



27.03.2024

Ausschreibung für Masterarbeit: Integration eines Dual-Plasmid-Systems in *Lactococcus lactis* Starterkulturen

Beginn: Ende Mai / Anfang Juni 2024

Hintergrund: In unserer Arbeitsgruppe wird an der Herstellung von Mutanten von *Lactococcus lactis* Starterkulturstämmen geforscht. Diese Stämme sollen eine Mutation der zellwandständigen Proteinase PrtP, eines proteolytischen Enzyms, tragen. Es wird davon ausgegangen, dass PrtP zum Vorkommen von Bitterpeptiden in High-Protein-Produkten beiträgt. Diese Hypothese soll anhand von Mutanten überprüft werden. Ein Dual-Plasmid-System wurde bereits für einen *L. lactis* Laborstamm in der Literatur beschrieben. Hierbei handelt es sich um eine heterologe Rekombinase auf einem Plasmid, die mit einer CRISPR-Cas-Kassette auf einem anderen Plasmid kombiniert wird.

Vorhaben: Es sollen zwei Plasmide konstruiert werden, anhand des bereits beschriebenen Dual-Plasmid-Systems aus der Literatur. Dabei soll ein Plasmid die CRISPR-Cas9-Kassette sowie die *nisRK*-Gene tragen. Das andere Plasmid soll einen *PnisA*-Promotor, der über die *nisRK*-Gene und Nisin-Zusatz induziert wird, sowie ein Rekombinase-Gen tragen. Die beiden Plasmide sollen in *L. lactis* Starterkulturen eingebracht werden und die Transformationseffizienz beurteilt werden.

Methoden: Im Zeitraum der Masterarbeit werden klassischen molekularbiologische Methoden wie PCR, Gel-Elektrophorese, Restriktionsverdau und Plasmid-Isolierung angewendet. Des Weiteren sollen die Plasmide in *L. lactis* Starterkultur-Stämme durch Elektroporation eingebracht werden und die Effizienz anhand der durch CRISPR-Cas9 mutierten Klone ermittelt werden.

Interesse? Dann melde Dich bei Melina Piesch per Mail an melina.piesch@uni-hamburg.de