

病名：真菌症
 病原体：真菌一般
 宿主：魚介類

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	White et al., (1990)	ITS1	5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3'	95 °C、4分間 95 °C、1分→50 °C、1分→72 °C、2分の30サイクル 72°C、10分	約 800bp	増幅産物をシーケンスして同定。増幅が思わしくない時は、ITS5とITS4の組み合わせも試す。		
		ITS4	5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3'					
		ITS2	5'-GCT GCG TTC TTC ATC GAT GC-3'					シーケンス用プライマー
		ITS3	5'-GCA TCG ATG AAG AAC GCA GC-3'					
		ITS5	5'-GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G-3'					
	Vilgalys and Hester (1990)	5.8S	CGCTGCGTTCTTCATCG	シーケンス用プライマー	シーケンス用のプライマーには、ITS1、ITS2、ITS3、ITS4及びITS5を使用			
		5.8SR	TCGATGAAGAACGCAGCG					
		SR6R	AAGWAAAAGTCGTAACAAGG					
	Gardes and Bruns. (1993)	ITS1-F	5'-CTT GGT CAT TTA GAG GAA GTA A-3'		ITS領域は、菌類の中で最も多く配列が決定されている。通常、種レベルでの分子系統に利用される。rRNA遺伝子よりも保存性が低いことから、同一ゲノム内のITS領域間でバリエーションが観察されることがある。			
		ITS4-B	5'-CAG GAG ACT TGT ACA CGG TCC AG-3'					
						各プライマーの位置関係は下図を参照のこと。		
						菌類のITS領域を特異的に増幅するプライマー。		

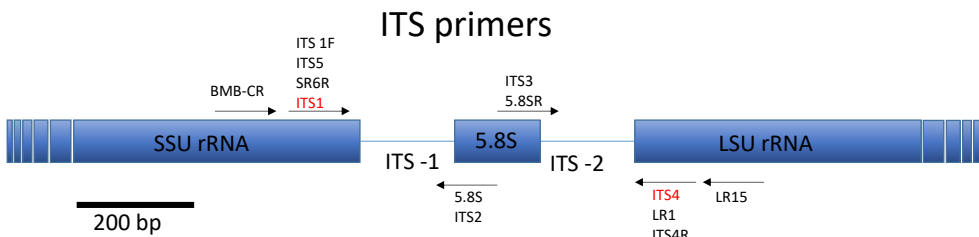
文献

- White et al. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. pp. 315-322 In: PCR Proto-cols: A Guide to Methods and Applications, eds. Innis, M.A., D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, and T.J. White. Academic Press, Inc., New York.
- Gardes, M., and T. D. Bruns. (1993) ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes - application to the identification of mycorrhizae and rusts. Mol. Ecol. 2: 113-118.
- Vilgalys, R. and Hester, M. (1990) Rapid Genetic Identification and Mapping of Enzymatically Amplified Ribosomal DNA from Several Cryptococcus Species. Journal of Bacteriology 172(8): 4238-4246. <https://jb.asm.org/content/jb/172/8/4238.full.pdf>

ITS領域と各種プライマーの位置関係

(上記に示されていないプライマーもあり。)

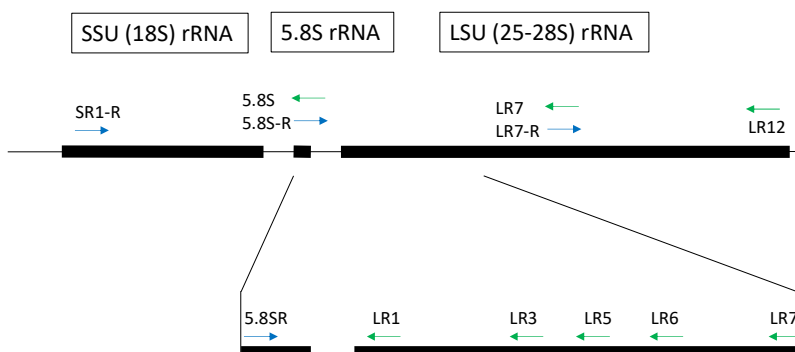
http://home.psu.ac.th/~4823002/Molecular_ITS.htm



文献3のプライマーの表

Name	Nucleotide sequence (5'-3')	Position on <i>S. cerevisiae</i> rRNA
SR1-R	TACCTGGTTGATTCTGC	1-17, 17S RNA
5.8S-R	TCGATGAAGAACGCAGC	34-51, 5.8S RNA
LR1	GGTGGTTTCTTTTCT	73-56, 25S RNA
LR3	GGTCCGTGTTCAAGAC	654-638, 25S RNA
LR5	ATCCTGAGGGAAACTTC	968-952, 25S RNA
LR6	CGCCAGTCTGCTTACC	1141-1125, 25S RNA
LR7	TACTACCACCAAGATCT	1448-1422, 24S RNA
LR7-R	AGATCTGGTGGTAGTA	1422-1448, 25S RNA
LR12	GACTTAGAGGCTTCAG	3126-3110, 25S RNA

文献3のプライマーの位置関係の図



上記プライマーの方向に注意

(Rと付いている方が正鎖)

SR1-R	1-17	→ 正鎖 (プラス鎖)
5.8S	51-34	← 逆相補鎖
5.8S-R	34-51	→ 正鎖 (プラス鎖)
LR1	73-56	← 逆相補鎖
LR3	654-638	← 逆相補鎖
LR5	968-952	← 逆相補鎖
LR6	1141-1125	← 逆相補鎖
LR7	1448-1422	← 逆相補鎖
LR7-R	1422-1448	→ 正鎖 (プラス鎖)
LR12	3126-3110	← 逆相補鎖

プライマー名の最後にRと付いているのは、逆(リバーズ)という意味ではなく、RNA遺伝子の塩基配列と同じ向きの正鎖(プラス鎖)という意味である。(正鎖とは、遺伝子がコードされている方向の鎖のことである。)