

Aachen, August 2019

Abschlussarbeit / Forschungspraktikum

Gelenkte Evolution einer Decarboxylase

Hintergrund:

Gelenkte Evolution ermöglicht es uns Enzyme für industrielle Anforderungen maßzuschneidern und wurde 2018 mit dem Chemienobelpreis ausgezeichnet. Dazu werden Varianten eines Enzyms generiert und die besten Varianten wiederum als Ausgangsvarianten für die nächste Runde herangezogen, bis die gestellten Anforderungen erfüllt sind. Um möglichst viele Enzymvarianten in kurzer Zeit testen zu können, müssen High-throughput Screeningmethoden etabliert werden. Decarboxylasen sind industriell interessante Enzyme, die Carbonsäuren (z.B. aus nachwachsenden Rohstoffen) zu terminalen Alkenen umsetzen können. Leider existieren zurzeit keine High-throughput Screeningmethoden, um Decarboxylasen effizient mittels gelenkter Evolution verbessern zu können (z.B. hinsichtlich pH, Thermostabilität und Substratspezifität).

Ziel des Projekts:

Ziel dieses Projektes ist die Weiterentwicklung eines in unserer Arbeitsgruppe in den Grundzügen etablierten Screeningsystems für die Gelenkte Evolution einer Decarboxylase. Im Anschluss sollen Mutantenbibliotheken mittels Sättigungsmutagenese (semi-rationales Design basierend auf Kristallstrukturdaten) und mittels error-prone PCR generiert und im 96-well Maßstab auf die Umsetzung von kleinen aromatischen Carbonsäuren gescreent werden. Vielversprechende Enzymvarianten sollen anschließend im größeren Maßstab produziert und validiert werden.

Techniken, die du unter anderem anwenden wirst:

- Klonierung, error-prone-PCR, Sättigungsmutagenese, gezielte Mutagenese, Transformation
- Genexpression, Proteinaufreinigung mittels Affinitätschromatographie, SDS-PAGE
- Genexpression und High-throughput Screening im 96-Well-Mikrotiterplatten-Maßstab
- Analytik: z.B. Gaschromatographie, Gaschromatographie-gekoppelte Massenspektrometrie, photometrische Messungen (Absorptionsspektren und Fluoreszenzintensität)

Qualifikation:

- Sehr motivierte/r und zuverlässige/r Student/in im Studiengang Biotechnologie oder Biologie
- Grundlegende Erfahrung im Bereich Molekularbiologie und Proteinbiochemie
- Selbständige Laborarbeit (unter Betreuung) und zuverlässige Dokumentation der Arbeit

Zeitraum: ab September 2019 oder später

Kontakt: Ulrich Markel, MSc., neuer Sammelbau, Raum 4132; u.markel@biotec.rwth-aachen.de
Bitte einen Lebenslauf sowie Notenspiegel anhängen

Referenzen:

- C. Lu, F. Shen, S. Wang, Y. Wang, J. Liu, W.-J. Bai and X. Wang, ACS Catal., 2018, 8, 5794-5798.
- C. E. Wise, C. H. Hsieh, N. L. Poplin and T. M. Makris, ACS Catal., 2018, 8, 9342-9352.

