

Bir Bazal Membran Glikoproteini: Nidogen

A BASEMENT MEMBRANE GLYCOPROTEIN: NIDOGEN: REVIEW

Dr. Hakan ÖNER,^a Dr. Jale ÖNER^a

^aHistoloji ve Embriyoloji AD, Akdeniz Üniversitesi Veteriner Fakültesi, BURDUR

Özet

Nidogen/Entaktin (N/E), bazal membranların (BM) önemli bir ögesidir ve Laminin, tip IV kollajen, perlecan ve fibulinler ile kompleksler şekillendirme yeteneğinden dolayı bazal membranların şekillenmesinde önemli bir rol oynar. Memelilerde, Nidogen/Entaktin-1 (N/E-1) ve Nidogen/Entaktin-2 (N/E-2) olmak üzere iki türü vardır. Her ikisi de, esas olarak mezenşimal hücreler tarafından sentezlenir. N/E-2, daha çok endotelial BM'lerde bulunur. N/E-1, tip IV kollajen ve Laminine bağlanarak üçlü kompleksler şekillendirebilir. N/E-2, N/E-1 gibi aynı affinite ile tip I, tip IV kollajen ve perlecan ile etkileşirken, Laminine daha düşük affinite ile bağlanır. N/E-2, N/E-1'in aksine fibulin-1 ve fibulin-2'ye bağlanamaz. N/E-2, endostatine ve tropoelastine bağlanabilirken, N/E-1 bu bağlanma özelliğine sahip değildir. N/E'nin keşfinden beri N/E-1'in, BM oluşumunda, hücre yapışmasında, nötrofil kemotaksisinde, trofoblast gelişiminde ve anjiyogeneziste rol aldığı bulunmuştur. Bu özellikleri ile bu iki Nidogen türünün, embriyonik ve yetişkin dokularda farklı özelliklere sahip olup olmadığı, araştırmaya değerdir.

Anahtar Kelimeler: Bazal membran, Nidogen

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2005, 25:688-692

Abstract

Nidogen (Entactin) is a major component of basement membranes (BMs) and, owing to its ability to form complexes with Laminin, type IV collagen, perlecan and the fibulins, plays an important role in the formation of BMs. In mammals, two isoforms of Nidogen present as Nidogen/Entactin-1 (N/E-1) and Nidogen/Entactin-2 (N/E-2). Both N/E isoforms are synthesized mainly by mesenchymal cells. N/E-2 is prominently localized in endothelial BMs. N/E-1 binds to type IV collagen and Laminin-1 and is capable of forming ternary complexes with Laminin-1 and type IV collagen. N/E-2 interacts with type I and IV collagens and perlecan with the same affinity as N/E-1. N/E-2 is bound to Laminin with a lower affinity than N/E-1. N/E-2 is, unlike N/E-1, unable to bind fibulin-1 and -2. N/E-2 is also able to adhere to endostatin and tropoelastin, whereas N/E-1 has not this binding peculiarity. Since its discovery, N/E-1 has been found to promote BM formation, cell attachment, neutrophil chemotaxis, trophoblast outgrowth and angiogenesis. Thus, whether or not similar nidogen isoforms have corresponding traits in all embryonic and adult tissues would appear to be a question worth investigating.

Key Words: Basement membrane, Entactin

Bazal membran, epitel doku ile mezenşimal bağ dokusu arasında bulunan ve kas, periferik sinir telleri ve yağ hücrelerini çevreleyen, yüksek derecede özelleşmiş ekstrasellüler matriksten oluşan, ince bir tabakadır.¹ Tüm dokuların yapısında bulunan bazal membranların yapısı ve içeriği dokudan dokuya değişebildiği gibi aynı dokunun farklı gelişim evrelerinde ve iyileşme periyodunda da değişiklik gösterir. Tüm bazal membranlar, Lamininleri,

Entaktin-1 olarak da bilinen Nidogen-1 (N/E-1) gibi glikoproteinleri, heparan sülfat proteoglikanları ve tip IV, XV ve XVIII kollajeni içerir.¹⁻⁶ Geçen birkaç yıl içerisinde, daha fazla bileşenin tanımlanması ile bazal membranların yapısı çok daha karmaşık bir hal almıştır. Nidogen/Entaktin-2 (N/E-2)'nin tanımlanması, Laminin ailesinin genişlemesi ve heparan sülfat proteoglikanları gibi agrin ve tip XVIII kollajenin tanımlanması, bazal membranların yapısı ve biyolojisindeki son gelişmeler arasındadır.¹

1980'li yılların başlarında, Entaktin veya Nidogen olarak bilinen, yeni bir bazal membran glikoproteini tanımlandı. İlk önce murine EHS tümör ve hücre kültürlerinden elde edildi.^{7,8} N/E-1, üç globüler alana sahip (G1, G2, G3), 150 kDa

Geliş Tarihi/Received: 22.11.2004 Kabul Tarihi/Accepted: 30.12.2004

Yazışma Adresi/Correspondence: Dr. Hakan ÖNER
Akdeniz Üniversitesi Veteriner Fakültesi,
Histoloji ve Embriyoloji AD, BURDUR
honer23@hotmail.com

Copyright © 2005 by Türkiye Klinikleri

moleküler ağırlıklı, sülfatlı bir glikoproteindir. Laminin-1'i, tip IV kollajene bağlar. N/E-1'in, Laminin üzerindeki bağlanma yeri, Laminin $\gamma 1$ zinciri kısa kolundaki LE4 (Laminin tipi epidermal growth faktör benzeri modül) modülüdür.⁹ Laminin-1 için C-terminal bağlanma yeri (G3), tip IV kollajen için merkezi bir bağlanma yeri (G2) bulunur.¹⁰ Nidogen, bazal membran Lamininine bağlandığı zaman, proteolizisten etkilenmez ve Lamininin hücrelere bağlanmasını kolaylaştıran, moleküler bir adaptör olarak hareket eder ve hücre membranına yakın konsantre Laminine yardımcı olarak, Lamininin polimerizasyonunu etkiler.^{2,11} N/E-1'in G2 alanı aynı zamanda perlekan ve fibulin-2'yi de bağlar.^{12,13} N/E-1'in, fibronektin ve fibrinojen de bağladığı bildirilmiştir.^{14,15}

N/E-1, epitelyal hücrelerden ziyade, asıl olarak mezenşimal hücreler tarafından sentezlenir ve bazal membranların yapısına katılır.¹⁶⁻¹⁸ N/E-1'in, meme bezinde miyoepitelyal hücreler, gözde siliyer cisimler, deride fibroblastlar tarafından sentez edildiği bildirilmiştir.^{10,19,20} Miosge ve ark. gelişen mezodermal hücrelerde N/E-1 mRNA'sını tanımlamışlar ve aynı zamanda endoderm ve ektoderm hücrelerinin de N/E-1 mRNA ürettiğini kaydetmişlerdir.²¹ Onlar, N/E-1'in üç germ tabakası tarafından üretildiğini ve mezodermin şekillenmeye başlaması esnasında ektodermin bazal membranının şekillenmesine yardımcı olduğunu göstermişlerdir. N/E-1, mezoderm şekillenmesi sırasında parçalanmış bazal membranlarda bulunmaz. N/E-1, Laminin-1'i proteolitik yarılmaya karşı koruduğu için onun ortadan kalkmasının, bazal membran parçalanmasına doğru başlayan ilk adım olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca, N/E-1'in bazal membranların şekillenmesinin çok erken evrelerinde görülmediği bildirilmiştir.²¹

N/E-1, farelerde gelişimin 8 ile 16 hücreli morula evresinde ortaya çıkar ve blastosistlerin dış trofoblast yüzeyinde bulunur.⁶ Wu ve ark. N/E-1'in, trofoblast tabakasının iç yüzeyinde de lokalize olduğunu bildirmişlerdir.²² İmplant olan embriyoya bitişik desidual doku, N/E-1 içerir ve erken postimplantasyon sırasında, gebeliğin 4. ile 7. günler arasında, N/E-1 mRNA'sı sentez eder.^{22,23} N/E-1, 7 ve 8 günlük fare embriyolarında, Reichert

Reichert membranında görünür ve aynı zamanda embriyonal taslağın visseral endoderm, ektoderm ve mezoderm tabakalarını ayıran, bazal membranlarda lokalize olur. Farelerde gebeliğin 12., 14. ve 16. günlerinde Reichert membranı, visseral yolk kesesi ve plasentada mevcuttur.⁶

N/E-1'in, Laminin, tip IV kollajen, perlekan ve fibulinler ile kompleksler şekillendirme özelliğinden dolayı, bazal membran oluşumunda hayati bir rol oynadığına inanılır.¹ Nidogen polipeptidi, gelişimin erken dönemlerinde böbrek ve akciğerlerdeki epitelyal ve endotelyal hücrelerin bazal membranlarında bulunmuştur ve Lamininlere bağlanmasını bloke eden antikorların kullanılması ile, bazal membran oluşumunu ve organogenezisi alt üst ettiği ve embriyonik böbrek ve akciğer organ kültürlerinde hücre nekrozisine yol açtığı bildirilmiştir.¹⁷ Kadoya ve ark., Nidogen'in Laminin $\gamma 1$ zincirine bağlanmasını bloke eden antikorlar kullanıldığında, submandibular bezde epitelyal gelişimin olumsuz yönde etkilendiğini kaydetmişlerdir.²⁴ Başka bir çalışmada, insan derisini taklit eden bir organotip kültür modelinde, yüksek affinite ile Nidogen bağlayan, bir Laminin $\gamma 1$ zincir parçası muamelesinin, bazal membranda Laminine bağlanan Nidogeni inhibe ettiği ve lamina densa ve hemidesmozomal adezyon komplekslerinin şekillenmesini, doz ile ilişkili olarak bloke ettiği kaydedilmiştir.²⁵ Farelerde, Laminin $\gamma 1$ zincirinin elimine edilmesi durumunda erken embriyonik ölümler meydana geldiği bildirilmiştir.²⁶

N/E-1, integrin $\alpha_v\beta_3$ ve $\alpha 3\beta 1$ 'e bağlanarak bir hücre adezyon molekülü olarak hareket eder.^{27,28} N/E-1 yetersizliği olan farelerde, arka bacak kaslarının kontrolünde kayıp ve kendiliğinden oluşan yakalama benzeri semptomlar gözlenmiştir.²⁹ *Caenorhabditis elegans*'larda N/E-1, tip XVIII ile birlikte nöromusküler kavşakların şekillenmesi ve sinaps oluşumunda önemli bir rol oynar.³⁰ Erişkin dokularda, yara iyileşmesi esnasında endotelyal hücrelerde N/E-1 mRNA'sı bulunmuştur.³¹ Entaktin'in, Alzheimer hastalığının patogenezi ile ilişkili olan amyloid β -protein (A β) fibril oluşumunu inhibe ettiği ve A β 40 fibril oluşumunu düzenleyerek, bu hastalığın patogenezi ile ilişkilendirilebileceği öne sürülmüştür.³² Yapılan bu

çalışmalar dışında, N/E-1'in, epitelyal hücre yapışmasında, nötrofil kemotaksisinde, implantasyon sırasında, ilk trofoblast gelişimini dolayısı ile invazyonunu yönlendirmede ve anjiyogeneziste rol oynadığı kaydedilmiştir.³³⁻³⁶

Kimura ve ark. 1998 yılında, kemik şekillenmesini etkileyen, osteoblast benzeri bir hücre dizisi olan KUSA hücrelerinden salgılanan yeni faktörleri çalışırken, N/E-1 ile homolog olan yeni bir protein klonladılar ve N/E-2/osteonidogen diye isimlendirdiler.³⁷ Bir fare klonu olan osteonidogen, insanda mevcut olan klonla %71 oranında benzerlik göstermiştir. Başka bir insan dizisi, fare N/E-2/osteonidogen'den kısa bir süre sonra yayınlandı ve Nidogen-2 olarak isimlendirildi.³⁸ N/E-2, 200 kDa moleküler ağırlığa sahip bir proteindir. Fare N/E-2, fare N/E-1 ile yalnız %27.4 oranında amino asit benzerliğine sahipken, insan N/E-2, insan N/E-1 ile %46 oranında amino asit benzerliği gösterir.³⁸ N/E-2, N/E-1 kadar yaygındır. N/E-2'nin transkriptleri Northern blot analizi ile kalp, akciğer, iskelet kası, böbrek, karaciğer ve testiste, daha düşük düzeylerde beyin ve dalakta tanımlanmıştır. Karaciğer, akciğer ve pankreasta, N/E-1 transkripti, N/E-2'den çok daha fazladır ve fibroblastlarda ve mezenşim kökenli tümör hücrelerinde, N/E-1'in daha yüksek protein düzeyleri tanımlanmıştır. Kalp, iskelet kası ve böbrekte benzer düzeylerde bulunurlar. Plasenta daha çok N/E-2 proteinini içerir.^{1,37,38} Çift immünfloresan mikroskopu ile her iki N/E izoformunun, böbrekte asıl olarak, proksimal ve distal kıvrımlı tubulusların bazal membranlarında, glomerüllerde ve Bowman kapsülünde; deride, dermal-epidermal bağlantı yerlerinde ve dermis damarlarının ve uzantılarının bazal membranlarında; testiste, seminifer tubuller etrafında ve Leydig hücrelerinin etrafında lokalize olduğu görülmüştür. Fakat kalp ve iskelet kasında, her iki N/E izoformunun, çift lokalizasyonu gözlenmemiştir. N/E-1 boyanması, endomizyum ve perimizyumdaki kardiyositler etrafında, kan damarları ve sinir fibrilleri topluluklarının etrafında gözlenmiştir. N/E-2, damarlar ve sinirler etrafında eşit olarak gözlenirken, kardiyositleri ve miyotüpleri çevreleyen bazal membranlarda daha zayıf reaksiyon vermiştir.³⁸ Miosge ve ark. N/E-2'nin tipik olarak endotelial bazal membranlarda,

özellikle kalp ve çizgili kaslardaki kapillerlerin bazal membranlarında daha fazla miktarda bulunduğunu bildirmişlerdir.³⁹ Yetişkin fare böbreğinde N/E-1 ve N/E-2 mRNA'sı, proksimal, distal ve toplayıcı tubullerin epitel hücrelerinin sitoplazmasında, glomerülleri oluşturan hücrelerde, podositlerde, mezengial hücrelerde ve Bowman kapsülüne bitişik pariyetal epitelyal hücrelerde in situ hibridizasyon ile ışık mikroskopik düzeyde tespit edilmiştir. İmmünohistokimyasal olarak N/E-1'in böbreğin tubuller, glomerüller, kapiller bazal membranlarında ve Bowman kapsülünde pozitif reaksiyon verdiği, N/E-2'nin ise glomerüllerde zayıf, diğer bölgelerde N/E-1 gibi reaksiyon verdiği kaydedilmiştir. Bu gözlemler neticesinde Miosge ve ark. hem N/E-1 hem de N/E-2 mRNA'larının sadece embriyonik dokuların mezenşimal hücrelerinde değil aynı zamanda yetişkin fare böbreğindeki epitelyal ve endotelial hücrelerinde de bulunduğunu kaydetmişlerdir.³⁹

N/E-1 ve N/E-2, embriyonik evrede daha fazla miktarda bulunmuştur. Her iki Nidogen, morfolojik olarak, dalak ve timus gibi rudimenter bazal membranlara sahip dokularda da bulunur. Bazı yetişkin fare dokularında N/E-2'nin içeriğinin, N/E-1'inkinden daha düşük olduğu kaydedilmiştir.⁴⁰ Bu farklılık insan dokularında bildirilmemiştir. N/E-2, bazı hücre dizilerinde N/E-1'den daha fazla adezivdir ve bu etkiyi $\alpha 3\beta 1$ ve $\alpha 6\beta 1$ integrinlere bağlanarak gösterir.⁴⁰ N/E-2, elastik fibrillerin supramoleküler organizasyonunda ve damar duvarlarında endostatin rezervuarlarının düzenlenmesinde rol aldığı kaydedilmiştir.⁴¹

N/E-1 bağlanma yeri olan, Laminin-1'in P1 parçasına, N/E-2, N/E-1'den 1000 kat daha düşük affinite ile bağlanır. Her iki proteinin de etkileşime girdiği rekombinant Laminin $\gamma 1\text{III}3-5'$ 'te, N/E-1 bağlayan modülün bozulması, hem N/E-1 hem de N/E-2'nin bağlanmasını bozduğu kaydedilmiştir. N/E-2, N/E-1 gibi aynı affinite ile perlekan, tip I ve tip IV kollajene bağlanır.^{38,42} N/E-2, endostatin ve tropoelastine bağlanabilir. N/E-1 bu bağlanma özelliğine sahip değildir.⁴³ N/E-2, N/E-1'in aksine fibulin-1 ve fibulin-2'ye bağlanamaz.³⁸

Son yıllarda, Nidogen geninin kaybına neden olan *C. elegans* mutasyonları, genetik deneylerle

tanımlandı. Nidogen'in, genelde bazal membranların şekillenmesi için esas olmadığı kaydedildi.⁴⁴ Benzer şekilde, bazal membranlarda N/E-1'in rolünü tanımlamak için Murshed ve ark. embriyonik kök hücrelerinde, N/E-1 geninin geçersiz bir mutasyonunu ürettiklerinde, farelerde bazal membranların mevcut ve şekillenmesinin normal olduğu gözlemlenmiştir ve N/E-2'nin, N/E-1'in fonksiyonunu yerine getirerek, bu durumu telafi ettiği kaydedilmiştir.⁴⁵ Başka bir çalışmada da, farelerde N/E-2'nin yokluğunda çeşitli dokuların histolojik ve ultrastrüktürel analizleri incelendiğinde, bazal membranların şekillendiği ve herhangi bir değişikliğin olmadığı bildirilmiştir.⁴¹ Miosge ve ark. N/E-1 geninin inaktivasyonundan sonra, iskelet ve kalp kaslarında N/E-2 içeriğinin ve bağlanma aktivitesinin arttığını gözlemlemişler, buna bağlı olarak da N/E-2'nin N/E-1'in kompenzatorü olarak görev yaptığını öne sürmüşlerdir.⁴⁶ Farelerde, Laminin $\gamma 1$ zinciri üzerindeki Nidogen bağlayan modül $\gamma 1III4$ (LE4, Laminin tipi epidermal growth factor benzeri modül)'ün, genetik olarak ortadan kaldırılması durumunda, bazal membran şekillenmesinin, Laminin-Nidogen etkileşimlerine, hayati olarak bağlı olmadığı gözlemlenirken, böbrek organogenezisinin ve akciğer gelişiminin bozulması ile sonuçlanan, spesifik olarak böbrek ve akciğerlerin bazal membranlarında yapısal anormallikler gözlemlenmiştir. Bu gelişimsel bozukluklar, uzayan Wolf kanalının ve alveoler keselerin bazal membranlarında sınırlı olarak gözlemlenen kopuntular ile meydana gelmiştir.⁴⁷

Sonuç olarak, bazal membranların oluşumunda önemli rol oynayan ve çeşitli fonksiyonlara sahip olan bu iki Nidogen türünün, embriyonik ve yetişkin dokularda daha farklı fonksiyonlarının da mevcut olup olmadığı araştırılmaya değerdir.

KAYNAKLAR

1. Erickson AC, Couchman JR. Still more complexity in mammalian basement membranes. *J Histochem Cytochem* 2000;48:1291-306.
2. Colognato H, Yurchenco PD. Form and function: The laminin family of heterotrimers. *Dev Dyn* 2000;218:213-34.
3. Myers JC, Dion AS, Abraham V, Amenta PS. Type XV collagen exhibits a widespread distribution in human tissues but a distinct localization in basement membrane zones. *Cell Tissue Res* 1996;286:493-505.
4. Musso O, Rehn M, Saarela J, et al. Collagen XVIII is localized in sinusoids and basement membrane zones and expressed by hepatocytes and activated stellate cells in fibrotic human liver. *Hepatology* 1998;28:98-107.
5. Timpl R. Macromolecular organization of basement membranes. *Curr Opin Cell Biol* 1996;8:618-24.
6. Dziadek M, Timpl R. Expression of nidogen and laminin in basement membranes during mouse embryogenesis and in teratocarcinoma cells. *Dev Biol* 1985;111:372-82.
7. Carlin B, Jaffe R, Bender B, Chung AE. Entactin, a novel basal lamina-associated sulfated glycoprotein. *J Biol Chem* 1981;256:5209-14.
8. Timpl R, Dziadek M, Fujiwara S, Nowack H, Wick G. Nidogen: A new, self-aggregating basement membrane protein. *Eur J Biochem* 1983;15:455-65.
9. Mayer U, Nischt R, Poschl E, et al. A single EGF-like motif of laminin is responsible for high affinity nidogen binding. *EMBO J* 1993;12:1879-85.
10. Pujuguet P, Simian M, Liaw J, Timpl R, Werb Z, Bissell MJ. Nidogen-1 regulates laminin-1-dependent mammary-specific gene expression. *J Cell Sci* 2000;113:849-58.
11. Yurchenco PD, Cheng YS, Colognato H. Laminin forms an independent network in basement membranes. *J Cell Biol* 1992;117:1119-33.
12. Hopf M, Gohring W, Ries A, Timpl R, Hohenester E. Crystal structure and mutational analysis of a perlecan-binding fragment of nidogen-1. *Nat Struct Biol* 2001;8:634-40.
13. Ries A, Gohring W, Fox JW, Timpl R, Sasaki T. Recombinant domains of mouse nidogen-1 and their binding to basement membrane proteins and monoclonal antibodies. *Eur J Biochem* 2001;268:5119-28.
14. Wu C, Reing J, Chung AE. Entactin forms a complex with fibronectin and co-localizes in the extracellular matrix of the embryonal carcinoma-derived 4CQ cell line. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;178:1219-25.
15. Wu C, Chung AE. Potential role of entactin in hemostasis: Specific interaction of entactin with fibrinogen A α and B β chains. *J Biol Chem* 1991;266:18802-7.
16. Hogan BL, Taylor A, Kurkinen M, Couchman JR. Synthesis and localization of two sulphated glycoproteins associated with basement membranes and the extracellular matrix. *J Cell Biol* 1982;95:197-204.
17. Ekblom P, Ekblom M, Fecker L, et al. Role of mesenchymal nidogen for epithelial morphogenesis in vitro. *Development* 1994;120:2003-14.
18. Thomas T, Dziadek M. Genes coding for basement membrane glycoproteins laminin, nidogen and collagen IV are differentially expressed in the nervous system and by epithelial, endothelial and mesenchymal cells of the embryo. *Exp Cell Res* 1993;208:54-67.
19. Dong S, Landfair J, Balasubramani M, Bier ME, Cole G, Halfter W. Expression of basal lamina protein mRNAs in the early embryonic chick eye. *J Comp Neurol* 2002;447:261-73.
20. Fleischmajer R, Schechter A, Bruns M, et al. Skin fibroblasts are the only source of nidogen during early basal lamina formation in vitro. *J Invest Dermatol* 1995;105:597-601.

21. Miosge N, Quondamatteo F, Klenczar C, Herken R. Nidogen-1: Expression and ultrastructural localization during the onset of mesoderm formation in the early mouse embryo. *J Histochem Cytochem* 2000;48:229-38.
22. Wu TC, Wan YJ, Chung AE, Damjanov I. Immunohistochemical localization of entactin and laminin in mouse embryos and fetuses. *Dev Biol* 1983;100:496-505.
23. Farrar JD, Carson DD. Differential temporal and spatial expression of mRNA encoding extracellular matrix components in decidua during the peri-implantation period. *Biol Reprod* 1992;46:1095-108.
24. Kadoya Y, Salmivirta K, Talts JF, et al. Importance of nidogen binding to laminin γ 1 for branching epithelial morphogenesis of the submandibular gland. *Development* 1997;124:683-91.
25. Breikreutz D, Mirancea N, Schmidt C, et al. Inhibition of basement membrane formation by a nidogen-binding laminin γ 1-chain fragment in human skin-organotypic cocultures. *J Cell Sci* 2004;117:2611-22.
26. Smyth N, Vatansever HS, Murray P, et al. Absence of basement membranes after targeting the LAMC1 gene results in embryonic lethality due to failure of endoderm differentiation. *J Cell Biol* 1999;144:151-60.
27. Dedhar S, Jewell K, Rojiani M, Gray V. The receptor for the basement membrane glycoprotein entactin is the integrin α 3/ β 1. *J Biol Chem* 1992;267:18908-14.
28. Dong LJ, Hsieh JC, Chung AE. Two distinct cell attachment sites in entactin are revealed by amino acid substitutions and deletion of the RGD sequence in the cysteine-rich epidermal growth factor repeat 2. *J Biol Chem* 1995;270:15838-43.
29. Dong L, Chen Y, Lewis M, et al. Neurologic defects and selective disruption of basement membranes in mice lacking entactin-1/nidogen-1. *Lab Invest* 2002;82:1617-30.
30. Ackley BD, Kang SH, Crew JR, Suh C, Jin Y, Kramer JM. The basement membrane components nidogen and type XVIII collagen regulate organization of neuromuscular junctions in *Caenorhabditis elegans*. *J Neurosci* 2003;23:3577-87.
31. Sephel GC, Kennedy R, Kudravi S. Expression of capillary basement membrane components during sequential phases of wound angiogenesis. *Matrix Biol* 1996;15:263-79.
32. Kiuchi Y, Isobe Y, Fukushima K. Entactin-induced inhibition of human amyloid β -protein fibril formation in vitro. *Neurosci Lett* 2001;305:119-22.
33. Chakravarti S, Tam MF, Chung AE. The basement membrane glycoprotein entactin promotes cell attachment and binds calcium ions. *J Biol Chem* 1990;265:10597-603.
34. Senior RM, Gresham HD, Griffin GL, Brown EJ, Chung AE. Entactin stimulates neutrophil adhesion and chemotaxis through interactions between its Arg-Gly-Asp (RGD) domain and the leukocyte response integrin. *J Clin Invest* 1992;90:2251-7.
35. Yelian FD, Edgeworth NA, Dong LJ, Chung AE, Armant DR. Recombinant entactin promotes mouse primary trophoblast cell adhesion and migration through the Arg-Gly-Asp (RGD) recognition sequence. *J Cell Biol* 1993;121:923-9.
36. Nicosia RF, Bonanno E, Smith M, Yurchenco P. Modulation of angiogenesis in vitro by laminin-entactin complex. *Dev Biol* 1994;164:197-206.
37. Kimura N, Toyoshima T, Kojima T, Shimane M. Entactin-2: A new member of basement membrane protein with high homology to entactin/nidogen. *Exp Cell Res* 1998;241:36-45.
38. Kohfeldt E, Sasaki T, Gohring W, Timpl R. Nidogen-2: A new basement membrane protein with diverse binding properties. *J Mol Biol* 1998;282:99-109.
39. Miosge N, Kother F, Heinemann S, Kohfeldt E, Herken R, Timpl R. Ultrastructural colocalization of nidogen-1 and nidogen-2 with laminin-1 in murine kidney basement membranes. *Histochem Cell Biol* 2000;113:115-24.
40. Salmivirta K, Talts JF, Olsson M, Sasaki T, Timpl R, Ekblom P. Binding of mouse nidogen-2 to basement membrane components and cells and its expression in embryonic and adult tissues suggest complementary functions of the two nidogens. *Exp Cell Res* 2002;279:188-201.
41. Schymeinsky J, Nedbal S, Miosge N, et al. Gene structure and functional analysis of the mouse nidogen-2 gene: Nidogen-2 is not essential for basement membrane formation in mice. *Mol Cell Biol* 2002;22:6820-30.
42. Hopf M, Gohring W, Kohfeldt E, Yamada Y, Timpl R. Recombinant domain IV of perlecan binds to nidogens, laminin-nidogen complex, fibronectin, fibulin-2 and heparin. *Eur J Biochem* 1999;259:917-25.
43. Sasaki T, Gohring W, Miosge N, Abrams WR, Rosenbloom J, Timpl R. Tropoelastin binding to fibulins, nidogen-2 and other extracellular matrix proteins. *FEBS Lett* 1999;460:280-4.
44. Kang SH, Kramer JM. Nidogen is nonessential and not required for normal type IV collagen localization in *Caenorhabditis elegans*. *Mol Biol Cell* 2000;11:3911-23.
45. Murshed M, Smyth N, Miosge N, et al. The absence of nidogen-1 does not affect murine basement membrane formation. *Mol Cell Biol* 2000;20:7007-12.
46. Miosge N, Sasaki T, Timpl R. Evidence of nidogen-2 compensation for nidogen-1 deficiency in transgenic mice. *Matrix Biol* 2002;21:611-21.
47. Willem M, Miosge N, Halfter W, et al. Specific ablation of the nidogen-binding site in the laminin γ 1 chain interferes with kidney and lung development. *Development* 2002;129:2711-22.