

流行性造血器壊死症を始めとしたラナウイルス感染症

病原体:DNAウイルス

ラナウイルス(EHNV, ECV, ESV, PPIV, LMBV等)

イリドウイルス科 ラナウイルス属

宿主:レッドフィンパーチ、ニジマス、ナマズ、ブラックバス等

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	MCP-1 (EHN, OIEマニュアル2012)	M151	AACCCGGCTTTTCGGGCAGCA	94°C3分→(94°C30秒、50°C30秒、72°C60秒)×35サイクル→72°C5分	321	OIEマニュアルおよび病性鑑定指針記載(EHN初動診断用)。MCP遺伝子。 TaKaRa Ex Taq Hot Start Version (TaKaRa)	☆☆
		M152	CGGGGCGGGTTGATGAGAT				
	MCP-2 (EHN, OIEマニュアル2012)	M153	ATGACCGTCGCCCTCATCAC	94°C3分→(94°C30秒、50°C30秒、72°C60秒)×35サイクル→72°C5分	625	OIEマニュアルおよび病性鑑定指針記載(EHN最終診断用)。MCP遺伝子。 TaKaRa Ex Taq Hot Start Version (TaKaRa)	☆☆
		M154	CCATCGAGCCGTTTCATGATG				
	MCPシーケンス (EHN, OIEマニュアル2012)	上流プライマー	CGCAGTCAAGGCCTTGATGT	(95°C1分、55°C1分、72°C1分)×35サイクル→72°C15分	580	OIEマニュアルおよび病性鑑定指針記載(シーケンス用)。MCP遺伝子。	-
		下流プライマー	AAAGACCCGTTTTGCAGCAGCAAAC				
	DNA polymerase (Hopopainen et al. 2009)	DNApol-F	GTG TAY CAG TGG TTT TGC GAC	(95°C1分、50°C1分、72°C1分)×35サイクル	560	DNAポリメラーゼ遺伝子。 AmpliTaq Gold (Applied Biosystems)	-
		DNApol-R	TCG TCT CCG GGY CTG TCT TT				
	NF-H1 (Hopopainen et al. 2009)	NF-H1-F	CCA AAG ACC AAA GAC CAG	(95°C1分、55°C1分、72°C1分)×35サイクル	639	NF-H1遺伝子。 AmpliTaq Gold (Applied Biosystems)	-
		NF-H1-R	GTT GGT CTT TGG TCT CGC TC				
(Grizzle et al. 2003)	FV3-54F	GAC TTG GCC ACT TAT GAC	95°C3分→(95°C45秒、60°C45秒、72°C60秒)×35サイクル→72°C7分	806	MCP遺伝子。広範囲のラナウイルスを検出可能。	-	
	FV3-584R	GTC TCT GGA GAA GAA GAA					
(Grizzle et al. 2003)	LMBV288F	GCGGCCAACCAGTTTAACGCAA	95°C3分→(95°C45秒、60°C45秒、72°C60秒)×35サイクル→72°C7分	248	MCP遺伝子。LMBVのみ検出可能。	-	
	LMBV535R	AGGACCCTAGCTCCTGCTTGAT					
リアルタイムPCR	CON (Pallister et al. 2007)	上流プライマー	CTCATCGTTCTGGCCATCAA	情報なし	57	MCP遺伝子。反応温度条件の記載がない。 TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems)	-
		下流プライマー	TCCCATCGAGCCGTTCA				
		CON Probe	FAM-CACAACATTATCCGCATC-MGB				
	(Jaramillo et al. 2012)	C1096	GACTGACCAACGCCAGCCTTAACG	95°C15分→(95°C30秒、58°C30秒、72°C30秒)×40サイクル	94	MCP遺伝子。 Quantitect SYBR Green Master Mix kit (Qiagen)	-
C1097		GCGGTGGTGTACCCAGAGTTGTCG					

文献

Holopainen R, Ohlemeyer S, Schütze H, Bergmann SM, Tapiovaara H (2009) Ranavirus phylogeny and differentiation based on major capsid protein, DNA polymerase and neurofilament triplet H1-like protein genes. Dis Aquat Organ. 85, 81-91.

Grizzle JM, Altinok I, Noyes, AD (2003) PCR method for detection of largemouth bass virus. Dis Aquat Organ. 54, 29-33.

Pallister J, Gould A, Harrison D, Hyatt A, Jancovich J, Heine H (2007) Development of real-time PCR assays for the detection and differentiation of Australian and European ranaviruses. J Fish Dis. 30, 427-38.

Jaramillo D, Tweedie A, Becker JA, Hyatt A, Cramer S, Whittington RJ (2012) A validated quantitative polymerase chain reaction assay for the detection of ranaviruses (Family Iridoviridae) in fish tissue and cell cultures, using EHNV as a model. Aquaculture 356-357, 186-192