103-119

問題文

- 1. 試料イにおけるタンパク質Xの酵素活性は、試料アよりも高い。
- 2. タンパク質Xの比活性*は、試料アよりも試料ウにおいて高い。
- 3. anti-Xを産生するハイブリドーマの作製には、マウス骨髄腫細胞が用いられる。
- 4. anti-Xは、タンパク質X中の複数の異なるエピトープ(抗原決定基)を認識する。
- 5. anti-Xと試料イを用いたウエスタンブロット法により、タンパク質Xの細胞内局在を同定することができる。

*比活性:試料中のタンパク質の単位重量当たりの酵素活性

解答

問119:2,3問120:2,3

解説

問119

選択肢 1 ですが

2ーメルカプトエタノールは、「還元」剤です。 酸化的ではなく、還元的前処理です。 この前処理で分子量に基づいた分離が可能になる という部分は適切です。

選択肢 2,3 は、正しい記述です。

SDS-PAGEでの泳動方向と極については頻出ですが、 前処理で負電荷をタンパク質に付加する という点を イメージできると思い出しやすいです。

選択肢 4 ですが

プロテインA固定化ゲルは 免疫沈降法で用います。 SECでの固定相ではありません。 よって、選択肢 4 は誤りです。

選択肢 5 ですが

SECでは、分子量が小さい方が遅く出てきます。 つまり、保持時間が長いということです。 従って、順に 1 が55k、2 がX、3 が40k、4 が35k、5 が25k のピークと考えられます。 よって、選択肢 5 は誤りです。

以上より、正解は 2,3 です。

問120

選択肢 1 ですが

試料イは、前処理済なので SDS で変性しています。 精製の過程で失活はしていないとありますが 一般的に、活性は低下すると考えられます。 少なくとも この処理により酵素活性が高くなるとは いえません。 よって、選択肢 1 は誤りです。

選択肢 2,3 は、正しい記述です。

選択肢 4 ですが

anti-X はモノクローナルです。 モノクローナルとは、 認識するエピトープが単一 ということです。 記述はポリクローナルに関するものです。 よって、選択肢 4 は誤りです。

選択肢 5 ですが

細胞内局在の同定には、例えば 目的タンパク質をコードする部分の遺伝子に 蛍光タン

パク質(GFP等)のコードを挿入した上で遺伝子を細胞内に導入し細胞培養した上で、蛍光を測定するといった手法を取ります。

ウエスタンブロットは、 試料からタンパク質 X のみを検出する方法です。 これでわかるのは 「確かに試料には、タンパク質 X があるよ」 ということです。 細胞内のどこにあったか はわかりません。 よって、選択肢 S は誤りです。

以上より、正解は 2,3 です。