

---

# Mitt liv med membraner

CARL G. GAHMBERG

---

Under studietiden var jag aktiv i Thorax och senare inom Helsingfors universitets studentkår där jag som styrelsemedlem upplevde bl.a. ockupationen av Gamla studenthuset hösten 1968. Det var en oförglömlig upplevelse! Men sommaren 1968 hade jag också börjat som amanuens på Serobakteriologiska institutionen i dåvarande docenten Kai Simons forskargrupp. Ungefär samtidigt anslöt sig Ari Helenius till samma grupp och litet senare Henrik Garoff. Det var en fin tid. Kai hade något tidigare kommit tillbaka från sin postdoktorala vistelse vid Rockefelleruniversitetet. Under vistelsen i New York hade han träffat virologen Leevi Kääriäinen, och Kais entusiasm i kombination med Leevis realism ledde till att de beslöt börja studera Semliki forest-virusets membran. Något senare återvände också Ossi Renkonen, son till institutionens chef Olli Renkonen, från Harvard där han hade arbetat med Konrad Bloch, känd steroidforskare, som tidigare fått nobelpriset i fysiologi eller medicin för syntesen av kolesterol. Ossis starka sida var lipider och gedigna kunskaper i kemi. I Mejlans vid nuvarande Haartmaninstitutet ordnades varje vecka forskarseminarier som drog till sig en begränsad men motiverad publik.

## Avhandlingsprojektet

Semliki forest-viruset mognar genom knoppning från värdcellens plasmamembran och har en relativt enkel proteinkomposition

### FÖRFATTAREN

MKD **Carl G. Gahmberg** är professor i biokemi vid bio- och miljövetenskapliga fakulteten vid Helsingfors universitet. **För sin högklassiga forskning premierades Carl Gahmberg med J.W.Runebergs pris i samband med Finska Läkaresällskapets 175-årsjubileum.**

om man jämför med däggdjurscellers membraner. Därför kom det att utgöra en utmärkt membranmodell. Mitt avhandlingsprojekt utgjordes av isolering och karaktärisering av plasmamembraner från BHK-fibroblaster, som användes som värdceller. Ingen i gruppen hade någon större kunskap inom området och det gällde att applicera och utveckla metoder från andra system. Vi brukade odla upp till 200 flaskor fibroblastceller, cellerna skrapades loss från flaskorna och membranerna isolerades genom användning av olika slag av centrifugering. Sedan skulle renheten bestämmas genom användning av olika enzymer som markörer. Det var arbetsamt, efter en lång arbetsdag gällde det att komma tillbaka kl. 2 på natten och fortsätta bestämningen av enzymaktiviteterna klockan 7 på morgonen. Genom att göra inmärkning med radioaktiva socker följt av gelelektrofores, kunde jag identifiera några plasmamembranspecifika proteiner. Viktigast var dock att vi kunde



---

visa att plasmamembranets lipider var nästan identiska med virusets och att glykolipider var koncentrerade i plasmamembranerna (1).

### Postdoktoral forskare i Seattle

Efter att ha disputerat 1971 sökte jag ett NIH Fogartystipendium och fick ett sådant för en postdoktoral vistelse i professor Sen-itiroh Hakomori laboratorium vid University of Washington i Seattle på USA:s västkust. Det gick dock en tid innan allt var klart och under tiden sysslade jag med att syntetisera ett radioaktivt reagens, som Mark Bretscher vid Medical Research Council-laboratorierna i Cambridge hade beskrivit, och som hade den egenskapen att det reagerade med aminogrupeer i proteiner och lipider på cellers yta. Det kunde inte tränga igenom lipidmembranet. På så sätt kunde ytexponerade molekyler och exponerade domäner identifieras (2). Jag lärde mig mycket av dessa arbeten, vilket senare visade sig vara mycket nyttigt.

I september 1972 anlände min hustru och jag till Seattle med vår tre månader gamla dotter. Vi möttes på flygfältet av Hakomori och det var en upplevelse att vara passagerare när han körde. Han kunde vända sig till oss i baksätet och prata medan han körde i full fart – allt gick dock bra.

Då Hakomori hörde att jag sysslade med ytmärkning nämnde han att det finns ett enzym, galaktosoxidas, som kan oxidera galaktos och N-acetylgalaktosamin till motsvarande C6-aldehyder. Vi beslöt då att pröva om enzymet kan oxidera dessa socker på cellers ytor. Efter oxidation kunde aldehyderna reduceras tillbaka med tritierat natrium borohydrid och sålunda bli radioaktiva. Då enzymet har en hög molekylvikt kan det inte lätt tränga igenom membranet utan reagerar endast med molekyler på cellytan. De radioaktivt laddade molekyler kunde sedan studeras t.ex. genom användning av gelelektrofores. På den tiden fanns det inte s.k. slab geler utan man använde cylindriska geler gjutna i glasrör. Efter elektroforesen tog man ut gelerna, som ofta gick sönder, och skar dem i tunna skivor, vars radioaktivitet sedan mättes i en scintillationsräknare. Det här var arbetskrävande och resolutionen var ganska dålig.

Men metoden fungerade! Vi kom också underfund med att om cellen först behandlades med neuraminidas, som klyver bort terminala sialinsyror, så exponerades mycket mera galaktos och inmärknigen blev mycket

bättre. Metoden kördes in genom användning av människans röda blodkroppar, och vi såg bl.a. en stark inmärkning av glykoforinmolekyler (3). Detta protein är ett klassiskt membranprotein och var länge det enda som hade sekvenserats (4). Vi studerade också proteinerna hos fibroblaster och observerade en stark inmärkning i ett högmolekylärt protein, som vi kallade galaktoprotein a (5, 6). Senare fick det namnet fibronektin. Oberoende av oss hittades samma protein av Richard Hynes i London och Erkki Ruoslahti och Antti Vaheri i Helsingfors. Fibronektin är det första adhesionsprotein som har beskrivits.

### Tillbaka i Helsingfors

Vistelsen i Seattle var mycket givande och gav ett utmärkt utgångsläge för fortsatt forskning när jag hösten 1974 återvände till Helsingfors och Serobakteriologen.

Något senare kom Leif Andersson från sin postdoktorala vistelse hos Hans Wigzell i Uppsala. Leif hade i Pekka Häyrys grupp på Patologen i Helsingfors utvecklat metoder för att isolera olika leukocyter, bl.a. T- och B-lymfocyter, och kunde göra olika typer av lymfoblaster m.m. Vi inledde snart ett mycket fruktbart samarbete. Vid den tiden visste man mycket litet om leukocyters membranproteiner. Flera ytantigener hade beskrivits, men deras molekylära natur var mycket bristfälligt känd. Det var endast transplantationsantigenerna man visste något om. Vi utgick dock ifrån att det säkert finns andra också kvantitativt viktiga molekyler som kunde identifieras.

Först karakteriserade vi T- och B-celler hos mus och senare människans blodceller och hittade flera tidigare okända molekyler (7–9). Ett av proteinerna visades långt senare av nobelpristagaren E. Fischer vara ett tyrosinfosfat, det första av det slaget som identifierats och som nu kallas CD45. I flera arbeten studerade vi cellinjer, både normala och maligna (10, 11).

Vid samma tidpunkt utvecklade vi också en metod för att märka in cellytans sialinsyror. Det var tidigare känt att låga koncentrationer av perjodat selektivt oxiderar sialinsyra till aldehydderivat. Då vi gjorde detta vid 0°C på is kunde perjodatmolekylerna inte transporteras in i cellen, utan endast ytbelägna sialinsyror oxiderades. Sedan kunde dessa reduceras med tritierad borohydrid. Vi kunde visa att metoden var ytselektiv genom att isolera membraner från röda blodkroppar

---

och rekonstruera membranvesikler i närvaro av lösliga sialinsyrahaltiga glykoproteiner så att dessa membranvesikler kom att innehålla de tillsatta glykoproteinerna. Experimenten visade att de här glykoproteinerna var oåtkomliga för perjodat. Denna metod visade sig vara mycket användbar (12).

Jag ville dock inte lämna människans röda blodkroppar, som var mycket lättare att arbeta med. I samtal med forskare på Röda Korsets Blodtjänst fick jag höra om ett underligt transfusionsfall. En person från Vasatrakten hade fått en svår transfusionsreaktion trots att hans ABO- och Rh-blodgrupper hade kontrollerats. Vi fick några milliliter av personens blod, jag märkte in proteinerna och märkte genast att cellerna helt saknade glykoforin, det bäst kända membranproteinet (13). Detta fynd väckte stort intresse i forskarkretsarna, i synnerhet då personen med denna defekt för övrigt var helt frisk. Vi kunde nu göra ett specifikt antiserum mot glykoforin genom att immunisera med ett halvt glykoforinpreparat följt av absorption med dessa En(a-) glykoforinnegativa membraner. Leif testade sedan genom immunfluorescens olika växande cellinjer och märkte att cellinjen K562 uttryckte glykoforin (14). Det var ju spännande eftersom ingen mänsklig erytroid cellinje tidigare hade beskrivits. K562-celler användes mycket som målceller för naturliga mördarceller (NK) men ansågs vara myeloida. Vi kunde sedan immunprecipitera glykoforin från dessa celler. Stor sensation väckte sedan upptäckten att K562 började syntetisera hemoglobin efter tillsats av smörsyra (15). Detta ledde också till en häftig polemik med K562-cellernas upptäckare, som först inte trodde på våra resultat (16).

Senare kunde vi i detalj studera biosyntesen av glykoforin i K562-celler med hjälp av vårt specifika antiserum. Dessa arbeten och J. Stromingers arbeten med HLA-molekyler kom att vara de första där membranproteiners syntes och glykosylering i däggdjurscellen studerades i detalj (17).

Under senare delen av 1970-talet innehade jag yngre och äldre forskartjänster vid Finlands Akademi, vilket möjliggjorde heldagsforskning. Vid Åbo Akademi hade professuren i biokemi och farmaceutisk kemi blivit lediganslagen, och 1979 utnämndes jag till tjänsten. Men 1979 hade också biokemiprofessuren vid Helsingfors universitet blivit öppen efter Kai Simons. Han hade aldrig skött tjänsten och arbetade vid det nya molekylär-

biologiska laboratoriet i Heidelberg (EMBL). Biokemiprofessuren hade först innehaft av A. I. Virtanen. I konkurrens med en stor del av landets biokemister fick jag tjänsten 1981 och sedan dess har jag arbetat på Biokemiska institutionen/avdelningen. Åren 1986–1991 var jag forskarprofessor vid Finlands Akademi.

Jag följde fortlöpande vad som publicerades om röda blodkroppar. I slutet av 1970-talet läste jag två arbeten om RhD-antigenet publicerade i en ansedd tidskrift. I det ena arbetet hävdades det att antigenet var ett litet mini-protein med en molekylvikt på 5 000–7 000, medan i det andra arbetet påstods att dess molekylvikt var ca 90 000. Denna klassiska blodgrupp var alltså fortfarande kontroversiell till sin molekylära natur. Av forskarna på Blodtjänst fick jag RhD-blod och antiserum. Jag märkte in blodkropparnas membran med galaktosoxidas- och perjodatmetoderna och analyserade preparaten med gelelektrofores men fick inget klart resultat. Jag försökte då använda en annan metod, laktoperoxidas-katalyserad jodering med radioaktiv jod. Med denna metod kan man märka in aminosyran tyrosin i proteiner. Efter immunprecipitering kunde jag isolera ett svagt laddat proteinband med en molekylvikt på cirka 30 000 men var osäker på resultatet. Jag fick då höra att det finns s.k. superRh-individer med större än normala mängder RhD. Jag fick några milliliter sådant blod, och nu var det inget tvivel om saken, ett starkt laddat protein med en molekylvikt på 30 000 syntes tydligt (18). Ett liknande resultat fick en forskargrupp i Skottland oberoende av oss. Senare karakteriserade jag noggrannare proteinet och kunde visa att det verkligen inte innehåller socker, vilket förklarar det faktum att det inte kunde laddas med mina tidigare utvecklade metoder (19). Vid Johns Hopkins universitetet i USA noterades Rh-arbetena och Peter Agre försökte isolera Rh-proteinet för fortsatta studier. Detta var dock inte lätt och han isolerade i stället en kontaminant. Detta protein visade sig senare transportera vatten genom membranet och kallas aquaporin. Peter Agre fick nobelpriset i kemi år 2003.

## Leukocytadhesion

Det började småningom bli uppenbart att jag för att komma vidare borde börja studera något fysiologiskt och helst kliniskt viktigt problem.

---

År 1982 var jag opponent för Manuel Patarroyo vid Karolinska Institutet. Han hade skrivit sin avhandling under handledning av professor Georg Klein, en av världens mest kända cancerforskare. I arbetet visade han att när leukocyter inkuberas med forbolestrar sker snabbt en aggregering av cellerna. Vad det berodde på var helt oklart. Manuel kom sedan till Helsingfors som postdoktoral forskare och vi påbörjade ett intensivt och givande samarbete. Vi utgick ifrån hypotesen att man kunde identifiera receptorer för detta fenomen genom att blockera den inducerade adhesionen med monoklonala antikroppar mot receptorn/liganden. Vi skrev till forskare i hela världen som hade beskrivit monoklonala antikroppar som reagerade med mänskliga leukocyters ytor och erhöll cirka 100 olika antikroppar. En av antikropparna (från Seattle!) inhiberade verkligen adhesionen som åstadkommits med forbolestrar. Efter immunprecipitering fick vi två proteinband och kunde visa att antikroppen reagerade med den mindre polypeptiden med en molekylvikt på cirka 90 000 (20). Denna och liknande beskrivna antikroppar hade visats påverka flera funktioner i leukocyter, såsom antikroppsbildning, kemotaxis m.m., och antigenet kallades därför leukocyte function associated antigen -1 (LFA-1). Antigenet var alltså ett protein som var involverat i adhesion. Granulocyter visades ha ett liknande närbesläktat protein som kallades Mac-1 och hade samma  $\beta$ -kedja (21). Vi hade bråttom att publicera fynden pga. hård konkurrens och valde därför ett snabbt publikationsforum. Nämnas kan att Ruoslahti med medarbetare isolerade receptorn för fibronectin, och denna konstaterades senare höra till samma familj av adhesionproteiner (22). Dessa proteiner kom senare att kallas integriner. År 1987 identifierade vi med samma metod den första liganden för LFA-1, intercellular adhesion molecule -1 (ICAM-1) som också beskrivits av T. A. Springer i Boston (23).

Efter dessa arbeten på 1980-talet har vi allt mer koncentrerat vår forskning på att utreda hur leukocytintegrinerna och deras ligander ser ut och hur de fungerar. Denna forskning har lett till mera än 100 publikationer i ledande tidskrifter. Framtiden får utvisa vilka fynd som var viktigast.

Vi har använt mycket tid och krafter på att försöka förstå hur integrinernas aktivitet regleras. Då receptorn för forbolestrar är proteinkinasa C, ett enzym som fäster fosfatgrupper

på aminosyror serin och treonin i proteiner inne i cellerna, var det naturligt att utgå ifrån att fosforylering är viktigt. Genom att märka in celler med radioaktivt fosfat visade det sig att integrinernas större kedjor ( $\alpha$ -kedjorna) hela tiden innehöll fosfat medan den nämnda  $\beta$ -kedjan fosforylerades endast efter aktivering (24). Detta tydde naturligtvis på att  $\beta$ -kedjans fosforylering är viktig vid adhesion. Springers grupp visade att serin-756 i  $\beta$ -kedjans cytoplasmadomän var starkt fosforylerat efter aktivering, ändå hade mutering av denna aminosyra ingen effekt på adhesionen (25). Men om treoninerna 756–758 muterades, inhiberades adhesionen. Han såg dock ingen fosforylering av treoninerna. Men vi undersökte molekylerna noggrannare och kunde visa att en stark treoninfosforylering i själva verket syntes när fosfataserna inhiberades (26). I senare arbeten har vi sedan visat att s.k. 14-3-3 proteiner efter treoninfosforyleringen i  $\beta$ -kedjan binds till denna och i sin tur hindrar bindningen av ett protein kallat filamin, som är bundet till  $\beta$ -kedjan i vilande celler (27). Sedan sker en signalering till cytoskelettets små G-proteiner följt av sammangyttring av integrinerna med ökad adhesion som följd (28). Det är dock klart att det i signaleringskedjan ännu finns många oklara komponenter som vi håller på att identifiera. Vi har också nyligen tillsammans med amerikanska forskare identifierat en naturlig inhibitor för leukocytadhesion. Detta Del-1 protein sitter bundet till endotelceller och hindrar integrinerna att verka (29). På sikt kan denna upptäckt få klinisk betydelse.

Också liganderna för integrinerna har visat sig vara intressanta. Efter ICAM-1 har fyra andra ligander identifierats och karaktäriserats, och vi har varit med i tre av dessa projekt. ICAM-2 har visat sig vara uttryckt i leukocyter och endotelceller och har intressant nog också en adhesionsökande effekt (30). Vi kunde vidare identifiera bindningsstället för integrinerna i ICAM-2 och gjorde peptider som hindrar adhesion men som också i låga koncentrationer kan aktivera cellerna (31, 32).

ICAM-4 finns bara i röda blodkroppar. Denna molekyl är i själva verket associerad med Rh-molekylerna och kallades tidigare för LW-blodgruppen (Landsteiner-Wiener). Det var särskilt intressant för oss då vi tidigare studerat Rh. Tillsammans med franska forskare utredde vi i detalj vilka aminosyror i ICAM-4 som är viktiga för integrinbindning

(33, 34). ICAM-4 har kanske betydelse vid omsättningen av röda blodkroppar genom att den binds till makrofager i mjälten, och gamla röda blodkroppar binds lättare än sådana som endast varit i cirkulation en kort tid (35).

ICAM-5 förekommer endast i neuroner i hjärnan. Den binder leukocyter till neuroner men kan också ha betydelse vid bindningen av dendritter till axoner vid bildningen av synapser (36, 37). Tillsammans med forskare i Harvard har vi nyligen bestämt den tredimensionella strukturen av ICAM-5 och LFA-1 integrinets bindningsdomän (I-domänen) bundna till varandra. Mycket intressant är att då bindningen sker så translokeras en  $\alpha$ -helix från I-domänen, och till det frigjorda området binds i stället motsvarande  $\alpha$ -helix från en närliggande I-domän o.s.v. På detta sätt kan integrinerna bilda komplex av flera molekyler tillsammans, vilket ökar deras sammanlagda bindningsförmåga (aviditet) (38). Detta kan vara en allmän princip vid reglering av receptoraktivitet. Intressant är att då glutamatreceptorerna i hjärnan aktiveras, sker en klyvning av ICAM-5 genom aktivering av metalloproteaser (39), och det uppkomna lösliga ICAM-5-fragmentet är starkt immunosuppressivt (40). Denna egenskap kan ha stor betydelse vid inflammatoriska tillstånd i centrala nervsystemet. ICAM-5 kan på många sätt vara viktigt för hjärnans funktion, och bl.a. visar studier av s.k. knockout-möss förändringar i minnesfunktioner.

Redan i början av min forskning hade jag förmånen att få stipendier från Finska Läkaresällskapet och Nylands nation. Senare har forskningen bekostats förutom av Läkaresällskapet framförallt av Finlands Akademi, Sigrid Jusélius Stiftelse, Cancerstiftelsen, National Institutes of Health, Magnus Ehrnrooths Stiftelse och av Medicinska Understödsföreningen Liv och Hälsa. Utan den kontinuerliga finansieringen hade det inte varit möjligt att forska. Jag är djupt tacksam över att de ovan nämnda organisationerna har gjort det möjligt för mig att medverka till utvecklingen av den biomedicinska forskningen.

Jag har haft privilegiet att samarbeta med flera toppforskare både inom och utanför landet, och många av mina tidigare elever har gjort en framgångsrik karriär. Detta har varit oerhört stimulerande. Biokemin har varit och kommer alltid att vara ett centralt område inom biologisk och medicinsk forskning. Under min tid har 233 forskare disputerat och över 90 har utnämnts till docenter. På detta

område är det alltså ingen brist på återväxt. Som nobelpristagaren F. G. Hopkins har sagt: "The biologist has long studied living organisms and will continue to do so with ever-increasing interest. As for the biochemist, his may not be the last word in the description of life, but without his help, the last word will never be said". Jag tror att han har rätt.

**Prof. Carl G. Gahmberg**  
**Institutionen för biovetenskaper**  
**Biokemiska avdelningen**  
**PB 56**  
**00711 Helsingfors**  
**carl.gahmberg@helsinki.fi**

## Referenser

1. Renkonen O, Kääriäinen L, Simons K, Gahmberg CG. The lipid class composition of Semliki Forest virus and of plasma membranes of host cells. *Virology*. 1971;46:318–326.
2. Gahmberg CG, Simons K, Renkonen O, Kääriäinen L. Exposure of proteins and lipids in the Semliki Forest virus membrane. *Virology*. 1972;50:259–262.
3. Gahmberg C G, Hakomori S. External labeling of cell surface galactose and galactosamine in glycolipid and glycoprotein of human erythrocytes. *J Biol Chem*. 1973;248:4511–17.
4. Marchesi VT, Scott RE, Segrest JP, Tillack TW, Jackson RL. Chemical characterization and surface orientation of major glycoprotein of human erythrocyte membrane. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1972;69:1445–49.
5. Gahmberg CG, Hakomori S. Altered growth behavior of malignant cells associated with changes in externally labeled glycoprotein and glycolipid. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1973;70:3329–33.
6. Gahmberg CG, Kiehn D, Hakomori S. Changes in a surface-labelled galactoprotein and in glycolipid concentrations in cells transformed by a temperature-sensitive polyoma virus mutant. *Nature*. 1974;248:413–415.
7. Gahmberg CG, Häyry P, Andersson LC. Characterization of surface glycoproteins of mouse lymphoid cells. *J Cell Biol*. 1976;68:642–653.
8. Andersson LC, Gahmberg CG. Surface glycoproteins of human white blood cells. Analysis by surface labeling. *Blood*. 1978;52:57–67.
9. Andersson LC, Gahmberg CG, Kimura AK, Wigzell H. Activated human T lymphocytes display new surface glycoproteins. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1978;75:3455–58.
10. Andersson LC, Gahmberg CG, Nilsson K, Wigzell H. Surface glycoprotein patterns of normal and malignant human lymphoid cells. I. T cells, T blasts and leukemic T cell lines. *Int J Cancer*. 1977;20:702–707.
11. Nilsson K, Andersson LC, Gahmberg CG, Wigzell H. Surface glycoprotein patterns of normal and malignant human lymphoid cells. II. B cells, B blasts and Epstein-Barr virus (EBV) positive and negative B lymphoid cell lines. *Int J Cancer*. 1977;20:708–716.
12. Gahmberg CG, Andersson LC. Selective radioactive labeling of cell surface sialoglycoproteins by periodate-tritiated borohydride. *J Biol Chem*. 1977;252:5888–94.
13. Gahmberg CG, Myllylä G, Leikola J, Pirkola A, Nordling S. Absence of the major sialoglycoprotein in the membrane of human En(a-) erythrocytes and increased glycosylation of band 3. *J Biol Chem*. 1976;251:6108–16.
14. Andersson LC, Nilsson K, Gahmberg CG. K562 - a human erythroleukemic cell line. *Int J Cancer*. 1979;23:143–147.
15. Andersson LC, Jokinen M, Gahmberg CG. Induction of erythroid differentiation in the human leukemia cell line K562. *Nature*. 1979;278:364–365.

16. Andersson LC, Jokinen M, Gahmberg CG, Klein E, Klein G, Nilsson K. K562, an early erythroid or granulocytic cell line? *Nature*. 1979;281:710.
17. Jokinen M, Gahmberg CG, Andersson LC. Biosynthesis of the major human red cell sialoglycoprotein, glycophorin A, in a continuous cell line. *Nature*. 1979;279:604–607.
18. Gahmberg CG. Molecular identification of the human Rho(D) antigen. *FEBS Lett*. 1982;140:95–97.
19. Gahmberg CG. Molecular characterization of the human red cell Rho(D) antigen. *EMBO J*. 1983;2:223–227.
20. Patarroyo M, Beatty PG, Fabre JW, Gahmberg CG. Identification of a cell surface protein complex mediating phorbol ester-induced adhesion (binding) among human mononuclear leukocytes. *Scand J Immunol*. 1985;22:171–182.
21. Patarroyo M, Beatty P. G., Serhan, C. N. and Gahmberg, C. G. 1985. Identification of a cell surface glycoprotein mediating adhesion in human granulocytes. *Scand. J. Immunol*. 22:619–631.
22. Pytela R, Perschbacher MD, Ruoslahti E. Identification and isolation of a 140-kD cell-surface glycoprotein with properties expected of a fibronectin receptor. *Cell*. 1985;40:191–198.
23. Patarroyo M, Clark EA, Prieto J, Kantor C, Gahmberg CG. Identification of a novel adhesion molecule in human leukocytes by monoclonal antibody LB-2. *FEBS Lett*. 1987;210:127–131.
24. Valmu L, Autero M, Siljander P, Patarroyo M, Gahmberg CG.. Phosphorylation of the  $\beta$ -subunit of CD11/CD18 integrins by protein kinase C correlates with leukocyte adhesion. *Eur J Immunol*. 1991;21:2857–62.
25. Hibbs ML, Jakes S, Stacker SA, Wallace RW, Springer TA. The cytoplasmic domain of the integrin lymphocyte function-associated antigen 1  $\beta$  subunit: Sites required for binding to intercellular adhesion molecule 1 and the phorbol ester-stimulated phosphorylation site. *J Exp Med*. 1991;174:1227–38.
26. Valmu L, Gahmberg CG. Treatment with okadaic acid reveals strong threonine phosphorylation of CD18 after activation of CD11/CD18 leukocyte integrin with phorbol esters or CD5 antibodies. *J Immunol*. 1995;155:1175–83.
27. Fagerholm SC, Hilden TJ, Nurmi SM, Gahmberg CG. Specific integrin  $\alpha$  and  $\beta$  chain phosphorylations regulate LFA-1 activation through affinity-dependent and -independent mechanisms *J Cell Biol*. 2005;171:705–715.
28. Nurmi SM, Autero M, Raunio AK, Gahmberg CG, Fagerholm SC. Phosphorylation of the LFA-1 integrin  $\beta$ 2-chain on Thr-758 leads to adhesion, Rac-1/Cdc42 activation and stimulation of CD69 expression in human T cells. *J Biol Chem*. 2007;282:968–975.
29. Choi EY, Chavakis E, Czabanka MA, Langer HF, Fraemohs L, Economopoulou M, Kundu RK, Orlandi A, Zheng YY, Prieto DA, Ballantyne CM, Constant SL, Aird WC, Papayannopoulou T, Gahmberg CG, Udey MC, Vajkoczy P, Quertermous T, Dimmeler S, Weber C, Chavakis T. Del-1, an endogenous leukocyte-endothelial adhesion inhibitor, limits inflammatory cell recruitment. *Science*. 2008;322:1101–04.
30. Kotovuori A, Pessa-Morikawa T, Kotovuori P, Nortamo P, Gahmberg CG. Intercellular adhesion molecule-2 and a peptide from its binding domain are efficient activators of leukocyte adhesion and integrin affinity. *J Immunol*. 1999;162:6613–20.
31. Li R, Nortamo P, Valmu L, Tolvanen M, Huuskonen J, Kantor C, Gahmberg CG. A peptide from ICAM-2 binds to the leukocyte integrin CD11a/CD18 and inhibits endothelial cell adhesion. *J Biol Chem*. 1993;268:17513–17518.
32. Li R, Nortamo P, Kantor C, Kovanen P, Timonen T, Gahmberg CG. A leukocyte integrin binding peptide from intercellular adhesion molecule-2 stimulates T cell adhesion and natural killer cell activity. *J Biol Chem*. 1993;268:21474–477.
33. Bailly P, Tontti E, Hermand P, Cartron J-P, Gahmberg CG. The red cell LW blood group protein is an intercellular adhesion molecule which binds to CD11/CD18 leukocyte integrins. *Eur J Immunol*. 1995;25:3316–20.
34. Hermand P, Huet M, Callebaut I, Gane P, Ihanus E, Gahmberg CG, Cartron J-P, Bailly P. Binding sites of leukocyte  $\beta$ 2 integrins (LFA-1, Mac-1) on the human ICAM-4/LW blood group protein. *J Biol Chem*. 2000;275:26002–010.
35. Toivanen A, Ihanus E, Mattila M, Lutz HU, Gahmberg CG. Importance of molecular studies on major blood groups - Intercellular adhesion molecule-4, a blood group antigen involved in multiple cellular interactions. *Biochim Biophys Acta*. 2008;1780:456–466.
36. Tian L, Yoshihara Y, Mizuno T, Mori K, Gahmberg CG. The neuronal glycoprotein, telencephalin, is a cellular ligand for the CD11a/CD18 leukocyte integrin. *J Immunol*. 1997;158:928–936.
37. Tian L, Nyman H, Kilgannon P, Yoshihara Y, Mori K, Andersson LC, Kaukinen S, Rauvala H, Gallatin WM, Gahmberg CG. Intercellular adhesion molecule-5 induces dendritic outgrowth by homophilic adhesion. *J Cell Biol*. 2000;150:243–252.
38. Zhang H, Casanovas JM, Jin M, Liu J, Gahmberg CG, Springer TA, Wang J. An unusual allosteric mobility of the C-terminal helix of a high-affinity  $\alpha$ L integrin I domain variant bound to ICAM-5. *Mol Cell*. 2008;31:432–437.
39. Tian L, Stefanidakis M, Ning L, van Lint P, Nyman-Huttunen H, Libert C, Itohara S, Mishina M, Rauvala H, Gahmberg CG. Activation of NMDA receptors promotes dendritic spine development through MMP-mediated ICAM-5 cleavage. *J Cell Biol*. 2007;178:687–700.
40. Tian L, Lappalainen J, Autero M, Hänninen S, Rauvala H, Gahmberg CG. Shedded neuronal ICAM-5 suppresses T cell activation. *Blood*. 2008;111: 3615–25.