

山羊精자의 呼吸作用에 미치는 Glycerol 및 L-Glycerol-3-phosphate(α -Phosphoglycerol)와 Progesterone 併用的 影響

康珉秀, 正木淳二

The Respiration of Goat Spermatozoa in the Presence of Glycerol, L-Glycerol-3-phosphate (α -Phosphoglycerol) and Progesterone

Kang Min-soo and Masaki Junji

Summary

The respiration of goat ejaculated spermatozoa was examined in the presence of glycerol, L-glycerol-3-phosphate, glycerol plus progesterone or L-glycerol-3-phosphate plus progesterone.

Glycerol (0.02M) stimulated the oxygen uptake of washed spermatozoa. The addition of L-glycerol-3-phosphate (0.02M) also caused an increased oxygen uptake, nearly up to the rate obtained glycerol.

Glycerol (0.02M) plus progesterone (100nM) and L-glycerol-3-phosphate (0.02M) plus progesterone (100nM) markedly depressed the rate of oxygen uptake of spermatozoa in the goat.

序 論

山羊精자의 代謝 및 生存性에 미치는 性 호르몬의 影響에 대해 研究한 結果(康 等, 1981; 康과 正木, 1982b; 康, 1982c; 康과 正木, 1984a; 康, 1984b; 康과 正木, 1984c; 康과 正木, 1984d) steroid hormone은 山羊精자의 呼吸作用을 顯著히 抑制했다. 特히 steroid hormone 中에서 progesterone은 山羊精자의 呼吸을 가장 强하게 抑制한다는 것이 認定되었고 더우기 이 호르몬은 精자의 生存性에 有效하게 作用함을 알 수 있었다. 緬羊精자에 있어서도 山羊精자와 類似的한 結果(康과 正木, 1982a)가 얻어졌다. 그리고 山羊의 精漿 中에서 progesterone이 發見(Mann & Lutwak-Mann, 1981; 康과 正木, 1984) 되고 있다.

한편 glycerol은 精자의 凍結保存에 有效한 物質(Polge & Rowson, 1952)로 널리 알려져 있을 뿐만 아니라 精자의 呼吸을 促進하는 作用도 알려져 있다. 즉, 牛 및 緬羊精자에 glycerol을 添加하면 酸素消費量이 顯著하게 增加한다는 報告(White et al., 1954; 正木 等, 1966)가 있고, 또 isotope에 의한 追跡(O'Dell et al., 1956)에 의해 牛精자가 glycerol을 利用한다는 것이 確認되었다. 緬羊精자에서는 glycerol외에 phosphoglycerol도 酸素消費促進作用(Mann & White, 1957)이 있다는 것이 認定되었다.

本 研究에서는 精자의 呼吸促進物質로 알려진 glycerol과 phosphoglycerol를 供試하여 精자의 呼吸抑制作用이 強力한 progesterone과 併用하였을 때에 山羊精자의 呼吸作用이 어떻게 나타날 것인지에 대해 研究檢討한 目的으로 實施되었다.

* 日本 東北大學 農學部 (Faculty of Agriculture, Tohoku University, Sendai, Japan)

材料 및 方法

精液: 日本 東北大學 農學部에서 飼育중인 成熟 雄山羊(日本在來種) 7頭를 供試하여 人工腔法에 의해 採取했다.

酸素消費量의 測定: 精液에 約 4倍의 Ca-free KRP(Krebs Ringer Phosphate)液을 添加하여 1000×g 로 遠心分離하여 上澄液을 除去하고 이와 同一한 操作을 2回 반복하여 실시한 다음 精子浮遊液을 調製했다.

精子的 呼吸은 Warburg 檢壓計(日本 大竹製作所)로 37℃ 4時間 동안 30分 간격으로 酸素消費量을 測定하였다.

Glycerol과 phosphoglycerol은 精子浮遊液 2ml 중에

各各 0.02M과 0.04M 濃度가 되도록 添加하였다. Progesterone(Sigma Co.)은 ethanol에 溶解한 後에 100nM 濃度가 되도록 했다.

精子數 및 精子活力: 康과 正木(1982c)의 方法에 準하여 檢査하여 算出 또는 判定하였다.

結果 및 考察

Table 1에서 山羊精子的 呼吸은 glycerol 添加에 의해 酸素消費量이 增加하였는데 實驗開始 4時間 後에는 非添加區가 46.0($\mu\ell/10^8$ sperm)인데 비해 Glycerol 0.02M 添加區는 53.0을 나타냈다. glycerol 添加濃度에 있어서 0.02M과 0.04M 間에는 거의 差異가 없었다.

Table 1. Effect of glycerol and glycerol plus progesterone on oxygen uptake of washed goat spermatozoa.

Incubation time(hours)	Oxygen uptake($\mu\ell$)					
	No additions	Glycerol		Progesterone (100M)	Glycerol (0.02M) plus progesterone (100nM)	Glycerol (0.04M) plus progesterone (100nM)
		0.02M	0.04M			
0.5	5.3	6.5	6.4	4.1	3.5	2.6
1.0	12.0	13.8	13.8	9.0	8.4	7.0
1.5	18.0	20.7	20.8	13.8	12.7	11.4
2.0	24.1	27.3	27.9	17.9	17.0	15.8
2.5	29.4	33.4	33.8	21.7	21.2	19.5
3.0	34.0	39.2	38.8	25.4	24.8	23.1
3.5	39.6	45.7	45.1	29.1	28.6	27.2
4.0	46.0	53.0	52.2	33.6	32.9	31.6

Values represent the means of 3 replicaties and are calculated per 10^8 spermatozoa.

Progesterone의 경우에는 精子的 酸素消費量이 對照인 非添加區에 비해 約 절반밖에 되지 않아서 本 實驗에서도 progesterone은 強力한 精子呼吸抑制作用을 나타냈다.

한편 glycerol과 progesterone을 併用한 實驗에서는 glycerol의 呼吸促進效果는 전혀 나타나지 않았고 오직 progesterone의 呼吸抑制作用만 나타났다.

Table 2에서 α -glycerol 1-phosphate (α -phosphoglycerol)는 glycerol 添加의 結果와 같은 傾向을 보여 山羊精子的 呼吸作用을 促進했으나 添加 濃度

間에는 glycerol의 成績과 약간 다르게 나타났다. 即, incubation 4時間 後의 酸素消費量을 비교해 보면 phosphoglycerol(α) 0.02M 添加區는 72.6 ($\mu\ell/10^8$ sperm)으로 對照區에 비해 呼吸促進作用을 나타냈으나 0.04M 添加區는 66.3을 나타내어 0.02M 添加區보다 약간 抑制되는 傾向을 보였다. 이것은 phosphoglycerol 添加가 0.02M보다 높아지게 되면 오히려 呼吸促進作用이 消失된다는 것을 示唆하고 있다.

또 phosphoglycerol과 progesterone을 同時에 添

Table 2. Effect of L-glycerol-3-phosphate (α -phosphoglycerol) and α -phosphoglycerol plus progesterone on oxygen uptake of washed goat spermatozoa.

Incubation time(hours)	Oxygen uptake($\mu\ell$)					
	No additions	α -Phosphoglycerol		Progesterone (100nM)	α -Phosphoglycerol(0.02M)	α -Phosphoglycerol (0.04M)
		0.02M	0.04M		plus progesterone(100nM)	plus progesterone (100nM)
0.5	7.9	9.3	8.4	4.2	4.2	3.9
1.0	15.7	18.6	16.3	8.0	8.0	7.8
1.5	23.6	27.0	24.2	11.0	11.8	10.8
2.0	32.3	35.8	32.2	14.8	16.0	14.8
2.5	41.1	46.0	41.7	19.0	20.3	19.1
3.0	50.2	55.3	50.1	22.4	23.6	23.0
3.5	58.5	64.8	59.2	26.2	27.4	27.3
4.0	65.9	72.6	66.3	29.1	30.4	30.4

Values represent the means of 3 replicates and are calculated per 10^8 spermatozoa.

加하면 phosphoglycerol의 促進效果는 消失되고 progesterone의 抑制效果만 強하게 나타나서 glycerol과 progesterone 併用の實驗結果와 差異가 없었다.

Mann과 White(1937)는 緬羊精子에서 glycerol 및 그의 關連物質의 代謝를 調査하여 α - 및 β -phosphoglycerol은 直接 精子에 利用되는 것이 아니고 우선 phosphatase의 作用을 받아 glycerol로 變化하는 것이 必要하다고 考察하고 있다.

그러나 正木 等(1966)은 牛, 馬, 緬羊, 山羊, 豚 및 토끼 等を 供試한 實驗成績에서 供試家畜의 모든 精子에 利用된 것은 glycerol이 아니고 phosphoglycerol이었다고 했다.

White(1959)에 의하면 家畜·家禽 精子의 glycerokinase(glycerol을 phosphoglycerol로 變化시키는 데 必要한 酵素) 含量에 대해 調査한 成績에서 動物의 種類에 따라서 酵素量이 큰 差異가 나타났는데 反芻動物 精子에서는 많고 豚이나 家禽 精子에서는 매우 적었다고 한다.

一般的으로 精子가 glycerol를 利用하는 경우는 代謝經路로서 phosphoglycerol을 經由할 可能性이 큰 것으로 생각된다. 實際로 牛 精子의 mitochondria는 α -phosphoglycerol이 가장 잘 酸化된다는 것이 알려져 있다(Mohri et al. 1965).

Progesterone에 의한 精子의 呼吸抑制作用은 Hyne et al. (1979), Murdoch과 White(1970) 및 康과 正木(1984a) 等に 의해 認定되었다. 康(1982c)은 山羊精子의 代謝에 있어서 steroid hormone 添加의 影響에 대한 研究를 통하여 스테로이드 호르몬은 山羊精子의 呼吸을 顯著히 抑制한다는 것이 認定되었다. 특히 스테로이드 호르몬 중에서 progesterone이 가장 效果의 있었음을 알 수 있었다. 緬羊精子의 경우에도 山羊精子의 實驗成績과 類似한 結果가 認定되었다(康과 正木, 1982a).

摘 要

山羊精子의 呼吸作用에 미치는 glycerol 및 L-glycerol-3-phosphate (α -phosphoglycerol)와 progesterone의 併用の 影響에 대한 實驗을 實施한 結果 아래와 같은 成績을 얻었다.

1. Glycerol 添加에 의해 酸素消費量이 增加했다. glycerol 添加濃度 0.02M과 0.04M 間에는 差異가 없었다.

2. Glycerol과 progesterone의 併用에서 山羊精子의 呼吸은 對照區에 비해 顯著히 抑制됐다. 即, glycerol에 의한 呼吸促進效果는 progesterone 添加

에 의해消失되어 progesterone의 呼吸抑制效果만 強하게 나타났다.

3. α -Phosphoglycerol의 添加는 glycerol의 實驗成績과 마찬가지로 山羊精子의 呼吸을 促進했으나 0.02M 濃度에 비해 0.04M 濃度에서는 呼吸作用

이 약간 抑制되는 傾向이 나타났다.

4. α -Phosphoglycerol과 progesterone의 併用에 있어서는 山羊精子의 呼吸은 glycerol과 progesterone 併用の 結果와 類似하게 나타났다.

參 考 文 獻

- 康珉秀, 菅原七郎, 正木淳二, 1981. 山羊精子의 代謝能에 及ぼす 스테로이드 호르몬의 影響. 日本家畜人工授精研究會誌, 3: 56.
- 康珉秀, 正木淳二, 1982a. 羊精子의 代謝能에 及ぼす 스테로이드 호르몬의 影響. 日本家畜人工授精研究會誌, 4(2): 54.
- 康珉秀, 正木淳二, 1982b. 야기精子의 代謝能および 生存性에 及ぼす 펩티드 호르몬의 影響. 日本畜産學會東北支部會報, 32(1): 21.
- 康珉秀, 1982c. 야기精子의 代謝能および 生存性에 及ぼす 性호르몬의 影響. 日本 東北大學 大學院 博士學位論文.
- 康珉秀, 正木淳二, 1984a. 山羊精子의 代謝에 미치는 progesterone의 影響. 石龜 金承贊先生停年退任紀念論文集, p. 11.
- 康珉秀, 1984b. 日本在來種 山羊의 精液性狀에 관한 研究. 濟州大學校 論文集, 第18輯, p. 89~92.
- 康珉秀, 正木淳二, 1984c. 雄山羊 血清 및 精漿 중의 progesterone 濃度, 韓國家畜繁殖研究會報, 第8卷 第2號 p. 97-99.
- 康珉秀, 正木淳二, 1984d. 山羊精子의 代謝에 미치는 sorbitol과 steroid hormone 併用の 影響에 관한 研究. 濟州大學校 論文集, 第19輯, p. 89-94.
- Hyne, R. V., R. N. Murdoch, B. Boettcher. 1978. The metabolism and motility of human spermatozoa in the presence of steroid hormones and synthetic progestagens. *J. Reprod. Fert.*, 53: 315-322.
- Mann T., I. G. White. 1957. Glycerol metabolism by spermatozoa. *Biochem. J.*, 65: 634.
- Mann, T., Lutwak-Mann, 1981. Male reproductive function and semen.
- 正木淳二, 1963. 最近の家畜精液に關する生化學的研究. 日畜會報. 34(1): 1-6.
- 正木淳二, 富塚常夫, 毛利秀雄, 1966. 家畜精子의 呼吸および 活力에 對するグリセリンおよびグリセ롤린酸의 效果. 日本家畜繁殖誌, 12(3): 1-6.
- 正木淳二, 1967. 精子の一生, 化學と生物, Vol 5. No. 11, 647-654.
- 正木淳二, 1970. 精液中의 그리세롤린酸ユリン(GPC). 日本畜産試驗場年報, p. 212-218.
- Mohri, H., J. Masaki. 1967. Glycerokinase and its possible role in glycerol metabolism of bull spermatozoa. *J. Reprod. Fert.*, 14: 179-194.
- Murdoch, R. N., I. G. White, R. F. Seamark. 1970. Oxidative and glycolytic activity of ejaculated ram spermatozoa in the presence of steroid hormones. *Acta Endocrinologica*, 64: 557-568.
- O'Dell, W. T., R. J. Flipse, J. O. Almqvist. 1956. Metabolism of bovine semen. III. Uptake and metabolic utilization of glycerol-1-C¹⁴ by bovine spermatozoa. *J. Dairy Sci.*, 39: 214.
- Polge, C., L. E. A. Rowson, 1952. Fertilizing capacity of bull spermatozoa after freezing at -79°C. *Nature*, 169: 626.
- White, I. G., A. W. Blackshaw, C. W. Emmens. 1954. Metabolic and motility studies relating to the low temperature storage of ram and bull spermatozoa. *Aust. vet. J.*, 30: 85.