

에 따른 활성화율은 5 및 10 μs 보다 30, 50, 70 및 90 μs 가 유의적으로 높았으며 ($p < 0.01$) 발생율은 30, 50 및 70 μs 가 유의적으로 높게 나타났다 ($p < 0.05$). 단위발생 상실배의 아미노산 대사능은 glutamate, asparagine, phenylalanine, arginine, proline이 유의적으로 높았다. 배반포의 아미노산 섭취율이 상실배보다 높게 나타났으며, 특히 필수아미노산이 많이 소비되었다.

O-16 인간정자의 침체 반응에서 T-형 Ca^{2+} 채널의 관여 및 인간 고환에서 Ca^{2+} 채널의 동정

대진의료재단 분당제생병원 ¹불임 및 생식의학연구소, ²비뇨기과, ³산부인과, ⁴서강대학교 생명과학과

이재호¹ · 손원영^{1,4} · 이진영⁴ · 한징택⁴ · 장석훈² · 김석중³ · 김영찬^{1,2}

인간정자의 침체 반응은 Ca^{2+} 의 유입에 의해 일어나는 과정으로서 난자와 정자가 수정하는데 필수적인 단계이다. Ca^{2+} 의 유입조절은 전압의존성 Ca^{2+} 채널 (Voltage dependent Calcium Channel: VDCC)에 의해 조절된다. 본 연구는 L-형과 T-형 VDCC를 특이적으로 저해하는 길항제를 사용하여 인간의 침체 반응에서 T-형 VDCC가 관여하는지 확인하고, RT-PCR 분석을 통해 T-형 VDCC가 고환 내에서 발현되는지 알아보기 위하여 시행하였다.

인간정자의 준비는 WHO기준으로 정상 정액 ($n=10$)을 선택하여 실험에 공시하였다. 준비된 정액을 Ca^{2+} , Mg^{2+} 이 없는 PBS용액을 이용하여 2회 세척한 뒤 37°C, 30분간 부유시켜 운동성 있는 정자만을 취하여 실험에 공시하였다. 본 실험에 사용된 VDCC길항제는 T-형 VDCC길항제로서 mibefradil, pimozide와 L-형 VDCC길항제로 nifedipine를 처리하였고 침체 반응은 Ca^{2+} ionophore (Ca^{2+}i)와 Progesterone (P4)을 사용하여 유도하였다. 침체 반응은 *Pisum sativum* agglutinin FITC (PSA-FITC)의 염색을 통해 확인하였고 한 표본 당 100개 이상의 정자를 분석하였다. T-형 VDCC에 대한 분자 생물학적인 동정은 T-형 VDCC에 특이한 degenerative primers를 이용해 정상인의 고환조직에서 touch down RT-PCR를 시행하여 산물을 pMOSBLUE 벡터에 cloning, sequencing한 후 유전자 은행 검색을 통하여 확인하였다.

Ca^{2+}i 과 P4의 침체유도 반응에 대하여 mibefradil이 높은 저해율을 보였으나 pimozide는 Ca^{2+}i 보다 P4에 대해 높은 저해율을 나타냈다 (Table 1). 그러나 L-형 VDCC길항제인 nifedipine은 Ca^{2+}i , P4의 침체 반응 유도에 대하여 낮은 저해율이 관찰되었다 (Table 1). 인간 고환 조직에서 T-형 VDCC에 대한 RT-PCR 후 489 bp의 산물을 얻었으며, 유전자 은행 검

Table 1. IC50 for VDCC inhibitor on human sperm AR

Ca^{2+} inhibitor	IC50	
	Ca^{2+}i	P4
T-type VDCC		
Mibefradil	1.3 μM	1.6 μM
Pimozide	85 μM	30 μM
L-type VDCC		
Nifedipine	150 μM	60 μM

색을 통하여 인간 고환에서 그 산물이 T-형 VDCC 중 알파 1H임을 확인하였다.

본 연구의 결과 T-형 VDCC가 인간정자의 침체 반응에 주로 관여한다는 것을 알 수 있었다. T-형 VDCC에 대한 연구가 더욱 진행된다면 인간 정자의 침체 반응에 대한 기작을 알 수 있으며 또한 안전하고 편리한 남성 피임제의 개발에 응용될 수 있을 것이다.

O-17 Effects of Fertilization Promoting Peptide on Kinematic Parameters, Capacitation and Acrosome Reaction in Human Spermatozoa

**Hee-Gyoo Kang¹, Myo Kyung Kim¹, Dong Hoon Kim¹, Sung Won Han¹,
Do Hyun Choi², Tag Keun Yoo², Moon Kyoo Kim⁴ and Ho Joon Lee^{1,3}**

*¹Eulji Medical Science Institute, Eulji Medical Center, Seoul ²Department of Urology,
and Department of ³Physiology, School of Medicine, Eulji University, Taejeon*

*⁴Department of Life Science, College of Natural Sciences,
Hanyang University, Seoul*

전립선에서 생성되어 사정과 함께 방출되어지는 것으로 보고되어진 Fertilization Promoting Peptide (FPP)가 정자의 운동성, 수정능력획득 및 침체반응에 미치는 영향을 알아보 고자 하였다. FPP를 0, 25, 50, 100 nM 처리 후 0, 1, 3, 6, 24시간에서의 운동성, 수정능력획 득 및 침체반응정도를 조사하였고, 모든 실험군에 progesterone 1 nM이 첨가된 배양액을 이 용하였다. 정자의 운동성은 Computer-aided sperm analyzer를 이용하였고, CTC염색을 통해 수정능력획득과 침체반응정도를 형광 현미경 하에서 확인하였다. 운동성요인들 중에서 FPP를 처리한 시간-농도의존적으로 BCF, STR 그리고 LIN이 대조군에 보다 유의하게 높게 나타났으며, VAP, VSL, VCL 그리고 ALH 등은 차이가 없었다. FPP (25~100 nM)처리군은 대조군에 비하여 B-pattern 이 유의하게 증가하고 F-pattern은 다소 감소하는 양상을 보여주 었으며, 침체반응은 대조군보다 낮게 나타났다. 한편, 시간이 경과함에 따라 FPP처리군은 B-pattern이 대조군보다 유의하게 증가하였고, 침체반응은 대조군 보다 낮게 나타났다. 24시간 경과 후에도 FPP처리군은 높은 운동성 요인들을 유지하는데 반하여 대조군은 급 격히 감소하였다. 결론적으로 FPP는 progesterone 영향하에서도, 정자를 침체반응이 유지되 기 않은 상태에서 hyperactivation을 유지시켜 주는 것으로 사료된다.

O-18 Specific Expression of A-myb in Male Germ Cells

**Weon-Young Son^{1,4}, Jae-Ho Lee¹, Ching-Tack Han⁴, Mi-Jung Chang⁴,
Jong-Hwan Park², Seokjoong Kim³ and Young Chan Kim^{1,2}**

*¹Center for Reproduction and Genetics, ²Department of Urology, ³Department of OB/GY,
Pundang Je-Saeng General Hospital, Kyungki-do, Korea, ⁴Department of Life Science,
Sogang University, Seoul, Korea*

Spermatogenesis is the process by which immature male germ cells develop into mature sper-