

108 年公務人員高等考試三級考試試題

類 科：衛生技術、生物技術

科 目：生物技術學

一、免疫細胞治療技術在癌症精準醫療的臨床應用漸趨重要。

(一)107 年衛生福利部發布「特定醫療技術檢查檢驗醫療儀器施行或使用管理辦法」修正條文，開放 6 項細胞治療技術，其中包括自體免疫細胞治療技術。請列舉目前所開放的自體免疫細胞治療技術為何？(12 分)

(二)請說明嵌合抗原受體 T 細胞 (chimeric antigen receptor T-cell, CAR-T) 療法的原理及製作流程。(8 分)

【擬答】：

(一)免疫細胞療法

免疫細胞療法是利用自體免疫細胞來對抗癌症與病毒感染等疾病的先進醫療技術，1985 年美國國家衛生院(NIH)更已將免疫療法列為手術、化療、放療以外的第四大癌症治療模式。

現今的技術較常見有：

1. DC 樹突細胞治療：樹突細胞 (Dendritic cell, 簡稱 DC) 是一種存在於人體的免疫細胞，主要源自於人類骨髓內的造血幹細胞 (Hematopoietic stem cells, 簡稱 HSC)，造血幹細胞會先分化成骨髓前驅細胞 (Myeloid precursor cells)，而骨髓前驅細胞再分化成單核球 (Monocyte)，最後再由單核球分化成樹突細胞。

2. T 細胞治療：

T 細胞是淋巴細胞的一種，源自於人類骨髓內的造血幹細胞 (Hematopoietic stem cells, 簡稱 HSC)。造血幹細胞須分化成淋巴前驅細胞 (Common lymphoid precursor)，才能進一步分化出 NK 細胞、T 細胞及 B 細胞，其中的 T 細胞還需要經過人體胸腺培養訓練後，才能成為一個成熟的 T 細胞。而 T 細胞還可再細分成毒殺型 T 細胞 (Cytotoxic T cell)、輔助型 T 細胞 (Helper T cell)、調節型 T 細胞 (Regulatory T cell) 以及記憶型 T 細胞 (Memory T cell)，這些 T 細胞皆在免疫反應中扮演著重要的角色。

毒殺型 T 細胞又稱作毒殺型 T 淋巴細胞 (Cytotoxic T lymphocyte, 簡稱 CTL)，表面分子特徵為 CD3+/CD8+，其功能就像一個「殺手」，透過毒殺型 T 細胞表面抗原接受器 (TCR) 辨識主要組織相容性複合體第一型 (MHC class I) 內的抗原，可找出外來病原或癌細胞，分泌穿孔素 (Perforin)，使目標細胞膜破洞並形成一管道，再注入一種蛋白酶 (Granzyme)，使目標細胞內部發生溶解，或者藉由 Fas-FasL 死亡訊號機製造成細胞凋亡 (Apoptosis)。輔助型 T 細胞其表面分子特徵為 CD3+/CD4+，其細胞表面也有抗原接受器 (TCR)，不過主要是辨識抗原呈現細胞的主要組織相容性複合體第二型 (MHC class II) 的抗原片段，一旦輔助型 T 細胞受到抗原刺激，就會大量增生和分化成作用型 Th 細胞 (Effector Th cell) 和記憶型 Th 細胞 (Memory Th cell)，因此當患者再度感染相同病原或癌細胞時，此時記憶型 Th 細胞將會快速啟動全面性免疫反應，針對疾病快速進行攻擊清除的動作。

然而因 T 細胞具有辨識外來病原及癌細胞的能力，其攻擊方式具有專一性之外，1 個 T 細胞更可達到殺千個癌細胞的能力。藉由抽取血液的方式，後續再將 T 細胞分離出來，加入特定的細胞激素及癌細胞抗原，促使 T 細胞大量增生和活化，此時 T 細胞具有專一性攻擊這些癌細胞的能力。經由一般點滴方式，就能將這群優質的免疫細胞軍隊注射回人體，發揮毒殺癌細胞的作用來抑制腫瘤的增大或癌細胞擴散，甚至使其縮小或消失。

3.NK 自然殺手細胞治療:

自然殺手細胞 (NK 細胞) 是一種不同於 T、B 淋巴細胞的大顆粒淋巴細胞, 其細胞表面分子具有 CD3-/CD56+ 的特徵, 約占人體所有淋巴細胞的 10%~15%。NK 細胞主要源自於人類骨髓內的造血幹細胞 (Hematopoietic stem cells, 簡稱 HSC), 造血幹細胞會先分化成骨髓前驅細胞 (Myeloid precursor cells) 及淋巴前驅細胞 (Common lymphoid precursor), 而淋巴前驅細胞可進一步分化為 NK 細胞、T 細胞及 B 細胞。

NK 細胞與其他細胞之不同之處, 在於其不須先經過一段時間的免疫刺激, 即可針對癌細胞進行非專一性的攻擊, 並且可釋放特殊細胞激素, 作為細胞活化之標記。在辨識細胞是否為正常細胞或癌細胞部分, T 細胞須透過辨認體內細胞的主要組織相容性複合體第一型 (MHC class I), T 細胞的毒殺能力才會啟動。但 NK 細胞能找出具有活化配位體但不具有 MHC class I 之細胞, 接近目標細胞後, NK 細胞可分泌穿孔素 (Perforin), 使目標細胞膜破洞並形成一管道, 並經由注入一種蛋白酶 (Granzyme), 使目標細胞內部發生溶解而出現細胞凋亡 (Apoptosis) 達到摧毀目標細胞的功用。因此有些癌症細胞想藉由 MHC class I 的隱藏, 以逃避專一性免疫系統 T 細胞的辨認, 但此時, 自然殺手細胞就可發揮搜尋這些隱藏 MHC class I 的癌細胞並進行摧毀的作用。

然而 NK 細胞主要分佈於人體周邊血液系統, 因此透過抽取血液, 後續再將 NK 細胞分離出來, 並加入特定細胞激素經由 14 天左右的培養, 便可使 NK 細胞大量增生和活化, 這些活化的 NK 細胞最後可經由一般點滴方式, 就能將這群優質的免疫細胞軍隊注射回人體, 發揮毒殺癌細胞的作用來抑制腫瘤的增大或癌細胞擴散, 甚至使其縮小或消失。

(二)

1. 原理: 嵌合抗原受體 T 細胞療法利用生物工程改造的具有嵌合抗原受體的 T 細胞來治療癌症。這種療法是利用嵌合抗原受體識別癌細胞, 使得對癌細胞的打擊和消滅變得更為有效。科學家從人類獲得 T 細胞, 改造它們, 然後將它們輸入患者體內來攻擊腫瘤。嵌合抗原受體 T 細胞既可以改造自患者的自身血液細胞 (自體), 也可以改造自其他健康捐贈者的血液細胞 (異體)。當 T 細胞被分離出體外之後, 它會被基因改造成可以表達出一種特別的嵌合抗原受體以瞄準癌細胞表面的抗原。為讓療法更為安全, 嵌合抗原受體 T 細胞改造成只能夠攻擊癌細胞表面抗原, 不會攻擊健康細胞的表面抗原。

2. 治早過程: 嵌合抗原受體 (CAR) T 細胞治療的生產步驟。備製需要在有良好生產規範 (GMP) 場所進行:

- (1) 分離: 首先通過白血球分離術, 將病人的白血球分離出來, 然後將 T 細胞啟動。
- (2) 基因編輯: 用逆轉錄病毒編碼 CAR, 進行遺傳工程改造。當 CAR T 細胞基因編輯成功後就進入擴增。
- (3) 擴增, 就進一步擴增收成。
- (4) 回輸: 最後輸回病人的身上。在輸注前, 病人需接受清除淋巴細胞的化療調理。整個過程平均需要 17 天。

二、食品等與人體生理安全相關之產品, 需確保產品為無菌或含菌量低於相關法規標準值。Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass-spectrometry (MALDI-TOF MS) 為一新興的微生物鑑定分析法。(每小題 10 分, 共 20 分)

(一) 請說明該技術的原理及如何應用在菌種的鑑定上。

(二) 另請比較其與傳統生化試驗法在菌種鑑定的優缺點。

【擬答】:

- (一)
1. 將樣品與基質混合後，以雷射激發，其能量藉由基質傳導至樣品，讓樣品離子化。樣品先集中在飛行管前端，之後給予一致能量讓樣品進入飛行管，因樣品本身質量不同，到達飛行管時間也會不同，藉由此方式觀察樣品之質量分佈。
 2. 不同的細菌有不同的蛋白質，可利用比對蛋白質來鑑定菌種。

(二)採用蛋白質指紋圖譜所以：

1. 提高檢驗的質量分析法的精準度，
2. 比傳統鑒定的生化原理與檢驗方式更有效率，
3. 鑑定的菌種超過五千多種，
4. 細菌、酵母菌、厭養菌皆適用。

三、次世代定序 (next generation sequencing) 已普遍應用在醫藥衛生領域的基因檢測。第三代定序 (third-generation sequencing) 則為新興的高通量基因體定序技術。(每小題 10 分，共 20 分)

(一)請論述任一種第三代定序平台的原理。

(二)請論述第三代定序技術的優勢及其如何在人類全基因體定序上補次世代定序之不足？

【擬答】：

(一) 提到三代定序：

1. Pacific BioSciences (PacBio) 的單分子即時定序 (single-molecule real-time sequencing, SMRT)
2. Oxford Nanopore Technologies 的奈米孔定序 (nanopore-based platform)。

奈米孔定序法可以讀取長片段序列並且即時分析數據。Nanopore 技術的核心為插在薄膜上的跨膜蛋白，並在薄膜的兩端加上電位差，使溶液的離子通過跨膜蛋白形成電流。解旋酶 (helicase) 將待測的 DNA 帶到跨膜蛋白上，並解開 DNA 兩股，使其中單股 DNA 通過跨膜蛋白。此時通過奈米孔的 DNA 會對離子流動造成阻礙，使電流改變。因為不同鹼基會對電流改變產生不同影響，藉由量測大量已知序列造成的電流大小變化，可以用電流改變的模式來回推 DNA 的鹼基。其定序速度相當於 DNA 通過奈米孔洞的速度，約每秒 250 到 450 個鹼基。以其產品 MinION 為例，在 24 小時內能產生超過 5 Gb 的數據，且事前處理、製備建庫只需 10 分鐘。

(二)其優點在於能夠讀取較長序列、提高連續序列片段長度、定序速度快，且能直接對原始 DNA 樣本進行定序，避免了 PCR 擴增出現的錯誤率及偏好性。

1. 節約時間和金錢：

第一代 DNA 測序技術 2001 年完成首個人類基因組圖譜，耗時 3 年，花費數十億美元；二代測序技術將一個人基因組測序的時間和費用降為 1 周以內和 1000 美元；而他們的三代測序儀可在 24 小時內完成這一工作，在大規模量產後，有望在三年內將費用降至 100 美元。

2. 走向臨床應用：

包括腫瘤早期診斷和用藥指導，遺傳病篩查，糖尿病用藥指導，孕婦產前檢測等。

四、核苷酸點突變檢測在醫藥衛生領域的應用相當重要。請說明以下核苷酸點突變檢測技術的操作原理：(每小題 10 分，共 20 分)

(一)增幅阻礙突變系統 (amplification refractory mutation system, ARMS)。

(二)增幅限制酶切位點 (amplified created restriction site, ACRS)。

【擬答】：

公職王歷屆試題 (108 高考三等)

(一)突變擴增系統(amplification refractory mutation system,ARMS)又稱等位基因特異性擴增法(allele specific amplification,ASA)，其基本原理是，如果引物的 3'端碱基與範本碱基不互補，則用一般耐熱 DNA 聚合酶無法延伸。因此根據已知點突變設計 3 條引物，其 3'端碱基分別與突變和正常的範本碱基互補，從而將有某種點突變的範本與正常範本區分開來。此法已用於多種疾病的點突變的檢測。

(二)增幅限制切位點 (Amplified created restriction sites; ACRS)

原理：首先要知道欲分析基因的突變位點，之後在引子上設計帶有限制切位的部分序列，在 PCR 的時候此引子會增幅出具有正常的限制酶切位序列，或因突變位點導致增幅出具有突變的限制酶切位的序列。在 PCR 之擴增後，以限制酶切割。而後座凝膠電泳，確定 DNA 長度，是否被限制酶所切割。

五、衛生福利部食品藥物管理署設有基因改造食品相關的管理辦法。

(一)「基因改造生物」(Genetically Modified Organism，簡稱 GMO)及「基因改造食品」的定義為何？(6 分)

(二)有一批進口的大豆需經過檢驗以決定是否需標示為基因改造食品。請說明目前需標示為基因改造食品的基準及如何進行相關的檢驗以確保正確的標示，以滿足消費者知的權利。(14 分)

【擬答】：

(一)依「食品安全衛生管理法」第三條之定義，「基因改造」意指使用基因工程或分子生物技術將遺傳物質轉移或轉殖入活細胞或生物體，產生基因重組現象，使表現具外源基因特性或使自身特定基因無法表現之相關技術。但不包括傳統育種、同科物種之細胞及原生質體融合、雜交、誘變、體外受精、體細胞變異及染色體倍增等技術。

基因改造食品(又稱基因轉殖食品)係指利用基因工程技術而生產獲得特性經過改造之食品。現有之技術所能達成之改良特性有增加生長速度、改良營養價值、抗蟲、抗病、抗除草劑、抗低溫、延長保存期限、耐運送或利於加工等。

(二)2015 年 12 月 31 日台灣實施的基改食品標示規定中，只要產品中「刻意」加入基因改造食品原料則必須標示。若食品原料「非故意摻雜率」達總重量 3%以上則需標示，「非故意參雜率」表示可允許因採收、儲運或其他因素等非有意摻入基改食品原料的比例，如果不小心混入 3%重量以下的基改食物原料不需要標示。