

109 年公務人員普通考試試題

類 科：衛生技術

科 目：生物技術學概要

一、抗體(antibody)是由 B 淋巴球製造的免疫球蛋白(immunoglobulin)，其結構是由 2 條輕鏈(light chain)及 2 條重鏈(heavy chain)組合而成的醣蛋白。每一個 B 細胞只能生產辨識單一特定抗原的抗體，抗體所能辨識之抗原種類與抗原結合位則由輕鏈與重鏈的變異區(variable region)中的高度變異區(hypervariable region; complementary-determining region, CDR)所決定。試回答下列問題：(每小題 5 分，共 20 分)

(一)人體約可產生 $10^{11}\sim 10^{12}$ 種不同的抗體，每一種抗體都可以辨識特定抗原，因此幾乎所有微生物皆可誘發特定 B 細胞之特異性免疫反應。既然「每一個 B 細胞只能生產辨識單一特定抗原的抗體」，試說明形成上述免疫系統抗體多樣性(antibody diversity)的分子機制。

(二)人體一但遭 A 細菌感染時，免疫系統會選殖且大量增殖具有分泌辨識 A 細菌特定抗原能力足以對抗其感染的 B 細胞，試說明該株落選擇(clonal selection)之過程。

(三)承(二)，說明該 B 細胞被選殖並大量增殖後，進行抗體親合力成熟(affinity maturation)之分子機制與生理意義。

(四)請說明同種抗體(isotype)、異型抗體(allotype)以及異種抗體(idiotype)之定義與差異。

【擬答】志聖阮籍老師生物技術學 A02, p.76-82,1W p.119-124

(一)抗體多樣化主要是經由基因重排。

1. 二條輕鏈： κ 與 λ

輕鏈 DNA 重排： $V-J$ 組合。不同 $L \times V \times J =$ 輕鏈表達數量。

2. 五種主要的重鏈： α 、 δ 、 ϵ 、 γ 、 μ 。分別製造出 IgA、IgD、IgE、IgG、IgM。

重鏈 DNA 重排： $V-D-J$ 組合。不同 $L \times V \times D \times J \times C =$ 重鏈表達數量。

3. 重鏈數 \times 輕鏈數，逢機組合成抗體數量。

4. Somatic hypermutation (體細胞的高度變異)

(1)起始物是 AID (activation-induced cytidine deaminase，為一種脫胺酵素)，作用在胞嘧啶 (C) 上使之轉變為尿嘧啶 (U)，接著再透過 MSH2/6 基因上的 mismatch repair，造成 A:T 位置上的突變

(2)透過 UNG (uracil-DNA glycosylase，一種脫鹼基酵素) 將 Uridine 上的鹼基去除，使之變成 abasic site (無鹼基位置)，然後透過 REV1 基因上的 DNA 修復酵素，造成 C:G 位置上的突變

5. Class switch (抗體種類的轉換)

一種可以使得 B 細胞所生產的抗體從一種類型轉變成另一種類型 (例如從 IgM 轉換成 IgG) 的生物學機制。原始的成熟 B 細胞生產 IgM 和 IgD 這兩種抗體，免疫球蛋白基因座的頭兩個重鏈片段即生產這兩者。經過抗原激活的 B 細胞會發生增殖，這些激活且增殖的 B 細胞，如果通過 CD40 受器和細胞因子受器捕獲到特定的分子信號時 (均由 T 輔助細胞調節)，將會發生類型轉換以生產 IgG、IgA 或者 IgE 抗體當中的其中一種。

(1)一般 B cell 主要產生 IgM 和 IgD 抗體 (μ 和 δ 基因表現)

(2)用 LPS 去刺激 B cell 會促進其增生，所產生的抗體也是 IgM 和 IgD

(3)若同時加了 IL-4，則改為產生 IgG1 抗體 (促進 $\gamma 1$ 基因表現) 和 IgE (ϵ 基因表現)

(4)若加了 TGF- β ，則改成產生 IgG2b 抗體 ($\gamma 2b$ 基因) 和 IgA 抗體 (α 基因)

(5)若缺乏 CD40 ligand，則因為缺乏 class switching 的能力造成 IgM 抗體無法轉換成

IgG、IgA、IgE 等形式，因而產生高免疫球蛋白 M 症候群 (hyper IgM syndrome)

6. Gene conversion (基因互換)

APE1 (一種外切酶，可從 DNA 尾端進行切除) 作用在 abasic 上，把其尾端的五碳糖切除，切除後就變成 single-strand nicks (缺口)，有了缺口後，即可進行基因的置換。

7. Clonal selection 理論

免疫系統細胞 (淋巴細胞) 對侵入人體的特定抗原所作出反應的功能。該概念是由澳大利亞醫生弗蘭克·麥克法蘭·伯內特 (Frank Macfarlane Burnet) 在 1957 年所提出，其試圖解釋在免疫反應啟動過程中抗體的多樣性的形成。

(二) 株落選擇 (clonal selection) 之過程

克隆選擇理論 (Clonal selection theory) 是免疫學中的一個科學理論，它解釋了免疫系統細胞 (淋巴細胞) 對侵入人體的特定抗原所作出反應的功能。

要選擇哪一種 B 或 T 細胞來增殖 (proliferation)，決定於與抗原的結合。抗原接在特定的 B 細胞受體上，會刺激該細胞分化成漿細胞 (plasma cell) 以產生抗體。當某一淋巴球被選擇性的活化增殖為效應細胞株發生在第一次接觸到抗原時所產生的免疫反應稱為初級免疫反應 (primary immune response)，有些細胞成為記憶性細胞 (memory cell)，當萬一哪一天又再次被相同抗原入侵時，免疫系統便能加速反應--是為次級免疫反應 (secondary immune response)。也可以藉由抗原呈現細胞 (Antigen-Presenting Cell, APC)，將抗原呈現給 T_c 細胞，再由他去活化 T_c 和 B 細胞。

Clonal selection 理論指出，在預先存在的淋巴細胞組 (特別是 B 細胞) 中，特定的抗原僅激活 (即選擇) 其反特异性細胞，因而誘導特定細胞繁殖 (產生其克隆) 進行抗體生產。這種激活發生在如脾臟和淋巴結等繼發性淋巴器官之中。簡而言之，該理論解釋了產生抗體特异性多樣性的機制。

(三) 抗體親合力成熟 (affinity maturation) 之分子機制與生理意義。

特定抗體的產生，其實是被選定的具有適當專一性抗體的 B 淋巴球，經由特定抗原刺激後，造成此 B 淋巴球的大量增生，並發生體基因超突變，以藉此產生更具專一性的抗體 (此現象稱之為親合力成熟 affinity maturation)。

B 細胞被抗原激活之後，將會迅速的增殖。在快速增殖的過程中，編碼重鏈及輕鏈可變區的基因，會通過一種稱為體細胞超突變過程，發生非常高概率的點突變。體細胞超突變會使得每一次細胞分裂，在基因的可變區中會產生大約一個核苷酸的變化。這一過程將導致每一個子代 B 細胞會與親代的 DNA，在抗體胺基酸鏈的可變區部分產生細微的差異。

這種突變方式可以增加抗體池的多樣性，並且對抗體與抗原的親和力產生影響。例如，突變的子代中，某些所產生的抗體與抗原結合的能力，比親代所產生的抗體相比反而變弱了 (親和力下降)，但另一些則可能變強了 (親和力增強)。那些表達親和力更強的抗體的 B 細胞，會在與免疫系統其它部分的交互過程中，獲得比較弱者更強的生存信號，後者會逐漸因為凋亡作用而消失。這種使得生產的抗體逐漸增加結合親和力的過程，就是親和力成熟過程。親和力成熟過程發生在已發生過 V(D)J 重組後的成熟 B 細胞上，並需要輔助 T 細胞的幫助。

(四) 同種抗體 (isotype)、異型抗體 (allotype) 以及異種抗體 (idiotypic) 之定義與差異。

1. 同種抗體 (isotype)

指同一種屬所有個體的同類 Ig 分子共有的 Ag 特异性標誌，主要位於 Ig 的 C 區 (Fc 段)。同一種屬所有個體的同類 Ig 分子 isotype 相同。

免疫球蛋白的同種型是指免疫球蛋白類型或亞型的重鏈遺傳變化或差異。人類有九種同

公職王歷屆試題 (109 普考)

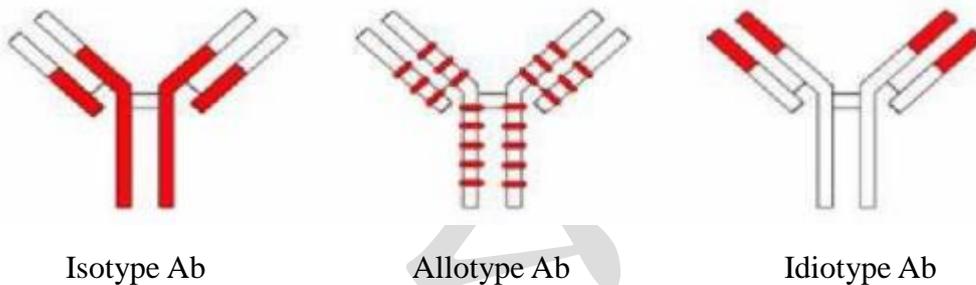
種型：重鏈： α -IgA1, 2; δ -IgD; γ -IgG1, 2, 3, 4; ϵ -IgE; μ -IgM。輕鏈： κ & λ 。

2. 異型抗體(allotype)

指同一種屬不同個體的同一類 Ig 分子所具有的不同的 Ag 特異性標誌。主要分布在 Ig 的 CL 和 CH 上一個或數個胺基酸的差別。 γ 、 α 、 ϵ 類重鏈和 κ 型輕鏈均有。

3. 異種抗體(idiotype)

指同一個體內，不同 B 細胞克隆產生的特異性，尤其是 HVR 的胺基酸組成、排列和構型決定了獨特型的 Ag 特異性。Ig 獨特型的決定簇又稱為獨特位(idiotope)。Id 的特異性決定了抗體結合抗原的特異性。



二、人類蛋白質 L 是一種分子量 66 kDa，由免疫細胞分泌的醣蛋白(glycoprotein)。科學家嘗試利用大腸桿菌、酵母菌與昆蟲細胞生產蛋白質 L，但都無法成功生產帶有完整功能的蛋白質 L。經過多次實驗，科學家發現只能利用 COS 或 CHO 等哺乳類動物細胞株(cell line)表現具有功能的蛋白質 L。最近，該科學家又發現可利用植物細胞為生物反應器(bioreactor)，生產具有功能的蛋白質 L。請據以回答下列問題：

(一)試說明何謂細胞株?(7分)

(二)試說明何謂醣蛋白?(7分)

(三)試推測並說明該科學家無法利用大腸桿菌、酵母菌與昆蟲細胞，成功生產表現帶有完整功能的蛋白質 L 的原因。(6分)

【擬答】志聖阮籍老師生物技術學 A02, p.207-208

COS 細胞是通過用能產生大 T 抗原的猿猴空泡病毒 40 (SV40) 永生化 (immortalizing) CV-1 細胞而獲得的。CHO 是源自中國倉鼠卵巢的上皮細胞系，通常應用於生物學和醫學研究，並且在商業上用於生產具治療性的蛋白質。

(一)細胞株(cell line)

具有持續繼代培養能力之細胞株(Cell Line)，通常一個細胞株都是由一顆細胞長成一個群落(colony)。最早的細胞株是由癌細胞得來，但由於細胞培養技術的發展，只要具有可以穩定繼代生長且不變性的特性，皆可稱為細胞株。

細胞株細胞同樣是取自生物體，但經篩選後，有些特殊細胞可以不斷分裂生長，例如有些細胞株的某些特殊基因如端粒酶 (telomerase) 基因異常表現，使得它們具有無限增生的性質，可以永久培養下去。

第一個被建立的細胞株為 HeLa Cell，是在 1951 年 2 月美國霍普金斯大學的婦產科醫生 Dr. Jones (H. W. Jones) 診察了一位黑人婦女，H. Lacks 女士，發現她的子宮頸有疑似癌症的徵狀。患部組織經由細胞培養專家 Dr. Gey (G. O. Gey) 培養，在 1952 年成功地培養出來並命名為 HeLa 細胞。HeLa 細胞對於生物科學的貢獻難以評估，不論在生物化學領域、遺傳學方面、病毒感染、癌症 pathway、蛋白質合成途徑和藥物調控等方面尤其顯著。

細胞株培養(Cell Line Culture)。主要目的就是將細胞做大量及源源不絕的培養，進一步經由各種實驗設計來了解大部分生物細胞內的作用機轉或是得到其代謝產物來做相關的研

究。

(二)醣蛋白(Glycoprotein)

醣蛋白是一種含有寡糖鏈的蛋白質，兩者之間以共價鍵相連。其中的寡糖鏈通常是經由共轉譯修飾或是後轉譯修飾過程中的糖基化 (glycosylation) 作用而連結在蛋白質上。

糖蛋白多肽鏈常攜帶許多短的雜糖鏈。它們通常包括 N-乙醯己醣胺和 6C 醣(常是半乳糖和 / 或甘露糖，而葡萄糖竟較少)。該鏈末端成員常常是唾液酸(sialic acid)或 L-岩藻糖(L-fucose)。這種寡糖鏈常分支，很少含多於 15 個單體的，一般含 2~10 個單體，分子量相當於 540~3,200。糖鏈數目也變化很大。

1. 醣蛋白即是含有寡糖鏈的蛋白質，兩者以共價鍵相連

2. 抗體會辨認並結合的抗原決定因子 (antigenic determinants) 也是由醣蛋白所組成

3. 所有抗原決定因子中首先被發現的便是決定人類血型的物質

4. 補充：感冒病毒的分類是以血凝素 (Hemagglutinin) 和神經胺酸酶 (Neuraminidase) 做區分，例如 H1N1 流感病毒。

(1) 血凝素用來和欲結合之細胞的膜上蛋白結合

(2) 神經胺酸酶則用來從細胞脫出，「克流感」的作用是抑制病毒的神經胺酸酶來達到治病的效果

(三)大腸桿菌、酵母菌與昆蟲細胞等無法將蛋白質 L 作正確的醣基化。

大腸桿菌無法進行蛋白質合成後修飾作用，酵母菌與昆蟲細胞等無法將蛋白質 L 作正確位置的醣基化。

三、試回答下列問題:(每小題 5 之分，共 20 分)

(一)何謂 DNA 變性作用 (DNA denaturation)?

(二)試畫出完整之 DNA 變性曲線 (DNA denaturation curve)，並說明之。

(三)承(二)，何謂 DNA 變性作用過程中的 T_m 值?

(四)說明影響 DNA 解鏈溫度 T_m 值的因素。

【擬答】志聖阮籍老師生物技術學 A01, p.30-32

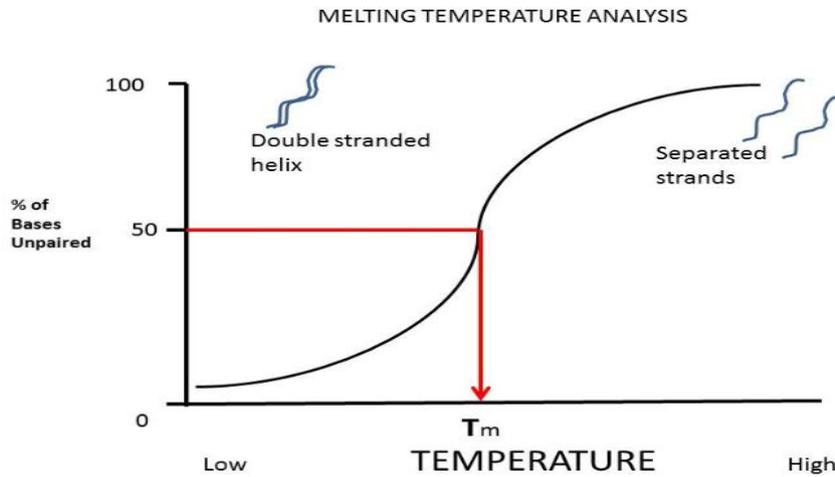
(一) DNA 變性作用 (DNA denaturation)

DNA 變性 (DNA denaturation) 又稱 DNA 融化 (DNA melting) 是 DNA 雙螺旋解開成為兩條單股長鏈的過程。在過程中，使兩股長鏈上的鹼基相連的氫鍵會斷裂。DNA 的變性可以是溫度升高而產生的作用，也可能是其他化學物質如尿素或高鹽的誘導。

(二) DNA 變性曲線 (DNA denaturation curve)

dsDNA 鹼基相互配對，A260 吸光值較低，稱為 hypochromism，當加熱溫度上升時，鹼基配對的氫鍵被打斷，A260 吸光值逐上升，稱為 hyperchromism。

當 dsDNA \rightarrow 解開一半 ssDNA 時，此時溫度稱為 T_m 值。



(三) T_m value

使雙股螺旋 DNA 解開一半時所需溫度，稱為 DNA 變性作用過程中的 T_m 值。長鏈 dsDNA $T_m = 69.3 + 0.41(G+C\%)$ ，短鏈 primer $T_m = 4(G+C) + 2(A+T)$ 。

(四) 影響 DNA 解鏈溫度 T_m 值的因素

是依 DNA 鏈的長度，以及特定核苷酸序列的組成形式而定。

四、癌症多年來高居國人十大疾病死因之首，因此研發有效之新穎療法一直是研究焦點。目前除手術、化學藥物、放射毒殺、標靶治療等療法之外，CAR-T 細胞免疫療法於 2017 年通過美國政府核准，正式應用於臨床的免疫細胞療法成為治癒癌症的新希望。試回答下列問題：(每小題 10 分，共 20 分)

(一) 何謂嵌合抗原受體 T 細胞(chimeric antigen receptor T-cell, CAR-T)以及其在癌症治療上之應用。

(二) 說明備置 CAR-T 細胞的方法與流程。

【擬答】志聖阮籍老師生物技術學 A02, p.107-109

(一) 「嵌合抗原受體重組 T 細胞」：

CAR-T 免疫治療，是為了加強 T 細胞辨識癌細胞的能力，CAR-T 免疫治療是利用病患自身的 T 細胞，在體外經過生物工程技術進行基因改造，加入一個能辨識腫瘤細胞的嵌合抗體，並在體外大量培養擴增 CAR-T 細胞後，使其細胞數增值至數十億到上百億，再將擴增的 CAR-T 細胞回輸病人體內。當 T 細胞表面的抗體與腫瘤細胞上的特定抗原結合時，還需要其它配體結合促進 T 細胞的活化，但經過基因改造的嵌合抗原受體，不須配體的輔助，即可有效的活化 CAR-T 細胞，而發揮其毒殺腫瘤細胞的功能。經過 20 年的研究改良後，於 2014 年的研究報告指出，CAR-T 免疫治療使用在復發或治療無效的急性淋巴性白血病人，展現顯著的治療效果，有高達 9 成的病患得到完全緩解，另外，這種治療使用在慢性淋巴性白血病以及 B 細胞淋巴瘤，也有相當好的療效。為了達到更好的治療效果，現在已經發展出第三代的 CAR-T 免疫細胞療法，不同的嵌合抗原受體也繼續被發展中。除了上述的腫瘤之外，CAR-T 免疫治療也被使用在血液惡性腫瘤包括：多發性骨髓瘤、何杰金氏淋巴瘤、骨髓性血癌等，以及固態腫瘤，包括：神經母細胞瘤、膠質瘤、胰臟癌、攝護腺癌、間皮瘤、骨肉瘤等等。未來的發展，著重在更適當的腫瘤抗原的挑選，及副作用的減少。

(二) 備置 CAR-T 細胞的方法與流程

CAR-T 細胞的免疫治療過程：

首先，T 細胞通過血液成分分離技術收集，之後送到實驗室中進行基因編輯在 T 細胞表面

公職王歷屆試題 (109 普考)

產生嵌合抗原受體 (CARs)，經過編輯後，T 細胞變為嵌合抗原受體 T 細胞 (CAR T cells)。嵌合抗原受體是種蛋白質，能夠識別目標腫瘤細胞的抗原。

其次，經過編輯的 CART 細胞在實驗室中進行增殖，通過生長細胞增殖到數以百萬計之後，再冷藏運輸到患者的治療中心或醫院，將 CART 細胞注射到患者體內。通常，多數患者在注射 CART 細胞之前已經進行過一個療程或多個療程的化學治療。注射到患者體內的 CART 細胞在其血液中增殖，這些細胞識別殺滅目標腫瘤細胞。並且，CART 細胞能夠在注射之後長期存在於患者體內，防止癌症的復發。

五、自 2019 年底，世界衛生組織(WHO)屢次公告由新型冠狀病毒 SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome Coronavirus 2)感染所引起之新冠肺炎(COVID-19) 疫情在全球蔓延的情形。快速檢測篩檢可能之感染者並加以適當隔離治療是防堵疫情擴散的關鍵策略。試述檢測病毒性感染的實驗室診斷方法與原理。(20 分)

【擬答】實驗室診斷方法與原理

(一)在 P2 &P3 實驗室培養分離 SARS-CoV-2 病毒

實驗室分為 P1 到 P4 四種不同安全等級，「P」為"Physical containment level" (物理收容等級)之意，其中 P1 實驗室適用於處理對個人及社區具低度危害性之微生物；P2 實驗室適用於處理對個人具有中度危害性，而對社區之危害有限之微生物；P3 實驗室適用於對個人具有高度危害性，而對社區具有中度危害性之微生物；P4 實驗室則適用於處理對個人及社區同樣具有高度危害性之微生物。SARS 或這次 COVID-19 的研究，一般操作在 P2 實驗室，但病毒培養及分離純化則需要在 P3 實驗室裡操作。

SARS-CoV 2 病毒培養依據疾病管制署公告「醫學實驗室處理嚴重特殊傳染性肺炎檢體之實驗室生物安全指引」指出，有關進行涉及病原體在體外或體內增殖之診斷試驗，須於 BSL-3 (P3)實驗室下進行，以提高生物安全防護。因此國內實驗室需具備生物安全第三等級實驗室才有資格進行 SARS-CoV 2 的病毒培養，有鑑於病毒的分離對於研發有效疫苗、抗病毒藥物篩選及發展快速而精準的檢測試劑非常重要且必需。因此許多國家在疫情發生時，均成功分離出病毒株，包含臺灣。

(二) Nucleic acid hybridization

利用具特殊專一性之探針 (probe)，結合上放射性 ^{32}P 或者螢光染料，將檢體中的病毒核酸 RNA，以篩選檢體是否含有病毒。

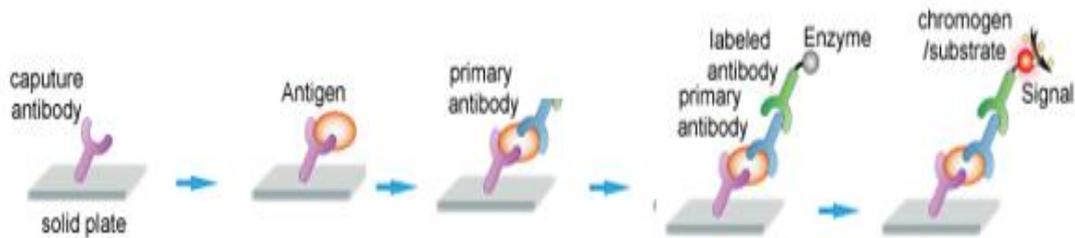
(三) Real time RT-PCR

萃取病毒 RNA，利用反轉錄酶及 dNTPs 將 RNA 反轉錄為 cDNA，再利用具特殊專一性之引子 (primers)，將檢體中的病毒核酸 DNA/RNA 經由螢光(CYBR Green)定量聚合酶連鎖反應 (real-time PCR)或一步法反轉錄螢光定量聚合酶連鎖反應(One-step RT real-time PCR)，增幅出 DNA 片段，以篩選檢體是否含有病毒。所用之引子是根據病毒序列設計。此法需搭配螢光定量聚合酶連鎖反應儀器，平均耗時 2-4 小時。

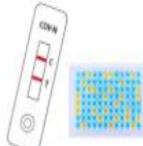
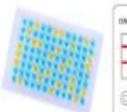
(四) Enzyme-linked Immunosorbant Assay (ELISA)

酶聯免疫吸附試驗的常見做法為，將特異性抗體 (一抗) 覆蓋到 96 孔盤中，藉以捕捉檢體中相對應的抗原，然後加入第二個特異性抗體，目標抗原會被夾在兩個特異性抗體中間，接著再使用酶標記二抗與受質反應，反應後的顏色深淺程度直接反映檢體的病毒量，對難以分離培養、形態特殊或病毒量較多的檢體，ELISA 檢測可以提供快速有效的病毒鑑定方法。

Sandwich ELISA



(五)快速試紙檢測法

 抗原檢測	以專一性抗體檢測體內病毒抗原。		檢測速度快，僅需15-20分鐘。	需費時篩選出專一性抗體。靈敏度較低。
 抗體檢測	以病毒抗原檢測體內抗體。		操作簡單，對檢測人員較安全。	感染數天至一週，體內才會產生抗體。

(六)電子顯微鏡與冷凍電鏡法

1. 冷凍電鏡法 (一般貴重實驗室可以執行)

用於病毒型態和結構的觀察，可將病毒懸浮液經過高濃縮和純化後，以磷鎢酸負染與電子顯微鏡直接觀察病毒之大小、形態，可初步判斷此病毒屬於哪一科。此作法繁瑣，臨床上多已被免疫或分子生物的檢測方法所取代。

2. 冷凍電鏡法 (只有少數實驗室可進行，如中央研究院)

把生物檢體溶液滴在銅網上，並且把多餘的樣品移除。通過零下-196oC 液態乙烷，高速投入銅網後，會在生物分子周遭溶液形成玻化水，並且在觀測樣本期間都維持低溫，當溫度高於攝氏 135 度則玻化水會形成冰晶。透過網眼間的薄區玻化水觀測生物分子。

