

人神经 tau 蛋白与 DNA 相互作用*

曲梅花^{1,3)} 李 辉^{2,3)} 徐艳娟^{1,3)} 赫荣乔^{1,3)}**

(¹⁾中国科学院生物物理研究所, 视觉信息加工重点实验室, 北京 100101;

(²⁾中国科学院物理研究所, 国家磁重点实验室, 北京 100101; (³⁾中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要 通过凝胶阻滞实验表明, 人类神经 tau 能够与不同来源的 DNA (λ DNA, 质粒 DNA 以及 PCR 产物) 相结合, 形成 tau-DNA 复合物. 每分子神经 tau 大约与长度为 6~10 bp 的核苷酸片段结合. 原子力显微镜直接证实了 tau 与线性质粒 DNA 相结合形成串珠样的结构. 采用单克隆抗体 Tau-1, 进行免疫组织化学的实验显示, 神经 tau 不但弥散地分布在 SY5Y 细胞系的细胞质内, 同时也存在于细胞核中, 并形成染色致密的斑点. 以上结果提示: 神经 tau 在细胞核中可能参与了某种重要的生物学功能.

关键词 人神经 tau, DNA, 相互作用, 原子力显微镜 (AFM)

学科分类号 Q344

1975 年, Weingarten 等^[1]在研究神经元微管系统的分子结构过程中, 发现了一种对微管蛋白具有高亲和力的因子, 命名为神经 tau, 属微管结合蛋白 (microtubule associated protein, MAP). 神经 tau 具有启动微管装配和稳定微管网络的作用, 与神经细胞信号转导、物质运输以及发育相关. 近十几年的研究显示, tau 蛋白与神经退行性疾病, 特别是与老年性痴呆 (Alzheimer's disease, AD) 的病理过程密切相关. Tau 异常超磷酸化的产物是神经纤维缠结 (NFTs) 的主要成分, 也是 AD 等神经退行性疾病的特征性病理改变. 1998 年, Hutton 等^[2]发现了与 17 号染色体相关的帕金森氏病 (Parkinson's PD) 样额颞叶痴呆 (frontotemporal dementia with parkinsonism linked to chromosome 17, FTDP-17) 的病因, 是该染色体上的 tau 基因发生了突变. 同时 Loomis 等^[3]观察到神经 tau 存在于近端着丝粒染色体的核仁组织区及其在细胞间期的对应区域. 1995 年, Greenwood 等^[4]采用间接荧光显微镜的方法, 显示核 tau 主要定位于核仁, 而胞质中 tau 的分布则比较分散. 核 tau 的存在表明 tau 蛋白可能参与核酸功能的调节. 本实验室的研究表明, tau 蛋白能够与不同来源的 DNA 非特异性结合, tau 只识别双链 DNA 而不与单链 DNA 结合, 同时, tau 能够提高 DNA 的 T_m 值, 在 DNA 热变性中保护其双链结构^[5~7].

1 材料与方法

1.1 材料

表达人类神经 tau 最长的异构体 tau441 的菌株

BL21 由剑桥大学 Geodert 教授馈赠; SP-Sepharose、Q-Sepharose 柱填料购自 Amersham Biosciences; λ DNA 购自 New England 公司; 蛋白质定量试剂盒购自 Pierce 公司; 人成神经瘤细胞 SH-SY5Y (由美国 Sloan Kettering 癌症中心的 Biedler 博士馈赠); DMEM、F12 培养基、新生牛血清、马血清、青霉素、四环素、羊抗鼠 IgG 购自 Hyclone 公司; 视黄酸、蛭蛭菌素、氨苄青霉素、IPTG 购自 Sigma 公司; Tau1 单克隆抗体由龚成新教授 (New York Institute for Basic Research in Development Disabilities) 惠赠; 质粒 pEGFP-N1 由本室保存; BCA 蛋白质定量试剂盒购自 Pierce 公司; 紫外吸收光谱通过 Hitachi UV-2010 紫外分光光度计测定.

1.2 Tau40 蛋白的表达纯化及活性鉴定

1.2.1 神经 tau 蛋白的表达与纯化: 神经 tau 蛋白的表达, 按文献 [5] 并略有改进. 用划线法将保存菌种接种于 LB 固体培养基 (含 100 mg/L 的氨苄青霉素) 中, 37℃ 培养过夜. 培养物以 1:25 的比例接入 LB 液体培养基 (含 100 mg/L 的氨苄青霉素), 37℃ 培养至 A_{600} 达到 0.5~0.7. 向培养液中加入终浓度为 0.2 mmol/L 的 IPTG, 继续培养 3~4 h. 6 500 r/min, 4℃ 离心, 收集菌体. 按 10 ml/L 培养物的比例将菌体重悬于含有蛋白酶抑制剂 (2 mmol/L Aprotinin, 0.2 mmol/L PMSF) 和

* 国家自然科学基金资助项目 (90206041, 30170297) 和中国科学院创新方向性项目 (KSCX2-SW214-1).

** 通讯联系人.

Tel: 010-64889876, E-mail: herq@sun5.ibp.ac.cn

收稿日期: 2004-05-13, 接受日期: 2004-06-30

2 mmol/L DTT 的 Pipes 缓冲液中, 菌悬液中加入终浓度为 20 mg/L 的溶菌酶, 1% 的 TritonX-100 及 10 mmol/L β -巯基乙醇. 冰浴超声波处理. 离心收集上清, 上清液沸水浴 20 min, 15 000 r/min, 4℃ 离心收集上清液. 上清液过 Q-Sepharose 离子交换柱, 收集蛋白质, 将蛋白质过 SP-Sepharose 离子交换柱, 用含 0.3 mol/L NaCl 的 Pipes 缓冲液特异性洗脱, 收集蛋白质. 蛋白质经 10 mmol/L Pipes (pH 6.4) 缓冲液透析后, 置 -70℃ 保存备用. SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 检测 tau 的分子质量及纯度, 以 tau 的单克隆抗体 Tau-1 为第一抗体进行蛋白质印迹鉴定, BCA 试剂盒进行蛋白质定量.

1.2.2 微管蛋白的分离纯化: 利用猪脑微管蛋白 0℃ 解聚, 37℃ 聚集的特性, 通过 4℃, 25℃ (两次) 循环超速离心分离、纯化微管蛋白. 通过 P11 磷酸纤维素离子交换柱, 除去脑中本身的 tau 蛋白^[8,9]. 将新鲜猪脑置于冰上, 小心去掉表面血管与脑膜, 用预冷的纯化缓冲液 (0.1 mol/L Mes, 1 mmol/L EGTA, 0.5 mmol/L $MgCl_2$, 1 mmol/L β -ME, 0.1 mmol/L EDTA, pH 6.4) 洗两次, 切成小块, 按 0.75 ml 缓冲液每克脑组织的比例进行组织匀浆. 4℃ 以 100 000 g 超速离心匀浆液 1 h, 弃沉淀. 量取与上清等体积含有 8 mol/L 甘油的纯化缓冲液 (加入终浓度为 1 mmol/L 的 GTP), 与上清混匀, 37℃ 保温 20 min. 25℃ 以 100 000 g 超速离心 1 h, 弃去上清. 沉淀按 0.2 ml 纯化缓冲液每克脑组织比例重悬. 冰浴 30 min (每隔 5 min 轻摇一次). 4℃, 100 000 g 超速离心 1 h, 弃沉淀. 量取与上清等体积含有 8 mol/L 甘油的纯化缓冲液 (1 mmol/L GTP), 与上清充分混匀, 37℃ 保温 20 min. 25℃, 100 000 g 超速离心 1 h, 弃上清. 沉淀重悬于预冷的 Mes-EDTA 缓冲液 (25 mmol/L Mes, 0.5 mmol/L $MgCl_2$, 1 mmol/L β -ME, 0.1 mmol/L EDTA, pH 6.4) 中, 过 P11 磷酸纤维素离子交换柱, 收集穿过峰. SDS-PAGE 电泳鉴定蛋白质分子质量及纯度. BCA 蛋白定量试剂盒进行蛋白质定量.

1.2.3 Tau 蛋白的活性鉴定: 我们采用目前国际同行普遍采用的“微管蛋白聚集”方法^[9~11], 观察微管蛋白聚集时在 350 nm 产生紫外吸收值的变化, 来测定神经 tau 的活性. 用 Mes-EDTA 缓冲液调节 tau 蛋白和微管蛋白的浓度, 分别为 0.1 g/L 和 0.4 g/L, 将微管蛋白先置于 20℃ 温育 5 min,

迅速提高水浴温度至 37℃ (缓冲体系中加入 1 mmol/L GTP), 紫外分光光度计测定 350 nm 紫外吸收的时间变化曲线. 保持微管蛋白浓度不变, 加入不同浓度的 tau 蛋白 (终浓度分别为 0.1 g/L, 0.2 g/L), 监测 37℃ 时 350 nm 紫外吸收的时间变化曲线.

1.3 凝胶阻滞检测 tau 与 DNA 的结合

将 tau 蛋白 (0.5 g/L) 分别与不同的 DNA (λ DNA, pEGFP-N1, PCR 产物), 以不同的摩尔浓度比 (tau/bp) 混合, tau 与 λ DNA 摩尔比分别为 0, 125:1, 625:1, 1 250:1, 2 500:1, 5 000:1, 7 500:1, 10 000:1 (相应 tau/bp 分别为 0, 1:400, 1:80, 1:40, 1:20, 1:10, 1:6.6, 1:5); tau 与 pEGFP-N1 摩尔比分别为 0, 25:1, 125:1, 250:1, 375:1, 500:1, 625:1, 750:1 (相应 tau/bp 分别为 0, 1:200, 1:40, 1:20, 1:13, 1:10, 1:8, 1:6.5); tau 与 PCR 产物 (1 039 bp) 摩尔比分别为 0, 10:1, 20:1, 40:1, 80:1, 120:1, 160:1, 200:1 (相应 tau/bp 分别为 0, 1:100, 1:50, 1:25, 1:12.5, 1:8, 1:6, 1:5). 保持 DNA 量为 1 μ g, 总体积 30 μ l. 室温放置 30 min. 取 15 μ l, 做 1% 琼脂糖 (EB 5 μ g/L) 凝胶电泳, 电压 100 V, 电泳时间 20 min. 凝胶成像系统照相.

1.4 原子力显微镜检测 tau 蛋白与 DNA 的结合

DNA 为线性双链 pEGFP-N1, DNA 浓度 10 mg/L^[12~15]. 加入 tau 蛋白, 使 tau 与 DNA 的摩尔比为 250:1 (缓冲体系 10 mmol/L Pipes, pH 6.4, 2 mmol/L $MgCl_2$). 室温放置 30 min. 将 tau/DNA (pEGFP-N1) 复合物 10 μ l 滴加到新揭的云母表面. 放置 1 min, 用 200 μ l 双蒸水冲洗 3 次; 氮气吹干 3 min. 应用 Nanoscope MultiMode IIIa 系统进行扫描.

1.5 细胞培养及免疫组化检测

人成神经瘤细胞 SH-SY5Y 在 DMEM/F12 培养基 (青霉素 100 U/ml, 四环素 100 mg/L) 中, 37℃、5% CO_2 孵箱中培养. 培养基中含有 10% 新生牛血清和 5% 马血清. 每三天换液至细胞在 100 mm 培养瓶中形成 70% 融合. 用 10 μ mol/L 视黄酸 (retinoic acid) 和 3 mmol/L 蚜栖菌素 (aphidicolin) 处理 5 天后, 继续以 10 μ mol/L 视黄酸处理 4 周使细胞分化. 消化细胞并种植到实验板上, 在分化培养情况下培养 3 天. 细胞在 37℃ 时用磷酸盐缓冲液洗 2 次后, 在 PIPES (pH 6.8) 缓冲液中以 4% 多聚甲醛室温固定 10 min. 在 100 mmol/L Pipes, 5 mmol/L EGTA, 2 mmol/L

MgCl₂ 缓冲条件下, 用 0.1% Triton X-100 处理 3 min, 以增加细胞的通透性. 磷酸盐缓冲液洗后, 在 50 mmol/L Tris (pH 7.6), 200 mmol/L NaCl 中, 以 3% BSA 封闭 1 h. 细胞以单克隆抗体 Tau-1 (1:50 000) 在湿润环境中孵育过夜. 37℃ 时用磷酸盐缓冲液洗去未结合的单抗. 平板与以 FITC 标记的羊抗鼠 IgG 第二抗体在 37℃ 孵育 1 h, 37℃ 磷酸缓冲液洗 3 次. 盖上盖玻片, 细胞在 Zeiss Axioskop 荧光显微镜上检测并照相^[16].

2 结 果

2.1 tau 蛋白的原核表达及功能鉴定

SDS-PAGE 结果显示, 表达和纯化的人类神经 tau 蛋白基本为单一条带 (图 1a), 尽管在主要条带的前方存在少量的小片段, 但是为了排除这些条带是杂蛋白的污染, 我们采用单克隆抗体 Tau-1 对所表达的蛋白质进行了蛋白质印迹检验 (图 1b). 可以观察到, 这些分子质量较小的蛋白质能与 tau 蛋白抗体结合, 呈现阳性反应, 提示这些小片段是 tau 蛋白的降解产物. 根据 Paudel^[11] 的报道, 神经 tau 分子呈线性构象, 在表达与纯化过程中很容易被降解. 少量的片段不干扰神经 tau 与其他分子的相互作用.

国际上通常采用“微管蛋白聚集”来测定神经 tau 的功能^[17]. 两次聚合-解聚法分离纯化的猪脑微管蛋白 (图 1c) 在 SDS-PAGE 上为单一条带 (50 ku). 以诱导微管蛋白聚集来测定神经 tau 的活性, A_{350} (350 nm 吸光度) 显示微管聚集情况

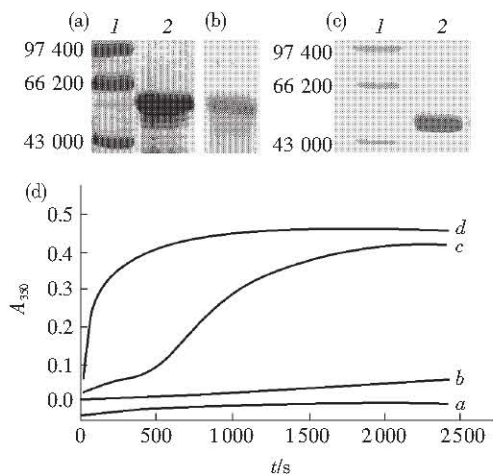


Fig. 1 Identifying the function of prokaryotic expressed human neuronal tau40 by promoting assembly of tubulin *in vitro*

(a) SDS-PAGE analysis of expression and purification of human neuronal tau40 in *E. coli*. (b) tau40 detected by Western-blot using monoclonal antibody Tau-1. (c) Purified tubulin from porcine brain. (d) Assay of tau40 function by promoting assembly of tubulin *in vitro*. a: Tau alone (0.1 g/L); b: Tubulin alone (0.4 g/L); c: Tubulin (0.4 g/L) mixed with tau (0.1 g/L); d: Tubulin (0.4 g/L) with tau (0.2 g/L).

(图 1d). 结果显示, 神经 tau 蛋白的活力与 Williams 等^[17,18] 的报道一致. 相同条件下, 作为对照的神经 tau 或微管蛋白自身均未观察到聚集的现象.

2.2 凝胶阻滞实验证实 tau 与 DNA 相互作用

凝胶阻滞是鉴定蛋白质与 DNA 相互作用的常用方法. 如图 2a 所示, 加入 tau 蛋白后, λ DNA 在琼脂糖凝胶电泳上的迁移率随着 tau 的浓度增大而

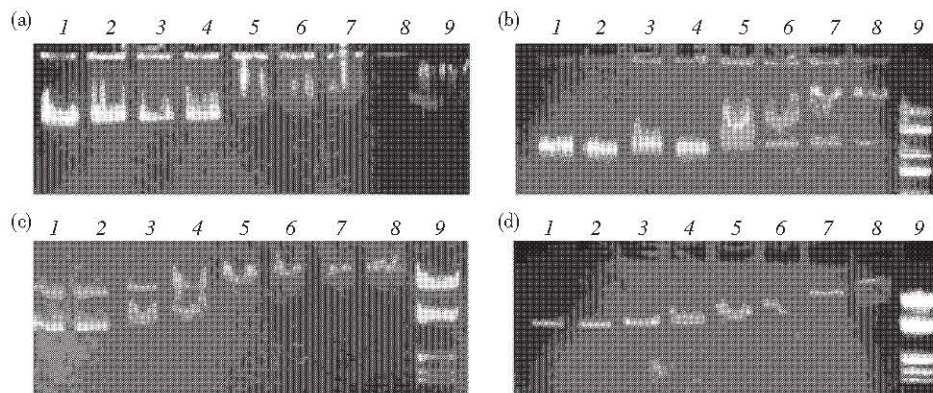


Fig. 2 Detecting the binding of tau protein and DNA by electrophoretic mobility shift assay (EMSA)

(a) Tau was incubated with λ DNA (48 502 bp) at different molar ratios of tau/DNA in lanes from 2 to 8: 125:1, 625:1, 1 250:1, 2 500:1, 5 000:1, 7 500:1, 10 000:1, respectively. Lane 1 and 9 both are λ DNA alone. (b) Tau was incubated with a product from PCR a 1 039 bp-DNA fragment. The molar ratios (tau/bp) in lanes 2~8: 10:1, 20:1, 40:1, 80:1, 120:1, 160:1, 200:1, respectively. Lane 1 is DNA alone and lane 9 is DL2000 DNA marker. (c) Tau was resuspended with a 4 730 bp DNA. The molar ratios (tau/bp) in lanes 2~8: 25:1, 125:1, 250:1, 375:1, 500:1, 625:1, 750:1, respectively. Lane 1 is 4 730 bp DNA alone and Lane 9 is λ DNA (*EcoR* I + *Hind* III). (d) Tau was mixed with a linearized double-stranded DNA (4 730 bp) under the same condition as (c).

减小. 当 tau 蛋白与 DNA 碱基对的摩尔比 (τ/bp) 达到 1:6 ~ 1:10 时, 可以观察到阻滞 DNA 迁移的效应减弱. 采用不同来源的 DNA (4 730 bp 的闭环双链或线性双链质粒 pEGFP-N1 以及 1 039 bp tau-40 cDNA 的 PCR 产物) 作为试验对象, 也观察到了相同结果 (图 4b ~ d). 因此, tau 蛋白与不同来源的 DNA 分子的相互作用是非序列选择性的, 产生凝胶阻滞时 tau 蛋白与碱基

对 (bp) 的摩尔比 (τ/bp) 接近于 1:6 ~ 1:10.

2.3 原子力显微镜检测 tau 与 DNA 的相互作用

如图 3 所示, 在原子力显微镜下, tau 与 DNA (pEGFP-N1) 结合形成串珠样复合物. 神经 tau 蛋白 (直径为 $(28.55 \pm 6.09) \text{ nm}$) 沿着 DNA 双链均匀分布, 形成链状结构. 结合于 DNA 分子上的 tau 蛋白直径远大于 tau 的单体 ($7 \sim 8 \text{ nm}$), 推测神经 tau 以多聚体的方式与质粒 DNA 结合.

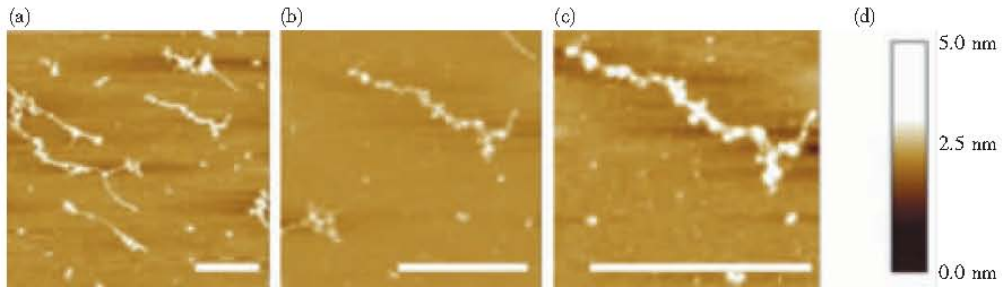


Fig. 3 The binding of tau to plasmid DNA pEGFP-N1 observed with AFM

Tau was resuspended with pEGFP-N1 (10 mg/L) at a molar ratio (τ/bp) of 250:1 for 10 min before observed by AFM. Panels (a), (b) and (c) show the different scales of the same area. Panel (d) shows the height of particles. The bar is 500 nm in panel (a), (b) and (c).

2.4 Tau 蛋白在 SY5Y 细胞中的定位

为验证 tau 蛋白在细胞内与 DNA 存在相互作用的可能性, 通过免疫组化的方法将 tau 蛋白在细胞内的亚细胞部位定位. 首先通过诱导分化培养, 使 SY5Y 细胞表现明显神经突及分支的多极分化过程. 以单克隆抗体 Tau-1 为第一抗体, FITC 标记的羊抗小鼠 IgG 为二抗进行免疫组化. 如图 4 所示, tau 蛋白在细胞核内呈密集状分布, 而在细胞胞浆中为均匀分布. 提示神经 tau 可能在细胞核中发挥一定作用, 但其作用的机制需要进一步研究.

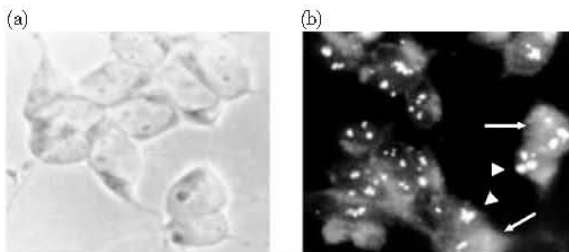


Fig. 4 Distribution of neuronal tau protein in SY5Y cells

(a) SY5Y cells under light microscope. (b) Immunofluorescence staining of SY5Y cells. Neuronal protein tau was detected using monoclonal antibody Tau-1 and a FITC-conjugated secondary antibody. Discrete small dots (arrowhead) can be observed in the nuclear and diffuse staining (arrow) can also be observed in cytoplasm.

3 讨 论

人类神经 tau 蛋白是一种多功能蛋白, 在装配及稳定微管系统的功能之外, 还发挥重要的生物学功能. Tau 参与微管系统与细胞器之间的相互作用, 如微管与线粒体, 微管与核膜的相互作用^[19]. 另外, tau-441 分子脯氨酸丰富区可以与 src 家族的非受体型酪氨酸蛋白激酶 (如 fyn) 的 SH3 区结合^[20]. Jenkins 等^[21]发现, 在 tau 蛋白的脯氨酸丰富区中的基序为₂₃₁ Thr-Pro-Lys-Ser-Pro-Ser₂₃₇ 片段与 SH3 结合, 脯氨酸丰富区也与磷酸酶 C- γ (PLC- γ) 发生作用, 并不受花生四烯酸的影响, 暗示 tau 在 PLC- γ 相关的信号转导中也发挥一定的作用. Tau 是一种多功能蛋白质的事实逐渐被愈来愈多的国内外同行所接受, 对其多功能性的研究将形成神经 tau 在相关领域中新的研究热点.

Tau 蛋白不仅存在于胞浆内, 还广泛存在于细胞核中, 特别是核仁组织区. 特殊的定位, 提示 tau 蛋白可能与核酸存在着相互作用. 本实验室近几年的研究发现, tau 蛋白能够与不同来源的双链 DNA 以序列非特异性结合, 同时 tau 能够提高 DNA 的 T_m 值, 在温度升高时保护 DNA 的双链结构, tau 还可以保护 DNA 免受氧自由基的攻击. 在

此基础上, 我们采用原子力显微镜 (AFM) 来观察 tau 与 DNA 的相互作用, 该方法可以不经过复杂的处理, 直接在纳米水平观察样品, 因而在实时、自然状态下观察生物大分子, 在生物大分子之间的相互作用, 生物大分子 (如核酸、蛋白质、多糖以及质膜) 的结构以及功能的研究中发挥重要作用. 本研究发现, tau 蛋白与 DNA 呈串珠样结合. 这种成串的结构与 Travers 等^[15]提出的 DNA 分子伴侣十分类似. Tau 与不同来源、不同长度的双链 DNA 结合. Tau 蛋白与 DNA 碱基对摩尔浓度比为 1:6 ~ 1:10 时, tau 与 DNA 的结合达到饱和. 由此推测, 若 tau 蛋白以单体形式与 DNA 结合, 那么, tau 蛋白最短可与 6 ~ 10 bp 长的核苷酸片段结合. 但是, 不排除 tau 蛋白以多聚体的形式与 DNA 结合的可能性. 本实验在原核细胞表达并纯化具有生物学活性的重组神经 tau 蛋白, 证实 tau 蛋白大量存在于 SY5Y 细胞系的细胞核内, 并且呈密集状态分布. 同时凝胶阻滞实验充分证实 tau 能与 DNA 结合, 原子力显微镜的直接观察结果也证实这一点. 暗示神经 tau 在细胞核中参与了某种重要的生物学功能.

致谢 感谢纽约州立发育障碍基础研究所 (New York State Institute for Basic Research in Developmental Disabilities) 的 Dr Haque 与本文作者共同进行细胞免疫组化实验; 感谢该研究所龚成新博士提供 tau 蛋白单克隆抗体 Tau-1.

参 考 文 献

- Weingarten M D, Lockwood A H, Hwo S Y, *et al.* A protein factor essential for microtubule assembly. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1975, **72** (5): 1858 ~ 1862
- Hutton M, Lendon C L, Rizzu P, *et al.* Association of missense and 5'-splice-site mutations in tau with the inherited dementia FTDP-17. *Nature*, 1998, **393** (6686): 702 ~ 705
- Loomis P A, Howard T H, Castleberry R P, *et al.* Identification of nuclear tau isoforms in human neuroblastoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, **87** (21): 8422 ~ 8426
- Greenwood J A, Johnson G V. Localization and in situ phosphorylation state of nuclear tau. *Exp Cell Res*, 1995, **220** (2): 332 ~ 337
- Hua Q, He R Q. Tau could protect DNA double helix structure. *Biochim Biophys Acta*, 2003, **1645** (2): 205 ~ 211
- Hua Q, He R Q, Haque N, *et al.* Microtubule associated protein tau binds to double-stranded DNA but not single-stranded DNA. *Cell Mol Life Sci*, 2003, **60** (2): 413 ~ 421
- Hua Q, He R Q. Effect of phosphorylation and aggregation on tau binding to DNA. *Protein Pept Lett*, 2002, **9** (4): 349 ~ 357
- 田瑞, 曲梅花, 刘纘, 等. 神经 tau 聚集物诱导乳酸脱氢酶的失活与构象变化. *生物化学与生物物理进展*, 2004, **31** (7): 595 ~ 599
- Tian R, Qu M H, Liu Y, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2004, **31** (7): 595 ~ 599
- Williams R C Jr, Lee J C. Preparation of tubulin from brain. *Methods Enzymol*, 1982, **85**: 376 ~ 385
- Yuan A M, Wadsworth P. Region-specific microtubule transport in motile cells. *J Cell Biol*, 2000, **151** (5): 1003 ~ 1012
- Paudel H K. The regulatory Ser262 of microtubule-associated protein tau is phosphorylated by phosphorylase kinase. *J Biol Chem*, 1997, **272** (3): 1777 ~ 1785
- 陈德亮, 李辉, 韩宝善, 等. 高碱性 pH 诱导紫膜片层表面结构变化的原子力显微镜直接观测. *生物化学与生物物理进展*, 2003, **30** (5): 711 ~ 714
- Chen D L, Li H, Han B S, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2003, **30** (5): 711 ~ 714
- Green L. Atomic force microscopy can detect the binding of yeast replication factor C to DNA. *Nano Letters*, 2003, **3** (1): 39 ~ 41
- Sekiguchi H, Okajima T, Arakam H, *et al.* Frequency shift feedback imaging in liquid for biological molecules. *Applied Surface Science*, 2003, **210** (1): 61 ~ 67
- Travers A A, Ner S S, Churchill M E. DNA chaperones: a solution to a persistence problem?. *Cell*, 1994, **77** (2): 167 ~ 169
- Haque N, Tanaka T, Iqbal K, *et al.* Regulation of expression, phosphorylation and biological activity of tau during differentiation in SY5Y cells. *Brain Res*, 1999, **838** (1 ~ 2): 69 ~ 77
- Tseng H C, Lu Q, Henderson E, *et al.* Phosphorylated tau can promote tubulin assembly. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, **96** (17): 9503 ~ 9508
- Smith M J, Crowther R A, Geodert M. The natural osmolyte trimethylamine N-oxide (TMAO) restores the ability of mutant tau to promote microtubule assembly. *FEBS*, 2000, **484** (3): 265 ~ 270
- Rendon A, Jung D, Jancsik V. Interaction of microtubules and microtubule-associated proteins (MAPs) with rat brain mitochondria. *Biochem J*, 1990, **269** (2): 555 ~ 556
- Lee G, Newman S T, Gard D L, *et al.* Tau interacts with src-family non-receptor tyrosine kinases. *J Cell Sci*, 1998 (Pt 21), **111**: 3167 ~ 3177
- Jenkins S M, Johnson G V. Tau complexes with phospholipase C-gamma *in situ*. *Neuroreport*, 1998, **9** (1): 61 ~ 71

Interaction of Human Neuronal Protein tau With DNA *

QU Mei-Hua^{1,3)}, LI Hui^{2,3)}, XU Yan-Juan^{1,3)}, HE Rong-Qiao^{1,3)} **

⁽¹⁾ *Laboratory of Visual Information Processing, Centre for Brain and Cognitive Science,
Institute of Biophysics, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 1000101, China;*

²⁾ *State Key Laboratory of Magnetism, Institute of Physics and Center for Condensed Matters,
The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China;*

³⁾ *Graduate School, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)*

Abstract Electrophoretic migration shift assay shows that human neuronal tau can bind to λ DNA, plasmid DNA and DNA fragment of PCR product from human cDNA. One mole of neuronal tau binds to a fragment of 6 ~ 10 bp nucleotides. Under atomic force microscope, a necklace complex of tau-DNA has been directly observed. Experiments in immunohistochemistry with a monoclonal antibody Tau-1 exhibit condense nuclear staining of tau as well as diffuse cytoplasmic staining of tau. It suggests that neuronal tau plays an important role in nucleus.

Key words human neuronal tau, DNA, interaction, atomic force microscopy (AFM)

* This work was supported by grants from The National Natural Sciences Foundation of China (90206041, 30170297) and The Key Foundation of The Chinese Academy of Sciences (KSCX2-SW214-1).

** Corresponding author. Tel: 86-10-64889876, E-mail: herq@sun5.ibp.ac.cn

Received: May 13, 2004 Accepted: June 30, 2004

《中国药学文摘》征订启事

《中国药学文摘》、中国药学文摘数据库网络版、光盘（2005 年）

中国药学文献数据网络系统即《中国药学文摘》刊物、数据库网络版、数据库光盘是国家科技部重点扶植、国家食品药品监督管理局主管的我国药学文献大型检索和查询系统。该系统于 1981 年创建，主要收载国内外公开发行的 700 余种医药学及相关学科期刊中的药学文献，以文摘、简介、题录等形式进行报道。

该系统内容涵盖药学各个领域，共设十二个栏目：药理学理论与发展动态、生药学和中药材、药物化学、药物生产技术、药剂学和制剂技术、药理学和毒理学、生物药剂学、药物分析、临床应用与药物评价、药品管理、制药设备和工厂设计及包装、药品和新药介绍等。该系统拥有近 32 万多条数据，本数据库每年以 3 万多条数据递增，且内容丰富，查询方便，可为医药生产、科研、教学、流通、医院药房、药店、情报和管理机构服务。该系统采用全新的系统结构和快速检索的新标引法，实现了对大容量、大范围全文本信息资料的零等待智能快速查询。根据实际工作需要，实现了库、刊、网为一体的服务系统，大大提高了查全率和查准率，即可全文检索，又可从文献类型、主题词、关键词等 12 个入口检索、查询。读者可分别从网络、光盘、文本三种途径查到所需要的文献。该系统曾获国家科技进步三等奖，文本版即国内外公开发行的杂志《中国药学文摘》曾多次获得有关部委的奖励（国家科委、国防科工委、中国科学院、中国科协、国家自然科学基金会五大部委的全国科技信息系统优秀成果二等奖、全国科技检索期刊一等奖、第二届全国优秀科技期刊评比三等奖、全国医药情报成果二等奖、第二届国家期刊奖百种重点期刊奖）。

《中国药学文摘》为月刊，内容同中国药学文摘数据库，16 开本，每期 260 页左右，每期约 65 万字，全年 476 元。