

P-27

사람과 생쥐 정자의 침체반응 전후 Aquaporin7, 8, 9 발현의 변화

김동민 · 이재은 · 계명찬

한양대학교 생명과학과

Objectives: Aquaporin (APQ)은 세포 내외 수분 이동에 관여하는 막단백질로 현재 13종 포유류 다양한 조직에서 발현된다. AQP 수분항상성 조절 이외에도 organic transporter로서의 기능이 보고되었다. AQP 중 AQP7과 AQP8, 그리고 AQP9은 정소에서 Sertoli과 germ cell에서 관찰된다. 본 연구는 사람과 생쥐의 정자에서 AQP7, 8, 9의 발현을 조사하는 한편 침체반응 (acrosome reaction, AR) 전후 AQP7, 8, 9의 발현 변화를 분석하고자 수행하였다.

Methods: 사람의 사정된 정자 및 생 후 10주령 성체 생쥐로부터 부정소 미부를 적출하여 혈액을 제거한 후 HTF media에서 정자를 수확하였다. 15분간의 상온 정지 후 운동성 있는 정자를 수거, 원심분리 수세를 하여 정자를 준비하였다. 60분 배양 후 calcium ionophore (A23187)를 처리하여 침체반응을 유도하였다. 배양이 끝난 정자 현탁액에서 일부를 분주하여 상온에서 건조 후 cold acetone으로 고정하였다. AQP7, AQP8, AQP9 항체를 이용하여 면역염색을 시행한 후 침체반응 전후에서의 각 단백질의 발현을 confocal microscopy로 확인하였다. Western blot 실험을 위해 정자현탁액을 원심분리 후 RIPA buffer를 사용하여 단백질을 추출하였다. SDS-PAGE 후 NC membrane에 전이시켰다. 면역염색실험과 동일한 AQP7, AQP8, AQP9 항체와 ECL kit를 사용하여 신호를 검출하였다.

Results: AQP7은 정자의 두부에서 침체부위에서 다량 발현되었고 침체반응 이후에 두부에서 신호가 검출되지 않았다. 반면 AQP8은 정자의 두부 중편, 미부표면에서 고르게 발현되었으며, 침체반응 이후에도 별다른 차이를 보이지 않았다. 사람의 정자에서도 AQP7, 8 그리고 9가 확인되었는데 침체반응 후에 두부와 미부에서 증가하였다. Western blot 상에서 AQP7의 경우 생쥐 정자에서는 침체반응유도 후 two band로 검출되었다. AQP8은 단백질 양, 또는 pattern면에서 침체반응 전후의 차이가 없었다. 사람정자의 Western blot에서도 AQP7의 경우 확실히 증가하는 모습을 보였다.

Conclusion: Western blot에서 검출된 크기가 다른 AQP7이 검출되므로 침체반응 과정 동안에 peptide cleavage가 진행되었거나 기타 인산화 및 glycosilation 등 같은 변화가 예상된다. 정자에 존재하는 AQP7과 8, 9은 이러한 modification의 과정을 통해 정자가 부정소 관강 내부에 머무르는 시기 및 수정과정에서 정자 세포 내외로의 수분 이동 조절을 통해 정자성숙, 수정능력획득, 침체반응 및 glycerol 등의 이동을 통한 대사조절에 관여할 것으로 예상된다.

P-28 Temporal Expression Profiles of Early Growth Response Factor (Egr) Family and Their Cofactors in Testes of Immature and Adult Egr1 Deficient Mice

Hyunjoo Kim, Ji Young Choi, Jin Hyun Jun, Haengseok Song

Laboratory of Reproductive Biology & Infertility, Cheil General Hospital & Women's Healthcare Center,
Kwandong University College of Medicine

Objectives: The Egr family of zinc finger transcription factors consisting of 4 members regulates critical genetic programs