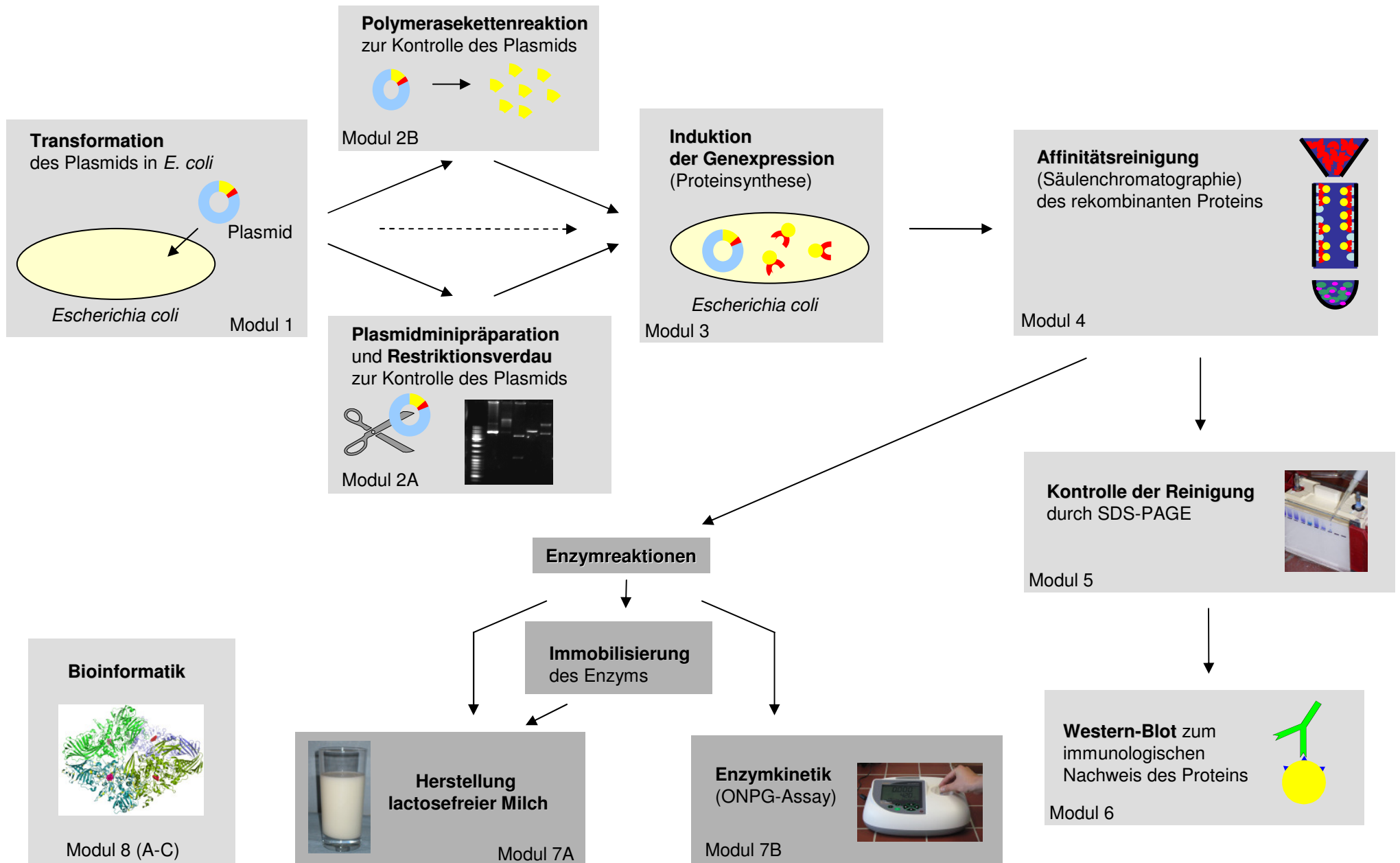


# Vom Plasmid zum biotechnologischen Endprodukt – Beispiel $\beta$ -Galactosidase



## Transformation

- Klonierung (theoretisch)
- Herstellung gentechnisch veränderter Organismen
- Das Bakterium *Escherichia coli*
- (kompetente Zellen)

## Induktion der Genexpression

- Genregulation (lac-Operon)
- Proteinbiosynthese

## Affinitätsreinigung rekombinanter Proteine

- Zellaufschluss
- Reinigung der rekombinanten  $\beta$ -Galactosidase mittels Affinitätschromatographie
- rekombinante Proteine und deren Anwendung

## Plasmidminipräparation mit Restriktionsverdau

- Isolation von Plasmid-DNA aus *E. coli*
- Schneiden des Plasmids mit Restriktionsenzymen
- Agarosegelelektrophorese
- Erstellung einer Plasmidkarte
- Plasmide als gentechnische Werkzeuge

oder

## Polymerasekettenreaktion (PCR)

zur Kontrolle des Plasmids

- PCR in der Wissenschaft
- Agarosegelelektrophorese
- Plasmide

## Bioinformatik

- freie Datenbanken und Programme im Internet
- Modellieren von Kristallstrukturen (z.B.  $\beta$ -Galactosidase)
- aktives Zentrum
- Sekundär-, Tertiär-, Quartärstruktur von Proteinen
- Vergleichen von Aminosäuresequenzen (Alignment)
- Translation
- Modellvorstellungen und Realität
- Primerdesign
- Datenbankrecherchen
- Literatursuche

## SDS – Polacrylamidgelelektrophorese (SDS-PAGE)

- elektrophoretische Trennung von Proteinen
- Proteinstruktur

## Herstellung lactosefreier Milch

- Enzymkatalyse
- Substratspezifität
- Aufbau von Kohlenhydraten (Lactose)
- Stoffwechsel: Lactoseintoleranz
- Milchwirtschaft
- großtechnische Herstellung
- Immobilisierung von Enzymen
- Gentechnik in der Lebensmittelherstellung (Ethik)

und/oder

## Enzymkinetik (ONPG-Assay)

- Geschwindigkeit von Enzymreaktionen
- photometrische Messungen
- Michaelis-Menten-Kinetik
- (Kooperativität/ allosterische Regulation)
- (kompetitive Hemmung)

## Western-Blot

- Aufbau eines Antikörpers
- Antigen-Antikörper-Reaktion
- Western-, Northern-, Southern-Blot

Modulübergreifende Themen:

- Biotechnologie früher und heute
- Methoden der Molekularbiologie