

ヘルペスウイルス性造血器壊死症

病原体:DNAウイルス

cyprinid herpesvirus 2 (CyHV-2)=goldfish hematopoietic necrosis virus

アロヘルペスウイルス科 シプリニウイルス属

宿主:キンギョ、ギベリオブナ

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	(Waltzek et al., 2009)	CyHV2HelF	GGACTTGCGAAGAGTTTGATTTCTAC	95°C2分→(60°C45秒、72°C45秒、95°C30秒)x35サイクル→72°C2分	366	使用酵素はstandard PCR master mix (Invitrogen)またはTakara ExTaq Hot start version (Takara)、プライマー終濃度は各0.4 μ M、標的遺伝子はhelicase gene	☆☆
		CyHV2HelR	CCATAGTCACCATCGTCTCATC				
	(Boitard et al., 2016)	oPVP39	CCCAGCAACATGTGCGACGS	94°C8分→(94°C30秒、58°C30秒、72°C30秒)x35サイクル→72°C10分	362	使用酵素は標的遺伝子はDNA polymerase gene、プライマー終濃度は各0.4 μ M、Jeffery et al. 2007の変法、	-
		oPVP40	CCGTARTGMGAGTTGGCGCA				
	(Lovy and Friend, 2014)	F	TCG GTT GGA CTCGGT TTG TG	95°C5分→(95°C30秒、58°C45秒、72°C45秒)x35サイクル→72°C2分	92	使用酵素は2× PCR Master Mix (Invitrogen)、各プライマー濃度は10 μ M、標的遺伝子はDNA polymerase gene	-
		R	CTC GGT CTTGAT GCG TTT CTT G				
リアルタイムPCR	(Wang et al., 2016)	CyHV-2rtF	TTA GCGTCAGGTCCATAG	95°C30秒→(95°C5秒、59°C30秒、72°C30秒)x40サイクル	366	使用酵素は2x SYBR Green Master Mix (Bio-Rad)、プライマー濃度は各2.0 μ M、	-
		CyHV-2rtR	GGCGTGTAGAAATCAAACCT				
	(Goodwin et al., 2006)	forward	TCGGTTGGACTCGGTTTGTG	95°C2分→(58°C45秒、72°C45秒、95°C30秒)x35サイクル→72°C2分	170	使用酵素は2X supermix (Bio-Rad)、プライマー終濃度は各0.4 μ M、標的遺伝子はDNA polymerase gene	-
		reverse	CTCGGTCTTGATGCGTTTCTTG				
		probe	FAM-CCGCTTCCAGTCTGGCCACTACC-BHQ1				

文献

Waltzek et al (2009): Journal of Aquatic Animal Health, 21, 60-67

Boitard et al. (2016): Journal of Fish Diseases 2016, 39, 673-680

Lovy and Friend (2014): Diseases of Aquatic Organisms, 108, 1-9

Wang et al (2016): Journal of Fish Diseases, 39, 155-162 Goodwin et al (2006): Diseases of Aquatic Organisms, 69, 137-143