

Xanthomonas citri의 5S rRNA의 구조 결정

趙峯來 · 崔明彦 · 徐世源 · 任慈惠[†] · 高文珠[‡] · 朴仁源*

서울대학교 자연과학대학 화학과

[†] 경기대학교 화학과

[‡] 조선대학교 화학과

(1992. 2. 6 접수)

Determination of the Structure of 5S rRNA from *Xanthomonas citri*

Bongrae Cho, Myung-Un Choi, Se Won Suh, Jahei Ihm[†], Moonjoo Koh[‡], and Inwon Park*

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

[†] Department of Chemistry, Kyunggi University, Suwon 440-760, Korea

[‡] Department of Chemistry, Chosun University, Kwangju 501-759, Korea

(Received February 6, 1992)

요약. *Xanthomonas citri*의 5S rRNA를 분리, 정제하여 효소적 방법과 화학적 방법으로 그 구조를 결정하였다. 이 5S rRNA는 119개의 뉴클레오티드로 구성되어 있으며 변형된 뉴클레오시드를 함유하지 않는다. 그리고 이 5S rRNA는 *X. maltophilia*의 것처럼 5'-말단에 가외의 우리단 잔기를 하나 더 가지고 있다. 결정한 *X. citri*의 5S rRNA의 이차구조는 다른 원핵세포의 것들에 대해서 제안된 일반 모형들과 매우 유사하며 [De Wachter et al., *Biochimie*, 64, 311 (1982); Specht et al., *Nucleic Acids Res.*, 18, 2215 (1990); Cho et al., *Proceedings of the First Symposium on Biomolecules*, p. 9 (1991)], 5개의 이중나선 줄기와 5개의 단일가닥 고리 그리고 2개의 내밀린 구조를 가진다.

ABSTRACT. The structure of the 5S rRNA isolated from *Xanthomonas citri* was determined by enzymatic and chemical degradation methods. It consists of 119 nucleotides and contains no modified nucleosides. As does the 5S rRNA of *X. maltophilia*, it contains an additional uridine residue on the 5'-terminus. The secondary structure of the 5S rRNA from *X. citri* was almost identical to the generalized models proposed by many other workers [De Wachter et al., *Biochimie*, 64, 311 (1982); Specht et al., *Nucleic Acids Res.*, 18, 2215 (1990); Cho et al., *Proceedings of the First Symposium on Biomolecules*, p. 9 (1991)]. The secondary structure of 5S rRNA from *X. citri* consists of five helices, five loops and two bulges. This 5S rRNA has a uridine residue at position 66 as a bulge.

서 론

본 연구진에서는 열 가지 *Pseudomonas*와 세 가지 *Xanthomonas* 종들의 5S rRNA의 일차구조에 기초하여 계통수를 재구성하여 계통발생학적 유연관계를 분석, 발표한 바 있다¹. 그 연구에서 우리는 *Pseudomonas*와 *Xanthomonas* 종들 사이에는 진화의 거리가 가깝다는 것을 알았다. 그리고 진화의 거리가 가까운 5S rRNA들의 이차구조들 사이에는 상당한 유사성이 있음을 관찰하였다^{2~4}. 우리는 5S rRNA

들에 대한 효소적 및 화학적 분석 결과들에 기초하여 그것들에게 공통적으로 적용될 수 있는 5S rRNA에 대한 이차구조의 일반모형을 제안한 바 있다⁵. 본 연구진이 제안한 모형은 다른 연구자들이 원핵생물의 5S rRNA들에 대하여 제안한 일반모형들^{6,7}과 거의 동일하였다.

그래서 본 연구에서는 *Xanthomonas citri*의 5S rRNA의 일차구조 및 이차구조를 효소적 및 화학적 방법으로 결정하고자 하였으며, 특히 화학적 방법

에서는 구아닌을 특이하게 변형하는 케톡살을 사용하여 염기쌍을 이루지 않은 구아닌 염기들을 분석하였다. 이러한 분석으로 얻은 결과들을 본 연구진이 제안한 모형의 특성과 비교, 검토하였더니 *X. citri*의 5S rRNA의 이차구조도 이미 제안한 모형과 매우 유사함을 알았다.

실험

시약

X. citri(KCTC 2499) 균주는 한국과학기술원의 박찬규 박사로부터 기증받았으며 5S rRNA의 구조 분석에 사용한 주요 효소류와 시약들은 아래의 회사들에서 구입하였다. 리보핵산 가수분해효소류는 스웨덴의 Pharmacia 또는 미국의 Calbiochem, 알칼리성 인산 가수분해효소는 독일의 Boehringer Manheim, T₄ 폴리뉴클레오티드 키나아제는 미국의 Promega, RNA 연결효소는 스웨덴의 Pharmacia, 황산 아메틸, 우레아 그리고 Tris는 미국의 Aldrich, 피로탄산 이에틸과 히드라진은 미국의 Sigma, 폐놀과 아크릴아미드는 서독의 Merck, 케톡살은 미국의 Research organic사 등에서 구입하였다. 아닐린은 Merck제를 재증류하여 -20°C에서 보관하였다가 사용하였다. Johnson과 Walseth⁸의 방법으로 [³²P]-H₃PO₄(Amersham, 영국)로부터 [γ -³²P]-ATP를 합성하였고 England⁹의 방법으로 [γ -³²P]-ATP로부터 [5'-³²P]-pCp를 합성하여 사용하였다.

5S rRNA의 추출 및 정제

본 연구진에서 사용해 온 고문주 등¹⁰의 방법에 따라서 추출하고 정제하였다.

5S rRNA의 일차구조 분석

Donis-Keller^{11,12}의 방법과 Peattie¹³의 방법에 근거하여 고문주 등¹⁰이 기술한 방법에 따라서 분석하였다.

5S rRNA의 이차구조 및 삼차 상호작용 분석

효소적 절단. 단일가닥에 특이하게 작용하는 효소로서는 핵산 가수분해효소 S₁과 리보핵산 가수분해효소 T₁을 사용하였고, 이중나선 부분에 특이하게 작용하는 효소로서는 리보핵산 가수분해효소 V₁을 사용하였다.

화학적 변형. Mg²⁺ 존재하에서 카르베톡실화

반응은 조봉래 등¹⁴의 방법에 따랐고 시토신의 메틸화 반응은 고문주와 박인원⁴의 방법에 따라서 시행하였다. 구아닌의 케톡실화 반응은 Leffers 등¹⁵의 방법을 변형하여 실시하였다. 말단이 표지된 5S rRNA를 70 mM HEPES[4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethane sulfonic acid] (pH 7.6)와 20 mM 염화 마그네슘 그리고 300 mM 염화칼륨을 함유하는 복원완충용액 200 μl에 녹이고 이것을 37°C에서 20분간 항온처리한 후 즉시 얼음 속에서 냉각시켰다. 여기에 5 μl의 케톡살(20% 에탄올 용액에서 35 mg/ml)을 첨가한 다음 37°C에서 10분간 항온처리하였다. 5S rRNA를 에탄올로 침전시켜서 거둔 다음에 리보핵산 가수분해효소 T₁으로 처리하여 케톡실화되지 않은 구아노신 뒤에 오는 포스포디에스테르 결합을 절단하였다.

결과 및 고찰

일차구조. Fig. 1은 *X. citri*의 5S rRNA의 일차구조를 나타낸다. *X. citri*의 5S rRNA는 119개의 뉴클레오티드로 구성되어 있으며 변형된 염기를 가지고 있지 않다. *X. maltophilia*의 5S rRNA에서 관찰되는 바와 같이¹⁴, *X. citri*의 5S rRNA에는 90번과 120번 위치의 염기가 결실되어 있으며 5'-말단에 우리던 잔기를 하나 더 가지고 있다. 다른 한편, *X. maltophilia*와 몇몇 *Pseudomonas* 종들의 5S rRNA들에서 관찰되는 것¹⁶과는 달리, *X. citri*의 5S rRNA의 3'-말단은 푸린 염기인 구아닌을 가지고 있는데, 이것은 *X. celebensis*의 5S rRNA에서도 관찰되었다(본 연구진의 미발표된 결과).

이차구조. *X. citri*의 5S rRNA의 일차구조를

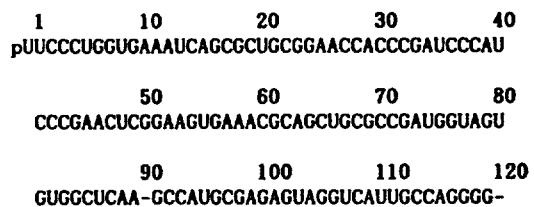


Fig. 1. Primary structure of 5S rRNA from *X. citri*. The gap at 90 is a deletion of nucleotide as judged from the alignment of primary sequences of 5S rRNA from species of *Pseudomonas* and *Xanthomonas*.

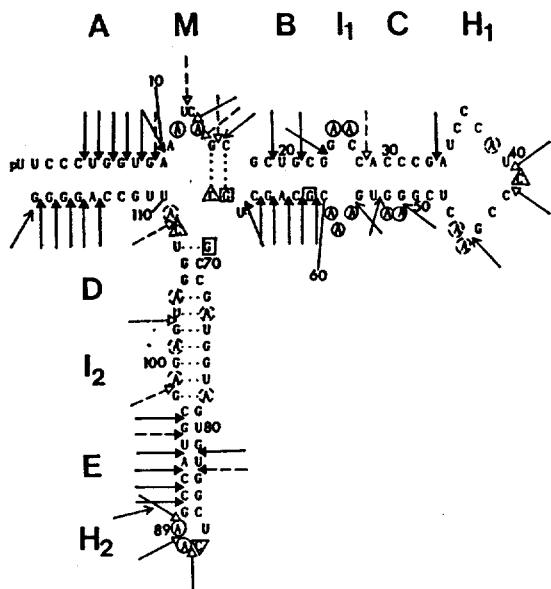


Fig. 2. Secondary structure of 5S rRNA from *X. citri*. Bases modified and phosphodiester bonds cleaved by the enzymes are indicated on the structure.

	Strong	Weak
Nuclease S ₁	←	←—
RNase V ₁	←	←—
RNase T ₁	←	
Kethoxylation in the presence of MgCl ₂	■	
Carbethoxylation in the presence of MgCl ₂	Ⓐ	
Carbethoxylation in the absence of MgCl ₂	Ⓑ	
Methylation of cytosine	△	

Specht 등¹⁷이 제안한 일반화된 이차구조 모형에 따라서 이차구조를 구성한 다음에 그 타당성을 본 연구에서 얻은 결과들에 기초해서 비교, 검토해 보았다. 몇 가지 화학적 변형과 효소적 절단 반응의 결과들과 이에 기초한 이 5S rRNA의 이차구조 모형을 Fig. 2에 나타내었다. 이 모형에 나타난 구조적 특징들은 다음과 같았다.

A 줄기. 이 줄기는 10개의 염기쌍으로 이루어져 있으며 세 개의 U*G 염기쌍들 ($U_1 * G_{119}$, $U_8 * G_{112}$, 그리고 $G_9 * U_{111}$)을 가진다. $G_{118}-G_{119}$ 결합이 리보핵산 가수분해효소 T₁에 의해서 약하게 절단되는 것으로 보아서 $U_1 * G_{119}$ 염기쌍은 안정하지 못한 것으로 추정된다. A 줄기의 나머지 부분은 리보핵산 가수분해효소 V₁에 의해서 가수분해되는데 반해서 핵산 가수분해효소 S₁에 의해서는 가수분해되지 않

는다. 따라서 이 줄기는 매우 안정한 나선 줄기를 이루는 것으로 생각된다.

M 고리. 이 고리는 염기쌍을 이루지 않는 7개의 누클레오티드들로 이루어져 있다. 몇몇 *Pseudomonas*와 *Xanthomonas* 종들의 5S rRNA들의 13번과 14번 위치에는 각각 A와 U가 있는데 반해서, *X. citri*의 5S rRNA의 상응하는 위치들에는 각각 U와 C가 자리잡고 있다. 이러한 성질은 *X. celebensis*의 5S rRNA에서도 관찰된다(본 연구진의 미발표된 결과). 이 고리의 대부분의 포스포디에스테르 결합들에 핵산 가수분해효소 S₁이 작용할 뿐 아니라 A₁₂, A₁₅ 그리고 A₁₀₉들이 카르베톡실화되고, C₆₈과 C₁₀₈이 메틸화되고, G₆₇이 캐톡실화되는 것으로 보아서 *X. citri*의 5S rRNA의 M 고리는, 본 연구진이 이전에 제안한 일반모형⁶에서의 M 고리보다 더 확대된 상태에 있음을 알 수 있다.

B 줄기. 이 줄기는 6개의 염기쌍과 2개의 확장 가능한 염기쌍들 ($G_{16} : C_{68}$ 과 $C_{17} : G_{67}$), 그리고 1개의 내밀린 구조로 구성되어 있다. $G_{16}-G_{17}$ 결합이 리보핵산 가수분해효소 S₁과 T₁에 의해서 절단되고 C₆₈이 메틸화 반응을 받으며 G₆₇이 캐톡실화 변형을 받는 것으로 보아서 염기쌍 $G_{16} : C_{68}$ 과 $C_{17} : G_{67}$ 염기쌍들의 수소결합은 불안정한 것으로 추출된다. 이것은 아마도 삼차구조에서 이 염기쌍들이 심하게 비틀리기 때문에 일어나는 것으로 생각된다. 이러한 현상은 일차구조가 *X. citri*의 5S rRNA와 매우 비슷한 *X. maltophilia*의 5S rRNA에서도 관찰되었다¹⁴. 이중나선 B와 고리 I₁의 경계부분의 보존된 $G_{23} : C_{60}$ 염기쌍은 *P. alcaligenes*와 *P. acidovorans*의 5S rRNA들에서 불안정한 수소결합으로 이루어져 있음이 밝혀졌지만^{4,17}, *X. citri*의 5S rRNA에서는 $G_{23}-G_{24}$ 결합이 리보핵산 가수분해효소 T₁에 의해서 절단되지 않으며 리보핵산 가수분해효소 V₁에 의해서는 절단되며, 또 C₆₀이 메틸화 변형을 받지 않는 것으로 보아서 $G_{23} : C_{60}$ 염기쌍이 *X. maltophilia*의 5S rRNA의 것과 마찬가지로 안정한 것으로 생각된다. 거의 모든 진성 박테리아의 5S rRNA들은 66번 위치에서 아데노신 잔기를 내밀린 구조로 가지는데, *X. citri*에서는 U₆₆이 내밀린 구조를 이룬다. *X. maltophilia*와 *P. acidovorans* 그리고 *P. cepacia*의 5S rRNA들에서도 U₆₆의 내밀린 구조를 가진다^{14,17,18}. I₁

고리 쪽으로 있는 B 줄기 즉, U₆₆의 오른쪽으로 있는 B 줄기의 포스포디에스테르 결합들은 리보핵산 가수분해효소 V₁에 의해서 절단될 뿐 아니라, 그 부분에 있는 염기들이 화학적 변형을 받지 않는 것으로 보아 이 부분은 안정한 나선일 것으로 생각된다.

I₁ 고리. 이 고리는 7개의 염기로 구성되어 있으며, 5'-쪽 가닥에 염기 1개가 더 많은 비대칭성을 보인다. G₂₄-A₂₅ 결합이 리보핵산 가수분해효소 T₁에 의해서 절단되지 않으며 G₂₄도 케톡실화 반응을 받지 않는다. 그러나 A₂₅A₂₆ 연속부분과 이 고리의 3'-쪽의 A₅₇AA₅₉ 연속부분에서 카르베톡실화 변형이 일어나는 것으로 보아서, 이 부분은 안정한 단일 가닥의 고리를 이룰 것으로 생각된다.

C 줄기. 이 줄기는 7개의 염기쌍과 2개의 내밀린 염기로 구성된다. A₅₂A₅₃ 연속부분이 카르베톡실화 변형을 받는 것으로 보아서 A₅₂A₅₃이 내밀린 구조를 형성하는 것이 확실하다. C₂₈-A₂₉ 결합이 핵산 가수분해효소 S₁의 작용을 받으며 G₅₁-A₅₂, G₅₄-U₅₅, G₅₆-A₅₇ 결합들이 모두 리보핵산 가수분해효소 T₁에 의해서 절단되는 것으로 보아서, 이중나선 C의 안정성은 내밀린 A₅₂A₅₃ 부분을 기준으로 I₁ 고리쪽은 불안정한 이중나선을 이루고 H₁ 고리쪽은 매우 안정한 이중나선을 이루는 것으로 생각된다. 따라서, I₁-C 구역은 이미 다른 연구진들에 의해서 제안된 바와 같이^{14,16,19~21} 몇 가지 형태 이성질체를 이루는 것으로 생각된다.

H₁ 고리. 13개의 염기로 구성된 이 고리의 대부분의 결합들이 핵산 가수분해 효소 S₁에 의해서 작용을 받고, G₄₄-A₄₅ 결합이 리보핵산 가수분해효소 T₁에 의해서 절단되고, 또 A₃₈과 A₄₅A₄₆ 연속부분이 카르베톡실화 변형이 일어나고 C₄₁이 메틸화 반응을 받는데, 이것은 이 구분이 단일 가닥으로 된 고리를 구성하고 있음을 암시한다. 특히 지금까지 알려진 *Pseudomonas*와 *Xanthomonas* 종들 뿐만 아니라 대부분의 원핵생물들의 5S rRNA들에 존재하는 41번 위치를 제외한 연속부분(U₃₅CCCCAU₄₀N₄₁C₄₂CGAAC₄₇)이 여기서도 보존되어 있다는 것은 주목할 만한 일이다^{14,16,17,21}. 아마도, H₁ 고리는 모든 원핵생물의 5S rRNA들에 공통적으로 존재하는 특징이며 리보솜에서 중요한 역할을 하리라고 생각된다.

D 줄기. 이 줄기는 6개의 염기쌍으로 이루어져

있고 비표준형 염기쌍 G₇₂*A₁₀₄를 포함하는 것이 특징이다. 이 위치에서의 비표준형 염기쌍 G*A의 존재는 De Wachter 등⁶의 5S rRNA 이차구조 모형에서도 제안되었다. G₆₉가 케톡실화 변형을 받지만 G₆₉-G₇₀ 결합이 리보핵산 가수분해효소 T₁에 의해서 절단되지 않는 것으로 보아서 G₆₉:U₁₀₇ 염기쌍은 불안정한 수소결합을 이루는 것으로 생각된다. C₇₀과 C₇₁이 메틸화 반응을 받지 않고 G₁₀₅와 G₁₀₆도 케톡실화 변형을 받지 않으며, 또한 G₁₀₅-G₁₀₆ 결합이 리보핵산 가수분해효소 T₁의 작용도 받지 않은 것은 염기쌍 C₇₀:G₁₀₆과 C₇₁:G₁₀₅들이 안정하다는 것을 의미한다. G₁₀₂-U₁₀₃ 결합이 핵산 가수분해효소 S₁에 의해서 약하게 작용을 받고 A₇₃, A₁₀₄들이 Mg²⁺이 존재하지 않는 조건에서만 카르베톡실화 변형을 받고 U₁₀₃-A₁₀₄ 결합이 자발적으로 잘라지는 것 등으로 보아서 염기쌍 A₇₃:U₁₀₃과 비표준 염기쌍 G₇₂*A₁₀₄는 Mg²⁺에 의해서 안정화되는 것으로 생각된다.

I₂ 고리. 이 고리는 8개의 염기로 구성되어 있는데, G₇₅-G₇₆, G₇₆-U₇₇ 및 G₁₀₀-A₁₀₁ 결합들이 Mg²⁺이 존재하는 조건에서는 리보핵산 가수분해효소 T₁에 의해 절단되지 않지만 Mg²⁺이 존재하지 않는 조건에서는 리보핵산 가수분해효소 T₁의 작용을 받는다. 그리고 A₇₈, A₉₉ 그리고 A₁₀₁들이 Mg²⁺이 존재하는 상태에서는 카르베톡실화 변형을 받지 않지만 Mg²⁺이 존재하지 않는 조건에서는 변형을 받는다. D 줄기와 I₂ 고리 부분에 있는 5개의 아데노신 모두가 Mg²⁺이 없는 조건에서는 카르베톡실화 반응을 받지만, 반대로 Mg²⁺이 있는 조건에서는 카르베톡실화되지 않는다는 것은 5S rRNA의 이 부분은 매우 유연하며 리보솜내에서는 Mg²⁺ 또는 리보솜 단백질들이 A*G 염기쌍을 안정하게 만들 것으로 유추된다. 효모의 페닐알라닌 tRNA 분자에 있어서는 L자형의 두 이중나선 부분이 접속하는 부분, 즉 L자형의 돌쩌귀 부분에 비표준형 염기쌍 A*G가 있는 것^{22,23}으로 미루어 보아, 5S rRNA 분자의 이 D 줄기와 I₂ 고리 부분은 5S rRNA 분자가 삼차구조를 형성할 때 돌쩌귀가 될 수 있음을 암시한다.

E 줄기. 7개의 염기쌍으로 이루어진 이 줄기는 리보핵산 가수분해효소 V₁에 민감하고 이 줄기의 아데닌, 구아닌 그리고 시토신들이 화학적 변형을 전혀 받지 않는 것으로 보아서 상당히 안정한 이

중나선 줄기를 이루고 있음을 알 수 있다. 특히 이 부분은 대부분 G:C와 G:U 염기쌍들로 이루어져 있으므로 열역학적으로 상당히 안정할 것으로 추정된다. 그러나 G₉₁-C₉₂ 결합이 리보핵산 가수분해효소 T₁에 의해서 약하게 절단되는 것으로 보아서 C₈₅:G₉₁ 염기쌍은 다소 불안정한 것으로 생각된다. 이러한 성질은 *X. celebensis*의 5S rRNA에서도 관찰되었다(본 연구진의 미발표된 결과).

H₂ 고리. 이 고리는 4개의 염기로 이루어져 있으며, 대부분의 결합들이 핵산 가수분해효소 S₁에 의해서 작용을 받는 사실과 C₈₇이 메틸화 변형을 받고 또한 A₈₈A₈₉ 연속부분이 카르베톡실화 반응을 받으며 U₈₆이 KMnO₄에 의해서 산화되는(결과는 나타내지 않음) 사실은 이 고리가 E 줄기와 함께 명확한 머리핀 구조를 이루고 있음을 암시한다.

자발적으로 분해되는 피리미딘 누클레오시드-아데노신 결합들. 효소나 화학시약을 사용하지 않는 조건에서 5S rRNA의 C₁₄-A₁₅, C₂₈-A₂₉, C₃₈-A₃₉, C₆₂-A₆₃, U₇₇-A₇₈, C₉₃-A₉₄, U₁₀₃-A₁₀₄, C₁₀₈-A₁₀₉ 그리고 C₁₁₄-A₁₁₅ 등 10군데의 포스포디에스테르 결합들이 자발적으로 분해되는 것이 관찰되었는데, 그 중 7개가 단일가닥 부분에 위치한다는 것은 매우 흥미있는 일이다. 이러한 현상은 *X. maltophilia*와 *P. acidovorans*의 5S rRNA들에서도 관찰되었다^{14,17}. 자발적으로 분해되기 쉬운 이 피리미딘 누클레오시드와 아데노신 사이의 포스포디에스테르 결합들은 모두 동일한 삼차구조적 환경에 놓여 있을 것으로 추측된다. 따라서 *Pseudomonas*와 *Xanthomonas*의 5S rRNA들은 그 이차구조와 삼차구조가 비슷할 것으로 추정된다. 이 결합들이 Mg²⁺의 농도가 높을수록 잘 분해되지 않는다는 사실은(결과들은 나타내지 않았음) 이 결합들이 리보솜내에서는 Mg²⁺ 또는 리보솜 단백질들에 의해서 보호를 받을지도 모른다는 것을 암시하는 것으로 생각된다. 피리미딘 누클레오시드-아데노신 포스포디에스테르 결합은 아니지만, C₄₁-C₄₂의 결합에서도 자발적으로 가수분해가 일어난다는 것이 *X. maltophilia*와 *X. citri*의 5S rRNA에서 관찰되었다.

본 연구는 교육부의 1990년도 기초과학연구소 학술연구비의 지원으로 이루어졌다.

인 용 문 헌

- B. Cho, M. Koh, J. Ihm, and I. Park, *Korean Biochem. J.*, **24**, 292 (1991).
- M. Koh, I. Park, and K. Lee, *Korean Biochem. J.*, **21**, 195 (1988).
- M. Koh, J.-T. Lee, and I. Park, *Korean Biochem. J.*, **22**, 68 (1989).
- M. Koh and I. Park, *Korean Biochem. J.*, **22**, 430 (1989).
- B. Cho, S. Kim, Y. Kim, S. Kim, J.-T. Lee, S. Kang, S.-J. Lee, Y. Sim, M. Koh, and I. Park, "Proceedings of the First Symposium on Biomolecules", *Korean Chemical Society*, p. 9., 1991.
- R. De Wachter, M.-W. Chen, and A. Vandenberghe, *Biochimie*, **64**, 311 (1982).
- T. Specht, J. Wolters, and V. A. Erdmann, *Nucleic Acids Res.*, **18**, 2215 (1990).
- R. A. Johnson and T. F. Walseth, "Advances in Cyclic Nucleotide Research", Vol. 10, G. Brooker, R. Greengard, and G. A. Robinson, ed., p. 135, Raven Press, N. Y., 1979.
- T. E. England, A. G. Bruce, and O. C. Uhlenbeck, "Methods in Enzymology", Vol. 65, L. Grossman and K. Moldave ed., p. 65, Academic Press. N. Y. 1980.
- M. Koh, I. Park, and S.-Y. Lee, *Korean Biochem. J.*, **19**, 61 (1986).
- H. Donis-Keller, *Nucleic Acids Res.*, **4**, 2527 (1977).
- H. Donis-Keller, *Nucleic Acids Res.*, **8**, 3133 (1980).
- D. A. Peattie, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**, 1760 (1979).
- B. Cho, M. Koh, J. Ihm, and I. Park, *Korean Biochem. J.*, **24**, 55 (1991).
- H. Leffers, J. Egebjerg, A. Andersen, T. Christensen, and R. A. Garrett, *J. Mol. Biol.*, **204**, 507 (1988).
- M. Koh, Doctoral Thesis, Seoul National University, Seoul, 1989.
- S.-J. Lee, M. Koh, J. E. Nam, and I. Park, *Korean Biochem. J.*, **23**, 135 (1990).
- A. Vandenberghe, A. Wassink, P. Raeymaeker, R. De Baere, E. Huysman, and R. De Wachter, *Eur. J. Biochem.* **149**, 537 (1985).

19. E. Dams, A. Vandenberghe, and R. De Wachter, *Nucleic Acids Res.*, **11**, 1245 (1983).
20. R. De Wachter, M.-W. Chen, and A. Vandenberghe, *Eur. J. Biochem.*, **143**, 175 (1984).
21. J. Wolters and V. A. Erdmann, *Nucleic Acids Res.*, **16**, r1 (1988).
22. S.-H. Kim, "Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology", Vol. 17, p. 181, Academic Press, N. Y., (1976).
23. J. L. Sussman, S. R. Holbrook, R. Wade Warrant, G. M. Church, and S.-H. Kim, *J. Mol. Biol.*, **123**, 607 (1978).

5