(บทคัดย่อ)

168063

งานวิจัยนี้เป็นการหามิโมโทปของฟาจที่จับกับโมโนโคลนอลแอนติบอดี จำนวน 12 โคลน ซึ่งมีความจำเพาะต่อ serovar ของเชื้อเลปโตสไปรา ตามลำดับ โดยคัดเลือกฟาจที่จับกับโมโนโคลนอลแอนติบอดี จากแรนดอมเฮบตะเปปไตด์ฟาจไลบรารีที่ขนาบข้างด้วยซีสไตอีน แยกดีเอ็นเอของฟาจ ทำพีซีอาร์เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนที่มีแรนดอมเฮบตะเปปไตด์อยู่ นำผลผลิตพีซีอาร์มาหาลำดับเปปไตด์ ซึ่งพบว่าเป็นที่น่าสนใจมากที่ ฟาจ T7/P2 ที่มีลำดับเป็บไตด์ –PKKS- มีลำดับเป็บไตด์ตรงกันกับบางส่วนของ amino acid sequence ของ *ligC* gene ที่ encoded leptospiral Ig-like proteins immunoglobulin superfamily virulence factors ส่วนฟาจ T7/P1, T7/P2 (ที่มีลำดับเป็บไตด์ -KSGRC-), T7/P10, และ T7/F11 มีลำดับเป็บไตด์ตรงกันกับบางส่วนของ hypothetical proteins LIC12572, LIC10450, LIC12958, และ LIC12963 ของ *Leptospira interrogans* serovar Copenhageni ตามลำดับ ฟาจT7/P2 ที่มีลำดับเป็บไตด์ -TNSKRK- มีลำดับเป็บไตด์ตรงกันกับบางส่วนของ amino acid sequence จาก deoxyribodipyrimidine photolyase ของ *Leptospira interrogans* serovar Copenhageni. ฟาจ T7/P5 4 ตัว และฟาจ T7/P9 1 ตัว ที่มีลำดับเป็บไตด์ -KSKKSS- มีลำดับเป็บไตด์ตรงกันกับบางส่วนของ amino acid sequence จากยีน cysteine synthase ของ Leptospira interrogans serovar Copenhageni ส่วนฟาจที่

จับกับโมโนโคลนอลแอนติบอดี P6, P7, P17 และ F21 พบว่า ลำดับเป็ปไตด์ ไม่ตรงกับ *Leptospira* Genome ผลจากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่ามิโมโทปที่พบส่วนใหญ่จะเป็นแบบต่อเนื่อง และ มิโมโทปของฟาจที่จับกับโมโนโคลนอลแอนติบอดี P2 และ F11 F20 ที่มีprotective activity อาจจะใช้ในการเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อโรคเลปโตสไปโรซีสได้ต่อไปในอนาคต

Keywords: Leptospira; Epitope; Phage display; Random peptide library

Abstract

168063

Random heptapeptide library displayed by bacteriophage T7 was used to identify mimotopes from twelve monoclonal antibodies (mAbs) that specific to different serovar of *Leptospira* SPP. respectively. Phage selected by biopanning was cloned by plaque isolation, and the binding specificity of individual clones was confirmed by enzyme-linked immunosorbent assay, before further amplified and checked for phage peptide sequence using PCR and DNA sequencing. Interestingly, phage T7/P2 with consensus sequence -PKKS-, was matched with part of amino acid sequence from the *ligC* gene that coded for leptospiral Ig-like proteins immunoglobulin superfamily virulence factors. For phages T7/P1, T7/P2 (with -KSGRC-sequences), T7/P10, and T7/F11 were matched with hypothetical proteins LIC12572, LIC10450, LIC12958, and LIC12963 of *Leptospira interrogans* serovar Copenhageni respectively. One phage T7/P2 with sequence -TNSKRK- was matched with part of amino acid sequence from deoxyribodipyrimidine photolyase of *Leptospira interrogans* serovar Copenhageni. Four phages T7/P5 and one phage T7/P9 with sequence -KSKKSS- were matched with part of amino acid sequence from cysteine synthase of Leptospira interrogans serovar Copenhageni. No similarity was observed among phages reacting with the mAb clone P6, P7, and F21. The results demonstrate that most of our finding mimotopes were linear or continuous, and phage display technique has potential for rapid identification of phages mimotope that interact with the leptospiral mAbs. The finding mimotope from phage T7/P2, and mimotopes from T7/F11 and T7/F20 that bound to protective mAbs clones F11 and F20, may have potential for further tested to use as immunogen against leptospirosis in the future.