

3차원적 공동배양을 통한 수컷 생쥐 정모세포 감수분열의 촉진

임정진 · 김형준 · 이동률 · 김계성 · 이우식 · 윤태기 · 차광렬
포천중문의과대학교 차병원 여성의학연구소

서 론

정자형성과정은 정원생식세포의 증식과 분화를 통하여 반수체인 정자를 만드는 과정이다. 최근 여러 그룹에서 체외 정자형성과정(*in vitro* spermatogenesis)에 대하여 많은 연구가 진행되고 있으며, 다양한 배양방법을 채택하고 있다. 최근에는 소의 정소내 세포들을 분리한 후 다시 재결합하여 hydrogel을 이용, 새로운 캡슐형태로 하여 장기간 배양을 진행하였으며, 그 결과 반수체인 정세포에서 특이적으로 나타나는 유전자의 발현을 관찰한(Biol Reprod 65: 873-8, 2001) 보고가 있으며, 생식세포와 Feeder cell을 공동배양시 생식세포의 분화가 촉진된다는 보고(Human Reproduction 14: 1287-1293, 1999)가 있다. 이에 본 연구는 생식세포를 3차원 캡슐형태로 구성한 후 peritubular cell과 공동배양하였을 때 감수분열에 미치는 영향을 알아보고자 시행하였다.

재료 및 방법

15일령의 ICR 수컷 생쥐정소를 효소 처리하여 정모세포와 sertoli cell을 수확하고, 이를 sodium alginate를 이용하여 3차원 캡슐화 하였다. 공동배양을 위한 feeder layer는 enzyme 처리후 상층액을 시간별(5, 10, 15 그리고 20분)로 수확하여 배양하였고 이중 peritubular cell이 많이 존재하는 처리군의 세포를 일차 배양하여 feeder layer로 사용하였다. 캡슐형태로 만든 체외 배양군(NCO-T), 그리고 peritubular cell이 feeder layer로 깔린 배양접시에 캡슐형태의 생식세포를 배양한 공동배양군(CO-T)을 각각 3주간 32°C 5% CO₂에서 배양한 후 정모세포 특이적 유전자인 TH2B와 정세포에 특이적 유전자인 TP-1을 역전사 중합효소 반응, 실시간 중합 효소반응을 이용하여 발현량을 관찰하였으며, 정세포에 특이적으로 결합하는 렉틴(TRITC-PNA)의 발현양상을 관찰하였다.

결 과

1. 2. 3 주간 배양한 결과, CO-T에서 정세포로 추정되는 세포들과 TRITC-PNA(peanut agglutinin lectin)염색이 NCO-T군에 비하여 증가하였다. 정모세포 특이적 유전자인 TH2B mRNA는 CO-T군에서 배양시간에 따라 점차적으로 증가하는 양상을 보였다. 이에 비하여 NCO-T군은 1주군에서 증가하였고, 그 이후의 배양에서는 큰 차이를 보이지 않았다. TP-1 mRNA는 CO-T 배양군에서 배양시간에 따라 증가하는 양상을 보였으나 NCO-T군에서는 변화가 없었다.

고 찰

이상의 결과를 종합하여보면 정모세포의 정세포로의 분화유도에는 단순히 3차원적 배양한 군에 비하여 3차원적 공동 배양한 군이 좀 더 효과적임을 알 수 있었으며, peritubular cell이 정모세포의 정세포로의 감수분열 촉진에 관여함을 볼 수 있었다. 그러므로 위의 배양방법이 체외정자형성과정을 연구하는데 유용한 도구로 이용될 것으로 사료된다.

This work was supported part by a grant (SC12011) from Stem Cell Research Center of the 21C Frontier R & D Program funded by the Ministry of Science and Technology, Republic of Korea and a Basic Research grant (R01-2001-000-00144-0) funded by Korea Science and Engineering Foundation to KSK.