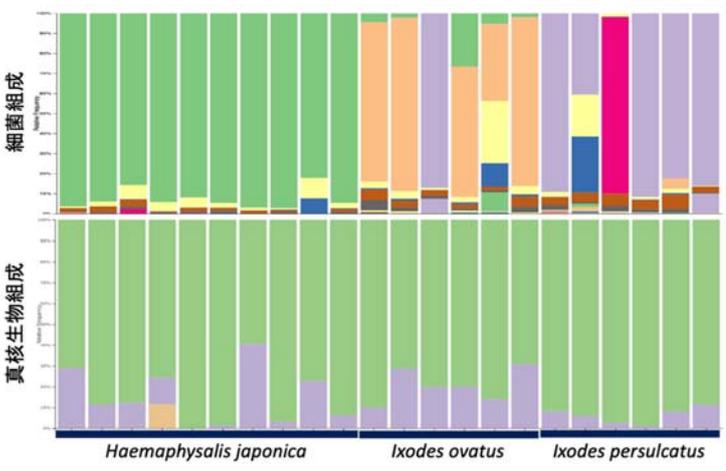


帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

2023年6月7日

採択番号	2022-共同-12		
研究部門	診断治療研究部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	白藤 梨可
研究課題名	マダニ卵形成に貢献する共生微生物の探索		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	なかおりょう 中尾 亮	北海道大学大学院獣医学研究院・准教授	
研究分担者	マッケンジー クワク Mackenzie Kwak	北海道大学大学院獣医学研究院・JSPS PD	
	たや ゆりえ 田谷 友里恵	北海道大学大学院国際感染症学院・大学院生	
	ばば さおり 馬場 佐織	北海道大学獣医学部・学部学生	
	しらふじりか 白藤 梨可	帯広畜産大学原虫病研究センター・准教授	
研究期間	2022年4月1日 ~ 2023年3月31日		
目的・趣旨	<p>マダニは様々な病原体を保有し、吸血の際に人や動物に伝播する。一方で、マダニは病原体以外にも様々な微生物を保有しており、マダニとの共生関係を築いている。抗生物質を用いて人為的に共生微生物叢を攪乱した場合、マダニの生存力(産卵数や孵化率)が著しく低下することから、一部の共生微生物はマダニの生理活動にとって重要と考えられる。これらの共生微生物は、進化の過程で宿主に高度に適応しており、多くの場合、介卵伝播することで次世代へ効率的に受け継がれる。本研究では網羅的解析手法を用いることで、マダニで介卵伝播する微生物の検出を目的とした。</p>		
研究経過の概要	<p>【マダニのサンプリング】 マダニは野生動物体表から tick twister 等を用いて回収した。北海道のエゾシカ、アライグマ、ヒグマ、ウシ、さらに本州のニホンジカ、イノシシ、ツキノワグマを検索対象とした。</p> <p>【実験室内でのマダニ飼育】 得られたマダニは 25 度のインキュベータで個別に一定期間飼育し、産卵および幼ダニの孵化を待った。幼ダニは体表を洗浄後、-80 度に保管した。</p> <p>【網羅的微生物検出】 幼ダニより DNA を抽出し、細菌の 16S リボソーム RNA 遺伝子を PCR 増幅した。また、真核生物の 18S リボソーム RNA 遺伝子の増幅は、マダニ遺伝子に特異的に結合するブロッキング PNA を添加した PCR により実施した。これらの PCR 産物を元に Illumina シーケンスライブラリーを作製し MiSeq により解読した。得られたシーケンスリードは Qiime2 により解析し、幼ダニに含まれる微生物の組成を決定した。</p>		

<p>研究成果の概要</p>	<p>【マダニのサンプリング】 2022年5月から12月にかけて、合計196個体の飽血および部分吸血マダニを野生動物個体から回収した。実体顕微鏡による種同定の結果、チマダニ属 (<i>Hemophilic</i>) は5種 (<i>H. longicornis</i>, <i>H. flava</i>, <i>H. japonica</i>, <i>H. megaspinosa</i>, <i>H. kitaokai</i>)、マダニ <i>Ixodes</i> 属は3種 (<i>I. ovatus</i>, <i>I. tanuki</i>, <i>I. persulcatus</i>) が含まれていた。回収時の重量は最も小さいものでニホンジカに寄生していた <i>H. flava</i> の3.3 mg、最大でアライグマに寄生していた <i>I. persulcatus</i> の357.2 mgであった。</p> <p>【実験室内でのマダニ飼育】 産卵・孵化試験に用いた8種196個体のマダニのうち、<i>H. kitaokai</i> 以外の7種68個体で産卵が見られ、幼ダニが得られた。</p> <p>【網羅的微生物検出】 これまでのところ、<i>H. japonica</i>, <i>I. ovatus</i>, <i>I. persulcatus</i> の3種22検体についての解析が完了し、細菌群ではコクシエラ、リケッチア等の配列が確認された(図1)。また、真核生物としては、<i>H. japonica</i> の1検体から <i>Babesia</i> 属の配列が検出された。今後、介卵伝播した微生物の詳細な遺伝的分類を行い、宿主マダニへの影響解析につなげたい。</p>  <p>図1. 孵化した幼ダニから検出された微生物群</p>
<p>研究成果の発表</p>	<p>なし</p>