

## ◆특집◆ 의용생체역학

## 바다동물의 재미있는 수정[受精] 메커니즘

신현정\*

## Fascinating fertilization mechanism of marine invertebrates

Jennifer H. Shin \*

**Key Words** : Actin (액틴), Actin polymerization (액틴중합), Elastic energy (탄성에너지), Stall force (지연힘), Cutting force (절삭력)

## 1. 서론

바닷속 무척추 동물인 말발굽게 (*Limulus*)의 정자와 난자 사이의 수정 과정에서 일어나는 침체 현상(acrosome reaction)은 기존에 널리 알려져 있는 액틴(actin)을 기반으로 하는 세포들의 운동과는 다른 새로운 메커니즘을 바탕으로 한다. 정자가 난자의 막에 인접했을 때 정자의 핵 하단에 용수철 모양으로 비틀려있던 액틴다발(actin bundle)이 빠르게 풀리면서 정자의 핵중양부에 있는 통로를 통해 정자 밖으로 곧게 뻗어나와 60 $\mu$ m 길이의 단단한 막대 형상을 이루게 된다 (Fig. 1(a)). 이 막대는 일종의 가교(架橋) 역할을 하며 난자와 정자를 이어준다. 사람과 그 밖에 다른 포유류의 경우는 외부로부터 보호된 환경하에서 체내수정을 하기 때문에 난자의 외벽이 그다지 단단하지 않다. 따라서 수정과정에서 효소에 의해 난자의 벽이 쉽게 허물어 지고, 정자는 난자 안으로 뚫고 들어갈 수 있게 된다. 반면 체외수정을 하는 동물들은 외부환경으로부터의 보호를 위해 대부분 난자가 단단한

보호막에 둘러싸여 있으며 그 중 특히 말발굽게나 해삼, 멧게 등의 정자는 난자의 벽을 뚫기 위해 효소작용 외의 기계적 메커니즘을 사용한다. 특히 말발굽게 정자의 경우는 효소작용과 함께 용수철 형태의 막대를 비틀어 뺏으면서 마치 나사를 벽에 박는 방식으로 딱딱한 난자의 외벽을 뚫게 된다. 구조분석을 통해 과학자들은 액틴으로 구성된 이 침체 (acrosome)다발이 액틴과, 액틴 결합단백질인 스크루인 (scruin), 칼슘 결합단백질인 칼모듈린 (calmodulin) 등 세가지 단백질로 이루어져 있음을 밝혀내었으며, 단백질 구성단자들이 규칙적인 배열을 가진 결정성고분자 (結晶性高分子 crystalline polymer)를 이루며 40-80 개의 액틴 필라멘트가 심하게 굽고 꼬여 단단한 다발을 이루고 있음을 밝혀내었다 (Fig. 1(c)). 약 60 $\mu$ m 정도 길이의 용수철 모양으로 비틀려 있는 액틴다발은 정자핵의 기부(基部)에 자리잡고 있다. 전자현미경 (TEM: Transmitted Electron Microscope) 이미지를 통해 이와 같은 변화를 직접 관찰할 수 있는데, 초기형태의 액틴다발은 풀리기 전 상태에서는 액틴필라멘트들이 심하게 비틀려있는 초나선(超螺旋) 형상을 이루고 있으며, 칼슘이 결합하면서 액틴 필라멘트의 비틀림과 초나선형상이 모두 사라진것을 관찰할 수 있다 (Fig. 1(c)). 그렇다면 심한 비틀림형상으로 높은 탄성에너지를 가지는 구조물이 에너지가 낮은 안정한 상태로 자연적으로 변형하지 않고 유지되는 비밀은 무엇일까? 스크루인에 대해 연구

\* 한국과학기술원 기계공학과

Tel. 042-869-3232, Fax. 042-869-3210

Email j\_shin@kaist.ac.kr

생체 계측 및 세포조작 분야에 관심을 두고 연구활동을 하고 있다.

해오던 미 Whitehead Institute 의 Paul Matsudaira 는 액틴 결합단백질인 스크루인이 액틴 다발을 에너지가 높은 비틀린형태의 잠금상태로 유지시켜 주는 잠금쇠 역할을 하며 칼슘이 낮은 에너지로의 형상변화(conformational change)를 유도하는데 관여한다고 가정하였다.

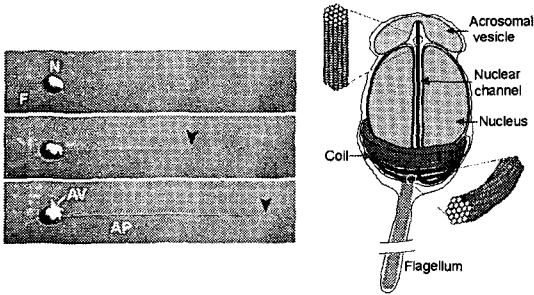


Fig. 1 The acrosomal reaction in *Limulus* sperm: (a) Upon activation by the presence of an egg or  $Ca^{2+}$ , a sperm cell of  $5\mu m$  in its diameter extends  $60\mu m$  long acrosomal bundle in average five seconds in ASW. N: nucleus, F: flagellum, AV: acrosomal vesicle, and AP: acrosomal process. (b) A schematic of unreacted sperm modified from electron micrographs, showing the proximal end of the acrosomal bundle lying in the nuclear channel while the rest of the bundle is coiled around the base of nucleus. The blowups illustrate that the filaments are twisted in the coiled state, but parallel to each other in the true-discharge (TD) state

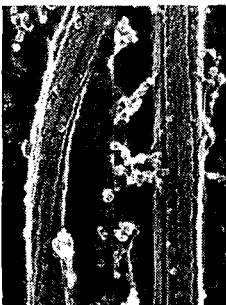


Fig. 1 (c) The bundle exhibits a  $60^\circ$  superhelical twist per segment, which arises due to the small microscopic overtwist of  $0.23^\circ$  per each subunit, and is putatively the basis for storing energy and driving the extension of the bundle

즉, 모든 생물체의 난자가 그러하듯 말발굽계의 난자도 정자의 접근에 반응하여 난자주변에 많은 양의 칼슘을 배출한다. 칼슘이 정자안으로 들어오면 칼슘 결합단백질인 칼모듈린에 결합되고 그에 따라 칼모듈린과 그에 인접한 스크루인이 함께 그 형태가 변하게 된다. Rotary Shadow 기술로 찍은 스크루인의 이미지를 보면 칼슘이 결합된 조건에서 닫혀있던 스크루인의 두 날개구조가 (Fig. 2) 칼슘이 더해지면서 열린형태로 변하는 것을 확인할 수 있다. 스크루인은 액틴과 매우 단단하게 결합되어 있기때문에 스크루인의 열림현상이 액틴에 영향을 주게 되는것이다. 칼슘에 의해 액틴다발의 비틀림 구조의 잠금쇠 역할을 하는 스크루인이 반응하여 잠금쇠가 느슨해지면서 액틴이 비틀림이 심한 고(高)에너지 상태에서 곧게 펴진 저(低)에너지 상태로 전환하게 되는것이다. 이와 같은 관찰과 가설에 근거하여 DeRosier 와 Tilney 는 1970 년대 말 1980 년대 초에 발표한 그들의 논문에서 말발굽계의 침체현상을 위한 에너지의 근원은 액틴의 비틀림에 있는 탄성에너지일 것이라고 가정한 바 있다.

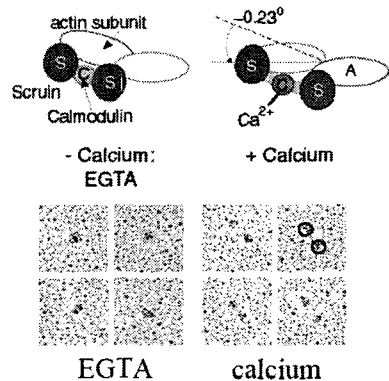


Fig. 2 Upper panel shows schematics of actin-scrutin-calmodulin complex in the absence (-) and the presence (+) of calcium. Lower panel images are rotary shadowed images of scrutin. Images show clear dependence of scrutin conformation on the presence of calcium

말발굽계의 침체현상은 일반적인 생물체의 운동과는 다르게 삼인산아데노신(ATP: Adenosine triphosphate)이라는 연료나 마이오신(myosin)과 키네신(kinesin) 과 같은 모터단백질에 의존하지 않고 단지 구조를 이루고 있는 단백질의 형상변화를 통해 탄성에너지를 일로 변화시키는 새로운 매커니

즘이라는 가설을 바탕으로 본 논문에서는 액틴을 근거한 이 새로운 생물체의 운동메커니즘을 형태 변화의 메커니즘과 에너지, 힘에 대한 연구를 통해 규명하고자 한다.

## 2. 말뚝굽게 침체현상 메커니즘

비틀림이 심한 나선형의 액틴다발이 곧은 막대 형태로 변형하는 메커니즘은 다음과 같은 두가지 경우로 생각해 볼 수 있다. 첫째는 Jack-in-the-box (뚜껑을 열면 인형이 튀어나오는 장난감) 식의 메커니즘으로, 눌러있던 용수철의 잠금장치가 열리면서 에너지가 한꺼번에 방출되어 풀리는 방법이다. 둘째로는 잠금장치가 용수철의 군데군데 다수 존재하여 하나씩 하나씩 풀리면서 단계적으로 에너지가 방출되는 방법이다. 전자의 경우를 글로벌(global) 반응이라 한다면 두번째 같은 경우를 국부적(local) 현상의 전달형 메커니즘 이라고 할 수 있겠다. 실제로 침체현상을 주의깊게 관찰해보면 풀려나오는 액틴번들의 신장(伸張, extension) 속도가 처음부터 끝까지 거의 일정한 것을 볼수 있는데 이는 액틴다발의 형상변화가 국부적인 풀림(untwisting)의 전달 메커니즘이라는 것을 증명하는 중요한 단서가 된다 (Fig. 3). 그림에서 보이는 바와 같이 온도에 따라 그 속도에 차이는 있지만 평균 60 $\mu\text{m}$  정도 길이의 신장 속도는 시작부터 끝까지 거의 일정함을 볼 수 있다. 아직 발표되지 않은 최근의 실험자료를 보면 액틴다발이 뺨어나가는중에 칼슘이 계속해서 공급되어야 하며 칼슘과의 단계적 결합으로 신장이 일정속도로 이루어지도록 한다는것을 알 수 있다. 그렇다면 비틀림 형상을 가지는 액틴다발은 얼마만큼의 에너지를 가지고 있는것일까?

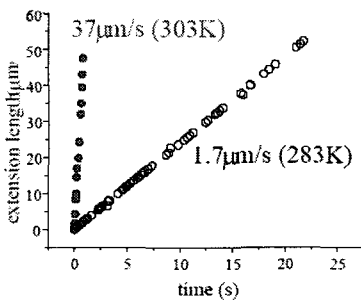


Fig. 3 Extension vs. time plot of the acrosomal reaction of horseshoe crab sperm indicates that the

reaction is not an explosive mechanism. Most probable explanation for the extension is the propagation of a localized untwisting along the bundle

## 3. 에너지의 근원

### 3.1 ATP 에너지

대부분의 생물체는 ATP 를 연료로 써서 움직인다. F1-ATPase 의 경우는 ATP 를 연료로 하는 회전 모터이며 마이오신과 카이네신등은 ATP 를 이용하는 직선형 모터로 세포골격구조 단백질인 액틴과 마이크로튜블(microtubule)로 만들어진 트랙을 따라 움직인다. 이러한 ATP 는 정자의 미토콘드리아에서도 다량 생산된다고 널리 알려져 있다. 또한 액틴은 뉴클레오티드 결합점이 있어서 일반적인 경우에는 ATP 나 ADP(Adenosine diphosphate)와 결합되어 존재한다. 따라서 침체현상에서 연료로서의 ATP 의 역할을 고려해볼 필요가 있다. 본 연구에서는 두가지 실험을 통해서 ATP 의 중요성 실험을 했는데 첫째는 정자가 반응하기 전에 액틴에 결합되어있는 뉴클레오티드의 종류가 무엇인지 밝혀내는 것이고, 둘째는 미토콘드리아에서 ATP 생산을 저지(抵止)시켰을때 이것이 침체현상에 영향을 주는지에 대해 알아보았다.

#### 3.1.1 Eluted 뉴클레오티드

정자에서 반응 후와 반응전의 액틴을 Tris 완충액(buffer) 으로 처리하고 요소(尿素, urea)를 용매로 이용하여 액틴에 결합 되어 있는 뉴클레오티드를 분리 시킨 결과, 반응 전후(前後) 모두 ATP 가 아닌 ADP 가 결합되어 있음이 밝혀졌다. ADP 는 ATP 가 이미 가수분해된 상태로 AMP 로 가수분해 될때만 에너지를 낼수 있는데 본 연구의 실험결과 액틴에 결합되어 있는 뉴클레오티드는 에너지 공급원으로서의 역할을 하지 않음이 밝혀졌다.

#### 3.1.2 미토콘드리아에서 생성되는 ATP

미토콘드리아에서 생성되는 ATP 에 대한 연구를 위해 ATP 합성을 막는 몇가지 화학성분(CCCP, Oligomycin, Antimycin)을 투입했을때 모든 경우 정자 편모(鞭毛)의 운동성은 낮아지거나 소멸된 반면 침체현상에는 큰 영향을 미치지 않음이 밝혀졌

다. 두가지 실험을 통해, 침체다발 자체에는 가수분해될 만한 ATP 가 존재하지 않으며, 미토콘드리아에서 생성되는 ATP 의 주요한 목적은 정자의 편모(鞭毛) 의 움직임을 도와 난자까지 헤엄쳐 가기 위한 것이며 침체현상을 위한 에너지 근원이 되지 못함을 밝혀내었다

### 3.2 칼슘결합 (Calcium binding) 에너지

칼슘과 칼모듈린 이 화학결합(chemical binding) 반응을 일으킬때에는 에너지가 방출되는 발열반응(exothermic reaction)을 한다. 침체현상이 완료되기까지는 지속적인 칼슘의 공급이 필요하다는 사실에 근거하여 칼슘이 단순히 트리거의 역할을 하는지 아니면 에너지의 출처로 쓰이는지를 실험 분석했다. G. Waller 은 calorimetric 실험을 통해 반응후의 액틴에 결합된 칼슘의 수가 일치하지 않음을 밝혔고 칼슘 결합을 통해 방출될수 있는 최대 에너지 값이 0.84 kJ/mol 라고 밝힌 바 있다. 60 $\mu$ m 의 침체다발에는 총 백만개 정도의 액틴-스쿠루인-칼모듈린 복합체가 존재하며 칼모듈린에 두개의 칼슘결합부위가 있음을 감안하여 침체현상중에 칼슘으로 부터 얻을수 있는 에너지의 최대값은 6 $\times 10^{-15}$ J 이라는 계산을 할 수 있다. 이 에너지가 과연 침체현상의 에너지근원으로서 결정적인 역할을 하는지에 알아보기위해 다음에서 분석한 탄성에너지의 값과 비교하도록 하겠다.

### 3.3 탄성에너지

침체다발에 저장 되어있는 탄성에너지 값을 추정하기 위해서 다발을 후크의법칙(Hook's Law)을 따르는 선형탄성체로 가정하여 굽고 비틀릴때의 에너지합을 다음과 같이 쓸 수 있다.

$$U = \int_0^L \frac{1}{2} (EI\kappa^2 + GJ\tau^2) ds \approx GJ\tau^2 / 2$$

여기서 EI, GJ,  $\kappa$ ,  $\tau$  는 각각 굽힘강성도, 비틀림강성도, 곡률반경, 그리고 변형률을 뜻한다. 등방성원형막대 (isotropic circular rod)의 경우는 EI  $\approx$  GJ 로 근사할수 있으므로 침체다발 전체의 탄성 변형률 에너지는 비틀림강성도와 변형률에 대한 간단한 식으로 표현된다. 간단한 실험으로 우리는 침체다발의 강성도가 5 $\times 10^{-21}$ Nm<sup>2</sup> 임을 밝혀냈고 이 값을 이용해서 침체다발의 탄성에너지 U  $\sim$  3 $\times 10^{-13}$ J (7 $\times 10^7 k_B T$ ) 를 구했다. 이 에너지 값

은 위에서 계산한 칼슘에너지 6 $\times 10^{-15}$ J 보다 10 배이상 큰 값으로 침체현상에서 가장 중요한 에너지 근원은 심하게 꼬여있는 액틴의 형상에 저장된 탄성에너지임을 알게 되었다.

## 4. 마이크로 용수철의 힘

### 4.1 세포 및 분자 단계의 힘

일반적으로 세포안에 있는 엔진들은 분자단계에서 nm 단위로 움직이며 pN 단위의 힘을 낸다. 예를들어 우리의 근육운동에 직접적 영향을 주는 마이오신과 액틴의 경우를 보면 형상변화와 ATP 에너지가 함께 하나의 마이오신-액틴 당 약 3pN 정도의 힘을내면서 1nm 정도의 스텝으로 이동한다. 비록 한개의 모터는 pN 단위의 적은 힘밖에 내지 못하지만, 실제로 근육 근원섬유(myofibril)의 수축 운동에서는 수천 수만개의 마이오신이 액틴을 따라 함께 움직이면서 수  $\mu$ N 이라는 엄청난 힘을 낼 수 있게 된다. 또한 액틴이나 마이크로튜불(microtubule)과 같은 세포골격구조 단백질이 중합(重合)하여 폴리머 (polymer)를 만들때에는 pN 의 힘을 내면서 단량체(單量體)의 크기만큼 조금씩 nm 단위로 앞으로 전진하게 되는데, 백혈구나 섬유아세포(fibroblast)와 같이 여러개의 세포골격단백질이 함께 다발모양으로 혹은 그물망과 같은 구조물로 세포막을 밀면서 운동을 할때는 작은 단계적 운동이 모여  $\mu$ m 단위의 세포움직임을 내게 되며 nN 단위의 힘을 낼 수 있게된다. 말발굽게 정자가 난자의 벽을 뚫는 기계적 침체현상도 이와 비슷하여 하나의 스쿠루인-액틴 구성단위의 nm 수준의 입체형태적 변화가 축적되고 확대되어 수십  $\mu$ m 단위의 움직임을 낼 수 있게 되며 전체적으로 nN 정도의 힘을 낼수 있게 된다. 본 연구에서는 말발굽게 정자의 침체현상이 뺏어 나가면서 내는 최대 힘 (maximum force) 과 난자를 뚫을때 낼수 있는 압력을 측정했다.

#### 4.1.1 아가로스 (agarose) 에서의 지연힘 (stall force)

침체현상시 발생하는 힘을 측정할 수 있는 방법은 여러가지가 있다. 정자의 핵통로(nuclear channel)를 통해 나오는 침체다발이 장애물을 만났을때 이로인한 압축력을 견디지 못하면 버클링(buckling)이 일어난다는 점을 이용하여 이 힘을

구할 수 있다. 장애물과 정자사이의 거리가 한계 값 이하으로 가까워 지면 버클링하중을 받는 유효 길이(effective length)가 충분히 짧아져서 더이상 휘어지지 않게 되는데 이것이 바로 임계버클링하중(critical buckling load)이다. 침체다발의 신장 탄성률(伸張彈性率, Young's modulus)과 임계길이 만 알면  $P_{cr} = 4\pi^2 EI / l^2$  에 근거하여 힘의 최소 범위를 알수있게 된다. 문제는 정자와 장애물 사이의 거리가 3 $\mu\text{m}$  정도까지 가까워 쳐도 버클링이 일어난다는 것이었다. 이 실험 결과 에서 말발굽계 정자의 침체현상이 최소한 150pN 정도의 힘을 낼 수 있음을 밝혀내었다.

침체현상에서의 최대 힘을 구하기 위해서는 액틴다발이 풀려나갈때 신장을 지연 시켜 줄 메커니즘이 필요하다. Methyl Cellulose (MC) 와 같은 점성이 강한 솔루션을 이용하면 침체현상 중에 액틴다발에 점성에 의한 유체역학적 항력이 주어져 속도를 늦출 수는 있으나 완벽하게 지연 (stall) 시키지는 못했다. 농도가 6% (w/v)이상 넘어가면 MC 솔루션은 탄성이 있는 고체와 같은 성질을 가지게 되기 때문에 최고 5% MC 까지 실험을 해서 약 260pN 이라는 최소힘을 얻었다.

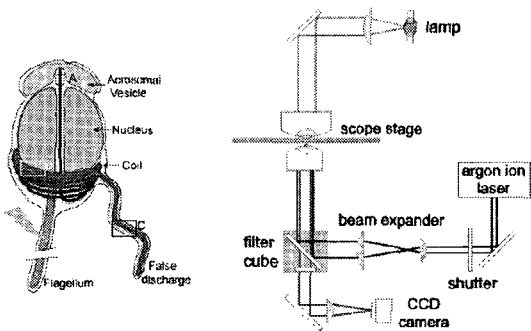


Fig. 4 We use a novel way of inducing the acrosomal reaction by irradiating a focus laser of 488nm on the flagellum (courtesy of Ricardo Brau, Mathew Lang Lab, MIT)

다음 단계에서는 말발굽계 정자를 액체상태의 아가로스(agarose)와 섞은 후 응고(凝固)시킨 후 그안에 정자를 주입시켰다. 침체현상중 액틴다발이 뺏어나가면서 액틴다발 주위에서의 전단응력을 이기지 못하고 신장을 멈출때의 최대힘, 즉 지연력(stall force)을 측정했다. 침체현상을 트리거 시키기 위해 488nm 10W 정도 용량의 레이저를 국부적으

로 편모(鞭毛)에 방사(放肆)하였다. 기존의 칼슘이온 투과담체(Calcium ionophor)에 의한 실험은 운반체의 역할을 할 액상 매개체가 필요했던 반면 레이저에 의한 반응은 고체인 아가로스 블럭안에서도 트리거링을 자유롭게 할 수 있다는 장점이 있다. (Fig. 4)

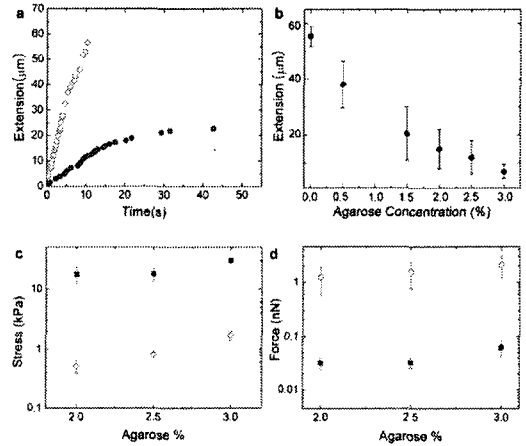


Fig. 5 (a) Graph shows typical extension for a sperm cell in sea water (open circle), and a cell in 2% agarose (solid circle). Note the cell in agarose stalls at 20 $\mu\text{m}$ . (b) Stall lengths of the acrosome decrease as agarose concentration increases. (c) Agarose characterization results for a stainless steel needle of  $R_{rod} = 0.54\text{mm}$ . Stress vs. agarose concentrations. Solid circles are crack opening stress values, and open circles represent the shear stress. (d) Shear (open circles) and crack opening (solid circles) forces exerted on acrosome. Total acrosomal force at the moment of stalling is found by summing both crack opening and shear drag forces,  $F_s = F_{crack} + F_{drag}$ . We have consistent values of the total stalling force at all concentrations of agarose, with an average  $F_s \sim 1.9\text{ nN}$

앞서 명시했던 바와 같이 일반적인 인공해수(artificial sea water)에서는 약 60 $\mu\text{m}$ 의 침체번들이 일정속도로 뺏어나가는데 반해, 아가로스에서는 Fig. 5(a)에 보여진 바와 같이 점점 속도가 느려지면서 60 $\mu\text{m}$ 에 채 미치지 못한 길이에서 멈추게 된다. 또한 아가로스의 농도에 높아짐에 따라 지연

(stall) 되는 길이는 점점 짧아지게 된다 (Fig. 5(b)). 이런 현상이 일어나는 이유는 아가로스 블럭 안에서 액틴다발이 뺏어나갈 때 두가지 항력이 작용하게 되기 때문인데, 첫째는 전단(剪斷)항력 ( $F_{Drag}$ ) 이고 두번째는 단발이 전진해 나가기 위해 아가로스에 균열을 내는데 소요되는 크랙힘 ( $F_{Crack}$ )이다. 이 두가지 힘은 농도가 높아질수록 커지게 되기 때문에 Fig. 5 에서 보는 바와 같이 점점 더 짧은 길이에서 멈추게 되는것이다. 이 두가지 힘은 Fig. 6 와 같이 작용하고, 뺏어나가는 침체다발에 힘의 균형을 따져보면 다음과 같은 식으로 정리할 수 있다.

$$\sigma\pi R_a^2 - (dx \cdot d\sigma/dx + \sigma)\pi R_a^2 - 2\pi R_a \tau dx = 0$$

응력에 대한 두가지 경계조건 (boundary condition)  $\sigma(x=0) = F_a / \pi R_a^2$ ;  $\sigma(x=L_s) = \sigma_c$  를 이용하여 침체 현상에서의 최대힘을  $F_{Drag}$  과  $F_{Crack}$  로 표현하면 전단응력과 크랙응력  $\tau$ ,  $\sigma_c$  에 관한 식으로 정리 되어 질수 있다.

$$F_a = F_{Crack} + F_{Drag} = \sigma_c \pi R_a^2 + \tau 2\pi R_a L_s$$

여기서  $R_a$ 는 침체다발의 반지름,  $L_s$ 는 지연길이를 나타낸다. 침체현상의 최대힘 값을 구하기 위해서 두가지 응력( $\tau$ ,  $\sigma_c$ )을 물질실험을 통해서 구했는데, 3% 아가로스 에서 각각  $\tau \sim 30\text{kPa}$ ,  $\sigma_c \sim 1.7\text{kPa}$  라는 평균값을 갖는다. 이농도에서는 침체다발의 평균길이가 약  $7.2\mu\text{m}$  정도 이고 침체다발의 반지름은 약  $50\text{nm}$  가량 되므로, 위에 주어진 식에 대입하여, 약  $1.9\text{nN}$  이라는 최대힘 결과를 얻을 수 있다. 미리 언급된 버클링이나 ( $\sim 0.15\text{nN}$ ) 점성액을 ( $\sim 0.26\text{pN}$ ) 이용한 두 실험 결과가 최저값이며 아가로스를 이용한 stalling 실험에서 최대값을 기대한다는 사실을 고려할때  $1.9\text{nN}$  이 일관성있는 실험결과임을 보여준다.

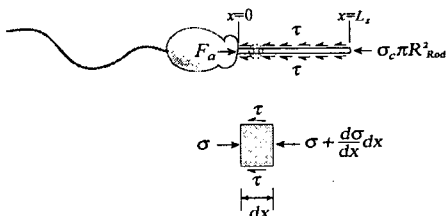


Fig. 6 Forces acting on the extending acrosome. When the embedded cells react, the extending acrosomal bundle inside the agarose is opposed by both the frictional force,  $F_{Drag}$ , along the bundle and the crack opening force  $F_{Crack}$  at the tip. We balance forces on a differential element in the bundle at the moment it stalls  $x=L_s$  to estimate  $F_a$

#### 4.1.2 침체의 최대 압력과 난자벽의 관통압

이 실험결과를 바탕으로 우리가 실험에서 얻은 침체의 최대힘이 단단한 난자의 외벽을 뚫을만큼 충분한 압력 (puncturing pressure)을 낼수 있는지 계산해 보았다. 먼저 주어진 최대힘 값과 다발측 부분의 반지름 값으로 관통압을 계산했고  $P_{tip} = F_a / \pi R_{tip}^2 \sim 1.0\text{MPa}$ , 둘째로는 말발굽계 난자를 탐침으로 관통하면서 저항력을 재고 그 값을 탐침의 단면적으로 나눠 관통압을 계산해 본 결과 난자의 외벽을 뚫기 위해서는 약  $0.45\text{MPa}$  이라는 압력이 요구됨을 알게 되었다. 이 실험을 통해 본 연구는 말발굽계의 정자가 단단한 난자의 외벽을 뚫어 성공적인 수정을 이룰말 한 힘을 낼 수 있다는 사실을 증명하였다.

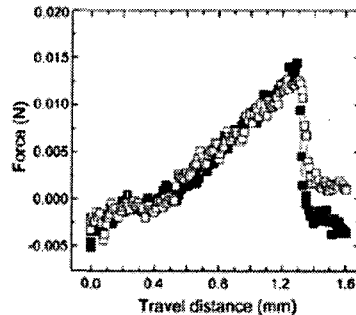


Fig. 7 Force vs. displacement from the puncture test on *Limulus* eggs using 100nm radius platinum wire

### 5. 결론

기계적 메커니즘이 중요한 역할을 하는 침체 현상은 용수철 메커니즘을 이용하는 말발굽계 외에도 해삼(thyone)정자에서도 관찰된다. 해삼정자가 난자를 만나는 순간 정자안에 저장되어 있던 단량체(單量體)인 G-액틴이 중합(重合)하여 액틴다발을 이루면서 그 힘으로 난자의 벽을 뚫는 재

미있는 침체현상을 보이는데, 이도 생물학적 연구를 바탕으로 기계적 사고와 물리적인 분석을 요구한다 (Fig. 8). 물론 생명체의 기계적 이해는 단지 침체현상에 국한되지 않는다. 많은 생명현상들은 이미 생화학적, 분자 세포 생물학적 그리고 유전자적 노력으로 그 구조와 구성요소 그리고 기능등이 밝혀진 바 있고 그 구조와 기능간(間)을 이어줄 메커니즘의 역학적 이해가 요구된다. 그러므로 본 연구의 시도는 이러한 생물학적 성과를 이어주는 교량의 역할을 했다는데 의미가 있다고 생각하며 앞으로도 우리 주변의 많은 현상들을 기계적인 관점에서 바라보고 원리해석을 하고자하는 노력이 계속되어야 한다고 생각한다. 근래의 과학자들은 초소형 로봇을 원하고 분자 모터를 만들어 심세한 세포내 수술이나 드럭딜리버리(drug delivery)에 이용하자 한다. 세포에서 유사한 기능과 구조를 가진 모터를 만들어 유용하게 쓰기 위해서는 화학자들과 생명과학자들의 노력과 더불어 현존하는 생명체의 움직임을 분석하고 이해하는것이 무엇보다 중요하다. 드럭 딜리버리를 하는 초소형 입자들이 약을 정해진 목적지에 전달하는것이 목적이라면 정자는 유전정보를 난자에 전달하는 것이 목적이며, 이와 같은 유사한 메커니즘으로 기계과 바이오는 접목되어 널리 유용하게 쓰일수 있다고 확신한다.

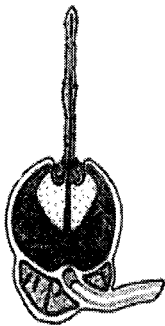


Fig. 8 The acrosomal process of sea cucumber (thyone) sperm cell. A membrane covered actin filaments is protruded out from the sperm cell to penetrate into an egg

### 참고문헌

1. Bray, D., "Cell Movements: From Molecules to Motility. 2<sup>nd</sup> Ed.," Garland Publishing, New York, 2001.
2. Pollard, T. D., "Assembly and dynamics of the actin filament system in nonmuscle cells.," J. Cell Biochem., Vol. 31, pp. 87-91, 1986.
3. Warrick, H., Spudich, J., "Myosin structure and function in cell motility," Annual Review of Cell Biology, Vol. 3, pp.378-421, 1987.
4. Mahadevan, L., Matsudaira, P., "Motility powered by supramolecular springs and ratchets," Science, Vol. 288, pp.95-100, 2000.
5. Tilney, L. Actin, "filaments in the acrosome reaction of *Limulus* sperm," J. Cell Bio., Vol. 64, pp.289-310, 1975.
6. Sanders, M., Way, M., J. Sakai, J., Matsudaira, P., "Characterization of the actin crosslinking properties of the scruin-CaM complex from the acrosomal process of the *Limulus* sperm," J. Biol. Chem., Vol. 271, pp.2651-2657, 1996.
7. Shin, J. H., Mahadevan, L., Waller, G. S., Langsetmo, K., Matsudaira, P., "Stored elastic energy powers the 60-micron extension of the *Limulus* polyphemus sperm actin bundle," J. Cell Biol., Vol. 162, pp.1183-1188, 2003.
8. DeRosier, D., Tilney, L., Flicker, P., "A change in the twist of the actin-containing filaments occurs during the extension of the acrosomal process in *Limulus* sperm," J. Mol. Biol., Vol.137, pp.375-389,1980.
9. Schmid, M., Sherman, M., Matsudaira, P., Chiu, W., "Structure of the acrosomal bundle," Nature, Vol. 431, pp.104-7, 2004.
10. Finer, J., Simmons, R., Spudich, J., "Single myosin molecule mechanics: piconewton forces and nanometer steps," Nature, Vol. 368, pp.113-119, 1994.
11. Dogterom, M., Yurke, B., "Measurement of the force-velocity relation for growing microtubules," Science, Vol. 278, pp.856-860, 1997.
12. Marcy, Y., Prost, J., Carlier, M., Sykes, C., "Forces generated during actin-based propulsion: a direct measurement by micromanipulation," Proc Natl Acad Sci USA, Vol. 101, pp.5992-5997, 2004.
13. Linke, W. A., Popov, V. I., Pollack, G. H., "Passive and active tension in single cardiac myofibrils," Biophys J., Vol. 67, No. 2, pp.782-92, 1994.

14. Ponti, A., Machacek, M., Gupton, S. L., Waterman-Storer, C. M., Danuser, G., "Two Distinct actin networks drive the protrusion of migrating cells," *Science*, Vol. 305, pp.1782-1786, 2004.
15. Upadhyaya, A., Chabot, J. R., Andreeva, A., Samadani, A., van Oudenaarden, A., "Probing polymerization forces by using actin-propelled lipid vesicles," *Proc Natl Acad Sci USA*, Vol. 100, pp.4521-4526, 2003.
16. Fatin-Rouge, N., Starchev, K., Buffle, J., "Size effects on diffusion processes within agarose gels," *Biophys. J.*, Vol. 86, pp.2710-2719, 2004.
17. Shin, J., Mahadevan, L., So, P.T., Matsudaira, P., "Bending stiffness of a crystalline actin bundle," *J. Mol. Biol.*, Vol. 337, pp.255-61, 2004.