



**zh  
aw**

Life Sciences und  
Facility Management

ICBT Institut für  
Chemie und Biotechnologie

**Bachelorarbeiten**

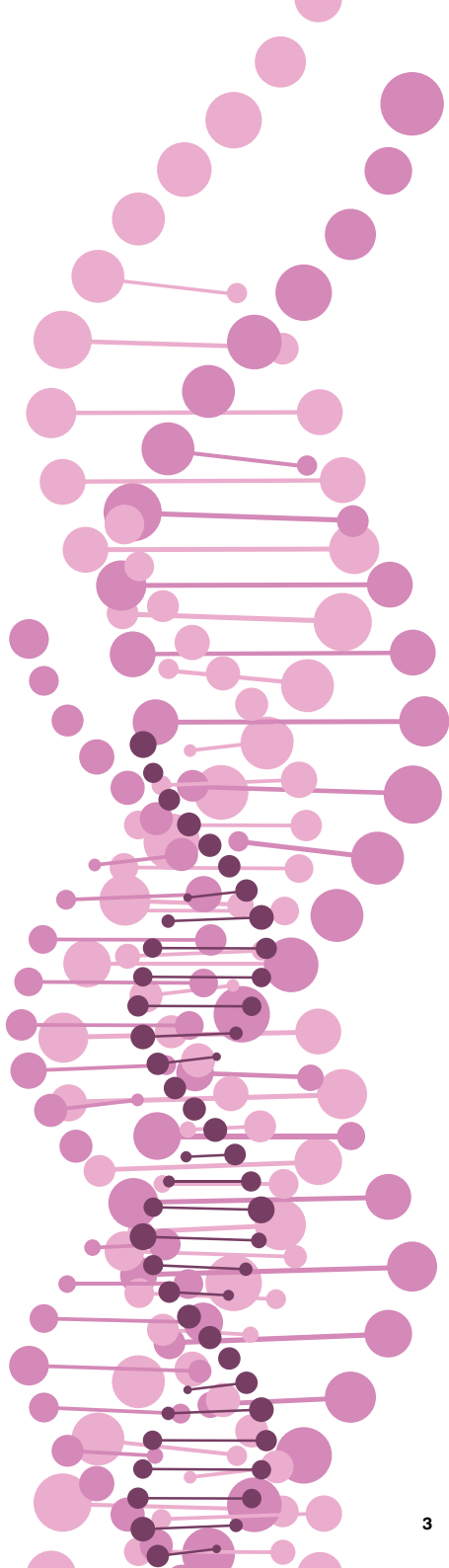
**2023**

**Biotechnologie**

# Inhaltsverzeichnis

<b>Vorwort</b>	<b>5</b>	Keshet Hegglin	30
<b>Die Diplomandinnen und Diplomanden</b>	<b>6</b>	Nicholas Ho	31
Adjoa Addai	6	Marco Hofmann	32
Judith Allemann	7	Jonas Hug	33
Brilanta Asllani	8	Sarah Kofmehl	34
Bruno Balmer	9	Dalija Krajinovic	35
Leonie Bannwart	10	Linda Kubli	36
Alexandra Birrer	11	Joshua Kuhn	37
Vanessa Blank	12	Stefanie Kuriger	38
Alina Braun	13	An-Ky Le	39
Simeon Brüttsch	14	Jennifer LeBow	40
Chris Arthur Bühler	15	Gianluca Marcuccio	41
Lorena Bundi	16	Jessica Martins Anes	42
Daniel Cardoso	17	Ricardo Matiz	43
Rose Cideciyan	18	Nadia Lavinia Matter	44
Agnesa Demiri	19	Fatos Miftari	45
Chiara Di Federico	20	Jelena Mitrovic	46
Sharon Dreier	21	Corina Müller	47
Sonja Drobniak	22	Isabelle Muralt	48
Cynthia Eichenberger	23	Katja Mutter	49
Andrea Fäh	24	Julia Nafzger	50
Géraldine Florin	25	Tilman Nelissen	51
Nathalie Fröhlich	26	Shovmiya Pathmanathan	52
Yvo Furrer	27	Till Portmann	53
Lynn Gasser	28	Sarah Reiss	54
Lisa Gmünder	29	Laura Sager	55
		Philip Schaub	56

Anja Schlager	57
Timo Schneider	58
Flora Shala	59
Bujar Sherifi	60
Dorotea Sipusic	61
Melissa Steiner	62
Alina Thoma	63
Thea Johanna Ulbrich	64
Lavaniya Vallipuram	65
Shajla Vukalic	66
<b>Institut für Chemie und Biotechnologie</b>	<b>69</b>
<b>Perspektiven: Master und Weiterbildung</b>	<b>71</b>
<b>Internationaler Austausch</b>	<b>72</b>
<b>Forschungsprojekt: Produktionen monoklonaler Antikörper</b>	<b>75</b>
<b>ALUMNI ZHAW</b>	<b>76</b>
<b>ZHAW LSFM</b>	<b>77</b>





Die Absolventinnen und Absolventen des Bachelorjahrgangs BT20

## Liebe Absolventinnen und Absolventen des BT20

Zu Ihrem soeben erhaltenen Diplom «Bachelor of Sciences ZHAW in Biotechnologie» unseren herzlichsten Glückwunsch! Drei ereignisreiche Ausbildungsjahre liegen hinter Ihnen – Sie haben sich das Diplom redlich verdient.

Im Jahr 2020, mitten in der Covid19-Pandemie, sind Sie in Ihr Wunsch-Studienfach Biotechnologie gestartet. Wer von Ihnen hätte gedacht, dass es gerade die Wissenschaft Ihres Studienfaches sein wird, welche die Entwicklung des so dringend benötigten Impfstoffs entscheidend vorantreiben wird.

Ihre Studiumstände waren mehr als aussergewöhnlich: Sie begannen im digitalen Homeoffice-Studium, mit kurzen Unterbrechungen für stark reglementierte Labor-Praktika. Sie haben an Ihrem Ziel festgehalten und sich in den ersten drei Semestern mit Hartnäckigkeit und viel Energie Ihre wissenschaftlichen Grundlagen angeeignet.

In der Mitte Ihres Studiums veränderten sich die Studien- und Lebensumstände wiederum. Und Sie haben sich erneut erfolgreich angepasst, denn:

«Das Problem mit jeder Anpassung an die Umstände ist nur, dass letztere sich mit der Zeit ändern».

So äusserte sich schon der österreichische Philosoph Paul Watzlawick (1921 bis 2007). Dank Ihres Durchhaltewillens haben Sie sich im zweiten Studienabschnitt Ihr vertieftes biotechnologisches Fachwissen angeeignet und Ihr Studium erfolgreich beendet.

Wir sind der Meinung, dass Sie für Ihren weiteren Lebens- und Karriereweg gut aufgestellt sind und wünschen Ihnen allseits gutes Gelingen.

Mit herzlichen Grüssen,



**Susanne Dombrowski**

Leiterin Studiengang Biotechnologie

# Der Effekt von Additiven auf die Dampfvorbehandlung von Lignocellulose, bewertet durch enzymatische Hydrolyse und Lignin-Acetylierung



Diplomandin

Adjoa Addai

Korrektoren ZHAW

Dr. Davide Di Francesco, Dr. Thomas Pielhop

Die Nutzung nachhaltiger Ressourcen in der modernen Industrie gewinnt zunehmend an Bedeutung. Eine vielversprechende Möglichkeit, nachhaltige Materialien herzustellen, besteht darin, Abfallprodukte aus der Landwirtschaft oder Forstwirtschaft zu nutzen. Dabei spielt das Biopolymer Lignin eine wichtige Rolle.

Obwohl Lignin das zweithäufigste Biopolymer auf der Erde ist, wird es bisher hauptsächlich als Brennstoff oder für niedrigwertige Anwendungen verwendet. Doch Lignin hat grosses Potenzial als Rohstoff für hochwertige Materialien. Lignin ist ein biologisches Makromolekül, das in pflanzlichen Zellwänden vorkommt und für die Verholzung verantwortlich ist. Es trägt wesentlich zur Festigkeit und Stabilität der Zellwände bei und kann aufgrund seiner Eigenschaften – darunter aromatische Ringe und funktionelle Gruppen – UV-Strahlung absorbieren.

Das Ziel dieser Arbeit bestand darin, den Effekt ausgewählter Zusatzstoffe auf die Dampfvorbehandlung von Lignocellulose zu untersuchen, und zwar in Bezug auf die enzymatische Hydrolyse der Cellulose und die Aufwertung des Lignins durch die Acetylierung. Mit diesen biotechnologischen und chemischen Methoden wird eine möglichst schonende Isolierung von Lignin angestrebt, um eine qualitativ hochwertige Ligninfraktion zu erhalten. Nach dem Dampfverfahren kann die enzymatische

Hydrolyse der Cellulose durch die Zugabe von Cellulasen erfolgen. Eine Möglichkeit zur Optimierung dieses Verfahrens besteht darin, Zusatzstoffe wie 2-Naphthol und Natrium-2-Naphthol-7-Sulfonat-Hydrat (NSH) einzusetzen, um den Aufschluss der Biomasse zu begünstigen.

Zur Bewertung des Effekts von Zusatzstoffen auf die Dampfvorbehandlung wurden unter anderem das säureunlösliche Lignin (acid-insoluble lignin, AIL) und das säurelösliche Lignin (acid-soluble lignin, ASL) bestimmt. Diese Parameter geben Auskunft darüber, wie erfolgreich die Vorbehandlung in der Isolierung von Lignin war. Um das AIL und ASL zu bestimmen, können verschiedene Messmethoden eingesetzt werden, wie zum Beispiel IR-Spektroskopie und UV/VIS-Spektroskopie. Die erfolgreiche Acetylierung wurde mittels NMR-Spektroskopie nachgewiesen.

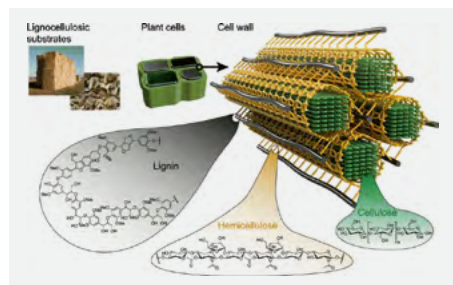


Abb. 1: 3D-Struktur von Lignocellulose. Bestandteile und Aufbau der Zellwände lignocellulosehaltiger Pflanzen. Die Zellwände lignocellulosehaltiger Pflanzen bestehen hauptsächlich aus Cellulose, Hemicellulose und Lignin.

# Integration von GFP in das RNA-Genom vom feline Calicivirus (vertraulich)



Diplomandin

Judith Allemann

Korrektoren ZHAW

Prof. Dr. Martin Sievers,  
Dipl.-Ing. (FH) Tobias Wermelinger

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

In Zukunft werden neuartige Viren eine zunehmend bedeutende Rolle spielen. Ihre gezielte Eindämmung während Pandemien, aber auch im Alltag – zum Beispiel in Spitälern – ist von grosser Wichtigkeit. Zur Bekämpfung von Viren können unterschiedliche Vorgehensweisen gewählt werden. Eine Möglichkeit ist der Einsatz von antiviralen Textilien, beispielsweise als Kleidung für Pflegende oder als Masken.

Die ISO-Norm 18184 legt Verfahren zur quantitativen Bestimmung der antiviralen Aktivität von Textilien fest. Für diese Verfahren werden spezifische Testviren eingesetzt, darunter auch das feline Calicivirus. Das Ziel dieses Projektes liegt darin, das Reporter-gen Turbo-GFP mit molekularbiologischen Methoden in das Genom des feline Calicivirus einzufügen, um die Auswertung von Plaque-Assays mittels CRFK-Zellen zu vereinfachen. Durch die Fluoreszenz kann die Detektion des Virus auf den zu testenden Textilien vereinfacht und beschleunigt werden. Das RNA-Genom vom feline Calicivirus ist 7681 Basen gross und wurde für die Klonierungsstrategie in verschiedene synthetische Abschnitte zerlegt, die dann einzeln in einen eukaryotischen Vektor ligiert werden.

Nach der Ligation der Virusfragmente wurde der Vektor mittels Transfektion in humane Zellen eingebracht. Die Expression des Reporter-gens Turbo-GFP konnte durch Fluoreszenzmikroskopie bestätigt werden.

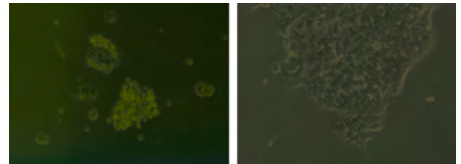


Abb. 1: Humane Zellen unter dem Fluoreszenzmikroskop, 3 Tage nach der Transfektion des Vektors mit Turbo-GFP. Links: Positivkontrolle mit dem transfizierten Vektor. Rechts: Negativkontrolle ohne transfizierten Vektor.

# Spinchem-Reaktor für Enzym Kaskaden (vertraulich)



Diplomandin

Brilanta Asllani

Korrektorinnen ZHAW

Dr. Christin Peters, Dr. Zrinka Raguz Nakic

Die Wichtigkeit der Biokatalyse hat in den letzten zwei Jahrzehnten enorm zugenommen: Sie ist eine etablierte Technologie in der chemischen Synthese und in der Produktion. In dieser Bachelorarbeit wurde eine Enzymkaskade mit immobilisierten Zellen in einem Festbettreaktor angewendet. Mithilfe von ganzelligen Biokatalysatoren wurde durch eine Enzymkaskade das Ausgangsprodukt Citral zu Melonol (2,6-Dimethylhept-5-en-1-ol) umgewandelt, welches dann ein teures, nach Melone riechendes Aroma darstellt.

Es wurde ein *E. coli* Stamm verwendet, der für die Expression der zur Synthese benötigten Enzyme verantwortlich ist. Die drei Enzyme, welche benötigt werden, sind eine Glukosedehydrogenase (GDH), eine Baeyer-Villinger-Monooxygenase (BVMO) und eine Ene-Reduktase Ppo-Er1. Um eine Anwendung in einem grösseren Massstab zu ermöglichen, wurden die Zellen in Alginate immobilisiert und in einem rotierenden Spinchem-Festbettreaktor eingesetzt, um eine Wiederverwendung zu ermöglichen.

In dieser Bachelorarbeit lag der Fokus darauf, die Melonolumsätze im Spinchem-Reaktor durch die Optimierung der Substratkonzentration, der Pufferlösung und der Temperatur zu erhöhen. Die Produktausbeute konnte stark gesteigert werden. Die Temperatur der Kultivierung und der Biokatalyse haben einen grossen Einfluss auf den Melonolumsatz.

Durch Untersuchungen mit Kultivierungs- und Biokatalysertemperaturen wurde festgestellt, dass eine Expressionstemperatur von 30 °C und eine Reaktionstemperatur von 25 °C zur höchsten Umsatzrate führen. Des Weiteren konnte durch Zugabe von 10 mM CaCl<sub>2</sub> in die Reaktionslösung das Auswaschen der Zellen aus der Alginate Matrix verringert werden. So konnten die Zellen besser in der Alginate Matrix fixiert werden.

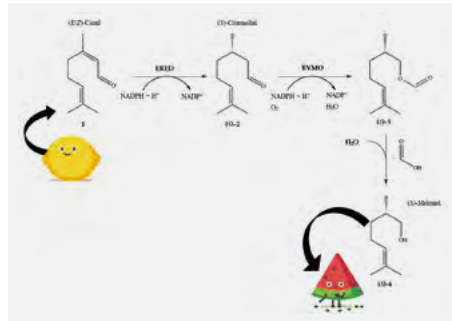


Abb. 1: Enzymkaskade von Citral zu Melonol.



# Automatisierte Workflows für eine effiziente Bioprozessoptimierung (vertraulich)



Diplomand

Bruno Balmer

Korrektoren ZHAW

Dr. Lukas Neutsch, Stefan Hauer

Die Hefe *Yarrowia lipolytica* ist ein relevanter Organismus für die biotechnologische Produktion von Fetten in der Lebensmittelindustrie. Um den Fettgehalt zu erhöhen, steht die Manipulation der zur Verfügung stehenden Nährstoffe im Vordergrund. Die wichtigsten sind Glukose und Stickstoff. Während Glukose alleine für die Bildung von Fetten ausreicht, werden für das Wachstum beide Stoffe benötigt. Jedoch sind die möglichen Kombinationen von Nährstoffverhältnissen und Zeitprofilen der Nährstoffzufuhr zahllos. Somit wären sehr viele Versuche nötig, um die optimale Kombination experimentell zu bestimmen.

Eine Ergänzung zu den aufwändigen Experimenten ist die Erstellung eines mathematischen Modells, welches unter anderem die Fettkonzentration voraussagen kann. Somit ist es möglich, die Anzahl der physischen Experimente zur Optimierung der Fettbildung stark zu reduzieren. Die manuelle Erstellung von qualitativ hochwertigen Modellen benötigt aber wiederum viel Zeit und Wissen. Die automatische Erstellung solcher Modelle ist daher ein aktueller Fokus in der Forschung.

In dieser Arbeit wurde eine Strategie entwickelt, um Experimente mittels Machine Learning zu planen und die Erstellung eines solchen Modells zu optimieren. Der durch Simulation modellierte Prozess wurde durchgeführt und die Nährstoffzufuhr basierend auf der ermittelten Strategie variiert. Es konnte gezeigt werden,

dass durch Machine Learning geplante Experimente und die daraus gewonnenen Daten die Erstellung eines besseren Modells ermöglichen im Vergleich zu einem Produktionsprozess. Das erstellte Modell konnte im Anschluss zur Überwachung des Fettgehalts während der Produktion im Labormassstab angewendet werden.

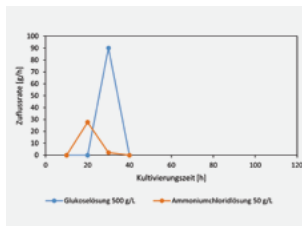


Abb. 1: Stickstoffzufuhr über Ammoniumchlorid und Glukosezufuhr in g/h in einem simulierten Prozess, der via Machine-Learning-Algorithmus bestimmt wurde.

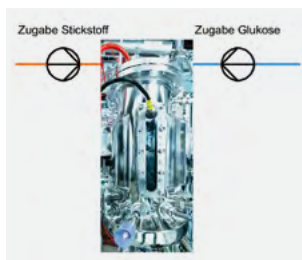


Abb. 2: Experimenteller Aufbau des Bioreaktors mit zwei Pumpen und zwei Nährstoff-Feeds.

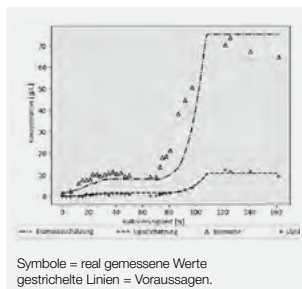


Abb. 3: Voraussage des Modells für die Fettkonzentration und die Biomassekonzentration (in Bezug auf Trockenzellgewicht) in einem Prozess.

# Untersuchung der Osmolalität und Ammoniumkonzentration für ein chemisch definiertes Medium für *Leishmania tarentolae* (vertraulich)



Diplomandin	Leonie Bannwart
Korrektor:in ZHAW	Dr. Iris Poggendorf, MSc Benjo Dutli
Korrektor extern	Dr. Dominique Sirena, GlycoEra Inc

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Firma GlycoEra durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

Bei der Bachelorarbeit ging es um die Optimierung eines chemisch definierten Mediums für *Leishmania tarentolae*. *Leishmania tarentolae* ist ein eukaryotischer Protozoenparasit, der nicht humanpathogen ist (BSL 1). Er ist einfach zu kultivieren und gilt als robuster Organismus, der in verschiedenen biotechnologischen Prozessen Anwendung findet.

Bei der Bachelorarbeit wurde auf die Osmolalität des Mediums eingegangen und es wurden verschiedene Ammoniumkonzentrationen getestet. In Vorstudien wurden bereits die optimalen Wachstumsbedingungen bei 300 mOsm/kg festgelegt. Nun wurde zusätzlich geprüft, wie sich die Osmolalität auf das Wachstum der Kultur und die Produktqualität auswirkt.

Anhand von aufgestockten Medien mit unterschiedlichen Ausgangsbedingungen wurde das Wachstum überwacht. Die Osmolalität hängt zu einem Grossteil vom Phosphatpuffersystem ab. Demnach sollte festgestellt werden, ob inhibierende Effekte einzig durch die Osmolalität oder auch durch die hohen Phosphatkonzentrationen auftreten können. Durch die Verwendung eines anderen Puffersystems sollte dieser Zusammenhang in weiterführenden Experimenten untersucht werden.

Im Rahmen dieser Bachelorarbeit wurde bei den Kultivierungen der verschiedenen Versuche nebst der Ammoniumkonzentration und der Ordnungsdichte auch der Glukosegehalt in den Medien gemessen. Anschliessend wurden die Antikörper aufgereinigt und aufkonzentriert. Nach dem DSP des Kulturüberstandes wurde ein SDS-Page gemacht und der Antikörpertiter gemessen. Die Qualitätsanalyse der Glykanstrukturen führten Mitarbeitende von GlycoEra durch.

# Charakterisierung eines neuen Ventils für biopharmazeutische Applikationen hinsichtlich der Scherbeanspruchung (vertraulich)



Diplomandin

Alexandra Birrer

Korrektor:in ZHAW

Prof. Dr. Dieter Eibl, MSc Vivian Ott,  
MSc Stefan Seidel

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Firma GEA durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

In der biopharmazeutischen Industrie werden häufig Zellkultursysteme eingesetzt, um therapeutische Proteine und monoklonale Antikörper (mAk) herzustellen. Die Ovarienzellen des chinesischen Hamsters (CHO) sind aufgrund ihrer Fähigkeit, Proteine zu falten und zu glykosylieren, die am häufigsten verwendeten Zelllinien.

Bei der Kultivierung von Zellen in Bioreaktoren und anderen Systemen entsteht eine Scherbeanspruchung. Die mechanische Beanspruchung entsteht insbesondere beim Transfer von Zellsuspensionen durch Ventile, Rührorgane sowie andere Bauelemente. Eine zu hohe Scherbeanspruchung kann sich negativ auf die Zellen auswirken, wodurch Zellschädigungen, Beeinträchtigungen der Produktivität oder der Zelltod eintreten können.

Im Rahmen der Bachelorarbeit wurden daher Ventile für biopharmazeutische Anwendungen hinsichtlich der Scherbeanspruchung untersucht. Das Ziel der Arbeit bestand darin, die Scherbeanspruchungsmethoden Öl-Wasser-Emulsion und PMMA-Suspension miteinander zu vergleichen und zwei unterschiedliche Ventile bezüglich der Scherbeanspruchung auf das Stoffsystem Öl-Wasser-Emulsion und einer ExpiCHO-S-Zellsuspension zu analysieren.

# Entwicklung von Sensoren zur Messung der Biomassenkonzentration (vertraulich)



Diplomandin	Vanessa Blank
Korrektoren ZHAW	Prof. Dr. Caspar Demuth, Dr. Juan Limon Petersen

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

Ziel der Bachelorarbeit war es, einen Sensor zur Bestimmung der Biomassenkonzentration mit unterschiedlichen Zellen und Organismen zu testen und zu optimieren. Dabei wurden Bakterien wie *E. coli*, Hefen wie *Saccharomyces cerevisiae* und Zellen wie CHO-Zellen untersucht.

# Multizelluläre 3D Modelle und deren Ansprechen auf die photodynamische Therapie (vertraulich)



Diplomandin

Alina Braun

Korrektorinnen ZHAW

Dr. Ina Albert, Dr. Andrea Baier

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

Hautkrebs gehört weltweit zu den am häufigsten diagnostizierten Krebsarten und umfasst eine Reihe verschiedener Krebserkrankungen. Plattenepithelkarzinome und kutane Lymphome können bei oberflächlichem Auftreten mittels photodynamischer Therapie (PDT) behandelt werden. Dafür wird Betroffenen ein sog. Photosensitizer-Molekül verabreicht, das sich selektiv in den Tumorzellen anreichert und bei der Bestrahlung mit Licht eine phototoxische Reaktion induziert.

Leider ist die PDT nicht bei allen Krebsarten gleich effizient. Zudem ist die Rolle der sog. Tumormikroumgebung, insbesondere der Stromazellen im Tumor, weitgehend unbekannt. Viele der bisherigen Studien dazu beschränken sich auf Experimente in Zellen, die als Monokultur in 2D kultiviert wurden und die Komplexität von *in vivo* Tumoren nur unzureichend simulieren. Daher ist die Entwicklung repräsentativer, multizellulärer 3D-Zellkulturmodelle notwendig.

Ziel dieser Arbeit war es, die Effizienz der PDT basierend auf dem Photosensitizer 5-Aminolavulinsäure (5-ALA) in verschiedenen Hautkrebsmodellen zu charakterisieren. Heterotypische Sphäroide, bestehend aus Fibroblasten und Tumorzellen, wurden mittels immunfluoreszenter Färbung markiert

und anschliessend mit Multiphotonen- oder Epifluoreszenzmikroskopie analysiert.

Faszinierend war die unterschiedliche Anordnung von Fibroblasten und Tumorzellen, teilweise mit einer Fibroblastenkapsel um die Tumorzellen. Obwohl erste Versuche mit PDT in diesen 3D-Modellen durchgeführt wurden, kann noch nicht abschliessend beantwortet werden, ob und wie diese Kapsel die PDT-Effizienz beeinflusst.

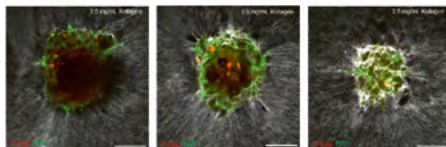


Abb. 1: Sphäroide bestehend aus Tumorzellen (A-431) und primären Fibroblasten, angefärbt für Tumormarker (E-Cadherin, rot) und Fibroblastenmarker (FAP, grün), eingebettet in 2,5 mg/mL Kollagen (grau). Die Abbildungen zeigen verschiedene Z-Ebenen desselben Sphäroids. Der Massstab entspricht 100  $\mu$ m.

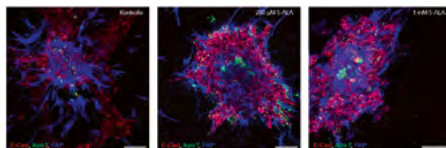


Abb. 2: Konfokale Aufnahme von Sphäroiden, bestehend aus Tumorzellen (A-431) und primären Fibroblasten, nach der Behandlung mit dem Photosensitizer 5-ALA und anschliessender Bestrahlung mit Licht. Die Sphäroide wurden mit unterschiedlichen 5-ALA-Konzentrationen behandelt und für Tumormarker (E-Cadherin, rot), Fibroblastenmarker (FAP, blau) und Apoptosemarker (Phosphatidylserin, grün) angefärbt. Der Massstab entspricht 100  $\mu$ m.

# Differenzierung von perizytenartigen Zellen aus iPSCs: Eine vielversprechende Strategie zur Modellierung der Blut-Hirn-Schranke



Diplomand

Simeon Brütsch

Korrektoren ZHAW

Prof. Dr. Jack Rohrer, Dr. Arezoo Daryadel

Die Blut-Hirn-Schranke (BBB) ist eine komplexe Barriere zwischen dem Blut und dem Hirngewebe, die das Gehirn vor unerwünschten Substanzen und potenziellen Schädigungen durch Mikroorganismen schützt. Die BBB setzt sich aus verschiedenen Zellen zusammen, wie den zerebralen mikrovaskulären Endothelzellen (BMECs), den Perizyten (PC) und den Astrozyten. Aufgrund ihrer Eigenschaften stellt die BBB eine Herausforderung dar, wenn Medikamente zur Behandlung von neurologischen Erkrankungen ins Gehirn transportiert werden sollten, da sie die BBB nicht passieren können. Für die Erforschung und Entwicklung neuer Arzneimittel, welche die BBB überwinden können, werden Modelle, welche die BBB nachbilden, verwendet. Aktuelle Modelle können jedoch nicht exakt die physiologischen Eigenschaften im Menschen nachahmen. Die Differenzierung von PC aus induzierten pluripotenten Stammzellen (iPSCs) bietet eine vielversprechende Methode zur Entwicklung realitätsnaher BBB-Modelle. Das Ziel dieser Arbeit war es, eine Methode zur Differenzierung von PC aus iPSCs zu testen.

Die differenzierten PC wurden mittels Durchflusszytometrie (DC) und Immunofluoreszenz (IF) auf die gebildeten Proteine überprüft.

Um die Funktion der PC zu testen, wurde ein Angiogenese-Assay durchgeführt. Die IF zeigte eine erfolgreiche Färbung auf die Proteine CD140b und Nestin, welche von PC gebildet werden (Abb. 1). Zugleich konnte bei der DC eine Population von 76.6 % der gemessenen Zellen bei der Positivkontrolle CD140b nachgewiesen werden. Die Negativkontrolle, welche bei einer erfolgreichen Differenzierung keine Population aufweisen sollte, zeigte keine Population an. Das Angiogenese-Assay zeigte, dass die PC die Angiogenese der BMECS fördern, auch wenn kein Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) zugegeben wurde (Abb. 2). Es wurde aufgezeigt, dass es möglich ist, iPSCs in perizytenartige Zellen zu differenzieren. Es werden einige Anpassungen der Differenzierungsmethode vorgeschlagen. Ein weiterer Schritt ist, die PC in ein Transwell-BBB-Modell einzuführen.

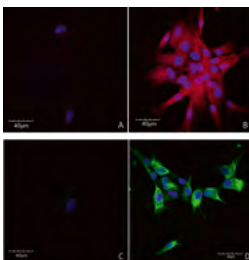


Abb. 1:  
A: Negativkontrolle der CD140b-Färbung.  
B: Angefärbte Zellen welche CD140b ausbildeten.  
C: Negativkontrolle der Nestin-Färbung.  
D: Angefärbte Zellen welche Nestin bildeten.

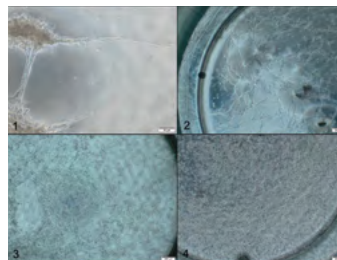


Abb. 2:  
1: BMECs und PC mit VEGF,  
2: BMECs und PC ohne VEGF,  
3: BMECs mit VEGF,  
4: BMECs ohne VEGF.

# Development of a new regeneration process for two AIEX chromatography resins used in an immunoglobulin purification process (confidential)



Diplomand	Chris Arthur Bühler
Korrektor ZHAW	Prof. Dr. Caspar Demuth
Korrektorin extern	MSc Doreen Siegemund, CSL Behring AG

Further details of this work cannot be published for confidentiality reasons.

CSL Behring AG manufactures biopharmaceutical products from blood plasma, including polyvalent immunoglobulins. In their manufacturing process, the impurities IgA, IgM, proteases, and aggregates are reduced by a chromatography step. Previous investigations showed that no further increase in IgG yield was possible with the currently used resin without breaching the subsequent specifications. Alternative resins were then tested, and best operating conditions for the newly selected resin candidate were developed. Knowledge of the best possible cleaning protocol is important for optimal resin performance and lifetime. In this work, different combinations of cleaning solutions and sequences were tested in two DoE designs. The cleaning efficiency of the best combination was confirmed by resin batch tests and SDS PAGE.

Additionally, read-out methods to determine the success of the resin cleaning and the degree of resin ageing were established and investigated. A simulated storage study was performed to test the chemical stability of the resins in different storage solutions, finding a possible long-term and short-term storage solution. In addition, the new resin showed a lower reduction of DBC after storage in NaOH, suggesting slower resin ageing. For the new resin, a possible correlation between the degree of contamination of the resin and the asymmetry factor could be evaluated, whereas

the current resin showed an increase in pressure. No change could be detected in other parameters such as UV signal, or HETP values. Determining total ionic capacities showed high variability and needs to be optimized. The determination of the dynamic binding capacity using human albumin was a more robust method to determine resin ageing. Capacities were slightly below the manufacturer's data, but this could be explained by different protocols.

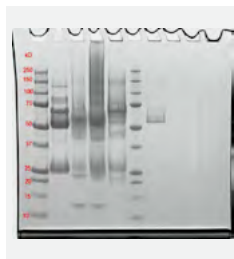


Fig. 1: Benchtop experiments to check the cleaning performance of the resin with Coomassie blue staining for the current resin. From left to right, marker, protein load, resin after protein load (positive control), resin after post wash, resin after stripping buffer, marker (diluted), resin after cleaning solution 1 and 2, resin after storage solution, resin before protein load (negative control).

ing solution 1 and 2, resin after storage solution, resin before protein load (negative control).

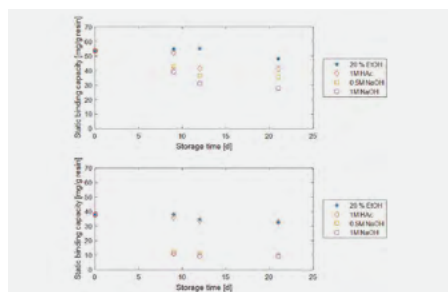


Fig. 2: Batch static binding capacity for chemical stability study data over 21 days for the chemicals 20% EtOH (blue star), 1 M acetic acid (red diamond), 0.5 M NaOH (yellow square), 1 M NaOH (purple circle) for the new resin (top) and current resin (bottom).

# Nachgeordnete Verarbeitung von Alkoholdehydrogenase und Taq-Polymerase



Diplomandin

Lorena Bundi

Korrektor:in ZHAW

Dr. Andrea Baier, Dr. phil. Patrick Hauswirth

Die nachgeordnete Verarbeitung und die Qualitätsanalyse von rekombinant hergestellten Proteinen nehmen in der Biotechnologie eine zentrale Rolle ein. Um eine effiziente Aufreinigung und somit eine hohe Produktausbeute zu erlangen, muss für jedes Protein eine spezifische Aufreinigungsmethode etabliert werden.

Ziel der Bachelorarbeit war die Erarbeitung einer Aufreinigungsstrategie mit begleitender Analytik für zwei Enzyme, die Alkoholdehydrogenase von *Saccharomyces cerevisiae* Typ 1 (alcohol dehydrogenase from *Saccharomyces cerevisiae* type 1, YADH1) und die DNA-Polymerase des *Thermus aquaticus* (DNA-polymerase of *Thermus aquaticus*, Taq-Polymerase).

Die Proteine wurden dazu in *E. coli*-Stämmen rekombinant hergestellt und die Zellen anschliessend mittels Ultraschall aufgeschlossen. In beiden Fällen war die Proteinaufreinigung mittels Affinitätschromatographie erfolg-

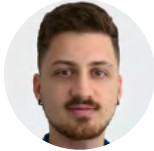
reich. Die Proteinkonzentration und damit der «Yield» wurden mittels kolorimetrischer Tests bestimmt und die Aktivität der beiden Enzyme in spezifischen Aktivitäts-assays analysiert. Während die YADH1 nach Aufreinigung aktiv war, konnte für die Taq-Polymerase noch keine Aktivität gezeigt werden, was höchstwahrscheinlich auf den noch nicht optimierten Aktivitätsassay zurückzuführen war.



Abb. 1: Zellaufschluss und Aufreinigung: (1) Zellyse mittels Triton X-100, (2) 30-minütige Inkubation, (3) Ultraschallbehandlung, (4) Zentrifugation der Kulturen, (5) Entnahme des Überstands, (6) immobilisierte Metallionen-Affinitätschromatographie, (7) Dialyse.



# Construction of a Periosteal Tissue for Bone Healing by Sound Waves (Sound-Induced Morphogenesis) (vertraulich)



**Diplomand**

Daniel Cardoso

**Korrektoren ZHAW**

Prof. Dr. Michael Raghunath, Dr. Markus Rimann

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde mit einem Industriepartner in der Schweiz durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit werden keine Details zur Arbeit veröffentlicht.

# Herstellung von Muskelgewebe in einer Cellulose-basierten Gerüststruktur (vertraulich)



Diplomandin

Rose Cideciyan

Korrektoren ZHAW

Dr. Markus Rimann, Prof. Dr. Michael Raghunath

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit dem ETH-Startup *sallea* durchgeführt.

Die Weltbevölkerung wächst schnell und die Nachfrage nach Lebensmitteln, insbesondere nach tierischen Produkten, steigt. Die konventionelle Tierhaltung weckt jedoch ökologische, ethische und gesundheitliche Bedenken. Daher gewinnen alternative Methoden der Fleischproduktion, wie zum Beispiel die Herstellung von *in vitro* Fleisch, zunehmend an Bedeutung.

*In vitro* Fleisch, das auf kultivierten Zellen basiert, hat das Potenzial, nachhaltiger und ethischer als herkömmliches Fleisch zu sein (Abb. 1). Um eine kommerzielle Umsetzung zu ermöglichen, sind jedoch weitere Forschung und Entwicklung erforderlich, insbesondere im Bereich der nicht verarbeiteten Fleischprodukte. Die 3D-Drucktechnologie kann einen Beitrag zur Produktion von kultiviertem Fleisch leisten, indem massgeschneiderte Gerüste aus Biomaterialien hergestellt werden, welche eine optimale 3D-Umgebung für das Zellwachstum und die Zelldifferenzierung zur Verfügung stellen.

Die Wahl des Gerüst-Biomaterials ist von entscheidender Bedeutung, da es sich auf verschiedene Aspekte des Endprodukts auswirkt, darunter Zellkompatibilität, technologische Machbarkeit, Essbarkeit, Sicherheit und Nachhaltigkeit. In dieser Bachelorarbeit wurden

Cellulose-basierte Scaffolds mit der von *sallea* entwickelten Plattform hergestellt. Diese wurden mit murinen Muskelzellen (C2C12, Myoblasten) besiedelt und anschliessend auf deren Zelladhäsion, Proliferation und Differenzierung analysiert. Es stellte sich heraus, dass die Scaffolds stabil waren, jedoch war die Zelladhäsion noch unzureichend. Weitere Modifizierungen mit Biomaterialien führten zu einer besseren Zelladhäsion und Proliferation. Die somit erhaltenen Scaffolds sind vielversprechend für die *in vitro* Fleischherstellung, jedoch sind weitere Experimente unter anderem mit für die Fleischproduktion relevanten Zellen erforderlich.

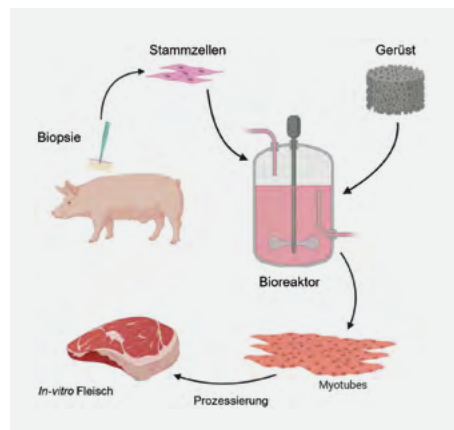


Abb. 1: Verschiedene Schritte der *in vitro* Fleischproduktion. Zur Gewinnung von Stammzellen können Biopsien an Tieren durchgeführt und diese Zellen *in vitro* auf einem Gerüst in Bioreaktoren vermehrt werden. Diese Zellen differenzieren sich anschliessend zu Skelettmuskelzellen, die dann geerntet und zum endgültigen Fleischprodukt verarbeitet werden.

# Untersuchung der Effekte verschiedener Vitamine auf das Wachstum und die Produktbildung von *Leishmania tarentolae* (vertraulich)



Diplomandin	Agnesa Demiri
Korrektorin ZHAW	Dr. Iris Poggendorf, MSc Benjo Dutli
Korrektor extern	Dr. Dominique Nicolas Sirena, GlycoEra AG

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Firma GlycoEra AG durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

In der Produktion von therapeutischen und medizinischen rekombinanten Proteinen werden neben Bakterien, Hefen, Säugetier- und Pflanzenzellen zunehmend einzellige eukaryotische Parasiten der Gattung *Leishmania* eingesetzt. Unter diesen eignet sich *Leishmania tarentolae*, eine aus dem Mauergecko isolierte Protozoen-Art, besonders für biotechnologische Anwendungen. Dies ist vorwiegend auf die Fähigkeit der Einzeller zurückzuführen, post-translationale Modifikationen an den exprimierten Proteinen durchzuführen, welche die Bildung von Säugetier-ähnlichen Glykosylierungsmustern ermöglicht. In der medizinischen Anwendung sind diese Muster von grösster Bedeutung, da die Glykosylierung Stabilität, Struktur und Serum-Halbwertszeit der Proteine im menschlichen Körper bestimmt.

Die biotechnologische Produktion von rekombinanten Proteinen mit *Leishmania tarentolae* als Expressionsorganismus wurde in den letzten Jahrzehnten fortwährend weiterentwickelt. Dabei stand häufig der Einfluss der Mediumszusammensetzung auf das Wachstum und die Produktbildung der Organismen im Fokus. Diese Bachelorarbeit befasste sich mit der Optimierung eines chemisch definierten Mediums zur Kultivierung von *Leishmania*

*tarentolae*, wobei das Augenmerk vorwiegend auf der Untersuchung ausgewählter Vitamine und deren Einfluss lag. Die erhaltenen Resultate können zu einem verbesserten Verständnis der Mediumsanforderungen des untersuchten Organismus sowie zur Optimierung künftiger biotechnologischer Anwendungen beitragen.

# Zelluläre Lipid-Bodies als neues Ziel der Food Biotech (vertraulich)



<b>Diplomandin</b>	Chiara Di Federico
<b>Korrektor ZHAW</b>	Prof. Dr. Lukas Neutsch
<b>Korrektor extern</b>	MSc Dimitri Zogg, Cultivated Biosciences

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Firma Cultivated Biosciences durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

Mikrobielle Öle stellen in der Lebensmittelindustrie ein grosses Potenzial dar, da mit ihrem Einsatz ein Teil der umweltbelastenden Produkte wie Palmöl oder tierische Fette ersetzt werden können. Ölhaltige Hefen sind in der Lage, intrazellulär Lipide zu akkumulieren. Diese bestehen hauptsächlich aus ungesättigten Fettsäuren, welche für die nachhaltige Produktion von veganen Ersatzprodukten verwendet werden können.

Das Hauptziel der Arbeit lag darin, eine Prozessoptimierung der Kultivierung eines Wildtyps einer ölhaltigen Hefe durchzuführen. Bei der Optimierung wurde die Steigerung der Biomasse und der intrazellulären Lipide angestrebt. Die Kultivierungen erfolgten in einem 20-Liter- und einem 6-Liter-Bioreaktor. Ein weiterer Aspekt der Arbeit war die Medienoptimierung mittels Schüttelkolbenexperiment. Dabei wurden neue Medienrezepturen getestet und die morphologischen Veränderungen mit dem Referenzmedium verglichen. Zusätzlich wurde ein Screening mittels Design of Experiments durchgeführt. Das neue Medium wurde anschliessend im Bioreaktor getestet und mit einem Referenzprozess verglichen.

Bei der Prozessoptimierung konnte eine Erhöhung der Biomasse und des Lipidgehalts erreicht werden. Auch die neue Medienrezeptur zeigte vergleichbare Resultate zum Referenzprozess. Weitere Versuche sind erforderlich, um den Prozessmodus und die neue Rezeptur des Mediums zu etablieren.

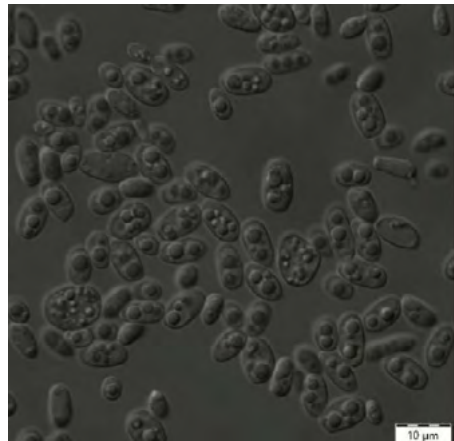


Abb. 1: Mikroskopische Aufnahme von Hefezellen am Ende der Kultivierung des optimierten Prozesses. Intrazellulär sind Lipide zu erkennen.

# Potential cost reduction approaches for stem cell expansion in non GMP environments (confidential)



Diplomandin

Sharon Dreier

Korrektor:in ZHAW

Prof. Dr. Regine Eibl-Schindler,  
MSc Samuel Schneider

Human mesenchymal stem cells (hMSCs) have gained track in the world of cell-based therapy and regenerative medicine, with thousands of new publications being submitted yearly. As of July 2023, ClinicalTrials.org reported 739 clinical trials based on MSCs for conditions such as abdominal aortic aneurysm, bronchopulmonary dysplasia, and osteoarthritis.

The potential of material cost reduction was explored by recycling microcarriers and replacing medium exchanges with substrate supplementation to the medium. To reduce time and labour costs, one-step inoculation, bead-to-bead transfer, and higher growth surface experiments were performed. Further details of this work cannot be published for confidentiality reasons.

Although hMSCs have proven great potential and advances, there are obstacles to overcome. One of the hurdles regarding MSC expansion, and stem cell expansion in general, are the material and immaterial costs surrounding their cultivation. The aim of this thesis was to examine different cost reduction approaches and to test various methods for lowering cultivation expenses during hMSC expansion in a non-GMP environment, by minimizing labour and reducing material costs.

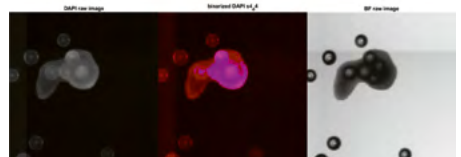


Fig. 2: Large microcarrier-aggregation post bead-to-bead transfer.

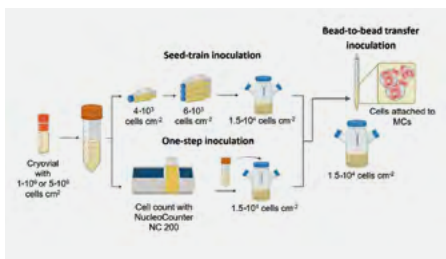


Fig. 1: Traditional versus cost reduction approaches to inoculation production.

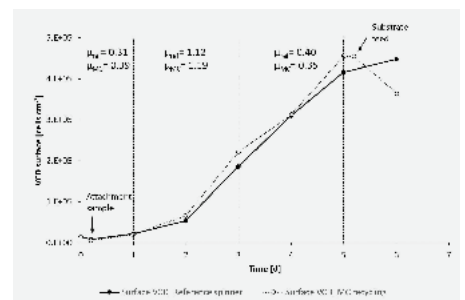


Fig. 3: Cell growth comparison of hMSCs grown with recycled and new microcarriers.

# Ressourcenoptimierte Kultivierungsverfahren für Mikroalgen mit wertvollen Inhaltsstoffen (vertraulich)



Diplomandin

Sonja Drobnjak

Korrektor ZHAW

Dr. Lukas Neutsch, BSc Geronimo Kälin

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

Die biotechnologische Kultivierung von Mikroalgen gewinnt aufgrund ihrer wertvollen Biomoleküle zunehmend an Bedeutung in der industriellen Lebensmittel- sowie in der Pharma- und Kosmetikindustrie. Für das Pigment Phycocyanin, enthalten in der Mikroalge *Galdieria sulphuraria*, soll 2023 eine Zulassung für die Lebensmittelindustrie erhalten werden. Die Kultivierung in Photobioreaktoren ist mit hohen Energieeinträgen verbunden, die ökonomisch ungünstig für Produktionen im Industriemasstab sind. Die höchste Energieeffizienz wurde bei mixotropher Kultivierung (mit Licht und Kohlenstoffquellen wie Glucose oder Glycerol) festgestellt, mit vorhergehendem autotrophem Wachstum (nur mit Licht).

Daher wurden im Hauptteil dieser Arbeit Optimierungsversuche bezüglich der mixotrophen Kultivierung von *G.sulphuraria* im Masstab 37 L untersucht. Ziel der zwei Experimente war eine Optimierung der Energieeinträge, die für das Erreichen einer maximalen Zelldichte im Bioreaktor benötigt werden. Der Unterschied bestand in der Belichtungsregelung. Bei der ersten Kultivierung wurde mit manueller, schrittweiser Steigerung der Lichtintensität kultiviert. Bei der zweiten wurde mit zunehmender Zellkonzentration die Lichtintensität automatisch erhöht. Die Messung der Zelldichte erfolgte mittels Onlinesensor, der die

Absorption der Kultur im Reaktor misst. Der gemessene Wert wurde in einen Algorithmus eingespeist, um die Lichtintensität zu ermitteln. Für weitere Kultivierungsversuche mit *G. sulphuraria* wird eine adaptive Lichtregelung mit erhöhten Lichteinträgen vorgeschlagen, um ein gesteigertes Wachstum zu erreichen.

Der zweite Teil der Arbeit befasste sich mit Astaxanthin, einem roten Pigment aus der Mikroalge *Hematococcus pluvialis*. Astaxanthin ist ein Antioxidans und wird u. a. zur Fütterung von Garnelen verwendet, wodurch diese ihre rötliche Farbe erhalten. In einem dritten Teil wurde die Standardarbeitsanweisung aus der Semesterarbeit validiert. Diese beinhaltet die Extraktion und die Entesterung von Astaxanthin aus *H.pluvialis* und wurde erfolgreich durchgeführt.

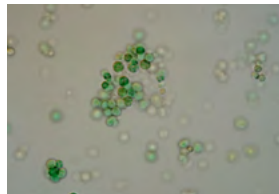


Abb. 1: *Galdieria sulphuraria*

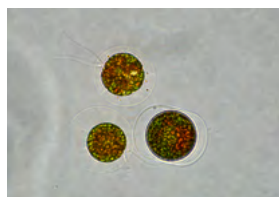


Abb. 2: *Hematococcus pluvialis*

# Überwachung von Fed-Batch Prozessen mit dem Glukose-Sensor von C-CIT (vertraulich)



Diplomandin	Cynthia Eichenberger
Korrektorin ZHAW	Dr. Christin Peters
Korrektor extern	Stefan Spichiger, Mettler-Toledo GmbH, C-CIT Sensors

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Firma Mettler-Toledo GmbH, C-CIT Sensors in Urdorf durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

In dieser Bachelorarbeit wurde die in-situ Prozessüberwachung des Glukoseverbrauchs bei der Kultivierung von *E. coli* in einem KLF-Bioreaktor mittels des kontinuierlich messenden Glukose-Biosensors von C-CIT der Firma Mettler-Toledo GmbH untersucht. Durch die kontinuierliche Glukose-Messung wurde eine präzisere Optimierung und Steuerung von Fed-Batch-Prozessen ermöglicht. Durch die direkte Messung konnten die sonst standardmässigen Verzögerungen in der Prozesssteuerung durch Offline-Analyse der Proben vermieden werden. Damit konnte sofort auf Änderungen in der Glukosekonzentration reagiert werden.

Zur Bestimmung der Messgenauigkeit des Sensors wurden zusätzlich Offline-Proben genommen und einerseits mittels High-Pressure Liquid Chromatography und andererseits mittels eines enzymatischen Assays auf die Glukosekonzentration hin untersucht. Des Weiteren wurde der Einfluss die Fütterungsstrategie auf die Metabolitbildung und Produktbildung innerhalb verschiedener *E. coli* Stämme untersucht. Die Ergebnisse zeigten hohe Übereinstimmungen zwischen dem Sensor und den offline analysierten Glukosekonzentration, was darauf schliessen lässt, dass der Glukosesensor von C-CIT genau in situ Konzentrationen bestimmt.

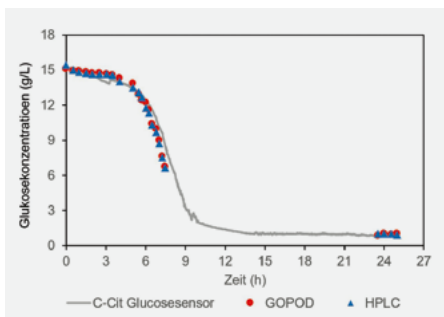


Abb. 1: Grafik zur Kultivierung von *E. coli* BL21 (DE3), Feeding-Strategie 1 g/L, x-Achse: Kultivierungszeit (Stunden), y-Achse: Glukosekonzentration (g/L), grau: C-CIT Glukosesensor, rot: enzymatisches Assay blau: HPLC-Analyse.

# Anaerobe Behandlung von Prozesswasser aus der hydrothermalen Carbonisierung (HTC)



Diplomandin

Andrea Fäh

Korrektoren ZHAW

Dr. Hans-Joachim Nägele, Alexander Treichler

Die Hydrothermale Carbonisierung (HTC) ist eine technische Nachahmung des natürlich vorkommenden Entstehungsprozesses der Braunkohle. Die HTC kann die Kohlenstoffeffizienz der Behandlung von biogenen Reststoffen verbessern und somit den rückgewinnbaren Anteil von Energie und Nährstoffen aus Biomasse erhöhen. Die hohen Gehalte von organischem Kohlenstoff im flüssigen Anteil, dem Prozesswasser (PW), stellen jedoch eine ökologische Herausforderung dar, die es zu lösen gilt.

Die anaerobe Verwertung ist grundsätzlich ideal geeignet, jedoch treten dabei Hemmungen auf, deren Ursachen noch nicht geklärt sind. In dieser Arbeit wurden die Biomethanpotenziale von verschiedenen Prozesswassern aus der Carbonisierung von Schlämmen der kommunalen Abwasserreinigung bestimmt, um geeignete Konzentrationen an Prozesswasser zu definieren. Zusätzlich wurden gaschromatographisch-massenspektroskopische Analysen zur qualitativen Charakterisierung des Prozesswassers und zur Identifikation von möglichen hemmenden Substanzen durchgeführt.

Grundsätzlich konnte die anaerobe Abbaubarkeit von Prozesswasser bei geeigneter Konzentration in der Gärmasse bestätigt werden. Weiter zeigen die Ergebnisse, dass Prozesswasser aus bereits anaerob behandelten Substraten (z. B. Faulschlamm) erwartungsgemäss tiefere Methanbildungswerte

aufweisen als diejenigen aus unvergorenem Substrat. Mittels chemischer Analysen konnten verschiedene potenzielle Hemmstoffe erkannt werden. Ansätze mit höheren Gehalten an Prozesswasser in der Gärmasse zeigten trotz abgeschlossener Gasbildung erhöhte Konzentrationen an Phenolen und Pyrazinen (siehe Abb. 1). Da die Analyse semi-quantitativ erfolgte, wäre es als nächsten Schritt sinnvoll, eine quantitative Methode für die genaue Konzentration zu entwickeln.

Eine Bilanzierung mit realen Anlagen- sowie Labordaten bestätigt, dass HTC einen positiven Beitrag für zukünftige Modelle von Bioraffinerien auf Abwasserreinigungsanlagen leisten kann.

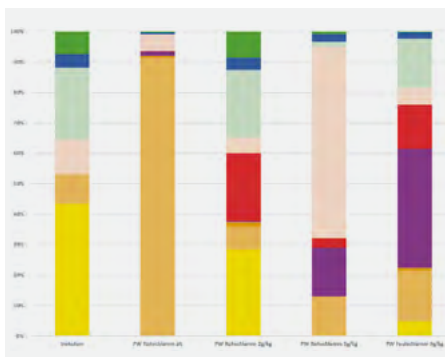


Abb. 1: Relative Verteilung von potenziell hemmenden Substanzen im Gärrest bezogen auf Prozesswassergehalte in der Gärmasse.



# Entwicklung und Validierung einer analytischen Methode zur Bestimmung von Polyphenolen in Olivenöl



Diplomandin	Géraldine Florin
Korrektorin ZHAW	Dr. Christin Peters
Korrektor extern	Michael Hartmann, Labor Hartmann GmbH

Olivenöl ist ein wichtiger Bestandteil der mediterranen Küche. Die Qualität des jeweiligen Olivenöls hängt von mehreren Faktoren ab: zum einen von der Herstellung und Herkunft, zum anderen von seinen Bestandteilen. Ein wichtiger Bestandteil von Olivenöl sind die Polyphenole. Diese sind wichtig für den Geschmack und für die Haltbarkeit des Öls. Die organischen Verbindungen, die man unter Polyphenolen versteht, bestehen aus einem oder mehreren Phenolringen mit einer oder mehreren Hydroxygruppen. Polyphenole kommen in der Natur in Gemüse, Früchte und Pflanzen vor. Hier sind Polyphenole für den Pflanzenhormonhaushalt, den Geschmack, die Farbe und die Stabilität verantwortlich. Ausserdem werden ihnen gesundheitsfördernde Wirkungen, wie z. B. antioxidative Effekte, zugeschrieben.

Das Ziel der Bachelorarbeit war es, eine HPLC-Methode zur Bestimmung des Polyphenolgehaltes in Olivenöl zu entwickeln und zu validieren. Für die Entwicklung wurde eine literaturbeschriebene Methode als Grundlage

genutzt und angepasst. Basierend auf der entwickelten Methode und den neu erworbenen Erkenntnissen wurde ein Validierungsplan erarbeitet und durchgeführt. Die Validierung konnte aufgrund von Problemen in der Wiederfindung durch noch nicht identifizierte Verunreinigungen innerhalb dieser Arbeit nicht abgeschlossen werden. Alle anderen Validierungskriterien bezüglich Linearität, Präzision und Verfahrensstabilität konnten mit der Methode erfüllt werden.

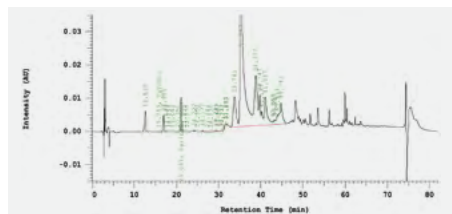
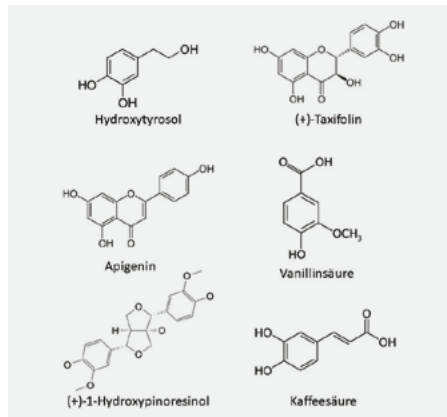


Abb. 1: Chromatogramm einer Olivenölprobe: Peaks der verschiedenen Polyphenole von der 12. Minute bis zur 45. Minute.

Abb. 2: Beispiele von verschiedenen Polyphenolen, welche in Olivenöl vorkommen, und ihre chemischen Strukturen.

# Pflanzenzellkulturbasierte zelluläre Landwirtschaft: Entwicklung und Optimierung von Kulturen für Lebens- mittelapplikationen (vertraulich)



Diplomandin

Nathalie Fröhlich

Korrektorinnen ZHAW

Prof. Dr.-Ing. Regine Eibl-Schindler, MSc Lia Rossi

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

Die sogenannte Cellular Agriculture (CellAg) – auf Deutsch zelluläre Landwirtschaft – ist ein aufstrebendes Forschungsfeld mit dem Potenzial, die Art und Weise, wie wir Lebensmittel produzieren, zu verändern. Die Idee hinter der CellAg ist, durch die Nutzung von Zellkulturen und biotechnologischen Methoden eine nachhaltigere und effizientere Methode der Lebensmittelproduktion zu entwickeln, die weniger Land, Wasser und Ressourcen verbraucht, die Umweltbelastung verringert und das Tierwohl verbessert. Durch die Reduzierung der Abhängigkeit von traditioneller Landwirtschaft kann CellAg dazu beitragen, den steigenden Bedarf an Nahrungsmitteln bei der wachsenden Bevölkerung zu decken, und dabei gleichzeitig nachhaltig sein.

In diesem Zusammenhang spielen die Produktion und Isolierung von Sekundärmetaboliten mit Pflanzenzellkulturen eine wichtige Rolle. Sekundärmetabolite sind chemische Verbindungen, die von Pflanzen produziert werden und eine Vielzahl von bioaktiven Eigenschaften aufweisen. Diese Verbindungen sind wichtig in der Natur, da sie Pflanzen und ihre Zellen vor schädlichen Umweltfaktoren schützen und bei der Kommunikation mit anderen Organismen eine Rolle spielen. Es ist jedoch nicht immer möglich, mit Pflanzenzellkulturen so

hohe Sekundärstoff-Metabolittiter wie in den natürlichen Pflanzen zu erreichen.

Ein Lösungsansatz zur Erhöhung der Sekundärstoffproduktion sind Elicitierungsmethoden. Dabei werden die Pflanzenzellen Stressfaktoren wie Licht oder chemischen Signalsubstanzen ausgesetzt, die zu einer erhöhten Produktion der gewünschten Sekundärmetaboliten und teilweise sogar zu ihrer Sekretion führen. Diese Arbeit zielte darauf ab, Suspensionszellen einer bereits etablierten Pflanzenzellkultur hinsichtlich ihres Zellwachstums und der Sekundärmetabolitproduktion zu untersuchen und im Schüttelkolbenmasstab zu optimieren. In einem ersten Versuch wurde ermittelt, ob die Hauptkohlenstoffquelle im Medium durch eine günstigere Alternative ersetzt werden kann. Anschliessend wurde das Verhalten der Kultur bei verschiedenen Lichtbedingungen untersucht.

# Populationsanalyse mittels Metagenomik auf der ARA Giubiasco



Diplomand	Yvo Furrer
Korrektor ZHAW	Dipl. El. Ing. ETH, Dipl. Natw. ETH Martin Kühni
Korrektor extern	MSc in Eng. Roger König, Scuola universitaria professionale della Svizzera italiana (SUPSI)

Der ökologische und ökonomische Betrieb der Abwasserreinigung erfordert vermehrt Kenntnisse über das Mikrobiom der ARA, um ein tieferes Verständnis für die komplexen mikrobiellen Interaktionen und biochemischen Prozesse innerhalb des Belebtschlamm zu schaffen. Zum Nachweis von Zusammenhängen zwischen den verfahrenstechnischen Parametern und der bakteriellen Mischpopulation der ARA Giubiasco wurde im Rahmen dieser Bachelorarbeit eine Populationsanalyse mittels 16S rRNA Gen Amplicon Sequenzierung durchgeführt. Dazu wurde die genomische DNA aus zwölf Belebtschlamm-Proben vom Frühjahr 2023 physikalisch extrahiert und deren 16S rRNA Gene wurden mittels PCR amplifiziert und barcodiert. Die anschliessende DNA-Sequenzierung erfolgte mittels der Methode von Oxford Nanopore Technologies.

Für die Datenanalyse wurden zusätzlich die Abundanzdaten von zwölf Proben aus dem Frühjahr 2022 miteinbezogen. Dabei wurden die bakteriellen Hauptvertreter des Jahres 2022 im Jahr 2023 wiedergefunden, was auf eine akkurate Repräsentation des Mikrobioms durch die generierten Abundanzdaten hindeutet. Zudem zeigen die Daten, dass die Biodiversität innerhalb des Belebtschlamm (charakterisiert durch den Shannon-Index) durch das eingestellte Schlammalter limitiert wird. Ausserdem ist bei einem erhöhten Schlammalter eine ausgewogenere Individuenzahl pro Taxon zu beobachten, was die

betriebliche Abbauleistung (CSB-Elimination) allerdings nicht sichtbar verbessert hat (siehe Abb. 1). Es liegen keine Daten zu schwer abbaubaren Verbindungen (PAK, PCB etc.) im Ablauf der ARA vor, welche die Relevanz einer hohen Biodiversität für deren Abbauleistung womöglich begründen würden. Weiter wurden Thesen für bakterielle Wechselwirkungen innerhalb des Belebtschlamm, insbesondere in Bezug auf die stickstoffbezogenen Prozesse und die Schlammflockenbildung, aufgestellt.

Es wäre interessant, die Beobachtungen im Rahmen experimenteller Setups, wie dem Betrieb mehrerer Biologie-Strassen mit unterschiedlichem Schlammalter, unter Einbezug einer umfangreichen Analytik empirisch zu bestätigen.

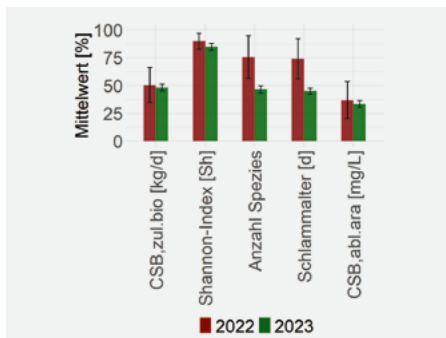


Abb. 1: Säulendiagramme der Mittelwerte [%] aller relativen (zum Maximalwert) CSB-Zulaufmengen der Biologie, CSB-Konzentrationen im ARA-Ablauf, Shannon-Indizes, Anzahl Spezies sowie Schlammalter, innerhalb der Probenahme-Zeiträume der Jahre 2022 und 2023. Ausserdem sind die Standardabweichungen [%] als Fehlerbalken angegeben.

# Ein Zebrafisch-Embryo-Modell für bakterielle Infektionen fürs Screening von Bakteriophagen und deren Enzyme als Antibiotika-Alternative (vertraulich)



Diplomandin	Lynn Gasser
Korrektorin ZHAW	Prof. Dr. Steffi Lehmann
Korrektoren extern	Dr. Steven Hagens und Dr. Samuel Kilchner, Microeos GmbH

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Firma Microeos GmbH durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

Microeos ist ein Biotechnologie-Startup, das sich auf die Entwicklung von Bakteriophagen und daraus abgeleiteten Proteinen als Ersatz für Antibiotika spezialisiert hat. Sein Fokus liegt auf neuen antimikrobiellen Produkten, die gezielt und effizient pathogene Bakterien eliminieren. Um Wirkstoffkandidaten *in vivo* testen zu können, ist das Startup auf Tests in präklinischen *in vivo* Infektionsmodellen angewiesen. Besonders beliebt als Modell für bakterielle Infektionen ist der Zebrafisch *Danio rerio*. Er weist ein ausgeprägt entwickeltes Immunsystem auf, so dass Interaktionen zwischen Pathogenen und Wirt erforscht werden können. Aufgrund seiner Transparenz im Embryonalstadium können bakterielle Infektionen in Zebrafisch-Embryos in Echtzeit mikroskopisch verfolgt werden. Zebrafisch-Embryos werden deshalb fürs *in vivo* Screening von Wirkstoffkandidaten in der frühen präklinischen Phase verwendet. Sie ermöglichen die Selektion von Molekülen, die in Mausmodellen weiter charakterisiert werden müssen, und füllen damit die Lücke zwischen *in vitro* Zellkulturexperimenten und komplexen *in vivo* Mausversuchen.

Das Ziel dieser Bachelorarbeit war es, den Zebrafisch als Infektionsmodell für zwei pathogene Bakterienspezies, nämlich *S. aureus* und *P. aeruginosa*, zu etablieren, um damit das Screening neuartiger, von Phagen abge-

leiteten Wirkstoffkandidaten gegen diese Pathogene zu erleichtern. Einerseits wurde bestimmt, wie viele Bakterien intravenös in Zebrafisch-Embryos injiziert werden müssen, um eine gut detektierbare Infektion zu erzeugen. Andererseits wurden verschiedene Imaging-Protokolle etabliert, um das Infektionsgeschehen örtlich und zeitlich zu verfolgen. Dazu wurden fluoreszent gelabelte Bakterienstämme verwendet. Die Zebrafisch-Vaskulatur wurde mit Fluoreszenzfarbstoffen markiert oder es wurden transgene Zebrafische genutzt, die fluoreszente Reporterproteine in den Zellen der Blutgefässwände exprimieren. Mithilfe der hier etablierten Infektionsmodelle und Imaging-Strategien konnte ein erster Wirkstoffkandidat von Microeos erfolgreich getestet und dessen antimikrobielle Aktivität demonstriert werden.

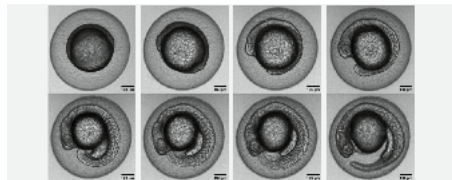


Abb. 1: Entwicklung der befruchteten Eizelle bis zum Zebrafisch-Embryo. Gezeigt werden die Entwicklungsstadien 10 bis 28 h nach der Befruchtung. Massstab 100  $\mu\text{m}$ .

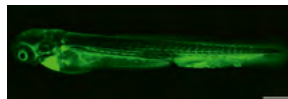


Abb. 2: Zebrafisch-Embryo nach systemischer Injektion mit FITC-Dextran 70 kDa (grün) zur Visualisierung der Blutgefässe. Massstab 200  $\mu\text{m}$ .

# Entwicklung und Optimierung eines CO<sub>2</sub>-Sensors für biotechnologische Anwendungen (vertraulich)



<b>Diplomandin</b>	Lisa Gmünder
<b>Korrektoren ZHAW</b>	Prof. Dr. Caspar Demuth, Dr. Juan Limon Petersen
<b>Korrektor extern</b>	Christian Muheim, Metroglas

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Firma Metroglas durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

Kohlendioxid ist ein Produkt des Stoffwechsels von Mikroorganismen und beeinflusst deren Wachstum, Metabolismus und Produktion von Proteinen. Ein optimaler CO<sub>2</sub>-Gehalt führt daher zu konstanter Produktqualität und maximaler Ausbeute. Die CO<sub>2</sub>-Konzentration kann auf verschiedene Arten gemessen und kontrolliert werden. Besonders vorteilhaft ist die Inline-Messung direkt in der Kultur, um möglichst genaue Informationen in Echtzeit zu erhalten. Die Entwicklung und Optimierung von Inline-CO<sub>2</sub>-Sensoren für biotechnologische Anwendungen ist deshalb von grossem Interesse, wobei eine Herausforderung die Anforderung an die Sterilität ist, da der Sensor autoklaviert werden soll.

In dieser Bachelorarbeit wurden Prototypen von CO<sub>2</sub>-Sensoren der Firma Metroglas getestet, welche für biotechnologische Prozesse optimiert werden sollen. Die verwendeten Inline-Sensoren von Metroglas wurden auf Langzeitstabilität, Ansprechzeit, Reproduzierbarkeit, Linearität und Handhabung geprüft. Zudem wurden der Einfluss des Autoklavierens und die Verwendung von unterschiedlichen Elektrolyten getestet.

# Entwicklung einer HPTLC-Methode zur Identitätsprüfung von *Terminalia mantaly* und *Senegalia ataxacantha* für die Ghana Herbal Pharmacopeia (vertraulich)



Diplomandin

Keshet Heggin

Korrektor:in ZHAW

Dr. Andreas Lardos, Dr. Nina Vahekeni

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit dem Schweizer Verein Alter Africa durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

Ghana verfügt über eine Vielzahl an Pflanzen, welche aufgrund ihrer einfachen Verfügbarkeit in der medizinischen Grundversorgung bis heute eine herausragende Rolle spielen. Viele der in Ghana eingesetzten Pflanzen wurden jedoch noch nicht in der Ghana Herbal Pharmacopeia aufgenommen und erfüllen somit nicht die Kriterien für die Kontrolle bezüglich Identität, Reinheit und Qualität. Zwei häufig eingesetzte Arzneipflanzen in der Wundheilung, welche noch nicht in der Ghana Herbal Pharmacopeia aufgenommen wurden, sind *Terminalia mantaly* und *Senegalia ataxacantha*.

Das Ziel dieser Bachelorarbeit war die Entwicklung einer HPTLC-Methode (High-Performance Thin-Layer Chromatography) zur Identifizierung von *Terminalia mantaly* und *Senegalia ataxacantha* für das Ghanaische Arzneibuch.

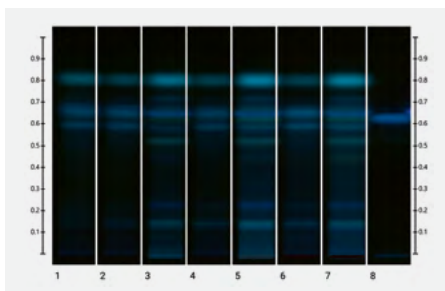


Abb. 2: Beispiel-Chromatogramm für die Ghana Herbal Pharmacopeia von *Senegalia ataxacantha* nach der Entwicklung mit dem Laufmittel Ameisensäure: Aceton: Toluol (10:45:45 V/V/V) und vor der Derivatisierung bei UV 366 nm.

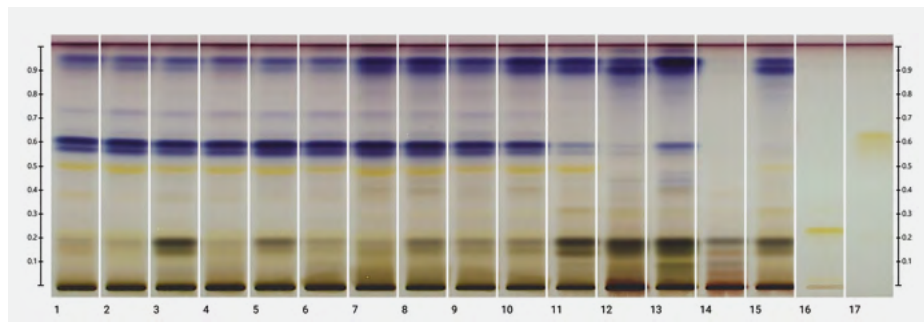


Abb. 1: Beispiel-Chromatogramm für die Ghana Herbal Pharmacopeia von *Terminalia mantaly* nach der Entwicklung mit dem Laufmittel Wasser: Methanol: Essigsäure: Chloroform (8:12:32:60 V/V/V/V) und der Derivatisierung mit Anisaldehyd bei Weisslicht.

# Vergleich von Testverfahren zur Bestimmung der antimikrobielle Aktivität von Wirkstoffen (vertraulich)



Diplomand	Nicholas Ho
Korrektor ZHAW	Dr. Gottfried Dasen
Korrektor extern	Christian Kunkel, CCOS

Starterkulturen, welche zur Herstellung fermentierter Milchprodukte verwendet werden, dürfen gemäss der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit (EFSA) keine übertragbaren Antibiotikaresistenzen aufweisen. Die Beurteilung basiert unter anderem auf der Bestimmung der minimalen Hemmstoffkonzentration (MHK) gegenüber acht Antibiotika. Dabei sollten die gemessenen Werte unterhalb eines von der EFSA vorgegebenen Grenzwertes liegen.

Bei der Untersuchung von Propionibakterien treten aber zwei Probleme auf: Einerseits liefert die empfohlene Methode nach ISO 10932 nicht für alle Stämme reproduzierbare Werte, andererseits basieren die Grenzwerte auf anderen Methoden gemessen für *Cutibacterium acnes* (vorgängig *Propionibacterium acnes*), einem pathogenen Bakterium aus dem klinischen Bereich. Ziel dieser Arbeit war es, die Methoden (ISO 10932 und CLSI M11) miteinander zu vergleichen und Verbesserungsvorschläge zu erarbeiten. Verwendet wurden die *P. freudenreichii*-Stämme FAM 1764, 15414A und 15414B sowie die *C. acnes*-Stämme FAM 1843 und 27113.

Die ISO-Methode konnte für die Resistenzprüfung für *P. freudenreichii* erfolgreich modifiziert werden, dabei wurde primär die Inkubationszeit verlängert und das Nährmedium optimiert. Die mit der CLSI-Methode gemessenen MHK-Werte für *P. freudenreichii* lagen dabei für

die meisten Antibiotika deutlich tiefer als bei ISO 10932 (z. B. für Kanamycin: 64 mg/l nach CLSI, 128 mg/l nach ISO). Reproduzierbare MHK-Werte für *C. acnes* konnten mit der ISO-Methode nicht bestimmt werden, das verwendete Medium erwies sich als nicht geeignet.

Diese Arbeit hat gezeigt, dass bei der Bestimmung von MHK-Profilen von Propionibakterien mittels ISO 10932 die von der EFSA vorgeschlagenen Grenzwerte zu tief angesetzt sind und entsprechend korrigiert werden müssten.

# Etablierung eines Modellsystems für die Blut-Hirn-Schranke mit BMECs und Astrozyten (vertraulich)



Diplomand

Marco Hofmann

Korrektoren ZHAW

Prof. Dr. Jack Rohrer, Leopold von Balthazar

Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

Ein grosses Ziel der Pharmaindustrie ist es, die Blut-Hirn-Schranke (BBB) zu modellieren, um Testsysteme für Substanzen zur Bekämpfung von neurodegenerativen Krankheiten zu entwickeln, die ethisch bedenkliche Tiermodelle ersetzen könnten. Im letzten Jahrzehnt wurden enorme Fortschritte in der Entwicklung von BBB-Modellen aus induzierten pluripotenten Stammzellen (hiPSCs) erzielt. In der Arbeit wurde auf bereits etablierten Protokollen zur Produktion von Zellen, die für BBB-Modelle benötigt werden, aufgebaut. Dazu gehören Endothelzellen, die Blutgefässe des Gehirns umgeben (brain microvascular endothelial cells = BMECs) und Astrozyten (AZ).

Im Rahmen dieser Arbeit wurden BMECs und AZ aus hiPSCs differenziert. Die Differenzierung wurde mit Durchflusszytometrie und immunhistochemischer Färbung (IF) überprüft und die Ergebnisse wurden im Kontext der Modellierung diskutiert. Die Differenzierung zu BMECs ergab TFR+, Cldn3+, VEC- und schwach Nestin+ BMEC-ähnliche Zellen. Mittels TEER-Messun-

gen wurde geprüft, ob sie auf Transwell-Inserts einen dicht gepackten Monolayer bilden können, was leider nicht der Fall war (TEER-Werte  $< 100 \Omega \cdot \text{cm}^2$ ). Die Differenzierung zu AZ ergab GLAST1+, LNGFR+, SSEA4- Zellen, die weiter mit IF als Nestin+, SOX9+ AZ-ähnliche Zellen bestätigt wurden, wobei die erhaltenen Zellen keine homogene Population darstellen.

In einer nächsten Phase sollen die Differenzierungsbedingungen und Methoden angepasst werden, um die Reproduzierbarkeit zu erhöhen sowie die funktionelle Bestätigung und Integration beider Zellarten in ein multizelluläres Modell der BBB zu ermöglichen. Diese Arbeit trägt zum Verständnis der Differenzierung von BMECs und AZ sowie der Modellierung der BBB bei.

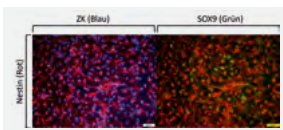


Abb. 1: IF-Bild der Astrozyten am Ende der Differenzierung. Das Zytoskelettprotein Nestin (rot) zeigt die Struktur der AZ

und astrozytische Endfüsschen sind als Verdickungen an den Enden der Auswüchse erkennbar. DAPI färbt die DNA im Zellkern blau. Der Transkriptionsfaktor SOX9 lässt den Zellkern je nach Expression unterschiedlich stark grün erscheinen. Massstab 50  $\mu\text{m}$ .

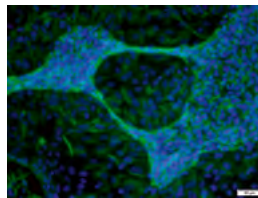


Abb. 2: IF-Bild der Co-Kultur der differenzierten AZ und BMECs. Es ist eine Überlagerung der Zellen erkennbar (AZ oben, BMECs unten). Nestin (grün) wird nicht von allen Zellen gleich stark exprimiert. Massstab 50  $\mu\text{m}$ .

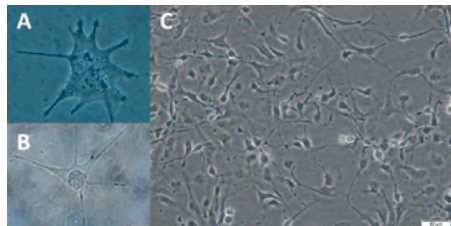


Abb. 3: A: AZ mit gut erkennbaren Endfüsschen. B: AZ mit typischer sternförmiger Morphologie. C: Fertig differenzierte AZ. Die typische Neuronen-ähnliche Struktur mit langen Auswüchsen ist erkennbar. Massstab Bild C 50  $\mu\text{m}$ .



# Detektion von oxidativem und mitochondriellem Stress mittels sekretierter Enzyme



Diplomand

Jonas Hug

Korrektoren ZHAW

Prof. Dr. Jack Rohrer,  
Dipl. Ing. Leopold von Balthazar

Um die Sicherheit von neuen Medikamenten zu gewährleisten, werden für die Entwicklung nach wie vor Versuche an Tieren durchgeführt. Um längerfristig auf ein alternatives System umzusteigen, können menschliche Zellen unter *in vitro* Bedingungen als alternatives Testmodell für Medikamente und/oder toxische Substanzen in Betracht gezogen werden. Dies wird mit Reporterkonstrukten realisiert. Reporterkonstrukte sind Plasmide, die mit einem Reporter gen ausgestattet sind.

In der Bachelorarbeit wurde evaluiert, ob ein bestehendes Reportersystem, welches auf SEAP basiert, in ein Reportersystem umgewandelt werden kann, welches bei oxidativem Stress Gaussia Luziferase exprimiert, und in ein weiteres, das bei mitochondriellem Stress eGFP exprimiert. Um mittels Lumineszenz oxidativen Stress nachzuweisen, wurden Reporterkonstrukte erstellt. Diese sollen bei Induzieren von oxidativem Stress Gaussia Luziferase exprimieren, dessen Aktivität dann mittels Lumineszenz-Messung detektiert werden kann. Die Reporterkonstrukte wurden mit der Golden-Gate-Klonierungstechnik bzw. der SapI-Klonierung hergestellt. Der Vorteil dieser Methode liegt in der Fähigkeit des SapI-Restriktionsenzym, Gensequenzen asymmetrisch zu schneiden. So können mehrere Gensequenzen, welche für die Konstruktion der Reporterkonstrukte benötigt werden, geschnitten und gleichzeitig an der an der richtigen Stelle ligiert werden.

Es konnte gezeigt werden, dass transfizier-

te HEK293T-Zellen eine hohe Aktivität von Gaussia Luziferase im Überstand aufweisen. Die Aktivität im Überstand wurde mit HEK293T-Zellen verglichen, welche ebenfalls transfiziert wurden, allerdings für die Lumineszenz-Messung lysiert wurden. Die lysierten HEK293T-Zellen hatten eine deutlich niedrigere Gaussia-Luziferase-Aktivität, woraus geschlossen werden kann, dass die Gaussia Luziferase ganz aus den HEK293T-Zellen sekretiert wird. Das Konstrukt kann künftig als Positivkontrolle für weitere Experimente verwendet werden, bei denen die Gaussia Luziferase gemessen werden soll.

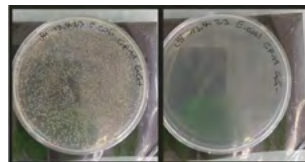


Abb. 1: Transformation von *E. coli*: Links die Positivkontrolle, rechts die Negativkontrolle.



Abb. 2: Reporterkonstrukt

# Optimierung einer relativen Potenzmethode mittels mikrofluidischem Immunoassay für ein Bavarian Nordic Produkt (vertraulich)



<b>Diplomandin</b>	Sarah Kofmehl
<b>Korrektorin ZHAW</b>	Prof. Dr. Steffi Lehmann
<b>Korrektorin extern</b>	Dr. Dzhuliya Dzhonova, Bavarian Nordic Berna GmbH

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Firma Bavarian Nordic Berna GmbH (alter Firmenname: Emergent BioSolutions Berna GmbH) in Thörishaus durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit werden keine Details zur Arbeit veröffentlicht.

# Entwicklung und Aufbau eines Versuchsstands für das mess- und regelungstechnische Praktikum in der biotechnologischen Ausbildung



Diplomandin

Dalija Krajnovic

Korrektorinnen ZHAW

Dr. Judith Krautwald, Simone Heuri

Die Bachelorarbeit konzentrierte sich auf die Entwicklung und den Aufbau eines Versuchsstands für das mess- und regelungstechnische Praktikum in der biotechnologischen Ausbildung, mit Schwerpunkt auf die Messtechnik. Zudem sollte der Inhalt dieser Arbeit so aufgebaut werden, dass dieser für Unterrichtszwecke weiterverwendet werden kann.

Das Ziel bestand darin, das bestehende Messtechnikpraktikum im 3. Semester im Fach Mess- und Automatisierungstechnik in der Biotechnologie umzugestalten. Der Fokus wurde auf die Anpassung des Praktikumsversuchs zur Durchflussmessung gelegt. Hierfür sollte für den Versuchsstand *EduKit* eine Steuerung entwickelt werden, welche für die Praktikumsdurchführung geeignet ist.

Gleichzeitig soll die derzeit verwendete Software *Fluidlab*<sup>®</sup> zur Steuerung des Versuchsstands vollständig ersetzt werden.

In der Arbeit wurden keine klassischen Experimente durchgeführt, sondern Produkte erarbeitet, nämlich zwei Steuerungen («Basic» und «Automatische Durchflussmessung») für das *EduKit*. Die Steuerungen wurden mit dem *WinErs*-Programm erstellt und am Versuchsstand *EduKit* getestet. Zudem wurden die neu erlangten Erkenntnisse zum Programm dokumentiert und aufbereitet, um für zukünftige Projekte auf diesem Gebiet eine Grundlage zu bilden.

Die Erfahrungen mit *WinErs* waren insgesamt sehr positiv. Die Flexibilität und Vielseitigkeit an

Bearbeitungsmöglichkeiten für Prozessbilder und Steuerungselemente in *WinErs* ermöglichte eine intuitive Gestaltung der beiden Steuerungen. Durch die effektive und praxisnahe Umsetzung können den Studierenden mit Hilfe des *EduKits* wichtige Kenntnisse im Bereich der Messtechnik vermittelt werden.



Abb. 2: Ausschnitt aus der Steuerung «Basic». Hier ist die Umsetzung des phys. Schaltpanels (unten) als virtuelles Schaltpanel (oben) in der Steuerung abgebildet.

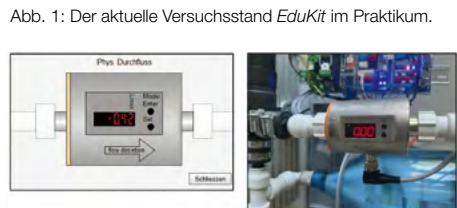


Abb. 3: Ausschnitt aus der Steuerung «Automatische Durchflussmessung». Hier ist die Umsetzung des phys. Durchflusssensors (rechts) als virtueller Durchflusssensor (links) in der Steuerung abgebildet.

# Sprühtrocknung von Reporterphagen zur Detektion von pathogenen Bakterien in der Lebensmittelproduktion (vertraulich)



Diplomandin	Linda Kubli
Korrektor:in ZHAW	Prof. Dr. Steffi Lehmann, Dr. Patrick Hauswirth
Korrektor extern	MSc Sandro Wegmann, NEMIS Technologies AG

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Firma NEMIS Technologies AG durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

Von den über 200 lebensmittelbedingten Krankheiten wird die Listeriose, verursacht durch den Erreger *Listeria monocytogenes*, mit 46 % Krankenhauseinweisungen und einer Todesrate von 11,5 % im Jahr 2021 in Europa als die schwerwiegendste gewertet. Die Einhaltung hoher Hygienestandards und regelmässige Kontrollen in der Lebensmittelindustrie tragen dazu bei, den Erkrankungen vorzubeugen.

Die Pathogen-Nachweistests werden bisher in spezialisierten Labors durchgeführt und dauern mehrere Tage. Um Kontaminationen schneller detektieren zu können, entwickelt NEMIS Technologies Schnelltests für eine Vor-Ort-Durchführung. Ein solches Kit für *L. monocytogenes* ist bereits erhältlich. Da dieser Erreger jedoch selten vorkommt und eine Detektion oft zu eskalierenden Massnahmen führt, wird vermehrt nach der Spezies *Listeria* spp. getestet, da diese grösstenteils nicht humanpathogenen Bakterien ein guter Indikator sind für eine erhöhte Gefahr durch *L. monocytogenes*. Der sich in Entwicklung befindliche Test zum Nachweis der Spezies basiert auf genetisch modifizierten Bakteriophagen, die nach einer sehr spezifischen Bakterieninfektion ein Reporterenzym freisetzen.

Um die Langzeitstabilität der Bakteriophagen und die Haltbarkeit des Nachweiskits zu gewährleisten, wurde untersucht, ob die Phagen mithilfe unterschiedlicher Hilfsstoffe und Trocknungsparameter durch Sprühtrocknung getrocknet werden können. Eine geeignete Formulierung für die Sprühtrocknung wurde etabliert, und eine Fraktion der getrockneten Phagen (3 %) behielt ihre Aktivität und Stabilität über mehrere Wochen bei 4 °C. Die zur Einordnung der Wiederfindungsrate durchgeführte, kostenineffizientere Lyophilisation zeigte eine signifikant höhere Phagenaktivität (10 %). Eine weitere Optimierung des Sprühtrocknungsprotokolls ist erforderlich, um diese Trocknungsmethode in Zukunft für die NEMIS Reporterphagen zu nutzen

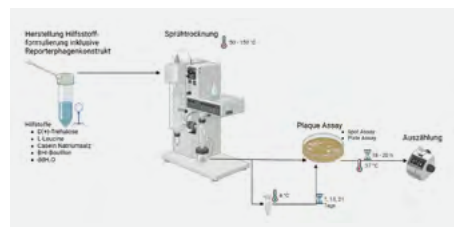


Abb. 1: Schematische Darstellung des Sprühtrocknungsprozesses und der anschließenden Quantifizierung der Phagen mittels Plate- oder Spot-Assay.

# Extraktion und Elektrosponnen von Biopolymeren mit anschliessender Zytotoxizitätsbestimmung (vertraulich)



Diplomand

Joshua Kuhn

Korrektorinnen ZHAW

Dr. Andrea Baier, Dr. Ina Albert

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

Die Nachfrage nach pflanzlichen, erneuerbaren und biokompatiblen Polymeren, welche mittlerweile auch Verwendung in der Herstellung von Nanofasern finden, ist in den letzten Jahren stetig gestiegen. Nanofasern bieten ein grosses Potenzial für Drug-Delivery-Systeme oder Tissue-Engineering-Anwendungen in Bereichen der Pharmazie und der Medizin und werden über den Prozess des sogenannten Elektrosponnens hergestellt.

Ziel dieser Arbeit war es, Biopolymere aus industriellen Seitenströmen zu extrahieren und anschliessend die geeigneten Parameter für einen erfolgreichen Elektrosponnen-Prozess zu finden. Zu diesen Parametern zählen die Lösungskonzentrationen, die angelegte Spannung, die Durchflussrate, die Spannungsdistanz sowie die Temperatur und die relative Feuchtigkeit. Zusätzlich wurde die Zytotoxizität des Biopolymers im Zellsystem untersucht, da sich gesponnene Nanofasern als Stützstruktur zur Zellbesiedelung eignen könnten.

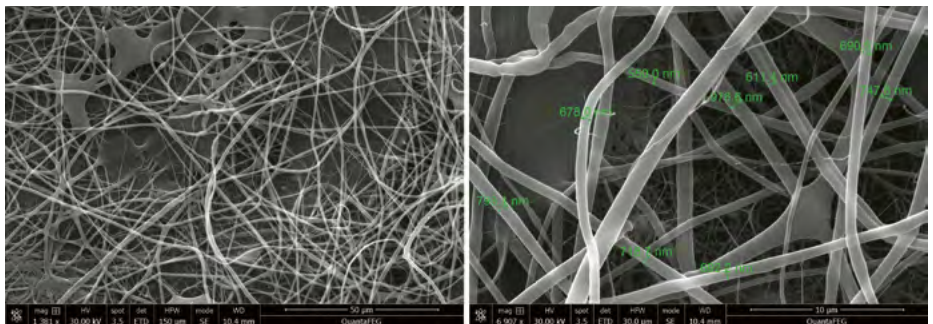


Abb. 1: Rasterelektronenmikroskop-Aufnahmen der durch eine Biopolymer-Lösung erzeugten Nanofasern. Die entstandenen Nanofasern weisen teils Defekte in der Fasermatten-Struktur auf.

# Durchführung, Teilnahme und Auswertung eines Ringversuchs zu *Aloe capensis*



Diplomandin

Stefanie Kuriger

Korrektoren ZHAW

Dr. Andreas Lardos, Samuel Peter

In der Europäischen Pharmakopöe ist die abführend wirkende Droge *Aloe capensis* beschrieben. Sie enthält als aktive Wirkstoffe Hydroxyanthrachinon-Derivate, insbesondere Barbaloin. Die Bestimmungsmethode des Barbaloins aus der Pharmakopöe ist aufwendig und fehleranfällig und soll daher durch eine U/HPLC-Methode ersetzt werden. Bisherige Arbeiten zur entwickelten U/HPLC-Methode zeigen einen systematisch tieferen Gehalt an Barbaloin als die photometrische Methode.

Ziel der Arbeit ist es, die systematische Abweichung breiter abzustützen und zu beurteilen, ob die Methode in die Ph. Eur. aufgenommen werden kann. Ausserdem soll Aloe-Emodin ebenfalls mittels HPLC analysiert werden können, da es möglicherweise toxisch wirkt.

Es wurden weitere Untersuchungen durchgeführt, um das Verhalten der Hydroxyanthrachinon-Derivate aus Aloe-Drogen und der HPLC-Methode besser kennenzulernen. Im Ringversuch wurde die bisherige Methode anhand von Proben der Droge *Aloe capensis* und des Extrakts *Aloe extractum siccum normatum* mit der neuen Messmethode verglichen. Es nahmen drei Labore teil, die jeweils drei identische Proben zur Analyse erhielten. Die Ergebnisse wurden statistisch ausgewertet. Es konnte gezeigt werden, dass der systematische Unterschied zwischen HPLC und Photometrie in allen Laboren vorhanden ist. Ausserdem wurde ersichtlich, dass die alte Methode eine grössere Streuung zwischen den Laboren wie auch laborintern aufweist

als die neue Methode. Aloe-Emodin konnte ebenfalls reproduzierbar in allen Laboren analysiert werden. Ausserdem konnte die HPTLC-Methode aus der Pharmakopöe mit einem geeigneten System Suitability Test ergänzt werden. Die HPLC-Methode zur Bestimmung von Barbaloin und Aloe-Emodin ist robust und reproduzierbar und ist deshalb geeignet für eine Implementierung in die Ph. Eur. Durch den systematischen Unterschied zur Photometrie wird empfohlen, die Spezifikation für den Gehalt an Barbaloin in der Monographie anzupassen oder einen Korrekturfaktor in die Formel der Gehaltsberechnung einzufügen.

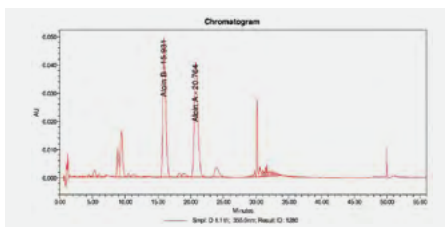


Abb. 1: HPLC-Chromatogramm der Droge *Aloe capensis* bei 355 nm.

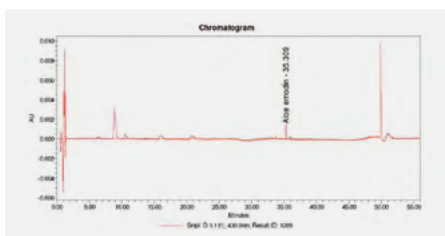


Abb. 2: HPLC-Chromatogramm der Droge *Aloe capensis* bei 430 nm.

# Rekombinante Herstellung der ADH1 von *Saccharomyces cerevisiae* in *E. coli* NEB10-Beta, BL21 (DE3) und Origami2 (DE3)



Diplomandin

An-Ky Le

Korrektoren ZHAW

Prof. Dr. Martin Sievers, David Frasson

Die Alkoholdehydrogenase (ADH) ist ein Enzym, das verschiedenartig in Eukaryonten und Prokaryonten vorkommt. Unter anderem befindet es sich in der Hefe *Saccharomyces cerevisiae*. Die Hauptaufgabe der Hefe besteht darin, in Gärungsprozessen Zucker in Alkohol und Kohlendioxid umzuwandeln. Dabei unterstützt die ADH in einer Zwischenverbindung den Stoffwechselweg der Hefe, indem es Ethanol in Acetaldehyd oxidiert und zeitgleich NAD<sup>+</sup> reduziert. Somit fungiert sie als Katalysator einer Redoxreaktion. Ihre enzymatische Aktivität ermöglicht es der Hefe, sich an anaerobe Bedingungen anzupassen und somit auch in Situationen zu überleben, wo der Sauerstoff limitiert ist. Die Eigenschaften und Mechanismen der Alkoholdehydrogenase der Hefe sind für die Erforschung neuer biotechnologischer Verfahren von grosser Bedeutung.

Diese Bachelorarbeit verfolgte das Ziel, eine Klonierungsstrategie für die Expression von ADH1 in *Escherichia coli* (*E. coli*) zu entwickeln. Dass *E. coli* häufig als Expressionssystem für rekombinante Proteine verwendet wird, liegt darin, dass seine Genetik gut charakterisiert ist und dass er seine schnelle und effiziente Proteinausbeute liefert. Für die Arbeit wurden die Stämme NEB10-Beta, BL21(DE3) und Origami2 (DE3) verwendet. Die Transformation und Klonierung wurden zunächst in NEB10-Beta etabliert. Anschliessend wurden zur Proteinexpression die Stämme BL21(DE3) und Origami2 (DE3) verwendet. Die Expression wird durch den Einsatz des Plasmids pET28a (+) als Vektor für die Klonierung und Expression erleichtert.

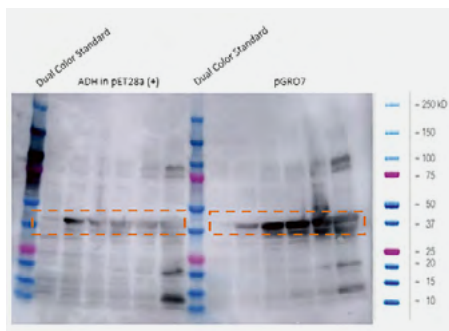


Abb. 1: Expression der ADH in *E. coli* BL21(DE3) mit und ohne Chaperone. Dargestellt ist die monomere Form der ADH von 37 kDa.

# The Effect of 3-Nitrooxypropanol on the Fungal Microbiome in the Rumen



<b>Diplomandin</b>	Jennifer LeBow
<b>Korrektor ZHAW</b>	Dr. Rolf Warthmann
<b>Korrektor extern</b>	Dr. Yang Li, ETH AgroVet-Strickhof

Methane (CH<sub>4</sub>) is a potent greenhouse gas and efforts to mitigate its production are of global interest. Ruminant livestock contribute significantly to the total anthropogenic methane emissions through enteric fermentation of plant matter by methanogenic archaea. As a potential option for mitigation, the compound 3 nitrooxypropanol (3-NOP) is of great interest in research in connection with its inhibitory characteristics towards methanogens. There is little literature available on the effects of 3-NOP on the fungal components within the rumen. The present study seeks to research *in vitro* the direct and indirect impact of 3-NOP in the form of the novel agricultural feed supplement Bovaer® on the fungal microbiome.

To this end, an effective concentration experiment was performed to ascertain the optimal dosage of 3-NOP to continue with, after which an inhibition experiment was conducted with the objective of examining the direct or indirect impact of Bovaer® on the rumen microbiome, with a particular focus on the fungal components, using pure cultures and defined co-cultures of methanogens and fungi that were exposed to 3-NOP and its degradation products.

The effective concentration experiment provided inconclusive results, showing uniformly low concentrations of methane generated across all tested concentrations of 3-NOP including the negative and methanogen free

controls. This step was not repeated and the recommended concentration for agricultural application of 60 µM was implemented for the inhibition experiment.

The results of the inhibition experiment confirm the known effect of 3-NOP and its degradation product sodium nitrite on methanogens and suggest that the effects of 3-NOP and sodium nitrite on the fungal components within the rumen are related to hydrogen production, possibly involving the fungal hydrogenosome. The carrier material and the degradation product sodium nitrate showed no significant effect in any test condition, while a single instance of the degradation product 1,3 propanediol impacting the fungal CO<sub>2</sub> content was likely a measurement artefact.



# Revisionsarbeiten zu den Arzneibuch-Monographien von *Taraxaci officinalis radix* und *radix cum herba*



Diplomand

Gianluca Marcuccio

Korrektoren ZHAW

Dr. Andreas Lardos,  
Dipl. Chemiker (FH) Samuel Peter

Pflanzliche Drogen werden schon seit langer Zeit für medizinische Zwecke verwendet. Sie werden als Tee oder in verarbeiteter Form beispielsweise als Phytopharmaka verwendet. In der Phytopharmazie ist der Löwenzahn (*Taraxacum officinale* F.H. Wigg.) als pflanzliche Droge breit bekannt. Es handelt sich um eine Wildpflanze, welche eine lange medizinische Geschichte hat und wegen ihrer vielen Wirkungen ein interessantes Phytopharmaka ist. Zum Löwenzahn existieren zwei Monographien im Europäischen Arzneibuch, welche nicht mehr dem aktuellen Stand der Technik entsprechen.

Das Ziel dieser Bachelorarbeit ist es, eine Identitätsprüfung per Dünnschichtchromatographie dieser Monographien durchzuführen und sie zu erneuern. Aufgrund der verschiedenen Inhaltsstoffgruppen wurde ein Vorschlag für eine neue High-Performance Thin-Layer Chromatography (HPTLC) Methode erstellt. Die Inhaltsstoffgruppen vom Löwenzahn wurden mittels kommerzieller Muster untersucht und schliesslich wurde eine geeignete Methode ausgewählt. Weiter wurden die Inhaltsstoffgruppen der Wegwartewurzel untersucht, um eine deutliche Unterscheidung der beiden Pflanzen zu erhalten.

Die verschiedenen Analysemethoden zeigten, dass zur Identitätsprüfung von Kraut-Wurzel-Proben eine Analyse auf Flavonoide geeignete Resultate liefert. Hierfür wurde die mobile Phase Ameisensäure:Wasser:Ethylacetat (10:10:80)

in Kombination mit dem Derivatisierungsmittel NP/PEG verwendet. Weiter stellte sich heraus, dass die Analyse auf Terpene oder Saponine eine Unterscheidung der beiden Wurzelarten ermöglicht und somit als Identitätsprüfung verwendet werden kann. Zur Analyse der Terpene wurde die mobile Phase Methanol: Dichlormethan (1:9) in Verbindung mit dem Derivatisierungsmittel Anisaldehyd verwendet. Zur Analyse der Saponine eignet sich die mobile Phase Wasser:Methanol:Essigsäure: Chloroform (8:12:32:60) in Kombination mit dem Derivatisierungsmittel Anisaldehyd.

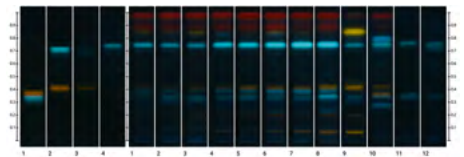


Abb. 1: Beispielchromatogramm Taraxaci herba cum radix.

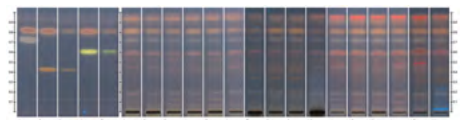


Abb. 2: Beispielchromatogramm Taraxaci radix (Terpene).

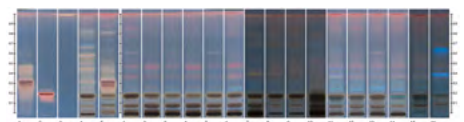


Abb. 3: Beispielchromatogramm Taraxaci radix (Saponine).

# Herstellung einer mutierten Zelllinie mittels CRISPR-Cas9



Diplomandin

Jessica Martins Anes

Korrektoren ZHAW

Prof. Dr. Martin Sievers,  
Dipl.-Ing. (FH) Tobias Wermelinger

Die CRISPR-Cas9-Technologie ist eine neue molekularbiologische Methode, die in der Forschung zunehmend an Popularität gewinnt und für das Genome Editing verwendet wird. Im Rahmen dieser Bachelorarbeit wurde zur einfachen und anschaulichen Erklärung der CRISPR-Cas9-Technologie ein elegantes Experiment durchgeführt.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war der bewirkte Verlust der Transkription von rekombinanten GFP in HEK293- und HeLa-Zellen durch CRISPR-Cas9-Editing. Hierzu wurde das Galactosyltransferase-GFP-Konstrukt aus einer vorgegebenen HeLa-Zelllinie, die von Prof. Dr. Jack Rohrer zur Verfügung gestellt wurde, isoliert und mittels PiggyBac Vektor PB-EF1-MCS-IRES-Neo in die HEK293-Zellen integriert. Danach wurde eine konstruierte 20-nt target-specific spacer Sequenz mit Bindung an die GFP-Sequenz in den CRISPR-Cas9 Vektor pSpCas9(BB)-2APuro(PX459) V2.0 zum Erhalt einer sgRNA integriert.

Für die Transfektion der transgenen HEK293- und HeLa-Zellen wurde das Plasmid pSpCas9(BB)-2APuro(PX459)V2.0\_gRNA\_NB15 verwendet. Zusätzlich wurden die Zellen separat mit dem Vektor pSpCas9(BB)-2A-Puro(PX459) V2.0 und den sgRNA-Sequenzen transfiziert. Als Negativkontrolle wurde jeweils nicht transfizierte HeLa- und HEK293-Zellen verwendet. Nach der Transfektion wurden alle 24 Stunden Aufnahmen mittels eines konfokalen Mikroskops gemacht. Anhand dieser Aufnahmen wurde der Verlust der GFP-Tran-

skription in den Zelllinien deutlich, der durch den Einsatz von CRISPR-Cas9 verursacht wurde. Dabei konnte bei den HeLa-Zellen eine deutliche Abnahme zwischen der Stunde 0 und der Stunde 72 gezeigt werden.

Die Abnahme bei der Probe, die mittels pSpCas9(BB)-2APuro(PX459) V2.0\_gRNA\_B1 transfiziert wurde, war am effektivsten und ist in der Abbildung 1 dargestellt. Bei den HEK293-Zellen war ebenfalls eine Abnahme der fluoreszierenden Intensität erkennbar, jedoch leuchteten diese transgenen Zellen von Beginn an nicht so stark wie die HeLa-Zellen. Der Effekt des CRISPR-Cas9-Editing konnte somit mittels Aufnahmen des konfokalen Mikroskops eindrücklich gezeigt werden.

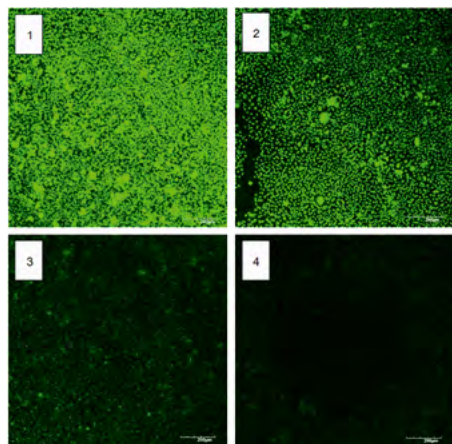


Abb. 1: Konfokale Aufnahmen der HeLa-Zellen nach der Transfektion mittels des Vektors pSpCas9(BB)-2A-Puro(PX459)V2.0 und der gRNA B1. 1) nach 0 Stunden, 2) nach 24 Stunden, 3) nach 48 Stunden, 4) nach 72 Stunden.

# Entwicklung einer neuen Formulierung von Proteinen zur topischen Behandlung von Akne (vertraulich)



<b>Diplomand</b>	Ricardo Matiz
<b>Korrektor:in ZHAW</b>	Prof. Steffi Lehmann, Prof. Dr. Christian Adlhart
<b>Korrektor extern</b>	Dr. Fritz Eichenseher, Microcos GmbH

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Firma Microcos durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

Akne vulgaris ist eine bekannte chronische Hautkrankheit, die besonders Jugendliche und junge Erwachsene betrifft. Viele von ihnen tragen bis ins Erwachsenenalter Vernarbungen und leiden unter psychischem Stress. Um die Krankheit effizient zu bekämpfen, wurde eine neue Formulierung für ein Produkt mittels Elektrosponnen entwickelt. Die aus dem Elektrosponnverfahren erhaltenen Nanofasern

werden unter anderem in der Pharmazie und Kosmetik angewendet und zeigen vielfältige Anwendungsmöglichkeiten. Ziel dieser Arbeit war es, die Wirkstoffe in Nanofasern zu integrieren. Dadurch mussten die richtigen Parameter definiert werden. Dabei handelt es sich um Durchflussrate, Spannung, Viskosität, Lösungskonzentrationen, Luftfeuchtigkeit und Temperatur. Anschliessend wurden die Nanofasern mittels Rasterelektronenmikroskop auf deren Morphologie analysiert. Ebenso wurde die kinetische Freisetzung der Wirkstoffe überprüft.

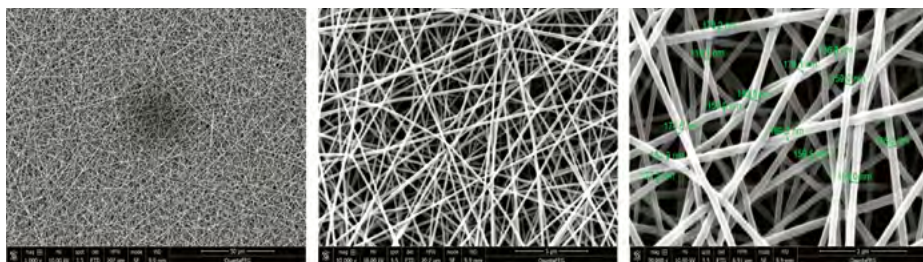


Abb. 1: Rasterelektronenmikroskop-Bilder der erhaltenen Nanofasern bei den richtigen Parametern.

# Neuste Entwicklungen bei der Herstellung von kultiviertem Fleisch



Diplomandin

Nadia Lavinia Matter

Korrektoren ZHAW

Dr. Markus Rimann, Prof. Dr. Michael Raghunath

Gleichzeitig mit dem Wachstum der Weltbevölkerung nimmt der Fleischkonsum stetig zu. Die konventionelle Fleischproduktion wird schon seit längerem kontrovers diskutiert und es wird mit Hochdruck an alternativen Eiweissquellen geforscht, welche ohne Tierleid und Umweltzerstörung auskommen. Ein innovativer Ansatz ist die Herstellung von kultiviertem Fleisch aus tierischen Zellen (Abb. 1).

In meiner Bachelorarbeit fasste ich die aktuelle Literatur zur tierzell-basierten Fleischherstellung zusammen und reflektierte den Stand der Wissenschaft kritisch. Bei der künstlichen Fleischherstellung verwendet man hauptsächlich Skelett-Muskel- (strukturelle Komponente) und Fett-Gewebe (geschmackliche Komponente). Die Zellen werden aus einer Biopsie vom Tier gewonnen. Aus dieser Biopsie werden entweder Vorläuferzellen dieser zwei Gewebe oder Zellen isoliert, welche zu sogenannten Stammzellen «reprogrammiert» werden können, um sich zum entsprechenden Gewebe zu entwickeln.

Hindernisse bei der Herstellung von kultiviertem Fleisch sind I) die Nährlösung, welche tierkomponentenfrei und günstig sein muss, II) die Vervielfältigung in einem geeigneten Bioreaktor zu einer sehr hohen Zelldichte, III) die effiziente Differenzierung in das entsprechende Gewebe und IV) der «Zusammenbau» des finalen Fleischstücks. Damit ein gewebeähnliches Produkt entsteht, werden

verschiedene Technologien verwendet. Die Bioprinting-Technologie ermöglicht die Schicht-für-Schicht-Herstellung eines dicken Fleischstückes. Als weitere Möglichkeit werden die Zellen in Scaffolds (Gerüste) eingesät, um ein Gewebe aufzubauen, oder es wird mit der Zellschichtung-Technologie (Cellsheets) gearbeitet, um die flachen Zellstrukturen in einem späteren Schritt mittels Enzym Transglutaminase zusammenzukleben.

Werden die noch zu überwindenden Hürden genommen, wird die Produktion von kultiviertem Fleisch zukünftig ein grosser Erfolg.

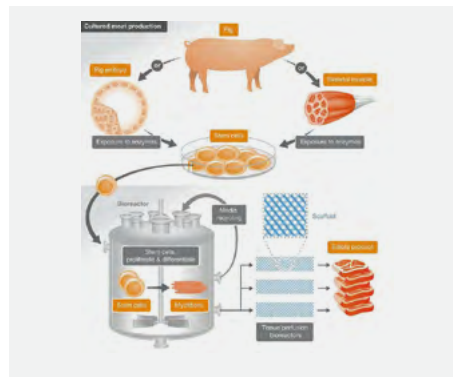


Abb. 1: Grundkonzept der Herstellung von kultiviertem Fleisch am Beispiel mit einem Schwein. Zuerst werden durch eine Biopsie am lebenden Tier entweder Embryonen oder Muskelgewebe entnommen und vermehrt. Die Zellen werden in einen Bioreaktor gegeben und differenzieren sich dort. Anschliessend werden die differenzierten Stammzellen auf ein Biogerüst übertragen, wo sie weiter zu Muskelfasern wachsen. Am Schluss werden die Muskelfasern zusammengesetzt und geklebt, um die Struktur eines kommerziellen Fleischstückes nachzuahmen.

# Biologische Evaluation eines neuartigen Bioreaktor-konzepts (vertraulich)



**Diplomand**

Fatos Miftari

**Korrektor:in ZHAW**

Prof. Dr. Dieter Eibl, MSc Vivian Ott,  
MSc Cedric Schirmer

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Firma Levitronix GmbH durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

Biopharmazeutische Produkte sind klinische Reagenzien, Impfstoffe und Arzneimittel, die mithilfe der modernen Biotechnologie für diagnostische, präventive und therapeutische Anwendungen hergestellt werden. CHO-Zellen werden in grossem Umfang für die Produktion von Biopharmazeutika, einschliesslich Immunglobulin G (IgG), verwendet. Um eine hohe Antikörperproduktion zu erreichen, spielt der Kultivierungsprozess eine entscheidende Rolle.

Das Ziel dieser Bachelorarbeit war es, ein neuartiges Bioreaktorsystem auf die Eignung zur Produktion von biopharmazeutischen Produkten mit CHO-Zellen zu evaluieren. Dafür wurden IgG-produzierende ExpiCHO-S-Zellen im Fed-Batch-Prozess kultiviert. Als Vergleichssystem dienten ein Standardrührreaktor sowie der Schüttelkolben. Insgesamt wurden drei Wiederholungen der Kultivierung durchgeführt, um zuverlässige und robuste Ergebnisse zu gewährleisten. Dabei wurden Schlüsselparameter wie IgG-Produktion, Zellwachstum, Viabilität und Metaboliten bewertet, um die Effektivität des neuartigen Bioreaktors zu ermitteln und seine Leistung mit den Referenzsystemen zu vergleichen.

# Enzymatischer Abbau von Mykotoxinen (vertraulich)



Diplomandin

Jelena Mitrovic

Korrektorinnen ZHAW

Prof. Dr. Rebecca Buller, Dr. Katrin Hecht

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

Fadenpilze produzieren Mykotoxine als sekundäre Stoffwechselprodukte. Mykotoxine können einen negativen Einfluss auf Fortpflanzung und Immunität haben und Krebs auslösen. Zusätzlich sind Mykotoxine sehr stabile Moleküle, welche durch gängige Verfahren der Lebens- und Futtermittelherstellung nur schwer zu entfernen sind. Als Konsequenz können sie sich in der Nahrungskette anreichern, was dazu führt, dass kontaminiertes Material entsorgt werden muss. Dies ist häufig verbunden mit einem grossen wirtschaftlichen Schaden.

Die Erforschung von Verfahren, die es erlauben, Mykotoxine aus kontaminiertem Pflanzenmaterial zu entfernen, ist daher ein zentrales Thema der Nahrungsmittelsicherheit. Neben physikalischen und chemischen Methoden wird auch ein neuer Ansatz verfolgt: die biologische Dekontamination durch Mikroorganismen oder Enzyme.

Das Ziel dieser Bachelorarbeit bestand darin, die enzymatische Degradierung von Zearalenon, einem ausgewählten Mykotoxin, weiter zu erforschen. Zu diesem Zweck wurden literaturbekannte Lactonhydrolasen auf ihre Thermostabilität untersucht und es wurde nach Wegen gesucht, die Enzyme thermostabiler zu machen. Eine Literaturrecherche identifizierte

eine vielversprechende Mutation für einen Stabilitätsgewinn. Durch molekularbiologische Techniken konnte die entsprechende Variante des Zielenzym erfolgreich hergestellt werden. Die Lactonhydrolase-Variante wurde in *E. coli* exprimiert und anschliessend chromatographisch aufgereinigt. Schliesslich konnten die bereits bekannten Enzyme sowie die während der Bachelorarbeit hergestellten Varianten auf ihre Thermostabilität getestet werden.

# Optimierung des Diagnoseverfahrens von Parasiteneiern der Wiederkäuer



Diplomandin

Corina Müller

Korrektoren ZHAW

Dr. Lukas Neutsch, Dr. Ramon Eichenberger,  
MSc Alexander Hämmerli

Weltweit besteht das Problem der parasitären Belastung bei Wiederkäuern. Das Risiko einer parasitären Infektion wird bei der Weidehaltung, wie sie in der Schweiz verbreitet ist, deutlich erhöht. Des Weiteren erhöht die prophylaktische Gabe von Anthelminthika die Häufigkeit der Resistenzen gegen diverse Wirkstoffe. Es weisen bereits 80 % der Schaf- und Ziegenherden eine Resistenz gegen den Wirkstoff Benzimidazol auf.

Die Arbeit zeigt, dass die beschleunigte Sedimentation während 5 min bei 2000 g nicht stark genug ist, um die Parasitenarten *Monizia spp.*,

*Eimeria spp.*, Magen-Darm-Strongyloiden (*MDS*), *Dicrocoelium dendriticum* (*DD*) und *Faciola hepatica* (*FH*) zu sedimentieren. Es wurde eine geringe Anzahl Partikel in der FL-Ü-Fraktion wiedergefunden. In dieser Fraktion hätten die parasitären Eier angereichert werden sollen. Als Beispiel wurden im entwickelten *Eimeria*-Gate nur noch 13 Partikel wiedergefunden und keine der analysierten *Pulsshapes* konnte als *Eimeria* identifiziert werden. Dennoch konnte gezeigt werden, dass der Filter, welcher im Rahmen einer anderen Arbeit etabliert wurde und Partikel bis 105 µm durchlässt, für die Eier *Monizia spp.*, *Eimeria spp.*, *MDS*, *DD* und *FH*, geeignet ist. Diese Arbeit erfolgte in Kooperation mit dem Institut für Parasitologie der Universität Zürich.

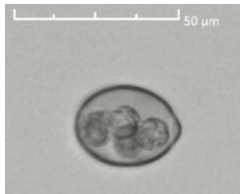


Abb. 1: Flowcytometrische Aufnahme einer ovalen, sporulierten *Eimeria*-Oozyste mit Mikropyle und Polkappe. Partikel ID: 4162.

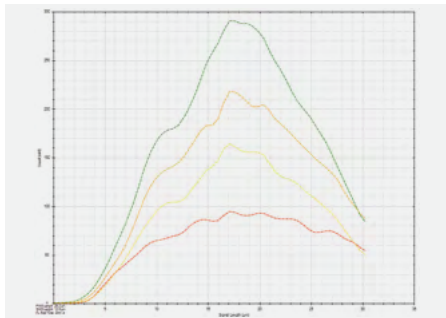


Abb. 2: Aufgezeigt wurden die Werte der grünen, orangen und roten Fluoreszenz. Auf der x-Achse wird die *Signal Length* [µm] und auf der y-Achse der Wert *Level* [mV] angegeben. Partikel ID: 4162.

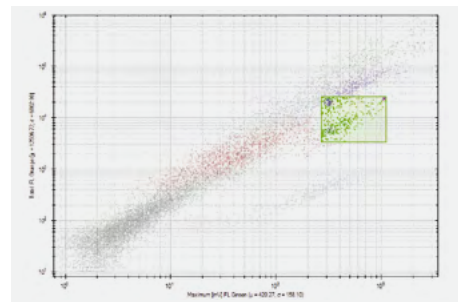


Abb. 3: Der Distribution Plot wurde mit der y-Achse Total FL Orange\* und der x-Achse als Maximum [mV] FL Green\* gewählt. Das grüne Rechteck zeigt das Gate, welches für *Eimeria spp.* entwickelt wurde. Jeder Punkt steht für einen gemessenen Partikel. Das pinke x steht für den spezifischen Partikel, bei welchem eine *Eimeria*-Oozyste nachgewiesen werden konnte mit der Partikel ID: 4162. \*FL = Fluoreszenz.

# Entwurf und Aufbau eines regelungstechnischen Versuchsstands für die praktische Ausbildung im Rahmen der Biotechnologie



Diplomandin

Isabelle Muralt

Korrektorinnen ZHAW

Dr. Judith Krautwald, Simone Heuri

Um eine praktische Lernmöglichkeit im Bereich Mess- und Regelungstechnik anzubieten, wurde von der Fachstelle für das Mess- und Regelungstechnik-Praktikum die Versuchsanlage *EduKit* angeschafft. Jedoch hat sich die mitgelieferte Software *FluidLab*<sup>®</sup>, die im Messpraktikum verwendet wurde, als nicht intuitiv in der Anwendung erwiesen, da ein tieferes Verständnis der Elektrotechnik erforderlich ist, um das Programm zu verstehen. Das Prozessleit- und Prozessautomatisierungssystem *WinErs* der Firma Schoop ermöglicht die Erstellung individueller Steuerungen für das *EduKit*.

Das Ziel der Bachelorarbeit bestand darin, eine Steuerung zu entwickeln, die für das Messpraktikum verwendet werden kann (Abbildung 1). Diese Steuerung konzentriert sich auf die Messkette des Drucksensors des *EduKit* und wurde erfolgreich erstellt. In dieser Steuerung können Einstellungen der Messkette des Drucksensors vorgenommen werden. Zusätzlich wurde eine zweite Steuerung erstellt, die als Einführung in das Programm *WinErs* diente und das virtuelle Schaltpanel des *EduKit* darstellt (Abbildung 2). Dieses virtuelle Schaltpanel hat dieselbe Funktion wie sein reales Vorbild. Es stellte sich heraus, dass diese Steuerung ebenfalls für das Praktikum verwendet werden kann.

Ein Nebenziel der Arbeit war es, einen Überblick über die Elemente zu geben, mit denen ein Prozessbild im *WinErs* erstellt wird. Dadurch soll das Arbeiten mit *WinErs* für spätere Bachelorarbeiten erleichtert werden. Dies wurde durch die Erstellung von Tabellen umgesetzt, in denen die Elemente nach ihrer Funktionsweise geordnet wurden.

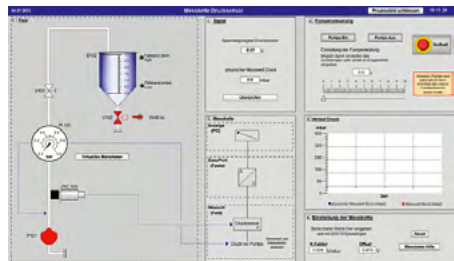


Abb. 1: Steuerung «Messkette Drucksensor».

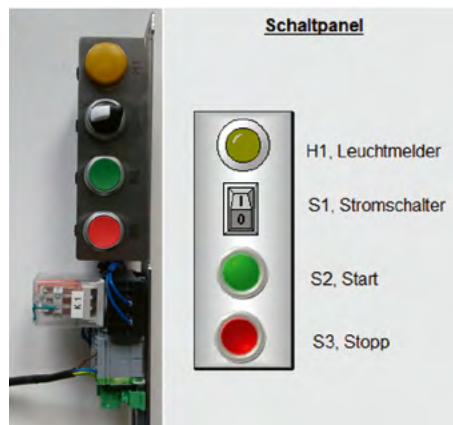


Abb. 2: Links Foto des Schaltpanel und rechts Darstellung des virtuellen Schaltpanels.



# Herstellung von Muskelgewebe in einer Alginat-basierten Gerüststruktur (vertraulich)



Diplomandin

Katja Mutter

Korrektoren ZHAW

Dr. Markus Rimann, Prof. Dr. Michael Raghunath

Das beschriebene Projekt wurde in Zusammenarbeit mit dem ETH-Startup *sallea* durchgeführt und steht unter Geheimhaltungspflicht.

Clean Meat ist ein Fleischersatz, der auf kultivierten tierischen Zellen basiert. Myogene Satellitenzellen werden proliferiert, auf Biomaterialien besiedelt (wenn das Scaffold auch ein Teil des Endproduktes sein wird) und später differenziert (siehe Abbildung 1). Die Muskelzellen differenzieren in Myotuben (fusionierte Muskelzellen), die zusammen mit dem Scaffold die Textur und den Geschmack des konventionellen Fleisches reproduzieren können.

Der neuartige Prozess der künstlichen Fleischherstellung braucht unter anderem geeignete Gerüststrukturen, um die Zellen in fleischähnlicher Textur zu kultivieren. Die 3D-Scaffolds, welche für Clean-Meat-Anwendungen verwendet werden, bestehen aus natürlichen und essbaren Materialien wie Kollagen, Alginat oder Cellulose. Diese Materialien müssen die Zelladhäsion, die Proliferation und die Differenzierung der Zellen in einer 3D-Umgebung gewährleisten. *Sallea* hat eine Plattform entwickelt, welche die Herstellung von massgeschneiderten Scaffolds aus beliebigen Bio-

materialien ermöglicht. Die Flexibilität dieses Ansatzes hat das Potenzial, mögliche Optimierungen für die Herstellung von Clean Meat zu identifizieren und die Entwicklung eines Produkts voranzutreiben.

In dieser Arbeit wurden Alginat-Scaffolds hergestellt und murine Muskelzellen (C2C12, Myoblasten) in diese eingesät. Dabei wurden die Zelladhäsion, die Proliferation und die Differenzierung in Myotuben analysiert. Um die Stabilität und die Zelladhäsion der Scaffolds zu optimieren, wurden sie mit biokompatiblen Biomaterialien modifiziert. Die Resultate haben gezeigt, dass Alginat ein vielversprechendes Polymer für Clean-Meat-Anwendungen ist, vorausgesetzt die Zelladhäsion kann noch weiter verbessert werden.



Abb. 1: Schematische Darstellung von Clean Meat.

# Bestimmung der antibakteriellen Aktivität von *Artemisia annua* auf Borrelien-Zellen



Diplomandin

Julia Nafzger

Korrektoren ZHAW

Prof. Dr. Martin Sievers,  
Dipl.-Ing. (FH) Tobias Wermelinger

In der vorliegenden Arbeit, die in Zusammenarbeit mit dem Competence Center for Drug Discovery von Prof. Dr. Rainer Riedl entstand, wurden ausgehend von einem Bio-Kräuterpulver verschiedene Extrakte von *Artemisia annua* von Amarys hergestellt und mittels einer SYBR Green I/ PI Färbung auf ihre antibakterielle Wirkung gegen *B. burgdorferi* untersucht. Mögliche inhibierende Fraktionen wurden mittels MALDI-TOF auf das Molekulargewicht bestimmt und in Datenbanken gesucht.

Insgesamt wurden sechs unterschiedliche Extraktionen hergestellt und mittels Normalphasenchromatographie fraktioniert, darunter eine Extraktion mit 60 % Ethanol, eine mit 99.7 % Ethylacetat und eine Extraktion, die auf dem Isolierungsprinzip von Artemisinin basierte und aus der ein wässriger Extrakt sowie ein Etherphase-Extrakt resultierten. Zusätzlich wurden eine Extraktion mit Ethylacetat in einer Soxhlet-Apparatur, eine weitere Extraktion mit Ethylacetat in der Mikrowelle und eine letzte Extraktion mit Dichlormethan durchgeführt.

Der Inhibitionsassay mit *B. burgdorferi* und EtoAC F11-17 [5 mg/mL] in den 1.5 mL Reaktionsgefässen zeigte nach einer Inkubation von 24 h, dass in beiden Ansätzen mit EtoAC F11-17 verglichen mit den Positivkontrollen Artemisinin und Minocycline und der Negativkontrolle DMSO nach der Färbung mit SYBR Green I/ PI mehr tote als lebende Borrelien vorhanden waren. Mittels MALDI-TOF wurden

Molekulargewichte der Fraktion EtoAC F11-17 identifiziert, welche grösser als die Substanz Artemisinin sind und bislang noch nicht eindeutig von der Struktur bestimmt wurden. Weitere Inhibitionsassays mit *B. burgdorferi* und EtoAC F11-17 mit Hilfe eines HTS 7000 Plus Bio Assay-Readers sind nötig, um quantitative Auswertungen machen zu können. Zusätzlich sollte für die EtoAC Fraktion 11-17 eine Analyse mit der NMR-Spektroskopie gemacht werden, um Informationen über die Struktur zu erhalten.

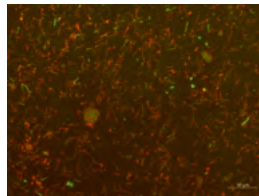


Abb. 1: *B. burgdorferi* mit EtoAC F11-17 [5 mg/mL] nach 24 h. Erstes Bild von XY-Tile mit Massstab 50  $\mu$ m.

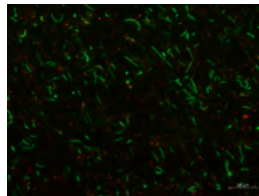


Abb. 2: Blank *B. burgdorferi* nach 24 h. Erstes Bild von XY-Tile mit Massstab 50  $\mu$ m.

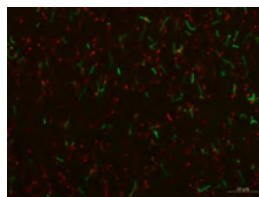


Abb. 3: *B. burgdorferi* mit Minocycline [5  $\mu$ g/mL] nach 24 h. Erstes Bild von XY-Tile mit Massstab 50  $\mu$ m.

# 3D-Zellkultur unter mechanischer Stimulation (vertraulich)



Diplomand

Tilman Nelissen

Korrektoren ZHAW

Dr. Markus Rimann, Prof. Dr. Michael Raghunath

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Universität Bern, dem Inselspital Bern und der EPFL durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

Für die Forschung und Entwicklung neuer Therapien sind *in vitro* Modellsysteme menschlicher Organe vielversprechend, da sie kostengünstiger, relevanter und durchsatzstärker sind als *in vivo* Modellsysteme. In dieser Arbeit wurde eine hydrophobe Elastomermembran als Bestandteil eines mechanisch stimulierbaren *in vitro* Modellsystems der menschlichen Blase erforscht. Wie auch andere Organe unterliegt die Blase einer konstanten mechanischen Belastung, die durch den zyklischen Füll- und Entleerungsvorgang hervorgerufen wird. Dadurch ist eine entsprechende Nachbildung dieser Einwirkungen *in vitro* erwünscht.

Um die Adhärenz von relevanten Zellen auf der hydrophoben Elastomermembran zu gewährleisten, wurde diese verschiedenen Oberflächenbehandlungen unterzogen, und nach der Besiedelung verschiedener Zellen wurden die Adhärenz, Proliferation und Differenzierungsfähigkeit von C2C12 (Skelett-Muskelzellen), TEU-2 (Blasen-Epithelzellen) und aus der Blase isolierten primären glatten Muskelzellen überprüft. Unter den verschiedenen Oberflächenbehandlungen stach die kovalente Bindung von Kollagen I an die Elastomermembran hervor, da sie über einen Zeitraum von drei Wochen die Bildung und Aufrechterhaltung von konfluenten Zellschichten ermöglichte.

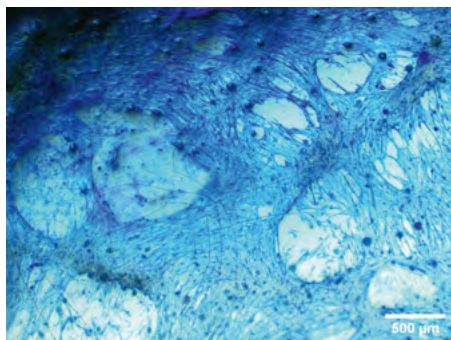


Abb. 1: Färbung von C2C12 Zellen (links) nach elf Tagen und von TEU-2 Zellen (rechts) nach 18 Tagen mit Coomassie-Brilliant-Blau auf Membranen mit kovalent gebundenem Kollagen I. Die C2C12 Zellen zeigen ein Netzwerk von elongierten Myotuben, wobei auch zellfreie Stellen zu erkennen sind. Die TEU-2 Zellen zeigen nahezu 100 % Konfluenz und weisen eine variierende Grösse auf. Mikroskop: Olympus IX81. Kamera: DP74. Massstabsleiste: 500 µm.

# Der Effekt von Additiven auf die Dampfvorbehandlung von Lignozellulose, bewertet durch enzymatische Hydrolyse und Lignin-Methylierung



Diplomandin

Shovmiya Pathmanathan

Korrektoren ZHAW

Dr. Davide Di Francesco, Dr. Thomas Pielhop

Der steigende Verbrauch fossiler Ressourcen stellt eine grosse Herausforderung dar. Die Nutzung von lignozellulosehaltigen Reststoffen kann einen Beitrag zur Reduktion der Abhängigkeit von petrochemischen Ressourcen leisten und somit zu einer Milderung des Klimawandels beitragen. Lignozellulosehaltige Biomasse besteht hauptsächlich aus Zellulose, Hemizellulose und Lignin. Lignin ist das am häufigsten vorkommende natürliche aromatische Polymer auf der Erde. Die Substitution von Phenol durch Lignin zur Herstellung von Phenolharz stellt einen vielversprechenden Ansatz dar, um sowohl die Umweltverträglichkeit als auch die Reproduzierbarkeit von Harzen zu verbessern.

Das Ziel dieser Arbeit war die schonende Isolierung des Lignins und dessen chemische Aufwertung durch Methylierung. Es wurde eine Dampfvorbehandlung von Fichte (Weichholz) und Buche (Hartholz) mit Additiven wie 2-Naphthol und Natrium 2-Naphthol-7-Sulfonat durchgeführt, um die widerstandsfähigen Strukturen aufzubrechen und somit die Zugänglichkeit der Zellulose für Enzyme zu verbessern. Anschliessend wurde die vorbehandelte Biomasse enzymatisch hydrolysiert, um vergärbare Zucker wie Glukose, Xylose und Mannose herzustellen. Dabei ging die Zellulose als Zucker in Lösung und das Lignin konnte als Feststoff isoliert werden. Das gewonnene Lignin wurde anschliessend durch Methylierung aufgewertet und mit

NMR-Analysen untersucht. Von jeder Probe wurden eine FT-IR-Analyse und eine Biomassenanalyse durchgeführt.

Die Vorbehandlung der Biomasse führte zu einer Lösung der Hemizellulose und vermutlich zur Bildung von Furfural. Zudem konnte gezeigt werden, dass die positive Wirkung des Additivs auf die enzymatische Hydrolyse grösser ist, wenn es auf Weichholz wie Fichte angewendet wird. Die enzymatische Hydrolyse offenbarte, dass die Zellulose vom Feststoff beinahe vollständig entfernt wurde und dass Lignin isoliert werden konnte. Die NMR-Analyse bestätigte die erfolgreiche Methylierung des Lignins.

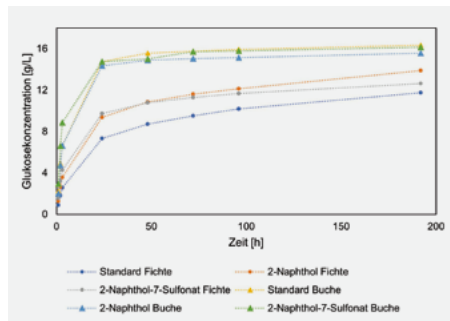


Abb. 1: Der Einfluss der Additive auf die enzymatische Hydrolyse. Glukosekonzentration in g/L über die Zeit der Proben A bis F mit und ohne Additive vorbehandelt.

## Possibilities of production optimization (confidential)



<b>Diplomand</b>	Till Portmann
<b>Korrektor ZHAW</b>	Dr. Lukas Neutsch
<b>Korrektor extern</b>	Vertreter des Industriepartners

The project described is subject to confidentiality. It was carried out with an industrial partner in Switzerland. For reasons of confidentiality, no details of the work will be published.

# Prozessintensivierungsansätze zur Produktion von monoklonalen Antikörpern mit CHO-Zellen (vertraulich)



Diplomandin

Sarah Reiss

Korrektor:in ZHAW

Prof. Dr. Regine Eibl-Schindler, MSc Jan Müller

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

Die steigende Nachfrage nach monoklonalen Antikörpern erfordert kontinuierliche Optimierung hinsichtlich der Produktionsmengen und der stabilen Qualität. In der biopharmazeutischen Forschung hat sich der Schwerpunkt auf Zeit- und Kosteneinsparungen durch Prozessintensivierung verschoben, wobei Perfusionskulturen wieder in den Fokus gerückt sind.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine kontinuierliche Kultivierung mit Zellrückhaltesystem im Labormassstab etabliert, um Immunglobulin G (IgG) mit CHO-Zellen zu produzieren. Des Weiteren wurden die Vorteile einer High-Seed-Inokulation anhand von Fed-Batch-Versuchen im Ambr 250 verdeutlicht. Die Inokulation wurde jeweils mit einer bereits etablierten Ultrahochzelldichte-Arbeitszellbank durchgeführt, was bei der Produktion zu zusätzlichen Zeitersparnissen führte.

Die kontinuierliche Kultivierung konnte über einen Zeitraum von 57 Tagen mit einer Viabilität von über 87 % aufrechterhalten werden. Um die Ausbeute in künftigen Versuchen zu erhöhen, wurden Strategien zur Steigerung der spezifischen Produktbildung und zur Senkung der kulturspezifischen Perfusionsrate diskutiert. Ein Vorteil der kontinuierlichen Kultivierung ist die gleichbleibende Produktqualität aufgrund der konstanten Prozessparameter.

Die Prozessparameter konnten jedoch nicht durchgehend konstant gehalten werden, was durch weitere Automatisierung in der Prozesssteuerung künftig verbessert werden könnte.

Die Prozessintensivierung durch die Inokulation im High Seed konnte bestätigt werden, da deren Einsatz die Kulturdauer im FedBatch erheblich verkürzte. Die Fed-Batch-Produktionsverfahren mit High Seed erreichten einen Titer von  $3,5 \text{ g L}^{-1}$  in 11 Tagen, während dies bei den Low-Seed-Verfahren erst nach 16 Tagen der Fall war. Die um mehr als 30 % verkürzte Kulturdauer ermöglicht eine Steigerung der Produktionskapazität.

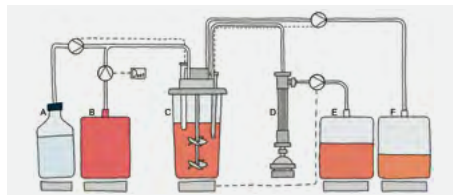


Abb. 1: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus der kontinuierlichen Kultivierung mit: (A) Glukoselösung, (B) Feed, (C) Reaktor, (D) ATF, (E) Harvest und (F) Bleed.

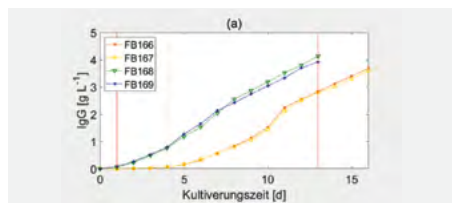


Abb. 2: Verlauf der IgG-Konzentration in den Fed-Batch-Versuchen im High Seed (FB168 und FB169) und im Low Seed (FB166 und FB167).

# Kultivierung methanogener Mischkulturen in kontinuierlichen Systemen (vertraulich)



Diplomandin

Laura Sager

Korrektoren ZHAW

Dr. Wolfgang Merkle, Dr. Rolf Warthmann

Aus Gründen der Vertraulichkeit wurde die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

Der Einsatz der biologischen Methanisierung, um Energie in Form von Methan zu speichern, nimmt mit der zunehmenden Energieknappheit und den schwindenden Reserven an fossilen Brennstoffen zu. Das Medium enthält die Nährstoffe nach Gerhard et al. 1993 sowie die zusätzlichen Nährstoffe Calcium, Zink, Mangan, Borsäure und Kupfer. In dieser Bachelorarbeit wurde die Eignung des im Rahmen der Semesterarbeit «Optimierung der biologischen Methanisierung im Labormassstab» optimierten Mediums für die kontinuierliche Kultivierung von Mischkulturen in zwei Kultivierungsversuchen getestet. Zusätzlich wurde der Einfluss verschiedener Prozesstemperaturen untersucht.

In drei Reaktoren wurden Mischkulturen bei 65, 55 oder 38 °C mit definierten Verdünnungsraten kultiviert. Dabei wurden täglich die optische Dichte, die Fluoreszenz, der Proteingehalt und die Zusammensetzung des Produktgases gemessen. Zudem wurden Proben für die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie entnommen. Während der zweiten Kultivierung wurde eine Fluoreszenzmikroskopie durchgeführt. Anhand der Resultate wurden die volumetrische spezifische Methanproduktionsrate, die auf die Proteinmenge bezogene spezifische Methanproduktionsrate sowie die Wachstumsrate berechnet.

Wegen technischer Probleme mussten die Kultivierungen während der kontinuierlichen Phase abgebrochen werden. In beiden Kultivierungen erreichte der Reaktor mit einer Prozesstemperatur von 55 °C die höchsten spezifischen Methanproduktionsraten und Wachstumsraten. Da die zur Inokulation verwendete Mischkultur zuvor bei 55 °C kultiviert worden war, kann angenommen werden, dass das Inokula bereits an die Temperatur adaptiert war. Die Resultate zeigen, dass mesophile Temperaturen das Wachstum von acetogenen Bakterien in Mischkulturen fördern. Die Fluoreszenzmikroskopie deutet darauf hin, dass mesophile Temperaturen zu einer höheren Fluoreszenz und einer vermehrten Bildung von Aggregaten führt. Die Resultate zeigen zudem, dass bei den Kultivierungen eine Gaslimitation vorhanden war. Während den Kultivierungen waren keine Anzeichen einer Limitation oder Inhibition bezüglich des optimierten Mediums erkennbar, was für eine gute Eignung des Mediums für kontinuierliche Kultivierungen spricht.

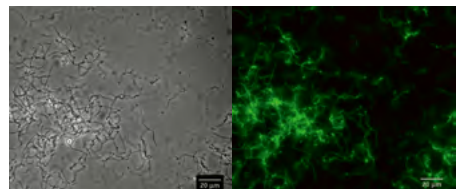


Abb. 1: Links: Aufnahme einer Probe im Phasenkontrast aus dem Reaktor mit einer Prozesstemperatur von 38 °C. Rechts: Aufnahme der Fluoreszenzmikroskopie einer Probe aus dem Reaktor mit einer Prozesstemperatur von 38 °C.

# Untersuchungen zur Entwicklung eines neuen Kulturmediums für Pflanzenzellkulturen und Produkte der Lebensmittelindustrie (vertraulich)



**Diplomand**

Philip Schaub

**Korrektoren ZHAW**

Dr. Dieter Eibl, Msc Fruhar Mozaffari

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde mit einem Industriepartner in der Schweiz durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit werden keine Details zur Arbeit veröffentlicht.



# Optimierung von Sensoren für die Messung von gelöstem Wasserstoff



Diplomandin

Anja Schlager

Korrektoren ZHAW

Prof. Dr. Caspar Demuth, Dr. Juan Limon Petersen

Die vielseitigen Herstellungs-, Speicherungs- und Lagerungsmöglichkeiten machen Wasserstoff zu einer optimalen Lösung als alternative Energiequelle. Das Gas spielt eine Schlüsselrolle bei der biologischen Methanisierung, bei der Wasserstoff und  $\text{CO}_2$  mit Hilfe von Mikroorganismen (Archeen) in Methan umgewandelt wird. Im Rahmen des «Power to Gas»-Konzepts könnte dieser Prozess in Zukunft einen wichtigen Beitrag leisten zur Versorgung mit erneuerbaren Energien. Für die Überwachung der Prozesse ist eine kontinuierliche Messung der Konzentration des gelösten Wasserstoffs wichtig. Zurzeit sind für diese Anwendung aber keine prozessauglichen Sensoren kommerziell verfügbar. Die Bachelorarbeit hatte zum Ziel, Sensoren für gelösten Wasserstoff weiterzuentwickeln und in realen Anwendungen zu testen (siehe Abb. 1).

Bei amperometrischen Sensoren beruht das Messprinzip auf Redox-Reaktionen, die unter einem definierten Potenzial ablaufen. Als Messgröße ergibt sich dabei ein Strom, der sich proportional zur Konzentration des gelösten Analyten (Wasserstoff) verhält. Durch Modifikationen verschiedener Sensorbestandteile können häufige Probleme wie die Langzeitstabilität, Interferenzen mit anderen Gasen und die Ansprechzeit verbessert werden. Gewählt wurde dazu der Clark-Sensor in einer Konfiguration mit zwei Elektroden, da er sich durch Robustheit und eine tiefe Nachweisgrenze auszeichnet. Um die Qualitätsmerkmale des Sensors zu überprüfen, wurden für die

Messungen verschiedene elektroanalytische Methoden verwendet wie die Chronopotentiometrie, zyklische Voltammetrie und Chronoamperometrie. Zur Verbesserung des Ansprechverhaltens wurde ein selektiv wirkendes, leitendes Polymer (Nafion) eingesetzt, sodass nur bestimmte Moleküle die Elektrodenoberfläche erreichen und reagieren können (siehe Abb. 2). Ausserdem wurden verschiedene Elektrolytlösungen verwendet, um die Reaktionsgeschwindigkeit der Ladungsübertragung zu beeinflussen und die Ansprechzeit des Sensors zu minimieren. Die Langzeitstabilität wurde durch die Kombination von beiden Modifikationen des Sensors verbessert.



Abb. 1: Messaufbau Bioreaktorsimulation.

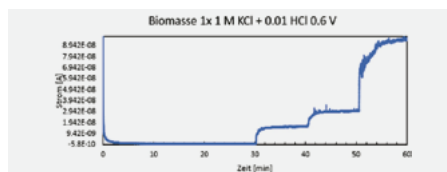


Abb. 2: Darstellung der Kalibrationskurve der chronoamperometrischen Messung in Biomasse.

# Expression and Characterization of a Hydroxylase with Incorporated Noncanonical Amino Acids (vertraulich)



Diplomand Timo Schneider

Korrektor:in ZHAW Prof. Dr. Rebecca Buller, MSc Sandro Giger

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

Halogenhaltige Verbindungen sind in der pharmazeutischen und agrochemischen Industrie von grosser Bedeutung. Halogene lassen sich aber mit etablierten chemischen Methoden nur schwer selektiv in Moleküle einbauen. Die enzymatische Halogenierung ist eine vielversprechende Technologie, welche die selektive Derivatisierung von nicht aktivierten Kohlenstoffatomen ermöglicht. Jedoch wurden bisher nur eine Handvoll Enzyme hauptsächlich aus der Familie der Fe(II)/ $\alpha$  Ketoglutarat-abhängigen (Fe/ $\alpha$  KG) Dioxygenasen entdeckt, die freistehende Substrate selektiv an C(sp<sup>3</sup>)-Zentren halogenieren können, wodurch die Substratbandbreite limitiert ist.

Neben der Identifizierung neuer Halogenasen ist die Optimierung und Anpassung bestehender Enzyme eine weitere Möglichkeit, den Halogenasen-Werkzeugkasten zu erweitern. In diesem Kontext ist der Einbau von nicht natürlichen Aminosäuren mit massgeschneiderten chemischen Eigenschaften in die Peptidkette eine vielversprechende Strategie, die Ziel-Enzyme mechanistisch zu untersuchen und zu optimieren. Nicht natürliche Aminosäuren können durch die Erweiterung des genetischen Codes in Proteine eingebaut werden. Hierzu wurde in dieser Bachelorarbeit die *amber stop codon suppression* Methode verwendet, wobei das *amber* (UAG) *stop codon*

umprogrammiert wird, sodass eine nicht natürliche Aminosäure an dieser Position eingebaut werden kann (Abb. 1). Die Expression von Proteinen mit nicht natürlichen Aminosäuren kann stark reduziert sein, weshalb der speziell für diese Methode entwickelte *Escherichia coli* Stamm B95.deltaA [1] verwendet wurde, um die Fe/ $\alpha$ -KG Dioxygenase mit nicht natürlichen Aminosäuren zu exprimieren. Weiter wurden die Expressionsbedingungen erfolgreich verbessert, um eine höhere Ausbeute von Enzymen mit eingebauten nicht natürlichen Aminosäuren zu erreichen.

Sowohl Histidin als auch Tyrosin-Analoga wurden unter den optimierten Bedingungen erfolgreich eingebaut. Anschliessend wurden *in vitro* Biokatalysen mit den exprimierten und aufgereinigten Enzymen durchgeführt und die Umsetzung der Substrate mittels *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* untersucht.

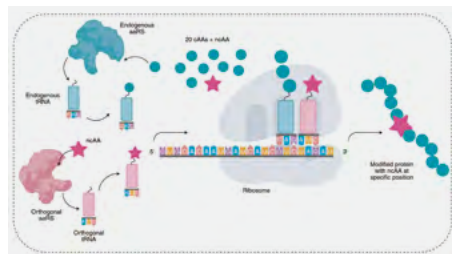


Abb. 1: Schematische Darstellung der nicht natürlichen Aminosäuren-Inkorporation mittels *amber stop codon suppression* Methode. ncAA = nicht natürliche Aminosäure, aaRS = Aminoacyl-tRNA-Synthetase.

# Cell Surface Display von Enzymen auf *E. coli*



Diplomandin

Flora Shala

Korrektorinnen ZHAW

Dr. Christin Peters, Dr. Zrinka Raguz Nakic

Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

Ganzellige Enzymkaskaden sind ein vielversprechendes neues Konzept für die Herstellung wertvoller Moleküle. Enzymkaskaden bieten eine ganze Reihe von Vorteilen, nicht nur gegenüber der herkömmlichen chemischen Synthese, sondern auch gegenüber biotechnologischen Einzelenzym-Anwendungen. Vor allem entfällt die Reinigung von Zwischenprodukten, was einfachere Prozesse mit höherer Biotransformationseffizienz und weniger Abfallprodukten ermöglicht.

Die Etablierung von Ganzzell-Enzymkaskaden für eine breitere industrielle Nutzung wurde bisher vor allem durch die erforderliche Feinabstimmung der Expression der einzelnen Enzyme erschwert. Daneben ergeben sich weitere Herausforderungen bei Substraten, die für die Wirtsmembran nicht durchlässig sind, oder bei Kaskaden mit toxischen Zwischen-

produkten. In solchen Fällen sind herkömmliche Ganzzellsysteme nicht geeignet. Um diese grossen Hürden bei nicht permeablen Substraten oder toxischen Verbindungen zu überwinden, kann die sehr bekannte Technik des Zelloberflächendisplays genutzt werden.

Innerhalb dieser Bachelorarbeit wurde versucht, drei verschiedene Enzyme auf der Oberfläche von *E. coli* zu exprimieren. Diese Enzyme sind Bestandteil einer literaturbekannten Enzymkaskade, die die Umwandlung von Pflanzenölen zu industriell relevanten C<sub>9</sub>-Carbonsäuren ermöglicht. Verschiedene Kultivierungstemperaturen und Kultivierungsmedien wurden untersucht und ermöglichten die erfolgreiche Expression der Enzyme. Die Enzyme auf der Oberfläche konnten mittels fluoreszierender Antikörpermarkierung nachgewiesen werden. Gleichzeitig wurden innerhalb der Arbeit weiterführende Klonierungen und erste Versuche zur Etablierung einer Analytik durchgeführt.

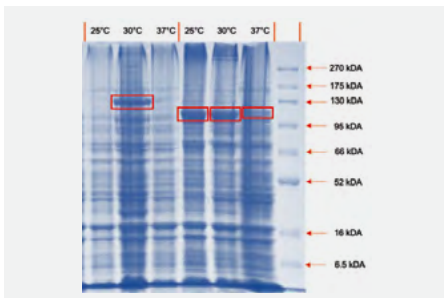


Abb. 1: SDS-Gel zeigt die generelle Expression zweier Enzyme bei verschiedenen Expressionstemperaturen.

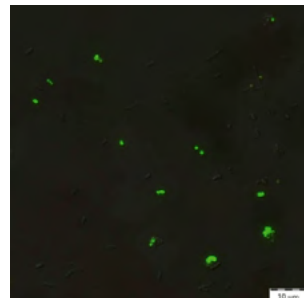


Abb. 2: Mittels Antikörper markierte exprimierte Enzyme auf der Oberfläche von *E. coli*.

# Einfluss der Biomasse-Extraktion auf die Biokonversion in einer Lignozellulose-Bioraffinerie



Diplomand

Bujar Sherifi

Korrektoren ZHAW

Dr. Thomas Pielhop, Davide Di Francesco

In Bioraffinerien wird lignozellulosehaltige Biomasse in mehreren Prozessschritten wie Vorbehandlung, enzymatische Hydrolyse und anschließende Fermentation zu Bioethanol oder anderen Chemikalien «veredelt». Ein weiterer Prozessschritt, der eingebaut werden könnte, ist die Gewinnung von Extraktstoffen. Extraktstoffe aus Holz enthalten sehr viele unterschiedliche Komponenten, welche auch in der Aroma- und Duftstoffindustrie begehrt sind. Sollte sich zeigen, dass die Extrakte eine negative Wirkung auf die enzymatische Hydrolyse und Fermentation mit sich bringen, dann könnten beide Industrien davon profitieren.

Um den Einfluss von Extraktstoffen aus Fichten- und Buchenholz zu untersuchen, wurden verschiedene Versuche durchgeführt. Dazu gehörten die Analyse der Biomasse, die Extraktion der Stoffe aus der Biomasse, die enzymatische Hydrolyse von kristalliner Zellulose mit Zugabe von Extraktstoffen aus Fichte und Buche (Konzentration 0-2 g/L), sowie die Fermentation mittels *Saccharomyces Cerevisae* und *Escherichia Coli* und der Zugabe von Harzstoffen (Konzentrationen 0-2 g/L).

Während der Hydrolyse von kristalliner Zellulose konnte durch Zugabe von Extraktstoffen aus Fichtenholz eine um 34,1 % (1g/L Harzlösung) gesteigerte Glukoseausbeute beobachtet werden. Die Extrakte aus Buchenholz verringerten die Glukoseausbeute um 36,4 % (1.5 g/L Harzlösung). Die Zugabe von Harz-

stoffen zur Fermentation von *S. Cerevisiae* bewirkten um 22,8 % (0.25 g/L Harzlösung) höhere Ethanolausbeuten. Bei der Fermentation von *E. Coli* konnte keine Verbesserung oder Verschlechterung nachgewiesen werden.



Abb. 1: Aufbau der Extraktion: Glasbehälter mit Extraktionshülsen gefüllt mit Biomasse im Soxhtherm der Firma Gerhard.



Abb. 2: Kolben mit Mikroorganismen (*E. Coli*) und Harzlösung in aufsteigenden Konzentrationen.

# Analyse von mitochondrialem Stress mittels eines Reportersystems in Keratinozyten (vertraulich)



Diplomandin

Dorotea Sipusic

Korrektor:in ZHAW

Prof. Dr. Jack Rohrer, Dr. Arezoo Daryadel

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

Die Haut ist das grösste menschliche Organ und übernimmt viele lebenswichtige Funktionen. Damit in der kosmetischen und pharmazeutischen Branche die experimentellen Tierversuche minimiert werden können, wird nach dreidimensionalen Hautalternativen geforscht. Die Rekonstruktion einer humanen Epidermis erfolgt häufig durch die Kultivierung von primären Keratinozyten auf einer porösen Membran, welche für einige Tage an der Luft-Flüssigkeit-Grenze differenzieren, sodass die basalen Keratinozyten nach oben wandern und eine geschichtete Epidermis bilden.

Damit die begrenzte Verfügbarkeit, Variabilität und limitierte Lebensdauer der primären Keratinozyten bei der Bildung der humanen Epidermismodelle umgangen werden können, wurden in dieser Arbeit immortalisierte Keratinozyten (N/TERT1-Zellen) untersucht. Da die kosmetischen und pharmazeutischen Produkte einen mitochondrialen Stress verursachen können, wurden spezifische Reporterkonstrukte für den mitochondrialen Stress in die N/TERT1-Zellen transduziert. Durch eine mitochondrielle Dysfunktion kommt es zur Aktivierung eines spezifischen Signalweges, damit die Homöostase im Doppelmembran-Organell wiederhergestellt werden kann. Hierbei kommt es zur Aktivierung der integrierten Stressantwort, wobei die Cap-abhängige

Proteinsynthese eingestellt und der bZIP-Transkriptionsfaktor (ATF4) vermehrt hergestellt wird. Dadurch wird ein Aminosäuremangel erzeugt, welcher die spezifische Transkription der ASNS (Asparaginsynthase) einleitet. Das ASNS-Gen besitzt Enhancer-Sequenzen und diese fungieren als Erkennungssequenzen für das ATF4, sodass eine Reaktion auf den mitochondrialen Stress erfolgen kann.

Durch die lentivirale Transduktion der Reporterkonstrukte konnte der mitochondrielle Stress in den N/TERT1-Zellen untersucht werden, indem das Carbonylcyanid-m-Chlorphenylhydrazon (CCCP) induziert wurde. Die Analyse erfolgte mithilfe des Durchflusszytometers, wobei ein Unterschied zwischen den stressinduzierten N/TERT1-Zellen und der basalen Grundexpression vermerkt wurde. Aus zeitlichen Gründen konnte der mitochondrielle Stress nicht im dreidimensionalen Epidermismodell erfolgen.

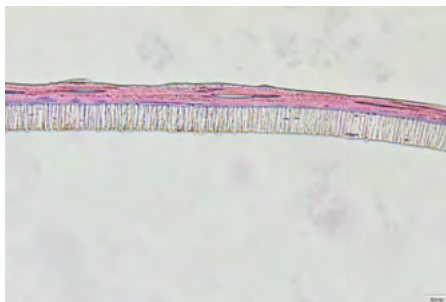


Abb. 1: Rekonstruktion eines dreidimensionalen Epidermismodells mit N/TERT1-Zellen (zehn Tage).

# Schweizer Alpenkräuter der Familie Lamiaceae: Analytik der Inhaltsstoffe und Screening des antioxidativen und antiinflammatorischen Potentials



**Diplomandin**

Melissa Steiner

**Korrektor:in ZHAW**

Dr. Andreas Lardos, Samuel Peter,  
Dr. Evelyn Wolfram

Die Arbeit steht unter Geheimhaltung – daher werden keine näheren Angaben zur Themenstellung gemacht. Als Studierende der Biotechnologie konnte ich wertvolle Erfahrungen sammeln zu Naturstoffanalytik und Bioassays sowie mit dem industriellen Auftraggeber.

# Analyse von oxidativem Stress mittels eines Reportersystems in Keratinozyten (vertraulich)



Diplomandin

Alina Thoma

Korrektoren ZHAW

Prof. Dr. Jack Rohrer,  
Dipl. Ing. Leopold von Balthazar

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Aus Gründen der Vertraulichkeit werden keine Details zur Arbeit veröffentlicht.

Aufgrund des gesetzlichen Verbots von Tierversuchen zur Sicherheitsprüfung von Kosmetikprodukten stieg der Bedarf an alternativen Testmethoden signifikant an. In diesem Zusammenhang erlangten 3D-Hautmodelle auf Basis von humanen primären Keratinozyten, die befähigt sind, die physiologischen Bedingungen der Haut zu imitieren, eine erhebliche Bedeutung. Die Etablierung eines solchen Modells erweist sich jedoch aufgrund der limitierten Verfügbarkeit von primären Keratinozyten, der Spendervariation und des Einstellens ihres Wachstums ab einer bestimmten Passagezahl als herausfordernd. Die humane Keratinozyten-Zelllinie N/TERT-1, die ein ähnliches Potenzial zur Ausbildung von 3D-Hautmodellen aufzeigt, stellt eine vielversprechende Möglichkeit dar, diese Problema-

tiken zu umgehen. Ziel dieser Arbeit war es, ein Epidermis-Modell auf Basis von N/TERT-1 zu generieren, mit dem das Ausmass an oxidativem Stress über die Expression von GFP quantifiziert werden kann.

Für die Analyse von oxidativem Stress in Keratinozyten erfolgte eine vorherige Transfektion von N/TERT-1 mit einem Reporterkonstrukt, durch welches in Anwesenheit von oxidativem Stress über den Nrf2-Keap1-Signalweg GFP in der Zelle exprimiert wird. Befindet sich die Zelle unter oxidativem Stress, äussert sich dies mithilfe von Fluoreszenzmikroskopie anhand einer grün leuchtenden Erscheinung der Zelle (siehe Abb. 1). Um oxidativen Stress auszulösen, wurden die Substanzen Zimtaldehyd und EGDMA als Stressoren eingesetzt. Die messbare Fluoreszenzemission wurde dabei zur Quantifikation des oxidativen Stresses in Relation zur Grundexpression der Zelle gesetzt.

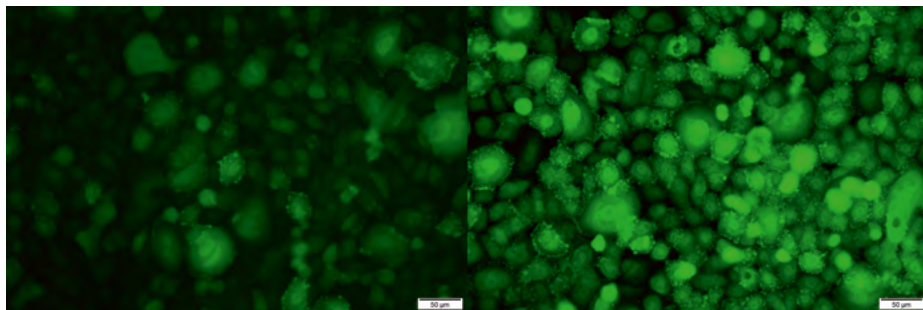


Abb. 1: Mikroskopische Aufnahme von transfizierten N/TERT-1 Zellen im Grundzustand (links) und nach der Induktion von oxidativem Stress über die Zugabe von Zimtaldehyd (rechts). Die Genexpression von GFP wurde über Zimtaldehyd initiiert, was sich mikroskopisch an einem verstärkten GFP-Signal im Vergleich zur Grundexpression zeigt.

# Construction of a periosteal tissue for bone healing by sound waves (sound-induced morphogenesis) (vertraulich)



Diplomandin

Thea Johanna Ulbrich

Korrektoren ZHAW

Prof. Dr. Michael Raghunath, Dr. Markus Rimann

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit dem Industriepartner mimix Biotherapeutics durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

Knochengewebe gehört zu den wenigen Geweben mit der Fähigkeit zur Selbstheilung ohne Narbenbildung. Dennoch kommt es bei einem beträchtlichen Anteil von Knochenfrakturen – etwa 5 bis 10 % – zu einer verzögerten oder sogar ausbleibenden Heilung, was nicht nur zu einer erheblichen finanziellen Belastung des Gesundheitssystems führt, sondern auch die Lebensqualität der PatientInnen stark beeinträchtigt. Bislang fehlt es an effektiven Behandlungsansätzen.

Die Knochenhaut, auch Periost genannt, bedeckt nahezu alle äusseren Flächen der Knochen. Sie gewährleistet durch ihre starke Vaskularisierung die essenzielle Blutversor-

gung des Knochens und spielt dadurch eine entscheidende Rolle in dessen Bildung und Heilung. Die Nutzung von Periost, das mittels Tissue Engineering gewonnen wird, eröffnet somit vielversprechende Möglichkeiten in der Knochenregenerationstherapie.

In dieser Bachelorarbeit wurde ein Periost bestehend aus MSCs (*mesenchymal stem cells*) und HUVECs (*human umbilical vein endothelial cells*) entwickelt. Dabei wurde die neuartige SIM-Technologie (*sound induced morphogenesis*) des Industriepartners verwendet, welche es ermöglicht, Zellen in einem Hydrogel mit Hilfe von stehenden Wellen mit definierter räumlicher Auflösung und hoher Zelldichte anzuordnen. Durch diese Anordnung gelingt es, ein über etliche Tage stabiles Gewebe aus gefässartigen Strukturen zu züchten.

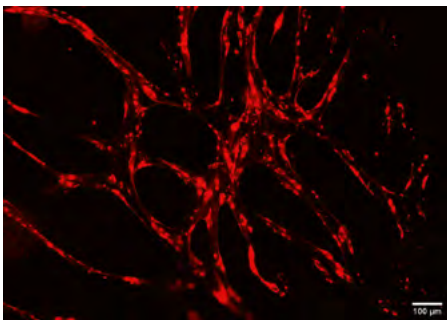


Abb. 1: Die gefässartigen Strukturen bilden sich nach der Anordnung mit SIM und der Kultivierung nach etwa 3 Tagen und bleiben bis zu Tag 21 stabil. Sichtbar in Rot sind die eingesetzten GFP-HUVECs.



# Zellbasierte Diagnoseverfahren über Automatisierung und Machine-Learning (vertraulich)



Diplomandin	Lavaniya Vallipuram
Korrektoren ZHAW	Dr. Lukas Neutsch, MSc Alexander Hämmerli
Korrektor extern	Dr. Ramon Eichenberger, Universität Zürich

Diese Bachelorarbeit konzentrierte sich auf die Optimierung eines Diagnoseverfahrens für parasitäre Krankheitserreger in der Veterinärmedizin. Anthelminthika-Resistenzen in Nutztieren verursachen weltweit gravierende gesundheitliche und finanzielle Schäden. Das Hauptziel der Arbeit bestand darin, ein bereits entwickeltes Analyseverfahren weiter zu verbessern und pflanzliche Pollen als bekannte Fehlerquelle auszuschliessen.

15 Pollenspezies aus verschiedenen geographischen Breitengraden der Schweiz wurden mittels Durchflusszytometrie (engl. *Flow Cytometry*, FCM) analysiert und charakterisiert. Die gewonnenen Daten wurden für statistische Auswerteverfahren (MVDA, multivariate Datenanalyse) und als Trainingsdatensätze für Machine-Learning-Tools verwendet. Es wurde festgestellt, dass im Vergleich zur rein visuellen Unterscheidung die Hochdurchsatz-Analyse mit algorithmischer Auswertung das Risiko von Fehldiagnosen effektiv minimieren und die Differentialdiagnostik weiter verfeinern kann. So konnten Parasiteneier und Pollen bereits ohne weitere Optimierungsschritte mit einer Wahrscheinlichkeit von mehr als 70 % der richtigen Spezies zugeordnet werden. Eine breitere Implementierung befindet sich in Umsetzung.

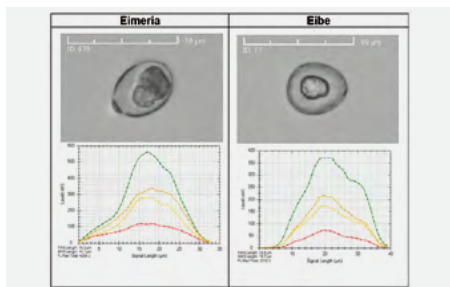


Abb. 1: In der Abbildung wird das Bild eines Eis der Helminthen-Gattung Eimeria mit der dazugehörigen Pulse-Shape (links) einem Bild eines Pollenkorns der Spezies Eibe und der dazugehörigen Pulse-Shape (rechts) gegenübergestellt.

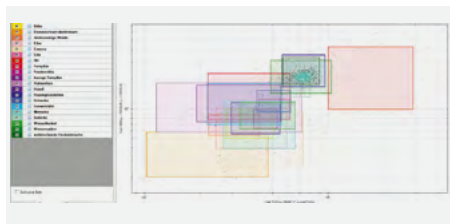


Abb. 2: Die Abbildung zeigt ein typisches Cytogramm aus der FCM-Analysesoftware. Die farbigen Flächen (Gates) repräsentieren Klassifizierungskategorien für Ei- bzw. Pollen-Spezies.

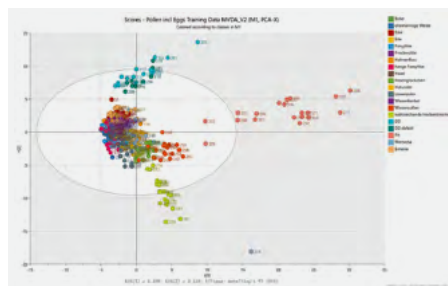


Abb. 3: Die Abbildung zeigt eine Hauptkomponentenanalyse der Charakterisierungsdaten über ein PLS-Regressions-Modell. Farblich klassiert sind die verschiedenen Pollentypen bzw. Parasiten-Spezies. Trotz der scheinbaren Überlappungen im zweidimensionalen Diagramm kann das Modell verlässlich zwischen den verschiedenen Typen unterscheiden.

# Lokale und globale Mischzeitmessung (vertraulich)



**Diplomandin**

Shajla Vukalic

**Korrektor:in ZHAW**

Dr. Iris Poggendorf, MSc Cedric Schirmer und  
MSc Stefan Seidel

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Fachgesellschaft DECHEMA durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

Die Modellierung eines idealen Rührkessels ist lediglich für Geräte im Labormassstab möglich, sofern solche vorhanden sind. Im Gegensatz dazu gibt es in Bioreaktoren Temperatur- und Konzentrationsschwankungen, die für chemische Prozesse entscheidend sein können. Die Wechselwirkung zwischen Bioreaktoren und Mischprozessen hängt von der Kinetik der Reaktionen und den Eigenschaften der Bioreaktoren ab, einschliesslich Homogenisierung, Wärmeübertragung und Stoffübertragung.

Um eine effektive Durchmischung und eine gleichmässige Reaktion zu gewährleisten, muss die Durchmischungszeit in Bioreaktoren bestimmt werden. Es hat sich als möglich erwiesen, die Durchmischungszeit sowohl lokal als auch global mit verschiedenen Techniken abzuschätzen.

Das Ziel dieses Projekts war die Entwicklung einer neuen Entfärbungstechnik. Die Bestimmung der lokalen und globalen Durchmischungszeiten stand dabei im Mittelpunkt. In dieser Bachelorarbeit wurde der Einsatz einer pH-Methode mit dem Indikator Bromthymolblau zur Bestimmung der Durchmischungszeit näher untersucht. Mit Hilfe der Iodometrie wurde dieses Verfahren dann mit der herkömmlichen Entfärbungsmethode verglichen.

Die Untersuchungen wurden in einem transparenten Bioreaktor im Benchtop durchgeführt und ausgewertet. Mit Hilfe von MATLAB wurden die Ergebnisse ausgewertet. Die Videoaufzeichnung wurde mittels Bildanalyse quantifiziert und anschliessend wurde die Mischzeit berechnet und grafisch dargestellt.



Abb. 1: Messverlauf Entfärbungsmethode Iodometrie.

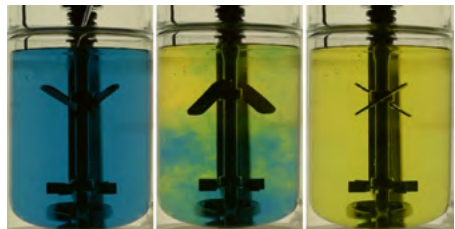
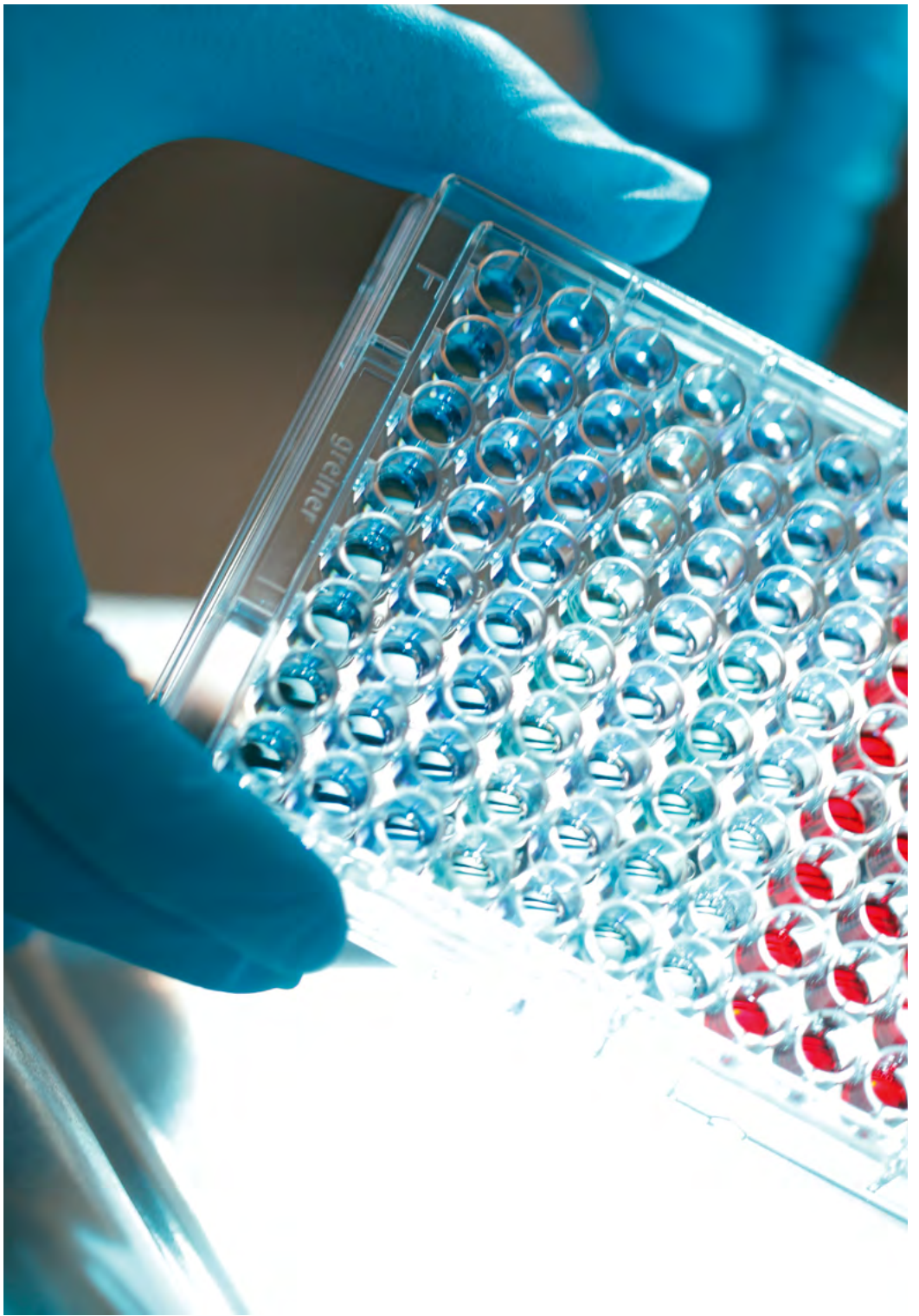


Abb. 2: Messverlauf pH-Methode Bromthymolblau.





# Institut für Chemie und Biotechnologie (ICBT)

Das ICBT ist eines der naturwissenschaftlichen Institute der ZHAW. Es betreibt angewandte Forschung zu brandaktuellen Themen rund um Gesundheit, Chemie, Biotechnologie und Umwelt – von Antibiotikaresistenzen oder antiviralen Wirkstoffen über Mikroplastik bis hin zu nachhaltigeren chemischen Prozessen. In drei Bachelorstudiengängen und zwei Studienrichtungen im Master bildet das ICBT junge Menschen für den Wachstumsmarkt Life Sciences aus.

## Lehre

Das ICBT bietet drei Bachelorstudiengänge an: den Bachelor in Biotechnologie mit Vertiefung «Bioprozessentwicklung und Bioengineering» oder «Molekular-, Mikro- und Zellbiologie», den Bachelor in Chemie mit Vertiefung «Chemie» oder «Biologische Chemie» und den Bachelor in Biomedizinischer Labordiagnostik.

Im forschungsbasierten Masterstudiengang «Master of Science of Life Sciences» werden die Vertiefungen «Pharmaceutical Biotechnology» und «Chemistry for the Life Sciences» angeboten.

## Weiterbildung

Das ICBT bietet massgeschneiderte Weiterbildungsprogramme an. Individuelle Weiterbildungen für Firmen werden an den speziellen Kundenbedürfnissen ausgerichtet. Internationale Fachtagungen und die «CAS The Science and Art of Coffee» sowie «CAS in Coffee Excellence» runden das Portfolio ab.

## Forschung, Entwicklung und Dienstleistungen

Die naturwissenschaftliche Forschung des ICBT ist am Markt orientiert. Für seine Partner bringt das Institut Produkte und Verfahren voran, die das Potenzial haben, im Markt rasch zu Ergebnissen zu gelangen.

Unsere strategischen Schwerpunkte:

- **Sustainable Solutions:** Wir gestalten und optimieren biotechnologische, biokatalytische und chemische Produktionsprozesse, Anlagen und Verfahren.
- **Pharma Innovation:** Wir erforschen und entwickeln innovative Therapeutika und suchen neue Wege zur Herstellung von Gewebemodellen für Testung, Diagnostik und Therapie.
- **Detection and Diagnostics:** Wir wenden instrumentell-analytische und bioanalytische Methoden und Technologien an für den Nachweis von Stoffen und eine sichere und effiziente Labordiagnostik.
- **Smart Materials:** Wir kreieren nanostrukturierte und funktionelle Materialien mit spezifischen Eigenschaften, die in verschiedenen Bereichen der Life Sciences zur Anwendung kommen.



Mehr über unser Institut:  
[zhaw.ch/icbt](http://zhaw.ch/icbt)



# Perspektiven: Master und Weiterbildung

## Masterstudium

Nach erfolgreichem Abschluss Ihres Bachelors können Sie an der ZHAW in Wädenswil einen forschungsbasierten und praxisorientierten Master of Science in Life Sciences absolvieren. Als Vertiefungsrichtung wird «Pharmaceutical Biotechnology» angeboten.

Der Masterabschluss qualifiziert Sie insbesondere bei internationalen Unternehmen für die höhere Karrierelaufbahn. Machen Sie den nächsten Schritt in Ihrer akademischen Karriere und melden Sie sich für das Masterstudium an.



**Weitere Infos zum  
Masterstudium:**  
[zhaw.ch/icbt/master-  
biotechnology](https://zhaw.ch/icbt/master-biotechnology)

## Weiterbildung

Das Institut bietet auf Anfrage kundenspezifisch ausgerichtete Weiterbildungskurse in den Laboren der einzelnen Forschungsgruppen an.

Selbstverständlich können Sie auch praxisbezogene Weiterbildungskurse oder Weiterbildungsstudiengänge (MAS, DAS, CAS) an einer Fachhochschule oder Universität besuchen. Auch die Teilnahme an Fachtagungen, z. B. am Institut für Chemie und Biotechnologie, bietet Ihnen neues Wissen und fachliche Vernetzung.



**Weitere Infos zur  
Weiterbildung:**  
[zhaw.ch/icbt/weiterbildung](https://zhaw.ch/icbt/weiterbildung)

## Tagungen

Die Gelegenheit, sich auf den neuesten Stand von Wissen und Technik zu bringen und die eigene fachliche Kontaktpflege voranzutreiben.



**Weitere Infos zu  
Tagungen:**  
[zhaw.ch/lsfm/  
weiterbildung/fachtagungen](https://zhaw.ch/lsfm/weiterbildung/fachtagungen)



Arbeitsalltag im «Feld»: Unterwegs bei einer Probenahme

**Internationale  
Arbeitserfahrung**

**Bezahlte Praktika  
in über  
80 Ländern**

**«Ich würde jedem ein Auslandspraktikum empfehlen, da man unvergessliche Erlebnisse sammelt und dabei viel Spass hat.»**

IAESTE hat mir die Möglichkeit geboten unser Nachbarland, Österreich mit interaktiven und gut organisierten Events kennen zu lernen, erste Berufserfahrungen in einem neuen Arbeitsumfeld zu sammeln sowie internationale und anhaltende Freundschaften zu schliessen. Des Weiteren konnte ich erfolgreich mein berufliches Netzwerk ausbauen, welches eine Laufbahn nur positiv beeinflussen kann!»

Kevin Lustenberger, Biotechnologiestudent an der ZHAW Wädenswil.

Er absolvierte im Sommer 2019 ein zweimonatiges Praktikum bei der Linz AG, in Linz, Österreich.

## IAESTE Praktika...

- ... richten sich v.a. an Studierende **technischer und naturwissenschaftlicher** Fächer
- ... sind **bezahlt**: der Lohn deckt die Lebenshaltungskosten vor Ort
- ... bieten Dir **viele Vorteile**: Betreuung während der Bewerbungsphase, soziales Netzwerk vor Ort, etc.
- ... haben eine Dauer zwischen **6 Wochen und 12 Monaten**



**Alle unsere Praktikumsstellen findest Du hier:**  
[www.iaeste.ch/Students/TraineeshipOffers/](http://www.iaeste.ch/Students/TraineeshipOffers/)



**IAESTE**  
SWITZERLAND

Premium Partner von IAESTE Switzerland



Unterstützt durch

**HASLER  
STIFTUNG**



# Internationaler Austausch

Sie möchten einen Teil Ihres Studiums im Ausland absolvieren? Die ZHAW bietet Ihnen diese Möglichkeit. Ein Austauschsemester, ein Auslandspraktikum, der Besuch einer Summer School, eine Studienreise oder ein Sprachaufenthalt bringen Ihnen viele Vorteile: Sie lernen eine andere Kultur und Sprache kennen, ein anderes Bildungs- und Forschungssystem und Sie sammeln Erfahrungen für Ihre berufliche Zukunft. Das Departement Life Sciences und Facility Management der ZHAW ist im Rahmen des Swiss-European Mobility Programme SEMP (der Übergangslösung, welche vom Bundesrat für das EU-Bildungsprogramm Erasmus+ eingerichtet wurde) derzeit mit über 70 Partnerhochschulen in 15 europäischen Ländern vernetzt.

Der Studiengang Biotechnologie motiviert die Studierenden darin, ihre Bachelorarbeit an einem ihrer ausländischen Partnerinstitute zu schreiben. Zudem werden jährlich internationale Summer Schools organisiert. Neben den Informationen im Internet gibt die Studienberatung des Studiengangs Biotechnologie oder das International Relations Office (IRO) gerne dazu nähere Auskünfte und unterstützt Sie bei Ihren Fragen.



**Mehr über die internationale Mobilität und Erfahrungsberichte von Studierenden:**  
[zhaw.ch/lsfm/international](http://zhaw.ch/lsfm/international)



# Produktionen monoklonaler Antikörper

## Fachgruppe Zellkulturtechnik

Monoklonale Antikörper (mAbs) für die Therapie von Autoimmun- und Krebserkrankungen gehören zu den am schnellsten wachsenden Produkten der Pharmabranche. Die Produktionsorganismen der Wahl sind genetisch veränderte Zellen aus dem Ovar des Chinesischen Hamsters (CHO-Zellen), die in Suspension und chemisch definierten Medien kultiviert werden. Weltweit arbeiten Pharma- und Biotechunternehmen mit Hochdruck an der Entwicklung und Produktion neuer mAb-Produkte. Die aktuellen Aktivitäten zielen darauf ab, die Herstellungsverfahren nachhaltiger und effizienter zu machen, um neue mAb-Produkte in hoher Quantität (mAb-Titer  $> 3 \text{ g L}^{-1}$ ) und Qualität schneller und kostengünstiger auf den Markt zu bringen.

So erstaunt es nicht, dass Prozessintensivierungen und kontinuierliche Prozesse mit dem Ziel der Verkürzung der Inokulumproduktion und Verbesserung der Produktexpression im Upstreamprocessing zunehmend die aktuell noch dominierenden Zufütterungsverfahren verdrängen. Diese neuen Ansätze bedingen die Realisierung einer Perfusion, in der die Zellen innerhalb oder ausserhalb des verwendeten Bioreaktors durch geeignete Membranen, Filter, Sedimenter oder Zentrifugen zurückgehalten werden. Die Folge des kontinuierlichen Austausches eines Teils des Kulturmediums sind höhere Zelldichten oder gleiche Produkttiter in kürzerer Zeit bzw. höhere Produktausbeuten.

Die Fachgruppe Zellkulturtechnik beschäftigt sich seit über zehn Jahren erfolgreich mit der Entwicklung intensiverter und kontinuierlicher mAb-Produktionen bis zum Pilotmassstab. Wir haben dafür eine moderne Infrastruktur, die wir für die Forschung, aber auch die studentische Ausbildung – vor allem im Rahmen von Bachelor- und Masterarbeiten – nutzen. Diese gestattet den Einsatz von Single-Use-Technologie, um N-1-Perfusionen für superintensierte Inokulum-, High-Seed-Fed-Batch-, konzentrierte Fed-Batch- und kontinuierliche Produktionen von mAbs umzusetzen.

Die Abbildung zeigt den 50 L DynaDrive S.U.B. der Firma Thermo Scientific, der gegenwärtig zusammen mit dem Modul der Firma Repligen für alternierende Tangentialflussfiltration (ATF) sowie einem Raman-Spektrometer (Thermo Scientific Ramina Prozessanalysator) über einen Zeitraum von 50 Tagen für die kontinuierliche Herstellung eines IgG-Antikörpers (Produktivitäten  $> 1 \text{ g L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ) verwendet wird. Der gerührte Single-Use-Bioreaktor wurde speziell für intensivierte Prozesse entwickelt und kann bereits mit einem Arbeitsvolumen von 5 L betrieben werden.

**Kontakt:** Prof. Dr. Ing. Regine Eibl



**Mehr über die  
Forschung am ICBT:**  
[zhaw.ch/icbt/forschung/](http://zhaw.ch/icbt/forschung/)

# ALUMNI ZHAW



Damit Sie sich auch nach Ihrem Studium vernetzen können, steht Ihnen der Verein ALUMNI ZHAW mit den Fachbereichen «Life Sciences» und «Facility Management» zur Verfügung. Diese organisieren Events zu unterschiedlichen Anlässen, fachspezifische Vorträge und Besichtigungen und pflegen den Kontakt zu den Berufsverbänden und weiteren Alumni-Organisationen.



Melde dich gleich an:  
[alumni-zhaw.ch](http://alumni-zhaw.ch)

## Geschäftsstelle ALUMNI ZHAW

ALUMNI ZHAW  
Gertrudstrasse 15  
8400 Winterthur  
052 203 47 00  
[services@alumni-zhaw.ch](mailto:services@alumni-zhaw.ch)

## Die ZHAW

Die ZHAW ist eine der führenden Schweizer Hochschulen für Angewandte Wissenschaften. Sie ist in Lehre, Forschung, Weiterbildung und Dienstleistung tätig – praxisnah und wissenschaftlich fundiert. Sie ist mit ihren Standorten in Winterthur, Zürich und Wädenswil regional verankert und kooperiert mit internationalen Partnern. Die Hochschule umfasst acht Departemente. Derzeit sind über 14 000 Studierende an der ZHAW eingeschrieben.

## Das Departement

Studieren und Forschen in Wädenswil: praxisnah, kreativ, leidenschaftlich und reflektiert. Dafür steht das Departement Life Sciences und Facility Management ein. Derzeit sind nahezu 1800 Studierende immatrikuliert und über 600 Personen in Wädenswil beschäftigt. Mit den Kompetenzen in Life Sciences und Facility Management leistet das Departement in den Gebieten Environment, Food und Health einen wichtigen Beitrag zur Lösung gesellschaftlicher Herausforderungen und zur Erhöhung der Lebensqualität.

## Bachelor, Master und Weiterbildung

Das Aus- und Weiterbildungsprogramm umfasst sieben Bachelor- und vier Masterstudiengänge sowie ein breites Weiterbildungsangebot. Das Bachelorstudium führt zur Berufsbefähigung und vermittelt praxisorientiertes Fachwissen, Allgemeinbildung sowie Arbeitsmethodik. Das konsekutive Masterstudium führt zur Spezialisierung in der angestammten Studienrichtung und zum Erwerb von Zusatzqualifikationen. Permanente Weiterbildung ist heute wichtige Voraussetzung für den beruflichen Erfolg. An der ZHAW gibt es massgeschneiderte Kurse, Tagungen und Weiterbildungsstudiengänge.

## Forschung und Entwicklung

Forschungsstarke Institute leisten einen wichtigen Beitrag in Form von Forschung, Entwicklung und Dienstleistung. Sie arbeiten mit Wirtschaft, Behörden, Verbänden und anderen Forschungsinstituten eng zusammen. Die Kooperation mit externen Auftraggebern sichert den Wissens- und Technologietransfer zwischen Hochschule und Praxis.



Weitere Infos zu  
**ZHAW LSFM:**  
[zhaw.ch/lsfm](http://zhaw.ch/lsfm)





ZHAW Campus Reibach / Einsiedlerstrasse

ZHAW Campus Reibach / Seestrasse

Wohnhaus für Studierende

ZHAW Campus Grüental

## Kontakt

ZHAW Zürcher Hochschule für  
Angewandte Wissenschaften  
Life Sciences und Facility Management  
Institut für Chemie und Biotechnologie  
Grüentalstrasse 14  
Postfach  
8820 Wädenswil/Schweiz  
+41 58 934 50 00

[info.icbt@zhaw.ch](mailto:info.icbt@zhaw.ch)

[www.zhaw.ch/icbt](http://www.zhaw.ch/icbt)

