

## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ความสำคัญของเรื่องการศึกษา

ยุงเป็นแมลงชนิดหนึ่งที่พบบ่อยมากในประเทศแถบเขตร้อนและเขตอบอุ่นซึ่งเป็นบริเวณพื้นที่ที่มีสภาวะแวดล้อมเหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนประชากรของยุง ยุงมีความสามารถในการแพร่เชื้อโรคทั้งไวรัสและปรสิตต่างๆผ่านทางกรีดเลือดของยุง ด้วยเหตุนี้จึงทำให้ยุงเป็นแมลงที่เป็นปัญหาสำคัญทางการแพทย์ในฐานะที่เป็น “พาหะนำโรค” ทั้งยุงลาย (*Aedes* หรือ *Stegomyia*) ยุงรำคาญ (*Culex*) และ ยุงก้นปล่อง (*Anopheles*) โดยเฉพาะยุงลายที่เป็นพาหะนำโรคสำคัญ เช่น โรคไข้เลือดออก (Dengue fever) โรคไข้เหลือง (Yellow fever) และโรคชิคุนกุนยา (Chikungunya) ซึ่งเป็นโรคที่กำลังมีการแพร่ระบาดบริเวณจังหวัดทางภาคใต้ของประเทศไทย ดังนั้นการลดความเสี่ยงในการแพร่กระจายของโรคจึงเป็นปัญหาสำคัญที่ทั่วโลกกำลังเร่งหาทางแก้ไข ซึ่งวิธีการลดความเสี่ยงในการเกิดการกระจายของโรควิธีหนึ่งคือ การควบคุมประชากรของยุง

##### 1.1.1 การควบคุมประชากรยุง

การควบคุมประชากรของยุงเป็นปัญหาที่มีความซับซ้อน เนื่องจากยุงเป็นแมลงที่มีความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปได้ดีและมีการเพิ่มประชากรอย่างรวดเร็ว อย่างไรก็ตาม วิธีการควบคุมจำนวนประชากรยุงโดยทั่วไปสามารถจำแนกเป็น 3 ลักษณะ คือ

##### 1.1.1.1 การควบคุมโดยการควบคุมแหล่งเพาะพันธุ์ยุง

การควบคุมจำนวนประชากรยุงโดยการทำลายแหล่งเพาะพันธุ์ของยุงจะสามารถควบคุมการเพิ่มจำนวนประชากรยุงได้จำนวนหนึ่ง การควบคุมด้วยวิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย ซึ่งสามารถทำได้โดยการดูแลภาชนะที่มีน้ำขังตามบ้านเรือน รวมไปถึงการหมั่นระบายน้ำบริเวณร่องน้ำเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดน้ำขังและเกิดการเน่าเสีย เป็นต้น

##### 1.1.1.2 การควบคุมโดยใช้สารเคมี (Chemical control)

การควบคุมประชากรของยุงโดยใช้สารเคมีส่วนใหญ่พุ่งเป้าไปที่ยุงที่มีการเจริญในระยะตัวเต็มวัย (Adult) ซึ่งในสมัยก่อน สารเคมีที่มีฤทธิ์ในการฆ่าแมลงอย่างเช่น Dichlorodiphenyl trichloroethane (DDT) ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในการควบคุมประชากร

ของยุง อย่างไรก็ตามการใช้สารเคมีก่อให้เกิดปัญหาหลายประการ เช่น ปัญหาการดื้อต่อสารเคมีของยุงและปัญหาที่เกิดจากการมีสารเคมีตกค้างในสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้นักวิทยาศาสตร์หลายท่านเชื่อว่าการใช้สารเคมีในการควบคุมประชากรของยุงหรือแม้แต่แมลงชนิดอื่นๆ อาจมีผลต่อความหลากหลายทางชีวภาพ (Biodiversity) ซึ่งส่งผลให้การควบคุมประชากรยุงด้วยวิธีนี้สามารถกระทำได้อย่างจำกัด

### 1.1.1.3 การควบคุมด้วยกระบวนการทางชีววิธี (Biological control)

การควบคุมด้วยกระบวนการทางชีววิธี (Biological control) หมายถึง การใช้สิ่งมีชีวิตชนิดหนึ่งในการควบคุมประชากรของสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งได้มีการนำมาประยุกต์ใช้ในการควบคุมประชากรของยุง โดยมุ่งเน้นไปที่การควบคุมยุงที่เจริญอยู่ในระยะลูกน้ำ (Larvae) วิธีทางหนึ่งในการควบคุมประชากรของลูกน้ำยุงด้วยกระบวนการทางชีววิธี ซึ่งได้เกิดขึ้นภายหลังจากการค้นพบแบคทีเรียที่มีความสามารถในการฆ่าแมลง คือ แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* (Bt) จากการค้นพบครั้งนั้นแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการใช้ประโยชน์จากสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กจำพวกจุลินทรีย์ในฐานะ “แหล่งของสารประกอบชีวภาพ” สำหรับใช้ในการควบคุมประชากรของแมลงที่ก่อให้เกิดโรคอย่างเช่น ยุง และ แมลงอื่นๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

### 1.1.2 การใช้แบคทีเรียในฐานะตัวควบคุมทางชีวภาพ (Biocontrol agent) สำหรับควบคุมประชากรยุง

การนำแบคทีเรีย *B. thuringiensis* มาใช้ประโยชน์ในฐานะ “ตัวควบคุมทางชีวภาพ” สำหรับใช้ในการควบคุมประชากรของแมลงเกี่ยวข้องกับความสามารถในการผลิตโปรตีนสารพิษที่มีฤทธิ์ในการฆ่าแมลง โดยแบคทีเรีย *B. thuringiensis* มีการสร้างผลึกโปรตีนในรูปที่ไม่ละลาย (Crystal inclusion) ชนิดหนึ่งคือ โปรตีน  $\delta$ -endotoxins ซึ่งถูกสร้างในระยะที่แบคทีเรียมีการสร้างสปอร์ (sporulation phase) (Gomez et al., 2007) ผลึกโปรตีนดังกล่าวประกอบด้วยโปรตีน 2 กลุ่ม คือ Crystal (Cry) toxin และ Cytolytic (Cyt) toxin โปรตีน Cry เป็นโปรตีนที่มีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์อย่างจำเพาะต่อแมลงหลายกลุ่ม เช่น แมลงผีเสื้อ (Lepidoptera) แมลงปีกแข็ง (Coleoptera) แมลงในกลุ่มผึ้งและต่อ (Hymenoptera) และ กลุ่มแมลงปีกคู่ (Diptera) เช่น ยุง และแมลงวัน ในขณะที่พบว่าโปรตีน Cyt ที่สร้างโดยแบคทีเรีย *B. thuringiensis* บางสายพันธุ์มีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ต่อยุงและแมลงวันเท่านั้น (Gomez et al., 2007)

สายพันธุ์หนึ่งของแบคทีเรีย *B. thuringiensis* คือ *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* (Bti) ถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในการทำหน้าที่เป็นสารชีวภาพในการควบคุมประชากรยุง แบคทีเรีย Bti มีการสังเคราะห์ผลึกโปรตีนในรูปที่ไม่ละลายในระยะที่มีการสร้างสปอร์เช่นกัน ดังแสดงในภาพที่ 1 (ก) ผลึกโปรตีนดังกล่าวประกอบด้วยโปรตีน 4 ชนิดคือ โปรตีน

Cry4Aa Cry4Ba Cry11Aa และ โปรตีน CytA (Regis et al., 2001) ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ต่อตัวอ่อนของแมลงในกลุ่มแมลงปีกคู่ (Diptera) โดยเฉพาะความสามารถในการออกฤทธิ์ต่อลูกน้ำยุงพบว่า โปรตีน Cry และ โปรตีน Cyt ที่สร้างจากแบคทีเรียชนิดนี้โดยทั่วไปจะมีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ต่อยุงลายและยุงรำคาญได้ดี (Baumann et al., 1991)

### ภาพที่ 1

*Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* และ *Bacillus sphaericus*

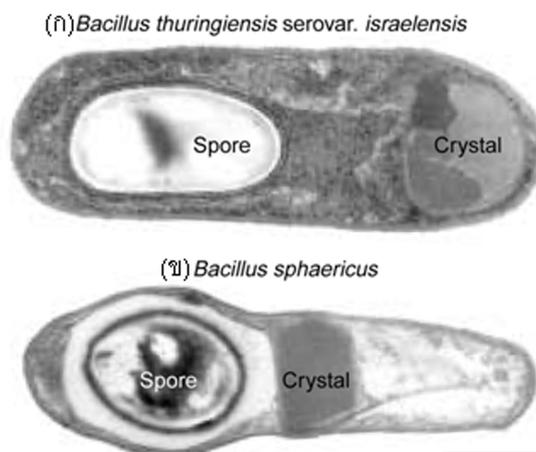
ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscopy)

ของแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* (Bti) (ก) และ แบคทีเรีย

*Bacillus sphaericus* (Bs) (ข) ที่มีการสร้างผลึกโปรตีน (crystal) ในระยะที่มี

การสร้างสปอร์ ซึ่งภายในบรรจุด้วยโปรตีนที่เป็นพิษต่อ

ลูกน้ำยุง (ขนาดแถบวัด = 0.5  $\mu\text{m}$ )



ที่มา : Regis et al., 2001

แบคทีเรีย *Bacillus sphaericus* (Bs) เป็นแบคทีเรียอีกชนิดหนึ่งที่ถูกนำมาใช้ในการควบคุมประชากรของยุง โดยโปรตีนสารพิษที่สร้างจากแบคทีเรียชนิดนี้จะมีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์อย่างจำเพาะต่อยุงเท่านั้น (Federici et al., 2003) ซึ่งสายพันธุ์ส่วนใหญ่ของแบคทีเรีย Bs จะมีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ต่อยุงรำคาญและยุงก้นปล่องได้ดี ในขณะที่ความเป็นพิษต่อ

ยุงหลายอยู่ในระดับต่ำ (Baumann et al., 1991) แบคทีเรีย *B. sphaericus* จะผลิตโปรตีน 2 กลุ่มที่มีความสามารถในการฆ่าลูกน้ำยุง คือ Binary toxin และ Mosquitocidal toxins (Mtxs) โดยในระยะเวลาที่แบคทีเรียมีการสร้างสปอร์ แบคทีเรียจะสังเคราะห์ผลึกโปรตีน (Crystal protein) ของ Binary toxin ซึ่งภายในบรรจุด้วยโปรตีนที่เป็นพิษต่อลูกน้ำยุง ดังแสดงในภาพที่ 1 (ข) Binary toxin เป็นโปรตีนที่มีโครงสร้างเป็นผลึก โครงสร้างภายในประกอบด้วยโครงสร้างแบบตาข่ายของผลึก (crystalline lattice structure) (Baumann et al., 1991) โปรตีน Binary toxin ประกอบด้วยโปรตีน 2 ชนิด คือ โปรตีน BinA และ โปรตีน BinB ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีขนาด 42 และ 51 kDa ตามลำดับ โดยโปรตีนทั้งสองจะทำหน้าที่ร่วมกันในการออกฤทธิ์ต่อลูกน้ำยุง ซึ่งมีการศึกษาพบว่าโปรตีน BinB น่าจะทำหน้าที่ในการจับกับโปรตีนตัวรับที่มีอยู่บนเซลล์กระเพาะลูกน้ำยุงอย่างจำเพาะ ในขณะที่โปรตีน BinA ทำหน้าที่เกี่ยวกับความเป็นพิษ (Silva-Filha et al., 1999)

เมื่อแบคทีเรีย *B. sphaericus* เข้าสู่ระยะของการเจริญเติบโต (Vegetative phase) แบคทีเรียจะผลิตโปรตีน Mtxs (Charles et al., 1996) ในรูปที่ละลายน้ำได้ (Soluble protein) ซึ่งสามารถจำแนกออกเป็น 3 ชนิด คือ โปรตีน Mtx1 โปรตีน Mtx2 และ โปรตีน Mtx3 ที่มีขนาด 100 31.8 และ 35.8 kDa ตามลำดับ (Thanabalu et al., 1991; Thanabalu and Porter, 1996; Liu et al., 1996) โปรตีนแต่ละชนิดในกลุ่มนี้สามารถแสดงความเป็นพิษต่อลูกน้ำยุงได้โดยลำพัง โดยไม่ต้องอาศัยการทำหน้าที่ร่วมกันอย่างเช่นโปรตีนในกลุ่ม Binary toxin อย่างไรก็ตามโปรตีนในกลุ่ม Mtxs จะถูกทำลายอย่างสมบูรณ์เมื่อแบคทีเรียเข้าสู่ระยะของการสร้างสปอร์ โปรตีน Mtx1 เป็นโปรตีนในกลุ่ม Mtxs ที่ได้รับความสนใจและมีการศึกษามากที่สุด อย่างไรก็ตามจากการศึกษาเกี่ยวกับโครงสร้างและกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนในกลุ่ม Mtxs พบว่า โปรตีน Mtx1 ไม่มีความสัมพันธ์ทั้งทางด้านโครงสร้างและความสามารถในการออกฤทธิ์เมื่อเปรียบเทียบกับโปรตีนในกลุ่มเดียวกันและโปรตีนในกลุ่ม Binary toxin หรือแม้แต่โปรตีนที่มีความสามารถในการฆ่าแมลงอื่นๆ ในขณะที่โครงสร้างบางส่วน of โปรตีน Mtx1 กลับมีความคล้ายคลึงกับโปรตีนในกลุ่ม ADP-ribosylating toxin (Charles et al., 1996) อย่างไรก็ตามพบว่าโปรตีน Mtx2 และโปรตีน Mtx3 มีลำดับกรดอะมิโนที่คล้ายคลึงกัน โดยโปรตีนทั้งสองยังมีความคล้ายคลึงกับโปรตีน  $\epsilon$ -toxin ที่สร้างโดยแบคทีเรีย *Clostridium perfringens* และโปรตีน Aerolysin จากแบคทีเรีย *Aeromonas hydrophila* (Thanabalu and Porter, 1996; Liu et al., 1996) ซึ่งจากความคล้ายคลึงดังกล่าวได้แสดงถึงความเป็นไปได้ที่โปรตีน Mtx2 และโปรตีน Mtx3 จะมีกลไกในการแสดงความเป็นพิษที่เป็นไปในลักษณะเดียวกันกับกลไกการออกฤทธิ์ต่อเซลล์เป้าหมายของโปรตีน  $\epsilon$ -toxin และ โปรตีน Aerolysin ด้วยเช่นกัน

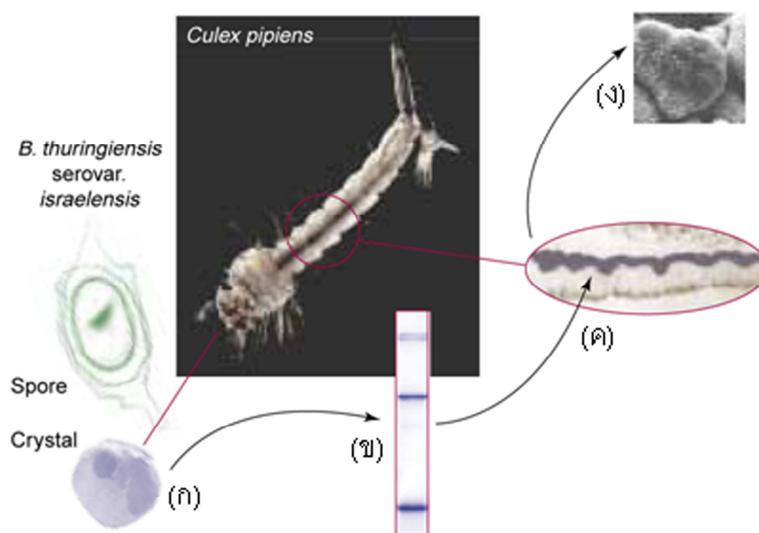
### 1.1.3 กลไกการออกฤทธิ์ของโปรตีนกำจัดลูกน้ำยุง

กลไกการออกฤทธิ์ต่อลูกน้ำยุงของโปรตีนสารพิษจากแบคทีเรีย *B. thuringiensis* และ *B. sphaericus* โดยทั่วไปมีขั้นตอนที่คล้ายคลึงกัน ดังแสดงขั้นตอนต่างๆในภาพที่ 2

#### ภาพที่ 2

กลไกการออกฤทธิ์ของโปรตีนฆ่าลูกน้ำยุง

(ในกรณีนี้ คือ แบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* serovar. *israelensis*) สปอร์และผลึกโปรตีนจากแบคทีเรีย (ก) โปรตีนสารพิษถูกละลายและถูกกระตุ้นด้วยเอนไซม์ย่อยโปรตีนภายในกระเพาะอาหารของลูกน้ำยุง ซึ่งมีสภาวะเป็นด่าง (ข) โปรตีนสารพิษจับกับโปรตีนตัวรับที่จำเพาะที่มีอยู่บนเซลล์กระเพาะลูกน้ำยุง (ค) โปรตีนก่อให้เกิดความเสียหายกับเซลล์กระเพาะลูกน้ำยุง (ง)



ที่มา : Regis et al., 2001

แบคทีเรียจะทำการสังเคราะห์ผลึกโปรตีนสารพิษให้อยู่ในโครงสร้างที่ยังไม่สามารถทำงานได้และมีคุณสมบัติที่ไม่ละลายน้ำ เรียกโปรตีนสารพิษในระยะนี้ว่า protoxin เมื่อลูกน้ำยุงกินแบคทีเรีย สภาวะที่เป็นด่าง (alkaline pH) ภายในกระเพาะอาหารของลูกน้ำยุงจะทำให้ผลึกโปรตีนดังกล่าวสามารถละลายได้ จากนั้นเอนไซม์ย่อยโปรตีนภายในกระเพาะลูกน้ำยุงจะทำการตัดโครงสร้างบางส่วนของโปรตีนสารพิษ ซึ่งผลจากปฏิกิริยาดังกล่าวทำให้โปรตีนสารพิษอยู่ใน

โครงสร้างที่พร้อมจะทำงานได้ (active toxin) (Baumann and Broadwell, 1987) หลังจากนั้นโปรตีนสารพิษจากแบคทีเรียจะจับกับโปรตีนตัวรับ (receptor) ที่มีอยู่บนเซลล์กระเพาะลูกน้ำยุงซึ่งเป็นเซลล์เป้าหมายอย่างจำเพาะ (Davidson, 1988; Charles and Nielson-LeRoux, 1992; Charles et al., 1996) ทำให้บริเวณนั้นมีการแทรกตัวของโครงสร้างโปรตีนบางส่วนเข้าไปภายในเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายแก่เซลล์ อย่างไรก็ตามความเสียหายที่เป็นผลมาจากการออกฤทธิ์ของโปรตีนสารพิษสามารถเกิดได้หลายลักษณะ เช่น การเกิดบริเวณที่มีความหนาแน่นของอิเล็กตรอนต่ำ (low electron density) เป็นบริเวณกว้าง การขยายขนาดของแควคิวโอลซึ่งเป็นออร์แกเนลล์ที่สำคัญของเซลล์ที่ทำหน้าที่ในการเก็บสารพิษที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ และการรวมของไมโทคอนเดรียซึ่งเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญของเซลล์ (Charles et al., 1996) ความเสียหายที่เกิดขึ้นส่งผลให้ลูกน้ำยุงตายในที่สุด

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

การนำแบคทีเรีย *B. thuringiensis* และ *B. sphaericus* มาใช้ในการควบคุมประชากรของยุงมีข้อดีคือ แบคทีเรียสามารถออกฤทธิ์ได้อย่างจำเพาะต่อแมลงเป้าหมาย อีกทั้งยังไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม อย่างไรก็ตาม โปรตีนสารพิษที่สร้างโดยแบคทีเรีย *B. thuringiensis* และ *B. sphaericus* แต่ละชนิดจะมีความสามารถในการแสดงความเป็นพิษต่อลูกน้ำยุงแต่ละชนิดได้แตกต่างกัน ซึ่งสาเหตุหนึ่งน่าจะเกี่ยวข้องกับการที่โปรตีนสารพิษแต่ละชนิดสามารถจับกับโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับซึ่งมีอยู่บนเซลล์กระเพาะลูกน้ำยุงแต่ละชนิดได้แตกต่างกัน เนื่องจากปฏิสัมพันธ์การจับกันอย่างจำเพาะระหว่างโปรตีนสารพิษจากแบคทีเรียกับโปรตีนตัวรับที่มีอยู่บนเซลล์กระเพาะลูกน้ำยุงเป็นกระบวนการเริ่มต้นที่สำคัญต่อการออกฤทธิ์ของโปรตีน ในขณะที่เดียวกัน การใช้ประโยชน์จากแบคทีเรียในการควบคุมประชากรยุงต่างมีข้อเสียด้วยกัน นั่นคือ หากพื้นที่ใดพื้นที่หนึ่งมีการใช้โปรตีนสารพิษจากแบคทีเรียชนิดนั้นๆ มาใช้ในการควบคุมประชากรของยุงอย่างต่อเนื่อง อาจส่งผลให้ประชากรยุงในบริเวณนั้นมีการต้านทานต่อพิษของโปรตีนชนิดนั้นๆ ได้ ตัวอย่างเช่น โปรตีน Binary toxin ถึงแม้จะเป็นโปรตีนสารพิษที่มีความสามารถในการออกฤทธิ์ต่อลูกน้ำยุงได้ดี แต่ในปัจจุบันพบว่าประชากรยุงรำคาญในหลายพื้นที่มีการพัฒนาการต้านทานต่อโปรตีนชนิดนี้แล้ว (Charles et al., 1996) ซึ่งกลไกการพัฒนาการต้านทานของยุงหรือแมลงต่างๆ ต่อโปรตีนที่สร้างจากแบคทีเรีย ในบางกรณีมีความเกี่ยวข้องกับโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับที่มีอยู่บนเซลล์กระเพาะลูกน้ำยุง เช่น การมีอยู่ หรือ ไม่มีโปรตีนตัวรับบนเซลล์กระเพาะลูกน้ำยุงซึ่งเป็นเซลล์เป้าหมาย หรือแม้แต่การไม่มีเสถียรภาพของโปรตีนที่สร้างจากแบคทีเรียในการเกิดปฏิสัมพันธ์

กับตัวรับ รวมถึงการที่ยังมีวิวัฒนาการในการพัฒนาและปรับเปลี่ยนโครงสร้างของโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับ ส่งผลให้โปรตีนจากแบคทีเรียสูญเสียความสามารถในการจับกับโปรตีนตัวรับ เป็นต้น ซึ่งวิธีการป้องกันการพัฒนาการต้านทานของยุงอาจทำได้โดยการศึกษาสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่มีการสร้างโปรตีนฆ่าลูกน้ำยุงชนิดอื่นๆ ซึ่งสามารถที่จะเกิดปฏิกิริยาการจับกับโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับที่แตกต่างออกไปได้ ดังนั้นโปรตีนในกลุ่ม Mtxs เช่น โปรตีน Mtx2 จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะนำมาพัฒนาและประยุกต์ใช้ในการควบคุมประชากรของยุง

อย่างไรก็ตาม โปรตีน Mtx2 เป็นโปรตีนที่ถูกค้นพบได้ไม่นาน (Thanabalu and Porter, 1996) ดังนั้นข้อมูลการศึกษาเกี่ยวกับโปรตีนชนิดนี้จึงยังมีไม่มากนัก ด้วยเหตุผลที่แสดงถึงความสำคัญของปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนจากแบคทีเรียกับโปรตีนตัวรับดังกล่าวข้างต้น ผู้ศึกษาจึงเห็นถึงความสำคัญและความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะศึกษาเกี่ยวกับโมเลกุลโปรตีนซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวรับ ทำให้การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับที่จำเพาะสำหรับโปรตีน Mtx2 จากแบคทีเรีย *Bacillus sphaericus* ซึ่งผลจากการศึกษาจะทำให้เข้าใจกลไกการออกฤทธิ์ของโปรตีนชนิดนี้มากขึ้น ความรู้เกี่ยวกับโมเลกุลโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับ รวมถึงข้อมูลเกี่ยวกับโครงสร้างที่ทำหน้าที่ในการจับกับตัวรับ (receptor-binding site) ของโปรตีนฆ่าลูกน้ำยุง จะทำให้สามารถแก้ไขปัญหาการพัฒนาการต้านทานของยุงและแมลงอื่นๆ ได้นอกจากนี้ยังเป็นความรู้พื้นฐานในการพัฒนาโปรตีน Mtx2 และโปรตีนชนิดใหม่ให้เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่ในการควบคุมประชากรของยุงที่มีความจำเพาะและมีประสิทธิภาพมากขึ้น ดังนั้นการเข้าใจธรรมชาติเป็นสิ่งสำคัญ เพราะจะทำให้เราสามารถนำแบคทีเรียมาใช้ในฐานะที่เป็น “ตัวควบคุมทางชีวภาพ” สำหรับควบคุมประชากรของยุงและแมลงชนิดอื่นๆ ได้อย่างปลอดภัยและมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

### 1.3 ขอบเขตของการศึกษา

สิ่งที่มีความสำคัญและจะต้องมีการกำหนดให้ชัดเจนสืบเนื่องจากวัตถุประสงค์ของการศึกษาคือ ขอบเขตของการศึกษา เพื่อใช้เป็นแนวทางในการศึกษาและเพื่อให้การวิเคราะห์และสรุปผลที่ได้จากการศึกษาเป็นไปตามวัตถุประสงค์ โดยการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อการศึกษาหาโปรตีนที่ทำหน้าที่เป็นตัวรับที่จำเพาะสำหรับโปรตีน Mtx2 จากแบคทีเรีย *B. sphaericus* ดังนั้นขอบเขตของการศึกษาสำหรับการศึกษานี้คือ การทำการศึกษาค้นหาโมเลกุลโปรตีนใดๆที่มีความสามารถในการจับกับโปรตีนสารพิษ Mtx2 จากแบคทีเรีย *B. sphaericus* ได้อย่างจำเพาะ

ด้วยกระบวนการและเทคนิคทางวิทยาศาสตร์สำหรับใช้ในการศึกษาโปรตีน จากนั้นจึงนำผลการวิเคราะห์ที่ได้เปรียบเทียบกับข้อมูลของโปรตีนที่มีอยู่ภายในฐานข้อมูลเพื่อจัดจำแนกชนิดของโปรตีนนั้น ซึ่งจะทำให้สามารถทราบได้ว่าโปรตีนตัวรับสำหรับโปรตีนสารพิษ Mtx2 จากแบคทีเรีย *B. sphaericus* น่าจะเป็นโปรตีนชนิดใด