

# Microfluidic formation and manipulation of tubular lipid membrane structures

**Doctoral Thesis**

**Author(s):**

Cavegn, Andriu

**Publication date:**

2013

**Permanent link:**

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-010060750>

**Rights / license:**

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#)

DISS. ETH NO. 21534

**Microfluidic Formation and Manipulation  
of Tubular Lipid Membrane Structures**

A thesis submitted to attain the degree of

Doctor of Sciences of ETH Zurich

(Dr. sc. ETH Zurich)

presented by

**Andriu Cavegn**

Master of Science ETH in Chemistry, ETH-Zurich

born October 28th, 1980

citizen of Tujetsch, Grisons, Switzerland

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Petra S. Dittrich

Prof. Dr. Andrew deMello

Prof. Dr. Peter Johann Walde

2013

## Summari

En questa lavur presentel jeu in utensil cun il qual selai preparar fetg pigns uders che consistan ord membrana da lipids, per gl'intent da scaffir structuradas artificialas che semeglian structuradas cellularas.

Per crear tals uders ord membrana da lipids vegn fatg diever dalla microfluidica, quella disciplina fisica che sefatschenta cun fluids sin fetg pign spazi. Ils uders vegnan formai ord membrana da lipids entras squitschar la membrana atras fetg pintgas ruosnas ch'ei mo enzacons paucs micrometers ladas. Quella procedura senumna micro-extrusiun. Per la micro-extrusiun vegn in flum duvraus, il qual vegn producius en in canal microfluidic. Entras la micro-extrusiun sefuorman uders continuadamein el flum el canal. Il flum vegn duvraus per la mixro-extrusiun sco era per la prolungaziun dils uders. Uders che vegnan preparai entras talla procedura ein mo enzacons tschien nanometers en diameter, pon denton contonscher ina lunghezia da plirs millimeters.

Igl indrez microfluidic ch'ei sesvilupaus ord questa lavur consista ord duas parts. Al fons d'igl indrez sesanfla il sistem microfluidic che consista ord pigns canals. Il fons ei cuvretgs cun in uvierchel ch'ei fabricaus ord silicium e che cuntegn ina fina spartida cun pintgas ruosnas d'enzacons paucs micrometers ladezia. La spartida cun las ruosnas ei il cor d'igl indrez e vegn duvrada per la micro-extrusiun.

La micro-extrusiun dad uders ei vegnida contonschida cun differenta membrana da lipids. Uders ein vegni preparai cun lipids sintetics sco era cun lipids natirals, retratgs ord membrana cellulara.

Per la stabilisaziun dils uders el flum ei ina plattafuorma microfluidica vegnida svilupada che lubescha d'alngiar, posiziunar ed immobilisar las structuradas sut squetsch dil flum. Igl indrez cuntegn petgas ch'ei integradas agl ur dil canal microfluidic. Cun quellas petgas selaian ils uders tschappar e mantener. Quei indrez

lubescha dad intercurir las estructuras da membrana da lipids pli detagliadamein. Il desegn dil canal microfluidic ei vegnius svilupaus plinavon per saver manipular las estructuras controladamein. Il niev desegn lubescha in'affluaziun locala da differentas substanzas chemicas u biologicas enviers la membrana da lipids dad uders ch'ei vegni reteni el canal microfluidic. Tala affluaziun da soluziuns chemicas u biologicas po vegnir duvrada per modificar la cumposiziun dalla membrana dallas estructuras. Different tests ein presentai cun ils quals differentas estructuras da membrana da lipids ein vegnidas modificadas.

Igl indrez ch'ei presentaus en questa lavur empermetta da svilupar estructuras artificialas ord membrana da lipids che pareglian zun fetg a estructuras biologicas. Cun talas estructuras selai capir meglier co cellas viventas ein construidas e co ellas funcziuneschan.

## Abstract

In this thesis, a microfluidic tool for the formation and handling of tubular lipid membrane structures, is presented. The aim was to develop artificial lipid membrane structures mimicking cellular membrane architectures.

A microfluidic technique has been applied for the formation of tubular lipid membrane structures. The structures were formed by extrusion of a lipid film through micron sized apertures. Micro-extruded lipid membrane tubules were guided under laminar flow conditions through a microfluidic channel where they were further elongated due to shear flow. The micro-extruded lipid membrane structures were several millimeters long, but only a few hundred nanometers in diameter.

A two-layer microfluidic device has been used for the micro-extrusion. The device consisted of a microfluidic channel system at the bottom and a micro-fabricated Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-slide with a Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-membrane with micron-sized apertures at the top. The Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>-membrane was the core of the device, where the actual micro-extrusion took place. The formation and stabilization of tubular lipid membrane structures made from different lipids have been studied. Tubular lipid membrane structures have been prepared with synthetic lipids and mixtures thereof, and as well with natural lipid membrane extracts.

A microfluidic platform has been developed, which allowed for stabilization and manipulation of tubular lipid membrane structures. A simple microfluidic approach was used to align trap and stabilize the elastic membrane architectures. Tip shaped trapping supports allowed to immobilize and stabilize the lipid membrane structures in flow and enabled further membrane investigations.

An advanced design has been developed for controlled microfluidic manipulation of trapped tubular lipid membrane structures. The design allowed for controlled delivery of different buffer solutions towards the trapped lipid membrane struc-

tures. Local supply of chemical and biological compounds was used to alter the membrane composition. For proof of principle, local partitioning of lipophilic rhodamine B fluorescent dye into trapped DLPC lipid membrane structures was achieved. Further experiments included local addition of cholesterol-PEG-FITC to trapped DLPC/DPPC membrane tubules, local binding of streptavidin-FITC to biotinylated lipid membrane tubules, and sensing of gangliosides in membrane tubules using FITC-labelled cholera toxin subunit B.

A promising microfluidic tool is presented which might serve to develop truly life-like systems that mimic biological architectures helping to understand how membranes are organized in a living cell.

## Zusammenfassung

In dieser Arbeit wird eine mikrofluidische Vorrichtung zur Herstellung und Handhabung von schlauchartigen Lipidmembranstrukturen vorgestellt. Ziel war es, künstliche Lipidmembranstrukturen, welche lebensähnlichen Systemen gleichen, zu formen.

Zur Herstellung der Lipidschläuche wurde eine mikrofluidische Methode angewendet. Die Strukturen wurden durch Extrusion eines Lipidfilms durch winzige Öffnungen hergestellt. Unter laminaren Flussbedingungen wurden die Strukturen in einem mikrofluidischen Kanal in die Länge gezogen. Die mikroextrudierten Lipidschläuche erreichten so eine Länge von mehreren Millimetern, wobei deren Durchmesser nur einige hundert Nanometer betrug.

Ein zweischichtiger Chip wurde für die Microextrusion verwendet. Der Chip bestand aus einem mikrofluidischen Kanalsystem und einer Si-Schicht mit einer mikrostrukturierten  $\text{Si}_3\text{N}_4$ -Membran mit kleinen Öffnungen. Durch die Mikrometer grossen Öffnungen der  $\text{Si}_3\text{N}_4$ -Membran fand die Mikroextrusion statt.

Die Mikroextrusion wurde bezüglich verschiedener Lipide auf die Bildung und Stabilisierung schlauchartiger Lipidmembranstrukturen untersucht, und konnte mit synthetischen Lipiden sowie mit natürlichen Lipidmembranextrakten erzielt werden.

Eine mikrofluidische Plattform wurde entwickelt, welche es ermöglichte die Strukturen auszurichten und im Fluss festzuhalten. Ein einfacher mikrofluidischer Ansatz wurde dabei verwendet, der es erlaubte die Strukturen festzuhalten ohne die Membran zu modifizieren. Spitzige Stützen wurden im Kanal integriert um die Lipidmembranstrukturen im Fluss festzuhalten und zu stabilisieren.

Ein fortgeschrittenes Kanaldesign wurde entwickelt welches eine kontrollierte Zuführung von verschiedenen Pufferlösungen zu festgehaltenen Lipidmembran-

schläuchen, ermöglichte. Verschiedene chemische und biologische Verbindungen wurden kontrolliert der Lipidmembran zugeführt um die Zusammensetzung der Membran und ihre Eigenschaften zu verändern. Als Eignungstest wurden gefangene Lipidmembranstrukturen lokal mit Rhodamin B eingefärbt. Des Weiteren wurde Cholesterol-PEG-FITC genutzt um die Membran von gefangenen Lipidmembranstrukturen zu verändern. Lokales binden von Streptavidin-FITC zu biotinylierten Membranschläuchen sowie die Detektion von Gangliosiden in Membranschläuchen mittels FITC-markierter Cholera-Toxin Untereinheit B wurden erfolgreich durchgeführt.

Ein vielversprechendes mikrofluidisches Werkzeug wurde vorgestellt, welches ermöglicht lebensähnliche Lipidmembransysteme zu entwickeln, welche verhelfen sollen zelluläre Architekturen besser zu verstehen.