

ウイルス性コイ浮腫症 (viral edema of carp)
 病原体: DNAウイルス
 carp edema virus (CEV)
 ボックスウイルス科 属は未分類
 宿主: コイ

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	(Oyamatsu et al., 1997)	CEV-F1	GCTGTTGCAACCATTGAGA	94°C2分→(60°C1分、72°C1分、94°C30秒)×35サイクル→60°C2分→72°C5分	548	F1R1のPCRで得られる産物とF2R2のプライマーセットを用いたNestedPCRでは、目的サイズであるF2R2の181bp以外に、F1R1(548bp)、F1R2(481bp)およびF2R1(248bp)の増幅産物である3本のバンドが観察される。	☆☆
		CEV-R1	TGCAGGTTGCTCCTAATCCT				
	Nested PCR (Oyamatsu et al., 1997)	CEV-F2	GCTGCTGCACTTTTAGGAGG	94°C2分→(60°C1分、72°C1分、94°C30秒)×35サイクル→60°C2分→72°C5分	181		-
		CEV-R2	TGCAAGTTATTTGATGCCA				
	(Matras et al., 2016)(Way et al., 2017)	CEV for B	ATGGAGTATCCAAAGTACTTAG	95°C5分→(95°C1分、55°C1分、72°C1分)×35サイクル→72°C10分	528	本プライマー配列とブラグラムはAdamek et al (2017)にはプライマー名CEFAS_F、CEFAS_R、CEFAS_nF、CEFAS_nRとして記載されている。Adamek et al (2017)では95°C5分→(95°C30秒、55°C30秒、72°C30秒)×45サイクル→72°C7分で実施している。Adamek et al (2017)では本法がOyamatsu et al., 1997)に比べ若干検出率が高く、遺伝子型によっては非特異バンドの出現が少ないと記載されている。	☆☆
		CEV rev J	CTCTTCACTATTGTGACTTTG				
	Nested PCR (Matras et al., 2016)(Way et al., 2017)	CEV ForB-int	GTTATCAATGAAATTTGTGTATTG	95°C5分→(95°C1分、55°C1分、72°C1分)×35サイクル→72°C10分 (上記の1stPCRと同様のプログラム)	478		-
		CEV RevJ-int	TAGCAAAGTACTACCTCATCC				
リアルタイムPCR	(Adamek et al., 2016)	CEV-qF1	TTTAGGAGGACAAGTAAAGTTACCA	95°C10分→(95°C30秒、60°C30秒)×40サイクル	情報無	プライマーは、GenBank ID: KM283182の配列をもとに設計。	-
		CEV-qR1	GCAAGTTATTTGATGCCAACCC				
		CEV probe1	[FAM]-CCAGCTCCTACAAGGAAAGCAATTGA-[BHQ]				
	(Matras et al., 2016)(Way et al., 2017)	CEVqFor1	AGTTTTGTAKATTGTAGCATTCC	50°C2分→95°C10分→(95°C15秒、55°C1分)×50サイクル		マスターミックスはTaqMan Universal PCR master mix (Thermo Fisher Scientific, catalogue no. 4304437)を使用	☆☆
		CEV qRev1	GATTCCTCAAGGAGTTDCAGTAAA				
		CEV probe1	[FAM] AGA GTT TGT TTC TTG CCA TAC AAA CT [BHQ1]				

文献
 Oyamatsu, T., H. Matoyama, K.-y. Yamamoto and H. Fukuda (1997): A trial for the Detection of Carp Edema Virus by Using Polymerase Chain Reaction. *Aquaculture Science*, 45, 247-251.
 Adamek, M., V. Jung-Schroers, J. Hellmann, F. Teitge, S. M. Bergmann, M. Runge, D. W. Kleingeld, K. Way, D. M. Stone and D. Steinhagen (2016): Concentration of carp edema virus (CEV) DNA in koi tissues affected by koi sleepy disease (KSD). *Dis. Aquat. Org.*, 119, 245-251.
 Matras, M., Borzym, E., Stone, D., Way, K., Stachnik, M., Maj-Paluch, J., Palusinska, M., Reichert, M. (2017): Carp edema virus in Polish aquaculture—evidence of significant sequence divergence and a new lineage in common carp *Cyprinus carpio* (L.). *J. Fish Dis.*, 40(3), 319-325.
 Adamek, M., Matras, M., Jung-Schroers, V., Teitge, F., Heling, M., Bergmann, S.M., Reichert, M., Way, K., Stone, D.M., Steinhagen, D. (2017): Comparison of PCR methods for the detection of genetic variants of carp edema virus. *Dis. Aquat. Org.*, 126, 75-81.
 Way, K., Haenen, O., Stone, D., Adamek, M., Bergmann, S.M., Bigarré L., Diserens, N., El-Matbouli, M., Gjessing M. C., Jung-Schroers, V., Leguay, E., Matras, M., Olesen, N. J., Panzarin, V., Piac̣ková V., Toffan, A., Vendramin, N., Vesely, T., Waltzek, T. (2017): Emergence of carp edema virus (CEV) and its significance to European common carp and koi *Cyprinus carpio*. *Dis. Aquat. Org.*, 155-166.