

Polyamine에 의한 옥수수 Ribosome의 활성 촉진

金起男·李龍昱·沈雄燮

(高麗大學校 理科學 生物學科)

Stimulation of Ribosome Activity of *Zea mays* by Polyamine

Kim, Ki Nam, Yong Woog Lee and Woong Seop Sim

(Department of Biology, Korea University, Seoul)

ABSTRACT

As a part of the study on the relation between exogenous polyamines and various components necessary for protein biosynthesis in the germinating maize seeds, the effects of the polyamines on protein biosynthesis and ribosome activity were investigated. The protein biosynthesis activity by S-30 containing all components necessary for protein biosynthesis was increased by exogenous polyamines, spermidine, spermine and putrescine. As the concentration of polyamine treated was increased, the optimal Mg^{2+} concentration of *in vitro* poly U-dependent protein synthesis system was gradually reduced. However, the optimal Mg^{2+} concentration of poly U-dependent system containing optimal polyamine was 10 mM regardless of the sort of polyamine. It could be inferred that polyamines play an important part in protein biosynthesis in the higher plant, and that the role of polyamines take partially the place of Mg^{2+} action. The activities of ribosome and S-100 in protein biosynthesis were increased by 46.7% and 17.7% with spermidine, and by 44.1% and 16.2% with spermine, and by 29.1% and 19.3% with putrescine. It could be concluded that the increase of protein biosynthesis by polyamines is mainly owing to the ribosome activation.

緒 論

Polyamine은 동물, 미생물, 식물 등 모든 생물체에 존재하는 다가 양이온 물질로 DNA, RNA, 리보솜 등과의 결합을 통해 세포의 성장과 분화 등 다양한 생화학적 과정에 관여한다(Smith, 1985; Tabor and Tabor, 1984). 세포의 성장과 분화는 DNA, RNA 및 단백질의 생합성과 관련되므로 이들 고분자 물질 중 단백질의 생합성에 polyamine이 밀접한 관계가 있다는 것은 자명한 일이다. 미생물이나 동물들을 이용한 *in vitro*와 *in vivo* 연구에서 polyamine은 단백질의 생합성을 증가시키는 촉진효과를 갖고 있으며(Ito and Igarashi, 1990; Mitsui *et al.*, 1984; Igarashi and Morris, 1984; Kashiwagi *et al.*, 1989), 그 뿐 아니라

단백질 합성에 필요한 Mg^{2+} 이온과 부분적으로 대체되어 작용하는 효과도 있다고 알려져 있다(Rosano and Hurwitz, 1969; Atkins *et al.*, 1975; Igarashi *et al.*, 1975). 또한 polyamine은 Mg^{2+} 처럼 리보솜에 결합하여 70S 리보솜과 50S+30S 소단위체 사이의 평형상태를 이동시키거나(Rosano and Hurwitz, 1977; Igarashi *et al.*, 1975), 30S 소단위체의 구조와 기능유지(Weiss and Morris, 1973), 30S 소단위체의 안정화(Igarashi *et al.*, 1982)에도 관여하는 등 리보솜 수준에서 영향을 줌으로써 단백질 합성에 관여한다고 알려져 있고(Rosano *et al.*, 1983; Echandi and Algranati, 1975a, 1975b), tRNA 분자의 전체적인 folding이나(Quigley *et al.*, 1978) tRNA를 활성상태의 분자구조로 유지하는 데(Pochon and Cohen, 1972), 그리고 *in vivo*에서 aminoacyl-tRNA의 형성에도 Mg^{2+} 이온과 함께 의미있게 관여한다고 보고되었다(Lövgren *et al.*, 1978). 또한 지금까지 명확히 밝혀지지 않았지만 polyamine은 폴리펩티드 사슬의 개시 수준에(Ko-

본 연구는 1992년도 과학재단 목적기초 연구비의 지원에 의한 것이다.

neki *et al.*, 1975), 또한 신장 수준에(Gross and Rubino, 1989; Twardowski and Szczotka, 1989), 아니면 양쪽 단계 모두에(Algranati and Goldemberg, 1981) 영향을 줌으로써 단백질 합성에 관여한다고 보고되고 있다. 한편, polyamine은 해독의 정확성을 증가시켜 폴리펩티드로 아미노산의 misincorporation을 감소시키고 올바른 사슬 종결이 일어나도록 한다(Morch and Benicourt, 1980; Tabor and Tabor, 1982; Kurland, 1982; Hryniewicz and Vonder Haar, 1983; Ito and Igarashi, 1986). 그러나 아직 이런 해독의 정확성 증가가 나타나는 특정 단계에 대해서는 상세히 밝혀지지 않았고 다만 aminoacyl-tRNA가 리보솜으로 결합하는 초기 단계에서의 식별력을 향상시켜주며 이후의 교정 단계에도 관여하는 것같다고 보고되었다(Thompson *et al.*, 1981; Igarashi and Hashimoto, 1982; Thompson and Kalim, 1982).

이와 같이 단백질 합성에 미치는 polyamine들의 효과에 관한 지금까지의 연구는 주로 미생물과 동물을 대상으로 해서 단백질 생합성률, 리보솜의 활성, aminoacyl-tRNA 합성 및 결합, 폴리펩티드 사슬의 개시와 신장, 해독의 정확성에 미치는 polyamine의 효과에 초점을 맞추어 활발히 연구되었다. 고등식물의 경우에 있어서 polyamine들의 역할은 상세히 밝혀지지 않았지만 식물의 생장조절물질이나 또는 호르몬의 second messenger로 작용하며 식물의 세포분열, 배발생, 발근, 개화, 화분관 성장 및 과일 발생 등에 영향을 줄 뿐만 아니라, 식물의 노쇠현상과 에틸렌 생합성과도 밀접한 관계를 맺고 있다고 보고되었다(Evans and Malmberg, 1989). 그러나 아직까지 단백질 생합성에 미치는 영향에 대한 연구는 미흡한 실정이다. 그러므로 본 연구에서는 생체의 단백질 합성계를 만들고 이를 이용하여 polyamine인 putrescine, spermidine, spermine이 고등식물의 단백질 생합성에 관여하는 여러가지 구성요소들의 활성에 미치는 효과를 조사하여 미생물과 동물을 대상으로 해서 얻어진 연구결과들이 고등식물에도 보편적으로 적용되는지를 규명하고 고등식물 단백질 생합성에서 polyamine들의 작용기작을 밝히기 위한 연구의 일환으로 일차적으로 단백질 합성능과 리보솜의 활성에 미치는 polyamine들의 효과를 밝히고자 한다.

材料 및 方法

재료 및 종자의 발아. 비슷한 무계의 옥수수(*Zea mays* L. cv. Park early) 종자를 2% sodium hypochlorite 용액에 소독하고 증류수로 세척한 후 암처리에서 30°C를 유지시키면서 실험목적에 따라 polyamine이 포함되지 않은 Nitsch 배지에서 spermidine과 spermine 그리고 putrescine을 각각 포함하는 Nitsch 배지에 24시간 침윤시키고

동일한 배지에서 1~2일간 발아시켜 얻은 5~10 mm 정도의 유훈을 사용하였다.

생체의 단백질 합성계를 구성하는 물질의 분리. Sim과 Klämbt(1973, 1976)의 방법에 따라 생체의 단백질 합성계를 구성하는 물질을 분리하였고, 본 실험의 전 과정은 특별한 언급이 없는 한 0~4°C에서 수행하였다.

S-30의 조제. 수확한 옥수수 유훈을 완충용액 [100 mM Tris-HCl(pH 7.8), 50 mM KCl, 5 mM MgCl₂·6H₂O, 5 mM β-mercaptoethanol, 450 mM sucrose]으로 세척하여 물기를 제거하고 그중 10 g을 택하여 30 mL의 완충용액 I을 부가하여 Bühler homogenizer로 마쇄한 다음 4점의 거즈에 여과시켜 여과물을 3,500 g에서 5분간 원심분리한 후 상정액의 4/5를 취하여 28,000 g에서 15분간 원심분리시켜 그 상정액의 3/4을 취하여 이를 S-30 표품이라고 하였다.

폴리솜-리보솜과 S-100의 조제. S-30 표품에는 주로 소포체의 막에 폴리솜이 결합되어 있는 상태로 존재하는데 이것을 분리시키기 위해 S-30에 20% Triton X-100을 최종농도가 1%되게 부가하고, 이를 1 M sucrose를 포함하는 완충용액 I이 7 mL 들어있는 초원심분리 tube에 섞이지 않도록 가하여 105,000 g에서 3시간 원심분리하였다. 그 후 상정액은 버리고 침전물의 표면을 완충용액 I으로 세척한 후 2 mL의 완충용액 I으로 현탁시켜 이를 리보솜-폴리솜 표품이라 규정하였다. S-100의 조제는 Seal 등(1983, 1986)의 방법에 따라 시행하였다. S-30 표품을 105,000 g에서 2 시간 원심분리시켜 얻은 상정액을 S-100 표품이라 규정하였다.

생체의 단백질 합성을 위한 반응액. Sim과 Klämbt (1973, 1976)의 방법에 따라 반응액의 최종 부피가 0.6 mL이 되도록 조작하였다.

그 반응액에는 70 mM KCl, 0.6 μM ATP, 0.3 μM GTP, 0.01 μM CTP, 0.01 μM UTP, 1.25 μM PEP, 10 μg phosphoenolpyruvate kinase, 150 μg tRNA, 200 μg poly U, 그리고 ¹⁴C-phenylalanine을 제외한 각 아미노산 0.0125 μM 등이 포함되게 하였으며, 실험 목적에 따라 예정된 최종 농도에 맞추어 Mg²⁺ 이온을 부가하였고, 또한 S-30이나 리보솜-폴리솜 또는 S-100 등을 부가하였다. 여기에 마지막으로 ¹⁴C-phenylalanine을 0.35 μCi를 첨가하여 35°C에서 60분간 반응시켰다.

합성된 단백질 양의 측정. 생체의 단백질 합성 반응액을 35°C에서 60분 동안 배양한 후 0°C에서 15분간 냉각시켜 단백질 합성을 정지시키고, 각 반응액에 0.6 mL의 0.1 M ¹⁴C-phenylalanine과 0.1 mL의 0.5% bovine serum albumin(BSA) 그리고 0.1 M ¹⁴C-phenylalanine을 함유한 10% TCA를 1.3 mL 부가하여 반응을 정지시켰다. 이를 0°C에서 15분간 다시 냉각시키면서 RNA와 단백질을 침전

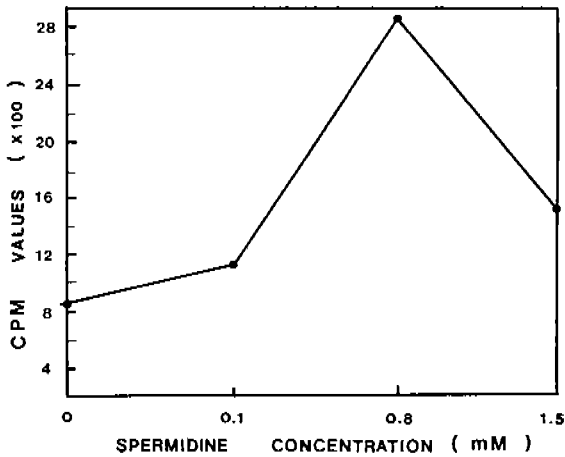


Fig. 1. Optimal spermidine concentration for *in vitro* protein synthesis. S-30 was prepared from the shoots not treated and treated with 0.1 mM, 0.8 mM or 1.5 mM spermidine. The reaction mixture contains 6 A₂₆₀ units of S-30 and 10 mM MgCl₂. Incubation was performed at 35 °C for 60 min.

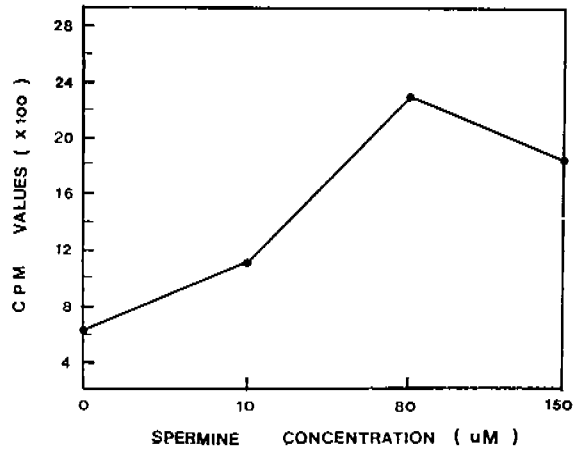


Fig. 2. Optimal spermine concentration for *in vitro* protein synthesis. S-30 was prepared from the shoots not treated and treated with 10 µM, 80 µM or 150 µM spermine. The reaction mixture contains 6 A₂₆₀ units of S-30 and 10 mM MgCl₂. Incubation was performed at 35°C for 60 min.

시키고 10,000 g에서 20분 동안 원심분리시켰다. 침전물을 0.05% ¹²C-phenylalanine이 함유된 10% TCA 용액 6 mL에 현탁시키고 침전물에 들어 있는 aminoacyl-tRNA를 가수 분해시키기 위해 90°C에서 15분간 증탕하였다. 증탕한 후 0°C에서 다시 15분 동안 냉각시킨 다음 10,000 g에서 10분간 원심분리시키고 침전물을 다시 0.05% ¹²C-phenylalanine이 함유된 10% TCA 용액에 현탁시켜 위와 같은 방법으로 2회 세척하였다. 세척 후 얻어진 침전물을 0.05% ¹²C-phenylalanine이 함유된 10% TCA 용액 6 mL에 현탁시켜 현탁액을 Satorius membrane filter SM 11306(pore size 0.45 µm)에 여과하여 단백질을 수집하였다. 수집된 단백질을 같은 TCA 용액으로 4회 세척한 후 membrane filter를 적외선등으로 건조시킨 다음 scintillation 용액(PPO 3g, POPOP 100 mg, toluene 1,000 mL)에서 그들의 방사능을 Beckman LS 100 Liquid Scintillation counter로 측정하여 합성된 단백질의 양을 결정하였다.

단백질의 정량. S-30, 리보솜-폴리솜, S-100의 정량은 Warburg와 Christian(1942) 방법에 의했다. 한편 필요시 Bradford(1976) 방법과 Lowry(1951) 방법에 의해서도 정량하였으며 표준 단백질로는 BSA를 사용하였다.

結果 및 考察

단백질 생합성에 영향을 미치는 polyamine의 최적농도. S-30에는 리보솜, mRNA 및 protein factor 등 단백질의 합성에 관여하는 물질들이 모두 포함되어 있다. 따라서

단백질 생합성에 영향을 미친다고 알려진(Tabor and Tabor, 1982, 1984) polyamine들이 고등식물인 옥수수에서의 최적농도를 알아내기 위해 spermidine과 spermine 그리고 putrescine을 각각 다른 농도로 처리하여 얻은 유묘로부터 S-30을 각각 분리하고 이러한 S-30을 이용하여 단백질 합성능을 조사한 결과, spermidine을 처리한 경우에 있어서는 대조구나 0.1 mM 또는 1.5 mM로 처리한 실험구보다 0.8 mM로 처리한 실험구에서(Fig. 1), spermine은 80 µM로 처리한 실험구에서(Fig. 2), putrescine은 8 mM로 처리한 실험구에서(Fig. 3) 최고의 단백질 합성능을 보였다. 이러한 사실은 단백질 합성에 영향을 미치는 spermidine과 spermine 그리고 putrescine의 최적농도가 각각 0.8 mM, 80 µM, 8 mM임을 말해주고 있다.

S-30의 단백질 합성능에 미치는 polyamine의 효과. 발아중인 옥수수 유묘에서 단백질 생합성에 polyamine이 어떠한 효과를 미치는지 알아보기 위하여 polyamine을 처리하지 않은 대조구와 spermidine, spermine, putrescine을 각각 최적농도로 처리한 실험구의 옥수수 유묘로부터 분리한 S-30을 이용하여 Mg²⁺ 이온의 최종농도를 변화시킨 poly U-dependent translation system에서 단백질 합성능을 조사하였다. 본 연구에서는 대조구의 S-30의 단백질 합성능에 비하여 10 mM Mg²⁺ 이온농도 일 때 0.8 mM spermidine을 처리한 S-30의 단백질 합성능은 약 2.15배 증가를 보였고, 8 mM putrescine을 처리한 경우에는 약 1.58배, 또한 80 µM spermine을 처리한 경우에는 약 1.88배가 증가하였다(Table 1). 이러한 사실은 미생물과

Table 1. Optimum Mg^{2+} concentration for *in vitro* protein synthesis system including polyamines. S-30 was prepared from the shoots not treated(CON) and treated with 0.8 mM spermidine(SPD), 80 μ M spermine(SPM) or 8 mM putrescine(PUT). The reaction mixtures contain 6 A_{260} units of S-30. Incubation was performed at 35°C for 60 min

Mg^{2+} concentration	cpm/6 A_{260} units of S-30				Rate of increase (fold)		
	CON	SPD	SPM	PUT	SPD	SPM	PUT
1 mM	240	334	302	228	1.39	1.26	0.95
5 mM	390	442	430	460	1.13	1.10	1.18
10 mM	482	1040	900	762	2.15	1.88	1.58
20 mM	496	580	522	550	1.17	1.05	1.11

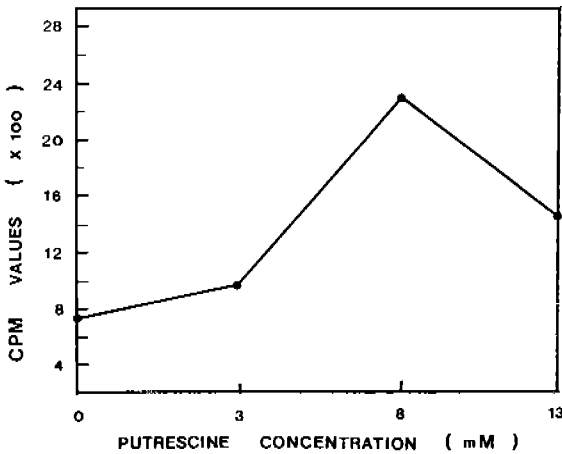


Fig. 3. Optimal putrescine concentration for *in vitro* protein synthesis. S-30 was prepared from the shoots not treated and treated with 3 mM, 8 mM or 13 mM putrescine. The reaction mixture contains 6 A_{260} units of S-30 and 10 mM $MgCl_2$. Incubation was performed at 35°C for 60 min.

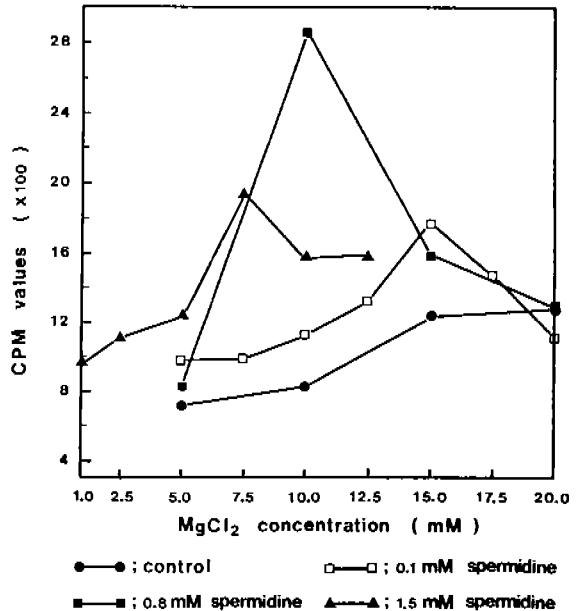


Fig. 4. Replaceable effect of spermidine to Mg^{2+} in protein synthesis activities of S-30. The reaction mixtures contain poly U and 6 A_{260} units of S-30 prepared from the shoots not treated and treated with 0.1 mM, 0.8 mM or 1.5 mM spermidine. Incubation was performed at 35°C for 60 min. ●-●, Control; □-□, 0.1 mM spermidine; ■-■, 0.8 mM spermidine; ▲-▲, 1.5 mM spermidine.

동물에서 polyamine이 유전자 발현의 해독과정에 영향을 준다는 보고들(Igarashi and Morris, 1984; Mitsui *et al.*, 1984; Ito and Igarashi, 1990)과 마찬가지로 고등식물인 옥수수에서도 polyamine은 단백질 합성을 촉진시키는 효과가 있다는 걸 의미한다. 또한 생체의 단백질 합성계의 최적 Mg^{2+} 이온농도가 polyamine의 첨가에 따라 20 mM에서 10 mM로 이동하여 나타난 것으로 보아 polyamine이 단순히 단백질 합성을 촉진시키는 효과 뿐만 아니라 Mg^{2+} 이온과 어느 정도 대체되어 작용할 수 있는 효과도 있다는 사실을 암시해 주고 있는데 이는 polyamine이 Mg^{2+} 이온과 대체되어 작용한다는 보고(Rosano and Hurwitz, 1969; Atkins *et al.*, 1975)와도 부합된다.

Mg^{2+} 이온 작용에 대한 polyamine의 대체 효과. Po-

lyamine은 Mg^{2+} 이온과 대체되어 작용할 수 있는 효과를 가지고 있다고 앞서 언급했는데 과연 어느 정도까지 대체되어 작용할 수 있는지 자세히 알아보기 위하여 polyamine들의 농도를 다르게 처리한 옥수수 유묘에서 각각 S-30을 분리하고 생체의 단백질 합성계의 Mg^{2+} 이온의 농도를 변화시키면서 단백질 합성능을 조사하였다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 polyamine을 처리하지 않은 대조구에서는

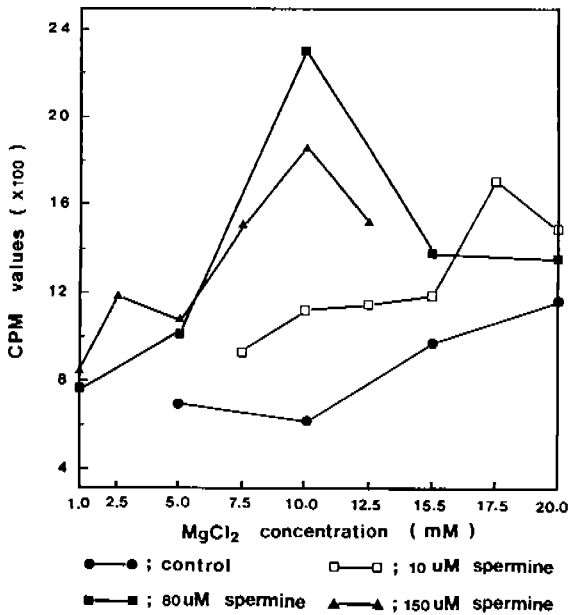


Fig. 5. Replaceable effect of spermine to Mg^{2+} in protein synthesis activities of S-30. The reaction mixtures contain poly U and 6 A_{260} units of S-30 prepared from the shoots not treated and treated with 10 μ M, 80 μ M or 150 μ M spermine. Incubation was performed at 35°C for 60 min. ●-●, Control; □-□, 10 μ M spermidine; ■-■, 80 μ M spermidine; ▲-▲, 150 μ M spermidine.

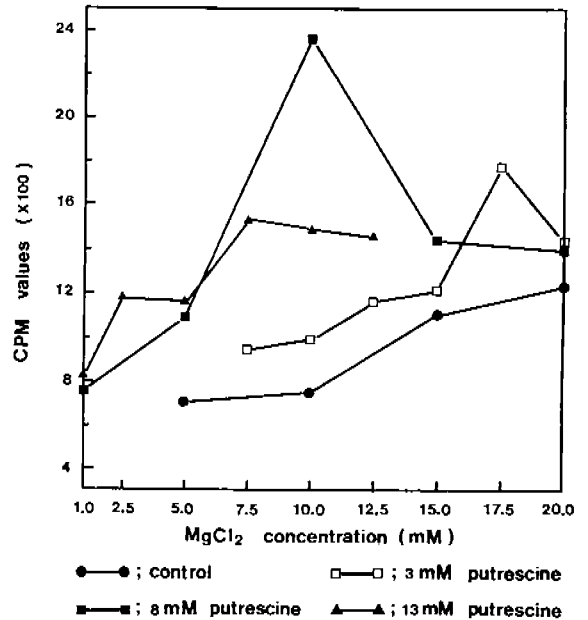


Fig. 6. Replaceable effect of putrescine to Mg^{2+} in protein synthesis activities of S-30. The reaction mixtures contain poly U and 6 A_{260} units of S-30 prepared from the shoots not treated and treated with 3 mM, 8 mM or 13 mM putrescine. Incubation was performed at 35°C for 60 min. ●-●, Control; □-□, 3 mM spermidine; ■-■, 8 mM spermidine; ▲-▲, 13 mM spermidine.

20 mM Mg^{2+} 이온농도에서 최고의 단백질 합성능을 보였고, 0.1 mM spermidine을 처리한 실험구에서는 15 mM Mg^{2+} 이온농도에서, 0.8 mM spermidine을 처리한 경우는 10 mM Mg^{2+} 이온농도에서, 그리고 1.5 mM spermidine을 처리한 실험구에서는 7.5 mM Mg^{2+} 이온농도에서 단백질 합성능이 최고로 나타났고, 또한 spermine이나 putrescine을 처리한 경우에도 비슷한 양상을 보여주고 있는데 (Figs.5 and 6) 이는 세 가지 polyamine 모두가 Mg^{2+} 이온과 대체되어 작용할 수 있다는 사실을 나타내 주고 있다. 다만 0.8 mM보다 1.5 mM spermidine을 처리한 경우에서, 80 μ M보다 150 μ M spermine을 처리한 경우에서, 그리고 8 mM보다 13 mM putrescine을 처리한 S-30을 이용하였을 때 단백질 합성능이 다소 감소하는 것으로 나타났는데 이러한 사실은 이미 미생물과 동물에서 알려진 보고(Rosano and Hurwitz, 1969; Atkins *et al.*, 1975)처럼 고등식물의 단백질 합성과정에서도 polyamine Mg^{2+} 이온 작용에 대해 다소 부분적으로만 대체되어 작용하는 역할을 수행한다는 사실을 암시해주고 있다.

리보솜과 S-100의 활성에 미치는 polyamine들의 효과.

Polyamine이 단백질 합성의 중요한 구성분자들 중

하나인 리보솜의 활성화에 어떠한 효과를 보이는지 알아보기 위해, polyamine을 처리하지 않은 대조구와 3가지 exogenous polyamine을 처리한 실험구의 발아중인 옥수수로부터 각각 분리해낸 S-30으로부터 리보솜과 S-100을 분리하여 이들을 생체의 단백질 합성계에 이용하여 polyamine의 효과를 실험하였다.

Polyamine은 Mg^{2+} 이온처럼 리보솜에 결합하고 리보솜 소단위의 결합을 촉진시키며 30S 소단위체의 구조와 기능 유지 또는 안정화에 작용하는 등 리보솜 수준에서 단백질 합성능에 영향을 미치며(Cohen and Lichtenstein, 1960; Weiss and Morris, 1973; Igarashi *et al.*, 1982), 단백질 합성 factor들의 활성(Koneki *et al.*, 1975; Gross and Rubino, 1989)과 aminoacyl-tRNA synthetase의 활성(Lovgren *et al.*, 1978)에도 관여한다고 알려져 있다. Table 2에서 보는 바와 같이 0.8 mM spermidine을 처리한 실험구로부터 분리한 리보솜과 S-100을 이용하였을 경우 ¹⁴C-phenylalanine이 polyphenylalanine으로 합성되는 양은 대조구에 비하여 각각 46.7%, 17.7% 더 많았고, 80 μ M spermine을 처리한 실험구는 각각 44.1%, 16.2%의 증가를 나타냈고, 8 mM putrescine을 처리한 실험구에서는 각각 29.1%, 19.3

Table 2. Effect of polyamines on the activities of ribosome and S-100. Ribosome and S-100 were prepared from the shoots not treated and treated with 0.8 mM spermidine, 80 μM spermine or 8 mM putrescine. The reaction mixtures contain 10 mM MgCl₂, 1 mg ribosome-polysome and 0.51 mg S-100. Incubation was performed at 35°C for 60 min. The data indicated the mean values of two experiments. * and ** correspond to samples prepared from the shoots not treated and treated with polyamines, respectively

Components of <i>in vitro</i> system	Incorporation and increase rates			Rate of increase (%)		
	cpm/mg ribosome			Spermidine	Spermine	Putrescine
	Spermidine (0.8 mM)	Spermine (80 μM)	Putrescine (8 mM)	Spermidine	Spermine	Putrescine
Ribosome*						
S-100*	1070	1080	866	0	0	0
Ribosome**						
S-100*	1570	1556	1118	46.7	44.1	29.1
Ribosome*						
S-100**	129	1255	1033	17.7	16.2	19.3
Ribosome**						
S-100**	1679	1690	1246	56.9	56.5	43.9

의 증가를 보였다. 또한 spermidine으로 처리된 리보솜과 S-100을 동시에 생체의 단백질 합성계에 이용하였을 경우에는 대구에 비하여 약 56.9%, spermine을 처리한 경우에는 약 56.5% 그리고 putrescine을 처리한 경우는 약 43.9%의 증가율을 보였다. 이와 같은 결과는 고등식물에서도 polyamine이 Mg²⁺ 이온처럼 리보솜에 결합하여 활성에 영향을 줌으로써 단백질 합성을 촉진시키며, S-100내 protein factor나 aminoacyl-tRNA synthetase 등의 활성에도 어느 정도 영향을 준다는 사실을 말해주고 있다.

앞으로 polyamine으로 처리된 60S와 40S 소단위를 각각 분리하고 그들의 활성을 생체의 단백질 합성계에서 측정하여 어떤 소단위체가 polyamine에 의하여 활성화되는지를 규명할 것이다. 또한 단백질 합성의 다른 과정 즉 aminoacyl-tRNA 형성 과정과 단백질 합성 개시나 신장과정에서의 polyamine 효과 및 해독의 정확성에 관여하는 polyamine 효과를 조사해 보아야만 고등식물의 단백질 합성에 대한 polyamine의 작용기작을 정확히 밝힐 수 있을 것으로 사료된다.

摘 要

단백질 생합성에 필요한 다양한 구성분자들과 polyamine들의 관련성을 규명하여 고등식물의 단백질 생합성 과정에서 polyamine들의 작용기작을 밝히기 위한 연구의 일환으로서 발아중인 옥수수에서의 단백질 생합성능과 리보솜의 활성에 미치는 polyamine들의 효과를 조사하였다.

단백질 합성에 필요한 모든 구성분자를 갖고 있는 S-30을 이용한 단백질 합성능은 polyamine들이 spermidine과 spermine 그리고 putrescine의 첨가로 인해 증가하였다. Spermidine 처리 농도를 점차로 증가시키에 따라 poly U가 존재하는 단백질 합성계의 Mg²⁺ 이온 최적 농도는 점차로 감소하였다. 그러나 최적 polyamine들을 함유한 poly U 의존 단백질 합성계의 최적 Mg²⁺ 농도는 polyamine들의 종류에 관계없이 모두 10 mM 이었다. Spermine과 putrescine이 단백질 생합성 과정에 미치는 효과도 spermidine의 경우와 비슷하였다. 따라서 polyamine들은 고등식물의 단백질 합성에 관여하며 그들은 Mg²⁺ 이온에 부분적으로 대체되어 작용하는 역할을 수행한다. 단백질 생합성의 구성분자인 리보솜과 S-100의 활성도 spermidine에 의해서 각각 46.7%와 17.7%, spermine에 의해서 각각 44.1%와 16.2%, putrescine에 의해서 각각 29.1%와 19.3%가 증가하였다. Polyamine들은 또한 리보솜을 활성화시킴으로써 단백질 합성을 촉진시킨다.

參 考 文 獻

Algranati, I.D. and S.H. Goldemberg. 1981. Initiation, elongation and termination of polypeptide synthesis in cell-free system from polyamine-deficient bacteria. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **103**: 8-15.
 Algranati, I.D., G. Ehandi, S.H. Goldemberg, S.C. Rundles and W.K. Maas. 1975. Ribosomal distribution in a poly-

- mines auxotroph of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* **124**: 1122-1127.
- Atkins, J.F., J.B. Lewis, C.W. Anderson and R.F. Gesteland. 1975. Enhanced differential synthesis of proteins in a mammalian cell-free system by addition of polyamines. *J. Biol. Chem.* **250**: 5688-5695.
- Bradford, M.M. 1976. 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.
- Cohen, S.S. and J. Lichtenstein. 1960. Polyamines and ribosome structure. *J. Biol. Chem.* **235**: 2112-2116.
- Echandi, G. and I.D. Algranati. 1975a. Protein synthesis and ribosomal distribution in a polyamine auxotroph of *Escherichia coli*: Studies in cell-free systems. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **62**: 313-319.
- Echandi, G. and I.D. Algranati. 1975b. Defective 30S ribosomal particles in a polyamines auxotroph of *Escherichia coli*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **67**: 1185-1191.
- Evans, P.T. and R.L. Malmberg. 1989. Do polyamines have roles in plant development? *Ann. Rev. Plant Physiol.* **40**: 235-269.
- Gross, M. and M.S. Rubino. 1989. Regulation of eucaryotic initiation factor(eIF)-2B activity by polyamines and amino acid starvation in rabbit reticulocyte lysate. *J. Biol. Chem.* **264**: 21879-21884.
- Hryniciewicz, M.M. and R.A. Vonder Harr. 1983. Polyamines enhance readthrough of the UGA termination codon in a mammalian messenger RNA. *Mol. Gen. Genet.* **190**: 336-343.
- Igarashi, K. and D.R. Morris. 1984. Physiological effects in Bovine Lymphocytes of inhibiting polyamine synthesis with Ethylglyoxal bis(guanylhydrazone). *Cancer Res.* **44**: 5332-5337.
- Igarashi, K., K. Hara, Y. Watanabe, S. Hirose and Y. Takeda. 1975. Polyamine and magnesium contents and polypeptide synthesis as a function of cell growth. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **64**: 897-904.
- Igarashi, K., S. Hashimoto, M. Miyake, K. Kashiwagi and S. Hirose. 1982. Increase of fidelity of polypeptide synthesis by spermidine in Eukaryotic cell-free systems. *Eur. J. Biochem.* **128**: 597-604.
- Igarashi, K., T. Kakegawa and S. Hirose, 1982. Stabilization of 30S ribosomal subunits of *Bacillus Subtilis* W168 by spermidine and magnesium ions. *Biochim. Biophys. Acta.* **697**: 185-192.
- Ito, K., K. Igarashi. 1986. The increase by spermidine of fidelity of protamine synthesis in a wheat-germ cell-free system. *Eur. J. Biochem.* **156**: 505-510.
- Ito, K., K. Igarashi. 1990. Polyamine regulation of the synthesis of thymidine kinase in Bovine Lymphocytes. *Arch. Biochem. Biophys.* **278**: 277-283.
- Kashiwagi, K., Y. Sakai and K. Igarashi. 1989. Polyamine stimulation of ribosomal synthesis and activity in a polyamine-dependent mutant of *Escherichia coli*. *Arch. Biochem. Biophys.* **268**: 379-387.
- Konecki, D., G. Kramer, P. Pinphanichakorn and B. Hardesty. 1975. Polyamines are necessary for maximum *in vitro* synthesis of globin peptides and play a role in chain initiation. *Arch. Biochem. Biophys.* **169**: 192-198.
- Kurland, C.G. 1982. Translational accuracy *in vitro*. *Cell* **28**: 201-202.
- Lowry, O.H., N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**: 265-275.
- Lövgren, T.N.E., A. Petersson and R.B. Loftfield. 1978. The mechanism of aminoacylation of transfer ribonucleic acid. *J. Biol. Chem.* **253**: 6702-6710.
- Mitsui, K., K. Igarashi, T. Kakegawa and S. Hirose. 1984. Preferential stimulation of the *in vivo* synthesis of a protein by polyamines in *Escherichia coli*: Purification and properties of the specific protein. *Biochemistry* **23**: 2679-2683.
- Morch, M.D. and C. Benicourt. 1980. Polyamines stimulate suppression of amber termination codons *in vitro* by normal tRNAs. *Eur. J. Biochem.* **105**: 445-451.
- Pochon, F. and S.S. Cohen. 1972. 4-Thiouridine and the conformation of *E. coli* tRNA induced by spermidine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **47**: 720-726.
- Quigley, G., M.M. Teeter and A. Rich. 1978. Structural analysis of spermidine and magnesium ion binding to yeast phenylalanine transfer PNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **75**: 64-68.
- Rosano, C.L. and C. Hurwitz. 1977. Antagonistic action between spermidine and putrescine on association and dissociation of purified, run-off ribosomes from *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* **252**: 652-654.
- Rosano, C.L. and C. Hurwitz. 1969. Interrelationship between magnesium and polyamines in a pseudomonad lacking spermidine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **37**: 677-683.
- Rosano, C.L., S.C. Bunce and C.H. Hurwitz. 1983. Localization of polyamine enhancement of protein synthesis to subcellular components of *Escherichia coli* and *Pseudomonas* sp. strain Kim. *J. Bacteriol.* **153**: 326-334.
- Seal, S.N., A. Schmidt, and A. Marcus. 1983. Wheat germ eIF-2 and co-eIF-2. Resolution and functional characterization in *in vitro* protein synthesis. *J. Biol. Chem.* **258**: 10573-10579.
- Seal, S.N., A. Schmidt, and A. Marcus. 1986. The wheat germ protein synthesis system. *Methods. Enzymol.* **118**: 128-140.
- Sim, W.S. and D. Klambt. 1976. Isolation of two protein factors from maize involved in poly U-dependent polypep-

- nylalanine synthesis by maize ribosomes. *Planta*. **131**: 47-51.
- Sim, W.S. and Klambt. 1973. Ein *in vitro* protein-synthesis-systems aus Maiskeimlingen. *Planta*. **113**: 157-172.
- Smith, T.A. 1985. Polyamines. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **36**: 117-143.
- Tabor, C.W. and H. Tabor. 1984. Polyamines. *Ann. Rev. Biochem.* **53**: 749-790.
- Tabor, H. and C.W. Tabor. 1982. Polyamine requirement for efficient translation of amber codons *in vivo*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **79**: 7087-7091.
- Thompson, R.C. and A.M. Karim. 1982. The accuracy of protein biosynthesis is limited by its speed: High fidelity selection by ribosomes of aminoacyl-tRNA ternary complexes containing GTP [γ S]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **79**: 4922-4926.
- Tompson, R.C., D.B. Dix, R.B. Gerson and A.M. Karim. 1981. Effect of Mg^{2+} concentration, polyamines, streptomycin, and mutations in ribosomal proteins on the accuracy of the two-step selection of aminoacyl-tRNAs in protein biosynthesis. *J. Biol. Chem.* **256**: 6676-6681.
- Twardowski, T. and Z. Szczotka. 1989. The influence of selected polyamines on elongation binding factor 1 activity during the stratification of Norway Maple Seeds. *J. Plant. Physiol.* **134**: 32-36.
- Warburg, O. and W. Christian. 1942. Isolierung und Kristallisation des Gärungsferments Enolase. *Biochem. Z.* **310**: 384-421.
- Weiss, R.L. and D.R. Morris. 1973. Cations and ribosomal structure. I. Effects on the 30S subunit of substituting polyamines for magnesium ion. *Biochemistry* **12**: 435-441.

(1993. 1. 8 接受)