

*Vibrio cholerae* O1

ヒトのコレラ原因菌。魚病の原因ではないが参考として上げる。

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	ctxA (Chomvarin et al. 2007)	フォワード	CTCAGACGGGATTTGTTAGGCACG	95°C2分→(95°C30秒、54°C30秒、72°C15秒)×5サイクル→(95°C30秒、57°C1分、72°C15秒)×10サイクル→(94°C10秒、60°C1分、72°C15秒)×15サイクル	302	ctxA およびtcpAのそれぞれの特異プライマーセットを同時に用いたduplex PCRとして設計されている。	—
		リバース	TCTATCTCTGTAGCCCTATT				
	tcpA (Chomvarin et al. 2007)	フォワード	GAAGAAGTTTGTAAGAAGAACAC		472		—
		リバース	GAAAGCACCTTCTTTACGTTG				
リアルタイムPCR	hlyA (Fykse et al. 2007)	Pvc55-1	aattctaatacgactcactatagggAATCTCTTCCGTCCGATCAA	95°C3分→(95°C5秒、58°C10秒、72°C15秒)×40サイクル	135	もともとNASBA法のために設計されたプライマーセットであり、リアルタイムPCR用としては最初のプライマーの小文字部分は不要と考えられる。原報では試薬にLithos qPCR kit (Eurogentec)を使用している。non-O1も増幅する。	—
		Pvc56-2	TGATGCTGAAGGTCAAGCAG				
		MBvc10 (probe)	FAM-ccgatacTCAGAAAGGCTTATGGGGTgatacgg-DABSYL				
	tcpA (Fykse et al. 2007)	Pvc62-1	aattctaatacgactcactatagggCGCTGAGACCACCCATA	95°C3分→(95°C5秒、58°C10秒、72°C15秒)×40サイクル	102	もともとNASBA法のために設計されたプライマーセットであり、リアルタイムPCR用としては最初のプライマーの小文字部分は不要と考えられる。原報では試薬にLithos qPCR kit (Eurogentec)を使用している。	—
		Pvc60-2	GAAGAAGTTTGTAAGAAGAACACG				
		MBvc11 (probe)	FAM-ccgatacAGAAAACCGTCAAGAGGGTgatacgg-DABSYL				
	ctxA (Fykse et al. 2007)	Pvc64-1	aattctaatacgactcactatagggAGAAGGTGGGTGCAGTGGCTATAACA	95°C3分→(95°C5秒、58°C10秒、72°C15秒)×40サイクル	151	もともとNASBA法のために設計されたプライマーセットであり、リアルタイムPCR用としては最初のプライマーの小文字部分は不要と考えられる。原報では試薬にLithos qPCR kit (Eurogentec)を使用している。	—
		Pvc61-2	TGATCATGCAAGAGGAACTCA				
		MBvc-12 (probe)	FAM-ccgatacTTGTTAGGCACGATGATGGAatacgg-DABSYL				
	groEL (Fykse et al. 2007)	Pvc65-1	aattctaatacgactcactatagggATGATGTTGCCACGCTAGA	95°C3分→(95°C5秒、58°C10秒、72°C15秒)×40サイクル	116	もともとNASBA法のために設計されたプライマーセットであり、リアルタイムPCR用としては最初のプライマーの小文字部分は不要と考えられる。原報では試薬にLithos qPCR kit (Eurogentec)を使用している。non-O1も増幅する。	—
		Pvc66-2	GGTTATCGCTGCGGTAGAAG				
		MBvc13 (probe)	FAM-ccgatacCTGTCTGTACCTTGTGCCGatacgg-DABSYL				
	toxR (Fykse et al. 2007)	Pvc69-1	aattctaatacgactcactatagggCGGAACCGTTTTGACGTATT	95°C3分→(95°C5秒、58°C10秒、72°C15秒)×40サイクル	139	もともとNASBA法のために設計されたプライマーセットであり、リアルタイムPCR用としては最初のプライマーの小文字部分は不要と考えられる。原報では試薬にLithos qPCR kit (Eurogentec)を使用している。non-O1も増幅する。	—
		Pvc72-2	CTCGCAATGATTTGCATGAC				
MBvc14 (probe)		FAM-ccgatacTTAACCCAAGCCATTTGACgatacgg-DABSYL					

文献

Chomvarin, C., Namwat, W., Wongwajana, S., Alam, M., Thaew-Nonngiew, K., Sinchaturus, A. and Engchanil, C. (2007). Application of duplex-PCR in rapid and reliable detection of toxigenic *Vibrio cholerae* in water samples in Thailand. J. Gen. Appl. Microbiol., 53, 229-237

Fykse, E.M., Skogan, G., Davies, W., Olsen, J.S. and Blatny, J.M. (2007). Detection of *Vibrio cholerae* by real-time nucleic acid sequence-based amplification. Applied and Environmental Microbiology, 73, 1457-1466.