발생과 생식 제1권 제2호, 133~139(1997)
Dev. Reprod. Vol. 1, No. 2, 133~139(1997)

한국산 긴날개박쥐, *Miniopterus schreibersi fuliginosus*의 정자변태과정 중 Golgi Apparatus의 형태적 변화

손성원 · 이정훈 · 최병진
경남대학교 자연과학대학 생물학과

Morphological Changes of Golgi Apparatus during Spermiogenesis in the Long-fingered Bat, *Miniopterus schreibersi fuliginosus*

Sung-Won Son, Jung-Hun Lee and Byung-Jin Choi
Department of Biology, College of Natural Sciences, Kyungnam University, Masan 631-701, Korea

ABSTRACT

To study the function and structure of Golgi apparatus in the spermiogenesis of long-fingered bat (*Miniopterus schreibersi fuliginosus*), the testis obtained from adult bat was treated with the prolonged osmification or fixed with ferrocyanide reduced osmium. Golgi apparatus was oval shape in early Golgi phase, and was composed of cortex and medullar enclosing acrosome in mid Golgi phase. The vesicles of crescent shaped Golgi apparatus were closed or fused with small or large vesicles at the periphery of acrosome. Golgi apparatus moved behind the acrosome face in cap phase, but the Golgi apparatus was still active. According to this, Golgi apparatus appears to be involved in the formation of acrosome and sperm tail. Transfer of materials from Golgi to acrosme seems to be carried out not only by fusion of large vesicles with acrosomal vesicles but also by detachment of coated vesicle from various cisternae of Golgi fusing with acrosomal vesicle.

Key words: Spermiogenesis, Golgi apparatus, Osmification, Bat

서 론

골지체 (Golgi apparatus)는 1898년 Golgi에 의해 Purkinje cell에서 최초로 발견되어 명명된 이후로 형태학적, 생화학적, 분자생물학적인 연구가 많이 진행되고 있는 세포내 소기관이다. 특히 골지체는 다기능성 세포내 소기관으로서 대개 4~8장의 소조 (cisternae)를 가지며, 작은 소포들에 의해 둘러싸인 직경 70nm 정도의 소기관이다. Rambourg 등 (1979)과 Yamashina (1995)는 골지체의 구조를 cis, middle, trans 등의 3부분으로 구분하였다. 한편, 골지체의 형태와 기능에 관하여 다수의 연구들이 보고되어 있으며 (Friend & Murray, 1965; Susi *et al.*, 1971; Rambourg *et al.*, 1974; Hermo *et al.*, 1980; Clermont *et al.*, 1981; Tang *et al.*, 1982; Clermont & Tang, 1985; Burgos & Gutiérrez, 1986; Suarez-Quian *et al.*, 1991), 특히 정자변태과정 중의 골지체와 소포체는 첨체형성과정에 중요한 역할을 담당하는 것으로 알려져 있다.

일반적으로 골지체의 소조들이 서로 격리되어 있다는

본 연구는 1996년도 경남대학교 기초과학연구소 연구비에 의하여 수행되었음.

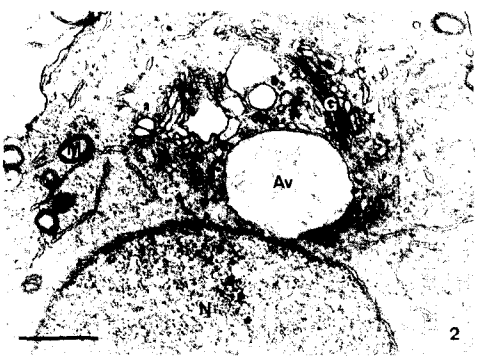
이전의 견해와는 달리 최근 Clermont 등 (1994)은 이들 구조물들의 중간소조와 cis 소조 등 다양한 소조의 요소들이 서로 문합되어 있으며, 이들 소조를 통하여 물질의 분비와 이동이 일어남을 제시하였다 (Clermont *et al.*, 1995). 그러나, 특이한 번식유형을 가진 박쥐류의 정자변태과정 중 골지체의 형태와 기능 및 이동에 관한 연구는 아직 조사된 바 없으므로, 본 연구에서는 정자변태과정 중에 골지체의 형태변화와 기능적 역할을 알아보기 위한 연구를 실시하였다.

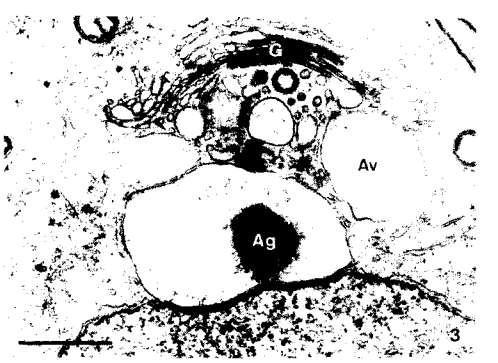
재료 및 방법

본 연구의 재료로 경남지역의 폐광에서 서식하고 있는 긴날개박쥐 (*Miniopterus schreibersi fuliginosus*) 성체 8개체를 채집하였고, 각각의 개체들은 ether로 마취 후 정소를 적출하여 사용하였다. 특히, 고정은 통상적인 전자현미경 고정방법인 glutaraldehyde 전고정을 하지 않고, 곧바로 48시간 동안 2%-OsO_4용액으로 고정하는 방법 (Friend & Murray, 1965)과 potassium ferrocyanide-osmium tetroxide를 사용하는 방법 (Rambourg *et al.*, 1979)으로 고정하였고, 알콜농도 상승순으로 탈수하였다. 탈수가 끝난 조직들은 Epoxy resin으로 포매하여 중합한 후 각각의 조직들로부터 60~90nm 두께의 연속절편을 얻어, uranyl acetate와 lead nitrate로 이중염색한 후 전자현미경 (Hitachi, H-600)으로 75Kv에서 관찰하였다.

결 과

본 연구에서는 긴날개박쥐의 정자변태과정을 골지기, 두모기, 첨체기, 성숙기 등의 4단계 (Leblond & Clermont, 1952)로 구분하였고, 각 단계에서의 Golgi apparatus의 형태적 변화와 이동을 관찰한 결과는 다음과 같았다.





Figs. 1~3. Electron micrographs of the spermatids of Golgi phase.
Note the presence of small and large Golgi vesicles around the apex of nucleus, which is associated with forming medullar (dotted line). Although, large acrosomal vesicles were not fused in the mid phase, small vesicles were fused with large vesicle, and hemispheric Golgi apparatus appeared near the nuclear membrane. In the late phase, acrosomal vesicles were fused with nuclear envelopes and concaved Golgi apparatus was closed with vesicles or fused with vesicles (arrow head). Ag, acrosomal granule; Av, acrosomal vesicle; G, Golgi apparatus; M, mitochondria; N, nucleus, Scale bars = 1μm.

1. 골지단계 (Golgi phase)

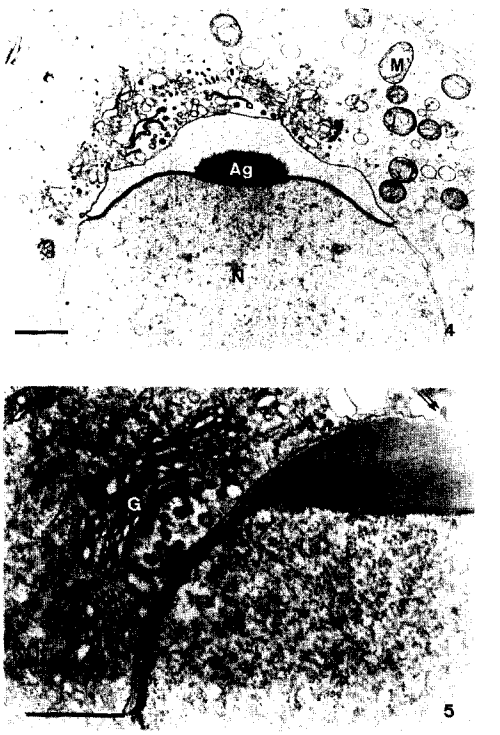
골지전기에 있어서, 골지체의 형태는 핵 상면에 타원형의 골지복합체 (Golgi complex)와 그 내면에 medullar를 형성하고 있었다 (Fig. 1). 골지체 주변부에는 활면소포체와 미토콘드리아들이 세포질 전역에 풍부하게 산재해 있었다. 골지중기에는 각 소조에서의 작은 소포들이 융합하여 큰 소포를 형성한 후 첨체소포를 형성하였고 핵상면에 인접되어 나타났다. 또한, 첨체소포 주변부의 골지체는 반원형 구조로 cortex와 medullar를 형성하여 첨체소포를 에워싸고 있었다 (Fig. 2). 또한 각 소조의 작은 소포들은 다소 큰 소포와 문합하고 있었다. 골지후기에서 첨체소포는 핵의 상면과 밀착되어 더욱 더 핵을 함입시키고 첨체소포내의 첨체과립 (acrosomal granule)들은 아직도 균일하게 확산되어 있지 않았다. 특히, 활궁모양의 골지체로부터 기원한 크고 작은 소포들이 첨체와 인접되어 나타나거나 서로 결합되는 상태를 보였다. 여전히 골지체와 첨체주변부에 활면소포체가 풍부하게 산재해 있었다 (Fig. 3).

2. 두모단계 (Cap phase)

두모전기에서는 볼록렌즈상을 취한 첨체소포가 핵의 후반부로 향해 넓게 퍼져있고, 골지체는 첨체소포와 더욱 더 인접되어 나타났으며, 세포질 내에는 여전히 미토콘드리아가 풍부하게 산재되어 있었다 (Fig. 4). 두모후기 단계에서는 볼록렌즈상의 첨체소포내 첨체과립은 균질화 되어져 있으며, 첨체소포와 인접한 골지체는 반원형의 모양과 방향성을 유지하면서 핵의 후방부로 다소 이동되어 있었다. 한편, 골지체의 외곽과 중간부분의 소조에서 기원한 것으로 보이는 coated vesicle들이 첨체소포의 위 뿐만 아니라 첨체소포막과 결합되어 나타났으며, 세포질 내에는 활면소포체와 골지체가 밀접하게 인접되어 있었다 (Fig. 5).

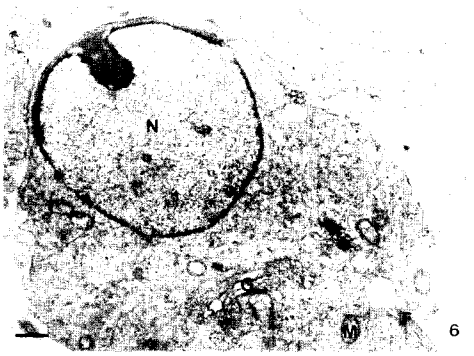
3. 첨체기 (Acrosome phase)

첨체전기에서는 첨체포 (acrosomal vacuole)가 핵



Figs. 4~5. Electron micrographs of the cap phase. Acrosomal vesicles fused with nuclear envelope formed a convex shape, and dispersed toward the centriolar pole of the nucleus. Vesicles in the medullar of Golgi apparatus were changed into the small vesicles, and closed with acrosomal vesicles. In the late cap phase, acrosomal contents were homogenous and the Golgi apparatus was separated from the acrosome system. Note the coated vesicles originated from mid and outer cisternae of the Golgi apparatus which were observed in the circumference of acrosomal vesicle (arrows), and fused with acrosomal vesicles (double arrows). Ag, acrosomal granule; G, Golgi apparatus; M, mitochondria; N, nucleus, Scale bars = 1μm.

을 1/3 정도 덮고 있었으며, 꼬리가 세포질 밖으로 뻗어 있었다. 한편 골지체는 핵의 후방부로 이동되어 있었다 (Fig. 6). 첨체후기에서는 정자세포의 핵이 신장되어 있었으며, 골지체가 핵의 뒷부분으로 이동하여 핵 상단부의 첨체로부터 완전히 떨어져 나왔고, 첨체로 향하던 골지체는 방향성을 상실하였다. 또한 세포질내 소기



Figs. 6~7. Electron micrographs of the acrosome phase. In the early phase, one third of nucleus is covered by the acrosomal vacuole.
Flagellum is observed. Spermatids in the late phase is elongated with the appearance of the manchette, and the half of the nucleus is covered by acrosoems. The Golgi apparatus moved toword the pole of flagellum. Note the outer cisternae of Golgi which was deposited with osmium by the prolonged osmification. F, flagellum; G, Golgi apparatus; M, mitochondria; N, nucleus, Scale bars = 1μm.

관들은 모두 핵의 후방부로 이동되어 나타났고, 골지체에는 여전히 소조가 발달해 있음을 알 수 있었다. 한편, 장시간의 osmium처리로 cis 영역의 소조는 osmium에 의해 침적되었음을 관찰할 수 있었다 (Fig. 7). 이와 함께 골지체의 cis 영역은 핵쪽이 아닌 세포막쪽을 향하고 있었으며, 다수의 소포체를 비롯하여 미토콘드리아들이 세포질 내에 산재해 있었다 (Fig. 7)

4. 성숙기 (Maturation phase)

Figs. 8~9. Electron micrographs of the maturation phase.
In the early phase, the nucleus is apparently condensed and elongated. The nuclear ring is observed on the half of nucleus. Note the outer cisterna of Golgi apparatus is deposited by the prolonged osmiumification (Fig. 8). In the late phase, the nuclear ring is moved to the pole of nucleus, and the chromatin granules are completely condensed. The Golgi apparatus occurred in the caudal cytoplasm, but the cisterna is still dilated (Fig. 9). G, Golgi apparatus; N, nucleus, Scale bars=1μm.

성숙전기에는 핵이 더욱 신장되어 있었으며 nuclear ring은 핵의 1/2 이상 내려왔고, 골지체의 일부 소조에 osmium이 침적되어 까맣게 염색이 되었으며, 여전히 골지체의 소조가 확장되어 있음을 볼 수 있었다 (Fig. 8).

성숙후기의 정자세포의 핵은 신장이 완전히 이루어져 nuclear ring이 핵의 기저부까지 완전히 내려와 있는 것을 볼 수 있었으며, 방향성을 잃은 골지체의 소조가

확장된 채 여전히 세포질 내에 존재하는 것이 관찰되었고, 미토콘드리아 역시 산재해 있음을 관찰할 수 있었다 (Fig. 9).

고 찰

골지체는 세포의 모양과 기능적 분화에 따라 그 형태가 다양하다. 특히 본 연구에서 정자변태과정 중 골지단계로부터 성숙단계에 이르기까지 정자세포 내의 골지체는 많은 형태적 변화를 가져왔다. 즉 골지전기에서 핵상면의 다수의 골지체가 골지복합체를 형성하여 medullar와 cortex를 형성하면서, 타원형을 취하고 있었다 (Fig. 1). 골지중기에 이르러서는 각 소조의 작은 소포들이 융합하여 다소 큰 소포를 형성한 후 첨체소포를 형성하는 데 기여하며 (Fig. 2), 이때 첨체소포 주변부의 골지체는 반원형 구조로 cortex와 medullar를 형성하여 첨체소포를 에워싸고 있었다. 골지후기에 이르러 활궁모양의 골지체가 첨체주변부의 크고 작은 소포와 인접되어 나타나거나 결합된 상태를 보이고 있었으며, 또한, 첨체를 형성하는 동안에 골지체의 cis 영역에서 큰 포낭을 형성하고 있는 골지체를 볼 수 있었다 (Figs. 2, 3). 특히, 두모단계에서 골지체의 각 소조에서 기원한 것으로 보이는 coated vesicle들이 첨체소포에 첨가되는 것을 볼 때 (Fig. 5), 이는 골지체가 첨체소포 및 첨체를 형성하는 데 직접적으로 관여함을 시사한다.

이러한 사실에서 볼 때, 초기의 첨체형성 동안에는 큰 액포들이 첨체소포에 첨가되어 첨체포낭을 형성하지만 그 후에는 coated vesicles의 형태로 첨체소포에 물질이 계속적으로 첨가되는 것으로 판단된다 (Fig. 5). 이는 발달 중의 첨체는 첨체성분들을 골지체의 trans 부위 성분 뿐만이 아니라 중간부분에 위치한 소조로 부터도 공급받는다는 것과 일치되는 현상이다 (Thorne-Tjomsland *et al.*, 1988). 특히, 이 시기에는 골지체의 최외곽 소조가 첨체와 매우 밀접해 있는 것을 관찰할 수 있어 물질이동이 왕성하게 이루어짐을 의미한다 (Fig. 5). 물질의 이동과 관련하여 골지체의 막내 공여부분 (donor compartment)과 첨체의 수용부분 (acceptor compartment)의 성분변화와 관련하여 조사해 볼 필요가 있을 것이다. 또한, 이상의 구조는 Inoue와 Kurosumi (1989)에 의해 흰쥐 뇌하수체전엽의 분비세포에서 분비가 왕성할 때 잘 발달하는 plate-like cisterna의 모습과 유사하다. 그러나 실온에서의 시료처리로 인해서 Plate-Like Cisterna의 내부에서 보이는 유사구조는 관찰되지 않았다.

한편, Thorne-Tjomsland 등 (1988)은 chromatoid body가 첨체형성시 골지체의 주위에서 관찰되어 첨체형성과 밀접한 관련이 있을 것이라고 시사하고 있으나 본 조사에서는 골지체와 관련된 chromatoid body들을 관찰할 수 없었다. Clermont 등 (1994)은 정자세포에서는 골지체의 각 소조들이 서로 연결되어 있어 transport vesicles의 관여가 필요없음을 시사하였다. 또한, 골지체의 첨체 주위에 50~100nm의 소포와 5~10nm의 소포가 모여 있는 것을 관찰하여, 두가지 크기의 소포 중 5~10nm크기의 소포들은 소멸하여 세포질로 포함될 것이라고 하였으나 본 연구에서는 작은 크기의 소포들은 관찰할 수 없었다.

정자형성 초기에 급격히 발달한 골지체는 반원형으로 첨체와 매우 인접하여 발달하였는데, 첨체단계에 들어서면서 첨체에서 떨어져 나와 신장된 핵의 뒷부분으로 이동하며 방향성도 잃게 되었으나 (Fig. 6) 장시간의 osmium처리시 골지체 외곽의 소조가 검게 침적된 것으로 보아 그 기능이 아직까지도 활발한 것으로 생각된다 (Fig 7, 8). 이러한 결과는 당단백질이 많이 함유된 첨체의 발달은 골지체가 첨체와 가까이 근접해 있을 때 일어난다는 보고 (Susi *et al.*, 1971)와, 골지체는 정자변태기 동안 정자형성전기인 골지단계에는 첨체형성과 관련이 있지만 그 후에는 첨체형성과 관련이 없다는 연구결과 (Clermont & Tang, 1985)와 부합한다. 또한 첨체형성 이후의 골지체는 첨체형성 이외에도 세포막의 형성과 관련된 것으로 추측되고 있는데 (Clermont & Tang, 1985), 본 연구에서도 첨체형성 후의 성숙기에서 골지체가 여전히 존재하여 그 기능이 유지됨을 알 수 있

었다(Figs. 8, 9).

Clermont 등 (1995)에 의해 Trans-Golgi Network type Ⅱ으로 특징 지워진 정자변태 동안 정자세포내 골지체의 구조변화는 본 연구에서 정자형성 초기인 골지 전단계에는 원형을 이루어서 cortex와 medullar를 형성한 후 골지단계에서는 반원형 모양으로 첨체와 밀접한 연관을 가지고 있었으며, 첨체단계 이후에는 방향성을 상실하여 세포질 내에 존재하고 있었다.

요 약

본 연구에서는 한국산 긴날개 박쥐 (*Miniopterus schreibersi fuliginosus*)의 정자변태 과정 중의 골지체 (Golgi apparatus)의 구조와 기능을 알아보기 위하여 박쥐의 정소조직들을 Potassium ferrocyanide-Osmium tetroxide와 OsO_4로 장시간 고정하였다. 골지체는 골지전기에서 타원형의 형태를 취하고 있었으며, 골지중기 단계에서는 cortex와 medullar를 형성하여 첨체를 둘러싸고 있었다. 초승달 모양의 골지체 소포들은 첨체 주변부에서 크고 작은 소포들이 서로 인접하여 있거나 혹은 서로 융합되어 나타났다. 골지체는 골지 후기에서 첨체표면의 후반부쪽으로 이동되어 나타났지만 여전히 활성적인 상태를 보였다. 이러한 관점에서 볼 때, 골지체는 첨체형성과 정자꼬리 형성에 관련이 있는 것으로 여겨진다. 골지체에서 첨체로의 물질이동은 첨체소포들과 큰 소포들의 융합뿐만 아니라 첨체소포와 융합된 골지체의 여러 소조들로 부터 이탈한 coated vesicle들에 의해서도 수행되어지는 것으로 여겨진다.

인용문헌

Burgos MH, Gutiérrez LS (1986): The Golgi complex of the early spermatid in guinea pig. Anat Rec 216: 139-145.

Clermont Y, Lalli M, Rambourg A (1981): Ultrastructural localization of nicotinamide adenine dinucleotide phosphatase (NADPase), thiamine pyrophosphatase (TPPase), and cytidine monophosphatase (CMPase) in the Golgi apparatus of early spermatids of the rat. Anat Rec 201: 613-622.

Clermont Y, Rambourg A, Hermo L (1994): Connections between the various elements of the cis- and mid-compartments of the Golgi apparatus of early rat spermatids. Anat Rec 240: 469-480.

Clermont Y, Rambourg A, Hermo L (1995): Trans-Golgi network (TGN) of different cell types: Three-dimensional structural characteristics and variability. Anat Rec 242: 289-301.

Clermont Y, Tang XA (1985): Glycoprotein synthesis in the Golgi apparatus of spermatids during spermiogenesis of the rat. Anat Rec 213: 33-43.

Friend DS, Murray MJ (1965): Osmium impregnation of the Golgi apparatus. Am J Anat 117: 135-150.

Hermo L, Rambourg A, Clermont Y (1980): Three-dimensional architecture of the cortical region of the Golgi apparatus in rat spermatids. Am J Anat 157: 357-373.

Inoue K, Kurosumi K (1989): Ultrastructural observation of the trans-Golgi associated plate-like cisterna in the secretory cells of the rat anterior pituitary gland with special reference to the intracisternal skeleton. Anat Rec 225: 272-278.

Leblond CP, Clermont Y (1952): Spermiogenesis of rat, mouse, hamster, and guinea pig as revealed by the "periodic acid-fuchsin sulfurous acid" technique. Am J Anat 90: 167-215.

Rambourg A., Clermont Y, Hermo L (1979): Th-

ree-dimensional architecture of the Golgi apparatus in Sertoli cells of the rat. Am J Anat 154: 455-476.

Rambourg A, Clermont Y, Marraud A (1974): Three-dimensional structure of the Osmium-impregnated Golgi apparatus as seen in the high voltage electron microscope. Am J Anat 140: 27-46.

Suarez-Quian CA, An Q, Jelesoff N, Dym M (1991): The Golgi apparatus of rat pachytene spermatocytes during spermatogenesis. Anat Rec 229: 16-26.

Susi FR, Leblond CP, Clermont Y (1971): Changes in the Golgi apparatus during spermiogenesis in the rat. Am J Anat 130: 251-278.

Tang XM, Lalli MF, Clermont Y (1982): A cytochemical study of the Golgi apparatus of the spermatid during spermiogenesis in the rat. Am J Anat 163: 283-294.

Thorne-Tjomsland G, Clermont Y, Hermo L (1988): Contribution of the Golgi apparatus components to the formation of the acrosomic system and chromatoid body in rat spermatids. Anat Rec 221: 591-598.

Yamashina S (1995): Dynamic structure and function of Golgi apparatus in the salivary acinar cell. J Electron Microsc 44: 124-134.