

病名：アコヤガイ赤変病 akoya oyster disease  
病原体：*Candidatus Maribrachyspira akoyae*  
宿主：アコヤガイ

区分	手法名 (文献)	プライマー		反応温度条件	增幅産物bp	備考	推奨度			
		名称	配列 (5' - 3')							
PCR  (Matsuyama et al., 2018)	FliG-F	CAGGGTGGAAATCGATTATGCACATGATATTGGGAAG	98°C 30秒 (98°C 10秒, 65°C 30秒, 68°C 60秒) × 35サイクル 68°C 5分	790 735 1258 642 482	KOD Fx (Toyobo) でのみ 検証済み					
	FliG-R	TTATGCAGCATATCGCAAGATACTGCTGATCCGTCGGT								
	TtgA-F	AAGGTGGATAATAAGAAATACAATTTCAAGAGTATCTTGTCAGG								
	TtgA-R	CTGGCCCTAGTTAAAAAAACTCTCCTTCAGTTAAC								
	BamA-F	GATGACCTTCCATAGATATTGAAGTTAATTGTAGAAGGTAAATCC								
	BamA-R	GGATATCCAATCCAGGAATTGTATTCAAAGCCAAATCC		732						
	Flagellin-F	TTACAAGAGCTTCGAATCTTCAGGTTGCAACCG								
	Flagellin-R	TTGAGATAGCATAATTGAGGATGTGCTGCAAGGAGTTG								
	Peptidase M23-F	GTACAGGTAATGTTAAGGGAAAATTGATAAGGAGAGAC								
	Peptidase M23-R	TGTAGATCTCCAGTACTACCTATACGACCAATAAC								
定量PCR  (Matsuyama et al., 2019)	F1gG-F	ATGGTTTATTCAATTGGACTGCTGCTGGGGTAT	95°C 2分 (95°C 10秒, 60°C 10秒, 68°C 30秒) × 40サイクル		KOD syber qPCE mix (Toyobo) でのみ 検証済み					
	F1gG-R	AGCCCTTGGCAACAATCATTGAGACCAG								

#### 文献

Matsuyama, T., Yasuike, M., Fujiwara, A., Nakamura, Y., Takano, T., Takeuchi, T., ... & Odawara, K. (2017). A Spirochaete is suggested as the causative agent of Akoya oyster disease by metagenomic analysis. *PLoS one*, 12(8), e0182280.

Matsuyama, T., Matsuura, Y., Inada, M., Takano, T., Nakayasu, C., Sakai, T., ... & Tsuchihashi, Y. (2018). An Epidemiological Study of Akoya Oyster Disease Using Polymerase Chain Reaction Targeting Spirochaetes Genes. *Fish Pathology*, 53(2), 63–70.

Matsuyama, T., Takano, T., Nakayasu, C., Odawara, K., Tsuchihashi, Y., Tanaka, S., ... & Masaoka, T. (2019). Spatiotemporal dynamics of Spirochaeta, the putative etiologic agent of Akoya oyster disease in pearl oysters, as determined by quantitative PCR. *Aquaculture*, 513, 734433.

確実性を高めるため、PCRは6種類あるプライマーセットのうち、任意の複数のセットを用いることを推奨する。