

学校编码: 10384

分类号 \_\_\_\_\_ 密级 \_\_\_\_\_

学号: 200426112

UDC \_\_\_\_\_

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

用酵母双杂交系统筛选与 nicastrin 相互  
作用蛋白的初步研究

A study of nicastrin and Interacting Protein

by Yeast Two-Hybrid

黄 秀 梅

指导教师姓名: 刘润忠 副教授

许华曦 教授、博导

专 业 名 称: 生物化学与分子生物学

论文提交日期: 2007 年 4 月 27 日

论文答辩时间: 2007 年 5 月 31 日

学位授予日期: 2007 年 月 日

答辩委员会主席: 陶涛 教授

评 阅 人: \_\_\_\_\_

2007 年 5 月

用酵母双杂交系统筛选与 niacin 相互作用蛋白的初步研究

黄秀梅

指导教师

刘润忠副教授

许华曦教授、博导

厦门大学

# 厦门大学学位论文原创性声明

兹提交的学位论文，是本人在导师指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文产生的权利和责任。

声明人（签名）：

年 月 日

# 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版，有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅，有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索，有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

1、保密（），在  年解密后适用本授权书。

2、不保密（）

（请在以上相应括号内打“√”）

作者签名： 日期： 年  月  日

导师签名： 日期： 年  月  日

## 摘 要

NCT (nicastrin) 蛋白是一种与阿尔茨海默氏症 (Alzheimer's Disease, AD) 密切相关的蛋白。NCT 是  $\gamma$ -分泌酶复合体的组成成分之一,它在  $\gamma$ -分泌酶的组装和成熟中扮演重要的角色,它可调节  $\gamma$ -分泌酶复合体其他组分的稳定、转运等过程。NCT 的主要功能是通过  $\gamma$ -分泌酶复合体参与阿尔茨海默氏病中 A $\beta$  生成和 Notch 信号系统转导。另外,也有报道 NCT 还参与了神经发生的过程。但是,这些研究结果还不足以充分阐明它在生理活动中的功能及其作用机制。我们采用酵母双杂交法筛选与它有相互作用的蛋白,以便更好地认识和理解 NCT 的正常生理功能的作用。

以 NCT 为诱饵蛋白筛选人胎脑文库后,我们得到 19 个阳性克隆。阳性克隆测序并将测序结果用 BLAST 分析发现,7、8 号阳性克隆的氨基酸序列分别和人金属硫蛋白 MT2A (metallothionein -2A)、THAP7 (THAP domain-containing protein 7) 2 种蛋白具有高度的同源性。 $\beta$ -半乳糖苷酶活性测定说明这 2 种蛋白在酵母 AH109 中可以与 NCT 发生相互作用。在进一步的实验中,我们用免疫共沉淀实验证明外源性 NCT 全长和 MT2A 蛋白在 293T 细胞表达后可以发生相互作用。

通过以上实验,我们发现筛选出的 MT2A 蛋白在 293T 细胞中和 NCT 之间存在相互作用。研究表明 MTs 蛋白家族在神经病理学方面起重要的作用。当神经发生炎症时 MT-1 和 MT-2 的表达会被明显地上调,并发现 MT-1 和 MT-2 在淀粉样斑周围的细胞中的表达量急剧上升。由此推测 MT2A 可能与阿尔茨海默氏症淀粉样斑的形成有关;因此, NCT 与它存在相互作用这一发现有助于进一步了解 NCT 的生理功能。

本文的创新之处:

应用酵母双杂交系统首次从真核细胞体内筛选到 2 种和 NCT 相互作用的蛋白,并证明 MT2A 可以在 293T 细胞中与 NCT 发生相互作用,为进一步研究 NCT 的功能及其在 AD 中的病理机制打下一个坚实的基础。

**关键词:** 酵母双杂交; 阿尔茨海默氏症; NCT; MT2A; THAP7

## Abstract

$\gamma$ -secretase is a high molecular weight complex comprises of at least four components, presenilin (PS), nicastrin (NCT), anterior pharynx defective-1 (APH-1) and presenilin enhancer-2 (PEN-2). The cleavage of  $\beta$ -amyloid precursor protein (APP) by  $\gamma$ -secretase releases small peptides called  $\beta$ -amyloid ( $A\beta$ ), which is the prime culprit for the pathogenesis of Alzheimer's disease (AD). In addition,  $\gamma$ -secretase catalyzes the intramembrane proteolysis of many other functionally important proteins such as Notch, Cadherin, ErbB4, etc. Among these  $\gamma$ -secretase components, NCT has been found to be crucial for the binding of substrates. In addition, NCT is important for the stability and proper intracellular trafficking of other  $\gamma$ -secretase components. To further understand the patho/physiological functions of NCT, we utilized a yeast-two-hybrid assay to screen human fetal brain cDNA library and identify proteins that can interact with NCT.

Initial screening obtained 19 positive yeast clones. After sequencing and BLAST search, we identified two candidate proteins as MT2A (metallothionein-2A) and THAP7 (THAP domain-containing protein 7). The  $\beta$ -galactosidase activity assay demonstrated that both proteins can interact with NCT in yeast strain AH109. Further study in the mammalian 293T cells showed that a co-immunoprecipitation of MT2A and NCT.

MT2A belongs to the metallothionein (MT) family proteins. The levels of two MT family members, MT-I and MT-II, are dramatically up-regulated by neuroinflammation. In AD patients, immunostaining of MT-I and MT-II is also dramatically increased in cells surrounding the amyloid plaques. These results including ours suggest that MT family proteins may play important roles in the pathogenesis of AD, possibly through the interaction with NCT to alter the activity/cleavage of  $\gamma$ -secretase. Further study along this way may elucidate the underlying mechanisms.

**Key words:** Yeast two-hybrid; Alzheimer's disease; NCT; MT2A; THAP7

# 目 录

<b>第一章 绪论</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 阿尔茨海默氏症</b> .....	<b>1</b>
1.1.1 阿尔茨海默氏症概述.....	1
1.1.2 阿尔茨海默病的发病机制和 $\beta$ -淀粉蛋白的形成.....	1
<b>1.2 Nicastrin 的研究进展</b> .....	<b>4</b>
1.2.1 Nicastrin 的分子结构特点.....	4
1.2.2 Nicastrin 与 $\gamma$ -分泌酶.....	6
1.2.3 Nicastrin 与 $\gamma$ -分泌酶其他组分的相互作用.....	7
1.2.4 Nicastrin 的功能.....	8
<b>1.3 酵母双杂交系统</b> .....	<b>10</b>
1.3.1 酵母双杂交系统的作用原理.....	11
1.3.2 酵母双杂交系统选用酵母作为报告菌株的优点.....	13
1.3.3 酵母双杂交系统相对于其它方法具有的优点.....	13
1.3.4 酵母双杂交系统的发展.....	14
1.3.5 基于酵母双杂交系统的其它杂交系统.....	14
1.3.6 酵母双杂交系统的应用.....	17
1.3.7 本课题的主要目的和技术路线.....	19
<b>第二章 Nicastrin 相互作用蛋白的筛选</b> .....	<b>21</b>
<b>2.1 实验材料</b> .....	<b>21</b>
2.1.1 主要材料与试剂.....	21
2.1.2 主要仪器与设备.....	26
<b>2.2 实验方法</b> .....	<b>27</b>
2.2.1 PCR 扩增 NCT 蛋白胞内端 .....	27
2.2.2 PGBKT7-NCT 重组诱饵质粒的构建.....	28
2.2.3 大肠杆菌的转化.....	28
2.2.4 大肠杆菌质粒的小量提取.....	28
2.2.5 酵母转化.....	29

2.2.6 $\beta$ -半乳糖苷酶活性滤膜影印分析法.....	29
2.2.7 诱饵质粒在 AH109 中表达的鉴定.....	30
2.2.8 人脑 cDNA 文库的滴度测定、扩增和质量鉴定.....	30
2.2.9 酵母宿主细胞 AH109 的表型验证.....	32
2.2.10 cDNA 文库的转化和营养缺陷筛选.....	32
2.2.11 酵母质粒 DNA 的提取.....	32
2.2.12 酵母质粒 DNA 转化大肠杆菌.....	33
2.2.13 重转化排除假阳性.....	34
2.2.14 DNA 序列分析.....	34
2.2.15 液体 $\beta$ -半乳糖苷酶活性测试.....	34
<b>2.3 实验结果.....</b>	<b>35</b>
2.3.1 NCT cDNA 的 PCR 结果.....	35
2.3.2 重组质粒 pGBKT7-NCT 的鉴定.....	36
2.3.3 pGBKT7-NCT 转入 AH109.....	36
2.3.4 诱饵质粒自激活测试结果.....	39
2.3.5 诱饵质粒表达的检测.....	39
2.3.6 酵母细胞 AH109 的表型验证.....	40
2.3.7 人胎脑 cDNA 文库的滴度测定及扩增.....	40
2.3.8 文库的初步筛选.....	41
2.3.9 再次共转化及重新确认结果.....	41
2.3.10 测序结果及分析.....	42
2.3.11 $\beta$ -半乳糖苷酶活性测试结果.....	44
<b>2.4 讨论.....</b>	<b>46</b>
<b>第三章 免疫共沉淀验证蛋白的相互作用.....</b>	<b>47</b>
<b>3.1 实验材料.....</b>	<b>47</b>
3.1.1 菌株和细胞.....	47
3.1.2 质粒.....	47
3.1.3 培养基.....	47
3.1.4 细胞培养所需试剂.....	48



3.1.5 细胞转染所需试剂	48
3.1.6 细胞裂解液 TNE	48
3.1.7 抗体	48
3.1.8 蛋白酶抑制剂	48
3.1.9 其他所需试剂	48
<b>3.2 实验方法</b>	<b>48</b>
3.2.1 表达全长 NCT 质粒的构建	48
3.2.2 构建 pCMV-myc-MT2A	49
3.2.3 构建 pCMV5-HA-THAP7	50
3.2.4 重叠延伸法进行 THAP7 cDNA 的特异位点诱变	50
3.2.5 质粒的大量纯化	50
3.2.6 细胞培养与传代	52
3.2.7 瞬时转染	52
3.2.8 细胞裂解与蛋白收取	52
3.2.9 免疫共沉淀	52
3.2.10 免疫印迹分析	53
<b>3.3 结果</b>	<b>53</b>
3.3.1 表达全长 NCT 质粒的构建	53
3.3.2 构建 pCMV-myc-MT2A	54
3.3.3 重组质粒进行测序鉴定	54
3.3.4 重叠延伸法进行 THAP7 cDNA 的特异位点诱变	55
3.3.5 在 293T 细胞中验证蛋白间的相互作用	56
<b>3.4 讨论与总结</b>	<b>57</b>
3.4.1 MT2A 蛋白与 NCT 的相互作用	57
3.4.2 THAP7 蛋白与 NCT 的相互作用	58
3.4.3 结论和展望	60
<b>参考文献</b>	<b>61</b>

## Table of Contents

<b>Chapter 1 Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Alzheimer's Disease</b> .....	<b>1</b>
1.1.1 Alzheimer's Disease overview .....	1
1.1.2 Pathology of AD and formation of A $\beta$ .....	1
<b>1.2 Nicastrin progress</b> .....	<b>4</b>
1.2.1 Molecular structure of Nicastrin .....	4
1.2.2 Nicastrin and gamma-secretase complex .....	6
1.2.3 Interactions between Nicastrin and other components of $\gamma$ -secretase.....	7
1.2.4 Functions of NCT .....	8
<b>1.3 Theory and application of Yeast Two-Hybrid</b> .....	<b>10</b>
1.3.1 Principles of Yeast Two-Hybrid .....	11
1.3.2 Advantages of Yeast in Y2H .....	13
1.3.3 Advantages of Y2H comparing with other methods.....	13
1.3.4 Progress of Yeast Two-Hybrid .....	14
1.3.5 Other two-hybrid system based in Y2H .....	14
1.3.6 Application of Yeast Two-Hybrid .....	17
<b>1.4 Purpose and methods of our research</b> .....	<b>19</b>
<b>Chapter 2 Screening Proteins interacting with Nicastrin</b> .....	<b>21</b>
<b>2.1 Materials</b> .....	<b>21</b>
2.1.1 Materials and reagents .....	21
2.1.2 Equipments .....	26
<b>2.2 Methods</b> .....	<b>27</b>
2.2.1 Amplificating NCT intracellular domain by PCR .....	27
2.2.2 Constructing pGBKT7-NCT.....	28
2.2.3 E.coli transformation .....	28
2.2.4 Plasmid mini preparation .....	28
2.2.5 Yeast transformation .....	29

---

2.2.6 $\beta$ -gal filter assay .....	30
2.2.7 Expression of bait proteins in AH109 .....	30
2.2.8 Plasmid library amplification, tittering and quality test .....	31
2.2.9 Verifying phenotypes of AH109 .....	32
2.2.10 Library scale transformation and screening .....	32
2.2.11 Isolation plasmids from yeast .....	33
2.2.12 Transforming <i>E. Coli</i> with yeast plasmids .....	33
2.2.13 Eliminating false positive clones .....	34
2.2.14 Sequencing of the positive clones .....	34
2.2.15 $\beta$ -gal assay .....	34
<b>2.3 Results.....</b>	<b>36</b>
2.3.1 PCR of NCT cDNA .....	36
2.3.2 Identification of pGBKT7-NCT .....	36
2.3.3 pGBKT7-NCT in AH109.....	36
2.3.4 Examination of autonomous activation.....	39
2.3.5 Expression of bait plasmid in AH109 .....	39
2.3.6 Verifying phenotypes of AH109 .....	40
2.3.7 Amplification and tittering of cDNA Library.....	40
2.3.8 Screening library .....	41
2.3.9 Identification of positive clones.....	42
2.3.10 Sequencing and analysis of gene sequence .....	42
2.3.11 $\beta$ -gal assay .....	44
<b>2.4 Discussion.....</b>	<b>46</b>
<b>Chapter 3 Verifying interactions in mammalian cells.....</b>	<b>47</b>
<b>3.1 Materials.....</b>	<b>47</b>
3.1.1 Strains and cells.....	47
3.1.2 Plasmids .....	47
3.1.3 Media.....	47
3.1.4 Reagents for culturing cell .....	48

---

3.1.5 Reagents for transfection .....	48
3.1.6 TNE .....	48
3.1.7 Antibody .....	48
3.1.8 Protease inhibitor .....	48
3.1.9 Other reagents .....	48
<b>3.2 Methods.....</b>	<b>48</b>
3.2.1 Constructing pCMV5-HA-NCT .....	48
3.2.2 Constructing pCMV-myc-MT2A .....	49
3.2.3 Constructing pCMV-HA-THAP7 .....	50
3.2.4 Site-specific Mutagenesis of THAP7 cDNA by Overlap Extension.....	50
3.2.5 Plasmid max preparation .....	50
3.2.6 Cell culture and passage .....	52
3.2.7 Transfection .....	52
3.2.8 Cell lysis and preparation of cell protein extracts .....	52
3.2.9 CO-IP .....	52
3.2.10 Western blotting .....	53
<b>3.3 Results.....</b>	<b>53</b>
3.3.1 Identification of recombinant plasmids .....	53
3.3.2 Constructing pCMV-myc-MT2A .....	54
3.3.3 Sequencing of recombinant plasmids .....	54
3.3.4 Site-specific Mutagenesis of THAP7 cDNA by Overlap Extension.....	55
3.3.5 Verifying interactions in HEK 293T .....	56
<b>3.4 Discussion.....</b>	<b>57</b>
3.4.1 Interaction between NCT and MT2A .....	57
3.4.2 Interaction between NCT and THAP7 .....	58
3.4.3 Conclusion and prospects .....	60
<b>Reference.....</b>	<b>61</b>

## 英文缩略词

英文缩写	英文全名	中文名称
AD	Alzheimer's disease	老年痴呆症; 阿尔茨海默氏症
AICD	APP intracellular domain	APP 被 $\gamma$ -分泌酶切割后产生的胞内结构域
APH-1	anterior pharynx-defective 1	$\gamma$ -分泌酶复合体的组分之一
$\beta$ APP	beta-amyloid precursor protein	$\beta$ -淀粉样前体蛋白
A $\beta$	beta-amyloid	$\beta$ -淀粉样蛋白
BACE	beta-site APP cleaving enzyme	$\beta$ -分泌酶
BD	DNA binding domain	DNA 结合结构域
CTF	C-terminal fragments	羧基末端片段
cDNA	complementary DNA	互补脱氧核糖核酸
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium	Dulbecco's 的改良 Eagle's 培养基
EDTA	Ethylenediamine tetracetic acid	乙二胺四乙酸
ER	Endoplasmic Reticulum	内质网
FAD	Familial Alzheimer's disease	家族性老年痴呆症
GEF	guanine nucleotide exchange factor	鸟苷酸交换因子
LRP	low-density lipoprotein receptor-related protein	低密度脂蛋白受体相关蛋白
mRNA	Messenger RNA	信使 RNA
MTs	Metallothioneins	金属硫蛋白家族
MT2A	Metallothionein-2A	金属硫蛋白 2A
NCT	nicastatin	$\gamma$ -分泌酶复合体的组分之一
NFTs	neurofibrillar tangles	神经元纤维缠结
NICD	Notch intracellular domain	Notch 被 $\gamma$ -分泌酶切割后产生胞内结构域
Notch		大分子 I 型跨膜糖蛋白
NTE	N-terminal fragments	氨基末端片段
NSAIDs	Non-steroid anti-inflammatory drugs	非类固醇抗炎药物
PBS	Phosphate-buffered saline	磷酸盐缓冲液
PCR	Polymerase Chain Reaction	聚合酶链式反应
PEN-2	Presenilin enhancer 2	$\gamma$ -分泌酶复合体的组分之一
PHFs	paired-helical filament	双螺旋纤维
PSs	Presenilins	早老素
rRNA	Ribosome RNA	核糖体 RNA
RNAi	Interference RNA	RNA 干扰技术
SAD	Sporadic Alzheimer's disease	散发性老年痴呆症
SDS	Sodium dodecyl sulfate	十二烷基磺酸钠
SP	Senile plaques	老年斑
SRS	sos recruitment system	SOS 恢复系统

---

UAS	upstream activating sequence	基因的上游激活序列
UTR	untranslation region	非翻译区
TACE	tumor necrosis factor- $\alpha$	$\alpha$ 肿瘤坏死因子
TGN	trans Golgi network	高尔基体反面的网状结构
THAP7	THAP domain-containing protein 7	
wt	Wide type	野生型

---

厦门大学博硕士论文摘要库

## 第一章 绪论

### 1.1 阿尔茨海默氏症

#### 1.1.1 阿尔茨海默氏症概述

阿尔茨海默氏病 (Alzheimer's disease, 简称 AD) 又称老年性痴呆, 是一种以进行性智能衰退为特征的中枢神经系统退行性疾病, 由德国神经病理学家 Alois Alzheimer 在 1907 年发现。65 岁以上的人群中有约 1-5% 的人, 85 岁以上的人群中有约 20-40% 的人患有此病<sup>[1]</sup>。患者表现出记忆减退, 认知障碍, 人格改变等症状。

临床研究表明 AD 可分为多见的、散发的 AD(sporadic AD, SAD) 及少数 (约占 15%~20%) 有家族遗传史的家族性 AD(familial AD, FAD)。早年发病的类型只占 2%~7% 的比例, 通常是由遗传性基因突变所引起<sup>[2]</sup>; 常见的散发类型影响 65 岁以上的老年人, 其发病率随年龄的增长而增高。Jorm 等分析了 7 个有关 AD 的流行病学调查后发现在 65 岁以上人群中 AD 发病率每隔 4 年半就要加倍<sup>[3]</sup>。女性发病率约为男性的一倍, 可能是由于女性的寿命比男性长, 但女性性别亦可能是一个危险因素<sup>[4,5]</sup>。目前全世界的 AD 患者至少有 2500 万以上。这一疾病不仅给患者带来巨大的痛苦, 也给家人、社会造成较大的精神和经济负担。

AD 患者的病理改变主要发生在前脑基底、海马和大脑皮层。神经纤维缠结 (neurofibrillary tangles, NFTs) 和细胞外的老年斑 (senile plaques, SP) 是患者脑内的两大主要异常结构。其它病理特征还包括脑皮质普遍萎缩、突触及神经元的丢失、神经细胞内颗粒空泡样变性、双螺旋纤维 (paired helical filaments, PHFs) 增多、淀粉样物质沉积脑血管 (amyloid-laden cerebral vessels) 等<sup>[6]</sup>。

研究认为 AD 的发生与多种因素有关, 其中与遗传因素关系非常密切<sup>[7]</sup>。已被认可的是: 迟发性 AD 由一些易感基因或遗传修饰基因决定其发病风险, 其中以载脂蛋白 E (ApoE)  $\epsilon 4$ <sup>[8]</sup> 等位基因和  $\alpha 2$  巨球蛋白 (A2M)<sup>[9]</sup> 为主要的风险基因; 早发性、家族性 AD 可由淀粉样前体蛋白 APP 基因和早老素 (Presenilins, PSs) 基因的突变所致<sup>[10,11]</sup>。

#### 1.1.2 阿尔茨海默病的发病机制和 $\beta$ -淀粉蛋白的形成

阿尔茨海默病的发病机制至今仍不清楚。主要有两种假说, 即神经元细胞骨

架变质假说 (neuronal cytoskeletal degeneration hypothesis) [12] 和淀粉蛋白级联假说 (amyloid cascade hypothesis) [13]。前者认为高度磷酸化的 tau 蛋白引起微管蛋白组装的紊乱导致神经元细胞骨架的变质, 神经元纤维缠结的形成是阿尔茨海默病发病的重要事件; 后者强调在  $\beta$ -淀粉蛋白的形成过程中  $\beta$ -淀粉蛋白前体蛋白 (beta-amyloid precursor protein,  $\beta$ APP) 的非正常地剪切加工造成的诸多事件引发了神经元的衰退而最终导致阿尔茨海默病。研究表明,  $\beta$ -淀粉蛋白可以引发活性氧簇的形成, 引起  $\text{Ca}^{2+}$  内流, 诱导 tau 蛋白的磷酸化进而导致神经元纤维缠结的形成。因此, A $\beta$  的形成是 AD 发病过程中非常关键的事件。

$\beta$ -淀粉蛋白分子量约 4kDa, 有两种主要存在形式, 分别由 40 和 42 个氨基酸组成, 即 A $\beta$ 40 和 A $\beta$ 42, 其中 A $\beta$ 42 更易聚合, 也更具有致病性。A $\beta$  具有细胞毒性, 在体外用 A $\beta$  处理细胞, 以及将 A $\beta$  注射到老鼠的大脑中都会引起细胞死亡, 因此 A $\beta$  的过量生成被认为是导致 AD 的一个主要原因 [14-16]。

$\beta$ -淀粉蛋白是由  $\beta$ APP 经过不同的酶剪切加工形成的, 是一种 I 型跨膜蛋白, 存在多种剪切形式, 其中  $\beta$ APP751 和  $\beta$ APP770 在身体各部分广泛表达; 而另一种主要剪切形式  $\beta$ APP695 在神经元中高表达, 在非神经元细胞中丰度很低。

在 A $\beta$  的前体  $\beta$ APP 的代谢过程中,  $\alpha$ -分泌酶,  $\beta$ -分泌酶和  $\gamma$ -分泌酶起着非常重要的作用 [17-20]。 $\beta$ APP 是 I 型跨膜蛋白, 分别有两条代谢途径。一方面,  $\beta$ APP 的胞外区可以首先被  $\beta$ -分泌酶在 A $\beta$  的 1 或 11 位置水解, 所产生的跨膜片段  $\beta$ CTF 再进一步被  $\gamma$ -分泌酶在膜双分子层内水解, 从而生成 A $\beta$  40 或 A $\beta$  42 (见图 1-1.)。另一方面,  $\beta$ APP 在其胞外区更靠近膜的位置 (A $\beta$  的 17 位置) 可以被  $\alpha$ -分泌酶水解生成可溶性分子 sAPP $\alpha$  和跨膜片段  $\alpha$ CTF。 $\alpha$ CTF 进一步被  $\gamma$ -分泌酶水解生成 p83 片段。

$\alpha$ -分泌酶的活性主要集中在细胞膜上。 $\beta$ APP 在细胞膜上被  $\alpha$ -分泌酶水解后, 其胞外可溶性片段 sAPP $\alpha$  直接分泌到细胞外间质。sAPP $\alpha$  具有神经保护的功能。由于  $\alpha$ -分泌酶的切割位点位于 A $\beta$  的 16 和 17 氨基酸之间, 因此  $\alpha$ CTF 进一步被  $\gamma$ -分泌酶水解所生成的 p83 片段不具有致病性。通过对不同蛋白酶抑制剂对 sAPP $\alpha$  生成影响的研究表明,  $\alpha$ -分泌酶是一种金属蛋白酶(metalloprotease)。Adamalysin 蛋白家族的几个成员, 如  $\alpha$  肿瘤坏死因子(tumor necrosis



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士学位论文摘要库