

## 배양 섬유 세포에 있어서 세포 표면의 미세구조적 특성과 당단백 (lectin WGA 수용체)의 분포

김수진\*, 함소영  
한림대학교 자연과학대학 생물학과

### Fine Structural Characterization and Localization of Lectin Receptors in the Cultured Fibroblast

Soo-Jin Kim\* and So Young Hahm  
Department of Biology, College of Natural Sciences, Hallym University  
(Received February 8, 2001)

#### ABSTRACT

In this study, the distribution of lectin receptors in culutured fibroblast was explored using colloidal gold label complexed with lectin WGA purified from wheat germ (*Triticum vulgare*). The lectin WGA gold complex, shown to recognize GlcNAc (N-acetylgalactosamine) and NeuNAc (N-acetylneuraminic acid) regions, was applied to detect binding sites in Lowicryl HM 20 sections viewed under electron microscope. Labeled sections of the culutured fibroblast revealed gold particles specifically distributed on the cytoplasm and cell surface of the fibroblast. Labeling of 24 hours culutured fibroblast was then quantified and compared to that of 72 hours culutured fibroblast. 24 hours culutured fibroblast sections resulted in specific gold particle distribution on the cytoplasmic vesicle of the culutured fibroblast.

These results indicate that lectin WGA receptors are located in the cytoplasmic vesicle and cell surface of the 24 hours culutured fibroblast, and on the cell surface of the 72 hours culutured fibroblast. Therefore, the GlcNAc and NeuNAc regions on the cell surface appear to be functionally associated with cell-recognition and protection from other cell of the tissue, and linked with secretion and exocytosis of the fibroblast cytoplasm.

**Key words :** GlcNAc (N-acetylgalactosamine), NeuNAc (N-acetylneuraminic acid)

#### 서 론

동물조직 섬유세포의 원형질막 표면에는 다양한

종류의 당단백 말단 (terminal of glycoprotein)들이 세포질 구획화와 세포질 내 소기관에 연관되어 있으며 섬유 생성, 세포의 인식, 막 투과 (plasmamembrane transport), 세포의 포식과 분비 (phagocytosis and exo-

이 논문은 1999년 한림대학교 학술연구비의 지원으로 연구가 되었음.

\* Correspondence should be addressed to Department of Biology, College of Natural Sciences, Hallym University, Kangwon-Do, 200-702 Korea.

Ph.: 033-240-1434, FAX: 033-241-1433, E-mail: sjkim@sun.hallym.ac.kr

Copyright © 2001 Korean Society of Electron Microscopy

cytosis), 막 효소 활성화 등 여러 가지 기능을 수행하고 있다(Brondes, 1984; Fem, 1985; Damjanov, 1987).

세포표면에 존재하여 여러 가지 기능을 수행하는 많은 종류의 당단백 말단들을 구별하는데는 식물세포에서 분리된 Lectin을 이용하고 있다. 식물에서 분리된 lectin은 식물의 학명 혹은 일반명으로 명명하여 구별하고 이렇게 구별된 lectin은 현재 60여종 정도 알려져 있다. 각 종류의 lectin들은 세포막의 당단백 말단기의 종류에 따라 제각기 특이하게 반응하는 특성을 지니고 있다(Damjanov, 1987). 본 실험에서 사용된 lectin의 일종인 WGA (wheat germ agglutinins)는 세포막의 GlcNAc (N-acetylgalactosamine)과 NeuNAc (N-acetyl neuraminic acid)에 특이적인 반응을 하는 물질인 것으로 알려졌다(Murrell, 1974; Wilson & Barnes, 1977; Simpson & Smithers, 1980). GlcNAc와 NeuNAc 등은 하등동물 *Schistosoma japonicum*과 *Paragonimus ohirai*에서 표피와 맹관 상피표면에 존재하여 숙주의 조직사이로 이동할 때 숙주의 면역계로부터 자신을 방어하여 생존하는데 중요한 역할을 하는 물질인 것으로 추측한 보고를 한 바 있다(Fujino & Ishii 1990). Schmidt (1988)는 *Hymenolepis microstoma*에서 표피의 microtriches에 lectin수용체인 GlcNAc와 NeuNAc가 분포하여 숙주로부터 충체 내로 영양물질을 흡수하는데 있어서 세포막 투과성에 관여한다고 했다. 따라서 lectin 수용체인 GlcNAc와 NeuNAc는 동물 조직의 여러 세포에 존재하여 다양한 기능을 수행하는 것으로 알려졌다.

섬유아세포는 결합조직을 구성하는 세포의 한 종류로서 기질의 단백질과 탄수화물 복합체를 생성할 뿐만 아니라 섬유소를 구성하도록 하는 단백질 구성분을 방출하기도 하여 조직을 발달시킨다. 특히 조직이 손상되었을 때 새로운 섬유를 생산하여 손상된 조직이 복구되는데 세포 표면에 존재하는 GlcNAc와 NeuNAc이 관여하는 것으로 알려져 있다(Brighton & Pollack, 1991).

그러나 GlcNAc와 NeuNAc이 분포하는 섬유아세포의 표면은 다양한 형태로 분화되어 있을 것으로 추측되며 표면의 미세 구조적 특성도 보고된 바 없었다.

따라서 본 연구에서는 전자현미경을 이용하여 배양

세포의 세포 표면의 미세 구조적 특성과 세포 표면에 존재하는 GlcNAc와 NeuNAc의 분포를 lectin의 일종인 WGA (wheat germ agglutinins)를 사용하여 확인하고자 하였다. 또한 세포 표면에 존재하는 GlcNAc와 NeuNAc이 섬유아세포의 세포질에서 생성되어 세포질외로 분비되는 과정을 확인하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 재료

중량이 2kg인 실험토끼의 담관 조직으로부터 분리된 섬유아세포를 25 ml 배양용기에서 72시간 배양하여 실험 재료로 사용하였다.

당단백 말단 GlcNAc와 NeuNAc의 분포를 확인하기 위하여 Wheat germ (*Triticum vulgare*)으로부터 분리된 lectin의 일종인 WGA에 황금입자가 표지된 WGA-Gold colloidal particles (15 nm)를 사용하였다.

### 2. 방법

#### 1) 섬유아세포 배양

토끼의 담관조직을 적출하여 PBS에 세척한 후 10% 송아지 혈청 (Gibco, USA, 10% fetal bovine serum)이 포함된 DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium: 10F-DMEM) 용액에 세척하여 항생제가 첨가된 10F-DMEM 용액에서 1 mm 이하로 세절(chopping)하였다. 세절된 조직은 원심분리용 시험관에 옮겨 3,000 rpm으로 5분간 원심분리 하여, 상등액을 제거하고 침전물에 1 ml의 10F-DMEM 용액을 첨가하여 조직 혼탁액을 제작하였다. 조직혼탁액은 4 ml의 10F-DMEM 용액이 첨가된 25 ml 배양용기에 넣고, 배지 1 ml에 10  $\mu$ l의 항생제가 포함되게 첨가하여 36.5°C, 4.5% CO<sub>2</sub> incubator에서 72시간 배양하였다. 배양된 섬유아세포는 0.25% trypsin을 첨가하여 배양용기로부터 분리한 뒤 3,000 rpm으로 5분간 원심분리를 하였다. 상등액은 제거하고 20F-DMEM 배지를 첨가하여 혼탁한 후 냉동보관용기(1.5 ml cryogenic vial)에 옮겨 -190°C 액체질소에 보관하였다.

액체질소에 일주일간 보관한 섬유아세포를 37°C 항온기에 해동시켜 10F-DMEM 용액을 10 ml 첨가한

원심분리시험관에 옮겨 혼탁한 후 3,000 rpm으로 5분간 원심분리하였다. 상등액은 제거하고 10F-DMEM 용액을 1 ml 첨가한 후 4 ml의 배지가 든 배양용기에 옮겨 36.5°C, 4.5% CO<sub>2</sub> incubator에서 24, 72시간 각각 배양하였다.

## 2) 전자현미경 관찰

### (1) 주사전자현미경 (SEM: Scanning Electron Microscopy) 관찰

배양된 섬유아세포는 1% paraformaldehyde와 1% glutaraldehyde 고정액 (pH 7.4)에 2시간 전고정하고 Roth (1987)와 김 등 (2000)의 방법에 따라 lectin의 일종인 WGA (wheat germ agglutinins)에 황금입자가 표지된 WGA를 반응시키고 0.12 M cacodylate buffer (pH 7.4)에서 세척하였다.

WGA에 gold complex가 표지된 세포들은 2% osmium tetroxide 고정액에 1시간 30분 후고정하였으며 고정된 재료들은 alcohol과 hexamethyl-disilazane (HMDS)에 탈수시켜 실온에서 건조하였다. 건조된 재료를 Eiko IB-III ion coater로 도금한 후 Hitachi S-2500 주사전자현미경으로 관찰하였다.

### (2) 투과전자현미경 (TEM: Transmission Electron Microscopy) 관찰

배양된 섬유아세포는 37°C에서 1% paraformaldehyde와 1% glutaraldehyde 고정액 (pH 7.2)과 2% osmium tetroxide 고정액으로 고정하여 한천으로 전포매 후 ethanol 탈수 후에 Lowicryl HM 20으로 포매하였다. 포매된 세포들은 ultramicrotome으로 절편을 제작하여 Roth (1985)와 김 등 (2000)의 방법에 따라 황금입자 표지 WGA 복합체를 반응시켰다. 황금입자 표지 WGA 복합체에 반응된 절편은 uranyl acetate와 lead citrate로 이중염색하여 Zeiss EM 109형 투과전자현미경으로 관찰하였다.

## 결 과

### 1. 주사전자현미경관찰

대조군의 배양섬유세포는 배양액 내에서 12시간 후면 세포 돌기가 형성되어 배양용기 바닥에 부착하여 성장하였다. 배양섬유세포의 표면은 부분적으로

미세 용모를 돌출시키고 세포질 돌기의 표면에도 미세 용모가 관찰되었다 (Fig. 1).

Lectin WGA에 반응된 배양섬유세포는 대조군 섬유세포에 비하여 세포 표면에 황금입자로 확인된 이 물질이 많이 형성된 것으로 관찰되었으며 세포질 돌기는 대조군의 세포와 유사하게 잘 발달된 형태로 관찰되었다. 배양시간이 경과할수록 세포 돌기들은 상호간에 중첩되어 관찰되기도 하였다 (Fig. 2). 주사전자현미경 고 배율 관찰에서 섬유세포의 표면은 세포의 성숙시기에 따라 다소의 차이는 있으나 0.1 μm<sup>2</sup>에 15 ± 2개의 황금입자가 관찰되어 lectin (WGA) 수용체인 GlcNAc (N-acetylgalactosamine)과 NeuNAc (N-acetyl neuraminic acid)이 분포하고 있음이 확인되었다 (Figs. 3, 4).

섬유세포의 세포질 돌기의 표면은 돌기의 형성 정도에 따라 황금입자의 표지 정도가 부분적으로 다소 상이하였으나 일정 시간 성숙한 세포 돌기는 동일한 밀도의 황금 입자가 표지 된 것으로 관찰되어 세포 돌기 표면의 lectin (WGA) 수용체 분포도 섬유세포 표면과 유사한 것으로 확인되었다 (Figs. 3, 4).

### 2. 투과전자현미경 관찰

배양섬유세포는 투과전자 현미경 관찰을 위한 처리 과정에서 세포 돌기들의 대부분이 소실되어 세포는 구형으로 관찰되었으며, 부분적으로 돌기가 형성된 세포도 일부 관찰되었다. 부분적인 세포돌기에는 1 μm의 미세 용모들이 세포표면에 발달되어 있음이 관찰되었다. 세포의 핵 주위에는 조면소포체 (RER)가 다양한 형태로 발달되어 있었으며 소포체의 형태는 조면소포체 내강의 팽창 정도에 의하여 형태가 결정됨이 확인되었다. 24시간 배양한 배양섬유세포들은 조면소포체 주위에는 세포질 액포 (cytoplasmic vesicle)와 세포질 공포 (cytoplasmic vacuole)가 관찰되었으며 세포질 액포에는 lectin 황금 입자가 0.1 μm<sup>2</sup>에 47 ± 5개로 관찰되어 세포 표면에 존재하는 lectin (WGA) 수용체인 GlcNAc (N-acetylgalactosamine)과 NeuNAc (N-acetyl neuraminic acid)가 세포질에서 생성되어 세포질 액포에 저장된 것으로 관찰되었다 (Fig. 5).

72시간 이상 배양한 섬유세포에 lectin 황금입자 복

**Table 1.** Quantitative density of the labeled gold particles in the 24 and 72 hours cultured fibroblast reacted with WGA gold complex \* Mean  $\pm$  standard deviation

	Mean No. gold particles/ 0.1 $\mu\text{m}^2$ in the fibroblast	
	24 hours cultured	72 hours cultured
Cytoplasmic vesicle	47 $\pm$ 5	22 $\pm$ 3
Microvilli of the cell surface	2 $\pm$ 1	9 $\pm$ 4

합체를 반응시켰을 때 세포질에는 조면 소포체 내강이 팽대해 있었으며, 세포질 액포들은 세포의 표면으로 이동되어 있는 것으로 관찰되었다. 일부의 액포들은 세포막이 파괴되어 액포의 내용물이 세포외로 분비되는 것으로도 관찰되었다. 세포외로 분비되는 액포의 내용물에는 황금입자가 22  $\pm$  3개가 표지되어 세포질 액포 내용물이 lectin (WGA) 수용체인 GlcNAc (N-acetylgalcosamine)과 NeuNAc (N-acetyl neuraminic acid)인 것으로 확인되었다 (Fig. 6).

lectin 황금입자 복합체에 반응시킨 72시간 배양 섬유세포의 일부는 세포질 액포가 세포질에 분포하고 있었으며 이들 액포의 내용물에는 황금입자가 22  $\pm$  3개로 표지되어 있는 것으로 관찰되었다. 세포 표면의 미세융모와 세포막 주위에도 9  $\pm$  4개의 황금입자가 표지되어 있는 것으로 관찰되었다 (Fig. 7).

따라서 섬유세포의 세포 표면에 분포하는 lectin (WGA) 수용체인 GlcNAc (N-acetylgalactosamine)과 NeuNAc (N-acetyl neuraminic acid)은 세포질의 조면 소포체에서 생성되어 조면소포체의 내강의 팽대로 세포질에서 액포 상태로 저장, 이동하여 세포외로 분비된 다음 세포 표면에 분포하는 것으로 확인되었다.

## 고 찰

동물조직에서 섬유세포는 다양한 기능을 수행하며 섬유세포가 다양한 기능을 수행하는 데는 세포표면의 분화로 형성되는 세포표면의 미세구조적 특성과 세포 표면에 분포하는 당 단백질 말단이 중요한 역할을 하는 것으로 알려졌다. 그리고 당 단백질 말단은 질병의 원인과 연관되어 있는 세포막의 구조적, 기능적 특성도 보고된 바 있으며, 조직세포 사이로 전이

되는 종양세포에 있어서도 막 표면의 특이성이 확인되고 있어 종양세포의 전이과정이 밝혀지고 있다 (Cooper, 1982; Lehmann et al., 1984; Bresalier et al., 1985; Hakumori, 1985). 또한 생식세포들에 있어서도 이동과 수정에 관여하는 생식세포의 세포막표면의 구조와 기능도 밝혀지고 있다 (Lee et al., 1983; Lee & Damjanov, 1985).

섬유 세포표면의 미세구조는 일반 세포와는 다르게 세포 돌기가 많이 형성된다는 것이 특성으로 나타나며 이들 세포 돌기들은 세포의 배양환경에 따라 민감한 반응을 하며 다양한 세포의 형태로 형성되고 다양한 형태의 섬유다발로 존재하기도 하는 것으로 보고된 바 있다. 또한 돌기들은 고밀도의 actin 섬유망의 망상구조로 이루어져 있으며 세포의 이동시 세포운동에 관여한다고 보고한 바 있다 (Juliet & Nicholas, 1999).

주사전자현미경 관찰에서 섬유 세포의 미세구조는 배양 후 12시간부터 세포 표면에 세포 돌기가 형성되는 것이 관찰되며, 이 세포 돌기는 불규칙한 방사형으로 돌출 되어 세포의 다양한 형태로 관찰되었다. 이들은 섬유세포의 경우 세포의 형태형성에 세포의 돌기가 중요한 역할을 할 것으로 생각되었다. 뿐만 아니라 배양시간이 경과할수록 세포 돌기들이 증척되어 관찰되는 것을 보아 세포돌기들은 다양한 형태의 돌기다발을 이루게 되는 것으로 생각되었다. 또 24시간 배양에서 72시간 배양으로 갈수록 세포 미세융모를 포함하는 세포돌기들이 더 많이 관찰된 것으로 보아 섬유세포 배양시 actin 섬유로 구성된 세포 돌기가 세포질에서 세포표면 쪽으로 확장되어 세포의 부착에 영향을 미칠 것이며, 세포의 이동에도 관여 할 것으로 생각되었다.

섬유세포의 표면은 섬유세포의 세포 돌기의 형성으로 세포의 이동과 세포 돌기에 의한 조직의 주변 세포와 연관 관계를 위한 인식이 중요한 것으로 보고된 바 있다. 세포의 인식에 관여하는 당 단백질 말단은 많은 종류가 있으며 그 중 sialic acid (N-acetylgalactosamine과 N-acetyl neuraminic acid)는 보편적으로 세포 표면에 많은 양이 분포하는 것으로 보고된 바 있다 (Schauer, 1982; Schiffer, 1999). 당단백 말단을 규명하는 데는 lectin을 이용하는데, 최근에는 lectin의 다양한 종류들을 분리하여 세포막 표면의 기

능을 규명하는데 많이 이용하고 있다. Lectin의 종류 중에 GlcNAc와 NeuNAc의 존재를 확인하는 데는 lectin WGA (wheat germ agglutinins)의 반응을 이용하여야 하며, WGA는 Bouchard들(1976)에 의하여 밀의 배아세포에서 분리되었으며, WGA로 인해 세포표면에 sialic acid 즉 GlcNAc와 NeuNAc의 존재가 규명되었다.

본 실험의 주사전자현미경관찰에서 세포 표면에 황금표지 lectin WGA를 반응시키고 관찰한 바 섬유세포의 표면에 황금입자가 표지된 것이 관찰되어 섬유세포의 표면에 많은 양의 lectin WGA 수용체인 당 단백질 말단의 일종인 sialic acid 즉 GlcNAc과 NeuNAc가 존재함을 알 수 있었다. 또한 세포배양 초기보다 세포배양 시간이 경과 될수록 섬유세포 표면에 더 높은 밀도의 황금입자 표지 lectin WGA가 반응되어 황금입자의 표지가 관찰되는 것으로 보아 세포배양 시간이 경과 될수록 세포 표면에 lectin WGA 수용체가 더 많이 생성되어 세포의 이동과 증식 그리고 세포막의 물질 인식에 관여하는 기능적 역할이 증가하는 것으로 생각되었다.

섬유세포의 세포표면에 당 단백질 말단의 분자 구조물로 lectin WGA 수용체인 GlcNAc (N-acetylgalactosamine)과 NeuNAc (N-acetyl neuraminic acid)는 세포 인식과 세포의 물질대사 등 섬유세포의 다양한 기능에 관여하고 많은 양이 분포하고 있는 것으로 알려져 있으나 (Schauer, 1982) 이들 물질의 세포 내에서 생성과정과 분비과정에 관한 보고는 불분명하였다.

섬유세포에 황금표지 lectin WGA를 반응시키고 투과전자현미경으로 관찰한 바 섬유세포의 배양 초기에는 lectin WGA 황금 입자가 세포질의 조면소포체 부근에서 관찰되어 세포질의 액포를 형성하고 있는 것으로 관찰되었으며, 세포배양시간이 경과된 세포에서는 세포질의 lectin WGA 수용체를 포함하는 액포들이 세포의 표면 쪽으로 이동된 것으로 관찰되었다. 세포표면으로 이동된 액포들은 세포 외로 액포의 함유물인 lectin WGA 수용체를 분비하고 있는 것으로 관찰되었다. 섬유세포의 배양시간이 경과 될수록 세포표면의 세포돌기들에 lectin WGA 수용체는 증가하는 것이 관찰되었다. 따라서 섬유세포의 경우 lectin

WGA 수용체는 섬유세포의 세포배양초기에 세포질의 조면소포체에서 형성되어 조면소포체의 내강이 lectin WGA 수용체의 양적 축적으로 팽대하여 액포를 형성하고 lectin WGA 수용체를 포함하는 액포들은 일정 시간이 경과되면 세포표면으로 이동되어 세포 외로 분비되는 것으로 생각되었다. 세포 외로 분비된 lectin WGA 수용체들은 세포의 배양시간이 경과 될수록 그 양이 증가하게 되고 증가된 lectin WGA 수용체들은 섬유세포의 표면에 다양하게 분포하는 것으로 생각되었다.

이상의 결과로 섬유세포의 표면에 미세구조적 특성은 세포의 분화 정도와 세포의 부위에 따라 다양한 형태를 형성하며, 세포의 배양시간에 따라 정도의 차이는 있으나 일반적인 미세용모의 분포와 세포질 돌기의 분화는 세포의 주위 환경에 따라 다양한 형태로 분화하는 특성이 있는 것으로 생각되었다.

섬유세포의 세포표면에 분포하는 당 단백질 말단의 일종으로 섬유세포의 이동과 세포인식에 관여하는 lectin WGA 수용체인 sialic acid (GlcNAc; N-acetylgalactosamine, NeuNAc; N-acetyl neuraminic acid)는 세포질의 조면소포체에서 생성되어 액포상태로 이동되어 섬유세포의 외로 분비되고 분비된 sialic acid는 세포의 표면과 돌기의 표면에 당 단백질 말단으로 분화하여 섬유세포의 이동과 세포인식 등의 세포기능에 관여하는 것으로 사료된다.

## 참 고 문 헌

- Barondes SH: Soluble lectins: a new class of extracellular proteins. *Science* 223: 1259, 1984.
- Bresalier RS, Boland CR, Kim SY: Regional differences in normal and cancer associated glycoconjugates of the human colon. *J Natl Cancer Inst* 75: 249, 1985.
- Brighton CT, Pollack SR: Scientific basis for clinical applications of electric fields in soft-tissue repair. *Electromagnetics in Biology and Medicine* 275-290, 1991.
- Cooper HS: Peanut lectin-binding sites in large bowel carcinoma. *Lab Invest* 47: 383, 1982.
- Damjanov I: Biology of disease: Lectin cytochemistry and histochemistry. *Lab Invest* 57(1): 5-20, 1987.
- Fern T: Demonstration by monoclonal antibodies that carbo-

- hydrates structures of glycoproteins and glycolipids are onco-developmental antigens. *Nature* 314 : 53, 1985.
- Fujino T, Ishii HY: Lectin receptors in the gut epithelium of *Schistosoma japonicum* and *Paragonimus ohirai*. *Jpn J Parasitol* 39(5) : 455-461, 1990.
- Hakomori SI: Aberrant glycosylation in cancer cell membranes as focuses on glycolipids: overview and perspectives. *Cancer Res* 45 : 2405, 1985.
- 김수진, 남현우, 이준상, 주경환: 폐흡충 성충에 있어서 lectin (WGA) 수용체 분포. *한국전자현미경학회지* 30(1) : 87-95, 2000.
- Juliet D, Nicholas L: Effects of Antimetabolite induced cellular growth arrest on Fibroblast-Fibroblast interactions. *Eye Res* 69 : 117-127, 1999.
- Lee MC, Damjanov I: Lectin binding on human sperm and spermatogenic cells. *Anat Rec* 212-282, 1985.
- Lee MC, Wu TC, Wan YC, Damjanov I: Pregnancy related changes in the mouse oviduct and uterus revealed by differential binding of fluoresceinated lectins. *Histochemistry* 86 : 269, 1983.
- Lehmann TP, Cooper HS, Mulholland SG: Peanut lectin binding sites in transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Cancer.*, 53 : 272, 1984.
- Murrell KD: Relationship of extrinsic polysaccharides to the tegument glycocalyx of cestodes. *J Parasitol* 60 : 374-375, 1974.
- Roth J: Light and electron microscopic localization of glycoconjugates with gold-labelled reagents. *Scanning Microscopy* 1 : 695-704, 1987.
- Roth J, Taatjes DJ: Glycocalyx heterogeneity of rat kidney urinary tubule; Demonstration with a lectin-gold technique specific for sialic acid. *Eur J Cell Biol* 39 : 449-457, 1985.
- Schauer R: Chemistry, metabolism, and biological functions of sialic acid. *Adv Carbohyd Chem Biochem* 40 : 131-234, 1982.
- Schffer CG: Suppression of transforming growth factor-beta isoforms, TGF-B receptor type II, and myofibroblast differentiation in cultured human corneal and limbal fibroblasts. *Amniotic Membrane Matrix. Cellular Physiology* 79 : 325-335, 1999.
- Schmidt J: Expression of glycoconjugates on normally developing and immunologically impaired *Hymenolepis dimiota*. *Parasitol Res* 75 : 155-161, 1988.
- Simpson AJG, Smithers SR: Characterization of the exposed carbohydrates on the surface membrane of adult *Schistosoma mansoni* by analysis of lectin binding. *Parasitol* 81 : 1-15, 1980.
- Wilson RA, Barnes PE: The formation and turnover of the membranocalyx on the tegument of *Schistosoma mansoni*. *Parasitol* 74 : 61-71, 1977.

### < 국문초록 >

섬유아세포 표면의 미세구조적 특성과 세포표면에 존재하는 당 단백질 말단 GlcNAc (N-acetylglucosamine) 와 NeuNAc (N-acetylneuraminic acid)는 섬유세포의 이동과 세포의 인식에 중요한 역할을 하는 것으로 알려졌다. 따라서 섬유세포의 미세구조적 특성을 전자현미경을 사용하여 관찰하였으며, 당 단백질 말단 GlcNAc와 NeuNAc의 분포를 확인하기 위하여 WGA 황금입자 복합체를 반응시켜 전자현미경으로 관찰하였다.

그 결과 배양섬유세포의 표면에 미세구조적 특성은 세포의 분화 정도와 세포의 부위에 따라 다양한 형태를 형성하며, 세포의 배양시간에 따라 정도의 차이는 있으나 일반적인 미세용모의 분포와 세포질 돌기의 분화는 세포의 주위 환경에 따라 다양한 형태로 분화하는 특성이 있는 것으로 확인되었다.

섬유세포의 세포표면에 분포하는 당 단백질 말단의 일종으로 섬유세포의 이동과 세포인식에 관여하는 lectin WGA 수용체인 sialic acid (GlcNAc; N-acetylgalactosamine, NeuNAc; N-acetyl neuraminic acid)는 세포질의 조면소포체에서 생성되어 액포상태로 이동되어 섬유세포의 외로 분비되고 분비된 sialic acid는 세포의 표면과 돌기의 표면에 당 단백질 말단으로 분화하여 섬유세포의 이동과 세포인식 등의 섬유세포 기능에 관여하는 것으로 규명되었다.

### FIGURE LEGENDS

- Fig. 1.** The cell surface of cultured fibroblast which was developed cytoplasmic process. Bar = 1  $\mu\text{m}$  ( $\times 42,000$ )
- Fig. 2.** The morphology of cultured fibroblast which was reacted with lectin WGA gold complex. Gold particles were labeled on the cell surface. Bar = 10  $\mu\text{m}$  ( $\times 1,200$ )
- Fig. 3.** The cell surface of cultured fibroblast which was reacted with lectin WGA gold complex. Gold particles were slightly labeled on the cell surface. Bar = 1  $\mu\text{m}$  ( $\times 42,000$ )
- Fig. 4.** The cell surface of cultured fibroblast which was reacted with lectin WGA gold complex. Gold particles were specifically labeled on the cell surface. Bar = 1  $\mu\text{m}$  ( $\times 42,000$ )
- Fig. 5.** The cytoplasm of cultured fibroblast which was reacted with lectin WGA gold complex. The rough endoplasmic reticulum (RER) were developed in the cytoplasm. Gold particles were specifically labeled in the cytoplasmic vesicle (arrow head). Bar = 1  $\mu\text{m}$  ( $\times 30,000$ )
- Fig. 6.** The cytoplasm of cultured fibroblast which was reacted with lectin WGA gold complex. The swelling rough endoplasmic reticulum (RER) were observed in the cytoplasm. Gold particles were specifically labeled in the exocytosis cytoplasmic vesicle (arrow head). Bar = 1  $\mu\text{m}$  ( $\times 30,000$ )
- Fig. 7.** The cytoplasm of cultured fibroblast which was reacted with lectin WGA gold complex. The microvilli were observed in the cell surface. Gold particles were specifically labeled on the microvilli and exocytosis cytoplasmic vesicle (arrow head). Bar = 1  $\mu\text{m}$  ( $\times 30,000$ )





