

ウイルス性神経壊死症

病原体: RNAウイルス

魚類ノダウイルス (SJNNV、RGNNV、TPNNV、BFNNV等)

ノダウイルス科 ベータノダウイルス属

宿主: シマアジ, ハタ類, ヒラメ, タラ, イシダイ, スズキ等

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	T4 (Nishizawa et al. 1994)	F2	CGTGTCAGTCATGTGTCGCT	逆転写: 42°C30分 PCR: 72°C10分→95°C2分→(95°C40秒、55°C40秒、72°C40秒)×25サイクル→72°C5分 95°C5分→(95°C30秒、65°C30秒、72°C60秒)×25サイクル→72°C5分 * T4プライマーセットでのRT-PCR産物を使用する。	426	RNA2 (CP) 遺伝子。SJNNVの検出感度が高い。OIEマニュアル記載。 * NNV-uniプライマーセットと同じ反応試薬と温度条件でRT-PCRも可能。	☆☆									
		R3	CGAGTCAACACGGGTGAAGA													
	T4 nested RG type (森ら、2008)	RG-485f	ACCTGAGGAGACTACCGCTC		252		95°C5分→(95°C30秒、65°C30秒、72°C60秒)×25サイクル→72°C5分 * T4プライマーセットでのRT-PCR産物を使用する。	252	RGNNV検出用nested-PCR。T4プライマーセットでのRT-PCR後に実施する。	-						
		RG-735r	CAGCGAAACCAGCCTGCAGG													
	T4 nested BF type (森ら、2008)	BF-485f	ACCTGAAGATACATTGCTC		252			95°C5分→(95°C30秒、65°C30秒、72°C60秒)×25サイクル→72°C5分 * T4プライマーセットでのRT-PCR産物を使用する。		252	BFNNV検出用nested-PCR。T4プライマーセットでのRT-PCR後に実施する。	-				
		BF-735r	CAGTGGAACCACCCGCAGG													
	T4 nested SJ type (森ら、2008)	SJ-669f	ACCTGAGGACACCACCGCTC		258					95°C5分→(95°C30秒、65°C30秒、72°C60秒)×25サイクル→72°C5分 * T4プライマーセットでのRT-PCR産物を使用する。		258	SJNNV検出用nested-PCR。T4プライマーセットでのRT-PCR後に実施する。	-		
		SJ-926r	CAGTCAAAGTACCCAGCAGG													
	T4 nested TP type (森ら、2008)	TP-485f	ACCTGAGGAAACATTGCTC		258							95°C5分→(95°C30秒、65°C30秒、72°C60秒)×25サイクル→72°C5分 * T4プライマーセットでのRT-PCR産物を使用する。		258	TPNNV検出用nested-PCR。T4プライマーセットでのRT-PCR後に実施する。	-
		TP-735r	CAATCCAAGAAGCCTGCAGG													
NNV-uni (増養殖研)	NNV-F1	CAACTGACAACGACCACACC	795	55°C30分→95°C2分→(95°C15秒、55°C30秒、72°C60秒)×40サイクル→72°C5分	795	RNA2 (CP) 遺伝子。全ての遺伝子型に対する検出感度がT4プライマーセットよりも高い。SuperScript® III One-Step RT-PCR System with Platinum® Taq (Invitrogen)								☆☆		
	NNV-R2	CTCCTTGGGTGCTTTGTCGT														
リアルタイムPCR	qR2T (Hick and Whittington 2010)	qR2TF	CTTCCTGCCTGATCCAACCTG		50°C20分→95°C5分→(95°C15秒、60°C45秒)×45サイクル		93		RNA2 (CP) 遺伝子。RGNNV型の検出感度が良い。OIEマニュアル記載。QuantiTect Virus One-step qRT-PCR Kit (Qiagen)					☆		
		qR2TR	GTTCTGCTTTCCACCATTTG													
		R2probe2	6FAM-CAACGACTGCACCACGAGTTG-BHQ1													
(Panzarin et al. 2011)	RNA2 FOR	CAACTGACARCGAHCACAC	95°C10分→(95°C10秒、58°C35秒、72°C1秒)×45サイクル * High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystem)で逆転写したcDNAを用いる。		69		RNA2 (CP) 遺伝子。縮重プライマーで、4タイプ全ての遺伝子型が検出できるように設計されている。OIEマニュアル記載。LightCycler TaqMan Master (Roche)	☆								
		RNA2 REV							CCCACCAYTTGGCVAC							
		RNA2 probe							FAM-TYCARGCRACTCGTGGTGCVG-BHQ1							

文献

Nishizawa T, Mori K, Nakai T, Furusawa I, Muroga K (1994) Polymerase chain reaction (PCR) amplification of RNA of striped jack nervous necrosis virus (SJNNV). Dis Aquat Org, 18, 103-107.

森 広一郎、太田健吾、山田徹生 (2008) 栽培漁業シリーズ「ヒラメVNN防除に関するこれまでの取り組み」。平成20年3月。

Hick P, Whittington RJ (2010) Optimisation and validation of a real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction assay for detection of betanodavirus. J Virol Methods, 163, 368-377.

Panzarin V, Patarnello P, Mori A, Rampazzo E, Cappelozza E, Bovo G, Cattoli G (2010) Development and validation of a real-time TaqMan PCR assay for the detection of betanodavirus in clinical specimens. Arch Virol, 155, 1193-1203.