

## 젖소의 난소 황체에 있어서 중심강의 유무에 따른 Protein, DNA, RNA 함량의 비교

백광수<sup>†</sup> · Y. S. Kim<sup>1</sup> · C. N. Lee<sup>1</sup> · 김태일 · 김현섭 · 이현준 · 전병순 · 안병석  
축산기술연구소

## Comparison of Protein, DNA, and RNA Contents in Corpus Luteum without and with Central Cavity in Dairy Cow

Baek, K. S.<sup>†</sup>, Y. S. Kim<sup>1</sup>, C. N. Lee<sup>1</sup>, T. I. Kim, H. S. Kim, H. J. Lee,  
B. S. Jeon and B. S. Ahn

National Livestock Research Institute

### ABSTRACT

This study was conducted to investigate total protein, DNA, and RNA content in corpus luteum(CL) without and with central cavity in dairy cow. Stage of the estrous cycle of corpus luteum from slaughterhouse(CL3, days 11 to 17) was classified by method of Ireland et. al.(1980). Corpus luteum was classified into corpus luteum without(less than 2mm in diameter) and with central cavity(more than 2mm in diameter) by method of Kastelic et. al.(1990).

1. In total protein content, CL with central cavity did not differ from CL without central cavity.
2. In DNA content, CL with central cavity was significantly lower than CL without central cavity ( $p<0.05$ ).
3. In protein: DNA ratios, CL with central cavity was significantly lower than CL without central cavity ( $p<0.05$ ).
4. But in RNA content, protein:RNA and RNA:DNA ratios, CL with central cavity did not differ from CL without central cavity.

(Key words : Dairy cow, Total protein, DNA, RNA, Corpus luteum, Central cavity)

### I. 서 론

소에 있어서 배란후에 발육한 황체의 중심에 액체로 충전된 중심강이 존재한다는 사실은 이미 많은 연구자들에 의해 확인되고 있다(Okuda 등, 1988; Pierson과 Ginther, 1988; Kito 등, 1986; Kastelic 등,

1990a). 중심강이 있는 황체의 출현율에 대해 Arthur 등(1982)은 평균 25.0%, Kito 등(1986)은 젖소에서 37.2%, Kastelic 등(1990b)은 79.0%의 출현율을 보고하여 조사시기 및 가축의 품종에 따라 다양한 결과를 보이고 있다. 중심강이 있는 황체의 형성기전에 대하여 명확하게 밝혀진 바는 없으나 LH 분비의 불충분으로 인한 황체 형성기능의 약

<sup>†</sup> Corresponding author : Beef and Dairy Division, Department of Livestock Improvement, National Livestock Research Institute, Chungnam 330-800, E-mail : bks@rda.go.kr

<sup>1</sup> Hawaii주립대학교(University Hawaii-Manoa)

화(Kaneda와 Matsuda, 1970), 난소의 황체 형성 불충분에 따른 progesterone 함량의 부족과 난포 발육에 따른 estrogen 함량의 과잉(Homma와 Sugawa, 1960) 등으로 추정되고 있다. 중심강의 유무에 따른 progesterone 농도와 수태와의 관계에 대하여 Okuda(1982)는 중심강이 불수태의 원인이 된다고 한 반면에, Kito 등(1986)은 불수태의 원인이 되지 않는다고 보고하였다. 또한 중심강을 가진 황체조직중의 progesterone 함량과 배의 생존과의 관계를 조사한 결과에 있어서도 중심강이 있는 황체가 조기 배사멸이나 조기유산의 원인이 된다고 보고(Staples와 Hansel, 1961; Kaneda 등, 1980)되고 있는 반면 중심강의 출현이 배사멸과는 상관이 없다는 보고(Kito 등, 1986)도 있어 조사자에 따라 상반된 견해를 보이고 있다.

따라서 본 연구에서는 중심강의 유무에 따른 황체 조직중의 total protein, DNA 및 RNA 함량을 조사하여 중심강이 있는 황체와 중심강이 없는 황체간의 기능성을 구명하고자 수행하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 난소의 채취 및 채취된 황체의 보관

미국 하와이에 위치하는 도축장에서 도축되는 젖소로부터 난소를 채취하였고 채취된 난소에서 황체를 분리하여 Ireland 등(1980)의 방법에 따라 CL3단계(발정주기 11~17일째)에 해당되는 황체를 직경 2mm 이상의 중심강이 있는 황체(Kastelic 등, 1990a)와 중심강이 없는 황체로 선별 분리하여 중심강이 있는 황체는 3개를, 중심강이 없는 황체는 5개를 공시하였다. sample은  $-80^{\circ}\text{C}$ 에서 냉동 보관하였다가 sonication한 후 분석에 이용하였다.

### 2. 단백질의 정량

황체 조직중의 단백질 정량은 Lowry 방법에 따라 정량하였고 standard로서  $0\sim 500\ \mu\text{g/ml}$  BSA를 사용하였다. sonication한 sample과 standard solution을 0.1ml씩 duplicate하여 1N NaOH 0.4ml를 첨가하여 끓는 물에 가온하였다. 10% SDS solution을 첨가하고 alkaline copper solution을 4ml 첨가하여

10분 동안 기다린 후 희석된 Folin reagent 0.4ml를 첨가하여 즉시 혼합하였다. 최소한 30분 동안 방치한 후 500nm~750nm에서 O.D를 읽어서 standard curve로부터 sample의 단백질 농도를 산출하였다.

### 3. DNA 및 RNA의 분리

DNA 및 RNA의 분리는 Schmidt와 Thanhauser (1945)의 방법에 따라 수행하였다.

최종 농도 0.2N perchloric acid(PCA)가 되도록 냉각된 0.6N PCA 0.5ml이 든 원심분리관에 homogenate 1ml을 duplicate한 후 15분 동안 5,000rpm으로 원심분리하여 상층액은 버리고 pellet은 냉각된 0.2N PCA 0.4ml로 2번 washing하였다. 0.3N KOH 0.8ml에 pellet을 넣고  $37^{\circ}\text{C}$  항온수조에서 1시간 동안 배양한 후 얼음에 급속히 냉각시켰고 DNA와 단백질을 침전시키기 위하여 냉각된 1.2N PCA 0.4ml를 첨가하여 10분간 얼음위에서 방치한 다음에 5,000rpm으로 15분간 원심분리하였다. 원심분리한 후 상층액은 RNA 분석을 위하여 보관하였고 pellet은 냉각된 0.2N PCA 1ml로 2번 washing하여 5,000rpm에서 15분간 원심분리한 다음 매번 RNA 분석을 위해 상층액을 보관하였다.

### 4. DNA 분석

DNA의 분석은 Ceriotti(1952)의 방법에 따라 수행하였다. standard는 DNA 12.5mg을 0.1N KOH 용액에 용해하여 사용하였고 sample의 처리는 0.3N KOH 1ml에  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 25분간 가온함으로써 pellet을 녹여 얼음 위에서 냉각시킨 다음  $\text{H}_2\text{O}$  2ml를 첨가하였다. standard와 sample 1ml를 유리 시험관에 넣고 0.04% indole 0.5ml를 첨가하여 혼합한 후 알루미늄 뚜껑으로 닫고 12분 동안 끓는 항온수조에서 가온한 다음 급속히 냉각시켰다. chloroform 2ml로 3번 추출하였고 추출할 때마다 최고 속도로 최소 3분간 원심분리한 후 490nm에서 absorbance를 읽었다.

### 5. RNA 분석

standard는 RNA 0.25g을 0.3N KOH 250ml에 용해한 다음  $37^{\circ}\text{C}$ 에서 1시간 동안 1ml의 용액을 du-

plicate하여 digesting하였다. 여기서 나온 용액 0.25 ml을 0.2N PCA 25ml과 희석하여 260nm에서 absorbance를 읽었다. sample은 RNA 추출액 1ml을 0.2N PCA 3ml로 희석하여 260nm에서 absorbance를 읽었다.

## 6. 통계분석

본 시험의 통계분석은 SAS/PC package를 사용하여 분석하였으며 유의성 검정은 Student-t test를 이용하여 실시하였다.

## Ⅲ. 결 과

### 1. 황체 조직중의 총단백질 및 상층액과 pellet 중의 단백질 함량

황체 조직을 sonication한 후의 Total protein 및 원심분리한 후의 상층액중의 protein과 pellet중의 protein 함량을 분석한 결과는 Table 1에서 보는 바와 같다.

중심강이 없는 황체의 Total, Supernatant 및 pellet protein의 함량은 각각 32.83, 16.87 및 15.96mg/g wet tissue이었고, 중심강이 있는 황체의 그것들은 각각 29.62, 16.10 및 13.52mg/g wet tissue으로

서 중심강이 없는 황체와 중심강이 있는 황체간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다( $p>0.05$ ).

### 2. 황체 조직중의 DNA 함량 및 protein : DNA ratios

중심강이 없는 황체와 중심강이 있는 황체의 DNA 함량과 protein:DNA ratios는 Table 2에서 보는 바와 같다.

DNA 함량은 중심강이 없는 황체가 1.99mg/g wet tissue이었고 중심강이 있는 황체가 1.32mg/g wet tissue으로 중심강이 없는 황체와 있는 황체간에 유의적인 차이( $p<0.05$ )를 나타내었다. protein:DNA ratios에 있어서도 중심강이 없는 황체가 16.63mg/g wet tissue이었고, 중심강이 있는 황체가 22.99mg/g wet tissue으로 중심강이 없는 황체와 중심강이 있는 황체간에 유의적인 차이( $p<0.05$ )를 나타내었다.

### 3. 황체 조직중의 RNA 함량, protein : RNA 및 RNA : DNA ratios

RNA 함량, Protein : RNA 및 RNA : DNA ratios는 Table 3에서 보는 바와 같다.

중심강이 없는 황체의 RNA 함량, Protein : RNA

**Table 1. Total, supernatant and pellet protein in CL3 of dairy cow by stage of estrous cycle**  
(mg/g wet tissue)

	Protein content		
	Total	Supernatant	Pellet
CL* without CC**	32.83±1.81***	16.87±1.08	15.96±1.67
CL with CC	29.62±2.55	16.10±2.58	13.52±3.10

\*Corpus luteum, \*\*Central cavity, \*\*\*Mean±SE.

**Table 2. DNA content and protein:DNA ratios of dairy cow by stage of estrous cycle and pregnancy**  
(mg/g wet tissue)

	Total protein	DNA content	Protein : DNA
CL without CC	32.83±1.81***	1.99±0.09 <sup>a</sup>	16.63±1.23 <sup>a</sup>
CL with CC	29.62±2.55	1.32±0.09 <sup>b</sup>	22.99±3.51 <sup>b</sup>

<sup>a-b</sup> The values in the same column with different superscripts are significantly different( $p<0.05$ ).

\*\*\* Mean±SE.

**Table 3. RNA, protein : RNA and RNA : DNA ratios of dairy cow by stage of estrous cycle and pregnancy (mg/g wet tissue)**

	Total protein	RNA content	Protein : RNA	RNA : DNA
CL without CC	32.83±1.81***	2.87±0.36	12.24±1.65	1.43±0.14
CL with CC	29.62±2.55	2.47±0.62	13.73±4.06	1.89±0.48

\*\*\*Mean ± SE.

및 RNA:DNA ratios는 각각 2.87, 12.24 및 1.43mg/g wet tissue이었고, 중심강이 있는 황체의 그것들은 각각 2.47, 13.73 및 1.89mg/g wet tissue으로서 중심강이 없는 황체와 중심강이 있는 황체간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다( $p>0.05$ ).

#### IV. 고 찰

소에 있어서 배란후에 발육한 황체의 중심에 액체로 충전된 중심강이 존재한다는 사실은 이미 많은 연구자들에 의해 확인되고 있다(Okuda 등, 1988; Pierson과 Ginther, 1988; Kito 등, 1986; Kastelic 등, 1990a). 중심강이 있는 황체의 형성기전에 대하여 명확하게 밝혀진 바는 없으나 LH 분비의 불충분으로 인한 황체 형성기능의 약화(Kaneda와 Matsuda, 1970), 난소의 황체 형성 불충분에 따른 progesterone 함량의 부족과 난포 발육에 따른 estrogen 함량의 과잉(Homma와 Sugawa, 1960) 등으로 추정되고 있다. 중심강이 있는 황체의 출현율에 대해 Arthur 등(1982)은 평균 25.0%, Kito 등(1986)은 젖소에서 37.2%, Kastelic 등(1990b)은 79.0%, 성 등(1994)은 한우에서 35.98%의 출현율을 보고하여 조사시기 및 가축의 품종에 따라 다양한 결과를 보이고 있다. 중심강의 크기에 대해서 Kastelic 등(1990a)은 중심강이 없는 것(직경 2mm 이하), 소형중심강(2~5mm), 중형중심강(6~10mm), 대형중심강(10mm 이상)의 4가지 유형으로 분류한 바 있는데 본 시험에서는 2mm 이상의 중심강이 있는 CL3 단계(발정주기 11~17일째)의 황체를 선별하여 조사하였다. Table 2에서 보는 바와 같이 DNA 함량은 중심강이 없는 황체가 1.99mg/g wet tissue이었고 중심강이 있는 황체가 1.32mg/g wet tissue으로 중심강이 없는 황체와 있는 황체간에

유의적인 차이( $p<0.05$ )를 나타내었고 Protein:DNA ratios에 있어서도 중심강이 없는 황체가 16.63mg/g wet tissue이었고 중심강이 있는 황체가 22.99mg/g wet tissue으로 중심강이 없는 황체와 있는 황체간에 유의적인 차이( $p<0.05$ )를 나타내었다. 이는 성 등(1994)이 중심강이 있는 황체를 가지고 조직학적으로 검토한 결과 중심강이 있는 황체의 경우 섬유성 결합조직대가 기질 안쪽으로 넓게 분포되어 있어 황체 세포의 분화와 증식을 억제하고 있었다고 보고하여 중심강이 없는 황체에 비하여 중심강이 있는 황체에서 세포수가 적다는 것을 시사해주고 있다.

황체 조직중의 RNA 함량, Protein : RNA 및 RNA : DNA ratios는 Table 3에서 보는 바와 같이 중심강이 없는 황체의 RNA 함량, Protein : RNA 및 RNA : DNA ratios의 경우 각각 2.87, 12.24 및 1.43mg/g wet tissue이었고, 중심강이 있는 황체의 그것들의 경우 각각 2.47, 13.73 및 1.89mg/g wet tissue으로서 중심강이 없는 황체와 중심강이 있는 황체간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다( $p>0.05$ ). 이는 중심강이 있는 황체 조직중의 progesterone 함량이 중심강이 없는 황체보다 적다는 보고(Donaldson과 Hansel, 1968)가 있기는 하지만 많은 보고자들(Kito 등, 1986; Okuda, 1982; Son 등, 1995; 손 등, 1995)은 혈중이나 황체 조직중의 progesterone 농도에 있어서 중심강이 있는 황체의 경우에도 임신 을 유지할 수 있을 정도의 충분한 progesterone을 분비하므로 중심강의 유무에 따라 progesterone 분비 기능에 차이가 없음을 시사해 주고 있다.

#### V. 요약

젖소 난소 황체에 있어서 중심강의 유무에 따른

황체 조직 중의 total protein, DNA 및 RNA 함량을 조사하여 중심강이 있는 황체와 중심강이 없는 황체간의 기능성을 구명하고자 수행한 시험에서 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 중심강이 없는 황체의 total, supernatant 및 pellet protein의 함량은 각각 32.83, 16.87 및 15.96 mg/g wet tissue이었고, 중심강이 있는 황체의 그것들은 각각 29.62, 16.10 및 13.52mg/g wet tissue으로서 중심강이 없는 황체와 중심강이 있는 황체간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다( $p>0.05$ ).
2. DNA 함량은 중심강이 없는 황체가 1.99mg/g wet tissue이었고 중심강이 있는 황체가 1.32mg/g wet tissue으로 중심강이 없는 황체와 있는 황체간에 유의적인 차이( $p<0.05$ )를 나타내었다. Protein : DNA ratios에 있어서도 중심강이 없는 황체가 16.63mg/g wet tissue이었고 중심강이 있는 황체가 22.99mg/g wet tissue으로 중심강이 없는 황체와 중심강이 있는 황체간에 유의적인 차이( $p<0.05$ )를 나타내었다.
3. 중심강이 없는 황체의 RNA 함량, Protein : RNA 및 RNA:DNA ratios는 각각 2.87, 12.24 및 1.43 mg/g wet tissue이었고, 중심강이 있는 황체의 그것들은 각각 2.47, 13.73 및 1.89mg/g wet tissue으로서 중심강이 없는 황체와 중심강이 있는 황체간에 유의적인 차이를 나타내지 않았다( $p>0.05$ ).

## VI. 인용문헌

1. Arthur, G. H., Noakes, D. E. and Pearson, H. 1982. Veterinary reproduction and obstetrics. Baillière Tindall. London.
2. Ceriotti, G. 1952. A microchemical determination of deoxyribonucleic acid unit. J. Biol. Chem. 198 : 297-303.
3. Donaldson, L. E. and Hansel, W. 1968. Cystic corpora lutea and normal and cystic Graafian follicles in the cow. Aust. Vet. J., 44:304-308.
4. Homma, S. and Sugawa, Y. 1960. Study on the duration of liquid in the antrum of the corpus luteum and its influence on the ovarian cycle in the cow. Japan J. Anim. Reprod., 5:127-132.
5. Ireland, J. J., Murphee, R. L. and Coulson, P. B. 1980. Accuracy of predicting stages of bovine estrous cycle by gross appearance of the corpus luteum. J. Dairy Sci., 63:155-160.
6. Kaneda, Y. and Matsuda, K. 1970. Treatment for the cystic corpus luteum and its influence on fertility in the dairy cow. Japan J. Anim. Reprod., 15(4) : 134-139.
7. Kaneda, Y. and Domeki, I. and Nakahara, T. 1980. Effects of removal cystic fluid from cystic corpus luteum on luteinization and conception rate in dairy heifers. Japan J. Anim. Reprod., 26(1):37-42.
8. Kastelic, J. P., Pierson, R. A. and Inther, O. J. G. 1990a. Ultrasonic morphology of corpora lutea and central luteal cavities during the estrous cycle and early pregnancy in heifers. Theriogenology, 34:487-498.
9. Kastelic, J. P., Bergfelt, D. R. and Ginther, O. J. 1990b. Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. Theriogenology, 33:1269-1278.
10. Kito, S., Okuda, K., Miyazawa, K. and Sato, K. 1986. Study on the appearance of the cavity in the corpus luteum of cows by using ultrasonic scanning. Theriogenology, 25:325-332.
11. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. of Biol. Chem., 193:265-275.
12. Okuda, K. 1982. Morphologische und endokrinologische untersuchungen am corpus luteum periodicum und graviditatis des rindes. Dissertation, University of Munich, pp.104-109.
13. Okuda, K., Kito, S., Sumi, N. and Sato, K. 1988. A study of the central cavity in the bovine

- corpus luteum. *Vet. Rec.*, 123:180-183.
14. Pierson R. A. and Ginther, O. J. 1988. Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. *Theriogenology*, 29:21-37.
  15. Schmidt, G. and Thanhauser, S. J. 1945. *J. Biol. Chem.*, 161:83.
  16. Son, C. H, Schwarzenberger, F. and Arbeiter, K. 1995. Relationship between ultrasonographic assessment of the corpus luteum area and milk progesterone concentration during the estrous cycle in cows. *Reprod. Dom. Anim.*, 30:97-100.
  17. Staples, R. E. and Hansel, W. 1961. Luteal function and embryo survival in the bovine. *J. Dairy Sci.*, 44:2040-2048.
  18. 성환후, 오성종, 양보석, 백광수, 박수동, 정진관. 1994. 한우 난소의 중심강이 있는 황체의 출현과 기능에 관한 연구. *한국가축번식학회지*, 18(4):245-250.
  19. 손창호, 강병규, 최한선, 오기석, 강현구, 김남기. 1995. 젖소에서 prostaglandin F<sub>2</sub>α 또는 Fenprostalene 투여후 초음파 진단장치로 측정된 황체의 크기와 혈장 progesterone 농도와의 관계. *한국임상수의학회지*, 12(2):174-185.
- (접수일자: 2002. 1. 18. / 채택일자: 2002. 2. 18.)