

제주땃쥐 (*Crocidura dsinezumi*)의 정자변태

정승돈, 이정훈*, 오홍식¹, 김상식²

경남대학교 자연과학대학 자연과학부

¹제주대학교 과학교육과, ²부산대학교 대학병원 전자현미경실

Spermiogenesis in the *Crocidura dsinezumi*

Seung-Don Jeong, Jung-Hun Lee*, Hong-Shik Oh¹ and Sang-Sik Kim²

Division of Natural Science, College of Natural Sciences, Kyungnam University,

Kyungnam 631-701, Korea

¹Department of Science Education, Cheju National University, 66 Jejudaehakno,

Jeju-Si, Jeju Special Self-Governing Province 690-756, Korea

²Electron Microscopy Facility, Department of Ophthalmology, Pusan National University Hospital,

10, Ami-Dong 1, Seo-Gu, Busan 602-739, Korea

(Received July 30, 2007; Accepted September 5, 2007)

ABSTRACT

Spermiogenesis in Japanese white-toothed shrew, *Crocidura dsinezumi* was investigated by transmission electron microscope. Spermiogenesis was divided into 12 phases 14 steps, based on the morphological features of the nucleus and change of organelles in cytoplasm. The nucleus of spermatids in Golgi (step 1~2) phase were spherical; however, they were changed into oval in the cap (step 3~6) phase. Flagellum appeared in the middle of acrosomal phase; on the other hand, slender and long spermatid head was formed in maturation phase. The head of spermatids faced the lumen in step 1 to step 6 (from Golgi to cap phase), but, in step 7 to step 14 (from acrosomal to spermiation phase), it turned its head to the basal lamina of the seminiferous epithelium. The nucleus and acrosome were elongated maximally in step 10. The condensation of chromatin started in late acrosomal (step 10) phase, and it was completely finished and homogenized in the middle of maturation (step 12) phase. Multivesicular body appeared near the acrosomal vacuole during the middle cap (step 5) phase, and a large number of them were observed near the Golgi apparatus in the late cap (step 6) phase. Considering all the results, the spermiogenesis might be useful information to analyse the differentiation of spermatogenic cells.

Keywords : Spermiogenesis, Shrew, *Crocidura dsinezumi*

* Correspondence should be addressed to Jung-Hun Lee, Division of Natural Science, College of Natural Sciences, Kyungnam University, Kyungnam 631-701, Korea. Ph.: (055) 249-2243, FAX: (055) 244-6605, E-mail: jhlee@kyungnam.ac.kr

서 론

포유동물의 정소에서는 생식세포가 구형의 정자세포로부터 고도로 분화된 정자로 발달하는데(Toshimori et al., 1992), 이러한 정자변태과정은 5기(phase)로 크게 나누어진다.(1) 2차 감수분열 결과 생성된 반수체(n) 정자세포는 골지체 주변에 첨체물질을 저장한 첨체전 소포들(proacrosomal vesicles)과 첨체소포(acrosomal vesicle)를 형성하는 시기인 골지기(Golgi phase), (2) 첨체소포와 핵막이 결합하여 모자 모양의 첨체포(acrosomal vacuole)를 형성하는 시기인 두모기(cap phase), (3) 첨체포는 농후한 첨체과립으로 구성된 첨체로 변하며, 세르톨리 세포(Sertoli cell)에 의해 첨체는 신장되고 핵의 염색질은 응축되는 시기인 첨체기(acrosomal phase), (4) 핵내의 염색질이 완전히 응축되고, 미토콘드리아가 축사를 중심으로 정렬하여 나선상 덮개(sheath)를 형성하는 시기인 성숙기(maturation phase)에 도달한다(Leblond & Clermont, 1952). (5) 이후 대부분의 세포질은 떨어져나가고 일부의 세포질 소적(cytoplasmic droplet)만 매달고 세르톨리 세포의 세포질로부터 내강으로 빠져나오는 시기인 이탈기(spermiation phase)에 이른다(Lee et al., 1992). 이처럼 정자세포의 분화단계는 형태적 생화학적인 많은 극적 변화를 포함한 뿐만 아니라 이러한 정자변태 단계를 통하여 세정관 상피주기를 분석하는데 기초자료를 제공해 준다(Lin et al., 1997).

포유동물에 있어서, 정자변태의 각 단계 구분은 정자세포의 첨체형성과 변화에 근거한 방법(Kurohmaru et al., 1988; Patil & Saidapur, 1991; Morigaki et al., 2001)과 정자세포의 핵과 세포질 소기관의 변화 그리고 정자세포가 세르톨리 세포의 세포질로부터 이탈되기까지의 세포의 형태적 특징을 근거한 방법이 있다(Tait & Johnson, 1982; Garcia-Gil et al., 2002). 본 연구에서는 이들 2가지 방법을 토대로 하여 정자변태의 각 단계를 알아보고자 한다.

한편, 설치류와 식충류의 정자변태에 대해서는 유럽뒤쥐(*Sorex araneus*; Plöen et al., 1979), 일본산 왓타세땃쥐(*Crocidura watasei*; Yasumoto et al., 1992), 사향땃쥐(*Suncus murinus*; Kurohmaru et al., 1994), 쇠쥐

(*Sorex minutus gracillimus*; Heo & Lee, 2001), 한국산 등줄쥐(*Apodemus agrarius coreae*; Son & Lee, 1995), 흰넓적다리붉은쥐(*Apodemus spesiosus peninsulae*; Lee, 1996), 대륙발쥐(*Clethrionomys rufocaninus regulus*; Son & Lee, 1996), 다람쥐(*Tamias sibiricus*; Jung et al., 2004) 등이 보고되어 있으나 제주땃쥐(*Crocidura dsinezumi*)의 정자변태에 관해서는 아직까지 연구된 바가 없다. 따라서 본 연구는 제주땃쥐의 정자세포의 발달단계를 통하여 세포분화의 단계별 특성을 알아보고 이와 근연관계에 있는 설치류나 식충류에 속하는 종들과의 차이점을 밝히고자 한다.

재료 및 방법

본 연구 재료는 성성숙기인 4월(2004년 4월 30일: 수컷 3개체)에 제주특별자치도 서귀포시 남원읍 위미리 종남천에서, 7월(2004년 7월 31일: 수컷 2개체)에 남원읍 태홍리 하천 부근에서 Sherman 트랩으로 각각 채집하여 사용하였다. 이들 재료는 채집 즉시 제주대학교 동물학 실험실로 운반하여 ethyl ether로 마취시킨 후 각 개체의 정소조직을 적출하였다. 적출한 정소는 얼음으로 채워진 보온병 속의 밀폐된 작은 용기에 들어있는 3%-glutaraldehyde (4°C, pH 7.4, Millonig's buffer) 용액에 담가 고정한 상태로 경남대 실험실로 운반하였다. 이들 정소조직들은 백막을 제거한 후 약 1~1.5mm³ 두께로 세절한 다음 다시 3%-glutaraldehyde (4°C, pH 7.4, Millonig's buffer) 용액에 2시간 정도 전고정 하였다. 전고정이 끝난 조직편들은 동일한 완충액(4°C, pH 7.4, Millonig's buffer)으로 3회 세척하였다. 세척 후 1.33%-OsO₄ (pH 7.4, Millonig's buffer)으로 2시간 후고정 하였다. 고정이 끝난 조직은 동일한 완충액으로 다시 세척한 다음 acetone 농도 상승 순(60~100%)으로 탈수하였고, 탈수가 끝난 조직은 Epon 812 혼합액으로 포매하였다. 포매가 끝난 조직을 ultramicrotome을 사용하여 400 nm로 연속절편을 얻어 0.5%-toluidine blue로 염색한 후 광학현미경으로 세정관 정상피 분화단계 중에서 정자세포의 분화 단계를 관찰한 다음, 60~90 nm의 초박절편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate 용액으로 이중 전자염색

후 투과형 전자현미경(TEM, H-600, Hitachi)으로 관찰하였다.

결 과

제주땃쥐의 정자변태 과정은 핵의 형태적 특징과 세포질내 소기관의 변화에 기초하여 전 과정을 12기(phase) 14 단(step)으로 구분되었다. 즉, 골지기는 전기(1 단)와 후기(2 단)로, 두모기는 전기(3 단) 중기(4~5 단) 후기(6 단)로, 첨체기 역시, 전기(7 단) 중기(8~9 단) 후기(10 단)로, 성숙기는 전기(11 단) 중기(12 단) 후기(13 단)로, 이탈기(14 단)는 1기로 구분하였다(Figs. 1~14).

1. 골지단계 (Golgi phase)

1 단 (Step 1)

골지 전기(early Golgi phase)의 정자세포의 핵은 구형의 형태를 취하고 있으며, 핵의 상면에는 과립을 포함한 첨체전 소포(proacrosomal vesicle)가 여러 개가 원형을 이루는 골지복합체(Golgi complex)에 둘러싸여 있었고, 세포질내에는 다수의 미토콘드리아들이 산재해 있었다. 핵내에는 염색질과립(chromatin granule)이 고르게 분산되어져 있었다(Fig. 1).

2 단 (Step 2)

골지 후기(late Golgi phase)의 정자세포의 핵 역시 구형이었으며, 핵 상면에 위치한 크고 작은 첨체전 소포가 서로 융합하여 첨체소포(acrosomal vesicle)를 형성하고 있었으며, 핵막의 일부와 결합되어 있었다(Fig. 2, arrows). 첨체전 소포는 계속해서 첨체소포와 융합하고 있었고, 첨체소포는 과립들로 충만해 있었다. 세포질에는 여전히 팽창된 시스터너를 가진 미토콘드리아가 흩어져 있었으며, 핵내에는 여전히 염색질과립이 고르게 분포하였다(Fig. 2).

2. 두모단계 (cap phase)

3 단 (Step 3)

두모 전기(early cap phase)에는 핵막과 결합된 첨체소포가 마치 모자 모양의 첨체포(acrosomal vacuole)

를 형성하고 있었다. 골지체는 첨체포 가까이 이동하였고, 팽창된 시스터너를 가진 미토콘드리아와 소포체가 첨체포 주변에 흩어져 있었다. 첨체포는 핵의 약 1/6~1/7 정도를 점유하고 있었으며(Fig. 3, arrows), 핵내의 염색질과립은 불규칙하게 흩어진 모습을 나타내었다(Fig. 3).

4 단 (Step 4)

두모 중기(middle cap phase)의 첨체포는 핵막의 1/5 정도와 결합되어 있었다(Fig. 4, arrow). 첨체포의 모습은 옆으로 펼쳐진 모습이었고, 새로운 첨체소포가 첨체포와 융합되기 직전의 모습을 하고 있었다. 첨체포내에는 구형의 작은 첨체과립(acrosomal granule)이 형성되기 시작하였다. 첨체포 아주 가까이에는 여전히 골지체가 발달해 있었으며 미토콘드리아가 흩어져 있었다. 핵질에는 염색질과립이 대체로 고르게 흩어져 있었고 인(nucleolus)이 나타났다. 인은 인사(nucleolonema)와 무정형부(pars amorphia)로 뚜렷이 구분되어 있었다(Fig. 4).

5 단 (Step 5)

좀 더 진행된 두모 중기에는 첨체포 가까이에 골지체를 비롯하여 소포체와 미토콘드리아도 다수 관찰되었으며, 다포체(multivesicular body)가 골지체 가까이 나타났다. 첨체포는 과립을 가진 첨체전 소포와 계속해서 융합되었으며, 그 결과 첨체포내의 과립은 전 단계보다 농후해지고 구형의 첨체과립이 첨체포 중앙에 자리 잡았으며, 핵막과 결합한 첨체포막은 길어져서 핵막의 1/3정도와 결합하고 있었다(Fig. 5, arrow). 핵내에는 염색질과립이 고르게 분포하였다(Fig. 5).

6 단 (Step 6)

두모 후기(late cap phase)의 첨체포는 핵막의 1/2 정도와 결합하였다(Fig. 6, arrow). 첨체포내의 농후한 첨체과립은 반구형(hemisphere)을 하고 있었고, 연한 농도의 주변과립과 구분되었다. 첨체포 주변에는 골지체와 소포체가 여전히 존재하고 있었다. 아래쪽 핵막은 다소 불록한 형태로 꼬리와의 결합부위를 나타내고 있었으며, 핵내의 염색질과립이 불규칙하게 흩어져 있었다(Fig. 6).

3. 첨체단계 (Acrosomal phase)

7 단 (Step 7)

첨체 전기 (early acrosomal phase)에는 첨체포내의 과립은 완전히 응축되어 부피가 줄어든 첨체(acrosome)를 형성하였다. 이 시기부터 정자두부의 방향은 세정관의 기저막을 향하고 있었다. 첨체 주변에는 극 소수의 골지체, 소포체 및 미토콘드리아들이 존재하고 있었다. 핵질은 앞 단계와 큰 차이를 보이지는 않았다 (Fig. 7).

8 단 (Step 8)

첨체 중기 (middle acrosomal phase)에는 첨체가 기저막쪽으로 돌출되었으며, 세르톨리 세포 (Sertoli cell)의 원형질막과 첨체외막이 아주 가까이 접촉하고 있었다. 따라서 정자세포의 세포질은 핵 후방부로 이동하게 되었고, 세포질에는 발달한 꼬리의 축사(axoneme)가 선명하게 드러나 보였다 (Fig. 8).

9 단 (Step 9)

좀 더 진행된 첨체 중기에는 정자세포를 에워싸고 있는 세르톨리 세포의 세포질에는 다수의 미토콘드리아를 확인할 수 있었다. 첨체는 더욱 길어졌다. 핵의 전방부는 끝이 뾰족한 원뿔모양을 하였는데 이를 첨체가 싸고 있는 형상으로 변했다. 이 시기에는 만세트 (manchette)가 출현하여 핵을 길게 신장시켰으며, 정자세포의 세포질을 끌어내리면서 핵륜 (perinuclear ring)을 형성하였다. 핵의 후방부는 원통 모양을 하였다. 핵질은 전체적으로 염색질 과립이 고르게 퍼진 모습을 하고 있었다 (Fig. 9).

10 단 (Step 10)

첨체 후기 (late acrosomal phase)에는 정자세포의 머리를 에워싸고 있는 세르톨리 세포의 활동으로 인해 첨체는 최대로 신장되었고, 만세트가 길게 신장되어 핵이 최대로 신장되어졌다. 핵질은 염색질 과립이 핵의 가장자리에서부터 응축되는 모습을 보여주었고, 그로 인해 핵의 부피는 크게 줄어들었다 (Fig. 10).

4. 성숙단계 (Maturation phase)

11 단 (Step 11)

성숙 전기 (early maturation phase)에는 핵내의 염색

질 과립이 거의 응축되어 졌으며, 첨체의 길이는 짧아졌다. 핵륜은 기저막까지 이동하였으며, 첨체 아래쪽은 후 첨체 덮개 (postacrosomal sheath)로 덮여있었다. 첨체내막과 핵막사이에 첨체하부 공간 (subacrosomal space)이 형성되기 시작하였다 (Fig. 11).

12 단 (Step 12)

성숙 중기 (middle maturation phase)에서는 핵내의 염색질 과립이 완전히 응축되고 균질화 되었다. 정자세포 세포질의 양이 줄어들었으며, 기부중심체 (proximal centriole), 결절 (connecting piece), 외측농후섬유 (outer dense fibers) 및 축사 (axoneme)를 뚜렷하게 구분하여 관찰할 수 있었다 (Fig. 12).

13 단 (Step 13)

성숙 후기 (late maturation phase)에는 첨체하부공간이 완전한 모습을 갖추었으며, 잔여핵막 (redundant of nuclear envelope)이 기저부에서 뚜렷하게 관찰되었다. 정자세포의 세포질은 급격히 줄어들었고, 잉여체 (residual body)로 떨어져 나갈 세포질의 일부는 정자세포머리 주변으로 이어져 있었다. 꼬리의 중편부에는 작은 크기의 미토콘드리아로 이루어진 미토콘드리아 덮개 (mitochondria sheath)가 뚜렷하게 완전한 모습을 드러내었다. 정자세포 머리 주변의 원형질막은 군데군데 끊어져 불연속적으로 이어져 있었으며, 마치 세르톨리 세포 세포질의 통 속에 정자세포의 머리가 박혀있는 형상이었다 (Fig. 13).

5. 이탈단계 (Spermiation phase)

14 단 (Step 14)

이탈기 (spermiation phase)에서는 첨체와 핵의 염색농도가 뚜렷한 차이를 보였다. 세르톨리 세포로부터 이탈 직전의 정자세포를 포함하여, 이탈된 다수의 정자들과 일부 정자들은 경부와 중편부에 세포질 소적 (cytoplasmic droplet)을 달고 있었다 (Fig. 15).

고 찰

포유동물은 진화된 진수류와 원시적인 부류인 유대

류와 단공류로 나누어지는데, 진수류에 속하는 식충목은 음낭이 복강에 존재하는 등의 원시적 특징을 지닌 가장 원시적인 포유동물의 하나이다(Hattori et al., 1986).

정자변태 과정 중 유대류의 캥거루(바위왈라비, 타마왈라비)와 단공류의 오리너구리는 골지단계에서 얇고 농후한 물질의 띠가 첨체포의 내막에 약간 존재하나 첨체과립을 형성하지는 않지만(Kim et al., 1987; Lin et al., 1997), 제주땃쥐는 첨체포 안에 첨체과립을 포함하고 있는 것으로 나타났다.

정자세포의 핵의 형태변화에 있어서, 초기 골지단계에서 두모단계까지는 유대류의 핵은 구형을 유지하고 있으나(Kim et al., 1987; Lin et al., 1997; Heo & Lee, 2001), 단공류의 핵은 긴 원통모양을 하고 있는데(Lin & Jones, 2000) 이러한 모습은 포유류 보다 오히려 양서강 무미류에 속하는 몇몇의 종(Kwon & Lee, 1995; Lee & Park, 2005)과 조류와 흡사하다(Góes & Dolder, 2002). 본 연구에서는 골지단계에서는 구형의 정자핵을, 두모단계에서는 타원형의 정자핵을 유지하고 있다가, 첨체초기에 정자핵은 서서히 형태변화를 나타내었다. 핵과 첨체의 최대 신장 시기에 있어서, 왓타세땃쥐는 8 단에서(Adachi et al., 1992), 정자핵이 최대로 신장된 반면에 본 연구에서는 첨체후기(10 단)에는 최대로 신장되었으며, 성숙전기에는 축소되었다. 정자변태 과정 중에 정자세포의 핵이 일정하게 방향성을 유지하게 되는데, 본 연구에서는 정자세포의 두부방향은 1 단에서 6 단까지는 내강을 향하고 있었으며, 7 단부터 13 단까지는 세정관 상피의 기저막쪽으로 향하고 있었다.

첨체기 동안에는 제주땃쥐의 첨체는 점점 길게 둘출됨과 동시에, 핵의 측면부를 2/3 이상 얇게 감싸며, 동시에 핵은 점점 길어지면서 염색질이 응축되어지는 데 반해, 유대류의 첨체는 좁은 모자 모양이며 핵의 1/3만 덮으며, 첨체내의 투명한 소포는 골이어 넓은 첨체하부공간으로 발달한다(Lin et al., 1997). 핵은 길게 발달하지 않으며, 정자세포의 모습은 T자형이다(Kim et al., 1987). 성숙기 및 이탈 시기에 유대류는 성숙후기 단계에서 정자세포가 유선형으로 변한 후 T자 모양으로 돌아온다(Lin et al., 1997). 두부의 등면에 비대칭적으로 위치하는 첨체는 국자 모양이며, 사출 이

후에는 압축된 버튼 모양으로 바뀐다. 꼬리는 핵의 중앙 배면에 있는 구멍속으로 삽입되는데 이것은 배면과 평행한 진수류와는 달리 90°이다(Kim et al., 1987; Lin et al., 1997). 단공류의 첨체는 전방부로 길게 돌출하지 않으므로 작은 뿔의 형상이고 첨체후 덮개는 없으며, 핵은 점점 길어지고 염색질은 응축된다(Lin & Jones, 2000).

단공류에서는 핵이 나선형이며, 핵륜은 조류, 파충류, 유대류처럼 첨체의 측면 가장자리까지만 이동한다. 꼬리 주변부 덮개의 발달은 조류 또는 진수류 포유동물보다 늦게 시작하며, 섬유 덮개의 나선형 정렬이 뒤과 메추라기 및 많은 파충류 정자에서 묘사된 것과 비슷하다(Lin & Jones, 2000).

식충목 첨체과 종들 사이에도 종의 특성상 정자변태과정에서 분명한 차이점이 나타난다. 유럽뒤쥐의 정자변태과정은 크게 8 기로(Plöen et al., 1979). 쇠뒤쥐는 10 기로 구분되었다(Heo & Lee, 2001). 일본산 왓타세땃쥐는 4 기 13 단으로(Yasumoto et al., 1992), 사향땃쥐는 4 기 13 단으로(Kurohmaru et al., 1994), 본 연구에서는 12 기 14 단으로 구분되었다.

첨체형성과 관련하여 볼 때, 본 연구에서는 두모기에 첨체전 소포는 계속되는 융합으로 인해 모자 모양의 첨체포를 형성하고, 그 후에도 계속해서 성장하면서 첨체과립으로 채워지는데, 이런 과정은 두모 중기 이후 당단백질이 많은 첨체과립과 다당류가 풍부한 주변과립 사이에 당과 단백질의 결합을 촉진하는 매개물질이 증가하였거나 또는 당단백질로 이루어진 첨체과립 물질의 직접적인 증가로 인해 첨체 전체를 농후하게 염색시켰을 것이며, 이러한 분비물질의 이송은 골지체와 연결된 다양한 크기의 관 또는 첨체전 소포들과 유극소포의 역할로 사료된다. 이러한 첨체포 및 첨체과립 형성에 대해, Burgos & Fawcett(1955)는 정자세포의 분화에 관한 고양이 연구에서 공포와 첨체전 과립이 합쳐진 결과라고 보고 한 바 있으나, Susi et al.(1971)은 인접한 조면소포체가 탄수화물을 합성하여 작은 유극소포를 통해 골지체로 이송하면, 골지체에서는 당단백질을 합성하여 큰 유극소포를 통해 첨체전 소포와 결합하거나 첨체포와 직접 결합함으로써 첨체포가 성장하는 동안 분비물질의 이송이 계속된다고 보고 하였다. 첨체포의 성장은 골지체가 가까이 결

합되어 있을 때 일어나고, 첨체포 안에서 다른 염색 상태를 보이는 이유에 대해 첨체파립은 단백질이 풍부하고 첨체파립 주변은 다당류가 풍부하기 때문이라고 하였다. Phillips(1974)는 가수분해 효소 성분을 가진 첨체는 막이 있는 구형의 첨체전 과립이 골지체의 오목한 면에 나타나면서 시작된다고 보고 한 바 있다. Tang et al.(1982)과 Clermont & Tang(1985)은 세포화학적 연구와 자기방사법적 연구를 통하여 골지 수조로부터 기원한 이동소포가 초기 정자의 첨체형성에 관여하는 것을 밝혀냈으며, Lee et al.(1992)은 골지체로부터 분비된 물질을 함유한 첨체전소포가 이미 형성된 첨체포와 융합하여 첨체전소포의 과립상 물질이 첨체포 내에서 응축되고 균질화 되어서 첨체를 형성한다고 보고한 바 있다. 그리고 Toshimori et al.(1992)은 첨체물질의 이동경로를 소포체(endoplasmic reticulum)-분비 소포(secretory vesicle)-골지장치(Golgi apparatus)-첨체전 소포(proacrosomal vesicle)-첨체파립(acrosomal granule)으로 이어지는 통로인 골지-첨체 과립로(Golgi-acrosomic granule tract)와 소포체(endoplasmic reticulum)-분비소포(secretory vesicle)-골지장치(Golgi apparatus)-유극소포(coated vesicle)를 거쳐 첨체파립 주변물질로 이어지는 통로인 골지-두모로(Golgi-head cap tract), 그리고 소포체 분비소포가 골지체를 거치지 않고 직접 첨체파립 주변물질로 이어지는 통로인 골지외로(extra-Golgi tract)로 3 가지의 경로로 구분하였다. Son et al.(1994)은 첨체포 주변의 골지체가 점점 첨체포와 연접되어 있는 것으로 보아서는 세포질내에서 이미 합성된 첨체 전구물질이 첨체전소포로 이송되고 첨체전소포로 이송된 전구물질이 첨체포내로 유입된다고 분석한 바 있다. 첨체물질의 이동에 관련하여 정자세포에서는 골지체의 각 수조들이 서로 연결되어 있어 이송소포들(transport vesicles)이 관여하지 않으며(Clermont et al., 1994), 초기의 첨체형성 동안에는 첨체전 소포들이, 그 후에는 유극소포들이 첨체포와 결합하여 물질이 계속 첨가된다 는 연구 결과도 있다(Son et al., 1997). Krstić(1997)은 골지체로부터 전자밀도가 높은 첨체전 과립이 형성되고 이들을 골지체의 수조가 둘러싸게 되면 첨체포와 첨체파립을 형성하며, 첨체전 과립과 소포들이 첨체포와 융합함에 따라 첨체포가 더욱 커지게 되어 핵을

싸게 된다고 하였다. Moreno et al.(2000)은 첨체가 정자의 투명대(zona pellucida) 통과를 가능케 하는 가수분해 효소를 포함한 산성 분비소포라고 하였으며, 첨체 효소는 첨체전소포 내 전자밀도가 높후한 과립에 압축되어 있다고 보고한 바 있다.

다포체가 출현은 본 연구에서 두모 중기(5 단)에 첨체포 가까이에 출현하여 두모 말기(6 단)에 이르러 골지체 가까이에서 관찰되었는데, 다포체의 근원이 되는 물질은 매우 다양하다. 즉 골지체, 소포체 혹은 소포에 의해 형성된 다포체는 주로 소포들이 모인 막으로 나타나고, 미토콘드리아가 참여할 경우 소포에 부정형의 막 구조물이 나타나는 것이 특징이다. 본 연구에서 소포체가 골지체 성숙면 쪽에서 나타나는 것으로 보아 골지체에서 형성되는 것으로 여겨진다. Tang et al.(1982)은 골지체가 다포체의 형성에 기여하며, 다포체는 유염색질 지역에 이동되어 퇴화하기까지 유염색질체(chromatoid body)와 연합하여 남아있다고 하였으나, 유염색질체의 기능은 아직 정확하게 밝혀지지 않았다. Krstić(1979)은 골지체로부터 분리된 소포들이 여러 개가 모여서 다포체를 형성하는데, 아마도 다포체는 정자형성 중의 잔류물을 제거하는 용해소체의 기능을 가질 것으로 추정하였다.

정자꼬리는 초기 정자세포의 단부중심체(distal centriole)가 원형질막 바로 아래 위치하면서 시작되며 핵 후방부로 이주하여 핵막과 연결되면서 꼬리가 성장한다(Phillips, 1974). 유럽뒤쥐는 두모기 동안 형성 중인 꼬리가 핵 표면상에 돌출된 특별한 영역에서 핵과 접촉한다(Plöen et al., 1979). 쇠뒤쥐는 두모 전기에 출현하며(Heo & Lee, 2001), 본 연구에서는 첨체전기(8 단)에 꼬리가 뚜렷이 관찰되었다. 이러한 사실은 꼬리가 핵 후반부의 특정 영역에서 결합한다는 사실을 보여준다.

미세소관의 뮤옴으로 구성된 만세트는 정자의 두부 형성에 중요한 역할을 수행하는데 출현 시기를 비교해보면, 유럽뒤쥐(Plöen et al., 1979), 일본산 왓타세땃쥐(Yasumoto et al., 1992), 사향땃쥐(Kurohmaru et al., 1994) 등은 첨체 초기에서 나타났으며, 쇠뒤쥐(Heo & Lee, 2001)에서는 첨체후기에 나타나기 시작하여 성숙기를 거치면서 핵을 급격히 신장시키는데, 본 연구에서는 첨체중기에 나타나기 시작하여 핵을 급속히 신

장시켰다.

핵륜 형성의 시기에 있어서, 유럽뒤쥐는 첨체전기에 형성되기 시작하였고, 잔여핵막은 첨체후기에 나타났으며(Plöen et al., 1979). 본 연구에서는 첨체중기에 핵륜이 형성되었고, 잔여핵막은 성숙후기에 뚜렷이 관찰되었다.

핵내 염색질의 응축되는 시기를 비교하여 볼 때, 유럽뒤쥐는 첨체중기에 응축된 굽은 섬유사들이 핵질에 나타나며 특히 가장자리 영역에서 뚜렷하게 응축되기 시작하는데, 첨체-성숙기에 거의 완료된다(Plöen et al., 1979). 사향땃쥐는 첨체기(10 단)에 응축이 일어나며(Kurohmaru et al., 1994), 쇠뒤쥐는 첨체전기에서 부드러운 과립상의 염색질이 조금씩 응축되기 시작하여 이탈기에 완전히 응축된다(Heo & Lee, 2001). 제주땃쥐는 첨체후기에 시작되어 성숙 중기에 응축되고 균질화 되었다. 이러한 핵의 응축은 화학적, 구조적인 변화의 결과로서 화학적으로는 초기 정자세포의 리신(lysine)이 풍부한 히스톤이 아르기닌이 풍부한 히스톤 또는 프로타민으로 바뀌면서 응축이 일어나고, RNA 합성은 초기 정자세포에서 일어나지만 핵의 응축과 신장이 시작되자마자 멈춘다(Phillips, 1974). 구조적으로는 응축의 일반적인 패턴은 없으나, 포유동물의 성숙정자에서 납작한 정자 두부 면과 나란하게 쌓이는 염색질 층이 나타난다(Phillips, 1974). 곤충과 양서류에서 정교한 순서로 염색체가 응축되는 증거로서 정자핵의 응축과 신장은 효과적인 운동성을 보장하며(Phillips, 1974), 수정될 때까지 필연적으로 만나게 되는 여러 가지 화학적, 물리적 장애요인으로부터 잘 보호되기 위함이라 여겨진다(Krstić, 1979).

미토콘드리아는 정자변태 초기단계에서 세포질 전반에 걸쳐 분포하고 있었으나 정자변태과정을 거치면서 정자세포의 꼬리쪽으로 옮겨가는 것을 확인할 수 있었는데, 이러한 미토콘드리아의 형성과 재배치는 중편부 구성을 중요한 역할을 한다(Olson & Winfrey, 1990).

정자변태 과정에서 정자세포 주변에 나타나는 세르틀리 세포는 생식세포의 이송에 관여하는데, 즉, 생식세포들은 운동성이 없기 때문에 상피내 모든 세포의 이송은 체세포인 세르틀리 세포에 의해 수행된다(Ekstedt et al., 1986). 이러한 정자세포의 이송 및 정자

세포 첨체의 모양 변화는 세르틀리 세포의 세포질내 미세관들과 섬유들 사이에 존재하는 미토콘드리아가 관여한다(Vogl et al., 1983). 또한, 첨체의 모양 변화는 정자세포 핵과 세르틀리 세포가 나란히 가깝게 밀착되어 외부 힘이 작용하는 것과 첨체내부 효소분자의 압축 등의 내부 힘이 부분적으로 작용하여(Phillips, 1974) 이탈 전에는 내강을 향해 뒤로 밀리게 되는데, 이것은 세르틀리 세포의 액틴 및 미세관들의 활동이 관여한다(Vogl et al., 1983; Ekstedt et al., 1986).

이탈기에 세포질 소적에 존재하는 소포들은 소포체와 골지체의 잔여물이며, 사출 후에 운동성을 유지하기 위한 기능과 부정소를 통과하는 동안 정자의 생존을 제공하기 위한 내재성 물질을 저장한다(Fawcett & Ito, 1965). 세포질 소적을 함유한 정자가 부정소 두부에서 체부로 이행하는 동안 소실된다는 보고(Amann & Almquist, 1962)와 세포질 소적이 정자 경부(목)로부터 꼬리로 이동하여 사출 직전에는 완전히 제거된다는 보고(Fawcett & Ito, 1965)가 있으나, 사정 후의 정자에서도 존재한다는 보고도 있다(Kojima & Ishikawa, 1963). 또한 박쥐(Lee et al., 1992; Lee et al., 1993), 고양이(Son et al., 1994), 등줄쥐(Son & Lee, 1995) 및 본 연구에서도 세정관의 내강과 부정소 미부에서 세포질 소적을 가진 정자들이 다수 관찰되었다. 이러한 부정소 미부에서 관찰되는 세포질 소적을 가진 정자들이 수정능을 확보한 상태인지 이에 대한 세부적인 조사가 요구된다.

참 고 문 헌

- Adachi Y, Kurohmaru M, Hattori S, Hayashi Y: Spermatogenesis in the watase's shrew, *Crocidura watasei* a light electron microscopic study. Jikken Dobutsu 41 : 295-303, 1992.
- Amann RP, Almquist JO: Reproductive capacity of dairy bulls. VII. Morphology of epididymal sperm. J Dairy Sci 45 : 1516-1526, 1962.
- Burgos MH, Fawcett DW: Studies on the fine structure of the mammalian testis. I. Differentiation of the spermatids in the cat (*Felis domestica*). J Biophys Biochem Cytol 1 : 287-315, 1955.
- Clermont Y, Rambour A, Hermo L: Connections between

- the various elements of the cis-and mid-compartments of the Golgi apparatus of early rat spermatids. Anat Rec 240 : 469-480, 1994.
- Clermont Y, Tang XM: Glycoprotein synthesis in the Golgi apparatus of spermatids during spermiogenesis of the rat. Anat Rec 213 : 33-43, 1985.
- Ekstedt E, Söderquist L, Plöen L: Fine structure of spermatogenesis and Sertoli cells (*Epitheliocytus sustentans*) in the bull. Anat Histol Embryol 15 : 23-48, 1986.
- Fawcett DW, Ito S: The fine structure of bat spermatozoa. Am J Anat 116 : 567-610, 1965.
- Garcia-Gil N, Pinart E, Sancho S, Badia E, Bassols J, Kádár E, Briz M, Bonet S: The cycle of the seminiferous epithelium in landrace boars. Animal Reprod Sci 73 : 211-225, 2002.
- Góes RM, Dolder H: Cytological steps during spermiogenesis in the house sparrow (*Passer domesticus*, Linnaeus). Tissue Cell 34: 273-282, 2002.
- Hattori S, Noboru Y, Yamanouchi K: Domestication of the watase's shrew, *Crocidura horsfieldi watasei*, for a laboratory animal. Japan J Exp Med 56 : 75-79, 1986.
- Heo JC, Lee JH: Spermiogenesis in the Saghalien pygmy shrew, *Sorex minutus gracillimus*. Korean J Electron Microscopy 31 : 129-141, 2001.(Korean)
- Jung TD, Lee JH, Kim SS: Spermiogenesis in the Korean squirrel, *Tamias sibiricus*. Korean J Electron Microscopy 34 : 159-170, 2004.(Korean)
- Kim JW, Harding HR, Shorey CD: Electron-microscopic studies on the spermiogenesis and spermatozoa of the allied rock wallaby (*Petrogale assimilis*). Korean J Electron Microscopy 17 : 1-15, 1987.(Korean)
- Kojima Y, Ishikawa T: Etude au microscope électronique de la gouttelette protoplasmique observée dans le spermatozoïde chez les taureaux. Jpn J Vet Res 11: 152-158, 1963.
- Krstić RV: Ultrastructure of the mammalian cell. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, pp 1-125, 1979.
- Kurohmaru M, Kobayashi H, Hattori S, Nishida T, Hayashi Y: Spermatogenesis and ultrastructure of a peculiar acrosomal formation in the musk shrew, *Suncus murinus*. J Anat 185 : 503-509, 1994.
- Kurohmaru M, Tiba T, Nishida N, Hayashi Y: Spermatogenesis and ultrastructural changes of spermatids during spermiogenesis in the cotton rat, *Sigmodon hispidus*. Okajimas Folia Anat Jpn 65 : 203-220, 1988.
- Kwon AS, Lee YH: Comparative spermatology of anurans with special reference to phylogeny. In: Jamieson BGM, Ausio J, justine JL, ed. Advances in spermatozoal phylogeny and taxonomy, pp. 321-332. Mem Mus Natl Hist Nat 1995.
- Leblond CP, Clermont Y: Spermiogenesis of rat, mouse, hamster and guinea pig as revealed by the periodic acid-fuchsin sulfuric acid technique. Am J Anat 90 : 167-215, 1952.
- Lee JH: Spermiogenesis in the Korean manchurian field mouse, *Apodemus spesiosus peninsulae*. Korean J Electron Microscopy 26 : 221-233, 1996. (Korean)
- Lee JH, Choi BJ, Son SW: Spermiogenesis in the Korean greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum korai*. Korean J Electron Microscopy 22 : 97-117, 1992. (Korean)
- Lee JH, Son SW, Mori, Shiraishi S: Studies on the reproductive pattern in the male of Korean greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum korai*. II. Histological changes of cauda epididymis by sperm entrance, storage and disappearance. Korean J Zool 36 : 51-66, 1993. (Korean)
- Lee JH, Park KR: Sperm ultrastructure of *Rana nigromaculata* and *Rana catesbeiana*. Korean J Electron Microscopy 35 : 219-228, 2005. (Korean)
- Lin M, Harman A, Rodger JC: Spermiogenesis and spermiation in a marsupial, the tammar wallaby (*Macropus eugenii*). J Anat 190 : 377-395, 1997.
- Lin M, Jones RC: Spermiogenesis and spermiation in a monotreme mammal, the platypus, *Ornithorhynchus anatinus*. J Anat 196 : 217-232, 2000.
- Moreno RD, Ramalho-Santos J, Chan EKL, Wessel GM, Schatten G: The Golgi apparatus segregates from the lysosomal/acrosomal vesicle during Rhesus spermiogenesis: Structural alterations. Dev Biol 219 : 334-349, 2000.
- Morigaki T, Kurohmaru M, Kanai Y, Mukohyama M, Hondo E, Yamada J, Agungpriyono S, Hayashi Y: Cycle of the seminiferous epithelium in the Java fruit bat (*Pteropus vampyrus*) and the Japanese lesser horseshoe bat (*Rhinolophus cornutus*). J Vet Med Sci 63 : 773-779, 2001.
- Olson GE, Winfrey VP: Mitochondrial-cytoskeleton interactions in the sperm midpiece. J Ultrastruct Biol 103 : 13-22, 1990.
- Patil SB, Saidapur SK: Kinetics of spermatogenesis in the wild squirrel *Funambulus palmarum* (Linnaeus). Acta Anat 141 : 352-363, 1991.

- Phillips DM: Spermiogenesis. Academic Press., New York, pp 16-17, 1974.
- Plöen L, Ekwall H, Afzelius BA: Spermiogenesis and the spermatozoa of the European common shrew (*Sorex araneus* L.). J Ultrastr Res 68 : 149-159, 1979.
- Son SW, Lee JH: Spermiogenesis in the Korean striped field mouse (*Apodemus agrarius coreae*). Korean J Zool 38 : 395-404, 1995.(Korean)
- Son SW, Lee JH: Spermiogenesis in the Korean red-backed vole, *Clethrionomys rufocanus regulus*. Korean J Biomed Lab Sci 2 : 57-69, 1996.(Korean)
- Son SW, Lee JH, Cheon HM: Spermiogenesis in the Korean daubenton's bat (*Myotis daubentonii ussuriensis*). Dev Reprod 1 : 9-24, 1997.(Korean)
- Son SW, Lee JH, Choi BJ, Choi YM: Spermiogenesis in the Korean cat (*Felis domestica*). Korean J Zool 37 : 416-427, 1994.(Korean)
- Susi FR, Leblond CP, Clermont Y: Changes in the Golgi apparatus during spermiogenesis in the rat. Am J Anat 130 : 251-268, 1971.
- Tait AJ, Johnson E: Spermatogenesis in the grey squirrel (*Sciurus carolinensis*) and changes during sexual regression. J Reprod Fert 65 : 53-58, 1982.
- Tang XM, Lalli MF, Clermont Y: A cytochemical study of the Golgi apparatus of the spermatid during spermiogenesis in the rat. Am J Anat 163 : 283-294, 1982.
- Toshimori K, Tanii I, Araki S, Oura C: Characterization of the antigen recognized by a monoclonal antibody MN9: Unique transport pathway to the equatorial segment of sperm head during spermiogenesis. Cell Tissue Res 270 : 459-468, 1992.
- Vogl AW, Lin YC, Dym M, Fawcett DW: Sertoli cells of the golden-mantled ground squirrel (*Spermophilus lateralis*): A model system for the study of shape change. Am J Anat 168 : 83-98, 1983.
- Yasumoto A, Masmichi K, Shosaku H, Yoshihiro H: Spermatogenesis in the watase's shrew, *Crocidura watasei*.-A light and electron microscopic study-. Exp Anim 41 : 295-303, 1992.

<국문초록>

제주땃쥐 (*Crocidura dsinezumi*)의 정자변태과정은 전자현미경에 의해 조사되어졌으며, 이들 정자변태 과정은 핵의 형태적 특징과 세포질내 소기관의 변화에 기초하여 12기, 14단으로 구분되었다. 골지기(1~2단)의 정자세포의 핵은 모두 구형인데 반해 두모기(3~6단)의 정자세포의 핵은 타원형으로 변하였다. 정자꼬리는 첨체중기에서 생성되었으며, 성숙기에는 가늘고 긴 정자두부를 형성하였다. 정자세포의 두부는 1단에서 6단(골지기~두모기)까지는 내강을 향하고 있었으며, 7단부터 14단(첨체기~이탈기)까지는 세정관 상피의 기저막 쪽으로 향하고 있었다. 핵과 첨체는 10단에서 각각 최대로 신장되었다. 염색질은 첨체후기(10단)에 응축되기 시작하여 성숙중기(12단)에 완전히 응축되고 균질화 되어졌다. 다포체의 출현은 두모중기(5단)에 첨체포 가까이에서 다포체가 출현하며 두모 후기(6단)에 이르러 골지체 가까이 다수가 관찰되었다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때, 정자변태과정은 정자형성세포의 분화 단계를 분석하는데 유용한 정보를 제공해 주리라 여겨진다.

FIGURE LEGENDS

Figs. 1-14. The process (14 steps) of spermiogenesis in the *Crocidura dsinezumi* was represented by electron microscopy figures. A, acrosome: F, flagellum: G, Golgi complex: L, lumen: M, mitochondria: N, nucleus: Sc, Sertoli cell.

Fig. 1. Golgi complex (G) over the nucleus arranged in circle. Granule containing proacrosomal vesicles (arrowheads) were distributed all over mature side of the Golgi complex. Mitochondria (M) were scattered in the cytoplasm.

Fig. 2. The proacrosomal vesicles (arrowheads) fused into one acrosomal vesicle. The acrosomal vesicle were combined with the upper nuclear envelope (arrows).

Fig. 3. The acrosomal vacuole combined with nuclear membrane began to cap the nucleus. The acrosomal vacuole was covering about 1/6 or 1/7 of the nucleus surface (arrows).

Fig. 4. The Golgi apparatus was located near the acrosomal vacuole. New one acrosomal vesicle is about to fuse with the acrosomal vacuole. Formation of acrosomal granule (asterisk) began. The acrosomal vacuole was convex lens shape covering part 1/5 of the nucleus surface (arrows).

Fig. 5. The acrosomal granule (asterisk) located in the middle of the acrosomal vacuole increased in volume, and the combination section (arrows) of the acrosomal vacuole and the nuclear envelope occupied about 1/3 of all nuclear surface. Multivesicular body appeared near to the Golgi apparatus.

Fig. 6. The granules around the acrosomal granule condensed more than the previous step. The combination section (arrows) of the acrosomal vesicle and the nuclear envelope occupied about 1/2 of all nuclear surface.

Fig. 7. All of the granules in the acrosomal vacuole changed into electron-dense condensate, so the acrosomal vacuole became acrosome. The spermatid head turned toward the basal lamina.

Fig. 8. The acrosome protruded above the nucleus. Cytoplasmic organelles mitochondria (M), Golgi apparatus (G), endoplasmic reticulum (ER), and so on moved to the back of the nucleus. The acrosome protruded toward the front of nucleus. Note the flagellum was appeared.

Fig. 9. The head of the spermatids lengthened in the Sertoli cell. Numerous mitochondria existed inside the cytoplasm of the Sertoli cell. Manchette was appeared, and the perinuclear ring was formed. The cone shaped acrosome covered the front of the nucleus.

Fig. 10. Chromatin condensed around the periphery of the nucleus. The nucleus and the acrosome elongated maximally.

Fig. 11. The chromatin condensation continued.

Fig. 12. The nuclear chromatin condensed completely and homogenized.

Fig. 13. The mitochondria lined to form a mitochondria sheath.

Fig. 14. Spermatozoa being or were disconnected from the cytoplasm of the Sertoli cell.







