

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2012.00389

## SM 蛋白在膜泡运输中的功能

赵翔, 韩宝达, 李立新

东北林业大学盐碱地生物资源环境研究中心, 东北油田盐碱植被恢复与重建教育部重点实验室, 哈尔滨 150040

**摘要:** 大多数细胞内都包含靶向不同细胞器的各种运输囊泡, 其运输机制在进化上是高度保守的。Sec1/Munc-18(SM)蛋白在膜泡运输中起着重要的调控作用, 它能够与 SNARE (Soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor) 蛋白结合, 共同在细胞内各个膜融合发生部位发挥重要作用。SM 蛋白和 SNARE 复合体中的 Syntaxin 蛋白结合, 调节 SNARE 复合体的装配, 并与 SNARE 协同作用促进整个膜融合过程。文章对 SM 蛋白在结构和功能分析方面的最新研究进展进行了概述。

**关键词:** 膜泡运输; 膜融合; SNARE 蛋白; SM 蛋白

## Function of SM protein in vesicle transport

ZHAO Xiang, HAN Bao-Da, LI Li-Xin

Key Laboratory of Saline-alkali Vegetation Ecology Restoration in Oil Field of Ministry of Education, Alkali Soil Natural Environmental Science Center, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

**Abstract:** Most cells contain various transport vesicles that target to different destinations. The underlying molecular mechanisms are highly conserved in evolution. Sec1/Munc-18 (SM) proteins play an important role on regulating vesicle transport by interacting with soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptors (SNAREs) at each vesicle fusion sites. SM proteins interact with syntaxin, an important component in SNARE complex, to regulate the assembly of SNARE complex, and promote overall membrane fusion process together with SNARE complex. This review summaries new research progresses of structure and function of SM protein.

**Keywords:** vesicle transport; membrane fusion; SNARE protein; SM protein

膜泡运输为真核细胞的多种重要生命活动提供所需的蛋白质和脂类物质, 如真核生物细胞器的形成与维持、蛋白质靶向运输、神经递质释放以及细胞生长等。精确的膜泡运输过程依赖保守的跨膜蛋

白及细胞内可溶性蛋白完成。膜泡运输相关蛋白的这种保守的特性预示着囊泡与靶膜的附着过程以及膜融合过程的保守机制<sup>[1]</sup>。膜泡运输过程由 4 个步骤组成, 运输囊泡的出芽(Budding)、囊泡沿细胞骨

收稿日期: 2011-10-18; 修回日期: 2011-11-24

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号: 30840002, 30970223), 黑龙江省留学归国人员科学基金项目(编号: LC08C03), 中央高校基本科研业务费专项资金(编号: DL09DA02), 东北林业大学引进人才科研启动金(编号: 015-602042), 中国博士后科学基金特别资助(编号: 200902365)和黑龙江省留学人员科技活动项目择优资助(编号: 2009-HLJLixinLi)

作者简介: 赵翔, 硕士, 专业方向: 植物细胞种子储藏蛋白质运输相关基因功能。Tel: 15846386512; E-mail: feixiang1209@163.com

通讯作者: 李立新, 教授, 博士, 研究方向: 植物细胞种子储藏蛋白质运输相关基因功能。Tel: 0451-82192237; E-mail: lixinli1@gmail.com

网络出版时间: 2012-3-16 14:50:48

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20120316.1450.006.html>

架的定向移动(Movement)、囊泡的拴留(Tethering)及膜融合(Fusion)<sup>[2,3]</sup>。囊泡膜与靶膜的融合过程分为对接(docking)、启动(priming)和融合(fusion)3个过程<sup>[4,5]</sup>,这个过程主要是由靶位膜上的3种t-SNARE和囊泡膜上的1种v-SNARE共同介导的,它们形成SNARE复合体,促进膜的融合<sup>[6,7]</sup>。syntaxin蛋白属于t-SNARE,是t-SNARE蛋白中最重要的一种。

最早发现的SM蛋白为UNC18,是1974年Brenner<sup>[8]</sup>在对有共济失调表型的线虫(*Caenorhabditis elegans*)进行基因筛选时发现的。随后,在参与酵母分泌途径的基因筛选中发现了Sec1p<sup>[9]</sup>。直到1993年,Hata等<sup>[10]</sup>发现小鼠SM蛋白Munc18-1能够与t-SNARE蛋白syntaxin1相结合,证实了SM蛋白在膜融合中起着重要作用。SM蛋白能够与SNARE蛋白相互作用,调节SNARE复合体的形成以及随后的膜融合过程。最近,越来越多的证据证明SM蛋白在拴系以及拴系之前的囊泡募集阶段也发挥着重要功能。本文对SM蛋白的结构及其在膜泡运输过程中的功能的最新研究进展进行了综述。

## 1 SM蛋白的结构

SM蛋白为60~70 kDa的亲水性蛋白,一般由大约600个氨基酸残基组成。从SM蛋白的序列上分析,并没有发现与膜泡运输或膜融合相关的结构域或者基序。通过对SM蛋白的高级结构研究发现,不同物种的各个运输途径中的SM蛋白有很高的同源性,表明其功能的保守性<sup>[11,12]</sup>。SM蛋白包含3个结构域,称为结构域1、2和3,其中结构域1与syntaxin蛋白的N末端结构域结合,这3个结构域形成一个弓状结构,在弓状结构的一侧有一个大的腔室,可以与形成闭合构象的syntaxin蛋白结合,另一侧有一个深沟,这些结构参与SM蛋白与SNARE的结合。通过对多种SM蛋白结构进行比较发现,中央腔室附近的结构域1和一部分结构域3的朝向具有构象灵活性,这种特征很可能影响SM蛋白与SNARE蛋白的相互作用<sup>[11]</sup>。

## 2 SM蛋白的分类及分布

酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)、果蝇(*Drosophila melanogaster*)、线虫(*Caenorhabditis elegans*)、小鼠(*Mus Musculus*)、人(*Homo sapiens*)和拟南芥

(*Arabidopsis thaliana*)基因组各包含4~7种SM基因(表1),其功能缺失导致膜融合过程的严重受阻,甚至能够导致个体死亡。大多数的SM蛋白都与SNARE蛋白syntaxin具有很高的亲和力,每种SM蛋白只特异的与一种或两种syntaxin蛋白相互作用(表1)。由于SM蛋白在物种间的高度保守性,不同物种相同运输途径上的SM蛋白可以缓解SM蛋白缺失造成的生长缺陷,例如小鼠Munc18-1可以缓解相同运输途径的线虫unc18突变体的生长缺陷,而与Munc8-1高度同源但是调控不同运输途径的Munc18-2和Munc18c却不能<sup>[53]</sup>。因此,SM蛋白是蛋白质运输中特异性的、必不可少的因子。

### 2.1 SM蛋白的分类

SM蛋白共分为4个家族,分别是Sec1蛋白家族、Vps45蛋白家族、Vps33蛋白家族和Sly1蛋白家族(图1A)。其中Sec1蛋白家族包括Sec1p、Munc18-1、Munc18-2、Munc18c、Unc18、Rop、AtSec1a、AtSec1b和KEULE。Sly1蛋白家族包括Sly1p、AtSly1、Sly1(果蝇)和MSLY1。Vps45蛋白家族包括Vps45p、AtVps45、VPS45(果蝇)和MVPS45。Vps33蛋白家族包括Vps33p、MVPS33A、MVPS33B、AtVps33和Vps33(果蝇)。

### 2.2 SM蛋白的分布

SM蛋白定位在细胞质及各种细胞器(表1),其中Sec1蛋白家族主要分布于细胞质和细胞膜,Vps45蛋白家族主要分布于高尔基体和内质网,Sly1蛋白家族主要分布于内质网和高尔基体,Vps33蛋白家族主要分布于细胞质或液泡膜。在功能方面,Sec1蛋白家族主要在胞吐作用中发挥功能,Vps45蛋白家族在内吞作用发挥功能,Sly1蛋白家族在蛋白质的合成过程中发挥功能,Vps33蛋白家族在蛋白降解途径中发挥功能<sup>[54-56]</sup>(图1B)。

## 3 SM蛋白的功能

SM蛋白能够特异地与SNARE蛋白syntaxin结合,调节膜融合过程。syntaxin蛋白由N末端基序、Habc结构域、SNARE基序和跨膜结构域组成,一些syntaxin分子如syntaxin1的Habc结构域可以与C末端的SNARE基序结合,从而使syntaxin分子对折,形成闭合构象<sup>[57]</sup>(图2)。

表 1 已知不同物种的 SM 蛋白分类及其分布

物种	SM 蛋白	与其作用的 Syntaxin 蛋白	亚细胞定位	缺失后是否致死	参考文献
酵母 ( <i>S. cerevisiae</i> )	Sec1p	Sso1p,Sso2p	质膜	是	[13,14]
	Sly1p	Sed5p,Ufe1p	内质网、高尔基体	是	[15~17]
	Vps33p	Vam3p	液泡膜	否	[18, 19]
	Vps45p	Tgl2p, Pep12p	TGN、早期或晚期内 涵体	否	[20~23]
果蝇 ( <i>D. melanogaster</i> )	Rop	Syntaxin-1a	细胞质、细胞膜	是	[24~26]
	Sly1 (Slh)	未知	未知	未知	[27]
	Vps45	未知	未知	未知	[27]
	Vps33	未知	细胞质、细胞膜	未知	[28]
线虫 ( <i>C. elegans</i> )	Unc-18	Syntaxin (Unc-64)	未知	否	[29, 30]
	预测有 5 个同源基因	未知	未知	未知	
小鼠 ( <i>M. musculus</i> )	Munc18-1	syntaxin-1,-2,-3	细胞质	是	[12, 31]
	Munc18-2	syntaxin-1,-2,-3	细胞质	未知	[32, 33]
	Munc18c	syntaxin-2,-4	细胞质	是	[34, 35]
	MVPS45	syntaxin-16	高尔基体、内涵体	未知	[36, 37]
	MVPS33A	未知	未知	未知	
	MVPS33B	未知	未知	未知	
	MSly1	syntaxin-5,-18	未知	未知	[38, 39]
拟南芥 ( <i>A. thaliana</i> )	KEULE	KNOLLE	未知	是	[40, 41]
	AtSEC1a	未知	未知	未知	
	AtSEC1b	未知	未知	未知	
	AtVPS45	AtTlg2a (SYP41) AtTlg2b (SYP42)	TGN	是	[42, 43]
	AtSLY1	未知	未知	未知	
	AtVPS33	AtVam3a(Syp21) At- Vam3b (Syp22)	液泡膜	未知	[44]
人类 ( <i>H. sapiens</i> )	STXBP1	未知	未知	否	[45,46]
	STXBP2	STX2、STX3、STX11	细胞质、质膜、继发 性颗粒	未知	[47,48]
	STXBP3	STX4	细胞质、质膜、原发 和继发性颗粒	未知	[49,50]
	HsVPS45	未知	未知	未知	
	HsVPS33A	未知	未知	未知	
	HsVPS33B	未知	δ-颗粒、溶酶体、晚 期内涵体	是	[51,52]
	HsSly1	未知	未知	未知	

3.1 SM 蛋白和 syntaxin 蛋白的结合方式

(1)SM 蛋白与形成闭合构象的 syntaxin 蛋白相结合。这是最早发现的 SM 蛋白与 syntaxin 蛋白的

结合方式。例如，在哺乳动物突触神经递质释放过程中，syntaxin1 的N末端H<sub>abc</sub>结构域与C末端的SNARE基序结合，从而使syntaxin1 对折，形成闭合

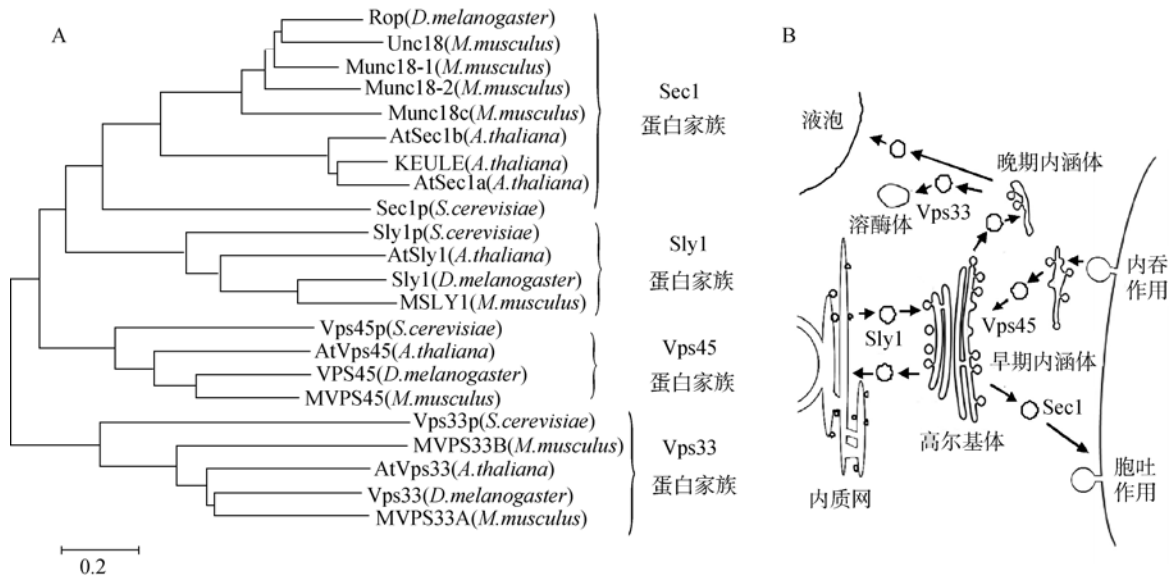


图 1 SM 蛋白的分类及分布

A: SM 蛋白的分类。利用 MEGA 4 软件对表 1 中的 SM 蛋白氨基酸序列进行比对, 分析序列相似性, 生成进化树。SM 蛋白主要分为 4 个家族, 分别是 Sec1 蛋白家族、Vps45 蛋白家族、Vps33 蛋白家族和 Sly1 蛋白家族。B: SM 蛋白的分布<sup>[55]</sup>。Sec1 家族主要分布于细胞质和细胞膜; Vps45 家族主要分布在高尔基体和早期内涵体之间; Sly1 家族主要分布在内质网和高尔基体之间; Vps33 家族主要分布于细胞质或液泡膜上。

构象, Munc18-1 可以特异的与这种形成闭合构象的 syntaxin1 结合<sup>[58]</sup> (图 2)。Dulubova 等<sup>[59, 60]</sup>认为这种结合方式阻止了 syntaxin1 与其他的 SNARE 蛋白结合, 并推测 SM 蛋白是 SNARE 复合体的形成以及膜融合的负调节因子 (图 3A)。

(2) SM 蛋白与处于“开放”构象的 syntaxin 蛋白结合。Vps45p 与 Tlg2p、Sly1p 与 Sed5p 或 Ufe1p 的结合方式属于这种方式。Dulubova 等<sup>[36]</sup>证明 Tlg2p 只通过 N 末端 H<sub>abc</sub> 基序前的一小段序列与 Vps45p

结合。Tlg2p 在小鼠中的同源蛋白 syntaxin16 也通过这段保守的序列与 Vps45 结合。此外, Sed5p 和 Ufe1p 以及它们在哺乳动物的同源蛋白 syntain5 和 syntaxin18 也以相同的方式分别与 SM 蛋白 Sly1p 和 mSly1 相结合。酵母 Sly1p 可以促进 Sed5p 参与的高尔基体 SNARE 复合体的形成<sup>[61]</sup>, 为 SM 蛋白促进 SNARE 复合体的形成提供依据。(图 3B)

(3) SM 蛋白和 SNARE 复合体结合。酵母 syntaxin 蛋白 Sso1p 也能够形成闭合构象, 然而 Sec1p 并不和单体 Sso1p 相结合, 而是与 Sso1p-SNARE 复合体结合<sup>[62]</sup>。Vps45p 不仅可以与 syntaxin 蛋白 Tlg2p 共沉淀, 也可以与 Tlg2p 复合体中的其它 SNARE 蛋白共沉淀<sup>[23, 63]</sup>。Sly1p 与 Sed5p 有很强的结合能力, 同时可以和组装好的 SNARE 复合体中的 Sed5p 结合<sup>[61]</sup> (图 3C)。SM 蛋白和 SNARE 复合体结合, 暗示 SM 蛋白能够在膜融合后期发挥功能。

(4) SM 蛋白通过其他衔接蛋白与 syntaxin 蛋白相结合。在这种结合方式中, SM 蛋白可能先与其它可溶性蛋白结合, 然后再与 syntaxin 蛋白结合。酵母细胞中高尔基体向液泡运输途径中的 Vps33p 并不直接与 Vam3p 相互作用, 而是与其它蛋白形成 C-

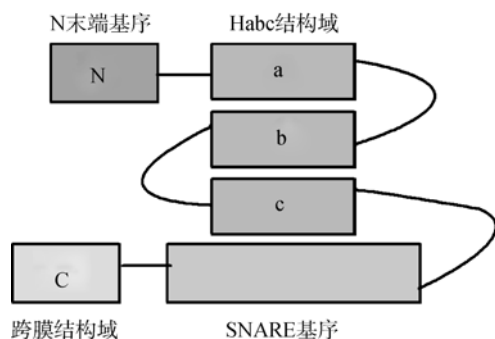


图 2 形成闭合构象的 syntaxin 蛋白结构示意图<sup>[57]</sup>

syntaxin 蛋白由 N 末端基序、Habc 结构域、SNARE 基序和跨膜结构域组成, syntaxin 蛋白的 H<sub>abc</sub> 结构域与 C 末端的 SNARE 基序结合, 使 syntaxin 对折, 形成闭合构象。



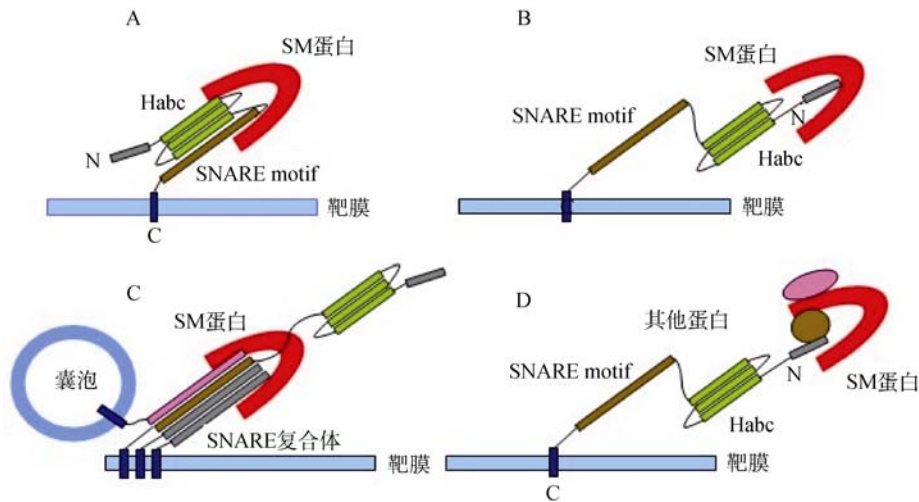


图3 SM蛋白与syntaxin蛋白的4种结合方式(部分参考文献[65,66])

A: SM蛋白与形成闭合构象的syntaxin蛋白相结合, 这种闭合构象不利于SNARE复合体的形成; B: SM蛋白与处于“开放”构象的syntaxin结合。syntaxin只通过N末端Habc基序前的一小段序列与SM蛋白结合; C: SM蛋白和SNARE复合体结合。Syntaxin与其他SNARE形成复合体后与SM蛋白结合; D: SM蛋白与衔接蛋白形成复合体后与syntaxin相结合。

Vps复合体, 以复合体形式与syntaxin蛋白Vam3p结合[18, 64]。Vps33p的果蝇同源蛋白Vps33可能以同样的方式发挥功能。Vps45p也以类似的结合方式与Pep12p相互作用[36](图3D)。

最新研究对SM蛋白与syntaxin蛋白的结合方式又有了新的补充。小鼠Munc18-1可以与syntaxin 1形成的SNARE复合体结合, 并且这种结合方式需要syntaxin 1的N末端保守基序的参与。Burkhardt等[67]证明syntaxin 1的N末端保守基序可以控制syntaxin 1是以闭合构象的形式与Munc18-1结合还是先形成SNARE复合体后再与Munc18-1结合。mVPS45通过与syntaxin 16的N末端保守基序结合, 而syntaxin 16其他部分能够加强这种相互作用[67]。Vps45p除了与Tgl2p的N末端保守基序结合外, 还可以与形成闭合构象的Tgl2p结合, 并且Tgl2p的N末端保守基序会调节Tgl2p闭合构象的结合能力[68]。因此, 之前所发现的4种结合方式可能适用于所有的SM蛋白和syntaxin蛋白。此外, syntaxin蛋白的保守区域在二者的结合过程中也起到重要的调节作用。然而, 这些假设还需要更多的实验证据来证明。

### 3.2 SM蛋白在膜泡运输中的作用

SM基因的突变体都有一个共同的特性, 即特定膜融合过程受阻。*Sec1*最初是在蛋白质分泌异常的酵母细胞中分离得到的, 突变体主要在胞吐作用中

存在缺陷, 导致蔗糖酶和酸性磷酸酯酶等分泌蛋白质以及分泌小泡在细胞内积累, 使细胞分裂及细胞生长受到阻碍[14]。定位于液泡膜上的VPS33和定位于高尔基体上的VPS45的突变体会异常蓄积运往液泡的运输囊泡[69,70], 研究表明, 这两种蛋白都能与拴系相关蛋白形成多蛋白复合物[20,71], 因此, Vps33p和Vps45p很可能在囊泡拴系过程中发挥作用。*sly1*突变体表现为内质网到高尔基体运输过程的缺陷, 囊泡能够正确的到达靶膜, 但是大量未融合的运输囊泡异常地积累在靶位膜附近[72]。这表明, Sly1p在囊泡拴系过程完成后发挥作用(表1)。

在拟南芥中SM蛋白的研究较少。*keule*突变体在幼苗期死亡, 幼苗矮小并伴有胚轴的放射状的隆起, 个别细胞出现类似浮腫的表型。电镜分析发现许多多核细胞, 并在一些细胞中发现细胞壁的残痕, 这表明*keule*突变体幼苗致死是由于胞质分裂异常导致的, 证明KEULE在胞质分裂过程中发挥作用[73]。*AtVPS45*定位于TGN, 其缺失会导致雄配子体致死。然而, *AtVPS45*的RNAi植株能够完成生活史并且是可育的。在RNAi植株细胞的液泡结构存在缺陷, 使得细胞体积减小, 进而导致植株生长矮小; 位于TGN上的syntaxin蛋白SYP41的表达水平降低; 蛋白质货物运送至液泡过程受到阻碍, 说明*AtVPS45*在TGN与液泡之间的运输中发挥功能[44](表1)。

不同的SM基因过表达后产生了不一致的表型。

在小鼠的肾上腺嗜铬细胞细胞系中, Munc18-1 的过表达对分泌几乎没有影响<sup>[74]</sup>, 但是在初级嗜铬细胞以及体内的运动神经元中, 过表达Munc18-1 能够促进分泌囊泡的融合<sup>[75]</sup>; 在上皮细胞中, 过表达Munc18-2 会抑制SNARE复合体的形成<sup>[76]</sup>; 在脂细胞, 过表达Munc18c或者注射Munc18c多肽链会抑制GLUT4小泡与质膜的融合<sup>[34, 35]</sup>; 在乌贼的巨轴突中, 通过显微注射s-Sec1 会抑制诱发的神经递质的释放<sup>[77]</sup>; 在果蝇中, 过表达ROP会抑制神经递质的释放<sup>[24]</sup>。综上, 大多数SM基因的过表达会抑制囊泡融合或者囊泡融合上游的一些步骤, SM基因的缺失也出现相似的表型, 因此推测SM蛋白很可能是膜泡运输的正调节因子, 而内源的SM蛋白的表达量最适合它发挥功能。

由于Munc18-1 能够与形成“闭合”构象的syntaxin-1 结合, 因此之前曾提出SM蛋白在膜泡运输过程中起负调节因子的作用, 然而很多证据都说明当SM蛋白缺失后, 膜融合几乎无法完成。例如当缺失了突触SM蛋白Munc18-1, 胞吐作用受到阻碍而突触的结构不会发生变化<sup>[31]</sup>, 它的阻碍程度甚至比缺失了VAMP蛋白的表型还要严重<sup>[78]</sup>。因此, SM蛋白不会只作为负调节因子存在。也有研究者提出Syntaxin蛋白必须通过Habc和SNARE基序对折后形成“闭合”构象和SM蛋白结合, 从而促进SNARE复合体的形成。然而很多研究表明并不是所有的Syntaxin蛋白都有“开放”和“闭合”构象, 而且有些SM蛋白既可以和游离的Syntaxin蛋白结合, 又可以和包含Syntaxin蛋白的SNARE复合体结合。因此推测SM蛋白是Syntaxin蛋白的分子伴侣。这一假说也得到了研究者的支持, 例如在酵母中, 当Vps45p缺失后, 和它对应的Syntaxin蛋白Tlg2p变得不稳定<sup>[21]</sup>, 在果蝇中, 过表达ROP会抑制神经递质的释放, 当同时提高Syntaxin的量时, 这种症状就会得到恢复<sup>[79]</sup>。在小鼠细胞中, 只有在Munc18-1 存在时, Syntaxin1 蛋白才可以运输至细胞膜<sup>[80]</sup>。在敲除了Munc18-1 的小鼠中, Syntaxin1 的水平下降了50%<sup>[31, 75]</sup>。相反, 小鼠Syntaxin4 的突变杂合体中, Munc18c蛋白的量减少了40%<sup>[81]</sup>。因此, SM蛋白和与之对应的Syntaxin蛋白需要彼此的存在来保持量的稳定。但是, 并不是所有的SM蛋白都与Syntaxin蛋白直接结合, 而且在缺失了Sly1p的酵母中, Sed5

蛋白的量几乎没有什么变化<sup>[82]</sup>。因此, “分子伴侣说”还需进一步探讨。

SM蛋白除了在SNARE复合体形成过程中发挥作用外, 在之后的囊泡与靶膜的融合过程也发挥着重要功能。在酵母的*sec1* 突变体中, 在SNARE复合体装配完成后、膜融合完成前的过程受阻<sup>[56, 83]</sup>。在敲除Munc18-1 的小鼠嗜铬细胞中过表达t-SNARE蛋白SNAP-25 可以缓解囊泡与靶膜附着的缺陷, 却不能缓解膜融合的缺陷<sup>[84]</sup>。在野生型的嗜铬细胞中过表达突变的Munc18-1 会造成电信号的特异性变化, 这种变化与在巴豆油脂 (phorbol esters) (可以加快融合孔的打开频率)处理下所造成的电信号变化类似, 而SNARE复合体或者 $\alpha$ -SNAP蛋白的改变并不会造成这种变化, 这表明Munc18-1 在最后阶段——融合孔的打开过程起调节作用<sup>[85]</sup>。Michel等也证实了Vps33 通过促进融合孔的开放来调节膜融合过程<sup>[86]</sup>。小鼠Munc18-1 可以和v-SNARE蛋白synaptobrevin靠近膜端的区域结合<sup>[87]</sup>, 调节Munc18-1 结合在SNARE复合体的近膜端, 在膜融合后期发挥重要功能。综上, SM蛋白既可以在囊泡附着在靶位膜的过程中调节SNARE复合体的形成, 又可以在随后发生的膜融合过程中发挥功能。因此, Chavala等<sup>[88]</sup>提出了SM蛋白的两种作用模型: (1)运输囊泡到达靶膜之前, SM蛋白与形成闭合构象的syntaxin蛋白结合或者与syntaxin蛋白的N末端保守基序结合, 从而附着在靶位膜附近。当运输囊泡靠近靶膜时, syntaxin和其它两种t-SNARE与囊泡上的v-SNARE形成SNARE复合体, 将囊泡膜与靶膜靠近。SM蛋白与SNARE复合体的近膜段区域结合, 为SNARE复合体提供力矩, 促进膜融合过程(图 4A); (2)SNARE复合体形成将囊泡膜与靶膜靠近, 使囊泡膜与靶膜形成一种“半融合”状态后, SM蛋白与SNARE复合体的近膜段区域结合, 提供力矩从而改变膜的曲率, 实现囊泡膜与靶膜的完全融合(图 4B)。

由于SM蛋白与Rab类蛋白有相互作用<sup>[15, 16]</sup>, 因此推测SM基因很可能在拴系上游如囊泡的募集过程中发挥作用。此外, 在酵母中, 研究者将液泡的膜融合机制在脂质体上重建, 探究同型液泡融合所需的蛋白和脂质, 结果表明, Vps33p-HOPS拴系复合体在促进trans-SNARE复合体形成过程中发挥重

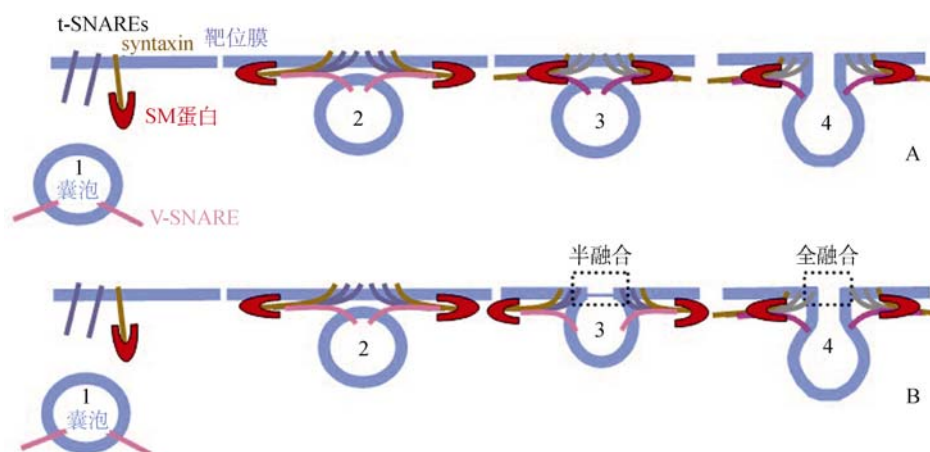


图4 SM蛋白质在膜融合过程中的作用图解<sup>[88]</sup>

A: SM蛋白在膜泡运输中的作用模型1。1: 囊泡向靶膜移动, SM蛋白通过与 syntaxin 蛋白相互作用附着在靶膜上; 2: 位于靶膜上的 t-SNARE 蛋白与位于囊泡上的 v-SNARE 蛋白形成 SNARE 复合体; 3: SM蛋白与 SNARE 复合体的近膜段区域结合, 为融合孔的打开提供力矩; 4: 融合孔打开, 囊泡膜与靶膜融合。B: SM蛋白在膜泡运输中的作用模型2。过程1和2同A; 3: 在 SNARE 复合体的催化下, 囊泡膜与靶膜形成一种“半融合”状态; 4: SM蛋白与 SNARE 复合体的近膜段区域结合, 提供力矩从而改变膜的曲率, 膜融合空打开, 囊泡膜与靶膜融合。

要作用<sup>[89, 90]</sup>。在类似的试验中, 研究者证明了由 Rabenosyn-5 (一种Rab蛋白的效应器)和Vps45 组成的复合体在内涵体与脂蛋白体 (proteoliposome) 的融合机制中发挥重要作用<sup>[91, 92]</sup>。本实验组最近在对拟南芥种子储藏蛋白质运输机制的研究中发现, 具有Sec1 结构域的MIP3 蛋白可能属于SM蛋白, MIP3 能够和拴系复合体成员MAG2、MIP1 和MIP2 稳定结合, 调控内质网和高尔基体间的膜泡运输。以上研究表明SM蛋白可能在对接 (docking)或者拴系 (tethering)过程中也有重要的作用, 但是这一点还有待于进一步研究。

## 4 与 SM 蛋白协同作用的因子

### 4.1 MINTs

Munc18-1 可以与另外一个定位在质膜上的蛋白质MINT家族 (Munc18-1-interacting protein)成员MINT-1 的N末端相互作用<sup>[93]</sup>。在小鼠中, MINT还可以与CASK (一种鸟苷酸激酶)和Veli蛋白形成复合体<sup>[94]</sup>, 这个复合体和定位在质膜上的neurexin (神经毒素a-latrotoxin的突触前受体)相互作用<sup>[95]</sup>。因此, MINTs 复合体很可能与SM蛋白的最终定位有关。

### 4.2 Doc2

小鼠Doc2 蛋白分布于突触小泡, 由于包含两个

C2 结构域而得名<sup>[96]</sup>。它可以与Munc18 和Munc13 相互作用, 预示着Doc2 很可能是膜融合过程的调控因子。用巴豆油脂 (phorbol esters) (一种可以与Munc13 结合的二酰基甘油)处理细胞时, Doc2 会移位到质膜<sup>[97]</sup>。Doc2 可以与Ca<sup>2+</sup>和脂质结合。Doc2 的第一个C2 结构域可以与Munc18-1 相互作用, 此外, Doc2和syntaxin1 在与Munc18-1 的结合过程中存在着竞争关系。在SNAP-25 存在的情况下, 这种竞争关系会加强<sup>[96]</sup>。因此, Doc2 的功能可能是使Munc18-1 失效从syntaxin1 脱离, 从而使syntaxin1 的闭合构象打开参与SNARE复合体的形成。在PC12 细胞中过表达Doc2A确实会引起多肽的分泌增强<sup>[98]</sup>, 佐证了这一推论。Doc2-A和Doc2-B都在神经系统中表达<sup>[99]</sup>, Doc2-A缺失的小鼠表现出突触电信号的传导过程的轻微变化, 但突触的形态没有影响, 这种轻微的变化很可能是对接发生异常的结果<sup>[100]</sup>, 然而还需进一步的证据证明这一点。目前, 在其他物种中还没有发现Doc2 的同源蛋白。

### 4.3 Rab

Rab蛋白是一种小分子GTPase, 在囊泡对接过程中发挥重要作用。酵母Rab蛋白和SM蛋白存在遗传上的相互作用。突变体SLY1-20 部分抑制了Rab蛋白Ypt1p缺失造成的表型<sup>[16]</sup>。Sec1 和Rab蛋白Sec4 的双突变体致死, 在Sec1 突变体中过表达Sec4



能够减轻突变体表型<sup>[101]</sup>。Vps45 和 Rab 蛋白 Vps21 之间也存在遗传上的相互作用<sup>[102]</sup>。此外,人们发现了 Munc18-1 和 Rab 的效应物类似物 granuphilin 相互作用<sup>[103]</sup>。因此, Rab 蛋白和 Rab 的效应物能够调节 SM 的功能,并且可能会调节 SM 与 syntaxin 的相互作用。

#### 4.4 Tomosyn

小鼠 Tomosyn 是最早发现的与 SM 蛋白存在竞争的蛋白质,它可以与 syntaxin1 相互作用。Tomosyn 可以破坏 Munc18-1 与 syntaxin 的相互作用,因此认为 Tomosyn 和 Munc18-1 在与 syntaxin 的结合过程中存在竞争关系<sup>[103]</sup>。Tomosyn 的 C 末端包含 SNARE 结合区域,它可以和 t-SNARE 蛋白 syntaxin、SNAP25 以及 v-SNARE 蛋白 synapto-brevin 形成类似的 SNARE 复合体<sup>[104, 105]</sup>。这种由 Tomosyn 参与的 SNARE 复合体会抑制膜融合的开始<sup>[106, 107]</sup>。Tomosyn 的线虫同源蛋白 TOM1 缺失会促进膜融合的启动过程<sup>[108]</sup>。Tomosyn 在酵母中的同源蛋白质 SRO7p 和 SRO77p 在胞吐作用中也起到重要的作用<sup>[109]</sup>。

综上所述, SM 蛋白是一类在膜泡运输过程中发挥重要功能的蛋白质。它能够以多种方式与 SNARE 复合体的 syntaxin 蛋白结合,并且对于 syntaxin 蛋白的稳定性发挥着重要功能。在膜融合过程中, SM 蛋白既可以在囊泡附着在靶位膜的过程中调节 SNARE 复合体的形成,又可以在随后发生的膜融合过程中提供力矩从而改变曲率,促进融合孔的打开。越来越多的证据表明, SM 蛋白很可能在对接的上游如拴系过程发挥功能。

## 5 问题与展望

最近的研究使人们对 SM 蛋白在膜泡运输中的功能有了进一步的了解,然而还存在很多疑问。例如,一些 SM 蛋白可以与 syntaxin 蛋白以多种方式结合预示着 4 种结合方式似乎适用于所有的 SM 蛋白,但是这一结论还需要在更多物种中去验证。SM 蛋白与 syntaxin 蛋白的结合目前既有促进膜融合的例子也有抑制膜融合的例子,究竟这种结合对膜融合是正调节因子还是负调节因子还有待于进一步验证。一些 SM 蛋白和拴系因子 (Tethering factor) 或者 Rab 类蛋白的相互作用已经得到验证,究竟 SM 蛋白在拴系或者更上游的过程中发挥着什么样的功能也是一大探索目标。目前 SM 蛋白研究主要集中在小鼠

和酵母中,有关线虫、果蝇和拟南芥中的研究很少,这些物种中的 SM 蛋白功能是否保守,是否有新的功能都有待于探索。我们相信,在不远的将来,通过生物化学、遗传学、分子生物学、结构学等多学科多种研究手段的结合,将会阐明 SM 蛋白在膜泡运输中的作用机制。

#### 参考文献(References):

- [1] Wickner W, Schekman R. Membrane fusion. *Nat Struct Mol Biol*, 2008, 15(7): 658–664. DOI
- [2] Bonifacino JS, Glick BS. The mechanisms of vesicle budding and fusion. *Cell*, 2004, 116(2): 153–166. DOI
- [3] Cai HQ, Reinisch K, Ferro-Novick S. Coats, tethers, rabs, and SNAREs work together to mediate the intracellular destination of a transport vesicle. *Dev Cell*, 2007, 12(5): 671–682. DOI
- [4] Südhof TC, Rothman JE. Membrane fusion: Grappling with SNARE and SM proteins. *Science*, 2009, 323(5913): 474–477. DOI
- [5] Robinson LJ, Martin TFJ. Docking and fusion in neurosecretion. *Curr Opin Cell Biol*, 1998, 10(4): 483–492. DOI
- [6] Hanson PI, Roth R, Morisaki H, Jahn R, Heuser JE. Structure and conformational changes in NSF and its membrane receptor complexes visualized by quick-freeze/deep-etch electron microscopy. *Cell*, 1997, 90(3): 523–535. DOI
- [7] Weber T, Zemelman BV, McNew JA, Westermann B, Gmachl M, Parlati F, Söllner TH, Rothman JE. SNAREpins: minimal machinery for membrane fusion. *Cell*, 1998, 92(6): 759–772. DOI
- [8] Brenner S. The genetics of *Caenorhabditis elegans*. *Genetics*, 1974, 77(1): 71–94. DOI
- [9] Novick P, Field C, Schekman R. Identification of 23 complementation groups required for post-translational events in the yeast secretory pathway. *Cell*, 1980, 21(1): 205–215. DOI
- [10] Hata Y, Slaughter CA, Südhof TC. Synaptic vesicle fusion complex contains *unc-18* homologue bound to syntaxin. *Nature*, 1993, 366(6453): 347–351. DOI
- [11] Bracher A, Weissenhorn W. Crystal structures of neuronal squid Sec1 implicate inter-domain hinge movement in the release of t-SNAREs. *J Mol Biol*, 2001, 306(1): 7–13. DOI
- [12] Bracher A, Weissenhorn W. Structural basis for the Golgi membrane recruitment of Sly1p by Sed5p. *EMBO J*, 2002, 21(22): 6114–6124. DOI
- [13] Carr CM, Grote E, Munson M, Hughson FM, Novick PJ.



- Sec1p binds to SNARE complexes and concentrates at sites of secretion. *J Cell Biol*, 1999, 146(2): 333–344. [DOI](#)
- [14] Novick P, Schekman R. Secretion and cell-surface growth are blocked in a temperature-sensitive mutant of *Saccharomyces cerevisiae*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1979, 76(4): 1858–1862. [DOI](#)
- [15] Ossig R, Dascher C, Trepte HH, Schmitt HD, Gallwitz D. The yeast SLY gene products, suppressors of defects in the essential GTP-binding Ypt1 protein, may act in endoplasmic reticulum-to-Golgi transport. *Mol Cell Biol*, 1991, 11(6): 2980–2993. [DOI](#)
- [16] Dascher C, Ossig R, Gallwitz D, Schmitt HD. Identification and structure of four yeast genes (SLY) that are able to suppress the functional loss of YPT1, a member of the RAS superfamily. *Mol Cell Biol*, 1991, 11(2): 872–885. [DOI](#)
- [17] Lupashin VV, Waters MG. t-SNARE activation through transient interaction with a rab-like guanosine triphosphatase. *Science*, 1997, 276(5316): 1255–1258. [DOI](#)
- [18] Dulubova I, Yamaguchi T, Wang Y, Südhof TC, Rizo J. Vam3p structure reveals conserved and divergent properties of syntaxins. *Nat Struct Biol*, 2001, 8(3): 258–264. [DOI](#)
- [19] Banta LM, Vida TA, Herman PK, Emr SD. Characterization of yeast Vps33p, a protein required for vacuolar protein sorting and vacuole biogenesis. *Mol Cell Biol*, 1990, 10(9): 4638–4649. [DOI](#)
- [20] Cowles CR, Emr SD, Horazdovsky BF. Mutations in the VPS45 gene, a SEC1 homologue, result in vacuolar protein sorting defects and accumulation of membrane vesicles. *J Cell Sci*, 1994, 107(12): 3449–3459. [DOI](#)
- [21] Bryant NJ, James DE. Vps45p stabilizes the syntaxin homologue Tlg2p and positively regulates SNARE complex formation. *EMBO J*, 2001, 20(13): 3380–3388. [DOI](#)
- [22] Webb GC, Hoedt M, Poole LJ, Jones EW. Genetic interactions between a pep7 mutation and the PEP12 and VPS45 genes: evidence for a novel SNARE component in transport between the *Saccharomyces cerevisiae* Golgi complex and endosome. *Genetics*, 1997, 147(2): 467–478. [DOI](#)
- [23] Nichols BJ, Holthuis JC, Pelham HRB. The Sec1p homologue Vps45p binds to the syntaxin Tlg2p. *Eur J Cell Biol*, 1998, 77(4): 263–268. [DOI](#)
- [24] Schulze KL, Littleton JT, Salzberg A, Halachmi N, Stern M, Lev Z, Bellen HJ. Rop, a *Drosophila* homolog of yeast Sec1 and vertebrate n-Sect/Munc-18 proteins, is a negative regulator of neurotransmitter release *in vivo*. *Neuron*, 1994, 13(5): 1099–1108. [DOI](#)
- [25] Harrison SD, Broadie K, van de Goor J, Rubin GM. Mutations in the *Drosophila* Rop gene suggest a function in general secretion and synaptic transmission. *Neuron*, 1994, 13(3): 555–566. [DOI](#)
- [26] Wu MN, Schulze KL, Lloyd TE, Bellen HJ. The ROP-syntaxin interaction inhibits neurotransmitter release. *Eur J Cell Biol*, 2001, 80(2): 196–199. [DOI](#)
- [27] Littleton JT. A genomic analysis of membrane trafficking and neurotransmitter release in *Drosophila*. *J Cell Biol*, 2000, 150(2): F77–F82. [DOI](#)
- [28] Sevrioukov EA, He JP, Moghrabi N, Sunio A, Krämer H. A role for the deep orange and carnation eye color genes in lysosomal delivery in *Drosophila*. *Mol Cell*, 1999, 4(4): 479–486. [DOI](#)
- [29] Sassa T, Harada SI, Ogawa H, Rand JB, Maruyama IN, Hosono R. Regulation of the UNC-18-*Caenorhabditis elegans* syntaxin complex by UNC-13. *J Neurosci*, 1999, 19(12): 4772–4777. [DOI](#)
- [30] Hosono R, Hekimi S, Kamiya Y, Sassa T, Murakami S, Nishiwaki K, Miwa J, Taketo A, Kodaira KI. The *unc-18* gene encodes a novel protein affecting the kinetics of acetylcholine metabolism in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *J Neurochem*, 1992, 58(4): 1517–1525. [DOI](#)
- [31] Verhage M, Maia AS, Plomp JJ, Brussaard AB, Heeroma JH, Vermeer H, Toonen RF, Hammer RE, van den Berg TK, Missler M, Geuze HJ, Südhof TC. Synaptic assembly of the brain in the absence of neurotransmitter secretion. *Science*, 2000, 287(5454): 864–869. [DOI](#)
- [32] Riento K, Kauppi M, Keranen S, Olkkonen VM. Munc18-2, a functional partner of syntaxin 3, controls apical membrane trafficking in epithelial cells. *J Biol Chem*, 2000, 275(18): 13476–13483. [DOI](#)
- [33] Riento K, Jäntti J, Jansson S, Hielm S, Lehtonen E, Ehnholm C, Keränen S, Olkkonen VM. A sec1-related vesicle-transport protein that is expressed predominantly in epithelial cells. *Eur J Biochem*, 1996, 239(3): 638–646. [DOI](#)
- [34] Thurmond DC, Ceresa BP, Okada S, Elmendorf JS, Coker K, Pessin JE. Regulation of insulin-stimulated GLUT4 translocation by Munc18c in 3T3L1 adipocytes. *J Biol Chem*, 1998, 273(50): 33876–33883. [DOI](#)
- [35] Thurmond DC, Kanzaki M, Khan AH, Pessin JE. Munc18c function is required for insulin-stimulated plasma membrane fusion of GLUT4 and insulin-responsive amino peptidase storage vesicles. *Mol Cell Biol*, 2000, 20(1): 379–388. [DOI](#)
- [36] Dulubova I, Yamaguchi T, Gao Y, Min SW, Huryeva I, Südhof TC, Rizo J. How Tlg2p/syntaxin 16 ‘snares’

- Vps45. *EMBO J*, 2002, 21(14): 3620–3631. [DOI](#)
- [37] Tellam JT, James DE, Stevens TH, Piper RC. Identification of a mammalian Golgi Sec1p-like protein, mVps45. *J Biol Chem*, 1997, 272(10): 6187–6193. [DOI](#)
- [38] Yamaguchi T, Dulubova I, Min SW, Chen XC, Rizo J, Südhof TC. Sly1 binds to Golgi and ER syntaxins via a conserved N-terminal peptide motif. *Dev Cell*, 2002, 2(3): 295–305. [DOI](#)
- [39] Dascher C, Balch WE. Mammalian Sly1 regulates syntaxin 5 function in endoplasmic reticulum to Golgi transport. *J Biol Chem*, 1996, 271(27): 15866–15869. [DOI](#)
- [40] Assaad FF, Huet Y, Mayer U, Jürgens G. The cytokinesis gene *KEULE* encodes a Sec1 protein that binds the syntaxin Knolle. *J Cell Biol*, 2001, 152(3): 531–543. [DOI](#)
- [41] Assaad FF, Mayer U, Wanner G, Jürgens G. The *KEULE* gene is involved in cytokinesis in *Arabidopsis*. *Mol Gen Genet*, 1996, 253(3): 267–277. [DOI](#)
- [42] Bassham DC, Sanderfoot AA, Kovaleva V, Zheng HY, Raikhel NV. AtVPS45 complex formation at the trans-Golgi network. *Mol Biol Cell*, 2000, 11(7): 2251–2265. [DOI](#)
- [43] Zouhar J, Rojo E, Bassham DC. AtVPS45 Is a positive regulator of the SYP41/SYP61/VTI12 SNARE complex involved in trafficking of vacuolar cargo. *Plant Physiol*, 2009, 149(4): 1668–1678. [DOI](#)
- [44] Rojo E, Zouhar J, Kovaleva V, Hong S, Raikhel NV. The AtC-VPS protein complex is localized to the tonoplast and the prevacuolar compartment in *Arabidopsis*. *Mol Biol Cell*, 2003, 14(2): 361–369. [DOI](#)
- [45] Hamdan FF, Gauthier J, Dobrzaniecka S, Lortie A, Mottron L, Vanasse M, D'Anjou G, Lacaille JC, Rouleau GA, Michaud JL. Intellectual disability without epilepsy associated with STXBP1 disruption. *Eur J Hum Genet*, 2011, 19(5): 607–609. [DOI](#)
- [46] Deprez L, Weckhuysen S, Holmgren P, Suls A, Van Dyck T, Goossens D, Del-Favero J, Jansen A, Verhaert K, Lagae L, Jordanova A, Van Coster R, Yendle S, Berkovic SF, Scheffer I, Ceulemans B, De Jonghe P. Clinical spectrum of early-onset epileptic encephalopathies associated with STXBP1 mutations. *Neurology*, 2010, 75(13): 1159–1165. [DOI](#)
- [47] Brochetta C, Vita F, Tiwari N, Scandiuizzi L, Soranzo MR, Guérin-Marchand C, Zabucchi G, Blank U. Involvement of Munc18 isoforms in the regulation of granule exocytosis in neutrophils. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1783(10): 1781–1791. [DOI](#)
- [48] Côte M, Ménager MM, Burgess A, Mahlaoui N, Picard C, Schaffner C, Al-Manjomi F, Al-Harbi M, Alangari A, Le Deist F, Gennery AR, Prince N, Cariou A, Nitschke P, Blank U, El-Ghazali G, Ménasché G, Latour S, Fischer A, de Saint Basile G. Munc18-2 deficiency causes familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 5 and impairs cytotoxic granule exocytosis in patient NK cells. *J Clin Invest*, 2009, 119(12): 3765–3773. [DOI](#)
- [49] Reed GL, Hough AK, Fitzgerald ML. Human platelets contain SNARE proteins and a Sec1p homologue that interacts with syntaxin 4 and is phosphorylated after thrombin activation: implications for platelet secretion. *Blood*, 1999, 93(8): 2617–2626. [DOI](#)
- [50] Brochetta C, Vita F, Tiwari N, Scandiuizzi L, Soranzo MR, Guérin-Marchand C, Zabucchi G, Blank U. Involvement of Munc18 isoforms in the regulation of granule exocytosis in neutrophils. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1783(10): 1781–1791. [DOI](#)
- [51] Gissen P, Johnson CA, Morgan NV, Stapelbroek JM, Forsheew T, Cooper WN, McKiernan PJ, Klomp LWJ, Morris AAM, Wraith JE, McClean P, Lynch SA, Thompson RJ, Lo B, Quarrell OW, Di Rocco M, Trembath RC, Mandel H, Wali S, Karet FE, Knisely AS, Houwen RHJ, Kelly DA, Maher ER. Mutations in *VPS33B*, encoding a regulator of SNARE-dependent membrane fusion, cause arthrogryposis-renal dysfunction-cholestasis (ARC) syndrome. *Nat Genet*, 2004, 36(4): 400–404. [DOI](#)
- [52] Lo B, Li L, Gissen P, Christensen H, McKiernan PJ, Ye C, Abdelhaleem M, Hayes JA, Williams MD, Chitayat D, Kahr WHA. Requirement of VPS33B, a member of the Sec1/Munc18 protein family, in megakaryocyte and platelet  $\alpha$ -granule biogenesis. *Blood*, 2005, 106(13): 4159–4166. [DOI](#)
- [53] Gengyo-Ando K, Kitayama H, Mukaida M, Ikawa Y. A murine neural-specific homolog corrects cholinergic defects in *Caenorhabditis elegans* unc-18 mutants. *J Neurosci*, 1996, 16(21): 6695–6702. [DOI](#)
- [54] Araç D, Dulubova I, Pei JM, Huryeva I, Grishin NV, Rizo J. Three-dimensional structure of the rSly1 N-terminal domain reveals a conformational change induced by binding to syntaxin 5. *J Mol Biol*, 2005, 346(2): 589–601. [DOI](#)
- [55] Koumandou VL, Dacks JB, Coulson RMR, Field MC. Control systems for membrane fusion in the ancestral eukaryote; evolution of tethering complexes and SM proteins. *BMC Evol Biol*, 2007, 7: 29. [DOI](#)
- [56] Hashizume K, Cheng YS, Hutton JL, Chiu CH, Carr CM. Yeast Sec1p functions before and after vesicle docking. *Mol Biol Cell*, 2009, 20(22): 4673–4685. [DOI](#)
- [57] Peng RW. Decoding the interactions of SM proteins with SNAREs. *Sci World J*, 2005, 5: 471–477. [DOI](#)

- [58] Pevsner J, Hsu SC, Braun JEA, Calakos N, Ting AE, Bennett MK, Scheller RH. Specificity and regulation of a synaptic vesicle docking complex. *Neuron*, 1994, 13(2): 353–361. [DOI](#)
- [59] Dulubova I, Sugita S, Hill S, Hosaka M, Fernandez I, Südhof TC, Rizo J. A conformational switch in syntaxin during exocytosis: role of munc18. *EMBO J*, 1999, 18(16): 4372–4382. [DOI](#)
- [60] Fernandez I, Ubach J, Dulubova I, Zhang XY, Südhof TC, Rizo J. Three-dimensional structure of an evolutionarily conserved N-terminal domain of syntaxin 1A. *Cell*, 1998, 94(6): 841–849. [DOI](#)
- [61] Kosodo Y, Noda Y, Adachi H, Yoda K. Binding of Sly1 to Sed5 enhances formation of the yeast early Golgi SNARE complex. *J Cell Sci*, 2002, 115(18): 3683–3691. [DOI](#)
- [62] Munson M, Chen X, Cocina AE, Schultz SM, Hughson FM. Interactions within the yeast t-SNARE Sso1p that control SNARE complex assembly. *Nat Struct Biol*, 2000, 7(10): 894–902. [DOI](#)
- [63] Coe JGS, Lim ACB, Xu J, Hong WJ. A role for Tlg1p in the transport of proteins within the Golgi apparatus of *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol Biol Cell*, 1999, 10(7): 2407–2423. [DOI](#)
- [64] Sato TK, Rehling P, Peterson MR, Emr SD. Class C Vps protein complex regulates vacuolar SNARE pairing and is required for vesicle docking/fusion. *Mol Cell*, 2000, 6(3): 661–671. [DOI](#)
- [65] Toonen RFG, Verhage M. Vesicle trafficking: pleasure and pain from SM genes. *Trends Cell Biol*, 2003, 13(4): 177–186. [DOI](#)
- [66] Gallwitz D, Jahn R. The riddle of the Sec1/Munc-18 proteins - new twists added to their interactions with SNAREs. *Trends Biochem Sci*, 2003, 28(3): 113–116. [DOI](#)
- [67] Burkhardt P, Hattendorf DA, Weis WI, Fasshauer D. Munc18a controls SNARE assembly through its interaction with the syntaxin N-peptide. *EMBO J*, 2008, 27(7): 923–933. [DOI](#)
- [68] Furgason MLM, MacDonald C, Shanks SG, Ryder SP, Bryant NJ, Munson M. The N-terminal peptide of the syntaxin Tlg2p modulates binding of its closed conformation to Vps45p. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(34): 14303–14308. [DOI](#)
- [69] Piper RC, Whitters EA, Stevens TH. Yeast Vps45p is a Sec1p-like protein required for the consumption of vacuole-targeted, post-Golgi transport vesicles. *Eur J Cell Biol*, 1994, 65(2): 305–318. [DOI](#)
- [70] Peterson MR, Emr SD. The class c vps complex functions at multiple stages of the vacuolar transport pathway. *Traffic*, 2001, 2(7): 476–486. [DOI](#)
- [71] Rieder SE, Emr SD. A novel RING finger protein complex essential for a late step in protein transport to the yeast vacuole. *Mol Biol Cell*, 1997, 8(11): 2307–2327. [DOI](#)
- [72] Cao XC, Ballew N, Barlowe C. Initial docking of ER-derived vesicles requires Uso1p and Ypt1p but is independent of SNARE proteins. *EMBO J*, 1998, 17(8): 2156–2165. [DOI](#)
- [73] Bergmann DC. SECuring the perimeter. *Trends Plant Sci*, 2001, 6(6): 235–237. [DOI](#)
- [74] Graham ME, Sudlow AW, Burgoyne RD. Evidence against an acute inhibitory role of nSec-1 (munc-18) in late steps of regulated exocytosis in chromaffin and PC12 cells. *J Neurochem*, 1997, 69(6): 2369–2377. [DOI](#)
- [75] Voets T, Toonen RF, Brian EC, de Wit H, Moser T, Rettig J, Südhof TC, Neher E, Verhage M. Munc18-1 promotes large dense-core vesicle docking. *Neuron*, 2001, 31(4): 581–591. [DOI](#)
- [76] Riento K, Galli T, Jansson S, Ehnholm C, Lehtonen E, Olkkonen VM. Interaction of Munc-18-2 with syntaxin 3 controls the association of apical SNAREs in epithelial cells. *J Cell Sci*, 1998, 111(17): 2681–2688. [DOI](#)
- [77] Dresbach T, Burns ME, O'Connor V, DeBello WM, Betz H, Augustine GJ. A neuronal Sec1 homolog regulates neurotransmitter release at the squid giant synapse. *J Neurosci*, 1998, 18(8): 2923–2932. [DOI](#)
- [78] Schoch S, Deák F, Königstorfer A, Mozhayeva M, Sara Y, Südhof TC, Kavalali ET. SNARE function analyzed in synaptobrevin/VAMP knockout mice. *Science*, 2001, 294(5544): 1117–1122. [DOI](#)
- [79] Wu MN, Littleton JT, Bhat MA, Prokop A, Bellen HJ. ROP, the *Drosophila* Sec1 homolog, interacts with syntaxin and regulates neurotransmitter release in a dosage-dependent manner. *EMBO J*, 1998, 17(1): 127–139. [DOI](#)
- [80] Rowe J, Calegari F, Taverna E, Longhi R, Rosa P. Syntaxin 1A is delivered to the apical and basolateral domains of epithelial cells: the role of munc-18 proteins. *J Cell Sci*, 2001, 114(18): 3323–3332. [DOI](#)
- [81] Yang CM, Coker KJ, Kim JK, Mora S, Thurmond DC, Davis AC, Yang BL, Williamson RA, Shulman GI, Pessin JE. Syntaxin 4 heterozygous knockout mice develop muscle insulin resistance. *J Clin Invest*, 2001, 107(10): 1311–1318. [DOI](#)
- [82] Peng RW, Gallwitz D. Sly1 protein bound to Golgi syntaxin Sed5p allows assembly and contributes to specificity of SNARE fusion complexes. *J Cell Biol*, 2002, 157(4): 645–655. [DOI](#)
- [83] Grote E, Carr CM, Novick PJ. Ordering the final events in yeast exocytosis. *J Cell Biol*, 2000, 151(2): 439–452. [DOI](#)

- [84] de Wit H, Walter AM, Milosevic I, Gulyás-Kovács A, Riedel D, Sørensen JB, Verhage M. Synaptotagmin-1 docks secretory vesicles to syntaxin-1/SNAP-25 acceptor complexes. *Cell*, 2009, 138(5): 935–946. [DOI](#)
- [85] Fisher RJ, Pevsner J, Burgoyne RD. Control of fusion pore dynamics during exocytosis by Munc18. *Science*, 2001, 291(5505): 875–878. [DOI](#)
- [86] Pieren M, Schmidt A, Mayer A. The SM protein Vps33 and the t-SNARE H<sub>abc</sub> domain promote fusion pore opening. *Nat Struct Mol Biol*, 2010, 17(6): 710–717. [DOI](#)
- [87] Xu Y, Su LJ, Rizo J. Binding of Munc18-1 to synaptobrevin and to the SNARE four-helix bundle. *Biochemistry*, 2010, 49(8): 1568–1576. [DOI](#)
- [88] Carr CM, Rizo J. At the junction of SNARE and SM protein function. *Curr Opin Cell Biol*, 2010, 22(4): 488–495. [DOI](#)
- [89] Mima J, Hickey CM, Xu H, Jun Y, Wickner W. Reconstituted membrane fusion requires regulatory lipids, SNAREs and synergistic SNARE chaperones. *EMBO J*, 2008, 27(15): 2031–2042. [DOI](#)
- [90] Stroupe C, Hickey CM, Mima J, Burfeind AS, Wickner W. Minimal membrane docking requirements revealed by reconstitution of Rab GTPase-dependent membrane fusion from purified components. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(42): 17626–17633. [DOI](#)
- [91] Ohya T, Miaczynska M, Coskun Ü, Lommer B, Runge A, Drechsel D, Kalaidzidis Y, Zerial M. Reconstitution of Rab- and SNARE-dependent membrane fusion by synthetic endosomes. *Nature*, 2009, 459(7250): 1091–1097. [DOI](#)
- [92] Nielsen E, Christoforidis S, Uttenweiler-Joseph S, Miaczynska M, Dewitte F, Wilm M, Hoflack B, Zerial M. Rabenosyn-5, a novel Rab5 effector, is complexed with hVPS45 and recruited to endosomes through a FYVE finger domain. *J Cell Biol*, 2000, 151(3): 601–612. [DOI](#)
- [93] Okamoto M, Südhof TC. Mints, Munc18-interacting proteins in synaptic vesicle exocytosis. *J Biol Chem*, 1997, 272(50): 31459–31464. [DOI](#)
- [94] Butz S, Okamoto M, Südhof TC. A tripartite protein complex with the potential to couple synaptic vesicle exocytosis to cell adhesion in brain. *Cell*, 1998, 94(6): 773–782. [DOI](#)
- [95] Biederer T, Südhof TC. Mints as adaptors. Direct binding to neurexins and recruitment of munc18. *J Biol Chem*, 2000, 275(51): 39803–39806. [DOI](#)
- [96] Verhage M, de Vries KJ, Røshol H, Burbach JPH, Gispen WH, Südhof TC. DOC2 proteins in rat brain: Complementary distribution and proposed function as vesicular adapter proteins in early stages of secretion. *Neuron*, 1997, 18(3): 453–461. [DOI](#)
- [97] Duncan RR, Betz A, Shipston MJ, Brose N, Chow RH. Transient, phorbol ester-induced DOC2-Munc13 interactions *in vivo*. *J Biol Chem*, 1999, 274(39): 27347–27350. [DOI](#)
- [98] Orita S, Sasaki T, Komuro R, Sakaguchi G, Maeda M, Igarashi H, Takai Y. Doc2 enhances Ca<sup>2+</sup>-dependent exocytosis from PC12 cells. *J Biol Chem*, 271(13): 7257–7260. [DOI](#)
- [99] Korteweg N, Denekamp FA, Verhage M, Burbach JPH. Different spatiotemporal expression of DOC2 genes in the developing rat brain argues for an additional, nonsynaptic role of DOC2B in early development. *Eur J Neurosci*, 2000, 12(1): 165–171. [DOI](#)
- [100] Sakaguchi G, Manabe T, Kobayashi K, Orita S, Sasaki T, Naito A, Maeda M, Igarashi H, Katsuura G, Nishioka H, Mizoguchi A, Itohara S, Takahashi T, Takai Y. Doc2α is an activity-dependent modulator of excitatory synaptic transmission. *Eur J Neurosci*, 1999, 11(12): 4262–4268. [DOI](#)
- [101] Finger FP, Novick P. Synthetic interactions of the post-Golgi sec mutations of *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*, 2000, 156(3): 943–951. [DOI](#)
- [102] Tall GG, Hama H, DeWald DB, Horazdovsky BF. The phosphatidylinositol 3-phosphate binding protein Vac1p interacts with a Rab GTPase and a Sec1p homologue to facilitate vesicle-mediated vacuolar protein sorting. *Mol Biol Cell*, 1999, 10(6): 1873–1889. [DOI](#)
- [103] Fujita Y, Shirataki H, Sakisaka T, Asakura T, Ohya T, Kotani H, Yokoyama S, Nishioka H, Matsuura Y, Mizoguchi A, Scheller RH, Takai Y. Tomosyn: a syntaxin-1-binding protein that forms a novel complex in the neurotransmitter release process. *Neuron*, 1998, 20(5): 905–915. [DOI](#)
- [104] Pobbati AV, Razeto A, Böddener M, Becker S, Fasshauer D. Structural basis for the inhibitory role of tomosyn in exocytosis. *J Biol Chem*, 2004, 279(45): 47192–47200. [DOI](#)
- [105] Hatsuzawa K, Lang T, Fasshauer D, Bruns D, Jahn R. The R-SNARE motif of tomosyn forms SNARE core complexes with syntaxin 1 and SNAP-25 and down-regulates exocytosis. *J Biol Chem*, 2003, 278(33): 31159–31166. [DOI](#)
- [106] Gracheva EO, Burdina AO, Touroutine D, Berthelot-Grosjean M, Parekh H, Richmond JE. Tomosyn negatively regulates CAPS-dependent peptide release at *Caenorhabditis elegans* synapses. *J Neurosci*, 2007, 27(38): 10176–10184. [DOI](#)
- [107] Sakisaka T, Yamamoto Y, Mochida S, Nakamura M, Nishikawa K, Ishizaki H, Okamoto-Tanaka M, Miyoshi J,



- Fujiyoshi Y, Manabe T, Takai Y. Dual inhibition of SNARE complex formation by tomosyn ensures controlled neurotransmitter release. *J Cell Biol*, 2008, 183(2): 323–337. [DOI](#)
- [108] Gracheva EO, Burdina AO, Holgado AM, Berthelot-Grosjean M, Ackley BD, Hadwiger G, Nonet ML, Weimer RM, Richmond JE. Tomosyn inhibits synaptic vesicle priming in *Caenorhabditis elegans*. *PLoS Biol*, 2006, 4(8): 1426–1437. [DOI](#)
- [109] Lehman K, Rossi G, Adamo JE, Brennwald P. Yeast homologues of tomosyn and lethal giant larvae function in exocytosis and are associated with the plasma membrane SNARE, Sec9. *J Cell Biol*, 1999, 146(1): 125–140. [DOI](#)