

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℃2分→(60℃45秒、72℃45秒、95℃30秒)×35サイクル→72℃2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℃8分→(94℃30秒、58℃30秒、72℃30秒)×35サイクル→72℃10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℃5分→(95℃30秒、58℃45秒、72℃45秒)×35サイクル→72℃2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℃30秒→(95℃5秒、59℃30秒、72℃30秒)×40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	GGCGTGTAGAAATCAAAC				
	(Goodwin et al., 2006)	forward	TCGGTTGGA	95℃2分→(58℃45秒、72℃45秒、95℃30秒)×35サイクル→72℃2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-CCGCTTCCAGTCTGGGCCACTACC-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