

Lactococcus garvieae いわゆるα溶血レンサ球菌;ブリ、カンパチ、シマアジ、アジ等の病原体

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	(Zlotkin et al 1998)	pLG1	CAT AAC AAT GAG AAT CGC	94°C3分→(94°C60秒、55°C60秒、72°C90秒)x35サイクル→72°C10分	1100	使用酵素はVent DNA polymerase (New England Biolabs)。プライマー濃度は8 μM。16SrDNAを増幅。	—
		pLG2	GCA CCC TCG CGG GTT G				
	(Aoki et al 2000)	SA1B10-1-F	CAT TTT ACG ATG GCG CAG	(95°C30秒、58°C30秒、72°C60秒)x30サイクル	709	使用酵素はrTaq DNA polymerase (Toyobo)。プライマー濃度は1 μM。dihydropteroate synthase 遺伝子を増幅。	☆
		SA1B10-1-R	CGT CGT GTT GCT CGA ACA				
	(Jung et al 2010)	CAU12F	ACT CGT GCT ATC CTT	95°C5分→(95°C60秒、58°C60秒、72°C60秒)x35サイクル→72°C7分	415	使用酵素はTsg polymerase。プライマー濃度は0.5 μM。16SrDNAを増幅。	—
		CAU15R	TGG GTA CTC CCA ACT TCC				
	(Dang et al 2012)	ITSLg30F	ACT TTA TTC AGT TTT GAG GGG TCT	95°C20分→(94°C30秒、58°C30秒、72°C40秒)x30サイクル→72°C7分	290	使用酵素はTaq polymerase (Roche Diagnostics)。プライマー濃度は1 μM。16SrDNA と 23SrDNA 間のスペーサー領域を増幅。	—
		ITSLg319R	TTT AAA AGA ATT CGC AGC TTT ACA				
(Ohbayashi et al 2017)	LGD-F	GGA TTG AAC TTC CTG CCA CA	95°C4分→(95°C30秒、55°C30秒、72°C90秒)x30サイクル→72°C7分	285 (type I)	GoTaq Green Master Mix (Promega)使用。gixR, argSの両遺伝子の一部にプライマーが設計されている。血清型Iでは285bpの、IIでは1285bpの増幅産物を得ることにより両者の区別が可能。	—	
	LGD-R	ATC CTT GAG GAC AAC GAA GG		1285 (type II)			
リアルタイムPCR	(Jung et al 2010)	CAU12F	ACTCGTGCTATCCTT	95°C15分→(94°C20秒、58°C30秒、72°C45秒)x60サイクル→72°C5分	情報無	使用酵素はSYBER Green master mix (Finnzymes Inc., Woburn, Massachusetts USA)。プライマー濃度は0.5 μM。16SrDNAを増幅。	—
		CAU15R	TGGGTACTCCCAACTTCC				

文献

Zlotkin, A., et al (1998): Identification of *Lactococcus garvieae* by PCR. Journal of Clinical Microbiology 36, 983-985.

Aoki, T., et al (2000): Species-specific polymerase chain reaction primers for *Lactococcus garvieae*, Journal of Fish Diseases, 23, 1-6.

Jung, M. Y., et al (2010): A real-time PCR assay for detection and quantification of *Lactococcus garvieae*. Journal of Applied Microbiology 108, 1694-1701.

Dang, H. T., et al (2012): Development of a novel PCR assay based on the 16S-23SrRNA internal transcribed spacer region for the detection of *Lactococcus garvieae*. Journal of Fish Diseases, 35, 481-487

Ohbayashi, K., et al (2017) PCR-mediated identification of the newly emerging pathogen *Lactococcus garvieae* serotype II from *Seriola quinqueradiata* and *S. dumerili*. Fish Pathology 52, 46-49.