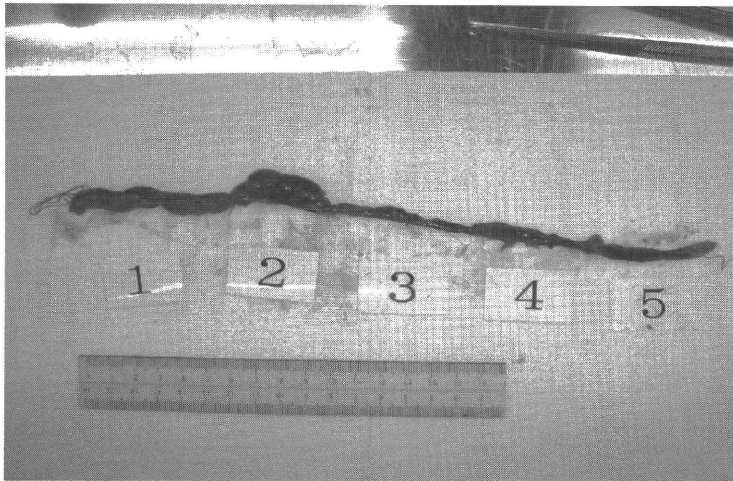


A



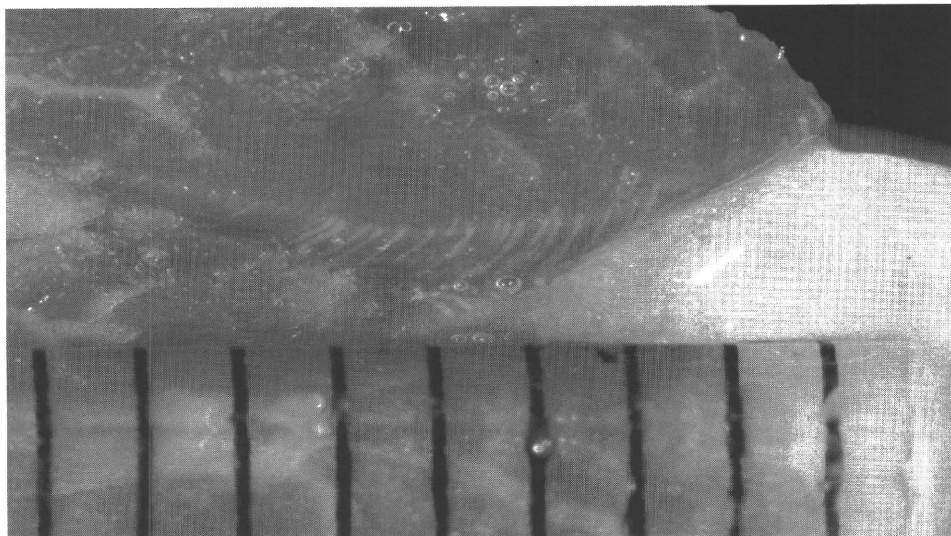
B

図1 *S. fayeri*シストを含んだ馬肉についてのウサギ腸管ループ試験

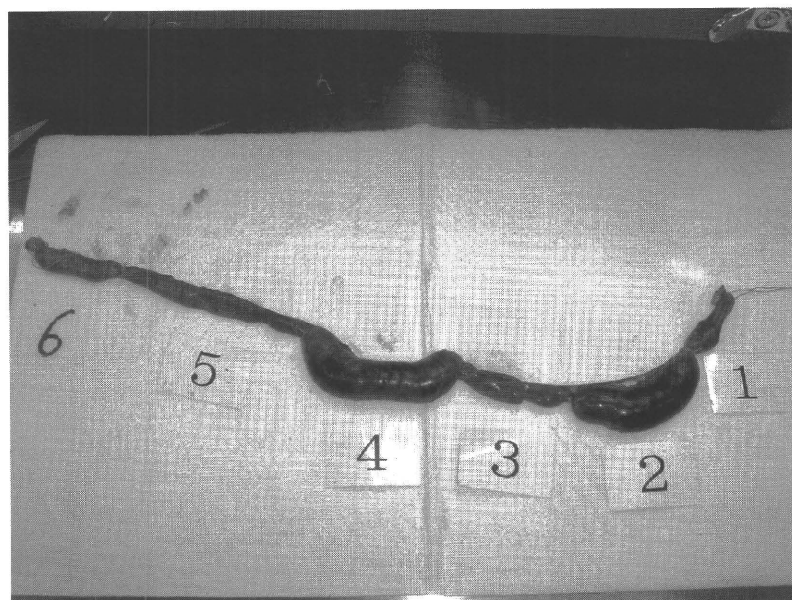
A: 接種した馬肉。白い斜めの線はシスト。420シスト/cm<sup>2</sup>。

B: 接種後18時間の腸管ループ

接種物: ループ1、ホモジネート原液; ループ2、ホモジネートのろ液(可溶性分); ループ3、ろ液の2倍希釈物; ループ4、ろ液の4倍希釈物; ループ5、PBS。



A



B

図2 *S. fayeri*シストを含んだ馬肉についてのウサギ腸管ループ試験

A: 接種した馬肉。白い斜めの線はシスト。420シスト/cm<sup>2</sup>

B: 接種後18時間の腸管ループ

接種物: ループ1、シストを含まない馬肉ホモジネート原液; ループ2、シストを含む馬肉のホモジネート; ループ3、ループ1とは別ロットの、シストを含まない馬肉のホモジネート; ループ4、ループ2とは別ロットの、シストを含む馬肉のホモジネート; ループ5、PBS; ループ6、ホモジネート調製時に出る油分

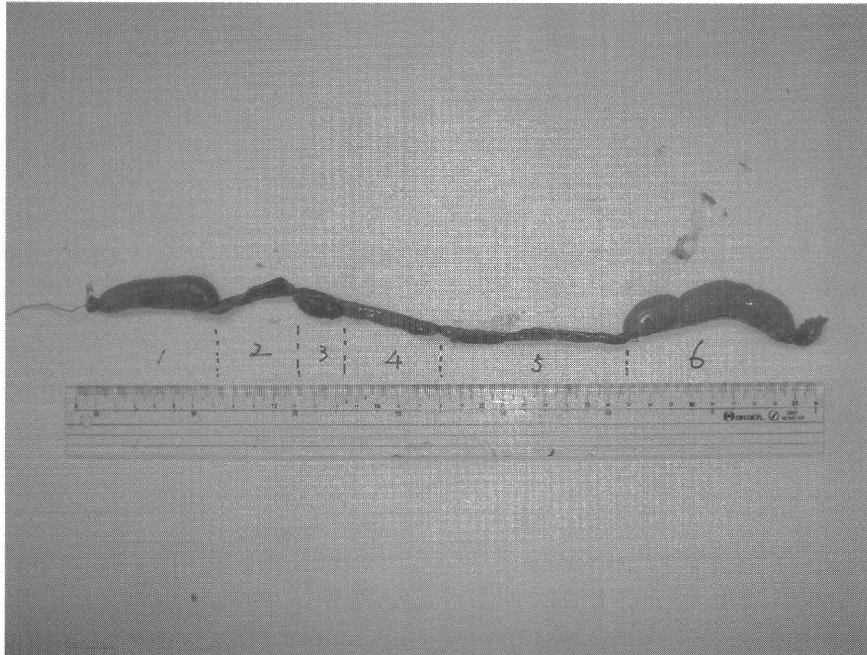
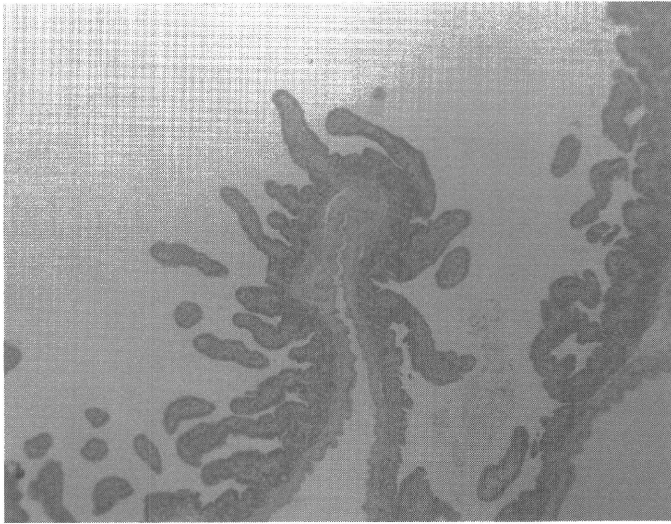


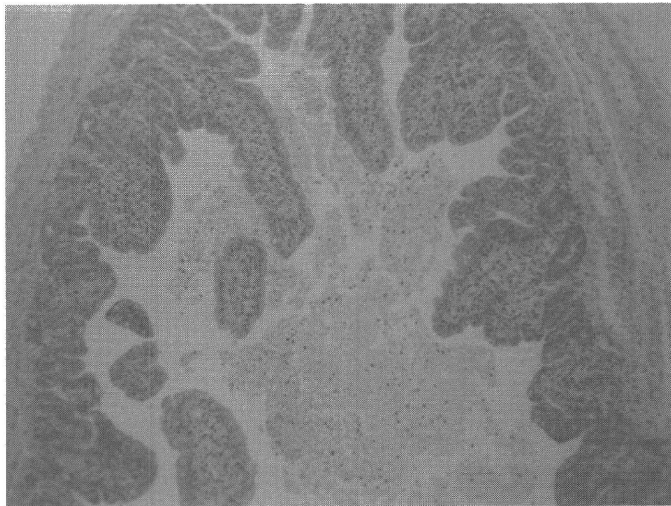
図3 *S. fayeri*シストを含んだ馬肉についてのウサギ腸管ループ試験

接種後 18 時間の腸管ループ

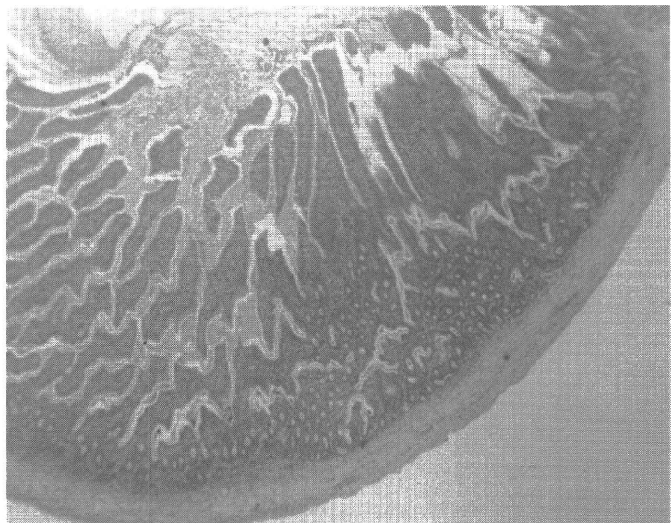
接種物:ループ 1、209/cm<sup>2</sup>のシストを含む馬肉のホモジネート原液;ループ 2、ループ 1 のペプシン処理物;ループ 3、ループ 1 の 2 倍希釈物;ループ 4、ループ 2 の 2 倍希釈物;ループ 5、PBS;ループ 6、ブラディゾイト。



A



B



C

図4 *S. fayeri*を含んだ馬肉ホモジネートを接種した腸管ループの組織病変

A、B: 実験1、ループ2

C: 実験3、ループ5

表1 人工胃液処理時間の検討：S. fayeri シストを人工胃液処理した時のブラディゾイトの効果

処理	ブラディゾイト死滅率 <sup>1)</sup>			
	人工胃液処理時間			
	15分	30分	45分	60分
未処理（非冷凍）	0/9	0/9	0/9	0/9
-20℃、24時間曝露	3/9	8/9	8/9	9/9

1) 死滅率：ブラディゾイトが確認されないシスト数/検査したシスト数

表2 各種冷凍処理の S. fayeri シスト/ブラディゾイトへの障害効果

冷凍条件	ブラディゾイト死滅率							
	保持時間(時間)							
	1	2	3	6	12	18	24	48
-20℃				0/9	0/9		3/9	9/9
-30℃				0/9	2/9	6/9	8/9	9/9
-30℃、急速冷凍				0/9	5/9	9/9	9/9	
-35℃				0/9	5/9	8/9	9/9	
-35℃、CAS 使用				0/9	6/9	6/9	9/9	
-40℃	0/9	0/9	7/9		2/3	9/9	9/9	
-60℃	2/9	8/9		8/9	9/9			
液体チツソ処理 (-196℃)	9/9	9/9						

1) 死滅率：ブラディゾイトが確認されないシスト数/検査したシスト数

空白は試験していないことを示す。

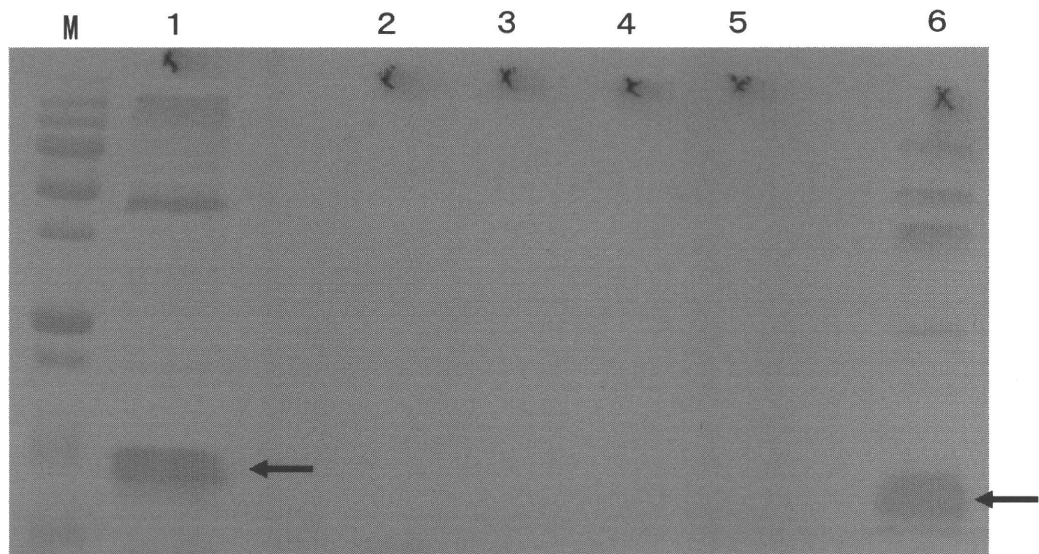


図5 *S. fayeri* シスト含有馬肉への冷凍処理の15K Da タンパク質への影響

レーン

M : 分子量マーカー

1 : 冷蔵 (4°C) 保存馬肉から抽出したシストを人工胃液処理 (60 分)

2 : -40°C18 時間保持馬肉から抽出したシストを人工胃液処理 (15 分)

3 : -40°C18 時間保持馬肉から抽出したシストを人工胃液処理 (15 分)

4 : -40°C18 時間保持馬肉から抽出したシストを人工胃液処理 (15 分)

5 : -40°C18 時間保持馬肉から抽出したシストを人工胃液処理 (15 分)

6 : 冷蔵保存馬肉から抽出したシストのタンパク質

← : 15 KDa タンパク質を示す。

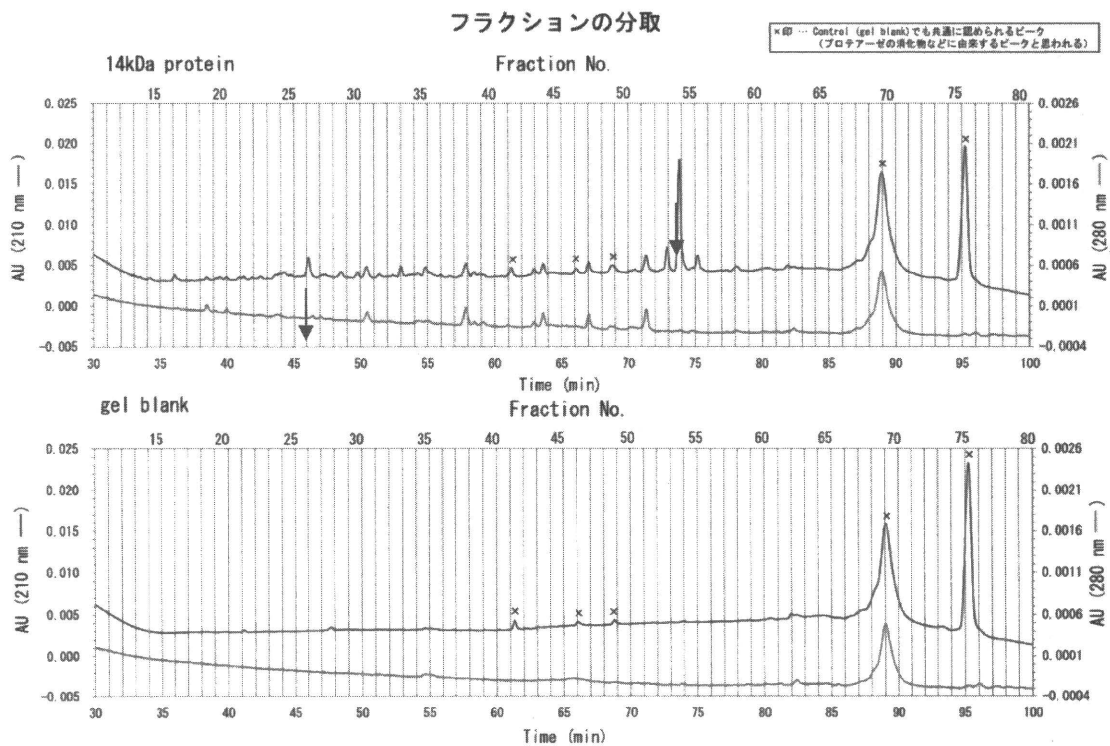


図6 15 KDa タンパク質のトリプシン分解後のペプチド溶出パターン

矢印は、陰性対象には含まれない、15 KDa タンパク質特異的なペプチドピークを示す。



	1		60
<i>Toxoplasma</i> ADF		MASGMGVDENCVARFNELKIRKTVKWI VFKIENTKI VVEKDGKGNADFRGALPANDCRF	
Fraction 27		-----IQETEIVVEK-----	
<i>Eimeria</i> ADF		MASGMPVNESCVTTTFNELKLRHSFKWIFKIDHDEIVVEKKGTGDASTLTKELPASDCRY	
	61		118
<i>Toxoplasma</i> ADF		AVYNCGNKIQFVLWCPDNAPVKPRMTYASSKDALLKKLDGATAVALEAHMGDLAPLA--	
Fraction 54		-----RLDGVAALALEAHDLSDFET----	
<i>Eimeria</i> ADF		AVYDEGQRIHFILWSPDCAPVKPRMIYSSSKDALAKKLEGTVATTLEAHELGDLSVLH-	

図7 15 KD タンパク質の内部アミノ酸配列に相同性のあるタンパク質のアミノ酸配列アラインメント比較

**Toxoplasma ADF : Toxoplasma gondi Actin Depolymerizing Factor**

**Eimeria ADF : Eimeria tenella Actin Depolymerizing Factor**

赤字は同一アミノ酸を示す。

### III. 研究成果の刊行に関する一覧表

## 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Matsukane, Y., Sato, H., Tanaka, S., Kamata, Y. and Yoshiko Sugita-Konishi, Y.	Kudoa septempunctata n. sp. (Myxosporea: Multivalvulida) from anaquacultured olive flounder ( <i>Paralichthys olivaceus</i> ) imported from Korea	Parasitology Research	107	865-872	2010
Matsukane Y, Sato H, Tanaka S, Kamata Y, Sugita-Konishi Y	Kudoa iwatai and two novel Kudoa spp., K. trachuri n. sp. and K. thunni n. sp. (Myxosporea: Multivalvulida), from daily consumed marine fish in western Japan.	Parasitology Research	108	913-926	2010

