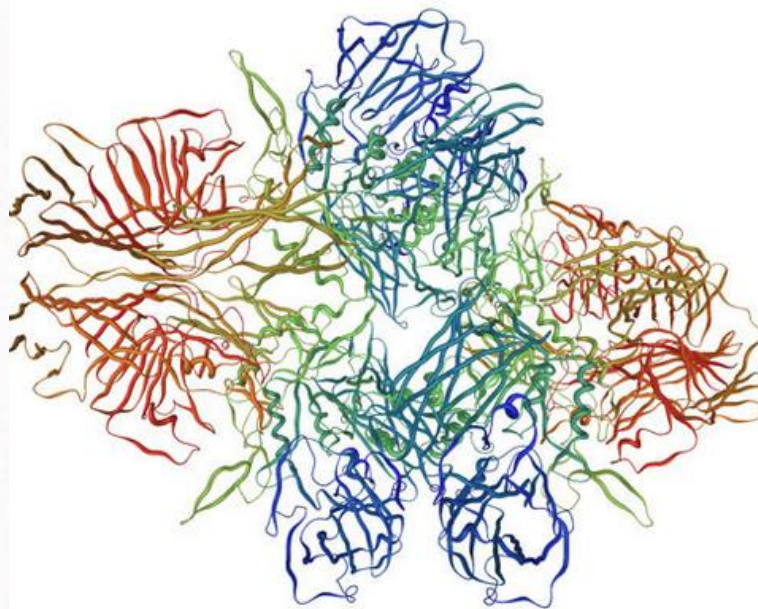


β -Galactosidase

Wissenschaftliche und industrielle Anwendung

Sandra Szyjka , Tanja Knipping



Wissenschaftliche Anwendung

- Blau-Weiß-Selektion
- ONPG-Test
- ELISA



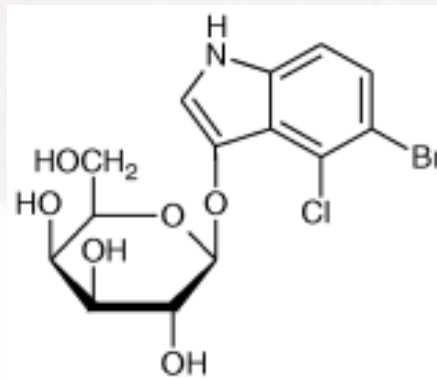
www.hzdr.de/db/Cms?pNid=1413



<http://www.iscattaneo.it/PROFESS/sito%20di%20chimica/ONPG.htm>

Substrat X-Gal

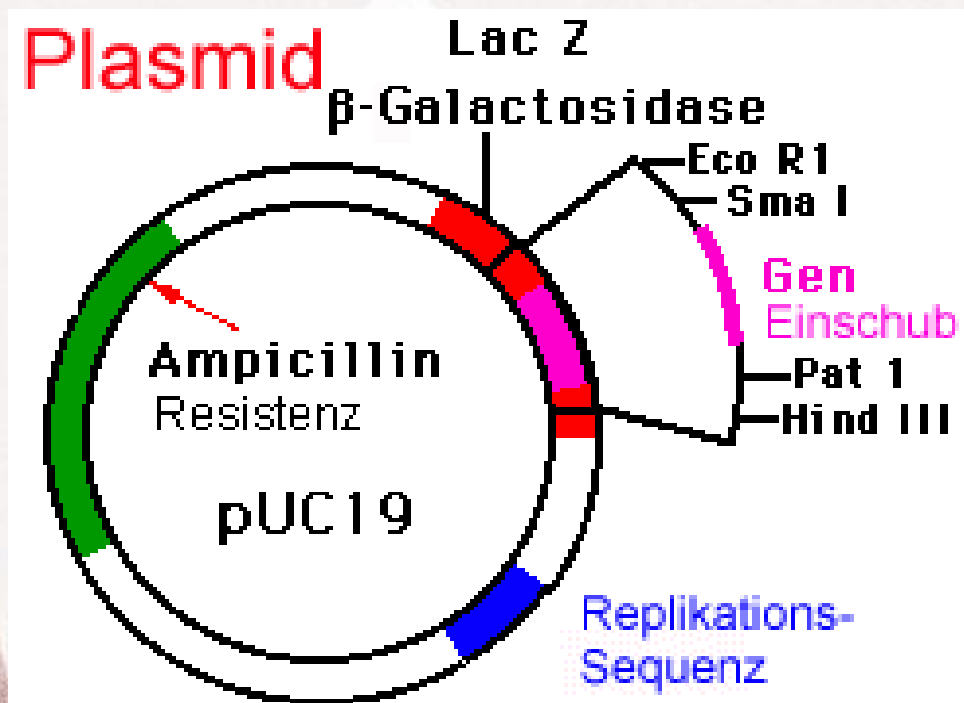
5-Brom-4-chlor-3-indolyl- β -D-galactosid



<http://www.nugi-zentrum.de/experimente/biochemie/beta-galaktosidase/einleitung.html>

Klonierungsvektor pUC19

- Plasmidvektor zur Klonierung und Expression von Proteinen in Bakterien
- um Zellen zu erkennen, die einen Plasmidring mit klonierter DNA enthalten (lacZ als Reportergen)





http://de.wikipedia.org/wiki/Datei:Transformation_mit_X-Gal.JPG

- klonierte DNA im Vektor vorhanden
→ farblose Kolonien (lacZ Gen inaktiv)
- keine klonierte DNA vorhanden
→ blaue Kolonien (lacZ Gen aktiv)

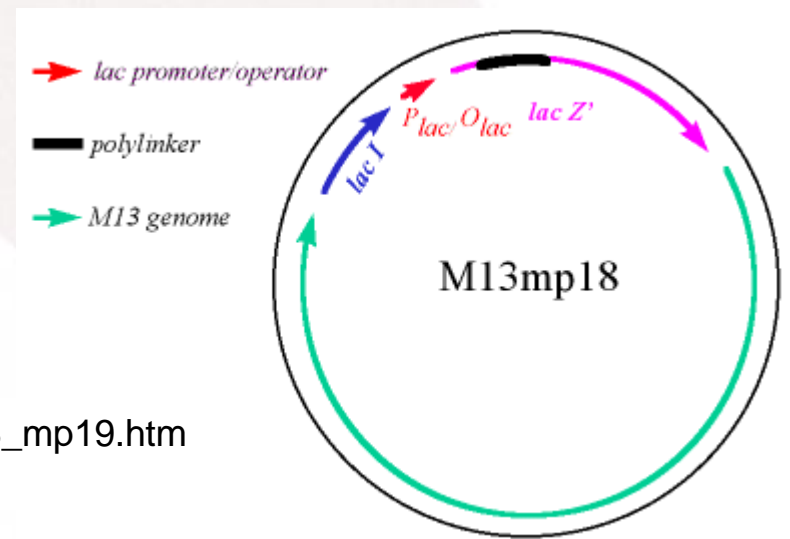
Blau-Weiß-Selektion

Bakteriophagen-Vektoren

- z.B. M13 mp18

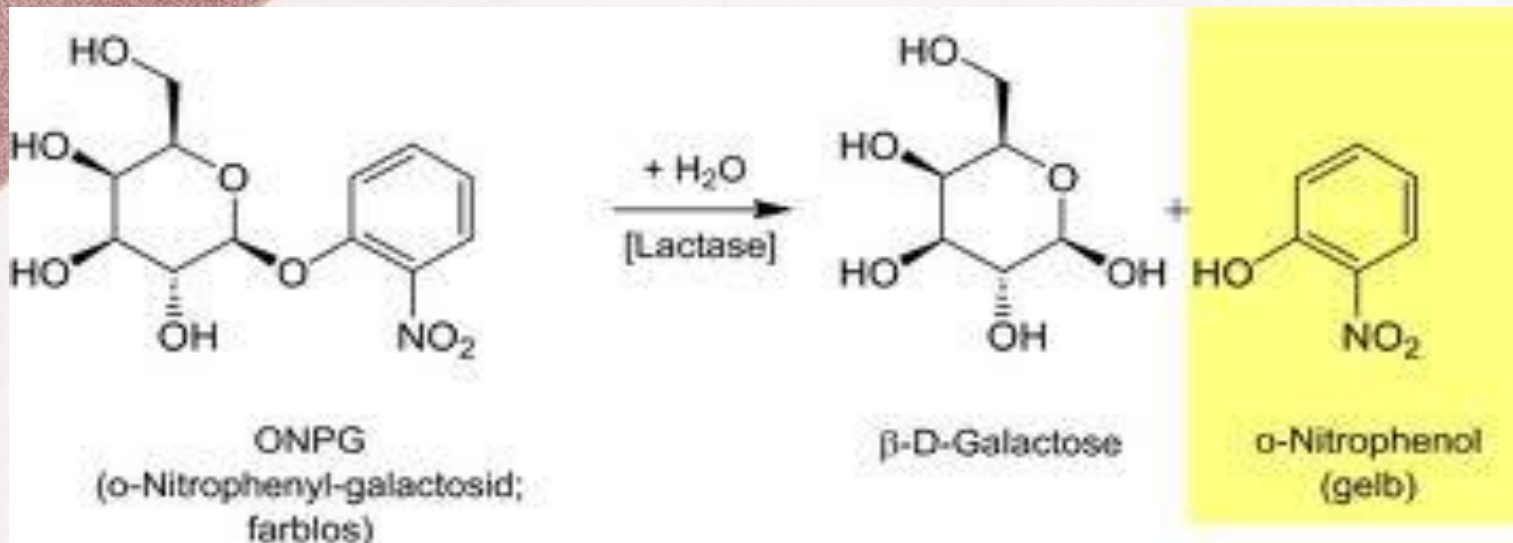
Einschleusen von Genen in Bakterien

- farblos: enthält klonierte DNA
- blau: enthält keine klonierte DNA
- Substrat X-Gal
im Medium



http://utminers.utep.edu/rwebb/html/m13mp18_mp19.htm

ONPG-Test



http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/5/bc/gentechnik/methoden.vlu/Page/vsc/de/ch/5/bc/gentechnik/methoden/expressionsanalyse/lacz_test/lacz_test.vscml.html

- Unterscheidung ob Bakterienart Lactose abbauen kann, oder nicht
- häufigste Anwendung Unterscheidung Citrobacter (+) und Salmonella (-)
- Identifikation einiger Shigella und Pseudomonas Arten

Qualitativer Nachweis

- Gelbfärbung : das Enzym β -Galactosidase ist vorhanden
→ Lactose kann abgebaut werden



vdm-roubaix.com

- Nachweis von coliformen Bakterien im Trinkwasser mit dem Colilert-System (Gelbfärbung)

Quantitativer Nachweis

- Spaltprodukt o-Nitrophenol (gelb) kann photometrisch quantifiziert werden
- Menge an o-Nitrophenol ist proportional zur Menge an gebildeter β -Galactosidase



http://www.uni-saarland.de/fak8/hartmann/ausstattung/Bilderklein/photometer_klein.jpg

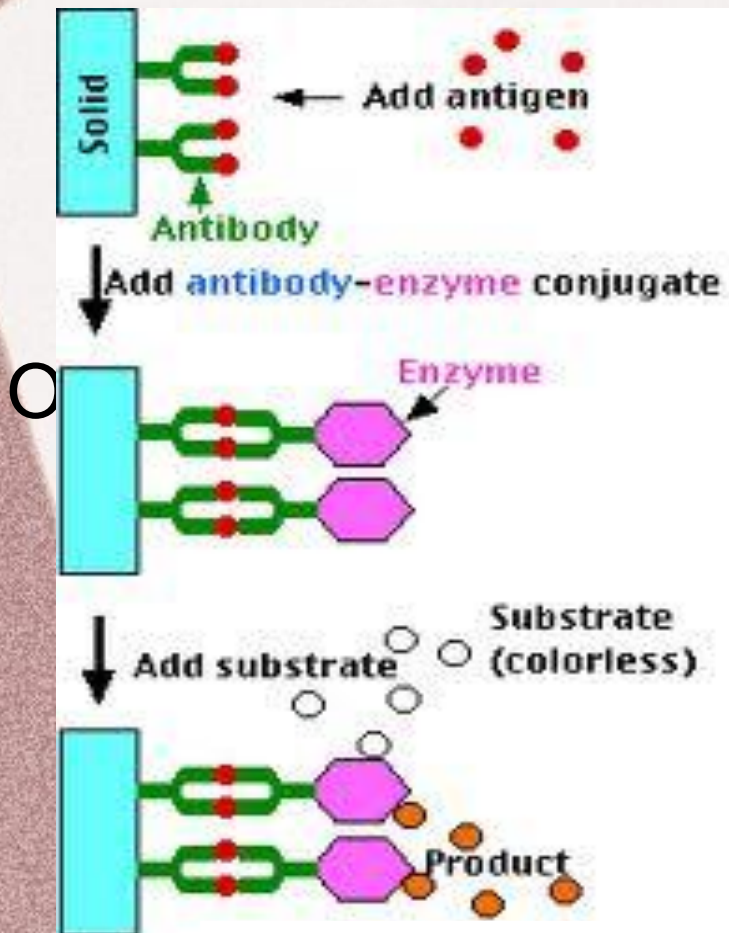
- Quantitativer Nachweis von Coliformen im Trinkwasser mit dem Quanti-Tray/2000



http://www.idexx.com/view/xhtml/en_us/water/quant-tray.jsf

ELISA-Test

- blaue bzw. gelbe Farbreaktion als Nachweis für Antigen-Antikörperreaktion



Enzym: β -Galactosidase
Substrat: X-Gal oder

Industrielle Anwendung

In der Lebensmittelindustrie:

- zur Steigerung der Süßkraft in Milchgetränken
→ Spaltung von Lactose in Glucose und Galactose
- Säurebildung bei der Joghurtherstellung
- Verleihung der cremigen Konsistenz von Eiscremes und Desserts
- Verbesserung der Konsistenz von Schokoladenerzeugnissen
- zur Produktion von Lactosesirup zur Herstellung von Backwaren

- zur Herstellung laktosefreier oder reduzierter Produkte (Laktose-Intoleranz)



www.ropapharm.de/scc.html

- zur Weiterverarbeitung der bei der Käseherstellung anfallenden Molke:

Umsetzung der Lactose der Molke in ein Gemisch aus Glukose und Galaktose

Dieses wird raffiniert und zu einem Sirup mit honigähnlichem Geschmack konzentriert (Anwendung in der industriellen Süßwarenherstellung als Milchzucker; Molkenerzeugnis)



Literaturverzeichnis

- http://www.biochemie.tu-darmstadt.de/Kolmar/fileadmin/user_upload/Grundvorlesung%20WS%2006/Skript_Beta-Gal.pdf
- <http://www.transgen.de/datenbank/enzyme/306.lactase.html>
- http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/5/bc/gentechnik/methoden.vlu/Page/vsc/de/ch/5/bc/gentechnik/methoden/expressionsanalyse/lacz_test/lacz_test.vscml.html
- http://www.roche.de/diagnostics/biochemica/bluegenes/grundl_exp.htm
- Skript Biochemie Prof. Siebers SS 2011
- Skript Mikrobiologie-Praktikum WS 10/11
- Brock Mikrobiologie