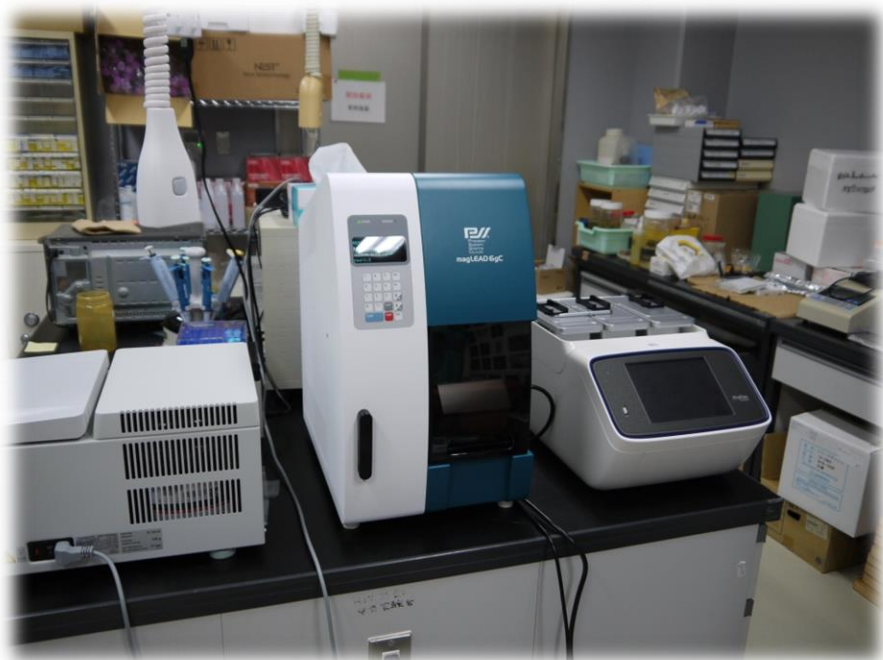


ユニバーサル試薬MagDEA Dx SVを用いた 魚類寄生の絨毛虫*Miamiensis avidus*の核酸抽出

(全自動核酸抽出試薬「MagDEA Dx SV」使用例)



一般財団法人沖縄美ら島財団
水族館事業部 魚類チーム

〈背景〉

スクチーカ症の原因微生物である*Miamiensis avidus*は、ヒラメ養殖において高い病原性を示すだけでなく、水族館の重要展示魚種においても、問題となる寄生虫である。

確定診断には、PCR法による*M. avidus*の特定(Tange *et al.*, 2010)がもつとも信頼性が高い。

本文献では、プレシジョン・システム・サイエンス(株)(PSS)製の全自動用核酸抽出試薬「MagDEA Dx SV」と、現在当館で繊毛虫*M. avidus*の核酸抽出に使用しているA社製の手動で行う核酸抽出試薬キットを使い、魚類寄生の繊毛虫*M. avidus*の核酸抽出法を比較したので結果を報告する。

〈方法-1〉

・繊毛虫 *M. avidus* は、以下の培養液(MEM-0)を用いて24時間培養したものを使用した。

試薬	容量(ml)
0.5M HEPES (pH7.2)	5
7.5%NaHCO ₃	8
3%グルタミン	5
イーグルMEM	450
ペニシリン・ストレプトマイシンミックスソリューション	5

〈方法-2〉

・無水エタノール200 μ lに繊毛虫*M. avidus*を採材し、14,000rpmで3分間遠心し、上清液を捨て、沈渣物を使用した。

・以下の条件で核酸を抽出した。

機種	手動(当館従来の抽出方法)	magLEAD 6gC
検体(<i>M. avidus</i>)	50個体以上	50個体以上+滅菌精製水200 μ l
試薬	スピнкаラムキット	MagDEA Dx SV 製品番号E1300
プラスチック消耗品	試薬Kitに同梱	magLEAD Consumable Kit 製品番号F4430
プロトコル(ICカード)	—	MagDEA Dx SV 200 6gC Ver.1.1
サンプル量	200 μ l	200 μ l
溶出液量	20 μ l	50 μ l

・抽出した核酸は、*M. avidus*の特異的プライマーを使用し、PCRで増幅させた後、アガロースゲル電気泳動にて、増幅産物の確認を行った(Tange *et al.*, 2010)。

〈結果〉

*M. avidus*の検体を対象とし、PSS社製の「MagDEA Dx SV」とA社製スピncラムキットで抽出した核酸を、PCR後に、アガロース電気泳動にてPCR増幅産物の確認をした結果、いずれの試薬でも増幅産物を確認することができた(Fig.1)。

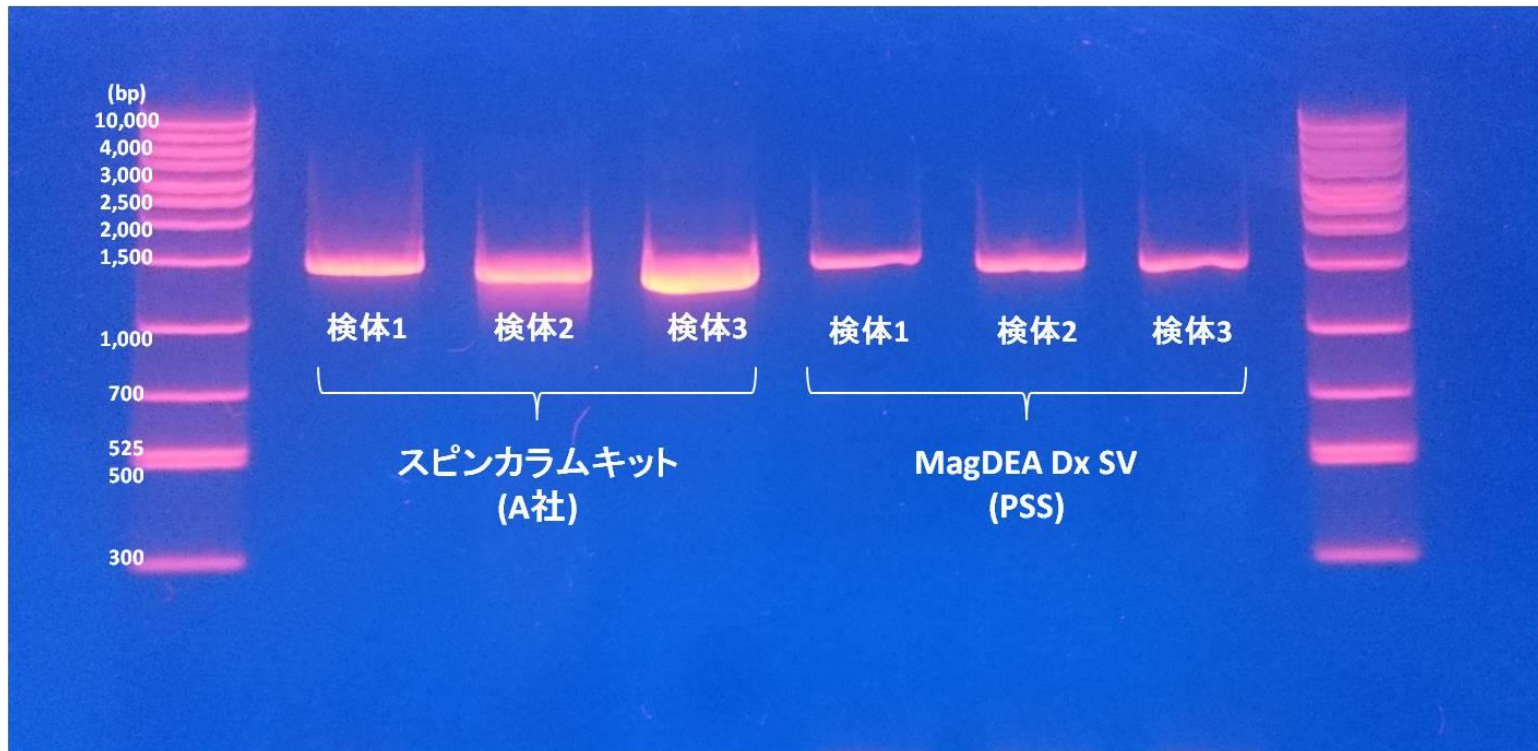


Fig.1. 電気泳動結果

〈結論〉

PSS社製の「MagDEA Dx SV」は、A社製スピнкаラムキットと同様に、魚類寄生の絨毛虫*M. avidus*の核酸抽出及び*M. avidus*特異的プライマーでのPCR増幅が可能であった。

〈参考文献〉

- 1) Nahoko Tange , Jun-Young Song and Shin-Ichi Kitamura:
Detection and Identification of *Miamiensis avidus* Causing Scuticociliatosis by PCR
Fish Pathology, 45(3), 130-132, 2010.9

〈製品情報〉

製品名	製品番号	内容量
MagDEA Dx SV	E1300	48テスト分