

황체퇴화시 황체막 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 활성도의 변화

연세대학교 의과대학 생리학교실

김 인 교 · 연 동 수 · 이 승 일

= Abstract =

Change in $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ Activity in Regressive Corpora Lutea Membrane

In Kyo Kim, Dong Soo Yeoun and Syng Ill Lee

Department of Physiology, College of Medicine, Yonsei University, Seoul, Korea

Slices of rat corpora lutea (CL) incubated with prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ ($\text{PGF}_{2\alpha}$) in Krebs-Henseleit (K-H) Ringer solution showed a decrease in $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity after 60 min of incubation. However, $\text{PGF}_{2\alpha}$ *in vitro* did not alter $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity of isolated luteal membrane fractions.

Following $\text{PGF}_{2\alpha}$ induced *in vivo* luteal regression, reduction of V_{max} and elevation of the activation energy above transition temperature of the lipid phase of the membrane occurred without changes of K_m , optimum pH and transition temperature. These results suggest that reduction of $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity after $\text{PGF}_{2\alpha}$ treatment may be due to the reduction of the number of enzyme molecules or to masking of the active site of the enzyme without any change in enzyme characteristics. In addition, a change in membrane bound enzyme activity may be an early step in $\text{PGF}_{2\alpha}$ induced luteolysis.

서 론

$\text{PGF}_{2\alpha}$ 가 여러종류의 포유동물에서 황체퇴화를 일으킨다는 것은 잘 알려졌으나 그 작용기전에는 아직 논란이 많다. $\text{PGF}_{2\alpha}$ 를 *in vivo* (Behrman et al, 1971a; Grinwich et al, 1976a; Grinwich et al, 1976b; Diekman et al, 1978; Kahn et al, 1979; Sotrell et al, 1981) 혹은 *in vitro* (Thomas et al, 1978; Kahn et al, 1979; Hall and Behrman, 1981)로 투여하면 luteinizing hormone (LH) receptor의 수가 감소하고 LH에 의해 증가된 황체세포막 adenylate cyclase의 활성도가 감소한다. 이러한 보고들은 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 가 직접 세포막에, 혹은 어떤 세포내 경로를 통하여 세포막에 작용할 것이라는 것을 암시한다.

최근 Buhr 등 (Buhr et al 1979)과 Carlson 등 (Carl-

son et al 1982)은 X-ray diffraction technic을 사용하여 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 에 의한 황체퇴화시 황체막의 phospholipid bilayer의 phase change가 관여한다고 하였다. 즉 그들은 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 투여로 황체막의 phospholipid가 liquid crystal 상태에서 gel 상태로 전환됨으로써 세포의 기능이 억제되기 때문에 황체퇴화가 유발될 것이라고 하였다. 한편 membrane bound enzyme 활성도가 세포막의 phospholipid에 의해 조절되며 또 세포막의 phospholipid의 phase가 transition을 일으키는, 즉 liquid crystal에서 gel phase로 전환되는 온도 (transition temperature)에서 막효소의 activation energy가 변화한다고 하므로 (Taniguchi and Iida, 1972; Boldyrev et al., 1974; Wisnieski et al, 1974) $\text{PGF}_{2\alpha}$ 가 황체퇴화를 유발시킬때 황체막기질에 gel phase lipid가 증가한다면 세포막 효소인 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 활성도가 변할 것으로 생각된다.

이에 저자들은 황체막 효소중의 하나인 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 에 대한 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 의 효과를 관찰하고 아울러 황체

* 본 연구는 1981년도 삼미문화재단 연구비 지원 및 1980~1981년도 유한 연구비지원으로 연구되었음.

퇴화시 이 효소의 생화학적 성상을 효소 역학적 분석을 통하여 관찰하고자 본 실험을 시행하였다.

실험방법 및 재료

동물 : 활동기 황체는 임신 14일째의 백서(Sprague-Dawley strain)에서 얻거나 혹은 정상 발정기를 갖은 백서에 human chorionic gonadotropin(hCG)를 100 I.U.를 피하주사하고 3일후 다시 hCG 50 I.U.를 다시 주사한 후 그로부터 2일후, 즉 처음 주사후 5일째의 백서(가임신 백서)를 두부 강타로 희생시킨 후 난소에서 얻었다. 퇴화기 황체의 경우 Lahav 등(Lahav et al, 1977)의 방법으로 분만 4일째되는 날부터 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 를 375 ug 씩 하루 두번 3일간 주사하여 분만 제 7일째되는 날의 백서에서 얻었다.

난소 조직 절편의 incubation: hCG로 가임신(pseudopregnancy)시킨 백서의 난소를 저출한 후 조직 절편을 만들어 대조군과 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 150 ug/ml 처치군으로 나누어 37°C에서 pH 7.4의 K-H Ringer solution (NaCl 118 mM, KCl 4.7 mM, CaCl_2 2.5 mM, MgSO_4 1.2 mM, KH_2PO_4 1.2 mM, NaHCO_3 25 mM, gassed with 95% O_2 and 5% CO_2 gas mixture, pH 7.4)에서 95% O_2 -5% CO_2 gas를 bubbling 하던서 30분에서 240분까지 preincubation를 하였다. preincubation이 끝난 후 아래에 기술하는대로 세포막분획을 얻어 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 활성도를 측정하였다.

황체막의 분리: 임신 14일째의 백서 혹은 분만 후 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 를 투여한 백서의 난소를 저출하여 sucrose-tris buffer 용액에 넣고 Teflon-glass tissue homogenizer를 사용하여서 4°C 이하에서 난소조직 균등액을 만들었다. 이조직 균등액을 Sorvall 원심분리기(model RC-2B, rotor ss-34)에서 1,000 xg로 10분간 원심침전시켜 cell debris와 nucleus를 제거하고 상층액을 얻었다. 이것을 같은 원심분리기에서 20,000 xg로 20분간 원심침전시키고 상층액을 Beckman 초원심분리기(model L2-65 B, rotor 65)에서 105,000 xg로 1시간동안 원심분리한 후 침전물을 재부유시켜 세포막분획을 얻었다. 이와같이 얻은 세포막분획의 protein 농도는 Lowry 등(Lowry et al., 1951)의 방법으로 소혈청 albumin을 표준으로 사용하여 측정하였다.

$\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 활성도의 측정: $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 의 활성도는 Bramley와 Ryan의 방법으로 측정하였다(1978a). ATPase 의 활성도는 ATP가 들어있는 medium에 세포막 분획을 넣고 incubation할때 ATP

가 분해되어 생성되는 inorganic phosphate(Pi)의 양을 측정하여 나타내었다.

결 과

In vitro 실험: 우선 Optimal incubation period를 결정하기 위하여 활동기 황체막의 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 활성도를 incubation 시간을 달리하여 측정하였다. 제 1도에서 보는바와 같이 활동기 황체막의 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 의 활성도는 incubation 15분까지는 거의 직선적으로 증가하였다. 그러므로 이 후의 실험은 incubation 시간을 10분으로 하여 효소 활성도를 측정하였다. 또 제 1도에서 보는 바와같이 활동기 황체에서 분리된 정상 황체막에 50 ug/ml의 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 를 첨가하고 240분까지 incubation 하더라도 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 활성도에는 아무런 영향이 없었다 이와같이 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 가 분리된 황체막의 효소활성도에 아무런 영향이 없다는 것은 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 가 세포막에 직접 작용하는 것이 아니라 어떤 intracellular pathway를 통하여 작용할 것이라는 것을 암시한다. 이런 가능성을 조사하기 위해 hCG로 가임신시킨 백서에서 얻은 황체 조직절편을 먼저 대조군과 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 50 ug/ml의 군으로 나누어 preincubation 한 후 황체막 분획을 얻어 각 황체막분획에서 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 의 활성도를 측정하였다. 대조군에서 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 활성도는 preincubation 시간이 증가함에 따라 감소하였는데(제 2도) preincubation 60분까지는 대조군과 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 처리군과는 차이가 없었으나 120분부터는 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 처리군의 효소활성도가 더욱 감소하였다.

in vivo 실험: $\text{PGF}_{2\alpha}$ 에 의해 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 활성도가 감소되는 원인을 조사하고자 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 의

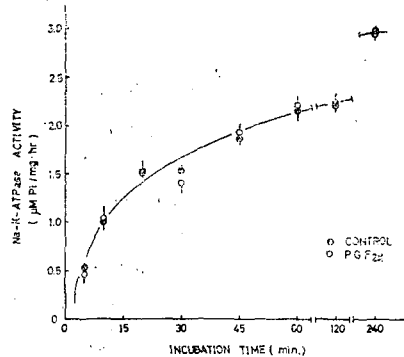


Fig. 1. Time course of liberation of Pi from 2 mM of ATP by $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ of isolated luteal membrane fractions incubated with or without 50 µg/ml of $\text{PGF}_{2\alpha}$. Each point represents mean \pm S.E. of 5 experiments.

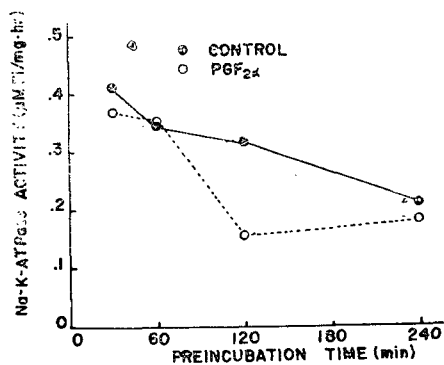


Fig. 2. Effect of $PGF_{2\alpha}$ on intact corpora lutea *in vitro*. Intact luteal slices from hCG primed pseudopregnant rats were incubated in K-H Ringer solution with or without 50 $\mu g/ml$ of $PGF_{2\alpha}$ for various periods. Membrane fractions were then isolated and $Na^+-K^+-ATPase$ activities assayed. Each point represents mean of 3 experiments.

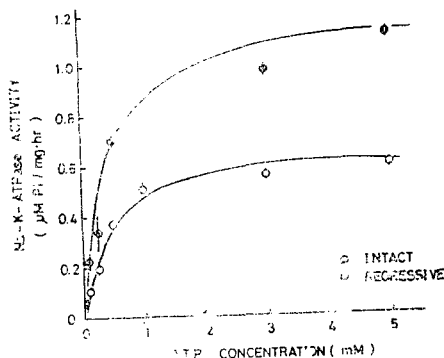


Fig. 4. $Na^+-K^+-ATPase$ activities of intact and regressing luteal membrane fractions as a function of ATP concentration. Each point represents mean \pm S.E. of 5 experiments.

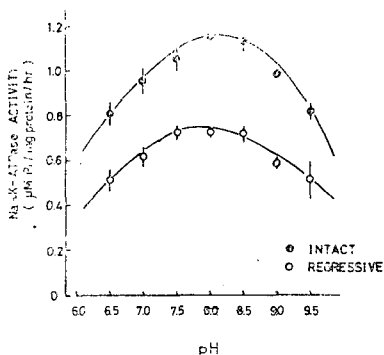


Fig. 3. $Na^+-K^+-ATPase$ activities of intact luteal membrane fractions from day 14 pregnant rats and regressing luteal membrane fractions from $PGF_{2\alpha}$ treated lactating rats as a function of pH of incubation medium at $37^\circ C$. Each point represents mean \pm S.E. of 6 experiments.

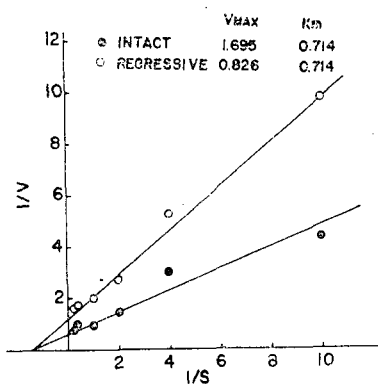


Fig. 5. Lineweaver-Burk plots of data shown in Fig. 4.

효소역학적 분석을 하였다. 활동기 황체는 임신 14 일째의 백서의 난소에서 얻었고 퇴화기 황체는 분만후 $PGF_{2\alpha}$ 를 투여한 백서의 난소에서 얻었다. 제 3 도는 활동기 및 퇴화기 황체에서 분리된 황체막의 $Na^+-K^+-ATPase$ 활성도에 대한 incubation medium의 pH의 영향을 나타낸 것이다. 활동기 황체막의 효소 활성도는 측정된 medium pH 범위 내에서는 언제나 퇴화기 황체막의 효소 활성도보다 높았으나 optimal pH는 모두 8.0내외로 양군이 별 차이가 없었다. 이 효소의 optimal pH는 백서 황체막의 다른 막효소중의 하나인 adenylate cyclase의 optimal pH와 비슷했고(Stans-

field and Franks, 1971), Bramley and Ryan(1978a) 등이 백서의 난소에서 $Na^+-K^+-ATPase$ 활성도를 측정할 때 사용한 pH 8.5와도 유사하였다.

제 4 도는 $Na^+-K^+-ATPase$ 의 기질인 ATP의 medium내 농도를 증가시킬때 황체막의 $Na^+-K^+-ATPase$ 활성도의 변화를 본 것이다. 활동기 황체나 퇴화기 황체 모두 ATP 농도가 2 mM에서 거의 최대값을 보였고 어느 ATP 농도하에서도 활동기 황체에 비해 퇴화기 황체에서 효소 활성도가 의의있게 낮았다. 이 결과를 Lineweaver-Burk plot한 것이 제 5 도인데 $Na^+-K^+-ATPase$ 활성도의 Vmax는 활동기 및 퇴화기서 1.695 umole Pi/mg. protein/hr, 0.826 umole Pi/mg. protein/hr 이었고 Km은 각각 0.714 mM ATP로 황체 퇴화시 $Na^+-K^+-ATPase$ 의 Vmax는 의의있게 감소하였으나 Km은 아무런 영향이 없었다. 이런 결과들은 퇴화기 황체막이나 혹은 활동기 황체막을 $PGF_{2\alpha}$ 로 처

Table 1. Activation energy of Na⁺-K⁺-ATPase in intact and regressing luteal membrane¹

Intact CL		Regressing CL	
Temp. (C) ²	Ea (Kcal/mole) ³	Temp. (C) ²	Ea (Kcal/mole) ³
27.3 ↑	5.06	29.1 ↑	1.43
27.3 ↓	12.66	29.1 ↓	12.74

1. Transition temperature and activation energy are calculated by the breaking point and slope of Arrhenius plot of Na⁺-K⁺-ATPase activity shown in Fig. 6, respectively.
2. Transition temperature of lipid phase.
3. Activation energy of Na⁺-K⁺-ATPase

리했을때 Na⁺-K⁺-ATPase 활성도가 감소되는 것이 PGF_{2α}에 의해 막효소의 성상은 변하지 않으나 막효소의 수가 감소되기 때문일 것이라는 것을 암시해 준다. 또한 황체퇴화시 Na⁺-K⁺-ATPase 활성도의 감소가 Buhr 등 (Buhr et al., 1979) 및 Carlson 등 (Carlson et al, 1982)의 보고대로 membrane phospholipid의 phase change에 기인할 것이라는 가능성도 역시 조사하였다.

제 6 도는 활동기 및 퇴화기 황체에서 분리한 황체막을 여러 온도에서 각각 incubation하여 Na⁺-K⁺-ATPase 활성도를 얻은 후 Arrhenius plot한 것이다. 이 plot에서 각 선의 break point는 세포막의 phospholipid의 transition temperature를 나타내고 또 각 선의 slope로부터 효소의 activation energy를 계산할 수 있다. 이때 각 온도에서의 incubation medium은 일정한 alkalinity를 갖게하였다(OH/H ratio 251, Howell et al., 1970) 제 6 도에서 보는 바와같이 퇴화기 황체막의 Na⁺-K⁺-ATPase 활성도는 모든 incubation 온도하에서 활동기 황체막의 그것보다 유의있게 낮았다. 또한 황체막 Na⁺-K⁺-ATPase의 transition temperature와 transition temperature 이하에서의 activation energy는 활동기 황체막과 퇴화기 황체막 사이에 아무런 차이가 없었다. 그러나 transition temperature 이상에서는 퇴화기 황체막 Na⁺-K⁺-ATPase의 activation energy가 유의있게 낮았다(도표 제 1 표).

고 찰

본 실험은 PGF_{2α}에 의해 황체가 퇴화될 때 황체막 Na⁺-K⁺-ATPase 활성도가 감소함을 나타내었다. 분리된 황체막을 PGF_{2α}로 직접 처리할때는 Na⁺-K⁺-ATPase 활성도에 아무런 영향이 없었으나 황체 조직 절

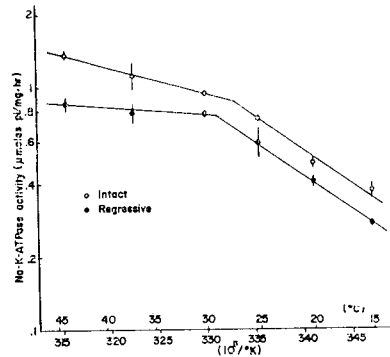


Fig. 6. Arrhenius plots of Na⁺-K⁺-ATPase activities of intact and regressing luteal membrane fractions in a constant medium alkalinity (OH/H ratio; 251). Breaking points and slopes of lines represent the transition temperatures of lipid phase and the activation energies of enzyme. Each point represents mean ± S.E. of 5 experiments.

편을 PGF_{2α}에 60분 이상 preincubation 할 때는 대조군에 비해 Na⁺-K⁺-ATPase 활성도가 유의있게 낮아졌다(제 2 도). 이런 결과들은 PGF_{2α}가 황체막에 직접 작용하는 것이 아니라 아직까지 알려져 있지않은 intracellular pathway를 통하여 세포막에, 특히 막효소에 작용할 것이라는 것을 암시해 준다.

PGF_{2α}가 황체막에 작용해서 황체를 퇴화시킬 것이라는 것은 잘 알려져 있다. 즉 PGF_{2α}를 in vitro로 황체에 투여했을때 LH에 의해 증가되는 황체막의 adenylate cyclase 활성도를 억제시키고(Thomas et al, 1978) 그 결과 황체내에 LH투여로 증가되는 cyclic adenosine monophosphate(cAMP)가 in vivo(Grinwich et al, 1976a; Kahn et al, 1979) 혹은 in vitro(Thomas et al, 1978; Kahn et al, 1979)실험에서 PGF_{2α}투여로 감소된다. 그러므로 황체세포에서의 progesterone의 생성 및 분비도 PGF_{2α}로 in vivo(Berhman et al, 1971b; Grinwich et al, 1976a; Grinwich et al, 1976b; Diekman et al, 1978; Caffrey et al., 1979; Sotrell et al, 1981) 혹은 in vitro(Thomas et al, 1978; Wright et al, 1980)로 투여할 때 감소되어 황체가 퇴화된다고 한다. 그러나 이런 일련의 과정에 대한 시간적 변화에도 각 보고자에 따라 혹은 실험동물에 따라 많은 차이가 있다. 즉 황체조직내 progesterone 함량이 양의 경우 in vivo로 PGF_{2α}를 투여한 후 2시간(Caffrey et al, 1979) 혹은 22.5시간(Diekman

et al, 1978) 후에 감소된다고 하며 혈장내 progesterone은 PGF_{2α}를 in vivo로 투여한 후 쥐의 경우는 0.5 혹은 2시간(Berhman et al, 1971a; Greenwich et al, 1976a) 원숭이의 경우 1시간(Sotrell et al, 1981) 양의 경우 7.5시간(Diekman et al, 1978; Caffrey et al, 1979) 후에 감소되기 시작한다고 한다. 그러나 LH receptor는 in vivo로 PGF_{2α}투여후 양에서는 22.5시간(Diekman et al, 1978), 쥐에서는 24시간(Greenwich et al, 1976a) 후에 감소한다고 한다. in vivo로 PGF_{2α} 투여후 cAMP나 adenylate cyclase활성도에 대한 시간적 변화는 보고된 것이 없다. 또한 PGF_{2α}를 in vitro로 투여한 후 황체조직에 대한 작용을 시간적으로 보고한 문헌도 거의 없으나 Kahn 등은(1979) 백서에서 분리한 황체세포에 PGF_{2α}를 처리하면 30분내에 황체세포 내에 LH에 의해 증가되는 cAMP(LH-induced cAMP)의 축적이 감소된다고 한다. 또 분리된 황체 세포에 PGF_{2α}를 1시간동안 LH와 같이 co-incubation했을 때 LH stimulated adenylate cyclase활성도(Thomas et al, 1978), cAMP의 축적(Thomas et al, 1978) 그리고 progesterone의 생성(Evrard-Herouard et al, 1981)이 감소된다고 한다. 이와같이 PGF_{2α}에 의한 황체퇴화시 in vitro, 혹은 in vivo 실험을 막론하고 어느과정도 가장 먼저 나타나는 현상인지에 대해서는 아직 확실치않으나 우선 PGF_{2α}가 세포막에 작용하여 막 효소 중의 하나인 adenylate cyclase의 활성도를 억제할 것이라는 데에 학자들의 의견이 모아지고 있다.

최근 Buhr 등(1979) 및 Carlson 등(1982)은 황체퇴화기전에 흥미있는 가설을 보고하였다. 그들은 Xray diffraction technic을 사용하여 PGF_{2α}가 황체 퇴화를 유발시킬때 세포막의 phospholipid bilayer에 phase change가 나타나는 것을 관찰하였다. 즉 활동기 황체에서 세포막 lipid phase의 transition temperature가 40.3°C 인데 반하여 PGF_{2α}투여 3일후 황체 퇴화가 일어나면 이 온도가 49.0°C로 증가한다고하며(Buhr et al, 1979) Carlson 등(1982)도 거의 같은 결과를 보고하였다. Phospholipid가 세포막 효소의 동력학적성질 즉 Km과 Vmax(Esfahani et al, 1977)와 activation energy(Priestland and Whittom, 1972; Taniguchi and Iida, 1972) 등을 변화시키고 세포막내에 gel phase의 증가가 세포막 투과도를 변화시키고 세포막 효소의 활성도를 감소시키기 때문에(Raison, 1973; Dufour and Goffeau, 1980; Johnsson et al, 1981; Merrisco et al, 1981;) PGF_{2α}투여로 막의 phospholipid의 transition temperature가 체온이상 증가되던 대부분의

막의 phospholipid가 gel phase상태로 존재하기 때문에 세포의 기능이 저하되기 때문에 황체가 퇴화되기 시작될 것이라는 것이 그들의 (Buhr et al, 1979; Carlson et al, 1982) 가설이다.

본 실험에서 측정된 lipid phase transition temperature는 27°C내외였고 황체 퇴화시에도 별 다른 변동은 없었다. 본 실험과 Buhr 등(1979) 및 Carlson 등(1982)이 보고한 transition temperature와의 차이는 세포막 분석을 분리하는 방법 혹은 transition temperature를 측정하는 방법에 따른 차이일 수 있다. 그러나 Carlson 등(1981)은 황체퇴화시 황체막 내의 Cholesterol과 phospholipid의 비율, 그리고 지방산 종류의 상대적인 비율이 황체 퇴화전과 거의 변동이 없다고하였다. 이것은 퇴화가 진행되면서 lipid phase의 transition temperature에 별다른 변화가 오지않은 가능성을 강력히 암시해 준다.

본 실험 결과에서는 황체 퇴화시 단지 Na⁺-K⁺-ATPase활성도만 감소하고 황체막의 lipid phase의 transition temperature나 Km 그리고 optimal pH에는 아무런 변동이 없었다. 황체막의 Na⁺-K⁺-ATPase 특성중 황체 퇴화시 변한 것은 Vmax가 감소했다는 사실뿐으로 이러한 결과들은 황체 퇴화시, 혹은 활동기 황체에 in vitro로 PGF_{2α}를 투여했을때 Na⁺-K⁺-ATPase활성도가 감소된 것이 PGF_{2α}에 의해 이 효소의 생화학적 성상은 변화없이 효소의 수가 감소되었거나 혹은 효소의 활성 부위가 차단(masking)당했기 때문일 것이라는 사실을 암시한다.

황체막 분석의 Na⁺-K⁺-ATPase의 역할과 성상에 대한 더욱 자세한 정보는 별로 보고된 바가 없지만 황체막을 두 분석으로 구분하는 학자들도 있다. 즉 Bramley 및 Ryan(1978b; 1980a; 1980b)은 hCG receptor와 Na⁺-K⁺-ATPase가 많은 light membrane fraction과 adenylate cyclase활성도가 높은 heavy membrane fraction으로 황체막을 구분짓는데 hCG receptor와 Na⁺-K⁺-ATPase가 같은 분석에 있으므로 Na⁺-K⁺-ATPase의 변화에 의해hCG receptor가 영향을 받을 가능성이 있고 또 hCG receptor complex가 adenylate cyclase에 주는 영향이 변동될 가능성도 있다. 그러므로 이런 사실들은 PGF_{2α}에 의한 Na⁺-K⁺-ATPase의 변동이 PGF_{2α}에 의한 황체 퇴화의 초기 과정일 수도 있다. 그러나 본 실험만 갖고는 PGF_{2α}가 황체 퇴화를 일으키는 자세한 원인 및 기전을 설명할 수는 없고 단지 PGF_{2α}가 어떤 intracellular mechanism을 통하여 일차적으로 membrane bound enzyme의 활성도를 변

화시킬 수 있고 이 과정이 황체 퇴화의 초기 과정일 가능성이 있다고 생각된다.

REFERENCES

- 1) Behrman, H.R., Macdonald, G.J. and Greep, R.O.: Regulation of ovarian cholesterol ester.: Evidence for the enzymatic sites of prostaglandins-induced loss of corpus luteum function. *Lipids* 6:701-796, 1971a.
- 2) Behrman, H.R., Yoshinaga, K. and Greep, R.O.: Extraluteal effects of prostaglandin. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 180:426-495, 1971b.
- 3) Boldyrev, A.A., Tkachuk, V.A. and Titanji, P.V.K.: Activation energy of skeletal muscle sarcolemmal $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-adenosinetriphosphatase}$. *Biochim. Biophys. Acta.* 357:319-324, 1974.
- 4) Bramley, T.A. and Ryan, R.J.: Interactions of gonadotropins with corpus luteum membranes. I. Properties and distributions of some marker-enzyme activities after subcellular fractionation of the superovulated rat ovary. *Endocrinology* 103:778-795, 1978a.
- 5) Bramley, T.A. and Ryan, R.J.: Interactions of gonadotropins with corpus luteum membranes. II. The identification of two distinct surface membrane functions from superovulated rat ovaries. *Endocrinology* 103:796-804, 1978b.
- 6) Bramley, T.A. and Ryan, R.J.: Interactions of gonadotropins with corpus luteum membranes. VIII. The different properties of rat luteal cell light and heavy membranes cannot be explained by fractionation of inside-out and outside-in plasma membrane vesicles. *Mol. Cell. Endocr.* 19:21-31, 1980a.
- 7) Bramley, T.A. and Ryan, R.J.: Interactions of gonadotropins with corpus luteum membranes. IX. Changes in the specific activities of some plasma membrane marker enzymes in rat ovarian homogenates and purified membrane fractions at various times after priming with PMSG and hCG. *Mol. Cell. Endocr.* 19:33-41, 1980b.
- 8) Buhr, M.M., Carlson, J.C. and Thompson, J.E.: A new perspective on the mechanism of corpus luteum regression. *Endocrinology* 105:1330-1335, 1979.
- 9) Caffrey, J.R., Fletcher, P.W., Diekman, M.A., O'Callaghan, P. and Niswender, G.D.: The activity of ovine luteal cholesterol esterase during several experimental conditions. *Biol. Reprod.* 21:601-608, 1979.
- 10) Carlson, J.C., Buhr, M.M., Gruber, M.Y. and Thompson, J.E.: Compositional and physical properties of microsomal membrane lipids from regressing rat corpora lutea. *Endocrinology* 108:2124-2128, 1981.
- 11) Carlson, J.C., Buhr, M.M., Wentworth, R., Hansel, W.: Evidence of membrane changes during regression in the bovine corpus luteum. *Endocrinology* 10:1472-1476, 1982.
- 12) Dickman, M.A., O'Callaghan, P., Nett, P.M. and Niswender, G.D.: Effect of $\text{PGF}_{2\alpha}$ on the number of LH receptors in ovine corpus luteal membrane. *Biol. Reprod.* 19:1010-1013, 1978.
- 13) Dufour, J.P. and Goffeau, A.: Phospholipid reactivation of the purified plasma membrane ATPase of yeast. *J. Biol. Chem.* 255:10591-10598, 1980.
- 14) Esfahani, M., Rudkin, B.B., Culter, C.J. and Waldron, P.E.: Lipid-protein interactions in membranes; Interaction of phospholipids with respiratory enzymes of *Escherichia coli* membrane. *J. Biol. Chem.* 252:3194-3198, 1977.
- 15) Evard-Herouard, M., de la Llosa-Hermier, M.P., Martiney, J., Mauleon, P., de la Llosa, P. and Hermier, C.: LH receptors in ovine corpora lutea in relation to various physiological states and effects of $\text{PGF}_{2\alpha}$ on LH-induced steroidogenesis in vitro. *J. Reprod. Fert.* 61:225-233, 1981.
- 16) Grinwich, D.L., Ham, E.A., Hichens, M. and Behrman, H.R.: Binding of human chorionic gonadotropin and response of cyclic nucleotides to luteinizing hormone in luteal tissue from rats treated with prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$. *Endocrinology* 98:146-150, 1976a.
- 17) Grinwich, D.L., Hichens, H. and Behrman, H.R.: Control of the LH receptor by prolactin

- and prostaglandin F_{2α} in rat corpora lutea. Biol. Reprod.* 14:212-218, 1976b.
- 18) Hall, A.K. and Behrman, H.R.: *Culture sensitization and inhibition of luteinizing hormone responsive production of c-AMP in luteal cells by luteinizing hormone, prostaglandin F_{2α} and (D-Trp⁶)-luteinizing hormone releasing hormone. J. Endocrinol.* 88:27-38, 1981.
- 19) Howell, B.J., Baumgardner, F.W., Bondi, K. and Rahn, H.: *Acid-base balance in cold-blooded vertebrates as a function of body temperature. Am. J. Physiol.* 218:600-606, 1970.
- 20) Johansson, A., Smith, G.A. and Metcalfe, J.C.: *The effect of bilayer thickness on the activity of Na⁺-K⁺-ATPase. Biochim. Biophys. Acta.* 641:416-421, 1981.
- 21) Kahn, M.I., Rosberg, S., Lahav, M., Lamprecht, S.A., Selstam, G., Herlitz, H. and Ahren, K.: *Studies of mechanism of action of the inhibitory effect of prostaglandin F_{2α} on cyclic AMP accumulation in rat corpora lutea of various ages. Biol. Reprod.* 21:1175-1183, 1979.
- 22) Lahav, M., Median, R., Amsterdam, A., Gebauer, H. and Linder, H.R.: *Intracellular distribution of cathepsin D in rat corpora lutea in relation to reproductive state and the action of prostaglandin F_{2α} and prolactin. J. Endocrinol.* 75:317-324, 1977.
- 23) Lowry, O.H., Rosebrough, N.D., Farr, A.L. and Randall, R.J.: *Protein measurement with Folin phenol reagent. J. Biol. Chem.* 193:265-275, 1951.
- 24) Merrisko, E.M., Ojakian, G.K. and Widnell, C.C.: *The effects of phospholipids on the properties of hepatic 5'-nucleotidase. J. Biol. Chem.* 256:1983-1993, 1981.
- 25) Priestland, R.N. and Whittam, R.: *The temperature dependence of activation by phosphatidylserine of sodium pump ATPase. J. Physiol (London).* 220:353-361, 1972.
- 26) Raison, J.K.: *The influence of temperature-induced phase changes on the kinetics of respiratory and other membrane-associated enzyme system. J. Bioenerg.* 4:285-309, 1973.
- 27) Sotrell, G., Helvacioglu, A., Dowers, S.J., Scomegna, A. and Auletta, F.: *Mechanism of luteolysis: Effect of estradiol and prostaglandin F_{2α} on corpus luteum luteinizing hormone/human chorionic gonadotropin receptors and cyclic nucleotides in the Rhesus monkey. Am. J. Obstet. Gynecol.* 139:134-140, 1981.
- 28) Stansfield, D.A. and Franks, D.J.: *Adenyl cyclase activity and "ATPase" in rat corpus luteum. I. Some properties of enzyme. Biochim. Biophys. Acta.* 242:606-616, 1971.
- 29) Taniguchi, K. and Iida, S.: *The effect of phospholipids on the apparent activation energy of Na⁺-K⁺-ATPase. Biochim. Biophys. Acta.* 274:536-541, 1972.
- 30) Thomas J.P., Dorflinger, L.J. and Behrman, H.R.: *Mechanism of the rapid antigonadotropic action of prostaglandins in cultured luteal cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 75:1344-1348, 1978.
- 31) Wisnieski, B.J., Parkes, J.G., Huang, Y.O. and Fox, C.R.: *Physical and physiological evidence for two phase transitions in cytoplasmic membranes of animal cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 71:4381-4385, 1974.
- 32) Wright, K., Pang, C.Y. and Behrman, H.R.: *Luteal membrane binding of prostaglandin F_{2α} and sensitivity of corpora lutea to prostaglandin F_{2α}-induced luteolysis in pseudopregnant rats. Endocrinology* 106:1333-1337, 1980.