

## 참개구리(*Rana nigromaculata*)의 난자형성 단계에 따른 Vitellogenin의 선택적 이동

이양림 · 고경희\*

이화여자대학교 자연과학대학 생물학과, \*고려대학교 의과대학 생리학교실

참개구리의 난모세포에서 난자형성단계에 따른 vitellogenin(VTG)의 이동이 난모세포막에 의하여 조절될 것이라 생각에 기초하여 단계에 따른 VTG 이동량의 변화와 난모세포막의 변경이 VTG 이동에 미치는 영향을 조사하였다. VTG의 이동은 난자형성과정중 특히 초기난모세포에서 가장 활발하였고, 중기 및 말기에는 감소하는 경향을 나타내었다. 반면, bovine serum albumin은 모든 단계의 난모세포에서 이동을 보이지 않았다. 이러한 결과로 보아 난자형성과정중 난모세포내로의 VTG 이동은 단계특이적이고 선택적임을 알 수 있었다.

난모세포막의 막단백질을 trypsin으로 제거시키거나 막단백질의 당잔기를 wheat germ agglutinin(WGA)으로 포화시키거나 혹은 endoglycosidase F로 당잔기를 제거시킨 결과 VTG의 이동이 급격히 억제되었다. 이와 같은 결과들은 난모세포의 막단백질이 VTG 이동에서 수용체로 작용한다는 사실을 강하게 암시하였다.

**KEY WORDS: Vitellogenin, Oocyte Membrane, Membrane Protein.**

양서류의 난황단백질은 간에서 합성된 후 혈류로부터 내음포운동을 통해 난황전구체 형태로 난모세포내에 유입되고, endosome과 multi-vesicular body로 표현되는 전이단계를 거치면서 난황립에 축적된다(Wiley and Wallace, 1981; Wallace *et al.*, 1983; Wallace and Patel, 1987). 난자형성과정동안의 이러한 난황단백질의 축적은 단계특이적이며 선택적으로 일어난다(Selman and Wallace, 1983; Song, 1984; Wallace and Selman, 1985). 어류인 무지개송어와 *Fundulus*에서 난황단백질은 특정 크기의 난모세포로만 이동되며 이동되는 속도도 난모세포가 성장함에 따라 변화한다(Selman and Wallace, 1983; Tyler *et al.*, 1988). 또한 난모세포는 난황단백질에 대해서만 선택적인 이동을 보인다. 어류인 *Salmo*와 *Fundulus*에서 VTG는 BSA에 비해 60배정도 빠르게 이동되며 *Xenopus*에서도 난황전구체가 혈청단백질보다 25-50배 빠르게 이동됨이 관찰되었다

(Wallace *et al.*, 1970; Opresko *et al.*, 1980; Tyler *et al.*, 1988).

Lee and Lee(1992)는 양서류인 *Rana*에서 난모세포 표면에 존재하는 미세융모의 구조, 크기 및 수가 난자형성과정중에 변화한다고 하면서 물질이동의 단계특이성을 난황막의 구조적 변화와 관련시켰다. 또한 양서류와 다모류의 난황막이 난자형성단계에 따라 wheat germ agglutinin(WGA)과 conconavalin(Con A)에 대해 강한 결합특이성을 보임으로써 난자형성기간중 난황막의 성분에 있어서도 변화가 일어난다(Lee and Lee, 1992; Lee and Kim, 1993).

Lee(1988)는 다양한 분자량의 막단백질이 합성되며 합성물의 교체가 난자형성과정동안 활발히 일어난다고 하여 물질이동에 있어서 막단백질의 중요성을 직접적으로 시사했다. *Pseudopotamilla*에서 실제로 난모세포 표면의 막단백질 제거시 물질이동의 기능이 감소하며 *Xenopus*의 경우 난모세포내의 난황단백질 축적

은 난모세포 표면의 난황전구체 수용분자의 특이적인 결합에 따른 것이다(Opresko *et al.*, 1980; Opresko and Wiley, 1987; Kanungo, Petrino and Wallace, 1990; Lee and Kim, 1993).

본 연구에서는 난모세포의 막단백질이 난자형성과정동안 변화함에 따라 결국 막의 단계특이적인 기능이 유발되리라는 생각하에 참개구리에서 난황전구체의 단계특이적인 이동과 난모세포막의 변경으로 인한 이동양상을 조사함으로써 난황전구체의 이동과 막의 기능을 연관시키고자 하였다.

## 재료 및 방법

### Vitellogenin의 분리

실험동물은 참개구리로서 10°C의 냉장실에서 산소를 공급하면서 보존하였다. 혈장채취를 위하여 참개구리의 복강내로 estradiol-17 $\beta$ 를 주사한 후 6-7일째에 심장으로부터 얻은 혈액을 원심 분리하여 상등액만 모아 준비하였다. 혈장으로부터의 VTG분리는 Wallace(1965)의 방법으로 TEAE-cellulose chromatography를 이용하였으며 chromatography의 buffer로는 washing buffer(0.2 M sodium citrate-0.2% Triton x-100)와 elution buffer인 starting buffer(0.01 M citric acid-0.06 M Monol, pH 9.9) 및 limiting buffer(0.25 M citric acid-0.75 M Monol, pH 9.0)를 사용하였다.

### Vitellogenin과 Bovine Serum Albumin (BSA)의 <sup>125</sup>I 표지

정제한 단백질을 polyethylene glycol로 농축시킨 후 1 mCi <sup>125</sup>I(Amersham, specific activity 13.5 mCi/ $\mu$ g)와 Chloramin T용액(0.125 g/10 ml 50 mM phosphate buffer, pH 7.4)를 넣고 흔들어준 후 5분 동안 실온에 방치하였다. Sodium Metabisulfite(0.25 g/10 ml 50 mM phosphate buffer, pH

7.4)를 넣어 Chloramin T의 작용을 중지시키고, 10% KI 용액을 첨가한 후 sephadex G-100 column에 올려 Tris-BSA buffer(0.05 Tris pH 7.4, 1 mg/ml BSA)로 용출시켰다. Peak에 해당하는 분획만 모아 4°C에서 O 용액(90 mM NaCl, 1.5 mM KCl, 1 mM CaCl<sub>2</sub>, 4 mM Tris, pH 8.0)으로 24시간 동안 투석시켰다. Polyethylene glycol로 농축하여 -70°C에서 보관했으며 BSA도 위와 같은 방법으로 표지하였다.

### 난모세포의 분리 및 배양

해부현미경하에서 watch-maker 핀셋을 이용하여 난소로부터 난모세포를 낱개로 분리하였다. 피펫을 이용하여 난모세포를 크기에 따라 대략 직경 100-200  $\mu$ m의 초기, 500-1000  $\mu$ m의 중기 및 1300-1500  $\mu$ m의 말기로 분류한 후 <sup>125</sup>I-VTG와 antibiotic 용액이 든 배양용기에 넣고 20°C 암실조건하에서 20시간동안 배양하였다. 대조군으로서 <sup>125</sup>I-BSA를 이용하여 <sup>125</sup>I-VTG와 같은 방법으로 동시에 배양시켰다.

### 난모세포의 막구조 변경을 위한 처리

핀셋을 이용하여 분리된 난모세포를 Ca<sup>2+</sup>을 제거시킨 O용액으로 처리하여 여포세포를 제거시킨 다음(Wallace *et al.*, 1973) 난모세포에 100  $\mu$ g/100ml의 WGA를 첨가한 후 10°C에서 30분간, trypsin의 경우에 대해서도 같은 농도로 20°C에서 1시간동안 각각 배양하였다. 또한 300  $\mu$ m되는 크기의 난모세포만을 취하여 0.003 unit, 0.012 unit, 0.048 unit 농도의 endoglycosidase F를 넣고 20°C에서 2시간 동안 배양하였다. 대조군으로서 처리하지 않은 난모세포를 함께 배양하였다.

### 난모세포로의 <sup>125</sup>I-Vitellogenin 이동량 측정

배양이 끝난 난모세포는 해부현미경하에서 크기별로 각각 50개씩 분리하여 분쇄한 후 5분간 원심분리하였다. 상등액과 침전에 각각 냉각된 10% TCA를 첨가하여 1시간 동안 단백질을 침전시키고 10,000 rpm에서 10분간 고속원심분

리하였다. TCA 용해부분인 상등액과 TCA 불용해부분인 침전을 각각 Whatman glass microfiber filter(CF/C)에다 여과시키고 각 여과지를 80°C에서 건조시킨 후 toluene medium(5g PPO, 0.125g bis-MSA, 1l toluene)에서 방사능을 측정하였다.

### 결과

난자형성기간동안 난모세포내로 이동한 VTG의 양적인 변화를 알아보기 위하여 초기(직경 100-200  $\mu\text{m}$ ), 중기(직경 500-1000  $\mu\text{m}$ ) 및 말기(직경 1300-1500  $\mu\text{m}$ ) 난모세포로의  $^{125}\text{I}$ -VTG 이동률을 조사하였다. Table 1에서 난모세포내로 이동한 VTG 단백질량을 난모세포단계

에 따라 비교해 볼 때 VTG 이동량은 초기단계에서 가장 낮았고 중기 이후 말기단계로 갈수록 증가하는 경향을 나타내었다. 그러나 난모세포의 크기가 증가함에 따라 난모세포의 표면적도 증가하여 실제로  $^{125}\text{I}$ -VTG가 이동하는 면적이 증가되므로 이동한 단백질량을 난모세포 1개의 단위 표면적에 대한 값으로 환산하였다. 그 결과  $^{125}\text{I}$ -VTG 이동량은 오히려 초기단계 난모세포에서 가장 높았고, 중기이후 말기단계로 갈수록 급격히 감소하였다. 즉 이동한  $^{125}\text{I}$ -VTG량은 초기난모세포의 경우 41.20 ng/mm<sup>2</sup>인데 비해 말기난모세포에서는 3.17 ng/mm<sup>2</sup>으로 초기난모세포가 말기난모세포에 비해 10배 이상의 높은 이동량을 나타내었다. 그러므로 이러한 사실로부터 난자형성과정동안 난모세포내로의 VTG 이동은 단계특이적으로 일어난다는 것을 알 수

**Table 1.** Comparison of  $^{125}\text{I}$ -VTG and  $^{125}\text{I}$ -BSA transported into oocytes at various sizes of oogenesis in *Rana nigromaculata*.

Size	$^{125}\text{I}$ -VTG into oocytes				
	Yolk (cpm/50 oocytes)	Cytoplasm (cpm/50 oocytes)	Transport <sup>a</sup> of $^{125}\text{I}$ -VTG (cpm/50 oocytes)	VTG trans- <sup>b</sup> ported (ng/50 oocytes)	VTG transported per surface area (ng/mm <sup>2</sup> )
Small (100-200 $\mu\text{m}$ )	816 (59.7%)	550 (40.3%)	1366	267.95	41.20
Medium (500-1000 $\mu\text{m}$ )	2005 (64.6%)	1100 (35.4%)	3105	609.06	5.20
Large (1300-1500 $\mu\text{m}$ )	2578 (64.7%)	1406 (35.3%)	3984	781.48	3.17

  

Size	$^{125}\text{I}$ -BSA into oocytes		
	Transport <sup>a</sup> of $^{125}\text{I}$ -BSA (cpm/50 oocytes)	BSA trans- <sup>b</sup> ported (ng/50 oocytes)	BSA transported per surface area (ng/mm <sup>2</sup> )
Small (100-200 $\mu\text{m}$ )	852	0.15	0.02
Medium (500-1000 $\mu\text{m}$ )	6397	1.15	0.01
Large (1300-1500 $\mu\text{m}$ )	9786	1.76	0.01

a; Total radioactivity of  $^{125}\text{I}$ -VTG and  $^{125}\text{I}$ -BSA used for incubation is  $1.82 \times 10^6$  (cpm) and  $2.08 \times 10^7$  (cpm), respectively. b; Specific activity of  $^{125}\text{I}$ -VTG and  $^{125}\text{I}$ -BSA used for incubation is  $5.1 \times 10^3$  (cpm/ $\mu\text{g}$ ) and  $5.5 \times 10^6$  (cpm/ $\mu\text{g}$ ), respectively.

있다.

난자형성기간동안 난모세포내로의 VTG의 선택적인 이동에 대해서 알아보기 위하여  $^{125}\text{I}$ -BSA와  $^{125}\text{I}$ -VTG의 이동량을 비교해 보았다. Table 1에 의하면 실제 난모세포내로 이동된  $^{125}\text{I}$ -BSA의 방사능양은 초기난모세포를 제외하고는 오히려  $^{125}\text{I}$ -VTG보다 높은 값으로 나타났다. 그러나  $^{125}\text{I}$ -VTG와  $^{125}\text{I}$ -BSA의 specific activity가 각각  $5.1 \times 10^3$  cpm/ $\mu\text{g}$ 와  $5.5 \times 10^6$  cpm/ $\mu\text{g}$ 으로 서로 다르기 때문에 절대 단백질양으로 환산하여 비교하는 것이 타당하였다. VTG의 경우는 난모세포 50개당 268.0-781.5 ng이 이동된 반면, BSA의 경우는 0.2-1.8 ng이 이동되어 BSA의 이동량은 VTG의 약 1/1000에 불과하였다. 따라서 비록 이동된 방사능양은 BSA가 VTG보다 높았지만 절대 단백질

양은 BSA가 VTG보다 무시할 정도로 낮았다. 이와 같은 결과는 난자형성기간동안 난모세포내로의 물질이동이 VTG에 대해서만 선택적으로 일어난다는 것을 보여준다.

난모세포 표면변경이 VTG 이동에 미치는 영향을 알아보기 위하여 난모세포의 막단백질을 trypsin으로 제거하거나 막단백질의 당잔기를 wheat germ agglutinin(WGA)으로 포화 혹은 endoglycosidase F로 제거시킨 다음  $^{125}\text{I}$ -VTG의 이동양상을 조사하였다. Trypsin과 WGA의 경우 난모세포 분리의 어려움으로 인해 각 처리군과 비처리군의 실험이 서로 다른 시간에 수행되었고, 또한 Iodine-125의 붕괴속도가 빠르기 때문에  $^{125}\text{I}$ -VTG의 방사능양은 실험에 따라 다르게 사용되었다. 이와 같은 이유로 서로 다른 시간에 수행된 처리군과 비처리군의 결과를

**Table 2.** Effects of Trypsin on the transport of  $^{125}\text{I}$ -VTG into oocytes.

Size	Trypsin -treated		
	Transport <sup>a1</sup> of $^{125}\text{I}$ -VTG (cpm/50 oocytes)	$^{125}\text{I}$ -VTG transported <sup>b1</sup>	
		Amount (ng/mm <sup>2</sup> )	Percentage (%)
Small (100-200 $\mu\text{m}$ )	715	10.4	54.5
Medium (500-1000 $\mu\text{m}$ )	1663	3.8	55.7
Large (1300-1500 $\mu\text{m}$ )	3539	4.0	92.4

  

Size	Trypsin -untreated		
	Transport <sup>a2</sup> of $^{125}\text{I}$ -VTG (cpm/50 oocytes)	$^{125}\text{I}$ -VTG transported <sup>b2</sup>	
		Amount (ng/mm <sup>2</sup> )	Percentage (%)
Small (100-200 $\mu\text{m}$ )	1366	41.2	100.0
Medium (500-1000 $\mu\text{m}$ )	3105	5.2	100.0
Large (1300-1500 $\mu\text{m}$ )	3984	3.2	100.0

a1; Total radioactivity of  $^{125}\text{I}$ -VTG used for incubation is  $1.75 \times 10^6$  cpm. b1; Specific activity of  $^{125}\text{I}$ -VTG is  $5.0 \times 10^3$  cpm/ $\mu\text{g}$ . a2; Total radioactivity of  $^{125}\text{I}$ -VTG used for incubation is  $1.82 \times 10^6$  cpm. b2; Specific activity of  $^{125}\text{I}$ -VTG is  $5.1 \times 10^3$  cpm/ $\mu\text{g}$ .

제시함에 있어 VTG의 이동정도를 방사능양 보다는 VTG의 단백질량으로 표현하는 것이 비교 평가하는데 타당성이 있는 것으로 판단되었다. trypsin이  $^{125}\text{I}$ -VTG 이동에 미치는 효과에 대한 결과는 Table 2에 있다. trypsin을 처리한 경우 난모세포 50개당 이동된 VTG양은 초기와 중기에 각각 145.9 ng, 339.2 ng으로서 trypsin 비처리군의 268.0 ng, 609.1 ng에 비해 약 50% 정도 감소하였다. 반면, 말기난모세포에서는 이동된 VTG양이 722.0 ng으로 이 값은 781.5 ng을 나타낸 trypsin 비처리군 이동량의 약 90%에 해당하였다. 따라서 trypsin에 의한 막단백질의 제거는 난모세포의 초기 및 중기단계에서 VTG이동을 저해시키나 말기단계로 진행됨에 따라 저해정도는 감소하였다. 이러한 결과는 난모세포의 막단백질이 VTG 이동의

조절과 밀접한 관련이 있으며 그러한 막단백질의 기능이 난모세포 단계에 따라 변화한다는 것을 보여준다.

막단백질 존재하에 당잔기만을 WGA로 포화시킨 후  $^{125}\text{I}$ -VTG 이동을 조사해보았다. 난모세포로 이동한 VTG양은 모든 단계의 난모세포에서 WGA 처리군이 비처리군에 비해 낮았다 (Table 3). WGA에 의한 VTG의 이동저해는 초기난모세포에서 가장 심하게 나타났으며 중기 및 말기단계로 가면서 저해정도는 감소하였다. 이와 같은 결과는 VTG 이동의 조절이 난모세포의 막단백질중 당단백질에 의해 일어나며 당단백질의 조성이 난자형성단계에 따라 변한다는 사실을 시사해 준다. 또한 endoglycosidase F로 난모세포 막단백질의 당잔기를 제거한 후  $^{125}\text{I}$ -VTG의 이동양상을 조사해 보았다.  $^{125}\text{I}$ -VTG

**Table 3.** Effects of WGA on the transport of  $^{125}\text{I}$ -VTG into oocytes.

Size	Transport <sup>a1</sup> of $^{125}\text{I}$ -VTG (cpm/50 oocytes)	WGA - treated	
		$^{125}\text{I}$ -VTG transported <sup>b1</sup>	
		Amount (ng/mm <sup>2</sup> )	Percentage (%)
Small (100-200 $\mu\text{m}$ )	294	3.5	8.5
Medium (500-1000 $\mu\text{m}$ )	1241	1.6	15.8
Large (1300-1500 $\mu\text{m}$ )	4596	1.9	45.5

  

Size	Transport <sup>a2</sup> of $^{125}\text{I}$ -VTG (cpm/50 oocytes)	WGA - untreated	
		$^{125}\text{I}$ -VTG transported <sup>b2</sup>	
		Amount (ng/mm <sup>2</sup> )	Percentage (%)
Small (100-200 $\mu\text{m}$ )	1366	41.2	100.0
Medium (500-1000 $\mu\text{m}$ )	3105	5.2	100.0
Large (1300-1500 $\mu\text{m}$ )	3984	3.2	100.0

a1; Total radioactivity of  $^{125}\text{I}$ -VTG used for incubation is  $4.61 \times 10^6$  cpm. b1; Specific activity of  $^{125}\text{I}$ -VTG is  $1.3 \times 10^4$  cpm/ $\mu\text{g}$ . a2; Total radioactivity of  $^{125}\text{I}$ -VTG used for incubation is  $1.82 \times 10^6$  cpm. b2; Specific activity of  $^{125}\text{I}$ -VTG is  $5.1 \times 10^3$  cpm/ $\mu\text{g}$ .

**Table 4.** Effects of endoglycosidase F on the transport of  $^{125}\text{I}$ -VTG into oocytes.

Concentration of the enzyme (unit/10 $\mu\text{l}$ )	Transport <sup>a</sup> of $^{125}\text{I}$ -VTG (cpm/50 oocytes)	Transport of $^{125}\text{I}$ -VTG into oocytes		$^{125}\text{I}$ -VTG transported per surface area (ng/mm <sup>2</sup> )
		$^{125}\text{I}$ -VTG transported <sup>b</sup>		
		Amount (ng/50 oocytes)	Percentage (%)	
control	4025	454.7	100.0	32.1
0.003	4104	463.7	102.0	32.8
0.012	2044	230.9	50.8	16.3
0.048	1000	113.0	24.8	8.0

a; Total radioactivity of  $^{125}\text{I}$ -VTG is  $3.16 \times 10^6$  (cpm). b; Specific activity of  $^{125}\text{I}$ -VTG is  $1.0 \times 10^4$  (cpm/ $\mu\text{g}$ ).

의 이동이 초기 난모세포에서 가장 활발히 일어났으므로 초기난모세포만을 취하여 endoglycosidase F 농도에 따른  $^{125}\text{I}$ -VTG 이동양을 측정하였다. 난모세포로의  $^{125}\text{I}$ -VTG 이동양은 저농도의 endoglycosidase F에서는 대조군과 별 차이가 없었고, endoglycosidase F의 농도가 증가함에 따라 현저히 감소하였다(Table 4). 특히 endoglycosidase F 0.048 unit로 처리한 난모세포에서는  $^{125}\text{I}$ -VTG 이동량이 113.0 ng으로 454.7 ng의 대조군 이동량에 비해 약 1/4 정도 감소되었다. 그러므로 난모세포막에 존재하는 당단백질의 당잔기를 제거하면 난모세포내로의 VTG 이동이 저해되며 이러한 사실은 VTG 이동에 있어서 난모세포막의 당잔기가 중요한 역할을 수행한다는 것을 보여준다.

### 고찰

난자형성과정동안 참개구리의 난모세포는 선택적이며 단계특이적인 VTG이동을 나타내었다. Table 1에서  $^{125}\text{I}$ -BSA는  $^{125}\text{I}$ -VTG에 비해 난모세포내로 거의 이동되지 않은 점으로 보아 난모세포막이 VTG에 대해서만 선택성을 가지고 있음을 알 수 있다. 이러한 선택성은 난황막기능에 기인한 것으로 추측되는데, 실제로 Jang (1988)과 Lee and Kim(1993)은 난모세포막의 당단백질이 선택적인 물질투과와 관련있다고 보고하였다.

또한  $^{125}\text{I}$ -VTG는 초기단계의 난모세포내로

가장 활발한 이동을 보임으로써 난자형성과정동안 VTG 이동의 단계특이성이 관찰되었다. Lee and Lee(1992)의 보고에 의하면 VTG 이동의 단계특이성은 난모세포 표면에 존재하는 미세음모와 관련된다고 하였으며, 다른 보고에서는 난황막에 난황전구체의 수용분자가 있어 난황전구체의 이동을 조절한다고 하였다(Opresko *et al.*, 1980; Kang, 1987; Stifani *et al.*, 1988; Jang, 1988; Fischer, 1991). 그런데 다모류인 *Perinereis*의 경우 endocytosis는 난자형성초기에 활발히 일어나고 중기이후의 난모세포에서는 감소되며 대신 중기이후에는 미세음모가 급격히 발달하여 미세음모를 통한 물질이동이 활발하다고 하였다(Whang, 1991). 이와 같은 사실은 초기 난모세포에서 가장 활발한 VTG 이동을 보인 본 실험결과를 뒷받침 해준다. 그러므로 VTG는 receptor-mediated endocytosis에 의해 초기난모세포내로 가장 활발히 이동되고 중기이후에는 미세음모를 통해 VTG 이외 난황립 형성에 필요한 물질들의 이동이 활발해진다고 생각된다.

난모세포막을 여러물질로 처리하였을 때, 난황전구체의 이동은 다양하게 저해되는 것으로 나타났다. 난모세포 표면을 WGA로 포화시킨 경우 VTG의 이동이 저해되었으며 특히 초기난모세포에서 저해정도가 심하게 나타났다. 참개구리의 난모세포를 FITC-WGA로 처리한 실험에서 WGA는 난모세포막과 결합했으며 결합정도도 난자형성단계에 따라 변화했다(Lee and Lee, 1992). 다모류인 *Pseudopotamilla*의 난모세포

를 FITC-WGA로 처리하였을 때 초기난모세포에서 가장 강한 형광을 나타내었는데 이러한 사실은 참개구리의 초기난모세포에서 WGA에 의한  $^{125}\text{I}$ -VTG의 이동저해가 가장 크게 나타난 실험결과와도 일치한다. 이러한 결과들로 보아 난모세포막의 당단백질의 당잔기조성이 난자형성 기간동안 단계특이적으로 변화하고 특히 WGA에 대해 강한 결합력을 보이는 당잔기가 초기난모세포막에 존재할 것이라 생각된다. Endo-glycosidase F로 당단백질의 당잔기를 제거하면 처리농도에 비례적으로 난모세포내로의 VTG이동이 저해되었다. 다모류인 *Pseudopotamilla*의 경우에서도 0.012 unit 이상의 농도에서 난모세포로의 체강액단백질 이동이 저해된 것으로 보고되었다(Lee and Kim, 1993). 이와 같은 사실들로 미루어 볼 때 난모세포막에 있는 당단백질의 당잔기는 VTG 이동과 밀접한 관련이 있으며 아마도 VTG 인식과정에 관여하리라 추측된다. 난모세포의 막단백질을 trypsin으로 제거하면 VTG의 이동이 상당히 저해될 것으로 예상하였으나 WGA로 처리한 경우보다 오히려 높게 나타났다. 이러한 결과는 난모세포의 막단백질이 제거된 후 재생된다는 사실을 시사하며 실제로 보고된 바가 있다. *Xenopus*의 경우 난모세포에 trypsin을 처리하게 되면 24시간내에 똑같은 수의 VTG수용체분자가 다시 생성되며 다모류에서도 막단백질의 합성과 빠른 교체율을 보였다.

이상의 결과들을 볼 때 난자형성과정동안 참개구리의 난모세포막이 VTG를 단계특이적이고 선택적으로 이동시키는 것은 VTG수용체인 막단백질의 기능적 분화에 기인한 것으로 사료된다.

### 감사

이 연구는 교육부 대학부설 기초과학 연구소 학술연구조성비(과제번호 BSRI-93-422)지원으로 수행되었음.

### 인용문헌

- Baert, J.L. and M.C. Slomianny (1992), Vitellin accumulation and vitellogenin synthesis in relation to oogenesis in *perinereis cultrifera* (Polychaeta Annelida), *Invert. Repro. Dev.* **21(2)**: 121-128.
- Chan, S.L., C.H. Tan, M.K. Pang and T.J. Lam (1991), Vitellogenin purification and development of assay for vitellogenin receptor in oocyte membrane of the Tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1766), *J. Exp. Zool.* **257**: 96-109.
- Fisher, A., H. Rabien and A.E. Heacox (1991), Specific, concentration-dependent uptake of vitellin by the oocytes of *Nereis Virens* (Annelida, Polychaeta) in vitro, *J. Exp. Zool.* **260**: 106-115.
- Han, J.W. (1991), Ultrastructural changes of oocytes surface during oogenesis of the starfish, *Asterina pectinifera* +(Muller and Troschel), M.A. Thesis, Ewha Womans Univ.
- Jang, J.W. (1988), Ultrastructural and functional changes of the oocytes surface related to the formation of yolk grannules during oogenesis of *Schizobranchia insignis* Bush, A Dissertation for Ph.D.Ewha Womans University, Seoul, Korea.
- Kang, W.S. (1987), Ultrastructural changes of cytoplasmic organelles during oogenesis of a polychaete, *Pseudopotamilla ocellata* Moore, M.S. Thesis, Ewha Womans University, Seoul, Korea.
- Kanungo, J., T.R. Petrino and R.A. Wallace (1990), Oogenesis in *Fundulus heteroclitus*. VI. Establishment and verification of conditions for vitellogenin incorporation by oocytes in vitro., *J. Exp. Zool.* **254**: 313-321.
- Lee, Y.R. (1988), Changes in the protein components of vitelline envelope during oogenesis of tubicolous polychaete, *Schizobranchia insignis*, *Dev. Cell Differ.* **25**: 23-26.
- See, Y.R. and J.Y. Lee (1992), Changes in ultrastructure and protein components of vitelline envelope during oogenesis of *Rana nigromaculata* Hallowell, *Korean J. Zool.* **35**: 125-135.
- Lee, Y.R. and Y.N. Kim (1993), Selective transport of coelomic fluid protein into oocytes of a tubicolous polychaete, *Pseudopotamilla ocellata*, *Invert.Repro. Dev.*, in press.
- Opresko, L.K., H.S. Wiley and R.A. Wallace (1980), Differential postendocytotic compartmentation in *Xenopus* oocytes is mediated by a specifically bound ligand, *Cell.* **22**: 47-57.

- Opresko, L.K., H.S. Wiley and R.A. Wallace (1987), Receptor-mediated endocytosis in *Xenopus* oocytes. I. Characterization of the vitellogenin receptor system, *J. Biol. Chem.* **262**: 4109-4115.
- Pinto, M.R., L. Santiella, G. Casazza, F. Rosati and A. Monroy (1985), The differentiation of vitelline envelope of *Xenopus* oocytes, *Dev. Growth and Differ.* **27**: 189-200.
- Shim, J.K. and Y.R. Lee (1988), Ultrastructural changes at the surface of oocyte in the sabellid polychaete, *Pseudopotamilla ocellata* Moore, *Korean J. Zool.* **31**: 165-176.
- Sol, T.M. (1990), Ultrastructural changes in the egg chamber during oogenesis of *Aedes Togo*, M.A. Thesis, Ewha Womans University, Seoul, Korea.
- Song, H.K. (1984), Changes in the accumulation and synthetic patterns of proteins during oogenesis of a polychaete, *Pseudopotamilla ocellata* Moore, M.S. Thesis, Ewha Womans University, Seoul, Korea.
- Stifani, S., R. George and W.J. Schneider (1988), Solubilization and characterization of the chicken oocyte vitelline receptor, *Biochem. J.* **250**: 467-475.
- Tyler, C.R., J.P. Sumpter and N.R. Bromage (1988), Selectivity of protein sequestration by vitellogenic oocytes of the Rainbow Trout, *Salmo gairdneri*, *J. Exp. Zool.*, **248**: 199.
- Wall, D.A. and S. Patel (1987), Multivesicular bodies play a key role in vitellogenin endocytosis by *Xenopus* oocytes, *Dev. Biol.* **119**: 275-289.
- Wallace, R.A., T. Ho, D.W. Salter and D.W. Jared (1973), Protein incorporation by isolated amphibian oocytes. IV. The role of follicle cell and calcium during protein uptake, *Exp. Cell Res.* **82**: 287-295.
- Wallace, R.A., D.W. Jared and B.L. Nelson (1970), Protein incorporation by isolated amphibian oocytes. I. Preliminary studies, *J. Exp. Zool.* **175**: 259-269.
- Wallace, R.A., D.W. Jared and B.L. Nelson (1976), Protein incorporation by isolated amphibian oocytes. V. Specificity for vitellogenin incorporation, *J. Cell Biol.* **69**: 354-351.
- Wallace, R.A., L. Opresko, H.S. Wiley and K. Selman (1983), The oocyte as an endocytotic cell, *Ciba Found. Symp.* **98**: 228-248.
- Wallace, R.A., K. Selman (1985), Major protein changes during vitellogenesis and maturation of *Fundulus* oocytes, *Dev. Biol.* **110**: 492-498.
- Whang, Y.K. (1992), Ultrastructural changes of oocytes during oogenesis of the Neridae, *Perinereis aibuhitensis* (Grube), M.A. Thesis, Ewha Womans University, Seoul, Korea.
- Wiley, H.S. and R.A. Wallace (1981), The structure of vitellogenin, *J. Biol. Chem.* **256**: 8626-8634.

(Accepted November 30, 1994)



---

**Selective Transport of Vitellogenin into the Oocytes during Oogenesis of *Rana nigromaculata***

Yang-Rim Lee and\*Kyeong-Hee Ko (Department of Biology, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea: \*Department of Physiology, College of Medicine, Korea University, Seoul 136-705, Korea)

Changes in transport of  $^{125}\text{I}$ -labeled vitellogenin into the oocytes during oogenesis were studied in connection with the stage-specificity of the transport and correlation of the transport to the functional differentiation of the oocyte membrane. Vitellogenin isolated from estrogen-treated females was found to be transported most actively into the oocytes of specific stages ranging from 100  $\mu\text{m}$  to 200  $\mu\text{m}$  in diameter, whereas bovine serum albumin, a nonspecific protein, was not incorporated into the oocytes of any size class. The stage-specific transport of vitellogenin appears to be controlled by membrane proteins, since the incorporation was greatly reduced when the proteins were digested by trypsin. Carbohydrate residues of the membrane proteins appear to play a very significant role in transferring vitellogenin into oocytes, since the transport of vitellogenin was blocked by saturating with wheat germ agglutinin or by removing with endoglycosidase F. The observations suggest that the selective transport of vitellogenin into the oocytes of specific stages during oogenesis is mediated probably by vitellogenin receptors, which are proteins in chemical nature.