있는 세포의 80% 이상이 2N의 핵형에 해당하는 G0/G1 기에 있는 것으로 나타났다. 그리고 1N:2N 및 4N:2N의 핵형비율의 변화를 가져왔다. 이러한 자극은 생식세포주기제어에 관여하며, 생식세포가 증폭하고 분화로 들어가는 단계를 차단, G0/G1 기에서 정체(arrest)되는 것으로 시사된다.

(Key words) *Spermatogenesis, LSC method, Busulfan, Vitamin A*