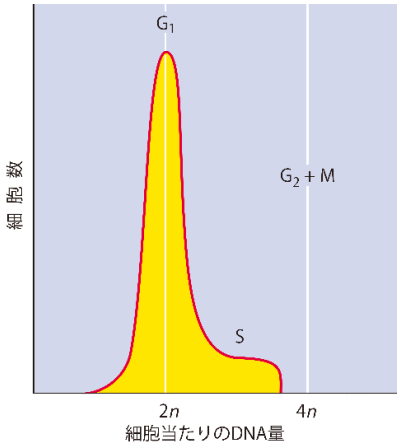
■ 18 章 ■

1. DNA 合成の阻害は，細胞を S 期に停止させる．6 時間の待機中，細胞は G_2/M 期から有糸分裂を経て G_1 期に移行したため，すべての細胞は G_1 期または S 期のいずれかに停止する．6 時間の待機時間がなければ，通常の細胞周期と同じプロファイルになる．



2. p16 を過剰発現させると，Rb のリン酸化を阻害することにより，制限点での細胞周期の進行が阻害される．機能的な Rb をもたない細胞には影響を及ぼさない．
3. この miRNA はサイクリン D の発現を抑えるので，増殖因子の刺激に応じてその発現が減少することが期待される．
4. 変異した Rb はもはやリン酸化によって不活性化されないため，細胞周期の進行を阻害することになる．
5. Wee1 は Cdk1 をリン酸化して阻害し，細胞周期の進行を抑制する．Wee1 を阻害すると，これらのチェックポイントの動作が停止する．
6. 核内膜の崩壊には，核ラミンのリン酸化が必要である．Cdk1 のリン酸化部位を欠く変異型ラミンを発現させると，核膜の崩壊が阻害される．
7. たとえば，セリンをアラニンに変えるなどして，タンパク質 S のリン酸化部位を変異させ，その変異体を発現させた細胞で有糸分裂が起こるかどうかを調べることができる．また，変異体の影響を検出するために，siRNA を使って正常なタンパク質 S をノックダウンする必要があるかもしれない．
8. 後期は正常に開始される．しかし，Cdk1/サイクリン B は活性化されたままなので，核の再形成，染色体の脱凝集，細胞質分裂は起こらない．

Key Experiment　MPF の発見

他の細胞では，プロゲステロンは細胞内の受容体を活性化するので，増井と Markert の対照実験では，プロゲステロンを注入することで減数分裂が誘発されたはずである．

Key Experiment　サイクリンの同定

受精後の卵母細胞を mRNA の合成を阻害する薬剤（アクチノマイシン D など）で処理して，サイクリンが合成されるかどうかを調べる．もしサイクリンが合成されていれば，新しい転写は阻害されているので，貯蔵された母性 mRNA から合成されたことになる．

データ解析問題 18　サイクリン D1 と細胞周期の進行

1. BrdU はチミジンアナログで，複製の際に新しく合成された DNA 分子に取込まれる．BrdU は，S 期の細胞を標識するために使用された．
2. 0～14 時間の間，サイクリン D1 陽性細胞の割合は徐々に増加し，培養期間終了時には 10% 以下にまで減少する．それらの細胞は G_1 期である．反応の約 12 時間後には，BrdU 陽性細胞の数が増加し始め，その後 24 時間まで連続的に上昇する．これらの細胞は S 期である．
3. Hoechst は蛍光性の DNA 結合色素で，すべての核を染色する（DNA が含まれていると仮定した場合）．サイクリン D1 レベルは G_1 期に増加するため，この期の細胞は抗サイクリン D1 抗体の染色で陽性となる．抗 BrdU 抗体は，S 期の細胞のみを染色する．サイクリン D1 と BrdU の染色パターンは逆で，サイクリン D1 陽性の細胞は BrdU には陽性にならず，その逆も同様である．