

病名: *Ichthyobodo* 属原虫感染症

病原体: *Ichthyobodo necyor* (=pyriforms), *Ichthyobodo* sp.

宿主: 冷水域から温帯域の淡水または海水魚。

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')				
リアルタイムPCR	(Isaksen et al 2012)	Costia F	ACG AAC TTA TGC GAA GGC A	45°C10分(逆転写)→95°C10分→(94°C15秒, 60°C45秒)×40サイクル	114	原報ではSSUrRNAをターゲットとして AgPath-ID™ One-Ste RT-PCR kit の Master Mix を用いて RT-qPCR を行っている。コピー数の多い rRNA を増幅することで増幅の立ち上がりが早くなるという。	-
		Costia R	TGA GTA TTC ACT YCC GAT CCA T				
		Costia Probe	(FAM)-TCC ACG ACT GCA AAC GAT GAC G-(TAMRA)				
PCR	(Isaksen et al 2012)	CosF1	AAT AGG AGG TCT GCG AAC G	95°C5分→(95°C45秒, 58°C45秒, 72°C60-90秒)×35サイクル→72°C10分→4°C		上記リアルタイムPCRで <i>Ichthyobodo</i> を検出した後, 各プライマーの組み合わせにより増幅される産物をシーケンスして種を同定する。Taq polymerase (New England BioLabs) 使用。各プライマーの組み合わせと増幅される産物のサイズは次のとおり。 CosF1 + CosR4: 988 CosF1 + CosR5: 1307 CosF1 + CosR6: 1827 CosF2 + CosR4: 637 CosF2 + CosR5: 956 CosF2 + CosR6: 1476 CosF3 + CosR4: 233 CosF3 + CosR5: 552 CosF3 + CosR6: 1072 CosF4 + CosR4: 21 CosF4 + CosR5: 340 CosF4 + CosR6: 860	-
		CosF2	CCT GAG AAA CAG CTA CCA CT				
		CosF3	CCG TCG TTA TCA CTG TGA AG				
		CosF4	ACG TAT CTG AGC GAG AGA GGT				
		CosR1	CCG AGC GGT CTA AGA ATT TC				
		CosR2	TTC CTG TAC TGG TAA GGT TCC				
		CosR3	GTT GAC CTG TAT CCA ACT GG				

文献

Isaksen et al. (2012) Molecular tools for the detection and identification of *Ichthyobodo* spp. (Kinetoplastida), important fish parasites. Parasitology International 61, 675-683