

図；塩見 7 甲殻類抽出液の SDS-PAGE およびイムノプロットイング。 1：アメリカンロブスター精製トロポミオシン、2：ウシエビ、3：ホッコクアカエビ、4：ケガニ脚肉、5：ケガニ胴肉、6：ナンキョクオキアミ、7：カメノテ、8：ミネフジツボ。

表

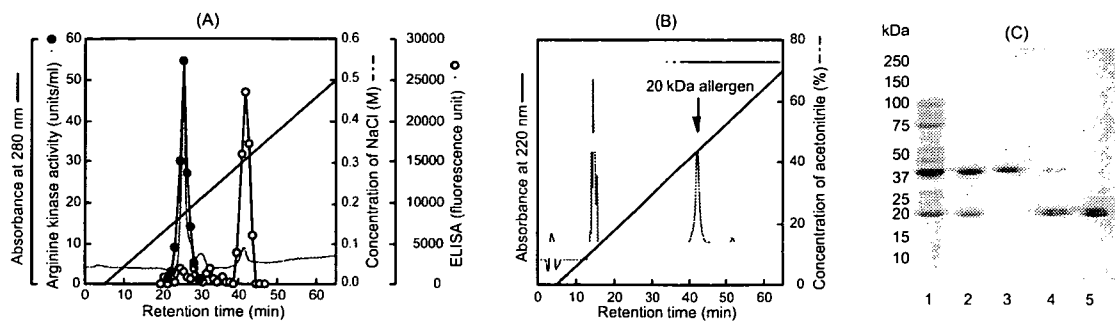
1 MDAIKKKMQAMKLEKDNAMDRADTLEQQNKEANNRAEKSEEEVHNLQKRMOQLENDLDQVQESLLKANIQLVEKDKALSN 80
 2 MDAIKKKMQAMKLEKDNAMDRADTLEQQNKEANNRAEKSEEEVHNLQKRMOQLENDLDQVQESLLKANIQLVEKDKALSN
 3 MDAIKKKMQAMKLEKDNAMDRADTLEQQNKEANNRAEKSEEEVHNLQKRMOQLENDLDQVQESLLKANIQLVEKDKALSN
 4 MKLEKDNAMDRADTLEQQNKEANNRAEKSEEEVHNLQKRMOQLENDLDQVQESLLKANIQLVEKDKALSN
 5 MDAIKKKMQAMKLEKDNAMDRADTLEQQNKEANNRAEKSEEEVHNLQKRMOQLENDLDQVQESLLKANIQLVEKDKALSN
 6 MDAIKKKMQAMKLEKDNAMDRADTLEQQNKEANNRAEKSEEEVHNLQKRMOQLENDLDQVQESLLKANIQLVEKDKALSN
 7 MDAIKKKMQAMKLEKDNAMDRADTLEQQNKEANNRAEKSEEEVHNLQKRMOQLENDLDQVQESLLKANIQLVEKDKALSN
 8 MDAIKKKMQAMKLEKDNAMDRADTLEQQNKEANNRAEKSEEEVHNLQKRMOQLENDLDQVQESLLKANIQLVEKDKALSN
 9 MKLEKDNAMDRADTLEQQNKEANNRAEKSEEEVHNLQKRMOQLENDLDQVQESLLKANIQLVEKDKALSN
 10 MDAIKKKMQAMKLEKDNAMDRADTLEQQNKEANNRAEKSEEEVHNLQKRMOQLENDLDQVQESLLKANIQLVEKDKALSN
 11 MDAIKKKMQAMKLEKDNAMDRADTLEQQNKEANNRAEKSEEEVHNLQKRMOQLENDLDQVQESLLKANIQLVEKDKALSN
 12 MDAIKKKMQAMKLEKDNAMDRADTLEQQNKEANNRAEKSEEEVHNLQKRMOQLENDLDQVQESLLKANIQLVEKDKALSN
 13 MDAIKKKMQAMKLEKDNAMDRADTLEQQNKEANNRAEKSEEEVHNLQKRMOQLENDLDQVQESLLKANIQLVEKDKALSN
 14 MDAIKKKMQAMKLEKDNAMDRADTLEQQNKEANNRAEKSEEEVHNLQKRMOQLENDLDQVQESLLKANIQLVEKDKALSN
 15 MDAIKKKMQAMKLEKDNAMDRADTLEQQNKEANNRAEKSEEEVHNLQKRMOQLENDLDQVQESLLKANIQLVEKDKALSN
 16 MDAIKKKMQAMKLEKDNAMDRADTLEQQNKEANNRAEKSEEEVHNLQKRMOQLENDLDQVQESLLKANIQLVEKDKALSN
 17 MDAIKKKMQAMKLEKDNAMDRADTLEQQNKEANNRAEKSEEEVHNLQKRMOQLENDLDQVQESLLKANIQLVEKDKALSN

1 AEGEVAALNRRIQLLEEDLSEERLNTATTKLAEASQAADSESRMRKVLENRSLSDERMDALENQLKEARFLAEADR 160
 2 AEGEVAALNRRIQLLEEDLSEERLNTATTKLAEASQAADSESRMRKVLENRSLSDERMDALENQLKEARFLAEADR
 3 AEGEVAALNRRIQLLEEDLSEERLNTATTKLAEASQAADSESRMRKVLENRSLSDERMDALENQLKEARFLAEADR
 4 AEGEVAALNRRIQLLEEDLSEERLNTATTKLAEASQAADSESRMRKVLENRSLSDERMDALENQLKEARFLAEADR
 5 AEGEVAALNRRIQLLEEDLSEERLNTATTKLAEASQAADSESRMRKVLENRSLSDERMDALENQLKEARFLAEADR
 6 AEGEVAALNRRIQLLEEDLSEERLNTATTKLAEASQAADSESRMRKVLENRSLSDERMDALENQLKEARFLAEADR
 7 AEGEVAALNRRIQLLEEDLSEERLNTATTKLAEASQAADSESRMRKVLENRSLSDERMDALENQLKEARFLAEADR
 8 AEGEVAALNRRIQLLEEDLSEERLNTATTKLAEASQAADSESRMRKVLENRSLSDERMDALENQLKEARFLAEADR
 9 AEGEVAALNRRIQLLEEDLSEERLNTATTKLAEASQAADSESRMRKVLENRSLSDERMDALENQLKEARFLAEADR
 10 AEGEVAALNRRIQLLEEDLSEERLNTATTKLAEASQAADSESRMRKVLENRSLSDERMDALENQLKEARFLAEADR
 11 AEGEVAALNRRIQLLEEDLSEERLNTATTKLAEASQAADSESRMRKVLENRSLSDERMDALENQLKEARFLAEADR
 12 AEGEVAALNRRIQLLEEDLSEERLNTATTKLAEASQAADSESRMRKVLENRSLSDERMDALENQLKEARFLAEADR
 13 AEGEVAALNRRIQLLEEDLSEERLNTATTKLAEASQAADSESRMRKVLENRSLSDERMDALENQLKEARFLAEADR
 14 AEGEVAALNRRIQLLEEDLSEERLNTATTKLAEASQAADSESRMRKVLENRSLSDERMDALENQLKEARFLAEADR
 15 AEGEVAALNRRIQLLEEDLSEERLNTATTKLAEASQAADSESRMRKVLENRSLSDERMDALENQLKEARFLAEADR
 16 AEGEVAALNRRIQLLEEDLSEERLNTATTKLAEASQAADSESRMRKVLENRSLSDERMDALENQLKEARFLAEADR
 17 AEGEVAALNRRIQLLEEDLSEERLNTATTKLAEASQAADSESRMRKVLENRSLSDERMDALENQLKEARFLAEADR

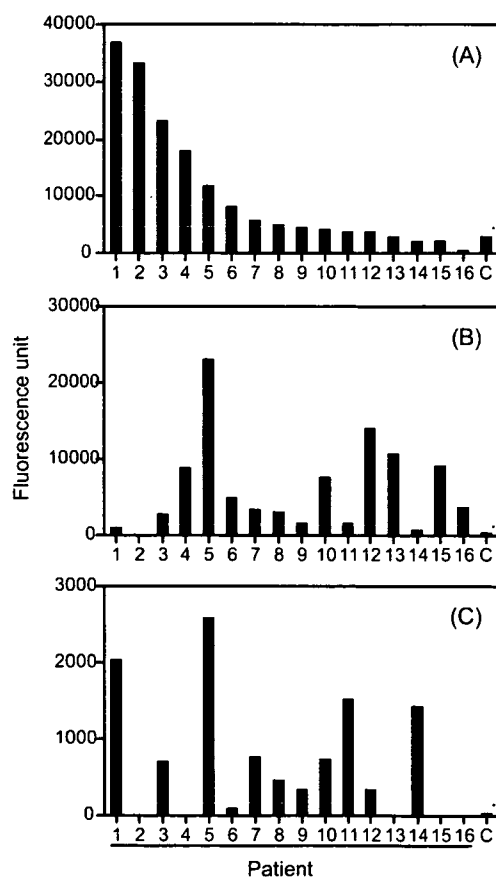
1 KYDEVARKLAMVEADLERAEERAETGESKIVELEELRVRVGNLKSLEVSEKANQREAYKEQIKTLTNKPKAAEARAE 240
 2 KYDEVARKLAMVEADLERAEERAETGESKIVELEELRVRVGNLKSLEVSEKANQREAYKEQIKTLTNKPKAAEARAE
 3 KYDEVARKLAMVEADLERAEERAETGESKIVELEELRVRVGNLKSLEVSEKANQREAYKEQIKTLTNKPKAAEARAE
 4 KYDEVARKLAMVEADLERAEERAETGESKIVELEELRVRVGNLKSLEVSEKANQREAYKEQIKTLTNKPKAAEARAE
 5 KYDEVARKLAMVEADLERAEERAETGESKIVELEELRVRVGNLKSLEVSEKANQREAYKEQIKTLTNKPKAAEARAE
 6 KYDEVARKLAMVEADLERAEERAETGESKIVELEELRVRVGNLKSLEVSEKANQREAYKEQIKTLTNKPKAAEARAE
 7 KYDEVARKLAMVEADLERAEERAETGESKIVELEELRVRVGNLKSLEVSEKANQREAYKEQIKTLTNKPKAAEARAE
 8 KYDEVARKLAMVEADLERAEERAETGESKIVELEELRVRVGNLKSLEVSEKANQREAYKEQIKTLTNKPKAAEARAE
 9 KYDEVARKLAMVEADLERAEERAETGESKIVELEELRVRVGNLKSLEVSEKANQREAYKEQIKTLTNKPKAAEARAE
 10 KYDEVARKLAMVEADLERAEERAETGESKIVELEELRVRVGNLKSLEVSEKANQREAYKEQIKTLTNKPKAAEARAE
 11 KYDEVARKLAMVEADLERAEERAETGESKIVELEELRVRVGNLKSLEVSEKANQREAYKEQIKTLTNKPKAAEARAE
 12 KYDEVARKLAMVEADLERAEERAETGESKIVELEELRVRVGNLKSLEVSEKANQREAYKEQIKTLTNKPKAAEARAE
 13 KYDEVARKLAMVEADLERAEERAETGESKIVELEELRVRVGNLKSLEVSEKANQREAYKEQIKTLTNKPKAAEARAE
 14 KYDEVARKLAMVEADLERAEERAETGESKIVELEELRVRVGNLKSLEVSEKANQREAYKEQIKTLTNKPKAAEARAE
 15 KYDEVARKLAMVEADLERAEERAETGESKIVELEELRVRVGNLKSLEVSEKANQREAYKEQIKTLTNKPKAAEARAE
 16 KYDEVARKLAMVEADLERAEERAETGESKIVELEELRVRVGNLKSLEVSEKANQREAYKEQIKTLTNKPKAAEARAE
 17 KYDEVARKLAMVEADLERAEERAETGESKIVELEELRVRVGNLKSLEVSEKANQREAYKEQIKTLTNKPKAAEARAE

1 FAERSVQKLQKEVDRLEDELVNEKEYKYSITDELDTQFSELSGY 284
 2 FAERSVQKLQKEVDRLEDELVNEKEYKYSITDELDTQFSELSGY
 3 FAERSVQKLQKEVDRLEDELVNEKEYKYSITDELDTQFSELSGY
 4 FAERSVQKLQKEVDRLEDELVNEKEYKYSITDELDTQFSELSGY
 5 FAERSVQKLQKEVDRLEDELVNEKEYKYSITDELDTQFSELSGY
 6 FAERSVQKLQKEVDRLEDELVNEKEYKYSITDELDTQFSELSGY
 7 FAERSVQKLQKEVDRLEDELVNEKEYKYSITDELDTQFSELSGY
 8 FAERSVQKLQKEVDRLEDELVNEKEYKYSITDELDTQFSELSGY
 9 FAERSVQKLQKEVDRLEDELVNEKEYKYSITDELDTQFSELSGY
 10 FAERSVQKLQKEVDRLEDELVNEKEYKYSITDELDTQFSELSGY
 11 FAERSVQKLQKEVDRLEDELVNEKEYKYSITDELDTQFSELSGY
 12 FAERSVQKLQKEVDRLEDELVNEKEYKYSITDELDTQFSELSGY
 13 FAERSVQKLQKEVDRLEDELVNEKEYKYSITDELDTQFSELSGY
 14 FAERSVQKLQKEVDRLEDELVNEKEYKYSITDELDTQFSELSGY
 15 FAERSVQKLQKEVDRLEDELVNEKEYKYSITDELDTQFSELSGY
 16 FAERSVQKLQKEVDRLEDELVNEKEYKYSITDELDTQFSELSGY
 17 FAERSVQKLQKEVDRLEDELVNEKEYKYSITDELDTQFSELSGY

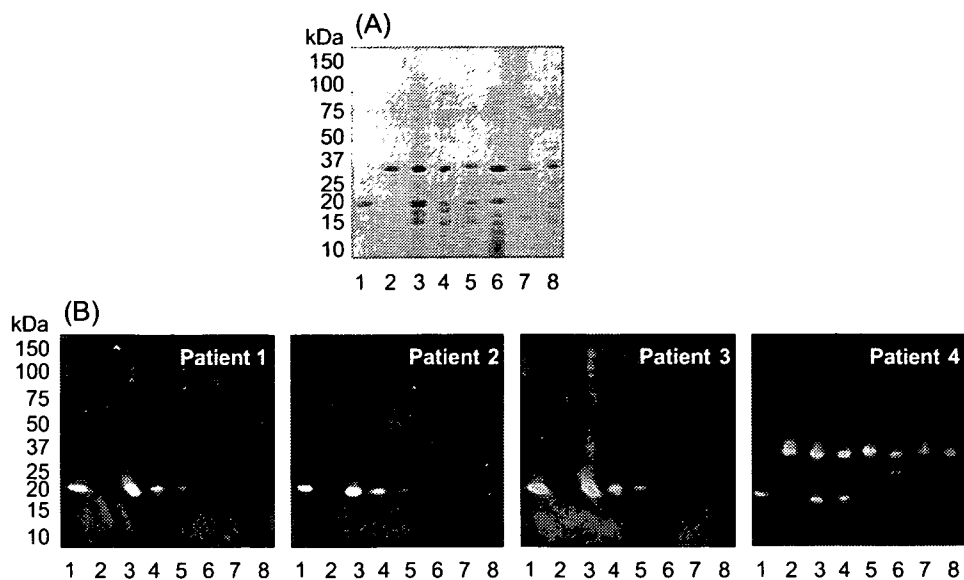
図；塩見 8 甲殻類トロポミオシンのアミノ酸配列. 1：ブラウンシュリンプ、2：クルマエビ、3：ウシエビ、4：ヨシエビ、5：ホッコクアカエビ、6：アメリカンロブスターfast、7：アメリカンロブスターslow-twitch、8：アメリカンロブスターslow-tonic、9：サガマイセエビ、10：タラバガニ fast、11：タラバガニslow-tonic、12：ズワイガニslow-tonic、13：ケガニslow-twitch、14：ケガニslow-tonic、15：ナンキョクオキアミ、16：シャコ、17：ミネフジツボ。 ブラウンシュリンプトロポミオシンと異なる残基は影をつけて示す。



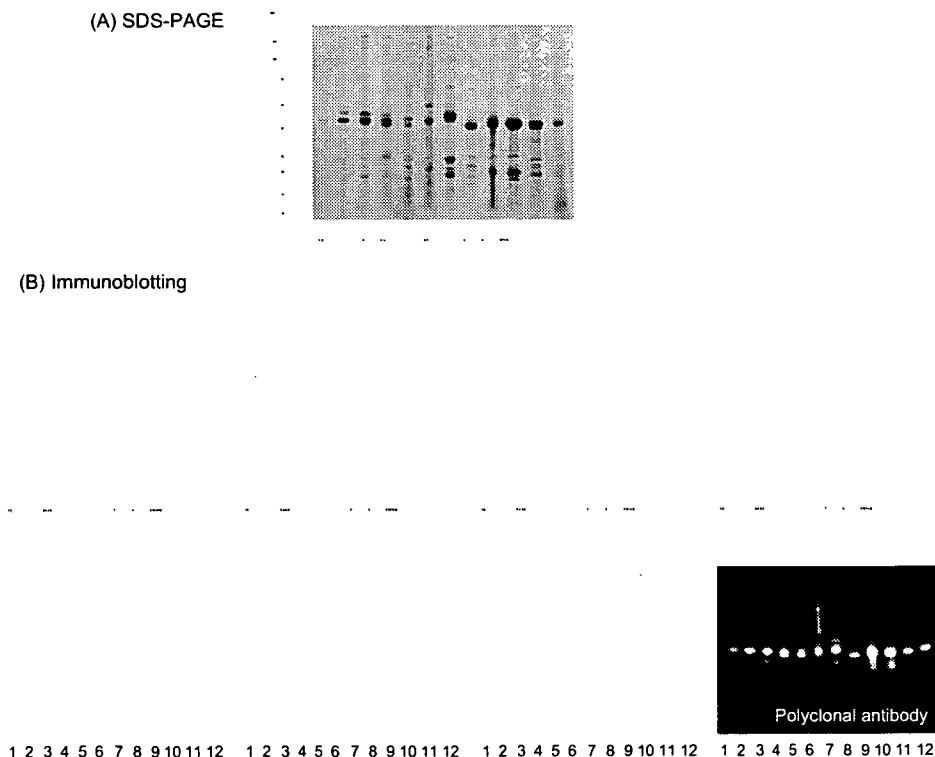
図；塩見 9 ブラックタイガーからの 20 kDa アレルゲン (SCP) の精製. (A) 陰イオン交換 HPLC. (B) 逆相 HPLC. (C) SDS-PAGE. レーン: 1, 抽出液; 2, 70-90% 硫安飽和画分; 3, 陰イオン交換 HPLC のアルギニンキナーゼ画分; 4, 陰イオン交換 HPLC の 20 kDa アレルゲン画分; 5, 精製 20 kDa アレルゲン.



図；塩見 10 ブラックタイガーから精製した SCP (A)、トロポミオシ (B) およびアルギニンキナーゼ (C) の IgE 反応性 (蛍光 ELISA). 健常者 (14 人) 血清の平均値を C で示し、平均値 + 2SD (波線) 以上の値を陽性と判定した。



図；塩見 11 甲殻類抽出液の SDS-PAGE (A) およびイムノブロッティング (B) . レーン：1, ブラックタイガー精製 SCP; 2, ブラックタイガー精製トロポミオシン; 3, ブラックタイガー; 4, クルマエビ; 5, アメリカンロブスター; 6, ホッコクアカエビ; 7, ズワイガニ; 8, タラバガニ.



図；塩見 12 貝類加熱抽出液の SDS-PAGE (A) およびイムノブロッティング (B) . 1：サザエ精製トロポミオシン、2：クロアワビ、3：サザエ、4：エゾボラ、5：エゾバイ、6：アカガイ、7：マガキ、8：トリガイ、9：ウバガイ、10：ミルクイ、11：マテガイ、12：アサリ.

1 10 20 30 40 50 60 70 80
クローアビ MDAIKKKMLAMKMEKENAVDRAEQNEQKLRTIEEQKAKIIEEDLNQLKQKCANLENDFDNVNEQLQEAMAKLETSEKRVTE
ミミガイ MDAIKKKMLAMKMEKENAVDRAEQNEQKLRTIEEQKAKIIEEDLNQLKQKCANLENDFDNVNEQLQDALSKLENSEKRVTE
フットコブシ MDAIKKKMLAMKMEKENAVDRAEQNEQKLRTIEEQKAKIIEEDLNQLKQKCANLENDFDNVNEQLQEAMAKLETSEKRVTE
アカネアワビ MDAIKKKMLAMKMEKENAVDRAEQNEQKLRTIEEQKAKIIEEDLNQLKQKCANLENDFDNVNEQLQEAMAKLETSEKRVTE
サザエ MDAIKKKMLAMKMEKENAVDRAEQNEQKLRTIEEQKAKIIEEDLNQLKQKCANLENDFDNVNEQLQVQVAMAKLETSEKRVTE
エゾボラ MDLIIKKMLSMKMDKENADRAVMEQKFRDAEDQKSKLEDDENLQKQKSYOLENEFDNVNEGLDANAKLETOEKRVNE
ヨーロッパイガイ MDAIKKKMVAAMKMEKKNALDRAEQLEQKLRETEEAAKAKIEEDVNSLQKKSIOITENDLQNTOTQIQDVQAKYTTAEKOIAIE
ムラサキイガイ MDAIKKKMVAAMKMEKKNALDRAEQLEQKLRETEEAAKAKIEEDVNSLQKKSIOITENDLQNTOTQIQDVQAKYTTAEKOIAIE
ミドリイガイ MDAIKKKMVAAMKMEKKNALDRAEQLEQKLRETEEAAKAKIEEDVNSLQKKSIOITENDLQNTOTQIQDVQAKYTTAEKOIQE
アカガイ MDSIIKKMVAAMKMEKENALDRSEQLEQKLRTIEEQKAKIIEEDLTSIQKHSNLENEFDTVNEKYQEQCQKLEAEAKLTSIE
マガキ MDSIIKKMVAAMKMEKENAQDRAEQLEQKLRTIEEQKAKIIEEDLTSIQKHSNLENEFDTVNEKYQEQCQKLEAEAKLTSIE
アカザラガイ MDAIKKKMQAMKVDRENAQDLAEQMEQKLKDIETAKAKLEEDFNLDLQKLLITENNFDVANEQLQEQANTKLENSDKOITQ
ヒオウギガイ MDAIKKKMQAMKVDRENAQDLAEQMEQKLKDIETAKAKLEEDFNLDLQKLLITENNFDVANEQLQEQANTKLENSDKOITQ
ホタテガイ MDAIKKKMQAMKVDRENAQDLAEQMEQKLKDIETAKAKLEEDFNLDLQKLLITENNFDVANEQLQEQANTKLENSDKOITQ
トリガイ MEAIKKKMVAAMKMEKKNALDKAEQLEIKLKIDTEEDSKAKIEEDLTSLOKQYTNLENEFDVANEKHDVSAKLEAEAKLTSIE
ウバガイ MDSIIKKMQAMKIEKENALDKSEQLEQKLKDIETAKAKLEEDLSSLOKQYTNLENEFDVANEQYNEGVVKLEAEAKLTSIE
ミルクイ MDSIIKKMQAMKIEKENALDKAEQLEQKLKIDTEEDSKAKIEEDLSSLOKQYTNLENEFDVANEQYNEGVVKLEAEAKLTSIE
マテガイ MDSIIKKMQAMKIEKENALDKSEQLEQKLKDIETAKAKLEEDLSSLOKQYTNLENEFDVANEQYNEGVVKLEAEAKLTSIE
アサリ MDAIKKKMQAMKLEKENALDKAEQLEQKLKIDTEEDSKAKIEEDLSSLOKQYTNLENEFDVANEQYNEGVVKLEAEAKLTSIE
スルメイカ MDAIKKKMLAMKMEKEVADKAEQTEQSLRDLAAKNTIIEEDLSSLOKQYTNLENEFDVANEQYNEGVVKLEAEAKLTSIE
ブラウンシュリンプ MDAIKKKMQAMKLEKDNADRAADTIEEQNKENNRRAEKSEEVHNLRKQRMQOLEENDLDQVQESLKANIQVVEKDKALSN

81 90 100 110 120 130 140 150 160
クローアビ MEQEVSGTTRKLTILEEDLERNEERLOTATERLEEAASKAADSESRGRKYLESRSLADDERIDOLEAQLKEAKYIAEDAE
サザエ MEQEVSGTTRKLTILEEDLERNEERLOTATERLEEAASKAADSESRGRKYLESRSLADDERIDOLEAQLKEAKYIAEDAE
ミミガイ MEQEVSGTTRKLTILEEDLERNEERLOTATERLEEAASKAADSESRGRKYLESRSLADDERIDOLEAQLKEAKYIAEDAE
フットコブシ MEQEVSGTTRKLTILEEDLERNEERLOTATERLEEAASKAADSESRGRKYLESRSLADDERIDOLEAQLKEAKYIAEDAE
アカネアワビ MEQEVSGTTRKLTILEEDLERNEERLOTATERLEEAASKAADSESRGRKYLESRSLADDERIDOLEAQLKEAKYIAEDAE
エゾボラ MEQEVSGTTRKLTILEEDLERNEERLOTATERLEEAASKAADSESRGRKYLESRSLADDERIDOLEAQLKEAKYIAEDAE
ヨーロッパイガイ HEQEQISLTRKLSMLEEEDIMKSEERYTTAA SKLEEAASKAADSESRGRKYLENENCGNDEIRIDOLEAQLKEAKYIAEDAE
ムラサキイガイ HEQEQISLTRKLSMLEEEDIMKSEERYTTAA SKLEEAASKAADSESRGRKYLENENCGNDEIRIDOLEAQLKEAKYIAEDAE
ミドリイガイ HEQEQISLTRKLSMLEEEDIMKSEERYTTAA SKLEEAASKAADSESRGRKYLENENCGNDEIRIDOLEAQLKEAKYIAEDAE
アカガイ SEQEIASLTRKLTILEEDLERNEERLOTATERLEEAASKAADSESRGRKYLESRSLADDERIDOLEAQLKEAKYIAEDAE
マガキ SEQEIASLTRKLTILEEDLERNEERLOTATERLEEAASKAADSESRGRKYLENENNAISEERIDOLEAQLKEAKYIAEDAE
アカザラガイ LIESDVGALORRLQLEEDFERSEERKUNSTIEKLEEAASKAADSESRGRKYLEGRSNTAERIDOLEAQLKEAKYIAEDAE
ヒオウギガイ LIESDVGALORRLQLEEDFERSEERKUNSTIEKLEEAASKAADSESRGRKYLEGRSNTAERIDOLEAQLKEAKYIAEDAE
ホタテガイ LIESDVGALORRLQLEEDFERSEERKUNSTIEKLEEAASKAADSESRGRKYLESRSLADDERIDOLEAQLKEAKYIAEDAE
トリガイ TEDEIKGVTTRIRQLLEDDLEERTQV KIDEALKLEDAKTADADESRGRKYLESRSLADDERIDOLEAQLKEAKYIAEDAE
ウバガイ CEDEIKGVTTRIRQLLEDDLEERTQV KIDEALKLEDAKTADADESRGRKYLESRSLADDERIDOLEAQLKEAKYIAEDAE
ミルクイ CEDEIKGVTTRIRQLLEDDLEERTQV KIDEALKLEDAKTADADESRGRKYLESRSLADDERIDOLEAQLKEAKYIAEDAE
マテガイ CEDEIKGVTTRIRQLLEDDLEERTQV KIDEALKLEDAKTADADESRGRKYLESRSLADDERIDOLEAQLKEAKYIAEDAE
アサリ ADEIKGVTTRIRQLLEDDLEERTQV KIDEALKLEDAKTADADESRGRKYLESRSLADDERIDOLEAQLKEAKYIAEDAE
スルメイカ CSEIISQGNRRQLLEEDLERSEERITSAOSKLEDAASKAADSESRGRKYLENRSOGDEERIDOLEAQLKEAKYIAEDAE
ブラウンシュリンプ AEGEVAIANRRQLLEEDLERSEERITSAOSKLEDAASKAADSESRGRKYLENRSOGDEERIDOLEAQLKEAKYIAEDAE

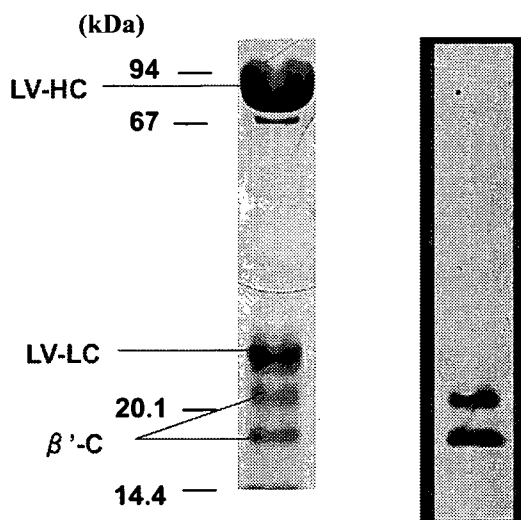
161 170 180 190 200 210 220 230 240
クローアビ KYDEAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAAKIIELEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQSDREDSYEETIRDLTQRKKAENRA
サザエ KYDEAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAAKIIELEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQSDREDSYEETIRDLTQRKKAENRA
ミミガイ KYDEAAARKLAITEVDLERAERPKAAEAAKIIELEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQSDREDSYEETIRDLTQRKKAENRA
フットコブシ KYDEAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAAKIIELEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQSDREDSYEETIRDLTQRKKAENRA
アカネアワビ KYDEAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAAKIIELEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQSDREDSYEETIRDLTQRKKAENRA
エゾボラ KYDEAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAAKIIELEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQSDREDSYEETIRDLTQRKKAENRAQ
ヨーロッパイガイ KYDEAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAAKIIELEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQSDREDSYEETIRDLTQRKKAENRA
ムラサキイガイ KYDEAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAAKIIELEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQSDREDSYEETIRDLTQRKKAENRA
ミドリイガイ KYDEAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAAKIIELEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQSDREDSYEETIRDLTQRKKAENRA
アカガイ KYDEAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAAKIIELEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQSDREDSYEETIRDLTQRKKAENRA
マガキ KYDEAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAAKIIELEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQSDREDSYEETIRDLTQRKKAENRA
アカザラガイ KFDAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAAKIIELEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQSDREDSYEETIRDLTQRKKAENRA
ヒオウギガイ KFDAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAAKIIELEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQSDREDSYEETIRDLTQRKKAENRA
ホタテガイ KYDEAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAAKIIELEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQSDREDSYEETIRDLTQRKKAENRA
トリガイ KYDEAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAAKIIELEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQSDREDSYEETIRDLTQRKKAENRAS
ウバガイ KYDEAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAAKIIELEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQSDREDSYEETIRDLTQRKKAENRA
ミルクイ KYDEAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAAKIIELEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQSDREDSYEETIRDLTQRKKAENRAS
マテガイ KYDEAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAAKIIELEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQSDREDSYEETIRDLTQRKKAENRAS
アサリ KYDEAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAAKIIELEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQSDREDSYEETIRDLTQRKKAENRAS
スルメイカ KFDAAARKLAITEVDLERAERLEAAEAAKIIELEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQSDREDSYEETIRDLTQRKKAENRAS
ブラウンシュリンプ KYDEVAARKLAMVEADLERAERLEAAEAAKIIELEEEELKVVGNMKSLEISEQEAQSDREDSYEETIRDLTQRKKAENRAS

241 250 260 270 280
クローアビ EAERTVSKLQKEVDRLDEDELLAEKERYKASDELDDQTFPAELAGY
サザエ EAERTVSKLQKEVDRLDEDELLAEKERYKASDELDDQTFPAELAGY
ミミガイ EAERTVSKLQKEVDRLDEDELLAEKERYKASDELDDQTFPAELAGY
フットコブシ EAERTVSKLQKEVDRLDEDELLAEKERYKASDELDDQTFPAELAGY
アカネアワビ EAERTVSKLQKEVDRLDEDELLAEKERYKASDELDDQTFPAELAGY
エゾボラ EAERTVSKLQKEVDRLDEDELLAEKERYKASDELDDQTFPAELAGY
ヨーロッパイガイ EAERTVSKLQKEVDRLDEDELLAEKERYKASDELDDQTFPAELAGY
ムラサキイガイ EAERTVSKLQKEVDRLDEDELLAEKERYKASDELDDQTFPAELAGY
ミドリイガイ EAERTVSKLQKEVDRLDEDELLAEKERYKASDELDDQTFPAELAGY
アカガイ EAERTVSKLQKEVDRLDEDELLAEKERYKASDELDDQTFPAELAGY
マガキ EAERTVSKLQKEVDRLDEDELLAEKERYKASDELDDQTFPAELAGY
アカザラガイ EAERTVSKLQKEVDRLDEDELLAEKERYKASDELDDQTFPAELAGY
ヒオウギガイ EAERTVSKLQKEVDRLDEDELLAEKERYKASDELDDQTFPAELAGY
ホタテガイ EAERTVSKLQKEVDRLDEDELLAEKERYKASDELDDQTFPAELAGY
トリガイ EAERTVSKLQKEVDRLDEDELLAEKERYKASDELDDQTFPAELAGM
ウバガイ EAERTVSKLQKEVDRLDEDELLAEKERYKASDELDDQTFPAELAGM
ミルクイ EAERTVSKLQKEVDRLDEDELLAEKERYKASDELDDQTFPAELAGM
マテガイ EAERTVSKLQKEVDRLDEDELLAEKERYKASDELDDQTFPAELAGM
アサリ EAERTVSKLQKEVDRLDEDELLAEKERYKASDELDDQTFPAELAGM
スルメイカ EAERTVSKLQKEVDRLDEDELLAEKERYKASDELDDQTFPAELAGM
ブラウンシュリンプ EAERTVSKLQKEVDRLDEDELLAEKERYKASDELDDQTFPAELAGM

図;塩見 13 各種貝類、スルメイカおよびブラウンシュリンプのトロポミオシンのアミノ酸配列。コンセンサスと考えられるアミノ酸残基に影をつけて示す。ブラウンシュリンプトロポミオシンで報告されている IgE 結合エピトープ領域は□で囲って示す。

表；塩見 11 軟体動物・甲殻類トロポミオシンのアミノ酸配列相同性 (%)

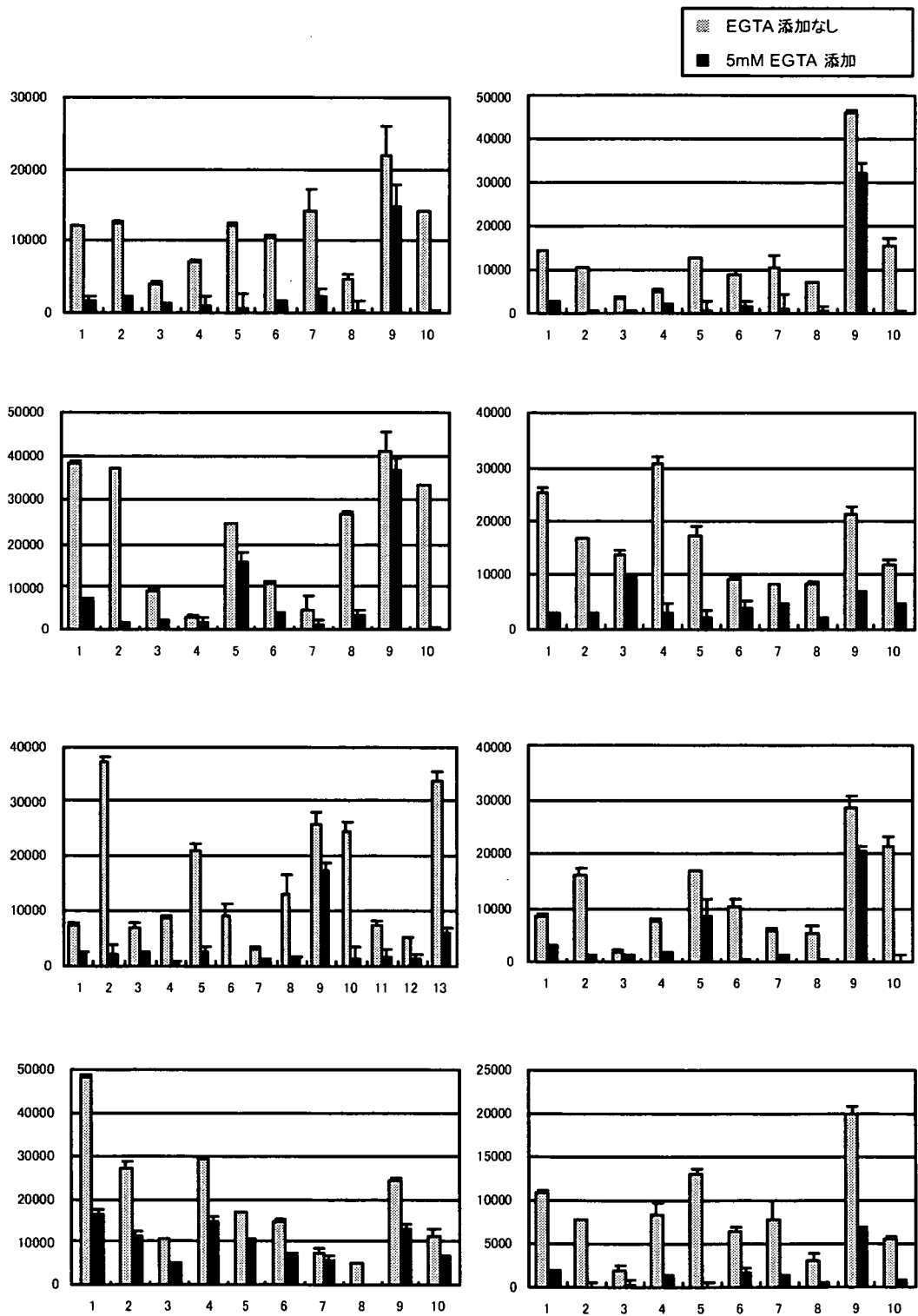
	腹足綱		二枚貝綱				頭足綱	甲殻綱	
	古腹足目	新腹足目	フネガイ目	イガイ目	カキ目:イ タヤガイ科	カキ目:イ タボガキ科			マルオスダ レガイ目
	クロアワ ビ、ミミガ イ、フクト コブシ、ア カネアワ ビ、サザ エ	エゾボラ	アカガイ	ヨーロッパ イガイ、ム ラサキイ ガイ、ミド リイガイ	アカザラガ イ、ヒオウ ギガイ、ホ タテガイ	マガキ	トリガイ、ウ バガイ、ミ ルクイ、マ テガイ、ア サリ	コウイカ、 アオリイ カ、スルメ イカ、アカ イカ、マダ コ	アメリカ ンロブス プ ラックタイ ガー
腹足綱 古腹足目	94.0-99.6	75.4-77.8	77.5-80.3	71.5-75.4	68.3-81.0	76.0-78.5	72.5-76.8	77.8-82.7	59.9-63.4
腹足綱 新腹足目		100	72.2	69.0-70.1	68.7-71.1	77.1	68.7-70.8	73.2-74.3	58.8-60.2
二枚貝綱 フネガイ目			100	75.4-75.7	70.4-73.2	79.2	72.9-73.9	71.8-73.2	58.5-59.5
二枚貝綱 イガイ目				94.0-99.6	67.6-70.1	78.9-79.2	64.8-67.3	69.4-71.5	56.0-57.7
二枚貝綱 イタヤガイ科					84.4-91.9	72.2-73.9	66.2-71.5	69.7-74.6	57.0-60.0
二枚貝綱 イタボガキ科						100	72.5-74.3	75.0-76.0	60.9-62.0
二枚貝綱 マルオスダレ ガイ目							85.6-94.4	70.1-73.6	55.6-58.8
頭足綱								91.2-99.6	61.3-63.7
甲殻綱									91.5-98.2



図；塩見 14 シロザケ卵（イクラ）抽出液の SDS-PAGE（左）および患者血清を用いたウエスタンブロットティング（右）。

表；塩見一12 イクラアレルギー患者血清 (n=17) の各種魚卵タンパク質およびβ' コンポーネントに対する反応性

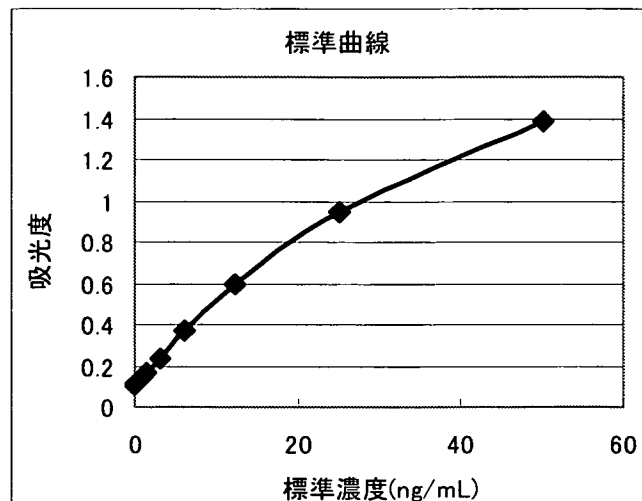
	シロザケ	イトウ	ニジマス	スケトウ ダラ	アサバカ レイ	ホッケ	シシャモ	カペリン
タンパク質	17	17	17	6	13	15	8	4
β	17	17	15	4	7	13	5	2



図；塩見 15 Ca^{2+} の存在下および非存在下における魚類パルプアルブミンの IgE 反応性 (蛍光 ELISA).

ダイズ ELISA 検知法の開発の検討

図; 穂山 1. ダイズ検知 ELISA キット 検量線



表; 穂山 1

市販食品検体	原材料表示	測定値(ppm)
豆腐	大豆	>20
油揚げ	大豆	>20
豆乳	大豆	>20
ゆば	大豆	>20
味噌	大豆	>20
醤油	大豆	検量線範囲以下
肉団子	大豆たん白	>20
ロースハム	大豆たん白	>20

表; 穂山 2

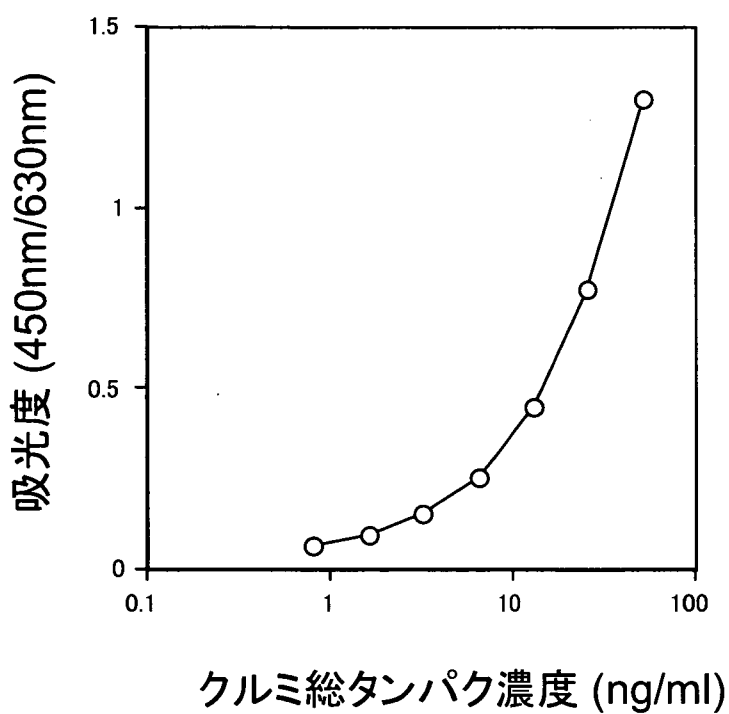
モデル加工食品	測定値 (ppm)	回収率
白がゆ	9.8	98%
おしるこ	10.2	102%
トマトソース	7.9	79%
イチゴジャム	8.7	87%
肉団子	7.3	73%
野菜スープ	6.7	67%

クルミ ELISA 検知法開発の検討

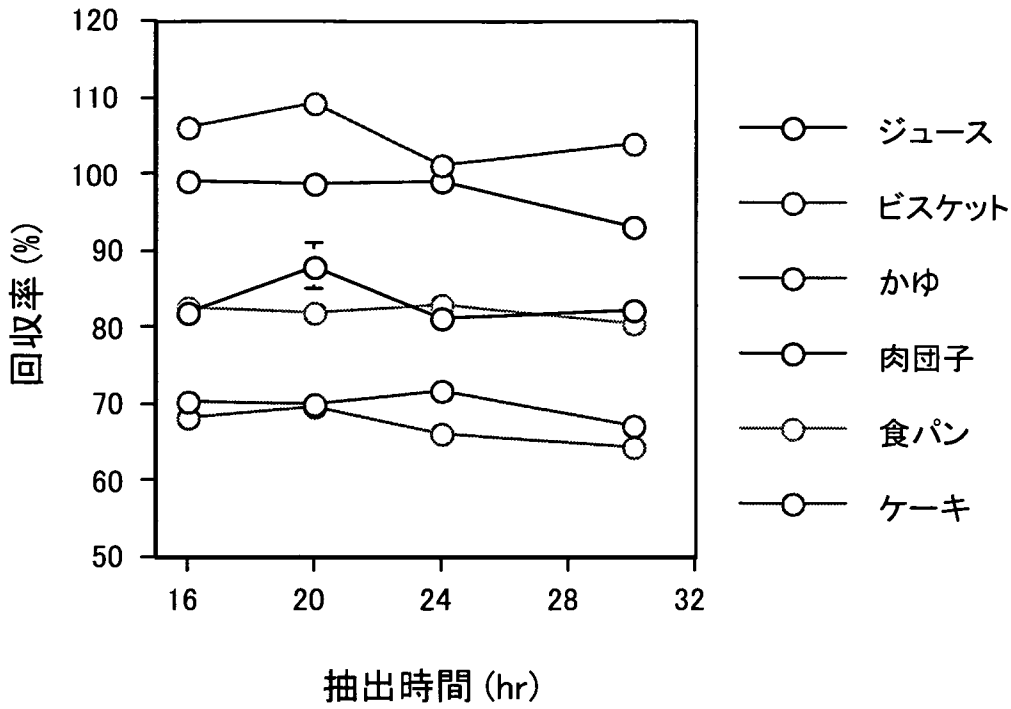
表; 穂山 3 モデル加工食品の回収率の検討

モデル加工食品	回収率(%)
白粥	120.9
鶏肉団子	105.3
食パン	131.7
スポンジケーキ	101.8
ビスケット	91.2
オレンジジュース	105.6

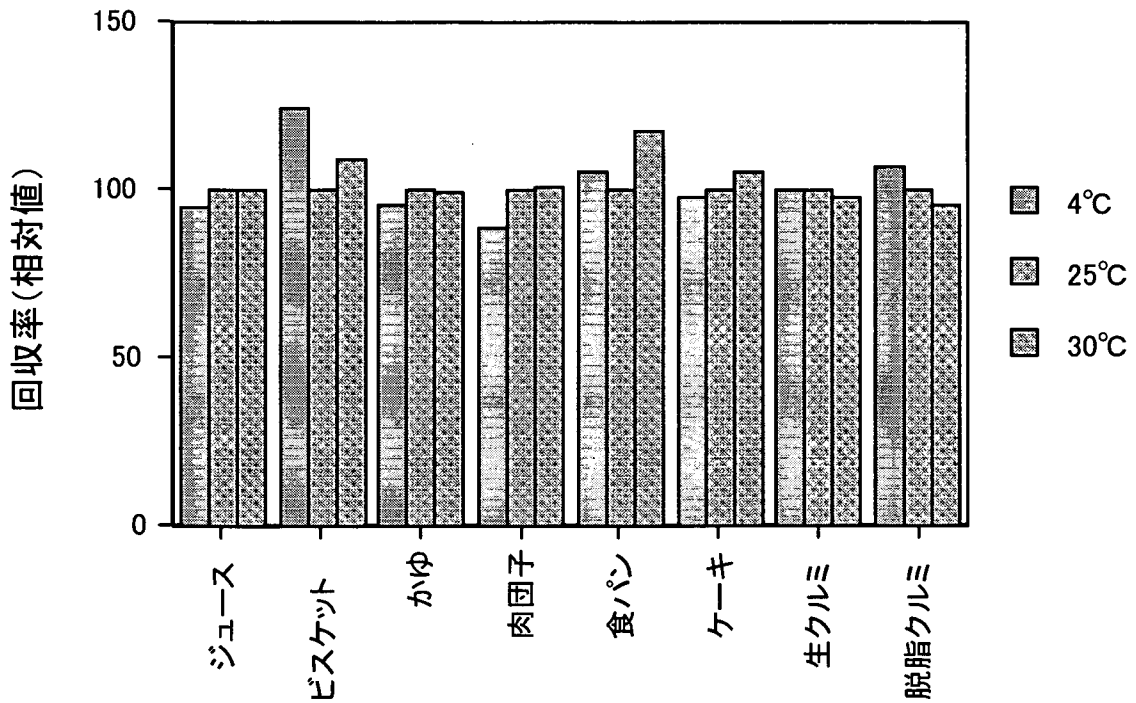
図; 穂山 2. クルミ検知 ELISA キット 検量線



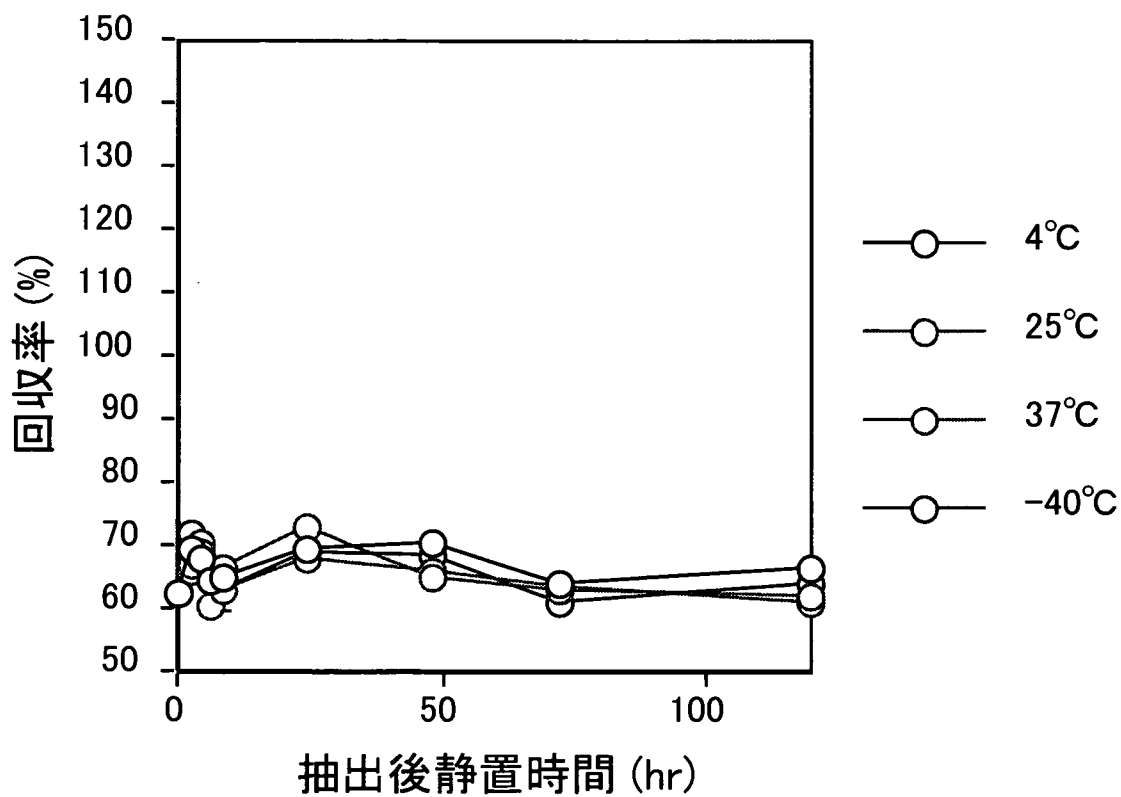
図; 穂山 3 抽出時間の回収率への影響



図; 穂山 4 抽出温度の回収率への影響(16 時間抽出 25°Cの回収率を 100 として表示)



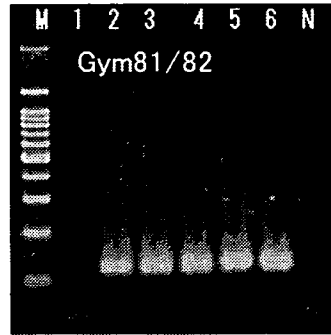
図; 穂山 5 抽出後静置時間の回収率への影響 (25°C 16 時間抽出)



ダイズ PCR 検知法の開発の検討

図; 穂山 6 検知感度の検討

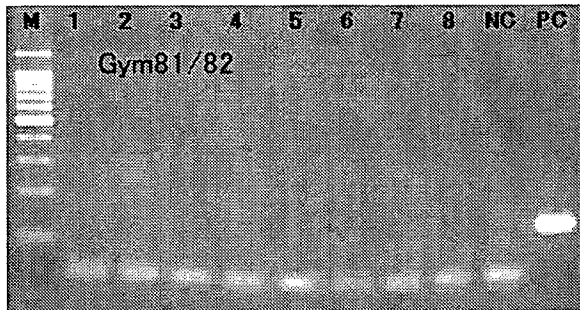
レーンNo.	ダイズ粉 / コムキ粉	Gym81/82 による増幅
2	10ppm	+
3	50ppm	+
4	100ppm	+
5	1000ppm	+
6	100%	+
N	No template	-



図; 穂山 7 特異性の検討

穀類	Gym 81/82	種実類*	Gym 81/82	他豆類	Gym 81/82	ダイズ	Gym 81/82
コムキ	-	アーモンド	-	虎豆	-	とよこまち	+
ライムキ	-	カシュー	-	手亡	-	とよむすめ	+
オオムキ	-	マカダミア	-	あずき	-	りゅうほう	+
オーツムキ	-	ピスタチオ	-	ささげ	-	たちながは	+
トウモロコシ	-	ヘーゼル	-	そらまめ	-	えんれい	+
コメ	-	ブラジル	-	えんどう	-	ふくゆたか	+
ソバ	-	ピーカン	-	レンズまめ	-	むらゆたか	+
		クルミ	-	ルーピン	-	Vinton	+
油脂類				ガルバンゾー	-	Navy	+
ナタネ	-			落花生	-		

*森永生化学研究所より入手



特異性の確認(種実類)

レーン#1:アーモンド, #2:カシュー, #3:マカダミア,
#4:ピスタチオ, #5:ヘーゼル, #6:ブラジル,
#7:ピーカン, #8:クルミ,

NC:DNAなし, PC:ダイズ

← 118b

← プライマーダイマー

表；穂山4 加工食品、調味料および食品素材からのダイズの検知結果

食品	PCR法		ELISA法†
	植物*	ダイズ**	μg/g
ちくわ	+	+	48.9
ロースハム	+	+	8.2
食パン	+	+	1.2
豆乳	+	+	10.2
ビスケット	+	+	<2.5
焙煎豆茶	+	+	>250
ポテトチップス	+	+	<2.5
油あげ	-	-	<2.5
レトルト粥	+	+	<2.5
レトルト中華ソース	+	+	<2.5
醤油	+	+	<2.5
味噌	+	+	>250
風味調味料 A	-	-	<2.5
風味調味料 B	+	+	<2.5
大豆レシチン	+	+	<2.5
おからパウダー	+	+	18.5
大豆食物繊維	+	+	<2.5
大豆タンパク加水分解物	+	+	<2.5

+:陽性、 -:陰性

* 植物DNA検知プライマー:CP03-5'/CP03-3'使用

**ダイズDNA検知プライマー:Gym81/Gym82使用

†使用キット:Veratox Quantitative Soy Flour Allergen Testkit (Neogen,USA)

表；穂山5 モデル加工食品のダイズ検知結果

食品	無添加		ダイズ添加	
	植物*	ダイズ**	植物*	ダイズ**
イチゴジャム	-	-	-	-
トマトソース	-	-	-	+
コーヒーゼリー	-	-	-	+
ソーセージ	-	-	-	+
鶏肉団子	-	-	-	+
スイートポテト	+	-	+	+
白がゆ	+	-	+	+

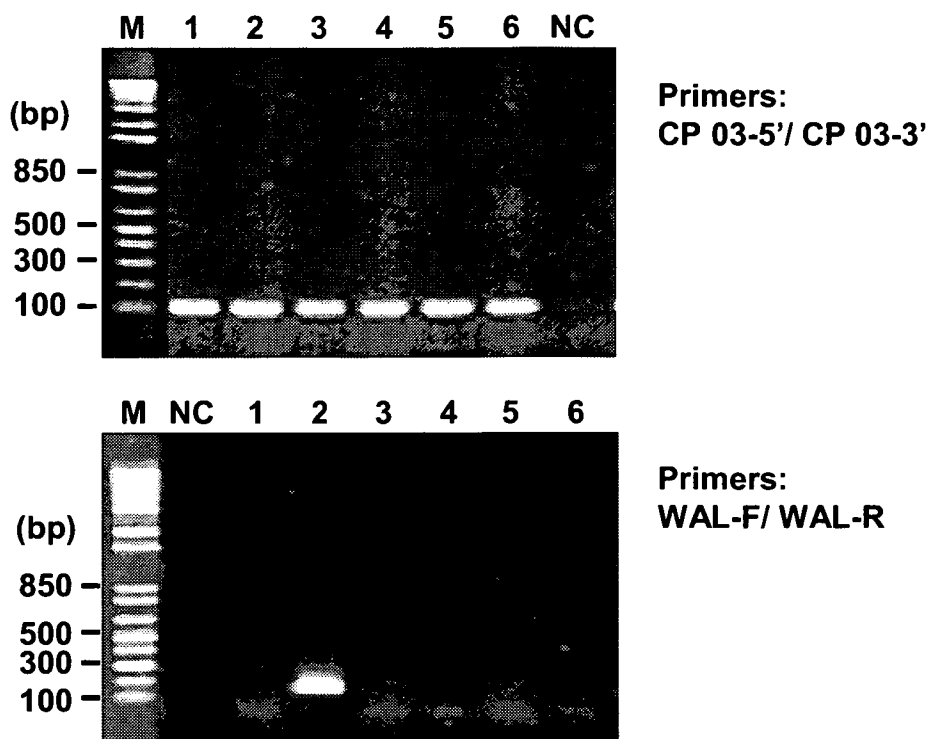
+:陽性、 -:陰性

* 植物DNA検知プライマー:CP03-5'/CP03-3'

**ダイズDNA検知プライマー:Gym81/Gym82

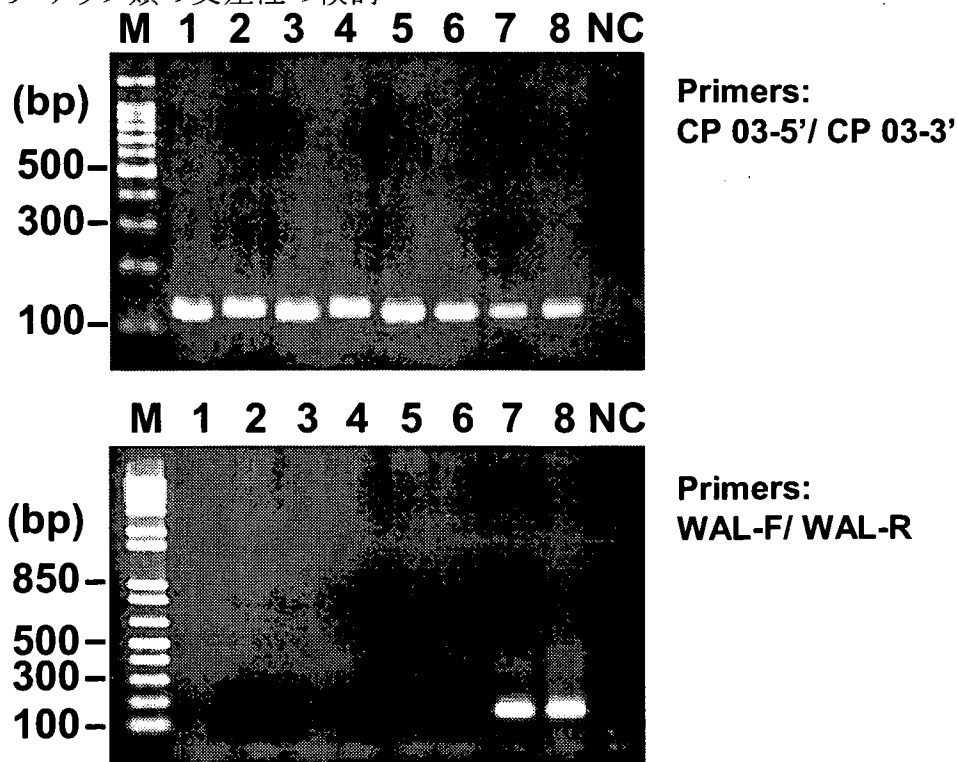
クルミ PCR 検知法開発の検討

図; 穂山 8. 植物の交差性の検討



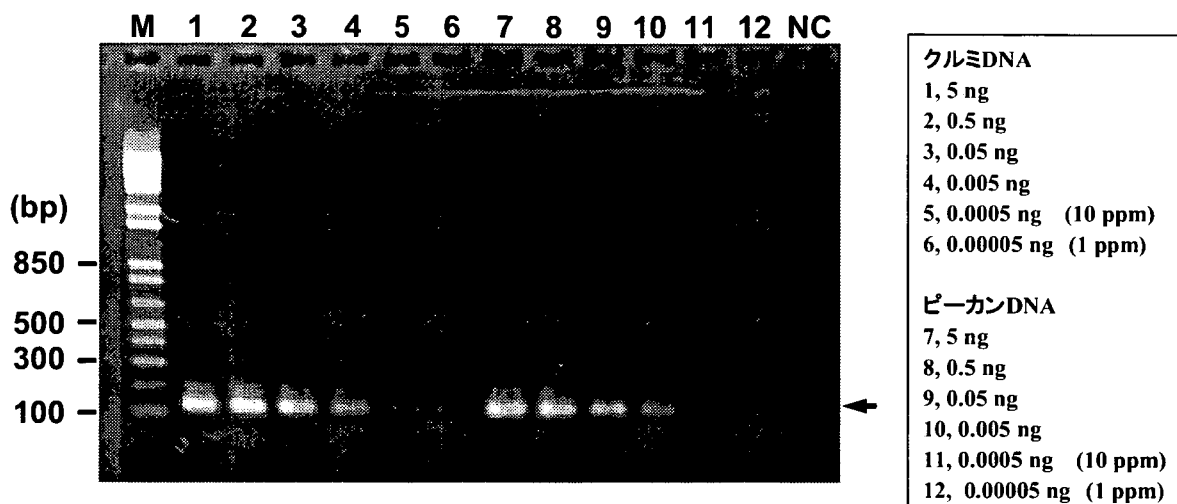
DNA (50 ng); 1: キウイ, 2: クルミ, 3: リンゴ, 4: ヤマイモ, 5: パナナ, 6: ダイズ

図; 穂山 9 ナッツ類の交差性の検討

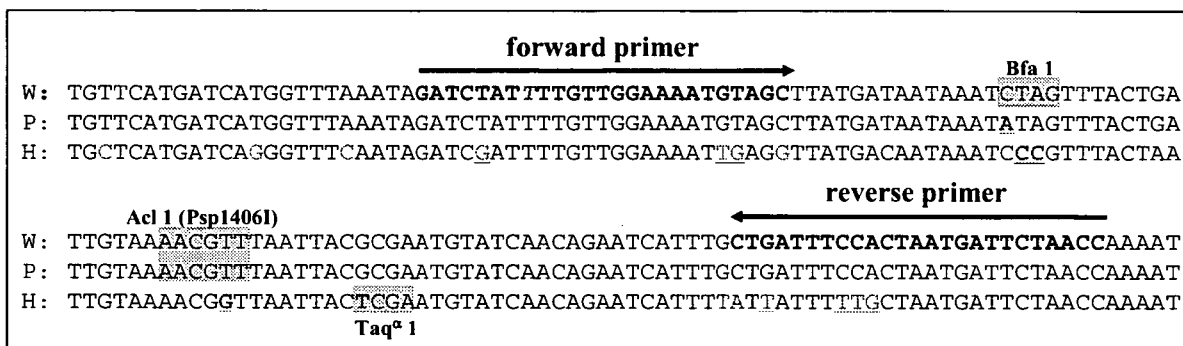


DNA (50 ng); 1: アーモンド, 2: カシューナッツ, 3: マカダミアナッツ, 4: ピスタチオ, 5: ヘーゼルナッツ, 6: ブラジルナッツ, 7: ピーカンナッツ, 8: クルミ

図; 穂山 10 検出感度の検討



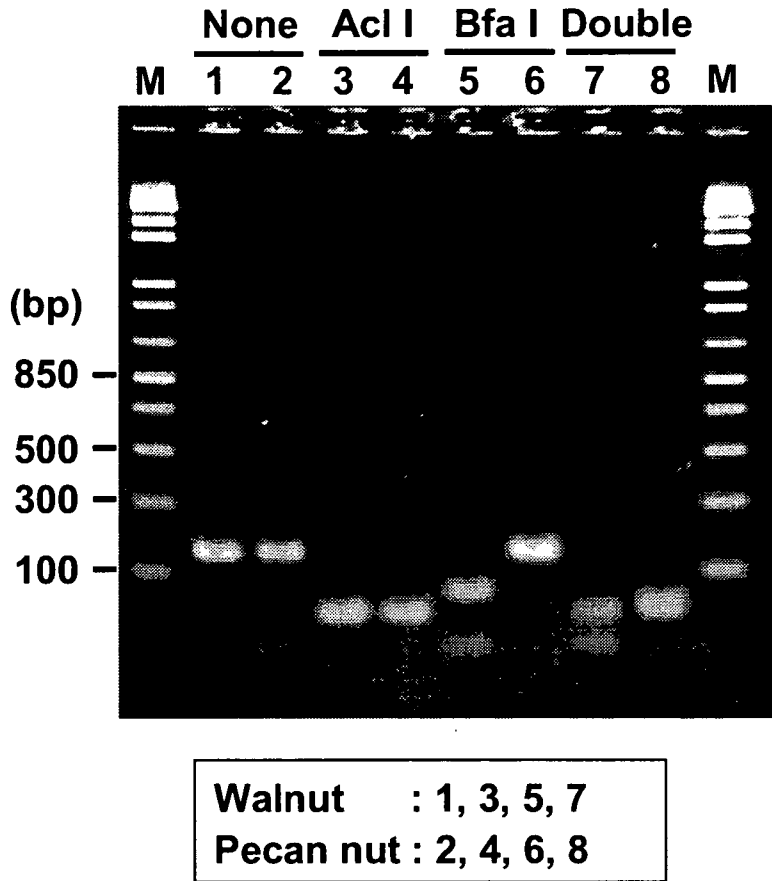
図; 穂山 11 クルミ科 matK 遺伝子配列比較



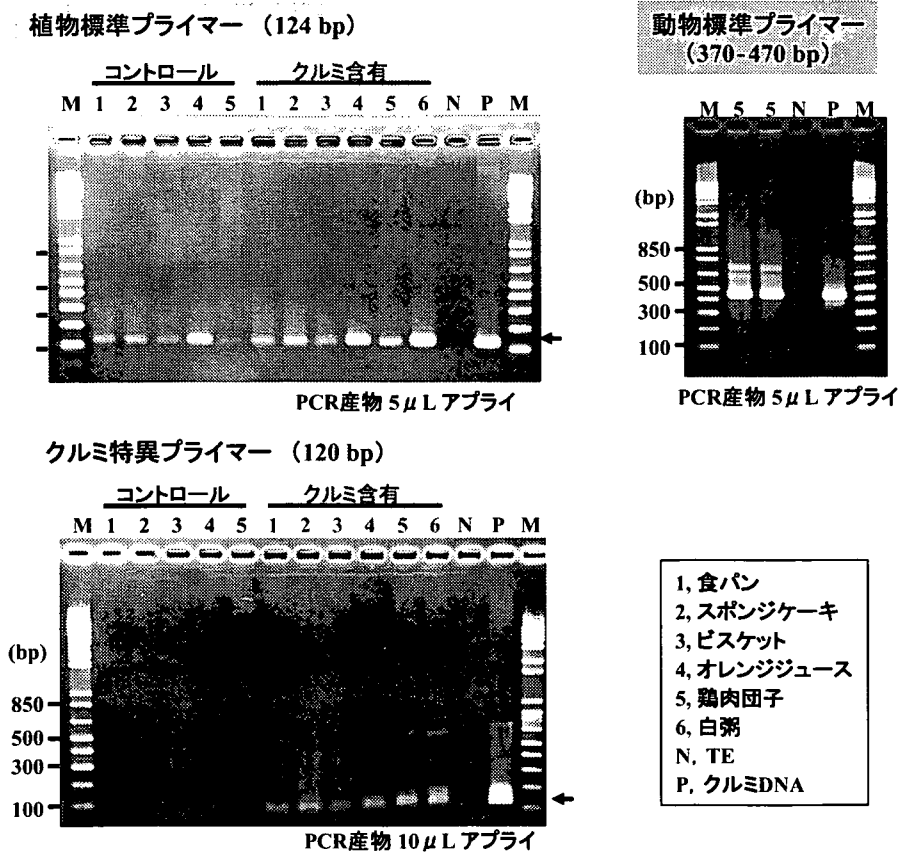
赤: クルミ遺伝子と相違する塩基 T: プライマー配列 A

W :	クルミ	遺伝子情報 :	Juglans nigra (AF118036), Juglans californica (AF118027)
P :	ピーカンナッツ(食用)	遺伝子情報 :	Carya illinoensis 本検討で決定
H :	ヒッコリー(木材)	遺伝子情報 :	Carya tomentosa (AF118039)

図; 穂山 12 PCR断片の制限酵素処理による分別



図; 穂山 13 モデル加工食品での検証結果



表; 穂山 6 クルミ PCR 検知用プライマー

Name	Sequence (5'→3')	Specificity	Amplicon
A:	CP 03-5' 5'-CGG ACG AGA ATA AAG ATA GAG T-3'	Chloroplast DNA /sense	Plants 123 bp
	CP 03-3' 5'-TTT TGG GGA TAG AGG GAC TTG A-3'	Chloroplast DNA /antisense	
B:	WAL-F 5'-GAT CTA TAT TGT TGG AAA ATG TAG C-3'	chloroplast maturase (matK) gene / sense	Walnut 120 bp
	WAL-R 5'-GGT TAG AAT CAT TAG TGG AAA TCA G-3'	chloroplast maturase (matK) gene / antisense	

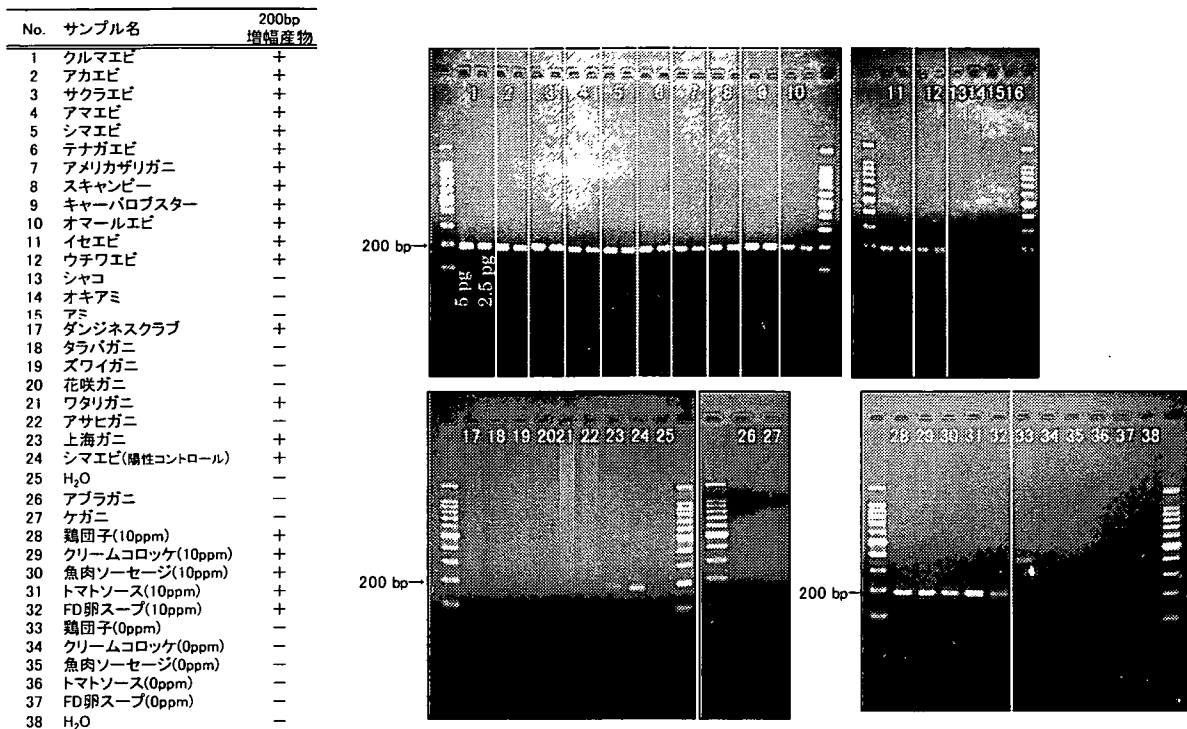
A, for confirmation of validity of the DNA extracted from plants for polymerase chain reaction.
 B, for specific detection of walnut

表; 穂山 7 クルミおよびピーカンナッツの PCR 増幅産物の制限酵素での切断サイズ

Species	Endnuclease			
	None	Acl 1	Bfa 1	Acl 1 and Bfa 1
Walnut	120	59	40	19
		61	80	40
				61
Pecan nut	120	59	120	59
		61		61

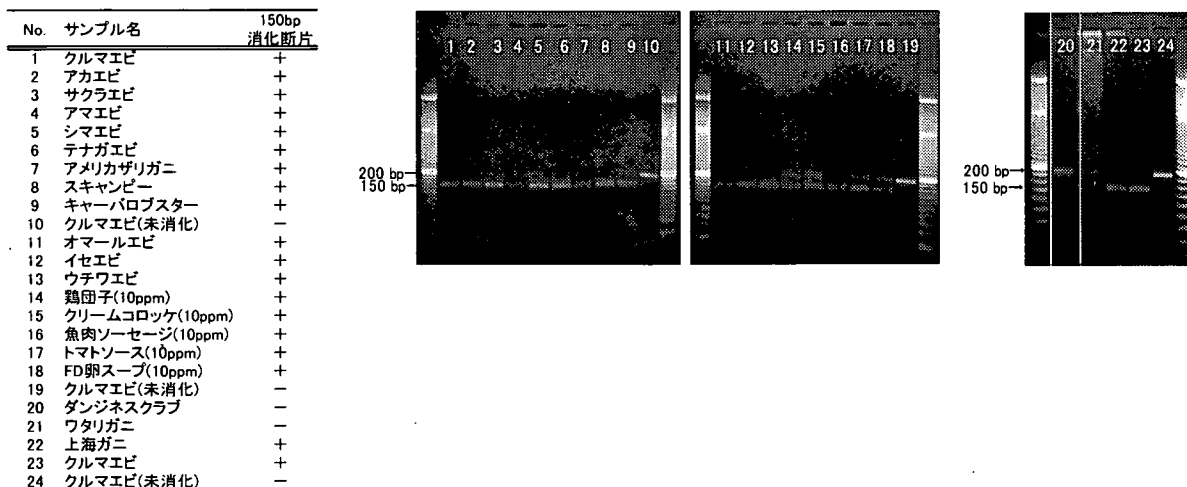
エビ PCR 検知法の開発の検討

図； 穂山 14 特異性と感度の検討



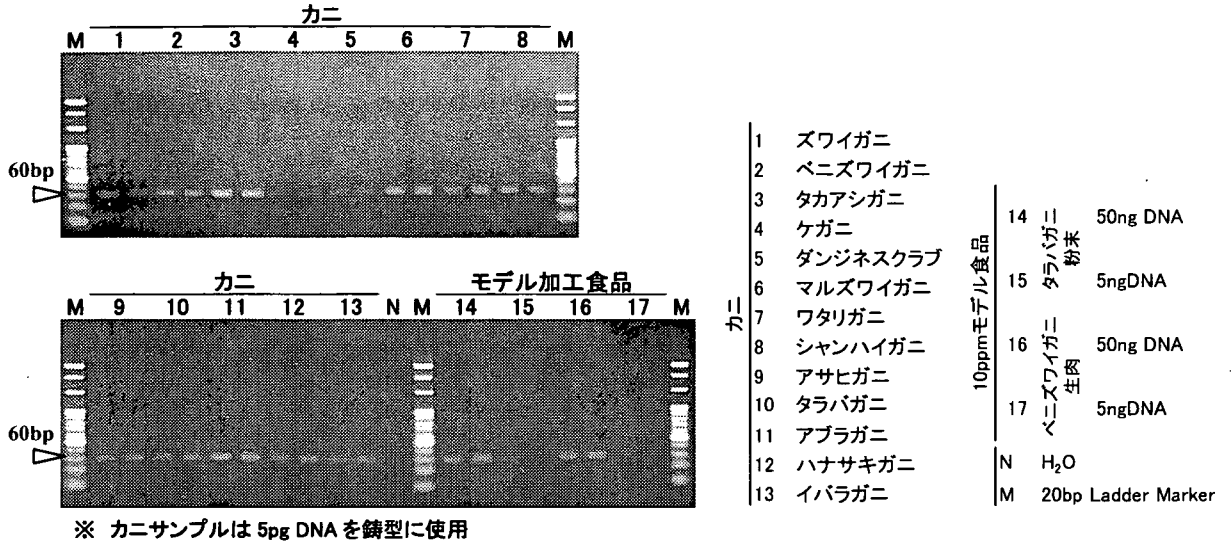
* エビ：5, 2.5 pg DNA, その他：50 ng DNA を使用。
 * ダンジネスクラブ、ワタリガニは N 数を増やした際に、増幅が確認された。

図； 穂山 15 制限酵素処理の検討

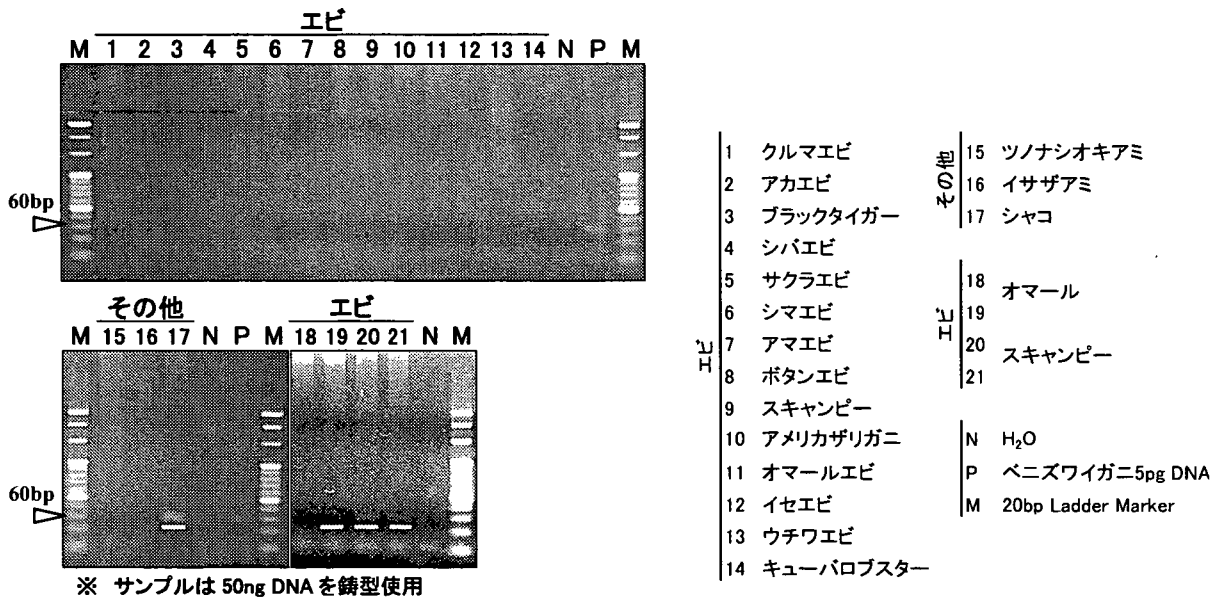


カニ PCR 検知法の開発の検討

図； 穂山 16 感度の検討



図； 穂山 17 特異性の検討



図; 穂山 18 水晶発振子を用いたバイオセンサー法の検討

