

정자발생의 필수성분으로서 셀레늄과 셀레노프로테인

충북대학교 수의과대학 및 동물의학연구소

백 인 정 · 남 상 윤

Selenium and Selenoproteins as the Essential Elements for Spermatogenesis

In-Jeong Baek and Sang-Yoon Nam

*Department of Veterinary Medicine and Research Institute of Veterinary Medicine,
College of Veterinary Medicine, Chungbuk National University, Cheongju 361-763, Korea*

Selenium (Se) is an essential micronutrient for mammals and its biological functions are mediated by a selenoprotein. Many studies have shown that the testis is one of the main target organs for Se and that a long Se-deficient state produces abnormal sperms with impaired motility due to characteristic midpiece damage and finally induces a male infertility. In the testes of animals injected an exogenous Se, Se particles are observed mainly in the cytoplasm of spermatogonia, spermatocytes, and Leydig cells. Moreover, the selenoproteins focused on the testis, mitochondrial capsule selenoprotein (MCS) and phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx), are also expressed in the spermatogenic cells and Leydig cells. These indicate that Se and selenoproteins play an important part in the spermatogenesis. In future, to establish the function of Se and selenoprotein during spermatogenesis, more studies would be necessary.

Key Words: Spermatogenesis, Selenium, Mitochondrial capsule selenoprotein (MCS), Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx)

서 론

셀레늄(Selenium)은 포유류의 다양한 생리조절 과정에 관여하는 미량원소이다. 1973년, 셀레늄이 적혈구의 항산화효소인 glutathione peroxidase (GPx)의 활성부위에 함유되어 있다는 새로운 사실이 밝혀지면서 세포내에서 셀레늄은 특정단백질(셀레노프로테인 selenoprotein)내에 구조적으로 포함

되어 가능하다는 것이 알려지게 되었다. 더욱이, 셀레늄은 세포내에서 그동안 종결코돈(termination codon)으로만 알려져 왔던 UGA를 특이하게 인식하는 selenocysteine이라는 전혀 새로운 아미노산(제 21번째 필수아미노산으로 분류하기도 함)내에 포함되어 셀레노프로테인을 합성한다. 지금까지 셀레늄의 방사선동위원소인 ⁷⁵Se을 이용하여 조직내에서 다양한 셀레노프로테인이 분리·동정되어 그 기능이 분석되어 왔다. 대표적으로는 세포의

책임저자 : 남상윤, ☎ 361-763, 충북 청주시 흥덕구 개신동 산 48, 충북대학교 수의과대학 해부학교실

Tel: 043-261-2596, Fax: 043-274-9443, E-mail: synam@chungbuk.ac.kr

본 연구는 보건복지부 보건의료기술연구개발사업의 지원에 의하여 이루어진 것임(HMP-00-PT-22000-0036).

접수일 : 2003년 2월 28일, 게재승인일 : 2003년 3월 1일

항산화단백질로서 중요한 역할을 하는 GPx, phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx)와 thioredoxin reductase, 갑상샘대사계에서 L-thyroxine을 활성형태인 3,3',5-triiodothyronine으로 촉매하는 type I iodothyronine deiodinase, 단백질 구조내에 10개 이상의 셀레늄을 포함한다고 밝혀져 세포의 새로운 free radical scavenger로서 그 역할이 주목되는 셀레노프로테인 P, 또한 정자의 mitochondrial sheath의 구조단백질로서 알려진 mitochondrial capsule selenoprotein (MCS) 등이 있으며 현재에도 새로운 셀레노프로테인이 세포내에서 분리되어 기능분석이 이루어지고 있다.¹⁾

본 논고에서는 정자발생과정중 셀레늄의 분포양상을 살펴보고 고환특이적으로 발현되는 셀레노프로테인으로서 MCS와 PHGPx의 발현과 조절양상을 중심으로 간략하게 언급하고자 한다.

본 론

1) 정자발생과정 중 셀레늄의 분포양상

오늘날 많은 연구결과들을 보면 고환(testis)이 셀레늄의 주요 표적장기이고 vitamin E와는 별도로 셀레늄이 수컷생식기계에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 왔다. 장기간의 셀레늄결핍은 정자중간부분(midpiece)의 기형을 유발하고, 심한 경우에는 정자발생과정 전체를 저해함으로써 불임을 유발한다.²⁾ 최근, 본 연구실에서 sodium selenite를 복강내에 투여한 후 정자발생의 각 단계에서 셀레늄의 분포양상을 조직화학적 기법을 이용하여 관찰한 결과,³⁾ 셀레늄 침착은 stage I의 type A spermatogonia에서 처음으로 관찰되어 stage VI의 type B spermatogonia에서 높게 나타났다. 또한, 셀레늄 입자는 preleptotene spermatocytes에서 높은 침착을 보였으나, leptotene spermatocytes에서는 감소하였고, Stage I의 pachytene spermatocytes에서 셀레늄의 침착이 다시 증가하기 시작하여 stage V의 pachytene spermatocytes에서 최고조에 도달하였다. Stage VI의 pachytene spermatocytes이후, 셀레늄의 침착은 감소하기 시작하여 stage XI의 diplotene spermatocytes에서는 소량의 셀레늄입자만이 관찰되었다. 따라서, 지금까지 고환에서 분포가 알려진 일부 셀레노프로테인의 발현양상과는 다소 차

이를 관찰할 수 있었다. 이것은 지금까지 알려진 셀레노프로테인이외에 더 많은 셀레노프로테인이 ⁷⁵Se를 이용하여 분리, 정제되어 기능분석이 이루어지고 있는 시점에서 살펴보면, spermatogonia에서 셀레늄 입자의 침착은 지금까지 알려진 PHGPx, MCS, 셀레노프로테인 P이외의 미지의 새로운 셀레노프로테인과 연관성이 있으리라 추측되지만, 현재로서는 알 수 없다.

랫드의 고환에서 뇌하수체를 절제하거나 스테로이드호르몬을 생산하는 Leydig cells를 선택적으로 파괴하는 ethane disulphonate (EDS)을 처리하면 PHGPx의 활성 및 mRNA의 발현양은 감소한다. 그러나, 뇌하수체를 절제한 랫드에 성선자극호르몬을 투여하거나 EDS로 처리한 랫드에 testosterone을 투여하면 PHGPx의 활성 및 mRNA의 발현 감소가 회복된다⁴⁾는 점으로 미루어 보아 고환에서 PHGPx의 발현은 스테로이드호르몬에 의해 조절된다고 하겠다. 셀레노프로테인 P mRNA도 랫드의 고환에서 발현되는데, 이는 Leydig cells에서 한정적으로 발현되고, EDS 처리 시에 mRNA의 발현이 사라졌지만, EDS투여가 중단되어 Leydig cell이 재생되는 시기에서는 다시 발현되었다.⁵⁾ 셀레늄을 복강내로 투여한 결과, Leydig cells에서 가장 많은 셀레늄 침착이 관찰되었다.³⁾ 이것은 정자발생중 셀레늄은 항산화단백질에 함유된 물질로서의 일반적인 작용 이외에도 gonadotropin의존적으로 정자발생세포의 분화에 직접적으로 관여한다는 이전의 보고를 형태학적으로 뒷받침하는 것으로 사료된다.

2) 정자발생과정 중 셀레노프로테인(MCS와 PHGPx)유전자의 발현양상

(1) MCS 유전자의 특성: 포유류의 고환에서 셀레늄은 정자중간부분의 mitochondrial sheath에 존재하는 약 20 kD의 단백질에 함유되어 있고, 이 단백질은 특징적으로 cysteine과 proline이 풍부한 것으로 알려져 왔다. 1990년 Kleene 등⁶⁾이 처음으로 마우스의 정자에서 높은 proline (21%)과 cysteine (27%)함량을 가진 cDNA의 단편을 분리하여 'MCS'로 명명하였고, 이후에 마우스 MCS는 총 197개의 아미노산을 가지는 21 kD의 셀레노프로테인으로서 N말단에는 selenocysteine을 인식하는 3개의

UGA코돈을 가진다는 것이 밝혀졌다.⁷⁾ 하지만 랫드에서 분리된 MCS를 보면 selenocysteine코돈이 관찰되지 않고,⁸⁾ 최근에 햄스터의 고환으로부터 분리한 MCS의 유전자는 마우스와 달리 N말단에 2개의 selenocysteine코돈이 존재함으로써⁹⁾ 동물에 따른 차이를 보였다.

(2) 정자발생과 MCS: MCS는 단지 포유류의 고환에서만 발현되는 것으로 알려져 왔다. 마우스고환에서 MCS mRNA는 생후 18일경에 처음으로 발현하여 성성숙과 함께 증가한다.^{6,10)} 마우스 MCS의 mRNA는 주로 정세관의 중심부에서 강하게 발현된다. 정자발생과정 중 MCS는 step 3 spermatid에서 처음으로 나타나서 초기 spermiogenesis동안 꾸준히 증가되어 step 14 spermatid에서 peak에 도달한다. 이후에 발현양은 감소하기 시작하고 step 16 spermatid에서는 미약한 발현을 보인다.¹¹⁾ 그러나, 햄스터에서 분리한 MCS는 정자발생과정 중 주로 spermiogenesis에 발현되어 마우스의 발현양상과 유사하지만 고환이외의 다른 장기에서도 발현이 확인됨으로써⁹⁾ 정자의 구조단백질로만 알려져 왔던 MCS의 또 다른 역할이 기대된다.

GPx는 조직내에 폭넓게 분포하여 세포를 활성산소로부터 보호하는 가장 잘 알려진 셀레노프로테인으로서 셀레늄의존적으로 그 활성이 변화한다고 알려져 왔다. 그러나, 성성숙과정 동안 고환에서 셀레늄은 GPx가 아닌 다른 셀레노프로테인에 주로 함유되어 있고, 고환의 셀레늄결핍에 따른 정자의 변화와도 무관하다고 하였다.²⁾ 한편, MCS mRNA는 사춘기 이후 고환에서 크게 증가되어 나이가 먹을수록 한층 더 증가하고, 셀레늄결핍과 더불어 발현양이 크게 감소한다.¹⁰⁾ 이것은 GPx보다는 MCS가 고환에서 셀레늄대사에 직접적으로 관여한다는 것을 의미한다.

(3) 노화(Aging)와 MCS: 노화(aging)는 정상 및 비정상적 대사과정에서 생산되는 free radicals와 활성산소로 인해 나타나는 세포의 손상, 특히 사립체(mitochondria)의 손상에 주로 기인한다.¹³⁾ DNA를 보호하는 histones과 DNA repair enzymes이 풍부한 nuclear DNA에 비하여 mitochondrial DNA는 구조적 취약점으로 인하여 훨씬 더 산화적 손상에 대하여 민감하다.¹⁴⁾ 일반세포와 달리 정자는 구조적으로 중간부분에 많은 양의 사립체가 밀집

되어 에너지원으로 사용되고 격심한 운동을 하게 된다. 따라서 정자는 free radicals과 활성산소로 인한 손상으로부터 상당히 취약한 구조를 띠게 된다. 그러나, 인간에서 노화로 인한 mitochondrial DNA의 손상을 살펴보면 근육과 간장과 같은 실질장기와 달리 고환에서는 60세가 될 때까지 mitochondrial DNA의 손상이 관찰되지 않았다.¹⁵⁾ 이것은 정자가 스스로를 보호할 수 있는 특이한 항산화계(antioxidant system)를 갖고 있음을 시사하는 것이다. 장기간 셀레늄을 결핍시키면 정자중간부분의 기형이 유발되고 운동성이 결여된 정자가 생산된다. 또한, 고환에서 셀레늄은 정자발생이 시작되는 사춘기이후에 급격히 증가한다. 한편, MCS는 주로 정자중간부분의 사립체에 위치하는 구조단백질로서 알려져 왔다. 그러나, MCS의 발현은 고환에서 사춘기인 8주령 이후 크게 증가되어 80주령의 노화단계에서도 강하게 발현된다.¹⁶⁾ 또한 셀레늄결핍에 따라 고환에서 현저하게 감소함으로써 높은 셀레늄의존성을 보인다.¹⁰⁾ 더욱이 정자발생과정 중 MCS는 정자의 사립체가 급격한 형태학적 변화를 겪는 spermiogenesis단계에서 주로 발현한다. 이러한 결과들을 종합해 볼 때 아직도 규명이 안된 정자특이적인 항산화계의 확립에 있어서 일말의 가능성을 MCS가 던져주고 있는 것이다. 그러나, 현 단계에서는 MCS가 정자발생과정 중 나타나는 free radicals 및 활성산소를 억제시킨다는 직접적인 증거가 제시된 바 없다. 따라서 앞으로 이러한 관점에서 연구가 더욱더 진행되어야 하겠다.

(4) PHGPx 유전자의 특성: PHGPx는 셀레늄의존성 GPx superfamily에 속하는 항산화 셀레노프로테인이다. 1982년 Ursini 등¹⁶⁾에 의해 지질막의 과산화를 억제하는 효소로서 처음으로 보고된 PHGPx는 glutathione을 이용해서 phospholipid와 cholesterol을 환원시키는 세포내의 유일한 단백질로 알려져 왔다.¹⁷⁾ 1993년 이후, PHGPx cDNA의 분리가 진행되어 현재에는 돼지,¹⁸⁾ 사람,¹⁹⁾ 랫드,²⁰⁾ 및 마우스²¹⁾에서 분리·동정되었다. 마우스PHGPx는 전부 197개의 아미노산(23 kD)을 함유하고 N말단근처에 한 개의 selenocysteine코돈을 가지고 있다. PHGPx가 핵으로 이행하는데 필요한 signal과 핵으로의 수송기전에 관해서는 현재까지 거의

알려진 바 없다. 활성중심에 존재하는 selenocysteine은 셀레늄원자를 함유하는 특수한 아미노산으로서 본래는 종결코돈인 UGA를 인식한다. 셀레노프로테인의 UGA가 종결코돈이 아닌 selenocysteine코돈으로 인식되는 데 있어서 mRNA의 3'-untranslated region에 selenocysteine삽입배열 (SECIS: selenocysteine insertion sequence)을 포함하는 stem-loop structure가 필요하다. PHGPx의 단백질발현에 있어서도 이 SECIS가 존재한다.^{19,21)} PHGPx유전자는 조직특이적으로 mitochondrial PHGPx와 non-mitochondrial PHGPx로 각각 전사된다.²⁰⁾ Mitochondrial PHGPx는 N말단에 mitochondrial targeting signal (MTS)로서 27개의 아미노산을 갖는 반면 nonmitochondrial PHGPx에서는 MTS가 결손되어 전부 170개의 아미노산(20 kD)만이 존재한다. Mitochondrial PHGPx는 주로 사립체의 전자전달계로부터 생기는 활성산소와 지질막의 과산화를 억제하여 사립체기능을 유지시킴으로써 necrosis 또는 apoptosis로 인한 세포사를 억제한다. 이와 같은 현상은 실험적으로 nonmitochondrial PHGPx의 활성을 촉진시켜도 나타나지 않는 점으로 미루어 보아 mitochondrial PHGPx가 사립체내에서 생성되는 활성산소 또는 과산화지질의 제거에 중심적인 역할을 하는 것으로 사료된다. 각종 장기에서 MTS를 특이하게 인식하는 primers를 이용해서 RT-PCR을 한 결과,²²⁾ 고환에서는 mitochondrial PHGPx의 전사활성이 높은 반면 그 외의 장기에서는 nonmitochondrial PHGPx의 전사활성이 높게 나타난다. 따라서 mitochondrial PHGPx의 전사활성을 촉진하는 특이한 전사인자(transcription factor)가 고환에 존재하리라고 사료된다. 그러나, 돼지PHGPx의 genomic DNA의 전사조절영역을 분석해보면, 전사개시에 필요한 TATA box 또는 CAAT box 등이 나타나지 않는다. 따라서 어떤 기전을 경유해서 mitochondrial PHGPx와 nonmitochondrial PHGPx가 조직에 따라 각각 전사조절되는 지에 대해서는 알 수가 없다.

(5) 정자발생과 PHGPx: PHGPx활성은 모든 조직에서 나타나지만 특히 고환에서 높은 발현양상을 보인다.²³⁾ 고환에서 PHGPx활성은 뇌하수체절제(hypophysectomy)로 인해 사라지고 gonadotropin 투여에 의해 부분적으로 복원된다.²⁴⁾ 또한 심한

셀레늄결핍으로 인해 혈청내 testosterone농도가 감소되고 성숙한 spermatozoa가 정세관내에서 관찰되지 않는다.²⁾ 더욱이 PHGPx mRNA는 정세관의 중앙부위에 집중해서 나타난다. 정자발생과정 중 PHGPx mRNA는 stage X의 pachytene spermatocytes에서 처음으로 발현되고 초기 spermiogenesis와 함께 꾸준히 증가되어 step 11 spermatid에서 peak에 도달한다. Step 12 spermatid이후, PHGPx는 점진적인 감소를 보이고 step 16 spermatid에서는 미약한 발현을 나타낸다.²⁵⁾ 이것은 PHGPx가 고환에서는 일반적인 항산화기능 이외에도 gonadotropin의존적으로 정자발생세포의 분화(differentiation)에 직접적으로 관여한다는 것을 의미한다. 한편, 돼지의 genomic DNA의 전사조절영역을 살펴보면, 스테로이드호르몬, cAMP에 반응하는 배열이 존재한다.²⁶⁾ 랫드의 고환에서 뇌하수체를 절제하거나 스테로이드호르몬을 생산하는 Leydig cells을 선택적으로 파괴하는 EDS를 처리하면 PHGPx의 활성 및 mRNA의 발현양이 감소한다.^{4,24)} 그러나, 뇌하수체를 절제한 랫드에 gonadotropin을 투여하거나 EDS로 처리한 랫드에 testosterone을 투여하면 PHGPx의 활성 및 mRNA의 발현감소가 회복된다는 점으로 미루어 보아 고환에서 PHGPx의 발현은 스테로이드호르몬에 의해 조절된다고 하겠다. 앞으로, PHGPx의 전사조절 및 두 종류의 PHGPx에 대한 발현조절기전을 포함하여 정자발생과정 중 PHGPx의 역할과 기능을 해석하는 것이 무엇보다도 중요한 과제가 될 것이다.

결 론

셀레늄은 세포내의 미량원소로서 다양한 생리적 활성을 가진다. 정자발생과정 중 장기간의 셀레늄 결핍은 비정상적 정자를 생산하여 결국에는 웅성불임을 유발한다고 보고되어 왔지만, 고환에서 셀레늄과 관련 단백질인 셀레노프로테인의 분포와 발현양상에 대한 직접적인 증거는 거의 알려진 바 없다. 본 연구실에서 확인한 결과, 고환에서 셀레늄과 셀레노프로테인인 MCS와 PHGPx mRNA가 stage 특이적으로 정자발생세포와 Leydig 세포에서 발현하였다. 이것은 셀레늄과 셀레노프

로테인 MCS와 PHGPx가 정자발생과정에 필수적인 역할을 한다는 것을 시사하는 것이다. 앞으로 정자발생과정 중 셀레늄과 MCS 및 PHGPx의 명확한 기능을 이해하기 위하여 추가적인 연구가 진행되어야 하고, 고환에서 새롭게 나타나는 셀레노프로테인에 대해서도 분리·분석하여야 할 것이다.

참 고 문 헌

- 1) Brown KM, Arthur JR. Selenium, selenoproteins and human health: a review. *Public Health Nutr* 2001; 4(2B): 593-599.
- 2) Behne D, Weiler H, Kyriakopoulos A. Effects of selenium deficiency on testicular morphology and function in rats. *J Reprod Fertil* 1996; 106(2): 291-297.
- 3) Baek IJ, Yon JM, Jang MY, Jung EY, Lee BJ, Jeung EB, Kang JK, Nam SY. Selenium localization pattern in the mouse testes treated with sodium selenite. *Kor J Lab Anim Sci* 2002; 18(2): 68-72.
- 4) Maiorino M, Wissing JB, Brigelius-Flohe R, Calabrese F, Roveri A, Steinert P, Ursini F, Flohe L. Testosterone mediates expression of the selenoprotein PHGPx by induction of spermatogenesis and not by direct transcriptional gene activation. *FASEB J* 1998; 12(13): 1359-1370.
- 5) Koga M, Tanaka H, Yomogida K, Tsuchida J, Uchida K, Kitamura M, Sakoda S, Matsumiya K, Okuyama A, Nishimune Y. Expression of selenoprotein-P messenger ribonucleic acid in the rat testis. *Biol Reprod* 1998; 58(1): 261-265.
- 6) Kleene KC, Smith J, Bozorgzadeh A, Harris M, Hahn L, Karimpour I, Gerstel J. Sequence and developmental expression of the mRNA encoding the seleno-protein of the sperm mitochondrial capsule in the mouse. *Dev Biol* 1990; 137(2): 395-402.
- 7) Karimpour I, Cutler M, Shih D, Smith J, Kleene KC. Sequence of the gene encoding the mitochondrial capsule selenoprotein of mouse sperm: identification of three in-phase TGA selenocysteine codons. *DNA Cell Biol* 1992; 11(9): 693-699.
- 8) Adham IM, Tessmann D, Soliman KA, Murphy D, Kremling H, Szpirer C, Engel W. Cloning, expression, and chromosomal localization of the rat mitochondrial capsule selenoprotein gene (MCS): the reading frame does not contain potential UGA selenocysteine codons. *DNA Cell Biol* 1996; 15(2): 159-166.
- 9) Nam SY, Maeda S, Fujisawa M, Kurohmaru M, Hayashi Y. Cloning and expression of mitochondrial capsule selenoprotein gene in the golden hamster. *J Vet Med Sci* 1998; 60(10): 1113-1118.
- 10) Nam SY, Youn HY, Ogawa K, Kurohmaru M, Hayashi Y. Expression of mitochondrial capsule selenoprotein mRNA increases with aging, but decreases by selenium deficiency in the mouse testis. *J Reprod Dev* 1997; 43: 227-234.
- 11) Nam SY, Maeda S, Ogawa K, Kurohmaru M, Hayashi Y. Expression pattern of the mitochondrial capsule selenoprotein mRNA in the mouse testis after puberty; in situ hybridization study. *J Vet Med Sci* 1997; 59(11): 983-988.
- 12) Li NQ, Reddy PS, Thyagaraju K, Reddy AP, Hsu BL, Scholz RW, Tu CP, Reddy CC. Elevation of rat liver mRNA for selenium-dependent glutathione peroxidase by selenium deficiency. *J Biol Chem* 1990 5; 265(1): 108-113.
- 13) Wei YH, Lee HC. Oxidative stress, mitochondrial DNA mutation, and impairment of antioxidant enzymes in aging. *Exp Biol Med* (Maywood) 2002; 227(9): 671-682.
- 14) Shigenaga MK, Hagen TM, Ames BN. Oxidative damage and mitochondrial decay in aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91(23): 10771-10778.
- 15) Lee HC, Pang CY, Hsu HS, Wei YH. Differential accumulations of 4,977 bp deletion in mitochondrial DNA of various tissues in human ageing. *Biochim Biophys Acta* 1994; 1226(1): 37-43.
- 16) Ursini F, Maiorino M, Valente M, Ferri L, Gregolin C. Purification from pig liver of a protein which protects liposomes and biomembranes from peroxidative degradation and exhibits glutathione peroxidase activity on phosphatidylcholine hydroperoxides. *Biochim Biophys Acta* 1982; 710(2): 197-211.
- 17) Imai H, Nakagawa Y. Biological significance of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx, GPx4) in mammalian cells. *Free Radic Biol Med* 2003; 34(2): 145-169.
- 18) Sunde RA, Dyer JA, Moran TV, Evenson JK, Sugimoto M. Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase: full-length pig blastocyst cDNA sequence and regulation by selenium status. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 193(3): 905-911.
- 19) Esworthy RS, Doan K, Doroshow JH, Chu FF. Cloning and sequencing of the cDNA encoding a human testis phospholipid hydroperoxide glutathione

- peroxidase. *Gene* 1994; 144(2): 317-318.
- 20) Pushpa-Rekha TR, Burdsall AL, Oleksa LM, Chisolm GM, Driscoll DM. Rat phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase. cDNA cloning and identification of multiple transcription and translation start sites. *J Biol Chem* 1995; 270(45): 26993-26999.
- 21) Nam S, Nakamuta N, Kurohmaru M, Hayashi Y. Cloning and sequencing of the mouse cDNA encoding a phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *Gene* 1997; 198(1-2): 245-249.
- 22) Nam SY, Kurohmaru M, Hayashi Y. Testicular selenoproteins: expression and distribution. In: eds, by Miyamoto H and Manabe N Reproductive biology update; Novel tools for assessment of environmental toxicity, pp 239-245, Kyoto, Nakanishi Printing Co., 1998.
- 23) Roveri A, Maiorino M, Ursini F. Enzymatic and immunological measurements of soluble and membrane-bound phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase. *Methods Enzymol* 1994; 233: 202-212.
- 24) Roveri A, Casasco A, Maiorino M, Dalan P, Calligaro A, Ursini F. Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase of rat testis. Gonadotropin dependence and immunocytochemical identification. *J Biol Chem* 1992; 267(9): 6142-6146.
- 25) Nam SY, Fujisawa M, Kim JS, Kurohmaru M, Hayashi Y. Expression pattern of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase messenger ribonucleic acid in mouse testis. *Biol Reprod* 1998; 58(5): 1272-1276.
- 26) Brigelius-Flohe R, Aumann KD, Blocker H, Gross G, Kiess M, Kloppel KD, Maiorino M, Roveri A, Schuckelt R, Usani F, Wingender E, Flohe L. Phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase. Genomic DNA, cDNA, and deduced amino acid sequence. *J Biol Chem* 1994; 269(10): 7342-7348.
-