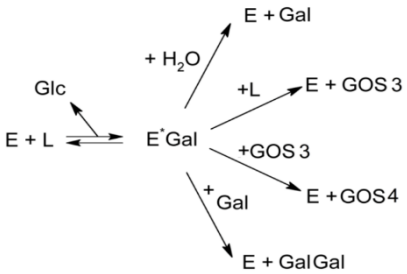
HOCHSCHULE OFFENBURG

Forschungsmaster Applied Research

PICEA BIOSOLUTIONS

Rekombinante Expression von *β*-Galaktosidasen in *Bacillus subtilis* zur Herstellung von Galactooligosacchariden



Lactose hat einen Anteil von 4,1 bis 4,9 % in der Milch und zeichnet sich im Vergleich zu Saccharose durch eine vergleichsweise geringe Süßkraft aus. Diese Charakteristika machen die *in-situ*-Umwandlung von Lactose in Galactooligosaccharide (GOS), besonders in Lebensmitteln, äußerst interessant. Im Rahmen dieses Projekts liegt der Fokus auf der Expression neuartiger Beta-Galaktosidasen (*β*-Gal) in *Bacillus subtilis*, gefolgt von einer detaillierten biochemischen Charakterisierung. Die Anwendung dieser Enzyme zur gezielten Synthese von GOS unter erhöhten Konzentrationen wird umfassend evaluiert.

Ein besonderer Fokus in diesem Projekt liegt auf der Effizienzsteigerung der Transgalactosylierung von Galaktose. Dies soll durch eine schrittweise Verkürzung der C- und N-terminalen Bereiche der Beta-Galaktosidasen erreicht werden. Diese gezielte Modifikation der Enzymstruktur zielt darauf ab, die Umwandlung von Lactose in Galactooligosaccharide (GOS) zu optimieren. Die Analyse der produzierten GOS erfolgt dabei mittels fortschrittlicher Methoden wie Flüssigchromatographie und Gaschromatographie in Kombination mit geeigneten Detektoren.

Eine Option auf eine Anstellung als Werkstudent (bis zu 20 h / Woche) besteht.

Betreuer	**Beteiligte Institute und Firmen**
• Prof.in Dr. Melanie Broszat • melanie.broszat@hs-offenburg.de	Das Projekt wird in Kooperation mit der **Picea Biosolutions GmbH** durchgeführt.
Ziele des Projekts	**Diese Werkzeuge/Qualifikationen werden erlernt**
• Rekombinante Expression von *β*-Gal in Bacillus subtilis • Biochemische Charakterisierung der *β*-Gal und Anwendung zur Herstellung von GOS-Syrup sowie zur Zuckerrreduktion in Lebensmitteln • Etablierung von chromatographischen Methoden zur GOS-Analytik	• *In-silico* Plasmiddesign und Planung von Expressionstrategien mit Genious Prime • Rekombinante Proteinexpression und Protease-knock-out in *Bacillus subtilis* • Biochemische Charakterisierung von Enzymen • Applikation von Enzymen unter Realbedingungen • Abschätzung der Produktionskosten des *Lead Candidates* • Erlernen neuartigen analytischer Methoden • Bioreaktorkultivierung von *Bacillus subtilis* • Kommunikation und Diskussion von Ergebnissen (auch mit Industriepartnern)

Literaturempfehlungen

Füreder, V., et al., (2021). Selective Synthesis of Galactooligosaccharides Containing β (1→3) Linkages with β-Galactosidase from Bifidobacterium bifidum (Saphera). *J. Agric. Food Chem.* 2020, 68, 17, 4930–4938