

Spironucleus (=Hexamita) 感染症

宿主: サケ科魚類を始めとするさまざまな水生動物

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	(Jørgensen et al 2011)	ERIB 1	ACC TGG TTG ATC CTG CCA G	1stPCR: 95°C5分→(95°C45秒、50°C45秒、72°C45秒) × 35サイクル→72°C4分	不明	最初のERIB 1/EUKBは、真核細胞の18SrRNA遺伝子を検出するユニバーサルプライマー。本PCRの後下記のnested PCRを行う。	-		
		EUKB	ATC CTT CTG CAG GTT CAC CTA C						
		Spironucleosis-1f	TCA TTT ATC AGT GGT TAG TAC ATG C	nested PCR: 95°C5分→(95°C45秒、56°C45秒、72°C45秒) × 35サイクル→72°C4分	1150			<i>S. salmonicida</i> 特異的。ERIB 1/EUKBによるPCR産物をテンプレートとして、本nested PCRを実施する。	
		Spironucleosis-2r	TTC AAG CCT AAC CAC GAC AAG						
		Spiro-1f	AAG ATT AAG CCA TGC ATG CC	nested PCR: 95°C5分→(95°C45秒、56°C45秒、72°C45秒) × 35サイクル→72°C4分	1150				<i>Spironucleus</i> 属原虫 (<i>S. salmonicida</i> , <i>S. salmons</i> , <i>S. barkhanus</i>) を種の区別なく検出する。ERIB 1/EUKBによるPCR産物をテンプレートとして、本nested PCRを実施する。
		Spiro-2r	GCA GCC TTG TTA CGA CTT CTC						
リアルタイム RT-PCR	(Miller et al 2016)	forward	GCA GCG CGG TAA TTC C	50°C2分→95°C10分→(95°C15秒、60°C60秒) × 40サイクル	61	18SrDNAを標的とする。TaqMan PreAmp master mix (Applied Biosystems)使用。原報ではFluidigm Biomark という市販の機器を用いて40以上の病原体を一度に検出しているが、そのうちのの一つである。	-		
		reverse	CGA ACT TTT TAA CTG CAG CAA CA						
		probe	ACA CGG AGA GTA TTC T						

文献

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).

Jørgensen, A., K. Torp, M.A. Bjørland and T.T. Poppe (2011). Wild Arctic char *Salvelinus alpinus* and trout *Salmo trutta*: hosts and reservoir of the salmonid pathogen *Spironucleus salmonicida* (*Diplomonadida*; *Hexamitidae*). Dis Aquat Org 97, 57-63.