

## 체외배양 소 난관상피세포의 정자에 대한 결합 및 활력유지능

노상호 · 이병천\* · 황우석\*

한경대학교 동물생명자원학과  
서울대학교 수의과대학\*

(1998년 12월 21일 접수)

### The ability of *in vitro* cultured bovine oviduct epithelial cells in binding and maintaining motility of bull sperm

Sang-ho Roh, Byeong-chun Lee\* , Woo-suk Hwang\*

Department of Animal Life Resources, Hankyong National University  
College of Veterinary Medicine, Seoul National University

(Received Dec 21, 1998)

**Abstract** : The aim of these experiments was to investigate the effects of bovine oviduct epithelial cells (OEC) derived from different segments to bind sperm binding and maintain their motility *in vitro*. In experiment 1, the number of sperm attached to OEC derived from isthmus or ampulla, the motility of unattached sperm during co-culture and fertilizing ability were assessed. In experiment 2, heparin treated sperm (hsp) or no treated sperm (nsp) were used to evaluate OEC binding ability of capacitated sperm. In experiment 1, regardless of their origin, approximately 65% of the sperm were attached to OEC within 2h. From 6h of co-culture, the numbers of unattached sperm on ampullary OEC were significantly higher than those on isthmus OEC ( $p < 0.005$ ). From 12h of co-culture, the motility of unattached sperm on isthmus OEC were significantly higher than those on ampullary OEC ( $p < 0.05$ ). The cleavage rate of oocytes inseminated on OEC derived from isthmus segment was also significantly higher than those from ampullary segment ( $p < 0.01$ ). In experiment 2, the numbers of unattached hsp on OEC were significantly higher than those of controls ( $p < 0.01$ ), between 2~24h examination. From 12h of co-culture, the motility of unattached nsp were significantly greater than those of hsp ( $p < 0.01$ ).

These results show that bovine OEC derived from the isthmus play more important role(s) for sperm binding, maintaining motility and fertilization *in vitro* than those from the ampulla, and heparin induced capacitation may change sperm binding ability on OEC *in vitro*.

**Key words** : bovine, oviduct epithelial cells, sperm, *in vitro* culture.

---

본 연구는 서울대학교 수의과대학 부속 수의과학연구소 지원에 의해 수행되었음.

Address reprint requests to Dr. Byeong-chun Lee, College of Veterinary Medicine, Seoul National University, Seoul 151-742, Republic of Korea.

## 서 론

포유동물의 난관은 정자의 수정능 획득, 수정 및 초기 배의 발육에 적합한 환경을 제공하며 난관좁은부분은 난자가 도달하기까지 정자가 머무르는 장소로, 난관팽대부는 정자와 난자의 수정장소로 알려져 있다<sup>1</sup>. 대부분의 포유동물에서 교미는 발정기에 이뤄지나 발정기에서 배란까지는 수시간에서 수일까지의 시일이 소요되므로 생식도관에서는 정자의 운동성 유지기간을 연장시킬 필요가 있으며 이는 자생생식도관 내에서 분비되는 운동성 유지인자나 특정부위에서의 운동성 제한에 의해 제어된다<sup>2</sup>. 소에서 교미후 충분한 수의 정자가 난관좁은부분에 도달하는데에는 8-10시간이 소요되나 발정후 배란이 완성되기까지는 30시간 정도가 소요되기 때문에 정자는 난관좁은부분에서 22시간을 보내게 된다<sup>3</sup>. 정자의 운동성 유지는 난관좁은부분에서 이루어지며 난관상피세포와의 결합 및 그 분비액과 관련이 있는 것으로 알려져 있다<sup>3</sup>. 최근 정자가 난관의 점막상피와 결합한다는 사실이 확인되었으며 체내 혹은 체외에서 정자와 난관점막간의 접촉이 정자의 생존에 중요하다고 알려져 있다<sup>4</sup>.

정자가 난자와의 수정이 이루어지려면 두부 원형질막의 변화와 미부운동이 활성화되는 수정능 획득이라는 과정이 필수적이며<sup>1</sup> 난관상피세포와 정자와의 접촉이 정자의 수정능 획득에 관여되는 요인으로 보고된 바 있다<sup>1</sup>. 햄스터의 정자는 수정능 획득 당시에 난관좁은부분의 점막에 부착된 상태이며<sup>6</sup> 소에서는 난관상피세포에 의해 hyperactivation이 유발되고 수정능력도 장시간 유지된다고 알려져 있다<sup>3</sup>.

이에 본 연구에서는 정자와 난관상피세포의 상호작용을 체외에서 재현하고자 난관상피세포(oviduct epithelial cell monolayer; 이하 OEC로 약함)를 난관좁은부분 및 난관팽대부 유래로 분류, 배양하여 정자와의 공배양 및 체외수정에 이용한 후 생존 및 체외수정능을 조사하였다.

## 재료 및 방법

OEC의 작성 : 난관상피세포는 Chian과 Sirard<sup>7</sup>의 방법에 준하여 다음과 같이 준비하였다. 도축장에서 출혈체가 보이는 배란 1-2일후 초기 황체기의 난관만을 채취

하였으며 얼음에 채워 실험실까지 운반하고 세정 및 원심분리는 4℃에서 실시하였다. 난관을 멸균생리식염수로 3회 세정하고 마지막으로 2mM sodium bicarbonate, 10mM의 HEPES(Sigma Co., USA) 및 0.3% bovine serum albumin(W/V, 이하 BSA로 약함; Sigma Co., USA)가 첨가된 TCM199(이하 세정용 TCM199로 약함; Gibco BRL Inc., USA)으로 세정하였다. 세정한 난관의 수분을 여과지로 제거해낸 후 난관팽대부와 난관좁은부분을 분리하고 21 gauge 주사침이 달린 주사기로 세정용 TCM199을 10ml 정도 주입, forceps을 사용하여 난관좁은부분에서 난관갈대기 방향으로 가볍게 눌러 각각 상피세포를 분리하였다. 분리해낸 세포는 세정 및 원심분리(1,000g 10분) 후 세포 pellet과 배양액이 1:50~1:100의 비율이 되도록 조정하여 10% 가열불활화(56℃, 30분) fetal bovine serum(이하 FBS로 약함; Gibco BRL Inc., USA)가 함유된 TCM199에서 배양하였다. 배양은 4-well plate(Nunc, Denmark)를 사용하여 각 well(1.7cm<sup>2</sup>)당 0.5ml씩 분주하였다. 배양 5일후 OEC가 충분히 형성되면 1ml의 신선배양액으로 교체하고 7일후 형성된 OEC를 실험에 공여하였다. 배양은 5% CO<sub>2</sub>, 95% 공기 및 포화습도 조건을 갖춘 incubator(이하 5% incubator로 약함)에서 실시하였다.

### 체외성숙 :

1. 미성숙난자의 채취 : 난자의 채취 및 체외성숙은 Fukui *et al*<sup>8</sup>의 방법에 준하여 다음과 같이 실시하였다. 완충액으로 25mM의 HEPES가 첨가된 세정용 TCM199을 18 gauge 주사침을 장착한 10ml 주사기로 흡인, 주사침과 주사기의 내강을 세정한 후 도축장에서 채취한 난소의 소난포(직경 2-5mm)로부터 난포액과 함께 미성숙난자를 흡인, 채취하였다. 난자를 포함한 난포액을 플라스틱 petridish(100×20mm; Becton Dickinson Labware, USA)에 5분간 정지시킨 후 상층액을 제거하였다. 미성숙난자는 Kastrop *et al*<sup>9</sup>의 분류기준에 준하여 난구세포가 치밀하며 2층 이상 부착되어 있고 균일한 난자세포질을 갖는 난자를 선발하였다.

2. 성숙배양 : 성숙배양에는 4-well plate를 사용하였으며 배양시기 전 각각의 well에 10%의 FBS, 15mM sodium bicarbonate, 2.5µg/ml FSH(Antrin<sup>®</sup>, Denka Pharm., Japan) 및 1µg/ml estradiol(Sigma Co., USA)이 첨가된 500µl의 성숙배양용 TCM199을 넣어 전배양하였다. 선발한 미성숙난자는 세정용 TCM199으로 3회 세정한 후 성숙배양용 TCM199으로 1회 세정하여 well당 20-50개를 넣어 39℃,

5% CO<sub>2</sub> incubator 내에서 24시간 성숙배양하였다.

**체외수정 :** 전술한 방법으로 작성한 OEC를 세정용 Tyrode's medium(이하 TALP로 약함)으로 3회 세정한 후 well당 0.5ml의 수정용 TALP를 첨가하고 swim-up 처리 후의 정자를 최종농도가 1×10<sup>6</sup>/ml가 되도록 조정된 후 각 well당 난자 20~30개와 함께 첨가하여 18시간동안 체외수정하였다. 양성대조군에서는 Fukui *et al*<sup>10</sup>의 방법에 준하여 100µg/ml의 heparin을 이용, 15분간 정자의 수정능 획득과정을 거친후 수정하였으며 음성대조군에서는 수정능 획득 처리없이 그대로 수정하였다.

**체외배양 :** 배양액으로는 CR1<sub>aa</sub><sup>11</sup>를 이용, 30µl씩 microdrop을 작성하고 미네랄 오일을 도포하여 최소한 실험 2시간전에 전배양하였다. 수정한 난자는 수정 drop으로부터 세정용 배양액으로 옮겨 세정하여 난자에 부착되어 있는 정자 및 난구세포를 제거하였으며 작성한 체외배양액의 microdrop에 각각 6~10개씩 첨가하여 5% CO<sub>2</sub> incubator 내에서 배양하였다. 수정당일을 0일로 하여 7일째에 수정란을 관찰하여 분할율, 상실배 및 배반포로의 발육률을 산정하였다.

**실험 1 :** 정자처리용 TALP를 각각의 well에 0.5ml씩 분주하고 4시간 전배양한 후 정자를 1×10<sup>6</sup>개/ml 농도로 첨가하였다. 정자배양 후 6시간까지는 매 시간별로 그 이후에는 12, 24 및 48시간에 부유하고 있는 총 정자수 및 운동성 유무를 판단하여 OEC의 부위별 정자결합능력 및 운동성을 조사하였다. 수정 18시간 후 난자는 난구세포를 제거하고 5% FBS가 첨가된 CR1<sub>aa</sub>로 체외배양하였다.

**실험 2 :** 정자를 swim-up 한 후 100µg/ml가 되도록 heparin을 첨가한 정자군과 첨가하지 않은 군으로 나누어 15분간 배양하였다. 이후 최종농도 1×10<sup>6</sup>개/ml 농도로 희석하여 각 well당 0.5ml씩 분주하고 정자의 OEC 결합능을 조사하였다.

**통계학적 분석 :** 각 실험에 있어 수정란의 발육률은 Chi-square test를, 난관상피세포와 공배양한 정자수의 산정에는 Student's *t*-test를 이용하여 유의성을 검정하였다.

## 결 과

**OEC의 부위별 정자결합 및 체외수정능 :** 난관좁은부분 유래와 난관넓은부분 유래로 분리하여 작성한 OEC와 정자를 공배양하여 시간에 따른 정자의 OEC 결합능을 조사

한 결과 배양 6시간 이후 난관넓은부분 유래의 OEC에서 부유하고 있는 정자의 농도(6, 12, 24h : 65.5, 71.8, 83.5 ; ×10<sup>4</sup>cell/ml)는 난관좁은부분 유래(40.3, 41.8, 59.3 ; ×10<sup>4</sup>cell/ml)에서보다 유의적으로 높게 나타났다(*p* < 0.005, Fig 1). 부유정자의 운동성은 난관좁은부분 유래 OEC 공

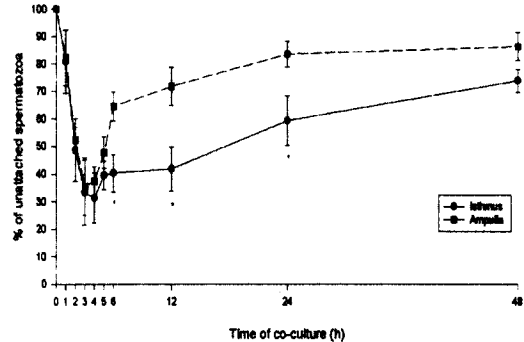


Fig 1. Concentration changes of unattached spermatozoa during co-culture with oviduct epithelial cell monolayer derived from isthmus and ampulla(n = 4, \**p* < 0.005).

배양군이 24 및 48시간 검사시 38.1 및 34.2%로 난관넓은부분 유래 공배양군의 21.0 및 14.2%에 비하여 유의적으로 높게 나타났다(*p* < 0.05, Fig 2). 각 군의 체외수정능을

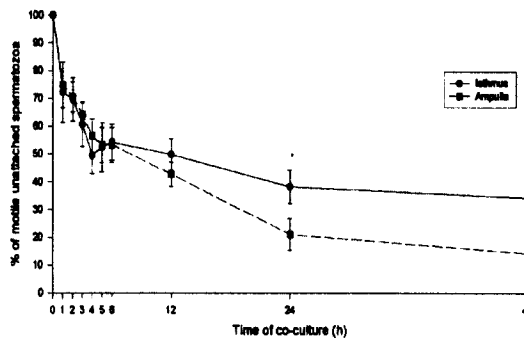


Fig 2. Changes in motility of unattached spermatozoa co-cultured with oviduct epithelial cell monolayer derived from isthmus and ampulla(n = 4, \**p* < 0.05).

조사한 결과(Table 1) 난관좁은부분 유래 OEC하의 체외수정군(61.8%)이 난관넓은부분 유래군(48.3%)에 비하여 유의적으로 높은 분할율을 나타냈으나(*p* < 0.01) 이후 발육에는 유의적인 차이를 보이지 않았다.

**Heparin 처리 정자의 OEC 결합능 :** 정자를 heparin으

Table 1. Development of bovine oocytes fertilized by spermatozoa co-cultured with different segment of OEC<sup>A</sup>

Group	Replicates	No. of oocyte	No.(%) of cleaved oocytes	No.(%) of cMo, Bl <sup>B</sup>	% of cMo, Bl/cleaved
Isthmus	8	178	110(61.8) <sup>a</sup>	23(12.9)	20.9
Ampulla	8	172	83(48.3) <sup>b</sup>	19(11.0)	22.9
TALP	8	120	37(30.8) <sup>c</sup>	8(6.7)	21.6
TALP+heparin <sup>c</sup>	8	120	73(60.8) <sup>a</sup>	15(12.5)	20.5

<sup>A</sup> Oviduct epithelial cell monolayer.

<sup>B</sup> cMo-compacted morulae; Bl- blastocysts.

<sup>C</sup> Sperm were capacitated by heparin.

<sup>a-c</sup> Different superscripts in the same column differ significantly( $p < 0.01$ ).

로 처리한 후 OEC와 공배양하여 정자의 결합능을 조사한 결과 2, 3, 4, 5, 6, 12 및 24시간 배양후 부유정자의 농도는 heparin 처리군(66.8, 46.3, 49.5, 68.3, 84.5, 87.0 및 88.5;  $\times 10^4$  cell/ml)이 대조군(51.0, 34.8, 34.5, 39.0, 42.3, 50.5 및 66.3;  $\times 10^4$  cell/ml)에 비해 유의적으로 높게 나타났다( $p < 0.005$ , Fig 3). 운동성을 지닌 정자의 농도를 조

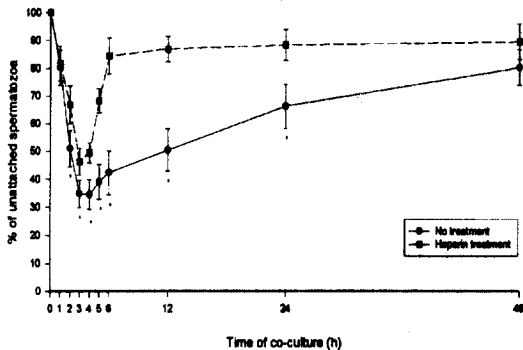


Fig 3. Concentration changes of unattached spermatozoa treated with heparin during co-culture with oviduct epithelial cell monolayer( $n = 4$ ,  $*p < 0.005$ ).

사한 결과 12, 24 및 48시간 검사시 대조군이 49.8, 38.1 및 34.2%, heparin 처리군이 28.0, 15.4 및 4.3%로 배양 12시간부터 48시간까지 대조군의 정자 운동성이 유의적으로 높게 나타났다( $p < 0.005$ , Fig 4).

## 고 찰

수정능 획득이란 철편반응을 준비하기 위한 정자두부 원형질막의 변화 및 hyperactivation으로 명명되는 운동성

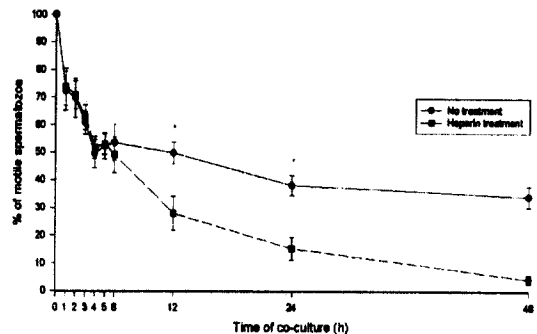


Fig 4. Changes in motility of unattached spermatozoa treated with heparin during sperm and oviduct epithelial cell monolayer co-culture( $n = 4$ ,  $*p < 0.005$ ).

의 변화이다<sup>1</sup>. 난관상피세포와 접촉한 정자는 수정능 획득이 유도되는 등 일련의 변화과정을 거치는데 정자의 변화양상은 체내에서와 유사하며<sup>12</sup> 난관상피세포와 정자의 접촉은 난관상피세포로부터 단백질 합성 및 분비를 자극하는 것으로 알려져 있다<sup>13</sup>. 난관좁은부분의 점막은 대부분 비섬모성 세포인 반면 난관팽대부 점막은 치밀한 섬모성 세포로 구성되는 조직학적 차이가 있다<sup>14</sup>. 햄스터 정자는 난관좁은부분 점막에서 수정능 획득 시까지 잔존하며 이후 수정을 위해 난관팽대부로 이동하는 것으로 알려져 있다<sup>5</sup>. 이러한 과정에서 난관좁은부분과의 부착이나 난관 분비물질과의 접촉에 의해 수정능 획득이 이뤄지는 것으로 볼 수 있다<sup>13</sup>.

실험 1에서 정자는 지속적으로 OEC와 결합하여 공배양 3시간 후 두 종류의 OEC 공히 65% 수준의 정자가 OEC에 결합되었다. 난관상피세포에 결합된 정자의 농

도는 배양 3시간까지는 두 군간 유의차가 없었으나 난관팽대부 유래 OEC와 공배양한 정자의 경우 배양 3시간 후부터 OEC과의 결합력이 상실된 정자수가 증가하는 반면 난관좁은부분 유래 OEC와 공배양한 정자는 배양 4시간까지도 결합력을 유지하였다. 난관팽대부 유래 OEC와 결합한 정자수는 배양 6시간 후부터 급감되나 난관좁은부분 유래 OEC에서는 12시간까지 정자농도에 차이가 없어 대조적인 양상을 띄었고 두 난관분획 모두 배양 48시간 후에는 70% 이상의 정자가 OEC로부터 분리되었다. 유사한 연구에서 Chian과 Sirard<sup>7</sup>는 배양 3시간 후 80% 전후의 정자가, Ellington *et al*<sup>5</sup>은 배양 4시간 후 43%의 정자가 OEC와 결합되어 본 실험성적보다 높았으며 이는 세포의 채취 및 monolayer 작성방법의 차이에 의한 것으로 추정된다. Ellington *et al*<sup>5</sup>은 19%의 정자만이 OEC와 결합하여 본 실험보다 낮았으나 이는  $12 \times 10^6$ 개/ml의 고농도의 정자를 배양한 결과로 추측된다. 정자는 OEC와 결합된 후에도 활발한 미부 운동성을 유지하였으며 시간경과에 따라 OEC로부터 분리되어 타 연구자들의 보고<sup>5,7</sup>와 유사하였다. 동결융해 정자는 사출 정자에 비해 제한된 결합능만을 지닌다는 견해가 있으나<sup>15</sup> 본 연구 및 Chian과 Sirard<sup>7</sup>의 결과에서는 배양 3시간 전후에도 정자의 65~80%가 OEC와 결합하여 이러한 주장과 상이함을 나타내고 있다. Chian과 Sirard<sup>7</sup>는 배양 3시간 이후에는 정자의 원형질막 및 운동성에 변화가 생겨 OEC로부터 분리되는 정자수가 증가되었다고 하였는데 본 연구의 결과도 이와 유사한 추이를 나타내었다. 소 정자는 수정전 18시간동안 난관에 머물며 난관좁은부분에 부착, 수정능 획득후 운동성이 증가되어 수정장소로 이동하는 것으로 알려져 있다<sup>16</sup>. 정자의 미부운동으로 생존성을 판단한 본 실험에서 배양 12시간 후 난관좁은부분 유래 OEC와 공배양한 정자가 높은 생존성을 지닌 것으로 확인되었고 체외수정후 2세포기로의 분할율도 높게 나타나 정자의 수정능 획득 유도에도 난관좁은부분 유래 OEC가 유효한 역할을 하는 것으로 판단된다. 그러나 상실배 이상 후기배로의 발육률에는 차이를 보이지 않아 난관의 두 분획이 난할이후 발육에 영향을 미치는지의 유무는 확인할 수 없었으며 이는 난관팽대부 유래 OEC와의 공배양이 체외수정에 유효하다는 Chian과 Sirard<sup>7</sup>의 결과와는 상이하였다. 돼지에서는 난관분획의 미지의 인자가 정자의 침체반응을 유도하여 정자침입 및 다정자침입을 감소시키고 이어서 배발달을

증가시킨다는 보고<sup>17</sup>가 있는 바 소에서도 OEC의 각각의 분획에서 분비되는 미지의 인자가 돼지에서와 유사한 역할을 하여 수정후 발육에 영향을 미치는지 확인할 후속연구가 요망된다.

Heparin 처리한 정자를 OEC와 공배양한 결과 대조군에 비하여 두 세포간의 결합력이 현저히 떨어졌는데 이는 heparin 처리가 정자에 어떠한 변화를 일으킨 것을 의미한다. 일반적으로 heparin은 정자두부의 원형질막의 변화를 유도하나<sup>18</sup> 운동성에는 영향을 미치지 않는 것으로 알려져 있어<sup>19</sup> 본 연구의 결과 또한 정자의 운동성 변화보다는 두부원형질막의 변화에 기인한 것으로 추정된다. 정자의 운동성은 배양 6시간 후부터 heparin 처리군과 대조군간에 차이가 나타났으며 대조군의 경우 48시간 배양후에도 미부운동을 보이는 정자가 30% 가량 존재하는 반면 heparin 처리군의 경우 90% 이상의 정자가 운동성을 상실하여 대조적인 양상을 보였다.

이상의 결과로 보아 난관상피세포 특히 난관좁은부분 유래 상피세포는 수정전까지 정자를 저장하고 운동성을 유지시키며 또한 수정능 획득을 유도하는 것으로 사료된다. 또한 heparin 처리에 의해 난관상피세포와 정자의 결합력이 저하되었는 바 이는 수정능 획득에 의한 정자두부원형질막의 변화에 기인한 것으로 판단된다.

## 결 론

난관상피세포를 난관좁은부분과 난관팽대부로 나누어 체외에서 배양한 후 정자와의 공배양을 통하여 정자와의 결합능 및 체외수정능을 실험한 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 경과시간에 따른 정자의 OEC 결합능은 배양 6시간 이후 난관팽대부 유래 OEC 상의 미부착정자의 농도가 난관좁은부분 유래에서보다 유의적으로 높은 것으로 확인되었다( $p < 0.005$ ). 미부착정자의 운동성은 난관좁은부분 유래 OEC 공배양군이 유의적으로 높게 나타났다( $p < 0.05$ ). 체외수정능은 난관좁은부분 유래 OEC하의 체외수정군이 유의적으로 높게 나타났다( $p < 0.01$ ).

2. Heparin 처리 정자의 OEC 결합능은 배양 2시간 이후 미부착정자의 농도가 heparin 처리군에서 대조군보다 유의적으로 높게 나타나( $p < 0.005$ ) heparin 처리에 의해 정자의 OEC 결합능이 저하된 것으로 확인되었다. 운동성을 지닌 정자농도는 대조군이 12, 24 및 48시간 검사

시 heparin 처리군 보다 유의적으로 높게 나타났다( $p < 0.005$ ).

이상과 같은 연구결과, 정자는 주로 난관좁은부분의 상피세포에 부착, 운동성을 유지하고 수정능 획득이 유발되는 것으로 확인되었으며 heparin 처리는 난관상피세포와 정자의 결합력을 저하시키는 것으로 나타났다.

## 참 고 문 헌

1. Yanagimachi R. Sperm capacitation and gamete interaction. *J Reprod Fert Suppl*, 38:27-33, 1989.
2. Ijaz A, Lambert RD, Sirard MA. *In vitro*-cultured granulosa and oviductal cells secrete sperm motility-maintaining factor(s). *Mol Reprod Dev*, 37:54-60, 1994.
3. Pollard JW, Plante C, King WA, et al. Fertilizing capacity of bovine sperm may be maintained by binding to oviductal epithelial cells. *Biol Reprod*, 44:102-107, 1991.
4. Smith TT, Yanagimachi R. The viability of hamster spermatozoa stored in the isthmus of the oviduct: The importance of sperm-epithelium contact for sperm survival. *Biol Reprod*, 42:450-457, 1990.
5. Ellington JE, Padilla AW, Vredenburg WL, et al. Behavior of bull spermatozoa in bovine uterine tube epithelial cell co-culture: An *in vitro* model for studying the cell interactions of reproduction. *Theriogenology*, 35:977-989, 1991.
6. Smith TT, Yanagimachi R. Attachment and release of spermatozoa from the caudal isthmus of the hamster oviduct. *J Reprod Fert*, 91:567-573, 1991.
7. Chian RC, Sirard MA. Fertilizing ability of spermatozoa cocultured with oviduct epithelial cells. *Biol Reprod*, 52:156-162, 1995.
8. Fukui Y, McGowan LT, James RW, et al. Factors affecting the *in vitro* development to blastocysts of bovine oocytes matured and fertilized *in vitro*. *J Reprod Fert*, 92:125-131, 1991.
9. Kastrop PMM, Bevers MM, Destree OHJ, et al. Analysis of protein synthesis in morphologically classified bovine follicular oocytes before and after maturation *in vitro*. *Mol Reprod Dev*, 26:222-226, 1990.
10. Fukui Y. Effect of follicle cells on the acrosome reaction, fertilization, and development competence of bovine oocytes matured *in vitro*. *Mol Reprod Dev*, 26:40-46, 1990.
11. Rosenkrans CFJr, First NL. Culture of bovine zygote to blastocyst stage: effects of amino acids and vitamins. *Theriogenology*, 35:266, 1991.
12. Guyader C, Chupin D. Capacitation of fresh bovine spermatozoa on bovine epithelial oviduct cell monolayers. *Theriogenology*, 36:505-512, 1991.
13. Ellington JE, Ignatz GG, Ball BA, et al. De novo protein synthesis by bovine uterine tube (oviduct) epithelial cells changes during co-culture with bull spermatozoa. *Biol Reprod*, 48:851-856, 1993.
14. Abe H, Oikawa T. Observations by scanning electron microscopy of oviductal epithelial cells from cows at follicular and luteal phases. *Anat Rec*, 235:399-410, 1993.
15. Goldman EE, Ellington JE, Farrell PB, et al. Use of fresh and frozen-thawed bovine oviduct cells for acrosome reacting fresh and frozen-thawed bull sperm *in vivo*. *Theriogenology*, 35:204, 1991.
16. Lefebvre R, Chenoweth PJ, Drost M, et al. Characterization of the oviductal sperm reservoir in cattle. *Biol Reprod*, 53:1066-1074, 1995.
17. Kim NH, Moon SJ, Lim JG, et al. Addition of oviductal fluid to the fertilization medium enhances monospermic penetration and subsequent *in vitro* development of porcine oocytes. *Korean J Animal Reprod*, 20:1-8, 1996.
18. Parrish JJ, Susko-Parrish JL, Uguz C, et al. Differences in the role of cyclic adenosine 3',5'-monophosphate during capacitation of bovine sperm by heparin or oviduct fluid. *Biol Reprod*, 51:1099-1108, 1994.
19. Iqbal N, Hunter AG. Effect of various capacitation systems on bovine sperm motion characteristics, acrosome integrity, and induction of hyperactivation. *J Dairy Sci*, 78:91-102, 1995.