

## UV-A로 유발된 RNase A의 변성에 대한 UV 차단렌즈의 작용

박영민, 박충서, 이흠숙\*, 박미정  
서울산업대학교 안경광학과, 서울산업대학교 식품공학과\*  
(2006년 11월 1일 받음, 2006년 12월 9일 수정본 받음)

본 연구는 UV-A 노출에 의해 유발된 안구 내에 존재하는 단백질 효소 중의 하나인 ribonuclease A(RNase A)의 변성을 차단할 수 있는 안경렌즈의 적절한 UV-A 차단율을 알아보기 위해 수행하였다. RNase A를 1, 3, 6, 24, 48, 72, 96시간 동안 365 nm의 UV-A에 노출시켜 노출시간에 따른 단백질의 변성 정도를 아크릴아미드 겔 전기영동법으로 확인하였다. 또한, 20%, 50%, 80%, 99% UV 차단 효과를 가진 안경렌즈로 UV-A를 차단하였을 때 RNase A의 변성이 억제될 수 있는지를 알아보았다. RNase의 변성은 1시간 동안의 UV 노출에 의해서도 유발되었으며, UV-A 노출시간이 길어질수록 그 정도는 심해졌다. 1시간의 UV-A 노출에 의해 유발된 미세한 RNase A의 변성은 20% 정도의 UV-A 차단으로 충분히 예방될 수 있었다. UV-A를 3시간 동안 노출하였을 때는 50%이상의 UV-A 차단율을 가진 렌즈가 RNase A의 변성을 막을 수 있었다. 6시간 동안 UV-A에 노출되었을 때에는 99%의 렌즈로 차단하였을 때조차도 RNase A의 변성이 완벽하게 차단되지 못했다. 그러나 96시간 동안 UV-A에 노출되었을 때 나타나는 심각한 단백질의 변성이 99%의 UV-A 차단 렌즈를 사용하였을 경우 크게 감소하였다.

주제어: UV-A 노출, 안경렌즈, UV-A 차단율, RNase A, 단백질 변성

### I. 서론

오늘날 오존층의 파괴가 점점 심각해져 우리 생체 내에 UV가 그대로 노출되어 심각한 문제를 발생시키고 있다. 특히 우리의 신체 중 가장 중요하다고 할 수 있는 눈의 건강이 위협받고 있다. '2004년 건강보험 수술환자 DB 구축 및 주요 수술통계 연보'에 따르면 백내장의 수술건수가 10만명당 452.3명으로 높은 비율을 나타내고 있는데 그 중 아직 노화 현상이라고 볼 수 없는 30~40대 백내장 환자들은 전체 백내장 환자의 16% 정도 이고 6% 가량은 20대인 것으로 나

타났다. 이는 오존층이 파괴되면서 UV가 강해지고 있기 때문에 30~40대의 젊은 사람에게 백내장 발생 빈도가 증가하게 된 것을 의미한다.

UV는 UV-A (320~400 nm), UV-B (280~320 nm)와 UV-C (100~280 nm)으로 나뉜다.<sup>[1,2]</sup> McCullough 등은 320 nm 이하의 파장을 가진 UV가 결막염과 각막염을 유발한다고 하였다.<sup>[3]</sup> 또한 Pitts 등은 유색 가토에서 290 nm~365 nm의 UV-A를 조사하여 수정체의 전부 피질에 혼탁이 발생한다는 보고를 하였다.<sup>[4]</sup> Hockwin 등은 일생동안 생활 UV-A (300 nm~400 nm)에 노출된 사람의 수정체에서 UV-A에 의해 생성된 발색단에 의해 수정체 핵이 누

렇게 변색된다는 것을 확인하였다<sup>[5]</sup>.

UV-A에 의한 백내장 형성기전은 광학적 작용에 의한 DNA의 손상으로 인한 단백질 합성의 이상, 구조 단백질의 변성, 효소의 불활성화, 세포막 손상에 따른 전해질의 불균형 등과 같은 여러 생화학적, 생물학적인 변화가 축적되어 유발되는 것으로 생각되어지고 있다. UV-A에 의한 광학적 손상은 DNA, 세포막, 효소 및 구조 단백질 등 여러 부위에서 관찰되며 수정체에는 혈관과 신경이 없기 때문에 손상된 세포들이 회복되지 못하여 수정체가 혼탁되며 백내장이 형성된다고 알려져 있다<sup>[1,2,6-8]</sup>.

본 연구는 UV-A에 노출되었을 때 각막 및 수정체 중에 존재하는 효소 중의 하나인 ribonuclease A (RNase A)가 변성이 되는 지 여부와 노출시간에 따라 그 변성 정도에 차이가 있는지를 밝히고, 이러한 변성 막기 위해 필요한 UV-A 차단율을 밝히기 위해 수행되었다.

## II. 연구대상 및 방법

### 1. 연구 재료 및 기기

실험에 사용된 RNase A, riboflavin, acrylamide, bis-acrylamid, sodium dodecyl sulfate(SDS), brilliant blue R, ammonium persulfate, molecular weight marker는 SIGMA사(U.S.A)의 제품을, glycerol, Tris base, glycine, 2-mercaptoethanol은 AMRESCO사(U.S.A) 제품을 사용하였으며, 그 외의 시약은 특급시약을 사용하였다. 투과도 측정은 TM-1 spectrometer (TOPCON, Japan)를, 자외선 램프는 VL-6-LM (Vilber Lourmat, France)을 사용하였다.

### 2. 렌즈별 UV-A 차단율 측정

Spectrometer를 이용하여 UV-A 차단율이 20%, 50%, 80%, 99% 인 안경렌즈를 선별하여 사용하였다.

### 3. UV-A 노출 조건

2  $\mu\text{g ml}$  } RNase A에 산소자유라디칼의 생성을 활

성화시키는 5 $\mu\text{M}$  riboflavin을 첨가한 후 자외선 램프를 이용하여 UV-A를 노출하였다. 본 실험에서 사용한 UV-A 파장은 365nm 이었으며 효소용액으로부터 20cm 떨어진 거리에서 노출하였다. 이때의 UV-A 강도는 에너지효율 9  $\text{mW cm}^2$ 이었으며 노출시간은 1, 3, 6, 24, 48, 72, 96시간으로 UV-A 차단율이 0, 20, 50, 80, 99%로 각기 다른 안경렌즈로 UV-A를 차단하였다.

### 4. 전기영동

RNase A의 변성 여부를 알아보기 위하여 자외선에 노출된 효소를 10% SDS 아크릴아미드겔 전기영동을 하였다. Staining은 brilliant blue R로 하였으며 molecular weight marker와 분자량을 비교하였다.

## III. 결과 및 고찰

UV-A는 백내장의 유발을 촉진시킬 뿐만 아니라 흑색종, 각막 이영양증, 일광 망막염증, 황반부 변성증 등을 유발시킨다.[1] UV-A를 차단하기 위하여 선글라스뿐만 아니라 일반 안경렌즈 혹은 콘택트렌즈도 어느 정도의 UV-A 차단효과를 가진 제품들이 사용되고 있다. 그러나 이들의 차단 정도는 40%에서 99.9%까지 다양하다. 따라서 역으로 말하면 이들 렌즈를 착용하였다 하더라도 60%에서 0.1%의 UV-A 노출이 안구에 영향을 미칠 수 있다는 것을 의미한다. 어느 정도의 UV-A에 노출이 되었을 때 안구에 문제가 유발될 수 있을까, 그리고 어느 정도의 UV-A 차단율을 가진 렌즈를 사용하여야만 UV-A에 의한 안구의 문제를 차단할 수 있을까에 대한 해답을 찾기 위해 본 연구를 수행하였다.

### 1. UV-A 노출 시간에 따른 RNase A의 변성

UV-A의 노출 시간을 달리하였을 때 안구 내에 존재하는 단백질의 변성 정도를 알아보기 위해 UV-A에 1, 3, 6, 24, 48, 72, 96시간 동안 노출된 RNase A를 10% 아크릴아마이드 겔에 전기영동하여 단백질 분해 패턴을 관찰하였다.

UV-A에 노출되지 않은 RNase A는 분자량이 약 14,200~20,000 dalton에서 band A가 관찰되었다. UV-A를 1시간 동안 노출한 후에는 분자량 24,000~29,000 dalton 범위의 새로운 band B가 관찰되었다. 3시간 및 6시간 동안 노출하였을 때는 1시간 노출 시 나타나는 band B 외의 다른 band가 관찰되지 않았으나 band B가 좀 더 진해져 여기에 해당되는 단백질의 양이 UV-A의 노출에 의해 더 많아졌음을 알 수 있었다. UV-A에 24시간 동안 노출되었을 때 RNase A는 band A 및 B가 더 분해되어 미량이나 더 많은 종류의 단백질 band가 관찰되었을 뿐만 아니라 29,000~36,000 dalton의 새로운 band C가 관찰되었다. 48시간 동안의 UV-A 노출로 인하여 band D가 생성된 것 외에도 다른 band 주변에서 단백질의 미세한 띠가 확산되어 있었으며, 72시간과 96시간 동안 UV-A에 노출되었을 때는 UV-A에 의해 분해된 RNase A의 분해 정도가 더 심각해지는 것을 관찰할 수 있었다.

즉, UV-A 노출 시간이 길어질수록 단백질의 변성 정도가 심해져 겔 전기영동으로 육안으로 구별하기 어려울 정도로 많은 단백질 띠가 관찰되었다.

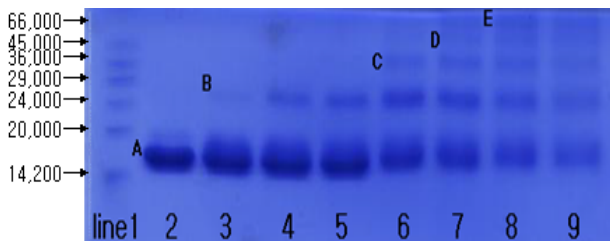


Fig. 1. The denaturation of RNase A depending on UV-A irradiation time.

line 1; Molecular weight marker, 2; non-irradiated RNase A, 3; RNase A irradiated for 1 hr, 4; RNase A irradiated for 3 hr, 5; RNase A irradiated for 6 hr, 6; RNase A irradiated for 24 hr, 7; RNase A irradiated for 48 hr, 8; RNase A irradiated for 72 hr, 9; RNase A irradiated for 96 hr.

## 2. UV-A 차단율이 각기 다른 렌즈의 RNase A 변성 억제 작용 비교

RNase A를 1, 3, 6, 24, 96시간 동안 UV-A 차단율이 0, 20, 50, 80, 99%인 렌즈로 차단시킨 후

UV-A를 노출하였다. UV-A에 1시간 동안 노출되었을 때 UV-A를 차단하지 않은 line A에서는 band A와 더불어 band B가 관찰되었으나, 20%부터 99%까지의 차단율을 가진 렌즈를 사용하였을 때는 band A만 나타났다(Fig. 2a). 즉, 1시간 정도의 UV-A 노출에 의해 유발된 미세한 RNase A의 변성은 20% 정도의 UV-A 차단으로도 충분히 예방될 수 있었다.

UV-A에 3시간 동안 노출되었을 때는 50%이상의 UV-A 차단율을 가진 렌즈의 경우 RNase A의 변성을 막을 수 있었지만 20%의 차단율을 가진 렌즈는 렌즈로 차단하지 않은 경우와 마찬가지로 band B가 생겨 소량의 RNase A 변성이 유도되었다는 것을 알 수 있었다(Fig. 2b). 6시간 동안 UV-A에 노출되었을 때에는 99%의 렌즈로 차단하였을 때조차도 소량의 RNase A의 변성이 나타났으며, 렌즈의 UV 차단율이 50%나 80%로 낮아졌을 때도 band B만 관찰되어 50~99%의 UV-A 차단은 유사한 효과를 가진다는 것을 확인하였다(Fig. 2c).

실생활에서 하루에 12시간 이상씩 장시간 동안 UV-A에 노출되는 경우는 없으며, 혈액순환이나 영양공급이 원활한 생체 내 기관에서는 UV에 의한 단백질의 변성이 회복되게 된다. 그러나 하루에 몇 시간씩의 노출이 지속적으로 반복되었을 때 수정체와 같이 혈액순환이 원활하지 못한 기관에서는 이런 단백질 변성이 빠른 속도로 회복되기 어렵게 되어 UV에 대한 영향이 누적되어 나타날 수밖에 없다. 따라서 24시간 및 96시간 동안 UV-A에 노출되었을 때의 RNase A 변성 정도를 알아보기로 장시간 동안 노출되었을 때의 피해를 안경렌즈가 차단시킬 수 있는지를 알아보았다. 24시간 동안 UV-A에 노출되었을 때에는 6시간 동안 노출된 경우와 마찬가지로 50% 이상의 UV-A 차단율을 가진 렌즈의 전기영동 패턴은 동일하였다(Fig. 2d). 96시간이라는 장시간 동안 UV-A에 노출되었을 때 역시 99%의 UV-A 차단으로는 단백질의 변성을 100% 차단할 수 없었다(Fig. 2e). 그러나 6시간이나 24시간 동안 노출되었을 때는 50, 80, 99%의 UV-A 차단렌즈로 모두 유사한 변성 억제 효과를 보인데 반하여, 96시간 동안 노출되어 심각한 변성이 일어났을 경우에는 99%의 UV-A 차단 렌즈에서 band B만이 생성되었을 뿐이지만 50% 및 80%의

UV-A 차단렌즈의 경우는 band B외에도 band C, band D, band E 또는 band F 등이 나타났다. 이는 장기간의 UV-A의 50% 및 80% 정도의 차단으로는 단백질의 변성을 차단하는 데 한계가 있으며 지속적인 UV-A의 노출을 차단하기 위해서는 80% 정도의 UV-A 차단은 그 효과가 크게 떨어진다는 것을 의미하는 결과이다.

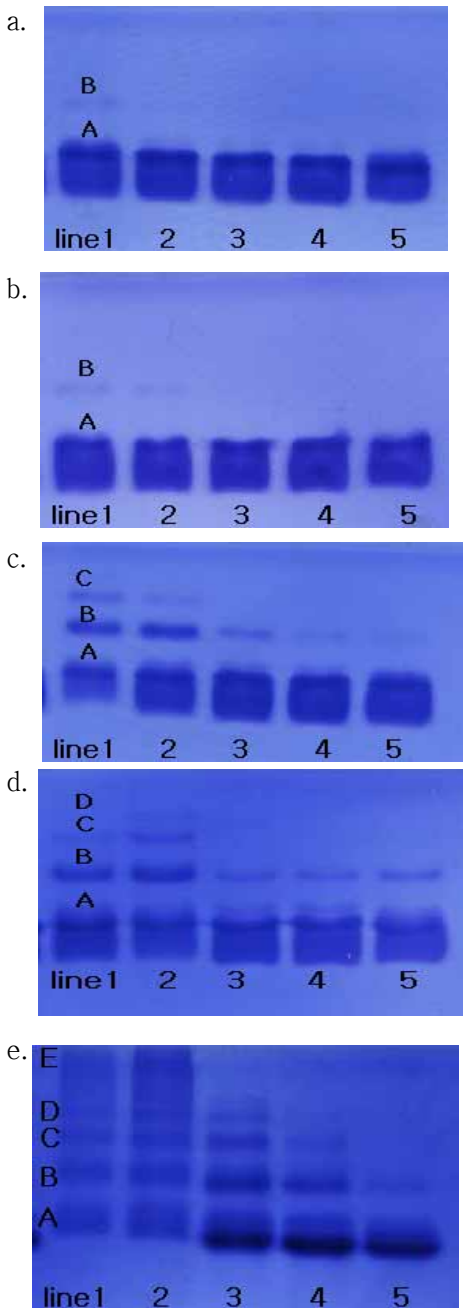


Fig. 2. The effect of lenses on the denaturation of RNase A induced by UV-A.

- a. RNase A irradiated for 1 hr
  - b. RNase A irradiated for 3 hr
  - c. RNase A irradiated for 6 hr
  - d. RNase A irradiated for 12 hr
  - e. RNase A irradiated for 96 hr
- line 1; RNase A irradiated without UV-A blocking, line 2; RNase A blocked by lens with 20% UV-A blocking effect, line 3; RNase A blocked by lens with 50% UV-A blocking effect, line 4; RNase A blocked by lens with 80% UV-A blocking effect, line 5; RNase A blocked by lens with 99% UV-A blocking effect

본 연구에서는 RNase A가 UV-A에 의해 손상되는 것을 차단하기 위하여 적절한 UV-A 차단율을 가진 안경 및 선글라스 렌즈의 사용이 필요하다는 결과를 도출하였다. 3시간 이내 단기간의 UV-A 노출에는 UV 차단율이 50% 이상인 렌즈를 사용하여야 완벽하게 UV-A의 작용을 차단할 수 있으며, 6시간 이상의 노출 시에는 99%의 차단율을 가진 렌즈라도 어느 정도의 단백질 변성이 유발된다(Table 1). 또한 99%의 차단율 가진 렌즈는 96시간 동안 UV-A에 노출 시 나타나는 심각한 변성을 완벽하게 차단하지는 못했지만 동일한 렌즈로 6시간 노출 시 나타나는 변성 정도와 비슷한 정도까지 차단하는 효과가 있다는 것을 확인할 수 있었다.

Table 1. The UV-A blocking percentage which can protect the denaturation of RNase A.

Irradiation time	UV-A blocking percentage of lenses			
	20%	50%	80%	99%
1 hr	perfect protection	perfect protection	perfect protection	perfect protection
3 hr	(-)	perfect protection	perfect protection	perfect protection
6 hr	(-)	partial protection (++)	partial protection (++)	partial protection (++)
24 hr	(-)	partial protection (++)	partial protection (++)	partial protection (++)
96 hr	(-)	partial protection (+)	partial protection (+)	partial protection (++)

- (-): non protection
- (+): partial protection with some bands
- (++): partial protection with only band A and B

이상에서와 같이 본 연구에서 UV 차단 렌즈를 사용함으로써 UV-A의 노출에 의해 눈에서 일어나는 변화를 막기 위하여 몇 %의 차단율을 가진 렌즈를 착용하여야 하는가에 대한 해답을 제시하였다.

CR-39의 UV-A 차단율은 40%이며 시중에서 유통되고 있는 코팅 처리된 렌즈들은 모두 65% 이상의 차단율을 가지고 있다<sup>[9]</sup>. 일반적으로 안경렌즈를 사용함으로써 우리 눈에 미치는 UV-A의 작용을 상당부분 차단할 수 있다고 여겨왔다. 그러나 본 연구결과에서처럼 어느 정도의 UV-A에 노출되었나와 몇 %의 차단율을 가진 렌즈를 사용하였나에 따라 안구 내에 존재하는 단백질의 변성에 커다란 차이가 날 수 있다. 따라서 적절한 UV 차단율을 가진 렌즈의 선택에 대한 보다 깊은 관심과 이에 대한 심도있는 연구가 필요하리라 여겨진다.

본 연구에서는 DNA 합성초기에 만들어진 불필요한 RNA 제거에 중요한 역할을 하는 RNase A가 UV-A 노출에 의해 변성되는 정도를 연구하였으나, 각막 및 수정체에 존재하는 단백질의 종류는 다양하여 UV-A에 장시간 노출되어도 변화가 없는 효소들이 있을 수도 있지만 단 몇 분의 노출에 의해서도 변성이 일어나는 효소가 있을 수 있다. 또한 그 효소들이 모두 일괄적으로 RNase A와 동일한 UV-A 차단율을 가진 렌즈에 의해 변성이 억제되리라고 추측하는 것은 문제가 있다. 따라서 눈의 건강을 위하여 착용하는 선글라스나 일반렌즈에서 최소한으로 지켜져야 하는 UV 차단율을 밝히기 위해서는 안구 내에 존재하는 다른 효소들에 대한 연구가 수행되어야 할 것이다. 이러한 문제점을 해결하기 위해 RNase A 외에 각막 및 수정체에 중요한 역할을 하는 단백질을 대상으로 어느 정도의 차단율을 가진 렌즈를 사용하여야 UV-A뿐만 아니라 UV-B에 의한 변성이 차단되는지를 연구하는 것이 필요하며 현재 이에 대한 연구를 진행 중에 있다.

#### IV. 결 론

1. UV-A에 노출되지 않은 RNase A를 아크릴아미드 겔 전기영동 한 결과, 분자량 14,200~20,000

dalton에서 band A가 관찰되었다. UV-A의 1, 3, 6시간 노출로 인하여 새로운 band B가 관찰되었으며 24시간 및 48시간 동안 UV-A 노출로 RNase A의 변성이 심해져 band C 또는 band D가 나타났으며, 72시간과 96시간 동안 UV-A에 노출되었을 때는 UV-A에 의해 분해된 RNase A의 분해 정도가 더 심각해졌다. 즉, UV-A 노출 시간이 길어질수록 단백질의 변성 정도가 커졌다.

2. 1시간 동안의 UV-A 노출에 의해 유발된 미세한 RNase A의 변성은 20% 정도의 UV-A 차단렌즈로 충분히 예방될 수 있었다.
3. UV-A에 3시간 동안 노출되었을 때는 50%이상의 UV-A 차단율을 가진 렌즈가 RNase A의 변성을 막을 수 있었다.
4. 6시간 및 24시간 동안 UV-A에 노출되었을 때에는 99%의 렌즈로 차단하였을 때조차도 소량의 RNase A의 변성이 나타났으며, 렌즈의 UV 차단율이 80%, 50%이 낮아졌을 때도 유사한 결과를 보였다.
5. 96시간 동안 UV-A에 노출되었을 때, 99%의 UV-A 차단으로도 단백질의 변성을 완전히 차단할 수는 없었다. 그러나 50%, 80%의 UV-A 차단렌즈를 사용하였을 때 나타나는 단백질은 심한 변성이 99%의 UV-A 차단 렌즈를 사용하였을 경우 크게 감소하였다.

#### V. 참고문헌

- [1] Gallagher RP, and Lee TK, "Adverse effects of ultraviolet radiation : A brief review", *Progress in Biophysics & Molecular Biology*, 92:119-131(2006).
- [2] Sliney DH, "Photoprotection of the eye - UV radiation and sunglasses", *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*, 64:166-175(2001).
- [3] McCullough EC, and Fullerton GD, "Potential eye hazards of sunglasses", *Surv. Ophthalmol.*, 16:108-111 (1971).
- [4] Pitts DG, Cullen AP, and Hacker PD, "Ocular effect of ultraviolet radiation from 295 to 365nm", *Invest. Ophthalmol.*

- Vis. Sci., 16:932-939(1977).
- [5] Hockwin O, and Lerman S, "Clinical evaluation of direct and photosensitized ultraviolet radiation damage to the lens", *Ann. Ophthalmol.*, 14:220-223(1982).
- [6] Zigman S, Dartiles M, and Torczynski E, "Sunlight and human cataracts", *Invest. Ophthalm. Vis. Sci.*, 18:462-467(1979).
- [7] Duke-Elder WS, "The pathological action of light upon the eye", *Lancet* 1:1188(1926).
- [8] Jose JG, and Pitts DG, "Wavelength dependency of cataracts in albino mice following chronic exposure", *Exp. Eye Res.*, 41:545-563(1985).
- [9] 김용근, "렌즈에서 UV 차단효과의 평가방법 및 적용", *한국안광학회지*, 6(1):107-110(2001).

## The effect of UV blocking lens on the denaturation of RNase A induced by UV-A

Young Min Park, Chung Seo Park, Heum-Sook Lee\* and Mijung Park  
Department of Visual Optics, Seoul National University of Technology

Department of Food Science and Technology, Seoul National University of Technology\*

(Received November 1, 2006; Revised manuscript received December 9, 2006)

The aim of this study was to find the proper UV-A blocking percentage that could protect the denaturation of ribonuclease A (RNase A), one of protein enzymes in eye, induced by UV-A. RNase A was irradiated at 365 nm for 1, 3, 6, 24, 48, 72, 96 hr and the extent of denaturation was monitored by polyacrylamide gel electrophoresis. Furthermore, it was investigated whether blocking of UV-A by 20, 50, 80 and 99% eyeglass lens could protect the denaturation of RNase A or not. The denaturation of RNase A was induced by only 1 hr UV-A irradiation and the extent of denaturation became severe depending on UV-A irradiation time. The mild denaturation of RNase A induced by irradiation for 1 hr could be sufficiently protected by 20% UV-A blocking lens. When RNase A was irradiated for 3 hr, more than 50% blocking of UV-A needed to prevent the denaturation. Even though 99% UV-A blocking lens was used, the denaturation of RNase A induced by 6 hr irradiation could not be prevented perfectly. However, 99% UV-A blocking lens could dramatically decrease the severe denaturation of RNase A induced by irradiation for 96 hr.

Key words: UV-A exposure, eyeglass lens, UV-A blocking percentage, RNase A, protein denaturation