

## References

- An WF, Bowlby MR, Betty M, Cao J, Ling HP, Mendoza G, Hinson JW, Mattsson KI, Strassle BW, Trimmer JS, Rhodes KJ: Modulation of A-type potassium channels by a family of calcium sensors. *Nature* 403:553-556, 2000
- Annaert WG, Levesque L, Craessaerts K, Dierinck I, Snellings G, Westaway D, George Hyslop PS, Cordell B, Fraser P, De Strooper B: Presenilin 1 controls  $\gamma$ -secretase processing of amyloid precursor protein in pre-golgi compartments of hippocampal neurons. *J Cell Biol* 147:277-294, 1999
- Artavanis-Tsakonas S, Rand MD, Lake RJ: Notch signaling: cell fate control and signal integration in development. *Science* 284:770-776, 1999
- Asami-Odaka A, Ishibashi Y, Kikuchi T, Kitada C, Suzuki N: Long amyloid  $\beta$ -protein secreted from wild-type human neuroblastoma IMR-32 cells. *Biochemistry* 34:10272-10278, 1995
- Bai C, Sen P, Hofmann K, Ma L, Goebel M, Harper JW, Elledge J: SKP1 connects cell cycle regulators to the ubiquitin proteolysis machinery through a novel motif, the F-box. *Cell* 86:263-274, 1996
- Bales KR, Verina T, Dodel RC, Du Y, Altstiel L, Bender M, Hyslop P, Johnstone EM, Little SP, Cummins DJ, Piccardo P, Ghetti B, Paul SM: Lack of apolipoprotein E dramatically reduces amyloid  $\beta$ -peptide deposition. *Nat Genet* 17:263-264, 1997
- Baumeister R, Leimer U, Zweckbronner I, Jakubek C, Grunberg J, Haass C: Human presenilin-1, but not familial Alzheimer's disease (FAD) mutants, facilitate *Caenorhabditis elegans* Notch signalling independently of proteolytic processing. *Genes Funct* 1:149-159, 1997
- Beggah AT, Geering K:  $\alpha$  and  $\beta$  subunits of Na,K-ATPase interact with BiP and calnexin. *Ann N Y Acad Sci* 834:537-539, 1997
- Beguin P, Hasler U, Staub O, Geering K: Endoplasmic reticulum quality control of oligomeric membrane proteins: topogenic determinants involved in the degradation of the unassembled Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase  $\alpha$  subunit and in its stabilization by  $\beta$  subunit assembly. *Mol Biol Cell* 11:1657-1672, 2000
- Beguin P, Geering K: Structural domains implicated in ER degradation of  $\alpha$  subunits of Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase. *Ann N Y Acad Sci* 834:540-542, 1997
- Berezovska O, Frosch M, McLean P, Knowles R, Koo E, Kang D, Shen J, Lu FM, Lux SE, Tonegawa S, Hyman BT: The Alzheimer-related gene presenilin 1 facilitates notch 1 in primary mammalian neurons. *Brain Res Mol Brain Res* 69:273-280, 1999
- Blaumueller CM, Qi H, Zagouras P, Artavanis-Tsakonas S: Intracellular cleavage of Notch leads to a heterodimeric receptor on the plasma membrane. *Cell* 90:281-291, 1997
- Blount P, Smith MM, Merlie JP: Assembly intermediates of the mouse muscle nicotinic acetylcholine receptor in stably transfected fibroblasts. *J Cell Biol* 111:2601-2611, 1990
- Borchelt DR, Ratovitski T, van Lare J, Lee MK, Gonzales V, Jenkins NA, Copeland NG, Price DL, Sisodia SS: Accelerated amyloid deposition in the brains of transgenic mice coexpressing mutant presenilin 1 and amyloid precursor proteins. *Neuron* 19:939-945, 1997
- Borchelt DR, Thinakaran G, Eckman CB, Lee MK, Davenport F, Ratovitsky T, Prada CM, Kim G, Seekins S, Yager D, Slunt HH, Wang R, Seeger M, Levey AI, Gandy SE, Copeland NG, Jenkins NA, Price DL, Younkin SG, Sisodia SS: Familial Alzheimer's disease-linked presenilin 1 variants elevate A $\beta$ 1-42/1-40 ratio *in vitro* and *in vivo*. *Neuron* 17:1005-1013, 1996
- Brou C, Logeat F, Gupta N, Bessia C, LeBail O, Doedens JR, Cumano A, Roux P, Black RA, Israel A: A novel proteolytic cleavage involved in Notch signaling: The role of the disintegrin-metalloprotease TACE. *Mol Cell* 5:207-216, 2000
- Brown MS, Ye J, Rawson RB, Goldstein JL: Regulated intramembrane proteolysis: a control mechanism conserved from bacteria to humans. *Cell* 100:391-398, 2000
- Brown MS, Goldstein JL: A proteolytic pathway that controls the cholesterol content of membranes, cells, and blood. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 11041-11048, 1999
- Brockhaus M, Grunberg J, Rohrig S, Loetscher H, Wittenburg N, Baumeister R, Jacobsen H, Haass C: Caspase-mediated cleavage is not required for the activity of presenilins in amyloidogenesis and NOTCH signaling. *Neuroreport* 9:1481-1486, 1998
- Budihardjo I, Oliver H, Lutter M, Luo X, Wang X: Biochemical pathways of caspase activation during apoptosis. *Annu Rev Cell Dev Biol* 15:269-290, 1999
- Buxbaum JD, Liu KN, Luo Y, Slack JL, Stocking KL, Peschon JJ, Johnson RS, Castner BJ, Cerretti DP, Black RA: Evidence that tumor necrosis factor  $\alpha$  converting enzyme is involved in regulated  $\alpha$ -secretase cleavage of the Alzheimer amyloid protein precursor. *J Biol Chem* 273:27765-27767, 1998
- Buxbaum JD, Choi EK, Luo Y, Lilliehook C, Crowley AC, Merriam DE, Wasco W: Calsenilin: a calcium-binding protein that interacts with the presenilins and regulates the levels of a presenilin fragment. *Nat Med* 4:1177-1181, 1998
- Cai XD, Golde TE, Younkin SG: Release of excess amyloid  $\beta$  protein from a mutant amyloid  $\beta$  protein precursor. *Science* 259:514-516, 1993

- Casagrande R, Stern P, Diehn M, Shamu C, Osario M, Zuniga M, Brown PO, Ploegh H: Degradation of proteins from the ER of *S. cerevisiae* requires an intact unfolded protein response pathway. *Mol Cell* 5:729-735, 2000
- Capell A, Steiner H, Romig H, Keck S, Baader M, Grim MG, Baumeister R, Haass C: Presenilin-1 differentially facilitates endoproteolysis of the  $\beta$ -amyloid precursor protein and notch. *Nat Cell Biol* 2:205-211, 2000
- Capell A, Grunberg J, Pesold B, Diehlmann A, Citron M, Nixon R, Beyreuther K, Selkoe DJ, Haass C: The proteolytic fragments of the Alzheimer's disease-associated presenilin-1 form heterodimers and occur as a 100-150- kDa molecular mass complex. *J Biol Chem* 273:3205-3211, 1998
- Capell A, Saffrich R, Olivo JC, Meyn L, Walter J, Grunberg J, Mathews P, Nixon R, Dotti C, Haass C: Cellular expression and proteolytic processing of presenilin proteins is developmentally regulated during neuronal differentiation. *J Neurochem* 69:2432-2440, 1997
- Carrión AM, Link WA, Ledo F, Mellström B, Naranjo JR: DREAM is a  $\text{Ca}^{2+}$ -regulated transcriptional repressor. *Nature* 398:80-84, 1999
- Chan YM, Yan YN: Roles for proteolysis and trafficking in Notch maturation and signal transduction. *Cell* 94:423-426, 1999
- Chan YM, Jan YN: Presenilins, processing of  $\beta$ -amyloid precursor protein, and Notch signaling. *Neuron* 23:201-204, 1999
- Chapman R, Sidrauski C, Walter P: Intracellular signaling from the endoplasmic reticulum to the nucleus. *Annu Rev Cell Dev Biol* 14:459-485, 1998
- Chui DH, Tanahashi H, Ozawa K, Ikeda S, Checler F, Ueda O, Suzuki H, Araki W, Inoue H, Shirotani K, Takahashi K, Gallyas F, Tabira T: Transgenic mice with Alzheimer presenilin 1 mutations show accelerated neurodegeneration without amyloid plaque formation. *Nat Med* 5:560-564, 1999
- Citron M, Eckman CB, Diehl TS, Corcoran C, Ostaszewski BL, Xia W, Levesque G, St. George Hyslop P, Younkin SG, Selkoe DJ: Additive effects of PS1 and APP mutations on secretion of the 42-residue amyloid  $\beta$ -protein. *Neurobiol Dis* 5:107-116, 1998
- Citron M, Westaway D, Xia W, Carlson G, Diehl T, Levesque G, Johnson Wood K, Lee M, Seubert P, Davis A, Kholodenko D, Motter R, Sherrington R, Perry B, Yao H, Strome R, Lieberburg I, Rommens J, Kim S, Schenk D, Fraser P, St George Hyslop P, Selkoe DJ: Mutant presenilins of Alzheimer's disease increase production of 42-residue amyloid  $\beta$ -protein in both transfected cells and transgenic mice. *Nat Med* 3:67-72, 1997
- Citron M, Diehl TS, Gordon G, Biere AL, Seubert P, Selkoe DJ: Evidence that the 42- and 40-amino acid forms of amyloid  $\beta$  protein are generated from the  $\beta$ -amyloid precursor protein by different protease activities. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:13170-13175, 1996
- Citron M, Teplow DB, Selkoe DJ: Generation of amyloid  $\beta$  protein from its precursor is sequence specific. *Neuron* 14:661-670, 1995
- Citron M, Oltersdorf T, Haass C, McConlogue L, Hung AY, Seubert P, Vigo-Pelfrey C, Lieberburg I, Selkoe DJ: Mutation of the  $\beta$ -amyloid precursor protein in familial Alzheimer's disease increases  $\beta$ -protein production. *Nature* 360:672-674, 1992
- Cook DG, Forman MS, Sung JC, Leight S, Kolson DL, Iwatsubo T, Lee VM, Doms RW: Alzheimer's A  $\beta$ (1-42) is generated in the endoplasmic reticulum/intermediate compartment of NT2N cells. *Nat Med* 3:1021-1023, 1997
- Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, Roses AD, Haines JL, Pericak-Vance MA: Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. *Science* 261:921-923, 1993
- Cox JS, Walter P: A novel mechanism for regulating activity of a transcription factor that controls the unfolded protein response. *Cell* 87:391-404, 1996
- Cox JS, Shamu CE, Walter P: Transcriptional induction of genes encoding endoplasmic reticulum resident proteins requires a transmembrane protein kinase. *Cell* 73:1197-1206, 1993
- Cronin RS, Khoury A, Ferry DK, Hampton RY: Regulation of HMG-CoA Reductase degradation requires the P-Type ATPase Cod1p/Spf1p. *J Cell Biol* 148:915-924, 2000
- Davis JA, Naruse S, Chen H, Eckman C, Younkin S, Price DL, Borchelt DR, Sisodia SS, Wong PC: An Alzheimer's disease-linked PS1 variant rescues the developmental abnormalities of PS1-deficient embryos. *Neuron* 20:603-609, 1998
- DeBose Boyd RA, Brown MS, Li WP, Nohturfft A, Goldstein JL, Espenshade PJ: Transport-dependent proteolysis of SREBP: relocation of site-1 protease from Golgi to ER obviates the need for SREBP transport to Golgi. *Cell* 99:703-712, 1999
- De Jonghe C, Zehr C, Yager D, Prada CM, Younkin S, Hendriks L, Van Broeckhoven C, Eckman CB: Flemish and Dutch mutations in amyloid beta precursor protein have different effects on amyloid beta secretion. *Neurobiol Dis* 5:281-286, 1998
- Deshaies RJ: SCF and Cullin/Ring H2-based ubiquitin ligases. *Annu Rev Cell Dev Biol* 15:435-467, 1999
- De Strooper B, Annaert W, Cupers P, Saftig P, Craessaerts K, Mumm JS, Schroeter EH, Schrijvers V, Wolfe MS, Ray WJ, Goate A, Kopan R: A presenilin-1-dependent  $\gamma$ -secretase-like protease mediates release of Notch intracellular domain. *Nature* 398:518-522, 1999
- De Strooper B, Saftig P, Craessaerts K, Vanderstichele H, Guhde G, Annaert W, Von Figura K, Van Leuven F: Deficiency of presenilin-1 inhibits the normal cleavage of amyloid precursor protein. *Nature* 1998 391:387-390, 1998

- De Strooper B, Beullens M, Contreras B, Levesque L, Craessaerts K, Cordell B, Moechars D, Bollen M, Fraser P, George Hyslop PS, Van Leuven F: Phosphorylation, subcellular localization, and membrane orientation of the Alzheimer's disease-associated presenilins. *J Biol Chem* 272:3590-3598, 1997
- Doan A, Thinakaran G, Borchelt DR, Slunt HH, Ratovitsky T, Podlisny M, Selkoe DJ, Seeger M, Gandy SE, Price DL, Sisodia SS: Protein topology of presenilin 1. *Neuron* 17:1023-1030, 1996
- Donoviel DB, Hadjantonakis AK, Ikeda M, Zheng H, Hyslop PS, Bernstein A: Mice lacking both presenilin genes exhibit early embryonic patterning defects. *Genes Dev* 13:2801-2810, 1999
- Duff K, Eckman C, Zehr C, Yu X, Prada CM, Perez tur J, Hutton M, Buee L, Harigaya Y, Yager D, Morgan D, Gordon MN, Holcomb L, Refolo L, Zenk B, Hardy J, Younkin S: Increased amyloid- $\beta$ 42(43) in brains of mice expressing mutant presenilin 1. *Nature* 383:710-713, 1996
- Duncan EA, Dave UP, Sakai J, Goldstein JL, Brown MS: Second-site cleavage in sterol regulatory element-binding protein occurs at transmembrane junction as determined by cysteine panning. *J Biol Chem* 273: 17801-17809, 1998
- Durkin JT, Murthy S, Husten EJ, Trusko SP, Savage MJ, Rotella DP, Greenberg BD, Siman R: Rank-order of potencies for inhibition of the secretion of A $\beta$ 40 and A $\beta$ 42 suggests that both are generated by a single  $\gamma$ -secretase. *J Biol Chem* 274:20499-20504, 1999
- Durr G, Strayle J, Plemper R, Elbs S, Klee SK, Catty P, Wolf DH, Rudolph HK: The medial-Golgi ion pump Pmr1 supplies the yeast secretory pathway with  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Mn}^{2+}$  required for glycosylation, sorting, and endoplasmic reticulum-associated protein degradation. *Mol Biol Cell* 9:1149-1162, 1998
- Esler WP, Kimberly WT, Ostaszewski BL, Diehl TS, Moore CL, Tsai JY, Rahmati T, Xia W, Selkoe DJ, Wolfe MS: Transition-state analogue inhibitors of  $\gamma$ -secretase bind directly to presenilin-1. *Nat Cell Biol* 2:428-434, 2000
- Fares H, Greenwald I: SEL-5, A Serine/Threonine kinase that facilitates lin-12 activity in *Caenorhabditis elegans*. *Genetics* 153:1641-1654, 1999
- Fukumoto H, Tomita T, Matsunaga H, Ishibashi Y, Saido TC, Iwatsubo T: Primary cultures of neuronal and non-neuronal rat brain cells secrete similar proportions of amyloid  $\beta$  peptides ending at A $\beta$ 40 and A $\beta$ 42. *Neuroreport* 10:2965-2969, 1999
- Fukumoto H, Asami Odaka A, Suzuki N, Shimada H, Ihara Y, Iwatsubo T: Amyloid  $\beta$  protein deposition in normal aging has the same characteristics as that in Alzheimer's disease. Predominance of A $\beta$  42(43) and association of A $\beta$  40 with cored plaques. *Am J Pathol* 148:259-265, 1996
- Games D, Adams D, Alessandrini R, Barbour R, Berthelette P, Blackwell C, Carr T, Clemens J, Donaldson T, Gillespie F, et al: Alzheimer-type neuropathology in transgenic mice overexpressing V717F  $\beta$ -amyloid precursor protein. *Nature* 373:523-527, 1995
- Georgakopoulos A, Marambaud P, Efthimiopoulos S, Shioi J, Cui W, Li HC, Schutte M, Gordon R, Holstein GR, Martinelli G, Mehta P, Friedrich VL Jr, Robakis NK: Presenilin-1 forms complexes with the cadherin/catenin cell-cell adhesion system and is recruited to intercellular and synaptic contacts. *Mol Cell* 4:893-902, 1999
- Gething MJ: Presenilin mutants subvert chaperone function. *Nat Cell Biol* 2:E21-E23, 2000
- Geula C, Wu CK, Saroff D, Lorenzo A, Yuan M, Yankner BA: Aging renders the brain vulnerable to amyloid  $\beta$ -protein neurotoxicity. *Nat Med* 4:827-831, 1998
- Glenner GG, Wong CW: Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterization of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochem Biophys Res Commun*. 120:885-90, 1984
- Grant B, Greenwald I: Structure, function, and expression of SEL-1, a negative regulator of LIN-12 and GLP-1 in *C. elegans*. *Development* 124:637-644, 1997
- Gravina SA, Ho L, Eckman CB, Long KE, Otvos L Jr, Younkin LH, Suzuki N, Younkin SG: Amyloid  $\beta$  protein (A $\beta$ ) in Alzheimer's disease brain. Biochemical and immunocytochemical analysis with antibodies specific for forms ending at A $\beta$  40 or A $\beta$  42(43). *J Biol Chem* 270:7013-7016, 1995
- Greenfield JP, Tsai J, Gouras GK, Hai B, Thinakaran G, Checler F, Sisodia SS, Greengard P, Xu H: Endoplasmic reticulum and trans-Golgi network generate distinct populations of Alzheimer  $\beta$ -amyloid peptides. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:742-747, 1999
- Grunberg J, Walter J, Loetscher H, Deuschle U, Jacobsen H, Haass C: Alzheimer's disease associated presenilin-1 holoprotein and its 18-20 kDa C-terminal fragment are death substrates for proteases of the caspase family. *Biochemistry* 37:2263-2270, 1998
- Guo Y, Livne Bar I, Zhou L, Boulianne GL: *Drosophila presenilin* is required for neuronal differentiation and affects notch subcellular localization and signaling. *J Neurosci* 19:8435-8442, 1999
- Haass C, Mandelkow E: Proteolysis by presenilins and the renaissance of tau. *Trends Cell Biol* 9:241-244, 1999
- Haass C, Hung AY, Selkoe DJ, Teplow DB: Mutations associated with a locus for familial Alzheimer's disease result in alternative processing of amyloid  $\beta$ -protein precursor. *J Biol Chem* 269:17741-17748, 1994
- Haass C, Hung AY, Schlossmacher MG, Teplow DB, Selkoe DJ: Beta-Amyloid peptide and a 3- kDa fragment are derived by distinct cellular mechanisms. *J Biol Chem* 268:3021-3024, 1993

- Haass C, Schlossmacher MG, Hung AY, Vigo-Pelfrey C, Mellon A, Ostaszewski BL, Lieberburg I, Koo EH, Schenk D, Teplow DB, et al.: Amyloid  $\beta$ -peptide is produced by cultured cells during normal metabolism. *Nature* 359:322-325, 1992
- Hampton RY: Genetic analysis of hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase regulated degradation. *Curr Opin Lipidol* 9:93-97, 1998
- Hampton RY, Gardner RG, Rine J: Role of 26S proteasome and HRD genes in the degradation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase, an integral endoplasmic reticulum membrane protein. *Mol Biol Cell* 7:2029-2044, 1996
- Hartmann H, Busciglio J, Baumann KH, Staufenbiel M, Yankner BA: Developmental regulation of presenilin-1 processing in the brain suggests a role in neuronal differentiation. *J Biol Chem* 272:14505-14508, 1997
- Hartmann T, Bieger SC, Bruhl B, Tienari PJ, Ida N, Allsop D, Roberts GW, Masters CL, Dotti CG, Unsicker K, Beyreuther K: Distinct sites of intracellular production for Alzheimer's disease A $\beta$ 40/42 amyloid peptides. *Nat Med* 3:1016-1020, 1997
- Haze K, Yoshida H, Yanagi H, Yura T, Mori K: Mammalian transcription factor ATF6 is synthesized as a transmembrane protein and activated by proteolysis in response to endoplasmic reticulum stress. *Mol Biol Cell* 10:3787-3799, 1999
- Hendriks L, Thinakaran G, Harris CL, De Jonghe C, Martin JJ, Sisodia SS, Van Broeckhoven C: Processing of presenilin 1 in brains of patients with Alzheimer's disease and controls. *Neuroreport* 8:1717-1721, 1997
- Herreman A, Serneels L, Annaert W, Collen D, Schoonjans L, De Strooper B: Total inactivation of  $\gamma$ -secretase activity in presenilin-deficient embryonic stem cells. *Nat Cell Biol* 2:461-462, 2000
- Herreman A, Hartmann D, Annaert W, Saftig P, Craessaerts K, Serneels L, Umans L, Schrijvers V, Checler F, Vanderstichele H, Baekelandt V, Dressel R, Cupers P, Huylebroeck D, Zwijsen A, Van Leuven F, De Strooper B: Presenilin 2 deficiency causes a mild pulmonary phenotype and no changes in amyloid precursor protein processing but enhances the embryonic lethal phenotype of presenilin 1 deficiency. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:11872-11877, 1999
- Hiller MM, Finger A, Schweiger M, Wolf DH: ER degradation of a misfolded luminal protein by the cytosolic ubiquitin-proteasome pathway. *Science* 273:1725-1728, 1996
- Holcomb L, Gordon MN, McGowan E, Yu X, Benkovic S, Jantzen P, Wright K, Saad I, Mueller R, Morgan D, Sanders S, Zehr C, O'Campo K, Hardy J, Prada CM, Eckman C, Younkin S, Hsiao K, Duff K: Accelerated Alzheimer-type phenotype in transgenic mice carrying both mutant amyloid precursor protein and presenilin 1 transgenes. *Nat Med* 4:97-100, 1998
- Holtzman DM, Bales KR, Tenkova T, Fagan AM, Parsadanian M, Sartorius LJ, Mackey B, Olney J, McKeel D, Wozniak D, Paul SM: Apolipoprotein E isoform-dependent amyloid deposition and neuritic degeneration in a mouse model of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:2892-2897, 2000
- Honda T, Yasutake K, Nihonmatsu N, Mercken M, Takahashi H, Murayama O, Murayama M, Sato K, Omori A, Tsubuki S, Saido TC, Takashima A: Dual roles of proteasome in the metabolism of presenilin 1. *J Neurochem* 72:255-261, 1999
- Hong CS, Caromile L, Nomata Y, Mori H, Bredesen DE, Koo EH: Contrasting role of presenilin-1 and presenilin-2 in neuronal differentiation in vitro. *J Neurosci* 19:637-643, 1999
- Hua X, Nohturfft A, Goldstein JL, Brown MS: Sterol resistance in CHO cells traced to point mutation in SREBP cleavage-activating protein. *Cell* 87: 415-426, 1996
- Hubbard EJ, Wu G, Kitajewski J, Greenwald I: sel-10, a negative regulator of lin-12 activity in *Caenorhabditis elegans*, encodes a member of the CDC4 family of proteins. *Genes Dev* 11:3182-3193, 1997
- Hussain I, Powell D, Howlett DR, Tew DG, Meek TD, Chapman C, Gloger IS, Murphy KE, Southan CD, Ryan DM, Smith TS, Simmons DL, Walsh FS, Dingwall C, Christie G: Identification of a novel aspartic protease (Asp 2) as  $\beta$ -secretase. *Mol Cell Neurosci* 14:419-427, 1999
- Hsiao K, Chapman P, Nilsen S, Eckman C, Harigaya Y, Younkin S, Yang F, Cole G: Correlative memory deficits, A $\beta$  elevation, and amyloid plaques in transgenic mice. *Science* 274:99-102, 1996
- Ida N, Hartmann T, Pantel J, Schroder J, Zerfass R, Forstl H, Sandbrink R, Masters CL, Beyreuther K: Analysis of heterogeneous A4 peptides in human cerebrospinal fluid and blood by a newly developed sensitive Western blot assay. *J Biol Chem* 271:22908-22914, 1996
- Iwata N, Tsubuki S, Takaki Y, Watanabe K, Sekiguchi M, Hosoki E, Kawashima-Morishima M, Lee HJ, Hama E, Sekine-Aizawa Y, Saido TC: Identification of the major A $\beta$ 1-42-degrading catabolic pathway in brain parenchyma: suppression leads to biochemical and pathological deposition. *Nat Med* 6:143-150, 2000
- Iwatsubo T, Odaka A, Suzuki N, Mizusawa H, Nukina N, Ihara Y: Visualization of A $\beta$  42(43) and A $\beta$  40 in senile plaques with end-specific A $\beta$  monoclonals: evidence that an initially deposited species is A $\beta$  42(43). *Neuron* 13:45-53, 1994
- Jacobsen H, Reinhardt D, Brockhaus M, Bur D, Kocyba C, Kurt H, Grim MG, Baumeister R, Loetscher H: The influence of endoproteolytic processing of familial Alzheimer's disease presenilin 2 on A $\beta$ 42 amyloid peptide formation. *J Biol Chem* 274:35233-35239, 1999
- Janicki S, Monteiro MJ: Increased apoptosis arising from increased expression of the Alzheimer's disease-associated presenilin-2 mutation (N141I). *J Cell Biol* 139:485-495, 1997
- Jarrett JT, Lansbury PT Jr: Seeding "one-dimensional crystallization" of amyloid: a pathogenic mechanism in Alzheimer's disease and scrapie? *Cell* 73:1055-1058, 1993

- Jiang J, Struhl G: Regulation of the Hedgehog and Wingless signalling pathways by the F-box/WD40-repeat protein Slimb. *Nature* 391:493-496, 1998
- Johnston JA, Ward CL, Kopito RR: Aggresomes: a cellular response to misfolded proteins. *J Cell Biol* 143:1883-1898, 1998
- Kang DE, Soriano S, Frosch MP, Collins T, Naruse S, Sisodia SS, Leibowitz G, Levine F, Koo EH: Presenilin 1 facilitates the constitutive turnover of  $\beta$ -catenin: differential activity of Alzheimer's disease-linked PS1 mutants in the  $\beta$ -catenin-signaling pathway. *J Neurosci* 19:4229-4237, 1999
- Kang J, Lemaire HG, Unterbeck A, Salbaum JM, Masters CL, Grzeschik KH, Multhaup G, Beyreuther K, Muller-Hill B: The precursor of Alzheimer's disease amyloid A4 protein resembles a cell-surface receptor. *Nature* 1987 325:733-736, 1987
- Katayama T, Imaizumi K, Sato N, Miyoshi K, Kudo T, Hitomi J, Morihara T, Yoneda T, Gomi F, Mori Y, Nakano Y, Takeda J, Tsuda T, Itoyama Y, Murayama O, Takashima A, St George Hyslop P, Takeda M, Tohyama M: Presenilin-1 mutations downregulate the signalling pathway of the unfolded-protein response. *Nat Cell Biol* 1:479-485, 1999
- Keller SH, Lindstrom J, Taylor P: Inhibition of glucose trimming with castanospermine reduces calnexin association and promotes proteasome degradation of the  $\alpha$ -subunit of the nicotinic acetylcholine receptor. *J Biol Chem* 273:17064-17072, 1998
- Kim TW, Pettingell WH, Jung YK, Kovacs DM, Tanzi RE: Alternative cleavage of Alzheimer-associated presenilins during apoptosis by a caspase-3 family protease. *Science* 277:373-376, 1997a
- Kim TW, Pettingell WH, Hallmark OG, Moir RD, Wasco W, Tanzi RE: Endoproteolytic cleavage and proteasomal degradation of presenilin 2 in transfected cells. *J Biol Chem* 272:11006-11010, 1997b
- Kimberly WT, Xia W, Rahmati T, Wolfe MS, Selkoe DJ: The transmembrane aspartates in presenilin 1 and 2 are obligatory for  $\gamma$ -secretase activity and amyloid  $\beta$ -protein generation. *J Biol Chem* 275:3173-3178, 2000
- Klafki H, Abramowski D, Swoboda R, Paganetti PA, Staufenbiel M: The carboxyl termini of  $\beta$ -amyloid peptides 1-40 and 1-42 are generated by distinct  $\gamma$ -secretase activities. *J Biol Chem* 271:28655-28659, 1996
- Knop M, Finger A, Braun T, Hellmuth K, Wolf DH: Der1, a novel protein specifically required for endoplasmic reticulum degradation in yeast. *EMBO J* 15:753-763, 1996
- Kopito RR: Biosynthesis and degradation of CFTR. *Physiol Rev* 79:S167-173, 1999
- Kreienkamp HJ, Maeda RK, Sine SM, Taylor P: Intersubunit contacts governing assembly of the mammalian nicotinic acetylcholine receptor. *Neuron* 14:635-644, 1995
- Kulic L, Walter J, Multhaup G, Teplow DB, Baumeister R, Romig H, Capell A, Steiner H, Haass C: Separation of presenilin function in amyloid  $\beta$ -peptide generation and endoproteolysis of Notch. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:5913-5918 2000
- Lammich S, Kojro E, Postina R, Gilbert S, Pfeiffer R, Jasionowski M, Haass C, Fahrenholz F: Constitutive and regulated  $\alpha$ -secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by a disintegrin metalloprotease. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:3922-3927, 1999
- Langer T: AAA proteases: cellular machines for degrading membrane proteins. *Trends Biochem Sci* 25:247-251, 2000
- LaPointe CF, Taylor RK: The type 4 prepilin peptidases comprise a novel family of aspartic acid protease. *J Biol Chem* 275:1502-1510, 2000
- Lee MK, Slunt HH, Martin LJ, Thinakaran G, Kim G, Gandy SE, Seeger M, Koo E, Price DL, Sisodia SS: Expression of presenilin 1 and 2 (PS1 and PS2) in human and murine tissues. *J Neurosci* 16:7513-7525, 1996
- Lee SJ, Liyanage U, Bickel PE, Xia W, Lansbury PT Jr, Kosik KS: A detergent-insoluble membrane compartment contains A $\beta$  in vivo. *Nat Med* 4:730-734, 1998
- Lehmann S, Chiesa R, Harris DA: Evidence for a six-transmembrane domain structure of presenilin 1. *J Biol Chem* 272:12047-12051, 1997
- Leimer U, Lun K, Romig H, Walter J, Grunberg J, Brand M, Haass C: Zebrafish (*Danio rerio*) presenilin promotes aberrant amyloid  $\beta$ -peptide production and requires a critical aspartate residue for its function in amyloidogenesis. *Biochemistry* 38:13602-13609, 1999
- Leissring MA, Parker I, LaFerla FM: Presenilin-2 mutations modulate amplitude and kinetics of inositol 1,4,5-trisphosphate-mediated calcium signals. *J Biol Chem* 274:32535-32538, 1999
- Leonhard K, Guiard B, Pellicchia G, Tzagoloff A, Neupert W, Langer T: Membrane protein degradation by AAA proteases in mitochondria: Extraction of substrates from either membrane surface. *Mol Cell* 5: 629-38, 2000
- Levitan D, Greenwald I: Effects of SEL-12 presenilin on LIN-12 localization and function in *Caenorhabditis elegans*. *Development* 125:3599-606, 1998
- Levitan D, Doyle TG, Brousseau D, Lee MK, Thinakaran G, Slunt HH, Sisodia SS, Greenwald I: Assessment of normal and mutant human presenilin function in *Caenorhabditis elegans*. *Proc Natl Acad Sci USA* 93:14940-4, 1996
- Levitan D, Greenwald I: Facilitation of lin-12-mediated signalling by *sel-12*, a *Caenorhabditis elegans* S182 Alzheimer's disease gene. *Nature* 377:351-354, 1995

- Levy-Lahad E, Poorkaj P, Wang K, Fu YH, Oshima J, Mulligan J, Schellenberg GD: Genomic structure and expression of STM2, the chromosome 1 familial Alzheimer disease gene. *Genomics* 34:198-204, 1996
- Levy-Lahad E, Wasco W, Poorkaj P, Romano DM, Oshima J, Pettingell WH, Yu CE, Jondro PD, Schmidt SD, Wang K, et al: Candidate gene for the chromosome 1 familial Alzheimer's disease locus. *Science* 269:973-977, 1995
- L'Hernault SW, Arduengo PM: Mutation of a putative sperm membrane protein in *Caenorhabditis elegans* prevents sperm differentiation but not its associated meiotic divisions. *J Cell Biol* 119:55-68, 1992
- Li X, Greenwald I: Additional evidence for an eight-transmembrane-domain topology for *Caenorhabditis elegans* and human presenilins. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:7109-7114, 1998
- Li X, Greenwald I: HOP-1, a *Caenorhabditis elegans* presenilin, appears to be functionally redundant with SEL-12 presenilin and to facilitate LIN-12 and GLP-1 signaling. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:12204-12209, 1997
- Li X, Greenwald I: Membrane topology of the *C. elegans* SEL-12 presenilin. *Neuron* 17:1015-1021, 1996
- Li YM, Xu M, Lai MT, Huang Q, Castro JL, DiMuzio Mower J, Harrison T, Lellis C, Nadin A, Neduvellil JG, Register RB, Sardana MK, Shearman MS, Smith AL, Shi XP, Yin KC, Shafer JA, Gardell SJ: Photoactivated  $\gamma$ -secretase inhibitors directed to the active site covalently label presenilin 1. *Nature* 405:689-694, 2000
- Li YM, Lai MT, Xu M, Huang Q, DiMuzio Mower J, Sardana MK, Shi XP, Yin KC, Shafer JA, Gardell SJ: Presenilin 1 is linked with  $\gamma$ -secretase activity in the detergent solubilized state. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:6138-6143, 2000
- Lichtenthaler SF, Wang R, Grimm H, Uljon SN, Masters CL, Beyreuther K: Mechanism of the cleavage specificity of Alzheimer's disease  $\gamma$ -secretase identified by phenylalanine-scanning mutagenesis of the transmembrane domain of the amyloid precursor protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:3053-3058, 1999
- Lichtenthaler SF, Ida N, Multhaup G, Masters CL, Beyreuther K: Mutations in the transmembrane domain of APP altering  $\gamma$ -secretase specificity. *Biochemistry* 36:15396-15403, 1997
- Lin X, Koelsch G, Wu S, Downs D, Dashti A, Tang J: Human aspartic protease memapsin 2 cleaves the  $\beta$ -secretase site of  $\beta$ -amyloid precursor protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:1456-1460, 2000
- Loetscher H, Deuschle U, Brockhaus M, Reinhardt D, Nelboeck P, Mous J, Grunberg J, Haass C, Jacobsen H: Presenilins are processed by caspase-type proteases. *J Biol Chem* 272:20655-20659, 1997
- Logeat F, Bessia C, Brou C, LeBail O, Jarriault S, Seidah NG, Israel A: The Notch1 receptor is cleaved constitutively by a furin-like convertase. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:8108-8112, 1998
- Loo TW, Clarke DM: Determining the structure and mechanism of the human multidrug resistance P-glycoprotein using cysteine-scanning mutagenesis and thiol-modification techniques. *Biochim Biophys Acta* 1461:315-325, 1999
- Loo TW, Clarke DM: Quality control by proteases in the endoplasmic reticulum. Removal of a protease-sensitive site enhances expression of human P-glycoprotein. *J Biol Chem* 273:32373-32376, 1998a
- Loo TW, Clarke DM: Superfolding of the partially unfolded core-glycosylated intermediate of human P-glycoprotein into the mature enzyme is promoted by substrate-induced transmembrane domain interactions. *J Biol Chem* 273:14671-14674, 1998b
- Lukinova NI, Roussakova VV, Fortini ME: Genetic characterization of cytological region 77A-D harboring the presenilin gene of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 153:1789-1797, 1999
- Ma J, Yee A, Brewer HB Jr, Das S, Potter H: Amyloid-associated proteins  $\alpha$  1-antichymotrypsin and apolipoprotein E promote assembly of Alzheimer  $\beta$ -protein into filaments. *Nature* 372:92-94, 1994
- Mann DM, Iwatsubo T, Cairns NJ, Lantos PL, Nochlin D, Sumi SM, Bird TD, Poorkaj P, Hardy J, Hutton M, Prihar G, Crook R, Rossor MN, Haltia M: Amyloid  $\beta$  protein (A $\beta$ ) deposition in chromosome 14-linked Alzheimer's disease: predominance of A $\beta$ 42(43). *Ann Neurol* 40:149-156, 1996
- Maruyama K, Tomita T, Shinozaki K, Kume H, Asada H, Saido TC, Ishiura S, Iwatsubo T, Obata K: Familial Alzheimer's disease-linked mutations at Val717 of amyloid precursor protein are specific for the increased secretion of A $\beta$ 42(43). *Biochem Biophys Res Commun* 227:730-735, 1996
- Maruyama K, Terakado K, Usami M, Yoshikawa K: Formation of amyloid-like fibrils in COS cells overexpressing part of the Alzheimer amyloid protein precursor. *Nature* 347:566-569, 1990
- Mercken M, Takahashi H, Honda T, Sato K, Murayama M, Nakazato Y, Noguchi K, Imahori K, Takashima A: Characterization of human presenilin 1 using N-terminal specific monoclonal antibodies: Evidence that Alzheimer mutations affect proteolytic processing. *FEBS Lett* 389:297-303, 1996
- Mumm JS, Schroeter EH, Saxena MT, Griesemer A, Tian X, Pan DJ, Ray WJ, Kopan R: A ligand-induced extracellular cleavage regulates  $\gamma$ -secretase-like proteolytic activation of Notch1. *Mol Cell* 5:197-206, 2000
- Murayama O, Tomita T, Nihonmatsu N, Murayama M, Sun X, Honda T, Iwatsubo T, Takashima A: Enhancement of amyloid  $\beta$  42 secretion by 28 different presenilin 1 mutations of familial Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 265:61-63, 1999
- Murayama O, Honda T, Mercken M, Murayama M, Yasutake K, Nihonmatsu N, Nakazato Y, Michel G, Song S, Sato K, Takahashi H, Takashima A: Different effects of Alzheimer-associated mutations of presenilin 1 on its processing. *Neurosci Lett* 229:61-64, 1997

- Murphy MP, Uljon SN, Fraser PE, Fauq A, Lookingbill HA, Findlay KA, Smith TE, Lewis PA, McLendon DC, Wang R, Golde TE: Presenilin 1 Regulates Pharmacologically Distinct  $\gamma$ -Secretase Activities: Implications for the Role of PS in  $\gamma$ -Secretase Cleavage. *J Biol Chem* 275:26277-26284, 2000
- Murphy MP, Hickman LJ, Eckman CB, Uljon SN, Wang R, Golde TE:  $\gamma$ -Secretase, evidence for multiple proteolytic activities and influence of membrane positioning of substrate on generation of amyloid  $\beta$  peptides of varying length. *J Biol Chem* 274:11914-11923, 1999
- Nakagawa T, Zhu H, Morishima N, Li E, Xu J, Yankner BA, Yuan J: Caspase-12 mediates endoplasmic-reticulum-specific apoptosis and cytotoxicity by amyloid- $\beta$ . *Nature* 403:98-103, 2000
- Nakai T, Yamasaki A, Sakaguchi M, Kosaka K, Mihara K, Amaya Y, Miura S: Membrane topology of Alzheimer's disease-related presenilin 1. Evidence for the existence of a molecular species with a seven membrane-spanning and one membrane-embedded structure. *J Biol Chem* 274:23647-23658, 1999
- Nakano Y, Kondoh G, Kudo T, Imaizumi K, Kato M, Miyazaki JI, Tohyama M, Takeda J, Takeda M: Accumulation of murine amyloid $\beta$ 42 in a gene-dosage-dependent manner in PS1 'knock-in' mice. *Eur J Neurosci* 11:2577-2581, 1999
- Namba Y, Tomonaga M, Kawasaki H, Otomo E, Ikeda K: Apolipoprotein E immunoreactivity in cerebral amyloid deposits and neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease and kuru plaque amyloid in Creutzfeldt-Jakob disease. *Brain Res* 541:163-166, 1991
- Nishimura M, Yu G, Levesque G, Zhang DM, Ruel L, Chen F, Milman P, Holmes E, Liang Y, Kawai T, Jo E, Supala A, Rogaeva E, Xu DM, Janus C, Levesque L, Bi Q, Duthie M, Rozmahel R, Mattila K, Lannfelt L, Westaway D, Mount HT, Woodgett J, St George Hyslop P, et al: Presenilin mutations associated with Alzheimer disease cause defective intracellular trafficking of  $\beta$ -catenin, a component of the presenilin protein complex. *Nat Med* 5:164-169, 1999
- Niwa M, Sidrauski C, Kaufman RJ, Walter P: A role for presenilin-1 in nuclear accumulation of Ire1 fragments and induction of the mammalian unfolded protein response. *Cell* 99:691-702, 1999
- Nohturfft A, DeBose Boyd RA, Scheek S, Goldstein JL, Brown MS: Sterols regulate cycling of SREBP cleavage-activating protein (SCAP) between endoplasmic reticulum and Golgi. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:11235-40, 1999
- Okochi M, Ishii K, Usami M, Sahara N, Kametani F, Tanaka K, Fraser PE, Ikeda M, Saunders AM, Hendriks L, Shoji SI, Nee LE, Martin JJ, Van Broeckhoven C, St. George Hyslop PH, Roses AD, Mori H: Proteolytic processing of presenilin-1 (PS-1) is not associated with Alzheimer's disease with or without PS-1 mutations. *FEBS Lett* 418:162-166, 1997
- Oyama F, Sawamura N, Kobayashi K, Morishima Kawashima M, Kuramochi T, Ito M, Tomita T, Maruyama K, Saido TC, Iwatsubo T, Capell A, Walter J, Grunberg J, Ueyama Y, Haass C, Ihara Y: Mutant presenilin 2 transgenic mouse: effect on an age-dependent increase of amyloid  $\beta$ -protein 42 in the brain. *J Neurochem* 71:313-522, 1998
- Pack-Chung E, Meyers MB, Pettingell WP, Moir RD, Brownawell AM, Cheng I, Tanzi RE, Kim TW: Presenilin 2 Interacts with Sorcin, a Modulator of the Ryanodine Receptor. *J Biol Chem* 275:14440-14445 2000
- Palacino JJ, Berechid BE, Alexander P, Eckman C, Younkin S, Nye JS, Wolozin B: Regulation of amyloid precursor protein processing by presenilin 1 (PS1) and PS2 in PS1 knockout cells. *J Biol Chem* 275:215-222, 2000
- Pan D, Rubin GM: Kuzbanian controls proteolytic processing of Notch and mediates lateral inhibition during *Drosophila* and vertebrate neurogenesis. *Cell* 90:271-280, 1997
- Pawson T, Scott JD: Signaling through scaffold, anchoring, and adaptor proteins. *Science* 278:2075-2080, 1997
- Peifer M, Polakis P: Wnt signaling in oncogenesis and embryogenesis--a look outside the nucleus. *Science* 287:1606-1609, 2000
- Peraus GC, Masters CL, Beyreuther K: Late compartments of amyloid precursor protein transport in SY5Y cells are involved in  $\beta$ -amyloid secretion. *J Neurosci* 17:7714-7724, 1997
- Perez RG, Soriano S, Hayes JD, Ostaszewski B, Xia W, Selkoe DJ, Chen X, Stokin GB, Koo EH: Mutagenesis identifies new signals for  $\beta$ -amyloid precursor protein endocytosis, turnover, and the generation of secreted fragments, including A $\beta$ 42. *J Biol Chem* 274:18851-18856, 1999
- Perez-Tur J, Froelich S, Prihar G, Crook R, Baker M, Duff K, Wragg M, Busfield F, Lendon C, Clark RF, et al: A mutation in Alzheimer's disease destroying a splice acceptor site in the presenilin-1 gene. *Neuroreport* 7:297-301, 1995
- Periz G, Fortini ME:  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase function is required for intracellular trafficking of the Notch receptor in *Drosophila*. *EMBO J* 18:5983-5993, 1999
- Petanceska SS, Seeger M, Checler F, Gandy S: Mutant presenilin 1 increases the levels of Alzheimer amyloid  $\beta$ -peptide A $\beta$ 42 in late compartments of the constitutive secretory pathway. *J Neurochem* 74:1878-1884, 2000
- Plempner RK, Wolf DH: Retrograde protein translocation: ERADication of secretory proteins in health and disease. *Trends Biochem Sci* 24:266-270, 1999
- Podlisny MB, Citron M, Amarante P, Sherrington R, Xia W, Zhang J, Diehl T, Levesque G, Fraser P, Haass C, Koo EH, Seubert P, St. George Hyslop P, Teplow DB, Selkoe DJ: Presenilin proteins undergo heterogeneous endoproteolysis between Thr291 and Ala299 and occur as stable N- and C-terminal fragments in normal and Alzheimer brain tissue. *Neurobiol Dis* 3:325-337, 1997

- Prihar G, Fuldner RA, Perez Tur J, Lincoln S, Duff K, Crook R, Hardy J, Philips CA, Venter C, Talbot C, Clark RF, Goate A, Li J, Potter H, Karran E, Roberts GW, Hutton M, Adams MD: Structure and alternative splicing of the presenilin-2 gene. *Neuroreport* 7:1680-1684, 1996
- Purcell K, Artavanis-Tsakonas S: The developmental role of *warthog*, the Notch modifier encoding Drab6. *J Cell Biol* 146:731-740, 1999
- Qian S, Jiang P, Guan XM, Singh G, Trumbauer ME, Yu H, Chen HY, Van de Ploeg LH, Zheng H: Mutant human presenilin 1 protects presenilin 1 null mouse against embryonic lethality and elevates A $\beta$ 1-42/43 expression. *Neuron* 20:611-617, 1998
- Qiu WQ, Walsh DM, Ye Z, Vekrellis K, Zhang J, Podlisny MB, Rosner MR, Safavi A, Hersh LB, Selkoe DJ: Insulin-degrading enzyme regulates extracellular levels of amyloid  $\beta$ -protein by degradation. *J Biol Chem* 273:32730-32738, 1998
- Ratovitski T, Slunt HH, Thinakaran G, Price DL, Sisodia SS, Borchelt DR: Endoproteolytic processing and stabilization of wild-type and mutant presenilin. *J Biol Chem* 272:24536-24541, 1997
- Rawson RB, Zelenski NG, Nijhawan D, Ye J, Sakai J, Hasan MT, Chang TY, Brown MS, Goldstein JL: Complementation cloning of S2P, a gene encoding a putative metalloprotease required for intramembrane cleavage of SREBPs. *Mol Cell* 1: 47-57, 1997
- Ray WJ, Yao M, Nowotny P, Mumm J, Zhang W, Wu JY, Kopan R, Goate AM: Evidence for a physical interaction between presenilin and Notch. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:3263-3268, 1999a
- Ray WJ, Yao M, Mumm J, Schroeter EH, Saftig P, Wolfe M, Selkoe DJ, Kopan R, Goate AM: Cell surface presenilin-1 participates in the  $\gamma$ -secretase-like proteolysis of notch. *J Biol Chem* 274:36801-36807, 1999b
- Rogaev EI, Sherrington R, Rogaeva EA, Levesque G, Ikeda M, Liang Y, Chi H, Lin C, Holman K, Tsuda T, et al: Familial Alzheimer's disease in kindreds with missense mutations in a gene on chromosome 1 related to the Alzheimer's disease type 3 gene. *Nature* 376:775-778, 1995
- Ross SL, Martin F, Simonet L, Jacobsen F, Deshpande R, Vassar R, Bennett B, Luo Y, Wooden S, Hu S, Citron M, Burgess TL: Amyloid precursor protein processing in sterol regulatory element-binding protein site 2 protease-deficient Chinese hamster ovary cells. *J Biol Chem* 273:15309-15312, 1998
- Rudner DZ, Fawcett P, Losick R: A family of membrane-embedded metalloproteases involved in regulated proteolysis of membrane-associated transcription factors. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:14765-14770, 1999
- Sakai J, Rawson RB, Espenshade PJ, Cheng D, Seegmiller AC, Goldstein JL, Brown MS: Molecular identification of the sterol-regulated luminal protease that cleaves SREBPs and controls lipid composition of animal cells. *Mol Cell* 2: 505-514, 1998
- Sakai J, Nohturfft A, Cheng D, Ho YK, Brown MS, Goldstein JL: Identification of complexes between the COOH-terminal domains of sterol regulatory element-binding proteins (SREBPs) and SREBP cleavage-activating protein. *J Biol Chem* 272: 20213-20221, 1997
- Saura CA, Tomita T, Soriano S, Takahashi M, Leem JY, Honda T, Koo EH, Iwatsubo T, Thinakaran G: The non-conserved hydrophilic loop domain of presenilin (PS) is neither required for PS endoproteolysis nor enhanced A $\beta$ 42 production mediated by FAD-linked PS variants. *J Biol Chem* 275:17136-17142, 2000
- Saura CA, Tomita T, Davenport F, Harris CL, Iwatsubo T, Thinakaran G: Evidence that intramolecular associations between presenilin domains are obligatory for endoproteolytic processing. *J Biol Chem* 274:13818-13823, 1999
- Schellenberg GD, Bird TD, Wijsman EM, Orr HT, Anderson L, Nemens E, White JA, Bonnycastle L, Weber JL, Alonso ME, et al. Genetic linkage evidence for a familial Alzheimer's disease locus on chromosome 14. *Science*. 258:668-671, 1992
- Schenk D, Barbour R, Dunn W, Gordon G, Grajeda H, Guido T, Hu K, Huang J, Johnson Wood K, Khan K, Kholodenko D, Lee M, Liao Z, Lieberburg I, Motter R, Mutter L, Soriano F, Shopp G, Vasquez N, Vandever C, Walker S, Wogulis M, Yednock T, Games D, Seubert P: Immunization with amyloid- $\beta$  attenuates Alzheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse. *Nature* 400:173-177, 1999
- Scheuner D, Eckman C, Jensen M, Song X, Citron M, Suzuki N, Bird TD, Hardy J, Hutton M, Kukull W, Larson E, Levy Lahad E, Viitanen M, Peskind E, Poorkaj P, Schellenberg G, Tanzi R, Wasco W, Lannfelt L, Selkoe D, Younkin S: Secreted amyloid  $\beta$ -protein similar to that in the senile plaques of Alzheimer's disease is increased in vivo by the presenilin 1 and 2 and APP mutations linked to familial Alzheimer's disease. *Nat Med* 2:864-870, 1996
- Schmechel DE, Saunders AM, Strittmatter WJ, Crain BJ, Hulette CM, Joo SH, Pericak-Vance MA, Goldgaber D, Roses AD: Increased amyloid  $\beta$ -peptide deposition in cerebral cortex as a consequence of apolipoprotein E genotype in late-onset Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:9649-9653, 1993
- Schroeter EH, Kisslinger JA, Kopan R: Notch-1 signaling requires ligand-induced proteolytic release of intracellular domain. *Nature* 393:382-386, 1998
- Seeger M, Nordstedt C, Petanceska S, Kovacs DM, Gouras GK, Hahne S, Fraser P, Levesque L, Czernik AJ, George Hyslop PS, Sisodia SS, Thinakaran G, Tanzi RE, Greengard P, Gandy S: Evidence for phosphorylation and oligomeric assembly of presenilin 1. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:5090-5094, 1997
- Seiffert D, Bradley JD, Rominger CM, Rominger DH, Yang F, Meredith J, Wang Q, Roach AH, Thompson LA, Spitz SM, Higaki JN, Prakash SR, Combs AP, Copeland RA, Arneric SP, Hartig PR, Robertson DW, Cordell B, Stern AM, Olson RE, Zaczek R: Presenilin-1 and 2 are molecular targets for  $\gamma$ -secretase inhibitors. *J Biol Chem* [epub ahead of print] 2000



- Selkoe DJ: Notch and presenilins in vertebrates and invertebrates: implications for neuronal development and degeneration. *Curr Opin Neurobiol* 10:50-57, 2000
- Selkoe DJ: Translating cell biology into therapeutic advances in Alzheimer's disease. *Nature* 399:A23-31, 1999
- Seubert P, Vigo-Pelfrey C, Esch F, Lee M, Dovey H, Davis D, Sinha S, Schlossmacher M, Whaley J, Swindlehurst C, et al.: Isolation and quantification of soluble Alzheimer's  $\beta$ -peptide from biological fluids. *Nature* 359:325-327, 1992
- Shearman MS, Behr D, Clarke EE, Lewis HD, Harrison T, Hunt P, Nadin A, Smith AL, Stevenson G, Castro JL: L-685,458, an aspartyl protease transition state mimic, is a potent inhibitor of amyloid beta-protein precursor  $\gamma$ -secretase activity. *Biochemistry* 39:8698-8704, 2000
- Shen J, Bronson RT, Chen DF, Xia W, Selkoe DJ, Tonegawa S: Skeletal and CNS defects in Presenilin-1-deficient mice. *Cell* 89:629-639, 1997
- Sherrington R, Rogaev EI, Liang Y, Rogaeva EA, Levesque G, Ikeda M, Chi H, Lin C, Li G, Holman K, et al: Cloning of a gene bearing missense mutations in early-onset familial Alzheimer's disease. *Nature* 1995 375:754-760, 1995
- Shinozaki K, Maruyama K, Kume H, Tomita T, Saido TC, Iwatsubo T, Obata K: The presenilin 2 loop domain interacts with the mu-calpain C-terminal region. *Int J Mol Med* 1:797-799, 1998
- Shirotani K, Takahashi K, Araki W, Maruyama K, Tabira T: Mutational analysis of intrinsic regions of presenilin 2 that determine its endoproteolytic cleavage and pathological function. *J Biol Chem* 275:3681-3586, 2000
- Shirotani K, Takahashi K, Tabira T: Effects of presenilin N-terminal fragments on production of amyloid  $\beta$  peptide and accumulation of endogenous presenilins. *Neurosci Lett* 262:37-40, 1999
- Shirotani K, Takahashi K, Ozawa K, Kunishita T, Tabira T: Determination of a cleavage site of presenilin 2 protein in stably transfected SH-SY5Y human neuroblastoma cell lines. *Biochem Biophys Res Commun* 240:728-731, 1997
- Shoji M, Golde TE, Ghiso J, Cheung TT, Estus S, Shaffer LM, Cai XD, McKay DM, Tintner R, Frangione B, et al.: Production of the Alzheimer amyloid  $\beta$  protein by normal proteolytic processing. *Science* 258:126-129, 1992
- Sidrauski C, Walter P: The transmembrane kinase Ire1p is a site-specific endonuclease that initiates mRNA splicing in the unfolded protein response. *Cell* 90:1031-1039, 1997
- Singson A, Mercer KB, L'Hernault SW: The *C. elegans spe-9* gene encodes a sperm transmembrane protein that contains EGF-like repeats and is required for fertilization. *Cell* 93:71-79, 1998
- Sinha S, Anderson JP, Barbour R, Basi GS, Caccavello R, Davis D, Doan M, Dovey HF, Frigon N, Hong J, Jacobson Croak K, Jewett N, Keim P, Knops J, Lieberburg I, Power M, Tan H, Tatsuno G, Tung J, Schenk D, Seubert P, Suomensaaari SM, Wang S, Walker D, John V, et al: Purification and cloning of amyloid precursor protein  $\beta$ -secretase from human brain. *Nature* 402:537-540, 1999
- Skovronsky DM, Doms RW, Lee VM: Detection of a novel intraneuronal pool of insoluble amyloid  $\beta$  protein that accumulates with time in culture. *J Cell Biol* 141:1031-1039, 1998
- Song W, Nadeau P, Yuan M, Yang X, Shen J, Yankner BA: Proteolytic release and nuclear translocation of Notch-1 are induced by presenilin-1 and impaired by pathogenic presenilin-1 mutations. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:6959-6963, 1999
- Songyang Z, Fanning AS, Fu C, Xu J, Marfatia SM, Chishti AH, Crompton A, Chan AC, Anderson JM, Cantley LC: Recognition of unique carboxyl-terminal motifs by distinct PDZ domains. *Science* 275:73-77, 1997
- Sommer T, Wolf DH: Endoplasmic Reticulum degradation: reverse protein flow of no return. *FASEB J* 11:1227-1233, 1997
- Stabler SM, Ostrowski LL, Janicki SM, Monteiro MJ: A myristoylated calcium-binding protein that preferentially interacts with the Alzheimer's disease presenilin 2 protein. *J Cell Biol* 145:1277-1292, 1999
- Steiner H, Romig H, Grim MG, Philipp U, Pesold B, Citron M, Baumeister R, Haass C: The biological and pathological function of the presenilin-1  $\Delta$ exon 9 mutation is independent of its defect to undergo proteolytic processing. *J Biol Chem* 274:7615-7618, 1999a
- Steiner H, Romig H, Pesold B, Philipp U, Baader M, Citron M, Loetscher H, Jacobsen H, Haass C: Amyloidogenic function of the Alzheimer's disease-associated presenilin 1 in the absence of endoproteolysis. *Biochemistry* 38:14600-14605, 1999b
- Steiner H, Duff K, Capell A, Romig H, Grim MG, Lincoln S, Hardy J, Yu X, Picciano M, Fechteler K, Citron M, Kopan R, Pesold B, Keck S, Baader M, Tomita T, Iwatsubo T, Baumeister R, Haass C: A loss of function mutation of presenilin-2 interferes with amyloid  $\beta$ -peptide production and notch signaling. *J Biol Chem* 274:28669-28673, 1999c
- Steiner H, Capell A, Pesold B, Citron M, Kloetzel PM, Selkoe DJ, Romig H, Mendla K, Haass C: Expression of Alzheimer's disease-associated presenilin-1 is controlled by proteolytic degradation and complex formation. *J Biol Chem* 273:32322-32331, 1998
- Strittmatter WJ, Saunders AM, Schmechel D, Pericak-Vance M, Enghild J, Salvesen GS, Roses AD: Apolipoprotein E: high-avidity binding to  $\beta$ -amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:1977-1981, 1993
- Struhl G, Greenwald I: Presenilin is required for activity and nuclear access of Notch in *Drosophila*. *Nature* 398:522-525, 1999
- Struhl G, Adachi A: Nuclear access and action of notch in vivo. *Cell* 93:649-660, 1998

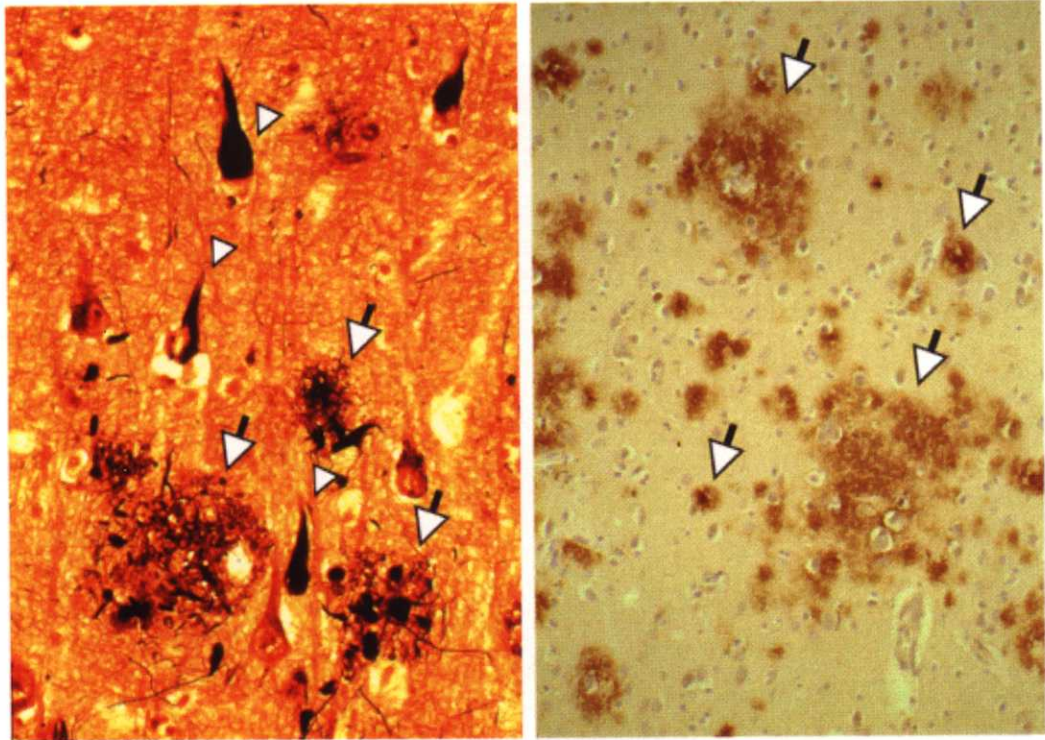
- Sudoh S, Hua G, Kawamura Y, Maruyama K, Komano H, Yanagisawa K: Intracellular site of  $\gamma$ -secretase cleavage for A $\beta$ 42 generation in Neuro 2a cells harbouring a presenilin 1 mutation. *Eur J Biochem* 267:2036-2045, 2000
- Sudoh S, Kawamura Y, Sato S, Wang R, Saido TC, Oyama F, Sakaki Y, Komano H, Yanagisawa K: Presenilin 1 mutations linked to familial Alzheimer's disease increase the intracellular levels of amyloid  $\beta$ -protein 1-42 and its N-terminally truncated variant(s) which are generated at distinct sites. *J Neurochem* 71:1535-1543, 1998
- Suzuki N, Cheung TT, Cai XD, Odaka A, Otvos L Jr, Eckman C, Golde TE, Younkin SG: An increased percentage of long amyloid  $\beta$  protein secreted by familial amyloid  $\beta$  protein precursor ( $\beta$ APP717) mutants. *Science* 264:1336-1340, 1994
- Takahashi Y, Koizumi K, Takagi A, Kitajima S, Inoue T, Koseki H, Saga Y: Mesp2 initiates somite segmentation through the Notch signalling pathway. *Nat Genet* 25:390-396, 2000
- Tanzi RE: Of calcium, caspases, and cognitive decline. *Nat Med* 4:1127-1128, 1998
- Taya S, Yamamoto T, Kano K, Kawano Y, Iwamatsu A, Tsuchiya T, Tanaka K, Kanai-Azuma M, Wood SA, Mattick JS, Kaibuchi K: The Ras target AF-6 is a substrate of the fam deubiquitinating enzyme. *J Cell Biol* 142:1053-1062, 1998
- Tesco G, Kim TW, Diehlmann A, Beyreuther K, Tanzi RE: Abrogation of the presenilin1/ $\beta$ -catenin interaction and preservation of the heterodimeric presenilin 1 complex following caspase activation. *J Biol Chem* 273:33909-33914, 1998
- Thinakaran G: The role of presenilins in Alzheimer's disease. *J Clin Invest* 104:1321-1327, 1999
- Thinakaran G, Regard JB, Bouton CM, Harris CL, Price DL, Borchelt DR, Sisodia SS: Stable association of presenilin derivatives and absence of presenilin interactions with APP. *Neurobiol Dis* 4:438-453, 1998
- Thinakaran G, Harris CL, Ratovitski T, Davenport F, Slunt HH, Price DL, Borchelt DR, Sisodia SS: Evidence that levels of presenilins (PS1 and PS2) are coordinately regulated by competition for limiting cellular factors. *J Biol Chem* 272:28415-28422, 1997
- Thinakaran G, Borchelt DR, Lee MK, Slunt HH, Spitzer L, Kim G, Ratovitsky T, Davenport F, Nordstedt C, Seeger M, Hardy J, Levey AI, Gandy SE, Jenkins NA, Copeland NG, Price DL, Sisodia SS: Endoproteolysis of presenilin 1 and accumulation of processed derivatives *in vivo*. *Neuron* 17:181-190, 1996
- Tienari PJ, Ida N, Ikonen E, Simons M, Weidemann A, Multhaup G, Masters CL, Dotti CG, Beyreuther K: Intracellular and secreted Alzheimer  $\beta$ -amyloid species are generated by distinct mechanisms in cultured hippocampal neurons. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:4125-4130, 1997
- Tokuhiro S, Tomita T, Iwata H, Kosaka T, Saido TC, Maruyama K, Iwatsubo T: The presenilin 1 mutation (M146V) linked to familial Alzheimer's disease attenuates the neuronal differentiation of Ntera 2 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 244:751-755, 1998
- Tomita T, Takikawa R, Koyama A, Morohashi Y, Takasugi N, Saido TC, Maruyama K, Iwatsubo T: C terminus of presenilin is required for overproduction of amyloidogenic A $\beta$ 42 through stabilization and endoproteolysis of presenilin. *J Neurosci* 19:10627-10634, 1999
- Tomita T, Iwatsubo T: Molecular cell biology of presenilins. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 114:337-346, 1999
- Tomita T, Tokuhiro S, Hashimoto T, Aiba K, Saido TC, Maruyama K, Iwatsubo T: Molecular dissection of domains in mutant presenilin 2 that mediate overproduction of amyloidogenic forms of amyloid  $\beta$  peptides. Inability of truncated forms of PS2 with familial Alzheimer's disease mutation to increase secretion of A $\beta$ 42. *J Biol Chem* 273:21153-21160, 1998
- Tomita T, Chang TY, Kodama T, Iwatsubo T:  $\beta$ APP  $\gamma$ -secretase and SREBP site 2 protease are two different enzymes. *Neuroreport* 9:911-913, 1998
- Tomita T, Maruyama K, Saido TC, Kume H, Shinozaki K, Tokuhiro S, Capell A, Walter J, Grunberg J, Haass C, Iwatsubo T, Obata K: The presenilin 2 mutation (N141I) linked to familial Alzheimer disease (Volga German families) increases the secretion of amyloid  $\beta$  protein ending at the 42nd (or 43rd) residue. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:2025-2030, 1997
- Travers KJ, Patil CK, Wodicka LW, Lockhart DJ, Weissman JS, Walter P: Functional and genomic analysis reveal an essential coordination between the unfolded protein response and ER-associated degradation. *Cell* 101:249-258, 2000
- Turner RS, Suzuki N, Chyung AS, Younkin SG, Lee VM: Amyloids  $\beta$ 40 and  $\beta$ 42 are generated intracellularly in cultured human neurons and their secretion increases with maturation. *J Biol Chem* 271:8966-8970, 1996
- Urano F, Wang X, Bertolotti A, Zhang Y, Chung P, Harding HP, Ron D: Coupling of stress in the ER to activation of JNK protein kinases by transmembrane protein kinase IRE1. *Science* 287:664-666, 2000
- Van Gassen G, De Jonghe C, Pye S, Van Crielinge W, Julliams A, Vanderhoeven I, Woodrow S, Beyaert R, Huylebroeck D, Van Broeckhoven C: Alzheimer's disease associated presenilin 1 interacts with HC5 and ZETA, subunits of the catalytic 20S proteasome. *Neurobiol Dis* 6:376-391, 1999
- Vassar R, Bennett BD, Babu Khan S, Kahn S, Mendiaz EA, Denis P, Teplow DB, Ross S, Amarante P, Loeloff R, Luo Y, Fisher S, Fuller J, Edenson S, Lile J, Jarosinski MA, Biere AL, Curran E, Burgess T, Louis JC, Collins F, Treanor J, Rogers G, Citron M:  $\beta$ -secretase cleavage of Alzheimer's amyloid precursor protein by the transmembrane aspartic protease BACE. *Science* 286:735-741, 1999
- Vito P, Ghayur T, D'Adamio L: Generation of anti-apoptotic presenilin-2 polypeptides by alternative transcription, proteolysis, and caspase-3 cleavage. *J Biol Chem* 272:28315-28320, 1997

- Vito P, Wolozin B, Ganjei JK, Iwasaki K, Lacana E, D'Adamio L: Requirement of the familial Alzheimer's disease gene PS2 for apoptosis. Opposing effect of ALG-3. *J Biol Chem* 271:31025-31028, 1996
- Vito P, Lacana E, D'Adamio L: Interfering with apoptosis:  $\text{Ca}^{2+}$  binding protein ALG-2 and Alzheimer's disease gene ALG-3. *Science* 271:521-525, 1996
- von Koch CS, Zheng H, Chen H, Trumbauer M, Thinakaran G, van der Ploeg LH, Price DL, Sisodia SS: Generation of APLP2 KO mice and early postnatal lethality in APLP2/APP double KO mice. *Neurobiol Aging* 18:661-669, 1997
- Walter J, Schindzielorz A, Grunberg J, Haass C: Phosphorylation of presenilin-2 regulates its cleavage by caspases and retards progression of apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:1391-1396, 1999
- Walter J, Grunberg J, Schindzielorz A, Haass C: Proteolytic fragments of the Alzheimer's disease associated presenilins-1 and -2 are phosphorylated in vivo by distinct cellular mechanisms. *Biochemistry* 37:5961-5967, 1998
- Walter J, Grunberg J, Capell A, Pesold B, Schindzielorz A, Citron M, Mendla K, George Hyslop PS, Multhaup G, Selkoe DJ, Haass C: Proteolytic processing of the Alzheimer disease-associated presenilin-1 generates an in vivo substrate for protein kinase C. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:5349-5354, 1997
- Walter J, Capell A, Grunberg J, Pesold B, Schindzielorz A, Prior R, Podlisny MB, Fraser P, Hyslop PS, Selkoe DJ, Haass C: The Alzheimer's disease-associated presenilins are differentially phosphorylated proteins located predominantly within the endoplasmic reticulum. *Mol Med* 2:673-691, 1996
- Wang X, Sato R, Brown MS, Hua X, Goldstein JL: SREBP-1, a membrane-bound transcription factor released by sterol-regulated proteolysis. *Cell* 77:53-62, 1994
- Ward CL, Omura S, Kopito RR: Degradation of CFTR by the ubiquitin-proteasome pathway. *Cell* 83:121-127, 1995
- Wen C, Greenwald I: p24 proteins and quality control of LIN-12 and GLP-1 trafficking in *Caenorhabditis elegans*. *J Cell Biol* 145:1165-1175, 1999
- Wen C, Metzstein MM, Greenwald I: SUP-17, a *Caenorhabditis elegans* ADAM protein related to *Drosophila* KUZBANIAN, and its role in LIN-12/NOTCH signalling. *Development* 124:4759-4767, 1997
- Zheng H, Jiang M, Trumbauer ME, Sirinathsinghji DJ, Hopkins R, Smith DW, Heavens RP, Dawson GR, Boyce S, Conner MW, et al.:  $\beta$ -Amyloid precursor protein-deficient mice show reactive gliosis and decreased locomotor activity. *Cell* 81:525-531, 1995
- Wild-Bode C, Yamazaki T, Capell A, Leimer U, Steiner H, Ihara Y, Haass C: Intracellular generation and accumulation of amyloid  $\beta$ -peptide terminating at amino acid 42. *J Biol Chem* 272:16085-16088, 1997
- Winston JT, Strack P, Beer Romero P, Chu CY, Elledge SJ, Harper JW: The SCF $\beta$ -TRCP-ubiquitin ligase complex associates specifically with phosphorylated destruction motifs in I $\kappa$ B $\alpha$  and  $\beta$ -catenin and stimulates I $\kappa$ B $\alpha$  ubiquitination in vitro. *Genes Dev* 13:270-283, 1999
- Wolfe MS, Xia W, Ostaszewski BL, Diehl TS, Kimberly WT, Selkoe DJ: Two transmembrane aspartates in presenilin-1 required for presenilin endoproteolysis and  $\gamma$ -secretase activity. *Nature* 398:513-517, 1999a
- Wolfe MS, Xia W, Moore CL, Leatherwood DD, Ostaszewski B, Rahmati T, Donkor IO, Selkoe DJ: Peptidomimetic probes and molecular modeling suggest that Alzheimer's  $\gamma$ -secretase is an intramembrane-cleaving aspartyl protease. *Biochemistry* 38:4720-4727, 1999b
- Wolfe MS, De Los Angeles J, Miller DD, Xia W, Selkoe DJ: Are presenilins intramembrane-cleaving proteases? Implications for the molecular mechanism of Alzheimer's disease. *Biochemistry* 38:11223-11230, 1999c
- Wolfe MS, Citron M, Diehl TS, Xia W, Donkor IO, Selkoe DJ: A substrate-based difluoro ketone selectively inhibits Alzheimer's  $\gamma$ -secretase activity. *J Med Chem* 41:6-9, 1998
- Wolozin B, Iwasaki K, Vito P, Ganjei JK, Lacana E, Sunderland T, Zhao B, Kusiak JW, Wasco W, D'Adamio L: Participation of presenilin 2 in apoptosis: enhanced basal activity conferred by an Alzheimer mutation. *Science* 274:1710-1713, 1996
- Wong PC, Zheng H, Chen H, Becher MW, Sirinathsinghji DJ, Trumbauer ME, Chen HY, Price DL, Van der Ploeg LH, Sisodia SS: Presenilin 1 is required for Notch1 and Dll1 expression in the paraxial mesoderm. *Nature* 387:288-292, 1997
- Wu G, Hubbard EJ, Kitajewski JK, Greenwald I: Evidence for functional and physical association between *Caenorhabditis elegans* SEL-10, a Cdc4p-related protein, and SEL-12 presenilin. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:15787-15791, 1998
- Xia W, Ray WJ, Ostaszewski BL, Rahmati T, Kimberly WT, Wolfe MS, Zhang J, Goate AM, Selkoe DJ: Presenilin complexes with the C-terminal fragments of amyloid precursor protein at the sites of amyloid  $\beta$ -protein generation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:9299-9304, 2000
- Xia W, Zhang J, Ostaszewski BL, Kimberly WT, Seubert P, Koo EH, Shen J, Selkoe DJ: Presenilin 1 regulates the processing of  $\beta$ -amyloid precursor protein C-terminal fragments and the generation of amyloid  $\beta$ -protein in endoplasmic reticulum and Golgi. *Biochemistry* 37:16465-16471, 1998
- Xia W, Zhang J, Kholodenko D, Citron M, Podlisny MB, Teplow DB, Haass C, Seubert P, Koo EH, Selkoe DJ: Enhanced production and oligomerization of the 42-residue amyloid  $\beta$ -protein by Chinese hamster ovary cells stably expressing mutant presenilins. *J Biol Chem* 272:7977-7982, 1997

- Xu H, Sweeney D, Wang R, Thinakaran G, Lo AC, Sisodia SS, Greengard P, Gandy S: Generation of Alzheimer  $\beta$ -amyloid protein in the trans-Golgi network in the apparent absence of vesicle formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:3748-3752, 1997
- Xu X, Shi Yc, Wu X, Gambetti P, Sui D, Cui MZ: Identification of a Novel PSD-95/Dlg/ZO-1 (PDZ)-like Protein Interacting with the C Terminus of Presenilin-1. *J Biol Chem* 274:32543-32546, 1999
- Yamazaki T, Haass C, Saido TC, Omura S, Ihara Y: Specific increase in amyloid  $\beta$ -protein 42 secretion ratio by calpain inhibition. *Biochemistry* 36:8377-8383, 1997
- Yan R, Bienkowski MJ, Shuck ME, Miao H, Tory MC, Pauley AM, Brashier JR, Stratman NC, Mathews WR, Buhl AE, Carter DB, Tomasselli AG, Parodi LA, Heinrichson RL, Gurney ME: Membrane-anchored aspartyl protease with Alzheimer's disease  $\beta$ -secretase activity. *Nature* 402:533-537, 1999
- Yankner BA, Duffy LK, Kirschner DA: Neurotrophic and neurotoxic effects of amyloid  $\beta$  protein: reversal by tachykinin neuropeptides. *Science* 250:279-282, 1990
- Yaron A, Hatzubai A, Davis M, Lavon I, Amit S, Manning AM, Andersen JS, Mann M, Mercurio F, Ben Neriah Y: Identification of the receptor component of the  $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ -ubiquitin ligase. *Nature* 396:590-594, 1998
- Ye J, Dave UP, Grishin NV, Goldstein JL, Brown MS: Asparagine-proline sequence within membrane-spanning segment of SREBP triggers intramembrane cleavage by site-2 protease. *Proc Natl Acad Sci USA* 97:5123-5128, 2000
- Ye Y, Lukinova N, Fortini ME: Neurogenic phenotypes and altered Notch processing in *Drosophila* Presenilin mutants. *Nature* 398:525-529, 1999a
- Ye Y, Fortini ME: Apoptotic activities of wild-type and Alzheimer's disease-related mutant presenilins in *Drosophila melanogaster*. *J Cell Biol* 146:1351-1364, 1999b
- Ye Y, Fortini ME: Characterization of *Drosophila* Presenilin and its colocalization with Notch during development. *Mech Dev* 79:199-211, 1998
- Yu G, Chen F, Levesque G, Nishimura M, Zhang DM, Levesque L, Rogaeva E, Xu D, Liang Y, Duthie M, St George Hyslop PH, Fraser PE: The presenilin 1 protein is a component of a high molecular weight intracellular complex that contains  $\beta$ -catenin. *J Biol Chem* 273(26):16470-16475, 1998
- Zelenski NG, Rawson RB, Brown MS, Goldstein JL: Membrane topology of S2P, a protein required for intramembraneous cleavage of sterol regulatory element-binding proteins. *J Biol Chem* 274:21973-21980, 1999
- Zhang J, Kang DE, Xia W, Okochi M, Mori H, Selkoe DJ, Koo EH: Subcellular distribution and turnover of presenilins in transfected cells. *J Biol Chem* 273:12436-12442, 1998
- Zhang Z, Nadeau P, Song W, Donoviel D, Yuan M, Bernstein A, Yankner BA: Presenilins are required for  $\gamma$ -secretase cleavage of  $\beta$ -APP and transmembrane cleavage of Notch-1. *Nat Cell Biol* 2:463-465, 2000
- Zhang Z, Hartmann H, Do VM, Abramowski D, Sturchler-Pierrat C, Staufenbiel M, Sommer B, van de Wetering M, Clevers H, Saftig P, De Strooper B, He X, Yankner BA: Destabilization of  $\beta$ -catenin by mutations in presenilin-1 potentiates neuronal apoptosis. *Nature* 395:698-702, 1998

#### On-line resources

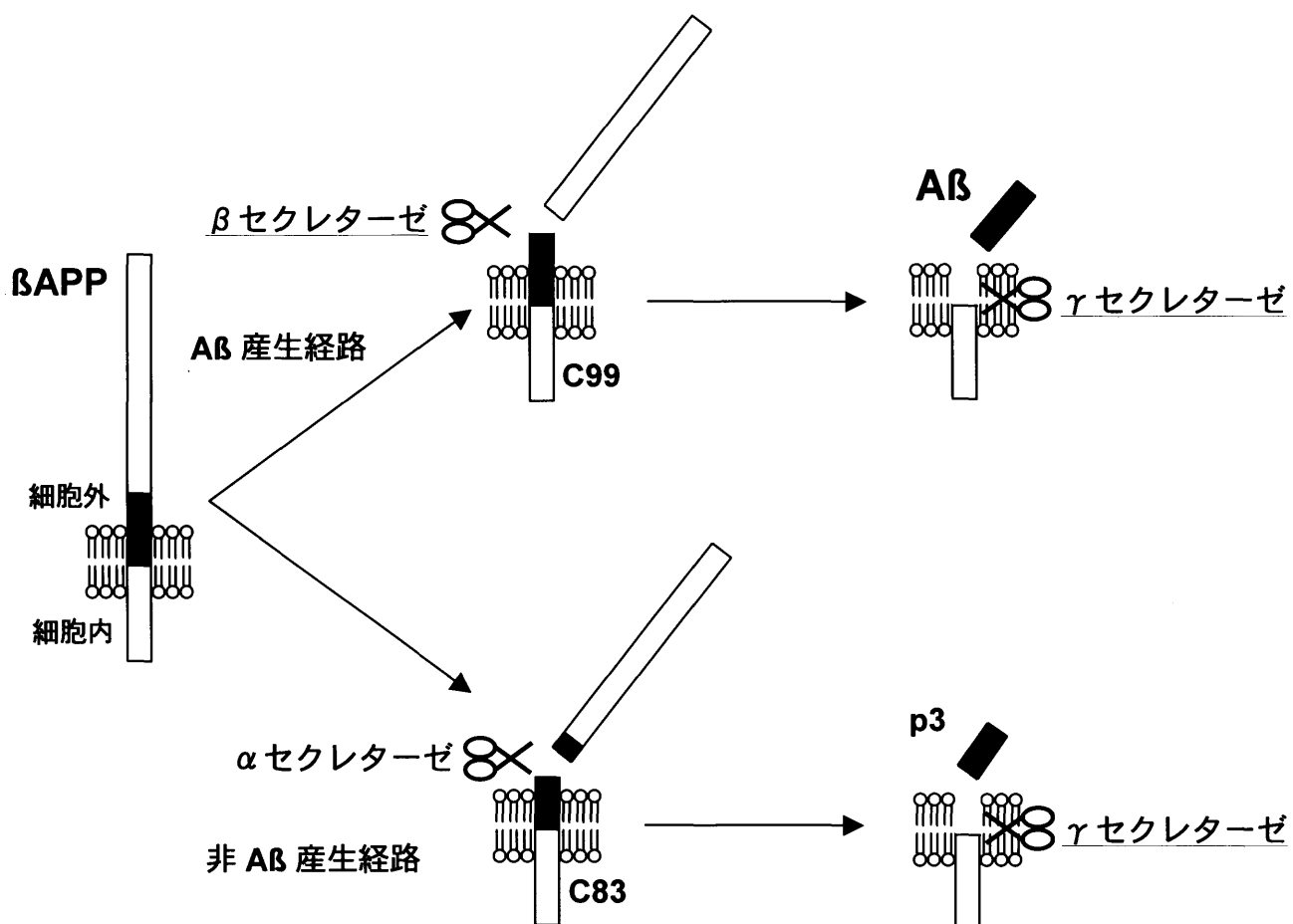
APP mutations directory: [http://www.alzforum.org/members/resources/app\\_mutations/index.html](http://www.alzforum.org/members/resources/app_mutations/index.html)  
*Dictyostelium discoideum* cDNA project: <http://www.csm.biol.tsukuba.ac.jp/cDNAproject.html>  
 SOSUI www server: <http://azusa.proteome.bio.tuat.ac.jp/sosui/>



図表 1 AD 患者脳の病理像

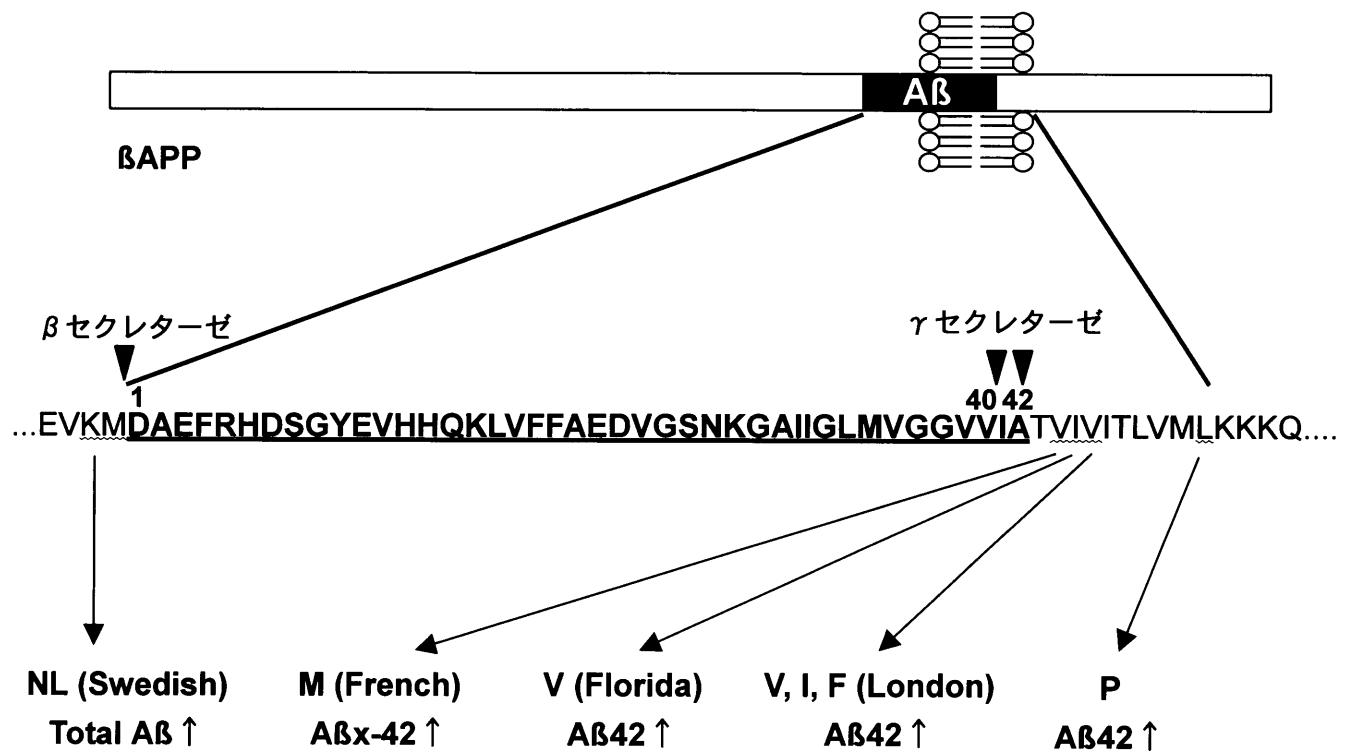
A. Bielschowsky 鍍銀染色像。arrow で老人斑を、arrowhead で神経原線維変化を示した。

B. 抗 Aβ 抗体による免疫染色像。arrow で老人斑を示した。



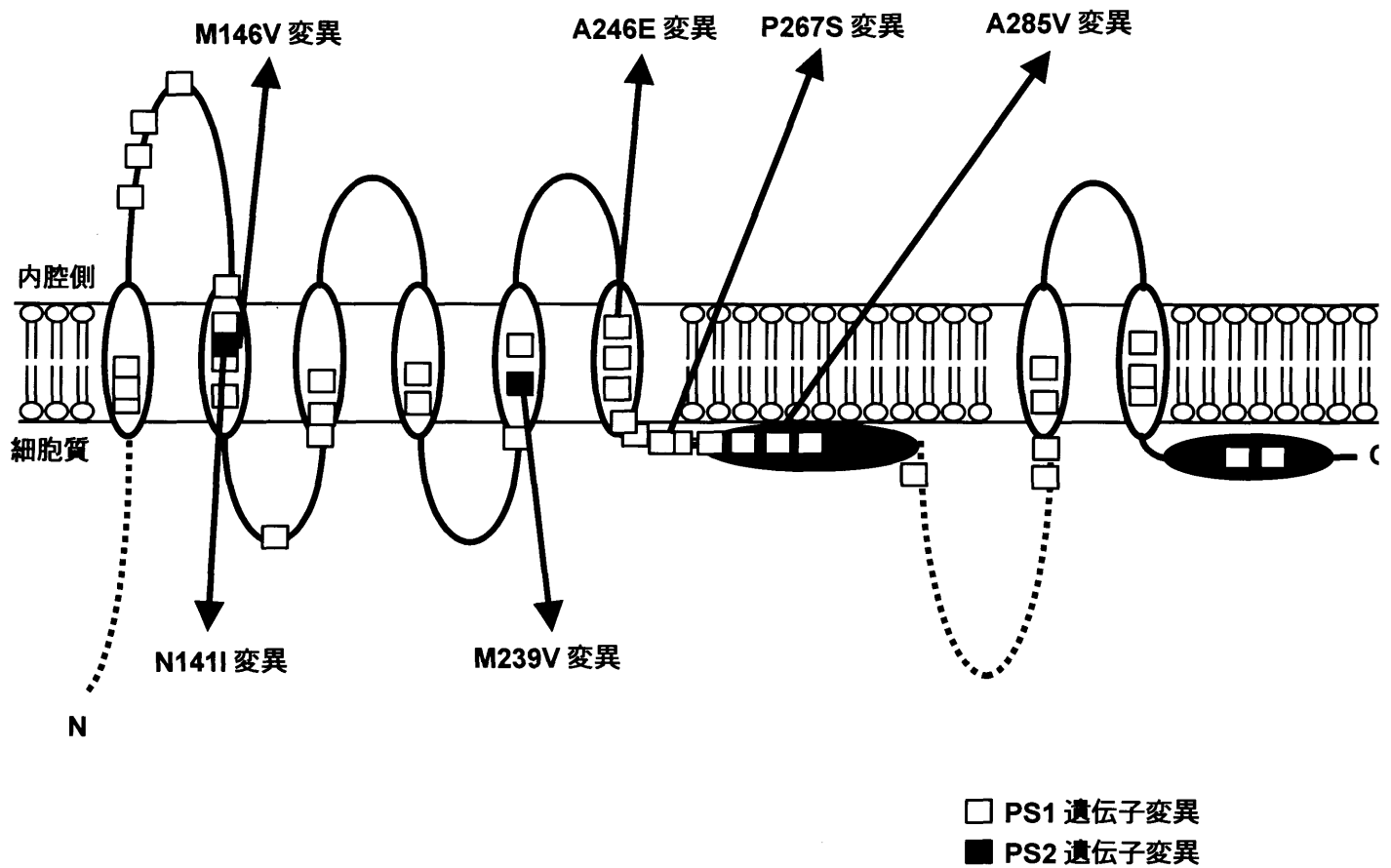
図表 2 βAPP の代謝経路

βAPP の代謝には Aβ 産生経路と非 Aβ 産生経路がある。Aβ 産生経路では、まず Aβ の N 末端側が β セクレターゼ (BACE/Asp2) によって切断を受ける。生成した C99 は引き続いて γ セクレターゼによる切断を受け、Aβ が産生・分泌される。



**図表 3 Aβ のアミノ酸配列と FAD 変異**

Aβ42 は Aβ40 に比べ、凝集性の高いペプチドである。培養細胞から分泌される Aβ42 は全 Aβ のうち 10% 前後であるが、FAD 変異によって Aβ42（もしくは全 Aβ）の産生が特異的に亢進する。



**図表 4 Presenilin (PS) の構造**

8 回膜貫通型モデルを示す。PS1 と PS2 の間で相同性が高い部分を実線で、低い部分を点線で示した。上側に本研究において使用した PS1 の FAD 変異を、下側に PS2 の変異を示した。



图表 5

PS1 Mutation	Effect on A $\beta$ production	Exon	Location	in huPS2
<b>A79V</b>		5	N/TM1	<b>A85</b>
<b>V82L</b>	<b>A<math>\beta</math>42 overproduction</b>	5	TM1	<b>V88</b>
<b>dell83/M84</b>	<b>A<math>\beta</math>42 overproduction</b>	5	TM1	<b>I89/M90</b>
<b>V96F</b>	<b>A<math>\beta</math>42 overproduction</b>	5	TM1	<b>V102</b>
<b>T113-114ins</b>		6	HL1	
<b>Y115H</b>	<b>A<math>\beta</math>42 overproduction</b>	6	HL1	<b>Y121</b>
<b>Y115C</b>		6	HL1	<b>Y121</b>
<b>T116N</b>		6	HL1	<b>T122</b>
<b>P117L</b>		6	HL1	<b>P123</b>
<b>E120K</b>	<b>A<math>\beta</math>42 overproduction</b>	6	HL1	<b>E126</b>
<b>E120D</b>		6	HL1	<b>E126</b>
<b>E123K</b>		6	HL1	<b>P129</b>
<b>N135D</b>		6	TM2	<b>N141</b>
<b>M139V</b>	<b>A<math>\beta</math>42 overproduction</b>	6	TM2	<b>M145</b>
<b>M139T</b>	<b>A<math>\beta</math>42 overproduction</b>	6	TM2	<b>M145</b>
<b>M139I</b>	<b>A<math>\beta</math>42 overproduction</b>	6	TM2	<b>M145</b>
<b>M139K</b>		6	TM2	<b>M145</b>
<b>I143F</b>	<b>A<math>\beta</math>42 overproduction</b>	6	TM2	<b>I149</b>
<b>I143T</b>	<b>A<math>\beta</math>42 overproduction</b>	6	TM2	<b>I149</b>
<b>M146L</b>	<b>A<math>\beta</math>42 overproduction</b>	6	TM2	<b>M152</b>
<b>M146V</b>	<b>A<math>\beta</math>42 overproduction</b>	6	TM2	<b>M152</b>
<b>H163Y</b>	<b>A<math>\beta</math>42 overproduction</b>	7	HL2	<b>H169</b>
<b>H163R</b>	<b>A<math>\beta</math>42 overproduction</b>	7	HL2	<b>H169</b>
<b>W165G</b>		7	TM3	<b>W171</b>
<b>L166R</b>		7	TM3	<b>L172</b>
<b>S169P</b>		7	TM3	<b>S175</b>
<b>S169L</b>		7	TM3	<b>S175</b>
<b>L171P</b>		7	TM3	<b>L181</b>
<b>G209V</b>		8	TM4	<b>G215</b>
<b>G209R</b>		8	TM4	<b>G215</b>
<b>I213T</b>	<b>A<math>\beta</math>42 overproduction</b>	8	TM4	<b>I219</b>
<b>L219P</b>		8	TM5	<b>L225</b>
<b>A231T</b>	<b>A<math>\beta</math>42 overproduction</b>	8	TM5	<b>A237</b>
<b>A231V</b>		8	TM5	<b>A237</b>
<b>M233T</b>		8	TM5	<b>M239</b>
<b>M233L</b>		8	TM5	<b>M239</b>
<b>L235P</b>		8	TM5	<b>L241</b>
<b>A246E</b>	<b>A<math>\beta</math>42 overproduction</b>	8	TM6	<b>A252</b>
<b>L250S</b>	<b>A<math>\beta</math>42 overproduction</b>	8	TM6	<b>L256</b>
<b>A260V</b>	<b>A<math>\beta</math>42 overproduction</b>	9	TM6	<b>A266</b>

L262F		9	TM6	L268
C263R	Aβ42 overproduction	9	HL6	C269
P264L	Aβ42 overproduction	9	HL6	P270
P267S	Aβ42 overproduction	9	HL6	P273
R269G		9	HL6	R275
R269H		9	HL6	R275
R278T		9	HL6	R284
E280A	Aβ42 overproduction	9	HL6	E286
E280G	Aβ42 overproduction	9	HL6	E286
L282R		9	HL6	L288
A285V	Aβ42 overproduction	9	HL6	A291
L286V	Aβ42 overproduction	9	HL6	L292
S290C (delEx10)	Aβ42 overproduction	splice	HL6	S296
E318G		10	HL6	E322
G378Q		12	HL6	G359
G384A	Aβ42 overproduction	12	TM7	G365
L392V	Aβ42 overproduction	12	TM7	L373
N405S		12	HL7	N386
A409Y		12	TM8	A390
C410Y	Aβ42 overproduction	12	TM8	C391
L424R		13	TM8	L405
A426P		13	TM8	A407
A431V		13	C	A412
P436S		13	C	P417
P436Q	Aβ42 overproduction	13	C	P417

PS2 Mutation	Effect on Aβ production	Exon	Location	in huPS1
N141I	Aβ42 overproduction	6	TM2	N135
V148I		6	TM2	V142
M239V	Aβ42 overproduction	8	TM5	M233
M239I	Aβ42 overproduction	8	TM5	M233

図表 5 これまでに報告されている PS1、PS2 遺伝子上の FAD 変異

PS遺伝子上のFAD変異について、その表現型とエクソン、分子内の位置について示した。さらにPS1の変異の場合はPS2の、PS2の場合はPS1の相同なアミノ酸を示した。現在までに報告されている変異はOnline Resourceとして以下のサイトに報告されている。

[http://www.alzforum.org/members/resources/pres\\_mutations/index.html](http://www.alzforum.org/members/resources/pres_mutations/index.html)

```

huPS1.ptn 1:----MTQLPAP-LSYFQNAQ-MSEDNHLNNTVRSQNDNRERQEHNDRR-SLGHPEPLSNG 53
huPS2.ptn 1:MLTFMADSEEEV-CDERTSLMSAESPTPRSCQEGRGQPEDGENTAQWRSQNEEDGEED 59
          *                **                * *                * *

          |-----|
huPS1.ptn 54:RPQGNRQVV-EQDEEEDEELTLKYGAHVIMLFVPVTLCMVIVVATIKSVSFYTRKDGQ 112
huPS2.ptn 60:-PDRYVCSGVPGRPPGLEEELTLKYGAHVIMLFVPVTLCMIVVATIKSVRFYTEKNGQ 118
          *      *      ***** ***** ***** * * *

          |-----|
huPS1.ptn 113:LIYTPFTEDTETVGQRALHSILNAAIMISVIVVMTILLVVLKYRCYKVIHAWLIISLL 172
huPS2.ptn 119:LIYTTFTEDTPSVGQRLLNSVLNLTIMISVIVVMTIFLVVLKYRCYKFIHGLIMSSLM 178
          **** ***** * * * * ***** ***** * * * *

          -III-----IV-----V-
huPS1.ptn 173:LLFFFSFIYLGVEFKTYNVAVDYITVALLIWNFGVVGIMISLHWKGPLRLQQAYLIMISAL 232
huPS2.ptn 179:LLFLFTYIYLGVEVLTYNVAMDYPTLLLTVWNFGAVGMVCTHWKGPLVLQQAYLIMISAL 238
          *** * ***** ***** * * * * ***** ***** *****

          -----VI-----
huPS1.ptn 233:MALVFIKYLPEWTAWLILAVISVYDLVAVLCPKGPLRMLVETAQERNEPTFPALIISSSTM 292
huPS2.ptn 239:MALVFIKYLPEWSAWVILGAVISVYDLVAVLCPKGPLRMLVETAQERNEPTFPALIISSAM 298
          ***** * * * ***** ***** *****

          -----VII-----
huPS1.ptn 293:VWLVNMAEGDPEAQRVSKNSKYNALSTERESQDTVAENDGGFSEWEAQRDShLGPHR 352
huPS2.ptn 299:VWTVGMAKLDPSQGLQLP--YDPEMEEDSYD-SFGEP--SYPEVFEP-----PLT 345
          * * * * * * * * * * * * * * *

          -----VIII-----
huPS1.ptn 353:STPESRAAVQELSSSILAGEDPEERGKVLGLGDFIFYSVLVGKASATASGDWNTTILACFV 412
huPS2.ptn 346:GYPGE-----ELEEEE-----ERGKVLGLGDFIFYSVLVGKAAATGSGDWNTTILACFV 393
          *      **      ***** ***** *****

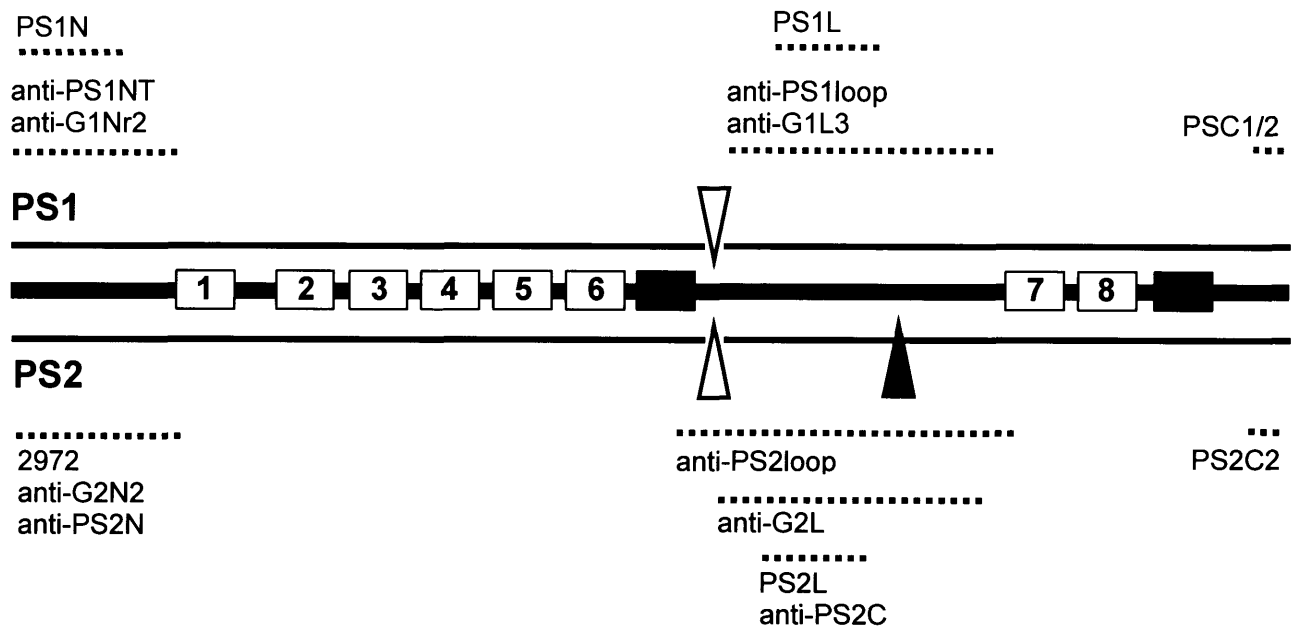
          -----VIII-----
huPS1.ptn 413:AIIIGLCLTLLLAIFKKAIPALPISITFGLVFYFATDYLVPFMDQLAFHQFYI 467
huPS2.ptn 394:AIIIGLCLTLLLAIFKKAIPALPISITFGLIFYFSTDNLVRPFMDTLASHQLYI 448
          ***** ***** ***** * * * * ***** * * *

```

図表 6 PS1、PS2 のアミノ酸配列

ヒト PS1、PS2 のアミノ酸配列を比較し、相同なアミノ酸をアスタリスクで、これまでに報告されている FAD 変異を白抜きで示した。ローマ数字は予測されている膜貫通ドメイン（TMD）の位置を表す。PS1 と PS2 のアミノ酸配列には 67%の相同性がある。

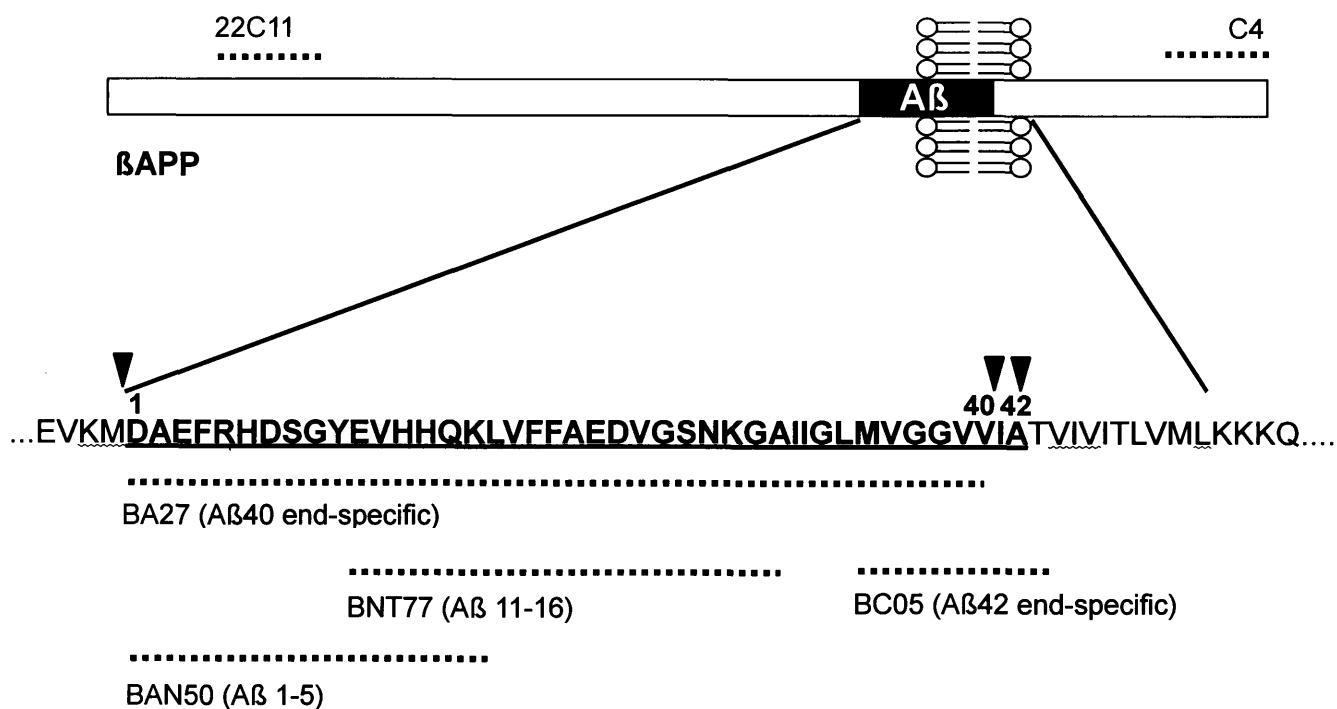
図表 7



Antibody	Antigen	Dilution (×)	Reference
PS1N	PS1 <sub>1-22</sub>	500	Tomita et al., 1997
anti-PS1NT	GST-PS1 <sub>1-65</sub>	1000~5000	Thinakaran et al., 1998
anti-G1Nr2	GST-PS1 <sub>2-70</sub>	500	
PS1L	PS1 <sub>309-336</sub>	250	Tomita et al., 1997
anti-PS1loop	GST-PS1 <sub>263-407</sub>	1000~5000	Thinakaran et al., 1996
anti-G1L3	GST-PS1 <sub>297-379</sub>	1000~5000	Tomita et al., 1999
PSC1/2	PS1 <sub>462-467</sub>	200	Tomita et al., 1997
2972	GST-PS2 <sub>1-87</sub>	1000	Tomita et al., 1997
anti-G2N2	GST-PS2 <sub>2-87</sub>	1000	Tomita et al., 1998
anti-PS2N	His-PS2N <sub>1-81</sub>	1000~3000	Oyama et al., 1998
anti-PS2loop	GST-PS2 <sub>269-394</sub>	1000~5000	Thinakaran et al., 1998
anti-G2L	GST-PS2 <sub>301-361</sub>	1000~3000	Tomita et al., 1998
PS2L	PS2 <sub>316-339</sub>	500	Tomita et al., 1997
anti-PS2C	PS2 <sub>327-336</sub>	1000~3000	Oyama et al., 1998
PS2C2	PS2 <sub>443-448</sub>	100	Tomita et al., 1998

図表 7 本研究において使用した PS 抗体の抗原部位

すべてウサギポリクローナル抗体である。上側に PS1、下側に PS2 に対する抗体の抗原部位を点線で示した。白矢印で standard cleavage 部位を、黒矢印で alternative cleavage 部位を示した。ほぼすべての抗体は PS1 または PS2 特異的に反応した。また PSC1/2 は抗原として用いた PS1 よりも PS2 とよく反応した。

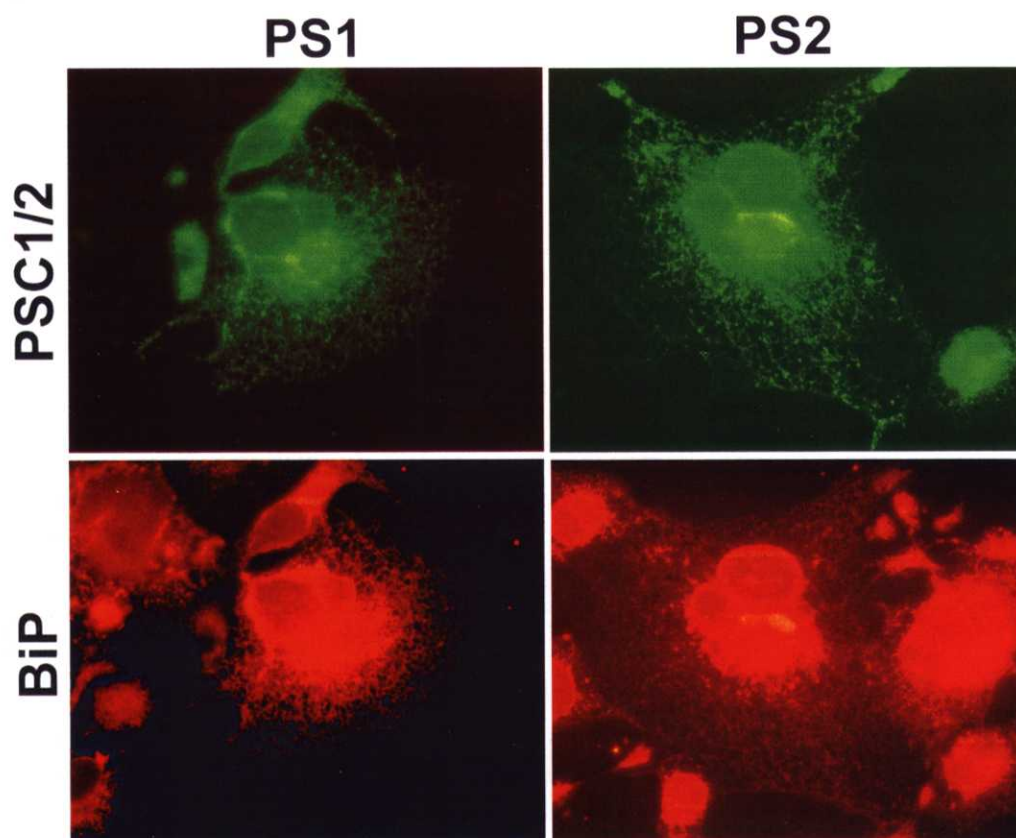


sandwich ELISA によって検出できる Aβ 分子種

	BA27 (Aβ40 特異抗体)	BC05 (Aβ42 特異抗体)
BNT77	Aβ <sub>x-40</sub>	Aβ <sub>x-42</sub>
BAN50	huAβ <sub>1-40</sub>	huAβ <sub>1-42</sub>

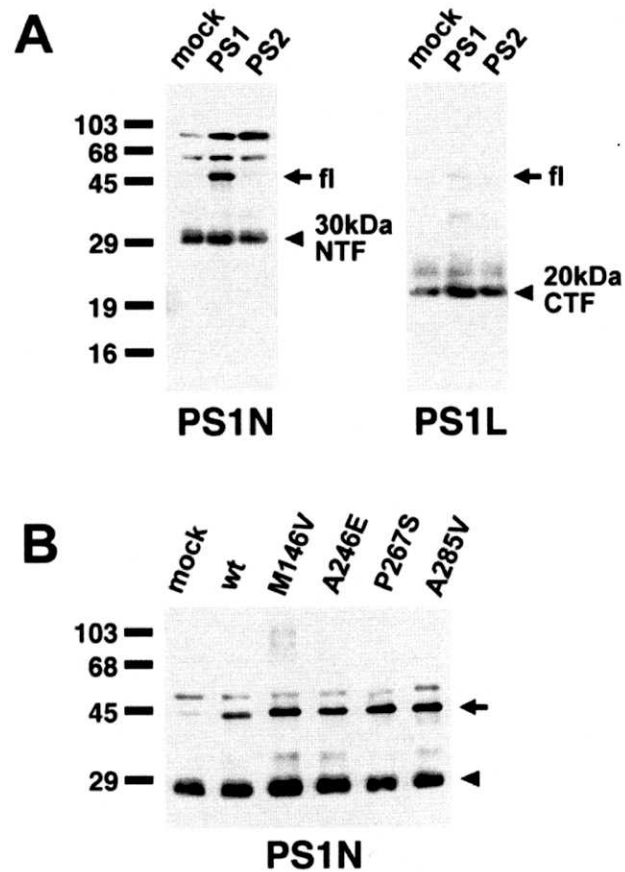
**図表 8** 本研究で使⽤した βAPP 抗体と C 末端断端特異的 sandwich ELISA

C4 を除き、すべてマウスモノクローナル抗体である。点線で抗原部位を示した。またエピトープが明らかになっているものについては括弧内に示した。BAN50 を用いた場合、ヒト Aβ のみを検出することが可能である。



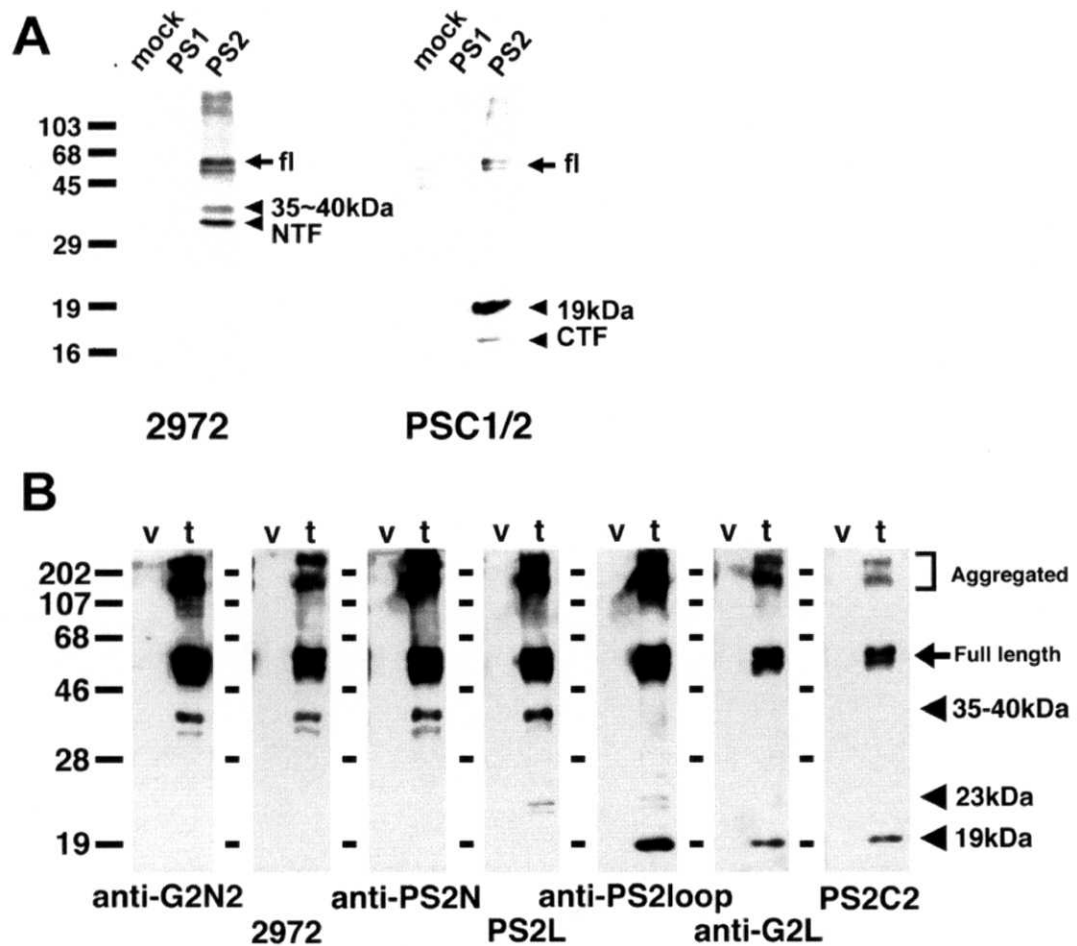
図表 9 COS 細胞における PS1、2 の局在

左側は PS1 発現細胞、右側は PS2 発現細胞。抗 PS 抗体として PSC1/2 を、小胞体のマーカーとして抗 BiP 抗体を用いて免疫染色を行った。PS は主に小胞体に局在し、FAD 変異によって局在が大きく変化することはなかった。



**図表 10 PS1 発現 COS 細胞のウェスタンブロット解析**

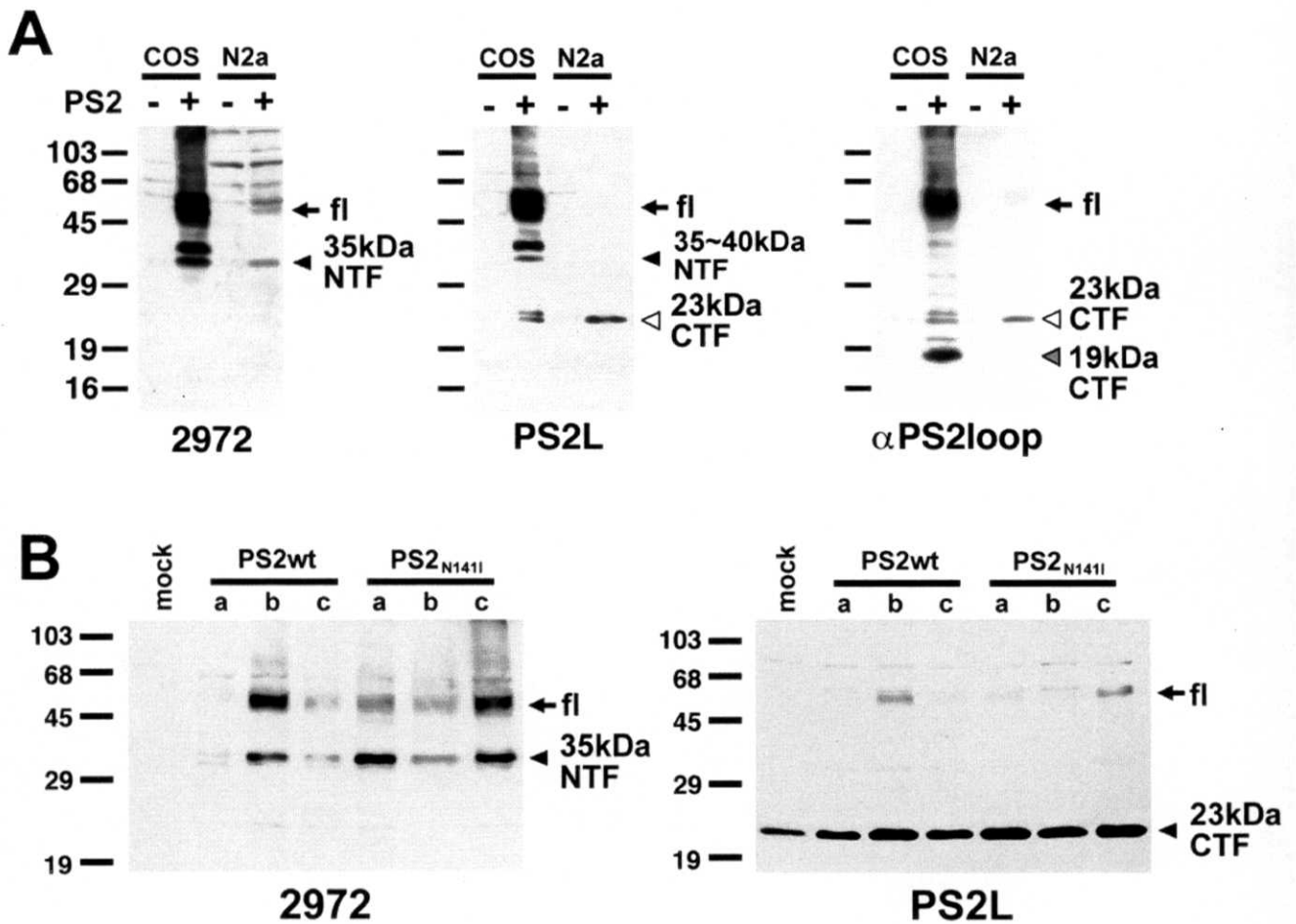
- A. Vector (mock)、PS1 または PS2 を発現させた COS 細胞の全ライゼートを各レーンに 10  $\mu$ g ずつアプライし、ウェスタンブロット解析を行った。45 kDa の全長蛋白 (fl) に加え、内因性にも観察される 30 kDa NTF と 20 kDa CTF が観察された。PS1 の発現によってわずかにフラグメントの量が増加した。
- B. FAD 変異型 PS1 を発現させた COS 細胞の全ライゼートを同様に解析した。野生型 (wt) と比較してもフラグメント量に大きな変化は見られなかった。



図表 11 PS2 発現 COS 細胞のウェスタンブロット解析

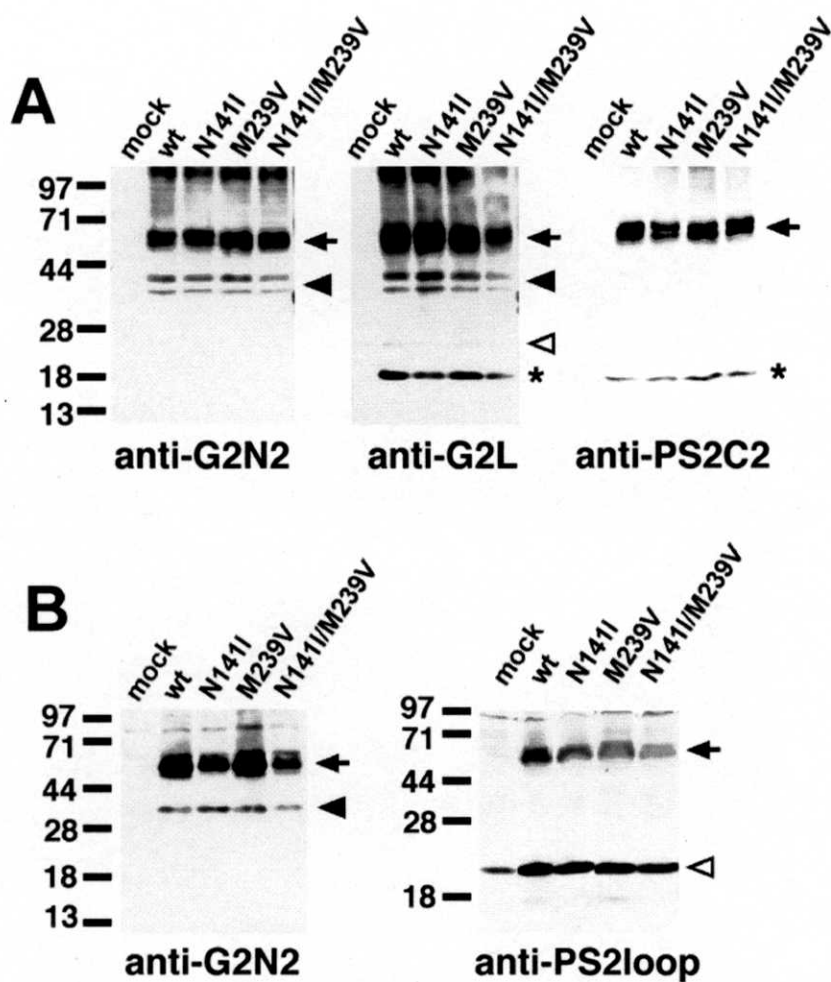
- A. vector、PS1 または PS2 を発現させた COS 細胞の全ライゼートを各レーンに 10  $\mu$ g ずつアプライし、ウェスタンブロット解析を行った。55~60 kDa の全長蛋白 (fl) に加え、発現時のみ 35~40 kDa NTF と 19 kDa CTF が観察された。内因性バンドは観察されなかった。
- B. 各種抗体を用いたプロセッシング部位の検討。PS2L と anti-PS2loop のエピトープの間でプロセッシングを受けていると考えられた。





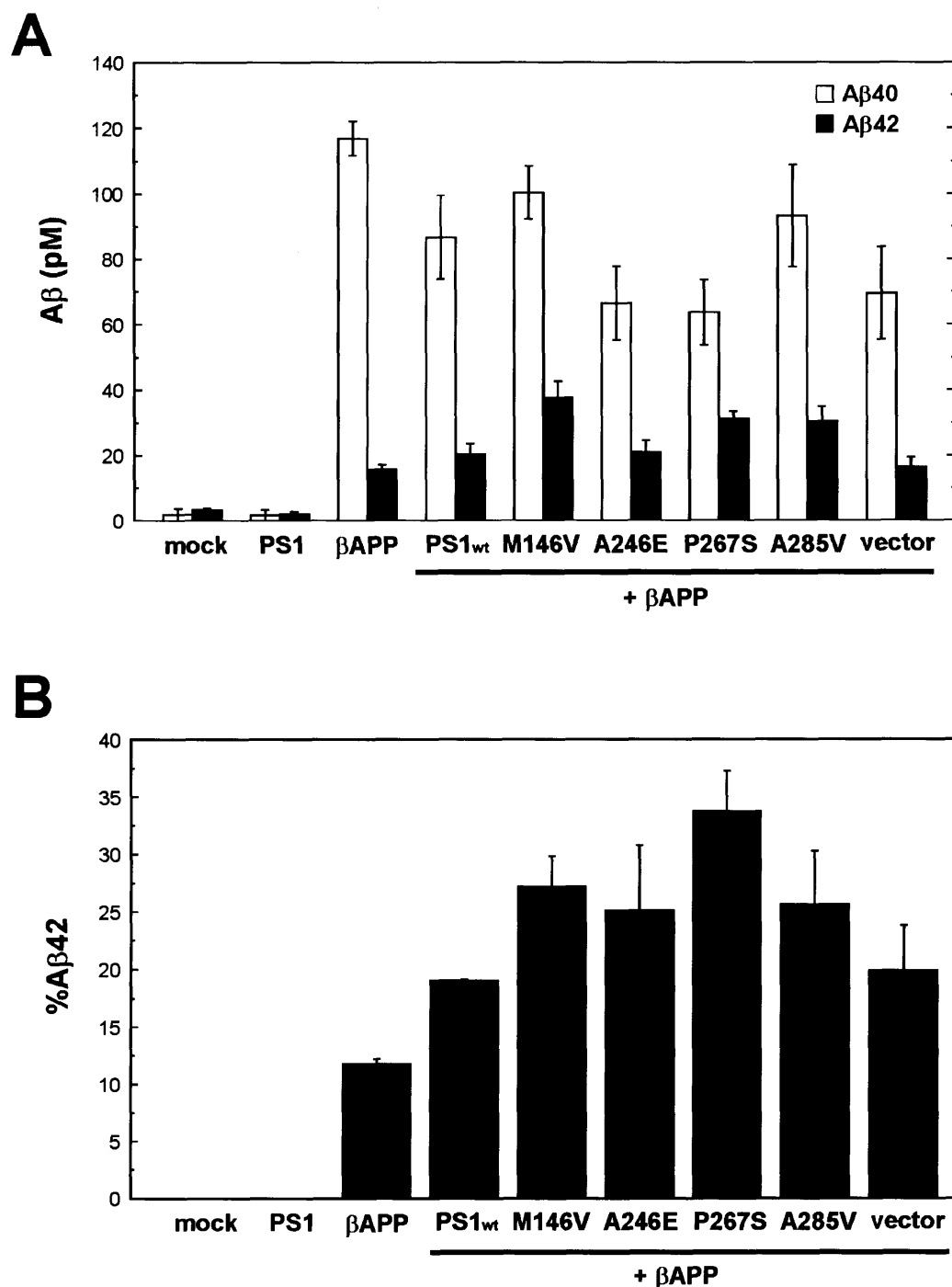
図表 12 PS2 発現 N2a 細胞のウェスタンブロット解析

- A. 一過性に PS2 を発現させた COS 細胞の全ライゼート (10 $\mu$ g) と恒常的に PS2 を発現している N2a 細胞の全ライゼート (20 $\mu$ g) をアプライしてウェスタンブロット解析によりプロセッシングを検討した。COS 細胞と異なり、N2a 細胞では PS2L のエピトープより N 末端側で切断され、35 kDa NTF と 23 kDa CTF になっていると考えられた。
- B. 恒常的に PS2 を発現する N2a 細胞モノクローン株の解析。35 kDa NTF は fl の発現量に応じて増加したが、23 kDa CTF は一定量以上増加しなかった。



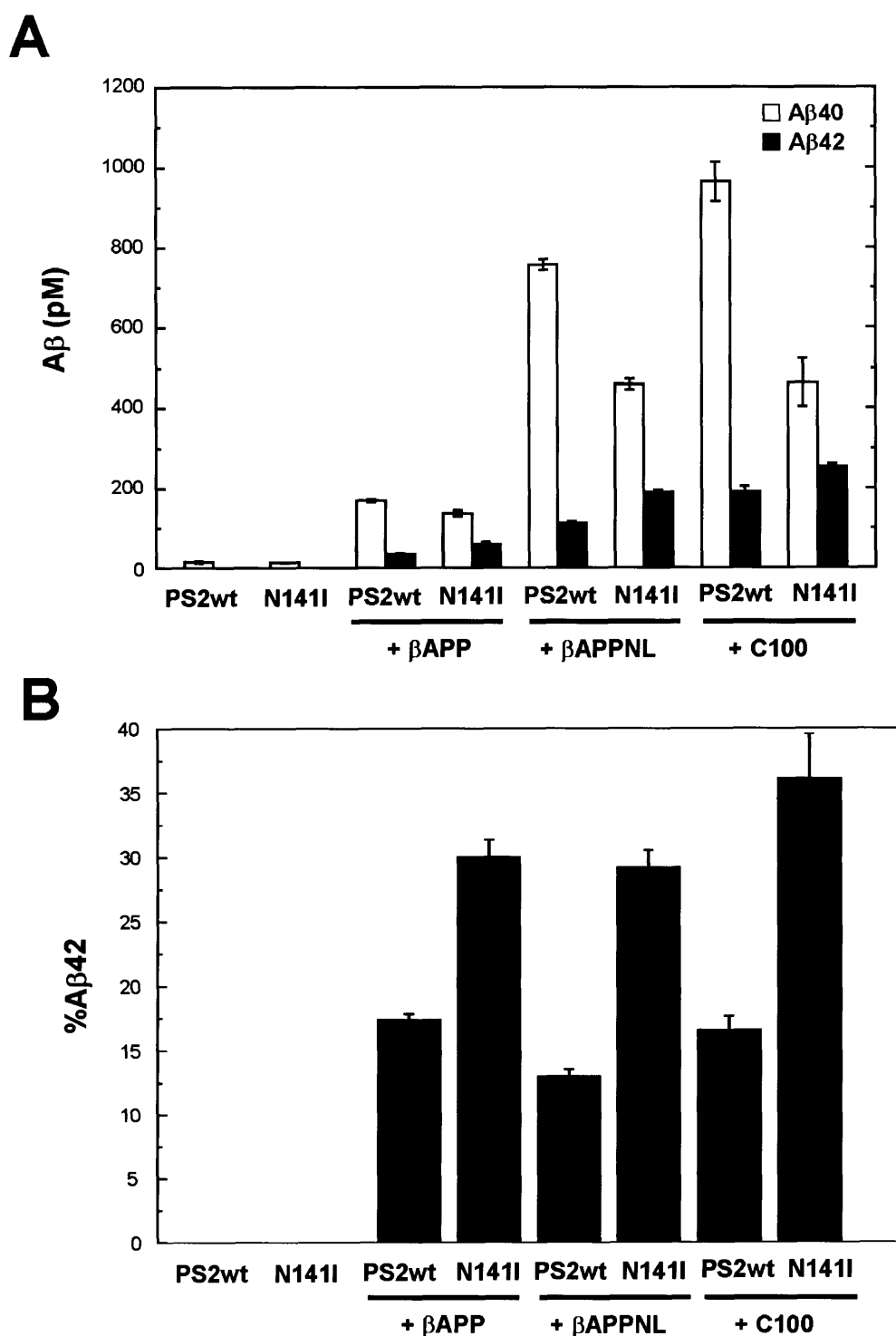
**図表 13 FAD 変異が PS2 のプロセシングに及ぼす影響**

- A. FAD 変異が COS 細胞における PS2 のプロセシングに及ぼす影響について検討した。全長蛋白を arrow で、NTF を black arrowhead で、23 kDa CTF を white arrowhead で、19 kDa CTF をアステリスクで示した。いずれの変異も大きな影響を与えなかった。
- B. FAD 変異が N2a 細胞での PS2 のプロセシングに及ぼす影響について検討した。いずれの変異も大きな影響を与えなかった。



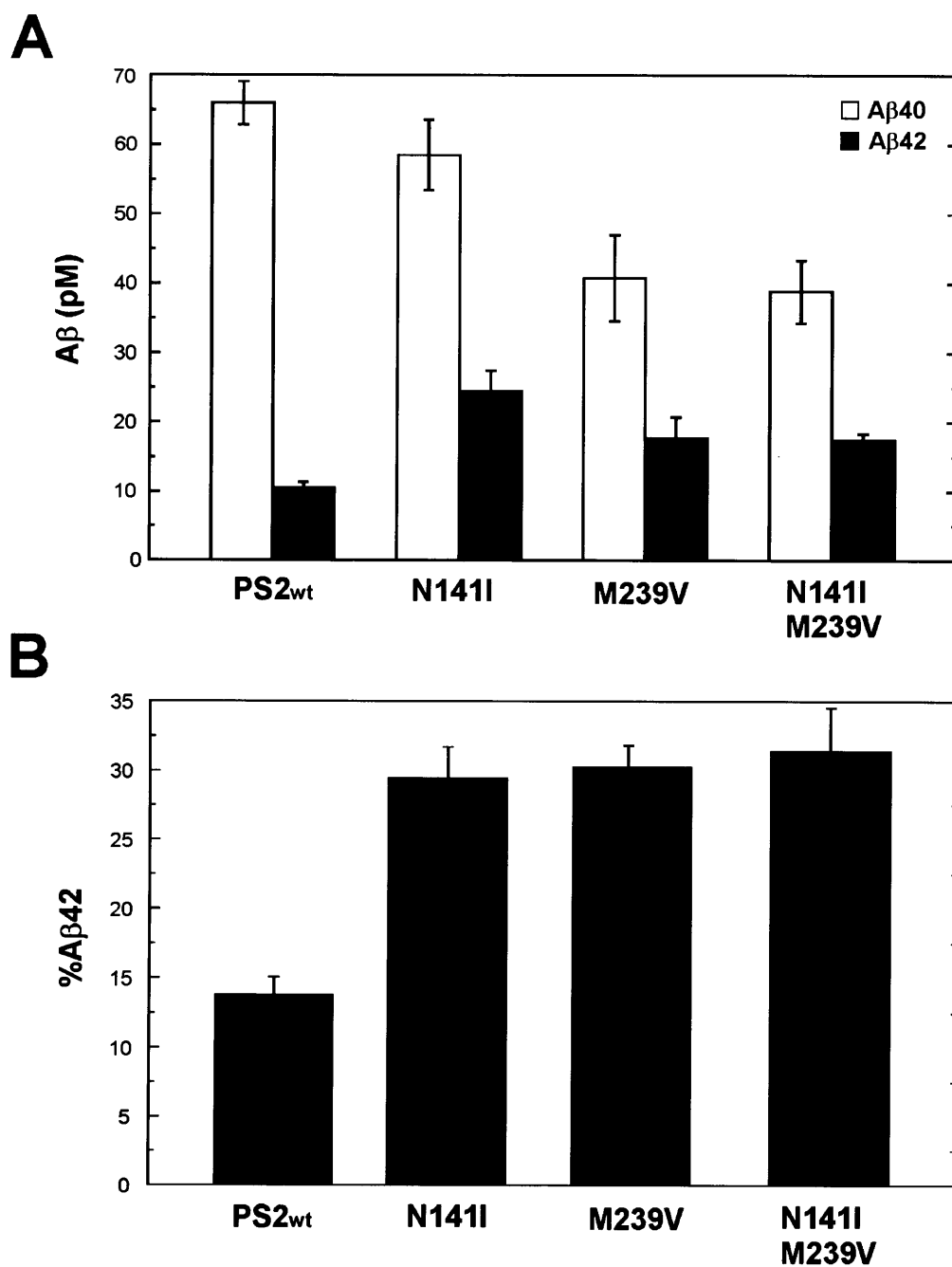
**図表 14 FAD 変異型 PS1 が Aβ 産生に及ぼす影響**

- A. COS 細胞に一過性に PS1、βAPP の発現を、またはそれらの共発現を行い、60 時間後、培地中に分泌されてくる Aβ を sandwich ELISA によって測定した (n=3、mean±SE)。白のバーで Aβ40 を、黒のバーで Aβ42 を示す。COS 細胞は内因性にはほとんど Aβ を分泌していないが、βAPP を遺伝子導入すると Aβ が分泌される。
- B. A. で得られた絶対値を用いて、分泌されている全 Aβ (Aβ40 と Aβ42 の和) のうち、Aβ42 の占める割合 (%Aβ42) を示した。FAD 変異型 PS1 と βAPP を共発現させると、Aβ42 の産生が特異的に上昇し、Aβ42 の比率も 1.2~1.7 倍に増加した。



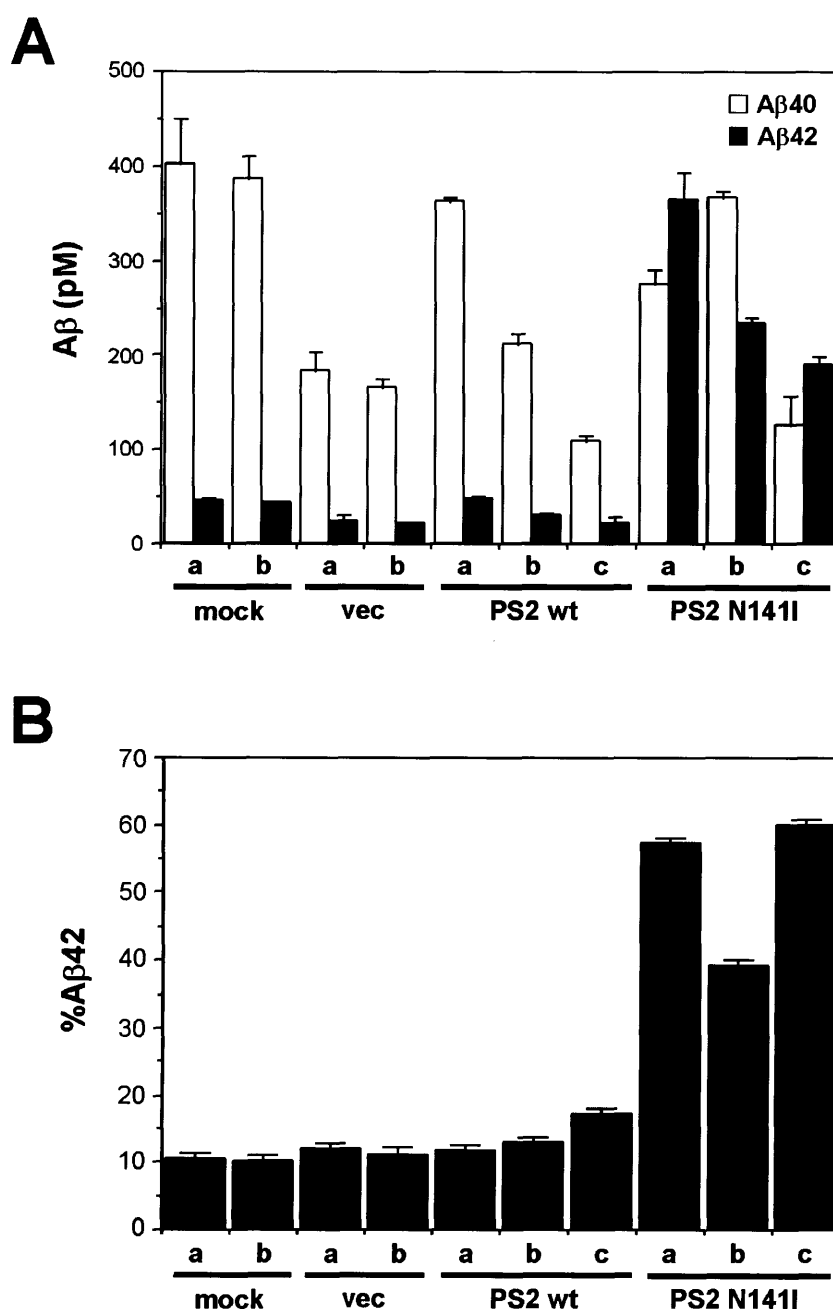
**図表 15 FAD 変異型 PS2 が各種 βAPP からの Aβ 産生に及ぼす影響**

- A. PS1 と同様に PS2 を COS 細胞に一過性に発現させ、分泌される Aβ を検討した (n=3, mean±SE)。βAPP 以外に、Sweden 型変異を持つ βAPPNL と、β 切断を受けた状態の βAPP に相当する C100 を用いて同様の実験を行った。βAPPNL や C100 を用いると分泌される Aβ の量は 4~7 倍増加したが、FAD 変異型 PS2 との共発現によって Aβ40 の産生が低下し、Aβ42 の産生が上昇した。
- B. PS2 共発現時の Aβ42 の比率。すべての βAPP で FAD 変異型 PS2 の共発現によって Aβ42 の産生上昇が確認された。



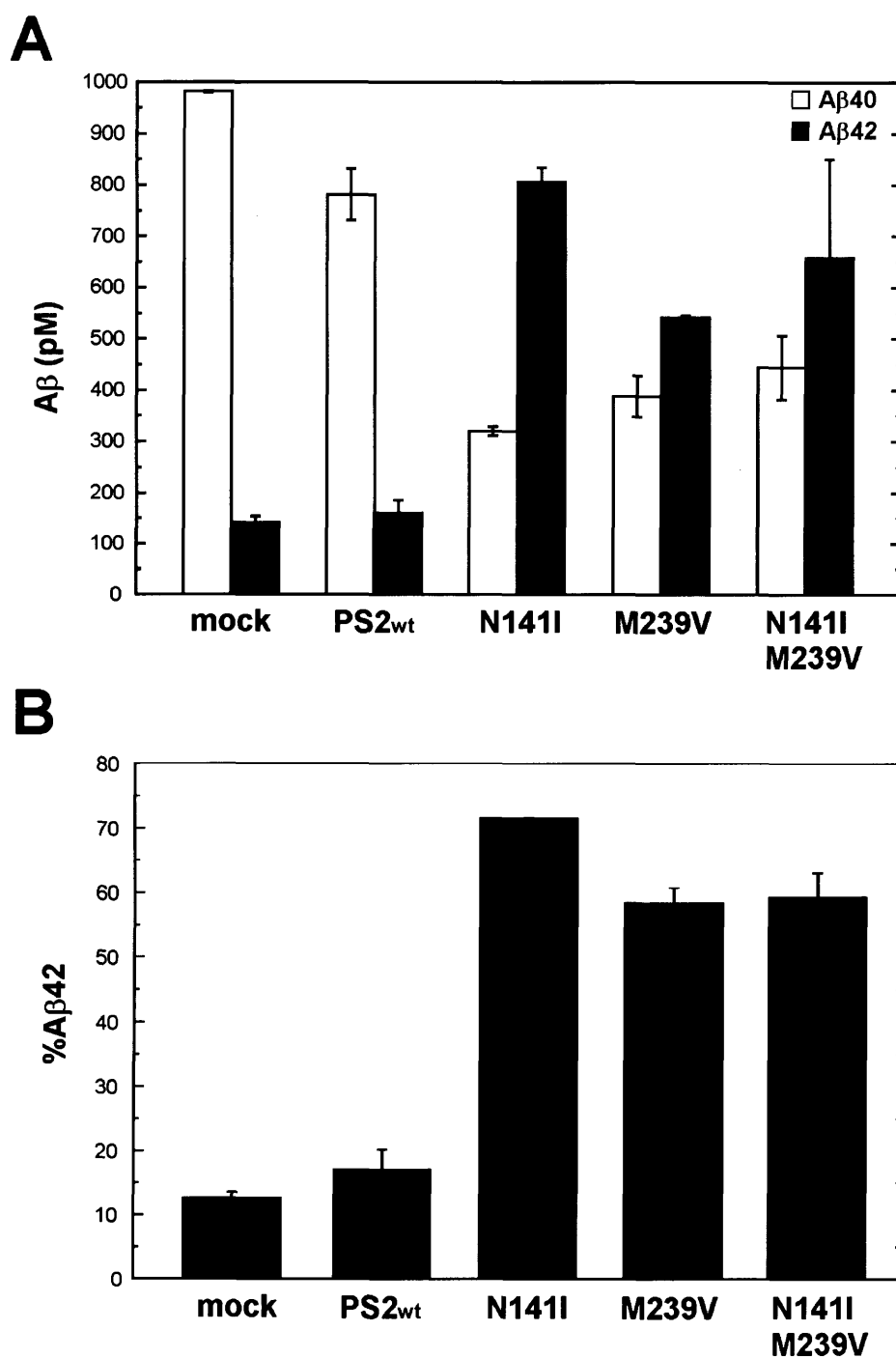
**図表 16 COS 細胞において FAD 変異型 PS2 が Aβ 産生に及ぼす影響**

- A. COS 細胞に各 FAD 変異型 PS2 を C100 と共発現させ、分泌される Aβ について検討した (n=3、mean ± SE)。いずれのコンストラクトの場合も Aβ40 産生の低下傾向と Aβ42 産生の上昇が観察された。
- B. 分泌 Aβ42 の比率。いずれのコンストラクトの場合も Aβ42 の比率は上昇した。また N141I と M239V の二重変異を持っても相加的な効果は見られなかった。



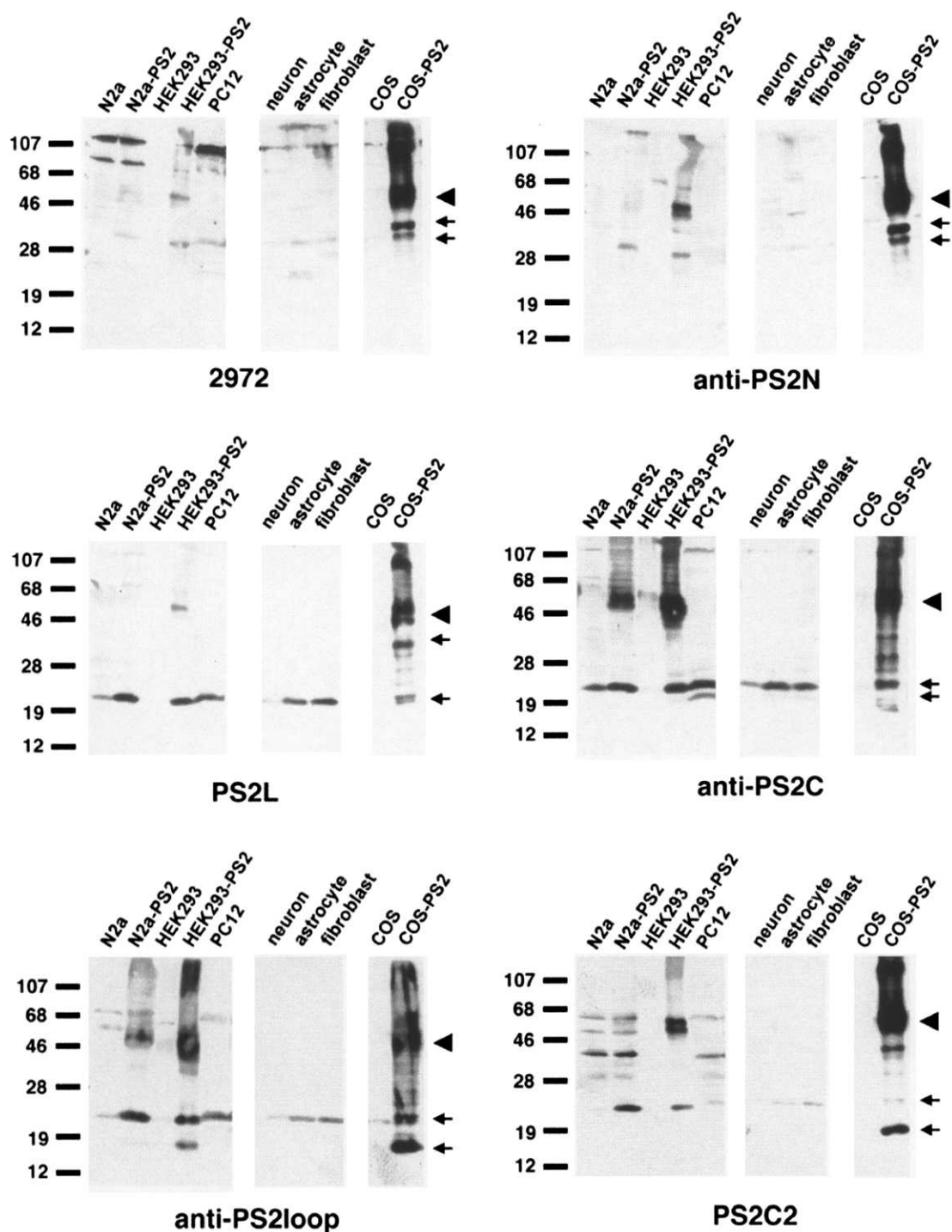
**図表 17 PS2 を発現させたモノクローナル N2a 細胞から分泌される Aβ**

- A. ベクターのみ、または PS2 を恒常的に発現させた N2a 細胞を 48 時間培養し、分泌された内因性マウス Aβ を sandwich ELISA によって測定した (n=4, mean±SE)。mock は遺伝子導入を行っていない細胞。クローンによって若干 Aβ の分泌量に変化が見られたが、導入した遺伝子により生じる変化はクローン間で同じであった。FAD 変異型 PS2 の発現によって Aβ42 の産生が特異的に上昇した。
- B. 分泌される Aβ42 の比率。いずれのクローンも分泌される Aβ42 の比率は一定であった。野生型 PS2 を発現させても Aβ42 の比率は変化しなかったが、FAD 変異型 PS2 の発現によって Aβ42 の比率が大幅に上昇した。



**図表 18 FAD 変異型 PS2 を N2a 細胞に発現させた際に分泌される Aβ**

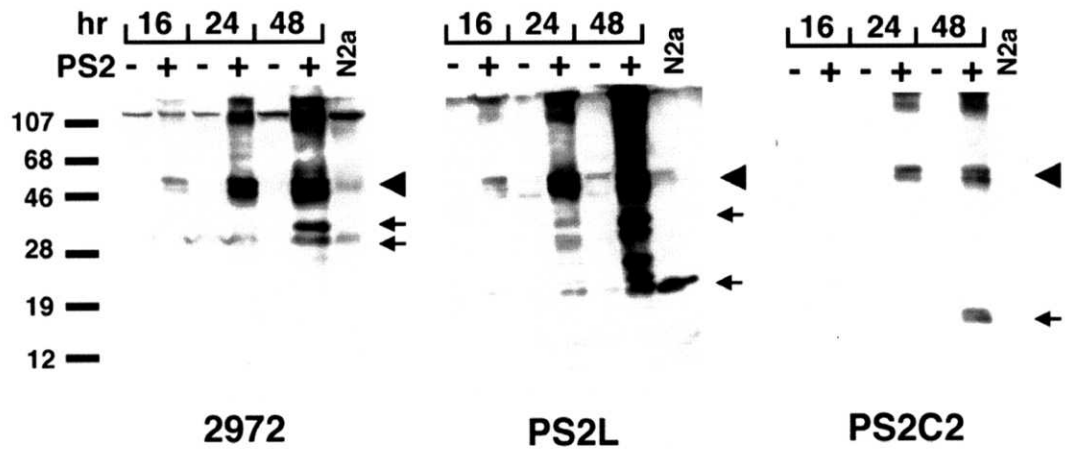
- A. FAD 変異型 PS2 を N2a 細胞に恒常的に発現させ、分泌される Aβ を測定した (n=2、mean±SE)。いずれの FAD 変異によっても Aβ42 の産生が特異的に上昇した。しかし N141I/M239V 二重変異型 PS2 はいずれかの単独変異の場合と同程度の上昇しか観察されなかった。
- B. 分泌される Aβ42 の比率。M239V 変異も N141I 変異と同程度の Aβ42 産生の上昇が N2a 細胞でも確認された。



図表 19 各種細胞での PS2 の発現とプロセッシングパターン

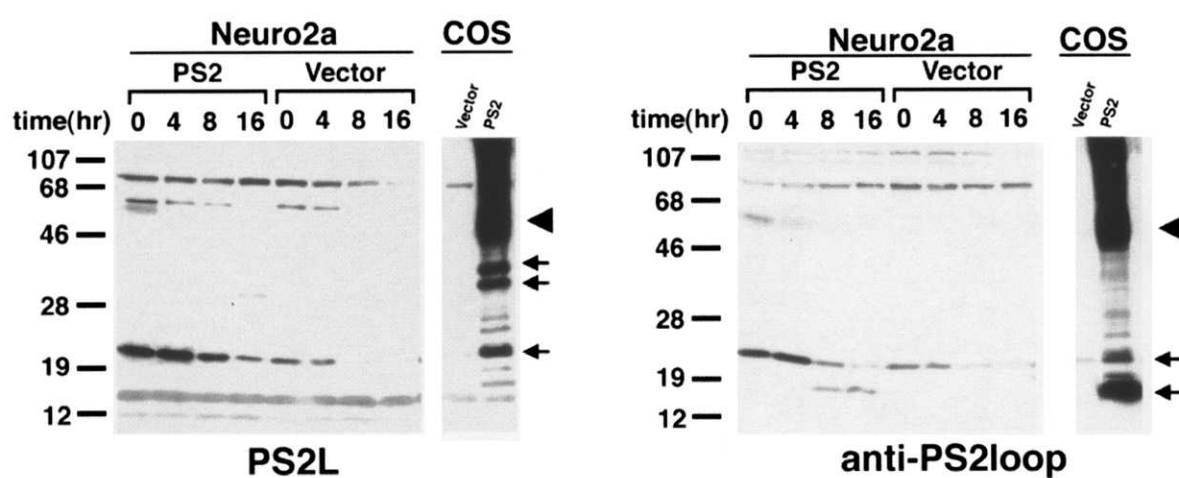
N2a、COS 細胞に加え、HEK293 細胞、PC12 細胞、rat primary neuron、astrocyte、fibroblast における内因性 PS2 の発現を検討すると同時に、PS2 を恒常的に発現させた HEK293 細胞でのプロセッシングパターンを検討した。arrowhead で全長蛋白を、arrow でフラグメントを示した。用いたすべての細胞で内因性 PS2 は 35 kDa NTF と 23 kDa CTF として存在していた。また HEK293 細胞に恒常的に発現させた時のプロセッシングパターンは N2a 細胞とほぼ同様であったが、発現の高いクローンについては 19 kDa CTF の生成が確認された。





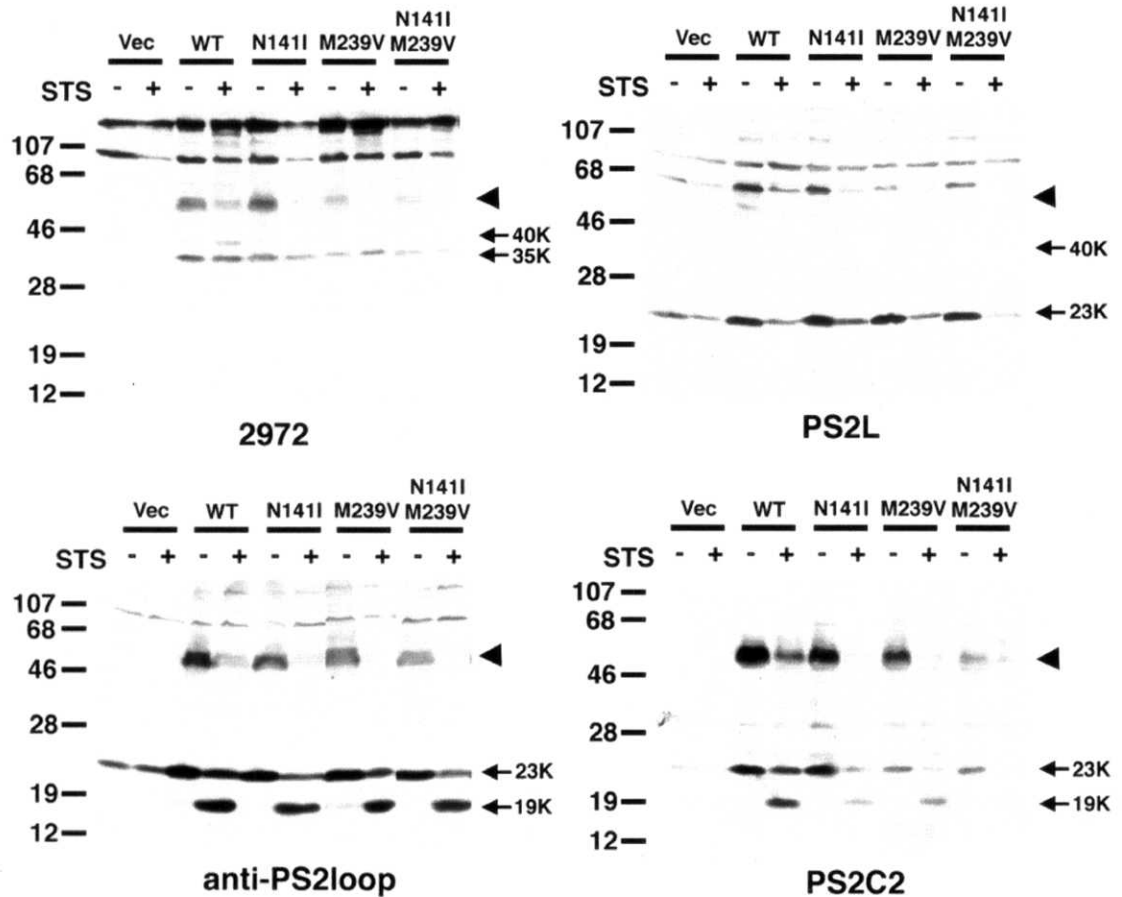
**図表 20 COS 細胞での一過性発現時でのプロセシングのタイムコース**

COS 細胞に一過性に PS2 を発現させ、各時点で回収しウェスタンブロット解析を行った。発現後 24 時間では 35 kDa NTF と 23 kDa CTF が観察されるが、徐々に 40 kDa NTF と 19 kDa CTF の量が増加する。



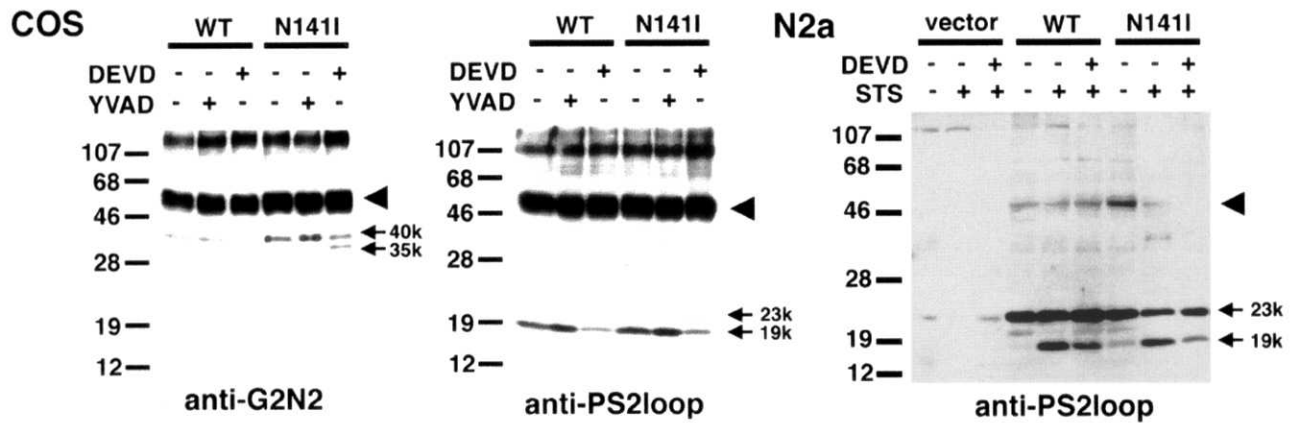
**図表 21 N2a 細胞におけるアポトーシス誘導時の PS2 のプロセッシング**

ベクターのみ、もしくは PS2 を恒常的に発現している N2a 細胞に対して staurosporine (STS) 処理 (1  $\mu$ M) を行い、各時点で回収してウェスタンブロット解析を行った。徐々に発現量が低下し、PS2 恒常発現細胞では STS 処理後 8 時間で 19 kDa CTF の生成が観察されたが、内因性 PS2 からは観察されなかった。



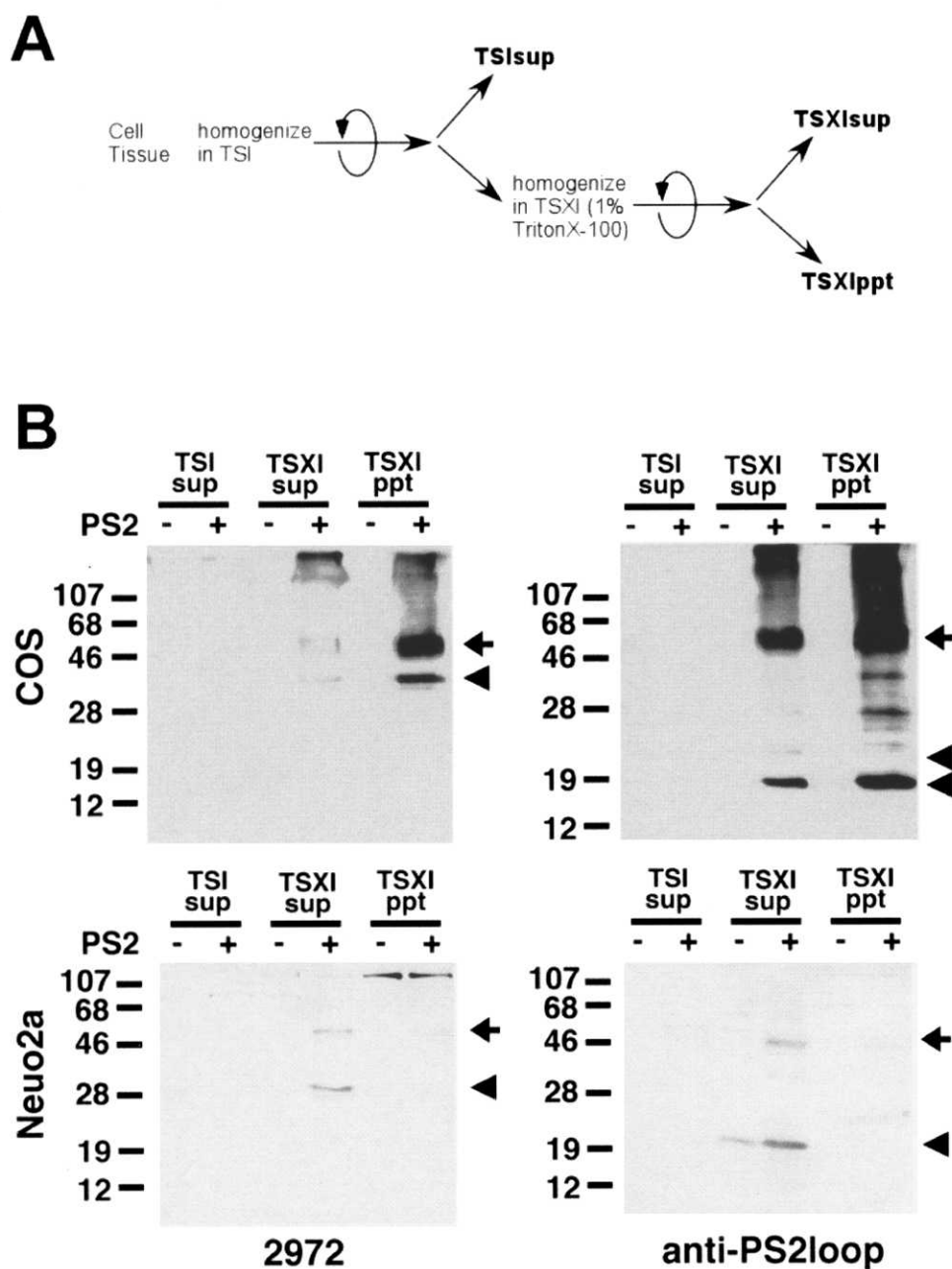
図表 22 FAD 変異が **alternative cleavage** に及ぼす影響

各 FAD 変異型 PS2 を発現している N2a 細胞に STS 処理を行い、8 時間後にサンプルを回収、ウェスタンブロット解析を行った。いずれの PS2 蛋白も alternative cleavage を受けていたが、FAD 変異によって大きな変化は見られなかった。



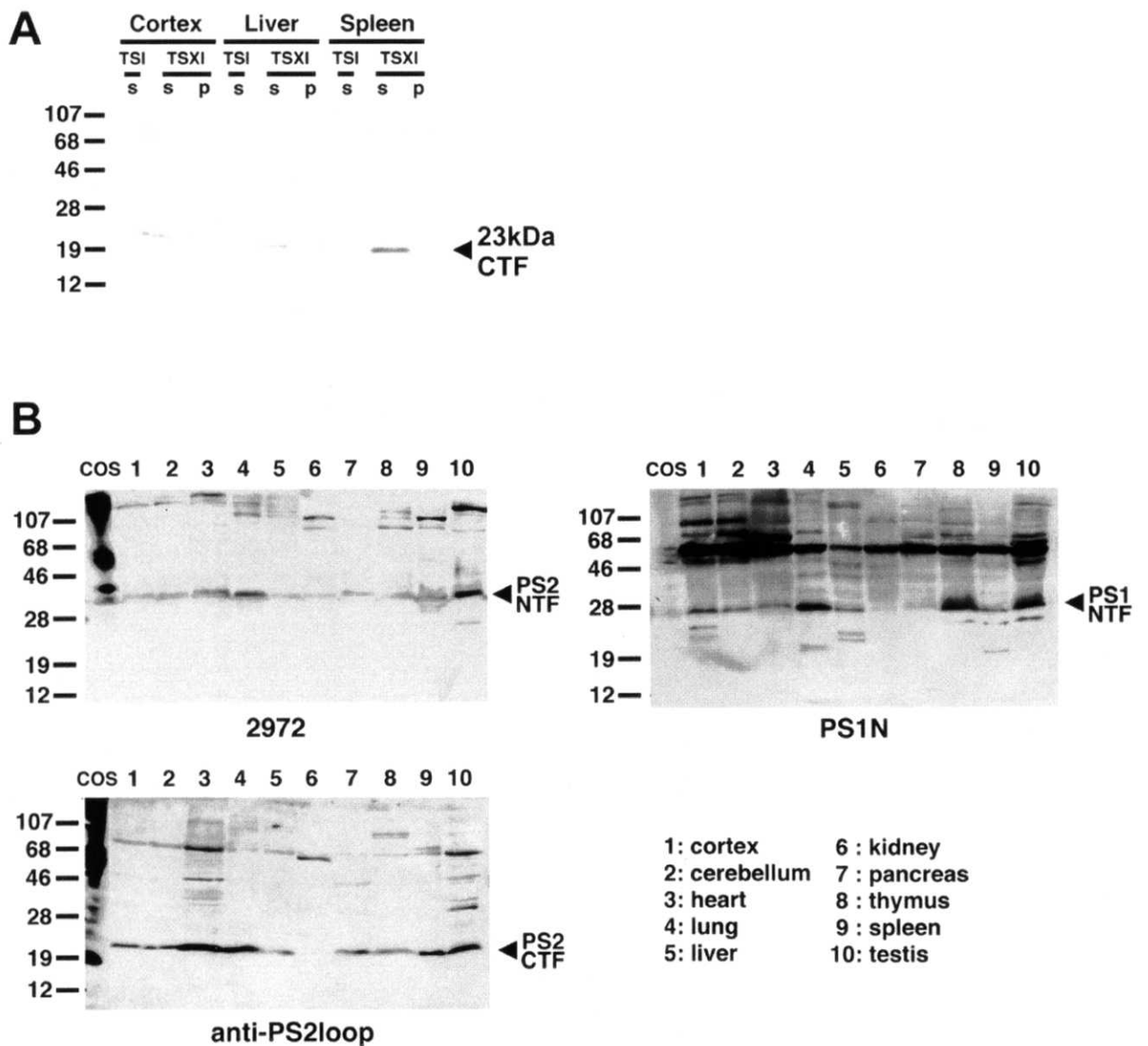
**図表 23 caspase 阻害剤による alternative cleavage の阻害**

COS 細胞に PS2 を一過性に発現させ、YVAD-CHO (caspase 1 阻害剤) もしくは DEVD-CHO (caspase 3 阻害剤) 存在下で培養しウェスタンブロット解析を行った。その結果 DEVD-CHO 処理によって特異的に 19 kDa CTF の生成が減少した。また N2a 細胞に DEVD-CHO 存在下で STS 処理を行うと、遺伝子導入を行っていない N2a 細胞では 23 kDa CTF の発現量低下が抑制され、PS2 発現細胞では 19 kDa CTF の生成が阻害された。



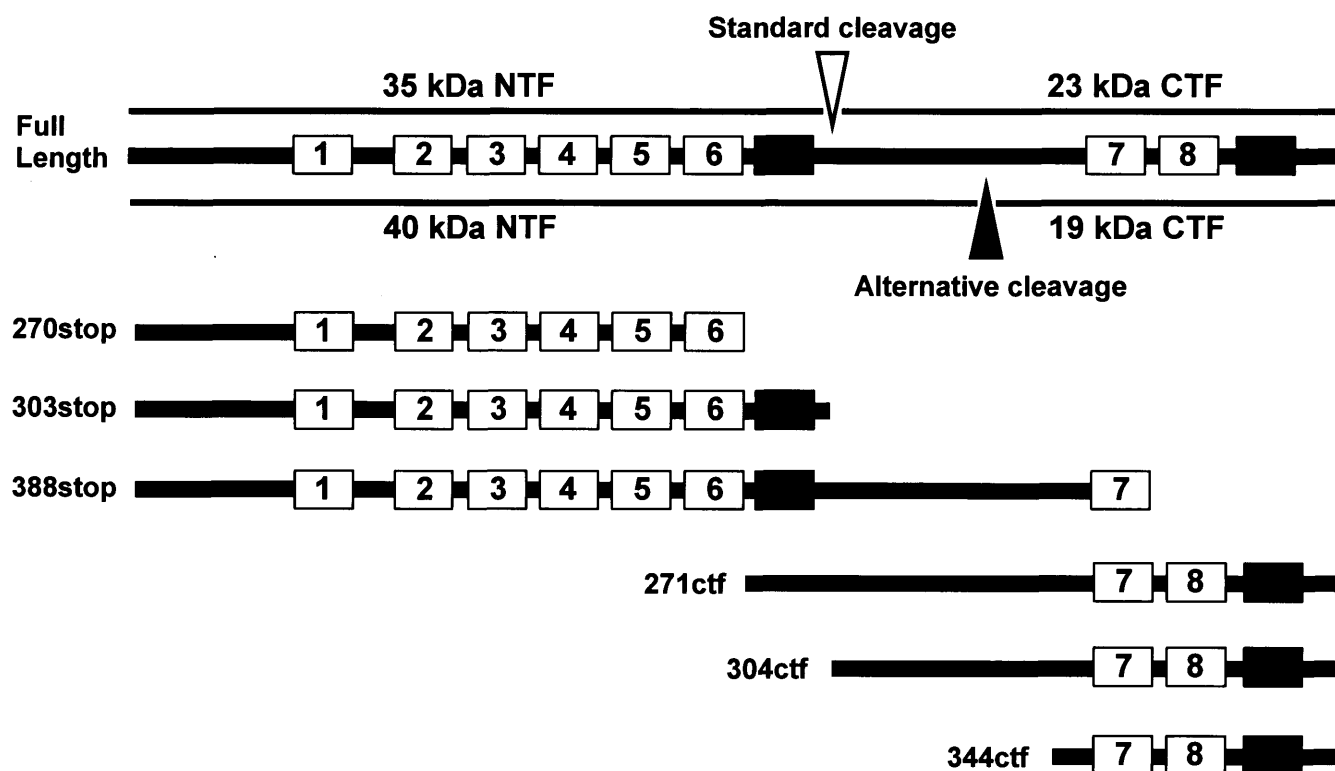
図表 24 培養細胞に発現させた各種 PS2 フラグメントの可溶性の検討

- A. 細胞・組織を界面活性剤を含まない TSI 中で homogenize し、遠心したペレットを 1% TritonX-100 によって可溶化してさらに遠心し、TSI sup、TSXI sup、TSXI ppt の各フラクションを回収した。
- B. PS2 を一過性に発現している COS 細胞、もしくは恒常的に発現している N2a 細胞を用いて A に従って fractionation し、ウェスタンブロット解析した。35 kDa CTF、23 kDa CTF を含む PS2 蛋白は主に 1% TritonX-100 によって可溶化されたと考えられた。



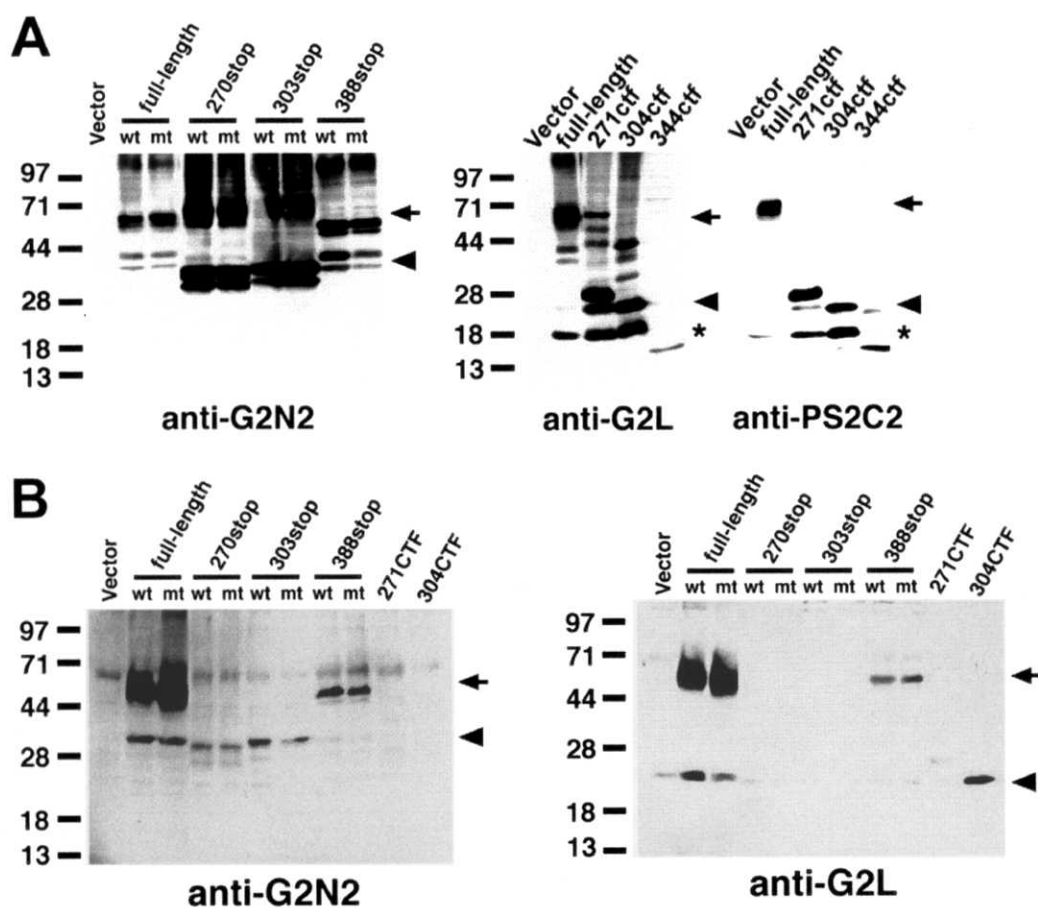
図表 25 ラット臓器を用いた **PS2** フラグメントの可溶化とプロセッシングパターンの検討

- A. 同様にラット臓器を用いて fractionation を行い、各画分のウェスタンブロット解析を行った。内因性 23 kDa CTF は TSXIsup 画分にのみ観察された。内因性の 19 kDa CTF は観察されなかった。
- B. ラット臓器を用いて TSXIsup 画分のウェスタンブロット解析を行った。NTF と CTF は同様の発現パターンを示し、特に heart、lung、testis で強い発現が認められた。



**図表 26 PS2 の代謝様式と本研究で用いたフラグメント型 PS2 コンストラクト**

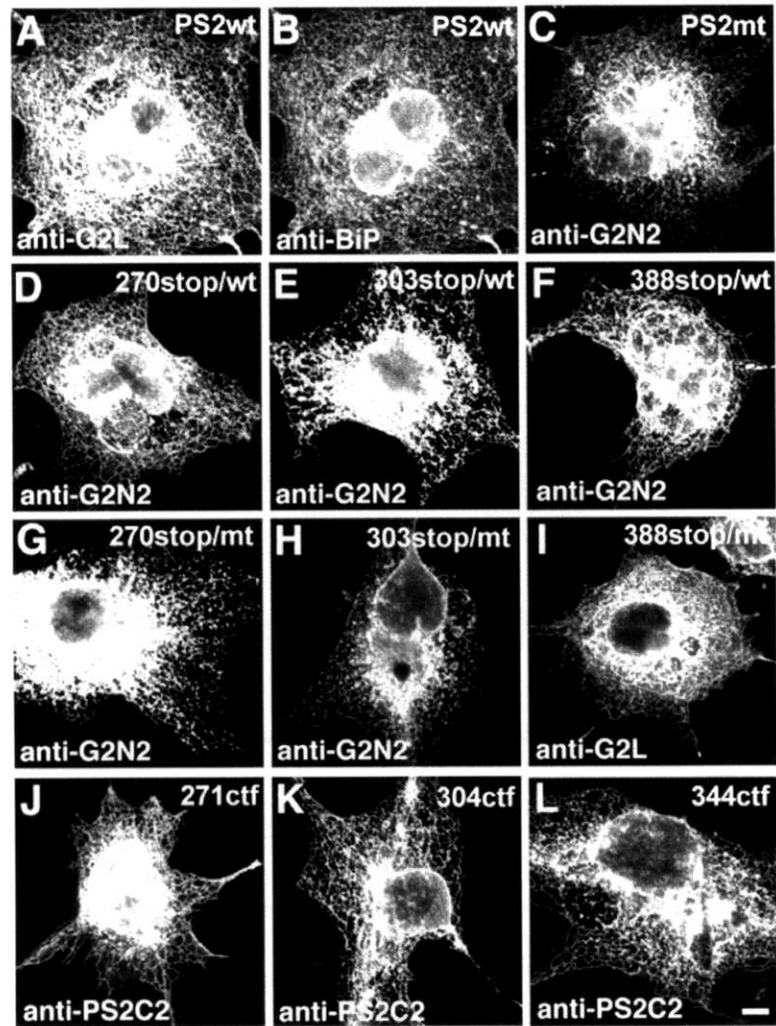
生体内ではほとんどの内因性 PS2 は standard cleavage を受け、35 kDa NTF と 23 kDa CTF として存在する。フラグメント型 PS の代謝・機能を検討するため、図に示したようなフラグメント型 PS2 を発現するコンストラクトを作製した。



図表 27 フラグメント型 PS2 の発現・プロセシングパターン

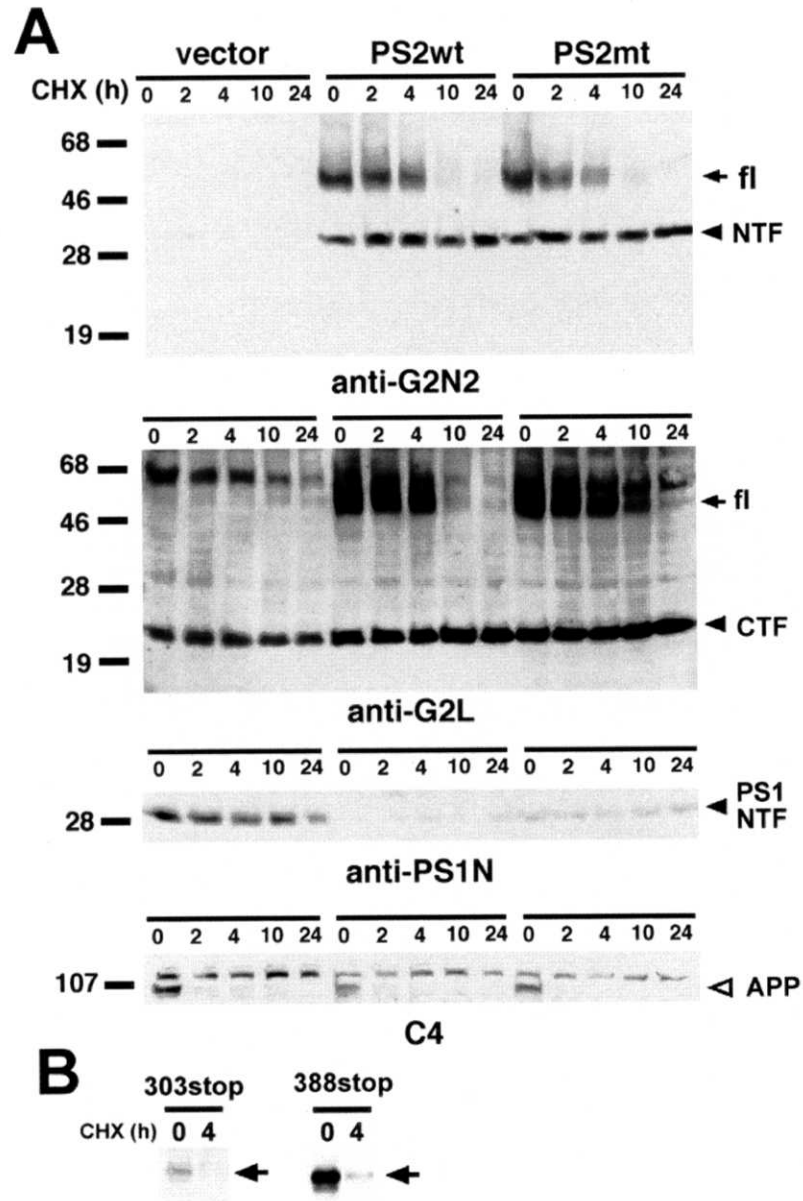
- A. 各フラグメント型 PS2 を一過性に COS 細胞に発現させ、ウェスタンブロット解析を行った。arrow で全長 PS2 蛋白を、arrowhead で standard cleavage によるフラグメントの位置を示した。alternative cleavage 部位を持つ 388stop、271ctf、304ctf は caspase 3 による切断を受けて生じたと思われる 40 kDa NTF と 19 kDa CTF（アスタリスク）が観察された。
- B. 各フラグメント型 PS2 を N2a 細胞に恒常的に発現させ、ウェスタンブロット解析を行った。388stop、271ctf は standard cleavage 部位を持つにもかかわらず切断されなかった。





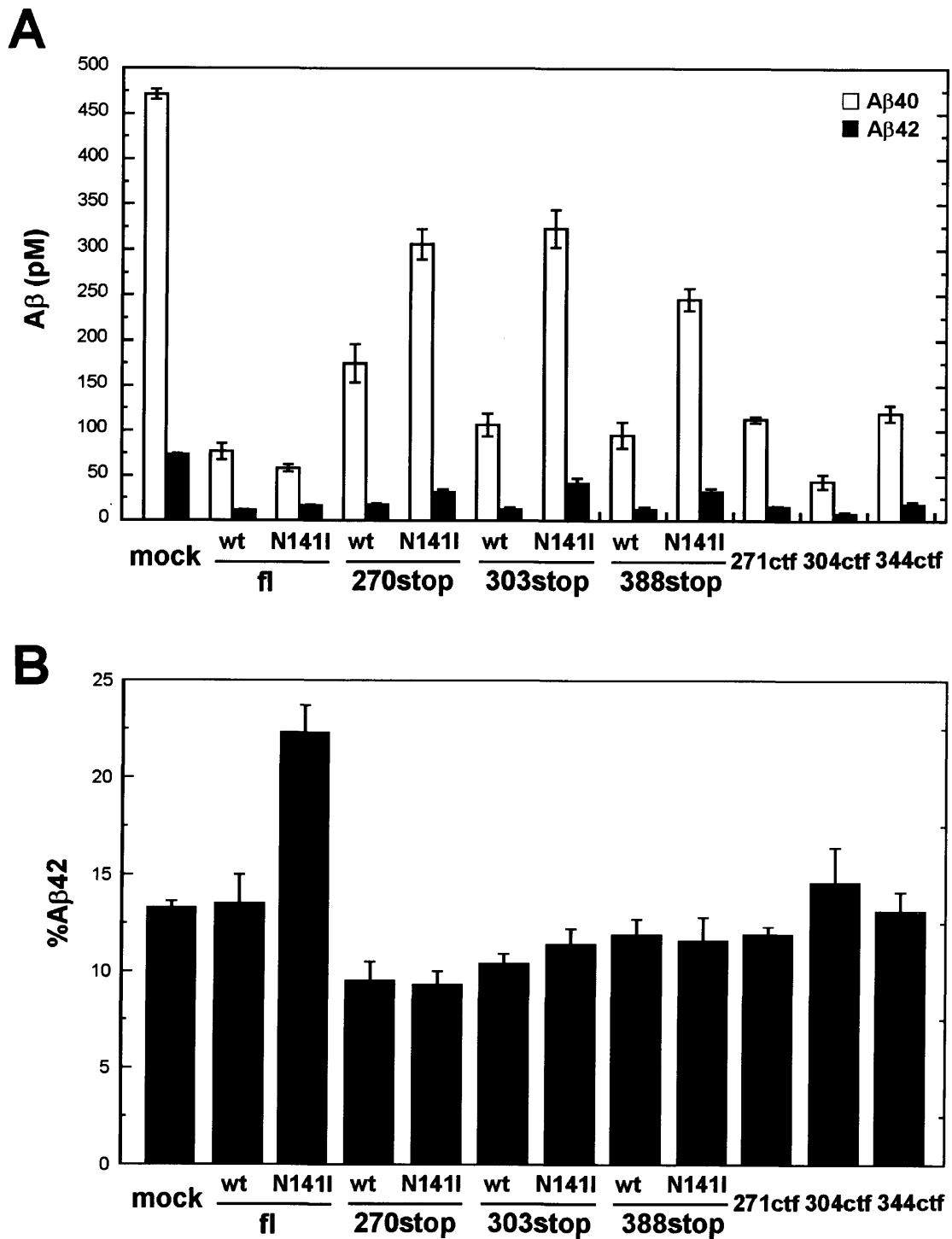
図表 28 フラグメント型 PS2 の局在

COS 細胞に一過性に発現させた各フラグメント型 PS2 の局在を免疫染色によって検討した。用いたすべての蛋白は BiP と同じ局在を示し、主に小胞体に局在しているものと思われた。



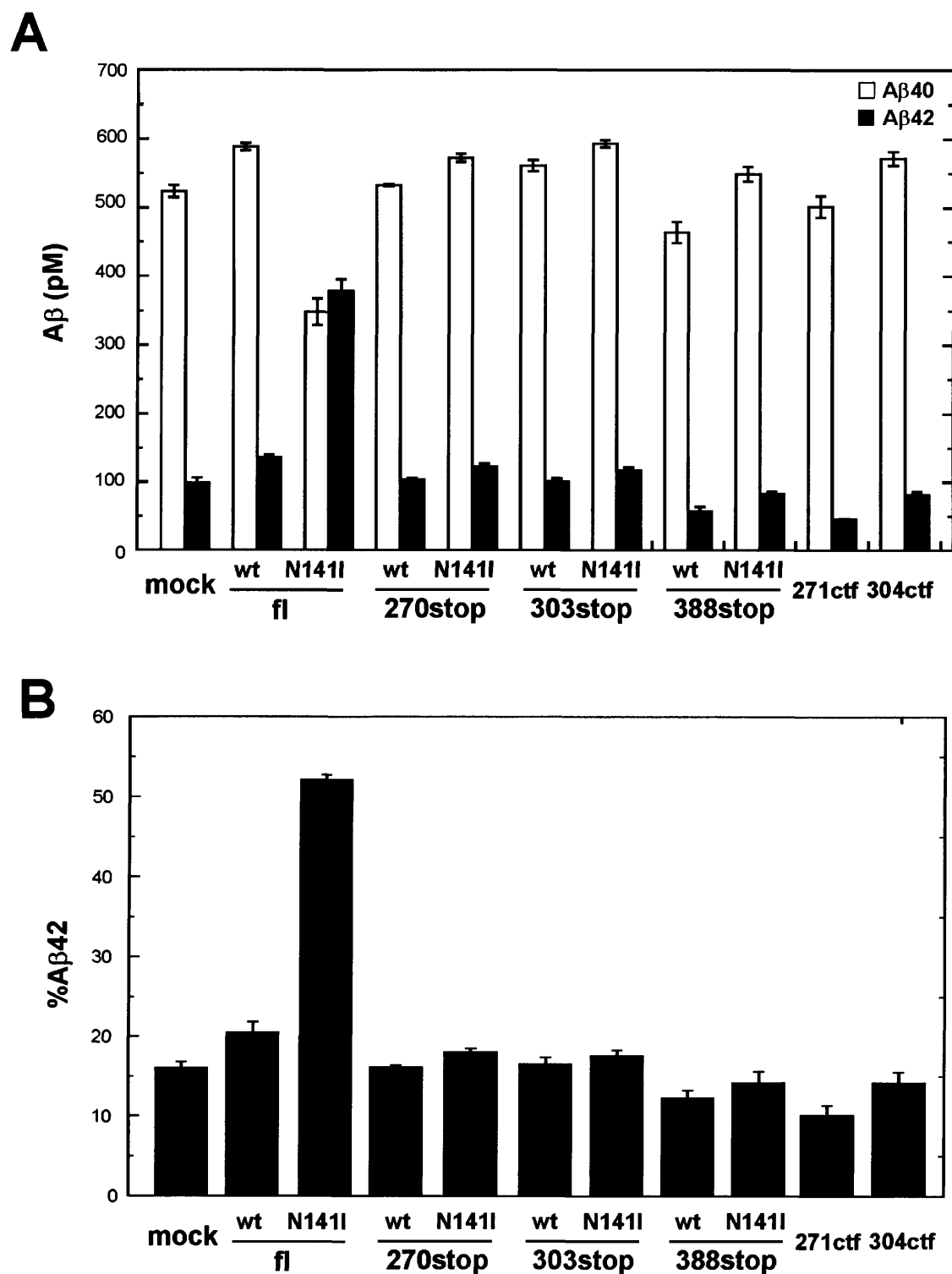
**図表 29 PS2 フラグメントの安定化**

- A. N2a 細胞に cycloheximide 処理を行い、各時点でサンプルを回収し、ウェスタンブロット解析を行った。発現させた全長 PS2 蛋白は迅速に分解されたのに対し、フラグメントは安定に存在していた。また PS2 を発現させた細胞では内因性 PS1 フラグメントの発現量が低下していた。
- B. 人工的なフラグメントである 303stop や 388stop は安定化されず、迅速に分解された。



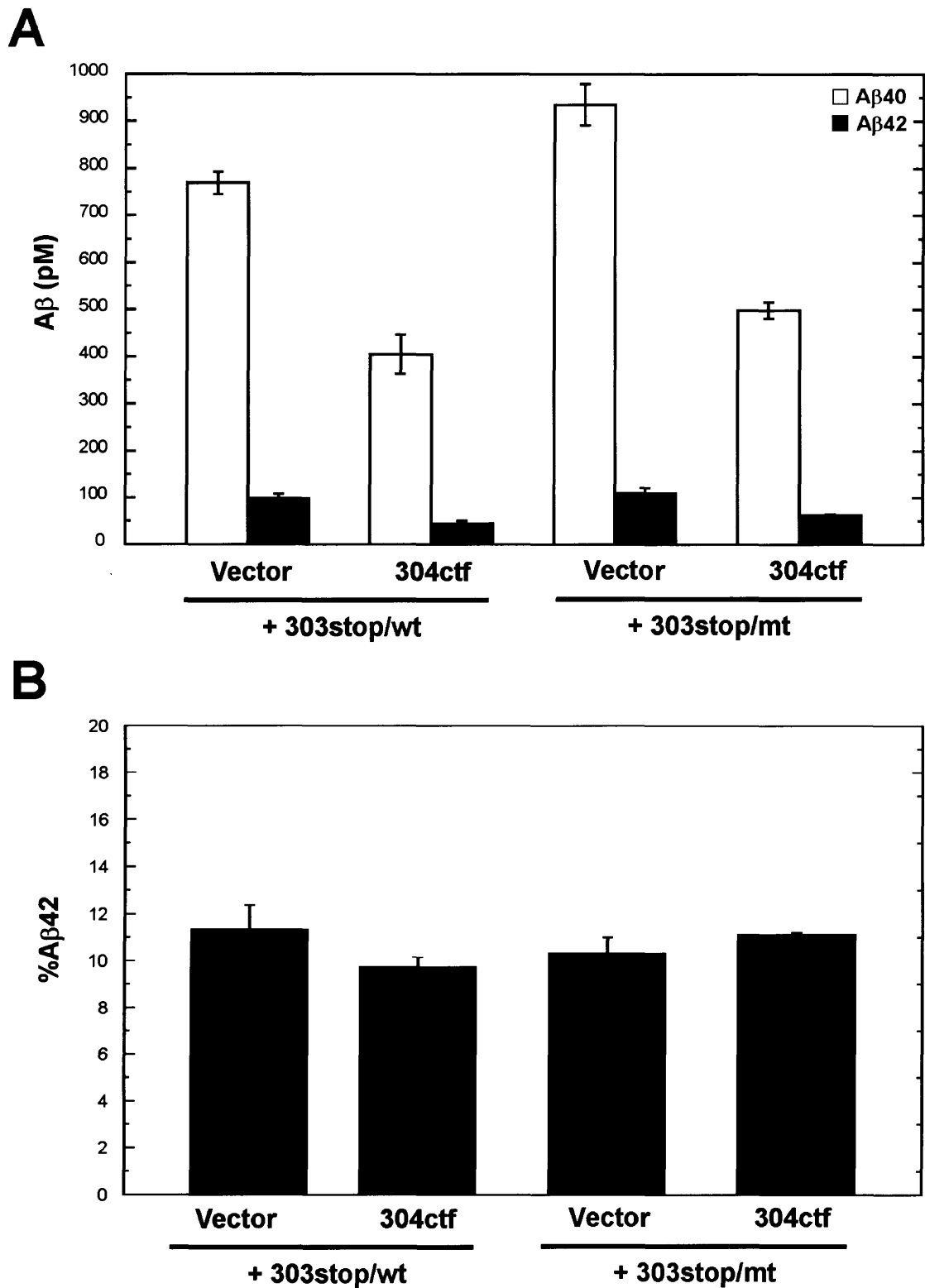
**図表 30 COS 細胞においてフラグメント型 PS2 が Aβ 産生に及ぼす影響**

- A. COS 細胞に C100 とフラグメント型 PS2 を一過性に共発現し、分泌される Aβ について sandwich ELISA によって測定した (n=4、mean±SE)。
- B. 分泌される Aβ42 の比率。いずれのフラグメント型 PS2 も FAD 変異による Aβ42 産生上昇能を失っていた。また CTF のみ発現させても大きな変化は見られなかった。



**図表 31 N2a 細胞においてフラグメント型 PS2 が Aβ 産生に及ぼす影響**

- A. フラグメント型 PS2 を N2a 細胞に恒常性に発現させ、分泌されてくる内因性マウス Aβ を sandwich ELISA によって測定した (n=4、mean±SE)。
- B. 分泌される Aβ42 の比率を示す。COS 細胞と同様、FAD 変異による Aβ42 産生上昇効果は失われていた。



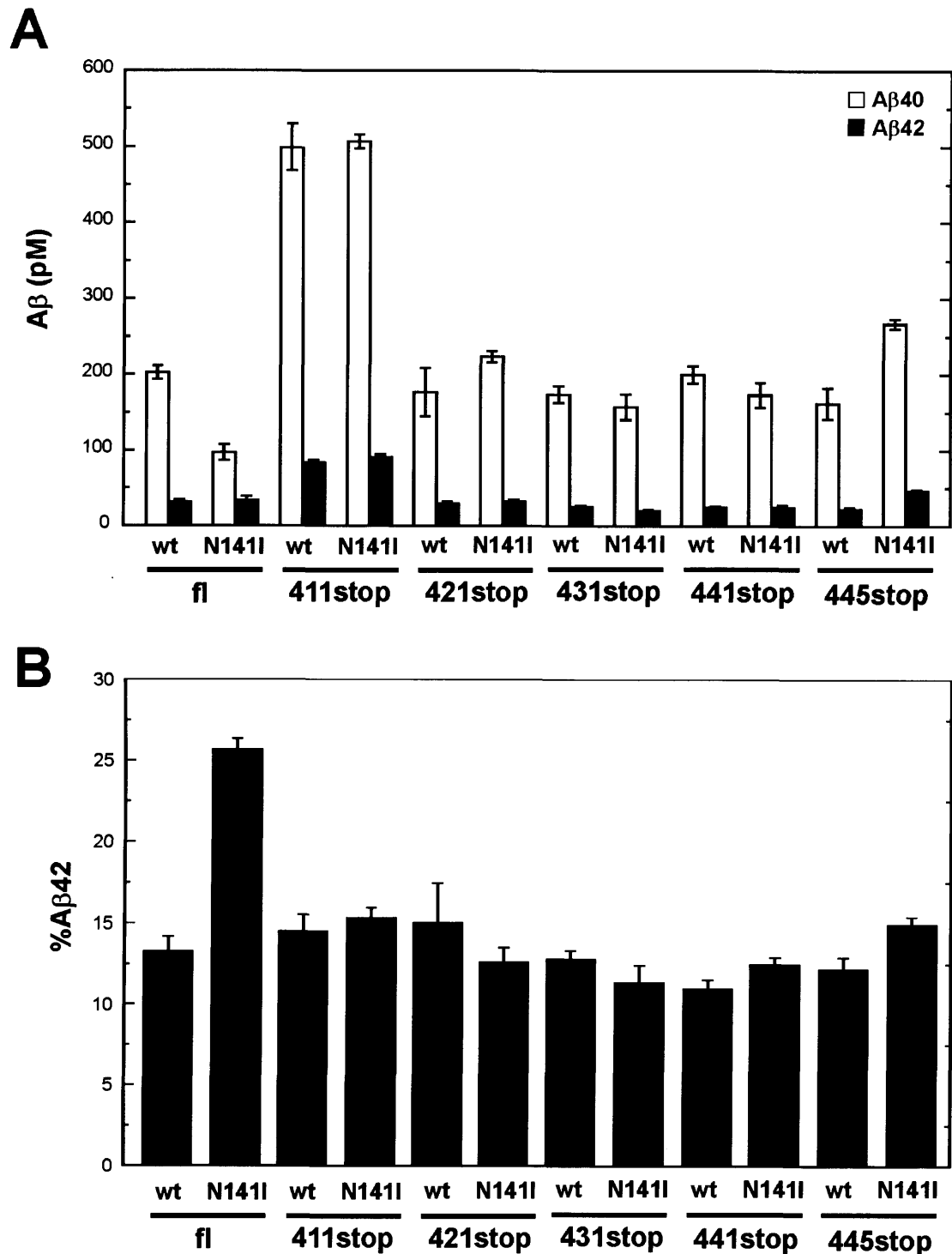
**図表 32 NTF 型 PS2 と CTF 型 PS2 の共発現による Aβ 産生への影響**

- A. 野生型もしくは FAD 変異型 PS2/303stop を恒常的に発現している N2a 細胞にベクターのみもしくは PS2/304ctf を一過性に遺伝子導入し、分泌される Aβ を測定した (n=3、mean±SE)。304ctf の発現によって若干全 Aβ の分泌量が低下した。
- B. NTF 型 PS2 と CTF 型 PS2 の共発現時の分泌される Aβ42 の比率。FAD 変異型 PS2/303stop と PS2/304ctf を共発現させても Aβ42 の比率は変化しなかった。

WT	KKALPALPISITFGLIFYFSTDNLVRPFMDTLASHQLYI
411stop	KK*
421stop	KKALPALPISIT*
431stop	KKALPALPISITFGLIFYFSTD*
441stop	KKALPALPISITFGLIFYFSTDNLVRPFMDTL*
445stop	KKALPALPISITFGLIFYFSTDNLVRPFMDTLASHQ*
L446A	KKALPALPISITFGLIFYFSTDNLVRPFMDTLASHQAYI*
Y447A	KKALPALPISITFGLIFYFSTDNLVRPFMDTLASHQLAI*
I448A	KKALPALPISITFGLIFYFSTDNLVRPFMDTLASHQLYA*
I448V	KKALPALPISITFGLIFYFSTDNLVRPFMDTLASHQLYV*
I448F	KKALPALPISITFGLIFYFSTDNLVRPFMDTLASHQLYF*
I448R	KKALPALPISITFGLIFYFSTDNLVRPFMDTLASHQLYR*
CHis	KKALPALPISITFGLIFYFSTDNLVRPFMDTLASHQLYIHSHHHH*
CDup	KKALPALPISITFGLIFYFSTDNLVRPFMDTLASHQLYISHQLYI*

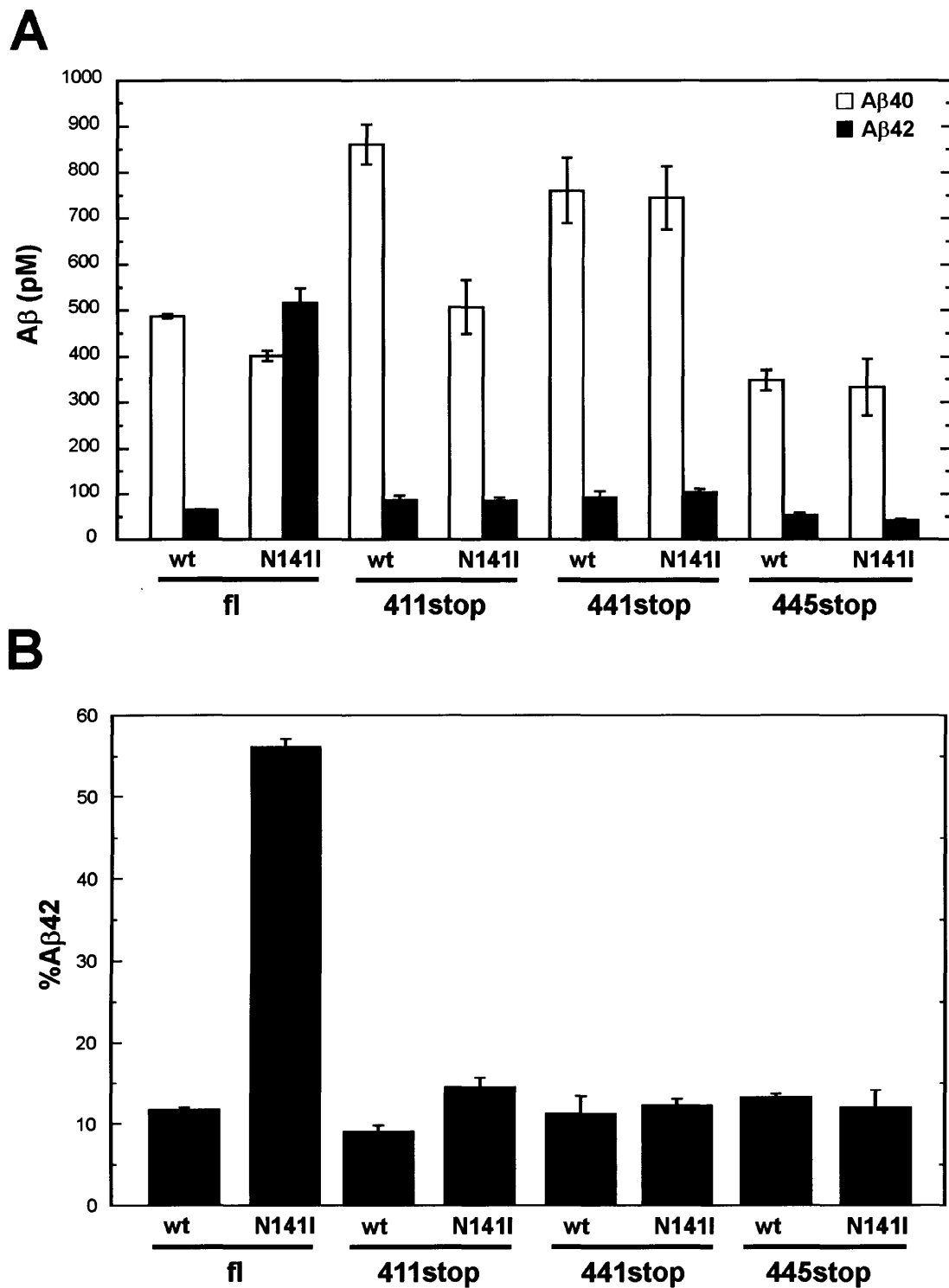
### 図表 33 本研究で用いた C 末端改変型 PS2

本研究において使用した C 末端改変型 PS2 のアミノ酸配列を示した。それぞれ野生型、FAD 変異型 (N141I) の分子を作製した。



**図表 34 COS 細胞において C 末端アミノ酸欠損型 PS2 が Aβ 産生に及ぼす影響**

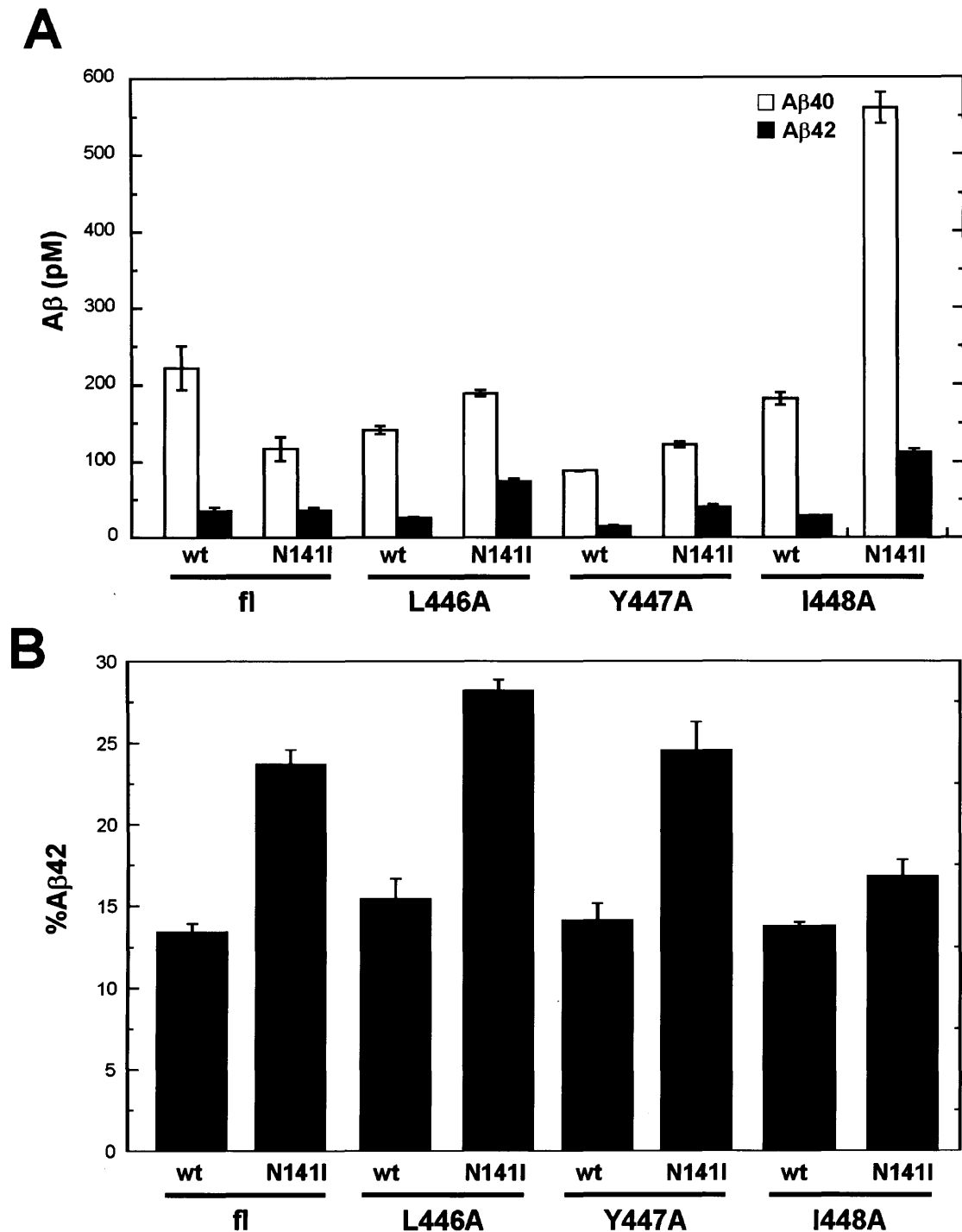
- A. COS 細胞に一過性に C100 と各 C 末端欠損型 PS2 を共発現し、分泌されてくる Aβ について検討した (n=4, mean±SE)。PS2/411stop を除いてほぼ同程度の Aβ 分泌が観察されたが、その絶対量のばらつきの傾向については実験ごとに異なった。
- B. 分泌された Aβ42 の比率。FAD 変異型全長 PS2 が Aβ42 の比率を 1.5 倍前後に増加させたのに対して、C 末端を欠損した PS2 ではその効果が失われていた。



**図表 35 N2a 細胞において C 末端アミノ酸欠損型 PS2 が Aβ 産生に及ぼす影響**

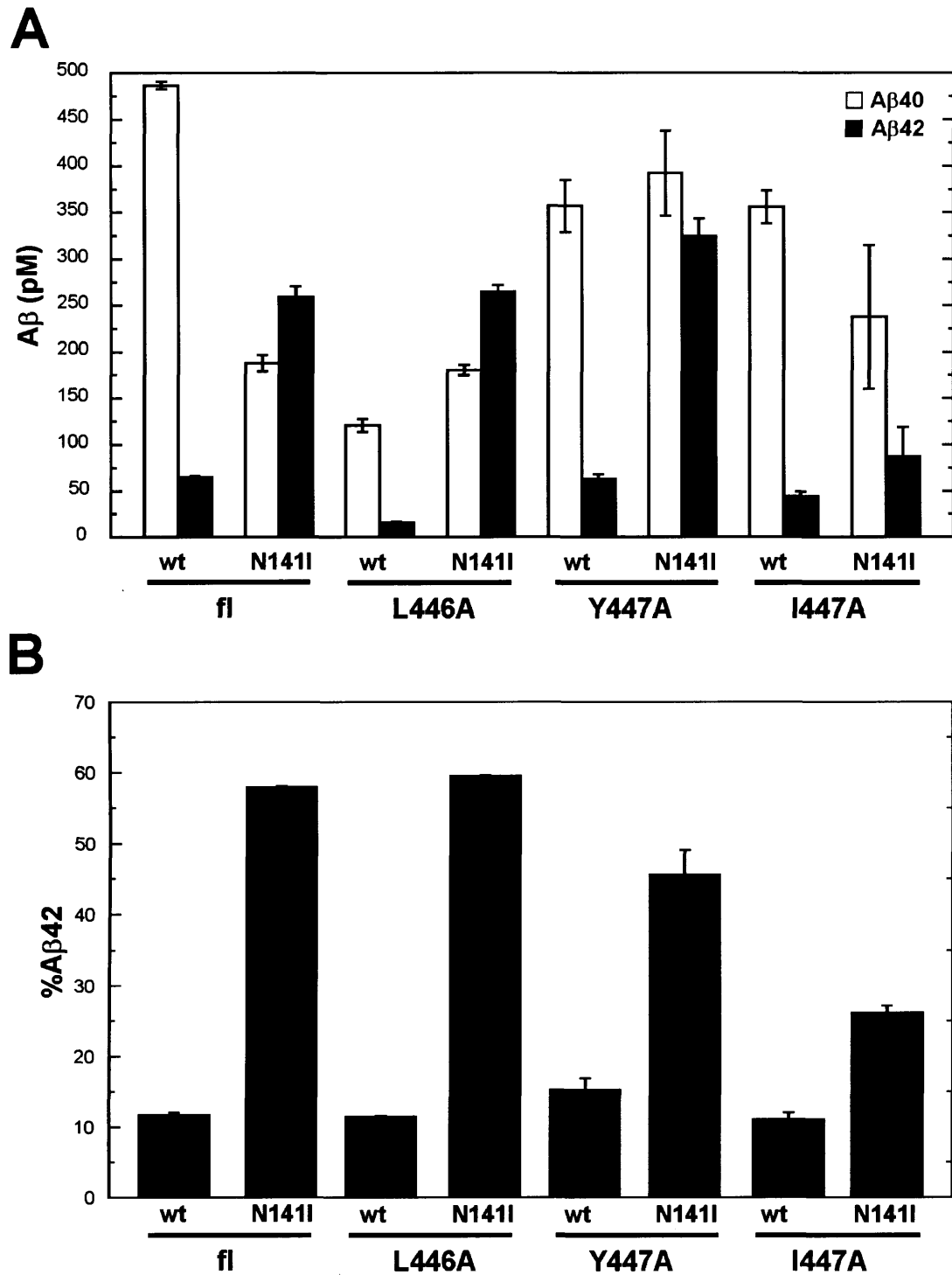
- A. N2a 細胞に恒常的に C 末端欠損型 PS2 発現させ、分泌される内因性マウス Aβ に与える影響について検討した (n=3、mean±SE)。実験ごとに Aβ の分泌量に変化が見られたが、一定の傾向は見られなかった。
- B. 分泌された Aβ42 の比率。FAD 変異型全長 PS2 が Aβ42 の比率を 5 倍に増加させたのに対し、C 末端を欠損した PS2 ではその効果が失われていた。





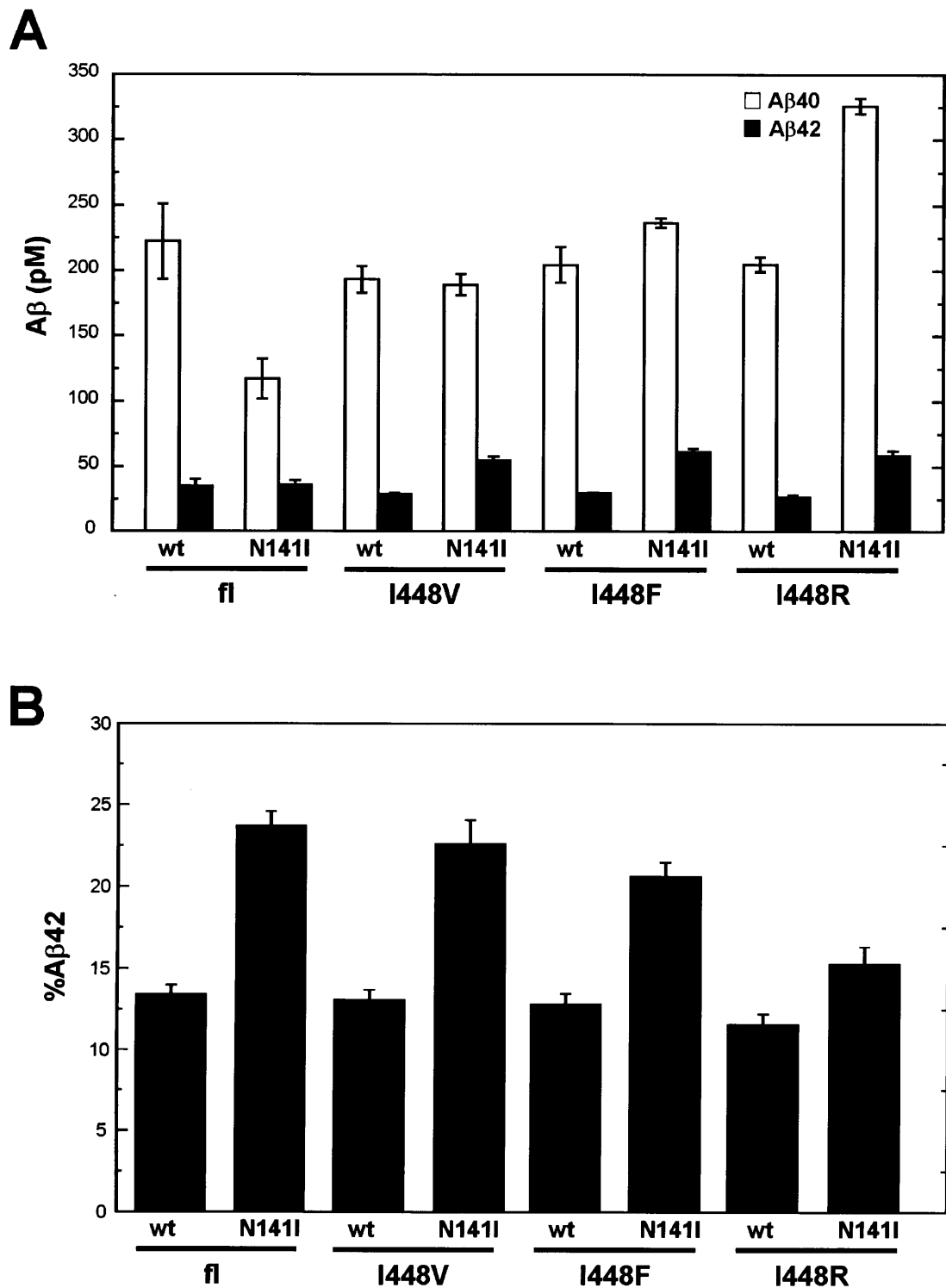
**図表 36 COS 細胞において C 末端アラニン置換型 PS2 が Aβ 産生に及ぼす影響**

- A. COS 細胞に一過性に C100 と C 末端 3 アミノ酸をそれぞれアラニンに置換した PS2 を共発現し、分泌されてくる Aβ について検討した (n=4、mean±SE)。PS2/I448A を除いてほぼ同程度の Aβ 分泌が観察されたが、その傾向については実験ごとに異なった。
- B. 分泌された Aβ42 の比率。PS2/L446A、Y447A/PS2 は FAD 変異によって全長 PS2 と同様に Aβ42 分泌を上昇させたが、PS2/I448A ではその効果が減弱していた。



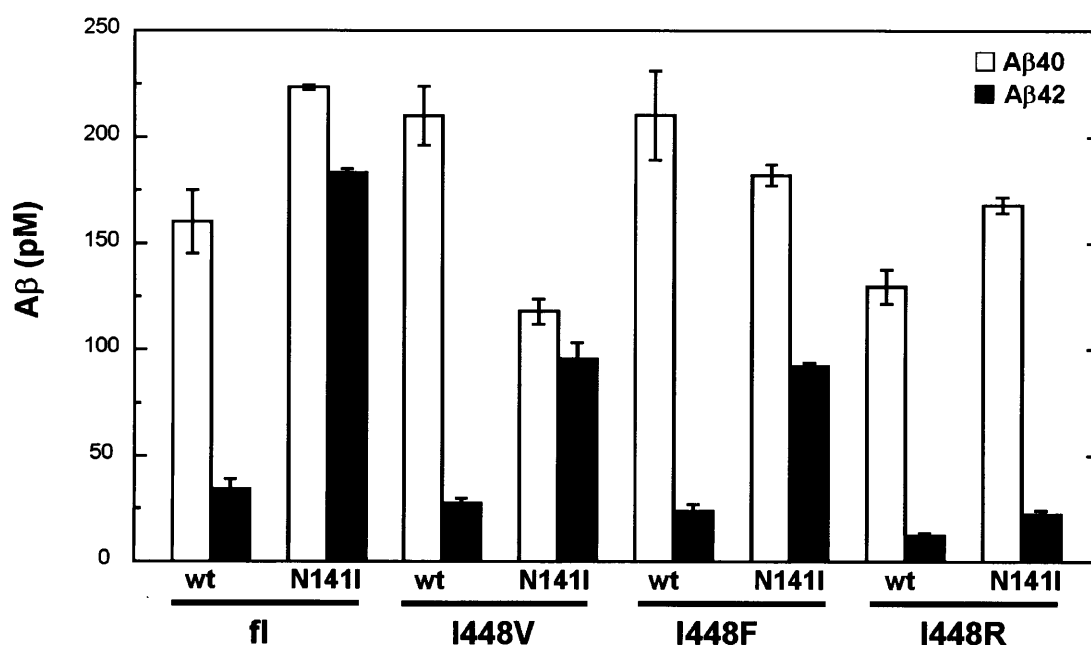
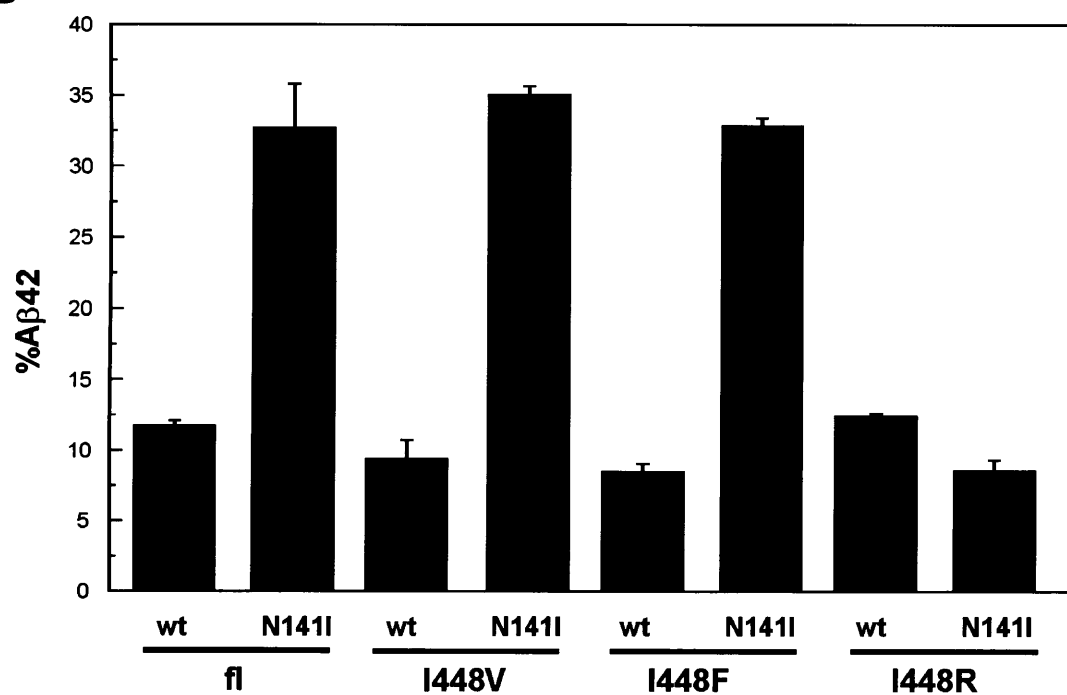
**図表 37 N2a 細胞において C 末端アラニン置換型 PS2 が Aβ 産生に及ぼす影響**

- A. N2a 細胞に恒常的にアラニン置換型 PS2 を発現させ、分泌される内因性マウス Aβ について検討した (n=3、mean±SE)。最 C 末端のアラニン置換を行っても Aβ 分泌量に対する一定の影響は見られなかった。
- B. 分泌された Aβ42 の比率。COS 細胞と同様に、PS2/I448A では FAD 変異による Aβ42 産生上昇効果が失われていた。



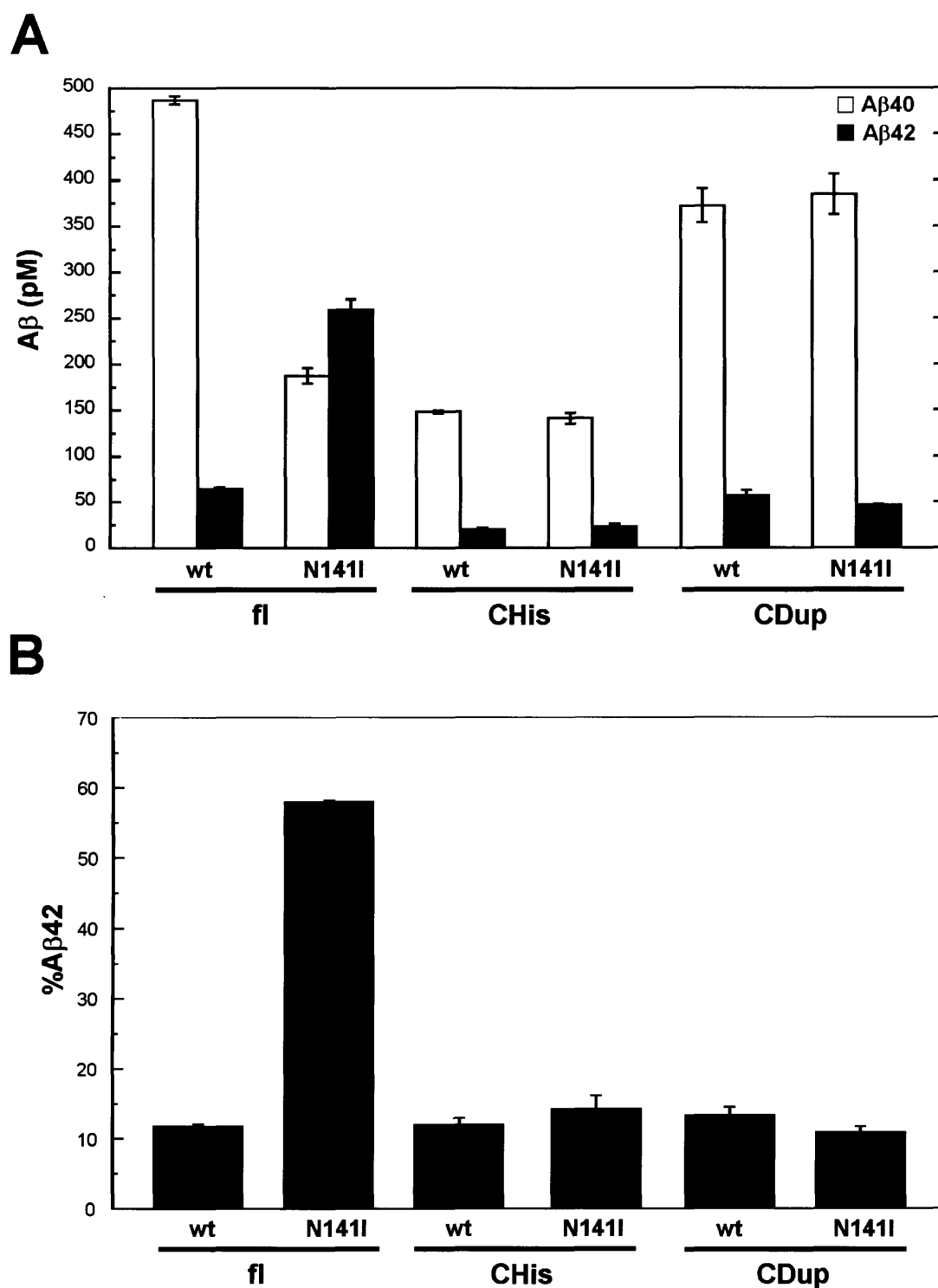
**図表 38 COS 細胞で最 C 末端アミノ酸変異型 PS2 が Aβ 産生に及ぼす影響**

- A. COS 細胞に一過性に C100 と最 C 末端アミノ酸変異型 PS2 を共発現し、分泌されてくる Aβ について検討した (n=4、mean±SE)。Aβ 分泌に大きな影響は観察されなかった。
- B. 分泌された Aβ42 の比率。FAD 変異型全長 PS2 が Aβ42 の比率を 1.5 倍前後に増加させたのに対して、PS2/I448R ではその効果が失われていた。

**A****B**

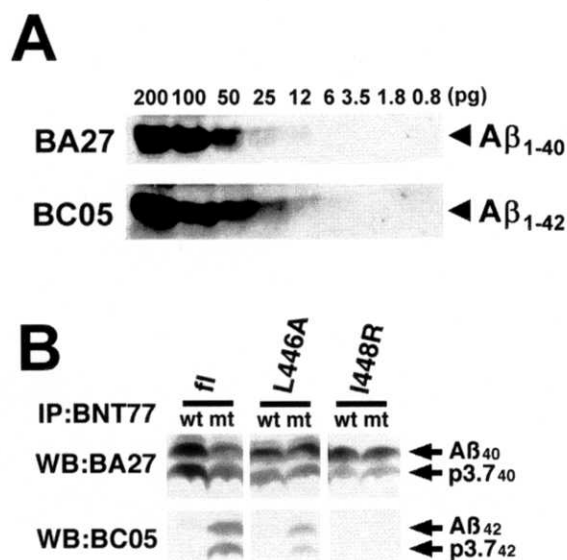
**図表 39 N2a 細胞で最 C 末端アミノ酸変異型 PS2 が Aβ 産生に及ぼす影響**

- A. N2a 細胞に恒常的に最 C 末端アミノ酸変異型 PS2 を発現させ、分泌される Aβ に与える影響について検討した (n=3、mean±SE)。最 C 末端を親水性のアルギニンに置換すると Aβ42 産生上昇は見られなくなった。
- B. 分泌された Aβ42 の比率。PS2/I448R では FAD 変異による Aβ42 産生上昇能が完全に失われた。



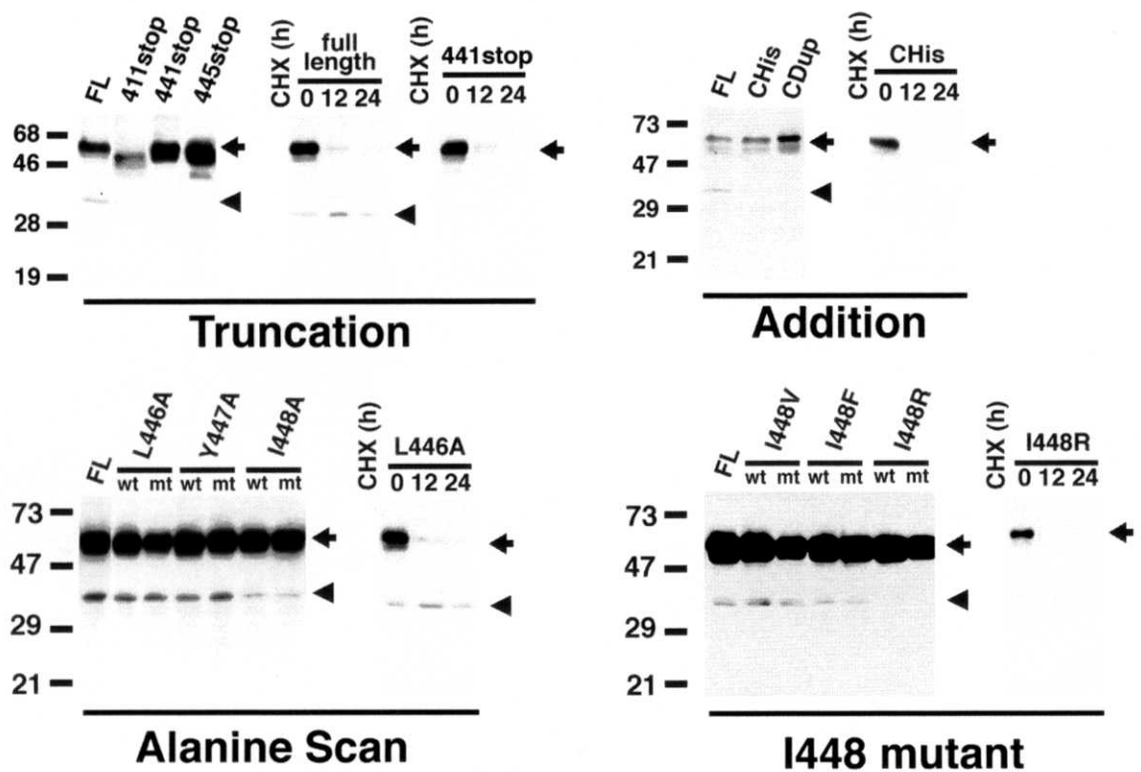
**図表 40 N2a 細胞で最 C 末端アミノ酸付加型 PS2 が Aβ 産生に与える影響**

- A. N2a 細胞に恒常的に最 C 末端アミノ酸付加 (CHis: 6 個のヒスチジン; CDup: PS 2 最 C 末端 6 アミノ酸) 型 PS2 を発現させ、分泌される Aβ に与える影響について検討した (n=3、mean±SE)。最 C 末端にアミノ酸を付加すると Aβ42 産生上昇は見られなくなった。
- B. 分泌された Aβ42 の比率。ともに FAD 変異による Aβ42 産生上昇能が完全に失われていた。



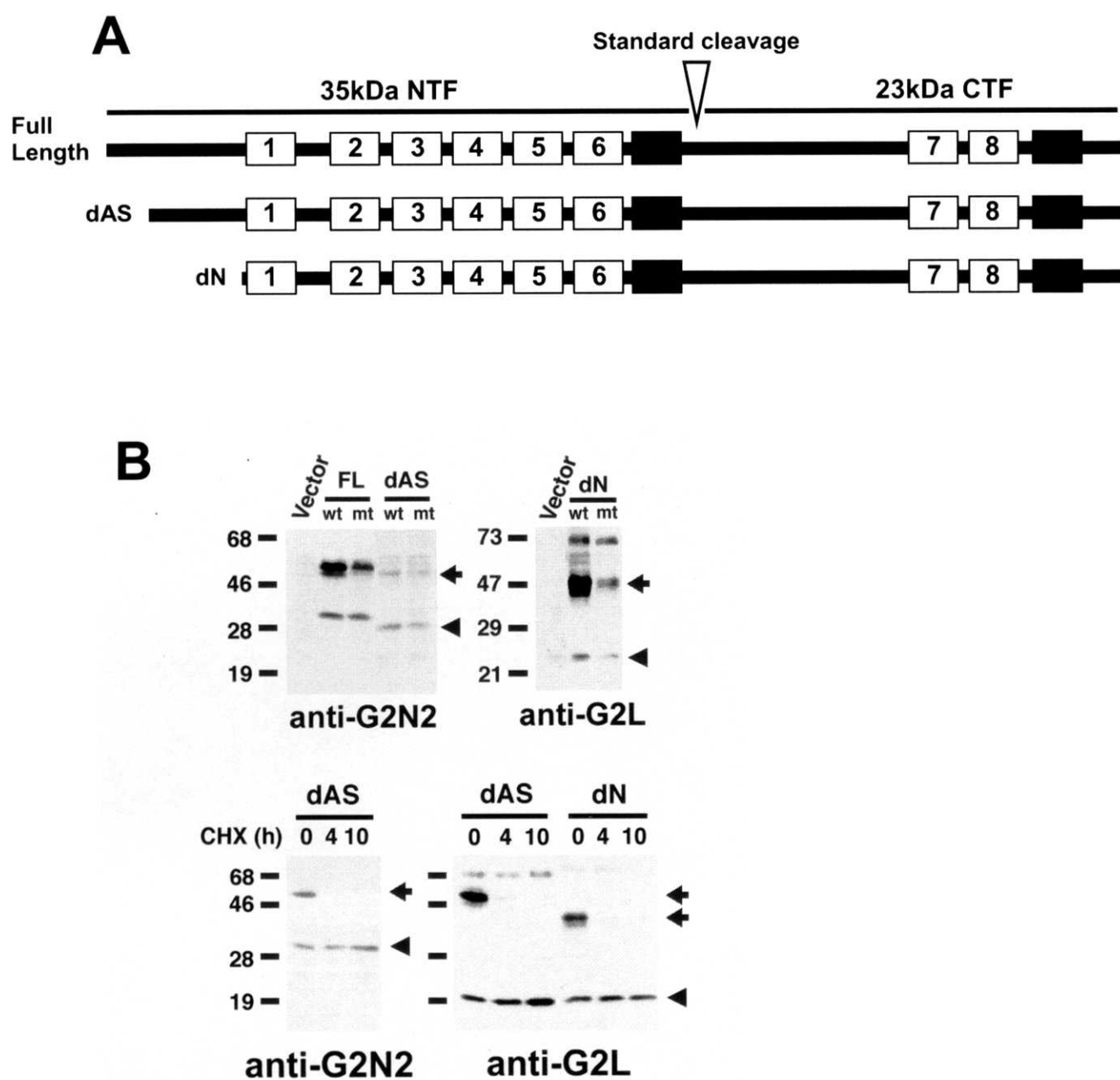
**図表 41 IP-western 法による Aβ の検出と、最 C 末端改変型 PS2 が Aβ 産生に及ぼす影響**

- A. 高感度 western blot 法を用いて合成 Aβ を検出した。検出限界は 12pg / lane であった。
- B. 最 C 末端改変型 PS2 が分泌される Aβ に及ぼす影響を IP-高感度 western blot 法によって検出した。4kDa の Aβ の下のバンドは 11 番から始まる Aβ<sub>11-x</sub> であると考えられる。FAD 変異型 PS2 によって Aβ<sub>x-42</sub> の産生が特異的に上昇し、PS2/I448R ではその効果が失われていることが確認された。



図表 42 N2a 細胞における最 C 末端改変型 PS2 の代謝

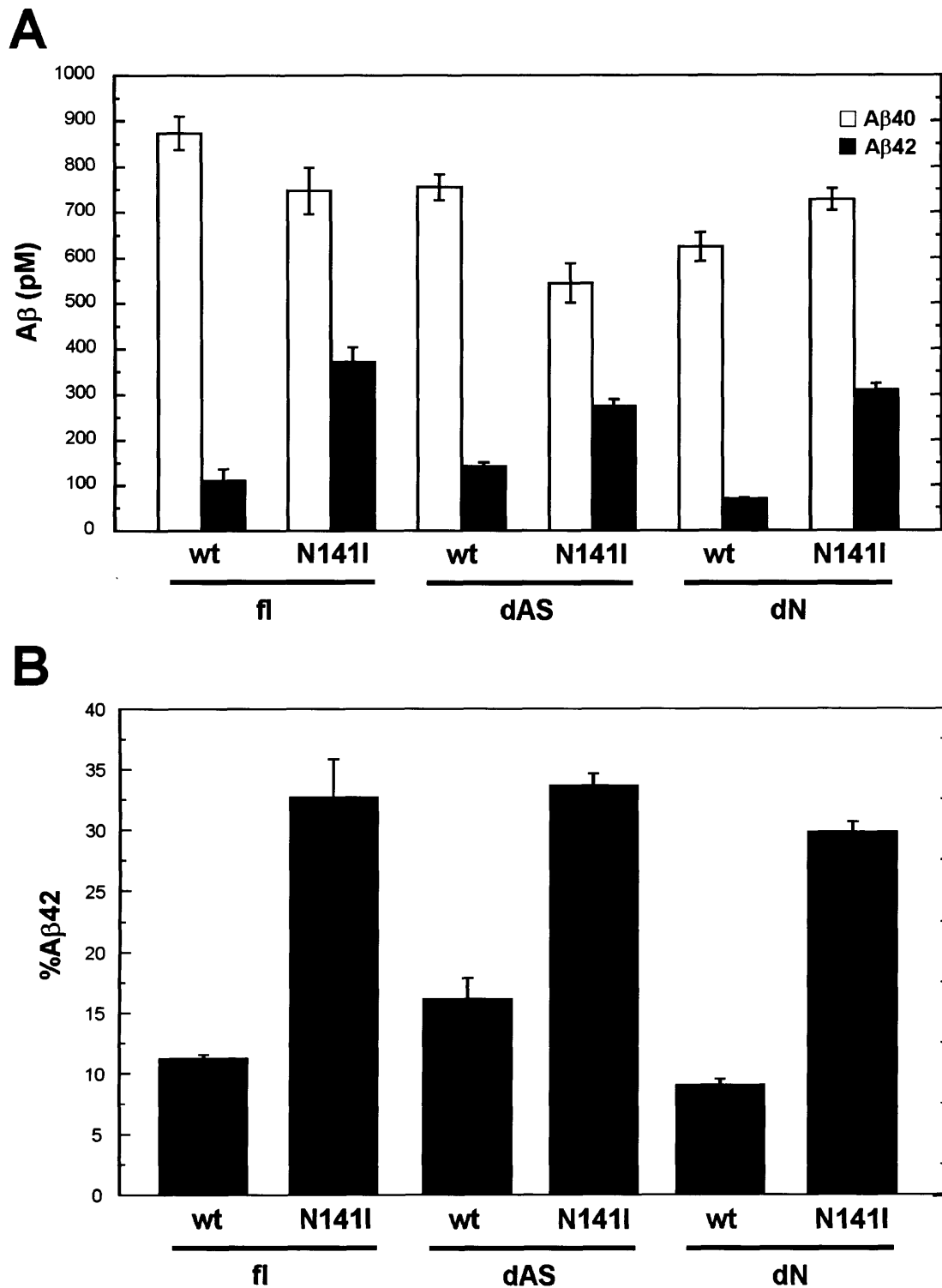
N2a 細胞に恒常的に発現させた C 末端欠損 (Truncation)、付加 (Addition)、アラニン置換 (Alanine Scan)、最 C 末端変異型 (I448 mutant) PS2 を、それぞれ anti-G2N2 を用いてウェスタンブロット解析した。arrow で全長蛋白を、arrowhead でフラグメントを示した。FAD 変異によって Aβ42 産生を上昇させる最 C 末端改変型 PS2 (L446A、Y447A、I448V、I448F) は standard cleavage を受け、安定化されたフラグメントを生成していた。PS2/I448A ではフラグメント量の減少が観察され、残りの FAD 効果を失っている最 C 末端改変型 PS2 はプロセッシングされず安定化もされていなかった。



**図表 43 最 N 末端欠損型 PS2 の代謝**

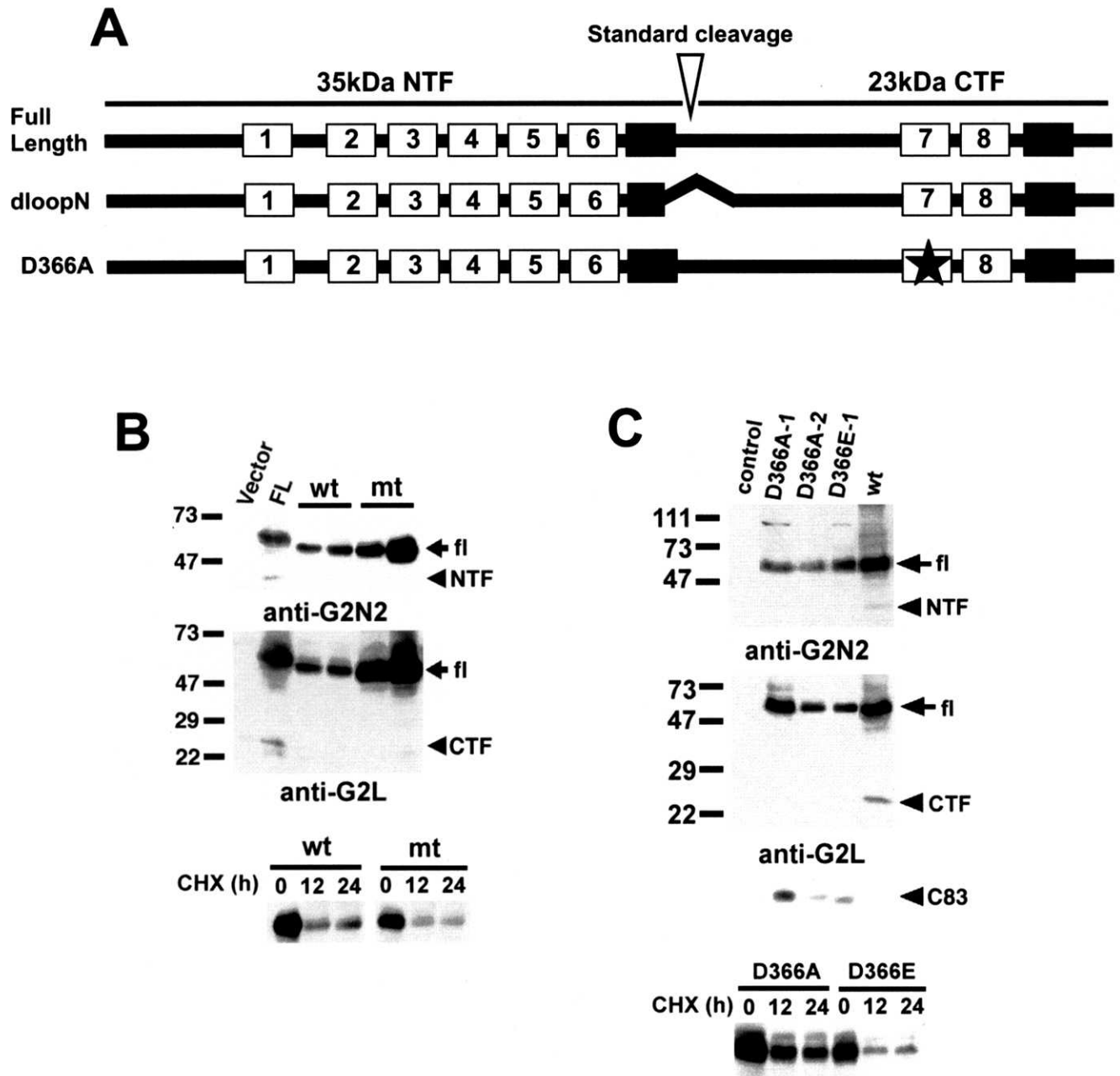
- A. 本研究で用いた最 N 末端欠損型 PS2 コンストラクト。dAS は最 N 末端 19 アミノ酸を、dN は 74 アミノ酸を欠いている。
- B. 最 N 末端欠損型 PS2 を N2a 細胞に恒常的に発現させ、その代謝を検討した。arrow でそれぞれの全長蛋白を、arrowhead でフラグメントを示した。ともにプロセッシングを受け、生じたフラグメントは安定に存在しているものと思われた。





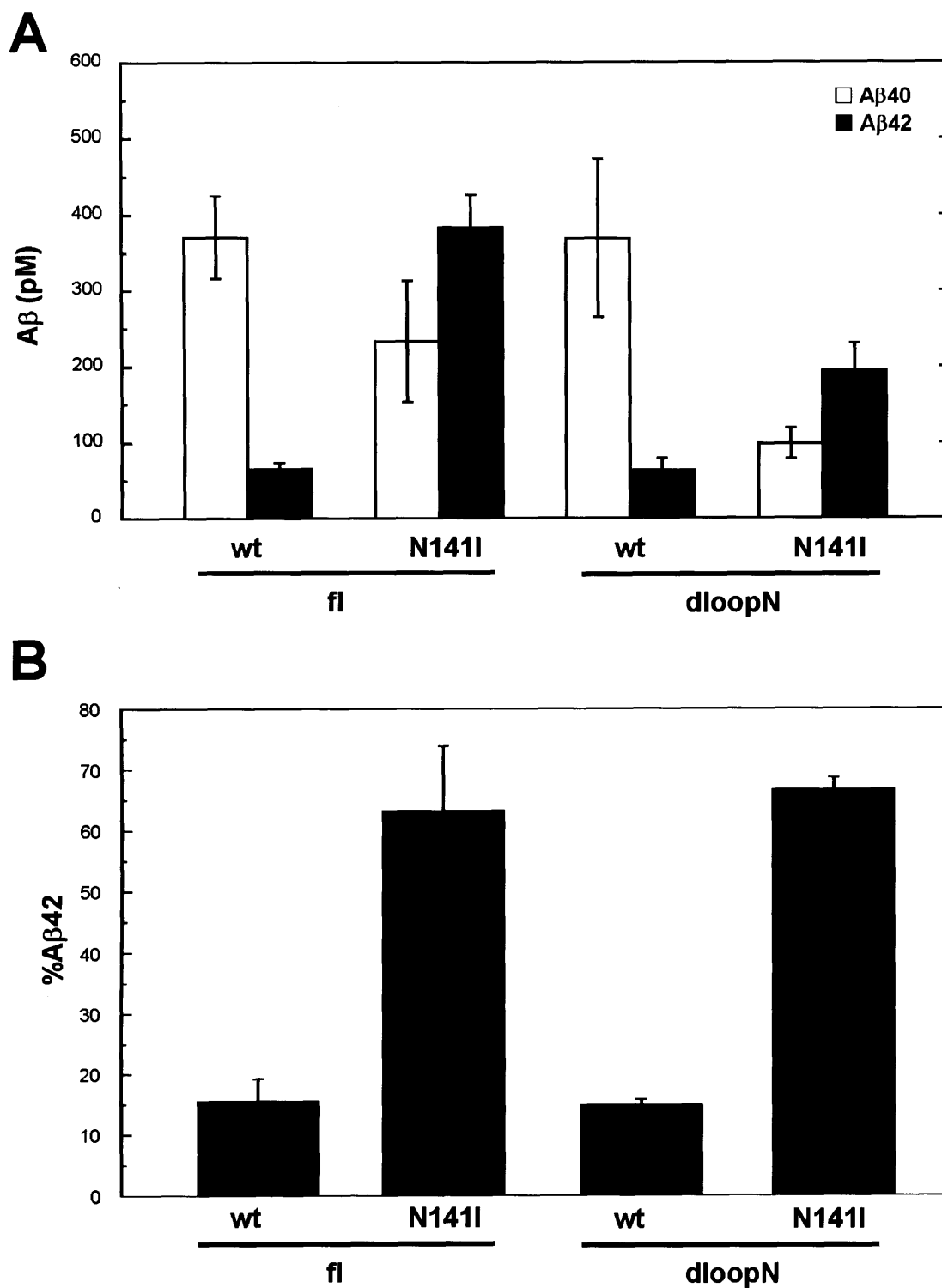
**図表 44 PS2 の最 N 末端の欠損が Aβ 産生に及ぼす影響**

- A. 最 N 末端欠損型 PS2 を恒常的に発現している N2a 細胞から分泌されている Aβ を検討した (n=3, mean ± SE)。最 N 末端の欠損は Aβ 産生に大きな影響を与えなかった。
- B. 分泌される Aβ42 の比率。PS2 特異的な最 N 末端配列は FAD 変異による Aβ42 産生上昇には必要ない。



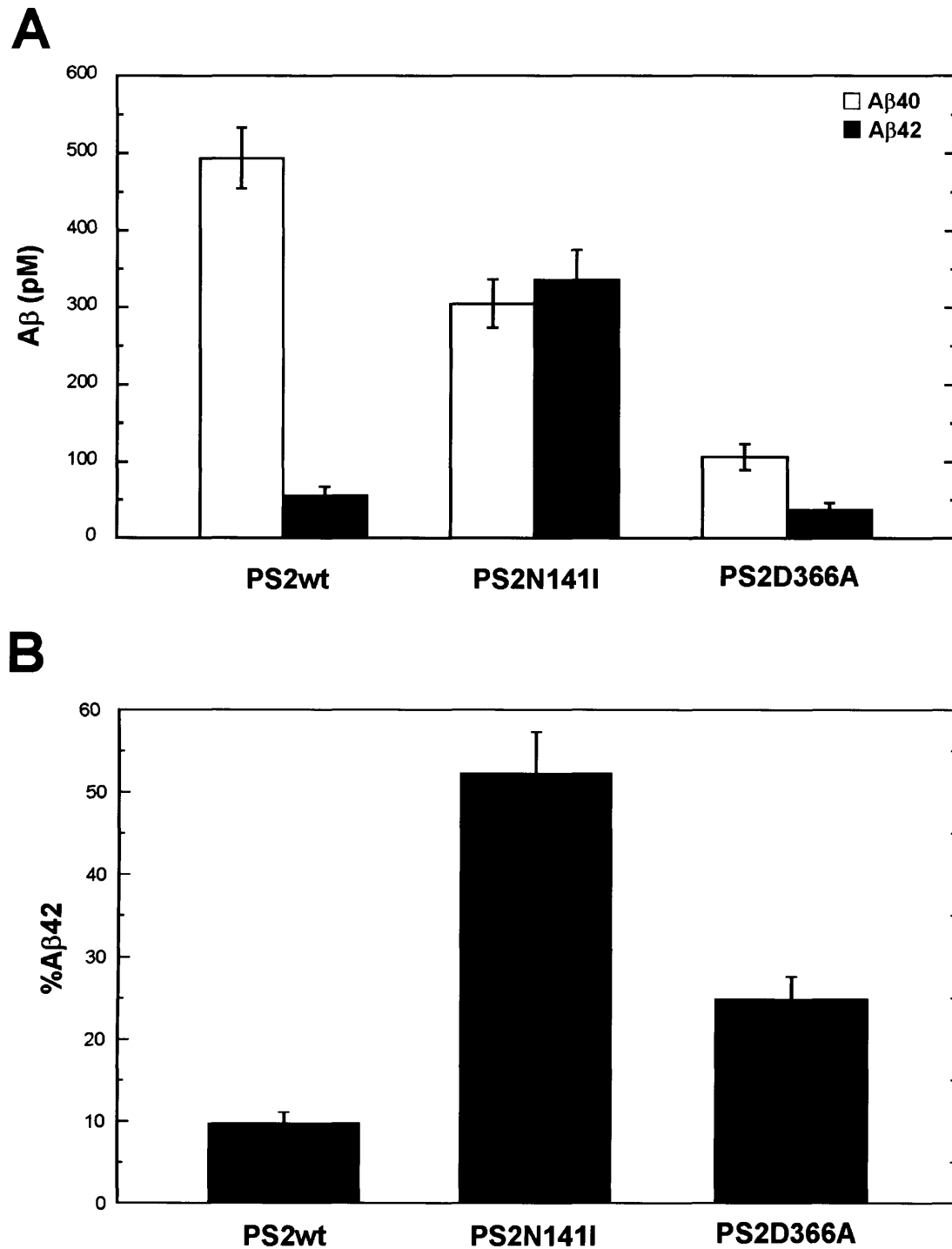
図表 45 エクソン 10 欠損型・Asp 変異型 PS2 の代謝

- A. プロセッシングを受けない PS2 として、standard cleavage 部位を含むと考えられる PS2 のエクソン 10 がコードするアミノ酸に相当する 296～325 を欠損させた PS2 コンストラクト (PS2/dloopN) を作製した。また PS1 でプロセッシングされず、dominant negative 効果を持っていることが報告されている Asp 変異と相同な部位に変異を導入した Asp 変異型 PS2 (PS2/D366A、PS2/D366E) も作製した。
- B. N2a 細胞の PS2/dloopN を発現させ、代謝を検討した。予測どおりプロセッシングを受けていなかったが、CHX 処理後も全長蛋白の一部は安定化されていた。
- C. PS2/D366A、PS2/D366E の解析を行った。プロセッシングを受けておらず、C83 の蓄積が観察され、PS1 と同様の dominant negative 効果を示した。また全長蛋白の一部は安定化されていた。



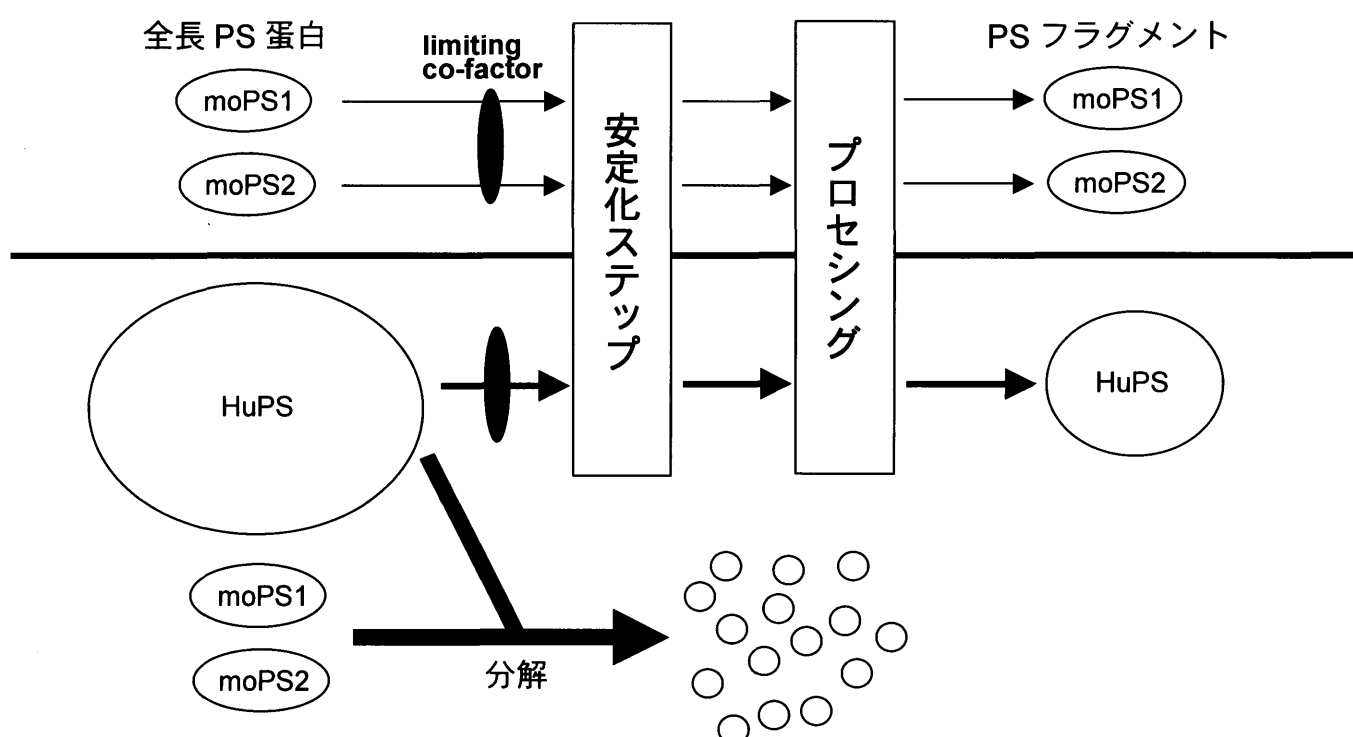
**図表 46** プロセシング部位を欠損した PS2 が Aβ 産生に及ぼす影響

- A. N2a 細胞に PS2/dloopN を恒常的に発現させ、分泌 Aβ に及ぼす影響について検討した (n=2、mean ± SE)。全 Aβ の分泌量に対しては一定の影響が見られなかった。
- B. 分泌される Aβ42 の比率。プロセシングされない PS2/dloopN も、FAD 変異によって全長 PS2 と同程度に Aβ42 の産生を上昇させた。



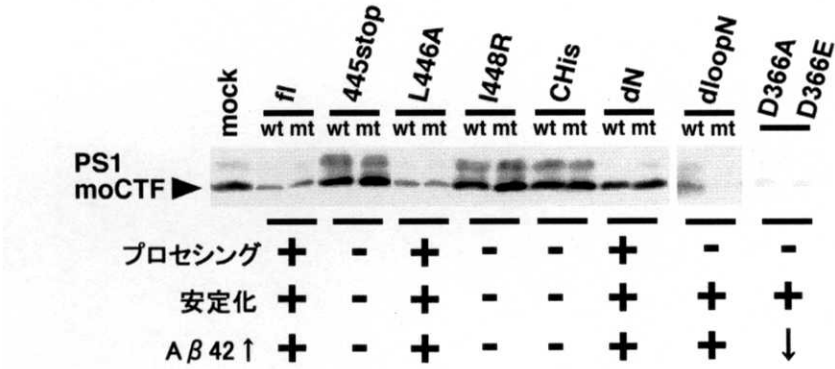
**図表 47 Asp 変異型 PS2 が Aβ 産生に及ぼす影響**

- A. 野生型、FAD 変異型、Asp 変異型 PS2 を恒常的に発現している N2a 細胞に一過性にヒト  $\beta$ APP を過剰発現させ、分泌される Aβ をヒト Aβ 特異抗体 BAN50 をキャプチャー抗体として用いる sandwich ELISA 法によって測定した ( $n=4$ ,  $\text{mean} \pm \text{SE}$ )。Asp 変異型 PS2 を発現させると全 Aβ の分泌量が野生型の約 20%に減少した。
- B. 分泌されている Aβ42 の比率。Asp 変異型 PS2 では若干 Aβ42 比率が上昇していた。

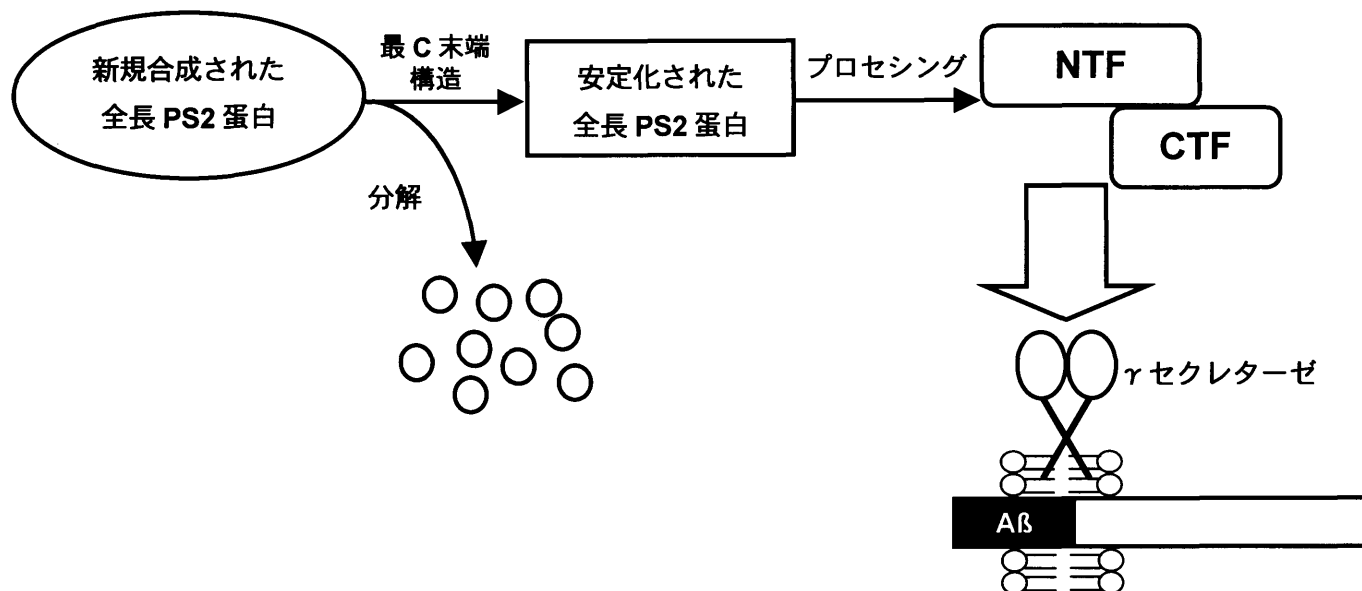


**図表 48 limiting co-factor と replacement (Thinakaran et al., 1997 を改変)**

上段は通常の N2a 細胞での代謝、下段はヒト PS (HuPS) を過剰に発現させた場合の代謝様式。安定化ステップを受ける際に、limiting co-factor によって量の制限を受けるため、PS を過剰発現させると内因性 PS は安定性を獲得できず、分解される。その結果、蛋白レベルでの内因性 PS フラグメントの発現量が低下し、外因性 PS に置き換わるため、replacement が起こる。



**図表 49 内因性 PS1 フラグメントの replacement に改変 PS2 分子の発現が及ぼす影響**  
本研究で用いた改変型 PS2 が内因性 PS1 CTF の replacement に及ぼす影響。安定化・replacement と  $\gamma$  切断に対する効果の間には相関があるが、プロセッシングは必ずしも必要ではない。



**図表 50 本研究のまとめ**

- 1) FAD 変異を持つ PS2 は Aβ<sub>42</sub> 産生を特異的に上昇させる
- 2) PS2 が生体内で安定化され、プロセッシングを受ける
- 3) PS2 の安定化には最 C 末端構造の保持が要求される
- 4) 安定化された PS2 分子が病的機能型分子である

今後、PS の機能を保証する安定化機構を明らかにすることにより、γセクレターゼの分子の実体、AD における Aβ 蓄積機構の解明が期待される。

huPS1. ptn	1: M-----TELPAPLSYFQNAQMSDNHLSNT--VRSQN--DNRERQ--EHNDR	41
moPS1. ptn	1: M-----TEIPAPLSYFQNAQMSEDSHSSSA--IRSQN--DSQERQ--QQHDR	41
ratPS1. ptn	1: M-----TEIPAPLSYFQNAQMSEDSHSSSV--RSQN--DNQERQ--QHHR	40
bosPS1. ptn	1: M-----TELPAPLSYFQNAQMSDNHLSNT--VRSQN--DSRERH--EHGNE	41
xenoPSalpha. ptn	1: M-----N-DTSE-----	6
danioPS1. ptn	1: M-----ADLVQNAANNVLNDGMDTS--RHTSSTAA	28
huPS2. ptn	1: M-----LTFMASDSEEEVCDERTSLMSAESPTPRSCQEGRQGPEDGENTAQR	48
moPS2. ptn	1: M-----LTFMASDSEEEVCDERTSLMSAESPTPRSCQEGRQGPEDGENTAQR	48
bosPS2. ptn	1: M-----LTFMASDSEEEVCDERTSLMSAESPTPRSCQDGRQLEDGESAAQR	48
ratPS2. ptn	1: M-----LTFMATDSEEEVCDERTSLMSAESPTSRSCQDSRPGPEDGENTAQR	48
xenoPSbeta. ptn	1: M-----IKLSDSEDEECNERTSLITSESPPLPSYQDGVQASEGLETSYHRE	46
danioPS2. ptn	1: M-----NTSDSEEDSYNERSALVQSESPTVPYQDNAMSLPQDITDSKRS	45
droPSN. ptn	1: MAAVNLAQSCSSGLASEDDANVGSQIGAAER--LERPPRRQQQRNNYGSNNQDQPDAAILA	59
celeSEL12. ptn	1: M-----	1
celeHOP1. ptn	1: M-----	1
celeSPE4. ptn	1: M-----	1
alaPS1. ptn	1: M-----	1
alaPS11. ptn	1: M-----	1
oryPS1. ptn	1: M-----	1
D. disPS-SLB375. ptn	1:-----	0
*		
huPS1. ptn	42: RSLGH--P-EPLSNGRPQ--GN--SR--QVV--EQ--DEEDEELT--LKYGAKHVIMLFV	87
moPS1. ptn	42: QRLDN--P-EPISNGRPQ--SN--S--RQVV--EQ--DEEDEELT--LKYGAKHVIMLFV	87
ratPS1. ptn	41: QRLDN--P-ESISNGRPQ--SN--FTRQVI--EQ--DEEDEELT--LKYGAKHVIMLFV	87
bosPS1. ptn	42: RRRRG--NTESVSNGRAP--SS--SQQV--V--EQ--EEEEDELT--LKYGAKHVIMLFV	88
xenoPSalpha. ptn	7: RRSNE--NSESQSNQGTQ--SS--SQQVLE--Q--DEEDEELT--LKYGAKHVIMLFV	53
danioPS1. ptn	29: PPSRN--EVELNGQPPTA--PP--PQVVT--DS--EEDEDELT--LKYGAKHVIMLFI	75
huPS2. ptn	49: SQENE--E-DGEED--PDR--YV--CSGV--PGRPPGL--EEELT--LKYGAKHVIMLFV	93
moPS2. ptn	49: SQENE--E-DGEED--PDR--YV--CSGV--PGRPPGL--EEELT--LKYGAKHVIMLFV	93
bosPS2. ptn	49: SQESE--E-DHEEEDPDR--YV--CSGV--PGRPPGL--EEELT--LKYGAKHVIMLFV	94
ratPS2. ptn	49: SQENE--D-DCEEDP--DH--YA--CSGV--PGRPSGL--EEELT--LKYGAKHVIMLFV	93
xenoPSbeta. ptn	47: RQPD--T-QNNEDVPNG--RT--SGADAYNSETTV--ENEEELT--LKYGARHVIMLFV	96
danioPS2. ptn	46: GAVRS--R-SASG--S-G-DA--GPVDRERADTPDG--EEEELT--LKYGAKHVIMLFI	91
droPSN. ptn	60: VPNVVM--REPCGSRPSRL--TG--GGGGSGGPPT--NEMEEEG--LKYGAQHVIMLFI	109
celeSEL12. ptn	2:-----STRRQEGGGGADAETHVYGTNLITNRNSQEDENVVEEA--ELKYGASHVIMLFI	54
celeHOP1. ptn	2:-----P-RTKR-----VYSGKITIGVLY	18
celeSPE4. ptn	2:-----DTLR--SISSELRSSQLRWTLFS	23
alaPS1. ptn	2:-----ESSILDSLGEIIGVMA	18
alaPS11. ptn	2:-----DRNQRP--SILDSLGEELIAILT	23
oryPS1. ptn	2:-----DPAAGSPDPAPAGATTST--AAT--VLDGLGAEVLAVMS	37
D. disPS-SLB375. ptn	1:-----	0
* * *		
TM1-----		
huPS1. ptn	88: PVTLCMVVVVATIKSVSFYTRKDQ--QLIYTPFTEDTE--TVGQ-----RALHSILN	135
moPS1. ptn	88: PVTLCMVVVVATIKSVSFYTRKDQ--QLIYTPFTEDTE--TVGQ-----RALHSILN	135
ratPS1. ptn	88: PVTLCMVVVVATIKSVSFYTRKDQ--QLIYTPFTEDTE--TVGQ-----RALHSILN	135
bosPS1. ptn	89: PVTLCMVVVVATIKSVSFYTRKDQ--QLIYTPFTEDTE--TVAQ-----RALHSILN	136
xenoPSalpha. ptn	54: PVTLCMVVVVATIKSVSFYTRFDG--QLIYTPFTEDTE--SVGQ-----RALHSILN	101
danioPS1. ptn	76: PVTLCMVVVVATIKSVSFYTRKDQ--QLIYTPFTEDTE--TVGQ-----RALHSMNL	124
huPS2. ptn	94: PVTLCMVVVVATIKSVRFYTEKNG--QLIYTPFTEDTP--SVGQ-----RLLNSVLN	141
moPS2. ptn	94: PVTLCMVVVVATIKSVRFYTEKNG--QLIYTPFTEDTP--SVGQ-----RLLNSVLN	141
bosPS2. ptn	95: PVTLCMVVVVATIKSVRFYTEKNG--QLIYTPFSEDTP--SVGQ-----RLLNSVLN	142
ratPS2. ptn	94: PVTLCMVVVVATIKSVRFYTEKNG--QLIYTPFTEDTP--SVGQ-----RLLNSVLN	141
xenoPSbeta. ptn	97: PVTLCMVVVVATIKSVFYTEKDQ--QLIYTPFSEDTP--SVGE-----RLLNSVLN	144
danioPS2. ptn	92: PVTLCMVVVVATIKSVFYTEKSGQLIYTPFEEDPN--SVGQ-----RLLNSVLN	140
droPSN. ptn	110: PVSICMLVVVATINSISFYNSTDVYLL--YTPFHEQ--S-PE-----PSVKFWSALAN	157
celeSEL12. ptn	55: PVSICMLVVVFTMTITFYQNNGRHLLYTPFVRE--TDSIVE-----KGLMSLGN	103
celeHOP1. ptn	19: PVAICMLF--VA--INVKLSQPEQQEQ--SKVVGFLH--SYD--TADS--GTI--TL--YLIG	66
celeSPE4. ptn	24: --VIANMSLT--SIWIG--VYN--MEVNSELKTYFLDPSFEQTTGNLLLD--GFINGVGTILV	78
alaPS1. ptn	19: PVSICMFLVLLLTYSLSVTSDP--QIRSAANLIYIENP--SDST--TV--KLEGLAN	68
alaPS11. ptn	24: PVSICMFTVLLVLCILNSDPSSSSASFSSIAATAA--YSESDSDSSWD--KFGVALLN	76
oryPS1. ptn	38: PVSICMALVLLISLLAPPSAPGSAAGAAQPPPVTAATLVYLESPTDTPGQKLVGALLD	97
D. disPS-SLB375. ptn	1:-----	0
**...*		



	-----TM2-----	-----TM3-----	
huPS1. ptn	136: AAIMISVIVVMTILLVV-LYKYRCYKVIHAWLISSLLLLFFFSLIYLGEVFKTYNVAVD	194	
moPS1. ptn	136: AAIMISVIVMTILLVV-LYKYRCYKVIHAWLISSLLLLFFFSLIYLGEVFKTYNVAVD	194	
ratPS1. ptn	136: AAIMISVIVVMTILLVV-LYKYRCYKVIHAWLISSLLLLFFFSLIYLGEVFKTYNVAVD	194	
bosPS1. ptn	137: AVIMISVIVMTILLVV-LYKYRCYKVIHAWLISSLLLLFFFSLIYLGEVFKTYNVAVD	195	
xenoPSalpha. ptn	102: ATIMISVIVMTILLVV-LYKYRCYKVIHAWLISSLLLLFFFSLIYLGEVFKTYNVAVD	160	
danioPS1. ptn	125: AAIMISVIVVMTILLVV-LYKYRCYKVIHAWLISSLLLLFFFSLIYLGEVFKTYNVAVD	183	
huPS2. ptn	142: TLIMISVIVVMTIFLVV-LYKYRCYKFIHGWLMSSMLLFLFTYIYLGEVLKTYNVAMD	200	
moPS2. ptn	142: TLIMISVIVVMTIFLVV-LYKYRCYKFIHGWLMSSMLLFLFTYIYLGEVLKTYNVAMD	200	
bosPS2. ptn	143: TLIMISVIVMTIFLVV-LYKYRCYKFIHGWLMSSMLLFLFTYIYLGEVLKTYNVAMD	201	
ratPS2. ptn	142: TLIMISVIVVMTIFLVV-LYKYRCYKFIHGWLMSSMLLFLFTYIYLGEVFKTYNVAMD	200	
xenoPSbeta. ptn	145: TLIMISVILVMTIFLVV-LYKYRCYKFIHGWLMSSMLLFLFTYIYLSEVFKTYNVAMD	203	
danioPS2. ptn	141: TLVMSIVIVFMTIFLVV-LYKYRCYKFIHGWLMSSMLLFLFTYIYLGEVFKTYNVAMD	199	
droPSN. ptn	158: SLILMSVIVVMTIFLVV-LYKYRCYKFIHGWLMSSMLLFLFTYIYLGEVFKTYNVAMD	216	
celeSEL12. ptn	104: ALVMLCVVVLMTVLLIFV-YKYKFKYLIHGWLVSSFLLLFLFTYIYVQEVLSKSFV-SP	161	
celeHOP1. ptn	67: FLILTTSLGVFCYQMK-F-YKAIKVYVLANSGI-LLVYSVFHFQRIAEQSPV-SV	120	
celeSPE4. ptn	79: LGCVSFLMLAFVLDFRRIVKAWLTLSCLLILFGVSAQTLHDMFSQVFDQDDNNQYI-MT	137	
alaPS1. ptn	69: AIVFVVLIAAVTFLVLLFYNNFTNFKHYMRFSAFFVLGTMGGAIFLSIIQH-FSIPVD	127	
alaPS11. ptn	77: SVVFVAAITVATFVLVLLFYLCVKFKFYMGFSAFIVLGNLGGELVLLIDR-FRFPID	135	
oryPS1. ptn	98: AAVFVALVAVTVFLVALYYRCTGFLKNYMRFSAFFVLFSMGAIAAVALRR-LGAPLD	156	
D. disPS-SLB375. ptn	1:	0	

	-----TM4-----	-----TM5-----	-----TM6-----	
huPS1. ptn	195: YITVALLI-WNFGVVGMIASHWKGPLRLQQAYLIMISALMALVFI-KYLPEWTAWLILAV	252		
moPS1. ptn	195: YITVALLI-WNFGVVGMIASHWKGPLRLQQAYLIMISALMALVFI-KYLPEWTAWLILAV	252		
ratPS1. ptn	195: YITVALLI-WNFGVVGMIASHWKGPLRLQQAYLIMISALMALVFI-KYLPEWTAWLILAV	252		
bosPS1. ptn	196: YISVALLI-WNFGVVGMIASHWKGPLRLQQAYLIMISALMALVFI-KYLPEWTAWLILAV	253		
xenoPSalpha. ptn	161: YITLALLI-WNFGVVGMIASHWKGPLRLQQAYLIMISALMALVFI-KYLPEWTAWLILAV	218		
danioPS1. ptn	184: YFTLALLI-WNFGVVGMIASHWKGPLRLQQAYLIMISALMALVFI-KYLPEWTAWLILAA	241		
huPS2. ptn	201: YPTLLLTIV-WNFGAVGMVCIHWKGPLVLQQAYLIMISALMALVFI-KYLPEWSAWVILGA	258		
moPS2. ptn	201: YPTLLLTIV-WNFGAVGMVCIHWKGPLVLQQAYLIMISALMALVFI-KYLPEWSAWVILGA	258		
bosPS2. ptn	202: YPTLFLTIV-WNFGAVGMVCIHWKGPLVLQQAYLIMISALMALVFI-KYLPEWSAWVILGA	259		
ratPS2. ptn	201: YPTLFLAV-WNFGAVGMVCIHWKGPLVLQQAYLIMISALMALVFI-KYLPEWSAWVILGA	258		
xenoPSbeta. ptn	204: YPTLFMVI-WNFGAVGMVCIHWKGPLVLQQAYLIMISALMALVFI-KYLPEWSAWVILGA	261		
danioPS2. ptn	200: YPTLLMI-WNFGVVGMIASHWKGPLRLQQAYLIMISALMALVFI-KYLPEWSAWVILGA	257		
droPSN. ptn	217: YPTALLI-WNFGVVGMMIASHWKGPLRLQQAYLIMISALMALVFI-KYLPEWTAWAVLAA	274		
celeSEL12. ptn	162: SALLVLFGLGNYGVLMGMIHWKGPLRLQQAYLIMISALMALVFI-KYLPEWTWVFLV	220		
celeHOP1. ptn	121: PTFEFLI-L-QFGLGITCLHWKSHRRLHQFYLMAGLTA-IFILNLPDWTVMALTA	177		
celeSPE4. ptn	138: IVLIVV-PTVVYVGGIYAFSSNSSILHQIFVVTNCSLIS-VFYLRVFPSTTWFLVI	195		
alaPS1. ptn	128: SITCFILLNFNITLGLTSVFAGGIPILVRCQYVMVMGIVVAWF-TK-LPEWTTWFLVA	185		
alaPS11. ptn	136: SITFLILLNFNSVVGVAFAVMSKFSILITQGYLVWIGVLVAYFF-T-LLPEWTTWVLLVA	193		
oryPS1. ptn	157: AATALVLLFNASAVGVLSVFAVAVPILVVRQGYMVALAVIAAW-LSRLPEWTTWVMLIA	214		
D. disPS-SLB375. ptn	1:	0		

	-----*-----	-----*-----	-----*-----	-----*-----	-----*-----	
huPS1. ptn	253: ISVYDLVAVLCPKGPLRMLVETAQERNETLFPALISSTMVWLNVMAEGDPEAQRVSKN	312				
moPS1. ptn	253: ISVYDLVAVLCPKGPLRMLVETAQERNETLFPALISSTMVWLNVMAEGDPEAQRVSKN	312				
ratPS1. ptn	253: ISVYDLVAVLCPKGPLRMLVETAQERNETLFPALISSTMVWLNVMAEGDPEAQRVSKN	312				
bosPS1. ptn	254: ISVYDLVAVLCPKGPLRMLVETAQERNETLFPALISSTMVWLNVMAEGDPEAQRVSKN	313				
xenoPSalpha. ptn	219: ISVYDLVAVLSPKGPLRMLVETAQERNETLFPALISSTMIWLVNMAADGDPGLKQSASTK	278				
danioPS1. ptn	242: ISVYDLVAVLCPKGPLRMLVETAQERNEAIFPALISSTMVWLFNMA-DSATRNSSH	299				
huPS2. ptn	259: ISVYDLVAVLCPKGPLRMLVETAQERNEIFPALISSAMVWTVGMAKLDPS-QGALQL	317				
moPS2. ptn	259: ISVYDLVAVLCPKGPLRMLVETAQERNEIFPALISSAMVWTVGMAKLDPS-QGALQL	317				
bosPS2. ptn	260: ISVYDLVAVLCPKGPLRMLVETAQERNEIFPALISSAMVWTVGMAKLDPS-QGALQL	318				
ratPS2. ptn	259: ISVYDLVAVLCPKGPLRMLVETAQERNEIFPALISSAMVWTVGMAKLDPS-QGALQL	317				
xenoPSbeta. ptn	262: ISVYDLVAVLCPKGPLRMLVETAQERNEIFPALISSAMVWTVGMA-DSATADG-RMN	318				
danioPS2. ptn	258: ISYDLI AVLCPKGPLRMLVETAQERNEIFPALISSAMVWTVGMA-DSNN-PDSA-GE	314				
droPSN. ptn	275: ISIWDLI AVLSPRGPLRMLVETAQERNEIFPALISSTVYVYALVNTVTPQSQATASSS	334				
celeSEL12. ptn	221: ISVWDLVAVLTPKGPLRMLVETAQERNEIFPALISSGVIYPYVLTAVENT-TDPRE	278				
celeHOP1. ptn	178: ISFWDI AVLTPKGPLRMLVETAQERNEIFPALISSGVIYPYVLTAVENT-TDPRE	232				
celeSPE4. ptn	196: VLFWDLFVAVLAPMGPLKVKQEKASDYSKCVL-NLIMFSANEKRLTAGSNQEETN-E-GEE	252				
alaPS1. ptn	186: LALYDLVAVLAPMGPLKLLVELASSRDEEL-PAMVVEARPTVSSGNQRRNRGSSRLALVG	244				
alaPS11. ptn	194: LALYDIAAVLLPVGPLRMLVETAQERNEIFPALISSGVIYPYVLTAVENT-TDPRE	241				
oryPS1. ptn	215: LALYDLVAVLAPRGPLRMLVETAQERNEIFPALISSGVIYPYVLTAVENT-TDPRE	273				
D. disPS-SLB375. ptn	1:	0				

huPS1. ptn	313: SKY-----N-AES-----TERESQD-TV-AENDDG-----	334
moPS1. ptn	313: PKY-----N-TQR-----AERETQ-DS-GSGNDD-----	333
ratPS1. ptn	313: PKY-----S-TQG-----TEREETQ-DT-GTGSDD-----	334
bosPS1. ptn	314: SNY-----N-AQRP-A-NSPVTITGTESESQD-PV-TESDDG-----	345
xenoPSalpha. ptn	279: T-Y-----N-TQAP-T-AHPRSDSAASD-D-----N-G-----	300
danioPS1. ptn	300: PV-----PQQENQVVAMAPT-AQ-AEDDG-----	321
huPS2. ptn	318: P-Y-----D-PE-----MEEDSYDSFGEP-----	334
moPS2. ptn	318: P-Y-----D-PE-----MEEDSYDSFGEP-----	334
bosPS2. ptn	319: P-Y-----D-PE-----MEEDSYDSFGEP-----	335
ratPS2. ptn	318: P-Y-----D-PE-----MEEDSYDSFGEP-----	334
xenoPSbeta. ptn	319: QQ-----V-Q-----HIDRNTPEGANST-----	335
danioPS2. ptn	315: RR-----RSGGGVRTQEGVESE-----	331
droPSN. ptn	335: PSSSNSTTTTRATQNSLASP-E-AAAASG-QRTGNSHP-RQ-NQRDDGSLVAT-E	383
celeSEL12. ptn	279: PTSSDSNTST-----AFPGE-A-SCSSETPKRPVKRI-PQ-KVQ-----I-----E	316
celeHOP1. ptn	233: TPLTEFNNSSSS-RLLESDDLPPVIPRQIREVREV-----	268
celeSPE4. ptn	253: ST-IR-RTVK-QTIEYYTKREAQDDEFYQKIRQRRAAINPDSVPTEHSPLVEAEPSP I	307
alaPS1. ptn	245: GGGVSDSGSVEL-QAVRNHDVNQLGRENSHNMDYNA-IAVRDIDNVDDGIGNSGRGLER	302
alaPS11. ptn	242:-----Q-----RRVWREQRS-SQNNANRNEVRVVEAEVEEEH	273
oryPS1. ptn	274: QPV-ADPGRSGGNQ-Y-DRVEQEDSSR-AVEMRDVGGSRSSIRE-RN-LER	320
D. disPS-SLB375. ptn	1:-----	0

huPS1. ptn	335: -GFSE-----EW-----EAQRDShLGPHRST-PESRAAVQE-LSS	366
moPS1. ptn	334: GGFSE-----EW-----EAQRDShLGPHRST-PESRAAVQE-LSG	366
ratPS1. ptn	335: GGFSE-----EW-----EAQRDShLGPHRST-PESRAAVQE-LSG	367
bosPS1. ptn	346: -GFSE-----EW-----EAQRDSRLGPHHST-AESRSVAVQD-LSS	377
xenoPSalpha. ptn	301: -GFDT-----TW-----EDHRNAQIGPINST-PESRVAVQA-LPS	332
danioPS1. ptn	322: -GFTP-----AW-----VDHQHQHQLGPMQST-EESRRQIQE-MPS	353
huPS2. ptn	335: -SYPE-----VF-----EPPLTGYPGEELE-EEE	356
moPS2. ptn	335: -SYPE-----VF-----EPPLTGYPGEELE-EEE	356
bosPS2. ptn	336: -SYPD-----VF-----EPPLPGYPGEELE-EEE	357
ratPS2. ptn	335: -SYPE-----AF-----EAPQPGYPGEEPE-EEE	356
xenoPSbeta. ptn	336: -VEDA-----AE-----TRIQTQSNLSSE-DPD	356
danioPS2. ptn	332: -HDAP-----QA-----GRR-Q-YSAEE-DLE	349
droPSN. ptn	384: GMPLVTFKSNL-RGNAEAAGFTQEWANLSERVARRQIEVQSTQ-SGNAQRSNE-YRT	438
celeSEL12. ptn	317:-----SNTTASTTQ-NSGVRVERELAAERPTVQ-DA-N-FHR	349
celeHOP1. ptn	269:-----	268
celeSPE4. ptn	308: ELKEKNSTEELSDDSDTSETSSGSSNLSSSDSSTTVSTSDISTAECDQKEWDDLVSLL	367
alaPS1. ptn	303: SP-LVGSPSASEHSTSV-GTRG-NM-EDRESVMDE-EMSPLVELM-GWGDNREEA-R	352
alaPS11. ptn	274: VGSSE-----RAEISV-----PLID-----RR-PEQAE	295
oryPS1. ptn	321: EAPMAVSVSG-HSS-NQGS-SQHAVIQIEQHEEG-ETVPLVSAA-SANNAAPNE-EHR	373
D. disPS-SLB375. ptn	1:-----RTRGR-TRGRTRGIFTLLVIVAIYDLFAVLCPRGPKLVLSQE	44

huPS1. ptn	367: SILAGED-PE-E-RGVKLGGLGDFIFYSVLVGKASATASGDWNTTIACFVAILIGLC	419
moPS1. ptn	367: SILTSED-PE-E-RGVKLGGLGDFIFYSVLVGKASATASGDWNTTIACFVAILIGLC	419
ratPS1. ptn	368: SILTSED-PE-E-RGVKLGGLGDFIFYSVLVGKASATASGDWNTTIACFVAILIGLC	420
bosPS1. ptn	378: SILASED-PE-E-RGVKLGGLGDFIFYSVLVGKASATASGDWNTTIACFVAILIGLC	430
xenoPSalpha. ptn	333: NSPPSED-PE-E-RGVKLGGLGDFIFYSVLVGKASATASGDWNTTIACFVAILIGLC	385
danioPS1. ptn	354: ARPPPPA-DDDE-E-RGVKLGGLGDFIFYSMLVGKASATASGDWNTTIACFVAILIGLC	408
huPS2. ptn	357:-----E-RGVKLGGLGDFIFYSVLVGKAAATGSGDWNTTIACFVAILIGLC	400
moPS2. ptn	357:-----E-RGVKLGGLGDFIFYSVLVGKAAATGSGDWNTTIACFVAILIGLC	400
bosPS2. ptn	358:-----E-RGVKLGGLGDFIFYSVLVGKAAAMGSGDWNTTIACFVAILIGLC	401
ratPS2. ptn	357:-----E-RGVKLGGLGDFIFYSVLVGKAAATGNGDWSTTLACFVAILIGLC	400
xenoPSbeta. ptn	357:-----EERGVKLGGLGDFIFYSVLVGKAAATASGDWNTTIACFVAILIGLC	401
danioPS2. ptn	350:-----EDRGVKGGLGDFIFYSVLVGKAAATGG-DWNTTIACFVAILIGLC	393
droPSN. ptn	439: VTAPDQN-HPDGGEE-RGIKLGLGDFIFYSVLVGKASSYG-DWTTTIACFVAILIGLC	493
celeSEL12. ptn	350:-----HEEE-ER-GVKLGGLGDFIFYSVLLGKASSYF-DWNTTIACFVAILIGLC	395
celeHOP1. ptn	269:-----EG-TIRLGMGDFVYFSLMLGNTVQTC-P-LPTVVACFVSNLVGLT	310
celeSPE4. ptn	368: PNNDKRPATAADALNDGEVLRLGFGDFVYFSLIGQAAASGCP-FAVISAALGILFGLV	425
alaPS1. ptn	353: GLEESDNVVDIS-N-RGIKLGLGDFIFYSVLVGRAAMY-DLMTVYACYLAISGLG	405
alaPS11. ptn	296:-----N-SETFLEGILGSSGAIKLGLGDFIFYSVLVGRAAMY-DLMTVYACYLAISGLG	349
oryPS1. ptn	374: ENSSSDSGMEFEMFESTRGIKLGLGDFIFYSVLVGRAAMY-DLMTVYACYLAISGLG	430
D. disPS-SLB375. ptn	45: RNENIPALVYXTGKGSNSLKLGLGDFIFYSLLISRAALVH-MSCVFSTFIAILTLGLF	101

..... \*\*.\* \*\*.\* \*\*.\* .....

huPS1. ptn	420:LTLLLLAIFKKALPALPISITFGLVFYFATDYLQPFMDQLAFHQFYI:467	NM_000021
moPS1. ptn	420:LTLLLLAIFKKALPALPISITFGLVFYFATDYLQPFMDQLAFHQFYI:467	NM_008943
ratPS1. ptn	421:LTLLLLAIFKKALPALPISITFGLIFYFATDYLQPFMDQLAFHQFYI:468	D82578
bosPS1. ptn	431:LTLLLLAIFKKALPALPVSITFGLIFYFATDYLQPFMDQLAFHQFYI:478	AF038936
xenoPSalpha. ptn	386:LTLLLLAIFKKALPALPISITFGLVFYFATDYLQPFMDQLAFHQFYI:433	D84427
danioPS1. ptn	409:LTLLLLAIFKKALPALPISITFGLVFYFATDNLVRPFMDQLAVHQFYI:456	AJ132931
huPS2. ptn	401:LTLLLLAVFKKALPALPISITFGLIFYFSTDNLVRPFMDTLASHQLYI:448	NM_000447
moPS2. ptn	401:LTLLLLAVFKKALPALPISITFGLIFYFSTDNLVRPFMDTLASHQLYI:448	NM_011183
bosPS2. ptn	402:LTLLLLAVFKKALPALPISITFGLIFYFSTDNLVRPFMDTLASHQLYI:449	AF038937
ratPS2. ptn	401:LTLLLLAVFKKALPALPISITFGLIFYFSTDNLVRPFMDTLASHQLYI:448	X99267
xenoPSbeta. ptn	402:LTLLLLAVFKKALPALPISITFGLIFYFSTDNLVRPFMDTLASHQMYI:449	D84428
danioPS2. ptn	394:LTLLLLAIFKKALPALPISITFGLVFYFSTDNLVRPFMDSLAAHQYYI:441	AJ271795
droPSN. ptn	494:LTLLLLAIWRKALPALPISITFGLIFCFATSAVVKPFMEDLSAKQVFI:541	U77934
celeSEL12. ptn	396:FTLVLLAVFKRALPALPISIFSGLIFYFCTRWIITPFVTQVSQKCLLY:443	AF171064
celeHOP1. ptn	311:ITLPIVTLSTALPALPFPLAIAAIFYFSSHIALTPFTDLCTSQLILI:358	AF021905
celeSPE4. ptn	426:VTLTVFSTEESTTPALPLPVICGTFCYFSS---M-FFWE-----QLYG:464	Z14066
alaPSI. ptn	406:CTLILLSVYNRALPALPISIMLGVVFFYLTRLMEPFVVGVTNLMMF:453	AC003981
alaPSII. ptn	350:ITLMLLSVYQKALPALPVSIMLGVVFFYLARLLLEFVVGCSNLVMF:397	AC007113
oryPS1. ptn	431:CTLILLSICKHALPALPISILLGVTFYFLTRLMEPFVVGSSNLMVF:478	6539551
D. disPS-SLB375. ptn	102:LTLLCLAIFKKALPALPISIFLGILFYFLSNNFLTPFIEALTSQIFV:149	
	.**.....****.....*.....	

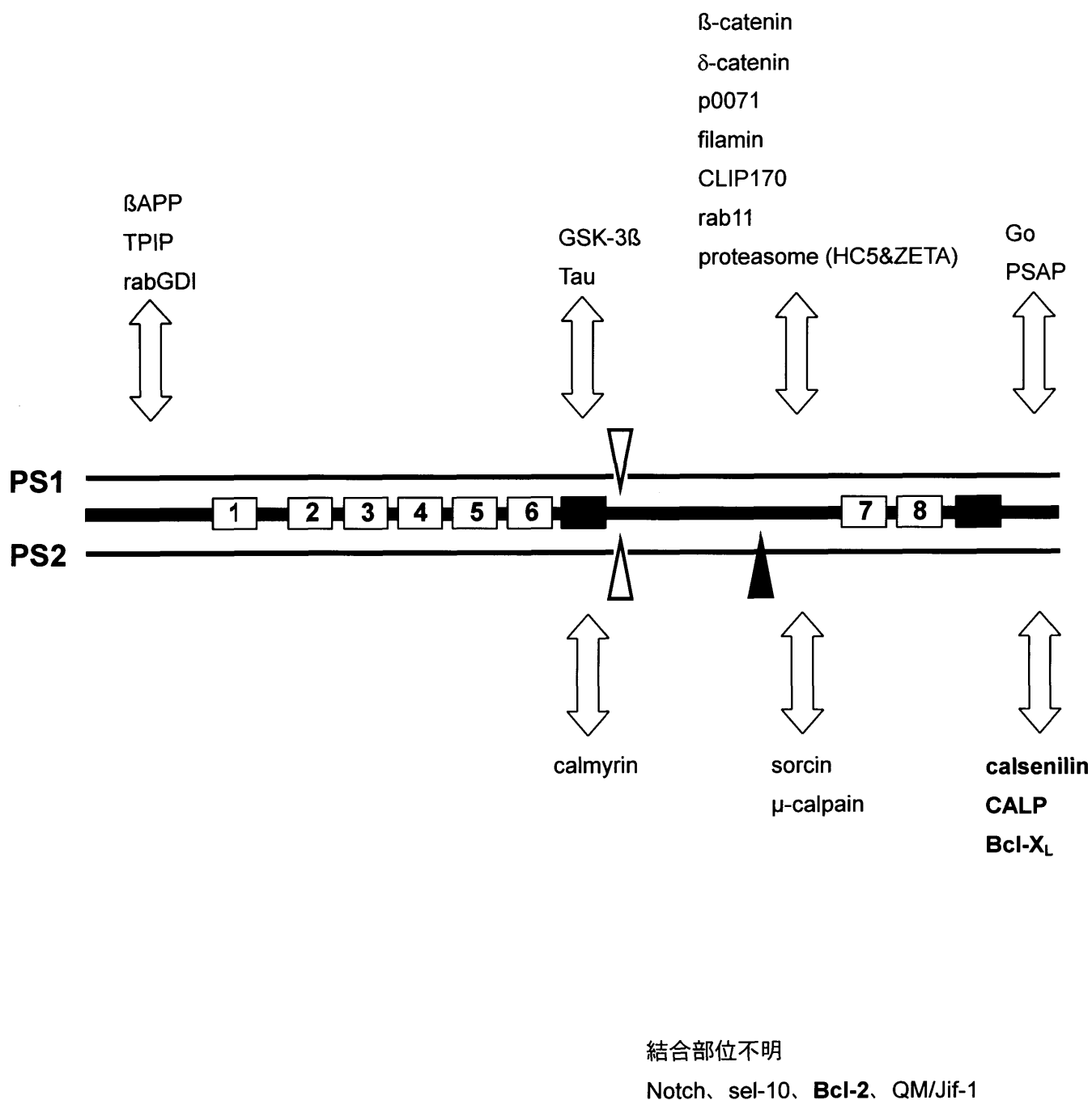
hu, *Homo sapiens*; mo, *Mus musculus*; rat, *Rattus norvegicus*; bos, *Bos taurus*; xeno, *Xenopus laevis*; danio, *Danio rerio*; dro, *Drosophila melanogaster*; cele, *Caenorhabditis elegans*; ala, *Arabidopsis thaliana*; ory, *Oryza sativa*; D. dis, *Dictyostelium discoideum*

## 図表 51 これまでに報告されている PS ファミリー分子

現段階までに報告されている各生物種の PS ファミリー分子群の配列を比較した。総アミノ酸数の後に Genbank accession No.を示した。*D. discoideum*については筑波大学が行っている cDNA プロジェクトにおいて発表された部分配列を翻訳したものであり、完全長ではない。

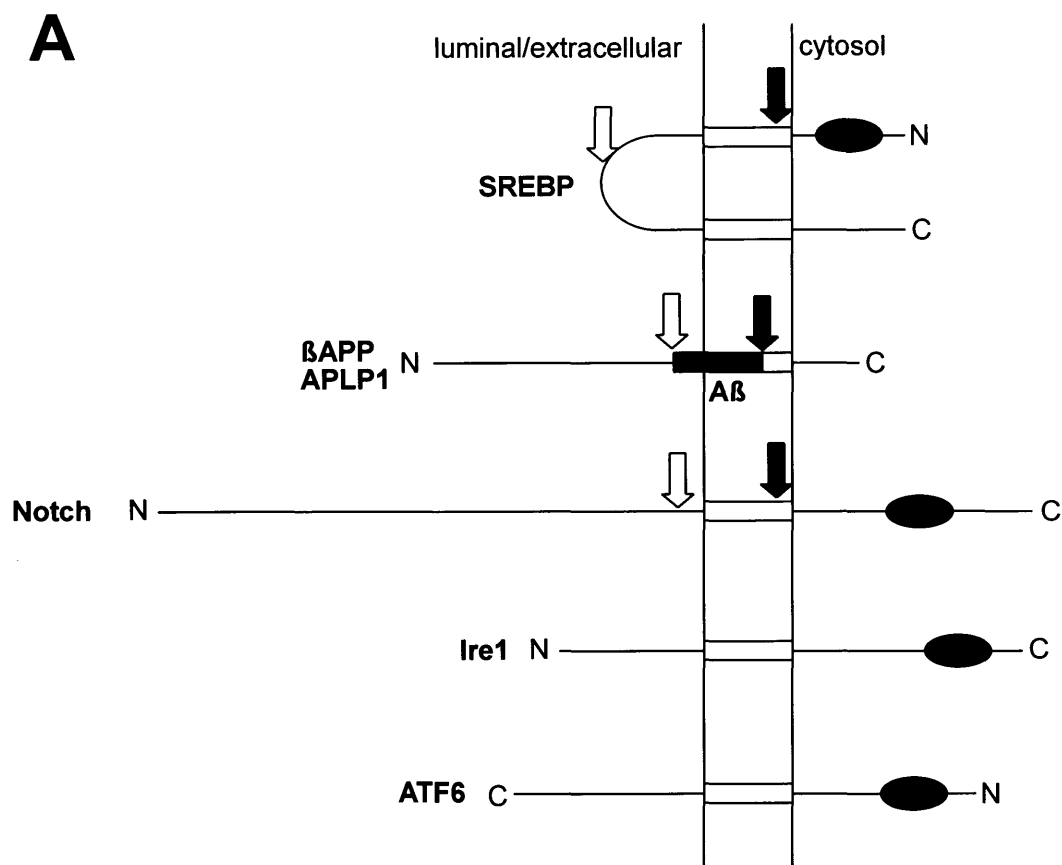
### Abbreviations

---TMD---: Transmembrane domain  
 ~~~~~: Membrane associated domain  
 ><: standard cleavage site  
 ♀: Aspartate  
 ✕: FAD mutation  
 \*: conserved sequence  
 .: highly conserved sequence



**図表 52** これまでに報告されている PS 結合蛋白とその結合部位

上段に PS1 を用いてクローニングされた結合蛋白を、下段に PS2 を用いてクローニングされた結合蛋白を示す。PS1・PS2 ともに結合することがわかっている蛋白については太字で示した。結合部位がよくわからないもの（すべて PS1 を用いて結合が示されている）については最下段に示した。CALP についてはデータ未発表である（当研究室諸橋ら）。

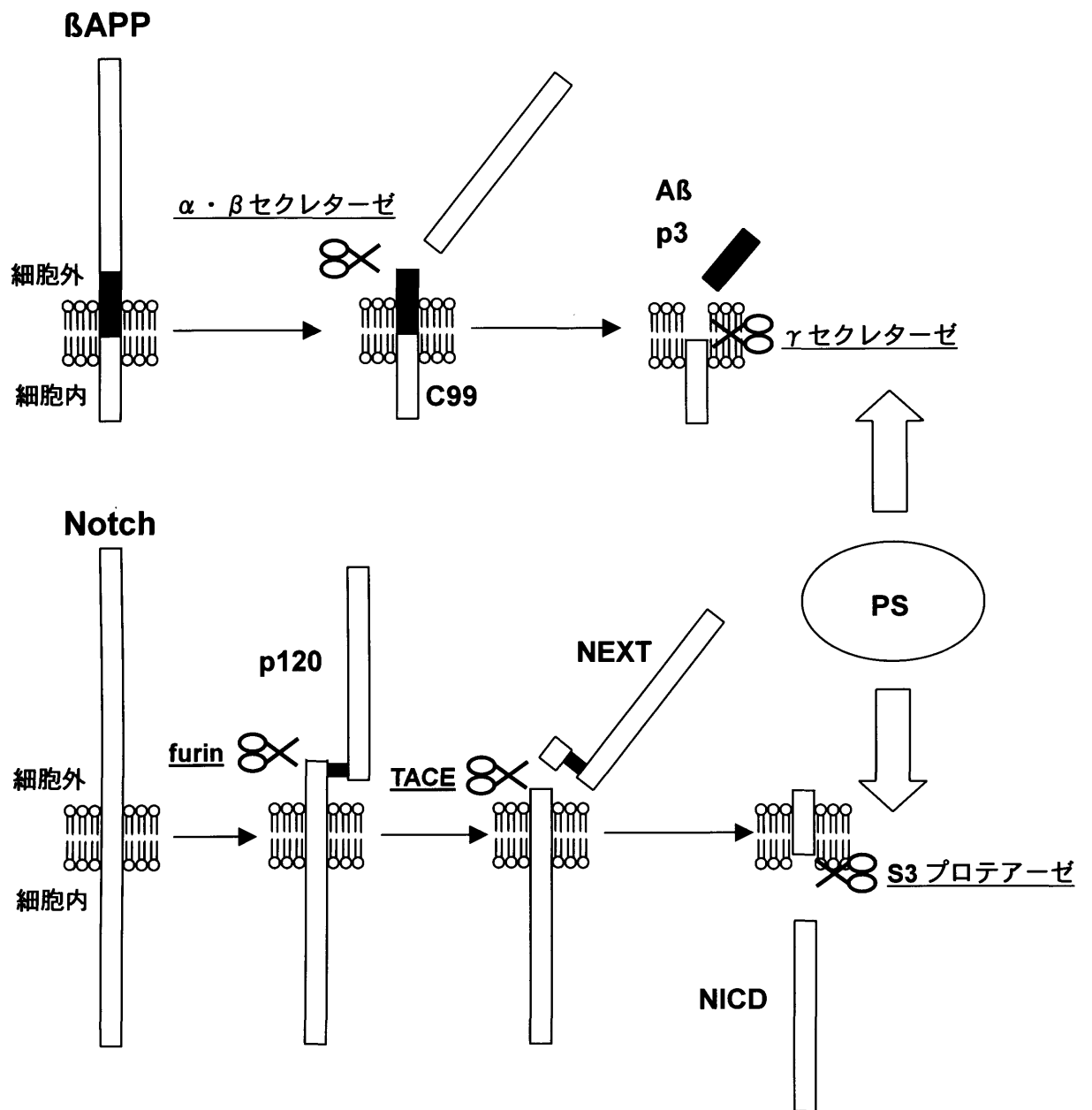


**B**

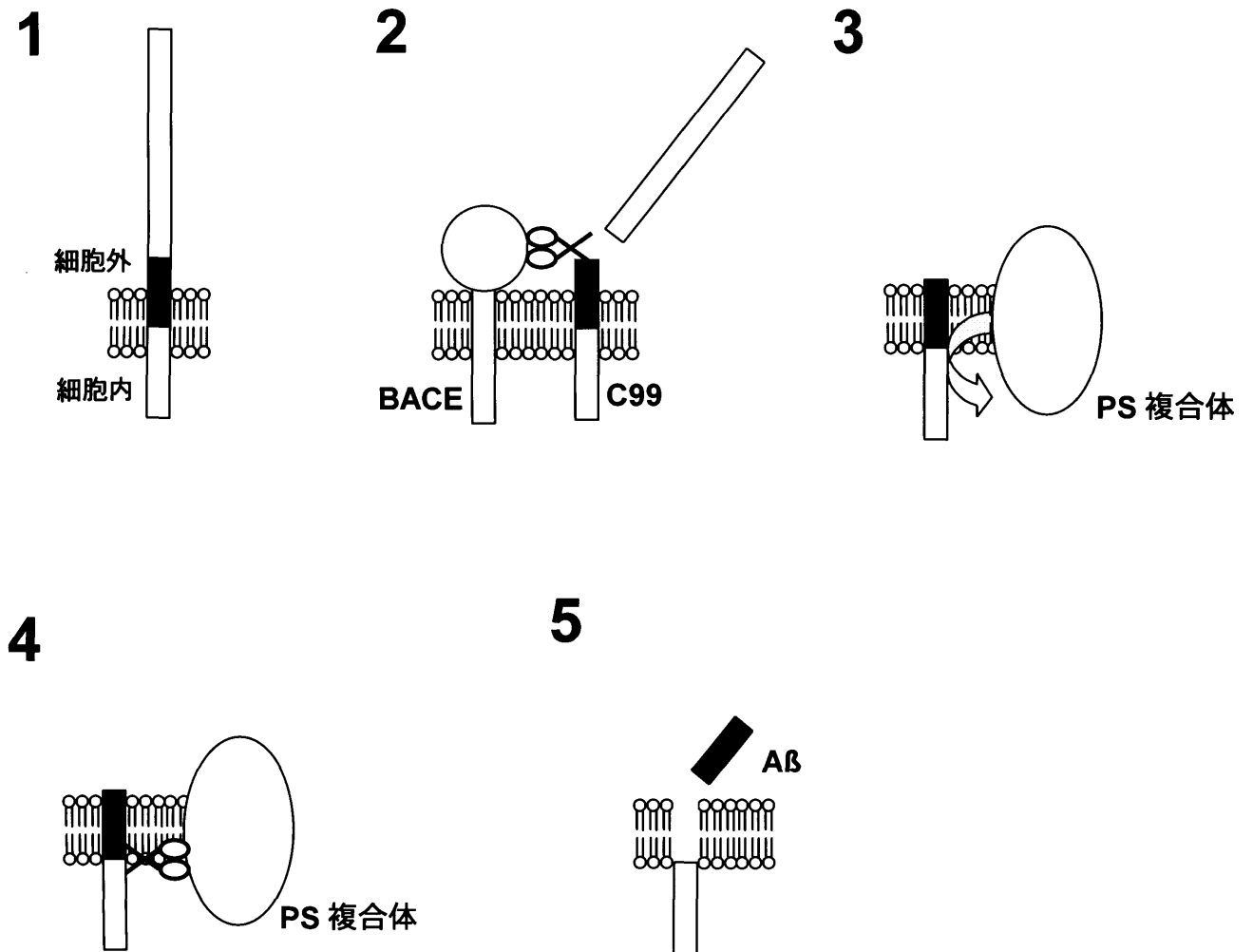
|          |                                                                       |
|----------|-----------------------------------------------------------------------|
| huSREBP2 | NH <sub>2</sub> -DRSRIL <u>LCVLTFLCLSFNPLTSLLQWGGAH</u> -COOH         |
| huβAPP   | NH <sub>2</sub> -FFAEDVGSNKGAIIGLMVGGV <b>VIAT</b> VIVITLVMVKKKQ-COOH |
| huAPLP1  | NH <sub>2</sub> -REAVSGLLIMGAGGSLIVLSMLLLRRKK-COOH                    |
| mNotch1  | NH <sub>2</sub> -LPSQLHLMYVAAAAFVLLFFVGC <b>GVLL</b> SRKR-COOH        |
| huIre1α  | NH <sub>2</sub> -MLKDMATIILSTFLLIGWVAFIITYPLSMHQ-COOH                 |
| huATF6   | NH <sub>2</sub> -PKRRVVCVMIVLAFIILNYGPMSMLEQDSRR-COOH                 |

**図表 53 Regulated intramembrane proteolysis (Rip)**

- A. Rip を受ける基質の構造。白矢印で luminal cleavage を、黒矢印で intramembrane cleavage を示した。黒楕円は転写因子活性を持つドメイン。
- B. Rip を受ける基質の TMD 内配列。TMD を下線で、intramembrane cleavage 部位がわかっているものについては太字で示した。TMD は WWW 上での SOSUI プログラムによる予測にしたがった。

図表 54  $\beta$ APP と Notch の代謝

$\beta$ APP, Notch とともに luminal 側で TACE による切断を受けた後に、PS が関与する Rip を受ける。



**図表 55     $\beta$ APP の代謝と安定性を獲得した PS 複合体の機能**

BACE によって生じた C99 は、PS 複合体（もしくは他の蛋白）のシャペロン様機能によって TMD 内のアミノ酸の構造を変え、膜と細胞質の境目（juxtamembrane）において  $\gamma$  切断を受ける。

## 謝辞

本研究の機会を与えていただき、さらに終始御懇切な御指導と御高配を賜りました東京大学大学院薬学系研究科 岩坪威教授に厚く御礼申し上げます。また本研究を遂行するにあたり、終始御鞭撻を賜りました東京都精神研 丸山敬博士・理化学研究所 西道隆臣博士に深く感謝いたします。ELISAなどで御指導・御援助いただいた武田薬品工業株式会社 鈴木伸宏博士、浅見（尾高）麻乃修士、垣花満博士、福元宏明博士、小阪拓男博士に深く感謝いたします。シカゴ大学 Gopal Thinakaran 博士、Carlos Saura 博士にはいくつもの共同研究を通じていろいろなことを教えていただき、感謝しています。本研究遂行中、様々な御助言・御叱責・励ましをいただいた生理学研究所神経化学部門の方々に感謝いたします。

本研究を行うにあたり、東京大学大学院薬学系研究科臨床薬学教室の皆さんには公私共に大変お世話になりました。特に PS の研究を直接共に遂行・議論していただいた下記の方々からは様々なことを学ばせていただきました。厚く御礼申し上げます。

田代健修士には PS の免疫細胞化学を、形態学の取り組み方を教えていただきました。

徳広臣哉修士とは PS の実験系の基礎を確立する上で苦楽を共にしました。

岩田博司修士には  $\beta$ APP の代謝に PS が及ぼす影響について教えていただいています。

橋本唯史修士には PS の FAD 変異体の作製と解析を手伝っていただきました。

饗庭啓子学士には内因性 PS の解析、抗体の作製を手伝っていただきました。

小山彰比古修士には PS の欠損変異体の作製を手伝っていただきました。

高杉展正修士には PS のアポトーシスに関する役割を教えていただいています。

瀧川里絵学士とは PS の assembly、folding に関する研究を共に進めています。

諸橋雄一学士とは PS の結合蛋白に関する研究を共に進めています。

綿引智成学士とは線虫の遺伝学と PS の生化学に関する研究を共に進めています。

最後に、多くの友人たちと、常に暖かく見守ってくれた両親、祖父母、妹、叔母に心から感謝します。