

*Lactococcus garvieae* いわゆるα溶血レンサ球菌;ブリ、カンパチ、シマアジ、アジ等の病原体

| 区分                     | 手法名<br>(文献)          | プライマー                      |  | 反応温度条件  | 増幅産物<br>bp  | 備考   | 推奨度 |
|------------------------|----------------------|----------------------------|--|---|---|--|-----|
|                        |                      | 名称                         | 配列(5'-3')                                      |   |   |  |     |
| PCR                    | (Zlotkin et al 1998) | pLG1                       | CAT AAC AAT GAG AAT CGC                        | 94°C3分→(94°C60秒、55°C60秒、72°C90秒)x35サイクル→72°C10分 | 1100  | 使用酵素はVent DNA polymerase (New England Biolabs)。プライマー濃度は8 μM。16SrDNAを増幅。                            | —   |
|                        |                      | pLG2                       | GCA CCC TCG CGG GTT G                          |   |   |  |     |
|                        | (Aoki et al 2000)    | SA1B10-1-F                 | CAT TTT ACG ATG GCG CAG                        | (95°C30秒、58°C30秒、72°C60秒)x30サイクル                | 709   | 使用酵素はrTaq DNA polymerase (Toyobo)。プライマー濃度は1 μM。dihydropteroate synthase 遺伝子を増幅。                    | ☆   |
|                        |                      | SA1B10-1-R                 | CGT CGT GTT GCT CGA ACA                        |   |   |  |     |
|                        | (Jung et al 2010)    | CAU12F                     | ACT CGT GCT ATC CTT                            | 95°C5分→(95°C60秒、58°C60秒、72°C60秒)x35サイクル→72°C7分  | 415   | 使用酵素はTsg polymerase。プライマー濃度は0.5 μM。16SrDNAを増幅。   | —   |
|                        |                      | CAU15R                     | TGG GTA CTC CCA ACT TCC                        |   |   |  |     |
|                        | (Dang et al 2012)    | ITSLg30F                   | ACT TTA TTC AGT TTT GAG GGG TCT                | 95°C20分→(94°C30秒、58°C30秒、72°C40秒)x30サイクル→72°C7分 | 290   | 使用酵素はTaq polymerase (Roche Diagnostics)。プライマー濃度は1 μM。16SrDNA と 23SrDNA 間のスペーサー領域を増幅。               | —   |
|                        |                      | ITSLg319R                  | TTT AAA AGA ATT CGC AGC TTT ACA                |   |   |  |     |
| (Ohbayashi et al 2017) | LGD-F                | GGA TTG AAC TTC CTG CCA CA | 95°C4分→(95°C30秒、55°C30秒、72°C90秒)x30サイクル→72°C7分 | 285<br>(type I)                                 | GoTaq Green Master Mix (Promega)使用。gixR, argSの両遺伝子の一部にプライマーが設計されている。血清型Iでは285bpの、IIでは1285bpの増幅産物を得ることにより両者の区別が可能。 | —  |     |
|                        | LGD-R                | ATC CTT GAG GAC AAC GAA GG |  | 1285<br>(type II)                               |   |  |     |
| リアルタイムPCR              | (Jung et al 2010)    | CAU12F                     | ACTCGTGCTATCCTT                                | 95°C15分→(94°C20秒、58°C30秒、72°C45秒)x60サイクル→72°C5分 | 情報無   | 使用酵素はSYBER Green master mix (Finnzymes Inc., Woburn, Massachusetts USA)。プライマー濃度は0.5 μM。16SrDNAを増幅。 | —   |
|                        |                      | CAU15R                     | TGGGTACTCCCAACTTCC                             |   |   |  |     |

文献

Zlotkin, A., et al (1998): Identification of *Lactococcus garvieae* by PCR. Journal of Clinical Microbiology 36, 983-985.

Aoki, T., et al (2000): Species-specific polymerase chain reaction primers for *Lactococcus garvieae*, Journal of Fish Diseases, 23, 1-6.

Jung, M. Y., et al (2010): A real-time PCR assay for detection and quantification of *Lactococcus garvieae*. Journal of Applied Microbiology 108, 1694-1701.

Dang, H. T., et al (2012): Development of a novel PCR assay based on the 16S-23SrRNA internal transcribed spacer region for the detection of *Lactococcus garvieae*. Journal of Fish Diseases, 35, 481-487

Ohbayashi, K., et al (2017) PCR-mediated identification of the newly emerging pathogen *Lactococcus garvieae* serotype II from *Seriola quinqueradiata* and *S. dumerili*. Fish Pathology 52, 46-49.