

病名: 白点病(淡水魚)
 病原体: *Ichthyophthirius multifiliis*
 宿主: 淡水魚

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	(Chen et al 2008)	S01 Forward	GTA CTT TAT TTA GGA GGA GGA CT	94°C5分→(94°C30秒、53°C30秒、72°C1分30秒)×35サイクル→72°C5分	280	Taq polymerase (Takara) 使用。 <i>C. irritans</i> , <i>Pseudokeroronopsis rubra</i> , <i>Pseudokeroronopsis carnae</i> , <i>Euplotes</i> sp.1, <i>Pseudourostyla cristata</i> , <i>Paramecium caudatum</i> は増幅しないことを確認している。	-
		S02 Reverse	TGT TTA ACG AGA GAA AAT CAT AAA T				
	(Fariya et al 2016)	ImR1 Forward	AGT GAC AAG AAA TAG CAA GCC AGG AG	94°C5分→(94°C15秒、58°C30秒、72°C30秒)×35サイクル→72°C7分	850	—	-
		Im1 Reverse	GCA GGT TAA GGT CTC GTT CG				
	(Pugovkin et al 2001)	D-1	CTA ATT GTT GGG CTA ATA CAT G	95°C5分→(94°C30秒、58°C30秒、72°C90秒)×40サイクル→72°C15分	352	プライマー D-1 は <i>Tetrahymena corlissi</i> と共通。Ampli Taq polymerase (Perkin Elmer) 使用。	-
		D-2	TCA ATG CCG TAG AGA GAA GAA TC				
リアルタイムPCR	(Jousson et al 2005)	IMRf1	AGT GAC AAG AAA TAG CAA GCC AGG AG	50°C2分→95°C15分→(94°C15秒、58°C30秒、72°C30秒)×35サイクル	193	SYBR green を用いてreal-time PCRを行っている。	-
		IMRr1	ACC CAG CTA AAT AGG CAG AAG TTC AA				
	(Miller et al 2016)	Forward	AAA TGG GCA TAC GTT TGC AAA	50°C2分→95°C10分→(95°C15秒、60°C60秒、72°C30秒)×40サイクル	98	原報ではTaqMan Gene Expression Master Mix (ABI PN4369016)を使用。	-
		Reverse	AAC CTG CCT GAA ACA CTC TAA TTT TT				
		Probe	ACT CGG CCT TCA CTG GTT CGA CTT GG				

文献
 Chen W., H.Y. Sun, M.Q. Xie., J.S. Bai, X.Q. Zhu and A.X. Li (2008). Development of specific PCR assays for the detection of *Cryptocaryon irritans*. Parasitol Res, 103, 423-427.

Fariya,N., R. Abidi, and U.K. Chauhan (2016). Development and standardization of PCR technique for detection of ciliate parasite *Ichthyophthirius multifiliis* from freshwater exotic carp *Cyprinus carpio* and Indian major carp *Labeo rohita*. J. Biol. Sci. Med.2: 15-19.

Pugovkin, D., R. Felleisen and T. Wahli (2001). A PCR – based method for the detection of *Tetrahymena corlissi* contaminations in *Ichthyophthirius multifiliis* in vitro cultures. Bull. Eur. Ass. Fish Pathol., 21, 222-227.

Jousson, O., Pretti, C., Di Bello, D., and Cognetti-Varriale, A. M. (2005) Non-invasive detection and quantification of the parasitic ciliate *Ichthyophthirius multifiliis* by real-time PCR. Diseases of Aquatic Organisms 65, 251-255.

Miller K.M., Gardner I.A., Vanderstichel R., Burnley T., Schulze A.D., Li S., Tabata A., Kaukinen K. H., Ming T.J. & Ginther N.G. (2016) Report on the performance evaluation of the Fluidigm BioMark platform for highthroughput microbe monitoring in salmon. Technical report (Canadian Science Advisory Secretariat (CSAS) Research Document 2016/038 Pacific Region).