

病名：微胞子虫症  
 病原体：微胞子虫一般  
 宿主：魚介類

区分	手法名 (文献)	プライマー		説明	増幅産物 bp	備考	推奨度
		名称	配列 (5'-3')				
PCR	Vossbrinck et al., (2014)	ss18f	5'-CAC CAG GTT GAT TCT GCC-3'	ss18fとss1492rでは、ほとんどの微胞子虫類の16S rRNAが増幅される。ss18fは、微胞子虫類一般用1のMicSr5 (5'-CAC CAG GTT GAT TCT GCC TGA CGT-3') とほぼ同じ領域。	約1,200	増幅産物をシーケンスして同定する。 名称のssは、SSU rRNA (小サブユニットrRNA) 遺伝子の配列内、lsはLSU rRNA (大サブユニットrRNA) 遺伝子の配列内のプライマーを意味する。f (フォワード) は遺伝子 (正鎖) の配列で、r (リバース) は相補鎖の配列。	
		ss1492r	5'-GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3'				
		ss18sf	5'-GTTGATTCTGCCTGACGT-3'	上記ss18fを6塩基下流側にずらしたプライマー。微胞子虫類一般用1のMicSr5 (5'-CAC CAG GTT GAT TCT GCC TGA CGT-3') とほぼ同じ領域。上記のss18fの代わりに用いると、増幅が改善されることもある。		微胞子虫類のrRNAの遺伝子は、下記のように並んでいる。(微胞子虫類のrRNA遺伝子の特殊性についても参照のこと。) SSU rRNA --- ITS --- LSU rRNA	
		ss1537r	5'-TTATGATCCTGCTAATGGTTC-3'	微胞子虫類一般用1のMicSr3r (5'-TTA TGA TCC TGC TAA TGG TTC TCC C-3') とほぼ同じ領域。上記のss1492rプライマーの代わりに用いることもできる。ss1492rよりも、より下流の配列を増幅することができるが、対象種によっては、増幅されないこともある(増幅が改善されることもある)。		引用文献のp208のTable 6.1 Primers for the identification and sequencing of microsporidian rDNA から引用。	
		ss530f	5'-GTG CCA GC(C/A) GCC GCG G-3'	上流側プライマー-ss530fおよび下流側プライマー3種類 ls212r1, ls212r2またはls580r の組み合わせで用いる。SSU rRNAの中ほどから下流側とITS領域およびのLSU rRNAの上流側の増幅が可能である。ls580rは対象種によっては増幅されない時がある。よく用いられる領域である。	約900bp (ls580rを用いた場合は約1,200bp)		
		ls212r1	5'-GTT (G/A)GT TTC TTT TCC TC-3'				
		ls212r2	5'-AAT CC(G/A/T/C) (G/A)G TT(G/A) GTT TCT TTT CCT C-3'				
		ls580r	5'-GGT CCG TGT TTC AAG ACG G-3'				
		ss350f	5'-CCA AGG A(T/C)G GCA GCA GGC GCG AAA-3'	シーケンス用プライマー			
		ss350r	5'-TTT CGC GCC TGC TGC C(G/A)T CCT TG-3'				
		ss530r	5'-CCG CGG (T/G)GC TGG CAC-3'	上記のプライマーで増幅が思わしくない時は、これらのプライマーを用いてPCRを試みる。			
ss1047r	5'-AAC GGC CAT GCA CCA C-3'						
ss1061f	5'-GGT GGT GCA TGG CCG-3'						

文献

1) Vossbrinck, C. R., B. A. Debrunner-Vossbrinck and L. M. Weiss (2014). 6.4 Molecular phylogenetic studies. pp. 208-220 In: Microsporidia: Pathogens of Opportunity, eds. Weiss, L. M., and J.J. Becnel. Wiley Blackwell, Inc., London.