大韓不妊學會雜誌: 第24卷 第1號 1997
Kor. J. Fertil. Steril., Vol. 24, No. 1, 1997, 4

저정낭액이 생쥐 부정소 정자의 첨체반응에 미치는 영향

경기대학교 이과대학 생물학과; [1]이화여자대학교 의과대학 의학과;
[2]한양대학교 자연과학대학 생물학과

계명찬 · 김성례[1] · 김문규[2]

Effect of Seminal Vesicle Fluid Components on Acrosome Reaction of Mouse Epididymal Sperm

Myung Chan Gye, Sung Rye Kim[1] and Moon Kyoo Kim[2]

Department of Biology, College of Natural Sciences, Kyonggi University, Suwon, Korea;
[1]Department of Medicine, College of Medicine, Ewha Women's University, Seoul, Korea;
[2]Department of Biology, College of Natural Sciences, Hanyang University, Seoul, Korea

= Abstract =

This study aimed to evaluate the effect of seminal vesicle fluid (SVF) on the acrosome reaction (AR) occurred spontaneously or induced by Ca^{2+} ionophore A23187, follicular fluid, and progesterone in mouse epididymal sperm. SVF was divided into high (MW >10 kD) and low (MW <10 kD) fractions by ultrafiltration. The low MW fraction of SVF decreased the rate of spontaneous AR, however the high MW fraction did not. It suggested that the low MW fraction of SVF might have contained decapacitation factor(s) responsible for prolonging of time need for capacitation. When sperm preincubated for 60 min in the presence of SVF, the rate of AR induced by A23187 was decreased, but prolongation of preincubation time for 120 min significantly potentiated the AR by A23187. It suggested that addition of SVF into sperm preincubation medium imposed the epididymal sperm a condition similar to ejaculatio. AR induced by human follicular fluid or progesterone was also inhibited by SVF. It suggested that substance in SVF might have affected AR of mouse sperm by inhibiting the interaction between AR inducing ligands and sperm surface receptors involved in acrosomal exocytosis.

Key Words: seminal vesicle fluid, acrosome reaction, mouse sperm.

서 론

포유류 정자는 암컷의 생식수관내에서 일정시간 거치는 동안 생리적 변화를 일으켜 첨체반응이 일어날 수 있는 상태로 전환되어 난자를 수정할 수 있게 되며 이를 정자의 수정능력획득(capacitation)이라 한다 (Austin, 1951; Chang, 1951). 정자의 첨체반응은 수정능력획득 상태에 의존적으로 진행되는 자발적인 것과 (Lee & Storey, 1985) 투명대 당단백질인 zona glycoprotein 3 (ZP 3) (Wassarman, 1988), Ca^{2+} ionophore (Babcock *et al.*, 1976; Fraser, 1984), 난포액 (Suarez *et al.*, 1986; Siiteri *et al.*, 1988; Gye & Kim, 1996), progesterone (Osman *et al.*, 1989; Blackmore *et al.*, 1991; Foresta *et al.*, 1992; Shi & Roldan, 1995) 등

*본 연구는 1996년도 교육부 기초과학육성 연구비 (BSRI-96-4437) 및 경기대학교 교내연구비 (1996년도) 지원에 의한 것임.

의 유발물질에 의해 유도되는 유발성 첨체반응으로 크게 나누어 볼 수 있다. Ca^{2+}은 수정능력획득과 첨체반응에 중요한 조절요인이며 수정능력획득 과정동안 진행되는 정자내 점진적인 Ca^{2+}의 증가 (Breitbart *et al.*, 1990)와 난자주위의 첨체반응 유발물질과 정자표면 항원의 결합으로 야기되는 Ca^{2+} influx, 정자의 원형질막과 외첨체막간의 융합 및 이탈과 이에 따른 첨체효소의 노출 및 분산이 진행된다 (Yanagimachi, 1994).

정자의 수정능력획득은 자성 생식수관액 뿐 아니라 수컷의 부속성선에서 분비되어 사정시 정자의 표면에 부착하게 되는 물질들에 의해 조절된다 (Yanagimachi, 1994). 저정낭액은 정장(seminal plasma)의 주요 구성물로 소의 정자에서 세포질내로의 Ca^{2+}의 증가를 억제한다 (Rufo *et al.*, 1982; 1984). 부속성선으로부터 분비된 탈수정요소 (decapacitation factor) (Oliphant, 1976), caltrin (Coronel & Lardy, 1992), proteinase inhibitor (Boettger-Tong *et al.*, 1992)등의 *sperm coating antigen*이 사정시 정자의 원형질막 표면을 덮어 정자의 수정능력을 감소시키는 것으로 보고되었다 (Shalgi *et al.*, 1981). 이들 물질은 수정능력획득 과정에서 정자표면에서 분리되며 (Fraser, 1984) 수정능력을 획득한 정자에 웅성부속성선 분비물을 처리할 경우 수정능력획득 이전의 상태로 복원된다 (Davis & Davis, 1983). Ca^{2+}은 정자의 수정능력획득 및 첨체반응의 결정적인 조절요인으로서 정자의 수정능력획득 중 정자의 세포질내 Ca^{2+}농도는 점진적으로 증가하지만 (Singh *et al.*, 1978; Okamura *et al.*, 1993; Suarez *et al.*, 1993), 정자의 원형질막 표면의 Ca^{2+}-ATPase의 작용으로 세포내의 Ca^{2+} 농도는 외부보다 낮게 유지된다 (Fraser & McDermott, 1992). 체외에서의 수정능력획득은 배양액내 100 uM정도의 Ca^{2+}의 존재하에서도 진행되지만 Ca^{2+}-dependent exocytosis인 첨체반응의 유발에는 배양액내 1 mM 이상의 Ca^{2+}이 요구된다 (Fraser & McIntyre, 1989). 따라서 수정능력획득 동안의 세포외 Ca^{2+}의 세포절내로의 점진적인 유입은 차후의 첨체반응에 선결요인으로 알려져 있다.

여러 종류의 trypsin inhibitor들이 첨체반응을 억제하는데 soybean trypsin inhibitor는 투명대에 의해 유발되는 생쥐 정자의 첨체반응을 억제하며 (Saling, 1981), 쥐의 저정낭액에는 저분자량의 proteinase inhibitor가 존재한다 (Boettger-Tong *et al.*, 1992). Synthetic tyrpsin inhibitor 또는 serine protease inhibitor계열의 benzamidine등이 사람의 정자에서 progesterone(P_4)에 의해 유발되는 Ca^{2+} influx를 억제하며 (Pillai & Meizel, 1991), *p*-aminobezamidine (*p*AB), *N*-α-*p*-tosyl-*L*-lysine chloromethylketone (TLCK), *p*-nitrophenyl-*p'*-guanidino-benzoate (NPGB)는 투명대에 의해 유발되는 첨체반응 및 투명대관입을 억제한다 (Llanos *et al.*, 1993). 그러나 저정낭액에 의해 정자내 Ca^{2+}유입의 억제를 통한 수정능력획득의 억제, 첨체반응 직전에 유발되는 Ca^{2+} influx의 억제, 또는 첨체효소의 활성화 과정자체를 억제함으로서 첨체반응을 억제하는지는 불분명하다. 본 연구는 저정낭액이 첨체반응에 미치는 영향을 조사하고자 생쥐 저정낭액을 분자량 10 kD를 기준으로 분획하여 자발적 첨체반응을 억제하는 분획을 결정한 후 자발적 첨체반응 및 A23187, 난포액, progesterone등에 의해 유발되는 첨체반응에 미치는 영향을 조사하였다.

재료 및 방법

저정낭액의 채취: 경추파괴로 도살한 ICR계 생쥐의 복강내에서 응고선을 제거한 2개의 저정낭을 2 ml의 배양액 (modified Tyrode solution, Parrish *et al.*, 1988)이 들어 있는 배양접시로 옮긴 후 가위로 절편화한 후 10분간 상온에서 정치시켰다. 상층액을 시험관에 옮긴 후 5,000 g에서 10분간 원심분리하여 상층액만을 채취하였다. 이 상층액은 4℃, 20,000 g에서 1시간 동안 원심분리한 후 상층액만을 수획하였다. Ultrafiltration membrane (10 kD MW cut off, Millipore)을 이용하여 분자량 10 kD 이하의 fraction을 분취하였다.

난포액의 채취: 체외수정 시술을 위해 내원한 환자의 배란전 난포 (직경 25 mm이상)로 부터 채취한 난포액을 millipore filter (pore size 0.25 μm)로 여과한 후 사용시까지 -20℃의 저온에서 보관하였다. 채취한 난포액은 사용전 60℃에서 30분간 처리한 후 첨체반응 유도에 사용하였다 (Gye & Kim, 1996).

정자의 수획 및 배양: ICR계의 생 후 4개월된 수컷 생쥐를 경추파괴로 도살한 후 미부 부정소 (cauda epididymis)를 적출하였다. M2 배양액 (Fulton & Whittingham, 1978) 내에서 조직의 혈액을 제거한 후 2 % BSA를 함유한 modified Tyrode

solution에 옮겨 조직에 압력을 가하여 부정소관 내의 정자를 배양액내로 유출시킨 후 상온에서 10분간 정치하였다. 정자 현탁액을 수획하여 정자 농도를 5 × 10^6 sperm/ml로 조절한 후 96 well dish에 180 μl씩 분주하고 저정낭 1개로부터 추출된 SVF (1 SVF equivalent) 또는 배양액을 20 μl 첨가하여 60분 또는 120분간 배양하였다. 전배양한 정자현탁액에 난포액 (10 %, v/v), Ca^{2+} ionophore A23187 (10 uM), 또는 progesterone (1 ug/ml)등을 첨가하여 60분간 추가로 배양하였다. 비처리 대조군에서는 동량의 배양액을 첨가하였다.

첨체반응의 검증: 배양을 끝낸 정자의 현탁액에 동량의 고정액 (5 % formaldehyde in PBS)을 첨가하여 1시간 동안 고정한 후 10,000 g에서 10초간 원심분리하여 상등액을 제거하였다. PBS를 첨가하여 같은 방법으로 세척하고 PBS로 재현탁한 정자들을 슬라이드에 도말하여 건조시켰다. 건조된 정자는 Moller 등 (1990)의 방법에 따라 0.5 % Coomassie brilliant blue R250 용액으로 2분간 염색한 후 PBS로 세척한 후 PBS : glycerol (1:1, v/v) 용액으로 mounting하여 1,000 배 시야에서 관찰하였다. 정자의 두부에 위치한 첨체의 전체가 파랗게 염색된 정자는 첨체미반응 정자로, 첨체부위가 염색되지 않는 정자는 첨체반응 정자로 판정하였다. 서로 다른 정자현탁액으로 부터 준비된 슬라이드를 4개에서 한 슬라이드당 200개 이상의 정자를 검경하여 첨체반응율 (% AR)을 산출하였다. 실험군간의 유의성 검증은 PC-STAT program을 이용하여 ANOVA 또는 Student's *t*-test로 하였으며 $p<0.05$인 경우 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

자발적인 첨체반응에 미치는 저정낭액의 영향: Coomassie brilliant blue R250로 정자를 염색하여 첨체부위에 진한 염색을 보이는 정자 (Fig. 1A)와 첨체부위가 염색되지 않는 첨체반응 정자 (Fig. 1B)가 명확히 구분된다. 120분간 배양하는 동안에 정자에서 일어나는 자발적인 첨체반응은 저정낭액 처리군에서 유의하게 감소하였다 (Table 1). 분자량 10 kD를 기준으로 저정낭액을 분획하였을 때 고분자량 (MW > 10 kD)의 저정낭액 처리군의 첨체반응율은 비처리 대조군과 유의한 차이를 보이지 않았으나 저분자량의 저정낭액

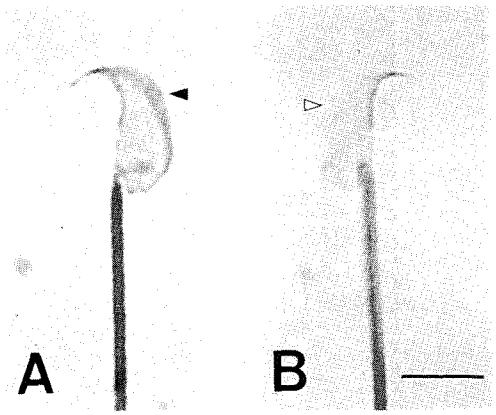

Fig. 1. Microphotographs of mouse sperm stained with Coomassie brilliant blue R250. (A) Epididymal sperm with intact acrosome. Acrosomal cap (filled arrowhead) was stained. (B) Acrosome-reacted sperm. No staining is observed in the convex ridge of sperm head (open arrowhead). Bar = 5 μm.

Table 1. Effect of seminal vesicle fluid component on acrosome reaction of mouse epididymal sperm

Treatment	% AR (mean±SD)[c]
control (medium only)	30.3 ± 2.3[1]
non fractionated seminal vesicle fluid (SVF)	25.3 ± 3.1[2]
high molecular weight fraction of SVF	31.3 ± 3.5[1]
low molecular weight fraction of SVF	23.5 ± 2.5[2]

Sperm collected form cauda epididymis were preincubated w/wo SVF (0.1 equivalent/ml) for 120 min. Acrosome reaction rates (%) were statistically analysed by one-way ANOVA using PC-STAT program. n=4; [1, 2]; Means which were not significantly different were followed by the same number (significance $p < 0.05$).

처리군에서 첨체반응이 유의하게 억제되었다 (Table 1).

Ca^{2+} ionophore A23187에 의해 유발되는 첨체반응에 미치는 저정낭액의 영향: 60분간 전배양한 후 A23187처리 시 유발된 첨체반응은 저정낭액 처리군에서 비처리 대조군 보다 유의하게 감소하였다 (Table 2). 한편 120분간 전배양 한 후 A23187을 처리하여 첨체반응을 유발한 경우도 저정낭액 처리군에서 유의하게 감소하였으나 저정낭액 처리군과 비처리군간의 첨체반응율의 차

Table 2. Effect of seminal vesicle fluid component on A23187-induced acrosome reaction of mouse epididymal sperm

SVF	Preincubation time (min)	% AR (mean±SD)
−	60	80.3 ± 2.3
+	60	40.3 ± 5.1*
−	120	83.3 ± 3.3
+	120	72.3 ± 5.1**

Sperm collected form cauda epididymis were preincubated w/wo SVF (0.1 equivalent/ml) for 60 or 120 min. A23187 (10 uM in 0.1 % DMSO) was added to preincubated sperm suspemsion and incubated for 60 min. Acrosome reaction rates (%) were statistically analysed by using PC-STAT program. Differences in AR rates among the experimental groups were analyzed by Student's *t*-test. +, −; presence or absence of SVF respectively. *, Means which were significantly ($p < 0.05$) different from SVF free group; **, Means which were significantly ($p<0.01$) different from SVF free group (n=4).

Table 3. Effect of seminal vesicle fluid component on progesterone-induced acrosome reaction of mouse epididymal sperm

SVF	Preincubation time (min)	% AR (mean±SD)
−	60	50.7 ± 3.3
+	60	26.5 ± 3.5**

% AR of sperm preincubated for 120min was 35.7 ± 3.5 %. Sperm collected from cauda epididymis were preincubated w/wo SVF (0.1 equivalent/ml) for 60 min. Progesterone (1 ug/ml in 0.1 % DMSO) was added to preincubated sperm suspension and incubated for 60 min. Acrosome reaction rates (%) were statistically analysed by using PC-STAT program. Differences in AR rates among the experimental groups were analyzed by Student's *t*-test. ,+ −; presence or absence of SVF respectively. **, Means which were significantly ($p<0.01$) different from SVF free group (n=4).

이는 60분 전배양 한 결과에서 보다 감소하였다 (Table 2).

Progesterone에 의해 유발된 첨체반응에 미치는 저정낭액의 영향: 120분간 전배양한 정자에 progesterone (1 ug/ml)을 처리한 후 60분간 배양하

Table 4. Effect of seminal vesicle fluid component on human follicular fluid-induced acrosome reaction of mouse epididymal sperm

SVF	preincubation time (min)	% AR (mean±SD)
−	60	66.7 ± 3.0
+	60	28.3 ± 4.0**

% AR of sperm preincubated for 120min was 30.0 ± 3.3 %. Sperm collected form cauda epididymis were preincubated w/wo SVF (0.1 equivalent/ml) for 60 min. Human follicular fluid (10 %, v/v) was added to preincubated sperm suspemsion and incubated for 60 min. Acrosome reaction rates (%) were statistically analysed by using PC-STAT program. Differences in AR rates among the experimental groups were analyzed by Student's *t*-test. +, −; presence or absence of SVF respectively. **, Means which were significantly ($p<0.001$) different from SVF free group (n=4).

였을 때의 첨체반응율은 전배양 과정동안에 저정낭액을 첨가한 경우 유의하게 낮았다 (Table 3).

난포액에 의해 유발되는 첨체반응에 미치는 저정낭액의 영향: 저정낭액을 첨가한 배양액내에서 120분간 전배양한 후 사람의 난포액을 10 % (v/v)농도로 처리하여 첨체반응을 유발한 경우 첨체반응율이 저정낭액 비처리군의 것보다 유의하게 낮았다 (Table 4).

고 찰

생쥐의 정자를 체외에서 배양하면 다른 종에서 보고된 것보다 매우 높은 자발적 첨체반응이 일어난다 (Gye & Kim, 1996). 수정능력을 획득한 정자는 투명대 당단백질이나 외부로 첨가된 ligands에 의해 첨체반응 직전의 상태로 전이를 거쳐 첨체반응을 일으킨 상태로 변화된다 (Ward & Kopf, 1993). 자발적인 첨체반응은 부정소 정자가 정자내 Ca^{2+}의 증가 (Fraser & McDermott, 1992)를 통해 수정능력획득 상태에서 외부의 ligands와의 상호작용 없이 첨체반응 전이단계를 거쳐 첨체반응을 일으킨 상태이며 수정능력획득 정도에 의존적으로 일어난다 (Lee & Storey, 1985). 수정능력획득 동안 정자내 Ca^{2+} 농도는 점진적으로 증가하지만 (Singh *et al.*, 1978), 정자의 원형질막 표면에 존재하는 Ca^{2+}-ATPase등의 작

용으로 수정능력획득 동안의 세포내의 Ca^{2+} 농도는 외부보다 낮은 상태로 유지된다 (Fraser & McDermott, 1992). 본 실험에서 부정소에서 수획한 직후 저정낭액 추출물과 함께 배양한 정자의 자발적 첨체반응은 저정낭액 비처리군 보다 유의하게 낮았다 (Table 1). 따라서 저정낭액에 의해 정자의 수정능력획득이 억제된 것으로 사료된다. Ca^{2+} ionophore A23187은 세포밖 Ca^{2+} influx를 유발함으로서 정자내의 Ca^{2+}을 급격히 증가시켜 첨체반응을 유발한다. 저정낭액이 첨가된 배양액에서 60분간 전배양한 정자에 A23187을 처리하여 첨체반응을 유발한 경우 첨체반응율은 유의하게 낮았다. 그러나 전배양 시간을 120분으로 연장한 후 A23187을 처리하면 첨체반응은 60분 전배양한 것보다 유의하게 증가된다 (Table 2). 이는 자발적인 첨체반응에서와 같이 저정낭액과 함께 전배양한 경우 A23187 처리에 반응하여 세포질내로 Ca^{2+}의 유입이 일어날 수 있는 정자가 적음을 의미한다. A23187 처리에 따른 첨체반응 결과는 정자의 수정능력획득 상태와 밀접한 관계가 있으므로 (Fraser & McIntyre, 1989) 저정낭액의 첨가로 인한 수정능력획득 지연은 차후 Ca^{2+}의 유입의 억제 또는 지연으로 나타난 것으로 추측된다. 소의 사정 정자는 부정소 정자에 비해 cytosolic Ca^{2+} increase가 느리고 낮게 나타난다 (Rufo *et al.*, 1982; 1984). 부정소 정자가 사정과정에서 저정낭액과 혼합된다는 사실을 고려할 때 부정소 정자를 저정낭액이 첨가된 배양액에서 배양하는 것은 사정된 정자가 체내에서 진행하는 수정능력획득과 유사한 조건을 부여된 것으로 추측된다. 특히 전배양시간이 증가할 수록 자발적 첨체반응율도 증가하였는데 이는 사정된 정자가 암컷의 생식수관내에서 진행되는 정자의 수정능력획득 현상과 매우 유사하다.

Progesterone (P_4)는 사람의 정자에서 세포질내로 Ca^{2+}의 유입을 증가시키며 첨체반응을 유발하고 (Osman *et al.*, 1989; Blackmore *et al.*, 1991), 난포액 역시 여러 종에서 첨체반응을 유발하며 (Meizel, 1985; Thomas & Meizel, 1988) 여러 가지 첨체반응의 유발물질을 함유하고 있다 (Miska *et al.*, 1994; Zamir *et al.*, 1995). P_4 또는 난포액에 의해 유발되는 첨체반응은 정자의 전배양시 저정낭액의 첨가에 의해 감소한다 (Table 3 and 4). 이 두 종류의 첨체반응 유발물질은 정자의 원형질막의 수용체에 작용하여 첨체반응을 유발한다 (Tesarik *et al.*, 1992; 1993; Shi & Roldan, 1995; Gye & Kim, 1996). 따라서 저정낭액은 수정능력획득 억제 이외에도 P_4 또는 난포액내의 첨체반응 유발물질과 정자표면 수용체간의 상호작용을 억제함으로서 첨체반응을 억제한 것으로 사료된다.

저정낭액의 첨체반응의 억제효과는 저분자량의 분획에서만 관찰되었다 (Table 1). 쥐의 저정낭에서 분비된 분자량 6 kD의 proteinase inhibitor의 활성을 갖는 단백질은 첨체효소의 활성을 억제한다 (Boettger-Tong *et al.*, 1992). 여러 종류의 trypsin inhibitor들이 첨체반응을 억제하는데 soybean trypsin inhibitor (SBTI)는 투명대에 의해 유발되는 생쥐 정자의 첨체반응을 억제하며 (Saling, 1981), synthetic trypsin inhibitor 또는 serine protease inhibitor계열의 benzamidine등이 사람의 정자에서 P_4에 의해 유발되는 Ca^{2+} influx를 억제하며 (Pillai & Meizel, 1991), *p*-aminobezamidine (pAB), *N*-α-*p*-tosyl-*L*-lysine chloromethyl-ketone (TLCK), *p*-nitrophenyl-*p'*-guanidino-benzoate (NPGB)는 투명대에 의해 유발되는 첨체반응을 억제한다 (Llanos *et al.*, 1993). 따라서 trypsin inhibitor에 의한 첨체반응의 억제는 Ca^{2+} influx 조절과 관계된 것으로 추측되지만 첨체반응 과정에서 일어나는 zymogen type의 첨체효소의 활성화 (Polakosi & Siegel, 1986) 또는 proteolytic cleavage에 의한 정자표면의 첨체반응 유발물질에 대한 수용체와 유도물질간의 친화력 증가현상이 저정낭액에 의해 억제되었거나, 단순한 hinderic inhibition의 가능성 등을 배제할 수 없다. 저정낭액에 의한 수정능력획득의 억제 및 자발적 첨체반응의 억제효과는 정자가 난자의 주위에 도달하기 전에 자발적으로 첨체반응을 일으켜 초래되는 수정감소의 방지기작으로 사료된다. 저정낭액의 첨체반응 억제효과는 Ca^{2+} influx를 억제함으로서 작용하는 것으로 사료된다. 한편 trypsin inhibitor는 정자의 세포질내로 Ca^{2+} influx를 억제하는 효과 이외에도 막융합 이후 첨체기질 (acrosomal matrix)의 분산을 억제하는 것으로 알려져 있다. 특히 난포액은 첨체효소를 활성화시킬 수 있으며 (Drahorad *et al.*, 1988) 첨체반응 과정에서 정자의 proacrosin이 활성화된 형태인 acrosin으로 변화되는 과정이 (Green, 1978; Polakoski and Siegel, 1986) 필수적이므로 저정낭액내의 trypsin inhibitor가 이 과정을 억제함으로서 첨체반응을 억

제할 수 있을 것으로 사료된다. 이의 규명을 위해서는 첨체반응을 억제하는 것으로 나타난 생쥐의 저정낭내 저분자량 분획에 대한 trypsin inhibitor의 활성에 대한 연구가 필요하다.

결 론

생쥐 저정낭액이 정자의 자발적 첨체반응 및 Ca^{2+} ionophore A23187, 난포액, 및 progesterone에 의해 유발되는 첨체반응에 미치는 영향을 조사하였다. 분자량 10 kD 이하의 저정낭액 성분이 첨가된 배양액내에서 생쥐 정자의 자발적인 첨체반응은 유의하게 감소하였다. 저정낭액을 첨가한 배양액내에서 전배양 한 정자에 A23187을 처리한 경우 첨체반응은 저정낭액 비처리 대조군 보다 유의하게 감소하지만 전배양 시간을 증가시키면 첨체반응의 억제효과는 감소하였다. 이는 저정낭액내의 탈수정능력획득 요인에 의한 수정능력획득의 억제 및 지연에 의한 것으로 사료된다. A23187의 처리시 상당수의 정자에서 첨체반응이 일어나 정자내 Ca^{2+}의 유입이 일어나면 저정낭액내의 억제요인의 존재와 관계없이 첨체반응이 진행될 수 있음을 의미한다. 난포액 또는 progesterone 처리로 유발된 첨체반응은 저정낭액에 의해 유의하게 감소하였다. 이는 정자표면의 수용체에 작용하여 첨체반응을 유발하는 물질과 정자표면 첨체반응 항원간의 상호작용이 저정낭액내의 물질에 의해 억제된 결과로 사료된다. 결론적으로 생쥐의 저정낭액에 존재하는 분자량 10 kD 이하의 물질은 생쥐 정자의 수정능력획득 지연, 정자내로 Ca^{2+} 유입의 억제 및 첨체반응 유발 물질과 정자표면에 존재하는 수용체간의 상호작용을 방해하여 첨체반응을 억제하는 것으로 추측된다.

REFERENCES

Austin CR: Observation on the penetration of the sperm into the mammalian egg. *Aust J Biol Sci Ser* 1951, B4, 581-592.

Babcock DF, First NL, Lardy HA: Action of ionophore A23187 at the cellular level. *J Biol Chem* 1976, 251, 3881-3886.

Blackmore PF, Neulen J, Lattanzio F, Beebe SJ: Cell surface binding sites for progesterone mediated calcium uptake in human sperm. *J Biol Chem* 1991, 266, 18655-18659.

Boettger-Tong H, Aarons D, Biegler B, Lee T, Poirior GR: Competition between zonae pelluidae and a proteinase inhibitor for sperm binding. *Biol Reprod* 1992, 47, 716-722.

Breitbart H, Cragoe EJ Jr., Lardy HA: Stimulation of Ca^{2+} uptake into epididymal bull spermatozoa by analogues of amiloride. *Eur J Biochem* 1990, 192, 529-535.

Chang MC: Fertilizing capacity of spermatozoa deposited into the fallopian tubes. *Nature* 1951, 168, 697-698.

Coronel CE, Lardy HA: Functional properties of caltrin proteins from seminal vesicle of guinea pig. *Mol Reprod Dev* 1992, 33, 74-80.

Davis BK, Davis NV: Binding by glycoproteins of seminal plasma membrane vesicles accelerates decapacitation in rabbit spermatozoa. *Biochem Biophys Acta* 1983, 727, 70-76.

Drahorad J, Cechova D, Tesarik J: Activation of proacrosin by locally produced component of human follicular fluid. *J Reprod Fertil* 1988, 83, 599-603.

Foresta C, Rossato M, Mioni R, Zorzi M: Progesterone induces capacitation in human spermatozoa. *Andrologia* 1992, 24, 33-35.

Fraser LR: Mouse sperm capacitation in vitro involves loss of surface-associated inhibitory component. *J Reprod Fertil* 1984, 72, 373-384.

Fraser LR, McDermott CA: Ca^{2+}-related changes in the mouse sperm capacitation state; A possible role for Ca^{2+}-ATPase. *J Reprod Fertil* 1992, 96, 363-377.

Fraser LR, McIntyre K: Calcium channel antagonists modulate the acrosome reaction but not capacitation in mouse spermatozoa. *J Reprod Fertil* 1989, 97, 539-549.

Fulton BP, Whittingham DG: Activation of mammalian oocytes by intracellular injection of calcium. *Nature* 1978, 273, 149-151.

Green DPL: The mechanism of the acrosome reaction. In: Johnson MJ, ed. *Development in mammals*. New York: North Holland, 1978, 3, 65-80.

Gye MC, Kim MK: Acrosome reaction of mouse

sperm by human follicular fluid. *Kor J Fertil Steril* 1996, 23, 215-222.

Lee MA, Storey BT: Evidence for plasma membrane impermeability to small ions in acrosome-intact mouse spermatozoa bound to mouse zona pellucida, using an aminoacridine fluorescent pH probe; Time course of the zona-induced acrosome reaction monitored by both chlorotetracyclin and pH probe fluorescence. *Biol Reprod* 1985, 33, 235-246.

Llanos M, Vigil P, Salgado AM, Morales P: Inhibition of the acrosome reaction by trypsin inhibitors and prevention of penetration of the spermatozoa through the human zona pellucida. *J Reprod Fert* 1993, 97, 173-178.

Meizel S: Molecules that initiate or help stimulate the acrosome reaction by their interaction with the mammlian sperm surface. *Am J Anat* 1985, 174, 285-302.

Miska W, Fehl P, Henkel R: Biochemical and immunological characterization of the acrosome reaction-inducing substance (ARIS) of HFF. *Biochem Biophys Res Comm* 1994, 199, 125-129.

Moller CC, Bleil JD, Kinloch RA, Wassarman PM: Structural and functional relationships between mouse and hamster zona pellucida glycoproteins. *Dev Biol* 1990, 137, 276-284.

Okamura N, Tanba M, Fukuda A, Sugita Y, Nagai T: Forskolin stimulates porcine sperm capacitation by increasing calcium uptake. *FEBS* 1993, 316, 283-286.

Oliphant G: Removal of sperm bound seminal plasma components as a prerequisite to induction of the rabbit acrosome reaction. *Fertil Steril* 1976, 27, 28-38.

Osman RA, Andria ML, Tones DA, Meizel S: Steroid induced exocytosis: Human sperm acrosome reaction. *Biochem Biophys Res Commun* 1989, 160, 828-833.

Parrish JJ, Susko-Parrish X, Winter MA, First NL: Capacitation of bovine sperm by heparin. *Biol Reprod* 1988, 38, 1171-1180.

Pillai MC, Meizel S: Trypsin inhibitors inhibited the progesterone-initiated increase in intracellular calcium and required for the human sperm acrosome reaction. *J Exp Zool* 1991, 258, 384-393.

Polakoski KL, Siegel MS: The proacrosin-acrosin system. In: Paulson JD, Nigro-Vilar A, Lucena E, Martin L, eds. *Andrology, male fertility and sterility*. New York: Academic Press, 1986, 359-375.

Rufo GA Jr, Singh JP, Babcock D, Lardy HA: Purification and characterization of a calcium transport inhibitor protein from bovine seminal plasma. *J Biol Chem* 1982, 257, 4627-4632.

Rufo GA Jr, Schoff PK, Lardy HA: Regulation of calcium content in bovine spermatozoa. *J Biol Chem* 1984, 259, 2547-2552.

Saling PM: Involvement of trypsin-like activity in binding of mouse spermatozoa to zona pellucida. *Proc Natl Acad Sci USA* 1981, 78, 6231-6235.

Shalgi R, Kaplan R, Nebel L, Kraicer PF: The male factor in fertilization in rat eggs. *J Exp Zool* 1981, 217, 399-402.

Shi Q-X, Roldan ERS: Evidence that a $GABA_A$-like receptor is involved in progesterone-induced acrosomal exocytosis in mouse spermatozoa. *Biol Reprod* 1995, 52, 373-381.

Siiteri JE, Gottlieb W, Meizel S: Partial characterization of a fraction from human follicular fluid that initiates the human sperm acrosome reaction *in vitro*. *Gamete Res* 1988, 20, 25-42.

Singh JP, Babcock DF, Lardy HA: Increased calcium influx is a component of capacitation. *Biochem J* 1978, 172, 549-556.

Suarez SS, Wolf D, Meizel S: Induction of the acrosome reaction in human spermatozoa by a fraction of human follicular fluid. *Gamete Res* 1986, 14, 107-121.

Suarez SS, Varosi Sm, Dai X: Intracellular calcium increases with hyperactivation in intact moving hamster sperm and oscillates with the flagella beat cycle. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993, 90, 4660-4664.

Tesarik J, Moos J, Mendoza C: Stimulation of protein tyrosine phosphorylation by a progesterone receptor on the cell surface of human sperm. *Endocrinol* 1993, 133, 328-335.

Tesarik J, Mendoza C, Moos J, Carreras A: Selective expression of a progesterone receptor on the human sperm surface. *Fertil Steril* 1992, 58, 784-792.

Thomas P, Meizel S: An influx of extracellular calcium is required for initiation of the human sperm acrosome reaction induced by human follicular fluid. *Gamete Res* 1988, 20, 397-411.

Ward CR, Kopf GS: Molecular events mediating sperm activation. *Dev Biol* 1993, 158, 9-34.

Wassarman PM: Zona pellucida glycoproteins. *Ann Rev Biochem* 1988, 57, 415-442.

Yanagimachi R: Mammalian fertilization. In: Knobil E, Neill J, eds. *The physiology of reproduction.* New York: Raven Press, 1994, 1, 189-317.

Zamir N, Barken D, Keynan N, Naor Z, Breitbart H: Atrial natriuretic peptide induces acrosomal exocytosis in bovine spermatozoa. *Am J Physiol* 1995, 269, 216-221.