**رسائل الماجستير لسنة 2003**

|  |
| --- |
| **جـــــامـــعــة بـــــــغــداد** |
| **اسم الكلية** | **معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية** |
| **القسم** | **الهندسة الوراثية** |
| **اسم المشرف** | **د. نورية عبد الحسين علي د. محمد عبد القادر ابراهيم** |
| **اسم الباحث** | **إبراهيم عبد الله احمد البياتي** |
| **الايميل** |  |
| **الدرجة العلمية** |  **مدرس مساعد**  |  **مدرس**  |  **استاذ مساعد** |  **استاذ** |
|  |  **ماجستير**√ |  **دكتوراه** |
| **عنوان الرسالة** | **دراسة عن الانزيمات الهاضمة للحامض النووي DNA المنتجة من بكتريا الستربتومايسس المحلية** |
| **السنة** | **2003** |
| **اللغة** | **عربي** |
| **الخلاصة** | **تضمنت الدراسة توصيف عشر عزلات محلية لبكتريا الستربتومايسس وقد تم تحديد المدى الحراري لنمو تلك العزلات عند درجات حرارة (50, 45, 40, 35, 28) م إذ تراوح المدى الحراري لنمو نصف تلك العزلات بين 28-40 م في حين تراوح المدى الحراري لنمو بقية العزلات 28-45 م وكانت درجة الحرارة المثلى لنمو العزلات جميعها 28 م ولم تتمكن اي من العزلات قيد الدراسة من النمو عند درجة حرارة 50 م.****شمل التوصيف المظهري لتلك العزلات المايسليا الهوائية، المايسليا الارضية وأنتاج الصبغات واظهرت النتائج أن لدرجة حرارة الحضن تأثيراً في الصفات المظهرية والمتمثلة بلون المايسليا الارضية والهوائية وانتاج الصبغات الذائبة. اختبرت حساسية هذه العزلات تجاه ثمانية مضادات للحياة، إذ اظهرت جميع العزلات مقاومة تجاه الريفامبسين في حين كانت جميع العزلات حساسة لمضاد الستربتومايسين وتباينت نسبة مقاومة العزلات تجاه بقية مضادات الحياة. أجري اختبار العزلات قيد الدراسة لمعرفة قابليتها على انتاج انزيم الـ DNase، وأظهرت النتائج قابلية أربع عزلات من بكتريا الستربتومايسس على انتاج انزيم الـ DNase ثم قدرت الفعالية الانزيمية لكل من العزلات الاربع لتحديد العزلة الاكثر كفاءة في انتاج الانزيم، أظهرت العزلة Streptomyces SH-10 أعلى فعالية انزيمية. لذا انتخبت هذه العزلة كمصدر للانزيم وقد تمت دراسة الظروف المثلى لانتاج الانزيم واظهرت النتائج الحصول على اعلى فعالية انزيمية عند تنمية البكتريا المنتخبة في الوسط YD وعند رقم هيدروجيني 7 وبنسبة لقاح 6% ومدة حضن 96 ساعة وبدرجة حرارة 28م.** **وتمت تنقية الانزيم باتباع الخطوات الاتية:-****النبذ المركزي للمزروع البكتيري والتخلص من الخلايا** **التجزئة بالنظام المائي ثنائي الطور** **الترسيب بكبريتات الأمونيوم****الترشيح الهلامي الاول على عمود Sephacryl S-200** **الترشيح الهلامي الثاني على عمود Sephacryl S-200** **إذ أعطت هذه الخطوات عدد مرات تنقية مقدارها 4.33 مرة وحصيلة انزيمية مقدارها 28.8 %.****بينت نتائج توصيف الأنزيم:-****بلغ الوزن الجزيئي للانزيم 19950 دالتون عند تعيينه بطريقة الترشيح الهلامي باستخدام الهلام Sephacryl S-200..****ان الرقم الهيدرجيني الامثل لفعالية الانزيم هو الرقم 7.****تراوح الرقم الهيدروجيني الامثل لثبات الانزيم بين 6.5-7.5 .****بلغت الفعالية الانزيمية اقصاها عند درجة حرارة 35م .****احتفظ الانزيم بكامل فعاليته عند درجة حرارة 25-40 م عند حضنه لمدة 30 دقيقة.****احتفظ الانزيم بكامل فعاليته عند معاملته بالعامل المختزل 2- مركابتوايثانول بتركيز 1 ملي مولار في حين كان هنالك انخفاض بنسبة 4% في الفعالية الانزيمية عند استخدام التراكيز 5،3 ملي مولار، كذلك أظهرت النتائج حدوث انخفاض كبير في الفعالية الانزيمية عند استخدام العامل الكلابي EDTA عند التركيز 1 ملي مولار وازداد هذا الانخفاض عند تراكيز 5،3 ملي مولار مما يدل على ان الانزيم هو من الانزيمات المعدنية.****اظهرت نتائج دراسة المحتوى الوراثي للعزلة Streptomyces. SH-10 والمنتجة لانزيم DNase وجود حزمتين احداهما حزمة كروموسومية والاخرى تمثل بلازميد كبير الحجم في حين لم يلاحظ وجود بلازميدات صغيرة الحجم.****وأوضحت نتائج الكشف عن انتاج الانزيمات القاطعة قابلية عزلة واحدة Streptomyces.10 على انتاج الانزيمات القاطعة بدلالة تقطيع الحامض النووي للعاثي لامبدا.** |

**رسائل الماجستير لسنة 2003**

|  |
| --- |
| **جـــــامـــعــة بـــــــغــداد** |
| **اسم الكلية** | **معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية** |
| **القسم** | **التقنيات الاحيائية** |
| **اسم المشرف** | **د. عصام فاضل علوان الجميلي د. فارس عبد الكريم الطريحي** |
| **اسم الباحث** | **أسماء وليد داود** |
| **الايميل** |  |
| **الدرجة العلمية** |  **مدرس مساعد**  |  **مدرس**  |  **استاذ مساعد** |  **استاذ** |
|  |  **ماجستير**√ |  **دكتوراه** |
| **عنوان الرسالة** | **تنقية أنزيم البروتييز القاعدي من بكتريا B.stearothermophilus المحلية المحبة للحرارة وأختبار كفائته في التطبيقات الصناعية** |
| **السنة** | **2003** |
| **اللغة** | **عربي** |
| **الخلاصة** | **أختيرت (40) عزلة محلية من بكتريا الـ Bacillus المحبة للحرارة حول انتاجها لانزيم البروتييز القاعدي واظهرت سلالة B. stearothermophilus AEAL2 اعلى انتاجية لانزيم البروتييز القاعدي باستخدام الاوساط الصلبة والمزارع المغمورة لذا أستخدمت في هذه الدراسة.** **حددت الظروف المثلى لانتاج الانزيم من العزلة المنتخبة بأستخدام اسلوب تخمر المواد الصلبة فظهر ان وسط نخالة الحنطة يعطي اعلى انتاج للانزيم ، وان محلول فوسفات البوتاسيوم الدارئ بتركيز 0.2 مولار ورقم هيدروجيني 9 هو المحلول الانسب للترطيب وان افضل نسبة للترطيب هي 1:5 ( حجم : وزن) والرقم الهيدروجيني الابتدائي الامثل للانتاج 9 . وعندما لقح الوسط باعداد مختلفة من الابواغ وجد أن العدد 106 بوغ / 10 غرام مادة صلبة يعطي اعلى انتاج للانزيم وكانت درجة الحرارة المثلى للانتاج 60 ه م ولمدة حضن مثلى 48 ساعة.** **اجريت مقارنة في انتاجية الانزيم في تخمرات المواد الصلبة والسائلة فتبين تفوق انتاج الانزيم بطريقة تخمر المواد الصلبة على انتاجه بالوسط السائل بحوالي 6.1 مرة .** **تم تنقية أنزيم البروتييز القاعدي من الوسط الزرعي لبكتريا B. stearothermophilus AEAL2 بأستخدام عدة تقنيات شملت المعاملة الحرارية وكروماتوغرافيا التبادل الايوني باستخدام المبادل الايوني ثنائي اثيل امينواثيل سليلوز (DEAE-Cellulose) والترشيح الهلامي في عمود سيفاروز 6B- (Sepharose-6B) إذ تم فصل نوعين من البروتييزات وهي Protease I و Protease II وكانت عدد مرات التنقية 5.9 و 9.8 على التوالي بحصيلة أنزيمية 13 و 37 على التوالي.** **أظهرت نتائج توصيف الانزيمين بان الوزن الجزيئي لـ protease I و Protease II 13182 و 20892 دالتون على التوالي عند تعينه بطريقة الترشيح الهلامي 56234 و 69502 دالتن للانزيمين على التوالي عند تقديره بطريقة الترحيل الكهربائي في هلام اكريل امايد المتعدد بوجود المادة الماسخة SDS .** **كانت الارقام الهيدروجينية المثلى لفعالية الانزيمين تجاه الكازين 7 و 10 علىالتوالي وتراوح الرقم الهيدروجيني الامثل لثباتيتهما بين (6.5-7.5) و (8-10) على التوالي باستخدام الكازين كمادة اساس . ولوحظ ان اقصى فعالية للانزيمين عند درجة حرارة 65 و 85 ه م على التوالي. احتفظ كل من البروتييز I و II بكامل فعاليتهما عند 60 و 60- 65 ه م لمدة 15 دقيقة .** **أختبرت قابلية انزيم البروتييز II في تنظيف الملابس من المواد البروتينية فلوحظ زوال نسبة كبيرة من بقع الدم عند نقع الاقمشة الملوثة بالبقع بمحلول 1% أنزيم لمدة 20 دقيقة ، كما أختبرت كفاءة الانزيم في انتاج المتحللات البروتينية الذائبة وذلك باستخدام مسحوق جلد سمك الجري وسطاً للانتاج وبعد معاملته بالانزيم ظهرت زيادة في نسبة البروتين الذائب 36-38% عند 90-120 دقيقة من اضافة الانزيم .** **تم تقيد انزيم البروتييز II بطريقة الاقتناص باستخدام الجينات الكالسيوم إذ دلت النتائج على احتفاظ الانزيم بما يقارب 50% من فعاليته بعد 30 يوم بدرجة 4 ه م .** |

**رسائل الماجستير لسنة 2003**

|  |
| --- |
| **جـــــامـــعــة بـــــــغــداد** |
| **اسم الكلية** | **معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية** |
| **القسم** | **الهندسة الوراثية** |
| **اسم المشرف** | **د. نورية عبد الحسين علي د. منى جاسم نوري النداوي** |
| **اسم الباحث** | **رنا عادل حنون التميمي** |
| **الايميل** |  |
| **الدرجة العلمية** |  **مدرس مساعد**  |  **مدرس**  |  **استاذ مساعد** |  **استاذ** |
|  |  **ماجستير**√ |  **دكتوراه** |
| **عنوان الرسالة** | **أستخلاص وتنقية صبغة الميلانيـــن من الفطر Alternaria alternata RGH والميثوكســــالين من نبات الكرفــــس Apium graveolens L. وبعض تطبيقاته الحيوية** |
| **السنة** | **2003** |
| **اللغة** | **عربي** |
| **الخلاصة** | **شملت الدراسة عزل وتشخيص أحد الفطريـات المحليــة Alternaria alternataRGH. من الدوبال (humus) من منطقة الكريعات /بغداد والمنتجة لصبغة الميلانين وتم التأكد من نقاوة صبغة الميلانين باستعمال الكشوفات الكيميائية الخاصة والتشخيص الطيفي (الاشعة المرئية والاشعة تحت الحمراء) .****استخلص مركب الميثوكسالين من نبــات الكرفــس Apium graveolens L. ومن (جذور وسيقان واوراق ) وتمت تنقيته على شكل بلورات زغبية عديمة اللون باستعمال تنقنية كروماتوكرافيا الطبقة الرقيقة (Thin Layer Chromatography) وتقنية كروماتوغرافيا العمود (Column chromatography) .** **تم تشخيص مركب الميثوكسالين اعتماداً على قياس درجة الانصهار إ ذ تراوحت بيـــن (145-147 م ) ، و قياس قيمة (Rf) بوســاطة تقنية كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة فكانت 0.6- 0.7 ) وقياس زمن الظهوره (Rt) باستعمال تقنية كروماتوكرفيا السائل عالي الكفايةHigh - Performance Liquid chromatography (H.P.L.C.) والتشخيص الطيفي باستعمال طيف الأشعة تحت الحمراء وطيف الأشعة فوق البنفسجية ، فقد بينت النتائج مطابقته لمركب الميثوكسالين القياسي .** **أما بالنسبة للتطبيقات الحيوية لمركب الميثوكسالين فقد شملت دراسـة تأثير المركب على صبغة الميلانين المنتجــة مــن الفطــر Alternaria alternata RGH (in vitro ) بعد تحديد التركيز الأمثل من المركب الذي يعمل على زيادة إنتاج صبغة الميلانين من دون التأثير على نمو الفطر وأذ اختير التركيز 0.2 غم /100 مليليتر بعدها تم دراسة تأثيره على الصبغه المنتجة من الفطر وباستعمال وسط زرعي خاص ( كلوكوز- كلايسين-كلوتاميت أحادي الصوديوم) (GGG) والذي يعمل على ترسيب صبغه الميلانين إذ أظهرت النتائج فعالية المركب من خلال زيادة الصبغه المنتجة من الفطر** **كما اختبرت قابلية مركب الميثوكسالين على زيادة الصبغه في جلد الإنسان عن طريق عمل كريم محضر مضاف إليه 0.2 غم الميثوكسالين/ 100 غم كريم ، أعطت هذه التجربة نتيجة واضحة من حيث إحداث احمرار وظهور فقاعات عند بعض المرضى المصابين بمرض البهاق وهي علامة تحدث أثناء استعمال مركب الميثوكسالين مما يشير إلى ان للمركب فعالية مشابه لفعالية مركب الميثوكسالين القياسي والمستعمل في علاج بعض الأمراض الجلدية ومنها مرض البهاق.** |

**رسائل الماجستير لسنة 2003**

|  |
| --- |
| **جـــــامـــعــة بـــــــغــداد** |
| **اسم الكلية** | **معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية** |
| **القسم** | **التقنيات الاحيائية** |
| **اسم المشرف** | **د. عصام فاضل علوان الجميلي د. فارس عبد الكريم الطريحي** |
| **اسم الباحث** | **مآرب نزيه رشيد العبيدي** |
| **الايميل** |  |
| **الدرجة العلمية** |  **مدرس مساعد**  |  **مدرس**  |  **استاذ مساعد** |  **استاذ** |
|  |  **ماجستير**√ |  **دكتوراه** |
| **عنوان الرسالة** | **انتاج عدة تشخيصية لمرض السفلس** |
| **السنة** | **2003** |
| **اللغة** | **عربي** |
| **الخلاصة** | **شملت هذه الدراسة استعمال كل من عضلة قلب الثور وصفار البيض مصدراً للحصول على الكارديولبين والليسيثين على التوالي والتي تعد مواد اولية في تحضير العدة التشخيصية لمرض السفلس Rapid Plasma Reagin Circl Card Test (R.P.R). إذ استغرقت هذه الدراسة للفترة من شهر تشرين الاول لسنة 2001 لغاية شهر تشرين الاول لسنة 2002 .** **واظهرت النتائج وجود فعالية مستضدية عالية للمستضد النقي المحضر تجاه مصول مرض السفلس. تضمنت طريقة الكشف عن نقاوة الكارديوليين والليسيثين استعمال كروموتوغرافيا الطبقة الرقيقة Thin layer chromatography وكروموتوغرافيا الغاز السائل Gas Liquid chromatography (GC) وقياس الرقم اليودي Iodine number . اظهرت مـادة الكارديولبيــن بقعة واحدة وكانت قيمة الحركة النسبية (Rf) لها (0.92) ، وتحتوي على الاحماض الدهنية الاتية :-** **بالماتيك (Palmitic) 8.6% و ستيريك (Stearic) 13.8% و أولييك (Oleic) 10.2% ولينواولييك Linoleic 52.4% و لينواولينيك (Linolenic) 4.8% و الاراكيدونيك (Archidonic) 9.9% والرقم اليودي كان 123 .** **اما بالنسبة لمادة الليسيثين فقد اظهرت بقعة واحدة مطابقة ومماثلة لمادة الليسيثين القياسية المستوردة من شركة BDH كما ان قيمة الحركة النسبية (Rf) كانت مساوية ايضا لقيمة الحركة النسبية لمادة الليسيثين القياسية وهي (0.6) وتحتوي على الاحماض الدهنية الاتية :-** **بالماتيك (Palmitic ) 34.8% و ستيريك (Stearic ) 19.4% و أولييك (Oleic) 32.7%و لينواولييك (Linoleic) 12.9% والرقم اليودي كان 60 وهو مساو للرقم اليودي لمادة الليسيثين القياسية اذ كان 60 ايضا اما بالنسبة لمادة الليسيثين القياسية فتحتوي على الاحماض الدهنية الاتية :-** **بالماتيك (Palmitic) 39.8% وستيريك (Stearic ) 10.5% واولييك (Oleic) 37.5% ولينواولييك (Linoleic) 12% .** **كما اظهرت النتائج فعالية المستضد المحضر في هذه الدراسة مع كل من الامصال المرضية لمرض السفلس والامصال القياسية فضلا عن مقارنة فعالية المستضد المحضر في هذه الدراسة مع المستضد المستورد من شركة Biokit الاسبانية المنشأ ، كذلك اظهرت اضداد الكاريودلبين المحضرة في هذه الدراسة فعاليتها تجاه المستضد المحضر في هذه الدراسة وتجاه المستضد المستورد من شركة Biokit الاسبانية المنشأ .** |

**رسائل الماجستير لسنة 2003**

|  |
| --- |
| **جـــــامـــعــة بـــــــغــداد** |
| **اسم الكلية** | **معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية** |
| **القسم** | **الهندسة الوراثية** |
| **اسم المشرف** | **أ.د. علي عبد الرحمن الزعاك** |
| **اسم الباحث** | **وسام حازم سلو الموالي** |
| **الايميل** |  |
| **الدرجة العلمية** |  **مدرس مساعد**  |  **مدرس**  |  **استاذ مساعد** |  **استاذ** |
|  |  **ماجستير**√ |  **دكتوراه** |
| **عنوان الرسالة** | **دراسة تأثير الحقن المباشر لجين هرمون النمو البشري في انسجة الفئران** |
| **السنة** | **2003** |
| **اللغة** | **عربي** |
| **الخلاصة** | **تمت دراسة أستخدام طرق الحقن المباشر في الانسجة كطريقة لنقل جين هرمون النمو البشري والتعبير عنه في نسيج كبد الفئران و قابلية الهرمون المعبر عنه في الكبد على حث النمو في أجسام الفئران الحية كمحاولة لعلاج حالات التقزم الناتجة عن نقص في هرمون النمو البشري حيث تم استخدام البلازميد الهجين pXGH5 الحاوي على الجين التركيبي لهرمون النمو البشري (Human ghrowth hormone ) تحت سيطرة حفاز الثايونين المعدني النوع الاول للفئران (Mouse metallothionein-I) لامكانية حث التعبير عن الجين المنقول باستخدام المعادن الثقيلة في نسيج الكبد .****ولهذا الغرض تم أستخلاص البلازميد pXGH5 باستخدام طريقة التحليل القاعدي (Large scale- alkaline lysis) وتم تنقيته باستخدام متعدد الاثيلين الكلايكولي (Polyethylin glycole) وامكن الحصول على كمية 4 مليغرام من البلازميد/ 500 مل مزرعة بكتيرية وبنقاوة تتراوح بين 1.8 -1.7 .****ولأيجاد الظروف المثلى لطريقة الحقن التي تعطي اعلى مستويات للتعبير عن الجين المنقول تمت دراسة المتغيرات الاساسية التي تعتمد عليها عملية التعبير فقد تم ايجاد التركيز الامثل لكبريتات الزنك ZnSO4 في مياه شرب الفئران المحقونة البلازميد pXGH5 اللازمة لحث عملية التعبير عن جين هرمون النمو وهو تحت سيطرة حفاز الثايونين المعدني وقد وجد ان تركيز 30 ملي مولر من كبريتات الزك في ماء الشرب يعطي افضل مستويات التعبير .****كما تم ايجاد التركيز الامثل من البلازميد pXGH5 في الجرعة الواجب حقنها بتقنيات الحقن المباشر في النسيج عاريا او مرسبا بفوسفات الكالسيوم ليعطي اعلى مستويات للتعبير فظهر ان تركيز 100 مليغرام/100مايكروليتر مثاليا بالنسبة للبلازميد المحقون عاريا أما بالنسبة للبلازميد المرسب بفوسفات الكالسيوم فيمكن زيادة كمية الدنا فيه الى تركيز اعلى من 100 مايكروغرام.** **و تم ايجاد مدة التعبير عن الجين المنقول بطريقة الحقن المباشر في نسيج الكبد في أجسام الفئران المحقونة بالبلازميد pXGH5 حيث ظهر ان اعلى مستويات التعبير تكون بعد يومين وتنخفض بعد اسبوع لتصل الى مستوى ثابت يستمر لاسبوع اخر ويبدأ بالانخفاض وصولا الى نهاية الاسبوع الرابع بسبب تطوير الجهاز المناعي لاجسام مضادة له .** **ولمعرفة كفاءة تقنية الحقن المباشر في نسيج الكبد كطريقة لنقل الجينات والتعبير عنها في الكبد تم اجراء مقارنة مع الطرق المعروفة في توصيل البلازميدات الى الكبد مثل الحقن المباشر في قناة الصفراء و الحقن تحت الصفاق و حقن المباشر في وريد الذيل . وظهر ان** **الحقن في النسيج يعطي اعلى مستويات التعبير مما يؤدي الى زيادة معدلات النمو لاجسام الحيوانات .****ولدراسة الفعالية البايولوجية لهرمون النمو البشري في أجسام الفئران , تم حقن الفئران بـ100 مايكروغرام من هرمون النمو البشري في كل يوم ولمدة شهر وقد لوحظ زيادة في وزن الحيوانات خلال الاسبوعين الاولين ثم أنخفض معدل الزيادة حتى يختفي في نهاية الشهر** **وللكشف عن البلازميد في الحيونات المحقونة بطريقة الحقن المباشر في نسيج الكبد استخدمت تقنية التفاعلات التضاعفية لسلسلة الدنا العشوائية PCR AP- (Arbitrarily-primed polymerase chain) باستخدام البادئ M13 الذي يعتبر بادئ عام لمجموعة بلازميدات pUC للكشف عن وجود البلازميد pXGH5 الذي يحمل جين هرمون النمو فقد تم حقن البلازميد في الفص الامامي لكبد الفئران وبعد شهر من تاريخ الحقن تم استخلاص الدنا من الفص المحقون ومن الفصوص غير المحقونة كل على حدة واجريت تفاعلات تضاعف سلسلة الدنا (PCR) فظهر وجود حزمة في الدنا المستخلص من الفصوص الغير محقونة وهذا يعتبر مؤشرا جزيئيا لوجود البلازميد pXGH5 في الفصوص المحقونة . وبهذا يمكن اثبات وجود الجين الخارجي في المحتوى الوراثي لخلايا الكبد .** |