

学校编码: 10384

分类号____密级____

学 号: 24520131153548

UDC_____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

巴 菘 合 剂 对 5xFAD 转 基 因 小 鼠 β -淀 粉 样 蛋 白 ($A\beta$) 生 成 相 关 机 制 的 影 响 研 究

Effect of Ba Zhu Decoction(BZD) on the related mechanisms
of $A\beta$ formation in 5xFAD transgenic mice

彭阿香

指导教师姓名: 黄源鹏副教授

专 业 名 称: 中医内科学

论文提交日期: 2016年4月

论文答辩时间: 2016年5月

学位授予日期: 2016年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2016年5月

巴蔡合剂对 *Ss1D* 转基因小鼠 α -淀粉样蛋白(A β)生成相关机制的影响研究

彭阿香

指导老师 黄源鹏 副教授

厦门大学

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈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其他个人或集体已经发表的研究成果，均在文中以适当方式明确标明，并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范（试行）》。

另外，该学位论文为()课题(组)的研究成果，获得()课题(组)经费或实验室的资助，在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称，未有此项声明内容的，可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

摘 要

目的: 巴茛合剂是本人硕士导师治疗阿尔兹海默病(AD)的经验方,前期临床研究证明,巴茛合剂能有效缓解 AD 患者认知功能障碍,但对巴茛合剂的作用机制尚未深入研究。本文旨在通过 AD 转基因动物再次验证巴茛合剂的治疗效果,并进一步探索巴茛合剂治疗 AD 的相关分子生物学机制。

方法: (1) 选取新型 APP/PS1 转基因小鼠(5xFAD 小鼠)作为实验对象。将 3 月龄 5xFAD 小鼠随机分为模型组(5xFAD-Control)、巴茛合剂低剂量组(5xFAD-BZD-L)、中剂量组(5xFAD-BZD-M)、高剂量组(5xFAD-BZD-H)及安理申组(5xFAD-Donep);同窝出生野生型小鼠随机分为正常对照组(WT-Control)、巴茛合剂组(WT-BZD)、安理申组(WT-Donep)。每组小鼠 12 只。给药剂量为:5xFAD-BZD-L 组,5xFAD-BZD-M 组,5xFAD-BZD-M 组和 WT-BZD 组分别给予巴茛合剂 4.225g/(kg d)、8.450 g/(kg d)、16.900 g/(kg d)和 16.900 g/(kg d);5xFAD-Donep 组和 WT-Donep 组给予安理申 0.65mg/(kg d);5xFAD-Control 组和 WT-Control 组给予双蒸水。各组小鼠给药 12 周,每日灌胃一次。

(2) 采用行为学方法,观察巴茛合剂对 5xFAD 小鼠学习记忆缺陷及焦虑抑郁障碍的治疗效果。旷场实验(OFT)和高架十字迷宫(EPM)用于评价小鼠自主探究行为和焦虑抑郁状态;T/Y 迷宫(T/YM)、水迷宫(MWM)和条件惊恐实验(CCFT)分别用于评价小鼠空间交替记忆力、方位定向学习记忆力和环境关联记忆力等认知能力。

(3) 采用分子生物学方法,探索巴茛合剂是否干预 β -淀粉样蛋白生成的相关生物学标志物。与 $A\beta$ 生成相关的 AD 机制是目前最受关注的研究焦点。神经元胞外 β -淀粉样蛋白($A\beta$)堆积是 AD 的经典病理表现之一。 $A\beta$ 的产生与否关系到 $A\beta$ 前体蛋白(APP)的两条水解途径:一是由 β -分泌酶和 γ -分泌酶参与的淀粉源水解途径,二是 α -分泌酶和 γ -分泌酶参与的非淀粉源水解途径。除此之外,乙酰胆碱酯酶 (AChE)的异常表达、脂质过氧化产物丙二醛(MDA)的增多及超氧化物歧化酶(SOD)活性异常也将对 $A\beta$ 生成造成影响。因此,APP、 α -分泌酶、 β -分泌酶、 γ -分泌酶以及 AChE、MDA、SOD 等蛋白的表达或活性对 $A\beta$ 的形成至关重要。

结果：本实验研究结果表明，巴茛合剂对 5xFAD 小鼠的学习记忆功能缺陷和焦虑障碍有改善作用。在高架十字迷宫中，未给药的 6 月龄 5xFAD 小鼠出现焦虑性过低，在 Y 迷宫、水迷宫和条件惊恐实验中则表现出明显的学习记忆功能受损。而巴茛合剂中、高剂量能改善该小鼠焦虑性过低，并提高该小鼠在 Y 迷宫、水迷宫和条件惊恐实验中的认知能力($P < 0.05$ 或者 $P < 0.01$)。进一步的机制研究发现，巴茛合剂对 5xFAD 小鼠脑组织中的 A β 斑块、 β -分泌酶、 γ -分泌酶、AChE、MDA 的表达水平和 SOD 的活性都有影响($P < 0.05$ 或者 $P < 0.01$)。巴茛合剂通过降低 β -分泌酶中的 BACE1、 γ -分泌酶中的 PS1 等蛋白的表达，抑制 APP 的淀粉源水解途径，减轻 A β 的过度生成和聚集；以及通过抑制 AchE 表达、调节 MDA/SOD 的异常水平和活性，进一步缓解 A β 淀粉样斑的沉积。

结论：巴茛合剂提高 5xFAD 小鼠的学习记忆能力并改善其焦虑性过低的作用机制可能是通过调节各种亚细胞水平蛋白进而抑制 β -淀粉样斑的生成。本文为巴茛合剂临床治疗 AD 提供了实验理论基础，也为中药治疗 AD 拓宽了思路和应用前景。

关键词：巴茛合剂；阿尔兹海默病；5xFAD 小鼠； β -淀粉样蛋白

Abstract

Objective: Bazhu Decoction (BZD), originated from my master instructor's experience, is an effective formulae of traditional Chinese medicine for Alzheimer's disease(AD). BZD has been proved effective on patients of AD in our group's preliminary studies. However, the mechanism of BZD on AD remains unclear. Therefore, this study aimed to investigate whether BZD has positive therapy in AD transgenic mice and its molecular biological mechanisms.

Method: (1) 5xFAD mice, a new kind of APP/PS1 transgenic mice, were selected in this study. 3-month-old 5xFAD mice were randomly divided into control group(5xFAD-Control), low-dose BZD group(5xFAD-BZD-L), middle-dose BZD group(5xFAD-BZD-M), high-dose BZD group(5xFAD-BZD-H) and Donepezil HCL group(5xFAD-Donep). Wild type littermates, were subjected to control group (WT-Control), BZD group(WT-BZD) and Donepezil HCL group(WT-Donep). There were 12 mice in each group. 5xFAD-BZD-L, 5xFAD-BZD-M, 5xFAD-BZD-M and WT-BZD mice were orally administrated with different dosages of BZD per day (4.225g/kg, 8.450 g/kg, 16.900 g/kg,16.900 g/kg). 5xFAD-Donep group and WT-Donep group were given 0.650mg/(kg d) Donepezil HCL. 5xFAD-Control group and WT-Control group were treated with 20ml/(kg d) ddH₂O. All mice were administered once-daily gavage for 12 weeks.

(2) Behavioral tests were used to observed the therapeutic effect of BZD on the cognitive and anxiety disorders of 5xFAD mice. The locomotor activity and anxiety-depression disorder of 5xFAD mice were estimated by open field test(OFT) and elevated plus maze(EPM). The spatial alternation ability, orientation learning memory and context-cued test capacity were detected via T/Y maze(T/YM), morris water maze(MWM) and cued and contextual fear conditioning test (CCFT).

(3) Molecular biology methods were applied to explore the biomarkers associated with A β deposition. Recently, the mechanisms about β -amyloid protein(A β) have been the most popular focus among AD researchers. A β deposition is one of the

classical pathologies in AD. A β proteins are generated from APP's amyloidogenic pathway, which is participated by β -secretase and γ -secretase. Additionally, the hydrolysis methods of APP include neuroprotection non-amyloidogenic pathway that APP is sequentially cut by α -secretase and γ -secretase. Besides APP's hydrolysis methods, the abnormal expressions of acetylcholinesterase (AChE), the increase of malondialdehyde (MDA) and the unusual activity of Superoxide Dismutase (SOD) also affect the formation of A β . Therefore, both APP, α -secretase, β -secretase, γ -secretase and AChE, MDA, SOD are important for the deposition of A β .

Result: BZD has improved the cognitive and anxiety disorders on 5xFAD mice. 6-month-old untreated 5xFAD mice have shown reduced anxiety in elevated plus maze, and memory loss in Y maze, cued and contextual fear conditioning test and morris water maze. The middle and high dosage of BZD have alleviated the low anxiety, improved the cognitive dysfunction of 5xFAD mice in behavioral tests ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Furthermore, in the study of molecular biological mechanisms, I have found that BZD had regulated the content or activity of A β plaques, β -secretase, γ -secretase, AChE, MDA and SOD ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The A β deposition has been decreased by BZD via suppressing the protein expression in APP's amyloidogenic pathway (BACE1 and PS1), the level of AChE and the balance of oxidative stress (MDA and SOD).

Conclusion: In short, this paper has proved that BZD had regulated diverse subcellular proteins' levels to inhibit the generation of β -amyloid plaques on 5xFAD mice then improved their cognitive ability and low anxiety. The results of this study have provided BZD's experimental basis for AD clinical treatments, and widened the ways of TCM strategy and application prospect in AD.

Key Words: Bazhu Decoction; Alzheimer's disease; 5xFAD transgenic mice; β -amyloid protein

目 录

摘 要.....	I
Abstract.....	III
目 录.....	V
Catalog.....	VII
缩略词中英文对照表	IX
第一章 前言	1
1.1 阿尔兹海默病.....	1
1.1.1 阿尔兹海默病概述	1
1.1.2 阿尔兹海默病病理	2
1.1.3 阿尔兹海默病病因及发病机制	4
1.1.4 β -淀粉样蛋白的产生.....	7
1.2 中医药与阿尔兹海默病.....	9
1.2.1 中医药对 AD 的认识与治疗经验概述	9
1.2.2 巴茛合剂治疗 AD 的前期基础.....	10
1.3 阿尔兹海默病的动物模型.....	12
1.3.1 阿尔兹海默病动物模型概述	12
1.3.2 5xFAD 转基因小鼠	13
1.4 本论文研究的内容与意义.....	14
第二章 材料与方 法	16
2.1 实验材料和仪器设备	16
2.1.1 中药、西药、抗体和化学试剂	16
2.1.2 实验动物及给药方法	16
2.1.3 主要试剂与溶液的配制	17
2.1.4 主要实验仪器	19
2.2 实验方法.....	20
2.2.1 中药和西药的制备	20
2.2.2 小鼠基因型鉴定	21
2.2.3 小鼠行为学测试	22

2.2.4 免疫组化.....	24
2.2.5 蛋白免疫印记 (western blot)	26
2.2.6 丙二醛含量和超氧化物歧化酶活性检测.....	28
2.2.7 数据统计.....	30
第三章 实验结果及分析.....	31
3.1 5xFAD 小鼠基因型鉴定.....	31
3.2 巴茛合剂提高 5xFAD 小鼠认知能力及改善焦虑性过低.....	31
3.2.1 巴茛合剂改善 5xFAD 小鼠焦虑性过低的精神障碍	31
3.2.2 巴茛合剂提高 5xFAD 小鼠学习记忆能力.....	33
3.3 巴茛合剂降低 5xFAD 小鼠 β -淀粉样蛋白的沉积.....	38
3.4 巴茛合剂对 5xFAD 小鼠 $A\beta$ 产生相关蛋白有影响.....	41
3.5 巴茛合剂对 5xFAD 小鼠胆碱能相关酶及氧化应激反应有影响.....	44
第四章 讨论与展望	47
4.1 巴茛合剂等中药治疗 AD 的思路和前景.....	47
4.2 巴茛合剂影响 5xFAD 小鼠行为学的效果评价	48
4.3 巴茛合剂干预 5xFAD 小鼠 $A\beta$ 生成相关机制的效果评价	49
4.4 实验小鼠选择及实验设计思路	51
4.5 本实验的研究结论	52
4.6 本实验存在的不足和展望.....	52
参考文献.....	54
致谢.....	61
在学期间发表的学术论文.....	62

Catalog

Chinese abstract	I
Abstract	III
Chinese catalog	V
Catalog	VII
Acronym table in both Chinese and English	IX
Chapter1 Introduction	1
1.1 Alzheimer's Disease	1
1.1.1 Summary of alzheimer's disease	1
1.1.2 Pathology of alzheimer's disease	2
1.1.3 Etiologies and mechanisms of alzheimer's disease	4
1.1.4 The formation of β -amyloid protein	7
1.2 Traditional Chinese medicine and alzheimer's disease	9
1.2.1 Recordation and therapeutic experiences of TCM in AD	9
1.2.2 Preliminary basis of Ba Zhu Decoction for AD therapy	10
1.3 The animal model of alzheimer's disease	12
1.3.1 Summary of alzheimer's disease animal model	12
1.3.2 5xFAD transgenic mice	13
1.4 Research content and significance	14
Chapter2 Materials and Methods	16
2.1 Materials and equipments	16
2.1.1 BZD, Donepezil HCL, antibodies and chemical reagents	16
2.1.2 Animals and treatments	16
2.1.3 The configuration of main reagents and solution	17
2.1.4 Main experimental apparatuses	19
2.2 Methods	20
2.2.1 The preparation of BZD and Donepezil HCL	20
2.2.2 Gene identification of mice.....	21
2.2.3 Behavioral tests.....	22
2.2.4 Immunohistochemical	24
2.2.5 Western blot	26

2.2.6	Detection of MDA content and SOD activity	28
2.2.7	Data statistics	30
Chapter3	Results and Analysis.....	31
3.1	Gene identification of 5xFAD mice	31
3.2	BZD has improved the cognitive dysfunction and low anxiety on 5xFAD mice.....	31
3.2.1	BZD has alleviated the low anxiety on 5xFAD mice	31
3.2.2	BZD has enhanced the learning and memory ability on 5xFAD mice...33	
3.3	BZD has reduced the A β plaques on 5xFAD mice	38
3.4	BZD has effected the related proteins of A β deposition on 5xFAD mice 41	
3.5	BZD has effected the AchE, MDA and SOD on 5xFAD mice	44
Chapter4	Discussion and Expectation	47
4.1	Prospects and thoughts about the treatment of TCM like BZD.....	47
4.2	Evaluation of BZD on 5xFAD mice's behavioral test.....	48
4.3	Assessment of BZD on 5xFAD mice's A β related mechanism	50
4.4	Selection of laboratory mice and design of experiment	51
4.5	The conclusion of this experiment.....	52
4.6	Deficiencies and prospects of this experiment.....	52
References	54
Acknowledgement	61
Appendix	62

缩略词中英文对照表

英文缩写	英文全名	中文全名
AD	Alzheimer's disease	阿尔兹海默病
NFTs	Neurofibrillar Tangles	神经纤维缠结
A β	β -amyloid protein	β -淀粉样蛋白
SP	Senile Plaques	老年斑(淀粉样斑)
APP	β -amyloid precursor protein	β -淀粉样前体蛋白
FAD	Familial AD	家族性 AD
SAD	Sporadic AD	散发性 AD
LTP	Long-term potentiation	长时程增强
Ach	Acetylcholine	乙酰胆碱
CoA	Acetyl Coenzyme A	乙酰辅酶 A
ChAT	Choline acetyltransferase	乙酰转移酶
AChE	Acetyl cholinesterase	乙酰胆碱酯酶
AICD	APP intracellular domain	APP 胞内结构域
ADAM	A disintegrin and metalloproteinase	解聚素-金属蛋白酶
BACE1	β -site APP cleaving enzyme 1	β -分泌酶 1
PS(PS1/ PS2)	Presenilins	早老素
BZD	Bazhu Decoction	巴茱合剂
5xFAD	five familial AD mutations	5 个家族性基因突变
Donep	Donepezil HCL	盐酸多奈哌齐
OFT	Open Field Test	旷场实验
EPM	Elevated Plus Maze	高架十字迷宫
T/YM	T/Y Maze	T/Y 迷宫
MWM	Morris Water Maze	水迷宫
CCFT	Cued and Contextual Fear conditioning Test	条件惊恐实验
PVDF	polyvinylidene fluoride	聚偏二氟乙烯膜
MDA	Malondialdehyde	丙二醛
SOD	Superoxide Dismutase	超氧化物歧化酶

第一章 前言

1.1 阿尔兹海默病

1.1.1 阿尔兹海默病概述

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种最常见的痴呆疾病,该病与高龄相关,又称作老年性痴呆,属于慢性进行性中枢神经系统的退行性变性疾病,以记忆力减退、认知功能障碍并伴有其他精神紊乱为主要临床表现^[1,2]。AD的发病大约占痴呆疾病的 2/3 以上,是各种因素造成痴呆疾病的主要痴呆类型^[3]。最早对 AD 进行报道的是德国医生 Alois Alzheimer。Alois 医生在 1901 年德国的 Fankford 医院收治了一位叫作 Auguste Deter 的 51 岁女病人,该病人临床表现为短期记忆力下降、听觉幻觉、语言缺失、妄想偏执并且呈现进展性神经精神障碍,最终该病人因长期卧床生活不能自理等原因,于 1906 年死于重度感染。随后,Alois 医生用当时较为先进的组织病理学银染法检查出患者大脑组织的病理学改变,并在 1907 年作了详细报道。为了肯定 Alois 医生在神经和精神系统疾病方面的卓越贡献,1910 年,他的同事,慕尼黑皇家精神病医院的院长 Kraepelin,将该病命名为 Alzheimer's disease,由此该病名沿用至今。

AD 在临床表现上具有独特特征^[4]: ①起病隐匿,故很难判断患者出现认知能力受损的确切时间;②记忆力障碍,这一般是患者的核心症状,最初表现为近期记忆力障碍但远期记忆力保存尚好,随着时间的推移,远期记忆也逐渐丧失,严重者可出现虚构;③语言障碍,AD 患者早期虽然语言功能相对保存,但容易忘记所需词汇并且常加入无关词汇和变换主题,出现找词困难、命名困难、语言中断等现象,到晚期只能模仿语言,无法进行正常交谈;④视空间定向障碍,表现为时间、地点、人物的定向困难,不知今天是何年何月,常迷路,不认识熟人等;⑤失认和失用,失用表现为失去生活自理活动能力,如穿衣不能等,失认则是不认识家人及镜中的自己;⑥行为和精神障碍,表现为焦虑、抑郁、幻觉、运动不宁和游走等症状;⑦计算力障碍;⑧判断和抽象功能受损;⑨其他症状。随着时间的推移,AD 患者脑内神经元持续变性,上述临床表现进行性加重,最终智能全部退化,甚至无法站立或行走,生活完全不能自理。到后期,患者多因为

长期卧床、免疫力低下等原因出现各种并发症，如褥疮、血栓性疾病、泌尿系感染、吸入性肺炎、败血症等，相对于同龄老人来说，AD 患者也更易罹患心脑血管疾病和癌症，最终 AD 患者往往死于并发症。

AD 是目前影响老年人生活质量和身心健康的常见疾病。随着人口老龄化趋势加剧，人类寿命逐年增长，AD 发病率也迅速攀升，近 60 年里，AD 的发病率已经增加了 4 倍。流行病学调查结果提示，AD 已成为发达国家的第四大死亡病因，前三位为心脑血管疾病、癌症和中风，而中国的 AD 发病率几乎与发达国家持平。高龄是 AD 发病的重要危险因素，根据《2014 年阿尔茨海默病事实与数据》得知，AD 发病率在 65 到 69 岁之间为 3%，70 到 74 岁之间为 5%，75 到 79 岁之间为 8%，80 到 85 岁之间为 16%，整体呈指数增长，这说明只要人们寿命够长，都免不了发生 AD。但是，在 90 岁以上超高龄人群中，研究者竟然发现 AD 发病率有所下降，因此，这又表明有些长寿的人可能终身不发生 AD^[5]。据有关数据调查显示，全球痴呆病人患病率达到 2.4 千万人，到 2050 年数据又将翻 4 倍^[6]。在中国，AD 的患病人群大概在 569 万人，发病率约 6.25%，而且目前正在以 30 万人/年的速度增长，该病所带来的经济负担将远远超过以往的估算，如果没有有效的预防和治疗手段，AD 将对社会经济和医疗体系造成灾难性冲击^[7-9]。

至今，对 AD 的治疗仍无有效的药物和措施，国内外均致力于该方面药物的研发。目前，获得美国 FDA（食品与药物监督管理局）批准治疗 AD 的药物主要分为两类：胆碱酯酶抑制剂（Tacrine-他克林、Donepezil HCL-盐酸多奈哌齐、Rivastigmine-卡巴拉汀、Galanthamine-加兰他敏）和 NMDA 受体拮抗剂（memantine-美金刚），但这些药物只能暂时缓解 AD 的症状，不能阻止或者逆转疾病的进展，而且长期服用将不可避免地伴随诸多不良反应，如恶心、呕吐、消化道出血、消化不良、腹泻、肌肉痉挛、头晕头痛、眩晕、视觉障碍、失眠等。近年来，寻找更安全有效且适合长期服用的天然药物和自然疗法已成为研究热点，中医药治疗 AD 便是其中具备较大潜力的途径之一，诸多 AD 相关的中医药临床研究已取得了明显疗效，亟待更进一步挖掘和探索。

1.1.2 阿尔兹海默病病理

Alois Alzheimer 医生在 1906 年的一次学术会议上，最早对该病的病理表现

作出了具体描述,并于 1907 年发表公开报道。他通过对已故女病人 Auguste Deter 大脑组织的病理学检测,发现存在三大病理改变,即神经元丢失、胞内神经纤维 (Neurofibrillar Tangles, NFTs) 缠结和胞外淀粉样斑(又称老年斑, Senile Plaques, SP) 沉积^[10]。其中,由过度磷酸化的 Tau 蛋白导致的神经纤维缠结和 β -淀粉样蛋白 (β -amyloid protein, $A\beta$) 组成的神经炎性斑块是目前学术界中,病理学家和神经病学家公认的两个 AD 特征性病理损害(如图 1)。研究人员普遍认为,神经元、树突和轴突特别容易被淀粉样斑和缠结神经纤维所损害,从而抑制神经信号传递,导致神经元丧失和凋亡,最终引起认知功能障碍。

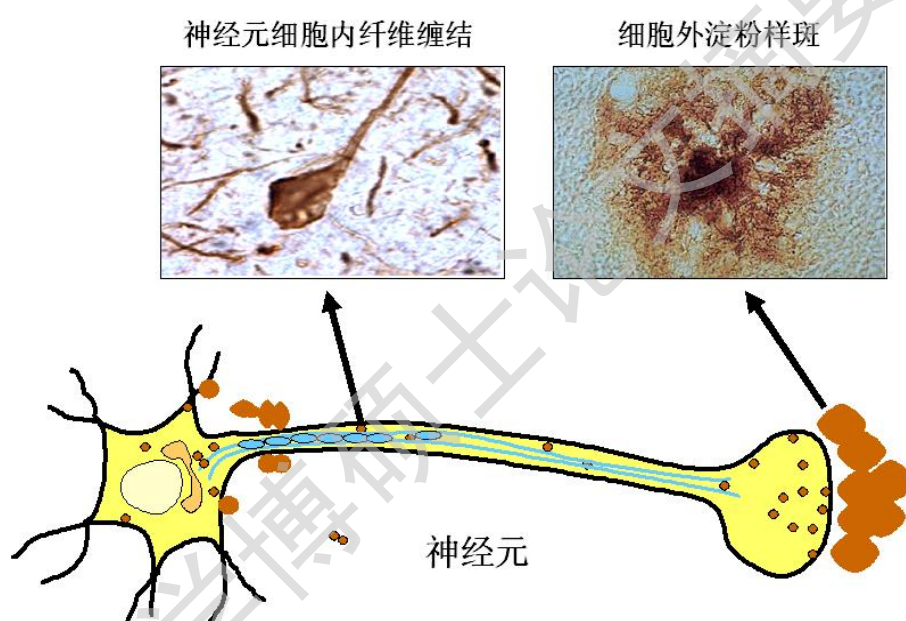


图 1.1 AD 的两个重要病理学特征

Figure 1.1 Two classical pathological features of AD

(引自陈晔光等, 分子细胞生物学, 2006)

神经炎性斑块即老年斑,位于神经元细胞外,约 50-200 μm 大小,它的核心组成是一种含氨基酸微丝 40-43 个,直径 5-10nm 的不可溶的淀粉样物质,该淀粉样物质因其 β -片层二级结构^[11]而被命名为 $A\beta$ 蛋白。 $A\beta$ 来源于 I 型跨膜蛋白 β 淀粉样蛋白前体蛋白 (β -amyloid precursor protein, APP) 的水解过程。虽然 APP 的水解过程有三种蛋白酶 (α -分泌酶、 β -分泌酶和 γ -分泌酶) 参与,但是与 $A\beta$ 产生具有直接关系的只有 β -分泌酶和 γ -分泌酶。APP 在上述两种酶的依次剪切后形成包括 $A\beta$ 在内的各种氨基酸残基^[12-15]。酶切之后,根据 $A\beta$ 肽链的长短,

Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts 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 for delivery details.