

## การผลิต Recombinant B-cell epitope ของโปรตีน VapA สำหรับการวินิจฉัยโรคโรโคคกโคซิสในลูกม้า

กรรณิการ์ ศิริภัทรประวัตติ\* ชีระพล ศิรินฤมิตร วรวิทย์ วัชชวัลคุ

ภาควิชาพยาธิวิทยาทางสัตวแพทย์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

\* ผู้นำเสนอผลงาน โทรสาร 662 9428437 email : nokochan58@yahoo.com

เชื้อ *Rhodococcus equi* สายพันธุ์ที่มีความสามารถในการก่อโรคได้ในลูกม้า พบว่าจะมีการสร้างโปรตีน VapA จากการศึกษาที่ผ่านมามีพบส่วนของโปรตีนใน VapA ซึ่งเป็นตำแหน่งจดจำที่จำเพาะต่อเม็ดเลือดขาวชนิดบี-ลิมโฟไซท์ ในงานทดลองนี้จึงได้ทำการสังเคราะห์ส่วนของดีเอ็นเอที่ถอดรหัสให้โปรตีนดังกล่าว เพื่อโคลนเข้าสู่พลาสมิด pQE40 ซึ่งเป็นเวกเตอร์ในระบบการสังเคราะห์โปรตีนของ *E. coli* ผลที่ได้เมื่อมีการถอดรหัสและแปลรหัสของยีนในพลาสมิดนี้คือโปรตีนลูกผสมระหว่างโปรตีน DHFR และ ส่วนโปรตีนที่เป็นตำแหน่งจดจำของเม็ดเลือดขาวนั้น ส่วนของโปรตีนที่ได้จะถูกแยกให้บริสุทธิ์ และนำมาตรวจสอบโดยวิธี SDS-PAGE และ Western blotting จากผลการทดลองนี้พบว่าส่วนของโปรตีนลูกผสมที่ได้นี้น่าจะมีประโยชน์ในการพัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัยโรค rhodococcosis ในลูกม้าต่อไป

คำสำคัญ: *R. equi*, B-cell epitope peptide of VapA protein, expression, purification

## **Expression of Recombinant VapA Protein's B-cell Epitope of *Rhodococcus equi* for Immunological Diagnosis of Rhodococcosis in Foals**

Kannika Siripattarapratvat\* Theerapol Sirinarumitr Worawidh Wajjwalku

Department of Veterinary Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University.

\*Presentable person, Fax. 662 9428437, email : nokochan58@yahoo.com

The virulent *Rhodococcus equi* possess 85- to 90-kb virulence-associated plasmids encoding an important candidate virulent factor, VapA protein. In this study, we used two synthesized oligonucleotides for the production of recombinant B-cell epitope of VapA protein. These two complementary oligonucleotides were hybridized and cloned into plasmid pQE40 to express in *E. coli*. The SDS-PAGE analysis of recombinant protein found that the size of the recombinant protein was around 30 kDa. For Western blotting, the recombinant protein was specifically detected by the serum of *Rhodococcus equi* infected foal. The result of this experiment showed that the recombinant protein may be useful as a diagnostic tool for the diagnosis of rhodococcosis in foal.

**Key words:** *R. equi*, B-cell epitope peptide of VapA protein, expression, purification