

IRENEUSZ W. BIEDERMANN, LESZEK KACZMAREK  
*Zakład Neurobiologii Molekularnej i Komórkowej*  
*Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN*  
*Pasteura 3, 02-093 Warszawa*  
*E-mail: leszek@nencki.gov.pl*

## REGULACJA EKSPRESJI GENÓW PRZEZ JONY WAPNIA

### WPROWADZENIE

Wzrost wewnątrzkomórkowego (cytosolowego i/lub jądrowego) poziomu jonów wapnia, podobnie jak aktywacja innych systemów wtórnych przekaźników, może prowadzić zarówno do indukcji względnie krótkotrwałych zmian w funkcjonowaniu komórki, jak i, poprzez regulację ekspresji genów, do powstania zmian długotrwałych. Faktycznie, w wielu układach doświadczalnych obserwowano, że będące wynikiem aktywacji określonych receptorów błonowych pobudzenie komórek, prowadząc do wzrostu wewnątrzkomórkowego poziomu jonów wapniowych często także pociąga za sobą aktywację określonych genów. Należy jednak pamiętać, że:

(i) samo współwystępowanie zmian poziomu  $Ca^{2+}$  i aktywacji ekspresji genów nie przesądza o istnieniu związku przyczynowo-skutkowego między tymi zjawiskami,

(ii) często aktywacja określonych recepto-

rów błonowych pociąga za sobą mobilizację różnych systemów wtórnych przekaźników, i wreszcie

(iii) aktywacja ekspresji genów jest złożonym procesem, wymagającym zwykle współdziałania różnych systemów wtórnych przekaźników, aktywowanych jednocześnie przez różne receptory błonowe.

Mając na względzie powyższe uwagi ograniczmy się w niniejszym artykule do omówienia wyników badań, w których udział  $Ca^{2+}$  w regulacji ekspresji genów wydaje się być szczególnie dobrze udokumentowany, a mianowicie badań dotyczących wywołanej działaniem pobudzającego neuroprzekaźnika, L-glutaminianu, aktywacji ekspresji genów w neuronach ośrodkowego układu nerwowego. Szczególną uwagę zwrócimy na aktywację genu *c-fos* uważanego za modelowy gen zależny od jonów wapnia.

### RECEPTORY DLA GLUTAMINIANU A ZMIANY POZIOMU JONÓW WAPNIA

L-glutaminian jest głównym neuroprzekaźnikiem pobudzającym w ośrodkowym układzie nerwowym. Aminokwas ten, uwalniany z zakończeń presynaptycznych, oddziałuje na komórki docelowe aktywując swoiste receptory zlokalizowane na powierzchni błony komórkowej. Receptory te można podzielić na trzy klasy: receptory NMDA, receptory nie-NMDA oraz receptory metabotropowe, przy czym receptory NMDA i receptory nie-NMDA są określane łącznie jako receptory jonotropowe dla glutaminianu (KACZMAREK i współaut. 1997, NOWICKA 1994).

Aktywacja receptorów jonotropowych poprzez otwarcie związanych z nimi kanałów jonowych prowadzi do zgodnego z gradientem

stężeń przepływu kationów z komórki ( $K^+$ ) lub do jej wnętrza ( $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ). Kanał jonowy receptorów nie-NMDA jest przepuszczalny dla  $Na^+$  i  $K^+$ , a w przypadku większości receptorów tej klasy nie jest przepuszczalny dla  $Ca^{2+}$ . Z kolei kanał jonowy receptorów NMDA jest przepuszczalny zarówno dla kationów jednowartościowych, jak i dla jonów wapnia. Należy tutaj podkreślić, że o ile samo związanie L-glutaminianu wystarczy do aktywacji receptorów nie-NMDA, o tyle do aktywacji receptorów NMDA, poza związaniem ligandu, potrzebna jest dodatkowo częściowa depolaryzacja błony komórkowej wywołana pobudzeniem neuronu przez inne typy receptorów błonowych.

Z powyższego jasno wynika, że aktywacja receptorów NMDA prowadzi bezpośrednio do napływu jonów wapnia do wnętrza neuronu. Jednakże aktywacja receptorów nie-NMDA, prowadząc bezpośrednio do częściowej depolaryzacji błony komórkowej, może pośrednio przyczynić się do napływu jonów wapnia do wnętrza neuronu przez aktywację receptorów NMDA lub zależnych od napięcia kanałów wapniowych typu L. Co więcej, receptory me-

tabotropowe chociaż nie są związane z żadnym kanałem jonowym, mogą poprzez aktywację fosfolipazy C doprowadzić do wzrostu cytosolowego poziomu  $Ca^{2+}$  wskutek uwolnienia tego jonu z magazynów wewnątrzkomórkowych. Należy tutaj podkreślić, że zmiany poziomu  $Ca^{2+}$ , wywołane aktywacją różnych receptorów dla glutaminianu, są przez komórkę rozróżnialne i jako takie mogą prowadzić do różnej odpowiedzi komórki.

#### ZALEŻNA OD JONÓW WAPNIA AKTYWACJA EKSPRESJI GENÓW

W połowie lat 80-tych pojawiły się pierwsze doniesienia wskazujące, że w neuronopodobnych komórkach linii PC-12 dochodzi do zależnej od  $Ca^{2+}$  indukcji ekspresji genu *c-fos* wskutek traktowania tych komórek agonistami receptorów cholinergicznymi lub czynnikami wywołującymi depolaryzację błony komórkowej (GREENBERG i współaut. 1986, MORGAN i CURRAN 1986). Nieco później różne zespoły badaczy przedstawiły wyniki wskazujące, że również pobudzenie neuronów przez glutaminian może powodować wzrost ekspresji różnych genów, między innymi *c-fos*. Także i w tych badaniach (KACZMAREK 1994) często wskazywano, że aktywność kanałów wapniowych (NMDA lub kanałów typu L) wydaje się być kluczowa dla aktywacji genu *c-fos*.

Fundamentalne znaczenie glutaminianu dla funkcjonowania ośrodkowego układu nerwowego doprowadziło do podjęcia badań mających na celu zidentyfikowanie nowych genów ulegających ekspresji w sposób zależny od tego neuroprzekaźnika. Efektem tych poszukiwań było otrzymanie biblioteki cDNA z zakrętu zębatego hipokampa szczura, zawierającej geny ulegające różnicowej ekspresji w wyniku potraktowania zwierząt drgawkogenym agonistą receptorów nie-NMDA — kwasem kainowym. Liczbę reprezentowanych w tej bibliotece genów o ekspresji zależnej od aktywacji receptorów dla glutaminianu, a więc również zależnej od jonów wapnia, oszacowano na 500 do 1000 (NEDIVI i współaut. 1993).

Powyższe oszacowanie wskazuje jak obszernym i złożonym zagadnieniem jest regulacja ekspresji genów przez jony wapnia. Po pierwsze zmiana poziomu mRNA będąca miarą regulacji ekspresji genów może być w przypadku poszczególnych genów równie dobrze wynikiem zmiany intensywności procesu transkrypcji, jak też wyrazem zmienionej szybkości degradacji danego mRNA, czy wreszcie odbiciem zmian w procesach obróbki pierwot-

nego transkryptu. Po drugie, geny ulegające ekspresji w odpowiedzi na zadziałanie określonego czynnika można podzielić na dwie istotnie różne, chociaż niekoniecznie rozłączne grupy, mianowicie na geny odpowiedzi pierwotnej (IEG, ang. immediate early genes) i geny odpowiedzi wtórnej. Indukcja genów odpowiedzi pierwotnej — z definicji — nie wymaga uprzedniej syntezy nowych białek. Oznacza to, że jeśli regulacja danego genu zachodzi na poziomie transkrypcji, to niezbędne do aktywacji tego procesu czynniki transkrypcyjne są już obecne w komórce, a ich aktywacja przez systemy wtórnych przekaźników jest wynikiem modyfikacji potranslacyjnych i (lub) translokacji z cytoplazmy do jądra komórkowego. W przeciwieństwie do genów odpowiedzi pierwotnej, geny odpowiedzi wtórnej wymagają do swojej aktywacji uprzedniej syntezy nowych białek — czynników transkrypcyjnych. Właściwie można powiedzieć, że geny te, chociaż ulegają ekspresji zależnej od danego wtórnego przekaźnika, nie są przez ten przekaźnik bezpośrednio regulowane.

Z powyższych rozważań wynika, że chcąc odpowiedzieć na pytanie, jak jony wapnia regulują ekspresję genów, szczególną uwagę powinniśmy zwrócić na regulowane przez ten jon geny odpowiedzi pierwotnej. Istnieją dane wskazujące, że do grupy tej można zaliczyć, kodujące różne składniki czynnika transkrypcyjnego AP-1, geny *c-fos*, *fos B*, *c-jun* i *jun B*, a także geny kodujące niektóre inne czynniki transkrypcyjne, takie jak *zif/286* (zwany też NGFI-A, *egr-1*, TIS-8, ZENK lub Krox-24) lub *nur/77* (NGFI-B) (BADING i współaut. 1995). Ciekawy przykład genu, którego odpowiedź na jony wapnia ma zarówno składową o charakterze odpowiedzi pierwotnej, jak i składową o charakterze odpowiedzi wtórnej, stanowi gen kodujący czynnik troficzny BDNF (ang. brain-derived neurotrophic factor) (LAUTERBORN i współaut. 1996).



## MECHANIZMY ZALEŻNEJ OD JONÓW WAPNIA AKTYWACJI EKSPRESJI GENÓW

Wymagające stosowania bogatego zestawu zaawansowanych technik biologii molekularnej, badania mechanizmów uczestniczących w regulacji ekspresji genów przeprowadza się niemal wyłącznie z wykorzystaniem komórek hodowanych *in vitro*. Z różnych powodów, w badaniach komórek pobudliwych, zamiast pierwotnych hodowli neuronów, często używa się dogodnego modelu, jaki stanowią pochodzące z nowotworu rdzenia nadnerczy, wspomniane już, komórki linii PC-12, które po traktowaniu czynnikiem wzrostowym NGF przyjmują neuronopodobny fenotyp (GREENBERG i współaut. 1985, 1986, MORGAN i CURRAN 1986).

Właśnie z wykorzystaniem komórek linii PC-12 wykonano pierwsze doświadczenia szczegółowo wnikające w mechanizmy zależnej od  $Ca^{2+}$  indukcji ekspresji genu *c-fos*. W doświadczeniach tych wykazano, że miejsce regulatorowe, odpowiedzialne za zależną od  $Ca^{2+}$  indukcję ekspresji tego genu (tzw. CaRE, ang. calcium responsive element) jest zlokalizowane w pozycji -60 par zasad względem miejsca inicjacji transkrypcji i jest różne od zlokalizowanego w pozycji -300 par zasad miejsca SRE (ang. serum responsive element) pośredniczącego w odpowiedzi tego genu na czynniki wzrostowe (SHENG i współaut. 1988). Zastosowana w tych badaniach metoda analizy delecyjnej polega na skonstruowaniu plazmidów zawierających kopie badanego genu różniące się długością 5'-niekodującego odcinka DNA i porównaniu aktywności transkrypcyjnej tych konstruktów w transfekowanych nimi komórkach. Metoda ta pozwala więc na zlokalizowanie zaangażowanego w badany proces miejsca regulatorowego, położonego najbliżej miejsca startu transkrypcji, nie wykluczając przy tym udziału innych, położonych dalej w kierunku 5', miejsc regulatorowych. I rzeczywiście, zauważono wkrótce, że usunięcie z promotora genu *c-fos* miejsca CaRE nie znosi odpowiedzi tego genu na wzrost wewnątrzkomórkowego poziomu jonów wapnia (SHENG i współaut. 1990). Co więcej, jak wykazały późniejsze, niżej omówione badania, drugim miejscem regulatorowym, odpowiedzialnym za zależną od  $Ca^{2+}$  indukcję ekspresji genu *c-fos* okazało się właśnie miejsce SRE.

Występująca w miejscu CaRE genu *c-fos* sekwencja TGACGTTT wykazuje istotne podobieństwo do pośredniczącej w zależnej od cAMP indukcji różnych genów sekwencji

TGACGTCA, określanej jako miejsce CRE (ang. cAMP responsive element) (MONTMINY i współaut. 1986, TSUKADA i współaut. 1987). W oczywisty sposób nasuwało to pytanie, czy zależna od  $Ca^{2+}$  indukcja ekspresji genu *c-fos* zależy od innej sekwencji położonej w pobliżu lub wręcz nakładającej się na sekwencję podobną do CRE, czy też raczej CaRE i CRE to jedno i to samo miejsce regulatorowe pośredniczące w odpowiedzi na aktywację dwóch różnych systemów wtórnych przekaźników? Właśnie ta druga możliwość została potwierdzona doświadczalnie, przy czym, jednocześnie wykazano, że czynnikiem transkrypcyjnym zaangażowanym w zależną od  $Ca^{2+}$  indukcję genu *c-fos* jest białko CREB (CRE, ang. binding protein), aktywowane poprzez fosforylację w procesie niezależnym od cAMP lecz, prawdopodobnie, wymagającym aktywności kinazy białkowej zależnej od  $Ca^{2+}$  i kalmoduliny (CaM kinaza) (SHENG i współaut. 1990).

Badania wskazujące, że poza miejscem CaRE także miejsce SRE może pośredniczyć w zależnej od  $Ca^{2+}$  indukcji genu *c-fos* przeprowadzono z wykorzystaniem komórek linii PC-12 oraz hodowanych *in vitro* neuronów (BADING i współaut. 1993, MISRA i współaut. 1994), posługując się metodyką zbliżoną do stosowanej w pracy SHENGA i współautorów (1990). W badaniach tych metodą transfekcji wprowadzano do komórek różne konstrukty zawierające gen *c-fos* człowieka: plazmid pF4, zawierający gen *c-fos* wraz z 5'-niekodującym odcinkiem długości 750 par zasad, plazmid pF222 z odcinkiem niekodującym długości 222 par zasad, plazmid pAF42 z odcinkiem niekodującym długości 42 par zasad (tzw. promotor minimalny), plazmid pAF42CaRE i plazmid pAF42SRE, w których minimalny promotor jest poprzedzony, odpowiednio, sekwencją CaRE lub SRE oraz plazmid pF222SRE otrzymany z plazmidu pF222 poprzez dodanie sekwencji SRE.

BADING i współautorzy (1993) stwierdzili, że zgodnie z oczekiwaniami, plazmid pF4 wprowadzony do neuronów odpowiadał znacznym wzrostem ekspresji genu *c-fos*, zarówno na pobudzenie komórek przez glutaminian, jaki i na depolaryzację wywołaną przez podwyższenie stężenia KCl w pożywce. Podobnie, zgodnie z oczekiwaniami, odpowiedzi takiej nie obserwowano w przypadku, pozbawionego wszystkich znanych miejsc regulatorowych, plazmidu pAF42. Z kolei, odpowiedź plazmidu pF222 (za-



wierającego miejsce CaRE, ale pozbawionego miejsca SRE) na glutaminian była dużo mniejsza niż plazmidu pF4 i całkowicie zależała od aktywności kanałów wapniowych typu L, co wykazano stosując inhibitor tych kanałów — nifedypinę. Odpowiedź tego plazmidu na depolaryzację nie różniła się istotnie od odpowiedzi plazmidu pF4 i również była zależna od kanałów wapniowych typu L. Zarówno depolaryzacja, jak i glutaminian wywoływały, chociaż w różnym stopniu, wzrost ekspresji genu *c-fos* w komórkach transfekowanych pAF42CaRE, pAF42SRE lub pF222SRE, przy czym, użycie nifedypiny i APV (antagonista receptorów NMDA) pozwoliło stwierdzić, że kanały wapniowe typu L uczestniczą w odpowiedzi na glutaminian za pośrednictwem miejsca CaRE, natomiast dla odpowiedzi za pośrednictwem miejsca SRE kluczowa jest aktywność kanałów NMDA, chociaż nie można w tym przypadku wykluczyć pewnego udziału kanałów typu L.

Angażująca miejsce SRE aktywacja genu *c-fos* często wymaga aktywności kinaz ERK i JNK zaliczanych do grupy kinaz MAP (ang. mitogen activated protein kinases). Co więcej, może ona zachodzić zarówno za pośrednictwem związanego z miejscem SRE czynnika transkrypcyjnego SRF (ang. serum response factor), jak i za pośrednictwem czynnika transkrypcyjnego TCF/Elk-1 (ang. ternary complex factor), który przyłącza się do miejsca SRE wyłącznie w obecności SRF (BIEDERMANN 1996). Ustalenie roli tych czynników w zależnej od  $Ca^{2+}$  indukcji genu *c-fos* w hodowanych *in vitro* neuronach korowych było przedmiotem badań przeprowadzonych z wykorzystaniem plazmidów ekspresyjnych kodujących, zawierających zmodyfikowane domeny rozpoznające sekwencję DNA, białka SRF i TCF/Elk-1. Wskutek tych modyfikacji białko SRF rozpoznawało sekwencję wiążącą drożdżowy czynnik transkrypcyjny MCM1, a białko TCF/Elk-1 sekwencję wiążącą bakteryjny czynnik LexA. Wykazano, że tak zmodyfikowane białka mogą w odpowiedzi na traktowanie neuronów glutaminianem indukować ekspresję genu *c-fos* z promotora minimalnego, poprzedzonego odpowiednią kombinacją sekwencji LexA i MCM. Co więcej, stwierdzono, że jednoczesna transfekcja neu-

ronów plazmidami kodującymi białka TCF/Elk-1 i SRF zapewnia silniejszą odpowiedź komórek na glutaminian, niż transfekcja samym plazmidem kodującym SRF, przy czym efektu takiego nie obserwuje się, gdy w białku TCF/Elk-1 dwie reszty seryny (Ser-383 i Ser-389), mogące ulegać fosforylacji przez ERK, zostaną zastąpione przez alaninę, ani też gdy do komórek wprowadzony zostanie wektor ekspresyjny z genem fosfatazy MKP-1, zdolnej do dezaktywacji kinaz MAP. Wyniki te wskazują, że glutaminian działając przez miejsce SRE, aktywuje dwa szlaki: pierwszy, zależny wyłącznie od czynnika SRF oraz drugi, zależny od czynnika TCF/Elk-1 i wymagający udziału kinaz MAP (XIA i współaut. 1996). Warto tu dodać, że w podobnych doświadczeniach z wykorzystaniem komórek linii PC-12 stwierdzono, że w zależnej od SRF a niezależnej od TCF indukcji ekspresji genu *c-fos* istotną rolę może odgrywać CaM kinaza IV (MIRIANTI i współaut. 1995).

Podsumowując można stwierdzić, że w zależnej od  $Ca^{2+}$  indukcji genu *c-fos* pośredniczą trzy czynniki transkrypcyjne: CREB, SRF i TCF, przy czym w aktywację czynników CREB i SRF jest zaangażowana kinaza zależna od wapnia i kalmoduliny (CaM kinaza IV), a w aktywację czynnika TCF — kinazy MAP. Należy również podkreślić, że

(i) wapń wchodzący do komórki różnymi drogami (kanały typu L i kanały receptorów NMDA) może indukować ekspresję genu *c-fos* poprzez różne mechanizmy,

(ii) o ile aktywacja CaM kinazy wydaje się być oczywistym następstwem wzrostu wewnątrzkomórkowego poziomu jonów wapnia, o tyle mechanizm pośredniczący w aktywacji kinaz MAP nie jest do końca poznany.

Istnieją dane wskazujące, że w tym ostatnim procesie może uczestniczyć fosfolipaza  $A_2$ , aktywująca szlak wtórnych przekaźników angażujący pochodne kwasu arachidonowego (LEREA i współaut. 1997). Warto również zaznaczyć, że w indukcji ekspresji genów innych niż *c-fos* mogą pośredniczyć inne zależne od  $Ca^{2+}$  mechanizmy, wymagające na przykład aktywacji fosfatazy białkowej, kalcyneuryny (KAMIŃSKA i współaut. 1996).

#### ROLA PRZEDZIAŁOWOŚCI KOMÓRKI W ZALEŻNEJ OD JONÓW WAPNIA INDUKCJI EKSPRESJI GENÓW

Jedną z możliwych przyczyn zróżnicowanego działania wapnia, napływającego do wnętrza komórki poprzez kanały typu L lub kanały receptorów NMDA jest heterogenność cyto-

plazmy, czyli mikrokompartamentacja komórki, wskutek której lokalny wzrost stężenia jonów wapnia może aktywować jedynie enzymy znajdujące się w dostatecznie bliskim sąsiedz-

twie odpowiednich kanałów wapniowych. Z drugiej strony, wzmożony napływ jonów wapnia może zmienić nie tylko cytoplazmatyczny lecz także jądrowy poziom tych jonów (AL-MOHANNA i współaut. 1994). Dlatego też interesujące było znalezienie odpowiedzi na pytanie: czy zmiany cytoplazmatycznego i jądrowego poziomu jonów wapnia mogą w różny sposób wpływać na indukcję ekspresji genów?

Odpowiedzią na to pytanie są wyniki badań przeprowadzonych z wykorzystaniem komórek nowotworowych, pochodzących z przysadki myszy (linia AtT20), transfekowanych plazmidami zawierającymi gen *c-fos* człowieka pozbawiony miejsca CaRE lub SRE (HARDINGHAM i współaut. 1997). Wprowadzając do ją-

der komórkowych metodą mikroiniekcji związany z wysokocząsteczkowym nośnikiem chelator jonów wapnia uzyskano znaczne zmniejszenie amplitudy zmian jądrowego poziomu jonów wapnia przy nie zmienionej amplitudzie, wywołanych aktywacją kanałów typu L, zmian cytosolowego poziomu tego jonu. Badając efekt mikroiniekcji chelatora na indukcję ekspresji genu *c-fos* stwierdzono, że zmiany cytosolowego poziomu jonów wapnia są wystarczające do aktywacji tego procesu za pośrednictwem miejsca SRE, natomiast zmiany jądrowego poziomu jonów wapnia są konieczne do indukcji ekspresji *c-fos* za pośrednictwem miejsca CaRE.

#### PODSUMOWANIE

Chociaż omówione w niniejszym artykule prace nie wyczerpują całości problemu i tak wyłania się z nich raczej skomplikowany obraz. Jak widać, w zależną od jonów wapnia indukcję ekspresji genu *c-fos* zaangażowane są:

(i) dwie różne drogi wejścia jonów wapnia do komórki (kanały typu L i kanały receptorów NMDA),

(ii) dwa różne sygnały wapniowe w komórce (cytosolowy i jądrowy),

(iii) zależna i niezależna od kalmoduliny aktywacja czynników transkrypcyjnych przez odpowiednie kinazy,

(iv) trzy różne czynniki transkrypcyjne (CREB, SRF, TCF), czy raczej rodziny czynników transkrypcyjnych oraz

(v) dwa miejsca regulatorowe promotora genu *c-fos* (CaRE i SRE). Zauważmy, że na każdym z właśnie wymienionych poziomów udział poszczególnych elementów w indukcji ekspresji genu *c-fos* może być różny w różnych komórkach, jak i nawet w różnych stanach fizjologicznych tej samej komórki. Ponieważ przebiegająca z udziałem miejsc CaRE i SRE aktywacja transkrypcji może wykorzystywać różne (także niezależne od  $Ca^{2+}$ ) mechanizmy, udział jonów wapnia w regulacji ekspresji genu *c-fos* należy zawsze rozpatrywać w szerszym kontekście, obejmującym interakcje między różnymi systemami wtórnych przekazników.

#### REGULATION OF GENE EXPRESSION BY CALCIUM IONS

#### S u m m a r y

Calcium ions in the cytoplasm are known to play a major role in signal transduction processes. It has been also shown that an increase in  $[Ca^{2+}]$  in the cytoplasm, resulting from membrane receptor activation, may provoke changes in gene expression. In this mini-review this problem is presented, the regulation of *c-fos* expression in neurons serving as an example of  $Ca^{2+}$ -driven response. The *c-fos* regulatory region encompasses two main calcium dependent elements, CaRE/CRE (Calcium/cAMP responsive element) and SRE (serum responsive element). The former interacts with CREB (CRE binding protein) transcription factor proteins, whereas the latter with SRF (serum response factor) and TCF (ternary complex factor)

transcription factors. The CaRE/CRE regulatory region requires increased nuclear  $Ca^{2+}$  level and may involve local CREB phosphorylation by CaMK IV (calcium/calmodulin-dependent protein kinase IV). On the other hand, activation of SRF and TCF originates in the cytoplasm, being dependent on mitogen activated protein kinase(s) pathway(s). Thus, the increases in *c-fos* expression may result from action of the same neurotransmitters, such as excitatory amino acids, acting through different receptors and involving various  $Ca^{2+}$  signal transduction pathways, separated due to microcompartmentation of the intracellular space.



## LITERATURA

- AL-MOHANNA F. A., CADDY K. W., BOLSOVER S. R., 1994. *The nucleus is insulated from large cytosolic calcium ion changes.* Nature 367, 745-750.
- BADING H., GINTY D. D., GREENBERG M.E., 1993. *Regulation of gene expression in hippocampal neurons by distinct calcium signaling pathways.* Science 260, 181-186.
- BADING H., SEGAL M. M., SUCHER N. J., DUDEK H., LIPTON S. A., GREENBERG M.E., 1995. *N-methyl-D-aspartate receptors are critical for mediating the effects of glutamate on intracellular calcium concentration and immediate early gene expression in cultured hippocampal neurons.* Neuroscience 64, 653-664.
- BIEDERMANN I. W., 1996. *Kinazy MAP i ich rola w regulacji poziomu, składu podjednostkowego oraz stopnia fosforylacji czynnika transkrypcyjnego AP-1.* Post. Biochem. 42, 244-252.
- GREENBERG M. E., GREENE L. A., ZIFF E. B., 1986. *Nerve growth factor and epidermal growth factor induce rapid transient changes in proto-oncogene transcription in PC-12 cells.* J.Biol. Chem. 260, 14101-14110.
- GREENBERG M. E., ZIFF E. B., GREENE L. A., 1985. *Stimulation of neuronal acetylcholine receptors induces rapid gene transcription.* Science 234, 80-83.
- HARDINGHAM G. E., CHAWLA S., JOHNSON C. M., BADING H., 1997. *Distinct functions of nuclear and cytoplasmic calcium in the control of gene expression.* Nature 385, 260-265.
- KACZMAREK L., 1993. *Glutamate-evoked gene expression in brain cells — Focus on transcription factors.* Amino Acids 7, 245-254.
- KACZMAREK L., KOSSUT M., SKANGIEL-KRAMSKA J., 1997. *Glutamate receptors in cortical plasticity: molecular and cellular biology.* Physiol. Rev. 77, 217-255.
- KAMIŃSKA B., MOSIENIAK G., WIŚNIEWSKA M., 1996. *Współdziałanie czynników transkrypcyjnych AP-1 i NFAT w procesie regulacji ekspresji genów.* Post. Biochem. 42, 120-128.
- LAUTERBORN J. C., RIVERA S., STINS C. T., HAYES V. Y., ISACKSON P. J., GALL C. M., 1996. *Differential effects of protein synthesis inhibition on activity-dependent expression of BDNF transcripts: evidence for IEG responses from specific promoters.* J. Neurosci. 16, 7428-7436.
- LEREA L. S., CARLSON N. G., SIMONATO M., MORROW J. D., ROBERTS J. L., MCNAMARA J. O., 1997. *Prostaglandin F2 $\alpha$  is required for NMDA receptor-mediated induction of c-fos mRNA in dentate gyrus neurons.* J. Neurosci. 17, 117-124.
- MIRANTI C. K., GINTY D. D., HUANG G., CHATILA T., GREENBERG M. E., 1995. *Calcium activates serum response factor-dependent transcription by a Ras- and Elk-1-independent mechanism that involves a Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent kinase.* Mol. Cell. Biol. 15, 3672-3684.
- MISRA R. P., BONNI A., MIRANTI C. K., RIVERA V. M., SHENG M., GREENBERG M. E., 1994. *L-type voltage-sensitive calcium channel activation stimulates gene expression by a serum response factor-dependent pathway.* J. Biol. Chem. 269, 25483-25493.
- MONTMINY J. M., BEVARINO K. A., WAGNER J. A., MANDEL G., GOODMAN R. H., 1986. *Identification of a cyclic AMP-responsive element within the rat somatostatin gene.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83, 6682-6686.
- MORGAN J. M., CURRAN T., 1986. *Role of ion flux in the control of c-fos expression.* Nature 322, 552-555.
- NEDIVI E., HEVRONI D., NAOI D., ISRAELI D., CITRI Y., 1993. *Numerous candidate plasticity-related genes revealed by differential cDNA cloning.* Nature 363, 718-721.
- NOWICKA D., 1994. *Geny kodujące receptory jonotropowe glutaminianu.* Post. Biochem. 40, 135-142.
- SHENG M., DOUGAN S.T., MCFADDEN G., GREENBERG M. E., 1988. *Calcium and growth factor pathways of c-fos transcriptional activation require distinct upstream regulatory sequences.* Mol. Cell. Biol. 8, 2787-2796.
- SHENG M., MCFADDEN G., GREENBERG M. E., 1990. *Membrane depolarisation and calcium induce c-fos transcription via phosphorylation of transcription factor CREB.* Neuron 4, 571-582.
- TSUKADA T., FINK J. S., MANDEL G., GOODMAN R.M., 1987. *Identification of a region in the human vasoactive intestinal peptide gene responsible for regulation by cyclic AMP.* J. Biol. Chem. 262, 8743-8747.
- XIA C., DUDEK H., MIRANTI C. K., GREENBERG M. E., 1996. *Calcium influx via NMDA receptor induces immediate early gene transcription by a MAP kinase/ERK-dependent mechanism.* J. Neurosci. 16, 5425-5436.