

## 갑상선자극호르몬에 의한 분자싸페론 ERp29 유전자의 발현

박수정<sup>1</sup> · 이응희<sup>1</sup> · 구태원<sup>2</sup> · 윤은영<sup>2</sup> · 황재삼<sup>2</sup> · 김 호<sup>3</sup> · 송민호<sup>3</sup> · 권오유<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>충남대학교 자연과학대학 생물학과  
<sup>2</sup>농촌진흥청 농업과학기술원 잠사곤충부  
<sup>3</sup>충남대학교 의과대학 내과학교실  
<sup>4</sup>충남대학교 의과대학 해부학교실

## A Gene Encoding Endoplasmic Reticulum Resident 29 kDa Protein is Regulated by TSH-Dependently at the Transcription Level.

Soojung Park<sup>1</sup>, Woonghee Lee<sup>1</sup>, Taewon Goo<sup>2</sup>, Eunyoung Yun<sup>2</sup>, Jaesam Hwang<sup>2</sup>,  
Ho Kim<sup>3</sup>, Minho Shong<sup>3</sup> and O-Yu Kwon<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, College of Natural Science, Chungnam National University, Taejon 305-010, Korea

<sup>2</sup>Department of Sericulture and Entomology, National Institute of Agricultural Science and Technology RDA, Suwon 440-110, Korea

<sup>3</sup>Department of Internal Medicine, College of Medicine, Chungnam National University, Taejon 305-764, Korea

<sup>4</sup>Department of Anatomy, College of Medicine, Chungnam National University, Taejon 301-131, Korea

### Abstract

This experiment was performed to evaluate the effect of TSH (thyroid-stimulating hormone) on the ERp29 (endoplasmic reticulum resident 29 kDa protein) gene expression in the rat thyrocytes of FRTL-5 cells. Although ERp29 mRNA was constantly expressed, its expression began to increase remarkably from  $10^{-9}$  M TSH, and its maximum expression was at  $5 \times 10^{-9}$  M TSH (about 3.5 fold). On the other hand, the effect of TSH on the abundance of ERp29 mRNA started within 6 h, and peaked at 8 h (about 2.5 fold). Actinomycin D (transcription inhibitor) strongly blocked this effect while cycloheximide (translation inhibitor) did not. The half-life of ERp29 mRNA was about 4.5 h in the presence or absence of TSH that was not affected by the stability of ERp29 mRNA. The effect of TSH on the ERp29 gene expression was specific, while other growth factors (transferin, insulin, and hydrocortisone) did not alter its expression. Our data indicate for the first time that the expression of ERp29 is regulated transcriptionally by TSH in the thyrocytes.

**Key words** – TSH, ERp29, FRTL-5 cells, Endoplasmic reticulum, Molecular chaperones

\*To whom all correspondence should be addressed

Tel & Fax: 042-580-8206

E-mail: oykwon@hanbat.chungnam.ac.kr

## 서 론

소포체 (endoplasmic reticulum; ER)의 가장 중요한 생물학적 기능 중의 하나는 새롭게 생성되는 분비단백질과 세포막단백질의 정확한 폴딩과 조립 (folding & assembly)을 위한 적절한 환경을 만들어 주는 것이다. 이를 위하여 여러 종류의 ER chaperones, ER foldases, ER degradases 등을 소포체내에 가지고 있다. 결국 이들은 완벽한 ER quality control을 수행하면서 불완전하게 폴딩 및 조립된 단백질들을 분해시키고 완전하게 만들어져 생체활성을 가진 단백질들만 세포 밖으로 분비하게 한다[5]. 최근에 소포체의 분자샤페론 (molecular chaperone) 중의 하나인 ERp29가 각각 두 그룹에 의해서 동시에 보고되었다. 이 단백질은 소포체내에 존재하며 일정하게 발현을 계속하고 있다가 세포가 각종 스트레스를 받았을 때에 증가하는 발현양상을 보인다. 이 단백질의 cDNA는 약 260개의 아미노산 (28,574 Da의 분자량)을 코드하고 있으며 pI는 5.6이다. 그리고 소포체에 존재하는 분자샤페론의 특이적인 구조인 KEEL을 C-말단에 가지고 있으며 전체량은 용해단백질의 0.2% 정도로 아주 풍부하게 존재한다. ERp29는 ER내에 존재하는 분자샤페론의 일종으로서 단백질의 초기폴딩과정에 중요한 역할을 하는 Bip/GRP79와 단백질-단백질에 의한 상호작용을 하며 thioredoxin과 유사한 동형이합체 (homodimer)를 형성한다[3,13,14].

대부분의 소포체내 분자샤페론은 에너지원인 포도당의 결핍, 당단백질화의 저해, 칼슘이온 교란, 소포체에서 골지체로의 단백질 이동 차단, 그리고 환원제와 중금속 등에 민감하게 유도된다[4,8,10,11,17]. 그리고 각종 질병에 의한 단백질구조의 변화에 의해서도 유도되는 것이 알려져있다. 현재까지는, ERp29 유전자가 동물의 여러 장기에서 전반적으로 발현되고 있는 것과 함께 소포체가 각종 스트레스를 받았을 때에 발현된다는 것이 보고 된 것과 같이 기본적인 몇몇 정보가 있을 뿐이다[3,13,14]. ERp29의 명확한 생물학적 기능연구는 아직 미미한 상태이며, 특히 호르몬에 의한 유전자발현연구는 전무상태이다. 이런 점에 주목하여 본 연구는 호르몬에 의한 ERp29 유전자발현을 연구하였다 [1,9]. 즉, 갑상선세포 (FRTL-5세포)에서 ERp29유전자의 발현양상을 밝히고 기능적 연구를 위한 전 단계로 갑상선자극호르몬 (thyroid-stimulating hormone; TSH)에 의하여 ERp29유전

자의 발현이 어떻게 조절되는지 연구하였다. TSH는 FRTL-5세포의 전체적인 대사에 있어서 가장 중요한 호르몬이다, 특히 TSH가 FRTL-5세포에서 있어서 갑상선호르몬 합성을 강하게 촉진한다는 것은 이미 잘 알려져 있다 [7]. 최근에는 DDRT-PCR (differential display reverse transcription-polymerase chain reaction)방법을 사용하여 FRTL-5세포에서 TSH의존적으로 발현되는 몇 개의 유전자단편 중의 하나로 ERp29유전자단편을 확보하였다[18]. ERp29유전자 발현양상을 알기 위해서 Northern blotting을 할 때에 이 단편을 [<sup>32</sup>P]로 표식 하여 표식자로 사용하였다. 본 논문은 ERp29 유전자의 발현이 호르몬 (TSH)특이적으로 이루어진다는 것을 증명한 최초의 보고이다.

## 재료 및 방법

### 재료

실험에 사용한 고순도의 TSH는 미국 국립보건 연구원의 국립소화기, 당뇨병 신장질환연구소의 호르몬 분배 프로그램으로부터 (NIDDK-bTSH I-1; 30 U/mg)제공되었다. 방사선동위원소 [<sup>32</sup>P]-dATP (3,000 Ci/mmol)는 미국 Dupont-New England Nuclear로부터 구매하였다[15]. 본 실험에서 사용된 시약 중 별도로 표기하지 않은 시약들 및 우혈청은 모두 미국 Sigma Chemical Co.로부터 구매하여 사용하였다.

### 세포배양

쥐의 갑상선배양세포 (FRTL-5 cell, American Type Culture Collection, CRL #8305, Rockville)를 5% 소혈청과 4종류의 호르몬 ( $10^{-9}$  M TSH, 5  $\mu$ g/ml transferrin, 1  $\mu$ g/ml insulin, 10 nM hydrocortisone; 4H)을 포함하고 있는 Coon's modified 배지 내에서 배양하였다. 배양기의 조건은 37°C, 5% 이산화탄소, 그리고 충분히 습한 조건이다 [1]. 세포의 TSH에 의한 분열시간은  $36 \pm 6$ 시간이며, TSH가 없을 때는 분열하지 않는다. 실험에 사용된 세포는 5th와 20th의 diploid이다. 신선한 배지를 2-3일 간격으로 교체하며 배양하였다. 각각의 실험에서 세포는 찬 PBS (phosphate buffered saline)로 3회 세척하여 완전히 호르몬을 세척한 다음에 4H를 포함하지 않은 성장배지에서 48시간 배양 후에 TSH를 실험목적 (농도 및 시간)에 따라서 처리하였다.

RNA 분리와 Northern Blot Analysis

각기 다른 TSH농도/시간별로 처리된 FRTL-5세포를 scraper로 긁어모아 원심분리관에 넣어 2,000×g로 실온에서 3분간 원심 분리하여 세포를 모았다. 모여진 세포에 lysis buffer (10 mM Tris pH 7.5, 10 mM KCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.25% Triton X-100)를 넣어 homogenizer를 사용하여 마쇄하였다. 전RNA가 녹아있는 용액을 0.1 M EDTA와 5.7 M CsCl 용액 위에 조심스럽게 상층하여 15°C에서 24시간동안 36,000 rpm으로 원심 분리하였다 (Beckman SW55 rotor). 모여진 전RNA를 추출버퍼 (1% SDS, 0.01 mM Tris pH 7.5, 5 μM EDTA, 500 μg/ml proteinase K)에 하룻밤 동안 처리하였으며, 2회의 phenol-ether 추출 후에 얻어진 전RNA는 DEPC가 처리된 증류수에 녹였어 각 시료 RNA를 UV-분광계로 정량 하여 이후의 실험에 사용할 때까지 -80°C에 보존하였다.

Northern blotting방법으로 ERp29 mRNA의 발현을 실험하였다. 각각 정량화된 20 μg의 전RNA를 denaturing agarose gel에서 전기영동 하였다. 전기영동 후, nylon membrane (Boehringer GmbH, Germany)에 옮겼으며, membrane을 UV-crossliker (UV-stratalinker 1800, Stratagene, Germany)를 이용하여 crosslinking하였다. 그리고 이 membrane을 고농도 SDS buffer (7% SDS, 50% formamide, 5× SSC, 2% blocking agent, 50 mM sodium phosphate)를 사용하여 50°C에서 2시간 prehybridization하였다. 그리고 동일한 SDS buffer를 사용하여 [<sup>32</sup>P]-dATP로 labelling된 ERp29 DNA단편을 표식자로 넣어 50°C에서 24시간 hybridization하였다. Hybridization후 membrane을 2×SSC와 0.1% SDS를 사용하여 실온에서 여러 번 세척한다. X-ray film에 노출하기 위하여 5시간에서 24시간동안 -80°C의 deep freezer에서 노출시켰다. ERp29 DNA 절편을 agalose gel로부터 단리하기 위하여 DNA Premate™ Kit (Bioneer, Korea)를 이용하였고, DNA단편의 표식은Random Primer Labelling Kit (Amersham Life Science, Arlington, IL)를 사용하였다.

결과 및 고찰

TSH농도/시간 의존적인 ERp29유전자의 발현

갑상선세포 (FRTL-5 세포)에서 ERp29 (endoplasmic re-

ticulum resident 29 kDa protein) 유전자가 TSH의존적으로 발현되는지를 실험하였다. FRTL-5세포가 완전하게 호르몬의 영향을 받지 않도록 TSH, insulin, transferrin, hydrocortisone (4H) 이 포함되어 있지 않은 성장배지에서 2일간 배양한 다음에 여러 농도의 TSH를 넣어 24시간 동안 배양하였다. Fig. 1에서 보는 것처럼 ERp29 유전자의 mRNA는 TSH농도에 따라서 각기 다른 발현양상을 보였다. 10<sup>-9</sup> M의 TSH가 처리되었을 때부터 발현이 증가하는 것을 확인할 수 있었으며 최고상태의 발현은 5 × 10<sup>-9</sup> M의 TSH를 처리되었을 때였으며 그 이상의 TSH농도에서는 점

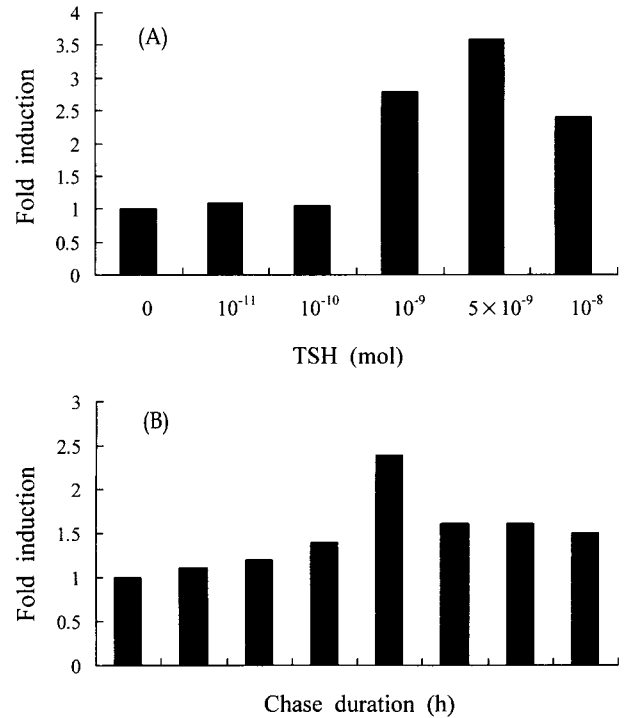


Fig. 1. TSH influences ERp29 mRNA expression: Dose-/time-dependent induction.

(A) The effects of TSH-dose on ERp29 mRNA expression. (B) The effects of TSH on ERp29 mRNA over time. Confluent FRTL-5 cells were treated with the indicated doses of TSH at 37°C for 24 h, after treatment for two days with 5% calf serum and without 4H in the growth medium. Total RNA was isolated as described in *Materials and Methods* and was subjected to Northern blotting. Qualification of the ERp29 mRNA band in the Northern blotting by phosphoimaging. Both were preformed with duplicate samples, and the results were averages of repeated experiments. Statistical comparison of paired mean values (i. e. TSH treatment vs. control).

차적으로 발현이 감소하였다.

아직 TSH에 의하여 ERp29 유전자의 발현이 조절된다는 보고는 없다. 그러므로 이 실험결과는 갑상선세포에서 TSH가 ERp29 유전자의 발현을 조절한다는 것을 처음으로 보여주는 것이다. ERp29가 소포체내의 분자싸폐론인 사실을 고려할 때, 이 증가치는 매우 강한 것은 아니다. FRTL-5세포에서 TSH에 의한 다른 소포체내의 분자싸폐론들은 약 4배 이상의 발현양상을 초기에 단계에 보인다[4,8,10,11,17]. 그러나 Fig. 1A, B의 결과를 바탕으로 볼 때에, FRTL-5세포가 정상적인 생리상태에서도 ERp29 유전자발현은 이루어지지만 TSH에 의해서 발현량이 현저히 증가되는 것이다. 이로써 TSH는 소포체내의 ERp29라는 분자싸폐론의 증가시킴으로서 외부자극 혹은 내부자극에 의한 세포의 급격한 환경변화로부터 세포를 안정적이며 정상적으로 유지시키는 데에 관여하는 것으로 생각할 수 있다.

위의 실험결과에서 보여준 결과를 바탕으로, ERp29 유전자의 발현이 현저히 변하기 시작하는 상태 ( $10^{-9}$  M TSH)에서 ERp29 유전자의 시간적 발현양상을 실험하였다. FRTL-5세포를 5% 우혈청과 4H가 없는 성장배지에서 2일간 전 배양 후 정해진 시간동안  $10^{-9}$  M TSH상태에서 배양하였다. Fig. 1B에서 보는 것과 같이 ERp29 유전자의 mRNA가 초기에는 발견되지 않았으나 6시간째부터 증가하기 시작하여 8시간째에 가장 높은 발현양상을 보였으며 (약 2.5배), 그 이상의 시간이 지나면 서서히 감소하기 시작하지만 TSH가 처리되지 않은 세포에서 보다는 높은 상태에서 일정한 발현을 유지하였다.

최근의 연구결과 갑상선세포에서 몇 종류의 유전자 (*c-myc*, *junB*, *fos B*)의 발현은 성장, 분열, 분열자극에 반응하여 아주 초기 (2-4시간)에 발현이 일어나는 지만 *c-jun*과 *egr* 유전자의 발현은 오히려 감소한다고 한다[15]. 그러나 TSH에 의한 소포체내의 분자싸폐론의 유전자발현에 관한 연구는 보고되어있지 않다. 소포체내에 존재하는 ERp29가 TSH에 의하여 비교적 단시간 (6-8시간)에 발현되지만 다른 스트레스에 비교하여 발현되는 시간이 조금 더 걸리는 것에 대한 정확한 발현기작은 현 상태에서는 충분히 이해할 수 없다.

ERp29 유전자의 전사 및 번역

ERp29 유전자의 발현조절을 전사 및 번역수준에서 이해하기 위하여 이하와 같은 실험을 행하였다. FRTL-5세포를

5% 소혈청과 4H가 없는 성장배지에서 2일간 전 배양 후에, actinomycin D (AD; 전사 저해제) [6]과 cycloheximide (CH; 번역 저해제) [12]을 TSH가 들어있는 배지와 들어있지 않은 배지에서 24시간 처리하였다. Northern blotting의 결과가 Fig. 2에 보여지고 있다. Fig. 1에서 얻은 결과와 동일하게 TSH 단독으로도 충분히 ERp29 유전자의 발현이 증가되었다. AD ( $0.2 \mu\text{g}/\text{ml}$ )의 효과는 TSH가 들어있거나 혹은 들어있지 않은 조건에 관계없이 확인될만한 ERp29 유전자의 발현은 없었다. 또한, CH ( $0.2 \mu\text{g}/\text{ml}$ )를 AD를 처리한 것과 동일하게 처리한 결과 ERp29 mRNA가 아주 약하게 발현되었다. 이처럼 약한 ERp29 mRNA의 발현이 나타나는 이유는 CH를 처리하기 이전에 이미 세포질내에 만들어진 ERp29 mRNA 때문이다. 이상의 실험결과로 볼 때에 ERp29 유전자의 발현이 전사 후 단계 혹은 번역단계에서 조절되는 것이 아니고 전사단계에서 조절됨을 알 수 있다. 그리고 TSH가 ERp29 유전자의 발현을 조절하는 데에 관여하지 않음을 알 수 있다. 만약에 TSH가 전사/번역단계에 관여한다면 TSH가 AD/CH와 함께 처리된 조건에서는 TSH가 처리되지 않은 조건의 발현 보다가 높은 ERp29 mRNA의 발현을 보여야한다, 그러나 Fig. 2의 결과와 같이 TSH첨가의 상태에서도 ERp29 mRNA의 발현은 올라가지 않았다.

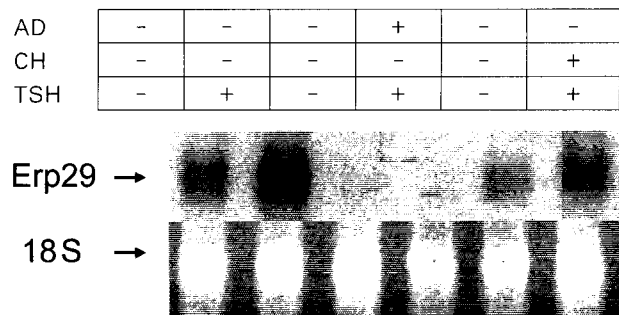


Fig. 2. Effects of actinomycin D and cycloheximide on TSH-induced accumulation of ERp29 mRNA.

Confluent FRTL-5 cells were treated either with (+) or without (-)  $10^{-9}$  M TSH for 24 h in the presence or absence of  $0.2 \mu\text{g}/\text{ml}$  actinomycin D (AD) or  $2 \mu\text{g}/\text{ml}$  cycloheximide (CH) after 48 h without any hormones as the growth medium. Total RNA was isolated as described in the *Materials and Methods* and was subjected to Northern blotting. An arrow indicated ERp29 (upper panel) and an ethidium bromide staining of the 18S ribosomal RNA (lower panel) was used to indicated the equivalence of the on the gel.

ERp29 mRNA 반감기 추정

DRB (5,6-dichlo-1-β-D-ribofuranosylbenzimidaxole; 25 μg/ml)을 사용하여, TSH가 ERp29 mRNA의 세포내 안정성에 미치는 효과를 실험하였다. DRB는 eukaryotic RNA polymerase I를 선택적으로 저해하는 물질이다[16]. DRB처리하는 새로운 mRNA가 생성되지 못하게 하여서, 세포내에 기존에 존재하는 mRNA의 양을 시간별로 알 수 있게 해준다. Fig. 3에서 보는 것처럼 정상적으로 배양되고있는 FRTL-5세포에서 DRB를 TSH가 들어있는 배지와 들어있지 않는 배지에 각각 처리한 후에 시간별로 전RNA를 얻어 Northern blotting하였다. TSH처리유무와 관계없이 8시간째에는 ERp29 mRNA를 확인할 수 없었다. 이는 세포질 내에 존재하는 ERp29 mRNA가 8시간째에 거의 분해된다는 것을 의미한다. Fig. 3는 Northern blotting결과를 정량화한것으로 ERp29 mRNA의 반감기는 TSH유무에 관계없이 약 4.5 시간이다. 이 실험의 결과는 TSH가 ERp29 mRNA의 안정성에 심각한 영향을 끼치지 않음을 알 수 있다. 즉, Fig. 2의 결과와 동일하게 TSH는 전사이후의 단계에는 관여하지 않

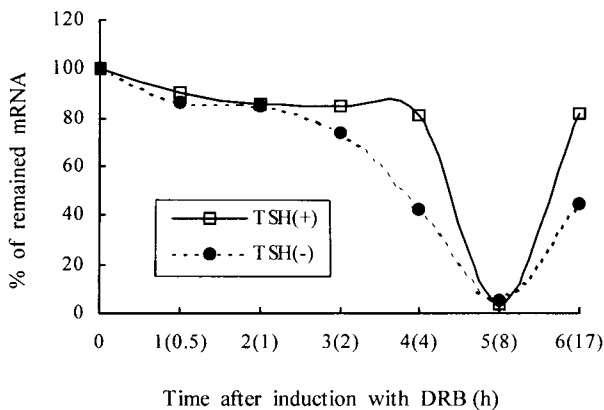


Fig. 3. Effects of TSH on the stability of ERp29 mRNA on FRTL-5 cells.

Confluent FRTL-5 cells were treated with DRB (5,6-dichlo-1-β-D-ribofuranosylbenzimidaxole; 25 μg/ml) at 37°C and chased for 17 h in the presence (+) or absence (-) of 10<sup>9</sup> M TSH. Total RNA was isolated and subjected to Northern blotting as described in *Material and Methods*. The experiments above were performed with duplicate samples and the results were averages of repeated experiments. Qualification of ERp29 mRNA signals in the Northern blotting. Statistical comparison of paired mean values (i. e. DRB treatment vs. control). Presence (Circles) or absence (Rhombs) of 10<sup>9</sup> M TSH.

음이 증명되었다. 그러나 DRB를 17시간 처리하였을 때에 강한 발현을 보이는 것은 DRB가 37°C에서 오랜 시간 지나면서 불 활성화되어 새롭게 mRNA가 만들어졌기 시작했기 때문이다.

ERp29의 TSH 특이적 발현

일반적으로 유전자전사는 전사개시점보다 상류지역에 커다란 전사복합체를 형성한다. 이 복합체가 활성화되어 전사개시를 하기 위하여서는 많은 인자를 필요로 한다 [19]. 그래서 우리는 TSH가 있는 조건 혹은 없는 조건에서 성장인자 (trasferrin, insulin, hydrocortisone; FRTL-5세포를 배양하는데 필수적인 인자)가 ERp29 유전자발현에 미치는 영향을 실험하였다. FRTL-5세포를 5% 소혈청과 4H가 없는 성장배지에서 2일간 전 배양 후, TSH첨가 및 미첨가 상태의 세포에 각각 24시간동안 transferrin (5 μg/ml), insulin (1 μg/ml), hydrocortisone (10 nM)를 첨가하여 배양하였다. Fig. 4에서 보는 것처럼 TSH가 있는 조건이나 없는 조건에서 성장인자들은 ERp29유전자 발현에 두드러진 영향을 끼치지 않는었다. 이는 TSH가 적어도 갑상선 세포에서는 특이적으로 ERp29유전자의 발현을 조절함을 보여 준 것이다. 즉, ERp29유전자는 TSH특이적으로 발현된다. 만약 위의 성장인자들이 ERp29유전자의 발현에 영향을 준다면,

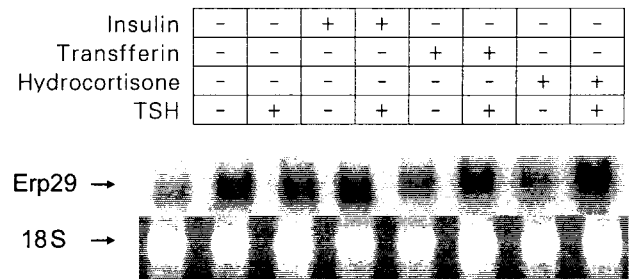


Fig. 4. Specificity of the TSH effect on the enhancement of ERp29 mRNA.

Confluent FRTL-5 cells were treated for 24 h either with (+) or without 10<sup>9</sup> M TSH in the presence of trasferrin (5 μg/ml), insulin (1 μg/ml) and 10 nM hydrocortisone after 48 h without any hormones as the growth medium. Total RNA isolated as described in *Materials and Methods* and was Northern blotting. An arrow indicates ERp29 (upper pane), and an ethidium bromide staining of the 18S ribosomal RNA (lower panel) was used to indicate the equivalence of the on the gel.

생장인자와 TSH가 함께 처리된 것이 TSH가 단독으로 처리된 ERp29 mRNA의 발현량보다가 강한 발현량을 보여야 했을 것이다.

## 요 약

본 연구는 ERp29 (소포체내 분자싸페론) 유전자의 발현이 갑상선자극호르몬(TSH)에 의해서 특이적으로 일어나는 것을 알기 위함이다. ERp29 유전자의 발현이 정상조건에서도 일정하게 발현하기는 하지만 TSH가  $10^{-9}$  M에서부터 적극적인 발현양상을 보였다, 그리고 시간적으로는 8시간동안 TSH를 처리하였을 때 최고조의 발현을 보였다. TSH의 유무와 관계없이 전자저해제인 actinomycin D는 강력하게 ERp29 유전자의 발현을 저해하였지만 번역저해제인 cycloheximide의 경우는 저해되지 않았다, 이는 ERp29 유전자의 발현이 전사단계에서 조절되는 것을 말한다. ERp29 mRNA의 세포내 반감기는 TSH가 있거나 혹은 없는 조건에서 동일하게 약 4.5시간 이였으며, TSH는 ERp29 mRNA의 안정성에는 영향을 주지 않았다. 다른 성장인자들이 ERp29 유전자의 발현에 주는 효과는 유의할 만한 수준은 아닌 것으로 보아 TSH 특이적으로 발현됨을 알 수 있었다. 본 실험 결과는 ERp29가 호르몬인 TSH에 의해서 특이적으로 발현 조절되는 것을 증명한 최초의 보고이다.

## 감사의 말

이 논문은 1998년도 한국학술진흥재단의 연구비에 의하여 연구되었다 (KRF-99-F00132).

## 참 고 문 헌

1. Ambesi-Impimbato, F. S., L. A. Parks and H. G. Coon. 1980. Culture of hormone-dependent functional epithelial cells from rat thyroids. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **77**, 3455-3459.
2. Deleu, S., I. Pirson, F. Clemint, T. Nakamura, J. E. Dumont and C. Maenhaut. 1999. Immediate early gene expression in dog thyrocytes in response to growth, proliferation, and differentiation stimuli. *J. Cell. Physiol.* **181**, 342-354.
3. Demmer, J., C. M. Zhou and M. J. Hubbard. 1997. Molecular cloning o ERp29, a novel and widely expressed resident of the endoplasmic reticulum. *FEBS Lett.* **402**, 145-150.
4. Elbein, A. D. 1991. Glycosidase inhibitors: inhibitors of N-linked oligosaccharide processing. *FASEB. J.* **5**, 3055-3063.
5. Gething, M. -J. and J. F. Sambrook. 1992. Protein folding in the cell. *Nature* **355**, 33-45.
6. Inbal, J. and T. Listovsky and M. Brandeis. 1999. The mammalian Fizzy and Fizzy-related genes are regulated at the transcriptional and post-transcriptional levels. *FEBS Lett.* **463**, 350-354.
7. Kim, P. S. and P. Arvan. 1993. Hormonal regulation of thyroglobulin export from the endoplasmic reticulum of cultured thyrocytes. *J. Biol. Chem.* **268**, 4873-4879.
8. Kwon, O. -Y., Y. -J. Kim, Y. Choi, H. Kim, C. Song and M. Shong. 1999. The endoplasmic reticulum chaperone GRP94 is induced in the thyrocytes by cadmium. *Z. Naturforsch.* **54C**, 573-577.
9. Kuznetsov, G., L. B. Chen and S. K. Nigam. 1994. Several endoplasmic reticulum stress proteins, including ERp72, interact with thyroglobulin during its maturation. *J. Biol. Chem.* **269**, 22990-22995.
10. Li, W. W., S. Alexandre, X. Cao and A. S. Lee. 1993. Transactivation of the grp78 promoter by  $Ca^{2+}$  depletion. A comparative analysis with A23187 and the endoplasmic reticulum  $Ca^{2+}$ -ATPase inhibitor thapsigargin. *J. Bio. Chem.* **268**, 12003-12009.
11. Lodish, H. F. and N. Kong. 1993. The secretory pathway is normal in dithiothreitol-treated cells, but disulfide-bonded proteins are reduced and reversibly retained in the endoplasmic reticulum. *J. Biol. Chem.* **268**, 20598-20605.
12. Minta, J. and M. Fung. 1999. Transcriptional modulation of the human complement factor I gene in HepG2 cells by protein kinase C activation. *Mol. Cell. Biochem.* **201**, 111-123.
13. Mkrtchian S., M. Baryshev, O. Matvijenko, A. Sharipo, T. Sandalva, G. Schneider and M. Ingleman-Sundberg. 1998. Oligomerization properties of ERp29, an endoplasmic reticulum stress protein. *FEBS Lett.* **431**, 322-326.
14. Mkrtchian, S., C. Fang, U. Hellman and M. Ingleman-Sundbeg. 1998. A stress-inducible rat liver endoplasmic reticulum protein, ERp29. *Eur. J. Biochem.* **251**,

- 304-313.
15. Park, E. S., S. H. You, H. Kim, O. -Y. Kwon, H. K. Rho, B. H. Cho, S. Taniguchi, L. D. Kohn and M. Shong. 1999. Hormone-dependent regulation of intercellular adhesion molecule-1 gene expression: cloning and analysis of 5'-regulatory region of rat intercellular adhesion molecule-1 gene in FRTL-5 rat thyroid cells. *Thyroid* **9**, 601-612.
  16. Primorac, D., C. V. Johnson, J. B. Lawrence, M. B. McKinstry, M. L. Stover, M. S. Schanfield, S. Andjelinovic, T. Tadic and D. W. Rowe. 1999. Premature termination codon in the aggrecan gene of nanomelia and its influence on mRNA transport and stability. *Croat. Med. J.* **40**, 528-532.
  17. Resendez, E., J. W. Attenello, A. Graftsky, C. S. Chang and A. S. Lee. 1985. Calcium ionophore A23187 induces expression of glucose-regulated genes and their heterologous fusion genes. *Mol. Cell. Biol.* **5**, 1212-1219.
  18. Shong, M., Y. -J. Kim, Y. Choi and O. -Y. Kwon. 1999. Identification of genes in a thyroid cell line regulated by thyroid-stimulating hormone (TSH). *Z. Naturforsch.* **54C**, 578-582.
  19. Wolberger, C. 1999. Multiprote DNA complexes in transcriptional regulation *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **28**, 29-56.