

Xanthomonas celebensis 5S rRNA의 몇 가지 삼차상호작용

趙峯來 · 李永勳[†] · 崔明彦 · 朴仁源*

서울대학교 자연과학대학 화학과

[†]한국과학기술원 화학과

(1992. 12. 2 접수)

Some Tertiary Interactions in 5S rRNA from *Xanthomonas celebensis*

Bongrae Cho, Younghoon Lee[†], Myung-Un Choi, and Inwon Park*

Department of Chemistry, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

[†]Department of Chemistry, Korea Advanced Institute of Science and Technology,

Taejon 305-701, Korea

(Received December 2, 1992)

요약. *Xanthomonas celebensis* 5S rRNA를 분리 정제하여 효소적 방법과 화학적 방법으로 그 일차구조 및 이차구조를 결정하였다. 이 5S rRNA는 119개의 뉴클레오타드로 구성되어 있으며 변형된 뉴클레오시드를 함유하고 있지 않다. 그리고 이 5S rRNA는 *X. maltophilia* 및 *X. citri*의 것처럼 5'-말단에 가외의 우리딘 잔기를 하나 더 가지고 있다. 결정한 *X. celebensis* 5S rRNA의 이차구조는 본 연구진이 이미 결정한 두 가지 *Xanthomonas* 종들의 것들과 매우 유사하며, 5개의 이중나선 줄기와 5개의 단일가닥 고리 그리고 2개의 내밀린 구조를 가지고 있다. *X. celebensis* 5S rRNA 분자 내의 삼차상호작용은 데옥시헥사머를 이용한 혼성체화법과 Fe(II)-EDTA를 사용하여 5S rRNA를 쪼개는 방법으로 분석하였다. 5S rRNA상의 U₃₅CCCAU₄₀ 부분을 상보성을 가진 데옥시헥사머를 혼성체화한 다음에 고리 M, 구역 I₁-C, 고리 H₁과 고리 H₂에 있는 약간의 아데노신 잔기들이 피로탄산 이에틸에 대한 감수성을 가지게 되는 사실과, Mg²⁺이 있는 조건에서 고리 M, 고리 H₁, 및 구역 D-I₂에 있는 약간의 뉴클레오타드 잔기들이 Fe(II)-EDTA의 분열작용에 저항성을 나타내는 사실에서 고리 H₁과 고리 H₂가 어떤 방법으로도 고리 M과 삼차상호작용을 하는 것으로 추측되며, 이 삼차작용에서 구역 I₁-C와 구역 D-I₂ 돌쩌귀로 작용하는 것으로 생각된다. 고리 H₁은 산성 조건(pH 5.5)에서 비표준형 염기쌍 A:C들을 형성함으로써 3개의 염기로 이루어지는 고리를 형성한다는 것을 알았다.

ABSTRACT. The primary and secondary structure of the 5S rRNA isolated from *Xanthomonas celebensis* were determined by enzymatic and chemical degradation methods. It consists of 119 nucleotides and contains no modified nucleosides. As with the 5S rRNAs of *X. maltophilia* and *X. citri*, it contains an additional uridine residue on the 5'-terminus. Its secondary structure was almost identical to the models previously proposed by us for the 5S rRNA of two *Xanthomonas* species. Its secondary structure consists of five helices, five loops and two bulges. The tertiary interactions in the 5S rRNA molecule were analyzed by Fe(II)-EDTA treatment and hybridization method using deoxyhexamer. From the fact that some adenine residues in loop M, region I₁-C, loop H₁, and loop H₂ become susceptible to diethylpyrrocarbonate when the 5S rRNA was hybridized with deoxyhexamer complementary to the sequence U₃₅CCCAU₄₀ and that some nucleotide residues in loop M, loop H₁ and region D-I₂ become resistant Fe(II)-EDTA cleavage in the presence of Mg²⁺, it is presumed that loops H₁ and H₂ interact with loop M in some way. In the tertiary interaction, the regions I₁-C and D-I₂ seem to act as hinges in folding the stems B-I₁-C and D-I₂-E. It was found that loop H₁ changes into a smaller loop of three bases by forming noncanonical A:C base-pairs in acidic environment.

서 론

원핵생물의 5S rRNA는 리보솜의 50S 소단위체의 구성성분이며, 23S rRNA와 더불어 단백질 합성에서 어떤 역할을 맡고 있을 것으로 생각되고 있지만 아직 그 명확한 기능은 밝혀져 있지 않다. 5S rRNA가 peptidyltransferase의 작용¹, GTPase의 작용², 또는 tRNA를 결합시키는 기능^{3,4} 등과 같은 단백질 합성에서의 중요한 역할을 할 것이라는 의견들이 있다.

아직 5S rRNA의 질 좋은 결정체를 얻지 못하고 있어서 그 삼차구조가 밝혀지지 않고 있다^{5,6}. 그렇지만, 최근에 와서 수용액에서의 5S rRNA들의 구조에 관한 연구가 여러 가지 생물종들에 대해서 이루어지고 있으며, Ehresmann의 연구진⁷과 Nazar의 연구진⁸들은 수용액에서의 5S rRNA의 삼차원 구조에 대한 모형들을 제안하고 있다.

Fe(II)-EDTA가 이중가닥으로 된 핵산과 단일가닥으로 된 핵산을 다 조개지만, tRNA와 5S rRNA의 고차원 구조에서 안쪽에 묻혀 있는 부분들은 공격을 하지 못한다는 것이 알려져 있다^{8,9}. 본 실험에서는 Fe(II)-EDTA를 비롯한 몇 가지 화학적 탐침과 효소적 탐침들을 사용하여 얻은 결과와 데옥시핵사머를 사용하여 분석한 결과들을 토대로 *Xanthomonas celebensis* 5S rRNA의 고차원 구조를 알아보고자 한다.

실 험

5S rRNA의 추출 및 정제. 페놀 추출법과 폴리 아크릴아미드 겔 전기이동으로 분리, 정제하였다.

5S rRNA의 일차구조 분석. Donis-Keller^{10,11}와 Peattie¹²들이 기술한 방법에 따라 분석하였다.

효소를 사용한 절단. 단일가닥에 특이한 효소로서는 핵산 가수분해효소 S₁과 리보핵산 가수분해효소 T₁을 사용하였고, 이중나선에 특이한 효소로서는 리보핵산 가수분해효소 V₁을 사용하였다¹³⁻¹⁵.

화학적 변형. Mg²⁺ 유무에 따라 아데닌의 카르복실화 반응과 구아닌의 케톡실화 반응은 조봉래 등^{16,17}의 방법에 따랐고 황산 이메틸(DMS)을 사용한 메틸화 반응은 고문주와 박인원의 방법¹⁸을 따랐다. KMnO₄를 사용해서 단일가닥에 노출된 우라실을 산화하는 반응은 다음과 같이 실시하였다¹⁹. 3'-말단

이 표지된 5S rRNA 수용액(약 2 μg) 2 μ를 200 μ의 복원 완충용액(50 mM 카코딜산 나트륨, pH 7.0, 10 mM 염화 마그네슘)과 섞은 다음, 60°C의 물증탕에 넣고 상온이 될 때까지 3시간 정도 방치하여 복원시켰다. 여기에 4 mM 과망간산 칼륨 2 μ를 가하고 상온에서 20분 동안 반응시켰다. 5S rRNA를 에탄올로 침전시켜서 거둔 다음에 아닐린으로 처리하여 산화된 우라실의 3'-쪽의 포스포디에스테르 결합을 절단하였다.

Fe(II)-EDTA를 사용한 절단. Fe(II)-EDTA를 사용한 반응은 Tullius와 Dombroski의 방법²⁰을 약간 변형하여 다음과 같이 실시하였다. 말단이 표지된 5S rRNA 수용액(약 2 μg) 2 μ를 복원 완충용액(50 mM 카코딜산 나트륨, pH 7.0, 10 mM 염화 마그네슘, 270 mM 염화 칼륨) 200 μ와 섞고 우라실의 산화반응에서 기술한 바와 같은 방법으로 복원시켰다. 여기에 0.4 mM (NH₄)₂Fe(SO₄)₂·6H₂O와 0.8 mM EDTA의 동량을 섞어서 만든 Fe(II)-EDTA 용액(신선하게 금방 만든 것) 10 μ, 0.6% H₂O₂ 10 μ, 20 mM 아스코르브산 나트륨 10 μ를 혼합한 후 상온에서 2~5분 동안 반응시킨 후 에탄올로 침전시켜서 반응을 중지시켰다.

데옥시핵사머를 사용한 혼성체 형성. 여기서 사용한 데옥시핵사머는 5S rRNA의 U₃₅CCCAU₄₀ 부분에 상보성을 가진 데옥시핵사머 ATGGGA이다. 혼성체화와 리보핵산 가수분해효소 H에 의한 처리는 Lorenz 등의 방법²¹을 따랐다. 말단이 표지된 5S rRNA를 복원 완충용액(20 mM Tris-HCl, pH 7.6, 5 mM 염화 마그네슘, 10 mM 염화 칼륨, 1 mM 디티오트라이톨(DTT), 0.05 μg/μ 철청 알부민)에 녹여서 우라실의 산화반응에서 기술한 바와 같은 방법으로 복원시켰다. 여기에 ATGGGA의 데옥시핵사머를 섞고 30°C에서 20분간 방치하여 DNA·RNA 혼성체를 만든 후 리보핵산 가수분해효소 H를 첨가하여 25분간 반응시킨 후 에탄올로 침전시켜 반응을 중지시켰다.

결과 및 고찰

일차구조. *X. celebensis* 5S rRNA는 119개의 뉴클레오타이드로 구성되어 있으며 변형된 뉴클레오시

```

1      10      20      30      40
pUUUUCUGGUGAAAUCAGCGCUGUGGAACCAACCCGAUCCCAU
      50      60      70      80
CCCGAACUCGGAAGUGAAACGCAGCUGCGCCGAUGGUAGU
      90      100     110     120
GUGGCUCAA-GCCAUGCGAGAGUAGGUCAUCGCCAGGGG-
    
```

Fig. 1. Primary structure of 5S rRNA from *X. celebensis*. The gaps at 90 and 120 are the deletions of nucleotides.

드를 함유하고 있지 않다(Fig. 1 참조). *X. maltophilia*와 *X. citri* 5S rRNA들에서 관찰된 바와 같이^{16,17}, *X. celebensis* 5S rRNA는 90번과 120번 위치의 염기가 결실되어 있으며 5'-말단에 우리던 잔기를 하나 더 가지고 있다.

이차구조. 앞에서 기술한 몇 가지 화학적 변형과 효소에 의한 절단의 결과들에 기초한 *X. celebensis* 5S rRNA의 이차구조 모형을 Fig. 2에 나타내었다. 이 모형은 두 가지 *Xanthomonas* 종들의 것들에 대해서 본 연구진이 제안한 모형들^{16,17}과 유사하였을 뿐 아니라 Wolters와 Erdmann²²이 제안한 일반화된 이차구조 모형과도 아주 유사하였다. 이 5S rRNA의 이차구조의 구조적인 특징들은 다음과 같다.

X. celebensis 5S rRNA의 A₁₀-A₁₁ 결합에 핵산 가수분해효소 S₁이 작용하는 것으로 보아서 고리 M에 인접한 A₁₀:U₁₁₀ 염기쌍은 불안정한 것으로 생각되며, A₁₀₉는 반변성된 상태에서 카르복실화 변형을 받는 것으로 보아서 이 자리는 Mg²⁺에 의해서 안정화되는 구역으로 보인다. 또한, G₁₆-C₁₇ 결합이 핵산 가수분해효소 S₁과 리보핵산 가수분해효소 T₁에 의해서 잘리고 C₆₈이 화학적 변형을 받는 것으로 보아서 G₁₆:C₆₈ 염기쌍과 C₁₇:G₆₇ 염기쌍들이 고리 M과 내밀린 U₆₆으로 인해 구조적으로 불안정해지기 때문에 단일가닥에 특이한 효소들에 의해서 작용을 받은 것으로 생각된다. 거의 모든 전성박테리아의 5S rRNA들은 66번 위치에서 아데닌 잔기를 내밀린 구조로 가진다. 그러나 *X. celebensis* 5S rRNA의 U₆₆이 과망간산 칼륨에 의해서 산화를 받는 것으로 보아서 우리실 잔기가 내밀린 구조인 것이 확실하다. 이 내밀린 구조는 RNA의

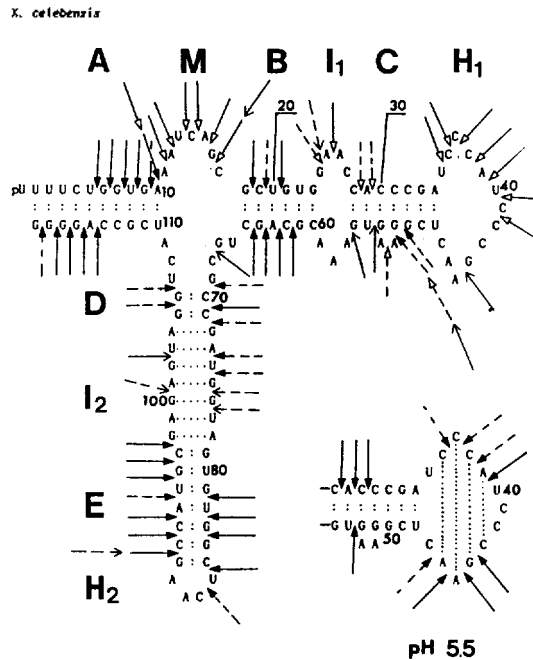


Fig. 2. Secondary structure of 5S rRNA from *X. celebensis*. The phosphodiester bonds cleaved by the enzymes are indicated on the structure. The dotted lines inside the loop H₁ in the insert indicate the base pairs that form in acidic pH (5.5).

	strong	weak
Nuclease S ₁	←	← - -
RNase V ₁	←	← - -
RNase T ₁	←	← - -

접합²³ 뿐 아니라 RNA-단백질 상호작용에 중요한 것으로 추측되고 있는데²⁴, 66번 위치는 잔기의 종류에는 관계없이 L18 리보솜 단백질과 작용한다고 보고되어 있다²⁵.

이중나선 C에 위치하는 C₂₈-A₂₉-C₃₀ 연속부분의 두 결합이 핵산 가수분해효소 S₁의 작용을 받고 51~56번 사이의 결합들이 핵산 가수분해효소 S₁과 리보핵산 가수분해효소 T₁의 작용을 받는 것으로 보아서 이중나선 C의 안정성은 내밀린 구조 A₅₃A₅₃의 왼쪽 부분, 즉 고리 I₁ 부분은 불안정한 이중나선을 이룰 것으로 생각된다. 그렇지만 pH 5.5에서 C₂₈-A₂₉-C₃₀-C₃₁ 연속부분의 새 결합들과 G₅₄-U₅₅ 결합이 리보핵산 가수분해효소 V₁의 작용을 받는 것으로 보아서 이 부분은 산성조건에서 더 안정한 이중나선을 이룰 것으로 생각된다. pH 5.5에서 C₃₆CCA₃₉와 C₄₃GAA₄₁

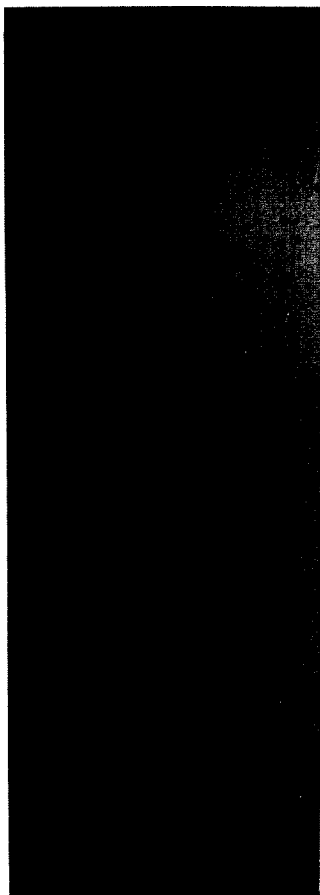


Fig. 3. Determination of kethoxylation sites in loop I₂ in native and semidenatured states of 5S rRNA. 5S rRNA solutions were prepared as follows: 5S rRNA was dissolved in 50 mM sodium cacodylate buffer (pH 7.0) containing 10 mM Mg²⁺ and heated to 60°C and then cooled to room temperature (native state); 5S rRNA was dissolved in the same buffer without Mg²⁺ containing 1 mM EDTA (semidenatured state). OH, alkali ladder; N and S, kethoxylation of guanine bases in native and semidenatured 5S rRNAs, respectively; T₁, partial digestion by RNase T₁.

연속부분들도 리보핵산 가수분해효소 V₁의 작용을 받았다. 이것은 산성 조건에서 아데닌의 N1 위치에 양성자가 첨가되어 A:C의 비표준형 염기쌍이 형성된다는 관찰²⁶과 잘 맞는다. Puglisi 등²⁷은 NMR를 이용해서 산성의 RNA에서 A⁺:C의 염기쌍이 존재한다는 것을 확인하였다.

고리 I₂에는 리보핵산 가수분해효소 V₁과 T₁이

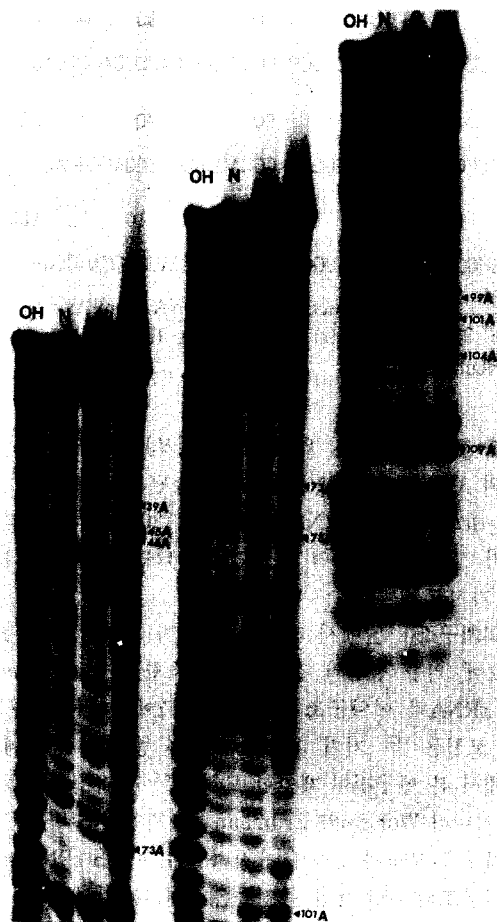


Fig. 4. Determination of carbethoxylation sites in native, semidenatured, and denatured states of 5S rRNA. Native and semidenatured 5S rRNA solutions were prepared as described in legend of Fig. 3. Denatured 5S rRNA was prepared by heating the 5S rRNA solution in sodium cacodylate buffer (pH 7.0) without Mg²⁺ at 90°C for 7 min. Carbethoxylation was carried out at this temperature. OH, alkali ladder; N, S and D, carbethoxylation of adenine bases in native, semidenatured and denatured 5S rRNAs, respectively.

작용할 뿐 아니라 핵산 가수분해효소 S₁도 약하게 작용한다. 이 고리에 존재하는 모든 구아닌과 아데닌들은 완전 복원된 상태(즉, 5S rRNA가 10 mM의 Mg²⁺이 함유하는 복원 완충용액에 녹아 있는 상태)에서는 각각 케톡실화 변형과 카르베톡실화 변형을 받지 않으나, 반면성된 상태(즉, 5S rRNA가 1 mM의 EDTA를 함유하는 완충용액에 녹아 있는 상태)에

서는 변형을 받는 것으로 보아서(Fig. 3 및 4 참조) 5S rRNA의 이 부분은 매우 유연하며 리보솜 상에서는 Mg^{2+} 또는 리보솜 단백질들이 A*G 염기쌍을 안정하게 만들것으로 유추된다. 이와 관련하여, 효모의 페닐알라닌 tRNA는 네 군데에서 Mg^{2+} 와 결합하여 tRNA의 구조를 안정하게 만든다는 것이 알려져 있다²⁸. G₉₁-C₉₂ 결합이 리보핵산 가수분해효소 T₁에 의해서 절단되는데, 이것은 고리 H₂에 인접한 C₈₅:G₉₁ 염기쌍이 다소 불안정한 것으로 생각되며 고리 H₂가 고리 H₁ 또는 고리 M과 삼차상호작용을 할 때 이 염기쌍이 해리되는 것으로 볼 수 있다. 이것은 지금까지 보고된 *Pseudomonas*와 *Xanthomonas* 종들의 모든 5S rRNA들에서 이 위치의 염기들이 매우 보상적 변이를 한다는 관찰²⁹에서도 유추할 수 있다.

자발적으로 분해되는 결합들. 효소 또는 화학시약을 사용하지 않은 조건에서도 5S rRNA가 몇 군데에서 자발적으로 분해되는 경향을 볼 수 있었다. *X. maltophilia* 및 *X. citri* 5S rRNA들처럼 C₁₄-A₁₅, C₂₈-A₂₉, C₃₈-A₃₉, C₄₁-C₄₂, C₆₂-A₆₃, U₇₇-A₇₈, C₉₃-A₉₄, U₁₀₃-A₁₀₄, C₁₀₈-A₁₀₉, 그리고 C₁₁₄-A₁₁₅ 등 10군데의 포스포디에스테르 결합들이 자발적으로 분해되는 것이 관찰되었다. 그 중 6군데가 단일가닥에 위치한다는 것은 매우 흥미있는 일이다. 이러한 현상이 리보핵산 가수분해효소의 오염에 기인된 것인지 확인하기 위해서 RNasin을 사용하였지만(결과는 나타내지 않았음), 위 결합들은 RNasin으로 처리하여도 여전히 분해되었다. 이러한 자발적 절단은 리보핵산 가수분해효소의 오염에 기인된 것이 아니라 RNA 구조에서 피리미딘-아데노신 결합이 가지는 불안정성 때문에 일어나는 것으로 보인다. 자발적으로 분해되는 결합들 중에서 C₄₁-C₄₂의 결합을 제외하고 나머지 모든 결합들이 피리미딘-뉴클레오시딘와 아데노신 사이의 포스포디에스테르 결합들이다. 아마도 이들은 모두 5S rRNA의 삼차원 구조에서 동일한 구조적 환경에 놓여 있을 것으로 추측된다. 따라서 *Xanthomonas* 종들의 5S rRNA들은 그 이차구조와 삼차구조가 비슷할 것으로 추정된다. 이 결합들이 Mg^{2+} 와 스퍼민의 농도가 높을 수록 잘 분해되지 않는다는 사실은(결과는 나타내지 않았음) 이 결합들이 리보솜 내에서 Mg^{2+} 또는 리보솜 단백질에 의해서 보호를 받을지도 모른

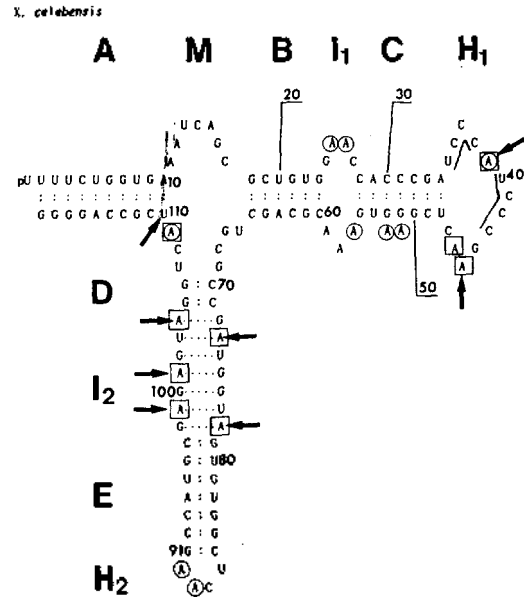


Fig. 5. Resistance to Fe(II)-EDTA cleavage in the presence of Mg^{2+} , and carbethoxylation of 5S rRNA after hybridization of 5S rRNA with deoxyhexamer. The lines drawn inside the loop H₁ indicate the sequence with which deoxyhexamer hybridize and the bonds that are cleaved by RNase H.

- Resistance to Fe(II)-EDTA cleavage in the presence of Mg^{2+} ←
- Carbethoxylation in the absence of Mg^{2+} (A)
- Additional carbethoxylation after hybridization with deoxyhexamer (A)

다는 것을 암시하는 것으로 생각된다. 이러한 결합들의 자발적 절단현상은 *Tetrahymena* ribozyme에서도 일어난다는 것이 관찰되었다³⁰.

삼차상호작용. *X. celebensis* 5S rRNA 고리 H₁의 U₃₅CCCAU₄₀에 상보적인 데옥시헥사머(ATGGGA)를 고리 H₁에 혼성체화한 다음에 리보핵산 가수분해효소 H로 처리한 결과(Fig. 5 참조)에서 올리고머는 고리 H₁의 U₃₅CCC₃₈에 혼성체화할 뿐 아니라 U₄₀-CCC₄₃에도 혼성체화한다는 것을 알 수 있었다. 고리 H₁이 데옥시헥사머와 혼성체를 만들지 않았을 때는 카르베톡실화 변형을 받지 않던 아데닌 잔기들 중 혼성체화된 다음에 변형되는 것들은 A₂₅, A₂₆, A₃₀, A₅₂, A₅₃, A₅₇, A₈₈, A₈₉, 및 A₁₀₉들이다(Fig. 5 참조). 이 결과는 5S rRNA의 고리 H₁이 5S rRNA 분자 내의 고리 M 부분과 직접적으로 삼차상호작용을 할

것이라는 가능성을 암시하며, 구역 I₁-C가 고리 H₁과 고리 M 사이의 상호작용에서 돌쩌귀의 역할을 할 것임을 암시한다. 그러나 구역 I₁-C를 구성하는 모든 뉴클레오타이드들이 복원된 상태에서 Fe(II)-EDTA에 의해서 잘린다는 것은 이 구역이 삼차구조 상에서 노출되어 있음을 나타낸다. 고리 M의 A₁₀₉가 복원된 상태에서는 카르베톡실화 변형을 받지 않지만, 반면성된 상태에서는 카르베톡실화 변형을 받는다는 사실과 고리 H₁의 A₃₉와 A₄₅ 및 U₁₁₀들이 복원된 상태에서는 Fe(II)-EDTA에 의해서 잘리지 않지만 반면성된 상태에서는 Fe(II)-EDTA에 의해서 잘린다는 사실은 이러한 삼차상호작용의 가능성을 뒷받침해 준다. 이와 비슷한 관찰은 Lorenz 등³¹이 효소 α-사르신을 사용하여 진성박테리아, 시생박테리아 및 진핵생물들의 5S rRNA에서 보고되었으며, 그들은 줄기 C와 고리 I₂ 부분이 삼차구조에서 많이 노출되어 있다고 제안하였다.

또한 *X. celebensis* 5S rRNA의 고리 H₂에 있는 A₈₈와 A₈₉들이 고리 H₁에 대옥시핵사머를 결합시킨 상태에서는 그렇지 않은 상태에서 보다 더 쉽게 카르베톡실화 변형을 받는 것으로 보아서 고리 H₂도 어느 정도 고리 H₁ 및 고리 M과 삼차상호작용을 할 것으로 생각된다. 이와 관련해서 Barciszewska 등³²은 α-사르신을 사용한 분석결과에 근거하여 콩과식물인 루핀과 맥아 등과 같은 진핵생물의 5S rRNA들에서 고리 H₁의 C₃₄CCA₃₇ 연속부분과 고리 H₂의 G₈₈GGU₈₈ 연속부분이 삼차상호작용한다고 제안하였다. 그런데 *X. celebensis* 5S rRNA의 상응하는 부분들에는 이러한 상보적인 연속부분들이 없다. *X. badrii* 5S rRNA의 G₈₅GUCU₈₈을 제외하고는 지금까지 본 연구전에서 조사한 네 개의 *Xanthomonas* 5S rRNA들은 모두 C₈₅UCA₈₈의 연속부분을 가지고 있다³³. 이것이 진핵생물과 원핵생물의 리보솜의 기능의 차이에 무슨 의미가 있는지를 조사해 보는 것은 흥미있을 것으로 생각된다. *X. celebensis* 5S rRNA 분자에서는 아마도 Barciszewska 등³²이 제안한 표준형 염기 짝짓기가 아닌 다른 형태의 상호결합으로 삼차상호작용을 할지도 모른다. 이러한 문제는 5S rRNA 분자 상에서 뉴클레오타이드들 사이에 교차결합을 형성시키는 것과 같은 방법 또는 Fe(II)-EDTA 이외의 다른 특이한 chemical nuclease들과 화학시

약들을 탐침으로 사용해서 조사되어야 풀릴 것으로 생각한다. 이러한 삼차작용이 가능하려면 고리 I₂가 돌쩌귀로 작용을 해야 하는데, 복원된 상태에서는 고리 I₂를 구성하는 대부분의 구아닌, 아데닌 및 우라실 등이 화학적 변형을 받지 않지만 반면성된 상태에서는 화학적 변형을 받는다는 것은 이 구역이 매우 휘어지기 쉬운 부분임을 나타낸다. *X. celebensis* 5S rRNA의 고리 I₂에 존재하는 모든 아데노신들이 복원된 상태에서는 Fe(II)-EDTA에 의해서 공격을 받지 않지만 반면성된 상태에서는 Fe(II)-EDTA에 의해서 공격을 받는다는 사실은 구역 D-I₂가 돌쩌귀로 작용할 수 있다는 실명을 뒷받침해 준다. 최근에 Nazar⁸는 Fe(II)-EDTA와 에틸니트로소우레아를 사용하여 다른 생물종들의 5S rRNA들에서도 고리 I₂가 돌쩌귀의 역할을 하며 고리 H₂와 고리 M사이 그리고 고리 H₁과 고리 I₂사이 상호작용이 있다는 것을 제안하였다. tRNA의 L자형의 돌쩌귀 부분에서도 Fe(II)-EDTA가 작용을 하지 않는다는 것이 알려져 있다⁹.

본 연구는 1991년도 교육부 기초과학육성 연구비의 지원으로 수행되었으며, 이에 감사하는 바이다.

인 용 문 헌

1. R. N. Nazar, *Cell Nucleus*, **11**, 1 (1982).
2. I. D. Raacke, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **68**, 2357 (1971).
3. V. A. Erdmann, *Prog. Nucleic Acids Res.*, **18**, 45 (1976).
4. N. Nishimura and S. Takemura, *FEBS Lett.*, **40**, 106 (1974).
5. K. Morikawa, M. Kawakami, and S. Takemura, *FEBS Lett.*, **145**, 194 (1982).
6. S. Lorenz, C. Betzel, E. Raderschall, Z. Dauter, K. S. Wilson, and V. A. Erdmann, *J. Mol. Biol.*, **219**, 399 (1991).
7. E. Westhof, P. Romby, P. J. Romaniuk, J.-P. Ebel, C. Ehresmann, and B. Ehresmann, *J. Mol. Biol.*, **207**, 417 (1989).
8. R. N. Nazar, *J. Biol. Chem.*, **266**, 4562 (1991).
9. J. A. Latham and T. R. Cech, *Science*, **245**, 276 (1989).

10. H. Donis-Keller, A. M. Maxam, and W. Gilbert, *Nucleic Acids Res.*, **4**, 2527 (1977).
11. H. Donis-Keller, *Nucleic Acids Res.*, **8**, 3133 (1980).
12. D. A. Peattie, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **76**, 1760 (1979).
13. S. Douthwaite and R. A. Garrett, *Biochemistry* **20**, 7301 (1981).
14. T. Pieler and V. A. Erdmann, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **79**, 4599 (1982).
15. R. A. Garrett and S. O. Olesen, *Biochemistry* **21**, 4823 (1982).
16. B. Cho, M. Koh, J. Ihm, and I. Park, *Korean Biochem. J.*, **24**, 55 (1991).
17. B. Cho, M.-U. Choi, S. W. Suh, J. Ihm, M. Koh, and I. Park, *J. Korean Chem. Soc.*, **36**, 460 (1992).
18. M. Koh and I. Park, *Korean Biochem. J.*, **22**, 430 (1989).
19. N. K. Kochetkov and E. I. Budovskii, in *Organic Chemistry of Nucleic Acids (Part B)*, p. 412, Plenum Publishing Company, New York (1972).
20. T. D. Tullius and B. A. Dombroski, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **83**, 5469 (1986).
21. S. Lorenz, R. K. Hartmann, N. Piel, N. Ulbrich, and V. A. Erdmann, *Eur. J. Biochem.*, **163**, 239 (1987).
22. J. Wolters and V. A. Erdmann, *Nucleic Acids Res.*, **16**, r1 (1988).
23. A. Bhattacharyya, A. I. H. Murchie, and M. Lilley, *Nature*, **343**, 484 (1990).
24. S. Böhm, S. Yu. Venyaminov, H. Fabian, V. V. Filiminov, and H. Welfle, *Eur. J. Biochem.*, **147**, 503 (1985).
25. P. Zhang, P. Popieniek, and P. B. Moore, *Nucleic Acids Res.*, **17**, 8645 (1989).
26. C. Brunel, P. Romby, E. Westhof, C. Ehresmann, and B. Ehresmann, *J. Mol. Biol.*, **221**, 293 (1991).
27. J. D. Puglisi, J. R. Wyatt, and I. Tinoco, *Biochemistry*, **29**, 4215 (1990).
28. S. R. Holbrook, J. L. Sussman, R. W. Warrant, G. M. Church, and S.-H. Kim, *Nucleic Acids Res.*, **4**, 2811 (1977).
29. B. Cho, S. Kim, Y. Kim, S. B. Kim, J.-T. Lee, S. Kang, S.-J. Lee, Y. Sim, M. Koh, and I. Park, Proceedings of the first symposium on biomolecules, p. 9, Korean Chemical Society, Seoul, Korea, 1991.
30. J.-F. Wang and T. R. Cech, *Science*, **256**, 526 (1992).
31. S. Lorenz, R. K. Hartmann, T. Specht, N. Ulbrich, and V. A. Erdmann, *Mol. Cell. Biol. (Life Sci. Adv.)*, **7**, 65 (1988).
32. M. Z. Barciszewska, S. Lorenz, A. Joachimiak, N. Ulbrich, V. Erdmann, and J. Barciszewski, *FEBS Lett.*, **269**, 83 (1990).
33. B. Cho, S.-J. Lee, Y. Sim, M. Koh, and I. Park, *J. Korean Chem. Soc.*, in the press (1993).