

Zürcher Hochschule
für Angewandte Wissenschaften

zhaw

**Life Sciences und
Facility Management**

**IBT Institut für
Biotechnologie**

**Bachelorarbeiten
2014**

Biotechnologie

Inhaltsverzeichnis

5	Vorwort	34	Meier Nadja
		35	Meier Philipp
Die Diplomandinnen und Diplomanden		36	Mundt Daniel
6	Aeschlimann Gabriel	37	Ottenbacher Michael
7	Arent Lena	38	Reift Ellen
8	Badertscher Britta	39	Stalder Mischa
9	Barmettler Matthias	40	Stebler Gabriel
10	Baumgartner Simon Michael	41	Steiner Manuela
11	Beer Michaela	42	Stutz Irène Kathrin
12	Braun Katrin	43	Sutter Yvette
13	Camenzind Ramona	44	Vogel Sarah Andrea
14	Casutt Claudio	45	Vontobel Gianna
15	Cerovac Berina	46	Wassmer Melanie
16	Diem Dania		
17	Duò Angelo		
18	Egli Andrea	48	ALUMNI ZHAW Life Sciences
19	Frei Annik	49	... und weiter geht es mit Weiterbildung!
20	Frei Simon	50	Master-Studium in Life Sciences
21	Frey Olivia	51	Vertiefung Pharmaceutical Biotechnology
22	Frölich Rahel Christina	52	Absolventenporträt: Hannah Killer
23	Glauser Martin	53	Absolventenporträt: Sebastian Rothe
24	Gsponer Isabelle	54	IAESTE: Ausländerfahrung – mehr als Horizonterweiterung!
25	Haag Dennis	56	Bleiben Sie in Verbindung
26	Hämmerli Alexander	57	Kontaktformular
27	Hanselmann Sharon		
28	Hugentobler Lukas		
29	Jäggi Sandra		
30	Kälin Manuel		
31	Kisseleff Nadine		
32	Kuhn Levi		
33	Lumani Mimoza		



Die Absolventinnen und Absolventen des Studienjahrganges 2011

Vorwort

Wädenswil, 7. November 2014

Liebe Absolventinnen und Absolventen des BT11,

Ihr haltet nach 3 Jahren engagiertem Studium heute Euer Diplom als «Bachelor of Sciences ZFH in Biotechnologie» in den Händen – unseren «Herzlichsten Glückwunsch» dazu!

Motiviertes Studieren, Aufgeschlossenheit, Freundlichkeit und Hilfsbereitschaft – das sind die Merkmale, die Ihr im Institut während Eurer Studienzzeit hinterlassen habt. Ob es neue Marketing-Aktionen wie Filmaufnahmen oder Foto-Shootings für Studienbroschüren waren oder Ihr selbst Euch auf Eurem Abschlussfoto präsentieren solltet, so hatte man stets den Eindruck: Ihr nehmt mit Begeisterung teil und auf Euch kann man «zählen».

Getreu Mark Twain (1835–1910), der schon einst formulierte: *«Freundlichkeit ist eine Sprache, die Taube hören und Blinde lesen können»*, habt Ihr Eure Studienprofessionalität in einen entsprechenden Umgangston gekleidet.

Nach dem dynamischen Studium, in dem Ihr einige Wahlmöglichkeiten habt überdenken müssen, werdet Ihr in Zukunft Euch in weiterer Ausbildung oder auf dem Arbeitsmarkt bewähren. Auf Eurem Karriereweg werden Euch Veränderungen begegnen, die Ihr vielleicht nicht immer so gewollt haben werdet. So wird Eure Beweglichkeit, Flexibilität und auch Kreativität immer wieder auf die Probe gestellt. «Who moved my cheese» soll Euch dahingehend unterstützen!

Zusätzlich wird Euch Eure jetzt schon eigene professionelle Freundlichkeit und Aufgeschlossenheit helfen, Euren Weg zu gehen und immer ein neues Stückchen  zu finden.

Viel Glück und Erfolg wünschen wir Euch dabei!!



Susanne Dombrowski

Studiengangleiterin Institut für Biotechnologie

Etablierung der durchflusszytometrischen Einzelzellsortierung von transfizierten CHO-easyC-Zellen



Diplomand	Gabriel Aeschlimann
Korrektorinnen ZHAW	Dipl. Ing. (FH) Jenny Pally Dipl. Ing. (FH) Bettina Keller-Abu Seda

Die ersten rekombinanten Proteine, welche für therapeutische Zwecke eingesetzt wurden, kamen vor 25 Jahren auf den Markt. Mittlerweile stellen diese Proteine einen Markt mit Umsätzen von jährlich mehr als 99 Milliarden US-Dollar dar. Ein breites Spektrum von Proteinen wie monoklonale Antikörper, Wachstumsfaktoren, Hormone, Interferone und Enzyme werden rekombinant produziert. Als Expressionssystem von Biopharmazeutika werden oft Zellen verwendet, welche aus den Ovarien eines chinesischen Hamsters (*Crictulus griseus*) stammen. Diese so genannten CHO-Zellen eignen sich durch verschiedene Eigenschaften besonders für die Expression von rekombinanten Proteinen. So können sie sowohl adhären wie auch in Suspension wachsen. Es gibt Zelllinien wie CHO-easyC-Zellen, welche in protein- und peptidfreiem Medium kultiviert werden können. Weiter haben die von CHO-Zellen exprimierte Proteine ein ähnliches Glykosylierungsmuster wie menschliche Proteine, wodurch eine gute Verträglichkeit gegeben ist. Für die Produktion von rekombinanten Proteinen ist es wichtig, dass ein einzelner Zellklon isoliert und daraus eine stabile Zelllinie etabliert werden kann. Einzelne Zellen können aber nur schlecht in proteinfreiem und peptidfreiem Medium kultiviert werden, da ihnen darin die Wachstumsfaktoren fehlen.

Im Rahmen der Bachelorarbeit wurde darum eine Methode erarbeitet, welche es erlaubt, auch eine einzelne CHO-easyC-Zelle zu kulti-

vieren, auch ohne zusetzen von Serum oder Wachstumsfaktoren, damit eine Zelllinie isoliert werden kann. Für die Isolation der Zellen wird auf das Fluorescence-Activated Cell Sorting (FACS) zurückgegriffen. Es wurde weiter eine stabile Zelle transduziert, an welcher die Methode getestet wurde.

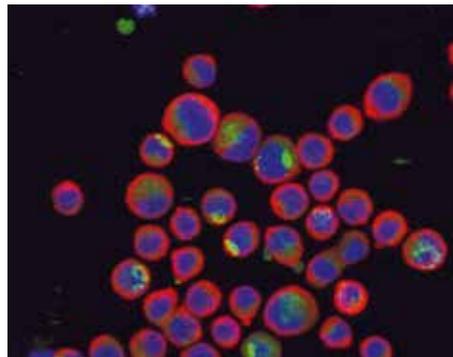


Abb. 1: Aufnahmen der CHO-easyC-Zellen mit dem Konfokalmikroskop

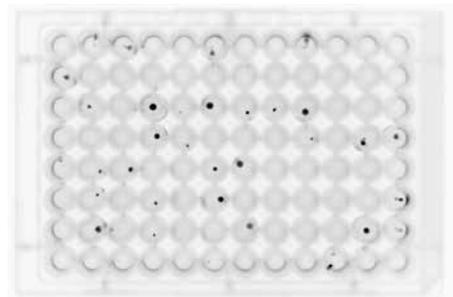


Abb. 2: Wellplatte mit Einzelklonen

Extraktion von Steviol-Glykosiden mit Ultra-Filtration



Diplomandin	Lena Arent
Korrektoren ZHAW	Prof. Mark Jaeggi, Dr. Caspar Demuth

*Aus vertraulichen Gründen
darf die Zusammenfassung nicht
veröffentlicht werden.*

Growth and infection studies with a gypsy cell line in SFM and SCM



Diplomandin	Britta Badertscher
Korrektorinnen ZHAW	Prof. Dr. Regine Eibl, MSc Ina Dittler

In recent decades changes in climate have been observed, the most pronounced being an increase in ambient temperatures. With increasing temperature the population and habitat of insects changes and invasive species, such as the gypsy moth (*Lymantria dispar*) are expected to become a greater danger to forests in the northern regions of Europe and America. An outbreak of gypsy moth quickly and effectively defoliates forests and therefore represents a serious pest disease. In order to control the gypsy moth population and inhibiting an outbreak, a biological insecticide, a baculovirus, is used as it has been proved to be safe and effective. Until now, the baculovirus is classically produced in larvae of the gypsy moth by infecting the larvae and processing it to viral powder after its death. Today however, a new approach constitutes the biotechnological production of the baculovirus in gypsy moth cell culture in order to overcome these drawbacks.

This method allows producing larger capacities at lower costs and ensures a higher microbiological safety of the product than by infection of the larvae. This thesis therefore enclosed a variety of steps for the establishment of an *In vitro* baculovirus production process in insect cells. For example the growth of the cell line was characterized and optimized as shown in the Figure. Furthermore, a suitable cryoconservation was established and a Master and Working Cell Bank were generated.

Additionally, the cell line was adapted to serum-free medium and a reliable cell counting method was evaluated.

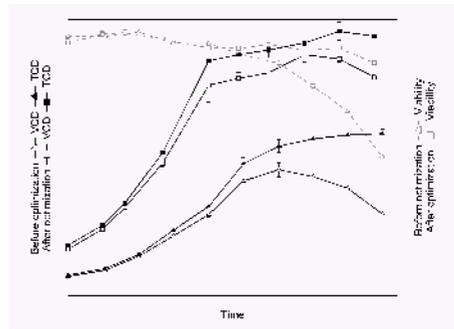


Fig. 1: Growth of the cell line before and after optimization of multiple cultivation parameters showing the viable cell density (VCD), total cell density (TCD) and the cell viability

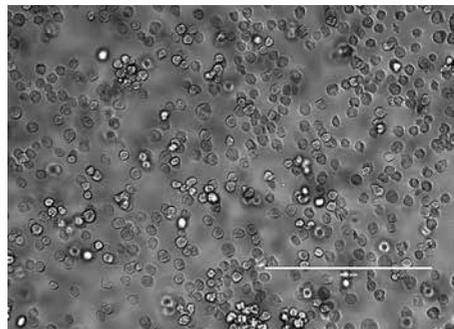


Fig. 2: Morphology of the cell line in serum-containing medium (SCM)

Fedbatch-Prozesse zur Kultivierung von *Chlamydomonas reinhardtii*



Diplomand	Matthias Barmettler
Korrektorinnen ZHAW	Prof. Dr. Karin Kovar, MSc Marina Stadler

Mikroalgen sind die «kleinsten Pflanzen» und betreiben deshalb Fotosynthese wie ihre grossen Artverwandten, wobei sie Sonnenenergie und Kohlendioxid in energiehaltige Biomasse umwandeln. Man verspricht sich von ihnen beispielsweise die Lösung des Weltenergie-Problems (d. h. Biotreibstoffe dritter Generation, Wasserstoff-Herstellung) oder auch eine Vielfalt von einzigartigen chemischen Verbindungen, die bei der Herstellung von Medikamenten eingesetzt werden könnten. Die biotechnologische Nutzung von Mikroalgen beschränkt sich jedoch auf eine kleine Anzahl der 200 000–800 000 bekannten Arten, die meist in offenen Becken kultiviert werden. Obwohl die erste (industrielle) «Mikroalgenfarm» schon in den 60er Jahren eröffnet wurde, fehlen bisher die technologischen Grundlagen, um die enorme Diversität der Mikroalgen zu nutzen. Das Ziel der Bachelorarbeit war, einen Prozess zur Kultivierung

der Grünalge *Chlamydomonas reinhardtii* in einem Rühr-Bioreaktor auf ähnliche Art und Weise wie Bakterien oder Hefen unter kontrollierten Bedingungen zu entwickeln. Das Genom von *C. reinhardtii* wurde bereits aufgeschlüsselt und gehört somit zu einer der molekularbiologisch meistuntersuchten Mikroalgenarten. Um die *C. reinhardtii* bzw. Mikroalgen im Allgemeinen wirtschaftlich zu nutzen, müssten Strategien entwickelt werden, um in herkömmlichen Bioreaktoren aus Edelstahl in wenigen Tagen mehrere Gramm an Biomasse in einem gut kontrollierten, reproduzierbaren Verfahren zu produzieren. Da die Fotosynthese in Dunkelheit, d. h. im Bioreaktor, nicht funktioniert, wird Acetat als energiehaltige Kohlenstoffverbindung den *C. reinhardtii* beigegeben. In den ersten Versuchen wurde eine Biomassenkonzentration von 10 g L^{-1} Biomasse in etwa 100 Stunden erreicht. Eine weitere Steigerung der Produktivität ist vorgesehen.

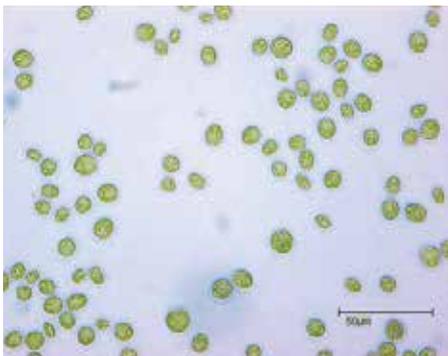


Abb. 1: Mikroskopiebild von *C. reinhardtii*

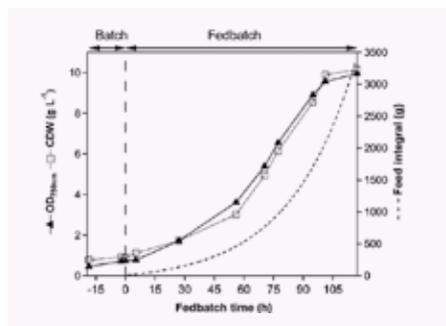


Abb. 2: Zeitverlauf der Biomassekonzentration im Fedbatch-Prozess mit *C. reinhardtii*

Qualifizierung und Charakterisierung eines orbital geschüttelten Single-Use-Bioreaktors



Diplomand	Simon Michael Baumgartner
Korrektor ZHAW	Prof. Dr. Tobias Merseburger
Korrektor extern	Dr.-Ing. Tibor Anderlei

Durch das seit Jahren steigende Interesse an Single-Use-Bioreaktoren entwickelten sich über die letzten Jahrzehnte unterschiedliche Bioreaktortypen. Es entstanden gerührte, welleninduzierte und orbital geschüttelte Bioreaktoren. Die Liste der innovativen Ideen könnte noch weitergeführt werden. In dieser Arbeit ist der Fokus auf die orbital geschüttelten Bioreaktoren gerichtet. Es soll ein SB-2500-X Bioreaktor von der Adolf Kühner AG mit einem Arbeitsvolumen von 2500 L charakterisiert und qualifiziert werden. Dieser Reaktor eignet sich für die Kultivierung von Säugetierzellen, Insektenzellen und pflanzlichen Zellen. Mit diesem Reaktorsystem können grosse Arbeitsvolumen in Single-Use Bags realisiert werden.

Bei der Charakterisierung des SB-2500-X wurde der Sauerstoffeintrag in das System gemessen mittels der gelösten Sauerstoffkonzentration. Aus der gelösten Sauerstoffkonzentration konnte der kLa -Wert berechnet werden, welcher ein wichtiger Wert ist für die Kultivierung von Zellen. Dieser Wert gibt an, wie hoch der Transport des Sauerstoffes aus der Gasphase in die Flüssigphase ist. Die Messung wurde mit der dynamischen Entgasungsmethode durchgeführt. Weiterhin wurden die Mischzeit und die Wellenform bei unterschiedlichsten Bedingungen untersucht. Mittels dieser Versuche konnte der Arbeitsbereich des SB-2500-X definiert werden, im Bereich von 500 L bis 2500 L bei unterschiedlichsten Schüttelfrequenzen.

Es zeigte sich, dass die gemessenen Parameter volumenabhängig sind. Durch die erhaltenen Daten konnte der SB-2500-X mit wellendurchmischten Bioreaktoren verglichen werden.



Abb. 1: SB-2500-X Bioreaktor



Abb. 2: Mischversuch

Cloning and expression of five leucine-rich repeat and immunoglobulin-like domain containing proteins to investigate protein-protein interaction



Diplomandin	Michaela Beer
Korrektor ZHAW	Prof. Dr. Jack Rohrer
Korrektor extern	Prof. Dr. Joseph Duffy, Worcester Polytechnic Institute, Worcester, USA

Cancer is, beside cardiovascular diseases, the second most common cause for death in developed countries with an overall mortality rate of still about 45 %. One target in cancer treatment is the epidermal growth factor receptor (EGFR), which is overexpressed in a variety of cancer diseases. Leucine-rich repeat (LRR) and immunoglobulin (Ig)-like domain containing proteins (LIGs) are a recently detected class of proteins. Some of them were shown to interact with EGFR, and therefore present a promising class of therapeutics to combat EGFR dependent cancer diseases.

The aim of this work was to investigate five LIG proteins such as secreted (s)LINGO2, sLINGO3, sSALM4, sSALM5 and sLINX and if they are able to interact with EGFR. Therefore they were cloned in three different expression vectors, tagged with enhanced green fluorescence protein (EGFP), alkaline phosphatase (AP) or V5/6XHis. EGFP and V5/6XHis-tagged clones as well as receptors sErbB1 - sErbB4 tagged with EGFP and V5/6XHis were transfected in S3 embryonic drosophila cells. Supernatant containing the LIGs was then analysed by Western Blot. A newly ELISA-based assay developed from Duffy laboratory using nickel coated plates was used to study interactions between sErbB1 - V5/6XHis and sLINGO2 - EGFP, sLINGO3 - EGFP and sLINX - EGFP. Summarizing the project, cloning was successfully finished in order to transfect and express 15 different constructs coding for five secreted versions of LIG proteins. Because the estab-

lishment of the ELISA assay was not finished yet at the end of the project, only some preliminary experiments could be performed. Unfortunately, the interaction experiments with ErbB1 - V5/6XHis and LINGO2 -, LINGO3- and LINX - EGFP were inconclusive, due to a negative interaction of the positive control. For further interaction experiments, the ELISA assay has to be optimized so that at least the positive control exhibits a significantly higher signal than the negative controls in order to gain significant results.

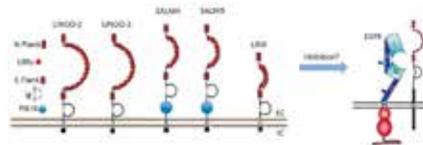


Fig. 1: Specific structure of LIGs LINGO2, LINGO3, SALM4, SALM5, LINX and the leading question of this work: Can they interact and inhibit the EGFR receptor and its downstream pathway to combat EGFR dependent cancer diseases?

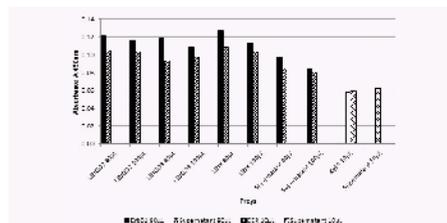


Fig. 2: Interaction assay showing no significant results due to a negative positive control. Black column = bait ErbB1 80µL, thick stripes column = bait supernatant 80µL, spotted column = DER 10µL and thin stripes column = supernatant 10µL. Preys and their added volumes are indicated on the x-axis. All absorbance rates are in the background range with the lowest signal for the positive control, and the negative control DER and supernatant

Untersuchungen zum Anthranoid-Gehalt in Senna folium/fructus sowie zum Extraktionsverhalten der Anthranoide unter Berücksichtigung der Aglyka



Diplomandin	Katrin Braun
Korrektoren ZHAW	Prof. Dr. Beat Meier, Dipl. Chemiker (FH) Samuel Peter

Sennesblätter und Sennesfrüchte werden in der Phytotherapie zur Selbstmedikation bei Obstipation eingesetzt und gehören zu den am häufigsten verwendeten pflanzlichen Abführmitteln. Die pharmakologische Wirkung ist auf die Anthranoide zurückzuführen, wobei Sennosid A und Sennosid B am intensivsten geprüft wurden. Zurzeit werden die wirksamkeitsbestimmenden Inhaltsstoffe von Sennesblättern und Sennesfrüchten nach der Europäischen Pharmakopöe mittels Borträger-Reaktion photometrisch und unspezifisch gemessen. Deshalb wird neu die Bestimmung der Sennoside mittels HPLC in Betracht gezogen. Daneben ist das Interesse an den Aglyka Aloeemodin und Rhein, welche in Senna vorkommen können und denen unter anderem genotoxische Wirkungen zugeschrieben werden, wieder erwacht. Diese genotoxischen Wirkungen werden zurzeit jedoch noch kontrovers diskutiert.

Basierend auf zwei konkreten HPLC-Methodenvorschlägen (Methode Vorschlag Ph. Eur. und Methode Rosenthal 2013) wurde die Bestimmung der Sennoside und Aglyka begutachtet. Dabei wird vom Methodenvorschlag der Ph. Eur. die Möglichkeit einer gleichzeitigen Bestimmung von Sennosiden und Aglyka erhofft. Von Interesse ist auch das Freisetzungverhalten der Sennoside, wie auch der Aglyka, während einer Extraktion.

Daneben wurde im Rahmen dieser Arbeit die Herstellung des zusammengesetzten Feigen-sirups nach Monographie CH61 der Schweizer Pharmakopöe überprüft und ein geeignetes Herstellverfahren, unter Verwendung einer Presse zum Auspressen des Mazerationsansatzes, um hohe Sennosidverluste zu vermeiden, sowie verkürzter Extraktionszeit, erarbeitet. Die Sennosidbestimmung, wie auch die Aglykabestimmung, ist mit dem Methodenvorschlag Ph. Eur. möglich. Die Aloeemodindetektion ist jedoch als grenzwertig einzu-stufen. Im Hinblick auf die kürzere Probenaufarbeitungszeit und Analysendauer wäre eine Sennosidbestimmung mittels HPLC-Methode nach Rosenthal (2013) vorzuziehen.



Abb.: Blüte einer Sennespflanze

Entwicklung einer quantitativen *real-time* PCR-Methode zum Nachweis von Caspase 3 in bakteriell induzierter Apoptose von Darmkrebszelllinien



Diplomandin	Ramona Camenzind
Korrektoren ZHAW	Prof. Dr. Martin Sievers, Dipl. Ing. (FH) Tobias Wermelinger

*Aus vertraulichen Gründen
darf die Zusammenfassung nicht
veröffentlicht werden.*

Differenzierung von hämatopoetischen Stammzellen zu Osteoklasten



Diplomand	Claudio Casutt
Korrektoren ZHAW	Prof. Dr. Jack Rohrer, Dipl. Ing. (FH) Leopold von Balthazar

Ziel dieser Arbeit ist es, zum einen, einen neuen, stabil transfizierten Klon, der murinen Makrophagenzelllinie RAW 264.7 mit dem H1C (Isomer des Histons H1)-GFP (green fluorescent protein)-Fusionsprotein zu generieren. Es bestand die Hoffnung, das Fusionsprotein H1C-GFP würde durch die höhere intrazelluläre Umsatzrate zu einer langzeitstabileren Expression führen. Dieser Differenzierungsassay dient der Eruiierung von Differenzierungsraten von Makrophagen der RAW 264.7 Zelllinie zu funktionellen, multinukleären Osteoklasten. Diese gehen durch Fusion aus den Makrophagen hervor. Osteoklasten sind Zellen, die Knochen mithilfe von Proteasen und Salzsäure abbauen und phagozytieren können. Überaktivität dieser Zellen führt in den meisten Fällen zu Osteoporose (Knochenschwund). Durch den Prozess der Fusion bei der Generierung dieser Zellen vermischen sich die zellulären Bestandteile zwischen vorher einzelnen Zellen, so auch die Histone. Es wurden zwei verschiedene Klone verwendet, die beide unterschiedliche Fluorophore an das Histon H2B angehängt hatten (EGFP, leuchtet grün und mCherry, leuchtet rot). Durch die Durchmischung dieser beiden unterschiedlich leuchtenden Histone in der DNA konnten gelbe Nuclei generiert und am FACS (fluorescent activated cell sorter) analysiert werden. Mit dieser Methode wird die Differenzierungsrate bestimmt (wie viele Zellkerne, die isoliert werden, leuchten gelb). Der Differenzierungsassay wurde im Rahmen dieser Arbeit mehrfach durchgeführt. Es wurden Proben mit konditioniertem Medium zweier Zellarten (Brustkrebs-

und Hirntumorzellen) und jeweils zweier Zelllinien (Brustkrebs: MCF-7, MDA-MB-231, Hirntumor: Ben-Men-1, CH157-MN) zu den Makrophagen zugegeben. Es kann gesagt werden, dass die Osteoklastogenese kein Zufallsprodukt ist. Allerdings blieben die Differenzierungsraten insgesamt unter den Erwartungen. Sowohl Brustkrebs- als auch Hirntumorzellen scheinen die Osteoklastogenese nicht zu unterstützen, sie inhibieren diese sogar des Häufigeren (ausser MCF-7 alle Zellen) und das relativ stark. Was der gängigen Literatur widerspricht, wonach Patienten (-innen) mit Brustkrebs sehr häufig an Osteoporose leiden.

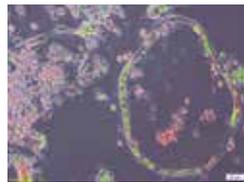


Abb. 1: Zellen der murinen RAW 264.7 Monozyten/Makrophagen-Zelllinie, welche als Modellsystem zur Differenzierung zu multinukleären funktionellen Osteoklasten dienen. Fluoreszierend sind die Nuclei zu sehen (zwei Arten: einmal mit EGFP, einmal mit mCherry, zusammen: gelb). Links: Undifferenzierte Makrophagen, rechts: Ein multinukleärer, aus Makrophagen fusionierter Osteoklast

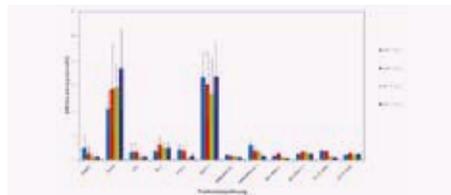


Abb. 2: Histogramme aller, im Rahmen dieser Bachelorarbeit bestimmten, gemittelten Differenzierungsraten mit Fehlerbalken (Standardabweichung). CSA: Cyclosporin A (Inhibitor der Differenzierung, Immunsuppressivum), MCF-7 und MDA-MB-231: Brustkrebszellen, Ben-Men-1 und CH157-MN: Hirntumorzellen (alles applizierte Überstände)

Expression viraler Prolyl-4-Hydroxylase in *E. coli* und *P. pastoris*



Diplomandin	Berina Cerovac
Korrektorin ZHAW	Prof. Dr. Karin Kovar
Korrektor extern	Dr. Zdenek Knejzlik, ICT Prague, Czech Republic

Kollagen, ein wichtiges Strukturprotein, findet in der pharmazeutischen Industrie und in der Lebensmittelindustrie mehrfache Anwendung. Über 50 000 Tonnen Kollagen (und Gelatine) werden jährlich in der Forschung und bei medizinischen Anwendungen gebraucht. Deshalb spielen die Biosicherheit und die Wirtschaftlichkeit bei der Herstellung eine wichtige Rolle. Die bisherigen Produktionsmethoden beruhen hauptsächlich auf der Gewinnung aus tierischen Abfällen und bergen somit eine grosse Kontaminationsgefahr. Die biotechnologische Herstellung hingegen bietet eine von der pharmazeutischen Industrie gewünschte reproduzierbare, hohe Qualität bzw. Sicherheit.

Bisher ist die biotechnologische Herstellung des rekombinanten Kollagens aufgrund der verhältnismässig geringen Produktivität sowie der Schwierigkeiten bei der Aufrechterhaltung der besonderen molekularen Struktur noch nicht etabliert (d. h. Kollagen besteht aus einer dreidimensionalen Helix von drei mit Disulfid-Brücken verbundenen Peptid-Strängen, siehe Abb. 1). In Bezug auf die Stabilität liegt die Hauptproblematik bei der richtigen und ausreichenden Hydroxylierung der Prolin- und Lysyl-Reste. Die Hydroxylierungsreaktion (Abb. 2) wird durch das Enzym Prolyl-4-Hydroxylase (P4H) katalysiert, das zusätzlich zu den Pro-Kollagen-Strängen im gewählten Produktionssystem (hier *E. coli* oder *P. pastoris*) gebildet werden muss.

Bislang wurden unterschiedliche Versuche durchgeführt, um die humane P4H in konventionellen Expressionssystemen wie Bakterien und Hefen zu produzieren. Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine Hydroxylase viralen Ursprungs anstelle der humanen P4H in *E. coli* und *P. pastoris* kloniert. Diese zwei Systeme wurden bezüglich der Löslichkeit und Stabilität der produzierten P4H unter verschiedenen Kulturbedingungen verglichen. Die Arbeit liefert erste Resultate zum Einfluss des Expressionssystems, der genetischen Konstruktion sowie der Kulturbedingungen auf die Bildung

von P4H, was eine wichtige Grundlage für die Entwicklung eines Herstellungssystems von rekombinantem Kollagen ist.

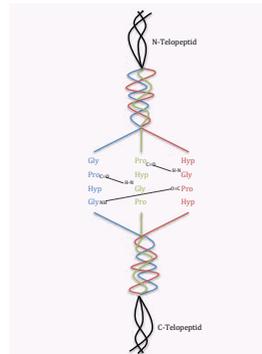


Abb. 1: Kollagen Tripel Helix mit N- und C-Telopeptiden

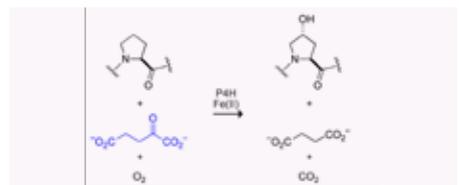


Abb. 2: Hydroxylierung der Prolinreste durch die Prolyl-4-Hydroxylase

Untersuchung verschiedener bispezifischer Antikörper-Formate hinsichtlich Funktionalität und Potenz



Diplomandin	Dania Diem
Korrektor ZHAW	Prof. Dr. Jack Rohrer
Korrektor extern	Dr. Sebastian Meyer, Numab AG

Bereits seit längerer Zeit stehen therapeutische Antikörper im Fokus der Forschung und Entwicklung und sind ein grosser Absatzmarkt in der biotechnologischen Industrie. Durch gezielte Modifikationen von Antikörpern und deren Fragmenten sollen Moleküle erstellt werden, welche über massgeschneiderte pharmakologische Eigenschaften verfügen.

In Zusammenarbeit mit dem Biotechnologie-Unternehmen Numab AG wurden im Rahmen dieser Bachelorarbeit verschiedene bispezifische Antikörperfragmente hergestellt, die über den Mechanismus der T-Zell-vermittelten Zytotoxizität Zielzellen lysieren können. Hierfür wird mit einer Spezifität das T-Zell-Oberflächenantigen CD3ε gebunden und mit dem zweiten Binder ein Oberflächenantigen auf den Zielzellen.

Das Ziel dieser Arbeit war die Beantwortung der Frage, ob es einen Unterschied in Funktionalität und Potenz zwischen den drei Antikörper-Formaten Single-chain Diabody (scDb), Bispecific T-cell engager (BiTE) und dem Dual Affinity Re-Targeting Format (DART) gibt. Als zweite Kernfrage sollte die Eignung in Bezug auf die T-Zell-vermittelte Zellyse von zwei unterschiedlichen CD3ε-Bindern im Antikörper-Format Single-chain Diabody untersucht werden. Die Untersuchungen wurden an zwei verschiedenen Modellen mit unterschiedlichen Bindern für die Zielzellen durchgeführt.

Aus vertraulichen Gründen darf die Zusammenfassung der Resultate nicht veröffentlicht werden.

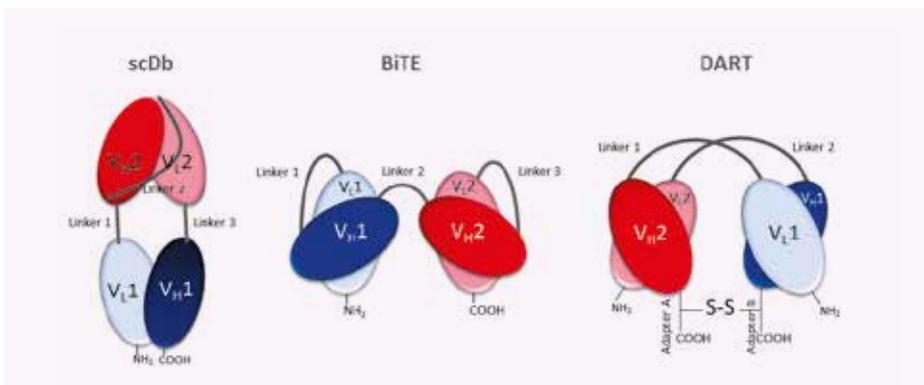


Abb.: Aufbau der drei zu erstellenden bispezifischen Antikörper-Formate: Single-chain Diabody (scDb), Bispecific T-cell engager (BiTE) und Dual Affinity Re-Targeting Format (DART)

Enzymatische Charakterisierung einer α/β -Hydrolase aus *Pseudomonaden*



Diplomand	Angelo Duò
Korrektoren ZHAW	Dipl. Ing. (FH) David Frasson, Silvano Landert

Esterasen sind Enzyme, welche Esterverbindungen hydrolysieren oder synthetisieren. Sie sind eine der am häufigsten verwendeten Biokatalysatoren in der Biotechnologie und werden bei der Herstellung von optisch reinen Verbindungen, Duftstoffen, Antioxidantien oder aktiven Wirkstoffen eingesetzt. In vorhergehenden Arbeiten wurde eine Fosmidlibrary eines *Pseudomonas*-Stammes erstellt und die Library durch ein funktionelles Screening auf lipolytische Aktivität getestet. Dabei konnte ein neuartiges Esterasegen isoliert werden. Dieses Esterasegen zeigte eine Homologie zu zwei weiteren putativen lipolytischen Enzymen von *Pseudomonaden*. Ziel dieser Bachelorarbeit war es, diese drei Gene biochemisch zu

charakterisieren. Sequenzanalysen zeigten, dass es sich um Esterasen der hormon-sensitiven Lipasen-Familien handelte und diese Enzyme noch nicht biochemisch charakterisiert sind. Die drei Esterasegene wurden in ein *E. coli*-Expressionssystem kloniert und exprimiert. Mittels Affinitätschromatographie konnten die Enzyme aufgereinigt werden. Eine nachfolgende biochemische Charakterisierung zeigte, dass die Enzyme eine Substrataffinität auf 4-Nitrophenylacetat und -butyrat besitzen. Die Esterase EstPut zeigte gegenüber 4-Nitrophenylacetat eine maximale Reaktionsgeschwindigkeit von 0.16 min^{-1} und eine Michaeliskonstante von 3.79 mM .

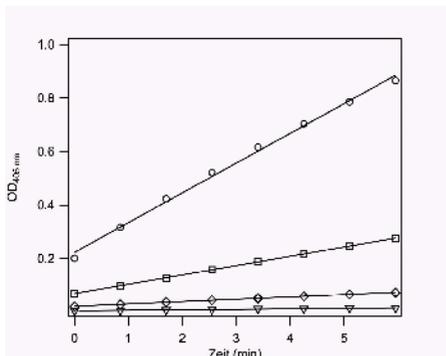


Abb. 1: Biochemische Charakterisierung mit dem Substrat 4-Nitrophenylacetat des Enzymes EstPut. Die Abbildung zeigt den Zeitverlauf der 4-Nitrophenyl-Freisetzung bei unterschiedlichen Substratkonzentrationen.

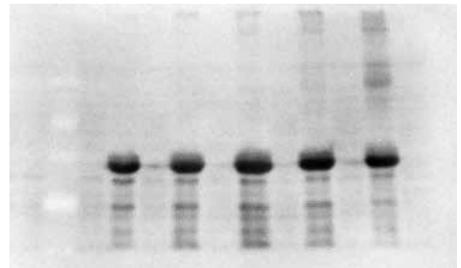


Abb. 2: Westernblotanalyse der exprimierten Esterase EstPut. Die Esterasen wurden mittels Antikörper und Chemiluminiszenz sichtbar gemacht.

Kultivierungen und Scale-up-Untersuchungen von *E. coli* L1931



Diplomandin	Andrea Egli
Korrektoren ZHAW	Dr. Christian Löffelholz, Prof. Dr. Dieter Eibl

In meiner Arbeit wurde in Kooperation mit der Laves Arzneimittel GmbH eine Prozessentwicklung einer *Escherichia coli* L1931-Kultivierung durchgeführt. Die aus der Kultivierung resultierenden Produkte sind Colibiogen® und Synerga®. Colibiogen® wird bei Darmerkrankungen oder begleitend zu einer Antibiotika- oder Krebstherapie verwendet. Synerga® wird für die Therapie der Schleimhaut eingesetzt. Diese Therapie ist für den Einsatz bei Allergien und Neurodermitis ausgelegt. Aufgrund neuer Anforderungen, die aus der Revision der Pharmakopöe resultieren, muss das Verfahren neu ausgelegt werden.

In meiner Bachelorarbeit wurde eine Strategie zur Massstabsvergrößerung entwickelt, die für diesen spezifischen *E. coli*-Stamm geeignet ist. Vom 1 L- bis in den 200 L-Massstab werden Kultivierungen in gerührten Singleuse-Systemen vorgenommen. Eine Untersuchung der Produktbildung und der Wachstumskinetiken wurde innerhalb der Versuchsreihen vorgenommen. Die Auswertungen der Kultivierungen in den verschiedenen Massstäben haben ergeben, dass die Massstabsvergrößerung über alle Prozesse hinweg erfolgreich war.



Abb.: Schematische Darstellung der Massstabsvergrößerung des Prozesses

Photodynamische Therapie mit 5-Aminolävulinsäure in Meningeomzellen



Diplomandin	Annik Frei
Korrektorinnen ZHAW	Dr. Andrea Baier, Dip. Ing. (FH) Ina Albert, Prof. Dr. Vera Luginbühl

*Aus vertraulichen Gründen
darf die Zusammenfassung nicht
veröffentlicht werden.*

Klonierung und Expression von Cytolysin A in *Escherichia coli*



Diplomand	Simon Frei
Korrektoren ZHAW	Prof. Dr. Martin Sievers, Dipl. Ing. (FH) Tobias Wermelinger

Cytolysin A ist ein porenbildendes Toxin, das von verschiedenen Enterobakterien hergestellt wird. Es wurde in *Salmonella enterica serovars* Typhi und Paratyphi A sowie in verschiedenen *E. coli*-Stämmen (EHEC, ETEC u. a.) gefunden. Das Protein wird als Monomer gebildet und formt in den Zytoplasmamembranen von Zielzellen ein Oligomer, welches als Pore mit einem minimalen Durchmesser von 30–35 Å in Erscheinung tritt (Wallace et al., 2000). Im Verlauf dieser Bachelorarbeit wurde das 912 bp lange *clyA*-Gen mit einem künstlichen His-Tag in *E. coli* Top10F' kloniert und in *E. coli* BL21 (DE3) exprimiert. Nach einer Aufreinigung mittels Affinitätschromatographie und anschließender Gelfiltration wurde ein Produkttiter von 0.29 mg/ml mittels UV-Spektrometer gemessen. Das Produkt zeigte eine hämolytische Aktivität auf Blutagar. Anschliessend wurde die Toxizität an humanen Darmepithelkrebiszellen (HT-29) bewiesen und mittels einer Messung der Caspase-3-Aktivität im NucleoCounter™ NC-3000 quantifiziert. Es werden noch weitere Versuche auf diesem Gebiet erfolgen.

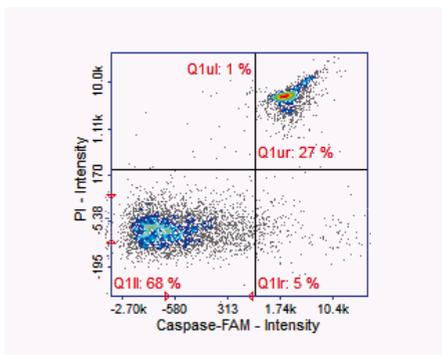


Abb.: Zeigt die Propidiumiodid-Intensität gegenüber der Caspase-FAM Intensität von HT-29 Zellen einer Probe die mit 500 ng/ml Cytolysin A behandelt und mittels NucleoCounter™ NC 3000 analysiert wurde. Im unteren linken Quadranten finden sich intakte Zellen, im unteren rechten leicht apoptotische und im oberen rechten stark apoptotische Zellen.

Quelle: Wallace, a J., Stillman, T. J., Atkins, a, Jamieson, S. J., Bullough, P. a, Green, J., & Artymiuk, P. J. (2000). *E. coli* hemolysin E (HlyE, ClyA, SheA): X-ray crystal structure of the toxin and observation of membrane pores by electron microscopy. *Cell*, 100(2), 265–276

Untersuchungen zum Anthranoid-Gehalt in *Frangulae cortex* sowie zum Extraktionsverhalten der Anthranoide unter Berücksichtigung der Aglyka



Diplomandin	Olivia Frey
Korrektoren ZHAW	Prof. Dr. Beat Meier, Dipl. Chemiker (FH) Samuel Peter

Die Arbeit befasst sich mit der Analytik der Anthranoide in *Frangulae cortex*. In diesem pflanzlichen Arzneimittel sind Glucofrangulin A/B, Frangulin A/B, Emodin, Chrysophanol und Physcion die wichtigsten Inhaltsstoffe. Die Analytik wurde mit einer validierten zeitsparenden HPLC-Methode durchgeführt. Es wurden diverse Mazerationen durchgeführt und zwei verschiedene Sprühtrocknungen. Dabei wird untersucht, wann und in welchen Konzentrationen diese Aglyka vorkommen. Die Analytik der Drogen, Extrakte und Flüssigarzneimittel zeigen, dass 22–46 % der Konzentration an Glucofrangulinen und Frangulinen detektiert wurden, im Vergleich zur deklarierten Konzentration (Methode Ph. Eur.), was mit der höheren Spezifität der HPLC-Methode begründet werden kann. Der Gehalt an Frangulinen und Glucofrangulinen in der Droge lag bei 2.3 % bis 3.8 %. Die Mazeration mit pulverisierter *Frangulae cortex* wurde mit verschiedenen Ethanolkonzentrationen als Extraktionsmittel durchgeführt, woraus bei 60 % und 70 % Ethanol die höchste Ausbeute an Glucofrangulinen und Frangulinen erzielt werden konnte. Bei der Analyse des Zeitverlaufs während der vierstündigen Mazeration zeigte sich eine stete Umwandlung von Glucofrangulin

in Frangulin und in Emodin, Chrysophanol und Physcion. Die Gesamtkonzentration der Glucofranguline und Franguline erreichte bereits nach einer Stunde knapp 97 % der Maximalausbeute im Vergleich zum Ende der Mazeration. Wiederholungen der Mazeration mit 70 % Ethanol zeigten reproduzierbare Resultate, diese wurden nach einer Stunde beendet, um die Umwandlung in Franguline und Aglyka möglichst gering zu halten. Analysen nach der Aufkonzentrierung sowie nach der Sprühtrocknung zeigten die Umwandlung in Franguline und Aglyka. Da die absoluten Konzentrationen gering sind und die genotoxische Wirkung nicht klar belegt werden kann, bleibt unklar, ob die Bestimmung von Emodin, Chrysophanol und Physcion künftig zur Analytik von *Frangulae cortex* einbezogen wird.



Abb. 1: Faulbaum *Rhamnus frangula*



Abb. 2: links: Mazerationsgerät beim Mazerieren von 6 Versuchen mit unterschiedlicher Ethanolkonzentration; rechts: Sprühtrockner BÜCHI Mini Spray Dryer während der Sprühtrocknung des hergestellten Extrakts

Kohlenstoffbeschichtete Nanomagnete: Kleine Teilchen, grosser Effekt. Das *in vitro*-Modell zur Elimination von T-Lymphozyten aus Vollblut



Diplomandin	Rahel Christina Frölich
Korrektorin ZHAW	Prof. Dr. Vera Luginbühl
Korrektorin extern	Prof. Dr. med. Beatrice Beck Schimmer, Universitätsspital Zürich, Institut für Anästhesiologie

Aus vertraulichen Gründen darf die Zusammenfassung nicht veröffentlicht werden.

Generating insight into the composition of microbes mushroom growing compost



Diplomand	Martin Glauser
Korrektor ZHAW	Prof. Dr. Tobias Merseburger
Korrektor extern	Ing. Dennis Lamers, HAN BioCentre, Nijmegen, NL

Compost is used for cultivating of white button mushrooms, whereat it serves as a carbon and nitrogen source. To analyze its quality, limiting dilution PCR, vector cloning and sequencing were used to identify the most abundant bacterial species.

Furthermore, real-time PCR was applied with the aim to quantify fungal nucleic acids. To obtain DNA, an extraction procedure was necessary. Primary an internal protocol was applied and a commercial kit served as a comparative method.

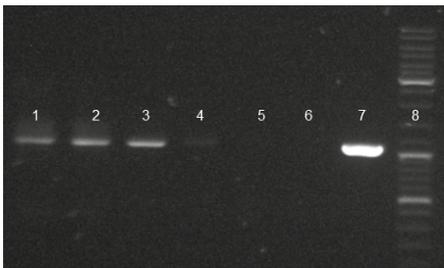


Fig. 1: Extracted DNA was serially diluted. Line 1 to 5 show these dilutions in decrasing order. Line 6 & 7 show the negative and postive control and on line 8 is the marker applied

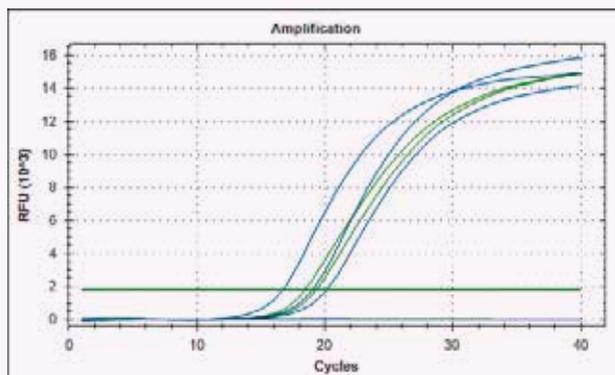


Fig. 2: Extracted DNA was measured by qPCR. Comparative samples containing plasmid DNA are shown too

Test und Charakterisierung eines neuen Single-Use-Dosiersystems für die Zudosierung von Kleinstvolumina



Diplomandin	Isabelle Gsponer
Korrektorinnen ZHAW	BSc Nina Steiger, MSc Ina Dittler

Aus vertraulichen Gründen darf die Zusammenfassung nicht veröffentlicht werden.

Untersuchung der Synthese von Steroiden mit Mikroalgen



Diplomand	Dennis Haag
Korrektor/-in ZHAW	Prof. Dr. Karin Kovar, BSc Iwo Zamora

Vitamin D3 (VD3) ist für eine gute Gesundheit unumgänglich, weil es für den Calcium- und Phosphat-Haushalt sowie für die gute Funktion des Immunsystems von Mensch und Tier verantwortlich ist. Aufgrund der heutigen Bedingungen in der Tierzucht reicht die natürliche VD3-Bedarfsdeckung durch die Aufnahme von Lebensmitteln oder durch Sonnenlicht begünstigter Eigenbildung für die Menschen/Tiere nicht mehr aus. So wird bei Mangelercheinungen laut neusten medizinischen Erkenntnissen das Calcitriol, die aktive Form von VD3, verabreicht.

Die chemische Synthese von Calcitriol ist sehr aufwendig und das Produkt unerschwinglich teuer. Daher steigt das Interesse an Produktionsalternativen wie beispielsweise an der Extraktion von Calcitriol aus speziellen Pflanzen

(Schattengewächsen aus Argentinien). Bei einer solchen Herstellungsart ist jedoch die Produktqualität unbeständig, von Saisonalität, Bodenbeschaffenheit und geographischer Lage abhängig. Eine biotechnologische Produktion würde dagegen reproduzierbare, saisonunabhängige Qualität und planbare Produktivität ermöglichen. Das Ziel der Bachelorarbeit war es, abzuklären, inwiefern sich Mikroalgen (die «kleinsten» Pflanzen) als Produktionsorganismen für die Herstellung von Calcitriol eignen würden. So wurde untersucht, wie sich der intrazelluläre Anteil an Steroiden qualitativ sowie quantitativ in Abhängigkeit der Mikroalgenart oder der Umgebungsbedingungen anpasst. Hochleistungs-dünnschichtchromatographie (HPTLC) wurde als Bestimmungsmethode eingesetzt.

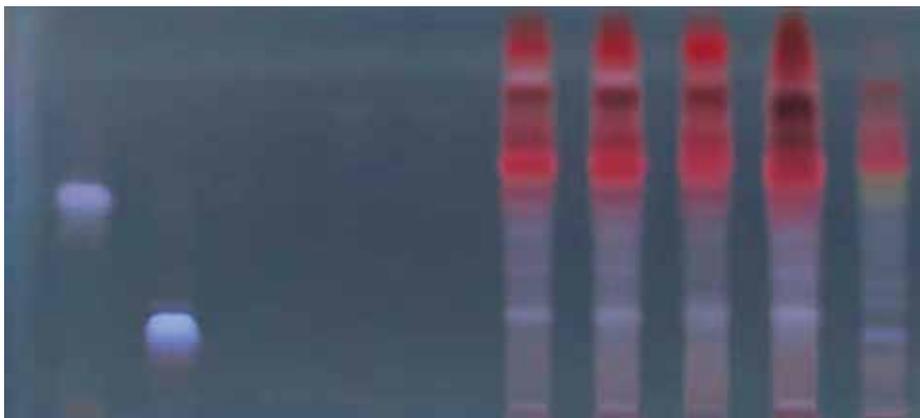


Abb.: Analyseresultate eines Mikroalgenextraktes mittels HPTLC (aufgetragen auf einer Silikagel-Platte und detektiert bei 366 nm, die farbigen Banden – unterschiedlichen Einzelsubstanzen)

Untersuchung von 3D-FDM-Druckanwendungen für medizinisch-pharmazeutische Applikationen



Diplomand	Alexander Hämmerli
Korrektor/-in ZHAW	MSc Martin Filsinger, Prof. Dr. Vera Luginbühl

Aus vertraulichen Gründen darf die Zusammenfassung nicht veröffentlicht werden.

Entwicklung von Kultivierungssystemen für die mikrobiologische Methanisierung



Diplomandin	Sharon Hanselmann
Korrektoren ZHAW	Dr. Rolf Warthmann, Prof. Dr. Urs Baier

Die biologische Methanisierung von CO_2 mit H_2 ist sowohl für die Verwertung des CO_2 in Biogasanlagen als auch zur Speicherung von erneuerbaren Energien von grosser Bedeutung. Daher wurden in dieser Arbeit verschiedene Kultivierungssysteme für die strikt anaeroben methanogenen Archaea entwickelt und erprobt. Verwendet wurden zwei Stämme der Deutschen Stammsammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ) sowie selbst isolierte mesophile und thermophile Methanogene. Die thermophilen Isolate konnten durch Sequenzierung der 16S-rRNA-DNA als *Methanothermobacter thermautotrophicus* ΔH und *Methanothermobacter marburgensis* identifiziert werden.

Die Untersuchungen ergaben, dass weder Zellzahl noch Kultivierungsstamm einen Einfluss auf die Umsetzungsgeschwindigkeit von H_2/CO_2 zu CH_4 haben. Nur die Art des Energieeintrages und damit verbundene Effizienz der Durchmischung von Gas- und Flüssigphase hatten eine Auswirkung auf die Stoffumsatzrate. Zwei Kultivierungssysteme haben sich als besonders geeignet herausgestellt:

- Wellendurchmisches System mit grosser Flüssigkeitsoberfläche (WAVE-Bioreaktor)
- Immobilisierte Kultur in Schwämmen

Mit dem wellendurchmischten System mit grosser Flüssigkeitsoberfläche konnte in 24 h eine 100%ige Umsetzung der 400 ml, 2 bar 80/20 (v./v. %) H_2/CO_2 erreicht werden. Mit der immobilisierten Kultur in Schwämmen wurde in 24 h eine Umsetzung von $86.0 \pm 1.78\%$ der 450 ml, 2 bar 80/20 (v./v. %) H_2/CO_2 erreicht. Des Weiteren konnte in Versuchen mit kontinuierlicher Druckmessung gezeigt werden, dass mit sinkendem H_2 -Gehalt die Umsetzungsrate stark zurückgeht. So wird gleichviel Zeit für die Umsetzung der ersten $86 \pm 3.1\%$ an Edukten benötigt wie für die letzten $14 \pm 3.1\%$. Daher erscheint die kontinuierliche Zugabe von kleinen Mengen H_2 zur Umsetzung des entstehenden CO_2 in Biogasanlagen als nicht sinnvoll.

Entwicklung eines Prozesses mit *P. pastoris* zur Herstellung von Membranproteinen



Diplomand	Lukas Hugentobler
Korrektor/-in ZHAW	Prof. Dr. Karin Kovar, BSc Béla Brühlmann, BSc Marcel Straumann

Schätzungsweise 30 % des eukaryotischen Proteoms kodiert für Membranproteine (MP). Membranproteine sind an vielen Zellfunktionen wie Homöostase, Wachstum, Differenzierung oder neuronale Signaltransduktion beteiligt. Bei etwa 50 % aller verschreibungspflichtigen Medikamente spielen humane Membranproteine (MP) eine Schlüsselrolle bei der Entwicklung von pharmazeutischen Wirkstoffen. Trotz dieser physiologischen Wichtigkeit von MP stehen nur wenig hochaufgelöste Strukturmodelle dieser Proteinfamilie zur Verfügung, zu denen auch die HAT-Proteine (Heteromere Aminosäuretransporter) gehören.

Diese Bachelorarbeit hatte daher zum Ziel, ein Vorgehen zur Entwicklung eines biotechnologischen Prozesses für die Herstellung von HAT-Protein zu erarbeiten. Die HAT-Produktion mit *P. pastoris* (Stamm KM71H) wurde über den starken AOX1-Promotor kontrolliert und die Einflussfaktoren auf das Biomassewachstum und die Produktbildung systematisch untersucht. Künftig soll gezeigt werden, inwiefern dieses systematische Vorgehen auch für andere Proteine, die mit *P. pastoris* produziert werden, übertragen werden kann.

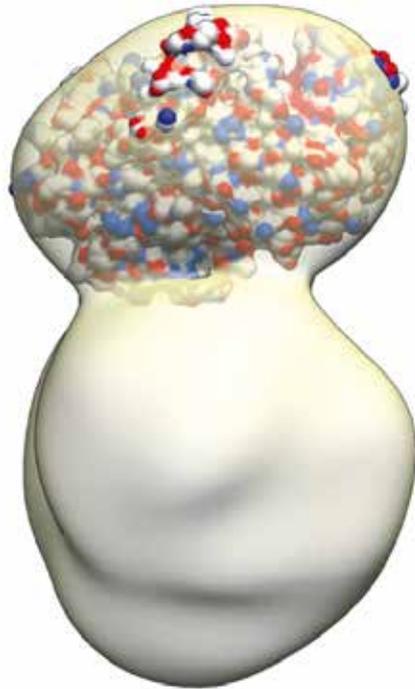


Abb.: 3D-Modell des heteromeren Aminosäuretransporters (Fotiadis et al., 2014). Resultat der Strukturanalyse des HAT mit der vollständig kristallisierten Ectodomain (4F2hc, oben) und der noch nicht aufgeklärten leichten Untereinheit (LAT2)

Inbetriebnahme einer mobilen Kleinbrauerei



Diplomandin	Sandra Jäggi
Korrektoren ZHAW	Prof. Dr. Dieter Eibl, Dipl. Ing. (FH) Daniel Hans

Die Bachelorarbeit beschreibt die Inbetriebnahme einer mobilen Kleinbrauerei. Diese Minibrauanlage wurde von der Firma Esau & Hueber konzipiert und angefertigt. Die Anlage ist ausgelegt für die Herstellung von untergärigen Bieren und für das Infusionsverfahren. Mit dem Sudhaus können 100L Ausschlagwürze hergestellt werden. Das Sudhaus umfasst eine Würzpfanne und einen Läuterbottich. Der Lagerkeller ist ausgestattet mit drei Gärtanks, welche je 100L fassen und mit 1.0bar betrieben werden können. Zudem wurde für die Vorbereitung des Malzes eine Schrotmühle mit zwei Walzen mitgeliefert. Das Sudhaus hat eine Länge von 4.5m und der Lagerkeller hat eine Länge von 2.8m. Vor der Inbetriebnahme wurde ein Factory Acceptance Test (FAT) bei der Firma Esau & Hueber durchgeführt. Danach wurde die Anlage an die ZHAW geliefert. Im Rahmen

der Inbetriebnahme wurden eine Schulung durchgeführt und zwei Sude nach Vollbierrezept der Firma Esau & Hueber eingebraut. Es folgte die Herstellung von 4 weiteren Suden. Von den insgesamt 6 Suden wurden 3 Vollbiere nach Rezept von Esau & Hueber hergestellt. Dazu kamen ein Schwarzbier, ein Festbier und ein Pils. Während dem Betrieb der Anlage wurde eine Betriebsanleitung für den kompletten Ablauf des Brauprozesses, aber auch für die Reinigung und die Probenahme erstellt. Die durchgeführte Kostenanalyse ergab Materialkosten für 1 Liter Bier von 1.85 CHF. In diesem Betrag sind die 40 Arbeitsstunden nicht berücksichtigt, da der Zeitaufwand noch optimiert werden kann. Für die Inbetriebnahme der Minibrauerei musste sich die ZHAW in das Register der Bierhersteller eintragen lassen.



Abb.: Sudhaus der mobilen Kleinbrauerei von Esau & Hueber

Entwicklung eines fermentierten Lebensmittelproduktes



Diplomand	Manuel Kälin
Korrektor ZHAW	Prof. Dr. Martin Sievers
Korrektor extern	Lucas Oechslin, Luma D.A.C.

Bakterien und Pilze werden schon seit Jahrzehnten zur Fermentation von Lebensmitteln eingesetzt. In dieser Arbeit wurde die Entwicklung eines fermentierten Lebensmittelproduktes aus den Literatur- und Semesterarbeiten fortgesetzt, welche in Zusammenarbeit mit Luma Dry Aging Company (D.A.C.) durchgeführt wurden. Das Ziel war es, ein marktfähiges fermentiertes Lebensmittelprodukt zu entwickeln, das durch optimierte Eigenschaften bezüglich Geschmack, Konsistenz und Haltbarkeit besticht. Hinter Luma D.A.C. stehen Lucas Oechslin und Marco Tessaro, die das Unternehmen leiten. Luma D.A.C. veredelt Fleisch durch das Abhängen am Knochen in Kombination mit einem Edelschimmelpilz. Neben den Luma-D.A.C.-Produkten vertreiben sie in ihrem Online Shop Fleischdelikatessen von den weltweit besten Produzenten (www.luma-delikatessen.ch).

Im Rahmen der Bachelorarbeit ist es gelungen, ein fermentiertes Lebensmittelprodukt zu generieren, welches sich deutlich von dem auf dem Markt erhältlichen Produkt abhebt. Die verwendeten Starterkulturen wurden mikrobiologisch und biochemisch charakterisiert. Das fermentierte Produkt erlangte in der Sensorik bessere Beurteilungen als das unfermentierte Ausgangsmaterial. Das neue Lebensmittelprodukt überzeugt dank einem neuen Aromaprofil sowie veränderter Konsistenz. Dieses Produkt wird nun durch Spitzenköche der Schweiz beurteilt und anschliessend werden dessen Marktchancen eruiert.



Abb. 1: Fleisch bewachsen mit dem Edelschimmelpilz



Abb. 2: Die Firmengründer: Lucas Oechslin (l.) und Marco Tessaro (r.)



Abb. 3: Firmenlogo von Luma D.A.C.

Begleitende HPTLC-Analytik und praktischer Feldtest in einem Forschungsprojekt zum Anbau chilenischer Maqui-Beeren



Diplomandin

Nadine Kisseleff

Korrektor/-in ZHAW

Prof. Dr. Beat Meier, Dr. Evelyn Wolfram-Schilling

Die Beeren von *Aristotelia chilensis* (Mol.) Stuntz, auch bekannt als Maqui, zeigen hervorragende antioxidative Aktivitäten und dienen dem Schutz vor aggressiven Stoffen. Die Arbeit befasst sich mit drei Teilaspekten. Einerseits wurden anhand HPTLC- und UPLC-Analysen Maqui-Beeren aus unterschiedlichen Regionen und Reifestadien auf bestimmte Polyphenole untersucht, mittels der ORAC-Methode deren antioxidative Aktivität ermittelt und andererseits eine Methode entwickelt, welche den Erzeugern direkt am Anbauort die Qualitätskontrolle und die Ermittlung des besten Erntezeitpunkts der Beeren ermöglicht.

Durch die HPTLC- und die UPLC-Analysen wurden diverse Flavonoide in mehreren Maqui-Extrakten identifiziert. Die Chromatogramme der UPLC-Analysen deuteten auf das Vorhandensein weiterer Anthocyane hin. Zum Zweck der Qualitätskontrolle und der Ermittlung des besten Erntezeitpunkts der Maqui-Beeren ist eine praktische und feldtaugliche Analyse unerlässlich. Die manuelle TLC gilt aufgrund ihrer vielseitigen Einsetzbarkeit und ihrer Kosteneffizienz als optimal.



Abb.: Maqui-Beeren.

Einsatz von optischen O₂-Sensoren in Bioprozessen



Diplomand	Levi Kuhn
Korrektor ZHAW	Dr. Caspar Demuth
Korrektor extern	Dr. Hendrik Schulenburg, Metroglas AG

*Aus vertraulichen Gründen
darf die Zusammenfassung nicht
veröffentlicht werden.*

Masstabsübertragung einer photomixotrophen Suspension der Sonnenblume in eine Blasensäule



Diplomandin	Mimoza Lumani
Korrektoren ZHAW	Dipl.-Ing. Sören Werner, MSc Nicolai Lehmann
Korrektorin extern	Dipl.-Ing. Katja Geipel, TU Dresden

Pflanzenzellkulturen spielen eine wichtige Rolle bei der Gewinnung von Sekundärmetaboliten, die als Nahrungsergänzungsmittel, als Pharmazeutika oder in Kosmetika wiederzufinden sind. Die Ausbeute bei konventioneller Extraktion aus der ganzen Pflanze oder nur aus Teilen davon kann eingeschränkt sein durch biotische sowie abiotische Umweltfaktoren. Zudem werden Sekundärmetabolite nur in kleinen Mengen und in bestimmten Pflanzenorganen synthetisiert, was die Extraktion, Isolation sowie Aufreinigung aus ganzen Pflanzen erschwert. Mittels Pflanzenzellkulturen ist die ganzjährige Produktion in gleichbleibender Qualität und Quantität von Sekundärmetaboliten unabhängig von Umweltfaktoren möglich.

Die Sonnenblume als entscheidende Pflanze zur Gewinnung des Sekundärmetaboliten α -Tocopherol ist sehr interessant für die Pflanzenzellkulturtechnik.

Es besteht das Interesse, die Kultivierung im grösseren Massstab durchzuführen, um eine erhöhte Produktgewinnung zu erreichen. Um diese zu realisieren, besteht die Möglichkeit einer Masstabsübertragung von Pflanzensuspensionen vom Schüttelkolben in ein



Abb. 1: Verwendetes Kultivierungssystem: Blasensäule

pneumatisches Reaktorsystem. Die Blasensäule als pneumatisch angetriebener Bioreaktor ist schonend für die Zellkulturen, weil die Zellen durch das Funktionsprinzip geringerem Scherstress ausgesetzt sind als in Rührreaktoren.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand darin, eine Masstabsübertragung einer Suspension der Einjährigen Sonnenblume (*Helianthus annuus*) vom Schüttelkolben in eine 1.5-L-Blasensäule (Abb. 1) zu realisieren. Dazu wurden während eines Zeitraumes von je 10 bis 14 Tagen drei Kultivierungen in der Blasensäule durchgeführt. Zudem wurde die Lichteinwirkung der verwendeten Kultivierungssysteme auf die Zellen untersucht.

Die Resultate zeigten ein Wachstum der zu kultivierenden Zellen (Abb. 2), jedoch konnte keine Erhöhung der α -Tocopherol-Konzentration beobachtet werden. Die auf die Zellen einwirkenden Lichtintensitäten zeigten Inhomogenitäten auf.

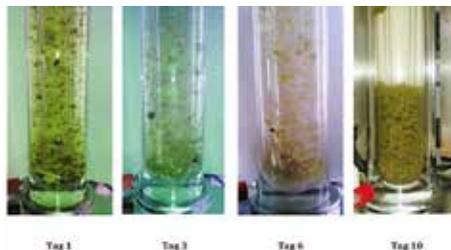


Abb. 2: *Helianthus annuus*-Suspensionszellen in der Blasensäule an den Kultivierungstagen 1, 3, 6 und 10. Am Tag 10 ist die Begasung ausgestellt

Neue Methode zur Detektion des Unfolded Protein Response in *Pichia pastoris*



Diplomandin	Nadja Meier
Korrektorin ZHAW	Prof. Dr. Karin Kovar
Korrektor extern	Dr. Zdeněk Knejzlik, VSCHT-Prague, Czech Republic

Die Faltung und Modifikation der Proteine im endoplasmatischen Retikulum (ER) gehören zu den Faktoren, die die extrazelluläre Konzentrationen gebildeter Proteine beeinträchtigen. Aufgrund der Überproduktion eines heterologen Proteins kann die Faltungskapazität des ER überschritten werden, was zur teilweisen Zurückhaltung von nicht-gefalteten Proteinen und der Aktivierung der Unfolded Protein Response (UPR) führt. UPR ist ein multiparametrischer Vorgang, wobei die Transkription von ~400 Genen beeinflusst wird. Diese Gene codieren hauptsächlich für Proteine, die mit der Proteinfaltung, Sekretion und Proteolyse über ER-assoziierte Degradation (ERAD) verbunden sind.

Ziel dieser Arbeit war es, die Grundlage für eine Methode zu bilden, bei der die UPR-Aktivität als Indikator für eine Überlastung des Stoffwechsels von *Pichia pastoris* schnell und einfach bestimmt werden kann. Dieser physiologische Zustand wird mittels Fluoreszenz des grün fluoreszierenden Proteins (GFP bzw. EGFP) gemessen. Dazu wurden *P. pastoris*-Stämme konstruiert, in denen die Expression von EGFP unter der Kontrolle von UPR-abhängigen Promotern ausgelöst wird. Die EGFP-Bildung wurde mittels Fluoreszenz-Mikroskopie, Western Blot und Flowzytometrie untersucht, wobei das EGFP-Signal bei allen sechs transformierten Stämmen mit UPR-abhängigen Promotoren nachgewiesen wurde. Dies belegt die Funktionalität der neuen Konstrukte, in die künftig jegliche Proteine kloniert und so die optimalen Prozessbedingungen bezüglich Produktivität des Zielproteins eruiert werden können.

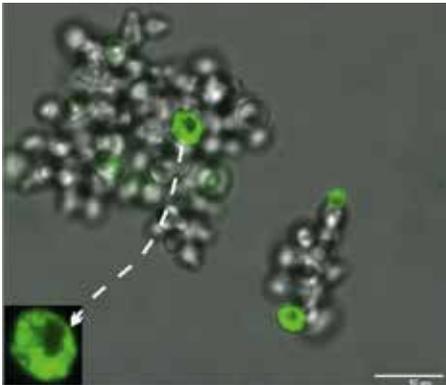


Abb.: Grüne Fluoreszenz von EGFP in *P. pastoris*-Zellen

Characterization, control and modification of plant-based production systems



Diplomand	Philipp Meier
Korrektorin ZHAW	Prof. Dr. Regine Eibl-Schindler
Korrektor extern	Dr. rer. nat. Heiko Rischer, VTT Technical Research Centre of Finland

Aus vertraulichen Gründen darf die Zusammenfassung nicht veröffentlicht werden.

Anammoxaktivitätssteigerung mittels Biofilmträgern



Diplomand	Daniel Mundt
Korrektor ZHAW	Martin Kühni
Korrektoren extern	Dr. Adriano Joss, Marco Kipf, Eawag Dübendorf, Abteilung Verfahrenstechnik

Innerhalb der letzten 25 Jahre hat sich der Anammoxprozess von einem unbekanntem Bestandteil des Stickstoffkreislaufes zu einem innovativen Verfahren zur Abwasserbehandlung mit hohem Stickstoffanteil entwickelt. Eine mögliche technische Umsetzung des Anammoxprozesses ist das Hybridverfahren. Dabei wird versucht, die für den Prozess notwendige anaerobe und langsam wachsende Anammoxbiomasse auf Biofilmträger anzureichern. Die aerobe und langsam wachsende Ammonium oxidierende Biomasse soll dabei im suspendierten Schlamm kultiviert werden.

Auf der Kläranlage Niederglatt soll dieses Hybridsystem das bestehende System, welches nur mit suspendiertem Schlamm betrieben wird, ersetzen. Diese Bachelorarbeit soll dabei erste Erkenntnisse bei der Umstellung auf das Hybridsystem liefern, insbesondere

weil die verwendeten Biofilmträger der Firma Wabag noch nie auf den Anammoxprozess angewandt wurden. Durch die Zugabe der Biofilmträger in 12-l-Bioreaktoren wurde ein Einbruch der Aktivität von 91 % festgestellt. Der Aktivitätseinbruch wurde sowohl durch die Zugabe von neuen Biofilmträgern als auch

durch die Zugabe von bereits bewachsenen Biofilmträgern aus einem Nitrifikationsbecken festgestellt. Die Anammoxaktivität begann sich jedoch wieder zu erholen. Diese Aktivitätssteigerung verlief im Reaktor mit den frischen Biofilmträgern schneller als im Reaktor mit bereits bewachsenen Biofilmträgern. Seit der Zugabe der Biofilmträger zeichnete sich zudem ein Zerfall der Anammoxschlammflockenstruktur ab. Dieser Zerfall war im Reaktor mit frischen Biofilmträgern ausgeprägter. Durch den Zerfall konnten die Schlammflocken nicht mehr vollständig sedimentieren, was einen Verlust der Biomasse im suspendierten Schlamm zur Folge hatte. Die Biomasse auf den Biofilmträgern nahm jedoch stetig zu. Die Zunahme der Anammoxaktivität im Reaktor mit einem gleichzeitigen Verlust der Biomasse im suspendierten Schlamm deutet auf einen Zuwachs an Anammoxbakterien auf den Biofilmträgern hin. Durch diese erreichte Auftrennung der Biomasse sollte durch eine Senkung des Schlammalters des suspendierten Schlammes ein Abzug von für den Prozess störenden Nitrit oxidierenden Bakterien möglich sein. Die Biofilmträger können dabei problemlos im Reaktor zurückgehalten werden.

Die Abnahme der Aktivität durch die Zugabe der Biofilmträger wurde in einem zweiten Versuch bestätigt. Dabei wurde auch der Anammoxschlamm mittels Mikroskop untersucht, um einen Zerfall der Flockenstruktur zu dokumentieren und zu bestätigen.



Abb.: 12-l-Sequencing-Batch-Reaktor

Online-Analytik von Aminosäuren



Diplomand	Michael Ottenbacher
Korrektor ZHAW	Dr. sc. nat. Caspar Demuth
Korrektor extern	Dipl. Ing. (FH) Andreas Riklin, SecureCell AG, Schlieren

In Bioprozessen wird heutzutage der Gehalt an Aminosäuren im Zellkulturmedium ausschliesslich offline durch externe Analysengeräte ermittelt. Diese besitzen eine lange Analysendauer, somit ist eine direkte Prozessüberwachung und -regelung unmöglich.

Aus diesem Grund wurde die Machbarkeit eines Analysengeräts geprüft, welches innert kürzester Zeit und mit geringem apparativem Aufwand bestimmte Aminosäuren nahezu in Echtzeit analysieren kann. Hierfür wurden mehrere Verfahren untersucht, welche die Aminosäuren aus dem Zellkulturmedium isolieren und diese anschliessend voneinander trennen können. Weiter wurden mehrere Methoden geprüft, welche, ebenfalls schnell und mit geringem Aufwand, Aminosäuren detektieren können.

Lokalisierung des neuen Antimalaria-wirkstoffes OZ277 mittels Immunfluoreszenz



Diplomandin	Ellen Reift
Korrektorin ZHAW	Dr. Andrea Baier
Korrektor/-in extern	Joelle Jourdan (PhD-Studentin), Dr. Sergio Wittlin, Swiss Tropical and Public Health Institute, Basel

Aus vertraulichen Gründen darf die Zusammenfassung nicht veröffentlicht werden.

Kultivierung und Scale-up-Untersuchungen von *E. coli* L1931



Diplomand	Mischa Stalder
Korrektoren ZHAW	Dr. Christian Löffelholz, Prof. Dr. Dieter Eibl

*Aus vertraulichen Gründen
darf die Zusammenfassung nicht
veröffentlicht werden.*

Pilotanlage zur Trockenvergärung: Automatisierung, Inbetriebsetzung und Erarbeitung einer Prozessleitstrategie



Diplomand	Gabriel Stebler
Korrektoren ZHAW	Prof. Mark Jaeggi, Martin Kühni, Florian Rüschi-Pfund

Gegenstand der Arbeit ist die Pilot trockenfermentationsanlage der Fachstelle Umweltbiotechnologie. Die Pilotanlage, vor allem der Messtechnik- und Steuerungsteil, wurde vervollständigt. Waagen für die Fermenterwägung wurden evaluiert, bestellt und in die Pilotanlage integriert. Für die Temperatur im Perkolatbehälter und die Masse in den Fermentern wurde je ein Regelkreis entwickelt. Für die Analyse des Biogases wurden zwölf Nahinfrarotspektrometer und sechs Durchflussmessgeräte in die Steuerung implementiert. Ein Spülkonzept wurde ebenfalls entwickelt.

Dazu wurde ein Strategiekonzept zur Prozessführung anhand zweier Prozessziele «theoretisch maximale Methanabgabe» und «stabiler Prozess» aufgezeigt. Die Ergebnisse müssen noch durch Versuche überprüft und verbessert werden.

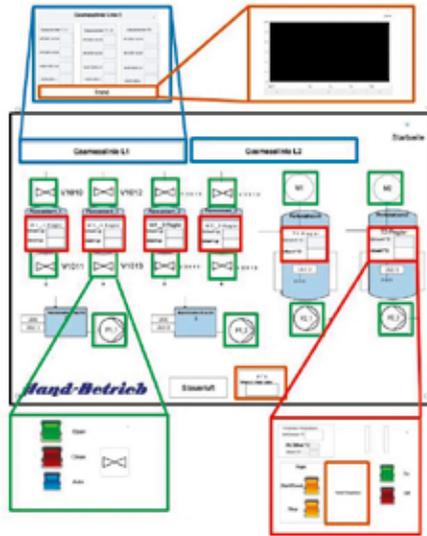


Abb. 2: Benutzeroberfläche, die für das Touch Panel programmiert wurde

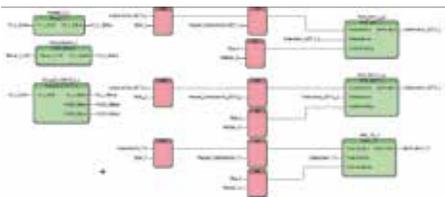


Abb. 1: Entwickeltes SPS-Programm bestehend aus Funktionsbausteinen und Funktionen



Abb. 3: Die Pilot trockenfermentationsanlage

Modernisierung der Monogr. für Thymianfluidextrakt und Thymiansirup der Ph Helv



Diplomandin	Manuela Steiner
Korrektoren ZHAW	Prof. Dr. Beat Meier, Dipl. Chemiker (FH) Samuel Peter

Die Untersuchungen dieser Arbeit tragen zur Modernisierung der Monographie des Eingestellten Thymianfluidextrakts und des Thymiansirups der Schweizerischen Pharmakopöe bei. Dabei soll die Gehaltsbestimmung der Präparate neu mittels einer gaschromatographischen quantitativen Bestimmung von Thymol erfolgen. Des Weiteren werden die Herstellungsvorschriften für den Extrakt und den Sirup revidiert. Für die Herstellung des Extraktes wurde eine Optimierung durchgeführt mit dem Ziel, ein Extraktionsverfahren zu finden, dass zu einer idealen Thymolausbeute führt. Dabei soll die Ethanolkonzentration in beiden Endprodukten, Extrakt und Sirup, möglichst tief bleiben. Es wurden Thymianextrakte mittels Mazeration, Digestion und Perkolation hergestellt. Die höchste Thymolausbeute bei einer Ethanolkonzentration von 30 % konnte mittels Digestion erzielt werden. Die Untersuchung zeigt deutlich, dass mit höheren



Abb. 1: *Thymus vulgaris* L. (Echter Thymian)

Ethanolkonzentrationen grössere Thymolausbeuten erzielt werden konnten. Eine weitere Abhängigkeit der Thymolausbeute liegt im Droge-Lösungsmittel-Verhältnis. Je grösser das Verhältnis, umso mehr Thymol konnte aus der Droge gelöst werden. Für den Vorschlag für die Ph. Helv. resultiert für den Thymianfluidextrakt neu eine Thymiantinktur, da das für ein Fluidextrakt geforderte DLV von 1:1 nicht umgesetzt werden konnte. Die Tinktur wird mittels Digestion bei 60 °C und Ethanol 30 % als Lösungsmittel in einem DLV von 1:6 während 30 Minuten Extraktionszeit hergestellt. Den bisher verwendeten Lösungsmittelzusätzen, Ammoniak und Glycerin, konnte kein Nutzen zugeordnet werden. Sie wurden daher nicht in die Herstellungsvorschrift für die Tinktur übernommen. Dank dem höheren Thymolgehalt von mindestens 0.09 % in der Tinktur kann neu ein Thymiansirup mit dem bisherigen Thymolgehalt von 0.013–0.017 % ohne die Zugabe von zusätzlichem Thymol hergestellt werden. Für den Sirup resultiert neu ein Ethanolgehalt von 4.6 % (V/V).

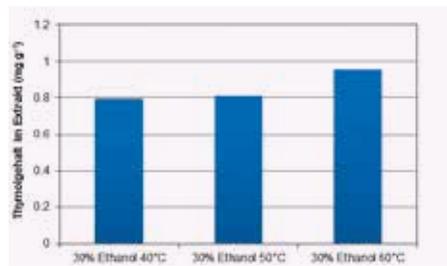


Abb. 2: Vergleich der Digestionen bei unterschiedlichen Temperaturen mit Ethanol 30 % als Lösungsmittel

Vergleichende Kultivierungen von Hairy Roots (vertraulich)



Diplomandin	Irène Kathrin Stutz
Korrektor/-in ZHAW	Dr. Ing. Iris Poggendorf, Prof. Dr. Dieter Eibl

Hairy Roots lassen sich in verschiedenen Systemen kultivieren, wobei ein grundlegender Unterschied darin besteht, ob die Wurzeln in der Gasphase oder submers in der Flüssigphase kultiviert werden. Für diese Arbeit wurden ein Sprühreaktor, Schüttelkolben und wellendurchmischte CultiBag RM zur Kultivierung eingesetzt. Das Ziel der Arbeit war die Optimierung von Produktbildung in Hairy Roots. Es wurden verschiedene Strategien

zur Ermittlung des Einflusses von Kultivierungsbedingungen auf die Produktion von Biomasse und Zielprodukt getestet. Es wurden verschiedene Mediensterilisationsverfahren mit Schüttelkolbenversuchen verglichen, verschiedene Inokulumkonzentrationen wurden für die CultiBag-RM-Kultivierungen verwendet und in den Sprühreaktorversuchen wurden die Sprühintervalle variiert. Verglichen wurden die Ergebnisse von Biomasseproduktion und Produktkonzentration in den Versuchsgruppen, als auch zwischen den Kultivierungssystemen.

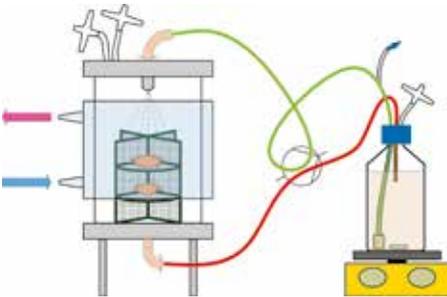
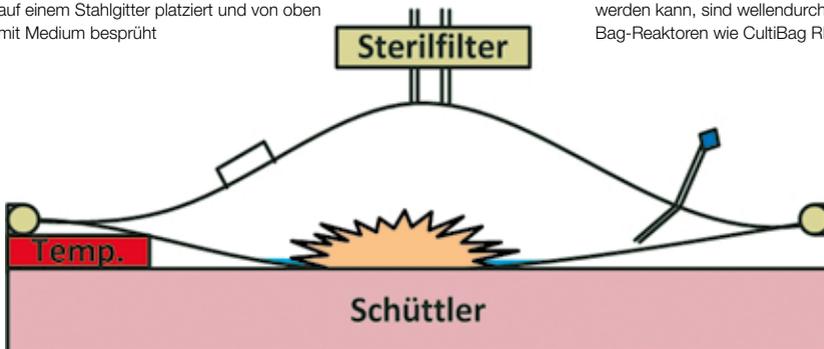


Abb. 1: Der Aufbau des verwendeten Sprühreaktors. Die Hairy Roots im Reaktor wurden auf einem Stahlgitter platziert und von oben mit Medium besprüht

Abb. 2: Ein Einweg-System, das erfolgreich zur Kultivierung von Hairy Roots eingesetzt werden kann, sind wellendurchmischte Bag-Reaktoren wie CultiBag RM



Verwendung von Grassaft als komplexes Medium zur Milchsäureproduktion



Diplomandin	Yvette Sutter
Korrektor/-in ZHAW	MSc Lona Mosberger, Dr. Rolf Warthmann

Um die Umwelt von anfallenden Reststoffen zu entlasten, werden diese immer mehr wiederverwertet und in einen anderen Wertschöpfungszyklus eingeschleust. Somit werden solche Abfallprodukte in ein energiereicheres Produkt umgewandelt. Dieser Grundgedanke wird auch in der grünen Bioraffinerie geteilt, bei der Biomasse zu wertvolleren Endprodukten umgewandelt wird. Als Biomasse dienen unter anderem organische Pflanzenabfallprodukte wie zum Beispiel geschnittenes Blumenwiesengras. Um das Volumen dieses anfallenden Grases zu verringern, wird es gepresst. Der feste Teil, der sogenannte Presskuchen, kann Tieren verfüttert werden und belastet die Umwelt nicht weiter. Der anfallende Grassaft selbst ist jedoch ein Reststoff, der bis heute noch keinen grossen Einsatz in der Wiederverwertung findet. Diese Bachelorarbeit untersucht die Möglichkeit, zuckerhaltigen Grassaft als komplexes Medium zur Milchsäureproduktion einzusetzen. Dazu werden diesem Saft drei verschiedene Milchsäurebakterienstämme zugegeben und die Milchsäureproduktion beobachtet. Die eingesetzten Milchsäurebakterien sind *Lactobacillus amylophilus* (heterofermentativ, produziert L[+]-Milchsäure), *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis* (homofermentativ, produziert D[-]-Milchsäure) und *Lactobacillus pentosus* (heterofermentativ, produziert DL-Milchsäure).

Beim Einsatz von zwei unterschiedlichen Grassafttypen wird davon ausgegangen, dass sich die Milchsäureproduktion und das Bakterienwachstum sehr unterschiedlich verhalten werden, da der Zuckergehalt in den Säften von Beginn an variiert. Aufgrund dessen wird angenommen, dass bei den zwei Safttypen eine andere Milchsäureausbeute erzielt wird. Bei den Milchsäurebakterien wird zwischen homofermentativen (produzieren nur Milchsäure) und heterofermentativen (produzieren neben Milchsäure noch weitere Produkte) Milchsäurebakterien unterschieden. Bakterien werden ebenfalls nach der chemischen Art der Milchsäure, welche sie produzieren, unterschieden. Milchsäure weist zwei optische Isomere auf: linksdrehende L(-) und rechtsdrehende D(+) Isomere, zum Beispiel die racemische (DL) Milchsäure. Ein weiterer Teil der Bachelorarbeit besteht darin, die autochthonen Mikroorganismenpopulationen im englischen Rasen- und Blumenwiesengrassaft zu bestimmen. Daraufhin stellt sich die Frage: Wie verhält sich die Population im Laufe der Vergärung, überwiegt ein Mikroorganismus und hindert er andere Stämme in ihrem Wachstum?

Klonierung und Expression eines membran- gebundenen Enzyms in unterschiedlichen Hefestämmen



Diplomandin	Sarah Andrea Vogel
Korrektoren ZHAW	Dipl. Ing. (FH) David Frasson, Dipl. Ing. (FH) Tobias Wermelinger
Korrektorin extern	Dr. Kirsten Schroer, Novartis Pharma AG, Bioreactions Group, Institut für Biomedical Research

In dieser Arbeit wurde ein Enzym, welches durch seine Aktivität zu einer grossen Diversität von Sekundär-Metaboliten in Pflanzen führt und auch eine Vielzahl von biologisch und pharmazeutisch aktiven Molekülen hervorbringt, in den Hefen *Pichia pastoris* und *Saccharomyces cerevisiae* kloniert und exprimiert. Die Tatsache, dass das Enzym membrangebunden ist, erschwert die Expression, den Nachweis und die Aufreinigung des Enzyms aus den Hefen.

So wurde nach einer erfolgreichen Klonierung des Gen-of-Interest ein Aktivitätsscreening durchgeführt. Die enzymatische Synthese von den Naturstoffen wurde mittels LC-MS (Flüssig-Chromatografie mit Massenspektrometrie) ermittelt (siehe Abb. 1).

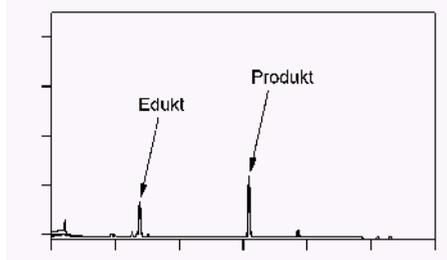


Abb. 1: Chromatogramm nach den Aktivitätsscreenings

Während dieser Arbeit bestand eine Kooperation zwischen dem Institut für Biotechnologie der ZHAW Wädenswil und der Biokatalyse-Gruppe des Novartis-Instituts für Biomedizini-

sche Forschung. So wurde die Klonierung und der anschliessende Nachweis der Expression des Enzyms an der ZHAW durchgeführt. Die nachfolgenden Aktivitätsmessungen wurden bei Novartis realisiert.

Biokatalyse-Gruppe

Die Biokatalyse-Gruppe beschäftigt sich mit der enzymatischen Biotransformation von meist chiralen Indermediaten, z. B. mit robusten käuflichen Enzymen wie Lipasen, der Produktion von Wirkstoff-Metaboliten unter der Verwendung von Metabolismus-Enzymen wie bspw. Cytochrom P450-Monooxygenasen und der mikrobiellen Transformation zur Synthese modifizierter Pharmawirkstoffe als Ergänzung zur traditionellen Medizinalchemie. Dabei wird diese Arbeit dem 3. Bereich der mikrobiellen Transformation zur Synthese modifizierter Pharmawirkstoffe zugeschrieben. Da die Novartis Pharma AG eine der wenigen Pharma-Firmen ist, welche noch Forschung mit Naturstoffen betreibt, ist die chemische oder enzymatische Modifizierung von Naturstoffen von besonderem Interesse.

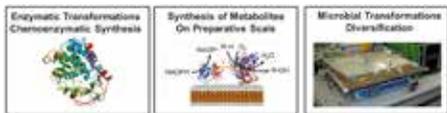


Abb. 2: Aktivitäten der Biokatalyse-Gruppe des Novartis-Instituts für Biomedizinische Forschung; durch Biokatalyse-Gruppe (Kirsten Schroer) zur Verfügung gestellt

Mikrobiologische Charakterisierung von ARA-Abläufen nach Co-Vergärung von TNP



Diplomandin	Gianna Vontobel
Korrektoren ZHAW	Prof. Dr. Urs Baier, Dr. Rolf Warthmann

Zur Untersuchung der hygienischen Relevanz der Mitvergärung von tierischen Nebenprodukten (TNP) und Speiseresten in Schweizer Abwasserreinigungsanlagen wurde eine mikrobiologische Charakterisierung von vier Anlagen durchgeführt. Drei davon nehmen Co-Substrate (TNP und Speiseresten) an, eine nicht.

Es wurden *Enterococcus spp.*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens* und *Yersinia enterocolitica* an verschiedenen Probenahmestellen in den Anlagen (Zulauf, Co-Substrat, Primärschlamm, Faulschlamm, Zentrat/ Dekantat und Ablauf) nachgewiesen. Die Proben wurden ohne Berücksichtigung von abiotischen Faktoren ausgewertet und verglichen.

Mit einem t-Test wurde der Einfluss des CSB (Chemischer Sauerstoffbedarf) auf die koloniebildenden Einheiten pro Milliliter (KBE mL⁻¹) untersucht. Der t-Test ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Werten mit und ohne Berücksichtigung des CSB. *C. perfringens* konnte im Faulschlamm überleben, ohne sich zu vermehren, während *Enterococcus spp.*, *E. coli* und *Y. enterocolitica* durch die anaeroben Bedingungen im

Faulturm stark reduziert wurden. Im Co-Substrat, das einen höheren Feststoffanteil als der Zulauf aufweist, wurden mehr Keime pro Milliliter nachgewiesen. Da im Verhältnis zum Klärschlamm nur kleine Mengen Co-Substrat zugefügt werden (ca. 10%) ist dessen Beitrag zur gesamten Keimbilanz klein.

Zwischen den Kläranlagen mit und ohne Co-Substrat konnte kein relevanter Unterschied der Keimkonzentrationen festgestellt werden. Die über den ganzen Reinigungsprozess resultierende Keimreduktion von *Enterococcus spp.*, *E. coli*, *Clostridium perfringens* und *Yersinia enterocolitica* lag bei allen vier Abwasserreinigungsanlagen über 99.9%. Die nachgewiesenen Mikroorganismen werden somit durch die biologische Reinigung und durch die Entwässerung effizient reduziert; sie stellen deshalb auch bei Verwendung von Co-Substrat kein Problem für Umwelt und Hygiene dar.



Abb. 1: v. l. Ausplattierte Proben auf MacConkey-, Tryptose Sulfite Cycloserin- und Kanamicin Azid-Agar

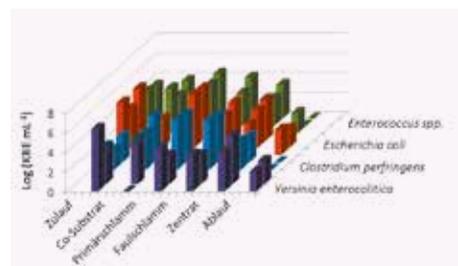


Abb. 2: Keimbildende Einheiten (KBE mL⁻¹) an unterschiedlichen Probenahmestellen einer Kläranlage (Y-Achse logarithmiert)

Bestimmung und Evaluierung von Scale-up-Kriterien für orbital geschüttelte und gerührte Bioreaktoren



Diplomandin	Melanie Wassmer
Korrektoren ZHAW	Dipl.-Ing. Sören Werner, Prof. Dr. Dieter Eibl

Um verschiedene Zellarten und Mikroorganismen in orbital geschüttelten Bioreaktoren kultivieren zu können, müssen optimale Kultivierungsparameter eingestellt werden. Zu diesen Kultivierungsparametern gehören das Mischverhalten und der Sauerstoffeintrag. Die Charakterisierung der Mischzeit erfolgte mit der Iod-Thiosulfat-Entfärbungsmethode. Die Bestimmung der kLa -Werte erfolgte durch das dynamische Ausgasen. Als Modelllösung wird Natriumcarboxymethylcellulose mit unterschiedlichen Konzentrationen von 1, 3, 6, 8 und 20 g L⁻¹ verwendet. Der verwendete Bioreaktor für die Bestimmung der Mischzeiten ist der CultiBag RM 2 L bzw. 20 L basic und für die Bestimmung der kLa -Werte wird der CultiBag RM 2 L bzw. 20 L optical verwendet.

Mittels Literaturrecherchen wird das Fluidverhalten beschrieben, welches von Büchs *et al.*, 2000, entdeckt wurde, in orbital geschüttelten Systemen, vor allem in Schüttelkolben. Aufgrund der Tatsache, dass sich die Flüssigkeit in einem orbital geschüttelten System entweder mit oder entgegen der Schüttelbewegung bewegen kann, wird die Fließbewegung der Flüssigkeit in einen «in-phase»- oder «out-of-phase»-Zustand eingeordnet.



Abb.: Strömungsbewegung der Flüssigkeit in einem zylindrischem Einweg-Bioreaktor 10 L unter «in-phase» Bedingungen (a) und «out-of-phase» Bedingungen (b), (Klößner, Diederichs, *et al.*, 2013)

ALUMNI ZHAW Life Sciences

Alumni bedeutet so viel wie «Ehemalige einer Hochschule». Der Basisverein ALUMNI ZHAW Life Sciences umfasst die Studienrichtungen Biotechnologie, Chemie/ Biologische Chemie, Lebensmitteltechnologie sowie Umweltingenieurwesen.

Ziele der ALUMNI ZHAW Life Sciences sind die Förderung der beruflichen und standespolitischen Interessen seiner Mitglieder sowie der Zusammenschluss und die Kontaktpflege zwischen Ehemaligen und Angehörigen der Hochschule – ganz nach dem Motto: «We make networks work.» Um diese Ziele zu erreichen, werden wir aktuelle Thematiken aus den Studienbereichen aufgreifen und nach Möglichkeit unter Einbezug der Arbeitswelt in Fachveranstaltungen und gesellige Anlässe integrieren.

Wovon kann ich als Mitglied sonst noch profitieren?

Durch die Anmeldung bei der ALUMNI ZHAW Life Sciences findet ein automatischer Beitritt in die Dachorganisation ALUMNI ZHAW sowie in den nationalen Dachverband FH SCHWEIZ (www.fhschweiz.ch) statt. Die FH SCHWEIZ vertritt die Anliegen ihrer Mitglieder auf nationaler Ebene, betreibt intensive Berufsbildungspolitik und bietet ihren Mitgliedern attraktive Vergünstigungen diverser Angebote und Dienstleistungen an.

Wie werde ich Mitglied?

Die ALUMNI ZHAW Life Sciences lädt alle Studierenden, Ehemaligen und den Mittelbau/Dozierenden der Life Sciences Studiengänge der ZHAW LS zur Mitgliedschaft ein. Der Mitgliederbeitrag beträgt jährlich CHF 110.–. Für Studierende in den letzten beiden Semestern und während des ganzen Master-Studiums ist die Mitgliedschaft kostenlos.



Weitere Informationen:

Alumni ZHAW Life Sciences
Sekretariat
Theaterstrasse 3, 8400 Zürich
Tel. 052 203 47 00
ls@alumni-zhaw.ch

www.alumni-zhaw.ch/ls

Master und Weiterbildungsangebote

Unsere Bachelor-Absolventinnen und -Absolventen haben die Möglichkeit, an der ZHAW in Wädenswil einen forschungs-basierten und praxisorientierten Master of Science in Life Sciences zu absolvieren. Als Vertiefungsrichtung wird «Pharmaceutical Biotechnology» angeboten.

Mehr Informationen unter: www.lsfm.zhaw.ch/master

Nach dem Bachelor-Abschluss stehen den Absolvierenden neben praxisbezogenen Weiterbildungskursen auch Weiterbildungsstudiengänge (MAS, DAS und CAS) an einer Fachhochschule oder Universität offen.

Wir würden uns freuen, wenn Sie in Ihrer beruflichen Laufbahn auf unser Weiterbildungsangebot zurückkommen und wir Sie wieder bei uns begrüßen dürften.

Ihre ZHAW in Wädenswil

Die ZHAW LSFM auf:



Master-Studium in Life Sciences

Der Master of Science in Life Sciences setzt sich mit technischen, technologischen, wissenschaftlichen und gesellschaftlichen Fragen aus den Themenbereichen Gesundheit, Ernährung und Umwelt auseinander. Mit diesem konsekutiven Master-Studium eignen sich die Studierenden fundiertes Fachwissen, analytische Fähigkeiten, Führungskompetenz und eine ausgeprägte Handlungsorientierung an.

Das Studium ist in vier Teile gegliedert und dauert als Vollzeitstudium drei Semester. Ein Teilzeitstudium ist möglich.

- Entrepreneurial Skills
- Advanced Life Science Skills
- Specialisation Skills
- Master Thesis

Der Studiengang ist ein Kooperationsangebot von vier Schweizer Fachhochschulen. Die Entrepreneurial Skills und die Advanced Life Science Skills besuchen unsere Studierenden gemeinsam mit denjenigen der anderen Hochschulen. Die Specialisation Skills finden am jeweiligen Institut an der ZHAW in Wädenswil statt. Die Master Thesis wird in einer Forschungsgruppe in Wädenswil oder extern in einer Firma durchgeführt.



Vertiefung Pharmaceutical Biotechnology

Vom Bachelor zum Master

Auf der Grundlage der soliden methodischen Ausbildung im Bachelorstudium in Biotechnologie oder Pharmazie bietet die Masterausbildung eine spezifische Vertiefung im Bereich der pharmazeutischen Biotechnologie. Neben der Verfeinerung der praktischen Methodenkenntnisse und dem Fachwissen werden die Kompetenzen im Bereich eigenständiger Forschungsarbeit gezielt gefördert. Die Studierenden bearbeiten eigene Projekte, sichten aktuelle Forschungsliteratur und integrieren sich in eine Forschungsgruppe. Dies sind die besten Voraussetzungen für eine anspruchsvolle Arbeitsstelle oder eine zukünftige Leitungsfunktion. Vor allem Firmen mit internationaler Ausrichtung erwarten vermehrt einen Masterabschluss als Eingangsqualifikation für Führungsfunktionen. Viele Studierende bevorzugen es, die Routine aus dem Bachelorstudium direkt ins Masterstudium mitzunehmen. Ein Teilzeitstudium ist dank der ausgeprägten Modularisierung möglich.

Zentrales Element der Vertiefung in pharmazeutischer Biotechnologie ist die Master Thesis. Einerseits werden in dieser Arbeit die experimentellen Fähigkeiten im gewählten Forschungsgebiet vertieft, andererseits gewinnen die Studierenden einen detaillierten Einblick in die Methodik der Durchführung anspruchsvoller Forschungsprojekte.

Fachgruppen und Kontakte

Mit der Anmeldung zum Studium wählen Interessierte nach Absprache mit einer der nachfolgenden Forschungsgruppen das Fachthema der Master Thesis:

Analysen- und Sensortechnik

Dr. Caspar Demuth, caspar.demuth@zhaw.ch

Bioprozesstechnologie

Prof. Dr. Karin Kovar, karin.kovar@zhaw.ch

Bioverfahrenstechnik

Prof. Dr. Dieter Eibl, dieter.eibl@zhaw.ch

Molekularbiologie

Prof. Dr. Martin Sievers,
martin.sievers@zhaw.ch

Pharmazeutische Technologie

Prof. Dr. Vera Luginbühl,
vera.luginbuehl@zhaw.ch

Phytopharmazie

Prof. Dr. Beat Meier, beat.meier@zhaw.ch

Prozessinformatik

Prof. Mark Jaeggi, mark.jaeggi@zhaw.ch

Umweltbiotechnologie

Prof. Dr. Urs Baier, urs.baier@zhaw.ch

Zellbiologie

Prof. Dr. Jack Rohrer, jack.rohrer@zhaw.ch

Zellkulturtechnik

Prof. Dr. Regine Eibl, regine.eibl@zhaw.ch

Allgemeine Fragen und Beratung:

Prof. Dr. Tobias Merseburger
Institutsleitung, Institut für Biotechnologie
tobias.merseburger@zhaw.ch

Susanne Dombrowski
Studiengangberatung,
Institut für Biotechnologie
dosu@zhaw.ch

Absolventenporträt Hannah Killer: Master of Science in Life Sciences Vertiefung Pharmaceutical Biotechnology



2002 Ausbildung zur Drogistin
2006 Naturwissenschaftliche BMS
2007 Bachelorstudium Biotechnologie
2010 Masterstudium Life Sciences

«Das Masterstudium vertieft das Fachwissen und generiert Einblicke in neue Bereiche, wie beispielsweise Betriebswirtschaft und Regulatory Affairs. Diese Kombinationen erweitern die Möglichkeiten auf dem Arbeitsmarkt.»

Hannah Killer gehört zur zweiten Absolventenklasse des Master-Studiengangs in Life Sciences mit der Vertiefung «pharmaceutical Biotechnology». Sie hat im Juni 2012 ihr Studium in Vollzeit an der ZHAW in Wädenswil abgeschlossen.

Warum haben Sie sich für ein Master-Studium entschieden?

Die Möglichkeit, vertieftes Fachwissen zu erlangen sowie neue Themenfelder erarbeiten zu können, war ausschlaggebend. Zudem wollte ich meine Ausbildung soweit wie möglich vorantreiben, bevor ich in die Arbeitswelt hinaustrete, da ein Wiedereinstieg ins Studium meist schwerfällt und oft nicht mehr realisiert wird.

Welchen Mehrwert hat für Sie der Master-Titel gegenüber dem Bachelor?

Zu Beginn der Arbeitstätigkeit ist der Unterschied vom Master- zum Bachelor-Titel gering. Ich denke aber, dass im weiteren Verlauf meiner Tätigkeit der Master-Titel weitere Optionen eröffnet, welche mit einem Bachelor-Titel nur schwer zu realisieren sind oder das Nachholen des Masterstudiums mit sich bringen. Zudem steht mit dem Master-Titel der Weg zu einer Doktorarbeit offen und somit auch zu einer akademischen Laufbahn, wenn dies angestrebt werden sollte.

Was hat Ihnen an diesem Studium besonders gut gefallen?

Die Möglichkeit, Personen aus den anderen Studiengängen, wie beispielsweise Chemie oder Lebensmitteltechnologie, besser kennen zu lernen und somit das Netzwerk auszubauen und Einblicke in anderes Fachwissen zu erhalten.

Welches Thema haben Sie für Ihre Master-Arbeit gewählt und wie ist es dazu gekommen?

In meiner Masterarbeit beschäftigte ich mich mit dem Thema der Wirkstoffgewinnung aus Bakterien und deren Wirkung auf Krebszelllinien. Das Thema entstand durch die Zusammenarbeit mit der CCOS und endete in einem weiteren Projekt, welches zurzeit am Laufen ist. Ein weiteres Kriterium war für mich die Wahl der Arbeitsgruppe, da man etwa acht Monate mit der Masterarbeit beschäftigt ist. Ein gutes Arbeitsklima und der offene Austausch von Ideen waren mir sehr wichtig. In der Gruppe der Molekularbiologie waren für mich diese Kriterien mehr als erfüllt.

Waren Sie mit der Unterstützung durch das Institut zufrieden?

Da ich dem zweiten Studiengang angehörte, konnte ich viele Informationen von unseren Vorgängern erfragen. Zudem hatte ich bereits den Bachelor an der ZHAW absolviert und kannte daher auch die entsprechenden Ansprechpersonen im Institut, was die Kommunikation erheblich vereinfachte.

Welche beruflichen Pläne haben Sie?

Ich denke viele Bereiche im Umfeld der Biotechnologie bieten interessante Möglichkeiten, die berufliche Zukunft zu gestalten. Mein Weg wird sich im Bereich Regulatory und Quality fortsetzen.

Welche Empfehlung geben Sie angehenden Master-Studierenden?

Macht den Master aus Interesse. Wo euch die Zukunft hinbringt (mit oder ohne Master) kann euch sowieso niemand sagen.

Absolventenporträt Sebastian Rothe: Master of Science in Life Sciences Vertiefung Pharmaceutical Biotechnology



2004 Dipl.-Ing. (FH) Biotechnologie
2004 wissenschaftl. Mitarbeiter,
ZHAW (bis 2011)
2010 Masterstudium Life Sciences
2011 Produktspezialist,
GE Healthcare (seit 2011)

«Durch das breite Angebot an Kursen sowie der angewandten Forschung in konkreten Projekten mit Industriepartnern erhöht das Master-Studium die persönlichen Qualifikationen und ermöglicht einen erleichterten Einstieg in den Arbeitsmarkt.»

Sebastian Rothe gehört zu den zweiten Absolvierenden des Master-Studiengangs in Life Sciences mit der Vertiefung «pharmaceutical Biotechnology». Er hat im Februar 2012 sein Studium in Teilzeit an der ZHAW in Wädenswil abgeschlossen.

Warum haben Sie sich für ein Master-Studium entschieden?

Fünf Jahre nach meinem Abschluss als Diplom-Ingenieur Biotechnologie habe ich mit dem Start des neuen Master-Programms die Chance genutzt, mein Wissen aufzufrischen, mich in Richtung pharmazeutische Biotechnologie zu spezialisieren und einen international anerkannten Abschluss zu erlangen. Ausserdem hat mich die Herausforderung gereizt, wieder ein Studium in Angriff zu nehmen.

Welchen Mehrwert hat für Sie der Master-Titel gegenüber dem Bachelor?

Im Master-Studium werden Themengebiete aus dem Bachelor vertieft und umfassender behandelt. Durch den Master wird in der Industrie der Einstieg in leitende Positionen erleichtert. Ausserdem erhöhen sich durch den Master-Titel die Chancen auf eine Zulassung zur Promotion.

Was hat Ihnen an diesem Studium besonders gut gefallen?

Das Konzept der Grundlagen-Kurse ermöglicht

ein Vernetzen mit Kommilitonen anderer Studiengänge und bietet die Chance, Einblicke in alternative Themengebiete zu bekommen, um somit einen Blick über seinen fachspezifischen Tellerand zu wagen.

Welches Thema haben Sie für Ihre Master-Arbeit gewählt und wie ist es dazu gekommen?

Der Titel meiner Arbeit war «Charakterisierung der Produktbildung eines pharmazeutischen *E. coli*-Prozesses». Die Arbeit war der erfolgreiche Abschluss einer langjährigen Kooperation zwischen dem Industriepartner und der ZHAW und ist ein Bestandteil der Dokumentation für die Zulassung des untersuchten pharmazeutischen Prozesses.

Waren Sie mit der Unterstützung durch das Institut zufrieden?

Das Institut für Biotechnologie ermöglichte mir, das Master-Studium in Teilzeit zu absolvieren. Durch die Regelung konnte ich Studienanforderungen und Arbeitsverpflichtung unter einen Hut bringen, aber auch flexibel gestalten. Fachlich wurde ich während meiner Masterarbeit sehr gut von der Arbeitsgruppe für Bioverfahrenstechnik und von Seiten des Projektpartners unterstützt.

Welche beruflichen Pläne haben Sie?

Noch während des Studiums habe ich ein Angebot von GE Healthcare bekommen, wo ich jetzt auch schon seit mehr als einem Jahr als Produktspezialist tätig bin. GE Healthcare ist ein internationales Unternehmen, bei dem mir der Abschluss als Master of Sciences viele Wege für meine Weiterentwicklung eröffnet.

Welche Empfehlung geben Sie angehenden Master-Studierenden?

Ein Teilzeitstudium ermöglicht zum einen, während des Studiums Berufserfahrung zu sammeln, die im Studienalltag auch gewinnbringend eingebracht werden kann, und zum anderen zeigt es einem potentiellen, zukünftigen Arbeitgeber die Fähigkeit zur Selbstorganisation und des Zeitmanagements.

Auslandserfahrung – mehr als Horizont- erweiterung!

In einer globalisierten Welt kommt der Mobilität und der Auslandserfahrung eine zentrale Bedeutung zu. Internationale Kompetenzen, wie «Internationales Wissen» – welches das Verständnis von globalen Themen und Zusammenhängen steigert –, «Interkulturelle Kompetenz» – welche die kulturelle Vielfalt und damit Flexibilität, Mobilität und Toleranz fördert – und «Mehrsprachigkeit» sind ein «Muss», um nach dem Studium den erfolgreichen Einstieg ins Berufsleben zu schaffen. Das Institut Biotechnologie fördert die internationale Mobilität.

Bis ein Jahr nach Studienabschluss haben Sie die Möglichkeit, sich für diverse internationale Industriepraktika im Ausland via IAESTE zu bewerben.

Mehr dazu finden Sie unter www.iaeste.ch

Global careers start here!

**Bezahlte Praktika
in über 80 Ländern**

**Förderung von
interkultureller
Kompetenz**

**Weltweites
Netzwerk**

**Internationale
Arbeitserfahrung**

IAESTE Switzerland...

... ist eine **non-profit** Organisation
... hat **über 60 Jahre Erfahrung** in der
Vermittlung von internationalen
Praktikumsstellen
...platziert jährlich **ca. 150 Praktikanten**

IAESTE Praktika...

... richten sich an Studierende **technischer
und naturwissenschaftlicher** Fächer
... haben eine Dauer zwischen **6 Wochen
und 12 Monaten**
... machen **fit für den Arbeitsmarkt**



Alle aktuellen Praktikumsstellen
findest du hier

www.iaeste.ch

iaeste 
SWITZERLAND

**Bleiben Sie
in Verbindung:**

[facebook.com/zhawlsfm](https://www.facebook.com/zhawlsfm)



Kontaktformular

Ich interessiere mich für einen weiteren Studiengang an der ZHAW LSFM und möchte mehr Informationen.

Master-Studium in Life Sciences

- Vertiefung in Food and Beverage Innovation
- Vertiefung Pharmaceutical Biotechnology
- Vertiefung Chemistry for the Life Sciences
- Vertiefung Natural Resource Sciences

Master-Studium in Facility Management

- Master of Science in Facility Management

- Ich möchte gern weitere Informationen zu:

- Bitte nehmen Sie mit mir Kontakt auf betreffend Dienstleistungen und Beratung

Name/Vorname

Geburtsdatum*

Bürgerort*

Strasse

PLZ/Ort

Telefon

E-Mail

Firma

Zusatz

Funktion

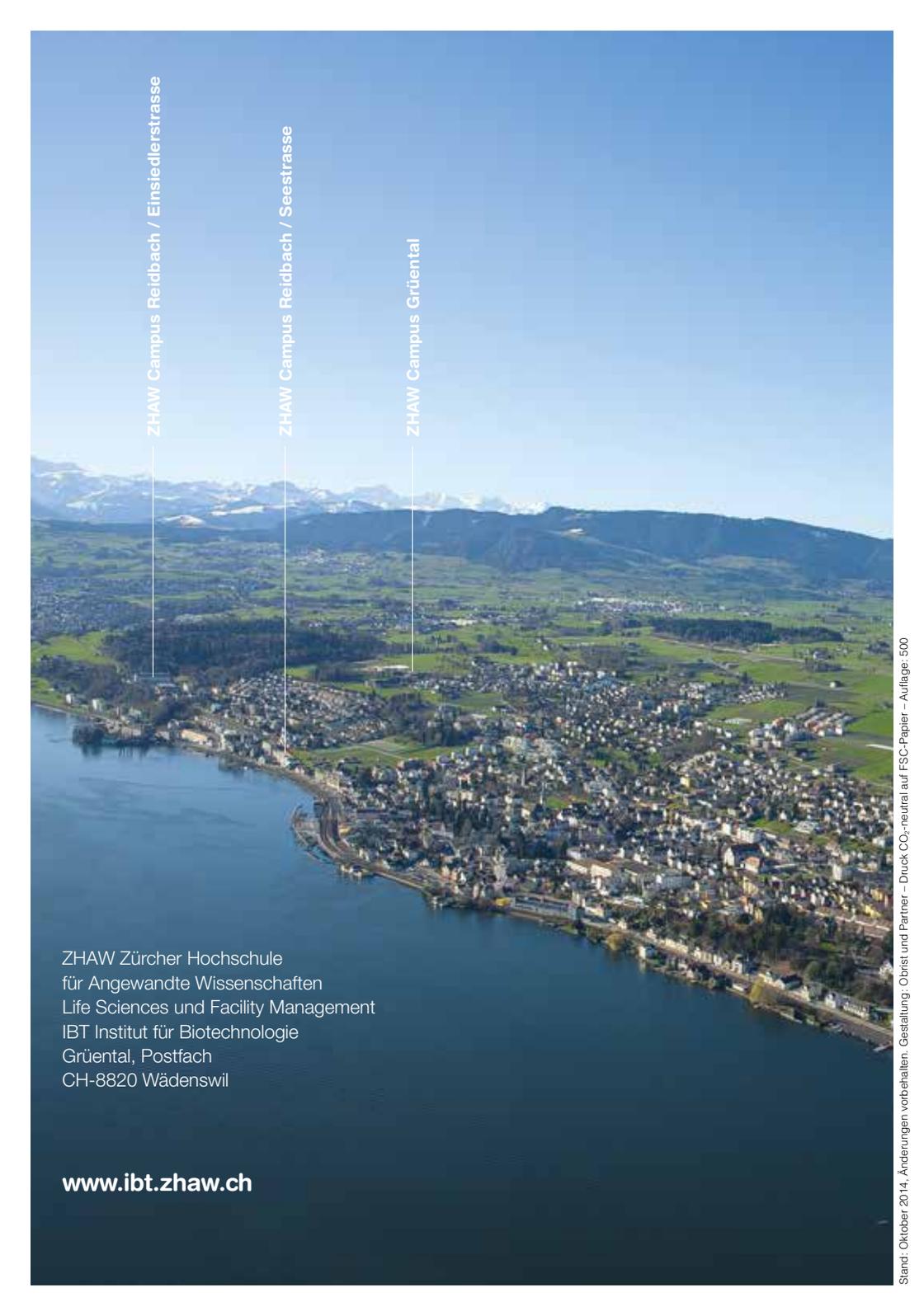
Ort/Datum

Unterschrift

* wird für die Ausstellung von Zertifikaten benötigt

Bitte senden oder faxen an:

ZHAW Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften
Life Sciences und Facility Management
Studiensekretariat
Grüental, Postfach, CH-8820 Wädenswil
Telefon +41 58 934 50 00, Fax +41 58 934 50 01
www.lsfm.zhaw.ch

An aerial photograph of the ZHAW campus area, showing a large body of water on the left, a dense residential and commercial area in the center, and rolling green hills and mountains in the background. Three vertical white lines are drawn across the image, each pointing to a specific location. The first line points to a location near the water's edge, the second line points to a location further inland, and the third line points to a location in the distance.

ZHAW Campus Reidbach / Einsiedlerstrasse

ZHAW Campus Reidbach / Seestrasse

ZHAW Campus Grüental

ZHAW Zürcher Hochschule
für Angewandte Wissenschaften
Life Sciences und Facility Management
IBT Institut für Biotechnologie
Grüental, Postfach
CH-8820 Wädenswil

www.ibt.zhaw.ch