

大問 2B 問題 1

【正解】 2) 5) (5点) 部分点は無し

【解説】 SARS と SARS2 コロナウイルスのスパイクタンパク質のアミノ酸配列は非常に良く似ているが(添付資料 2B-1)、アミノ酸配列の僅かな違いに着目すれば SARS2 コロナウイルス由来の遺伝子のみを PCR で増幅することは可能である。まず与えられたコドン表(添付資料 2B-2)により、1) ~6) のプライマーをアミノ酸配列に変換する。添付資料 2B-1 と照らし合わせると、3) 4) 5) はフォワードプライマー、1) 2) 6) はリバースプライマーであることが分かる。このうち、3) 4) 1) 6) は SARS と SARS2 コロナウイルスのスパイクタンパク質の共通配列を標的としており、2) 5) は、SARS2 コロナウイルスのスパイクタンパク質に特異的である。したがって、正解は 2) 5) となる。

大問 2B 問題 2

【正解】 1) 4) 6) (5点) 部分点は無し

【解説】 RNA 分解酵素は様々な場所に存在する。僅かでも RNA 分解酵素が RNA サンプルに混入すれば RNA はたちまち分解されてしまう。例えば、RNA 抽出の際に 1) 4) を行ったとする。飛沫や汗には RNA 分解酵素が含まれるため、RNA 分解酵素が RNA サンプルに混入する恐れがあり、1) 4) は不適切と判断できる。また、仮に RNA 分解酵素が RNA サンプルに混入した場合、RNA の分解速度は室温の方が早いため 6) は不適切と言える。したがって、正解は 1) 4) 6) となる。

大問 2B 問題 3

【正解】 2) 4) 6) 8) 9) 11) 12) 15) (5点) 部分点は無し

【解説】 逆転写反応は、RNA を鋳型として DNA プライマーを使用して DNA を合成する反応である。したがって、10) や RNA の合成に必要な 1) 3) 5) 7) は不要である。逆転写酵素はほとんどの酵素と同様に中性付近で活性を示し、13) 14) の条件下では変性して失活する。

大問 2B 問題 4-1

【正解】 $Y = X \times 2^k$ もしくはこれに準じた書き方 (5点) 部分点は無し

【解説】 PCR 反応開始時における DNA 量を X_0 とする。理想的な条件下では、増幅サイクルが 1 回進むと X_0 の量は 2 倍となり、増幅サイクルが 2 回進むと X_0 の量は 4 倍になる。すなわち、 $X = X_0 \times 2^n$ と表すことができる。同様にして、 $Y = X_0 \times 2^{n+k}$ と表すことができる。 $X = X_0 \times 2^n$ を式変形すれば $X_0 = X / 2^n$ となるので、これを $Y = X_0 \times 2^{n+k}$ に代入する。最終的に $Y = X \times 2^k$ が得られる。

大問 2B 問題 4-2

【正解】 解答例参照 (8点) 部分点有り

【解説】 実際の PCR においては、多くの場合一定のサイクル後に PCR 効率は大幅に低下し、PCR 産物の増加はほとんど見られなくなる。この現象はプラトーと呼ばれる。プラト

一を引き起こす原因は様々である（大問 2B 問題 4-3 の解答例を参照）。したがって、解答例は以下となる。

【解答例】 n の値が小さければ $X < Y$ となり得るが、 n の値が大きければ X と Y はほぼ同じ値となる。（43 字）

大問 2B 問題 4-3

【正解】 解答例参照（8 点） 部分点無し

【解説】 プラトーの原因は様々であるが、酵素反応に着目すれば、サイクル数増加に伴う基質の消耗、酵素の劣化（熱変性）、副生成物（ピロリン酸）による反応阻害、DNA 鎖同士の間によるプライミング効率の低下が主な原因として挙げられる。したがって、解答例は以下となる。

【解答例】 PCR 反応が進むにつれて酵素反応に必要な基質の一部が消耗し、PCR 反応の効率が低下するため。（46 字）

大問 2B 問題 5-1

【正解】 解答例参照（8 点） 部分点は無し

【解説】 DNA の二重らせんには主溝と副溝と呼ばれる大きな溝と小さな溝があり、インターカレーター法では副溝に結合して発光する蛍光色素を用いる。仮に PCR により標的とする DNA 領域以外が増幅されたとする。この場合、タックマン法では検出されないが、インターカレーター法では増幅産物が検出されてしまう。したがって、解答例は以下となる。

【解答例】 インターカレーター法では非特異的に増幅された DNA 断片も検出される点がデメリットである。（44 字）

大問 2B 問題 5-2

【正解】 は（8 点） 部分点無し

【解説】 インターカレーター法を利用する場合、標的の DNA 領域を増幅するプライマーとして適切かどうか検証するため複数のプライマーセットを通常用意する。各プライマーセットを用いて PCR を行い、アガロースゲル電気泳動によって増幅された DNA 断片の長さの確認や配列解析を行う。このようにして非特異的な増幅が見られないことを事前に確認する。非特異的な増幅が見られなければインターカレーター法を利用しても問題ない。したがって、解答例は以下となる。

【解答例】 目的の DNA 断片しか合成されない PCR 条件であれば問題ない。したがって、あらかじめ通常の PCR を行って電気泳動を行い、非特異的な増幅が見られないことを確認すればよい。（83 字）