

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	(Toyama et al., 1994)	PSY1	CGATCCTACTTGCGTAG	94°C2分→(94°C15秒、45°C1分30秒、72°C2分)×30 サイクル	1100	16SrDNAをターゲットとする。非特異反応を起こすことがある (Urdaci et al., 1998)。	—
		PSY2	GTTGGCATCAACACACT				
	(Urdaci et al., 1998)	FP1	GTTAGTTGGCATCAACAC	95°C5分→(94°C15秒、54°C1分、72°C1分)×35サイ クル→72°C10分	1088	16SrDNAをターゲットとする。アニーリングの 温度を54°C以下に下げると、非特異反応を起 こすことがある (Urdaci et al., 1998)。	—
		FP2	TCGATCCTACTTGCGTAG				
	(Izumi and Wakabayashi, 2000)	PSY-G1F	TGCAGGAAATCTTACTCG	94°C5分→(94°C1分、56°C1分、72°C2分)×35サイ クル→72°C5分	1017	gyrB遺伝子をターゲットとする。	—
		PSY-G1R	GTTGCAATTACAATGTTGT				
	(Izumi and Aranishi, 2004)	GYRA-FP1F	GAAACCGGTGCACAGAAGG	94°C5分→(94°C30秒、56°C30秒、72°C1分30秒)× 30サイクル→72°C5分	396	gyrA遺伝子をターゲットとする。	—
		GYRA-FP1R	CCTGTGGCTCCGTTTATTAA				
	(Yoshiura et al., 2006)	fpPPIC1F	GTACCATGATACAGTCAGGTTTTTATACCA	95°C1分→(95°C15秒、60°C30秒、72°C30秒)×35~ 40サイクル	346	ppiC遺伝子をターゲットとする。制限酵素 Hinf I による遺伝子型の判別が可能。 Hinf I siteが2つ; 遺伝子型A Hinf I siteが1つ; 遺伝子型B	☆☆
		fpPPIC1R	GCGTTTTTAAATCCAACCTTGCTTCG				
リアル タイム PCR	(Del Cerro et al., 2002)	FP1	GTTAGTTGGCATCAACAC	94°C2分→(94°C40秒、60°C40秒、72°C1分)×45サ イクル→72°C5分	971	16SrDNAをターゲットとする TaqMan PCR。	—
		FP3	AACTGGCAGTCTTGCTA				
		FPP1(プローブ)	FAM-TGACGACAACCATGCAGCACCTTG-TAMRA				
	(Orieux et al., 2011)	Fp_16S1_fw	GAGTTGGCATCAACACAC	96°C10分→(96°C30秒、56°C30秒、72°C30秒)×40 サイクル→72°C5分	146	サイバーグリーンによる検出。16SrDNAをター ゲットとする。非特異反応を起こすことがある (Orieux et al., 2011)。	—
Fp_16Sint1_rev		TCCGTGTCTCAGTACCAGTACCAG					

文献

Del Cerro, A., M. C. Mendoza and J. A. Guijarro (2002): Usefulness of a TaqMan-based polymerase chain reaction assay for the detection of the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum*. *J. Appl. Microbiol.*, 93, 149-156.

Fujiwara-Nagata, E. and M. Eguchi (2009): Development and evaluation of a loop-mediated isothermal amplification assay for rapid and simple detection of *Flavobacterium psychrophilum*. *J. Fish Dis.*, 32, 873-881.

Izumi, S. and H. Wakabayashi (2000): Sequencing of *gyrB* and their application in the identification of *Flavobacterium psychrophilum* by PCR. *Fish Pathol.*, 35, 93-94.

Izumi, S. and F. Aranishi (2004): Relationship between *gyrA* mutations and quinolone resistance in *Flavobacterium psychrophilum* isolates. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70, 3968-3972.

Orieux, N., J. P. Bourdineaud, D. G. Douet, P. Daniel and M. Le Henaff (2011): Quantification of *Flavobacterium psychrophilum* in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), tissues by qPCR. *J. Fish Dis.*, 34, 811-821.

Toyama, T., K. Kita-Tsukamoto and H. Wakabayashi (1994): Identification of *Cytophaga psychrophila* by PCR targeted 16S ribosomal RNA. *Fish Pathol.*, 29, 271-275.

Urdaci, M. C., C. Chakroun, D. Faure and J. F. Bernardet (1998): Development of a polymerase chain reaction assay for identification and detection of the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum*. *Res. Microbiol.*, 149, 519-530.