

*Vibrio nigripulchritudo* 日本でクルマエビの病原体として分離されたことがある。

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	gyrB F/gyrB R (Labreuche et al., 2012)	gyrB F	AAAACCCGAACGAAGCGAAAAC	95°C15分→(95°C30秒、66°C30秒、72°C30秒)×35サイクル→72°C5分	257	gyrB F/gyrB R(257bp)は全株について、rtxA-F/rtxA-R(642bp)はMPおよびHP株について、pSFn1-6020/pSFn1-6974 (954bp)はHP株について特異的に増幅する。 <i>V. penaeicida</i> (gapA F/gapA R)および <i>V. nigripulchritudo</i> (gyrB F/gyrB R, rtxA-F / rtxA-R, pSFn1-6020/ pSFn1-6974)のそれぞれの特異プライマーを用いたMultiplex PCRが可能である(Labreuche et al, 2012)。	—
		gyrB R	ACCTTCAAGTGGCAAGATGGCT		642		—
	rtxA-F/rtxA-R (Labreuche et al., 2012)	rtxA-F	TTGGCGGGTAAGCACCCCGA		954		—
		rtxA-R	GTCGGAGACACCGGTGCGTT				
	pSFn1-6020/pSFn1-6974 (Walling et al. 2011)	pSFn1-6020	TGTCTTCTGGATCGCTTCGCC				—
リアルタイムPCR	<i>V. nigripulchritudo</i> (Goarant et al. 2007)	VngF2	CCCGAACGAAGCGAAA	95°C10分→(95°C5秒、62°C3秒、72°C12秒)×45サイクル	258	The LightCycler FastStart DNA Master PLUS SYBR Green I kit (Roche Applied Science) を用いる。本菌種が検出される。	—
		VngR2	ACCTTCAAGTGGCAAGATG				
	<i>V. nigripulchritudo</i> (Goarant et al. 2007)	VngF2	CCCGAACGAAGCGAAA	95°C10分→(95°C5秒、60°C3秒、72°C12秒)×45サイクル	258	The LightCycler FastStart DNA Master PLUS Hybridisation Probe kit (Roche Applied Science) を用いる。病原性株が検出される。	—
		VngR2	ACCTTCAAGTGGCAAGATG				
		VngA1 (probe)	TGTGGAGGGTGACTCTGC-Fluorescein				
		VngS1 (probe)	Red705-CCCAGCACTCTGAACCTCT-Phosphate				

#### 文献

Goarant, C., Reynaud, Y., Ansquer, D., Decker, S.D. and Merien, F. (2007) Sequence polymorphism-based identification and quantification of *Vibrio nigripulchritudo* at the species and subspecies level targeting an emerging pathogen for cultured shrimp in New Caledonia. Journal of Microbiological Methods, 70, 30–38.

Labreuche, Y., Pallandre, L., Ansquer, D., Herlin, J., Wapotro, B. and Le Roux, F. (2012). Pathotyping of *Vibrio* isolates by multiplex PCR reveals a risk of virulent strain spreading in New Caledonian shrimp farms. Microb. Ecol., 63, 127–138.

Walling, E., Vourey, E., Ansquer, D., Beliaeff, B., Goarant, C. (2010). *Vibrio nigripulchritudo* monitoring and strain dynamics in shrimp pond sediments. J. Appl. Microbiol., 108, 2003–2011.