

*Acanthamoeba*

区分	手法名 (文献)	プライマー		反応温度条件	増幅産物 bp	備考	推奨度
		名称	配列 (5'-3')				
PCR	(Yagi et al 2007)	Aca16Sf1010	TTA TAT TGA CTT GTA CAG GTG CT	94°C5分→(94°C60秒、56°C60秒、72°C60秒) × 35サイクル→72°C10分	161	ミトコンドリア16SrDNAをターゲットとする。 <i>Acanthamoeba</i> 属を幅広く検出する。原報に反応条件の情報は無く、左の反応条件はDerba et al (2014)による。 <i>Hartmannella</i> , <i>Naegleria</i> を検出しない。	-
		Aca16Sr1180	CAT AAT GAT TTG ACT TCT TCT CCT				
	(Howe et al 1997)	Ac6/10	GGC GAA GAA CCT GCA TCA GC	94°C5分→(94°C60秒、56°C60秒、72°C60秒) × 35サイクル→72°C10分	195	アニーリング温度を64°Cにすると、 <i>Acanthamoeba polyphaga</i> , <i>A. culbertsoni</i> および <i>A. sp.</i> のヒトに対する病原性系統のみを増幅するが、62°C以下では <i>Acanthamoeba</i> 属の種をみな検出し、 <i>Hartmannella sp.</i> も検出する。	-
		Ac6/205	CAA ACC AAC TCC CGA GCC A				
	(Lehmann et al 1998)	GP1383 forward	TCC CCT AGC AGC TTG TG	94°C5分→(94°C60秒、56°C60秒、72°C60秒) × 35サイクル→72°C10分	272	Taq polymerase (Promega)使用。 <i>Acanthamoeba castellanii</i> , <i>A. polyphaga</i> <i>A. rhysodes</i> を検出するが、本属のすべての種を検出するわけではない。	-
		GP1655 reverse	GTT AAG GTC TCG TTC GTT A				
	(MacLean et al 2007)	JDP 1 forward	GGC CCA GAT CGT TTA CCG TGA A	94°C5分→(94°C60秒、56°C60秒、72°C60秒) × 35サイクル→72°C10分	500	Acanthamoeba属を幅広く検出する。反応温度条件はDerda et al., (2014)による。AmpliTaq GoldDNA polymerase (Applied Biosystems)を使用。 <i>Naegleria</i> 属も検出する。	-
		JDP 2 reverse	TCT CAC AAG CTG CTA GGG AGT CA				
	(Mathers et al 2000)	NELSON forward	GTT TGA GGC AAT AAC AGG T	95°C10分→(94°C60秒、65°C60秒)× 50~55 サイクル	229	Acanthamoeba属を幅広く検出する。反応条件の上段は原報の方法。Taq gold polymeraseを用いて2段階のPCRでサイクル数を多くして増幅している。下段はDerba et al.(2014)の方法。AmpliTaq GoldDNA polymerase (Applied Biosystems)を使用。	-
		NELSON reverse	GAA TTC CTC GTT GAA GAT	94°C5分→(94°C30秒、55°C40秒、72°C40秒)× 44サイクル→72°C10分			

文献

Derda, M., A. Wojtkowiak-Giera and E. Hadaś (2014). Comparative analyses of different genetic markers for the detection of *Acanthamoeba* spp. Isolates. *Acta Parasitologica*, 59, 472-477.

Howe D.K., Vodkin M.H., Novak R.J., Visvesvara G. and McLaughlin G.L. (1997). Identification of two genetic markers that distinguish pathogenic and nonpathogenic strains of *Acanthamoeba* spp. *Parasitology Research*, 83, 345-348.

Lehmann O.J., Green S.M., Morlet N., Kilvington S., Keys M.F., Matheson M.M., Dart J.K.G., McGill J.I. and Watt P.J. (1998). Polymerase chain reaction analysis of corneal epithelial and tear samples in the diagnosis of *Acanthamoeba* keratitis. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 39, 1261-1265.

MacLean R.C., Hafez N., Tripathi S., Childress C.G., Ghatak N.R. and Marciano-Cabral F. (2007). Identification of *Acanthamoeba* sp. in paraffin-embedded CNS tissue from an HIV+ individual by PCR. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 57, 289-294.

Mathers W.D., Nelson S.E., Lane J.L., Wilson M.E., Allen R.C. and Folberg R. (2000). Confirmation of confocal microscopy diagnosis of *Acanthamoeba* keratitis using polymerase chain reaction analysis. *Archives of Ophthalmology*, 118, 178-183.

Yagi S., Schuster F.L. and Bloch K. (2007). Demonstration of presence of *Acanthamoeba* mitochondrial DNA in brain tissue and cerebrospinal fluid by PCR in samples from patient who died of granulomatous amebic encephalitis. *Journal of Clinical Microbiology*, 45, 2090-2091.