

Élesztőgomba izolátumok azonosítása

A szakdolgozatom célja a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Élelmiszer-biotechnológiai Kutatócsoportjának törzsgyűjteményéből rendelkezésemre bocsájtott élesztőgomba izolátumok faj szintű azonosítása volt. A vizsgálatokat a kutatócsoport Budapest, II. kerületi laboratóriumában végeztem.

Az azonosításhoz klasszikus, és molekuláris mikrobiológiai módszerekkel végeztem kísérleteket. Feladataim során 30 mintával dolgoztam. Első lépésként Petri-csészén szélesztettem táplevesben szuszpendált mintákat, majd 3 napig inkubáltam szobahőmérsékleten. A telepek döntő többsége hasonló, fehér, sima, kör alakú volt, 3 darab minta pedig lazac-rózsaszín, krémes állagú telepet alkotott. Volt három minta, amely nem alkotott telepeket, így ezekkel nem dolgoztam tovább. Ezután Bürker-kamra segítségével kiszámítottam az élesztőgombák telep képző egységet milliliterenként (TKE/ml). A DNS izolálást két Kittel végeztem el, az egyik a Lucigen cég által forgalmazott MasterPure Yeast DNA Purification Kit, amit élesztő, és más gombákhoz ajánl a gyártó, a másik pedig a Qiagen cég DNeasy Ultraclean Microbial Kit-je, amit a gombák mellett baktériumokhoz és egyéb mikroorganizmusokhoz is lehet használni. A gyártói protokoll alapján elvégeztem a nukleinsav kivonást, sikerességüket pedig NanoDrop spektrofotométer segítségével vizsgáltam 230-280 nm hullámhossz tartományban. Az eredmények egyértelműen azt mutatták, hogy a MasterPure Yeast DNA Kit nagyobb hatékonysággal működik az élesztőgombáknál, mint a Qiagen terméke, mivel nagyobb DNS koncentrációt mértem.

Ezt követően rep-PCR és ITS-PCR következett, mely során a DNS-ben található természetesen ismétlődő szekvenciákat amplifikáltam, univerzális primereket (a rep-PCR esetében a (GTG)₅, az ITS-PCR esetében az (ITS1 és ITS4) A lánchosszabbítás sikerességét agaróz gélelektroforézissel ellenőriztem. A kapott mintázatokat UV fény alatt detektáltam, majd hasonlóság alapján csoportokba rendeztem. A két DNS kivonó kit rep-PCR mintázata az összes minta esetében azonos mintázatot adott. A költséghatékonyság végett csoportonként 1-1 mintát küldtem a Baseclear nevű cégnek, ahol elvégezték a DNS szekvenálást. Az így kapott szekvenciákat a MEGA11 nevű illesztőprogram segítségével elemeztem, majd a kapott

szekvenciákat az interneten keresztül ingyenesen elérhető YeastIP biológiai adatbankjában tárolt DNS szekvenciákkal összehasonlítottam. Minden minta esetében kielégítő eredményt kaptam, így egyértelműen be tudtam azonosítani a 27 darab élesztőgombát.

Összesen tizennégy élesztőfajt azonosítottam: *Botryozyma mucatilis*, *Candida oregonensis*, *Debaryomyces hansenii*, *Diutina catenulata*, *Diutina pseudorugosa*, *Kazachstania bulderi*, *Kluyveromyces marxianus*, *Kregervanrija fluxuum*, *Pichia fermentans*, *Pichia kluyveri*, *Pichia kudriavzevii*, *Pichia manshurica*, *Saccharomyces cerevisiae* és *Torulaspora delbrueckii*. Az azonosított élesztőgombák a későbbiekben felhasználhatók egyéb vizsgálatokra.

Holló Bálint Összetoglaló