Journal of the Korean Chemical Society
1995, Vol. 39, No. 9
Printed in the Republic of Korea

Xanthomonas palargonii 5S rRNA의 고차원 구조

趙峯來 · 金尚範 · 李永勳† · 朴仁源*
서울대학교 자연과학대학 화학과
†한국과학기술원 화학과
(1995. 5. 31 접수)

Higher Order Structure of 5S rRNA from *Xanthomonas palargonii*

Bongrae Cho, Sang Bumn Kim, Younghoon Lee†, 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 May 31, 1995)

요 약. *Xanthomonas palargonii* 5S rRNA의 일차구조 및 이차구조를 결정하고 에틸니트로소 우레아, Pb^{2+}, 황산 이메틸, 피로탄산 이에틸 들의 화학 탐침과 몇 가지 효소 탐침을 사용하여 고차원 구조를 분석하였다. 에틸니트로소 우레아는 삼차 상호작용에 관련되는 포스포디에스테르 결합을 조사하는데 사용되었다. Mg^{2+}이 있을 때 에틸니트로소 우레아에 의한 변형에 대해서 저항성이 있는 자리는 불안정한 d 나선의 G_{72}, A_{73}, G_{75}, A_{78}, G_{98}, G_{100}, A_{101} 들, c 고리의 C_{36}, C_{37}, A_{39}, C_{41} 들, 그리고 C 줄기의 A_{29}, G_{33} 들이다. 이러한 결과와 Pb^{2+}에 의한 가수분해 반응과 화학 탐침과 효소 탐침을 사용하여 얻은 결과들을 종합해 봄으로써 5S rRNA의 b-C 구역과 d 나선 구역은 5S rRNA의 삼차 상호작용에서 돌쩌귀와 구실을 할 것으로 추정할 수 있었다.

ABSTRACT. The primary and secondary structures of *Xanthomonas palargonii* 5S rRNA were determined. The higher order structure of the 5S rRNA was also analysed using several ribonucleases and chemical probes, such as ethylnitrourea, Pb^{2+}, dimethylsulfate and diethyl pyrocarbonate. Ethylnitrourea was used for probing the phosphate groups involved in the tertiary interactions in the 5S rRNA. Nucleotides G_{72}, A_{73}, G_{75}, A_{78}, G_{98}, G_{100} and A_{101} in unstable helical region d, nucleotides C_{36}, C_{37}, A_{39}, and C_{41} in loop c, nucleotides A_{29} and G_{33} in stem C became resistant to ethylnitrourea modification in the presence of Mg^{2+}. On the basis of findings from chemical and enzymatic studies, and also Pb^{2+}-induced cleavages, it was concluded that region b-C and unstable helical region d may act as hinges in the folding of 5S rRNA.

서 론

우리는 Fe(II)-EDTA, 몇 가지 화학 탐침, 핵산 가수분해효소들을 탐침으로 사용하여 *X. celebensis*[1]와 *X. badrii* 5S rRNA[2]들의 삼차구조를 분석하여 보고하였다. 이 보고들에서 우리는 5S rRNA의 염기나 당 잔기들이 삼차 상호작용에 어떻게 관련되는지를 조사하였다. RNA의 삼차구조는 각 누클레오티드를 구성하는 염기, 당 잔기, 인산기들 사이에 존재하는 광범위한 수소결합으로 인한 삼차 상호작용이 존재함으로써 RNA 분자의 접힘이 일어나는 것으로 알려져 있다. 지금까지 사용해온 화학 탐침과 효소 탐침으로서는 삼차 상호작용에 관련되는 포스포디에스테르 결합의 인산기들을 분석할 수 없었다. 에틸니트로소 우레아는 핵산에서 인산기의 산소 원자를 알킬화시키는 *N*-니트로소 알킬화 시약으로서 다른 화학 탐침과는 달리 일차구조 및 이차구조와는 무관하게 반응한다고 알려져 있다.[3] 따라서 에틸니트로소 우레아는 삼차구조에서 수소결합을 통한 삼

차 상호작용에 관련되거나 이온 배위결합에 관여하는 인산기들을 조사하는데 사용할 수 있다. Pb^{2+}은 RNA의 단일가닥과 유연한 부분에 작용하여 가수분해한다고 알려져 있다.[4,5]

본 실험에서는 에틸니트로소 우레아를 사용하여 삼차 상호작용에 관련되는 인산기들을 분석하고 Pb^{2+}에 의한 가수분해 반응과 몇 가지 화학 탐침과 효소 탐침을 사용하여 얻은 결과에 기초하여 *Xanthomonas palargonii* 5S rRNA의 고차원 구조를 알아보고자 하였다.

실 험

5S rRNA의 추출과 정제

우리가 사용해 온 페놀 추출법[6]을 약간 변형하여 사용하였다. 먼저 배양 배지에서 수확한 세포를 10 mL의 추출용 완충용액(0.1 M NaOAc, 20 mM EDTA, 1% SDS, 0.2% 벤토나이트; pH 5.0)에 현탁시키고 상온에서 1시간 동안 세차게 흔들어준 후에 원심분리하여 상층액을 취하였다. 이 상층액을 페놀로 추출한 후, 5S rRNA를 에탄올로 침전시켰고, 이것을 폴리아크릴아미드 겔 전기이동법으로 분리, 정제하였다.

5S rRNA의 일차구조 분석

Donis-Keller 등,[7] Donis-Keller,[8] Peattie의 방법[9]들을 함께 사용하였다.

5S rRNA의 고차원 구조 분석

효소들을 이용하는 방법. Brunel 등의 방법[10]에 따라 하였다. 효소 탐침으로서는 핵산 가수분해효소 S1과 리보핵산 가수분해효소 T1과 V1을 사용하였다.

^{32}P로 5′- 또는 3′-말단이 표지된 5S rRNA를 복원 완충용액(50 mM Tris-HCl, 10 mM $MgCl_2$, 270 mM KCl; pH 7.5) 10 μL에 녹인 다음, 60 ℃에서 5분간 가열하고 서서히 상온까지 식혀서(1 ℃/min) 5S rRNA의 자연상태의 구조로 복원한 후, 운반체 tRNA (5 μg/μL) 1 μL와 적당한 농도의 효소 용액 1 μL를 가하고 0 ℃에서 30분 또는 25 ℃에서 5~10분간 반응시켰다.

화학적 변형을 이용한 방법. Peattie 등[11]과 Brunel 등의 방법[10]에 따랐다. 화학 탐침으로서는 구아닌과 시토신의 메틸화 반응에 황산 이메틸(DMS)을, 구아닌의 케톡실화 반응에 케톡살을 사용하고 아데닌의 카르베톡실화 반응에 피로탄산 이에틸(DEPC)을 사용하였다. 복원된 5S rRNA는 복원 완충용액(50 mM 카코딜산 나트륨, 10 mM $MgCl_2$, 270 mM KCl; pH 7.5)에서 위에서와 같이 처리하여 얻었고, 반복원된 상태의 5S rRNA는 반변성 완충용액(50 mM 카코딜산 나트륨, 1 mM EDTA; pH 7.5)에서 위에서와 같이 처리하여 얻었다. 변성된 상태에서의 5S rRNA는 반변성 완충용액(50 mM 카코딜산 나트륨, 1 mM EDTA; pH 7.5)에서 90 ℃에서 7분간 처리하여 얻었다.

Pb^{2+}을 사용한 가수분해 반응. Ciesiolka 등의 방법[4]을 사용하여 5S rRNA의 5′ 또는 3′말단을 ^{32}P로 표지하였다. ^{32}P로 표지한 5S rRNA를 복원 완충용액 (25 mM Na-Hepes pH 7.5, 10 mM $MgCl_2$, 270 mM KCl)에 녹인 다음, 60 ℃에서 5분간 가열하고 서서히 상온까지 식혀서(1 ℃/min) 5S rRNA의 자연상태의 구조로 복원한 후, 운반체 tRNA(5 μg/μL) 2 μL와 Pb $(OAc)_2$ 용액을 최종농도가 0.01, 0.1, 1, 2 mM되게 가하고 20 ℃에서 15분간 반응시켰다. 반응용액에 10 mM EDTA를 함유하는 시료 싣기 용액을 가하여 반응을 중지하였다.

에틸니트로소 우레아(ENU)를 사용한 방법. Baudin 등[12]의 방법을 변형하여 사용하였다. ^{32}P로 표지한 5S rRNA를 완충용액 20 μL에 녹인 후 에틸니트로소 우레아 5 μL(포화 ethanol 용액; 750 mM) 가하여 반응시켰다. 복원상태에서는 ^{32}P로 표지한 5S rRNA를 복원 완충용액(50 mM 카코딜산 나트륨, 10 mM $MgCl_2$, 270 mM KCl; pH 7.5)에서 효소를 사용한 방법으로 복원하여 20 ℃에서 30분 또는 1시간 반응시켰으며 변성상태에서는 반변성 완충용액(50 mM 카코딜산 나트륨, 1 mM EDTA; pH 7.5)에서, 80 ℃에서 2분 또는 10분간 반응시켰다. 에탄올로 침전시켜 알킬화된 5S rRNA를 회수한 후 0.1 M Tris-HCl(pH 9.0) 10 μL에 녹여 50 ℃에서 5분간 반응시켜 포스포디에스테르 결합들을 절단하였다. 다시 에탄올로 침전시켜 5S rRNA 조각들을 회수하였다.

절단된 위치들의 분석. 에탄올로 침전시킨 조각들을 동결건조하고 이것을 우레아-염료 완충용액에 다시 용해하여 90 ℃에서 30초 동안 가열한 다음에

8.3 M 우레아를 포함하는 12% 폴리아크릴아미드 겔 (30 cm×40 cm×0.05 cm)에서 전기이동으로 분리하였다.

결과 및 고찰

일차구조. *Xanthomonas palargonii* 5S rRNA는 119개의 누클레오티드로 구성되어 있으며 변형된 누클레오시드를 함유하고 있지 않으며 *X. maltophilia, X. celebencis, X. citri* 5S rRNA들[1,13,14]처럼 5′-말단에 가외의 우리딘 잔기를 가지고 있으며 3′-말단의 누클레오티드는 결실되어 있다(*Fig.* 2).

고차원 구조. 5S rRNA를 화학 탐침으로 변형한 다음에 절단하여 얻는 RNA 조각들을 전기이동으로 분리한 결과를 *Fig.* 1에 나타내었고, 화학 탐침과 효소 탐침에 의한 절단의 결과들에 기초한 *X. palargonii* 5S rRNA의 이차구조 모형을 *Fig.* 2에 나타내었다. *X. palargonii* 5S rRNA의 이차구조 모형은 본 연구진이 이미 보고한 15종류의 *Pseudomonas*와 *Xanthomonas*종들의 5S rRNA 모형들과 매우 유사하였다.[15] 또한 에틸니트로소 우레아에 의한 변형과 Pb^{2+}에 의한 가수분해 반응으로 얻은 RNA 조각들을 전기이동으로 분리한 결과를 *Fig.* 3에 나타내었고, 이 결과들을 *X. palargonii* 5S rRNA의 이차구조 모형에 종합해서 나타내었다(*Fig.* 4). 에틸니트로소 우레아를 이용한 분석에서는 변성 상태의 5S rRNA의 모든 인산기들이 에틸니트로소 우레아에 대해서 반응성을 가지지만 복원된 상태에서는 인산기들의 분자내에서의 위치에 따라 다른 반응성을 가질 것이다. *X. palargonii* 5S rRNA에서 에틸니트로소 우레아에

Fig. 1. 12% polyacrylamide gel electrophoresis fractionation of the 3′-end labeled 5S rRNA after DMS (guanine, cytosine), DEPC (adenine) and kethoxal (guanine) modifications. T_1, RNase T_1; OH, alkali ladders; KET, kethoxylation; N, S and D, native, semidenatured and denatured condition, respectively. The sequence is numbered by every G residue.

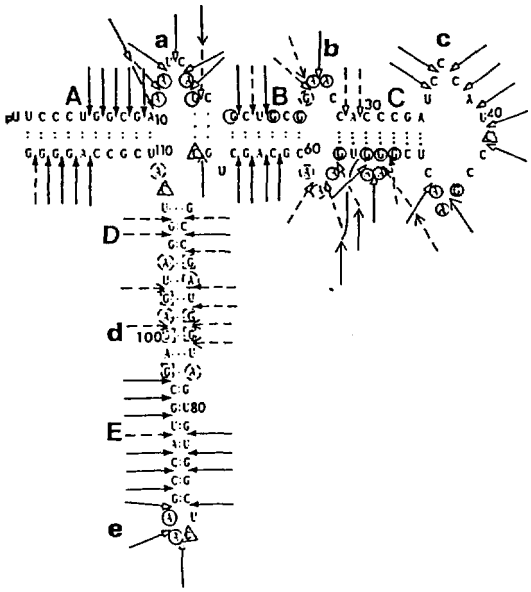

Fig. 2. Secondary structure of 5S rRNA from *X. palargonii*. The phosphodiester bonds cleaved by enzymatic and chemical probes are indicated on the structure. ·· and ··· denote stable and unstable base pairs, respectively. Nuclease S1 (strong ⊲—, weak ⊲--); RNase V1 (strong ◀—, weak ◀--); RNase T1 (strong ←, weak ←-); kethoxylation in the presence of Mg^{2+} (G) and in the absence of Mg^{2+} (G); methylation of guanine in the presence of Mg^{2+} by DMS (G) and in the absence of Mg^{2+} by DMS (G); carbethoxylation in the presence of Mg^{2+} (A) and in the absence of Mg^{2+} (A); methylation of cytosine by DMS (A).

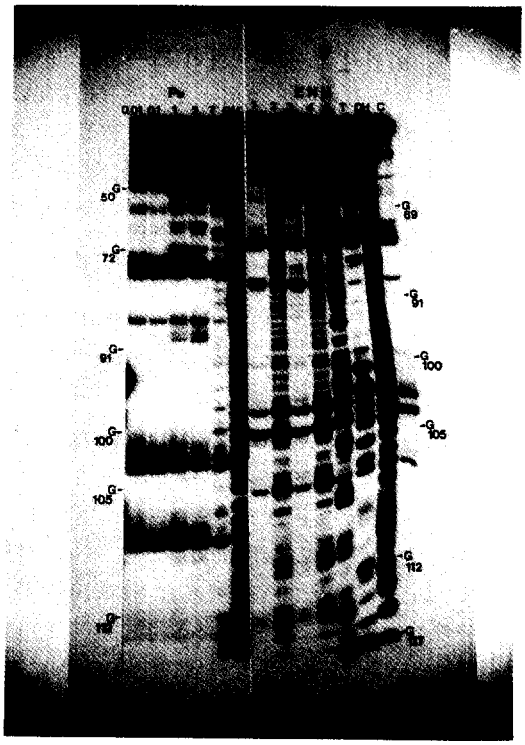

Fig. 3. 12% polyacrylamide gel electrophoresis fractionation of the 3′-end labeled 5S rRNA after Pb(II)-induced hydrolysis and phosphate alkylation experiments (ENU). Pb(II)-induced hydrolysis: lanes 0.01 to 2 reactions performed in the presence of Pb(II) acetate at the final concentrations of 0.01 mM (lanes 0.01), 0.1 mM (lane 0.1), 1 mM (lane 1) and 2 mM (lane 2) in renaturation buffer. Phosphate alkylation experiments (ENU): Native conditions, lane 1 and lane 3 for 30 min or 1 hr at 20℃; Denaturing conditions, lane 2 and lane 4 for 2 min or 10 min at 80℃, respectively. A, carbethoxylation of adenine; C, incubation control; T_1 and OH, RNase T_1 and alkali ladders, respectively. The sequence is numbered by every G residue.

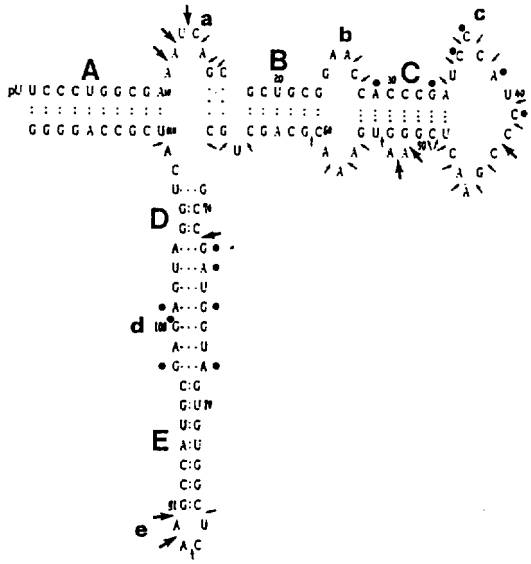

Fig. 4. Summary of the probing experiments represented on the secondary structure of *X. palargonii* 5S rRNA. Ethylnitrosourea-resistant site; Pb(II)-induced cleavages; strong (➡) and weak (➡).

대해 저항성이 있는 자리들은 d 나선, C 나선, c 고리들에 있으며 Pb^{2+}에 의한 가수분해 반응은 단일가닥 구역들 또는 내밀린 부분들의 분자내의 위치에 따라 선택적으로 일어나는 것을 볼 수 있었다 (*Fig.* 4).

A, B, C, D, E 줄기들. Mg^{2+}이 있을 때 이 줄기들의 모든 인산기들이 에틸니트로소 우레아에 의해 반응을 받고 Pb^{2+}에 의한 가수분해 반응을 받지 않는다. 다만 B 줄기의 내밀린 구조인 U_{66} 앞뒤의 포스포디에스테르 결합들은 Pb^{2+}으로 절단된다. 또한 이 줄기들은 리보핵산 가수분해효소 V1에 의해서 강하게 작용받는다. 이 결과로 보아 A, B, D, E 줄기들은 5S rRNA 분자의 삼차구조에서 나선형 구조를 유지하며, B 줄기의 U_{66}은 내밀린 구조를 유지하면서 수용액 환경으로 다소 노출되어 있을 것으로 추정된다. C 줄기에서는 A_{29}와 G_{33}이 에틸니트로소 우레아에 대한 저항성이 있으며 5′쪽 가닥 $C_{28}ACCCGA_{34}$ 연속부분이 Pb^{2+}으로 절단되지 않고 핵산 가수분해효소 S1에 의해 매우 약하게 절단된다. 또한 C 줄기의 3′쪽 가닥, 즉 $U_{48}CGGAAGUG_{56}$ 연속부분의 아데닌과 구아닌 염기들이 Mg^{2+}이 있을 때 메틸화와 카르베톡시화되며 핵산 가수분해효소 S1과 리보핵산 가수분해효소 V1의 작용을 모두 받는다. C 줄기의 Pb^{2+}에 의한 가수분해 반응에서는 5′쪽 연속부분이 Pb^{2+}으로 전혀 절단되지 않는데 반하여 3′쪽 연속부분의 포스포디에스테르 결합들이 대부분 Pb^{2+}으로 절단되는데, 특히 $G_{51}AA_{53}$ 결합들이 강하게 절단된다. 따라서 C 줄기의 3′쪽 가닥 연속부분은 A_{52}-A_{53} 결합이 내밀린 구조를 유지하면서

수용액 환경으로 노출되어 있으나 5′쪽 가닥 연속 부분은 화학 탐침과 효소 탐침들이 입체적 장애를 받는 형태를 취할 것으로 보인다. D 줄기와 불안정한 d 나선 두 부분이 접속하는 위치의 C_{71}-G_{72} 결합은 Pb^{2+}에 의해 강하게 절단되고 리보핵산 가수분해효소 V1에 의해서도 약하게 절단된다. 이것은 d 나선이 돌쩌귀 구실을 하면서 C_{71}-G_{72} 결합이 내밀려서 불안정해지기 때문으로 생각된다.

a, e 고리들. Mg^{2+}이 있을 때 a 고리와 e 고리의 모든 포스포디에스테르 결합들은 에틸니트로소 우레아에 대한 반응성을 나타내며 이웃하고 있는 줄기들과의 접속 부위들을 제외하고는 거의 다 Pb^{2+}에 의해서 세게 절단된다. 또한 핵산 가수분해효소 S1에 의해 강하게 절단되며, Mg^{2+}이 있을 때 아데닌 염기들이 카르베톡시화되는 것으로 보아 5S rRNA의 삼차구조에서 이 두 고리들이 수용액 환경으로 노출되어 있음을 알 수 있다. e 고리의 모든 포스포디에스테르 결합들이 에틸니트로소 우레아에 대한 반응성이 있다는 우리의 관찰은 Nazar 등이 *E. coli* 5S rRNA[16]를 에틸니트로소 우레아로 분석한 결과와는 일치하지만 효모의 5S rRNA[17]를 분석한 결과와는 일치하지 않는다. McDougall과 Nazar[18] 등은 핵산 가수분해효소 S1과 에틸니트로소 우레아를 사용하여 다양한 종들로부터의 5S rRNA를 분석하여 진핵세포의 5S rRNA가 원핵세포의 5S rRNA보다 더 촘촘한 고차원 구조를 가질 것으로 제안하였다.

b, c 고리들. b 고리는 전반적으로 핵산 가수분해효소 S1에 의해 약하게 절단되며 A_{26}, C_{27}, A_{59} 들을 제외한 $G_{56}AAAC_{60}$ 연속부분은 Pb^{2+}으로 약하게 절단된다. 이러한 반응성은 푸린 염기들이 많은 b 고리에서 염기들의 치쌓임이 일어남으로써 핵산 가수분해효소 S1 과 Pb^{2+}에 대한 저항성이 생기는 것으로 추측된다. 또한 Mg^{2+}이 있을 때 b 고리의 G_{24}, A_{58}, A_{59}들이 화학 변형을 받지 않는 것은 이 염기들이 삼차 상호작용에 관여하고 있음을 암시한다. 또는 $G_{24}*A_{59}$같은 비표준 염기쌍을 형성하여 Mg^{2+}을 결합하는 바구니 역할을 할지도 모른다. Mg^{2+}-바구니는 망치머리꼴 리보효소의 결정 구조 분석에서 밝혀져 있다.[19]

c 고리는 C_{41}의 5′쪽으로 있는 $A_{34}UCCCAUC_{41}$ 연속부분에서 C_{36}, C_{37}, A_{39}, C_{41}의 포스포디에스테르 결합들이 에틸니트로소 우레아에 대해서 저항성이 있으며 A_{39} 이외의 모든 염기들이 Pb^{2+}으로 절단된다. 이러한 사실로 미루어 보아 c 고리는 5S rRNA의 삼차구조에서 고리를 유지하면서 C_{41}의 5′쪽으로 있는 연속부분이 5S rRNA 분자의 일정한 부분과 센 삼차 상호작용으로 염기쌍들을 형성할 가능성을 암시해 주며 Pb^{2+}에 의해 강하게 절단되는 C_{42} 염기를 제외한 c 고리의 나머지 염기들(C_{43}, G_{44}, A_{45}, A_{46}, C_{47})은 c 고리의 단일가닥을 따라 치쌓여 있거나 분자의 다른 부분과 약한 삼차상호작용을 이룰 것으로 추측된다.

불안정한 d 나선. 우리는 *X. celebencis*의 5S rRNA에서 d 나선의 구조가 불안정한 구조를 형성하고 있으며[1] Mg^{2+}과 H^{+} 농도에 따라 변하기 쉽다는 것을 관찰하여 보고한 바 있다.[21] 본 연구에서도 d 나선 부분이 핵산 가수분해효소 S1과 리보핵산 가수분해효소 V1으로 매우 약하게 절단되며 d 나선 안에 있는 모든 아데닌과 구아닌 염기들이 Mg^{2+}이 있을 때 화학 변형을 받지 않지만 Mg^{2+}이 없을 때 화학 변형을 받는다. 화학 탐침에 대한 이러한 양상은 구아닌의 케톡실화 반응에서도 관찰되었다. 이러한 결과들로 미루어 보아 d 나선은 불안정한 구조를 이루며 분자내의 삼차 상호작용에 관여할 것으로 추정할 수 있다. 한편, d 나선에서 에틸니트로소 우레아의 변형에 대해 저항성이 있는 자리는 G_{72}, A_{73}, G_{75}, A_{78}, G_{98}, G_{100}, A_{101} 들이며 d 나선의 모든 포스포디에스테르 결합들은 모두 Pb^{2+}으로 전혀 절단되지 않는 것으로 보아 이 누클레오티드들의 인산기들은 삼차 상호작용에 관여하거나 Mg^{2+}과의 배위 결합에 관여할 것으로 생각된다. 앞에서 말한 바와 같이, 최근에 A*G 염기쌍을 가진 구조 요소가 Mg^{2+}들을 결합하는 바구니 역할을 한다는 사실이 밝혀져 있다.[19] Mg^{2+}이 없을 때 d 나선부분이 불안정한 구조를 이루는 것은 거의 모든 5S rRNA들의 경우 관찰되어 있다.[15,20]

삼차 상호작용. 본 연구진은 *Xanthomonas celebensis* 5S rRNA 분자내에서 이루어지는 삼차 상호작용들을 데옥시헥사머를 이용한 혼성체화법과 Fe(II)-EDTA를 사용한 방법으로 분석하여 발표하였다.[1] 또한 이 연구에서 우리는 *X. celebensis* 5S rRNA의 c 고리와 e 고리가 a 고리와 삼차 상호작용을

하며, 이 삼차 작용에서 b-C 구역과 D-d 구역이 돌쩌귀로 작용할 수 있다는 것을 제안하였다. 우리의 이 제안은 Nazar 등이 Fe(II)-EDTA와 에틸니트로소우레아를 사용하여 효모의 5S rRNA의 e 고리가 a 고리와 삼차 상호작용을 하고 c 고리는 d 나선과 삼차 상호작용을 하며, 이때 b-C 구역와 D-d 구역이 돌쩌귀로 작용한다는 연구 결과와 유사하다.[16] 최근에 본 연구진은 안지오제닌을 이용한 *Xanthomonas celebensis* 5S rRNA의 고차원 구조 분석에서 5S rRNA가 삼차 구조를 이룰 때 돌쩌귀의 역할을 하는 것은 D 줄기와 d 나선을 합친 광범위한 부분이 아니라 d 고리만으로도 가능하다는 것을 알았다.[21] 5S rRNA의 b-C 구역과 d 나선이 돌쩌귀로 작용하려면 이 구역들이 이루는 이차구조가 유연하여야 한다. *Fig.* 2와 3에서 볼 수 있는 바와 같이 b-C 구역에서 5′쪽 가닥, 즉 $G_{23}GAACCACCCGA_{34}$ 연속부분은 Pb^{2+}에 의한 절단을 거의 받지 않는데 반해서, 3′쪽 가닥은 Pb^{2+}에 의한 절단을 약하게 받는다. 또한 에틸니트로소 우레아에 의한 변형에 저항성이 있는 자리는 A_{29}-C_{30}과 G_{33}-A_{34}의 포스포디에스테르 결합들이다. 이것은 3′쪽 가닥의 포스포디에스테르 결합들이 삼차구조상에서 수용액 환경으로 거의 모두 노출되어 있고, 5′쪽 가닥은 5S rRNA의 분자 안쪽으로 묻혀 있거나 이 가닥의 누클레오티드들이 다른 연속부분과 삼차상호작용을 하기 때문일 것으로 추측된다. 이러한 견해는 3′쪽 가닥에서 핵산 가수분해효소 S1과 리보핵산 가수분해효소 V1, T1에 의한 가수분해반응이 약하게 일어난다는 사실과 G_{51}-A_{52} 결합과 내밀린 구조인 A_{52}-A_{53} 결합이 Pb^{2+}에 의해 강하게 절단되고, Mg^{2+}이 있을 때 아데닌과 구아닌 염기들이 화학 변형을 받는 사실로도 뒷받침될 수 있다.

이러한 사실들을 종합해 보면, b-C 구역은 비교적 유연한 구조를 이루면서 5S rRNA의 이차 구조에서 볼 수 있는 구조 요소들을 크게 변형시키지 않고 유지하면서 돌쩌귀의 구실을 하는 것으로 생각한다. 한편, 앞에서도 말한 바와 같이 d 나선의 A∗G 염기쌍들이 Mg^{2+}이 있을 때 에틸니트로소 우레아에 의한 변형에 저항성이 있으며 모든 포스포디에스테르 결합들은 Pb^{2+}에 의한 가수분해 반응을 전혀 받지않는 것으로 보아 d 나선에서는 Mg^{2+}이 이러한 염기쌍들에 결합하여 d 나선의 불안정성을 감소시키고 돌쩌귀 역할이 가능하도록 유연한 구조를 만들 것으로 추정한다. 또한 d 나선의 모든 포스포디에스테르 결합들은 Pb^{2+}으로 전혀 절단되지 않고 c 고리에서 C_{41}의 5′쪽, 즉 $A_{34}UCCCAUC_{41}$ 연속부분과 d 나선의 5′쪽, 즉 $G_{72}AUGGUA_{78}$ 연속부분 중에서 에틸니트로소 우레아에 의한 변형에 저항성이 있는 것으로 보아 c 고리의 $C_{37}CAUC_{41}$ 연속부분과 d 나선의 5′쪽 $G_{72}AUGG_{76}$ 연속부분이 상보적으로 삼차 상호작용을 할 것으로 기대되는데, 예를들면 c 고리와 d 나선의 상보적인 연속부분이 서로 평행하게 또는 역평행하게 호그스텐 염기쌍들을 형성하여 d 나선 부분과 삼중나선을 이룰지도 모른다. Hanck 등[22]은 페닐디글리옥살을 사용한 *E. coli* 5S rRNA의 고차원 구조 분석에서 c 고리의 G_{41}이 d 나선의 G_{72}와 교차결합을 할 수 있다고 하였으며 $C_{37}CAUG_{41}$ 연속부분이 $G_{72}AUGG_{76}$ 연속부분과 상호작용하여 5S rRNA가 삼차원 구조로 접힌다고 제안하였다.

본 연구는 1993년도 신진연구인력 연구장려금 연구비(수혜자 조봉래)와 1994년도 서울대학교 발전기금 일반학술연구비(수혜자 박인원)의 지원으로 수행하였기에 이에 감사하는 바이다.

인 용 문 헌

1. 조봉래; 이영훈; 최명언; 박인원. 대한화학회지 **1993**, *37*, 237.
2. 심윤보; 조봉래; 이영훈; 박인원. 한국생화학회지 **1994**, *27*, 466.
3. Vlassov, V.; Giege, R.; Ebel, J. P. *Eur. J. Biochem.* **1981**, *119*, 51.
4. Ciesiolka, J.; Lorenz, S.; Erdmann, V. A. *Eur. J. Biochem.* **1992**, *204*, 575.
5. 김상범; 이영훈; 박인원. 대한화학회지 **1995**, *39*, 인쇄중.
6. Koh, M.; Park, I.; Lee, S. Y. *Korean Biochem. J.* **1986**, *19*, 61.
7. Donis-Keller, H.; Maxam, A. M.; Gilbert, W. *Nucleic Acids Res.* **1977**, *4*, 2527.
8. Donis-Keller, H. *Nucleic Acids Res.* **1980**, *8*, 3133.
9. Peattie, D. A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1979**, *76*, 1760.
10. Brunel, C.; Romby, P.; Westhof, E.; Ehresmann,

C.; Ehresmann, B.; J. Mol. Biol. **1991**, *221*, 293.
11. Peattie, D. A.; Gilbert, W. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1980**, *77*, 467.
12. Baudin, F.; Mougel. M.; Romby, P.; Ebel, J. P.; Ehresmann, C. *Biochemstry.* **1989**, *28*, 5847.
13. Cho, B.; Koh, M.; Ihm, J.; Park, I. *Korean Biochem. J.* **1991**, *24*, 55.
14. Cho, B.; Choi M.-U.; Suh, S. W.; Ihm, J. *Koh. M. and Park, I. J. Korean. Chem. Soc.* **1992**, *36*, 460.
15. 조봉래; 이승주; 심윤보; 고문주; 박인원. 대한화학회지 **1993**, *37*, 364.
16. Nazar, R. N. *J. Biol. Chem.* **1991**, *266*, 4562.
17. McDougall, J.; Nazar, R. N. *J. Biol. Chem.* **1983**, *258*, 5256.
18. McDougall, J.; Nazar, R. N. *Nucleic Acids Res.* **1987**, *15*, 161.
19. Pley, H. W.; Flaherty, K. M.; Mckay, D. B. *Nature* **1994**, *372*, 68.
20. Wolters, J.; Erdmann, V. A. *Nucleic Acids Res.* **1988**, *16*, r1.
21. Kim, S.; Cho, B.; Ihm, J.; Jang, S.; Park, I. *J. Korean. Chem. Soc.* **1994**, *38*, 769.
22. Hanck, J.; Wagner, R. *Nucleic Acids Res.* **1982**, *10*, 1257.