

生理生化実習 本試(2016 年 12 月 22 日(木)実施)

生体情報の記録方法

1. 筋電図と心電図の違いを説明せよ。
2. 動脈血圧とは何によって規定されるか、また冷水に手を入れたときに血圧はどう変化するか、理由とともに説明せよ。

腎機能

1. クレアチニンクリアランスとは何か説明しなさい。
2. 尿中クレアチニン濃度 150mg/dL、尿量 1mL/分、血漿クレアチニン濃度 2mg/dL のとき、クレアチニンクリアランス(mL/分)を求めなさい。

脳波

1. 脳波の起源について説明せよ。
2. 覚醒時に主に見られる脳波を 2 種類あげ、それぞれの特徴を述べよ。
3. 微小な脳波を測定する際の注意点を 3 つ述べよ。

PCR 法

1. ① (めっちゃ長い塩基配列が示される。開始コドンと終始コдонはあらかじめマークされている) 上の DNA を PCR 法で増幅したい。無駄のないよう増幅するには、どのようなプライマーが適切か、答えよ。

② なぜ①で答えたプライマーを使用するのか、理由を説明せよ。
2. 以下の問において、あてはまるものをひとつずつ選べ。
①PCR 法について誤っているものを選べ。
 - a. GC が多いと解離のための温度が上がる。
 - b. DNA ポリメラーゼを用いる。
 - c. 1 種類の DNA を増幅する。
 - d. 2 種類のプライマーを用いる。
 - e. 操作を n 回繰り返すと、収量は 2n 倍になる。

②忘れました…。難しくなかったです。

プラスミド DNA の抽出

1. 以下の問において、あてはまるものを答えよ。ただしひとつの問題に対し答えはひとつとは限らず、解答はすべて合わせて 8 個ある。8 個より多く解答したものは採点しない。(6 点)

- 1) プラスミド DNA、pEGFP-N2 は 4713bp である。これを DNA マーカーとともに電気泳動した結果、4822bp のマーカーのバンド付近にはバンドは見られず、ほかの場所に複数見られた。この理由について考えられるものを選び。
 - a. 6369bp のバンド付近に見られるものは、大腸菌の染色体 DNA である。
 - b. プラスミド DNA はヌクレアーゼによって分解された。
 - c. 複数種類のプラスミド DNA が存在する。
 - d.
- 2) 分子量によって泳動距離が変わるのはなぜか。
 - a. 分子量が大きいと、電荷が大きくなり速く進む。
 - b. 分子量が小さいほど、電荷が大きくなり、速く進む。
 - c. 分子量が大きいと抵抗が大きくなり、泳動距離が短くなる。
 - d.
- 3) 大腸菌に存在する核酸にふさわしくないものはどれか。
 - a. ゲノム DNA
 - b. rRNA
 - c. ミトコンドリア DNA
 - d.
- 4) SDS の原理として実際に起こっているものはどれか。
 - a. 核酸がアルカリ変性して一本鎖になる。
 - b. 核酸が熱変性して一本鎖になる。
 - c. 核酸が超らせん構造をとる。
 - d.
- 5)

6)

忘れました....

2. プラスミド DNA の遺伝子組み換え実験における必要性を説明せよ。

脂質の抽出と分離

1. 本実習と同じ系で、血漿・肝臓・脳などに含まれる脂質を抽出して、薄層クロマトグラフィーによって分離した。

① 中性脂質を分離できる溶媒によって、モノアシルグリセロールとトリアシルグリセロールはどのように分離されるか。

② リン脂質を分離できる溶媒によって、フォスファチジルコリンとリゾフォスファチジルコリンはどのように分離されるか。

それぞれ移動度の高い順に脂質を並べ、化学構造と移動度の関係を述べなさい。

2. アミノ基を含む脂質およびステロールをどのようにしたら検出できるか、それぞれ代表的な脂質 2 つと検出試薬を書きなさい。

3. 組織から総脂質を抽出する方法について述べなさい。

タンパク質の電気泳動

1. タンパク質の抽出について以下の空欄を埋めなさい。

マウス肝臓、マウス腎臓約 50mg に 500 μ l のタンパク質抽出試薬を加え、均一につぶす。4000rpm, 10 分間の遠心分離後、上清 402 μ l を 1.5ml チューブに取り分ける(i)。そのうち 2 μ l を 1.5mL チューブへ移す(ii)。

(i)に 6×S.B.を μ l 加え、タンパク質抽出試料を調製する(iii)。

(ii)に 8 μ l の H₂O を加える(iv)。

検量線に使用する 2mg/ml タンパク質標準液を作成する(v)。

(iv)及び(v)に 1×Bradford 試薬をそれぞれ 500 μ l 加える。転倒混和でよく混合した後、室温で 5 分間静置し、反応させる。それぞれのタンパク質濃度を計算した後、1×S.B.を用いて(iii)の濃度を調製する。

吸光度は 0.624 で、近似式は $y=0.18x + 0.12$ だった。このとき、(i)の濃度は mg/ml である。(iii)を 10mg/ml にするには 1×S.B.を μ l 加えればよい。

2. タンパク質の検出・定量には Bradford 法、BCA 法、Lowry 法などがある。Bradford 法は酸性条件でタンパク質と CBB を結合させ () nm を測定する。BCA 法はペプチドと反応させた Ca²⁺を BCA に反応させ、() nm を測定する。Lowry 法は Folin

試薬とタンパク質中の芳香族アミノ酸の側鎖と反応させ、() nm を測定する。

選択肢ありました。

3. 正しいものを1つずつ選べ。

- (1) ① DTT や 2-ME などがタンパク質に結合することにより、負の電荷を帯びる。
②
③ アクリルアミドの重合は、ラジカル結合であり、結合の際には、空気中の窒素が重合を阻害する。
④ CBB 染色は銀染色より感度が低い。
⑤ TEMED は直鎖の...?

(2) ピペットマンの使い方

①20(p-20)

0
2
0

②500(p-1000)

5
0
0

③300(p-200)

3
0
0

④205(p-200)

0
2
5

⑤10(p-200)

0
1
0

- (3) ①実験の手順は調べればわかるのでレポートに書く必要はない。
②測定したデータが隣の班と大きく異なったため、何度か測定を行い、近いデータを用いた。
③実習所と異なる量の試薬を入れてしまったため、レポートでは実験での量を書いた。
④
⑥ 盗用の疑いをかけられないようにグラフはフリーハンドで書くのが良い。

ところどころ記憶がありません。すみません。