

인간 hnRNP A1 단백질에 포함된 RGG 상자의 기능 분석

최미영

선문대학교 BT융합 제약공학과

Analysis of the Role of RGG box of human hnRNP A1 protein

Mieyoung Choi

Department of BT-Convergent Pharmaceutical Engineering, Sun Moon University

요약 본 연구는 hnRNP A1 단백질에 포함되어 있는 RGG 상자가 이 단백질의 세포내 위치에 미치는 영향 및 이 단백질의 안정화에 미치는 영향을 분석하는 것을 목적으로 하며 2014년 10월부터 약 3년 동안 수행되었다. 이를 위해 먼저, RGG 상자 내의 6개의 아르기닌을 라이신으로 돌연변이를 만든 다음 pcDNA1-HA-hnRNP A1(6R/K)를 재조합하였다. 다음, 이 플라스미드 DNA를 HeLa 세포에 형질주입하여 HA-hnRNP A1(6R/K) 단백질의 세포내 위치에 미치는 영향을 면역형광현미경법으로 분석하였다. 그 결과 hnRNP A1(6R/K) 단백질은 (*wt* 단백질처럼 핵에 위치하지 못하고) 핵과 세포질 모두에 퍼져 있는 것을 확인하였다. hnRNP A1(6R/K)의 안정성을 조사하기 위해서는 pcDNA1-HA-hnRNP A1(6R/K)를 HeLa 세포에 형질주입시킨 다음 발현된 단백질을 웨스턴 블랏 실험으로 분석하였는데, 그 결과 HA-hnRNP A1(6R/K)는 (잘려서) 크기가 작아진 것을 확인할 수 있었다. 이 결과들로부터 HA-hnRNP A1(6R/K)가 핵과 세포질 모두에 퍼져 있는 것은 6R/K 돌연변이가 hnRNP A1의 핵 위치 능력에 영향을 미쳤기 때문이 아니라 6R/K 돌연변이가 일어난 부위 또는 그 부근이 절단되어 hnRNP A1의 핵 위치 신호(nuclear localization signal)인 M9 도메인이 들어있는 C-말단 부위를 잃었기 때문이라는 점을 확인할 수 있었다. 본 연구의 결과들은 hnRNP A1에 있는 RGG 상자의 아르기닌이 hnRNP A1의 안정성에 중요한 역할을 한다는 것을 제시한다. 세균에서 발현시켜서 정제된 hnRNP A1(6R/K)의 RNA-결합 능력에 대한 영향 분석은 추후 과제로 남겨둔다.

Abstract This study analyzed the effects of RGG box of hnRNP A1 on its subcellular localization and stabilization of hnRNP A1 over a three year period from October 2014. First, a 6R/K mutation in RGG box was generated, and pcDNA1-HA-hnRNP A1(6R/K) was constructed. The subcellular localization of hnRNP A1(6R/K) from the HeLa cells transfected with this plasmid DNA was analyzed by immunofluorescence microscopy. HA-hnRNP A1(6R/K) was found to exhibit nuclear and cytoplasmic fluorescence. The stability of hnRNP A1(6R/K) was checked by Western blot analysis using the expressed protein from the HeLa cells transfected with the pcDNA1-HA-hnRNP A1(6R/K). The results show that HA-hnRNP A1(6R/K) has a smaller size. These confirm that HA-hnRNP A1(6R/K) is localized both in the nuclear and cytoplasm, not because 6R/K mutation affects the nuclear localization of hnRNP A1, but because 6R/K mutation causes hnRNP A1(6R/K) to cleave at the mutation or near the mutation site. The cleaved protein fragment, which lacks the M9 domain (i.e. nuclear localization signal of hnRNP A1), did not exhibit nuclear fluorescence. This suggests that the arginines of RGG box in hnRNP A1 play an important role in stabilizing hnRNP A1. An analysis of the RNA-binding ability of hnRNP A1(6R/K) expressed and purified from bacteria will be a subsequent research project.

Keywords : HA(hemagglutinin) epitope, hnRNP A1, immunofluorescence microscopy, M9 domain, nuclear localization signal, RGG box

*Corresponding Author : Mieyoung Choi(Sun Moon Univ.)

Tel: +82-10-3244-0737 email: choimy@sunmoon.ac.kr

Received November 3, 2017

Revised (1st November 13, 2017, 2nd November 14, 2017)

Accepted December 8, 2017

Published December 31, 2017

1. 서론

사람 세포에 있는 hnRNP A1 단백질은 320개의 아미노산으로 구성되어 있으며 pre-mRNA에 결합하는 주요 단백질들 중의 하나이다[1]. 이 단백질은 RNA-결합 활성(RNA-annealing activity)을 가지며 pre-mRNA의 3' 스플라이스 자리(splice site)와 5' 스플라이스 자리에 잘 결합하고 대체 스플라이싱(alternative splicing)을 조절하는 성질이 있다고 알려져 있다[2,3]. 또한 이 단백질은 번역과정과 mRNA의 안정성 조절 등에 작용할 것으로 제시되었다[4,5] hnRNP A1은 핵단백질이지만 핵에만 머물러 있지 않고 핵과 세포질 사이를 왕복한다. hnRNP A1에서 핵 표적(nuclear targeting)을 하는 부위는 C-말단기 (C-terminal domain, CT)에 있는 M9 도메인(domain)이며 이 부위는 핵방출 활성(export activity)도 가지고 있다고 알려져 있다[1,6]. hnRNP A1은 2개의 RNP (ribonucleoprotein)-CS (consensus) RNA-binding domain (RBD)과 글리신이 풍부한 C-말단기를 포함하고 있는데, C-말단기 안에 RGG(arg-gly-gly) 상자와 M9 도메인이 들어 있다[1](Fig. 1).

RGG 상자는 hnRNP U 단백질의 RNA-결합 부위(RNA-binding domain)로 소개되었고[7,8] RNA-결합 능력과 단백질-단백질 간의 상호작용(protein-protein interaction)에 관여한다고 보고되었다[1,9]. RGG box는 RGG---GRGG의 아르기닌과 글라이신의 3중 반복으로 이루어져 있다. RGG 상자는 hnRNP 단백질 뿐 만 아니라 여러 종류의 RNA-결합 단백질에서도 발견이 되는데, 이 RGG 상자에서 흥미로운 점은 RGG 상자는 강한 양전하 (+3~+9)를 갖지만 모두 아르기닌만을 포함하고, 라이신은 전혀 발견되지 않는다는 점이다. 이것은 이 모티프(motif)에서 아르기닌이 근본적으로 중요하게 작용한다는 것을 제시한다. 더욱 흥미로운 점은 hnRNP A1 단백질의 R194이 이중메틸화(dimethylated) 되어 있다고 알려져 있고 hnRNP A1은 NG, NG-dimethylarginine (DMA, 이중메틸 아르기닌)을 포함한다고 보고되었다[10]. 또한 hnRNP A1 단백질에 적어도 2개 이상의 아르기닌이 메틸화되어 있다고 알려져 있다[9,10]. NG, NG-이중메틸 아르기닌의 기능에 대해서는 알려져 있지 않으나 단백질의 안정성(stability)에 영향을 줄 것으로 추측되고, 단백질-핵산 간의 결합과 단백질-단백질 간의 상호작용에도 영향을 줄 수 있다는 것이 제시되었다[11].

이러한 연구들을 바탕으로 RGG 상자의 아르기닌은 hnRNP A1 단백질의 세포내 위치(subcellular localization)에 영향을 미칠 수 있을 것으로 사료되었다.

본 연구는 hnRNP A1에 있는 RGG 상자가 이 단백질의 세포내 위치에 미치는 영향과 이 단백질의 안정화에 미치는 영향을 분석하는 것을 목적으로 한다. 이를 위해 6R/K 돌연변이 hnRNP A1을 만들고, 이 돌연변이 단백질의 세포내 위치가 wt 단백질과 어떤 차이가 있는지, 그 결과가 어떤 기체에 의해 나타나는지를 분석하고자 한다. 또한 6R/K 돌연변이가 이 단백질의 안정성에 미치는 영향을 분석한다.

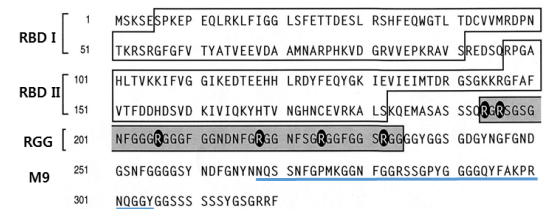


Fig. 1. Amino acid sequences of human hnRNP A1. The two big boxes indicate RBD I and RBD II domains. The arginines of RGG box were marked with black oval. The M9 domain was underlined.

2. 재료 및 방법

2.1 위치지정 돌연변이 유발(Site-directed mutagenesis) 및 플라스미드 제조

인간 hnRNP A1 cDNA가 클로닝된 플라스미드인 pcDNA3-myc-hnRNP A1[12]로 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)하여 얻은 hnRNP A1 cDNA를 M13mp19에 삽입하여 pSMC101을 만들었다. 이것을 주형으로 사용하고 R194, 196, 206K 돌연변이(mutation)를 포함하는 3R/K-1 올리고뉴클레오타이드(oligonucleotide)를 프라이머(primer)로 사용하여 M13 DNA를 사용한 위치지정 돌연변이 유발(site-directed mutagenesis with M13 DNA) 실험을 실시하였고[13], 아미노산 194, 196, 206 부위의 아르기닌이 라이신으로 돌연변이된(mutated) pSMC103을 얻었다. DNA 염기서열 분석으로 돌연변이를 확인하였다(Bionex, Korea). 그 다음, pSMC103을 주형으로 활용하고 R218, 225, 232K

돌연변이를 포함하는 3R/K-2 올리고뉴클레오타이드를 프라이머로 사용하여 위치지정 돌연변이 유발 실험을 하였고, 아미노산 194, 196, 206, 218, 225, 232 부위의 아르기닌이 라이신으로 돌연변이된 pSMC105를 얻었다. DNA 염기서열 분석으로 돌연변이를 확인하였다 (Bionex, Korea).

pSMC101 플라스미드와 R194, 196, 206A 돌연변이를 포함하는 3R/A-1 올리고뉴클레오타이드를 사용하여 앞에서와 동일한 방법으로 아미노산 194, 196, 206 부위의 아르기닌이 알라닌으로 돌연변이된 pSMC113을 만들었고[13] DNA 염기서열 분석으로 돌연변이를 확인하였다(Genotech, Korea). pSMC113 플라스미드와 R218, 225, 232A 돌연변이를 포함하는 3R/A-2 올리고뉴클레오타이드를 사용하여 동일한 방법으로 위치지정 돌연변이 유발 실험을 하였고, 아미노산 194, 196, 206, 218, 225, 232 부위의 아르기닌이 알라닌으로 돌연변이된 pSMC115를 얻었다. DNA 염기서열 분석으로 돌연변이를 확인하였다(Genotech, Korea). 위치지정 돌연변이 유발 실험에 사용된 올리고뉴클레오타이드의 서열은 아래와 같다(Table 1).

Table 1. Sequence of oligonucleotides

| | |
|--------|---|
| 3R/K-1 | 5'CCTCGAGCAGCCAAAAGGTAAGTGGTTCTGG AAACTTTGGTGGTGGTAAAGGAGGTGGTTTCGGTG 3' |
| 3R/K-2 | 5'AATGACAACCTTCGGTAAAGGAGGAACTTCAGTG GTAAAGGTGGCTTTGGTGGCAGCAAAGGTGGTGGT GGATATG 3' |
| 3R/A-1 | 5'CCTCGAGCAGCCAAGCCGGTGCCAGTGGTTCTGG AAACTTTGGTGGTGGTGCUGAGGTGGTTTCGGTG 3' |
| 3R/A-2 | 5'AATGACAACCTTCGGTGCUGAGGAACTTCAGTG GTGCUGGTGGCTTTGGTGGCAGCGCUGGTGGTGGT GGATATG 3' |

6R/K 돌연변이가 hnRNP A1 단백질의 세포내 위치에 미치는 영향을 조사하기 위하여 포유동물세포 발현백터인 pcDNA1에 HA (hemagglutinin, 혈구응집소) epitope (항원결정부) 과 연결된[14] hnRNP A1 cDNA가 클로닝된 pSMC131 플라스미드를 아래와 같은 방법으로 만들었다. 먼저 PCR-증폭하여 얻은 hnRNP A1 cDNA(2~320)를 pcDNA1의 *EcoRI BamHI* 부위에 삽입하여 pSMC129를 만들었다. *HindIII-Met-HA* epitope (GYPDVP DYASL) -*EcoRI*을 포함하는 + 가닥의 올리고뉴클레오타이드 (5'-AAGCTTATGGGCTACCCCTACGACGTGCCCCG

ACTACGCTAGCCTGAATTCC-3')와 이에 대한 - 가닥의 올리고뉴클레오타이드 (5'-GGAATTCAGGCTAGCGTAGTCGGGCACGTCGTAGGGGTAGCCCATAAGCTT-3')의 합성을 의뢰하였다 (Genotech, Korea). +, - 가닥의 두 가지 올리고뉴클레오타이드를 결합(annealing)한 다음 *HindIII*와 *EcoRI*으로 절단하여 얻은 DNA 조각을 pSMC129의 *HindIII*와 *EcoRI* 부위에 끼워넣어 pSMC131을 재조합하였다.

플라스미드 pSMC105에 *NdeI BamHI*을 처리하여 hnRNP A1(6R/K)의 62~320 aa 를 포함하는 DNA 조각을 얻었다. 이것을 pSMC131의 *NdeI-BamHI* 부위에 바꿔 삽입하여-pcDNA1-HA-hnRNP A1(6R/K)를 만들었다. pSMC115 플라스미드 DNA에 *NdeI BamHI*을 처리하여 hnRNP A1(6R/A)의 62~320 aa 를 포함하는 DNA 조각을 얻은 다음 pSMC131의 *NdeI-BamHI* 부위에 바꿔 넣어-pcDNA1-HA-hnRNP A1(6R/A)를 재조합하였다.

2.2 세포배양 및 형질주입(transfection)

HeLa 세포를 페니실린과 스트렙토마이신의 항생제와 10% FCS(fetal calf serum, 송아지 태아혈청)가 들어있는 Dulbecco's modified medium (GIBCO BRL)으로 유리커버 위에서 37°C와 5% CO₂를 유지하며 배양하였다. HBS(Hepes-buffered saline, Hepes-완충 식염수 : 140mM NaCl, 1.5mM Na₂HPO₄, 25mM Hepes, pH 7.05)를 이용하여 인산칼슘(calcium phosphate) 방법으로 형질주입 하였다[12,15].

2.3 면역형광현미경 분석

(Immunofluorescence microscopy)

형질주입 된 HeLa 세포를 PBS(phosphate - buffered saline, 인산-완충 식염수)로 씻고 2% 포르말데하이드(formaldehyde)로 고정시켰다. 그 다음에 100% 아세톤으로 투과성이 생기도록 만들고 12CA5 단일클론항체(monoclonal antibody) (anti-HA epitope, 항-HA 항원결정부)로 반응시켰다[14,16]. FITC-결합된 염소 항-생쥐 항체 (FITC-conjugated goat anti-mouse antibody) (Advanced Biochemicals, Inc., Korea)로 1차 항체와 반응시킨 후 형광현미경(Axiolab, Zeiss)으로 관찰하고 촬영(MC80DX, Zeiss)하였다[12,15].

2.4 웨스턴 블랏(Western blotting)

형질주입하고 24시간 정도 배양한 HeLa 세포를 PBS로 2번 씻은 다음 세포를 모은다. 음파처리(sonication) (10 sec, 3X)한 후 SDS-PAG에서 전기영동하고 단백질 밴드를 니트로셀룰로스(nitrocellulose) 필터종이에 옮긴다. 5% 무지방 우유가 든 PBS로 니트로셀룰로스 막 위의 단백질을 차단(blocking) 한 다음 12CA5 단일클론항체 (항-HA 항원결정부)로 반응시켰다[14]. 니트로셀룰로스 막에 결합된 1차 항체를 퍼옥시데이즈-결합된 염소 항-생쥐 IgG 항체(peroxidase-conjugated goat anti-mouse IgG antibodies) (Jackson Immuno Research Laboratories, USA)로 반응시키고 ECL Western blotting detection kit (Amersham Corp. USA)으로 단백질 밴드를 시각화하였다[17].

3. 결과 및 고찰

3.1 6R/K 돌연변이가 hnRNP A1 단백질의 세포내 위치(subcellular localization)에 미치는 영향에 대한 분석

hnRNP A1 단백질 내의 RGG 상자의 아르기닌이 이 단백질의 세포내 위치에 미치는 영향을 연구하기 위하여 HA-epitope-hnRNP A1(6R/K) cDNA를 가진 포유동물 세포 발현백터를 HeLa 세포에 형질주입 시킨 다음 HA-hnRNP A1(6R/K) 단백질의 세포내 위치를 조사하였다. 발현된 HA-hnRNP A1(6R/K) 단백질을 anti-HA 항체로 반응시키고 FITC-표식된 2차 항체로 염색한 다음 면역형광현미경으로 세포내 위치를 분석한 결과 6R/K 단백질은 핵과 세포질 모두에 퍼져 있는 것을 확인하였다(Fig. 2). 대조군으로서 HA-hnRNP A1(wt) cDNA를 가진 포유동물세포 발현백터를 HeLa 세포에 형질주입 시킨 다음 HA-hnRNP A1(wt) 단백질의 세포내 위치를 조사하였을 때, HA-hnRNP A1(wt) 단백질은 핵에 있는 것이 확인되었다(Fig. 2). HA-hnRNP A1(6R/K) cDNA를 가진 pcDNA1을 COS 세포에 형질주입 시킨 다음 이 단백질의 세포내 위치를 분석하였을 때에도 HeLa 세포에서와 동일한 결과를 얻었다. 이 결과는 6R/K 돌연변이가 hnRNP A1 단백질의 M9의 핵 위치(nuclear localization) 능력에 영향을 미쳐서 나타난 결과라고 생각할 수 있으나, 6R/K 돌연변이가 이 단백질의 안정성에 이상을 초래하여 나타난 결과라고도 유추

해 볼 수 있었다. 결론을 내리기 전에 먼저 포유동물세포에서 발현된 6R/K 돌연변이된 hnRNP A1 단백질의 안정성을 확인하는 것이 필요하다고 판단하여 다음의 실험을 수행하였다.

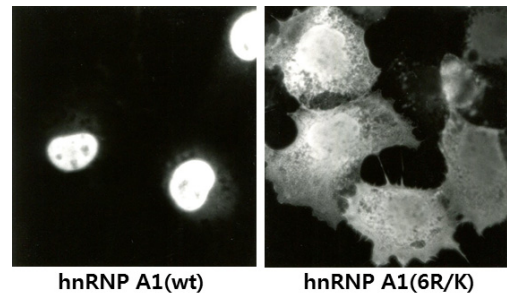


Fig. 2. Subcellular localization analysis of hnRNP A1(6R/K) by immunofluorescence detection. HeLa cells were transfected with the pcDNA1-HA-hnRNP A1(6R/K) cDNA. The subcellular distribution of expressed proteins was determined by a 24hr post-transfection by immunofluorescence using a anti-HA antibody (12CA5). Cells exhibited either nuclear fluorescence (in pcDNA1-HA-hnRNP A1(wt)) or nuclear and cytoplasmic fluorescence (in cDNA1-HA-hnRNP A1(6R/K)).

3.2 6R/K 돌연변이가 hnRNP A1 단백질의 안정성에 미치는 영향에 대한 분석

6R/K 돌연변이가 hnRNP A1 단백질의 안정성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 HA-hnRNP A1(6R/K) cDNA를 가진 pcDNA1을 HeLa 세포에 형질주입 시킨 다음 발현된 단백질을 웨스턴 블랏 실험으로 분석하였다. Fig. 3에서 보듯이 HA-hnRNP A1(6R/K) 단백질은 예상 보다 크기가 작아진 것이 발견되었다. 대조군으로 사용한 HA-hnRNP A1(wt) 단백질은 정상적인 크기를 나타내는 것을 확인하였다(Fig. 3). 이 결과는 HA-hnRNP A1(6R/K) 단백질에서는 잘리는 이상(변성)이 생겼다는 것을 제시한다. COS 세포에 형질주입 시킨 다음 발현된 단백질의 안정성을 웨스턴 블랏 실험으로 분석하였을 때에도 HeLa 세포에서와 동일한 결과를 얻었다. Fig. 3에서 나타난 크기로 보아서 잘리는 부위는 돌연변이가 일어난 곳 혹은 아주 가까운 곳이라는 것을 추정할 수 있었다.

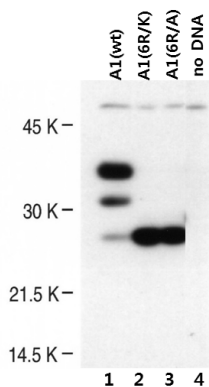


Fig. 3. Identification of the protein product of HeLa cells transfected with pcDNA1-HA-hnRNP A1(*wt*) (in lane 1), pcDNA1-HA-hnRNP A1(6R/K) (in lane 2), pcDNA1-HA-hnRNP A1(6R/A) (in lane 3), and no DNA (in lane 4). Total cellular proteins from HeLa cells 24hr post-transfection were resolved by SDS-PAGE, transferred to nitrocellulose membrane and probed with anti-HA antibody (12CA5 monoclonal antibody).

Fig. 2에서 hnRNP A1(6R/K) 단백질이 더 이상 핵 위치를 나타내지 못하는 이유는 6R/K 돌연변이로 핵유입(nuclear import) 활성이 변화되거나 손상을 입게 되어서가 아니고 돌연변이가 일어난 부위(혹은 그 부근)가 절단되어 hnRNP A1의 핵 위치 신호(nuclear localization signal)인 M9 도메인(Fig. 1)이 들어있는 C-말단 부위를 잃어버렸기 때문이라는 것을 알 수 있었다. 이 결과들은 RGG 상자의 아르기닌이 hnRNP A1의 안정성에 중요한 역할을 한다는 것을 제시한다.

이런 절단(cleavage) 현상이 라이신에 의해 유발되는 것인지 아닌지를 조사하기 위하여 pcDNA1-HA-hnRNP A1(6R/A)를 HeLa 세포에 형질주입 시킨 다음 발현된 단백질의 안정성을 웨스턴 블랏 실험으로 분석하였다. 그 결과 HA-hnRNP A1(6R/A) 단백질도 잘려서 크기가 작아진 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3). 이 결과는 이런 절단 현상이 라이신(혹은 알라닌)에 의해 유발된 것이 아니라는 것을 제시한다. 대장균 세포에서는 6R/K 돌연변이가 되더라도 이런 절단 현상이 나타나지 않았으며 효모 *S. pombe* 세포에서도 6R/K 돌연변이가 되더라도 절단되지 않았다(data not shown; 미 출간 논문). 즉 이런 현상은 포유동물 세포에서만 나타나는 것으로 추정된다. 포유동물 세포에서 hnRNP A1의 RGG 상자의 아르

기닌이 단백질 변형(protein modification) 등과 연관되어 있다고 제시되었는데[9,10], 이 부위가 다른 아미노산으로 치환(substitution)이 되면 아르기닌-특정 변형(arginine-specific modification)이 일어나지 못하여 단백질가수분해 절단(proteolytic cleavage)의 공격을 받게 되는 것으로 추정된다. 본 연구는 포유동물 세포에서 hnRNP A1의 6R/K 돌연변이가 hnRNP A1(6R/K) 단백질에 절단을 유발한다는 것을 밝혔고 이 결과는 hnRNP A1 단백질에 있는 RGG 상자의 아르기닌이 이 단백질의 안정화에 중요한 역할을 한다는 것을 제시한다.

References

- [1] J. Jean-Philippe, S. Paz, M. Caputi, "hnRNP A1: The Swiss Army Knife of Gene Expression", *Int. J. Mol. Sci.*, 14, pp. 18999 - 19024, 2013. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms140918999>
- [2] B-J. Thiele, A. Doller, T. Kahne, R. Pregla, R. Hetzer, V. Regitz-Zagrosek, "RNA-binding proteins heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1, E1, and K are involved in post-transcriptional control of collagen I and III synthesis", *Circ. Res.*, 95, pp. 1058-1066, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000149166.33833.08>
- [3] F. Wang, X. Fu, P. Chen, P. Wu, X. Fan, N. Li, H. Z hu, T. T. Jia, H. Ji, Z. Wang, C. C. Wong, R. Hu, J. Hui, "SPSB1-mediated HnRNP A1 ubiquitylation regulates alternative splicing and cell migration in EGF signaling", *Cell Res.*, 27, pp. 540-558, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1038/cr.2017.7>
- [4] A. Cammas, F. Pileur, S. Bonnal, S. M. Lewis, N. L eveque, M. Holick, S. Vagner, "Cytoplasmic relocation of heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 controls translation initiation of specific mRNAs". *Mol. Biol. Cell*, 18, pp. 5048-5059, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1091/mbc.E07-06-0603>
- [5] H-J. Kim, H-R. Lee, J-Y. Seo, H. G. Ryu, K-H. Lee, D-Y. Kim, K-T. Kim, "Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A1 regulates rhythmic synthesis of mouse Nfil3 protein via IRES-mediated translation", *Sci Rep.* 7, pp. 42882-428895, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep42882>
- [6] M. Iijima, M. Suzuki, A. Tanabe, A. Nishimura, M. Yamada, "Two motifs essential for nuclear import of the hnRNP A1 nucleocytoplasmic shuttling sequence M9 core", *FEBS Lett.* 580, pp. 1365-1370, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2006.01.058>
- [7] M. Kiledjian, G. Dreyfuss, "Primary structure and binding activity of the hnRNP U protein: binding RNA through RGG box", *EMBO J.*, 11, pp. 2655-2664, 1992.
- [8] J. Ye, N. Beetz, S. O'Keefe, J. C. Tapia, L. Macpherson, W. V. Chen, R. Bassel-Duby, E. N. Olson, T. Maniatis, "hnRNP U protein is required for normal pre-mRNA splicing and postnatal heart development and

function”, Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 112, pp. 3020-3029, 2015.

DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1508461112>

- [9] M. T. Bedford, S. G. Clarke, “Protein arginine methylation in mammals: who, what, and why”, Mol. Cell, 33, pp. 1 - 13, 2009.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2008.12.013>
- [10] S. Kim, B. M. Merrill, R. Rajpurohit, A. Kumar, K. L. Stone, V. V. Papov, J. M. Schneiders, W. Szer, S. H. Wilson, W. K. Paik, K. R. Williams, “Identification of N(G)-methylarginine residues in human heterogeneous RNP protein A1: Phe-Gly-Gly-Gly-Arg-Gly-Gly-Gly/Phe is a preferred recognition motif”, Biochemistry, 36, pp. 5185-5192, 1997.
DOI: <https://doi.org/10.1021/bi9625509>
- [11] G. Gao, S. Dhar, M. T. Bedford, “PRMT5 regulates IRES-dependent translation via methylation of hnRNP A1”, Nucleic Acids Res., 45, pp. 4359 - 4369, 2017.
DOI: <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1367>
- [12] S-Y. Lee, S. K. Jang, M. Choi, “Human hnRNP L shuttles between nucleus and cytoplasm”, Korean J. Genetics, 25, pp. 141-145, 2003.
- [13] B. R. Glick, J. J. Pasternak, C. L. Patten, Molecular biotechnology: principles and applications of recombinant DNA. 4th ed., p. 292-295, ASM press, 2010.
- [14] T. Takahashi, T. Nakamura, A. Hayashi, M. Kamei, M. Nakabayashi, A. A. Okada, N. Tomita, Y. Kaneda, Y. Tano, “Inhibition of experimental choroidal neovascularization by overexpression of tissue inhibitor of metalloproteinases-3 in retinal pigment epithelium cells”, Am. J. Ophthalmol., 130, pp. 774-781, 2000.
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0002-9394\(00\)00772-8](https://doi.org/10.1016/S0002-9394(00)00772-8)
- [15] L. R. Friend, S. P. Han, J. A. Rothnagel, R. Smith, “Differential subnuclear localisation of hnRNPs A/B is dependent on transcription and cell cycle stage”, Biochem. Biophys. Acta, 1783, pp. 1972 - 1980, 2008.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2008.05.021>
- [16] D. I. Boquet, C. Créminon, G. Clément, Y. Frobort, M. C. Nevers, S. Essono, J. Grassi, “Quantitative Measurement of Bitagged Recombinant Proteins Using an Immunometric Assay: Application to an Anti-Substance P Recombinant Antibody”, Anal Biochem., 284, pp. 221-230, 2000.
DOI: <https://doi.org/10.1006/abio.2000.4711>
- [17] H. Seo, I. Lee, H. S. Chung, G-U. Bae, M. Chang, E. Song, M. J. Kim, “ATP5B regulates mitochondrial fission and fusion in mammalian cells”, Animal Cells and Systems, 20, pp. 157-164, 2016.

최 미 영(Mieyoung Choi)

[정회원]



- 1983년 2월 : 서울대학교 사범대학 생물교육학과 (이학사)
- 1985년 2월 : 서울대학교 자연과학대학 대학원 동물학과 (이학석사: 분자유전학)
- 1992년 12월 : University of Chicago 대학원 발생생물학과 (이학박사: 분자생물학)
- 1993년 1월 ~ 1995년 12월 : University of Pennsylvania, HHMI, Research Associate (분자세포생물학)
- 1997년 3월 ~ 현재 : 선문대학교 BT융합 제약공학과 교수

<관심분야>

RNA-결합 단백질의 유전자 발현에서의 기능, 의약품