

\*請填寫入場通知書編號：\_\_\_\_\_

注意：①作答前須檢查答案卷、入場通知書編號、桌角號碼、應試類別是否相符，如有不同應立即請監試人員處理，否則不予計分。  
②本試卷為一張雙面，共有四大題之非選擇題，各大題配分均為 25 分。  
③非選擇題限以藍、黑色鋼筆或原子筆於答案卷上採橫式作答，並請從答案卷內第一頁開始書寫，違反者該科酌予扣分，不必抄題但須標示題號。  
④請勿於答案卷書寫應考人姓名、入場通知書號碼或與答案無關之任何文字或符號。  
⑤專業科目應考人得自備使用簡易型電子計算器(不具任何財務函數、工程函數功能、儲存程式功能)，但不得發出聲響；若應考人於測驗時將不符規定之電子計算器放置於桌面或使用，經勸阻無效，仍執意使用者，該節扣 20 分；該電子計算器並由監試人員保管至該節測驗結束後歸還。  
⑥答案卷務必繳回，未繳回者該科以零分計算。

題目一：

生物反應器 (Bioreactor) 是指任何能提供在細胞外進行生化反應的適當裝置系統或工程設備，並且利用酶或生物體使裝置具有模擬生物的功能。生物反應器是酒類及食品製造、生化工程、細胞組織工程、醫藥生產、植物二次代謝物之生產、有機污染物降解等應用上相當重要的一個裝置，但是由於生化反應需要在嚴格控制的條件下才能穩定的進行，因此生物反應器的設計將是一個複雜的生化工程挑戰。

請回答下列問題：

- (一) 生物反應器與化學反應器在操作條件上之最大差異為何？【2分】
- (二) 請依『原料加入方式』的不同，舉出三種不同的生物反應器。【6分】
- (三) 微生物反應器的設計會影響反應器中微生物的生長和生產力，請分別舉出一種可以控制反應器之培養溫度和一種可以控制反應器之氣體溶解度的方法。【4分】
- (四) 固定化酵素是一種生化工程的常見技術，請舉出三種可以固定化酵素的方法。【6分】
- (五) 請舉出三種固定化酵素的優點。【3分】
- (六) 何謂植物二次代謝物？生技產業多傾向利用植物細胞培養之生物反應器來生產植物二次代謝物的原因為何？【4分】

題目二：

細胞培養技術是將真核生物或原核生物細胞，培養在受控制的狀態下使其生長的生化工程技術。細胞培養技術的運用範圍非常廣泛，單株抗體的製備與生產亦使用到相當多的細胞培養技術。

請回答下列問題：

- (一) 請敘述從 -80°C 冰箱取出凍存之 Chinese hamster ovary (CHO) 細胞 (保存於冷凍小管中) 並於無菌抽風櫥中進行解凍細胞的實驗操作程序。【5分】
- (二) 某研發人員於 CHO 細胞解凍後發現，培養基溶液培養一段時間後由鮮紅色轉為偏黃色的狀況，請問引起此現象的原因為何？並且建議研發人員該如何處置？【5分】
- (三) 若繼代培養後之 CHO 細胞的生長狀況不佳，請問引起此現象的原因為何？【5分】
- (四) 若 CHO 細胞的培養液中出现類似綿花狀的漂浮物和一串串珠狀物，請問引起此現象的原因為何？【2分】
- (五) CHO 細胞成為適合生化工程用來表現人類基因之外源蛋白質的原因為何？【5分】
- (六) 單株抗體是由融合瘤細胞所產生的，請問融合瘤細胞具有何種特性？【3分】

### 題目三：

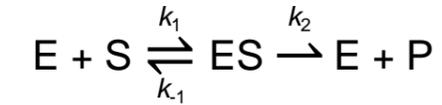
層析法已被廣泛的運用於生化工程領域，更是進行酵素與蛋白質純化的重要技術。賈博士為某生技公司的研發主管，日前被公司賦予了一項困難度頗高的蛋白質純化任務。研發團隊發現，有一批從微生物發酵製程中所得到的蛋白質混合液，具有抗發炎之功效，目前已知此混合液保存於 pH 7.0 的磷酸緩衝溶液中，經質譜儀分析後得知樣本中含有五個蛋白質，其中蛋白質 A 的分子量為 105 kDa，等電點 (pI) 約為 5.2；蛋白質 B 的分子量為 18 kDa，pI 約為 8.3，原態時為六元體；蛋白質 C 分子量為 11 kDa，pI 約為 8.5，原態時為二元體；蛋白質 D 的 N 端帶有六個連續的組胺酸 (Histidine)，其分子量為 28 kDa，pI 約為 7.8，原態時為四元體；蛋白質 E 的分子量為 20 kDa，pI 約為 5.2。此外，研發團隊還發現蛋白質 D 可以結合鎳離子，並且具有與胰蛋白酶 Trypsin 相同的催化活性；蛋白質 E 類似蠶絲蛋白並具有數個  $\beta$  摺板的結構。

請回答下列問題：

- (一) 請說明何謂蛋白質的等電點？【2分】
- (二) 上述保存於 pH 7.0 之磷酸緩衝溶液中的蛋白質 B，其所帶的電性為何？【2分】
- (三) 在 SDS-PAGE 的電泳中，哪一個蛋白質的泳動率最快？【2分】
- (四) 蛋白質 D 可以將此胜肽片段 GVRSCSEFFKLNPRAYK 作用成哪些片段？【2分】
- (五) 請問  $\beta$  摺板是屬於蛋白質的一級、二級、三級、四級結構中的哪一種？【2分】
- (六) 請您協助賈博士設計出能個別純化出 A、B、C、D 及 E 這五個蛋白質的層析法純化步驟，並說明實驗設計之邏輯架構與所使用之層析法的原理。【15分】

### 題目四：

一個在工業上具有重要用途的酵素 E，可以將其基質 S 催化並轉變成具有醫藥用途的產物 P。此酵素 E 的作用方程式如下所示：



其催化機制亦符合 Michaelis-Menten 的酵素動力學方程式 (如下所示)，其中 [S] 代表基質的濃度； $V_0$  代表的是在此 [S] 濃度下所測得的酵素反應初速率； $V_{\max}$  是最大反應初速率； $K_M$  為 Michaelis-Menten 常數。

$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_M + [S]}$$

某研發人員使用了不同濃度的基質 S，來測定酵素 E 的酵素反應初速率  $V_0$ ，得到了以下的實驗結果。

基質 S ( $\mu\text{M}$ )	反應初速率 $V_0$ ( $\text{s}^{-1}$ )
0	0
10	16
40	50
80	80
120	100
200	121
320	146
450	165
800	190
1200	200
2000	200

請回答下列問題：

- (一) 當此酵素反應的速率決定步驟為從 [ES] 轉變為 E 和 P 時 ( $V_0 = k_2[ES]$ )，請以  $k_1$ 、 $k_{-1}$  和  $k_2$  來定義 Michaelis-Menten 方程式中的  $K_M$  (請列出推導過程)。【5分】
- (二) 由於 ES 亦可解離成 E+S，請以  $k_1$  和  $k_{-1}$  來定義其解離常數  $K_D$ 。【2分】
- (三) 請以  $V_0$ 、 $V_{\max}$  和基質濃度 [S] 來定義 Michaelis-Menten 方程式中的  $K_M$ 。【3分】
- (四) 請以 Michaelis-Menten 酵素動力學方程式推導出 Lineweaver-Burk 雙倒數方程式。【5分】
- (五) Lineweaver-Burk plot 在 X 軸與 Y 軸之交點的數值分別為何？【4分】
- (六) 從上述的實驗結果，該研究人員所得到之酵素 E 對基質 S 的  $K_M$  為何？【3分】
- (七) 請計算出使用 380  $\mu\text{M}$  之基質 S 時，此酵素 E 的反應初速率為何？【3分】