

## Interleukin-8 수용체와 G $\alpha$ 16 subunit G protein 간의 분자상호 작용에 관한 연구

하지희 · 강주섭 · 고현철 · 신인철 · 이창호#  
한양대학교 의과대학 약리학교실 및 의과학 연구소

## Molecular Interaction Between Interleukin-8 Receptor and G $\alpha$ 16 Subunit of G Protein

Ji Hee HA, Ju Seop KANG, Hyun Chul KOH, In Chul SHIN and Chang Ho LEE#

Department of Pharmacology and Institute of Biomedical Sciences, Hanyang University,  
College of Medicine, Seoul 133-791, Korea

(Received June 15, 2000; accepted August 5, 2000)

**Abstract** – In order to identify the domains of the G $\alpha$ 16 subunit protein that are responsible for its activation by the interleukin-8 receptor, a series of chimeras between G $\alpha$ 16 and G $\alpha$ 11 were assessed for their abilities to be activated by these receptors. Co-expression of IL-8 receptor and chimeras in which the carboxyl-terminal regions of G $\alpha$ 11 were replaced from 30 up to 156 amino acid residues with the corresponding regions of G $\alpha$ 16 demonstrated that C-terminal 156 amino acid residues of the G $\alpha$ 16 were not sufficient to confer IL-8 receptor interaction specificity. Testing of a reciprocal series of chimeras composed of G $\alpha$ 16 sequences at the amino terminus and G $\alpha$ 11 sequences at the carboxyl terminus revealed that sequences extending from the amino terminus to amino acid 209 of G $\alpha$ 16 were sufficient to endow the chimera with 75–80% of interaction specificity for IL-8-induced activation. These results suggest that combined interactions of the C-terminal 30 amino acid residues and certain domains extending from the amino terminus to amino acid 209 of G $\alpha$ 16 protein may be involved in its couplings to IL-8 receptor.

**Key words** □ Interleukin-8 (IL-8) receptor, G $\alpha$ 16 subunit, Heterotrimeric G protein, Chimeric G protein, Transfection, Cos-7 cell

Heterotrimeric G protein은  $\alpha$ ,  $\beta$  및  $\gamma$  subunit로 구성되며, 세포막 수용체로부터 세포 안으로의 신호전달에 관여한다. 이 과정에서 G protein은 결합된 guanine nucleotide의 형태에 따라 활성형과 불활성형으로 가역적인 변환을 함으로써 분자 스위치 역할을 한다(Strader 등, 1994). 지금까지 20개 이상의 서로 다른 G protein  $\alpha$  subunits들이 포유동물에서 확인되었으며, 이에 상응하는 16개의 유전자 산물들은 아미노산 배열 유사도에 근거하여 G $\alpha_s$ (olf), G $\alpha_i$ (o, t, g, z), G $\alpha_q$ (q, 11, 14, 15, 16) 및 G $\alpha_{12}$ (12, 13) 등의 4가지 subfamily로 분류된다(Simon 등, 1991; Downes 등, 1999). 각 subfamily에 속하는 G protein들은 특정 수용체 및 효능체 간의 상호작용을 선호한다. G $\alpha_q$  class 구성단위 중의 하나인 G $\alpha_{16}$  subunit는 주로 hematopoietic cell에 분포하며, IL-8 수용체를 포함한 다양한 수용체들과 상호작용 한다(Wu 등, 1993a; Offermanns 등, 1995). 특

히, IL-8 수용체는 neutrophil, monocyte, 및 lymphocyte 등에 주로 분포되어 있으며(Kupper 등, 1992), IL-8 $\alpha$  수용체 및 IL-8 $\beta$  수용체의 두 가지 형태로 존재한다(Grob 등, 1990; Moser 등, 1991).

지금까지의 연구에 의하면, G protein과 연결된 수용체는 특정 subtype의 G protein  $\alpha$ -subunit과 선택적으로 상호작용하며, 수용체 단백질 분자의 세포 내 loop 도메인 혹은 이를 구성하는 특정 아미노산들이 이에 관여하는 것으로 알려졌다(Savarese 등, 1992; Wess 등, 1997). 이와 관련하여 G protein  $\alpha$  subunit 상의 C-말단 부위가 결정적인 역할을 할 것으로 간주되고 있다. 즉, G $\alpha_s$ 의 C-말단 부위의 unc mutation에 의한  $\beta$ -수용체와의 상호작용 상실(Sullivan 등, 1987), G $\alpha_i$ 의 C-말단 ADP-ribosylation에 의한 수용체 분자와의 상호작용 상실(Ui 등, 1990), 및 transducin C-말단 부위에 대한 단일 클론 항체에 의한 rhodopsin 분자와의 상호작용 차단 등을 예로 들 수 있다(Hamm 등, 1988; Mazzoni 등, 1991).

\*To whom correspondence should be addressed.

그러나, G protein  $\alpha$ -subunit의 C-말단 외의 다른 분자 영역 역시 수용체와의 상호작용에 관여할 것이라는 연구들이 보고되었다. 예를 들면 G<sub>α</sub>q/11 subunit의 N-말단 6개의 아미노산 잔기가 수용체와의 상호작용의 선택성을 결정하며(Kostenis 등, 1997), G<sub>α</sub>s의  $\alpha$ -helical 영역내의 아미노산 잔기 110-119가  $\beta$ -아드레날린 수용체와의 상호작용에 관여함을 보고하였다(Krieger-Brauer 등, 1999). 따라서, 수용체와 G protein 간의 상호작용에 관여하는 분자 영역은 특정 수용체와 특정  $\alpha$ -subunit G protein 간의 조합에 따라 달라질 것으로 생각된다. 그러므로, 본 연구에서는 G<sub>α</sub>16의 일부와 G<sub>α</sub>11의 일부분으로 구성된 일련의 chimeric G protein과 interleukin-8 수용체와의 상호작용을 분석함으로써, interleukin-8 수용체와의 상호작용에 관여하는 G<sub>α</sub>16 분자의 특정 domain을 규명하려 하였다.

## 실험방법

### 시약

Human leukocyte cDNA는 Clontech, Vent polymerase 및 제한효소는 New England Bio Lab, Dulbecco's modified Eagle's medium(DMEM, high glucose), Inositol-free DMEM, Lipofectin, opti-MEM, 및 Fetal bovine serum는 Gibco BRL, 12-well culture plate는 Nunc, Myo-[2-<sup>3</sup>H]inositol은 Amersham, Dowex AG1X8(200~400 mesh)는 Bio Rad로 부터 구입하였으며, Interleukin-8(IL-8)은 Sigma로부터 구입하였다. 그 외 시약은 시판 특급 시약을 사용하였다.

### 재조합 G<sub>α</sub> subunit chimeric protein

G<sub>α</sub>11과 G<sub>α</sub>16 subunit가 혼재된 G<sub>α</sub> subunit chimera의 명칭과 구성은 다음과 같다. chi 1: G<sub>α</sub>11(1-330)+G<sub>α</sub>16(345-374); chi 2: G<sub>α</sub>11(1-276)+G<sub>α</sub>16(279-374); chi 3: G<sub>α</sub>11(1-238)+G<sub>α</sub>16(241-374); chi 4: G<sub>α</sub>11(1-216)+G<sub>α</sub>16(219-374); chi 7: G<sub>α</sub>16(1-345)+G<sub>α</sub>11(330-359); chi 8: G<sub>α</sub>16(1-219)+G<sub>α</sub>11(216-359); chi 9: G<sub>α</sub>16(1-209)+G<sub>α</sub>11(206-359). 자세한 제조 방법, 도식적인 구조, 발현, 및 생리활성은 본 연구자에 의하여 발표된 기존의 보고에 기술되었다(Lee 등, 1995).

### IL-8 $\alpha$ receptor cDNA 클로닝

Human leukocyte cDNA(5 ng)를 template로 사용하여, sense primer(25 pmole) ACT ATC GAT ATG GAA GTA AAC GTA TGG AAT ATG ACT, antisense primer (25 pmole) ACT TAC TTA GCG GCC GCT TA GAG ATT TGA AGG CAC GTT GGT, dNTP [200  $\mu$ M], Vent polymerase 1  $\mu$ l, 및 PCR buffer 존재 하에 94°C

1 min, 45°C 2 min 30 sec, 74°C 2 min(총 35 cycle), 및 74°C 10 min의 조건으로 수행된 PCR 방법을 사용하여 IL-8 $\alpha$  수용체 cDNA를 분리하였다. 분리된 cDNA를 DNA sequencing에 의하여 확인한 후, 제한효소 *Cla*I 과 *Not*I을 사용하여 pCMV mammalian expression vector에 클로닝하여 실험에 사용하였다.

### Plasmid의 제조

모든 cDNA의 plasmid는 Quiagen plasmid prep kit를 사용하여 제조하였다.

### 세포배양 및 cDNA 발현

10% fetal bovine serum을 함유한 DMEM high glucose media에서 약  $2 \times 10^5$ 개의 Cos-7 cell을 12 well plate의 각 well에 접종하여 약 80% 합쳐지는 상태로 CO<sub>2</sub> 세포 배양기에서 24시간 동안 배양시킨 후 배지를 교환하고, 4  $\mu$ l lipofectin과 여러가지 chimeric cDNA 및/혹은 IL-8 수용체 cDNA 혼합물(총 1  $\mu$ g)을 총 0.5 ml opti-MEM 배지 존재 하에 가하여 transfection 시킨 후 약 6시간 후에 20% fetal bovine serum을 동일한 부피로 보충한 후 약 40~48시간 후에 사용하였다.

### Myo-[2-<sup>3</sup>H]inositol 표지 및 IL-8에 의하여 유도되는 inositol phosphates의 정량

상기의 cDNA를 일시적으로 transfection시킨 Cos-7 cell을 inositol-free DMEM media 및 10  $\mu$ Ci/ml 농도의 myo-[2-<sup>3</sup>H]inositol을 사용하여 24시간 동안 표지하고, inositol-free DMEM media를 사용하여 1회 세척한 후, 10 mM LiCl를 포함하는 200  $\mu$ l의 inositol-free DMEM 배지에서 100 nM(최종농도)의 IL-8을 사용하여 37°C에서 15분간 자극하였다. 5%의 차가운 perchloric acid(최종농도)를 사용하여 반응을 중지시키고, 1.5M KOH, 5 mM EDTA 및 0.1M NaHCO<sub>3</sub>로 구성된 혼합액을 가하여 중화시킨 후 Dowex AG1X8 column상에서 1M ammonium formate 와 0.1M formic acid 혼합액을 사용하여 inositol phosphate를 분리 정량 하였다(Wu 등, 1993a).

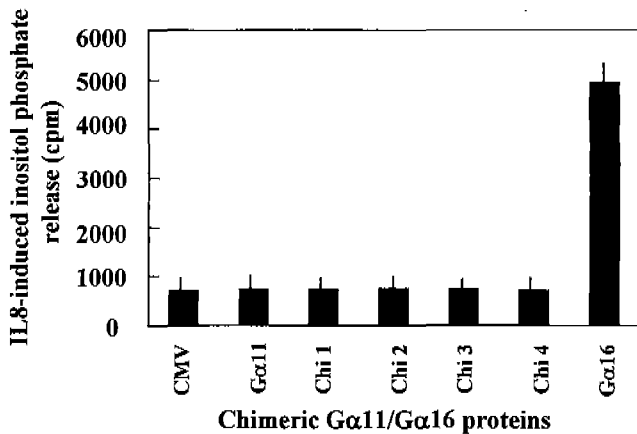
## 결과 및 고찰

G protein에 의하여 매개되는 신호전달계 구성 요소간의 상호작용의 특이성을 연구하기 위하여, 수용체, G protein subunit, 및 효능체 등의 cDNA를 Cos-7 cell에 일시적으로 동시 발현시킨 상태에서 일어나는 세포 내의 생화학적인 변화를 평가하는 방법이 사용되어왔다(Wu 등, 1992). 이러한 평가방법에 의하면, interleukin-8 수용체는 G<sub>α</sub>16 subunit 과는 특이적으로 연결되어 있으나, G<sub>α</sub>11

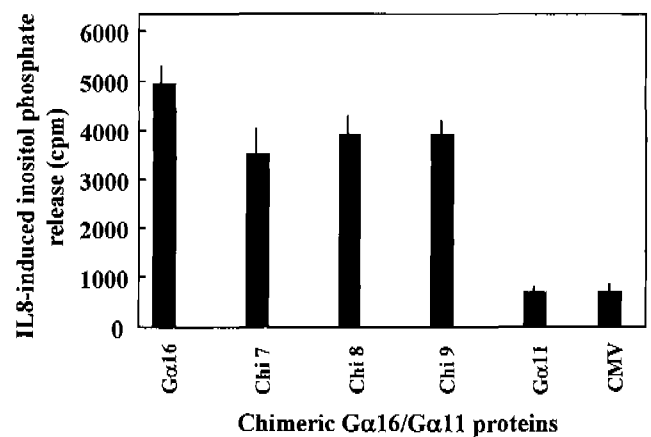
subunit 과는 전혀 상호작용 하지 않음이 보고되었다(Wu 등, 1993a). 또한,  $G_{\alpha 11}$  및  $G_{\alpha 16}$  subunit들은 Cos-7 cell에 존재하는 PI-PLC isoform을 비슷한 정도로 활성화시킴을 보고하였다(Wu 등, 1993b). 그러므로,  $G_{\alpha 11}$  및  $G_{\alpha 16}$  subunit의 일부가 혼재된 일련의 chimeric G protein cDNA들과 interleukin-8 수용체 cDNA를 Cos-7 cell에 동시 발현시킨 후, interleukin-8을 사용하여 수용체를 자극시켜 생성되는 이차전달자의 양을 측정함으로써, IL-8 수용체와의 상호작용 및 이에 관여하는  $G_{\alpha 16}$  subunit의 분자영역을 결정하였다.

Interleukin-8 수용체와  $G_{\alpha 16}$ 이 동시 발현된 Cos-7 cell을 IL-8 수용체 특이적인 효능약 interleukin-8 [100 nM]을 사용하여 자극한 경우, 세포막을 구성하는 phosphoinositide의 phospholipase C에 의한 가수분해 산물인 inositol phosphate가 IL-8 수용체 단독 발현된 세포에 비하여 다량 축적됨을 확인하였다(Fig. 1). 그러나, IL-8 수용체가 단독으로 발현된 세포를 자극한 경우, IL-8 수용체와  $G_{\alpha 11}$ 이 동시 발현된 Cos-7 세포가 자극된 것과 마찬가지로, inositol phosphate의 축적이 거의 비슷한 정도로 낮게 관찰되었다. 이러한 결과는, Cos-7 세포 내에 다량 존재하는 것으로 알려진  $G_{\alpha 11}$  subunit는 동일 세포에 발현된 IL-8 수용체에 대한 자극신호를 전달받아

효능체인 phospholipase C를 효과적으로 활성화시키지 못함에서 기인되며, IL-8 수용체의 자극을 전달받는  $G_{\alpha 16}$  subunit에 의한 adenylyl cyclase 억제 기전은 phospholipase C 활성화에 별다른 영향을 미치지 않을 것으로 생각된다. 또한, Fig. 1에서 보여지는 바와 같이, chi 1, chi 2, chi 3, 및 chi 4에 해당하는 cDNA와 IL-8 수용체 cDNA가 동시 발현된 경우에도 pCMV와 IL-8 수용체 cDNA가 동시 발현된 경우와 비교할 때, IL-8 수용체 자극에 의하여 유도되는 inositol phosphate의 증가가 관찰되지 않았다. 즉, chi 1, chi 2, chi 3, 및 chi 4 등은  $G_{\alpha 11}$ 의 C-말단 쪽 부위의 30개, 96개, 133개, 및 156개의 아미노산 잔기들이 이에 대응하는  $G_{\alpha 16}$  subunit의 영역으로 각각 치환된 것으로서,  $G_{\alpha 16}$ 의 C-말단부터 N-말단 쪽으로의 156개의 잔기에 해당하는 특정 영역은 IL-8 수용체와의 상호작용 획득에 미흡한 것으로 생각된다. 그러므로, chi 7, chi 8, 및 chi 9에 해당하는 chimeric protein을 사용하여 IL-8 수용체와의 상호작용에 관여하는  $G_{\alpha 16}$  상의 특정영역을 조사하였다. Fig. 2에서 제시된 것처럼,  $G_{\alpha 16}$ 의 C-말단 30개의 잔기가 대응하는  $G_{\alpha 11}$ 의 영역으로 치환된 chi 7은,  $G_{\alpha 16}$ 과 IL-8 수용체와의 상호작용과 비교하여 약 25% 정도의 상호작용을 상실하였음을 보이며,  $G_{\alpha 16}$ 의 C-말단 143개 및 153개의 잔기가, 각각 대응하는  $G_{\alpha 11}$ 의 영역으로 치환된 chi 8,



**Fig. 1.** Interleukin 8-induced [ $^3$ H]inositol phosphate release in Cos-7 cells coexpressing interleukin-8 receptor and chimeric  $G_{\alpha 11}/G_{\alpha 16}$  proteins. Cos-7 cells were cotransfected with cDNAs corresponding to IL-8 receptor, and pCMV,  $G_{\alpha 11}$ ,  $G_{\alpha 16}$ , chi 1, chi 2, chi 3, or chi 4. Transfected and labeled cells were washed once with inositol-free DMEM and then stimulated with 100 nM IL-8 for 15 min at 37°C in 200  $\mu$ l of inositol-free DMEM containing 10 mM LiCl. Interleukin 8-induced release of [ $^3$ H]inositol phosphate was measured. Transfection, labeling, stimulation, and analysis of [ $^3$ H]inositol phosphates are as described in Materials and Methods. Experiments were performed in duplicate three times and the Data shown are mean values  $\pm$  S.D.



**Fig. 2.** Interleukin 8-induced [ $^3$ H]inositol phosphate release in Cos-7 cells coexpressing interleukin-8 receptor and chimeric  $G_{\alpha 16}/G_{\alpha 11}$  proteins. Cos-7 cells were cotransfected with cDNAs corresponding to IL-8 receptor, and pCMV,  $G_{\alpha 11}$ ,  $G_{\alpha 16}$ , chi 7, chi 8, or chi 9. Transfected and labeled cells were washed once with inositol-free DMEM and then stimulated with 100 nM IL-8 for 15 min at 37°C in 200  $\mu$ l of inositol-free DMEM containing 10 mM LiCl. Interleukin 8-induced release of [ $^3$ H]inositol phosphate was measured. Transfection, labeling, stimulation, and analysis of [ $^3$ H]inositol phosphates are as described in Materials and Methods. Experiments were performed in duplicate three times and the Data shown are mean values  $\pm$  S.D.

및 chi 9 역시 IL-8 수용체와의 상호작용이 20~25% 정도 상실됨을 보인다. 즉, G<sub>α</sub>16 상의 아미노산 209번부터 N-말단 부위까지 사이에 존재하는 특정영역이 IL-8 수용체와의 상호작용에 75~80% 정도 관여할 것으로 생각된다.

지금까지의 연구에 의하면, 수용체와의 상호작용에 관여하는 G<sub>α</sub> subunit 상의 부위로 C-말단 부의 중요성을 제시하고 있다. 이와 관련된  $\alpha$ -transducin subunit의 결정 구조 연구 결과에 의하면(Noel 등, 1993), G<sub>α</sub> subunit 상의 switch domain I(linker 2), II( $\beta$ 3,  $\alpha$ 2, 및  $\alpha$ 2- $\beta$ 4 loop), 및 III( $\beta$ 4- $\alpha$ 3)의 반대편에 존재하는 특정 영역, 즉  $\alpha$ 4- $\beta$ 6 loop와 C-말단  $\alpha$ 5 helix를 포함하는 영역이 수용체와 특이적 상호작용에 관여하는 것으로 제시되었다(Lichtarge 등, 1996; Conklin 등, 1993).

그러나, 다른 연구 결과들에 의하면 수용체 분자와의 상호작용에 관여하는 G<sub>α</sub> subunit 상의 새로운 영역이 제시된다. 예를 들어, G<sub>α</sub> 상의 C-말단 부위에도 G<sub>α</sub>16 subunit 상의 잔기 220~240에 대응하는 분자영역, 및 아미노산 209번부터 N-말단 부위까지 사이에 해당하는 영역들이 C5a 수용체와의 상호작용에 각각 약 50% 정도 관여하는 것으로 보고되었다(Lee 등, 1995). 이들 영역의 기능과 관련하여, G<sub>α</sub>16 subunit 잔기 220~240 영역은 switch II domain 과 switch III domain 사이에 위치하며, 리간드에 의하여 유도되는 구조변화에 필요한 영역으로 생각된다. 특히, switch II domain은  $\beta\gamma$  subunit와의 결합에 관여하는 영역으로 제시되어 있으나(Lambright 등, 1996; Wall 등, 1995), 영역 220~240 상의 특정 아미노산 잔기는 C-말단 부의  $\alpha$ 5 helix 중의 특정 아미노산 잔기와 협동하여 수용체와의 상호작용에 관여할 것으로 생각된다. 또한, G<sub>α</sub>s의  $\alpha$ -helical domain 중의 특정 영역에 대한 항체를 이용한 실험으로부터, G<sub>α</sub>s 상의 C-말단 이외의 잔기 100~119 영역을 포함한 여러 부위가 각기 특징적인 역할을 가지면서  $\beta$ -수용체와의 직접적인 상호작용에 관여함을 보고하였다(Kreiger-Brauer 등, 1999).

따라서, C5a 수용체와의 상호작용에 관여하는 G<sub>α</sub>16 상의 잔기 220~240에 대응하는 부위는, C5a 수용체와 일차 구조상의 상동성을 가지는 IL-8 $\alpha$  수용체와의 상호작용과는 무관하며, 단지 아미노산 209번부터 N-말단 부위까지 사이에 존재하는 G<sub>α</sub>16의 특정 영역이 C-말단 부위와 협동하여 IL-8 수용체와의 상호작용의 특이성을 결정함에 주로 관여할 것으로 생각된다. 그러므로 지금까지 발표된 연구결과들을 종합해 볼 때, 수용체 특이적인 자극이 G<sub>α</sub> subunit를 경유하여 전달되는 경우에, 수용체의 종류에 따른 일차구조의 특이성과 G<sub>α</sub>-subunit의 종류에 따라, G<sub>α</sub> subunit 상의 다른 영역이 수용체와의 분자 상호작용에 관여할 것으로 생각된다.

## 감사의 글

이 논문은 1998년도 한양대학교 교내 연구비에 의하여 연구되었음.

## 참고문헌

- Downes, G. B. and Gautam, N. (1999) The G protein subunit Gene families *Genomics* **62**, 544-552.
- Grob, P. M., David, E., Warren, T.C., Deleon, R. P., Farina, P. R., and Homon, C. A. (1990) Characterization of a receptor for monocyte-derived neutrophil chemotactic factor/interleukin-8. *J. Biol. Chem.* **265**, 8311-8315.
- Hamm, H. E., Deretic, D., Arendt, A., Hargrave, T. A., Koenig, B., and Hofmann, K. P. (1988) Site of G protein binding to rhodopsin mapped with synthetic peptides from the  $\alpha$  subunit. *Science* (Washington, D. C.) **241**, 832-835.
- Kostenis, E., Degtyarev, M. Y., Conklin, B. R., and Wess, J. (1997) The N-terminal extension of G<sub>α</sub>q is critical for constraining the selectivity of receptor coupling. *J. Biol. Chem.* **272**, 19107-19110.
- Krieger-Brauer, H. I., Medda, P. K., Hebling, U., and Kather, H. (1999) An antibody directed against residues 100-119 within the  $\alpha$ -helical domain of G<sub>α</sub>s defines a novel contact site for  $\beta$ -adrenergic receptors. *J. Biol. Chem.* **274**, 28308-28313.
- Kupper, R. W., Dewald, B., Jakobs, K. H., Baggolini, M., and Gierschik, P. (1992) G-protein activation by IL-8 and related cytokines in human neutrophil plasma membranes. *Biochem. J.* **282**, 429-433.
- Lambright, D., Sonder, J., Bohm, A., Skiba, N. P., Hamm, H. E., and Sigler, P. B. (1996) The 2.0 Å crystal structure of a heterotrimeric G protein. *Nature*, **379**, 311-319.
- Lichtarge, O., Bourne, H., and Cohen, F. E. (1996) Evolutionary conserved G<sub>αβγ</sub> binding surfaces support a model of the protein-receptor complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**, 7507-7511.
- Masters, S. B., Sullivan, K. A., Miller, R. T., Beiderman, B., Lopez, N. G., Ramachandran, J., and Bourne H. R. (1988) Carboxyl terminal domain of G<sub>α</sub>s Specific coupling of receptors to stimulation of adenylyl cyclase. *Science* (Washington D. C) **241**, 448-451.
- Mazzoni, M. R., Malinski, J. A., and Hamm, H. E., (1991) Structural analysis of rod GTP-binding protein, Gt. *J. Biol. Chem.* **266**, 14072-14081.
- Moser, B., Schumacher, C., von Tscherner, V., Clark-Lewis, I., and Baggolini, M. (1991) Neutrophil-activating peptide 2 and gro/melanoma growth-stimulatory activity interact with neutrophil-activating peptide 1/interleukin-8 receptors on human neutrophils. *J. Biol. Chem.* **266**, 10666-110671.
- Noel, J. P., Hamm, H. E. and Sigler, P. B. (1993) The 2.2 Å crystal structure of transducin- $\alpha$  complexed with CTP $\gamma$ S. *Nature (Lond.)* **366**, 654-663.
- Offermanns, S. and Simon, M. I. (1995) G<sub>α</sub>15 and G<sub>α</sub>16 couple a wide variety of receptors to phospholipase C. *J.*

- Biol. Chem.* **270**, 15175-15180.
- Savarese, T. M., and Fraser, C. M. (1992) In vitro mutagenesis and the search for structure-function relationships among G protein-coupled receptors. *Biochemistry* **283**, 1-19.
- Simon, M. I., M. P. Strathmann, and N. Gautam. Diversity of G proteins in signal transduction. (1991) *Science* (Washington D. C.) **252**, 802-808.
- Strader, C. D., Fong, T. M., Tona, M. R., Underwood, D., and Dixon, R. A. F. (1994) Structure and function of G-protein coupled receptors. *Ann. Rev. Biochem.* **63**, 101-132.
- Sullivan, K. A., Miller, R. T., Masters, S. B., Beiderman, B., Heideman, W., and Bourne, H. R. (1987) Identification of receptor contact site involved in receptor G protein coupling. *Nature(Lond.)* **330**, 758-760.
- Ui, M. Pertussis toxin as a valuable probe for G protein involvement in signal transduction, in *ADP-Ribosylating Toxins and G-Proteins* (J. Moss and M. Vaughan, eds. 1990). American Society of Microbiology, Washington, D. C., 45-77.
- Wall, M., Coleman, D. E., Lee, E., Iniguez-Lluhi, J. A., Posner, B. A., Gillman, A. G., and Sprang, S. R. (1995) The structure of the G protein heterotrimeric  $G_{i\alpha}\beta\gamma_2$ . *Cell*, **83**, 1047-1053.
- Wess, J. (1997) G-protein coupled receptors: molecular mechanisms involved in receptor activation and selectivity of G-protein recognition. *FASEB J.* **11**, 346-354.
- Wu, D., Lee, C. H., Rhee, S. G., and Simon, M. I. (1992) Activation of phospholipase C by the  $\alpha$  subunits of the Gq and G11 proteins in transfected COS-7 cells. *J. Biol. Chem.* **267**, 1811-1817.
- Wu, D., LaRosa, G. J., Simon, M. I. (1993a) G protein-coupled signal transduction pathways for interleukin-8. *Science*, **261**, 101-103.
- Wu, D., Katz, A., and Simon, M. I. (1993b) Activation of phospholipase C beta 2 by the alpha and beta gamma subunits of trimeric GTP-binding protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **90**, 5297-5301.