

체외배양시 Stem Cell Factor가 생쥐 정원세포의 감수분열에 미치는 영향

김형준, 임정진, 정형민, 박인평, 차광렬, 윤태기, 이동률
포천중문의과대학교, 차병원 여성의학연구소.

서론

체의 배양 중 호르몬과 여러 성장인자들 (FSH, bFGF, 그리고 LIF 등등)이 세포의 증식과 분화를 조절한다고 보고되어 있다. 성장인자 중 하나인 stem cell factor (SCF)는 막간 글리코단백질으로 *Steel locus*에 존재하며 그 수용체인 *c-kit*과 결합하여 원시생식세포의 이동, 증식, 그리고 세포괴사에 중요한 역할을 한다. 성체포유동물에서 SCF는 서톨리 세포로부터 분비되며 정원세포의 증식을 조절한다고 알려져 있지만, 체외배양시 감수분열에 미치는 영향에 대해서는 아직 잘 알려지지 않았다. 따라서 SCF가 생쥐의 생식세포의 감수분열에 어떤 영향을 주며 체외배양조건 대한 향상을 알아보려고 하였다.

재료 및 방법

첫째, 5, 10, 15, 20일령 그리고 성체 생쥐의 정소를 수확한 후 역전사증폭반응법과 면역조직화학법으로 *c-kit*의 유전자 발현과 발현위치를 알아보았다. 둘째, 5 그리고 10일령의 정소를 수확후 2단계 효소 방법을 통해 분리시키고, 이것을 phytohemagglutinin으로 다시 뭉친 후 calcium alginate로 캡슐화하여 SCF (0~50ng/ml)가 들어있는 변형된 DMEM/F12 배양액과 32°C, 5% CO₂ 조건하에서 1 또는 2주 체외배양하였다. Testis-specific histone protein (TH2B)과 transition protein 1 (TP-1) mRNA의 상대적 발현량을 realtime-PCR을 통해 분석하였다.

결과 및 고찰

역전사증폭반응법을 통해 모든 시기별 정소에서 *c-kit* 수용체 유전자가 발현됨을 확인하였다. 면역조직화학법을 이용하여 *c-kit* 수용체의 발현위치를 알아보았을 때, 5일령에서는 간섭세포만 염색되었지만 10일령의 정원세포에서는 *c-kit* 수용체를 발견할 수 있었으며, 15일령 이후시기에서는 많은 정원세포와 정모세포에서 관찰되었다. 1주 체외배양후, 5 그리고 10일령의 정소세포들에 SCF를 넣지 않은 대조군에 비하여 SCF (10~30 ng/ml)를 넣은 실험군에서 TH2B mRNA 발현량이 높게 나타났으며, TP-1 mRNA의 발현량은 10일령에서만 유의하게 증가하였다. 5일령의 정소세포들을 분리후 캡슐화하여 30 ng/ml SCF를 넣은/넣지 않은 배양액에 1 그리고 2주간 체외배양하였을 때, SCF를 첨가한 배양액의 실험군은 첨가하지 않은 대조군에 비해 TH2B mRNA 발현량이 점차 증가하였다. TP-1 mRNA 발현량은 1주간 체외배양한 대조군과 실험군에서는 변화가 없었지만, 2주간 체외배양후 SCF를 넣지 않은 대조군에 비해 SCF를 넣은 실험군에서 25배나 높게 증가하였다. 위의 결과들을 볼 때, 체외배양시 배양액에 SCF의 시기별 첨가가 정원세포에서 정모세포로 감수분열하는 생식세포의 분화에 효율적으로 기여하리라 사료된다.

This work was supported by grants from the Ministry of Education and Human Resources Development and Serono Korea Inc.