

الخلاصة :

تم عزل 16 عزلة محلية من بكتريا *Clostridium* من مصادر متنوعة وهي التربة واللحم والعسل، وأخذت عينات هذه المصادر من مناطق مختلفة لمحافظة البصرة. وأجري تشخيص العزلات بعد تنقيتها وذلك باستعمال الفحوصات المظهرية والكيموحيوية وتبين أنَّها تعود لبكتريا *Clostridium botulinum* بعدها أُجري التشخيص الجيني للعزلات البكتيرية باستخلاص الحامض النووي DNA وإجراء الترحيل الكهربائي باستعمال هلام الأكاروز، وقد تم اختيار 7 عزلات من بكتريا *Clostridium botulinum* إذ أظهرت حزمة واضحة للحامض النووي DNA ، بعد ذلك تم الكشف عن المورث (الجين) المسؤول عن إنتاج السم العصبي (الذيفان) neurotoxin النوع A بتضخيم DNA باستعمال تقنية تفاعلات السلسلة للأنزيم المبلمر 16sRNA PCR ثم الترحيل الكهربائي باستعمال هلام الأكاروز ، وقد أُختبرت العزلة Cl.5 لبكتريا *Clostridium botulinum* التي مصدرها تربة حقل كلية الزراعة إذ أظهرت حزمة واضحة ومطابقة لحزمة البادئ primer الخاص بالمورث المسؤول عن إنتاج السم العصبي A . أنتج السم العصبي من العزلة المنتخبة باستعمال وسط اللقاح ووسط الإنتاج ومحلول الكلوكوز المبرد وتحت ظروف لاهوائية وبدرجة حرارة 37م ولمدة 4 يوم بعدها تم تنقية السم بإجراء تقنية التبادل الأيوني باستعمال المبادل الأيوني DEAE-Sephadex A-50 وقد ظهرت حزمة بروتينية واحدة في مرحلة الغسل وكانت كمية البروتين ( 0.27 ) ملغم/مل . بعد ذلك قدرت الفعالية السمية للسم المنقى باستعمال فئران التجارب المختبرية وحسبت اقل جرعة قاتلة (MLD) وكان مقدارها 0.07 . أخيراً تم اختبار الفعالية التثبيطية لبروتينات المناعة لحليب الابل تجاه السم العصبي A باستعمال فئران التجارب واختبار التلازن الدموي المنفعل وقد اظهرت البروتينات المناعية تفوقاً في تثبيط السم العصبي من خلال حدوث التلازن الدموي وكذلك بقاء الفئران على قيد الحياة .

College : Agricultural

Name of student : Nawras Mohamad Hassan Abd El-samad

Dept : Food science

Name of supervisor : Assist. Prof. Dr. Amal. Kadhim Gadban

and Assist. Prof. Dr. Hayder Ibrahim Ali

Certificate : Master

Specilization : Biotechnology

Separation and purification of neurotoxin type A of a local Isolate of *Clostridium botulinum* and testing the inhibitory effect of IgG of camel milk on it

Abstract of Thesis :

Sixteen local isolates of *Clostridium* were isolated from sources :soil , meat and honey .Those sources were obtained from different towns in Basrah government .

Characterization of isolates were made after purification by using morphological and biochemical tests which revealed that the isolates were *Clostridium botulinum* .

Genitic characterization for the bacterial isolates by extraction of DNA and electrophoresis by using agarose, seven isolates of *Cl.botulinum* were elected because they appeared difine band of DNA. After that the gene wich responsible on neurotoxin A was detected by using Polymerase chain reaction (16sRNA PCR) and electrophoresis using agarose, the isolate Cl.5 of *Cl.botulinum* wich was isolated from the soil of Agriculture College field, was elected because of its clear band which was (101)bp with the band of the primer of the gene of neurotoxin A. Neurotoxin A was produced by the isolate Cl.5 using the inoculums medum and production medium and glucose solution and using anaerobic conditions with 37°C then, finally the neurotoxin was purified by ion exchange using DEAE Sephadex A-50 only one protein peak was appeared in the void volum , the protein was (0.27) The activity of the purified neurotoxin by m Stadying minimal leathal dose by using mouse bioassay (0.07) , Finally the inhibitory effect of immunoglobulins of camel milk against neurotoxin A was studied by using passive haemagglotination and bioassay , immunoglobulin had agreat activity to inhibit the neurotoxin A.