



第14回
科学の甲子園 全国大会

実技競技②
世界最大のウイルスを探せ！

解答例と解説

問 1

2種類のプライマーが、その配列と相補的な、一本鎖に解離したウイルス DNA 上の塩基配列に結合するアニーリング反応が起こっている。

問 2

海水	沼の泥	雨水がしみとおった河川敷の土壌
パンドラウイルスは、チリの海の底の泥から分離されているため、海水にも存在すると考えられるから。	パンドラウイルスは、オーストラリアの湖の底の泥から分離されており、また宿主となるアcantアメーバは広く淡水に生息しているため、沼の泥にも存在すると考えられるから。	パンドラウイルスは、沼の底や海の底などの土壌・泥などから分離されており、また宿主となるアcantアメーバは広く淡水に生息しているため、淡水が染み通る河川敷にも存在すると考えられるから。

問 3

アcantアメーバなどの真核微生物は地球上の様々な環境下、生態系で棲息している。こうした微生物は単細胞生物が多くを占め、無性生殖して分裂して増える。これらに感染するウイルスは、こうした微生物の生態系における個体数の調節に関与していると共に、最も大量に存在するバイオマスに匹敵するものとして、多くの生物への炭素供給源になっていると考えられる。

問 4

GRGreen Loading Dye は、DNA に直接結合するため、DNA の分子量が実際よりも大きくなる。そのため電気泳動を行うと、塩基対数の理論値よりもやや高いところにバンドが出ると考えられる。

問5

- (1) 3つのチューブ試料から、パンドラウイルスの DNA のバンドが1～3本出たチームは、その結果から、パンドラウイルスの生態について自由に考察せよ。

海水、泥の水、雨水がしみとおった河川敷の土壌からパンドラウイルスの DNA が検出されたことから、パンドラウイルスは、アcantアメーバが多く生息する泥の水と、そこから水路でつながった海水に存在していると考えられる。また、雨水にはアcantアメーバのシストが存在すると考えられ、その水がしみとおった河川敷の土壌にも、もともとパンドラウイルスがいると考えれば、シストから栄養体に戻ったアcantアメーバにパンドラウイルスが感染し、増殖したと考えられる。

- (2) ミミウイルスの DNA だけバンドが出て、3つのチューブ試料からパンドラウイルスの DNA のバンドが1本も出なかったチームは、なぜパンドラウイルスの DNA バンドが出なかったのか、その理由を考察せよ。

5カ所のうち3カ所にはパンドラウイルスがいるはずだから、少なくとも1本はバンドが出るはずである。ということは、パンドラウイルス DNA があってもかかわらずミミウイルスの DNA のバンドのみが出たということである。手動 PCR 自体はうまくいったと考えられるが、98℃の反応を維持することが難しかったため、パンドラウイルスの DNA が検出されなかったと考えられる。

- (3) ミミウイルスの DNA も、3つのチューブ試料のパンドラウイルスの DNA も全くバンドが出なかったチームは、なぜ出なかったのか、その理由を考察せよ。

ミミウイルスの DNA は手動 PCR でも容易に増幅ができるはずだが、そのバンドが出なかったということは、手動 PCR 自体がうまくいかなかったと考えられる。98℃の反応を維持すること、55℃、72℃での反応がうまくいかなかったなど、多くの原因が考えられる。

- (4) ポジティブコントロールの2本ともバンドが出なかったチームは、なぜ出なかったのか、その理由を考察せよ。

アガロースゲル電気泳動がうまくいかなかったからだと考えられる。あるいは、青色 LED による発色と撮影がうまくできなかったからだとも考えられる。

- (5) 上記4つ以外の結果になったチームは、その概要を説明し、そのようになった理由を考察せよ。

【解説】

問1

55℃というのはあくまでもオーソドックスな温度であり、その温度は通常、プライマーの T_m 値が何度であるかによって決める。DNA とプライマーとの結合は、その塩基配列も大きく影響するからである。この 55℃でのプライマーのアニーリングは、PCR のしくみの根幹の一つであるから、まずこれに答えられないと、たとえ手動 PCR をやっても、今自分が何のために 55℃の反応をしているのかがわからない。

問2

参考資料にあるように、パンドラウイルスはアカントアメーバを宿主とし、そのアカントアメーバは様々な淡水に広く分布している。したがって、塩素などにより消毒されている水道水以外の4つはすべて、潜在的にパンドラウイルスが棲息していることになる（海水にも淡水が流れ込んでいる）。この4つのうち、これまでの先行研究においてその存在が明らかになっていないのは、「降ってきた雨水をそのままコップに貯めたもの」のみである。したがって、正しいフィールドは「海水」、「沼の泥」、「雨水がしみとおった河川敷の土壌」ということになる。

問3

ウイルスを生物と仮定した場合、生態的ピラミッドにウイルスを組み込むとするなら、分解者のさらに下に書かれるものとなる。これは、すべてのウイルスはすべての生物に対してその個体数調節、炭素源、様々な生態学的現象に関与する、すべての生物の個体数より圧倒的に多いバイオマスに匹敵する巨大な一群を形成しているからである。こうしたウイルスを近年「環境ウイルス」と呼んでいる。この環境ウイルスの考え方を解答の中にいかに取り込んでいるかが、点を与える際の基本的な考え方である。

問 4

通常の臭化エチジウム (EtBr) 染色は, DNA に結合するけれども分子自体が非常に小さく, 電気泳動上の誤差はほとんど無視できるし, たいていの場合, 泳動後の DNA に結合する。一方 GRGreen Loading Dye は蛍光物質を含み, その分子量は EtBr に比べて大きいため, 電気泳動を行う前に DNA と結合させると, その泳動度を変化させる (低下させる→やや高分子量側にバンドが出る) と考えられる。ただし, 泳動度の変化の度合いは, 塩基配列によって異なる。