

## 平成18年度弁理士試験論文式筆記試験問題

## [生物化学]

1. 哺乳類細胞に発現する糖認識タンパク質Aの生体内における発現分布について検討した。以下の問題文を読み、下線部に関する設問に答えよ。

【30点】

タンパク質Aを大腸菌の組換え型タンパク質として大量に発現させた。大腸菌封入体から抽出したタンパク質をリフォールディングさせたのち、さらにアフィニティークロマトグラフィーによって単一標品に精製した。この標品をラットに免疫し、免疫した動物の血清（抗血清）から免疫グロブリン分画を調製した。また同じラットの脾細胞からB細胞ハイブリドーマを作製し、上述の組換え型タンパク質を用いたELISAによりモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマを選択した。

得られた抗体を用いてタンパク質Aの生体内における発現分布を免疫組織学的に検討したところ、リンパ節に強く発現していることがわかった。

- (1) 糖認識タンパク質Aは単糖であるガラクトースに結合する。この場合のアフィニティークロマトグラフィーの実験手順を、以下の語句をすべて用いて5行以内で説明せよ。用いた語句には下線を引くこと。

[ガラクトース固相化ビーズ      ガラクトースを含む緩衝液  
ガラクトースを含まない緩衝液      吸光度]

- (2) 同じ動物に由来する「抗血清由来の免疫グロブリン分画」と「モノクローナル抗体」はどのような性質の違いをもつか。3行程度で説明せよ。
- (3) 組換え型タンパク質Aを用いたELISAの実験手順を、以下の語句をすべて用いて5行程度で説明せよ。用いた語句には下線を引くこと。

[組換え型タンパク質A      ブロッキング      ハイブリドーマの培養上清  
二次抗体      酵素]

- (4) リンパ節の免疫系における役割について2行以内で説明せよ。

2. 以下は脂質および脂溶性ビタミンの生理的役割に関する記述である。空欄( )から( )に適切な語を入れよ。ただし、同じ番号には同じ語が入る。

【20点】

- (1) 哺乳類の細胞膜を構成する主要な脂質は、リン脂質、( )と( )の3種類に分類される。リン脂質にはグリセロール骨格を持つもの、スフィンゴシン骨格をもつものが知られている。( )もスフィンゴシン骨格をもち、とくにシアル酸をもつものはガングリオシドと呼ばれている。( )は細胞膜の構成成分であるほか、胆汁酸、副腎皮質ホルモン、性ホルモン、ビタミンDなどの生合成の前駆体としても利用されている。
- (2) 膜リン脂質からホスホリパーゼA<sub>2</sub>の働きにより( ) (脂肪酸：炭素数 20、不飽和度 4) が遊離されると、これを材料として( )、トロンボキサン、ロイコトリエンなど、炎症に関与する生理活性脂質が産生される。
- (3) グリセロリン脂質のうちホスファチジルイノシトールの代謝産物はシグナル伝達への関与がよく調べられている。例えば、ホスファチジルイノシトール 4,5-二リン酸がホスホリパーゼCの働きにより分解されると、( )とイノシトールトリスリン酸(IP<sub>3</sub>)が生成する。( )はプロテインキナーゼCを活性化することにより、IP<sub>3</sub>は小胞体から( )イオンを細胞内に放出させ、細胞内( )イオン濃度を上昇させることにより下流にシグナルを伝達するセカンドメッセンジャーである。また、癌抑制遺伝子産物として知られている( )はホスファチジルイノシトール代謝産物に作用する脂質ホスファターゼである。
- (4) 脂溶性ビタミンのうち( )は血液凝固系タンパク質に見いだされる修飾アミノ酸-カルボキシグルタミン酸の生成に必要である。( )が欠乏すると血液凝固反応が遅延し、出血傾向が現れる。( )は酸化されてアルデヒド体に変換された後、網膜の光受容タンパク質ロドプシンの構成成分として光を感知する役割を果たす。( )が欠乏すると視細胞の光感受性が低下して夜盲症の症状が現れる。( )は抗酸化作用をもち、不飽和脂肪酸などの過酸化を防いでいる。ビタミンDの誘導體(活性型ビタミンD)はホルモンとして( )およびリン酸の吸収に関与する。ビタミンDが不足するとくる病や骨軟化症など、骨に症状が現れる。

論点 [ 生物化学 ]

- 1 . 生化学、分子生物学の基本となる実験手法についての具体的な理解を問う。
- 2 . 脂質および脂溶性ビタミンの機能に関する知識と理解を問う。