·论著·

钙调蛋白突变体D130V与心肌$Ca_V1.2$通道IQ基序的相互作用

唐路红[1],刘忆芳[1],潘雪婷[1],邢英美[1],郝丽英[2],苏敬阳[1,2]
(中国医科大学药学院 1.临床药理学教研室;2.药物毒理学教研室,沈阳 110122)

摘要 目的 探讨钙调蛋白(CaM)突变体D130V与心肌$Ca_V1.2$通道IQ基序的结合作用。**方法** 采用折叠识别建模、同源建模和蛋白对接方法预测突变体CaM-D130V与IQ基序的结合;利用42 ℃精确热击法将质粒转化至大肠杆菌BL-21感受态细胞中,诱导GST融合蛋白表达;超声破碎法提取蛋白,GS-4B beads纯化、PreScission蛋白酶切除GST标签;利用SDS-PAGE检测蛋白纯度;GST pull-down 实验检测CaM-D130V与IQ基序的相互作用。**结果** 蛋白对接结果表明,CaM-WT、CaM-D130V与心肌$Ca_V1.2$通道IQ基序均具有结合作用,但与CaM-WT相比,突变体CaM-D130V与IQ基序的结合位点减少,且结合构象发生变化,结合能减小(|S|由48.086 6 kcal/mol下降至47.309 5 kcal/mol)。GST pull-down实验结果显示,在2 mmol/L Ca^{2+}浓度下,与CaM-WT相比,CaM-D130V与IQ基序的结合量显著减少($P < 0.01$),亲和力显著降低。**结论** CaM-D130V与心肌$Ca_V1.2$通道IQ基序的结合能力降低,可能导致$Ca_V1.2$通道功能改变,为探讨CaM突变体相关的心血管疾病的发病机制和靶向治疗提供理论依据。

关键词 钙调蛋白;突变体;心肌$Ca_V1.2$通道;结合能力;长QT综合征
中图分类号 R96 **文献标志码** A **文章编号** 0258-4646(2025)04-0306-06
网络出版地址 https://link.cnki.net/urlid/21.1227.r.20250409.1654.026
DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2025.04.004

Interaction between calmodulin mutant D130V and IQ motif of cardiac $Ca_V1.2$ channel

TANG Luhong[1], LIU Yifang[1], PAN Xueting[1], XING Yingmei[1], HAO Liying[2], SU Jingyang[1,2]
(1. Department of Clinical Pharmacology, School of Pharmacy, China Medical University, Shenyang 110012, China; 2. Department of Pharmaceutical Toxicology, School of Pharmacy, China Medical University, Shenyang 110012, China)

Abstract Objective To investigate the binding interaction between the calmodulin (CaM) mutant D130V and the IQ motif of the cardiac $Ca_V1.2$ channel. **Methods** The binding of mutant CaM-D130V to the IQ motif was predicted by fold recognition modeling, homology modeling, and protein docking. The plasmid was transformed into *Escherichia coli* BL-21 sensory cells via heat shock at 42 ℃ to induce the expression of glutathione S-transferase (GST) fusion protein. The protein was extracted by ultrasonic fragmentation and purified using GS-4B beads. PreScission protease was applied to remove the GST. SDS-PAGE was performed to detect the purity of protein. A GST pull-down assay was conducted to detect the interaction between CaM-D130V and IQ motif. **Results** Protein docking results showed that both CaM-WT and CaM-D130V could bind to the IQ motif of the cardiac $Ca_V1.2$ channel, but the binding sites of the mutant CaM-D130V to the IQ motif were reduced, and its binding conformation was changed compared with the CaM-WT, with decreased binding energy (|S| reduced from 48.086 6 kcal/mol to 47.309 5 kcal/mol). The GST pull-down assay indicated that the binding of CaM-D130V to IQ motif significantly decreased ($P < 0.01$), and the affinity was significantly reduced at 2 mmol/L Ca^{2+} concentration compared with CaM-WT. **Conclusion** The reduced binding ability of CaM-D130V to the IQ motif of the cardiac $Ca_V1.2$ channel may contribute to functional alterations in the channel. These findings provide a theoretical basis for understanding the pathogenesis of CaM mutant-associated cardiovascular diseases as well as targeted therapies.

Keywords calmodulin; mutant; cardiac $Ca_V1.2$ channel; binding ability; long QT syndrome

电压门控钙通道是一种多聚跨膜离子通道蛋白,由α1、β和α2δ亚基组成,部分含有γ亚基,广泛分布于神经、肌肉和分泌细胞膜上。电压门控钙通道能够介导Ca^{2+}内流,响应细胞膜去极化,并调节细胞内的基本生物过程,如神经递质和激素的分泌和释放、动作电位的形成、兴奋-收缩偶联以及兴奋-转录耦联等[1]。在心肌中,$Ca_V1.2$通道占主导地位,是Ca^{2+}进入细胞的最重要渠道。当细胞内Ca^{2+}浓度发生变化时,$Ca_V1.2$通道的开放和关闭动力学随之改变,主要包括钙依赖性失活(Ca^{2+}-dependent inactivation,

基金项目: 辽宁省自然科学基金(2022-BS-139);中国博士后科学基金(2021M693914)
作者简介: 唐路红(2000-),女,硕士研究生.
通信作者: 苏敬阳,E-mail:jysu@cmu.edu.cn
收稿日期: 2024-07-20
网络出版时间: 2025-04-10 13:35:05

CDI）和钙依赖性易化（Ca^{2+}-dependent facilitation，CDF）2种作用模式。钙调蛋白（calmodulin，CaM）在CDF和CDI中发挥关键作用，可能与$Ca_V1.2$通道C末端的IQ基序间的相互作用密切相关[2]。

CaM是一种细胞内Ca^{2+}受体，介导多种钙依赖性信号传导，并调节心脏离子通道的功能，参与基因转录、细胞增殖和肌肉收缩等众多生理活动[3]。CaM含有2个N端和C端球状结构域，并通过1个柔性连接子连接；每个结构域都由2个与Ca^{2+}结合的EF-hand组成。因此，1个CaM共可结合4个Ca^{2+}。在人类中，CaM由3个独立的基因（*CALM1*、*CALM2*和*CALM3*）编码，所有基因都翻译完全相同的CaM蛋白[4]。*CaM*基因突变与多种严重心脏疾病的发生有关，如儿茶酚胺介导的多形性室速、心源性猝死、长QT综合征（long QT syndrome，LQTS）等。LQTS是一种危险性极高的遗传性心律失常，临床表现为心电图QT间期延长，这是由心脏离子通道功能获得或功能丧失突变导致细胞复极化延长引起的[5]。

最近研究[6]发现，高度保守的Ca^{2+}传感蛋白CaM的突变与LQTS有关，但这些突变导致心律不齐的分子机制尚不完全清楚。已有研究[7]证实，与LQTS相关的CaM突变体对Ca^{2+}的结合亲和力降低，并通过抑制$Ca_V1.2$通道的CDI而减弱$Ca_V1.2$失活，从而诱导动作电位延长增加，促进心律失常发生。一项在LQTS病例中开展的全基因组测序研究鉴定了5种*CaM*错义突变，包括D96V、D130G、D130V、E141G和F142L[8]。D130V代表了1种新型*CaM*突变，其与$Ca_V1.2$通道的相互作用尚未完全阐明。

因此，本研究采用同源建模、折叠识别建模和分子对接方法预测野生型CaM（CaM-WT）、突变体CaM-D130V与心肌$Ca_V1.2$通道IQ基序的结合，初步探索结合的可能性；随后表达并纯化CaM-WT、CaM-D130V和GST-IQ，通过GST pull-down实验进一步探讨CaM-D130V与IQ基序间的相互作用，为明确*CaM*突变介导LQTS发生的潜在机制和病理变化奠定了理论基础，以期为LQTS的治疗提供新的潜在靶点。

1　材料与方法

1.1　材料

pGEX-6P-3/CaM-WT质粒，由日本鹿儿岛大学KAMEYAMA教授惠赠。pGEX-6P-3/CaM-D130V质粒，由武汉金开瑞生物工程有限公司提供并进行定点突变。胰蛋白胨、酵母提取物、氨苄西林、异丙基–β–D–硫代半乳糖苷、溶菌酶、二硫苏糖醇，购自美国Sigma公司。BCA蛋白定量试剂盒，购自上海雅酶生物医药科技有限公司。PBS粉末，购自北京索莱宝科技有限公司。PreScission酶、GS-4B beads，购自美国Cytiva公司。

1.2　方法

1.2.1　BL21感受态细胞的转化：应用42 ℃精确热击法[9]，将pGEX-6p-3/CaM-D130V重组质粒转化入大肠杆菌BL21感受态细胞。选取单克隆菌株接种于LB培养液（含氨苄西林）中，培养12~16 h。将菌液与经过高压灭菌的50%甘油按一定体积比（4 ∶ 1）混和，在–80 ℃下冷冻保存菌种。

1.2.2　GST-CaM-D130V融合蛋白的诱导和表达：360 mL ddH_2O内加40 mL 10 × LB培养液、100 μL菌液和400 μL氨苄西林（终浓度为50 μg/mL），振荡培养过夜。应用紫外分光光度计检测菌液光密度（optical density，OD），估计大肠杆菌生长情况，当测得$OD_{600\ nm}$在0.6~1.0时，加入400 μL异丙基–β–D–硫代半乳糖苷诱导蛋白表达4 h。

1.2.3　融合蛋白CaM-D130V的提取、纯化和鉴定：菌液离心弃上清，加PBS重悬沉淀；加溶菌酶和二硫苏糖醇各200 μL，冰浴30 min，再超声破碎30 min；再次离心，将上清转移至GS-4B beads中，4 ℃孵育过夜。次日清晨，清洗beads，加495 μL Tris缓冲液，5 μL PreScission蛋白酶，室温孵育5 h；离心收集上清，上清为纯化的CaM-D130V蛋白，–20 ℃冻存备用[9]。使用BCA蛋白定量试剂盒测定CaM-D130V的浓度。取纯化的CaM-D130V蛋白5 μL和5 × SDS loading buffer 15 μL，100 ℃金属浴5 min，取上清进行15% SDS-PAGE。

1.2.4　蛋白模型的构建和对接：从RCSB蛋白质数据库（https://www1.rcsb.org/）下载CaM三维结构（PDB：1CLL），利用SWISS MODEL 同源建模服务器获得CaM-D130V三维结构，利用I-TASSER服务器创建IQ模型，采用美国加州大学蛋白质结构在线检测服务器评估建模结果，利用MOE 软件蛋白质–蛋白质对接程序模拟CaM-WT及其突变体CaM-D130V与$Ca_V1.2$通道IQ基序的结合，分析对接结果。

1.2.5　GST pull-down 实验：将CaM-WT/CaM-D130V

(终浓度分别为0.1、0.35、0.7、1.4、2.1、3.5、7.0、10.0 μmol/L)与40 μL GST-IQ混匀,加入6 μL 0.1 mol/L $CaCl_2$(使整个体系的Ca^{2+}终浓度为2 mmol/L),用Tris缓冲液(pH 8.0)补齐至300 μL的体系,4 ℃孵育4 h。转移至1.5 mL EP管中,离心后弃上清,清洗沉淀3次,进行12% SDS-PAGE。

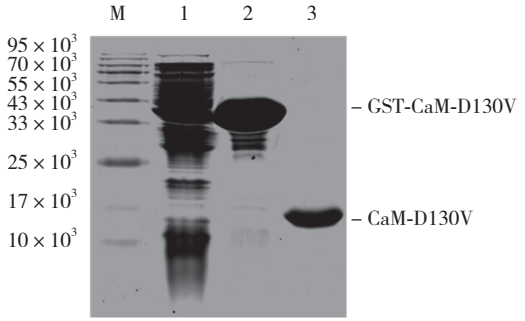
1.3　统计学分析

应用CS Analyzer软件(日本ATTO公司)统计蛋白条带的灰度值,应用SigmaPlot软件绘制CaM及其突变体与$Ca_V1.2$通道IQ基序结合的拟合曲线。数据以$\bar{x} \pm s$表示,采用t检验进行比较。$P < 0.05$为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　纯化后CaM-D130V蛋白的鉴定

取超声后的蛋白菌液、GST-CaM-D130V融合蛋白、CaM-D130V纯化蛋白进行15% SDS-PAGE。电泳结果(图1)显示,可观察到2道明显的蛋白条带,分别位于表观分子量约42.7×10^3(GST-CaM-D130V)和16.7×10^3(CaM-D130V)处,与预期结果相符,得到浓度和纯度较高的CaM-D130V蛋白。



M, marker; 1, total protein; 2, GST-CaM-D130V; 3, CaM-D130V.

图1　纯化后CaM-D130V蛋白的SDS-PAGE

Fig.1　SDS-PAGE of purified CaM-D130V

2.2　CaM-WT、CaM-D130V与IQ基序的分子对接

为了观察*CaM*突变后与$Ca_V1.2$通道的结合作用是否发生变化,本研究进行了蛋白分子对接。结果(图2)显示,CaM-WT、CaM-D130V与IQ基序结合,表明CaM突变体D130V依然具有与$Ca_V1.2$通道IQ基序结合的能力,但结合能降低(|S|值由48.086 6 kcal/mol降至47.109 5 kcal/mol)。CaM-WT的C-lobe与IQ基序结合,结合对共3个,分别为CaM-WT的Asp94、Asn138和Glu140,IQ基序的Arg11、Phe4和Tyr1。而CaM-D130V与IQ基序的结合发生在2个对称的哑铃型结构间的柔性连接子区域,结合位点发生变化且数量减少,为CaM-D130V的Glu85和Arg91与IQ基序的Lys12和Leu21相互作用(表1)。以上结果表明,CaM-D130V与IQ基序的结合作用减弱且稳定性较差。

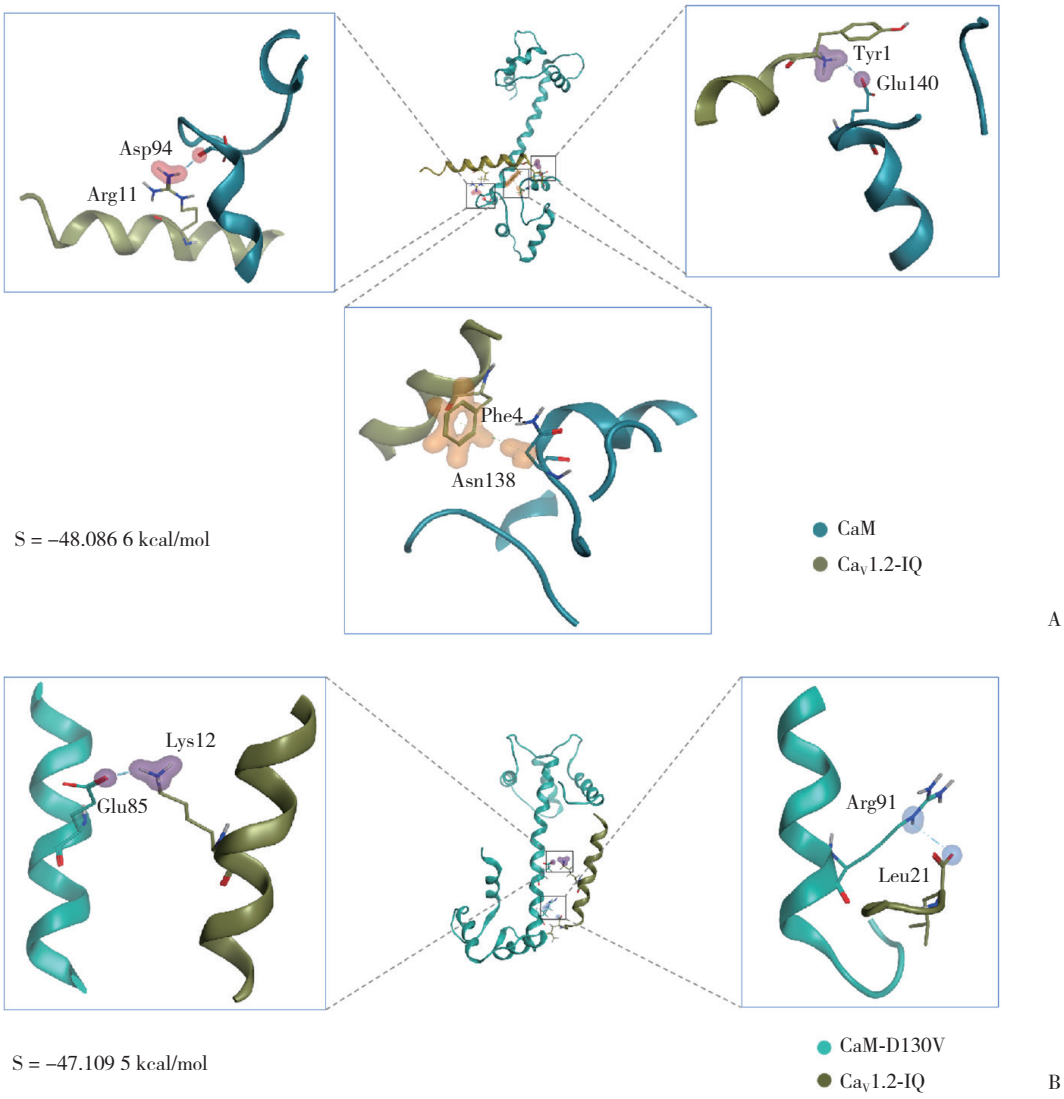
2.3　CaM-D130V与GST-IQ的相互作用

在2 mmol/L Ca^{2+}浓度条件下,CaM-WT、CaM-D130V与$Ca_V1.2$通道IQ基序均表现出结合作用,并且这种结合作用呈现出蛋白浓度依赖性特征。CaM-WT与IQ基序的最大结合量为19.455 5,而CaM-D130V与IQ基序的最大结合量为1.026 7。与CaM-WT相比,CaM-D130V与IQ基序的结合量明显减少,减少了约38.2%($P < 0.01$,图3)。CaM-WT、CaM-D130V与IQ基序结合相应的K_d值分别为0.616 6和0.779 6,K_d值增加表明CaM-D130V与IQ基序结合的亲和力显著降低(表2)。以上结果提示,*CaM*突变后与$Ca_V1.2$通道结合减少,可能异常调节通道的开放和关闭功能。

3　讨论

细胞内Ca^{2+}是介导细胞多种生物过程的关键因素。Ca^{2+}信号传导和循环失调可能导致心肌舒张和收缩功能受损和致死性心律失常。CaM是一种重要的Ca^{2+}传感器,通过响应细胞内Ca^{2+}浓度变化来调节参与心肌收缩的多种靶蛋白,包括$Ca_V1.2$通道,从而维持细胞内Ca^{2+}稳态和心血管功能[10]。早期研究[11]发现,*CaM*基因突变会扰乱其与心肌收缩相关蛋白间的相互作用,进而引发LQTS等严重心脏疾病。2013年,CROTTI等[12]率先发现了与LQTS相关的CaM突变体(D96V、D130G和F142L),之后,与LQTS相关的多种CaM致病突变体相继被发现。

本研究讨论了突变体CaM-D130V对CaM结构和调节钙通道功能的影响。本研究采用同源建模方法,通过SWISS MODEL成功构建突变体CaM-D130V,利用MOE软件(2020版)检测Ca^{2+}/CaM-D130V与心肌$Ca_V1.2$通道IQ基序的结合构象和结合能力。结果显示,与CaM-WT相比,CaM-D130V与IQ基序的结合作用减弱。本研究进一步进行GST pull-down实验,探讨在Ca^{2+}浓度为2 mmol/L时,突变体CaM-D130V与心肌$Ca_V1.2$通道IQ基序间的相互作用情况。结果表明,CaM-D130V与IQ基序的结合量明显减少,结合亲和力显著降低,与MOE软件的检测结果一致。



A, binding site of CaM-WT with the IQ motif; B, binding site of CaM-D130V with the IQ motif.

图2　CaM-WT/CaM-D130V与IQ基序对接图

Fig.2　Docking diagram of CaM-WT/CaM-D130V with the IQ motif

表1　CaM-WT/CaM-D130V与IQ基序对接的参数

Tab.1　Docking parameters of CaM-WT/CaM-D130V with the IQ motif

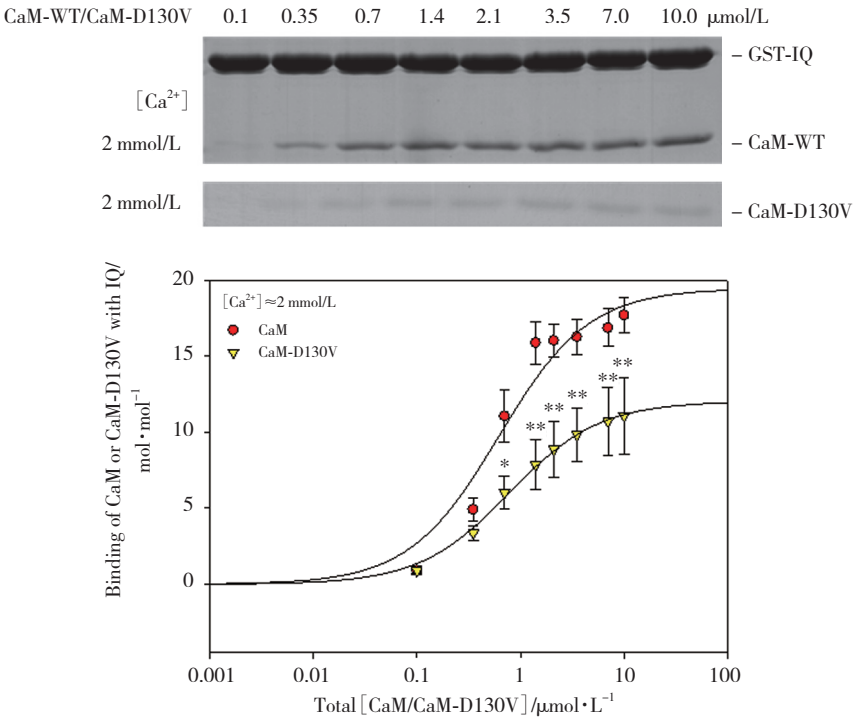
Parameter	CaM-WT+IQ			CaM-D130V+IQ	
	Asp94-Arg11	Asn138-Phe4	Glu140-Tyr1	Glu85-Lys12	Arg91-Leu21
Energy (kcal/mol)	−3.80	−0.70	−5.09	−9.95	−1.81
Distance (Å)	2.96	4.35	3.16	2.86	3.52

表2　CaM-WT/CaM-D130V与GST-IQ结合的参数

Tab.2 Binding parameters of CaM-WT/CaM-D130V with GST-IQ

Parameter	CaM-WT	CaM-D130V
Bmax (mol/mol)	19.455 5	12.026 7
K_d (μmol/L)	0.616 6	0.779 6
R^2	0.980 0	0.998 2

Bmax, maximum binding; K_d, apparent dissociation constant; R^2, coefficient of determination.



*P < 0.05 vs. CaM; **P < 0.01 vs. CaM.

图3　CaM-WT/CaM-D130V与GST-IQ结合的SDS-PAGE

Fig.3　SDS-PAGE of CaM-WT/CaM-D130V binding with GST-IQ

$Ca_V1.2$通道作为LQTS相关CaM病变的关键靶点，在心肌细胞的兴奋–收缩耦合过程中扮演着核心角色。Ca^{2+}通过$Ca_V1.2$通道进入细胞，这一过程触发了细胞内复杂的信号级联反应，最终促进心肌的有效收缩。CaM作为一种Ca^{2+}依赖性调节因子，对$Ca_V1.2$通道的活性具有精细的调控作用，尽管其诱导CDI的确切分子机制目前尚未完全明确[7]。众多研究[13-14]强调了CaM与$Ca_V1.2$通道IQ基序结合在调节CDI中的关键作用。值得注意的是，无论是CaM还是IQ基序的突变，均可能削弱或完全消除它们之间的相互作用，进而对CDI产生不利影响[7]。

本研究揭示了一个重要发现：突变体CaM-D130V显著改变了CaM与$Ca_V1.2$通道IQ基序结合的特性和亲和力，与CaM-WT相比，这种突变导致了CaM-D130V与$Ca_V1.2$结构域间相互作用机制的微妙变化。这一发现与先前关于LQTS相关CaM突变体与$Ca_V1.2$通道相互作用的研究[5]结果一致。然而，也有研究[7]报道LQTS相关的CaM突变体E141G虽然与IQ基序的结合亲和力增强，但$Ca_V1.2$的CDI却显著降低。这一发现提示，CDI功能受损可能是*CaM*基因突变导致$Ca_V1.2$通道功能紊乱的潜在共同致病机制。这一机制已在心肌细胞表达系统中得到了验证，具体而言，在成年豚鼠心室肌细胞（aGPVMs）中过表达特定CaM突变体（如D96V、D130G和F142L），会显著削弱这些细胞的Ca^{2+}电流CDI[15]。这些证据有力地表明，CaM突变体对$Ca_V1.2$通道CDI的破坏可能足以诱发LQTS表型。因此，本研究推测，CaM-D130V对心肌$Ca_V1.2$通道IQ基序的调节作用发生了改变，这种改变可能同样通过影响CDI来介导$Ca_V1.2$通道失活的缺陷，最终可能导致LQTS等心脏疾病的发生。这一发现不仅深化了对CaM与$Ca_V1.2$通道相互作用机制的理解，也为LQTS等心脏疾病的发病机制提供了新的见解。

既往研究[6]表明，多数已报道的与LQTS相关的*CaM*突变，如D96V、D130G和F142L，均定位于C-lobe的Ca^{2+}结合EF-hand基序内部或其邻近区域。这一发现暗示了CaM的Ca^{2+}结合特性可能遭到破坏，进而改变了CaM与其C-lobe调控的靶蛋白间的相互作用，这可能是CaM病中LQTS发病的潜在机制之一。本研究结果进一步证实，CaM-D130V会削弱CaM与$Ca_V1.2$通道IQ基序的结合特性。然而，关于$Ca_V1.2$通道中其他CaM结合域如何响应此变化，以及CaM如

何通过与这些广泛分布的CaM结合域的整体互动来调节通道活性，目前仍不清楚，亟待进行深入研究以明确其相互作用的精确机制。值得注意的是，携带*CaM*突变的患者对LQTS的常规治疗手段，如β受体阻滞剂、钠通道阻滞剂、钙通道阻滞剂以及植入式心律转复除颤器等，常表现出耐药性[6]。因此，探索新的治疗靶点对提高此类患者的治疗效果具有重要的临床价值。

综上所述，本研究初步探讨了CaM突变体D130V对CaM与心肌$Ca_V1.2$通道IQ基序相互作用的影响，不仅为深入理解*CaM*突变诱导的LQTS病理机制开辟了新视角，也为开发针对性治疗策略提供了潜在的新靶点。

参考文献：

[1] KAMEYAMA M, MINOBE E, SHAO D, et al. Regulation of cardiac $Ca_V1.2$ channels by calmodulin [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24 (7): 6409. DOI: 10.3390/ijms24076409.

[2] URRUTIA J, AGUADO A, MUGURUZA-MONTERO A, et al. The crossroad of ion channels and calmodulin in disease [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20 (2): 400. DOI: 10.3390/ijms20020400.

[3] WILLIAMS RB, ALAM AFSAR MN, TIKUNOVA S, et al. Human disease-associated calmodulin mutations alter calcineurin function through multiple mechanisms [J]. Cell Calcium, 2023, 113: 102752. DOI: 10.1016/j.ceca.2023.102752.

[4] WANG K, BROHUS M, HOLT C, et al. Arrhythmia mutations in calmodulin can disrupt cooperativity of Ca^{2+} binding and cause misfolding [J]. J Physiol, 2020, 598 (6): 1169-1186. DOI: 10.1113/JP279307.

[5] SU J, GAO Q, YU L, et al. The LQT-associated calmodulin mutant E141G induces disturbed Ca^{2+}-dependent binding and a flickering gating mode of the $Ca_V1.2$ channel [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2020, 318 (5): C991-C1004. DOI: 10.1152/ajpcell.00019.2020.

[6] HUSSEY JW, LIMPITIKUL WB, DICK IE. Calmodulin mutations in human disease [J]. Channels, 2023, 17 (1): 2165278. DOI: 10.1080/19336950.2023.2165278.

[7] PRAKASH O, GUPTA N, MILBURN A, et al. Calmodulin variant E140G associated with long QT syndrome impairs CaMKII δ autophosphorylation and L-type calcium channel inactivation [J]. J Biol Chem, 2023, 299 (1): 102777. DOI: 10.1016/j.jbc.2022.102777.

[8] BOCZEK NJ, GOMEZ-HURTADO N, YE D, et al. Spectrum and prevalence of CALM1-, CALM2-, and CALM3-encoded calmodulin variants in long QT syndrome and functional characterization of a novel long QT syndrome-associated calmodulin missense variant, E141G [J]. Circ Cardiovasc Genet, 2016, 9 (2): 136-146. DOI: 10.1161/CIRCGENETICS.115.001323.

[9] 郝明杰，孙伟楠，苏敬阳，等. 氯化卡咪唑铵抑制钙调蛋白与心肌$Ca_V1.2$通道结合的作用[J]. 中国医科大学学报，2022，51 (11)：987-991. DOI：10.12007/j.issn.0258-4646.2022.11.006.

[10] TARASOV M, STRUCKMAN HL, OLGAR Y, et al. $Na_V1.6$ dysregulation within myocardial T-tubules by D96V calmodulin enhances proarrhythmic sodium and calcium mishandling [J]. J Clin Invest, 2023, 133 (7): e152071. DOI: 10.1172/JCI152071.

[11] CHAZIN WJ, JOHNSON CN. Calmodulin mutations associated with heart arrhythmia: a status report [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21 (4): 1418. DOI: 10.3390/ijms21041418.

[12] CROTTI L, JOHNSON CN, GRAF E, et al. Calmodulin mutations associated with recurrent cardiac arrest in infants [J]. Circulation, 2013, 127 (9): 1009-1017. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.001216.

[13] CHAKOURI N, DIAZ J, YANG PS, et al. Ca_V channels reject signaling from a second CaM in eliciting Ca^{2+}-dependent feedback regulation [J]. J Biol Chem, 2020, 295 (44): 14948-14962. DOI: 10.1074/jbc.RA120.013777.

[14] MORI MX, ERICKSON MG, YUE DT. Functional stoichiometry and local enrichment of calmodulin interacting with Ca^{2+} channels [J]. Science, 2004, 304 (5669): 432-435. DOI: 10.1126/science.1093490.

[15] LIMPITIKUL WB, DICK IE, JOSHI-MUKHERJEE R, et al. Calmodulin mutations associated with long QT syndrome prevent inactivation of cardiac L-type Ca^{2+} currents and promote proarrhythmic behavior in ventricular myocytes [J]. J Mol Cell Cardiol, 2014, 74: 115-124. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2014.04.022.

（编辑　陈　姜）