■ 19 章 ■

1. 繊維芽細胞の増殖と移動は，血小板からの PDGF の放出によって活性化される．PDGF は受容体チロシンキナーゼを介して作用するため，チロシンキナーゼ阻害剤は傷の修復を妨げることになる．
2. 腸幹細胞は生涯にわたって増殖するため，DNA 複製の際に染色体の末端を維持するために高レベルのテロメラーゼが必要となる．肝細胞は損傷に応じて数回の分裂を繰返すだけなので，高レベルのテロメラーゼは必要ない．
3. 新しい転写因子に対する抗体を用いたクロマチン免疫沈降.
4. X 因子はヒストンデアセチラーゼと関連していることから，標的遺伝子のリプレッサーであると考えられる．幹細胞で高発現していることから，分化を誘導する遺伝子のプロモーターに結合し，これらの遺伝子を抑制状態に保つことが予想される．
5. Ced-3 は線虫の唯一のカスパーゼである．これを変異させると，発生過程で通常はアポトーシスによって死滅するはずのすべての細胞が生存するようになり，Ced-3 に対する siRNA でも同様の効果が得られる．
6. アポトーシス時の核の断片化には，カスパーゼによる核ラミンの切断が必要である．変異した核ラミンは，カスパーゼによって切断されないため，その発現は核の断片化を阻害する．
7. 共免疫沈降法を使って，どのような他の Bcl-2 ファミリーメンバーが Bxx と関連しているかを調べることができる．正常な細胞で Bxx が抗アポトーシスタンパク質と結合しているとすれば，Bxx はアポトーシス促進エフェクタータンパク質であり，その作用は抗アポトーシスの Bcl-2 ファミリーメンバーによって阻害されていると考えられる．
8. 変異した Bad は，14–3–3 タンパク質によって不活性な状態に維持されなくなるので，アポトーシスを誘導するように作用する．

Key Experiment　胚性幹細胞の培養

心筋細胞に特異的に発現しているタンパク質に対する抗体を使って，そのタンパク質が分化した胚性幹細胞に発現しているかどうかを調べる．

Key Experiment　プログラム細胞死に必要な遺伝子の同定

ced-3 が変異しているので，細胞はカスパーゼを欠き，アポトーシスをひき起こすことができない．*ced-9* の追加変異（それだけではカスパーゼの恒常的な活性化につながる）は，*ced-3* がない場合には何の影響も与えない．

データ解析問題 19　増殖因子によってアポトーシスを抑制する際の Ras の役割

1. このゲルを放射性 ATP に浸し，*in vitro* で ERK の活性を調べた．ERK が活性化すると，放射性物質である γ–リン酸を ATP からゲルに重合した基質に転移させる．リン酸化された基

質は，オートラジオグラフィーによって検出される．

2. NGF 処理は ERK を活性化する．対照試料（試料 1）では，ERK は活性化されていないが，NGF 処理試料（試料 2）では，ERK が標的タンパク質であるミエリン塩基性タンパク質をリン酸化し，リン酸化されたミエリン塩基性タンパク質がオートラジオグラフ上で黒いバンドとして現れていることがわかる．
3. NGF は，対照の PC12 細胞（試料 2）では ERK を活性化するが，ドミナントネガティブの Ras 変異タンパク質を発現する細胞株（試料 4）ではこの活性化がみられない．したがって，NGF による ERK の活性化には Ras が必要である．
4. 血清飢餓状態の期間に，細胞を増殖因子を欠いた培地で培養する．24 時間後にアポトーシスが起こり，アガロースゲル電気泳動で断片化した DNA 分子の梯子状のバンドパターンで示される．
5. 試料 3〜5 では DNA の断片化がみられないことから，増殖因子が PC12 細胞を血清飢餓によるアポトーシスから守っていると考えられる．
6. ホルボールエステル処理によるプロテインキナーゼ C 経路の刺激は，血清飢餓によるアポトーシスからの保護を消失させる．試料 2 では，試料 1 と同じ DNA 断片化パターンが検出された．
7. 増殖因子処理は，対照の PC12 と PC12（dnRas）細胞の両方で，細胞をアポトーシスから守る．したがって，Ras は増殖因子を介したこれらの細胞の生存には必要ない．