

Photoaktivierbare Lipide

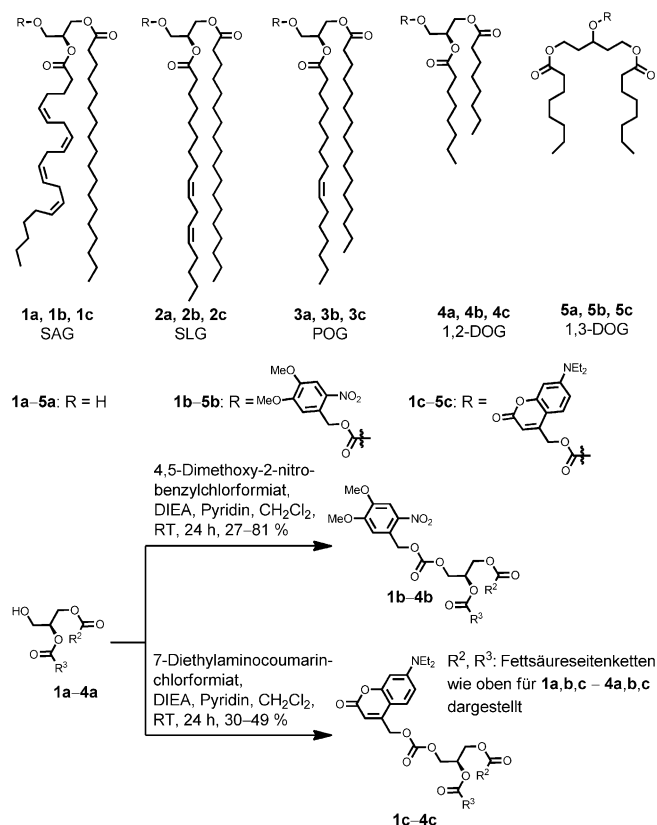


Die Fettsäurezusammensetzung von Diacylglycerinen bestimmt lokale Signalmuster**

André Nadler, Gregor Reither, Suihan Feng, Frank Stein, Sabine Reither, Rainer Müller und Carsten Schultz*

Zelluläre Signalsysteme bestehen aus weitverzweigten Netzwerken von Proteinen und kleinen Molekülen sowie ihren Metaboliten. Die genaue Kontrolle dieser Signalmoleküle ist notwendig, um eine präzise und reproduzierbare physiologische Funktion der Zelle zu gewährleisten. Auf Proteinebene wird das oft durch spezifische und reversible chemische Modifikationen wie z.B. Phosphorylierung oder durch Lokalisation von Proteinen in definierte Zellkompartimente erzielt.^[1,2] Über zelluläre Kontrollmechanismen, die durch kleine Moleküle übertragene Signale steuern, ist viel weniger bekannt. Die Gründe sind vor allem in der grundsätzlich schwierigeren Visualisierung von Lokalisation und Metabolismus kleiner Moleküle zu suchen. Dies gilt insbesondere für Untersuchungen zur Lipidsignalübertragung. Zwar kennen wir die vorkommenden Lipidklassen recht gut, doch wird durch chemische Diversität und Kombination der Fettsäuren eine enorme Vielfalt von molekularen Spezies ermöglicht. Durch massenspektrometrische Lipidomanalyse ist nachgewiesen, dass ein signifikanter Teil dieses molekularen Spektrums in Zellen tatsächlich zur Verfügung steht.^[3–5] Diese außergewöhnliche und experimentell kaum erfassbare Komplexität hat dazu geführt, dass Lipidsignalübertragungsschritte als „Kopfgruppensignalübertragung“ behandelt und die chemischen Unterschiede der einzelnen Spezies einer Lipidklasse weitgehend ignoriert werden, auch wenn eine Reihe von In-vitro-Studien signifikante Aktivitätsunterschiede nahelegen.^[6–8] Aus ähnlichen Gründen wurde bisher der Einfluss subzellulärer Konzentrationsgradienten definierter Lipidspezies kaum im Detail untersucht. Wir stellen die Hypothese auf, dass die chemische Diversität von Lipidklassen ebenso wie subzelluläre Konzentrationsgradienten bestimmter Lipidspezies molekulare Mechanismen darstellen, die Lipidsignalübertragungen steuern.

Experimentell können sowohl Fettsäurediversität als auch lokal erhöhte Spiegel einer bestimmten Spezies durch die Verwendung photoaktivierbarer Lipidderivate in intakten Zellen generiert werden.^[9–11] Wir entschieden uns, Signalübertragung durch Diacylglycerine (DAG) zu untersuchen, da DAG eine wesentliche Rolle in verschiedenen Signalkomplexen spielt, die zum Beispiel über G-Protein-gekoppelte Rezeptoren oder Wachstumsfaktorrezeptoren aktiviert werden.^[12–15] Darüber hinaus ist die Koexistenz von 30–50 DAG-Spezies mit verschiedener Fettsäurekombination in Säugerzellen durch aktuelle Lipidomanalysen nachgewiesen.^[3–5] DAG aktivieren einerseits verschiedene Isoformen der Proteinkinase C (PKC),^[16,17] aber auch andere Proteine wie RasGRPs, Munc13 und DGKγ^[18,19] durch Bindung an C1-Domänen und Rekrutierung an zelluläre Membranen. Ferner wurde gezeigt, dass DAG direkt humane transiente Rezeptorpotentialkanäle (TRPC3 und TRPC6) aktivieren



Schema 1. Strukturen der Diacylglycerine 1a–5a und die Synthese der entsprechenden Coumarinylmethyl- und Nitroveratroyl-geschützten Derivate.

[*] Dr. A. Nadler,^[†] Dr. G. Reither,^[†] S. Feng, F. Stein, Dr. S. Reither, Dr. R. Müller, Priv.-Doz. Dr. C. Schultz
Cell Biology & Biophysics Unit
European Molecular Biology Laboratory
Meyerhofstraße 1, 69117 Heidelberg (Deutschland)
E-Mail: schultz@embl.de

[†] Diese Autoren haben zu gleichen Teilen zu der Arbeit beigetragen.

[**] Wir danken der Advanced Light Microscopy Facility (ALMF) des EMBL für professionelle Unterstützung in der Mikroskopie sowie der DFG (TRR 83) für finanzielle Unterstützung.

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag (Syntheseverfahren, Analysedaten, zusätzliche Informationen zu den durchgeführten Experimenten und eine kurze Charakterisierung der verwendeten Biosensoren) sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201301716> zu finden.

können.^[20–22] Lokal erhöhte DAG-Spiegel wurden bisher nur durch Freisetzung eines photoaktivierbaren T-Zellrezeptoragonisten und nachfolgende Produktion von endogenem DAG oder durch lokale Photoaktivierung eines nicht-physiologischen DAG-Analogons erzeugt.^[9,23] Zwar haben diese Ansätze wichtige Erkenntnisse zum Mechanismus von T-Zellsignalübertragung und der Polarisation des Mikrotubulin-Organisationszentrums (MTOC) in T-Zellen ermöglicht, doch können auf diese Weise die Unterschiede in der biologischen Funktion verschiedener DAG-Spezies nicht untersucht werden. Um die Beantwortung derartiger Fragestellungen zu ermöglichen, stellen wir hier eine Reihe photoaktivierbarer („caged“) DAG mit unterschiedlicher Fettsäurezusammensetzung vor.

Das Design der photoaktivierbaren DAG mit dem „cage“ an der einzigen Hydroxygruppe ist offensichtlich (Schema 1). Wir verwendeten eine kürzlich entwickelte Synthese, die es erlaubt, schrittweise zwei verschiedene Fettsäuren einzuführen und nach dem finalen Entschüttungsschritt die oft beobachtete Fettsäurewanderung vollständig zu vermeiden.^[24]

Wir führten zwei verschiedene photoaktivierbare Gruppen ein, eine fluoreszente Coumarinylmethylenvariante und die nicht-fluoreszente 4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzylgruppe, die jeweils über ein Carbonat verknüpft wurden. Beide Varianten wurden entsprechend ihrer Eigenschaften für verschiedene Experimente eingesetzt. Die Coumarinylmethylengruppe wird bei 405 nm gespalten und ermöglicht 2-Photonen-basierte Photochemie. Darüber hinaus kann ihre intrinsische Fluoreszenz zur Quantifizierung der zellulären Aufnahme der Verbindung genutzt werden. Dagegen limitiert die recht breite Coumarinemission das verfügbare Spektrum für Multiparameter-Bildgebungsverfahren in lebenden Zellen auf den spektralen Bereich jenseits von 500 nm. Bei Verwendung der nicht-fluoreszenten 4,5-Dimethoxy-2-nitrobenzylgruppe (Nitroveratroylgruppe) hingegen bleibt das gesamte Spektrum verfügbar. Allerdings hat die Photoaktivierung bei 366–375 nm zu erfolgen, was zu phototoxischen Effekten führen kann. Wir synthetisierten fünf verschiedene DAG, drei mit natürlicher Fettsäurezusammensetzung (SAG = Stearoyl-Arachidonoyl- (**1a**), SLG = Stearyl-Linolenoyl- (**2a**), POG = Palmitoyl-Oleoylglycerin (**3a**)) sowie das häufig verwendete nicht-natürliche 1,2-Di-*O*-octanoylglycerin (1,2-DOG, **4a**) und sein inaktives 1,3-Isomer **5a**, welches als negative Kontrolle in dieser Arbeit dient (Schema 1, siehe Hintergrundinformationen für Details). Die Kupplung der photoaktivierbaren Gruppen erfolgte durch Verwendung der jeweiligen Chlorformiate in akzeptablen bis guten Ausbeuten und ergab die jeweiligen DAG als Nitroveratroyl- (**1b–5b**) und Coumarinylmethylen carbonate (**1c–5c**).

Wir wählten HeLa-Zellen als Modellsystem zur Anwendung der photoaktivierbaren DAG und verwendeten ein konfokales Doppelscanner-Mikroskop (Olympus FV1000), um Photoaktivierung durch das Mikroskopobjektiv mit simultaner Bildgebung in intakten Zellen zu kombinieren. Wir quantifizierten die Zellaufnahme der Coumarin-DAG durch Messung der Fluoreszenz in Zellen und entwickelten ein Protokoll, das vergleichbare Aufnahme sicherstellte (siehe Hintergrundinformationen für Details). Erfolgreiche Photoreaktionen nach Gabe von photoaktivierbarem 1,2-DOG (**4b**,

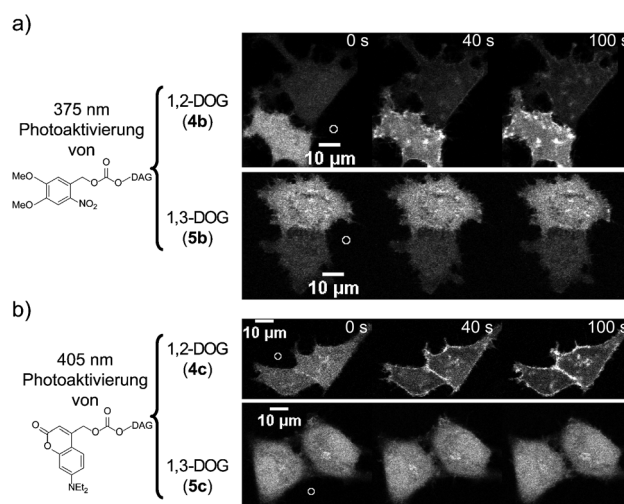


Abbildung 1. Visualisierung der Freisetzung von 1,2-DOG bzw. 1,3-DOG nach lokaler, extrazellulärer Photoaktivierung durch Translokation einer C1-GFP Probe. Das Medium enthielt $30 \mu\text{mol L}^{-1}$ der jeweiligen Verbindung **4b**, **5b**, **4c** oder **5c**. a) Zeitverläufe der Photoaktivierungsexperimente mit 1,2-DOG (**4b**, **5b**, 375 nm) und 1,3-DOG (**4c**, **5c**, 405 nm). Beleuchtung in den weißen Kreisen (10 s bei $t = 15$ s). Die Quantifizierung der beobachteten Translokationsereignisse ist in den Hintergrundinformationen beschrieben.

4c) oder dem inaktiven 1,3-DOG (**5b**, **5c**) wurden durch die Translokation einer C1-GFP-Probe^[25] vom Zytosol an die Plasmamembran nachgewiesen (Abbildung 1). Globale Translokation wurde nach jeder extrazellulären Photoaktivierung von 1,2-DOG beobachtet, nicht jedoch mit 1,3-DOG. Nach intrazellulärer Photoaktivierung wurden vergleichbare Resultate erhalten (Abbildung S3 in den Hintergrundinformationen). Interessanterweise traten nach Photoaktivierung des natürlichen SAG (**1c**) im Unterschied zu 1,2-DOG (**4c**) wiederholt räumlich begrenzte Translokationsereignisse auf (Abbildung S4).

Die verwendeten HeLa-Zellen exprimieren einer Transkriptomanalyse zufolge TRPC3- und TRPC6-Kanäle, was uns erlaubte, den Effekt der DAG auf diese Calciumkanäle zu untersuchen. Für diese Messungen wurden Nitroveratroylgeschützte DAG in Kombination mit dem genetisch kodierten ratiometrischen Calciumsensor GEM-GECO verwendet.^[26] Photoaktivierung von SAG führte zu massiver Erhöhung intrazellulärer Ca^{2+} -Spiegel, wohingegen Freisetzung von SLG eine deutlich geringere zelluläre Antwort hervorrief. Die Photoaktivierung von POG oder 1,2-DOG hatte dagegen keinen signifikanten Einfluss auf die intrazelluläre Calciumkonzentration (Abbildung 2a). Eine detaillierte Analyse individueller Experimente ergab, dass Photoaktivierung von SLG relativ zu SAG generell weniger, kürzere und schwächere Transienten hervorrief. SAG induzierte lang anhaltende Ca^{2+} -Signale, deren Intensität vergleichbar mit Ionomycin-induzierten Signalen war. Dies deutet auf Ca^{2+} -Konzentrationen hin, die sich zumindest lokal im mikromolaren Bereich befanden (Abbildung S5). Um nachzuweisen, dass die Ca^{2+} -Transienten von SAG und nicht einem seiner Metaboliten ausgelöst wurden, stellten wir photoaktivierbare Arachidonsäure her und zeigten, dass SAG im Vergleich

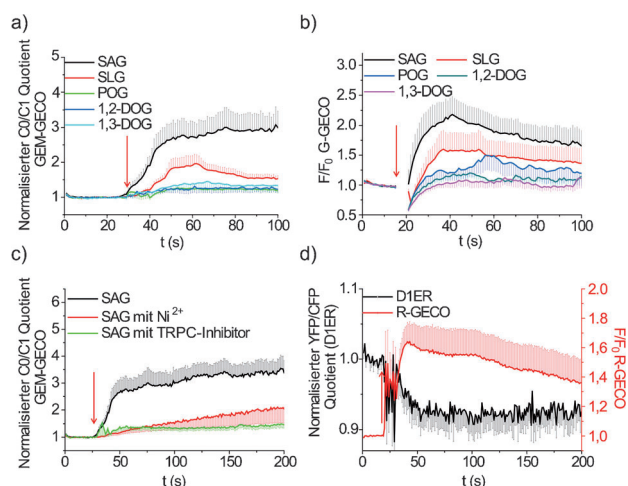


Abbildung 2. Zeitliche Verfolgung der Ca^{2+} -Signale nach intrazellulärer Photoaktivierung von DAG in HeLa-Zellen mit den genetisch kodierten GEM-GECO-, R-GECO-, G-GECO- oder dem ratiometrischen D1ER- Ca^{2+} -Sensor. Änderungen der normalisierten Quotienten oder Intensitäten wurden in Detektionsfeldern nahe der Photoaktivierungsstelle gemessen. Daten sind gegen die Zeit aufgetragen. Die schattierten Regionen über oder unter den Kurven entsprechen $1/2$ der Standardabweichung des Mittelwertes. C0 bezeichnet den blauen (Ca^{2+} -gebundener Zustand) Anteil, C1 den grünen (Ca^{2+} -freier Zustand) der GEM-GECO-Emission. a) Ca^{2+} -Transienten nach Photoaktivierung von Nitroveratroyl-geschützten (**1b–5b**) oder b) Coumarinylmethyl-geschützten DAG-Derivaten (**1c–5c**). c) Inhibition der SAG-induzierten (**1b**) Calciumerhöhung durch NiCl_2 (1 mmol L^{-1}) oder den TRP-Kanal-Inhibitor SKF-96365 ($50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$). d) Simultane Messung der Ca^{2+} -Spiegel im Zytosol und im endoplasmatischen Retikulum nach SAG-Photoaktivierung in Zellen, die transient R-GECO und D1ER exprimieren.

wesentlich potenter war (Abbildung S6). Die beobachtete Struktur-Wirkungs-Beziehung wurde durch Experimente unter Verwendung der Coumarin-geschützten DAG weiter untermauert, in denen der genetisch kodierte und grün emittierende G-GECO Sensor verwendet wurde, dessen Anregung unabhängig von Coumarin möglich ist.^[26]

Wieder war SAG gefolgt von SLG das bei weitem aktivste DAG, während die anderen drei DAG faktisch inaktiv waren (Abbildung 2b). Die Anzahl der falsch-positiven Ca^{2+} -Transienten war bei Photoaktivierung der Coumarin-geschützten DAG etwas höher, was darauf hinweist, dass diese Photoreaktion selbst nicht vollständig inert in Bezug auf Ca^{2+} -Signale ist. Um die Herkunft des Ca^{2+} zu bestimmen, wurde die Photoaktivierung von SAG (**1b**, Dimethoxynitrobenzyl-geschützt) in Gegenwart von 1 mmol L^{-1} NiCl_2 zum unspezifischen Blockieren von Calciumkanälen oder $50 \text{ } \mu\text{mol L}^{-1}$ SKF-96365, einem selektiven Inhibitor der humanen TRPC3 und TRPC6-Kanäle, durchgeführt.^[27] DAG-induzierte Anstiege der Ca^{2+} -Spiegel blieben in beiden Fällen fast vollständig aus. Des Weiteren wurde der Calciumeinstrom durch Zugabe des Inositrissphosphatrezeptorblockers Xestospongin C kaum inhibiert (Abbildung S6). Dies deutet darauf hin, dass zumindest der initiale Ca^{2+} -Einfluss über TRPC-Kanäle erfolgt (Abbildung 2c), wobei im weiteren Verlauf Calcium-induzierter Einstrom aus dem extrazellulären Raum und dem endoplasmatischen Retikulum (ER) sicher beitrug.^[29] Diese

Vermutung wird durch Messungen unterstützt, bei denen die Calcium-Spiegel parallel im Zytosol (mit R-GECO) und im ER (mit D1ER) gemessen wurden.^[28] Letztere fielen signifikant ab, während die zytosolische Ca^{2+} -Konzentration anstieg (Abbildung 2d). Die Ca^{2+} -Signale waren in beiden Kompartimenten nach Gabe des TRP-Kanalblockers SKF-96365 deutlich reduziert (Abbildung S6). Dies zeigt, dass hier die TRP-Kanalöffnung der initiale Auslöser war.

Um nachgelagerte Effekte der Calciumsignale nach Photoaktivierung von DAG untersuchen zu können, verfolgten wir in HeLa-Zellen gleichzeitig mit dem Calciumsignal die Translokation von PKC α an die Plasmamembran über transient exprimiertes PKC α -EGFP. PKC α benötigt dazu sowohl erhöhte Calcium- als auch DAG-Spiegel.^[30] Wir führten lokale Photoaktivierung diverser DAG durch (**1b–5b**) und beobachteten nach SAG-Freisetzung häufig räumlich begrenzte Anreicherungen von PKC α -EGFP in der Nähe der Belichtungsstelle. Derartige lokale Akkumulationen wurden von den anderen DAG nicht ausgelöst (Abbildung 3a,b), während der Verlauf der Calciumsignale die zuvor beobachtete Abhängigkeit von der Fettsäurezusammensetzung bestätigte (Abbildung S7). Die genaue Analyse der Daten erlaubte es, im Phänotyp eine Reihe von definierten Ereignissen zu unterscheiden: Photoaktivierung von SAG erzeugte initial einen massiven Ca^{2+} -Transienten (19 von 20 Experimenten). In wenigen Fällen (4 von 20) wurde globale PKC α -Translokation beobachtet. Im Unterschied zu diesen kurzlebigen Ereignissen wurde meistens eine anhaltende PKC α -Akkumulation in der direkten Nachbarschaft der Belichtungsstelle gefunden (14 von 20). Beide Translokationsergebnisse wiesen eine deutlich verschiedene Dynamik auf. Ferner waren die lokalen PKC-Akkumulationen meist von ebenfalls lokalen, lang anhaltenden Erhöhungen der Ca^{2+} -Spiegel begleitet. Um herauszufinden, welche Membran das Ziel der PKC-Akkumulation war, wurde außer dem PKC α -EGFP auch noch ein GPI-mRFP bzw. mCherry-KDEL exprimiert, um die Plasmamembran oder das ER zu färben. Es wurde eindeutige Kolokalisation mit der Plasmamembran (Abbildung 3 f), aber nicht mit dem ER beobachtet (Abbildung S8).

Wir entwickelten ein Makro für die ImageJ-Bildanalyse-Software um die beobachteten Ereignisse besser quantitativ beschreiben zu können. Dies erlaubte uns, die Bereiche erhöhter Ca^{2+} -Spiegel und PKC-Anreicherung (Detektionsfeld) automatisch zu quantifizieren und die relative Änderung der Fluoreszenzintensitäten (F/F_0) in den Messregionen zu bestimmen. Eine detaillierte Beschreibung des Makros und der Quellcode befinden sich in den Hintergrundinformationen.

Mit dieser Methode konnten wir die Ausbreitung und Intensität der beobachteten PKC α - und Ca^{2+} -Signale korrelieren. Die Calciumsignale erwiesen sich als räumlich deutlich weiter ausgedehnt als die PKC-Akkumulationen (Abbildung 3c). Das SAG-induzierte Ca^{2+} -Signal zeigte einen raschen Anstieg in Ausbreitung und Intensität, mit einem Maximum 40 s nach Photoaktivierung, einer durchschnittlichen Reichweite von $45 \pm 8\%$ des Zellquerschnitts und einem durchschnittlichen F/F_0 -Wert von 2.0 ± 0.1 . Die Ausbreitung des Ca^{2+} -Signals fiel danach monoton bis auf einen Wert von

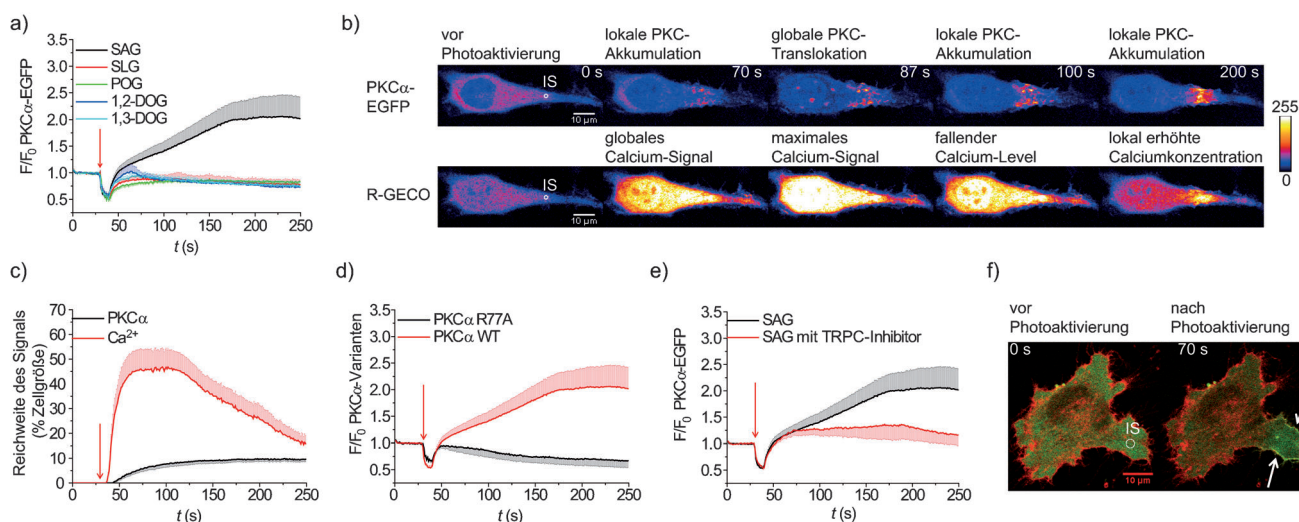


Abbildung 3. Photoaktivierung ($t = 30$ s für 10 s an der Illuminationsstelle (IS)) von DAG (**1b–5b**) in PKC α -EGFP und R-GECO exprimierenden HeLa-Zellen. Rote Pfeile markieren den Beginn der Photoaktivierung. a) Vergleich von lokaler PKC α -Akkumulation nach Photoaktivierung der Nitroveratroyl-geschützten DAG. Intensitätsänderungen wurden in Detektionsfeldern nahe der Photoaktivierungsstelle gemessen. Die schattierten Regionen über oder unter den Kurven entsprechen $1/2$ der Standardabweichung des Mittelwertes. b) Zeitverlauf der PKC α -EGFP- und R-GECO-Antworten nach Photoaktivierung von SAG (**1b**). c) Quantifizierung der Reichweite des PKC α - und Ca $^{2+}$ -Signals. d) Vergleich der PKC-Akkumulation in PKC α -EGFP oder PKC α R77A-EGFP exprimierenden HeLa-Zellen nach Photoaktivierung von SAG (**1b**). e) PKC α -Akkumulation (als F/F_0) an der Illuminationsstelle in PKC α -EGFP exprimierenden Zellen mit und ohne den TRPC-Kanalinhibitor SKF-96365. f) Kollokalisierung von PKC α -EGFP (grün) und GPI-mRFP (rot) nach Photoaktivierung von SAG (**1b**). Weiße Pfeile: lokale Translokation von PKC α an die Plasmamembran.

15 ± 3 % des Zellquerschnitts nach 250 s. Die durchschnittliche Intensität in den detektierten Bereichen erhöhter Ca $^{2+}$ -Konzentration folgte einer deutlich anderen Kinetik. Nach einem initialen Ca $^{2+}$ -Transienten stiegen die durchschnittlichen F/F_0 -Werte wieder deutlich an (Abbildung S9). Dies bedeutet, dass gleichzeitig zwei verschiedene Ca $^{2+}$ -Signale stattfanden: ein globales, transientes Ereignis und ein länger anhaltendes in der Region der PKC α -Anreicherung. Letzteres ist wahrscheinlich von der TRPC-Kanalöffnung abhängig (Abbildung 3e). Die zu beobachtende PKC-Akkumulation zeigte viel langsamere Kinetiken in Intensität und Ausbreitung mit einer lokalen Ausbreitung von 10 ± 1 % des Zellquerschnitts nach ungefähr 150 s und einem kontinuierlich ansteigenden F/F_0 -Wert (Abbildung 3c und Abbildung S9).

Um die Bedeutung der direkten DAG-PKC α -Interaktion zu untersuchen, wurde die SAG-Photoaktivierung in HeLa-Zellen durchgeführt, die transient R-GECO und PKC α R77A-EGFP exprimierten. Bei PKC α R77A handelt es sich um eine PKC α -Variante, die eine Punktmutation in der DAG-Bindungsstelle aufweist und daher verringerte DAG-Affinität aufweist. Wir fanden, dass dieses Protein nicht an der Belichtungsstelle akkumulierte (Abbildung 3d). Dies bedeutet, dass die PKC-DAG-Interaktion essentiell für die lokale Antwort war. Gleichzeitig traten die Ca $^{2+}$ -Signale zwar mit gleicher Häufigkeit, jedoch geringerer Intensität und Reichweite auf. Auffällig war, dass im Zeitverlauf (Abbildung S8) nicht das charakteristische Doppelmaximum auftrat, das für die anhaltende lokale Ca $^{2+}$ -Erhöhung typisch ist. Dies könnte auf eine positive Rückkopplung zwischen PKC α - und Ca $^{2+}$ -Signalen zurückzuführen sein, die in der Abwesenheit einer direkten DAG-PKC α -Interaktion und lokalen PKC-Aktivität nicht stattfindet.

In der Vergangenheit konnte gezeigt werden, dass einige DAG-metabolisierende Enzyme eine gewisse Spezifität für individuelle DAG mit bestimmter Fettsäurezusammensetzung aufweisen.^[8,31,32] Es wurde daher vorgeschlagen, dass Spezies wie SAG gegebenenfalls unter einer engeren metabolischen Kontrolle stehen.^[33] Unsere Daten zeigen erstmalig, dass Lipidzusammensetzung, Metabolismus und Effektivität der Lipiderkennung wesentlich für das Verhalten des zellulären PKC-Ca $^{2+}$ -Signalnetzwerks sind. Insbesondere bei Lipidsignalen könnten Diffusionsreaktionsmechanismen eine wesentliche Rolle bei der Erzeugung räumlich unterschiedlicher Signalstrukturen spielen.

Unsere Ergebnisse zeigen ferner, dass Zellen die Fähigkeit haben, auf einen gegebenen Stimulus gleichzeitig mit lokalen und globalen Antworten zu reagieren. Lokale Signalübertragung ist insbesondere in polarisierten oder sich bewegenden Zellen wichtig, weil hier verschiedene Signale an den entgegengesetzten Seiten der Zelle notwendig sind. Ein weiteres Beispiel ist die Reparatur der Plasmamembran nach physischer Verletzung, wenn der starke lokale Calciumeinfluss einen lokalen Reparaturmechanismus auslösen muss. Die vollständige Analyse dieser und weiterer Lipidsignale unter Zuhilfenahme von mathematischen Modellen werden weitere Erkenntnisse bezüglich der komplexen Regulation von Signalnetzwerken liefern. Es bleibt zu zeigen, ob andere Lipide, wie z. B. die Phosphoinositide, bekannt für ihre zentrale Rolle in der Polarisierung von Zellen, ebenfalls lokal reguliert werden und ob die Fettsäurezusammensetzung eine wichtige Rolle spielt. Zukünftige Studien müssen die große Diversität der Fettsäurezusammensetzungen nicht nur aufgrund intrinsischer Unterschiede in der Signalaktivität berücksichtigen, sondern auch aufgrund von Unterschieden im

Metabolismus und der daraus resultierenden Lebensdauer individueller molekularer Spezies. Photoaktivierbare Derivate von Lipiden dürften für zukünftige Studien in diesem Bereich ein sehr wichtiges Werkzeug darstellen.

Eingegangen am 27. Februar 2013

Stichwörter: Diacylglycerin · Fettsäurezusammensetzung · Photoaktivierbare Lipide · Proteinkinase C · Signalnetzwerke

- [1] J. Groves, J. Kuriyan, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2010**, *17*, 659–665.
- [2] R. P. Bhattacharyya, A. Reményi, B. J. Yeh, W. A. Lim, *Annu. Rev. Biochem.* **2006**, *75*, 655–680.
- [3] O. Quehenberger, A. M. Armando, A. H. Brown, S. B. Milne, D. S. Myers, A. H. Merrill, S. Bandyopadhyay, K. N. Jones, S. Kelly, R. L. Shaner, C. M. Sullards, E. Wang, R. C. Murphy, R. M. Barkley, T. J. Leiker, C. R. H. Raetz, Z. Guan, G. M. Laird, D. A. Six, D. W. Russell, J. G. McDonald, S. Subramaniam, E. Fahy, E. A. Dennis, *J. Lipid Res.* **2010**, *51*, 3299–3305.
- [4] J. L. Sampaio, M. J. Gerl, C. Klose, C. S. Ejsing, H. Beug, K. Simons, A. Shevchenko, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2011**, *108*, 1903–1907.
- [5] E. A. Dennis, R. A. Deems, R. Harkewicz, O. Quehenberger, H. A. Brown, S. B. Milne, D. S. Myers, C. K. Glass, G. Hardiman, D. Reichart, A. H. Merrill, Jr., M. C. Sullards, E. Wang, R. C. Murphy, C. R. Raetz, T. A. Garrett, Z. Guan, A. C. Ryan, D. W. Russell, J. G. McDonald, B. M. Thompson, W. A. Shaw, M. Sud, Y. Zhao, S. Gupta, M. R. Maurya, E. Fahy, S. Subramaniam, *J. Biol. Chem.* **2010**, *285*, 39976–39985.
- [6] S. Madani, A. Hichami, A. Legrand, J. Belleville, N. A. Khan, *FASEB J.* **2001**, *15*, 2595–2601.
- [7] M. N. Hodgkin, T. R. Pettitt, A. Martin, R. H. Michell, A. J. Pemberton, M. J. Wakelam, *Trends Biochem. Sci.* **1998**, *23*, 200–204.
- [8] W. Tang, M. Bunting, G. A. Zimmerman, T. M. McIntyre, S. M. Prescott, *J. Biol. Chem.* **1996**, *271*, 10237–10241.
- [9] E. J. Quann, E. Merino, T. Furuta, M. Huse, *Nat. Immunol.* **2009**, *10*, 627–635.
- [10] D. Subramanian, V. Laketa, R. Müller, C. Tischer, S. Zarbakhsh, R. Pepperkok, C. Schultz, *Nat. Chem. Biol.* **2010**, *6*, 324–326.
- [11] M. Mentel, V. Laketa, D. Subramanian, H. Gillandt, C. Schultz, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 3895–3898; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 3811–3814.
- [12] B. Ananthanarayanan, R. V. Stahelin, M. A. Digman, W. Cho, *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 46886–46894.
- [13] S. Carrasco, I. Mérida, *Trends Biochem. Sci.* **2007**, *32*, 27–36.
- [14] Q. J. Wang, *Trends Pharmacol. Sci.* **2006**, *27*, 317–323.
- [15] K. Oda, Y. Matsuoka, A. Funahashi, H. Kitano, *Mol. Biosyst.* **2005**, *1*, 1–17.
- [16] J. Giorgione, M. Hysell, D. F. Harvey, A. C. Newton, *Biochemistry* **2003**, *42*, 11194–11202.
- [17] A. C. Newton, *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metabol.* **2010**, *298*, E395–E402.
- [18] C. Yang, M. G. Kazanietz, *Trends Pharmacol. Sci.* **2003**, *24*, 602–608.
- [19] N. Brose, *J. Cell Sci.* **2002**, *115*, 4399–4411.
- [20] T. Hofmann, A. G. Obukhov, M. Schaefer, C. Harteneck, T. Gudermann, G. Schultz, *Nature* **1999**, *397*, 259–263.
- [21] G. Vazquez, J.-Y. Tano, K. Smedlund, *Channels* **2010**, *4*, 232–240.
- [22] a) L. Lemonnier, M. Trebak, J. W. Putney, *Cell Calcium* **2008**, *43*, 506–514; b) B. Fuchs, M. Rupp, H. A. Ghofrani, R. T. Schermuly, W. Seeger, F. Grimminger, T. Gudermann, A. Dietrich, N. Weissmann, *Respir. Res.* **2011**, *12*, 20–29.
- [23] a) M. Huse, L. O. Klein, A. T. Girvin, J. M. Faraj, Q.-J. Li, M. S. Kuhns, M. M. Davis, *Immunity* **2007**, *27*, 76–88; b) X. P. Huang, R. Sreekumar, J. R. Patel, J. W. Walker, *Biophys. J.* **1996**, *70*, 2448–2457; c) A. Z. Suzuki, T. Watanabe, M. Kawamoto, K. Nishiyama, H. Yamashita, M. Ishii, M. Iwamura, T. Furuta, *Org. Lett.* **2003**, *5*, 4867–4870.
- [24] R. J. Anderson, S. L. Osborne, F. A. Meunier, G. F. Painter, *J. Org. Chem.* **2010**, *75*, 3541–3551.
- [25] E. Oancea, M. N. Teruel, A. F. Quest, T. Meyer, *J. Cell Biol.* **1998**, *140*, 485–498.
- [26] Y. Zhao, S. Araki, J. Wu, T. Teramoto, Y.-F. Chang, M. Nakano, A. S. Abdelfattah, M. Fujiwara, T. Ishihara, T. Nagai, et al., *Science* **2011**, *333*, 1888–1891.
- [27] C. Harteneck, M. Gollasch, *Curr. Pharm. Biotechnol.* **2011**, *12*, 35–41.
- [28] A. E. Palmer, R. Y. Tsien, *Nat. Protoc.* **2006**, *1*, 1057–1065.
- [29] J. W. Putney, *Cell Calcium* **1986**, *7*, 1–12.
- [30] G. Reither, M. Schaefer, P. Lipp, *J. Cell Biol.* **2006**, *174*, 521–533.
- [31] K. D'Souza, R. M. Epand, *J. Mol. Biol.* **2012**, *416*, 619–628.
- [32] T. O. Eichmann, M. Kumari, J. T. Haas, R. V. Farese, R. Zimmermann, A. Lass, R. Zechner, *J. Biol. Chem.* **2012**, *287*, 41446–41457.
- [33] M. J. Wakelam, *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Biol. Lipids* **1998**, *1436*, 117–126.