

Kalsiyum Bağlayıcı Proteinler

[Calcium Binding Proteins]

Berivan Tandoğan,
N. Nuray Ulusu

Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı,
06100 Ankara, Türkiye.

Yazışma Adresi
[Correspondence Address]

Doç.Dr. N. Nuray Ulusu, Ph.D.
Hacettepe Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı,
06100 Ankara, Turkey.
Tel: +90 312 324 5885
Fax: +90 312 310 0580
e-mail: nnulusu@hacettepe.edu.tr

ÖZET

Kalsiyum iyonu kas kasılması, adezyon, sekresyon, hareket, büyüme, farklılaşma, gen ekspresyonu ve hücre ölümü gibi çeşitli hücre fonksiyonlarının düzenli işlevi için gerekli esansiyel bir mineraldir. Hücrenin kalsiyum konsantrasyonundaki bir değişim ikincil haberci mekanizmaları için bir sinyal görevi görmektedir. Kalsiyum bağlayıcı proteinler sinyal iletiminde aracı bir rol üstlenerek, hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadırlar. Kalsiyum bağlayıcı proteinler ayrıca protein sentezi ve salınımı sırasında gerek duyulan önemli şaperon moleküllerdir. Bu proteinler başlıca kalsiyumun tamponlanması, taşınımı ve çeşitli enzim aktivitelerinin kontrolünde rol oynarlar. Kalsiyum bağlayıcı proteinler belirgin bir dizi ve yapısal benzerlik gösterir, ancak fonksiyonları geniş biyolojik çeşitliliğe sahiptir. Kalsiyum bağlayıcı proteinlerin hücre içi dağılımındaki dengesizlikler hipertansiyon, kalp hastalıkları, diyabet, manik depresyon ve Alzheimer gibi çeşitli hastalıklara yol açmaktadır. Birçok kalsiyum bağlayıcı proteinin hücre canlılığı, apoptozis ve kanserin ilerlemesinde önemli bir rolleri bulunmuştur. Kanser farklı tip ve evrelerinde kalsiyum bağlayıcı protein ekspresyon düzeyinin değişmesi bu proteinlerin kanser belirteci olarak kullanılabileceğini gösterir.

Anahtar Kelimeler: Kalsiyum bağlayıcı proteinler, kalmodulin, S100 protein ailesi, aneksinler, apoptozis

ABSTRACT

Calcium ions are essential for some of the cellular functions, including muscle contraction, adhesion, secretion, motility, growth, differentiation, gene expression, and cell death. The change in calcium concentration is transmitted as a signal of the intracellular second messenger. Calcium binding proteins are the mediators of the signal, and play pivotal roles in the many cellular processes through a variety of different mechanisms. Calcium binding proteins are also an important molecular chaperones involved in the protein synthesis within secretory pathways. Their major role is assumed to be buffering, transport of calcium, and regulation of various enzyme systems. Calcium binding proteins have remarkable sequence homology and structural similarity, yet they function in a wide range of biological processes. Several important disease states; hypertension, heart disease, diabetes, manic depression, Alzheimer's disease may result from abnormal remodeling of calcium binding proteins. It has been found that several calcium binding proteins have important roles in cell survival and apoptosis pathways and may also promote cancer progression. Because of the levels of calcium binding protein expression has changed in different stages and types of cancer, these proteins can be used as cancer markers.

Key Words: Calcium binding proteins, calmodulin, S100 protein family, annexins, apoptosis,

Kayıt tarihi 27 Eylül 2005; kabul tarihi 8 Kasım 2005
[Received 27 September 2005; accepted 8 Nov. 2006]

I. GİRİŞ

Kalsiyum iyonu (Ca^{2+}) üremeden apoptosise kadar birçok hücre fonksiyonunun kontrolünden sorumlu ikincil haberci moleküldür [1]. Hücre içi depolardan yada hücre dışından Ca^{2+} salınımıyla sitozolik serbest Ca^{2+} konsantrasyonundaki değişim kalsiyum bağlayıcı proteinlerin (CaBP) aktivasyonuna ve buna bağlı olarak spesifik protein kinazların fosforilasyonuna neden olur [2]. Ca^{2+} bağımlı sinyal iletim sistemi, kas kasılması, sekresyon yada enzim aktivasyonu gibi fonksiyonlar için önemli bir mekanizmadır [3]. Bu sinyalin birçok büyüme faktörü ve mitojeni DNA transkripsiyonu düzeyinde aktive etmesiyle hücre farklılaşması sağlanır [2].

Kalsiyum bağlayıcı proteinler hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonundaki değişime bağlı olarak enzim, kanal ve yapısal proteinlerin aktivitelerini düzenler [4]. CaBP'ler spesifik gelişim ve dağılım örnekleri göstererek yapısal olarak farklı alt sınıflara ayrılırlar [5]. Bu proteinlerin büyük bir bölümü EF-el adı verilen ortak kalsiyum bağlayıcı motife sahiptir. CaBP ailesinin önemli bir üyesi de aneksinlerdir. Bu proteinler fosfolipitler ve hücre membranı ile etkileşim halindedirler [6]. C2-bölgesi bulunan CaBP'ler ise başka bir sınıfı oluşturmaktadır [7].

En önemli görevi değişen sitozolik Ca^{2+} konsantrasyonunu kontrol etmek olmasına rağmen, CaBP'lerin tüm fonksiyonları tam olarak bilinmemektedir. CaBP'ler hücrede Ca^{2+} taşınımı ve tamponlanmasında rol oynar, ayrıca iyon kanallarının aktivitesini düzenleyerek Ca^{2+} girişinin kontrolünü sağlarlar. Bu proteinlerin eksikliği birçok patolojik duruma yol açar [5].

II. EF-EL YAPISINA SAHİP OLAN KALSİYUM BAĞLAYICI PROTEİNLER

EF-el yapısına sahip CaBP belirgin dizi homolojisi ve yapısal benzerliğe sahip olmalarına rağmen fonksiyonları çeşitlilik gösterir [8]. Bu proteinler kalsiyumun taşınmasında, sinyalizasyonda görev alır ve şaperon protein olarak fonksiyon görürler. Genellikle EF-el, heliks-dönüş-heliks yapısına sahiptir ve bu yapı ilk kez "parvalbumin"de gösterilmiştir [9].

1. Kalmodulin

Kalmodulin, hemem hemen tüm ökaryotik hücrelerde bulunan EF-el yapısına sahip 17 kDa luk bir proteindir ve dört Ca^{2+} bağlama bölgesi bulunur [10,11]. Ca^{2+} iyonunun başlıca hücre içi reseptörü olan kalmodulin [11] çeşitli protein kinazların aktivitesini kontrol etmektedir. [12,13]. Ryanodin reseptörü ile inozitol 1,4,5-trifosfat reseptörü hücre içi kalsiyum salınım kanallardır. Her ikisi de kalsiyum/ kalmodulin aracılı sinyal sistemi ile düzenlenir [14].

2. Kalretisulin ve Kalsekestrin

Kalretisulin eritrositler dışında her hücre tipinde bu-

lunur ve molekül ağırlığı yaklaşık 46 kDa'dur. Başlıca görevi hücre içi ve endoplazmik retikulum (ER) Ca^{2+} konsantrasyonunu düzenlenmektir. ER'den salınacak proteinlerin kalite kontrolünde görev alan bir şaperondur [15]. Kalretisulin, ayrıca gen ekspresyonunun düzenlenmesi, hücre adezyonu, angiogenesis ve tümoral gelişimin inhibisyonu, T ve NK hücrelerinde perforin por oluşumunun inhibisyonu gibi çeşitli fonksiyonlara sahiptir [16].

Kalsekestrin, iskelet ve kalp kası sarkoplazmik retikulumunda en sık rastlanan CaBP'dir. Bu protein elli kalsiyum bağlama bölgesi içerir. Kalsekestrinin yüksek depolama kapasitesi kasılma için gereken Ca^{2+} 'nın 20mM'a kadar depolanmasını sağlar [17].

3. S100 protein ailesi:

S100 protein ailesi ortak kalsiyum bağlayıcı EF-el motifine sahip en az yirmi bir farklı proteinden oluşur ve molekül ağırlıkları 9–13 kDa arasında değişir [18]. Hücre içi S-100 proteinleri bulunduğu dokuya göre homolog dimerler yada farklı altbirimler (alfa-beta) halinde bulunabilir [19]. S100 proteinleri farklı hedef proteinlerle etkileşimlere girerek, protein fosforilasyonu, immün cevap, büyüme, farklılaşma, hücre iskeleti hareketi, enzim aktivitesi, Ca^{2+} homeostazisi gibi çeşitli fonksiyonlarda önemli rol oynar [20,21]. Hücre dışında yer alan S100 proteinleri inflamatuvar hücrelerin aktivitesini uyararak nöronal farklılaşma, astrosit proliferasyonunda rol alır [21].

4. EF-el yapısına sahip diğer kalsiyum bağlayıcı proteinler:

"Calmyrin", dört EF-el yapısı içeren mebrana bağlı bir proteindir. Birçok çalışmada kalmirinin iki C-terminal EF-el yapısının iki kalsiyum iyonunu bağlayabildiği saptanmıştır [22]. "Calbindin", Ca^{2+} 'ya yüksek afinitesi olan EF-el motifine sahip, nöronal fonksiyonlar ve böbrek ile ince bağırsak epitel hücrelerinde Ca^{2+} taşınımı için gerekli önemli bir proteindir [23]. "Aralar 1" ve "citrin" mitokondride kalsiyum bağlayan aspartat/glutamat taşıyıcısıdır. Kalsiyum bağlayıcı bu proteinlerin ekstramitokondriyel matriksde bulunması organelde Ca^{2+} girişi olmadan mitokondriyel Ca^{2+} sinyal iletimini sağlamaktadır [24]. Kalneksin, protein sentezi, katlanma ve posttranslasyonel modifikasyonlar sırasında proteinlerin kalite kontrolünde önemli rol oynar [25]. Kalneksin membran ve sitozolik birçok proteinle etkileşimde olan yeni bir tip moleküler şaperondur. İntegral membran proteini olduğu için Hsp60, Hsp70 ve Hsp90 moleküler şaperon ailelerinden farklıdır [26]. "Centrin" EF-el yapısı içeren kalmodulinin prototipi olarak kabul edilebilen CaBP'dir. İnsandan ağırlara kadar uzanan birçok çeşit canlıda bulunur [27]. İnsan "centrin-2" sentrozom ve bazal cisimcik ile ilişkilidir [28].

III. EF-EL YAPISINA SAHİP OLMAYAN KALSİYUM BAĞLAYICI PROTEİNLER

1. Anneksinler:

Anneksinler, yalnız ökaryotik hücrelerde bulunan kalsiyum bağlayıcı membran proteinleridir. Hücrede kalsiyum sinyalizasyonu, vezikül hareketi, hücre bölünmesi, apoptozis, büyümenin düzenlenmesi gibi fonksiyonları vardır [29,30]. Anneksin proteini çekirdek altbiriymiş aminoasit uzunluğunda, tip 2 motif olarak bilinen kalsiyum bağlayıcı dört tekrarlı diziden oluşmaktadır. Anneksinlerin homolog olmayan amino-ucu bölgesi, proteinin lokalizasyonunu, spesifik fonksiyonunu ve bağlanacağı hedef proteinlerinin neler olduğunu belirlemektedir [30].

2. C2-bölgesi Bulunduran Kalsiyum Bağlayıcı Proteinler:

C2-bölgesi yüz otuz aminoasit uzunluğunda kalsiyum bağlayıcı bir yapıdır. C2-bölgesi, GTPazların aktivasyonu, membran trafiği, lipid-ikincil habercilerin üretimi, protein fosforilasyonunun kontrolü gibi önemli hücrenel fonksiyonlarda rol oynar. Grup olarak, C2-bölgesi bulunan proteinler Ca^{2+} , fosfolipitler, inozitol polifosfatlar gibi hücreiçi farklı birçok liganda bağlanabilme özelliği gösterirler. Bazı proteinlerde ise C2-bölgesi bağlanabilme özelliğini kaybetmiştir, sadece yapısal olarak bulunur [7].

EF-el yapısının bulunduğu bir proteine Ca^{2+} bağlanması, hidrofobik grupları yüzeye çıkaran büyük konformasyonel değişikliklere neden olur. Buna karşın, C2-yapısı kendine özgü bir β -plakalı yapıya sahiptir ve C2 bölgesine Ca^{2+} 'nın bağlanması büyük konformasyonel değişimlere gerek olmadan hızlı bir şekilde olmaktadır. Bu bağlanma biçimi nörotransmitter salınması gibi hızlı reaksiyonlarda etkili olabilir [31].

IV. KALSİYUM BAĞLAYICI PROTEİNLER VE APOPTOZİS:

Hücre içi Ca^{2+} konsantrasyonu apoptozisde çok önemli bir rol oynar. Hücre ölümü ile ilişkili kalsiyum bağımlı moleküller hakkında yapısal bilginin sınırlı olması, Ca^{2+} ve apoptozis arasındaki ilişkinin detaylı olarak bilinmemesine neden olmaktadır [32]. Hücreiçi Ca^{2+} 'nın geçici olarak yükselmesi kasılma, sekresyon, fertilizasyon, proliferasyon, metabolizma, kalp atışı ve hafıza gibi birçok durumda sinyal rolü oynamaktadır. Ancak, Ca^{2+} konsantrasyonunun uzun süreli yükselmesi ($10\mu M$ 'ın üzerine çıkması) apoptozisi uyarır ve hücre için tehlikelidir [33].

“Calpain” merkezi sinir sistemi ile ilgili hastalıklarla ilişkili Ca^{2+} -bağımlı proteolitik bir enzimdir. Hücreiçi Ca^{2+} düzeyinin artışı “calpain” in aşırı aktivasyonuna neden olur. Böylece hücre iskeleti ve membran proteinlerinin parçalanması artar ve sinir hücrelerinin bütünlüğünün bozulması ile hücre ölümü gerçekleşir

[34]. “Calpain” aktivitesinin hücrede hangi mekanizmalarla düzenlendiği kesin olarak bilinmemekle birlikte, membran kaynaşması, sinyal iletim mekanizmaları ve apoptozis ile ilgili çeşitli fonksiyonlarda görev alır [35].

ALG-2 (apoptosis-linked gene 2 product) apoptozis ile doğrudan ilişkisi ortaya çıkarılmış ilk CaBP'dir ve T hücresi reseptörü uyarılması, Fas ve glukokortikoid bağımlı hücre ölümünde etkilidir [32]. ALG-2 geni 5 EF-el yapısı içeren 22 kDa luk CaBP kodlar [36]. ALG-2, kanserli dokularda yüksek aktiviteye sahiptir ve bu özelliği ile klinikte kanser belirteci olarak kullanılabilir [37].

“Calbindin-D28k” sinir hücrelerinde bulunan CaBP'dir ve kalsiyum tamponlama özelliği ile sinir hücrelerini artmış kalsiyumun zararlı etkilerinden korur. “Calbindin” in Ca^{2+} tamponlama özelliği, mitokondriye Ca^{2+} girişinin ve depolarizasyonun sınırlandırılmasını sağlar, bu şekilde hücrenin apoptozise girmesini engeller [38]. Aynı şekilde ER'nin lümenindeki kalretisulin ile sitoplazmadaki “calcineurin” arasındaki sinyalizasyon, kalsiyum bağımlı apoptotik yolun uyarılmasında önemli bir rol oynamaktadır [39].

V. KLİNİK ÖNEMİ

Organizmanın gelişimi sırasında hücre proliferasyonu, farklılaşması ve ölümü çok sayıda düzenleyici molekül ile kontrol edilir [37]. Özellikle kasta, Ca^{2+} dengesinin bozukluğu birçok hastalığa neden olur [33]. İnguinal hernia, hidrosel ve inmemiş testis dokularında farklı kalsiyum konsantrasyonları saptanmıştır [40]. Çeşitli patolojik durumlarla ilgili keselerde Ca^{2+} oranları, çocukluğun farklı evrelerinde çeşitli nedenlere bağlı olarak inguinal hernia veya hidrosel oluşmasına neden olur [41]. Miyokardiyal enfaktüs, felç ve beyin travması gibi birçok hastalık, “calpain” aktivitesinde meydana gelen değişiklikler sonucunda ortaya çıkar [35]. Kalp hastalıkları, nörodejeneratif ve inflamatuvar hastalıklar, sedef hastalığı, yara iyileşmesi ve özellikle melanoma gibi kanser hastalıklarında, S100 proteinlerinin aşırı ekspresyonu gözlenmektedir [18,42]. S100A4 klinikte metastatik tümörlerle ilişkili moleküler belirteç olarak kullanılmaktadır [43]. S100A8 ve S100A9'un aşırı ekspresyonu prostat kanserlerinin erken dönemlerinde gözlenir. Serumda S100A9 prostat kanserlerinin belirlenmesinde belirteç olarak kullanılmaktadır [44]. S100B konsantrasyonu tümör kütesini ve tedavinin etkisini belirlemektedir. S100B konsantrasyonunun azalması tedaviye cevap verdiğini, artan S100B düzeyi ise tümörün geliştiğini gösterir. Dolaşımdaki S100B de melanoma gibi kanserlerde tedavinin yönünü tayin etmede belirleyici olmaktadır [45]. “Calprotectin”, S100 ailesinde yer alan ve nötrofillerde sık rastlanan bir CaBP'dir. Romatoid artrit, kistik fibrosis gibi çeşitli inflamatuvar durumlarda hücre dışı sıvılarda yüksek düzeyde “Calprotectin” bulunur. Nötrofiller, tümör hücreleri ve normal

fibroblastlar gibi çeşitli hücelere karşı büyüme-engelle-yici ve apoptozisi uyarıcı aktiviteye sahiptir, ve bu fonksiyonunun “calprotectin” den kaynaklandığı düşünülmektedir [46].

Kalsiyum bağlayıcı proteinlerle apoptozisin görüntülenmesi sağlanmaktadır. Örneğin, annekxin A5 apoptozis sırasında hücreye bağlanır, bu protein radyoaktif olarak işaretlenerek apoptozis görüntülenebilir [47]. Radyoaktif işaretli annekxin ile apoptozisin görüntülenmesi tekniği Avrupa ve Amerika’da miyokardiyal hasarların ve çeşitli kardiyovasküler bozuklukların [48], apoptotik sinyallerin ve kemoterapide tümör cevabının [49,50] belirlenmesinde sık kullanılan bir yöntemdir.

Kalsiyum bağlayıcı protein olan plazma gelsolinindeki mutasyon Alzheimer gibi amiloid hastalıklara yol açmaktadır [51]. Kalretisulin eksikliği ise kardiyak gelişim engellediği için öldürücüdür. Ayrıca proteinin aşırı eksprese edilmesi bradikardi ve ani ölüme neden olur [52].

Kaynaklar

- [1] Bouschet T, Henley JM (2005) Calcium as an extracellular signaling molecule: perspectives on the Calcium Sensing Receptor in the brain. *C R Biol.* 328 (8), 691–700.
- [2] Munaron L, Antoniotti S, Fiorio Pla A, Lovisolo D (2004) Blocking Ca^{2+} entry: a way to control cell proliferation. *Curr Med Chem.* 11 (12), 1533–43.
- [3] Endocrinology An Integrated Approach Stephen Nussey Saffron Whitehead BIOS Scientific Publishers Ltd, 2001.
- [4] Haeseleer F, Palczewski K (2002) Calmodulin and Ca^{2+} -binding proteins (CaBPs): variations on a theme. *Adv Exp Med Biol.* 514, 303–17.
- [5] Bastianelli E (2003) Distribution of calcium-binding proteins in the cerebellum. *Cerebellum.* 2 (4), 242–62.
- [6] Heizmann, CW. (1992) Calcium-binding proteins: basic concepts and clinical implications. *Gen. Physiol. Biophys.* 11, 411–425.
- [7] Nalefski EA Falke JJ. (1996) The C2 domain calcium-binding motif: structural and functional diversity. *Protein Sci.* 5 (12), 2375–90.
- [8] Bhattacharya S, Bunick CG, Chazin WJ (2004) Target selectivity in EF-hand calcium binding proteins. *Biochim Biophys Acta.* 1742 (1–3), 69–79.
- [9] Stryer L, (2002) Biochemistry, 5th ed. New York: W. H. Freeman and Co.
- [10] Rashid A, Khurshid R, Begum M, Gul-e-Raana, Latif M, Salim A (2004) Modeling the mutational effects on calmodulin structure: prediction of alteration in the amino acid interactions. *Biochem Biophys Res Commun.* 317 (2), 363–9.
- [11] Kahl CR, Means AR (2003) Regulation of cell cycle progression by calcium/calmodulin-dependent pathways. *Endocr Rev.* 24 (6), 719–36.
- [12] Yang C, Jas GS, Kuczera K (2004) Structure, dynamics and interaction with kinase targets: computer simulations of calmodulin. *Biochim Biophys Acta.* 1697 (1–2), 289–300.
- [13] Yamniuk AP, Vogel HJ (2004) Calmodulin’s flexibility allows for promiscuity in its interactions with target proteins and peptides. *Mol Biotechnol.* 27 (1), 33–57.
- [14] Nadif Kasri N, Bultynck G, Sienaert I, Callewaert G, Erneux C, Missiaen L, Parys JB, De Smedt H (2002) The role of calmodulin for inositol 1,4,5-trisphosphate receptor function. *Biochim Biophys Acta.* 1600 (1–2), 19–31.
- [15] Gelebart P, Opas M, Michalak M (2005) Calreticulin, a Ca^{2+} binding chaperone of the endoplasmic reticulum. *Int J Biochem Cell Biol* 37 (2), 260–6
- [16] Ferreira V, Molina MC, Valck C, Rojas A, Aguilar L, Ramirez G, Schwaeble W (2004) Role of calreticulin from parasites in its interaction with vertebrate hosts. *Mol Immunol.* 40 (17), 1279–91.
- [17] Beard NA, Laver DR, Dulhunty AF; (2004) Calsequestrin and the calcium release channel of skeletal and cardiac muscle. *Prog Biophys Mol Biol.* 85 (1), 33–69.
- [18] Eckert RL, Broome AM, Ruse M, Robinson N, Ryan D, Lee K (2004) S100 proteins in the epidermis. *J Invest Dermatol.* 123 (1), 23–33.
- [19] Fano G, Biocca S, Fulle S, Mariggio MA, Belia S, Calissano P (1995) The S-100: a protein family in search of a function. *Prog Neurobiol.* 46 (1), 71–82.
- [20] Emberley ED, Murphy LC, Watson PH (2004) S100 proteins and their influence on pro-survival pathways in cancer. *Biochem Cell Biol.* 82 (4), 508–15.
- [21] Donato R (2001) S100: a multigenic family calcium modulated proteins of the EF hand type with intracellular and extracellular functional roles. *Int J Biochem Cell Biol.* 33 (7), 637–68.
- [22] Zhu J, Stabler SM, Ames JB, Baskakov I, Monteiro MJ (2004) Calcium binding sequences in calmyrin regulates interaction with presenilin-2. *Exp Cell Res.* 300 (2), 440–54.
- [23] Venyaminov SY, Klimtchuk ES, Bajzer Z, Craig TA (2004) Changes in structure and stability of calbindin-D (28K) upon calcium binding. *Anal Biochem.* 334 (1), 97–105.
- [24] del Arco A, Satrustegui J (2004) Identification of a novel human subfamily of mitochondrial carriers with calcium-binding domains. *J Biol Chem.* 279 (23), 24701–13.
- [25] Michalak M, Mariani P, Opas M (1998) Calreticulin, a multifunctional Ca^{2+} binding chaperone of the endoplasmic reticulum. *Biochem Cell Biol.* 76 (5), 779–85.

VI. SONUÇ

Çok sayıda hücreyel fonksiyon Ca^{2+} iyonunun hücre içi konsantrasyonu ile kontrol edilmektedir. Ca^{2+} hücre bölünmesi, farklılaşması ve apoptozis gibi önemli fonksiyonlarda önemli bir sinyal molekülü olarak etki gösterir. Ancak Ca^{2+} konsantrasyonunun uzun süreli yükselmesi hücre için tehlikelidir. Kalsiyum bağlayıcı proteinlerin tamponlama etkisi ile hücrede yüksek kalsiyuma bağlı olarak ortaya çıkacak zararlı etkiler ortadan kaldırılır. Bu moleküllerin hücredeki konsantrasyonunun artışı yada azalışı canlılarda kanser ve kalp hastalıkları gibi önemli patolojik durumlara yol açar. CaBP’lerin ileri laboratuvar teknikleri ile incelenmesi ile önümüzdeki yıllarda yapılacak araştırmalar, bu protein ailesinin öneminin daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır. CaBP üzerine etki ederek hücrede kalsiyum konsantrasyonunun belirli düzeyde tutulmasını sağlayan çeşitli ilaçların araştırılması ve bu ilaçların bazı hastalıkların tedavisindeki rollerinin belirlenmesi araştırılmayı bekleyen konular arasındadır.

- [26] Bergeron JJ, Brenner MB, Thomas DY, Williams DB (1994) Calnexin: a membrane-bound chaperone of the endoplasmic reticulum. *Trends Biochem Sci.* 19 (3), 124–8
- [27] Hu H, Sheehan JH, Chazin WJ (2004) The mode of action of centrin. Binding of Ca^{2+} and a peptide fragment of Karlp to the C-terminal domain. *J Biol Chem.* 279 (49), 50895–903.
- [28] Tourbez M, Firanescu C, Yang A, Unipan L, Duchambon P, Blouquit Y, Craescu CT (2004) Calcium-dependent self-assembly of human centrin 2. *J Biol Chem.* 279 (46), 47672–80.
- [29] Hayes MJ, Moss SE (2004) Annexins and disease. *Biochem Biophys Res Commun.* 322 (4), 1166–70.
- [30] Moss SE, Morgan RO (2004) The annexins. *Genome Biol.* 5 (4), 219.
- [31] Rizo J, Sudhof TC (1998) C2-domains, structure and function of a universal Ca^{2+} -binding domain. *J Biol Chem.* 273 (26), 15879–82.
- [32] Wu F, Zhang M, Gong W (2001) Crystallization preliminary crystallographic studies apoptosis-linked CaBP ALG-2. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr.* 57, 1162–3.
- [33] MacLennan DH (2000) Ca^{2+} signalling muscle disease. *Eur J Biochem.* 267 (17), 5291–7.
- [34] Ray SK, Banik NL (2003) Calpain and its involvement in the pathophysiology of CNS injuries and diseases: therapeutic potential of calpain inhibitors for prevention of neurodegeneration. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord.* 2 (3), 173–89.
- [35] Goll DE, Thompson VF, Li H, Wei W, Cong J (2003) The calpain system. *Physiol Rev.* 83 (3), 731–801.
- [36] Subramanian L, Crabb JW, Cox J, Durussel I, Walker TM, van Ginkel PR, Bhattacharya S, Dellaria JM, Palczewski K, Polans AS (2004) Ca^{2+} binding to EF hands 1 and 3 is essential for the interaction of apoptosis-linked gene-2 with Alix/AIP1 in ocular melanoma. *Biochemistry.* 43 (35), 11175–86.
- [37] Krebs J, Saremaslani P, Caduff R (2002) ALG-2: a Ca^{2+} -binding modulator protein involved in cell proliferation and in cell death. *Biochim Biophys Acta.* 1600 (1–2), 68–73
- [38] Rintoul GL, Raymond LA, Baimbridge KG (2001) Calcium buffering and protection from excitotoxic cell death by exogenous calbindin-D28k in HEK 293 cells. *Cell Calcium.* 29 (4), 277–87.
- [39] Groenendyk J, Lynch J, Michalak M (2004) Calreticulin, Ca^{2+} , and calcineurin—signaling from the endoplasmic reticulum. *Mol Cells.* 17 (3), 383–9.
- [40] Tanyel FC, Uluşu NN, Tezcan EF, Büyükpamukcu N. (2002) Less calcium in cremaster muscles of boys with undescended testis supports a deficiency in sympathetic innervation. *Urol Int.* 69 (2), 111–5.
- [41] Tanyel FC, Uluşu NN, Tezcan EF, Büyükpamukcu N. (2003) Total calcium content of sacs associated with inguinal hernia, hydrocele or undescended testis reflects differences dictated by programmed cell death. *Urol Int.* 70 (3), 211–5.
- [42] Marenholz I, Heizmann CW, Fritz G. (2004) S100 proteins in mouse and man: from evolution to function and pathology (including an update of the nomenclature) *Biochem Biophys Res Commun.* 322 (4), 1111–22.
- [43] Helfman DM, Kim EJ, Lukanidin E, Grigorian M (2005) The metastasis associated protein S100A4: role in tumour progression and metastasis. *Br J Cancer.* 92 (11), 1955–8.
- [44] Hermani A, Hess J, De Servi B, Medunjanin S, Grobholz R, Trojan L, Angel P, Mayer D. (2005) Calcium-binding proteins S100A8 and S100A9 as novel diagnostic markers in human prostate cancer. *Clin Cancer Res.* 11 (14), 5146–52.
- [45] Harpio R, Einarsson R (2004) S100 proteins as cancer biomarkers with focus on S100B in malignant melanoma. *Clin Biochem.* 37 (7), 512–8.
- [46] Yui S, Nakatani Y, Mikami M (2003) Calprotectin (S100A8/S100A9), an inflammatory protein complex from neutrophils with a broad apoptosis-inducing activity. *Biol Pharm Bull.* 26 (6), 753–60
- [47] Kietselaer BL, Hofstra L, Dumont EA, Reutelingsperger CP, Heidendal GA (2003) The role of labeled Annexin A5 in imaging of programmed cell death. From animal to clinical imaging. *Q J Nucl Med.* 47 (4), 349–61.
- [48] Flotats A, Carrio I (2003) Non-invasive in vivo imaging of myocardial apoptosis and necrosis. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 30 (4), 615–30.
- [49] Blankenberg F, Mari C, Strauss HW (2003) Imaging cell death in vivo. *Q J Nucl Med.* 47 (4), 337–48.
- [50] Belhocine T, Steinmetz N, Li C, Green A, Blankenberg FG. (2004) The imaging of apoptosis with the radiolabeled annexin V: optimal timing for clinical feasibility *Technol Cancer Res Treat.* 3 (1), 23–32.
- [51] Page LJ, Huff ME, Kelly JW, Balch WE (2004) Ca^{2+} binding protects against gelsolin amyloidosis. *Biochem Biophys Res Commun.* 322 (4), 1105–10.
- [52] Michalak M, Guo L, Robertson M, Lozak M, Opas M (2004) Calreticulin in the heart. *Mol Cell Biochem.* 263 (1–2), 137–42.