

**STUDY OF THE SPECIFIC IGE RESPONSE AND ALLERGEN
ANALYSIS OF MOSQUITOES SPECIES FOUND IN THAILAND**

PATCHAREE KHONGTAK

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
(TROPICAL MEDICINE)
FACULTY OF GRADUATE STUDES
MAHIDOL UNIVERSITY**

2007

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

การศึกษาแอนติบอดีชนิด specific IgE ต่อสารก่อภูมิแพ้และการวิเคราะห์สารภูมิแพ้ของยุงสายพันธุ์ที่พบในประเทศไทย (STUDY OF THE SPECIFIC IGE RESPONSES AND ALLERGEN ANALYSIS OF MOSQUITOES SPECIES FOUND IN THAILAND)

พัชรี คงตาก 4737867 TMTM/M

วท.ม. (อายุรศาสตร์เขตร้อน)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : สมใจ ลีมิ่งสวัสดิ์, Dr.Med.Sc, สิริจิต วงศ์กำชัย, Ph.D. (Tropical Medicine), นฤมล โกมลมิศร์, Dr.Med.Sc, วณิดา คีสิน, Dr.Med.Sc.

บทคัดย่อ

โรคภูมิแพ้จากยุงกัด เป็นปัญหาที่พบทั่วโลก แต่จนถึงปัจจุบันการศึกษากี่ยวกับสารก่อภูมิแพ้จากยุงและแอนติบอดีชนิดที่จำเพาะต่อสารก่อภูมิแพ้(anti-mosquito specific IgE)ซึ่งพบในผู้แพ้ยุง (Mosquito allergy) ยังมีน้อย ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาคั้งนี้คือการศึกษาระดับและเปรียบเทียบลักษณะแถบโปรตีน (protein characterization) ที่เตรียมจากน้ำลายยุง สารสกัดจากต่อน้ำลายและสารสกัดจากยุงทั้งตัว โดยใช้ยุงสายพันธุ์ที่พบในประเทศไทย เช่น *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, และ *Anopheles minimus* และศึกษาลักษณะของแอนติบอดีชนิดที่จำเพาะต่อสารก่อภูมิแพ้(anti-mosquito specific IgE) ที่เตรียมจากสารสกัดชนิดต่างๆจากยุงทั้ง 4 species ในกลุ่มผู้แพ้ยุง (mosquito bite allergic subjects) จำนวน 20 คน และศึกษาวิเคราะห์แอนติเจนชนิด species-specific และ species-shared allergens ในยุงที่ศึกษา วิธีการศึกษาใช้น้ำลายยุง สารสกัดจากต่อน้ำลายยุงและสารสกัดจากยุงทั้งตัวซึ่งเตรียมจากยุงทั้ง 4 ชนิด มาแยกโปรตีนตามขนาดโมเลกุลด้วยวิธี sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) จากนั้นคำนวณน้ำหนักโมเลกุลของแถบโปรตีนที่แยกได้จากสารสกัดจากยุงทั้ง 4 ชนิดและศึกษาลักษณะของแอนติบอดีชนิดที่จำเพาะต่อสารก่อภูมิแพ้(anti-mosquito specific IgE) จากสารสกัดต่างๆจากยุงทั้ง 4 ชนิดโดยวิธี enhanced chemiluminescence immunoblot (ECL blot)จากการศึกษาคั้งนี้พบว่าโปรตีนจากสารสกัดชนิดต่างๆที่แยกได้โดยวิธี SDS-PAGE มีลักษณะแถบโปรตีนที่ต่างกัน สำหรับผลการศึกษาลักษณะของแอนติบอดีชนิดที่จำเพาะต่อสารก่อภูมิแพ้จากยุง (anti-mosquito specific IgE) ที่พบในประชากรศึกษา พบว่าสารก่อภูมิแพ้ที่ได้จากสารสกัดจากยุงทั้งตัวของยุง *Cx. quinquefasciatus* และ *Ae.aegypti* มีขนาดโมเลกุล 42.9 และ 37.2 kDa ตามลำดับ สำหรับสารสกัดจากต่อน้ำลายของยุง *An. minimus* มีแอนติเจนชนิด species-specific allergen ที่ขนาดโมเลกุล 74.1, 54.6, และ 39.8 kDa และ มีแอนติเจนชนิด species-shared allergen ที่ขนาดโมเลกุล 37.5 และ 35.5 kDa และจากสารสกัดจากน้ำลายของยุง *An. minimus* มีแอนติเจนชนิด species-specific allergens ที่ขนาดโมเลกุล 92.3kDa, และ มีแอนติเจนชนิด Species-shared allergens ที่ขนาดโมเลกุล 75.4, 64.1, 49.5, 36, 32 และ 22 kDa ผลที่ได้จากการศึกษาจะเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัยโรคภูมิแพ้จากยุงกัดและการรักษาผู้ป่วยที่แพ้ยุงหลายชนิดโดยวิธี immunotherapy

STUDY OF THE SPECIFIC IGE RESPONSES AND ALLERGEN ANALYSIS OF MOSQUITOES SPECIES FOUND IN THAILAND

PATCHAREE KHONGTAK 4737867 TMTM/M

M.Sc. (TROPICAL MEDICINE)

THESIS ADVISORS: SOMJAI LEEMINGSAWAT, Dr.Med.Sc, SIRICHIT WONGKAMCHAI, Ph.D. (TROPICAL MEDICINE), NARUMON KOMALAMISRA, Dr.Med.Sc, VANIDA DEESIN Dr.Med.Sc.

ABSTRACT

Allergic reactions to mosquito bites are common problems worldwide. However, little is known about mosquito allergens and the IgE responses to them. This study aimed to characterize the protein profiles of saliva, salivary gland and whole body extracts of four mosquito species commonly found in Thailand. *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus*, and *Anopheles minimus* to detect specific IgE responses against the extracts and identify species-specific and species-shared allergens using pooled sera obtained from 20 subjects with allergic reactions to mosquito bites. Saliva, salivary gland and whole body extracts of the mosquitoes were prepared. Proteins from these preparations were separated by sodium dodecyl sulfate–polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and the protein profiles of each extract from the 4 mosquitoes were characterized. Allergens from various extract preparation of the mosquitoes that cause IgE responses in subjects allergic to mosquitoes were identified using enhanced chemiluminescence immunoblot (ECL blot). The study found that the proteins from 3 extracts displayed different electrophoretic patterns. Major allergen of 42.9 and 37.2 kDa were detected from whole body extracts of *Cx. quinquefasciatus* and *Ae. aegypti*, respectively. For the salivary gland extracts, species-specific allergens from *An. minimus* with molecular weights of 74.1, 54.6, and 39.8 kDa were demonstrated. In addition, species-shared allergens of 37.5 and 35.5 kDa were revealed in this study. Species-specific allergen of 92.3 kDa was found only in saliva of *An. minimus*, while species-shared allergens of 75.4, 64.1, 49.5, 36, 32, and 22 kDa were also demonstrated.

In conclusion, this study provides basic information for the development of an accurate diagnostic method for of mosquito bite allergy and for the immunotherapy of Thai subjects sensitive to multiple mosquito species.

**KEY WORDS: ECL TECHNIQUE/SDS-PAGE/MOSQUITO BITE ALLERGY/
SPECIES-SHARED ALLERGEN/SPECIES-SPECIFIC
ALLERGEN/CULEX QUINQUEFASCIATUS/AEDES
AEGYPTI/AEDES ALBOPICTUS/ANOPHELES MINIMUS**

87 pp.