

病名：ミズカビ病

病原体： *Saprolegnia parasitica*

卵菌門 (phylum Oomycota) , 卵菌綱 (class Oomycetes) , ミズカビ目 (order Saprolegniales) ,

宿主：多くの魚類。主として淡水魚に寄生する。

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	(Leung 2012)	Fpr1A	ACT GAT CAA AAC TGC AGA TAG AAA	94°C 5分→ (94°C 30秒, 55°C 30秒, 72°C 1分) x 5サイクル → (94°C 30秒, 48°C 30秒, 72°C 1分) x 33サイクル → 72°C 10分	594	リボソームRNA遺伝子のITS領域をターゲットとする。 <i>S. asterophora</i> を除く <i>Saprolegnia</i> 属を検出する。Dream Taq DNA polymerase 使用。ITS4 は菌類一般に対するユニバーサルプライマー (White et al., 1990)。	-
		ITS4	TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC				
	(Leung 2012)	Fpr puf 112	GTT GTA CCA TAG CCA CTG TAT C	94°C 3分→ (94°C 45秒, 60°C 30秒, 72°C 40秒) x 30サイクル → 72°C 10分	情報無	Puf 遺伝子を検出するプライマーセット。 <i>S. parasitica</i> を特異的に検出するという。増幅産物は泳動像から判断して400bpより少し小さい程度か。記載が不明瞭で左の反応温度条件も推測されるものを示した。	-
		Rpr puf 310	CAT CTC GAT GCT GTT CTT GC				
Real-time PCR	<i>S. spp.</i> (Rocchi et al 2017)	Primer-F	GCA TTC AAG TTT GTG GGA AC	95°C 3分→ (95°C 15秒, 60°C 1分) x 45サイクル	情報無	原報ではBrilliant III Ultra-Fast qPCR Master Mix (Agilent technologies) 使用。18SrDNAをターゲットとする。 <i>Saprolegnia</i> 属を広く検出するように設計されている。原報では <i>S. parasitica</i> , <i>S. diclina</i> を検出, <i>A. astaci</i> を非検出。	-
		Rimer -R	CGG AAA CCT TGT TAC GAC TTC				
		Probe-F	FAM-TCC TTA ACC TCG CCA TTT AGA GGA AGG-TAMRA				
	<i>S. parasitica</i> (Rocchi et al 2017)	Primer-F	AGA GCA AAT CGC GGT AGT TT	95°C 3分→ (95°C 15秒, 60°C 1分) x 45サイクル	情報無	原報ではBrilliant III Ultra-Fast qPCR Master Mix (Agilent technologies) 使用。 <i>S. parasitica</i> のリボソーム遺伝子の ITS 領域の一部を特異的に増幅するように設計されている。原報では <i>S. parasitica</i> を検出, <i>S. diclina</i> および <i>A. astaci</i> を日検出。	-
		Rimer -R	AGA AAT GCA CCA GCA TAC CA				
		Probe-F	FAM-TGC CTT GTA CTT TGA CAA CAG ACT CGC-TAMRA				

文献

Rocchi, S., Tisserant, M., Valot, B., Laboissière, A., Frossard, V., and Reboux, G (2017): Quantification of *Saprolegnia parasitica* in river water using real-time quantitative PCR: from massive fish mortality to tap drinking water. International Journal of Environmental Health Research 27, 1-10.

Leung, W. L. (2012) The oomycete *Saprolegnia parasitica*: molecular tools for improved taxonomy and species identification. A Thesis submitted for Master of Science in the Department of Biology, University of Victoria.

White, T. J., Bruns, T. D., Lee, S. B., and Taylor, J. W. (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ (Eds) PCR protocols: a guide to methods and applications. Academic Press, New York, 315-322.