

Töö pealkiri: DNA-põhine meetod taimsete allergeenide määramiseks toiduainetes

Autor: Jekaterina Losseva

Juhendaja: Olga Bragina, PhD, TTÜ; Svetlana Sergejeva, MD, PhD, TÜTI

Kaasjuhendaja: Lilian Järvekülg, PhD, TTÜ

Instituut: geenitehnoloogia instituut

Toiduallergia, mille esinemissagedus on kogu maailmas viimasel 10–20 aastal märgatavalt tõusnud, on muutunud tõsiseks terviseprobleemiks. Tänapäeval teadaolevaist ravimeetodeist kõige efektiivsem on ägedaid ülitundlikkusreaktsioone põhjustavate allergeenide vältimine. Seda peaks hõlbustama Euroopa Liidu nõue tõsta toidukaupade märgistamisel teiste koostisainete hulgast esile neliteist toiduainet, mille suhtes võib tekkida ülitundlikkusreaktsioon. Siit tuleneb vajadus spetsiifiliste tundlike detekteerimismeetodite järele.

Peamised eesmärgid selles uuringus olid 1) leida erinevatest toiduainetest taimse DNA eraldamise tõhusaim meetod; 2) luua teatud taimede DNA raamatukogu; 3) anda hinnang projekti Allergofood raames konstrueeritud liigispetsiifilistele praimeritele ning 4) määrata liigispetsiifiliste praimerite tundlikkus.

Käesoleva uuringu põhjal osutus kõige tõhusamaks toiduainetest DNA ekstraheerimise meetodiks CTAB sadestamise meetod, mis näitas 100% efektiivsust DNA amplifitseerimisel. Teatud taimede DNA raamatukogu loomiseks kasutati komplekti DNeasy Plant Mini Kit, kui ekstraheerimine toimus lehekoest. Pähklite jaoks rakendati parima saagise saamiseks sama komplekti modifitseeritud. Töötati välja PCR-põhine meetod allergeensete toiduainete määramiseks. Suurendamaks meetodi spetsiifilisust ja tundlikkust, võeti kasutusele Touchdown PCR. Enamik liigispetsiifilisi praimereid näitasid kõrget spetsiifilisust. Need praimerid olid konstrueeritud järgmiste toiduainete jaoks: sarapuupähkel, pistaatsia, mandel, India ja Brasiilia pähkel, soja, seesam, lupiin, nisu, oder ja kaer.

Uurimistöõ tulemusena töötati välja DNA ekstraheerimise meetodid toiduproduktidest ja optimeeriti neid DNA raamatukogu loomiseks toormaterjalidest. Töötati välja PCR-meetod mõningate allergeenide määramiseks. Kõik need meetodid leiavad edaspidist rakendamist Allergofood projektis, mille eesmärgiks on välja töötada tänapäevased biotehnoloogilised meetodid allergeenide määramiseks töödeldud toiduproduktides. Pikemas perspektiivis selliste meetodite kasutusele võtmine toiduainete tööstuses annab võimaluse potentsiaalsete allergeenide korrektseks märgistamiseks toiduproduktides, mis omakorda tõstab tarbija kindlustunnet.