

**Envirostat technologies
for time resolved single cell analysis in
contactless controlled microenvironments**

Zur Erlangung des akademischen Grades eines
Dr.-Ing.
von der Fakultät Bio- und Chemieingenieurwesen
der Technischen Universität Dortmund
genehmigte Dissertation

vorgelegt von
Dipl.-Ing. Frederik Sven Ole Fritzsche
aus
Wilhelmshaven

Tag der mündlichen Prüfung: 02.07.2014

1. Gutachter: Prof. Dr. rer. Nat. Andreas Schmid
2. Gutachter: Prof. Dr.-Ing. Andreas Neyer

Dortmund 2014

Chemical Biotechnology
Prof. Dr. Andreas Schmid (ed.)

Frederik Sven Ole Fritzsche

**Envirostat technologies for time resolved single cell
analysis in contactless controlled microenvironments**

Volume 20

D 290 (Diss. Technische Universität Dortmund)

Shaker Verlag
Aachen 2015

Bibliographic information published by the Deutsche Nationalbibliothek

The Deutsche Nationalbibliothek lists this publication in the Deutsche Nationalbibliografie; detailed bibliographic data are available in the Internet at <http://dnb.d-nb.de>.

Zugl.: Dortmund, Technische Univ., Diss., 2014

Copyright Shaker Verlag 2015

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise, without the prior permission of the publishers.

Printed in Germany.

ISBN 978-3-8440-3430-1

ISSN 1868-0283

Shaker Verlag GmbH • P.O. BOX 101818 • D-52018 Aachen

Phone: 0049/2407/9596-0 • Telefax: 0049/2407/9596-9

Internet: www.shaker.de • e-mail: info@shaker.de

Lebenskunst ist,
Problemen nicht auszuweichen,
sondern daran zu wachsen.

Anaximandros (~ 615 - 545 v. Chr.)

Danksagung

Private Danksagung

Mein erster Dank geht an meinem Doktorvater Prof. Andreas Schmid. Er gab mir die Möglichkeit meine Doktorarbeit am Leibniz Institut für Analytische Wissenschaften – ISAS – e.V. und am Lehrstuhl für Biotechnologie an der TU Dortmund durchführen. Durch seine offene Art und motivierenden Worte durfte ich viel von ihm lernen. Ein besonderer Dank geht an meinen ehemaligen Gruppenleiter Prof. Lars Blank für zahlreiche Korrekturen, aufbauende Worte und ein Engagement welches man selten findet. Selbst nach seinem Ruf nach Aachen konnte ich mich immer auf seine Unterstützung und Korrekturen verlassen. Ich möchte auch seinem Nachfolger Oliver Frick für seine Unterstützung in den letzten Monaten meiner Doktorarbeit danken.

Ich danke ausdrücklich Herrn Prof. Andreas Neyer für die Bereitschaft meine Doktorarbeit als Zweitgutachter zu bewerten und die Promtionsprüfung mit abzunehmen. Für letzteres danke ich ebenfalls ausdrücklich Herrn Prof. Peter Ehrhard und Herrn Prof. Norbert Kockmann.

Herrn Dr. Steffen Howitz und Herrn Burkhard Kainka danke ich für die exzellente Zusammenarbeit bei der Entwicklung von Mikrochip und Mikroelektronik.

Ich war in der glücklichen Lage an der TU Dortmund und am ISAS als wissenschaftlicher Mitarbeiter arbeiten zu dürfen, was mir vielseitige Einsichten und Möglichkeiten zur Bearbeitung der Doktorarbeit ermöglichte. Ich möchte mich an dieser Stelle bei allen Mitarbeitern für die zahlreichen Gespräche, tatkräftige Unterstützung und für eine spannende und schöne Zeit bedanken.

Aus dem ISAS möchte ich Jens Hinrichs und Ingo Feldmann für eine perfekte IT und Labor Unterstützung und die genialen Kicker Derbys danken. Helma Geltenpoth und Heiko Hayen für die Analysen am FTICR MS und Jürgen Lonczynski, Rüdiger Willberg und Günther Jestel für die exzellente feinmechanische und elektrotechnische Unterstützung danken. Stefan Florek danke ich für die Unterstützung beim Patentieren und für die schöne Zeit in und um Berlin. Ich danke Ingo Baumbach, Rolf Bandur, Jürgen Nolte, Rita Fobbe und Wolfgang Vautz für die zahlreichen Unterstützungen im PB Metabolomics. Alex von Bohlen und Maria Becker danke ich für die Unterstützung durch EM-Aufnahmen. Ein großer Dank geht an Joachim, Peter, Michael,

Dirk, Raffael, Sahra, Saskia, Jonathan, Marco, Norman, Jean-Philippe, Heike, Ann-Kathrin, Norman, Sven und dem PB Miniaturisierung für zahlreiche Beratungen, welche bei der Entwicklung und Charakterisierung der Mikrochiptechnologien geholfen haben. Ein großer Dank geht auch an Julibu, René, Marc, Matthias, Urs, Juliwi, Florian, Albert und den ganzen PB Proteomics für die Unterstützung bei der Analytik. In Erinnerung bleiben viele gemeinsame Veranstaltungen wie die Summerschool, Klausurtagungen, Evaluierung, Exkursionen und viele mehr bei denen ich viel lernen durfte. Ich danke Hendrik Kortmann, dass er mich am ISAS eingearbeitet hat und für seine Korrekturen bei der ersten Publikation. Meinem Mitstreiter Christian Dusny danke ich für die hervorragende enge Zusammenarbeit und seine verrückte offene Art.

Ein besonderer Dank geht an meine Studentinnen, Anna Kampert, Birte Tabke, Verena Schmitt, Kathrin Rosenthal und Verena Oehling, dessen Studien- und Diplomarbeiten zum Erfolg dieser Arbeit viel beigetragen haben. Ich habe mich sehr gefreut, dass ich Kathrin und Verena später zu meinen Kolleginnen zählen konnte und wünsche ihnen und Christian Dusny viel Erfolg bei der weiteren Bearbeitung der Thematik. Aus dem Lehrstuhl für Biotechnologie geht ein großer Dank an die alles regelnde Christine Wasielewski, welche immer ein offenes Ohr für mich hatte und vieles teilte. Ein großer Dank geht auch an Bruno, Katja, Jochen, Sabine, Dani, Mani, Anja, Patty, Frank, Suresh, Kerstin, Rohan, Marvin, Babu, Jianan, Michael, Kirsten, Nadine, Matijts, Marcel, Karsten, Martin, Karo, Eleni, Linde, Bart, Christian W., Jan V., Volki, Jon, Sjef, Birgitta, Rainer, Anders, Jana, Reto, Özde, Darius, Jan H. und der einzigartigen Lehrstuhl-Gruppendynamik, die in ihrem Zusammenhalt einzigartig war. In Erinnerung bleiben geniale Weihnachtsfeiern, Kaffeeraum-Partys, Kicker-Abende im Kraftstoff, Ausflüge zum Skifahren nach Davos, Segeln, Campen oder gemeinsame Reisen ins Sauerland, ins Tessin und nach Istanbul.

Meinen Eltern Gabriele und Gerhard Fritzsche danke ich von Herzen. Egal in welcher Lage ich und meine Geschwister waren, sie kämpften immer für uns und ermöglichten uns ein geistreiches, offenes und schönes Leben. Ich danke meiner ganzen Familie und besonders meinen Geschwistern Jantje, Anna, Sebastian und meiner Großmutter Hilde Schoele für den Rückhalt und die vielen Perspektiven. Zuletzt danke ich meinem Schatz Fatma für all die schönen Momente, ihr Vertrauen, Verständnis und ihren Beistand in allen Lebenssituationen. Vielen Dank euch allen!

Special thanks for the publications

I am grateful to Jürgen Lonczynski and the ISAS mechanical workshop for fruitful discussions and excellent technical assistance. I am grateful to Burkhard Kainka and Rüdiger Willberg for all the help with the electrics. I thank Peter Ehrhard and Carsten Gizewski for the microparticle imaging velocimetry control measurements. I am grateful to Raffael Kettler and Sarah Waide for the continuous supply of several in this study used cells.

Funding

I acknowledge funding from the Leibniz Graduate School—Systems Biology Lab-on-a-Chip (S-BLOC). The research was cofinanced by the European Union (EFRE) and supported by the Ministry of Innovation, Science, Research, and Technology of North- Rhine Westphalia, Germany.

Table of Contents

Summary	IX
Zusammenfassung	X
List of Abbreviations	XI
Introduction	1
General introduction	2
Dielectrophoresis for single cell manipulation	13
Scope of the thesis	21
Pressure-resistant and reversible on-tube-sealing for microfluidics	23
Summary	24
Introduction	24
Materials and methods	25
Results and discussions	26
Conclusions	35
A chip stamp interface enables surface independent and rapid microfluidic cell adhesion analysis	37
Summary	38
Introduction	38
Materials and methods	39
Results and discussions	41
Conclusions	46
The ENVIROSTAT 2.0:	49
Picoliter nDEP traps enable time-resolved contactless single bacterium analysis in controlled microenvironments	49
Summary	50
Introduction	51
Material and methods	53
Results and discussions	59
Conclusions	76
Miniaturized octupoles enable microflow cytometry and cell type independent trapping with multiple analytical functions.	79
Summary	80
Introduction	80
Materials and methods	81
Results	85
Discussion	92
Conclusions	94
Single cells in microenvironmentally controlled and nutrient limited conditions	95
Summary	96
Introduction	97
Materials and methods	98
Results and discussion	101
Conclusion	112

General Discussion	113
Single cell analysis for systems biology and biotechnology	114
Single cell analysis for biocatalysis	125
Conclusion & Outlook	129
Appendix	134
References	144
Curriculum Vitae	163