

Scaffolding Protein in Ca^{2+} Signaling

Jeong Hee Hong, Min Seuk Kim, Hae Joe, Syng-Il Lee, and Dong Min Shin*

From the Department of Oral Biology and Oral Science Research Center, College of Dentistry and BK21 project for Medical Science, Yonsei University, Seoul 120-752

(Received November 6, 2003 ; Accepted November 13, 2003)

Polarized expression of signaling complexes requires retention of the proteins in the microdomains, which expression and retention are aided by scaffolding proteins. Little or no information is available as to the nature of scaffolding proteins in Ca^{2+} signaling in non-excitable cells. Recently Homers are regarded as an attractive candidate of scaffolding protein in Ca^{2+} signaling, because Homers bind G protein coupled receptors (GPCRs), IP_3 receptors, ryanodine receptors and TRP channels. However, their role in Ca^{2+} signaling in vivo and in vitro is not known. The data suggested by our work using Homer knock-out mice demonstrate a novel, unexpected function of Homer proteins, in that RGS proteins and $\text{PLC}\beta$ GTPase Activating activities are regulated and provide a molecular mechanism for tuning signal intensity generated by GPCRs and thus the characteristics of intracellular Ca^{2+} oscillations. In addition, Homer protein facilitates a physical association between TRP channels and IP_3 receptor that is required for the TRP channel in response to signals, which provide the evidence for a conformational coupling model with an essential role for interaction between TRP channels and intracellular Ca^{2+} release channels.

Keywords: Scaffolding Protein, Ca^{2+} Signaling, Homer Proteins

세포내 신호전달 기전중의 하나인 칼슘신호전달은 세포내에서 매우 다양한 역할을 수행하고 있다. 칼슘신호전달은 세포의 수정, 균수축, 신경전달 물질의 분비, 외분비

*Correspondence to: Dr. Dong Min Shin, Yonsei University College of Dentistry, 134 Sinchon-dong, Seodaemun-gu, Seoul 120-752, Korea, Tel.: +81-2-361-8037, Fax.: +81-2-364-1085, E-mail: dmshin@yumc.yonsei.ac.kr

선에서의 용액분비, 기억과 학습 등에 관련되어 있는 2차 전령체이다 (Berridge *et al.*, 2000). 중요한 2차 신호 전달 물질인 세포내 칼슘은 호르몬이나 신경전달 물질 등에 의해 증가되는데, G-단백과 연계된 수용체 (G-protein coupled receptors, GPCRs)에서 칼슘신호 전달단백들은 크게 두 부분으로 구성되어 있다. GPCRs의 활성화되어 phosphatidylinositol-biphosphate (PIP_2)를 가수분해시켜 inositol 1,4,5-triphosphate (IP_3)를 생성하는 생화학적 요소 (biochemical compartment)와 칼슘을 세포질 안팎으로 이동시키는 생물리학적 요소 (biophysical compartment)이다. 생화학적 요소에는 GPCRs, heterotri-meric G-단백 (G-protein), phospholipase C β ($\text{PLC}\beta$), regulators of G protein signaling (RGS) 단백 등이 있다. 생물리학적 요소로는 세포막 칼슘펌프 (plasma membrane Ca^{2+} ATPase, PMCA), 소포체 칼슘펌프 (sarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} ATPase, SERCA), 소포체에 존재하는 칼슘 유리체널인 IP_3 수용체 (IP_3R), 그리고 세포막에 존재하는 저장고의존성 칼슘유입 이온통로인 store-operated Ca^{2+} channel (SOCC) 등이 있다 (Kiselyov *et al.*, 2003). GPCRs과 결합된 리간드 농도가 생리적 효율에 이상의 경우 세포질내 칼슘 농도가 단일 피크를 보이는 반면 약한 자극에서는 세포질내 칼슘 농도가 oscillation 양상을 보인다 (Berridge, 1993). 또한 췌장, 타액선과 같은 극성을 띤 외분비세포 (polarized exocrine cells)에서는 칼슘신호반응이 수용체에 특이적인 개시부위와 전개양상을 보이는 칼슘 wave의 형태로 나타난다 (Petersen *et al.*, 1994; Shin *et al.*, 2001). 특히 타액선세포에서 칼슘농도의 시간적, 공간적증가는 내강극 (luminal pole)에 집중적으로 존재하는 Cl^- 이온통로의 개폐를 조절하여 타액분비를 촉진시키며 동시에 아밀라제를 포함한 분비과립 (secretory vesicle)의 분비조절에 관여한다 (Turner *et al.*, 2002).

세포질내 칼슘농도의 변화가 oscillation이나 wave로 나타난다는 것은 칼슘신호 단백의 발현, signaling complex의 배열, 또는 signaling complex내의 각 요소 등이 시간적, 공간적으로 극성 (polarity)을 갖는다는 것을 의미한다. 이러한 칼슘신호의 극성은 신호를 유발시키는 칼슘신호 단백의 발현과 분포 또한 극성을 띠는 것을 의미하는데, 실제 생쥐 췌장 선세포에서는 IP₃ 수용체가 칼슘wave가 개시하는 부위인 내강극 (luminal pole)에 집중적으로 발현, 분포되고 있음을 알 수 있다 (Fig. 1A, Lee *et al.*, 1997; Shin *et al.*, 2000). 칼슘신호관련 단백들의 내강극 부위에서 극성발현과 아울러 이들 칼슘신호 단백들은 면역침강법에 의해 단백-단백 결합 (protein-protein interaction)을 하고 있음이 확인되었다 (Fig. 1B, Shin *et al.*, 2000). 즉, 칼슘신호전달 단백은 세포내 특정 microdomain에 집중적으로 발현되며, 이는 단백결합에 의해 유지되고 있음을 의미한다. 실제 신경세포에서 신호전달 단백들은 시냅스막 전·후반부의 세포내 microdomain에 집중되어있다 (Hering and Sheng, 2001). 시냅스에서 PSD-95, Shank, GRIP 등과 같은 scaffolding protein들이 신호전달 복합체의 재배치에 관여하며 이들이 macrocomplex를 형성하고 있다 (Hering and Sheng, 2001). 이들 신호전달복합체는 다양한 단백-단백 상호작용 도메인을 갖고 있는데, 이들의 결합은 직접적인 단백들 결합보다는 scaffolding 단백의 도움으로 재배치된다. 예를 들면, A-kinase-anchoring proteins (AKAPs)의 경우 Protein kinase A (PKA), Protein kinase C (PKC) 및 다른 신호전달 관련 효소들과 결합해서 signaling scaffold로서의 역할을 하고 있다 (Dodge *et al.*, 1999). 또한 Ras pathway에서 Kinase suppressor of Ras (KSR)는 Raf-1, MEK 1/2, ERK 1/2 등과 같은 MAP kinase cascade를 구성하는 단백들과 반응하여 multiprotein MAP

kinase complex를 이룬 후, 이들이 세포막에 위치하도록 하는 scaffolding protein으로 밝혀졌다 (Morrison, 2001; Raabe, 2002). 그러나 비신경세포에서 칼슘 신호전달 복합체에 관여하는 scaffolding protein에 대해서는 잘 알려져 있지 않다. 최근 Homer 단백은 칼슘신호전달 기전에서 scaffolding protein으로 중요하게 여겨지고 있는데 (Fagni *et al.*, 2002), 이는 신경세포에서 Homer 단백이 세포막 수용체인 metabotropic glutamate 수용체 (mGlu 수용체)와 세포내 칼슘 저장고인 IP₃ 수용체에 직접 결합하여 세포내 칼슘 신호전달과 연관되어 있을 것으로 추측하고 있기 때문이다 (Brakeman *et al.*, 1997). 그러나 아직까지 Homer 단백의 칼슘신호전달에서의 정확한 역할 규명은 되어 있지 않았다. 다만 최근의 연구결과는 scaffolding protein으로서 Homer 단백이 GPCR 의존성 칼슘신호를 조절하고 있으며 (Shin *et al.*, 2003), 또한 SOCC의 개폐성을 조절하고 있음을 시사하고 있다 (Yuan *et al.*, 2003).

Homer 단백

Homer 단백은 해마 (hippocampus) 신경세포에서 간질과 같은 자극시 홍분성 신경활동에 의해 해당 mRNA가 급속하게 그리고 한시적으로 발현되는 것으로 발견되었다 (Brakeman *et al.*, 1997; Kato *et al.*, 1997). Homer 단백에는 1, 2, 3의 세가지 아형이 존재하며 Homer 단백의 아미노기 쪽에 존재하는 약 110개의 아미노산은 EVH1/WH1 (Ena/VASP homology 1/WASP homology 1) 도메인을 가지고 있다 (Beneken *et al.*, 2000). Homer 단백의 EVH 도메인은 PPXXF (P: proline, X: 비특정 아미노산) sequence를 특이적으로 인식하는데, group 1 mGlu 수용체, IP₃ 수용체, ryanodine 수용체 및 다른 칼슘 신호전달에 관여하는 단백들과 결합하는 것으로 알려져 있다.

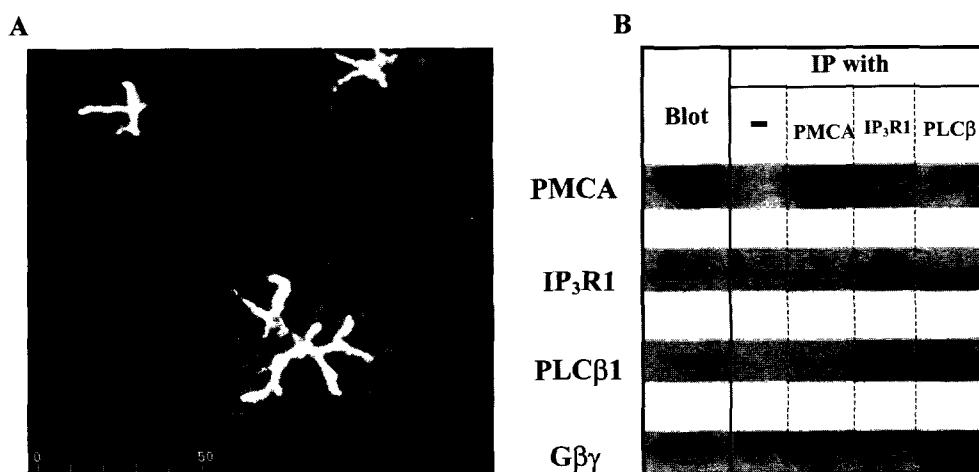


Fig. 1. Polarized expression of Ca^{2+} signaling protein and protein-protein interaction between Ca^{2+} signaling proteins in rat pancreatic acini. A, 흰쥐 췌장선세포에서 세포내 칼슘저장고 칼슘이온통로인 IP₃ 수용체의 apical pole로의 집중적 발현. B, 칼슘신호단백들이 PMCA, IP₃R1, PLC_β, G_β_γ가 단백-단백 결합을 하고 있다. IP₃, 1,4,5-triphosphate; PMCA, plasma Ca^{2+} ATPase; PLC_β, phospholipase C_β.

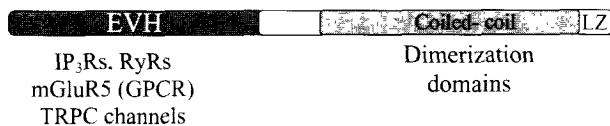


Fig. 2. Structure of Homer protein

Homer는 아미노기애 EVH1/WH1 (Ena/VASP homology 1/WASP homology 1) 도메인을 가지고 있어 group 5 metabotropic glutamate 수용체 (mGluR5), IP₃ 수용체 (IP₃R), ryanodine 수용체 (RyR)와 결합하며, 카르복시기 말단에는 연결고리 부위 (coiled-coil domain, C-C domain)가 있으며 이와 leucine zipper 모티브를 가지고 있어 세포질내에서 다이머를 형성하도록 한다. TRPC, Transient Receptor Potential Channel

져 있다 (Brakeman *et al.*, 1997; Tu *et al.*, 1998; Feng *et al.*, 2002). 또한 신경세포에서 EVH1 도메인은 proline-rich sequence를 보유하고 있는 Shank, GKAP, PSD-95 등과 multicomplex를 형성하고 있다 (Naisbitt *et al.*, 1999; Tu *et al.*, 1998, 1999). 카르복시기 말단에는 연결고리 부위 (coiled-coil domain, C-C domain)가 있으며 이와 leucine zipper 모티브를 가지고 있어 세포질내에서 다이머를 형성하도록 한다 (Fig. 2. Xiao *et al.*, 2000). 실제 Homer 단백은 mGlu 수용체와 IP₃ 수용체/ryanodine 수용체를 EVH1 도메인에 의해 인식, 결합하고 있으며 이들 단백들의 결합을 leucine zipper 모티브를 통한 Homer 다이머에 의해 매개하고 있다. 이와 같은 단백 결합에 의해 Homer 단백은 신경세포에서 시냅스 형성기전, mGlu 수용체의 세포막 부위로의 targeting에 관여하는 것으로 알려졌다 (Roche *et al.*, 1999). 그런데 세포막수용체와 세포내 칼슘저장고를 Homer 단백이 단백결합에 의해 연결하고는 있으나 아직까지 이에 대한 정확한 역할과 특히 비신경세포에서 Homer 단백의 역할에 대한 보고는 없는 상태이다.

GPCR-의존성 칼슘신호전달에서 Homer 단백의 역할
최근 Worley 연구진은 Homer 각 아형 유전자가 결여된 생쥐 (knock-out mouse, KO)를 제작, 생산하였으며 이를 이용하여 신 등은 *in vivo*상태에서 Homer 단백의 역할을 보고하였다 (Shin *et al.*, 2003). 상피세포에서는 신경세포에서와는 달리 Homer 단백이 결합 단백을 targeting에 관여하는 것이 아니라 GPCRs과 연관된 칼슘신호전달기전 자체를 조절할 가능성이 제시되었다. Homer 2와 3 KO 췌장선세포를 이용한 *in vivo*적 면역 형광 실험 결과에서 Homer와 단백 결합하고 있는 IP₃ 수용체의 내강 쪽 발현에는 영향이 없어, 비신경세포에서 Homer 단백은 관련 단백의 발현과 분포에는 영향이 없는 것으로 관찰되었다. 또한 췌장선세포에서 Homer 단백 중 Homer 1, 2는 선단측 (apical pole)에 현저하게 위치하고 있는 반면, Homer 3는 기저측면측 (basolateral pole)에 위치하고 있었다. 이미 신 등은 췌장 선세포에서 칼슘신호와 연관된 GPCRs, PMCA, IP₃ 수용체 등이 apical 쪽에 현

저히 발현되고 있음을 보고하였는데 (Shin *et al.*, 2001; Zhao *et al.*, 2001). 이는 apical 쪽에 발현하고 있는 Homer 1과 2 단백이 칼슘신호전달 과정에 관여할 가능성을 제시하고 있다. 기저측면측에 주로 발현된 Homer 3의 유전자를 제거한 Homer 3 KO의 경우 무스카린성 또는 cholecystokinin 수용체 자극시 대조군과 비교하여 세포내 칼슘농도의 변화가 없어 Homer 3 단백은 칼슘신호전달에서 특별한 역할을 담당하지 않은 것으로 판단된다. Homer 2KO 생쥐에서는 GPCRs 자극시 대조군에 비해 칼슘 oscillation 빈도와 IP₃ 생산량의 증가를 관찰할 수 있어, Homer 2의 결여는 GPCRs에서 PLC β 까지의 신호전달과 연계되어 있음을 알 수 있다.

칼슘신호전달에 관여하는 G-단백은 효소제에 의한 수용체 신호를 증폭시키거나 전달하는 신호전달과정의 중요한 조절부위이다. G-단백의 활성화는 수용체에 의해 촉진되어진 GDP-GTP 교환반응을 나타내는데, 이 교환반응은 α subunit \circlearrowleft G α · GTP와 G $\beta\gamma$ 로 유리되는 반응으로 결국에는 효과계 (effector) 단백을 활성화시킨다. 세포내 신호전달의 정지는 GTP의 가수분해와 G α · GDP $\beta\gamma$

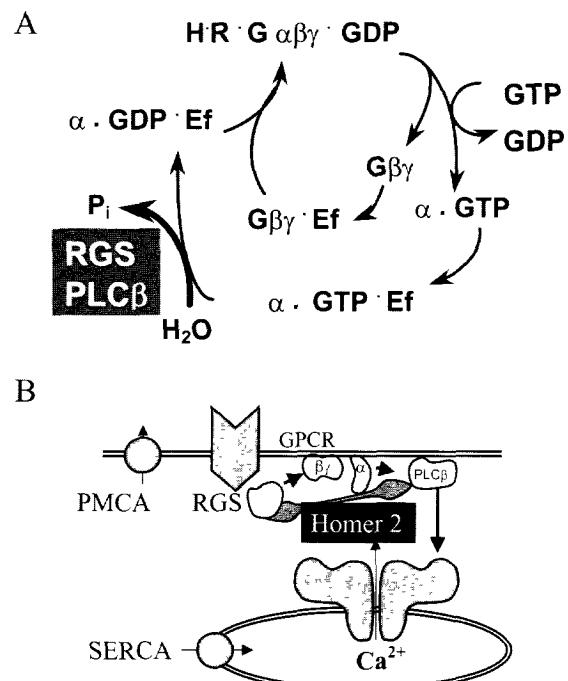


Fig. 3. Homer2 regulates GAPs acitivity of PLC β and RGS protein.

A. 효소제에 의한 G-단백의 활성화는 G β 와 G $\beta\gamma$ 의 분해를 촉진시키는데 이는 G α -GDP를 G α -GTP로 변화시켜 세포내 신호전달을 매개한 후. Regulators of G-protein Signaling (RGS) 단백 또는 phospholipase C β (PLC β)의 GTPase-activating proteins (GAPs)에 다시 G α -GDP로 되어 반응이 정지된다. B. Homer2는 PLC β 와 단백결합을 하고 있으며 *in vitro* reconstitution system과 Homer2 KO 생쥐에서 PLC β 와 RGS protein의 GAP 활성도를 조절하여 GPCR-의존성 칼슘신호를 조절하고 있다. H. hormone; Ef, effector. SERCA, sarco/endoplasmic Ca²⁺ ATPase.

heterotrimer의 재결합 반응을 유발한다. 이 반응은 PLC β 의 효과계 단백인 GTPase-activating proteins (GAPs)과 RGS 단백에 의해 가속화된다 (Ross, 1995). In vivo 및 vitro 연구에서 이러한 촉매적 반응이 칼슘신호전달에 관여하는 것으로 밝혀졌다 (Ross and Wilkie, 2000; Cook et al, 2000). RGS 단백에 의한 G α q의 조절은 칼슘 oscillation 형태로 나타나는 수용체에 특이적인 칼슘신호 전달을 매개한다 (Xu et al, 1999). 또한 이는 칼슘이 oscillation하는 동안 IP₃도 역시 oscillation하는 것으로 추측되어지고 있다 (Hirose et al, 1999; Nash et al, 2001; Luo et al, 2001). IP₃ oscillation에 의한 칼슘 oscillation은 RGS와/또는 PLC β GAP activity가 활성화되었다가 비활성화되는 순환반응에 의한 것이다. Homer 2 KO의 체장선세포에서 Homer 2는 RGS 단백과 PLC β 의 GAP 활성도를 조절한다 (Fig. 3A). 이는 다음과 같은 in vitro 와 in vivo적 실험결과에 의해 입증되었는데, 1) Homer 2 단백 결여시 효현제에 의한 칼슘 oscillation의 frequency가 증가되었고, 2) GAPs 활성화 물질인 RGS 단백의 주입시 Homer 2 KO체장선세포에서 칼슘신호의 활성도가 증가하였고, 3) In vitro reconstitution system에서 Homer 1, 3과는 달리 Homer 2단이 GAPs 활성도를 증가시켰으며, 4) 면역침강법으로 Homer 2와 PLC β 의 단백결합을 확인하였다가 때문이다. 다시말해 Homer 2단백은 칼슘신호에서 scaffolding protein으로서의 역할 외에도 RGS 단백과 PLC β 와 결합하여 GAP 활성도를 조절하는 기능을 가진 GPCRs 관련 칼슘신호전달을 미세하게 조절하는 역할을 수행한다는 것이다 (Fig. 3B). 이는 Homer 단백이 칼슘 oscillation 빈도와 GPCRs에 의해 유발되는 칼슘신호강도 조절을 분자적 수준에서 일으킨다는 최초의 보고이다.

저장고의 존성 칼슘유입 이온통로인 SOCC에서

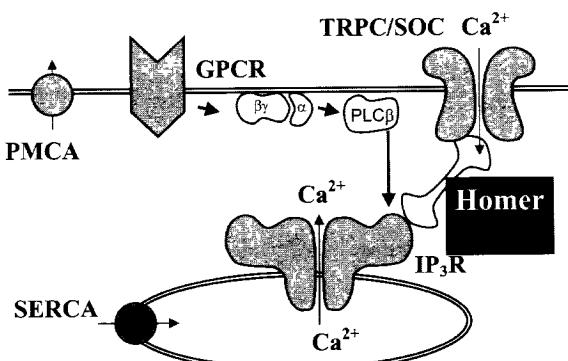


Fig. 4. Homer binds TRPC and is required for gating of TRPC1 by IP₃ receptors.

Homer 단백은 EVH1 도메인에 의해 IP₃ 수용체와 저장고의 존성 칼슘이온통로인 TRPC1과 단백결합을 하고 있으며 이와 같은 물리적 결합이 TRPC1의 개폐조절에 필요하다. SOC, store-operated channel.

Homer 단백의 역할

칼슘신호전달에 있어서 세포내로의 칼슘유입은 두 가지의 의미를 가지는데, 하나는 일련의 세포대사과정을 위한 특이적인 칼슘신호를 생성하는 것과 또 다른 하나는 고갈된 세포내 저장고를 다시 채우기 위한 것이다. 칼슘저장고로 알려진 소포체 내의 칼슘이 고갈되면 칼슘유입이 일어나게 되는데, 이 과정을 일반적으로 store-operated Ca²⁺ (SOC) entry라고 한다 (Putney et al, 2001). 아직 까지 소포체내 칼슘고갈에 의해 SOCC가 열리는 기전은 명확히 규명되지는 않았다. 가장 유력한 모델로는 소포체에 존재하는 IP₃ 수용체와 세포막에 존재하는 SOCC의 conformational coupling이 제안되고 있다. 이는 소포체내 칼슘농도의 감소는 IP₃ 수용체의 conformational change를 유발함으로써 생리학적으로 SOCC를 활성화시킨다는 것이다 (Kiselyov et al, 1998, 1999, 2000). SOCC의 하나로 받아들여지고 있는 Transient Receptor Potential Ca²⁺ (TRPC) channel은 비특이적인 양이온 통로로서 GPCR이 활성화되거나 세포내 칼슘저장고가 고갈됨에 따라 활성화된다 (Minke and Cook, 2002; Montell et al, 2002). 일부 TRPC channel은 칼슘저장고를 재충전하거나 조절하는 과정인 capacitive Ca²⁺ entry (CCE)에 관여하는 것으로 여겨진다 (Putney et al, 2001). TRP family는 다양한 생리적현상을 매개하는데, 삼투질 농도의 조절, 상피세포에서 칼슘이온의 수송, 체온과 대사기전의 감지 등을 들 수 있다 (Yuan et al, 2003). 또한 TRP family는 polycystic kidney 질환, 저마그네시움증등의 질환과 직접적으로 연계되어있어 이 이온통로의 in vivo적 이해는 질병치료에도 중요성을 갖고 있다 (Venkatachalam et al, 2001). Kiselyov 등은 TRPC 통로가 IP₃ 또는 ryanodine 수용체와 단백결합하며 이에 따라 TRPC 통로의 활성도가 조절된다는 conformational coupling 설을 지지하는 일련의 실험결과를 보고하였는데, TRPC3가 IP₃ 수용체와 결합하고 (Kiselyov et al, 1998), IP₃ 수용체의 아미노기 말단부으로도 TRPC3의 개폐반응을 조절할 수 있으며 (Kiselyov et al, 1999), IP₃ 수용체 뿐만 아니라 ryanodine 수용체도 TRPC3와 결합되어 이온통로의 개폐를 조절한다는 것이다 (Kiselyov et al, 2000; Hofmann et al, 2002). 이외 HEK 세포에서 TRPC4와 IP₃ 수용체의 결합이 알려져 있으며 (Boulay et al, 1999), 그리고 CHO 세포에서 TRPC1과 IP₃ 수용체의 결합이 TRPC1을 조절하고 있다 (Vaca and Sampieri, 2002). 특히 주목할 점은 TRPC 통로와 IP₃ 수용체간의 단백결합인데 이 결합이 직접적인지, 또는 간접적인지에 대한 보고는 아직까지 없는 상태이다. 이에 대해 Yuan 등은 TRPC1 통로와 IP₃ 수용체의 결합은 직접적이 아닌 Homer 단백에 의해 매개되며 Homer 단백 결합 양상에 따라 TRPC 통로 활성도가 조절된다는 것을 최초로 보고하였다 (Yuan et al, 2003). TRP family는 카르

복시기 밀단에 conserved proline-rich sequence인 LP (P/X) PFN을 가지고 있는데 이는 Homer 단백의 상대적 결합부위인 PPXXF와 유사하다. TRPC1 proline rich sequence유전자들을 변이시키면 Homer와 TRPC1 complex간의 단백-단백결합이 없어지며 이에 따라 TRPC1은 자발적인 통로의 열림을 보이게 된다. 이 실험결과는 Homer 1 유전자가 결여된 Homer 1KO에서 자발적인 통로의 열림을 관찰함에 따라 *in vivo*적으로도 입증되었다. 아울러 소포체 칼슘을 고갈시키는 thapsigargin 처치시 Homer와 TRPC1간의 결합이 감소됨은 이들이 물리적으로 결합되어 이온통로의 개폐를 조절하고 있음을 시사하고 있다.

결 론

모든 세포는 칼슘신호전달을 통해 다양한 생명현상을 수행하는데 특히 두개 악안면 영역에서는 타액분비, 미각감지, 악골근육의 수축, 치조골형성과 파괴 등에 관여하고 있다. 1997년 Homer 단백이 처음 발견된 이후 scaffolding 단백으로서의 역할에 대한 연구는 주로 신경세포에서만 국한되어왔으나 최근 Homer KO와 cDNA, 그리고 단백자체를 이용한 분자생물학적, 생화학적 연구 결과는 세포내 신호전달기전에서 지금까지 알려진 것 이외의 새로운 역할을 보여주고 있다. 특히 췌장선세포에서 밝혀진 GAP 활성도를 조절하는 결과와 SOCC의 개폐를 조절한다는 사실은 유사조직인 타액선에서의 타액분비조절 이해와 관련 질환의 토대 마련에 도움을 줄 것으로 기대된다. 이외 Homer 단백은 지금까지 밝혀지지 않은 여러 신호 단백들과 결합할 가능성이 있어 이에 대한 연구는 두개 악안면 영역을 포함한 다양한 세포와 장기의 기능적 연구에 도움을 줄 것이다.

감사의 글

이 논문은 2002년도 연세대학교 학술연구비의 지원에 의하여 이루어진 것임.

참 고 문 헌

- Beneken, J., Tu, J.C., Xiao, B., Nuriya, M., Yuan, J.P., Worley, P.F. and Leahy, D.H.. Structure of the Homer EVH1 domain-peptide complex reveals a new twist in polyproline recognition. *Neuron*. **26**:143-154, 2000.
 Berridge, M.J., Inositol trisphosphate and calcium signaling. *Nature*. **361**:315-325, 1993.
 Berridge, M.J., Lipp, P. and Bootman, M.D.: The versatility

and universality of calcium signaling. *Nature reviews*. **1**:11-21, 2000.

- Bouley, G., Brown, D.M., Qin, N., Jiang, M., Dietrich, A., Zhu, M.X., Chen, Z., Birnbaumer, M., Mikoshiba, K. and Birnbaumer, L.: Modulation of Ca^{2+} entry by polypeptides of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor(IP_3R) that bind transient receptor potential(TRP). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**:14955-14960, 1999.
 Brakeman, P.R., Lanahan, A.A., O'Brien, R., Roche, K., Barnes, C.A., Huganir, R.L. and Worley, P.F.: Homer: a protein that selectively binds metabotropic glutamate receptors. *Nature*. **386**:284-288, 1997.
 Cook, B., M. Bar-Yaacov, H. Cohen Ben-Ami, R.E. Goldstein, Z. Paroush, Z. Selinger and B Minke: Phospholipase C and termination of G-protein-mediated signaling *in vivo*. *Nat. Cell Biol.* **2**:296-301, 2000.
 Dodge, K.L., Carr, D.W., Yue, C. and Sanborn, B.M.: A role for AKAP (A kinase anchoring protein) scaffolding in the loss of a cyclic adenosine 3',5'-monophosphate inhibitory response in late pregnant rat myometrium. *Mol. Endocrinol.* **3**:1977-1987, 1999.
 Fagni, L., Worley P.F. and Ango, F.: Homer as both a scaffold and transduction molecule. *Science's STKE*. www.stke.org/cgi/content/full/sigtrans;2002/re8.
 Feng, W., Tu, J., Yang, T., Vernon, P.S., Allen, P.D., Worley, P.F. and Pessah, I.N.: Homer regulates gain of ryanodine receptor type 1 channel complex. *J. Biol. Chem.* **277**:44722-44730, 2002.
 Hering, H. and Sheng, M.: Dendritic spines: structure, dynamics, and regulation. *Nat. Rev. Neurosci.* **2**:880-888, 2001.
 Hirose, K., Kadowaki, S., Tanabe, M., Takeshima, H. and Iino, M.: Spatiotemporal dynamics of inositol 1,4,5-trisphosphate that underlies complex Ca^{2+} mobilization pattern. *Science*. **284**:1527-1530, 1999.
 Hofmann, T., Schaefer, M., Schultz, G. and Gudermann, T.: Subunit composition of mammalian transient receptor potential channels in living cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **99**:7461-7466, 2002.
 Kato, A., Ozawa, F., Saitoh, Y., Hirai, K., Inokuchi K.: vesl, a gene encoding VASP/Ena family related protein, is upregulated during seizure, long-term potentiation and synaptogenesis. *FEBS Lett.* **412**:183-189, 1997.
 Kiselyov, K., Xu, X., Mozhayeva, G., Kuo, T., Pessah, I., Mignery, G., Zhu, X., Birnbaumer, L. and Muallem, S.: Functional interaction between InsP₃ receptors and store-operated Htrp3 channels. *Nature*. **396**:478-482, 1998.
 Kiselyov, K., Mignery, G.A., Zhu, X. and Muallem, S.: The N-terminal domain of the IP₃ receptor gates store-operated hTrp3 channels. *Mol. Cell*. **4**:423-439, 1999.
 Kiselyov, K., Shin, D.M., Wang, Y., Pessah, I.N., Allen, P.D. and Muallem, S.: Gating of store-operated channels by conformational coupling to ryanodine receptors. *Mol. Cell*. **6**:421-431, 2000.
 Kiselyov, K., Shin, D.M. and Muallem, S.: Signalling specificity in GPCR-dependent Ca^{2+} signaling. *Cellular Signaling*. **15**:243-253, 2003.
 Lee, M.G., Xu, X., Zeng, W., Diaz, J., Kuo, T.H., Wuytack, F.,

- Racymakers, L. and Muallem, S.: Polarized expression of Ca^{2+} pumps in pancreatic and salivary gland cells. *J. Biol. Chem.* **272**:15771-15776, 1997.
- Luo, X., Popov, S., Bera, A.K., Wilkie, T.M. and Muallem, S.: RGS proteins provide biochemical control of agonist-evoked $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{i}}$ oscillations. *Mol. Cell.* **7**:651-660, 2001.
- Minke, B. and Cook, B.: TRP channel proteins and signal transduction. *Physiol. Rev.* **82**:429-472, 2002.
- Montell, C., Birnbaumer, L. and Flockerzi, V.: The TRP channels, a remarkably functional family. *Cell.* **108**:595-598, 2002.
- Morrison, D.K.: KSR: a MAPK scaffold of the Ras pathway?. *J. Cell Sci.* **114**:1609-1612, 2001.
- Naisbitt, S., Kim, E., Tu, J.C., Xiao, B., Sala, C., Valschanoff, J., Weinberg, R.J., Worley, P.F. and Sheng, M.: Shank, a novel family of postsynaptic density proteins that binds to the NMDA receptor/PSD-95/GKAP complex and cortactin. *Neuron.* **23**:569-582, 1999.
- Nash, M.S., Young, K.W., Challiss, R.A. and Nahorski, S.R.: Intracellular signaling. Receptor-specific messenger oscillation. *Nature.* **413**:381-382, 2001.
- Petersen, O.H., Petersen, C.C. and Kasai, H.: Calcium and hormone action. *Annu. Rev. Biochem.* **56**:297-319, 1994.
- Putney, J.W.: Cell biology. Channelling calcium. *Nature.* **410**:648-649, 2001.
- Raabé, T.: KSR-a regulator and scaffold protein of the MAP kinase pathway. *Science's STKE.* www.stke.org/cgi/content/full/sigtrans;2002/136/pe28.
- Roche, K.W., Tu, J.C., Petralia, R.S., Xiao, B., Wenthold, R.J. and Worley, P.F.: Homer 1b regulates the trafficking of group I metabotropic glutamate receptors. *J. Biol. Chem.* **274**:25953-25957, 1999.
- Ross, E.M.: G protein GTPase-activating proteins: regulation of speed, amplitude and signaling selectivity. *Recent Prog. Horm. Res.* **50**:207-221, 1995.
- Ross, E.M., Wilkie, T.M.: GTPase-activating proteins for heterotrimeric G proteins: regulators of G protein signaling (RGS) and RGS-like proteins. *Annu. Rev. Biochem.* **69**:795-827, 2000.
- Shin, D.M., Zhao, X.S., Zeng, W., Mozhayeva, M. and Muallem, S.: The mammalian Sec6/8 complex interacts with Ca^{2+} signaling complexes and regulates their activity. *J. Cell Biol.* **150**:1101-1112, 2000.
- Shin, D.M., Luo, X., Wilkie, T.M., Miller, L.J., Peck, A.B., Humphreys-Beher, M.G. and Muallem, S.: Polarized expression of G protein-coupled receptors and an all-or-none discharge of Ca^{2+} pools at initiation sites of $[\text{Ca}^{2+}]_{\text{i}}$ waves in polarized exocrine cells. *J. Biol. Chem.* **276**:44146-44156, 2001.
- Shin, D.M., Dehoff, M.D., Luo, X., Kang, S.H., Tu, J., Nayak, S.K., Ross, E.M., Worley, P.F. and Muallem, S.: Homer 2 tunes G protein-coupled receptors stimulus intensity by regulating RGS proteins and PLCbeta GAP activities. *J. Cell. Biol.* **162**:293-303, 2003.
- Tu, J.C., Xiao, B., Yuan, J., Lanahan, A., Leoffert, K., Li, M., Linden, D. and Worley, P.F.: Homer binds a novel praline rich motif and links group1 metabotropic glutamate receptors with IP_3 receptors. *Neuron.* **21**:717-726, 1998.
- Tu, J.C., Xiao, B., Naisbitt, S., Yuan, J.P., Petralia, R.S., Brakeman, P.R., Akalu, V.K., Lanahan, A.A., Sheng, M. and Worley, P.F.: mGluR/Homer and PSD-95 complexes are linked by the shank family of postsynaptic density proteins. *Neuron.* **23**:583-592, 1999.
- Turner, R.J. and Sugiya, H.: Understanding salivary fluid and protein secretion. *Oral Diseases.* **8**:3-11, 2002.
- Vaca, L. and Sampieri, A.: Calmodulin modulates the delay period between release of calcium from internal stores and activation of calcium influx via endogenous TRP1 channels. *J. Biol. Chem.* **277**:42178-42187, 2002.
- Venkatachalam, K., Ma, H.T., Ford, D.L. and Gill, D.L.: Expression of functional receptor-coupled TRPC3 channels in DT40 triple receptor InsP3 knockout cells. *J. Biol. Chem.* **276**:33980-33985, 2001.
- Xiao, B., Tu, J.C. and Worley, P.F.: Homer: a link between neural activity and glutamate receptor function. *Current Opinion in Neurobiology.* **10**:370-374, 2000.
- Zhao, X.S., Shin, D.M., Lynne, H.L., Gary, E.S. and Muallem, S.: Plasticity and adaptation of Ca^{2+} signaling and Ca^{2+} -dependent exocytosis in SERCa $^{2+/-}$ mice. *EMBO J.* **20**:2680-2689, 2001.
- Xu, X., Zeng, W., Popov, S., Berman, D.M., Davignon, I., Yu, K., Yowe, D., Offermanns, S., Muallem, S. and Wilkie, T.M.: RGS proteins determine signaling specificity of Gq-coupled receptors. *J. Biol. Chem.* **274**:3549-3556, 1999.
- Yuan, J.P., Kiselyov, K., Shin, D.M., Chen, J., Shcheynikov, N., Kang, S.H., Dehoff, M.H., Schwarz, M.K., Seeburg, P.H., Muallem, S. and Worley, P.F.: Homer binds TRPC family channels and is required for gating of TRPC1 by IP_3 receptors. *Cell.* **114**:777-789, 2003.