

Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Jakub Pavlovic

Rostlinné synapse: víc než metafora?

Plant synapses: more than a metaphor?

Bakalářská práce

Školitel: doc. RNDr. Fatima Cvrčková, Dr. rer. nat.

Praha, 2014

Vedoucí bakalářské práce:

doc. RNDr. Fatima Cvrčková, Dr. rer. nat.

Katedra experimentální biologie rostlin, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze

Poděkování

*Chtěl bych velice poděkovat své školitelce
doc. RNDr. Fatimě Cvrčkové, Dr. rer. nat. za její pomoc a vedení
během sepisování mé práce a za její trpělivost, kterou se mnou měla.*

Dále bych chtěl poděkovat všem, kteří mi byli během sepisování morální oporou.

*Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracoval samostatně s použitím citované literatury
pod vedením doc. RNDr. Fatimy Cvrčkové, Dr. rer. nat. a souhlasím s jejím zveřejněním.*

V Praze, dne

Jakub Pavlovic

Seznam zkratk

Níže je uveden seznam zkratk, které se v textu vyskytují více než jednou, ostatní jsou vysvětleny na příslušném místě

RHD3.....	Root hair defective 3
ApSAP.....	synapse-associated protein
RIMs-BP.....	RIM-vázající protein
RIM.....	regulating synaptic membrane exocytosis
Munc13.....	savčí UNC-13
PATROL1.....	proton ATPase translocation control 1
BLAST.....	basic local alignment search tool
ER.....	endoplasmatické retikulum
DP1.....	dodeca-satellite-binding protein
HVA22d.....	rostlinný homolog DP1
YOp1P.....	kvasinkový homolog DP1
HeLa.....	buněčná linie lidských epiteliálních buněk
Dlg4.....	Disc large homolog 4
UNC-13.....	uncoordinated 13
BAP3.....	BAL1 asociovaný protein
H ⁺ -ATPasa.....	protonová pumpa, translokuje protony přes membránu
HT1,2.....	high leaf temperature

Obsah

Abstrakt	6
Abstract	7
1. Úvod	8
2. Exo- a endocytóza, podstata neurálních synapsí	9
2.1 Exocytóza	9
2.2 Endocytóza	11
3. Homologie mezi rostlinnými a synaptickými proteiny	12
3.1 Atlastin a dědičná spastická paraplegie	13
3.1.1 Homolog atlastinu RHD3 je důležitý pro správný vývoj u <i>Arabidopsis</i>	13
3.2 Membránově asociovaná guanylátová kináza – MAGUK	16
3.2.1 Protein z <i>Hordeum vulgare subsp. Vulgare</i> , možný rostlinný zástupce třídy Dlg-MAGUK	17
3.3 RIM-vázající protein, funkční spojení mezi fúzním aparátem synaptického váčku a Ca ²⁺ kanály.....	19
3.3.1 Možný rostlinný homolog RIM-BP.....	20
3.4 Munc13 zprostředkovává priming synaptických váčků.....	21
3.4.1 PATROL1 ortholog savčího Munc13 zprostředkovává translokaci H ⁺ -ATPáz	22
4. Závěr	24
5. Reference	25

Abstrakt

Synapse jsou obecně definovány, jako místa kde dochází k mezibuněčnému přenosu signálu především mezi neurony za pomoci lokální recyklace exo- a endocytických váčků. Možná existence synaptického přenosu signálu je u rostlin stále předmětem debat. Nicméně existence rostlinných proteinů homologních k proteinům, které se vyskytují v synapsích, tuto teorii podporují. U rostlin byla do dnešní doby popsána mezibuněčná spojení, která se podobají jak elektrickým a imunologickým tak i chemickým synapsím. Tato práce se zabývá popisem známých i mou nově objevených rostlinných homologů několika genů, kteří se u živočichů účastní funkce a vývoje synapsí.

Protein RHD3 byl popsán jako ortholog savčího atlastinu. Mutace v atlastinu způsobuje dědičnou spastickou paraplegii, u které dochází ke změně morfologie dlouhých axonů. Obdobnou změnu buněčné morfogeneze vykazují i mutanti *rh3*, jejichž kořenové vlásky vykazují změněný fenotyp. Tyto vlásky jsou kratší a mají vlnitý vzhled. Dále se mi podařilo identifikovat možné homology dvou dalších genů. Jedná se o homologa k Dlg-MAGUK, který se podílí na správném vývoji a funkci synapsí. Druhým proteinem, ke kterému jsem objevil možného homologa, je RIMs-BP 2. RIMs-BP 2 tvoří bifunkční spojení mezi fúzním aparátem synaptického váčku a Ca^{2+} kanály. Posledním proteinem je nedávno popsán ortholog savčího Munc13. Tento protein pojmenovaný PATROL1 zprostředkovává translokaci H^+ -ATPAs na plasmatickou membránu svěřacích a podpůrných buněk průduchů, čímž se podílí na regulaci stomatální respirace.

Klíčová slova

Rostlinné synapse, atlastin, RHD3, Dlg-MAGUK, RIMs-BP 2, Munc13, PATROL1, homologie

Abstract

Synapses are generally defined as places where cell-to-cell signal transmission especially between neurons can occur, involving transmission of signal by local recycling of exo- and endocytosis vesicles. Possible existence of synaptic signal transduction in plants is still subject of discussion. However, existence of plants homologues of proteins related to those found in synapse support this theory. Cell-to-cell contacts similar to electric, immunological and chemical synapses were described in plants. Here I describe some proteins involved in function or synapse development whose plant homologs are known, or were discovered by myself.

Protein RHD3 was described as ortholog of mammalian atlastin. Mutation in atlastin cause hereditary spastic paraplegia where morphology of long axons is changed. Similar change of cell morphology is found also in *rh3* mutants, whose root-hairs have altered phenotype. These root-hairs are shorter and posses wavy appearance. Further I succeeded in identification of possible homolog of two other proteins. It is homolog of Dlg-MAGUK, which is involved in proper function and synapse development. Second whose possible homolog I found is RIMs-BP 2. RIMs-BP 2 forms bifunctional connections between fusion apparatus of synaptic vesicle and Ca^{2+} channels. Last protein was recently describe as mammalian ortholog of Munc13. This protein named PATROL1 from *Arabidopsis* mediates translocation of H^+ -ATPase on plasmatic membrane of the guard-cells and the subsidiary cells, thus i tis involved in regulation of stomatal respiration.

Key words

Plant synapse, atlastin, RHD3, Dlg-MAGUK, RIMs-BP 2, Munc13, PATROL1, homology

1. Úvod

Pokud se řekne slovo synapse, představíme si chemické synapse, které jsou známé jako specializované mezibuněčné spoje, kde za přispění proteinové mašinérie dochází k neurotransmiterovému přenosu signálu mezi neurony či mezi neurony a jejich cílovými buňkami (Dani *et al.*, 2010). Pojem synapse byl představen Charlesem Sherringtonem v učebnici fyziologie v roce 1897 (Foster, 1897). Synapse jsou tzv. horká místa, která jsou zodpovědná za plasticitu mozku a přenos signálu. Obecně se synapse skládají z axonového zakončení (presynapse). Synaptické štěrby, která obsahuje extracelulární matrix a adhezivní molekuly. Poslední částí je zakončení dendritu (postsynapse), která slouží jako cílová struktura pro přenos signálu (LaBek *et al.*, 2014). Rostliny sice nemají neuronům podobné buňky, které by sloužily pro přenos signálu na dlouhé vzdálenosti a ani je nezbytně nepotřebují. Mnoho rostlinných buněk přítomných v kořeni a stonku má charakteristický tubulární tvar, kde k přenosu signálu mezi těmito buňkami dochází v místě styku dvou příčných buněčných stěn (cross-walls) na nerostoucích koncích buněk (Baluška *et al.*, 2003). Pokud tedy synapse definujeme jakožto stabilní asymetrické struktury, mezi nimiž dochází k výměně informací mezi buňkami za pomoci lokální recyklace endocytických a exocytických váčků (Friedl and Storim, 2004), potom oblasti styku dvou sousedících příčných stěn na nerostoucích koncích rostlinných buněk můžeme považovat za rostlinné synapse (Baluška *et al.*, 2005). V zásadě rozeznáváme tři druhy synapsí. Elektrické synapse, které tvoří mechanické a elektrické vodivé spojení mezi dvěma styčnými neurony. Tato synapse je tvořena úzkou mezerou mezi presynaptickou a postsynaptickou buňkou. Toto spojení je také známé jako gap junction.

Vlastnosti podobné elektrickým synapsím má u rostlin např. pulvinus u *Mimosa pudica* (Volkov *et al.*, 2013). Dalším typem synaptického propojení je imunologická synapse, která se jak název napovídá, vyskytuje mezi buňkami imunitního systému (Dustin *et al.*, 1998). U rostlin lze pomocí imunologické synapse vysvětlit mezibuněčný kontakt mezi rostlinnými buňkami a buňkami jiných organismů (houby, bakterie) a interakce s patogeny či parazity (Baluška *et al.*, 2005; Kwon *et al.*, 2008). Nesmíme zapomenout na chemické synapse, které jak již bylo řečeno, tvoří specializované mezibuněčné spojení mezi neurony či jejich cílovými buňkami (Dani *et al.*, 2010). Chemické synapse u rostlin jsou spojovány s polárním transportem auxinu či gravitropickou odpovědí kořene (Baluška *et al.*, 2005).

Rostlinné synapse jsou stále záhadou rostlinné biologie, pokud ale připustíme, že je možné, aby u rostlin existovala taková mezibuněčná komunikace, jako je tomu v případě neuronů, budeme moci snadněji porozumět pochodům rostlinných buněk.

2. Exo- a endocytóza, podstata neurálních synapsí

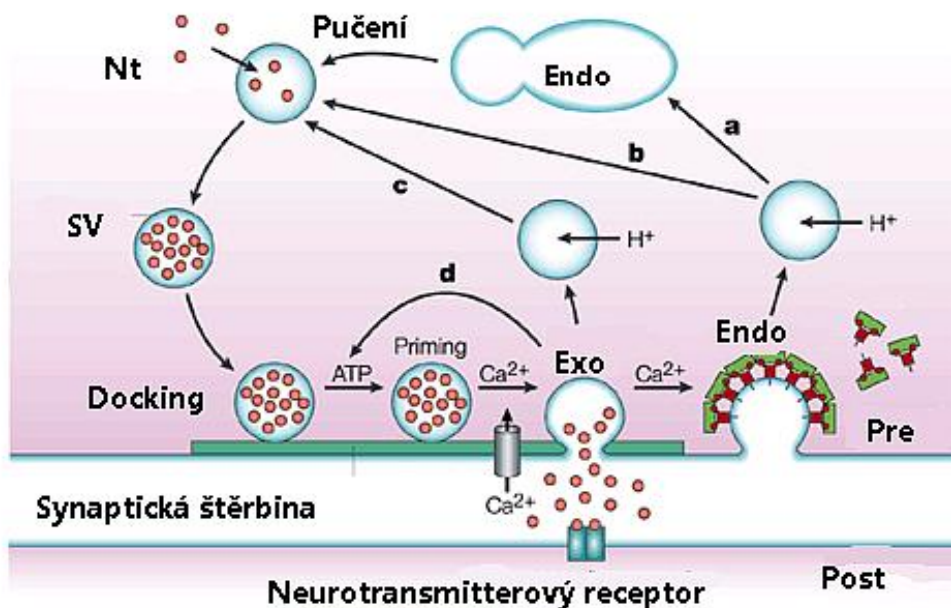
Neurony a jiné specializované sekretorické buňky podstupují indukované uvolnění sekretorických molekul regulovanou exocytózou. Následně je ale zapotřebí aby membrána, která byla inkorporována do plasmalemy, byla opět odstraněna. K tomu slouží děj zvaný endocytóza (Gundelfinger *et al.*, 2003). Otázkou ale ovšem je jak vysoká úroveň neurotransmiterů může být takto zpravována po delší dobu. Data z posledních let ukazují, že v mnoha synapsích je exocytóza spřažena s endocytózou (Haucke, 2011). Stejnou provázanost exocytózy a endocytózy můžeme pozorovat i rostlinných buněk (Ketelaar *et al.*, 2008). Navíc se ukázalo, že exocytóza je u rostlin vždy regulovaný děj (Žárský *et al.*, 2009). Aby bylo možné vyhovět jak požadavkům ze strany regulované exocytózy tak s ní spřažené endocytózy, vyvinul se v synapsích aparát scaffold proteinů (Haucke, 2011).

Dříve se domnívalo, že během exocytózy dochází pouze ke kompletní fúzi synaptických váčků s presynaptickou membránou a nazpět jsou tyto membrány získávány klatrin zprostředkovanou endocytózou (Heuser and Reese, 1973). Nyní víme, že existují i jiné cesty pro tento váčkový transport, jedná se o kiss-and-run a kiss-and-stay (Obrázek 1; Haucke, 2011). Kiss-and-run cesta exocytického váčku, díky níž dochází k rychlé recyklaci membrán, je známá i u rostlin (Žárský *et al.*, 2009).

Exocytóza a endocytóza mají u rostlin nezastupitelnou roli při ustanovení polarity, která je klíčová pro vývoj rostlinného organismu. Udržení rovnováhy mezi exo- a endocytózou je klíčové pro správný vývoj a signalizaci v rostlinném těle a z tohoto důvodu je přísně regulována (Frigerio, 2010).

2.1 Exocytóza

Exocytóza je buněčný pochod, při kterém membránou obalený váček fúzuje s plasmalemou, při zachování kontinuity vnitrováčkového a extracelulárního prostoru. Exocytózu rozlišujeme na konstitutivní, která se vyskytuje ve všech eukaryotických buňkách a slouží k udržování a růstu plasmatické membrány. Druhým typem je regulovaná exocytóza, jenž hraje roli zejména při sekreci a kontrole úrovně zastoupení různých lipidů a receptorů v plasmalemě (Lin and Scheller, 2000). V rostlinných buňkách má exocytóza nezastupitelnou roli při doručování proteinů a lipidů na plasmatickou membránu a proteinů a polysacharidů k buněčné stěně (Frigerio, 2010). Navíc exocytóza hraje nezastupitelnou roli při orientovaném růstu rostlinných buněk (Žárský *et al.*, 2009).



Obrázek 1: Synaptické váčky jsou translokovány do aktivní zóny. Zde dochází k dockingu na presynaptickou membránu a napřimování. V odpovědi na vtok Ca^{2+} dochází k exocytoze a uvolnění neurotransmiterů do synaptické štěrbiny, kde se tyto molekuly vážou na své receptory. Existuje několik cest jak získat zpět membránu synaptického váčku: *a*) Synaptický váček kolabuje a splývá s presynaptickou membránou a zpět je získán klatrin zprostředkovanou endocytózou. Poté mohou být recyklovány přes časný endosom.; *b*) klatrin zprostředkovaná endocytóza může být následována přímou recyklací synaptického váčku bez průchodu časným endosomem; *c*) další možností je že váčky nefúzí s presynaptickou membránou, ale mohou být znovu použity a naplněny téměř okamžitě po-té co vypustí neurotransmitery skrz fúzní pór, tento mechanismus je znám jako kiss-and-stay; *d*) kiss-and-stay- způsob, který byl navrhnout pro velmi rychle znovu použití synaptických váčků. V tomto případě synaptické váčky nikdy neopouštějí aktivní zónu, ale jsou okamžitě znovunaplňeny po uzavření fúzního póru.

Převzato (Gundelfinger et al., 2003); **Endo**-časný endosom; **Nt**-znovuplnění neurotransmitery; **SV** – synaptický váček; **Exo** – exocytoza, fúzní pór; **Endo** – endocytóza; **Pre** – presynaptická membrána; **Post** – postsynaptická membrána.

Cyklus synaptického váčku, stejně jako exocytického váčku u rostlin (Ketelaar *et al.*, 2008), začíná syntézou lipidů a membránových proteinů na endoplasmatickém retikulu a následně dochází k jejich úpravě v Golgiho aparátu a vypučení váčku (Lin and Scheller, 2000). Následně jsou synaptické i rostlinné exocytické váčky dopraveny do míst určení za pomoci cytoskeletu (Lin and Scheller, 2000; Battey *et al.*, 1999). V případě synaptických váčků je možnost odklonění z trasy z těla neuronu do cílového místa a synaptické váčky pak putují do axonového zakončení, kde vytvářejí zásobu (pool). Po docestování váčku do cílového místa dochází k fúzi s plasmatickou membránou a uvolnění obsahu (Lin and Scheller, 2000).

2.2 Endocytóza

Potřeba synaptických váčků, které jsou potřeba k exocytóze, by za nějaký čas převýšila zásobu váčků, které jsou posílány z těla neuronu. K získání membrán investovaných exocytózou je využíváno endocytózy, která zajišťuje recyklaci synaptických váčků (Nicholson-Tomishima and Ryan, 2004). Přítomnost buněčné stěny u rostlinných buněk stěžuje studium endocytózy (Chen *et al.*, 2011). Při růstu rostlinných buněk je potřeba sekretorickou cestou pomocí exocytózy dodávat materiál pro růst plasmatické membrány a syntézu buněčné stěny. Následně je ale zapotřebí přebytečnou membránu, která byla přidána při fúzi exocytického váčku s plasmalemou, opět za pomoci endocytózy odebrat. Endocytóza má své uplatnění také při recyklaci transmembránových proteinů (Ketelaar *et al.*, 2008), základních buněčných pochodech, vývoji, hormonální signalizaci či komunikaci s okolím (Chen *et al.*, 2011). Pokud by frekvence endocytózy byla nedostatečná, vedlo by to k inhibici růstu a nesprávnému uložení celulosových mikrofibril (Ketelaar *et al.*, 2008).

V synapsích se setkáváme s endocytózou dvojího typu. Pomalá endocytóza, také známá jako klatrin zprostředkovaná, při které spolu interagují klatrin a přidavné proteiny jako je amphiphysin. Rychlá endocytóza neboli kiss-and-run, která výše uvedené proteiny nevyžaduje. Oba typy jsou ale závislé na aktivitě GTPáz (Jockusch *et al.*, 2005). Při kiss-and-run endocytóze dochází při kontaktu synaptického váčku a plasmatické membrány k vytvoření fúzního póru, kterým je uvolněn obsah. Poté dochází k uzavření póru, oddělení váčku od membrány a váček může být následně hned použit pro další cyklus (Taraska *et al.*, 2003). U rostlin byl kiss-and-run studován u pylové láčky. Mechanismus tohoto pochodu je shodný s průběhem u synapsí. Navíc kiss-and-run mechanismus vysvětluje proč je na apexu rostoucí pylové láčky pozorovatelná jen velmi malá frekvence exo- a endocytózy (Bove *et al.*, 2008). Při klatrin zprostředkované endocytóze, která u rostlin patří k hlavní endocytické cestě (Chen *et al.*, 2011), dochází k pučení váčku obaleného klatrinem, kdy po vypuštění dochází k odstřížení nově zformovaného váčku. Poté dochází vybalení a váček putuje k časnému endosomu s nímž fúzuje (Schmid, 1997). Z časného endosomu pučí nové váčky opět za pomoci klatrinu. Po jejich vybalení jsou váčky použity v exocytóze (Takei *et al.*, 1996), nebo jsou cílováni do vakuoly a degradováni (Chen *et al.*, 2011).

3. Homologie mezi rostlinnými a synaptickými proteiny

Dodnes již byla identifikována celá řada proteinů, které jsou potřebné pro správný vývoj a funkci živočišných synapsí (Morciano *et al.*, 2009; Collins *et al.*, 2005). Mezi těmito proteiny již byly identifikovány homologní rostlinné proteiny např. klatrin, synaptotagmin, synaptobrevin a SNAP-25 (Lewis and Lazarowitz, 2010; Salanoubat *et al.*, 2000; Heese *et al.*, 2001; Scheele and Holstein, 2002; Blackbourn and Jackson, 1996). Synaptotagmin, synaptobrevin a SNAP-25 jsou SNARE proteiny, které hrají nezastupitelnou roli při exo- a endocytóze nejen v neuronech (Xu *et al.*, 2013). Proteiny vyskytující se v synapsích, u nichž byly publikovány rostlinné homology, nebo jsem možné homology našel bioinformatickými metodami shrnuje následující tabulka.

Tab1: Synaptické proteiny a jejich možní rostlinní homologové

Název proteinu	Přístupové číslo	Rostlinný homolog	Přístupové číslo	Testováno pomocí Blast	Nalezena homologie
Atlastin	CAG33434	RHD3	AEE75429	ne ¹	ano
ApSAP	NP_001191584	Protein z <i>Hordeum vulgare</i> subsp. <i>vulgare</i>	BAJ93323	ano	ano
RIMs-BP 2	NP_0056162	Protein z <i>Hordeum vulgare</i> subsp. <i>vulgare</i>	BAJ99763	ano	ano
Munc13	AAC19406	PATROL1	NP_196314	ne ²	ano

Pro hledání v sekvenčních databázích (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) byla použita metoda Blast (Altschul *et al.*, 1990) a PSI-Blast (Altschul *et al.*, 1997). Při vyhledávání proteinů za pomoci online nástroje blastp (<http://blast.st-va.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) bylo ponecháno výchozí nastavení. Živočišné proteiny byly při hledání použity coby dotaz (query) proti databázi nr Viridiplantae.

¹ Publikováno (Hu *et al.*, 2009)

² Publikováno (Hashimoto-Sugimoto *et al.*, 2013)

3.1 Atlastin a dědičná spastická paraplegie

Atlastin je jeden z genů, jejichž mutace u člověka způsobuje dědičnou spastickou paraplegii (Lee *et al.*, 2008). Atlastin je studován i na zvířecích modelech např. *Drosophila melanogaster* (Lee *et al.*, 2009) nebo *Danio rerio* (Fassier *et al.*, 2010). Dědičná spastická paraplegie je neurodegenerativní onemocnění postihující zejména nejdelší neurony lidského těla. Tyto neurony vedou z mozku skrz míchu až do dolních končetin (Salinas *et al.*, 2008). Během rozvoje onemocnění dochází k degeneraci axonů, což vyústí v pokles kontroly svalů dolních končetin (Lee *et al.*, 2008).

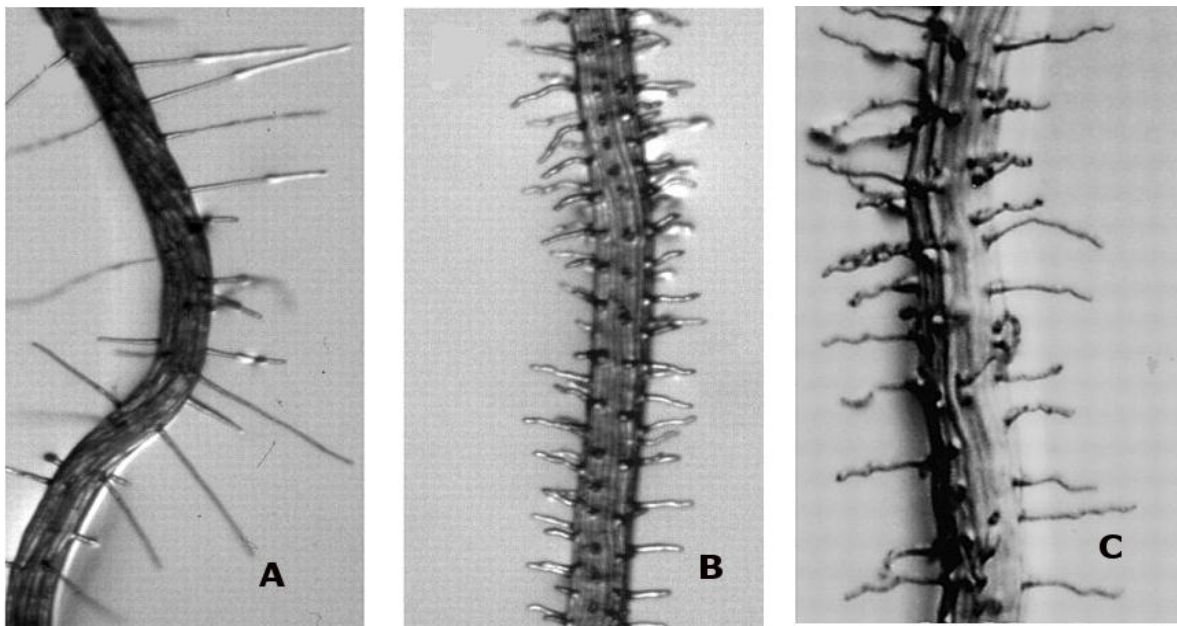
Přítomnost atlastinu je kritická pro správnou formaci a elongaci axonů během vývoje (Zhu *et al.*, 2006). Podobně je tomu v případě rostlinného homologa RHD3 jehož přítomnost je nutná pro správné uspořádání a elongaci buněk (Wang *et al.*, 1997). Elongace rostlinných buněk ve směru kořen-apex je regulovaný děj při kterém vznikají buňky typického tubulárního tvaru (Baluška *et al.*, 2003), kde na apikální a bazální straně ve směru kořen-apex dochází k lokální recyklaci exo- a endocytických váčků, přičemž tento obrat membrán je označován za rostlinné synapse (Baluška *et al.*, 2005).

3.1.1 Homolog atlastinu RHD3 je důležitý pro správný vývoj u *Arabidopsis*

Gen RHD3 kóduje 89 kDa velký GTP vázající protein, který se účastní rostlinného vývoje (Wang *et al.*, 1997). Tento GTP vazebný protein patří do třídy dynaminu podobným GTPasam. (Hu *et al.*, 2009). Tyto GTP vazebné proteiny, do nichž patří i RHD3 se účastní velkého počtu pochodů včetně buněčné signalizace, buněčného transportu, cytoskeletální organizace či proteinové syntézy (Stack *et al.*, 1995). V případě RHD3 se jedná o GTP vazebný protein který je potřebný pro anterográdní transport mezi endoplasmatickým retikulem a Golgiho aparátem (Zheng *et al.*, 2004). Toto bylo vypořádáno na základě zjištěných defektů při tvorbě vakuol u *rh3* mutantů (Wang *et al.*, 1997) Vakuoly vznikají fúzí malých vakuol, zvyšováním obsahu vody nebo inkorporací nových membrán derivovaných z endoplasmatického retikula a Golgiho aparátu (Staehelin and Moore, 1995). Geny kódující RHD3 podobné proteiny byly identifikovány u např. *Entamoeba*, kvasinek a rýže což naznačuje, že tato třída proteinů je u eukaryot velice rozšířena (Wang *et al.*, 1997). Zároveň bylo zjištěno, že RHD3 je ortholog savčího atlastinu, který také patří do třídy dynamin podobným GTPasam (Hu *et al.*, 2009). Tato třída je pojmenována po dynamin-1, který se účastní pučení váčků z plasmatické membrány během

klatrin zprostředkované endocytózy, a dále se proteiny podobné dynaminu účastní fúze a dělení mitochondrií (Hoppins *et al.*, 2007).

Mutant *rhd3* způsobuje pozměněný fenotyp kořenových vlásků (Schiefelbein and Somerville, 1990). Kořenové vlásky jsou výběžky epidermálních buněk kořene, které vyrůstají ze specializovaných buněk-trichoblastů a to vrcholovým růstem. Kořenové vlásky se tvoří v diferenciální zóně kořene (Dolan *et al.*, 1994). Vývoj kořenových vlásků se dá rozdělit do několika etap. Nejprve dochází ke specializaci buněk (trichoblastů), které budou tvořit kořenové vlásky. Následuje iniciace růstu kořenových vlásků, dochází k ustanovení polarita trichoblastů, selekce místa růstu vlásků na basální straně, přemístění jádra nejprve do středu trichoblastu a posléze na basální stranu vlásku a dochází k místnímu okyselování buněčné stěny, jejímu ztenčení a rozvolnění což vede k vytvoření primordia kořenového vlásku. Další etapou je pomalé zahájení vrcholového růstu z primordia následované rychlou elongací, kdy dochází k rychlé exocytóze. Nakonec dochází k zastavení růstu a maturaci kořenových vlásků (Carol and Dolan, 2002). RHD3 je důležitý pro správnou expanzi buněk kořenových vlásků, která je spojována se zvětšováním vakuoly (Galway *et al.*, 1997). Mutant *rhd3* byl izolován při počáteční charakterizaci mutantů u *Arabidopsis*, kteří vykazovali pozměněný fenotyp u kořenových vlásků. Homozygotní mutace v genu pro RHD3 způsobuje, že rostliny tvoří kořenové vlásky, které jsou kratší než u divokého typu. Mutanti *rhd3* rovněž vykazují změněnou morfologii kořenových vlásků, jedná se o vlnitý vzhled a tu a tam můžeme pozorovat i větvení (Obr2).



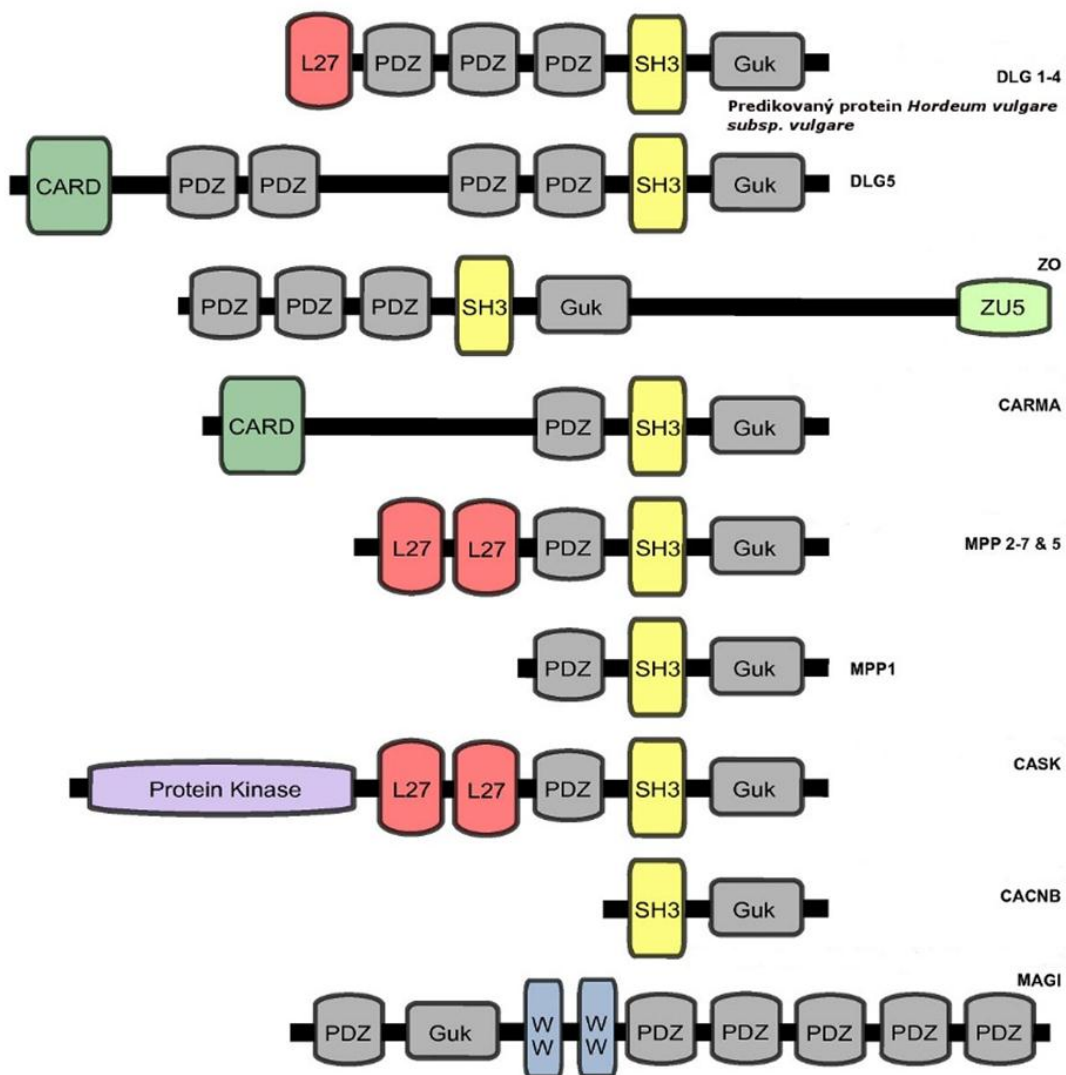
Obrázek 2: srovnání fenotypu kořenových vlásků; **A**-divoká rostlina; **B,C**-mutant v *rhd3* převzato (Parker, 2000; Yuen *et al.*, 2005).

Zdá se že *rh3* vlásky se během růstu prodlužují v mírně různých směrech, čímž vznikne nezaměnitelný vlnitý vzhled. Možný důvod vzniku vlnité morfologie je asymetrické ukládání materiálu buněčné stěny na vrcholu rostoucího kořenového vlásku (Schiefelbein and Somerville, 1990). Morfologie dlouhých axonů kortikospinálních neuronů u dědičné spastické paraplegie připomíná krátké a vlnité kořenové vlásky u *rh3* mutantů (Schiefelbein and Somerville, 1990; Reid, 2003). Homozygotní mutantní linie *rh3* se mimo jiné vyznačovala malým vzrůstem a redukovanou velikostí orgánů. Za pomoci mikroskopie bylo zjištěno, že toto zmenšení je způsobeno spíše redukcí velikosti buněk než jejich počtu (Wang *et al.*, 1997).

RHD3 se primárně podílí na vzniku tubulární sítě endoplasmatického retikula spíše než na sekretorickém transportu. RHD3 je kolokalizován s tubulárním endoplasmatickým retikulem, nicméně lze pozorovat i agregáty RHD3 na povrchu tubulů ER, které se v mikroskopu podobají tečkám. Z tohoto důvodu byl zaveden termín RHD3 punctae, neboli tečky (punctae z latiny, znamená tečkovaný). RHD3 se také často nachází spolu s proteinem HVA22d právě v místě RHD3 punctae (Chen *et al.*, 2011). Protein HVA22d, který byl poprvé popsán u ječmene, patří do DP1 rodiny proteinů (Shen *et al.*, 1993). HVA22d je u *Arabidopsis*, homolog DP1/YOp1p, který se nachází téměř výlučně na tubulárním endoplasmatickém retikulu a je zodpovědný za tvarování tubulárního ER jak u savců, tak i u kvasinek (Voeltz *et al.*, 2006). Při pokusu s mutovaným atlasinem v HeLa buňkách bylo zjištěno, že mutant způsobuje vznik více tubulárního ER s menším množstvím spojek. Z tohoto lze tedy soudit, že atlasin se tak významnou měrou účastní procesu formování tubulární sítě endoplasmatického retikula (Rismanchi *et al.*, 2008). Mutace v RHD3 způsobuje tedy vznik abnormálně utvářené tubulární sítě endoplasmatického retikula (Zheng *et al.*, 2004) stejně jako je tomu v případě mutace u atlasinu (Rismanchi *et al.*, 2008) díky čemuž lze uvažovat o vzájemné příbuznosti (Hu *et al.*, 2009). RHD3 je také velice důležitý pro správnou morfogenezi Golgiho aparátu, jelikož v přítomnosti *rh3* mutantů je distribuce a motilita Golgiho cisteren změněná (Chen *et al.*, 2011). Podobnou roli má i atlasin v růstových kuželech neuritů (Zhu *et al.*, 2006). Mimoto má RHD3 nezastupitelnou roli v biosyntéze buněčné stěny a organizaci aktinového cytoskeletu (Hu *et al.*, 2003) RHD3 je tedy nezastupitelný v celém vývoji u *Arabidopsis* (Wang *et al.*, 2002) stejně tak jako je atlasin důležitý jak pro údržbu axonu (Zhu *et al.*, 2006) tak pro správný vývoj synapse (Lee *et al.*, 2009)

3.2 Membránově asociovaná guanylátová kináza – MAGUK

MAGUK patří do velké rodiny strukturních proteinů, které hrají esenciální role ve vývoji tkání, mezibuněčné komunikaci, kontrole buněčné polarity a v buněčné signalizaci. Pro MAGUK proteiny je podstatná jejich GUK doména. Nicméně i přes rozsáhlé studie je naše pochopení této domény slabé (Zhu *et al.*, 2011). MAGUK se v podstatě skládá z PDZ, SH3 a GUK domény v tandemovém uspořádání, ačkoliv se mohou vyskytovat i další domény v závislosti na třídě proteinu. Vliv na strukturu a funkci vyplývající z tandemového uspořádání je nejasný (Pan *et al.*, 2011). MAGUK proteiny byly rozděleny do několika tříd v závislosti na struktuře, počtu a umístění jednotlivých domén (Obrázek 3).



Obrázek 3: Doménové uspořádání jednotlivých proteinových tříd rodiny MAGUK s vyznačeným možným rostlinným homologem, převzato (de Mendoza *et al.*, 2010)

Jedná se o kalcium/kalmodulin dependentní protein kinázu (CAISK), palmitovaný membránový protein (MPP), zona occludens (ZO), rodinu kaspásových domén (CARMA), Disc large Homolog (Dlg), β -podjednotku vápenatého kanálu (CACNB) a membránově asociovanou guanylátová kinázu s invertovanou repeticí (MAGI). Všechny tyto třídy obsahují jednu nebo několik PDZ domén, s výjimkou CANCB, dále katalycky inaktivní guanylátovou kinázu (GUK) a Src homolog 3 (SH3) až na MAGI. Členové třídy MAGI mají na místo SH3 domény přítomny dvě WW (konservované Trp zbytky) domény. Navíc jsou tyto domény situovány downstream od GUK čímž se liší oproti ostatním. Výše vyjmenované motivy slouží v MAGUK k protein-proteinovým interakcím (de Mendoza *et al.*, 2010).

3.2.1 Protein z *Hordeum vulgare subsp. Vulgare*, možný rostlinný zástupce třídy Dlg-MAGUK

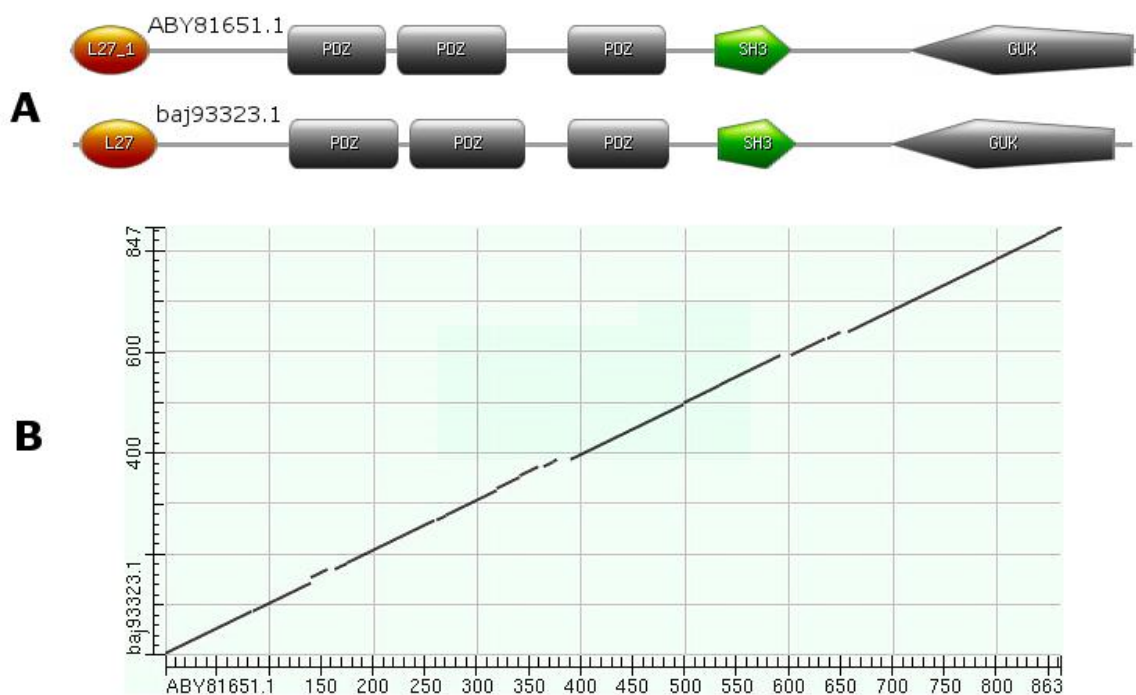
Ke zjištění zda existuje nějaký rostlinný homolog k proteinové rodině MAGUK jsem postupně použil zástupce jednotlivých tříd pro hledání sekvenční homologie za pomoci metody Blast (Altschul *et al.*, 1990).

Použil jsem program blastp (<http://blast.stva.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) ve výchozím nastavení. Možné homology jsem vyhledával v nr databázi Viridiplantae. Jediný možný kandidát byl nalezen u třídy Dlg-MAGUK (Tab 2).

Tabulka 2: Tabulka nejlepších výsledků BLASTu Dlg4 proti databázi rostlin (Viridiplantae)

Protein	Max skóre	Total skóre	Query cover	E value	Identita	Přístupové číslo
Predicted protein [Hordeum vulgare subsp. Vulgare]	546	546	97%	4e-180	39%	BAJ93323.1
Guanylate kinase [Medicago truncatula]	120	120	22%	2e-27	39%	XP 003625153.1
Guanylate kinase-like protein [Medicago truncatula]	120	120	22%	2e-27	39%	KEH23661.1
Guanylate kinase [Medicago truncatula]	121	121	22%	2e-27	39%	XP 003625152.1
Guanylate kinase-like protein [Medicago truncatula]	120	120	22%	3e-27	39%	KWH23662.1

Jedná se o predikovaný protein z *Hordeum vulgare* subsp. *Vulgare*. Sekvence tohoto proteinu byla získána sekvencí 24 783 nukleotidů dlouhé cDNA (Matsumoto *et al.*, 2011). Pro zjištění zda se skutečně jedná o sekvenčního homologa byl proveden PSI-Blast ve výchozím nastavení (Altschul *et al.*, 1997) s touto proteinovou sekvencí přístupovým číslem BAJ93323, jakožto dotazem (query) proti databázi živočichů (nr Animalia). Výstupem této metody byl zisk proteinu ApSAP z *Aplysia californica*, který patří do Dlg-MAGUK třídy (Reissner *et al.*, 2008). ApSAP o celkové délce 863 aminokyselin sdílí s predikovaným proteinem o celkové délce 847 aminokyselin 46% sekvenční identitu (po celé délce). Následně vytvořený dotplot ukazuje, že by se skutečně mohlo jednat o homologní proteiny. Pro třídu Dlg-MAGUK je typické uspořádání konzervovaných domén v pořadí L27-(PDZ)₃-SH3-GUK (de Mendoza *et al.*, 2010). Tomuto uspořádání odpovídá jak ApSAP (Reissner *et al.*, 2008) tak predikovaného proteinu. (Obrázek 4).



Obrázek 4: A) doménové uspořádání, vytvořeno pomocí MyDomains (<http://prosite.expasy.org/mydomains>); B) dotplot
 ABY81651.1 – ApSAP; baj93323.1 – predikovaný protein z *Hordeum vulgare* subsp. *vulgare*

Jelikož je zde zjevná homologie, lze tedy předpokládat, že predikovaný protein bude mít podobnou roli v rostlinném organismu jako má ApSAP u *Aplysia californica*. ApSAP je homologní s PSD-like MAGUK proteiny (Reissner *et al.*, 2008), které mají funkci v regulaci bazální synaptické transmise a synaptické plasticity (Xu, 2011). Nicméně na rozdíl od

PSD-95 se ApSAP neváže na NMDA receptory nýbrž se váže k AKv1.1 což je draselný kanál. Zdá se, že tato změna je způsobena vlastnostmi receptoru, neboť ApSAP se u savců váže k NMDA receptorů. Dlg4 u *Drosophily* má i další funkce, mezi něž patří uspořádání draselných kanálů, je potřebný pro správnou strukturu synapsí a také je důležitý pro synaptické funkce a pro strukturní plasticitu neuromuskulárních spojů (Reissner *et al.*, 2008). Vzhledem k existenci homologie mezi ApSAP a Dlg-MAGUKy lze tedy předpokládat, že v případě predikovaného proteinu se bude také jednat o důležitý prvek při vzniku rostlinných synapsí. Ať už se jedná o regulaci buněčného růstu, cytoskeletální organizaci či údržbu synaptických spojů je potřeba pro objasnění jeho funkce dalších studií.

3.3 RIM-vázající protein, funkční spojení mezi fúzním aparátem synaptického váčku a Ca²⁺ kanály

Sekrece neurotransmiterů je spouštěna přítokem Ca²⁺ iontů skrz napětím ovládané kanály. Přítomnost Ca²⁺ iontů v cytoplasmě spouští fúzní reakci mezi váčkem a plasmatickou membránou (Hibino *et al.*, 2002). Předpokládalo se, že fúzní aparát na presynaptické membráně je propojen na molekulární úrovni s Ca²⁺ kanály (Mittelstaedt and Schoch, 2007). Jako vhodný kandidát, který by mohl tvořit funkční a strukturní spojení mezi Ca²⁺ kanály a vázacího aparátu synaptického váčku se jeví RIM-BP rodina proteinů (Wang *et al.*, 2000). RIM-vázající proteiny simultánně interagují s L- a N- typem Ca²⁺ kanálů a s proteiny RIM. RIM-BP jsou velké multidoménové proteiny. Všechny RIM-BP obsahují tři SH3 domény, dvě nebo tři sousedící domény typu fibronectin III a specifické úseky na N koncích a mezi doménami. SH3 domény RIM-BP se vážou na RIM proteiny a na $\alpha_{1D/F}$ a $\alpha_{1B/A}$ podjednotky Ca²⁺ kanálů. RIMs-BP jsou ideální kandidát, kteří by sloužili jako bifunkční spojení mezi různými typy Ca²⁺ kanálů a uvolňovacího aparátu synaptických váčků. Navíc jejich doménové uspořádání napovídá, že tvoří lešení pro další regulační proteiny. Pokud tedy zvážíme doménové uspořádání a identifikované interakce s Ca²⁺ kanály a RIM proteiny, můžeme se domnívat, že RIM-BP hrají podstatnou roli v molekulárním propojení vázacího a fúzního aparátu synaptických váčků (Mittelstaedt and Schoch, 2007).

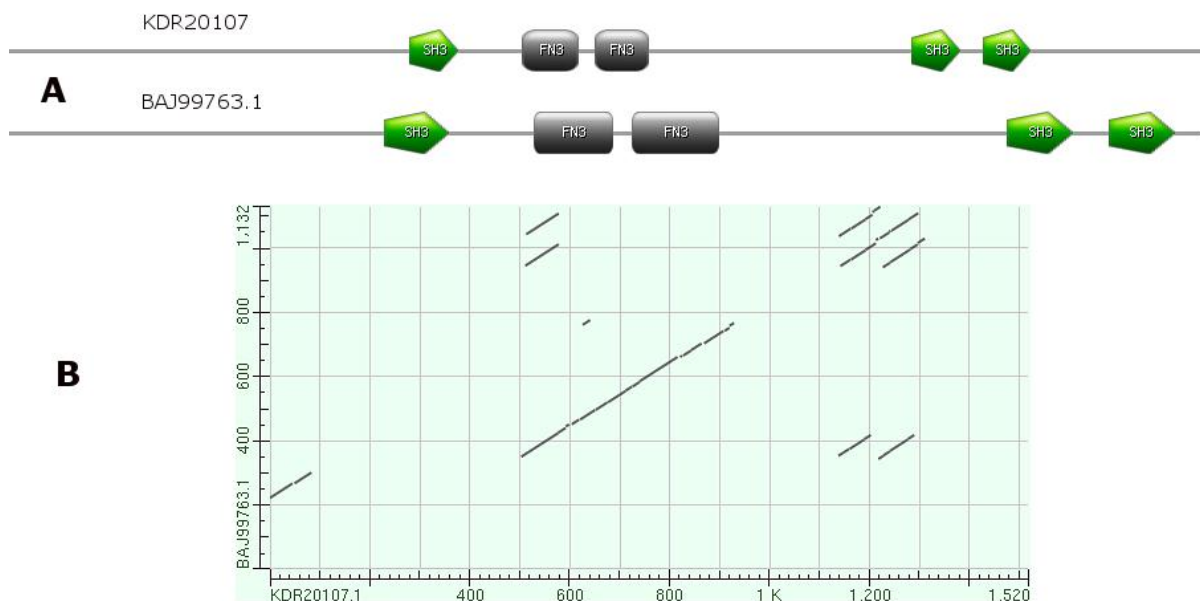
3.3.1 Možný rostlinný homolog RIM-BP

Při hledání zda existuje homologní rostlinný protein k RIM-BP jsem použil metodu Blast (Altschul *et al.*, 1990). Pro vyhledávání jsem zachoval výchozí parametry. Jako dotaz (query) proti rostlinné databázi (nr Viridiplantae) jsem použil RIMs-vázající protein 2 z *Homo sapiens* (Mittelstaedt and Schoch, 2007) s přístupovým číslem NP_056162, o celkové délce 1052 aminokyselin. Výsledek byl získán predikovaného proteinu z ječmenu *Hordeum vulgare subsp. vulgare* (Tab 3) s přístupovým číslem BAJ99763, který byl získán sekvenční analýzou (Matsumoto *et al.*, 2011).

Tabulka 3: Souhrnná tabulka ze začátku výsledků Blastu RIMs-BP 2 proti databázi rostlin (Viridiplantae)

Protein	Max skoré	Total skoré	Query cover	E value	Identita	Přístupové číslo
Predicted protein [Hordeum vulgare subsp. Vulgare]	209	644	63%	2e-53	31%	BAJ99763.1
Hypothetical protein SELMOD-RAFT 444263 [Selaginella moellendorffii]	50.1	50.1	19%	5e-04	25%	XP 002979645.1
Hypothetical protein SELMOD-RAFT 446250 [Selaginella moellendorffii]	48.1	48.1	19%	0.002	25%	XP 002985348.1
Hypothetical protein [Oryza sativa Japonica group]	37.4	37.4	16%	3.2	29%	AAT77887.1

Predikovaný protein o celkové délce 1132 aminokyselin, sdílí s RIMs-vázajícím proteinem 2 31% sekvencí identitu. Pro ověření, zda by se opravdu mohlo jednat o možného rostlinného sekvenčního homologa byl proveden PSI-Blast, ve výchozím nastavení (Altschul *et al.*, 1997) se sekvencí predikovaného proteinu jakožto dotazem (query) proti databázi živočichů (nr Animalia). Byl nalezen sekvenční homolog RIMs-vázající protein 2 u *Zootermopsis nevadensis*. Jedná se o termita z čeledi Termopsidae. Tento protein s přístupovým číslem KDR20107 o celkové délce 1520 aminokyselin sdílí s predikovaným proteinem 36% sekvencí homologii. Při pohledu na doménové uspořádání těchto proteinů (Obrázek 5), se můžeme domnívat, že by se opravdu mohlo jednat o možného rostlinného homologa RIM-BP.



Obrázek 5: A) doménové vytvořeno pomocí MyDomains (<http://prosite.expasy.org/mydomains>);
 B) dotplot
 KDR20107.1 – RIMs-BP 2; BAJ99763.1 – predikovaný protein z *Hordeum vulgare* subsp. *vulgare*

Zjištění že RIM-BP tvoří komplex s RIM proteiny v aktivní zóně presynapse a objev toho, že se RIM-BP vážkou k Ca^{2+} kanálům napovídá, že by tyto RIM-BP mohli sloužit k odvádění Ca^{2+} kanálů do aktivní zóny presynapse (Wang *et al.*, 2000; Hibino *et al.*, 2002). Potřeba vápenatých iontů pro vrcholový v pylových láčkách je již dlouho známa (Roy *et al.*, 1999). Je tedy možné, že právě tyto zatím neobjevené rostlinné RIM-BP by mohli být zodpovědné za dopravu Ca^{2+} kanálů na vrchol rostoucí pylové láčky. Ověření této hypotézy bude nicméně náročné ale zároveň i vzrušující.

3.4 Munc13 zprostředkovává priming synaptických váčků

Rodina UNC-13/Munc13 proteinů patří mezi základní komponenty presynaptické aktivní zóny. Tyto proteiny jsou esenciální jak pro vyvolané tak spontánní uvolnění synaptických váčků (Augustin *et al.*, 1999). Podle studií, které byly provedeny na členech UNC-13 proteinové rodiny, bylo zjištěno, že tyto molekuly se účastní primovacího kroku v cyklu synaptického váčku. Naprimování se navíc zdá jako esenciální a rychlostně limitující krok v regulované exocytóze. Většina synapsí je absolutně závislá na přítomnosti UNC-13 nebo jeho savčích homologů Munc13 (Augustin *et al.*, 1999; Aravamudan *et al.*, 1999).

UNC-13 byl identifikován u *C. elegans* jakožto gen, který kóduje diacylglycerol vázající protein. Tento protein byl pojmenován uncoordinated protože, hád'átka s mutací v UNC-13 vykazovali nekoordinovaný pohyb. (Maruyama and Brenner, 1991). U savců bylo popsáno 5 Munc13 genů. Munc13-1, -2 a -3 jsou velké proteiny, které jsou primárně exprimovány v mozku zatímco Munc13-4 a BAP3 kódují menší proteiny, jenž se primárně vyskytují mimo mozek (Brose *et al.*, 1995; Song *et al.*, 1998; Koch *et al.*, 2000). Nyní byl identifikován i rostlinný ortholog, který byl pojmenován PATROL1 (Hashimoto-Sugimoto *et al.*, 2013).

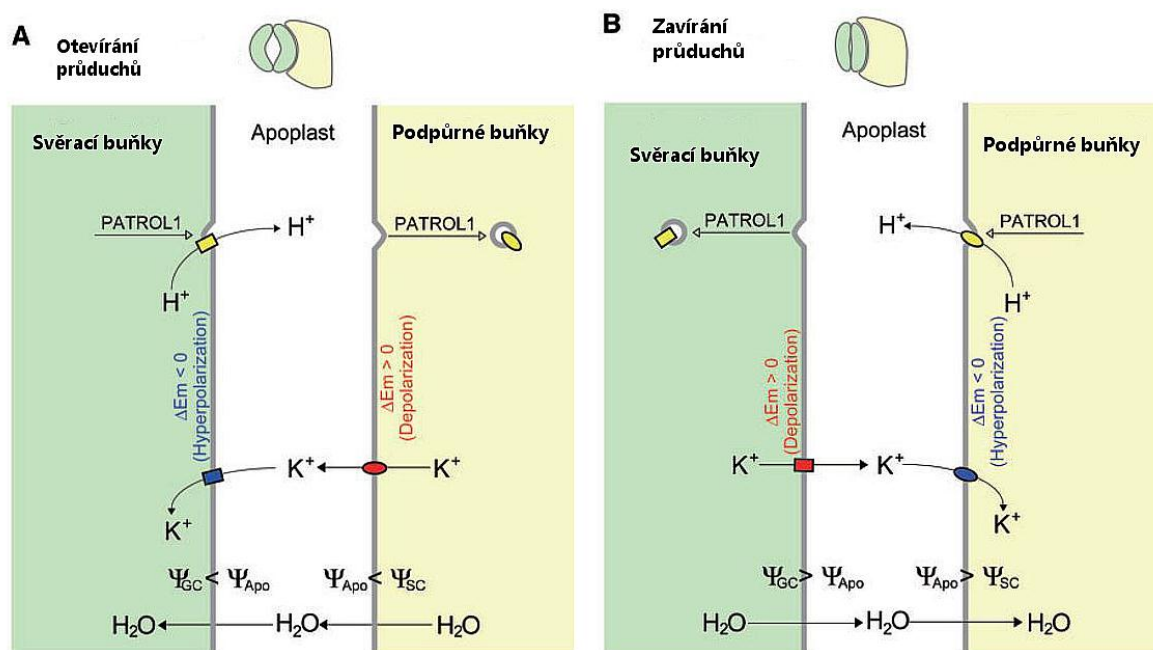
3.4.1 PATROL1 ortholog savčího Munc13 zprostředkovává translokaci H⁺-ATPáz

PATROL1 je rostlinný ortholog savčího Munc13 (Hashimoto-Sugimoto *et al.*, 2013). Tento protein byl původně popsán jako recesivní mutant *ht2* u *Arabidopsis*. Tento protein byl získán při hledání mutantního fenotypu HT1 kinázy, kvůli studiu molekulárních procesů které zprostředkovávají signalizaci CO₂ ve svěracích buňkách průduchů (Hashimoto *et al.*, 2006). Mutant *ht2* byl následně přejmenován na PATROL1 (Hashimoto-Sugimoto *et al.*, 2013). PATROL1 je 1101 aminokyselin dlouhý protein s MUN doménou (Tabata *et al.*, 2000). Právě tato α -helikální MUN doména u Munc13 je zodpovědná za urychlení přechodu z komplexu uzavřeného syntaxinu s Munc18-1 na SNARE komplex. MUN doména je taktéž potřebná pro aktivitu Munc13-1 při primování synaptického váčku (Ma *et al.*, 2011; Basu *et al.*, 2005). Proteiny s MUN doménou známé u živočichů a hub navíc ještě obsahují C₂ domény, díky čemuž se dá usuzovat, že hrají určitou roli v regulaci Ca²⁺ závislé exocytóze (Pei *et al.*, 2009). Munc13 je kromě své MUN domény (Basu *et al.*, 2005) tvořen ještě phorbol ester vázající C₁ doménou a dvěma Ca²⁺ a fosfolipidy vázajícími C₂ doménami (Brose *et al.*, 1995; Augustin *et al.*, 1999). Rostlinné proteiny obsahující MUN doménu jsou relativně malé a neobsahují žádnou další známou doménu kromě MUN (Pei *et al.*, 2009). Z tohoto lze soudit, že rostlinné Munc13 podobné proteiny nevyžadují k aktivaci navázání Ca²⁺ nebo jsou aktivovány dosud neobjevenými Ca²⁺ komponenty (Hashimoto-Sugimoto *et al.*, 2013).

PATROL1 je lokalizován s endosomem odkud je dopravován na plasmatickou membránu a zpět v odpovědi na změnu prostředí. Ukázalo se že PATROL1 hraje roli při růstu a odpovědi průduchů na podmínky okolí a to regulací H⁺-ATPáz. Otázkou je jak tyto H⁺-ATPázy reguluje. Zjistilo se že PATROL1 slouží k navádění H⁺-ATPáz na plasmatickou membránu svěracích buněk průduchů. Nonsense mutace před MUN doménou způsobuje, že jsou

H⁺-ATPázy rozmístěny na plasmatické membráně nepravidelně. Toto špatné rozmístění H⁺-ATPáz u mutanta *patrol1* podporuje teorii, že translokace H⁺-ATPáz na plasmatickou membránu je pod kontrolu PATROL1. Navíc se zdá že PATROL1 by mohl nepřímo ovlivňovat i produkci biomasy. Velikost biomasy je závislá na správné funkci průduchů, ke které je potřeba správné množství H⁺-ATPáz které jsou translokovány právě PATROL1. Zajímavé by mohlo být zjistit, zda by se dala zvýšit produkce biomasy vhodnou manipulací PATROL1 (Hashimoto-Sugimoto *et al.*, 2013).

Kromě svěracích buněk průduchů byl PATROL1 lokalizován i v podpůrných buňkách, kde se nejspíše podílí také na přenosu H⁺-ATPáz stejně jako ve svěracích buňkách. Díky přítomnosti PATROL1 jak ve svěracích tak v podpůrných buňkách průduchů byl představen rozšířený model přenosu iontů a transferu vody mezi buňkami během otevírání a zavírání průduchů (Obrázek 6). V případě otevírání průduchů dochází k translokaci H⁺-ATPáz na plasmatickou membránu svěracích buněk za pomoci PATROL1 a zároveň dochází k internalizaci H⁺-ATPáz na membráně podpůrných buněk taktéž za pomoci PATROL1. Následně jsou uvolněny draselné ionty z podpůrných buněk depolarizací aktivovanými kanály a vstupují do svěracích buněk hyperpolarizací aktivovanými kanály. Toto vyústí ke změně vodního potenciálu mezi buňkami a přenosu vody z buněk podpůrných do buněk svěracích. Průběh reakcí při zavírání průduchů je analogický jen probíhá opačně (Higaki *et al.*, 2014). Ukazuje se tedy že PATROL1 může hrát důležitou roli při otevírání průduchů (Hashimoto-Sugimoto *et al.*, 2013).



Obrázek 6: Model přenosu iontů a transferu vody mezi svěracími a podpůrnými buňkami. Vysvětlení v textu; převzato (Higaki *et al.*, 2014)

4. Závěr

Již Charles a Francis Darwin v jejich knize *The power of movement in plants* vydané roku 1880, postulovali, že kořenová špička se chová jako mozek nižších živočichů, jejichž mozek je umístěn v přední části těla, kde získává informace ze sensorických orgánů (Darwin and Darwin, 1880; str. 572-73). Možnost existence rostlinných synapsí je stále velmi diskutované téma. Koncept synaptického přenosu informací nám však pomáhá, vysvětlí takové pochody rostlin jako je např. interakce se symbiotickými bakteriemi za pomoci imunologických synapsí (Baluška *et al.*, 2005). Existenci rostlinných synapsí podporuje i fakt že bylo v genomu *Arabidopsis* identifikováno 6 homologů synaptického proteinu synaptotagminu (Craxton, 2004) Tato práce si kladla za cíl vyhledat literární údaje o známých či dosud neobjevených možných homologích proteinů spojených se synapsí u rostlin.

RHD3 se ukazuje být orthologem synaptického proteinu atlastinu (Hu *et al.*, 2009). Oba proteiny RHD3 i Atlastin spolu sdílí příbuzné mutantní fenotypy, který se projevuje kratšími kořenovými vlásky a axony, které vykazují vlnitý vzhled (Galway *et al.*, 1997; Reid, 2003). Protein RHD3 si však zasluhuje další charakterizaci, abychom byli schopni plně porozumět jak jeho vlivu na rostlinou buňku tak jeho regulaci.

U strukturních proteinů třídy Dlg-MAGUK jsem bioinformatickou cestou našel možného kandidáta z řad rostlinných proteinů. Jedná se o predikovaný dosud necharakterizovaný protein z *Hordeum vulgare subsp. vulgare*, který byl získán sekvenací cDNA (Matsumoto *et al.*, 2011). Toto počáteční pozorování však musí být potvrzeno dalšími studii. Podobně je to s druhým predikovaným proteinem z *Hordeum vulgare subsp. vulgare*, který byl rovněž získán sekvenací cDNA (Matsumoto *et al.*, 2011). Tento protein jeví jistou homologie s RIM-BP 2 který slouží jako bifunkční spojení mezi Ca²⁺ kanály a fúzním aparátem buňky (Mittelstaedt and Schoch, 2007). Opět jako v případě předpokládaného homologa Dlg-MAGUK je potřeba toto pozorování ověřit. U obou proteinů je tedy zapotřebí dalšího výzkumu, který sice bude náročný, ale bude velmi přínosný.

Posledním proteinem byl PATROL1 který je nedávno objeveným orthologem Munc13. U tohoto proteinu bylo zjištěno, že se na rozdíl od Munc13 neúčastní váčkového transportu, ale nejspíše je jedním z hlavních regulátorů otevírání průduchů (Hashimoto-Sugimoto *et al.*, 2013; Higaki *et al.*, 2014). Nicméně o tomto proteinu se zatím ví málo a podle mého názoru nás při jeho charakterizaci čeká ještě řada objevů.

5. Reference

- Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W. and Lipman, D.J.** (1990) Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.*, **215**, 403–10. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2231712> [Accessed July 10, 2014].
- Altschul, S.F., Madden, T.L., Schäffer, A.A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W. and Lipman, D.J.** (1997) Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res.*, **25**, 3389–402. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=146917&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed July 9, 2014].
- Aravamudan, B., Fergestad, T., Davis, W.S., Rodesch, C.K. and Broadie, K.** (1999) Drosophila UNC-13 is essential for synaptic transmission. *Nat. Neurosci.*, **2**, 965–71. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10526334> [Accessed August 10, 2014].
- Augustin, I., Rosenmund, C., Südhof, T.C. and Brose, N.** (1999) Munc13-1 is essential for fusion competence of glutamatergic synaptic vesicles. *Nature*, **400**, 457–61. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10440375>.
- Baluska, F., Volkmann, D. and Menzel, D.** (2005) Plant synapses: actin-based domains for cell-to-cell communication. *Trends Plant Sci.*, **10**, 106–11. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15749467> [Accessed July 11, 2014].
- Baluska, F., Wojtaszek, P., Volkmann, D. and Barlow, P.** (2003) The architecture of polarized cell growth: the unique status of elongating plant cells. *Bioessays*, **25**, 569–76. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12766946> [Accessed April 13, 2014].
- Baluška, F., Volkmann, D. and Menzel, D.** (2005) Plant synapses: actin-based domains for cell-to-cell communication. *Trends Plant Sci.*, **10**, 106–111. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15749467> [Accessed February 13, 2013].
- Basu, J., Shen, N., Dulubova, I., Lu, J., Guan, R., Guryev, O., Grishin, N. V., Rosenmund, C. and Rizo, J.** (2005) A minimal domain responsible for Munc13 activity. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **12**, 1017–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16228007> [Accessed August 5, 2014].
- Batley, N., James, N., Greenland, A. and Brownlee, C.** (1999) Exocytosis and endocytosis. *Plant Cell*, **11**, 643–60. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=144214&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Blackbourn, H.D. and Jackson, A.P.** (1996) Plant clathrin heavy chain: sequence analysis and restricted localisation in growing pollen tubes. *J. Cell Sci.*, **109** (Pt 4), 777–86. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8718669> [Accessed August 12, 2014].

- Bove, J., Vaillancourt, B., Kroeger, J., Hepler, P.K., Wiseman, P.W. and Geitmann, A.** (2008) Magnitude and direction of vesicle dynamics in growing pollen tubes using spatiotemporal image correlation spectroscopy and fluorescence recovery after photobleaching. *Plant Physiol.*, **147**, 1646–58. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2492615&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed July 30, 2014].
- Brose, N., Hofmann, K., Hata, Y. and Südhof, T.C.** (1995) Mammalian homologues of *Caenorhabditis elegans* unc-13 gene define novel family of C2-domain proteins. *J. Biol. Chem.*, **270**, 25273–80. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7559667> [Accessed August 10, 2014].
- Carol, R.J. and Dolan, L.** (2002) Building a hair: tip growth in *Arabidopsis thaliana* root hairs. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, **357**, 815–21. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1692992&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed August 8, 2014].
- Collins, M.O., Yu, L., Coba, M.P., Husi, H., Campuzano, I., Blackstock, W.P., Choudhary, J.S. and Grant, S.G.N.** (2005) Proteomic analysis of in vivo phosphorylated synaptic proteins. *J. Biol. Chem.*, **280**, 5972–82. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15572359> [Accessed July 31, 2014].
- Craxton, M.** (2004) Synaptotagmin gene content of the sequenced genomes. *BMC Genomics*, **5**, 43. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=471550&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed August 10, 2014].
- Dani, A., Huang, B., Bergan, J., Dulac, C. and Zhuang, X.** (2010) Superresolution Imaging of Chemical Synapses in the Brain. *Neuron*, **68**, 843–856. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896627310009372> [Accessed November 13, 2013].
- Darwin, C. and Darwin, F.** (1880) *The power of movement in plants*. John Murray, London. Available at: <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:The+power+of+movement+in+plants#0> [Accessed August 2, 2014].
- Dolan, L., Duckett, C.M., Grierson, C., Linstead, P., Schneider, K., Lawson, E., Dean, C., Poethig, S. and Roberts, K.** (1994) Clonal relationships and cell patterning in the root epidermis of *Arabidopsis*. , **2474**, 2465–2474.
- Dustin, M.L., Olszowy, M.W., Holdorf, A.D., et al.** (1998) A Novel Adaptor Protein Orchestrates Receptor Patterning and Cytoskeletal Polarity in T-Cell Contacts. *Cell*, **94**, 667–677. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0092867400816086> [Accessed August 3, 2014].
- Fassier, C., Hutt, J.A., Scholpp, S., Lumsden, A., Giros, B., Nothias, F., Schneider-Maunoury, S., Houart, C. and Hazan, J.** (2010) Zebrafish atlastin controls motility and spinal motor axon architecture via inhibition of the BMP pathway. *Nat. Neurosci.*,

- 13, 1380–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20935645> [Accessed August 6, 2014].
- Foster, M., assisted by S.C.** (1897) *A text book of physiology, part three: the central nervous system* 7th edn., London: Macmillan. Available at: https://archive.org/stream/atextbookofphysiolo00fostrich/atextbookofphysiolo00fostrich_djvu.txt
- Friedl, P. and Storim, J.** (2004) Diversity in immune-cell interactions: states and functions of the immunological synapse. *Trends Cell Biol.*, **14**, 557–67. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15450978> [Accessed April 13, 2014].
- Frigerio, L.** (2010) *Plant Exocytosis, Endocytosis and Membrane Recycling in Turgid Cells. In: eLS. John Wiley & Sons Ltd, Chichester.,.*
- Galway, M.E., Heckman, J.W. and Schiefelbein, J.W.** (1997) Growth and ultrastructure of Arabidopsis root hairs: the *rhd3* mutation alters vacuole enlargement and tip growth. *Planta*, **201**, 209–18. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9084218>.
- Gundelfinger, E.D., Kessels, M.M. and Qualmann, B.** (2003) Temporal and spatial coordination of exocytosis and endocytosis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, **4**, 127–39. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12563290> [Accessed July 18, 2014].
- Hashimoto, M., Negi, J., Young, J., Israelsson, M., Schroeder, J.I. and Iba, K.** (2006) Arabidopsis HT1 kinase controls stomatal movements in response to CO₂. *Nat. Cell Biol.*, **8**, 391–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16518390> [Accessed August 10, 2014].
- Hashimoto-Sugimoto, M., Higaki, T., Yaeno, T., et al.** (2013) A Munc13-like protein in Arabidopsis mediates H⁺-ATPase translocation that is essential for stomatal responses. *Nat. Commun.*, **4**, 2215. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3731666&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed August 1, 2014].
- Hauke, V.** (2011) Protein scaffolds in the coupling of synaptic exocytosis and endocytosis. , **12**. *Nat Rev Neurosci.* 2011 March; 12(3): 127–138
- Heese, M., Gansel, X., Sticher, L., Wick, P., Grebe, M., Granier, F. and Jurgens, G.** (2001) Functional characterization of the KNOLLE-interacting t-SNARE AtSNAP33 and its role in plant cytokinesis. *J. Cell Biol.*, **155**, 239–49. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2198836&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed July 30, 2014].
- Heuser, J.E. and Reese, T.S.** (1973) Evidence for recycling of synaptic vesicle membrane during transmitter release at the frog neuromuscular junction. *J. Cell Biol.*, **57**, 315–44. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2108984&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed July 10, 2014].

- Hibino, H., Pironkova, R., Onwumere, O., Vologodskaja, M., Hudspeth, J. and Lesage, F.** (2002) RIM binding proteins (RBPs) couple Rab3-interacting molecules (RIMs) to voltage-gated Ca(2+) channels. *Neuron*, **34**, 411–23. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2151925&tool=pmcentrez&endertype=abstract>.
- Higaki, T., Hashimoto-Sugimoto, M., Akita, K., Iba, K. and Hasezawa, S.** (2014) Dynamics and environmental responses of PATROL1 in Arabidopsis subsidiary cells. *Plant Cell Physiol.*, **55**, 773–80. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24163289> [Accessed August 8, 2014].
- Hoppins, S., Lackner, L. and Nunnari, J.** (2007) The machines that divide and fuse mitochondria. *Annu. Rev. Biochem.*, **76**, 751–80. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17362197> [Accessed March 28, 2014].
- Hu, J., Shibata, Y., Zhu, P.-P., Voss, C., Rismanchi, N., Prinz, W. a, Rapoport, T. a and Blackstone, C.** (2009) A class of dynamin-like GTPases involved in the generation of the tubular ER network. *Cell*, **138**, 549–61. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2746359&tool=pmcentrez&endertype=abstract>.
- Hu, Y., Zhong, R., Morrison, W.H. and Ye, Z.-H.** (2003) The Arabidopsis RHD3 gene is required for cell wall biosynthesis and actin organization. *Planta*, **217**, 912–21. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12844267> [Accessed April 11, 2014].
- Chen, J., Stefano, G., Brandizzi, F. and Zheng, H.** (2011) Arabidopsis RHD3 mediates the generation of the tubular ER network and is required for Golgi distribution and motility in plant cells. *J. Cell Sci.*, **124**, 2241–52. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21652628> [Accessed April 11, 2014].
- Chen, X., Irani, N.G. and Friml, J.** (2011) Clathrin-mediated endocytosis: the gateway into plant cells. *Curr. Opin. Plant Biol.*, **14**, 674–82. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369526611001294> [Accessed July 17, 2014].
- Jockusch, W.J., Praefcke, G.J.K., McMahon, H.T. and Lagnado, L.** (2005) Clathrin-dependent and clathrin-independent retrieval of synaptic vesicles in retinal bipolar cells. *Neuron*, **46**, 869–78. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15953416> [Accessed July 30, 2014].
- Ketelaar, T., Galway, M.E., Mulder, B.M. and Emons, A.M.C.** (2008) Rates of exocytosis and endocytosis in Arabidopsis root hairs and pollen tubes. *J. Microsc.*, **231**, 265–73. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18778424> [Accessed July 27, 2014].
- Koch, H., Hofmann, K. and Brose, N.** (2000) Definition of Munc13-homology-domains and characterization of a novel ubiquitously expressed Munc13 isoform. *Biochem. J.*, **349**, 247–53. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1221144&tool=pmcentrez&endertype=abstract> [Accessed August 10, 2014].

- Kwon, C., Panstruga, R. and Schulze-Lefert, P.** (2008) Les liaisons dangereuses: immunological synapse formation in animals and plants. *Trends Immunol.*, **29**, 159–66. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18325837> [Accessed July 31, 2014].
- Laßek, M., Weingarten, J. and Volkhardt, W.** (2014) The synaptic proteome. *Cell Tissue Res.* Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25038742> [Accessed July 24, 2014].
- Lee, M., Paik, S.K., Lee, M.-J., et al.** (2009) Drosophila Atlastin regulates the stability of muscle microtubules and is required for synapse development. *Dev. Biol.*, **330**, 250–62. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19341724> [Accessed April 12, 2014].
- Lee, Y., Paik, D., Bang, S., Kang, J., Chun, B., Lee, S., Bae, E., Chung, J. and Kim, J.** (2008) Loss of spastic paraplegia gene atlastin induces age-dependent death of dopaminergic neurons in Drosophila. *Neurobiol. Aging*, **29**, 84–94. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17030474> [Accessed April 11, 2014].
- Lewis, J.D. and Lazarowitz, S.G.** (2010) Arabidopsis synaptotagmin SYTA regulates endocytosis and virus movement protein cell-to-cell transport. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **107**, 2491–2496. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2823903&tool=pmcentrez&endertype=abstract> [Accessed February 11, 2013].
- Lin, R.C. and Scheller, R.H.** (2000) Mechanism of Synaptic Vesicle Exocytosis. *Annu. rev. Cell Dev. Biol.* **2000**;16 , 19–49.
- Ma, C., Li, W., Xu, Y. and Rizo, J.** (2011) Munc13 mediates the transition from the closed syntaxin-Munc18 complex to the SNARE complex. *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **18**, 542–9. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3087822&tool=pmcentrez&endertype=abstract> [Accessed July 15, 2014].
- Maruyama, I.N. and Brenner, S.** (1991) A phorbol ester/diacylglycerol-binding protein encoded by the unc-13 gene of *Caenorhabditis elegans*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **88**, 5729–33. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=51951&tool=pmcentrez&endertype=abstract> [Accessed August 10, 2014].
- Matsumoto, T., Tanaka, T., Sakai, H., et al.** (2011) Comprehensive sequence analysis of 24,783 barley full-length cDNAs derived from 12 clone libraries. *Plant Physiol.*, **156**, 20–8. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3091036&tool=pmcentrez&endertype=abstract> [Accessed March 23, 2014].
- Mendoza, A. de, Suga, H. and Ruiz-Trillo, I.** (2010) Evolution of the MAGUK protein gene family in premetazoan lineages. *BMC Evol. Biol.*, **10**, 93. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2859873&tool=pmcentrez&endertype=abstract>.

- Mittelstaedt, T. and Schoch, S.** (2007) Structure and evolution of RIM-BP genes: identification of a novel family member. *Gene*, **403**, 70–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17855024> [Accessed July 31, 2014].
- Morciano, M., Beckhaus, T., Karas, M., Zimmermann, H. and Volkhardt, W.** (2009) The proteome of the presynaptic active zone: from docked synaptic vesicles to adhesion molecules and maxi-channels. *J. Neurochem.*, **108**, 662–75. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19187093> [Accessed July 16, 2014].
- Nicholson-Tomishima, K. and Ryan, T. a** (2004) Kinetic efficiency of endocytosis at mammalian CNS synapses requires synaptotagmin I. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **101**, 16648–52. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=534526&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Pan, L., Chen, J., Yu, J., Yu, H. and Zhang, M.** (2011) The structure of the PDZ3-SH3-GuK tandem of ZO-1 protein suggests a supramodular organization of the membrane-associated guanylate kinase (MAGUK) family scaffold protein core. *J. Biol. Chem.*, **286**, 40069–74. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3220542&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed April 7, 2014].
- Parker, J.S.** (2000) Genetic Interactions during Root Hair Morphogenesis in Arabidopsis. *PLANT CELL ONLINE*, **12**, 1961–1974. Available at: <http://www.plantcell.org/content/12/10/1961.full> [Accessed August 17, 2014].
- Pei, J., Ma, C., Rizo, J. and Grishin, N. V** (2009) Remote homology between Munc13 MUN domain and vesicle tethering complexes. *J. Mol. Biol.*, **391**, 509–17. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3158588&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed August 10, 2014].
- Reid, E.** (2003) Science in motion: common molecular pathological themes emerge in the hereditary spastic paraplegias. *J. Med. Genet.*, **40**, 81–6. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1735361&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Reissner, K.J., Boyle, H.D., Ye, X. and Carew, T.J.** (2008) Aplysia synapse associated protein (APSAP): identification, characterization, and selective interactions with Shaker-type potassium channels. *J. Neurochem.*, **105**, 1006–18. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3909683&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed April 13, 2014].
- Rismanchi, N., Soderblom, C., Stadler, J., Zhu, P.-P. and Blackstone, C.** (2008) Atlantin GTPases are required for Golgi apparatus and ER morphogenesis. *Hum. Mol. Genet.*, **17**, 1591–604. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2902292&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed April 12, 2014].
- Roy, S., Holdaway-Clarke, T., Hackett, G., Kunkel, J., Lord, E. and Hepler, P.** (1999) Uncoupling secretion and tip growth in lily pollen tubes: evidence for the role of calcium

- in exocytosis. *Plant J.*, **19**, 379–86. Available at:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10504560>.
- Salanoubat, M., Lemcke, K., Rieger, M., et al.** (2000) Sequence and analysis of chromosome 3 of the plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature*, **408**, 820–2. Available at:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11130713> [Accessed August 4, 2014].
- Salinas, S., Proukakis, C., Crosby, A. and Warner, T.T.** (2008) Hereditary spastic paraplegia: clinical features and pathogenetic mechanisms. *Lancet Neurol.*, **7**, 1127–38. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19007737> [Accessed March 19, 2014].
- Shen, Q., Uknes, S.J. and Ho, T.H.** (1993) Hormone response complex in a novel abscisic acid and cycloheximide-inducible barley gene. *J. Biol. Chem.*, **268**, 23652–60. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8226892>.
- Scheele, U. and Holstein, S.E.H.** (2002) Functional evidence for the identification of an *Arabidopsis* clathrin light chain polypeptide. *FEBS Lett.*, **514**, 355–60. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11943181> [Accessed August 12, 2014].
- Schiefelbein, J.W. and Somerville, C.** (1990) Genetic Control of Root Hair Development in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, **2**, 235–243. Available at:
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=159880&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Schmid, S.L.** (1997) Clathrin-coated vesicle formation and protein sorting: an integrated process. *Annu. Rev. Biochem.*, **66**, 511–48. Available at:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9242916>.
- Song, Y., Ailenberg, M. and Silverman, M.** (1998) Cloning of a novel gene in the human kidney homologous to rat munc13s: its potential role in diabetic nephropathy. *Kidney Int.*, **53**, 1689–95. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9607201> [Accessed August 10, 2014].
- Stack, J.H., Horazdovsky, B. and Emr, S.D.** (1995) Receptor-mediated protein sorting to the vacuole in yeast: roles for a protein kinase, a lipid kinase and GTP-binding proteins. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, **11**, 1–33. Available at:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8689553> [Accessed April 12, 2014].
- Staelin, L.A. and Moore, I.** (1995) The Plant Golgi Apparatus: Structure, Functional Organization and Trafficking Mechanisms. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, **46**, 261–288. Available at:
<http://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.pp.46.060195.001401?journalCode=arplant.2> [Accessed April 1, 2014].
- Tabata, S., Kaneko, T., Nakamura, Y., et al.** (2000) Sequence and analysis of chromosome 5 of the plant *Arabidopsis thaliana*. *Nature*, **408**, 823–6. Available at:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11130714>.

- Takei, K., Mundigl, O., Daniell, L. and Camilli, P. De** (1996) The synaptic vesicle cycle: a single vesicle budding step involving clathrin and dynamin. *J. Cell Biol.*, **133**, 1237–50. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2120898&tool=pmcentrez&endertype=abstract>.
- Taraska, J.W., Perrais, D., Ohara-Imaizumi, M., Nagamatsu, S. and Almers, W.** (2003) Secretory granules are recaptured largely intact after stimulated exocytosis in cultured endocrine cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **100**, 2070–5. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=149960&tool=pmcentrez&endertype=abstract>.
- Voeltz, G.K., Prinz, W.A., Shibata, Y., Rist, J.M. and Rapoport, T.A.** (2006) A class of membrane proteins shaping the tubular endoplasmic reticulum. *Cell*, **124**, 573–86. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16469703> [Accessed March 24, 2014].
- Volkov, A.G., O’Neal, L., Volkova, M.I. and Markin, V.S.** (2013) Morphing structures and signal transduction in *Mimosa pudica* L. induced by localized thermal stress. *J. Plant Physiol.*, **170**, 1317–27. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23747058> [Accessed November 11, 2013].
- Wang, H., Lee, M.M. and Schiefelbein, J.W.** (2002) Regulation of the Cell Expansion Gene RHD3 during Arabidopsis development. *Plant Physiol*, **129**(2), 638–649.
- Wang, H., Lockwood, S.K., Hoeltzel, M.F. and Schiefelbein, J.W.** (1997) The ROOT HAIR DEFECTIVE3 gene encodes an evolutionarily conserved protein with GTP-binding motifs and is required for regulated cell enlargement in Arabidopsis. *Genes Dev.*, **11**, 799–811. Available at: <http://www.genesdev.org/cgi/doi/10.1101/gad.11.6.799> [Accessed April 2, 2014].
- Wang, Y., Sugita, S. and Sudhof, T.C.** (2000) The RIM/NIM family of neuronal C2 domain proteins. Interactions with Rab3 and a new class of Src homology 3 domain proteins. *J. Biol. Chem.*, **275**, 20033–44. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10748113> [Accessed July 31, 2014].
- Xu, J., Luo, F., Zhang, Z., Xue, L., Wu, X.-S., Chiang, H.-C., Shin, W. and Wu, L.-G.** (2013) SNARE proteins synaptobrevin, SNAP-25, and syntaxin are involved in rapid and slow endocytosis at synapses. *Cell Rep.*, **3**, 1414–21. Available at: <http://www.cell.com/article/S2211124713001174/fulltext> [Accessed July 29, 2014].
- Xu, W.** (2011) PSD-95-like membrane associated guanylate kinases (PSD-MAGUKs) and synaptic plasticity. *Curr. Opin. Neurobiol.*, **21**, 306–12. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3138136&tool=pmcentrez&endertype=abstract> [Accessed November 11, 2013].
- Yuen, C.Y.L., Sedbrook, J.C., Perrin, R.M., Carroll, K.L., Masson, P.H. and Sciences, B.** (2005) Loss-of-Function Mutations of ROOT HAIR DEFECTIVE3 Suppress Root Waving, Skewing, and Epidermal Cell File Rotation in Arabidopsis 1. , **138**, 701–714.

- Zárský, V., Cvrcková, F., Potocký, M. and Hála, M.** (2009) Exocytosis and cell polarity in plants - exocyst and recycling domains. *New Phytol.*, **183**, 255–72. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19496948> [Accessed March 5, 2013].
- Zheng, H., Kunst, L., Hawes, C. and Moore, I.** (2004) A GFP-based assay reveals a role for RHD3 in transport between the endoplasmic reticulum and Golgi apparatus. *Plant J.*, **37**, 398–414. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.1365-313X.2003.01969.x> [Accessed April 12, 2014].
- Zhu, J., Shang, Y., Xia, C., Wang, W., Wen, W. and Zhang, M.** (2011) Guanylate kinase domains of the MAGUK family scaffold proteins as specific phospho-protein-binding modules. *EMBO J.*, **30**, 4986–97. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3243629&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed April 7, 2014].
- Zhu, P.-P., Soderblom, C., Tao-Cheng, J.-H., Stadler, J. and Blackstone, C.** (2006) SPG3A protein atlastin-1 is enriched in growth cones and promotes axon elongation during neuronal development. *Hum. Mol. Genet.*, **15**, 1343–53. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16537571> [Accessed April 12, 2014].