

Teilnehmerin: Miranda Eisenköck

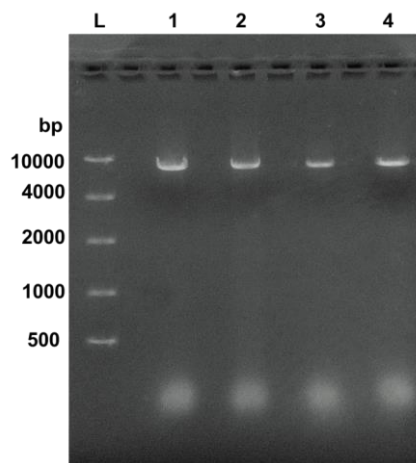
Herstellung und Kontrolle von mutierten Formen des Enzyms PcPAL



Betreuer: DI Dr. Harald Baumgartner
Prof. Dr. Ing. Florin Dan Irimie
Asist. Drd. Filip Alina
Univerität: Babeş-Bolyai-Universität Cluj

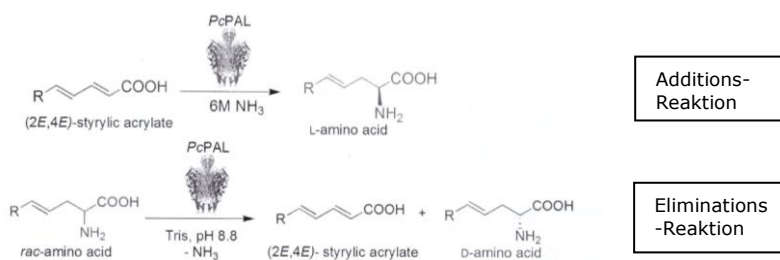
Zusammenfassung:

Diese Diplomarbeit behandelt die Mutation, also den PCR-Prozess inklusive Vorbereitung eines Plasmids. Außerdem werden die Isolierung und die Transformation des Plasmids beschrieben. Grundsätzlich betrachtet diese Arbeit die Themen immer sowohl von theoretischer als auch von praktischer Seite. Darüber hinaus wird die Vermehrung der Bakterien *E. coli*, in die das besagte Plasmid eingesetzt worden ist, beschrieben. Dabei werden auch die Up-Scale-Schritte behandelt. Danach werden die Bakterien gesammelt und zerstört und die Enzyme gewonnen. Anschließend wird die Testung der Eigenschaften der Enzyme behandelt. Hierbei wird auf die Überprüfung der Thermostabilität, der Reaktivität, der Konzentration und der Reinheit wertgelegt.



L-DNA Marker
1-PCR Produkt von PcPAL F137V
2-PCR Produkt von PcPAL F137A
3-PCR Produkt von PcPAL F137V/I460V
4-PCR Produkt von PcPAL F137A/I460V

Das Gel zeigt die mutierten Formen der DNA von PcPAL nach dem PCR-Prozess. Dies dient zur Kontrolle, ob die Mutation erfolgreich gewesen ist.



Das Enzym katalysiert im Allgemeinen die Additions- bzw. Eliminierung-Reaktion eines Acrylats zu einer Aminosäure bzw. umgekehrt.

Die Ausbeute und die Geschwindigkeit der Reaktion sind stark vom reaktiven Bereich des Enzyms abhängig. Es kann also bei den verschiedenen Mutationen des Enzyms ein signifikanter Unterschied festgestellt werden.