

Forschung durchführbar, sondern auch auf den alltäglichen Einsatz in der Praxis abgestimmt sein. Trotz des problematischen Zugangs zu relevantem Probenmaterial werden die Expressionsprofil-Marker vor allem in der nahen Zukunft für die Anwendung von Pharmakogenomik eine besondere Bedeutung haben. Denn mit diesen Markern können die dynamischen Parameter gemessen werden, die den Krankheitsstatus und -verlauf beschreiben. Wegen unseres noch beschränkten Verständnisses der Genregulation lassen sich derartige Parameter aus SNP-Daten noch nicht voraussagen. Mittelfristig werden mit SNPs vorwiegend statische Zustände von Patienten beschrieben, wobei sie sich vornehmlich auf die Bestimmung monogener Effekte konzentrieren. Während pharmakogenomische und -genetische Methoden in F&E heute bereits weit verbreitet sind, wird die Routineanwendung in der Klinik erst langsam Einzug halten. Langfristig jedoch wird der Paradigmenwechsel von der symptomatisch behandelnden Therapie hin zur kombinierten genetisch basierten kausalen Diagnose und Therapie nicht aufzuhalten sein. Damit wird die individuelle Erfahrung des behandelnden Arztes durch objektive Testparameter ergänzt. Von den schnellen Fortschritten in der Genomforschung beflügelt, steigt die Erwartung, dass die Therapie für jeden Patienten maßgeschneidert wird.²⁶⁾ Die tatsächliche Umsetzung dieses Ziels mag noch weit in der Zukunft liegen, die Unterteilung in mehrere Untergruppen, wie im Falle der Metabolisierer wird jedoch schon heute vorgenommen. Und in nicht allzu ferner Zukunft werden wir den heutigen „One-size-fits-all“-Ansatz für die Arzneimittelauswahl und -dosierung wie die Anfänge der medikamentösen Behandlung zu Beginn des letzten Jahrhunderts betrachten.

Werner Kroll
Bayer Corp., West Haven, USA
Wolfgang Hartwig
Bayer AG, Wuppertal

- 1) *Int. Human Genome Sequencing Consortium*, *Nature* 2001, 409, 860.
- 2) *J. C. Venter et al.*, *Science* 2001, 291, 1304.
- 3) *The International SNP Map Working Group*, *Nature* 2001, 409, 928.
- 4) *J. B. Leathart et al.*, *Pharmacogenetics* 1998, 8, 529.
- 5) www.imm.ki.se/CYPalleles/
- 6) *S. Chen et al.*, *Clin. Pharmacol. Ther.* 1996, 60, 522.
- 7) *K. Nakagawa et al.*, *Pharmacol. Ther.* 2000, 86, 1.
- 8) *A. A. Gough et al.*, *Nature* 1990, 347, 773.
- 9) *M. Ingleman-Sunderberg et al.*, *TiPS* 1999, 20, 342.
- 10) *S. Raimundo et al.*, *Pharmacogenetics* 2000, 8, 577.
- 11) *K. A. Elliget et al.*, *J. Tissue Cult. Meth.* 1983, 8, 1.
- 12) *J. Kuhlmann*, *J. Clin. Pharmacol. Ther.* 1999, 37, 1575.
- 13) *M. P. Murphy et al.*, *Pharmacogenomics* 2000, 1, 115.
- 14) *A. D. Roses*, *Lancet* 2000, 355, 1358.
- 15) *J. Baselga et al.*, *J. Clin. Oncol.* 1996, 14, 737.
- 16) *M. E. Gorre et al.*, *Science* 2001, 293, 876.
- 17) *C. Barthe et al.*, *Science* 2001, 293, 2163.
- 18) *J. M. Drazen et al.*, *Nature Genetics* 1999, 22, 168.
- 19) *F. D. Martinez et al.*, *J. Clin. Invest.* 1997, 100, 3184.
- 20) *S. Tan et al.*, *Lancet* 1997, 350, 995.
- 21) *J. A. Kuivenhoven*, *New Engl. J. Med.* 1998, 338, 86.
- 22) *M. J. Arranz*, *Schizophr. Res.* 1998, 32, 93.
- 23) *B. A. Fijal et al.*, *Control.Clin. Trials* 2000, 21, 7.
- 24) *L. R. Cardon et al.*, *Pharmacogenetics* 2000, 10, 503.
- 25) www.fda.gov/default.htm.
- 26) *A. D. Roses*, *Nature* 2000, 405, 857.

Inositphosphate

Das unerkannte Arsenal der intrazellulären Signalübertragung?

◆ Inositphosphate und Phosphoinositide sind intrazelluläre Botenstoffe (second messenger). In ihrer Entdeckungsgeschichte ist das Jahr 1983 von besonderer Bedeutung. Den Gruppen von Schulz und Berridge gelang damals der Nachweis, dass myo-Inosit-1,4,5-trisphosphat [Ins(1,4,5)P₃] wesentlich an der Regulation der intrazellulären Calciumionenkonzentration beteiligt ist.¹⁾ Damit war ein Meilenstein bei der Aufklärung der „black box“ zwischen Rezeptorstimulation und physiologischer Antwort der Zellen erreicht. In kurzer Zeit wurden ca. 30 weitere Inositphosphate in verschiedenen Zelltypen identifiziert.

Da myo-Inosit ein Cyclohexangerüst mit sechs Hydroxygruppen aufweist (Abbildung 1), können 63 ver-

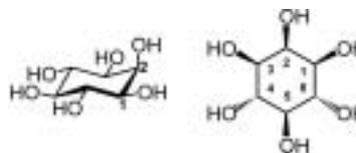


Abb 1.
Die Struktur des Inosits in der myo-Konfiguration. Konventionsgemäß wird gegen den Uhrzeigersinn nummeriert und die Position der einzigen axialen OH-Gruppe mit der Ziffer 2 bezeichnet.

schieden stark phosphorylierte Inositphosphate auftreten, vom myo-Inosit-1-phosphat bis zur sechsfach phosphorylierten Phytinsäure (InsP₆), einem der wichtigsten Phosphatspeicherstoffe in Pflanzen. Damit nicht genug, treten in einigen Zellen kurzzeitig Inositpyrophosphate auf. Diese werden unpräziserweise oft mit InsP₇ und InsP₈ bezeichnet. Charakteristisch für die besser mit Formeln wie InsP₃PP abgekürzten Verbindungen ist das Pyrophosphat in der 5-Position.

Trotz der faszinierenden Vielfalt an Inositphosphaten, die Zellen zur Regulation ihrer physiologischen Prozesse zur Verfügung haben, gelingt eine Zuordnung der Bedeutung der einzelnen Isomere nur zögerlich. Dabei wurden keine Anstrengungen gescheut, um Enzyme zu identifizieren, die Inositphosphate metabolisieren. Tatsächlich sind die meisten der

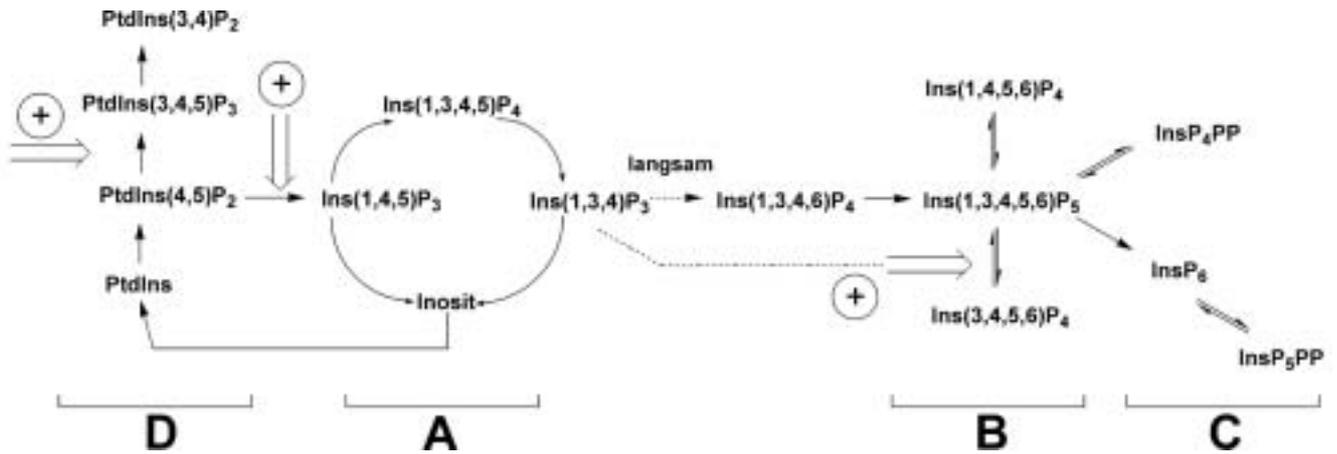


Abb. 2. Eine vereinfachte Form des metabolischen Geflechts der Inositphosphate. Man kann vier Substanzgruppen unterscheiden (A: den $Ins(1,4,5)P_3$ -Metabolismus, der auch die potentiellen Botenstoffe $Ins(1,3,4,5)P_4$ und $Ins(1,3,4)P_3$ liefert; B: die höher phosphorylierten Inositphosphate, die vorwiegend aus $Ins(1,3,4,5,6)P_5$ gebildet werden; C: $InsP_6$ und die Pyrophosphate; D: die Phosphatidylinosite, die in Membranen biosynthetisiert werden). Dicke Pfeile zeigen den Einfluss extrazellulärer Stimulation auf den Inositphosphatmetabolismus. Mehr Details, insbesondere zu den beteiligten Enzymen, auf der Homepage von Steve Shears (<http://dir.niehs.nih.gov/dirlst/shears.htm>).

verschiedenen Phosphatasen und Kinasen, die Inositphosphate dephosphorylieren oder phosphorylieren und den komplexen Metabolismus (Abbildung 2) regulieren, bekannt.^{2,3)} Die Funktion der Inositphosphate allerdings ist in der Regel ungewiss, auch wenn in den letzten Jahren viele Hinweise dazu gefunden wurden.

Die Situation bei den Phosphatidylinositiden (Abbildung 2D) ist grundlegend anders, da die involvierten Zielproteine, anders als bei den Inositphosphaten, zügig identifiziert wurden.^{4,5)} Nach der Entdeckung des Phosphatidylinosit-3,4,5-trisphosphats [$PtdIns(3,4,5)P_3$] war man sich der Bedeutung der Phosphatidylinosit-3-kinase in den diversen Signalübertragungsketten immer bewusst.⁶⁾ Welche Rolle die Phosphatidylinositide spielen, darüber wird in Kürze in den Nachrichten aus der Chemie zu lesen sein.

Einige der aufregenden neuen Erkenntnisse hinsichtlich der physiologischen Funktion der Inositphosphate sind im Folgenden zusammengefasst.

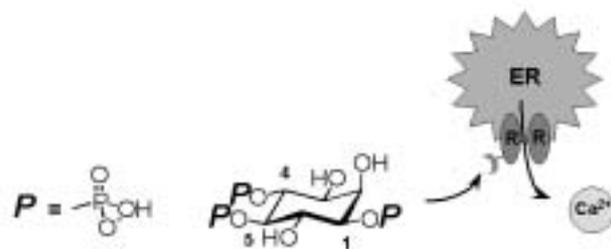
$Ins(1,4,5)P_3$ und Calciumoszillationen

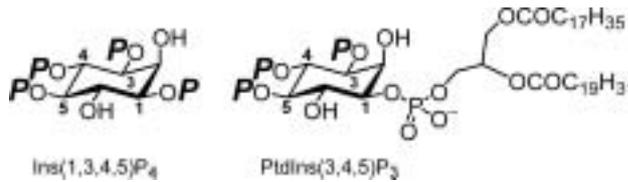
◆ Die Rezeptorstimulation resultiert in vielen Fällen in einem transienten, etwa 10 bis 30 Sekunden dauernden Anstieg der $Ins(1,4,5)P_3$ -Konzentra-

tion. Der darauf folgende ebenfalls transiente Calciumausstoß aus den internen Calciumspeichern des Endoplasmatischen Reticulums reguliert eine Vielzahl grundlegender Zellfunktionen wie Sekretion und Kontraktion.⁷⁾ Es stellte sich jedoch die Frage, ob auch langfristige Funktionen wie die Zellteilung über den $Ins(1,4,5)P_3$ /Calcium-Signalweg reguliert werden könnten. Phänomene wie der Calcium-induzierte Calciumeinstrom und die häufig in lebenden Zellen beobachteten Calciumoszillationen sprachen dafür.⁸⁾ Mit einem durch Totalsynthese dargestellten, membranpermeablen, photoaktivierbaren $Ins(1,4,5)P_3$ -Derivats gelang es Tsien und Mitarbeitern nachzuweisen, dass eine künstlich erzeugte Abfolge von Calciumtransienten in T-Zellen ein hinreichendes Signal zur Auslösung von Genexpression darstellt.⁹⁾ Dieses Ergebnis zeigte, dass die Oszillation der Calciumionenkonzentration eher durch die Oszillation der $Ins(1,4,5)P_3$ -Konzentration

als durch rein Calcium-basierte Rückkopplungsmechanismen abläuft (Abbildung 3).¹⁰⁾ Mit Hilfe neuartiger Reporter-moleküle – wie der mit dem Green Fluorescent Protein fusionierten PH-Domäne der Phospholipase-C δ (eines der Enzyme, die $Ins(1,4,5)P_3$ aus dem Phospholipid $PtdIns(4,5)P_2$ generieren) – gelang es nun, dieses Phänomen der $Ins(1,4,5)P_3$ -Oszillation in Ovarienzellen von Hamstern sichtbar zu machen.^{11,12)} Gemessen wurde dabei die Translokation des Fusionsproteins an die Plasmamembran, wo $PtdIns(4,5)P_2$ gebunden wurde. In diesem Ruhezustand war die $Ins(1,4,5)P_3$ -Konzentration niedrig. Wurden Rezeptoren aktiviert, hydrolysierte $PtdIns(4,5)P_2$, und die $Ins(1,4,5)P_3$ -Konzentration stieg an. Da $Ins(1,4,5)P_3$ ebenfalls an die fusionierte PH-Domäne band, wurde die Membranbindung der Probe gelöst und das fluoreszierende Protein diffundierte ins Cytosol. Es konnte auf beeindruckende Weise gezeigt werden, dass Oszillationen der

Abb. 3. myo-Inosit-1,4,5-trisphosphat [$Ins(1,4,5)P_3$] bindet an Rezeptoren (R) am endoplasmatischen Reticulum (ER), worauf diese Poren bilden, durch die Calcium ins Cytosol strömt. Oszillationen der $Ins(1,4,5)P_3$ -Konzentration führen so zu Calciumoszillationen.





Ins(1,4,5)P₃-Konzentration mit denen der Calciumkonzentration korrelierten. Die Verwendung derartiger Proben für die Beobachtung von dynamischen Prozessen in lebenden Zellen kann unseren Kenntnisstand über zelluläre Abläufe drastisch erhöhen, insbesondere, wenn simultan noch andere physiologische Prozesse gemessen werden können.

Ins(1,3,4,5)P₄ und Ins(1,3,4)P₃

◆ Ins(1,4,5)P₃ wird in wenigen Sekunden durch Dephosphorylierung zu Bisphosphaten oder Phosphorylierung zu Ins(1,3,4,5)P₄ metabolisiert (Abbildung 2A). Letztere Verbindung hat eine deutlich höhere Lebensdauer als Ins(1,4,5)P₃, und ihre Funktion als Modulator der intrazellulären Calciumionenkonzentration wird seit 1986 kontrovers diskutiert. Die Ergebnisse sind oft widersprüchlich und ihre Interpretationen verwirrend.¹³⁾ In einigen Zellen aktiviert Ins(1,3,4,5)P₄ definitiv Ca²⁺-Kanäle in der Plasmamembran.¹⁴⁾ Nun konnte durch Patch-Clamp-Experimente gezeigt werden, dass Ins(1,3,4,5)P₄ den Abbau von Ins(1,4,5)P₃ verlangsamt und so den Calcium-aktivierten Calciumstrom in die Zelle erleichtert.¹⁵⁾ Genauso interessant ist aber, dass Ins(1,3,4,5)P₄ die Kopfgruppe des Signallipids PtdIns(3,4,5)P₃ ist und daher mit diesem um Proteinbindungsstellen, z.B. PH-Domänen, konkurrieren kann (Abbildung 4).¹⁶⁾ Interferiert Ins(1,3,4,5)P₄ also mit Signalen aus anderen Signalkaskaden wie denen von Wachstumsfaktoren, die über PtdIns(3,4,5)P₃ gesteuert werden?

Das Dephosphorylierungsprodukt von Ins(1,3,4,5)P₄ ist Ins(1,3,4)P₃ (Abbildung 2A). Letzteres ist ein Inhibitor (und Cosubstrat) der Ins(3,4,5,6)P₄-1-Kinase und führt so

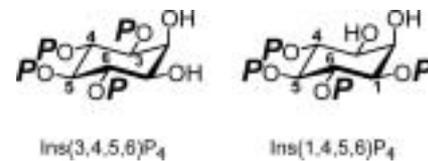
mit über die Ins(1,4,5)P₃-Signalkaskade zur Erhöhung der Ins(3,4,5,6)P₄-Konzentration.^{17,18)} Mit Hilfe membranpermeabler Derivate von Ins(1,3,4)P₃ wurde in Epithelzellen ein inhibitorischer Einfluss von Ins(1,3,4)P₃ auf die Chloridsekretion nachgewiesen.^{17,19)}

Die Enantiomere: Ins(3,4,5,6)P₄ und Ins(1,4,5,6)P₄

◆ Bereits Mitte der Neunzigerjahre wurde gezeigt, dass das aus Ins(1,3,4,5,6)P₅ biosynthetisierte *myo*-Inosit-3,4,5,6-tetrakisphosphat [Ins(3,4,5,6)P₄, Abbildung 2B] inhibitorisch auf die Chloridsekretion von Epithelzellen wirkt.^{20,21)} Unter anderem in Hinblick auf eine potentielle therapeutische Anwendung, z. B. bei der Behandlung der tödlichen Erbkrankheit Mukoviszidose, ist es von großem Interesse, herauszufinden, welcher Chloridkanal des Epithels durch Ins(3,4,5,6)P₄ reguliert wird. Sicher ist bisher, dass es sich um einen Ca²⁺-regulierten Kanal handelt.^{20,21)} Arbeiten von Benos und Mitarbeitern am rekombinanten Kanal CLCA1 aus Rindertrachea lassen eine direkte Inhibition des Kanals durch Ins(3,4,5,6)P₄ vermuten.²²⁾ Neue Arbeiten aus der Gruppe um Shears weisen für Humanzellen jedoch auf einen neuen Kanal hin.²³⁾ Für die potentielle Behandlung der Mukoviszidose ist zudem folgende Entdeckung hochinteressant: Einige synthetische Ins(3,4,5,6)P₄-Derivate inhibieren die chronisch erhöhte Natriumabsorption im Nasenepithel von Mukoviszidosepatienten, wahrscheinlich durch eine Inhibition des epithelialen Natriumkanals.²⁴⁾

Die Bedeutung des enantiomeren Ins(1,4,5,6)P₄ scheint auf anderem Gebiet zu liegen. Seine Konzentration stieg erheblich an, wenn Zellen mit dem invasiven Bakterium *Salmo-*

nella dublin infiziert wurden. Gleichzeitig wurde der Wachstumsfaktor-stimulierte Phosphatidylinosit-3-Kinaseweg blockiert, eventuell weil die hohen Ins(1,4,5,6)P₄-Spiegel mit PtdIns(3,4,5)P₃ um Bindungsstellen konkurrierten.²⁵⁾ Zumindest ein Teil der durch Salmonellen gesteigerten Chlorid- und Wassersekretion könnte auf das Salmonellenprotein SopB, eine Inositphosphat-Phosphatase, zurückzuführen sein. Überexpression dieses Proteins in humanen 293-Zellen führte zu erhöhter Chloridkanalaktivität, erhöhten Ins(1,4,5,6)P₄-Spiegeln und einem Absinken der InsP₅- und InsP₆-Konzentrationen.²⁶⁾



InsP₆

◆ Phytinsäure, *myo*-Inosithexaphosphat, InsP₆, ist eines der am häufigsten vorkommenden Inositphosphate in tierischen Zellen (bis 60 µM) und galt in der Vergangenheit oft als physiologisch langweilig. Vor einigen Jahren wurden allerdings die ersten zellulären Funktionen vorgeschlagen: die Inhibition von Proteinphosphatasen²⁷⁾ und die Aktivierung von Proteinkinase C.²⁸⁾ Ferner spielt InsP₆ gegebenenfalls in der neuronalen Sekretion und dem Vesikelrecycling eine wesentliche Rolle; wegen der Komplexierungseigenschaften von InsP₆ gibt es aber noch Vorbehalte hinsichtlich dieser Ergebnisse.²⁹⁾ Allerdings wurden gerade hierzu sehr interessante neue Erkenntnisse gewonnen: InsP₆ aktiviert eine bisher unbekannte Proteinkinase, die spezifisch Pacsin/Syndapin I phosphoryliert, ein Protein, das mit synaptischen Vesikeln assoziiert ist.³⁰⁾ Dass InsP₆ insbesondere in Nervenzellen

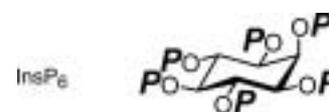
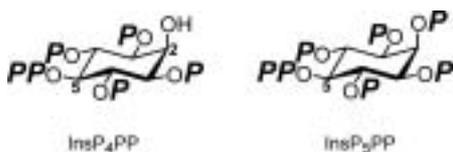


Abb. 4. *myo*-Inosit-1,3,4,5-tetrakisphosphat [Ins(1,3,4,5)P₄] und Phosphatidylinosit-3,4,5-trisphosphat [PtdIns(3,4,5)P₃] unterscheiden sich lediglich durch den Lipidrest. Konkurrieren beide Substanzen um die gleichen Bindungsstellen?

von Bedeutung ist, zeigen auch neue Arbeiten von Berggren und Mitarbeitern am Karolinska-Institut in Stockholm: In Neuronen des Hippocampus stimuliert InsP_6 die Bildung des Botenstoffes cAMP und aktiviert so die cAMP-abhängige Proteinkinase, die wiederum selektiv die spannungsabhängigen L-Typ- Ca^{2+} -Kanäle phosphoryliert und deren Aktivität so moduliert.³¹⁾ Andere Funktionen wie die DNA-Reparatur³²⁾ oder der mRNA-Export³³⁾ lassen Interaktionen von InsP_6 mit DNA- oder RNA-bindenden Proteinen vermuten. Man darf mit Staunen feststellen, dass InsP_6 wesentlich mehr Interesse gebührt als früher angenommen und das nicht nur, weil aus InsP_6 in vielen Zellen noch höher phosphorylierte Inositolphosphate entstehen.

Inositypyrophosphate

◆ Als wäre es nicht aufwendig genug, die Vielzahl der verschiedenen Inositolphosphate zu bewältigen, wurde das Repertoire 1993 durch die Entdeckung der Inositypyrophosphate (Abbildung 2 C) noch erweitert.³⁴⁻³⁶⁾ InsP_3PP und $\text{InsP}_4(5,6\text{-PP}_2)$ scheinen einen recht hohen metabolischen Umsatz zu haben.³⁵⁾ Trotzdem ist ihre



physiologische Bedeutung ungewiss. Allerdings zeigen neue Arbeiten, dass InsP_3PP , das Produkt der Inosithexakisphosphatkinase-2, eine wichtige Rolle in der Kontrolle der Apoptose spielen kann.³⁷⁾ Ferner öffnet die überraschende Bildung von InsP_4PP durch die Inositolpolyphosphat-Multikinase neue Ansatzpunkte.³⁸⁾ Doch auch hier ist die Verknüpfung zur Bildung von InsP_6 , zur Rolle in der Transkriptionsregulation und zum mRNA-Transport ungeklärt.³⁾

Und die Chemiker?

◆ Obwohl seit 18 Jahren intensiv auf dem Gebiet der Inositolphosphate geforscht wird, stehen wir noch am Anfang, was das Verständnis ihrer physiologischen Funktion und die komplexen Zusammenhänge der einzelnen Signalwege betrifft. Neue Methoden – vom biochemischen Assay bis zum Echtzeitimaging – werden notwendig sein, um diese Signalwege sichtbar zu machen und sie gezielt zu beeinflussen. Bei diesen Anstrengungen sollten sich insbesondere die Chemiker beteiligen. Ohne ihre Expertise wird das Ziel, die Erkenntnisse in der Signaltransduktion in Form von neuen therapeutischen Ansätzen für den Menschen sinnvoll zu nutzen, nicht erreicht werden können.

Carsten Schultz

European Molecular Biology Laboratory
Heidelberg
schultz@EMBL-Heidelberg.de

- 1) H. Streb, R. F. Irvine, M. J. Berridge, I. Schulz, *Nature* 1983, 306, 67.
- 2) K. Abel, R. A. Anderson, S. B. Shears, *J. Cell Sci.* 2001, 114, 2207.
- 3) R. F. Irvine, M. J. Schell, *Nat. Rev. Cell Biol.* 2001, 2, 327.
- 4) A. E. Traynor-Kaplan, A. L. Harris, B. L. Thompson, P. Taylor, L. A. Sklar, *Nature* 1988, 334, 353.
- 5) M. Whitman, C. P. Downes, M. Keeler, T. Keller, L. Cantley, *Nature* 1988, 332, 644.
- 6) L. E. Rameh, L. C. Cantley, *J. Biol. Chem.* 1999, 274, 8347.
- 7) M. J. Berridge, P. Lipp, M. D. Bootman, *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 2000, 1, 11.
- 8) R. E. Dolmetsch, K. L. Xu, R. S. Lewis, *Nature* 1998, 392, 933.
- 9) W.-h. Li, J. Llopis, M. Whitney, G. Zlokarnik, R. Y. Tsien, *Nature* 1998, 392, 936.
- 10) A. T. Harootyan, J. P. Kao, S. Paranjape, R. Y. Tsien, *Science* 1991, 251, 75.
- 11) K. Hirose, S. Kadowaki, M. Tanabe, H. Takeshima, A. Iino, *Science* 1999, 284, 1527.
- 12) M. S. Nash, K. W. Young, R. A. J. Challis, S. R. Nahorski, *Nature* 2001, 413, 381.
- 13) R. F. Irvine, *Curr. Biol.* 2001, 11, R173.
- 14) A. Luckhoff, D. E. Clapham, *Nature* 1992, 355, 356.
- 15) M. C. Hermosura, H. Takeuchi, A. Fleig, A. M. Riley, B. V. L. Potter, M. Hirata, R. Penner, *Nature* 2000, 408, 735.
- 16) G. E. Cozier, P. J. Lockeryer, J. S. Reynolds, S. Kupzig, J. R. Bottomley, T. H. Millard, G. Banting, P. J. Cullem, *J. Biol. Chem.* 2000, 275, 28261.
- 17) X. Yang, M. T. Rudolf, M. A. Carew, M. Yoshida, V. Neretter, A. M. Riley, S.-K. Chung, K. S. Bruzik, B. V. L. Potter, C. Schultz, S. B. Shears, *J. Biol. Chem.* 1999, 274, 18973.
- 18) X. Yang, S. B. Shears, *Biochem. J.* 2000, 351, 551.
- 19) M. T. Rudolf, A. E. Traynor-Kaplan, C. Schultz, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1998, 8, 1857.
- 20) M. Vajanaphanich, C. Schultz, M. T. Rudolf, M. Wasserman, P. Enyedi, A. Craxton, S. B. Shears, R. Y. Tsien, K. E. Barrett, A. Traynor-Kaplan, *Nature* 1994, 371, 711.
- 21) M. A. Carew, X. Yang, C. Schultz, S. B. Shears, *J. Biol. Chem.* 2000, 275, 26906.
- 22) I. I. Ismailov, C. M. Fuller, B. K. Berdiev, V. G. Shlyonsky, D. J. Benos, K. E. Barrett, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1996, 93, 10505.
- 23) M. W. Y. Ho, M. A. Kaetzel, D. L. Armstrong, S. B. Shears, *J. Biol. Chem.* 2001, 275, 18673.
- 24) M. Moody, K. Duerson, C. Dinkel, C. Pennington, C. Schultz, A. E. Traynor-Kaplan, *Pediatric Pulmonology*, 2001, 32, Suppl. 22, 258.
- 25) L. Eckmann, M. T. Rudolf, A. Ptasznik, C. Schultz, T. Jiang, N. Wolfson, R. Y. Tsien, J. Fierer, S. B. Shears, M. F. Kagnoff, A. E. Traynor-Kaplan, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1997, 94, 14456.
- 26) Y. Feng, S. R. Wenthe, P. W. Majerus, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2001, 98, 875.
- 27) O. Larsson, C. J. Barker, Å. Sjöholm, H. Carlqvist, R. H. Michell, A. Bertorello, T. Nilsson, R. E. Honkanen, G. W. Mayr, J. Zwiller, P.-O. Berggren, *Science* 1997, 278, 471.
- 28) A. M. Efanov, S. V. Zaitsev, P.-O. Berggren, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1997, 94, 4435.
- 29) S. B. Shears, *Cell Signalling* 2001, 13, 151.
- 30) J. M. Hilton, M. Plomann, B. Ritter, J. Modregger, H. N. Freeman, J. R. Falck, U. M. Krishna, A. B. Tobin, *J. Biol. Chem.* 2001, 276, 16341.
- 31) S.-N. Yang, J. Yu, G. W. Mayr, F. Hofmann, O. Larsson, P.-O. Berggren, *FASEB J.* 2001, 15, 1753.
- 32) L. A. Hanakahi, M. Bartlett-Jones, C. Chappell, D. Papin, S. C. West, *Cell* 2000, 102, 721.
- 33) J. D. York, A. R. Odom, R. Murphy, E. B. Ives, S. R. Wenthe, *Science* 1999, 285, 96.
- 34) L. Stephens, T. Radenberg, U. Thiel, G. Vogel, K.-H. Khoo, A. Dell, T. R. Jackson, P. T. Hawkins, G. W. Mayr, *J. Biol. Chem.* 1993, 268, 4009.
- 35) F. S. Menniti, R. N. Miller, J. W. Putney Jr, S. B. Shears, *J. Biol. Chem.* 1993, 268, 3850.
- 36) T. Laussmann, K. M. Reddy, K. K. Reddy, J. R. Falck, G. Vogel, *Biochem. J.* 1997, 327, 31.
- 37) H. Morrison, J. A. Bauer, D. V. Kalvakolanu, D. J. Lindner, *J. Biol. Chem.* 2001, 276, 24965.
- 38) A. Saiardi, E. Nagata, H. R. Luo, A. Sawa, X. Luo, A. Snowman, S. H. Snyder, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2001, 98, 2306.