

P0417

## 돼지의 체외수정시 정자와 난자내 Plasminogen Activators Activity의 변화

사수진, 이상영<sup>†</sup>, 정희태, 양부근, 김정익, 박춘근

강원대학교 동물자원과학대학, <sup>†</sup> 경상남도 첨단양돈연구소

Plasminogen activators (PAs)는 자궁분비액, 난포액, 정장물질 등을 포함한 여러 가지 세포의 분비액(extracellular fluids) 및 plasma에 풍부하게 존재하는 세포의 전구효소인 plasminogen을 plasmin으로 전환시키는 단백질분해효소이다. PAs는 섬유소용해, 배란, 착상 및 수정을 포함한 다양한 생리적인 과정에서 중요한 역할을 수행하는 것으로 알려져 있다. 따라서, 본 연구는 돼지의 체외수정 과정시 정자와 난자에서의 plasminogen activators activity의 변화를 SDS-PAGE와 zymography를 이용하여 검토하였다. 돼지의 신선정자에서 PAs의 존재여부와 type을 밝히기 위해서 mPBS로 1900×g, 4분간 3회 원심분리하는 방법으로 정자처리 후 정자에서의 PAs activity를 분석한 결과, 각각 tPA-PAI, tPA, uPA인 것으로 보이는 세 개의 단백질용해성 밴드(약 114 kD, 78 kD, 58 kD)가 확인되었다. 또한, 정자처리후 체외수정용 배양액(mTBM)내에서 정자를 전배양시킬 경우 배양시간(0, 2, 4, 6h) 경과에 따른 정자에서의 수정능력획득과 침체반응 및 이와 관련된 PAs activity 변화를 검토한 결과, 전배양시간이 길어짐에 따라 침체반응이 일어난 정자의 비율이 유의적으로 증가( $P < 0.05$ )하였으나, 정자내의 PAs activity는 전배양시간이 경과함에 따라 점차 감소하는 경향을 나타냈다. 그렇지만, sperm-conditioned medium에서의 PAs activity는 정자 전배양시간이 경과함에 따라 점차 증가하는 경향을 나타냈다. 한편, 체외수정시 정자의 난자내 침입에 따른 난자에서의 PAs activity 변화를 검토하기 위해서 체외성숙란, 체외성숙후 정자를 첨가하지 않고 체외수정배양액 내에서 24시간 추가배양된 미수정란, 체외수정후 24시간동안 배양된 수정란에서 각각 PAs activity 변화를 검토하였다. 그 결과, 체외성숙을 마친 후 24시간 동안 정자와 공배양하여 체외수정된 난자에서만 tPA activity가 검출되었을 뿐, 나머지 실험구에서는 어떠한 PAs activity도 검출되지 않았다. 본 연구의 결과, 돼지정자에는 세 가지 유형의 PAs (tPA-PAI, tPA, uPA)가 존재하며, 체외수정과정시 정자가 침체반응을 겪는 동안 정자 내부에 존재하는 이러한 PAs가 세포외로 방출되는 것으로 생각된다. 또한, 정자의 침입을 받은 체외수정된 돼지난자는 tPA를 생성하는 것으로 생각된다.

Key words: *Plasminogen activators*, 수정능력획득, 침체반응, 체외수정, 돼지