

대장균 tRNA^{Val}에 결합하는 RNA Aptamer들의 시험관내 선별

趙峰來

청주대학교 이공대학 화학과
(2002. 2. 1 접수)

In vitro Selection of RNA Aptamers which Bind to *Escherichia coli* tRNA^{Val}

Bongrae Cho

Department of Chemistry, Chongju University, Chongju 360-764, Korea
(Received February 1, 2002)

요약. tRNA^{Val}에 결합하는 RNA 요소들을 확인하기 위해 SELEX 방법을 수행하였다. 양끝에 보존된 primer 서열을 가지고 가운데 부작위의 48-mer 올리고뉴클레오티드 영역을 가진 DNA 분고블 T7 RNA 중합효소를 이용하여 전사시켜 얻은 RNA pool을 가지고 tRNA^{Val}이 고정된 affinity column을 이용하여 14 번의 선별 과정을 거쳐 RNA aptamer들을 선별하였다. 몇몇 aptamer들은 세 가지 tRNA들의 코리 영역에 있는 서열과 유사한 서열을 가졌다: 5S rRNA의 C43GAAC47 서열, 16S rRNA의 G1491AAGU1495와 G1379UUCC1383 서열 그리고 23S rRNA의 C1064UUAG1068, G2110UGUA2114, C2480GACGG2485와 A2600CAGU2604 서열. 이 결과들은 tRNA^{Val}가 리보솜에서 5S rRNA, 16S rRNA 및 23S rRNA와 다양하게 상호작용 할 수 있다는 것을 암시한다.

주제어: 시험관내 선별, RNA aptamer, tRNA^{Val}

ABSTRACT. To identify RNA motifs interacting with tRNA^{Val}, a SELEX(Systematic Evolution of Ligands by Exponential Enrichment) was applied. Random DNA library which contains a region of randomized 48-mer oligonucleotide flanked by conserved sequence primers was transcribed into RNA pool using T7 RNA polymerase and RNA aptamers were selected with tRNA^{Val}-immobilized affinity column through 14 rounds of SELEX. Some of the resulting aptamers contained a consensus sequence similar to the sequence in the loop regions of three rRNAs; C43GAAC47 sequence of 5S rRNA, G1491AAGU1495, G1379UUCC1383 sequence of 16S rRNA and C1064UUAG1068, G2110UGUA2114, C2480GACGG2485, A2600CAGU2604 sequence of 23S rRNA. These results suggest that tRNA^{Val} can interact with 5S rRNA, 16S rRNA and 23S rRNA with variety in ribosome.

Key words: *In vitro* Selection, RNA aptamer, tRNA^{Val}

서 론

원핵생물의 리보솜은 50S 소단위체와 30S 소단위체들로 이루어져 있으며 큰 소단위체는 23S rRNA, 5S rRNA 및 34 개의 단백질로 구성되어 있고, 작은 소단

위체는 16S rRNA와 21 개의 단백질로 구성되어 있다.

초기 연구는 단백질 합성에 관여하는 성분이 리보솜 단백질일 것이라는 부적절한 생각에서 시작하였지만 1970년대 중반에 원핵생물의 16S rRNA의 3' 말단 부분이 mRNA의 5' 말단 부분과 상보적인 구조를 가지는

것으로 밝혀짐으로써¹ rRNA들에 대한 연구가 시작되었다. 1992년 Noller 연구진이 리보솜 단백질들이 완전히 제거된 원핵생물의 23S rRNA가 단독으로 펩티드 결합을 형성하는 peptidyltransferase 활성을 가진다는 것을 보고한² 이후로 5S rRNA, 16S rRNA 및 23S rRNA에 대한 연구가 광범위하게 이루어지고 있다.

최근의 cross-linking과 SELEX를 이용한 연구에서 리보솜 내에서 5S rRNA, 16S rRNA와 23S rRNA 사이의 접촉점들이 밝혀지고,^{3,4,5} point mutation에 의한 연구에서는 5S rRNA의 U89가 리보솜의 큰 소단위체의 회전에 중요한 역할을 할 것으로 생각되고 있지만⁶ 아직 리보솜 상에서 rRNA들의 정확한 구조와 그 기능이 확실하지 않다.

5S rRNA가 제거된 대장균의 50S 소단위체는 tRNA를 A-자리에 결합시키는 능력을 잃어버리는 것⁷으로 보아서 tRNA와 rRNA들 사이의 상호작용은 단백질 합성 과정에서 중요한 것으로 생각된다. 그런데 5S rRNA의 C 코리에 있는 C42CGAAC47 연속부분은 거의 모든 원핵생물 중에서 보존되어 있는데 이 부분이 tRNA의 보존된 G53T ϕ CR57 연속부분과 상호작용을 할 것으로 제안되었지만⁸ 이것을 확증할 실험적 증거는 없다. tRNA의 anticodon stem-loop(ASL) analog의 5' 말단에 붙은 Fe(II)로부터 발생하는 hydroxyl radical이 16S rRNA, 23S rRNA와 5S rRNA의 염기들을 절단하는 위치로부터 리보솜 내에서 rRNA들의 배열과 tRNA와 rRNA들 사이의 상호작용에 대하여 어느 정도 밝혀졌지만⁹ 아직 이들 상호작용에 대하여 확실한 정보가 없다.

단백질 합성에서 rRNA들의 기능을 이해하기 위해서는 tRNA와 rRNA들 사이의 상호작용에 대한 이해가 필수적이므로 본 연구에서는 tRNA^{Val}와 상호작용 하는 RNA motif를 찾기 위해 tRNA^{Val}에 결합하는 RNA aptamer들을 SELEX 방법으로 선별하였고 이들 가운데 16S rRNA, 23S rRNA 및 5S rRNA의 고리 영역에 있는 특정 연속부분의 염기 결합 순서와 일치하는 것들을 발견하였다.

실 험

RNA library의 준비. DNA library는 5' 쪽으로 18-mer의 cDNA primer sequence (5'-AAGCTTGCATGCGGATCC-3')가 있으며 3' 쪽으로는 32-mer의 T7 primer sequence (5'-TAATACGACTCACATAGGTGAAATTCGAGCTC-

3')를 가지고 가운데 부분에 48 개의 무작위한 염기 서열을 가지는 총 98 개의 뉴클레오티드들로 구성되어 있다. 이 DNA를 PCR(polymerase chain reaction)을 이용하여 이중 나선으로 만든 후 RibomaxTM T7 RNA production system으로 전사반응을 행하여 RNA pool을 얻고 6% 폴리아크릴아미드 겔 전기이동으로 분리 정제하였다. 정제된 RNA library를 완충용액(20 mM Tris-acetate, pH 7.5, 48 mM Mg-acetate, 100 mM K-acetate, 100 mM NH₄-acetate)에 녹인 후 55 °C에서 15분간 가열한 후 상온으로 서서히 냉각시켰다.

Affinity column의 제조. sigma에서 구입한 tRNA^{Val}을 6% 폴리아크릴아미드 겔 전기이동으로 분리 정제하였다. 정제된 tRNA^{Val}의 3' 말단의 리보스당을 NaClO₂로 산화시켜 Sepharose-adipic acid hydrazide resin (Amersham Pharmacia Biotech)에 결합시켰다.¹⁰

SELEX 선별 과정. resin에 결합하는 RNA 분자를 RNA library에서 제거하기 위해 먼저 RNA pool을 tRNA^{Val}이 결합되지 않은 column에 통과시켜 pre-selection한 후 tRNA^{Val}이 결합된 affinity column에 더하였다. 완충용액으로 column을 씻어 결합하지 않은 RNA 분자들은 흘러 보내고 elution buffer(25 mM Na-EDTA, pH 8.0)로 결합된 RNA 분자들을 용출하였다. 선별된 RNA는 에탄올 침전으로 회수하고 cDNA primer를 사용하여 역전사 과정으로 cDNA로 만들고 PCR로 증폭시켜 다음 선별 과정에 사용되었다. 14회의 선별과정을 거친 후 증폭된 cDNA는 pGEM-T 운반체에 클로닝되었다.

PvuII 제한효소 반응. DNA 염기 결합 순서 분석에 앞서 분리 정제된 플라스미드 DNA에 98-mer DNA가 들어 있는지 확인하기 위해 플라스미드 DNA를 TI 완충용액에 녹인 후 5'-CAG↓CTG-3의 인식자리를 가지는 PvuII 제한효소를 첨가하여 반응시켰다. 반응물은 123 염기쌍 ladder와 함께 2% 아가로스 겔 전기이동으로 98-mer DNA의 존재를 확인하였다.

DNA 염기 결합 순서 분석. DNA 염기 결합 순서는 dideoxy chain termination 방법을 이용한 AccuPower DNA sequencing kit(Bioneer, 한국)를 사용하여 결정하였다. 98-mer PCR DNA가 삽입된 pGEM-T 운반체를 pUC M13 forward primer와 dNTP를 이용하여 94 °C에서 5분간 방치한 후 94 °C에서 30 초, 50 °C에서 30 초 그리고 72 °C에서 1분의 프로그램으로 PCR 증폭을 45회 실시하였다. 반응 액을 6% 폴리아크릴아미드 겔

전기이동으로 분리한 후 DNA 띠들은 Silverstar™ staining kit의 manual에 따라 확인하였다.

결과 및 고찰

약 10¹⁴개의 서열을 가지는 이중나선의 DNA library를 T7 RNA polymerase를 사용하여 시험관내 전사반응으로 만든 RNA pool을 가지고, 구입한 Sepharose-adipic acid hydrazide resin에 tRNA^{Val}의 3' 말단의 리보스당을 결합시켜 얻은 affinity column을 사용하여 SELEX 선별과정을 실시하였다. 14회의 선별 과정을 거친 후 RNA aptamer들을 역전사 반응시켜 cDNA로 만들고 염기 서열 분석을 위해 pGEM-T 운반체에 클로닝시켰다(Fig. 1).

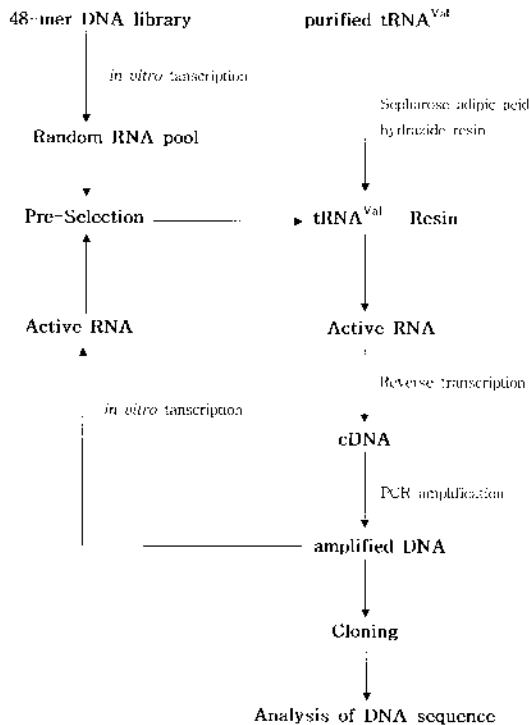


Fig. 1. Outline of the experimental strategy for SELEX. The RNA pool was prepared by *in vitro* transcription of the amplified DNA library carrying a randomized 48-mer DNA region. RNA aptamers binding to tRNA^{Val} were selected with tRNA^{Val}-attached affinity column chromatography. After the 14th round of selection, cDNA of each RNA aptamer was cloned into the pGEM-TTM vector and its sequence was analyzed.

운반체가 원하는 크기인 98-mer DNA를 가져다지를 PvuII 제한 효소를 이용하여 확인한 후 DNA 염기 서열을 결정하였다. aptamer들은 보존된 염기 서열을 토대로 몇 개의 그룹으로 나누어졌다. 일반적으로 RNA의 고리 영역이 RNA나 혹은 단백질과 상호작용에서 중요하므로 리보솜 RNA들의 이차 구조에서 고리 영역에 있는 특정 서열과 유사한 aptamer들의 서열을 찾았다. Fig. 2에서, 작은 리보솜 소단위체의 16S rRNA의 A-자리 영역의 1491-1495 번까지의 연속부분과 P-자리 영역의 1379-1383 번까지의 연속부분과 유사한 aptamer들을 얻었고 또한 큰 소단위체의 5S rRNA의 43-47 번까지의 연속부분과 23S rRNA의 A-자리 영역인 2480-2485 번까지의 연속 부분, 1064-1068 번까지의 연속부분, P-자리 영역의 2600-2604 번까지의 연속부분, E-자리 영역의 2110-2114 번까지의 연속부분과 유사한 서열을 갖는 aptamer들이 얻어졌다.

이 결과에서 tRNA는 리보솜에서 세 가지의 rRNA들과 다양하게 상호작용을 하는 것으로 생각되고 그 중에서 tRNA의 G55T & C59의 연속부분과 상보적인 CGAAC 염기서열을 가지는 aptamer들의 존재는 tRNA의 이 부분이 5S rRNA의 C42CGAA46 연속부분과 상호작용을 할 것이라는 Erdmann의 연구 결과⁸와 잘 일치한다. 그리고 23S rRNA의 2480-2485 번까지의 연속부분과 2600-2604 번까지의 연속부분에 해당하는 서열을 가지는 aptamer들의 존재는 tRNA의 anticodon stem-loop(ASL) analog에 의해 23S rRNA의 이 부분의 염기들이 절단하는 위치⁹와 일치하므로 이 연속부분들은 tRNA와 상호작용 할 수 있다는 것을 의미한다. 그러나 23S rRNA의 이 연속부분들이 tRNA의 어떤 부위와 상호작용 하는지는 protection 방법을 이용해야 그 본질을 이해할 수 있을 것으로 생각된다.

이상에서 생체 분자들 사이의 상호작용에 대한 연구에서 많이 사용해 왔던^{11,12,13} SELEX 방법은 RNA-RNA 상호작용에 대한 정보를 얻는데 또한 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

결론

본 연구에서는 리보솜에서 tRNA와 세 가지 rRNA들(5S rRNA, 16S rRNA 및 23S rRNA) 사이의 상호작용에 대하여 알아보기 위해서, 대장균 tRNA^{Val}가 결합된 affinity column을 사용하여 여기에 결합하는 RNA

a) Aptamers similar to **C₁₅G₁AAC₁** sequence of 5S rRNA

4. UAGAGUUUUCUGGCAAAAUCUGGAAUCUAG**CGAAUCGCAUUC**UACGACCA
 6. AUGCAGUAAGUUUACCAUUUAACGGCACGUUUGGGAU**CCGAAU**UUCGG
 11. **CGAACAGCUG**UCAAUUGAUGCUGAUGGACUUUUAUUU**AUGACGU**
 20. UCGUUCGAAAGGU**CGAAC**AGUAAGAAUAUCAAAU**ACACCAGCAGUC**AU
 21. GUCUCAGACAGUUC**CAAAAAAGU**UCCUCA**UGAACGAG**CCCCGGUUCUGU
 23. ACUCAGACAGUAUCACAAAAGU**UCCUCAUGAACGAG**CCCCGGUUCUGU
 29. AGCAAAGACUCAAA**ACAGGG**AUGAUAGGAGU**CGAACUGAGUG**AUCGUAU
 38. UGCUAU**CGAAU**AUACACUA**AUGAUGCCGAGCA**AUGUUGAACUAAUUUUUA
 40. AGGGCAGUGACAUUUUUUCCUUUAUGAUGCUU**AGUGCCU****CGAAC**ACCGGGU
 41. UCAUAAUAAAACGAGG**CAACGAAU**UUGAGUGUAUUU**UCGCCAAU**AAUG
 44. UGAUGUUUUAGGUAAAGAAUGUUGGUGCGCU**CGAAC**UGACGUUGG
 51. UGUGAUAAACGGGAGCAUUGGUACAU**GCAGAAU**U**CGAAU**CACACCUUUUA
 52. AGCAGGUUUGUCUUCGGAGGGAU**GGACAUGUU****CGAAU**UCGCGCUU
 53. AGUUGUGUGAAGAUAAAUU**CTIAAACU**U**CCGAAU**UGGCUCACACUCUGAAG
 58. UCC**CGAAU**UCCGUAAAUGGGCAAU**CGGGUAGCCU**UGAAC**CACUGACUGG**
 73. AUUGGAAAAGAU**AGCUCUACAGUGAGCGCAA**ACUGAC**CGAUGAACU**
 79. **AGUGAACGGUA**AGGAUUGAAU**UCGCAGGGCUCGAGAU**AAGACCGCUUAG
 81. UUCUAACAU**CUAGUCAAAACAAGACCAGU**UGGAAGU**UGCCGAAU**CACUG
 87. AGGUAGCCUACAU**CCGGCGUAAGCU****UGAAC**ACUUGACU**UACCCGGCCGU**
 93. UCUGACUGCGCGGU**UCGAA**CAUGACAGGAGAAU**CGAUGGUGGCGGUG**
 94. UCUGACUGCGCGGU**UCGAA**CAUAGACAGGGAGAAU**CGAUGGUGGCGGUG**
 97. GGCAGGAUGAUCCCUUGAGAAAGCAU**ACGAAGCCCGAAC**ACCGUACGA
 101. UAGCUAGAGCAGAAAAUUUGAU**GCUCAGUCAGAACAU****UGAACU**CAGGGU
 111. AUAGAGAACGAU**CUJCGGUUUCAUUU****GAAU**UCGGGU**AUCUGAU**UCUGU
 112. GGCUAGGAUGAU**CCCAAGAGAAGCAUACCAAGCCCGAAC**ACCGUACGA
 113. ACGAUGAU**CAUCAUCGACACGGAGAU**UGAGCC**CGAAC**CGCUCCU**AUCGA**
 114. GUUGCUCAGAUAGCGACGAAGAAAC**CGCAU**AAGAGUA**ACC**CGGUUCA

b) Aptamers similar to **G₁₅₁AAGU₁₀₅** sequence of 16S rRNA

16. GUUGAGCUGCGACAACCUU**ACGAAGCU**CACUUCACUAGGUUUUUUAG
 17. GUAAAAGAAU**CGAAGCAAGAGC**UCAUUU**AUCCCCGU**UAUGUCCAUUGAU
 19. UGGUGAGUA**AGCAAGU**CAAU**AGACCAU**UACUUUAAGU**ACCCGGAUUG**
 21. GUUCACAGACAGU**UCCAA****AAAGU**UCCU**CAUGAACGAG**CCCCGGU**UCUGU**
 23. ACUCAGACAGU**AUCACAA****AAAGU**UCCU**CAUGAACGAG**CCCCGGU**UCUGU**
 30. AGU**UCCGAAGU**UCCAAAAAGAU**CGGGAU**GGGACCCU**CAGCAGUCUAU**
 32. UCAGCAGACU**CUCAACACCU**ACUGAGGCT**CCACAUUC**?GAUU**AAAGU**
 36. GCU**CTUGAAU**CCGAGAU**GGAU**CAGU**UGAGCGAA**GU**CACUCGACTU**GGUG
 53. AGUGUGUGAAGAUAAAUU**CUAAAACU**UCCGAUU**UGGCUCAGACTU****GAAAG**
 56. GAGUGAGCAGAAUGGUGAUUUU**UCGAAAU**UCA**AGAAAGU**UCAU**AUUAGAU**
 63. AAGCUAUGCUGUGUAGUAGUGCUGACGAGAA**AGU**CGUGA**AGU**UGAU**GUA**
 72. AGUCAAUUAAA**AUGCGACU**AAU**AGAAGCA**AU**UCCACCCGACUCGU**UAU
 76. UUUUAAU**CAACGGCCA**UA**AAGAGGCAUCU**AAGCUC**GAAGU**UGCGUUUG
 80. UCUGGAGUGAAGGG**AAGU**AUCAUCACUGGAGUGACAGGACAU**CUAUCU**
 81. UUCUAACAU**CUAGUCAAAACAAGACCAGU**UG**GAAGU**UGCCGAU**CUACUG**
 97. GGCAGGAUGAU**CCCUUGAGAAAGCAU**AC**GAAAGCCGAA**CACCGUACGA
 99. CACGAGGG**AAAGU**AGCU**AUCCU**ACUGUGAAU**GGAGAU**CGGUCAGAU**UGU**
 107. ACTUAGCU**CCACAACACCAGU**GGGGGAUGACTU**GAAAGU**ACACTUAGAU**UG**
 115. AAAGGACAGCG**AAGU**GACTU**UGGACU**AA**CUAGGU**UCCU**CAGGUGUUGU**

Fig. 2. Sequences of the randomized region in RNA aptamers. RNA molecules containing the consensus sequence homologous to those that appeared in the loop regions of three rRNAs are shown. The consensus sequences are indicated in bold letters.

c) Aptamers similar to G₁₃₇U¹³⁸U¹³⁹C¹⁴⁰C sequence of 16S rRNA

13. AGCAGUAACUCGAAGAAT¹³⁸U¹³⁹CCCAACCGUUUGGUCUUGUGUUACGU
 15. UAAUCUACGGUAGAUAGGCACGACAUGAAAACAGU¹³⁸CTCGAGNUCCGAUG
 21. GUCUCAGACAGU¹³⁸CCAAAAAGT¹³⁹U¹⁴⁰CCUCAUGAACGAGCCCCGGUUCUGU
 23. ACUCAGACAGUAUCACAAAAAGT¹³⁸U¹³⁹CCUCAUGAACGAGCCCCGGUUCUGU
 25. GGCUCAGACAGAU¹³⁸CACAAAAAGG¹³⁹U¹⁴⁰CCUCAUGAACGAGCCCCGGUUCUGU
 30. AGU¹³⁸UCCGAAGU¹³⁹JCCAAAAAGAU¹⁴⁰CGGGAU¹⁴¹GGGACCCU¹⁴²CAGCAGUCU¹⁴³AU
 58. UCCGAUU¹³⁸CCGGUAAAUGGGCAAU¹³⁹CGGGUAGCCU¹⁴⁰UGAACCCACUGACUGG
 67. AUGGAAAACAGGAAGAGU¹³⁸ACGU¹³⁹U¹⁴⁰CCUAGCU¹⁴¹GGGU¹⁴²UGU¹⁴³AU¹⁴⁴AAUCUGU
 72. AGUCAAU¹³⁸AUAAAUGCGACU¹³⁹AUAGAAGCA¹⁴⁰U¹⁴¹CCACCGACUCGU¹⁴²AU
 78. UUCGUU¹³⁸AGGAACGACUGAGAU¹³⁹AGU¹⁴⁰U¹⁴¹GUU¹⁴²CUU¹⁴³U¹⁴⁴JACCAAGUU¹⁴⁵AU¹⁴⁶UG
 82. AUGGUAAGGUAGUGGU¹³⁸AUCAUGAGCGCGAU¹³⁹CGT¹⁴⁰CTCAAU¹⁴¹U¹⁴²CGUA
 90. AAUCACUUAGUGCUGGGGGUAGCGAU¹³⁸UGT¹³⁹CTCCACGGUAGGU¹⁴⁰UA
 91. AAUCACUUAGUGCUGGGGGUACGAU¹³⁸UGT¹³⁹CTCCACGACAGUAGGU¹⁴⁰UA
 98. AAUGCACUUAGUGCUGGGGGUAGCGAU¹³⁸GT¹³⁹TCTCCACGGUAGGU¹⁴⁰UA
 102. UAT¹³⁸TCCAUAUAAU¹³⁹CAGUUGAGAUAGACAGAU¹⁴⁰CCGGCCU¹⁴¹AUAGG
 115. AAAGGACAGCGAAGUGACUUUGGACUAACUAGG¹³⁸T¹³⁹CCUCAGGUGUUGU

d) Aptamers similar to C₂₄₈GACGG₂₄₉ sequence of 23S rRNA

1. CUCGAUGGUU²⁴⁸JUCUJGGAAA²⁴⁹U²⁵⁰JCCGAGACGUC²⁵¹AUGCAGGGUGG
 3. CUUAAAACGAGAU²⁴⁸JUGUGU²⁴⁹AU²⁵⁰JGACGACA²⁵¹JU²⁵²JU²⁵³JGUC²⁵⁴CCGUC²⁵⁵AJCG
 9. UGU²⁴⁸AUACCU²⁴⁹JUJUCAGA²⁵⁰ACU²⁵¹CCUGG²⁵²AU²⁵³JAGG²⁵⁴UGG²⁵⁵ACU²⁵⁶AU²⁵⁷GGAG²⁵⁸CU²⁵⁹GACGA
 11. CGAACAGC²⁴⁸JUGCAA²⁴⁹U²⁵⁰JGAGC²⁵¹UGA²⁵²JGG²⁵³ACU²⁵⁴JU²⁵⁵JU²⁵⁶U²⁵⁷GAC²⁵⁸GT
 14. UAAACGAAAAU²⁴⁸GACGUC²⁴⁹CACAAUCAAGAGGGGAUCGUGCACUACUGG
 48. T²⁴⁸GACGGUCUAGAGAGGAU²⁴⁹GGACUAAGUCAGAAGGCCAUACUGU²⁵⁰UCA
 59. CGCGGAC²⁴⁸GAU²⁴⁹AUUU²⁵⁰UC²⁵¹CGCGAG²⁵²CUUCA²⁵³UAGAAA²⁵⁴U²⁵⁵JAGCUG²⁵⁶UAAG
 63. AAGCUA²⁴⁸UGCUGUGUAGUAGUGC²⁴⁹TGACGAGAAGUCGUGAAGUUGAUG²⁵⁰UA
 64. AAUGUGUGUACAGACGCAUUGGGUAUCCAAGGGT²⁴⁸GACGAUGCCC²⁴⁹GU²⁵⁰AU
 69. UUUCUACU²⁴⁸CGUAGACGGUGAUGAGACAUACU²⁴⁹U²⁵⁰CACU²⁵¹UCU²⁵²CCGU²⁵³UA
 73. AUJGGAAAAGAUAAAGC²⁴⁸TJACAGUGAGCGCAA²⁴⁹ACU²⁵⁰GACGACGAU²⁵¹GAACTU
 79. AGUGAACGGUAAAGGAUJGAAU²⁴⁸JCGCAGGG²⁴⁹CU²⁵⁰CGAGAUAAGAC²⁵¹GCU²⁵²JAG
 83. UCGAGUAGC²⁴⁸JTAGCAGCGU²⁴⁹GGUAAA²⁵⁰CCUGCG²⁵¹JCAA²⁵²CUAGUAGCACAGG²⁵³UG
 114. GUUGCUCAGAU²⁴⁸JCGACGAAGAAACGCGAAUAAAGAGUAACCGCGU²⁴⁹TCA

e) Aptamers similar to C₁₆₈UUAG₁₆₉ sequence of 23S rRNA

3. CUU¹⁶⁸AAACGAGAUUGUGUAUUGACGACA¹⁶⁹UUUGUUUGUCCGCU¹⁷⁰CGU¹⁷¹ACG
 34. UCUAT¹⁶⁸TU¹⁶⁹AGGCCAUCUAUAT¹⁷⁰TU¹⁷¹AGCGUUUGAAAAGAUCCACCGGGU
 40. AGGGCAGUGCACUUUUUCCUUAUGAUGCT¹⁶⁸TAGUGCCU¹⁶⁹CGAACACCGGGU
 43. CAACAAGCGUCAAUUGUUAGGCAC¹⁶⁸TU¹⁶⁹AGU¹⁷⁰U¹⁷¹CGGU¹⁷²UCGAGGCACCGU¹⁷³AGU
 44. UGAUGT¹⁶⁸TU¹⁶⁹AGGUAAAGAAUGUUGGUGCGCUCGAACUGACGU¹⁷⁰UUG
 66. UGGACAAU¹⁶⁸AAAACGAUAGGCT¹⁶⁹UAAACAGAGGU¹⁷⁰CGGACUGCACCAU¹⁷¹AU
 77. GAUJGCUCAGUGAUJGAAU¹⁶⁸JCAGGUCCGJCGAGACCUCUGAU¹⁶⁹CUCCU¹⁷⁰UAG
 79. AGUGAACGGUAAGGAUJGAAU¹⁶⁸JCGCAGGG¹⁶⁹CU¹⁷⁰CGAGAUAAGAC¹⁷¹GU¹⁷²UAG
 90. AAUCACU¹⁶⁸UAGUGCUGGGGGUAGCGAUJGU¹⁶⁹TJCCACCGCU¹⁷⁰AGGU¹⁷¹A
 91. AAUCACU¹⁶⁸UAGUGCUGGGGGUAGCGAUJGU¹⁶⁹TJCCACGACAGU¹⁷⁰AGGU¹⁷¹A
 97. GGCAGGAU¹⁶⁸JUCCCU¹⁶⁹UAGAA¹⁷⁰GCAUACGAAGCCCGAAC¹⁷¹CCGU¹⁷²ACGA
 98. AAUJGCACU¹⁶⁸UAGUGCUGGGGGUAGCGAUJGU¹⁶⁹TJCCACCGCU¹⁷⁰AGGU¹⁷¹A
 109. UAUCCAAUCAUAAAUCUAGU¹⁶⁸TU¹⁶⁹AGAGAUAGACAGAU¹⁷⁰GGCCUU¹⁷¹AUAG

Fig. 2. continued

- f) Aptamers similar to A₂₆₀CAGU₂₆₀ sequence of 23S rRNA
11. CGAACAGCTGUCAAUUGAUGCUGAUGGACUUUAUUAUGACGU
 15. UAAUCUACGGUAGAUAGGCACGACAUGAAACAGUUCUCGAGNUCCGAUG
 20. UCGUUCGAAGGUCGAACAGUAAGAAUAUCAUAACACCAGCAGUCAU
 21. GUCUCAGACAGUUCACAAAAGUUCUCUAUGAACGAGCCCGGUUCUGU
 23. ACUCAGACAGUAUCACAAAAGUUCUCUAUGAACGAGCCCGGUUCUGU
 30. AGUUCCGAAGUUCACAAAAGUUCGGGAUCCGACCCUCAGCAGUCUAU
 35. UUGAUAGCAGUGGUAAGACUGAUGCUACCAGUUCUCUGAGUAGGU
 40. AGGGCAGUGCAGUUAUUUCCUUAUGAUGCUUAGUGCCUCGAACACCGGGU
 42. GGGCUGAGGAUGUAAAAGCUCAUCCGGUAGUAUUUAAGUUGUCUAAGGG
 66. UGGACAAUUAAAACGAUAGGCUUAAACAGAGGUCCGACUGCACCAUAU
 73. AUUGGAAAAAGUAAGCUCUACAGUAGAGCGCAAACUGACGACGAUGAACU
 91. AAUCACUUAGUGCUGGGGGUACGAUUGUUCUCCACGACAGUAGGUUA
 92. UCUGAUGGUGAUAAGUCCUGUCGAUUAUGACUGCUUUCGCCUGAUAGU
 100. AUGCCUAGAUAUAGGUUGCAUUGAUGAUCGAGUAUCAUUCACAGUUG
 115. AAAGGACAGCGAAGUGACUUUGGACUAACUAGGUUCCUCAGGUGUUGU
- g) Aptamers similar to G₂₁₀UGUA₂₁₀ sequence of 23S rRNA
2. CGAAAGUCUCUGCUGAGCUAAGGUUCGAGACACGAGUGUGUCUGUGU
 3. CUUAAAACGAGAUUGUUAUUGACGACAUIUUGUUGUCCGUGCUACG
 10. GUUAGACCAAGCAUGUGAUAGACUUAACCUUAGUCCGAGCCAUCGUGCA
 22. CGAAAAGUCUCUGCUGAGCUAAGGUUCGAGACACGAGUGUGUCUGUUGU
 24. CGAAAAGUCUCUGCUGAGCUAAGGUUCGAGACACGAGUGUGUCUGUUGU
 27. AGAGCCUACUAUAGUAUACUACUGUAAUCGTGTGCAACUCGGUGAUG
 40. AGGGCAGTGCACUUUUUCCUUAUGAUGCUUAGUGCCUCGAACACCGGGU
 41. UCAUAAUAAAACGAGGCAACGAAUUUGAGTGTAAUAUUCGCCAAUAAUG
 42. GGGCUGAGGATGTAAAGCUCAUCCGGUAGUAUUUAAGUUGUCUAAGGG
 53. AGUGTGTGAAGUAAAUUCUAAACUUCGAAUUGGCUCAGACUCUGAAG
 63. AAGCUAUGCUGTGTAGUAGUGCUGACGAGAAGUCGUGAAGUUGAUGUA
 64. AAUGUGUGUACAGACGCAUUGGGUUAUCCAAGGGUGACGAUGCCCGUAU
 68. AUUAAACGAAUUAAGUGUGUUAUUGGGUUAUUGAGUUCUCACUUGUAU
 74. UAGCUAAAACCGCGGUAUCGUUUUGAAGAUUGGCUCGUGUAAUUGU
 88. UGAUUUACCAUAUGUAUAUACAUGUUAACACAAACUJCGACCUUGUUG
 95. GUAGGCCGAUUGAGGUGGUACAGGUUCUGGUCUCUCUGUGUCUCGGAUUGG
 117. UAAGGUGGUUCUGAGCGUAAAACUUGGCCAUUCUCUGCGCGUGUACCGU

Fig. 2. continued

aptamer들을 SELEX 방법으로 선별하여 이들의 일차구조를 세 가지 리보솜 RNA들과 비교하였다. 선별된 RNA aptamer들 중에는 세 가지 리보솜 RNA들의 코리 영역에 있는 특정 연속부분과 유사한 염기 서열을 가지는 것들이 많이 존재하는 것으로 보아서 IRNA¹⁾는 리보솜 내에서 rRNA들과 다양한 상호작용을 하는 것으로 생각되며 우리의 결과는 다른 연구자의 것과 잘 일치하였다. 그리고 이 논문에서 사용된 SELEX 방법은 아미노산, 단백질 및 올리고뉴클레오티드 등과 같은 생체 분자들뿐만 아니라 RNA-RNA 상호작용에 대한 정보를 얻는데 유용하게 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

인용문헌

1. Shine, J.; Dalgarno, L. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1974**, *71*, 1342.
2. Noller, H. F.; Hoffarth, V.; Zimniak, L. *Science* **1992**, *256*, 1416.
3. Sergiev, P. V.; Dokudovskaya, S. S.; Topin, A.; Petrov, A. V.; Shpanchenko, O. V.; Dontsova, O. A.; Brimacombe, R.; Bogdanov, A. A. *Nucleic Acids Symp. Ser.* **1997**, *36*, 181.
4. Ko, J.; Cho, B.; Ahn, J. K.; Lee, Y.; Park, I. *Bull. Korean Chem. Soc.* **1999**, *20*, 1335.
5. Ko, J.; Lee, Y.; Park, I.; Cho, B. *FEBS Lett.* **2001**, *508*.

- 300.
6. Zvereva, M. I.; Shpanchenko, O. V.; Dontsova, O. A.; Nierhaus, K. H.; Bogdanov, A. A. *FEBS Lett.* **1998**, *421*, 249.
 7. Dohme, F.; Nierhaus, K. H. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1976**, *74*, 2221.
 8. Cho, B.; Taylor, D. C.; Nicholas, Jr. H. B.; Schmidt, F. *J. Bioorg. Med. Chem.* **1997**, *5*, 1107.
 9. Joseph, S.; Weiser, B.; Noller, H. F. *Science* **1997**, *278*, 1093.
 10. Erdmann, V. A. *Progress in Nucleic Acids Res. Mol. Biol.*; Academic Press: New York, U.S.A., 1976; Vol. 18, p. 45.
 11. Geiger, A.; Burgstaller, P.; von der Eltz, H.; Roeder, A.; Famulok, M. *Nucleic Acids Res.* **1996**, *24*, 1029.
 12. Haller, A. A.; Samow, P. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1997**, *94*, 8521.
 13. Wallace, S. T.; Schroeder, R. *RNA* **1998**, *4*, 112.
-