

# 家蠶卵 發育過程에 따른 RNA含量的 變動 및 放射線 이 蠶卵 RNA含量에 미치는 影響 ( 1 )

RNA content of Bombyx mori egg during its development  
and irradiation effect on its RNA content (Part. 1)

\*金榮洙, \*\*李基寧, \*\*\*崔炳熙

Hyung Soo Kim, Ki Yong Lee, Byong Hee Choe

\*東國大學校農林大學 \*\*서울大學校醫科大學 \*\*\*서울大學校農科大學  
(1963年 10月 15日 受理)

## 1. 緒 言

오늘날 細胞內 RNA(ribonucleic acid)는 蛋白質 合成에<sup>①②③</sup> 關與하는 것으로 알려져있고 따라서 生體內 蛋白質代謝와는 不可分의 關係에 있다. 蠶卵內의 核酸은 產卵後의 胚子形成 및 分裂增殖과, 催育途中의 胚子發育 등과 密接한 關係에 있는 것으로 생각된다.

1937年에 著者의 一人인 黑田, 李<sup>④</sup>는 蠶卵發育에 따라 卵內 液水分量이 顯著하게 變化하였음을 報告하였고, 1951年에 入戶野<sup>⑤</sup>는 催育卵의 DNA와 RNA에 關해서 Feulgen反應과 pyronine-methyl green 複染色法에 의한 組織化學的 觀察을 한바있다. 著者들은 蠶卵發育에 있어서 胚子形成 및 胚子發育에 따른 核酸含量의 變化와, 有精卵 및 無精卵에 있어서 發育途中의 核酸含量的 差異 및 放射線이 卵內核酸含量에 影響이 있을것을 豫見하고, 本實驗을 企圖하였으며, 爲先 그 RNA에 關하여 興味있는 結果를 얻었으므로 이 기에 報告하는 바이다.

## 1. 材 料

品 種: 白頭×錦江

採卵日: 西紀 1963年 8月 19日 午前 7時

有 精 卵: 雌雄交尾後에 產卵된 것을 採卵하였다.

無 精 卵: 雌雄만을 隔離하여 產卵케 한것을 採卵하였다.

鹽酸處理卵: 西紀 1963年 冷蔵한 春蠶卵을 同年 8月 10日 午前 9時 20分에 出庫하여, 同日 11時 15分에 4分 10秒間 鹽酸 處理(HCl s.g. 1.10, 47.8°C) 하였다. 但 照射鹽酸處理卵은 1日전에 出庫하여 放射線을 照射한後 다음날 똑같이 鹽酸處理하였다. 後 孵化發生까지 室溫(27~30°C)에 두면서 試料採用하였다.

## 1. 實驗方法

a)

Cs<sup>137</sup> 源에 의한 gamma線을 利用한 것이며 產卵直後의 有精卵, 無精卵, 및 鹽酸處理前日에 出庫한 蠶卵에 對하여 線量 1,500r 鹽酸處理 및 3,000r(有精卵 및 無精卵)으로 照射하였다.

b) 有精卵과 無精卵은 產卵直日로부터 始作하여 1日間隔으로 8日間 觀察하였다. 鹽酸處理卵은 浸酸日부터 1日間隔으로 7日間 觀察한 것이며, 放射線 照射群과 非照射群은 同一한 條件(室溫放置)으로 實驗하였다.

c) 蠶卵의 處理 및 RNA의 測定法.

蠶卵 1g을 秤量하여 冷凍乳鉢에 넣고, 冷凍條件에서 2倍量의 液質硝子粉末과 10% TCA(trichloro acetic acid)溶液 5ml를 加한 다음 充分히 粹碎하여 homogenate를 만들고, 이것을 Schneider法<sup>⑥⑦</sup> 및 Schmit

and Thannhauser 法<sup>2)</sup>에 있어서 다음과 같이處理하였다.

即 이 homogenate 를 冷凍沈沈하여 上澄液을 除去한 다음 그 殘渣物에 對해서 各 10% TCA 溶液으로서 2 回 沈沈하여 酸澱粉物을 除去하고, 다시 殘渣物에 對하여 70% ethanol 로 1 回, 95% ethanol 로 2 回 沈沈하여 充分히 脫脂시킨後, 無水 ethanol 및 ether 로 處理하여 乾燥粉末을 얻어 이것을 試料로 使用하였다.

이 試料에 對하여 100mg 當 1N-NaOH 10ml 를 加하고 37°C 에서 20 時間 靜置한 다음, 水浴中으로 pH 를 4 로 調整한後 沈沈하여 上澄液을 얻고, 다시 그 殘渣物을 1N-NaOH 1ml 로 沈沈하여 그 沈沈液을 上澄液과 混合하여 RNA 定量에 供하였다.

이 澄液 一定量을 취하여 Meijbaum 法<sup>3)</sup>에 依해서 다음과 같이 RNA 量을 測定하였다. 即 試料 1ml 을 취하여 orcinol 試藥(鹽化第二級 100mg + 濃鹽酸 100ml + 6% orcinol alcohol 溶液 3.8ml) 2ml 를 加하고 98°C 水浴中에서 10 分間 沈沈시켜 藍色된것을 冷却시킨後, Bachman B 型 spectrophotometer 를 使用하여 595 m $\mu$  에서 比色測定하였다. 이에 Merck 製 yeast RNA 標品을 精製하여, 이것으로 標準曲線을 作定하여 RNA 量을 算出하였다.

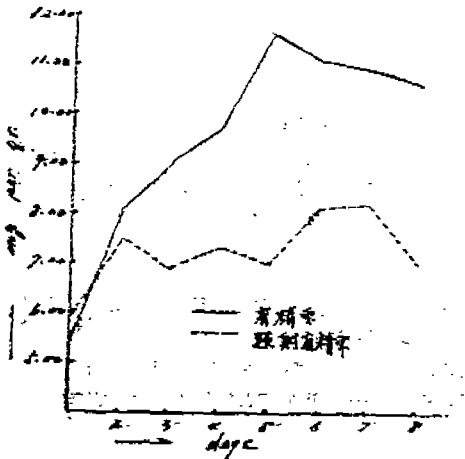
#### V. 實驗結果

a) 產卵後 有精卵 및 照射有精卵의 日數經過에 따른 RNA 量의 變動.

第1表에서 보듯이와 같이 有精卵은 產卵後 그 RNA 量이 第2日부터 계속 增加하여 第5日에는 最大에 到達 하였으며, 第1日의 5.42mg/g 에 比하여 第5日은 2.1배나 되는 11.65mg/g 이 되고, 第6, 7, 8日은 若干 減少되는 傾向이다. 한편 照射有精卵은 RNA 量이 第2日 까지는 增加하였다가 其後에는 別增加 없이 第5日까지 계속되고 第6日과 第7日에, 다시 若干 增加되는 傾向이다.

第1表 產卵後 有精卵 및 照射有精卵의 日數經過에 따른 RNA 量의 變動

	1 日	2 日	3 日	4 日	5 日	6 日	7 日	8 日
有 精 卵	5.47 mg/g	8.00 mg/g	8.97 mg/g	9.71 mg/g	11.65 mg/g	11.18 mg/g	10.92 mg/g	10.69 mg/g
照 射 有 精 卵	5.93	7.56	6.98	7.35	11.05	8.19	8.28	6.98



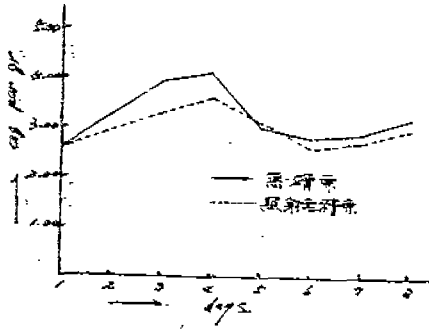
第1圖 產卵後 有精卵 및 照射有精卵의 日數經過에 따른 RNA 量의 變動

b) 產卵後 無精卵 및 照射無精卵의 日數經過에 따른 RNA 量의 變動.

第2表에서 보는 바와같이 無精卵은 產卵後의 RNA 量이 有精卵에 比해서 實선적이 半 그 折半에 不過하며, 第3日, 第4日까지 若干의 增加를 보였으나, 第5日부터는 다시 減少하여 第1日의 RNA 量과 거의 비슷하게 되어 別다른 變化를 볼수없다. 한편 照射無精卵에 있어서는 第1日부터 第8日까지 RNA 量의 變動이 尙少하였고, 非照射無精卵 및 照射無精卵 間에도 RNA 量에 別差異를 볼수없다.

第2表 産卵後無精卵 및 照射無精卵의 日數經過에 따른 RNA 量의 變動

	1 日	2 日	3 日	4 日	5 日	6 日	7 日	8 日
無精卵	mg/g 2.66	mg/g ---	mg/g 3.92	mg/g 4.09	mg/g 3.02	mg/g 2.80	mg/g 2.87	mg/g 3.29
照射無精卵	2.66	---	3.36	3.64	3.15	2.66	2.77	3.01



第2圖 産卵後無精卵 및 照射無精卵의 日數經過에 따른 RNA 量의 變動

C) 産卵後無精卵 照射後無精卵의 日數經過에 따른 RNA 量의 變動

第3表에서 보듯이와 같이 産卵後無精卵은 RNA 量이 第2日 및 第3日에서 多少한 增加를 보였으나 第4日부의 激增하여 第7日안 孵化 前日까지 계속 하였으며, 第1日의 4.56mg/g에 對하여 第7日은 8.23mg/g로 約 1.8 倍나 된다. 産卵後의 有精卵은 第5日의 RNA 量이 極大值을 보였으나 産卵後無精卵에 있어서는 RNA 量이 계속 增加되어 이러한 傾向을 볼 수 없다.

한편 照射後無精卵 (1,500r)은 非照射卵과는 달리 RNA 量이 第2日, 第3日 계속해서 相當히 減少되었다가 第4日부터 激增하여 第5日에는 7.77 mg/g로 第3日의 3.58 mg/g에 比하여 約 2 倍나 增加되고 또 이것은 非照射卵의 RNA 值보다도 한 층 높다. 또 非照射卵의 RNA 量은 對照卵으로서 別다른 變動을 볼 수 없다.

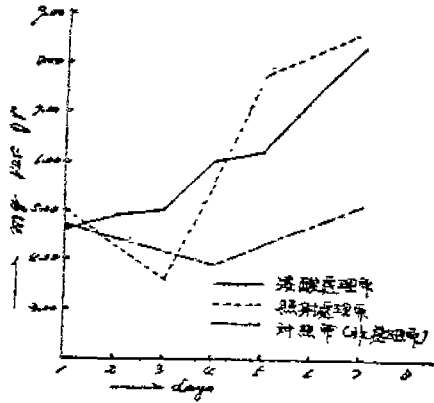
第3表 産卵後無精卵 및 照射後無精卵의 日數經過에 따른 RNA 量의 變動

	1 日	2 日	3 日	4 日	5 日	6 日	7 日	8 日
産卵後無精卵	mg/g 4.56	mg/g 4.87	mg/g 5.01	mg/g 5.99	mg/g 6.16	mg/g 7.28	mg/g 8.23	) 孵化
照射後無精卵	5.03	4.20	3.58	5.53	7.77	—	3.62	
對照卵(非照射卵)	4.58	—	—	3.96	—	—	5.15	

## 7. 考 察

第1表에서 보듯이와 같이 産卵後의 有精卵에 있어서는 RNA 量이 第1日부터 계속 增加하여 第5日에 그 값이 極大值인 11.65 mg/g에 達하여 第1日의 5.47 mg/g에 比하여 2.1 倍나 增加되었음을 알 수 있다. 그러나 6, 7, 8日은 休眠期에 들어감으로써 若干 減少되는 傾向을 보여주고 있다. 赤尾<sup>9</sup>가 報告한바 蠶卵의 무게는 産卵後부터 孵化까지 漸次 減少한다 하였고, 黒田, 幸<sup>10</sup> 등은 不産卵性卵과 越年性卵의 胚子生成에 따른 水分含量變化가 第4日 또는 第5日에 最高로 되는것을 보았으므로 이의 生體內 代謝가 아주 旺盛하다는 것의 RNA 含量과도 關係가 있는 것으로 생각된다. 또한 赤尾<sup>9</sup>의 報告에 依하면 不産卵性卵에 있어서 第4日이 反轉期의 前日로서 糖元糖, 遊離아미노酸, 無機磷, purine 鹽, cholesterol, 磷酸質 등이 이時期를 前後하여 顯著한 變動이 있다고 한다. 이와같은 事實과도 符合되는 現象이라고 볼 수 있다. 즉 RNA는 蛋白質合成과 密接한 關係가 있으므로 代謝가 활발 旺盛할 時에 많은 各種營養가 많이 所用됨으로써 RNA 量이 크게 增加되는 것은 當然한 所故로 볼 수 있다.

한편 放射線量 3,000r로 照射한 有精卵에 있어서는 RNA 量이 크게 抑制되어 非照射卵의 그것에 比하여 約 60%에 不達하다 即 이러한 事實을 보면 gamma 線 照射후 有精卵의 RNA 含量이 크게 抑制 또는 阻害의 一部死滅을 알 수 있다. 一般으로 放射線이 細胞 mitosis 前에 있어서 DNA 合成을 阻害하므로



第3圖 浸酸處理卵 및 照射浸酸處理의 日數經過에 따른 RNA 量의 變動

成이 不能한 따라서 胚子繁殖이 없는 無精卵의 RNA 量보다 높은 것은 쉽게 首肯할 수 있다.

無精卵에 있어서 産卵後 RNA 量이 큰 變動이 없는 것은 胚子形成이 못되는 事實로 理解될 수 있다. 그러나 無精卵에 있어서도 第4日까지 RNA 量이 若干 增加의 傾向을 보며 주는 事實은 胚子增殖이 없는 無精卵에 있어서도 卵內에서 RNA 를 若干 合成할 수 있는 能力이 있음을 알 수 있다. 即 無精卵의 RNA 의 構成成分과 RNA 合成酵素가 微弱하나나 存在함을 示唆하는 바이다.

無精卵의 RNA 量은 放射線照射로 第2表에서 보는바와 같이 非照射無精卵의 그것에 比하여 別差異가 없는 것은 放射線照射에 對한 胚子增殖이 없기 때문이다. 第4日까지에 照射無精卵의 RNA 量이 非照射卵의 그것에 比하여 若干 減하는 것은 無精卵內 自體에 RNA 合成能이 放射線에 依한 障害을 받은 것으로 생각된다.

第3表에 있어서 浸酸處理卵은 胚子發育에 따라 孵化까지 계속해서 RNA 量의 增加를 가져왔으며, 黑田幸等이 報告한가 據하여 있어서의 水分含量이 第4, 5日에 急激히 增加하고 以後 減少하였는데, 該日以後는 蠶兒體의 形成期인 것이며, RNA 量의 계속적인 增加는 蠶兒體 形成을 위한 蛋白質의 合成에 크게 關係하는 것으로 생각된다.

放射線의 照射後 浸酸處理한 蠶卵은 RNA 量이 第3日까지는 減少되고 二後부터는 急激히 增加된다. 이것은 浸酸前 放射線照射로 卵內 DNA 合成이 抑制되어 休眠胚子의 生理學적으로 RNA 量의 增加가 없음을 首肯할 수 있으나, RNA 量이 第3日까지 도리리 減少되었다는 事實은 放射線照射가 卵內 RNAase activity에 影響을 미쳤거나 試料細胞의 一部死滅에 起因하였는지 모른다. 第4日부터 RNA 量이 增加되는 事實은 1,500r 程度의 線量으로써는 第4日에 이르러 生胚子發育이 放射線障害을 克服하여 增殖하 再開되는 것으로 볼 수 있다.

한편 對照로 使用한 非浸酸卵에 있어서는 胚子發育이 遲延狀態에 있는 故로 本實驗期間 RNA 의 量에 있어 別變動이 없음을 쉽게 理解할 수 있다. 또 第4日까지 多少 減少傾向을 보이는 것은 試料卵細胞의 一部死滅에 起因한 것으로 생각된다.

## V. 摘 要

(I) 産卵後 有精卵의 RNA 量은 계속 增加하여 第5日에 最高(第1日의 約 2.1倍)에 達하고 第6日부터 若干 減少된다. 이와같은 RNA 量의 變動은 蠶卵의 胚子形成 및 發育과 密接한 關係가 있는 것으로 생각된다.

(12-17) 따라서 胚子의 細胞分裂 및 增殖이 抑制되는 故로 細胞質의 增加가 되지 못하여 二次的으로 RNA 量이 增加되지 못한 것으로도 생각할 수 있으나, RNA 도 DNA 보다는 微弱하나나 X-線照射로 그 合成이 抑制된다는 文獻을 보더라도 이차 放射線에 依한 RNA 合成의 直接的인 影響도 無視할 수 없다.

第2表에 있어서 無精卵의 RNA 量은 産卵直後부터 有精卵의 그것에 比하여 그 折半에 不過하며 또 産卵後 日數經過에 따라서도 RNA 量의 變動이 第4日까지 若干 增加傾向이 있으나 큰 變動은 없다.

有精卵에 있어서 胚子의 分裂增殖이 産卵後 20分 以內에 始作되는 것으로서 本實驗에 있어서 産卵直後의 試料은 이미 産卵後 6~7時間을 經過한 것으로서 胚子의 分裂가 相當히 進行된 것으로 볼 수 있다 따라서 第1日의 有精卵의 RNA 量은 別로 胚子增殖에 依한 影響이 反映된 것으로 볼 수 있으며, 胚子形

(2) 無精卵의 RNA 量은 産卵直後부터 有精卵의 그것과 比較의 六端의 近く(約折半일) 第4日까지 若干의 增加를 보이나 第5日부터 減少한다.

(3) 照射有精卵은 放射線照射(3,000 r)後 第2日까지는 RNA 量이 若干 增加하나 그後부터는 別 變動이 없다. 即 放射線照射로 卵 RNA 合成이 크게 抑制됨을 알 수 있다.

(4) 浸酸處理卵은 浸酸處理 第4日부터 RNA 量이 激增하여 孵化 1日前인 第7日까지 계속된다. 非浸酸卵은 該期間中 RNA 量의 變動이 거이없다. 照射浸酸處理卵(1,500 r)에 있어서는 照射後 第3日까지는 非照射卵과달라 RNA 量이 減少되었다가 第4日부터 激增하여 第7日까지 계속된다.

## Ⅱ. SUMMARY

- (1) The RNA content of fertilized egg of *Bombyx mori* was shown a continuing great increase reaching peak at the 5th day after egg laying and a slight decrease there after. Such a change of RNA content is considered to be directly associated with the formation and development of egg embryo of silk worm.
- (2) The RNA content of nonfertilized egg is much less than that of fertilized one at first day of egg laying and it increased slightly until 4th day after egg laying then decreased.
- (3) The RNA content of fertilized egg irradiated by gamma-ray (3,000 r) was shown a slight increase until 2nd day after irradiation, but no change was observed there after. This fact shows that irradiation suppressed the biosynthesis of RNA silk worm egg.
- (4) The RNA content of HCl treated silk worm egg was shown a continuing steep rise until 7th day after the acid treat, while no change was observed in the non-treated egg. The RNA content of HCl treated egg with irradiation of gamma-ray (1,500 r), decreased until 3rd day after irradiation in contrast to that of non-irradiated group, but it increased rapidly from 4th day until 7th day after acid treating.

## Ⅲ. 參 考 文 獻

- 1) Caspersen, T.; *Naturwiss.* 29,33 (1942)
- 2) Bracher, J.; *Chemical Embryology* (1950) (New York; Interscience publishers, Inc.)
- 3) Bracher, J.; *Les Nucleoproteines*. Onzieme Conseil de chimie. Institut de Chimie Solvay, PP. 1-24 (Bruxelles; R. Stoops) (1959)
- 4) K.Kuroda & K. Lee; *J. Plant & Animal*. 11, 17-20 (1937)
- 5) Y. Itons; *J. Ser. Ja.* 20, 182-185 (1951)
- 6) Schneider, W. C.; *J. Biol. Chem.*, 161, 263 (1945)
- 7) Schneider, W. C. and Klug, H. L.; *Cancer. Res.* 6., 691 (1946)
- 8) Schneider, W. C.; *J. Biol. Chem.*, 164, 747 (1945)
- 9) Schmidt, G. and Thannhauser, S. T.; *ibid.*, 161, 83 (1945)
- 10) Meijhaum, W.; *Z. Physiol. Chem.*, 258, 117 (1939)
- 11) A. Akao; *Keijo J. Med.*, 3, 250-261 (1932)
- 12) Hevesy, G.; *J. Chem. Soc.*, F. 1618 (1951)
- 13) Hevesy, G.; *Rev. Mod. phys.*, 17, 120 (1945)
- 14) Hevesy, G.; *Nature*, 163, 869 (1949)
- 15) Sibatani, A.; *Biochem. Biophys. Acta*, 25, 592 (1957)
- 16) Smellie, R.M.S., Humphrey, G.F., Kay, E.R.M. and Davidson, J.N.; *Biochem. J.*, 60, 177(1955)
- 17) Holmes, B. E.; *Ciba Foundation Symposium on Ionizing Radiation and Cell Metabolism*, P. 255

(1956)

18) Davidson, J. N.; The Biochemistry of the Nucleic Acids, P. 224 (1960) (Methuen's series, London)