

Mycobacterium spp. *Mycobacterium* 属細菌の共通プライマー (*M. chelonae*, *fortuitum*, *marinum*, *salmoniphilum* 等)

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	(Kim et al., 2005)	HSPF3	ATCGCCAAGGAGATCGAGCT	(95°C60秒、62°C45秒、72°C90秒)×30サイクル→72°C5分	644	使用酵素はPCR mixture tube (AccuPower PCR PreMix; Bioneer)。プライマー濃度は1μM。Hsp65遺伝子を増幅。	—
		HSPR4	AAGGTGCCGCGGATCTTGTT				
	(Hughes et al., 2000 modified by Li et al 2017)	pA	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG	94°C5分→(94°C30秒、60°C60秒、72°C120秒)×35→72°C5分	550	配列解析をして <i>Mycobacterium</i> の種を同定するためのプライマー。使用酵素はOne PCR mixture (GeneDireX)、プライマー濃度は0.2μM。16SrDNAのvariable region 2 を増幅。	—
		MSH-E	GCGACAAACCACCTACGAG				
	(Li et al 2017)	forward	GTCCCGACGTCTACGGATTC	94°C5分→(94°C30秒、60°C60秒、72°C120秒)×35→72°C5分	183	使用酵素はOne PCR mixture (GeneDireX)、プライマー濃度は0.2μM。 <i>Mycobacterium</i> 属細菌が合成する毒素 mycolactone (macrolide) である mlsA 遺伝子を検出する。	—
		reverse	TCTCGGCCAAAGCGATGTAG				
	(Li et al 2017)	forward	CAGCCAACTGCGCTACTACA	94°C5分→(94°C30秒、60°C60秒、72°C120秒)×35→72°C5分	204	使用酵素はOne PCR mixture (GeneDireX)、プライマー濃度は0.2μM。 <i>Mycobacterium</i> 属細菌が合成する毒素 mycolactone (macrolide) である mlsB 遺伝子を検出する。	—
		reverse	GACCACACTGATCCCGTCTC				
リアルタイムPCR	Zerihun et al, 2011)	Myco-rtf	GGTGGACRTCATCYTGAACA (GGT CGACATCATCCT GAACA)	50°C2分→95°C10分→(95°C30秒、55°C60秒)×45サイクル	情報無	ほとんどの魚類病原体 <i>Mycobacterium</i> を増幅するために設計されている。カッコ内の配列は <i>M. marinum</i> (GenBank: CP000854) の場合。使用酵素はTaqMan Universal PCR master-mix(Abi)。rpoB 遺伝子を増幅。Zerihun et al (2011) の本文に示されているプローブ (Myco-rtpr) の塩基配列には、10番目11番目にTGの配列があるが、Fig. 4に示されたゲノム配列中には、これに相当するTGの配列はない。本文に示されたプローブの配列は不適と思われる、ここでは修正した配列を示す。	—
		Myco-rttr	TCCARRATCTGGCCGATGT (TCC GAATCTGAC CGATGT)				
		Myco-rtpr (プローブ)	FAM-CACGGTGTGCCGCGTCGTATG-BHQ (FAM-CACGGTGTGCCGCG ACGGATG -BHQ)				

文献

M.S.Hughes et al (2000): Identification by 16S rRNA Gene Analyses of a Potential Novel Mycobacterial Species as an Etiological Agent of Canine Leproid Granuloma Syndrome. *Journal of Clinical Microbiology*, 38: 953-959.

Wen-Ta Li et al (2017): Mycolactone-producing *Mycobacterium marinum* infection in captive Hong Kong warty newts and pathological evidence of impaired host immune function. *Diseases of Aquatic Organisms*, 123: 239-249.

Kim, H. et al (2005): Differentiation of *Mycobacterium* species by analysis of the heat-shock protein 65 gene (hsp65). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 55, 1649-1656.

Zerihun, M. A. et al (2011): Immunohistochemical and Taqman real-time PCR detection of mycobacterial infections in fish. *Journal of Fish Diseases*, 34, 235-246.

(注)2019年6月5日 Zerihun et al (2011) のMyco-rtpr(プローブ)の誤りを修正。