

Zürcher Hochschule
für Angewandte Wissenschaften

**zh
aw**

**Life Sciences und
Facility Management**

**ICBT Institut für
Chemie und Biotechnologie**

**Bachelorarbeiten
2020**

Biotechnologie



Selbständiges
Arbeiten, Kreativität,
Teamfähigkeit,
Kommunikation
und ganzheitliches
Denken sind
gefragt.



Inhaltsverzeichnis

| | | | |
|---|----------|--|-----------|
| Vorwort | 5 | | |
| Die Diplomandinnen und Diplomanden | | | |
| Aberer Nayara Maria | 6 | Schaub Lukas | 37 |
| Allgäuer Julius | 7 | Schilt Alexander | 38 |
| Anrig Robin | 8 | Starc Marina | 39 |
| Baud Natalie | 9 | Suter Simon Joel | 40 |
| Bossart Bianca | 10 | Teliz Noelia | 41 |
| Brunner Kathrin | 11 | Tosoni Luca | 42 |
| Bühler Melanie | 12 | von Däniken Kim | 43 |
| Carkic Tijana | 13 | Weiss Noémi Sinah | 44 |
| Défayes Raphael | 14 | Wild Mischa | 45 |
| Enz Evelyn | 15 | Witzig Mira | 46 |
| Gees Marco | 16 | Wyser Tobias | 47 |
| Häberle Simon | 17 | Zyberaj Rine | 48 |
| Habermacher Michael | 18 | | |
| Inderbitzin Joëlle Désirée | 19 | Institut für Chemie und Biotechnologie | 51 |
| Jossen David | 20 | Perspektiven | 52 |
| Keel Thomas | 21 | Porträt Masterabsolventin: Melanie Huber | 55 |
| Kehrl L Liliane Sophia | 22 | Porträt Masterabsolventin: Britta Manser | 57 |
| Kirecci Alpgiray | 23 | Internationaler Austausch | 58 |
| Koller Beat | 24 | Forschungsprojekt: Smart Labs – Digitalisierung in der biotechnologischen F&E | 60 |
| Krauer Flavia | 25 | ALUMNI ZHAW | 62 |
| Kunz Fabian | 26 | ZHAW LSFM | 63 |
| Kurmman Nina | 27 | | |
| Leu Céline | 28 | | |
| Mancina Leandro Paolo | 29 | | |
| Mosimann Sandrine | 30 | | |
| Mozaffari Fruhar | 31 | | |
| Neziri Lavdie | 32 | | |
| Panchaud Pauline | 33 | | |
| Paramby Theres | 34 | | |
| Peter Annina | 35 | | |
| Rieder Jonathan | 36 | | |



Die Absolventinnen und Absolventen des Bachelorjahrgangs BT17

Vorwort

Wädenswil, Oktober 2020

Liebe Absolventinnen und Absolventen des BT17

Sie halten nach drei Jahren Ausbildungszeit zum «Bachelor of Sciences ZFH in Biotechnologie» Ihr wohlverdientes Diplom in Ihren Händen. Unsere «Herzlichsten Glückwünsche» dazu!

Sie sind als aufgestellter Klassenverband gestartet, haben sich sehr engagiert auch für Themen wie «Mitbestimmungsrechte» und «Partizipation» an der Hochschule interessiert, während Sie sich das biotechnologische Fachwissen angeeignet haben.

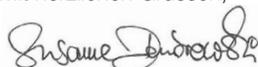
Ich mag nicht drum herumreden, Ihre Studienzeit endete mit einem «Paukenschlag»: Die «Corona-Krise» setzte weltweit ein und Sie mussten im plötzlich einsetzenden digitalen, virtuellen Unterrichtsmodell des Frühlingsemesters 2020 Ihr Studium abschliessen. Ihre professionelle Ruhe und Gelassenheit in diesen sich ständig ändernden Rahmenbedingungen war bewundernswert. Sie sind der Krise mit Ihren persönlichen und beruflichen Herausforderungen begegnet und haben das Beste daraus gemacht.

Sie sind dem Gedankengang John F. Kennedys (1917 – 1963) gefolgt, der sich einmal wie folgt geäußert hat:

«Das Wort *Krise* setzt sich im Chinesischen aus 2 Schriftzeichen zusammen – das eine bedeutet *Gefahr* und das andere *Gelegenheit*.»

Somit sind Sie bestens ausgestattet für die weiteren Veränderungen auf Ihrem beruflichen und privaten Lebensweg. Dass er Ihnen gut gelingen möge, dafür wünschen wir Ihnen alles Gute und auch viel Glück und Erfolg im rechten Moment.

Mit herzlichen Grüßen,



Susanne Dombrowski
Leiterin Studiengang Biotechnologie

Entwicklung von Prozess-Sensoren für biotechnologische Anwendungen (vertraulich)



| | |
|-------------------------|--------------------------------|
| Diplomandin | Nayara Maria Aberer |
| Korrektor ZHAW | Prof. Dr. Caspar Demuth |
| Korrektor extern | Dr. Istvan Makra, Metroglas AG |

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

Die Firma Metroglas AG hat für die Anwendung in biotechnologischen Prozessen neue pH-Sensoren entwickelt. Im Rahmen dieser Bachelorarbeit wurden mittels mehrerer Versuche verschiedene Prototypen sowie Vergleichssensoren getestet und deren Verhalten evaluiert. Zu den Versuchen gehörten Driftversuche, Batch- und Fedbatch-Kultivierungen, Versuche in hochkonzentrierten Proteinlösungen sowie Autoklavierversuche. Zur Evaluation des Zustandes der Sensoren über die Versuchsreihe hinweg wurden charakteristische Messgrößen vor und nach den Versuchen bestimmt.

Die Versuche zeigten, dass die getesteten Sensoren die geforderten Spezifikationen weitgehend erfüllen. Zudem konnten wichtige Erkenntnisse zur Eignung bestimmter Sensortypen in biotechnologischen Kultivierungen gewonnen werden.

Entwicklung einer Klonierungsstrategie zur Co-Expression immunologisch relevanter Proteine in Insektenzellen (vertraulich)



| | |
|-------------------------|---|
| Diplomand | Julius Allgäuer |
| Korrektoren ZHAW | Prof. Dr. Martin Sievers, Dipl. Ing. (FH) Tobias Wermelinger |

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

Infektionskrankheiten zählen weltweit zu den häufigsten Todesursachen, wobei für deren Bekämpfung an vorderster Stelle die Diagnose steht. Hierfür werden hochspezifische serologische Untersuchungen benötigt, welche in Form eines Assays zur Verfügung gestellt werden. Der Fokus dieser Arbeit lag auf drei immunologisch relevanten Proteinen. Diese Proteine sind dabei in der Lage, einen heterotrimeren Komplex zu bilden, was schliesslich zu einer Immunreaktion führt. Diese Reaktion nimmt dabei als Warnsignal bei Gewebe-

verletzungen einen besonderen Stellenwert ein. Damit das Krankheitsbild verfolgt werden kann, ist eine quantitative Untersuchung unerlässlich. Dazu müssen diese immunologischen Proteine in einer etablierten Co-Expression hergestellt und isoliert werden. Hierfür wurden die Konstrukte mithilfe der MultiBac™-Klonierungsstrategie in die erforderlichen Vektoren kloniert und anschliessend mittels Cre-LoxP-Rekombination miteinander verlinkt. Diese Methode erlaubt es, aus einzelnen Vektoren grosse Vektor-Komplexe herstellen zu können. Für die Etablierung einer geeigneten Transfektion mittels ExpiFectamine™ in Sf9-Zellen und der einhergehenden Expression wurde parallel das Vergleichskonstrukt pFastBacDual verwendet, wobei damit zwei Proteine in einer Co-Expression hergestellt worden sind. Die Proteinaufreinigung dieser Co-Expression wurde mittels Affinitätschromatographie erzielt. Dabei konnte beobachtet werden, dass nach einer Co-Expression zweier Proteine lediglich ein Protein mit der HisTrap™ FF-Säule eine Interaktion einging, das zweite Protein wurde in der Durchflussfraktion nachgewiesen. Anhand dieser gewonnenen Erkenntnisse der MultiBac™-Strategie sowie des Vergleichskonstruktes pFastBacDual können nachgehende Arbeiten aufbauen, um die Etablierung einer zielführenden Co-Expression zwischen immunologisch relevanten Proteinen in Insektenzellen massgeblich vorantreiben zu können.

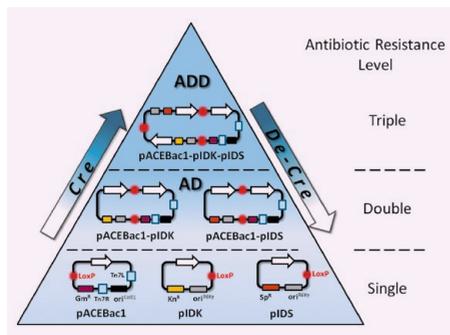


Abb. 1: MultiBac™-Strategie für die Verlinkung einzelner Vektoren mittels Cre-LoxP-Rekombination (Geeva Biotech, 2018).

Echtzeit-Analytik für biotechnologische Herstellungsprozesse therapeutisch einsetzbarer Phagen (vertraulich)



| | |
|------------------|--|
| Diplomand | Robin Anrig |
| Korrektoren ZHAW | Dr. Lukas Neutsch, Prof. Dr. Lars Fieseler |

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

Die Forschung und Produktionsmethoden von Bakteriophagen (Viren, die sich auf bakterielle Wirte spezialisiert haben) haben in jüngster Zeit starkes Interesse generiert, hauptsächlich ausgelöst durch zunehmende Unwirksamkeit klassischer Antibiotikabehandlungen an Patienten. Das Forschungsgebiet der Phagenproduktion ist zurzeit einem prägenden Bottleneck ausgeliefert – der raschen Quantifizierung. In dieser Arbeit ist es gelungen, einen Quantifizierungsassay zu entwickeln, der innerhalb von drei Stunden Ergebnisse liefert. Der Assay wird auf einer 96-Well-Platte durchgeführt, wobei in jedem Well eine Batchkultivierung in Minimalmasstab angeimpft wird, und die OD_{600nm} Veränderung über die Zeit gemessen wird. Die Anzahl aktiver Phagen in der Probe

induziert eine reproduzierbare und quantifizierbare Wachstumsinhibierung, anhand derer auf den Phagentiter zurückgerechnet werden kann. In dieser Arbeit wurde die Etablierung dieses Assays mit dem Wirtstamm *Escherichia Coli* (*E. Coli*) DSM 498 und dem T4 Phagen EP 325 durchgeführt. Ist eine Abstufung zu anderen Konzentrationen erkennbar, ist die Phagendichte quantifizierbar (Abb. 1). Eine sehr tiefe Bestimmungsgrenze von $2 \cdot 10^3$ Plaque Forming Units (PFU \cdot mL⁻¹) wurde in einer Wirtspopulationsdichte von 10^7 Colony Forming Units (CFU \cdot mL⁻¹) erreicht. Zudem konnte ermittelt werden, dass Phagen in einer hohen Wirtspopulationsdichte von 10^8 CFU \cdot mL⁻¹ sich nicht effizient vermehren können (Abb. 2).

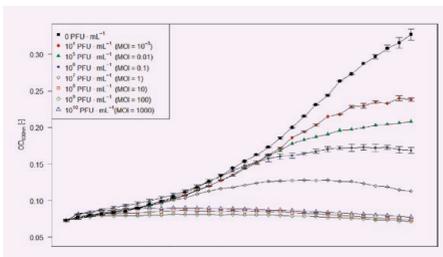


Abb. 1: Beispiel verschiedener Inhibierungen bei unterschiedlichen Phagenkonzentrationen (PFU \cdot mL⁻¹). Die Abstufungen der Inhibierungen sind deutlich unterscheidbar und somit quantifizierbar.

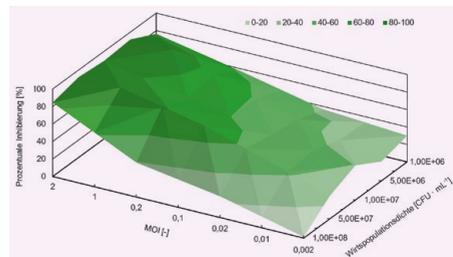


Abb. 2: Die Effizienz der Phagen ist nicht nur durch das Host-Wirtsverhältnis gegeben. Die PFU spielt ebenfalls eine prägende Rolle. In hoher Zelldichte von 10^8 CFU \cdot mL⁻¹ sind die Phagen verhältnismässig weniger effizient.

Entwicklung der n-1-perfusion für CHO DP-12-Zellen in gerührten Bioreaktoren (vertraulich)



| | |
|-------------------------------------|---|
| Diplomandin | Natalie Baud |
| Korrektoren/Korrektorin ZHAW | Prof. Dr. Dieter Eibl, MSc Jan Müller, BSc Sandra Steiner |

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

Eine Möglichkeit zur Prozessoptimierung von Bioprozessen mit Säugetierzellkulturen bietet die N-1-Perfusion, wobei unter Perfusion das kontinuierliche Kultivieren von Säugetierzellen mit Zellerückhaltung verstanden wird und N-1 die Stufe vor der Produktionsstufe N bezeichnet. Der Vorteil dieser Methode ist die Erreichung von vergleichsweise sehr hohen Zelldichten, was wiederum eine Inokulation des Produktions-Bioreaktors mit hoher Zelldichte ermöglicht. Eine hohe Anfangszelldichte in der N-Stufe verkürzt die Dauer der Produktionsphase, wobei gleich hohe Titer wie mit

niedriger Anfangszelldichte erreicht werden bei gleichbleibender oder sogar verbesserter Produktqualität.

Das Ziel dieser Arbeit war die Übertragung eines bereits etablierten N-1-Perfusionsprozesses mit CHO DP-12-Zellen im wellendurchmischten Einweg-Bioreaktor auf einen gerührten Glas-Bioreaktor sowie der Vergleich mit Daten aus der Fachliteratur. Ein Perfusionsversuch im 1 L-Massstab wurde durchgeführt, wobei die Perfusionsrate anhand einer zellspezifischen Perfusionsrate von $17 \mu\text{L Zelle}^{-1} \text{d}^{-1}$ eingestellt und gravimetrisch geregelt wurde. Die Zellseparation erfolgte mithilfe eines Hohl-faserfilters in einem Aussenkreislauf, wobei die Flussrate von 300 mL min^{-1} durch eine scherarme Zentrifugalpumpe bewerkstelligt wurde.

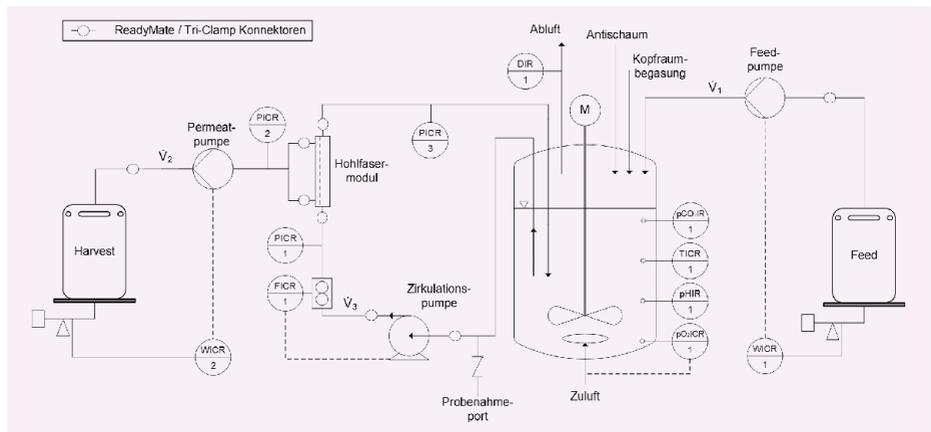


Abb. 1: Schema der N-1-Perfusion im gerührten Glas-Bioreaktor mit Hohlfasermodul im Aussenkreislauf; Quelle: eigene Darstellung.

Implementierung und Verifizierung einer dünn-schichtchromatographischen Methode zur Bestimmung von Sennosiden in *Senna fructus* (vertraulich)



| | |
|-------------------------|---|
| Diplomandin | Bianca Bossart |
| Korrektoren ZHAW | Dipl. Chemiker (FH) Samuel Peter, Prof. Dr. Rainer Riedl |
| Korrektor extern | Dr. Alexander Schenk, Max Zeller Söhne AG |

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

Die Firma Max Zeller Söhne AG stellt Phytoarzneimittel mit Sennesfrüchten (*Sennae fructus*) her, welche zur kurzfristigen Anwendung bei gelegentlicher Verstopfung allgemeiner Art, bei Verstopfung durch veränderte Essgewohnheiten sowie Verstopfung bedingt durch Bettruhe eingesetzt werden können. Die Methoden in der Monographie von Sennesfrüchten im Europäischen Arzneibuch (Ph. Eur.) für die Qualitätskontrolle des Rohstoffs wurden überarbeitet, wobei in dieser Arbeit die Identitätsprüfung C auf den Geräten in den Laboren in Romanshorn praktisch implementiert wurde.

Für die Verifizierung der Methode mit Hochleistungs-dünnschichtchromatographie (HPTLC) wurde anhand der Prüfvorschrift ein Validierungsplan erstellt. Nach der Durchführung und Auswertung der Experimente wurde der Validierungsbericht verfasst. In der Abbildung ist ein Beispiel eines Prüfpunktes im Validierungsplan zur HPTLC-Identifizierung von Sennosiden in Sennesfrüchten abgebildet, bei welchem die Selektivität, die Spezifität sowie zwei Punkte der Robustheit getestet wurden. Darauf ist ersichtlich, dass das Extraktionslösemittel keine Banden aufweist (4). Weiter zeigen die Testlösungen von verschiedenen

Chargen sowie Mahlgraden der Sennesfrüchte (5–10) und länger gelagerte Testlösungen (11–13) wie erhofft denselben Fingerprint. Aus weiteren Versuchen konnte geschlossen werden, dass die Aufnahmen unmittelbar nach der Derivatisierung gemacht werden müssen, da das chromatographische Resultat nicht stabil ist.

Im Anschluss an die streng regulierten, unter Good Manufacturing Practice (GMP) durchgeführten Prüfungen wurden weiterführende Untersuchungen im Bereich Forschung und Entwicklung (FuE) getätigt. Diese beinhalteten Stabilitätstests, das Prüfen von eingelagerten, gemahlene Drogen, die semiquantitative Auswertung eines Chromatogramms der neuen Methode aus der Ph. Eur. adaptiert an die Zeller-Fertigprodukte sowie einen Vergleich mit den von Zeller entwickelten internen Methoden.

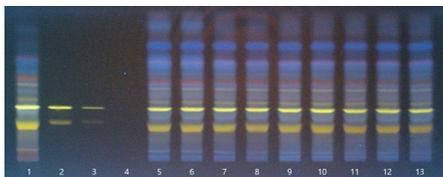


Abb. 1: Chromatogramm aus dem Validierungsbericht zur HPTLC-Identifizierung von Sennosiden in Sennesfrüchten. 1–3: Referenzlösungen, 4: Extraktionslösemittel, 5–10: Testlösungen von verschiedenen Chargen und Mahlgraden der Sennesfrüchte, 1–13: gelagerte Testlösungen der gemahlene Sennesfrüchte.

Etablierung eines *in vitro* Modellsystems für die Blut-Hirn-Schranke



| | |
|------------------|--|
| Diplomandin | Kathrin Brunner |
| Korrektoren ZHAW | Prof. Dr. Jack Rohrer, MSc Leopold von Balthazar |

Die Blut-Hirn-Schranke ist eine der dichtesten Barrieren zwischen dem Blutkreislauf und dem Zentralnervensystem (ZNS) und stellt ein entscheidendes Hindernis für die medikamentöse Behandlung von neurologischen Erkrankungen dar. Die spezialisierten mikrovaskulären Endothelzellen kleiden die kapillaren Gefäße des Gehirns aus und bilden durch die Tight Junctions (TJ) den engen Zell-Zell-Kontakt. Für die Behandlung von neurodegenerativen Krankheiten muss der Wirkstoff an seinen Wirkort, das ZNS, gelangen. Oft gelangen aber nur unzureichende Konzentrationen oder metabolisierte Wirkstoffe in das ZNS. Dafür bedarf es etablierter *in vitro* Modelle, die der komplexen *in vivo* Situation gerecht werden. In dieser Arbeit konnten die ersten Pfeiler eines *in vitro* Modellsystems etabliert werden. Das Modellsystem wurde zum einen mit der Zelllinie hCMEC/D3 auf Transwell Inserts aufgebaut. Um die TJ-Integrität quantitativ messen zu können, wurde der transendotheliale elektrische Widerstand (TEER) über 15 bis 20 Tage gemessen. In unterschiedlichen Kulturmedien und Transwell Inserts konnten Maximalwerte von $46.8 \Omega \text{ cm}^2$ bis $57.6 \Omega \text{ cm}^2$ gemessen werden. Durch die

Supplementierung des Kultivierungsmediums mit $5 \mu\text{M}$ Retinsäure konnten Maximalwerte von $67.2 \Omega \text{ cm}^2 \pm 21.6 \Omega \text{ cm}^2$ gemessen werden. Neben der quantitativen Bestimmung der TJ wurden die membranständigen Proteine Claudin-5, PECAM-1 und P-Glykoprotein mittels Immunfluoreszenz qualitativ nachgewiesen. Parallel wurden humane induzierte Pluripotente Stammzellen (hiPSCs) differenziert. Der Fortschritt während der Differenzierung wurde mittels der Durchflusszytometrie verfolgt, wobei die Expression der membranständigen Proteine, VE-Cadherin und Claudin-3, analysiert wurden. Die Differenzierung der beiden Klone konnte durch eine Methode erfolgreich differenziert werden, welche die Proteine im gleichen Masse exprimiert haben, wie bei der Zelllinie. Die Differenzierungsmethode kann in zukünftigen Versuchen modifiziert werden und anschliessend auf Transwell Inserts eingesetzt werden. Für eine höhere Differenzierungseffizienz werden zudem mehrere Optimierungsoptionen diskutiert.

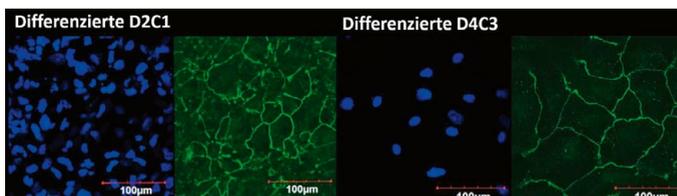


Abb. 1: Immunfluoreszenzfärbung der differenzierten D2C1 und D4C3 mit TJP1 (primärer Antikörper) und Anti-Rabbit IgG, das mit dem Alexa 488 gelabelt war in Grün (sekundärer Antikörper). Die Zellkerne wurden mit DAPI angefärbt und sind in Blau ersichtlich.

Optimierung einer Enzymkaskade zur Herstellung von Melonenaroma



| | |
|---------------------|---|
| Diplomandin | Melanie Bühler |
| Korrektorinnen ZHAW | Dr. Christin Peters, Dr. Zrinka Raguz Nakic |

Der Einsatz von Enzymen oder ganzen Mikroorganismen für organische Synthesen und die Kombination mehrerer Reaktionen in einem Ein-Gefäss-System wird als Kaskadenreaktion bezeichnet. Da instabile und toxische Zwischenprodukte in gut abgestimmten Kaskadenreaktionen direkt in das selektive Produkt umgewandelt werden und nicht akkumulieren, sind sie für viele Reaktionswege interessant. Der grössere Vorteil liegt aber im Wegfall der Reinigung von Intermediaten und die damit einhergehende zeit-, kosten- und abfallsparende Anwendung.

Im Rahmen dieser Bachelorarbeit wurde die Kaskadenreaktion zur Herstellung des nach Melone duftenden Aromastoffs 2,6-Dimethylhept-5-en-1-ol durchgeführt und optimiert. Wie in Abbildung 1 ersichtlich ist, wird in einem ersten Schritt mittels selektiver Ene-Reduktase die Doppelbindung zwischen dem zweiten und dritten C-Atom des preiswerten Startmaterials Citral (**1**) reduziert und somit (S)-Citronellal (**2**) hergestellt. Dazu wird entweder YqjM von *Bacillus subtilis* oder Ppo-ER1 von *Paenibacillus polymyxa* genutzt. In einem zweiten Schritt wird mit der Baeyer-Villinger Monoxygenase von *Aspergillus flavus* (S)-Citronellal zu einem Formiatester (**3**) umgesetzt, welcher anschliessend in wässrigem Medium spontan zum gewünschten Aromastoff (**4**) hydrolysiert. Die Resultate zeigten, dass für die erste Teilreaktion mit Hilfe der Ene-Reduktase Ppo-ER1 eine höhere Citronellal-Bildung als mit YqjM

erzielt werden konnte. Daraufhin wurde die Kaskade mit dem Enzym Ppo-ER1 bezüglich Zellkonzentration, pH-Wert und Cofaktor Recycling untersucht und optimiert. So konnte mit Biokatalysen, bei welcher (S)-Citronellal als Substrat verwendet wurde, eine maximale Melonenaroma-Konzentration von 0.38 mM nach 24.3 Stunden und bei Biokatalysen mit Citral als Ausgangssubstrat eine maximale Konzentration von $0.28 \text{ mM} \pm 0.01$ nach 23 Stunden erreicht werden. Da der gewünschte Aromastoff zu Beginn nicht kommerziell erhältlich war, wurden zusätzlich präparative Biokatalysen durchgeführt, wobei das Produkt isoliert und mittels NMR bestätigt wurde.

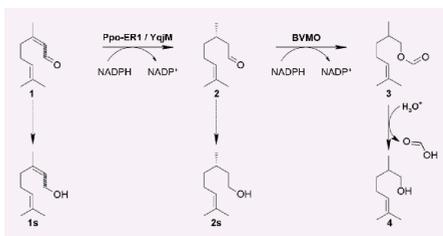


Abb. 1: Enzymkaskade zur Herstellung des nach Melone duftenden Aromastoffs.

Nachhaltige Produktion von pflanzlichen Ölen und Fetten mittels Pflanzenzellkulturen (vertraulich)



| | |
|----------------------------|--|
| Diplomandin | Tijana Carkic |
| Korrektorinnen ZHAW | Prof. Dr. Regine Eibl-Schindler, MSc Géraldine Gubser |

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

Die Nutzung der globalen Weltfläche wird aufgrund der stetig wachsenden Weltbevölkerung und der dazugehörigen Nachfrage bezüglich landwirtschaftlicher Produkte ein immer grösseres Problem. Es wird immer mehr Landfläche als Agrarfläche genutzt. Die Notwendigkeit, eine alternative Methode zu finden, um den Bedürfnissen der Menschen an Gütern aus der Natur gerecht zu werden, steht ausser Frage. Ein vielversprechender Ansatz ist dabei die Pflanzenzellkulturtechnik. Anstatt grosse Hektarflächen Land für ein bestimmtes Produkt zu bewirtschaften, können mit pflanzlichen Zellkulturen isolierte (häufig dedifferenzierte) Zellen aus der ganzen

Pflanze unter kontrollierten und optimierten Bedingungen kultiviert werden.

Es gibt eine grosse Anzahl von Pflanzenarten auf der Welt, die eine Vielzahl von Substanzen produzieren, die in der Pharma-, Lebensmittel- und Kosmetikindustrie verwendet werden. Dazu zählt auch der Kakaobaum (*Theobroma cacao* L.). Speziell das Fett in den Kakaobohnen, die sogenannte Kakaobutter, ist bei weitem der wichtigste chemische Bestandteil des Kakaos. Es sind die physikochemischen Eigenschaften, welche funktionelle Besonderheiten aufweisen, die in der Industrie sehr gefragt sind.

In dieser Bachelorarbeit wird daher ein Ansatz verfolgt, um Kakaobutter durch Kultivierung der Zellen von *Theobroma cacao* in einer ausreichenden Qualität und Quantität herzustellen. Die verwendete Zelllinie ICS-45-old wurde 2018 an der Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften erfolgreich etabliert. Zusätzlich wurden im Jahr 2020 zwei Klone (ICS-45-K1 und ICS-45-K6) aus der ICS-45-old-Zelllinie erzeugt. Das Wachstum der drei Zelllinien wurde in verschiedenen Systemen charakterisiert. Mit der ICS-45-K1 wurde dann mittels Elicitierung versucht, den Kakaobuttergehalt in den Zellen zu erhöhen.

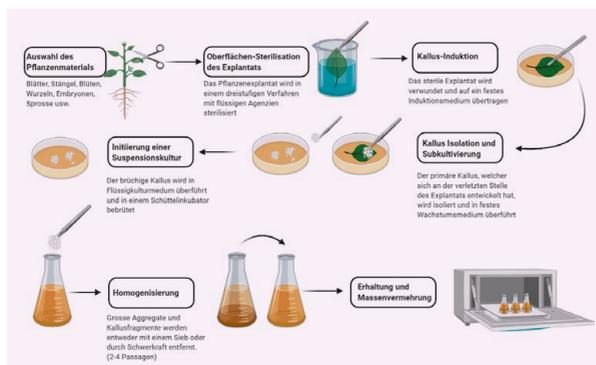


Abb. 1: Schematische Darstellung des allgemeinen Verfahrens für die Einrichtung und Erhaltung von pflanzlichen Zellsuspensionskulturen.

Entwicklung automatischer Verfahren und Kaskadensysteme zur Produktion von therapeutischen Bakteriophagen in Bioreaktoren (vertraulich)



| | |
|------------------|--|
| Diplomand | Raphael Défayes |
| Korrektoren ZHAW | Dr. Lukas Neutsch, Prof. Dr. Lars Fieseler |

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

Bakteriophagen, kurz Phagen, sind Viren, die sich auf die Infektion von Bakterienzellen spezialisiert haben. Um der wachsenden Nachfrage an Phagen-Produkten für therapeutische, diagnostische und agrartechnische Anwendungsgebiete gerecht zu werden, bedarf es eines industriellen validierten Herstellungsprozesses. Erschwert wird die Bakteriophagen-Produktion, da es derzeit an grundlegendem Fachwissen in der Prozessdynamik wie auch in der Steuerungstechnik fehlt. Infolgedessen wurde in dieser Arbeit eine automatisierte

Screening-Strategie entwickelt, die es durch eine statistische Versuchsplanung (DoE) erlaubt, zahlreiche Kultivierungsparameter systematisch und generisch untersuchen zu können. Dazu wurde ein Prozess-Workflow entwickelt, der erfolgreich in das Prozessleitsystem Lucullus Prozess Information Management System (LPIMS) implementiert werden konnte. Die Funktionalitäten und Operationen wurden darauf an einem Dummy-Prozess iterativ geprüft und optimiert. Der Automatisierungsgrad liess sich durch diverse Kriterien, Alarmer und einer OD_{Online}-Rekalibration erweitern, wodurch das Setup unter verbesserter guter Herstellungspraxis (GMP) gestaltet werden konnte. Die Screening-Strategie ermöglicht dem Fachgebiet ein neues systematisches, speditives und skalierbares Untersuchungsverfahren, wodurch Entwicklungskosten zukünftig minimiert werden können. Abgekoppelt von der Hauptaufgabe wurde die Anwendung des wiederentdeckten «Phage Antibiotic Synergy»-Effektes (PAS) im Bioreaktor analysiert und deren Integration in einem halbkontinuierlichen Betriebs-Setup vorgeschlagen.

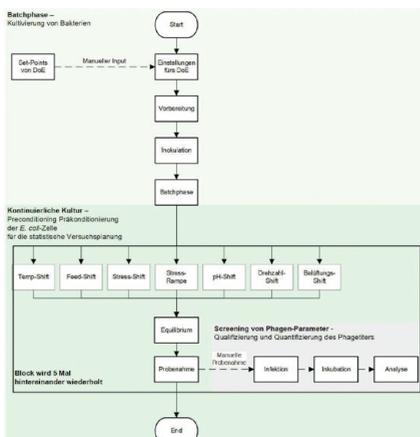


Abb. 1: Prozess-Workflow der Screening-Strategie zur systematischen Untersuchung von Kultivierungsparametern für die Bakteriophagen-Produktion im Bioreaktor.

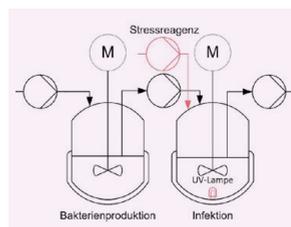


Abb. 2: Anwendungsmöglichkeit des PAS-Effektes im Bioreaktor.

Zytotoxizität von NRF2/KEAP1 aktivierenden Substanzen auf Keratinozyten



| | |
|---------------------------|---|
| Diplomandin | Evelyn Enz |
| Korrektor/-in ZHAW | Prof. Dr. Jack Rohrer, Dipl. Ing. (FH) Bettina Keller Abu Seda |

Hautmodelle werden als Testsysteme für pharmazeutische oder kosmetische Wirkstoffe verwendet. Durch die Nutzung von primären Hautzellen, welche ein Reportersystem im Genom integriert haben, eröffnet sich die neue Möglichkeit, zytotoxische Effekte von Testsubstanzen genauer zu analysieren. In diesem Zusammenhang wurde in dieser Arbeit mit immortalisierten HaCaT-Zellen sowie mit humanen primären epidermalen Keratinozyten gepoolt (HPEKp) gearbeitet. Von beiden Zelllinien wurden zwei Klone verwendet, welche beide das Reportergen für die humane sekretierte embryonale alkalische Phosphatase (hSEAP) besitzen, jedoch unter Kontrolle unterschiedlicher Promotoren. Es wurde die Methode und Auswertung eines Dosis-Wirkungs-Tests einerseits unter Verwendung der immortalisierten HaCaT-Zellen optimiert, damit anschliessend die optimierten Durchführungen mit primären HPEKp-Zellen erfolgen konnten.

Bei den Versuchen wurden die beiden zytotoxischen Substanzen trans-Zimtaldehyd (tZA) und Ethylenglykoldimethacrylat (EGDA) als Testsubstanzen verwendet. Die Auswertung erfolgte mittels AlamarBlue (AB)/Resazurin- und SEAP-Assay. Beim AB/Resazurin-Assay wurde das AB-Reagenz mit selbst hergestellten Resazurin-Lösungen (RL) verschiedener Konzentrationen verglichen, um eine günstigere Alternative für die Assays verwenden zu können. Eine genaue Bestimmung der Resazurin-Konzentration im AB-Reagenz konnte nicht erfolgen, jedoch lassen sich durch die erhaltenen Ergebnisse Resazurin-Konzentrationen zwischen 39.81 μM (1%) und 199.05 μM (5%) für den Vitalitäts-Assay nutzen (Abb.1). Die zytotoxischen Substanzen führten bei Konzentrationen von 0.5 mM (tZA) und 0.625–1.25 mM (EGDA) zum Zelltod, wobei die SEAP-Expression bis dahin auch bei abnehmender Zellviabilität stieg. Die SEAP-Expression war bei den HPEKp- gegenüber den HaCaT-Zellen fast doppelt so hoch, bei derselben Konzentration an zytotoxischer Substanz. Durch die erhaltenen Ergebnisse kann vermutet werden, dass die Basensequenz des antioxidativen Antwortelements (antioxidant-response element, ARE), welche sich auf dem Plasmid RC#59 als Promotor vor dem hSEAP-Gen befindet, durch oxidativen Stress stärker angeregt wird als der NAD(P)H:Chinon-Oxidoreduktase 1 (NQO1)-Promotor, welcher im Plasmidkonstrukt RC#80 vor dem hSEAP-Gen liegt.

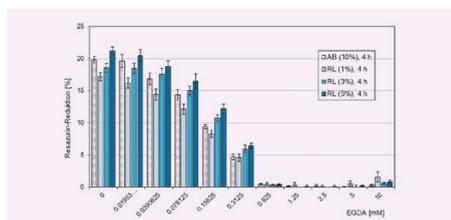


Abb. 1: Vergleich des AlamarBlue (AB)-Reagenz mit unterschiedlich konzentrierten Resazurin-Lösungen (RL). Der Assay erfolgte während eines Dosis-Wirkungs-Tests mit den Zellen HaCaT RC#59 sowie der zytotoxischen Substanz EGDA. Die Absorption wurde nach 4 h gemessen und daraus die Resazurin-Reduktion berechnet. Die Fehlerbalken stehen für das 95%-Konfidenzintervall (eigene Darstellung).

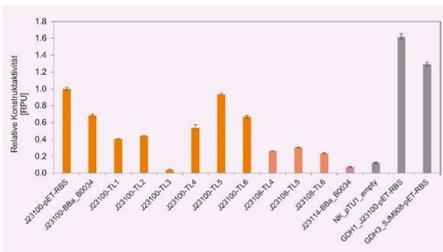
Herstellung einer Expressionsvektor-Library für Glucose Dehydrogenase mittels Modular Cloning



| | |
|---------------------|---|
| Diplomand | Marco Gees |
| Korrektorinnen ZHAW | Dr. Christin Peters, Dr. Zrinka Raguz Nakic |

Zur zukünftigen Etablierung von ökonomisch profitablen und ökologisch vertretbaren Produktionsverfahren von industriell relevanten Produkten gewinnen biokatalytische Stoffumwandlungen zunehmend an Bedeutung. So werden beispielsweise Nahrungsergänzungsmittel, Antibiotika, Bioherbizide oder Polymere über biokatalytische Prozesse hergestellt. Um dabei zur Anwendung kommende Enzymkaskaden effizient zu gestalten, muss die Expressionsstärke der beteiligten Enzyme möglichst genau definiert werden. So wurden in dieser Arbeit aus 14 RBS-Sequenzen, 13 Promotoren und 1 Terminator insgesamt 182 Expressionsvektoren erfolgreich mit dem Enzym Glucosedehydrogenase (GDH) mittels modularen Klonierens (MoClo) hergestellt und in den *E. coli* transformiert. Zur Bestimmung der Expressionsstärke der jeweiligen Konstrukte wurde ein *in-vivo* GDH-Aktivitätsassay

etabliert. Dabei wird über die entstehende Absorptionszunahme bei 340 nm, verursacht durch die Reduktion von NADP⁺ zu NADPH durch die GDH, auf die relative Konstruktaktivität zurückgeschlossen. So konnte von verschiedenen Konstrukten (Abbildung 1) im BL21(DE3)-Stamm die relative Konstruktaktivität gegenüber dem Referenzkonstrukt J23100 pET-RBS bestimmt werden. Als stärkster eingestuft Promotor wird der J23100 Promotor identifiziert. Der schwächste gemessene Promotor ist J23114. Die anschliessend bestimmten spezifischen Wachstumsraten der MoClo-Konstrukte liegen für die meisten Konstrukte zwischen 0.53 h⁻¹ und 0.65 h⁻¹. Eine Ausnahme bildet das Referenzkonstrukt J23100-pET-RBS ($\mu_{\max} = 0.33 \pm 0.02$ h⁻¹). Hier wird angenommen, dass es zu einer Überexpression, durch die stark aktiven biologischen Bausteine zu einer Anreicherung von *Inclusion Bodies* innerhalb der Zelle kommt, wodurch die Expression von ribosomalen Proteinen zu Beginn der exponentiellen Wachstumsphase negativ beeinträchtigt wird. Somit konnte im Rahmen der Bachelorarbeit erfolgreich eine Bibliothek von GDH Konstrukten mit unterschiedlichen Expressionsstärken erzeugt werden, die nun für die Anwendung in zukünftige Kaskaden bereitsteht.



Zwei Proteasen mit einer Schlüsselrolle in der Tumorzellinvasion? (vertraulich)



| | |
|----------------------------|---|
| Diplomand | Simon Häberle |
| Korrektorinnen ZHAW | Dr. Steffi Lehmann, Dr. Sabina Gerber, Dr. Ina Albert |

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

Brustkrebs ist bei Frauen die am weitesten verbreitete Krebsart. Viele unterschiedliche molekulare Mechanismen tragen dazu bei, dass aus einem Primärtumor in der Brust Metastasen entstehen und sich die Krankheit dadurch im Körper ausbreitet. Beispielsweise können zwei spezifische Proteasen, welche in gesunden Zellen für den Abbau von Proteinen in Lysosomen zuständig sind, in entarteten Tumorzellen zum Abbau von Zell-Matrix-Verankerungsproteinen führen. Zur Untersuchung des Vorgangs und der Lokalisierung dieser Proteasen auf zellulärer Ebene wurden die Proteasen mit dem eGFP (enhanced Green Fluorescent Protein) fusioniert und konnten dadurch als fluoreszierendes Signal in der Zelle verfolgt werden. Durch Live Imaging des Fusionsproteins und eGFP alleine als Kontrollprotein sollen in Zukunft neue Erkenntnisse über die Rolle dieser Proteasen bei der Invasion bzw. Metastasierung von Krebszellen erlangt werden.

In Abbildung 1 ist das freie eGFP in der Zelle zu sehen, welches sich ohne gerichtete Lokalisation in der ganzen Zelle verteilt. Die endogene Protease war nur schwach exprimiert. In Abbildung 2 wurden die Zellen mit einem Plasmid zur rekombinanten Expression der

Protease selbst verändert. Die starke Überexpression der Protease veränderte die Lokalisation der Protease. In Abbildung 3 ist das Fusionsprotein (Protease und eGFP) abgebildet. Das eGFP war an die Protease gebunden und kokolorierte innerhalb der Zelle mit dieser.

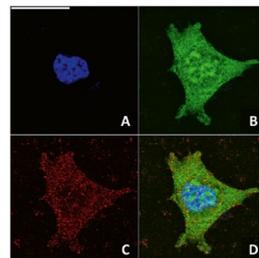


Abb. 1: Mit eGFP transfizierte Zelle. A – Zellkern, B – eGFP, C – Protease, D – Zusammenstellung. Scale bar – 20 µm.

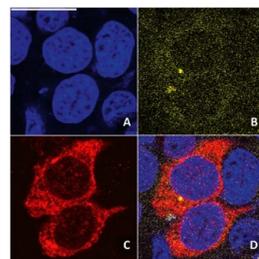


Abb. 2: Mit Protease transfizierte Zelle. A – Zellkern, B – Lysosomen-Tracker, C – Protease, D – Zusammenstellung. Scale bar – 20 µm.

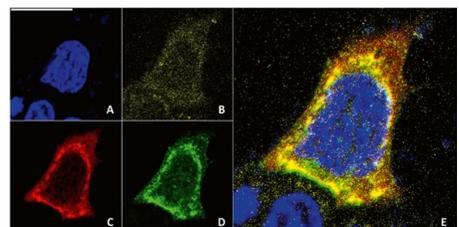


Abb. 3: Mit Fusionsprotein transfizierte Zelle. A – Zellkern, B – Lysosomen-Tracker, C – Protease, D – eGFP, E – Zusammenstellung. Scale bar – 20 µm.

Bakterielles Kollagen als Biolnk für das 3D-Drucken von Zellen (vertraulich)



| | |
|-------------------------|--------------------------------|
| Diplomand | Michael Habermacher |
| Korrektorin ZHAW | Dr. Christin Peters |
| Korrektor extern | Dr. Oleg Werbitzky, ETH Zürich |

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

Der Einsatz von modernen 3D-Drucktechniken im Bereich des Tissue Engineerings bietet neue Möglichkeiten für die Medizin in Form von körpereigenen Transplantaten und Gewebenchips zur klinischen Untersuchung von neuen Medikamenten. Für gewisse Druckprozesse ist ein Polymergerüst, bestehend aus einem Biomaterial, notwendig. Diese Biopolymere werden auch als Biolnks bezeichnet.

Ein bakterielles Kollagen soll auf seine Eignung als Biopolymer geprüft werden. Da Vorarbeiten nur eine sehr schlechte rekombinante Expression in *E. Coli* lieferten, wurden in dieser Arbeit drei verkürzte Varianten des Genes erfolgreich kloniert. Diese drei Proteinvarianten wurden mittels Affinitätschromatographie gereinigt. Anschliessend wurde mit einem neu etablierten Trypsin-Verdau die variable Protein-Domäne mit dem Affinitätstag entfernt. Mittels einer Anionenaustauscher-Chromatographie konnte das Trypsin entfernt und reines bakterielles Kollagen gewonnen werden. Mit einem der verkürzten Proteine konnte die Ausbeute an reinem Protein pro Gramm Biomasse gesteigert werden.

Kontinuierliche IgG-Produktion mit CHO-DP12-Zellen im Biostat RM (vertraulich)



| | |
|-------------------------------------|--|
| Diplomandin | Joëlle Désirée Inderbitzin |
| Korrektorin/Korrektoren ZHAW | Prof. Dr. Regine Eibl-Schindler, MSc Jan Müller, Prof. Dr. Dieter Eibl |

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

Durch den wachsenden und schnell wechselnden Biopharmaka-Markt wird der Wunsch nach einer hohen Flexibilität der Produktion immer grösser. Eine mögliche Lösung ist ein komplett kontinuierlicher Prozess sowohl im Upstream als auch Downstream. Im Upstream kann mittels Perfusion eine kontinuierliche Produktion mit hohen Zelldichten und hohen volumetrischen Produktionen erreicht werden.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde eine Perfusion mit partieller Zellrückhaltung im BIOSTAT® Flexsafe® RM 2 L mit der Zelllinie CHO-DP12 (Prof. Dr. T. Noll, Universität Bielefeld) realisiert. Dabei wurde durch einen kontinuierlichen Zell- ausfluss ein *Steady-state* angestrebt. Während

der 31-tägigen Perfusion wurde eine Produktionsrate von $222 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ und eine Gesamt-IgG-Menge von 6.9 g erreicht. Das erstellte Wachstums- und Produktionsmodell erlaubte die Modellierung der Lebendzellichte und Gesamtzellichte mit einem Bestimmtheitsmass zwischen 0.88 und 0.999. Die modellierte Produktkonzentration stimmte mit einem Bestimmtheitsmass von 0.76–0.98 mit den Kultivierungsdaten überein. Ein generisches Scale-up auf 100 L Arbeitsvolumen wurde durch Konstanthaltung des spezifischen Leistungseintrages und $k_L a$ durchgeführt. Dabei wurde der BIOSTAT® Flexsafe® RM 200 L als Reaktor gewählt. Die Durchflussrate soll durch das Gewicht des Feeds, Harvests und Bleeds reguliert werden.



Abb. 1: Aufbau der Perfusion.

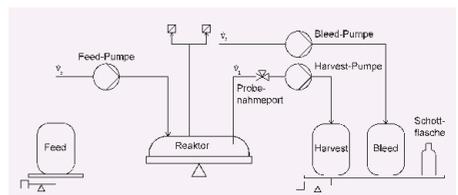


Abb. 2: Schematischer Aufbau der Perfusion.

Anwendung der Impedanzspektroskopie zur Online-Bestimmung der Biomassekonzentration in Bioprocessen (vertraulich)



| | |
|------------------|---|
| Diplomand | David Jossen |
| Korrektoren ZHAW | Prof. Dr. Caspar Demuth, Dr. Juan Gualberto Limon Petersen, Dr. Lukas Neutsch |

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

Eine zuverlässige Online-Bestimmung der Biomasse als Prozessparameter ist für die Prozessoptimierung von grosser Wichtigkeit. Als eine Methode zu deren Bestimmung kann die dielektrische Spektroskopie angewendet werden. Die durchgeführte Arbeit dient dem besseren Verständnis dieser Messtechnik, so dass beispielsweise auch der durchschnittliche Zellradius der Zellkultur ermittelt werden kann, sowie einer Verbesserung der durch den Sensor erhaltenen Signale f_c (abhängig von der Zellgrösse), $\Delta\varepsilon$ (abhängig von der Biomasse) und α (abhängig von der Zellgrösse).

Als Datengrundlage wurden vier ähnlich durchgeführte zweistufige Prozesse mit *Pichia Pastoris* von der Fachgruppe für Bioproszess-technologie der ZHAW LSFM zur Verfügung gestellt. Zur Verarbeitung dieser Daten wurden zwei Modelle entwickelt: das theoretische, auf einer vereinfachten Cole-Cole-Gleichung basierende Monodispersionsmodell, und das empirische Cole-Cole-Modell. Mit den aus diesen erhaltenen Ausgangssignalen wurden die Zellparameter Volumenanteil (P), Zellzahl (N_v) und Zellradius (r) berechnet.

Die mit den Modellen ermittelten Variablen stimmen stark mit denjenigen überein, welche durch Referenzmethoden geliefert wurden. Erwähnenswert ist, dass das f_c -Signal nach den erstellten Modellen ein beträchtlich kleineres Rauschen und eine grössere Stabilität aufweist. Von den aus diesen Variablen erhaltenen Zellparametern zeigt der Volumenanteil P eine deutlich bessere Korrelation mit den Referenzwerten als die ermittelte Zellzahl N_v . Auch der durch die Modelle bestimmte Radius zeigt eine grössere Übereinstimmung mit vorhandenen Aufnahmen der Zellen. Interessanterweise wird während der Induktionsphase eine auffällige Veränderung des Zellradius postuliert. Diese Beobachtung lässt sich anhand der vorliegenden experimentellen Daten in dieser Arbeit jedoch nicht bestätigen, wobei jedoch eine Veränderung zu erwarten ist.

Ein Problem bei der Bestimmung der Biomasse mittels der dielektrischen Spektroskopie stellt häufig das vor allem bei einer tiefen Biomasse vorhandene Rauschen dar, welches die Auswertung mit dem Monodispersionsmodell jedoch deutlich geringer beeinflusst, weswegen eine Kombination beider Modelle bereits in einem frühen Stadium eine zuverlässige Messung der Biomasse ermöglicht.

Anwendungsmöglichkeiten der Sensortechnik in der Biotechnologie (vertraulich)



| | |
|-------------------------|--|
| Diplomand | Thomas Keel |
| Korrektor ZHAW | Prof. Dr. Caspar Demuth |
| Korrektor extern | Dr. Sebastian Schmidt, Mettler-Toledo GmbH |

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde mit der Firma Mettler-Toledo GmbH in Urdorf durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit werden keine Details zur Arbeit veröffentlicht.

Entwicklung eines molekularbiologischen Nachweissystems für Pferdeparasiten (vertraulich)



| | |
|---------------------------|---|
| Diplomandin | Liliane Sophia Kehrl |
| Korrektoren ZHAW | Dr. Gottfried Dasen, Prof. Dr. Martin Sievers |
| Korrektorin extern | Anna Maria Effner, microsTECH AG |

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

Ziel dieser Arbeit war es, eine molekularbiologische Methode zum Nachweis der häufigsten Pferdeparasiten in der Schweiz zu entwickeln. Mithilfe von Literatur wurde eine Übersicht der häufigsten Parasiten erstellt. Besprochen wurden unter anderem das Auftreten, das Krankheitsbild sowie der Lebenszyklus. Aufgrund der Zusammenstellung wurde eine Risikomatrix der Parasiten erstellt, in welcher Häufigkeit, Schweregrad eines Befalls und entstehende Kosten für den Besitzer beurteilt wurden. Basierend auf dieser Analyse und einer ebenfalls durchgeführten Konkurrenzanalyse wurde entschieden, für welche Parasiten ein Verfahren entwickelt werden soll. Die Konkurrenzanalyse bietet eine Zusammenfassung über

die gängigsten Analysemethoden von Pferdeparasiten in der Schweiz. Aufgeführt werden auch Anbieter und Kosten einer Analyse. Koproscopische Analysen werden am häufigsten durchgeführt, Anbieter hierfür gibt es viele verschiedene, z. B. Tierärzte oder Universitäten. Es wurde eine Zusammenfassung der gängigsten koproscopischen wie auch molekularen Analysemethoden erstellt. Bei der Entwicklung einer molekularbiologischen Nachweismethode wurde nach der Auswahl einer geeigneten Nucleotidsequenz pro Parasit Primerpaare zur Amplifizierung in der Literatur gesucht oder neue Primerpaare mit dem NCBI Primer Blast Tool erstellt. Alle Primerpaare wurden auf ihre Spezifität überprüft und die geeignetsten wurden ausgewählt. Es wurde eine SOP zur Aufbereitung des Pferdekots erstellt, welche dazu dient, den Kot so vorzubereiten, dass anschliessend eine PCR erfolgen könnte. Als interne Positivkontrolle wurden neun Plasmide mit zwei bis drei Parasitensequenzen mit SnapGene erstellt.

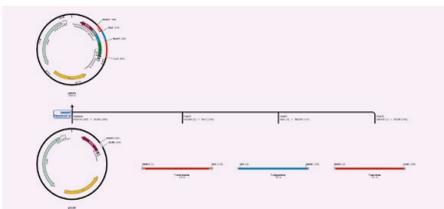


Abb. 1: Ergebnis einer virtuellen Klonierung in SnapGene. Im unteren Teil sind die einzelnen Fragmente inklusive ihrer Schnittstellen dargestellt. Ebenfalls werden die Grössen der einzelnen Fragmente angegeben. Im oberen Teil der Abbildung befindet sich das fertige Produkt. Unter dem fertigen Produkt befindet sich der ursprüngliche Vektor.



Abb. 2: Virtuelle Klonierung mit SnapGene. Im unteren Teil sind von links nach rechts der Vektor, die mit Restriktionsenzymen geschnittenen DNS-Fragmente und das resultierende Produkt schematisch dargestellt. Rechts davon sind die verschiedenen Auswahlmöglichkeiten pro ausgewähltem Fragment dargestellt. Darunter befindet sich auch die Information, ob eine Klonierung möglich wäre. Im grössten Teil des Bildes ist das ausgewählte Fragment mit den Restriktionsschnittstellen dargestellt.

Nitritation im Hauptstrom



| | |
|-------------------------|------------------------|
| Diplomand | Alpgiray Kirecci |
| Korrektor ZHAW | Martin Kühni |
| Korrektor extern | Damian Hausherr, Eawag |

Als dominanter Anteil an Stickstoffverbindungen findet sich oft Ammonium (NH_4^+) im kommunalen Abwasser. Ammonium ist schädlich für die Gewässern weil es zu den düngenden Nährstoffen zählt. Diese können zur Eutrophierung von Gewässern führen. Aus diesem Grund ist die Stickstoffentfernung in Abwässern unabdingbar. Konventionell wird das Ammonium durch den sogenannten Nitrifikations-/Denitrifikationsprozess entfernt. Dieser ist jedoch energieintensiv und kann den Stickstoff nur zu einem gewissen Anteil entfernen. Eine Alternative zu diesem Prozess ist der Anammoxprozess. Dieser benötigt weniger Energie und kann zu tieferen Stickstoffkonzentrationen im gereinigten Abwasser führen. Dieser effizientere Prozess ist jedoch oft instabil. Eines der Hauptprobleme sind nitritoxierende Bakterien (NOB). Diese haben ähnliche Wachstumsbedingungen wie die ammoniakoxidierenden Bakterien (AOB), aber sie nitrifizieren Nitrit (NO_2) zu Nitrat (NO_3). Nitrat kann durch die für den Anammoxprozess essenziellen Anammoxbakterien nicht verwertet werden und der Prozess kommt zum Erliegen.

Der Anammoxprozess wird seit 20 Jahren an der Eawag erforscht. Dabei wurde für die technische Umsetzung des Prozesses eine neue Art der Reaktorsteuerung getestet. Die Einführung einer zusätzlichen anaeroben Phase in einem Sequencing Batch Reactor (SBR)-Zyklus resultierte in einer stabilen Nitritation (Umwandlung von Ammonium zu

Nitrit). Es gilt nun, besser zu verstehen, welche Faktoren in einem so betriebenen Reaktor dafür verantwortlich sind, dass die NOBs nicht wachsen können. Die vorliegende Bachelorarbeit liegt in diesem Themenbereich. An der Eawag stehen verschiedene Reaktoren mit unterschiedlichen Bakterienkulturen (AOB, NOB, Anammox) zur Verfügung. Aufgrund von Literaturrecherchen werden sowohl physikalische Parameter, wie Temperatur, Belüftungsmenge oder Belühtungsintervall, als auch chemische Parameter, wie Substratverfügbarkeit oder toxische Stoffe, identifiziert, welche die Bakterien im Nitritationsreaktor beeinflussen könnten. Der Einfluss dieser Parameter wird danach in Batchexperimenten genauer untersucht. Alle Testparameter und die Resultate werden in der Bachelorarbeit erläutert.



Abb. 1: 12-Liter-SBR-Bioreaktoren zur Bakterienkultivierung und Bestimmung ihrer Aktivitäten.

Vergleich des 2pp mit dem neuen TIPS Verfahren für die Produktion des Modellproteins SEAP in einem BEVS mit Sf9 Insektenzellen (vertraulich)



| | |
|--------------------|---------------------------------------|
| Diplomand | Beat Koller |
| Korrektor/-in ZHAW | Dr. Iris Poggendorf, MSc Yannick Senn |

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

Mit der Herstellung von humanem β -Interferon im Jahr 1983 mittels Baculovirus-Expressions-Vektor-System (BEVS) wurde es möglich, *in vitro* Proteine mit humanähnlichen Glykosilierungsstrukturen mithilfe von Insektenzellkulturen zu exprimieren. Die verfahrenstechnische Umsetzung des BEVS findet klassisch mittels Zweiphasen-Produktions-Prozess (2pp) statt. Dabei werden Insektenzellen kultiviert, in der exponentiellen Wachstumsphase mit den rekombinanten Baculoviren infiziert und somit die Expression des Zielproteins gestartet. Beim neu entwickelten Titerless Infected Cell Preservation and Scale Up Verfahren (TIPS) werden beim Kultivierungsstart zu den Insektenzellen bereits mit Baculoviren infizierte Insektenzellen dazugegeben. Durch den natürlichen Vermehrungszyklus des Virus werden während der Kultivierung andere Zellen infiziert und die Produktion des Zielproteins gestartet. Dabei entfallen beim TIPS-Verfahren in der Vorbereitungsphase eine langwierige Virustiterbestimmung und Virusamplifikation.

In dieser Arbeit wurden Versuchsdaten, die während der Herstellung des Modellproteins sekretierte alkalische Phosphatase (SEAP) mittels unterschiedlicher Reaktorsysteme

und den Verfahren 2pp und TIPS generiert wurden, untereinander verglichen und analysiert. Aufgrund der verfahrenstechnischen Charakterisierungen wurden die Mischzeiten und k_{La} -Werte der Reaktorsysteme während der Produktionsphase untereinander verglichen. Es ist anzunehmen, dass generell keine verfahrenstechnischen Limitationen aufgetreten sind. Über alle Reaktorsysteme zeigten die orbital geschüttelten Reaktorsysteme mit einer maximalen Aktivität von $140 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ die höchsten SEAP-Aktivitäten. Das TIPS-Verfahren zeigte eine um 20% höhere Aktivität gegenüber dem 2pp. Das untersuchte Optimum für die SEAP Produktionsphase liegt bei 6 Tagen. Aufgrund dieser Erkenntnisse und guter Scale-up-Möglichkeiten, ist es empfehlenswert orbital geschüttelte Reaktorsysteme für weitere experimentelle Untersuchungen einzusetzen.

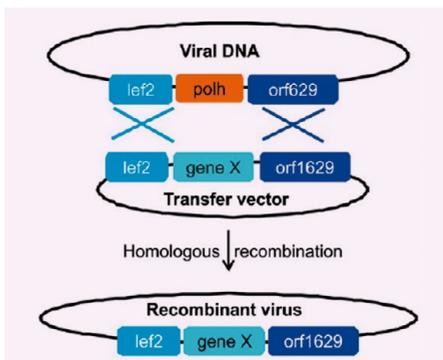


Abb. 1: Homologe Rekombination – Insertion des Zielgens (gene X) in die virale DNA.

Verfahrensoptimierung in der biopharmazeutischen Produktion attenuierter Lebendimpfstoffe (vertraulich)



| | |
|--------------------|--|
| Diplomandin | Flavia Krauer |
| Korrektoren ZHAW | Dr. Lukas Neutsch, BSc Simon Flückiger |
| Korrektorin extern | Dr. Christine Neupert, Malcisbo AG |

Das beschriebene Projekt wurde in Zusammenarbeit mit der Biotechnologiefirma Malcisbo AG durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

In den letzten Jahren ist *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) zu einem wichtigen lebensmittelbedingten Krankheitserreger geworden. *C. jejuni* kommt vermehrt im Gastrointestinaltrakt von Geflügel vor. Der Hauptinfektionsweg des Menschen führt über kontaminiertes Geflügelfleisch. Eine Reduktion der Geflügelbelastung würde zu einer signifikanten Reduktion der Infektionsfälle führen. Eine mögliche Form der Pathogenreduktion wird durch Antibiotikagaben erreicht. Da die Antibiotikabehandlung zunehmend mit Fällen resistenter Bakterien konfrontiert wird, scheinen Impfungen eine sinnvolle und zukunftsorientierte Methode zur Verhinderung von Ausbrüchen zu sein. Malcisbo AG arbeitet an der Entwicklung eines attenuierten Lebendimpfstoffes gegen *C. jejuni* in Hühnern. Das Impfbakterium *Salmonella Typhimurium* wurde so modifiziert, dass es auf der Zelloberfläche eine spezifische und konservierte *C. jejuni* Zuckerstruktur präsentiert. Durch die Immunisierung der Hühner gegen diese Zuckerstruktur und folglich gegen *C. jejuni* kann das Risiko von kontaminiertem Fleisch verringert werden.

Ziel dieser Bachelorarbeit war es, Prozessdaten der Reaktorkultivierung des Impfbakteriums zu generieren, mit welchen das Kultivierverhalten der Bakterien analysiert und

optimiert werden kann. Dabei standen die Feststellung einer Korrelation zwischen der Kultivierungsphase und der Zuckerexpression und die Ermittlung des Einflusses der spezifischen Wachstumsrate auf die Zuckerexpressionsmenge im Vordergrund. Der Zuckernachweis erfolgte mittels Lektinfärbung und Durchflusszytometrie. Während der Kultivierung konnten verschiedene Trends der Zuckerstrukturexpression festgestellt werden. Klare Rückschlüsse auf die jeweilige Wachstumsphase oder Feed-Strategie konnten nur bedingt gezogen werden. Der Verlauf kann sowohl durch die Substratkonzentration als auch über die jeweiligen Prozessbedingungen beeinflusst werden.



Abb. 1: Kultivierung des Lebendimpfstoffes gegen *Campylobacter jejuni* in einem 2,5-L-Bioreaktorsystem.

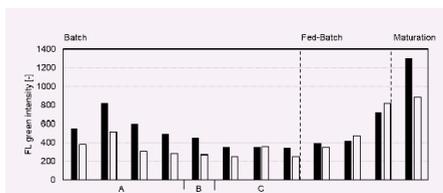


Abb. 2: Expressionsnachweis der *C. jejuni* Zuckerstruktur auf der Impfbakteriumoberfläche mittels Lektinbindung (fluorescence green Detektion) während der Kultivierung zweier parallel laufender Bioprozesse. (A) Anlaufphase, (B) exponentielle Phase, (C) stationäre Phase des Batchs.

Prozessoptimierung mittels Datenauswertung in der Biotechnologie (vertraulich)



| | |
|------------------|---|
| Diplomand | Fabian Kunz |
| Korrektoren ZHAW | Prof. Dr. Dieter Eibl, BSc Stefan Seidel, Dipl. Ing. Rüdiger Maschke |

Die Industrie 4.0 hat auch in der Biotechnologie immer mehr Einfluss. Neue Technologien wie cyberphysikalische Systeme, Internet of Things, Cloud Computing und Big Data Analytics sollen kombiniert intelligente Fertigungsstätten bilden und bringen so die Vision der Industrie 4.0 immer näher. Mit prozessanalytischen Technologien werden Kultivierungsprozesse zukünftig in Echtzeit visualisiert und geregelt. Dadurch werden grosse Mengen an Daten generiert. Daher ist es wichtig, ein geeignetes Datenbankmanagementsystem zu verwenden, um die Unmenge an Daten zu verwalten und zu bearbeiten. Die Analyse dieser Datensätze ist aufgrund der grossen Datenmengen herausfordernd, beansprucht sehr viel Zeit und ist somit kostenintensiv. Zusätzlich werden die firmeninternen Analysen von biotechnologischen Prozessdaten oft inkonsistent durchgeführt. Dies führt zur Verfälschung und somit zur Fehlinterpretation der Daten und Resultate. Daher ist es von grosser Bedeutung, firmenintern eine strukturierte Vorgehensweise zur Datenanalyse fest-

zulegen und diese als gültig zu erklären. Nur so ist sicherzustellen, dass die Auswertung in allen Ebenen gleich durchgeführt wird und die Resultate so auch vergleichbar sind. Das Ziel dieser Bachelorarbeit war es, mit inCyght (einem webbasierten Datenbankmanagementsystem der Werum IT Solutions GmbH) eine automatisierte Auswertung von Prozessdaten zu generieren. Damit können zukünftig Bioprozesskenngrössen einheitlich und konsistent berechnet werden. Mittels Jupyter Notebook wurden Skripte zur Berechnung der spezifischen Wachstumsrate und Verdoppelungszeit sowie Ausbeutekoeffizienten, Substrataufnahmerate und volumetrische Biomassenbildungsrate geschrieben. Zusätzlich wurde ein Filter implementiert, welcher zum Glätten von Online-Daten verwendet werden kann. Die entwickelten Methoden liefern eine schnellere, einheitlichere und nutzerunabhängige Auswertung als der konventionelle Ansatz über Microsoft Excel bei vergleichbaren Resultaten.

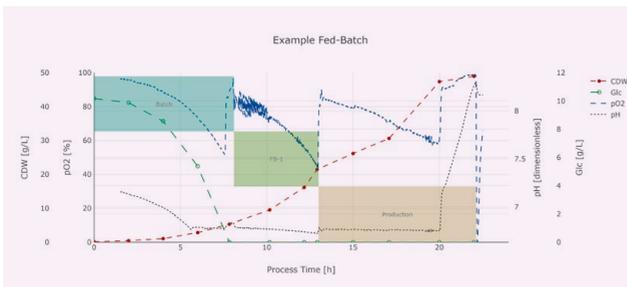


Abb. 1: Darstellung eines beispielhaften Fed-Batch-Versuches mit *E. coli*. Die Biomassekonzentration (rote Punkte) kann für die Berechnung der spezifischen Wachstumsrate genutzt werden. Der Verbrauch an Glucose (grüne Punkte) für die Ermittlung der Substrataufnahmekinetik. Die Einteilung des Versuches in Phasen (Batch, Fed-Batch 1, Produktion) erlaubt die Bestimmung der charakteristischen Parameter für jede Phase separat.

Kultivierung von Biofilmen und Vergleich mit gedruckten Biofilmen



| | |
|-------------------------|---|
| Diplomandin | Nina Kurmann |
| Korrektoren ZHAW | Prof. Dr. Walter Krebs, MSc Dennis Wipfli |
| Korrektor extern | Dr. Rolf Stettler, St. Galler Stadtwerke |

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde im Rahmen des Anschubfinanzierungsprojekts «Bioprinting von Biofilmen» durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

Beim Biofilmwachstum von Bakterien heften sich die Organismen an eine Oberfläche an und betten sich als Gemeinschaft in einer selbst hergestellten extrazellulären Matrix ein. Diese extrazelluläre Matrix bietet den Bakterien in vielen Dingen einen Vorteil, wie zum Beispiel den Schutz vor Antibiotika. Somit können Biofilme ein grosses Problem in der Industrie wie auch bei vielen Krankheiten darstellen. Aus diesen und weiteren Gründen ist die Forschung an Biofilmen und somit auch das Vorhandensein von reproduzierbaren Testflächen zunehmend wichtiger. Die Heterogenität der Biofilme in klassisch kultivierten Methoden stellt dabei ein grosses Problem dar. Dieses Problem könnte mittels 3D-gedruckten Biofilmen gelöst werden. Dabei wird die Bakterien-suspension in einer Alginate-Lösung in Form einer Bioink auf eine Kalziumionen-haltige Oberfläche gedruckt, wodurch ein Hydrogel entsteht, welches die Struktur des Biofilms vorgibt. In Rahmen des Anschubfinanzierungsprojekts «Bioprinting von Biofilmen» wurden solche 3D-gedruckten Biofilme mit klassisch kultivierten Biofilmen verglichen. Beim Vergleich des Wachstums zeigten die Organismen *E. coli* GFP ZHW 156 und *S. aureus* RN4220 mCherry sowohl in 3D-gedruckten

Gelen wie auch kultiviert in 24-Multiwellplatte, einen ähnlichen Trend der Wachstumskurve (Abb. 1). Zudem konnte gezeigt werden, dass der gebildete Biofilm von *S. aureus* RN4220 mCherry im 3D-gedruckten Gel eine grössere Stabilität (Abb. 2) aufweist als derjenige von *E. coli* GFP ZHW 156. Auch wurden diese beiden Organismen in verschiedenen *Layern* im 3D-gedruckten Biofilm kultiviert. Dabei zeigte sich, dass *E. coli* GFP ZHW 156 im 3D-gedruckten Gel gut mit Konkurrenten, wie *S. aureus* RN4220 mCherry, umgehen kann, wobei *S. aureus* RN4220 mCherry womöglich auf eine gute Sauerstoffzufuhr angewiesen ist, um im 3D-gedruckten Gel mit *E. coli* GFP ZHW 156 zu konkurrieren.

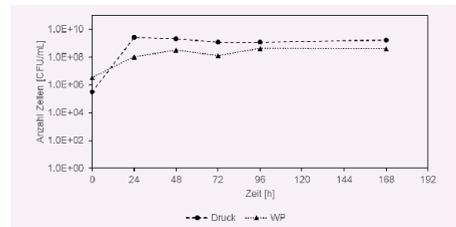


Abb. 1: Wachstumskurve von *E. coli* GFP ZHW 156 kultiviert in einem 3D-gedruckten Gel (Druck) und einer Multiwellplatte (WP).

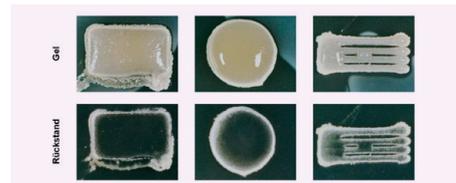


Abb. 2: 3D-gedruckte Gele zur Kultivierung von *S. aureus* RN4220 mCherry vor und nach dem Auflösen.

Analytik von Extractables und Leachables (vertraulich)



| | |
|---------------------------|---|
| Diplomandin | Céline Leu |
| Korrektor/-in ZHAW | Prof. Dr. Caspar Demuth, Dr. Susanne Kern |
| Korrektor extern | Dr. rer. nat. Rudolf Köhling, Merck Group, Sigma-Aldrich Production GmbH |

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

Im Pharmabereich sind Einwegartikel aus Kunststoff heutzutage kaum mehr wegzudenken. Neben dem sterilen, sauberen Arbeiten in einer kontrollierten Produktionsumgebung eliminieren sie aufwendige Reinigungs- oder Sterilisationsvorgänge. Durch fachgerechtes Entsorgen wird zusätzlich die Kontaminationsgefahr durch Bakterien, Viren etc. gering gehalten und die Sicherheit vor Verschleppung ist gewährleistet. Auch in der Lebensmittelindustrie spielen Einwegverpackungen aus Kunststoff eine wichtige Rolle, da sie einerseits die Produkte frisch halten und andererseits beim Transport vor Verunreinigungen und Beschädigungen schützen. Die damit erzielte längere Haltbarkeit der Lebensmittel ist ein wichtiger Vorteil. Solche Einweg- und häufig auch Mehrwegprodukte bestehen oftmals aus den Kunststoffen Polypropylen (PP) und Polyethylen (PE). Bisher wurde angenommen, dass die Kunststoffe keinen grossen Einfluss auf die Qualität und Beschaffenheit des Pharma- oder Lebensmittelproduktes haben. Heute weiss man, dass diese Annahme nur zum Teil stimmt. Dafür verantwortlich sind sogenannte Extractables and Leachables

(E&L), die bei Produktberührung aus den Kunststoffen herausgelöst werden können und ins Produkt migrieren. Viele dieser Komponenten besitzen gesundheitsschädliche oder toxische Eigenschaften. Zum Schutz der Konsumenten muss sichergestellt werden, dass keine dieser schädlichen Verbindungen aus Verpackungsmaterialien in Lebensmittel oder Pharmaprodukte migrieren. Die Hersteller dieser Kunststoffverpackungen müssen oft in aufwändigen Studien nachweisen, dass keine E&L in diesen Verpackungen vorkommen. Für eine zuverlässige Analytik dieser Verbindungen hat die Firma Merck zwei geeignete Referenzmischungen entwickelt, die den Herstellern von Primärverpackungsmitteln entsprechende Hilfestellung bieten.

In dieser Bachelorarbeit wurden diese zwei Referenzmischungen der Firma Merck evaluiert. Zum einen wurden diese E&L-Mischungen mittels GC-MS und LC-MS analysiert, um allfällige Schwierigkeiten in der Anwendung (z. B. Stabilität der eingesetzten Komponenten) aufzudecken. Zum andern wurden mit geeigneten Extraktionsversuchen bestimmte Komponenten in PE- oder PP-Behältern nachgewiesen und quantifiziert.

Online-Prozessüberwachung im Schüttelkolben durch kombinierten Einsatz von Rückstreulicht, pH sowie O₂- und CO₂-Konzentration (vertraulich)



| | |
|------------------|---|
| Diplomand | Leandro Paolo Mancina |
| Korrektoren ZHAW | Prof. Dr. Dieter Eibl, Dipl. Ing. Rüdiger Maschke, MSc Jan Müller |

Das zugrundeliegende Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht und wurde mit der Firma PreSens durchgeführt.

Durch die Entwicklung des SFR vario von PreSens ist es möglich, Kultivierungen im Schüttelkolben in Echtzeit zu überwachen. Die Funktionalität und das Potenzial der neuen Online-Analytik wurden anhand von verschiedenen Zelllinien getestet und bewertet. Anhand von Rückstreulichtmessung konnte der Biomasseverlauf verschiedener Organismen überwacht werden, wobei durch die Korrelationen mit Offline-Daten für die meisten Zelllinien ein linearer Zusammenhang bestätigt werden konnte. Dabei wurde ersichtlich, dass die Morphologie der Zelle eine entscheidende Rolle spielt. So konnten zum Beispiel Säugerkzellen bei einer Konzentration von 10 bis 15 Mio. Zellen pro mL nicht mit dem Rückstreulichtsignal korreliert werden. CHO-Zellen mit beschädigter Membran konnten jedoch schon bei geringeren Konzentrationen detektiert werden. Ebenso konnte der signifikante Einfluss von Schikanen auf das Rückstreulichtsignal bestätigt werden. Durch die kontinuierlichen Online-Aufzeichnungen von Biomasse, pO₂ und pH können Kultivierungen während verschiedener Phasen detaillierter betrachtet werden. Bei *S. cerevisiae* konnte beispielsweise das diauxische Wachstum und bei *V. vinifera* die Metabolisierung der unterschiedlichen Zucker erkannt werden. Die Berechnung der Wachstumsraten über die

online aufgenommene OUR funktionierte und lieferte mit den über die Online- und Offline-Biomasse berechneten Werten vergleichbare Ergebnisse. Alternativ zum pH-Sensor wurde auch ein CO₂-Sensor-Prototyp getestet. Mit den gewonnenen Daten können zukünftige Prozesse genauer geplant und gesteuert werden, was vor allem für Fed-Batch- und kontinuierliche Kultivierungen interessant ist. Als erster Ansatz für Fed-Batch-Versuche in Schüttelkolben wurden das Liquid Injection System von Aquila Biolabs sowie FeedBeads der Kuhner AG getestet.

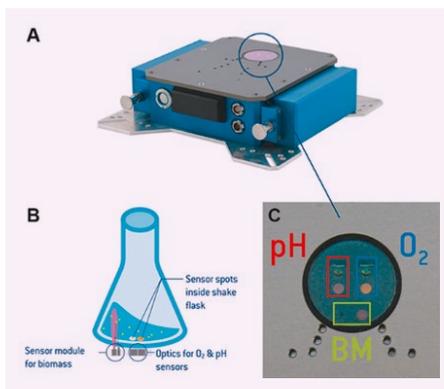


Abb. 1: Darstellung des SFR vario. [A] Mit dem SFR vario ist es möglich die Biomasse (BM), den pH-Wert/CO₂-Konzentration und den gelösten Sauerstoff in Echtzeit zu überwachen. In [B] ist zu erkennen, an welchem Ort des Schüttelkolbens die Sensoren angebracht werden, damit sie von den entsprechenden Positionen [C] erfasst werden.

Analyse von Abgaskonzentrationen aus einem Produktionsverfahren für die Flüssigkultivierung des Pilzes *Beauveria bassiana* (vertraulich)



Diplomandin

Sandrine Mosimann

Korrektor/-in ZHAW

Dr. Iris Poggendorf, MSc Yannick Senn

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

Der entomopathogene Pilz *Beauveria bassiana* (*B. bassiana*) wird weltweit als Biopestizid gegen zahlreiche Insekten eingesetzt. Für den Einsatz als Biopestizid ist ein optimaler Massenvermehrungsprozess von zentraler Bedeutung. Die Kultivierung im Kleinmassstab kann als Flüssigkultur im Schüttelkolben realisiert und mit der KuhnerTOM-Messvorrichtung die Atmungsaktivität analysiert werden.

Das Ziel dieser Forschungsarbeit ist die Analyse der berechneten Sauerstofftransferrate (engl. Oxygen Transfer Rate, OTR), Kohlenstofftransferrate (engl. Carbon Transfer Rate, CTR) und des respiratorischen Quotienten (engl. Respiratory Quotient, RQ) aus einer Flüssigkultivierung mit der KuhnerTOM-Messvorrichtung, um Rückschlüsse auf die Wachstumskinetik und den Metabolismus zu gewinnen. Zusätzlich wird der Einfluss des Mediums, der Temperatur sowie des Füllvolumens auf das Wachstum von *B. bassiana* untersucht.

Die Erhöhung der OTR weist auf einen steigenden Sauerstofftransfer und somit auf einen aktiven Stoffwechsel hin. Dabei erfolgt eine Biomassenzunahme, vermutlich die Bildung des Myzels. Die grösste maximale OTR konnte in einem komplexen Medium mit Glukose,

Maisquellwasser und Salzen als Inhaltsstoffe beobachtet werden. Das optimale Füllvolumen beträgt 50 mL mit einer idealen Kultivierungstemperatur von 28 °C.

Nach der exponentiellen Phase konnten weiterhin Atmungsaktivitäten beobachtet werden, welche auf eine Verwertung zusätzlicher Kohlenstoffquellen zurückzuführen sind. Demzufolge wurden vermutlich komplexe Medienkomponenten oder gebildete Nebenprodukte von *B. bassiana* verwertet. Ausserdem könnte die zusätzliche Atmungsaktivität auf die Sporenbildung hinweisen, wobei *B. bassiana* Reservesubstrate verstoffwechselt. Die CTR war jeweils während der gesamten Kultivierung geringer als die OTR. Diese Tatsache könnte auf die Verwertung von C₂-Verbindungen zurückzuführen sein.



Abb. 1: Kultivierung mit der KuhnerTOM-Messvorrichtung; Quelle: www.kuhner.com.

Fed-Batch-Kultivierung zur IgG-Produktion mit einer CHO-Zelllinie in drei unterschiedlichen Kultivierungssystemen (vertraulich)



| | |
|---------------------|---|
| Diplomandin | Fruhar Mozaffari |
| Korrektorinnen ZHAW | Prof. Dr. Regine Eibl-Schindler, BSc Sandra Steiner |

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

Monoklonale Antikörper gehören zu den meistverkauften Medikamenten weltweit. Ihr Anwendungsgebiet ist sehr vielfältig. So werden sie zurzeit erfolgreich zur Krebstherapie oder bei Autoimmunerkrankungen wie Multiple Sklerose oder Rheuma eingesetzt. Das erklärt auch die grossen Anstrengungen der Entwickler und Produzenten zur Verkürzung der Entwicklungs-, Produktions- und Zulassungszeit neuer monoklonaler Antikörper. Die Produktion der monoklonalen Antikörper wird aktuell überwiegend mit *Chinese hamster ovary* (CHO)-Zellen durchgeführt. In dieser Bachelorarbeit erfolgte die Produktion von Immunglobulin G (IgG) mit einer CHO-Zelllinie im UniVessel Glass 2 L Rührreaktor und im wellendurchmischten BIOSTAT® CultiBag RM. Basierend auf Batch- und Fed-Batch-Daten im Schüttelkolben, wurden Feedingverfahren für beide Bioreaktorsysteme etabliert.

Das Ziel war es, eine maximale Lebendzellzahl von $> 1 \cdot 10^7$ Zellen mL^{-1} und einen IgG-Titer $> 2 \text{ g L}^{-1}$ zu erreichen. Im UniVessel Glass 2 L Rührreaktor konnten maximale Lebendzellzahlen von $1.2 \cdot 10^7$ Zellen mL^{-1} und ein IgG-Titer von 3 g L^{-1} bei 20 Tagen Kultivierungszeit erreicht werden. Im Vergleich dazu war der IgG-Titer im wellendurchmischten Bioreaktor etwa halb so hoch, weshalb weitere Optimierungen notwendig sind.

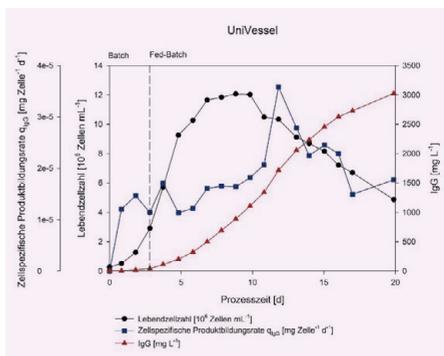


Abb. 1: IgG-Produktion im Uni-Vessel: Lebendzellzahl, zellspezifische Produktbildungsrate und IgG-Konzentration.

Entwicklung von Zell-Assays zur Analyse von Matrix-Metalloproteasen (vertraulich)



| | |
|---------------------|------------------------------------|
| Diplomandin | Lavdie Neziri |
| Korrektorinnen ZHAW | Dr. Ina Albert, Dr. Steffi Lehmann |

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

Der Prozess des Wachstums und der Ausbreitung eines Tumors in Gewebe ist eine komplexe Kaskade von Ereignissen. Die Bewegung von Tumorzellen kann aus unterschiedlichen Migrationsstrategien resultieren, die sowohl durch die molekularen Eigenschaften der Tumorzellen als auch durch mechanische, chemische und biologische Einflussfaktoren aus der Mikroumgebung des Tumors bestimmt werden. Für die Tumorinvasion durch Gewebebarrieren und die Metastasierung sind eine Remodellierung der extrazellulären Matrix (ECM) und eine Reduktion der Basalmembran durch den proteolytischen Abbau der ECM essenziell. Eine Hauptrolle kommt in diesen Prozessen den Matrix-Metalloproteasen (MMPs) zu.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden drei verschiedene Krebszelllinien hinsichtlich ihrer MMP Expression untersucht. In einem ersten Schritt wurden verschiedene Nachweismethoden von MMPs getestet. Hierbei konnte eine Gelatine-basierte Zymographie als einfache und kostengünstige Methode für weitere Experimente etabliert werden. Anschliessend wurde untersucht, inwiefern eine chemische Stimulation der Krebszellen die MMP Expression und Sekretion beeinflusst. Hierbei konnte gezeigt werden, dass die Sekretion von MMPs

abhängig war von der jeweiligen Zelllinie und von der Konzentration und Inkubationszeit der Stimulanz. Darüber hinaus wurde gezeigt, dass auch die Zusammensetzung des Zellkulturmediums einen Einfluss hatte.

Die entwickelte Methode und die gewonnenen Erkenntnisse bilden eine Grundlage, um Inhibitoren von MMPs in einem zellbasierten Hochdurchsatzverfahren zu testen.

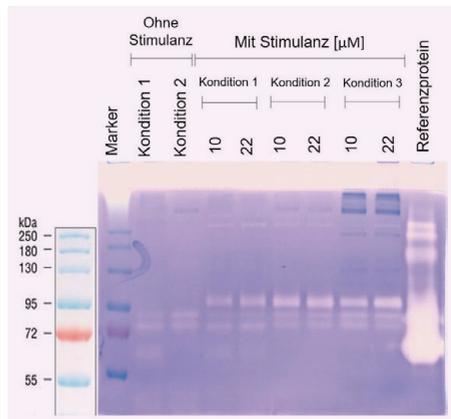


Abb. 1: Das Gelatine-Zymographieassay dient zum Nachweis der MMP-Sekretion in Zellkulturüberständen bei verschiedenen Bedingungen. Die farblosen Banden innerhalb des Gels entstehen durch einen enzymatischen Gelatineabbau. Dieser ist auf die proteolytische Aktivität von MMPs zurückzuführen.

Development of a reproducible protocol for the differentiation of iPSCs towards MSCs



| | |
|-------------------------|--|
| Diplomandin | Pauline Panchaud |
| Korrektoren ZHAW | Prof. Dr. Jack Rohrer, MSc Leopold von Balthazar |

Human induced pluripotent stem cells (iPSCs) are the foundation of many research projects in the pharma-ceutical industry and regenerative medicine. These cells can theoretically differentiate into any type of cell in the body and thus be used to build human model systems for *in vitro* assays or the development of biotechnological products. Specifically, the differentiation towards mesenchymal stem cells (MSCs) is of great interest as they can self-renew, differentiate into multiple tissues, and are immunomodulatory. To overcome the low frequency of this population in bone marrow, they are differentiated from iPSCs. Five different culture media were tested for the *in vitro* differentiation of the iPSC clones D2C1 and D4C3 towards MSCs. The first medium consisted of 10% FBS, the second one had 10% heat-inactivated FBS, the third medium contained heat-stable bFGF supplemented FBS, the fourth medium involved 5% human platelet lysate, and the last one was serum-free medium supplemented with SB431542. The differentiation's efficiency was assessed morphologically using microscopy and fluorescence-activated cell sorting analysis with CD90+, CD105+, CD73+, CD14-, CD20-, CD34-, and CD45- surface markers. The differentiated iP-SCs of all protocols expressed MSC-positive markers. However, the expression of MSC-negative markers was measured as well. The differentiations with FBS, heat-inactivated FBS, and bFGF tended to differentiate rather faster than the other protocols. The

serum-free protocol, however, clearly showed the slowest differentiation. In order to fully characterize the MSCs, plastic adherence, and the capacity to differentiate into chondroblasts, adipocytes, and osteoblasts needs to be further determined.

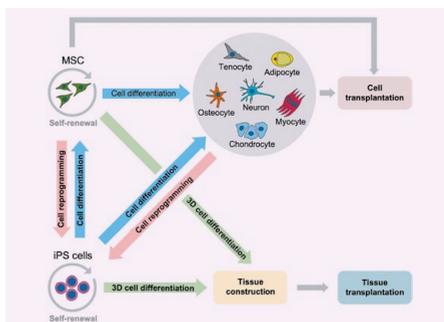


Fig. 1: Differentiation of iPSCs towards MSCs and their potential applications in clinical studies and tissue engineering.

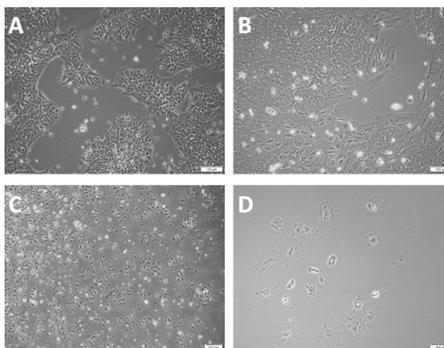


Fig. 2: Phase contrast images of differentiated D2C1 iP-SCs in hIFBS medium. (A) shows differentiation B on day 0, four hours after switching the medium to differentiation medium. (B) shows differentiation A on day 1 and (D) on day 13. (C) illustrates differentiation C on day 9, after passaging cells onto new well plates.

Standardisierung von BMP-Tests



| | |
|--------------------|------------------------------------|
| Diplomandin | Theres Paramby |
| Korrektor/-in ZHAW | Dr. Judith Krautwald, Martin Kühni |

Für die Planung und Dimensionierung von Biogasanlagen werden Biomethanpotential-Tests (BMP-Tests) durchgeführt. Diese Tests betrachten den Substratabbau unter anaeroben Bedingungen über einen bestimmten Zeitraum. Dabei wird das gebildete Biomethanvolumen gemessen. Obwohl solche Versuche häufig durchgeführt werden, liefern diese Tests unterschiedliche Resultate für dasselbe Substrat. Somit ist der Vergleich der Ergebnisse sowie die Gewinnung von reproduzierbaren Daten erschwert. Deshalb ist eine Standardisierung dieser BMP-Tests von grosser Bedeutung. Diese Vereinheitlichung betrifft nicht nur die Versuchsdurchführung, sondern auch die Datenauswertung. Dafür wurde ein Auswertungstool in MATLAB anhand eines Ringversuches erstellt, welche BMPs berechnet und graphisch darstellt (Abb.2). Des Weiteren wird ausgegeben, wann die Experimente abgebrochen werden können. Um die Funktionalität dieses Tools zu testen, wurden aktuelle Gärversuche ausgewertet. Diese Tests wurden in AMPTS-II-Anlagen (Abb.1) durchgeführt und untersuchten verschiedene Einflussfaktoren auf das BMP von Substraten. Es wurde beobachtet, dass eine Verdünnung und der Einsatz von Dickschlamm den Gasertrag reduzieren. Zudem wurde ermittelt, dass die Zugabe von Vitaminen und Spurenelementen sowie die Verkürzung der Schlauchlänge keinen signifikanten Einfluss auf das BMP haben. Auch wurden nebst Cellulose zwei weitere Referenzen, Acetat und Gela-

tine, getestet. Diese können bei Versuchen als Positivkontrolle für flüssige oder langsam abbaubare Substrate eingesetzt werden. Es gilt jedoch zu beachten, dass bei gewissen Tests noch keine abschliessenden Entscheidungen getroffen werden können. Aufgrund der geringen Anzahl an Replikaten war die Bestimmung von Ausreissern schwierig.



Abb. 1: AMPTS II Vorrichtung mit Inkubator, Absorptionseinheit und Wasserbad mit Gaswippe zur Durchführung des BMP-Tests. Quelle: Bioprocess Control, 2020.

$$B_i = \frac{V_{CH_4,B,i,net}}{m_{CH_4,B,i}}$$

- $V_{CH_4,B,i,net}$: Netto-Biomethanproduktion im Ansatz i mit Inokulum und Referenzsubstrat (Nml)
- $m_{CH_4,B,i}$: OTR-Gehalt, welcher im Ansatz i mit Inokulum und Referenzsubstrat gemessen wurde (g)

Bildung des Mittelwertes und der Standardabweichung: siehe Kapitel 1.2 Berechnungen.

```
% Zuweisung von Inokulummenge und oTR
V_Inoc_B = ETMIMAGE.Inokulummenge(strcomp(ETMIMAGE.Substrat,'B'));
oTR_B = ETMIMAGE.oTR(strcomp(ETMIMAGE.Substrat,'B'));

% Ermittlung BMP
B = DATA(:,5:7); % Nml
% Funktion 'bsxfun' subtrahiert Vektor elementweise von Spalten einer Matrix.
B = bsxfun(@minus,B,(mean_A_spez*V_Inoc_B)); % Nml
```

Abb. 2: Ausschnitt des Auswertungstools in MATLAB.

Alkoholdehydrogenase-defiziente Stämme für *E. coli* und Hefe



| | |
|---------------------|---|
| Diplomandin | Annina Peter |
| Korrektorinnen ZHAW | Dr. Christin Peters, Dr. Zrinka Raguz Nakic |

Viele Bulkchemikalien und Feinchemikalien werden heutzutage mittels Biokatalyse aus Aldehyden oder Ketonen gewonnen. Allerdings kommt es durch endogenen Alkoholdehydrogenasen (ADH) in mikrobiellen Wirten, wie *Escherichia coli* (*E. coli*) und Hefen, zu einer Umwandlung von Aldehyden und Ketonen zu den ungewünschten Alkoholen und somit zu einer geringeren Produktausbeute.

In dieser Arbeit wurden sieben *E. coli* Stämme und der Wildtyp *E. coli* BL21(DE3) untersucht. Diese Stämme zeichneten sich durch verschiedene Deletionen von einer bis zu vier ADH-Genen aus. Da die Deletionen eines Genes zu Einschränkungen im Wachstum des Stammes führen kann, wurden die ADH-defiziente *E. coli* Stämme auf ihre Wachstumskinetik mit verschiedenen Medien untersucht. Im LB-Medium wurden die höchsten Wachstumsraten erreicht, wobei keine signifikanten Unterschiede zwischen den Deletionsstämmen und dem Wildtyp festgestellt wurden. Bei den im Glucose-Minimalmedium und im Glycerol-Minimalmedium festgestellten Wachstumsraten konnten geringe Unterschiede zwischen den Stämmen detektiert werden.

Weiter wurde in dieser Arbeit ein Konzept, zur Deletion von endogenen ADH in *Pichia pastoris* (*P. pastoris*) X33, entwickelt. Hierfür wurden alle in der Literatur verfügbaren Informationen zu ADH in Hefen recherchiert und ausgewertet. Anhand der Literatur konnten unter ande-

rem die Gene *adh2* und *adh900* in *P. pastoris* X33 als mögliche Gene für ADH identifiziert werden. Die Dockingstudie des Proteinmodells ppADH900 zeigte, dass die ADH möglicherweise aliphatische Ketone wie Hexanal am besten im aktiven Zentrum bindet und in Stämmen ohne Deletion des Genes mehr Alkoholnebenprodukte zu erwarten sind.

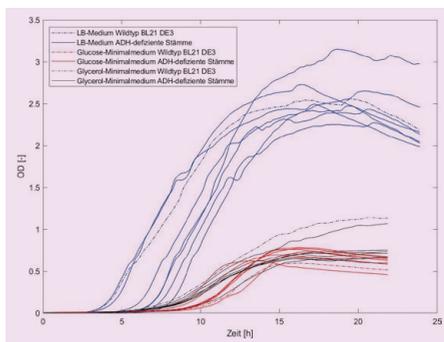


Abb. 1: Wachstumskurven aller ADH-defizienten Stämme und dessen Wildtyp BL21 (DE3) über alle Medien.



Abb. 2: Homologiemodell der ppADH900 mit möglichen Bindestellen für das Substrat Hexanal (rot=Kohlenstoffatome, weiss=Wasserstoffatome), dem Histidin im aktiven Zentrum (grün) und dem Histidin für die Cofaktor-Bindung (blau).

Digitalisierung und Automatisierung für biotechnologische Anlagen (vertraulich)



| | |
|-------------------------|---|
| Diplomand | Jonathan Rieder |
| Korrektoren ZHAW | Dr. Lukas Neutsch, BSc Sebastian von Rotz |
| Korrektor extern | Dr. Paul Kroll, Securecell AG |

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Firma Securecell AG in Urdorf durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit werden keine Details zur Arbeit veröffentlicht.

Expansion von humanen mesenchymalen Fettstammzellen im neuen AppliFlex ST – Fluid-dynamische Untersuchungen (vertraulich)



| | |
|------------------|--|
| Diplomand | Lukas Schaub |
| Korrektoren ZHAW | Prof. Dr. Dieter Eibl, Dr. Valentin Jossen |

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

Mesenchymalen Fettstammzellen wird ein grosses Potential in der regenerativen Medizin zugeschrieben, da diese multipotenten Stammzellen für autologe Therapien eingesetzt werden können. Bis anhin gibt es noch keine auf diese Zellen angepasste Single-use-Systeme für deren Expansion im mL- und einstelligen Liter-Massstab. Die Firma Applikon stellt mit 3D-Drucktechnologie die AppliFlex-ST-Produktlinie her, welche eine mögliche Lösung für dieses Kultivierungsproblem darstellt.

Zwei dieser Reaktoren wurden im Rahmen dieser Bachelorarbeit durch CFD-Simulationen verfahrenstechnisch charakterisiert und auf ihre theoretische Anwendbarkeit für die Expansion von mesenchymalen Fettstammzellen überprüft. Es wurden verschiedene kritische Kultivierungsparameter für die Expansion von mesenchymalen Fettstammzellen auf Microcarriern durch Literaturrecherche ermittelt und diese in der Beurteilung der Reaktoren berücksichtigt. Die durchgeführten Simulationen zeigen, dass die Drehrichtung des Rührers einen wesentlichen Einfluss auf die im Bioreaktor vorherrschenden physikalischen Bedingungen hat.

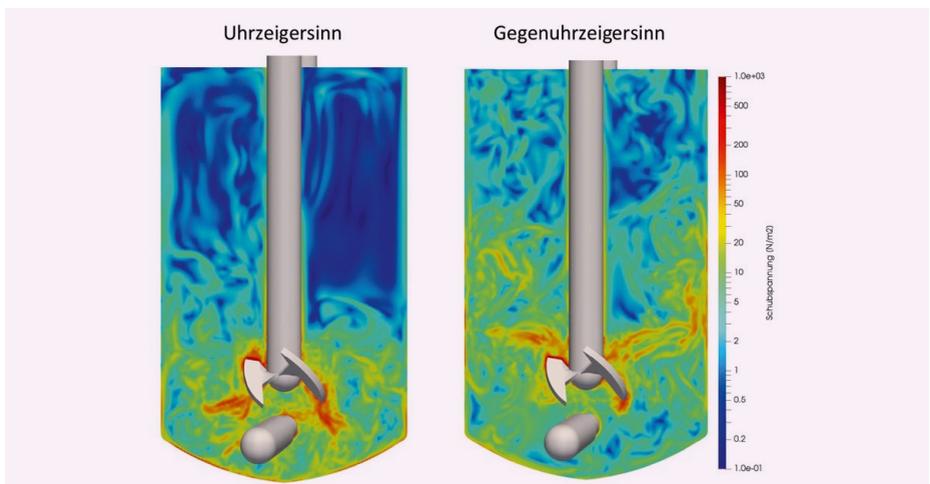


Abb. 1: Die Abbildung zeigt die Schubspannung in einem der untersuchten Reaktortypen. Die unterschiedlichen Drehrichtungen indizieren eine andere Verteilung der beobachteten Schubspannung innerhalb des Reaktors bei identischer Drehzahl.

Prozessdesign einer mikrobiellen Wasserstoffproduktionsanlage (vertraulich)



| | |
|------------------|----------------------------------|
| Diplomand | Alexander Schilt |
| Korrektoren ZHAW | Dr. Rolf Warthmann, Martin Kühni |

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

Wasserstoff (H_2) ist ein natürlicher Energieträger und muss produziert werden. Das Gas ist ein vielseitiger und nachhaltiger Energieträger, der aufgrund seines hohen spez. Brennwertes (143 MJ/kg) im Vergleich zu herkömmlichen kohlenwasserstoffhaltigen Brennstoffen (Benzin 46.4 MJ/kg) als Alternative für diese verwendet werden kann. Im Gegensatz zu fossilen Brennstoffen führt die Verbrennung von Wasserstoff weder zu Treibhausgasen noch zu Ozonschicht-schädigenden Chemikalien. Über 96% der globalen Wasserstoffproduktion stammt aus fossilen Energieträgern und auch bei Elektrolysewasserstoff stellt sich die Frage nach der Stromquelle, daher muss die Art und Weise der Herstellung immer mit in Betracht gezogen werden. Kaum jemand weiss jedoch, dass man H_2 auch mikrobiologisch herstellen kann (die Archaeen nutzen ihn schon seit Milliarden von Jahren). Von allen Arten der H_2 -Produktion ist die biotechnologische H_2 -Produktion vermutlich die weitaus sauberste Variante. Sauber bezieht sich auf eine CO_2 -neutrale Herstellung und in diesem Kontext wird auch oft von «grünem Wasserstoff» gesprochen.

In der Arbeit wird ein Prozessdesign für eine Biowasserstoffproduktionsanlage entwickelt. Es handelt sich um eine Kombination von verschiedenen mikrobiologischen Prozessen. Die Biowasserstoffproduktionsanlage kann

mit organischen Abfallprodukten betrieben werden, wobei das entstandene CO_2 bis zu 100% wiederverwertet werden kann. Für einen Durchlauf ohne Recycling von CO_2 wird ein Ausbeutekoeffizient von 8.0 mol H_2 /mol Glucose berechnet. Wird das entstandene CO_2 rezykliert, steigt der Ausbeutekoeffizient auf 10.8 mol H_2 /mol Glucose. Theoretisch könnten aus einem mol Glucose zwölf mol H_2 entstehen, damit würden 90% des theoretischen Maximums erzielt. Somit könnten beispielsweise aus 4.8 kg Glucose 0.573 kg Wasserstoff gewonnen werden, was 81.94 MJ respektive 22.76 kWh entspricht. Ein modernes Elektroauto könnte damit über 100 km weit fahren. Die Nutzung von Sonnenlicht wäre am nachhaltigsten, ist aber technisch anspruchsvoll und benötigt grosse freie Flächen. Bei der Biowasserstoffproduktion kann durch die Nutzung von Mikropartikeln die spezifische Oberfläche in den verschiedenen Prozessen exponentiell vergrössert werden, was bei der Photovoltaik schwer möglich ist.

In dieser BA wurde ein Designentwurf einer Biowasserstoffproduktionsanlage bis hin zum R&I-Fliessschema entwickelt. Die Resultate übertreffen die Erwartungen. Die theoretisch-basierten Werte gilt es nun praktisch zu überprüfen. Eine Reihe von parallel laufenden Experimenten ist angebracht. Das System soll sowohl in Teilen als auch als Ganzes betrachtet werden. Die Kombination der verschiedenen Blickwinkel soll einen optimalen, stabilen Prozess hervorbringen.

Induktion von sekundären Metaboliten bei Actinomyceten durch Co-Kultivierung (vertraulich)



| | |
|------------------------------|---|
| Diplomandin | Marina Starc |
| Korrektoren/Korrektorin ZHAW | Prof. Dr. Martin Sievers, Dipl. Ing. (FH) David Frasson, MSc Fabienne Arn |

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

Die vertrauliche Bachelorarbeit hatte das Ziel, neuartige Kultivierungsmethoden zu etablieren, um die Induktion der Wirkstoffbildung bei Actinomyceten anzuregen.

In einer vorgängigen Semesterarbeit wurde eine Auswahl an isolierten Stämmen von Actinomyceten auf die Produktion bioaktiver Substanzen untersucht. Sehr viele dieser

untersuchten Stämme bilden unter Standardkultivierungsbedingungen im Labor keine sekundären Metabolite wie Antibiotika. Die OSMAC-Strategie (one strain many compounds) wurde angewendet, um die Bildung von sekundären Metaboliten der isolierten Stämme zu aktivieren. Als erfolgversprechende Methode der Induktion wird die Co-Kultivierung mit anderen Stämmen, die zum Beispiel Mykolsäure produzieren, beschrieben. In der Arbeit wurde eine Co-Kultivierungsmethode von Pishchany et al. 2018 etabliert, um bei den untersuchten Stämmen eine Wirkstoffbildung zu induzieren.

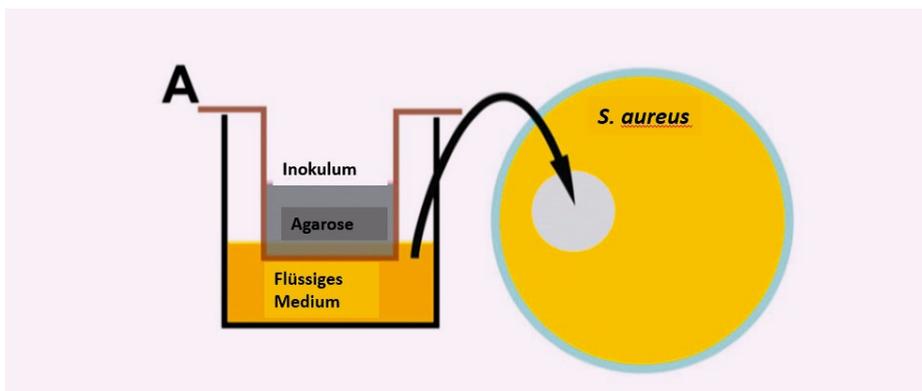


Abb. 1: Um eine Co-Kultivierung nach der Methode von Pishchany et al. 2018 umzusetzen, wurden Gemische an verschiedenen Stämmen (zum Beispiel *Streptomyces*-Isolat mit *Streptomyces coelicolor* M145 oder *Streptomyces*-Isolat mit *Tsukamurella pulmonis*) auf einer Agarose als Trägermaterial aufgetragen und mit einem Kultivierungsmedium inkubiert. Die gebildeten Wirkstoffe werden über eine Membran ins Medium sekretiert. Ein aliquoter Teil des Mediums wurde direkt auf Hemmung gegen *Staphylococcus aureus* getestet. Eine Inhibition des pathogenen Bakteriums ist durch einen Hemmhof sichtbar.

Pishchany G., Mevers E., Ndousse-Fetter S., Horvath D.J. J.r, Paludo C.R., Silva-Junior E.A., Koren S., Skaar E.P., Clardy J., Kolter R. 2018. Amycomycin is a potent and specific antibiotic discovered with a targeted interaction screen. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A. 115:10124-10129. doi: 10.1073/pnas.1807613115.

Entwicklung einer Tablette zum Nachweis von pathogenen Bakterien mithilfe der chemilumineszenten AquaSpark™-Technologie (vertraulich)



| | |
|--------------------|--|
| Diplomand | Simon Joel Suter |
| Korrektor/-in ZHAW | Dr. Steffi Lehmann, BSc Sandro Wegmann |
| Korrektor extern | Dr. Mario Hupfeld, 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.

Das Ziel dieser Bachelorarbeit ist die Entwicklung einer Tablette zum Nachweis von pathogenen Bakterien mithilfe des chemilumineszenten Wirkstoffes AquaSpark™, welcher mittels Lumineszenz gemessen wird. Die Firma NEMIS Technologies AG erarbeitet in diesem Zusammenhang innovative Testkits, welche die Detektion von pathogenen Keimen schnell, spezifisch und vor Ort zulässt. Diese Lösung ist vor allem für Lebensmittelproduzenten sehr effizient, da die Proben nicht in ein Labor gesendet werden müssen und die Durchführung der Tests kein vertieftes Wissen über die Mikrobiologie fordert. Um eine AquaSpark™-Tablette herstellen zu können, wurde zuerst in mehreren Vorversuchen mit dem Modellwirkstoff Fluorescein ein geeignetes Verfahren etabliert. Dafür wurde eine Lyophilisationsmethode entwickelt. Die Lyophilisation (Abb.1) eignete sich besonders, da im Vorgang keine Hitze benötigt wird und so thermolabile Stoffe wie das AquaSpark™ nicht geschädigt werden. Gleichzeitig kann der Wirkstoff auch gleichförmig auf einen Träger gebracht werden, was so das Volumen vergrößert und eine einheitliche Tablettierung erleichtert. Nach den Vorversuchen, welche

zeigten, dass die Methode für das Fluorescein funktionierte, konnten AquaSpark™-Tabletten hergestellt werden mittels der Rundläuferpresse (Abb.2). Die angefertigten AquaSpark™-Tabletten zeigten eine gleichförmige Wirkstoffverteilung, wobei die Tablettenmasse gleichförmig bestimmt werden konnte. Die Zerfallszeit der Tabletten lag bei unter einer Minute, wobei ein schneller Zerfall wichtig für die Effizienz des Testkits ist. Die Tabletten wiesen zudem eine gute Festigkeit vor und waren nicht brüchig. Diese Bachelorarbeit zeigt somit auf, dass das Tablettieren von dem AquaSpark™-Molekül möglich ist und daraus Tabletten hergestellt werden können, die einer Qualitätsprüfung nach der europäischen Pharmakopöe bestand halten.



Abb. 1: Lyophilisator von CHRIST LSCplus.



Abb. 2: Rundläuferpresse XL 100 von KORSCH.

Etablierung und Validierung einer Labormethode zur Messung kurzketziger Fettsäuren im Gärsubstrat von Biogasanlagen



| | |
|--------------------|---|
| Diplomandin | Noelia Teliz |
| Korrektor/-in ZHAW | Dr. Hans-Joachim Nägele, Dr. Susanne Kern |

Flüchtige Fettsäuren sind ein essentieller Bestandteil der anaeroben Vergärung. Sie entstehen als Neben- bzw. Abbauprodukt und sind für die Prozesskontrolle von Bedeutung. Momentan wird in vielen Laboren ausschliesslich der Gesamtgehalt der Fettsäuren analysiert, um auf Basis dieser Ergebnisse auf die möglichen Ursachen der Prozessstörung zu schliessen. Die Analyse der einzelnen flüchtigen Fettsäuren ist aufwändiger, hat jedoch deutlich mehr Aussagekraft bei kritischen Prozessstörungen. Da im Labor der Fachstelle Umweltbiotechnologie an der ZHAW noch keine Gärsubstratproben auf deren Gehalt an einzelnen flüchtigen Fettsäuren untersucht werden können, war es das Ziel dieser Bachelorarbeit, die Entwicklung, Etablierung sowie Validierung für eine geeignete Labormethode durchzuführen. Hierfür wurde der Fokus der Messungen auf folgende Fettsäuren gelegt: Essig-, Propion-, Iso- und n-Buttersäure, Iso- und n-Valeriansäure sowie Capronsäure. Zur Entwicklung der Labormethode wurden in einem ersten Schritt die gängigen Untersuchungsmethoden in der

Literatur zusammengetragen, analysiert und eine eigene Methode daraus abgeleitet. Die Messungen wurden in einem zweiten Schritt am Gaschromatographen mit Massenspektrum (GC-MS) und am Hochdruckflüssigkeitschromatographen mit Brechungsindex-Detektor (HPLC-RI) durchgeführt. Hierzu wurden zehn Gärsubstratproben unterschiedlicher Biogasanlagen auf ihren Gehalt an kurzketzigen Fettsäuren analysiert. Die Probenaufbereitung für die GC-Methode erfolgte durch Zugabe von H₂O, 17%-ige ortho-Phosphorsäure sowie internem Standard (2-Methylvaleriansäure) und anschliessendem Zentrifugieren (40 000 rpm, 15 min). Die Probenaufbereitung für die HPLC-Messung erfolgte ähnlich: Zugabe von H₂O und 0.2 M Schwefelsäure, danach Zentrifugieren (40 000 rpm, 15 min) und filtrieren. Bei beiden Methoden wurden die Proben in Vials aufgefangen und bis zur Messung im Kühlschrank gelagert (1–2 Tage). Die Ergebnisse zeigen, dass beide Methoden zur Analyse von kurzketzigen Fettsäuren erfolgreich etabliert werden konnten. Dies konnte bestätigt werden, durch den Vergleich mit Messungen aus zwei externen Laboren. Die Standardabweichung aller Messungen (intern und extern) betrug im Durchschnitt 8%. Da alle Vergleichsmessungen die gleichen Tendenzen aufwiesen (Abb. 1) können zukünftig beide neu etablierten Methoden zur qualitativen sowie auch zur quantitativen Messung von kurzketzigen Fettsäuren in Gärsubstratproben von Biogasanlagen eingesetzt werden.

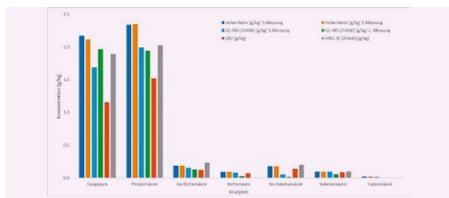


Abb. 1: Konzentration kurzketziger Fettsäuren am Beispiel einer ausgewählten Gärsubstratprobe. Vergleich der Ergebnisse der Messungen mit der neu etablierten internen Messmethode und Ergebnissen aus zwei Referenzlaboren.

Untersuchung der Machbarkeit der *in-situ* Methanisierung anhand der Betriebsdaten einer realen Biogasanlage (vertraulich)



| | |
|--------------------|---|
| Diplomand | Luca Tosoni |
| Korrektor/-in ZHAW | Dr. Judith Krautwald, Dr. Wolfgang Merkle |

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

Die Aufwertung von Biogas mittels der *in-situ* Methanisierung bietet eine attraktive Möglichkeit, überschüssig gewonnene grüne Energie aus Wind- und Sonnenenergie effizient zu speichern. Als mögliche Lösung bietet sich das Power-to-Gas-Prinzip (P2G) an, wobei überschüssig gewonnene elektrische Energie dazu verwendet wird, um mittels Elektrolyse Wasser in Wasserstoff und Sauerstoff umzuwandeln. Der so gewonnene Wasserstoff kann in einem weiteren Prozessschritt mit Kohlenstoffdioxid zu Methan umgesetzt werden. Diese so genannte Methanisierung kann technisch mittels Katalysatoren oder biologisch mit Hilfe von *Archaeen* erfolgen. Die biologische Methanisierung erfolgt durch die Aufwertung von Biogas, welches bereits zu einem Grossteil aus Methan und Kohlenstoffdioxid besteht. Durch die Aufwertung mit Hilfe der Methanisierung wird das im Biogas enthaltene Kohlenstoffdioxid von

den *Archaeen* zusammen mit dem durch die Anwendung von P2G gewonnenen Wasserstoff umgesetzt, wodurch der Methananteil im Biogas gesteigert werden kann. Die biologische Aufwertung von Biogas kann durch zwei verschiedene Prozessmethoden erfolgen. Eine Möglichkeit ist die *ex-situ* Methanisierung, wobei das produzierte Biogas in einem, von der Biogasanlage getrennten, Bioreaktor aufgewertet wird. Eine weitere Möglichkeit bildet die *in-situ* Methanisierung. Dabei wird der gewonnene Wasserstoff direkt dem Fermenter der Biogasanlage zugeführt. Die *in-situ* Methanisierung zeichnet sich besonders dadurch aus, dass im Gegensatz zu anderen Methoden der Methanisierung ein geringerer Investitionsaufwand für die Betreiber von Biogasanlagen erwartet wird, da die Aufwertung direkt im Fermenter der Biogasanlage erfolgt. Die Bachelorarbeit beschäftigte sich mit der *in-situ* Methanisierung und erarbeitete u. a. Grundlagen, die als Vorbereitung für ein Forschungsprojekt an der Fachstelle Umweltbiotechnologie gedacht sind.

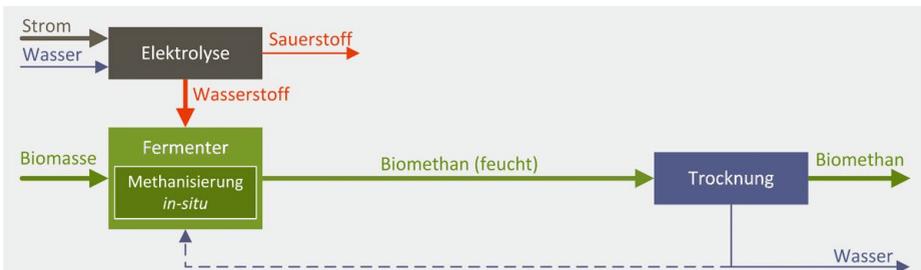


Abb. 1: Die Abbildung zeigt schematisch die *in-situ* Methanisierung auf, die direkt im Fermenter der Biogasanlage stattfindet.

Implementation von Single-Use-Systemen in der Produktion von monoklonalen Antikörpern unter GMP-Bedingungen (vertraulich)



| | |
|-------------------------|--|
| Diplomand | Kim von Däniken |
| Korrektor ZHAW | Prof. Dr. Dieter Eibl |
| Korrektor extern | Simon Cuppuleri, F. Hoffmann-La Roche AG |

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

Heutzutage steigt die Nachfrage von Biopharmazeutika durch Schwellenländer stetig an. Gleichzeitig erhalten mehr Biosimilars eine EU-Zulassung. Dadurch erhöht sich zunehmend der Kostendruck auf Produkte der F. Hoffmann-La Roche AG. Mit neueren, effizienteren Verfahren sollen Kosten gesenkt und der Herstellungsprozess optimiert werden. Eine Technologie, welche den Wandel hin zu effizienterer Produktion unterstützen soll, sind Single-Use-Systeme (SUS). Ziel dieser Arbeit war es, SUS in der Produktion von monoklonalen Antikörpern unter GMP-Bedingungen zu implementieren. Dazu wurde die Implementation für ein bestehendes Setup evaluiert,

welches für die pH-Regelung der 20 L und 80 L Fermenter verwendet wird.

Die Implementationsentscheidung wurde anhand der Resultate der Kosten- und Nutzwertanalyse zusammen mit dem Management getroffen. Anschliessend sind die User Requirements Specification und die technische Zeichnung erstellt und an drei Zulieferfirmen ausgeschrieben worden. Im letzten Schritt wurde der weitere Qualifizierungs- und Implementationsablauf theoretisch untersucht.

Es konnte aufgezeigt werden, dass mit der Verwendung eines SU-Setups Einsparungen im mittleren fünfstelligen Bereich erzielt werden können. Weiter bietet das SU-Setup einen höheren Nutzen. So zeichnet sich dieses durch ein einfacheres Handling, bessere Materialeigenschaften sowie eine höhere Maschinenverfügbarkeit aus. Letzteres wird durch das Wegfallen der Reinigungs- und Autoklavierungsschritte ermöglicht.



Abb. 1: Mehrfachverwendbares Setup, welches ersetzt werden soll.

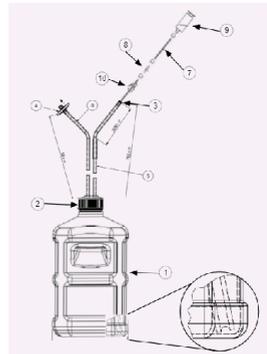


Abb. 2: Technische Zeichnung (Entwurf) des vorgeschlagenen Single-Use-Setups.

Innovative Wirkstoffverteilungssysteme auf Biopolymer-Basis



| | |
|--------------------|--------------------------------------|
| Diplomandin | Noémi Sinah Weiss |
| Korrektor/-in ZHAW | Dr. Andrea Baier, BSc Jannik Saladin |

Die Pharmazeutische Technologie und Pharmakologie beschäftigen sich unter anderem mit Tätigkeiten zur Entwicklung und Herstellung von innovativen Wirkstoffen, Materialien und Technologien zur Behandlung, Vorbeugung als auch Erkennung von Krankheiten. Eine zentrale Rolle übernimmt dabei die zielgerichtete Verteilung des Wirkstoffes im menschlichen Organismus, welche zum Ziel hat, die Konzentration sowie Dauer des Arzneistoffs im Blutplasma zu kontrollieren, ein Pharmakon gezielt an spezifische Zellen zu applizieren und Gewebe- und Zellbarrieren zu überwinden. Dabei sind sowohl der Wirkstoff sowie dessen Grundlagenforschung als auch die für die Formulierung eingesetzten Hilfsstoffe für eine zielführende Therapie von fundamentaler Wichtigkeit. Diese Hilfsstoffe können synthetischen oder natürlichen Ursprungs sein, wobei Letztere immer mehr an Relevanz gewinnen. Zum einen aufgrund der Erneuerbarkeit und dem damit verbundenen Schutz der natürlichen Ressourcen und zum anderen angesichts der Tatsache, dass Biomaterialien eine geringere Toxizität sowie erhöhte Stabilität aufweisen.

Ziel dieser Arbeit ist die Entwicklung innovativer Wirkstoffverteilungssysteme auf Biopolymerbasis, wobei unterschiedliche Materialien sowie Herstellungstechnologien experimentell und bezüglich deren Potential für pharmazeutische Anwendungen untersucht werden. Besonderes Interesse kommt dabei dem Speicherprotein Zein zu, welches aus dem Mais gewonnen wird und stark hydrophobe Eigenschaften

besitzt. Das Ziel ist die Auftragung von Zein mittels Foliengussverfahren (siehe Abb. 1) und Elektrospinning auf Gazen zur transdermalen Applikation, zumal der verwendete Modellwirkstoff Cannabigerol (CBG) aufgrund der antimikrobiellen Hemmung von Methicillin-resistentem *Staphylococcus aureus* (MRSA) neue Anwendungsgebiete bezüglich der Behandlung von entzündeten Wunden aufweist. Vollständigkeitshalber werden die gleichen Experimente mit der hydrophilen Referenzsubstanz Pullulan durchgeführt und äquivalent zu CBG der Modellwirkstoff Niacinamid eingearbeitet. Der wasserlösliche Modellwirkstoff, welcher in Pullulan eingearbeitet wird, kann zur Behandlung einer durch Niacinmangel ausgelösten Dermatitis eingesetzt werden. Die transdermale Aufnahme von Niacin wirkt dem Mangel entgegen, wobei der Zusatz von pflegenden Substanzen zusätzlich eine topische Hemmung von Hautirritationen bewirkt. Die angewendeten Verfahren werden vorgängig bezüglich der Parameter optimiert (siehe Abb. 2) und anschliessend insbesondere hinsichtlich deren Wirkstofffreisetzung verglichen, um die Eignung und Anwendung zu Therapie Zwecken aufzuzeigen.



Abb. 1: Wirkstoffbeladene Zeinfolie auf eine beidseitig beschichtete Wundgaze aufgetragen.

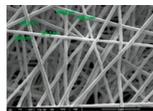


Abb. 2: Mittels Elektrospinning hergestellte Nanofasern aus Pullulan und Niacin.

Design, Expression und Aufreinigung des löslichen extrazellulären Teiles des Membranprotein Siglec-9 mittels einem Tag-System



| | |
|------------------|--|
| Diplomand | Misha Wild |
| Korrektoren ZHAW | Prof. Dr. Jack Rohrer, Dr. Bruno Filippi |

9 der 12 meistverkauften Medikamente sind Antikörper (AK). Es erstaunt deshalb nicht, dass die Produktion dieser Proteine eines der zentralen Anliegen der Pharmaindustrie geworden ist. Dabei wird für die Herstellung von AK ein gereinigtes Zielprotein in ein Kaninchen gespritzt. Als Antwort stellt das Immunsystem des Kaninchens eine Vielfalt von AK gegen das gespritzte Protein her.

Handelt es sich beim Zielprotein jedoch um ein komplexes Membranprotein, wird die Herstellung und Reinigung bedeutend schwerer, denn solche Proteine können nur mithilfe von Detergenzien und chaotropischen Reagenzien von der Membran isoliert werden. Dadurch ist die Reinigung deutlich zeitintensiver und teurer als diejenige eines sekretierten Proteins. Darum wird in dieser Arbeit eine neue Methode untersucht.

Diese wurde zuerst mit einem einfachen Protein wie Siglec-9 etabliert, mit dem Ziel, diese später auf komplexe Proteine wie GPCRs anzuwenden.

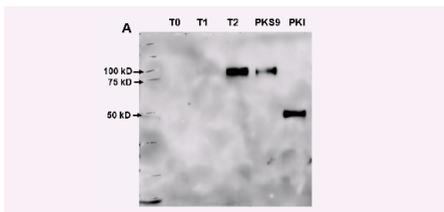


Abb. 1: Der Western Blot zeigt, dass nach 48 h (T2) das Protein sSig-9-Fc von den HEK293F Zellen ins Medium sekretiert wird. PKS9 und PKI sind Positivkontrollen.

Dabei wurde versucht, nur den löslichen extrazellulären Teil des Typ 1 Membranproteins Siglec-9 von den HEK293F Zellen exprimieren zu lassen. Weiter wurde das rekombinante Protein, welches nun in das Medium sekretiert wird, mit einem His-Tag (sSig-9-His) oder Fc-Tag (sSig-9-Fc) versehen, wodurch die Reinigung deutlich vereinfacht wird.

In dieser Arbeit wurden die dazu nötigen Expressionsvektoren erfolgreich kloniert und die Zellen wurden damit erfolgreich transient transfiziert. Dabei konnte nach 48 h mittels Western Blot das Protein sSig-9-rFc im Medium nachgewiesen werden. sSig-9-His wurde nicht exprimiert und konnte nicht im Medium nachgewiesen werden.

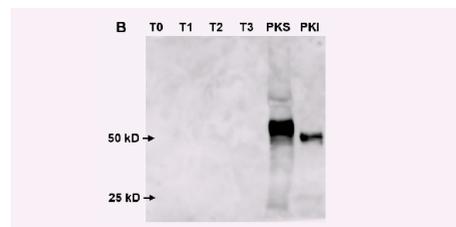


Abb. 2: Der Western Blot zeigt, dass zu keinem Zeitpunkt (T0–T3) das Protein sSig-9-His im Medium vorhanden war. PKS und PKI sind Positivkontrollen.

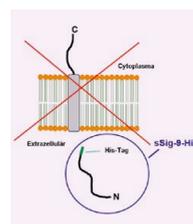


Abb. 3: Darstellung der löslichen Form von Siglec-9 (sSig-9-His). Dabei wird nur die extrazelluläre Domäne des Siglec-9 exprimiert (im violetten Kreis). Weiter wurde am C-Terminus ein His-Tag angehängt. Rot durchgestrichen ist die Transmembrandomäne und der Cytoplasmachwanz des Siglec-9.

Beschichtung von Silikonimplantaten zur pharmakologischen Hemmung der Kapselbildung (vertraulich)



| | |
|------------------------------|--|
| Diplomandin | Mira Witzig |
| Korrektor/-innen ZHAW | Dr. Steffi Lehmann, Dr. Dominik Brühwiler, BSc Andrina Schmid |

Das beschriebene Projekt steht unter Geheimhaltungspflicht. Es wurde in Zusammenarbeit mit der Universität Zürich (UZH) und dem Universitätsspital Zürich (USZ) durchgeführt. Aus Gründen der Vertraulichkeit wird die Arbeit hier nur summarisch zusammengefasst.

Brustvergrößerungen und -rekonstruktionen sind die meistdurchgeführten Schönheitsoperationen weltweit. Trotz diverser Fortschritte in der chirurgischen Operationstechnik und der Beschaffenheit der eingesetzten Silikonbrustimplantate ist der Eingriff nach wie vor mit einer Vielzahl möglicher Risiken verbunden. Diesbezüglich bildet sich als Hauptkomplikation in 2.5–14% der Fälle eine Kapselbildung als übermässige Fremdkörperreaktion gegenüber den Implantaten aus. Dies geht mit der Bildung einer kontrahierbaren Kapsel einher, was zu Schmerzen, Festigkeit und Deformierung der Brust führen kann. Um die dadurch verursachten Reoperationsraten zu

senken, wurde in dieser Bachelorarbeit die Oberflächenmodifikation von Silikonimplantaten untersucht, mit dem Ziel, eine langanhaltende Freisetzung eines pharmakologisch aktiven Moleküls zu ermöglichen und damit die Ausbildung einer fibrotischen Kapsel therapeutisch zu hemmen.

Zur Realisierung des Projektes wurde zunächst eine geeignete Wirkstoff-Beschichtungsmethode für Silikonimplantate etabliert. Die Beschichtungen wurden hinsichtlich mechanischer Beständigkeit geprüft. Verschiedene Wirkstoffkandidaten mit antiinflammatorischer oder antifibrotischer Wirkung zur Hemmung der Kapselbildung wurden anschliessend *in silico* bezüglich der Verwendung in Implantatsbeschichtungen analysiert. Dabei konnten vielversprechende Wirkstoffkandidaten herausgefiltert werden.

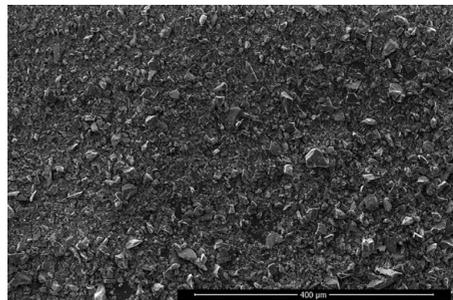
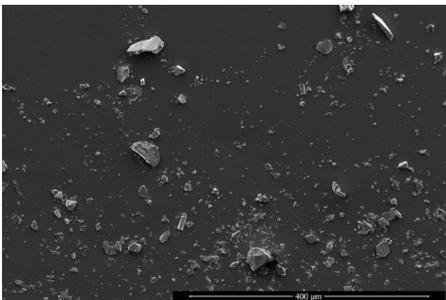


Abb. 1: Silikonbrustimplantat vor (links) und nach (rechts) der Beschichtung mit einem Wirkstoff-Layer, aufgenommen mittels Rasterelektronenmikroskop.

Rekombinante Herstellung eines viralen Proteins zur Detektion von einem pflanzenpathogenen Virus (vertraulich)



| | |
|-------------------------|---|
| Diplomand | Tobias Wyser |
| Korrektoren ZHAW | Prof. Dr. Martin Sievers, Dipl. Ing. (FH) Tobias Wermelinger |

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

Weltweit werden Tonnen von Saatgut von Nutzpflanzen für die Landwirtschaft verschickt. Saatgut, welches Pathogene enthalten und beim empfangenden Landwirt durch Übertragen des Erregers auf den Anbau zum Totalverlust der Ernte führen kann. Um dies zu verhindern, wird das versendete Pflanzenmaterial auf Pathogene überprüft. Dabei kommen Nachweismethoden, basierend auf «Reverse Transcription»-PCR und Antikörpern, wie beispielsweise bei der ELISA Methodik, zum Einsatz. Wirtswechsel und genetische Variabilität führen dabei ständig zu neuen Pathogenen, für welche neue diagnostische Tests entwickelt werden müssen.

Die Antikörper zur Identifikation eines Pflanzenpathogens können dabei durch Immunisierung via Säugetiere hergestellt werden. Die Molekularbiologie ermöglicht rekombinant in hoher Reinheit virales Protein zu produzieren. Im Rahmen dieser Arbeit wurden unterschiedliche Klonierungsstrategien für die Expression eines antigenen Proteins eines pflanzenpathogenen Virus betrachtet. Über den Vektor pRSETA und verschiedene *E. coli* Stämme wurde das Protein in Form eines mit einem His-Tag ergänzten Fusionsprotein exprimiert.

Zur Aufreinigung musste ein Verfahren zur Lösung der Einschlusskörperchen mit Harnstoff entwickelt werden, bevor das Fusionsprotein mit einer Affinitätschromatographie von dem High-End Aufreinigungssystem ÄKTA pure aufgereinigt werden konnte. Ein Nachweis für die Expression wurde via Western-Blot und Immunfärbung mit «His-Tag»-affinen Antikörpern erbracht. Dabei wurden diverse biotechnologische Schwerpunkte wie die Medienzusammensetzung, Induktionszeitpunkt und Chromatographie betrachtet und optimiert.

Wissenschaftliche Begleitung der Inbetriebnahme einer zweistufigen Vergärung



| | |
|------------------|--|
| Diplomandin | Rine Zyberaj |
| Korrektoren ZHAW | Dr. Hans-Joachim Nägele, Dr. Wolfgang Merkle |

Die Firma WIGAKO AG in Süderen (BE) betreibt eine Biogasanlage mit Hofdünger aus der Rindvieh-, Schweine- und Geflügelhaltung und unterschiedlichen gewerblich-industriellen Einsatzstoffen. Der Biomethanertrag schwankt jedoch erheblich in Abhängigkeit der Zusammensetzung der Einsatzstoffmischung. Um einen stabileren Prozess zu gewährleisten und den Biomethanertrag zu erhöhen, wird eine Umrüstung der Anlage in eine zweistufige Vergärung angestrebt. Jedoch ist die Einsatzstoffmischung für einen solchen Betrieb der Anlage bisher noch nicht optimiert worden. Besonders dem Abbau des Fettschlamms aus der industriellen Öl- und Fettverarbeitung kommt hierbei eine wichtige Rolle zu.

Ziel dieser Arbeit war es deshalb, den Einfluss unterschiedlicher Fettschlammkonzentrationen auf den Biomethanertrag zu untersuchen. Hierfür wurden Laborversuche im Batch mit Inokulum aus dem Fermenter 1 bzw. Nachgärer und bei verschiedenen Temperaturen durchgeführt. Zusätzlich wurde das Restme-

thanpotenzial der verschiedenen Inokula ermittelt.

Die Ergebnisse zeigen, dass je nach Inokulum bzw. Temperatur unterschiedliche Fettschlammkonzentrationen besser abgebaut werden. In den Laborversuchen mit Inokulum aus dem thermophil (55 °C) betriebenen Fermenter 1 war der spezifische Methanertrag mit 985 ± 55 mL/g oTR bei einer Fettschlammkonzentration von 3 g/L tendenziell am grössten. Im Vergleich dazu lag der spezifische Methanertrag bei der Fettschlammkonzentrationsvariante mit 1 g/L bei 719 ± 231 mL/g oTR und mit 5 g/L bei 818 ± 108 mL/g oTR. Bei den mesophil (37 °C) betriebenen Varianten mit Inokulum aus dem Nachgärer zeigte die Fettschlammkonzentration von 5 g/L tendenziell den höchsten spezifischen Methanertrag mit 799 ± 26 mL/g oTR auf. Das grösste Restmethanpotenzial wurde beim Inokulum aus dem Nachgärer bzw. Fermenter 2 festgestellt und betrug 0.66 ± 0.10 mL/g oTR bzw. 0.65 ± 0.03 mL/g oTR.

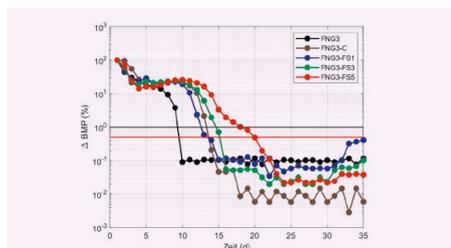


Abb. 1: Die relative Änderung der Methanbildung der Proben aus dem Nachgärer mit den drei Fettschlammkonzentrationen FS1, FS3, FS5.

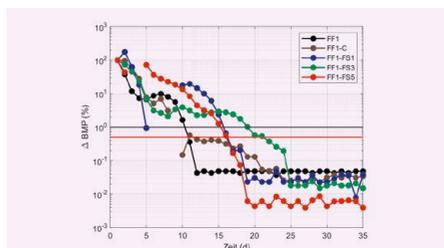


Abb. 2: Die relative Änderung der Methanbildung der Proben aus dem Fermenter 1 mit den drei Fettschlammkonzentrationen FS1, FS3, FS5.



ZHAW LSFM
Jetzt als APP!



ZHAW LSFM
Jetzt als APP!





Nach dem Studium
können Sie
komplexe
biotechnologische
Aufgaben lösen
und Führungs-
verantwortung
übernehmen.

Institut für Chemie und Biotechnologie (ICBT)

Das Institut für Chemie und Biotechnologie (ICBT) bringt gezielt die Kompetenzen zusammen, die im konvergierenden Fachgebiet von Chemie und Life Sciences immer stärker zusammenwirken. Es fokussiert auf die Anliegen von KMU, Gewerbe und Industrie in der Pharma-, Chemie- und Umweltbranche. Entstanden ist es aus den beiden etablierten ZHAW-Instituten, dem Institut für Biotechnologie und dem Institut für Chemie und Biologische Chemie.

Im ICBT finden Sie folgende strategische Schwerpunkte in Forschung und Dienstleistungen:

- **Analytische Chemie**
- **Biochemie, Proteintechnologie und Bioanalytik**
- **Chemische und biotechnologische Prozesse und Anlagen**
- **Mikro-, Molekular- und Zellbiologie, Tissue Engineering**
- **Pharmazeutische Technologie, Medizinalchemie und Phytopharmazie**
- **Synthese und neue Materialien**

Lehre

Das Institut präsentiert sich in der Lehre durch zwei Bachelorstudiengänge: in Biotechnologie «Bachelor of Science ZFH in Biotechnologie» mit den Vertiefungen «Biotechnologie» und «Pharmazeutische Technologie» und in der Chemie «Bachelor of Science ZFH in Chemie» mit den Vertiefungen «Chemie» und «Biologische Chemie».

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

Weiterbildung

Das Institut bietet neben der Lehre massgeschneiderte Weiterbildungsprogramme an: Individuelle Weiterbildungen für Firmen werden an den speziellen Kundenbedürfnissen ausgerichtet. Internationale Fachtagungen und das «CAS in the Science and Art of Coffee» runden das Portfolio ab.

Forschung, Entwicklung und Dienstleistungen

In seiner Lehr- und Forschungstätigkeit fokussiert das ICBT auf die Anliegen von KMU, Gewerbe und Industrie aus den Gebieten der Chemie-, Pharma- und Umweltbranche. Forschungs- und Entwicklungsprojekte: Ergebnisse der Grundlagenforschung setzen wir um in marktgerechte Produkte und Dienstleistungen.

Projekte:

Beispiele von unseren

Forschungsprojekten finden Sie unter:

www.zhaw.ch/de/Isfm/forschung/chemie-und-biotechnologie

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.

www.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.

www.zhaw.ch/icbt/weiterbildung

Tagungen

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

www.zhaw.ch/de/isfm/weiterbildung/fachtagungen/





Melanie

Absolventin Pharmaceutical
Biotechnology

«Den Patienten bessere Therapie-
möglichkeiten bieten dank
Zusammenarbeit zwischen Pharma-
industrie und Ärzten.»

Porträt Masterabsolventin: Melanie Huber

Vorbildung: Bachelor of Science in Biotechnology, Vertiefung Pharmazeutische Technologie

Studium: Master of Science ZFH in Life Sciences

Welches sind Ihre Tätigkeitsgebiete und Verantwortlichkeiten?

Als MSL (Medical Science Liaison) bei AbbVie AG bin ich als medizinischer Aussendienst für die ganze Schweiz zuständig. Ich informiere die Ärzte über die wissenschaftlichen Daten unserer Produkte und bin auch mitverantwortlich für das Training der Salesforce. Selber bin ich aber nicht im Sales tätig, doch unterstütze diese, wenn es um wissenschaftliche Fortbildungen bei einem Kunden geht, die z. B. Diskussionen zu den Krankheitsbildern und spezifische Therapiemöglichkeiten umfassen. Spannend ist auch meine Mitarbeit bei Studien, welche in der Schweiz durchgeführt werden. Es handelt sich meistens um Postmarketing observationelle Studien, wo ich unter anderem für die Initiation und das Monitoring zuständig bin.

Was schätzen Sie in Ihrer Tätigkeit besonders?

An meiner Tätigkeit gefallen mir die Zusammenarbeit und die Gespräche mit den Ärzten besonders gut. Unser tolles Team und die Vielseitigkeit meiner Aufgaben schätze ich sehr. Zum einen die spannende Zusammenarbeit mit dem Verkauf, wo wir uns sehr gut ergänzen, zum anderen auch meine Arbeit im Feld, wo ich Ärzte besuche sowie Advisory Boards mitgestalten und auch Projekte durchführen kann. Mein Arbeitsplatz ändert sich jeden Tag. Da ich für die ganze Schweiz zuständig bin, reise ich viel. Zwischendurch bereite ich mich im Homeoffice auf meine Termine vor und auch das Besuchen von Kongressen gehört mit zu meinen Tätigkeiten. Mein Wissen aus dem Studium kann ich täglich immer wieder anwenden.

Worin liegen die Herausforderungen?

Es ist immer eine Herausforderung, auf dem neusten Stand zu sein und die aktuellsten Daten präsent zu haben. Auch auf die verschiedenen Ärzte eingehen zu können, deren Bedürfnisse zu erkennen und darauf reagieren zu können, ist eine meiner täglichen Herausforderungen.

Warum haben Sie sich für dieses Masterstudium entschieden?

Nach dem Bachelorstudium in Biotechnologie wusste ich, dass ich in diesem Themengebiet noch mehr dazulernen möchte. Ich hatte festgestellt, dass ich nicht in der Forschung selber tätig sein will, sondern ahnte schon bald, dass ich in Richtung Pharmaindustrie tendiere. Um mich in diese Branche einbringen zu können, absolvierte ich schliesslich noch das Masterstudium.

Hat das Studium Ihre Erwartungen erfüllt? Was war für Sie besonders wertvoll?

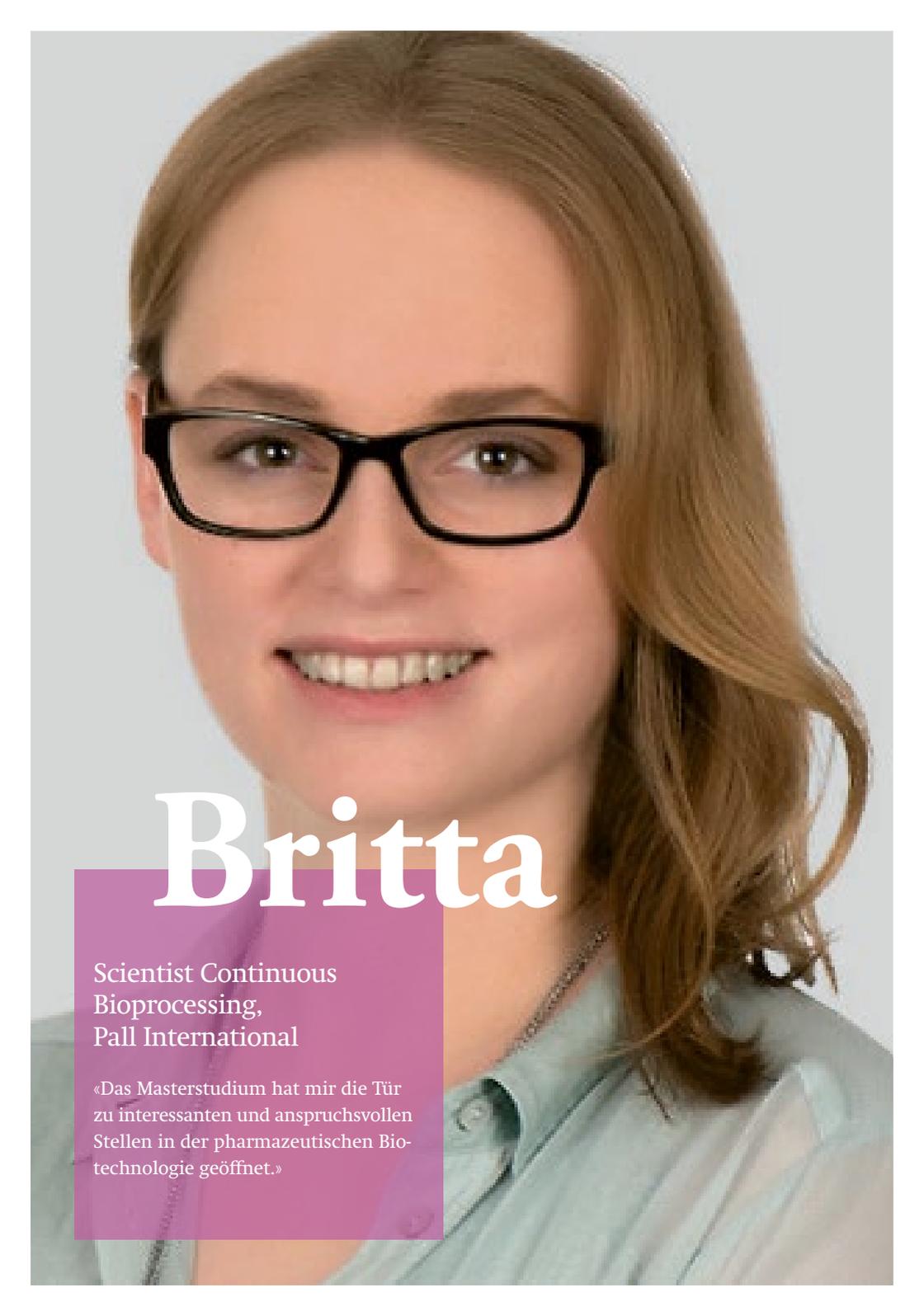
Der fachspezifische Teil des Studiums hat mir sehr viel gebracht und ich kann heute noch viel daraus ziehen. Auch die Wochenkurse in Spiez haben Spass gemacht, da ich dort die anderen Studenten und deren Studiengänge besser kennengelernt habe. Durch die Module in Bern konnte ich in andere Fachdisziplinen reinschauen und so das für mich Relevante mitnehmen.

Zu welchem Thema haben Sie Ihre Masterthesis verfasst?

Meine Masterthesis habe ich in der Pharmazeutischen Technologie zum Thema «Formulierung und Charakterisierung von topischen halbfesten Darreichungsformen mit Interleukin-1 α » verfasst. Dies war ein Projekt einer Kosmetikfirma, welche IL-1 α als Anti-Aging-Inhaltsstoff einsetzt. Ich wollte die Wirkung von IL-1 α in Hautmodellen sowie auch eine Möglichkeit, das Protein in einer kosmetischen Darreichungsform stabil zu halten, aufzeigen.

Wem würden Sie ein solches Studium weiterempfehlen?

Aus meiner Sicht eignet sich das Studium vor allem für Personen, die sich nicht nur auf ein Spezialgebiet konzentrieren möchten. Sie müssen sich für die Forschung selber, aber auch alles rundherum begeistern. Das Studium erweitert das zukünftige Tätigkeitsfeld.

A portrait of a woman with long, wavy brown hair, wearing black-rimmed glasses and a light blue button-down shirt. She is smiling slightly. The background is a plain, light grey color. A purple rectangular box is overlaid on the bottom left of the image, containing text.

Britta

Scientist Continuous
Bioprocessing,
Pall International

«Das Masterstudium hat mir die Tür
zu interessanten und anspruchsvollen
Stellen in der pharmazeutischen Bio-
technologie geöffnet.»

Porträt Masterabsolventin: Britta Manser

Vorbildung: Bachelor of Science in Biotechnology ZHAW, Drogistin mit BMS

Studium: Master of Science ZFH in Life Sciences

Welches sind Ihre Tätigkeitsgebiete und Verantwortlichkeiten?

Im Scientific Laboratory Support Team bei Pall Life Sciences bin ich für die wissenschaftliche Beratung unserer internationalen Kunden zuständig. Mein Fachgebiet liegt bei Technologien und Fragestellungen zum Continuous Bioprocessing.

Was schätzen Sie in Ihrer Tätigkeit besonders?

Mein Beruf ist sehr abwechslungsreich, da ich sowohl in der Industrie als auch in der Entwicklung arbeite. Ich schule Kunden oder plane und führe mit ihnen zusammen Projekte im Labor durch. Ausserdem habe ich die Möglichkeit, interne Entwicklungsarbeit zu unterstützen, Veröffentlichungen zu schreiben und Fachvorträge an Konferenzen zu halten.

Worin liegen die Herausforderungen?

Eine Herausforderung meiner Stelle liegt darin, dass sich das Feld des Continuous Bioprocessing sehr schnell weiterentwickelt und stets neue Publikationen veröffentlicht und neue Technologien vorgestellt werden.

Warum haben Sie sich für dieses Masterstudium entschieden?

Nach dem Bachelorstudium in Biotechnologie wollte ich mein Wissen im Bereich der biotechnologischen Herstellung von Arzneimitteln vertiefen und mit der Masterarbeit weitere Arbeitserfahrung sammeln. Das Masterstudium vermittelt zudem Themen des Downstream-processing und ergänzt damit den Bachelorstudiengang ideal.

Hat das Studium Ihre Erwartungen erfüllt?

Was war für Sie besonders wertvoll?

Das Masterstudium hat mich mit der Kombination von fachspezifischen Modulen mit interdisziplinären Kursen sehr gut auf meine jetzige Stelle vorbereitet. Ich konnte sowohl mein Wissen in der Biotechnologie festigen als auch meinen Horizont mit Kursen wie

Datenmanagement oder Marketing erweitern. Zudem konnte ich während des Studiums wertvolle Kontakte knüpfen.

Zu welchem Thema haben Sie Ihre Master Thesis verfasst?

Meine Masterarbeit habe ich im Fachgebiet der Zellkulturtechnik verfasst und dabei ein neues Verfahren der Baculovirusinfektion von Insektenzellen untersucht, mit welchem Proteine schneller und kostengünstiger produziert werden können.

Wem würden Sie ein solches Studium weiterempfehlen?

Ich empfehle das Studium vor allem Personen, welche sich praxisorientiert und interdisziplinär weiterbilden möchten. Auch wer sich mit der Masterarbeit auf ein Fachgebiet konzentrieren möchte und mehr Erfahrung sammeln will, ist beim Masterstudium richtig.

Alle Absolventenporträts finden Sie auch online
[www.zhaw.ch/icbt/
master-biotechnology](http://www.zhaw.ch/icbt/master-biotechnology)

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 finden Sie unter: www.zhaw.ch/lsfm/international



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/



IAESTE
SWITZERLAND

Premium Partner von IAESTE Switzerland



Unterstützt durch

**HASLER
STIFTUNG**

Smart Labs – Digitalisierung in der biotechnologischen F&E

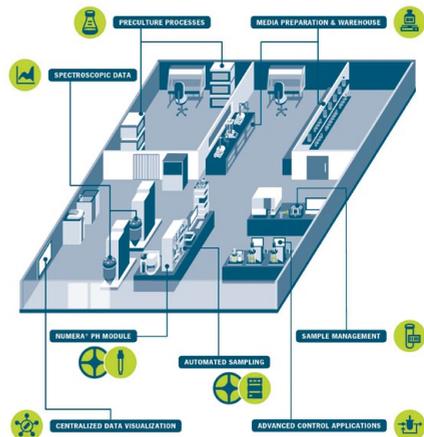
Fachgruppe Bioproszess-technologie, ICBT

Digitalisierung, Data Sciences und Automatisierung halten rasch Einzug in den Alltag der naturwissenschaftlichen Forschung und Entwicklung – mehr denn je in Zeiten veränderter arbeitstechnischer Rahmenbedingungen zur Bewältigung einer globalen Krise. Biotechnologische Verfahren sind seit jeher gekennzeichnet durch einen hohen Grad an Technisierung. Fachkräfte in Laboren wie Produktionsanlagen bedienen sich einer Vielzahl komplexer Geräte, welche grosse Mengen an Daten generieren. Einmal erfasst, müssen sie ausgewertet, kontextualisiert und zeitnah als Entscheidungsgrundlage zur Verfügung gestellt werden.

Hier liegt das Potential, und zugleich die Herausforderung, zunehmend digitalisierter Arbeitsabläufe. Mensch und Maschine müssen reibungslos kommunizieren, über die Grenzen verschiedener Systeme und Abteilungen hinweg («Industrie 4.0»). Idealerweise sind alle Prozessschritte, vom Rohmaterial, über Medienherstellung, Bioprozess bis Qualitätskontrolle, in einer zentralen Plattform zusammengeführt. Die effiziente Nutzung von Machine-Learning oder anderen KI-gestützten Verfahren ist so möglich, und ein einfacher Zugang gewährleistet – vor allem im Labor – aber auch von Mobilien Devices, aus dem Büro oder Home-Office.

Um nicht im Daten-Dschungel unterzugehen, sind «smarte» Lösungen gefordert: Die richtige Information, zur richtigen Zeit, an die richtige Stelle. Derzeit entsteht in einem interdisziplinären Entwicklungsprojekt der Securecell AG, einem Schweizer Spezialisten für Überwachung, Steuerung und Automatisierung biotechnologischer Anlagen, und der FG Bioproszess-technologie des ICBT, das «i2BPLab», ein Prototyp des digitalisierten Labors. Forschungspartner wie Studierende können hier die Möglichkeiten einer smarten, voll vernetzten F&E Infrastruktur praktisch erfahren. Die Biotechnologen der Zukunft müssen keine Programmierer sein – aber sollten 4.0-Lösungen gezielt für ihre Zwecke einsetzen können.

Kontakt: Dr. Lukas Neutsch





ZHAW LSFM

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 13000 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 rund 1600 Studierende immatrikuliert und 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 fünf Bachelor- und drei Masterstudiengänge sowie ein breites Weiterbildungsangebot. Das Bachelorstudium führt zur Berufs-

befähigung 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

Fünf forschungsstarke Institute in den Bereichen Chemie und Biotechnologie, Lebensmittel- und Getränkeinnovation, Umwelt und natürliche Ressourcen, Angewandte Simulation sowie Facility Management 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.

ZHAW Campus Reidbach / Einsiedlerstrasse

ZHAW Campus Reidbach / Seestrasse

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
www.zhaw.ch/icbt

