

KONRAD S. FAMULSKI

Molecular Oncology Program, Cross Cancer Institute

Edmonton, Alberta, T6G 1Z2, Canada

E-mail: kfamulsk@gpu.srv.ualberta.ca

KALRETIKULINA — BIAŁKO O WIELU OBLCZACH

WSTĘP

Wewnątrzkomórkowe jony wapnia pełnią rolę wtórnego przekaźnika sygnałów, który kontroluje tak różnorodne procesy, jak przemiany metaboliczne lipidów i węglowodanów, syntezę i wydzielanie hormonów i neuroprzekaźników, skurcz mięśni i ruchliwość oraz aktywność mitotyczną (CARAFOLI 1987). Krótkotrwałe zmiany wewnątrzkomórkowego stężenia Ca^{2+} są odpowiedzialne za sprzężenie elektrycznych lub chemicznych impulsów wytwarzanych na poziomie błony plazmatycznej, z funkcją różnorodnych układów w komórce. Prawidłowa homeostaza jonów wapnia w komórce jest wynikiem współdziałania układów transportujących Ca^{2+} wbrew gradientowi stężenia tego kationu i białek wiążących Ca^{2+} . Jony wapnia, okresowo napływające do komórki, są gromadzone w cysternach siateczki sarkoplazmatycznej lub endoplazmatycznej (SR lub ER). Ich stężenie w cytoplazmie podlega gwałtownym zmianom, które są wykładnikiem aktywacji kanałów wapniowych znajdujących się w SR/ER, aktywności SR/ER Ca-ATPazy i stymulacji napływu zewnątrzkomórkowego Ca^{2+} (POZZAN i współaut. 1994). Wypływ Ca^{2+} z SR/ER powoduje wzrost stężenia jonów wapnia w cytoplazmie, co odgrywa kluczową rolę w regulacji zależnych od Ca^{2+} procesów komórkowych. Natomiast nadmierna lub przedłużona akumulacja jonów wapnia w cytoplazmie prowadzi do śmierci komórki. Stąd też mechanizmy odpowiedzialne za utrzymanie wewnątrzkomórkowej homeostazy jonów wapnia muszą spełniać wyjątkowo surowe kryteria. Podczas gdy całkowite stężenie wapnia w cysternach SR/ER osiąga wartości rzędu 10^{-3} M, stężenie wapnia w formie zjonizowanej jest przynajmniej tysiącrotnie niższe. Świadczy to o obecności we wnętrzu błon SR/ER bardzo wydajnego układu wiążącego jony wapnia. Białka wchodzące w skład tego układu muszą

pełnić dwie, niejako przeciwstawne, funkcje: wiązać Ca^{2+} z dużą wydajnością, aby w ten sposób umożliwić Ca-ATPazie wydajny transport jonów wapnia z cytosolu do cystern SR/ER, ale z niskim powinowactwem, co z kolei pozwala na uwolnienie Ca^{2+} z SR/ER. Do tej pory scharakteryzowano kilkanaście białek wiążących jony wapnia, które znajdują się w SR/ER.

Kalsekwestryna jest najbardziej rozpoznawanym białkiem SR wiążącym jony wapnia. Jej główną rolą jest podtrzymywanie akumulacji Ca^{2+} w cysternach SR mięśnia sercowego i mięśni szkieletowych (MILNER i współaut. 1992). Wiązanie jonów wapnia przez to białko obniża ich stężenie wewnątrz cystern. Ma to dwojakie znaczenie. Po pierwsze, zwiększa pojemność wewnątrzkomórkowych magazynów wapnia i po drugie, ułatwia Ca-ATPazie transport Ca^{2+} do wnętrza SR. Postuluje się także, iż kalsekwestryna może oddziaływać z kanałem wapniowym SR, regulując wpływ jonów wapnia z siateczki sarkoplazmatycznej. Kalsekwestrynę charakteryzuje duża wydajność wiązania jonów wapnia (40 do 50 moli jonu jest wiązane przez mol białka), ale umiarkowane powinowactwo (stała dysocjacji kompleksu białko- Ca^{2+} równa się 1×10^{-3} mola).

Kalsekwestryna jest głównym, ale nie jedynym białkiem wiążącym Ca^{2+} w SR. Poza nią zidentyfikowano sarkolumeninę, białko bogate w histydynę (HCP), endoplazminę (Grp94), wielofunkcyjną izomerazę dwusiarczków (PDI), białko aktywowane przez glukozę (BiP) i kalretikulinę, zwaną początkowo białkiem o wysokim powinowactwie do Ca^{2+} lub kalreguliną (MILNER i współaut. 1992). Kalretikulina występuje w SR komórek mięśni szkieletowych jedynie w niewielkich ilościach i na tej podstawie sądzi się, iż nie pełni ona znaczącej roli w homeostazie jonów wapnia. Natomiast kalreti-

kulina jest głównym białkiem wiążącym Ca^{2+} , obecnym w SR komórek mięśni gładkich i w ER komórek niemięśniowych (MICHALAK i współaut. 1992, MILNER i współaut. 1992, NASH i współaut. 1994). Kalretikulina posiada dwa miejsca wiążące jony wapnia. Jedno charakteryzuje się wyższym powinowactwem do Ca^{2+} ($K_d = 1 \text{ mM}$), ale wiąże tylko jeden jon wapnia. Drugie natomiast wykazuje niższe powinowactwo ($K_d = 0,25\text{--}2,0 \text{ mM}$), ale dużą po-

jemność (25 moli Ca^{2+} /mol białka). W ciągu ostatnich lat zainteresowanie kalretikulina wzrosło wręcz lawinowo. Dowodem na to są między innymi międzynarodowe sympozja poświęcone wyłącznie roli tego białka w regulacji tak różnorodnych funkcji komórkowych, jak homeostaza jonów wapnia, ekspresja genów, adhezja komórkowa czy kształtowanie dojrzających białek (KRAUSE i MICHALAK 1996).

KALRETIKULINA — BIAŁKO I GEN

Uzyskanie sekwencji cDNA kodującego pierwszorzędowną strukturę białka oraz ekspresja i analiza chimer białkowych zawierających różne odcinki łańcucha peptydowego, pozwoliły na uzyskanie szeregu informacji, dotyczących strukturalnej i funkcjonalnej organizacji kalretikuliny (FLIEGEL i współaut. 1989, BAKSH i MICHALAK 1991). W cząsteczce kalretikuliny można wydzielić trzy domeny funkcjonalne i trzy sekwencje sygnałowe.

Sekwencja sygnałowa N-końca obejmuje 17, głównie hydrofobowych, reszt aminokwasowych. Kieruje ona kalretikulinę do wnętrza ER, gdzie fragment ten jest następnie usuwany. Sekwencja sygnałowa C-końca — KDEL (cztery końcowe aminokwasy) jest odpowiedzialna za pozostawanie białka w ER. Ponadto w cząsteczce kalretikuliny znajduje się sekwencja PPKKIKDPD sygnalizująca możliwość translokacji tego białka do jądra komórkowego.

Trzy domeny funkcjonalne kalretikuliny: N, P i C pełnią zgoła odrębne funkcje. Domena N obejmuje reszty aminokwasowe 1–180. Jest ona unikalna dla kalretikuliny i uległa zachowaniu w trakcie ewolucji. Domena N wiąże się z receptorami hormonów sterydowych, jak i z syntetycznym peptydem KLGFFKR, którego sekwencja odpowiada fragmentowi podjednostki α -integryny. Ponadto postuluje się, że ta domena może być odpowiedzialna za wiązanie jonów cynku. Przewidywana struktura przestrzenna domeny N to dwa przeciwbieżne, równoległe łańcuchy o strukturze β . Domena P obejmuje reszty aminokwasowe 181–280 i jest wzbogacona w reszty proliny. W jej obrębie można wyróżnić trzykrotnie powtarzające się sekwencje PXXIXDPDAXKPEDWDE (sekwencja A) i GXWXPPXIXXPXYX (sekwencja B). Także i te sekwencje uległy zachowaniu w ewolucji. Na uwagę zasługuje fakt, że sekwencje te są również obecne w cząsteczce kalneksyny, która pełni rolę białka opiekuńczego

(ang. chaperone) (BERGERON i współaut. 1994). W domenie P przewiduje się występowanie trzech struktur przestrzennych typu helisa-pętla-helisa. Wykazują one pewne podobieństwo do struktury „EF-hand” w cząsteczce kalmoduliny i są prawdopodobnie odpowiedzialne za tworzenie miejsca o wysokim powinowactwie do Ca^{2+} . Domena C obejmuje reszty aminokwasowe 281–401. Charakteryzuje ją duża liczba (37) kwaśnych reszt aminokwasowych (NASH i współaut. 1994) i w niej znajduje się miejsce o niskim powinowactwie, ale dużej pojemności wiązania Ca^{2+} . Ostatnie cztery reszty aminokwasowe domeny C-KDEL powodują, że dojrzała cząsteczka kalretikuliny pozostaje w błonach ER. Kalretikulina wiąże się także z receptorem białek zawierających tę sekwencję. Domena C wiąże się *in vitro* z innymi białkami ER (BURNS i MICHALAK 1993) oraz z czynnikami krzepliwości krwi IX, X i protrombiną (KUWABARA i współaut. 1993). Sekwencja aminokwasów występujących w obrębie domeny C wykazuje pewne podobieństwo do sekwencji aminokwasów kalsekwestryny, PDI, BiP oraz Grp94 (NASH i współaut. 1994).

Kalretikulina pojawiła się prawdopodobnie na późniejszych etapach ewolucji. Znajduje się ją w zwierzęcych i roślinnych organizmach tkankowych. Nie spotyka się jej natomiast u drożdży. Niewątpliwie organizmy tkankowe czerpią jakąś korzyść z obecności kalretikuliny, a jej pojawienie się było znaczącym wydarzeniem w ewolucji, skoro cząsteczki tego białka obecne w organizmie człowieka, szczyra, królika i mięczaka wykazują 90% zgodności w sekwencji aminokwasów (MCCAULIFFE i współaut. 1992). Jak wspomniano sekwencje A i B, znajdujące się w obrębie domeny P kalretikuliny, są obecne także w kalneksynie. Ten wysoki stopień podobieństwa domeny P obu białek sugeruje, że kalretikulina mogła powstać w wyniku modyfikacji genu kalneksyny poprzez podstawienie nowej domeny N i doda-

nie, podobnej do C-końcowej części kalsekwestryny, domeny C.

Ekspresja kalretikuliny jest regulowana w czasie różnicowania się komórek (KHANNA i WAISMAN 1986). Analiza promotora jej genu wykazała obecność sekwencji odpowiedzialnych za wiązanie szeregu czynników transkrypcyjnych (MCCAULIFFE i współaut.

1992). Do tej pory zidentyfikowano czynnik rozpoznający sekwencję CCAAT i białko retinoblastomy, odpowiedzialne za regulację wczesnych etapów cyklu komórkowego. Ponadto stwierdzono, że opróżnienie cystern ER z jonów wapnia wpływa na podwyższenie transkrypcji genu kalretikuliny (KRAUSE i MICHALAK 1996).

KALRETIKULINA REGULUJE POZIOM WEWNĄTRZKOMÓRKOWEGO Ca^{2+}

Wyniki badań przeprowadzonych w ciągu ostatnich trzech lat wskazują na udział tego białka nie tylko w wiązaniu Ca^{2+} wewnątrz cystern ER (BASTIANUTTO i współaut. 1995, MERY i współaut. 1996, OPAS i współaut. 1996), ale i w regulacji oscylacji stężenia cytoplazmatycznego Ca^{2+} . Klasycznym przykładem może tu być wpływ kalretikuliny na powstawanie fal Ca^{2+} , wywołanych przez inozytolo-1,4,5-trójfosforan (IP_3) (CAMACHO i LECHLEITER 1995). Fale te są łatwe do zmierzenia w oocytach żaby *Xenopus laevis*. Wstrzyknięty IP_3 wywołuje początkowo gwałtowny wypływ Ca^{2+} z ER do cytoplazmy (ang. Ca^{2+} tide). Po krótkim czasie stężenie cytoplazmatycznego Ca^{2+} zaczyna oscylować (ang. Ca^{2+} waves). Oocyty produkujące nadmiar kalretikuliny w większości wykazują tylko początkową fazę wypływu. Częstotliwość oscylacji Ca^{2+} można podwyższyć poprzez zwiększoną ekspresję izoformy Ca-ATPazy właściwej dla ER — SERCA2b. Oocyty produkujące ten enzym w nadmiarze wykazują zmienioną odpowiedź na IP_3 . Nie obserwuje się początkowej fazy wypływu jonów wapnia, lecz natychmiastowe pojawienie się oscylacji o wysokiej częstotliwości. Zwiększona ekspresja kalretikuliny powoduje zahamowanie tych oscylacji. Ekspresja mutantów delecyjnych kalretikuliny pozwoliła na ustalenie wiodącej roli domeny P w regulacji oscylacji cytoplazmatycznego Ca^{2+} .

Można przypuścić, że domena zawierająca miejsce o wysokim powinowactwie do jonów wapnia wiąże się z Ca-ATPazą lub receptorem IP_3 , podczas gdy domena odpowiedzialna za wiązanie licznych jonów wapnia nie bierze udziału w tym procesie.

Podwyższona ekspresja kalretikuliny wpływa także na wielkość napływu Ca^{2+} do komórki. W wielu typach komórek opróżnienie wewnątrzkomórkowych magazynów Ca^{2+} powoduje aktywację napływu Ca^{2+} z zewnątrz (POZZAN i współaut. 1994). Magazyny te można opróżnić sztucznie, stosując inhibitor Ca-ATPazy, tapsigarginę. Po krótkim czasie cysterny ER ulegają opróżnieniu z jonów wapnia, dzięki aktywności kanału wapniowego, a zahamowana Ca-ATPaza nie jest w stanie ponownie wypełnić cystern ER. W tym przypadku dodanie jonów wapnia do środowiska zewnątrzkomórkowego powoduje szybki napływ Ca^{2+} do cytoplazmy przez błonę komórkową. Napływ ten jest znacznie mniejszy w przypadku komórek posiadających zwiększoną zawartość kalretikuliny (MERY i współaut. 1996). Zmniejszenie napływu nie jest związane z podwyższoną zawartością Ca^{2+} w cysternach ER komórek zawierających dodatkową pulę kalretikuliny. Dane te świadczą o bezpośrednim udziale tego białka w regulacji „pojemnościowego” napływu Ca^{2+} do wnętrza komórki.

UDZIAŁ KALRETIKULINY W KONTROLI EKSPRESJI GENÓW I ADHEZJI KOMÓREK

Kalretikulina może także pełnić inne funkcje w komórce. Białko to wiąże się *in vitro* z receptorami sterydowymi (BURNS i współaut. 1994, DEDHAR 1994, MICHALAK i współaut. 1996) uniemożliwiając im oddziaływanie z sekwencjami DNA, występującymi w genach, których ekspresja jest regulowana przez hormony sterydowe. Za hamujący wpływ kalretikuliny na proces wiązania odpowiada domena N w białku (BURNS i współaut. 1994). Komórki o podwyższonej zawartości kalretikuliny wykazują zahamowaną ekspresję genów kontro-

lowanych przez hormony sterydowe (BURNS i współaut. 1994, DEDHAR 1994, MICHALAK i współaut. 1996). Należy tu podkreślić, że jedynie kalretikulina obecna w ER hamuje aktywację genów kontrolowanych przez hormony sterydowe. Wzmoczona ekspresja cytoplazmatycznego mutantu kalretikuliny nie powodowała zmian w odpowiedzi komórki na sygnał hormonalny (MICHALAK i współaut. 1996). Może to świadczyć o tym, że kalretikulina nie oddziałuje bezpośrednio z receptorami sterydowymi w komórce, ale jej obecność w ER jest

niezbędna dla regulacji ich aktywności transkrypcyjnej.

Wiązanie się kalretikuliny *in vitro* z białkami znajdującymi się w innych niż ER przedziałach komórkowych stwierdzono także w przypadku integryny (DEDHAR 1994, COPPOLINO i współaut. 1995), co świadczyłoby o udziale kalretikuliny w procesie adhezji komórek. Obniżenie jej zawartości w komórkach powoduje osłabienie ich oddziaływania z podłożem (LEUNG-HAGESTEIJN i współaut. 1994). Z kolei wzmożona ekspresja kalretikuliny wzmacnia te oddziaływania, obniża ruchliwość komórek, powoduje tworzenie połączeń międzykomórkowych i zwiększa ich powierzchnię przylegania (OPAS i współaut. 1996). W tym ostatnim przypadku, kalretikulina wpływa stymulująco na ekspresję winkuliny — białka cytoszkieletu odpowiedzialnego za tworzenie połączeń międzykomórkowych oraz połączeń komórek z podłożem (OTTO 1990). Kalretikulina reguluje także adhezję zależną od integryny. Komórki pozbawione obu alleli genu kalretikuliny wykazują silnie upośledzoną adhezję, w której uczestniczy integryna (COPPOLINO i współaut. 1997), aczkolwiek poziom ekspresji tego białka nie ulegał

zmianie. Ponowne wprowadzenie minigenu kalretikuliny powodowało przywrócenie pełnej adhezji.

Wiązanie się kalretikuliny z receptorami sterydowymi i z integryną zostało udokumentowane w badaniach *in vitro*. Skoro kalretikulina jest białkiem występującym w błonach ER to należałoby przyjąć, że okresowo pojawia się w cytoplazmie bądź w jądrze komórkowym. Doniesienia na ten temat są niestety sprzeczne (NASH i współaut. 1994, KRAUSE i MICHALAK 1996). Zastosowanie czulej metody immunofluorescencji oraz ekspresja fluorescencyjnej chimery kalretikuliny nie wykazały jej obecności poza cysternami ER (OPAS i współaut. 1996). Tak więc, albo nie potrafimy uchwycić momentu translokacji kalretikuliny, albo białko to reguluje funkcje receptorów jądrowych i receptorów błonowych poprzez nieznaną układ sygnalizujący, który rozpoczyna się w błonach ER.

Wydaje się, że kalretikulina może także pełnić jakieś funkcje w innych wyspecjalizowanych strukturach wewnątrzkomórkowych, jak na przykład w akrosomach plemników czy litycznych ziarnistościach cytotoksycznych limfocytów T (NASH i współaut. 1994).

KALRETIKULINA PEŁNI FUNKCJĘ BIAŁKA OPIEKUŃCZEGO

Kalretikulina może zastąpić kalneksynę w procesie ostatecznego formowania kompleksów zgodności tkankowej typu I (KRAUSE i MICHALAK 1996). Jest ona niezbędna do prawidłowego dojrzewania glikoprotein (NAUSEFF i współaut. 1995, PETERSON i współaut. 1995, OTTEKEN i MOSS 1996). Kalretikulina i kalneksyna są unikalnymi białkami opiekuńczymi, gdyż działają jak lektyny. Miejsca lektynowe kalretikuliny wiążą N-glikozydy o wzorze: (glukoza)₁(mannoza)₉(N-acetyloglukozamina)₂ i znajdują się w domenie P. Interesujące jest to, że w domenie P kalretikuliny i kalneksyny występują miejsca wiązania Ca²⁺ z wysokim powinowactwem (BAKSH i MICHALAK 1991, TJO-

ELKER i współaut. 1994). Proponuje się, że Ca²⁺ związany z domeną P jest niezbędny dla funkcji kalretikuliny jako białka opiekuńczego. Wysokie stężenie Ca²⁺ z kolei hamuje oddziaływanie kalretikuliny z białkami, na przykład PDI (BAKSH i współaut. 1995, KRAUSE i MICHALAK 1996). Za wiązanie z PDI jest odpowiedzialna domena N. Natomiast domena C, miejsce wiązania licznych jonów wapnia z niskim powinowactwem, jest odpowiedzialna za zależną od stężenia Ca²⁺ dysocjację kompleksu kalretikulina/PDI. Tak więc wiązanie jonów wapnia przez kalretikulinę może wpływać nie tylko na poziom Ca²⁺ w cysternach ER, ale i na oddziaływanie kalretikuliny z innymi białkami.

UWAGI KOŃCOWE

Przedstawione w niniejszym opracowaniu obserwacje sugerują, że kalretikulina jest wielofunkcyjnym białkiem, biorącym udział w zróżnicowanej odpowiedzi komórek na sygnał wapniowy w regulacji ekspresji genów i adhezji komórek oraz w kształtowaniu właściwej struktury białek jako białko opiekuńcze (rys. 1). Wiązanie Ca²⁺ może wpływać na jej od-

działywania z innymi białkami, na przykład z Ca-ATPazą lub receptorem IP₃. Stężenie jonów wapnia wewnątrz cystern ER może także zmieniać jej właściwości jako białka opiekuńczego. Funkcje pełnione przez kalretikulinę poza obrębem ER mogą wynikać z translokacji tego białka z cystern ER, bądź oddziaływania z hipotetycznym receptorem, w wyniku którego

- of the endoplasmic reticulum. *Trends Biochem. Sci.* 19, 124-128.
- BURNS K., MICHALAK M., 1993. Interactions of calreticulin with proteins of the endoplasmic and sarcoplasmic reticulum membranes. *FEBS Lett.* 318, 181-185.
- BURNS K., DUGGAN B., ATKINSON E. A., FAMULSKI K. S., NEMER M., BLEACKLEY R. C., MICHALAK M., 1994. Modulation of gene expression by calreticulin binding to the glucocorticoid receptor. *Nature* 367, 476-480.
- CAMACHO P., LECHLEITER J. D., 1995. Calreticulin inhibits repetitive intracellular Ca^{2+} waves. *Cell* 82, 765-771.
- CARAFOLI E., 1987. Intracellular calcium homeostasis. *Annu. Rev. Biochem.* 56, 395-433.
- COPPOLINO M., LEUNG-HAGESTEJN C., DEDHAR S., WILKINS J., 1995. Inducible interaction of integrin $\alpha 2b1$ with calreticulin-dependence on the activation state of the integrin. *J. Biol. Chem.* 270, 23132-23138.
- COPPOLINO M. G., WOODSIDE M. J., DEMAUREX N., GRINSTEIN S., ST-ARNAUD R., DEDHAR S., 1997. Calreticulin is essential for integrin-mediated calcium signalling and cell adhesion. *Nature* 386, 843-847.
- COX J. S., SHAMU C. E., WALTER P., 1993. Transcriptional induction of genes encoding endoplasmic reticulum resident proteins requires a transmembrane protein kinase. *Cell* 73, 1197-1206.
- DEDHAR S., 1994. Novel functions for calreticulin: interaction with integrins and modulation of gene expression. *Trends Biochem. Sci.* 19, 269-271.
- FLIEGEL L., BURNS K., MCLENNAN D. H., REITHMEIER R. A. F., MICHALAK M., 1989. Molecular cloning of the high affinity calcium-binding protein (calreticulin) of skeletal muscle sarcoplasmic reticulum. *J. Biol. Chem.* 264, 21522-21528.
- KHANNA N. C., WAISMAN D. M., 1986. Development of a radioimmunoassay for quantitation of calregulin in bovine tissues. *Biochemistry* 25, 1078-1082.
- KRAUSE K. H., MICHALAK M., 1996. Calreticulin. *Cell* 88, 439-443.
- KUWABARA K., BENEDICT C., TODD G., RYAN J., MICHALAK M., EATON D., STERN D., 1993. Calreticulin is novel antithrombotic agent: Blockade of electrically-induced coronary thrombosis in a canine model. *Thrombosis Haemostasis* 69, 1362.
- LEUNG-HAGESTEJN K., MILANKOV C.-Y., MICHALAK M., WILKINS J., DEDHAR S., 1994. Cell attachment to extracellular matrix substrates is inhibited upon downregulation of expression of calreticulin, an intracellular integrin α -subunit-binding protein. *J. Cell Sci.* 107, 589-600.
- MCCAULIFFE D. P., YANG Y. S., WILSON J., SONTHEIMER R. D., CAPRA J., 1992. The 5'-flanking region of the human calreticulin gene shares homology with the human GRP78, GRP94 and protein disulfide isomerase promoters. *J. Biol. Chem.* 267, 2557-2562.
- MERY L., MESAELI N., MICHALAK M., OPAS M., LEW D. P., KRAUSE K.-H., 1996. Overexpression of calreticulin increases intracellular Ca^{2+} storage and decreases store-operated Ca^{2+} influx. *J. Biol. Chem.* 271, 9332-9339.
- MICHALAK M., MILNER R. E., BURNS K., OPAS M., 1992. Calreticulin. *Biochem. J.* 285, 681-692.
- MICHALAK M., BURNS K., ANDRIN C., MESAELI N., JASS G. H., BUSAAN J., OPAS M., 1996. Endoplasmic reticulum form of calreticulin modulates glucocorticoid-sensitive gene expression. *J. Biol. Chem.* 271, 29436-29445.
- MILNER R. E., FAMULSKI K. S., MICHALAK M., 1992. Calcium binding proteins in the sarcoplasmic/endoplasmic reticulum of muscle and nonmuscle cells. *Mol. Cell. Biochem.* 112, 1-13.
- MORI K., MA W., GETHING M.-J., SAMBROOK J., 1993. A transmembrane protein with a *cdc2+*/CDC28-related kinase activity is required for signaling from the ER to the nucleus. *Cell* 74, 743-756.
- NASH P. D., OPAS M., MICHALAK M., 1994. Calreticulin: not just another calcium-binding protein. *Mol. Cell. Biochem.* 135, 71-78.
- NAUSEFF W. M., MCCORMICK S. J., CLARK R. A., 1995. Calreticulin functions as a molecular chaperone in the biosynthesis of myeloperoxidase. *J. Biol. Chem.* 270, 4741-4747.
- OPAS M., SZEWCZENKO-PAWLICZEWSKA M., JASS G. H., MESAELI N., MICHALAK M., 1996. Calreticulin modulates cellular adhesiveness via regulation of expression of vinculin. *J. Cell Biol.* 135, 1-11.
- OTTEKEN A., MOSS B., 1996. Calreticulin interacts with newly synthesized human immunodeficiency virus type 1 envelope glycoprotein, suggesting a chaperone function similar to that of calnexin. *J. Biol. Chem.* 271, 97-103.
- OTTO J. J., 1990. Vinculin. *Cell Motil. Cytoskeleton* 16, 1-6.
- PETERSON J., ORA A., VAN P. N., HELENUS A., 1995. Calreticulin is a lectin-like molecular chaperone for glycoproteins in the endoplasmic reticulum. *Mol. Biol. Cell* 6, 1173-1184.
- POZZAN T., RIZZUTO R., VOLPE P., MELDOLESI J., 1994. Molecular and cellular physiology of intracellular calcium stores. *Physiol. Rev.* 74, 595-636.
- TJOELKER L. W., SEYFIRE C. E., EDDY R. L. JR., BYERS J. G., SHOWS T. B., CALDERN J., SCHREIBER R. B., GRAY P. W., 1994. Human, mouse and rat calnexin cDNA cloning: identification of potential calcium binding motifs and gene localization to human chromosome 5. *Biochemistry* 33, 3229-3236.