

영상기반 미세힘추정을 통한 난자 및 배아의 점탄성 특성 분석

Viscoelastic characterization of mammalian oocyte/embryo using vision-based nano-force estimation

*신용균, 김정식, #김정

*Y. K. Shin, J. S. Kim, #J. Kim(jungkim@kaist.ac.kr)

¹한국과학기술원 기계공학과

Key words : Mammalian oocyte/embryo, Nano-force estimation, Viscoelasticity, Zona pellucida

1. 서론

투명대(zona pellucida)는 난자(oocyte) 혹은 수정란(embryo)을 감싸고 있는 투명한 단백질(glycoprotein)층으로써, 정자의 머리 끝에 있는 첨단체(acrosome)와 반응하여 수정을 유도하며, 다른 정자 혹은 이중의 정자와 수정을 방지하고, 수정란이 자궁에 이식될때까지 세포를 보호하는 기능을 가지고 있다.¹ 수정과정에서 정자가 투명대를 통과하여 세포질에 접촉하면, 세포질 외부에 분포해 있는 피층과립(cortical granule)에서 효소들이 난황주위간극(perivitelline space)으로 방출되어 정자 수용체(receptor)가 불활성화(inactivation) 되고, 투명대의 구조적인 변화를 일으켜 다정자 수정을 방지하는 투명대 반응(zona reaction) 현상이 일어난다.

이 중 투명대를 구성하는 단백질의 변화를 투명대 경화(zona hardening)라고 일컫으며, 이에 대한 기전은 아직 정확히 밝혀지지 않았으나 일반적으로 투명대 경화를 통해 환원제 등에 대한 투명대의 용해성(solubility)이 증가하는 현상이 보고 되었다.² 하지만 ‘경화’라는 단어가 물리적인 강도를 의미하는 것과 달리, 투명대의 기계적 물성(mechanical property) 변화 및 측정에 대한 연구는 거의 이루어 지지 않았으며, 몇몇 연구자에 의해 투명대 경화후에 투명대의 탄성(elasticity)이 증가하는 것이 밝혀졌다.^{3,4} 하지만 이와 같은 연구들은 투명대를 순수탄성 거동하는 물질로 모델링해왔으나, 실제 투명대는 단백질

섬유구조가 교차결합된 고분자 구조를 가지는, 탄성과 점성(viscosity)의 성질을 모두 나타내는 점탄성(viscoelasticity) 성질을 보인다.

본 논문에서는 비선형 점탄성 모델인 Hunt-Crossley 모델과 PDMS 마이크로 빔 (micro beam)을 이용하여 투명대의 기계적 물성치를 측정하고, 투명대 경화현상의 점탄성 특성을 확인하였다.

2. 방법론

Fig. 1 은 실험 방법을 도식화한 것으로, 본 연구에서는 투명대의 기계적 거동을 측정하기 위하여 microindentation 실험을 수행하였다. 투명대의 반력을 측정하기 위하여 PDMS 를 이용한 마이크로 빔(micro beam) 구조를 제작 하였으며, 빔의 처짐량을 현미경 영상으로 측정한 후 미리 얻어진 PDMS 의 탄성계수와 처짐모델로 부터 반력을 예측할 수 있다. PDMS 빔 구조는 일반적인 softlithography 공정을 이용하여 제작하였으며, 제작된 빔은 52 μm 의 높이와 10 μm 의 지름을 가진다.

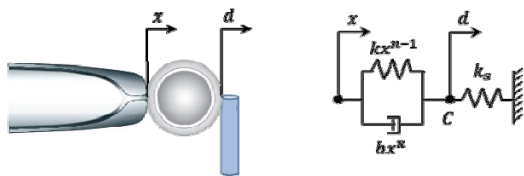


Fig. 1 Schematic diagram of oocyte/embryo microindentation and its free body diagram with HC model.

한편, 투명대의 점탄성 성질을 모사하기 위하여 본 연구에서는 비선형 점탄성 contact mechanics 모델인 Hunt-Crossley 모델을 사용하였다.⁵ 접촉점에서의 변위 d_c 와 반력 F_c 간에 다음과 같은 관계를 만족한다.

$$F_c = b d_c^n v_c + k d_c^n \quad (1)$$

여기서 v_c 는 접촉점에서의 변형속도를 나타내며, k 는 탄성계수, b 는 점성계수를 나타낸다. Microindentation 실험중 측정된 반력과 변위로 부터 확장칼만필터(extended Kalman filter)를 이용하여 실시간으로 두 파라미터를 추정하였다.

실험에서 사용된 세포는 FVB 생쥐로 부터 얻어진 난자와 수정란을 사용하였다.

3. 실험결과

Fig. 2 는 microindentation 실험을 나타내고 있다. 실험결과 난자 및 수정란은 점탄성 거동을 보이고, Hunt-Crossley 모델이 이와 같은 기계적 거동을 잘 추종함을 확인할 수 있었다 (데이터 미첨부). 난자 및 수정란 각 7 개, 6 개의 샘플에 대하여 얻어진 점성계수와 탄성계수가 Fig. 3 와 같다.

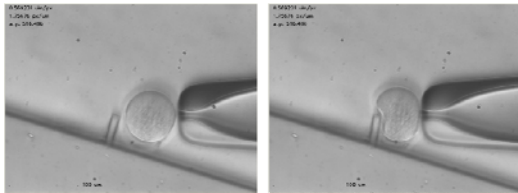


Fig. 2 Microindentation with mouse oocyte.

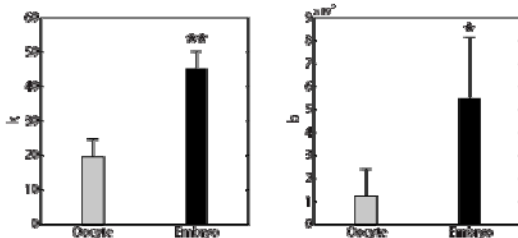


Fig. 3 Elastic parameter and viscous parameter of the oocyte ZP and the embryo ZP (**p<0.001 and *p<0.01).

4. 고찰

실험결과로 부터 투명대 경화 현상이 물리적 성질의 변화를 야기함을 확인할 수 있으며, 탄성뿐만 아니라 점성까지 모두 증가하는 것을 최초로 확인하였다. 이와 같은 변화는 투명대의 투과전자현미경 영상에서 단백질 섬유구조가 더 조밀해지는 것을 관찰한 결과와 함께,⁶ 투명대 경화현상에서 구조적 변화가 있음을 뒷받침하는 결과라고 할 수 있다. 추후에는 이러한 점탄성 성질의 변화와 투명대의 구조적, 기능적 요소와 연관시키는 이론적 연구를 진행할 계획이다.

후기

이 논문은 2011 년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단 공공복지안전사업의 지원을 받아 수행된 연구임(No. 2011-0020934).

참고문헌

- Green, D.P., "Three-dimensional structure of the zona pellucida," *Reviews of Reproduction*, **2**(3), 147-156, 1997.
- Hatanaka, *et al.*, "Changes in the properties and composition of zona pellucida of pigs during fertilization in vitro," *J. Reproduction and Fertility*, **95**(2), 431-440, 1992.
- Sun, Y., *et al.*, "Mechanical property characterization of mouse zona pellucida," *IEEE Trans. NanoBioscience*, **2**(4), 279-286, 2003.
- Murayama, Y., *et al.*, "Micro-mechanical sensing platform for the characterization of the elastic properties of the ovum via uniaxial measurement," *J. Biomechanics*, **37**(1), 67-72, 2004.
- Hunt, K.H. and Crossley, F.R.E., "Coefficient of restitution interpreted as damping in vibroimpact," *J. Applied Mechanics*, **42**, 440, 1975.
- Funahashi, H., *et al.*, "Transmission electron microscopy studies of the zona reaction in pig oocytes fertilized in vivo and in vitro," *Reproduction*, **122**(3), 443-452, 2001.