

病名: ハブロスポリジウム属原虫感染症 Haplosporidiosis

病原体: *Haplosporidium nelsoni*, *H. costale*

真核生物 Rhizaria界 Haplosporida目 Haplosporidiidae科

宿主: マガキ (*Crassostrea gigas*), *Crassostrea virginica*, *Ostrea edulis*,

*Ostrea lurida*。

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	(Renault et al 2000)	MSX-A'	CGA CTT TGG CAT TAG GTT TCA GAC C	(94°C30秒, 59°C30秒, 72°C90秒) × 35サイクル →72°C5分	573	SSU rDNAを増幅。MSX-A'はStokes et al.(1995)で報告されたMSX-Aに5塩基が追加されている。Ampli Taq DNA polymerase (Perkin-Elmer)使用。 <i>H. nelsoni</i> 特異的。他のHaplosporidianを検出しない。	-
		MSX-B	ATG TGT TGG TGA CGC TAA CCG				
		HAP-F1	GTT CTT TCW TGA TTC TAT GMA	(94°C30秒, 59°C30秒, 72°C90秒) × 35サイクル →72°C5分 注: アニール温度を HAP-F1を用いるときは48°Cに, HAP-F2を用いるときは44°Cにする。	HaplosporidianのSSU rDNAのvariable regionをターゲットとする。Ampli Taq DNA polymerase (Perkin-Elmer)使用。ほとんどの Haplosporidian 遺伝子を増幅。各プライマーの組み合わせと増幅されるHaplosporidianおよび産物のサイズは次のとおり。 F1+R1: <i>H. nelsoni</i> , 186; <i>H. costale</i> , 191; <i>Minchini teredinis</i> , 185 F1+R2: <i>H. nelsoni</i> , 331; <i>H. costale</i> , 336; <i>M. teredinis</i> , 327 F1+R3: <i>H. nelsoni</i> , 348; <i>H. costale</i> , 353; <i>M. teredinis</i> , 344 F2+R1: <i>H. nelsoni</i> , 94; <i>H. costale</i> , 99; <i>M. teredinis</i> , 93 F2+R2: <i>H. nelsoni</i> , 239; <i>H. costale</i> , 244; <i>M. teredinis</i> , 235 F2+R3: <i>H. nelsoni</i> , 256; <i>H. costale</i> , 261; <i>M. teredinis</i> , 252	-	
		HAP-F2	GCC RTC TAA CT AGC TS				
		HAP-R1	CTC AWK CTT CCA TCT GCT G				
		HAP-R2	GAT GAA YAA TTG CAA TCA YCT				
	HAP-R3	AKR HRT TCC TWG TTC AAG AYG A					
	(Stokes and Bureson 2001)	SSO-A	CAC GAC TTT GGC AGT TAG TTT TG	(94°C30秒, 59°C30秒, 72°C90秒) × 35サイクル →72°C5分	557	鰓, 外套膜, 中腸線からQiagen Dneasy tissue kitを用いて核酸を抽出。Ampli Taq DNA polymerase (Perkin-Elmer)使用。 <i>H. costale</i> のみを特異的に検出。他のHaplosporidianを検出しない。	-
		SSO-B	CGA ACA AGC GCT AGC AGT ACA T				

#### 文献

Renault et al. (2000) Haplosporidiosis in the Pacific oyster *Crassostrea gigas* from the French Atlantic coast. *Diseases of Aquatic Organisms* 42, 207-214.

Stokes and Bureson (2001) Differential diagnosis of mixed *Haplosporidium costale* and *Haplosporidium nelsoni* infections in the eastern oyster, *Crassostrea virginica*, using DNA probes. *Journal of Shellfish Research* 20, 207-213.

Stokes et al. (1995) Detection of *Haplosporidium nelsoni* (Haplosporidia: Haplosporidiidae) in oysters by PCR amplification. *Diseases of Aquatic Organisms* 23, 145-152.