

239281

Cyt2Aa และ Cry4Ba เป็นโปรตีนจากถุงน้ำยุงที่ผลิตโดย *Bacillus thuringiensis* เมื่อให้ถุงน้ำยุงกินโปรตีนทั้ง 2 ชนิดร่วมกันพบว่าโปรตีนสารพิษมีประสิทธิในการฟ้าถุงน้ำยุงสูงขึ้น หลายเท่า แสดงให้เห็นว่าโปรตีนสารพิษ 2 ชนิดนี้ สามารถออกฤทธิ์เสริมกันได้ อย่างไรก็ตามกลไกการเสริมฤทธิ์กันยังไม่ทราบແນื้อหัวเดียวแต่คาดว่าโปรตีน Cyt2Aa และ Cry4Ba เกิดอันตราริยาซึ่งกันและกันในขณะที่ออกฤทธิ์ฟ้าถุงน้ำยุงทำให้เกิดการเสริมฤทธิ์ขึ้น ในงานวิจัยนี้ใช้เทคนิคทางชีวเคมีได้แก่ SDS-PAGE non-denaturing-PAGE และเจลฟิลเตชันโคลามาโตกราฟี รวมทั้งได้พัฒนาเทคนิคคลื่นผิวพลasma (surface plasmon resonance) เพื่อตรวจติดตามอันตราริยาระหว่างโปรตีน Cyt2Aa และ Cry4Ba ในขณะที่โปรตีนทำงาน โดยแบ่งศึกษาอันตราริยา 2 ช่วง คือ ช่วงที่โปรตีนอยู่ในสารละลายและช่วงที่โปรตีนเกาะกับเยื่อหุ้มเซลล์แล้ว ผลการศึกษาไม่พบอันตราริยาที่เกิดขึ้นในขณะที่โปรตีนสารพิษ 2 ชนิด อยู่ร่วมกันในสารละลาย แต่ในขณะที่โปรตีน Cyt2Aa อยู่บนเยื่อหุ้ม ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางชีวเคมีชี้ว่าจะมีอันตราริยาระหว่างโปรตีน Cyt2Aa และ Cry4Ba เกิดขึ้น เมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิคคลื่นผิวพลasma โดยใช้ชิปทองที่เคลือบด้วยชั้นลิพิด (lipid bilayer) เป็นเซนเซอร์ สามารถตรวจวัดการจับของโปรตีน Cyt2Aa ที่พื้นผิวของชั้nlipid และเมื่อผ่านโปรตีน Cry4Ba ไปยังพื้นผิวที่มีโปรตีน Cyt2Aa เกาะอยู่สามารถตรวจวัดการจับกันระหว่างโปรตีน Cry4Ba กับพื้นผิвлิพิดได้ ทั้งที่โดยธรรมชาติโปรตีน Cry ไม่สามารถจับพื้นผิвлิพิดโดยปราศจากตัวรับ ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า Cry4Ba สามารถจับกับ Cyt2Aa ซึ่งยึดเกาะอยู่พื้นผิвлิพิด ชี้งอันตราริยาระหว่างโปรตีนทั้งสองชนิดอาจนำไปอธิบายกลไกการเสริมฤทธิ์กันได้ว่า โปรตีน Cyt บนเยื่อหุ้มอาจทำหน้าที่เสมือนตัวรับสำหรับโปรตีน Cry

239281

The mosquitoicidal proteins, Cyt2Aa and Cry4Ba, produced from *Bacillus thuringiensis* show synergistic activity against mosquito larvae but the synergistic mechanism is still unclear. Some hypothesis suggested that the interaction between Cyt2Aa and Cry4Ba on lipid membrane could facilitate their synergism. In this study the biochemical techniques such as SDS-PAGE, non-denaturing-PAGE and gel-filtration chromatography were used to investigate Cyt2Aa and Cry4Ba interaction. In addition, the surface plasmon resonance (SPR) technique was developed to detect the interaction between both toxins on membrane by using a lipid bilayer-coated gold chip as a biosensor. The results shows no interaction between Cyt2Aa and Cry4Ba in solution but in presence of membrane, results from SPR suggests that Cry4Ba bind to Cyt2Aa on lipid membrane but did not directly bind to lipid membrane. This interaction could explain their synergistic mechanism in which Cyt toxin acts as a receptor for Cry toxin.