

P-14 생쥐 부정소 정자에서 Aquaporin7과 8의 발현

김동민 · 이재은 · 계명찬

한양대학교 생명과학과

Objectives: Aquaporin (AQP)은 포유류 체내에 고루 분포되어 있는 세포 내외 수분 이동에 관여하는 막단백질이다. 현재 13종의 AQP 단백질이 포유류에서 알려져 있으며 각각의 조직에서 AQP들의 발현 특이성에 관한 연구가 많이 진행되고 있다. AQP 중에서 AQP7 과 AQP8은 정소에서 발현도가 높으며, 특히 AQP8은 Sertoli 세포에서 많이 관찰된다. 본 연구는 부정소 정자에서 침체반응 (AR) 전후 AQP7, 8의 발현의 변화를 분석하고자 수행하였다.

Methods: 생쥐 부정소 정자 수확 및 침체반응 유도 - 10주령 성체 생쥐로부터 부정소 미부를 적출하였고, 혈액을 제거한 후 HTF media에서 정자를 수확하였다. 15분간의 상온 정치 후 운동성 있는 정자를 수거, 원심분리 수세를 하여 정자를 준비하였다. 새로운 배양액을 첨가한 후 60 분 배양 후 calcium ionophore (A23187)를 처리하여 침체반응을 유도하였다. Immunocytochemistry - 배양이 끝난 정자 현탁액에서 일부를 슬라이드에 분주하여 상온에서 건조 후 cold acetone으로 고정하였다. AQP7과 AQP8 항체로 면역염색을 시행한 후 침체반응의 전후에서의 각 단백질의 발현을 Confocal microscope로 확인하였다. Western Blotting - 정자 현탁액을 원심분리 후 RIPA buffer를 사용하여 단백질을 추출하였다. SDS-PAGE 후 NC membrane에 전이 후 앞서와 동일한 AQP7과 AQP8 항체와 ECL kit를 사용하여 신호를 검출하였다.

Results: Western blot을 통한 실험에서 AQP7 및 AQP8 단백질이 검출되었다. 특히 AQP7의 경우 침체반응유도 후 two band로 검출되었다. 하지만 AQP8의 경우에는 단백질 양, 또는 pattern면에서 침체반응 전후의 차이가 없었다.

Conclusion: 정자 내에서 활성화적인 측면에서 볼 때 AQP7과 AQP8 단백질은 침체반응 후에 인산화나 glycosilation 등과 같은 단백질 자체의 변화가 있을 것으로 사료된다. 또한 AQP7의 Western blotting 결과에서 크기가 조금 다른 multi-band를 확인함으로써 정자에서 AQP family는 여러가지 form으로 존재하는 것으로 사료된다.