

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาโปรตีนที่จับจำเพาะกับโปรตีนสารพิษ Mtx2 จากแบคทีเรีย *Bacillus sphaericus* โดยในการศึกษาเบื้องต้นผู้ศึกษาได้ทำการศึกษาหาโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบจาก Brush border membrane fraction (BBMF) จากลูกน้ำยุงลาย *Aedes aegypti* ที่มีความสามารถในการจับกับโปรตีน tMtx2 ด้วยเทคนิค Sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) และเทคนิค Western blot ซึ่งจากการศึกษาในขั้นตอนนี้ไม่พบโปรตีนใดๆ ที่เป็นองค์ประกอบจาก BBMF ที่สามารถจับได้กับโปรตีน tMtx2 ได้อย่างแท้จริง เนื่องจากไม่พบแถบโปรตีนที่แสดงความสามารถในการจับกับโปรตีน tMtx2 ได้อย่างเด่นชัด

จากนั้นจึงได้ทำการศึกษาหาโปรตีนที่มีความสามารถในการจับกับโปรตีน tMtx2 โดยใช้เซลล์เพาะเลี้ยงลูกน้ำยุงลาย *Aedes albopictus* C6/36 ซึ่งเป็นลูกน้ำยุงลายที่อยู่ในสปีชีส์ที่มีความใกล้เคียงกัน ผลจากการศึกษาหาโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบจากเซลล์เพาะเลี้ยงลูกน้ำยุงดังกล่าวที่มีความสามารถในการจับกับโปรตีน tMtx2 ด้วยเทคนิค SDS-PAGE และ Western blot พบแถบโปรตีนที่มีขนาดประมาณ 72 และ 75 kDa ที่สามารถจับกับโปรตีน tMtx2 ได้อย่างจำเพาะ นอกจากนี้โปรตีนดังกล่าวยังเป็นโปรตีนที่อยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane protein) ซึ่งเป็นข้อมูลที่ได้จากการนำโปรตีนจากเยื่อหุ้มเซลล์มาทำการวิเคราะห์และตรวจหาโปรตีนที่มีความสามารถในการจับกับโปรตีน tMtx2 ซึ่งพบแถบโปรตีนขนาด 72 และ 75 kDa ที่สามารถจับกับโปรตีน tMtx2 เช่นกัน จากข้อมูลดังกล่าวเป็นข้อมูลที่มีความสอดคล้องกับการมีอยู่ของโปรตีนตัวรับที่จำเพาะสำหรับโปรตีนสารพิษจากแบคทีเรีย บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ของเซลล์เป้าหมาย

อย่างไรก็ตามเทคนิคการวิเคราะห์โปรตีนด้วย 2-Dimensional gel electrophoresis (2-DE) ได้ถูกนำมาใช้ในการศึกษานี้เช่นกัน การวิเคราะห์โปรตีนด้วยเทคนิค 2-DE นอกจากจะให้ข้อมูลเกี่ยวกับน้ำหนักโมเลกุลและค่า pI ที่จำเพาะของโปรตีนที่ต้องการศึกษา ยังเป็นการแยกโปรตีนออกเป็นจุด (spot) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยโปรตีนแต่ละจุดบนแผ่นเจลโพลีอะคริลาไมด์จะเป็นตัวแทนของโปรตีนเพียงชนิดเดียวเท่านั้น ภายหลังจากการวิเคราะห์โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบจากเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane protein) จากเซลล์เพาะเลี้ยงลูกน้ำยุงลาย *Aedes albopictus* C6/36 ด้วยเทคนิค 2-DE และเทคนิค Western blot พบโปรตีนขนาด 75 kDa ซึ่งมีค่า pI ประมาณ 5.9 สามารถจับได้อย่างจำเพาะกับโปรตีน tMtx2

จากนั้นโปรตีนขนาด 75 kDa ดังกล่าวจึงถูกนำมาทำการวิเคราะห์เพื่อจัดจำแนกชนิดของโปรตีนด้วยเทคนิค Peptide mass fingerprinting (PMF) โดยผลจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PMF และการเปรียบเทียบน้ำหนักโมเลกุลและค่า pI ที่มีความใกล้เคียงกับน้ำหนักโมเลกุลและค่า pI ของโปรตีนขนาด 75 kDa แสดงให้เห็นว่าโปรตีนขนาด 75 kDa มีความเหมือนหรือคล้ายคลึงกับโปรตีน Conserved hypothetical protein (*C. quinquefasciatus*) โปรตีน V-ATPase subunit A (*A. albopictus*) โปรตีน GF11360 (*D. ananassae*) โปรตีน AGAP010876-PA (*An. gambia*) และ โปรตีน Stress-70 protein mitochondrial precursor (*S. salar*) อย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามจากการวิเคราะห์การทำหน้าที่ของโปรตีนแต่ละชนิด มีความเป็นไปได้สูงว่าโปรตีนขนาด 75 kDa ดังกล่าว น่าจะเป็นโปรตีนในกลุ่มโปรตีน V-ATPase subunit A