

KATARZYNA KWIATKOWSKA, ANDRZEJ SOBOTA

Zakład Biologii Komórki

Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN

ul. Pasteura 3, 02-093 Warszawa

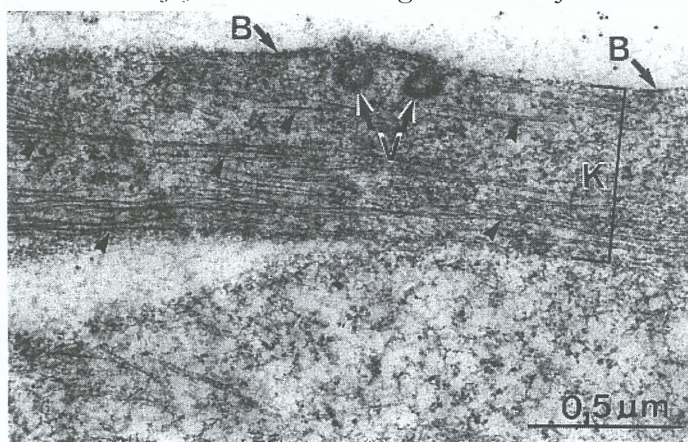
E-mail: kkwiat@nencki.gov.pl

ROLA WAPNIA W ORGANIZACJI CYTOSZKIELETU PODBŁONOWEGO

CYTOSZKIELET PODBŁONOWY

Szereg białek i lipidów błony komórkowej jest połączonych z cytoszkieletem. Podbłonowa część cytoszkieletu jest zbudowana głównie z filamentów aktynowych. Filamenty te są zorganizowane w gęstą, trójwymiarową sieć, która sprawia, że peryferyjna warstwa cytoplazmy, nazywana także korteksem, jest pozbawiona organelli komórkowych (ryc. 1). Zarówno organizacja przestrzenna kortykalnych filamentów aktynowych, jak i ich oddziaływanie z błoną komórkową, są kontrolowane przez białka, które wiążą aktynę. Przy ich udziale cytoszkielet podbłonowy zdolny jest do szybkiej przebudowy, do której dochodzi w odpowiedzi na pobudzenie receptorów błonowych przez szereg ligandów, takich jak chemoatraktanty czy czynniki wzrostu. Jednym z uniwersalnych zjawisk, wywoływanych przez aktywację receptorów błonowych w komórkach, od ameb aż do wyższych eukariota, jest wzrost stężenia jonów wapnia w cytoplazmie. Wpływając na czynności wielu białek wiążących aktynę, jony wapnia są kluczowym czynnikiem kontrolującym

reorganizację cytoszkieletu podbłonowego. Przebudowa tego cytoszkieletu współdecyduje o plastyczności błony komórkowej i leży u podstaw takich procesów, jak zmiany kształtu komórki, jej ruch, a także egzo- i endocytoza.



Ryc. 1. Ultrastruktura warstwy kortykalnej fibroblastu. Wyraźnie widoczne nagromadzenie filamentów aktynowych (groty strzałek).

B — błona komórkowa, V — powstające pęcherzyki endocytarne, K — korteks.

BIAŁKA WIĄŻĄCE AKTYNĘ, REGULOWANE PRZEZ JONY WAPNIA

Białka, których oddziaływanie z aktyną jest regulowane przez Ca^{2+} są wyszczególnione w tabeli 1. Pierwsza ich grupa obejmuje białka, które kontrolują długość filamentów aktynowych poprzez ich fragmentację, zakrywanie szybko rosnącego końca mikrofilamentów (tzw. koniec kolczasty, ang. barbed end) oraz nukleację, czyli tworzenie zarodków polimerizacji aktyny. Zjawiska te są przedstawione schematycznie na rycinie 2A. Białka tej grupy wykazują znaczny stopień homologii, a ich najlepiej poznanym przedstawicielem jest żelzolina (WEEDS i MACIVER 1993). Badania fragmentów żelzolini, otrzymanych drogą ograni-

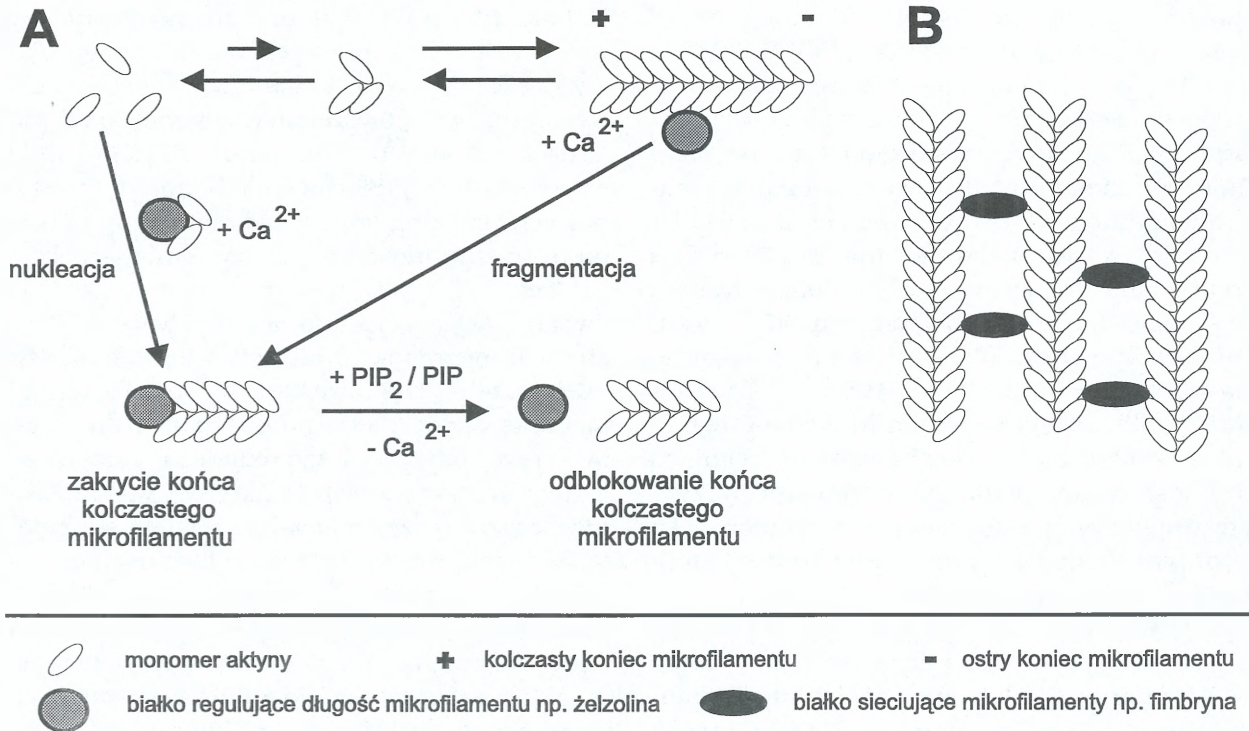
czonej proteolizy lub nadekspresji w bakteriach wykazały, że białko to jest zbudowane z 6 strukturalnie podobnych segmentów (ryc. 3). O wrażliwości żelzolini na Ca^{2+} decydują jej C-końcowe domeny S4–S6. Przy mikromolarnym stężeniu Ca^{2+} żelzolina wiąże się z filamentem aktynowym, a w oddziaływaniu tym pośredniczy domena S2 białka. Jej interakcja z mikrofilamentem wywołuje zmiany konformacyjne w domenie S1, która następnie narusza oddziaływania monomerów aktynowych wewnątrz filamentu i prowadzi do jego pęknięcia. Po fragmentacji mikrofilamentu żelzolina pozostaje z nim związana, zasłaniając jedno-

Tabela 1. Białka wiążące aktynę w sposób zależny od jonów wapnia

Białko	Masa cząsteczkowa (kDa)	Regulacja przez PIP ₂	Inne mechanizmy regulacji aktywności białek	Występowanie
1. Białka kontrolujące długość filamentów aktynowych				
Żelzolina	83	+	fosforylacja reszt tyrozynowych, proteoliza, zmiany pH	większość komórek, plazma krwi
Willina	92	+		mikrokosmki nabłonkowych komórek jelita i nerek
Scynderyna	80	+		komórki sekrecyjne
Seweryna	40	+		<i>Dictyostelium discoideum</i>
Fragmina	42	+	fosforylacja reszt tyrozynowych, i serynowych	<i>Physarum polycephalum</i>
CapG (gCap39/MCP)	39	+	fosforylacja reszt tyrozynowych, serynowych i treoninowych	makrofagi, fibroblasty
2. Białka sieciujące filamenty aktynowe				
α -Aktynina	2 x 100	+	interakcja z kwasem palmitynowym i dwuacyloglicerolem, zmiany pH	komórki mięśniowe
Fimbryna	68			mikrokosmki i filopodia komórek kurzych
L-plastyna	68		fosforylacja reszt serynowych	ludzkie leukocyty
I-plastyna				ludzkie komórki nabłonkowe jelita i nerek
T-plastyna				większość komórek ludzkich
Sac6p	72			drożdże
Białko wiążące	34			<i>Dictyostelium discoideum</i>
Willina	92	+		mikrokosmki nabłonkowych komórek jelita i nerek
3. Białka łączące filamenty aktynowe z innymi strukturami				
Aneksyna I	38		wiązanie kwasu fosfatydowego, fosfatydyloseryny i fosfatydyloinozytolu;	większość komórek
Aneksyna II	2 x 36 2 x 11		fosforylacja reszt tyrozynowych i serynowych	większość komórek
Aneksyna VI	68			większość komórek

cześnie jego koniec kolczasty. Wolny, ostry koniec filamentu (ang. pointed end) jest miejscem postępującej dysocjacji monomerów aktynowych. Niezależnie żelzolina może wiązać

monomery aktynowe, sprzyjając ich oligomeryzacji (nukleacja), zakrywając jednak przy tym szybko rosnący koniec powstających oligomerów. Końcowym efektem działania żelzo-

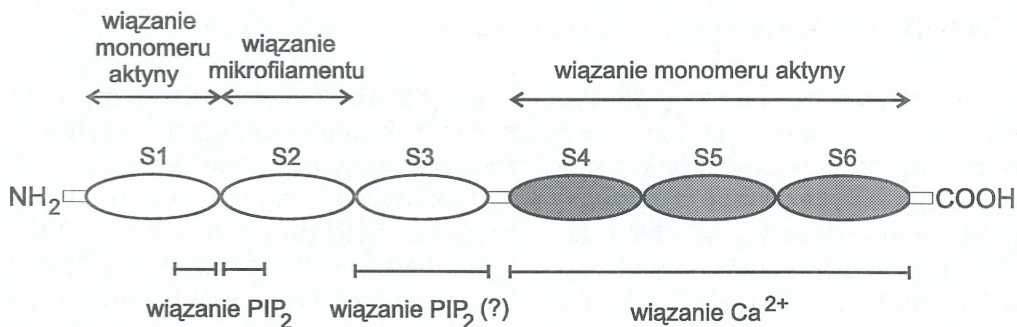


Ryc. 2. Schemat funkcjonowania białek kontrolujących długość filamentów aktynowych przez ich fragmentację, zakrycie końca kolczastego i nukleację polimeryzacji (A) i białek, które sieciują filamente aktynowe, organizując je w wiązki (B).

Szczegółowy opis mechanizmów działania tych białek zamieszczono w tekście.

liny w obecności Ca^{2+} jest zatem powstanie dużej ilości krótkich filamentów aktynowych, których polimeryzacja jest zahamowana z uwagi na zablokowanie ich końca kolczastego. Samo obniżenie stężenia jonów wapnia w środowisku nie wystarcza do odwrócenia efektów działania żelzoliny. Dopiero związanie fosfatydyloinozytola 4,5-bisfosforanu (PIP_2) lub fosfatydyloinozytola 4-monofosforanu (PIP) przez żelzolinę umożliwia rozpad kompleksów tego białka z aktyną oraz hamuje zależną od żelzoliny fragmentację filamentów aktynowych (JANMEY i STOSSEL 1987). Willina i scynderyna, 6-segmentowe białka występujące w komórkach wyższych eukariota, oraz fragmina i

seweryna, 3-segmentowe odpowiedniki żelzoliny odkryte w śluzowcach *Physarum* i *Dictyostelium*, działają w sposób analogiczny do żelzoliny (ryc. 2). Wyjątkiem w tej grupie białek jest CapG, które jedynie zakrywa koniec kolczasty filamentu aktynowego, nie jest jednak zdolne do jego fragmentacji (YU i współaut. 1990). Dalsze różnice dotyczą szczegółów budowy i regulacji białek omawianej grupy, a do ich wykrycia przyczyniły się między innymi badania nad tak zwanymi chimerami, czyli polipeptydami otrzymanymi drogą manipulacji DNA i „złożonymi” z fragmentów dwóch białek (YU i współaut. 1991, FINDORI i współaut. 1992). Jedną z tych różnic jest przesunięcie

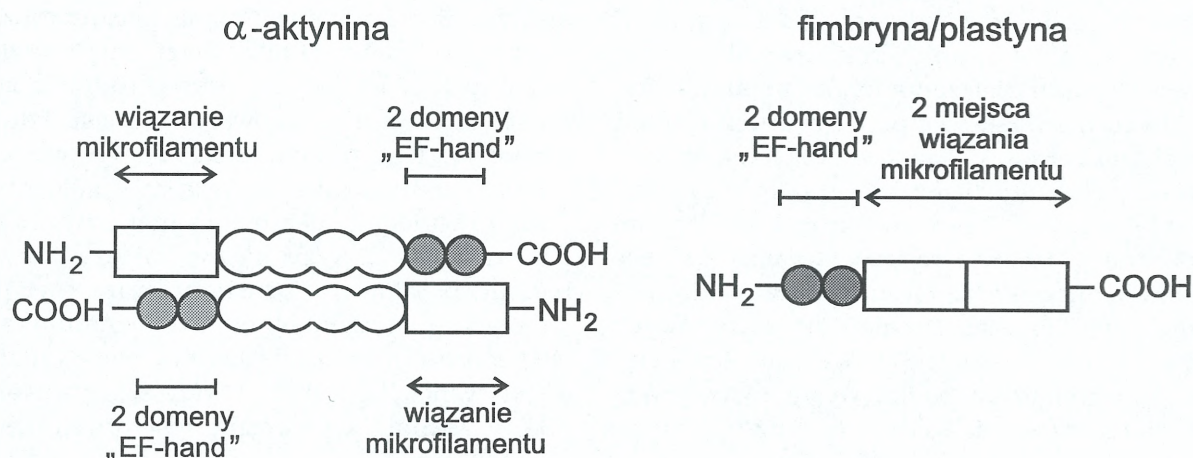


Ryc. 3. Schemat budowy żelzoliny.

miejsce wiązania Ca^{2+} do N-terminalnej części białek pokrewnych żelzolinie (WEEDS i MACIVER 1993). Odmienność jest również ich wrażliwość na wapń, na przykład willina wymaga prawie milimolarnego stężenia Ca^{2+} do osiągnięcia maksimum zdolności fragmentacji mikrofilamentów (JANMEY i MATSUDAIRA 1988). Ponadto, w przypadku williny, scynderyny i CapG samo obniżenie stężenia jonów wapnia w środowisku, nawet bez udziału PIP_2 , wywołuje dysocjację kompleksów tych białek z aktyną (JANMEY i MATSUDAIRA 1988, YU i współaut. 1990). Dzięki różnicom funkcjonalnym, a także dodatkowym mechanizmom regulacji (np. fosforylacji) białka omawianej grupy, często współwystępujące ze sobą w komórce, są istotnym elementem precyzyjnej kontroli stopnia polimeryzacji komórkowej aktyny.

Białka, które sieciują filamenty aktynowe i organizują je w równoległe wiązki, tworząc odrębną grupę białek cytoszkieletalnych regulowanych przez Ca^{2+} (tab. 1). Wspólną cechą tych białek (z wyjątkiem williny) jest posiadanie dwóch wyspecjalizowanych domen, tak zwanych domen „EF-hand”, które służą wiązaniu jonów wapnia (ryc. 4). Domeny te zawdzięczają swą nazwę swoistej strukturze trzeciorzędowej i występują także w wielu innych

HARRICANE 1993). Podobne zróżnicowanie we wrażliwości na wapń wykazują fimbryna, plastyny i Sac6p, rodzina homologicznych białek, występujących powszechnie w komórkach eukariota (DE ARRUDA i współaut. 1990, NAMBA i współaut. 1992). Sieciowanie filamentów aktynowych przez białka omawianej grupy polega na tworzeniu mostków między tymi filamentami (ryc. 2B) i jest możliwe dzięki obecności dwóch miejsc wiązania aktyny w tych białkach. W przypadku fimbryny i jej homologów miejsca te są zlokalizowane w obrębie tej samej cząsteczki; α -aktynina natomiast funkcjonuje jako dimer, którego składowe wnoszą po jednym miejscu wiązania aktyny (ryc. 4). Różnice w strukturze omawianych białek sprawiają, że pęczki mikrofilamentów formowane przy udziale α -aktyniny są luźne, natomiast tworzone przez fimbrynę są gęsto upakowane i stanowią podporę niektórych pseudopodiów, na przykład palcowatych filopodiów powstających w czole migrującej komórki. Willina jest wyjątkiem w omawianej grupie białek; budową odpowiada ona żelzolinie, a o jej właściwościach sieciujących decyduje dodatkowa sekwencja aminokwasowa zlokalizowana na C-końcu (WEEDS i MACIVER 1993). Jony wapnia wpływają destrukcyjnie na wiązki filamentów two-



Ryc. 4. Schemat budowy α -aktyniny i białek z rodziny fimbryny.

białkach regulowanych przez jony wapnia. Badania α -aktyniny ze śluzowca *Dictyostelium* wykazały, że różnice w doborze aminokwasów budujących domeny „EF-hand” tego białka decydują o odmiennym powinowactwie tych domen do Ca^{2+} i ich różnym wpływie na sieciujące właściwości α -aktyniny (WITKE i współaut. 1993). Wyjątkowo, niektóre izoformy α -aktyniny (w tym α -aktynina z mięśni), z uwagi na niekompletną budowę domen „EF-hand”, nie są zdolne do wiązania jonów wapnia (PACAUD i

zrzone przez białka omawianej grupy. W mikromolarnych stężeniach Ca^{2+} białka te tracą zdolność wiązania mikrofilamentów, a willina dodatkowo staje się białkiem fragmentującym te filamenty (NAMBA i współaut. 1992, WEEDS i MACIVER 1993, WITKE i współaut. 1993). Uwagę zwraca fakt, że aktywność α -aktyniny, podobnie jak białek z grupy żelzolin, jest dodatkowo regulowana przez PIP_2 , w obecności którego zdolności sieciujące α -aktyniny są wzmacniane (FUKAMI i współaut. 1992). Do-

świadczenia *in vivo* wykazały, że właściwe usieciowanie filamentów odgrywa istotną rolę w funkcjonowaniu cytoszkieletu podbłonowego. Ekspresja L-plastyny w drożdżach pozbawionych Sac6p i α -aktyliny w mutantach *Dictyostelium* pozbawionych tego białka przywracała tym komórkom ich normalny fenotyp, między innymi prawidłową organizację aktyny, zdolność do migracji i endocytozy (WITKE i współaut. 1993, ADAMS i współaut. 1995).

Białka z rodziny aneksyn zamykają listę białek, których interakcja z aktyną jest regulowana przez jony wapnia (tab. 1). W obecności wapnia aneksyny I, II i VI wiążą filamenty aktynowe, a aneksyna II organizuje je w wiązki (IKEBUCHI i WAISMAN 1990). Ponieważ zasadniczą właściwością aneksyn jest zależność od Ca^{2+} wiązanie anionowych fosfolipidów sugerowano, że aneksyny mogą pośredniczyć w łączeniu mikrofilamentów z błoną komórkową. Dotąd jednak brak jednoznacznych dowodów potwierdzających to założenie. Z punktu widzenia organizacji cytoszkieletu podbłonowego interesujący jest natomiast wpływ aneksyny VI na spektrynę. Spektryna to główny składnik cytoszkieletu erytrocytów a białka jej pokrewne występują powszechnie w komórkach eukariota (KWIATKOWSKA i SOBOTA 1997). Przy udziale kilku białek asystujących, białka z rodziny spektryny sieciują filamenty aktynowe, organizując je w podbłonową siateczkę. Jednocześnie pośredniczą one też w wiązaniu powstałej sieci aktynowej z błoną komórkową. Interakcja spektryny mózgowej z aktyną jest przez aneksynę VI osłabiana (WATANABE i współaut. 1994).

Z różnorodnych efektów, wywieranych przez jony wapnia na poszczególne białka

wiążące aktynę, wylania się następująca prawidłowość: białka, które fragmentują filamenty aktynowe, na przykład żelzolina, są aktywowane przez Ca^{2+} , natomiast większość białek sieciujących mikrofilamenty, na przykład α -aktylina czy plastyny, jest przez Ca^{2+} hamowana. Podobny, destrukcyjny wpływ na organizację cytoszkieletu aktynowego mają także kompleksy tworzone przez wapń z białkiem regulatorowym — kalmoduliną (CaM). Pod wpływem Ca/CaM może ulec rozpadowi podbłonowa sieć spektrynowo-aktynowa. Kompleksy Ca/CaM są wiązane przez białka, które asystują w interakcji spektryny z aktyną, to jest białko 4.1 i adducynę (TANAKA i współaut. 1991). Wywołane tą drogą osłabienie zdolności sieciujących spektryny ma efekt dodatkowy w postaci odłączenia filamentów aktynowych od błony komórkowej. Ca/CaM i Ca^{2+} mogą też aktywować proteazy, które degradują białka z rodziny spektryny a zjawisko takie ma istotne znaczenie przy reorganizacji cytoszkieletu podbłonowego płytek krwi. Jeszcze innym sposobem regulacji struktury cytoszkieletu przez Ca/CaM jest aktywacja kinaz białkowych. Dobrze poznanym substratem zależnej od Ca/CaM kinazy II jest synapsyna I, występująca w dużych ilościach w zakończeniach nerwowych. Ufosforylowana synapsyna I oddysocjowuje od filamentów aktynowych oraz błony pęcherzyków presynaptycznych, przyczyniając się do destabilizacji tak zwanej podbłonowej „bariery cytoszkieletalnej”. Formujące tę barierę mikrofilamenty wiążą pęcherzyki egzocytarne i oddzielają je od błony presynaptycznej w komórkach spoczynkowych, uniemożliwiając spontaniczną sekrecję neurotransmiterów (TRIFARO i VITALE 1993).

DWUSTOPNIOWY MODEL PRZEBUDOWY CYTOSZKIELETU PODBŁONOWEGO

Ostatecznym efektem działania jonów wapnia na białka wiążące aktynę jest destabilizacja i rozpad podbłonowego cytoszkieletu aktynowego. Mikroskopisci określili to zjawisko mianem przejścia kortykalnej warstwy cytoplazmy z fazy żelu w zol. Ponieważ wpływ wapnia na aktywność szeregu białek wiążących aktynę może zostać odwrócony przez PIP i PIP_2 (tab. 1), Stossel zaproponował dwuetapowy model przebudowy cytoszkieletu podbłonowego, odzwierciedlający oscylacje Ca^{2+} i PIP_2 w komórce. Proponowany schemat wydarzeń wyjaśnia między innymi zjawisko migracji komórek i egzocytozę (STOSSEL 1993). Jego

pierwszy etap obejmuje rozpad cytoszkieletu podbłonowego, wywołany wzrostem wewnątrzkomórkowego stężenia jonów wapnia. Impulsem do takiej zmiany jest lokalne pobudzenie receptorów błonowych. Należą do nich między innymi receptory mające aktywność kinaz tyrozynowych i receptory zasocjowane z białkami G. Receptory te aktywują różne izoformy fosfolipazy C (PLC), których substratem jest błonowy PIP_2 . Powstający w wyniku hydrolizy PIP_2 trójfosforan inozytolu (IP_3) jest z kolei wiązany przez swoiste receptory, umiejscowione w błonie retikulum endoplazmatycznego, głównego magazynu wapnia w komórce. Związanie

IP₃ indukuje uwolnienie Ca²⁺ do cytoplazmy. Jony wapnia mogą też wnikać do wnętrza komórki przez kanały wapniowe zależne od potencjału błony komórkowej. W konsekwencji opisanych wydarzeń stężenie Ca²⁺, sięgające średnio 100 nM w komórkach spoczynkowych, może wzrosnąć około dziesięciokrotnie. Wzrost stężenia jonów wapnia prowadzi do naruszenia sieci spektrynowo-aktynowej i rozpadu wiązek aktynowych, stabilizowanych przez α -aktynę lub białka z rodziny fimbryny. Uaktywniają się też białka fragmentujące mikrofilamenty i nukleujące ich oligomeryzując, na przykład żelolina, a ich działanie owocuje uformowaniem dużej ilości krótkich filamentów, zdolnych do polimeryzacji po odblokowaniu końca kolczastego. Upłynnienie podbłonowego układu filamentów aktynowych sprzyja odkształceniom i ekspansji błony komórkowej. Deformacje błony komórkowej są spowodowane wzrostem ciśnienia osmotycznego w kortykalnej cytoplazmie lub ciśnienia hydrostatycznego, generowanego wewnątrz komórki. W komórkach sekrecyjnych i neuronach ta faza prowadzi do rozpadu „bariery cytoszkieletalnej”, umożliwiając tym samym swobodną dyfuzję pęcherzyków w kierunku błony komórkowej i egzocytózę (MUALLEM i współaut. 1995). Dominującą rolę w destabilizacji tej struktury mikrofilamentarnej przypisuje się

synapsynie I i scynderynie (TRIFARO i VITALE 1993, ZHANG i współaut. 1996).

Druga faza reorganizacji cytoszkieletu podbłonowego to jego odbudowa i stabilizacja. Wywołana jest postępującym spadkiem stężenia jonów wapnia i syntezą PIP₂ w błonie komórkowej. PIP₂ indukuje dysocjację białek zakrywających końce kolczaste filamentów aktynowych, które w drodze dyfuzji dotarły do błony komórkowej. Przy aktywnym udziale profiliny, białka wiążącego monomery aktynowe i przenoszącego je na dostępne końce kolczaste mikrofilamentów, dochodzi do polimeryzacji aktyny. Uformowane w wiązki lub w sieć filamenty te stają się podporą powstających pseudopodiów w migrujących komórkach lub odbudowują podbłonową „barierę cytoszkieletalną” w komórkach sekrecyjnych i neuronach.

Obserwacje komórek, w których drogą genetyczną zaburzono ekspresję żeloliny i CapG potwierdzają kluczową rolę tych białek w mechanizmach rządzących ruchem komórki. Fibroblasty z nadekspresją żeloliny i CapG migrują szybciej niż komórki macierzyste, natomiast migracja neutrofilów i fibroblastów izolowanych z transgenicznymi myszy pozbawionych żeloliny jest spowolniona a zmiany kształtu płytek krwi ograniczone (CUNNINGHAM i współaut. 1991, SUN i współaut. 1995, WITKE i współaut. 1995).

CYTOSZKIELET JAKO MODULATOR SYGNAŁÓW WEWNĄTRZKOMÓRKOWYCH

Wyniki badań ostatnich lat wykazały, że rola cytoszkieletu podbłonowego nie ogranicza się do odbierania i reagowania na sygnały, w tym zmiany poziomu wapnia, które są generowane po pobudzeniu receptorów błonowych. Wybrane białka cytoszkieletalne mogą też aktywnie modulować mechanizm powstawania tych sygnałów. Podstawą takich sugestii stały się odkrycia, że profilina i żelolina, wiążąc PIP₂, hamują aktywność niektórych izoform PLC, których PIP₂ jest substratem (GOLDSCHMIDT-CLERMONT i współaut. 1991, BANNO i współaut. 1992). W przypadku żeloliny i białek jej pokrewnych, oprócz konkurencji o substrat, jest możliwe również bezpośrednie oddziaływanie z PLC (BANNO i współaut. 1992). Opisany mechanizm regulacji aktywności PLC funkcjonuje *in vivo*, jak wykazały badania fi-

broblastów z nadekspresją CapG. W odpowiedzi na pobudzenie czynnikiem wzrostu w komórkach tych obserwowano wzmożoną hydrolizę PIP₂, wyższy poziom powstającego tą drogą IP₃, wyższy i dłużej trwający wzrost stężenia wewnątrzkomórkowego wapnia (SUN i współaut. 1995). Uważa się, że białka wiążące PIP₂ sprzyjają jego grupowaniu w błonie komórkowej i ułatwiają jego hydrolizę po pobudzeniu komórki i aktywacji PLC, gdy hamujący wpływ białek cytoszkieletalnych na aktywność PLC zostaje zniesiony (GOLDSCHMIDT-CLERMONT i współaut. 1991, SUN i współaut. 1995). Niezależnie inne białka cytoszkieletu, na przykład L-plastyna, mogą modulować poziom komórkowego wapnia, kontrolując jego uwalnianie z magazynów wewnątrzkomórkowych (ROSALES i współaut. 1994).

Autorzy dziękują Magister Agnieszce Strzeleckiej za pomoc w przygotowaniu schematów.

THE ROLE OF CALCIUM IN ORGANIZATION OF THE SUBMEMBRANE CYTOSKELETON

Summary

The structure of actin-based submembrane cytoskeleton is defined by the activity of actin-binding proteins, some of which are regulated by calcium ions and calcium/calmodulin complexes. Among the proteins controlled by calcium ions three classes can be distinguished: (a) proteins which sever and cap actin filaments as well as nucleate their polymerization, (b) proteins bundling actin filaments, (c) proteins that link microfilaments to other structures. The cumulative effect of the rise of cellular cal-

cium level is disintegration of submembrane cytoskeleton. The effect of calcium on some actin-binding proteins can be reversed by PIP_2 . Therefore, a two-step model of the cytoskeleton reorganization has been proposed. The model reflects oscillations of Ca^{2+} and PIP_2 levels that are induced in cells by ligation of plasma membrane receptors and explains phenomena of cell movement and exocytosis. Recently, it has been suggested that the cytoskeleton can also reciprocally modulate the membrane signalling.

LITERATURA

- ADAMS A. E. M., SHEN W., LIN C. -S., LEAVITT J., MATSUDAIRA P., 1995. *Isoform-specific complementation of the yeast sac6 null mutation by human fimbrin*. Molec. Cell. Biol. 15, 69–75.
- BANNO Y., NAKASHIMA T., KUMADA T., EBISAWA K., NONOMURA Y., NOZAWA Y., 1992. *Effects of gelsolin on human platelet cytosolic phosphoinositide-phospholipase C isozymes*. J. Biol. Chem. 267, 6488–6494.
- CUNNINGHAM C. C., STOSSEL T. P., KWIATKOWSKI D. J., 1991. *Enhanced motility in NIH 3T3 fibroblasts that overexpress gelsolin*. Science 251, 1233–1236.
- DE ARRUDA M. V., WATSON S., LIN C. -S., LEAVITT J., MATSUDAIRA P., 1990. *Fimbrin is a homologue of the cytoplasmic phosphoprotein plastin and has domains homologous with calmodulin and actin gelation proteins*. J. Cell Biol. 111, 1069–1079.
- FINIDORI J., FRIEDERICH E., KWIATKOWSKI D. J., LOUVARD D., 1992. *In vivo analysis of functional domains from villin and gelsolin*. J. Cell Biol. 116, 1145–1155.
- FUKAMI K., FURUHASHI K., INAGAKI M., ENDO T., HATANO S., TAKENAWA T., 1992. *Requirement of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate for α -actinin function*. Nature 359, 150–152.
- GOLDSCHMIDT-CLERMONT P. J., KIM J. W., MACHESKY L. M., RHEE S. G., POLLARD T. D., 1991. *Regulation of phospholipase-C γ 1 by profilin and tyrosine phosphorylation*. Science 251, 1231–1233.
- IKEBUCHI N. W., WAISMAN D. M., 1990. *Calcium-dependent regulation of actin filament bundling by lipocortin-85*. J. Biol. Chem. 265, 3392–3400.
- JANMEY P. A., MATSUDAIRA P. T., 1988. *Functional comparison of villin and gelsolin*. J. Biol. Chem. 263, 16738–16743.
- JANMEY P. A., STOSSEL T. P., 1987. *Modulation of gelsolin function by phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate*. Nature 325, 362–364.
- KWIATKOWSKA K., SOBOTA A., 1997. *Local accumulation of α -spectrin-related protein under plasma membrane during capping and phagocytosis in Acanthamoeba*. Cell Motil. Cytoskeleton 36, 253–265.
- NAMBA Y., ITO M., ZU Y., SHIGESADA K., MARUYAMA K., 1992. *Human T-cell L-plastin bundles actin filaments in a calcium-dependent manner*. J. Biochem. 112, 503–507.
- MUALLEM S., KWIATKOWSKA K., XU X., YIN H. L., 1995. *Actin filament disassembly is a sufficient final trigger for exocytosis in nonexcitable cells*. J. Cell Biol. 128, 589–598.
- PACAUD M., HARRICANE M. C., 1993. *Macrophage α -actin is not a calcium-modulated actin-binding protein*. Biochemistry 32, 363–374.
- ROSALES C., JONES S. L., MCCOURT D., BROWN E. J., 1994. *Bromophenacyl bromide binding to the actin-bundling protein L-plastin inhibits inositol trisphosphate-independent increase in Ca^{2+} in human neutrophils*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91, 3534–3538.
- STOSSEL T. P., 1993. *On the crawling of animal cells*. Science 260, 1086–1094.
- SUN H. -Q., KWIATKOWSKA K., WOOTEN D. C., YIN H. L., 1995. *Effects of CapG overexpression on agonist-induced motility and second messenger generation*. J. Cell Biol. 129, 147–156.
- TANAKA T., KADOWAKI K., LAZARIDES E., SOBUE K., 1991. *Ca^{2+} -dependent regulation of the spectrin/actin interaction by calmodulin and protein 4.1*. J. Biol. Chem. 266, 1134–1140.
- TRIFARO J. -M., VITALE M. L., 1993. *Cytoskeleton dynamics during neurotransmitter release*. Trends in Neurosci. 16, 466–472.
- WATANABE T., INUI M., CHEN B. -Y., IGA M., SOBUE K., 1994. *Annexin VI-binding proteins in brain*. J. Biol. Chem. 269, 17656–17662.
- WEEDS A., MACIVER S., 1993. *F-actin capping proteins*. Curr. Opin. Cell Biol. 5, 63–69.
- WITKE W., HOFMANN A., KÖPPEL B., SCHLEICHER M., NOEGEL A. A., 1993. *The Ca^{2+} -binding domains in non-muscle type α -actinin: biochemical and genetic analysis*. J. Cell Biol. 121, 599–606.
- WITKE W., SHARPE A. H., HARTWIG J. H., AZUMA T., STOSSEL T. P., KWIATKOWSKI D. J., 1995. *Hemostatic, inflammatory, and fibroblast responses are blunted in mice lacking gelsolin*. Cell 81, 41–51.
- YU F.-X., JOHNSTON P. A., SÜDHOF T. C., YIN H. L., 1990. *gCap39, a calcium ion- and polyphosphoinositide-regulated actin capping protein*. Science 250, 1413–1415.
- YU F.-X., ZHOU D., YIN H. L., 1991. *Chimeric and truncated gCap39 elucidate the requirements for actin filament severing and end capping by the gelsolin family of proteins*. J. Biol. Chem. 266, 19269–19275.
- ZHANG L. M., MARCU M. G., NAU-STAUDT K., TRIFARO J. -M., 1996. *Recombinant scinderin enhances exocytosis, an effect blocked by two scinderin-derived actin-binding peptides and PIP_2* . Neuron 17, 287–296.