

次の文章が当てはまれば○、間違えを含む場合は訂正しなさい

#### H27.4.13 分

- (1) 細胞の大きさは通常数十 nm である
- (2) タンパク質の大きさは通常数  $\mu\text{m}$  である
- (3) アミノ酸は通常 L 型のコンホメーションをとる
- (4) タンパク質の表面は通常親水性である
- (5) D 体のアミノ酸は天然に存在しない
- (6) セリンは非極性のアミノ酸である

#### H27.4.20 分

- (1) 2つのシステインが酸化されて形成される化学結合の名前を答えなさい
- (2) 水酸基を持つすべてアミノ酸の構造を書きなさい
- (3) 酸性アミノ酸をすべて1文字表記で答えなさい
- (4) 芳香族に分類される（芳香環を持つ）すべてのアミノ酸を1文字表記で答えなさい
- (5) 疎水性アミノ酸をすべて3文字表記で答えなさい

#### H27.4.27 分

- (1) 代表的な脂肪酸付加反応にステアリン酸付加がある
- (2) 膜タンパク質の糖鎖修飾は、通常タンパク質の細胞内領域に多い
- (3) チューブリンで見られるアミノ酸の翻訳後修飾にヒドロキシプロリンがある
- (4) タンパクファミリーではタンパク質のアミノ酸が60%以上保存されていると同じような高次構造をとる
- (5) プリオン病の主な原因はプリオンタンパク質の遺伝子変異である

#### H27.5.11 分

- (1) 代表的な脂肪酸付加反応にステアリン酸付加がある
- (2) 膜タンパク質の糖鎖修飾は、通常タンパク質の細胞内領域に多い
- (3) チューブリンで見られるアミノ酸の翻訳後修飾にヒドロキシプロリンがある
- (4) 遺伝子の領域で mRNA に反映されない部分をエクソンという

(5) 通常、さまざまな組織・細胞では mRNA のパターンは一定である

#### H27.5.18 分

- (1) タンパク質は細胞内と核内を自由に行来できる
- (2) すべてのタンパク質は細胞質（側）で合成される
- (3) シグナル配列（ER の内腔側に取り込まれるために必要なアミノ酸配列）中には親水性のアミノ酸残基のクラスターが存在する
- (4) 膜タンパク質の場合、糖鎖付加は細胞質側に多い
- (5) ミトコンドリアへのタンパク質の選別輸送は小胞輸送を介して行われる

#### H27.5.25 分

- (1) 抗体はマクロファージにより産生される
- (2) 免疫を行った場合、最初に出現してくる抗体のサブクラスは IgA である
- (3) IgA は 2 価である
- (4) マスト細胞上には IgD に対する特異的受容体が存在する
- (5) 抗体医薬は副作用のリスクが非常に高い
- (6) 細胞内のすべての細胞の遺伝子 DNA 配列は同一である

#### H27.6.1 分

- (1) 抗体はマクロファージにより産生される
- (2) 免疫を行った場合、最初に出現してくる抗体のサブクラスは IgA である
- (3) IgA は 2 価である
- (4) マスト細胞上には IgD に対する特異的受容体が存在する
- (5) 抗体医薬は副作用のリスクが非常に高い
- (6) 細胞内のすべての細胞の遺伝子 DNA 配列は同一である
- (7) ミルク中の IgA 抗体はトランスサイトシスにより乳児の腸管から体内に取り込まれ、乳児を感染症などから守る

#### H27.6.8 分

- (1) B細胞は通常複数の種類の抗体を産生する
- (2) 細胞融合法でモノクローナル抗体を作成する場合、B 細胞とミエローマと呼ばれる B 細胞のがん細胞を融合す

- (3) ファージディスプレイ法では基本的にすべての種の抗原に対して抗体を作成できる
- (4) SDS-PAGE ではタンパク質はマイナス (-) 極に向かって泳動される
- (5) Western blot を用いるとタンパク質の形がわかる
- (6) ゲルろ過法では小さな分子が先に溶出する
- (7) イオン交換カラムでは、物質はその大きさによって分画される

#### H27.6.15 分

- (1) SDS はタンパク質を編成させ (+) に帯電させる
- (2) アミノ酸は溶けているバッファの pH により電荷が異なる
- (3) イースタンブロットでは細胞や組織ごとのタンパク質の発現量がわかる
- (4) エドマン分解法ではタンパク質の C 末端のアミノ酸がわかる
- (5) 免疫抗体法を用いると、タンパク質の細胞、細胞内オルガネラでの分布を知ることができる
- (6) セルソーターを用いると細胞を分画することができる

#### H27.6.29 分

- (1) セントラルドグマでは RNA の情報が DNA になる
- (2) RNA が DNA に変換されることは無い
- (3) 制限酵素は特定の配列の RNA を切断する
- (4) mRNA を転写した DNA を cDNA という
- (5) 遺伝子の発現を制御する DNA 配列にプロモーターやエンハンサーがある
- (6) mRNA のレベルはすべての組織、細胞で同一である

#### H27.7.6 分

- (1) RT-PCR では PCR の鋳型として cDNA を用いる
- (2) DNA や RNA はゲル電気泳動で分離できる
- (3) 制限酵素 **EcoRI** は **GAAATC** の塩基配列を認識し切断する
- (4) DNA の塩基配列決定法 (サンガー法) では、通常のアデオキシリボヌクレオチドに加え、リボヌクレオチドを用いる
- (5) 核酸は変性しても元の構造に戻る
- (6) RT-PCR やノーザンブロッティングは組織・細胞中の DNA 量を調べる手

法である

7月27日分（難しいようなので、解答と解説を付けました）

ヒト EGF 受容体を認識するマウス抗ヒト EGF 受容体モノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ細胞を持っているこの細胞を利用し、ヒト IgG を母体にしたヒト化抗ヒト EGF 受容体モノクローナル抗体を遺伝子工学的に作製したいその手順を追って説明しなさい

- (1) ハイブリドーマ細胞から RNA を単離する
- (2) RNA を逆転写酵素で cDNA に変換する
- (3) マウス抗体特異的な DNA プライマーを用い、マウス抗体遺伝子を増幅する
- (4) ヒト IgG cDNA の定常領域とマウス抗体可変領域を融合させたヒト-マウスキメラ抗体をコードする遺伝子を哺乳類用発現ベクターに挿入する
- (5) (3), (4)の操作を重鎖、軽鎖ともに行う
- (6) 重鎖、軽鎖をコードする cDNA の遺伝子配列をサンガー法で確認後、正しい配列の発現ベクターを哺乳類細胞に導入し、その培養上清を回収すると、培養上清にキメラ抗体（ヒト化抗ヒト EGF 受容体モノクローナル抗体）が含まれている
- (7) プロテインAカラムクロマトグラフィーなどのアフィニティークロマトグラフィーを用い抗体分子を精製する

ポイント

- ・イントロンを含む抗体遺伝子そのものは非常に分子量が大きいので容易に取り扱うことは困難であるよって遺伝子操作は mRNA の配列情報を含む cDNA で行う
- ・まず、逆転写酵素によって mRNA を cDNA に変換する
- ・この状態では、cDNA にはハイブリドーマ細胞に発現する多くの mRNA 由来の cDNA を含んでいるので、次に、PCR により抗体遺伝子（重鎖、軽鎖ともに）を増幅させる
- ・抗体の抗原認識部位は抗体の N 末端（遺伝子では 3'）側に存在する可変領域に含まれるそこで、抗体遺伝子の可変領域（マウス由来）とヒト IgG 遺伝子の定常領域をそれぞれ PCR で増幅し、キメラヒト IgG cDNA を作製する

- タンパク質を発現させるためには、遺伝子（cDNA）を発現ベクター（タンパク質を発現させるためのプラスミド）に導入する必要がある抗体の場合には哺乳類用の発現ベクターを用いる
- 発現ベクターに入ったキメラ cDNA ができたら、それを哺乳類細胞に導入する
- 転写後の翻訳は、どの細胞でも起きる
- 最終的に、発現ベクターを導入した哺乳類細胞の培養上清を集めれば、この中に目的の抗体が含まれる