■ 7章 ■

1. RNA ポリメラーゼの阻害剤は，RNA プライマーの合成を妨げることによりラギング鎖の合成を阻害するが，リーディング鎖の合成には影響しない．
2. 3′ から 5′ へのエキソヌクレアーゼ活性は，校正の際に新しく合成された DNA 鎖の中の不適正切塩基を切除するのに必要である．この活性を欠損した DNA ポリメラーゼⅢをもつ大腸菌変異株は，DNA が複製されるたびに高い頻度で変異が起こると考えられる．
3. テロメラーゼが阻害されると，直鎖状の染色体の両末端の合成が阻害されるので，真核細胞では複製が繰返されるたびに末端が失われて染色体が短くなってしまう．細菌はゲノムが環状なのでテロメラーゼ阻害剤の影響を受けない．
4. 色素性乾皮症が高頻度で起こるのは太陽光の紫外線照射による DNA 損傷のためで，この種の損傷ではヌクレオチド除去修復系による修復が起こる．内臓のがんで発症率が皮膚がんほど高くないのは，同様の損傷の頻度は内臓では低いためで，内臓のがんのほとんどは，たとえば DNA 複製の際の不適正塩基の挿入といった別の種類の変異によることが示唆される．
5. 損傷の上流にすでに存在している DNA 鎖が，損傷部位の相補鎖を鋳型とした DNA 合成のプライマーとしてことができるため，プライマーゼは不要である．
6. ヌクレオチド除去修復では，損傷部位を含むオリゴヌクレオチドが除去できるように DNA をほどく必要があるため DNA ヘリカーゼが必要であるが，1 ヌクレオチドのみ除去する塩基除去修復では必要でない．
7. DNA の校正活性がないと誤りの頻度は 100～1000 倍増加し，ミスマッチ修復系がないと正確さはさらに約 100 倍減少する．これらが組合わさって欠損すると，正確さは約 100,000 倍減少し，結果として誤りの頻度は，正常な細胞の 10^{-9} 以下に対して 10^{-5}～10^{-4} となる．
8. このマウスは，免疫グロブリン遺伝子と T 細胞受容体遺伝子の再編成ができないため，B 細胞も T 細胞もともに欠損し，免疫不全となる．
9. T 細胞では起こらない体細胞超変異が B 細胞では起こるので，B 細胞の免疫グロブリン遺伝子には，その分だけより多く多様性が生じる．
10. 標的酵素をコードしている遺伝子がしばしば増幅される．このような場合，その酵素が高生産され，それを阻害する薬剤の効果がなくなるため．

Key Experiment　テロメラーゼは逆転写酵素である

RNase で処理すると，テロメラーゼ活性がなくなることが予想される．

Molecular Medicine　大腸がんと DNA 修復

ミスマッチ修復は，DNA 複製中に生じた誤りを修復するので，ミスマッチ修復の欠損は構成している細胞が分裂する組織にのみ影響を与える．

データ解析問題 7　SV40 T 抗原の酵素活性

1. [α-^{32}P]標識 dNTP 混合物は，新しく合成された DNA 分子を標識するために使われた．[β-^{32}P]標識 dNTP 混合物も[γ-^{32}P]標識 dNTP 混合物も，リン酸ジエステル結合が dNTP の α リン酸基（デオキシリボースの 5′ 炭素原子に一番近いリン酸基）と上流の dNTP の 3′ ヒドロキシ基の間に形成される際，β リン酸基も γ リン酸基も二リン酸として遊離してしまうため使えない．
2. ddGTP は新しく合成される DNA 分子に挿入されるが，ddNTP にはデオキシリボースの 2′ 位と 3′ 位の両方とも OH 基がないため，次のヌクレオチドとの間にリン酸ジエステル結合が形成できず，結果として DNA 合成が終結する．この実験では，標識した dNTP 混合物と少量の ddGTP が入っているので，結果として異なる鎖長の DNA 分子が合成される．
3. 熱変性により鋳型鎖が新しく合成された DNA 分子から解離する．オートラジオグラフ上では，新しく合成された標識された DNA のみが観察される．この反応液中には ddGTP が少量しか含まれないので，結果として複数の異なる DNA 断片が合成される．
4. 反応液に SV40 T 抗原を加えて反応させると（試料 3），熱変性したとき（試料 1）にできる断片と同じ断片が合成されたので, SV40 T 抗原は二本鎖 DNA 分子中の水素結合を切る DNA ヘリカーゼ活性をもっていることがわかる．