受入大学名	北海道大学		
Host University	Hokkaido University		
外国人研究者	チャタンガ エリーシャ		
Foreign Researcher	Chatanga Elisha		
受入研究者	中尾 亮	職名	准教授
Research Advisor	Nakao Ryo	Position	Associate Professor
受入学部/研究科	大学院獣医学研究院		
Faculty/Department	Faculty of Veterinary Medicine		

# <外国人研究者プロフィール/Profile>

国 籍	マラウイ			
Nationality	Malawian			
所属機関	リロングウェ農業天然資源大学			
Affiliation	Lilongwe University of Agriculture and Natural Resources			
現在の職名	講師			
Position	Lecturer			
研究期間	2023年8月18日~2023年10月16日(60日間)			
Period of Stay	60 days ( August 18, 2023 - October 16, 2023 )			
専攻分野	獣医学			
Major Field	Veterinary Medicine			



顕微鏡観察中のチャタンガ氏/Dr. Chatanga in the laboratory

# <外国人研究者からの報告/Foreign Researcher Report>

## ①研究課題 / Theme of Research

The archiving of the complete mitochondrial genome (mitogenome) of ticks collected from domestic and wild animals in Malawi and the screening of tick microbiome including endosymbionts are the main themes of my research this time. The mitogenome of ticks has shown to be a valuable resource to the researchers in the tick community. The mitogenome of ticks are being used to investigate the molecular evolution, phylogenetic relationships, systematics and the identification of cryptic tick species. Tick microbiome including endosymbionts are involved in tick reproduction, growth, and pathogen maintenance and propagation. Understanding the interaction of symbionts and microbiome with ticks can lead to conceiving novel tick control measures.

# ②研究概要 / Outline of Research

The research activities included the collection of ticks from domestic animals such as cattle, dogs and donkeys and wild animals such as elephants, rhinoceros, zebra, warthogs, tortoise and bushbucks. The ticks were morphologically identified using established identification keys and those that could not be identified morphologically were identified using molecular tools. Thereafter, DNA was extracted from the ticks while preserving the exoskeleton as evidence specimen. The extracted DNA was used to analyze complete mitogenome of the ticks using long-range PCRs and phi 29-based selective whole genome amplification (SWGA) methods. The resulting products were sequenced on the illumina MiSeq platform. The screening of tick microbiome is also being carried out.

### ③研究成果 / Results of Research

Ticks infesting domestic and wild animals in Malawi such as Amblyomma variegatum, A. falsomarmoreum, Rhipicephalus appendiculatus, R. maculatus, R. sanguineus, R. decoloratus, R. microplus, R. simus, Hyalomma truncatum and Haemaphysalis elliptica have been identified morphologically and their complete mitochondrial genome were sequenced. The phylogenetic analysis of the mitochondrial genomes obtained has been conducted and our sequences have been compared with other sequences obtained in Africa. The microbiome analysis revealed the presence of previously known tick endosymbionts such as Coxiella in ticks from Malawi.

# ④今後の計画 / Further Research Plan

Bioinformatics analysis of the obtained mitogenome sequences and microbiome data is to be continued as a collaborative research project between Hokkaido University and LUANAR. The mitogenome and microbiome of ticks in Malawi will be archived and publicized in the database so that many researchers can utilize our data for their research purposes. I will visit Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine to learn about tick rearing facilities. We intend to establish MOU between Hokkaido University and LUANAR to strengthen our research activities and exchange of researchers. Based on the outcome of this research visit, we plan to apply for a research grant for our future research activities in Malawi.

### ①研究課題 / Theme of Research

吸血性節足動物であるマダニは家畜や人に寄生する。マダニは吸血の際に様々な病原体を媒介し、マダニ媒介性感染症の原因となる。開発途上 国の農村部では特に、家畜の生産性を著しく損なうマダニ媒介性感染症の被害は甚大であり、その対策が求められている。マダニ媒介性感染症 をコントロールするためには、それぞれの地域で流行するマダニ種を把握し、病原体を含めたマダニ微生物叢情報を得るのが第一歩となる。し かしながら、マラウイ等の開発途上国で流行するマダニに関する過去の研究は限られており、流行するマダニ種の情報は不十分である。また、 近年の研究でマダニは病原体に加えて共生微生物を保有し、それらがマダニの生存や繁殖に役割を持つことが報告されている。アフリカに分布 するマダニの共生微生物を含めた微生物叢に関する情報は限られている。以上の背景から、本短期研究ではマラウイで流行するマダニの遺伝子 情報を体系的に整備すること、マダニが保有する微生物叢を明らかにすることを目的とした。

#### ②研究指導概要 / Outline of Research

マラウイの農村部で飼養されている家畜(牛、犬、ロバ)から採集したマダニ、および野生動物(アフリカゾウ、サイ、シマウマ、カメ、ブッシュバックなど)から採集したマダニに対して、形態的特徴に基づいた種同定を指導した。形態学的な同定が困難な一部のマダニ種に関しては、PCRとSangerシーケンスによる分子種同定を試みた。同定された代表種については、マダニのミトゲノムの全長を増幅するロングPCR法および選択的ミトゲノム増幅法のプロトコールを提供し、次世代シーケンサーにより塩基配列の解読をサポートした。また、マダニから抽出したDNAを材料に、細菌の16SリボソーマルRNA遺伝子を増幅し、次世代シーケンサーにより解読した。得られたデータのバイオインフォマティクス解析の手法を指導した。

#### ③研究指導成果 / Results of Research

マダニの形態学的解析により、Amblyomma variegatum、A. falsomarmoreum、Rhipicephalus appendiculatus、R. maculatus、R. sanguineus、R. decoloratus、R. microplus、R. simus、Hyalomma truncatum、Haemaphysalis ellipticaのマラウイでの流行を確認した。これらマダニ種のミトゲノム全長を増幅し、次世代シーケンサーで解読することで、完全長配列を得た。特に、A. variegatumに関しては、保有する病原体との遺伝子型の比較解析を実施した。また、マダニの微生物叢解析の結果、Rickettsiaなどの病原体候補に加えCoxiella様共生菌などが検出された。以上の結果から、今後も継続的にモニタリングすべきマダニ種、病原体情報を得ることができた。

# ④留学生交流事業の活動状況 / Activities of International Student Exchange Program

獣医学研究院が主催する第805回獣医学研究談話会において、「Development of the exoskeleton and mitogenome libraries of ticks in Malawi:マラウイ産マダニの形態標本およびミトゲノムライブラリーの構築」という内容で講演を行い、研究者および学生と交流・意見交換を行った。また、獣医学研究院での活動以外に、北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所および帯広畜産大学原虫病研究センターを訪問し、感染症専門家と今後の研究・教育の協力体制について協議した。

# ⑤今後の計画 / Further Research Plan

今回の滞在で得られたデータを取りまとめ、マラウイに分布するマダニの形態標本とミトゲノム情報をセットとしてライブラリー化する。さらに、ザンビアなどの周辺国からの情報をまとめて解析することで、南部アフリカ地域におけるマダニとその微生物叢の基本データベースを構築し、今後展開するマダニ媒介性感染症の疫学研究プロジェクトに活用する。さらに、チャタンガ氏の所属機関LUANARと受入研究者の所属部局との間で、MOU締結に向けて協議を開始し、研究・教育における交流を加速させる。



受入研究室の教員と/With host researchers



学生指導の場面/Teaching undergraduate students