

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ: TRG5780014

ชื่อโครงการ: การคัดกรองแบบ high-throughput สำหรับฟาจที่สามารถจับจำเพาะกับเชื้อเซลล์โมแนลาแบบเชื้อเป็น

ชื่อนักวิจัย และสถาบัน: ดร. รัฐพล เฉลิมโรจน์ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

อีเมล: Ratthaphol.cha@biotec.or.th

ระยะเวลาโครงการ: 2 ปี

บทคัดย่อ:

เทคโนโลยีฟาจแสดงโปรตีนหรือเปปไทด์บนผิว เป็นเทคโนโลยีที่สามารถใช้หาตัวจับเป้าหมายที่ต้องการได้อย่างหลากหลาย แต่อย่างไรก็ตามการได้ตัวจับที่มีคุณภาพจำเป็นต้องมีวิธีการคัดกรองฟาจโคลนที่รวดเร็วและมีประสิทธิภาพดังนั้นในงานวิจัยนี้คณะวิจัยได้ทำการพัฒนาเทคนิคไมโครอะเรย์สำหรับคัดกรองฟาจโคลนโดยใช้เชื้อเซลล์โมแนลาเป็นต้นแบบของการศึกษา จากการศึกษาทำให้สามารถหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสร้างแบคทีเรียอะเรย์ โดยใช้เชื้อแบคทีเรียทั้งเชื้อแกรมลบและแกรมบวกจุดลงบนพื้นผิวของภาดหลุมใช้เข็มพร้อมไขมันเป็นตัวป้องกันปฏิกิริยาแบบไม่จำเพาะ และใช้แอนติบอดีติดฉลากกับสารสีฟลูออเรสเซนต์ที่สามารถจับกับแอนติบอดีที่จับจำเพาะกับฟาจเป็นตัวรายงานผล จากการนำคลังของฟาจจับเชื้อเซลล์โมแนลาแบบผสม 9 ซีโรไทป์และเพิ่มจำนวนฟาจ (biopanning) เป็นจำนวน 5 รอบ ได้ทำการเก็บฟาจโคลนเดี่ยวทั้งหมด 940 โคลนและทำการทดสอบกับแอนติเจนอะเรย์ที่ได้พัฒนาขึ้นมา พบว่าแอนติเจนอะเรย์สามารถบ่งชี้คุณภาพของการทำ biopanning ในแต่ละรอบได้ นอกจากนี้เทคนิคอะเรย์ยังสามารถคัดเลือกฟาจโคลนที่มีความจำเพาะได้ตั้งแต่รอบแรกของการทำ biopanning และฟาจโคลนที่คัดเลือกมาทดสอบความจำเพาะให้ผลเช่นเดียวกับวิธีทางอิมมูโนวิทยาสำหรับความไวของการทดสอบพบว่าฟาจโคลนที่เลือกมาในแต่ละรอบของการทำ biopanning ให้ความค่าความไวของการทดสอบในช่วงเดียวกันคือ สามารถตรวจเชื้อ *Salmonella* Enteritidis ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่ 10^3 โคโลนีฟอร์มมิงยูนิตต่อมิลลิตรจากการทดสอบแสดงให้เห็นว่าด้วยเทคนิคอะเรย์ที่สร้างขึ้นมานี้มีประสิทธิภาพสูงสำหรับการคัดเลือกฟาจโคลนได้ ซึ่งสามารถช่วยลดระยะเวลาการคัดเลือก กำลังคน และราคาได้

คำหลัก: ฟาจที่แสดงโปรตีนหรือเปปไทด์บนผิว; แอนติเจนอะเรย์; การคัดกรองแบบ high-throughput; เชื้อเซลล์โมแนลา

Abstract

Project Code: TRG5780014

Project Title: A high-throughput screening for phage-derived binders specific to live *Salmonella* spp.

Investigator: Ratthaphol Charlermroj, PhD.

E-mail Address: ratthaphol.cha@biotec.or.th

Project Period: 2 years

Abstract:

Phage display technology offers a powerful tool for discovering specific binders to various targets. However, to obtain a high quality binder, an effective and rapid screening method from a large population of phage clones is required. This study developed a microarray-based technique for a high-throughput screening method using an important foodborne pathogen *Salmonella* spp. as a model of assay development. We have successfully optimized the antigen array fabrication conditions for both gram negative and gram positive bacteria. Skimmed milk was used as a blocking buffer. A mouse antibody specific to M13 phage and a fluorescently (Cy3)-labeled antibody specific to mouse antibody were used to report a signal. A total of five biopanning rounds against a cocktail of nine *Salmonella* serovars have been performed. A total of 940 single clones were tested by our developed array method. The results showed that antigen array method could be used for evaluation quality of phage clones library in each round of biopanning. Furthermore, the array method could select specific phage clones even from the first round of biopanning. The specificity of the selected phage clones gave the same results as a plate-trapped antigen enzyme-linked immunosorbent assay method. For sensitivity testing, the selected phages from each round of biopanning gave the same magnitude of *Salmonella* Enteritidis detection which was 10^6 CFU/mL. The results have demonstrated high efficiency of the antigen array for phage displayed derived binders screening which could reduce screening time, labor, and cost.

Keywords: Phage display; Antigen array; High-throughput screening; *Salmonella* spp.