

*Vibrio harveyi* (*V. carchariae*, *V. trachuri*) 様々な魚類, 甲殻類, 軟体動物の病原体。本種は分類学的に整理されていない。なお, *V. carchariae* および *V. trachuri* は *V. harveyi* のシノニムである。

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	Vh.topA-F/Vh.topA-R (Cano-Gomez et al. 2015)	Vh.topA-F	TGGCGCAGCGTCTATACG	94°C5分→(94°C1分、55°C1分、72°C3分)×30サイクル→72°C7分	121	<i>V.harveyi</i> , <i>V. owensii</i> , <i>V. campbellii</i> , <i>V. rotiferianus</i> のそれぞれの特異プライマー(Cano-Gomez et al. 2015)を用いたMultiplex PCRのひとつ。	—
		Vh.topA-R	TATTTGTCACCGAACTCAGAACC				
	Vh-hly1F/Vh-hly1R (Haldar et al., 2010)	Vh-hly1F	GAGTTCGGTTTCTTTCAAG	94°C5分→(94°C30秒、54°C30秒、72°C30秒)×30サイクル→72°C5分	454	<i>V.harveyi</i> , <i>V. campbellii</i> , <i>V. parahaemolyticus</i> のそれぞれの特異プライマー(Haldar et al., 2010)を用いたMultiplex PCRのひとつ。	—
		Vh-hly1R	TGTAGTTTTTCGCTAATTTTC				
	VH-4F/VH-7R (Kim et al. 2014)	VH-4F	GTGATGAAGAAGCTTATCGCGATT	94°C5分→(94°C30秒、66.4°C30秒、72°C30秒)×30サイクル→72°C7分	601	<i>Vibrio harveyi</i> , <i>Vibrio ichthyenteri</i> , <i>Photobacterium damsela</i> のそれぞれの特異プライマー(Kim et al., 2014)を用いたMultiplex PCRのひとつ。	—
		VH-7R	CGCCTTCTTCAGTTAACGCAGGA				
PCR	<i>Pst</i> I-1a/ <i>Pst</i> I-1b (Iwamoto et al 1995)	<i>Pst</i> I-1a	TGCGCTGACGTGTCTGAATT	(94°C30秒、60°C30秒、72°C60秒)×35サイクル	417	抽出DNAは制限酵素( <i>Pst</i> I)で処理をしてから、PCRのテンプレートに使用する。プライマーセット <i>Hind</i> III-5a/ <i>Hind</i> III-5b(Iwamoto et al 1995)よりも感度が高い。原報は <i>V. trachuri</i> として報告している。	—
		<i>Pst</i> I-1b	AAGCAGCGATGACAAGCAGT				
	<i>Hind</i> III-5a/ <i>Hind</i> III-5b (Iwamoto et al 1995)	<i>Hind</i> III-5a	GTATGCGTACGAATAAGGGA		343	抽出DNAは制限酵素( <i>Hind</i> III)で処理をしてから、PCRのテンプレートに使用する。プライマーセット <i>Pst</i> I-1a/ <i>Pst</i> I-1b(Iwamoto et al 1995)よりも感度が低い。原報は <i>V. trachuri</i> として報告している。	—
		<i>Hind</i> III-5b	CGCTTAGTCATAATGTCACC				
リアルタイムPCR	<i>V. harveyi</i> (Uchiyama et al. 2012)	Vv-Forward	ATCATGAATAAAACTATTACGTTACTTAGTGCATT	50°C2分→95°C10分→(95°C15秒、58°C60秒)×40サイクル	情報無	TaqMan Gene Expression Master Mix (Applied Biosystems)を使用。 <i>V. fischeri</i> , <i>V. parahaemolyticus</i> , <i>V. harveyi</i> のそれぞれの特異プライマー(Uchiyama et al., 2012)を用いたMultiplex PCRのひとつ。	—
Vv-Reverse	GCTTCTTACTTGAGAGGCACTGACC						
Vv-Probe	Cy5-CTCAGCTGCCGAGCCAACATTGT-BHQ						

文献

Cano-Gomez, A., Høj, L., Owens, L., Baillie, B.K. and Andreakis, N. (2015) A multiplex PCR-based protocol for identification and quantification of *Vibrio harveyi*-related species. *Aquaculture*, 437, 195-200.

Haldar, S., Neogi, S.B. Kogure, K., Chatterjee, S., Chowdhury, N., Hinenoya, A., Asakura, M. and Yamasaki, S. (2010) Development of a haemolysin gene-based multiplex PCR for simultaneous detection of *Vibrio campbellii*, *Vibrio harveyi* and *Vibrio parahaemolyticus*. *The Society for Applied Microbiology, Letters in Applied Microbiology*, 50, 146-152.

Iwamoto Y., Suzuki, Y., Kurita, A., Watanabe, Y., Shimizu, T., Ohgami, H. and Yanagihara, Y. (1995). Rapid and Sensitive PCR Detection of *Vibrio trachuri* Pathogenic to Japanese Horse Mackerel (*Trachurus japonicus*). *Microbiol. Immunol.*, 39, 1003-1006.

Kim, M.S., Cho, J.Y. and Choi, H.S. (2014). Identification of *Vibrio harveyi*, *Vibrio ichthyenteri*, and *Photobacterium damsela* isolated from olive flounder *Paralichthys olivaceus* in Korea by multiplex PCR developed using the *rpoB* gene. *Fish Sci* (2014) 80:333-339.

Uchiyama, T., Kakizaki, E., Kozawa, S., Nishida, S., Imamura, N. and Yukawa, N. (2012) A new molecular approach to help conclude drowning as a cause of death: Simultaneous detection of eight bacterioplankton species using real-time PCR assays with TaqMan probes. *Forensic Science International*, 222, 11-26.