

생쥐 고환 유래 다분화능 줄기세포의 배양 및 유도 분화

한상철¹ · 송행석¹ · 임천규¹ · 조재원¹ · 고덕성¹
김슬기² · 김종훈² · 전진현¹

¹Laboratory of Reproductive Biology and Infertility, Cheil General Hospital & Women's
Healthcare Center, Kwandong University College of Medicine, ²Laboratory of Stem Cell Biology,
Division of Biotechnology, College of Life Sciences and Biotechnology, Korea University

Objectives: 근래에 신생 및 성체 생쥐의 고환에서 다분화능 줄기세포의 분리, 배양이 가능하고 이들을 다양한 세포로의 유도 분화가 가능한 것으로 보고되고 있다. 본 연구에서는 성체 생쥐에서 실험적으로 잠복고환을 유도한 후 고환 유래 다분화능 줄기세포를 분리, 배양하고 이들의 분화능을 확인하고자 하였다.

Methods: 성체 생쥐 (8주령 ICR strain, n=3)를 마취한 후 미세수술적 방법으로 복강에 유착시켜 잠복고환을 유도하였다. 잠복고환을 유도한 생쥐의 고환조직에서 주사기를 이용한 물리적인 방법으로 세포들을 분리하여 STO 지지세포층 위에서 배양하였다. 계대배양 과정에서 형태적인 변화를 관찰하였으며 일부의 세포는 동결/융해 후 세포 특성을 확인하였다. 계대배양 중인 세포군을 일부 수확하여 줄기세포 표지인자들의 발현을 확인하고, 분화 능력을 확인하기 위해 배아체 형성을 유도하였다. 형성된 배아체에서 분화 표지인자들의 발현을 확인하고, 특정 조건하에서 신경세포와 심근세포로의 분화를 유도하였다.

Results: 잠복고환 유도 후 조직학적 관찰을 통해 분화된 정모세포와 정자세포가 소실됨을 관찰할 수 있었다. 잠복고환을 유도한 세 마리의 생쥐에서 고환 유래 세포를 분리, 배양하여 하나의 세포주에서 (33.3%) 계대배양과 동결보관이 가능하였다. 계대배양 중인 세포주에서 줄기세포의 미분화 표지인자인 Oct-4, Nanog, Sox-2, SSEA-1의 발현을 관찰할 수 있었다. 분화능 확인을 위해 형성된 배아체에서 외배엽성의 FGF-5, 중배엽성의 Enolase, 내배엽성의 Gata-4 발현을 확인하였다. 또한, 유도 분화 조건에서 Tuj-1을 발현하는 신경세포로의 분화와 심박동을 보이는 심근 세포로의 분화를 관찰할 수 있었다.

Conclusion: 본 연구에서 잠복고환 유도를 통해 고환 유래의 다분화능 줄기세포의 분리, 배양이 가능함을 보여줬으며, 이들 세포가 미분화 상태로 계대배양되며, 특정 조건에 의해 신경세포와 심근세포로의 유도분화 될 수 있음을 확인하였다.