

Sericin Enhances Secretion of Thyroglobulin in the Thyrocytes

Cho-Yi Jin, Seong Hee Song, Young-Hwa Go, Kisang Kwon, Eun Young Yun¹, Tae Won Goo¹, Joo-Hong Yeo¹, Seung-Whan Kim², Jong-Soon Choi^{3,4}, Kweon Yu⁵ and O-Yu Kwon*

Department of Anatomy, School of Medicine, Chungnam National University, Taejeon 301-747, Korea

¹*National Academy of Agricultural Science, R.D.A., Suwon 441-100, Korea*

²*Department of Emergency Medicine, Chungnam National University Hospital, Taejeon 301-721, Korea*

³*Division of Life Science, Korea Basic Science Institute, Daejeon 305-333, Korea*

⁴*Graduate School of Science and Technology, Chungnam National University, Daejeon 660-758, Korea*

⁵*Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Taejeon 305-333, Korea*

Received July 7, 2010 / Accepted July 15, 2010

Sericin is a type of high molecular weight water-soluble glycoprotein surrounding fibroin (silk protein) that has been used as a cell culture supplement and accelerates cell proliferation in various serum-free media. The purpose of this study was to investigate the enhancing effect of thyroglobulin (Tg) secretion by sericin in thyrocytes, FRTL-5 cells. While Tg-mRNA expression was not enhanced, a secreted form of Tg was obviously increased by sericin. In this status, expression of both endoplasmic reticulum (ER) molecular chaperones (Bip & calreticulin) and ER membrane proteins (IRE1, PERK & ATF6) was enhanced. The proximal step of IRE1, XBP1 mRNA splicing was slightly detected however, the proximal step of PERK, phosphorylation of eIF2 α , was changeless. In addition, sericin enhanced cell viability by the MTT assay. The above results showing the ability of sericin to promote protein production demonstrated its potential usefulness as a new biomaterial.

Key words : Sericin, thyroglobulin, ER molecular chaperone

서 론

누에고치 견사는 두 종류의 sericin (25%)과 fibroin (75%)로 구성되어 있다. Fibroin의 표면을 감싸고 있는 sericin은 serine, aspartate, threonine, glutamate의 극성 아미노산이 전체 구성 아미노산의 약 77%를 차지하여 분해되기 쉽고, 물에 녹기 쉬우며 특히, 그 자체로서 보습성을 가지는 serine이 약 30% 함유되어 있다[12]. 최근 sericin의 기능연구에 관한 연구 결과 antibacterial activity, tyrosinase와 lipid oxidation을 저해하는 antioxidant, oxidative stress로 인해 유발되는 발암의 강력한 저해제 및 UV-light protecting activity가 보고되고 있다[13]. 그리고 대장균을 이용하여 생산한 재조합 sericin 펩타이드는 저온스트레스 보호효과도 알려져 있다[10]. 본 연구에서는 이 같이 광범위한 생물학적 기능을 가진 sericin의 새로운 생물소재로서의 가능성을 알아보기 위하여 sericin이 분비단백질에 미치는 영향을 조사하였다.

정상 쥐 갑상선 세포주(FRTL-5)는 갑상선자극호르몬(thyroid stimulating hormone, TSH) 의존적으로 갑상선호르몬의 전구체인 thyroglobulin (Tg)을 생산한다. Tg는 정상 갑상선 조직에서 330 kDa의 monomer가 생합성 되어 thyroid

lumen에 존재하고 있다가 분비자극에 의해서 ionization과 함께 660 kDa의 dimer가 형성되어 세포질로 들어가 lysosome에 의해서 분해되어 T3, T4로 바뀐 다음에 혈중 이동하여 최종적인 target organ에 도달하게 된다[4]. 이와 같은 과정이 정상적으로 이루어지기 위한 rate limiting step은 소포체(endoplasmic reticulum, ER)에서 일어나는 번역 후 변형과정(post-translational modification step)이다. 분비단백질이 ER lumen에서 정상적으로 생합성 되기 위한 환경 중에서 가장 중요한 역할을 담당하는 단백질 family를 소포체 샤페론(ER molecular chaperone)라고 한다. 이들은 엄격하게 ER lumen의 신생단백질합성을 관리한다(ER quality control, ERQC). ERQC에 의해서 불량한 분비단백질이 과도하게 축적되면 질병으로 나타나는데 이를 포괄적으로 ER storage disease (ERSD)라고 하며, congenital hypothyroidism, albinism tyrosinase deficiency, polyglutamine diseases와 같은 질환이 알려져 있다[5]. 현재까지 ER signal pathway에 관여하는 3종류의 소포체 막 단백질(IRE1, PERK, ATF6)이 알려져 있다[3]. 세포가 ER stress를 받으면 ER lumen에서 BiP과 결합하고 있는 IRE1이 monomer에서 인산화된 dimer가 되어, 세포질의 XBP-1 mRNA의 splicing이 일어나 XBP-1단백질이 생산되어 chaperone 생합성을 촉진한다[11]. PERK 역시 인산화된 dimer가 되면서 핵 전사인자인 eIF2 α 의 인산화를 유도하여 세포 전체의 단백질 합성을 저해함으로써 세포를 보호한다[2]. 그리

*Corresponding author

Tel : +82-42-580-8206, Fax : +82-42-586-4800

E-mail : oykwon@cnu.ac.kr

고 ATF6은 ER stress를 받으면 세포질 쪽의 단편이 떨어져 나와서 ERSE (ER stress element)와 결합한다[1]. 이 같이 세포는 ER stress를 받을 경우에 자신을 보호할 수 있는 기전을 가지고 있으며 이를 통해서 분비단백질의 생합성을 조절한다.

본 연구는 누에견사 단백질 중의 하나인 sericin에 의한 Tg의 발현 및 분비에 미치는 영향을 확인하고, 이때에 ER chaperone의 발현과 세포생존의 관계를 알아보려고 실시되었다.

재료 및 방법

갑상선세포의 배양

Coon's modified F-12 배양액에 5% calf serum, 1 mM non-essential amino acid, TSH (10 mU/ml), insulin (10 µg/ml), hydrocortisone (0.4 ng/ml), transferrin (5 µg/ml) 등의 4가지 호르몬 혼합체를 첨가하여 만든 배양액(4H 배양액)에 FRTL-5 세포주를 배양하였다. 새로운 배양액을 2-3일마다 교환하였고, 세포를 5~7일마다 계대 배양하였다.

Sericin 처리

Pure Sericin™ (Wako, Japan)을 구입하여 PBS (phosphate buffer saline)에 10%가 되도록 녹인다. 각각 다른 농도(0.5, 1, 2.5 µg/µl)를 처리하여 48시간 동안 배양한다. ER stress를 정도를 확인하기 위하여 negative control로 tunicamycin을 처리하였다.

RNA 추출 및 RT-PCR

FRTL-5 세포주를 100 mm 접시에서 배양한 후 여기에 RNA isolation reagent (TRI-REAGENT)를 500 µl 넣고 2-3분 지난 후 scrapper로 긁어 모아 1.5 ml tube에 넣고 100 µl의 chloroform을 첨가하여 충분히 섞어준 다음 13,000 rpm, 4°C에서 15분 동안 원심 분리하였다. 약 500 µl의 상등액을 취하여 새로운 tube로 옮기고 동량의 isopropanol 넣고 상온에서 10분 정도 처리한 후 13,000 rpm으로 10분 동안 원심분리하고 tube의 바닥에 얻어진 pellet에 75% ethanol을 초기 RNA isolation reagent 양과 동일한 500 µl 넣고 12,000 rpm으로 5분 동안 원심 분리하여 최종적으로 total RNA를 얻었다. DEPC가 처리된 증류수에 녹여 UV spectrophotometer로 정량 하였다. 그 다음으로 수행한 RT-PCR (Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction)은 RNA (3 µg)를 80°C에서 3분간 가열하여 denaturation시킨 후 바로 ice에 담가둔다. 10× buffer 3 µl, dNTP 4 µl, 1 µl의 oligo-dT (300 ng), 10,000 U의 reverse transcriptase와 RNase inhibitor를 첨가하고 총 30 µl가 되게 한 후 42°C에서 1시간 30분간 반응시켜 cDNA를 합성한다. 반응이 끝난 후 94°C에서 2분간 반응시켜 reverse transcriptase를 inactivation시킨 다음 최종 100 µl가 되도록 맞춘다. 그 다음 단계로 cDNA를 증폭하기 위해서 PCR을 수행하

였다. PCR 반응액 20 µl에 각각의 F & R primer를 넣어서 94°C 5분, 94°C 30분, 57°C 40초, 72°C 40초로 27회 반복한 후 이를 전기영동으로 확인하였다.

F (5'-ATCCCAGTGTCTGATGATGCGGAA-3'), and R (5'-CTCTCCTGGACTGGCTGATATC-3') for Tg; F (5'-ACCAC CAGTCCATCGCCATT-3') and R (5'-CCACCCTGGACGGA AGTTT-3') for IRE1; F (5'-AGTGGTGGCCACTAATGG AG-3') and R (5'-TCTTTTGTG CAGG GGTCGTT-3') for Bip; F (5'-CTAGGCCTGGAGGCCAGGTT-3') and R (5'-ACCCT GGAGTATGCGGGTTT-3') for ATF6; F (5'-GGTCTGGTTC TTGGTTTCA-3') and R (5'-TTCGCTGGCTGTGTAACCTG-3') for PERK; F (5'-AAACAGAGTAGCAGCTCAGACTGC-3') and R (5'-TCCTTCTGGGTAGACCTCTGGGAG-3') for XBP1; F (5'-GGACTGGGACGAAGAGATGG-3') and R (5'-CCTCT GCTCCTCATCCTGCT-3') for calreticulin; F (5'-AGCCATG TACGTAGCCATCC-3') and R (5'-CTCTCAGCTGTGGTGG TGAA-3') for actin.

Western blot 분석

Western blotting은 Protein electrophoresis kit (ATTO Co., Japan)를 사용하여 12% SDS-PAGE에 준비된 sample을 전기영동 하였다. 전기영동이 끝난 후 transfer kit (Bio-RAD)를 사용하여 gel의 protein을 PVDF cell membrane (PALL corporation)에 transfer buffer (20 mM Tris-HCl, 150 mM glycine, 20% methanol, pH 8.3)를 사용하여 transfer하였다. Transfer가 끝난 후 membrane을 3.75% skim milk in PBST (PBST, Tween 20, 0.05%)를 사용하여 상온에서 1시간 동안 blocking 하였다. Blocking이 끝난 후 1차 항체를 반응 시킬 때에는 5% skim milk in PBST에 1:1,000의 비율로 희석하여 4°C에서 2시간 동안 반응시켰다. 1차 항체 반응이 끝난 후 membrane을 PBST를 10분씩 5회 상온에서 shaker를 사용하여 세척하였다. 세척이 끝난 후 2차 항체를 반응 시킬 때에는 PBST에 1:2,000의 비율로 희석하여 상온에서 1시간 동안 반응 시켰으며, 반응이 끝난 후 membrane을 PBST를 10분씩 5회 상온에서 shaker를 사용하여 세척하였다. 세척이 끝난 후 West save (Lab Frontier, Korea)을 사용하여 발색반응을 유도한 후 X-ray film에 감광하여 결과를 분석하였다.

세포 증식 측정(cell viability assay)

갑상선세포 5×10⁵ cell/ml을 96 well plate의 각각의 well에 세포배양액 100 µl을 첨가한 뒤 이산화탄소 배양기에 배양한다. EZ-CyTox kit (Daeil, Korea)를 사용하여 MTT assay하였다. 각 well에 assay reagent 10 µl을 첨가한 후 이산화탄소배양기에 2-4 시간 정도 배양하며 반응시킨다. 450 nm에서 흡광도를 측정한다.

결과 및 고찰

갑상선세포의 정상적인 배양조건에서 각각 다른 농도의 sericin 첨가하여 다시 48시간 배양한 후 Tg-mRNA의 발현양과 세포 외로 분비되는 Tg 단백질 양을 조사하였다(Fig. 1). ER stress 유도물질인 tunicamycin을 처리하였을 때에는 Tg-mRNA의 발현감소가 크게 없지만 세포 외로 분비되는 Tg는 거의 관찰되지 않았다. Sericin을 처리한 세포에서도 현저한 Tg-mRNA의 발현양의 변화는 없었다. 그러나 세포 외로 분비된 Tg의 양은 sericin을 0.5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 을 처리하였을 때에는 오히려 분비된 Tg양이 감소하였지만, 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 의 경우는 control에서 보다 조금 많은 양의 Tg를 분비하였으며 2.5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 농도에서는 분비된 Tg가 현저하게 증가하였다. 이 결과는 일정 수준이상의 sericin 농도에서는 sericin 의존적으로 분비 Tg가 증가되는 것을 의미한다. 그러나 엄격하게 sericin이 ER내에서 Tg의 folding & assembly를 도와서 증가하였는지, 아니면 Tg의 분비기전을 activation하여 Tg의 분비가 증가하였는지는 알 수 없었다. 그래서 Tg가 ER내에서 folding & assembly할 때에 깊이 관여하는 ER molecular chaperone의 발현을 관찰하고자 하였다.

일반적으로 분비단백질의 세포외분비가 현저한 상태에서는 ER chaperone의 활발한 작용이 알려져 있다[8]. 위 실험결과 sericin에 의해서 Tg 분비가 촉진되었다. Fig. 2의 결과는 sericin에 의해서 변화하는 ER lumen의 ER molecular chaperone과 ER membrane에 존재하며 ER signal pathway에 관여하는 단백질의 발현을 실험한 것이다. ER stress를 받지 않았을 때에는 ER lumen에서 IRE1, PERK 등과 결합하고 있다가 ER stress를 받으면 이들로부터 분리되어 malformed (unfolded/misfolded) protein을 돕기 위하여 높은 발현을 보이는 Bip의 발현이 sericin에 의해서 증가하였다. 그리고 정상적이지 않은 당쇄가 존재하는 당단백질을 인식하는 calreticulin 역시 발현이 증가하였다. 그러나 Bip과 calreticulin의 발현 정도는 tunicamycin에 의한 적극적인 ER stress일 때보다는

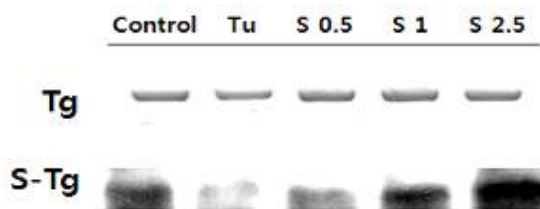


Fig. 1. Expression of Tg-mRNA and secretion of Tg by sericin. FRTL-5 cells were treated with sericin 0.5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, 1 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ & 2.5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ for 48 hr, respectively. Expression level of Tg tested by RT-PCR, and secretion of Tg tested by Western blotting. As a negative control, tunicamycin was used. Tg; thyroglobulin, S-Tg; secreted Tg, Tu; tunicamycin).

상대적으로 약한 발현이다. 이는 ER lumen에 생긴 malformed protein의 repairing을 위한 발현증가 라기보다는 짧은 시간에 대량의 분비 Tg을 만들기 위하여 많은 양의 Bip과 calreticulin을 필요로 하는 것으로 볼 수 있다. 그리고 ER membrane에 존재하는 3종류(IRE1, PERK, ATF6)의 신호전달 단백질의 발현 역시도 control에 비하여 증가 하였지만 tunicamycin을 처리하였을 때보다는 약하였다. 이런 이유로 Fig. 2에서 얻은 결과는 sericin에 의해서 ER stress를 유도하는 것보다는 대량으로 새로이 생합성 되는 Tg 생산을 위하여 요구되는 많은 양의 ER chaperone과 ER signal 관련인자로 볼 수 있다.

위의 결과와 같이 ER chaperone과 ER signal 관련인자가 sericin에 의해서 발현이 증가하였다, 이들의 증가된 발현이 하부단계의 연속적인 발현으로 이어지는지를 확인하였다. ER stress에 의해서 IRE1의 발현이 증가하면 하부의 XBP-1의 mRNA splicing (*Pst* I 제한효소 site를 포함하는 중간의 23 bp가 제거)이 일어나 XBP-1단백질이 생산되어 chaperone 생합성발현을 촉진하는 것이 알려져 있다[6]. 각각 다른 농도의 sericin을 처리한 한 후에 XBP-1의 PCR산물을 *Pst* I 처리하여 전기영동 하였다(Fig. 3). 화살표가 가리키는 밴드가 ER stress의 강도를 나타낸다. Control에 비교하여 tunicamycin을 처리하면 ER stress를 받아서 화살표가 가리키는 밴드가 강하게 보인다. 그러나 sericin처리에 의해서는 control과 비교하여 현저한 발현증가는 없지만 일정한 정도의 ER stress를 받고 있는 것 같다. 그러나 Fig. 2의 결과와 연관하여 생각할 때에, sericin에 의한 ER stress는 신생 분비단백질의 생합성에 관여하는 정도의 상승된 발현을 보인다고 할 수 있다.

ER stress에 의해서 PERK 발현이 증가하면 하부단계의 eIF2a의 인산화(eIF2a-P)가 일어나 전체적인 단백질전사가 억제되는 것이 알려져 있다. Sericin 처리에 의한 eIF2a의 인산화 정도를 실험하였다(Fig. 4). Sericin농도가 증가하면서 eIF2a의 발현이 control보다 증가하였지만 eIF2a의 인산화는 전혀 변

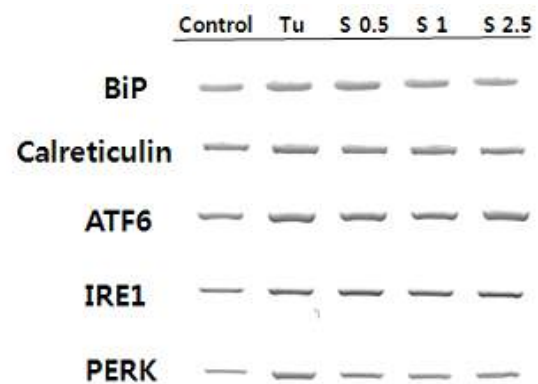


Fig. 2. Expression pattern of BiP, calreticulin, ATF6, IRE1 and PERK by sericin treatment. Experimental conditions are basically same as Fig. 1. Detailed processing steps are described in the *Material & Method*.



Fig. 3. Activation of XBP-1 mRNA splicing by sericin treatment. After RT-PCR, The resulting RT-PCR products of XBP-1 were digested with *Pst*I restriction enzyme and resolved on a 1.5 % agarose gel. An arrow indicates *Pst*I resistant products of XBP-1. Detailed processing steps are described in the *Material & Method*

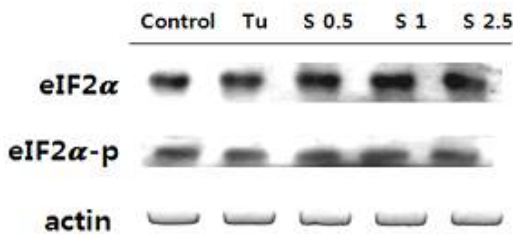


Fig. 4. Western blotting of eIF2α phosphorylation. Experimental conditions are basically same as Fig. 1. Rabbit anti-eIF2α antibody, eIF2α-P antibody and goat anti-actin antibody were obtained from Santa Cruz Biotechnology (Santa Cruz, CA, USA). Detailed processing steps are described in the *Material & Method*

화가 없다. eIF2α의 발현증가는 앞에서 ER chaperone의 발현 증가와 같이 신생 Tg의 대량생산에 따른 증가로 보인다. 그러나 sericin처리에도 eIF2α의 인산화 발현에는 변화가 없는 것은 sericin에 의해서 단백질생합성을 감소시키는 적극적인 ER stress로 작용하지 않는다는 것을 의미한다.

Sericin은 murine hybridoma 2E3-O, human hepatoblastoma HepG2, human epithelial HeLa 그리고 human embryonal kidney 293 세포주의 증식을 촉진하는 것이 알려져 있다[9]. 그리고 동물세포의 증식을 촉진하기 위한 세포배양배지의 좋은 공급원으로 사용되고, 다양한 세포배양용 배지에 FBS 대신 첨가하여도 냉동보존에도 이용되고 있다[7]. Sericin 처리에 의한 세포증식 실험의 결과, Fig. 5에서 보는 것과 같이 sericin처리한 세포들은 negative control로 tunicamycin을 처리한 세포보다는 일정한 범위 내에서 세포생장이 촉진하는 것이 관찰되었다. 즉, sericin을 0.5 µg/µl첨가 했을 때 세포증식이 가장 많이 되었고, 그 이상의 농도에서도 일정 수준 이상의 세포증식이 관찰되었다. 이는 세포 내 단백질합성이 활발하여져서 각종 대사기전의 활성으로 말미암아 세포증식도 촉진되는 것으로 생각된다.

위와 같이 ER molecular chaperone의 발현이 연관되어 sericin에 의한 Tg의 분비증가는 분비 당단백질의 생합성촉진과 분비능력향상에 크게 기여할 것이다. 결국 이것은 sericin이

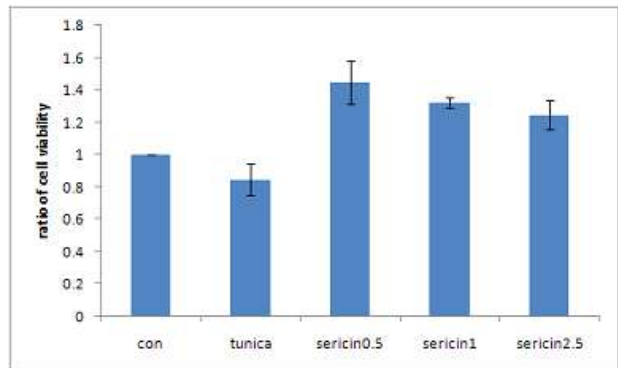


Fig. 5. Effect on cell viability with sericin treatment. FRTL-5 cells were cultured with different sericin doses (0.5 µg/µl, 1 µg/µl & 2.5 µg/µl) for 48 hr on the 96-well plate. Detailed processing steps are described in the *Material & Method* The bar graph shows the averages of the quantified data from 3 independent experiments.

새로운 기능성생체재료로 사용될 수 있는 것을 의미한다.

감사의 글

This work was supported by grants from the BioGreen 21 Program (20070401034024), Korea Science & Engineering Foundation (2008-0061669) and Korea Basic Science Institute (T30602).

References

- Benjamin, I. J. 2006. Viewing a stressful episode of ER: is ATF6 the triage nurse? *Circ. Res.* **98**, 1120-1122.
- De Gracia, D. J., R. Kumar, C. R. Owe, G. S. Krause, and B. C. White. 2002. Molecular pathways of protein synthesis inhibition during brain reperfusion: implications for neuronal survival or death. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* **22**, 127-141.
- Harding, H. P., M. Calton, F. Urano, I. Novoa, and Ron D. 2002. Transcriptional and translational control in the Mammalian unfolded protein response. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* **18**, 575-599.
- Kawaoi, A. 1987. Early stages of synthesis of thyroglobulin (Tg), thyroxine (T₄), and triiodothyronine (T₃) in fetal rat thyroid. An immunoelectron microscopic study. *J. Histochem Cytochem* **35**, 1137-1142.
- Kim, P. S., O. Y. Kwon, and P. Arvan. 1996. An Endoplasmic reticulum storage disease causing congenital goiter with hypothyroidism. *J. Cell Biol.* **133**, 517-527.
- Kwon, K., T. W. Goo, and O. Y. Kwon. 2005. Development of rapid detection method for unfolded protein response in the mammalian Cells. *J. Exp. Biomed. Sci.* **11**, 249-252.
- Ogawa A., S. Terada, T. Kanayama, M. Miki, M. Morikawa, T. Kimura, and S. Terada. 2005. Development of a novel serum-free freezing medium for mammalian cells using the

- silk protein sericin. *Biotechnol. Appl. Biochem* **42**, 183-188.
8. Park, S., K. H. You, M. Shong, T. W. Goo, E. Y. Yun, S. W. Kang, and O. Y. Kwon. 2005. Overexpression of ERp29 in the thyrocytes of FRTL-5 cells. *Mol. Biol. Rep* **32**, 7-13.
 9. Terada, S., T. Nishimura, M. Sasaki, H. Yamada, and M. Miki. 2002. Sericin, a protein derived from silkworms, accelerates the proliferation of several mammalian cell lines including a hybridoma. *Cytotechnology* **40**, 3 - 12.
 10. Tsujimoto, K., H. Takagi, M. Takahashi, H. Yamada, and S. Nakamori. 2001. Cryoprotective effect of the serine-rich repetitive sequence in silk protein sericin. *J. Biochem* **129**, 979-986.
 11. Yoshida, H., T. Matsui, A. Yamamoto, T. Okada, and K. Mori. 2001. XBP1 mRNA is induced by ATF6 and spliced by IRE1 in response to ER stress to produce a highly active transcription factor. *Cell* **107**, 881-891.
 12. Zhang, Y. Q. 2002. Applications of natural silk protein sericin in biomaterials. *Biotechnol. Adv.* **20**, 91-100.
 13. Zhaorigetu, S., N. Yanaka, M. Sasaki, H. Watanabe, and N. Kato. 2003. Inhibitory effects of silk protein, sericin on UVB-induced acute damage and tumor promotion by reducing oxidative stress in the skin of hairless mouse. *J. Photochem. Photobiol. B.* **71**, 11-17.

초록 : 갑상선세포에서 sericin에 의한 thyroglobulin의 분비증가

진초이 · 송성희 · 고영화 · 권기상 · 윤은영¹ · 구태원¹ · 여주홍¹ · 김승환² · 최중순^{3,4} · 유권⁵ · 권오유*

(충남대학교 의학전문대학원 해부학교실, ¹농촌진흥청 국립농업과학원, ²충남대학교병원 응급의학과, ³한국기초과학연구원 생명과학연구부, ⁴충남대학교 분석과학기술대학원, ⁵한국생명공학연구원 장수과학연구센터)

Sericin은 실크를 싸고 있는 고분자 수용성 당단백질로서 세포배양에 사용되며 세포분화를 촉진한다. 본 연구의 목적은 갑상선세포(FRTL-5)에서 thyroglobulin (Tg)의 분비에 sericin이 영향을 주는지를 알려고 한다. Sericin에 의해서 Tg의 분비가 촉진되었지만 Tg-mRNA의 발현은 촉진되지 않았다. 이런 상태에서 소포체 샤페론(Bip & calreticulin)과 소포체 막 단백질(IRE1, PERK & ATF6)의 발현이 증가한 것이 확인되었다. 한편 IRE1의 하부 신호전달자인 XBP1의 mRNA splicing 이 약하게 확인되었지만 PERK의 하부 신호전달자인 eIF2α의 인산화는 일어나지 않았다. 그리고 sericin은 MTT assay 결과 cell viability을 촉진시키는 것도 확인되었다. 위의 결과는 sericin은 재조합 단백질생산에 유용하게 이용될 수 있는 새로운 생체물질로 증명되었다.