

β -分泌酶与二价阳离子耐受蛋白 CUTA 存在相互作用

侯海波 易雪莲 周爱娜 张云武 许华曦 洪水根 刘润忠 *

(厦门大学生命科学学院、生物医学研究院, 分子细胞神经科学实验室, 厦门 361005)

摘要 淀粉样蛋白(β -amyloid, A β)沉积是阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)的重要病理特征之一。A β 是由淀粉样前体蛋白(amyloid precursor protein, APP)经 β -分泌酶(BACE)和 γ -分泌酶水解产生的,因此BACE1在AD的形成过程中发挥重要作用。为了进一步研究BACE1的作用机制,以BACE1胞内段构建诱饵蛋白用酵母双杂交方法筛选与之相互作用的蛋白质。结果得到了二价阳离子耐受蛋白(divalent cation tolerant protein, CUTA)的阳性克隆, β -半乳糖苷酶实验表明CUTA和BACE1胞内片段存在相互作用。构建了两全基因的表达载体,证明二者在哺乳动物细胞中同样可以相互作用。CUTA可能涉及铜的代谢动力学及乙酰胆碱酯酶(AchE)的膜锚定,而铜的代谢失衡和AchE水平与AD发病密切相关。实验结果为BACE生物学功能和AD发病机制的研究提供了条件。

关键词 淀粉样蛋白; 阿尔茨海默病; β -分泌酶; γ -分泌酶; CUTA

阿尔茨海默病(Alzheimer disease, AD)是一种与年龄相关的神经退行性疾病。国外报道,65岁以上人群患病率约为10%,85岁以上人群患病率高达50%^[1]。老年斑主要是由 β -淀粉样蛋白(β -amyloid, A β)聚合形成的不可溶淀粉样蛋白纤维所组成,无论是在散发性AD(SAD),还是在家族性AD(FAD)中都被认为是AD主要的病理学特征之一。A β 是由淀粉样前体蛋白(β -amyloid precursor protein, β APP)经过一系列的蛋白质水解产生的。一方面, β APP的胞外区首先被 β -分泌酶在A β 的1或11位置水解,所产生的跨膜片段的羧基端(β CTF)再进一步被 γ -分泌酶在膜双分子层内水解,从而生成A β 40或A β 42^[2]。另一方面, β APP在其胞外区更靠近膜的位置(A β 17位点)可以被 α -分泌酶水解生成可溶性分子sAPP α 和跨膜片段 α CTF^[3]。 α CTF被 γ -分泌酶水解后生成p83片段,从而阻止了A β 的形成。

β -分泌酶,又称为BACE1(或Asp2),是I型跨膜天冬氨酸蛋白酶,其主要分布在高尔基体和胞吞体(endosomes)内^[4,5]。BACE1是一种广泛表达的蛋白质,除与AD相关外,可能还具有其他的正常生理功能。作为胃蛋白酶家族成员之一,BACE1能够促进唾液酸转移酶(如 α 2,6-sialyltransferase, A-ST6Gal)的分泌^[6]。ST6Gal在淋巴B细胞功能发挥方面起重要作用,ST6Gal缺失小鼠的血清中IgM水平明显降

低。2003年,Lichtenthaler等^[7]证明BACE1与P-选择蛋白糖蛋白配体1(PSGL-1)存在相互作用。Luo等^[8]还报道BACE1可以水解电压门控钠通道(VGSC) β 亚基。VGSC β 亚基是电压门控钠通道重要的辅助成分,能够促进钠通道重组和细胞内定位。近年来,BACE1的生理功能和作用机制已引起越来越多研究者的关注。但是人们对其在细胞内具体的转运过程,生理活性的调节机制以及正常生理功能还缺乏全面的了解。为进一步研究BACE1的功能,我们通过酵母双杂交方法在人胎脑文库中筛选与BACE1胞内段相互作用的蛋白质,得到阳性克隆的二价阳离子耐受蛋白CUTA。 β -半乳糖苷酶和免疫共沉淀实验证实了二者之间存在相互作用。我们的实验结果不仅为CUTA生物学功能的研究创造了条件,而且还可能促进BACE1的功能机制研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 酵母双杂交系统 Matchmaker Gal4 Two-Hybrid System 3 (Clontech 公司): 质粒 pGBKT7、

收稿日期: 2007-04-20 接受日期: 2007-10-15

国家自然科学基金(No.30572077)、细胞生物学与肿瘤细胞工程教育部重点实验室(厦门大学)(No.2005111)资助项目

* 通讯作者。Tel: 0592-2095215, Fax: 0592-2188528, E-mail: liurz@xmu.edu.cn

pACT2、pCMV-myc、pCMV5.0-HA、pGADT7; 人胎脑 cDNA 文库; 酵母菌 AH109。

1.1.2 细胞和主要试剂 N2a、N2a/APP695 细胞为本实验室保有; HEK 293T 细胞来自清华大学分子细胞实验室; DMEM 培养液、胎牛血清购自 Hyclone 公司; 硝酸纤维素膜(Pall 公司)、ECL Western 显色试剂(Pieres 公司); X-gal 购自 Clontech 公司。鼠源抗 myc、抗 HA 抗体购自时代公司, 羊抗鼠抗体购自 Pieres 公司, 兔源 RU689(抗 BACE1)抗体由本实验室制备。大肠杆菌 DH5 α 由本实验室保存(购自天为时代); 限制性内切酶、T4 DNA 连接酶、LA DNA 聚合酶(Pyrobest)等购自 TaKaRa 公司; RNase 购自 Sigma 公司; DNA 和蛋白质 Marker 等购自天为时代公司。pE-BACE1 由美国 Bumhanm 研究所许华曦(为本文作者)实验室提供。实验所用引物均由上海生工合成。

1.2 方法

1.2.1 诱饵质粒的构建和表达 以 Gal4 BD-BACE1 融合蛋白作为诱饵进行酵母双杂交筛选人胎脑文库, 选用质粒 pGBKT7-myc 作为载体。将质粒进行 *EcoRI* 和 *PstI* 双酶切, 进行琼脂糖凝胶电泳并切胶回收酶切片断。BACE1 cDNA 从 pE-BACE1 质粒经 PCR 扩增得到。引物设计如下: 正向引物 5'-GCG-GAATTCTGCCTCATGGTGTGTCAG-3', 反向引物 5'-CGCCTGCAGTTATCACTTCAGCAGGGAGAT-3'。将 PCR 扩增产物用乙醇沉淀法纯化, 纯化产物进行 *EcoRI* 和 *PstI* 双酶切。用 T4 连接酶将酶切回收产物和上述已经进行双酶切的 pGBKT7-myc 质粒片段以摩尔比 3:1 的比例于 16 °C 连接 16 h, 得到 pGBKT7-Gal4 BD-myc-BACE1(C29)质粒。将构建好的质粒转化到大肠杆菌 DH5 α 中, 摇菌后提取质粒。按照 Matchmaker Gal 4 Two-Hybrid System 3 双杂交系统使用说明将质粒转化到酵母 AH109 中, 在 SD/-Trp 平板上培养 3~5 日使诱饵蛋白表达; 同时检测该诱饵蛋白是否能够自激活报告基因的表达。用免疫印迹法检测诱饵蛋白的表达。

1.2.2 诱饵蛋白筛选人胎脑文库 按 Matchmaker Gal4 Two-Hybrid System 3 双杂交系统使用说明, 将人胎脑文库和构建的诱饵质粒共转到酵母 AH109 中。用 SD/-His/-Leu/-Trp 平板 30 °C 培养 3~5 日, 将长出的单菌落接种到 SD/-Ade/-His/-Leu/-Trp/X- α -Gal 平板上。3 h 后有部分菌落变蓝(阳性克隆, 说明可能存在相互作用)。记下这些菌落, 再次划线观察是否有表型变化, 将确定为阳性的菌落保存。用

PCR 法排除重复的文库质粒。文库质粒 pACT2 上带有通用引物, 利用该通用引物以上述所提酵母质粒为模板进行 PCR 扩增。扩增产物分别用 *AluI* 或 *HaeIII* (Clontech 使用手册推荐使用的内切酶)进行酶切分析。去除重复质粒后, 将剩余质粒进行测序和查找同源序列, 得到相互作用蛋白的基因。

1.2.3 β -半乳糖苷酶(β -galactosidase)活性定量分析 挑取培养板上生长的酵母共转化阳性克隆, 在 SD/-Leu/-Trp 液体培养基中 30 °C 培养过夜。翌晨转接到 YPD 培养基生长到 $A_{600}=1.0\sim1.5$, 用 Z 缓冲液 (16.1 g/L $\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 5.5 g/L $\text{NaH}_2\text{PO}_4\cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.75 g/L KCl, 0.246 g/L $\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 用 NaOH 调到 pH 7.0)洗涤后在液氮中反复冻融 3 次。加入底物硝基苯半乳糖苷(ONPG)后, 30 °C 保温, 显色后用 Na_2CO_3 终止反应, 离心取上清液, 在 420 nm 波长下测定吸光度值, 计算 β -半乳糖苷酶的活性。每实验重复 3 次, 根据 β -半乳糖苷酶活性定量判断相互作用强弱。

1.2.4 表达载体的构建和免疫共沉淀 根据 CUTA 基因序列, 设计如下引物: 正向 5'-TTAGAATTCGG-ATGGCCTCTGGAAGCCCT-3'; 反向 5'-CGCCTCGA-GTCATGGCAGGACTGTGAT-3'。以 293T 细胞 cDNA 为模版, PCR 扩增后得到全长 CUTA 基因。经 *EcoRI* 和 *XhoI* 双酶切后插入到 pCMV-myc 载体中, 得到 pCMV-myc-CUTA 质粒。为了构建全长 BACE1 序列, 设计如下引物 5'-TATGAATTCGCCACCATGGCCCA-AGCCCTG-3' 和 5'-GGCTCTAGACTTCAGCAGGG-AGATGTCATC-3', 并以 pE-BACE1 为模版, 经 PCR 扩增后获得全长 BACE1 基因序列。*EcoRI* 和 *XbaI* 双酶切后, 插入 pcDNA3.1-HA 载体中, 得到 pcDNA3.1-HA-BACE1 质粒。

将提取的 pCMV-myc-CUTA 和 pcDNA3.1-HA-BACE1 高纯度质粒用磷酸钙法共转染 HEK 293T 细胞和 N2a/APP695 细胞中。37 °C, 5% CO_2 培养 36 h 后。收集细胞, 加入含有蛋白酶抑制剂的 TNE 细胞裂解液 (10 mmol/L Tris, 150 mmol/L NaCl, 1 mmol/L EDTA, 0.5% NP-40), 4 °C 裂解 30 min。14 000 r/min 离心 15 min 后, 取 75 μl 上清液检测蛋白质表达。在其余的上清液中加 30 μl Protein-A Sepharose 预处理 4 h。离心去除 Protein-A Sepharose 后, 再在 293T 细胞和 N2a/APP695 细胞裂解液中分别加入抗 HA 和 RU-690 抗体以及 30 μl Protein-A Sepharose, 4 °C 温育过夜。10 000 r/min 离心 10 s 后, 用 TNE 裂解液洗 4 次。加入 2 倍上样缓冲液, 100 °C 煮 5~10 min。

最后用免疫印迹的方法检测蛋白质表达和相互作用的情况。

2 结果

2.1 诱饵质粒 pGBKT7-myc-BACE1 构建和表达的检测

为了构建酵母双杂交所需的诱饵质粒,我们以 pE-BACE1 为模板,PCR 扩增后得到 BACE1 C 末端 87 个核苷酸。将构建的诱饵质粒转化到大肠杆菌 DH5 α 中并提取质粒。酶切鉴定显示片段大小正确(图 1A),测序结果表明诱饵质粒构建成功。诱饵质粒表达的融合蛋白大小约 23 kDa。而没有插入 BACE1 片段的空质粒表达的融合蛋白大小为 20.3 kDa。将得到的诱饵质粒转化到酵母 AH109 中,进一步随机挑选 SD/-Trp 平板上生长的酵母转化子 AH109 进行免疫印迹分析。结果显示转化子裂解物中有预期分子量的表达产物,而对照菌株没有相应的表达产物(图 1B)。

2.2 人胎脑 cDNA 文库的筛选和阳性克隆的鉴定

按照 Matchmaker Gal4 Two-Hybrid System 3 双杂交系统使用说明将人胎脑文库转化到经鉴定可以表达 Gal4-AID 融合蛋白的酵母菌株 AH109 中进行筛选。我们从得到的菌落中提取得到文库质粒并用 PCR 法排除重复,最后得到 97 个样品。排除重复后的文库质粒和诱饵质粒一同转化到 AH109 中,在 SD/-Ade/-His/-Leu/-Trp/X- α -Gal 平板上培养。经过反复的筛选和验证后,我们最终得到 65 个阳性克隆。将得到的文库质粒进行测序和同源性分析后,结果表明:其中一个文库质粒 B3 的插入片段与人 CUTA 的 cDNA 序列中 104~514 片段同源性为 100%,并且该片段包括 CUTA 基因开放阅读框的全部核酸序列。

2.3 β -半乳糖苷酶活性测试

我们将文库质粒 pACT2-B3 与诱饵质粒 pGBKT7-myc-BACE1(C29)共转到酵母 AH109 中,利用 ONPG 来测试其与诱饵蛋白间的相互作用强弱。将 pGADT7 和 pGBKT7-myc-BACE1(C29),以及 pACT2-B3 与 pGBKT7 共转到酵母 AH109 中作为阴性对照,进行 β -半乳糖苷酶活性测定。结果表明,同时转入文库质粒 pACT2-B3 和诱饵质粒 pGBKT7-myc-BACE1(C29)的转化子 β -半乳糖苷酶活性有显著的提高(图 2)。

2.4 CUTA 和 BACE1 在哺乳动物细胞中存在相互作用

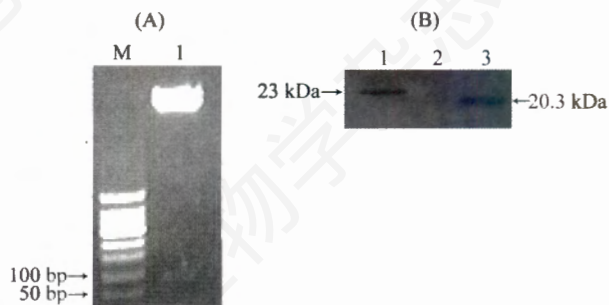


图 1 pGBKT7-myc-BACE1(C29)质粒的酶切和表达鉴定
A: 质粒的构建。M: marker; 1: pGBKT7-myc-BACE1(C29)。B: 质粒的表达。1: pGBKT7-myc-BACE1(C29); 2: 空白对照; 3: pGBKT7-myc。

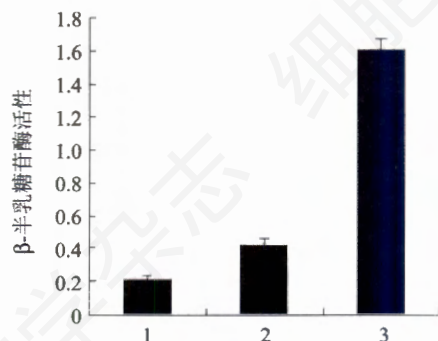


图 2 β -半乳糖苷酶活性测试结果
1: pGADT7+pGBKT7-BACE(C29); 2: pACT2-B3+pGBKT7; 3: pACT2-B3+pGBKT7-BACE(C29)。

由于酵母 AH109 的生理环境与哺乳动物细胞具有相当的差别,我们构建了能够在哺乳动物细胞中表达的质粒: pCMV-myc-CUTA 和 pcDNA3.1-HA-BACE1。将 pCMV-myc-CUTA 和 pcDNA3.1-HA-BACE1 转入 HEK 293T 细胞后,我们进行了免疫沉淀以检测两者的相互作用。结果表明: CUTA 和 BACE1 转入 293T 细胞后,用抗 myc 抗体和抗 HA 抗体进行免疫印迹能够检测到 myc-CUTA 和 BACE1-HA 特异性条带(图 3 中图和下图),二者在细胞中能够正常表达;而且只有在二者共转的情况下,才能在免疫沉淀蛋白中检测到 myc-CUTA 条带(图 3 上图),说明二者在 293T 细胞中存在明显的相互作用。同样在 N2a/APP695 细胞中,只有在 pCMV-myc-CUTA 转入时才能够在 RU690 抗体免疫沉淀蛋白中看到 CUTA 条带(图 4 上图),表明 CUTA 能够与内源性 BACE1 相互作用。

3 讨论

BACE1 是水解 β APP, 产生 A β 过程中起决定性

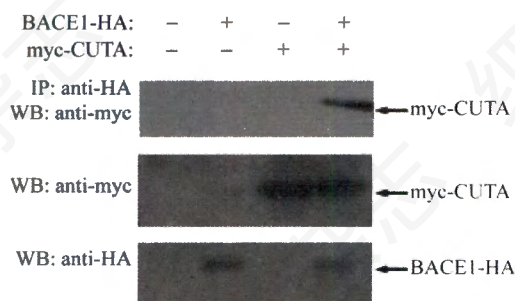


图3 CUTA 和外源性 BACE1 在 HEK 293T 细胞中存在相互作用

上图: 免疫共沉淀后, 免疫印迹检测 CUTA; 中图: CUTA 表达的检测; 下图: BACE1 表达的检测。

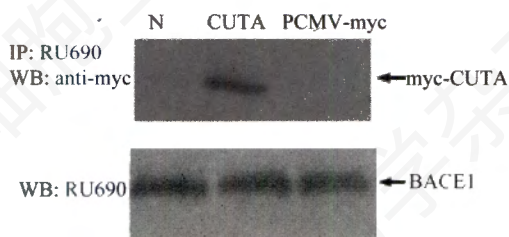


图4 CUTA 与内源性 BACE1 的相互作用

N: 未转入任何质粒的 N2a/APP695 细胞裂解液; CUTA: CUTA 转入 N2a/APP695 中, RU690 免疫沉淀后检测 CUTA 与 BACE1 的结合; PCMV-myc: PCMV-myc 空载体转入 N2a/APP695 中, 为阴性对照。

作用的两个酶之一, 而 A β 的过量生成和沉积与 AD 密切相关。A β 级联假说认为: A β 的过量产生、聚集及随后一系列的级联反应造成大脑皮层、海马区神经元的功能损伤及死亡, 产生渐进性神经递质减少, 并最终导致记忆和认知功能障碍, 产生 AD 症状^[9]。一些小分子可以直接与 BACE1 或 β APP 相互作用, 从而影响 BACE1 的水解活性, 如硫酸乙酰肝素(heparan sulfate, HS)和底板反应蛋白(F-spondin)^[10,11]。体外试验证明 HS 可以和 BACE1 直接作用, 抑制 β APP 底物的降解; 而在体内 HS 也会直接抑制 BACE1 的水解活性, 从而减少 A β 的产生。底板反应蛋白作用机制可能是和 β APP 直接结合, 从而阻止 BACE1 和 β APP 的相互作用, 抑制 BACE1 对 β APP 的水解。但 BACE1 参与此过程的具体机制及其活性调节仍有待研究。新的与 BACE1 相互作用蛋白的探讨不但有助于 AD 的研究, 而且对 BACE1 其他生物学功能的研究也有积极意义。

我们通过酵母双杂交方法筛选到一个新的与 BACE1 相互作用的蛋白质 CUTA, 并通过免疫共沉淀证明二者在哺乳动物细胞中也存在相互作用。CutA

基因最早在大肠杆菌中被发现, 其与铜的摄入和胞内平衡有关^[12]。后来的研究发现动植物中都含有 *CutA* 基因, 但其具体功能尚不清楚。大肠杆菌 *CutA* 基因由两个操纵子控制, 一个编码 CutA1(12 kDa); 另外一个编码膜内蛋白 CutA2(50 kDa)和 CutA3(24 kDa)。在大肠杆菌中, 铜的转运和胞内平衡主要涉及六个基因(*CutA*, *CutB*, *CutC*, *CutD*, *CutE* 和 *CutF*): 其控制着铜的摄入, 胞内存贮和分布, 以及铜的溢出^[13]。分子遗传研究表明, 大肠杆菌 *CutA* 基因的某些突变能够引起铜摄入的增加, 从而导致对铜离子的敏感。关于 CUTA 在哺乳动物中的功能研究十分匮乏。从其进化保守性上看, 其功能可能与铜离子的内态平衡有关。有趣的是, 许多研究表明铜与 AD 密切相关。Ashley 等^[14]认为铜的内态平衡、A β 代谢和 AD 的发病是紧密联系的。一方面, Cu²⁺ 能够影响 A β 的代谢。体外实验表明, Cu²⁺ 与 β APP 的结合能够减少 A β 的产生^[15,16]。Cu²⁺ 还能够促进 A β 的聚集: 铜离子和 A β 有高度的亲和力, 二者的结合会改变 A β 纤维的形态, 使其更易于聚集^[15,17]。另一方面, β APP 和 A β 与铜离子的结合会破坏铜的内态平衡。 β APP 和 A β 表达的增加会降低脑中铜的水平, 导致脂质过氧化作用增强而损伤机体^[18]。而且, 铜离子-A β 复合物会加速 H₂O₂ 的产生, 引起神经元的氧化损伤^[19]。最近, Dingwall 等^[20]发现 BACE1 胞内端能够和 Cu⁺ 结合, 而且 BACE1 与 CCS(the copper chaperone for superoxide dismutase-1)存在相互作用。因此, 他们提出 BACE1 可能是联系 SOD1 活性、胞质铜水平和 APP 水解的中心环节^[20]。此外, CUTA 可能还参与了其他生物学功能^[21]。研究人员发现, 在神经细胞中 CUTA 能够促进乙酰胆碱酯酶(AchE)在细胞膜上的锚定^[22]。CUTA 不能与 AchE 直接结合, 但在小鼠成纤维神经瘤细胞中, 抑制 CUTA 的表达会减少细胞表面的 AchE, 并降低两性四聚体 AchE 的水平。由此看来, CUTA 可能是 AchE 膜锚定复合物的组分之一, 是 AchE 细胞表面定位所必需的^[22]。而 AchE 也与 AD 密切相关。人脑中释放到突触间隙的乙酰胆碱可以被 AchE 降解, AchE 的过量表达或其活性提高会抑制胆碱能传递、引起胆碱能缺乏^[23]。而在 AD 病人中, 其脑的胆碱能系统也受到明显的损害。

我们的研究发现 CUTA 能够和 BACE1 相互作用, 表明 CUTA 可能参与了 AD 的形成过程。其有可能通过与 BACE1 结合, 或直接调节酶活性, 或干预了 BACE1 和 β APP 的结合, 从而影响 A β 的生成。CUTA

和铜的胞内平衡以及 AchE 的膜锚定密切相关, 暗示其也有可能通过调节胞内铜离子的含量或 AchE 的活性而影响 AD 的发病。进一步的研究将有助于揭示 CUTA 哺乳动物中的生物学功能, 并有可能为 AD 的治疗开辟一条新的途径。

参考文献(References)

- [1] Benson A. *Drug Discov Today*, 2005, **10**: 749
- [2] Cai H *et al.* *Nat Neurosci*, 2001, **4**: 233
- [3] Tyler SJ *et al.* *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, **299**: 373
- [4] Hass C. *EMBO J*, 2004, **23**: 483
- [5] Vassar R *et al.* *Science*, 1999, **286**: 735
- [6] Kitazume S *et al.* *J Biol Chem*, 2005, **280**: 8589
- [7] Lichtenthaler SF *et al.* *J Biol Chem*, 2003, **278**: 48713
- [8] Luo Y *et al.* *Neurobiol Dis*, 2003, **14**: 81
- [9] Sommer B. *Curr Opin Pharmacol*, 2002, **2**: 87
- [10] Scholefield Z *et al.* *J Cell Biol*, 2003, **163**: 97
- [11] Ho A *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, **101**: 2548
- [12] Fong ST *et al.* *Mol Microbiol*, 1995, **15**: 1127
- [13] Brown NL *et al.* *Metal Ions in Biological Systems*, New York: Marcel Dekker Press, 1994, 405
- [14] Bush AI *et al.* *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, **100**: 11193
- [15] Kessler H *et al.* *Der Nervenarzt*, 2005, **76**: 581
- [16] Barnham KJ *et al.* *J Biol Chem*, 2003, **278**: 17401
- [17] Smith DP *et al.* *Biochemistry*, 2007, **46**: 2881
- [18] Maynard CJ *et al.* *Int J Exp Pathol*, 2005, **86**: 147
- [19] Donnelly PS *et al.* *Curr Opin Chem Biol*, 2007, **11**: 128
- [20] Dingwall C *et al.* *Biochem Soc Trans*, 2007, **35**: 571
- [21] Arnesano F *et al.* *J Biol Chem*, 2003, **278**: 45999
- [22] Perrier AL *et al.* *J Biol Chem*, 2000, **275**: 34260
- [23] Klafki HW *et al.* *Brain*, 2006, **129**: 2840

β -secretase Interacts with Divalent Cation Tolerant Protein CUTA

Hai-Bo Hou, Xue-Lian Yi, Ai-Na Zhou, Yun-Wu Zhang, Hua-Xi Xu, Shui-Gen Hong, Run-Zhong Liu*

(Laboratory of Neurological Cell Molecular Biology, School of Life Sciences, Institute for Biomedical Research, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract The deposition of β -amyloid ($A\beta$) is a pathologic hallmark of Alzheimer's disease (AD). $A\beta$ is derived from β -amyloid precursor protein (APP) through sequential proteolytic cleavages by β -secretase (BACE1) and γ -secretase. To further elucidate the roles of BACE1 in the development of AD, a yeast two-hybrid system was performed to screen proteins directly interacting with BACE1 from a human embryo brain cDNA library. One of the potential BACE1-interacting proteins identified from the positive clones is a copper-associated protein, divalent cation tolerant protein CUTA. The interaction between CUTA and BACE1 was confirmed by β -galactosidase activity and co-immunoprecipitation studies. CUTA may be involved in copper dynamics and the anchoring of AchE on the plasma membrane of cells, whereas dysregulation of copper balance and AchE levels are closely correlated with AD pathogenesis, our results suggest that CUTA may play potential roles in the regulation of BACE1 activity/function and in the pathogenesis of Alzheimer's disease.

Key words β -amyloid; Alzheimer's disease; β -secretase; γ -secretase; CUTA

Received: April 20, 2007 Accepted: October 15, 2007

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30572077) and partly supported by the Key Laboratory of the Ministry of Education for Cell Biology and Tumor Cell Engineering, Xiamen University (No.2005111)

*Corresponding author. Tel: 86-592-2095215, Fax: 86-592-2188528, E-mail: liurz@xmu.edu.cn