

動物由来感染症の対応に関する研究

分担研究課題：病原体媒介マダニの遺伝種同定法の確立

研究分担者：川端寛樹（国立感染症研究所細菌第一部）

研究要旨：日本国内に生息するとされる既知のマダニ 47 種中、採集できた 39 種について、可能な範囲で複数個体よりゲノム DNA を抽出し、*mt-rrs* の遺伝子配列を決定後、系統解析を行った。その結果、試験に用いた 39 種中 36 種(92.3%)は、DNA 配列により区別できることが明らかになった。他方、ダグラスチマダニ、ヤマトチマダニ、オオトゲチマダニの 3 種は区別ができなかった。以上の結果より、*mt-rrs* による遺伝学的同定法は形態学的同定法に対して、90%以上の感度を示したことから、今後、マダニ形態同定が困難な場合でもその迅速同定が可能になるとと思われる。本研究で決定した全ての配列は GenBank に登録を行い、公共利用を可能としている（Web 公開準備中）。

研究協力者：高野愛（山口大学准教授）、藤田博己（馬原アカリ研究所所長）、角坂照貴（愛知医科大学講師）、高橋守（川越高等学校）、山内健生（富山県衛生研究所主任研究官）、石畝史（福井県衛生環境研究センター）、高田伸弘（福井大学シニアフェロー）、矢野泰広（福井大学講師）、及川陽三郎（金沢医科大学講師）、本田俊郎（鹿児島県南薩地域振興局疾病対策係長）、御供田睦代（鹿児島県環境保健センター研究専門員）、角田隆（長崎大学講師）、鶴見みや古（山階鳥類研究所）、安藤秀二（国立感染症研究所室長）、安藤匡子（鹿児島大学准教授）、佐藤梢（国立感染症研究所協力研究員）

A. 研究目的：

a) マダニはライム病や日本紅斑熱などの起因病原体を伝播することから、人体刺咬例などのマダニの迅速同定法開発が急務とされている。加えて、マダニの同定は形態学的な手法が Gold standard であるが、虫体が保全されていない場合などは形態同定が困難である。このため、マダニ種同定の一助として、マダニミトコンドリア 16S rRNA 遺伝子 (*mt-rrs*) 配列の遺伝子データベースを構築し、DNA 配列をもとにした系統学的な解析を行うとともに、その遺伝学的同定法の感度を調べた。

B. 研究方法：

マダニ DNA の調製：1985 年から 2013 年まで、植生上、動物の体表から採取されたマダニ 113 頭以上を試験に供した（表 1）。これらマダニは形態同定後、DNeasy tissue kit (Qiagen, Germany)を用いて DNA 抽出し試験に用いた。

PCR および増幅 DNA の塩基配列決定：DNA 増幅および塩基配列決定には以下の oligonucleotide primer を用いた (mt-rrs1: 5' -CTG CTC AAT GAT TTT TTA AAT TGC TGT GG-3', mt-rrs2: 5' - CCG GTC TGA ACT CAG ATC AAG TA-3')。PCR には、puRe Taq Ready-To-Go PCR Beads (GE Healthcare UK, Ltd., UK)もしくは EX-Taq (Takara Bio Inc., Japan) を用い、以下の条件で 30 cycles (10 sec at 94°C, 30 sec at 55°C, and 30 sec at 72°C) PCR を行った。PCR 臓腑を、アガロースゲル電気泳動により確認した後、High Pure PCR Product Purification Kit (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland) で DNA 精製後、各々の DNA primer により増幅 DNA の塩基配列を決定した。

系統解析：得られた塩基配列は、MEGA5.2 software (<http://www.megasoftware.net>) によりアライメント後、CLUSTAL-W (ver. 1.6) software により、neighbor joining (NJ) 法による系統解析を行った。bootstrap tests は Kimura 2-parameter distance method を採用し、pairwise deletion による解析を行った (open-gap penalty = 15, gap extension penalty = 6.66)。

C. 研究成果：

本試験により、増幅長 401-416 bp の配列（除く primer 配列）が得られ、国内マダニ 39 種より 113 sequence types が見いだされた（Table 1）。また、39 マダニ種の内 36 種は各々独立したブランチを形成し、系統的に異なることが明らかとなった(図 1)。一方、*Haemaphysalis japonica* Warburton, *Haemaphysalis japonica douglasi* Nuttall および Warburton and *Haemaphysalis megaspinosa* Saito は同一ブランチ（相同性：99.3-99.8%）を形成し、遺伝学的に同系統であると考えられた。*Amblyomma geoemydae* (Cantor), *Haemaphysalis flava* Neumann, *Haemaphysalis longicornis* Neumann, *Ixodes asanumai* Kitaoka, *Ixodes persulcatus* Schulze, and *Ixodes turdus* Nakatsuji からは 6 sequence type 以上が得られ、種内変異は各々、92.9%～99.8%, 97.3%～99.8%, 99%～99.8%, 99%～99.8%, 99.3%～99.8% および 98.8%～99.8%であった。

D. 考察：

マダニ媒介性感染症の感染経路を特定する上で、マダニを対象とした病原体調査は、公衆衛生上重要である。他方、マダニはその成育過程で 2 度変態しその形態を変化させる。加えて、我が国では 7 属 4 7 種のマダニがこれまで報告され、その全てを同定することは容易ではない。またマダニのヒト刺咬例の同定をよりベットサイドに近い

ところで行えることも重要であるが、虫体が完全に保存されていない場合（図2）、その形態同定は非常に困難である。本法は、マダニの形態同定を行うこと無く、その遺伝種を同定できる点で、形態同定法の代替法として位置づけできる。また、臨床やマダニ形態同定が行えない検査室においてもその応用が見込まれることに加え、Barcode of Life data System (BOLD)等の遺伝子データベースなどの国際標準にも合致していることから、国内のみならず海外での活用も見込まれる。他方、検体全てで塩基配列決定を行うことは、迅速性、多検体処理を困難にしており、今後はより簡便な方法の開発が望まれる。

E. 結論

マダニ媒介性感染症の感染経路を特定する上で、マダニを対象とした病原体調査は、公衆衛生上重要である。このために必要なマダニ種の遺伝子解析による同定法を開発した。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1 論文発表

1) Takano A, Fujita H, Kadosaka T, Takahashi M, Yamauchi T, Ishiguro F, Takada N, Yano Y, Oikawa Y, Honda T, Gokuden M, Tsunoda T, Tsurumi M, Ando S, Andoh M, Sato K,

Kawabata H. Construction of a DNA database for ticks collected in Japan: application of molecular identification based on the mitochondrial 16S rDNA gene. *Med Entomol Zool. (in press).*

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図1. マダニ mt-rrs 塩基配列に基づいた系統解析



図2. 国立感染症研究所に同定依頼があったマダニ虫体

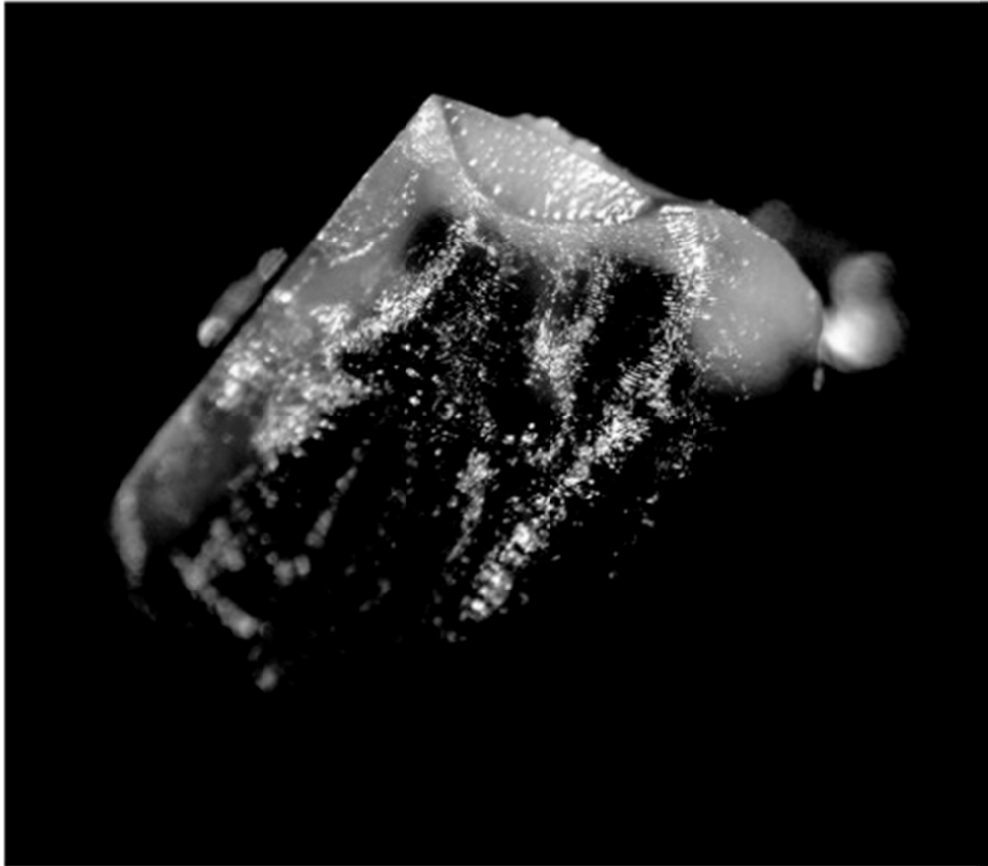


Table 1. List of tick species and sequence types.

No	Tick species [synonym]	Tick Sequence type	Tick stage	Location	Collected source Host animals or Vegetation	Sampling date (year or yyyy:mm:dd)	Acc. No.
1	<i>Argas japonicus</i> Yamaguti, Clifford and Tipton, 1968	AJ-A AJ-B	Female Female	Tahara, Tsuru-shi, Yamaguchi Tahara, Tsuru-shi, Yamaguchi	<i>Dalichon urtica</i> (Bonaparte, 1850) *1 <i>Dalichon urtica</i> (Bonaparte, 1850) *1	2006 *2 2006 *2	AB819156 AB819157
2	<i>Argas vesperilionis</i> (Atréville, 1796) [<i>Carios vesperilionis</i>]	AV-A	Nymph	Azumino, Matsumoto-shi, Nagano	<i>Eptesicus japonensis</i> Imazumi, 1953 *3	2001.08.25	AB819158
3	<i>Amblyomma geomyiae</i> (Gantof, 1847)	AG-A	Larva	Hainiaka, Taketomi-cho, Yaeyama-gun, Okinawa	Vegetation	2004.12.05	AB819159
		AG-B	Larva	Fukui, Ishigaki-shi, Okinawa	Vegetation	2004.12.06	AB819160
		AG-C	Nymph	Ada, Kunigami village, Kunigami-gun, Okinawa	<i>Geomyia japonica</i> Fan, 1931	2006.07.12	AB819161
4	<i>Amblyomma nitidum</i> Hirst and Hirst, 1910	AG-D	Male	Ada, Kunigami village, Kunigami-gun, Okinawa	<i>Geomyia japonica</i> Fan, 1931	2006.07.12	AB819162
		AG-E	Male	Ada, Kunigami village, Kunigami-gun, Okinawa	<i>Geomyia japonica</i> Fan, 1931	2006.07.12	AB819163
5	<i>Amblyomma testudinarium</i> Koch, 1844	AG-F	Nymph	Uehara, Taketomi-cho, Yaeyama-gun, Okinawa	<i>Quora flavomarginata ewingiae</i> (Gray, 1863)	2010.06.14	AB819164
		AN-A	Female	Kuroshima, Taketomi-cho, Yaeyama-gun, Okinawa	<i>Laticauda colubrina</i> (Schneider, 1799)	2011.04.22	AB819165
6	<i>Dermacentor taiwanensis</i> Sugimoto, 1935	AN-B	Nymph	Kuroshima, Taketomi-cho, Yaeyama-gun, Okinawa	<i>Laticauda colubrina</i> (Schneider, 1799)	2011.04.22	AB819166
		AT-A	Male	Kushinoshima, Tooshima village, Kagoshima-gun, Kagoshima	Vegetation	2008.01.13	AB819167
7	<i>Haemaphysalis campanulata</i> Warburton, 1908	DT-A	Larva	Ooyu-cho, Yabu-shi, Hyogo	<i>Apodemus speciosus</i> (Temminck, 1844)	2007.11.04	AB819168
		DT-B	Larva	Goesasan, Fukui-cho, Anan-shi, Tokushima	Vegetation	2007.11.10	AB819169
8	<i>Haemaphysalis concinna</i> Koch, 1844	Hea-A	Male	Atataro-cho, Anan-shi, Tokushima	<i>Canis lupus familiaris</i> Linnaeus, 1758	2004.07.30	AB819170
		Heor-A	Nymph	Kushiro-shi, Hokkaido	Vegetation	2010.07.29	AB819171
9	<i>Haemaphysalis conrigeria</i> Neumann, 1897	Heor-B	Nymph	Shibetsu-cho, Shibetsu-gun, Hokkaido	Vegetation	2010.07.30	AB819172
		Heor-C	Nymph	Shibetsu-cho, Shibetsu-gun, Hokkaido	Vegetation	2010.07.30	AB819173
9	<i>Haemaphysalis conrigeria</i> Neumann, 1897	Heor-A	Nymph	Yaginamawari, Minamitawaji-shi, Hyogo	Vegetation	2004.09.06	AB819174

Table 1. Continued.

No	Tick species [synonym]	Tick Sequence type	Tick stage	Location	Collected source Host animals or Vegetation	Sampling date (year or yyyy-mm-dd)	Acc. No.
10	<i>Haemaphysalis japonica</i> Warburton, 1908	HH-A	Nymph	Karouji, Owani-machi, Minamitsugaru-gun, Aomori	Vegetation	2004.07.29	AB8119200
		HH-B	Nymph	Matsukemi, Fukaura-machi, Nishitsugaru-gun, Aomori	Vegetation	2007.07.30	AB8119201
11	<i>Haemaphysalis douglasi</i> [<i>Haemaphysalis douglasi</i>]	HD-A	Female	Furano-shi, Hokkaido	Vegetation	2004.06.06	AB8119175
		HD-B	Nymph	Ayoro-cho, Ayoro-gun, Hokkaido	Vegetation	2009.10.04	AB8119176
12	<i>Haemaphysalis fava</i> Neumann, 1897	HH-A	Nymph	Niryou, Kumakougen-cho, Kamikera-gun, Ehime	<i>Eubheriza spodocephala</i> Pallas, 1776	2006.11.08	AB8119177
		HH-B	Nymph	Oinatsu, Echizen-cho, Nyuu-gun, Fukui	<i>Turdus pallidus</i> Gmelin, 1789	2007.10.31	AB8119178
		HH-C	Larva	Tahara, Tsuru-shi, Yamana-shi	<i>Symnaticus soemmerringi</i> (Temminck, 1830)	2006.09.21	AB8119179
		HH-D	Larva	Tahara, Tsuru-shi, Yamana-shi	<i>Symnaticus soemmerringi</i> (Temminck, 1830)	2006.09.21	AB8119180
		HH-E	Nymph	Karouji, Owani-machi, Minamitsugaru-gun, Aomori	Vegetation	2004.07.29	AB8119181
		HH-F	Nymph	Yamada-machi, Kokurakita-ku, Kitakyusyu-shi, Fukuoka	<i>Turdus pallidus</i> Gmelin, 1789	2007.11.27	AB8119182
		HH-G	Larva	Oinatsu, Echizen-cho, Nyuu-gun, Fukui	<i>Turdus pallidus</i> Gmelin, 1789	2007.10.22	AB8119183
		HH-H	Larva	Oinatsu, Echizen-cho, Nyuu-gun, Fukui	<i>Turdus pallidus</i> Gmelin, 1789	2007.10.22	AB8119184
		HH-I	Nymph	Akusekijima, Tushima village, Kagoshima-gun, Kagoshima	Vegetation	2007.07.25	AB8119185
		HH-J	Nymph	Akusekijima, Tushima village, Kagoshima-gun, Kagoshima	Vegetation	2007.07.25	AB8119186
		HH-K	Nymph	Akusekijima, Tushima village, Kagoshima-gun, Kagoshima	Vegetation	2007.07.25	AB8119187
		HH-L	Nymph	Akusekijima, Tushima village, Kagoshima-gun, Kagoshima	Vegetation	2007.07.25	AB8119188
HH-M	Nymph	Akusekijima, Tushima village, Kagoshima-gun, Kagoshima	Vegetation	2007.07.25	AB8119189		
HH-N	Nymph	Akusekijima, Tushima village, Kagoshima-gun, Kagoshima	Vegetation	2007.07.25	AB8119190		
HH-O	Nymph	Nakanoshima, Tushima village, Kagoshima-gun, Kagoshima	Vegetation	2007.07.26	AB8119191		
HH-P	Nymph	Nakanoshima, Tushima village, Kagoshima-gun, Kagoshima	Vegetation	2007.07.26	AB8119192		
HH-Q	Nymph	Kouchi, Yamamoto-cho, Mitoyo-shi, Kagawa	Vegetation	2007.10.05	AB8119193		

Table 1. Continued.

No	Tick species [synonym]	Tick Sequence type	Tick stage	Location	Collected source Host animals or Vegetation	Sampling date (year or yyyymmdd)	Acc. No.	
13	<i>Haemaphysalis formosensis</i> Neumann, 1913	Hfo-A	Male	Miyanri-cho, Kaifu-gun, Tokushima	Vegetation	2004.09.29	AB81.9194	
		Hfo-B	Nymph	Mihonoseki-cho, Matsue-shi, Simane	<i>Ficedula narcissina</i> (Temminck, 1835)	2008.04.16	AB81.9195	
14	<i>Haemaphysalis hystricis</i> Supino, 1897	HH-A	Larva	Mugfura, Mugf-cho, Kaifu-gun, Tokushima	Vegetation	2004.09.28	AB81.9196	
		HH-B	Larva	Mugfura, Mugf-cho, Kaifu-gun, Tokushima	Vegetation	2004.09.28	AB81.9197	
		HH-C	Larva	Mugfura, Mugf-cho, Kaifu-gun, Tokushima	Vegetation	2004.09.28	AB81.9198	
		HH-D	Female	Ohoutojima, Ogasawara village, Tokyo	<i>Capra aegagrus</i> Erxleben, 1777	2007.06.24	AB81.9199	
		HK-A	Female	Nishide, Oozumi-cho, Hokuto-shi, Yamana-shi	Vegetation	2004.06.05	AB81.9202	
15	<i>Haemaphysalis kitaokai</i> Hoogstraal, 1969	HK-B	Female	Temyosan, Nishide, Oozumi-cho, Hokuto-shi, Yamana-shi	Vegetation	2004.06.05	AB81.9203	
		HK-C	Female	Nishide, Oozumi-cho, Hokuto-shi, Yamana-shi	Vegetation	2004.06.05	AB81.9204	
		HL-A	Nymph	Shirya, Higashidoori village, Shimokita-gun, Aomori	Vegetation	2008.07.23	AB81.9205	
16	<i>Haemaphysalis longicornis</i> Neumann, 1901	HL-B	Nymph	Yagunamawari, Minamiwaji-shi, Hyogo	Vegetation	2004.09.01	AB81.9206	
		HL-C	Female	Jindurakabe, Minamiwaji-shi, Hyogo	Vegetation	2004.09.01	AB81.9207	
		HL-D	Female	Jindurakabe, Minamiwaji-shi, Hyogo	Vegetation	2004.09.01	AB81.9208	
		HL-E	Female*4	Chiba	Unknown	Unknown		AB81.9209
		HL-F	Nymph	Shirya, Higashidoori village, Shimokita-gun, Aomori	Vegetation	2008.07.23	AB81.9210	
17	<i>Haemaphysalis mageshimaensis</i> Saito and Hoogstraal, 1973	Hmag-A	Female	Mageshima, Nishinomote-shi, Kagoshima	Unknown	1999.05.01	AB81.9211	
		Hmag-B	Male	Mageshima, Nishinomote-shi, Kagoshima	Unknown	1999.05.01	AB81.9212	
		Hmag-C	Nymph	Akusekijima, Tushima village, Kagoshima-gun, Kagoshima	Vegetation	2007.07.25	AB81.9213	
		Hmagaspi-A	Nymph	Hirauchi, Yakushima-cho, Kumage-gun, Kagoshima	Vegetation	2004.06.26	AB81.9214	
18	<i>Haemaphysalis megaspirota</i> Saito, 1969	Hmagaspi-B	Nymph	Hirauchi, Yakushima-cho, Kumage-gun, Kagoshima	Vegetation	2004.06.26	AB81.9215	
		Hmagaspi-C	Female*4	Chiba	Unknown	Unknown	AB81.9216	
		Hmagaspi-D	Nymph	Uchura, Kamogawa-shi, Chiba	Vegetation	2004.12.07	AB81.9217	

Table 1. Continued.

No	Tick species [synonym]	Tick Sequence type	Tick stage	Location	Collected source Host animals or Vegetation	Sampling date (year or yyyy-mm-dd)	Acc. No.
19	<i>Haemaphysalis pentelagi</i> Pospalov-Sitrom, 1935	Hpen-A Hpen-B	Female*4 Male *5	Amanioshima, Kagoshima Amanioshima, Kagoshima	<i>Pentalagus furnessi</i> (Stone, 1900) <i>Pentalagus furnessi</i> (Stone, 1900)	2003.09.28 2003.09.28	AB81.9218 AB81.9219
20	<i>Haemaphysalis phasiana</i> Saito, Hoogstraal and Wassef, 1974	Hpha-A	Female*4	Shinart-ri, Haenam gun, South Korea	<i>Emberiza chrysophrys</i> Pallas, 1776	2007.05.04	AB81.9220
21	<i>Haemaphysalis wellingtoni</i> Nuttall and Warburton, 1908	HW-A	Male	Mihonosaki, Mihonosaki-cho, Matsue-shi, Simane	<i>Emberiza variabilis</i> Temminck, 1835	2007.04.29	AB81.9221
22	<i>Haemaphysalis yeni</i> Tounanoff, 1944	HY-A HY-B	Nymph Female	Anbou, Yakushima-cho, Kumage-gun, Kagoshima Koseda, Yakushima-cho, Kumage-gun, Kagoshima	Vegetation <i>Canis lupus familiaris</i> Linnaeus, 1758	2004.06.26 2008.08.08	AB81.9222 AB81.9223
23	<i>Ixodes acutarsus</i> (Karsch, 1880)	Iac-A	Nymph	Sai, Sai village, Shimokita-gun, Aomori	Vegetation	2008.07.23	AB81.9224
24	<i>Ixodes angustus</i> Neumann, 1899	Ian-A	Female	Minato, Wakkanai-shi, Hokkaido	<i>Apodemus speciosus</i> (Temminck, 1844)	2008.06.14	AB81.9225
25	<i>Ixodes asanumai</i> Kitaoka, 1973	Ias-A	Nymph	Takarajima, Toshihima village, Kagoshima-gun, Kagoshima	<i>Ateuchosaurus pallioleucus</i> (Hallowell, 1861)	2007.07.26	AB81.9226
		Ias-B	Nymph	Takarajima, Toshihima village, Kagoshima-gun, Kagoshima	<i>Ateuchosaurus pallioleucus</i> (Hallowell, 1861)	2007.07.26	AB81.9227
		Ias-C	Nymph	Takarajima, Toshihima village, Kagoshima-gun, Kagoshima	<i>Ateuchosaurus pallioleucus</i> (Hallowell, 1861)	2007.07.26	AB81.9228
		Ias-D	Nymph	Nazekominato, Anami-shi, Kagoshima	<i>Turdus pallidus</i> Gmelin, 1789	2006.12.17	AB81.9229
		Ias-E	Female	Kuchinoshima, Toshihima village, Kagoshima-gun, Kagoshima	Vegetation	2008.01.13	AB81.9230
		Ias-F	Female	Kuchinoshima, Toshihima village, Kagoshima-gun, Kagoshima	Vegetation	2008.01.13	AB81.9231
26	<i>Ixodes columnae</i> Takada and Fujita, 1992	Ias-G	Male	Kuchinoshima, Toshihima village, Kagoshima-gun, Kagoshima	Vegetation	2008.01.13	AB81.9232
		IC-A	Nymph	Oozasou, Fukushima-shi, Fukushima	Vegetation	2007.11.03	AB81.9233
		IC-B	Larva	Niinmachi, Kawamata-machi, Date-gun, Fukushima	Vegetation	1985.11.21	AB81.9234
27	<i>Ixodes granulatus</i> Supino, 1897	IG-A	Female	Okinawa	<i>Rattus rattus</i> (Linnaeus, 1758)	Unknown	AB81.9235
		IG-B	Female	Okinawa	<i>Rattus rattus</i> (Linnaeus, 1758)	Unknown	AB81.9236
		IG-C	Female	Chichijima, Ogasawara village, Tokyo	<i>Rattus rattus</i> (Linnaeus, 1758)	2007.07.30	AB81.9237

Table 1. Continued.

No	Tick species [synonym]	Tick Sequence type	Tick stage	Location	Collected source Host animals or Vegetation	Sampling date (year or vvvvmmdd)	Acc. No.
28	<i>Ixodes monospinosus</i> Saito, 1968	IM-A	Female	Sai, Sai village, Shimokita gun, Aomori	Vegetation	2007.09.23	AB81.9238
29	<i>Ixodes nipponensis</i> Kitasaka and Saito, 1967	IN-A	Nymph	Koyamaike, Tottori-shi, Tottori	<i>Locustella ochotensis</i> (Middendorff, 1853)	2007.06.04	AB81.9239
		IN-B	Nymph	Koyamaike, Tottori-shi, Tottori	<i>Locustella ochotensis</i> (Middendorff, 1853)	2007.06.04	AB81.9240
30	<i>Ixodes ovatus</i> Neumann, 1889	IO-A	Female	Nishiide, Oozumi-cho, Hokuro-shi, Yamanashi	Vegetation	2004.06.05	AB81.9241
		IO-B	Male	Temyosan, Nishiide, Oozumi-cho, Hokuro-shi, Yamanashi	Vegetation	2004.06.05	AB81.9242
		IO-C	Male	Nishiide, Oozumi-cho, Hokuro-shi, Yamanashi	Vegetation	2004.06.05	AB81.9243
		IO-D	Female	Karouji, Owani-machi, Minamitsugaru-gun, Aomori	Vegetation	2004.07.29	AB81.9244
31	<i>Ixodes pavlovskyi</i> Pamerantzev, 1946	IPw-A	Nymph	Takaoka, Tomakomai-shi, Hokkaido	<i>Turdus cardis</i> Temminck, 1831	2008.08.10	AB81.9245
		IPw-B	Female	Takaoka, Tomakomai-shi, Hokkaido	<i>Turdus cardis</i> Temminck, 1831	2008.08.10	AB81.9246
		IPw-C	Larva	Takaoka, Tomakomai-shi, Hokkaido	<i>Turdus cardis</i> Temminck, 1831	2008.08.10	AB81.9247
32	<i>Ixodes persulcatus</i> Schulze, 1930	IPer-A	Female	Nishiide, Oozumi-cho, Hokuro-shi, Yamanashi	Vegetation	2004.06.05	AB81.9248
		IPer-B	Female	Nishiide, Oozumi-cho, Hokuro-shi, Yamanashi	Vegetation	2004.06.05	AB81.9249
		IPer-C	Female	Imazumi, Nakadomari-machi, Kitatsugaru-gun, Aomori	Vegetation	2004.08.02	AB81.9250
		IPer-D	Nymph	Imazumi, Nakadomari-machi, Kitatsugaru-gun, Aomori	Vegetation	2004.08.02	AB81.9251
		IPer-E	Male	Imazumi, Nakadomari-machi, Kitatsugaru-gun, Aomori	Vegetation	2004.08.02	AB81.9252
33	<i>Ixodes philipi</i> Kerrans and Kohls, 1970	IPh-A	Nymph	Takaoka, Tomakomai-shi, Hokkaido	<i>Turdus cardis</i> Temminck, 1831	2008.08.14	AB81.9253
34	<i>Ixodes signatus</i> Birula, 1895	ISig-A	Female	Minamigou, Mikurajima village, Tokyo	<i>Calonectris leucomelas</i> (Temminck, 1835)	2004.08.25	AB81.9254
35	<i>Ixodes tanuki</i> Saito, 1964	Ita-A	Female	Hamamatsu, Nemuro-shi, Hokkaido	<i>Larus schistsisagus</i> Stejneger, 1894	2007.06.12	AB81.9255
		Ita-B	Male	Okubo, Higashinagura, Saitara-cho, Kitashitara-gun, Aichi	<i>Mustela itatsi</i> Temminck, 1844	2003.02.23	AB81.9256
35	<i>Ixodes tanuki</i> Saito, 1964	Ita-B	Male	Kuroda-cho, Toyata-shi, Aichi	<i>Myxerates procyonoides viverrinus</i> Temminck, 1838	2002.11.05	AB81.9257

Table 1. Continued.

No	Tick species [synonym]	Tick Sequence type	Tick stage	Location	Collected source		Sampling date (year or yyyy:mm:dd)	Acc. No.
					Host animals or Vegetation	Vegetation		
36	<i>Ixodes turdus</i> Nakatsui, 1942	Iur-A	Nymph	Kuchinoshima, Tomakomai-shi, Hokkaido		Vegetation	2008.01.13	AB8119258
		Iur-B	Female	Sekiya, Tyuuur-ku, Niigata-shi, Niigata	<i>Parus major</i> Linnaeus, 1758		2008.04.09	AB8119259
		Iur-C	Nymph	Nara, Kihokur-cho, Kitauwa-gun, Ehime	<i>Turdus pallidus</i> Gmelin, 1789		2007.09.29	AB8119260
		Iur-D	Nymph	Takaoka, Tomakomai-shi, Hokkaido	<i>Turdus cardis</i> Temminck, 1831		2008.05.13	AB8119261
		Iur-E	Female	Sekiya, Tyuuur-ku, Niigata-shi, Niigata	<i>Turdus cardis</i> Temminck, 1831		2008.04.30	AB8119262
		Iur-F	Larva	Hidaka-cho, Hidaka-gun, Wakayama	<i>Turdus pallidus</i> Gmelin, 1789		2007.12.16	AB8119263
37	<i>Ornithodoros capensis</i> Neumann, 1901 [<i>Carios capensis</i>]	Iur-G	Female	Fusashiwada, Abiko-shi, Chiba	<i>Turdus naumanni</i> Temminck, 1820		2004.01.05	AB8119264
		Iur-H	Female	Fusashiwada, Abiko-shi, Chiba	<i>Turdus naumanni</i> Temminck, 1820		2004.01.05	AB8119265
		OC-A	Male	Makojima, Ogasawara village, Tokyo	<i>Puffinus pacificus</i> (Gmelin, 1789)		2008.08.22	AB8119266
38	<i>Ornithodoros sawaii</i> Ktsoaka and Suzuki, 1973 [<i>Carios sawaii</i>]	OS-A	Female	Kutsujima, Matzur-shi, Kyoto	<i>Oceanodroma monorhis</i> (Swinhoe, 1867)		2007.08.25	AB8119267
39	<i>Rhipicephalus microplus</i> (Canestrini, 1888) [<i>Boophilus microplus</i>]	RM-A	Male	Ohutojima, Ogasawara village, Tokyo	<i>Capra aegagrus</i> Erleben, 1777		2007.04.24	AB8119268

*1 Ticks were collected from the nest of *Delichon urbica*

*2 Ticks were collected from August to September of 2006

*3 Ticks were collected from under the nest of *Eptesicus japonensis*

*4 Engorged ticks

*5 Molted ticks

