

Busulfan-Induced IgG-Protein Complex of Germ Cells and Its Utility for Selection of Spermatogonial Stem Cells

주학진, 천영신, 권득남, 김진희
경상대학교 대학원 응용생명과학부 낙농학전공

Spermatogonial stem cells은 spermatogenesis에서 중요한 역할을 하며, 곡세정관의 기저막에 위치하고 있는 것으로 알려져 있다. 그러나, 그 동안 이 세포에 특이하게 발현되는 marker가 거의 알려져 있지 않아 spermatogonial stem cell의 연구에 많은 어려움을 가져왔다. 최근 일반적인 stem cell이 갖는 특성 중, 기저막과 상호작용을 하는 surface protein으로 integrin이 존재한다는 사실을 이용하여, anti- α_6 또는 anti- β_1 integrin항체로 germ cell을 선별하여 정소에 이식한 결과, 높은 효율로 이식세포유래의 정자발생이 가능하다는 결과가 보고되었다 (Shinohara et al., 1999). 한편, 항암제의 일종인 busulfan을 마우스에 투여(40mg/kg)한 후 4-5주가 경과하면 세정관의 기저막에 위치하는 spermatogonia를 제외하고 대부분의 생식세포는 소멸한다. 본 실험의 목적은 이러한 사실들을 이용하여 spermatogonial stem cell의 특성을 밝히고, 이 생식세포를 보다 간편하고 손쉽게 선별할 수 있는 시스템을 확립하는데 있다. Busulfan처리 후 5주가 경과된 마우스와 정상적인 13주령의 마우스 testis로부터 세포를 분리한 후 FITC-conjugated anti-IgG를 이용한 면역형광법으로 측정·분석한 결과, 형광표식된 세포비율이 대조군과 비교하여 busulfan을 처리한 경우에서 유의적인 증가를 보였다 ($17 \pm 3.8\%$: $0.7 \pm 0.3\%$ busulfan vs control). 또한, IgG와 결합한 단백질이 존재하는 이들 세포들은 곡세정관의 기저막을 따라 위치하며, 단백질과 복합체를 형성한 IgG는 anti-IgG_{2a}와 반응하지 않는다는 사실을 관찰했다. 이러한 IgG 복합체를 형성한 세포들의 특성을 이용하여, IgG와 반응을 하지 않는 것으로 확인된 이차 항체인 anti-IgG_{2a}와 일차 항체인 anti- α_6 또는 anti- β_1 integrin항체를 이용하여 측정·분석하였다. Busulfan을 처리한 마우스 정소에서 분리한 세포를 다시 laminin으로 코팅된 dish에서 선별·회수해서, anti-IgG, anti- α_6 또는 anti- β_1 integrin항체로 각각 표식된 세포비율을 비교하였다. Laminin으로부터 선별·회수한 세포에서는 IgG복합체가 α_6 또는 β_1 integrin과 거의 같은 수준에서 높은 비율로 표식되었다. 결론적으로, busulfan에 의해 유도된 IgG와 결합가능한 단백질은 α_6 나 β_1 integrin과 마찬가지로 immunoglobulin G를 이용하여 spermatogonial stem cell의 선발을 가능하게 했다. 따라서, busulfan처리시 IgG는 미분화된 정조세포의 선발을 위한 하나의 marker로서 사용가능함을 시사한다.

(Key word) *spermatogonial stem cell, busulfan, marker, IgG-protein complex*