

과분극 자극에 대한 mouse 미수정란의 세포막저항과 세포막전압의 변화

홍성근 · 김익현 · 조영덕*
경상대학교 의과대학 생리학교실
고신대학교 의학부 방사선과학교실*
(1990. 12. 1 접수)

Changes of membrane resistance and membrane potentials by hyperpolarizing current stimulation in mouse unfertilized eggs

Seong-geun Hong, Ik-hyen Kim, Young-deok Cho*
Dept. of Physiology, School of Medicine, Gyeongsang National University
Dept. of Radiology, Kosin Medical School*
(Received Dec. 1, 1990)

Abstract: For the observations of both the membrane properties and the excitability on the unfertilized eggs of female mice, changes of the membrane resistance and the membrane potential by hyperpolarizing current stimulation were recorded. As current-voltage relation was linear over the entire range ($-180\text{mV}\sim+60\text{mV}$), membrane resistance(R_m) was calculated from the amplitude of electrotonic potential to a given stimulus current. Also the presence of anode-break excitation was confirmed.

The results were as follows;

1. There was a linear relation between the membrane resistance and resting membrane potential, the expected input resistance was $61.4\text{M}\Omega$ (resting membrane potential was $-18.9\pm 8.7\text{mV}$, mean \pm SD, $n=30$).
2. Transient depolarization with overshoot was generated just after hyperpolarizing current stimulus and showed the dependency of stimulus duration.
3. Transient depolarization lasted over 30ms, amplitude of these depolarization was increased by high Ca^{++} (20mM) and inhibited by Ca^{++} -antagonist, Mn^{++} .
4. From the above results, it was suggested that the unfertilized mouse egg showed the characteristics of the excitable cell.

서 론

분화된 세포의 흥분성은 세포수준에서 전기적으로 세포의 환경에 대하여 세포막을 경계로 한 안정막 전압의 유지와 구분된 ion통로를 통한 ion들의 이동에 의한 막전압의 변화를 특징으로 하고 있다.¹ 세포내외의 ion간의 불균형과 안정시 막투과도(membrane permeability)가 높은 ion에 의하여 형성되는 안정막 전압

(resting membrane potential)은 신경이나 근육세포와 같은 일반적인 흥분세포의 경우 세포외액에 대하여 세포내액에 음전위인 potassium ion의 평형전압과 유사하게 -50mV 에서 -100mV 사이에서 일정하게 유지하고 있는 반면, hamster나 mouse와 같은 포유동물의 배란된 미수정란에서 대부분 -30mV 내외로 보고되고 있다.²⁻⁴ 미수정란에서 관찰되는 안정막전압은 유리미세 전극삽입 후부터 계속 증가(more hyperpolarized) 또

는 감소(more depolarized) 하는 경향을 보이고 있으나^{5,6} 이는 미세전극 삽입 직후 세포막의 resealing에 의하여 또는 세포막의 손상때문에 생기는 막저항의 감소 현상으로 설명하고 있다.⁶ 그러나 hamster egg에서 관찰되는 바와 같이 세포막 저항과 안정막전압 사이에 일정한 비례관계가 mouse egg에서도 성립하는지 명확하게 알려져 있지 않다.

Tunicate egg나 xenopus oocyte 등과 같은 하등동물에서 기록되는 활동전압은 Ca^{++} ion이나 Na^{+} ion에 의하여 $-50mV$ 이하의 막전압상태에서 발생하였으며 $-50mV$ 이상의 탈분극상태에서는 전류 자극에 대하여 단순한 electrotonic potential만이 관찰되었음⁷을 고려할 때, $-30mV$ 내외로 유지되는 mouse egg의 안정막전압 수준에서 내향성전류를 나타내는 voltage-sensitive ionic channel들이 inactivation 상태에 있으므로⁸ 흥분성 발현에 필요로 하는 이온들의 막전도도(ionic membrane conductivity)의 현저한 감소로 인하여 활동전압과 같은 전형적인 흥분성 발현이 어려울 것으로 생각된다.

이에 본 연구는 mouse 미수정란의 안정막전압과 막저항 사이의 관계와 과분극 전류자극에 의하여 막전압 변화에 기인한 흥분성의 존재 및 관련 ionic mechanism을 확인하기 위하여 시행하였다.

재료 및 방법

실험동물 및 재료준비 : 8주령 이상의 mouse(mixed breed ICR, female)를 대상으로 실험개시 60시간 전후에 PMSG(pregnant mare serum gonadotropin, Zoki) 5 unit를 복강내 주사한 후 실험개시 12~15시간 전에 HCG(human chorionic gonadotropins, Zoki) 10 unit를 다시 복강내 투여하여 과배란을 유도하였다. 복강을 열어 노출된 난관으로부터 수집된 난자들을 0.1% hyaluronidase(Sigma, Type I-S) 용액에서 1~2분간 상온처리하여 cumulus oophorus를 제거한 다음 실험 chamber 내로 옮겨 회복시킨 후 실험에 이용하였다.

실험용액은 Table 1.과 같이 조성하였으며 egg가 실험용기 바닥에 고착되지 않고 oncotic pressure를 유지하기 위하여 PVP(polyvinylpyrrolidone, Sigma) 2mg/ml과 BSA(bovine serum albumin, Sigma) 2mg/ml을 모든용액에 첨가하였다. Ca^{++} 농도를 20mM로 증가시킬 경우 다른 용액의 농도변화 없이 조성하였고 NaOH를 이용하여 37°C에서 pH 7.3~7.4로 유지하였다.

실험 진행 및 기록장치 : 옮겨진 egg들을 표준실험용액에서 10분간 회복시킨 후 미세전극을 삽입하였고 삽입한 후 egg 형태의 변성이 일어난 것은 실험대상에서 제외하였다. 모든 실험진행은 신선한 미수정란의 정상

Table 1. Composition of standard experimental solution

Reagent	Concentration
NaCl	140mM
KCl	6.0mM
CaCl ₂	4.0mM
MgCl ₂	1.2mM
Glucose	1g/l
HEPES	10.0mM
PVP	2.0mg/ml
BSA	2.0mg/ml
pH 37°C by NaOH	7.3~7.4

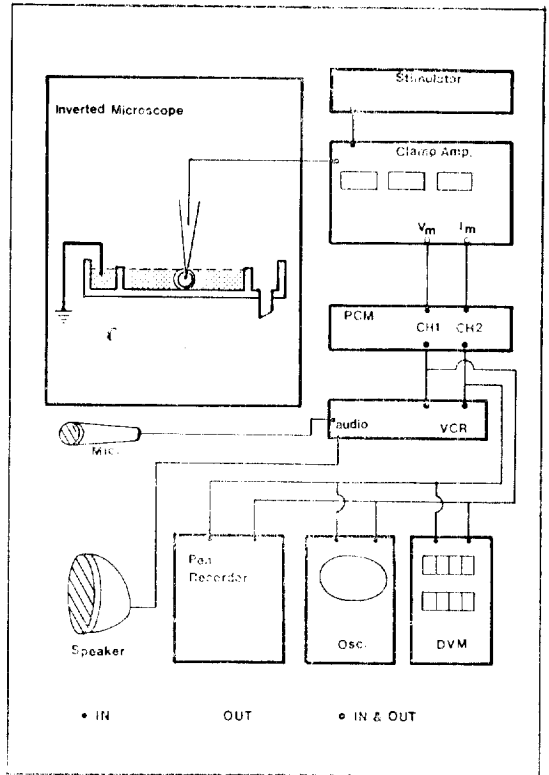


Fig 1. Modified diagram of recording circuit

적인 결과를 얻기위하여 35°C 전후의 항온조건에서 채란 후 6시간 이내에서 시행하였다.

도립현미경(CK-2, Olympus)에 장착된 0.8ml 크기의 chamber 바닥을 Sylgard coating(Sylgard elastomer 186, Dow-Corning)처리하여 용액관류에 따른 egg의 이동과 유리전극 삽입시 일어날 수 있는 파손을 방지하였다. 준비된 mouse egg의 전기적인 성상을 기록하

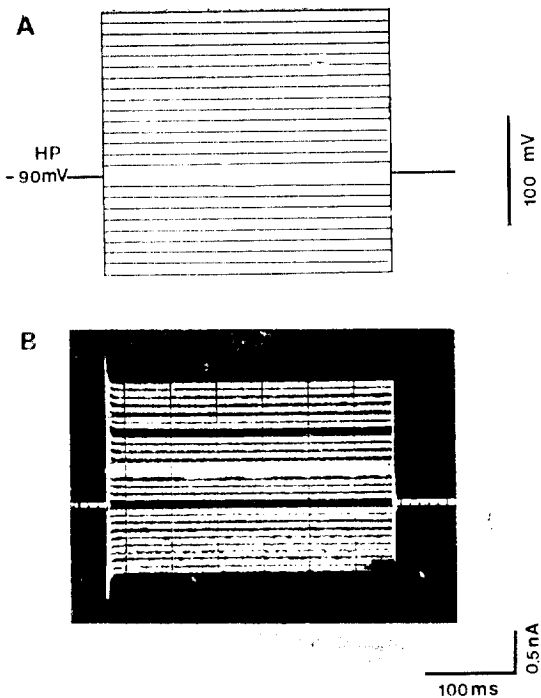


Fig 2. Membrane currents of the mouse egg under the voltage clamp condition in the standard solution. Holding potential was kept at -90 mV.

A; Protocol of step command.

B; Interposed membrane currents for each step command.

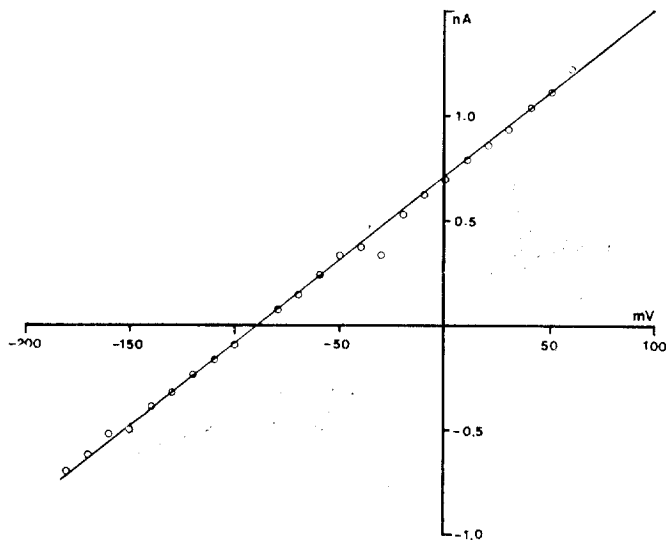


Fig 3. Current-voltage relation. Open circles represent currents recorded from Fig 2. Trace shows a linear relation between the membrane potential and membrane currents.

기 위하여 3M KCl 용액으로 채운 $20\sim 30M\Omega$ 사이의 유리미세전극을 미세조정기를 이용하여 egg cell에 근접시킨 후 막전위고정 및 기록용 amplifier(Axoclamp-2A, Axon Instrument)의 remote buzz를 이용, 순간적으로 미세전극을 진동시켜 투명대를 통과하여 egg membrane 내로 삽입시켰으며 세포내 막전압고정(voltage clamping)이나 전류자극(current stimulation)을 위하여 자극기(S-95, Medical Systems)와 막전위고정 및 기록용 amplifier를 함께 이용하였다. 막전압(V_m) 및 막전류(I_m)기록은 PCM(Pulse Code Modulator, PCM-2, Medical Systems)을 이용하여 Video cassette recorder(VCR) tape에 저장시키면서 digital voltmeter, oscilloscope(R5113, Tektroniks)와 Pen recorder(Oscillograph 50-8655, Harvard)를 통하여 관찰 기록하였다. 모든 실험과정의 분석은 저장되어 있던 VCR tape를 재생시키면서 필요한 경우 digital oscilloscope(CS-8010, Kenwood)의 cursor를 이용하여 결과치를 측정하였다(Fig 1).

결 과

막전압 고정시 egg membrane의 성상: 막전압과 막전류 사이의 관계를 알아보기 위해 -90 mV의 고정전압으로부터 -90 mV에서 $+190$ mV까지 10 mV 간격으로 주어진 300 msec의 voltage pulse에 의하여 나타난 막전류를 기록한 결과, 탈분극자극에 의한 내향성전류는 나타나지 않았다(Fig 2). 이 관찰 기록에서 구한 steady-state current를 막전압에 대하여 Fig 3과 같이

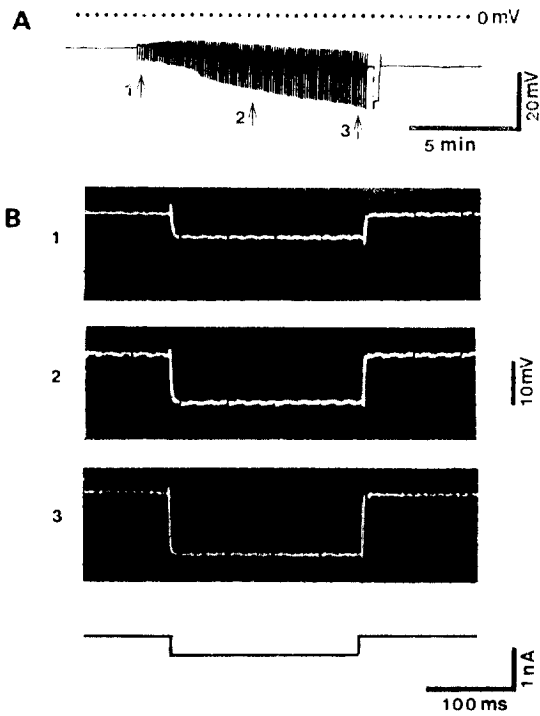


Fig 4. Effect of hyperpolarizing current stimulation on the resting potential.

A; Continuous pen recordings of membrane potential. Resting potential and electrotonic potentials are increased with repetitive stimulation (-0.5nA).

B; Sample traces indicated by arrows on the fast time scale.

도시하여 -40mV 이상에서 outward rectification 경향을 보이고 있으나 전반적인 막전압에 대하여 직접적인 관계를 얻을 수 있었다.

안정시 세포막 저항의 변화: Fig 3에서 나타난 바와 같이 세포막 전압과 세포막 전류 사이에 직선관계를 이루고 있으므로 일정 전류 자극에 의한 electrotonic potential의 크기를 통하여 input membrane resistance의 크기를 측정할 수 있다. 유리미세전극 삽입 직후 안정막전압의 증가에 의한 input membrane resistance 크기를 알아보기 위하여 0.5nA 크기의 과분극 전류 자극을 200msec 동안 가하여 나타난 세포막전압의 변화는 안정막전압이 -9mV 에서 -16mV 로 증가함과 동시에 이에 따른 막저항도 $9.5\text{M}\Omega$ 에서 $25.7\text{M}\Omega$ 으로 증가하였다(Fig 4). 안정막전압과 이에 따른 input membrane resistance와의 관계는 과분극 전류 자극에 대한 세포막의 electrotonic potential의 변화정도를 Fig 5와 같이 도식한 결과 직선적인 비례관계가 성립함을 알 수 있었다. 회귀직선과의 절편이 leak potential을 나타낸다고 가정할 때 leak pathway를 통한 leak potential은 -8.25mV 이었으므로 이 수준의 낮은 막전압을 보이는 egg membrane은 심한 손상을 받은 경우에 해당하기 때문에 -8mV 이내의 막전압을 보이는 미수정란의 결과치는 실험기록에서 배제하였다. Mouse egg의 안정막 전압은 -30mV 에 근접할수록 $100\text{M}\Omega$ 이상의 저항값을 보이고 있으며 -31mV 의 안정막 전압을 보이는 막저항은 $128.5 \pm 8.6\text{M}\Omega$ (mean \pm SD, $n=25$)이었다. 본 실험에서 기록한 안정막 전압은 $-18.9 \pm 8.7\text{mV}$ (mean \pm SD, $n=30$)이었으므로 막저항

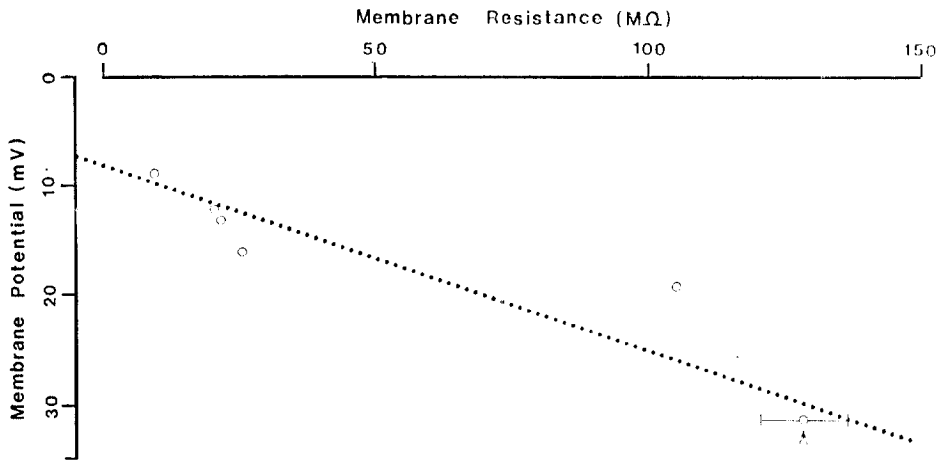


Fig 5. Relation between the membrane potential and the membrane resistance.

Calculated membrane resistance and regression line (dotted line) were plotted against resting membrane potential. At -31mV of resting potential (arrow), mean resistance with standard deviation was plotted ($n=25$).

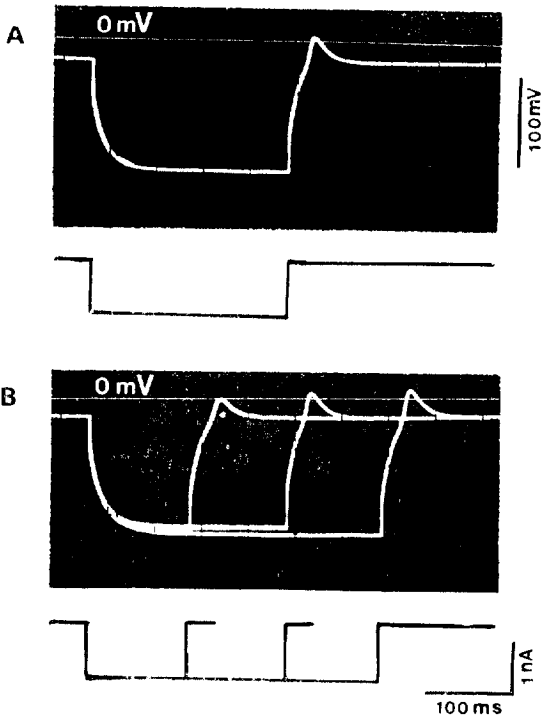


Fig 6. Time dependency of anode-break excitation.
 A; Off-response by the hyperpolarizing current, 1.1nA under the standard solution (4mM Ca^{++})
 B; Amplitude of off-response was increased according to the stimulus duration (100 ms, 200ms, 300ms).

Table 2. Stimulus time dependency of off-response.

Stimulus duration(ms)	100	200	300
Time to peak after stimulation	30.5ms	29.5ms	33.0ms
Amplitude from resting potential	20.0mV	27.5mV	30.5mV
Overshoot	1.0mV	8.5mV	11.5mV

값은 $61.4M\Omega$ 으로 추정하였다.

과분극 전류 자극에 대한 **off-response**: 일정한 과분극 자극을 주어 $-100mV$ 이상 과분극시키던 자극종료와 동시에 30msec 이상 진행되는 transient depolarization인 off-response 현상을 관찰할 수 있었다. Fig 6A와 같은 막전압의 변화는 tunicate egg에서 보인 결과와 유사⁷ 하며 과분극 자극 기간이 증가할수록 안정막 전압으로부터 탈분극 크기와 지나치기 전압이 각각 증가하였다(Fig 6B and Table 2). 관찰된 off-response

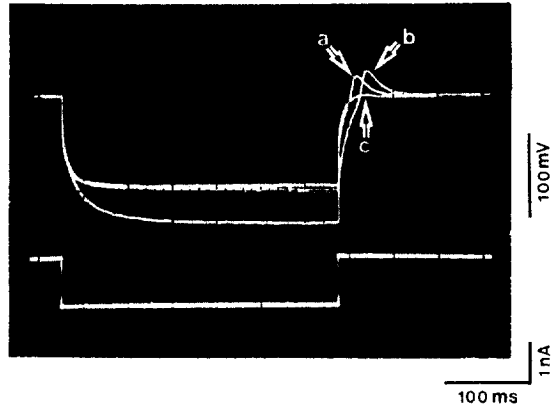


Fig 7. Calcium effect on the off-response.
 a: 4mM Ca^{++} b: 20mM Ca^{++}
 c: 20mM Mn^{++}

는 Ca ion의 증가할수록(4mM~20mM) amplitude가 증가하였으며 20mM 이상의 Ca^{++} 농도에 대해서는 amplitude의 변화를 보이지 않는 saturation 현상을 보였다. Fig 7에서 보여주는 바와 같이 20mM Ca^{++} 용액 관류시 동일한 1.1nA의 과분극 전류 자극에 대하여 과분극 정도와 peak potential이 정상용액(4mM Ca^{++}) 관류시 보다 증가하였으며 Ca^{++} channel 억제제인 80 mM Mn^{++} 용액에 off-response가 소실되었다(Fig 7).

고 찰

수정전의 난자는 발달과정상 미분화된 세포로 수정을 거쳐 분화 및 발달이 이루어지는 흥분성이 없는 것으로 간주되었으나 불가사리 알(starfish egg)에서 안정막 전압의 기록과 tunicate egg에서 활동전압의 관찰을 근거로 egg cell에서의 흥분성이 확립되었고^{7,9} 양서류, 원색동물등과 같은 하등동물에서 광범위한 관찰이 이루어졌으나¹⁰, 포유동물의 경우 존재환경이 해수나 담수와 같이 자연환경이 아닌 난관액(oviductal fluid)으로 구성되어 있기 때문에 안정막전압의 측정이 1973년에 시작되었다.¹¹ 본 실험에서 기록된 안정막 전압은 $-19mV$ 전후로 whole cell recording 방법으로 얻은 기록⁸ 및 다 연구자의 세포내 기록⁴과 유사한 결과를 얻었으나 일부 연구자들의 결과치인 $-90mV$ 의 안정막 전압 및 $400M\Omega$ 이상의 막저항¹²에 비하여 본 실험의 최대 기록치인 $-38mV$ 및 $143M\Omega$ 의 막저항 값과는 차이를 보이고 있는 바, i) 유리미세전극 삽입시 egg cell membrane의 손상정도, ii) 전극삽입 후 유리미세전극과 세포막간의 sealing 정도, iii) 미세전극의 저항에 따른 tip potential의 정도 등을 감안해야 할 것

으로 사료된다. 일반적으로 egg cell의 세포내 기록을 위하여 미세전극을 삽입하는 기술로 가볍게 두드리거나, capacitance의 변화를 통한 전극의 oscillation을 일으켜 삽입하는 방법을 사용하여 이루어지므로 egg cell의 손상 정도와 삽입 후 미세전극과 세포막사이의 sealing 정도에 따라 막전압의 변화는 상당히 클 것으로 예상된다. -90mV 내외의 막전압을 기록한 연구 결과의 경우 삽입 후 과분극 전류자극을 주어 sealing을 촉진하였다고 보고하였다,¹² 본 연구에서도 과분극 전류자극에 의하여 -9mV 로부터 -16mV 까지 안정막 전압이 증가하였으며, 동시에 막저항도 증가함을 관찰할 수 있었다(Fig 4A). -90mV 내외의 안정막전압을 기록하였던 Georgiou 등¹²이 사용한 미세전극의 저항은 $50\text{M}\Omega$ 이상인 반면, 본 연구는 대개 $25\text{M}\Omega$ 정도의 미세전극을 사용하였다. 미세전극의 저항이 클수록 음전위(negative potential)의 tip potential이 커질 뿐 아니라¹³ 막저항을 측정하기 위하여 주입되는 동일한 전류자극에 대하여 반응하는 electrotonic potential이 증가하기 때문에 미세전극의 저항 정도는 막저항값이 과대평가 될 수 있는 요소로 사료된다. Mouse egg cell의 막전류와 막전압관계가 직선적인 비례관계(Fig 3)에 있으므로 본 실험에서 구한 막저항의 계산은 Ohm의 법칙,

$$R_m = E_m / I_s$$

(R_m : membrane resistance, E_m : 전류자극에 의한 막전압의 변화치, I_s : 전류자극의 크기)의 관계를 이용하여 산출하여 도기한 결과(Fig 5) 안정막전압과 세포막저항 사이의 관계는 안정막전압이 클수록 세포막저항이 커지는 비례관계를 보였으며 -30mV 근처에서 $128.5 \pm 8.6\text{M}\Omega$ ($n=25$)로 다른 연구 결과^{14,15,8,15} 및 hamster의 경우^{5,17}와 유사한 값을 보였다. 미세전극 삽입 후 점진적인 안정막전압의 증가는 2 가지로 추론할 수 있다. 첫째로는 미세전극의 삽입이 정자와의 수정을 모방하는 과정(mimicry of sperm entry)과 유사한 기전으로 가정할 때 미수정란이 정자와 결합시 hamster와 mouse에서 관찰된 세포내 Ca^{++} 의존성 K^+ permeability 증가에 의한 과분극 현상¹⁴으로 고려할 수 있다. 그러나 sea urchin의 수정란과 미수정란에서 기록한 세포내 전압, 수정시 기록되는 action current 등의 관찰결과에 따르면 전극삽입시 기록되는 결과가 정자와의 결합과정과 같지 않음을 보여주고 있다.⁵ 둘째로 세포막저항(R_m)과 막전압(E_m) 이외에 전극삽입시 나타나는 세포막 손상부위의 leak resistance(R_l)와 leak potential(E_l)에 의한 안정막 전압의 변동을 가정할 수 있다(Fig 8).

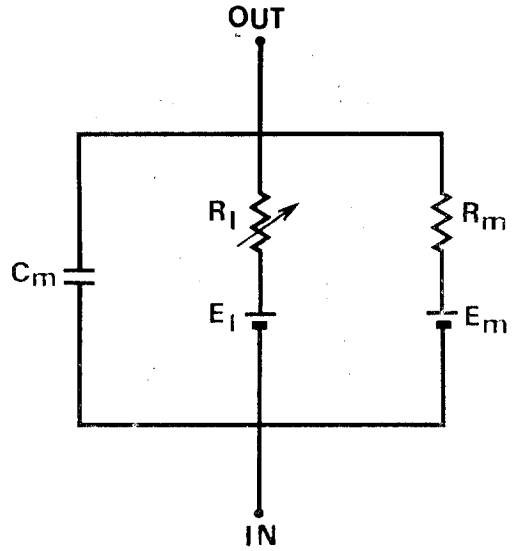


Fig 8. The circuit representing the cell membrane with an inserted microelectrode.

- C_m : Membrane capacitance,
- R_m : Membrane resistance,
- E_m : Membrane potential,
- R_l : Leak resistance,
- E_l : Leak potential

R_l 과 R_m 이 병렬연결되어 있다면 미세전극 삽입 후의 막저항, $R_e = (R_l \cdot R_m) / (R_l + R_m)$ 와 막전압 $E_e = (E_l \cdot R_m + E_m \cdot R_l) / (R_l + R_m)$ 로 나타낼 수 있으며 막전압, E_e 를 다시 정리하면,

$$E_e = \left(\frac{E_m - E_l}{R_m} \right) R_e + E_l$$

이상과 같이 절편이 E_l 인 R_l 의 1차 직선관계로 표시할 수 있다. 본 실험의 결과로 가변저항인 R_l 이 막전압에 따라 변화하는 값을 결정할 수는 없으나 막전압과 막저항사이의 직선적 비례관계(Fig 5)를 보이므로 전극 삽입후 전극과 세포막간의 sealing 정도에 따른 R_l 의 증가로 여길 수 있다. 이와 함께 과분극 자극에 의한 세포막의 sealing 촉진이 input resistance 증가에 부가되었다고도 볼 수 있다. 그러나, 안정막전압이 -13mV 인 egg를 -60mV 에 고정하여 과분극 전류자극을 주어 $100\text{M}\Omega$ 이상의 세포막저항값을 얻을 수 있었는 바(Fig 9), Fig 4의 직선관계에서 -13mV 에 해당하는 $30\text{M}\Omega$ 이내의 세포막저항값과 큰 편차를 보이고 있다. Georgiou 등이 hamster egg에 Ca^{++} ion을 주입하여 과분극상태를 유도한 후 전류자극을 가했을 때 막저항의 감소하는 결과⁵와 비교할 때 좋은 대조를 이루고 있으므로 전극삽입에 의해 시작되는 막저항과 막전



Fig 9. Effect of hyperpolarization on the membrane resistance.

Expected resistance at -13mV is $27.4\text{M}\Omega$ but measured resistance is $108\text{M}\Omega$.

압의 증가 및 막전압에 따른 막저항의 변화기전에 대하여 세밀한 연구가 요구된다. Mouse egg에 1nA 이상의 과분극 전류 자극을 가하였을 때 과분극 자극 종료 후 30msec 이내에 transient depolarization 현상이 나타났다¹⁸(off-response) 자극기간(Fig 6B)과 Ca^{++} ion 농도증가(Fig 7)에 따라 증가하는 현상은 -30mV 내외의 낮은 안정막전압 상태에서 inward current system이 inactivation 되어있다¹⁵ 전류자극에 의해 진행되는 과분극 기간에 따라 inward current를 주도하는 ionic channel들의 activation 정도의 차이를 보이기 때문에 off-response 및 off-response의 amplitude의 차이를 보이는 것으로 사료되며 off-response가¹¹ Mn^{++} ion에 의하여 억제되고² Ca^{++} ion의 증가에 따라 amplitude가 커지는 것으로 보아 미수정란에서는 inward Ca^{++} current에 의한 흥분성의 생성이 나타나는 것으로 여겨진다.

결 론

Mosue의 미수정란에서 안정막전압과 세포막 저항사이의 관계를 규명하고 일반적인 흥분성 세포에서 관찰되는 활동전압과 같은 흥분성 존재여부를 확인하기 위하여 과배란을 유도한 8주령 이상의 mouse egg에 대하여 실험한 결과 다음과 같은 성적을 얻었다.

1) Mouse 미수정란의 안정막전압은 $-18.9 \pm 8.7\text{mV}$ (mean \pm SD, $n=30$)이었으며 세포막전압과 세포막 전류사이에는 직선적 비례관계가 성립하였다.

2) 과분극 전류 자극에 의하여 측정된 세포막 저항은 $9.5\text{M}\Omega$ 에서 부터 $143\text{M}\Omega$ 사이에서 관찰되었으며 안정막 전압과 직선적인 비례 관계를 나타냈으며 이로

부터 추정되는 평균 막저항은 $61.4\text{M}\Omega$ 이었다.

3) 과분극 전류자극에 의하여 지나치게 전압을 나타내는 30ms 이상 진행되는 탈분극 현상이 생성되었으며 자극기간에 의존하는 경향을 보였다.

4) 과분극 전류자극에 의한 탈분극 현상은 Ca^{++} ion에 의하여 증가 하였으며 Mn^{++} ion에 의하여 억제되었다.

이상의 결과로 보아 mouse 미수정란은 일정한 세포막 저항에 따른 안정막 전압과 Ca^{++} ion에 의한 탈분극을 보이는 흥분성 세포임을 확인할 수 있었다.

참 고 문 헌

1. Patton HD, Fuchs AF, Scher AM et al. *Textbook of Physiology*. W.B. Saunders. Philadelphia. 1989;49~79.
2. Eusebi F, Colonna R, Mangia F. Development of membrane excitability in mammalian oocytes and early embryos. *Gamete Res* 1983;7:39~47.
3. Hagiwara S, Jaffe LA. Electrical properties of egg cell membranes. *Ann Rev Biophys Bioeng* 1979; 8:385~416.
4. Powers RD, Tupper JT. Some electrophysiological and permeability properties of the mouse egg. *Dev Biol* 1974;38:320~331.
5. Georgiou P et al. Calcium-evoked opening of potassium channels in hamster eggs. *QJ Exp Physiol* 1983;68:687~700.
6. Peres A. Resting membrane potential and inward current properties of mouse ovarian oocytes and eggs. *Pflügers Arch* 1986;407:534~540.
7. Miyazaki S, Takahashi K, Tsuda K. Calcium and sodium contributions to regenerative responses in the embryonic excitable cell membrane. *Science* 1972;176:1441~1443.
8. Peres A. The calcium current of mouse egg measured in physiological calcium and temperature conditions. *J Physiol* 1987;391:573~588.
9. Takahashi K, Miyazaki S, Kidokoro Y. Development of excitability in embryonic muscle cell membranes in certain tunicates. *Science* 1971; 171:415~418.
10. Hagiwara S. Membrane potential-dependent ion channels in cell membrane. Raven Press. New York. 1983.
11. Cross MH, Cross, PC Brinster, RL Changes in

- membrane potential during mouse egg development. *Dev Biol* 1973;33:412~416.
12. Georgiou P et al. Calcium action potentials in unfertilized eggs of mice and hamsters. *QJ Exp Physiol* 1984;69:365~380.
 13. Standen NB, Gray PTA, Whitaker MJ. *Micro-electrode Techniques*. London: The Company of Biologists Limited, 1987;4~8.
 14. Igusa Y, Miyazaki S, Yamashita N. Periodic hyperpolarizing responses in hamster and mouse eggs fertilized with mouse sperm. *J Physiol* 1983; 340:633~647.
 15. Okamoto H, Takahashi K, Yamashita N. Ionic currents through the membrane of the mammalian oocyte and their comparison with those in the tunicate and sea urchin. *J Physiol* 1977;267: 465~495.
 16. Yoshida S. Permeation of divalent and monovalent cations through the ovarian oocyte membrane of the mouse. *J Physiol* 1983;339:631~642.
 17. Miyazaki S, Igusa Y. Ca mediated activation of K current at fertilization of golden hamster eggs. *Proc Nat'l Acad sci USA* 1982;79:931~935.
 18. McNiven AJ et al. A delayed all-or-none hyperpolarisation induced by a single Ca^{++} action potential in hamster eggs. *Pflügers Arch* 1988; 412:451~453.