

·专论与综述·

认识 Munc13*

汪俊汉¹ 李臣鸿²

(1 华中科技大学医院检验科 湖北 武汉 430074 2 华中科技大学生命科学与技术学院生物物理所 湖北 武汉 430074)

摘要 Munc13 是 *C. elegans* Unc-13 和 *Drosophila* Dunc-13 在哺乳动物中的同系物,有四种亚型,是 SNARE 蛋白的调节蛋白之一。Munc13 蛋白含有两个结构域 C1 和 C2 结构域,DAG/ 佛波醇结合到 C1 结构域上,能增强 Munc13-1 促进囊泡成熟的能力。在神经递质的胞吐过程中,有许许多多的蛋白参与,其中 Munc, Synaptotagmin 和 Rab 等蛋白家族是其重要的调节因子。同时,囊泡的转运和分泌也需要这些功能特殊的蛋白质的参与。全面了解 Munc13 的结构域与功能及其在分泌中的地位 and 分泌模式,有助于其在临床医学中的应用,如其在胰岛素释放等分泌调节中起着重要作用。

关键词 Munc13 结构域 功能

中图分类号 Q71, R392 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273 (2012) 08-1563-03

Approaching Munc13*

WANG Jun-han¹, LI Chen-hong²

(1 Medical Laboratory of the Hospital, Huazhong University of Science and Technology;

2 College of Life and Technology, Institute of Biophysics and Biochemistry, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, China,430074)

ABSTRACT: Munc13 proteins constitute a family of 4 mammalian homologue of *C. elegans* Unc-13 and *drosophila* Dunc-13, which is one of the regulation proteins of SNARE protein. Munc13 proteins contain C1 domain and C2 domain. The binding of DAG/phorbol-ester to C1 domain leads to enhanced priming activity of Munc13-1. Many proteins participated in the process of synaptic transmission such as Munc, Synaptotagmin and Rab. Meanwhile, these critical proteins are involved in the process of vesicle translocation and secretion. It will help to know the application in clinical medicine to understand comprehensively the domains and the functions of Munc13, such as it plays a critical role in insulin release.

Key words: Munc13; Domain; Function

Chinese Library Classification(CLC): Q71, R392 **Document code:** A

Article ID:1673-6273 (2012) 08-1563-03

线虫 unc13 突变体起初是作为一大群突变体的成员之一而发现的,这些突变体都有一个不等位的表型基因,故称 unc。而 unc13 是 unc 突变体的一个亚类。Unc13 在哺乳动物 (mammalian) 的同源物称 Munc13,在人则称 hunc13。在其它一些生物中也有它的同源物,如果蝇 (*drosophila*) 就称 dr-unc13。目前在哺乳动物中已经发现 Munc13 有 4 个亚型,分别是 Munc13-1,2,3,4。其中 Munc13-4 是新近用生物信息学的方法搜寻而发现的^[1]。随着对 Munc13 研究的深入,越来越多的实验表明 Munc13/unc13 在囊泡的成熟过程中起着重要的作用,而对某些神经元来说甚至是必不可少的^[2]。最近有研究认为 Munc13 参与了神经的可塑性过程,乃至可能引起膜下细胞骨架的重排^[3]。总之,它的重要性越来越为人们所认识。

1 Munc13 的功能域及其分布

所有 Munc13/unc13 都有一个复杂的含羟基的 C1 结合域,这个 C1 结合域和 PKC α , β , γ 的 C1 是相同的,能结合二酯

酰甘油 (DAG),故认为 Munc13 与 PKC 在 DAG 第二信使通道中可能起平行作用。除 C1 结合域外还有 2-3 个 C2 结合域,C2 是 Ca²⁺/ 磷脂的结合位点,也可以作为与不同蛋白相互作用的结合域。此外,还有 MHD1 和 MHD2 结合域。所有哺乳动物 Munc13 异构体的羟基末端 2/3 (对应 unc13 的 R 区) 都是非常相似的,在人、大鼠、小鼠、果蝇及线虫,这部分是高度保守的。氨基末端因种系不同而有明显的差异,但哺乳动物本身之间其氨基末端又是高度一致的。种系间羟基末端的高度保守性说明了该基因在生命的延续中可能有重要的作用,氨基末端的种系间的差异反应了种系的进化和种系的特异性。虽然有种系的特异性,但 Munc13-1 和 unMunc13-2 的氨基末端与 Munc13 的 L 区是有同源性的,这说明 Munc13-1 和 unMunc13-2 在功能上可能更保守。

前面讲到 Munc13 有 4 种异构体,在现在已研究的组织中发现这 4 种异构体在体内的分布是不均匀的。有研究认为 Munc13-1, Munc13-3 特异性的表达在神经系统和神经内分泌

* 基金项目 国家自然科学基金项目资助 (30470646)

作者简介 汪俊汉 (1967),男,硕士,副教授,主要研究方向 分子免疫学,电话:13207152197, E-mail:junhan001@yahoo.com.cn

(收稿日期 2011-07-23 接受日期 2011-08-18)

细胞,而 Munc13-2 有脑特异性表达的 bMunc13-2 和遍在表达的 ubMunc13-2 两种^[4]。更精确的研究发现 Munc13-1 和 Munc13-3 更多的定位在突触前末梢,而 Munc13-1 在突触前活化区是非常丰富的。这种定位暗示它在神经递质的释放中起作用。Munc13-4 是新近发现的^[5],目前发现它主要表达在肺的支气管上皮的杯状细胞和 2 型肺泡细胞,而这两类细胞也都是内分泌细胞。从 Munc13 的分布和具有的结构域可以看出其功能离不开分泌活动。

2 Munc13 的结构域功能解说

Munc13 的几个结构域中 C1 和 C2 研究的较多,而 MHD 研究的较少。C2 首先是在 PKC 中确定的,但它也有存在于许许多多的其它蛋白中,它们调节 Ca^{2+} / 磷脂与之的结合或者蛋白质间的相互作用。有趣的是,虽然 Munc13 有 2-3 个 C2,都满足 Ca^{2+} 结合的结构要求,但在哺乳动物的中间 C2 中迄今也没有发现 Ca^{2+} 能与它结合^[6]。这表明从功能上讲 Munc13 并不是一个胞吐分泌 Ca^{2+} 的感应器,那么 Munc13 发挥功能又是 Ca^{2+} 依赖性的原因又如何解释,这有可能是通过钙调节蛋白来发挥作用的。但目前 Munc13 与钙调节蛋白相互作用的功能作用还是不清楚的。

C1 结合域起初是在 PKC 中作为一个调节区而发现的。它充当了高亲和力 DAG/PE 受体,协同 C2 一起募集酶到质膜上并使酶处于活化状态。Munc13 的 C1 结合域的结构和功能与 PKC 的非常相似,也与 DAG/PE 结合,且 PE 结合 Munc13 和 PKC 的药理特性是没有区别的。虽然药理特性没有区别,但是功能特性是否也没有区别。生理学和电生理学已知其功能是有区别的。通过过表达 Munc13 与 GFP 的融合蛋白实验,当加入 PE 时,Munc13 与 GFP 的融合蛋白从胞浆转到胞膜,这种转位是 Munc13 固有的特性,不需要 PKC 的活化。进一步的实验表明 PE 既可激活 PKC 又可激活 Munc13,但是在谷氨酸能神经元研究发现 PE 与 Munc13 的 C1 结合诱导递质的释放,而与 PKC 的 C1 结合并未诱导递质的释放^[7]。这告诉我们还有一种 PKC 非依赖性的 PE 途径的存在。

3 Munc13 与囊泡释放相关蛋白

现已确定的与 Munc13 直接相互作用的蛋白有 6 种:syntaxin、Doc2、spectrin、msec7-1、calmodulin 和 Munc18。间接作用的还未统计,CAST、Tomosyn 和 RIM 都与其有间接作用。在此选择几种蛋白简述如下。

3.1 Munc13 与 Munc18 和 syntaxin

Toshihiro Sassa 等的实验^[8]发现 unc13N 端、unc18 和 syntaxin 可相互作用,而且 unc13N 端和 unc18 可直接相互作用,且 Syntaxin 并不干扰 unc13 和 unc18 复合物形成。但是,unc13 却干扰 unc18 和 syntaxin 形成复合物,用 unc13N 孵育后,unc18 和 syntaxin 复合物的量会减少。这一结果表明 unc13N 要么抑制复合物的形成,要么从复合物中替代 unc18。进一步的实验发现,unc18 的释放量会随 unc13 的孵育量的增加而增加,而且观察不到 unc13、unc18 和 syntaxin 三聚体复合物的存在。这些实验表明 unc13 分离 unc18 和 syntaxin 形成的复合物。对这三种蛋白之间的相互作用及在囊泡融合中的功能 Nilse Brose^[9]设

想了一个很形象且简单的模型。Munc18 作为一个负调控子与 syntaxin 结合,占据了 syntaxin 的 N 端,使 syntaxin 处于关闭状态,封闭了核心复合物的形成。而 Munc13/unc13 替代 Munc18/unc18 与 syntaxin 的 N 端结合,解除了 Munc18/unc18 的负调控作用,syntaxin 处于开放状态,促进核心复合物的装配。这个模型很好地解释了这三种蛋白之间的作用,但看不出 Munc13 与 Munc18 直接作用有什么功能意义。

3.2 Munc13 与 DOC2

Doc2 通常认为有 2 个异构体 Doc2 α 、Doc2 β 。新近日本学者又确定了一个 Doc2 γ ^[10]。Doc2 α 主要在神经细胞中表达,Doc2 β 是遍在表达的,Doc2 γ 的 mRNA 也是遍在表达的,但以心脏中最多。三个异构体都有 Munc13-1 结合位点 Mid 结合域,只是 Doc2 γ 不同于 Doc2 α 和 Doc2 β ,它没有 Ca^{2+} 依赖的磷脂结合活性。在已确定的与 Munc13 相互作用的蛋白中,Munc13-1/DOC2 相互作用是最有特性的。在 PE 诱导下 Munc13-1 结合 Doc2 α 和 Doc2 β 的 Mid 结合域即氨基末端 13-37 个氨基酸,后转位到质膜。这种转位用瞬时基因转染技术已在共聚焦显微镜下观察到^[11],从而从形态上获得了直观的证实,并且这种相互作用是不依赖 PKC 的 Ca^{2+} 和 PE 依赖性的。不过由于 Doc2 γ 没有 Ca^{2+} 依赖的磷脂结合活性,故推测 Doc2 γ 可能是 Munc13-1 的负调控子,当然其具体功能作用还不清楚。

4 Munc13 与 CAST

CAST^[12]是 cytomatrix at the active zone (CAZ) 结构相关蛋白。它没有跨膜部分,但有四个螺旋结构域,其 C 末端三个氨基酸 IWA 是一个推测的 PDZ 结构域。CAST 并不与 Munc13-1 发生免疫共沉淀,RIM1 的抗体也不与 CAST 发生免疫共沉淀,但抗 bassoon 的抗体与 CAST 却能。Ohtsuka T 进一步的实验发现 Munc13-1 可以和抗 bassoon 的抗体发生免疫沉淀,而 Munc13-1 和 RIM1 的复合物可与 Bassoon 发生免疫共沉淀。这表明 CAST 可间接地与 Munc13-1 结合。前面提到 CAST 有一个 C 末端的一致序列(三个氨基酸 IWA)是一个推测的可与 PDZ 结合的结构域,而 RIM1 有一个 PDZ 结构域,这就使人想到 CAST 和 RIM1 可能结合,免疫沉淀实验它们有特异性的结合。即 CAST 可直接与 RIM1 结合,这样可以推想 CAST 通过 RIM1 和 Munc13-1 形成三重复合物。而 Bassoon 和其它活化区蛋白也以各种形式与这三重复合物相关。

5 Munc13 与 RIM

RIM1 是一个 180kD 的蛋白,与 Piccolo/Aczonin 和 Bassoon 在 N 末端有同源性。它含两个 N 末端锌指结构,一个 PDZ 结构域和两个 C2 结构域。RIM1 最初是作为 Rab3A 的假想的下游作用因子而分离出来的。RIM1 的锌指结构与 GTP 结合型的 Rab3A 结合,将囊泡挤向活化区。此外,RIM 还与 cAMP 依赖的鸟核苷酸交换因子(cAMP-GEFI)相关联。最近 Andrea Betz 等研究表明 Munc13-1 和 RIM1 在突触活化区有功能性的相互作用^[13],以前人们总把注意力放在 Munc13-1 和 RIM1 的 C 末端,而 Betz 最近用酵母双杂交和共沉淀的方法都表明二者的作用是在 N 端,同时他们还证明 RIM1 与 Munc13-1 的结合是一个普遍特性,而不须有 C2 这样的特殊结构域。他们证明

了 Munc13-1 和 RIM1 的结合是在 N 端,而且 T.C.Sudhof 还用基因敲除的方法证明 Munc13-1 在活化区的量与 RIM1 有关,他们发现 RIM1 敲除后 Munc13-1 的水平下降,这表明没有 RIM1 与之作用后,Munc13-1 也相应地要减少或者消退。我们说 RIM1 最初是作为 Rab3A (Rab3A 是 RAS 超家族的一个成员,而 RAS 超家族按蛋白质的同源性分为三个主要的分支。在哺乳动物的第一支包括 RAS 基因、RAL 基因和 RRAS 基因;第二支包括 RHO 基因,而 RAB 基因属第三支)的假想的下游作用因子而分离出来的,用酵母双杂交和共沉淀的方法也证明 RIM1 和 Rab3A 的结合也是在 N 端。这不能不让人想到 Munc13-1 和 Rab3A 与 RIM1 在 N 端的结合是否是同时发生作用。Betz 的实验告诉我们,它们不能同时与 RIM1 结合而发挥作用,而且它们与 RIM1 的结合是竞争性的和相互排斥的,但它们可能还是有一个本底结合。Munc13-1 和 Rab3A 也不能直接结合。研究表明 RIM1 通过调节囊泡的充填而调节 Ca^{2+} 依赖的胞吐。Betz 等为了试验 Munc13-1 的 C 末端的 R 区是否能作为一个独立的充填模型,他们在嗜铬细胞中过度表达 Munc13-1 的各种变体,结果表明过度表达 RIM1 结合缺陷的 Munc13-1 或者整个 N 末端 L 区缺陷的 Munc13-1 也同样能象过度表达全长 Munc13-1 一样引起 Ca^{2+} 触发的分泌的增加。进一步的实验表明 Munc13-1 的 C 端 R 区是相对独立的囊泡充填的调节因子,在嗜铬细胞中没有 RIM 结合区一样能调节充填。而事实上 Munc13-3 并没有 RIM 结合序列,而 RIM 结合区单独对嗜铬细胞的分泌也没有作用。尽管我们还不知道二者如何作用及其具体功能,但据目前的实验可对其作用模式作如下推测 RIM 结合 Munc13-1 的 N 末端可能直接调节 Munc13-1 的充填活性。而 Munc13-1 调节 RIM 的功能使之成为核孔复合物形成的一个主要的 output 分子。当载有 Rab3 的囊泡到达时,RIM 结合 Munc13-1 可能充当了一个开关的作用而激活充填过程。

6 Munc13 在分泌中的地位及与分泌模式的关系

再回到 1974 年布勒纳的工作发现,线虫 unc 基因突变引起部分或完全瘫痪。这些基因突变,有些表现为高水平的乙酰胆碱,抵抗涕灭威 (aldicarb,乙酰胆碱脂酶抑制剂) 和乙酰胆碱脂酶与胆碱乙酰转移酶的正常活化,这表明其突触前递质释放受到损伤。随后的研究发现几乎所有 40 种 unc 基因突变都会引起涕灭威抵抗。这些基因大部分是突触囊泡释放和循环所必须的。在 *Drosophila* 中也有发现 Dunc13 缺失时突触传递完全被阻断了。但在哺乳动物 Munc13-1 基因敲除的突变鼠中,阻断效应只发生在突触囊泡的成熟阶段,而且具有神经递质特异性,且对突触传递的阻断也不完全。GABA 能神经元不受 Munc13-1 缺失的影响,而谷氨能海马神经元在敲除 Munc13-1 基因后,虽然能形成正常的突触,但是大部分突触并不能释放神经递质,只有 10% 的突触能形成可融合囊泡并释放谷氨酸。间接药理学证据表明谷氨能神经元能形成两类囊泡:一类是完全 Munc13-1 依赖性的,另一类则可能具有 Munc13-2、Munc13-3 或其它的囊泡成熟蛋白。在 bovine chromaffin cells 的 LDCVs 分泌中,Munc13-1 明显地增加可释放囊泡的数目,促进形态上已锚定的囊泡的成熟。在嗜铬细胞中过表达 Munc13-1 引起

SRP、RRP 的大小增加 3-4 倍,以及持续释放成分的增加。但是两个 RP 间的平衡不受影响。动力学研究表明过表达 Munc13-1 会使从 UPP 到 SRP 的速率常数增加 20-30 倍,但不影响其它几个囊泡转运的速率常数。而且也不影响融合的速率常数和这些速率常数的 Ca^{2+} 依赖性。这说明 Munc13-1 促使囊泡从 docking 到融合的成熟,且是一个释放的限速步骤。Munc13-1 促进囊泡成熟的作用机制目前尚不很清楚,可能与 SNARE 蛋白复合体的 trans 构型的形成有关。Sumiko Mochida^[14]根据以往实验建立了一个为多数人接受的由 SNAREs 调节的胞吐的简洁模型,在这个模型中,SNARE 装配的过程涉及许许多多的蛋白质,但研究的比较多的也只是功能相对知道多一些的关键蛋白。模型告诉我们 SNARE 装配由结合到 synaptotagmin 上的 Ca^{2+} 触发,诱导进入活化区并靠近 Ca^{2+} 通道的囊泡融合。而 Munc13-1 在其中可与多个蛋白作用,这其中关键作用是 Munc13-1 能与 syntaxin 的 N 端相互作用,使 syntaxin 从 syntaxin-Munc18 复合体中分离出来,并与 VAMP 及 SNAP-25 形成 trans-SNARE 蛋白复合体,从而使 URP 转化为 RP (SRP 和 RRP),从而完成 Munc13 的 Priming 功能,进一步促进融合。而前面所叙的一些蛋白或直接或间接地参与了这一过程。总之,Munc13 在这一分泌的模型中可能起到了一个分子开关的作用。而且由于 Munc13 有 DAG 和 Ca^{2+} / 磷脂结合位点,决定了这个开关受 DAG 和 Ca^{2+} 的调控,从而完成对分泌的调控。由于 Munc13-1、2、3 的基因敲除小鼠的建立,促进了对这个蛋白的功能认识。通过其 C1 结构域与 PMA 结合可向质膜转位,并通过 DAG 第二信使系统与 PKC 起平行作用,调节神经递质的释放,而 DOC2、RIM1 以及其它一些与 Munc13 有间接作用的蛋白如 CAST 等参与了此过程,从而构成以 Munc13 为中心的多种蛋白参与的 Priming 调节的精细的分子过程。

参考文献(References)

- [1] Henriette Koch, Kay Hofmann[?] and Nils Brose. Definition of Munc13-homology-domains and characterization of a novel ubiquitously expressed Munc13 isoform[J]. Biochem, 2000, 349:247-253
- [2] Uri Ashery, Frederique Varoquaux, Thomas Voets, et al. Munc13-1 acts as a priming factor for large dense-core vesicles in bovine chromaffin cells[J]. The EMBO Journal, 2000, 19(14):3586-3596
- [3] Rosenmund C, Sigler A, Augustin I, et al. Differential control of vesicle priming and short-term plasticity by Munc13 isoforms [J]. Neuron, 2002, 33(3):411-424
- [4] Song Y, Aillenberg M, Silveanu M. Cloning of a novel gene in the human kidney homologous to rat Munc13s: its potential role in diabetic nephropathy[J]. Kidney Int, 1998, 53:1689-1695
- [5] Henriette Koch, Kay Hofmann[?] and Nils Brose. Definition of Munc13-homology-domains and characterization of a novel ubiquitously expressed Munc13 isoform[J]. Biochem, 2000, 349:247-253
- [6] Nils Brose, Kay Hofmann[?], Yutaka Hata and Thomas C. Mammalian Homologues of caenorhabditis elegans unc-13 gene define novel family of C2-domain proteins[J]. Biological Chemistry, 1995, 270(42):273-280
- [7] Jeong-Seop Rhee, Andrea Betz, Sonja Pyott, et al. Phorbol ester and diacylglycerol induced augmentation of transmitter release is mediated by Munc13s and not by PKCs[J]. Cell, 2002, 108(11):121-133

(下转第 1562 页)

是学生学习的促进者、知识源泉和教学过程的调节者^[9]。也是教师自我学习和提高业务水平的过程,是一个有效的教学途径^[10]。

第三,教师理念的创新。随着《国家中长期教育改革和发展规划纲要(2010-2020年)》的提出,教学改革已成为必然,教师理念的转变和创新作为一个关键点,生物化学教师也应该不断的探索、思考和研究,掌握一套适合本学科特点和学生实际的教学方法,提现“以学生为主体,以教师为主导”^[11]。PBL教学使教师充分认识到创新的重要性,在取得良好教学效果的同时,教师综合业务素质也得到了提高,达到了学生学与教师教的相互促进。

总之,PBL教学法与传统教学法相比,能够激发学生的学习兴趣 and 积极主动性,提高学生分析解决问题、理论联系实际的能力,同时教师综合素质也得到了提高。随着教学环境的不断改善,资源共享日趋明显,教师和学生整体素质的逐渐提高,PBL教学法还有待于继续探索和优化应用。在教学改革的新形势下,选择恰当的教学方法,让学生在生物化学的学习中既学的轻松,又学到真正的知识,解决实际问题的能力也有所提高,是我们每一位教师的愿望。

参考文献 (References)

- [1] Barrows HS, Tamblyn RM. The portable patient problem pack: a problem-based learning unit[J]. J of Med Edu, 1977, 52(12):1002-1004
- [2] Mancy L Jones, Ann M Peiffer, Ann Lambros, et al. Developing a problem-based learning (PBL) curriculum for professionalism and scientific integrity training for biomedical graduate students [J]. Med Ethics, 2010, 36:614-619
- [3] Alexandre B. Sé, Renato M. Passos, André H. Ono, et al. The use of multiple tools for teaching medical biochemistry[J].Advances in Physiology Education, 2008, 32:38-46
- [4] Prinec KJ, Van Eijs PW, Boshuizen HP, et al. General competencies of problem-based learning(PBL) and non-PBL graduates[J]. Med Educ, 2005, 39(4):394-401

- [5] Stevenson FT, Bowe CM, Gandour-Edwards R, et al. Paired basic science and clinical problem-based learning faculty teaching side by side: do students evaluate them differently?[J]. Med Educ, 2005, 39:194-201
- [6] 商文静, 刘越. PBL 教学模式下生物化学的课程设计 [J]. 中国医药导报, 2008, 5(28): 85-86
Shang Wen-jing, Liu Yue. Curriculum Design of Biochemistry Based on PBL Teaching Mode[J]. China Medical Herald, 2008, 5(28): 85-86
- [7] Kwan CY. Problem-based learning and teaching of medical pharmacology[J] Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2002, 366(1):10-17
- [8] 邱伯房. PBL 教学模式在生物化学教学中的应用[J]. 中国科教创新导刊, 2008, 24: 86
Qiu Bo-fang. Application of PBL teaching mode in biochemistry teaching[J] China Education Innovation Herald, 2008, 24: 86
- [9] 张捷平, 黄玲, 施红, 等. PBL 教学法在生物化学综合性实验课的应用[J]. 广西中医学院学报, 2010, 13(2):101-102
Zhang Jie-ping, Huang Ling, Shi Hong, et al. Application of PBL teaching mode in biochemistry comprehensive experiment [J]. Journal of Guangxi Traditional Chinese Medical University, 2010, 13(2):101-102
- [10] 文朝阳, 郑少鹏, 韩玉英, 等. PBL 教学法在生物化学教学中的探讨与实践[J].首都医科大学学报(社会科学版), 2010, 00: 229-234
Wen Zhao-yang, Zheng Shao-peng, Han Yu-ying, et al. Discussion and Practice of Applying PBL Teaching Mode in Biochemistry Teaching[J]. Journal of Capital Medical University(Social Science Edition), 2010, 00: 229-234
- [11] 李科友, 朱海兰. 创新理念, 培养能力——生物化学教学之体会[J]. 微生物学通报, 2011, 38(2): 250-255
Li Ke-you, Zhu Hai-lan. Notion innovating for capabilities cultivation-reflections over biochemistry course teaching[J]. Microbiology China, 2011, 38(2):250-255

(上接第 1565 页)

- [8] Toshihiro Sassa, Shin-ichi Harada, Hisamitsu Ogawa, et al. Regulation of the unc-18 Caenorhabditis elegans syntaxin complex by unc-13[J]. Neuroscience, 1999, 19(12):4772-4777
- [9] Nils Brose, Christian Rosenmund and Jens Rettig. Regulation of transmitter release by unc-13 and its homologues[J]. Current Opinion in Neurobiology, 2000, 10:303-311
- [10] Mitsunori Fukuda, Katsuhiko Mikoshiba. Doc2γ, third isoform of double C2 protein, lacking calcium-dependent phospholipid binding activity[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2000, 276:626-632

- [11] Rory R. Duncan, Andrea Betz, Michael J. Shipston, et al. Phorbol ester-induced DOC2-Munc13 interactions in vivo[J]. Biological Chemistry, 1999, 274(39):347-350
- [12] Ohtsuka T, Takao-Rikitsu E, Inoue E, et al. Cast: a novel protein of the cytomatrix at the active zone of synapses that forms a ternary complex with RIM1 and munc13-1[J]. Cell Biol, 2002, 158(3):577-590
- [13] Betz A., P. Thakur, H.J. Junge, et al. Functional interaction of the active zone proteins munc13-1 and RIM1 in synaptic vesicle priming[J]. Neuroscience, 2001, 30:183-196
- [14] Sumiko Mochida. Protein-protein interaction in neurotransmitter release[J]. Neuroscience Research, 2000, 36:175-182