

한국산 대륙밭쥐(*Clethrionomys rufocanus regulus*)의 정자변태

경남대학교 자연과학대학 생물학과

손성원[†] · 이정훈

국문초록: 한국산 대륙밭쥐(*Clethrionomys rufocanus regulus*) 정자변태 과정을 알아보기 위하여 정소내 세정관상피의 세포분화에 따른 형태적 특징들을 기초로 하여 전자현미경으로 관찰한 결과는 다음과 같다. 1. 대륙밭쥐의 정자변태 과정은 골지(Golgi), 두모(cap), 첨체(acrosome), 성숙(maturation) 및 이탈기(spermiation phase)로 구분하였고, 다시 각각 전 후단계로 세분하여 전과정을 10단계로 나누었다. 2. 염색질 변화는 골지후기에서 서서히 응축하여 성숙기에서 균질화되고, 이탈기에서 완전한 핵을 형성하였다. 3. 정자두부는 낫꼴모양을 가지며, 정자꼬리는 골지전기에서 형성되기 시작하여 이탈기에서 완성되었다. 4. 이탈 전 후기의 정자세포의 형태적 특징으로서는, 이탈전기의 정자세포는 3가지 유형으로 구분 되어졌다. (1). 미토콘드리아의 불규칙 배열과 더불어 경부와 중편부에 세포질 소적을 함유한 정자세포(A-type). (2). 미토콘드리아가 축사를 중심으로 완전히 배열되고, 중편부에 세포질 소적을 함유한 정자세포(B-type). (3) 축사를 중심으로 미토콘드리아의 배열 후 경부에만 세포질 소적을 함유한 정자세포(C-type). 그리고 이탈후기의 경우, 정자세포들이 정자두부만 Sertoli cell의 세포질에 싸여져 있거나 또는 Sertoli cell의 세포질로부터 이탈되기 직전의 정자로 구분되었다.

서론

정소내 세정관 정상피 세포가 일련의 연속적인 변화를 거쳐 정자가 되기까지의 과정을 정자형성(spermatogenesis)이라 하고, 정모세포발생(spermatocytogenesis)과 정자변태(spermiogenesis)의 두 단계를 거쳐 완성되어진다. 이러한 일련의 단계적 변화를 Leblond와 Clermont¹⁹⁾가 Periodic acid Schiff Technique으로 염색하여 정자세포 분화단계를 골지, 두모, 첨체 및 성숙기의 4기로 구분하였고, 그 후 처음으로 포유동물의 정자형성 단계의 규칙성이 제시되었다^{3,5,20)}.

이러한 정상피의 주기성은 포유동물에 따라 다소 차이를 보이는데 이는 번식유형과 밀접한 관계가 있으며, 특히 일부 온대산 동면성 박쥐의

경우 세정관 정상피의 분화양상이 다른 포유동물과는 달리 단계적으로 구분되어 나타나는데 이는 교미시기를 적절히 조절함으로써 번식조절을 위한 적응전략인 것으로 시사되었다²¹⁾.

포유류의 정자형성에 관한 연구로서는 사람^{5,7,14,15,17,24)}을 비롯하여 개코원숭이^{1,4)}, 돼지¹²⁾, 고양이^{2,3,30)}, 쥐^{29,32,33,34,35)}, 뒤쥐²⁷⁾, 사향쥐^{16,18,22,26)}, 등줄쥐^{31,37)} 등이 보고되어 있으나 본 종의 정자에 관한 연구는 아직 보고된 바 없다. 특히 본 종은 포유동물로서 해상생활을 하는 고래류를 제외하고는 대개 육상생활을 행하는 포유동물과는 달리 육상과 지하생활을 겸하기 때문에 이들 두 생활의 중간단계를 알아봄으로서 육상과 지하생활만을 행하는 동물과의 상관관계를 규명할 수 있을 것으로 기대된다. 그러므로 본 종의 정자변태 과정을 알아봄으로서 종을 규명하는데 Key word로 이용할 수 있으리라 기대된다.

따라서 본 연구는 한국산 대륙밭쥐(*Clethrionomys rufocanus regulus*)의 정자변태에서 특히 정자꼬리의 생성시기와 아울러 이탈기의 정자의 형태적 특징을 조사하기 위하여 시도하였다.

*논문접수 1996년 3월 5일, 수정재접수 1996년 5월 1일.

*이 논문은 1995년도 경남대학교 학술연구조성비에 의하여 작성된 것임.

[†]별책요청 저자

재료 및 방법

본 실험에 사용된 재료는 경남 지리산에서 채집한 대륙밭쥐(*Clethrionomys rufocanus regulus*) 수컷 4개체로서 ether 마취 후 정소를 적출하여 세절 한 후 3%-glutaraldehyde(4℃, pH 7.4, Milloning's buffer)와 1.33%-OsO₄(4℃, pH 7.4, Milloning's buffer)로 각각 3시간 전고정 및 후고정 하였다. 고정이 끝난 조직들은 동일한 완충액(4℃, pH 7.4, Milloning's buffer)으로 수세한 다음 acetone 농도 상승순서로 탈수하여 Epon 812 혼합액으로 포매하여 굳혔다. 포매가 끝난 조직들은 ultramicrotome(Sorvall, MT-6000)을 이용하여 1μm 두께로 세절한 다음 0.5%-toluidine blue로 염색하여 세포 분화의 각단계를 광학현미경으로 확인하였고, 이어서 60~90nm의 두께로 연속적인 절편을 얻어 uranyl acetate와 lead citrate 용액으로 이중 염색하여 전자현미경(TEM, H-600, Hitachi)으로 관찰하였다.

결 과

대륙밭쥐의 정자변태 과정은 Lablond와 Clermont의 방법¹⁹⁾에 따라 구분한 후, 아울러 Lee 등의 방법²⁰⁾에 따라 이탈기(spermiation phase)를 추가하여 5기로 나누었고, 세포의 미세 구조적 특징을 기초로 하여 골지, 두모, 침체, 성숙 및 이탈기들은 각각 전 후단계로 다시 세분하여 정자변태의 전과정을 10단계로 나누었다(Figs. 1~9).

골지기

① 골지전기

초기 정자세포의 핵은 대개 구형이며, 핵질은 고운 섬유상으로 핵 내부에 골고루 분산되어 있었다. 세포질 내에는 풍부한 미토콘드리아들이 고르게 분산되어 있었고, 침체과립을 함유한 침체소포가 핵 가까이에 존재하고 있으나 아직 핵막과 융합되지 않았다. 특히 세포질내에는 유연색질체(chromatoid body)를 비롯하여 편모(flagellum)가 세포질 밖으로 나와 있었다(Fig. 1).

② 골지후기

핵내에 염색질들이 다소 응축되어 있었으며, 침체과립을 함유한 침체소포가 핵막과 융합하여 약간 함입되어 있었다. 세포질내에는 골지체를

비롯한 미토콘드리아들이 침체소포 주변부에 인접되어 있으며, 유연색질체가 다소 핵의 후반구 쪽으로 이동되어 나타났다(Fig. 2).

두모기

③ 두모전기

핵은 여전히 구형이며, 침체과립을 함유한 침체포는 더욱더 핵을 함입시키고 침체포내의 침체물질(acrosomal substance)은 아직 침체포내에 골고루 분산되지 않았다(Fig. 3).

④ 두모후기

이 시기에는 핵의 표면에 볼록렌즈상의 형태를 취한 침체포(acrosomal vacuole)가 핵의 후반부로 향해 넓게 퍼지고, 침체과립들이 침체포내에서 서서히 응축 되어졌다. 침체포는 핵의 1/2정도를 덮고 있었다. 여전히 골지체는 침체포 주변에 인접되어 있었으며, 미토콘드리아는 핵의 후반부 쪽으로 다소 이동되어 나타났다(Fig. 4).

침체기

⑤ 침체전기

이 시기는 두모기로부터 형성된 침체포내의 침체물질들이 충만하게 내재됨과 아울러 침체를 완전히 형성하였고, 이때 외침체막과 정자두부의 원형질막이 밀착되어 있었다. 볼록렌즈상의 침체는 핵의 1/2정도를 덮고 있었으며, 세포질내의 미토콘드리아들이 완전히 핵의 후반부로 이동되어 나타났다(Fig. 5).

⑥ 침체후기

침체전기로부터 형성된 침체와 핵은 만세트의 출현과 더불어 길게 늘어남과 동시에 세장화 됨으로서 함입부를 형성하였다. 만세트의 결합부위에 핵륜이 보였다(Fig. 6).

성숙기

⑦ 성숙전기

핵을 둘러싼 침체의 침단부가 핵의 앞방향으로 돌출되어 있으며, 핵의 전반부는 완전히 전침체 부분(=전침체역, preacrosomal region)을 형성하였고, 핵륜이 핵의 중앙부위로 이동되어 나타났다. 핵은 최대로 신장되고 세포질의 체적(부피)은 현저하게 감소되어졌다(Fig. 7a).

⑧ 성숙후기

성숙전기와는 달리 침체는 다소 짧아져 평평해 보였으며, 염색질은 더욱더 거칠게 응축되고

균질화 되어졌다(Fig. 7b).

이탈기

⑨ 이탈전기

핵질은 전자밀도가 매우높고 균질한 상태의 완전한 정자의 핵을 형성하고 있었으며, 핵륜은 기저판(basal plate) 가까이 인접되어 나타났다. 특히 이 시기의 정자세포는 3가지 유형으로 구분되어 나타났는데, 미토콘드리아의 불규칙 배열과 더불어 경부와 중편부에 세포질 소적을 함유한 정자세포(Fig. 8a, b(A-type))와 미토콘드리아가 축사를 중심으로 완전히 배열되고, 중편부에 세포질 소적을 함유한 정자세포(Fig. 8b(B-type)) 및 축사를 중심으로 미토콘드리아의 배열 후 경부에만 세포질 소적을 함유한 정자세포(Fig. 8c(C-type))들이 관찰되어졌다.

⑩ 이탈후기

미토콘드리아들은 축사를 중심으로 나선형으로 감겨져 완전한 중편부를 형성할 뿐만 아니라 이 시기에는 이탈전기와는 달리 정자세포들은 정자두부만 Sertoli cell의 세포질에 싸여져 있거나(Fig. 9a, b(small-asterisks), 9c) 혹은 세포질 소적을 남긴채 Sertoli cell의 세포질로부터 분리되어 이탈직전의 완전한 정자의 형태를 갖추고 있었다(Fig. 9b, large-asterisks).

고찰

다수의 포유동물에 있어서의 정자형성 과정은 정소내 세정관 정상피 세포가 일련의 연속적인 변화를 거쳐 정자가 되는 과정으로서 정모세포 발생과 정자변태의 두 단계를 거쳐 완성되어진다^{21,30,31}. 이러한 과정은 포유동물의 종에 따라 다소 차이가 나며, 세정관의 동일한 횡단면내에서도 그 분화양상이 연속적이며, 정소망쪽으로 갈수록 더욱더 성숙한 분화단계를 보여 주는데 이를 정자형성파(spermatogenic wave)라고 한다. 그럼에도 불구하고, 정소망으로부터 멀리 떨어진 세정관이라 하더라도 분화정도의 차이는 있지만 정자가 일단 완성되면 당연히 정소망쪽으로 즉시 이동하고, 마침내 정소상체로 이동하여 미부에 저장되기 때문에, 정소망에서 멀리 떨어진 세정관들내의 완성된 정자들은 미부에 저장되어져 있거나 또는 분열이 늦은 정자들도 이미 정소망에 도달되어 있을 가능성을 제시하였다³¹. 따라

서 정소망에 가까이 위치한 세정관들의 내강내의 정자들은 완전히 그들 자신이 완성시킨 정자들이라고 볼 수 없으며, 정소망으로부터 멀리 떨어진 세정관들의 내강내의 정자들도 포함되어 있으므로 정자형성파라는 개념은 다소 고려되어져야 한다고 생각된다.

정자변태 과정중의 중요한 세포의 형태학적 변화로서는 세포내 골지체(Golgi complex)와 침체소포(acrosomal vesicle)의 위치 및 이동, 침체과립(acrosomal granule)들의 형태와 형성시기, 침체(acrosome), 염색질의 변화, 핵륜의 형성과 이동, 만세트(mancette)의 출현과 이에 따른 핵의 변화, 미토콘드리아의 배열 및 정자꼬리의 생성과 완료시기 등을 들 수가 있다.

정자변태과정 중에서 골지 복합체는 침체의 초기형성에 기여하는데³⁰, 정자세포 주변부에서의 골지체는 cortex(뚜렷한 소낭 또는 관상구조 및 소포로 구성)와 medulla(느슨한 소포망과 관상소포 구조로 구성)로 된 정밀한 세포소기관으로서⁸ 침체형성에 많은 효소들이 골지체로 들어가기 때문에 골지체의 기능은 정자세포 분화단계를 파악하는데 매우 중요하다³².

골지체와 침체형성 사이의 관련성은 MC41 항체^{33,34}와 MN9 항체³⁰를 사용하여 반응한 결과, 물질의 이동경로는 침체로의 물질이동에 골지체가 관여한다는 "Golgi tract"와 골지체의 관여없이 물질이동이 일어나는 "Extra-Golgi tract"로 구분하였고, "Golgi tract"을 "Golgi-acrosomic granule tract"와 "Golgi-head cap tract"으로 세분한 후 전체의 물질 이동경로를 3가지로 나누어 물질에 따라서 각각 다른 경로를 거친다³⁰. 또한, 침체 단백질의 국재를 알아보기 위한 단클론 항체 MN7을 mouse, rat, hamster정자에 반응시킨 결과 침체 앞부분에서 한정되어 나타났는데, 이러한 사실은 항원이 정자변태 과정의 초기에 골지기구로부터 유래되는 소포에 의해 침체내로 이동된다는 것을 의미한다³⁵. 이는 본 연구에서 골지 전기에 골지체에서 분리된 소낭이 침체소포 주위에 인접되어 있는 것으로 보아(Figs. 1,2), 세포질내에서 합성된 침체의 전구물질이 골지낭으로 이송되고 이송된 전구물질이 침체소낭으로 유입되는 것으로²¹, 종래에 기술된 과립상의 소포가 침체소포라고 명명되어 왔으나 이미 세포질내에 합성된 침체의 전구물질이 골지체로 이송되고 소포와 융합하여 큰 침체소포를 형성한다는 점

에서 핵의 상단면과 융합되기 전의 소포는 침체 소포라기 보다는 골지체로 유래된 골지낭이라 기술되어야 한다고 제시한 바 있다²¹⁾.

정자세포의 신장의 결과로 세포질 분포에 중요한 변화가 일어나는데, 골지체의 이동은 침체 부위로부터 점점 이동되어 정자세포의 꼬리부분으로 이동 되는데, 즉 핵의 측면을 따라 핵의 후방부로 옮겨간다²⁾. 본 연구에서도 골지전기에서 골지체가 침체소포 주변부에서(Fig. 1) 점점 이동하여 침체기에는 핵의 후방부로 미토콘드리아와 함께 이동되어 나타났다(Fig. 5). 이는 골지체와 침체는 정자의 형태변화에 상호 직접적으로 관여함을 의미한다. 침체와 핵의 신장은 정자와 수정되는 난모세포와의 수정에 중요한 역할을 담당하는데¹³⁾ 수정 직전에 난자의 투명대를 통과하기 위하여 쓰인다³⁰⁾. Olson과 Wintrey²³⁾는 또한 침체와 apical body의 구조적 영역의 차이는 침체반응 동안에 hydrolase의 방출을 조절하기 위한 효율적인 영역의 차이일 가능성을 제시하였다.

핵의 변화로서는 염색질의 응축과 핵의 신장을 들 수 있는데, 대개 염색질의 변화가 진행되면서 서서히 핵의 신장이 일어난다. 고양이와 쥐의 경우에는 두모형성기에서 핵의 신장이 시작되면서 염색질의 점진적인 응축이 일어나서 정자세포의 초기단계의 핵은 거칠고 진한과립을 형성한 후, 후기단계에서는 핵이 과립성 성질을 잃고 점점 균질화 된다고 보고 하였고³⁾, Son³⁰⁾등은 골지기에서 응축되기 시작하여 침체기에 구형의 형태로 진행되고 성숙기에서 소멸된다고 보고하였다. 본 연구에서 염색질의 변화는 골지후기(Fig. 2)에서 서서히 응축하여 성숙기에서 균질화되고, 이탈기에서 완전한 핵을 형성하였다(Figs. 8-9).

염색질의 응축은 대개 포유동물의 경우 균일하게 이루어 지나 사람의 경우에는 정자핵 내에는 공포가 형성되는데²⁹⁾, Fawcett⁹⁾는 이는 분비물질과 관련이 있다고 보고하였고, Bedford²⁾등은 핵의 가장자리에 나타나서 대개 수축된 양상을 보여주는데 이를 적도절(equatorial segment)라고 하였다.

침체의 현저한 신장과 수축은 정자두부를 형성하는데 유일한 과정이다¹⁶⁾. 본 연구에서 정자세포의 핵의 변화로서는, 골지전기에서부터 침체전기까지는 거의 구형(Figs. 1-5)을 유지하다가 침체후기에서 핵륜과 만세트의 구조물이 나타나기 시작하여(Fig. 6) 핵은 점점 세장화 되어졌다.

만세트의 생성과 핵륜의 생성은 정자핵의 신장과 관련이 있는 바^{21,30,31)} 만세트의 미세소관의 수는 종에 따라 항구성을 가지며²⁸⁾, 각각의 종마다 수와 형태의 차이를 나타내고 같은 품종이라 할 지라도 정자세포 분화과정에서 정자머리의 형태 변화에 영향을 미친다고 기술하고 있다¹⁰⁾.

핵의 형태변화와 아울러 세포질의 변화도 동시에 진행됨을 알 수 있는데 특히, 성숙기의 정자세포의 경우는 매우 주목할 만 하다. 즉 두부의 형성이 거의 완료 직전에 있으며 이때 세포질의 부피는 현저하게 줄어든다(Fig. 7a,b). 이는 이탈기에 축사를 중심으로 한 미토콘드리아의 완전한 배치(배열)을 조절하기 위한 준비과정을 의미함과 동시에, 나선상의 미토콘드리아 초를 형성하고 뒤이어 이탈기에서의 완전한 정자꼬리 형성을 위한 준비과정임을 의미한다.

정자꼬리의 생성시기에 있어서, 유립뒤쥐²⁷⁾와 개코원숭이¹⁾에서도 골지전기에서 꼬리의 원기가 관찰 되었으며, 등줄쥐의 경우³¹⁾ 두모후기에 이미 완전한 중심립을 가지는 것으로 보아 아마도 관박쥐²¹⁾와 같이 두모전기에 생성되었을 것이라고 추측하였다. 또한 포유류의 정자형성과정 동안에 편모는 plasmalemma에 근접하여 위치한 한 쌍의 중심체의 distal membrane으로부터 기원하며, 편모 기부의 부착이 핵에서 나타남을 제시하였다^{11,29)}. Afzelius¹⁾등은 축사가 세포질 내부에 있을 경우에 세포막과 무관한 상태이며, 이것들이 분화과정 중에 계속적으로 길게 뻗어서 세포막 주변으로 이동하여 세포막에 접촉하면 세포막이 축사를 둘러 싸는 것으로 추정 하였다.

정자꼬리의 생성시기는, 사람의 정자세포 분화단계에서 Clermont⁷⁾와 de Kretser¹⁷⁾는 침체와 핵의 발달에 기초를 두어 정자변태과정을 6단계로 구분하였으며, 그 후 Holstein¹⁴⁾는 침체와 핵 그리고 꼬리발달을 포함시켜 8단계로 구분하였고, 꼬리의 생성시기도 Clermont⁷⁾와 de Kretser¹⁷⁾가 제시한 바와같이 이들은 각각 정자변태 과정의 두모기에서 정자꼬리가 생성됨을 제시하였다. 그러나, 본 연구에 있어서는 초기 정자세포의 골지전기에서 이미 정자의 편모가 세포질 밖으로 돌출되어 있음을 볼때(Fig. 1) 각 종마다 정자꼬리의 생성시기가 차이가 있는 것인지에 대한 세부적 조사가 필요하다. 만일 절편시의 방향성을 고려하지 않고 얻은 결과만을 토대로 기술 한다면 다소 무리가 있음을 알 수 있다. 즉, 중심립의 위치

가 세포분열 도중에 일정하게 위치하고 있지 않기 때문에 세포를 처음부터 끝까지 절편하여 얻은 결과를 토대로 기술되어야 할 것이다.

한편, 본 연구에서는 세포질 소적을 함유한 정자세포들은 이탈 전 후기에 두드러지게 나타나는데(Figs. 8-9), 이탈 전 후기의 정자세포를 구분하기 위하여, 정자세포의 형태적 특징을 조사하여 이탈전기의 정자세포를 다음과 같은 3가지 유형으로 구분하였다. (1). 미토콘드리아의 불규칙 배열과 더불어 경부와 중편부에 세포질 소적을 함유한 정자세포(A-type)와, (2). 미토콘드리아가 축사를 중심으로 완전히 배열되고, 중편부에 세포질 소적을 함유한 정자세포(B-type) 그리고 (3). 축사를 중심으로 미토콘드리아의 배열 후 경부에만 세포질 소적을 함유한 정자세포(C-type), 또한 이탈후기의 정자세포의 경우는 (1). 경부와 중편부 및 미부를 완전히 형성한 정자세포들이 정자두부만 Sertoli cell의 세포질에 싸여져 있거나 (2). Sertoli cell의 세포질로부터 이탈되기 직전의 정자세포로 각각 구분하였다.

인 용 문 헌

1. Afzelius BA, Johnsonbaugh RE, Kim JW, Plö en L and Ritzn EM(1982): Spermiogenesis and testicular spermatozoa of the olive baboon (*papio anubis*). *J Submicrosc Cytol*, **14(14)**: 627~639.
2. Bedford JM, Moore HDM and Franklin LE (1979): Significance of the equatorial segment of the acrosome of the spermatozoon in eutherian mammalian testis. I. Differentiation of the spermatids in the cat(*Felis domestica*). *J Biophys Biochem Cytol*, **1**: 287~315.
3. Burgos MH and Fawcett DW(1955): Studies on the fine structure of the mammalian testis. I. Differentiation of the spermatids in the cat (*Felis domestica*). *J Biophys Biochem Cytol*, **1**: 287~300.
4. Chowdhury AK and Steinberger E(1976): A study of germ cell morphology and duration of spermatogenetic cycle in the baboon, *Papio anubis Anat Rec*, **185**: 155~170.
5. Clermont Y and Leblond CP(1955): Spermiogenesis of man, monkey, ram and other mammals as shown by the periodic acid schiff technique. *Am J Anat*, **96**: 229~254.
6. Clermont Y and Leblond CP(1959): Differentiation and renewal of spermatogonia in the monkey, *Macacus rhesus Am J Anat*, **104**: 237~255.
7. Clermont Y(1963): The cycle of seminiferous epithelium in man. *Am J Anat*, **112**: 35~51.
8. Clermont Y, Hermo L, Rambourg A and Htorne-tjomsland G(1988): Structural and cytochemical characteristics of the Golgi apparatus during the formation of the acrosomic system in rat spermatids. In: Golgi, lysosome and centriole events in early spermiogenesis: targets for male fertility regulation. D. Hamilton and G.M.H. Waites, eds. Cambridge University Press, London.
9. Fawcett DW(1958): The structure of the mammalian spermatozoon. *Int Rew Cytol*, **7**: 195~234.
10. Fawcett DW, Anderson WA and Phillips DM (1971): Morphogenetic factors influencing the shape of the sperm head. *Dev Biol*, **26**: 220-251.
11. Fawcett DW and Phillips DM(1970): Recent observations on the ultrastructure and development of the mammalian spermatozoon. In *Comparative Spermatology*(ed. B. Baccetti), pp. 13~28. New York: Academic Press.
12. Frankenhuis MT, Kramer MF and de Rooij DG(1982): Spermatogenesis in the boar. *Veterinary Quart*, **4**: 57~61.
13. Franz n A(1983): Ultrastructural studies of spermatozoa in three bivalve species with notes on evolution of elongated sperm nucleus in primitive spermatozoa. *Gamete Res*, **7**: 199~214.
14. Holstein AF(1976): Ultrastructural observations on the differentiation of spermatids in man. *Andrologia*, **8**: 157~165.
15. Holstein AF and Sch fer E(1978): A further type of transient cytoplasmic organelle in human spermatids. *Cell Tissue Res*, **192**: 359~361.
16. Koehler JK(1977): Fine structure of spermatozoa of the asiatic musk shrew, *Suncus mu-*

- rinus. Am J Anat*, **149**: 135~151.
17. de Kretser DM(1969): Ultrastructural features of human spermiogenesis. *Z Zellforsch*, **98**: 477~505.
 18. Kurohamaru M, Kobayashi H, Hattori S, Nishida T and Hayashi Y(1994): Spermiogenesis and ultrastructure of peculiar acrosomal formation in the musk shrew, *Suncus murinus*. *J Anat*, **185**: 503~509.
 19. Leblond CP and Clermont Y(1952a): Spermogenesis of rat, mouse, hamster and guinea pig as revealed by the "periodic acid-fuchsin sulfurous acid" technique. *Amer J Anat*, **90**: 167~215.
 20. Leblond CP and Clermont Y(1952b): Definition of the stages of the seminiferous epithelium in the rat. *Ann New York Acad Sci*, **55**: 548~573.
 21. Lee JH, Choi BJ and Son SW(1992): Spermiogenesis in the Korean greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum korai*. *Korean J Electron Microscopy*, **22(2)**: 97~117(in Korean with English abstract).
 22. Mōri T, Arai S, Shiraishi S and Uchida TA (1991): Ultrastructural observations on spermatozoa of the soricidae, with special attention to a subfamily revision of the Japanese water shrew *Chimarrogale himalayica*. *J Mamm Soc Japan*, **16(1)**: 1~12.
 23. Olson GE and Wintrey VP(1994): Structure of acrosomal matrix domains of rabbit sperm. *J Ultrastruct Biol*, **112**: 41~48.
 24. Pedersen H(1974): The human spermatozoon. *Danish Med Bull Suppl*, **21(1)**: 1~36.
 25. Phillips DM(1974): Spermiogenesis. Academic Press, New York, London.
 26. Phillips DM and Bedford JM(1985): Unusual features of sperm ultrastructure in the musk shrew *Suncus murinus*. *J Exp Zool*, **235**: 119~126.
 27. Pl en L, Ekwall H and Afzelius BA(1979): Spermiogenesis and the spermatozoa of the european common shrew(*Sorex araneus* L). *J Ultrastruct Res*, **68**: 149~159.
 28. Rattern JB and Brinkley BR(1972): Ultrastructure of mammalian spermiogenesis. III. The organization and morphogenesis of the manchette during rodent spermiogenesis. *J Ultrastruct Res*, **41**: 209~218.
 29. Sandoz D(1970): Evolution des ultrastructures au cours de la formation de l'acrosome du Spermatozo de chez la souris. *J Microscopie*, **9**: 535~558.
 30. Son SW, Lee JH, Choi YM and Jeoung YM (1994): Spermiogenesis in the Korean cat(*Felis domestica*). *Korean J Zool*, **37(3)**: 416~427(in Korean with English abstract).
 31. Son SW and Lee JH(1995): Spermiogenesis in the Korean striped field mouse *Apodemus agrarius coreae*. *Korean J Zool*, **38(3)**: 395~404.
 32. Suarez-Quian CA, An QU, Jelesoff N and Dym M(1991): The Golgi apparatus of rat pachytene spermatocytes during spermatogenesis. *Anat Rec*, **229**: 16~26.
 33. Tanii I, Toshimori K, Araki S and Oura C (1992a): Appearance of an intra-acrosomal antigen during the terminal step of spermiogenesis in the rat. *Cell Tissue Res*, **267**: 203~208.
 34. Tanii I, Toshimori K, Araki S and Oura C (1992b): Extra-Golgi pathway of an acrosomal antigen during spermiogenesis in the rat. *Cell Tissue Res*, **270**: 451~457.
 35. Tanii I, Araki S and Toshimori K(1994): Intra-acrosomal organization of a 90-kilodalton antigen during spermiogenesis in the rat. *Cell Tissue Res*, **277**: 61~67.
 36. Toshimori K, Tanii I, Araki S and Oura C (1992): 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.
 37. Yang BG, Jiong HD and Koh HS(1991): Sperm morphology of two species of the Genus *Apodemus* (Rodentia, Mammalia) in Korea. *Korean J Zool*, **34(1)**: 59~63.
 38. Zaneveld LJD, Polakoski KL and Williams WL (1973): A proteinase and proteinase inhibitor of mammalian sperm acrosomes. *Biol Reprod*, **9**: 219~225.

FIGURE LEGENDS

Figs. 1-9. Electron micrographs showing the Golgi, cap, acrosome, maturation and the subsequent spermiation phases during spermiogenesis in the Korean Red-backed vole, *Clethrionomys rufocanus regulus*.

Fig. 1. Electron micrograph showing early Golgi phase. The well-developed mitochondria(M) appeared in cytoplasm of the round spermatid, and acrosomal vesicle(Ac) was not yet fixed in upper on nucleus(N). Note chromatoid body(Cb) lies in form of a coarse network in the vicinity of the nucleus, and the two centrioles(C) lie in T-formation far from the Golgi complex. Fg, flagellum.

Fig. 2. Electron micrograph of the late Golgi phase. A large acrosomal vesicle(Av) fixed to a recess of nucleus(N). Note the migration of the chromatoid body(Cb) progressed to the back side of nucleus. and, the concentration of chromatin granules(Cg) in spermatid nucleus. Remains of the Golgi complex(Gc) and mitochondria(M) are seen near the the acrosomal vesicle(Ac). Ag, acrosomal granule;.

Fig. 3. Electron micrograph of the early cap phase. The acrosomal vacuole(Avo) spread outward from the anterior pole of nucleus but acrosomal granule(Ag) was not flattened. Cg, chromatin granule, Gc, Golgi complex; M, mitochondria; N, nucleus.

Fig. 4. Electron micrograph of the late cap phase. The acrosomal vacuole(Avo) spread over the anterior one-third of the nucleus(N). Note numerous mitochondria(M) are seen in cytoplasm of posterior pole of the nucleus. Cg, chromatin granule.

Fig. 5. Electron micrograph of the early acrosome phase. The acrosomal vacuole(Avo) spread over the anterior a half of the nucleus(N). Especially, the condensation of chromatin granules(Cg) of nucleus had better the early acrosome phase more late cap phase. Note mitochondria(M) of anterior pole of the nucleus is shifted to perfectly the posterior parts of spermatid cytoplasm. A, crosome;

Fig. 6. Electron micrograph of the lete acrosome phase. The proximal centriole(Pc) is seen in cross section. Note the appearance of manchette(Mc) and nuclear ring(Nr) and elongation of nucleus(N). A, crosome.

Fig. 7(a-b). Electron micrographs showing the maturation phases. **a**, Electron micrograph of the early maturation phase. This phase had better elongation of nucleus(N) and acrosome(A) more than the early acrosome phase. The nuclear ring(Nr) is seen in the central part of nucleus. Note the appearance of annulus(An). **b**, Electron micrograph of the late maturation phase. The chromatin is further condensed in coarse granules more than the early maturation phase. The nuclear membrane(Nm) is surrounded by the microtubules of the mamchette (Inset A). The subacrosomal space(Ss) containing dense material contents is located in the between nuclear membrane and acrosome membrane(Inset B). M, mitochondria; Mc, manchette; Se, Sertoli cell. (A, cross section; B, longitudinal section).

Figs. 8-9. Electron micrographs showing the spermiation phases.

Fig. 8(a-c). Electron micrographs showing early spermiation phase. **a,** Electron micrograph showing the A-type spermatid. The head and middle piece of immature sperm surrounded by cytoplasm Sertoli cells(Se). The spermatid contained cytoplasmic droplets(Cd) in the neck region and middle piece, and the mitochondria was irregular, and arranged around the axoneme. **b,** Electron micrograph showing the B-type spermatid. The spermatid contained cytoplasmic droplet in the middle piece(Mp) only, and the mitochondria are arranged the center of axoneme regularly. The annulus(arrows) has reached a position at the beginning of the principal piece(Pp)(Inset). **c,** Electron micrograph showing the C-type spermatid. The arrangement of mitochondria was regular, and was contained cytoplasmic droplet in the neck region only. The basal plate(Bp) is in contact with the segmented columns(double heads) of the neck region. One recognizes 10-12 segments(Inset). A, acosome; Rb, residual body; Spt, sperm tail.

Fig. 9(a-c). Electron micrographs showing late spermiation phase. Only the sperm head(small asterisks) was surrounded by cytoplasm of Sertoli cell(Fig. 9a) or the matured sperm(large asterisks) just before the spermiation from the cytoplasm of Sertoli cell(Fig. 9b, c).

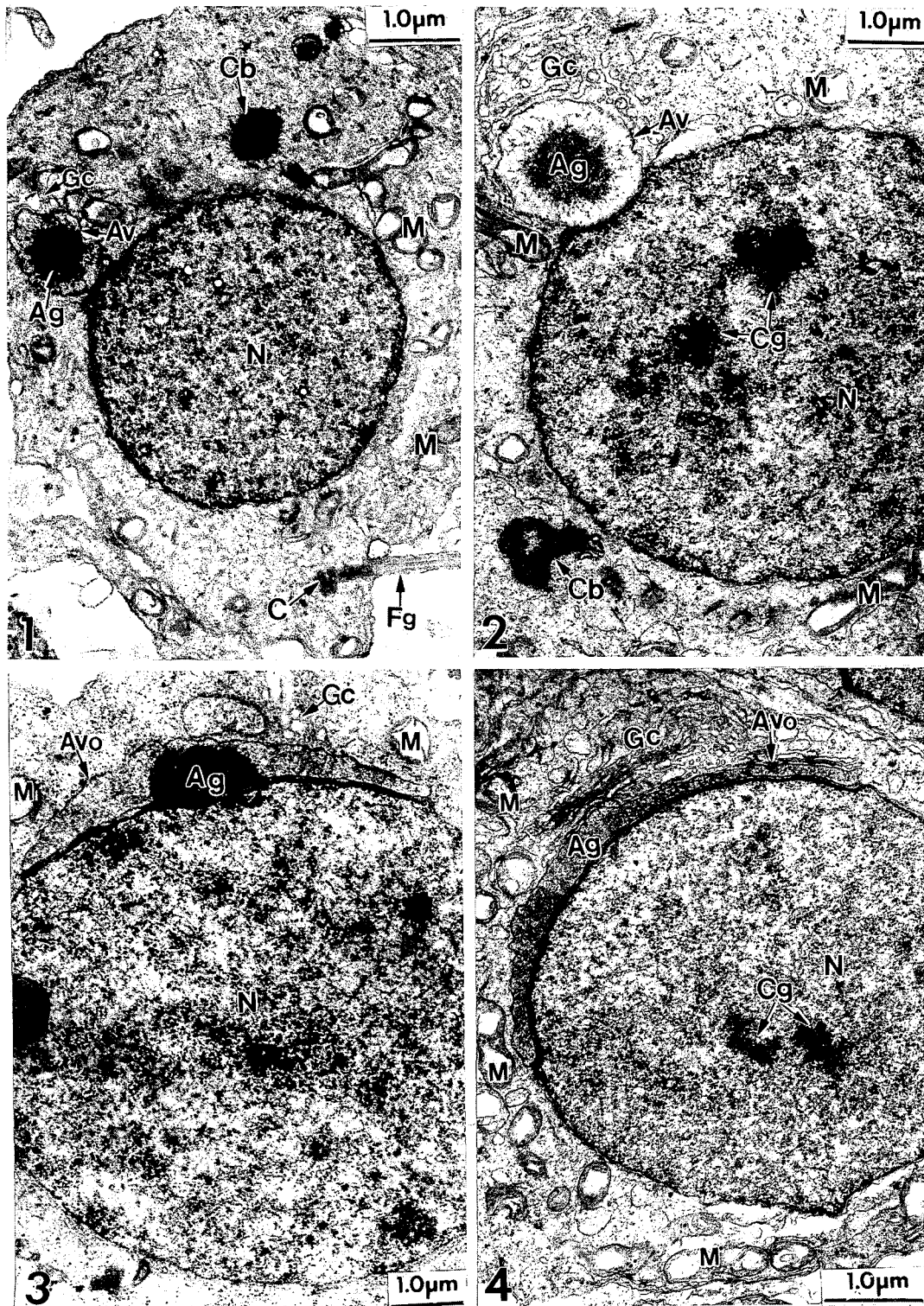


Fig. 1~4.

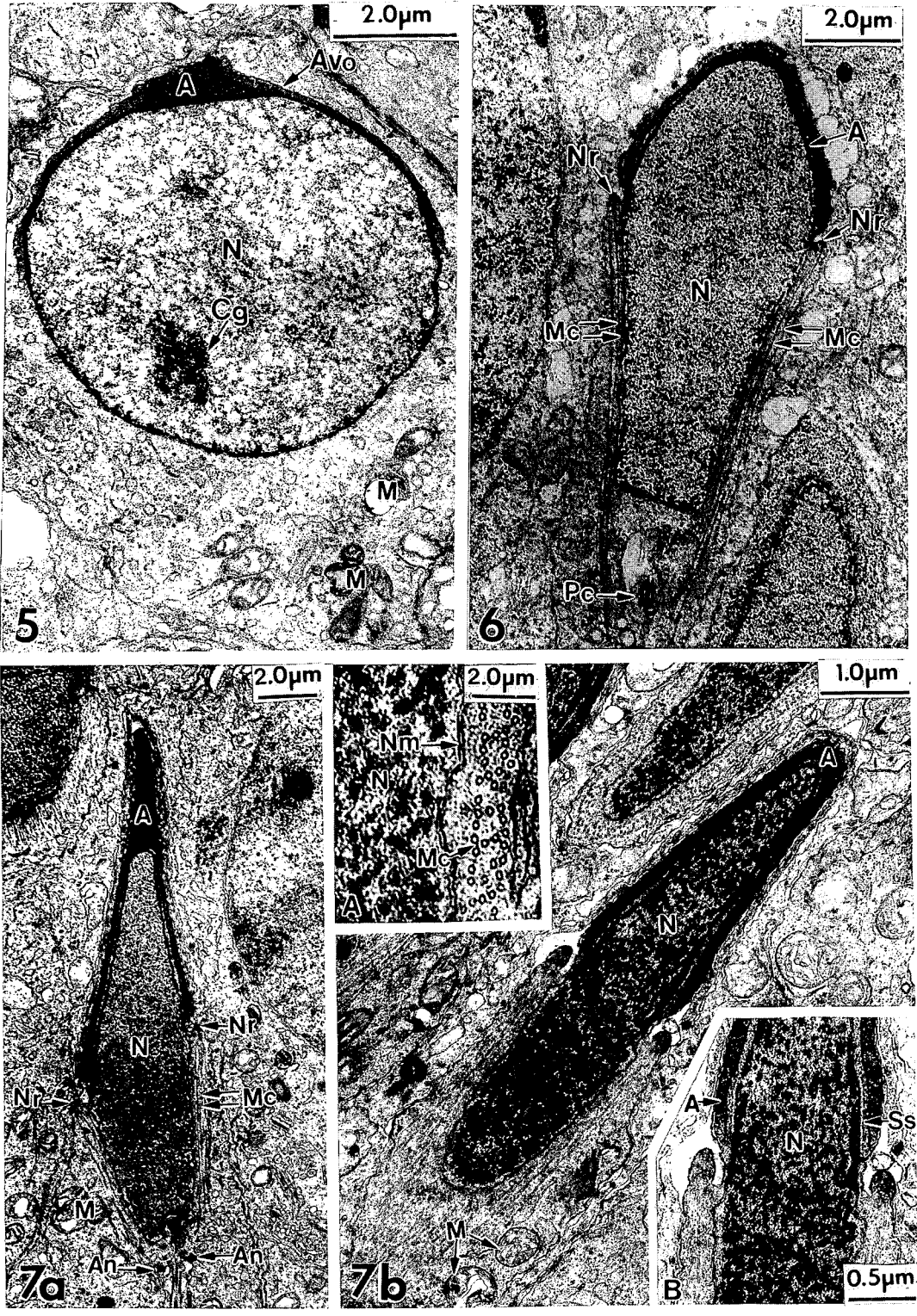


Fig. 5~7.

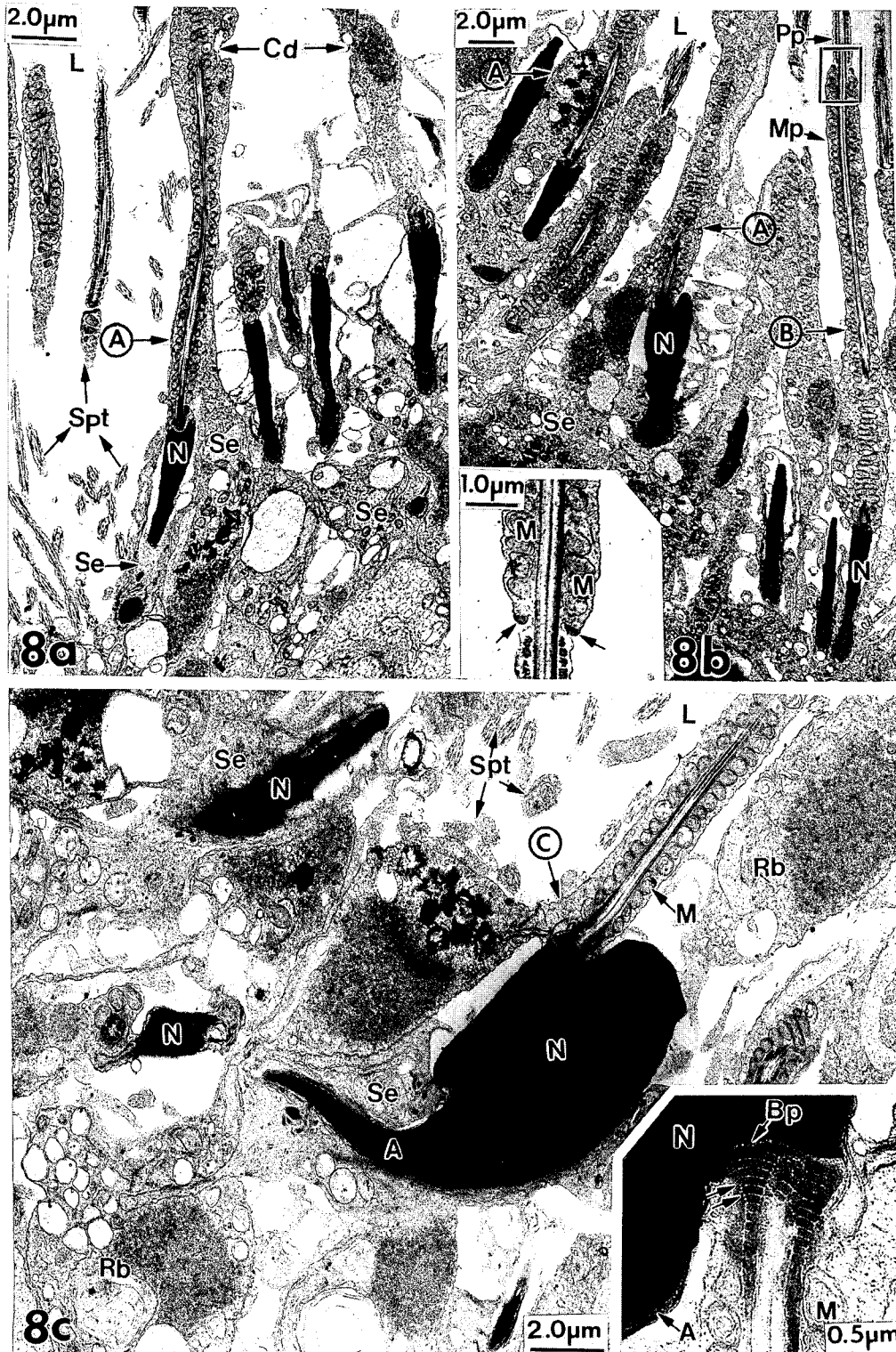


Fig. 8.



Fig. 9.

=Abstract=

Spermiogenesis in the Red-backed Vole, *Clethrionomys rufocanus regulus*

Sung-Won Son[†] and Jung-Hun Lee

Department of Biology, College of Natural Sciences, Kyungnam University, Kyungnam 630-701, Korea

To examine the process of spermiogenesis in the Korean red-backed vole, *Clethrionomys rufocanus regulus*, the seminiferous epithelium in the testis, was studied by transmission electron microscopy, and the following results were obtained based on the morphological characteristics of cell differentiation. 1. According to the fine structural differentiation, spermiogenesis was divided into Golgi, cap, acrosome, maturation and spermiation phases. Besides, these phases were subdivided into two steps : early and late phases respectively. Thus, the spermiogenesis of *Clethrionomys rufocanus regulus* was divided into a total of ten steps. 2. In the changes of the chromatin, the chromatin granules began to be condensed in the late Golgi phase, regularized at maturation phases, and a perfect nucleus of sperm was formed at the spermiation phases. 3. The sperm head had the falciform, and the formative period of sperm tail began to be develop in the early Golgi phase and completed at the spermiation phases. 4. In the morphological features of spermiation phases, the spermatid of early spermiation phase was divided into three types : (1) A-type spermatid contained cytoplasmic droplets in the neck region and middle piece, and the mitochondria was irregular, and arranged around the axoneme. (2) B-type contained cytoplasmic droplet in the middle piece only, and the mitochondria are arranged the center of axoneme regularly. and (3) In the C-type spermatid, the arrangement of mitochondria was regular, and was contained cytoplasmic droplet in the neck region only. In the late spermiation phase, only the sperm head was surrounded by cytoplasm of Sertoli cell or the matured sperm just before the spermiation from the cytoplasm of Sertoli cell.

Key Words: *Clethrionomys rufocanus regulus*, Spermiogenesis, Spermiation, sperm head.

[Korean J. Biomed. Lab. Sci. 2(1): 57-69, June 1996]

[†]Corresponding author