

## 3'-Terminal Sequence of *Mucor racemosus* 18S rRNA Gene

Ji, Geun-Eog, Jin-Kyung Kim

Department of Food Science and Nutrition, College of Natural Sciences, Hallym University,  
Chunchon 200-702, Korea

### *Mucor racemosus* 18S rRNA Gene의 3' 말단 염기해독

지근억 · 김진경

한림대학교 자연과학대학 식품영양학과

**ABSTRACT:** The nucleotide sequence of the 3' terminal 568 bases of the 18S rRNA gene from *Mucor racemosus* was determined. The 3' end of the structural gene was identified by comparison with the published sequence for the *Saccharomyces cerevisiae* gene. The *M. racemosus* gene was found to share 83.8% homology with that of *S. cerevisiae* and 71-81% homology with those of human, mouse, maize, *Xenopus laevis* and *Tetrahymena thermophila*. The known methylation sites in *X. laevis* and human were also highly conserved in *M. racemosus* and located within most conserved regions of 18S RNA gene throughout evolution.

**KEY WORDS** □ *Mucor racemosus*, 18S rRNA sequence

단백질 합성 공장을 이루는 것은 ribosomal protein과 ribosomal RNA이다. 종래에는, ribosomal RNA는 ribosome의 골격을 형성하고 ribosomal protein이 단백질 합성기능의 주체역할을 한다는 견해가 지배적 이었다. 그러나 최근에 밝혀진 여러가지 결과에 의하여 현재는 ribosomal RNA가 ribosome의 구조를 근본적으로 유지할 뿐만 아니라 단백질 합성의 핵심 촉매 역할을 하고 있는 것으로 인정되는 단계에 이르렀다(Dahlberg, 1989; Noller, 1984). 이러한 기능에 관한 연구는 주로 대장균에서 이루어져 왔고 eukaryotes에서는 정도가 아직 대단히 미약하다.

그동안 유전자 재조합 기술과 DNA염기 배열 해독 기술의 발전에 힘입어 여러 생물들의 ribosomal RNA gene의 일차 및 이차구조에 대한 정보가 축적 되어 왔다. 이들 구조에 대한 정보가 축적 될수록 단백질 합성중 rRNA의 역할에 대한 비교 연구에 도움이 클 것이다. 이러한 비교 연구는 각종 생물 종속들간의 계통 발생학적 연구와 molecular evolution에 대하여 큰 공헌을 하고있다. Eukaryotic ribosome은 4종류의 RNA를 갖고있다. 즉, 40S subunit의 18S와 60S subunit의 5, 5.8, 28S(생물의 종류에 따라 25S에서 28S까지 분포 또는 명명되고

있음) rRNA등이다. rRNA는 한 세포당 총 RNA량의 약 80%를 차지한다. 이렇게 많은 RNA를 만들기 위하여 eukaryote에서 rRNA gene은 수백 copy이상이 한개 또는 몇개의 chromosome상에 나뉘어져 tandem-repeat의 형태로 위치하고 있다. rRNA gene의 repeat unit는 *Saccharomyces cerevisiae*와 *Mucor racemosus*에서는 10 kb 정도이며 이들은 한 개의 repeat unit안에 5S-18S-5.8S-26S의 순서로 4개의 rRNA gene을 모두 보유하고 있다(Cihlar and Sypherd, 1980; Nath and Bollen, 1977). *S. cerevisiae*의 경우에 5S gene은 spacer안에 존재하며 RNA polymeraseIII에 의하여 전사되고 18-5.8-26S RNA는 RNA polymeraseI에 의하여 전사된다(Yip and Holland, 1989). 반면에 *Physarum polycephalum*, *Tetrahymena thermophila*, *Xenopus laevis*, 쥐, 사람들에겐 18S-5.8S-28S의 gene이 한 repeat unit안에 존재하고 5S gene repeat unit은 chromosome상의 다른 곳에 위치한다(Hall and Braun, 1977; Long and Dawid, 1979; Pardue et al., 1978; Tonnesen et al., 1976). 5S와 5.8S rRNA에 대한 보고는 수백편 이상씩 보고되었으나 18S(17S-18S를 통칭)와 28S(25S-28S를 통칭) rRNA에 대한 보고는 상대적으로 한결 적다(Hendriks et al., 1988;

Neefs *et al.*, 1990). *M. racemosus*는 호기상태에서는 균사상으로 자라고 혐기적인 조건에서는 효모 모양으로 자라는 이상성 진균 (dimorphic fungi)으로서 dimorphism의 model organism으로 흔히 사용된다 (Orlowski and Sypherd, 1978). Orlowski등 (1978)은 *M. racemosus*가 효모상에서 균사상 또는 포자에서 균사상으로 변화할 때 25S rRNA와 18S rRNA가 mRNA들과 tRNA들 보다 빠른 속도로 특이하게 생산된다는 것을 발견하였다. 본인은 *M. racemosus*의 9.76 kb ribosomal RNA repeat unit를 *Escherichia coli*의 plasmid에 cloning하였고 25S rRNA의 전체 일차 구조와 이차 구조를 보고한 바 있다 (Ji and Orlowski, 1990). 본 연구에서는 18S rRNA의 3'-말단 부위의 568 bases를 sequencing하여 분석한 결과를 보고하고자 한다.

**재료 및 방법**

**사용균주 및 plasmid**

*M. racemosus* (*M. circinelloides*) ATCC1216B는 YPG배지 (0.3% yeast extract, 1% peptone, 2% glucose, pH 4.5)에서 진탕 배양 된다. M13 mp18과 M13 mp19 phage vector의 host로는 *E. coli* NM 522를 사용하였다. *E. coli*의 배양은 37°C에서 LB배지 또는 minimal medium (Anagnostopoulos and Spizizen, 1961)을 사용하여 이루어졌다.

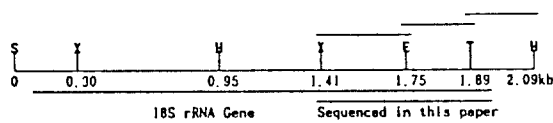
본 실험에서 사용된 pMR6 plasmid는 Ji와 Orlowski (1990)가 *M. racemosus*의 rRNA repeat unit에 대한 제한효소 지도를 작성하기 위하여 제조한 것으로서 18S rRNA의 3' 말단 부위를 포함하는 1.15 Kb가 pUC19의 HindIII자리에 cloning된 것이다.

**형질 전환**

*E. coli* host NM 522를 사용하여 Hanahan (1983)의 방법에 따라 competent cell을 만들고 형질 전환 하는데 사용하였다.

**DNA sequencing**

pMR6 plasmid로부터 18S rRNA gene의 3'-말단 부위를 적절한 제한 효소로 절단하여 각각의 fragment를 bacteriophage M13 vector mp18과 mp19에 cloning하였다. DNA sequencing은 dideoxy



**Fig. 1.** Strategy used to determine 3'-terminal nucleotide sequence of *M. racemosus* 18S rRNA gene. The DNA fragments depicted above were cloned into bacteriophage M13 mp18 or M13 mp19 in the directions indicated by the arrows. S, SacI; X, XbaI; H, HindIII; E, EcoRI; T, PstI.

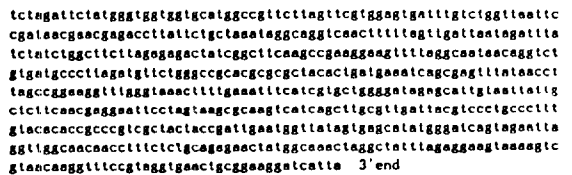
method (Sanger *et al.*, 1977)를 사용하여 양쪽방향으로 하였다. DNA sequencing을 위한 gel은 8.2 M urea를 함유하는 0.5X-2.5X TBE(68.6 mM Tris, 88 mM boric acid, 3.1 mM EDTA, pH 8.3) buffer gradient의 6% polyacrylamide gel을 사용하였다.

전기 영동이 끝난 gel은 10% acetic acid와 10% methanol 용액으로 고정시키고 Whatmann 3 MM 종이에 부착시켜 감압하에서 건조시켰다. 건조된 gel을 Cronex-4 X-ray film (Dupont)에 autoradiography를 하였다.

**결과 및 고찰**

**염기 배열 및 상동성 조사**

Fig. 1에 나타난 바와 같은 방향으로 염기해독을 하여 18S rRNA gene의 3' 말단부위에 일차구조를 정한 것을 Fig. 2에 작성하였다. 해독된 염기의 수는 568 bases이고 3' 말단 base는 지금까지 보고된 많은 종류의 생물들이 갖고 있는 3' 말단 base와 공통되는 것으로 확인하였다. 3'말단 base는 지금까지 보고된 모든 종류의 생물에서 GGATCATT (RNA로는 GGAUCAUU)로 끝나는 것으로 보고되었다 (Hendriks *et al.* 1988). 본 연구에서 해독된 568 bases와 지금까지 보고된 여러 주요 생물들의 18S RNA 3' 말단과의 염기배열을 비교하기 위하여 Kyoto 대학의 Kanehisa교수가 개발한 Ideas program으로 homology 조사를 하였다. 이 결과는 *S. cerevisiae*와 인간을 비롯한 모든 생물과 *M. racemosus* 간에 3' 말단부분의 염기가 잘 보존되어 있는것을 보여준다 (Table 1). 이들중 특히 *S. cerevisiae*와는 83.8%의 상동성을 보유하고 *Neurospora crassa*와는 83.6%를 보유하고 비교된 생물들 중에서 가장 높은 상동성을 나타내고 있다. 한 예로써 *S. cerevisiae*와의 상동성 비교는 Fig. 3에 나타내고 있다. 이는 본인이 보고한 *M. racemosus* 25S rRNA가 *S. cerevisiae* 25S와의 상동성 비교에서 79% homology를 공유하고, *Mucor*와 사람을 비롯한 기타 생물과는 59-69% homology를 갖고 있다는 결과와 같은 맥락의 결과이다. 해독된 568 bases중 *M. racemosus*의 약 110번 위치에 존재하는 16 bases정도는 *S. cerevisiae*를 비롯하여 지금까지 해독된 모든 18S rRNA에는 나타나지 않는데 이 insertion 부분은 AT-rich



**Fig. 2.** Primary sequences of the 3' terminal 568 bases of *M. racemosus* 18S ribosomal RNA gene.

**Table 1.** Comparison of the gene encoding 3'-terminal 568 bases of *M. racemosus* 18S rRNA with 18S 3'-terminal regions from various eukaryotic organisms

Organism	% Similarity to Mucor gene*	Taxonomic Position
<i>M. racemosus</i>	100	Zygomycotina(Ph.) Zygomycetes (Cl.)
사람 ( <i>Homo sapiens</i> )	75.7	Chordata(Ph.) Mammalia(Cl.)
Mouse ( <i>Mus musculus</i> )	74.9	Chordata(Ph.) Mammalia(Cl.)
Rat ( <i>Rattus norvegicus</i> )	74.9	Chordata(Ph.) Mammalia(Cl.)
토끼 ( <i>Oryctolagus cuniculus</i> )	74.6	Chordata(Ph.) Mammalia(Cl.)
<i>X. laevis</i>	73.9	Chordata (Ph.) Amphibia(Cl.)
새우 ( <i>Artemia salina</i> )	75.3	Arthropoda(Ph.) Crustacea(Cl.)
<i>Caenorhabditis elegans</i>	71.7	Nemathelminthes (Ph.) Nematoda(Cl.)
쌀 ( <i>Oryzae sativa</i> )	78.5	Angiospermae(Ph.) Monocotyledoneae(Cl.)
옥수수 ( <i>Zea mays</i> )	80.9	Angiospermae(Ph.) Monocotyledoneae(Cl.)
콩( <i>Glycine max</i> )	79.7	Angiospermae(Ph.) Dicotyledoneae(Cl.)
<i>N. crassa</i>	83.6	Ascomycotina(Ph.) Pyrenomycetes(Cl.)
<i>S. cerevisiae</i>	83.8	Ascomycotina(Ph.) Hemiascomycetes(Cl.)
<i>Oxytricha nova</i>	76.1	Ciliata(Ph.) Spirotricha(O.)
<i>Stylonychia pustulata</i>	77.2	Ciliata(Ph.) Spirotricha(O.)
<i>T. thermophila</i>	74.8	Ciliata(Ph.) Holotricha(O.)
<i>Paramecium tetraurelia</i>	77.8	Ciliata(Ph.) Homotricha(O.)
<i>Prorocentrum micans</i>	80.8	Dinoflagellates
<i>Plasmodium berghei</i>	72.8	Sporozoa(Ph.) Haemosporidia(O.)
<i>Acanthamoeba castellanii</i>	74.8	Rhizopoda(Ph.) Amoebina(O.)

\*% Sequence similarity values were calculated using the Sequence Analysis Software Package (Ideas) of the Kyoto University with a Vax computer

```

1      tctatgactt atgggagg gtcctagcc g.tctctgt tcatggag atttcttga
1238  tcttgaattt gtgggtgtg gtcgatgcc gtttctcagt tggtagag atttgtctgc
60      ttaattccga taacgaacga gaccttacc tgcataag acagatcnc ittttngltg
1298  ttaattccga taacgaacga gaccttacc tactaatag tgggtctagc att.....
120      attaatagat ttatctatct acctctcttg agagacttc agcttcaagc cgaagggat
1351  .....t gctggttatt cacttcttag agggactatc gttttcaagc cgatggaagt
180      ttggcaat accaggtctg tgatgccctt ag.atgttct gggccgcagc cgcgclacac
1402  ttgagcaat aacaggtctg tgatgccctt agaacttct gggccgcagc cgcgctacac
239      tgaatgaatc agcaggttga taaccttagc cgaaggttct agtgaactt ttgaaatttc
1462  tgaagagacc acccag..tc taaccttagc cgagaggtct tggtaattct gtgaaactcc
299      atcgtctcgg agatagacc ttgatattat tgcctcttca cagggaattc ctgagtcgac
1520  gtctgtctgg gatatagacc ttgatattat tgcctcttca cgaggaaattc ctgagtcgac
358      caagtcacca gclltagctg atltagctcc tgcctcttga acacacccgc cgtcgtact
1580  caagtcacca gclltagctg atltagctcc tgcctcttga acacacccgc cgtcgtact
419      accgattgaa tgggtatag tggcatalag gctcagtag atltagctg caaacacctt
1640  accgattgaa tggct..tagt gagccctcag gatctcttga gagaagggcg caactccatc
479      tctctcagc gaactatgac naactagctc atttagagga agtannagtc gtaacngat
1699  tcagagcgga gaatttggac aaacttggtc atttagagga actaaaagtc gtaaacngat
539      ttccttaggt gacc.tgcca agggatcatt a 568
1159  ttccgttagt gaacttccg aaggatcatt a 1789
    
```

**Fig. 3.** Comparison of the nucleotide sequences of the 3'-terminal 568 bases of the 18S rRNA gene from *M. racemosus* (upper) and *S. cerevisiae* (lower).

sequence인 특징을 가졌다. 보통 하등에서 고등으로 올라갈수록 18S 또는 28S gene의 길이가 길어질때는 GC-rich insertion block이 들어가며 gene의 길이가 커지는데 (Gonzalez *et al.*, 1985; Ware *et al.*, 1983) 비하여 *M. racemosus*의 16 bases는 이러한 특징을 갖고있지 않다. 이미 조사되어 보고된 바와 같이 *M.*

*racemosus*의 26S rRNA gene들에는 다른 생물체에 존재하지 않는 106 base insertion block이 존재하는데 이 부분도 AT rich insertion (63% AT)의 특징을 갖고 있었다 (Ji and Orlowski, 1990). 한편 사람을 비롯한 쥐, 토끼등 포유동물, 섬모류, 원생동물 등과 약 75%의 상동성을 보유하고 쌀이나 콩등과는 약 79%의 상동성을 보유하고 있다. 포유동물 자체간에는 또는 Mammalia class의 포유동물과 Amphibia class의 양서류들간의 18S rRNA는 96% 이상의 상동성을 갖고있는데 비하여 같은 진균류에 속하는 *S. cerevisiae*, *M. racemosus*, *N. crassa*들의 상호간에는 상당한 차이가 있다고 할 수 있다. 전 생물에 걸쳐 진화 과정을 비교하기 위하여 사용할 수 있는 분자중 가장 적합한 것은 rRNA라고 할 수 있다. 이중 5S rRNA는 작기때문에 5S rRNA의 염기배열이 가장 많이 알려져 있고 이를 이용한 phylogenetic tree를 작성한 시도도 여럿 있으나 이는 자세한 dendrogram을 작성하고자 하는 경우에는 많은 한계가 있다(Hori and Osawa, 1987). 반면에 18S RNA의 sequence를 이용한 것은 5S의 단점을 잘 보완할 수 있다. Hendriks등 (1988)은 밝혀진 18S RNA를 이용하여 40여종류의 eukaryote를 분류하였다. rRNA gene은 넓은 생물종에 걸쳐 잘 보존된 부분과 비교적 종속간의 변이가 많은 곳이 mosaic 처럼 연결되어 있는데 해독된 *M. racemosus*의 첫번째 염기로부터 82번, 435번, 512번에서 568(3' end)번

부분은 전 생물에 걸쳐 잘 보존된 곳으로서 이들 부분은 거의 완벽한 match를 이루고 있는 부분들이다. 반면에 100-142번, 240-300번, 400번에서 500번 부분은 매우 변이가 많은 부분들이다.

Ribosomal RNA methylation site도 이들 잘 보존된 부위에 일어나는데 이들 부분의 구조는 methylation site의 보존과 함께 전 생물에서 단백질 합성을 하는데 필수적인 역할에 관여하는 곳으로 생각되고 있다(Brand *et al.*, 1977; Maden *et al.*, 1972; Maden and Salim, 1974). 반면에 생물간에 비교적 변화가 많은 부분들은 기능적으로 덜 중요한 부분이기 때문인지 또는 단백질 합성시 생물의 종류에 따라 특이한 기능을 부여하기 때문인지 조사하는 것은 흥미있는 연구대상이 될 것이다.

### 기능부위의 구조 비교 분석

3' 말단 부위는 prokaryote의 16S rRNA와도 높은 상동성을 보유하는데 prokaryote에서는 mRNA의 Shine-Dalgarno sequence를 인식하는 CCUCC가 있지만 eukaryote에서는 CCUCC의 sequence가 없을 뿐만 아니라 단백질 합성시 prokaryote와 같은 방법으로 mRNA를 인식하지 않는다(Rubstov *et al.*, 1980). 390에서 426부위와 519에서 530부분은 rat에서 single stranded 부분으로 존재하는 곳으로 이곳은 eukaryote전체에서 거의 완전히 보존되어 있음은 물론 prokaryote와 eukaryote 간에도 거의 동일한 염기로 구성되어 있다(Ofengand *et al.*, 1982). *E. coli*의 acetylvalyl-tRNAval을 ribosome의 P site에 crosslinking 시켰을 때 이는 *E. coli*와 yeast의 UACACCCG에 crosslink된것으로 보아 이 부분들도 모든 생물의 단백질 합성중 decoding process에 필수적인 기능을 수행하는 곳으로 생각되고 있다(Ofengand *et al.*, 1982).

*T. thermophila*는 3' 끝염기에서 upstream쪽으로 41번에서 47번에 걸쳐 GAAGTCG염기배열이 나오는데 이중 첫번째 G를 A로 바꾸면 paromomycin 저항성이 생기고 T를 C로 바꾸면 hygromycin 저항성이 생긴다고 보고되었다(Spangler and Blackburn, 1985). 이들 sequence도 conserved region안에 존재하는데 섬모충류, 아메바, 규조류, 식물등에서는 똑같은 sequence로 존재하나 포유류, 양서류, *M. racemosus*를 포함한 진균류등에서는 AAAGTCG의 염기배열로 존재하고 있는것으로 본 연구에서 조사되어 AAAGTCG배열을 같은 위의 생물들의 단백질 합성이 paromomycin 저항성이 있는지 조사하는 것은

흥미있는 일일 것이다. Paromomycin은 상당한 mistranslation을 유발하는 것으로 알려져 있는데 장내 아메바나 촌충의 구체에 사용되고 있는 aminoglycoside계 항생제이다. Eustice와 Wilhelm (1984)은 paromomycin이 *T. thermophila*의 단백질 합성을 완전히 저해하였지만 yeast, 포유류, wheat germ의 단백질합성을 저해하지 못하였다는 발표를 하였다. *E. coli*에서 ribosomal protein들을 인식하는 부분으로 알려진 3'-terminal의 약 150 bases upstream부분들은 *M. racemosus*를 포함한 모든 eukaryote에서도 잘 보존되어 있는데 (Spangler and Blackburn, 1985) 구체적으로 어느 ribosomal protein과 결합하는지 조사하는 것이 필요하다. Xiang등 (1989)과 Offengand등 (1982)은 18S rRNA와 각각의 ribosomal protein과의 결합부위들을 crosslinking agent에 의하여 확인하였는데 앞으로 더욱 확실하게 crosslinking되는 부위를 조사하여야 할 것이다.

### Methylation site 보존성

Methylation된 염기의 수를 살펴보면 HeLa cell의 28S rRNA는 68개, 18S rRNA는 46개, *X. laevis*의 18S는 40개, *S. cerevisiae*의 26S rRNA는 43개, 17S rRNA는 24개를 보유하고 있다. *S. cerevisiae*의 26S와 17S는 각각 6개의 base methylation을 보유하고 나머지는 ribose methylation이 일어나는데 ribose methylation이 primary transcript생성과 동시에 일어나고 base methylation은 primary transcript의 processing 과정중 핵 또는 세포질 속에서 일어난다. Methylation의 위치가 잘 밝혀진 *X. laevis*의 methylation에 해당하는 부분을 *M. racemosus*의 568 염기와 비교하면 *X. laevis*의 13개 methylated 염기중 11개는 *Mucor*에서 동일한 염기를 갖고 있었고 또한 이들 methylation site의 주위에 위치하고 있는 염기들은 생물간에 제일 잘 보존된 부분으로서 이들 methylation이 rRNA의 processing 또는 기능에 매우 중요한 역할을 하는 것을 의미한다.

Undermethylation이 되면 ribosomal protein과의 결합이 낮은 수준으로 떨어지고 processing의 저하가 일어나는 것으로 제시되었다. Choi와 Busch (1978)는 methylated rRNA부분은 ribosomal protein과의 interaction에 관여한다고 제시하였고 Hadjilov와 Nikolaev (1976)는 45S pre-rRNA가 undermethylation 되었을 경우 성숙된 rRNA를 만들지 못한다고 보고하였다.

## 적 요

*Mucor racemosus* 18S rRNA의 3'말단 568 base에 대한 염기해독이 되었다. 3'의 끝 염기는 *Saccharomyces cerevisiae* 18S rRNA gene의 끝 염기와 비교하여 확인하였다. 상동성 조사결과 *S. cerevisiae*와는 83.8%의 유사도를 보였고 사람, 쥐등 기타의 생물과는 71-81%의 유사도를 보였다. *Xenopus laevis*와 사람에서 확인된 methylation site의 염기배열은 *M. racemosus*서도 잘 보존되어 있었으며 이들은 가장 잘 보존된 부위들 안에 위치하였다.

## 사 사

본 연구는 한림대학교 학술연구조성비의 도움으로 수행되었습니다.

본 연구중 상동성 비교조사를 하여주신 한국과학기술원 유전공학 연구소의 김승목박사님과 박용하박사님께 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

- Anagnostopoulos, C. and J. Spizizen, 1961. Requirement for transformation in *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.*, **81**, 741-746.
- Brand, R.C., J. Klootwijk, J.M. Teunis, A.J.D. Kok and R.J. Planta, 1977. Secondary methylation of yeast ribosomal precursor RNA. *Eur. J. Biochem.*, **75**, 311-318.
- Choi, Y.C. and H. Busch, 1978. Modified nucleotides in T1 RNAase oligonucleotides of 18S ribosomal RNA of the Novikoff Hepatoma. *Biochemistry*, **17**, 2551-2560.
- Cihlar, R.L. and P.S. Sypherd, 1980. The organization of the ribosomal RNA genes in the fungus *Mucor racemosus*. *Nucl. Acids Res.*, **8**, 793-804.
- Dahlberg, A.E., 1989. The functional role of ribosomal RNA in protein synthesis. *Cell*, **57**, 525-529.
- Eustice, D.C. and J.M. Wilhelm, 1984. Mechanisms of action of aminoglycoside antibiotics in eukaryotic protein synthesis. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, **26**, 53-60.
- Gonzalez, I.L., J.L. Gorski, T.J. Campen, D.J. Dorney, J.M. Erickson, J.E. Sylvester, and R.D. Schmickel, 1985. Variation among human 28S ribosomal RNA genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**, 7666-7670.
- Hadjiolov, A.A. and N. Nikolaev, 1976. Maturation of ribosomal ribonucleic acids and the biogenesis of ribosomes. *Progress in Biophysics and Mol. Biol.*, **31**, 95-144.
- Hall, L. and R. Braun, 1977. The organization of genes for transfer RNA and the ribosomal RNA in amoebae and plasmodia of *Physarum polycephalum*. *Eur. J. Biochem.*, **96**, 165-174.
- Hanahan D., 1983. Studies on transformation of *Escherichia coli* with plasmids. *J. Mol. Biol.*, **166**, 557-580.
- Hendriks, L., C.V. Brockhoven, A. Vandenbergh, Y.V. De Peer and R. De Wachter, 1988. Primary and secondary structure of the 18S ribosomal RNA of the bird spider *Eurypelma californica* and evolutionary relationships among eukaryotic phyla. *Eur. J. Biochem.*, **177**, 15-20.
- Hori, H. and S. Osawa, 1987. Origin and evolution of organisms as deduced from 5S ribosomal RNA sequences. *Mol. Biol. Evol.*, **4**, 445-472.
- Ji, G.E. and M. Orłowski, 1990. Primary and secondary structure of the 25S rRNA from the dimorphic fungus *Mucor racemosus*. *Current Genetics*, **17**, 499-506.
- Long, E.O. and I.B. Dawid, 1979. Expression of ribosomal DNA insertions in *Drosophila melanogaster*. *Cell*, **18**, 1185-1196.
- Maden, B.E.H., C.D. Lees and M. Salim, 1972. Some methylated sequences and the numbers of methyl groups in the HeLa cell rRNA. *FEBS Lett.*, **28**, 293-296.
- Maden, B.E.H. and M. Salim, 1974. The methylated sequences in HeLa cell ribosomal RNA and its precursors. *J. Mol. Biol.*, **88**, 133-164.
- Nath, K. and A.P. Bollen, 1977. Organization of the yeast ribosomal RNA gene cluster via cloning and restriction analysis. *J. Biol. Chem.*, **252**, 6562-6571.
- Neefs, J.M., Y.V. de Deer, L. Hendriks and R. De Wachter, 1990. Compilation of small ribosomal subunit RNA sequences. *Nucl. Acids Res.*, **18**, Supplement 2237-2246.
- Noller, H.F., 1984. Structure of ribosomal RNA. *Annu. Rev. Biochem.*, **53**, 119-162.
- Ofengand, J., P. Gornick, K. Chakraburty and K. Nurse, 1982. Functional conservation near the 3' end of eukaryotic small subunit RNA: Photochemical crosslinking of P site-bound acetylvalyl-tRNA to 18S RNA of yeast ribosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **79**, 2817-2821.
- Orłowski, M. and P.S. Sypherd, 1978. RNA synthesis during morphogenesis of the fungus *Mucor racemosus*. *Arch. Microbiol.*, **119**, 145-152.
- Pardue, M.I. and D.D. Brown and M.L. Birnstein, 1973. Location of the genes for 5S ribosomal RNA in *Xenopus laevis*. *Chromosoma*, **42**, 191-203.
- Rubstov, P.M., M.M. Musakhanov, V.M. Zakharyev, A.S. Kravayev, K.G. Skyrabin and A.A. Bayev, 1980. The structure of yeast ribosomal RNA genes. I. The complete nucleotide sequence of the 18S ribosomal RNA gene from *Saccharomyces cerevisiae*. *Nucl. Acids Res.*, **8**, 5779-5794.
- Sanger, F., S. Nicklen and A.R. Coulson, 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **74**, 5463-5467.
- Spangler, E.A. and E.H. Blackburn, 1985. The nucleotide sequence of the 17S ribosomal RNA gene of *Tetrahymena thermophila* and the identification of point mutations resulting in resistance of the antibiotics paromomycin and hygromycin. *J. Biol. Chem.*, **260**, 6334-6340.
- Tonnesen, T., J. Engberg and V. Leick, 1976. Studies on the amount and location of the tRNA and 5S rRNA gene in *Tetrahymena pyriformis* GC. *Eur. J. Biochem.*, **63**, 399-407.

27. **Ware, V.C., B.W. Tague, C.G. Clark, R.L. Gourse, R.C. Brand and S.A. Gerbi**, 1983. Sequence analysis of 28S ribosomal DNA from the amphibian *Xenopus laevis*. *Nucl. Acids Res.*, **11**, 1795.
28. **Xiang, R.H. and J.C. Lee**, 1989. Identification of proteins crosslinked to RNA in 40S ribosomal subunits of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochimie*, **71**, 1201-1204.
29. **Yip, M.T. and M.J. Holland**, 1989. *In vitro* RNA processing generates mature 3' termini of yeast 35 and 25S ribosomal RNAs. *J. Biol. Chem.*, **264**, 4045-4051.

(Received August 14, 1991)

(Accepted September 6, 1991)