

근원세포 분화과정에서의 단백질 인산화의 작용

정진하 · 김혜선¹ · 강만식 · 허두봉

서울대학교 분자생물학과 및 세포분화 연구센터, ¹이주대학교 생명과학과

서 론

한 개체를 이루고 있는 체세포들은 하나의 수정란에서부터 출발하여 성체로 발생하는 과정에서 어떤 세포는 근육세포로, 어떤 세포는 신경세포로, 또 다른 세포는 혈구세포 등으로의 특이성을 부여받게 된다. 이와 같은 특이성은 유전자 조성의 차이에 기인한 것이 아니라 형질 발현의 차이에 기인한 것으로서 세포 분화 (cell differentiation)라고 하는 발달 과정을 통해 이루어진다. 즉, 세포 분화란 하나의 totipotent한 수정란이 난할 과정을 통하여 엄청난 수의 세포로 증식하여 multipotent한 stem cell이 되고, 이 stem cell이 유전자 발현의 특이성을 부여받아서 형태적, 생리적으로 monopotent한 체세포로 발생하는 과정을 말한다.^{1,3}

본 론

1. 근원세포의 분화^{4,13}

어떤 조직세포가 생리 생화학적인 분화를 진행하면서 동시에 뚜렷한 형태적 분화를 동반한다면 그 조직은 세포 분화의 연구에 매우 적합한 재료가 될 것이다. 골격근 세포는 최종 분화 (terminal differentiation)를 하는 세포로서, 그 분화과정은 독특하고 뚜렷한 형태적 변화와 함께 급격한 생리 생화학적 변화가 동반되므로 전통적으로 세포분화를 연구하는데 좋은 재료로 널리 사용되어 왔다. 또한 1960년대부터 골격근세포의 배양기술이 정착되면서 배양 상태에서도 체내에서와 같은 분화 과정이 재현된다는 것이 증명되었고, 다른 세포들에 비해 체외에서 배양이 용이하다는 점도 연구가 많이 진행될 수 있게 한 이유가 되었다.

골격근세포의 분화과정은 다음과 같은 일련의 형태적 변화로써 대변된다. 즉, 맨처음 단핵성의 근원세포 (myoblast)가 여러 번의 세포주기를 반복함으로써 빠른 속도로 증식하여 일정한 수의 세포 집단을 형성한다. 그 뒤 분화 프로그램으로 들어간 세포는 먼저 둥근 형태의 세포 모양에서 방추형으로 신장된다. 신장된 세포들은 또다른 신장된 세포의 말단과 말단을 이어 일렬로 배열한다. 그리고 최종적으로 자발적인 세포막의 융합 과정을 통하여 다핵성의 근관세포 (myotube)를 형성한다. 이와 같은 변화를 골격근세포의 형태적 분화 (morphological differentiation)라 한다 (Fig.1).

한편 형태적 분화는 세포 내부의 여러 생리 생화학적 분화를 동반하게 되는데 그 내용은 다음과 같다. 먼저 세포는 진행해 오던 세포의 분열을 멈추게 되는데, 이것은 세포 주기로부터 이탈함으로써 이루어진다. 즉, G₁ state에 머물면서 세포 주기를 이탈하여 G₀ 상태가 된다. 물론 분열을 위한 DNA의 합성도 중단된다. 그리고, 세포가 융합하면서 단핵성의 근원세포에서는 전혀 발현이 되지 않았거나, 발현 정도가 약했던 단백질들이 왕성하게 합성되어 세포내에 축적되고, 일부 단백질들은 기존의 형태에서 변형되기도 한다. 이러한 단백질들을 근특이단백질 (muscle specific proteins)이라 한다. 근특이단백질은 세포의 구조를 이루는 단백질 (cytoskeletal proteins)과 근육으로서의 생화학적 기능을 수행할 단백질로 나누어 볼 수 있다. 먼저 세포의 구조를 이루는 단

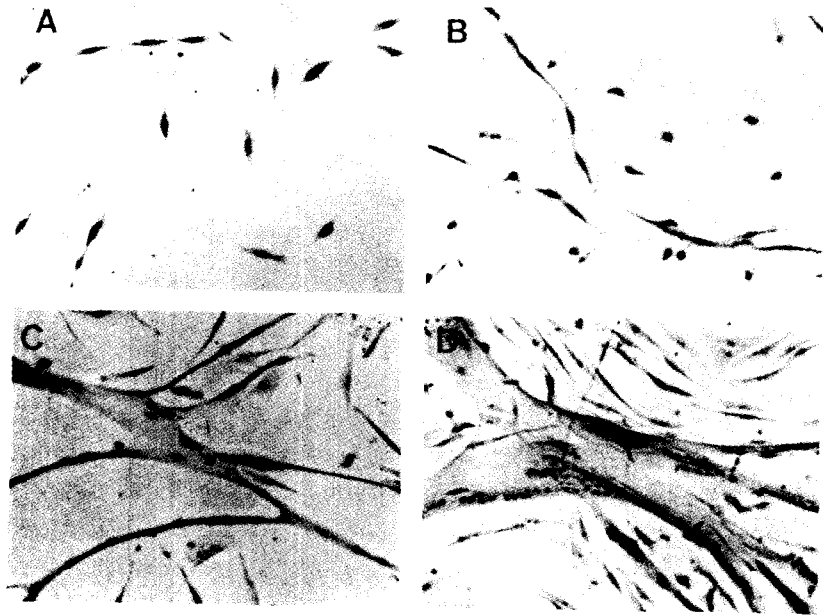


Fig. 1. Morphological differentiation of cultured myoblasts. (A), 24 ; (B), 48; (C), 60; (D), 72 hr of culture.

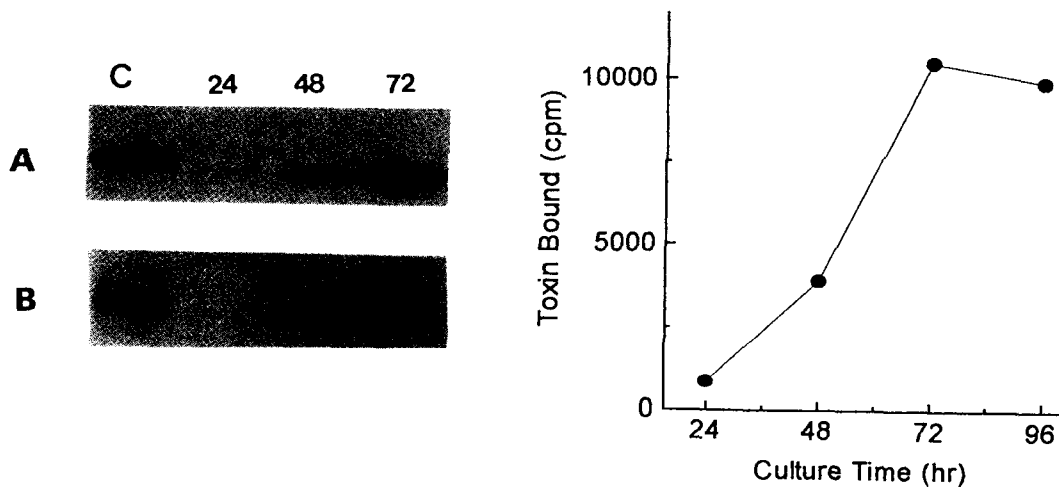


Fig. 2. Synthesis of muscle specific proteins. Left: Immunoblot of creatine kinase (A) and tropomyosin (B). Symbol C denotes control creatine kinase (A) and tropomyosin (B). Right: A-cetylcholine receptor expression.

백질로는 myosin heavy chain, α -actin, troponin, tropomyosin 등을 들 수 있다. 근육으로서의 기능을 담당할 단 백질로는 세포 융합과 더불어 세포표면에 발현되는 아세틸콜린 수용체와 막대한 양의 ATP 수요를 뒷받침할 creatine kinase 등을 들 수 있다 (Fig.2). 형태적 분화와 생화학적 분화는 동시에 일어나는 현상이지만 필연적인 연관 관계가 있는 것은 아니고, 서로 독립적으로 일어날 수 있다. 예를 들어, Ca^{2+} chelator인 EGTA를 처리하

면 세포의 융합은 억제되어 다핵의 근관조직을 형성하지 못하지만 근특이단백질들의 합성과 축적은 정상 수준으로 일어나고 있음이 보고된 바 있다.

2. 분화 조절 기작으로서의 단백질 인산화¹⁴⁻²⁰

근원세포의 성장과 분화는 세포 내외의 환경으로부터의 많은 인자들, 특히, *insulin*, *fibroblast growth factor*, *transforming growth factor β* 등과 같은 성장 인자들과 신경 전달물질, 호르몬 등에 의해 조절될 수 있다. 세포 외부로부터의 이들 인자들은 먼저 세포 표면에 있는 수용체에 결합하고, 이와같은 과정은 세포내 2차 전달자를 생성함으로써 그 작용을 발휘하는 것이 잘 알려져 있다. 이렇게 생성된 *cyclic nucleotides*, Ca^{2+} ion, *phospholipid metabolites* 등과 같은 2차 전달자는 다음 단계에서 세포 내에 존재하는 어떤 단백질의 인산화/탈인산화를 유도함으로써 여러 반응들을 조절한다.

근원세포의 분화는 세포 내에 존재하는 단백질의 인산화의 변화로써 조절될 수 있다는 보고가 있다. 이것은 주로 강력한 암 유발물질이면서 *protein kinase C (PKC)*의 활성제인 *12-o-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate (TPA)*의 작용을 연구한 보고를 통해서 알려졌다. 즉, TPA는 근원세포의 융합을 억제하는데, 그때 세포 내에서는 TPA에 의해 인산화가 증가되는 단백질들이 다수 존재한다. 그 중에서도 *myosin light chain*의 인산화를 주목하였다. 왜냐하면 세포의 융합이 일어나기 위해서는 세포의 골격을 구성하는 단백질들의 재배열이 필요한데 그 중의 하나인 *myosin light chain*이 인산화됨으로 인해 *actin*과의 결합력에 변화가 생겨, 재배열이 정상적으로 이루어질 수 없을 것으로 믿어지기 때문이다. 또한 근원세포가 분화하면서 그가 가지는 *protein kinase A (PKA)*와 *PKC*의 전반적인 활성 변화를 연구한 보고에서는 분화와 더불어 *PKC*의 활성은 줄어들고, *PKA*의 활성은 융합 직전에 절정에 이르렀다가 감소하는 것을 보이고 있다. 하지만 이들의 활성 변화와 직접적인 관련이 있는 단백질의 인산화의 변화에 대해서는 보고된 바가 없다.

3. 분화 과정에 따른 단백질의 인산화²¹

이에 본 연구에서는 근원세포의 분화 과정에서의 단백질 인산화의 변화를 조사하기 위하여 배양 시간에 따라 세포를 수확하여 세포추출물을 만든 다음 $[γ-^{32}P]ATP$ 를 처리하여 단백질의 인산화를 유도한 뒤 전기영동

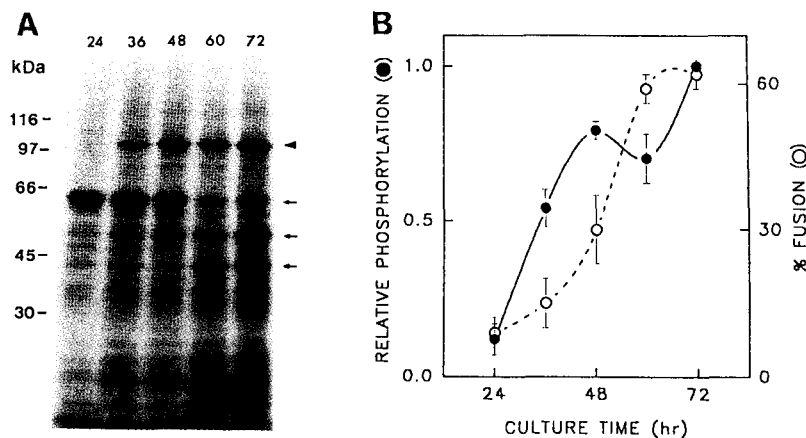


Fig. 3. Protein phosphorylation (A) and myoblast fusion (B).

하였다. Autoradiogram을 통하여 인산화된 단백질을 확인하고 분화 과정에 따른 변화를 추적하였다. 많은 단백질들이 분화 과정에 따라 인산화의 정도가 변화하고 있음을 알 수 있었다. 예를 들어 분자량 42-, 50-, 100-kDa에 해당하는 단백질은 분화가 진행됨에 따라 인산화의 정도가 증가하였으며, 63-kDa에 해당하는 단백질은 인산화의 정도가 감소하였다. 그 중에서도 100-kDa 단백질의 인산화의 변화가 주목할 만하였는데, 그 이유는 배양 초기상태, 즉, 근원세포의 융합이 처음 일어나는 시기라고 믿어지는 배양 48시간까지의 인산화의 증가가 두드러지기 때문이다 (Fig.3). 이것은 근원세포의 융합과 100-kDa 단백질의 인산화가 밀접한 관련이 있음을 짐작할 수 있게 한다. 그리하여 이 두 현상의 관계를 조사하기 위하여 먼저, 100-kDa 단백질이 어떤 종류의 protein kinase에 의해 인산화되는지를 조사한 결과, PKA의 억제제에 의해서는 인산화에 영향을 받지 않는 반면, Ca^{2+} chelator인 EGTA와 trifluoperazine (TFP), chlorpromazine, W-7 등과 같은 calmodulin (CaM) antagonist들에 의해서는 인산화가 특이하게 저해되었다. 이로써 100-kDa 단백질은 어떤 Ca^{2+} /CaM dependent protein kinase의 기질임을 알 수 있다.

4. 100-kDa 단백질 인산화와 근원세포의 융합과의 관련²¹⁻²⁵

TFP는 근원세포의 융합을 억제한다는 보고가 이미 있었지만, 그 융합 억제 기작에 대해서는 알려진 바가 없다. 따라서 본 연구에서는 100-kDa 단백질의 인산화와의 관계를 조사하였다. 놀랍게도 TFP에 의한 근원세포의 융합억제는 100-kDa 단백질의 인산화의 억제와 병행되었다. 즉, TFP를 배양 근원세포에 처리하면 처리 농도가 증가할수록 융합 억제 현상이 뚜렷한데, 이때의 세포를 수확하여 단백질의 인산화를 조사한 결과 여러 단백질들 중에서도 100-kDa 단백질의 인산화의 감소만이 눈에 띄게 줄어들고 있음을 확인하였다. 100-kDa 단백질 인산화의 억제가 근원세포의 융합 억제와 밀접한 관련이 있다는 가정에 대한 또다른 증거로써, PKC 활성의 강력한 억제제로 알려져 있는 sphingosine의 작용을 들 수 있다. Sphingosine이 근원세포의 분화에 어떤 작용을 할 것인지를 조사한 결과 이 물질 역시 TFP와 마찬가지로 근원세포의 융합을 억제한다는 사실을 알 수 있었다 (Fig.4). 그런데 이런 효과가 sphingosine이 PKC의 활성을 억제한 결과로 나타난 것이라면 PKC의 활성 촉매인 TPA에 의해 그 억제 효과가 중화되어야 할 것인데, 흥미롭게도 TPA에 의해 근원세포의 융합 억

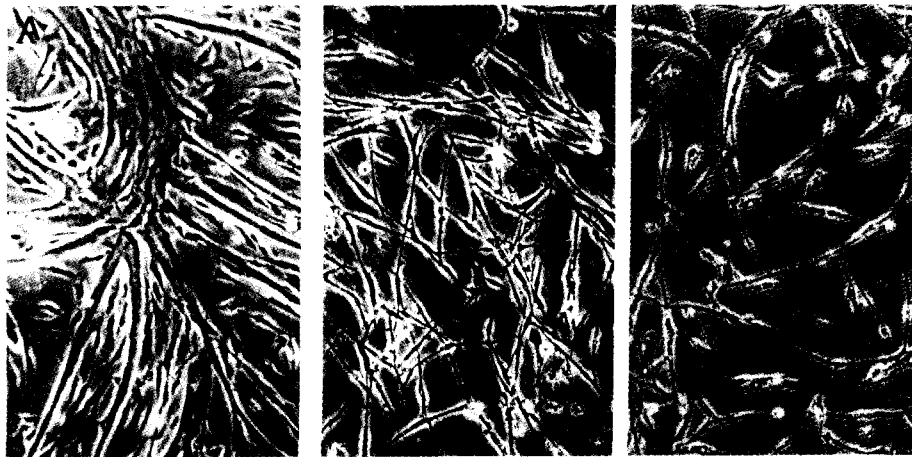


Fig. 4. Effect of TFP and sphingosine on the myoblast fusion. (A), control 72 hr cells; (B), TFP-treated cells; (C), sphingosine-treated cells.

제는 더욱 가중되었다. 그러므로, 근원세포에서 sphingosine은 PKC의 활성 억제 작용이 아닌 또다른 작용을 할 것으로 생각되었다. 그래서 sphingosine이 단백질의 인산화에는 어떤 작용을 할 것인지를 조사한 결과, 100-kDa 단백질의 인산화의 억제 효과가 분명하였으며 더욱 흥미로운 것은 sphingosine에 의해 억제된 100-kDa 단백질의 인산화는 CaM을 처리하여 줌으로써 회복되는 사실을 확인한 것이다. 즉, 근원세포의 분화에 있어서 sphingosine은 TFP와 같이 CaM의 antagonist로 작용하여 100-kDa 단백질의 인산화를 억제함으로써 근원세포의 융합 억제 작용을 한다는 결론을 얻을 수 있었다.

5. 100-kDa 단백질의 인산화 과정에서의 cAMP의 작용²⁶⁻³¹

많은 세포와 조직에서 cAMP는 2차 전달자로 작용하여 신호전달 과정을 통해 세포의 성장과 분화를 조절하는 것으로 알려져 있다. 그러나 cAMP가 근원세포의 분화에는 어떤 작용을 하는지에 대해서는 상반되는 결과들이 보고되어 있다. 즉, Zalin과 Winter 등은 cAMP가 근원세포의 분화 촉진물질로 보고하고 있는 반면, Schutzle 등은 융합억제 효과를 나타낸다고 보고하고 있다. 물론 이런 상반되는 결과는 그들이 사용하는 세포의 종류와 배양 조건, cAMP의 처리 농도 등에서의 차이에 의한 것으로 생각되지만, 중요한 것은 다양한 cAMP의 작용 중에서 근원세포의 분화와의 관계를 각기 다른 부분에서 접근했다는 것이다. 본 연구에서는 cAMP에 의한 근원세포의 분화 조절 기작을 설명하기 위하여 먼저 근원세포의 융합에 미치는 효과를 조사하였다. 그 결과, cAMP 유사물질인 dibutyryl cAMP (dbcAMP)는 처리 농도가 증가함에 따라 분명한 융합 억제 효과를 나타냈으며, 배양액으로부터 이를 제거해 주면 융합이 재개되었다 (Fig.5). 또한 adenylate cyclase의 활성촉매제인 forskolin과 phosphodiesterase의 활성 억제제인 theophylline을 처리하여 간접적으로 세포내의 cAMP의 농도를 증가시킨 결과에서도 이들의 처리 농도 증가에 따라 융합 억제 효과를 볼 수 있었다. 이로써 본 연구는 cAMP가 세포 내에 다량 존재하면 분명히 근원세포의 융합억제 효과를 나타낸다는 사실을 확인하였다. 그러나 cAMP는 creatine kinase와 tropomyosin과 같은 근특이 단백질의 합성과 축적에는 억제 작용을 나타내지 않았다. 이것은 cAMP가 근특이 단백질의 발현에는 영향을 주지 않고 융합의 과정에만 작용한다는 사실을 알 수 있게 한다. 한편 cAMP에 의해 융합이 억제된 상태에서의 단백질의 인산화는 어떻게 변화하는지를 조사한 결과, 일부 단백질의 인산화의 변화를 볼 수 있었는데 그 중에서 100-kDa 단백질의 인산화의 억제가 두드러졌다. 또한, cAMP 제거에 의해 융합이 회복된 상태에서는 100-kDa 단백질의 인산화도 회복되었다. 뿐

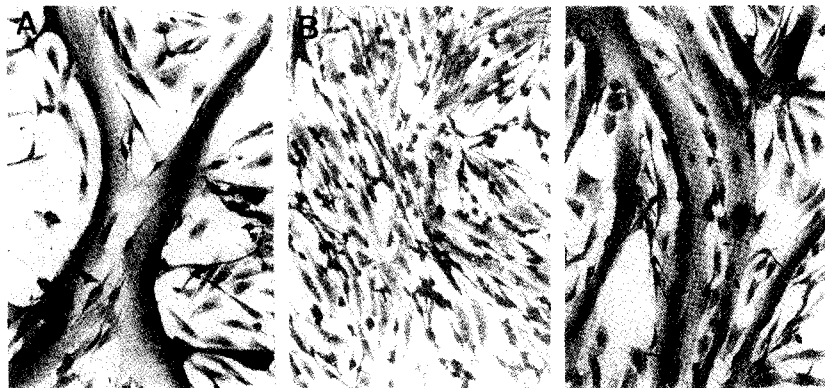


Fig. 5. Effect of cAMP on the myoblast fusion and its reversibility. (A) control 72 hr cells; (B), cAMP treated cells; (C), cAMP-removed cells.

만 아니라, 100-kDa 단백질과 그의 kinase를 분리하는 실험을 통해 cAMP의 작용은 100-kDa 단백질의 발현이나, protein phosphatase의 작용을 통하지 않고, 100-kDa 단백질을 기질로 사용하는 kinase의 활성을 직접 조절한다는 사실을 알 수 있었다. 이상의 결과는 cAMP가 본 연구실에서의 배양 조건에서 근원세포의 융합억제 작용을 하며 그것은 100-kDa 단백질의 인산화의 억제를 통해 매개될 수 있다는 가능성을 제시하고 있다.

6. 100-kDa 단백질은 진핵세포 elongation factor 2 (EF-2)이다³²⁻³⁷

근원세포의 융합 작용과 밀접한 관계가 있는 것으로 보이는 100-kDa 단백질의 정체를 조사하기 위하여 계배의 가슴근육을 재료로 하여 DEAE-cellulose, hydroxylapatite, heparin agarose column 등을 거쳐 이를 순수분리하였다. 분리된 100-kDa 단백질은 diphtheria toxin에 의해 ADP-ribosylation 되었으며, 충분히 인산화된 100-kDa 단백질을 이용하여 phosphoamino acid를 분석한 결과 The 잔기에만 특이하게 인산화되어 있음을 확인할 수 있었다. 또한 이 단백질의 아미노 말단에 존재하는 아미노산의 배열 순서는 N-Val-Asn-Phe-Val-Asp-Gln-Ile-Arg-Ala-Ile-Met-Asp-Lys으로서 이는 rat과 hamster에서 보고되어 있는 EF-2의 배열 순서와 일치하였다.

EF-2는 단백질 합성 과정에서 생성되는 peptide를 ribosome의 A site에서 P site로 translocation 시킴으로써 chain elongation을 촉진하는 작용을 한다. 쥐의 체장이나 토끼의 적혈구에서 보고된 EF-2는 인산화되면 위와 같은 작용을 못하게 되고 결과적으로 단백질 합성이 억제되는 효과를 보인다. 그러나 아직 근원세포의 분화과정에서 100-kDa의 인산화에 의한 단백질 합성의 억제는 아직 보고된 바 없다. 그러므로, 현재로서는 100-kDa 단백질이 인산화됨으로 인해 근원세포의 내부에서는 또다른 반응이 유도될 것이고, 이로 인해 세포의 융합 기작이 조절될 것으로 미루어 짐작할 수 있다.

7. 100-kDa 단백질 인산화와 CaM kinase III 활성의 조절^{21,26,38,39}

근원세포의 분화과정에서 100-kDa 단백질의 인산화가 어떻게 조절되는 지를 알기 위하여 인산화에 관련된 요소들을 조사하였다. 먼저 CaM이 한정 요인이 되는지를 조사한 결과 CaM은 전반적으로 100-kDa 단백질의 인산화를 증가시켰으나 분화에 따른 인산화의 변화에 대한 결정적인 요인은 아니었다. 순수분리된 100-kDa 단백질을 이용하여 만든 항체로써 Western blot을 한 결과에서는 분화 과정에 따라 100-kDa 단백질의 양이 일정하게 유지됨을 보였다. 그러므로 100-kDa 단백질의 발현 조절이 분화에 따른 인산화 변화의 직접적인 원인은 될 수 없다는 사실을 알 수 있다. 그렇다면, 100-kDa 단백질을 인산화시키는 protein kinase의 활성 변화, 혹은 발현 변화와 현재는 알려져 있지 않은 또다른 요소에 의한 조절을 미루어 짐작할 수 있다.

현재까지 보고되어 있는 Ca²⁺/CaM dependent protein kinase system은 6종류가 있다. 이들은 myosin light chain kinase, phosphorylase kinase, synapsin I을 기질로 사용하는 CaM kinase I, multifunctional CaM-dependent protein kinase로 더 잘 알려져 있는 CaM kinase II, 진핵세포 EF-2를 유일한 기질로 사용하는 CaM kinase III, 그리고 가장 최근에 보고된 CaM kinase IV 등이다. 본 연구에서 근원세포의 분화 조절과 밀접한 관련이 있는 것으로 보이는 100-kDa 단백질은 EF-2로 확인되었으므로 그의 kinase는 CaM kinase III임을 알 수 있다. 현재 이를 분리하는 과정 중에 있고, 부분 분리된 kinase 분획의 성질을 조사한 결과, 분자량을 비롯한 몇몇 성격은 이미 보고되어 있는 CaM kinase III와 유사하였다.

결 론

세포의 분화는 세포가 가지고 있는 유전자들이 시간적, 공간적으로 적절하게 발현됨으로써 이루어진다. 그

러므로 분화의 조절기작을 연구하기 위해서는 세포학적, 생리 생화학적, 분자생물학적인 모든 방법을 동원하여야 한다. 이러한 연구를 하기에 적합한 세포가 바로 근원세포라고 할 수 있다. 근원세포의 분화 조절 기작에 대한 연구 역사는 매우 깊고, 근래에 들어서는 master gene인 Myo D gene family가 보고되어 이를 통한 근원세포의 분화 조절에 대한 연구에 많은 관심이 집중되고 있다. 그러나 세포의 분화는 어느 한가지 요인에 의한 다기 보다는 세포 내의 여러 부분에서 여러 인자들의 cross-talk에 의한 결과로 볼 수 있다. 그러므로 본 연구에서 소개하는 100-kDa 단백질의 인산화를 통한 조절 작용도 근원세포의 분화 조절에 중요한 역할을 할 것으로 보며, 아울러 이와 같은 모델이 다른 세포와 조직의 분화 과정을 이해하는 데 도움이 되리라고 본다.

參考文獻

- Alberts, B., D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts and J.D. Watson. 1994. *Molecular Biology of the Cell*. (3rd ed.) pp. 1139-1194. Garland publishing Inc., New York.
- Browder, L.W., C.A. Erickson and W.R. Jeffery, 1991. *Developmental Biology*. (3rd ed.) pp. 722-754. Saunders college publishing Inc.
- Gilbert, S.F. 1994. *Developmental Biology*. (4th ed.) pp. 371-487. Sinauer association Inc.
- Bischoff, R. and H. Holtzer. 1969. *J. Cell Biol.* **41**: 188-200.
- Coleman, J.R. and A.W. Coleman. 1968. *J. Cell. Physiol.* **72**: 19-34.
- Doering, J.L. and D.A. Fishman. 1974. *Dev. Biol.* **36**: 225-235.
- Endo, T. and B. Nadal-Ginard. 1987. *Cell* **49**: 515-526.
- Konigsberg, I.R., P.A. Sollman, and L.O. Mixer. 1978. *Dev. Biol.* **63**: 11-26.
- Nadal-Ginard, B. 1978. *Cell* **15**: 855-864.
- O'Neill, M.C. and F. E. Stockdale. 1972. *J. Cell Biol.* **52**: 52-65.
- Okazaki, K. and H. Holtzer. 1966. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **56**: 1484-1488.
- Paterson, B. and J. Prives. 1973. *J. Cell Biol.* **59**: 241-245.
- Turner, D.C. V. Maier, and H.M. Eppenberg. 1974. *Dev. Biol.* **37**: 63-89.
- Florini, J.R., A.B. Roberts, D.Z. Ewton, S.L. Falen, K.C. Flanders and M.B. Sporn. 1986. *J. Biol. Chem.* **261**: 16509-16513.
- Florini, J.R., D.Z. Ewton., and K.A. Margi. 1991. *Annu. Rev. Physiol.* **53**: 201-216.
- Krebs, E.G. and J. A. Beavo. 1979. **48**: 923-959.
- Olson, E.N., E. Sternberg, J.S. Hu, G. Spizz, and C. Wilcox. 1986. *J. Cell Biol.* **103**: 1799-1805.
- Toutant, M. and A. Sobel, 1987. *Dev. Biol.* **124**: 370-378.
- Massague, J., S. Cheifetz, T. Endo, and B. Nadal-Ginard. 1986. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **83**: 8206-8210.
- Naka, M., M. Nishikawa, R.S. Adelstein, and H. Hidaka. 1983. *Nature (London)* **306**: 490-492.
- Kim, H.S., I.H. Lee, C.H. Chung, M.-S. Kang and D.B. Ha. 1992. *Dev. Biol.* **150**: 223-230.
- Kim, H.S., I.H. Lee, Y.J. Jeon, C.H. Chung and D.B. Ha. 1993. *Exp. Cell Res.* **205**: 408-411.
- Bar-Sagi, D. and J. Prives. 1983. *J. Cell Biol.* **97**: 1375-1380.
- Hannun, Y.A., C.R. Loomis, A.H. Merrill, Jr. and R.M. Bell. 1986. *J. Biol. Chem.* **261**: 12604-12609.
- Merrill, A.H., Jr. and V.L. Stevens. 1989. *Biochim. Biophys. Acta* **1010**: 131-139.
- Baek, H.J., Y.J.Jeon, H.S. Kim, M.-S. Kang, C.H. Chung and D.B. Ha. 1994. *Dev. Biol.* **165**: 178-184.
- Wahrman, J.P., D. Luzzati and R. Winand. 1973. *Nature New Biol.* **245**: 112.
- Weiss, B. and R. M. Levin. 1978. *Adv. Cyclic Nucleotide Res.* **9**: 285-304.
- Zalin, R.J. 1973. *Exp. Cell Res.* **78**: 152.

- Winter, B., T. Braun and H.H. Arnold. 1993. *J. Biol. Chem.* **268**: 9869-9878.
- Schutzle, U.B., M.J.O. Wakelam and D. Pette. 1984. *Biochem. Biophys. Acta* **805**: 204-210.
- Jeon, Y.J., H.S. Kim, H.S. Kim, M.-S. Kang, C.H. Chung and D.B. Ha. 1994. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **198**: 132-137.
- Merrick, W.C., W.M. Kemper, J.A. Kantor and W.F. Anderson, 1975. *J. Biol. Chem.* **250**: 2620-2625.
- Moldave, K. 1985. *Annu. Rev. Biochem.* **54**: 1109-1149.
- Ryazanov, A.G. and Davydova. 1989. *FEBS Lett.* **251**: 187-190.
- Ryazanov, A.G., E.A. Shestakova and P.G. Natapov. 1988. *Nature (London)* **334**: 170-173.
- Nairn, A.C., B. Bhagat and H.C. Palfrey. 1985. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **82**: 7939-7943.
- Nairn, A.C., H.C. Hemmings, Jr. and P. Greengard. 1985. *Annu. Rev. Biochem.* **54**: 931-976.
- Enslin, H., P. Sun, D. Brickey, S.H. Soderling, E. Klamo and T.R. Soderling. 1994. *J. Biol. Chem.* **269**: 15520-15527.