

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03118

研究課題名(和文) 共生微生物による節足動物媒介性疾病の制御

研究課題名(英文) Potential of symbionts in controlling arthropod-borne diseases

研究代表者

中尾 亮 (Nakao, Ryo)

北海道大学・獣医学研究院・准教授

研究者番号：50633955

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：マダニや蚊などの吸血性節足動物は様々な病原体を人や動物に伝播する。一方で、節足動物は病原体以外にも様々な微生物を体内に保有するが、詳細には解析されていない。本研究では、国内外で採集されたマダニが保有する細菌叢を解明した。また、*Coxiella*、*Spiroplasma*、*Rickettsia*等のマダニにおける優占細菌群の遺伝的特徴を明らかにし、宿主となるマダニとの関係性を明らかにした。さらに、マダニが保有する真核生物叢を解析する目的で、マダニ18S rDNA配列に特異的な人工核酸によりマダニ由来DNAの増幅を抑制する手法を開発し、*Gregarina*等の原生生物をマダニで初めて検出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

国内外のマダニが保有する微生物叢が明らかになり、*Coxiella*、*Spiroplasma*、*Rickettsia*等の優占細菌群の存在を突き止めた。それら優占細菌群のマダニ体内での役割を解析することで、マダニやマダニ媒介性病原体の制御法開発に向けた研究展開が可能となった。マダニの真核生物叢の解析手法を世界で初めて開発した。その手法を論文として公開したことで、他の研究者も容易に真核生物叢解析が可能となり、これまで全く注目されてこなかったマダニ保有真核生物叢の情報集積が期待できる。これまでに認知されていない病原体や新規微生物の発見につながる可能性があり、学術的、社会的意義は大きい。

研究成果の概要(英文)：Blood-feeding arthropods such as ticks and mosquitoes can carry pathogens to humans and animals. They also harbor a variety of seemingly non-pathogenic microorganisms; however, their diversity and roles have not yet been clearly understood. This study disclosed bacterial microbiomes of ticks from domestic and foreign origins by sequencing 16S ribosomal RNA gene (rDNA). The dominant taxa found in tick bacterial microbiome, including *Coxiella*, *Spiroplasma*, and *Rickettsia*, were further genetically characterized to understand their transmission manners in ticks. The method to explore the tick eukaryotic microbiome was developed by designing a peptide nucleic acid (PNA) clamp method which suppresses amplification of tick 18S rDNA, leading to the first detection of *Gregarina* in ticks. Collectively, these results provide fundamental information to develop control strategies for vector-borne diseases.

研究分野：寄生虫学

キーワード：吸血性節足動物 共生微生物 マイクロビーム マダニ *Coxiella* *Francisella* *Occidentia* PNA

1. 研究開始当初の背景

昆虫やマダニなどの吸血性節足動物はヒトや動物に重篤な疾病を引き起こす様々な病原体を媒介する。例えば、人においては重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルスや日本紅斑熱群リケッチアなどがマダニによって媒介され、それら病原体によるダニ媒介性感染症の本邦における患者数は近年増加傾向にある。さらに、動物においてもバベシア症やタイレリア症などのマダニが伝播する原虫感染症が問題となっており、その対策として忌避剤や殺ダニ剤等によるダニ防除が欠かせない。

節足動物は病原体以外にも様々な微生物を体内に保有することが最近の研究でわかってきた。いくつかの微生物は、共生体として節足動物の生存や繁殖に有利に働くことなどが報告されている。また、病原体と相互作用をもつ微生物の存在も示唆されている。しかしながら、マダニが保有する微生物叢 (マイクロビオーム) の全容は明らかになっていない。

高速シーケンス技術の開発により、様々な研究分野においてマイクロビオーム解析が実施されてきた。とりわけ細菌叢に関しては、細菌が共通して保有する 16S リボソーム RNA 遺伝子 (rDNA) の配列保存領域に設計されたユニバーサルプライマーで PCR を行い、その PCR 産物を高速シーケンサーで解読することで解析可能なため、マダニ研究分野においても応用が進む。しかしながら、真核生物が共通して保有する 18S rDNA を増幅するユニバーサルプライマーでは、マダニ自身の 18S rDNA も増幅してしまうため、マダニが保有する真核生物叢はこれまで解析されてこなかった。

2. 研究の目的

本研究では、マダニが保有する細菌叢を 16S rDNA アンプリコン解析により明らかにし、マダニのマイクロビオームを構成する主要な細菌群の検出を第一の目的とした。さらに、得られたデータを基盤に、マダニ種間での細菌叢の違いを検証し、優占する細菌群について遺伝的特徴を解析することで宿主マダニとの関係性を明らかにすることを第二の目的とした。また、マダニの真核生物叢解析手法を新たに開発し、真核生物を含めたマダニマイクロビオームを明らかにすることを第三の目的とした。

3. 研究の方法

【マダニ検体】

国内外の植生および動物からマダニを採集し、実体顕微鏡を用いた種同定の後、DNA および RNA を抽出した。また、マダニ乳剤を -80 度で保存した。共同研究者より分与された種同定済みマダニ由来 DNA も解析に用いた。

【マダニ細菌叢の解析】

16S rDNA の V3-4 超可変領域を増幅するユニバーサルプライマーを用い、マダニ DNA を鋳型として PCR を行った。PCR 産物は 1.2%アガロースゲル電気泳動により増幅長を確認後、精製し、Nextera XT index kit を用いた index PCR に供した。作製したライブラリーを定量後、Illumina MiSeq により解読を行った。得られたデータは、QIIME2 に取り込み、フォワードリードとリバースリードを 1 つの配列にマージし、得られた配列をフィルタリングした。DADA2 pipeline を用いてフィーチャーテーブルを設定し、silva-132-99-nb classifier を用いて分類群を割り当てた。

【*Coxiella* の解析】

Coxiella の検出は *groEL* 遺伝子を標的とした nested PCR を用いて実施した。陽性個体においては、さらに 4 つのハウスキーピング遺伝子 (*dnaK*, *rpoB*, 16S rDNA, 23S rDNA) を PCR により増幅し、Sanger シーケンシングにより塩基配列を解読した。得られた塩基配列を結合し、最尤法により系統樹を作製した。

フタトゲチマダニの吸血前後の個体を解剖し、各臓器から total RNA を抽出した。HiSeq により、RNAseq 解析を実施した。得られた配列をアセンブル後、DFAST ならびに BlastKOALA を用いて解析し、遺伝子のアノテーションならびに機能推定を行った。

【*Spiroplasma* の解析】

Spiroplasma の検出は 16S rDNA を標的とした PCR を用いて実施した。陽性個体においては、さらに 3 つの遺伝子領域 (ITS1, *dnaA*, *rpoB*) を PCR により増幅し、Sanger シーケンシングにより塩基配列を解読した。得られた塩基配列を結合し、最尤法により系統樹を作製した。

Spiroplasma 陽性マダニをウサギに吸血させ、飽血したマダニ個体を暗所で静置し産卵させた。

卵および孵化幼ダニから DNA を抽出し、上記 PCR を行った。さらに、*in vitro* で培養した *Spiroplasma* 分離株 (*Spiroplasma ixodetis* および *Spiroplasma mirum*) を精製し、マイクロインジェクションによりフタトゲチマダニ実験室維持株に接種した。同様に、ウサギへの吸血により産卵させ、*Spiroplasma* の卵、幼ダニへの伝播の有無を検証した。

【真核生物叢解析手法の確立と応用】

18S rDNA の V4 超可変領域を増幅するユニバーサルプライマー領域近傍の配列を公共データベース上からダウンロードし、アライメントを行った。マダニ類で保存されている配列部位を抽出し、2 種の人工核酸 (Locked Nucleic Acid (LNA) および Peptide Nucleic Acid (PNA)) を合成した。マダニおよび *Theileria* 由来の 18S rDNA 配列を組込んだプラスミドを構築し、人工核酸を複数の濃度でユニバーサル PCR の反応液に加え、マダニ由来遺伝子の増幅が抑えられる最適条件を検討した。最適化された条件を用い、マダニ由来 DNA を鋳型とした PCR 反応を行い、上述の通り Illumina MiSeq によるシーケンスおよび QIIME2 を用いたデータ解析に供した。

4. 研究成果

【マダニ細菌叢の解析】

国内で採集された 4 種の軟ダニ (*Argas japonicus*, *Carios vespertilionis*, *Ornithodoros capensis*, *Ornithodoros sawaii*)、および実験室維持株 1 種 (*Ornithodoros moubata*) について、16S rDNA アンプリコン解析を行った。ダニ種ごとに特徴的な細菌叢を有することが明らかとなり、細菌叢の多様性 (多様性) は実験室で長年維持された *O. moubata* で最も低かった。優占する細菌属として *Coxiella* が *A. japonicus* 以外の全てのマダニで検出された。特に、*C. vespertilionis* では *Coxiella* と *Rickettsia* の 2 種、*O. moubata* では *Coxiella* と *Francisella* の 2 種の共生現象 (dual symbiosis) が確認された (図 1)。 *Coxiella* を欠く *A. japonicus* では、*Occidentia* と *Candidatus Endoecteinascidia* が優占する細菌群として検出された。さらに、*Ehrlichia*, *Borrelia*, *Bartonella* 等の病原細菌が多く含まれる細菌属も、一部の検体で検出された。

国内外で採集された、硬ダニ (17 種) についても同様に 16S rDNA アンプリコン解析により細菌組成を解析した。国内の硬ダニに優占する細菌群として *Coxiella*, *Spiroplasma*, *Rickettsia* 等を特定した。*Ixodes persulcatus* では、アルファプロテオバクテリア綱に属する未分類の細菌が優占細菌種として検出された。

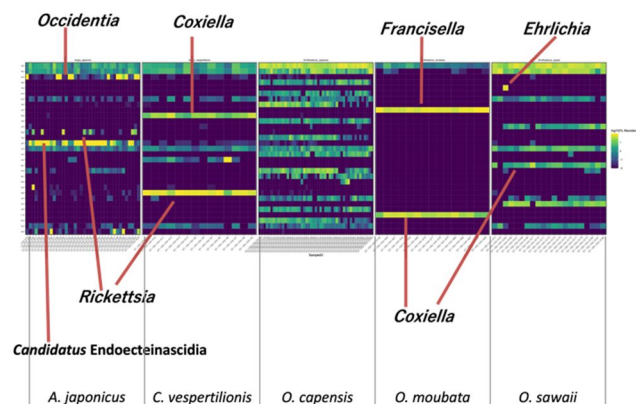


図1. 軟ダニで検出された優占細菌群

【Coxiellaの解析】

国内外のマダニで優占する細菌群の一つ *Coxiella* について、その遺伝的特徴を明らかにするため MLST (Multi-locus sequencing typing) 解析を実施した。まず、ザンビアで採集された 7 属 23 種のマダニ 175 個体を解析した結果、その 45.7% (80 個体) で *Coxiella* の保有が確認された。*Coxiella* とその宿主マダニの系統関係を比較したところ、両者で強い相関がみられたことから、*Coxiella* はマダニにおいて垂直伝播により受け継がれ、宿主マダニと共に系統分岐が起こっていることが示唆された。さらに、国内で採集されたマダニ (硬ダニ) 4 属 20 種 223 個体を検索したところ、*Amblyomma* 属、*Demacentor* 属、*Haemaphysalis* 属のマダニでは *Coxiella* を多数保有していることが示された。一方で、*I. ovatus* を除く *Ixodes* 属では、*Coxiella* の保有は確認できなかった。

フタトゲチマダニの RNAseq 解析を実施し、*Coxiella* のドラフトゲノムを決定した。合計 10 種類のビタミン B 及び補因子の生合成・代謝に関わる *Coxiella* 遺伝子が検出され、特に、パントテン酸 (ビタミン B5) ならびにピオチン (ビタミン B7) の生合成に関わる一連の遺伝子群が検出された (図 2)。

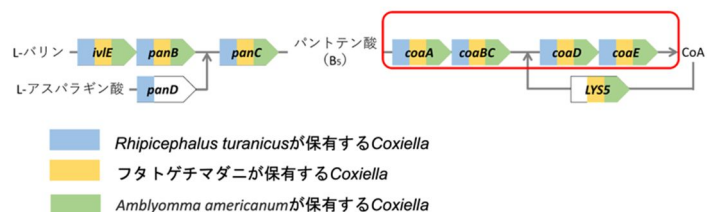


図2. パントテン酸とCoAの生合成に関わる遺伝子

【Spiroplasmaの解析】

マダニが保有する Spiroplasma の遺伝的特徴を明らかにするため MLST 解析を実施した。国内で採集された 4 属 20 種のマダニ 712 個体を解析した結果、その 15.3%(109 個体)で Spiroplasma の保有が確認された。8 種のマダニから検出され、I. ovatus ではオスメス共に 80%以上の保有率を示した。Spiroplasma の陽性率を性別で比較したところ有意な差はみられず、他の節足動物で報告されている Spiroplasma のオス殺し現象の可能性は否定された。

マダニ個体間での Spiroplasma の伝播動態を解析するため、Spiroplasma を保有する I. ovatus を吸血試験に供しマダニ卵を得た。PCR により卵および孵化幼ダニから Spiroplasma が検出されたことから、Spiroplasma が垂直伝播することを確認した。さらに、2 種の Spiroplasma 分離株を、マイクロインジェクションによりフタトゲチマダニ (Haemaphysalis 属) に投与した。フタトゲチマダニが産出した卵および幼ダニから S. ixodetis が低率ながら検出されたことから、Spiroplasma がマダニ個体間で水平伝播していることが示唆された。

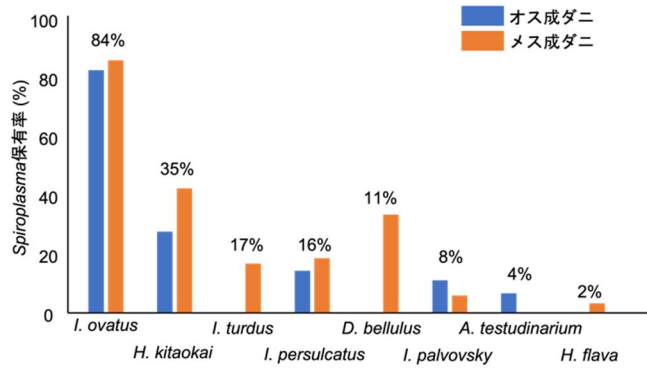


図3. マダニ種ごとの Spiroplasma 保有率

【真核生物叢解析手法の確立と応用】

マダニ 18S rDNA 配列に特異的な配列を選別し、マダニ遺伝子の PCR 増幅抑制のための人工核酸 (LNA および PNA) を設計した (図 4)。ユニバーサルプライマーを用いた PCR 反応時に人工核酸を添加することで、マダニ由来 DNA の増幅抑制効率を評価した。従来手法では、ほぼ全ての配列がマダニ由来であったが、PNA および LNA を添加することにより、マダニ由来の配列は減少し、多様な真核生物が検出された。特に、PNA を用いた場合に最も効率的に保有真核生物が検出された。

さらに、開発した解析系を用いて国内で採集した 4 属 18 種のマダニ 95 個体の保有真核生物叢の解析を行った。その結果、マダニ媒介性の原虫として知られる Apicomplexa 門の Babesia 属、Theileria 属、Hepatozoon 属等が検出された。さらに、同じく Apicomplexa 門に分類される Eugregarina 科グレガリナ類が 17 個体で検出された。グレガリナ類は、多様な節足動物から報告されているが、マダニで検出されたのは本研究が初めてとなる。また、土壌や淡水に広く存在する Trebouxiophyceae 科、Cercomonadidae 科および Colpodea 科に由来する配列が多くの個体で検出された。

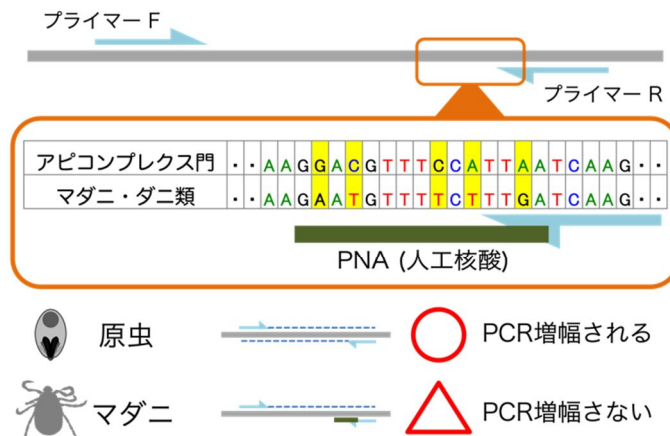


図4. 人工核酸によるマダニ遺伝子のPCR増幅抑制系

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計28件（うち査読付論文 28件 / うち国際共著 26件 / うちオープンアクセス 17件）

1. 著者名 Qiu Yongjin, Simuunza Martin, Kajihara Masahiro, Chambaro Herman, Harima Hayato, Eto Yoshiki, Simulundu Edgar, Squarre David, Torii Shiho, Takada Ayato, Hang ' ombe Bernard Mudenda, Sawa Hirofumi, Sugimoto Chihiro, Nakao Ryo	4. 巻 12
2. 論文標題 Screening of tick-borne pathogens in argasid ticks in Zambia: Expansion of the geographic distribution of Rickettsia lusitaniae and Rickettsia hoogstraalii and detection of putative novel Anaplasma species	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ticks and Tick-borne Diseases	6. 最初と最後の頁 101720 ~ 101720
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ttbdis.2021.101720	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Taya Yurie, Kinoshita Gohta, Mohamed Wessam Mohamed Ahmed, Moustafa Mohamed Abdallah Mohamed, Ogata Shohei, Chatanga Elisha, Ohari Yuma, Kusakisako Kodai, Matsuno Keita, Nonaka Nariaki, Nakao Ryo	4. 巻 9
2. 論文標題 Applications of Blocker Nucleic Acids and Non-Metazoan PCR Improves the Discovery of the Eukaryotic Microbiome in Ticks	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Microorganisms	6. 最初と最後の頁 1051 ~ 1051
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/microorganisms9051051	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Kobayashi Toshiya, Chatanga Elisha, Qiu Yongjin, Simuunza Martin, Kajihara Masahiro, Hang ' ombe Bernard Mudenda, Eto Yoshiki, Saasa Ngonda, Mori-Kajihara Akina, Simulundu Edgar, Takada Ayato, Sawa Hirofumi, Katakura Ken, Nonaka Nariaki, Nakao Ryo	4. 巻 10
2. 論文標題 Molecular Detection and Genotyping of Coxiella-Like Endosymbionts in Ticks Collected from Animals and Vegetation in Zambia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pathogens	6. 最初と最後の頁 779 ~ 779
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/pathogens10060779	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Salim Bashir, Takeshima Shin-nosuke, Nakao Ryo, Moustafa Mohamed A. M., Ahmed Mohamed-Khair A., Kambal Sumaya, Mwacharo Joram M., Alkhaibari Abeer M., Giovambattista Guillermo	4. 巻 11
2. 論文標題 BoLA-DRB3 gene haplotypes show divergence in native Sudanese cattle from taurine and indicine breeds	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 17202
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-96330-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ogata Shohei, Pereira Juan Antonio Cristian, Jhonny Loza Vega Ariel, Carolina Herbas Perez Gladys, Matsuno Keita, Orba Yasuko, Sawa Hirofumi, Kawamori Fumihiko, Nonaka Nariaki, Nakao Ryo	4. 巻 8
2. 論文標題 Molecular Survey of Babesia and Anaplasma Infection in Cattle in Bolivia	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Veterinary Sciences	6. 最初と最後の頁 188 ~ 188
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/vetsci8090188	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Mohamed Wessam Mohamed Ahmed, Moustafa Mohamed Abdallah Mohamed, Kelava Samuel, Barker Dayana, Matsuno Keita, Nonaka Nariaki, Shao Renfu, Mans Ben J., Barker Stephen C., Nakao Ryo	4. 巻 13
2. 論文標題 Reconstruction of mitochondrial genomes from raw sequencing data provides insights on the phylogeny of Ixodes ticks and cautions for species misidentification	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Ticks and Tick-borne Diseases	6. 最初と最後の頁 101832 ~ 101832
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ttbdis.2021.101832	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Anders Jason L., Moustafa Mohamed Abdallah Mohamed, Mohamed Wessam Mohamed Ahmed, Hayakawa Takashi, Nakao Ryo, Koizumi Itsuro	4. 巻 11
2. 論文標題 Comparing the gut microbiome along the gastrointestinal tract of three sympatric species of wild rodents	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 19929
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-99379-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ahmed Ayman, Khogali Rua, Elnour Mohammed-Ahmed B., Nakao Ryo, Salim Bashir	4. 巻 14
2. 論文標題 Emergence of the invasive malaria vector <i>Anopheles stephensi</i> in Khartoum State, Central Sudan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Parasites & Vectors	6. 最初と最後の頁 511
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13071-021-05026-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Nakao Ryo, Masuzawa Toshiyuki, Nakamura Shuichi, Koizumi Nobuo	4. 巻 10
2. 論文標題 Complete Genome Sequence of <i>Leptospira kobayashii</i> Strain E30, Isolated from Soil in Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e0090721
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/MRA.00907-21	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Barker Dayana, Kelava Samuel, Shao Renfu, Seeman Owen D., Jones Malcolm K., Nakao Ryo, Barker Stephen C., Apanaskevich Dmitry A.	4. 巻 15
2. 論文標題 Description of the female, nymph and larva and mitochondrial genome, and redescription of the male of <i>Ixodes barkeri</i> Barker, 2019 (Acari: Ixodidae), from the short-beaked echidna, <i>Tachyglossus aculeatus</i> , with a consideration of the most suitable subgenus for this tick	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Parasites & Vectors	6. 最初と最後の頁 117
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13071-022-05165-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Chatanga Elisha, Maganga Emmanuel, Mohamed Wessam Mohamed Ahmed, Ogata Shohei, Pandey Gita Sadaula, Abdelbaset Abdelbaset Eweda, Hayashida Kyoko, Sugimoto Chihiro, Katakura Ken, Nonaka Nariaki, Nakao Ryo	4. 巻 231
2. 論文標題 High infection rate of tick-borne protozoan and rickettsial pathogens of cattle in Malawi and the development of a multiplex PCR for <i>Babesia</i> and <i>Theileria</i> species identification	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Acta Tropica	6. 最初と最後の頁 106413 ~ 106413
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.actatropica.2022.106413	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Barker Dayana, Kelava Samuel, Seeman Owen D., Shao Renfu, Seaniger James R., Jones Malcolm K., Apanaskevich Maria A., Nakao Ryo, Apanaskevich Dmitry A., Barker Stephen C.	4. 巻 18
2. 論文標題 Rediscovery of <i>Ixodes confusus</i> in Australia with the first description of the male from Australia, a redescription of the female and the mitochondrial (mt) genomes of five species of <i>Ixodes</i>	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife	6. 最初と最後の頁 1~11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijppaw.2022.03.006	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Nakao Ryo, Shinjo Kohei, Sakiyama Tomoki, Ogata Shohei, Kusakisako Kodai, Kinoshita Gohta, Naguib Doaa, Chatanga Elisha, Mohamed Wessam Mohamed Ahmed, Moustafa Mohamed Abdallah Mohamed, Matsuno Keita, Ito Takuya, Nonaka Nariaki, Sashika Mariko, Tsubota Toshio, Shimozuru Michito	4. 巻 80
2. 論文標題 <i>Amblyomma testudinarium</i> infestation on a brown bear (<i>Ursus arctos yesoensis</i>) captured in Hokkaido, a northern island of Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Parasitology International	6. 最初と最後の頁 102209 ~ 102209
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parint.2020.102209	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kelava Samuel, Mans Ben J., Shao Renfu, Moustafa Mohamed Abdallah Mohamed, Matsuno Keita, Takano Ai, Kawabata Hiroki, Sato Kozue, Fujita Hiromi, Ze Chen, Plantard Olivier, Hornok Sandor, Gao Shan, Barker Dayana, Barker Stephen C., Nakao Ryo	4. 巻 12
2. 論文標題 Phylogenies from mitochondrial genomes of 120 species of ticks: Insights into the evolution of the families of ticks and of the genus <i>Amblyomma</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ticks and Tick-borne Diseases	6. 最初と最後の頁 101577 ~ 101577
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ttbdis.2020.101577	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Chatanga Elisha, Kainga Henson, Razemba Tinotenda, Ssuna Richard, Swennen Lieza, Hayashida Kyoko, Sugimoto Chihiro, Katakura Ken, Nonaka Nariaki, Nakao Ryo	4. 巻 120
2. 論文標題 Molecular detection and characterization of tick-borne hemoparasites and Anaplasmataceae in dogs in major cities of Malawi	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Parasitology Research	6. 最初と最後の頁 267 ~ 276
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00436-020-06967-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Elmour Mohammed Ahmed B., Moustafa Mohamed Abdallah Mohamed, Khogali Rua, Azrag Rasha S., Alanazi Abdullah D., Kheir Amani, Nakao Ryo, Meeus Thierry, Salim Bashir	4. 巻 144
2. 論文標題 Distinct haplotypes and free movement of Aedes aegyptii in Port Sudan, Sudan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Applied Entomology	6. 最初と最後の頁 817 ~ 823
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/jen.12816	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Chatanga Elisha, Kainga Henson, Maganga Emmanuel, Hayashida Kyoko, Katakura Ken, Sugimoto Chihiro, Nonaka Nariaki, Nakao Ryo	4. 巻 12
2. 論文標題 Molecular identification and genetic characterization of tick-borne pathogens in sheep and goats at two farms in the central and southern regions of Malawi	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ticks and Tick-borne Diseases	6. 最初と最後の頁 101629 ~ 101629
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ttbdis.2020.101629	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Moustafa Mohamed Abdallah Mohamed, Chei Hla Myet, Thu May June, Bawm Saw, Htun Lat Lat, Win Mar Mar, Oo Zaw Min, Ohsawa Natsuo, Lahdenpera Mirkka, Mohamed Wessam Mohamed Ahmed, Ito Kimihito, Nonaka Nariaki, Nakao Ryo, Katakura Ken	4. 巻 11
2. 論文標題 Anthropogenic interferences lead to gut microbiome dysbiosis in Asian elephants and may alter adaptation processes to surrounding environments	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 741
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-80537-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Ogata Shohei, Mohamed Wessam Mohamed Ahmed, Kusakisako Kodai, Thu May June, Qiu Yongjin, Moustafa Mohamed Abdallah Mohamed, Matsuno Keita, Katakura Ken, Nonaka Nariaki, Nakao Ryo	4. 巻 9
2. 論文標題 Spiroplasma Infection among Ixodid Ticks Exhibits Species Dependence and Suggests a Vertical Pattern of Transmission	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Microorganisms	6. 最初と最後の頁 333 ~ 333
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/microorganisms9020333	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Mohamed Wessam Mohamed Ahmed, Ali Alsagher O., Mahmoud Hassan Y. A. H., Omar Mosaab A., Chatanga Elisha, Salim Bashir, Naguib Doaa, Anders Jason L., Nonaka Nariaki, Moustafa Mohamed Abdallah Mohamed, Nakao Ryo	4. 巻 10
2. 論文標題 Exploring Prokaryotic and Eukaryotic Microbiomes Helps in Detecting Tick-Borne Infectious Agents in the Blood of Camels	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pathogens	6. 最初と最後の頁 351 ~ 351
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/pathogens10030351	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Thu May June, Qiu Yongjin, Yamagishi Junya, Kusakisako Kodai, Ogata Shohei, Moustafa Mohamed Abdallah Mohamed, Isoda Norikazu, Sugimoto Chihiro, Katakura Ken, Nonaka Nariaki, Nakao Ryo	4. 巻 8
2. 論文標題 Complete Genome Sequence of Rickettsia asiatica Strain Maytar01284, a Member of Spotted Fever Group Rickettsiae Isolated from an Ixodes ovatus Tick in Japan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 37
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/MRA.00886-19	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Salim Bashir, Chatanga Elisha, Jannot Guillaume, Mossaad Ehab, Nakao Ryo, Weitzman Jonathan B.	4. 巻 11
2. 論文標題 Mutations in the TaPIN1 peptidyl prolyl isomerase gene in Theileria annulata parasites isolated in Sudan	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance	6. 最初と最後の頁 101 ~ 105
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijpddr.2019.11.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Chel Hla Myet, Nakao Ryo, Ohsawa Natsuo, Oo Zaw Min, Nonaka Nariaki, Katakura Ken	4. 巻 75
2. 論文標題 First record and analysis of the COI gene of Cobboldia elephantis obtained from a captive Asian elephant from Myanmar	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Parasitology International	6. 最初と最後の頁 102035 ~ 102035
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.parint.2019.102035	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Nakao Ryo	4. 巻 70
2. 論文標題 Characteristics and application of tick cell lines	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Medical Entomology and Zoology	6. 最初と最後の頁 175 ~ 179
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7601/mez.70.175	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Adenyo Christopher, Ohya Kenji, Qiu Yongjin, Takashima Yasuhiro, Ogawa Hirohito, Matsumoto Tateki, Thu May June, Sato Kozue, Kawabata Hiroki, Katayama Yukie, Omatsu Tsutomu, Mizutani Tetsuya, Fukushi Hideto, Katakura Ken, Nonaka Narikaki, Inoue-Murayama Miho, Kayang Boniface, Nakao Ryo	4. 巻 205
2. 論文標題 Bacterial and protozoan pathogens/symbionts in ticks infecting wild grasscutters (<i>Thryonomys swinderianus</i>) in Ghana	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Acta Tropica	6. 最初と最後の頁 105388 ~ 105388
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.actatropica.2020.105388	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Moustafa Mohamed Abdallah Mohamed, Mohamed Wessam Mohamed Ahmed, Lau Alice C.C., Chatanga Elisha, Qiu Yongjin, Hayashi Naoki, Naguib Doaa, Sato Kozue, Takano Ai, Matsuno Keita, Nonaka Nariaki, Taylor DeMar, Kawabata Hiroki, Nakao Ryo	4. 巻 20
2. 論文標題 Novel symbionts and potential human pathogens excavated from argasid tick microbiomes that are shaped by dual or single symbiosis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Computational and Structural Biotechnology Journal	6. 最初と最後の頁 1979 ~ 1992
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.csbj.2022.04.020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Chatanga Elisha, Ohari Yuma, Muleya Walter, Hayashida Kyoko, Sugimoto Chihiro, Katakura Ken, Nonaka Nariaki, Nakao Ryo	4. 巻 149
2. 論文標題 Genotyping of <i>Theileria parva</i> populations in vaccinated and non-vaccinated cattle in Malawi	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Parasitology	6. 最初と最後の頁 983 ~ 990
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1017/S0031182022000464	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Mohamed Wessam Mohamed Ahmed, Moustafa Mohamed Abdallah Mohamed, Thu May June, Kakisaka Keita, Chatanga Elisha, Ogata Shohei, Hayashi Naoki, Taya Yurie, Ohari Yuma, Naguib Doaa, Qiu Yongjin, Matsuno Keita, Bawm Saw, Htun Lat Lat, Barker Stephen C., Katakura Ken, Ito Kimihito, Nonaka Nariaki, Nakao Ryo	4. 巻 -
2. 論文標題 Comparative mitogenomics elucidates the population genetic structure of Amblyomma testudinarium in Japan and a closely related Amblyomma species in Myanmar	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Evolutionary Applications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/eva.13426	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計15件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 田谷友里恵、木下豪太、Wessam Mohamed Ahmed Mohamed、 Mohamed Abdallah Mohamed Moustafa、尾針由真、松野啓太、野中成晃、中尾亮
2. 発表標題 人工核酸を用いた選択的PCR法によるマダニ保有真核生物叢の解析
3. 学会等名 第90回日本寄生虫学会 第32回日本臨床寄生虫学会 合同大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小方昌平、Juan Antonio Pereira、松野啓太、大場靖子、澤洋文、川森文彦、野中成晃、中尾亮
2. 発表標題 ポリビア多民族国サンタクルス県の牛におけるBabesiaおよびAnaplasmaの感染状況
3. 学会等名 第164回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Elisha Chatanga, Tateki Matsumoto, Mohamed Abdallah Mohamed Moustafa, Yuma Ohari, Yongjin Qiu, Ken Katakura, Nariaki Nonaka, Ryo Nakao
2. 発表標題 Application of selective whole genome amplification (SWGA) for tick mitochondrial genome sequencing
3. 学会等名 第164回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田谷友里恵、木下豪太、Wessam Mohamed Ahmed Mohamed、 Mohamed Abdallah Mohamed Moustafa、尾針由真、松野啓太、野中成晃、中尾亮
2. 発表標題 マダニが保有する真核生物叢解析法の開発
3. 学会等名 第164回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 大前日希、May June Thu、林直樹、今里裕平、野中成晃、中尾亮
2. 発表標題 マダニから分離したリケッチエラ共生菌が保有するビタミンB群代謝関連遺伝子群の特定
3. 学会等名 日本寄生虫学会・日本衛生動物学会第67回北日本支部合同大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 草木迫 浩大、山本 佳代子、今里 裕平、山岸 潤也、白藤(梅宮) 梨可、玄 学南、野中 成晃、中尾 亮
2. 発表標題 Haemaphysalis longicornis が保有する Coxiella 様共生細菌のビタミン B 群およびその補因子の代謝に関わる遺伝子の探索
3. 学会等名 第89回日本寄生虫学会大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 松野啓太、中尾亮、草木迫浩大、大場靖子、澤洋文
2. 発表標題 マダニ中の多様なフレボウイルスは何者が？
3. 学会等名 第162回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Elisha Chatanga, Ryo Nakao, Kyoko Hayashida, Bashir Salim, Chihiro Sugimoto, Ken Katakura, Nariaki Nonaka
2. 発表標題 Sequences of two genes encoding Theileria parva CD8+ antigens reveal the presence of Muguga vaccine strain in non-vaccinated cattle in Malawi
3. 学会等名 第162回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋侑嗣、小林進太郎、石塚万里子、中尾亮、苅和宏明、好井健太郎
2. 発表標題 2017、2018年に北海道道央地域のヤマトマダニから分離されたダニ媒介性脳炎ウイルスの性状解析
3. 学会等名 第162回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松野啓太、中尾亮、梶原将大、下田宙、海老原秀喜、高田礼人、前田健、岡松正敏、迫田義博
2. 発表標題 マダニ中のフレボウイルスの遺伝子系統解析に基づく性状推定
3. 学会等名 第162回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小方昌平、中尾亮、片倉賢、野中成晃
2. 発表標題 マダニが保有するスピロプラズマ属細菌の多様性
3. 学会等名 第162回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 草木迫 浩大、中尾 亮、田仲 哲也、野中 成晃
2. 発表標題 フタトゲチマダニ由来カタラーゼ遺伝子の同定ならびに組換え体を用いた抗酸化活性の検証
3. 学会等名 第65回日本寄生虫学会・日本衛生動物学会北日本支部合同大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋侑嗣、小林進太郎、石塚万里子、中尾亮、苅和宏明、好井健太郎
2. 発表標題 Characterization of tick-borne encephalitis virus isolated from Ixodes ovatus in Central area of Hokkaido in 2017, 2018
3. 学会等名 第67回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yongjin Qiu, Ryo Nakao, Bernard Mudenda Hang'ombe, Kozue Sato, Masahiro Kajihara, Sharon Kanchela, Katendi Changula, Ayato Takada, Hirohumi Sawa, Chihiro Sugimoto, Hiroki Kawabata
2. 発表標題 Human borreliosis caused by a novel New World relapsing fever borrelia in the Afrotropic ecozone
3. 学会等名 第60回日本熱帯医学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ryo Nakao
2. 発表標題 Phylogeny and diversity of tick symbionts in Japan
3. 学会等名 Entomology 2019, the 67th Annual Meeting of the Entomological Society of America (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	川端 寛樹 (Kawabata Hiroki)		
研究協力者	松野 啓太 (Matsuno Keita)		
研究協力者	草木迫 浩大 (Kusakisako Kodai)		
研究協力者	尾針 由真 (Ohari Yuma)		
研究協力者	白藤 梨可 (Shirafuji Rika)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------

エジプト	サウスバリー大学	マンスーラ大学		
マラウイ	リロンゲウェ農業天然資源大学			
ザンビア	ザンビア大学			
オーストラリア	クイーンズランド大学			
英国	リバプール大学			
ドイツ	ベルリン自由大学			
スーダン	ハルツーム大学			
ボリビア	ガブリエル・レネ・モレノ国立 自治大学			
ガーナ	ガーナ大学			