

Random heptapeptide library displayed by bacteriophage T7 was used to characterize epitopes of the monoclonal antibodies clone LF9 and LD5 which specific to all members of the genus *Leptospira*, and specific only to the pathogenic species respectively. Bound phages were selected, followed by PCR and DNA-sequencing of inserted peptide sequences. Binding specificity of bound phages were confirmed by ELISA. Considering all the deduced amino acid sequences of phage reacting with the LD5 antibody, the consensus motif -LTPCDN- appeared. Interestingly, among forty-two percent of selected phage reacting with the LD5 monoclonal antibody, the consensus sequence of the displayed peptides corresponded to a segment of hypothetical protein of *Leptospira interrogans* serovar lai strain 56601. Considering all the deduced amino acid sequences of phage reacting with the LF9 antibody, the consensus motif -VLKKNRP- and -CLP- appeared. In phage reacting with the LF9 monoclonal antibody the deduced amino acid sequence of the displayed peptides corresponded to putative multi-domain beta keto-acyl synthase of *Streptomyces coelicolor* A3. The results demonstrate that T7 phage display technique has potential for display of peptides and for rapid analysis of the interactions between these peptides with monoclonal antibodies. The finding -LTPCDN- peptide can be further tested to use as candidate leptospirosis vaccine.

(บทคัดย่อ)

173916

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาหาเอพิโทปของฟาจที่จับกับโมโนโคลนอลแอนติบอดีโคลนแอลดี๕ และแอลเอฟ๙ ซึ่งมีความจำเพาะต่อเชื้อเลปโตสไปราที่ก่อโรคและที่ไม่ก่อโรคตามลำดับ โดยคัดเลือกฟาจที่จับกับโมโนโคลนอลแอนติบอดี จากไลบรารีของฟาจที่แสดงเปปไทด์แบบสุ่มจากไลบรารีที่สร้างขึ้นด้วยวิธีไดนามิก ไดคตินาฟาจที่จับกับแอนติบอดีของฟาจ ทำพีซีอาร์เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในส่วนที่มีแอนติบอดีจับ เปปไทด์อยู่ นำผลผลิตพีซีอาร์มาหาลำดับเบสไดคตินาฟาจ ซึ่งพบว่า ๔๒% ของฟาจที่จับกับโมโนโคลนอลแอนติบอดีโคลนแอลดี๕ มีลำดับเบสไดคตินาฟาจที่ตรงกันคือ-LTPCDN- ส่วนฟาจ(T7/LD5)ที่เหลือมีลำดับเบสไดคตินาฟาจที่แตกต่างไป ส่วนฟาจที่จับกับโมโนโคลนอลแอนติบอดีโคลน แอลเอฟ๙ มีลำดับเบสไดคตินาฟาจที่ตรงกัน ๒ กลุ่ม คือ -VLKKNRP- และ -LXKNCS- จากการเปรียบเทียบลำดับเบสไดคตินาฟาจที่จับกับโมโนโคลนอลแอนติบอดีกับฐานข้อมูลโปรตีนจากยีนแบงค์ เราพบว่าฟาจ (T7/LD5) ๕ ตัว มีลำดับเบสไดคตินาฟาจ ๖ ตำแหน่ง ของ amino-acid ที่ตรงกันกับบางส่วนของ hypothetical protein ของเชื้อ *Leptospira interrogans* serovar lai strain ๕๖๖๐๑ ส่วนฟาจที่จับกับโมโนโคลนอลแอนติบอดี LF9 (T7/LF9) เราพบว่า ลำดับเบสไดคตินาฟาจ ตรงกับ putative multi-domain beta keto-acyl synthase of *Streptomyces coelicolor* A3 จากการทดสอบยืนยันความจำเพาะของฟาจที่จับกับโมโนโคลนอลแอนติบอดี โดยใช้วิธีอีไลซา พบว่ามีความจำเพาะสูง

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