

## Protein Kinase A Increases DNA-Binding Activity of Testis-Brain RNA-Binding Protein

Hyun-Hee Ju and Sung-Ho Ghil<sup>†</sup>

Department of Life Science, Kyonggi University, Suwon 442-760, Korea

Testis brain RNA-binding protein (TB-RBP) is a DNA/RNA binding protein. TB-RBP is mainly expressed in testis and brain and highly conserved protein with several functions, including chromosomal translocations, DNA repair, mitotic cell division, and mRNA transport, stabilization, and storage. In our previous study, we identified TB-RBP as an interacting partner for the catalytic subunit (C $\alpha$ ) of protein kinase A (PKA) and verified their interaction with several biochemical analyses. Here, we confirmed interaction between C $\alpha$  and TB-RBP in mammalian cells and determined the effect of C $\alpha$  on the function of TB-RBP. The activation of C $\alpha$  increased the TB-RBP function as a DNA-binding protein. These results suggest that the function of TB-RBP can be modulated by PKA and provide insights into the diverse role of PKA.

**Key Words:** Cyclic AMP, Electrophoretic mobility shift assay, Translin-associated factor X

### 서 론

Testis brain RNA-binding protein (TB-RBP)은 인간의 translin의 mouse orthologue이며, 포유류에서는 매우 다양한 부위에서 발현되고 특히 정소 및 뇌에서 그 발현량이 높다 (Kwon and Hecht, 1991, 1993; Han et al., 1995). TB-RBP는 228개의 아미노산으로 구성되어 있으며, 인간의 경우 염색체 2번에 존재하고, 생쥐의 경우 염색체 1번에 위치하며, 인간과 생쥐의 TB-RBP는 3개의 아미노산이 서로 상이하다 (Aoki et al., 1997; Wu et al., 1997, 1998). TB-RBP는 28 kDa의 분자량을 가지며, Nuclear export signal (NES), leucine zipper 도메인 그리고 N-말단에 두 개의 basic 도메인 (Nb와 Cb)을 가진다. NES는 TB-RBP가 핵에서 세포질로 빠져나오는 과정에 요구되며, leucine zipper 도메인, Nb 및 Cb 도메인은 RNA binding에 필요하다. TB-RBP는 RNA와 결합할 뿐 아니라, 핵으로 전위되어 DNA와의 결합에 관여하는데 이 과정에는 Nb와 Cb 도메인 중 하나의 도메인만이 요구된다 (Chennathukuzhi et al., 2001).

TB-RBP는 세포골격을 구성하는 미세소관의 mRNA와 결합하여, mRNA의 이동, 안정화 그리고 번역과정을 조절한다 (Morales et al., 1998). 또한 TB-RBP는 뇌와 정소에 존재하는 많은 mRNA의 Y, H element에 결합한다고 알려져 있으며, 대표적 표적유전자는 정소조직에서는 protamine 1과 2 그리고 A-kinase anchoring protein 82 등이며, 뇌조직에서는 myelin basic protein, calmodulin kinase II, 그리고 Tau 등이다 (Kobayashi et al., 1998; Wu and Hecht, 2000).

TB-RBP는 mRNA뿐 아니라, DNA와도 결합한다고 보고되어 있으며, lymphoid tumor에서 염색체 전위의 break point junction 부분과 감수분열중인 생식세포의 recombination hot spot 부분에 결합하며 (Wu et al., 1997; Badge et al., 2000), DNA 손상시 TB-RBP의 핵 내 이동이 급격히 증가하여 DNA의 수복과정에 관여할 가능성이 제시되었다 (Kasai et al., 1997).

최근 연구에서 yeast two hybrid 스크리닝에 의해 TB-RBP와 상호작용하는 단백질인 translin-associated factor X (TRAX)가 밝혀졌다. TRAX는 33 kDa의 분자량을 갖는 단백질로서, TB-RBP의 아미노산 서열과 매우 유사한 아미노산 서열로 구성되어 있다. TRAX는 TB-RBP의 발현 부위와 유사하게 정소와 뇌에서 많은 발현량을 보이나 핵산과는 직접적으로 결합하지는 않는다 (Chennathukuzhi et al., 2001). 특히 TRAX는 nuclear localization signal (NLS) 도메인을 가지고 있기 때문에 TB-RBP가 세포질에서 핵

\*논문 접수: 2008년 4월 17일

수정재접수: 2008년 6월 7일

<sup>†</sup>교신저자: 길성호, (우) 442-760 경기도 수원시 영통구 이의동, 경기대학교 생명과학과

Tel: 031-249-9646, Fax: 031-249-9646

e-mail: shghil@kyonggi.ac.kr

으로 이동 시 TRAX와 복합체를 형성하여 이동을 도와주는 기능을 수행한다.

Protein kinase A (PKA)는 대표적인 인산화 효소로 잘 알려져 있으며, cAMP와 결합하여 그 활성이 조절된다 (Taylor et al., 2004). PKA는 두 개의 조절 소단위체 (R)와 두 개의 촉매 소단위체 (C)가 heterotetramer 구조를 이루고 있으며, cAMP가 R에 결합하면, PKA의 C는 R로부터 유리되어 기질 단백질을 인산화 시킨다. PKA를 구성하는 R 소단위체는 RI $\alpha$ , RI $\beta$ , RII $\alpha$ , RII $\beta$  등의 네 종류가 알려져 있으며, C 소단위체는 C $\alpha$ , C $\beta$ , C $\gamma$ , PrXX 등이 존재한다 (Taylor et al., 2004). RI은 용해성이 높고 세포질속에 존재하며, 광범위한 조직에서 발현하고, RII는 세포골격, 골지체, 중심체, 핵막 주변에서 높은 발현을 보이며, 신경내분비세포에서 특히 높은 발현을 보인다 (Glantz et al., 1992). C $\alpha$ 와 C $\beta$ 는 여러 조직에서 발현되는 반면, C $\gamma$ 는 정소에서만 발현하는 것으로 보고되어 있다 (Uhler et al., 1987).

최근 본 연구자의 이전보고에서 PKA의 촉매 소단위체 (C $\alpha$ )가 TB-RBP와 상호작용함을 보고한 바 있다 (Ju and Ghil, 2007). 이들의 상호작용은 yeast two hybrid 스크리닝에 의해 생쥐 배자에서 발굴하였으며, 생화학적 기법을 사용하여 이들의 상호작용을 검증하였다. 본 연구에서는 이들의 상호작용을 재차 검증하고 TB-RBP의 기능에 PKA의 활성이 미치는 영향을 분석하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 1. 세포배양 및 발현벡터의 발현

293T 세포는 10% fetal bovine serum과 1% penicillin, 100  $\mu$ g/ml streptomycin이 포함된 Dulbecco's modified Eagle's medium (Hyclone)에서 37°C, 5% CO<sub>2</sub> 조건으로 배양하였으며, 2~3일에 한번씩 HBSS (Hyclone)로 씻어낸 후 0.25% trypsin-EDTA 용액 (Hyclone)을 사용하여 세포를 배양용기의 바닥으로부터 분리시킨 다음 계대배양 하였다. 293T 세포의 transfection은 배양용기 (100 mm)당 1.5 $\times$ 10<sup>6</sup>개의 세포를 18~24시간 배양한 후, calcium-phosphate 방법을 사용하여 실시하였다. Calcium-phosphate 방법은 적당량의 발현벡터를 62  $\mu$ l의 2M CaCl<sub>2</sub>와 함께 혼합한 후, 동량의 2X HBS (50 mM HEPES pH 7.1, 280 mM NaCl, 1.5 mM Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>)를 혼합하였다. 이 DNA 혼합용액을 30분간 상온에 정치한 후, 세포배양액에 혼합하여 반응시켰다. Transfection한 다음 40시간 후에 세포를 PBS (10 mM

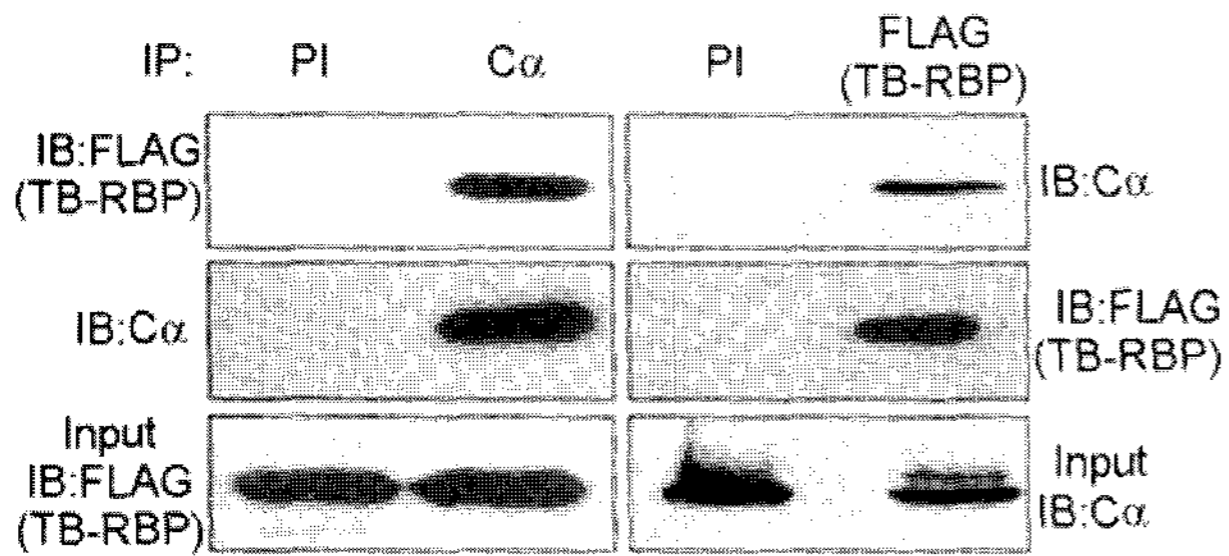
Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 2 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl)로 2회 씻어준 후, 세포를 수집하여 다음 실험에 사용하였다.

### 2. Co-immunoprecipitation assay

293T 세포에 10  $\mu$ g의 pcFLAG-TB-RBP와 pcDNA3-C $\alpha$ 를 함께 발현시켜 40시간 배양한 후, 세포를 PBTX 용액 (1% TritonX-100, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM EDTA, 그리고 단백질 분해효소억제제가 포함된 PBS)을 이용하여 세포추출액을 획득하였다. 이 세포추출액에 10  $\mu$ l의 Protein A-Sepharose CL-4B beads (10% slurry) (Amersham Biosciences)를 첨가하여 preclearing을 실시한 후, 상층액을 획득하였다. 획득된 상층액에 1  $\mu$ g의 preimmune serum (PI), C $\alpha$  (Santa Cruz Biotechnology) 또는 FLAG (Sigma)의 항체를 첨가하여 37°C에서 4시간 동안 반응시켰다. 그 후, 25  $\mu$ l의 beads를 첨가하여 2시간 추가배양한 후, PBTX 용액을 이용하여 beads를 수세하였다. Beads에 SDS loading dye를 첨가하여 SDS-PAGE를 실시하고, PVDF membrane에 단백질을 옮긴 뒤 FLAG 또는 C $\alpha$  항체를 사용하여 Western 분석을 실시하였다.

### 3. Electrophoretic mobility shift assay (EMSA)

293T 세포에 pcFLAG-TB-RBP 및 pcDNA3-C $\alpha$ 의 발현 벡터들을 transfection한 후, 세포추출물을 PBTX을 사용하여 획득한 후, TB-RBP에 특이적인 DNA probe (GS1 probe)를 이용하여 EMSA를 수행하였다 (Taira et al., 1998). GS1 probe (5'-CTA GGA GCG GGG GCG CTC ATG-3')는 5' 말단에 biotin을 표지하여 사용하였다. 세포추출액 5  $\mu$ g을 EMSA 반응용액 (10 mM Tris pH 7.5, 50 mM KCl, 1 mM DTT, 2.5% glycerol, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 50 ng/ $\mu$ l Poly (dI-dC), 0.05% NP-40)에 혼합하고 40 fmol의 biotin 표지된 GS1 probe 또는 unlabeled GS1 probe를 추가 혼합하여 20  $\mu$ l의 총배양액을 조성한 후, 20분 동안 상온에서 반응시켰다. Supershift 실험을 위해서는 1 ng의 FLAG 항체를 세포추출액 및 EMSA 반응용액과 함께 상온에서 20분간 반응시킨 후, biotin 표지된 GS1 probe를 첨가하여 20분 동안 추가 반응시켜 실험을 진행하였다. cAMP를 첨가하여 수행하는 EMSA 실험은 EMSA 반응용액에 10  $\mu$ M ATP, 20 mM  $\beta$ -glycerophosphate 그리고 본문에서 지정한 양의 cAMP를 5  $\mu$ g의 세포추출액과 혼합하여 상온에서 10분간 반응시킨 후, biotin 표지된 GS1 probe를 첨가하여 상온에서 20분 추가 반응시켰다. PKA의 억제제 (PKI, Sigma)를 첨가하여 수행하는 실험은 cAMP를 첨가하기 전 6  $\mu$ M



**Fig. 1.** Interactions of Ca with TB-RBP. Extracts of 293T cells expressing expression vectors for pcFLAG-TB-RBP (10  $\mu$ g) and pcDNA3-Ca (10  $\mu$ g) were immunoprecipitated with preimmune serum (PI), anti-Ca or -FLAG antibodies as indicated. Immunoprecipitates were immunoblotted with the specified antibodies. Input was loaded with 10% of 293T cell extracts used for immunoprecipitation.

의 PKI를 세포추출액과 EMSA 반응용액에 전처리하여 상온에서 10분간 반응시킨 후, biotin 표지된 GS1 probe를 첨가하여 상온에서 20분 추가 반응시켰다. PKI는 PKA의 촉매 소단위체에 특이적으로 결합하여 그 활성을 저해시키는 억제제로 알려져 있다 (Day et al., 1989). EMSA 반응이 끝난 후, 4% polyacrylamide gel을 사용하여 전기영동하고, BrightStar-Plus positively charged Nylon membrane (Schleicher & Schuell)에 transfer하였다. Membrane을 UV-light cross-linker를 이용하여 120 mJ/cm<sup>2</sup>, 254 nm bulbs로 1분 동안 UV cross-link 시킨 후 blocking 용액 (0.1 M Tris-Cl pH 7.5, 0.1 M NaCl, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 3% bovine serum albumin Fraction V)에 membrane을 overnight 반응시킨 후, ABC 용액 (Vector)을 membrane에 처리하여 상온에서 20분 추가 반응을 유도하였다. 그 후, membrane은 100 ml의 AP7.5 buffer (0.1 M Tris-HCl pH 7.5, 0.1 M NaCl, 50 mM MgCl<sub>2</sub>)로 상온에서 10분씩 2회 수세하고, AP9.5 buffer (0.1 M Tris-HCl pH 9.5, 0.1 M NaCl, 50 mM MgCl<sub>2</sub>)로 10분씩 2회 수세하였다. Membrane을 West Pico Chemiluminescent (Pierce) 용액에 반응시킨 후, X-ray 필름에 감광시켜 DNA-단백질 결합여부를 확인하였다.

## 결 과

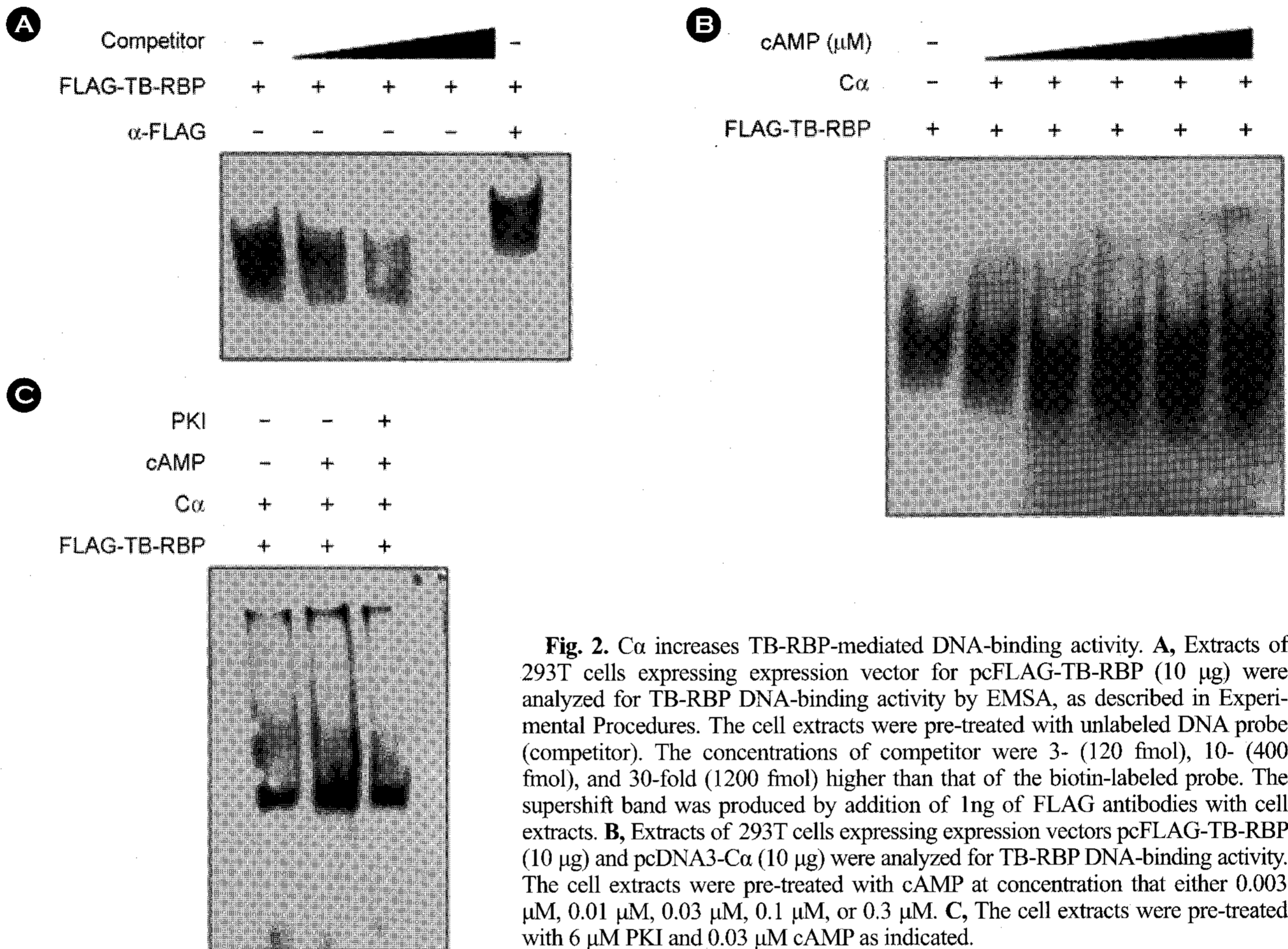
발생과정에서 PKA와 결합하는 단백질을 탐색 및 발굴하여 PKA의 기능을 연구하고자 하였던 본 연구자의 이전보고에서 Ca와 상호작용하는 단백질인 TB-RBP를 발생과정중에 있는 생쥐 배자에서 발굴하였고, GST-pulldown 분석 및 세포내의 동시발현 여부 분석을 통해 이들의 상호작용을 확인하였다 (Ju and Ghil, 2007). 본 연

구에서는 이들의 상호작용이 세포내에서 일어나는가를 확인하기 위해 co-immunoprecipitation 분석을 실시하였다. 293T 세포에 FLAG-TB-RBP와 Ca의 발현벡터를 동시 발현시키고, 각각의 항체를 사용하여 immunoprecipitation을 수행하였다. 침전된 beads내에 단백질의 포함여부를 Western 분석을 통해 확인한 결과 TB-RBP와 Ca는 세포내에서 서로 결합하고 있음을 확인하였다 (Fig. 1).

PKA가 TB-RBP의 기능에 미치는 영향을 분석하기 위해 TB-RBP와 결합하는 DNA probe를 사용하여 EMSA를 수행하였다. 사용된 DNA probe (GS1 probe)는 Egr response element 중에 G-rich 부분으로 이전보고에서 TB-RBP와 결합하는 것으로 알려졌다 (Taira et al., 1998). 먼저, TB-RBP와 GS1 probe와의 결합여부를 확인하였다. EMSA 반응액에 biotin-표지되지 않은 GS1 probe (competitor)의 양을 증가시키며 반응시킨 결과 competitor의 양이 증가될수록 TB-RBP와 GS1 probe사이의 특이적 결합력이 감소함을 관찰하였다 (Fig. 2A). 또한 FLAG 항체의 첨가에 의해 TB-RBP의 supershift가 유도됨을 확인하였다 (Fig. 2A). 이러한 결과는 이전보고에서와 마찬가지로 TB-RBP와 사용된 GS1 probe는 특이적 결합양상을 보임을 시사한다. 다음은 Ca의 활성화에 의해 TB-RBP의 DNA 결합능력에 변화를 보이는가를 관찰하기 위해 293T 세포에 FLAG-TB-RBP와 Ca를 동시발현시킨 후, 세포의 추출액을 수거하여 PKA를 활성화시킬 수 있는 cAMP를 처리한 후, EMSA를 수행하였다. 그 결과 cAMP의 처리 농도가 증가할수록 TB-RBP의 DNA 결합능력이 증가하는 양상을 관찰하였다 (Fig. 2B). 이러한 결과는 PKA의 활성화에 의해 TB-RBP의 기능이 증가함을 시사한다. cAMP의 처리에 의해 활성화된 PKA가 TB-RBP의 기능을 증가시키는 현상이 Ca에 의해 매개되는 현상임을 재차 확인하기 위해 PKI를 FLAG-TB-RBP와 Ca를 동시발현되어 수거된 세포추출액에 전처리하여 반응시키고, EMSA를 수행하였다. 그 결과 PKI의 처리에 의해 활성화되었던 TB-RBP의 DNA 결합능력이 현저히 감소함을 확인하였다 (Fig. 2C).

## 고 찰

본 연구는 이전연구의 이어지는 연구로서 PKA의 촉매 소단위체가 TB-RBP의 활성화에 미치는 영향을 규명하였다. PKA는 TB-RBP와 상호작용하여 TB-RBP의 DNA 결합능력을 현저히 증가시키는 기능을 수행함을 알 수 있었다. TB-RBP는 특히 정소 및 뇌의 발생과정에 중요한



**Fig. 2.** C $\alpha$  increases TB-RBP-mediated DNA-binding activity. **A**, Extracts of 293T cells expressing expression vector for pcFLAG-TB-RBP (10  $\mu$ g) were analyzed for TB-RBP DNA-binding activity by EMSA, as described in Experimental Procedures. The cell extracts were pre-treated with unlabeled DNA probe (competitor). The concentrations of competitor were 3- (120 fmol), 10- (400 fmol), and 30-fold (1200 fmol) higher than that of the biotin-labeled probe. The supershift band was produced by addition of 1ng of FLAG antibodies with cell extracts. **B**, Extracts of 293T cells expressing expression vectors pcFLAG-TB-RBP (10  $\mu$ g) and pcDNA3-C $\alpha$  (10  $\mu$ g) were analyzed for TB-RBP DNA-binding activity. The cell extracts were pre-treated with cAMP at concentration that either 0.003  $\mu$ M, 0.01  $\mu$ M, 0.03  $\mu$ M, 0.1  $\mu$ M, or 0.3  $\mu$ M. **C**, The cell extracts were pre-treated with 6  $\mu$ M PKI and 0.03  $\mu$ M cAMP as indicated.

역할을 수행하는 단백질이기 때문에 PKA에 의한 TB-RBP의 기능 조절은 발생과정에 있어 중요한 분자적 기전으로 사료된다.

PKA가 TB-RBP의 활성 조절을 통해 DNA의 결합능력에 영향을 미치는 분자적 기전은 C $\alpha$ 에 의한 TB-RBP 또는 그 관련된 다른 단백질의 인산화를 유도할 가능성이 가장 크다. 최근 C $\alpha$ 의 의한 인산화는 DNA와 결합하는 단백질의 결합능력에 영향을 미치는 것으로 보고되어 있기 때문에 C $\alpha$ 에 의해 TB-RBP의 DNA 결합능력이 조절 받을 가능성이 있다 (Burns and Vanden Heuvel, 2007; Nieto et al., 2007). 그러나 TB-RBP는 그 아미노산 서열상에 C $\alpha$ 의 putative 인산화 도메인을 가지고 있지 않다. 따라서 TB-RBP가 C $\alpha$ 의 인산화 기질로 사용될 가능성은 낮다고 판단된다. 하지만 앞서 언급한 TB-RBP와 결합하는 단백질인 TRAX의 경우 PKA의 인산화 도메인을 가지고 있으며, C $\alpha$ 는 TRAX의 인산화를 통해 TB-RBP에 직접적으로 영향을 주어 DNA의 결합능력을 조절할 가능성이 있다. 또한 아직 알려지지 않은 TB-RBP-관련 단백질의 인산화를 유도하여 작용할 가능성도 배제하지 못할 것으로

사료된다.

본 연구에 사용된 DNA probe는 Egr response element의 G-rich strand이다. Egr response element는 zinc finger DNA 결합 도메인을 갖는 전사조절인자들이 결합하는 부위이며, 뇌조직에서 Egr response element와 전사조절인자들의 복합체들 (GS1)이 많이 발견되기 때문에 이러한 복합체의 특성과 구성성분을 분석하던 중 TB-RBP와 TRAX가 함께 발견되었다. GS1 복합체들은 주로 DNA의 수복과정에 관여한다고 보고되어 있다 (Didier et al., 1996). 본 연구에서 C $\alpha$ 에 의해 TB-RBP의 Egr response element와의 결합능력이 증가하였으므로, C $\alpha$  및 TB-RBP는 DNA 수복과정에도 관여할 가능성이 있다.

본 연구는 이전연구의 이어지는 연구로서 C $\alpha$ 와 TB-RBP의 결합이 TB-RBP의 DNA 결합능력을 현저히 증가시키는 것을 확인하였다. TB-RBP는 DNA 뿐 아니라, RNA와 결합하여 RNA의 이동, 번역 등을 도와주는 역할을 수행하므로 PKA에 의한 TB-RBP의 RNA 결합능력에 미치는 영향 등이 연구되면 좀더 흥미 있는 연구가 될 것이다.

감사의 글

본 연구는 2006년 경기대학교 특성화 사업단 지원에 의해 수행되었음.

## REFERENCES

- Aoki K, Inazawa J, Takahashi T, Nakahara K, Kasai M. Genomic structure and chromosomal localization of the gene encoding translin, a recombination hotspot binding protein. *Genomics*. 1997. 43: 237-241.
- Badge RM, Yardley J, Jeffreys AJ, Armour JA. Crossover breakpoint mapping identifies a subtelomeric hotspot for male meiotic recombination. *Hum Mol Genet*. 2000. 9: 1239-1244.
- Burns KA, Vanden Heuvel JP. Modulation of PPAR activity via phosphorylation. *Biochim Biophys Acta*. 2007. 1771: 952-960.
- Chennathukuzhi VM, Kurihara Y, Bray JD, Hecht NB. Trax (translin-associated factor X), a primarily cytoplasmic protein, inhibits the binding of TB-RBP (translin) to RNA. *J Biol Chem*. 2001. 276: 13256-13263.
- Day RN, Walder JA, Maurer RA. A protein kinase inhibitor gene reduces both basal and multihormone-stimulated prolactin gene transcription. *J Biol Chem*. 1989. 264: 431-436.
- Didier M, Bursztajn S, Adamec E, Passani L, Nixon RA, Coyle JT, Wei JY, Berman SA. DNA strand breaks induced by sustained glutamate excitotoxicity in primary neuronal cultures. *J Neurosci*. 1996. 16: 2238-2250.
- Glantz SB, Amat JA, Rubin CS. cAMP signaling in neurons: patterns of neuronal expression and intracellular localization for a novel protein, AKAP 150, that anchors the regulatory subunit of cAMP-dependent protein kinase II beta. *Mol Biol Cell*. 1992. 3: 1215-1228.
- Han JR, Gu W, Hecht NB. Testis-brain RNA-binding protein, a testicular translational regulatory RNA-binding protein, is present in the brain and binds to the 3' untranslated regions of transported brain mRNAs. *Biol Reprod*. 1995. 53: 707-717.
- Ju HH, Ghil SH. The Catalytic Subunit of Protein Kinase A Interacts with Testis-Brain RNA-Binding Protein (TB-RBP). *J. Exp. Biomed. Sci*. 2007. 13: 305-311.
- Kasai M, Matsuzaki T, Katayanagi K, Omori A, Maziarz RT, Strominger JL, Aoki K, Suzuki K. The translin ring specifically recognizes DNA ends at recombination hot spots in the human genome. *J Biol Chem*. 1997. 272: 11402-11407.
- Kobayashi S, Takashima A, Anzai K. The dendritic translocation of translin protein in the form of BCI RNA protein particles in developing rat hippocampal neurons in primary culture. *Biochem Biophys Res Commun*. 1998. 253: 448-453.
- Kwon YK, Hecht NB. Cytoplasmic protein binding to highly conserved sequences in the 3' untranslated region of mouse protamine 2 mRNA, a translationally regulated transcript of male germ cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991. 88: 3584-3588.
- Kwon YK, Hecht NB. Binding of a phosphoprotein to the 3' untranslated region of the mouse protamine 2 mRNA temporally represses its translation. *Mol Cell Biol*. 1993. 13: 6547-6657.
- Morales CR, Wu XQ, Hecht NB. The DNA/RNA-binding protein, TB-RBP, moves from the nucleus to the cytoplasm and through intercellular bridges in male germ cells. *Dev Biol*. 1998. 201: 113-123.
- Nieto L, Joseph G, Stella A, Henri P, Burlet-Schiltz O, Monsarrat B, Clottes E, Erard M. Differential effects of phosphorylation on DNA binding properties of N Oct-3 are dictated by protein/DNA complex structures. *J Mol Biol*. 2007. 370: 687-700.
- Taira E, Finkenstadt PM, Baraban JM. Identification of translin and trax as components of the GS1 strand-specific DNA binding complex enriched in brain. *J Neurochem*. 1998. 71: 471-477.
- Taylor SS, Yang J, Wu J, Haste NM, Radzio-Andzelm E, Anand G. PKA: a portrait of protein kinase dynamics. *Biochim Biophys Acta*. 2004. 1697: 259-269.
- Uhler MD, McKnight GS. Expression of cDNAs for two isoforms of the catalytic subunit of cAMP-dependent protein kinase. *J Biol Chem*. 1987. 262: 15202-15207.
- Wu XQ, Gu W, Meng X, Hecht NB. The RNA-binding protein, TB-RBP, is the mouse homologue of translin, a recombination protein associated with chromosomal translocations. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997. 94: 5640-5645.
- Wu XQ, Xu L, Hecht NB. Dimerization of the testis brain RNA-binding protein (translin) is mediated through its C-terminus and is required for DNA- and RNA-binding. *Nucleic Acids Res*. 1998. 26: 1675-1680.
- Wu XQ, Hecht NB. Mouse testis brain ribonucleic acid-binding protein/translin colocalizes with microtubules and is immunoprecipitated with messenger ribonucleic acids encoding myelin basic protein, alpha calmodulin kinase II, and protamines 1 and 2. *Biol Reprod*. 2000. 62: 720-725.