

Tiedekunta/Osasto – Fakultet/Sektion – Faculty Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta		Laitos – Institution – Department Biotieteiden laitos
Tekijä – Författare – Author Reetta Satokari		
Tvön nimi – Arbetets titel – Title Olutkontaminanttien osoittaminen PCR-tekniikalla		
Oppiaine – Läroämne – Subject yleinen mikrobiologia		
Tvön laii – Arbetets art – Level pro gradu -tutkielma	Aika – Datum – Month and year heinäkuu 1996	Sivumäärä – Sidoantal– Number of pages 68
Tiivistelmä – Referat – Abstract		
<p>Oluessa esiintyy laatuvirheitä aiheuttavina kontaminanteina sekä eri <i>Lactobacillus</i>-lajeja (<i>L.brevis</i>, <i>L.lindneri</i>) että anaerobisia <i>Pectinatus</i>- ja <i>Megasphaera</i>-sukujen bakteereja. Laktobasillit lähinnä samentavat olutta, kun taas anaerobit pilaajat aiheuttavat voimakkaan samentumisen lisäksi makuvirheitä ja epämiellyttävän hajuisia aineenvaihduntatuotteita. Nämä kontaminantit tulisi pystyä havaitsemaan nopeasti ja hyvin pienissä pitoisuuksissa. Työssä selvitettiin PCR-tekniikan soveltuvuutta tähän tarkoitukseen.</p> <p>Monistettavaksi DNA-alueeksi bakteerien genomissa valittiin 16S rDNA. Työssä suunniteltiin spesifiset alukkeet <i>M.cerevisiae</i>-lajille ja <i>Pectinatus</i>-suvulle sekä varmistettiin näiden alukkeiden toimivuus puhdasviljelmistä eristetyllä DNA:lla. Myös kirjallisuudessa esitettyjen <i>L.brevis</i>- ja <i>L.lindneri</i>-spesifisten alukkeiden toimivuus varmistettiin. Työssä kokeiltiin myös kaksivaiheista PCR-menetelmää, jossa 16S rDNA rikastetaan ensin käyttämällä yleisalukkeita, ja vasta tämän jälkeen käytetään spesifisiä alukkeita lajityypillisen signaalin aikaansaamiseen. Lopuksi testattiin työssä kehitettyä menetelmää PCR-monistukseen soveltuvan bakteeri-DNA:n eristämiseksi oluesta.</p> <p>Sekä tässä työssä suunnitellut että kirjallisuudessa esitetyt suku- ja lajispesifiset alukkeet osoitettiin spesifisiksi ja näin ollen soveltuviksi kyseisten bakteerien tunnistamiseen. Kaksivaiheisessa PCR:ssa myös muista kuin kohdebakteereista monistui hieman oikean kokoista tuotetta toisessa vaiheessa. Mahdollisten väärin positiivisten tulosten vuoksi kaksivaiheista PCR-menetelmää näillä alukkeilla ei käytetty olutkontaminanttien osoittamiseen. Työssä kehitetty menetelmä bakteeri-DNA:n eristämiseksi oluesta osoittautui toimivaksi, ja kaikki kohdebakteerit pystyttiin osoittamaan oluesta PCR-tekniikalla. Menetelmän herkkyys oli <10 laktobasillia, ~20 <i>Pectinatus</i>-bakteeria ja ~200 <i>Megasphaera</i>-bakteeria ml:ssa olutta. Osoittamisaika oli 10 tuntia.</p> <p>Menetelmä ei ole vielä tarpeeksi herkkä bakteerien osoittamiseksi oluesta hyvin pienissä pitoisuuksissa (<10 bakteeria/pullo). Menetelmän herkkyyttä voidaan parantaa optimoimalla PCR-reaktiot paremmin ja kehittämällä edelleen menetelmää DNA:n eristämiseksi oluesta. Yksinkertaisemman, paremmin rutiinikäyttöön soveltuvan DNA:n eristysmenetelmän kehittäminen on myös tarpeen. Lyhyen rikastuskasvatuksen yhdistäminen PCR-menetelmään parantaisi herkkyyttä ja varmistaisi, että menetelmä perustuu elävien bakteerien osoittamiseen.</p>		
Avainsanat – Nyckelord – Keywords olutkontaminantti, PCR, 16S rDNA		
Säilytyspaikka – Förvaringsställe – Where deposited Yleisen mikrobiologian osaston kirjasto		
Muita tietoja – Övriga uppgifter – Additional information Työ on tehty VTT:n Bio- ja Elintarviketekniikan osastolla. Ohjaajat dos. Atte von Wright ja dos. Auli Haikara		