

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ TRG4580107
ชื่อโครงการ การศึกษาโครงสร้างโปรตีนสารพิษชนิด Cry4A จากแบคทีเรีย
Bacillus thuringiensis subsp. *israelensis*
ชื่อนักวิจัย นางสาวบงกชดา บุญเสริม
E-mail Address : mbpbs@mahidol.ac.th
ระยะเวลาโครงการ 2 ปี

โปรตีนสารพิษ Cry4Aa ซึ่งผลิตจากแบคทีเรีย *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* เป็นโปรตีนที่ออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุง โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษากลไกการออกฤทธิ์ฆ่าลูกน้ำยุงโดยการศึกษาโครงสร้างสามมิติของผลึกโปรตีนจากโปรตีนกลายพันธุ์ ของ Cry4Aa (R235Q) ผลึกโปรตีน Cry4Aa ถูกจำแนกอยู่ใน space group C222, ซึ่งมี cell parameters $a=91.2$, $b=202.1$, $c=98.7\text{\AA}$ และประกอบด้วย 1 โมเลกุลต่อ asymmetric unit ผลึกโปรตีนสามารถระเห็จรังสีเอกซ์ได้ในระดับ 2.9\AA โดยการใช้ synchrotron radiation โครงสร้างสามมิติของโปรตีน Cry4Aa ได้ผ่านการศึกษาระดับ molecular replacement โดยการใช้โครงสร้างสามมิติของโปรตีน Cry4Ba เป็นต้นแบบ และแสดงค่า R factor และ R free ในระดับ 20.9% และ 26.3% ตามลำดับ ในขั้นตอน Refinement โครงสร้างสามมิติของโปรตีน Cry4Aa ประกอบด้วย 3 domains โดย Domain I ประกอบด้วย โครงสร้างของ helical bundle Domain II ประกอบด้วย โครงสร้างของ β -sheet prism และ Domain III ประกอบด้วย โครงสร้างของ β -sheet sandwich ซึ่งโครงสร้างดังกล่าวนี้สามารถนำมาใช้อธิบายกลไกความจำเพาะเจาะจงและการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของโปรตีนฆ่าลูกน้ำยุงได้ในอนาคต

Abstract

Project Code: TRG4580107

Project Title: Crystallographic structural investigation of the Cry4Aa mosquitoicidal δ -endotoxin of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*

Investigator: Dr. Panadda Boonserm

Institute of Molecular Biology and Genetics, Mahidol University

E-mail Address: mbpbs@mahidol.ac.th

Project Period: 2 years

The Cry4Aa toxin, isolated from *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*, is specifically toxic to mosquito larvae. For a better understanding of the mechanism of toxicity, the 65-kDa functional form of the mosquito-larvicidal Cry4Aa-R235Q mutant toxin has been crystallised. The crystals belong to space group $C222_1$, with unit cell parameters $a=91.2$, $b=202.1$, $c=98.7$ Å and contain one molecule per asymmetric unit. The crystals diffract to about 2.9 Å using synchrotron radiation and a complete native data set has been collected. The structure has been solved using a molecular replacement method with the Cry4Ba toxin protein as a search model, and refined to an R-factor of 20.9 % and R_{free} of 26.3 %. The structure of the active Cry4Aa toxin consists of three domains: domain I, a helical bundle; domain II, a β -sheet prism; and domain III, a β -sheet sandwich. The Cry4Aa structure therefore provides an invaluable database to investigate the structural basis of target specificity and membrane interaction of the toxins in this family.

Keywords: mosquito-larvicidal toxin, bio-insecticides, crystallization