

Bachelorarbeiten Chemie 2024



Inhaltsverzeichnis

Vorwort 5

**Diplomandinnen
und Diplomanden** 6

| | |
|-----------------------|----|
| Sascha Buchmann | 6 |
| Jonah Eyer | 7 |
| Nilas Gantner | 8 |
| Julia Gaudenzi | 9 |
| Deniz Gyr | 10 |
| Fabian Kuhn | 11 |
| Alois Lardinois | 12 |
| Martina Lichtsteiner | 13 |
| Lorena Minutella | 14 |
| Cornel Niederhauser | 15 |
| Butrint Nikqi | 16 |
| Melanie Noser | 17 |
| Alessandro Paradiso | 18 |
| Alain Pfammatter | 19 |
| Marco Randon | 20 |
| Janis Roth | 21 |
| Somaia Salem | 22 |
| Melanie Schwendimann | 23 |
| Alicia Sklenar | 24 |
| Natalie Stoll | 25 |
| Jacqueline Strassmann | 26 |
| Jessica Sturzenegger | 27 |
| Mjriam von Flüe | 28 |

| | |
|-----------------|----|
| Flavio Weibel | 29 |
| Jonas Wettstein | 30 |
| Sarah Wiebe | 31 |
| Belinda Wipf | 32 |

**Institut für Chemie und 34
Biotechnologie (ICBT)**

Perspektiven 36

ALUMNI ZHAW 39

Titelbild: Die mit Alizarinrot gefärbten Calcium-Ablagerungen in einer SAOS-2-Zellkultur deuten auf die Differenzierung der Zellen zu Osteoblasten hin.
Bild©: Bachelorarbeit von Alain Pfammatter, S. 19

Bachelorjahrgang CH21



Liebe Absolventinnen und Absolventen

Mit diesem Bachelor-Booklet halten Sie die gesammelten Abschlussarbeiten Ihres Bachelorjahrgangs Chemie in den Händen. Jedes Jahr blättere ich mit Neugier, Interesse und Freude durch diese Sammlung, die einen umfassenden Überblick über Ihre Ergebnisse bietet. Bereits am Anfang Ihres Studiums haben Sie den Grundstein für diese bemerkenswerten Erfolge gelegt.

Wir als betreuende Dozentinnen und Dozenten – von Natur aus optimistisch – waren uns jedoch immer sicher, und wir sind sehr stolz auf Sie und das, was Sie vollbracht haben.

Lassen Sie sich auch von den Arbeiten Ihrer Kommilitoninnen und Kommilitonen und von der thematischen Vielfalt beeindrucken. Vielleicht fällt Ihnen zu der einen oder anderen Arbeit eine Anekdote ein – mir geht es fast immer so.

In diesem Sinne wünsche ich Ihnen und allen anderen Leserinnen und Lesern eine interessante Lektüre und viele schöne Erinnerungen.

Ihr Achim Ecker



Studiengangleiter Chemie
Institut für Chemie und Biotechnologie

Polidocanol-Homologen-Verteilung und Charakterisierung



| | |
|---------------------------|----------------------|
| Diplomand | Sascha Buchmann |
| Korrektorin ZHAW | Dr. Susanne Kern |
| Korrektorin extern | Dr. Veronika Zelenay |

Nichtionische Tenside, insbesondere aliphatische Alkoholethoxylate, sind in verschiedenen Produkten wie Waschmitteln, Kosmetika und Pharmazeutika weit verbreitet. Dementsprechend gelangen grosse Mengen über die Abwasserreinigungsanlage in die Umwelt [1]. Die Synthese von Alkoholethoxylaten ist komplex und führt zu einer Vielzahl von Produkten mit unterschiedlicher Kettenlänge, was die Chromatographie erschwert. Die Beschaffung reiner Standards ist teuer und nicht immer garantiert, was die Analyse weiter erschwert [2].

Der Arzneistoff Polidocanol wurde zur Bestimmung der Inhaltsstoffe mit unterschiedlichen Kettenlängen, sogenannten Homologen mit der Formel $R(\text{OC}_2\text{H}_4)_n\text{OH}$, mittels einer entwickelten Flüssigkeitschromatographie-Methode (HPLC) in Kombination mit Massenspektrometrie analysiert. Die wichtigsten Addukte dieser Homologen, die mit Elektrospray-Ionisierung (ESI) und Matrix-unterstützter Laser-Ionisation (MALDI) gebildet werden, wurden untersucht. Es konnten 23 solcher Homologen mit unterschiedlichem Ethoxylierungsgrad (abgekürzt EO_n) nachgewiesen werden (Abb. 1). Zur Herstellung eigener Standards wurde eine Methode für präparative HPLC optimiert, um die einzelnen Homologen zu trennen (Abb. 2). Dadurch konnten 13 von 23 Homologen im Milligrammbereich mit einer Reinheit von $>90\%$ und einer Ausbeute von ca. $>60\%$ isoliert und

charakterisiert werden. Einzelne isolierte Homologen wurde auf ihre biologische Abbaubarkeit in Klärschlamm aus einer Abwasserreinigungsanlage untersucht. Dabei wurde ein rascher Abbau der Homologen und ihrer gebildeten Transformationsprodukte nachgewiesen.

- [1] J. Zembrzuska, I. Budnik und Z. Lukaszewski, Journal of Environmental Management, 169: 247–252, **2016**.
- [2] M. Supper, K. Heller, J. Söllner, T. Sainio und M. Kaspereit, Processes, 10: 2160, **2022**.

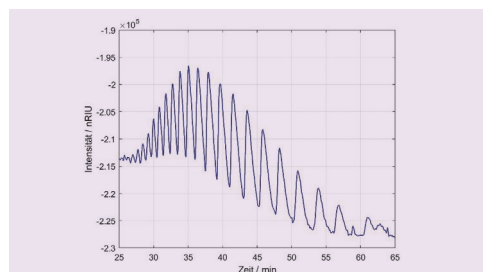


Abb. 1: Homologen-Verteilung von Polidocanol, gemessen mittels präparativer HPLC, zeigt Trennung von Ethoxylaten

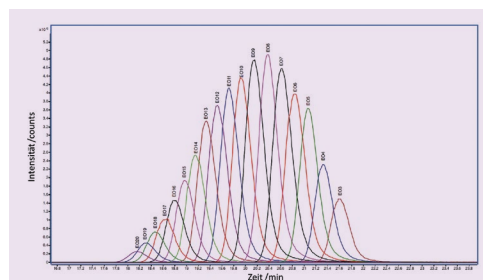


Abb. 2: HPLC-Chromatogramm mit Homologen-Verteilung von EO03–EO20 von Polidocanol, detektiert mittels Massenspektrometrie und ESI

Untersuchung von Schlüsselmutationen in Kemp-Eliminase-Varianten



Diplomand

Jonah Eyer

Korrektor/-in ZHAW

Prof. Dr. Rebecca Buller, Dr. Thomas Schwander

In der chemischen Industrie werden häufig Edelmetalle als Katalysatoren genutzt, um chemische Reaktionen zu beschleunigen oder zu ermöglichen. Doch Gewinnung, Verwendung und Entsorgung dieser Edelmetalle können umweltschädlich sein. Enzyme, natürliche Katalysatoren, bieten eine nachhaltige Alternative für die Produktion von Chemikalien. Biokatalysatoren übertreffen chemische Katalysatoren oft in Spezifität und Effizienz. Allerdings sind direkt aus der Natur isolierte Enzyme oft nicht robust genug für industrielle Anwendungen oder sie akzeptieren das relevante Startmaterial nur unzureichend. Daher wird häufig Enzym-Engineering eingesetzt, um Enzyme für industrielle Anwendungen zu optimieren.

Zur Durchführung der Kemp-Eliminierung, einer Modellreaktion für enzymkatalysierte Protonentransfer-Reaktionen, wurde 2012 ein Enzym (HG3) mittels *In-silico-Methoden* generiert und in zwei Evolutionskampagnen zu Varianten mit erhöhter Aktivität (HG3.17 und HG3.R5) weiterentwickelt. Diese Varianten zeigen eine vergleichbare Aktivität, unterscheiden sich aber in 29 Aminosäuresubstitutionen (Abb. 1). [1, 2]

Diese Arbeit untersuchte die mechanistischen Grundlagen der gesteigerten Aktivität der beiden Kemp-Eliminase-Varianten, die durch verschiedene Methoden der Enzymentwicklung entstanden sind. Schlüsselmutationen der hochaktiven

Varianten wurden strategisch entfernt oder in die jeweils andere eingeführt, um ihre Auswirkungen auf die Enzymaktivität zu untersuchen. Die Bestimmung von Michaelis-Menten-Parametern der positionellen Enzymvarianten zeigte, dass ein rationaler Austausch von Substitutionen zwischen den evolvierten Varianten ohne Aktivitätsverlust möglich war.

Eine biochemische Charakterisierung von Kemp-Eliminase-Varianten, die durch einen maschinellen Lernansatz entwickelt wurden, identifizierte vier weitere Varianten mit vergleichbarer katalytischer Effizienz wie HG3.17 und HG3.R5.

- [1] R. Blomberg *et al.*, Nature 503, 418–421, **2013**.
- [2] D. Patsch *et al.*, Nat. Chem. Biol., **2024**.

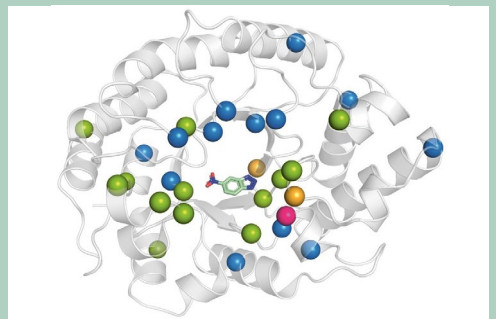


Abb. 1: Struktur der Kemp-Eliminase HG3 (PDB: 5RGA), mittels der die Mutationen der Varianten HG3.R5 (blaue Kugeln) und HG3.17 (grüne Kugeln) dargestellt sind. Die Substitution K50Q, die in beiden Varianten vorkommt, ist mittels einer rosa Kugel hervorgehoben, positionell identische Substitutionen mit unterschiedlichen Aminosäureresten sind hellbraun dargestellt. Abbildung angepasst von der ZHAW Biokatalyse-Gruppe [2].

Deuterierung von Dimethylsulfoxid



Diplomand Nilas Gantner

Korrektor/-in ZHAW Prof. Dr. Achim Ecker, Dr. Mirjam Frick

Chemische Reaktionen laufen unter verschiedenen Bedingungen unterschiedlich schnell ab. Einflussfaktoren auf die Reaktionskinetik sind die Temperatur der Reaktion, die Konzentration der Reagenzien und die Anwesenheit von Katalysatoren. Mithilfe einer geeigneten Prozessanalytik (*Process Analytical Technologies, PAT*) kann die Reaktionskinetik in Bezug auf unterschiedlichste Parameter untersucht werden.

In dieser Arbeit wurde die Reaktionskinetik der Deuterierung von Dimethylsulfoxid (DMSO) untersucht. Bei der Deuterierung handelt es sich um das Ersetzen eines Wasserstoffatoms durch das nächstschwerere Isotop Deuterium. Diese Isotopenaustauschreaktion wurde sowohl inline als auch offline analytisch verfolgt. Als Offline-Analysemethode wurde eine $^1\text{H-NMR}$ -Methode entwickelt, die es erlaubt, die Deuterierung der Methylgruppen (CH_3) in DMSO zu verfolgen.

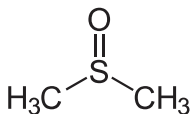


Abb. 1: Molekülstruktur von DMSO

Für die Deuterierung wurden verschiedene Reaktionsbedingungen untersucht, wobei die Menge des Katalysators, die Reaktionstemperatur und die Konzentration der Deuteriumquelle variiert wurden. Es zeigte

sich, dass die Erhöhung der Temperatur den grössten Einfluss auf die Reaktionsgeschwindigkeit hat. Darüber hinaus wurde beobachtet, dass eine Deuteriumquelle mit niedrigerem Deuteriumgehalt die Reaktionsgeschwindigkeit verlangsamte.

Es wurde ausserdem festgestellt, dass weder die Reaktionstemperatur noch die Menge des Katalysators den Deuterierungsgrad beeinflussten. Hingegen hatte die Wahl der Deuteriumquelle einen Einfluss auf den erreichten Deuterierungsgrad des DMSO.

Tabelle 1: Reaktionsbedingungen verschiedener Deuterierungen

| Versuch | Deuteriumgehalt | Katalysator-Konzentration | Temperatur |
|---------|-----------------|---------------------------|------------|
| 1 | Hoch | Tief | Tief |
| 2 | Tief | Tief | Tief |
| 3 | Hoch | Hoch | Tief |
| 4 | Hoch | Hoch | Hoch |

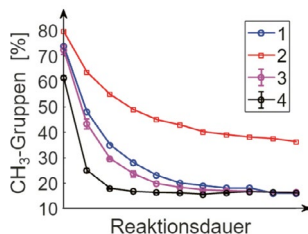


Abb. 2: Kinetik der Abnahme von nicht deuterierten CH_3 -Gruppen während verschiedener Deuterierungen; kinetische Messung ab Erreichen der Reaktionstemperatur

Expression und Charakterisierung von Helikasen für isothermale DNA-Amplifikationen



Diplomandin Julia Gaudenzi

Korrektor/-in ZHAW Dr. Kerstin Gari, Dr. Ramon Eichenberger

Übertragbare Krankheiten, die Epidemien verursachen können, werden durch pathogene Mikro- und Makroorganismen ausgelöst und treten häufig in Entwicklungsländern auf, wo Armut, schlechte Ernährung und eine begrenzte Infrastruktur vorherrschen. Die Weltgesundheitsorganisation hat 20 solcher Krankheiten als *vernachlässigte Tropenkrankheiten* eingestuft. Ein Hauptproblem bei der Bekämpfung dieser Krankheiten ist die fehlende Infrastruktur zur Diagnose vor Ort. DNA-Amplifikationsmethoden wie die Polymerasekettenreaktion (PCR) sind zwar sehr effektiv, erfordern jedoch komplexe Geräte und stabile Elektrizität, die in diesen Regionen oft fehlen. Daher gewinnen isothermale DNA-Amplifikationsmethoden an Bedeutung, da sie bei konstanten Temperaturen und mit minimaler Ausrüstung funktionieren.

Ziel dieser Arbeit war es, eine isothermale Amplifikationsmethode, die HDA (Helicase-dependent Amplification), zu optimieren. Im Gegensatz zur klassischen PCR, die DNA durch Hitze denaturiert, basiert die HDA auf dem *In-vivo*-Replikationsprozess und verwendet eine DNA-Helikase zur Entwindung der DNA-Doppelstränge. Die Einsatzmöglichkeiten der HDA sind bisher durch das Fehlen einer geeigneten, optimal aktiven Helikase jedoch beschränkt. In dieser Arbeit wurden fünf verschiedene DNA-Helikasen hinsichtlich ihrer Eignung für die HDA untersucht. Sie wurden

zunächst in *E. coli* exprimiert und – wo möglich – aufgereinigt. Dabei konnte eine Helikase mit den angewandten Methoden nicht exprimiert werden, und zwei Helikasen lagen nach der Expression unlöslich vor. Zwei weitere Helikasen konnten erfolgreich aufgereinigt und auf ihre Fähigkeit geprüft werden, DNA zu binden und zu entwinden. Eine dieser Helikasen eignet sich prinzipiell für die Durchführung der HDA-Methode, allerdings konnte die Methode aus Zeitgründen noch nicht erfolgreich durchgeführt werden. Verschiedene Ansätze liegen vor, um die Durchführung der Methode zu optimieren und die Eignung der aufgereinigten Helikase abschliessend zu testen.

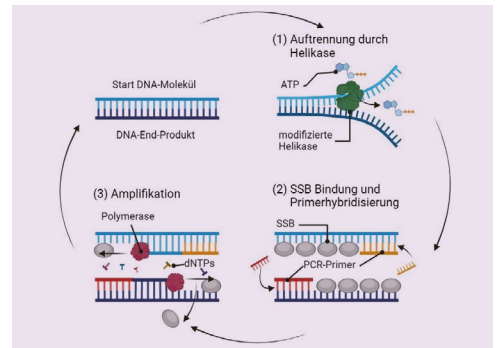


Abb. 1: HDA-Methode: DNA wird durch eine Helikase aufgetrennt und die Einzelstränge durch das SSB-Protein stabilisiert. Die Amplifikation erfolgt durch die Bst-LF Polymerase. Der gesamte Prozess wird bei einer konstanten Temperatur durchgeführt, und es sind keine Zyklen bei verschiedenen Temperaturen nötig. Grafik nach Gavrilov et al., *Nat. Commun.*, Bd. 13, Nr. 1, S. 6312, Okt. 2022, doi: 10.1038/s41467-022-34076-0 mit Bio-Render kreiert.

Stabile Cellulose-Schwämme durch Vernetzung mit Polyhydroxybutyrat-Nanofasern



| | |
|---------------------------|-----------------------------|
| Diplomand | Deniz Gyr |
| Korrektor ZHAW | Prof. Dr. Christian Adlhart |
| Korrektorin extern | Dr. Veronika Zelenay |

Nanofaserschwämme (NFS) aus Cellulose-Nanofasern (CNF) sind aufgrund ihrer mangelnden Wasserstabilität in ihren Anwendungsmöglichkeiten eingeschränkt. Eine Silanbeschichtung verbessert zwar die Wasserstabilität, beeinträchtigt aber die biologische Abbaubarkeit der Cellulose. Polyhydroxybutyrat (PHB), ein hydrophobes und biologisch abbaubares Biopolymer, verspricht eine Verbesserung der Wasserstabilität ohne Beeinträchtigung der biologischen Abbaubarkeit. In dieser Arbeit wurden PHB-Nanofasern erfolgreich durch Elektrosponnen hergestellt und in unterschiedlichen Verhältnissen mit CNF kombiniert, um NFS mit massgeschneiderten Eigenschaften herzustellen.

NFS sind ultraleichte 3D-Materialien, die aus einem hochporösen Nanofasernetzwerk bestehen, was sie für Anwendungen in der Luft- und Wasserfiltration sowie in der regenerativen Biomedizin attraktiv macht. Die hergestellten NFS mit unterschiedlichen PHB-CNF-Verhältnissen

wurden thermisch, chemisch oder mittels Lösemitteldampfschweissen vernetzt und umfassend auf Wasserstabilität, Hydrophobie, Kompressibilität und Luftdurchlässigkeit untersucht. Ausserdem wurde ihre potenzielle Anwendung als Adsorptionsmittel untersucht.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Kombination von PHB und CNF die Herstellung von Schwämmen mit anpassbaren Eigenschaften, abhängig vom Mischungsverhältnis, ermöglichte. Die NFS wiesen unterschiedliche Grade an Hydrophobie, Wasserstabilität und mechanischen Eigenschaften auf. CNF-Schwämme erhielten mit einem PHB-Gehalt von über 30 % wasserstabile und hydrophobe Eigenschaften, die sich mit steigendem PHB-Anteil weiter verbesserten.

Ihre Wasserstabilität macht sie attraktiv für Adsorptionsanwendungen in wässrigen Medien. In diesem Zusammenhang wurde auch ihre Wirksamkeit zur Adsorption von Öl und Schwermetallen aus Wasser untersucht.

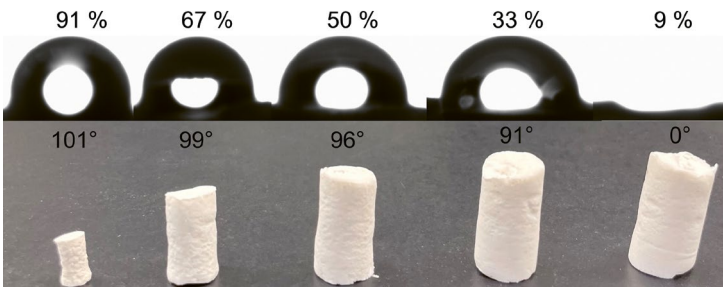


Abb. 1: Wasserkontaktwinkel mit abnehmendem PHB-Massenanteil (oben). Ein Material mit $>90^\circ$ gilt als hydrophob. Umgekehrt reduziert CNF die Neigung zum Schrumpfen während der thermischen Vernetzung (unten).

Normalisierung funktioneller Gruppen in der Cheminformatik



Diplomand

Fabian Kuhn

Korrektoren ZHAW

Dr. Stefan Höck, Prof. Dr. Rainer Riedl

Die Cheminformatik beschäftigt sich hauptsächlich mit der Darstellung chemischer Strukturen und der Analyse chemischer Daten. Die dafür verwendeten Daten stammen oft von anderen Forschenden, weshalb diese nicht immer fehlerfrei sind und nicht denselben Informationsgehalt besitzen. Vor der Nutzung dieser Daten ist es von Relevanz, diese aufzubereiten. Normalerweise werden die Daten bzw. Strukturen vor der Nutzung mittels Algorithmen normalisiert.

In dieser Arbeit wurde besonders die Normalisierung der Nitrogruppe und der Keto-Enol-Tautomerie thematisiert, da diese bei der Substruktursuche oft Probleme bereiten. Die Nitrogruppe wird in Datenbanken oft durch eine falsche Struktur repräsentiert, die ein pentavalentes Stickstoffatom und keine Ladung trägt. Wenn die korrekte Darstellung der Nitrogruppe für die Substruktursuche verwendet wird, werden alle Substanzen in der Datenbank mit der inkorrekten Nitrogruppe

nicht in den Suchergebnissen angezeigt. Bei der Keto-Enol-Tautomerie liegt das Problem dagegen bei der Enolform. Diese wird bei einer Substruktursuche nicht als Tautomer der Ketoform erkannt und verfälscht somit die Suchergebnisse. Die Algorithmen wurden jeweils in der funktionalen, statisch typisierten Programmiersprache Idris implementiert.

Diese bietet den Vorteil, dass durch die statische Typisierung Fehler während der Laufzeit des Programms ausgeschlossen werden können. Zudem verhindert Idris das unbeabsichtigte Ändern von Variablen oder Dateien.

Die Algorithmen wurden zusätzlich mit Positivkontrollen getestet, das heisst Strukturen, die von den Algorithmen erkannt und normalisiert werden sollen, sowie mit Negativkontrollen mit Strukturen, die von den Algorithmen ignoriert und unverändert gelassen werden sollen. Die Funktionalitätstests zeigten, dass die Normalisierungsalgorithmen wie erwartet

funktionierten. Somit wurden funktionierende Algorithmen für die Normalisierung von inkorrekten Nitrogruppen sowie für die Normalisierung von Enolen entwickelt.

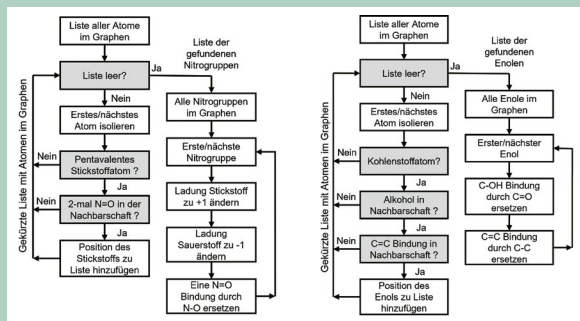


Abb. 1: Normalisierungsalgorithmus für Nitrogruppen (links), Normalisierungsalgorithmus für die Keto-Enol-Tautomerie (rechts)

Katalyse von Tritiiierungen mit Übergangsmetall-Nanopartikeln



| | |
|---------------------------|-------------------------|
| Diplomand | Alois Lardinois |
| Korrektor ZHAW | Prof. Dr. Achim Ecker |
| Korrektorin extern | Prof. Dr. Silke Behrens |

Nanopartikel (NP) aus Übergangsmetallen wurden in den letzten Jahren als eine neue Klasse von Katalysatoren für Wasserstoffisotopenaustauschreaktionen (HIE-Reaktionen) identifiziert. Insbesondere Nanopartikel aus Iridium, Palladium und Ruthenium wurden schon eingehend untersucht, während Nanopartikel aus anderen Übergangsmetallen wie zum Beispiel Gold in Bezug auf HIE-Reaktionen weitgehend unerforscht sind.

In dieser Arbeit wurden die Synthese und die Charakterisierung von Gold-Nanopartikeln (AuNP) durchgeführt und deren katalytische Aktivität bei HIE-Reaktionen untersucht. Durch Reduktion eines Tetrachloridoaurat(III)-Vorläufers durch Polyvinylpyrrolidon (PVP) in basisch-wässrigem Milieu konnten PVP-stabilisierte AuNP (AuNP@PVP) synthetisiert und anschliessend mittels Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) charakterisiert werden.

Es wurden sphärische AuNP mit einer Grösse in einem Bereich von 6 nm bis 17 nm erhalten, die bei verschiedenen Lagerungsbedingungen über längere Zeit stabil blieben. Die Fähigkeit der hergestellten AuNP (Goldnanopartikel), die HIE-Reaktionen katalysieren, wurde in mehreren Versuchsreihen untersucht. Dazu wurden stellvertretend für Tritium zunächst Reaktionen mit unterschiedlichen Deuteriumquellen, nämlich D_2O bzw. D_2 , bei verschiedenen Reaktionsbedingungen durchgeführt. Es konnte bislang jedoch keine signifikante katalytische Aktivität festgestellt werden.

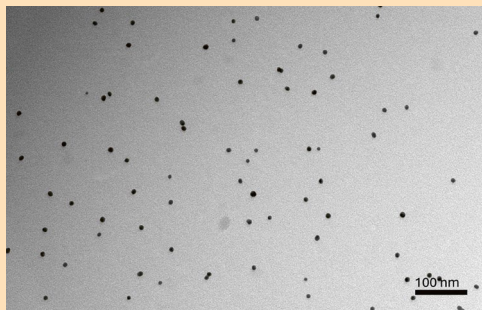


Abb. 1: TEM-Aufnahme der synthetisierten Gold-Nanopartikel.

Expression und *N*-Glykosylierung eines Fusionsproteins in *Escherichia coli*



| | |
|-------------------------|-------------------------|
| Diplomandin | Martina Lichtsteiner |
| Korrektorin ZHAW | Prof. Dr. Sabina Gerber |
| Korrektor extern | Dr. Andreas Rummel |

Das Ziel der Bachelorarbeit war die rekombinante Expression und Isolation eines *N*-glykosylierten Fusionsproteins in *E. coli*, das als Extraktionsreagens für den sensitiven Nachweis von Botulinum Neurotoxin (BoNT) eingesetzt werden soll. Botulinum Neurotoxine gehören zu den giftigsten bekannten Substanzen und werden therapeutisch und kosmetisch eingesetzt. Das Fusionsprotein war aus einer VHH-Immunglobulindomäne und einer chimären Rezeptordomäne des humanen synaptischen Vesikel-Glykoproteins aufgebaut [1], (Abb. 1). Das Fusionsprotein wurde in einem für *N*-Glykosylierungen modifizierten *E.-coli*-Stamm erfolgreich exprimiert. Genomische Deletionen und die Kombination von rekombinanten Glykosyltransferasen ermöglichen die Modifikation von Proteinen mit Gangliosid-ähnlichen Glykanen mit endständigen Sialinsäuren [2], die für die Bindung des Extraktionsreagens an das Neurotoxin von zentraler Bedeutung sind. Als Positivkontrolle wurde Green Fluorescent Protein (GFP) verwendet, für

das die erfolgreiche Glykosylierung inklusive der endständigen Sialinsäuren gelelektrophoretisch mittels Isoelektrischer Fokussierung (Abb. 2) und massenspektrometrisch gezeigt werden konnte (Abb. 3).

- [1] Z. Liu et al., Nat. Commun., Bd. 14, Nr. 1, S. 2338, Apr. 2023, doi: 10.1038/s41467-023-37860-8.
[2] T. G. Keys et al., Metab. Eng., Bd. 44, S. 293–301, Nov. 2017, doi: 10.1016/j.ymben.2017.10.012.

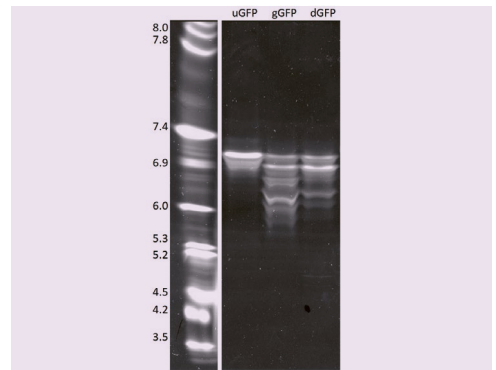


Abb. 2: Isoelektrische Fokussierung der GFP-Positivkontrolle. Nicht-glykosyliertes GFP (uGFP), glykosyliertes GFP (gGFP), desialyliertes GFP (dGFP)

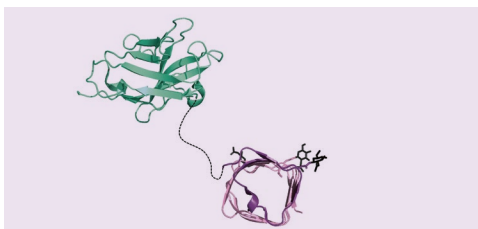


Abb. 1: Struktur des Fusionsproteins [1] aus PDB 7uib

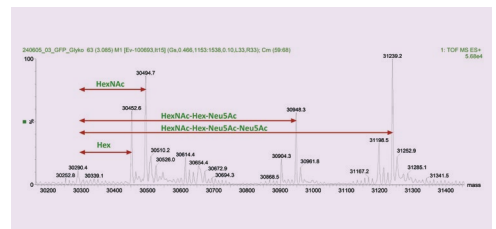


Abb. 3: Massenspektrum der glykosylierten GFP-Kontrolle

Stabilisierung von kationischen Farbstoffen durch den Einbau in Zeolithkanäle



| | |
|------------------|--------------------------|
| Diplomandin | Lorena Minutella |
| Korrektor ZHAW | PD Dr. Dominik Brühwiler |
| Korrektor extern | Dr. Nando Gartmann |

Das kristalline Aluminosilikat Zeolith L (ZL) findet durch seine Fähigkeit, Moleküle in seine Nanokanäle aufzunehmen, diverse Anwendungen. Eine dieser Anwendungen besteht darin, Farbstoffmoleküle in ZL einzubauen, um neuartige Pigmente zu erhalten [1].

Im Rahmen dieser Bachelorarbeit sollte in einem ersten Schritt eine Standardmethode zum Einbau von kationischen Farbstoffmolekülen in ZL entwickelt werden. Die Methode beinhaltet ein nachfolgendes Verschliessen der Kanäle von ZL, um den Austritt der eingelagerten Farbstoffmoleküle zu verhindern. Die Interkalation der Farbstoffe Thionin, Oxazin-1 und Pyronin Y (Abb. 1) in ZL wurde mittels Kationenaustausch aus wässriger Lösung durchgeführt. Als Verschlussmolekül wurde 3-Aminopropyltriethoxysilan (APTES) gewählt, da sich dieses für Systeme, bestehend aus neutralen Farbstoffmolekülen und ZL, bereits bewährt hat [2]. Die Effizienz der Interkalation zeigte eine Korrelation mit der Grösse der Farbstoffmoleküle (Abb. 2). In einem zweiten Schritt wurde die Lichtbeständigkeit der Farbstoffe in Lösung und in ZL analysiert. Dafür wurde eine Methode entwickelt, die es möglich macht, die Absorbanz der Farbstoff-ZL-Partikel zu messen, ohne dass die Messung durch die Streuung der Partikel gestört wird. Dafür wurden die Partikel in Toluol suspendiert, das den gleichen Brechungsindex wie ZL aufweist. Anschliessend wurden die Proben

mit einer Sonnenlicht-Lampe beleuchtet, um die Photodegradation der Farbstoffmoleküle zu untersuchen.

[1] P. Woodtli, S. Giger, P. Müller, L. Sägesser, N. Zucchetto, M.J. Reber, A. Ecker, D. Brühwiler, Indigo in the Nanochannels of Zeolite L: Towards a New Type of Colorant. *Dyes Pigments* **2018**, 149, 456–461, doi:10.1016/j.dyepig.2017.10.029.

[2] S. Lustenberger, D. Brühwiler, Sealing of Zeolite L Channels with Ethoxysilanes: Influence of Molecular Structure and Thermal Treatment. *Chemistry Select* **2024**, 9, doi:10.1002/slct.202305048.

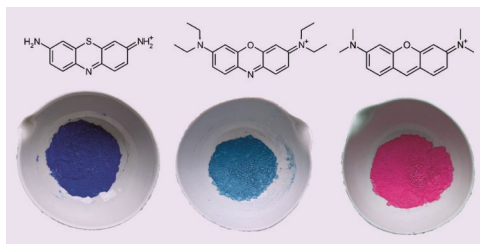


Abb. 1: Die kationischen Farbstoffe Thionin, Oxazin-1 und Pyronin Y (von links nach rechts). Unten: Mit den entsprechenden Farbstoffen beladene ZL-Partikel

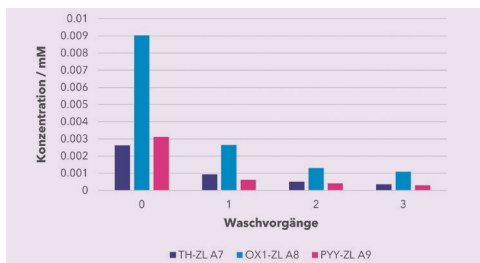


Abb. 2: Verbleibende Farbstoffkonzentration in den Waschlösungen direkt nach der Interkalation. Es konnte gezeigt werden, dass bei grösseren Molekülen bei gleicher Interkalationszeit weniger Farbstoff in ZL eingebaut wurde. TH: Thionin, OX1: Oxazin-1, PYY: Pyronin Y

Der Einfluss von Proteindynamik auf die Vorhersage von Enzymstabilität



Diplomand

Cornel Niederhauser

Korrektor/-in ZHAW

Prof. Dr. Rebecca Buller, Dr. Peter Stockinger

Der Kunststoff Polyethylenterephthalat (PET) macht ca. 12 % des weltweiten jährlichen Aufkommens an festen Abfällen aus. Da PET nicht biologisch abbaubar ist, kann seine Verwendung mit erheblichen Umweltproblemen verbunden sein. Ein effizientes PET-Recycling ist daher unverzichtbar für eine Kreislaufwirtschaft, die Abfall vermeidet und Ressourcen schont. Das 2016 entdeckte Enzym PETase aus dem Organismus *Ideonella sakaiensis* (IsPETase) zeigt Potenzial für das enzymatische Recycling von PET. Eine Erhöhung der Thermostabilität des Enzyms ist jedoch wichtig, um den wirtschaftlichen Einsatz interessant zu machen. Höhere Temperaturen reduzieren die Kristallinität von PET und verbessern den enzymatischen Abbau.

In dieser Arbeit wurde eine bioinformatische Methode zur Vorhersage von Proteinthermostabilität auf Basis publizierter und interner Daten von IsPETase-Varianten entwickelt und validiert. Die Methode basiert auf molekulardynamischen Simulationen und Stabilitätsprädiktoren, die zusammen eine verbesserte Analyse der Faktoren ermöglichen, die für die Vorhersage von Proteinthermostabilität wichtig sind. Um die entwickelte Methode an einem externen Datensatz überprüfen zu können, wurden des Weiteren IsPETase-Varianten mithilfe einer Konservierungsanalyse entworfen und anhand der vorhergesagten Schmelztemperaturen bewertet.

Ausgewählte IsPETase-Varianten wurden anschliessend im Labor kloniert, exprimiert und auf ihre Schmelztemperatur und Aktivität untersucht. Das Ergebnis der Arbeit war die Identifizierung einer IsPETase-Variante mit einer um 4,5 °C erhöhten Schmelztemperatur und einer gesteigerten Substratumsetzung bei 60 °C im Vergleich zur ursprünglichen Variante. Die Validierung der Methode mit dem neuen, externen Datensatz ergab einen Pearson-Korrelationskoeffizienten von 0,92 ($R^2 = 0,84$) und einen p-Wert von $8,4 \cdot 10^{-6}$. Die hier entwickelte Methode stellt somit einen aussichtsreichen Ansatz dar, um die Schmelztemperatur von Proteinen *in silico* bestimmen zu können.



Abb. 1: Struktur der IsPETase, dargestellt in verschiedenen Konformationen

Screening nach Vorbehandlungsadditiven für die enzymatische Verzuckerung von Nadelholz



Diplomand

Butrint Nikqi

Korrektoren ZHAW

Dr. Thomas Pielhop, Matthias Eckl

Die Verwertung von Lignocellulose-Biomasse generiert angesichts des Bestrebens, den Einsatz fossiler Brennstoffe zu reduzieren, grosses Interesse in Wissenschaft und Industrie. Es besteht ein beträchtliches Potenzial in Pflanzenmaterialien, die Polymere wie Cellulose, Hemicellulose und Lignin enthalten. Die Heisswasservorbehandlung von hölzernem Material erweist sich dabei als eine vielversprechende Methode zur Steigerung der enzymatischen Hydrolysierbarkeit von Cellulose. Diese Bachelorarbeit untersuchte die Auswirkung verschiedener Vorbehandlungsadditive auf die enzymatische Hydrolyse von Cellulose in Nadelholz. Ziel war es, die Hemmwirkung des Lignins zu minimieren und die Effizienz der Hydrolyse zu steigern. Hierfür wurde zuerst ein Screening mit 39 potenziell wirksamen Additiven durchgeführt, die die Repolymerisation des Lignins während der Vorbehandlung unterbinden sollten. Die Biomasse wurde dazu mit der jeweils gleichen molaren Menge an Additiven in Wasser unter erhöhtem Druck bei 210 °C 120 min lang vorbehandelt. Danach wurde die Zusammensetzung der Biomasse mittels Säureaufschluss analysiert: Cellulose mittels HPLC, säurelösliches Lignin mit UV-VIS-Spektrometrie und säureunlösliches Lignin gravimetrisch. Die Cellulose der behandelten Biomasse wurde dann mit dem Cellulase-Enzymkomplex Accellerase 1500 zu Glucose hydrolysiert (60 FPU g⁻¹ Cellulose, 50 °C). Nach abgeschlossenem

Screening wurden die vier Additive, die zum grössten Zuwachs der Glucoseausbeute führten, genauer untersucht. Hierzu wurden die enzymatische Hydrolyse bei verschiedenen Enzymkonzentrationen, die getrennte Hydrolyse von reiner Cellulose in Anwesenheit von vorbehandeltem und isoliertem Lignin und die spezifische Oberfläche des isolierten Lignins untersucht. Es konnten zwei bisher unbekannte Additive gefunden werden, die eine Repolymerisation des Lignins verhinderten und zu einer signifikant höheren Glucoseausbeute führten.

[1] T. Pielhop, *Chimia* 2023, 77, 403, DOI: 10.2533/chimia.2023.403.



Abb. 1: Beispiel einer durchgeführten Vorbehandlung von Fichtenholz mit Filtrat (oben) und Biomasse (unten)

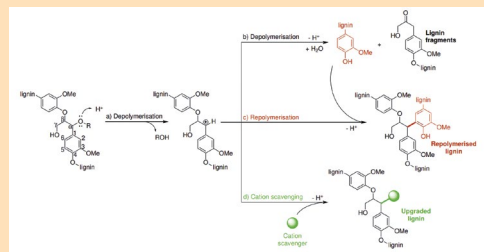


Abb. 2: Reaktionsmechanismus des repräsentativen Lignins während der Vorbehandlung. Idealerweise reagiert das Additiv (Cation Scavenger) mit Lignin und verhindert die Repolymerisation (Pielhop, 2023).

Herstellung von fleischähnlichem Gewebe mittels strukturierter Oberflächen



Diplomandin Melanie Noser

Korrektoren ZHAW Dr. Markus Rimann, Prof. Dr. Michael Raghunath

Die konventionelle Fleischproduktion steht aufgrund ihrer Umweltbelastungen, ethischen Bedenken und gesundheitlichen Risiken zunehmend in der Kritik. Angesichts des wachsenden Fleischkonsums, der sich bis 2050 voraussichtlich um etwa 50 % erhöhen wird, ist es dringend erforderlich, nachhaltige Alternativen zu entwickeln [1]. Diese Arbeit zielte darauf ab, kultiviertes Fleisch als innovative und umweltfreundliche Lösung zu untersuchen. Kultiviertes Fleisch, auch bekannt als *In-vitro*-Fleisch, wird aus tierischen Zellen im Labor gezüchtet. Der Fokus dieser Arbeit lag auf der gerüstfreien Produktion von muskelähnlichen Strukturen mittels Muskelzellen (murine C2C12-Myoblasten). Dabei wurden C2C12-Zellen, teilweise auch in Co-Kultur mit NIH-3T3-Maus-fibroblasten, als Sphäroide in 3D kultiviert. Damit diese Sphäroide zu länglichen Muskelfasern fusionieren können, wurden sie in nicht-adhäsive Agarose-Formen mit unterschiedlichen Geometrien gegeben (Abb. 1). Danach wurden die Fusion und auch die Entwicklung von länglichen Zellstrukturen analysiert.

Es zeigte sich, dass Sphäroide in Co-Kultur mit einem Verhältnis von 1:1 (murine C2C12-Myoblasten zu NIH3T3-Fibroblasten) die Entwicklung zu länglichen Strukturen und das Wachstum von Muskelzellen fördern. Insbesondere, wenn die Rillenform der Agarose-Formen gewählt wurde

(Abb. 2). Die Differenzierung der Myoblasten in Myotuben konnte noch nicht nachgewiesen werden.

Diese Arbeit zeigt die Möglichkeit auf, kultiviertes Fleisch ohne die Zugabe von Gerüsten herzustellen. Jedoch müssen detaillierte Analysen zur erfolgreichen Differenzierung der Myoblasten entwickelt werden, bevor das Potenzial für die *In-vitro*-Produktion von Clean Meat abgeschätzt werden kann.

[1] M. Bond, "the trouble with meat", *Engineering & Technology*, vol. 3, no. 11, 21 June–July 2008, doi: 10.1049/et:20081100.

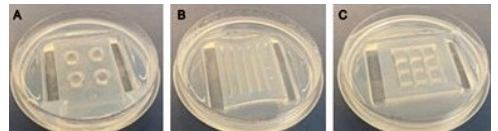


Abb. 1: Designs von Agarose-Formen zur Zellkultivierung, A) Kreisform, B) Rillenform, C) Gitterform

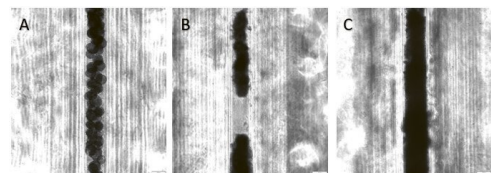


Abb. 2: C2C12-Myoblasten in Co-Kultur (Verhältnis 1:1) mit NIH3T3-Fibroblasten als Sphäroide während sieben Tagen auf Agarose in Rillenform: Tag 0 (A), Tag 2 (B), Tag 7 (C). Massstabsbalken 200 μ m

Synthese von Bromchloriodmethan für spektroskopische Untersuchungen



| | |
|-------------------------|--------------------------|
| Diplomand | Alessandro Paradiso |
| Korrektor ZHAW | Prof. Dr. Jürgen Stohner |
| Korrektor extern | Prof. Dr. Robert Berger |

Als chiral werden Moleküle beschrieben, die sich spiegelbildlich zueinander verhalten und nicht miteinander zur Deckung gebracht werden können. Ein bisher ungeklärtes Phänomen ist die Homochiralität in der Natur, das heisst, fast alle biologisch relevanten Moleküle wie L-Aminosäuren und D-Zucker sind nicht nur chiral, sondern auch einheitlich konfiguriert. [1]. Dies könnte das Resultat einer möglichen Konsequenz der Paritätsverletzung (PV) sein. Nicht lange, nachdem die PV beim radioaktiven Zerfall nachgewiesen wurde, hat man postuliert, dass durch die PV ein kleiner Energieunterschied zwischen den Enantiomeren zustande kommen kann [2, 3]. Der Energieunterschied bei kleinen chiralen Molekülen vergrössert sich nichtlinear durch Substituenten mit höherer Atommasse. Um der Messung dieses Energieunterschieds bei Molekülen einen Schritt näher zu kommen, wurde CHBrClI synthetisiert, das in Abb. 1 dargestellt ist und in der Fachgruppe Physikalische Chemie bisher noch nicht hergestellt wurde. Die Synthesesequenz erfolgte ausgehend von einem Malonsäurederivat. Dabei wurden eine Ausbeute von 68,5 % und eine Reinheit von 96,0 % erreicht.

Die Zielverbindung wurde spektroskopisch analysiert. Anschliessend wurde versucht, die Enantiomere mittels chiraler stationärer Phasen (CSPs) gaschromatographisch zu trennen. Dabei variierte man die Säulen-

temperatur und den Trägergasfluss. Bis zum Abschluss dieser Arbeit konnten die Enantiomere nicht getrennt werden. Die erzielten Erkenntnisse dienen als Basis für zukünftige Trennversuche.

- [1] L.D. Barron, (2008). Chirality and Life. In O. Botta *et al.*, Strategies of Life Detection (Vol. 25, pp. 187–201). Space Sciences Series of ISSI. Springer US. DOI: 10.1007/978-0-387-77516-6_13
- [2] M. Quack, J. Stohner, *Chimia* **2005**, 59, 530, DOI: 10.2533/000942905777676119.
- [3] R. Berger, J. Stohner, Parity Violation, *WIREs Comput. Mol. Sci.*, **2019**, e1396. DOI: 10.1002/wcms.1396

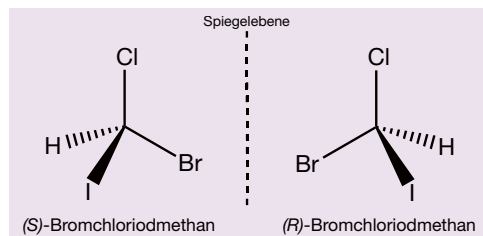


Abb. 1: Veranschaulichung der Enantiomere von Bromchloriodmethan

Der Effekt von mechanischer Stimulation auf die Knochenbildung von SAOS-2-Zellen



Diplomand

Alain Pfammatter

Korrektoren ZHAW

Prof. Dr. Michael Raghunath, Dr. Markus Rimann

Knochen sind dynamische Strukturen, die sich im Laufe des Lebens ständig umbauen. Dies dient der Anpassung an die mechanischen Anforderungen des Gewebes und der Erneuerung von alter Knochenmatrix. Wenn dieser Umbauprozess aus dem Gleichgewicht gerät, können Knochenkrankungen wie Osteoporose entstehen. Low-Magnitude-High-Frequency-Vibrationen (LMHFV) könnten eine vielversprechende Behandlungsmöglichkeit darstellen, um dem Verlust der Knochendichte entgegenzuwirken und die Knochenbildung zu fördern.

Um dies zu untersuchen, wurden in dieser Arbeit verschiedene Gruppen von Osteoblasten-ähnlichen Zellen (SAOS-2) kultiviert. Dabei wurde der Effekt der LMHFV-Behandlung unter Standardbedingungen und bei Zugabe von osteogenen Mediumbestandteilen wie Dexamethason, Ascorbinsäure und β -Glycerophosphat untersucht. Die mechanische Stimulation wurde bei 30 Hz und 0,4 g durchgeführt. Während des Protokolls wurden die Zellen 10 Minuten pro Tag, 5 Tage pro Woche und über einen Zeitraum von 21 Tagen behandelt.

Die Ergebnisse zeigten, dass die mechanische Behandlung allein die osteogene Differenzierung von SAOS-2 nicht fördern konnte, da mit Alizarinrot keine gefärbten Hydroxylapatit-Kristalle nachgewiesen wurden. Die Analyse der Genexpression mittels quantitativer PCR (qPCR) ergab,

dass die LMHFV-Behandlung und die osteogenen Zusätze des Mediums eine vernachlässigbare Wirkung auf die Expression von Runx2 und ALP hatten. Die Expressionswerte von SOST waren bei osteogener Kultivierung stark erhöht, was auf eine Differenzierung zu einem Osteozyten-ähnlichen Stadium hinweist. Unter gleichen Bedingungen führte die Behandlung mittels LMHFV zu einer Erhöhung der Hydroxylapatit-Ablagerungen um 21 %. Somit konnte gezeigt werden, dass die mechanische Beanspruchung Auswirkungen auf die Knochenbildung hat, jedoch sind weitere Optimierungen nötig, um den Effekt genauer zu verstehen.

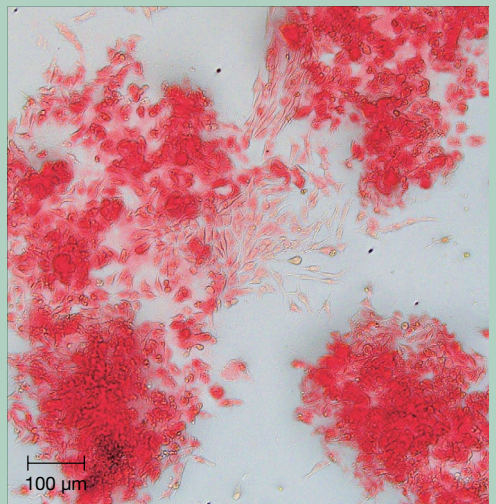


Abb. 1: Mittels Alizarinrot gefärbte Hydroxylapatit-Ablagerungen von SAOS-2. Die Zellen wurden 21 Tage mit LMHFV stimuliert (30 Hz, 0,4 g).

Thermochemische Speicherung und Nutzung von Wärme mittels Power-to-Heat-Technologie



Diplomand

Marco Randon

Korrektor/-in ZHAW

Dr. Judith Krautwald, Dr. Peter Riedlberger

Die Umstellung von fossilen Energieträgern auf erneuerbare Energiequellen und die Reduzierung von Treibhausgasen sind weltweit zentrale Themen. Die Schweiz plant, bis 2050 klimaneutral zu werden. In der Schweiz werden ca. 50 % der Energieproduktion für die Bereitstellung von Wärme benötigt, wobei ein Grossteil mit fossilen Energieträgern erzeugt wird. Die Schweizer Energiestrategie fördert erneuerbare Energien, was zunehmend zu saisonalen und täglichen Schwankungen in der Stromproduktion führen wird. Um solche erneuerbaren Energiequellen zu stabilisieren und in «Flautezeiten» nutzbar zu machen, sind neue Speichertechnologien notwendig.

Power-to-X-Technologien ermöglichen die Umwandlung von elektrischem Strom in Produkte oder Dienstleistungen, unter anderem auch in Wärme. Thermochemische Wärmespeicher bieten in der Theorie eine hohe Energiedichte und eine nahezu verlustfreie Lagerung. Allerdings sind diese Technologien noch in der Entwicklungsphase. Aktuelle Forschungen konzentrieren sich auf die Identifikation und die Optimierung geeigneter Materialien und auf die Entwicklung passender Wärmespeicherkonzepte (Beispiel häusliche Anwendung Abb. 1).

Bei Verwendung eines thermochemischen Wärmespeicherstoffs in häuslicher Anwendung sind diverse Punkte zu berücksichtigen wie beispielsweise Toxizität,

Entzündlichkeit und Energiedichte. Zusätzlich spielen auch wirtschaftliche Aspekte wie die Verfügbarkeit und der Preis eine entscheidende Rolle. In dieser Arbeit wurde ein favorisierter Stoff hinsichtlich seiner Eignung als Wärmespeicher in häuslicher Umgebung untersucht. Dazu wurde der Stand der Technik erarbeitet, Vor- und Nachteile hinsichtlich der Anwendung sowie aktuelle Forschungsfragen erörtert. Die Technologie befindet sich noch im Anfangsstadium. Im labor-technischen Massstab wurde erfolgreich eine Methode zur Stoffcharakterisierung mittels TGA und DSC erarbeitet, mit deren Hilfe die Wärmespeichereigenschaften in Zukunft weiter erforscht und optimiert werden können.

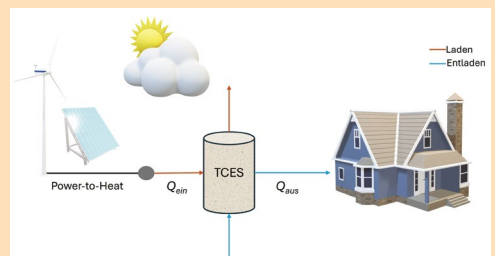


Abb. 1: Konzept eines thermochemischen Energiespeichers (sog. TCES) in häuslicher Umgebung. Elektrizität wird über Wind- und Sonnenenergie generiert und in Wärmeenergie umgewandelt (Power-to-Heat). Der Ladeprozess erfolgt durch das Zuführen von Wärme (Q), während das Entladen durch Zugabe einer Komponente eingeleitet wird, wobei Wärme freigesetzt wird, die zum Heizen von Wohnraum genutzt werden kann.

Funktionalisierung und Charakterisierung gedruckter Chromatographiesäulen



| | |
|--------------------|-------------------------|
| Diplomand | Janis Roth |
| Korrektor ZHAW | Prof. Dr. Bastian Brand |
| Korrektorin extern | Dr. Victoria Custodis |

Die High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) ist eine Standardmethode in der analytischen Chemie. Die verwendeten Säulen werden häufig über das sogenannte Slurry-Verfahren hergestellt [1]. Diese Technik führt oft zu Inhomogenitäten der Packung, wodurch Hohlräume und Kanäle entstehen, die die erwartete Leistung der Säule senken [1]. 2014 konnten Fee et al. [2] zeigen, dass es möglich ist, Säulen inklusive Gehäuse mittels 3D-Druck herzustellen.

Das Ziel dieser Arbeit war, eine Methode für die C18-Funktionalisierung von 3D-gedruckten Monolithen im Durchfluss zu erarbeiten. Die Monolithen wurden durch die Fachgruppe von Prof. Dr. Dirk Penner an der ZHAW in Winterthur hergestellt. Zur Funktionalisierung wurde Octadecyldimethyl-(N, N-diethylamino)silan (ODS-DEA) verwendet, das direkt aus Octadecyldimethylchlorosilan und Diethylamin hergestellt werden kann. Der funktionalisierte Monolith wurde mittels FTIR-Spektroskopie untersucht. Das Spektrum ist in Abbildung 1 dargestellt. Es konnte eine Doppelbande im Bereich von 2800–3000 cm^{-1} festgestellt werden, die sich auf die C-H-Streckschwingung der C18-Kette zurückführen lässt [3]. Die Funktionalisierung konnte somit nachgewiesen werden. Zusätzlich wurden auch die Van-Deemter-Parameter sowie die Langmuir-Isotherme mittels Frontal Analysis (FA) bestimmt. Dabei wurde

jedoch festgestellt, dass aufgrund der kleinen Dimensionen des Monolithen keine sinnvollen Daten ermittelt werden konnten. Der Monolith hat nur 1–2 theoretische Böden, und es treten Grenzeffekte aufgrund des geringen Länge-zu-Durchmesser-Verhältnisses auf [4]. Daher kann das Van-Deemter-Modell nicht auf den Monolithen angewendet werden. Zudem konnte die Langmuir-Isotherme aufgrund tiefer Effizienz nicht chromatographisch bestimmt werden.

[1] K. K. Unger et al., *Journal of Chromatography A*, vol. 1184, no. 1, pp. 393–415, Mar. 2008, doi: 10.1016/j.chroma.2007.11.118.

[2] C. Fee et al., *Journal of Chromatography A*, vol. 1333, pp. 18–24, Mar. 2014, doi: 10.1016/j.chroma.2014.01.043.

[3] E. Pretsch et al., Berlin, Heidelberg: Springer, 2020. doi: 10.1007/978-3-662-60950-7.

[4] F. Griitti and G. Guiochon, *Journal of Chromatography A*, vol. 1302, pp. 1–13, Aug. 2013, doi: 10.1016/j.chroma.2013.06.032.

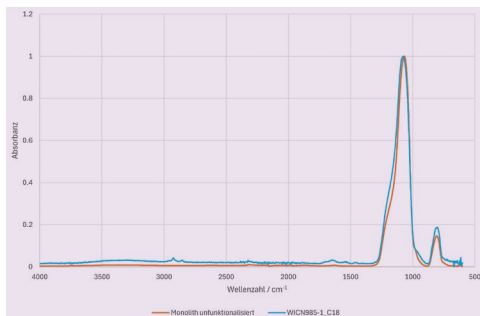


Abb. 1: FTIR-Spektrum des funktionalisierten Monolithen WICN985-1_C18 im Vergleich mit dem nicht funktionalisierten Monolithen

Bestimmung der Kristallisationsparameter von PET-Recyclaten



| | |
|-------------------------|---------------------|
| Diplomandin | Somaia Salem |
| Korrektor ZHAW | Dr. Marc Bornand |
| Korrektor extern | Dr. Dominique Huber |

Das Recycling von Kunststoffen, insbesondere von PET, ist entscheidend für eine nachhaltige und kreislauforientierte Materialwirtschaft. Das am weitesten verbreitete Recyclingverfahren für PET basiert auf der Glykolyse, bei der hauptsächlich das zweifach veretherte Monomer Bis(2-hydroxyethyl)terephthalat (BHET) entsteht. Dieses ist jedoch durch Oligomere, insbesondere Dimere, verunreinigt, die die Kristallisationseigenschaften und die Filtrierbarkeit der BHET-Kristalle bei der Aufarbeitung negativ beeinflussen.

In dieser Arbeit wurden daher die Kristallisation und die daraus folgende Filtrierbarkeit von rezykliertem BHET in einem Ethylenglykol-Wasser-Gemisch (1:1) für einen Industriepartner genauer untersucht. Zuerst wurden PET-Flakes in Ethylenglykol (EG) depolymerisiert, um das Monomer BHET mit einem realistischen Nebenkörperprofil zu erhalten. Die Charakterisierung von BHET wurde durch Schmelzpunktbestimmung, IR- und HPLC-Analysen und mit MALDI-TOF-MS durchgeführt. Der Schmelzpunkt von 105 °C und die IR-Banden der typischen funktionellen Gruppen von BHET bestätigten die hauptsächlichliche Umsetzung

zum Monomer. Die HPLC-Analyse ergab eine BHET-Reinheit von durchschnittlich 87 %, und in den MALDI-Spektren konnten lineare und zyklische Oligomere nachgewiesen werden. Von den linearen Molekülen waren anteilmässig am meisten Dimere vorhanden, gefolgt von Tri-, Tetra- und Pentameren. Ein zyklisches Dimer mit einer Diethylenglykol-Einheit konnte ebenfalls identifiziert werden. Mit diesem Produktgemisch wurden anschliessend im automatisierten Laborreaktor Labmax temperaturgesteuerte Kristallisationsversuche mit variierenden Temperaturrampen durchgeführt. Der Kristallisationsprozess wurde mittels Inline-Analytik mit einer FBRM- und einer Trübungssonde verfolgt, um die Temperaturbereiche für die Kristallisation der Oligomere und des Monomers bestimmen zu können. Anschliessend wurde das Reaktionsgemisch unter standardisierten Bedingungen filtriert und dafür die Zeit gemessen. Die Filterflächenbelastung gab Auskunft darüber, wie effizient die Filtration verlief. Die Resultate sollen dazu beitragen, einen optimierten Glykolyse- und Kristallisationsprozess für industrielle Anlagen zu entwickeln.

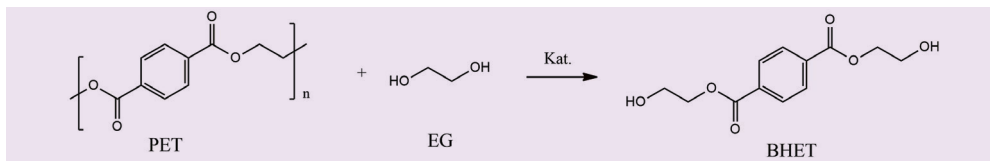


Abb. 1: Reaktionsschema der PET-Glykolyse mit Ethylenglykol zu BHET

Rekombinante Herstellung der Enterokinase in *Escherichia coli*



| | |
|-------------------------|-------------------------|
| Diplomandin | Melanie Schwendimann |
| Korrektorin ZHAW | Prof. Dr. Sabina Gerber |
| Korrektor extern | Dr. Andreas Rummel |

Rekombinant hergestellte Proteine werden oft mit Peptid-Tags modifiziert, um eine Isolation mittels Affinitätschromatographie oder spezifische immunologische Nachweise der Zielproteine zu ermöglichen. Für die Verwendung des Zielproteins ist es anschliessend meist notwendig, diese Peptid-Tags zu entfernen. Dafür werden Proteasen eingesetzt, die Peptidsubstrate zwischen Zielprotein und Tag spezifisch hydrolysieren können. Die am häufigsten verwendeten Proteasen sind zum Beispiel Thrombin, die TEV- und C3-Proteasen oder die Enterokinase. Letztere zeigt den bedeutenden Vorteil, dass sie den Tag C-terminal ihres Peptidsubstrats spalten kann und dadurch keine Peptidreste am Zielprotein verbleiben.

Die Enterokinase spielt eine wichtige Rolle in der Verdauung, da sie das als Zymogen vorliegende Trypsinogen zu Trypsin spaltet, das wiederum eine Kaskade von Proenzym-Aktivierungen auslöst und selbst als Verdauungsenzym fungiert. Die Enterokinase ist ein heterodimeres Typ-II-Transmembranprotein, das in der Duodenal-Schleimhaut exprimiert wird. Das Enzym besteht aus

einer leichten und einer schweren Kette, die durch eine Disulfidbrücke

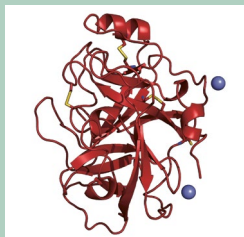


Abb. 1: Kristallstruktur der leichten Kette der Enterokinase (PDB 8h3s), dargestellt mit PyMOL

verbunden sind. Die leichte Kette trägt die klassische katalytische Triade (His57, Asp102, und Ser195) und ist somit verantwortlich für die Proteolyse C-terminal von der Erkennungssequenz Asp-Asp-Asp-Asp-Lys. Die Enterokinase wird also ausschliesslich für die Abtrennung von N-terminalen Peptiden eingesetzt.

Das Ziel dieser Arbeit war die rekombinante Expression der leichten Kette der Enterokinase in *E. coli*. Das Protein wurde periplasmatisch und cytosolisch exprimiert und mittels Affinitätschromatographie isoliert. Die Löslichkeit konnte durch den Austausch des Wirtsorganismus und durch die zielgerichtete Punktmutagenese eines Cysteins im Protein bedeutend verbessert werden.

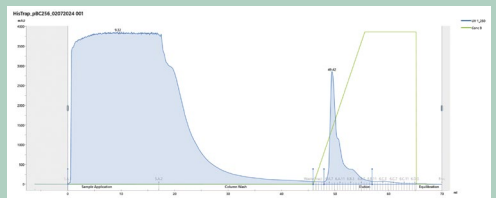


Abb. 2: Isolation der Enterokinase, Affinitätschromatographie

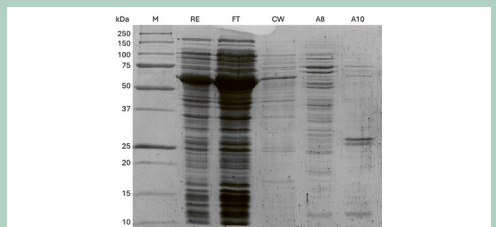


Abb. 3: SDS-PAGE der Aufreinigungsfractionen

Gewinnung von primären tierischen Muskelvorläuferzellen für die Herstellung von Clean Meat



Diplomandin Alicia Sklenar

Korrektoren ZHAW Dr. Markus Rimann, Prof. Dr. Michael Raghunath

Fleisch gehört zu den am häufigsten konsumierten Lebensmitteln. Das jetzige Fleischangebot reicht nicht aus, um die grosse Nachfrage zu decken. Die traditionelle Fleischproduktion geht zudem mit bedeutenden Folgen für die Umwelt einher. Es müssen schnellstmöglich Alternativen für die Fleischproduktion erarbeitet werden. Lösungsansätze liegen im kultivierten Fleisch (Clean Meat) [1]. Muskelstammzellen (Satellitenzellen) haben die Fähigkeit, undifferenziert vorzuliegen, was es ermöglicht, sie zu proliferieren und in den gewünschten Zelltyp zu differenzieren. Sie eignen sich somit am besten für eine *In-vitro*-Fleischkultur, müssen jedoch zuerst aus Fleisch isoliert werden [1], [2]. In dieser Arbeit wurden bovine Satellitenzellen aus Fleischresten isoliert, kultiviert und kryokonserviert, wobei drei Protokolle getestet wurden. Die Zellverteilung und die Morphologie während der Kultivierung wurden mikroskopisch analysiert und festgehalten. Die isolierten Zellen wurden schliesslich in einer 2D-Monolayer-Kultur mittels Fluoreszenz-Färbung (primäre Antikörper Pax7 und MF20 [MHC]) identifiziert. Die Zellen, die nach Stout et al. isoliert wurden, erreichten eine genügend hohe Konfluenz. Die Identifizierung mittels Fluoreszenz-Färbung zeigte MHC-positive multinukleäre Myotuben, jedoch keine Pax7-positiven Satellitenzellen aufgrund eines zu fortgeschrittenen Differenzierungsstadiums. Die drei getesteten Protokolle erwiesen sich

als gut geeignet für die Isolierung von bovinen Satellitenzellen. Können Satellitenzellen kostengünstig und in genügend hohen Ausbeuten isoliert werden, steht der kultivierten Fleischproduktion nichts mehr im Wege.

- [1] B. Balasubramanian et al., *Foods*, Bd. 10, Nr. 6, S. 1395, Juni **2021**, doi:10.3390/foods10061395.
[2] L. Szczepanski et al., in: *lebens.mittel.punkt*, Bd. 52, S. 21–24, Mai **2023**.

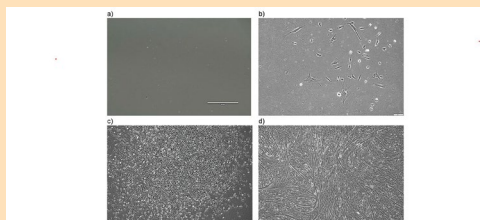


Abb. 1: Morphologie und Zellverteilung der isolierten Muskelzellen aus einem Gewebestück vom Hals eines 1,5-jährigen Rindes. a) nach 4 Tagen, b) nach 6 Tagen, c) nach 8 Tagen, d) nach 11 Tagen. Massstableiste: a) 400 µm b–d) 100 µm

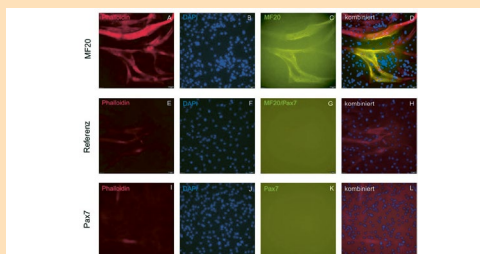


Abb. 2: Fluoreszenz-Färbung des Aktin-Skeletts mit Phalloidin (rot), der Zellkerne mit DAPI (blau) und der Pax7 und Myosin Heavy Chain (MHC) mittels primärer Antikörper Pax7 (I–L) und MF20 (A–D) und Fluoreszenz-markierter Sekundärantikörper (grün), Referenz (ohne 1. Antikörper, E–H). 9 Tage proliferiert und differenziert, Zelldichte von 0,0025 Millionen Zellen pro cm². Massstableiste: 50 µm

Einfluss der Temperatur des Extraktionswassers auf Espresso-Kaffee



Diplomandin

Natalie Stoll

Korrektoren ZHAW

Prof. Dr. Chahan Yeretzian, Dr. Marco Wellinger

Korrektorin extern

Dr. Veronika Zelenay

Die Extraktion von Espresso-Kaffee wird durch viele Faktoren beeinflusst, wie zum Beispiel die Extraktionszeit, den angelegten Druck und das Kaffee-zu-Wasser-Verhältnis, aber auch durch die Temperatur des Extraktionswassers. Das Ziel dieser Arbeit war es, den Effekt der Wassertemperatur auf flüchtige und nicht-flüchtige Verbindungen in Espresso-Kaffee zu untersuchen. Dabei standen zwei gegensätzliche Hypothesen im Vordergrund: Hypothese 1 besagt, dass kälteres Extraktionswasser zu mehr flüchtigen Verbindungen in der Tasse führt, während nicht-flüchtige Verbindungen kaum beeinflusst werden. Hypothese 2 hingegen behauptet, dass kälteres Extraktionswasser sowohl flüchtige als auch nicht-flüchtige Verbindungen reduziert. Diese Hypothesen sollten anhand der

erarbeiteten Datenlage evaluiert werden. Für die Untersuchung wurden fünf Wassertemperaturen gewählt: 80 °C, 84 °C, 88 °C, 92 °C und 96 °C, die mithilfe von Temperatursensoren überwacht wurden; die Extraktionen wurden jeweils in fünffacher Bestimmung durchgeführt. Die Proben wurden auf physikalische und chemische Parameter untersucht, darunter Extraktmasse, Extraktionszeit, Gravimetrie und Temperaturprofil während der Extraktion, Gehalt an gelösten Feststoffen, Gehalt an titrierbaren und organischen Säuren sowie Coffein und Chlorogensäuren. Gleichzeitig wurden 60 flüchtige Verbindungen im Gasraum des Extrakts durch Headspace-Gaschromatographie-Massenspektrometrie (HS GC-MS) identifiziert und mithilfe eines Flächenvergleichs untersucht. Ausserdem wurden fünf ausgewählte Verbindungen

durch SIDA HS GC-MS quantifiziert. Dabei wurden deuterierte Verbindungen als interne Standards verwendet, die eine Quantifizierung im Gasraum erlauben. Abbildung 1 zeigt zwei dieser quantifizierten Verbindungen im Temperaturvergleich. Dabei wurde Essigsäure durch die Extraktionstemperatur beeinflusst, während bei 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin keine Abhängigkeit zu erkennen ist.

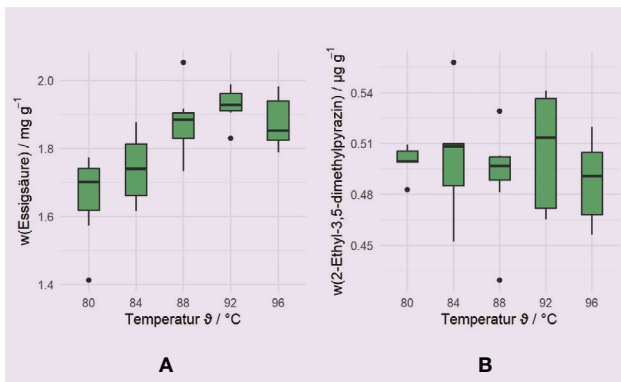


Abb. 1: Boxplots der ermittelten Konzentrationen an Essigsäure (A) und 2-Ethyl-3,5-dimethylpyrazin (B) im Gasraum des Kaffee-Extrakts, analysiert mittels SIDA HS GC-MS

Synthese von 1,2-Dithiin zur spektroskopischen Untersuchung der Paritätsverletzung



Diplomandin Jacqueline Strassmann

Korrektor ZHAW Prof. Dr. Jürgen Stohner

Korrektor extern Prof. Dr. Robert Berger

Es wurde bereits experimentell gezeigt, dass die schwache Wechselwirkung den Erhaltungssatz der Parität verletzt. Dies führt zur Annahme, dass auch ein paritätsverletzender Energieunterschied zwischen zwei Enantiomeren besteht [1]. Experimentell konnte dies bei grösseren Molekülen noch nicht nachgewiesen werden [2]. Das Molekül 1,2-Dithiin, das in dieser Arbeit synthetisiert wurde, soll dazu beitragen, die Experimente auf diesem Gebiet voranzubringen, und besagter Energieunterschied soll anhand dieses Moleküls mittels spektroskopischer Messungen erstmals experimentell nachgewiesen werden. Dies könnte insbesondere für die Beantwortung der Frage nach der Natur der Chiralität sowie der Entstehung der Homochiralität wichtige Erkenntnisse liefern und zu weiteren Kenntnissen über das Standardmodell der Physik beitragen [3, 4].

Bei 1,2-Dithiin handelt es sich um ein sechsgliedriges cyclisches Molekül, das zwei über eine Disulfidbindung verbundene Schwefelatome aufweist, die verwinkelt zueinander stehen

und dadurch eine axiale Chiralität aufweisen.

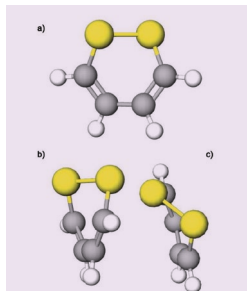


Abb. 1: Molekulare 3D-Struktur von 1,2-Dithiin inklusive der Verwinkelung der Schwefelatome, die zur axialen Chiralität des Moleküls führt

Die erfolgreiche Herstellung von 1,2-Dithiin verlief über eine vierstufige Synthese. Ausgehend von Hexachlorbuta-1,3-dien wurden eine β -Eliminierung, eine Hydrothiolierung, eine Birch-Reduktion und schliesslich eine oxidative Cyclisierung durchgeführt. [5]. Eine erste kleine Menge 1,2-Dithiin konnte bereits mittels Mikrowellen-Spektroskopie gemessen werden. Aufgrund dieser Messungen wurden genauere Informationen über die Frequenzen gesammelt, bei denen 1,2-Dithiin Strahlung absorbiert. In Zukunft sollen weitere Messungen durchgeführt werden, für die allerdings grössere Mengen an 1,2-Dithiin benötigt werden.

[1] M. Quack, *Angewandte Chemie*, 101, 5, 588–604, **1989**.

[2] M. Quack et al., *Chemical Science*, 13, 36, 10598–10643, **2022**.

[3] M. Quack, *Angewandte Chemie*, 114, 24, 4812–4825, **2002**.

[4] M. Quack, J. Stohner, M. Willeke, *Annual Review of Physical Chemistry*, 59, 741–769, **2008**.

[5] S. Albert et al., *Chemical Physics*, 18, 31, 21976–21993, **2016**.

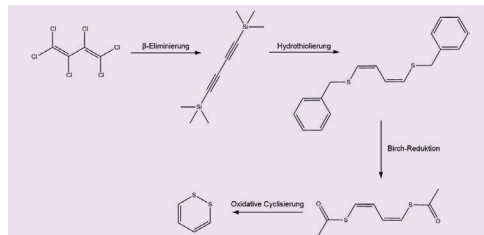


Abb. 2: Reaktionsschema des Synthesewegs zur Herstellung von 1,2-Dithiin

Chimäre Tailspike-Proteine zur Modifikation der Bakteriophagen-Spezifität



Diplomandin

Jessica Sturzenegger

Korrektor/-in ZHAW

Prof. Dr. Sabina Gerber, Prof. Dr. Lars Fieseler

Bakteriophagen (Phagen) infizieren und inaktivieren ihre Wirte mit hoher Spezifität und können dadurch für die Detektion, Identifikation und Bekämpfung von Mikroorganismen eingesetzt werden. Phagen werden schon gezielt in der Lebensmittelindustrie und für die Wundbehandlung bei Infektionen durch multiresistente Keime verwendet. Die Spezifität der Phagen für ihre Wirte wird durch die Tailspike-Proteine (TSP) bestimmt, die nicht-kovalent an der Basalplatte der Phagen angeheftet sind, die Bindung an die O- oder K-Antigene an der Oberfläche der Bakterien ermöglichen und deren Abbau katalysieren (Abb. 1).

Das Ziel der Arbeit waren die Herstellung und die Bioanalytik von chimären Tailspike-Proteinen, bei denen die N-terminale Domäne ausgetauscht wurde, um die Wirtsspezifitäten in einem Phagen anzupassen. Zwei solcher Chimären, eine mit einer *E.-coli-O78*-Spezifität und eine weitere mit einer *K.-pneumoniae-K7*-Spezifität und jeweils einer N-terminalen Domäne aus einem *E.-coli-O157*-Phagen wurden erfolgreich rekombinant exprimiert und aufgereinigt.

Unterschiedliche bioanalytische Methoden zeigten die Integrität und die Stabilität der Proteine. Ebenfalls konnte die Aktivität einer der beiden Chimären für das *E.-coli-O78*-Substrat erfolgreich gelelektrophoretisch und massenspektrometrisch nachgewiesen werden (Abb. 2).

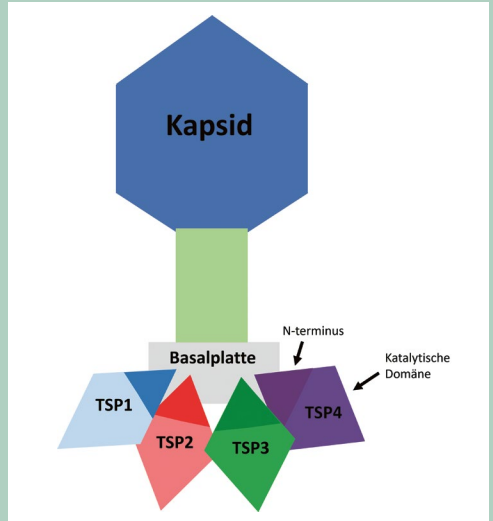


Abb. 1: Schematischer Aufbau eines Kuttervirus mit vier unterschiedlichen Tailspike-Proteinen. Die N-Termini, die an die Basalplatte binden, sind mit dunkleren Farbtönen markiert.

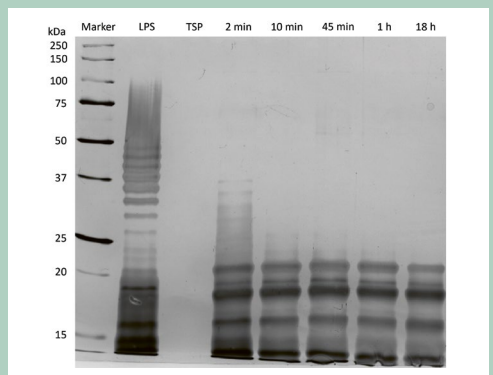


Abb. 2: Aktivitätsnachweis der Chimäre mit einer *E.-coli-O78*-Spezifität. SDS-PAGE und Silberfärbung der extrahierten LPS

Einfluss des Entkoffeinierungsprozesses auf die Aromaentwicklung von geröstetem Kaffee



| | |
|---------------------------|----------------------|
| Diplomandin | Mjriam von Flüe |
| Korrektor ZHAW | Dr. Chahan Yeretzian |
| Korrektorin extern | Dr. Veronika Zelenay |

Die Swiss-Water-Coffee-Entkoffeinierungstechnologie unterscheidet sich von anderen Methoden, da sie Wasser als Extraktionsmittel nutzt. Dabei wird eine Charge grüner Bohnen in heissem Wasser eingeweicht, um das Koffein herauszulösen. Das Wasser wird abgezogen und durch einen Aktivkohlefilter geleitet. Die Porengrösse dieses Filters ist so bemessen, dass er nur die «grossen» Koffeinmoleküle einfängt, während kleinere wasserlösliche Verbindungen, einschliesslich Aroma-Vorläuferverbindungen, durchgelassen werden. Das Ergebnis ist eine erste Charge Bohnen, die weitgehend von wasserlöslichen Verbindungen erschöpft ist, und ein koffeinfreier Extrakt, der gesättigt ist mit wasserlöslichen Verbindungen aus den grünen Bohnen. Die extrahierten Bohnen

werden verworfen, während der gesättigte grüne Kaffee-Extrakt verwendet wird, um das Koffein aus einer frischen Charge Kaffeebohnen zu entfernen. Da dieses Wasser mit Vorläuferverbindungen gesättigt ist, können sich diese in der frischen Charge nicht lösen; nur das Koffein wird extrahiert. Das Ergebnis ist eine Entkoffeinierung ohne grossen Aromaverlust.

Ziel dieser Arbeit war es, den Einfluss des Swiss-Water-Entkoffeinierungsprozesses auf Vorläuferverbindungen wie freie Aminosäuren, Trigonellin, Zucker, organische Säuren, Proteine, Chlorogensäuren sowie Koffein in grünem Kaffee zu untersuchen. Dafür wurden vier Kaffeeproben aus Brasilien, Peru und Kolumbien sowie eine Mischung (Blend) dieser Sorten mittels des Swiss-Water-Entkoffeinierungsprozesses behandelt. Die Proben wurden sowohl vor als auch nach dem Entkoffeinierungsprozess analysiert. Anschliessend wurde exemplarisch der peruanische Kaffee geröstet und mittels SIDA GC-MS analysiert, um die Entwicklung und die Bildung der Aromaverbindungen während des Röstens zu untersuchen. Dieses Projekt steht unter Geheimhaltung, da es in Zusammenarbeit mit einem Industriepartner durchgeführt wurde. Aus diesem Grund werden die Ergebnisse dieser Arbeit nicht veröffentlicht.

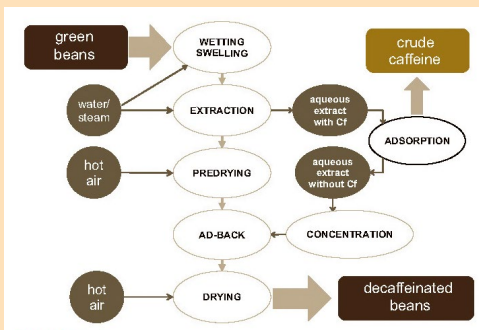


Abb. 1: Schematische Abbildung des Swiss-Water-Entkoffeinierungsprozesses

Quelle: L. Poisson et. al, "Chapter 10 – Decaffeination – Process and Quality", in *The Craft and Science of Coffee*, B. Folmer, Hrsg., Academic Press, 2017, S. 273–309. doi: 10.1016/B978-0-12-803520-7.00012-8.

Optimierung einer Hydrieranlage für die Evaluierung heterogener Katalysatoren



Diplomand

Flavio Weibel

Korrektor/-in ZHAW Dr. Peter Riedlberger, Dr. Judith Krautwald

In der chemischen und pharmazeutischen Industrie ist die Hydrierung eine zentrale Reaktion, da mit den richtigen Katalysatoren die selektive Synthese einer Vielzahl von Produkten möglich ist. Zur Evaluation von Katalysatoren ist ein Verfahren zum Screening im Pilotmasstab notwendig. Zunächst wurde die Hydrierung von Toluol zu Methylcyclohexan verwendet, um die Möglichkeiten der Hydrieranlage, denkbare technische Mängel und Fehlmanipulationen zu erkennen. Der Prozess wurde im Batch- und Semibatch-Betrieb durchgeführt und die Ausbeute mittels Gaschromatographie bestimmt. Bei beiden Betriebsvarianten wurde eine Ausbeute von mindestens 98 % erreicht.

In dieser Arbeit wurde darüber hinaus für das Screening im Pilot-Hochdruckreaktor eine Reaktion mit industrieller Relevanz identifiziert. Durch saure Hydrolyse von Cellulose kann Lävulinsäure aus Biomasse gewonnen werden, die mit Wasserstoff in γ -Valerolacton (GVL) umgesetzt werden kann. GVL kann als Alternative zu fossilen

Rohstoffen als Treibstoffzusatz oder als Ausgangsmaterial für chemische Erzeugnisse verwendet werden. Hydrierungen mit Wasserstoff bergen aber erhebliche Risiken, zum einen aufgrund des Gefahrenpotenzials des Wasserstoffs und zum anderen wegen der Exothermie der Reaktionen.

Zum Abschätzen des Risikos wurde eine Risikoanalyse für die Modellreaktion zu den thermischen Risiken sowohl theoretisch als auch mittels Differentialthermoanalyse (DSC) durchgeführt. Als größtes Gefahrenpotenzial wurden dabei eine Kühlpanne und der daraus folgende Temperaturanstieg identifiziert, da dadurch das Koppelprodukt Wasser zum Bersten des Reaktors bzw. der Berstscheibe führen kann. Zersetzungsreaktionen wurden bei der Analyse eines simulierten Reaktionsgemischs mittels DSC bis 500 °C ausgeschlossen. Da die höchste erreichbare Temperatur der Reaktion ca. 340 °C beträgt, können Zersetzungsreaktionen als Gefahr ausgeschlossen werden.

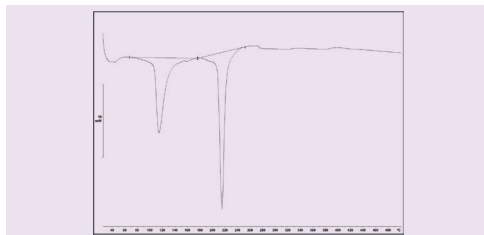


Abb. 1: Im DSC von 10 % Lävulinsäure in γ -Valerolacton mit Raney-Nickel sind nur endotherme Peaks erkennbar.

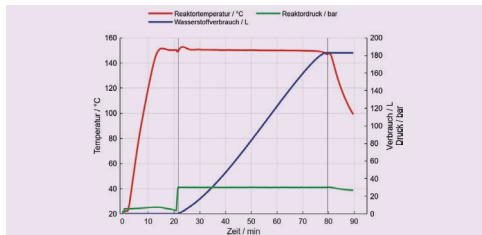


Abb. 2: Typischer Hydrierverlauf von Toluol zu Methylcyclohexan

SNIPERs als zielgerichtete Krebstherapie



Diplomand

Jonas Wettstein

Korrektoren ZHAW

Prof. Dr. Rainer Riedl, Dr. Stefan Höck

Ein SNIPER (Specific and Non-genetic IAP-dependent Protein Eraser) ist ein bifunktionelles Molekül zur gezielten Entfernung von Proteinen in Zellen. Diese Technologie nutzt den natürlichen Abbauweg von Proteinen und bietet eine vielversprechende Methode zur Krebstherapie. Ein SNIPER besteht aus zwei funktionalen Einheiten, die durch einen Linker verbunden sind. Ein Ende des Linkers bindet an das Zielprotein, das andere an einen Apoptose-Inhibitor (IAPs: Inhibitor of Apoptosis Proteins). [1]

Das Funktionsprinzip eines SNIPERs basiert auf der Rekrutierung der IAPs, die als E3-Ligasen fungieren und das Zielprotein für den Abbau markieren. Dieser Prozess wird durch das Ubiquitin-Proteasom-System (UPS) vermittelt. Zusätzlich binden und inaktivieren IAPs-Caspasen, zentrale Komponenten der Apoptose. [2] Durch den Abbau der IAPs fördern SNIPERs die Apoptose in Krebszellen.

Eine Überexpression von IAPs in Krebszellen kann die Apoptose unterdrücken und zu unkontrolliertem Zellwachstum führen. Daher ist der Abbau von IAPs durch SNIPERs ein vielversprechender Ansatz zur Bekämpfung von Krebszellen. [1]

Diese Technologie hat grosses Potenzial in der Krebstherapie, da sie spezifische Onkoproteine abbaut und Resistenzen gegenüber herkömmlichen Therapien überwindet [3].

Das Ziel dieser Forschung ist es, SNIPERs zu entwickeln, die spezifisch gegen Krebszellen wirken und gesunde Zellen verschonen. Die Synthese eines solchen SNIPERs erfordert die Identifikation und die Herstellung von Liganden für das Zielprotein und die IAPs.

[1] N. Ohoka et al., *Journal of Biological Chemistry* **2017**, 292 (11), 4556–4570.

<https://doi.org/10.1074/jbc.M116.768853>

[2] Z. Ma et al., *European Journal of Medicinal Chemistry* **2021**, 216, 113247. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2021.113247>

[3] M. Naito et al., *Drug Discovery Today: Technologies* **2019**, 31, 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2018.12.002>

[4] S. Gu et al., *BioEssays*, Vol. 40, Issue 4, April 2018. <https://doi.org/10.1002/bies.201700247>

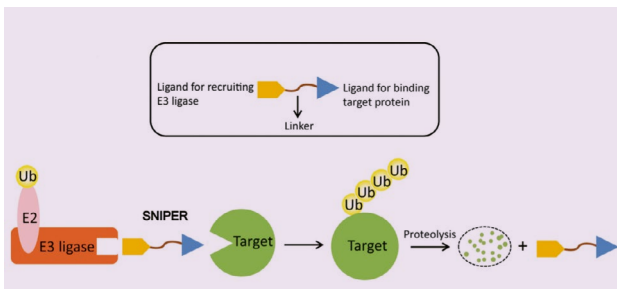


Abb. 1: Schema des SNIPER-Mechanismus [4]

Synthese und Charakterisierung von MMP-targeting PROTACs



Diplomandin

Sarah Wiebe

Korrektoren ZHAW

Prof. Dr. Rainer Riedl, Dr. Stefan Höck

PROTACs steht für Proteolysis Targeting Chimeras, was auf Deutsch auf die Proteolyseangreifende Chimären bedeutet. PROTACs sind Moleküle, die sich das Ubiquitin-Protease-System (UPS) einer Zelle zunutze machen, um ausgewählte Proteine abzubauen. Das Molekül ist dabei heterobifunktionell und verbindet das abzubauen Protein (POI) mit einer E3-Ubiquitinligase. Dadurch kann das Zielprotein durch Ubiquitin, ein Polypeptid, markiert und anschliessend von einer Protease abgebaut werden.

Ein PROTAC besteht aus drei verschiedenen Teilen: Ein Ende bindet an das Zielprotein, das andere Ende an die E3-Ligase und an ein Verbindungsstück, das als Linker bezeichnet wird. In Abbildung 1 sind der Aufbau eines PROTACs, die Ubiquitinierung und der anschliessende Proteinabbau schematisch dargestellt. Diese PROTACs werden als alternativer Wirkstoff zu herkömmlichen Inhibitoren hergestellt, um sie gegen spezifische Proteine einzusetzen.

In dieser Arbeit wurden Proteasen als Zielproteine anvisiert. Deshalb wurde ein Breitbandinhibitor gegen solche Proteasen für das eine Ende des PROTACs hergestellt, für das andere Ende wurde ein E3-Ligase-Ligand synthetisiert, der dann an eine E3-Ligase binden sollte. Da bei der Ubiquitinierung die räumliche Anordnung des Zielproteins zur E3-Ligase eine zentrale Rolle spielt, ist es wichtig, den richtigen Linker auszuwählen, der die beiden in die richtige Position zueinander bringt. Dies war auch die Hauptaufgabe dieser Arbeit. Zwei verschiedene Linker wurden jeweils mit einem Breitbandinhibitor und einem Liganden verbunden.

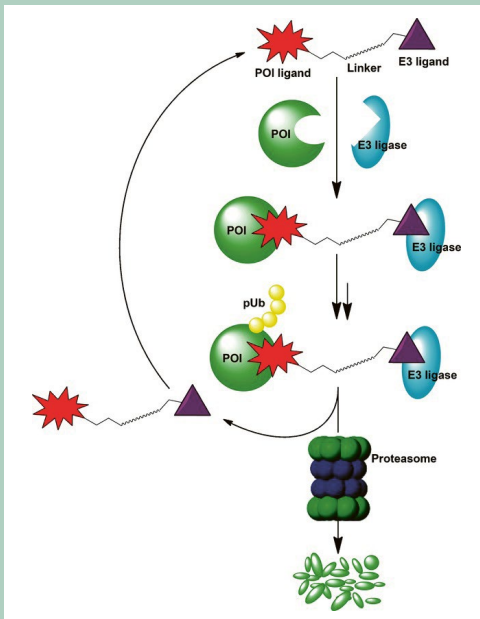


Abb. 1: Ubiquitinierung des Zielproteins mittels PROTAC und anschliessender Proteinabbau

Quantifizierung der Bindeinteraktion von Tailspike-Proteinen aus Bakteriophagen



Diplomandin Belinda Wipf

Korrektor/-in ZHAW Prof. Dr. Sabina Gerber, Prof. Dr. Lars Fieseler

Die starke Zunahme der Resistenz von pathogenen Keimen gegen eine Vielzahl von Antibiotika ist eine grosse globale Herausforderung. Bakteriophagen (Phagen), die hochspezifisch Bakterien infizieren und abtöten können, rücken deshalb in der Forschung wieder vermehrt in den Fokus. In verderblichen Lebensmitteln werden Phagen bereits zur Verlängerung der Haltbarkeit zugesetzt, und in der Medizin werden sie für die Behandlung von Wunden verwendet. Phagen der Familie der *Kutterviren* sind aus einem Kopf, einem Schwanz, einer Basalplatte und meistens vier nicht-kovalent daran assoziierten Tailspike-Proteinen (TSP) aufgebaut (Abb. 1, links). Die TSP binden an die Wirtszelloberfläche und bauen deren extrazelluläre Polysaccharide als einer der ersten Schritte der Infektion ab. Dadurch fungieren die TSP als Determinanten für die Spezifität des Phagen für seinen Wirt. Ob zusätzliche Bindeinteraktionen

vonnöten sind, ist bisher nicht bekannt. Die strukturelle und thermodynamische Aufklärung der Bindeinteraktionen der TSP mit der Basalplatte und auch der TSP untereinander ist unter anderem von Interesse, um zum Beispiel Wirtsspezifitäten von Phagen auszutauschen. Bisher wurde ein Modell für die mutmasslichen Interaktionen der TSP in einem *Kuttervirus* erstellt (Abb. 1 rechts), das jedoch nicht mit weiteren Studien von ähnlichen Phagen bestätigt wurde. Ziel der Bachelorarbeit war es, die Bindeinteraktionen von drei TSP eines *Kuttervirus* mittels isothermaler Titrationskalorimetrie (ITC) zu quantifizieren (Abb. 2). Die erfolgreich nachgewiesene Bindung von zwei ausgewählten TSP widerlegte das publizierte Modell hinsichtlich der Abfolge der Bindeinteraktionen. Die resultierende durchschnittliche Dissoziationskonstante aus drei unabhängigen Messungen von zwei der drei TSP betrug 53,7 nM. Die Bindeinteraktion wurde

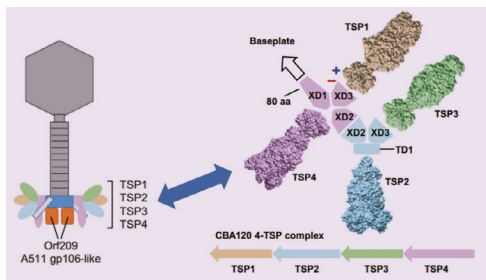
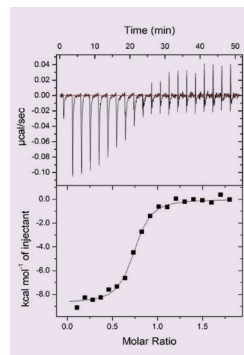


Abb. 1: Schematische Darstellung eines *Kuttervirus* (links) und Aufbau des TSP-Komplexes an der Basalplatte (rechts). Abb. und Modell aus Plattner *et. al.*, JMB 2019



zusätzlich qualitativ mittels Dynamic Light Scattering (DLS) und mit Grössenausschlusschromatographie (SEC) bestätigt.

Abb. 2: ITC-Thermogramm von zwei TSP (oben), Integration der Peaks zur Quantifizierung der Bindeinteraktion (unten)

Institut für Chemie und Biotechnologie (ICBT)

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



Lehre

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

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

Weiterbildung

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

Forschung, Entwicklung und Dienstleistungen

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

Unsere strategischen Schwerpunkte:

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



Mehr über unser Institut
www.zhaw.ch/icbt

Perspektiven: Bachelor, Master und Weiterbildung

Praxisorientierte Aus- und Weiterbildung

Die Bachelorprogramme der ZHAW sind berufsbefähigend und vermitteln praxisorientiertes Fachwissen, Allgemeinbildung und Arbeitsmethodik. Dank der Vernetzung mit rund hundert Hochschulen in Europa und Übersee bieten wir den Studierenden attraktive Möglichkeiten für ein internationales Austauschprogramm.

Im forschungsbasierten Masterstudien-gang vertiefen die Studierenden ihre Fachkenntnisse und erweitern ihre Kompetenzen. Die Master Thesis bildet dabei den wissenschaftlichen Kern des Studiums. Projektpartnern bietet sich die Möglichkeit zu einer engen Zusammenarbeit im Bachelor- wie auch im Masterstudium.

Zukunftsorientierte Bildungsprogramme

- Bachelorstudium Chemie mit den Vertiefungen Chemie und Biologische Chemie
- Bachelorstudium Biotechnologie mit den Vertiefungen Bioprozessentwicklung und Bioengineering sowie Molekular-, Mikro- und Zellbiologie
- Masterstudium Life Sciences mit Vertiefung Chemistry for the Life Sciences
- Masterstudium Life Sciences mit Vertiefung Pharmaceutical Biotechnology
- Masterstudium Life Sciences mit Vertiefung Applied Computational Life Sciences
- CAS in The Science and Art of Coffee
- Individuelle Weiterbildungen für Firmen
- Fachtagungen

Weiterbildung

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



Weitere Infos zum
Bachelor und zum Master ICBT:
[www.zhaw.ch/de/lsfm/
institute-zentren/icbt/
studium/](http://www.zhaw.ch/de/lsfm/institute-zentren/icbt/studium/)



Weitere Infos zur Weiterbildung
[www.zhaw.ch/icbt/
weiterbildung](http://www.zhaw.ch/icbt/weiterbildung)



Chemie

Das Studium mit den
meisten Lösungen,
ob BSc oder MSc!



[zhaw.ch/icbt/
bachelor-chemie](https://zhaw.ch/icbt/bachelor-chemie)



[zhaw.ch/icbt/
master-chemistry](https://zhaw.ch/icbt/master-chemistry)

ALUMNI ZHAW

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



Melde dich gleich an:
alumni-zhaw.ch

Geschäftsstelle ALUMNI ZHAW
ALUMNI ZHAW
Gertrudstrasse 15
8400 Winterthur
052 203 47 00
services@alumni-zhaw.ch

ZHAW Zürcher Hochschule für
Angewandte Wissenschaften

**Life Sciences und
Facility Management**
ICBT Institut für
Chemie und Biotechnologie

Studiengang Chemie
Grüntalstrasse 14
Postfach
8820 Wädenswil
Tel. +41 58 934 50 00
info.icbt@zhaw.ch
www.zhaw.ch/icbt

Für weitere Informationen
besuchen Sie unsere Website:
www.zhaw.ch

