

AZƏRBAYCANIN NEFTLƏ ÇİRLƏNMİŞ TORPAQLARINDAN AYRILMIŞ AZ-130 ŞTAMI TƏRƏFİNDƏN SİNTEZ EDİLƏN AZ-130 BİOAKTİV MADDƏSİNİN KİMYƏVİ QURULUŞU

Aytən Ağayeva^{1,2*}, İradə Hüseynova¹, Stiven Stritfild²

¹AR ETN Molekulyar Biologiya və Biotexnologiyalar İnstitutu, Bakı

²Fraunhofer ABŞ, Orta Atlantik Mərkəz, Nyuark, ABŞ

*aytanaghayeva@gmail.com

Mikroorqanizmlər planetdəki həyatın ən böyük müxtəlifliyini təşkil edir, lakin hazırda təxmin olunan bütün mikrobların 2%-ə qədəri müəyyən edilmişdir. Övvəllər məlum olmayan mikrob növlərinin xassələrinin öyrənilməsi əcazılıq və sənayedə istifadə məqsədilə mühüm potensiala malik yeni qiymətli biomolekulların müəyyən edilməsi üçün çox vacibdir. Tədqiqat işinin əsas məqsədi Azərbaycanın neftlə çirklənmiş torpaqlarından yeni antibakterial birləşmələri sintez edən bakteriya ştamlarının aşkar edilməsi və identifikasiyası, həmçinin bu biomolekulların bəzi xüsusiyyətlərinin öyrənilməsi olmuşdur. Standart ardıcıl durulaşdırma üsulu ilə neftlə çirklənmiş 30 torpaq nümunəsindən 578 bakteriya ştami ayrılmış və onların əsasında kolleksiya yaradılmışdır. Böyümənin inhibirə edilməsi metodundan istifadə olunmaqla dörd şərti indikator ştamına (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* DC0 və *E. coli* DC2) qarşı antibakterial fəallıq nümayiş etdirən 64 bakteriya ştami seçilmişdir. Supernatantın skriningdən sonra 14 ştam "ən perspektivli izolyatlar" kimi hesab edilmiş və onların identifikasiyası 16S rRNA geninin sekvensi vasitəsilə həyata keçirilmişdir. 16S rRNA geninin ardıcılığı ilə müəyyən edilən izolyatların yeniliyini və geniş antibakterial aktivliyini nəzərə alaraq, yeni potensial molekul istehsal edən ən perspektivli namizəd kimi *Bacillus vallismortis* AZ-130 ştami seçilmişdir.

Antibakterial fəallığa malik AZ-130 ştamının supernatantı (SN), tərkibində 0,1% TFA olan 40% asetonitril (ACN) ilə ekstraksiya edilmişdir. Triptik soya suyu (Tryptic Soy Broth (TSB)) nəzarət kimi ekstraksiya olunmuşdur. SN-lərin üzvi həll olan fazası yeni sınaq şüşəsinə keçirilmiş və FreeZone 4.5 Liter – 105°C Benchtop Freeze Dryer-in istifadəsi ilə liofilizasiya edilmişdir. Liofilizasiya edilmiş üzvi həll olan faza tərkibində 0,1% TFA (w/v) olan 150 µl 95% H₂O/5% ACN məhlulunda resuspenziya edildikdən sonra sentrifüqa olunmuş, SN toplanaraq təmizlənmiş və müvafiq protokola uyğun olaraq Yüksək Effektivli Maye Xromatoqrafiyası (YEMX) vasitəsilə analiz edilmişdir. YEMX sütununa yüklənmiş material *S.aureus* ATCC 29213-ə qarşı 14 mm fəallıq göstərmişdir. AZ-130 ştamının SN-inin üzvi həll olan fazasından toplanmış yalnız iki YEMX fraksiya *S. aureus* ATCC 29213-ə qarşı fəallıq nümayiş etdirmişdir: fraksiya 13 – çox zəif, fraksiya 14 – 5 mm. Nəzarət variantının yüklənmiş materialında və toplanmış fraksiyalarında fəallıq müşahidə edilməmişdir. Bu mərhələ 5 dəfə həyata keçirilmişdir. Beş YEMX-dən alınmış bütün fəal 8 fraksiya birləşdirilmiş, liofilizasiya və resuspenziya edilərək, YEMX vasitəsilə yenidən analiz olunmuşdur.

Sütuna yüklənmiş material *S.aureus* ATCC 29213-ə qarşı 11 mm fəallığa malik olmuşdur. Saxlama müddəti 12,666 dəqiqə olan pikə düşən 14-cü fraksiya 5 mm/natamam fəallıq göstərmişdir. Qismən təmizlənmiş material (fraksiya 14) liofilizasiya olunmuş, distillə H₂O-da resuspenziya edilmiş və AZ-130 molekulunun strukturu haqqında qismən məlumat əldə etmək məqsədilə Delaver Universitetinin Kimya fakültəsinə Matrislə fəallaşan lazer desorbsiya/ionlaşdırılma (MALDI) analizinə göndərilmişdir.