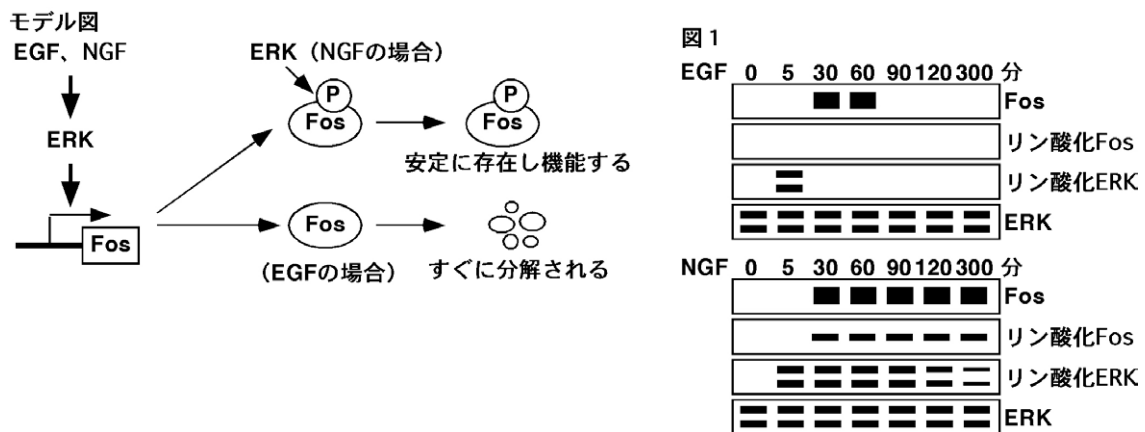


問題6 (生物学)

ERK/MAP キナーゼは、細胞の増殖／分化に重要な役割を持つことが知られている。例えば、EGF 刺激などによる ERK の一時的な活性化は細胞増殖を引き起こし、NGF 刺激などによる ERK の持続的な活性化は細胞分化を引き起こす。細胞が ERK の活性化状態をモニターする方法として、早期誘導因子 Fos が分子センサーとして働いている可能性が考えられている (モデル図)。EGF や NGF による ERK の活性化によって、Fos が誘導され細胞に蓄積する (30-60 分)。誘導され蓄積した Fos は、ERK によってリン酸化されると安定に存在するが、リン酸化されないとすぐに分解されてしまう。つまり、ERK が持続的に活性化している場合 (NGF の場合)、蓄積してきた Fos がリン酸化され安定に存在し機能する。以上の点を踏まえ、以下の問いに解答せよ。



細胞を EGF 及び NGF でそれぞれ刺激し、細胞溶解液を抗 Fos 抗体、抗リン酸化 Fos 抗体、抗 ERK 抗体、抗リン酸化 ERK 抗体を用いて、ウエスタンブロッティングを行った。その結果、図1に示したようなバンドのパターンが検出できた。

問1) 図1で、EGF 刺激により抗リン酸化 Fos 抗体によって検出されるバンドが全く現れないのはなぜか、答えよ。

問2) Fos のリン酸化が ERK によるものであるかどうか確かめる実験を、二つ以上答えよ。

問3) PC12 細胞を NGF で刺激すると、細胞は分化をおこし神経突起が伸長することが知られている。Fos のリン酸化部位のアミノ酸を酸性アミノ酸に置換した変異体を作製し、PC12 細胞に発現させたが、神経突起の伸長はみられなかった。その理由として考えられる可能性を、二つ答えよ。