

ティラピアレイクウイルス (TiLV)
(Tilapia lake virus)

病原体: オルソミクソ様のRNAウイルス (分類未確定)

宿主: ナイルティラピア *Oreochromis niloticus* とその交雑種 (*O. niloticus* x *O. aureus*)

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	ME1- 7450/150R/ME2 Eyngor et al. (2014)	ME1	GTTGGGCACAAGGCATCCTA	50°C15分逆転写→ 95°C2分→(95°C30秒, 56°C60秒, 72°C60秒) ×35サイクル→72°C7分	250	Segment3 を標的とする。Verso 1-step RT-PCR REddyMix kit (Thermo, Lithuania)を用いた one-step RT-PCR。下記のTsofack et al (2017) では、下記プ ライマーによるPCRの後にnested PCRとして行っ ている。	—
		7450/150R/ ME2	TATCACGTGCGTACTCGTTCAGT				
	Nested ext1/ext2 Tsofack et al. (2017)	Nested ext1	TATGCAGTACTTTCCCTGCC	50°C15分逆転写→ 95°C2分→(95°C30秒, 60°C30秒, 72°C60秒) ×25サイクル→72°C7分	491	上記ME1/ME2の外側に設計されたプライマー。この PCRの次に 上記 ME1/ME2 のPCRをnested PCR として行う。	—
		Nested ext2	TTGCTCTGAGCAAGAGTACC				
	Nested ext1-ME1 Dong et al.(2017)	Nested ext1	TATGCAGTACTTTCCCTGCC	50°C30分逆転写→ 95°C2分→(94°C30秒, 60°C30秒, 72°C30秒) ×25サイクル	415	既報のプライマーを使用し、改良した semi-nested PCR の first PCR。既報のNested ext2 プライマーの 非特異性を回避。原報では SuperScript One-Step RT/Platinum Taq mix (Invitrogen) を使用。	—
		ME1	GTTGGGCACAAGGCATCCTA				
	semi-nested PCR Dong et al.(2017)	ME1	GTTGGGCACAAGGCATCCTA	95°C2分→(94°C30秒, 60°C30秒, 72°C30秒) ×25サイクル	250	上記PCRの後に、semi-nested PCRとして行う。原報 ではTaq DNA polymerase (RBC Bioscience) を使 用。	—
		7450/150R/ ME2	TATCACGTGCGTACTCGTTCAGT				

文献

Eyngor, M. et al. (2014) Identification of a novel RNA virus lethal to tilapia. *Journal of Clinical Microbiology* 52, 4137-4146

Tsofack, J. E. K. et al. (2017) Detection of tilapia lake virus in clinical samples by culturing and nested reverse transcription-PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 55, 759-767.

Dong, H. T. et al. (2017) Emergence of tilapia lake virus in Thailand and an alternative semi-nested RT-PCR for detection. *Aquaculture* 476, 111-118.