งานวิจัยนี้ทำการออกแบบไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อเชื้อ *Vibrio harveyi* เพื่อใช้ในการตรวจสอบหาเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ในกุ้งก้ามกรามที่เป็นโรคเรืองแสง ไพรเมอร์ที่นำมาทดสอบ คือ fVH-1 และ rVH-2 ซึ่งออกแบบจากลำดับเบสส่วน 16s rDNA ที่มีความจำเพาะต่อเชื้อ *V. harveyi* โดยใช้ฐานข้อมูลใน NCBI homepage และการจัดลำดับเบสจาก ClustalW จากนั้นหาสภาวะที่เหมาะสมในปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสสำหรับไพรเมอร์ที่สร้างขึ้น ระดับความเข้มข้นของดีเอ็นเอ ความเข้มข้นของไพรเมอร์ และความเข้มข้นของแมกนีเซียมคลอไรด์ที่เหมาะสม รวมทั้งจำนวนรอบของปฏิกิริยาและ annealing temperature โดยใช้เชื้อ *V. harveyi* สายพันธุ์ ATCC 14126 และ *Aeromonas hydrophila* สายพันธุ์ KU 44001 เป็นสายพันธุ์อ้างอิง ทำการสกัดดีเอ็นเอจากเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากตับ-ตับอ่อน และอวัยวะที่พบการเรืองแสงในกุ้งก้ามกรามโดยวิธี standard phenol-chloroform นำมาทดสอบกับไพรเมอร์ fVH-1 และ rVH-2 ที่สร้างขึ้น และทดสอบความจำเพาะของไพรเมอร์นี้ต่อดีเอ็นเอต้นแบบของกุ้งก้ามกราม จากผลการศึกษาพบว่า ไพรเมอร์ fVH-1 และ rVH-2 ที่ออกแบบมาจากส่วนของ 16s rDNA มีความจำเพาะต่อเชื้อ *V. harveyi* เมื่อใช้ดีเอ็นเอต้นแบบความเข้มข้น 2.5 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ไพรเมอร์ 0.5 พิโคโมลต่อไมโครลิตร แมกนีเซียมคลอไรด์ 1.5 มิลลิโมลาร์ Annealing temperature ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และจำนวนรอบของปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสทั้งหมด 29 รอบ สามารถสังเคราะห์ได้ดีเอ็นเอ 1 แถบ ขนาดประมาณ 400 คู่เบส และจากการนำผลผลิตที่สังเคราะห์ได้จากไพรเมอร์นี้ไปหาลำดับเบส พบว่าเหมือนกับลำดับเบสส่วน 16s rDNA ของเชื้อ *V. harveyi* เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับลำดับเบสใน GENBANK ซึ่งยืนยันว่า ไพรเมอร์สังเคราะห์ดีเอ็นเอจากปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสในตำแหน่งที่ถูกต้อง ในการนำไพรเมอร์ที่สร้างขึ้นนี้มาทดสอบหาเชื้อ *V. harveyi* จากเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากกุ้งก้ามกรามที่เป็นโรคเรืองแสงในโรงเพาะฟักจำนวน 35 สายพันธุ์ พบว่าไม่มีผลผลิตจากปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสที่ต้องการ ซึ่งแสดงว่าไม่มีเชื้อ *V. harveyi* ในกุ้งก้ามกรามที่เป็นโรคเรืองแสงที่นำมาศึกษา และไพรเมอร์ที่สร้างขึ้นไม่สังเคราะห์ผลผลิตจากดีเอ็นเอต้นแบบของกุ้งก้ามกรามในปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส

This research is concerned specific primers designed for *Vibrio harveyi* to detect the bacterial species in giant freshwater prawn infected with luminescent disease. Primers fVH-1 and rVH-2, which designed from 16s rDNA of *V. harveyi* based on database in NCBI homepage and ClustalW program. Optimal PCR conditions, i.e. DNA, primers, $MgCl_2$, PCR cycle and annealing temperature, were examined with *V. harveyi* ATCC 14126 and *Aeromonas hydrophila* KU 44001 as reference strains. The bacterial isolates from hepatopancreas or other organs from diseased prawns were manipulated for DNA extraction by standard phenol-chloroform method. The extracted DNA was then tested with primers fVH-1 and rVH-2, and also tested with genomic DNA of giant freshwater prawn. From the results, primers fVH-1 and rVH-2 were specific to *V. harveyi* with optimal PCR conditions of 2.5 ng/μl DNA, 0.5 ρmol/μl primers, 1.5 mM $MgCl_2$, 60 °C annealing temperature and 29 cycles. From the optimal PCR condition, a unique PCR product appeared was approximately 400 bp in size, corresponding to 16s rDNA of *V. harveyi* by DNA sequencing profile. The 35 bacterial isolates from giant freshwater prawns infected with luminescent disease collected from hatcheries were used to amplify with primers fVH-1 and rVH-2. No PCR product was detected from any of the bacterial isolates after PCR assay. The results implied that there had no *V. harveyi* from the diseased giant freshwater prawns. As well, the PCR product did not occur to the genomic DNA of giant freshwater prawn in PCR assay with the 2 primers.