

작은땃쥐(*Crocidura shantungensis*)의 정자 변태

정승돈 · 이정훈[†]

경남대학교 자연과학대학 자연과학부

Spermiogenesis in the *Crocidura shantungensis*

Seung-Don Jeong and Jung-Hun Lee[†]

Division of Natural Science, College of Natural Sciences, Kyungnam University, Kyungnam 631-701, Korea

ABSTRACT : The spermiogenesis of *Crocidura shantungensis* were studied by electron microscope. All process of spermiogenesis was divided into 11 phases 15 steps, based on the morphological features of the nucleus and cell organelles in cytoplasm of spermatids. The spermatids in Golgi and cap phases were a spherical shape. On the other hand, at the early acrosomal phase they changed into an oval shape, and the tail was created in this phase. In maturation phase, the shapes of spermatid head were thin and longish. Until step 7 the direction of spermatids head turned toward the lumen of the seminiferous tubule. From step 8 to step 15 their heads turned toward the basal lamina. In step 12, the nucleus and acrosome shown maximal elongation. From Step 13 the nucleus of spermatids became flat, simultaneously with flat expansion of the acrosome expanded, and the visible whole lengths of spermatids were tend to be shorten. Spermatid heading which arrived to step 14 was taken the final shape. The nucleus was doing the wedge shape, and the nuclear chromatin condensed completely and homogenized. In the spermiation phase, the spermatids were gradually disconnected from the cytoplasm of the Sertoli cell. In this phase, the acrosome of the spermatids were fully shorten and flat, and the spermatozoa completed the process of heading and the tailing. Considering all the results, the spermiogenesis may be useful information to analyze the differentiation of spermatogenic cells.

Key words : Spermiogenesis, Shrew, *Crocidura shantungensis*.

요약 : 작은땃쥐(*Crocidura shantungensis*)의 정자 변태에 대한 연구를 전자현미경을 이용한 방법을 통해 이루어졌다. 정자세포의 핵과 세포질내 소기관의 형태학적 특징을 기초하여 정자 변태 전 과정을 11기(phase) 15 단계(step)로 각각 구분되었다. 골지 및 두모 단계의 정자세포가 구형인데 반해 첨체 전기에는 타원형으로 변하고, 이 시기부터 꼬리가 생성되기 시작하였고, 성숙기에는 가늘고 긴 정자 두부가 형성되었다. Step 7까지는 정자세포의 두부 방향이 내강쪽을 향하고 있는데 반해 step 8부터 step 15까지는 세정관 상피의 기저막쪽으로 향하였다. Step 12에서 정자세포는 핵과 첨체가 최대로 신장되어 나타났다. Step 13에서부터 정자세포의 핵은 납작해지고, 첨체는 납작하게 확장되면서 전체길이는 짧아지는 경향을 보였다. Step 14에 도달한 정자세포의 첨체는 정자 두부와 더불어 최종적인 모양을 취하게 되고, 핵은 뼈기모양을 하고 있으며, 염색질은 완전히 응축되고 균질화 되어졌다. 이탈기(spermiation phase)의 정자세포는 세르톨리 세포의 세포질로부터 점차적으로 떨어져 나갔으며, 이 시기에 정자세포의 첨체는 짧아지고 납작해져서 완전한 정자를 형성하였다. 이상의 결과를 종합하여 볼 때, 정자 변태과정은 정자 형성세포의 분화 단계를 분석하는데도 유용한 정보를 제공하리라 여겨진다.

서 론

정자 변태는 등근 정자세포로부터 긴 정자가 되기까지의 현저한 형태적 생화학적 변화로서 동물에서 발견되는 가장 복잡한 세포분화의 하나이다. 정자 형성과정 동안 정자세포는 세포의 용적이 1/100배 이하로 줄어들고, 모양이 근본적

본 연구는 2006년도 경남대학교 학술진흥연구비 지원에 의해서 이루어졌다.

[†]교신저자: 경남 마산시 월영동 449번지, 경남대학교 자연과학대학 자연과학부, (우) 631-701, (전) +82-55-249-2243, (팩) +82-55-224-6504, E-mail: jhlee@kyungnam.ac.kr

으로 변하며, 형태적으로 첨체와 꼬리를 포함한 다수의 정교한 소기관을 생산한다(Lin et al., 1997). 정자 형성세포의 분화는 동물 종에 따라 많은 차이를 보이는데, 특히 동면성 박쥐류의 경우에는 동일한 유형의 세포들이 같은 시간 간격을 유지하면서 주기적 동시성을 갖는데(Lee et al., 1993; Kang & Lee, 2004; Lee & Mori, 2004), 이러한 주기성은 정모세포 발생단계까지만 나타난다. 반면에 서로 다른 유형의 세포들이 같은 시간 간격을 유지하면서 한 세정관내에서 나타나는 비동시성은 거의 모든 포유동물에서 보여주는데, 전자는 광주기와 온도 영향에 기인되는 바 크며, 후자는 대개 비계

절적 번식 유형에 속하는 동물 종으로서, 성성숙에 도달한 수컷의 생식세포 형성 기관에서 볼 수 있는 경우이다.

한편, 포유동물의 정자 변태의 각 단계를 구분하는 방법으로서는 정자세포의 첨체 형성과 변화에 근거로 하여 구분하는 경우(Kurohmaru *et al.*, 1988; Patil & Saidapur, 1991; Morigaki *et al.*, 2001)와 정자세포의 핵과 세포질 소기관의 변화, 정자세포가 세르톨리 세포(Sertoli cell)의 세포질로부터 이탈되기까지의 세포의 형태적 특징을 근거로 구분하는 방법이 있다(Tait & Johnson, 1982; Garcia-Gil *et al.*, 2002). 전자는 연구자의 견해에 따라 차이가 있을 수 있으며, 후자는 주요한 사건의 시작과 완성이 다른 단계와 겹치는 결과를 초래하기 때문에 구분의 명확성을 제시하기가 힘들다는 점이다. 본 연구에서는 이를 2가지 방법을 토대로 하여 정자 변태의 전 과정을 알아보자 하였다.

설치류의 정자 변태에 관한 연구로는 식충목(Insctivora) 첨서과(Soricidae) 땃쥐속(*Crocidura*)의 유럽뒤쥐(Plöen *et al.*, 1979), 일본산 왓타세땃쥐(Yasumoto *et al.*, 1992), 사향 땃쥐(Kurohmaru *et al.*, 1994) 그리고 쇠뒤쥐(Heo & Lee, 2001)를 비롯하여, 설치목(Rodentia) 쥐과(Muridae) 등줄쥐 속(*Apodemus*)의 등줄쥐(Son & Lee, 1995)와 흰넓적다리 붉은쥐(Lee, 1996)와 비단털쥐아과(Cricetinae) 대륙밭쥐속(*Clethrionomys*)의 대륙밭쥐(Son & Lee, 1996), 청설모과(Sciuridae) 다람쥐속(*Tamias*)의 다람쥐(Jung *et al.*, 2004) 등의 보고들이 있으나, 국내에 서식하는 땃쥐의 정자 변태에 관한 연구는 아직도 보고된 바가 없다. 본 연구종인 작은땃쥐(*Crocidura shantungensis*)는 울릉도 고유종이며, 진수류 포유동물내 가장 원시적인 목(Order)으로 알려진 식충목 첨서과에 속한다. 따라서 본 연구에서는 작은땃쥐의 정자 변태 과정을 통하여 정자세포의 형태적 특징을 알아보고, 첨서과의 다른 종과 어떠한 차이가 있는지를 조사함과 동시에 원시 포유류에 속하는 유대류나 단공류와는 어떤 차이점이 있는지를 조사하였다.

재료 및 방법

본 연구 재료는 성성숙기인 7월에서 8월에 걸쳐 경북 울릉군 서면 남서리 일대에서 Sherman 트랩으로 작은땃쥐(*C. shantungensis*) 수컷 성체 9마리(2003년 8월 14일: 7개체; 2004년 7월 25일: 2개체)를 채집하여 사용하였다. 이들 재료는 채집 즉시 ethyl ether로 마취시킨 후 각 개체의 정소조직을 적출하였다. 적출된 정소는 3% glutaraldehyde(4°C, pH 7.4, Millong's buffer) 용액에 1시간 정도 침적시킨 후 백막

을 제거하고, 1~1.5 mm³ 두께로 세절한 다음 다시 3% glutaraldehyde 용액에 2시간 정도 전고정하였다. 고정이 끝난 조직편들은 동일한 완충액(pH 7.4, Millong's buffer)으로 2~3회 세척한 다음 1.33%-OsO₄(4°C, pH 7.4, Millong's buffer)으로 2시간 후 고정하였다. 고정이 끝난 조직은 동일한 완충액으로 3회 정도 세척한 다음 acetone 농도 상승 순(60~100%)으로 탈수한 후 이를 조직편들은 Epon 812 혼합 액으로 포매하였다. 포매 후 조직편들을 Ultramicrotome(MT-6000, Sorvall, Dupont)을 사용하여 60~90 nm의 두께로 초박 절편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate 용액으로 이 중 전자염색을 한 후, 투과형 전자현미경(TEM, H-600, Hitachi)으로 정자세포 분화단계를 관찰하였다.

결과

울릉도에 서식하는 작은땃쥐(*C. shantungensis*)의 정자 변태 과정은 골지기(Golgi phase; step 1~2)와 성숙기(maturation phase; step 13~14)는 각각 전(early) · 후기(late phase)로, 두모기(cap phase)는 전기(early phase; step 3), 중기(middle phase; step 4~5), 후기(late phase; step 6)로, 첨체기(acrosomal phase)는 전기(step 7~8), 중기(step 9~11), 후기(step 12)로, 이탈기(spermiation phase; step 15)는 1기(phase)로 하여 전 과정은 11기(phase) 15 단계(step)으로 구분되었다(Fig. 1~15).

1. 골지단계

1) Step 1

골지전기(early Golgi phase) 단계의 정자세포는 등근 모양을 취하고 있으며, 구형의 핵은 세포 중앙에 위치하고 있었다. 고운 섬유상의 염색질과 염색질 과립들(chromatin granules)이 핵의 전역에 걸쳐 고르게 흩어져 있었다. 핵의 상면에는 잘 발달된 활모양의 골지체가 존재하고, 작은 여러 개의 첨체전 소포(proacrosomal vesicle; arrowheads)가 골지체의 성숙면(trans-face)과 핵막 사이에 존재하고 있었다. 첨체전 소포내에는 골지체로부터 이송된 과립을 함유하고 있었다. 세포질 내에는 소수의 미토콘드리아가 핵의 상면에서 관찰되었고, 다수의 활면소포체가 세포질내에 골고루 분포하고 있었다(Fig. 1).

2) Step 2

골지후기(late Golgi phase)의 정자세포는 골지 전기와 마



Fig. 1. Electron micrograph of the early Golgi phase(Step 1).

The well-developed Golgi apparatus(G) was abundant in the cytoplasm. Large or small proacrosomal vesicles(arrowheads) above the nuclear were visible, and the proacrosomal vesicles contained granules which were transferred from Golgi apparatus. N, nucleus.

찬가지로 둥근 모양을 취하고 있었으며, 핵도 구형으로 세포 중앙에 위치하고 있었다. 핵의 상면에는 골지체의 성숙면 주변에 여전히 크고 작은 첨체전 소포들이 서로 융합하여 큰 첨체전 소포를 형성하였으며, 이들 첨체전 소포는 핵막과 융합하여 핵을 함입시키고, 이들 소포낭 내에는 골지체로부터 이송된 분비물질(과립)을 함유하고 있었다. 핵내에는 인(nucleolus)이 뚜렷이 관찰되었으며, 핵질은 다소 응축되어져 있었다(Fig. 2).

2. 두모단계

1) Step 3

두모 전기(early cap phase)의 정자세포는 계속되는 소포들의 융합에 의해 큰 첨체전 소포를 형성하면서 이미 핵막과 융합한 첨체전 소포가 아주 큰 모자 모양의 첨체포(acrosomal vacuole)를 형성하였다. 이들 첨체포는 핵 전체의 1/5~1/6 정도를 덮고 있었으며, 첨체포 내의 미세상의 과립은 전역에 고르게 흩어져 있었다. 첨체포 주변에는 여전히 골지체와 미토콘드리아가 산재해 있었다(Fig. 3).

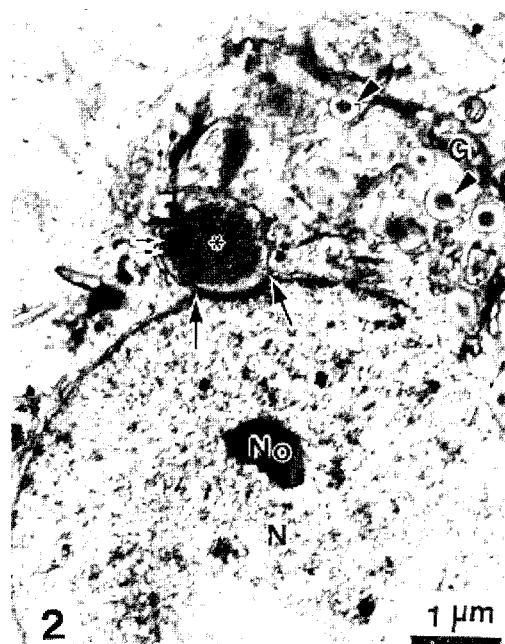


Fig. 2. Electron micrograph of the late Golgi phase(Step 2).

Large or small proacrosomal vesicles(arrowheads) which fused with each other formed acrosomal vesicle(asterisk). The acrosomal vesicle(asterisk) were combined with the upper nuclear envelope(arrows). G, Golgi apparatus; N, nucleolus; No, nucleolus.

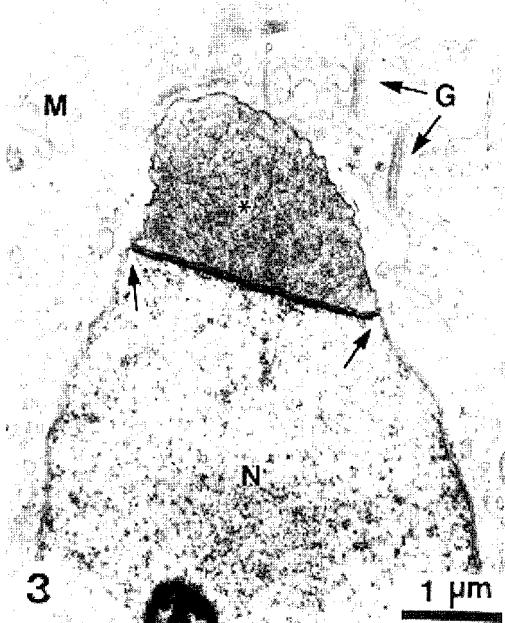


Fig. 3. Electron micrograph of the early cap phase(Step 3).

The acrosomal vesicle formed the acrosomal vacuole, and granules of acrosomal vacuole insides(asterisk) were equally dispersed. The combination region(arrows) of the acrosomal vacuole spread out became wider. G, Golgi apparatus; M, mitochondria; N, nucleus.

2) Step 4

두모 중기(middle cap phase)의 정자세포 역시 구형이며, 핵도 구형이었으며, 첨체포는 핵의 상면 중앙으로부터 바깥 쪽으로 펼쳐져 핵의 1/4 정도를 덮고 있었다. 골지체는 첨체포 가까이에 위치하고 있었으며, 핵내 염색질 과립이 약간 중앙으로 몰리는 경향을 보였지만 대체로 고르게 분포하고 있었다. 여전히 세포질내에는 미토콘드리아가 핵막 주변에 산재해 있었다(Fig. 4).

3) Step 5

좀 더 분화된 정자세포에서는 첨체전 소포들이 계속적으로 첨체포와 융합함과 아울러 골지낭으로부터 이송된 분비 과립들이 추가됨으로써 아주 큰 첨체포를 형성하고 있었다. 점차적으로 첨체포내의 과립은 더욱 농후해지며, 첨체포 중앙 부위에는 반구형(hemisphere)의 진한 첨체 과립(acrosomal granule)을 형성하기 시작하여 핵의 전방부의 중앙에 위치하고 있었다(Fig. 5).

4) Step 6

두모 후기(late cap phase)의 정자세포의 첨체포는 핵의 후방부 쪽으로 넓게 펼쳐져서 핵의 1/2 정도를 덮고 있었다. 첨

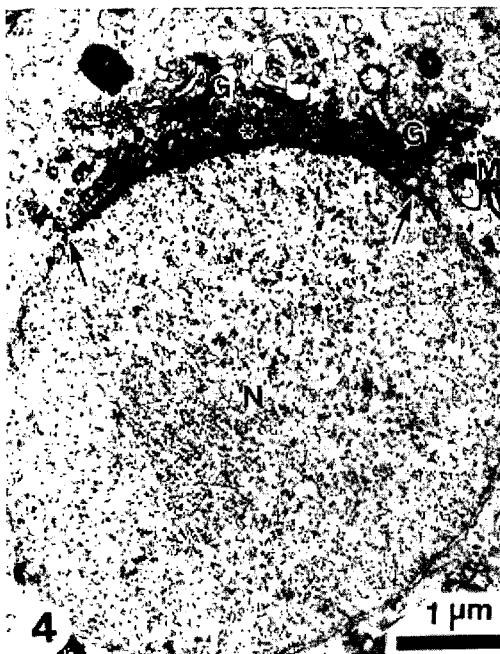


Fig. 4. Electron micrograph of the middle cap phase(Step 4).

The acrosomal vacuole(asterisk) was covered quarter part of the nuclear surface. The Golgi apparatus(G) came to move with an acrosomal vacuole. G, Golgi apparatus; M, mitochondria; N, nucleus.



Fig. 5. Electron micrograph of the middle cap phase(Step 5).

The acrosomal vacuole was convex lens shape covering 1/3 part of the nuclear surface(arrows). Granules(small asterisk) in acrosomal vacuole were fused with each other and formed the spherical shape acrosomal granule (large asterisk). G, Golgi apparatus; N, nucleus.

체 과립이 첨체포 중앙에서 서서히 응축되면서 응축된 첨체 과립들은 핵의 후방부 쪽으로 펼쳐지기 시작하였다. 이 시기에는 핵의 하면에 꼬리가 관찰되었는데, 아직 핵막과 접촉되지 않았다(Fig. 6).

3. 첨체단계

1) Step 7

골지 및 두모기 단계의 정자세포들은 구형인데 반해, 첨체 전기(early acrosomal phase)에 도달한 정자세포는 정자세포 두부 쪽의 핵이 세포질의 어느 한 부분으로 이동됨으로써 다소 타원형의 세포를 형성하였다. 즉, 핵의 앞쪽으로 첨체가 돌출되기 시작하여 볼록렌즈상의 첨체포를 만들고, 곧 이어 첨체 외막은 세포막과 밀착됨으로써 세포의 모양이 구형에서 다원형의 세포로 되었고, 핵 상면의 세포질내에 존재하는 소기관(골지체, 소포체, 리보솜, 미토콘드리아 등)들이 핵의 후방부 쪽으로 이동되어졌다. 이 시기에 첨체포내에는 완전히 응축된 첨체과립으로 충만하여 첨체(acrosome)를 형성하였다. 또한, 핵의 후반부는 꼬리가 길어지고 복잡한 경부를 포함하는 축사(axoneme), 기부 중심체(proximal centriole)가 형성되었다. 꼬리는 핵 아래쪽 표면상에 돌출된 특별한 영역

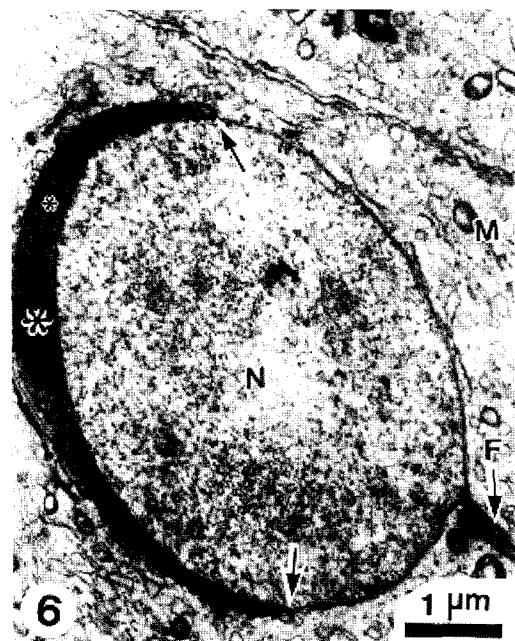


Fig. 6. Electron micrograph of the late cap phase(Step 6). The acrosomal vacuole was covering 1/2 of the nuclear, and vast quantities of acrosomal granules(large asterisk) were located in the acrosomal vesicle. The flagellum appeared. F, flagellum; M, mitochondria; N, nucleus.

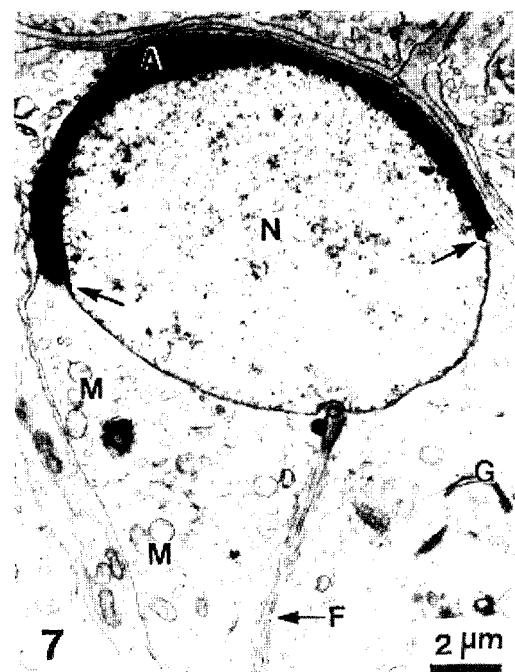


Fig. 7. Electron micrograph of the early acrosomal phase (Step 7). The outer acrosomal membrane and the plasma membrane became contiguous. Cytoplasmic organelles (mitochondria, Golgi apparatus, endoplasmic reticulum and so on) moved to behind the nucleus. A, acrosome; F, flagellum; M, mitochondria; N, nucleus.

의 핵막과 융합함으로써 꼬리와 접촉한 핵막 부분은 약간 함입되어 있었다(Fig. 7).

2) Step 8

좀 더 분화된 정자세포의 첨체는 핵의 전방부 쪽으로 돌출하였고, 이전의 단계까지는 정자세포의 두부 방향이 내강쪽을 향하고 있었는데 반해, 이 시기부터는 세정관 상피의 기저막쪽으로 향하고 있었다(Fig. 8).

3) Step 9

첨체 중기(middle acrosomal phase)의 모든 정자세포들의 두부 방향은 기저막 쪽으로 향하였고, 꼬리는 세정관 내강을 향하였다. 정자세포는 세르톨리 세포의 세포질내에 깊숙히 파묻히게 되고, 첨체는 가늘고 길어지며, 핵은 step 8에 비해 폭이 줄어 들었으나, 핵질의 응축은 큰 변화를 보이지 않았다(Fig. 9).

4) Step 10

좀 더 분화된 첨체 중기(middle acrosomal phase) 정자세포의 핵질은 뚜렷하게 응축되기 시작하였고, 특히 핵 가장자는 심하게 응축되었다. 만세트(manchette)의 등장과 더불



Fig. 8. Electron micrograph of the early acrosomal phase (Step 8). The acrosome protruded toward the front of nucleus. The spermatid head turned toward the basal lamina. A, acrosome; N, nucleus; Se, Sertoli cell.

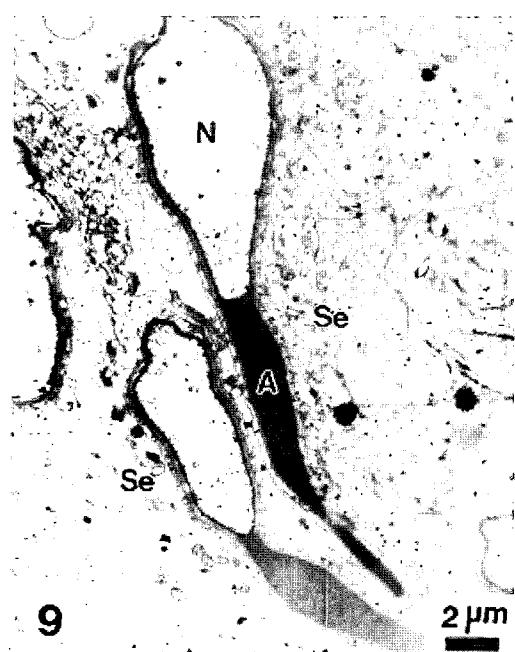


Fig. 9. Electron micrograph of the middle acrosomal phase (Step 9). The Acrosome extended further, but the karyoplasm did not condense yet. A, acrosome; N, nucleus; Se, Sertoli cell.



Fig. 10. Electron micrograph of the middle acrosomal phase (Step 10). Manchette was appeared, and the perinuclear ring was formed. The cone shaped acrosome covered the front of the nucleus. A, acrosome; N, nucleus; Se, Sertoli cell.

어 핵륜(perinuclear ring)을 형성하였다. 핵의 전방부를 덮고 있는 첨체는 원뿔 모양을 하고 있었으며, 첨체로 덮히지 않

은 부분 즉, 핵질이 핵의 미부쪽으로 밀려난 부분은 원기둥 모양을 하고 있었다. 꼬리 쪽으로는 경부의 발달이 주목되었는데, 기저판(basal plate), 결절(connecting piece) 및 기부중심체(proximal centriole)가 뚜렷하게 관찰되었다(Fig. 10).

5) Step 11

이전의 단계보다 좀 더 분화된 첨체중기(middle acrosomal phase)의 정자세포는 핵의 부피가 현저하게 줄어들었으며, 첨체는 세정관의 기저막 쪽으로 길게 늘어나 있었다(Fig. 11).

6) Step 12

첨체 후기(late acrosomal phase)에 도달한 정자세포는 세르톨리 세포의 세포질에 깊숙이 박혀져 있었고, 미세소관으로 구성된 만세트가 핵의 후방으로 길게 평행으로 늘어남에 따라 핵은 더욱 신장되어졌으며, 이 시기에 첨체는 최대로 신장되어 나타났다. 핵질은 전자밀도가 높은 염색질 과립으로 더욱 응축되어졌으며, 첨체는 핵의 2/3 정도를 덮고 있었다(Fig. 12).

4. 성숙단계

1) Step 13



Fig. 11. Electron micrograph of the middle acrosomal phase (Step 11). The bulk of the nucleus of the spermatid decreased remarkably. A, acrosome; N, nucleus; Se, Sertoli cell.



Fig. 12. Electron micrograph of the late acrosomal phase (Step 12). The spermatid was deeply driving its head in the cytoplasm of the Sertoli cell. The nucleus and acrosome was extended maximally. A, acrosome; N, nucleus; Se, Sertoli cell.

성숙 전기(early maturation phase) 정자세포의 핵은 납작해지고, 염색사들이 더욱 응축되었고, 첨체는 납작하게 확장되면서 전체 길이는 짧아지는 경향을 보였다. 첨체는 핵을 2/3 정도 덮고 있었고, 그 아래쪽으로는 첨체후 덮개(postacrososomal sheath)가 나타났다. 핵막과 첨체내막은 뚜렷하게 구분되었으며, 핵과 접한 부위에 첨체하 공간(subacrosomal space)을 형성하기 시작하였다(Fig. 13).

2) Step 14

성숙 후기(late maturation phase)에 도달한 정자세포의 첨체는 정자 두부와 더불어 최종적인 모양에 근접하였다. 이 시기의 첨체는 다소 짧아지고, 핵은 쪘기모양을 하고 있으며, 염색질은 완전히 응축되고 균질화 되었다. 핵륜은 핵의 기저판 부위로 이동하였으며, 미토콘드리아가 서서히 배열되기 시작하여 정자세포 세포질의 체적은 현저하게 줄었다(Fig. 14).

5. 이탈단계

1) Step 15

이탈기(spermiation phase)의 정자세포는 세르톨리 세포의 정단부 표면을 따라 이탈 직전 혹은 이탈한 정자들이 관

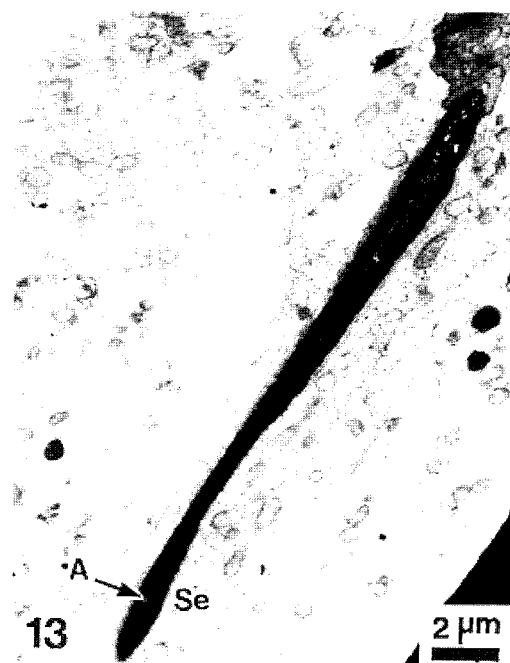


Fig. 13. Electron micrograph of the early maturation phase (Step 13). Subacrosomal space was formed in the region where acrosome came in contact with nucleus. A, acrosome; Se, Sertoli cell.

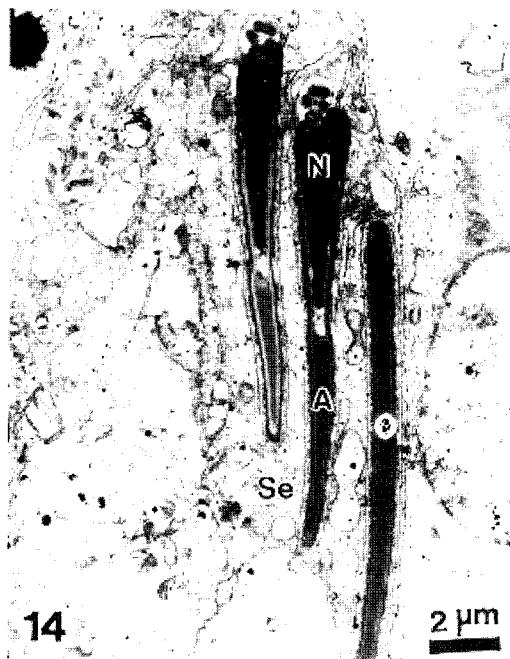


Fig. 14. Electron micrograph of the late maturation phase (Step 14). The nuclear chromatin condensed completely and homogenized. Equatorial segment appeared clearly. The perinuclear ring moved toward the base of the nucleus. Mitochondria were arranged on an axoneme from neck area to an end of the middle piece. A, acrosome; N, nucleus; Se, Sertoli cell.



Fig. 15. Electron micrograph of the spermiation phase(Step 15). Spermatozoon being or was disconnected from the cytoplasm of the Sertoli cell. A, acrosome; L, lumen; N, nucleus.

찰되었다. 이 시기의 정자세포는 첨체가 짧아지고 납작해져서 완성된 두부를 갖추고 있으며, 간혹 경부와 중편부에 여분의 세포질 소적(cytoplasmic droplet)을 함유한 정자세포들도 발견되었다(Fig. 15).

고찰

포유동물은 진화된 진수류와 원시적 부류인 유대류와 단공류로 나뉜다. 식충목은 진수류 중에서 가장 원시적인 목(Order)이며, 본 연구 종인 작은땃쥐(*C. shantungensis*)는 식충목 첨체과(Soricidae)에 속한다.

정자 변태의 각 단계를 살펴보면, 유대류에 속하는 바위왈라비(Allied rock wallaby)의 정자 변태 과정은 9기(phase)로 (Kim et al., 1987), 타마왈라비(Tammar wallaby)는 14 단계(step)와 이탈단계로 구분되어졌으며(Lin et al., 1997), 오리너구리는 크게 4기, 16 단계로(Lin & Jones, 2000), 본 연구에서는 11기 15단계로서 원시적 부류인 유대류와 단공류보다는 정자 변태 과정이 더 길다는 것은 진화적 경로로 미루어 보아 정자의 형태 변화가 매우 복잡하고 더욱 다양화되었다는 점을 암시해 준다.

골지기의 첨체포 출현을 살펴보면, 첨체과에 속하는 종은 다른 진수류와 마찬가지로 다수의 첨체 과립을 첨체포내에 포함하지만(Heo & Lee, 2001), 일반적으로 유대류와 단공류에서는 첨체 과립을 형성하지 않는 점이 특이하다. 일부 유대류의 경우에는 얇은 농후한 물질의 띠가 첨체포의 한쪽 막에 약간 있기는 하지만 완전하지 않다(Kim et al., 1987; Lin et al., 1997; Lin & Jones, 2000). 본 연구에서는 진수류의 다른 포유류 종에서와 유사하게 골지낭으로부터 이송된 분비물질(첨체과립)들이 첨체포내에 포함되어져 있었다(Fig.

1).

두모기의 정자세포의 핵의 형태에 있어서, 진수류인 첨체과 종과 유대류는 구형을 유지하고 있으나(Kim et al., 1987; Lin et al., 1997; Heo & Lee, 2001), 단공류에서는 핵이 나선형이며, 핵륜은 식충목을 포함한 진수류 포유동물처럼 핵의 아래쪽까지 이동하는 것이 아니라 조류, 파충류, 유대류처럼 첨체의 측면 가장자리까지 이동한다. 단공류의 핵은 진원통모양인데(Lin & Jones, 2000) 이러한 모습은 포유류보다는 조류의 초기 정자세포와 흡사하다(Góes & Dolder, 2002). 이러한 관점에서 볼 때, 동일한 원시적 부류인 유대류가 단공류보다는 더 진수류의 첨체과 종과 유연관계가 깊은 종이라 여겨진다. 반면에 유대류인 바위왈라비의 핵은 식충목과 다른 단공류와는 달리 길게 발달하지 않으며, 정자세포의 모습은 T자형으로서(Kim et al., 1987) 동일 유대류에 속하는 타마왈라비와는 정자핵의 변화가 뚜렷이 구별된다는 점이 특이하다. 본 연구에서는 일반적인 포유동물에서 보여주는 바와 같이 골지기 및 두모기의 핵은 구형의 형태를 유지하고 있다가, 첨체기 부터 타원형의 핵이 서서히 길게 신장되는 모습을 나타내었다. 이러한 관점에서 볼 때, 아마도 단공류-유대류-진수류 순으로 진화하였음을 추측할 수 있다.

첨체기 동안 식충목의 첨체는 점점 길게 돌출되고, 핵의 측면부를 2/3 이상 얇게 감싸며, 동시에 핵은 점점 길어지면서 염색질이 응축되는데(Heo & Lee, 2001), 이와는 대조적으로 유대류의 첨체는 좁은 모자 모양이며 핵의 1/3만 덮는다. 또한 진수류 포유동물과는 달리 전자밀도가 낮은 투명한 소포를 첨체내에 가지는데 이것은 넓은 첨체하 공간으로 발달하여 내강으로 이탈할 시기에 정자세포의 등면(dorsal)에 나타난다(Lin et al., 1997). 반면에 단공류의 첨체는 전방부로 길게 돌출하지 않으므로 작은 뿔 형상이며, 핵을 덮는 어여한 첨체후 덮개도 없고, 이때 핵은 점점 길어지고 염색질은 응축된다(Lin & Jones, 2000).

한편, 식충목 첨체과 종들 사이에도 종의 특성상 정자 변태과정에서 분명한 차이점이 나타난다. 유럽뒤쥐(*Sorex araneus*)의 정자 변태과정은 8기(phase) 즉, 골지기, 두모기, 첨체전기, 첨체중기, 첨체후기, 첨체-성숙기, 성숙전기, 성숙후기로 나누었으며(Plöen et al., 1979), 쇠뒤쥐(*Sorex minutus*)는 10기(phase) 즉, 골지전기, 골지중기, 골지후기, 두모전기, 두모중기, 두모후기, 첨체전기, 첨체후기, 성숙기, 이탈기로 구분되었다(Heo & Lee, 2001). 일본산 왓타세 땃쥐(*Crocidura watasei*)는 4기 13 단계 즉, 골지기(step 1~3), 두모기(step 4~5), 첨체기(step 6~10), 성숙기(step 11~13)로 구분되었는데(Yasumoto et al., 1992), 사향땃쥐(*Suncus murinus*)는

4기 13단계로(Kurohmaru *et al.*, 1994) 왓타세 땃쥐와 전과정은 동일하나 첨체기와 성숙기에서 차이점을 보였다.

땃쥐아과의 첨체는 아주 얇은 두께의 표준형 방폐모양으로서 뒤쥐아과의 종보다 상대적으로 크다(Mōri *et al.*, 1991). 사향땃쥐 정자 두부의 등배축(dorsoventral axis)을 기준으로 정자의 형태적 특징을 보면, (a) 첨체 하부 공간은 배쪽으로 기울었으며, (b) 배쪽의 첨체외막은 원형질막과 반투명한 간격에 의해 구별되고, (c) 핵질의 배면쪽은 꼬리쪽으로 더 돌출된다(Cooper & Bedford, 1976). 또한, (d) 첨체는 등면(dorsal)이 약간 불록하고 배면(ventral)은 오목하여 정자머리는 받침 접시 모양을 갖는다(Koehler, 1977). 본 연구중인 작은땃쥐도 위의 Cooper와 Bedford(1976)의 (a), (c) 및 Koehler (1977)의 (d) 관점으로 등면과 배면을 구분할 수 있었다.

염색질의 응축과 관련하여 볼 때, 사향땃쥐는 첨체기(step 10)에 응축이 일어난다(Kurohmaru *et al.*, 1994). 유럽뒤쥐는 첨체중기에 응축된 굵은 섬유사들이 핵질에 나타나며, 특히 가장자리 영역에서 뚜렷하게 응축되기 시작하는데, 첨체-성숙기에 거의 완료된다(Plöen *et al.*, 1979). 쇠뒤쥐는 첨체전기에서 부드러운 과립상의 염색질이 조금씩 응축되기 시작하여 이탈기에 완전히 응축된다(Heo & Lee, 2001). 본 연구에서는 첨체 전기에 응축이 시작되어 성숙 전기에 굵은 염색사에 의해 응축이 거의 완료되었는데, 염색질의 응축시기가 땃쥐류에서는 거의 모두 첨체기에서 시작하여 성숙기에 완료되는 공통점을 가지고 있었다. 이러한 관점에서 볼 때, 땃쥐류와 뒤쥐류는 유연관계가 깊은 종이라 여겨진다.

정자꼬리는 초기 정자세포의 단부 중심체가 원형질막 바로 아래 위치하면서 시작되며, 핵 후방부로 이주하여 핵막과 연결되면서 꼬리가 성장한다. 꼬리의 성장 초기에는 annulus가 꼬리의 전반부에 고정되어 있으나 꼬리가 길어지고 중심체가 이동함에 따라 원형질막이 annulus와의 결합을 유지하다가 핵막이 후반부로 이동하면서 함께 이동한다. 쇠뒤쥐는 두모 전기에 출현하였으며, 유럽뒤쥐는 두모기 동안 형성중인 꼬리가 핵 표면상에 돌출된 특별한 영역에서 핵과 접촉하였고, 본 연구에서는 두모 후기(step 6)에 핵 후방부에 나타난 꼬리가 첨체 전기에 핵과 연결되었다.

정자세포의 이송 및 정자세포 첨체의 모양 변화는 세르톨리 세포의 세포질내 미세섬유들과 섬유들 사이에 존재하는 미토콘드리아가 관여한다(Vogl *et al.*, 1983). 첨체의 모양 변화는 정자세포 핵과 세르톨리 세포가 나란히 가깝게 밀착되어 외부 힘이 작용하는 것과 첨체 내부 효소분자의 압축 등의 내부 힘이 부분적으로 작용한 것이다(Phillips, 1974). 본

연구에서도 세르톨리 세포에 존재하는 많은 수의 미토콘드리아를 관찰할 수 있었는데, 정자세포가 미토콘드리아 초를 형성(중편부 형성)하는 이탈기 동안에는 이를 세르톨리 세포 세포질내의 미토콘드리아는 이탈 전에는 내강을 쪽으로 밀려 나가게 되는데, 이것은 세르톨리 세포의 액틴 및 미세섬유들의 활동에 의해 이루어진다(Vogl *et al.*, 1983; Ekstedt *et al.*, 1986). 또한, 정자세포의 잉여 세포질에 나타나는 세르톨리 세포의 침투는 잉여 세포질 제거에 관여하며(Vogl *et al.*, 1985; Ekstedt *et al.*, 1986), 잉여체(residual body)는 다른 포유동물처럼 중편부에 있다가 떨어져 나가 완전한 정자를 형성하게 된다.

이상의 연구 결과와 고찰을 통해 다음과 같은 결론을 얻었다. 첫째, 정자 변태 과정의 단계와 특징을 보면, 일반적으로 뒤쥐류는 8~10 단계, 땃쥐류는 13단계, 본 연구에서는 15단계로 나타났는데, 이러한 단계적 차이에서 보면 본 연구 종은 뒤쥐류와는 유연관계가 먼 것으로 생각된다. 둘째, 염색질의 응축시기가 땃쥐류는 거의 모두 첨체기에서 시작하여 성숙기에 완료되는 공통점을 가지고 있었다. 셋째, 핵의 형태변화에 있어서, 두모 시기에 첨서과 종과 유대류는 구형을, 단공류는 핵이 나선형을 유지해오다가 성숙기에 긴 원통형으로 변하는데, 이러한 모습은 포유류보다는 조류의 초기 정자세포와 흡사하다. 이러한 관점에서 볼 때, 동일한 원시적 부류인 유대류가 단공류보다는 더 진수류의 첨서과 종과 유연관계가 깊은 종이라 여겨진다. 본 연구에서도 일반적인 포유동물에서 보여주는 바와 같이 골지기 및 두모기의 핵은 구형의 형태를 유지하고 있다가, 첨체기부터 타원형의 핵이 서서히 길게 신장되는 모습을 나타내었다. 이러한 관점에서 볼 때, 아마도 단공류-유대류-진수류 순으로 진화하였음을 추측 할 수 있다. 넷째, 첨체 과립의 이송에 있어서, 본 연구 종과 이미 보고된 몇몇의 땃쥐류는 과립물질의 이동경로가 골지체와 연결된 다양한 크기의 관 또는 첨체전 소포들과 유극소포들이 관여하는 것으로 나타났다. 다섯째, 꼬리와 만세트 및 잉여체의 출현 시기가 몇몇의 뒤쥐류와 땃쥐류가 거의 동일한 시기에 나타났다는 점이다. 그러나 이것이 *Crocidura* 속의 공통된 특징인지는 좀 더 연구가 필요하다고 생각된다.

이상의 결과를 종합하여 볼 때, 정자 변태 과정은 이러한 정자 형성세포의 분화 단계를 분석하는데 유용한 정보를 제공해 주리라 여겨진다.

인용문헌

Cooper GW, Bedford JM (1976) Asymmetry of spermia-

- tion and sperm surface charge patterns over the giant acrosome in the musk shrew, *Suncus murinus*. *J Cell Biol* 69:415-428.
- Ekstedt E, Söderquist L, Plöen L (1986) Fine structure of spermatogenesis and Sertoli cells (*Epitheliocytus sustentans*) in the bull. *Anat Histol Embryol* 15:23-48.
- Garcia-Gil N, Pinart E, Sancho S, Badia E, Bassols J, Kádár E, Briz M, Bonet S (2002) The cycle of the seminiferous epithelium in landrace boars. *Animal Reprod Sci* 73:211-225.
- Góes RM, Dolder H (2002) Cytological steps during spermiogenesis in the house sparrow (*Passer domesticus*, Linnaeus). *Tissue & Cell* 34:273-282.
- Heo JC, Lee JH (2001) Spermiogenesis in the Saghalien pygmy shrew, *Sorex minutus gracillimus*. *Korean J Electr Microsc* 31:129-141.
- Jung TD, Lee JH, Kim SS (2004) Spermiogenesis in the Korean squirrel, *Tamias sibiricus*. *Korean J Electr Microsc* 34:159-170.
- Kang MS, Lee JH (2004) Annual cycle of the seminiferous epithelium of *Miniopterus schreibersi fuliginosus*. *Korean J Biomed Labor Sci*. 10:435-445.
- Kim JW, Harding HR, Shorey CD (1987) Electron-microscopic studies on the spermiogenesis and spermatozoa of the allied rock wallaby (*Petrogale assimilis*). *Korean J Electr Microsc* 17:1-15.
- Kochler JK (1977) Fine structure of spermatozoa of the asiatic musk shrew, *Suncus murinus*. *Am J Anat* 149: 135-152.
- Kurohmaru M, Tiba T, Nishida N, Hayashi Y (1988) Spermatogenesis and ultrastructural changes of spermatids during spermiogenesis in the cotton rat (*Sigmodon hispidus*). *Okajimas Folia Anat Jpn* 65:203-220.
- Kurohmaru M, Kobayashi H, Hattori S, Nishida T, Hayashi Y (1994) Spermatogenesis and ultrastructure of a peculiar acrosomal formation in the musk shrew, *Suncus murinus*. *J Anat* 185:503-509.
- Lee JH (1996) Spermiogenesis in the Korean manchurian field mouse, *Apodemus spesiosus peninsulae*. *Korean J Electr Microsc* 26:221-233.
- Lee JH, Mori T (2004) Annual cycle of the seminiferous epithelium of *Myotis macrotis*. *J Fac Agr Kyushu Univ* 49:355-365.
- Lee JH, Son SW, Mori T, Shiraishi S (1993). Studies on the reproductive pattern in the male of Korean greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum korai*. I. The cycle of seminiferous epithelium and histological changes of testis. *Korean J Zool* 36:36-50.
- Lin M, Harman A, Rodger JC (1997) Spermiogenesis and spermiation in a marsupial, the Tammar wallaby (*Macropus eugenii*). *J Anat* 190:377-395.
- Lin M, Jones RC (2000) Spermiogenesis and spermiation in a monotreme mammal, the platypus, *Ornithorhynchus anatinus*. *J Anat* 196:217-232.
- Mori T, Arai S, Shiraishi S, 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* 16:1-12.
- Morigaki T, Kurohmaru M, Kanai Y, Mukohiyama M, Honda E, Yamada J, Agungpriyono S, Hayashi Y (2001) 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.
- Patil SB, Saidapur SK (1991) Kinetics of spermatogenesis in the wild squirrel (*Funambulus palmarum Linnaeus*). *Acta Anat* 141:352-363.
- Phillips DM (1974) Spermiogenesis. Academic Press., New York, pp 16-17.
- Plöen L, Ekwall H, Afzelius BA (1979) Spermiogenesis and the spermatozoa of the European common shrew (*Sorex araneus L.*). *J Ultrastr Res* 68:149-159.
- Son SW, Lee JH (1995) Spermiogenesis in the Korean striped field mouse (*Apodemus agrarius coreae*). *Korean J Zool* 38:395-404.
- Son SW, Lee JH (1996) Spermiogenesis in the Korean Red-backed vole, *Clethrionomys rufocanus regulus*. *Korean J Biomed Lab Sci* 2:57-69.
- Tait AJ, Johnson E (1982) Spermatogenesis in the grey squirrel (*Sciurus carolinensis*) and changes during sexual regression. *J Reprod Fert* 65:53-58.
- Vogl AW, Lin YC, Dym M, Fawcett DW (1983) 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.
- Vogl AW, Soucy LJ, Foo V (1985) Ultrastructure of Sertoli-cell penetrating processes found in germ cells of the Golden-mantled ground squirrel (*Spermophilus lateralis*). Am J Anat 172:75-86.
- Yasumoto A, Masmichi K, Shosaku H, Yoshihiro H (1992) Spermatogenesis in the Watase's shrew, *Crocidura watasei*. -A light and electron microscopic study-. Exp Anim 41:295-303.