

Abstract

Project Code: PDF/40/2543

Project Title: Determination and purification of proteins from salivary gland and other tissues of different strains of cattle tick (*Boophilus microplus*) in Thailand by PAGE

Investigator: SATHAPORN JITTAPALAPONG
Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine,
Kasetsart University

E-mail Address: fvetspj@notri.ku.co.th

Project Period : 2 Years

Cattle ticks, *Boophilus microplus*, are important because not only they affect economic performances but they also have the ability to transmit biologically or mechanically serious pathogens to humans and animals. It is well known that members of a parasite population are not normally distributed within a host population, but rather skewed toward the majority residing on or within relatively few individuals. To determine that, this research was performed by collecting and being identified cattle ticks from all region of Thailand. Then, those ticks were isolated and kept as the original seed of starting colony. Fed females and males were dissected, separated and processed their salivary glands and other tissues. Extracts were prepared and determined the quantity of proteins. PAGE was performed to classify salivary proteins at different molecular weight. When examined by PAGE, protein profiles of fed male tick salivary glands were compared with those of female ticks over four different locations. The number of male salivary protein bands that were commonly found between different regions was less than those of female salivary glands. Fed females and males shared salivary proteins at 7.7, 14, 16, 18, 19.7, 27, 30, 32, 39.5, 70, 78, 90, 92, 100, 120, 130, 140, 204, 220, 300 and 400 kDa, observed among four regions of Thailand. Ticks from the South have some unique protein bands between 204-230 and 78-120 kDa. Many salivary proteins ranged from 19.7 to 360 kDa, as determined by SDS-PAGE, appeared in salivary proteins from most regions of Thailand indicated unlikely variations in different tick populations. Common proteins shared among these ticks of all parts indicated that they have their similarity among these tick populations. Western blot results also indicated that salivary proteins of different locations shared conserved immunogens and had the potential immunogenicity since they demonstrated protein band at 7.7, 19.7, 30.7, 50, 60, 78, and 204 kDa. The future use of the salivary-gland protein associated with tick immunity will facilitate the development of anti-tick vaccine.

Keywords: *Boophilus microplus*, Salivary gland, PAGE, Western blot, Thailand

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ PDF/40/2543
ชื่อโครงการ การตรวจแยกหาโปรตีนจากต่อมน้ำลาย และเนื้อเยื่ออื่นของเห็บโค (*Boophilus microplus*) จากภาคต่าง ๆ ของประเทศไทย โดยวิธี PAGE
ชื่อนักวิจัยและสถาบัน สภาพร จิตตपालพงศ์ ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
E-mail Address: fvetspi@notri.ku.co.th
ระยะเวลาโครงการ 2 ปี
คำหลัก: *Boophilus microplus*, ต่อมน้ำลาย, PAGE, Western blot, ประเทศไทย

เห็บโค (*Boophilus microplus*) มีความสำคัญทั้งในด้านการพัฒนาปศุสัตว์ และมีผลกระทบต่อสุขภาพของประชาชน โดยเห็บอาจนำโรคที่สำคัญและความเป็นพิษของสารที่ใช้ควบคุมเห็บมีผลกระทบต่อผู้บริโภค เห็บที่มาจากต่างพื้นที่แม้จะเป็นชนิดเดียวกันอาจมีความแตกต่างของลักษณะทั้งภายในและภายนอก ซึ่งมีส่วนสำคัญในการพัฒนาวัคซีนต่อต้านเห็บ จุดประสงค์ของการวิจัยเพื่อตรวจหาความแตกต่างที่อาจพบในเห็บชนิดเดียวกันแต่มาจากต่างพื้นที่ โดยได้ทำการเก็บตัวอย่างเห็บโคจากจังหวัดต่าง ๆ ที่เป็นตัวแทนของแต่ละภาค ภาคละ 4 จังหวัด โดยคัดเลือกจากจังหวัดที่มีการเลี้ยงปศุสัตว์จำนวนมาก เห็บจะถูกนำมาเลี้ยงในห้องปฏิบัติการเพื่อให้ออกไข่และสร้างโคโลนี เห็บเพศผู้และเพศเมียจะถูกคัดเลือกจะถูกนำมาผ่าแยกเอาต่อมน้ำลายทางเดินอาหารและเนื้อเยื่ออื่น ๆ ของเห็บออกมาทำ extract จากนั้นจะตรวจหาระดับความเข้มข้นของโปรตีน ก่อนที่จะนำไปแยกโดยขบวนการ electrophoresis จากผลของ PAGE พบเห็บเพศเมียและเพศผู้ที่มาจากแต่ละภาคมีโปรตีนจากต่อมน้ำลายที่มีน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงกันที่ 7.7, 14, 16, 18, 19.7, 27, 30, 32, 39.5, 70, 78, 90, 92, 100, 120, 130, 140, 204, 220, 300 และ 400 kDa เห็บที่มาจากภาคใต้มีโปรตีนที่แตกต่างจากภาคอื่น ๆ โดยพบ น้ำหนักอยู่ระหว่าง 204-230 kDa และ 78-120 kDa จากผลของ Western blot พบว่าโปรตีนของต่อมน้ำลายจากเห็บแต่ละภาคมีส่วนที่คล้ายกัน และมีความสามารถในการกระตุ้นแอนติบอดี โดยได้แสดงให้เห็นที่แถบโปรตีนน้ำหนัก 7.7, 19.7, 30.7, 50, 60, 78 และ 204 kDa นอกจากนี้ยังพบว่า เห็บเพศผู้มีจำนวนโปรตีนน้อยกว่าเห็บเพศเมีย จากความแตกต่างและความคล้ายกันของโปรตีน พบสรุปได้ว่า ความแตกต่างของเห็บโคในส่วนโครงสร้างของต่อมน้ำลายมีเพียงเล็กน้อยและไม่น่าจะมีนัยสำคัญในการพัฒนาวัคซีนต่อต้านเห็บโค โดยใช้ตัวแทนเห็บจากภาคใดภาคหนึ่ง