

บทที่ 1

บทนำ

1. ที่มาและความสำคัญ

ยุงเป็นแมลงพาหะนำโรคหลายชนิดและยังสร้างความรำคาญแก่มนุษย์ ในแต่ละปีจะมีผู้ป่วยและเสียชีวิตเนื่องจากโรคที่ยุงเป็นพาหะมากมายซึ่งสร้างความสูญเสียอย่างมากต่อทรัพยากรบุคคล และเศรษฐกิจของประเทศ มีวิธีการต่างๆ ถูกคิดค้นขึ้นเพื่อกำจัดและควบคุมประชากรยุง การใช้สารเคมีเป็นวิธีที่นิยมใช้อย่างแพร่หลายเพราะสามารถกำจัดยุงได้อย่างรวดเร็ว แต่มีข้อเสีย คือ ไม่สามารถป้องกันยุงได้ในระยะยาวจึงต้องใช้สารเคมีอย่างสม่ำเสมอซึ่งส่งผลให้ยุงเกิดการดื้อต่อสารเคมีตามมา นอกจากนี้สารเคมีที่ใช้อาจตกค้างในสิ่งแวดล้อมก่อให้เกิดอันตรายต่อแมลงหรือสัตว์ชนิดอื่น

การควบคุมประชากรยุงด้วยชีววิธี (biological control) โดยใช้จุลินทรีย์เป็นวิธีหนึ่งซึ่งมีการศึกษาและเริ่มนำมาใช้ในประเทศไทยแล้ว วิธีการนี้มีข้อดีหลายประการ คือ เป็นการกำจัดยุงตั้งแต่ระยะที่เป็นลูกน้ำทำให้ควบคุมประชากรยุงได้อย่างมีประสิทธิภาพ และเป็นวิธีการที่มีความจำเพาะต่อยุงเท่านั้นจึงไม่ส่งผลกระทบต่อคนและสิ่งแวดล้อม *Bacillus thuringiensis* เป็นแบคทีเรียที่มีการศึกษาอย่างกว้างขวางและมีการนำมาใช้ในการควบคุมประชากรยุง โดยในระยะที่ *B. thuringiensis* สร้างสปอร์จะผลิตโปรตีนสารพิษเพื่อฆ่าลูกน้ำยุง ซึ่งโปรตีนสารพิษสามารถแบ่งได้เป็นสองกลุ่มใหญ่ คือ Cry (crystal toxin) และ Cyt (cytolytic toxin) จากการศึกษาเชื่อว่าโปรตีนสารพิษทั้ง 2 กลุ่ม เป็นสารพิษที่ทำให้เกิดรูรั่ว (pore-forming toxin) ที่เซลล์กระเพาะลูกน้ำยุง งานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าโปรตีนสารพิษจากทั้ง 2 กลุ่ม Cry4Ba และ Cyt2Aa สามารถออกฤทธิ์เสริมกัน (synergism) ทำให้มีประสิทธิภาพในการฆ่าลูกน้ำยุงสูงขึ้นหลายเท่า การศึกษาถึงกลไกการออกฤทธิ์เสริมกันจะช่วยให้สามารถพัฒนาวิธีการควบคุมประชากรยุงให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้นและยังสามารถป้องกันการดื้อต่อโปรตีนสารพิษได้ อย่างไรก็ตามเครื่องมือและเทคนิคในการศึกษากลไกการทำงานของโปรตีนสารพิษในระดับโมเลกุลยังมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น ขาดเทคนิคที่สามารถตรวจติดตามลำดับปฏิกิริยาได้ตามเวลาจริง (real-time) หรือ หลายเทคนิคจำเป็นต้องติดฉลากโมเลกุลที่โปรตีนซึ่งบางครั้งจะรบกวนกลไกการทำงานของ โปรตีน เป็นต้น ดังนั้นการศึกษากลไกการออกฤทธิ์เสริมกันของโปรตีนสารพิษมีข้อจำกัดตามไปด้วย

เทคนิคคลื่นผิวพลาสมอนหรือเทคนิคเอสพีอาร์ (surface plasmon resonance, SPR) เป็นเทคนิคเชิงแสงที่ใช้วัดการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนีหักเหียงผล (effective refractive index) ของสารตัวอย่างบริเวณพื้นผิวฟิล์มทองซึ่งเกิดจากการมีโมเลกุลใดๆ มาสัมผัสบนผิวทองด้านหนึ่ง การเปลี่ยนแปลงดัชนีหักเหียงผลนี้สามารถคำนวณกลับเป็นปริมาณของโมเลกุลต่อพื้นที่ (surface coverage) ที่ยึดเกาะอยู่บนพื้นผิวฟิล์มทองได้ และยังสามารถนำไปแปลผลเป็นค่าความจำเพาะหรืออันตรกิริยาของการจับกันระหว่างโมเลกุลสารตัวอย่างกับพื้นผิวทองได้ เทคนิคคลื่นผิวพลาสมอนมีความไวสูงในการตรวจวัด ตรวจวัดได้ทีละหลายตัวอย่างพร้อมกัน และสามารถตรวจวัดได้แบบต่อเนื่อง โดยไม่จำเป็นต้องติดฉลากโมเลกุล ซึ่งน่าจะสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการวัดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนสารพิษเพื่อศึกษากลไกของการเสริมฤทธิ์กันได้

งานวิจัยนี้ต้องการศึกษากลไกการเสริมฤทธิ์กันของโปรตีนสารพิษ Cyt2Aa และ Cry4Ba โดยมีสมมุติฐานว่าการเสริมฤทธิ์กันระหว่างโปรตีนสารพิษ Cyt2Aa และ Cry4Ba เกิดจาก อันตรกิริยาระหว่างโปรตีนทั้งสอง โดยใช้เทคนิคทางชีวเคมีในการศึกษาควบคู่ไปกับการพัฒนาเทคนิค SPR เพื่อใช้ในการศึกษากลไกการเสริมฤทธิ์ของโปรตีนสารพิษ

2. วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1.) เพื่อศึกษากลไกการออกฤทธิ์เสริมกันระหว่างโปรตีนสารพิษ Cyt2Aa กับ Cry4Ba
- 2.) เพื่อพัฒนาเทคนิคคลื่นผิวพลาสมอน (surface plasmon resonance) ในการศึกษาอันตรกิริยาของโปรตีนสารพิษที่มีการเสริมฤทธิ์กัน

3. ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษากลไกการเสริมฤทธิ์กันระหว่างโปรตีนสารพิษ Cyt2Aa กับโปรตีนสารพิษ Cry4Ba และศึกษาอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนสารพิษทั้ง 2 ชนิด ด้วยเทคนิคทางชีวเคมีพร้อมกับพัฒนาเทคนิคการวัดอันตรกิริยาของโปรตีนสารพิษ ด้วยเครื่องวัด SPR ให้สามารถใช้ในการศึกษาอันตรกิริยาและตรวจติดตามกลไกการออกฤทธิ์เสริมกันของโปรตีนสารพิษในระดับโมเลกุลได้

4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

งานวิจัยนี้จะช่วยให้เข้าใจกลไกการทำงานของโปรตีนสารพิษมากยิ่งขึ้น โดยเฉพาะกลไกการออกฤทธิ์เสริมกัน ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาวิธีการควบคุมประชากรยุงให้มีประสิทธิภาพยิ่งขึ้นและลดโอกาสในการติดต่อโปรตีนสารพิษได้ นอกจากนี้เทคนิค SPR จะช่วยให้การศึกษากลไกการทำงานของโปรตีนสารพิษชนิดอื่นๆ ได้สะดวกยิ่งขึ้น และยังสามารถประยุกต์ใช้ในการศึกษาโปรตีนสารพิษในแมลงมอื่นได้อีกด้วย