

## Pealkiri: Laboratoorne evolutsioon piimhappebakteritega

Autor: Reimo Priidik

Juhendajad: Taaniel Jakobson, Ranno Nahku

Instituut: Keemia ja biotehnoloogia instituut

Kaitsmiskuupäev: 07.06.2018

### Kokkuvõte

Toiduainetööstuses kasutatakse piimhappebaktereid laialdaselt. Piimhappebakteritega saab toota erinevaid kääritatud juurvilju, liha- ja piimatooteid. Piimatööstuses kasutatakse *Lactococcus lactis* hapupiima, juustu ja kohupiima juuretisena. Piima kääritamine *Lactococcus lactis*ega suurendab happesust, tekitab laktaati ja lõhub kaseiini, mille tulemusena muutuvad lõpptoote tekstuur-, maitse-, aroomiomadused ning pikeneb säilivusaeg. Adaptiivne laboratoorne evolutsioon on plastiline uute ja paremate bakteritüvede loomise meetod, mille käigus kultiveeritakse mikroobe kontrollitud keskkonnatingimustes korduvalt. Korduvkultiveerimine tekitab bakteripopulatsioonidele fenotüüpi, ja genotüüpilisi pudelikaelu, mis suunavad mikroobi antud keskkonnatingimustes arenema. Taoliselt viisil arendatud tüvesid ei peeta geneetiliselt muundatud organismideks ning seetõttu saab neid ka toidutööstuses kasutada. Arendatud piimhappebakterite tüved, mis kasvavad piimas looduslikest bakteritüvedest kiiremini, hapendavad piima kiiremini või toodavad rohkem biomassi, võivad potentsiaalselt tööstuslikke tootmiskulusid alla tuua. Seetõttu on toidutööstus taolistest tüvedest huvitatud. Antud töö eesmärgiks oli arendada tööstuslikke *Lactococcus lactis* tüvesid läbi laboratoorse evolutsiooni paremateks piimas kasvajateks ning otsida ühiseid mutatsioone arendatud bakteritüvedes.

Töö käigus viidi läbi evolutsioonikatse, mikrokalorimeetia ja mikrotiiter plaadi *batch* analüüsid arenenud tüvede uurimiseks, PCR ja geelelektroforeesi katsed proteolüütilise plasmidi tuvastamiseks, bioreaktori *batch* katsed tööstusliku tootmise simuleerimiseks ning arenenud tüvede mutatsioonianalüüs.

Lõputöös tehti 25 iseseisvat evolutsiooni katset nelja erineva Duponti Globaalse Kultuuri Kollektisooni (DGCC) tüvega. Eelmainitud tüvedeks olid *Lactococcus lactis* alamtüvi *cremoris* DGCC6024, *Lactococcus lactis* alamtüvi *lactis* DGCC11497, *Lactococcus lactis* alamtüvi *lactis* DGCC6922 ja *Lactococcus lactis* alamtüvi *lactis* DGCC2631. Evolutsioonikatsed kestsid 420-895 generatsiooni. Kõik kümme *Lactococcus lactis* DGCC2631 evolutsioonitüve kasvasid steriilses pulbripiimas metsikust tüvest pool tundi kiiremini. Neli *Lactococcus lactis* DGCC11497 evolutsioonitüve viiest kasvasid steriilses pulbripiimas metsikust tüvest pool tundi kiiremini. Kolm *Lactococcus lactis* DGCC6024 evolutsioonitüve viiest kasvasid poepiimas metsikust tüvest poolteist tundi kiiremini. *Lactococcus lactis* DGCC6922 evolutsioonitüvedes nähti osalist proteolüütilise plasmidi kadu, mis inhibeeris kaseiini degradatsiooniga seotud teist kasvufaasi.