

## Rat 바닐로이드 수용체 TRPV1과 Rab11-FIP3의 특이적 결합

이순열<sup>1\*</sup>, 김미란<sup>2</sup>

<sup>1</sup>한경대학교 생명공학과, <sup>2</sup>(주) 바이오니아

## Specific Interaction of Rat Vanilloid Receptor, TRPV1 with Rab11-FIP3

Soon-Youl Lee<sup>1\*</sup> and Mi Ran Kim<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dept. of Biotechnology, Hankyong National University, <sup>2</sup>Bioneer Corporation

**요약** 캡사이신 채널로 알려진 바닐로이드 수용체 TRPV1 (캡사이신채널, Transient Receptor Potential Vanilloid 1)은 통증발현에서 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 하지만 TRPV1의 활성조절에 관여하는 단백질에 대하여는 알려진 바가 많지 않다. 최근 rat TRPV1과 직접적으로 결합하는 단백질을 탐색하여 mouse Rab11-FIP3 (rab11-family interaction protein 3)가 rat TRPV1과 직접적으로 결합한다는 것이 보고되었다. Rab11은 여러 가지의 세포내 이동에 관여하는 것으로 보고되었다. 그러므로 Rab11-FIP3과의 결합을 통해 TRPV1의 세포막으로의 이동에 관여할 것으로 추측할 수 있다. 본 연구에서는 전에 보고된 연구가 mouse와 rat 이라는 다른 종의 단백질끼리의 결합이기 때문에 같은 종에서의 상호작용을 확인하고 Rab11-FIP3의 TRPV1의 세포막으로의 이동에서의 역할을 알아보고자 현재까지 동정되지 않은 rat의 Rab11-FIP3의 유전자를 GenBank 서열을 바탕으로 rat 뇌의 RNA로부터 cDNA를 클로닝하여 유전자를 분리하고 TRPV1과의 관계를 세포생물학적으로 알아보았다. 연구결과 rat의 Rab11-FIP3는 489개의 아미노산 서열을 가지고 있으며 human과는 80%, mouse와는 90% 이상 아미노산 서열의 상동성을 보였다. 조직별 분포는 심장, 뇌, 간, 콩팥, 정소에서 발현되고 있는 것을 northern blot assay와 western blot assay로 확인하였다. rat의 뇌조직에서 TRPV1과 Rab11-FIP3 단백질이 결합하여 colocalize 하는 것을 면역화학방법으로 확인하였다. 이 결합은 같은 family의 TRPV2와는 결합하지 않는 특이적 결합이므로 Rab11-FIP3가 TRPV1과 상호작용하여 세포막으로의 이동에 관여할 것이라는 것을 시사한다.

**Abstract** Vanilloid receptor TRPV1 (known as capsaicin channel, transient receptor potential vanilloid 1) is known to be a key protein in the pain signal transduction. However, the proteins controlling the activity of the channel are not much known yet. Recently mouse Rab11-FIP3 (Rab11-family interaction protein 3) was found and reported to interact with rat TRPV1. Rab11 has been shown to play a key role in a variety of cellular processes including plasma membrane recycling, phagocytosis, and transport of secretory proteins from the trans-Golgi network. Therefore, Rab11-FIP3 was proposed to be involved in the membrane trafficking of TRPV1. In this study, the unreported rat Rab11-FIP3 was yet cloned in order to show the specific interaction of the TRPV1 and Rab11-FIP3 in the same species of rat and to examine the membrane trafficking of TRPV1. The result showed that rat Rab11-FIP3 is expected to have 489 amino acids and showed 80% identity with that of human and over 90% identity with that of mouse. Rab11-FIP3 was found to be expressed in heart, brain, kidney, testis using northern and western blot analyses. We also found that rat Rab11-FIP3 was colocalized with rat TRPV1 but not with TRPV2 of same family in the rat brain by using immunohistochemistry showing that two proteins interact specifically, suggesting the role of Rab11-FIP3 in the membrane trafficking.

**Key Words** : TRPV1, Capsaicin channel, Rab11-FIP3, Binding protein, Cloning, Immunohistochemistry

본 연구는 한국 학술진흥재단의 기초과학지원 (과제번호 C00053 (I00075)) 으로 수행된 연구입니다

\*교신저자 : 이순열(sylee@hknu.ac.kr)

접수일 10년 11월 22일

수정일 11년 01월 04일

게재확정일 11년 01월 13일

## 1. 서론

캡사이신 채널로 알려진 TRPV1은 TRP(transient receptor potential) family에 속해 있는 nonselective cation channel이다[1]. 고추의 매운맛을 나타나게 하는 성분인 캡사이신의 receptor로서, 캡사이신에 의해 활성화되면 양이온이 세포내에 유입되어 막전압을 형성하고 자극이 신경계에 전달되어 통증을 유발하는 것으로 밝혀졌다[1-4]. 1997년 Julius에 의해 처음으로 클로닝되었고 vanilloid receptor 1(VR1)으로 명명되었다[2]. 이후 VR1은 TRP family에 분류되어 TRPV1으로 새롭게 명명되었다.

TRPV1은 캡사이신 외에 통증을 유발하는 산이나 열에 의해서도 활성화되기 때문에 통증유발에 중요한 물질로 자리매김을 하였다[5, 6]. TRPV1의 중요한 특징 중 하나는 인산화와 탈 인산화에 의하여 그 활성이 조절되는 것으로 현재까지 PKA(protein kinase a), PKC(protein kinase c), calcineurin에 의하여 활성이 조절되는 것으로 알려져 있다[7]. 특히 탈인산화에 의한 채널의 탈감작 현상은 약학적으로도 매우 중요하여 많은 연구가 진행되었다.

TRPV1이 phorbol ester나 metabotropic glutamate receptor에 의하여 활성화된 PKC의 신호에 의해 적어도 부분적으로 SNARE 의존성에 의해 세포외배출(exocytosis)됨이 보고되었다[8]. 하지만 막 수송 기전에 관해서는 아직 알려져 있지 않다. 최근에 mouse의 Rab11-FIP3가 TRPV1과 결합한다는 연구 결과가 보고되었다[9].

Rab11-family interaction protein 3 (Rab11-FIP3)은 Rab11과 결합하는 단백질로 Eferin이라고도 불린다. Rab11은 endocytic recycling compartment에서 plasma 막으로의 단백질 수송을 조절하는 역할과 trans-Golgi network를 조절하는 역할을 하는 작은 GTPase이다. 또한 Rab11은 모든 조직 내에 ubiquitous하게 존재하면서 목적 단백질을 운반소체로 하여금 trafficking을 조절하는 역할을 한다[10-12].

Rab11-FIP3은 C-말단(terminus)쪽에 20개의 보존된 아미노산 모티프를 가지는데 이것이 Rab11-binding domain(RBD)이다[10, 13]. 서열의 상동성을 기반으로 Rab11-FIPs는 세 가지로 분류된다. 첫 번째 부류로는 N 말단 쪽에 C2 도메인을 가진 Rip11/FIP5, RCP FIP2가 있고 두 번째 부류로는 두 개의 EF hands를 포함하는 FIP3 and FIP4가 있다. 마지막으로 보존된 도메인을 가지고 있지 않은 FIP1이 있다[12,13].

Rab11 이 단백질 수송에 관여하기 때문에 TRPV1이

Rab11-FIP3과 결합한다는 것은 TRPV1의 막 trafficking에 영향을 끼칠지도 모른다는 것을 의미한다. 이미 Rab11이 같은 TRP family인 TRPV5, 6의 막 trafficking에 관여한다는 결과가 보고되었다[14]. 하지만 TRPV1의 막 trafficking은 아직 정확히 알려지지 않았다. TRPV1이 어떻게 해서 세포막까지 수송되는지에 대한 기전을 알아낸다면 통증신호전달의 기전을 이해하는데 도움을 줄 수 있을 것으로 진통제연구의 기초연구가 될 것이라 생각된다.

본 연구는 Rab11-FIP3가 TRPV1의 막 trafficking에 관여하는지를 알아보고자 현재까지 동정되지 않은 rat Rab11-FIP3의 유전자를 클로닝하고 rat에서의 조직 발현을 조사하였다. 또한 면역화학(immunohistochemistry) 방법을 이용하여 뇌 조직에서 TRPV1와 Rab11-FIP3가 특이적으로 결합하는지를 조사하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1 세포배양 및 시약

세포배양의 기본적인 배지로는 Dulbecco's Modified Eagle Medium(Invitrogen, USA)을 사용하였고, HEK 293T cell 배양 시에는 10% (V/V) fetal bovine serum (TerraCell, Canada), 1% (V/V) Penicillin/Streptomycin (Invitrogen, USA) 그리고 3.7 g/L의 NaHCO<sub>3</sub>가 첨가된 DMEM growth medium을 사용하였다.

### 2.2 항체

TRPV1의 C말단 부위를 Rabbit에 주입하여 항혈청을 취하였고, human Rab11-FIP3의 C말단을 mouse에 주입하여 항혈청을 획득하였다. 두 항체 모두 western blot시에는 1:500으로 차단원충액에 희석하여 사용하였다. 기타 일반적인 시약은 Sigma에서 구입하여 사용하였다.

### 2.3 형질전환

Transfection은 Invitrogen(USA)사의 Lipofectamine PLUS reagent를 사용하여 제조회사의 protocol 대로 HEK293T cell에 수행하였다.

### 2.4 RT-PCR (Reverse transcriptional PCR) 과 재조합 벡터 구축

생후 3주된 Sprague-Dawley rat 수컷의 뇌 조직에서 TRIzol reagent(Invitrogen, USA)를 이용하여 제조회사의 protocol 대로 실험을 수행하여 total RNA를 획득하였다.

획득한 total RNA는 Superscript first strand synthesis system for RT-PCR kit(Invitrogen, USA)를 이용하여 RT-PCR을 실시하였다. 만들어진 cDNA를 predicted rat Rab11-FIP3(Genbank No: RGD1308952)를 코딩하는 primer를 제작하여 PCR을 실시하였다. 사용한 primer는 forward, 5'-CGC GGA TCC ATG GGG TCA GAG AGC ACC TAT-3'; reverse, 5'-CCG CTC GAG CTA CTT GAC CTC TAG GAT GGA-3'이며 PCR 조건은 94°C 5분, 94°C 1분, 48°C 1분, 72°C 2분, 72°C 7분으로 35주기로 실시하였고 PCR 산물은 pGEM-T-easy vector에 subcloning한 뒤 pCMV tag2B expression vector(Invitrogen, USA)에 최종적으로 클로닝하였다. 클로닝한 유전자의 염기서열은 자동염기서열 분석 방법으로 결정하였다.

## 2.5 northern blot 분석

Reverse transcriptional PCR을 이용하여 만든 rat Rab11-FIP3 cDNA를 탐침으로 제작한 뒤 rat MTN blot(Takara, Japan)을 이용하여 northern blot을 실시하였다. 탐침 제작은 DIG high Prime DNA Labeling and Detection Starter Kit II(Pierce, USA)의 protocol대로 실시하였다. Phenol/chloroform extraction방법으로 rat Rab11-FIP3 cDNA가 재조합되어 있는 pGEM-rRab11-FIP3 vector를 정제한 뒤 제한 효소 처리로 Rab11-FIP3만을 획득하여 탐침으로 사용하였다. northern blot 방법은 Takara에서 추천하는 protocol 방법으로 수행하였다. Positive control로는  $\beta$ -actin cDNA를 탐침으로 제작하여 northern blot을 실시하였다.

## 2.6 western blot 분석

western blot 분석은 일반적으로 사용되는 방법을 사용하였다[15]. SDS-PAGE시에는 15% 용해겔을 사용하였고 영동한 단백질을 nitrocellulose 막(Bio-Rad, USA)에 transfer하였다. 1차 항체로는 anti-rat TRPV1과 anti-human Rab11-FIP3을 사용하였고 각각에 해당하는 2차 항체를 처리한 후 마지막으로 ECL western blotting analysis system(GE health care, UK)을 이용하여 결과를 확인하였다.

## 2.7 면역화학

면역화학방법은 일반적으로 사용되는 방법을 사용하였다[16]. 간단히 기술하면, 생후 3주된 수컷 Sprague-Dawley rat의 뇌를 적출하여 1 X PBS로 세척한 후 고정용 4% paraformaldehyde를 사용하였다. 30% sucrose :

OCT embedding medium이 2:1의 비율로 섞인 mixture에 30분 동안 조직을 embedding하였다. 준비된 조직을 cryo-mold에 OCT compound(Sakura, Japan)를 얇게 깔아준 뒤 가운데 원하는 모양으로 놓고 OCT compound를 채워준 뒤 mold를 액체 질소에 증탕한 isopentane에 넣고 급속 냉동시켰다. 급속 냉동시킨 블록은 -80°C 초저온냉장고에 보관하거나 바로 실험에 사용하였다.

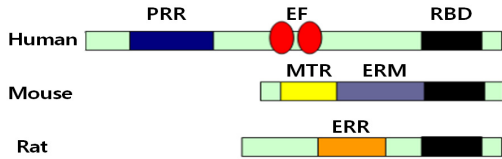
조직을 붙인 슬라이드글라스에 0.3% Triton X 100 in PBS를 처리하고 5분간 반응시켰다. 그 후에 1 X PBS로 5분씩 세 번 세척하였다. 다음으로는 10% normal goat serum in PBS로 상온에서 60분 동안 blocking처리를 하였다. 1차 항체는 1% BSA가 첨가된 PBS에 희석한 후 조직에 처리하고 상온에서 3시간 동안 반응시켰다. 1 X PBS로 5분씩 다섯 번 세척하고 2차 항체를 1% BSA가 첨가된 PBS에 희석한 후 상온에서 1시간 반응시켰다. 그리고 1 X PBS로 5분씩 4번 세척한 뒤 DAPI(4'-6-Diamidino-2-phenylindole, Pierce, USA) 작용 용액 (1  $\mu$ g/ml in ultrapure water)을 조직에 완전히 덮히도록 뿌려주고 빛을 차단할 수 있게 호일로 샘플을 덮은 뒤 상온에서 10분 동안 반응시켰다. 마지막으로 PBS로 5분씩 6번 세척하고 물기를 잘 제거한 뒤, gel mounting solution을 조직위에 뿌리고 커버글라스로 덮었다. 완성된 샘플을 Nikon C1si Laser Confocal Microscope를 이용하여 관찰하였다.

## 3. 결과

### 3.1 rat Rab11-FIP3 shows high homology with those of human and mouse

rat Rab11-FIP3를 동정하기 위해 rat 뇌 조직에서 추출한 total RNA를 이용하여 rat Rab11-FIP3 cDNA를 만들었다. cDNA는 Genbank 상의 예상되는 rat Rab11-FIP3 서열 정보를 바탕으로 제작한 primer로 PCR하였다. 증폭된 단편은 약 1.5 Kb의 크기였고 이것을 pGEM-T-easy vector system을 이용하여 sub-cloning한 뒤 최종적으로 pCMV-tag2b 발현 벡터에 삽입시켰다. 재조합 벡터에 삽입된 rat Rab11-FIP3의 DNA 염기 서열은 시퀀싱을 이용하여 알아보았다. rat Rab11-FIP3는 총 1470 base pair의 DNA서열을 가지며 489개의 아미노산 서열을 가지는 것으로 나타났다. 사람과 mouse 그리고 rat 의 Rab11-FIP3는 세 가지 종 모두 Rab11 binding domain을 공통적으로 가지고 있었으나, rat 의 Rab11-FIP3의 경우 사람이 가지고 있는 EF-hands motif는 가지지 않고 대신에 글루탐산이 풍부한 영역 (Glutamic acid rich region)이 있는 것

로 예측되었다(그림 1). rat과 다른 종의 Rab11-FIP3 아미노산 서열의 상동성을 알아보기 위해 human, mouse, rat의 Rab11-FIP3 아미노산 서열을 Clustal W 프로그램을 이용하여 alignment한 결과 mouse와는 서열의 상동성이 90%이상 이었고 human과는 80% 이상이었다. 그림1은 세 가지 종에서의 Rab11-FIP3을 비교 분석한 것을 간단히 도식화한 것이다.

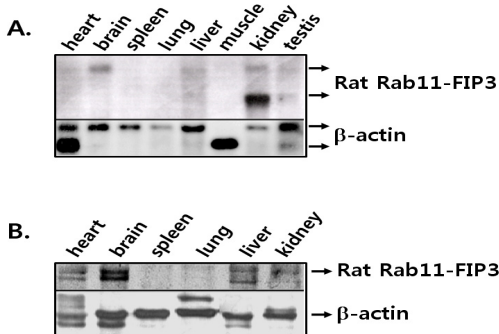


[그림 1] 인간, mouse, 그리고 rat 의 Rab11-FIP3 의 상호 비교. PRR, proline rich region; EF, EF hand; RBD, RBD domain; MTR, myosin tail region; ERM, ERM motif; ERR, glutamate rich region

### 3.2 Tissue distribution of rat Rab11-FIP3

rat의 Rab11-FIP3 의 조직별 mRNA 발현량을 알아보기고자 동정한 rat Rab11-FIP3 cDNA를 탐침으로 제작하여 rat MTN blot에 northern blot을 한 결과 심장, 뇌, 간, 콩팥, 정소에서 발현되고 있는 것을 확인하였다(그림 2A). 특히 뇌 조직에서의 높은 발현이 인상적이었다. 콩팥에서의 작은 크기의 band 가 검출이 되었는데 이는 splicing variant 가 아닐까 추측한다.

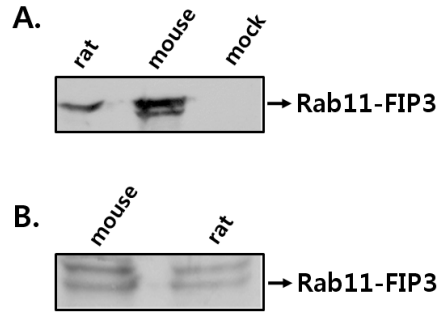
단백질 수준에서 본 각 조직별 Rab11-FIP3의 분포를 알아보았다. rat의 심장, 뇌, 지라, 폐, 간, 콩팥 조직을 용해완충액을 이용하여 균질화 시킨 뒤 western blot을 실시하였다. 그 결과, 심장, 뇌, 간, 콩팥에서 rat Rab11-FIP3 가 발현되고 있음을 알 수 있었다(그림 2B). 단백질 수준에서도 mRNA 와 같은 양상으로 뇌 조직에서 다른 조직에 비하여 많은 양이 발현되는 것을 알 수 있었다.



[그림 2] Rab11-FIP3 의 조직 발현 양상. A) northern blot 분석. B) western blot 분석.

### 3.3 Detection mouse and rat Rab11-FIP3 by anti-human Rab11-FIP3

Anti-human Rab11-FIP3 항체가 mouse의 Rab11-FIP3를 인식한다는 것은 선행 연구에서 이미 확인되었다[9]. 본 연구에서 클로닝한 유전자의 산물을 heterologous 하게 발현 시킨 Rab11-FIP3 을 Anti-human Rab11-FIP3 항체가 인식할 수 있는 지 알아보기 위해 본 연구에서 클로닝하여 제작한 발현 벡터 pCMV-tag2b-rRab11-FIP3 재조합 벡터를 HEK293T cell에 transfection시킨 뒤 24~48 시간 후에 세포를 수집하여 세포용해질을 이용해 western blot으로 확인했다. 결과적으로 anti-human Rab11-FIP3 항체는 mouse 뿐만 아니라 클로닝한 rat 유전자 Rab11-FIP3의 단백질 산물도 인식하는 것으로 확인되었다(그림 3A). 항체는 또한 mouse 와 rat 의 뇌 조직을 이용하여 확인해 보았을 때도 동일한 크기의, 같은 양상의 밴드가 검출되었다(그림 3B).



[그림 3] A) 인간 Rab11-FIP3 에 대한 항체의 HEK293 세포에 발현된 rat Rab11-FIP3 와 mouse Rab11-FIP3 검출 확인. B) 인간 Rab11-FIP3 에 대한 항체의 rat 과 mouse 뇌조직의 Rab11-FIP3 검출 확인.

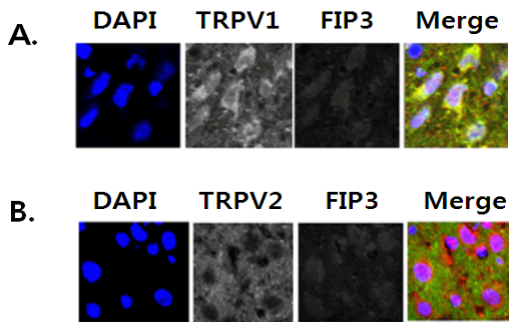
### 3.4 rat Rab11-FIP3 was colocalized with rat TRPV1, not with TRPV2 in brain tissue

rat Rab11-FIP3가 TRPV1과 결합하여 세포내에서 colocalization하는지 알아보기 위하여 뇌 조직을 이용하여 면역화학 실험을 실시하였다. 대비 염색으로는 DAPI를 처리하여 세포의 핵을 염색시켰다. 실험결과 rat Rab11-FIP3는 TRPV1과 colocalization하여 merge된 사진에서 노랗게 된 것을 볼 수 있었다(그림 4A). 특히 세포막 부분에서 colocalize 되는 것을 볼 수 있다. 이는 rat의 Rab11-FIP3도 뇌 조직 내에서 TRPV1과 직접적으로 결합한다는 것을 시사한다.

rat Rab11-FIP3와 TRPV1와의 결합이 특이적인 결합

인지의 여부를 알아보기 위하여 TRPV1과 같은 TRP family에 속하는 TRPV2 채널과의 colocalization 여부를 rat 뇌 조직을 이용하여 알아본 결과, rat Rab11-FIP3는 같은 family에 속하는 유사한 채널 TRPV2와는 colocalization하지 않았다(그림 4B).

즉, Rab11-FIP3가 TRPV2와는 결합하지 않으면서 TRPV1과 뇌 조직에서 결합하여 colocalization 한다는 것은 이 두 단백질이 특이적으로 결합한다는 것을 시사한다.



[그림 4] 뇌 조직에서의 TRPV1 과 Rab11-FIP3 의 colocalization. A) merge 그림에서 노란색은 Rab11-FIP3 (적색) 와 TRPV1 (녹색)가 합쳐져 나타난다. B) merge 그림에서 rat Rab11-FIP3 (적색)과 rat TRPV2(녹색)가 합쳐지는 것을 볼 수가 없다.

#### 4. 고찰

고추의 매운 맛 성분으로 알려진 캡사이신은 이미 진통 목적 등으로 임상에서 사용되고 있으며 캡사이신 수용체인 TRPV1은 통증 유발에 주요한 채널로서 진통제 개발 연구 분야에서 주목을 받고 있다. TRPV1 에 대한 연구가 진행될수록 TRPV1 의 작용약 (agonist) 나 길항제 (antagonist) 역할을 하는 약물들이 신경병증에 사용될 수 있다는 결과가 나오고 있지만 임상적 결과는 아직 부족한 상태이다[for review, 17].

TRPV1 수용체의 활성화에 관하여 연구가 진행되었지만 주로 인산화를 포함한 활성화에 관한 연구이고 수용체의 막 수송에 관하여는 비교적 연구가 활발하지 않은 편이다. 단지 phorbol ester나 metabotropic glutamate receptor에 의하여 활성화된 PKC의 신호에 의해 SNARE 의존성에 의해 부분적으로 세포외배출 (exocytosis)된다는 것이 보고된 정도이다[8].

최근 rat TRPV1 이 mouse Rab11-FIP3과 결합한다고

발표되었고[9] Rab11 과 결합하는 여러 FIP 들이 여러 가지의 막 수송에 중요한 인자로 작용한다고 발표되었다 [18]. 그러므로 TRPV1이 Rab11-FIP3과 결합한다는 것은 TRPV1의 막 trafficking에 영향을 끼칠지도 모른다는 것을 의미한다. 같은 TRP family인 TRPV5, 6의 막 trafficking에 Rab11 이 관여한다는 결과가 보고되었다 [14]. 하지만 TRPV1의 막 trafficking에 Rab11 이나 Rab11-FIP3이 어떻게 작용하는지는 아직 정확히 알려지지 않았다.

본 연구는 이미 특이적으로 결합한다고 보고된 Rab11-FIP3가 TRPV1의 막 trafficking에 관여하는지를 정확히 알아보려고 TRPV1 이 클로닝된 rat 과 같은 종인 rat에서 Rab11-FIP3의 유전자를 클로닝하였다. 그 서열을 분석한 결과 이미 발표된 사람과 mouse 의 Rab11-FIP3 와 높은 상동성을 보임을 확인하였다. 또한 면역화학 방법을 이용하여 rat 의 뇌 조직에서 TRPV1 와 Rab11-FIP3 가 특이적으로 주로 세포막 부분에 결합하는 것을 확인 하였다. rat의 Rab11-FIP3는 주로 세포막 부분에서 TRPV1과 colocalize 되지만 유사한 같은 family member 채널인 TRPV2 와는 특이적으로 결합하지 않는다는 것을 알 수 있었다. 이러한 발견은 여러 종류의 FIP 들이 존재 하여 서로 각각 다른 막 수송에 관여한다는 최근 연구 발표[18] 에서 보듯이 같은 family 의 수용체라 하더라도 막 수송에 서로 다른 기전을 사용한다는 것을 시사하고 있다. 예를 들면 TRPV1 과 TRPV2 각각의 막 수송에 서로 다른 Rab 단백질과 FIP 가 사용될 수 있다는 것을 시사 하고 있다. 이는 같은 TRP family인 TRPV5, 6 에서는 막 trafficking에 Rab11이 직접 관여한다는 결과가 그 가설을 뒷받침한다고 볼 수 있다[14].

TRPV1의 경우에는 Rab11-FIP3 과의 직접적인 상호작용으로 TRPV1 이 세포막으로 이동되는 것이 아닌가 생각된다. 이는 Rab11 과의 직접적인 상호작용의 가능성을 배제하지는 않는다. 이를 확인하기 위하여 Rab11-FIP3 의 어느 부분과 결합을 하는지 Rab11 pathway에서의 Rab11-FIP3의 역할 등 Rab11-FIP3이 TRPV1의 막 trafficking에 어떠한 역할을 하는지, 또한 그 외의 단백질 들이 관여하는지를 연구하여야 할 것으로 보인다.

#### 참고문헌

[1] Oh U., Hwang SW., Kim D. "Capsaicin activates a nonselective cation channel in cultured neonatal rat dorsal root ganglion neuron." *J. Neurosci.*, 16, pp. 1659-1667, 1996.

- [2] Caterina M. J., Schumacher M. A., Tominaga M., Rosen T. A., Levine J. D., Julius D. "The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway." *Nature*, 389, pp. 816-824, 1997.
- [3] Caterina M. J., Leffler A., Malmberg A. B., Martin W. J., Trafton J., Petersen-Zeitk K. R., Koltzenburg M., Basbaum A. I., Julius D. "Impaired nociception and pain sensation in mice lacking the capsaicin receptor." *Science*, 288, pp. 306-313, 2000.
- [4] Davis J. B., Gray J., Gunthorpe M. J., Hatcher J. P., Davey P. T., Overend P., Harries M. H., Latcham J., Clapham C., Atkinson K., Hughes S. A., Rance K., Grau E., Harper A. J., Pugh P. L., Rogers D. C., Bingham S., Randall A., Sheardown S. A. "Vanilloid receptor-1 is essential for inflammatory thermal hyperalgesia." *Nature*, 405, pp. 183-187, 2000.
- [5] Julius D., and Basbaum A. I. "Molecular mechanism of nociception." *Nature*, 413, pp. 203-210, 2001.
- [6] Caterina M. J., and Julius D. "The vanilloid receptor: a molecular gateway to the pain pathway." *Annu. Rev. Neurosci.*, 24, pp. 487-517, 2001.
- [7] Zhang X., Li L., McNaughton P.A. "Proinflammatory mediators modulate the heat-activated ion channel TRPV1 via the scaffolding protein AKAP79/150." *Neuron*, 59, pp. 450-61, 2008.
- [8] Morenilla-Palao C., Planells-Cases R., Garca-sanz N., Ferrer-Montiel A. "Regulated exocytosis contributes to protein kinase C potentiation of vanilloid receptor activity." *J. Bio. Chem.*, 279, 25665-25672, 2004.
- [9] Lee, S. Y. "Identification of a protein that interacts with the vanilloid receptor." *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 331: 1445-1451, 2005.
- [10] Hales CM., Griner R., Hobdy-Henderson KC., Dorn MC., Hardy D., Kumar R., Navarre J., Chan EK., Lapierre LA., Goldenring JR. "Identification and characterization of a family of Rab11-interacting proteins." *J. Biol. Chem.*, 276, pp. 39067-39075, 2001.
- [11] Segev N. "Ypt/rab GTPase: regulators of protein trafficking." *Sci. TTKE.*, 202, RE11, 2001.
- [12] Peffer S. R. "Rab GTPase: specifying and deciphering organelle identify and function." *Trends. cell Biol.*, 11, pp. 487-491, 2001.
- [13] Tomoo Shiba., Hiroshi Koga., Hye-Won Shin., Masato Kawasaki., Ryuichi Kato., Kazuhisa Nakayama., and Soichi Wakatsuki. "Structural basis for Rab11-dependent membrane recruitment of a family of Rab11-interacting protein 3 (FIP3)Arfophilin-1." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 103, pp. 15416-15421, 2006.
- [14] Van de Graaf SF., Hoenderop JG., Bindels RJ. "Regulation of TRPV5 and TRPV6 by associated proteins." *Am J. Renal Physiol.*, 290, pp. F1295-F1302, 2006.
- [15] Sambrook, J., Fritsch, E.F., and Maniatis, T., in *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, NY, Vol. 1, 2, 3, 1989.
- [16] Jung J, Lee SY, Hwang SW, Cho H, Shin J, Kang YS, Kim S, Oh U. "Agonist recognition sites in the cytosolic tails of vanilloid receptor 1." *J. Biol Chem.*, 277, pp. 44448-54. 2002.
- [17] Palazzo E, Luongo L, de Novellis V, Berrino L, Rossi F, Maione S. "Moving towards supraspinal TRPV1 receptors for chronic pain relief." *Mol. Pain*, 6, 66, 2010.
- [18] Horgan CP, McCaffrey MW. "The dynamic Rab11-FIPs." *Biochem. Soc. Trans.*, 37, pp. 1032-1036, 2009.

**이 순 열(Soon-Youl Lee)**

**[정회원]**



- 1983년 2월 : 서울대학교 자연과학대학 화학과 학사
- 1995년 8월 : University of California, Davis 미생물학과 (미생물학박사)
- 2003년 1월 ~ 현재 : 한경대학교 생명공학과 교수

<관심분야>  
생명공학, 미생물학

**김 미 란(Mi Ran Kim)**

**[정회원]**



- 2007년 2월 : 한경대학교 생명공학과 학사
- 2009년 2월 : 한경대학교 생물환경정보통신전문대학원 바이오융합기술 석사
- 2010년 3월 ~ 현재 : (주)바이오니아 고객기술지원팀

<관심분야>  
생명공학