

보상성장에 의한 에너지 섭취량 조절이 흰쥐의 유생산능력과 유단백질 유전자 발현에 미치는 영향

김 상 훈[§]

경희대학교 생물학과

Compensatory Nutrition-Mediated Lactation Potential and Milk Protein Gene Expression in Rats

Kim, Sang Hoon[§]

Department of Biology, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the extent to which the compensatory nutrition regimen modulates lactation performance and milk protein gene expression in the first and second lactation cycles. Female rats(28 days of age) were assigned to 1) control, *ad libitum*; 2) stair-step compensatory nutrition(SSCN) regimen, an alternating 3-2-3-4-week schedule beginning with an energy restriction diet(40% restriction) for 3 weeks, followed by the control diet(*ad libitum*) for 2 weeks and then alternating another 3-4 week feeding regimen. The SSCN rats were received an overall 20% energy restriction(average from all stair-step periods) compared with the conventionally fed control group. Rats were bred during the first week of the second realimentation. All pups were weaned on day 21 of lactation. About 1 week after weaning, all dams were mated for the second pregnancy. Mammary tissues were obtained from pregnant and lactating rats during the first and second lactation cycles. During these lactation cycles, the SSCN group had a 11% increase in average lactation performance over that of control. The SSCN group had significantly increased levels of milk protein gene(α - and β -casein) expression in mammary tissues during the first lactation cycle compared with those of the control group. During the second lactation period, the levels of milk protein gene expression in lactating mammary tissues of the SSCN group were also higher than those of the control group. These results suggest that the effects of compensatory growth imposed at an early age extend to the second lactation cycle with regard to increased lactation performance and milk protein gene expression. (*Korean J Nutrition* 33(7) : 697~702, 2000)

KEY WORDS : compensatory nutrition, lactation, milk protein, rats.

서 론

유생산량은 유선의 발달과 분화 정도에 의해 영향을 받는다. 이러한 유선의 발달과 분화는 호르몬에 민감한 시기인 분만전의 영양 상태에 의해 좌우되기 때문에 유생산량을 증가시키거나 높은 유생산능력을 오래도록 지속할 수 있는 영양학적인 접근방법에 대한 많은 연구가 현재 수행되고 있다. 이중 계단식 성장패턴은 보상성장을 유도하기 위한 독특한 영양체계로 성장기에 있는 동물을 일정 기간동안 에너지 섭취량을 제한한 후 다시 섭취량을 증가시켜 보상성장을 유도하는 방법이다. 이러한 계단식 성장패턴에 의해 유도된

보상성장은 체성장의 증진외에도 유선의 성장과 분화가 촉진되어 유생산량을 증가시키게 된다.^{2,3}

계단식 성장패턴은 에너지 섭취량을 제한하는 방법 중의 하나로서, 에너지 섭취량 제한은 노화 지연과 암 발생 감소 등의 효과가 있다.⁴ 성장기 동물의 경우 조절된 에너지 섭취량 감소는 유선의 발달을 지연시키지만, 임신전에 보상성장을 유도할 경우 정상적인 유선의 발달과 분화에는 악영향을 미치지 않는 것으로 보고되고 있다.⁵ 이는 에너지 섭취량 제한후의 보상성장기간에 체내 동화작용이 촉진되어 신진대사가 활발히 이루어지기 때문이다.⁶ 이러한 보상성장이 allometric pubertal phase에 유도되면, 호르몬의 활성을 증가시켜 임신을 보다 용이하게 한다.⁷ 이외에도 세포의 증식에 관여하는 유전자의 발현이 증가하여 임신 말기에 유선 조직의 성장과 유선의 발달을 촉진하게 된다.⁸

채택일 2000년 9월 20일

[§]To whom correspondence should be addressed.

케이신(casein)은 우유내 대부분을 차지하는 유단백질로 분화된 유선세포에 의해 합성, 분비된다. 생쥐의 경우 케이신(α -, β -, γ -casein)은 전체 유단백질의 거의 80%를 점유하고 있으며, 이러한 유단백질 유전자의 발현과 유도는 여러 요인에 의해 영향을 받는다.⁸⁾ 예를 들면 호르몬과 효소, 그리고 RNA 전사, mRNA 안정성, 단백질 전이 수준, 핵과 세포질내의 이동 등을 들 수 있다. 계단식 성장패턴을 경험한 생쥐의 경우 세포의 증식과 함께 유단백질 유전자의 발현이 증가된다는 연구 결과가 보고된 바 있다.⁹⁾

계단식 보상성장 패턴을 경험한 쥐의 경우 유선세포의 분화가 촉진되어 유생산량 증진과 유단백질 유전자의 발현이 증가한다는 보고가 있지만 이러한 변화가 다음 포유기에도 지속적으로 유지되는 지에 대해서는 현재까지 알려진 것이 없다. 따라서, 본 연구에서는 이러한 보상성장을 경험한 쥐의 유생산량과 유단백질 유전자의 발현 정도가 다음 포유시기에도 지속적으로 유지되는 지에 대해서 조사를 하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 동물시험

60마리의 3주령된 Sprague Dawley 실험용 쥐(Harlan Corp., IN, USA)를 25℃의 적정온도와 상대습도가 50% 되는 조건하의 개별 케이지에서 사육하였다. 자동으로 광원을 조절하여 12시간은 낮을, 12시간은 밤을 유도하였다. 시험에 들어가기 전에 대상쥐들은 일주일간 적응기를 두었다. 4주령이 된 실험쥐들은 대조군과 계단식 성장패턴군(stair-step compensatory nutrition, SSCN)으로 임의 배치하였다. 대조군에는 대조군 사료를 자유 급여하였으며(Table 1), 실험군은 계단식 성장패턴체계에 따라 3-2-3-4-week 방식으로 사료를 급여하였다. 즉 3주간은 에너지 제한 사료를 60% 공급하였으며, 그 다음 2주간은 대조군 사료를 급여하였다(Fig. 1). 실험군의 쥐들은 처리기간이 종료된 후에는 대조군과 비교하여 전체적으로 20% 에너지 제한 효과를 가지도록 설계하였다.

에너지 제한용 사료는 에너지 함량을 제외하고는 단백질, 베타민, 광물질의 양이 대조군 사료와 동일한 수준이 되도록 준비하였다. 계단식 성장패턴 시기가 종료된 후(16주령)에는 실험군의 대상동물에게도 대조군 사료를 계속적으로 급여하였다. 사료성분의 조단백질양과 에너지함량은 AOAC 방법¹⁰⁾에 의해 분석하였다.

실험용 쥐들은 두 번째 보상성장시기에 교배를 시켰으며, 임신에 실패한 쥐들은 시험에서 제외시켰다. 한배 새끼수는

분만후 3일 쯤되는 날 어미당 8마리로 보정하고, 분만후 21일만에 이유를 시켰다. 이유후 1주일 만에 어미쥐들을 2번째 임신을 위해 교배시켰다

2. 유선조직에서 RNA 검출 및 Northern blotting 검사

Table 1. Ingredients and chemical composition of experimental diets of rats

Ingredients ¹⁾	Control	SSCN ²⁾
g/kg diet		
Ingredient		
Casein	200	334
DL-methionine	3	5
Sucrose	500	285
Corn starch	150	85
Fiber	50	83.5
Corn oil	50	129
AIN mineral mix ³⁾	35	58.5
AIN vitamin mix ⁴⁾	10	16.7
Choline bitartrate	2	3.3
Chemical analysis		
Crude protein, g/kg	180	314
Gross energy, MJ/kg	18.9	19.6
Digestible energy, MJ/kg ⁵⁾	17.0	17.6

1) All ingredients were purchased from ICN Biochemicals(Costa Mesa, CA).

2) SSCN = stair-step compensatory nutrition

3) Consists of calcium phosphate(500g), sodium chloride(74g), potassium citrate(220g), magnesium oxide(24g), potassium sulfate(52g), manganous carbonate(3.5g), ferric citrate(6g), zinc carbonate(1.6g), cupric carbonate(0.3g), sodium selenite(0.01g), potassium iodate(0.01g), and chromium potassium sulfate(0.55g) per kilogram of mixture and sucrose to make 1kg

4) Consists of thiamineHCl(600mg), riboflavin(600mg), pyridoxineHCl(700mg), nicotinic acid(3g), D-calcium pantothenate(1.6g), folic acid(200mg), D-biotin(20mg), cyanocobalamin(1mg), vitamin A(400,000IU), vitamin E(5,000IU), vitamin D3(2.5mg), and vitamin K(5.0mg) per kilogram of mixture and sucrose to make 1kg

5) Digestible energy = 0.9 × gross energy

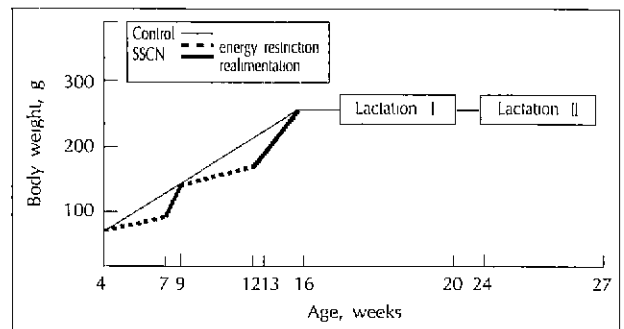


Fig. 1. Compensatory growth scheme of female rats. Weaning female rats were assigned to either control or stair-step compensatory nutrition(SSCN) groups. The control group was fed a diet containing 18% crude protein and 17 digestive energy MJ/kg throughout the trial period. The SSCN group was fed according to an alternating 3-2-3-4 week schedule beginning with an energy restriction diet(40% energy restriction) for 3 weeks followed by a control diet(*ad libitum*) for 2 weeks as shown above.

임신한 쥐와 비유중인 쥐에서 유선조직을 채취하여 -70°C에 분석할 때까지 저장하였다. 냉동된 조직으로부터 guanidine thiocyanate을 사용하여 RNA를 추출하였다.¹¹⁾ 추출된 total RNA(20µg/lane)을 2mol/L formaldehyde가 함유된 1.2% agarose gel을 이용하여 전기영동한 후 nylon membrane으로 전이하였다. Rat casein cDNA (Dr. Jeff Rosen, Baylor Medical College, Houston, TX 기증)은 plasmid vector로부터 절단하여 probe로 사용하였다. Membrane은 50% formamide, 6×Denhardt's, 0.2% SDS가 함유된 buffer와 함께 42°C에서 3시간 동안 예비반응시켰다. Denatured cDNA probe들은 random priming method(Multiprime DNA labeling systems, Amersham Corp., Arlington Heights, IL, USA)을 이용하여 (α -³²P)dATP로 label시켰다. 예비반응된 membrane을 label된 cDNA와 함께 42°C에서 17시간 반응시켰다. 반응 후 membrane을 5X SSPE, 0.5% SDS가 함유된 buffer를 이용하여 상온에서 2번 세척하고 1X SSPE, 0.1% SDS를 이용하여 37°C에서 2번 추가로 세척하였다. Membrane은 -70°C에서 intensifying screen을 가진 X-ray 필름에 노출시켜 autoradiography한 다음 densitometer를 이용하여 발현정도를 정량하였다.

3. 단백질의 추출과 Western blotting 검사

유선조직을 hand-held tissue grinder로 균일하게 파쇄한 후 sonication 시켰다. 12,000×g에서 10분간 원심분리하여 찌꺼기들을 제거한 후 추출한 단백질 농도를 Bradford 방법¹²⁾을 이용하여 측정하였다. 추출한 단백질(30µg/lane)은 sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel (SDS-PAGE)을 이용하여 전기영동한 후 nitrocellulose membrane으로 전이하였다. 0.5% bovine serum albumin으로 membrane을 blocking시킨 후 rat casein을 인식하는 단일항체(Charlotte S. Kaetzel, Case Western Reserve University, Cleveland, OH, USA 기증)와 반응시켰다. 1시간 후 PBS로 세척하고 HRP-labeled anti-mouse IgG 항체와 반응시킨 다음 ECL western blotting kit(Amersham Corp., Arlington Heights, IL, USA)을 사용하여 단백질 수준을 조사하였다. α -actin(Sigma-Aldrich Co. St. Louis, MS, USA)을 인식하는 항체로 단백질의 loading양을 보정하였다.

4. 통계처리

자료들은 one way classification으로 분석하였다. 처리간의 통계적 유의성은 SAS/STAT^{TM13)}의 general linear model을 이용하여 분석하였다. p < 0.05의 경우 유의성을

인정하였다.

결과 및 고찰

1. 사양시험

보상성장을 유도하는 사양시험 기간동안에 실험군 쥐의 사료 섭취량은 대조군에 비해 유의적으로(p < 0.05) 감소하였다(13.4 ± 0.41 vs. 16.2 ± 0.44g/d). 이론상으로 보상성장기에 있는 쥐는 에너지 섭취 제한기간동안에 60%. 보상성장기간에 100%의 사료를 섭취하여 대조군 보다 전체적으로 20% 정도 적은 에너지를 섭취하도록 설계하였다. 사양시험 결과 실질적인 에너지 섭취량은 대조군에 비해 보상성장기가 섭취량 제한기간동안에는 57.2%의 사료만 섭취하였고, 보상성장기간 동안에는 대조군에 비해 102.5%의 사료를 섭취하여 전체적으로 20.2%의 에너지섭취량 감소를 나타내었다 이는 계단식 성장패턴에 의해 전반적인 에너지 섭취량이 감소하였음을 의미한다.

2. 유생산능력

계단식 성장패턴을 경험한 쥐에서 유생산능력은 보정된 새끼쥐의 무게를 이용하여 간접적으로 산출하였다. Table 2에서 보는 바와 같이 분만 후 15일째의 한배새끼 무게는 실험군이 대조군에 비해 유의적으로 증가하였다. 즉, 어미 쥐의 분만 후 15일경의 추정된 유생산 능력은 첫 번째 포유 기간에는 대조군보다 실험군이 대략 12% 정도 증가(p < 0.05) 하였으며, 두 번째 포유기간에는 대조군에 비해 실험

Table 2. Daily pup gains and lactation performance over two lactation cycles of rats fed a control diet or on a compensatory nutrition regimen

Response variable	Number of dams, n	Control ³⁾	SSCN ³⁾
Daily pup gain, g/d			
First lactation	22	2.25 ± 0.10 ¹⁾	2.64 ± 0.14 ²⁾
Second lactation	10	2.33 ± 0.14	2.74 ± 0.19*
Estimated milk yield ⁴⁾ , g/d			
First lactation	22	26.80 ± 1.03	31.19 ± 1.12*
Second lactation	10	28.52 ± 1.42	35.04 ± 1.54*

1) Mean ± S.D.

2) Significantly different between two groups(*p < 0.05)

3) The control group had free access to diet; the SSCN group was subjected to an alternating energy-restricted and energy-realignment nutrition regimen. SSCN = stair-step compensatory nutrition.

4) Milk yield on day 15 of lactation was estimated by the stepwise forward multiple regression equation as follows: yield = [0.0322 + (0.0667 × weight) + (0.877 × gain)] × 8, where yield is total milk yield per litter(g). Weight is average pup weight on day 15 of lactation(g), gain is average rate of pup weight gain on day 15(g/d), and 8 is litter size on day 15 of lactation(Sampson DA, Jansen GR. Measurement of milk yield in the lactating rat from pup weight and weight gain. J Pediatr Gastroenterol Nutr 3: 613-617, 1984).

군이 22% 높은 수치($p < 0.05$)를 나타내었다. 이러한 연구 결과는 첫 번째 포유기에 8.5%, 두 번째 포유기에 12%의 유생산능력이 증가했다는 기존의 연구결과¹⁴⁾ 보다 향상된 결과를 나타내 주고 있다. 따라서 성장초기에 잘 조절된 계단식 성장패턴은 동물의 보상성장을 유도하여 향후 유생산능력에 중요한 영향을 미친다는 것을 알 수 있다.

3. 유단백질 유전자의 발현

Table 3은 첫 번째 교배후 임신기와 포유기에 있는 실험 쥐의 유선조직에서 casein mRNA의 발현 수준을 나타내고 있다. 임신기간동안에는 유선조직에서의 α - β -casein mRNA 수준이 대조군보다 실험군이 각각 10%, 7% 증가하였다. 포유기동안 실험군의 유선조직에서 β -casein mRNA의 발현 수준은 대조군에 비해 32% 증가하였고, α -casein mRNA의 발현 수준은 49% 증가하여 통계적인 유의성($p < 0.05$)을 나타내었다. 이러한 결과는 계단식 성장패턴에 의해 유선에서의 유단백질 유전자의 발현이 증가하였음을 나타내 주고 있다. 보상성장을 경험한 쥐의 경우 casein과 whey acidic protein의 RNA수준이 비유기에서 2-4배까지 증가하였다는 연구결과가 보고된 바 있다.⁹⁾ 이러한 유단백질 유전자의 발현 증가는 여러 호르몬에 의해 영향을 받게 되는데, 이는 유단백질 유전자들의 promoter 부위에 여

Table 3. The levels of casein RNA transcripts in mammary tissues during the first lactation cycle¹⁾

	Pregnancy		Lactation	
	Control	SSCN	Control	SSCN ⁴⁾
α -casein	40.5 \pm 1.82	44.7 \pm 2.91	86.6 \pm 1.35 ³⁾	128.7 \pm 2.44 ^{*3)}
β -casein	38.4 \pm 1.52	41.2 \pm 1.68	81.8 \pm 5.69	107.8 \pm 6.10*

1) Total RNA which was extracted from individual mammary tissues was blotted onto nylon membranes, and hybridized with casein cDNA. Relative intensity of individual bands on autoradiograms was determined by laser densitometry, where specific activity = relative intensity per microgram of RNA.

2) Mean \pm S.D., n = 5

3) Significantly different between two groups(* $p < 0.05$)

4) SSCN = stair-step compensatory nutrition.

Table 4. The levels of casein RNA transcripts in mammary tissues from the second lactation cycle¹⁾

	Pregnancy		Lactation	
	Control	SSCN	Control	SSCN ⁴⁾
α -casein	32.9 \pm 1.91	35.5 \pm 2.25	215.9 \pm 7.37 ³⁾	250.5 \pm 10.40 ^{*4)}
β -casein	28.2 \pm 3.32	31.9 \pm 2.59	189.7 \pm 4.58	220.5 \pm 9.27*

1) Total RNA which was extracted from individual mammary tissues was blotted onto nylon membranes, and hybridized with casein cDNA. Relative intensity of individual bands on autoradiograms was determined by laser densitometry, where specific activity = relative intensity per microgram of RNA.

2) Mean \pm S.D., n = 5

3) Significantly different between two groups(* $p < 0.05$)

4) SSCN = stair-step compensatory nutrition.

러 호르몬들과 반응할 수 있는 결합부위가 존재하여 유단백질 유전자의 발현을 조절하기 때문으로 알려져 있다.⁸⁾¹⁵⁾ 예를 들면, prolactin은 유단백질 유전자의 발현과 젖분비를 증가시키는 역할을 하며,¹⁶⁾ 보상성장기에 혈중 prolactin의 농도는 대조군보다 상대적으로 높다는 연구보고가 있다.¹⁷⁾ 이외에도 insulin, hydrocortisone 등이 유단백질 유전자의 발현과 mRNA의 안정성을 조절하는 것으로 알려져 있다.¹⁸⁾¹⁹⁾

두 번째 임신기간동안의 casein mRNA의 유선내 발현 정도를 조사한 결과는 Table 4에 제시되어 있다. 임신기에 α - β -casein mRNA의 양은 대조군에 비해 실험군에서 각각 8%, 13% 증가하였으며, 이러한 증가세는 초산의 경우와 비슷한 경향을 나타내었다. 포유기동안 실험군의 유선세포에서 α - β -casein mRNA의 발현은 대조군에 비해 각각 16% 정도 유의적으로 증가($p < 0.05$)하였다. 이는 초산때의 casein 발현정도보다 낮은 비율이지만 계속적으로 보상성장군에서 발현되는 casein의 양이 상대적으로 많다

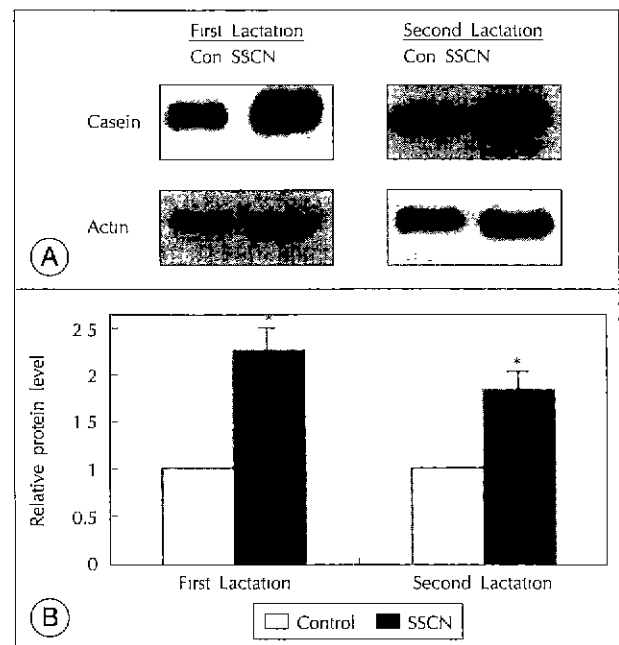


Fig. 2. The expression of α - β -casein protein in lactating mammary tissues during early lactation of the first and second lactation cycles of rats fed a control diet or subjected to a compensatory nutrition regimen.(A) Total cell extracts were loaded onto 10% SDS-PAGE. After transblotting, the membranes were blocked, and incubated with monoclonal antibody against rat casein. CON = control group, SSCN = stair-step compensatory nutrition group. The α -actin was used to adjust for difference in protein loading.(B) The relative abundance of casein in cytosol from lactating mammary tissues was determined from mammary tissues from individual rats. Values are arbitrary densitometric unit means \pm S.D., n = 4, and the control was set to a value of one in all cases. An asterisk indicates difference between control and compensatory nutrition group means($p < 0.05$).

는 것을 나타낸다. 이러한 결과는 보상성장을 경험한 어미 쥐의 유선세포가 대조군에 비해 보다 높은 세포의 기능 활성도(functional activity)를 유지하고 있음을 나타낸다. 이러한 유단백질 유전자 발현의 증가는 호르몬의 작용외에도 유단백질 유전자의 methylation 정도에 따라 영향을 받는 것으로 알려져 있으나 아직 구체적인 작용기작에 대해서는 알려진 것이 없다. 생리적 단계별로 연구 조사하였을 경우 임신전과 임신기간동안에는 casein 유전자들의 조절 부위가 비유기에 비해 상대적으로 hypermethylation 되어있다는 연구 결과가 있으며,²⁰⁾ κ-casein의 발현은 κ-casein 유전자의 methylation 정도와 역의 관련이 있다는 연구 결과가 보고되었다.²¹⁾ 보상성장을 경험한 쥐의 유선조직에서 유단백질 유전자의 DNA methylation 정도를 조사해 본 결과 대조군에 비해 상대적으로 낮은 수준의 methylation 이 되어 있다는 연구 결과가 최근에 보고되었다.²²⁾

이러한 실험군의 유선세포에서 RNA 발현의 증가가 계속적으로 단백질의 합성에도 영향을 미치는 지를 조사하기 위해 각 임신기간별로 casein 단백질의 발현 수준을 western blotting을 이용하여 조사하였다(Fig. 2) 그 결과 유선조직내 casein RNA 발현 수준과 일치하는 결과를 얻을 수 있었다. 즉, 계단식 성장패턴을 경험한 쥐의 유선조직에서는 casein 단백질의 수준이 첫 번째 포유기의 경우 2.2배, 두 번째의 경우는 1.8배 증가하는 결과를 나타내었다. 이러한 결과는 어린시기에 경험한 보상성장에 의해 어미쥐의 유선조직은 보다 높은 유생산능력과 향상된 유단백질 유전자의 발현 수준을 지속적으로 유지하고 있음을 나타내 주고 있다.

유선세포내의 유단백질 유전자의 발현 증가는 유선조직의 기능 활성화 정도를 나타내는 것으로 본 연구 결과를 보면 이러한 유선세포의 활성화는 다음 번 포유기에도 지속적으로 영향을 미치는 것으로 판단할 수 있다. 이러한 보상성장에 의한 유선세포의 활성화는 유선세포수의 증가(hyperplasia)에 의해 유도된다. 즉 보상성장에 의해 증가된 유선세포는 유생산량의 증가를 유도하고 보다 많은 유단백질 유전자를 발현하게 한다. Brd U를 이용한 immunohistochemistry 방법에 의해 유선세포수를 조사한 결과 임신말기와 포유초기에 유선세포수가 대조군에 비해 보상성장군에서 각각 1.4배, 2.7배 증가한다²³⁾는 사실이 알려져 있다 이외에도 포유 후반기에 유선세포는 세포사멸의 과정²⁴⁾²⁵⁾을 겪게되는데 보상성장을 경험한 세포는 세포사멸신호에 저항하는 경향이 대조군의 세포보다 강하여 오랜 기간 유단백질 등을 생산할 수 있다고 한다. 즉, 포유기간의 후반부에는 유선세포의 사멸빈도가 증가하나, 보상성장을 경험한 쥐의 유선세포는 이러한 사멸 정도가 둔해진다¹⁴⁾²³⁾고 한다. 이러

한 유선세포의 활성화에 의해 증가된 유단백질 유전자의 발현으로 유생산량이 증가되었음에도 불구하고, 어미젖의 유 성분 변화 특히 유단백질의 분비량은 감소하지 않는 것으로 알려져 있다.³⁾

요약 및 결론

실험동물의 경우 에너지 섭취량 제한에 의해 어린시기에 성장을 제한한 다음 다시 에너지 섭취량을 늘려 보상성장을 유도하면 유생산량이 증가하는 것으로 알려져 있다.¹⁾¹¹⁾¹⁵⁾²⁶⁾²⁷⁾ 최근에는 이러한 유생산량의 증가가 다음 포유기에도 지속적으로 유지된다고 하였으며, 이는 유선세포수의 증가와 세포 사멸의 둔화로 인해 이루어진다고 알려져 있다. 그렇지만 세포의 활성정도를 나타내는 유단백질 유전자의 발현에 대한 연구는 보고된 바가 없었다. 따라서 본 연구에서는 어린시기에 보상성장을 유도한 후 두 번의 포유시기에 걸쳐 유생산량과 유단백질 유전자의 발현 정도를 분자생물학적인 방법을 이용하여 조사한 결과 대조군에 비해 계단식 성장패턴을 경험한 실험군의 유선조직에서 향상된 유생산량을 나타냈으며, 유단백질 유전자의 발현도 증가하였다는 사실을 알 수 있었다. 이러한 결과를 극대화시키기 위해서는 생리학적으로 잘 정립된 보상성장패턴이 확립되어야 하며, 유생산량과 유단백질 유전자의 발현을 증가시키는 작용기작을 규명하는 연구가 계속적으로 진행되어야 할 것이다. 궁극적으로 이러한 연구 결과는 가축의 생산량을 증대시키기 위해 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

Acknowledgements

본 연구의 수행에 많은 도움을 주신 Wanda Keller, Chung S. Park 박사님께 감사드립니다.

Literature cited

- 1) Park CS, Jacobson NL. The mammary gland and lactation. In Swenson MJ, Reece WO eds. *Dukes' Physiology of Domestic Animals*. 11th ed. Ithaca, NY: Cornell University Press. pp.711-727, 1993
- 2) Park CS, Baik MG, Keller WL, Slinger WD. Dietary energy restriction-mediated growth and mammary development in rats. *J Anim Sci* 72 2319-2324, 1994
- 3) Park CS, Danielson RB, Kreft BS, Kim SH, Moon YS, Keller WL. Nutritionally directed compensatory growth and effects on lactation potential of developing heifers. *J Dairy Sci* 81 243-249, 1998
- 4) Weindrich R, Walford RL. Dietary restriction: effects on disease. In Weindrich R, Walford RL eds. *The Retardation of Aging and Disease by Dietary Restriction*. Springfield, IL: C.C. Thomas Publishers. pp.73-114, 1988
- 5) Choi YJ, Han IK, Woo JH, Lee HJ, Jang K, Myung KH, Kim YS. Compensatory growth in dairy heifers: the effect of a compensatory

- growth pattern on growth rate and lactation performance. *J Dairy Sci* 80: 519-524, 1997
- 6) Park CS. Heifer rearing for optimum lifetime production. In Garnsworthy PC, Wiseman J eds. Recent Advances in Animal Nutrition. Nottingham, UK Nottingham University Press, pp.165-180, 1998
 - 7) Shetty PS. Physiological mechanisms in the adaptive response of metabolic rates to energy restriction. *Nutr Res Rev* 3: 49-74, 1990
 - 8) Rosen JM, Jones WK, Campbell SM, Bisbee CA, Yu-Lee LY. Structure and regulation of peptide hormone-responsive genes. In: Membrane Receptors and Cellular Regulation, Czech and Kahn, ed., pp. 383-396, 1985
 - 9) Park CS, Choi YJ, Keller WL, Harrold RL. Effects of compensatory growth on milk protein gene expression and mammary differentiation. *FASEB J* 2: 2619-2624, 1988
 - 10) AOAC Official Methods of Analysis(15th Ed.) Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, 1990
 - 11) Chomczynska P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 162: 156-159, 1987
 - 12) Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 72: 248-254, 1976
 - 13) SAS. SAS/STAT Users Guide(Release 6.03). SAS Inst. Inc., Cary, NC, 1988
 - 14) Moon YS, Park CS. Nutritionally-directed compensatory growth enhances mammary development and lactation potential in rats. *J Nutr* 129: 1156-1160, 1999
 - 15) Rillema JA. Development of the mammary gland and lactation. *TEM* 5: 149-154, 1994
 - 16) Guyette WA, Matusik RJ, Rosen JM. Prolactin-mediated transcriptional and post-transcriptional control of casein gene expression. *Cell* 17: 1013-1023, 1979
 - 17) Onischuk LA, Kennedy AD. Growth hormone, insulin, prolactin and glucose levels in ewe and ram lambs during normal and compensatory growth. *Dom Anim Endocr* 7: 365-381, 1990
 - 18) Doppler W, Groner B, Ball RK. Prolactin and glucocorticoid hormones synergistically induce expression of transfected rat β -casein gene promoter constructs in a mammary epithelial cell line. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 104-108, 1989
 - 19) Topper YJ, Freeman CS. Multiple hormone interactions in the developmental biology of the mammary gland. *Physiol Rev* 60: 1049-1106, 1980
 - 20) Qasba FK, Dandeka AM, Horn TM, Losonczy I, Siegel M, Sobiech KA, Nakhasi HL, Devinoy E. Milk protein gene expression in the rat mammary gland. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 165-186, 1982
 - 21) Thompson MD, Nakhasi HL. Methylation and expression of rat α -casein gene in normal and neoplastic rat mammary gland. *Cancer Research* 45: 1291-1295, 1985
 - 22) Choi YJ, Jang K, Yim DS, Baik MG, Myung KH, Kim YS, Lee HJ, Kim JS, Han IK. Effects of compensatory growth on the expression of milk protein gene and biochemical changes of the mammary gland in Holstein cows. *J Nutr Biochem* 9: 380-387, 1998
 - 23) Kim SH, Moon YS, Keller WL, Park CS. Compensatory nutrition-directed mammary cell proliferation and lactation in rats. *Br J Nutr* 79: 177-183, 1998
 - 24) Knight CH, Wilde CJ. Mammary cell changes during pregnancy and lactation. *Livest Prod Sci* 35: 3-19, 1993
 - 25) Strange R, Li F, Saurer S, Burkhardt A, Frus PR. Apoptotic cell death and tissue remodeling during mouse mammary gland involution. *Development* 115: 49-58, 1992
 - 26) Park CS, Baik MG, Keller WL, Berg IE, Erickson GM. Role of compensatory growth in lactation: a stair-step nutrient regimen modulates differentiation and lactation of bovine mammary gland. *Growth Dev and Aging* 53: 159-166, 1989
 - 27) Park CS, Erickson GM, Choi YJ, Marx GD. Effect of compensatory growth on regulation of growth and lactation: response of dairy heifers to a stair-step growth pattern. *J Anim Sci* 64: 1751-1758, 1987