(١٩)الجهاز المركزي للتقييس والسيطرة النوعية رئاسة الجهاز مديرية براءات الاختراع والنماذج الصناعية القسم: الاداري – شعبة التوثيق والاستثمار (١٢) براءة اختراع	(١١) رقم البراءة : **٨٢٣٥** (٥١)التصنيف الدولي: **G01N33/68** (٥٢)التصنيف المحلي : **٦**
(٧٢) اسم المخترع وعنوانه: **م.د.هبة هادي طه** **جامعة الموصل /كلية العلوم /قسم علوم الحياة** **ا.م.د.نجوى ابراهيم خليل** **جامعة الموصل/كلية التربية للعلوم الصرفة /قسم علوم الحياة** **ا.م.د.فاتن نوري عبد حسين** **جامعة الموصل/ كلية العلوم / قسم علوم الحياة** (٧٣) اسم صاحب البراءة وعنوانه : **الـــــذوات اعلاه** (٧٤)اسم الوكيل وعنوانه :	(٢١) رقم طلب البراءة : **IQ/00230298** (٢٢) تاريخ التـــقديم : **٢٠٢٣/٥/٢١** (٤٥)تاريخ المنـــــح : **٢٠٢٤/٣/١٨** (٣٠) الاسبقية : الـــــرقم : **-** التاريخ : - البـــــلد : **-**

(٥٤)عنوان الاختراع: **استخلاص السم البروتيني القاتل K28 من عزلتي خميرة *Saccharomyces cerevisiae* وفعاليته في تثبيط نمو *Agrobacterium* الممرضة للنبات**

(٥٧) الملخص :

عزلت خميرة *Saccharomyces cerevisiae* من ثمار النباتات وشخصت حسب المفتاح التشخيصي الخاص بالخمائر، وتم الحصول عل عزلتي *Agrobacterium tumifaciens* وعزلة *Agrobacterium rhizogenes* المسجلة في بنك الجينات بالرقم rife ١٥٨٣٤ ، من ا.م.د. صباح مهدي هادي/ قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة بغداد ، ومنPlant Mol.Centre Gent. University Belgeum ، على التوالي، تم التأكيد التشخيص للـ *Agrobacterium* باختبار قدرتها الامراضية على تكوين كلا من الأورام التاجية والجذور الشعرية على أقراص الجزر. أجري اولا اختبار التضادّ التصالبي لعزلتي الخميرة (*S.cerevisiae*) ضد ثلاث عزلات من *Agrobacterium* (*A.rhizogenes* ، *A. tumifaciens* 1 و*A.tumifaciens* 2) وتبين أن العزلة الثانية من *S.cerevisiae* كانت أكثر تأثيرا في تثبيط الأنواع الثلاثة من جنس *Agrobacterium* مقارنة بالعزلة الأولى من الخميرة. اعقب ذلك تحديد التركيز المثبط الأدنى للراشح الخام من الخميرة باستخدام اختبار الصفيحة الدقيقة وتبين أنه كلما زاد تركيز راشح خميرة الخبز زاد تثبيط *Agrobacterium* بأنواعها الثلاثة، وكان راشح الخميرة الثانية أكثر تاثيراً في البكتريا من راشح الخميرة الاولى. وعند فصل البروتينات باستخدام طريقة الترحيل الكهربائي من راشح عزلتي الخميرة على هلام بولي أكريل أمايد بطريقة SDS – PAGE باستخدام صبغة Coomassie Brilliant Blue ، ظهرت حزم البروتين على الهلام وتم تحديد البروتين بالاعتماد على الوزن الجزيئي الذي قُدّر بـ ٥ كيلودالتون وبعد استخلاصه من الهلام، تم التأكد من نوعية وكمية البروتين المستخلص وذلك باستخدام جهاز الكروماتوغرافيا السائل ذي الأداء العالي ، وتبيّن أنّ أفضل ارتفاع للمنحنى كان عند وقت الاستبقاء ١.٣٨٩و١.٤٨١ في العزلة الأولى والثانية من الخميرة ،على التعاقب، واتضح انه تابع للسمّ القاتل نوع ٢٨ عند مقارنته بالعينة القياسية للجهازVirtual Sample K28 ، وتم فصله تماماً من الذروة الأولى وتبين ان له وزنً جزيئي مرتفع وذات نقاوة عالية. كما تبين زيادة التاثير التثبيطي بزيادة تركيز البروتين المستخلص من راشح الخميرة الثانية حصرا عند تحديد التركيز المثبط الأدنى للبروتين المستخلص بطريقة الصفيحة الدقيقة ، والذي بلغ ٠.١٥٦ مايكروغرام/ مل. اماعند استخدام المعلوماتية الحيوية لغرض تحديد التركيب الذري للبروتين K28 المستخلص لوحظ أنّه يمتلك العديد من الأطراف ذات النهايات الحرة، واعتمادا على نمط الالتفاف في البروتين تم التّعرف على شَكله المتبلور وتركيبه الثلاثي الأبعاد، كما تم تحديد تسلسله النيوكليوتيدي والأحماض الأمينية المكونة بتقنية الهندسة الحيوية العكسية.