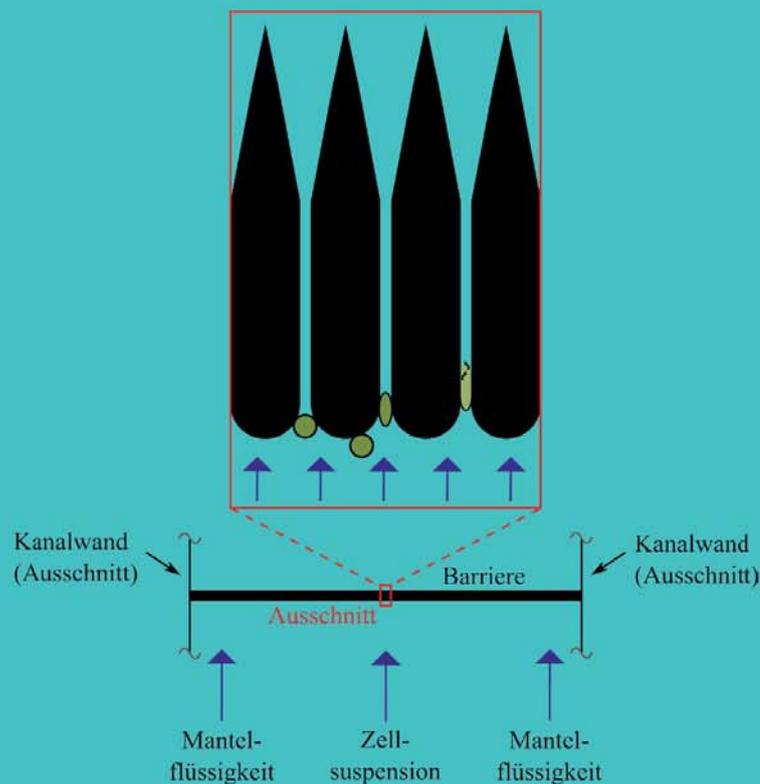


Stefan Schnegas

Numerische Untersuchungen zu mechanischen Beanspruchungen von Chinese-Hamster-Ovary Zellen in Mikrokanälen





Numerische Untersuchungen
zu mechanischen Beanspruchungen von
Chinese-Hamster-Ovary Zellen in Mikrokanälen





Numerische Untersuchungen
zu mechanischen Beanspruchungen von
Chinese-Hamster-Ovary Zellen in Mikrokanälen

Vom Promotionsausschuss der
Technischen Universität Hamburg-Harburg
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor-Ingenieur (Dr.-Ing.)
genehmigte Dissertation

von
Dipl.-Ing. **Stefan Schnegas**

aus
Schleswig

2014



Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

1. Aufl. - Göttingen : Cuvillier, 2015

Zugl.: (TU) Hamburg-Harburg., Diss., 2014

Gutachter:

Prof. Dr.-Ing. Stefan Heinrich

Prof. Dr. rer. nat. An-Ping Zeng

Prüfungsausschussvorsitzender:

Prof. Dr.-Ing. Michael Schlüter

Tag der mündlichen Prüfung:

26.02.2015

© CUVILLIER VERLAG, Göttingen 2015

Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen

Telefon: 0551-54724-0

Telefax: 0551-54724-21

www.cuvillier.de

Alle Rechte vorbehalten. Ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages ist es nicht gestattet, das Buch oder Teile daraus auf fotomechanischem Weg (Fotokopie, Mikrokopie) zu vervielfältigen.

1. Auflage, 2015

Gedruckt auf umweltfreundlichem, säurefreiem Papier aus nachhaltiger Forstwirtschaft.

ISBN 978-3-95404-956-1

eISBN 978-3-7369-4956-0



Danksagung

Diese Arbeit entstand im Rahmen meiner Tätigkeiten als wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Feststoffverfahrenstechnik und Partikeltechnologie der Technischen Universität Hamburg-Harburg.

Für das interessante Thema, das mir entgegengebrachte Vertrauen, die fachliche Betreuung und die Ermöglichung dieser Arbeit möchte ich mich bei Prof. Dr.-Ing Stefan Heinrich und Prof. Dr.-Ing. Sergiy Antonyuk herzlich bedanken. Das interessante Thema ist von einem Arbeitspaket aus dem Projekt „SysCompart“ abgeleitet. Dem Projektleiter, Prof. Dr. rer. nat. An-Ping Zeng, danke ich für die Idee und die Einbindung mehrerer Institute. Diesbezüglich danke ich speziell den Institutsleitern Prof. Dr.-Ing. Jörg Müller, Prof. Dr. Dr. h.c. Frerich Keil und Prof. Dr.-Ing. Arno Kwade (Technische Universität Braunschweig) für die freundliche Unterstützung.

Den bereits genannten Professoren Heinrich und Zeng danke ich zusätzlich für die Gutachtertätigkeit und Prof. Dr.-Ing. Michael Schlüter für den Vorsitz des Prüfungsausschusses.

In Bezug auf das Projekt danke ich Dr.-Ing. Matthias Wurm, Negar Rajabi und Dr.-Ing Sven Jakobtorweihen für die bereitgestellten Daten, mit deren Hilfe ich Untersuchungen durchführen konnte sowie Dr. rer. nat. Janina Stephanie Bahnemann, Dr.-Ing. Ingo Kampen und Achim Overbeck (Technische Universität Braunschweig) und Dr. rer. nat. Andreas Prediger (Leibniz Universität Hannover) für die tatkräftige experimentelle Unterstützung.

Ein großes Dankeschön geht an die Mitarbeiter des Instituts für Feststoffverfahrenstechnik und Partikeltechnologie für die freundliche Unterstützung und die interessanten Gespräche. Insbesondere möchte ich meinen Arbeitskollegen Dr.-Ing. Lennart Fries, Dr.-Ing. Maksym Dosta und Manuel Heine für ihre gute Laune und das angenehme Büroklima danken.

Abschließend möchte ich gerne meiner Familie danken, die auch in schwierigen Zeiten immer an mich geglaubt hat.

Hamburg, den 06.03.2015

Stefan Schnegas





Abstract

This contribution is associated with the project “SysCompart”, which was part of the program “Neue Methoden in der Systembiologie” of the German Federal Ministry of Education and Research. Microfluidic systems for cell preparation to finally analyse the metabolism were in major focus of this project. Chinese Hamster Ovary (CHO) cells that had been adapted to suspension were chosen for investigations due to its importance for pharmaceuticals.

In this work, the collisions of these cells onto sieve-like barriers inside micro channels of those microfluidic systems were investigated numerically. The model parameters were adopted from experimental series that were carried out by the Institute of Bioprocess and Biosystems Engineering (Wurm, 2011), which belongs to the Hamburg University of Technology. Besides, cell detachment from channel wall surfaces was also investigated numerically. The model parameters were based on experiments done by Zhang (Zhang, Jones, & Haswell, 2008). The considered cells were modeled as rigid bodies, whereby the actual dynamic deformation behavior during compression or detachment wasn't modeled. Regarding the cell detachment progress, the dynamic was approximated by modeled quasi-stationary deformation stages. The results obtained by the computational fluid dynamic simulations were discussed considering the available literature. Using the flow forces out of the simulation results, friction coefficients for the detaching cells have been determined, which is assumed to be the first case by the author of this work. Regarding the colliding cells, the uniaxial deformation of the cell body along the impact direction had been estimated. Therefore, a modified Hertz model that is used to calculate Young moduli of CHO cells was extended considering the nonlinear cell deceleration and different uniaxial deformation depths. The basic idea was to inter- and extrapolate the known sets of dependencies for static approaches to get an expression for a quasi-dynamic behavior. This expression has still to be validated, improved with different sets of experimental series and adapted to limit cases.

Finally, a new approach for a mechanical model of a CHO cell with respect to the Discrete Element Method is presented. The plasma and nuclear membrane, the cytoplasm and the nucleus were considered for having significant influence on the cell mechanical stability. Numerically stable computation and a more detailed visualization of the cell deformation and cell burst were in main focus of this approach.



Kurzfassung

Diese Arbeit ist in das Forschungsprogramm „Neue Methoden in der Systembiologie“ des Bundesministeriums für Bildung und Forschung thematisch eingeordnet und fokussiert auf mikrofluidische Systeme, speziell auf die mechanische Beanspruchung von suspensions-adaptierten Chinese-Hamster-Ovary (CHO)-Zellen in Kanalsystemen. Im Rahmen dieser Arbeit wurden Kollisions- und Ablöseereignisse dieser CHO-Zellen, die einen Mikrokanal durchströmen und auf räumliche Barrieren treffen oder sich von Kanalwänden ablösen, numerisch untersucht und die Zellbeanspruchung durch Strömungsphänomene abgeschätzt. Die Modellierungsparameter hierfür wurden von experimentellen Versuchsreihen des Instituts für Bioprocess- und Biosystemtechnik (Wurm, 2011) und aus der Literatur (Zhang, Jones, & Haswell, 2008) übernommen. Alle betrachteten Zellen wurden als starre Körper modelliert. Das dynamische Deformationsverhalten dieser Zellen wurde für die Modellierung der Ablösevorgänge mit quasi-stationären Deformationsphasen diskret nachgebildet. Mit den ermittelten Strömungskräften zu den Ablöseereignissen wurden erstmals auch allgemeine Reibungskoeffizienten bestimmt, welche für CHO-Zellen nach Einschätzung des Autors dieser Arbeit bisher unbekannt waren. Abschließend wurden die wesentlichen Ergebnisse auf Basis stationärer Strömungssimulationen mit Hilfe von weiteren Literaturdaten diskutiert. Für die Kollisionsereignisse wurde zudem eine Schätzung der einaxialen dynamischen Kompressionsstrecke in Hauptbelastungsrichtung durchgeführt. Neben Modellen aus der zweiphasigen Strömungstheorie wurde ein modifiziertes Hertz-Modell aus der Literatur erweitert, welches bereits zur Bestimmung von Elastizitätsmodulen von CHO-Zellen angewandt wurde. In dieses Hertz-Modell wurden aus der Literatur partiell bekannte Abhängigkeiten des Elastizitätsmoduls von der Belastungsgeschwindigkeit und der Kompressionsstrecke/Eindrücktiefe intrapoliert, extrapoliert und integriert, um eine Adaption an einen Stoßvorgang zu ermöglichen. Eine Validierung der erlangten Ergebnisse und der Modell-Adaption fehlt und bleibt durchzuführen. Schließlich werden Ansätze zur geometrischen und mechanischen Modellierung einer suspensions-adaptierten CHO-Zelle präsentiert, welche sich an die Diskrete-Elemente-Methode anlehnen. Bei der Modellierung wurden die Plasmamembran, das Zytoplasma und der Zellkern mit der Kernmembran als mechanisch-relevante Bestandteile berücksichtigt. Die Ziele dieses Modells sind numerisch-stabile Simulationen und bildlich-detailliertere Darstellungen des Deformations- und Berstverhaltens dieser CHO-Zelle.



Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	XIII
Tabellenverzeichnis	XVI
Symbolverzeichnis	XVII
1 Einleitung	1
2 Zielsetzung	3
3 Strömungsmechanische Grundlagen	5
3.1 Mikrofluidik	5
3.2 Einphasiges System: Laminares Strömungsprofil von flüssigen Strömungen	6
3.3 Zweiphasiges System: Kräfte auf die disperse Phase	9
3.4 Zweiphasiges System: Gleichgewichtspositionen	11
3.5 Energiedissipation	12
4 Theoretische Grundlagen der Diskrete-Elemente-Methode	13
4.1 Restitutionskoeffizient	14
4.2 Reibungskoeffizienten bei Partikel-Wand-Kontakt	15
4.3 Anwendung auf biologische Zellen	16
5 Mechanische Eigenschaften von eukaryotischen Zellen	19
5.1 Mechanischer Aufschluss von eukaryotischen Zellen	20
5.2 Zellmembranen	21
5.3 Zytoplasma	25
5.4 Zellkern	26
5.5 Haft- und Rollverhalten	27
5.6 Mechanische Eigenschaften von CHO-Zellen	28
5.6.1 Abmessungen und Massendichte	28
5.6.2 Plasmamembran	28
5.6.3 Mechanische Größen ganzer Zellen	29



5.6.4 Scherempfindlichkeit und Zellzerstörung.....	30
5.6.5 Zelle-Wand Haftverhalten	32
5.6.6 Rheologisches Verhalten von Zellsuspensionen.....	32
6 Mechanische Eigenschaften von TC42+Glutamin	33
6.1 Bestimmung der Massendichte.....	34
6.2 Bestimmung der dynamischen Viskosität	36
7 Modellierung von Umströmungen an suspendierten CHO-Zellen.....	37
7.1 Treffen einer suspendierten CHO-Zelle auf eine Barriere	37
7.1.1 Mikrokanal vor der Barriere	39
7.1.2 Quaderbarriere mit auftreffender CHO-Zelle	41
7.1.3 Düsenbarriere mit auftreffender CHO-Zelle.....	44
7.1.4 Vernetzungsparameter	46
7.1.5 Bestimmung der Strömungskräfte	49
7.2 Ablösen einer haftenden CHO-Zelle von einer Kanalwand.....	50
7.2.1 Ausschnitt des Mikrokanals.....	50
7.2.2 Modellierte Deformationsphasen der CHO-Zelle.....	51
7.2.3 Vernetzungsparameter	53
8 Ergebnisse zu den Umströmungssimulationen.....	55
8.1 Treffen einer suspendierten CHO-Zelle auf eine Barriere	55
8.1.1 Geschwindigkeitsprofil im Transportkanal und vor den Barrieren	55
8.1.2 Quaderbarriere mit auftreffender 7 μ m-CHO-Zelle	58
8.1.3 Düsenbarriere mit auftreffenden 7 μ m- und 12 μ m-CHO-Zellen.....	60
8.1.4 Temperaturabhängigkeit der wirkenden Kräfte.....	63
8.2 Ablösen einer haftenden CHO-Zelle von einer Kanalwand.....	64
8.2.1 Strömungskräfte auf die Zellmodelle.....	64
8.2.2 Energiedissipation an der modellierten Zelloberfläche	67
8.2.3 Widerstandskoeffizienten der Zellmodelle	69
8.2.4 Allgemeine Reibungskoeffizienten beim Zell-Wand-Kontakt	70



9. Diskussion der Ergebnisse zu den Umströmungssimulationen	73
9.1 Vergleichbarkeit der Ergebnisse.....	73
9.2 Treffen einer suspendierten CHO-Zelle auf eine Barriere	75
9.2.1 Kontinuierlicher Betrieb	75
9.2.2 Drehimpuls der CHO-Zellen.....	76
9.2.3 Umlenkung der Strömung vor der Barriere	76
9.2.4 Ort des Treffens der CHO-Zellen auf die Barriere	77
9.2.5 Vergleich der Strömungswiderstandskräfte.....	77
9.2.6 Deformation der CHO-Zellen.....	79
9.2.7 Vorteil der Elementtypen für den Zellaufschluss	79
9.2.8 Wahrscheinlichkeit des Zellaufschlusses.....	80
9.3 Ablösen einer haftenden CHO-Zelle von einer Kanalwand.....	81
9.3.1 Anwendbarkeit des Geschwindigkeitsprofils	81
9.3.2 Einflussparameter beim eigentlichen Ablösevorgang	82
9.3.3 Vergleich der ermittelten Haftkräfte mit Literaturdaten.....	82
9.3.4 Bezug zur Situation Zellaufschluss.....	83
9.3.5 Einfluss der Energiedissipation an der Zelloberfläche	83
9.3.6 Vergleich der Widerstandskoeffizienten mit Literaturdaten.....	83
10 Abschätzung der Kompressionsphase einer CHO-Zelle beim Stoß	85
10.1 Modellierungen.....	86
10.1.1 Modifizierung des Hertz-Modells.....	87
10.1.2 Übertragung der mechanischen Beanspruchung einer CHO-Zelle.....	88
10.1.3 Kompressionsphase einer CHO-Zelle bei einem vertikalen, normalen Stoß auf eine planare Wand	90
10.1.4 Kompressionsphase einer CHO-Zelle an der Barriere.....	91
10.2 Simulationsergebnisse	93
10.2.1 Kompressionsphase eines CHO-Wand-Stoßvorganges.....	93
10.2.2 Abschätzung der Kompressionsphase: CHO-Zelle vor Spalt der Düsenbarriere ..	94



11 Ansätze zur mechanischen Modellierung einer CHO-Zelle	97
11.1 Entwicklungsumgebung	97
11.2 Geometrische Modellierung	99
11.3 Mechanische Modellierung	103
11.3.1 Membranen	103
11.3.2 Membranriss	107
11.3.3 Zytoplasma und Zellkern	108
11.3.4 Intrazelluläre Grenzflächen.....	109
11.3.5 Extrazelluläre Grenzflächen.....	110
11.4 Zusammenfassung und Ausblick.....	111
Zusammenfassung	117
Anhang	121
A Summenverteilungen	121
B Rechnersystem und Skripte.....	121
B.1 2D-Geschwindigkeitsprofil	122
B.2 3D-Geschwindigkeitsprofil	123
B.3 Energiedissipation pro Zeit und Volumen	124
B.4 CHO-Wand-Stoß: Kompressionsphase.....	124
B.5 CHO-Düse-Stoß: Kompressionsphase	126
Literaturverzeichnis	131
Liste der Veröffentlichungen	145
Lebenslauf	146



Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung der Anlage im Labormaßstab. Die Glykolyse und der Zitratzyklus aus Zellkompartimenten sind das Ziel der analytischen Untersuchung.....	2
Abbildung 2: Mechanischer Aufschluss von CHO-Zellen einer Zellsuspension an einer Barriere in einem mikrofluidischen System.	3
Abbildung 3: Illustration des Ablösevorganges einer modellierten, deformierten CHO-Zelle von einem Kanalboden (Schnegas et al., 2013).....	4
Abbildung 4: Adaptierte Kraft-Zeit-Kurve eines Prallvorganges (Antonyuk, 2006).	14
Abbildung 5: Haft- (a), Gleit- (b) und Rollreibung (c) bei Partikel-Wand-Kontakt.....	16
Abbildung 6: Rasterelektronenmikroskopie-Aufnahmen von CHO-Zelloberflächen (Bahnemann, 2014). Modifiziertes Bild.	29
Abbildung 7: Zusammengestellte Daten mithilfe der Ergebnisse von Dinhof (Dinhof, 2001).	31
Abbildung 8: Mechanische Eigenschaften von TC42+Glutamin in Abhängigkeit der Temperatur – modifizierte Bilder (Schnegas et al., 2014).	34
Abbildung 9: Abstrakte Darstellung der Barriere (Draufsicht).....	37
Abbildung 10: Elementtypen der Barriere (Ausschnitt aus Abbildung 8).	38
Abbildung 11: Äußere Form des Transportkanals (a) und minimale Einlauflänge (b).	40
Abbildung 12: Treffen von CHO-Zellen auf die Quaderbarriere (modellierte Fälle).....	41
Abbildung 13: Treffen von CHO-Zellen auf die Düsenbarriere (modellierte Zellgrößen).....	45
Abbildung 14: Geometrische Auflösung und Aussparung der Oberflächenvernetzung von modellierten CHO-Zellen.	47
Abbildung 15: Flächensummenverteilung Q_2 der Vernetzungsflächen $A_{\text{Gitter}, i}$	48
Abbildung 16: Betrachtung der modellierten und vernetzten Zelloberfläche.....	49
Abbildung 17: Perspektivansicht eines Kanalausschnitts mit Betrachtungsraum für die Strömungssimulationen. (Schnegas et al., 2013).	50
Abbildung 18: Grundkörper (a: Kugel, b: gedrehter Halb-Ellipsoid) der modellierten Zellformen (c) (Schnegas et al., 2013).....	52
Abbildung 19: Flächengrößenverteilung der Vernetzungsflächen der Zelloberfläche bei verschiedenen Deformationsphasen.....	53



Abbildungsverzeichnis

Abbildung 20: Einstellungen in Fluent (a). Bestimmung der Konvergenz jeder Simulation (b).	55
Abbildung 21: Vergleich zwischen dem numerisch bestimmten Geschwindigkeitsprofil und Gl. (13).	56
Abbildung 22: $F_z(\text{Re}_{\text{CHO}})$ und $F_y(\text{Re}_{\text{CHO}})$ in Fall I und II an der Quaderbarriere.	58
Abbildung 23: $F_z(\text{Re}_{\text{CHO}}, y_{\text{CHO}})$ und $F_y(\text{Re}_{\text{CHO}}, y_{\text{CHO}})$ bei Fall II an der Quaderbarriere.	60
Abbildung 24: $F_z(\text{Re}_{\text{CHO}}, y_{\text{CHO}}, d_{\text{CHO}})$ bei Fall II an der Düsenbarriere.	61
Abbildung 25: Druckanteile von $F_y(d_{\text{CHO}}, y_{\text{CHO}})$ an der Düsenbarriere.	62
Abbildung 26: Einfluss der Temperatur auf die Strömungskräfte am Beispiel einer 12 μm - CHO Zelle.	63
Abbildung 27: Numerisch bestimmten Strömungskräfte, welche auf die modellierten Zelloberflächen beim Ablösevorgang der CHO-Zellen wirken (Schnegas et al., 2013).	64
Abbildung 28: Kraftzusammensetzung der Kräfte F_z und F_y . Die schwarzen und grauen Balken repräsentieren die Reibungs- und Druckanteile (Schnegas et al., 2013).	66
Abbildung 29: Modifiziertes Bild aus Schnegas et al. (Schnegas et al., 2013). Numerisch bestimmte ε -Werte über die Oberfläche aller modellierten Deformationsphasen.	67
Abbildung 30: Numerisch bestimmte ε -Werte über die Oberfläche (Draufsicht) ausgewählter Deformationsphasen (Schnegas et al., 2013).	68
Abbildung 31: Widerstandskoeffizienten in Abhängigkeit von Re_{CHO} (Schnegas et al., 2013).	69
Abbildung 32: Übergeordnete Reibungskoeffizienten zu den Formen I, II und III (links). Vergrößerung (rechts).	70
Abbildung 33: Übersicht der Nachbildungen mit einem starren Zellmodell	74
Abbildung 34: Abweichung der F_z -Kräfte von jenen berechneten Kräften aus herkömmlichen Strömungswiderstands-Modellen.	78
Abbildung 35: Prinzipien eines Stoßvorganges (a) und einer Rasterkraftmikroskopie (b).	86
Abbildung 36: Modifiziertes Bild 4b aus Zhao et al. (2006)	87
Abbildung 37: Maximale Kompressionsstrecke in Abhängigkeit der Beschleunigung durch Schwerkraft beim Stoß.	93
Abbildung 38: Kompressionsstrecke in Abhängigkeit der Auftreffgeschwindigkeit.	94



Abbildungsverzeichnis

Abbildung 39: Implementierung des Zellmodells über Schnittstellen im Programmablauf von <i>EDEM</i> (DEM Solutions, 2010).....	97
Abbildung 40: Modifiziertes Bild eine CHO-Zelle (Wurm, 2011) und ihre geometrische Unterteilung.	99
Abbildung 41: Überlappung zweier Diskreter Elemente.	100
Abbildung 42: Algorithmus zur Berechnung von Koordinaten zur Positionierung von DE.	101
Abbildung 43: Anzahlsummenverteilung der normalisierten Abstände zwischen DE.....	101
Abbildung 44: Gegenüberstellung runder (a) und kantig-kugelig (b), modellierter CHO-Zellformen.....	102
Abbildung 45: Planare Dreiecke zur Flächenerfassung (a). Mögliche Flächenänderungen (b) durch Dehnung (oben), Kompression (mittig) und Biegung (unten). mit Gegenkräften. Grafische Darstellung einer Biegung (b: unten).	104
Abbildung 46: Geometrische Berechnungen zu wirkenden Kräfte auf Basis der elastischen Biegeenergie.....	107
Abbildung 47: DEM-modellierte CHO-Zelle beim Bersten. Modifiziertes Bild von Schnegas (Schnegas et al., 2012).....	112
Abbildung 48: DEM-Modellierung der CHO-Zelle vor dem Spalt der Düsenbarriere (Schnegas et al., 2012).	114
Abbildung 49: Kräfteprofil über eine modellierte CHO-Zelle vor der Düsenbarriere bei $\dot{V} = 500 \mu\text{l}/\text{min}$ und $y_{\text{CHO},1}$	115



Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht der Phasenübergangstemperaturen von Lipiden.....	21
Tabelle 2: Übersicht einiger mechanischer Größen zum Zytoskelett.	26
Tabelle 3: Übersicht einiger mechanischer Größen von CHO-Zellen.	30
Tabelle 4: Abmessungen zu Abbildung 9.	38
Tabelle 5: Parameter des modellierten Mediums.	41
Tabelle 6: Geometrische Modellierungen und Randbedingungen zur Quaderbarriere.....	43
Tabelle 7: Abmessungen zum modellierten Ausschnitt der Quaderbarriere.....	44
Tabelle 8: Geometrische Modellierung und Randbedingung zur Düsenbarriere.....	45
Tabelle 9: Modell-Vernetzungsparameter für die Fälle I und II sowie $y_{\text{CHO},1}$ an der Quaderbarriere.....	46
Tabelle 10: Modell-Vernetzungsparameter für den Fall II sowie $y_{\text{CHO},1}$ an der Quaderbarriere.....	46
Tabelle 11: Vernetzungsparameter der Modelle für den Fall II bei den Düsenbarrieren.....	47
Tabelle 12: Vergleich der Flächeninhalte der modellierten Zelloberflächen.....	48
Tabelle 13: Parameter für die Strömungssimulationen zur CHO-Wandablösung.	51
Tabelle 14: Vernetzungsparameter des Modellraums in Abhängigkeit der Zellgröße und -form.....	54
Tabelle 15: Veränderung des Geschwindigkeitsprofils mit zunehmender Nähe zur Quadergeometrie.	57
Tabelle 16: Maximale Zeitschritte zur Berechnung des SPH-Modells.....	109



Symbolverzeichnis

Lateinische Buchstaben

a	$= b_{\text{Kanal}}/2$	[m]
a_p	Relativbeschleunigung	[m/s]
A	Fläche	[m ²]
A_i	i = Quader, Düse: Spaltbreite	[m]
A_{CHO}	Flächeninhalt der vernetzen Oberfläche einer modellierten CHO-Zelle	[m ²]
$A_{\text{CHO},i}$	Flächeninhalt des Dreiecks i aus der Zelloberflächenvernetzung	[m ²]
$A_{\text{DE},\text{proj}}$	Projektions (Kreis-)fläche eines Diskreten Elements	[m ²]
$A_{\text{Gitter},i}$	i Seitenfläche einer tetraedrischen Zelle (i = min: kleinste, i = max: größte)	[m ²]
A_{PZ}	Flächeninhalt der Grenzfläche zwischen Plasmamembran und Zytoplasma	[m ²]
$A_{\text{r},\text{proj}}$	Projektionsfläche einer modellierten und deformierten CHO-Zelle	[m ²]
$A_{\Delta,j}$	Flächeninhalt eines konstruierten Dreiecks an der modellierten Membranoberfläche	[m ²]
b	$= h_{\text{Kanal}}/2$	[m]
$b_{\text{PM}}, b_{\text{KM}}$	Dämpfungskonstante Plasmamembran, - Kernmembran	[kg/s]
b_1, b_2	Abmessungen bei der Kollision einer CHO-Zelle mit der Quaderbarriere	[m]
b_{Kanal}	horizontale Breite des Mikrokanals beim Zellaufschluss	[m]
b_{Modell}	Breite des Quaderbarriere-seitigen Modellraumes	[m]
B_i	Breite eines quader-/düsenförmigen Geometrieelements (i = Quader, Düse)	[m]
B_{Kanal}	Horizontale Breite des Mikrokanals bei Zhang et al. (2008)	[m]
B_{Modell}	Horizontale Breite des Modellraumes	[m]
c_B, c_{vm}	Korrekturfaktoren	[-]
c_w	Strömungswiderstandskoeffizient	[-]
D	Durchmesser, Abstand	[m]
d_B	Maximaler Abstand zur Bestimmung eines Richtungsvektors	[m]



Symbolverzeichnis

d_{CHO}	Größe, Durchmesser einer (modellierten) CHO-Zelle	[m]
$d_{\text{CHO,G}}$	Grenzdurchmesser einer CHO-Zelle	[m]
d_{DE}	Durchmesser eines kugelförmigen Diskreten Elements	[m]
$d_{\text{DE-DE}}$	Momentaner und direkter Abstand zweier Diskreter Elemente	[m]
$d_{\text{DE-DE,B}}$	Radiale Abstandsdifferenz zweier Diskreter Elemente	[m]
$d_{\text{DE-DE,initial}}$	Anfänglicher und direkter Abstand zweier Diskreter Elemente	[m]
d_h	Modalwert	[m]
d_{hydr}	Hydraulischer Durchmesser	[m]
$d_n, d_{n,\text{initial}}$	$= d_{\text{DE-DE}}/d_{\text{DE}}, = d_{\text{DE-DE,initial}}/d_{\text{DE}}$	[-]
d_{platte}	Dicke einer fiktiven Platte	[m]
d_v	Durchmesser der volumen-gleichen Kugel	[m]
D_{Quader}	Durchmesser der zylinderförmigen Einbuchtungen im Quaderelement	[m]
E	Restitutionskoeffizient	[-]
\mathbf{e}_n	Einheitsnormalenvektor	[-, -, -]
E	Elastizitätsmodul	[kg/(m·s ²)]
$E_{\text{Adhäsion}}$	Nötige Arbeit zum Trennen der Plasmamembran von dem Zytoskelett	[kg·m ² /s ²]
E_{AFM}	Aufgebrachte Energie zur Deformation einer CHO-Zelle mittels AFM	[kg·m ² /s ²]
E_{Biegung}	Elastische Energie der Biegungs-Deformation	[kg·m ² /s ²]
E_{Dehnung}	Elastische Energie der Dehnungs-Deformation	[kg·m ² /s ²]
E_{kin}	Kinetische Energie einer CHO-Zelle	[kg·m ² /s ²]
F	Reibungszahl: bezogen auf Kanäle	[-]
f_1, f_2	Dimensionslose Funktionen	[-]
f_L	Dimensionsloser Kraftkoeffizient	[-]
\mathbf{F}_{Adh}	Haftkraft	[kg·m/s ²]
F_{AFM}	Rückstellkraft der Spitze eines Rasterkraftmikroskops	[kg·m/s ²]
\mathbf{F}_B	Zähigkeitskraft (Basset-Term)	[kg·m/s ²]
$F_{\text{Berst, i}}$	Kleinste Normalkraft zu Bersten/Aufplatzen einer CHO-Zelle	[kg·m/s ²]
\mathbf{F}_D	Druckkraft	[kg·m/s ²]



Symbolverzeichnis

$\mathbf{F}_{DE,i}$	Einwirkende Kraft auf ein Diskretes Element	$[\text{kg}\cdot\text{m}/\text{s}^2]$
\mathbf{F}_{DE-DE}	Wechselwirkungskraft zwischen zwei Diskreten Elementen	$[\text{kg}\cdot\text{m}/\text{s}^2]$
$\mathbf{F}_{DE-DE,B}$	Kraft zur Abflachung der Struktur aus Diskreten Elementen	$[\text{kg}\cdot\text{m}/\text{s}^2]$
$F_{g,CHO}$	Gewichtskraft einer CHO-Zelle	$[\text{kg}\cdot\text{m}/\text{s}^2]$
$\mathbf{F}_{LJ,Druck}$	Kraft aus dem Lennard-Jones-Modell	$[\text{kg}\cdot\text{m}/\text{s}^2]$
\mathbf{F}_{Magnus}	Magnus-Kraft	$[\text{kg}\cdot\text{m}/\text{s}^2]$
$\mathbf{F}_{p,ext.}$	Kraftwirkung durch externen Druck	$[\text{kg}\cdot\text{m}/\text{s}^2]$
$F_{R,i}$	Reibungskraft bei Haft- ($i=H$), Gleit- ($i=G$) und Rollreibung ($i=R$)	$[\text{kg}\cdot\text{m}/\text{s}^2]$
\mathbf{F}_S	Reibungs-/Scherkraft	$[\text{kg}\cdot\text{m}/\text{s}^2]$
$\mathbf{F}_{Saffman}$	Saffman-Kraft	$[\text{kg}\cdot\text{m}/\text{s}^2]$
\mathbf{F}_{vm}	Virtuelle Massenkraft	$[\text{kg}\cdot\text{m}/\text{s}^2]$
$\mathbf{F}_W, \mathbf{F}_{W,i}$	Strömungswiderstandskraft ($i = \text{AFM}, \text{I}$)	$[\text{kg}\cdot\text{m}/\text{s}^2]$
F_y	Kraft in Richtung der y-Achse, - der Kanaldecke	$[\text{kg}\cdot\text{m}/\text{s}^2]$
F_z	Kraft in Richtung der z-Achse, - der Hauptströmung	$[\text{kg}\cdot\text{m}/\text{s}^2]$
\mathbf{g}, \mathbf{g}	Gravitationsbeschleunigung	$[\text{m}/\text{s}^2]$
G	Schermodul	$[\text{kg}/(\text{m}\cdot\text{s}^2)]$
H	Glättungslänge	$[\text{m}]$
h_{Kanal}	Vertikale Höhe der Barriere, vertikale Höhe des Mikrokanals	$[\text{m}]$
h_{Modell}	Höhe des Modellraumes	$[\text{m}]$
H_{Kanal}	= $H_{Simulation}$ - Höhe des Mikrokanals in Zhang et al. (2008)	$[\text{m}]$
I	Ganzzahlige Variable, Platzhalter	$[-]$
\mathbf{I}	Einheitstensor	$[-]$
J_{DE}	Trägheitsmoment des Diskreten Elementes	$[\text{kg}\cdot\text{m}^2]$
K	Ganzzahlige Variable, Platzhalter	$[-]$
k_{PM}, k_{KM}	Federkonstante Plasmamembran, - Kernmembran	$[\text{kg}/\text{s}^2]$
k_{PZ}	Federkonstante für die Grenzfläche Plasmamembran-Zytoplasma	$[\text{kg}/\text{s}^2]$
k_{St}	Steigungskonstante	$[\text{kg}/\{\text{m}\cdot\text{s}^2\cdot(\log(\text{m})-\log(\text{s}))\}]$
K_A	Flächendehnungsmodul	$[\text{kg}/\text{s}^2]$
K_{AA}	Flächendehnungsmodul	$[\text{kg}/(\text{m}\cdot\text{s}^2)]$
l_{hydr}	Hydraulische Einlauflänge	$[\text{m}]$
l_{Modell}	Länge des Modellraumes	$[\text{m}]$
l_{Kanal}	Länge des Kanals	$[\text{m}]$



Symbolverzeichnis

$l_{i, \text{Modell}}$	Längenabschnitt im Modellraum ($i = Q$: Quader, $i = D$: Düsen)	[m]
L_i	$i = \text{Quader, Düse}$: Länge der Barriere, Länge eines Geometrieelements	[m]
$L_{\text{Simulation}}$	Horizontale Länge des Modellraumes	[m]
M	Ganzzahlige Variable	[-]
m_{CHO}	Masse einer CHO-Zelle	[kg]
m_{DE}	Masse eines Diskreten Elements	[kg]
m_{vm}	Virtuelle Masse	[kg]
N	Ganzzahlige Variable	[-]
N	Anzahl	[-]
N_{CHO}	Anzahl der die Zelloberfläche vernetzenden, dreieckigen Flächen	[-]
N_{DE}	Anzahl von Diskreten Elementen	[-]
$N_{\text{DE},0}$	Anzahl nötiger Diskreter Elemente zur Nachbildung der Zelloberfläche	[-]
N_{K}	Anzahl von Kontakten zwischen Diskreten Elementen	[-]
N_{Modell}	Gesamtanzahl der tetraedrischen Gitterzellen im Modellraum	[-]
O	Oberfläche	[m ²]
P	Druck	[kg/(m·s ²)]
p_{atm}	$\approx 101325 \text{ kg}/(\text{m}\cdot\text{s}^2)$	[kg/(m·s ²)]
p_{hydro}	Hydrostatischer Druck	[kg/(m·s ²)]
p_{Bezug}	Druck an der Auslassfläche des Modellraumes	[kg/(m·s ²)]
$\mathbf{P}_{\text{m},\text{CHO}}$	Abgeschätzter geometrischer Mittelpunkt der modellierten CHO-Zelle	[m, m, m]
$\mathbf{P}_{\text{DE},i}$	Positionskoordinaten eines Diskreten Elements	[m, m, m]
$\mathbf{P}_{\text{DE},\text{K}}$	Zentraler Kontaktpunkt zweier Diskreter Elemente	[m, m, m]
Q_2	Flächensummenverteilung	[-]
$\mathbf{r}_{\Delta\text{P},\text{DE},n}$	Normalisierter Vektor von $\mathbf{P}_{\text{DE},i}$ in Richtung $\mathbf{P}_{s,j}$	[-, -, -]
$\mathbf{R}_{\text{DE-DE},n}$	Normalisierter Vektor in Richtung des direkten Abstands zweier Diskreter Elemente	[-, -, -]
$\mathbf{R}_{\text{DE-Wand},n}$	Normalisierter Vektor in Normalenrichtung bei Wandkontakt	[-, -, -]
$\mathbf{R}_{\text{DE-Wand}}^{\perp}$	Normalisierter Vektor in Tangentenrichtung bei Wandkontakt	[-, -, -]
$\mathbf{R}_{\text{B},n}$	Normalisierter Vektor, richtunggebend für $\mathbf{F}_{\text{DE-DE},\text{B}}$	[-, -, -]
R_i, \mathbf{R}_i	Radien ($i = 1,2$), Hauptkrümmungsradien ($i = 1,2$)	[m]



Symbolverzeichnis

ΔR	Abschnitt des CHO-Radius im Überlappungsbereich	[m]
R_{Spiral}	Mittlerer Radius der Spirale	[m]
t	Zeit	[s]
t_0	Zeitlicher Beginn der Kompressionsphase	[s]
t_K	Zeitliches Ende der Kompressionsphase	[s]
t_A	Zeitliches Ende der Ablösephase	[s]
Δt_B	Zeitschritt der Zellbeanspruchung in Zhang et al. (2008)	[s]
$U_{\Delta,j}$	Umfang eines konstruierten Dreiecks an der mod. Membranoberfläche	[m]
U_G	Umfang des Kontaktkreises	[m]
$v_{\text{DE-DE,rel}}$	Relative Geschwindigkeit zweier Diskreter Elemente	[m/s]
v_1, v_2	Geschwindigkeiten von Strömungslinien	[m/s]
v_{CHO}, v_p	Geschwindigkeiten der CHO-Zelle, - des Partikels	[m/s]
v_{DE}	Geschwindigkeit eines Diskreten Elements	[m/s]
v_f	Mittlere Geschwindigkeit der flüssigen Phase	[m/s]
$v_{f,ax}$	Axiale Geschwindigkeit der flüssigen Phase (des Transportmediums)	[m/s]
$v_{f,A}$	Anströmgeschwindigkeit auf die CHO-Zelle	[m/s]
$v_{f,max}$	Geschwindigkeitsmaximum im Strömungsprofil	[m/s]
v_t	Sinkgeschwindigkeit	[m/s]
v_x, v_y, v_z	Geschwindigkeitskomponenten in x-, y- und z-Richtung	[m/s]
v_{\perp}	Geschwindigkeitskomponente senkrecht zur Wand	[m/s]
\dot{V}	Volumenstrom der flüssigen Phase	[m ³ /s]
$V_{\text{Gitter},i}$	i Volumen einer tetraedrischen Zelle (i = min: kleinstes, i = max: größtes)	[m ³]
V_{Modell}	Volumen des Modellraums	[m ³]
w_{Modell}	Breite der Strömungseinlassfläche des Modellraumes	[m]
W_{ij}	Glättungsfunktion im SPH-Modell	[-]
y_{CHO}	Höhe einer CHO-Zelle in einer Deformationsphase	[m]
$y_{\text{CHO},i}$	Position der modellierten CHO-Zelle: y-Wert - i = 1, 2 oder 3	[m]
x,y,z	Koordinaten	[]



Symbolverzeichnis

Griechische Buchstaben

A	Drehwinkel um eine kurze Halbachse des Ellipsoiden	$[\circ]$
β_1, β_2	Breitengrad, Längengrad	$[\circ]$
E	Energiedissipation pro Zeit und Raum	$[\text{kg}/(\text{m}\cdot\text{s}^3)]$
Δ	Kompressionsstrecke	$[\text{m}]$
δ_{max}	Maximal Kompressionsstrecke	$[\text{m}]$
Ξ	Reelle Zahl: $0 < \xi < d_{\text{DE}}$	$[-]$
Φ	Zell-Volumenkonzentration	$[\%]$
Γ	Scherrate im Geschwindigkeitsfeld	$[1/\text{s}]$
Π	Kreiszahl pi ($\approx 3,141592\dots$)	$[-]$
$\kappa_{\text{B}}, \kappa_{\text{G}}$	Biegemodul, Gaußsches Biegemodul	$[\text{kg}\cdot\text{m}^2/\text{s}^2]$
ρ_{f}	Massendichte der flüssigen Phase (des Transportmediums)	$[\text{kg}/\text{m}^3]$
H	Dynamische Viskosität	$[\text{kg}/(\text{m}\cdot\text{s})]$
η_{f}	Dynamische Viskosität der flüssigen Phase (des Transportmediums)	$[\text{kg}/(\text{m}\cdot\text{s})]$
Σ	Räumliche Dimension	$[-]$
M	Reibungskoeffizient	$[-]$
σ_{G}	Grenzflächenspannung	$[\text{kg}/\text{s}^2]$
σ_{t}	Zugfestigkeit	$[\text{kg}/(\text{m}\cdot\text{s}^2)]$
$\tau, \tau_{\text{W}}, \boldsymbol{\tau}$	Schubspannung, Wandschubspannung, Spannungstensor	$[\text{kg}/(\text{m}\cdot\text{s}^2)]$
ν_{Poisson}	Poisson-Zahl, Querkontraktionszahl	$[-]$

Abkürzungen

2-D	Zwei-dimensional	
3-D	Drei-dimensional	
AFM	Atomic Force Microscopy (Rasterkraftmikroskopie)	
CFD	Computational Fluid Dynamics (numerische Strömungsmechanik)	
CFL	Courant-Friedrichs-Lewy	
CHO	Chinese Hamster Ovary (biologische Zelllinie)	
DE	Diskretes Element, Diskrete Elemente	
DEM	Diskrete-Elemente-Methode	
Form	Modellierte Deformationsphase einer CHO-Zelle	
Re	Reynolds-Zahl: bezogen auf den Kanal	$[-]$
$\text{Re}_{\text{p}}=\text{Re}_{\text{CHO}}$	Reynolds-Zahl: bezogen auf die CHO-Zelle	$[-]$



Symbolverzeichnis

SEM	Subcellular Element Model
SPH	Smoothed Particle Hydrodynamics
VD	Viskose Diffusion





1 Einleitung

Diese Arbeit entstand im Rahmen des Projektes SysCompart „Neue Technologien und Methoden für die Analyse und dynamische Modellierung des kompartimentierten Metabolismus in eukaryotischen Zellen“. Das SysCompart-Projekt war Teil des Programms SysTec „Neue Methoden in der Systembiologie“ und wurde vom deutschen Bundesministerium für Bildung und Forschung unter dem Förderkennzeichen 0315555A-D finanziert. Als Kooperationsprojekt wurden die Arbeiten zwischen verschiedenen Forschungseinrichtungen aufgeteilt. Seitens der Technischen Universität Hamburg-Harburg (TUHH) waren die Institute der Bioprozess- und Biosystemtechnik, Mikrosystemtechnik, Feststoffverfahrenstechnik und Partikeltechnologie, Technische Biokatalyse und Chemische Reaktionstechnik beteiligt. Die Universität des Saarlandes war mit dem Institut für Technische Biochemie und die Universität Hannover mit dem Institut für Technische Chemie vertreten. Zudem war die Max-Planck-Gesellschaft mit dem Institut für Biophysikalische Chemie aus Göttingen präsent. Im Fokus des SysCompart-Projekts stand die Entwicklung eines Chip-Labors (engl. Lab-on-a-chip device) mit dem Ziel, eine möglichst zeitnahe Analyse spezieller Metabolismus-Sequenzen (Glykolyse und Zitratzyklus) in eukaryotischen Zellkompartimenten (Zytosol und Mitochondrien) nach dem Zellaufschluss durchführen zu können. Wichtige Parameter waren eine Minimierung der Zeitspanne zwischen Zellaufschluss und Metabolitenanalyse sowie der Erhalt der Kompartimente für diese Analysen. Die eigentlichen *in vivo*-Prozesse sollten hiermit möglichst wenig durch den Umstand des Zellaufschlusses beeinträchtigt werden.

Im entwickelten Chip-Labor (siehe Abbildung 1) wurden Zwischenschritte realisiert, die der entsprechenden Aufbereitung der aus dem Bioreaktor abgeführten Zellsuspension dienen. Die Zellsuspension durchquert dabei die Stationen Mischen, Quenchen, Zellaufschluss und Trümmerabtrennung, welche auch in (Wurm, 2011) beschrieben sind. Das Chip-Labor kann als ein mikrofluidisches System bezeichnet werden. Für die experimentellen Versuche wurde die Zelllinie CHO-K1 gewählt (CHO: Chinese Hamster Ovary), welche neben der Grundlagenforschung auch für die Pharmaindustrie von Bedeutung ist. Es lassen sich bekanntlich Antikörper zur Behandlung von zum Beispiel rheumatischen Erkrankungen, Brusttumoren oder chronischer Lymphozyten-Leukämie mit ihr herstellen (Zündorf, 2010). Aufgrund besserer Transporteigenschaften wurde die suspensions-adaptierte Variante dieser Zelllinie verwendet. Für die Kultivierung kam das Kulturmedium TC42 der Firma TeutoCell, dem noch Glutamin

1 Einleitung

zugesetzt war, zur Anwendung. Ausgehend vom Bioreaktor wird die Zellsuspension über das Chip-Labor in Richtung der Analytik gepumpt (Abbildung 1).

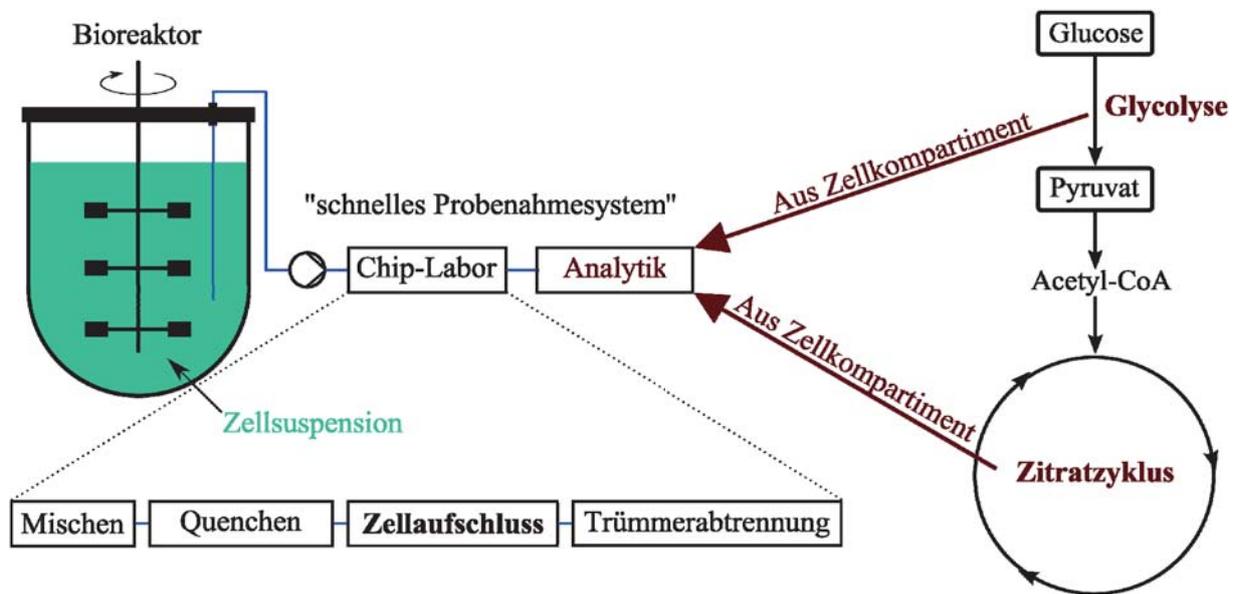


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Anlage im Labormaßstab. Die Glykolyse und der Zitratzyklus aus Zellkompartimenten sind das Ziel der analytischen Untersuchung.

Dabei durchquert die Zellsuspension ein Kanalsystem mit verschiedenen Durchströmungsquerschnitten. Währenddessen ist jede CHO-K1 Zelle mechanischen Belastungen ausgesetzt, die durch Druck- und Scherkräfte seitens des Trägermediums und am Zwischenschritt „Zellaufschluss“ entstehen. Ferner wirken thermische Belastungen im Bereich des Zwischenschrittes „Quenchen“ durch die rasche Abkühlung von 36 °C auf 0 °C. Für den Zwischenschritt *Zellaufschluss* wurde unter anderen eine mechanische Methode experimentell untersucht (Wurm, 2011), welcher das größte Potential gegenüber anderen Verfahren zur Probenverarbeitung in einem Chip-Labor eingeräumt wird (Wurm et al., 2010). Zur Realisierung der mechanischen Aufschlussmethode wurden siebartige Barrieren in einen Mikrokanal integriert, auf die die transportierten biologischen Zellen treffen. Der Metabolismus wird allein hiermit nicht durch etwa zugesetzte Moleküle oder Wärme nachteilig beeinflusst.

2 Zielsetzung

Diese Arbeit setzt sich zum Ziel, die mechanischen Belastungen auf die CHO-Zellen in Mikrokanälen in zwei signifikanten Situationen, die im Folgenden kurz beschrieben werden, numerisch und theoretisch zu untersuchen.

Zellaufschluss: Treffen von CHO-Zellen, die als Zellsuspension durch einen Mikrokanal strömen, auf räumliche Barrieren innerhalb eines Mikrokanals (Abbildung 2). Die Untersuchungen in dieser Arbeit orientieren sich dabei an den experimentellen Versuchen von Wurm (Wurm, 2011), bei denen Mantelflüssigkeit zur Fokussierung der Zellsuspension auf die Mitte des Mikrokanals verwendet wurde.

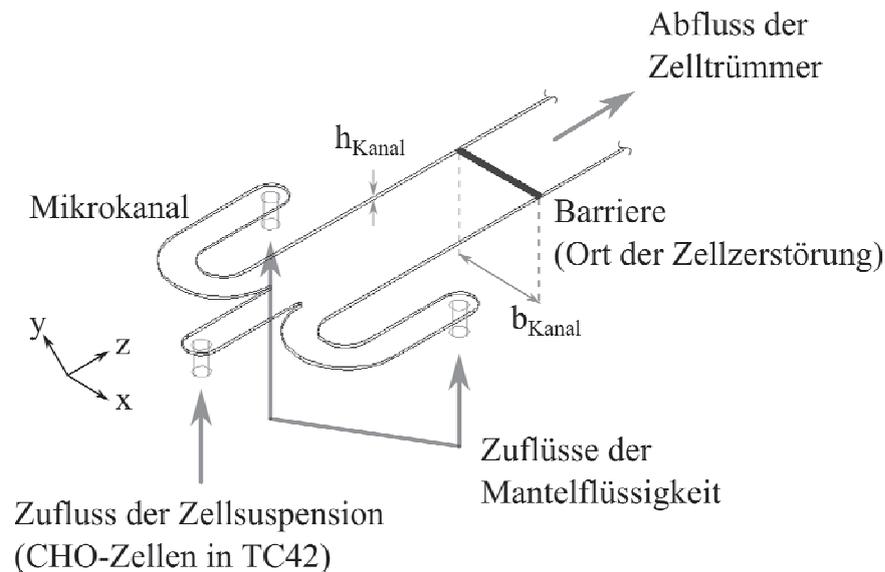


Abbildung 2: Mechanischer Aufschluss von CHO-Zellen einer Zellsuspension an einer Barriere in einem mikrofluidischen System.

Die durchlässige, siebartige Barriere füllt den Durchströmungsquerschnitt des Mikrokanals vollständig aus und besitzt damit die gleiche Höhe ($h_{\text{Barriere}} = h_{\text{Kanal}} = 50 \mu\text{m}$) und Breite ($b_{\text{Barriere}} = b_{\text{Kanal}} = 1750 \mu\text{m}$) wie der Mikrokanal selbst. Während der experimentellen Versuche von Wurm (Wurm, 2011) wurden zwei Varianten dieser Barriere getestet. Die Barriere bestand diesbezüglich entweder aus quader- oder düsenförmigen Elementen, die längsseitig in Flussrichtung ausgerichtet wurden.



Zellablösung: Ablösung haftender, suspensions-adaptierter CHO-Zellen von Kanalwänden (Abbildung 3). Die Untersuchungen in dieser Arbeit orientieren sich an experimentellen Versuchen von Zhang et al. (2008), die suspensions-adaptierte CHO-Zellen für ihre Experimente verwendeten.

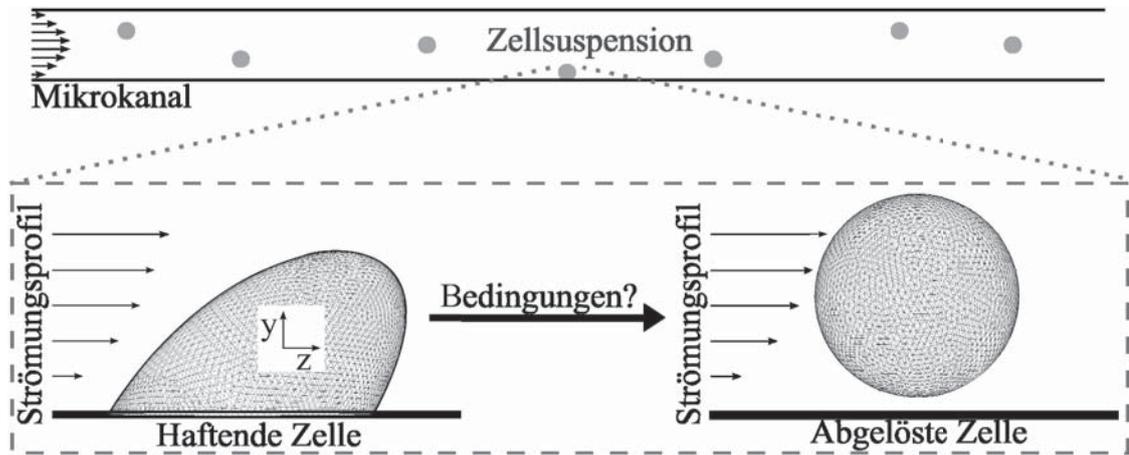


Abbildung 3: Illustration des Ablösevorganges einer modellierten, deformierten CHO-Zelle von einem Kanalboden (Schnegas et al., 2013).

Im Fokus stehen die extrazellulären, strömungsmechanischen Bedingungen nahe oder an der Plasmamembran, welche zum Ablösen einer haftenden, suspensions-adaptierten CHO-Zelle führen. Die gewonnenen Erkenntnisse wurden bereits in Schnegas et al. (2013) veröffentlicht und können für den oben beschriebenen Zellaufschluss nützlich sein, da die CHO-Zellen beim Treffen auf die Elemente der Barriere (Abbildung 2) diese signifikant berühren und somit auch Haftkräften ausgesetzt sind.

Zu den vorgestellten Situationen stehen im Wesentlichen die äußeren Belastungen der CHO-Zelloberflächen im Fokus. Das Antwortverhalten dieser Zellen wird durch Literaturdaten und grob-vereinfachte Deformationsmodelle abgeschätzt.

Weiterhin werden erste Ansätze einer DEM-Modellierung für die geometrischen und mechanischen Eigenschaften einer suspensions-adaptierten CHO-Zelle gezeigt, die für eine umfassende Modellierung genutzt werden können, um nach erfolgreicher Simulation das Deformations- und Berstverhalten dieser Zellen bildlich darzustellen und zu untersuchen.



3 Strömungsmechanische Grundlagen

In dieser Arbeit spielen einphasige Flüssigkeitsströmungen (Kapitel 7 und 8) und zweiphasige Systeme (Kapitel 9 und 10) in Bezug zur Mikrofluidik eine herausragende Rolle. Berechnete Größen und untersuchte Phänomene werden im Folgenden erklärt.

3.1 Mikrofluidik

Die Mikrofluidik ist ein relativ neues Forschungsgebiet und zeichnet sich durch sehr geringe zu behandelnde Eduktmengen von 10^{-9} bis 10^{-3} μl , Kanalbreiten zwischen $10\ \mu\text{m}$ und $100\ \mu\text{m}$, laminare Strömungen, hohe Auflösung beim Nachweis von Vorgängen innerhalb des Systems und hohe Empfindlichkeit der Nachweismethode, geringe Analysezeiten und relativ geringe Gesamtkosten (Whitesides, 2006) aus. Bei Anwendungen für Zellsuspensionen spielt die Kontrolle der mechanischen und chemischen Parameter, die Möglichkeit zur Gradientenbildung als treibendes Gefälle, die Behandlung der Substratoberflächen mit zum Beispiel Fotolithografie oder Mikrokontakt-Printing, das gezielte Steuern von Flüssen, eine gezielte Temperaturkontrolle über das Strömungsprofil, die Integrationsmöglichkeit eines elektrischen Feldes und die direkte chemische, mechanische oder elektrische Beeinflussbarkeit von Zellen eine wesentliche Rolle (Velve-Casquillas et al., 2010).

Für die Beschreibung der Strömungszustände in mikrofluidischen Systemen ist die Methode der Kontinuumsmechanik bis zu Kanalbreiten von minimal $1\ \mu\text{m}$ und für Flüssigkeiten noch uneingeschränkt nutzbar, da der mittlere Molekülabstand bei Flüssigkeiten ca. $0,3\ \text{nm}$ beträgt (Ehrhard & Meisel, 2002). Bei Abständen in der Größenordnung von Molekülen würde die Molekulardynamik mit dem Lennard-Jones Potential zur Anwendung kommen. Im Vergleich zur Makroskala spielen Grenzflächenphänomene, wie Spannungen und die Viskosität, eine größere Rolle. Die Volumen-bezogenen Phänomene, wie Gravitation oder Trägheit, verlieren dabei an Bedeutung (Bruus, 2008). Für Scherraten gilt im Allgemeinen $\dot{\gamma} < 10^6\ \text{s}^{-1}$ (Ehrhard & Meisel, 2002). Das Kriterium für den Umschlag von laminarer zur turbulenter Strömung, in erster Linie die Reynoldszahl Re mit $Re = 2300$ für hydraulisch glatte Rohre, gerät bei mikrofluidischen Systemen ins Wanken. Es wurden angeblich schon Umschlagspunkte bei $Re = 200 \dots 700$ beobachtet, was mit einer höheren relativen Wandrauigkeit im Vergleich zu Makrokanälen erklärt wurde (Dittmeyer et al., 2003). Für rechteckige Kanäle wurde bereits eine Geometriefunktion vorgeschlagen, mit deren Hilfe die Reynoldszahl in Bezug auf den Zu-



sammenhang mit der Kanalreibungszahl über einen Faktor modifiziert werden kann (Jones jr., 1976).

In anderen Publikationen wird auf mögliche Abweichungen vom Hagen-Poiseuille-Gesetz hingewiesen, die jedoch in Bezug auf den Trend ($f \cdot Re < 64$ oder $f \cdot Re > 64$) nicht einheitlich bestätigt werden konnten. Eine Übersicht dazu ist in Judy et al. (Judy et al., 2002) zusammengestellt. Es wird vermutet, dass experimentelle Unsicherheiten zu den verschiedenen Abweichungen geführt haben (Kohl et al., 2005). Als Fazit einer aktuelleren Untersuchung wird die Gültigkeit des Hagen-Poiseuille-Gesetzes bei laminarer Strömung in rechteckigen Mikrokanälen bestätigt (Wibel, 2008). Es wird auch die Frage gestellt, ob an der Grenzfläche zwischen Flüssigkeit und Kanalwand tatsächlich kein Gleiten stattfindet (Park, 2010). Bei druckgetriebenen Strömungen soll das Gleitphänomen vernachlässigbar sein, jedoch bei elektroosmotischen Flüssen oder hydrophoben Kanalmaterial signifikant werden.

Die Einlauflänge spielt eine wesentliche Rolle in Bezug auf eine Modellierung der Kanalströmung. Um abzuschätzen, ob die Annahme eines voll ausgebildeten Geschwindigkeitsprofils in Kanälen mit quaderförmiger Querschnittsfläche gerechtfertigt ist, kann mit Gl. (1) eine entsprechende Berechnung (Durst et al., 2005) durchgeführt werden. Die Einlauflänge (l_{hydr}) hängt dabei vom hydraulischen Durchmesser (Wibel, 2008) des Kanals (d_h) nach Gl. (2) und der Reynolds-Zahl (Re_{hydr}) nach Gl. (3) ab.

$$l_{\text{hydr}} = d_h \left[0,631^{1,6} + (0,0442 Re_{\text{hydr}})^{1,6} \right]^{\frac{1}{1,6}} \quad (1)$$

$$d_h = \frac{2h_{\text{Kanal}} b_{\text{Kanal}}}{h_{\text{Kanal}} + b_{\text{Kanal}}} \quad (2)$$

$$Re_{\text{hydr}} = \frac{v_f d_h \rho_f}{\eta_f} \quad (3)$$

Die Reynolds-Zahl ist neben d_h auch von der Flüssigkeitsdichte ρ_f , der dynamischen Viskosität η_f und der mittleren Strömungsgeschwindigkeit v_f abhängig.

3.2 Einphasiges System: Laminares Strömungsprofil von flüssigen Strömungen

Die Beschreibung des Geschwindigkeitsfeldes einer Strömung basiert auf der Lösung eines partiellen Differentialgleichungssystems. Abgesehen von Idealfällen, wie z.B. den Strö-



3 Strömungsmechanische Grundlagen

mungsformen nach Hagen-Poiseuille oder Couette, muss das Gleichungssystem meist numerisch gelöst werden. Die hierfür wesentlichen Gleichungen der Massenbilanz nach Gl. (4) und der Impulsbilanz nach Gl. (5) wurden zur Darstellung aus Paschedag (Paschedag, 2004) entnommen. Die fettgedruckten Größen bezeichnen dreidimensionale Vektoren und Tensoren.

$$\frac{\partial \rho_f}{\partial t} = -\nabla(\rho_f \mathbf{v}_f) \quad (4)$$

$$\frac{\partial \rho_f \mathbf{v}_f}{\partial t} + \nabla(\rho_f \mathbf{v}_f \mathbf{v}_f) = -\nabla \boldsymbol{\tau} - \nabla p_f + \rho_f \mathbf{g} \quad (5)$$

$$\boldsymbol{\tau} = \eta [\nabla \mathbf{v}_f + (\nabla \mathbf{v}_f)^T] + \left(\lambda - \frac{2}{3} \eta_s \right) (\nabla \mathbf{v}_f) \mathbf{I} \quad (6)$$

Im Rahmen dieser Arbeit werden die flüssigen Phasen als inkompressible, Newtonsche Flüssigkeiten bei isothermen Bedingungen simuliert. Daher kann ρ_f als konstant und η_f als konstant und zudem als unabhängig vom Schergefälle behandelt werden. Der Tensor $\boldsymbol{\tau}$ wird nach dem Newtonschen Schubspannungsgesetz entsprechend Gl. (6) berechnet. In diesem stellen λ , η_s und \mathbf{I} Zähigkeitskoeffizienten sowie den Einheitstensor dar. Durch die Inkompressibilität $\nabla \mathbf{v}_f = 0$ verschwindet jedoch der Term mit letztgenannten Größen aus Gl. (6) (Landau & Lifschitz, 1991). Die Kontinuitätsgleichung und die Impulsbilanz vereinfachen sich zu Gln. (7) und (8) (Paschedag, 2004). Letztere Bilanz wird auch die Navier-Stokes-Gleichung genannt.

$$\nabla \mathbf{v}_f = 0 \quad (7)$$

$$\rho_f \frac{\partial \mathbf{v}_f}{\partial t} = -\rho_f \mathbf{v}_f \nabla \mathbf{v}_f + \eta_f \nabla^2 \mathbf{v}_f - \nabla p_f + \rho_f \mathbf{g} \quad (8)$$

Der verwendete Algorithmus für die numerischen Berechnungen des Geschwindigkeitsprofils, welche im Rahmen dieser Arbeit mit *ANSYS Fluent* (Version 12.0.16) durchgeführt wurden, ist im Theorie-Leitfaden (ANSYS, 2009) dargestellt. Eine analytische Lösung für ein vollausgebildetes laminares Geschwindigkeitsprofil in umwandeten Kanälen mit rechteckigem Durchströmungsquerschnitt ist in Gl. (9) dargestellt. Diese Gleichung wurde mit Hilfe der aus White (White, 1991) entnommen Gleichungen für das Geschwindigkeitsprofil und den Volumenstrom hergeleitet. Die Größe η_f in beiden Formeln konnte dabei weggekürzt werden. Die Variablen sind definiert als $a = b_{K_{\text{amal}}}/2$ und $b = h_{K_{\text{anal}}}/2$. Die Berechnungsvorschriften für die Funktionen $f_1(x,y,a,b)$ und $f_2(a,b)$ sind in den Gln. (10) und (11) gegeben. Für die Endwerte der Summen müssen natürliche Zahlen anstatt ∞ gewählt werden.



3 Strömungsmechanische Grundlagen

$$v_z = \frac{12\dot{V}}{ab\pi^3} \frac{f_1(a, b, x, y)}{f_2(a, b)} \quad (9)$$

$$f_1(a, b, x, y) = \sum_{i=1,3,5,\dots}^{\infty} \left((-1)^{\frac{i-1}{2}} \left[1 - \frac{\cosh\left(\frac{i\pi y}{2a}\right)}{\cosh\left(\frac{i\pi b}{2a}\right)} \right] \frac{\cos\left(\frac{i\pi x}{2a}\right)}{i^3} \right) \quad (10)$$

$$f_2(a, b) = 1 - \frac{192a}{b\pi^5} \sum_{i=1,3,5,\dots}^{\infty} \left(\frac{\tanh\left(\frac{i\pi b}{2a}\right)}{i^5} \right) \quad (11)$$

Bei quaderförmigen Kanälen mit $b_{\text{Kanal}} \gg h_{\text{Kanal}}$ lässt sich eine vereinfachte und analytisch berechenbare Beziehung für ein vollausgebildetes 2D-Geschwindigkeitsprofil finden, die eigentlich eine stationäre und laminare Strömung zwischen zwei unendlich großen und unbeweglichen Platten beschreibt. Die Vernachlässigung der Änderung der Strömungsgeschwindigkeit in lateraler Richtung (entlang $b_{\text{Kanal}} \rightarrow x$ -Koordinate) führt hier auch zu $dp/dx = 0$ Pa/m. Mit dem Wegfall von $\partial/\partial t$ und $\partial/\partial x$ vereinfacht sich die Navier-Stokes-Gleichung zu Gl. (12) (Landau & Lifschitz, 1991). Der rechte Term impliziert $dp/dy = 0$ Pa/m, womit der hydrostatische Druck vernachlässigt wird.

$$v_f = -\frac{1}{2\eta_f} \frac{dp}{dz} y(y - h_{\text{Kanal}}) \quad (12)$$

Die Ableitung dp/dz ist unabhängig von der axialen Koordinate z (Judy et al., 2002). Aufgrund der Annahme stationärer Strömungsbedingungen kann diese Ableitung zudem als $\Delta p/\Delta z$ beschrieben werden. Durch die Integration von v_f in Gl. (12) über y und anschließender Multiplikation mit b_{Kanal} ergibt sich der Volumenstrom \dot{V}_f . Durch das Gleichsetzen beider Gleichungen nach $\Delta p/\Delta z$ resultiert Gl. (13) (Simson, 1998).

$$v_f = -\frac{6\dot{V}}{b_{\text{Kanal}} h_{\text{Kanal}}^3} y(y - h_{\text{Kanal}}) \quad (13)$$

Um Strömungssituationen miteinander vergleichen zu können wird die Reynolds-Zahl verwendet. Im Rahmen dieser Arbeit wurde diese Kennzahl für die Durchströmung von Kanälen nach Gl. (14) und die Umströmung eines kugelförmigen Objektes berechnet. Letztere wird nach Gl. (15) berechnet und enthält den Durchmesser einer kugelförmigen CHO-Zelle (d_{CHO}). Bei den Umströmungssituationen muss aufgrund von örtlichen Wandkontakten bedacht werden, dass das jeweilig umströmte Objekt nicht vollständig umströmt wird. Damit können die

berechneten Re_p -Werte nicht direkt mit der Umströmungssituation an vollständig umströmten, kugelförmigen Objekten verglichen werden.

$$Re = \frac{v_{f,M} d_h \rho_f}{\eta_f} \quad (14)$$

$$Re_p : Re_{CHO} = \frac{v_{f,A} d_{CHO} \rho_f}{\eta_f} \quad (15)$$

3.3 Zweiphasiges System: Kräfte auf die disperse Phase

Ist die Relativgeschwindigkeit von der dispersen Phase zur kontinuierlichen Phase von Null verschieden, so wirkt eine Widerstandskraft auf die Körper der dispersen Phase, die nach Gl. (16) berechnet werden kann (Paschedag, 2004):

$$F_W = \frac{3}{4} c_w (Re_{CHO}) \frac{\rho_f}{\rho_{CHO}} \frac{m_{CHO}}{d_{CHO}} |\mathbf{v}_f - \mathbf{v}_{CHO}| (\mathbf{v}_f - \mathbf{v}_{CHO}). \quad (16)$$

Diese Gleichung enthält einen Widerstandsbeiwert ($c_w(Re_{CHO})$), die durchschnittliche Mas sendichte (ρ_{CHO}) und Masse (m_{CHO}) einer CHO-Zelle. Für die Berechnung von $c_w(Re_{CHO})$ in den Kapiteln 8 und 9 wurden die Annäherungsgleichungen nach Stokes bei $Re_p < 0,25$ und nach Kürten et al. (Kürten, Raasch, & Rumpf, 1966) mit dem Gültigkeitsbereich $0,1 < Re_p < 4000$ für $Re_p \geq 0,25$ angewandt. Beide Annäherungsgleichungen wurden aus Stieß (Stieß, 2009) entnommen.

Ferner wirken Schergradienten durch das Strömungsprofil auf diese Körper, wodurch Drehmomente erzeugt werden. Neben der Translation entsteht auch eine Rotation dieser Körper, aus welcher eine angreifende Kraft im Schwerpunkt der CHO-Zelle in Richtung des niederen statischen Druckes resultiert (Paschedag, 2004):

$$\mathbf{F}_{Saffman} = \frac{6,46 d_{CHO}^2}{4} |\mathbf{v}_f - \mathbf{v}_{CHO}| \sqrt{\rho_f \eta_f \left| \frac{\partial \mathbf{v}_f}{\partial \mathbf{x}} \right|}. \quad (17)$$

Diese Saffmankraft $\mathbf{F}_{Saffman}$ wird ebenfalls dynamische Auftriebskraft genannt und kann in Abhängigkeit eines dynamischen Auftriebsbeiwertes dargestellt werden (Laurien & Oertel jr., 2009). Jedoch wirkt die Widerstandskraft durch das umgebene Medium der Kraft $\mathbf{F}_{Saffman}$ entgegen. Um festzustellen, ob die Kraft $\mathbf{F}_{Saffman}$ die Körperbewegung innerhalb des Kanalsys-



3 Strömungsmechanische Grundlagen

tems signifikant beeinflusst, wurde von Sommerfeld (Sommerfeld, 1996) eine Gleichung zur Abschätzung des Grenzdurchmessers $d_{\text{CHO,G}}$ aufgestellt:

$$d_{\text{CHO,G}} \approx 0,588 \left(\frac{\rho_f}{\eta_f} \right)^{-0,5} \left| \frac{\partial \mathbf{v}_f}{\partial \mathbf{x}} \right|^{-0,5}. \quad (18)$$

Gl. (18) ist gültig für kleine Re_{CHO} , wie auch die Gleichung für $\mathbf{F}_{\text{Saffman}}$ (Gl. (17)). Zudem wurde angenommen, dass der Quotient der Relativgeschwindigkeiten in axialer zu radialer Richtung den Wert 10 ergibt. Eine Abschätzung zur Signifikanz dieser Kraft ist in Kapitel 9 zu finden.

Neben den bereits genannten Kräften können weitere relevante Kräfte aufgrund unterschiedlicher Massendichten ($\mathbf{F}_{\Delta\rho}$) nach Gl. (19), relativer Beschleunigung (\mathbf{F}_{vm}) nach Gl. (20), verzögerter Ausbildung der Grenzschicht bei relativer Beschleunigung (\mathbf{F}_{B}) nach Gln. (21) - (22) und Eigenrotation des Körpers (in einer Schergradienten-freien Flüssigkeit: $\mathbf{F}_{\text{Magnus}}$) auf den Körper wirken (Paschedag, 2004). Die folgenden Gln. (19) - (22) beziehen sich auf kugelförmige Körper:

$$\mathbf{F}_{\Delta\rho} = \rho_{\text{CHO}} \frac{\pi d_{\text{CHO}}^3}{6} \left(1 - \frac{\rho_f}{\rho_{\text{CHO}}} \right) \mathbf{g}, \quad (19)$$

$$\mathbf{F}_{\text{vm}} = c_{\text{vm}} \rho_f \frac{\pi d_{\text{CHO}}^3}{6} \left(\frac{\partial \mathbf{v}_f}{\partial t} + \mathbf{v}_f \frac{\partial \mathbf{v}_f}{\partial \mathbf{x}} - \frac{\partial \mathbf{v}_{\text{CHO}}}{\partial t} - \mathbf{v}_{\text{CHO}} \frac{\partial \mathbf{v}_{\text{CHO}}}{\partial \mathbf{x}} \right), \quad (20)$$

$$\mathbf{F}_{\text{B}} = 9 \sqrt{\frac{\rho_f \eta_f}{\pi}} \frac{\pi d_{\text{CHO}}^2}{6} c_{\text{B}} \int_{-\infty}^t \frac{\left(\frac{\partial \mathbf{v}_f}{\partial \tau} + \mathbf{v}_f \frac{\partial \mathbf{v}_f}{\partial \mathbf{x}} - \frac{\partial \mathbf{v}_{\text{CHO}}}{\partial \tau} - \mathbf{v}_{\text{CHO}} \frac{\partial \mathbf{v}_{\text{CHO}}}{\partial \mathbf{x}} \right)}{(t - \tau)^{0,5}} d\tau, \quad (21)$$

$$c_{\text{B}} = 2,88 + \frac{3,12}{\left(\frac{|\mathbf{v}_f - \mathbf{v}_{\text{CHO}}|^2}{d_{\text{CHO}}} \left| \frac{d|\mathbf{v}_f - \mathbf{v}_{\text{CHO}}|}{dt} \right|^{-1} + 1 \right)^3}. \quad (22)$$

Die Kräfte \mathbf{F}_{vm} , \mathbf{F}_{B} und $\mathbf{F}_{\text{Magnus}}$ sind ebenfalls bekannt als die virtuelle Massenkraft, die Zähigkeitskraft (Basset-Term) und die Magnus-Kraft (Paschedag, 2004). Die Kraft \mathbf{F}_{vm} bewirkt eine zusätzliche Trägheit des Partikels, da Fluidteilchen für die Umströmung des beschleunigten Partikels zusätzlich beschleunigt werden müssen. Für kugelförmige Partikel existiert hierfür $m_v = \pi d_p^3 \rho_f / 12$ (Spurk & Aksel, 2006; White, 2011) als Ausdruck für die zusätzliche virtuelle Masse (m_v) des Partikels.



Zu ellipsoid-förmigen Körpern in einer flüssigen Strömung wurden Formeln für den Widerstandskoeffizienten in Abhängigkeit von Formfaktoren, wie Längenverhältnissen (Loth, 2008; Richter & Nikrityuk, 2012) und des Anströmwinkels (Zastawny et al., 2012) entwickelt und untersucht. Bei der Rotation ellipsoid-förmiger Körper spielen das Sturzmoment und der Widerstand während der Rotation eine entscheidende Rolle. Ein entsprechendes Berechnungsmodell ist in Zastawny et al. (2012) vorgeschlagen. Bei regelmäßig geformten Körpern, wie Kegel oder Scheiben, hat sich ein Oberflächenverhältnis für den Formfaktor als geeignet erwiesen (Loth, 2008). Bei nicht regelmäßig geformten Körpern mit Rauigkeiten war ein detaillierteres Flächenverhältnis geeignet.

3.4 Zweiphasiges System: Gleichgewichtspositionen

Bei der Strömung von fast auftriebsfreien Partikeln durch einen geraden Mikrokanal mit rechteckförmigen Querschnitt bei $100 < Re < 1000$ bewegten sich diese Partikel hin zu Gleichgewichtspositionen nahe einer Ecke oder mittig nahe einer Kanalwandfläche (Chun & Ladd, 2006). Je größer Re , desto näher befand sich diese Gleichgewichtsposition an der Kanalwand. Dagegen werden die Gleichgewichtspositionen in geraden Kanälen mit quadratisch- oder rechteckförmigen Querschnitt nur mittig und nahe den Kanalwandflächen bei Hansson et al. (2011) dargestellt. In beiden Publikationen und in Di Carlo (2009) wird die Gleichgewichtsposition mit dem Gleichgewicht zwischen zwei Auftriebskräften, senkrecht zur Hauptströmung, erklärt. Eine Kraft resultiert aus dem Schergefälle des laminaren Strömungsprofils und wirkt in Richtung der Kanalwand. Die andere Kraft wirkt der Erstgenannten entgegen.

Bei der Strömung von ebenfalls fast auftriebsfreien Polystyrol-Partikeln durch einen quadratischen Strömungskanal bei $Re = 80$ wurde festgestellt, dass sich diese Partikel in einer Gleichgewichtsposition im Durchströmungsquerschnitt bewegen (Di Carlo et al., 2009). Je kleiner das Verhältnis zwischen dem Partikeldurchmesser und der Kantenlänge des Kanalquerschnitts, desto näher befand sich die Gleichgewichtsposition an der Kanalwand. Diese Partikel besaßen dabei die gleiche Massendichte und gleiche Durchmesser wie CHO-Zellen (vgl. Kapitel 5.6.).

Ein Einfluss der visko-elastischen Eigenschaften der dispersen Phase auf die Gleichgewichtspositionen wurde, am Beispiel von elastischen Partikeln und Öltröpfen, von Hur et al. (2011) festgestellt.

In Gl. (23) ist ein Ansatz zur Charakterisierung der Strömung in geraden Kanälen für die Migration von Partikeln in Richtung von Gleichgewichtspositionen aus Di Carlo (2009) vorgestellt.

$$\dot{V}_f \approx \frac{2\pi}{3} \frac{\eta_f b_{\text{Kanal}} h_{\text{Kanal}}^3}{\rho_f l_{\text{Kanal}} d_p^2} f_L \quad (23)$$

Dabei geht es um die Migration der Partikel in Richtung der Kanalhöhe h_{Kanal} . Bei einer Migration in Richtung der Kanalbreite b_{Kanal} müssten beide Variablen in Gl. (23) ausgetauscht werden. Zudem ist die Kanallänge mit l_{Kanal} dargestellt. Der dimensionslose Auftriebskoeffizient f_L (Di Carlo et al., 2009) variiert zwischen 0,02 und 0,05 bei $0,5 < h_{\text{Kanal}}/b_{\text{Kanal}} < 2$.

3.5 Energiedissipation

Wenn ein Fluid strömt, so wird ein Teil der Strömungsenergie durch z.B. Fluidreibung, Wirbelbildung oder viskose Erwärmung umgewandelt (Kockmann, 2008). Diese Energiedissipation spielt bei transportierten Zellsuspensionen eine Rolle in Bezug auf die mechanische Beanspruchung der Zellen in der Strömung. In entsprechenden Veröffentlichungen, am Beispiel von Erythrozyten (Bluestein & Mockros, 1969) oder CHO-Zellen (Ma et al., 2002; Mollet et al., 2007), wurde ein Zusammenhang zwischen Zellzerstörung und dieser Energiedissipation pro Zeit und Raum, hier mit ε abgekürzt, festgestellt. Bei Dehnströmungen, welche zum Beispiel in Wirbeln auftreten, wird vermutet, dass die wirkenden Normalkräfte eher zur Zellzerstörung führen (Gregoriades et al., 2000). In dieser Arbeit wird die Dehnströmung vernachlässigt. Die nun folgende Berechnungsvorschrift für ε wurde aus (Gregoriades et al., 2000) entnommen und ist in Gl. (24) dargestellt.

$$\varepsilon = \eta_f (\nabla \mathbf{v}_f + \nabla \mathbf{v}_f^T) : \nabla \mathbf{v}_f \quad (24)$$

Hierbei stellt $\nabla \mathbf{v}_f$ ein Tensor dar, welcher Geschwindigkeitsableitungen für den dreidimensionalen Raum enthält. Das T im Exponenten bezeichnet die transponierte Matrix.



4 Theoretische Grundlagen der Diskrete-Elemente-Methode

Für Ansätze zur geometrischen und mechanischen Modellierung einer suspensionsadaptierten CHO-Zelle in Kapitel 11 wurde die Diskrete-Elemente-Methode (DEM) verwendet.

Wesentliche Vorteile dieser netzfreien Simulationsmethode sind stabile numerische Berechnungen und eine bessere Eignung bei dynamischen Grenzflächenphänomenen, beweglichen Grenzflächen und starken Deformationen im Vergleich zur Finiten-Elemente-Methode (Liu & Liu, 2003). Ansonsten wird die DEM hauptsächlich im Bereich der Partikeltechnologie für die Modellierung von Fließ- und Kompressionsverhalten sowie bei Misch-, Transport-, Wirbelschicht- und Wärmeaustauschprozessen angewandt (Antonyuk, 2006). Die Diskreten Elemente (DE) werden dabei als Partikeln mit mechanischen Eigenschaften modelliert und diesen beispielsweise eine Größe, eine Massendichte, ein Schermodul und ein Poisson-Verhältnis zugeordnet. Für die Beschreibung von Wechselwirkungen mit anderen DE oder Wänden, im Sinne von Prall und Reibung, werden Kontaktmodelle verwendet. Für diese Modelle sind dann Restitutions- und Reibungskoeffizienten erforderlich. Bei der DEM werden die Geschwindigkeitsvektoren für die Translation \mathbf{v}_{DE} und die Rotation $\boldsymbol{\omega}_{DE}$ eines DE mit Hilfe der Gln. (25) und (26) als Ergebnisgrößen bestimmt:

$$m_{DE} \frac{d\mathbf{v}_{DE}}{dt} = \sum_{i=1}^n \mathbf{F}_{DE,i} , \quad (25)$$

$$J_{DE} \frac{d\boldsymbol{\omega}_{DE}}{dt} = \sum_{k=1}^m \mathbf{M}_{DE,k} . \quad (26)$$

Die Größen m_{DE} und J_{DE} bezeichnen dabei die Masse und das Trägheitsmoment des DEes. Die Vektoren $\mathbf{F}_{DE,i}$ und $\mathbf{M}_{DE,k}$ bezeichnen die Kräfte und Momente, denen ein DE zeitgleich ausgesetzt ist. Dies können zum Beispiel Gravitations-, Kontakt-, Strömungswiderstands- oder elektrostatische Kräfte sein. Die Momente entstehen dabei durch Scherkräfte oder reibungsbehaftete, schiefe Stöße. Einen Überblick zu verschiedenen Kontaktmodellen und entsprechenden Parametern haben zum Beispiel Antonyuk (Antonyuk, 2006) oder Fries (Fries, 2012) gegeben.



Im Kapitel 11 wird eine Anwendbarkeitserweiterung der DEM gezeigt, wobei die Rotation einzelner Elemente (Gl. (26)) zur Vereinfachung der Modelle nicht berücksichtigt wurde.

4.1 Restitutionskoeffizient

In Kapitel 10 werden die Kompressionsphasen von CHO-Zellen bei ihrem Treffen auf eine Barriere und auf flache Oberflächen behandelt. Daher wird hier kurz auf die übergeordnete mechanische Größe, den Restitutionskoeffizienten, eingegangen.

Bei einer Partikel-Wand-Kollision kann der Stoßvorgang elastisch, elastisch-plastisch oder plastisch erfolgen (Antonyuk, 2006). Zeitgleich mit dieser Druckbeanspruchung ist eine zeitabhängige Kraft auf diese Wand messbar. Zur Erläuterung eines elastisch-plastischen Stoßvorganges wurde ein schematischer Verlauf aus Antonyuk (Antonyuk, 2006) adaptiert und in Abbildung 4 dargestellt:

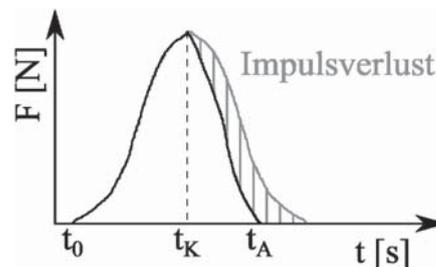


Abbildung 4: Adaptierte Kraft-Zeit-Kurve eines Prallvorganges (Antonyuk, 2006).

Beim Zeitpunkt t_0 trifft das Partikel auf die Wand. Im zeitlichen Anschluss beginnt die Kompressionsphase. Mit dem Kraftanstieg bei einem normalen Stoß vergrößern sich auch die Kontaktdeformation – also die Verformung des Partikels am Kontaktort – und die einaxiale Kompressionsstrecke in Stoßrichtung. Die kinetische Energie des Partikels wird dabei in Verformungsenergie und bei elastisch-plastischen und plastischen Stößen auch in Wärmeenergie, durch Reibung, umgewandelt. Im Zeitpunkt t_K besitzen das Partikel und die Wand keine Relativgeschwindigkeit mehr. Zeitlich danach beginnt die Ablösephase, in der die kinetische Energie des Partikels wieder zunimmt und die Verformung des Partikels abnimmt. Das zeitliche Ende der Ablösephase ist mit t_A bezeichnet. Die Entformung des Partikels kann jedoch zeitlich langsamer stattfinden als die Dauer der Ablösephase, was dann als viskoses Verhalten bezeichnet wird. Der rot-schraffierte Bereich in Abbildung 4 zeigt den Anteil an irreversibel-umgewandelter kinetischer Energie in Wärme- und Verformungsenergie. Bei elastischen,

normalen Stoßvorgängen wäre die Kraft-Weg-Kurve symmetrisch zu $t = t_K$. Bei plastischen, normalen Stoßvorgängen ist t_A nicht existent, wenn die Richtungsvektoren der Gravitationskraft und der Aufprallgeschwindigkeit linear abhängig sind. Neben normalen Stoßvorgängen gibt es dennoch solche Vorgänge mit tangentialen Richtungskomponenten, die in dieser Arbeit unberücksichtigt bleiben.

Die Stoßzahl e , auch bekannt als Restitutionskoeffizient, kann als Verhältnis der Relativgeschwindigkeiten vor und nach dem Stoß oder mittels Gl. (27), entnommen aus (Antonyuk, 2006), bestimmt werden.

$$e = \frac{\int_{t_K}^{t_A} F(t) dt}{\int_{t_0}^{t_A} F(t) dt} \quad (27)$$

Bei einem elastischen Stoß ist $e = 1$, bei einem elastisch-plastischen Stoß ist $0 < e < 1$ und bei einem plastischen Stoß ist $e = 0$.

4.2 Reibungskoeffizienten bei Partikel-Wand-Kontakt

In diesem Kapitel wird die Berechnung von Reibungskoeffizienten erläutert, die in Kapitel 8.2.4 für den Kontakt zwischen suspensions-adaptierten CHO-Zellen und einer Kanalwand ermittelt werden.

Bei Partikel-Wand-Kontakt und einer Kraftwirkung auf das Partikel parallel zur Wandoberfläche können Haft-, Gleit- und die Rollreibung vorkommen (vgl. Abbildung 5). Um eine ruhende Kugel mit Wandkontakt in Bewegung zu bringen, muss zuerst eine kritische Haftreibungskraft ($F_{R,H}$) in Bewegungsrichtung aufgebracht werden (Popov, 2009). Danach kann das Partikel gleiten oder rollen, und dem Partikel wirkt zeitgleich eine Gleitwiderstands- ($F_{R,G}$) oder Rollwiderstandskraft ($F_{R,R}$) entgegen. Die jeweiligen Widerstandskräfte sind proportional zur Anpresskraft, die in Normalenrichtung zwischen Partikel und Wand und senkrecht zur Widerstandskraft wirkt. Bei den Gleitreibungskräften gibt es keine wesentliche Abhängigkeit zur Kontaktfläche oder Oberflächenrauigkeit (Popov, 2009).

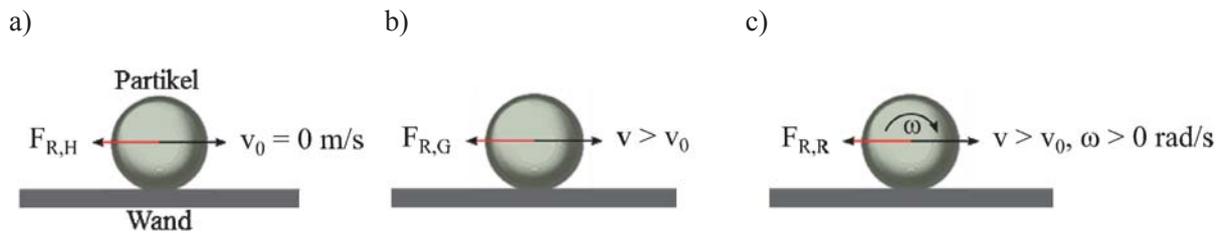


Abbildung 5: Haft- (a), Gleit- (b) und Rollreibung (c) bei Partikel-Wand-Kontakt.

Eine allgemeine Formel für den jeweiligen Reibungskoeffizienten μ , mit der Widerstandskraft F_{Reibung} und der Kraftkomponente senkrecht zur horizontalen Auflagefläche F_{Normal} , ist in Gl. (28) dargestellt. Rechtsseitig ist bereits die Berechnungsweise der Reibungskoeffizienten aus Abschnitt 6.2.4. dargestellt, mit den ermittelten Strömungskräften (F_y und F_z) sowie der Gewichtskraft einer CHO-Zelle ($F_{g,\text{CHO}}$).

$$\mu = \frac{F_{\text{Reibung}}}{F_{\text{Normal}}} = \frac{F_z}{F_y + F_{g,\text{CHO}}} \quad (28)$$

4.3 Anwendung auf biologische Zellen

Mit Hilfe der DEM wurde bereits biologisches Gewebe in 2D (Pathmanathan et al., 2009) modelliert. Die Gewebezellen wurden dabei lediglich mit einem DE modelliert, wodurch nur makroskopische mechanische Eigenschaften dieser Zellen benötigt wurden, die bereits in der Literatur verfügbar sind.

Daneben existieren Publikationen mit Fokus auf wenigen Feder-Dämpfer-Modellen, die die mechanischen Eigenschaften der betrachteten Zellen modellieren. Als ein Beispiel sei die 3D-Modellierung der Epidermis einer Zwiebel genannt, die unter Vernachlässigung zellspezifischer Teile durchgeführt wurde (Loodts et al., 2006). Zudem wurden intrazelluläre Wechselwirkungsparameter für ein 2D-Modell von menschlichen Gehirntumorzellen mit Kelvin-Voigt-Modellen modelliert (Coskun & Mackey, 2007). Hierbei waren die Kernmembran und der Zellkern, neben der Plasmamembran und dem Zytoplasma, mitberücksichtigt. Die Modellparameter wurden dabei über eine Matrizengleichung und der beobachteten realen Formänderung dieser Zellen bestimmt. Hierauf aufbauend wurden dann Epithel-Zellen und ihrer Wechselwirkungen untereinander modelliert (Jamali et al., 2010).

In 2005 wurde das Subcellular-Element-Modell (SEM) zur detailreicheren Modellierung von biologischen Zellen eingeführt (Newman, 2005). Dieses Modell wurde durch Skalierung von



Wechselwirkungsparametern, anhand der Anzahl verwendeter Elemente, weiterentwickelt (Sandersius & Newman, 2008). Ein ähnlicher Ansatz wurde von Liedekerke et al. (2010) verfolgt. Dabei erforderte eine quasi-3D Modellierung von pflanzlichen Speichergewebezellen, mit Unterteilung in Plasmamembran und Zellinneres, eine indirekte Validierung von mikroskopischen Wechselwirkungsparametern über makroskopische Kraft-Weg-Kurven.

In den hier betrachteten Modellen zum SEM wurde die mögliche Eigenschaft des Rollens eines Elementes vernachlässigt. Dies mag derzeit eine Abgrenzung zur eigentlichen DEM darstellen.

Die Modellierungen in Kapitel 11 passen thematisch in das SEM.





5 Mechanische Eigenschaften von eukaryotischen Zellen

Menschen, Tiere, Pflanzen und Pilze etc. bestehen aus eukaryotischen Zellen (Kleinig & Sitte, 1999). Diese Zellen unterscheiden sich von anderen Organismen durch das Vorhandensein eines Zellkerns. Als relevante Zellbeispiele seien hier *Saccharomyces cerevisiae*, CHO- und Baby hamster kidney – Zellen genannt, welche im Fokus der pharmazeutischen Industrie zur Herstellung von rekombinanten Wirkstoffen stehen (Dingermann et al., 2002), mit deren Hilfe bestimmte Krebsarten, die Bluterkrankheit und Krankheiten des zentralen Nervensystems behandelt werden können (CHO, 2012). Auf die systematische Analyse der komplexen Metabolismen der oben genannten Zellen, speziell auf Wechselwirkungen von Komponenten in verschiedenen molekularen Ebenen (Wurm et al., 2010), konzentriert sich ein Forschungsbereich namens „Systembiologie“. Analysen zum Verständnis dieser chemischen/biologischen Vorgänge erfordern Zellaufschlüsse, um Zellkomponenten oder Kompartimente, wie z.B. die Mitochondrien, separieren zu können. Daher sind die mechanischen Eigenschaften jener Zellen für die Auslegung und Optimierung entsprechender Zellaufschlussapparaturen von Bedeutung.

Seit den 40er Jahren des 20sten Jahrhunderts werden mechanische Eigenschaften von biologischen Zellen experimentell erforscht (Mashmouhy et al., 1998). Die gebräuchlichen experimentellen Methoden lassen sich nach heutigem Stand in drei Typen unterteilen (Mey, 2009):

- lokale Verformung der Zelle durch Spitzen (z.B. Atomic force microscopy: AFM, magnetic twisting cytometry: MTC),
- mechanische Belastung der ganzen Zelle (z.B. Micropipette Aspiration: MA, optical tweezers oder electro-deformation (MacQueen et al., 2010) und
- mechanische Beanspruchung einer Zellpopulation.

Mit diesen Methoden können unter Anwendung der Kontinuums-Mechanik klassische Materialkennwerte (z.B. das Elastizitäts- oder Schermodul) oder mechanische Größen (z.B. scheinbare Federkonstanten) bestimmt werden. Ein Gesamtbild sämtlicher beteiligter Mechanismen für das mechanische Verhalten einer biologischen Zelle existiert bisher noch nicht (Qin et al., 2009).

Es gibt jedoch Übersichten zu einigen mechanischen Eigenschaften von Tumorzellen (Drasdo & Höhme, 2005) und pflanzlichen Speichergewebezellen (Liedekerke et al., 2010; Wang et

al., 2004). Epithelzellen besitzen ein Elastizitätsmodul von 1 kPa und eine Poisson-Zahl von $1/3$ (Pathmanathan et al., 2009). Weitere Informationen zum mechanischen Verhalten von biologischen Zellen bieten einige Fachbücher (Sackmann & Merkel, 2010; Boal, 2002; Kleinig & Sitte, 1999).

5.1 Mechanischer Aufschluss von eukaryotischen Zellen

Ein Aufschluss von tierischen Zellen mit Kegel-Platte-Viskosimetern ist bei Schubspannungen zwischen $0,019 \text{ N/m}^2$ und 577 N/m^2 und in Abhängigkeit von der Belastungszeit möglich (Zhang et al., 1993). Für NS1 Myeloma- und TB/C3 Hybridomazellen konnte mithilfe von Scherströmungsversuchen festgestellt werden, dass mit zunehmender Belastungszeit auch mehr Zellen aufgeschlossen werden (Born et al., 1992; Zhang et al., 1993). Kompressionsversuche mit einem Nanoindenter zum Aufschluss von *Saccharomyces cerevisiae*, die einen durchschnittlichen Durchmesser von $4,6 \mu\text{m}$ besaßen, ergaben Berstkräfte zwischen $100 \mu\text{N}$ und $200 \mu\text{N}$ (Arfsten et al., 2008). Eine Aufschlussmethode mithilfe von scharfkantigen Einbauten in einem Mikrokanal für Chiplabor-Anwendungen wurde von Di Carlo et al. (Di Carlo et al., 2003) vorgestellt. Die Autoren erklären, dass das Vorhandensein dieser scharfen Kanten den Zellaufschluss im Vergleich zu Einbauten ohne scharfe Kanten verbessert.

Mit steigender extrazellulärer Osmolarität vergrößert sich auch die aufzubringende Berstkraft, da der verringerte intrazelluläre Druck dem Berstereignis entgegen wirkt (Arfsten et al., 2009). Im Umkehrschluss sorgt eine z.B. niedrigere Salzkonzentration im extrazellulären Medium für eine Diffusion dieses Mediums in die biologische Zelle hinein, wodurch der intrazelluläre Druck steigt und die Berstkraft sinkt. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen Berstkraft und der Zellgröße von Backhefe-Zellen konnte von Mashmouhy et al. (Mashmouhy et al., 1998) nicht festgestellt werden.

Eine Zusammenstellung der Parameter, welche für die Beschreibung der hydrodynamischen Belastungen auf biologische Zellen in Bioreaktoren bereits verwendet wurden gibt Godoy (2008). Die Energiedissipation ist auch dabei erklärt, welche in Kapitel 3.5 vorgestellt und in Kapitel 8.2.2 berechnet wurde.



5.2 Zellmembranen

Plasmamembranen bestehen gewöhnlich aus verschiedenen Proteinen, Phospho- sowie Glycolipiden, wobei Letztere als eine Lipiddoppelschicht angeordnet sind (Kleinig & Sitte, 1999). Die Proteine hingegen, welche bei Tieren in den meisten Plasmamembranen einen Massenanteil von ungefähr 50% ausmachen (Alberts, et al., 1998), ragen räumlich aus der hydrophilen Oberfläche der Lipiddoppelschicht heraus. Ein Kräftegleichgewicht, entstehend aus Abstoßungskräften zwischen den Lipidkopfgruppen, sterischer Abstoßung zwischen den aliphatischen Ketten und attraktiver Wechselwirkung an der hydrophilen/hydrophoben Grenzschicht, hält die Lipiddoppelschicht zusammen. (Mey, 2009). Ausschlaggebend für die mechanischen Eigenschaften der Membranen ist der thermische Phasenzustand der Lipiddoppelschicht. Dieser kann grob in eine temperaturabhängige flüssige- und kristalline Phase unterteilt werden. In der erstgenannten Phase, bei der die Membran sich wie eine 2D-Flüssigkeit verhält, sind die Lipide sehr beweglich. Es finden Lipid-Eigenrotation um die Längsachse, spontane Biegung der aliphatischen Ketten und Lipid-Lipid-Platzwechsel (Diffusion) statt (Hennesthal, 2003). In letzterer Phase sind Lipide nur gering beweglich, und die hydrophoben Ketten sind in einer regelmäßigen Dreiecks- und Hexagonal-Struktur angeordnet (Hennesthal, 2003).

Bekannt sind Phasenübergangstemperaturen von Lipidschichten, bestehend aus nur einer Lipidsorte. In der über Avanti (Avanti, 2012) zusammengestellten Tabelle 1 sind deutliche Unterschiede der Phasenübergangstemperatur ausgesuchter Membranlipide gezeigt. Die Abkürzungen bedeuten: DOPC (1,2-di-(9Z-octadecenoyl)-sn-glycero-3-phosphocholine), SOPC (1-octadecanoyl-2-(9Z-octadecenoyl)-sn-glycero-3-phosphocholine), DPPC (1,2-dihexadecanoyl-sn-glycero-3-phosphocholine).

Tabelle 1: Übersicht der Phasenübergangstemperaturen von Lipiden.

	Phasenübergangstemperatur	Gewicht	Gewicht
	[°C]	[Da]	[$\cdot 10^{-27}$ kg]
SOPC	6	788	1309
DOPC	-20	786	1306
DPPC	41	734	1219

Aufgrund der hohen Vielfalt an Lipidsorten und dem Formenreichtum an verschieden großen Proteinen sind allgemeingültige Abmessungen für Membrandicke und die durch ein Lipid beanspruchte Membranoberfläche schwerlich festzulegen (Engelmann, 2005). Im Allgemei-



5 Mechanische Eigenschaften von eukaryotischen Zellen

nen werden jedoch die Dicke der Lipiddoppelschicht mit 4 nm (Kleinig & Sitte, 1999) und die beanspruchte Fläche mit 0.4 nm^2 bis 0.7 nm^2 (Boal, 2002) angegeben. Der Phasenzustand mag ebenfalls nicht eindeutig sein, wobei je nach Temperatur auch quasi-kristalline Zustände auftreten können (Sackmann & Merkel, 2010). Es kann zudem viele Regionen der Plasmamembran geben, in denen Lipide und Proteine sich scheinbar frei bewegen können. Die Bewegungsfreiheit wird dennoch durch transmembrane Wechselwirkungen, Adhäsionsstellen und die Link-Orte des Zytoskeletts beeinflusst (Engelmann, 2005). Die Massendichte einer Lipiddoppelschicht liegt zwischen $1,12 \text{ g/cm}^3$ und $1,22 \text{ g/cm}^3$ (Kleinig & Sitte, 1999). Einen wichtigen Einfluss auf bestimmte Membranbereiche, interzelluläres Haften und auf die Zellform haben Proteine, welche zwischen Plasmamembran und Zytoskelett lokalisiert sind (Luna & Hitt, 1992).

Zum mechanischen Verhalten existiert Literatur über hauptsächlich synthetisierte Lipiddoppelschichten in planarer- oder Vesikelform, jeweils bestehend aus nur einer bis weniger Lipidsorten (Evans & Rawicz, 1990; Evan et al., 2003; Hennesthal, 2003; Leonenko et al., 2004; Nichols-Smith et al., 2004; Zhou & Raphael, 2005; Steltenkamp, 2006; Garcia-Saez et al., 2007; Pan et al., 2008; Mey, 2009; Koshiyama & Wada, 2011). Ein Grund hierfür ist die Schwierigkeit der sauberen experimentellen Abtrennung der Plasmamembran vom Zellkörper. Daher ist ein Vergleich mit den natürlichen mechanischen Eigenschaften einer Plasmamembran auch noch unerreicht (Mey, 2009).

Belastungszustände von Membranen sind meist komplex und setzen sich aus lateralen Spannungen {durch einaxiale Zug (\rightarrow Dehnung) - und Druckkräfte (\rightarrow Kompression)}, Schubspannungen (durch radiales Spannungsprofil) und Biegebeanspruchung (lokale Stauchung einer Lipidschicht bei lokaler Dehnung der anderen Schicht am gleichen Ort) zusammen.

Die laterale Spannung σ_{lat} kann anhand von kraftmikroskopischen Studien (Bhatia & Nachbar, 1968; Mey, 2009) bestimmt werden. In der Vorbereitung dafür wird die zu untersuchende Membran über eine Pore gespannt. Während der Messung wird die Membran mittels einer Spitze mittig über der Pore runtergedrückt und die Rückstellkraft aufgenommen. Schließlich kann ein Zusammenhang zwischen der Rückstellkraft und σ_{lat} hergestellt werden.

Ein elastisches Flächendehnungsmodul K_A kann über eine erzwungene gebietsweise Vergrößerung der Membranfläche, durch Ansaugen mithilfe einer Mikropipette, ermittelt werden (Evans, 1974; Needham & Nunn, 1990; Evan et al., 2003; Nichols-Smith et al., 2004; Zhou & Raphael, 2005; Zhou & Raphael, 2007). Dafür wird die σ_{lat} an der Auflagefläche (dem Innen-

rand der Pipette) gegen die gebietsweise Einbeulung/Vergrößerung der Membranfläche $\Delta A/A$ aufgetragen. Der Zusammenhang ist in Gl. (29) gezeigt.

$$\sigma_{\text{lat}} = K_A \frac{\Delta A}{A_0} \quad (29)$$

Während der Membrandehnung kommt es zu Fluktuationen der flächenbezogenen Lipiddichte, denn zur Gewinnung des thermischen Gleichgewichts richten sich die Lipide kontinuierlich neu aus. Die eigentliche Flächenvergrößerung setzt sich damit aus Superposition von abnehmender thermischer Biegebewegungen und Verringerung der flächenbezogenen Lipiddichte zusammen (Rawicz et al., 2000). Folglich wird K_A auch als scheinbares Flächendehnungsmodul $K_{A,s}$ bezeichnet, wenn der Anteil durch Fluktuation nicht heraus gerechnet wurde. Bei einer modellhaften Lipidzusammensetzung der Mitochondrien-Membranen aus 1-stearoyl, 2-oleoyl phosphatidylcholine und Cardiolipin sinkt $K_{A,s}$ mit zunehmendem Cardiolipin-Gehalt (Nichols-Smith et al., 2004). Der Cardiolipin-Anteil wurde dabei bis auf 9,2 % erhöht. Typische $K_{A,s}$ -Werte liegen zwischen 0,05 N/m und 0,5 N/m und bei 0,2 N/m für viele Lipiddoppelschichten (Boal, 2002). Ein Alternativansatz zum thermischen Gleichgewicht liefert $K_A = 4\sigma$, mit σ als Grenzflächenspannung zwischen Flüssigkeit und Membran (Boal, 2002). Zur lateralen Membranstauchung wurden keine Literaturdaten gefunden. Molekulardynamik-Simulationen könnten hierfür, und insbesondere zur Ermittlung eines Flächenkompressionsmoduls, geeigneten Daten produzieren.

Die nötige elastische Energie der ebenen (lateralen) Dehnungs-Deformation kann zudem mit Gl. (30) berechnet werden (Sackmann & Merkel, 2010):

$$E_{\text{Dehnung}} = \frac{1}{2} K_A \iint dA (1 - \zeta_1 \zeta_2)^2 + \frac{1}{2} G \iint dA \left(\frac{\zeta_1}{\zeta_2} + \frac{\zeta_2}{\zeta_1} - 2 \right). \quad (30)$$

Dabei steht $(1 - \zeta_1 \zeta_2)$ für die relative Flächenänderung, wenn ein beispielsweise quadratisches Membran-Flächenstück zu einer rechteckigen Fläche gedehnt wird. Der rechtseitige Term steht für den Energieaufwand durch Scherung während der Deformation, mit dem Schubmodul G .

Der Biegewiderstand κ_{Biegung} einer Membran kann vereinfacht über ein Plattenmodell bestimmt werden. Mithilfe von K_A und der Plattendicke d_{Platte} , welche der Dicke der Lipiddoppelschicht entspricht, kann κ_{Biegung} mit Gl. (31) abgeschätzt werden:

$$\kappa_{\text{Biegung}} = \frac{K_A d_{\text{Platte}}^2}{24} \quad (31)$$



5 Mechanische Eigenschaften von eukaryotischen Zellen

Je nach Zusammensetzung der Lipidschicht ist $0.15 \cdot 10^{-19} \text{ J} \leq \kappa_{\text{Biegung}} \leq 12 \cdot 10^{-19} \text{ J}$ (Boal, 2002; Sackmann & Merkel, 2010).

Die Größen κ_{Biegung} und K_A unterscheiden sich bei flüssiger und kristalliner Phase um jeweils den Faktor 10 (Mey, 2009). Membranen in der kristallinen Phase besitzen gegenüber ihrem Flächenkompressionsmodul ein wesentlich kleineres Schermodul, weswegen bei der Biegung isotropische Spannungen durch reine Dehnung dominieren und anisotrope Spannungen durch Scherung vorkommen (Evans E., 1974). In der flüssigen Phase verschwindet das Schermodul (Mey, 2009). Für die Membranen roter Blutkörperchen wurde $G = 10^{-3} \text{ Pa}$ angegeben (Evans E., 1974). Zudem wurde $\nu_{\text{Poisson}} = 0,33$ bei Lipiddoppelschichten angegeben (Mey, 2009).

Die nötige elastische Energie E_{Biegung} zum Biegen einer Membranfläche lässt sich mit Gl. (32) bestimmen (Sackmann & Merkel, 2010):

$$E_{\text{Biegung}} = \frac{1}{2} \kappa_B \iint dA (R_1^{-1} + R_2^{-1} - K_{\text{spontan}})^2 + \frac{1}{2} \kappa \frac{\pi(\Delta A - \Delta A_0)^2}{4A_0 d_m^2} \quad (32)$$

Der erste Term gehört zur Helfrich-Gleichung, welcher die Biegeelastizität biologischer Membranen beschreibt. Dabei werden die Radien der Hauptkrümmungen R_1 , R_2 und die eingeprägte Biegung K_{spontan} , verursacht durch ein zweiseitiges Drehmoment innerhalb der Lipiddoppelschicht, berücksichtigt. Mit dem zweiten Term wird die lokale Stauchung der einen Monoschicht, die Streckung der anderen Monoschicht und das gegeneinander Gleiten berücksichtigt. Die Größe κ entspricht dabei dem globalen Biegemodul und d_m der Dicke der Lipiddoppelschicht.

Bei SOPC-Membranen beeinflusst der pH-Wert die Größe κ_{Biegung} durch Änderung elektrostatischer Eigenschaften an der Lipid-Flüssigkeits-Grenzfläche, jedoch nicht K_A (Zhou & Raphael, 2007).

Bei lateraler Zugbeanspruchung führt das Erreichen einer bestimmten lokalen Membranflächendehnung oder einer bestimmten lateralen Spannung zu einem Membranriss-Ereignis. Die Flächendehnung bei flüssiger Phase liegt dabei typischerweise zwischen 2% und 4% (Boal, 2002) oder 2% und 5% (Steltenkamp, 2006). Die lateralen Bruchspannungen liegen hierfür bei 0.01 N/m (Boal, 2002) oder zwischen 0.005 N/m und 0.01 N/m für fluide Membranen (Steltenkamp, 2006). Bei synthetisierten (SOPC + Cardiolipin) inneren Mitochondrien-Membranen nimmt die laterale Bruchspannung von ca. 0.003 N/m auf 0.009 N/m, mit abnehmendem Cardiolipin-Gehalt, zu (Nichols-Smith et al., 2004). Bei Membranen in der kristallinen Phase von Mardine-Darby Canine II-Zellen liegt die laterale Bruchspannung zwi-



schen 0,02 N/m und 0.055 N/m (Steltenkamp, 2006). Mithilfe von Rasterkraftmikroskopie-Versuchen wurde folgendes festgestellt: Je länger die aliphatischen Ketten sind, desto größer ist die benötigte Kraft zum Durchbruch der Membran (Garcia-Manyes & Sanz, 2010).

Als mechanischen Größen für eine Membran werden z.B. $E = 10^3$ Pa und $\nu_{\text{Poisson}} = 0,3$ angegeben (McGarry & Prendergast, 2004).

5.3 Zytoplasma

Mit dem Zytoplasma ist in dieser Arbeit der Raum zwischen Plasma- und Kernmembran gemeint. Der Hauptbestandteil dieses Raums ist das flüssige und teils zähflüssige Grundplasma, welches zum Beispiel Lipide, Transport-Ribonucleinsäuren, Proteine, Nucleotide, Zucker, Aminosäuren, Mineralien und Spurenelemente enthält (Tittel, 2003). Des Weiteren sind Kompartimente, wie Mitochondrien, Endoplasmatisches Reticulum, Golgi-Apparat etc., vorhanden, die meist mit Membranen abgegrenzte, biologisch-funktionelle Bereiche der Zelle darstellen (Kleinig & Sitte, 1999). Ein wichtiger mechanischer Bestandteil ist das Zytoskelett, welches der Zelle erlaubt, sich räumlich zu organisieren (Alberts, et al., 1998). Das Zytoskelett hat im Wesentlichen drei *Bestandteile*:

Die *Mikrofilamente* sind netzwerkartig als Kortex unterhalb der Plasmamembran lokalisiert, bestehen hauptsächlich aus F-Aktin, ein polymerisiertes Strukturprotein, und dienen zur Erhaltung der Zellform (Yoon et al., 2002).

Die *Mikrotubuli* sind für die Organisation des Zellinhaltes zuständig und sind Gebilde in Form von Hohlzylindern, die bei Temperaturen unter 5°C zerfallen (Sackmann & Merkel, 2010). Der Primärbaustein ist das Protein Tubulin.

Die *Intermediärfilamente* sind hierarchisch aufgebaut (vgl. dazu Qin et al., 2009), bestehen aus Proteinsorten, die von der Zellart (Steltenkamp, 2006) abhängen, können bis zum 4-fachen ihrer Länge gedehnt werden (Qin et al., 2009) und verleihen der Zelle Stabilität gegenüber mechanischem Stress (Alberts, et al., 1998).

Nach Janmey et al. (1991) unterscheiden sich die mechanischen Eigenschaften der drei Bestandteile des Zytoskeletts wesentlich. In jenem Spannungs-Dehnungs-Diagramm (Janmey et al., 1991) zeigt F-Aktin den größten Wert für E, jedoch eine geringere Zugfestigkeit als die Intermediärfilamente. Die Mikrotubuli zeigen den kleinsten Wert für E.



5 Mechanische Eigenschaften von eukaryotischen Zellen

In Tabelle 2 sind wesentliche mechanischen Eigenschaften der Zytoskelett-Bestandteile quantitativ dargestellt. Eigentlich bilden diese Bestandteile ein strukturiertes Netzwerk im Inneren einer eukaryotischen Zelle. Der Schermodul bezieht sich als einzige Größe auf solch eine Netzwerkstruktur.

Tabelle 2: Übersicht einiger mechanischer Größen zum Zytoskelett.

	d [nm]	E [GPa]	κ [GPa]	G (Netzwerk) [GPa]	ν_{Poisson} [-]	σ_t [GPa]
Mikrofilamente	¹ 8	³ 1,8-2,5 ¹ 2,6	⁵ 2	⁶ $\sim 10^{-5}$	⁷ 0,3	
Intermediärfilamente	² 10	² 0,3-0,4 ⁴ 0,3-0,9				⁸ 0,24-0,42 ⁸ 0,09
Mikrotubuli	¹ 25	¹ 12			⁷ 0,3	

Referenzen zur Tabelle 2: ¹ (Gittes et al., 1993), ² (Qin et al., 2009), ³ (Ethier & Simmons, 2007), ⁴ (Guzman et al., 2006), ⁵ (Goldman et al., 2008), ⁶ (Satcher & Dewey, 1996), ⁷ (MacQueen et al., 2010), ⁸ (Kreplak et al., 2008).

Die Netzwerkeigenschaften sind bis heute noch nicht ausreichend erforscht. Zum Mikrofilament-Kortex wurden bereits Modellierungen (Satcher & Dewey, 1996) und Untersuchungen zur Netzwerkeelastizität in Abhängigkeit der Vernetzungsart durchgeführt (Lieleg et al., 2009). Für Zytoplasma werden $E = 100 \text{ Pa}$ und $\nu_{\text{Poisson}} = 0,37$ angegeben (McGarry & Prendergast, 2004).

Um den Zusammenhalt zwischen Zytoplasma und Membranen zu untersuchen, wurden Zugversuche an Schleimpilzzellen (Merkel, et al., 2000) und an roten Blutkörperchen (Hochmuth & Marcus, 2002; Butler et al., 2008) durchgeführt. Dabei wurden Adhäsionsenergien im Bereich $0,078 \text{ mJ/m}^2 \dots 1,6 \text{ mJ/m}^2$ bestimmt.

5.4 Zellkern

Eine tabellarische Übersicht der Oberfläche, des Volumens, der Porengröße und –anzahl in Abhängigkeit der Zellart, Kultivierungsbedingungen und DNA-Gehalt ist in Maul (Maul & Deaven, 1977) zusammengestellt. Später werden die Durchmesser des Zellkerns mit $3 \mu\text{m}$ bis $10 \mu\text{m}$ (Boal, 2002) und $6 \mu\text{m}$ für Gewebezellen (Kleinig & Sitte, 1999) sowie die einer Kernpore mit 50 nm bis 70 nm (Kleinig & Sitte, 1999) und 50 nm (Sackmann & Merkel,



2010) angegeben. Für einen Zellkern werden $E = 400 \text{ Pa}$ und $\nu_{\text{Poisson}} = 0,37$ genannt (McGarry & Prendergast, 2004). Bei Knorpelzellen wurde herausgefunden, dass die Viskosität des Zellkerns doppelt so hoch ist, wie die des Zytoplasmas (Giuilak et al., 2000).

5.5 Haft- und Rollverhalten

Der Mechanismus der Zellhaftung ist geprägt durch elektrostatische Abstoßung und durch Bildung von makromolekularen Bindungen (Bell et al., 1984). Zudem wird vermutet, dass die Rauigkeit der Zelloberfläche einen Einfluss auf die Hafteffektivität besitzt (Williams et al., 2001). Die Haftmechanismen wurden bereits als Kombination der Grenzflächenspannung mit der Zellmembrandehnung modelliert (Agresar et al., 1998). Die Simulationen von haftenden Leukozyten, modelliert als homogene 2-D Körper, auf Endothelzellen ergaben Abhängigkeiten der Ädhäsionszeit, der Haftfläche und der Rollgeschwindigkeit zu der Scherbeanspruchung, der Verformbarkeit und der Bindungsstärke der Leukozyten (Dong & Lei, 2000). Nach Simulationen mit einer zusätzlichen Modellierung eines 2-D Zellkerns konnte ausgesagt werden, dass die Rollgeschwindigkeit mit der Zellgröße zunimmt und die intrazelluläre Viskosität sowie die Grenzflächenspannung das Rollverhalten beeinflussen (N'Dri et al., 2003). Zudem wurde eine Verringerung der Rollgeschwindigkeit mit zunehmender Deformierbarkeit von Leukozyten als Resultat numerischer Berechnungen festgestellt (Pappu et al., 2008). Mit einem weit komplexeren Zellmodell mit Schwerpunkt auf dem Aktin-Kortex, welches Mechanik und Biochemie in Teilen berücksichtigt, konnten detailliertere Wechselwirkungen zwischen Zelle und Substrat nachgebildet und eine Vorhersagbarkeit von Hystereseeffekten geschaffen werden (Besser, 2009). Eine Übersicht der Haftkräfte zu weichen Hefezellen und harten Partikeln, jeweils auf Oberflächen in Wasser, zeigt modellabhängige Werte zwischen $0,5 \mu\text{N}$ bis $1,6 \mu\text{N}$ und zwischen 3 nN und $0,1 \mu\text{N}$ (Weigl, 2004). Die simulierte Deformation einer Brustkrebs-Zelle in einen Spalt hinein, was einem ähnlichem Thema dieser Arbeit entspricht, ergab mithilfe der Modellierung von Haftkräften einen Zusammenhang zwischen kortikaler Steifigkeit und Eintrittszeit in den Spalt (Leong et al., 2010).



5.6 Mechanische Eigenschaften von CHO-Zellen

In diesem Kapitel wird zwischen adhären-wachsenden und suspensions-adaptierten CHO-Zellen unterschieden. Die dargestellten mechanischen Größen entstammen Analysen, bei denen die Versuchsparameter, wie Zelllinie, Methoden, Vorbehandlungen, Temperaturen, Medium etc., teilweise unterschiedlich waren. Eine Vergleichbarkeit der hier gelisteten, gleichen mechanischen Größen ist damit frag- und diskussionswürdig. Der Leser wird auf die zitierten Publikationen verwiesen.

Adhären wachsende CHO-K1 Zellen weisen Charakteristiken von Epithelzellen auf (Schulze et al., 2009). Die Intermediärfilamente von CHO-Zellen und Baby hamster kidney (BHK)-Zellen sind biochemisch und strukturell ähnlich (Cabral et al., 1981).

5.6.1 Abmessungen und Massendichte

Suspensions-adaptierte CHO-Zellen können eine durchschnittliche Größe von 11,2 μm und eine durchschnittlichen Zellkerngröße von 8,1 μm besitzen (Brunsting & Mullaney, 1974). Die gleichen Autoren postulierten einen linearen Zusammenhang zwischen Zell- und Zellkerndurchmesser. Suspensions-adaptierte CHO-DUKX Zellen können eine Größe zwischen ca. 5 μm und ca. 30 μm aufweisen sowie eine häufigste Zellgröße von ca. 11 μm und eine mittlere Zellgröße von ca. 13 μm (Seewöster & Lehmann, 1997). Zellkern-Eigenschaften werden in Maul & Deaven (Maul & Deaven, 1977) mit $V_{\text{Zellkern}} = 188 \mu\text{m}^3$, $O_{\text{Zellkern}} = 221 \mu\text{m}^2$, $A_{\text{Pore}} = 9,44 \mu\text{m}^2$, $N = 2086$ Poren/Zellkern angegeben. Die mittlere Massendichte von CHO-Zellen wurde mit $\rho_{\text{CHO}} = 1051 \text{ kg/m}^3$ in einem Bereich von $1050 \text{ kg/m}^3 \leq \rho_{\text{CHO}} \leq 1074 \text{ kg/m}^3$ bestimmt (Anderson et al., 1970).

5.6.2 Plasmamembran

Die Plasmamembran von adhären-wachsenden CHO-Zellen kann eine durchschnittliche Dicke von 5 nm aufweisen und Proteine mit Durchmessern von 6 nm bis fast 40 nm enthalten (Murakoshi, et al., 2006). Dabei liegt der größte Anteil ähnlich-großer Proteine bei Proteingrößen unter 14 nm. In der Membran existieren über 10 verschiedene Phospholipid-Sorten (Boyer, 1983). Die Plasmamembran von adhären-wachsenden CHO-Zellen enthält Faltun-

gen, durch die eine Vervielfachung des Zellvolumens möglich ist (Solsona et al., 1998). Der größte erreichte Faktor lag hier bei ca. 3,5. Bei einer maximal möglichen Flächenvergrößerung einer Lipiddoppelschicht von 5% (vgl. Kapitel 5.2) muss der Anteil an Faltungen oder anderen Mechanismen überwiegend sein, da das entsprechende Volumenvergrößerungsverhältnis nur den Faktor 1,157 besitzt. Die Grenzflächenspannung zwischen Medium und kugelförmigen Zellclustern, bestehend aus N-cadherin transfizierten CHO-Zellen, wurde mit ca. 0,023 N/m bestimmt (Norotte et al., 2008). Die Oberflächen-Morphologie verändert sich mit jeder Phase des Zellzyklus in konfluenten Kulturen (Shay et al., 1974). Einige Oberflächeneigenschaften von adhären-wachsenden CHO-Zellen, wie die effektive Oberflächenviskosität, wurden anhand der Dehnung von Mikrovilli bestimmt (Hosu et al., 2007). Die Mikrovilli werden auch Zellmembranfortsätze genannt und sind in Abbildung 6 – jedoch von Suspensions-adaptierten CHO-Zellen – gezeigt.

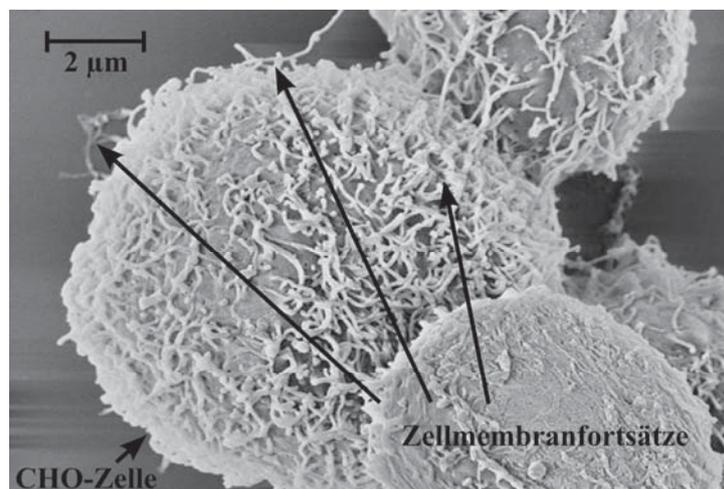


Abbildung 6: Rastermikroskopie-Aufnahmen von CHO-Zelloberflächen (Bahnmann, 2014). Modifiziertes Bild.

5.6.3 Mechanische Größen ganzer Zellen

In Tabelle 3 sind mechanische Größen von unterschiedlichen CHO-Zelllinien aufgelistet, darunter die dynamische Viskosität η . Die suspensions-adaptierten- und adhären-wachsenden Zellen sind mit „susp.“ und „adh.“ abgekürzt. Die Bezeichnung „relax“ steht für eine bereits andauernde Beanspruchung, wogegen „initial“ für den zeitlichen Beginn der Beanspruchung steht. Die Bezeichnung „lokal“ steht für eine örtliche Beanspruchung der Zelloberfläche mittels einer AFM-Spitze. Die letztgenannte Art der Beanspruchung ist für die Ermittlung von E vergleichsweise kritisch zu sehen, da die CHO-Zelle kein homogener Körper ist.



Tabelle 3: Übersicht einiger mechanischer Größen von CHO-Zellen.

	E [Pa]	G [Pa]	η [Pa·s]	Zelllinie [-]
CHO (susp.)				
# initial	¹ 1572	¹ 574	¹ 2905	^{1,2} K1
# relax	¹ 193	¹ 70,3		³ Cal-6 ³ Δ -Cyto
CHO (adh.)				⁴ BQ2
# lokal	² 400...900	³ 675	³ 3375	⁵ k.A.
	⁴ 242...553	³ 250	³ 1500	
# relax	⁵ 702			

Referenzen zur Tabelle 3: ¹ (MacQueen et al., 2010), ² (Zhao et al., 2006), ³ (Canetta et al., 2005), ⁴ (Carl & Schillers, 2008) und ⁵ (Jordan et al., 2007).

Für adhären-wachsenden CHO-Zellen wurde bereits $v_{\text{Poisson}} = 0,5$ angenommen (Carl & Schillers, 2008; Zhao et al., 2006). Für suspensions-adaptierte CHO-Zellen haben MacQueen et al. (2010) $v_{\text{Poisson}} = 0,37$ ermittelt. Im Rahmen der letztgenannten Publikation wurde ebenfalls eine Relaxationszeit von 17,2 s für die gleichen Zellen berechnet. Daneben wurden Relaxationszeiten für adhären-wachsende CHO-Cal-6-Zellen und CHO- Δ -Cyto-Zellen zu 5 s und 6 s bestimmt (Canetta et al., 2005).

5.6.4 Scherempfindlichkeit und Zellzerstörung

Die Scherempfindlichkeit von eukaryotischen Zellen wird häufig mithilfe von Viskosimetern gemessen. Mit einem Rotationsviskosimeter wurden entsprechende Versuchsreihen an suspensions-adaptierten CHO-Tf70R-Zellen durchgeführt (Dinhof, 2001). In Abbildung 7 ist eine Zusammenfassung von sämtlichen Referenzwerten aus letztgenannter Publikation gezeigt, da eigentlich eine Abhängigkeit der Scherempfindlichkeit von Additiven im protein-freien Medium untersucht wurde.

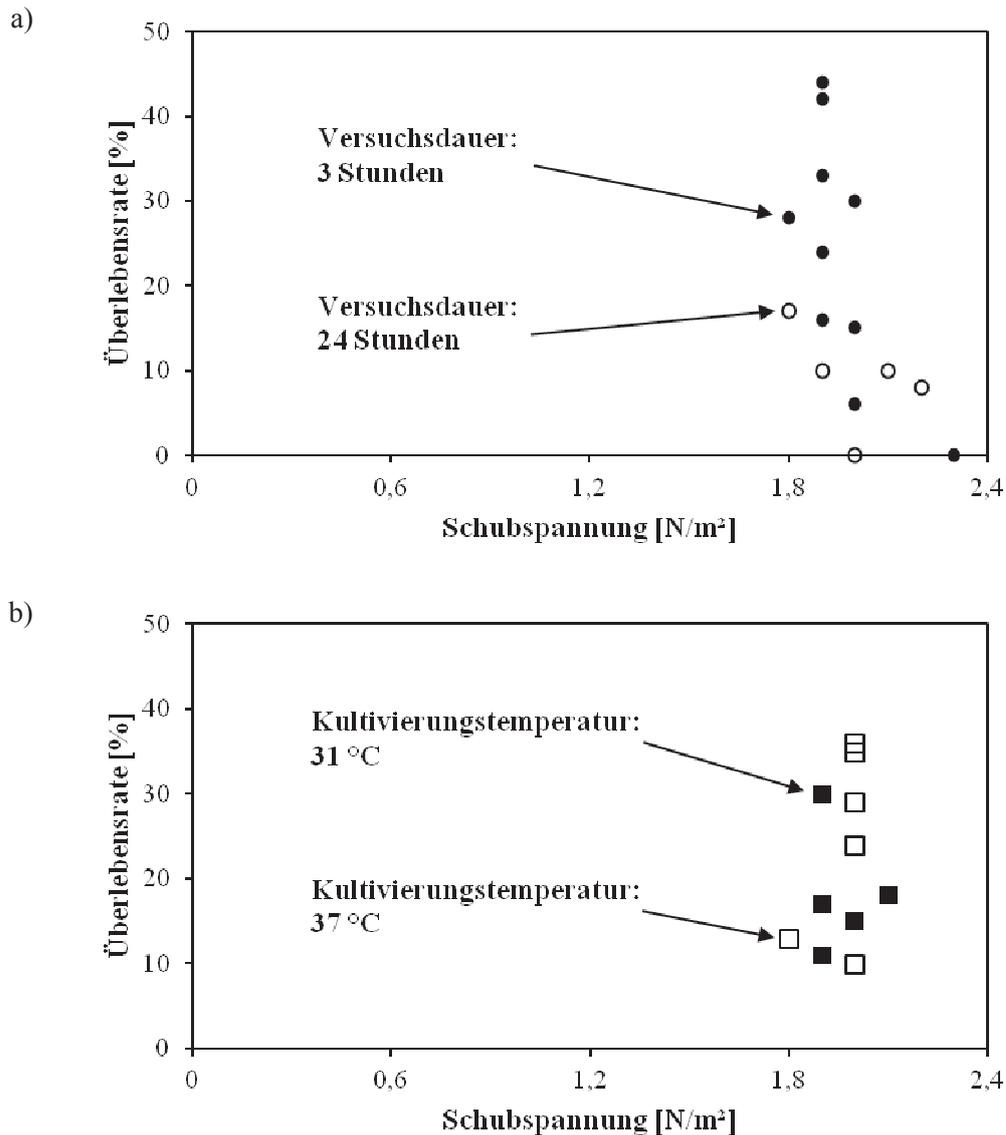


Abbildung 7: Zusammengestellte Daten mithilfe der Ergebnisse von Dinhof (Dinhof, 2001).

Die Abbildung 7a zeigt einen Einfluss der Beanspruchungszeit auf die Scherempfindlichkeit in Form der Überlebensrate. Bei der wesentlich längeren Beanspruchungszeit von 24 Stunden ist die mittlere Überlebensrate signifikant geringer als bei einer Beanspruchungszeit von 3 Stunden.

Die Abbildung 7b zeigt einen Einfluss der Kultivierungstemperatur auf die Scherempfindlichkeit im Sinne der Überlebensrate. Bei der höheren Temperatur von 37 °C ist die mittlere Überlebensrate größer als bei einer Kultivierungstemperatur von 31 °C.



Je höher die Schubspannungen, denen adhären-wachsende CHO-Zellen ausgesetzt sind, desto mehr Glucose wird aufgenommen, und desto geringer sind die hGH- und die Laktat-Produktivität (Keane et al., 2002).

Es wurden außerdem Scherversuche an suspensions-adaptierten CHO-3D6 Zellen mit einem Kegel-Platte-Viskosimeter durchgeführt (Castilho & Anspach, 2003). Dabei lag die Viabilität bei ca. 70 % und ca. 85 %, bei ca. 70 N/m² und Belastungszeiten von 30,5 Minuten und 1 Minute. Zwischen ca. 225 N/m² und ca. 330 N/m² und einer Belastungszeit von 30,5 Minuten blieb die Viabilität mit 20 % fast konstant. Bei ca. 230 N/m² und ca. 280 N/m² und einer Belastungszeit von 1 Minute blieb die Viabilität bei 40 %. Bei CHO-Zellen in Mikrokanälen ist mit Zellzerstörung ab $\varepsilon \approx 10^7 \dots 10^8$ W/m³ (vgl. dazu Kapitel 3.5) des Transportmediums zu rechnen (Ma et al., 2002; Mollet et al., 2007). Für Hybridomazellen wurde postuliert, dass Zellzerstörung unabhängig von der Belastungszeit bei konstanter Scherbeanspruchung unverzüglich stattfindet (Born et al., 1992).

5.6.5 Zelle-Wand Haftverhalten

Adhären-wachsende CHO-K1 Zellen haften an Plastik und Glas (Schulze et al., 2009). Es gibt Hinweise auf eine verringerte Haftfähigkeit bei niedrigen Temperaturen (Juliano & Gagalang, 1976). Bei suspensions-adaptierten CHO-Zellen, die an verschiedenartig beschichteten Glasoberflächen in Mikrokanälen hafteten, wurde das Ablöseverhalten in Abhängigkeit der Belastung durch Umströmung untersucht (Zhang et al., 2008). Die letztgenannte Publikation diene als Basis für die Modellierungen in Kapitel 7.2.

5.6.6 Rheologisches Verhalten von Zellsuspensionen

Das rheologische Verhalten von CHO-Zellsuspensionen wurde bereits mit einem Rheometer (Bohlin Gemini 150) von Jordan et al. (Jordan et al., 2007) analysiert. Bei Scherraten zwischen 6 s⁻¹ und 1000 s⁻¹ stiegen dabei die Viskosität (η) und der Schermodul (G) der Zellsuspension sowie ihre Fließgrenze mit zunehmender Zell-Volumenkonzentration (ϕ). Der höchste Wert wurde dabei zu $\eta \approx 600$ Pa·s bei $\phi = 60$ % und $\gamma \approx 2$ 1/s bestimmt.

6 Mechanische Eigenschaften von TC42+Glutamin

Bei den experimentellen Versuchen des Instituts für Bioprozess- und Biosystemtechnik der TUHH zum Zwischenschritt „Zellaufschluss“ (vgl. Kapitel 1) bestand die Zellsuspension aus CHO-K1 Zellen und dem Kulturmedium TC42 der Firma TeutoCell AG. Dem Kulturmedium waren außerdem 4 mM Glutamin zugegeben. Diese entstandene Lösung wird in den folgenden Abschnitten mit „TC42+Glutamin“ bezeichnet. Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Massendichte $\rho_{\text{TC42+G}}$ und die dynamische Viskosität $\eta_{\text{TC42+G}}$ der Lösung, ohne die CHO-K1 Zellen, bei Umgebungsdruck und in Abhängigkeit von drei Temperaturen bestimmt (Schnegas et al., 2014). Für die Auswertungen sämtlicher Versuche wurden natürliche Luftdruckschwankungen vernachlässigt. Die Ergebnisse sind in Abbildung 8 dargestellt.

In Abbildung 8a ist ersichtlich, dass bei 4 °C sämtliche Werte der Massendichte sehr nah beieinander liegen. Bei 20 °C und 36 °C ist hingegen eine systematische, vertikale Streuung von $\rho_{\text{TC42+G}}$ festgestellt worden. Diese Systematik bezieht sich auf die jeweiligen Pyknometer (siehe Kapitel 6.1) und konnte bisher nicht zufriedenstellend erklärt werden. In Abbildung 8a ist die Temperaturungenauigkeit bei 20°C größer dargestellt, als mit dem Stabthermometer gemessen wurde. Der Grund hierfür sind mögliche Temperaturschwankungen durch z.B. Lüftung des Raumes, die die Temperatur der Probe beeinflussen haben könnten. Der vertikale Streubereich lässt keine weiteren Aussagen zur Abhängigkeit von $\rho_{\text{TC42+G}}(T)$ im Temperaturbereich zwischen 4 °C und 36 °C zu. Ein Vergleich: bei Meerwasser sinkt mit zunehmendem Salzgehalt die Temperatur, bei der das Meerwasser ein Dichtemaximum aufweist (Gierloff-Emden, 1979). Die entsprechenden Temperaturen sind jedoch niedriger als 4 °C.

In Abbildung 8b ist ersichtlich, dass $\eta_{\text{TC42+G}}$ eher schwach von der Temperatur im betrachteten Temperaturbereich abhängt. Zur Berechnung von $\eta_{\text{TC42+G}}(T = 18 \text{ °C})$ und $\eta_{\text{TC42+G}}(T = 24 \text{ °C})$ wurde $\rho_{\text{TC42+G}}(T = 20 \text{ °C})$ verwendet. Die scheinbar fehlenden Fehlerbalken, bezugnehmend auf die vertikalen Streuung bei $\rho_{\text{TC42+G}}(T)$, sind vernachlässigbar klein ($\Delta\eta_{\text{TC42+G}}(T = \text{„konst.“}) < 10^{-2} \text{ mPa}\cdot\text{s}$) und daher nicht sichtbar. Die horizontalen Fehlerbalken sind aufgrund maximal angezeigter Temperaturunterschiede von $\Delta T = 0,2 \text{ °C}$ nicht gezeigt. Genaueres zur Messung ist in Kapitel 6.2 zu finden.

6 Mechanische Eigenschaften von TC42+Glutamin

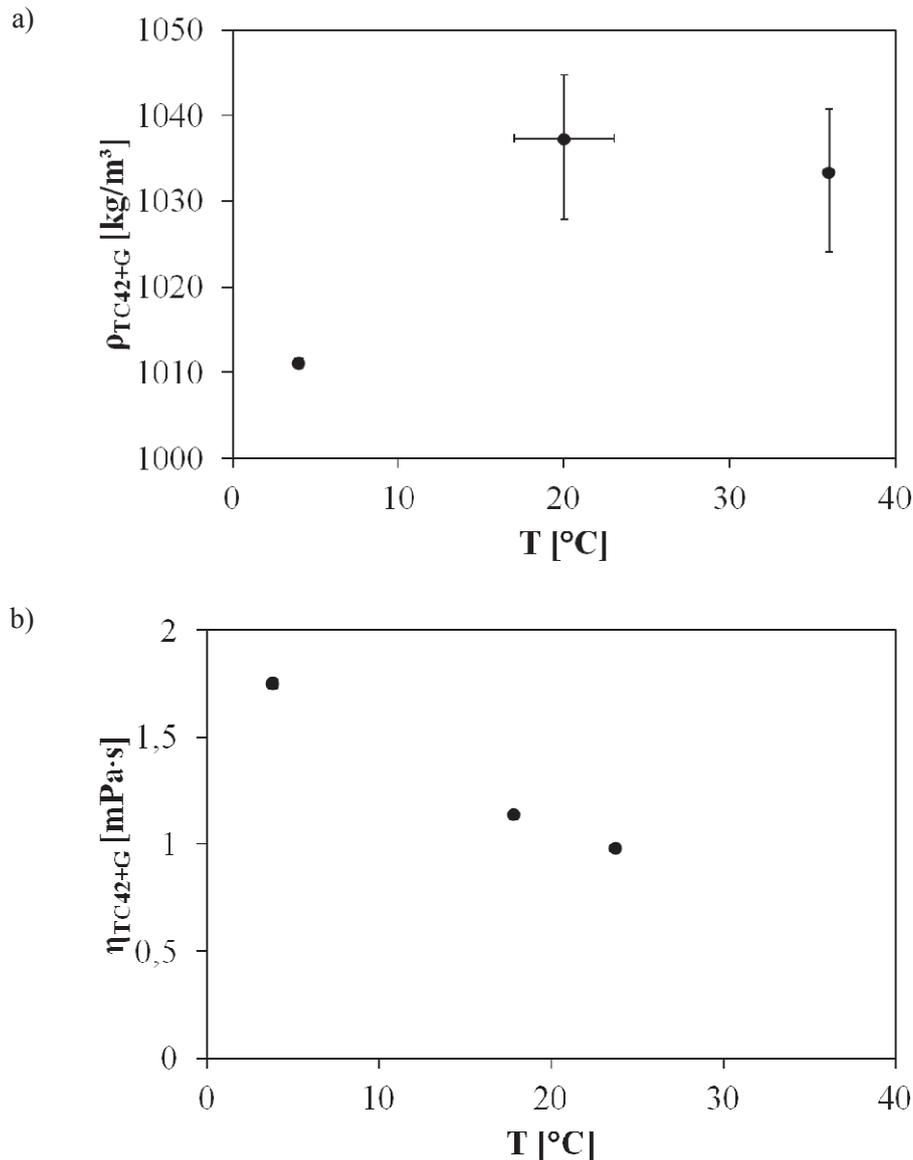


Abbildung 8: Mechanische Eigenschaften von TC42+Glutamin in Abhängigkeit der Temperatur – modifizierte Bilder (Schnegas et al., 2014).

Die bestimmten Größen $\rho_{TC42+G}(T)$ und $\eta_{TC42+G}(T)$ werden im Rahmen einer Parameterstudie in Kapitel 8.1.4 zur Temperaturabhängigkeit von Strömungskräften, die auf eine modellierte CHO-Zelle wirken, verwendet.

6.1 Bestimmung der Massendichte

Es wurden je Temperatur drei Blaubrand® Pyknometer (Typ: Gay-Lussac; 50 ml; Nrn: 10, 30 and 496) der Gay-Lussac Bauart und die Analysenwaage BP 210 S der Firma Sartorius



6 Mechanische Eigenschaften von TC42+Glutamin

(Sartorius, 2013) verwendet. Sämtliche Volumen der Pyknometer wurden vom Hersteller mit 50 ml bei einer Temperatur von 20 °C angegeben. Die Pyknometer wurden trotzdem für die Versuche bei 4 °C und 20 °C vorher kalibriert. Die Kalibrierungsversuche wurden mit entsalztem Wasser durchgeführt, welches jedoch nicht entgast wurde. Nach DIN ISO 3507:2002-02 (Maßanforderung der Pyknometer-Glasbehälter) ist eine Toleranz von +/- 3 ml zwischen Nennvolumen und tatsächlichen Volumen erlaubt. Die ermittelten Volumen der verwendeten Pyknometer liegen zwischen einschließlich 50,94 ml und einschließlich 51,8 ml für $T = 4\text{ °C}$ und $T = 20\text{ °C}$ und somit innerhalb des Toleranzbereichs. Aufgrund der vernachlässigbar geringen Unterschiede zwischen 4 °C und 20 °C wurden ähnlich Unterschiede zu 36 °C angenommen, weswegen keine Kalibration bei 36 °C durchgeführt wurde.

Für die Messungen bei 4 °C und 36 °C wurden Klimaräume des Instituts für Bioprozess- und Biosystemtechnik der TUHH mit gleicher Solltemperatur genutzt, um jeweils 200 ml TC42+Glutamin, aufbewahrt in einem verschlossenen und durchsichtigem Glasbehälter, entsprechend zu kühlen oder zu erwärmen. Für die Messungen bei Raumtemperatur wurden die Proben vorher in ein Labor mit Raumtemperatur (es wurden Werte zwischen 20 °C und 22 °C kurz vor der eigentlichen Analyse mit einem herkömmlichen Stabthermometer gemessen) gestellt. Die Aufenthaltsdauer der Proben, Pyknometer, Pipetten (zum Umfüllen) und der Thermobox (für den Transport zur Analysenwaage) in den jeweiligen Räumen betrug mindestens 24 Stunden vor den Dichtebestimmungen.

Vor jeder Bestimmung der Massendichte wurde die Lösung auf Trübungen, als Anzeichen von Bakterienbefall, untersucht. Danach wurden die Pyknometer bis zum Rand des jeweiligen Glasgefäßes mit der Lösung gefüllt. Es waren manchmal vereinzelte, sehr kleine und dadurch kaum sichtbare Blasen an der jeweiligen Glasgefäß-Wand vorhanden. Aufgrund des sehr geringen Blasenvolumens kann jedoch ein signifikanter Einfluss auf die bestimmten Massendichten ausgeschlossen werden. Die Schliffstopfen wurden aufgesetzt, wodurch sich die Kapillaren vollständig mit der Lösung füllten. Die Analysenwaage befand sich bei jeder Messung, und aus Sicherheitsgründen, in einem Labor mit ca. 20 °C Lufttemperatur. Die Proben aus den Klimaräumen wurden daher in einer verschlossenen Thermobox zu dieser Waage transportiert. Die Wägungen wurden recht zügig durchgeführt, da zum einen Kondensation der Luftfeuchtigkeit an den 4 °C-warmen Pyknometern auftrat. Zum anderen reduzierte sich die Füllhöhe der Kapillaren bei den 36 °C-warmen Pyknometern aufgrund von Verdampfung oder Massendichte-Zunahme durch Abkühlung.



6.2 Bestimmung der dynamischen Viskosität

Es wurde angenommen, dass es sich bei der wässrigen Lösung um ein Newtonsches Fluid handelt. Dies ist im Einklang mit der Erklärung von van der Pol & Tramper (van der Pol & Tramper, 1998) über Kulturmedien für tierische Zellen. Basierend auf dieser Annahme wurde ein HAAKETM Kugelfallviskosimeter nach Höppler (Typ B, 81148) verwendet. Im Mantelvolumen des Viskosimeters, durch das mithilfe eines Thermostaten temperiertes und entsalztes Wasser gefördert wurde, befand sich ein Temperaturfühler des Thermometers FLUKE 51 K/J. Es wurde eine Borosilikatglas-Kugel für den Messbereich 0,2 – 2,5 mPa·s gewählt und der größte zur Verfügung stehende Längenabschnitt (A→B) für die Sinkzeitanalyse genutzt. Nach der Überprüfung auf Kontaminierung durch Bakterien wurde die Lösung jeweils von einem Vorlage-Glasbehälter mit ca. 4 °C in die Messkammer gefüllt. Danach wurde die Lösung über mehrere Stunden auf die Versuchstemperatur erwärmt, um den Temperaturgradienten über das Mantelmaterial zwischen Mess- und Kühlkammer zu verkleinern. Je Temperatur wurden drei Sinkzeitversuche durchgeführt und die berechneten Ergebnisse arithmetisch gemittelt.

7 Modellierung von Umströmungen an suspendierten CHO-Zellen

Die in Kapitel 2 vorgestellten Situationen wurden mit dem kommerziellen Gittergenerator Gambit (Version: 2.4.6) von ANSYS geometrisch modelliert. Die geometrischen Flächen und Räume der Modelle wurden anschließend mit demselben Programm vernetzt. Die Randbedingungen zur numerischen Lösung des Strömungsgleichungen wurden mithilfe der kommerziellen Software ANSYS Fluent 12.0.16 {Version: 3d, dp, pbns, lam (3d, double precision, pressure-based, laminar)} festgelegt, mit welchem die numerischen Simulationen nachfolgend durchgeführt wurden.

7.1 Treffen einer suspendierten CHO-Zelle auf eine Barriere

Für ein besseres Verständnis der Barriere, welche in Kapitel 2 vorgestellt wurde, wird in Abbildung 9 eine Draufsicht gezeigt. Der schwarze Block in dieser Draufsicht soll die hohe Anzahl an jeweiligen Elementen verdeutlichen, die nebeneinander aufgereiht diese Barriere formen. Der rot-markierte Ausschnitt stellt eine Überleitung zu der Abbildung 10 dar, in der die Elementtypen erklärt werden.

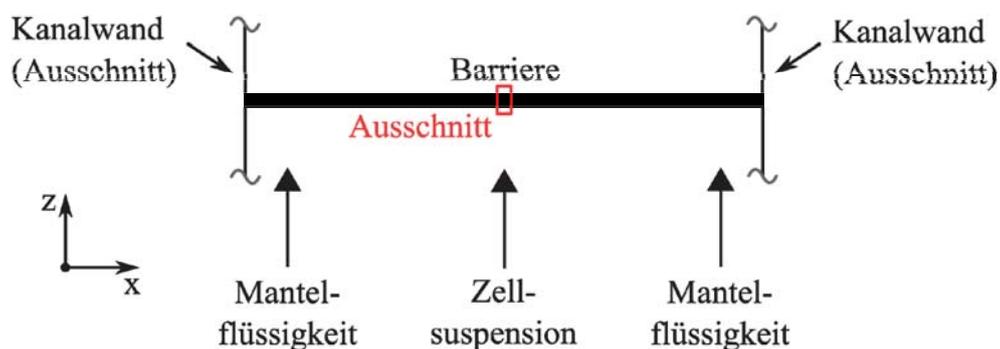


Abbildung 9: Abstrakte Darstellung der Barriere (Draufsicht).

Die jeweilige Barriere schließt mit dem Boden und der Decke des Mikrokanals ab. Die quaderförmigen Elemente (siehe Abbildung 10a) verfügen eigentlich über messerscharfe Kanten, die als Nebenwirkung des anisotropen Ätzprozesses zur Erzeugung der Barriere geformt wurden (Wurm, 2011). Solche kantenartigen Strukturen, die entlang der y-Achse sichtbar wären, wirken vorteilhaft für den Zellaufschluss (Di Carlo et al., 2003). Die feine Struktur der messer-

scharfen Kanten über die jeweilige Elementoberfläche wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht berücksichtigt, da sich die Darstellungsqualität der Modelle für die Simulationen als zu hoch erwies. Die Abmessungen der Elementtypen sind in Tabelle 4 dargestellt.

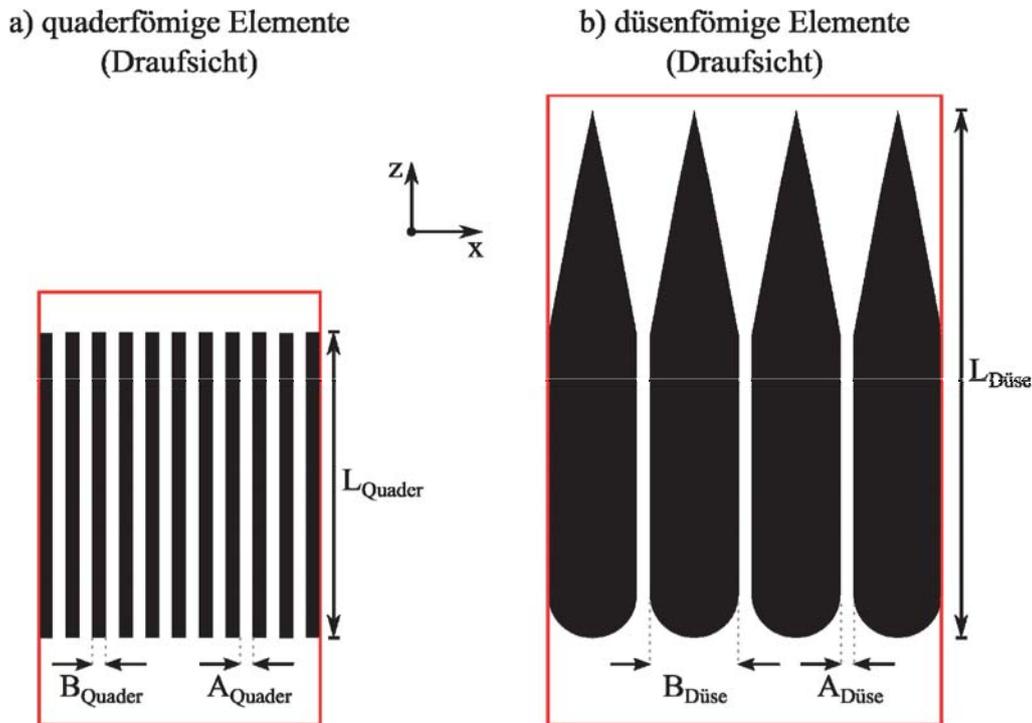


Abbildung 10: Elementtypen der Barriere (Ausschnitt aus Abbildung 9).

Tabelle 4: Abmessungen zu Abbildung 9.

quaderförmige Elemente	düsenförmige Elemente
$A_{\text{Quader}} = 3 \text{ } \mu\text{m}$	$A_{\text{Düse}} = 3 \text{ } \mu\text{m}$
$B_{\text{Quader}} = 3 \text{ } \mu\text{m}$	$B_{\text{Düse}} = 20 \text{ } \mu\text{m}$
$L_{\text{Quader}} = 70 \text{ } \mu\text{m}$	$L_{\text{Düse}} = 120 \text{ } \mu\text{m}$

Während der experimentellen Versuchsreihen von Wurm (Wurm, 2011) traf die Zellsuspension auf die jeweilige Barriere. Dort deformierten diese CHO-Zellen in die Spalten mit den Breiten A_{Quader} oder $A_{\text{Düse}}$ hinein. Die Plasmamembran wurde durch die Scher- und Druckkräfte der umströmenden Flüssigkeit und der Kanalwand mit den messerartigen Kanten besonders beansprucht. War eine kritische, lokale intramembrane Zugspannung erreicht, so riss die Membran, wobei dieser Membranriss den Zellaufschluss kennzeichnet.



Im Rahmen dieser Arbeit wurde der zu modellierende, räumliche Bereich für die Situation des Zellaufschlusses in zwei räumliche Bereiche unterteilt. Hiervon entspricht ein Bereich dem Innenraum des Mikrokanals mit rechteckförmiger Querschnittsfläche und konstanten Abmessungen der Kanaltiefe und der Kanalbreite (siehe Kapitel 7.1.1). Der zweite Bereich entspricht einem lateralen Ausschnitt des Anströmbereiches der jeweiligen Barriere, mit deren Frontseite (siehe Kapitel 7.1.2 und 7.1.3). Der letztgenannte Ausschnitt wurde in der Mitte der Kanalbreite (vgl. Abbildung 9) gewählt, da dort die Zellsuspension durch die Mantelflüssigkeit fokussiert wurde. Bei der Mantelflüssigkeit (Wasser) und dem Kulturmedium „TC42+Glutamin“ handelte es sich um wässrige Medien, wodurch deren Vermischung im Mikrokanal wahrscheinlich ist.

Für die Modellierung des Mediums, welches im Rahmen des Kapitels 7 dieser Arbeit die modellierten CHO-Zellen umgibt, wurden im Wesentlichen die bekannten Daten eines Standard-Kulturmediums für tierische Zellen, mit den örtlich konstanten Größen $\eta_f = 0,8 \text{ mPa}\cdot\text{s}$ und $\rho_f = 1000 \text{ kg/m}^3$ – bei unbekannter Temperatur – (van der Pol & Tramper, 1998) verwendet, um mit einheitlichen mechanischen Eigenschaften des Mediums bessere Vergleichsmöglichkeiten zu erzielen. Damit wurden die in Kapitel 1 erwähnten Zwischenschritte „Mischen“ und „Quenchen“ für die Modellierungen in diesem Kapitel vorerst nicht berücksichtigt.

Der Einfluss des Kulturmediums „TC42+Glutamin“ auf die temperaturabhängige Beanspruchung der CHO-Zellen zum Thema „Quenchen“ wurde im Rahmen einer Vergleichsstudie (siehe Kapitel 8.1.4) mit demineralisiertem Wasser untersucht. Im Folgenden werden nur mittelgroße ($d_{\text{CHO}} = 12 \text{ }\mu\text{m}$) und kleine CHO-Zellen ($d_{\text{CHO}} = 7 \text{ }\mu\text{m}$) berücksichtigt, da deren Neigung zur Verstopfung der Barrieren, bezüglich der Spaltbreiten, gegenüber großen CHO-Zellen als gering angenommen wird.

Die Ergebnisse der stationären Strömungssimulationen werden in Kapitel 8.1 vorgestellt.

7.1.1 Mikrokanal vor der Barriere

In diesem Kapitel wird die Modellierung des Innenraums des Mikrokanals mit den Dimensionen der Querschnittsfläche ($h_{\text{Kanal}} = 50 \text{ }\mu\text{m}$ und $b_{\text{Kanal}} = 1750 \text{ }\mu\text{m}$, wodurch $d_h \approx 97 \text{ }\mu\text{m}$) geschildert, mit dessen Hilfe ein vollaufgebildete Geschwindigkeitsprofil numerisch ermittelt werden soll. Das Ziel ist die Prüfung der Anwendbarkeit von Gl. (13) (siehe Kapitel 8.1.1) für die Simulationsreihen, die auf Basis der Modellierungen aus den Kapiteln 7.1.2 und 7.1.3

folgen sollen. Die Modellierung des Mikrokanals und die Vernetzung des Modells sind in Abbildung 11a schematisch dargestellt.

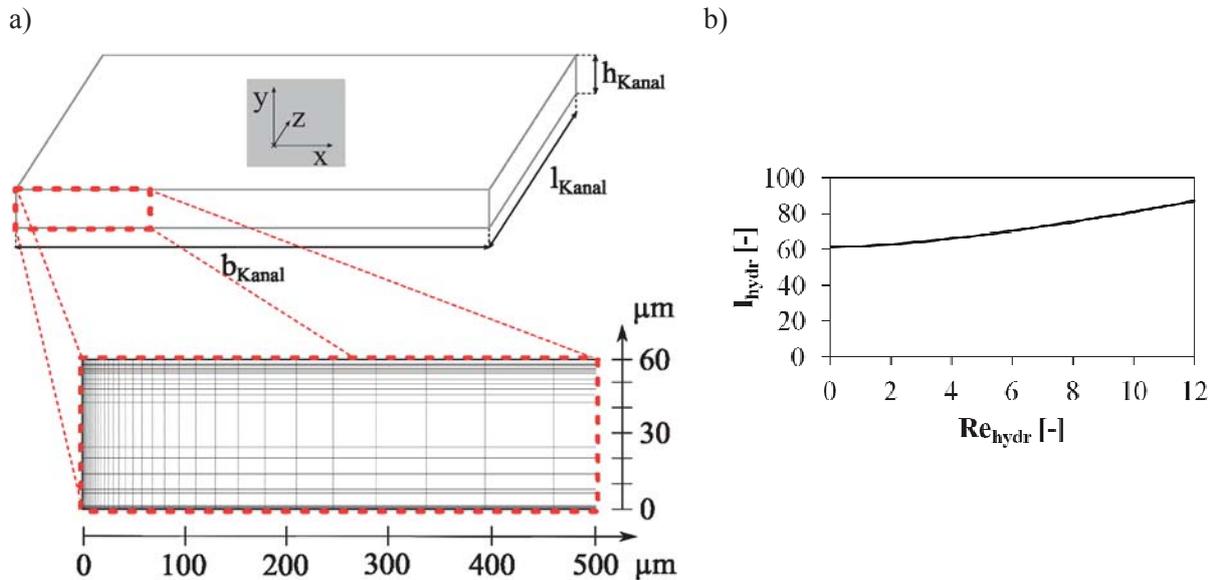


Abbildung 11: Äußere Form des Transportkanals (a) und minimale Einlaufstrecke (b).

Die Länge des Kanals wurde zu $l_{\text{Kanal}} = 1500 \mu\text{m}$ gewählt und das Volumen des Modellraums $V_{\text{Modell}} = b_{\text{Kanal}} \cdot h_{\text{Kanal}} \cdot l_{\text{Kanal}}$ anschließend für die Strömungssimulationen mit 10^6 hexaedrischen Gitterzellen der Größen $0,02 \mu\text{m}^3$ bis $4016,68 \mu\text{m}^3$ nachgebildet. Für eine möglichst optimale Auflösung des Geschwindigkeitsprofils wurden die Größen der Gitterzellen mit Rücksicht auf die zu erwarteten Geschwindigkeitsgradienten gewählt (siehe Vergrößerung in Abbildung 11a). Je größer das Schergefälle, desto kleiner daher die Gitterzellen. Die größten Gitterzellen sind somit bei der axialen Symmetrieachse des Transportkanals zu finden.

Mit Abbildung 11b und Tabelle 5 wird deutlich, dass l_{Kanal} überdimensioniert wurde, um das Kriterium der minimalen Einlaufstrecke einzuhalten. In der Tabelle 5 sind mechanische Eigenschaften des modellierten Mediums sowie die mittlere Strömungsgeschwindigkeit (v_f) und Re_{hydr} in Bezug auf den Mikrokanal dargestellt. Die dargestellten und modellierten Volumenströme decken den Bereich der von Wurm (Wurm, 2011) experimentell verwendeten Volumenströme fast vollständig ab.

Tabelle 5: Parameter des modellierten Mediums.

	v_f	ρ_f	η_f	Re_{hydr}
	[m/s]	[kg/m ³]	[mPa·s]	[-]
$\dot{V} = 50 \mu\text{l}/\text{min}$	0,01	1000	0,8	1
$\dot{V} = 100 \mu\text{l}/\text{min}$	0,02	1000	0,8	2
$\dot{V} = 500 \mu\text{l}/\text{min}$	0,1	1000	0,8	12

7.1.2 Quaderbarriere mit auftreffender CHO-Zelle

Zur Orientierung sei der Leser auf die Abbildung 9 und die Abbildung 10 verwiesen. In Abbildung 12 sind zwei Fälle gezeigt, wie eine kugelförmige CHO-Zelle auf die quaderförmigen Elemente der Barriere idealerweise treffen könnte. Die beinahe Kugelform der CHO-K1 Zellen konnte auf REM-Aufnahmen des Institutes für Bioprozess- und Biosystemtechnik der TUHH (u.a. Abbildung 6) bestätigt werden. Im Fall I wird eine als kugelförmig und formstarr modellierte Zelle gezeigt, die zentral auf ein quaderförmiges Element trifft.

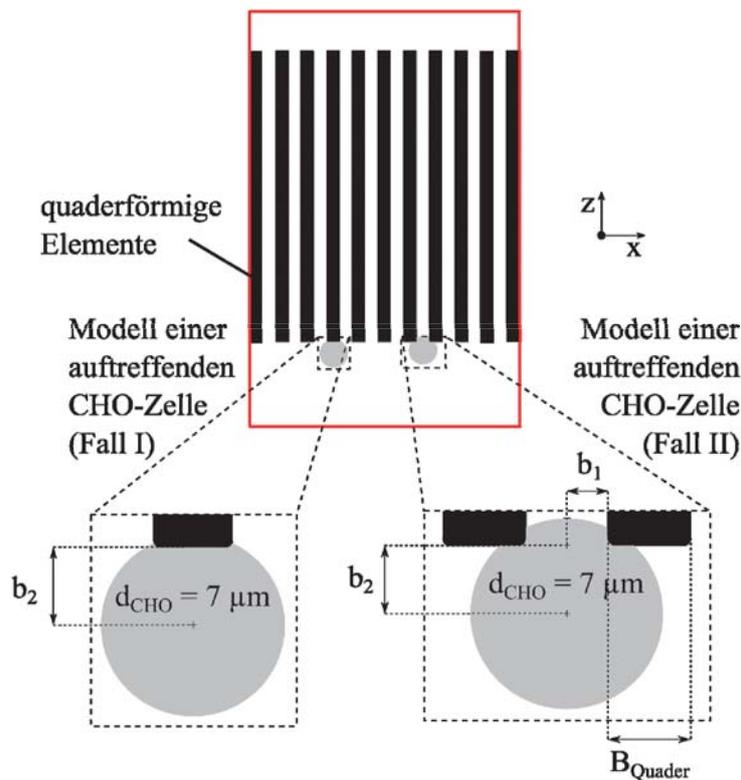


Abbildung 12: Treffen von CHO-Zellen auf die Quaderbarriere (modellerte Fälle).

Im Fall II wird das gleiche Zellmodell beim zentralen Treffen auf den Spalt zwischen zwei quaderförmigen Elementen gezeigt. Die dargestellten Abmessungen sind $b_1 = A_{\text{Quader}}/2$, $b_2 = 3$



7 Modellierung von Umströmungen an suspendierten CHO-Zellen

μm (Fall I) und $b_2 = 2,5 \mu\text{m}$ (Fall II). B_{Quader} wurde in Tabelle 4 dargelegt. In beiden Fällen seien die Mittelpunkte der modellierten CHO-Zellen bei $x = x_{\text{CHO, I}}$ und $x_{\text{CHO, II}} = x_{\text{CHO, I}} \pm 3 \mu\text{m}$ gelegen. Daneben existieren natürlich weitere Szenarien, wie $x_{\text{CHO, III}} = x_{\text{CHO, I}} \pm \delta$ mit $0 \mu\text{m} < \delta < 3 \mu\text{m}$, die im Folgenden jedoch nicht untersucht werden. Auf die Positionierung dieser modellierten Zellen entlang der y-Achse (in Richtung der Kanalhöhe) wird in Kapitel 8.1.2 eingegangen.

Um die Größenverhältnisse zwischen dem Durchmesser der modellierten CHO-Zelle und der Barrieren für die räumliche Vernetzung geometrisch hinreichend auflösen zu können, wurde nur ein kleiner Ausschnitt der Kanalbreite gewählt und modelliert. Aus dem gleichen Grund wurden die messerscharfen Kanten vernachlässigt, wodurch der Einfluss auf die Strömungsmechanik durch scharfkantige Geometrielemente vollständig vernachlässigt ist. Die Seitenkanten der Quader wurden überdies unwesentlich gerundet und abgeflacht.

Die Überlappungen (das Schnittvolumen) der modellierten CHO-Zelle und der quaderförmigen Elemente dienen der besseren Vernetzbarkeit des Modells und können als lokale Zelldeformationen betrachtet werden, welche jedoch nicht verifiziert sind. Es wurden CHO-Zellen mit einer Größe von $d_{\text{CHO}} = 7 \mu\text{m}$ modelliert. Diese Größe fällt in den Schnittbereich der Zellgrößenverteilungen von CHO-Zellen (vgl. Kapitel 5.6.1) und der in der Lebens- und Genussmittelindustrie sowohl für Abwasserreinigung (Biosorption) genutzten *Saccharomyces cerevisiae*-Zellen (Weinzierl, 2008).

In Tabelle 6 sind die modellierten Modellräume und in Tabelle 7 ihre gleichbleibenden Abmessungen darstellt. In den Modellräumen wurden die modellierten CHO-Zellen in die Mitte der Kanalhöhe positioniert. Die Randbedingungen für die Grenzflächen des Modelraumes sind mit Buchstaben bezeichnet. Darunter existieren Druckbedingungen (D) mit $p_D = 101325 \text{ Pa}$, Volumenstromquellen (\dot{V}) mit $v_z|_V = f(y)$ (Gl. (13)), Symmetriebedingungen (S) mit $|v_x|_S = 0 \text{ m/s}$, $|\partial v / \partial x|_S = 0 \text{ 1/s}$ und $\tau_s = 0 \text{ Pa}$ sowie Wände (W) mit $|v_\perp|_W = 0 \text{ m/s}$ und $\tau_W \neq 0 \text{ Pa}$. Die Wände wurden als glatte Oberflächen modelliert, da die geringe Oberflächen-Rauigkeit nicht aufgelöst werden konnte. Die grauen Flächen dienen der besseren Veranschaulichung der Eingangsgrenzflächen für die Volumenstromquelle.

Der Kanalboden und die Kanaldecke seien bei $y = 0 \mu\text{m}$ und $y = 50 \mu\text{m}$ positioniert. Neben der dargestellten Zellpositionen mit der vertikalen Komponente $y_{\text{CHO,1}} = h_{\text{Modell}}/2$ (Tabelle 6) wurden auch die Komponenten $y_{\text{CHO,2}} = h_{\text{Modell}}/4$ und $y_{\text{CHO,3}} = 9h_{\text{Modell}}/50$ für den Fall II modelliert. Hiermit sollte überprüft werden, ob y_{CHO} auf die wirkenden Strömungskräfte an der

7 Modellierung von Umströmungen an suspendierten CHO-Zellen

modellierten Zelloberfläche einen relevanten Einfluss ausübt. Die in Tabelle 7 gelisteten Abmessungen gelten auch für $y_{CHO,2}$ und $y_{CHO,3}$.

Tabelle 6: Geometrische Modellierungen und Randbedingungen zur Quaderbarriere.

	Perspektivansicht/-durchsicht	Draufsicht	Seitenansicht
Orientierung:			
Fall I:			
Fall II:			

Tabelle 7: Abmessungen zum modellierten Ausschnitt der Quaderbarriere.

		Fall I	Fall II
b_{Modell}	[μm]	10	-
d_{CHO}	[μm]	7	7
h_{Modell}	[μm]	50	50
l_{Modell}	[μm]	22	22
$l_{\text{Q, Modell}}$	[μm]	10	10
w_{Modell}	[μm]	12	12

7.1.3 Düsenbarriere mit auftreffender CHO-Zelle

Der Leser sei zur Orientierung auf die Abbildung 9 und die Abbildung 10 verwiesen. Für die Düsenbarrieren wurde analog zum vorherigen Kapitel 7.1.2 nur der Fall II untersucht. Es wurden das gleiche Zellmodell und die gleichen Positionierungen dieses Modells entlang der y-Achse gewählt. Die Abmessungen in Abbildung 13 betragen $R_2 = 10 \mu\text{m}$, $d = 0,5 \mu\text{m}$, ΔR ($d_{\text{CHO}} = 7 \mu\text{m}$) = $0,53 \mu\text{m}$ und ΔR ($d_{\text{CHO}} = 12 \mu\text{m}$) = $0,76 \mu\text{m}$ mit $R_1 + \Delta R = d_{\text{CHO}}/2 \mu\text{m}$. Die unterschiedlichen ΔR -Werte ergaben sich aus der Positionierungsmethode entlang der z-Achse, die einer simplen Schätzung zu Grunde lag.

Die Überlappungen (bei ΔR) sind aus gleichen Gründen, wie in Kapitel 7.1.2 beschrieben, existent. In Tabelle 8 ist die Modellierung für $d_{\text{CHO}} = 7 \mu\text{m}$ und $y_{\text{CHO},1}$ gezeigt. Die dortigen neuen Abmessungen sind $h_{\text{Modell}} = 50 \mu\text{m}$, $l_{\text{Modell}} = 70 \mu\text{m}$, $l_{\text{D,Modell}} = 40 \mu\text{m}$ und $w_{\text{Modell}} = 46 \mu\text{m}$. Die letztgenannten Abmessungen sind auch für die ebenfalls modellierten Zellpositionen $y_{\text{CHO},2}$ und $y_{\text{CHO},3}$ (analog zu Kapitel 7.1.2) und für alle hier nicht gezeigten Modellierungen zu $d_{\text{CHO}} = 12 \mu\text{m}$ gültig. Die in der Draufsicht dargestellten Randbedingungen (Abkürzungen: D, \dot{V} , S, W) und das implementierte Geschwindigkeitsprofil entsprechen den Beschreibungen aus Kapitel 7.1.2.

7 Modellierung von Umströmungen an suspendierten CHO-Zellen

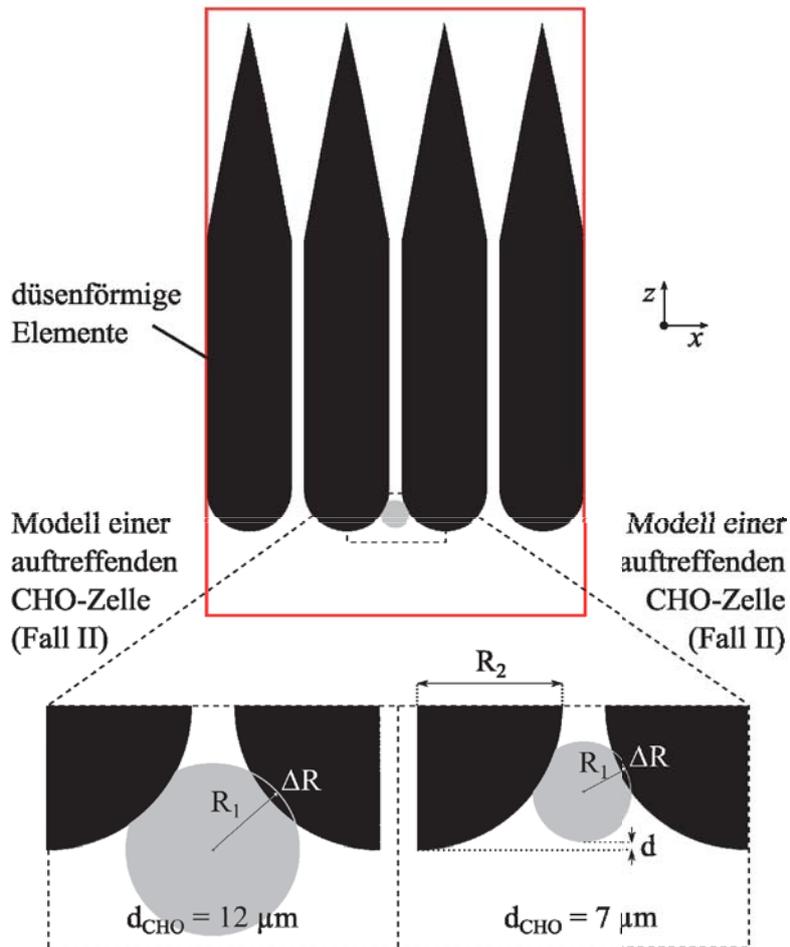


Abbildung 13: Treffen von CHO-Zellen auf die Düsenbarriere (modellierte Zellgrößen).

Tabelle 8: Geometrische Modellierung und Randbedingung zur Düsenbarriere.

	Perspektivansicht	Draufsicht	Seitenansicht
Orientierung:			
Fall II:			

7.1.4 Vernetzungsparameter

Die Vernetzungsparameter zu den Fällen I und II in Bezug auf die Quaderbarriere (siehe Tabelle 6) sind in der Tabelle 9 und Tabelle 10 präsentiert. Darin stehen $V_{\text{Gitter, max}}$ und $V_{\text{Gitter, min}}$ für das größte und kleinste Volumen einer tetraedrischen Zelle und $A_{\text{Gitter, max}}$ und $A_{\text{Gitter, min}}$ für die größte und kleinste Seitenfläche solcher Zellen. N_{CHO} und N_{Volumen} geben die Gesamtanzahlen an Oberflächenelementen der CHO Zelle und an tetraedrischen Volumenelementen an.

Tabelle 9: Modell-Vernetzungsparameter für die Fälle I und II sowie $y_{\text{CHO},1}$ an der Quaderbarriere.

		Fall I	Fall II
$V_{\text{Gitter, max}}$	$[\mu\text{m}^3]$	0,13	0,15
$V_{\text{Gitter, min}}$	$[\mu\text{m}^3]$	5e-5	7e-5
$A_{\text{Gitter, max}}$	$[\mu\text{m}^2]$	0,62	0,72
$A_{\text{Gitter, min}}$	$[\mu\text{m}^2]$	0,002	0,002
N_{CHO}	[-]	1726	4090
N_{Volumen}	[-]	636225	688817

In Tabelle 10 sind die Modell-Vernetzungsparameter des Modellraumes im Fall II für die vertikalen Positionskomponenten der modellierten CHO-Zelle ($y_{\text{CHO},1}$, $y_{\text{CHO},2}$ und $y_{\text{CHO},3}$) dargestellt. Da $V_{\text{Gitter, min}}$ und $A_{\text{Gitter, min}}$ groß genug sind, kann die Kontinuums-Theorie und damit Gl.(13) für die numerischen Berechnungen der Strömungsmechanik angewendet werden (vgl. dazu Kapitel 3.1).

Tabelle 10: Modell-Vernetzungsparameter für den Fall II sowie $y_{\text{CHO},1}$ an der Quaderbarriere.

		Fall II		
		$y_{\text{CHO}} = h_{\text{Modell}}/2$	$y_{\text{CHO}} = h_{\text{Modell}}/4$	$y_{\text{CHO}} = 9h_{\text{Modell}}/50$
$V_{\text{Gitter, max}}$	$[\mu\text{m}^3]$	0,15	0,16	0,16
$V_{\text{Gitter, min}}$	$[\mu\text{m}^3]$	7e-5	7e-5	7e-5
$A_{\text{Gitter, max}}$	$[\mu\text{m}^2]$	0,72	0,66	0,62
$A_{\text{Gitter, min}}$	$[\mu\text{m}^2]$	0,002	0,002	0,002
N_{CHO}	[-]	4090	4090	4090
N_{Volumen}	[-]	688817	703168	714000

7 Modellierung von Umströmungen an suspendierten CHO-Zellen

Die Vernetzungsparameter für die Modellräume, betreffend die Düsenbarrieren, sind in der Tabelle 10 und Tabelle 11 dargestellt. Darin sind $V_{\text{Gitter, min}}$ und $A_{\text{Gitter, min}}$ erneut groß genug, um die Kontinuums-Theorie im Sinne der Gl. (13) anzuwenden. Aufgrund der im Vergleich zu den Modellen der Quaderbarriere größeren Modellräume und der beschränkten Rechnerleistung wurde die CHO-Zelle diesmal geometrisch niedriger aufgelöst. Dadurch wurde die Umströmung der CHO-Zelle ebenfalls niedriger aufgelöst. Bei einem Ergebnisvergleich zwischen Quader- und Düsenbarriere muss dieser Umstand berücksichtigt werden.

Tabelle 11: Vernetzungsparameter der Modelle für den Fall II bei den Düsenbarrieren.

		$d_{\text{CHO}} = 7 \mu\text{m}$			$d_{\text{CHO}} = 12 \mu\text{m}$		
		$y_{\text{CHO},1}$	$y_{\text{CHO},2}$	$y_{\text{CHO},3}$	$y_{\text{CHO},1}$	$y_{\text{CHO},2}$	$y_{\text{CHO},3}$
$V_{\text{Gitter, max}}$	$[\mu\text{m}^3]$	0,25	0,24	0,25	0,24	0,24	0,24
$V_{\text{Gitter, min}}$	$[\mu\text{m}^3]$	3e-4	3e-4	3e-4	3e-4	3e-4	3e-4
$A_{\text{Gitter, max}}$	$[\mu\text{m}^2]$	0,87	0,91	0,92	0,9	0,88	0,99
$A_{\text{Gitter, min}}$	$[\mu\text{m}^2]$	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007
N_{CHO}	$[-]$	592	592	592	1936	1936	1936
N_{Volumen}	$[-]$	1321875	1318515	1321165	1315239	1313433	1315762

In Abbildung 14 wird eine einfache und zweifache Aussparung der Oberflächenvernetzung, bestehend aus planaren Dreiecken, in Bezug zur Quaderbarriere und $y_{\text{CHO},1}$ gezeigt. Diese Aussparungen resultieren aus den Überlappungen zwischen der CHO-Zelle und den Elementen der Quaderbarriere. Die Aussparung in Fall I ist um circa $4 \mu\text{m}^2$ größer als jene in Fall II.

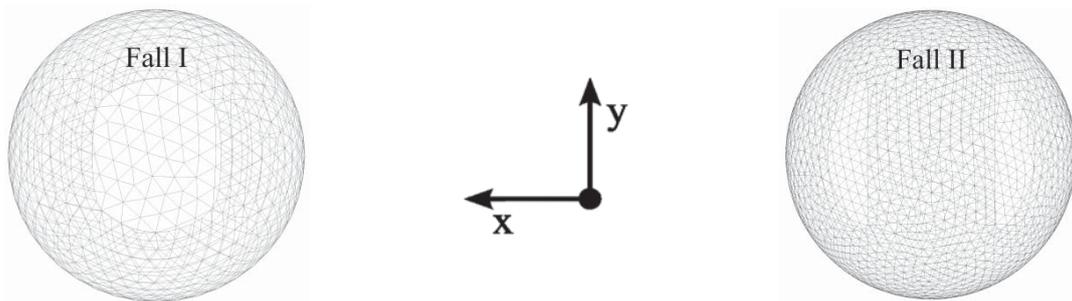


Abbildung 14: Geometrische Auflösung und Aussparung der Oberflächenvernetzung von modellierten CHO-Zellen.

Mit den Aussparungen ergibt sich ein weiterer Indikator für die Vernetzungsqualität, nämlich der tatsächlich modellierte Flächeninhalt der CHO-Zelloberfläche (Tabelle 12). Die unterschiedlichen Werte von $A_{\text{Gitter, CHO}}$ welche durch ANSYS Fluent bestimmt wurden, resultieren

aus den unterschiedlich großen Überlappungsbereichen und geometrischen Auflösungen der jeweiligen CHO-Zelle.

Tabelle 12: Vergleich der Flächeninhalte der modellierten Zelloberflächen.

A [μm^2]	Quader $d_{\text{CHO}} = 7 \mu\text{m}$				Düsen					
	Fall I	Fall II			$d_{\text{CHO}} = 7 \mu\text{m}$			$d_{\text{CHO}} = 12 \mu\text{m}$		
$A_{\text{Gitter, CHO}}$	$Y_{\text{CHO},1}$	$Y_{\text{CHO},1}$	$Y_{\text{CHO},2}$	$Y_{\text{CHO},3}$	$Y_{\text{CHO},1}$	$Y_{\text{CHO},2}$	$Y_{\text{CHO},3}$	$Y_{\text{CHO},1}$	$Y_{\text{CHO},2}$	$Y_{\text{CHO},3}$
	143,6	147,7	147,5	147,5	124,3	124	123,9	406,2	406	405,8

In Abbildung 15 sind die Flächensummenverteilungen der Oberflächenvernetzung (Berechnung: siehe Anhang) aus den Kapiteln 7.1.2 und 7.1.3 gezeigt. Bei zwei gezeigten Kurven liegen drei Flächensummenverteilungen übereinander (siehe Legende in Abbildung 15), da die für die Modellierung bereits vernetzte CHO-Zelle einfach entlang der y-Achse verschoben wurde. Jede Anzahlverteilung besteht aus jeweils N_{CHO} Punkten und wurde, aufgrund der hohen Anzahl der Stützstellen N_{CHO} (vgl. Tabelle 11), zu einer durchgehenden Kurve interpoliert. Das größte Flächenelement der Zelloberfläche bezüglich der Quaderbarrieren im Fall I von $0,15 \mu\text{m}^2$ repräsentiert 0,1 % der modellierten Zelloberfläche. Bei den Düsenbarrieren hat das größte Flächenelement mit $0,31 \mu\text{m}^2$ einen Anteil von 0,25 %.

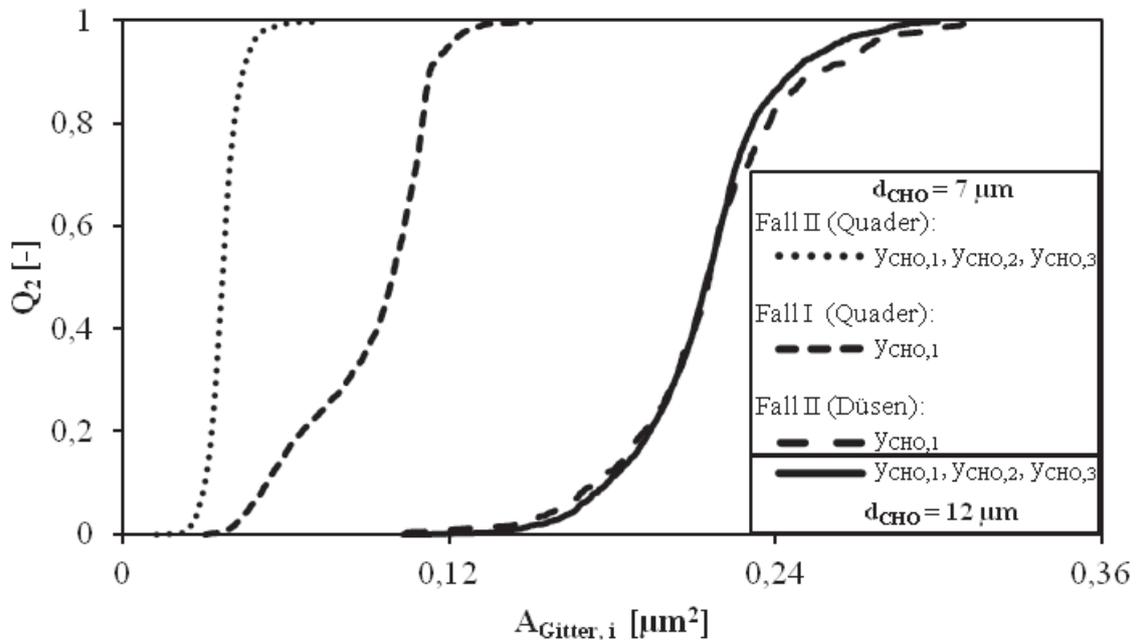


Abbildung 15: Flächensummenverteilung Q_2 der Vernetzungsflächen $A_{\text{Gitter}, i}$.

7.1.5 Bestimmung der Strömungskräfte

Um die Beanspruchungen einer CHO-Zelle in den dargestellten Situationen (Kapitel 7.1.2 und 7.1.3) zu charakterisieren, wurden die Strömungskräfte auf die modellierten CHO-Zellen in Richtung der Hauptströmung (F_z) und der Kanaldecke (F_y) numerisch bestimmt. F_z ist dabei die Strömungswiderstandskraft und F_y die dynamische Auftriebskraft. Beide Kräfte werden zur Veranschaulichung in Abbildung 16 dargestellt, welche sich an den Seitenansichten aus Tabelle 6 orientiert.

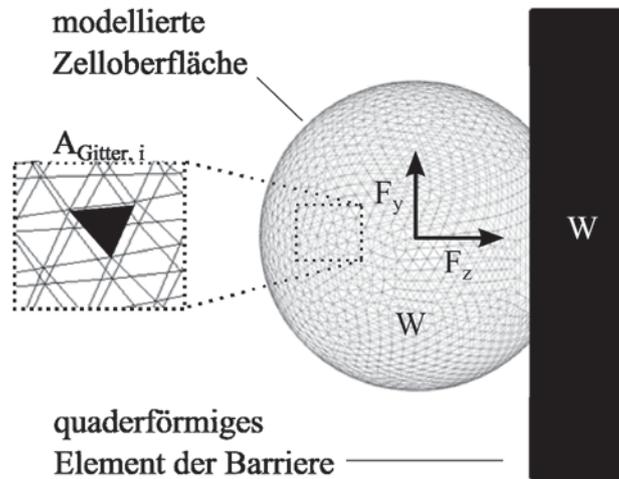


Abbildung 16: Betrachtung der modellierten und vernetzten Zelloberfläche.

In der Berechnungsvorschrift nach Gl. (33) ist die Gesamtkraft \mathbf{F} die Summe der Kräfte auf alle planaren Dreiecksflächen $\mathbf{F}_{\text{Gitter}, i}$:

$$\mathbf{F} = \begin{pmatrix} F_x \\ F_y \\ F_z \end{pmatrix} = \sum_{i=1}^{N_{\text{CHO}}} \mathbf{F}_{\text{Gitter}, i} = \sum_{i=1}^{N_{\text{CHO}}} (\mathbf{e}_n \cdot \mathbf{F}_D + \mathbf{e}_n \cdot \mathbf{F}_S). \quad (33)$$

Die Kräftevektoren \mathbf{F}_D und \mathbf{F}_S stehen für die jeweiligen Druck- und Reibungskräfte, welche durch die simulierte Umströmung der CHO-Zelle auf die entsprechenden Vernetzungsflächen wirken. Beide Vektoren werden über das Skalarprodukt mit \mathbf{e}_n multipliziert, das den jeweiligen Einheitsnormalenvektor in y- und z-Richtung angibt.

Die Größe des Überlappungsbereichs (vgl. Abbildung 14) beeinflusst die F_z - und F_y -Kräfte. Auf strömungsabgewandter Seite der modellierten Zelloberfläche verursacht die ausgesparte Vernetzung eine fehlende Gegenkraft, die in der Realität durch die Wände der Barriere entgegengebracht wird. Die Auswirkungen werden in Kapitel 9.2 anhand von Vergleichsberechnungen diskutiert.



7.2 Ablösen einer haftenden CHO-Zelle von einer Kanalwand

Sobald eine CHO-Zelle mit Elementen einer räumlichen Barriere (siehe Kapitel 7.1.2 und 7.1.3) oder Kanalwänden in Berührung kommt wirken Haftkräfte. Um die dadurch haftende CHO-Zelle wieder abzulösen, müssen entsprechende Gegenkräfte aufgebracht werden. Dieses Kapitel widmet sich deshalb der Modellierungen von experimentell untersuchten Ablösesituationen, die in Kapitel 2 vorgestellt wurden. Die Ergebnisse der stationären Strömungssimulationen werden in Kapitel 8.2 gezeigt. Die Strömungskräfte auf die modellierten Zelloberflächen wurden nach der gleichen Methode bestimmt, wie in Kapitel 7.1.5 dargelegt wurde.

7.2.1 Ausschnitt des Mikrokanals

In Abbildung 17 ist der quaderförmige Modellraum für die Strömungssimulationen als Teil des Mikrokanals perspektivisch dargestellt.

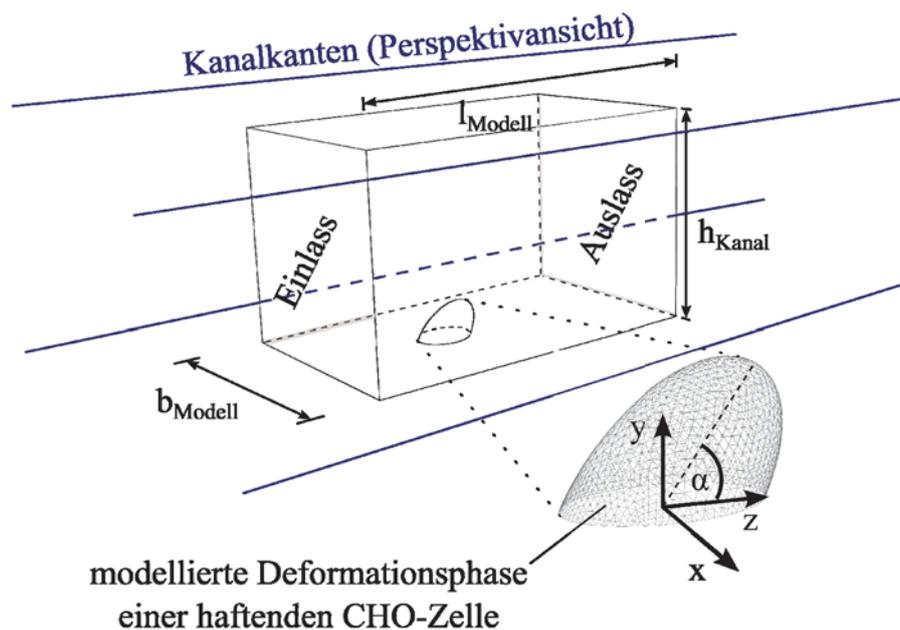


Abbildung 17: Perspektivansicht eines Kanalausschnitts mit Betrachtungsraum für die Strömungssimulationen. (Schnegas et al., 2013).

Die Höhe des Modellraums entspricht dabei der Höhe des Mikrokanals. Daneben ist $b_{\text{Kanal}} > b_{\text{Modell}}$. Auf dem Boden des Mikrokanals, respektive Modellraums, wurden modellierte Zellformen als Deformationsphasen einer haftenden CHO-Zelle mittig positioniert. Weitere Informationen zu den Deformationsphasen werden in Kapitel 7.2.2 gegeben. Von der Fläche mit der Bezeichnung „Einlass“ strömt das Medium mit einem definierten Geschwindigkeits-



7 Modellierung von Umströmungen an suspendierten CHO-Zellen

profil in den Modellraum. Das Geschwindigkeitsprofil nach Gl. (9) wird hier angewendet, da das Kriterium $b_{\text{Kanal}} \gg h_{\text{Kanal}}$ für Gl.(13) von diesem Mikrokanal nicht eingehalten wird.

Die entsprechenden Abmessungen sowie wichtige Simulationsparameter (Zhang et al., 2008) sind in Tabelle 13 gelistet. Darin ist auch die Beanspruchungszeit der haftenden CHO-Zellen durch konstante Strömungsbedingungen (Δt_B) aufgeführt.

Tabelle 13: Parameter für die Strömungssimulationen zur CHO-Wandablösung.

Abmessungen			Parameter			Annahmen		
b_{Kanal}	320	μm	\dot{V}	55,1	$\mu\text{l}/\text{min}$	ρ_f	1000	kg/m^3
h_{Kanal}	60	μm	η_f	1,045	$\text{mPa}\cdot\text{s}$	d_{CHO}	5, 12, 20	μm
b_{Modell}	100	μm	Δt_B	≈ 2	min	p_{hydr}^*	0	Pa
h_{Modell}	60	μm	Zellablösung	> 90	%	p_{Bezug}^*	101325	Pa
l_{Modell}	100	μm						

Für die Simulationen mussten Annahmen getroffen werden, die in Tabelle 13 (rechte Spalte) dargestellt sind. Der hydrostatische Druck p_{hydr}^* bezieht sich auf die Flüssigkeit bei $y = h_{\text{Kanal}}$. Letzteres impliziert keine weitere Flüssigkeitssäule oberhalb der Kanaldecke. Es ist jedoch davon auszugehen, dass durch den Versuchsaufbau in Zhang et al. (Zhang, Jones, & Haswell, 2008) eine Flüssigkeitssäule existiert. Durch p_{Bezug}^* als Bezugsdruck am Auslass werden die Randbedingungen für die numerischen Strömungssimulationen komplettiert. Dieser Druck p_{Bezug}^* ist eigentlich etwas zu niedrig angesetzt, da im Versuchsaufbau ein längerer Kanalabschnitt und mindestens ein Ventil folgen.

In Gl. (9) wurde die Anzahl der Summanden zur Berechenbarkeit von ∞ auf jeweils 1999 reduziert, womit eine Berechnungsgenauigkeit von $|v_z(x, y, i = 1999) - v_z(x, y, i = 1997)| < 10^{-9} \text{ m/s}$ auf einem über die gesamte Einlassfläche ausgebreiteten, quadratischen und zehntausend Stützpunkte umfassenden, fiktiven Gitter gegeben ist.

7.2.2 Modellierte Deformationsphasen der CHO-Zelle

Da die Verformungen der CHO-Zellen zeitlich vor ihrer Ablösung von der Kanalwand aus Zhang et al. (Zhang, Jones, & Haswell, 2008) schwerlich abzuschätzen sind, wurden quasi-stationäre Deformationsphasen nachgebildet, deren geometrische Modellierungen auf sphäri-

schen und halb-ellipsoid-förmigen Körpern basieren. Es wurde ein Set aus drei Deformationsphasen für jede betrachtete Zellgröße modelliert. Die Zellgröße entspricht dabei dem Durchmesser einer volumenäquivalenten Kugel d_v . Damit wird angenommen, dass die CHO-Zellen während ihrer Deformation kein Wasser über die Plasmamembran abgeben oder aufnehmen.

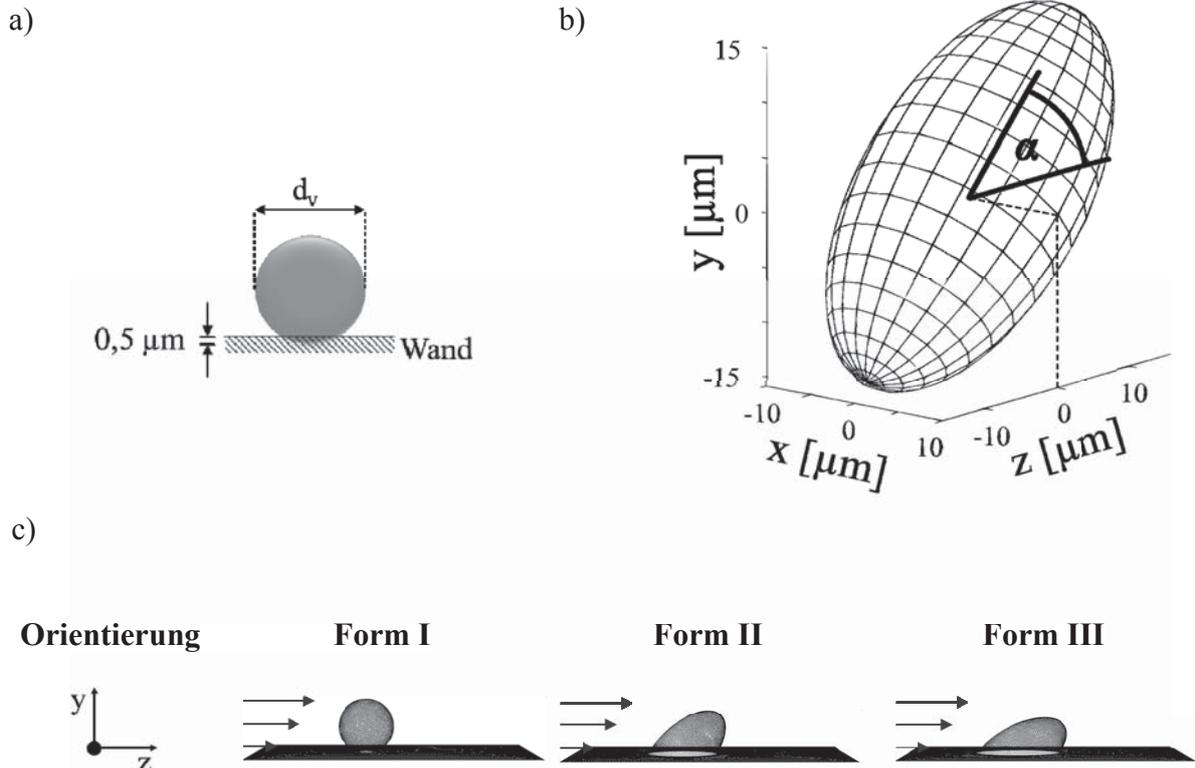


Abbildung 18: Grundkörper (a: Kugel, b: gedrehter Halb-Ellipsoid) der modellierten Zellformen (c) (Schnegas et al., 2013).

Die Grundkörper der Deformationsphasen (Kugel und Ellipsoid) sind in Abbildung 18a und 18b dargestellt. Zu Beginn der Scherbeanspruchung ist die CHO-Zelle noch beinahe kugelförmig, weshalb Form I auf einer Kugelform basiert (siehe Abbildung 18a und 18c). Um die lokale Vernetzbarkeit am Kontaktbereich zur Reduzierung von stark unregelmäßig-geformten Gitterelementen zu verbessern, wurde eine Überlappung mit dem Kanalboden zu willkürlich $0,5 \mu\text{m}$ festgelegt. Hierdurch wird die Schnittfläche als Kontaktfläche geschaffen, deren Größe jedoch nicht validiert ist. Nach Erhöhung der Scherbeanspruchung durch die Strömung wird die CHO-Zelle in Richtung der Hauptströmung deformieren, weshalb die Formen II und III (siehe Abbildung 18b und 18c) auf gedrehten Halb-Ellipsoiden mit den Drehwinkeln $\alpha = 30^\circ$ (Form III) und $\alpha = 45^\circ$ (Form II) basieren. Die Rotationsachse ist immer die Querachse der Ellipsoide, welche jeweils in der Kanalboden-Ebene liegt (vgl. Abbildung 17). Diese Ebene ist gleichzeitig die Schnittebene, welche den unteren Teil der gedrehten Ellipsoide herauschneidet.



7.2.3 Vernetzungsparameter

Es wurde versucht, die geometrische Auflösungsqualität sämtlicher geometrischer Formen zu den Deformationsphasen gleich zu gestalten, damit die Umströmung der modellierten CHO-Zelle ähnlich gut aufgelöst wird. Dies erhöht die Vergleichbarkeit der Simulationsergebnisse. In Abbildung 19 ist die Auflösungsqualität der Zelloberfläche dargestellt. Der Großteil aller Vernetzungsflächen besitzen eine Größe von $0,1 \mu\text{m}^2 < A_{\text{Gitter},i} < 0,4 \mu\text{m}^2$. Daher kann die mittlere geometrische Auflösungsgenauigkeit der Zelloberflächen in jenem Größenbereich gesucht werden. Die Form I ist mit den kleinsten Gitterflächen bei gleichem d_v vernetzt. Von Form I, über II bis III nimmt die Breite der Flächengrößenverteilung zu. Diese scheinbare Abhängigkeit resultiert aus dem Algorithmus zur Vernetzung von Oberflächen des Programms Gambit.

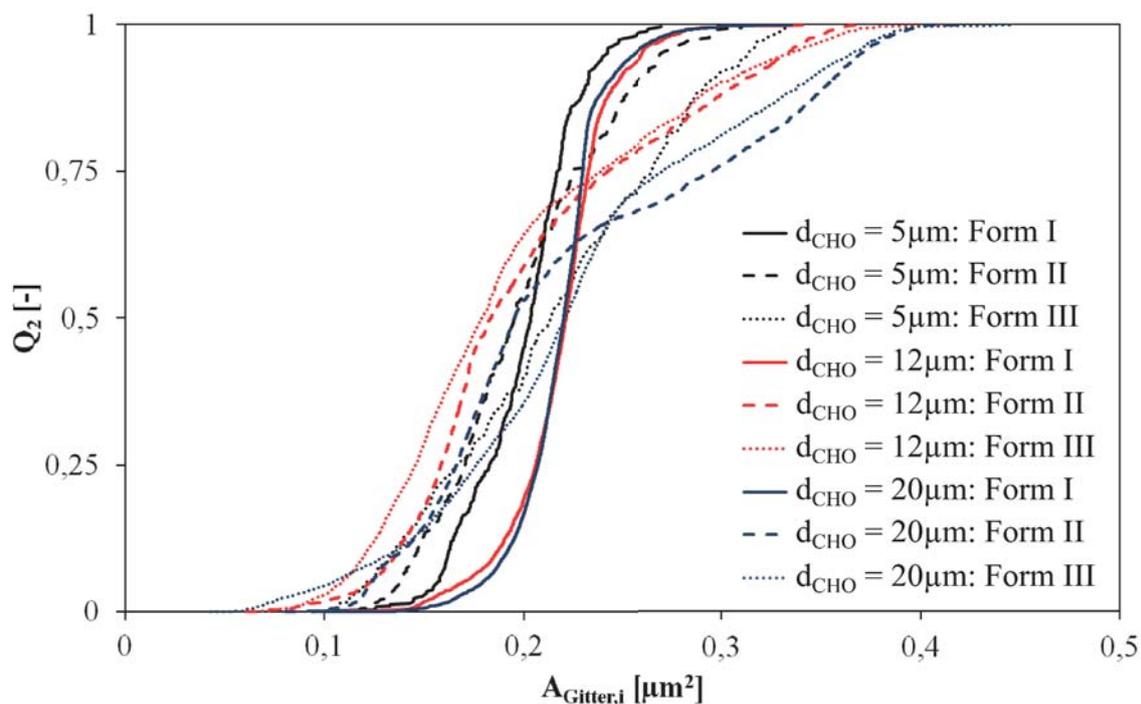


Abbildung 19: Flächengrößenverteilung der Vernetzungsflächen der Zelloberfläche bei verschiedenen Deformationsphasen.

Eine mögliche Rolle dabei könnte die Zunahme der räumlichen Asymmetrie an der Grenzlinie zwischen CHO-Zelle und Kanalboden von der strömungszugewandten zur strömungsabgewandten Seite von Form I über II bis III spielen. Zudem spiegelt sich die geometrische Auflösungsqualität der CHO-Zelloberfläche in den N_{CHO} -Werten (Tabelle 14 oben) wieder. In gleicher Tabelle zeigen V_{Gitter} und A_{Gitter} sowie N_{Modell} , dass die Volumenvernetzungen der Modellräume ähnlich sind in Bezug auf nur diese Werte. Die Anwendbarkeit der Kontinuums-Theorie für die numerischen Strömungssimulationen wird wieder über $V_{\text{Gitter, min}}$ und $A_{\text{Gitter, min}}$



7 Modellierung von Umströmungen an suspendierten CHO-Zellen

belegt. Die unterschiedlichen Werte von N_{CHO} je Zellgröße liefern keinen Zusammenhang zu den Formen I, II und III, wodurch eine Grenze der Vergleichbarkeit aufgezeigt wird. Die N_{Modell} -Werte (Tabelle 14 unten) stellen Grenzwerte für die Rechenleistung des verwendeten Computersystems dar, ab denen es zu Systemabstürzen kam.

Tabelle 14: Vernetzungsparameter des Modellraums in Abhängigkeit der Zellgröße und -form.

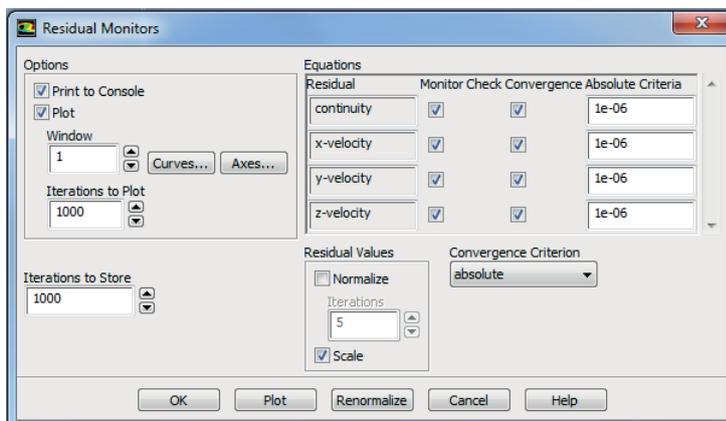
Vernetzung:		$d_{\text{CHO}} = 5 \mu\text{m}$			$d_{\text{CHO}} = 12 \mu\text{m}$			$d_{\text{CHO}} = 20 \mu\text{m}$		
		I	II	III	I	II	III	I	II	III
$V_{\text{Gitter, max}}$	$[\mu\text{m}^3]$	1,11	1,13	1,07	1,07	1,01	1,01	1,06	1,05	0,99
$V_{\text{Gitter, min}}$	$[\mu\text{m}^3]$	6e-4	8e-4	8e-4	6e-4	6e-4	8e-4	6e-4	8e-4	6e-4
$A_{\text{Gitter, max}}$	$[\mu\text{m}^2]$	2,41	2,21	2,23	2,42	2,17	2,28	2,39	2,2	2,25
$A_{\text{Gitter, min}}$	$[\mu\text{m}^2]$	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
N_{CHO}	$[-]$	358	352	342	2014	2088	2224	5678	5365	5449

Vernetzung:		$d_{\text{CHO}} = 5 \mu\text{m}$			$d_{\text{CHO}} = 12 \mu\text{m}$			$d_{\text{CHO}} = 20 \mu\text{m}$		
		I	II	III	I	II	III	I	II	III
N_{Modell}	$[-]$	1,3e+6	1,4e+6	1,4e+6	1,3e+6	1,4e+6	1,4e+6	1,3e+6	1,4e+6	1,4e+6

8 Ergebnisse zu den Umströmungssimulationen

Die in diesem Kapitel präsentierten Simulationsergebnisse basieren auf stationären Strömungssimulationen, welche mit der kommerziellen Software ANSYS Fluent 12.0.16 (Einstellung: 3d, dp, pbns, lam (3d, double precision, pressure-based, laminar)) durchgeführt wurden. Die dafür festgelegten, absoluten Konvergenzkriterien sind in Abbildung 20a dargestellt.

a)



b)

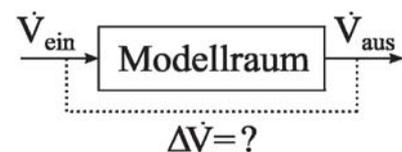


Abbildung 20: Einstellungen in Fluent (a). Bestimmung der Konvergenz jeder Simulation (b).

Als Indikator für die Konvergenz jeder Simulation wurde weiterhin die entsprechende Massenbilanz herangezogen und diese in eine Volumenbilanz umgerechnet. Die Berechnungsweise ist in Abbildung 20b dargestellt und bedeutet exakt $\Delta \dot{V} = \dot{V}_{\text{ein}} - \dot{V}_{\text{aus}}$. In den folgenden Abschnitten wird $\Delta \dot{V}$ als Konvergenzindikator bezeichnet.

8.1 Treffen einer suspendierten CHO-Zelle auf eine Barriere

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der Strömungssimulationen zur Situation „Zellaufschluss“ (vgl. Kapitel 2) gezeigt. Die Modellierungen und Diskussionen hierzu sind in den Kapiteln 7.1 und 9.2 zu finden.

8.1.1 Geschwindigkeitsprofil im Transportkanal und vor den Barrieren

In Abbildung 21 sind Vergleiche zwischen den numerisch bestimmten örtlichen Geschwindigkeiten entlang dreier Höhengrade v_z ($0 \mu\text{m} < y < h_{\text{Kanal}}$, $x = \text{konst.}$) mit dem analytisch bestimmten Geschwindigkeitsprofil nach Gl. (13) für $\dot{V}_f = 50 \mu\text{l/min}$ und $\dot{V}_f = 500 \mu\text{l/min}$ dar-



gestellt. Die numerisch bestimmten Geschwindigkeiten beziehen sich auf die Flächenmittelpunkt-Koordinaten der Gitterzellen, die die Ausgangsfläche (Abbildung 10a, Rückseite) vernetzen. Auf die gleichen Koordinaten wurde Gl. (13) angewandt. Die in Abbildung 21 dargestellte Koordinate x bezeichnet Linien entlang der Kanalhöhe, wobei $b_{\text{Kanal}} = x_2 - x_1$ mit $x_1 = 0 \mu\text{m}$ und $x_2 = 1750 \mu\text{m}$ gilt.

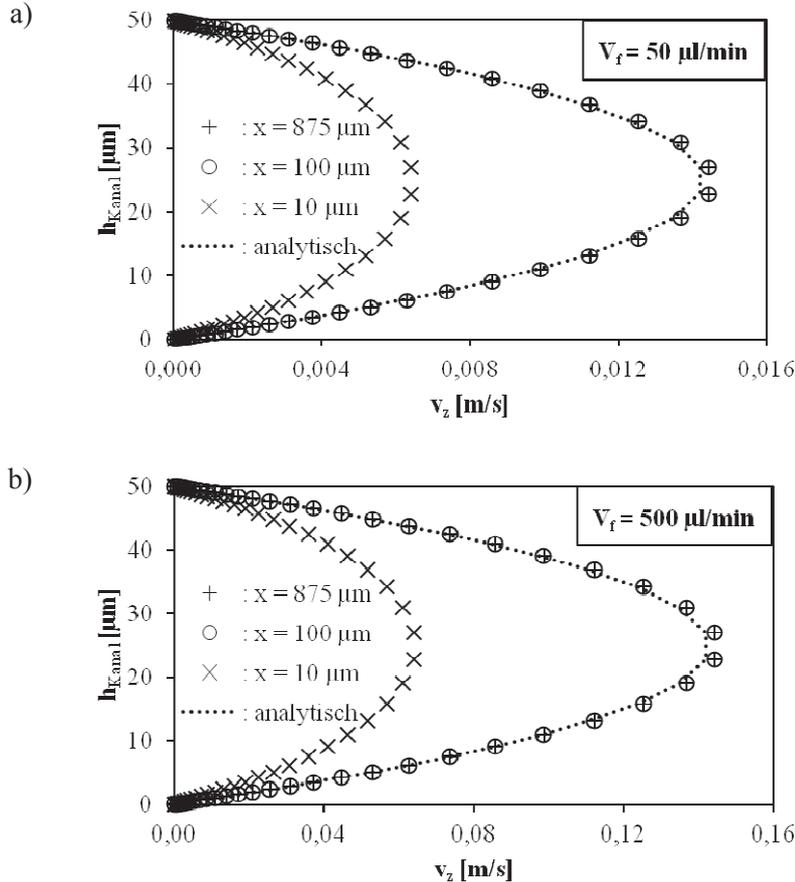


Abbildung 21: Vergleich zwischen dem numerisch bestimmten Geschwindigkeitsprofil und Gl. (13).

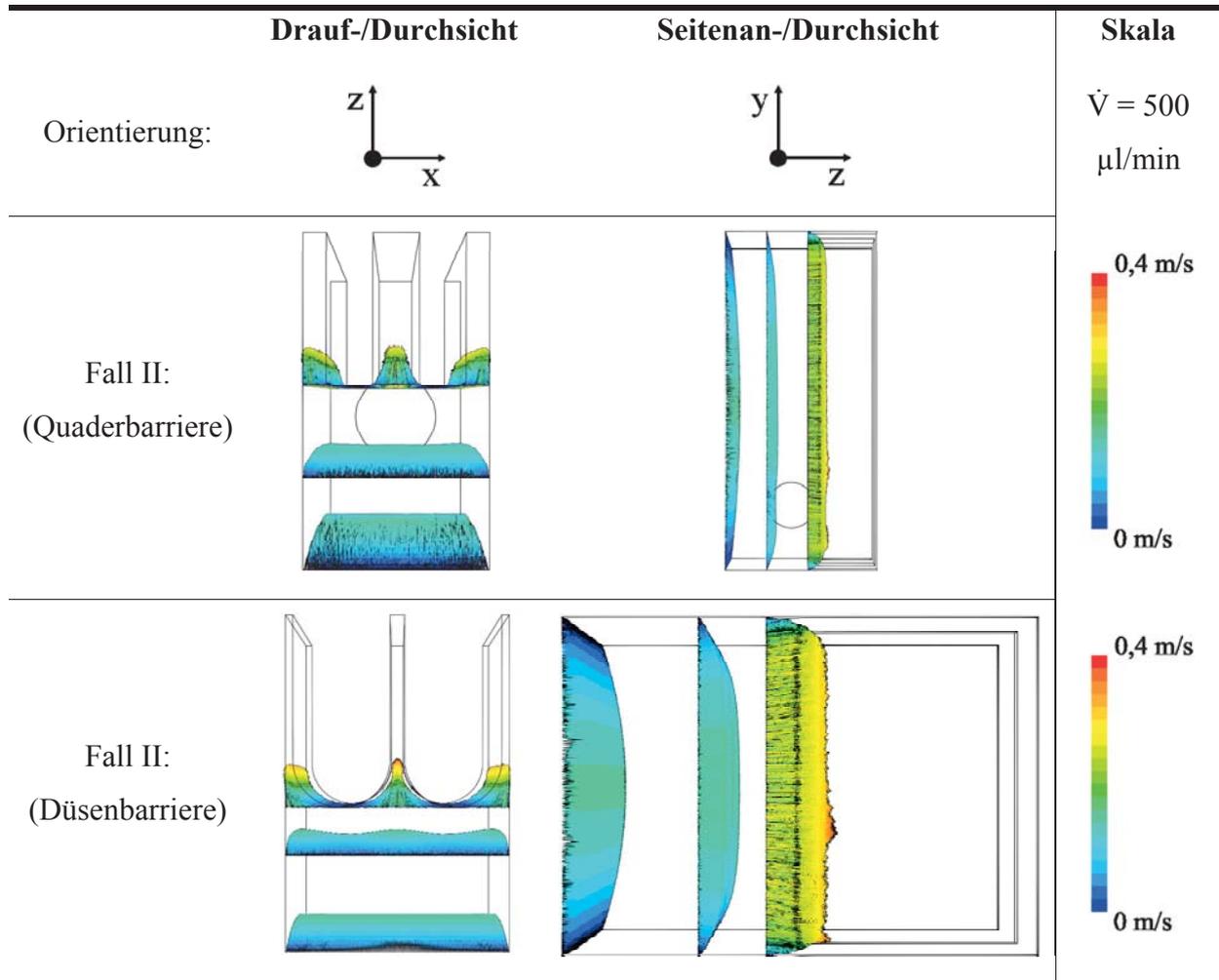
In Abbildung 21a und 21b wird deutlich, dass v_z und Gl. (13) bei $x = 100 \mu\text{m}$ und $x = 875 \mu\text{m}$ gut übereinstimmen. Die Abweichungen betragen nur bis zu 2 %. Bei $x = 10 \mu\text{m}$ sind die Abweichungen weitaus größer. Daher wird festgelegt, dass im Bereich $100 \mu\text{m} \leq x \leq 1650 \mu\text{m}$ die Gl. (13) mit einer gewissen Genauigkeit genutzt werden kann, welche abhängig von der örtlichen Vernetzung ist. Die Konvergenzindikatoren ergaben $\Delta\dot{V}$ ($\dot{V} = 50 \mu\text{l/min}$) $\approx 3\text{e-}08 \mu\text{l/min}$ und $\Delta\dot{V}$ ($\dot{V} = 500 \mu\text{l/min}$) $\approx 3\text{e-}07 \mu\text{l/min}$.

Die Änderung des Strömungsprofils vor der Barriere soll anhand zweier Beispiele visualisiert werden. Dafür wurden drei willkürlich ausgesuchte Schnittebenen $z = z_1$ (Eingangsgrenzfläche), $z = z_2$ und $z = z_3$ (Barriere) durch den jeweiligen Modellraum gelegt, um das entspre-



chende Strömungsprofil zu präsentieren (siehe Tabelle 15). Das eigentliche Profil wird durch gefärbte Geschwindigkeitsvektoren dargestellt, deren Farblegende im rechten Bereich von Tabelle 15 zu finden ist.

Tabelle 15: Veränderung des Geschwindigkeitsprofils mit zunehmender Nähe zur Quadergeometrie.



Das Geschwindigkeitsprofil flacht offensichtlich von z_1 zu z_2 in vertikaler Richtung ab. Dieses Phänomen kann mit der lateralen Umleitung der Strömung (in x-Richtung) in die Spalte erklärt werden. Während der Strömungsumleitung entsteht vor den Elementen der Barriere ein Staudruck, welcher im Zentrum der Kanalhöhe am größten ist, aufgrund der dort höchsten Strömungsgeschwindigkeiten. Da der Staudruck der Kanalströmung entgegen wirkt, wird ein Teil des Volumenstroms vor den Spalten im Zentrum des Kanals in Richtung Kanaldecke und -boden abgedrängt, da dort der Gegendruck niedriger ist. Die höheren Geschwindigkeiten bei z_3 können durch die Halbierung des durchströmbaren Querschnitts innerhalb der Barriere, durch Einhaltung der Massenbilanz, erklärt werden.



In der Seitenansicht des Düsenmodells (siehe Tabelle 15) sind rötliche Geschwindigkeitsvektoren nahe der modellierten CHO-Zelle bei z_3 auffällig, welche rechtsseitig aus dem Profil herausstechen. Beim Quadermodell ist dieses Phänomen mit abgeschwächter Intensität sichtbar. Die Kontinuitätsgleichung mag dabei eine wesentliche Rolle spielen, da Flüssigkeitsmoleküle für die Umströmung der CHO-Zelle beschleunigt werden müssen, wodurch auch die virtuelle Massenkraft resultiert.

8.1.2 Quaderbarriere mit auftreffender $7\mu\text{m}$ -CHO-Zelle

Für die Quaderbarriere wurden $\dot{V} = 50 \mu\text{l}/\text{min}$, $100 \mu\text{l}/\text{min}$ und $500 \mu\text{l}/\text{min}$ simuliert. In Abbildung 22 ist ein Vergleich der Fälle I und II für die Zellposition $y_{\text{CHO},1}$ in Bezug auf F_z und F_y ohne Berücksichtigung des Atmosphärendrucks gezeigt.

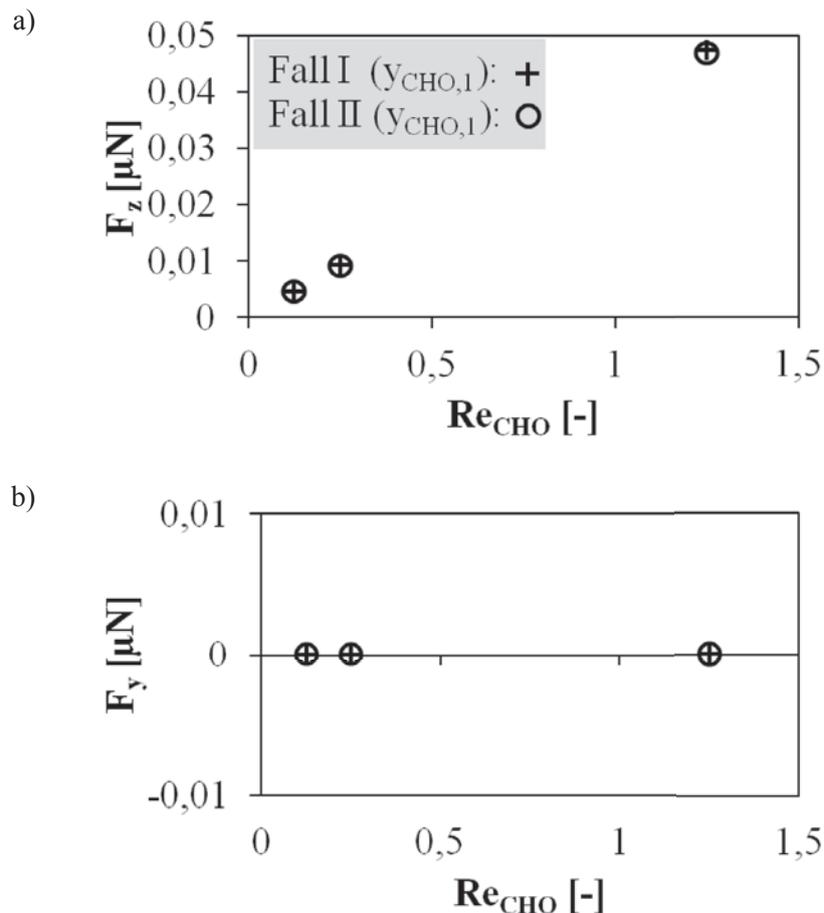


Abbildung 22: $F_z(Re_{\text{CHO}})$ und $F_y(Re_{\text{CHO}})$ in Fall I und II an der Quaderbarriere.

Als Bezugsparameter wurde Re_{CHO} ausgewählt, da hierdurch relevante Geometrie- und Strömungsparameter direkt und indirekt berücksichtigt werden. Als Anströmgeschwindigkeit $v_{f,A}$

wurde der Betrag des Geschwindigkeitsmaximum vom Strömungsprofil gewählt. Durch die Änderung des Strömungsprofils auf der strömungszugewandten Seite der Barriere (vgl. Kapitel 8.1.1) ist die Wahl dieser Geschwindigkeit fragwürdig, da nicht untersucht wurde, wo dort genau sich das Strömungsprofil signifikant zu verändern begann. Aus Abbildung 22a ist erkennbar, dass die ermittelten Kräfte F_z zu den Fällen I und II keinen signifikanten Unterschied aufweisen. Zum einen könnte dies darauf hindeuten, dass die Unterschiede bei der geometrischen Auflösung der jeweiligen CHO-Zelle und der Vernetzung des jeweiligen Modellraumes, im Rahmen der betrachteten Genauigkeit, vernachlässigbar klein sind. Zum anderen könnte die laterale Symmetrie der Barriere, zusammen mit der mehrfachen Symmetrie (links- und rechtsseitig der modellierten CHO-Zelle, in vertikaler Richtung mit Bezug auf den Zellmittelpunkt) in den Fällen I und II, zu diesem Ergebnis führen. In Abbildung 22b sind die Kräfte F_y zu den Fällen I und II unterschiedlich. Bei Fall I wirken die Druckkräfte in Richtung der Kanaldecke und die Reibungskräfte in Richtung des Kanalbodens (hier nicht gezeigt). Bei Fall II ist dieser Zusammenhang umgekehrt. Die wesentlich geringere Größe der Kräfte F_y im Vergleich zu den Kräften F_z macht F_y scheinbar unbedeutend.

In Abbildung 23a wird der Einfluss der Auftreffposition auf F_z präsentiert. Die Werte für $v_{f,A}$ in Re_{CHO} wurden mit der Gl. (13) analytisch ermittelt. Mit zunehmendem Volumenstrom vergrößert sich offensichtlich auch F_z . Je Volumenstrom ist keine bedeutende Abhängigkeit bezüglich F_z von $y_{CHO,1}$, $y_{CHO,2}$ und $y_{CHO,3}$ zu erkennen, was eine Folgeerscheinung der Abflachung des Geschwindigkeitsprofils sein kann (vgl. Kapitel 8.1.1). Obendrein suggerieren die immer größer werdenden Re_{CHO} -Bereiche je \dot{V} eine Abhängigkeit, die mit Berücksichtigung der Abflachung des Geschwindigkeitsprofils weniger bedeutsam ausfallen könnte. Daher scheint hier die Frage angebracht, ob $v_{f,A}$ für Re_{CHO} passend gewählt wurde. Die Druckanteile der ermittelten Kräfte von F_z liegen hierbei zwischen 72 % und 74 %.

In Abbildung 23b wird der Einfluss der Auftreffposition auf F_y präsentiert. Wie auch in Abbildung 23a scheint $F_y \propto Re_{CHO}$ bei $y_{CHO,2}$ und $y_{CHO,3}$. Die vertikale Strömungskomponente des abgedrängten Volumenstroms, zusammen mit dem Schergefälle der eigentlichen Kanalströmung, wird dies verursachen.

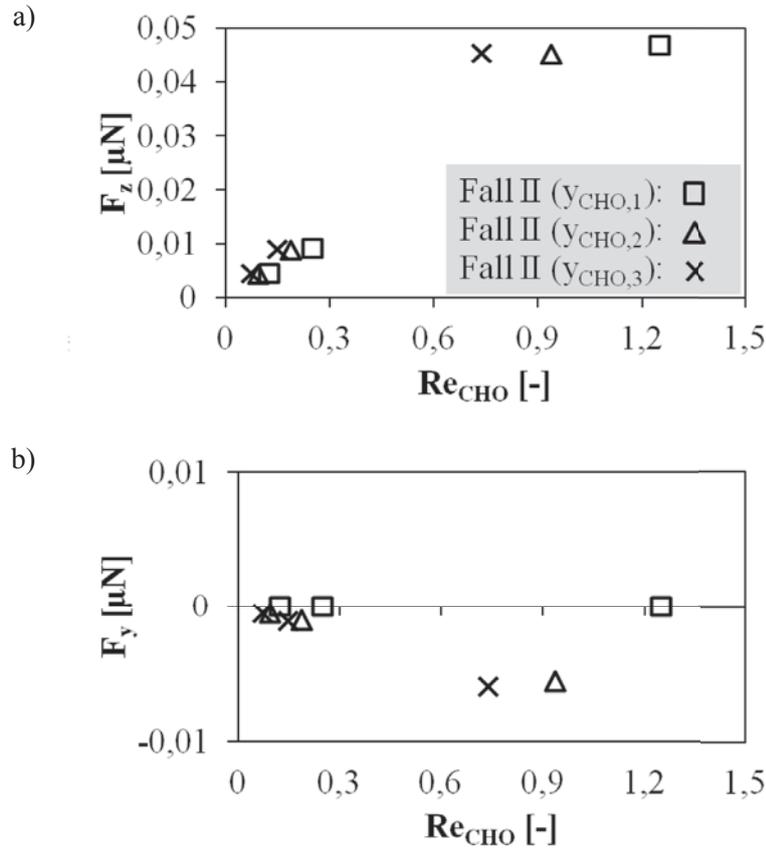


Abbildung 23: $F_z(Re_{CHO}, y_{CHO})$ und $F_y(Re_{CHO}, y_{CHO})$ bei Fall II an der Quaderbarriere.

Von $y_{CHO,2}$ zu $y_{CHO,3}$ nimmt der Einfluss dieses Schergefälles auch zu. Da die Position $y_{CHO,1}$ aufgrund ihrer Lage im Zentrum der Kanalhöhe zusätzlich im Zentrum der horizontalen Symmetrieachse des Hauptströmungsprofils liegt, ist $F_y \approx 0 \mu N$ selbsterklärend. Die Druckanteile der ermittelten Kräfte von F_y liegen hierbei zwischen 49 % und 68 %.

Für jedes Simulationsergebnis in diesem Kapitel ist der Konvergenzindikator $|\Delta \dot{V}| < 4 \cdot 10^{-8} \mu l/min$.

8.1.3 Düsenbarriere mit auftreffenden $7\mu m$ - und $12\mu m$ -CHO-Zellen

In Abbildung 24a werden die Ergebnisse der F_z -Kräfte auf die modellierten CHO-Zellen vor den Spalten der Düsenbarriere ohne Berücksichtigung des Atmosphärendrucks gezeigt. Im Wesentlichen sind die gleichen $F_z(Re_{CHO})$ -Abhängigkeiten wie bei dem analogen Fall vor der Quaderbarriere für die modellierten Zellen mit $d_{CHO} = 7 \mu m$ festzustellen.

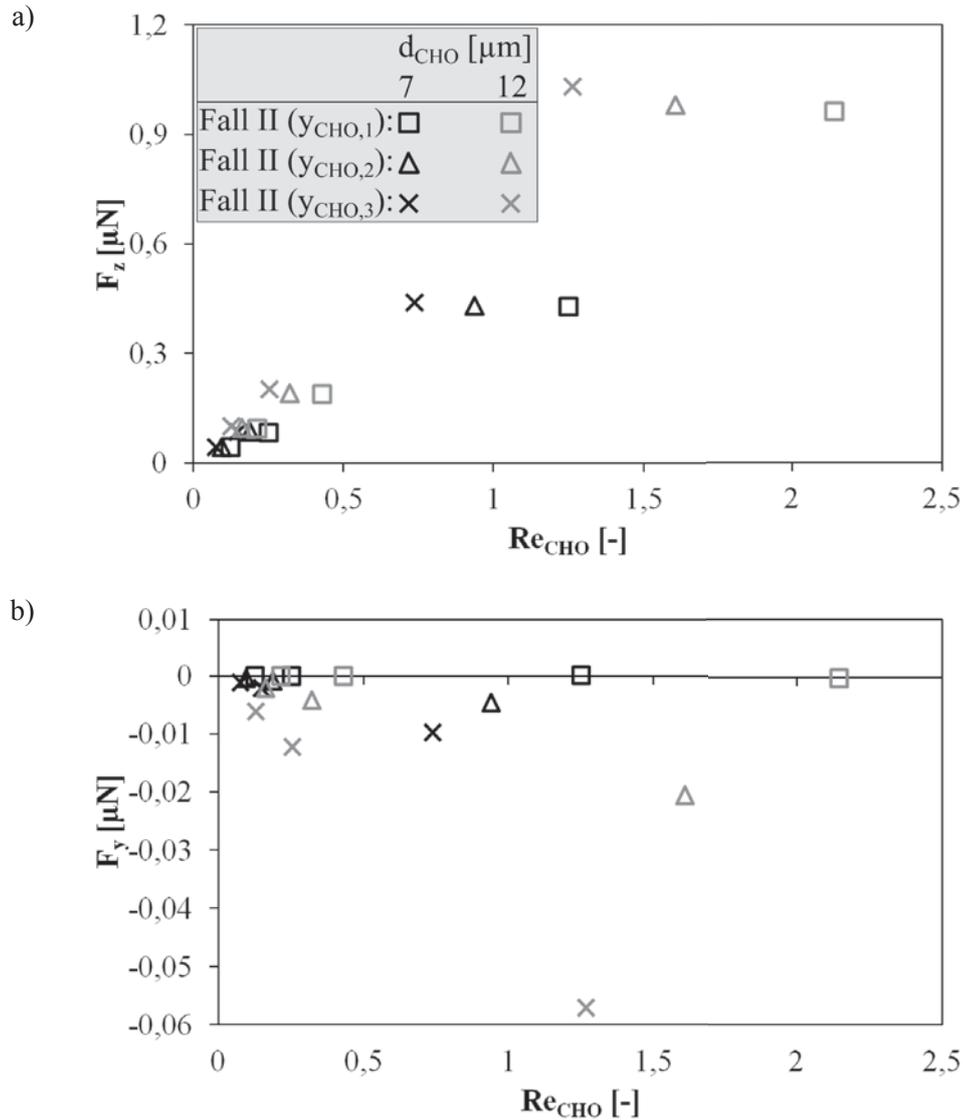


Abbildung 24: $F_z(\text{Re}_{\text{CHO}}, y_{\text{CHO}}, d_{\text{CHO}})$ bei Fall II an der Düsenbarriere.

Die F_z -Kräfte sind um einen Faktor von ca. 10 stärker als die Dargestellten in Abbildung 23a, was mit der viel kleineren durchströmbaren Querschnittsfläche von ca. $3A_{\text{Kanal}}/23$ begründet werden kann. Daneben liegen Ergebnisse für die Zellgröße $d_{\text{CHO}} = 12 \mu\text{m}$ vor, mit deren Hilfe ein F_z -Vergleich in Abhängigkeit der Zellgröße möglich ist. Diese F_z ($d_{\text{CHO}} = 12 \mu\text{m}$)-Kräfte sind anscheinend den gleichen Abhängigkeiten unterworfen und erwartungsgemäß stärker, da die Umströmung im größeren Ausmaß vonstattengehen muss. Der Druckanteil von F_z steigt von $91,2 \pm 0,4 \%$ bei $d_{\text{CHO}} = 7 \mu\text{m}$ auf $94 \pm 0,6 \%$ bei $d_{\text{CHO}} = 12 \mu\text{m}$ an, was der größeren Widerstandsprojektionsfläche bei letztgenannter Zellgröße geschuldet ist.

In Abbildung 24b sind die entsprechenden $F_y(d_{\text{CHO}} = 7 \mu\text{m})$ - und $F_y(d_{\text{CHO}} = 12 \mu\text{m})$ -Kräfte gezeigt. Es können die gleichen $F_y(\text{Re}_{\text{CHO}})$ -Abhängigkeiten wie in Abbildung 23b abgeleitet werden. Die $|F_y(d_{\text{CHO}} = 7 \mu\text{m})|$ -Kräfte sind ebenfalls erwartungsgemäß stärker. Jedoch ist ein weitaus markanterer Unterschied ($\Delta F_y = |F_y(y_{\text{CHO},2}) - F_y(y_{\text{CHO},3})|$) im Vergleich zu Abbildung

23b offensichtlich. Bei $d_{\text{CHO}} = 12 \mu\text{m}$ ist dieser besonders ausgeprägt. Als Erklärungsansatz dient die im Vergleich zur Quaderbarriere kleinere durchströmbare Querschnittsfläche, durch die anteilig ein höherer Volumenstrom fließen muss. Daher bewirken die lateralen Umleitungen der Strömung vor den Düsenelementen stärkere Strömungseffekte in vertikaler Richtung. Mit zunehmender Zellgröße wird zusätzlich mehr Durchströmungsfläche am Spalteingang blockiert, wodurch die wirkenden Kräfte ebenfalls stärker werden.

Eine Analyse der Kraftzusammensetzung für die Positionen $y_{\text{CHO},2}$ und $y_{\text{CHO},3}$, bei denen der Druckanteil gegenüber dem viskosen Anteil im Vordergrund steht, ist in Abbildung 25 gezeigt.

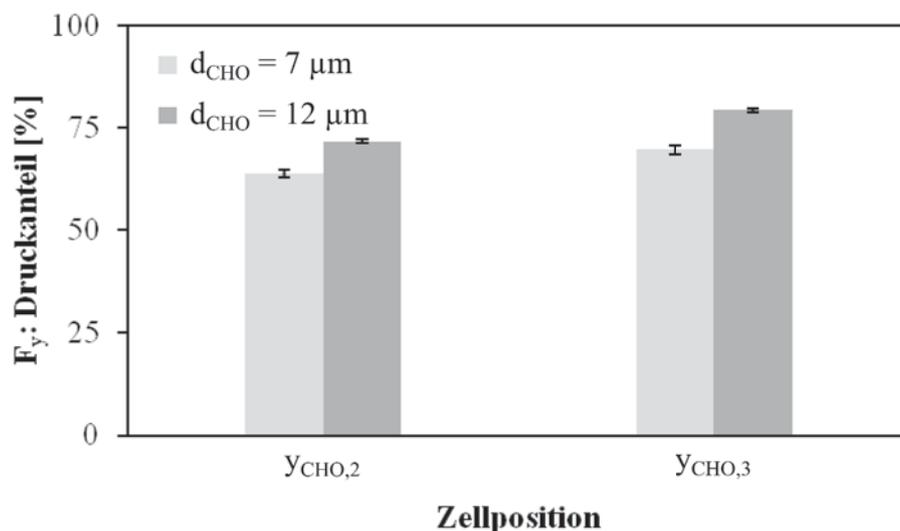


Abbildung 25: Druckanteile von $F_y(d_{\text{CHO}}, y_{\text{CHO}})$ an der Düsenbarriere.

Die Position $y_{\text{CHO},1}$ wurde vernachlässigt, da die hierzu ermittelten F_z -Kräfte vernachlässigbar klein sind. Die Fehlerbalken kennzeichnen den Schwankungsbereich für $\dot{V} = 50 \mu\text{l/min}$, $100 \mu\text{l/min}$ und $500 \mu\text{l/min}$. Bei $F_y(d_{\text{CHO}} = 12 \mu\text{m})$ sind die Druckanteile jeweils höher als bei $F_y(d_{\text{CHO}} = 7 \mu\text{m})$. Eine einleuchtende Erklärung dazu ist schwerlich zu finden. Es kann vermutet werden, dass die stärkere Umströmung der größeren CHO-Zellen ($d_{\text{CHO}} = 12 \mu\text{m}$) weniger ins Gewicht fällt als die Staudruckzunahme an der jeweiligen Oberseite der gleichen CHO-Zellen.

Weiterhin ist erkennbar, dass die Druckanteile bei $F_y(y_{\text{CHO},3})$ größer sind als bei $F_y(y_{\text{CHO},2})$, was dem hydrostatischen Druck zugeschrieben werden könnte. Die Konvergenzindikatoren der Simulationsergebnisse aus diesem Kapitel betragen $|\Delta\dot{V}| < 1,1 \cdot 10^{-7} \mu\text{l/min}$.



8.1.4 Temperaturabhängigkeit der wirkenden Kräfte

Wird der Zellaufschluss nicht bei Temperaturen von $T \approx 20 \text{ °C}$ durchgeführt, so werden $F_y(T)$, $F_z(T) = f(\rho_f, \eta_f)$. In Abbildung 26 sind die Ergebnisse einer Simulationsreihe zur Düsenbarriere für den Fall II, $\dot{V} = 50 \text{ } \mu\text{l}/\text{min}$, $y_{\text{CHO},1}$ und $d_{\text{CHO}} = 12 \text{ } \mu\text{m}$ ohne Berücksichtigung des Atmosphärendrucks dargestellt. Die Symbole „Punkt“ und „Kreis“ stehen dabei für demineralisiertes Wasser bei $p_u = 10^5 \text{ Pa}$ (Wagner, 2006) und „TC42+Glutamin“ bei $p_u = 101325 \text{ Pa}$ (siehe Kapitel 6) als Transportmedien.

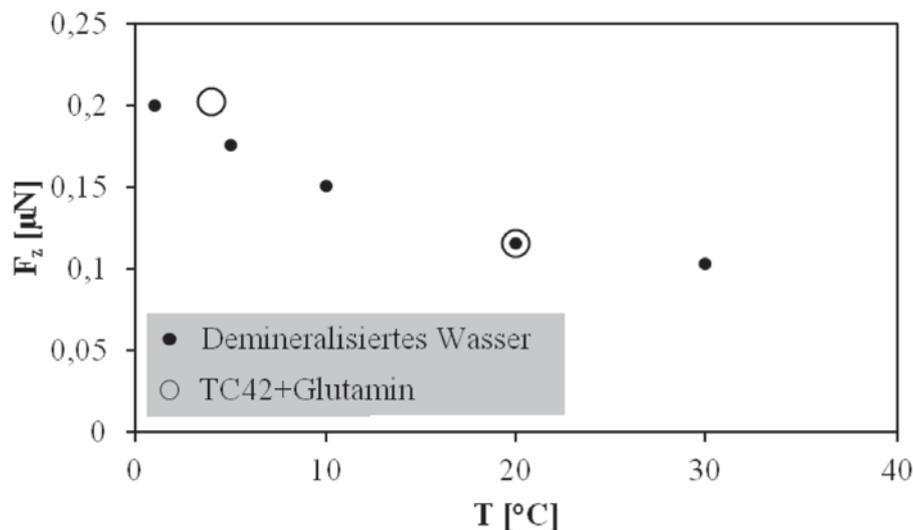


Abbildung 26: Einfluss der Temperatur auf die Strömungskräfte am Beispiel einer 12 μm -CHO Zelle.

Mit zunehmender Temperatur des demineralisierten Wassers im Bereich $1 \text{ °C} \leq T \leq 30 \text{ °C}$ schwächt die entsprechende Kraft F_z ab. Ein signifikanter Unterschied bei F_z in Abhängigkeit der Transportmedien bei 4 °C bis 5 °C und 20 °C ist nicht erkennbar, was mit ähnlichen mechanischen Eigenschaften begründet werden kann. Für andere Temperaturen im Bereich $1 \text{ °C} \leq T \leq 30 \text{ °C}$ wird zudem kein signifikanter Unterschied erwartet. Es wird jedoch angenommen, dass die Kraft F_z mit zunehmender Temperatur ebenfalls schwächer wird. Durch die Streuung der Massendichte sind die Fehlerbalken bei TC42+Glutamin und $T = 20 \text{ °C}$ vernachlässigbar klein und nicht sichtbar. Der Konvergenzindikator der Simulationen zu diesem Abschnitt ist $|\Delta \dot{V}| < 8 \cdot 10^{-7} \text{ } \mu\text{l}/\text{min}$.



8.2 Ablösen einer haftenden CHO-Zelle von einer Kanalwand

In diesem Abschnitt werden die Ergebnisse der Strömungssimulationen zum modellierten Ablösevorgang von suspensions-adaptierten CHO-Zellen von einer Kanalwand (vgl. Kapitel 2) gezeigt. Die Modellierungen und Diskussionen hierzu sind in den Kapiteln 7.2 und 9.3 zu finden.

Die Konvergenzindikatoren zu allen Simulationen für diesen Abschnitt ergaben $|\Delta\dot{V}| < 2,4 \cdot 10^{-7} \mu\text{l}/\text{min}$.

8.2.1 Strömungskräfte auf die Zellmodelle

Die ermittelten Kräfte F_y und F_z ohne Berücksichtigung des Atmosphärendrucks sind in Abbildung 27 dargestellt. Mit zunehmender Zellgröße werden die absoluten Kräfte $|F_y|$ und $|F_z|$ mit Ausnahme von $|F_y(\text{Form I})|$ stärker. Eine äquivalente Ausnahme bei ähnlichen Bedingungen ist bereits beobachtet worden (Zeng et al., 2005).

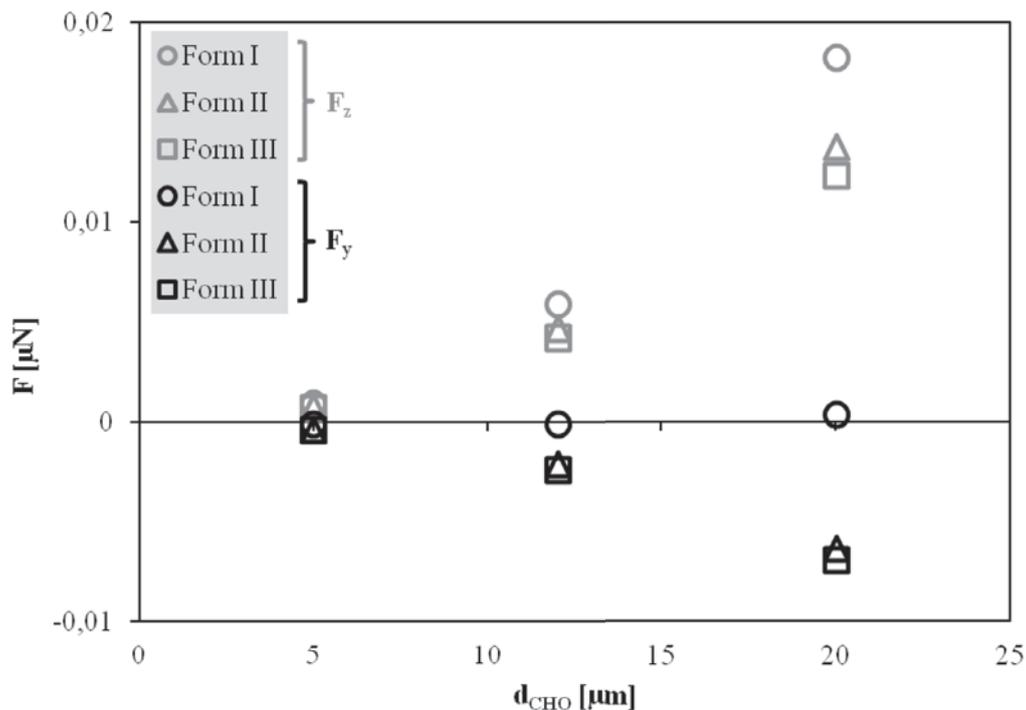


Abbildung 27: Numerisch bestimmten Strömungskräfte, welche auf die modellierten Zelloberflächen beim Ablösevorgang der CHO-Zellen wirken (Schnegas et al., 2013).



8 Ergebnisse der Umströmungssimulationen

Die räumlich größer werdende Strömungsumlenkung mit steigender Zellgröße ist für die Zunahme der beiden genannten Kräfte die maßgebliche Ursache. Daneben stellen die Kräfte $F_y < 0 \mu\text{N}$ einen Indikator für real wirkende Drehmomente auf die CHO-Zelle dar.

Um eine scheinbare Abhängigkeit, z.B. $F_y(d_{\text{CHO}}^2)$ oder $F_z(d_{\text{CHO}}^2)$ im betrachteten Größenbereich von d_{CHO} , bei den Formen II und III zu identifizieren, hätten für die Untersuchungen weitere Zellgrößen berücksichtigt werden müssen.

Bei gleicher Zellgröße gilt offenbar $F_z(\text{Form I}) > F_z(\text{Form II}) > F_z(\text{Form III})$, was mit einer steigenden, orthogonalen Projektionsfläche in Richtung der Hauptströmung und –Zellhöhe (in y-Richtung) erklärt werden kann (Schnegas et al., 2013). Die Beziehung $|F_y(\text{Form III})| > |F_y(\text{Form II})| > |F_y(\text{Form I})|$ lässt sich mithilfe der Abbildung 18 und folgendem Gedankenexperiment interpretieren: Würden alle normalisierten Normalenvektoren der Gitterzellen für die Zelloberflächenvernetzung addiert, so wäre die y-Komponente des Ergebnisvektors bei Form III am größten und bei Form I am kleinsten.

Wird das Kräfteverhältnis $F_{z/y} = F_z/|F_y|$ aufgestellt, so ergeben sich fast gleiche Werte ($F_{z/y} \approx 2,2$ und $1,8$) für die Formen II und III über alle modellierten Zellgrößen. Bei den Formen I ergeben sich merkliche Abweichungen mit $F_{z/y} \approx 20,6$ über $80,9$ und $50,5$ für $d_{\text{CHO}} = 5 \mu\text{m}$ über $12 \mu\text{m}$ und $20 \mu\text{m}$. Eine Erklärung zu den unsystematisch-wirkenden Abweichungen konnte bisher nicht gefunden werden.

Die für das Phänomen „schleichende Umströmung“ gültigen Re_p -Zahlen wurden mit den äquivalenten Re_{CHO} -Zahlen (siehe schon Abbildung 31) nicht ganz erreicht. Der Unterschied liegt auch hier in der unvollständigen Umströmung der modellierten Deformationsphasen der CHO-Zellen.

Die Kraftzusammensetzung von F_z in Abbildung 28a zeigt, dass die Druckanteile dieser F_z -Kraft bei den Formen I über II bis III abnehmen, was mit einer kleiner werdenden orthogonalen Projektionsfläche in Strömungsrichtung erklärt werden könnte.

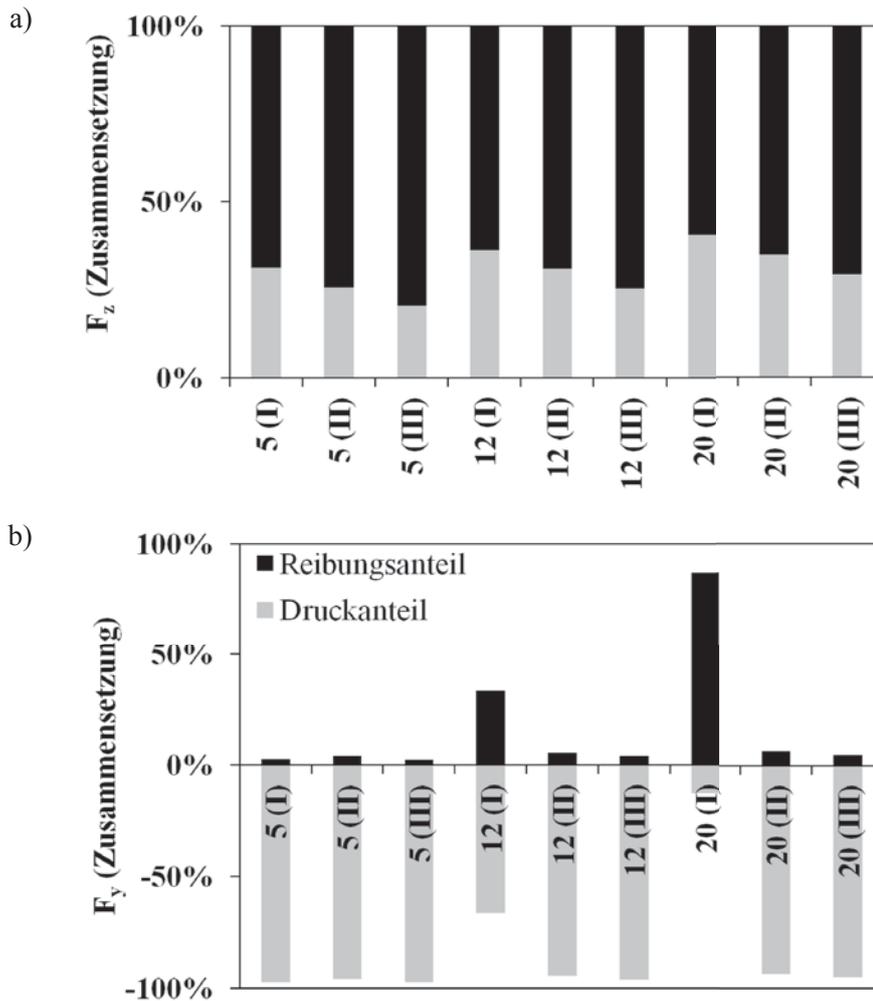


Abbildung 28: Kraftzusammensetzung der Kräfte F_z und F_y . Die schwarzen und grauen Balken repräsentieren die Reibungs- und Druckanteile (Schnegas et al., 2013).

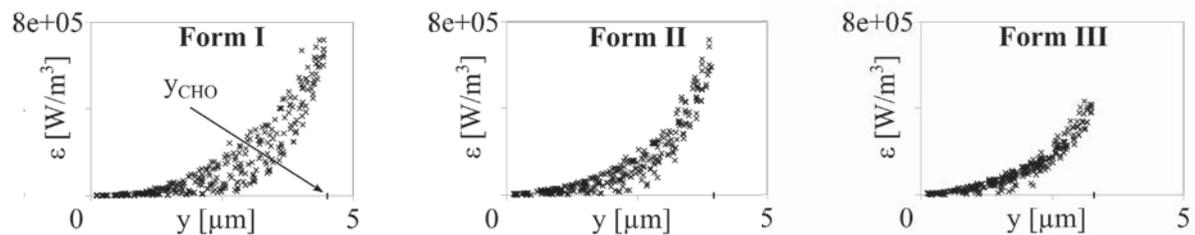
Im Gegenzug dazu steigen diese Druckanteile mit zunehmender Zellgröße, was mit wiederum größer werdenden Projektionsflächen begründet werden kann. Der Hauptanteil von F_y in Abbildung 28b resultiert aus Druckkräften, die annähernd 100% bei den Formen II und III ausmachen. Die Formen I bilden wieder Ausnahmen, deren Grund abermals bei der speziellen Umströmungssituation der Kugelformen vermutet werden kann. In F_y steigt der Reibungsanteil bei den Formen I in erheblichem Maße mit steigender Zellgröße. Zwei Einflussparameter spielen hierbei eine Rolle. Bei steigender Zellgröße verkleinert sich der Volumenanteil der Kugelkalotte zum Gesamtvolumen der modellierten CHO-Zelle. Zum anderen dehnt sich die Umströmung mit steigender CHO-Zellgröße aus, womit die Schergradienten nahe der modellierten CHO-Zelle größer werden.



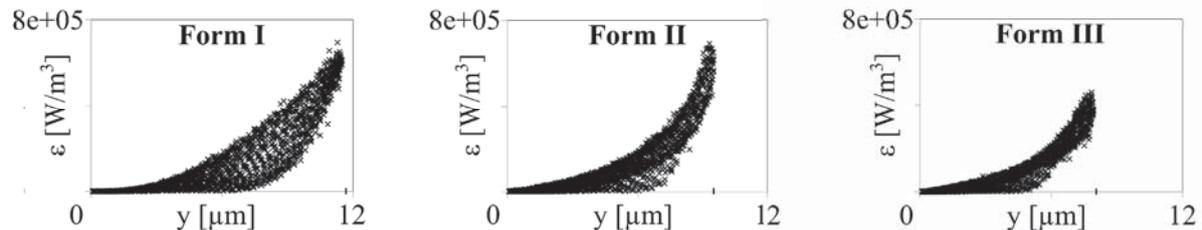
8.2.2 Energiedissipation an der modellierten Zelloberfläche

Für die Analyse von ε müssen die in diesem Abschnitt gezeigten Ergebnisse von den Erläuterungen in Kapitel 3.5 getrennt betrachtet werden, da in diesem Kapitel die Beanspruchung der Zelloberfläche untersucht wird, im Gegensatz zur Beanspruchung der ganzen CHO-Zelle. Die Diagramm-Reihen in Abbildung 29 zeigen von oben nach unten die Ergebnisse als Punktwolken für $d_{\text{CHO}} = 5 \mu\text{m}$, $d_{\text{CHO}} = 12 \mu\text{m}$ und $d_{\text{CHO}} = 20 \mu\text{m}$.

$d_{\text{CHO}} = 5 \mu\text{m}$



$d_{\text{CHO}} = 12 \mu\text{m}$



$d_{\text{CHO}} = 20 \mu\text{m}$

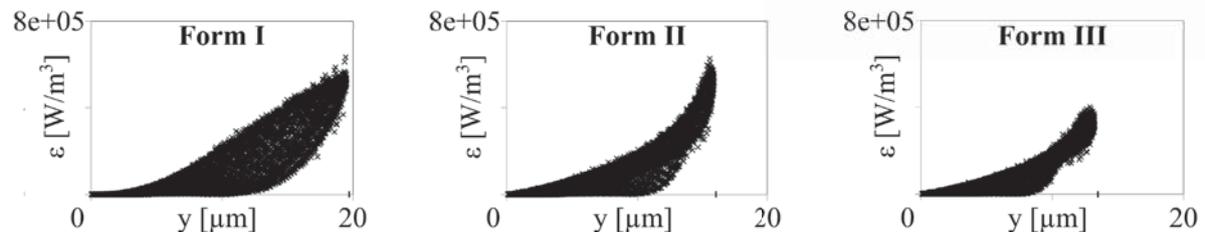


Abbildung 29: Modifiziertes Bild aus Schnegas et al. (Schnegas et al., 2013). Numerisch bestimmte ε -Werte über die Oberfläche aller modellierten Deformationsphasen.

Die Spalten von links nach rechts zeigen dagegen die Ergebnisse zu den Formen I, II und III. Der Wert y_{CHO} bezeichnet die weiteste Entfernung vom Kanalboden ($y = 0 \mu\text{m}$), d.h. die eigentliche Höhe der jeweiligen CHO-Zelle, bei jeder modellierten Zellform.

Jeder Punkt der Punktwolken zeigt einen ε -Wert an, welcher an einer bestimmten dreieckigen Gitterfläche der modellierten CHO-Zelloberfläche berechnet wurde. Je größer d_{CHO} , desto



offensichtlich dichter wird die Punktwolke, was mit einer größeren Anzahl an fast gleichgroßen Gitterflächen je fiktiver Höhenlinie (bei gleichem y -Wert) erklärt werden kann. Die vertikal-breiteren Bereiche der Punktwolken resultieren aus asymmetrischen Scherkräften auf der gleichen fiktiven Höhenlinie. Die vertikalen Verbreiterungen und Verjüngungen mit größer werdender y -Koordinate werden verständlicher bei Betrachtung der Formen I und III für $d_{\text{CHO}} = 12 \mu\text{m}$ in Abbildung 30, wo die entsprechenden Draufsichten entlang der negativen y -Achse gezeigt sind.

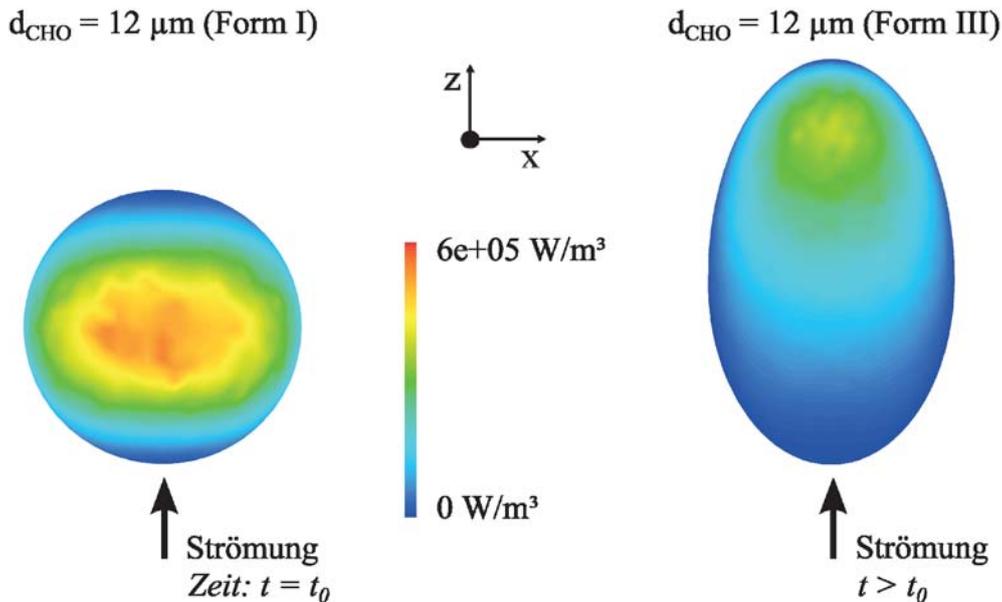


Abbildung 30: Numerisch bestimmte ε -Werte über die Oberfläche (Draufsicht) ausgewählter Deformationsphasen (Schnegas et al., 2013).

Der Leser wird auf Abbildung 18 verwiesen, um einen Eindruck der entsprechenden Seitenansichten zu den gezeigten Draufsichten zu erlangen. Die Streuung der ε -Werte entlang der y -Koordinate (siehe Abbildung 29) wird aufgrund der in Abbildung 30 sichtbaren, unsymmetrischen ε -Profile nun klarer. In allen Diagrammen in Abbildung 29 werden verschwindend geringe ε -Werte bei $0 \leq y \leq d_{\text{CHO}}/2$ gezeigt. Die betroffenen Gitterzellen befinden sich an der Grenzlinie zwischen modellierter CHO-Zelle und Kanalboden auf der strömungszugewandten und -abgewandten Seite. Dort befinden sich auch die Stagnationsorte des flüssigen Mediums. Die scheinbar exponentiellen Steigungen der oberen Grenzbereiche von den Punktwolken könnte aus dem parabolischen Geschwindigkeitsprofil nach Gl. (9) resultieren, welches als Randbedingung der Einlassfläche (siehe Abbildung 17) implementiert wurde. Die starken Steigungen an unteren Grenzbereichen der Punktwolke (Formen II und III) sind mit den starken Krümmungen nahe den höchsten Punkten in vertikaler Richtung der modellierten CHO-Zellen an den strömungsabgewandten Seiten begründbar. Die Krümmungen an den strömungszugewandten Seiten sind dagegen vergleichsweise flach.



8.2.3 Widerstandskoeffizienten der Zellmodelle

Eine haftende CHO-Zelle auf dem Kanalboden stellt im Grunde eine viskose Rauigkeit dar. Um nun den Begriff Biopartikel zu verwenden, wurden äquivalente Strömungswiderstandskoeffizienten c_w für sämtliche modellierte Zellformen bestimmt. Jedoch sollte wieder berücksichtigt werden, dass die Zellformen unvollständig von der flüssigen Phase umgeben sind. Damit kann kein direkter Vergleich mit $F_w(Re_p)$ stattfinden. Für die Berechnungen wurde Gl. (34) verwendet, die sich aus Gl. (16) durch Umformung und Reduzierung auf die Richtungskomponente z ergibt:

$$c_w = \frac{2F_z}{\rho_f v_{f,A}^2 A_{r,Proj}} \quad (34)$$

Die rechteckige Projektionsfläche $A_{r,Proj} = d_{CHO} \cdot y_{CHO}$ enthält die geometrische Höhe der jeweiligen modellierten CHO-Zelle (siehe Abbildung 29) vom Kanalboden aus (y_{CHO}). Die Geschwindigkeit $v_{f,A}$ stellt dabei die mittlere Strömungsgeschwindigkeit in der Fläche $A_{r,Proj}$, bezogen auf die Einlassfläche (siehe Abbildung 17) dar und wurde über alle Gitterflächen in $A_{r,Proj}$ numerisch bestimmt (Schnegas et al., 2013).

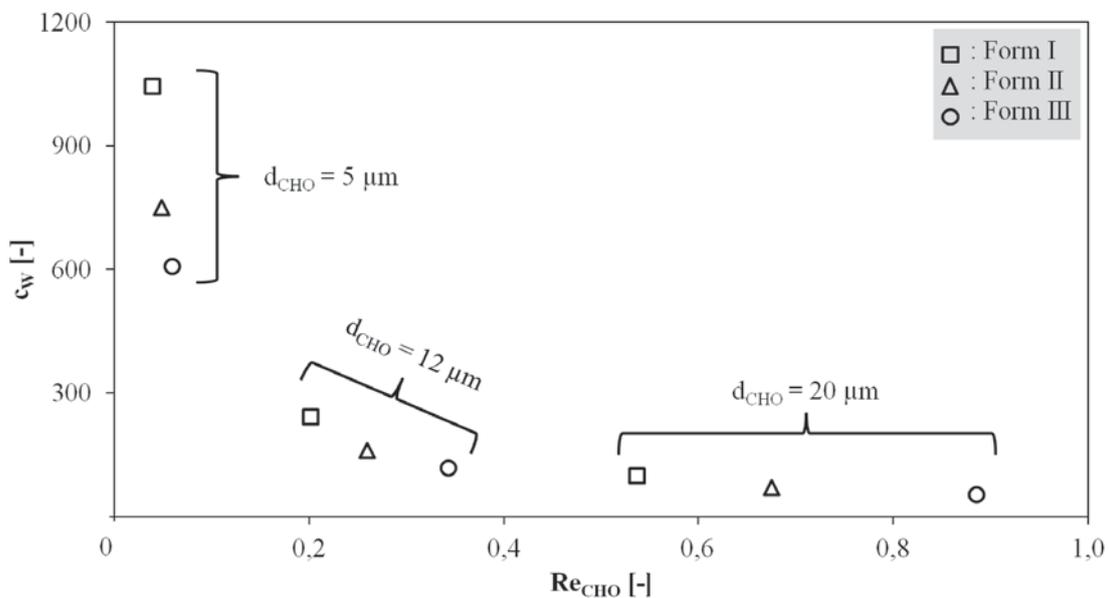


Abbildung 31: Widerstandskoeffizienten in Abhängigkeit von Re_{CHO} (Schnegas et al., 2013).

Die Größe c_w wird in Abbildung 31 in Abhängigkeit von Re_{CHO} aufgetragen, wobei die Reynoldszahl nach Gl. (35) berechnet wurde:

$$Re_{CHO} = \frac{v_{f,A} \rho_f}{\eta_f} \sqrt{\frac{4A_{r,Proj}}{\pi}} \quad (35)$$

berechnet.

Es wird gezeigt, dass $c_w(d_{CHO})$ von Form I, über II bis III ansteigt. Eine gleiche Tendenz kann auch mit dem Anstieg der Zellgröße von $d_{CHO} = 5 \mu\text{m}$ über $12 \mu\text{m}$ bis $20 \mu\text{m}$ beobachtet werden. Dabei verkleinern sich $A_{r,Proj}$ und $v_{f,A}$ (Schnegas et al., 2013). Außerdem nimmt der Druckanteil von F_z bei größer werdenden c_w -Werten leicht ab (vgl. Kapitel 8.2.1).

8.2.4 Allgemeine Reibungskoeffizienten beim Zell-Wand-Kontakt

Mit den Ergebnissen aus Kapitel 8.2.1 wurden nach Gl. (28) Reibungskoeffizienten bestimmt. Diese Koeffizienten sind als eher übergeordnete bzw. allgemeine Reibungskoeffizienten zu betrachten, da eine Unterscheidung in Haft-, Gleit- oder Rollreibung mit den vorhandenen Daten aus Zhang et al. (2008) nicht möglich ist. Die Kraft $F_{g,CHO}$ wurde dabei mit der unteren Grenze der Massendichte ($\rho_{CHO} = 1050 \text{ kg/m}^3$) aus Kapitel 5.6.1 berechnet, wodurch μ nach oben abgeschätzt wird. Die Gewichtskraft der CHO-Zelle ist hier immer größer als $|F_y|$, in Extremfällen bei Form I ($d_{CHO} = 12 \mu\text{m}$, $d_{CHO} = 20 \mu\text{m}$) bis zum 100-fachen.

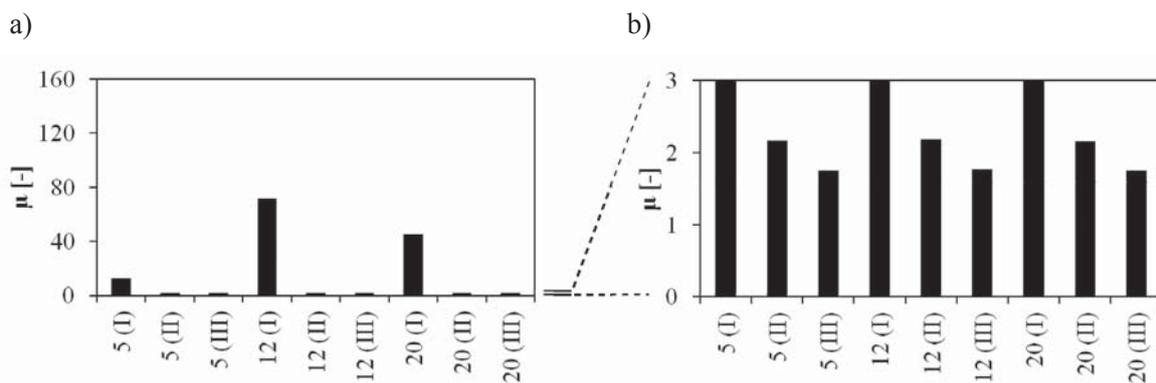


Abbildung 32: Übergeordnete Reibungskoeffizienten zu den Formen I, II und III (links). Vergrößerung (rechts).

In Abbildung 32 a) sind zu den Formen I auffallend hohe μ -Werte berechnet worden. In erster Linie kann dies mit der im Vergleich zu den Formen II und III fast vollständigen Umströmung der Form I verbunden sein, weshalb auch F_y wesentlich schwächer als F_z werden kann, da mehr Angriffsfläche auf der strömungszugewandten Unterseite der Form I zur



8 Ergebnisse der Umströmungssimulationen

Verfügung steht. Daneben hat sich eine scheinbare Unabhängigkeit: $F_y \neq f(d_{\text{CHO}})$, vgl. dazu Abbildung 27, bezüglich der betrachteten Zellgrößen gezeigt.

Mit Abbildung 32 b) ist ein Vergleich der μ -Werte für die Formen II und III möglich. Die μ -Werte zu Form I sind bei den betrachteten Zellgrößen immer größer als die μ -Werte zu den Formen II und III. Mit zunehmender Zellgröße bleiben die μ -Werte zu den Formen II und III mit $\mu(\text{Form II}) > \mu(\text{Form III})$ anscheinend gleich. Ob dieser Zusammenhang auch für Zellgrößen mit $d_{\text{CHO}} > 20 \mu\text{m}$ gilt, bleibt zu untersuchen.





9. Diskussion der Ergebnisse zu den Umströmungssimulationen

Es werden die Ergebnisse aus den Kapiteln 8.1 und 8.2 diskutiert. Dazu sei erwähnt, dass keine Vergleichsstudien zur Abhängigkeit der Simulationsergebnisse von der räumlichen- und Oberflächenvernetzung der modellierten CHO-Zelle durchgeführt wurden. Jedoch wurden die Simulationen der Modelle aus Kapitel 7 aufgrund der hohen Anzahl der Gitterzellen bereits am Rande der Rechenkapazität des verwendeten Computers gerechnet. Der Autor dieser Arbeit vermutet daher, dass die erlangten Simulationsergebnisse aus Kapitel 8 als Vergleichswerte für Untersuchung ähnlicher oder gleicher Situationen von Zellbeanspruchungen tauglich sind.

9.1 Vergleichbarkeit der Ergebnisse

Eine gleichbleibende Vernetzungsqualität der CHO-Zelloberflächen (siehe Abbildung 15 und Abbildung 19) konnte aufgrund verschiedener Überlappungsbereiche (siehe Abbildung 14, Abbildung 18a und 18c sowie den letzten Abschnitt in Kapitel 7.1.5) zwischen modellierter Zelle und dem jeweiligem Geometrielement nicht gewährleistet werden. Diese Vernetzungsqualität liefert jedoch Hinweise auf die geometrische Auflösungsqualität der Umströmung und damit auf die Vergleichbarkeit von Simulationsergebnissen. Die Flächensummenverteilungen der Vernetzungs- bzw. Gitterflächen (Berechnung: siehe Anhang A), die zusammengekommen die Zelloberflächen modellieren, zeigen die tatsächliche Schwankungsbreite der geometrischen Oberflächenauflösungen. Ein exakter Vergleich ist mit dieser Methode jedoch nicht möglich, da örtliche Unterschiede der geometrische Auflösung in Abhängigkeit zu erwartender Geschwindigkeitsgradienten nicht berücksichtigt wurden. Die Flächensummenverteilung dient daher ebenfalls als Indikator.

In Abbildung 33 wird eine Übersicht aller Modellierungen aus dem Kapitel 7 gezeigt, bei denen eine CHO-Zelle als starrer Körper modelliert wurde. Den römischen Zahlen wurden Indizes (Auf: Aufschluss, Ab: Ablösung) zugeordnet, um Fehldeutungen vorzubeugen. Die nummerierten Rahmen beziehen sich auf Vergleiche der Vernetzungsqualitäten, mit deren Hilfe die Vergleichbarkeit der entsprechenden Ergebnisse bewertet wird.

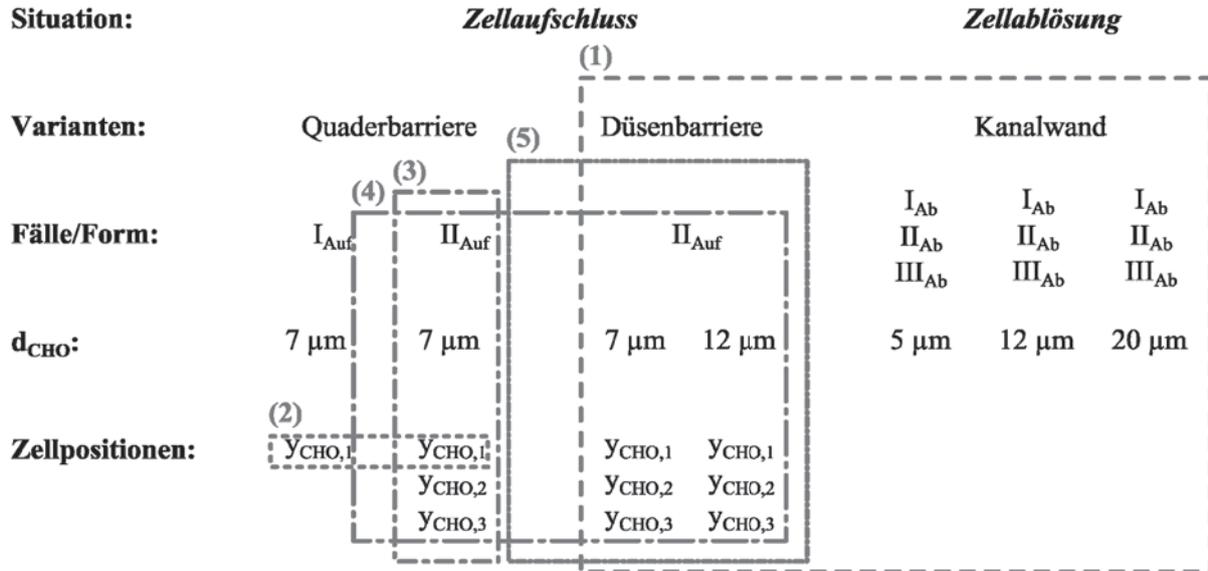


Abbildung 33: Übersicht der Nachbildungen mit einem starren Zellmodell

Rahmen (1):

Die Flächensummenverteilungen der Vernetzungsflächen zur Modellierung der Zelloberfläche stimmen in Bezug auf den Größenbereich bei beiden Modellen in großen Teilen gut überein (vgl. Abbildung 15 und Abbildung 19). Dadurch ergibt sich eine ähnlich gute geometrische Auflösungsqualität der Umströmung an den modellierten CHO-Zellen, deren Geschwindigkeitsprofile auch von der räumlichen Vernetzung stromaufwärts abhängen. Diese räumliche Vernetzung ist bei Betrachtung von $V_{\text{Gitter, min}}$ und $V_{\text{Gitter, max}}$ mit hinreichender Genauigkeit durchgeführt worden, weshalb die Simulationsergebnisse im Rahmen (1) aus beiden Situationen am stärksten untereinander vergleichbar sind.

Rahmen (2):

Bei einem Vergleich der Fälle I und II an der Quaderbarriere für $y_{\text{CHO},1}$ fällt mit N_{CHO} (Tabelle 9) auf, dass die modellierten CHO-Zellen unterschiedlich geometrisch aufgelöst wurden. Durch Abbildung 14 wird jedoch deutlich, dass die kugelförmige Form in beiden Fällen hinreichend genug aufgelöst wurde. Jedoch wird das Strömungsfeld in naher Umgebung der modellierten CHO-Zelle im Fall II besser aufgelöst als im Fall I, was die Vergleichbarkeit abschwächt. Der Einfluss dieser Tatsache auf die Ergebnisse der Strömungssimulationen wurde nicht weiter untersucht. Die vorteilhaft-gleiche Vernetzung der CHO-Zellen im Fall II bei $y_{\text{CHO},1}$, $y_{\text{CHO},2}$ und $y_{\text{CHO},3}$ (siehe Rahmen (3)), erlaubt einen besseren Vergleich jener Simulationsergebnisse, im Vergleich zu dieser Gegenüberstellung der Fälle I und II.

Rahmen (3):

Abbildung 15 zeigt, dass die Qualität der geometrischen Auflösung am besten ist, da hier die Flächenelemente am kleinsten und die Flächensummenverteilungen am engsten sind. Hierdurch kann vermutet werden, dass die Umströmung der modellierten CHO-Zellen ebenfalls am besten geometrisch aufgelöst wurde und eine optimale Vergleichbarkeit gegeben ist.

Rahmen (4):

Ein Vergleich der Simulationsergebnisse zwischen Quader- und Düsenbarriere ist hier am schlechtesten, aufgrund des größten ermittelten Unterschieds in den entsprechenden Flächensummenverteilungen (siehe Abbildung 15). Die Umströmung der CHO-Zelle an der Düsenbarriere wird demnach viel niedriger aufgelöst als an der Quaderbarriere.

Rahmen (5):

Die Qualität der geometrischen Zelloberflächen-Auflösung und damit der Umströmung bei $d_{\text{CHO}} = 7 \mu\text{m}$ und $12 \mu\text{m}$ ist fast gleich (Abbildung 15), wodurch ein sehr guter Vergleich der Simulationsergebnisse möglich ist.

9.2 Treffen einer suspendierten CHO-Zelle auf eine Barriere

9.2.1 Kontinuierlicher Betrieb

Die CHO-Zellsuspension wurde in einer Konzentration von $7 \cdot 10^6$ CHO-Zellen/ml (Wurm, 2011) in Richtung der jeweiligen Barriere gepumpt. Bei $\dot{V} = 50 \mu\text{l/min}$, $100 \mu\text{l/min}$ und $500 \mu\text{l/min}$ entspricht dies den Kollisionsfrequenzen von 5833 CHO-Zellen/s, 11667 CHO-Zellen/s und 58333 CHO-Zellen/s an der Barriere. Diese CHO-Zellen müssen dann die gesamte Spaltfläche der Düsenbarriere, d.h. das 101-fache ihrer kreisförmigen Projektionsfläche (bei $d_{\text{CHO}} = 12 \mu\text{m}$), pro Sekunde passieren.

Zur Abschätzung der Machbarkeit eines kontinuierlichen Betriebs kann folgendes Gedankenexperiment durchgeführt werden. Theoretische Kompressionszeiten solcher CHO-Zellen wurden zu 3,168 ms ($\dot{V} = 50 \mu\text{l/min}$), 2,368 ms ($\dot{V} = 100 \mu\text{l/min}$) und 0,013 ms ($\dot{V} = 500 \mu\text{l/min}$) in Kapitel 10.2.2 abgeschätzt. Pufferzeiten für nachrückende Zellen können mit den Kompressionszeiten zuzüglich der mittels der mittleren Geschwindigkeit der Hauptströmung bestimmten

mittleren Nachrückzeiten von $1200 \mu\text{s}$ ($\dot{V} = 50 \mu\text{l/min}$), $600 \mu\text{s}$ ($\dot{V} = 100 \mu\text{l/min}$) und $120 \mu\text{s}$ ($\dot{V} = 500 \mu\text{l/min}$) abgeschätzt werden. Damit wären theoretisch 228 ($\dot{V} = 50 \mu\text{l/min}$), 336 ($\dot{V} = 100 \mu\text{l/min}$) und 7518 ($\dot{V} = 500 \mu\text{l/min}$) Kollisionen pro Sekunde auf den gleichen Ort vor einem Spalt der Barriere möglich.

Mit der Berücksichtigung von realistischen Packungsdichten der CHO-Zellen vor der jeweiligen Barriere wäre ein kontinuierlicher Zellaufschluss für die betrachteten Volumenströme theoretisch machbar. Dagegen spricht, dass die CHO-Zellen über den Kanalquerschnitt nicht homogen verteilt sind, was auch mit der Migration zu Gleichgewichtspositionen (siehe folgende Erläuterungen in Kapitel 9.2.4) begründet werden kann. Zudem wurde die Abschätzung der Kompressionszeiten mit stark vereinfachten Modellen (vgl. Kapitel 10.1.4) durchgeführt. Eine Akkumulation von Zellmaterial an den düsenförmigen Geometrieelementen, die nach Wurm (Wurm, 2011) tatsächlich stattfindet, offenbart Schwächen dieser Abschätzungen.

9.2.2 Drehimpuls der CHO-Zellen

Ob die CHO-Zellen vor dem Auftreffen rotierten und damit möglicherweise eine Drehimpuls-Übertragung bei der Kollision auftrat, kann mit Gl. (18) und $\max(|dv_f/dy|) = 6 \dot{V}_f / (b_{\text{Kanal}} h_{\text{Kanal}}^2)$ über Gl. (13) nach oben hin abgeschätzt werden. Demnach sind $d_{\text{CHO,G}} (\dot{V} = 50 \mu\text{l/min}) \approx 16 \mu\text{m}$, $d_{\text{CHO,G}} (\dot{V} = 100 \mu\text{l/min}) \approx 11 \mu\text{m}$ und $d_{\text{CHO,G}} (\dot{V} = 500 \mu\text{l/min}) \approx 5 \mu\text{m}$. Ein Auftreten von Drehimpulsen kann bei $d_{\text{CHO}} = 7 \mu\text{m}$ mit hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden, wogegen bei $d_{\text{CHO}} = 12 \mu\text{m}$ eine Drehimpuls-Übertragung möglicherweise auftreten kann. Die letztgenannten Abschätzungen wurden ohne Berücksichtigung der Änderung des Geschwindigkeitsprofils vor der Barriere (vgl. Kapitel 8.1.1) durchgeführt und sind deswegen mit Vorsicht zu bewerten.

9.2.3 Umlenkung der Strömung vor der Barriere

Diese Umlenkung (vgl. Kapitel 8.1.1) wird sich aufgrund des geringen Dichteunterschieds zwischen dem Transportmedium und einer CHO-Zelle voraussichtlich auf die Bewegung der CHO-Zelle zeitlich vor dem Auftreffen auswirken. Die vertikale oder laterale Bewegungskomponente der CHO-Zellen würde hierdurch geändert, wodurch diese Zellen schiefe Stöße auf die Barriere ausführen. Ein möglicher Einfluss auf ihren Deformationsprozess wurde in

dieser Arbeit nicht berücksichtigt. Es wurde von Verstopfungserscheinungen an den düsenförmigen Barrieren in Wurm (Wurm & Zeng, 2012) berichtet. Die Zunahme dieser Verstopfung führt wegen der Massenerhaltung der flüssigen Phase zu Veränderungen lokaler Volumenströme an den Barrieren, wodurch die im Rahmen dieser Arbeit erlangten Ergebnisse nur für die Anfangsphase entsprechender Zellaufschluss-Versuche ohne Verstopfungserscheinungen verwendet werden können.

9.2.4 Ort des Treffens der CHO-Zellen auf die Barriere

Ein wichtiger Parameter ist zudem der Ort an der Frontseite der Barriere, wo eine CHO-Zelle mit der Barriere kollidieren könnte. Hierzu können die weiter oben bereits erwähnten Gleichgewichtspositionen (vgl. Kapitel 3.4) eine Rolle spielen. Laut Gl. (23) mit dem maximal bestimmten Wert von $f_L \approx 0,2$ ergeben sich minimale Einlauflängen von $l_{\text{Kanal}}(\dot{V} = 50 \mu\text{l}/\text{min}) \approx 15 \text{ mm}$, $l_{\text{Kanal}}(\dot{V} = 100 \mu\text{l}/\text{min}) \approx 8 \text{ mm}$ und $l_{\text{Kanal}}(\dot{V} = 500 \mu\text{l}/\text{min}) \approx 2 \text{ mm}$ zur Migration der CHO-Zellen in eine Gleichgewichtsposition. Eine wesentliche Schwäche dieser Abschätzung liegt in der Tatsache, dass f_L für einen geraden Kanal mit quadratischem Querschnitt bestimmt wurde (Di Carlo et al., 2009). Bei $\dot{V} = 500 \mu\text{l}/\text{min}$ besteht daher eine Wahrscheinlichkeit, dass die CHO-Zellen unter Vernachlässigung der Umformung des Strömungsprofils auf der strömungszugewandten Seite der Barriere in ihren Gleichgewichtspositionen auf die Barrieren treffen. Die tatsächliche Einlauflänge aus Wurm (Wurm, 2011) wäre dafür ausreichend.

9.2.5 Vergleich der Strömungswiderstandskräfte

Die ermittelten F_z -Kräfte aus den Kapiteln 8.1.2 – 8.1.4 sind relativ stark, was auf die Überlappungsbereiche zwischen modellierter CHO-Zelle und Barrierengeometrie (siehe Abbildung 14) zurückzuführen ist. In der Abbildung 34a und 34b sind dazu Abweichungen präsentiert, die den Unterschied von F_z zu Strömungswiderstandskräften bei vollständig umströmter Kugel (F_{Bezug}) herausstellen sollen. Die prozentualen Verhältnisse ($100 \cdot F_z / F_{\text{Bezug}}$) und die $c_w(\text{Re}_{\text{CHO}})$ -Werte wurden entsprechend Gl. (16) und den diesbezüglichen Erläuterungen in Kapitel 3.3 berechnet.

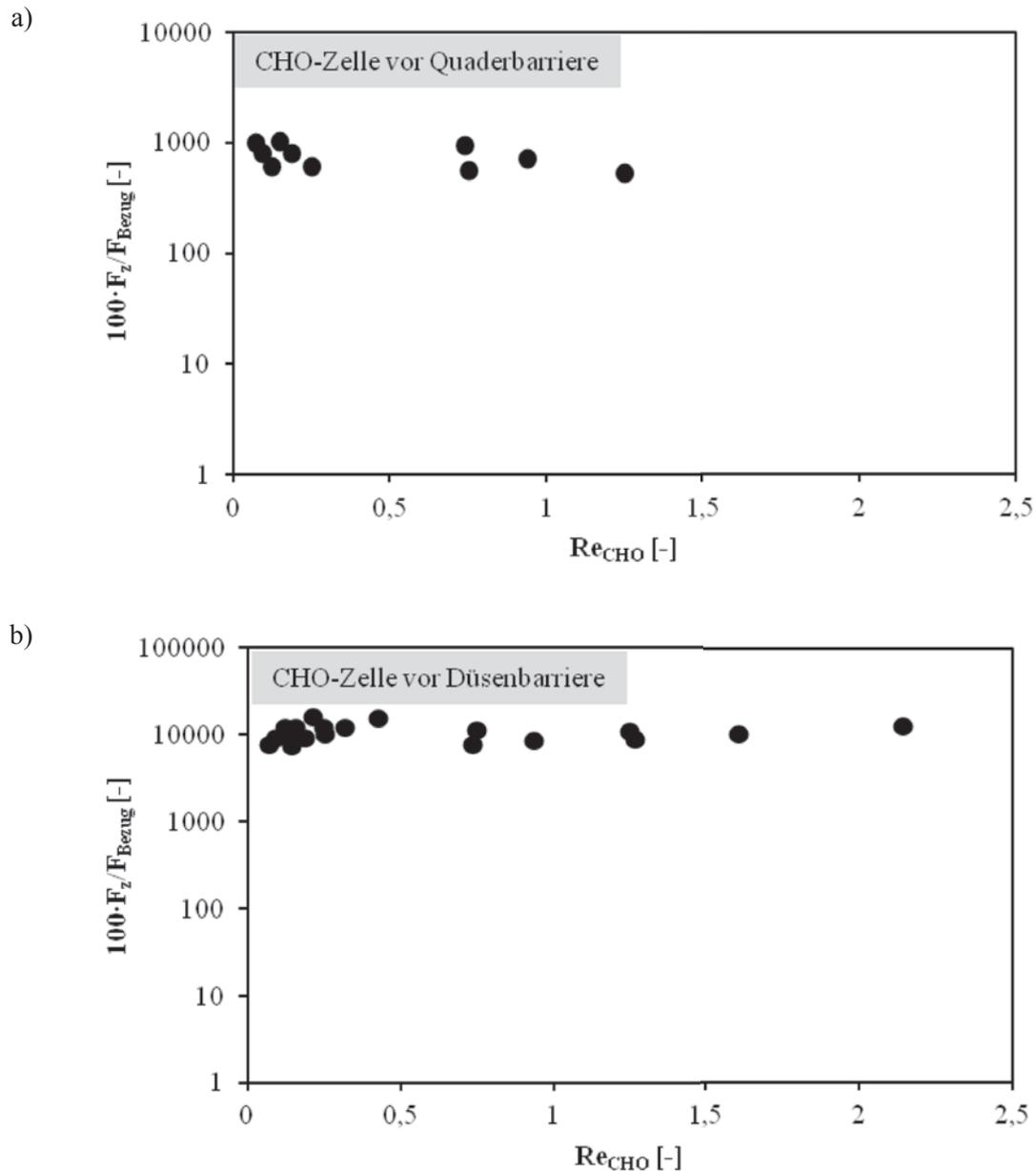


Abbildung 34: Abweichung der F_z -Kräfte von jenen berechneten Kräften aus herkömmlichen Strömungswiderstands-Modellen.

Die $(100 \cdot F_z / F_{Bezug})$ -Werte in Abbildung 34b sind um circa den Faktor 10 größer als die in Abbildung 34a gezeigten Werte. Ein wesentlicher Grund hierfür ist die viel kleinere Durchströmungsfläche in der Düsenbarriere. Alle berechneten $(100 \cdot F_z / F_{Bezug})$ -Werte sind vergleichsweise groß, wofür die ausgesparten Vernetzungsflächen der Zelloberfläche in den Überlappungsbereichen (siehe Abbildung 14) verantwortlich sein können. Alle numerisch ermittelten F_z -Werte sind damit nach oben abgeschätzt worden. Es ist jedoch wahrscheinlich, dass durch die Änderung des Strömungsprofils vor der Barriere (Kapitel 8.1.1) möglicherweise höhere mittlere Anströmgeschwindigkeiten vorlagen.

9.2.6 Deformation der CHO-Zellen

Mit der Modellierungsart (siehe Kapitel 7) wurde die dynamische Deformation der CHO-Zellen vollständig vernachlässigt, da durch die räumliche Fixierung des CHO-Zellmodells nur die maximalen Strömungskräfte auf diese Zellen während ihrer Kollision mit der Barriere untersucht werden. In Realität müssten die CHO-Zellen dafür bis zum Verschwinden ihrer translatorischen Geschwindigkeit abbremsen. Dieser Vorgang kann bei niedrigen Volumenströmen der Zellsuspension stattfinden, was voraussichtlich auch zum Verstopfen der Spalte führt, wie von Wurm (Wurm, 2011) beobachtet wurde. Eine weitere Modellschwäche ist die formstarre und oberflächen-glatte Nachbildung der CHO-Zellen. Bei entsprechenden Strömungskräften würden CHO-Zellen deformieren, was aus Rasterkraftmikroskopie-Versuchen an CHO-Zellen (Zhao et al., 2006; Carl & Schillers, 2008) gefolgert werden könnte. Die nötigen Kräfte zur Deformation der CHO-Zellen, welche mithilfe der Kraft-Weg-Kurven aus den letztgenannten Veröffentlichungen ermittelt wurden, sind dort im einstelligen Nano-Newton-Bereich eingeordnet. Allerdings haben jene Autoren adhärent-wachsende- und nicht suspensions-adaptierte Zellen untersucht. Zudem wurde dort jede CHO-Zelle mit einer konstanten Geschwindigkeit der AFM-Spitze beansprucht. Im Gegensatz dazu wird das viskose Verhalten der Zellen, zusammen mit den Relaxationszeiten bei der Zelldeformation (MacQueen et al., 2010), mit dem Umströmungsprofil der CHO-Zelle an der Barriere voraussichtlich in Wechselwirkung stehen. Durch die dynamische Deformation der CHO-Zelle an der Barriere käme es somit zu sich kontinuierlich ändernden F_y - und F_z -Werten (vgl. Abbildung 16), was im Rahmen dieser Arbeit nicht untersucht wurde.

9.2.7 Vorteil der Elementtypen für den Zellaufschluss

Die wirkenden Strömungskräfte auf die modellierten Zellen sind angesichts der wesentlich kleineren Durchströmungsfläche innerhalb der Düsenbarriere größer als bei den Quaderbarrieren. Bei der erstgenannten Barriere werden die CHO-Zellen und die Strömung durch die runde Front dieser Barriere zum Spalt geführt. Bei der zweitgenannten Barriere wird die Plasmamembran der CHO-Zellen noch durch die bei den Modellierungen vernachlässigten messerscharfen Kanten beansprucht. Ein besseres Zellaufschlusspotential bezüglich der Strömungskräfte wird deswegen der Düsenbarriere zugeschrieben. Der Einfluss der messerscharfen Kanten auf das Zellaufschlusspotential kann mithilfe dieser Arbeit nicht bewertet werden.

9.2.8 Wahrscheinlichkeit des Zellaufschlusses

Eine schwache Abschätzung zur Zellaufschluss-Wahrscheinlichkeit kann mit der Gleichsetzung des Deformationswegs mit dem eigentlichen Zelldurchmesser in dem modifizierten Hertz-Modell aus Carl und Schillers (Carl & Schillers, 2008) erhalten werden. Dieses Modell gilt für u.a. kleine und elastische Deformationen sowie reibungsfreie Grenzflächen. Alle genannten Annahmen treffen für die sich deformierende CHO-Zelle vor dem Spalt der Barriere im Rahmen dieser Arbeit nicht zu. Zudem steigt der scheinbare Elastizitätsmodul der CHO-K1-Zellen mit steigender Belastungsgeschwindigkeit nach Zhao et al. (2006). Die durchschnittlichen Strömungsgeschwindigkeit bei dem simulierten minimalen Volumenstrom von $\dot{V} = 50 \mu\text{l}/\text{min}$ (siehe Kapitel 7.1) war $v_{\text{Medium}} \approx 0,01 \text{ m/s}$. Diese Geschwindigkeit ist mindestens um die Faktoren 100 bis ca. 10000 größer als jene experimentell genutzten Belastungsgeschwindigkeiten in Zhao et al. (Zhao et al., 2006). Dieser Sachverhalt legt nahe, dass die folgenden Abschätzungen der Werte $F_{\text{Berst}, 7\mu\text{m}}$ und $F_{\text{Berst}, 12\mu\text{m}}$ noch nach oben korrigiert werden müssen.

Mit den Ergebnissen von Carl und Schillers (Carl & Schillers, 2008) können die Berstkräfte für CHO-Zellen mit $d_{\text{CHO}} = 7 \mu\text{m}$ und $12 \mu\text{m}$ bei einer Belastungsgeschwindigkeit von $1 \mu\text{m}/\text{s}$ damit auf $F_{\text{B}, 7\mu\text{m}} < 0,09 \mu\text{N}$ und $F_{\text{B}, 12\mu\text{m}} < 0,19 \mu\text{N}$ abschätzend eingegrenzt werden. Ob jedoch die nötigen Berstkräfte tatsächlich mit zunehmender Zellgröße steigen bleibt zu untersuchen. Im Gegensatz hierzu wurden bei Hefezellen die Berstkräfte als invariant gegenüber ihrer Zellgröße beschrieben (Mashmouhy et al., 1998). Mittels $F_{\text{B}, 12\mu\text{m}}$ ist die Wahrscheinlichkeit vergrößert, dass bereits Zellen mit $d_{\text{CHO}} = 12 \mu\text{m}$ bei $\dot{V} = 100 \mu\text{l}/\text{min}$ an den Düsenbarrieren aufgeschlossen werden könnten. Eine weitere Untermauerung der Annahme versprechen die experimentellen Ergebnisse bei gleicher Düsengeometrie (Wurm, 2011). Mit den dort eingestellten Volumenströmen von $\dot{V} = 50 \mu\text{l}/\text{min}$ und $\dot{V} = 120 \mu\text{l}/\text{min}$ konnten bereits Aufschlüsse von CHO^{SFS}-Zellen beobachtet werden, deren mittlere Zellgröße bei $d_{\text{CHO}} = 12 \mu\text{m}$ (Wurm, 2011) lag.

Die Kraft $F_{\text{B}, 7\mu\text{m}}$ lässt vermuten, dass CHO-Zellen mit $d_{\text{CHO}} = 7 \mu\text{m}$ bei den betrachteten Volumenströmen an der Quaderbarriere nicht zwingend aufgeschlossen werden. Daneben bestätigen entsprechende experimentelle Versuchsreihen mit CHO^{SFS}-Zellen (Wurm, 2011), dass es bei einem höheren Volumenstrom von $\dot{V} = 650 \mu\text{l}/\text{min}$ zu keinem effektiven Zellaufschluss und ebenfalls zur Verblockung der Quadergeometrie kam.

Nach Abbildung 26 nehmen die Strömungskräfte mit abnehmender Prozesstemperatur signifikant zu. Eine gleiche Tendenz kann auch für die Quaderbarriere prognostiziert werden, da nur ρ_{TC42+G} und η_{TC42+G} variiert wurden. Ob ein Zellaufschluss bei niedrigen Temperaturen daher sinnvoller ist, kann wegen fehlender Daten zum mechanischen Verhalten von CHO-Zellen nicht ausreichend diskutiert werden. Jedoch können vereinzelte Aussagen zu Zellbestandteilen gemacht werden. Es wird vermutet, dass die Belastungen auf die Plasmamembran für einen Zellaufschluss bei niedrigen Temperaturen größer werden müssen, da deren Biegesteifigkeit und das Flächendehnungsmodul zunehmen (vgl. Kapitel 5.2). Durch den Zerfall der Mikrotubuli bei unter 5°C (vgl. Kapitel 5.3) entfällt dagegen eine Komponente zur Erhaltung der inneren Zellstabilität.

Um die nötigen Strömungskräfte zum Aufschluss der CHO-Zellen zu senken, wäre eine Verdünnung des Mediums mit salzfreien Flüssigkeiten zur Senkung der extrazellulären Osmolarität möglicherweise sinnvoll (siehe Kapitel 5.1).

9.3 Ablösen einer haftenden CHO-Zelle von einer Kanalwand

9.3.1 Anwendbarkeit des Geschwindigkeitsprofils

Werden bei der realen Zellkonzentration von $7,5 \cdot 10^6$ CHO-Zellen/cm³ in dem Strömungskanal (Zhang et al., 2008) nur die orthographischen Projektionen der CHO-Zellen auf den Kanalboden berücksichtigt, so ergeben sich bei Annahme einer gleichmäßigen horizontalen Zellverteilung freie Flächen um jede haftende CHO-Zelle. Diese Flächen sind das 112-, 19- und 6-fache der Projektionsflächen von sphärischen CHO-Zellen mit $d_v = d_{\text{CHO}} = 5 \mu\text{m}$, $12 \mu\text{m}$ und $20 \mu\text{m}$. Aufgrund $Re_{\text{CHO}} < 1$ (vgl. Abbildung 31) wird voraussichtlich ein laminares Strömungsprofil vor jeder haftenden CHO-Zelle voll ausgebildet sein. Somit kann das Geschwindigkeitsprofil nach Gl. (9) als Randbedingung für die Einlassfläche des Modellraumes angewendet werden.



9.3.2 Einflussparameter beim eigentlichen Ablösevorgang

Die Dynamik des Ablösevorgangs haftender CHO-K1-Zellen von Kanalwänden sowie mögliches Rollverhalten (vgl. Kapitel 5.5) wurde vollständig vernachlässigt. Stattdessen wurden geschätzte Deformationsphasen nachgebildet, mit deren Hilfe charakteristische Strömungsgrößen berechnet wurden. Zudem wurde angenommen, dass die Relaxationszeit bezüglich der Deformationsgeschwindigkeit über die gesamte Zelle unendlich klein ist, wodurch immer die maximal möglichen Belastungen durch die Strömung bestimmt wurden. Dies mag im Widerspruch zu numerisch ermittelten Ablösezeiten für deformierenden Leukozyten von Substraten liegen, die mehrere Sekunden betragen können (N'Dri et al., 2003). Diese Ablösezeiten hängen auch von den Zellmembranfortsätzen ab, die der CHO-Zelle eine spezielle Oberflächenstruktur geben und die Hafteffektivität beeinflussen können (Williams et al., 2001), was über die ermittelten Ablösekräfte indirekt berücksichtigt wurde. Diese Ablösekräfte wurden durch die genannten Vereinfachungen in dieser Arbeit wahrscheinlich überbestimmt (Pappu et al., 2008).

Die ermittelten negativen Kräfte F_y (Abbildung 27) führen bei Annahme einer momentan oberflächen-starren CHO-Zelle zu einem Drehmoment, durch das die CHO-Zelle theoretisch zum Rollen kommen könnte. Solch ein Rollverhalten wurde beispielsweise bei ähnlich geformten Leukozyten festgestellt (Dong & Lei, 2000; N'Dri et al., 2003; Pappu et al., 2008). Die in Strömungsrichtung wirkenden Kräfte auf die entsprechenden Zellen besaßen eine Stärke, die im einstelligen Nano-Newton-Bereich zu finden ist (Dong & Lei, 2000). In Anbetracht der ähnlichen Größe und Form der Leukozyten zu suspensions-adaptierten CHO-Zellen, sind die in Kapitel 8.2.1 vorgestellten Kräfte im gleichen Größenbereich angesiedelt. Obwohl das Rollen von CHO-Zellen in dieser Arbeit nicht berücksichtigt wurde, wird dieses Phänomen den Ablösevorgang ebenfalls beeinflussen.

9.3.3 Vergleich der ermittelten Haftkräfte mit Literaturdaten

Die bestimmten Strömungskräfte F_y und F_z für die Formen I (vgl. Abbildung 27) sind um das durchschnittlich 100-fache kleiner als bei haftenden, weichen Hefezellen auf Oberflächen in Wasser (Weigl, 2004). Gleichzeitig fallen die F_y - und F_z -Werte in den bestimmten Kraftbereich für haftende starre Partikel auf Oberflächen in Wasser. Hier muss jedoch auf die unterschiedlichen Methoden zur Bestimmung der Haftkräfte, die betrachteten Kraftkomponenten

und die unterschiedlichen Zellarten hingewiesen werden. Es wäre zu erwarten, dass die nötigen Kräfte zur Überwindung der Haftkräfte angesichts der flacheren Krümmung bei CHO-Zellen stärker sind, wodurch mehr nutzbare Haftfläche mit den Zellmembranfortsätzen vorhanden wäre. Der letztgenannte Autor erklärt jedoch auch, dass die verwendeten Grenzflächenspannungen diskussionswürdig sind und Abweichungen von zwei bis drei Zehnerpotenzen nicht kompensiert werden konnten.

9.3.4 Bezug zur Situation Zellaufschluss

Ein direkter Vergleich der hier bestimmten Haftkräfte (vgl. Abbildung 27) mit den Strömungskräften in den Kapiteln 8.1.2 – 8.1.4 ist wegen der unterschiedlichen geometrischen Formen der Zell-Wand-Kontaktflächen und den durch die Umströmung verschiedenen Belastungssituationen nicht direkt möglich. Jedoch wurden mit F_y , F_z , $F_{z/y}$ und μ wichtige Kraftgrößenbereiche und Parameter charakterisiert, mit deren Hilfe das Ablöseverhalten von haftenden CHO-Zellen in mikrofluidischen Systemen besser eingeschätzt werden können.

9.3.5 Einfluss der Energiedissipation an der Zelloberfläche

Die ermittelten ε -Werte erzeugen einen Eindruck der Zelloberflächenbeanspruchung durch Scherkräfte. In einigen Publikationen wurde diese mechanische Größe mit Zellzerstörungseignissen in Beziehung gesetzt (Ma et al., 2002; Mollet et al., 2007). Dabei wurden die ε -Werte jedoch über größere räumliche Bereiche ermittelt und nicht wie hier als Profil über die Zelloberfläche. Ein Vergleich zur Abschätzung der Wahrscheinlichkeit von Zellzerstörung ist daher mit äußerster Vorsicht zu verwenden. Mit signifikanten Zellzerstörungseignissen ist bei $\varepsilon > 10^8 \text{ W/m}^3$ nach den genannten Veröffentlichungen zu rechnen. Da die in Abbildung 29 gezeigten ε -Werte um drei Zehnerpotenzen kleiner sind, wird kein Zellaufschluss erwartet.

9.3.6 Vergleich der Widerstandskoeffizienten mit Literaturdaten

Bei einem Vergleich mit Ergebnissen, die mit ganzen Ellipsoiden gewonnen wurden (Zastawny et al., 2012), wurde keine direkte Übereinstimmung der Tendenzen festgestellt.



9 Diskussionen der Ergebnisse zu den Umströmungssimulationen

Dort steigt der c_w -Wert mit größer werdenden, äquivalentem α , wogegen hier α von 45° (Form II) auf 30° (Form III) kleiner wird. Die verschiedenen und nicht-symmetrischen Strömungsbedingungen beim oberen und unteren Teil des Ellipsoiden in Zastawny et al. (2012) könnten ursächlich hierfür sein. Ein Vergleich der $c_w(\text{Re}_{\text{CHO}})$ -Werte (Abbildung 31) und Berechnungen mit Annäherungsgleichungen für $c_w(\text{Re}_p)$ (vgl. Kapitel 3.3, letzter Abschnitt) ergab signifikante Unterschiede. Letztere Berechnungsergebnisse betragen jeweils 47 % bis 67 % von $c_w(\text{Re}_{\text{CHO}})$, was mit dem höheren Anteil an Reibungskräften in F_z (siehe Abbildung 28) im Vergleich zur vollständig umströmten Kugel erklärt werden kann (Schnegas et al., 2013).

Dem Autor dieser Arbeit sind keine weiteren Veröffentlichungen bekannt, in denen Widerstands- und Reibungskoeffizienten in gleicher Art und Weise für biologische Zellen bestimmt wurden. Die ermittelten Reibungskoeffizienten können nach Bekanntwerden von Haft-, Gleit- oder Rollreibungskoeffizienten als Vergleichsgrößen herangezogen werden.



10 Abschätzung der Kompressionsphase einer CHO-Zelle beim Stoß

Für die Bestimmung der Restitutionskoeffizienten von relativ großen Partikeln mit $\rho_p \gg \rho_f$ lässt sich das Prinzip des freien Falls mit einer entsprechenden Vorrichtung anwenden, wie in Fries (Fries, 2012) dargestellt. Bei biologischen Zellen, die von einem flüssigen Medium umgeben sind, ist dieses Prinzip nicht direkt anwendbar. Die relativ große Widerstandskraft durch die flüssige Phase bewirkt ein schnelles Erreichen des Kräftegleichgewichts in Sinkrichtung. Durch $\rho_p \approx \rho_f$ mit $\rho_p > \rho_f$ ist die Sinkgeschwindigkeit relativ gering. Eine Abschätzung hierzu liefert $F_W = F_{\Delta p}$ nach den Gln. (16) und (19): $v_t (d_{\text{CHO}} = 15 \mu\text{m}) \approx 3 \mu\text{m/s}$ und $v_t (d_{\text{CHO}} = 12 \mu\text{m}) \approx 2 \mu\text{m/s}$.

Im Folgenden wird eine Methode vorgeschlagen, mit deren Hilfe Kompressionsphasen (vgl. Kapitel 4.1) von CHO-Zellen bei einem Stoß abgeschätzt werden könnten, ohne ein entsprechendes Experiment oder komplexe, gekoppelte und numerische Berechnungen der Strömungsmechanik und Zelldynamik durchzuführen. Es werden jedoch noch experimentelle Versuchsreihen mit einem Rasterelektronenmikroskop oder Nanoindenter zur Validierung des Modells benötigt.

Für die Modellierungen in den Kapiteln 10.1.3 und 10.1.4 wurden die gleichen mechanischen Größen der flüssigen Phase wie in Kapitel 7.1 gewählt, um die Ergebnisse kapitelübergreifend diskutieren zu können.

Die experimentellen Daten aus Rasterkraftmikroskopie-Versuchen, auf deren Basis das im folgende vorgestellte Modell basiert, wurden jedoch bei 37 °C generiert (Zhao et al., 2006), wodurch sich aufgrund der unklaren Temperatur des Standard-Kulturmediums (Kapitel 7.1) eine temperaturbedingte Fehlerquelle ergibt. Außerdem wurden adhärent-wachsende- anstatt Suspensions-adaptierte CHO-Zellen untersucht, was eine zweite Fehlerquelle darstellt.

Aus einem Mangel an entsprechenden experimentellen Untersuchungen zu Suspensions-adaptierten CHO-Zellen in der Literatur wurden der letztgenannte Artikel sowie ein Artikel von Carl & Schillers (2008) als experimentelle Stütze für die folgenden Modellierungen verwendet.

Zuerst wurde ein modifiziertes Hertz-Modell (Carl & Schillers, 2008) verallgemeinert, welches eigentlich bei der Rasterkraftmikroskopie von CHO-Zellen zur Bestimmung ihrer Elastizitätsmodule (E) angewendet wird. Anschließend wird eine Adaption von Ergebnissen aus der Rasterkraftmikroskopie an die Modellierung eines Stoßvorganges diskutiert (Kapitel 10.1.2). Schließlich werden zwei Modelle für das Deformationsverhalten einer CHO-Zelle bei einem Stoßvorgang (Kapitel 10.1.3) und einer Kollision mit der Düsenbarriere (Abschnitt 10.1.4) vorgestellt.

10.1 Modellierungen

Ein wesentlicher Unterschied beider Beanspruchungsarten (Abbildung 35a und 35b) ist die einseitige und zweiseitige Belastung der CHO-Zelle bei einem Stoß und der Rasterkraftmikroskopie. Bei der Rasterkraftmikroskopie wird die CHO-Zelle gewöhnlich mit einer konstanten Geschwindigkeit (v_{Kegel}) beansprucht (Carl & Schillers, 2008; Zhao et al., 2006), wogegen die translatorische Geschwindigkeit der CHO-Zelle in der Kompressionsphase eines Stoßvorganges ($v_{\text{CHO}} \neq \text{konst.}$) mit zunehmender Eindringtiefe (δ_1) abnimmt.

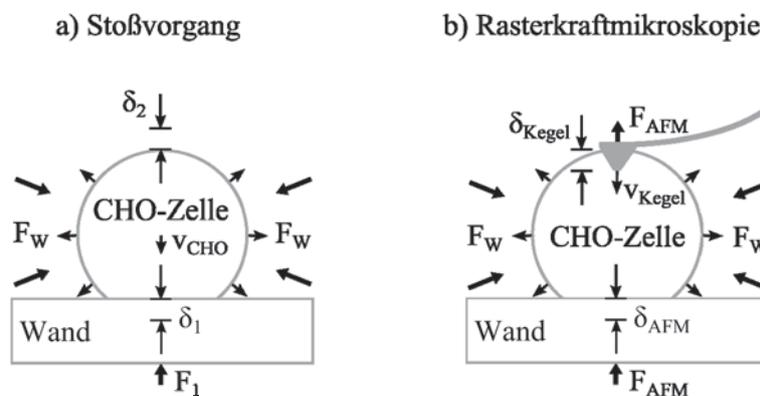


Abbildung 35: Prinzipien eines Stoßvorganges (a) und einer Rasterkraftmikroskopie (b).

In Abbildung 35 sind die Kräfte der extrazellulären flüssigen Phase, welche den geometrischen Ausdehnungen der CHO-Zellen während ihrer Deformation entgegenwirken, mit F_w schematisch dargestellt. Die sich ausdehnenden Bereiche der CHO-Zelloberfläche sind mit kleineren, schwarzen Pfeilen zur Richtungsweisung der Ausdehnung angedeutet. Die Kompressionsstrecken mit Relevanz für die Kraft-Weg-Kurven sind mit δ gekennzeichnet. Die gegenwärtigen Widerstandskräfte und Beanspruchungsgeschwindigkeiten sind mit F_1 , F_{AFM} und v_{CHO} abgekürzt.

10.1.1 Modifizierung des Hertz-Modells

Aufgrund ihrer leichteren Handhabung wurde das Hertz-Modell für kugelförmige Cantilever-Spitzen in Gl. (36) aus Carl und Schillers (2008):

$$F_{\text{AFM}} = \frac{4}{3} \frac{E(v_{\text{AFM}}, \delta, d_{\text{CHO}})}{1 - \nu_{\text{Poi}}^2} \sqrt{R} \delta^{3/2}, \quad (36)$$

anstatt Gl. 1 in Zhao et al. (2006) für kegelförmige Cantilever-Spitzen (obwohl pyramidenförmigen Spitzen verwendet wurden) zur Erweiterung verwendet. Sehr wichtige Größen in Gl. (36) sind die aktuelle Belastungsgeschwindigkeit (v_{AFM}), die aktuelle Kompressionsstrecke (δ) und der Zelldurchmesser (d_{CHO}). Aus Tabelle 1 (Carl & Schillers, 2008) ist keine simple Proportionalität zwischen der Größe E und dem Radius der Kugel an der Cantilever-Spitze (R) erkennbar. Für eine möglichst breitflächige Belastung der CHO-Zelloberfläche zur Modellierung ihrer Umströmung an der düsenförmigen Barriere wurde daher einfach der größte Kugeldurchmesser der Cantilever-Spitze herangezogen.

Eine Abhängigkeit der Größen v_{AFM} , δ und d_{CHO} zueinander ist dagegen in Zhao et al. (2006) (Bild 4b, siehe Abbildung 36) unter Verwendung einer pyramidenförmigen Cantilever-Spitze ($R \approx 50 \text{ nm}$) zu finden.

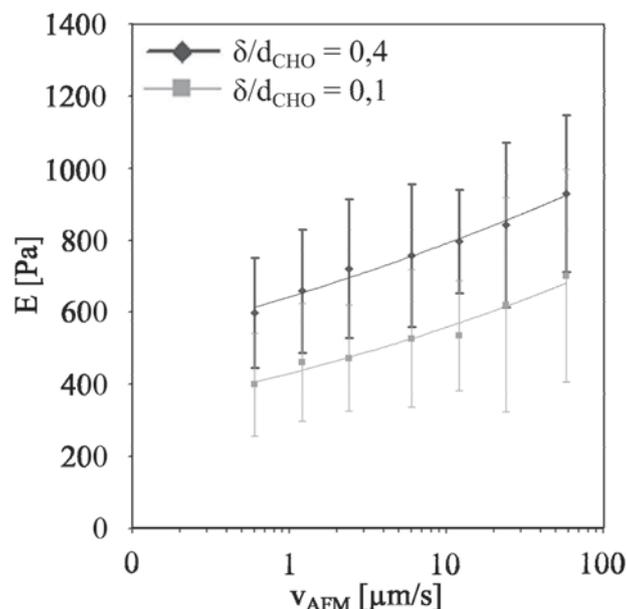


Abbildung 36: Modifiziertes Bild 4b aus Zhao et al. (2006)

Um eine Erweiterung von Gl. (36) überhaupt durchführen zu können, wurden die Werte aus Abbildung 36 für einen Ausdruck von $E(v_{\text{AFM}}, \delta, d_{\text{CHO}})$ mithilfe von Intra- und Extrapolationen verwendet.

Hierfür wurde angenommen, dass die Steigungen der Kurven für verschiedene, normalisierte Kompressionsstrecken (siehe $\delta/d_{\text{CHO}} = 0,4$ und $0,1$) mit $k_{\text{St}} \approx 300/\log(60/0,7)$ [Pa/log[m/s]] gleichwertig sind, was noch experimentell validiert werden muss. Für den Achsenabschnitt wurde eine lineare Proportionalität zur normalisierten Kompressionsstrecke (δ/d_{CHO}) angenommen. Die Funktion $E(v_{\text{AFM}}, \delta, d_{\text{CHO}})$ mit $\delta > 0$ m, $2000/3$ [Pa] und $1075/3$ [Pa] kann dann mit Gl. (37):

$$E(v_{\text{AFM}}, \delta, d_{\text{CHO}}) = k_{\text{St}} \log(10^6 v_{\text{AFM}}) + \frac{2000}{3d_{\text{CHO}}} \delta + \frac{1075}{3} \quad (37)$$

beschrieben werden. Damit Gl. (37) physikalisch sinnvoll bleibt, muss $E > 0$ Pa gewährleistet sein. Der Gültigkeitsbereich für v_{AFM} sei damit auf $v_{\text{AFM}} > 5$ nm/s beschränkt. Mithilfe weiterer experimenteller Parameterstudien für $E(v, \delta, d_{\text{CHO}})$ könnte Gl. (37) auf ihre Gültigkeit überprüft werden. Eine Schwäche des Modells ist natürlich die Vermengung von unterschiedlichen Methoden und Ergebnissen aus zwei Veröffentlichungen.

10.1.2 Übertragung der mechanischen Beanspruchung einer CHO-Zelle

Bei der Rasterkraftmikroskopie (siehe Abbildung 35, b) wird die aufgewendete Energie zum Eindringen einer flüssigkeitsumgebenen CHO-Zelle E_{AFM} zum Teil in Reibungs- und Deformationsenergie in der CHO-Zelle umgewandelt. Ein weiterer Teil dieser Energie wird bei der Zelldeformation als Druck- und Reibungsenergie in das extrazelluläre, flüssige Medium weitergeleitet. Die Energieaufnahme der Auflagefläche soll im Folgenden als vernachlässigbar klein eingestuft werden.

Den ersten Schritt zur Adaption wurde mit der Gleichsetzung der Energien E_{kin} ($v_{\text{CHO}} =$ initiale Stoßgeschwindigkeit) und E_{AFM} vollzogen, womit E_{AFM} und somit auch die gesamte Reibungs- und Deformationsenergie nach oben hin begrenzt werden. Der minimale Einfluss des Mediums auf das Herabsenken der AFM-Spitze wurde hier zur Vereinfachung vernachlässigt.

Der zweite Schritt zur Adaption ist die grobe Gleichsetzung der Deformationsenergien und der intra- und extrazellulären Komponenten der Reibungsenergien, die bei den seitlichen Ausdehnungen der CHO-Zelle eine Rolle spielen. Dies ist eine hier notwendige Vereinfachung. Eine genaue Analyse erfordert nämlich die Verteilung der Strömungswiderstandskräfte über die CHO-Zelloberfläche bei ihrer seitlichen Ausdehnung, deren Dynamik dafür bekannt sein müsste und zudem mit den Strömungswiderstandskräften in Wechselwirkung steht.

10 Abschätzung der Kompressionsphase einer CHO-Zelle beim Stoß

Für die genaue Bestimmung der intrazellulären Reibungskräfte müssten die geometrische Zellmikrostruktur mit den netzartigen Strukturen des Zytoskeletts und die räumliche Verteilung der Größe η des Zytosols bekannt sein.

Der dritte Schritt zur Adaption ist die Unterteilung der Deformationsenergie in drei Komponenten. Ein Teil bezieht sich auf δ_{Kegel} , ein anderer Teil bezieht sich grob auf die seitlichen Ausdehnung der CHO-Zelle und der letzte Teil auf δ_{AFM} . Die gleiche Unterteilung kann auf eine flüssigkeitsumgebende CHO-Zelle bei einem Stoß auf eine Wand (siehe Abbildung 35, a) angewendet werden. Die abnehmende kinetische Energie E_{kin} der CHO-Zelle wandelt sich in Deformationsenergie in Bezug auf δ_2 , die seitliche Ausdehnung der CHO-Zelle und δ_1 um.

Der vierte Schritt zur Adaption ist die grobe Annahme $\delta = \delta_{\text{Kegel}} + \delta_{\text{AFM}} \approx \delta_1 + \delta_2$. Dadurch wird die Kompressionsstrecke der Zelle anhand ihrer Kompression in Stoßrichtung und nicht anhand der zurückgelegten Strecke des geometrischen Mittelpunktes der CHO-Zelle festgemacht. Für den Stoß (siehe Kapitel 10.1.3) wird jedoch vermutet, dass die zellseitige Energieumwandlung an der Kontaktfläche zwischen CHO-Zelle und Wand wesentlich größer als an der gegenüberliegenden Seite der Zelle ist ($\delta_1 \gg \delta_2$), da nur δ_1 zwischen den mittleren Angriffspunkten der kinetischen Energie und der Gegenkraft liegt. Die Kraft F_{AFM} ist dennoch abhängig von $R^{0,5}$ nach Gl. (36). Am Beispiel der Ergebnisse von Carl & Schillers (Carl & Schillers, 2008) bei $R = 6,3 \mu\text{m}$ bis $R = 26,4 \mu\text{m}$, mit Berücksichtigung der Standardabweichungen, kann sich ein Kraftverhältnis von $(26,4/6,3)^{0,5} \approx 2$ trotz gleicher Kompressionsstrecke und eine zusätzliche Fehlerquelle ergeben. Je größer R , desto schwächer ist die Krümmung und desto eher gleicht der Kontaktbereich zwischen Spitze und CHO-Zellen jenem Kontaktbereich zwischen Wand und CHO-Zelle. Daher würden mit stempelförmigen Spitzen, die bei Indentern wie in Arfsten et al. (Arfsten et al., 2009) zur Anwendung kamen, besser nutzbare, experimentelle Ergebnisse generiert. Daneben können die Deformationsenergien an der CHO-Zelloberseite durch das trägheitsbedingte Eindringen beim Stoß und dem forcierten Eindringen durch die AFM-Spitze nicht direkt verglichen werden.

Weitere Fehlerquellen:

- Für die Berechnungen bezüglich der Kompressionsphase wird Gl. (21) aufgrund der hohen Komplexität ihrer Berechnung (Kast, 2006) hier ebenfalls nicht berücksichtigt. Nach Sommerfeld (Sommerfeld, 1996) ist ein Einfluss der letztgenannten Gleichung bei dem entsprechenden Verhältnis der Massedichten jedoch nicht auszuschließen.



10 Abschätzung der Kompressionsphase einer CHO-Zelle beim Stoß

- Es ist zu berücksichtigen, dass es sich bei den experimentellen Rasterkraftmikroskopie-Versuchen (Carl & Schillers, 2008; Zhao et al., 2006) um adhären-wachsende CHO-Zellen im Gegensatz zu den hier modellierten suspensions-adaptierten CHO-Zellen handelt.
- Die geometrische Abweichung der Deformationsphase zur Kugelform ist ein Maß für die Genauigkeit der Gln. (16), (19) und (20). Diese Genauigkeit dürfte mit dem Vorranschreiten der Kompression kontinuierlich abnehmen und in der Ablösephase wieder zunehmen. Die „strömungszugewandte“ Seite der CHO-Zelle, zwischen CHO-Zelle und Wand, wird mit zunehmender Kompressionsstrecke immer kleiner, was durch die Bildung der Kontaktfläche bedingt ist. Zudem sind die berücksichtigten und vernachlässigten Kräfte abhängig von der Art der Zellverformung an der Kontaktfläche, die im Rahmen dieser Arbeit ebenfalls nicht untersucht wurde.

10.1.3 Kompressionsphase einer CHO-Zelle bei einem vertikalen, normalen Stoß auf eine planare Wand

Das hier aufgestellte Modell beschreibt im Idealfall das Absetzen einer CHO-Zelle auf eine Trägerplatte in wässriger Umgebung zur ihrer anschließenden, mikroskopischen Untersuchung. Daneben wurde der Einfluss einer Kraft modelliert, die nach dem Prinzip einer Zentrifuge die Sinkgeschwindigkeit dieser Zellen vergrößert.

Die Einflüsse der statischen Auftriebs- und der Strömungswiderstandskraft nehmen voraussichtlich mit zunehmender Kompressionsstrecke (entspricht hier ungefähr der zurückgelegten Strecke des geometrischen Mittelpunktes der CHO-Zelle) ab, wodurch der Einfluss der Gewichtskraft zunimmt. Die abdrängende Flüssigkeit nahe der Kontaktfläche, durch die sich seitliche ausdehnende CHO-Zelle, verursacht eine Gegenkraft zur Gewichtskraft. Diese Gegenkraft macht damit noch undefinierte Teile der virtuellen Massenkraft und des Basset-Terms aus.

Mit den diskutierten Vereinfachungen kann die Gl. (38) aus den Gln. (16), (19), (36) und (37) aufgestellt werden:

$$(m_{\text{CHO}} - m_v) \ddot{\delta} = F_{\Delta p} - F_{\text{AFM}}(\delta, \dot{\delta}) - F_w(\dot{\delta}). \quad (38)$$

Die virtuelle Masse (siehe dazu Kapitel 3.3) wird von m_{CHO} subtrahiert, da es sich hier um eine Entschleunigung der CHO-Zelle handelt. Es wurde eine Parameterstudie mit Gl. (38) in

10 Abschätzung der Kompressionsphase einer CHO-Zelle beim Stoß

Abhängigkeit der Schwerkraft, die in Gl. (19) enthalten ist, durchgeführt und dafür die initiale Schrittweite der Kompressionsstrecke mit $\Delta\delta_{\max} = d_{\text{CHO}}/1000$ willkürlich festgelegt. Der jeweilige Zeitschritt ergab sich damit zu $\Delta t = d_{\text{CHO}}/(1000 \cdot v_t)$. Der entsprechende Berechnungsalgorithmus ist in Anhang B.4 dargestellt.

Für die Berechnungen wurde der größte Kugelradius $R = 26,4 \mu\text{m}$ (Zhao et al., 2006) gewählt, bei dem die entsprechende Krümmung der einer planaren Fläche am ehesten entspricht. Desweiteren wurden folgende Parameter zu Grunde gelegt: $d_{\text{CHO}} = 12 \mu\text{m}$, $\nu_{\text{Poisson}} = 1/2$, $\rho_{\text{CHO}} = 1050 \text{ kg/m}^3$, $\rho_f = 1000 \text{ kg/m}^3$ und $\eta_f = 0,8 \text{ mPa}\cdot\text{s}$. Die Beschleunigung in Gl. (19) wurde mit $9,81 \text{ m/s}^2$, 20 m/s^2 , 100 m/s^2 , 500 m/s^2 , 1000 m/s^2 , 2000 m/s^2 , 5000 m/s^2 , 10000 m/s^2 und 20000 m/s^2 variiert.

In Kapitel 10.2.1 werden Ergebnisse der Parameterstudie präsentiert.

10.1.4 Kompressionsphase einer CHO-Zelle an der Barriere

Für eine grobe Abschätzung der normalen Kompressionsstrecke einer CHO-Zelle am Spalteingang der Düsenbarriere wurde dieser Spalteingang aus Gründen der rechnerischen Komplexität nur als flache Wand modelliert. Trotzdem wird so getan, als ob die CHO-Zelle umströmt wird. Die wesentlichsten Abweichungen der Versuchsparameter in Bezug auf die Übertragung des modifizierten Hertz-Modells (siehe Kapitel 10.1.2) sind:

- Vor der Barriere berührt die CHO-Zelle die Düsengeometrie an zwei gekrümmten Flächen, wogegen eine flache Auflagefläche unter der AFM-Spitze zur Verfügung steht.
- Im Gegensatz zur Situation bei der Rasterkraftmikroskopie kann die Hauptströmung die CHO-Zelle vor dem Spalt der Düsenbarriere umströmen.
- Die Anwendbarkeit des Hertz-Modells ist wegen zweier krummer Kontaktflächen und Ausbeulung der CHO-Zelle in den Spalt hinein eigentlich nicht mehr gegeben.

Für die Modellierung wurde angenommen, dass kein Gleiten (vgl. Abbildung 5) stattfindet.

Für die Untersuchung wird das Modell der CHO-Zelle mit $d_{\text{CHO}} = 12 \mu\text{m}$ und der Position $y_{\text{CHO},1}$ an der Düsenbarriere verwendet. Die Kräfteberechnung berücksichtigt F_z und F_{AFM} . Die Kraft F_y bzw. $F_{\Delta p}$ wird vernachlässigt, wegen $F_z/|F_y| > 4000$ (vgl. Abbildung 24) und der

10 Abschätzung der Kompressionsphase einer CHO-Zelle beim Stoß

relativ geringen Sinkgeschwindigkeit (siehe Kapitel 10, erster Abschnitt) gegenüber der Geschwindigkeit der Hauptströmung. Mithilfe der genannten Vereinfachungen kann Gl. (39):

$$(m_{\text{CHO}} - m_v)\ddot{z} = F_W(v = v_{f,\text{max}} - \dot{z}) - F_{\text{AFM}}(z, \dot{z}) \quad (39)$$

mit $\delta = z$ und $v_{\text{CHO}} = \dot{z} = \Delta\delta/\Delta t$ aufgestellt werden. Hierbei bezieht sich die Kompressionsstrecke auf die Kompression in Stoßrichtung ($\delta_1 + \delta_2$) und nicht auf die zurückgelegte Strecke des geometrischen Mittelpunktes der CHO-Zelle, da δ_1 zwischen den mittleren Angriffspunkten der kinetischen Energie der CHO-Zelle und der Gegenkraft (bzw. Gegenkräfte) und δ_2 zwischen den mittleren Angriffspunkten der Strömungskraft und der Gegenkraft (bzw. Gegenkräfte) liegt.

Die virtuelle Masse wird wieder subtrahiert, da die Bewegung der CHO-Zelle trotz relativer Beschleunigung zwischen CHO-Zelle und der Umströmung konform mit der Hauptströmungsrichtung verläuft. D.h. die eingebrachte Energie durch den Beschleunigungsteil der Umströmung an der CHO-Zelle unterteilt sich in die zusätzliche, relative Beschleunigung der Flüssigkeitspartikel um die CHO-Zelle herum und den Anteil zur Kompression der CHO-Zelle. Der erstgenannte Anteil verursacht einen Energieverlust, durch den die CHO-Zelle eine in Richtung der Barriere gerichtete, reduzierte Kraft aus der Strömungswiderstandskraft erfährt. In Bezug auf Gl. (39) wird die Gegenkraft (F_{AFM}) dadurch scheinbar verstärkt, was zu einer schnelleren Entschleunigung der CHO-Zelle führt.

Die Anfangsbedingungen wurden zu $z(t = 0 \text{ s}) = 0 \text{ m}$ und $v_{f,\text{max}} - \dot{z}(t = 0 \text{ s}) = 0 \text{ m/s}$ festgelegt. Der Zeitschritt für die numerischen Berechnungen wurde analog wie in Kapitel 10.1.3 mit $\Delta t = d_{\text{CHO}}/(1000 \cdot v_{f,\text{max}}(\dot{V}_f = 500 \text{ } \mu\text{l/min}))$ willkürlich festgelegt. Damit liegt auch hier die maximale, initiale Schrittweite der Kompressionsstrecke bei $\Delta\delta_{\text{max}} = d_{\text{CHO}}/1000$. Für $\dot{V}_f = 50 \text{ } \mu\text{l/min}$ entspricht $\Delta\delta_{\text{max}}$ damit ungefähr der Hälfte einer durchschnittlichen Lipid-Länge (vgl. Kapitel 5.2). Die Gültigkeit des verwendeten Modells für F_{AFM} ist dadurch infrage gestellt, denn das anfängliche Eindringen der Zelloberfläche könnte sich nur lokal zu Umstrukturierungen von Proteinen, Lipidmolekülen und eventuell dem Aktin-Kortex auswirken. Der Berechnungsalgorithmus ist in Anhang B.5 dargestellt.

Es wurden folgende Parameter zu Grunde gelegt: $d_{\text{CHO}} = 12 \text{ } \mu\text{m}$, $\nu_{\text{Poisson}} = 1/2$, $\rho_{\text{CHO}} = 1050 \text{ kg/m}^3$, $\rho_f = 1000 \text{ kg/m}^3$ und $\eta_f = 0,8 \text{ mPa}\cdot\text{s}$. Für die Simulationen wurde $v_{f,\text{max}}$ variiert und aus den dargestellten Volumenströmen in Tabelle 5 bestimmt.



10.2 Simulationsergebnisse

10.2.1 Kompressionsphase eines CHO-Wand-Stoßvorganges

In Abbildung 37 ist die maximale, normale Kompressionsstrecke (δ_1) in Abhängigkeit einer fiktiven Schwerkraft-Beschleunigung für eine mittlere CHO-Zellgröße von $d_{\text{CHO}} = 12 \mu\text{m}$ dargestellt. Die Genauigkeit von δ_{max} in Bezug auf die Diskretisierung liegt bei $\pm 6 \text{ nm}$ ($= \Delta\delta_{\text{max}} / 2$).

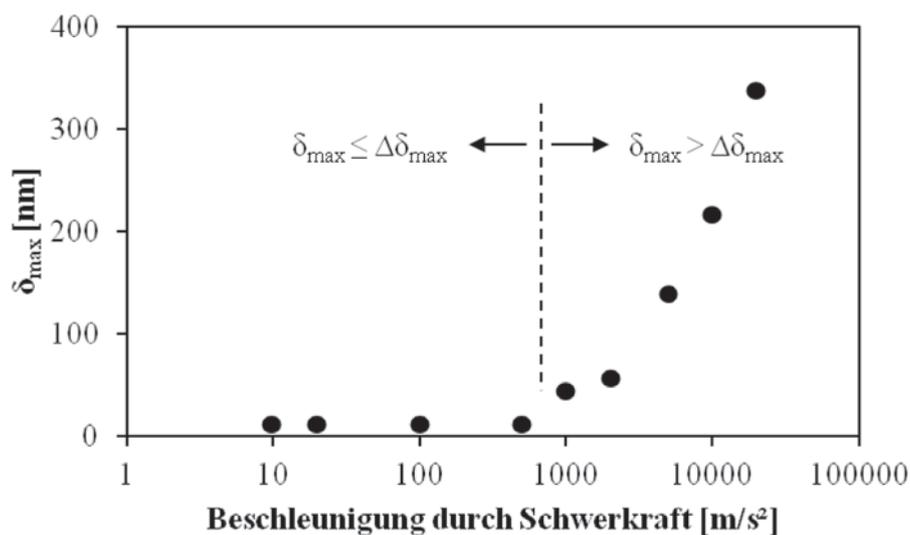


Abbildung 37: Maximale Kompressionsstrecke in Abhängigkeit der Beschleunigung durch Schwerkraft beim Stoß.

Die Ergebnisse in Abbildung 37 zeigen eine Zunahme von δ_{max} ab einer Beschleunigung von 1000 m/s^2 . Darunter zeigen die gleichen Werte für δ_{max} die Grenzen des Modells aufgrund der gewählten Schrittweite der Kompressionszeit auf. Mit größer werdender Schwerkraft nimmt auch die Sinkgeschwindigkeit der CHO-Zelle aufgrund der Proportionalität von $F_{\Delta p}$ und g laut Gl. (19) zu, wodurch die kinetische Energie der CHO-Zelle steigt. Je mehr kinetische Energie, desto mehr Energie kann in Deformationsenergie beim Stoß umgewandelt werden, wodurch δ_{max} größer werden muss.

Die Ergebnisse zeigen jedoch wenig Deformation an einer CHO-Zelle im untersuchten Beschleunigungsbereich. Mit $\delta_{\text{max}} < 1 \mu\text{m}$ wird fragwürdig, ob ein Deformationsverhalten von CHO-Zellen mit $d_{\text{CHO}} = 12 \mu\text{m}$ bei normalen Stößen auf eine planare Wand oder beim Zentrifugieren überhaupt beobachtet werden kann. Eine Gewissheit kann letztendlich nur mit experimentellen Versuchen erlangt werden.



10.2.2 Abschätzung der Kompressionsphase: CHO-Zelle vor Spalt der Düsenbarriere

In Abbildung 38 wird der zeitliche Verlauf der normalen Kompressionsstrecke ($\delta_1 + \delta_2$) an der CHO-Zelle dargestellt (vgl. Kapitel 10.1.4).

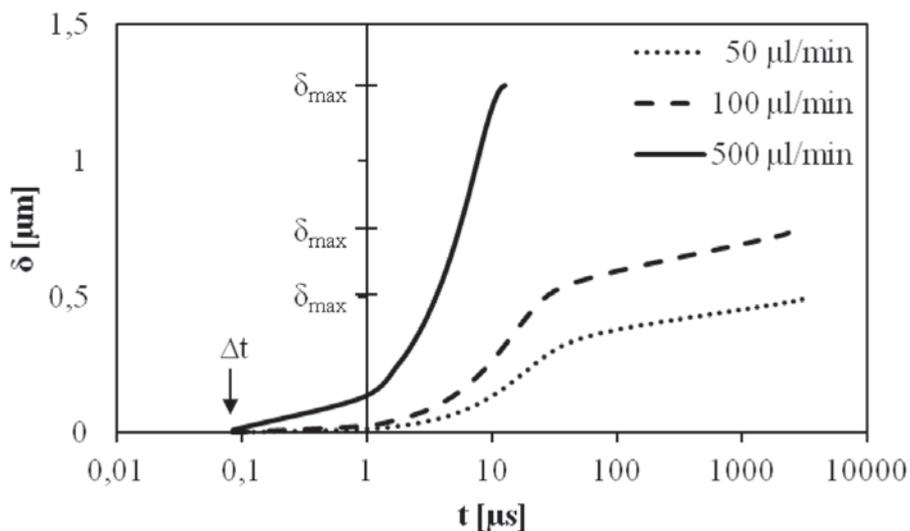


Abbildung 38: Kompressionsstrecke in Abhängigkeit der Auftreffgeschwindigkeit.

Alle Kurven beginnen modellbedingt erst beim gleichen Zeitschritt Δt und \dot{V} -abhängigen, initialen Kompressionsstrecken. Eine Zunahme von δ_{\max} mit zunehmendem Volumenstrom ist klar erkennbar. Dieser Zusammenhang ist nicht unmittelbar einleuchtend, da auch $E \propto \log(\Delta\delta/\Delta t)$ gilt. Jedoch scheint diese Proportionalität schwächer gewichtet als der physikalische Impuls und die auf die CHO-Zelle wirkende Strömungskraft. Die abrupten Enden der Kurven bei δ_{\max} der bis dahin monoton steigenden Kurven kennzeichnen jeweils die ersten Maxima (δ_{\max}) von δ . Zeitlich danach nimmt die Kompressionsstrecke aufgrund der theoretischen Modellierung wieder ab. In der Realität kommt es irgendwann zum Zellaufschluss, dessen Beginn schon vor Erreichen von δ_{\max} stattfinden könnte, was noch experimentell untersucht werden muss.

Die Zeit bis zum Erreichen von δ_{\max} nimmt mit zunehmendem Volumenstrom ab. Ob dieser Zusammenhang tendenziell gültig ist, bleibt ebenfalls experimentell zu überprüfen. Außerdem sind die sehr kurzen Kompressionszeiten auffällig, welche weit unterhalb der Relaxationszeiten von suspensions-adaptierten CHO-Zellen liegen (vgl. Kapitel 5.6.3). Daraus folgt die Vermutung, dass die eigentliche Widerstandskraft gegen Kompression der CHO-Zelle vor dem Spalt der Düsenbarriere gegenüber den angreifenden Kräften größer ausfällt. Dies liegt



10 Abschätzung der Kompressionsphase einer CHO-Zelle beim Stoß

vermutlich an den langsameren Umstrukturierungsvorgängen in der CHO-Zelle und Druckausgleichsmechanismen, welche den transmembranen Wassertransport betreffen. Damit würde sich die CHO-Zelle langsamer als in Abbildung 38 dargestellt deformieren.



11 Ansätze zur mechanischen Modellierung einer CHO-Zelle

In diesem Kapitel werden mechanische Eigenschaften von biologischen Zellen und Zellbestandteilen verwendet, um ein CHO-Zellmodell für eine bildliche Darstellung eines Zellaufschluss-Vorganges zu entwickeln. Die modellierte CHO-Zelle wird dazu als Biopartikel und als ein Agglomerat aus Biopartikeln betrachtet. Es handelt es sich hierbei um Vorarbeiten, die für eine umfassende mechanische Modellierung der ganzen Zelle genutzt werden können.

11.1 Entwicklungsumgebung

Für die geometrische und mechanische Modellierung der CHO-Zelle wurde das kommerzielle Programm *EDEM* in der Version 2.3 verwendet. In Abbildung 39 (links) sind relevante Teile des Programmablaufs (DEM Solutions, 2010) vom Autor dieser Arbeit modifiziert dargestellt.

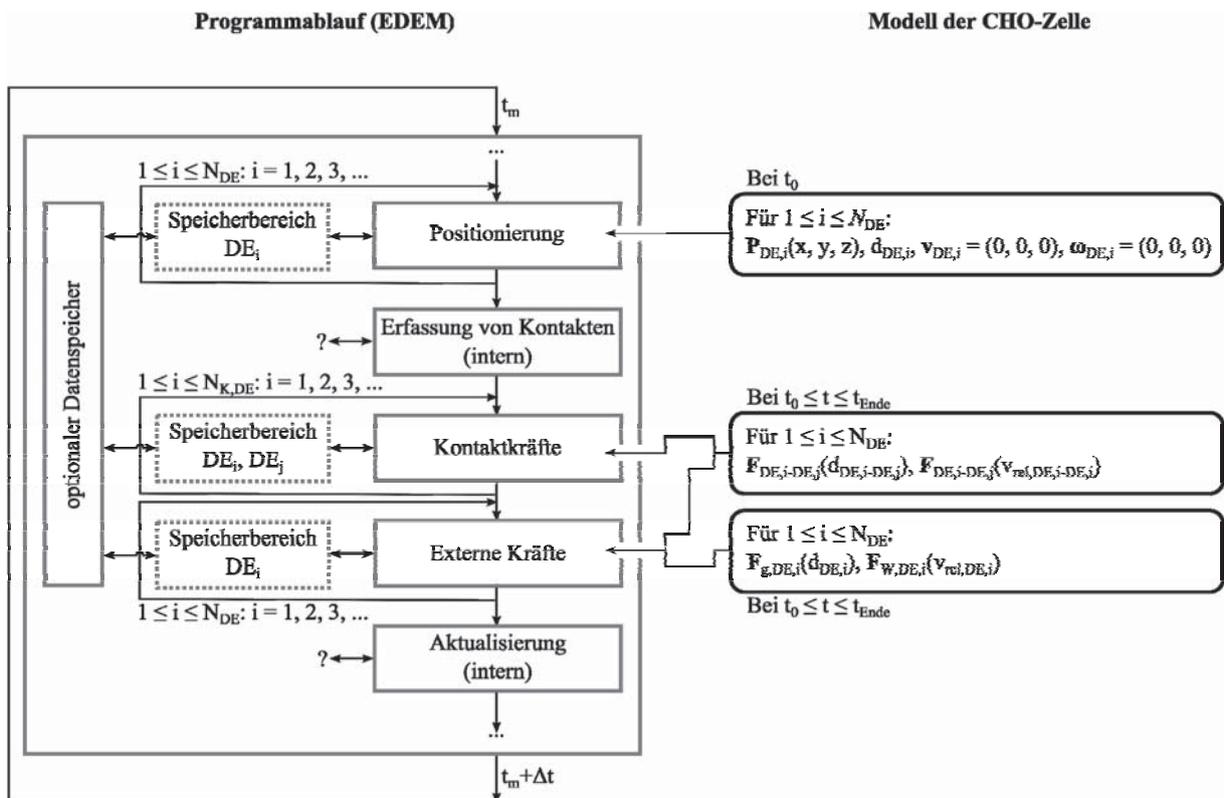


Abbildung 39: Implementierung des Zellmodells über Schnittstellen im Programmablauf von *EDEM* (DEM Solutions, 2010).



In Abbildung 39 (rechts) ist gezeigt, wie geometrische und mechanische Modelle einer CHO-Zelle über mehrere Schnittstellen in den Programmablauf implementiert wurden. Die Abkürzungen $\mathbf{P}_{DE,i}$, $\mathbf{v}_{DE,i}$ und $\boldsymbol{\omega}_{DE,i}$ stehen für die Positionen der Diskreten Elemente (DE) in kartesischen Koordinaten sowie die translatorischen- und Rotationsgeschwindigkeiten der DE. Daneben stehen N_{DE} und $N_{K,DE}$ für die Gesamtanzahl der DE, welche die CHO-Zelle nachbilden und die Gesamtanzahl an Kontakten zwischen DE. Ein Kontakt zweier DE besteht, wenn für den direkten Abstand ($d_{DE,i-DE,j}$) gilt: $d_{DE,i-DE,j} \leq 0,5 \cdot (d_{DE,i} + d_{DE,j})$. Der rechtsseitige Term enthält die Durchmesser zweier DE. Die Wechselwirkungskräfte im Kontakt ($\mathbf{F}_{DE,i-DE,j}$) hängen von den relativen Abständen und Geschwindigkeiten ($\mathbf{v}_{rel,DE,i-DE,j}$) der jeweiligen Kontaktpartner ab. Als Beispiele von externen Kräften seien die Gewichtskraft ($\mathbf{F}_{g,DE,i}$) und Strömungswiderstandskraft ($\mathbf{F}_{W,DE,i}$) genannt.

Wie in Abbildung 39 dargestellt, durchläuft das Programm eine bestimmte Sequenz für jeden Zeitpunkt. Dabei werden die Schritte Positionierung, Kontakt- und externe Kräfte, entsprechend den Abhängigkeiten zu N_{DE} und $N_{K,DE}$, sequenziell durchlaufen. In jedem Schritt werden alle DE oder DE-DE-Kontakte als Untersequenz durchlaufen. Während des Durchlaufs einer Untersequenz besteht nur Zugriff auf den jeweiligen Speicherbereich der aktuell betrachteten DE. Der jeweilige Speicherbereich enthält unter anderem Informationen zur Identifikationsnummer, Position, translatorische und Rotationsgeschwindigkeit sowie zu den zugeordneten mechanischen Eigenschaften der DE. Durch die gegebene Sequenz ist der zeitgleiche Zugriff auf die Informationen aller DE nicht möglich. Um zeitgleich Zugriff auf die Daten mehrere DE erhalten zu können, wurde mit Programm-externen Textdateien gearbeitet, die als zusätzlicher „Arbeitsspeicher“ die in jedem Zeitschritt aktualisierten Daten aller relevanten DE oder Zwischenergebnisse von Flächenberechnungen enthielten (siehe dazu Kapitel 11.3.1). Die zusätzlichen Informationsflüsse dafür wurden programmiert.

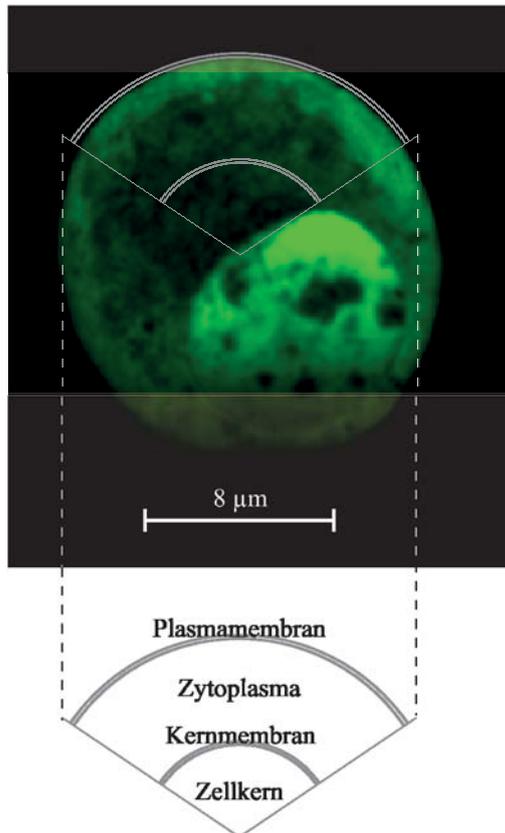


Abbildung 40: Modifiziertes Bild einer CHO-Zelle (Wurm, 2011) und ihre geometrische Unterteilung.

In Abbildung 40 ist die grobe Unterteilung einer CHO-Zelle für die Modellierung des Deformationsverhaltens und des Zellaufschlusses dargestellt. Die Plasmamembran ist entscheidend, da mit ihrem Bruch intrazelluläre Bestandteile nach außen gelangen und damit der Zeitpunkt des Zellaufschlusses charakterisiert werden kann. Das Zytoplasma bezieht im Raum zwischen Plasma und Kernmembran alles mit ein. Dazu gehören zum Beispiel Organellen, das Zytoskelett und das Zytosol. Die Kernmembran grenzt die größte Organelle, den Zellkern, von den übrigen intrazellulären Bestandteilen ab. Aufgrund seiner Größe ist ein Einfluss geometrischer Art bei äußerer Zellbeanspruchung wahrscheinlich.

11.2 Geometrische Modellierung

Die in Kapitel 11.3 erläuterte mechanische Modellierung der Membranen beinhaltet einige analytisch und empirisch bestimmte Zusammenhänge, deren Herleitungen auf Isotropie-Bedingungen basieren. Um diesen Bedingungen möglichst nahe zu kommen, wurde auf eine gleiche geometrische Auflösungsqualität der Zelloberfläche und in der Zelle geachtet. Damit wurden die realen Größenverhältnisse in der Zelle aus dem folgenden Grund vernachlässigt: Allein durch das Größenverhältnis zwischen dem CHO-Zelldurchmesser und der Dicke der Plasmamembran wären schätzungsweise 10^{12} DE vonnöten. Mit *EDEM* in der erwähnten Version (vgl. Kapitel 11.1, erster Abschnitt) wären maximal ca. 10^7 Diskrete Elemente realistisch zu simulieren.

Der Einfachheit halber wurden kugelförmige DE für alle Zellbestandteile gewählt. Bei der Verwendung anderer Formen wären zusätzliche Herausforderungen geometrischer Art bei den Kontaktmodellen zu lösen gewesen. Aus dem Fachgebiet der Geometrie ist durch die Platonischen Körper bekannt, dass ab 13 Punkten auf einer fiktiven Kugeloberfläche kein gleicher

und direkter Abstand zwischen direkt benachbarten Punkten realisiert werden kann. Diese Anzahl an DE ist jedoch zu klein, um die Form einer beinahe kugelrunden, suspensionsadaptierten CHO-Zelle genügend nachzubilden.

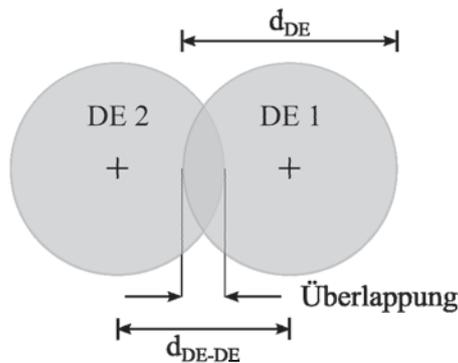


Abbildung 41: Überlappung zweier Diskreter Elemente.

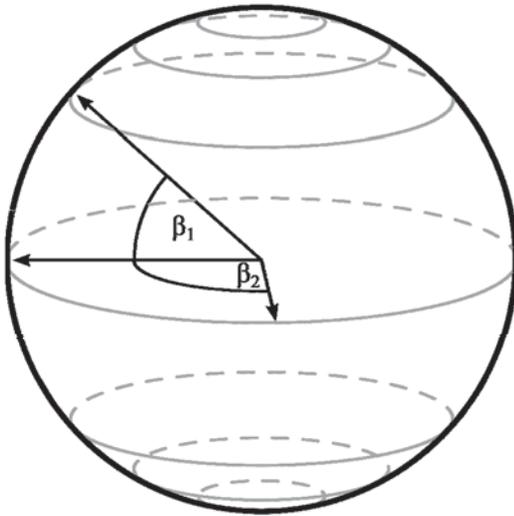
Damit Wechselwirkungskräfte zwischen DE (in Abbildung 41 mit DE 1 und DE 2 bezeichnet) berechnet werden können, müssen diese im Kontakt miteinander stehen. Dies wird gewöhnlich durch eine geometrische Überlappung dargestellt (Abbildung 41) oder durch die Festlegung eines Kontaktradius'. In dieser Arbeit wird aufgrund ihrer derzeit besseren Eignung nur mit erst genannter Überlappung gearbeitet.

Die Abmessung der initialen Überlappungen spielt eine wesentliche Rolle in Bezug auf mögliche Vergrößerung und Dehnbarkeit von mit DE modellierten Volumina. Bewegen sich zwei DE immer weiter voneinander weg, dann stehen diese ab $d_{DE-DE} > d_{DE}$ nicht mehr im Kontakt und können somit keinen Kraft- oder Drehimpuls an den Kontaktpartner übertragen. Im übertragenen Sinn käme dies einem Riss- oder Bruchereignis gleich.

Um die Überlappungsverteilung nach der Modellierung einer möglichst kugelförmigen CHO-Zelloberfläche zu untersuchen, wurde ein Algorithmus entwickelt (siehe dazu Abbildung 42), der zumindest einen gleichen Abstand direkt benachbarter DE je berechneten Breitengrad der modellierten CHO-Zelloberfläche sicherstellt. Die direkten Abstände auf den verschiedenen Breitengraden unterscheiden sich hingegen. Dem Algorithmus wurden der gewünschte direkte Abstand zweier DE ($d_{DE-DE, initial}$), d_{DE} sowie d_{CHO} vorgegeben. In Abbildung 42a ist eine Kontur einer Kugeloberfläche gezeigt, die zur Anschauung und Erklärung der Vorgehensweise des Algorithmus' in Abbildung 42b dient.

Zur Analyse ist in Abbildung 43 die Anzahlsummenverteilung der normalisierten Abstände zwischen allen in Kontakt stehenden DE in der Plasmamembran einer Modellzelle mit den willkürlich gewählten Parametern $d_{CHO} = 15 \mu\text{m}$ und $d_{DE} = 0,5 \mu\text{m}$ dargestellt.

a)



b)

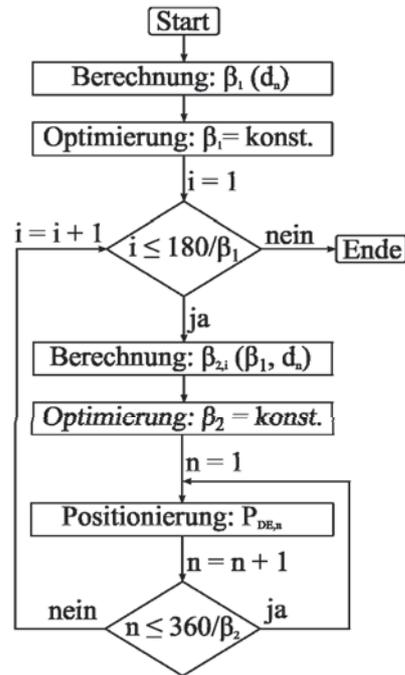


Abbildung 42: Algorithmus zur Berechnung von Koordinaten zur Positionierung von DE.

Der normalisierte Abstand (d_n) wurde dabei mit $d_n = d_{DE-DE}/d_{DE}$ berechnet. Die gewünschten Abstände waren zu $d_{n, initial} = 0,7$ sowie 0,8 und 0,9 gewählt. Um die beinahe kugelförmige Form einer suspensions-adaptierten CHO-Zelle nachzubilden musste der Algorithmus jedoch $d_{n, initial}$ zu d_n anpassen. Die Anzahl der positionierten DE sowie die ermittelte Gesamtanzahl an Kontakten zwischen DE sind mit N_{DE} und N_K abgekürzt.

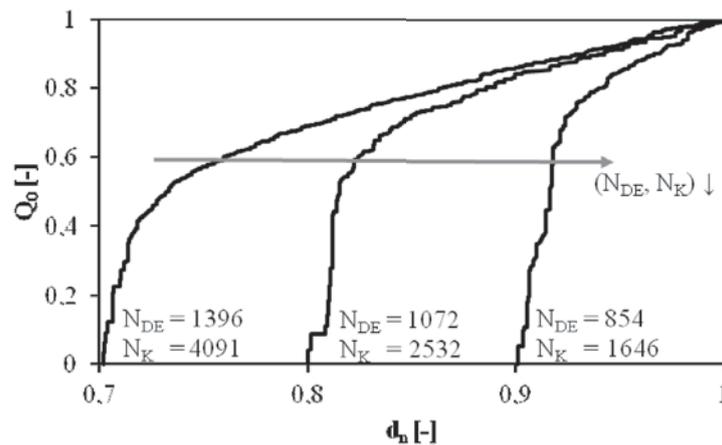


Abbildung 43: Anzahlsummenverteilung der normalisierten Abstände zwischen DE.

In Abbildung 43 sind breite Anzahlsummenverteilungen von d_n zu sehen, die der Algorithmus erzeugt hat. Je dichter die DE positioniert werden sollten (je kleiner $d_{n, initial}$ mit $Q_0(d_{n, initial}) = 0$), desto größer wurde N_{DE} . Letzteres führt zwangsläufig zu einer größeren N_K -Zahl. Je kleiner $d_{n, initial}$, desto geringer ist auch der Anteil an N_{DE} mit ähnlichen d_{DE-DE} , was aus den Stei-

gungen der Kurven interpretiert werden kann. Die teils vertikalen Passagen der gezackten kurvenförmigen Verläufe deuten auf größere Anzahlen gleicher d_{DE-DE} -Werte hin. Die horizontalen Passagen zeigen d_n -Größenbereiche, die in der modellierten CHO-Zelloberfläche nicht vorkommen. Dieser Algorithmus erzeugt also ein eher chaotisch-wirkendes Bild der Überlappungssituation bei allen DE. Ferner wäre nach der geometrischen Modellierung der ganzen CHO-Zelle mit den gewählten Bestandteilen und gleichem Algorithmus ein ähnlich chaotisch-wirkendes System der Überlappungen zu erwarten.

Wenn die DE je Zellbestandteil in gleichen Abständen zueinander positioniert würden, dann könnte die Proportionalitätskonstante im Federmodell nach Gl. (41) vorteilhaft auch als Konstante verwendet werden. Würde diese Konstante den lokalen Überlappungseigenschaften nicht angepasst, so führten lokale Vorkräfte (\rightarrow initiale Vorspannungen) zu mechanischen Ungleichgewichten, aufgrund der simplen Federmodelle. Diese mechanischen Ungleichgewichte könnten durch die Simulation und im Sinne eines sich selbst regulierenden Systems ohne externe Beanspruchungsquellen gleichförmiger verteilt werden. Solch ein Ansatz wurde allerdings nicht verfolgt. Die Form einer idealen, kugelförmigen CHO-Zelle konnte somit nicht exakt nachgebildet werden.

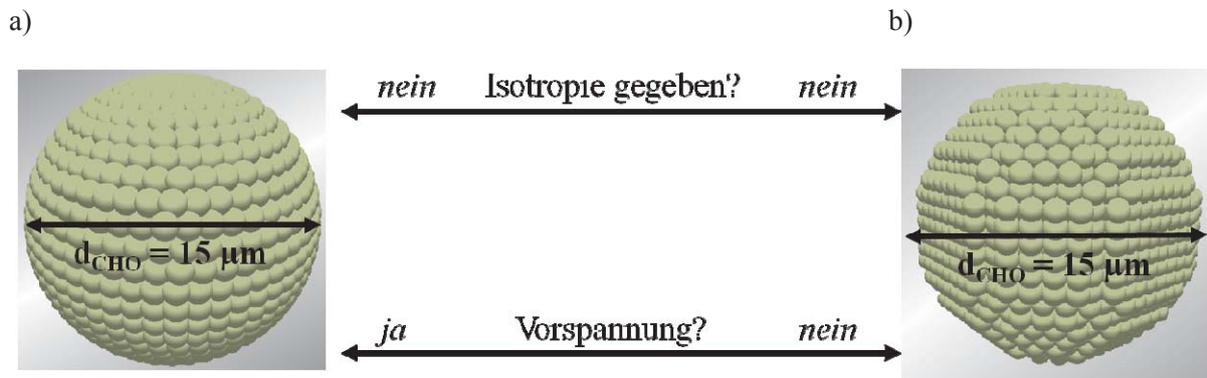


Abbildung 44: Gegenüberstellung runder (a) und kantig-kugeliger (b), modellierter CHO-Zellformen.

Der tatsächlich verwendete Algorithmus für eine kantig-kugelige CHO-Zelle, wie in Abbildung 44b dargestellt, positioniert DE auf den Knotenpunkten eines kubisch-primitiven Gitters. Zur Vermeidung der Überlappung zweier DE, deren direkter Abstand entlang der Raumdiagonalen einer Gitterzelle verläuft, muss die Beziehung $\sqrt{2}d_{DE-DE} > d_{DE}$ eingehalten werden. Ansonsten führt die zweite Überlappung an den betroffenen DE ebenfalls zu einem initialen Kräfteungleichgewicht. Der tatsächlich verwendete Algorithmus durchläuft alle fiktiven Knotenpunkte in einem imaginären Würfel der Kantenlänge $d_{CHO} \pm \xi$ mit $\xi < d_{DE}$, entsprechend der vorgegebenen d_{DE-DE} -, d_{DE} - und d_{CHO} -Werte, während der Positionierungen. Über den



direkten Abstand zwischen Knotenpunkt und geometrischem Mittelpunkt jenes Würfels wird die Zugehörigkeit zu den berücksichtigten CHO-Zellbestandteilen ermittelt.

Je mehr DE zur Modellierung verwendet werden, desto kugelförmiger würde das Zellmodell. Mit abnehmender Größe der DE verkleinert sich jedoch der kritische Zeitschritt zur Berechnung der Wechselwirkungskräfte. Dieser Zeitschritt unterbietet die Zeit, in welcher eine elastische Welle ein gleichgroßes Partikel durchläuft, um physikalische Wechselwirkungsinformationen weiterzuleiten (Antonyuk, 2006). Die Anzahlzunahme der DE geht einher mit einer größeren Gesamtanzahl an Wechselwirkungskontakten über die modellierte Zelle. Beides führt zu einer größeren Anzahl an Berechnungsschritten innerhalb eines Zeitschrittes, wodurch sich die reale Simulationszeit verlängert.

Schließlich wurde der willkürlich gewählte Durchmesser von $d_{DE} = 0,2 \mu\text{m}$ für alle DE verwendet, um die suspensions-adaptierte CHO-Zelle möglichst formtreu nachzubilden.

11.3 Mechanische Modellierung

Bei den berücksichtigten Zellbestandteilen handelt es sich um geometrische Flächen und Räume, die in Bezug auf d_{DE} (dreistellige nm-Skala) und der CHO-Zelldimension (μm -Skala) als Kontinua betrachtet werden (Boal, 2002) können. Sämtliche analytisch oder empirisch hergeleiteten Modelle aus der Literatur (siehe Kapitel 5) basieren auf der Kontinuumsmechanik. In diesem Abschnitt werden einige dieser Modelle diskretisiert.

11.3.1 Membranen

Der Tatsache der falsch modellierten Größenverhältnisse aus der geometrischen Modellierung (vgl. Kapitel 11.2, erster Abschnitt) folgt eine zu treffende Annahme für die Massendichte der entsprechenden DE. Deren Durchmesser von $d_{DE} = 0,2 \mu\text{m}$ wurden um ein Vielfaches größer modelliert als ein realistischer Durchmesser einer Plasmamembran (vgl. Kapitel 5.2). Demnach müssten die Massendichten der im überdeckten Bereich der DE real vorliegenden Proteine, Strukturproteine des Zytoskeletts, der Lipide und der flüssigen Phase anteilig gemittelt werden. Es wurde den DE der Plasma- und Kernmembran jedoch eine gemittelte Massendichte von 1170 kg/m^3 einer Lipiddoppelschicht (vgl. Kapitel 5.2) zugeordnet. Daneben wurde die

CHO-Zelle als kompressibel modelliert, mit Hinblick auf Membrandehnungen und die Gegebenheit der Überlappungen zwischen DE. Die Größen ν_{Poisson} und G sowie die Porenstruktur der Kernmembran wurden aus Gründen der Komplexität bei der Modellierung erst mal vernachlässigt.

Für die Verwendung des Flächendehnungsmodul K_A (vgl. Kapitel 5.2) wurde eingangs die kantige Zelloberfläche in planare Dreiecksflächen unterteilt (Abbildung 45, links). Die eigentliche Wölbung der Plasmamembran wurde dabei über ein Modell zur Biegesteifigkeit indirekt berücksichtigt (siehe Gl. (42)). Eine ähnliche und auch auf Dreiecken basierende Methode für interzellulären Kontakt wurde bereits von Pathmanatha et al. (Pathmanathan, et al., 2009) verwendet. Die Flächeninhalte der planaren Dreiecke (A_j) in Abbildung 45 a) wurden über deren Kantenlängen $d_{\text{DE-DE}}$ (Satz von Heron) und die Scherpunkte $\mathbf{P}_{s,i}$ auch über die bekannten Koordinaten der jeweiligen DE bestimmt. Ein Vorteil der in Abbildung 45 a) grafisch dargestellten Methode ist $A_{\text{CHO}} \approx \sum A_{\text{CHO},i}$. In einem Quadrat können jeweils zwei Dreiecke die quadratische Fläche in zwei Orientierungen voll ausfüllen. Seien dazu die Eckpunkte eines Quadrates im Uhrzeigersinn mit den ganzen Zahlen 1-4 benannt, so können daraus die Dreiecke (1, 2, 3) und (1, 3, 4) oder (1, 2, 4) und (2, 3, 4) ohne Überschneidungen gebildet werden.

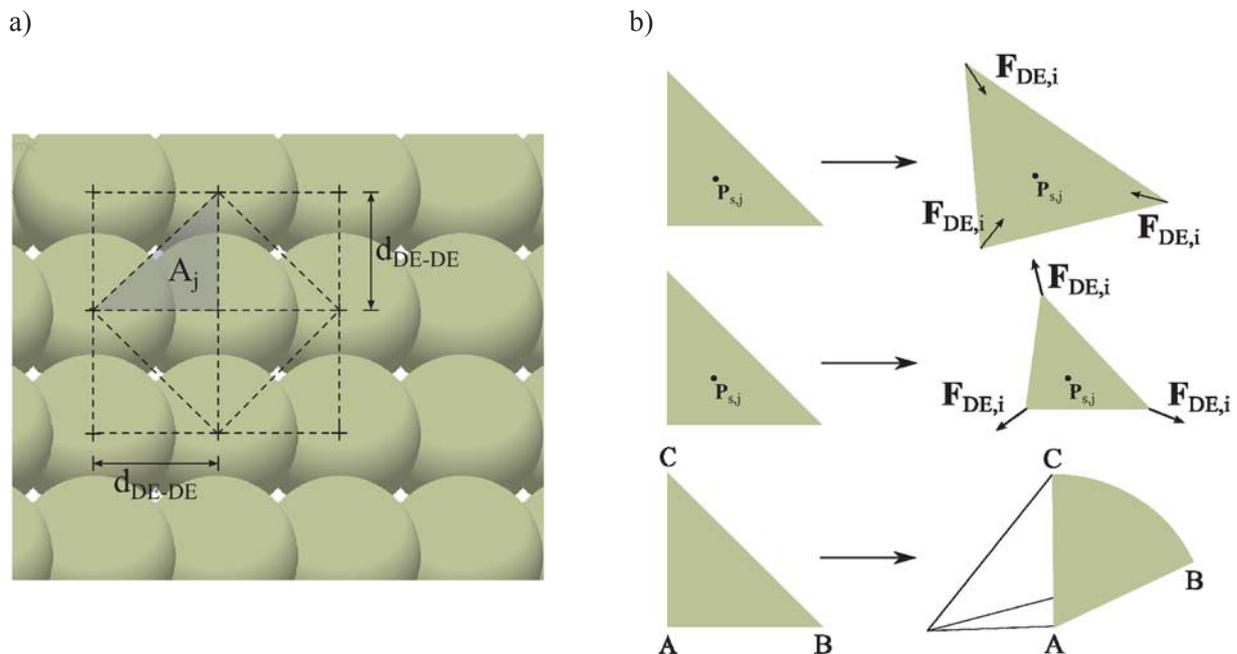


Abbildung 45: Planare Dreiecke zur Flächenerfassung (a). Mögliche Flächenänderungen mit Gegenkräften (b): durch Dehnung (oben), Kompression (mittig). Grafische Darstellung einer Biegung (b: unten).

Die Verhinderung einer Überschneidung zweier Dreiecke konnte im eigens entwickelten Algorithmus noch nicht erfolgreich untergebracht werden. Die längsten Kanten der Dreiecke dürften im Hinblick auf den Algorithmus zur Positionierung der DE aufgrund der Vermei-



dung eines initialen Kräfteungleichgewichts (siehe Kapitel 11.2) eigentlich nicht existieren. Durch die Verschiebung einzelner DE mit voranschreitender Simulationszeit kann eine diagonale Überlappung jedoch entstehen. Möglicherweise wäre daher die Wahl einer auf Vierecken basierenden Methode besser gewesen.

Die eigentliche Adaption zur Flächendehnung ($\Delta A/A > 0$) ist in Gl. (40):

$$\sigma = K_A \frac{\Delta A}{A} \rightarrow \mathbf{F}_{DE,i} = \frac{1}{3} U_{\Delta,j} K_A \frac{100(A_{\Delta,j,t=t+\Delta t} - A_{\Delta,j,t})}{A_{\Delta,j,t}} \mathbf{r}_{\Delta P,DE,n} \quad (40)$$

dargestellt. Dabei soll die Spannung σ , welche die Einheit einer Grenzflächenspannung aufweist, auf den Umfang der Dreiecke $U_{\Delta,i}$ einwirken. Bewegt sich ein Eckpunkt (ein DE) von den anderen beiden Eckpunkten weg, so vergrößert sich der Flächeninhalt einer Dreiecksfläche (siehe Abbildung 45 b, oben). Da ein Eckpunkt zu mehreren Dreiecksflächen gehören kann, können sich andere Dreiecksflächen gleichzeitig verkleinern. Für jede beteiligte Dreiecksfläche werden deswegen die Rückstellkräfte mit Wirkungsrichtung zum Schwerpunkt der jeweiligen Dreiecksfläche ($\mathbf{r}_{\Delta P,DE,n}$, \mathbf{r} ist normalisiert) auf die Eckpunkte der jeweiligen Dreiecksfläche gleichmäßig verteilt.

Die Paarungen von Identifikationsnummern der in Kontakt stehenden DE sowie deren Positionskoordinaten können im Schritt „Kontaktkräfte“ der Simulationssequenz von EDEM (vgl. Kapitel 11.1) seriell ausgelesen werden. Eine zeitgleiche Zugriffsmöglichkeit auf alle Paarungen und Koordinaten im selben Zeitpunkt besteht dabei nicht. Sämtliche Werte können erst im folgenden Schritt „Externe Kräfte“ zu Berechnungszwecken verwendet werden. Für die Implementierung von Gl. (40) wurden daher folgende Arbeiten durchgeführt (siehe dazu auch Abbildung 39):

- Externe Speicherung in Textdateien aller Paarungen der Identifikationsnummern und entsprechenden Positionskoordinaten von DE (zu den Membranen), die aktuell im Kontakt stehen. Ein „optionale“ Speicher hat sich mit seiner maximalen Kapazität von jeweils 255 Werten im Datentyp double je Eigenschaft für die Anzahl der vorhanden DE als kapazitativ zu klein erwiesen.
- Entwicklung eines Algorithmus, welcher mit vorhandenen Paarungen der Identifikationsnummern Dreiecke konstruiert und deren Flächeninhalte berechnet. Dieser Algorithmus sucht speziell nach drei Paarungen, in denen drei Identifikationsnummern in jeweils zwei Paarungen enthalten sind.

Für den Fall einer lateralen Kompression der Membranen (siehe Abbildung 45b, mittig) wurde ein Voigt-Modell zur Modellierung viskoelastischer Eigenschaften nach Jamali et al. (Jamali, Azimi, & Mofrad, 2010) implementiert. In der entsprechenden Gl. (41) stellen $\mathbf{R}_{DE-DE,n}$ und $\mathbf{v}_{DE-DE,n}$ die normalisierten Richtungsvektoren in Bezug auf den direkten Abstand zweier DE zueinander und ihrer Relativgeschwindigkeit zueinander dar.

$$\mathbf{F}_{DE} = k_{PM} (d_{DE-DE} - d_{DE-DE,initial}) \mathbf{R}_{DE-DE,n} + b_{PM} (\mathbf{R}_{DE-DE,n} \circ \mathbf{v}_{DE-DE,rel}) \quad (41)$$

Die übernommenen Feder- und Dämpfungskonstanten sind $k_{PM} = 6,5 \cdot 10^{-17} \text{ kg/s}^2$ und $b_{PM} = 2 \cdot 10^{-15} \text{ kg/s}$ für die Plasmamembran sowie $k_{KM} = 3 \cdot 10^{-16} \text{ kg/s}^2$ und $b_{KM} = 1 \cdot 10^{-14} \text{ kg/s}$ für die Kernmembran und beinhalten bereits den mechanischen Einfluss des kortikalen Aktin-Netzwerkes. Die übernommenen Werte gelten allerdings nur für jeweils 30 DE, welche in letztgenannter Veröffentlichung die Plasma- und die Kernmembran bildeten. Nach Gl. 3.25 in Antonyuk (Antonyuk, 2006) ergeben sich für $500 \text{ nm} \leq d_{DE} \leq 4 \text{ }\mu\text{m}$ kritische Zeitschritte von 10^{-1} s bis in den einstelligen Sekundenbereich. Diese Zeitschritte sind unverhältnismäßig groß, im Vergleich zu jenen aus dem hier verwendeten SPH-Modell (vgl. Kapitel 11.3.3). Daher müssten die weiter oben genannten Konstanten noch an N_{DE} angepasst werden. Im Rahmen dieser Arbeit ergab sich N_{DE} (Plasmamembran, $d_{DE} = 0,2 \text{ }\mu\text{m}$, $d_{CHO} = 12 \text{ }\mu\text{m}$) = 6437 [-].

Die Biegeeigenschaften der Plasmamembran wurden mit dem Modell der elastische Biegeenergie für eine Kugelschale (Boal, 2002) berücksichtigt, welche in Gl. (42):

$$E_{\text{Biegung}} = 4\pi(2\kappa_B + \kappa_G) \approx \sum_{m=1}^{N_{DE,PM}} (F_{DE-DE,B,m} d_{DE-DE,B,m} \mathbf{R}_{B,n,m}) \quad (42)$$

dargestellt ist. Die linksseitigen Parameter κ_B und κ_G kennzeichnen die Biegesteifigkeit und die Gauß'sche Biegesteifigkeit. Die erstgenannte Größe ist bekannt (siehe Kapitel 5.2). Die zweitgenannte Größe wurde aufgrund verschiedener Angaben im positiven und negativen Bereich (Boal, 2002) einfach Null gesetzt.

Die Größe $d_{DE-DE,B}$ und der Vektor $\mathbf{R}_{B,n}$ aus Gl. (42) werden in Abbildung 46 grafisch erklärt. Mit der Radienbeziehung $R_j < R_i$ (Abbildung 46a) soll eine Biegung verdeutlicht werden, bei der $d_{DE-DE,B}$ ein Maß für die Stärke der Biegung darstellen kann. Der normalisierte Richtungsvektor $\mathbf{R}_{B,n}$ (Abbildung 46b) ist in der Schnittebene der beiden in Kontakt stehenden DE positioniert und wurde über $d_B := \max(|\mathbf{P}_{DE,K} + \mathbf{R}_{B,n} - \mathbf{P}_{m,CHO}|)$ bestimmt. Dieser Vektor $\mathbf{R}_{B,n}$ soll die Richtungen der Tangentialkräfte vorgeben, die einer Krümmung entgegenwirken.

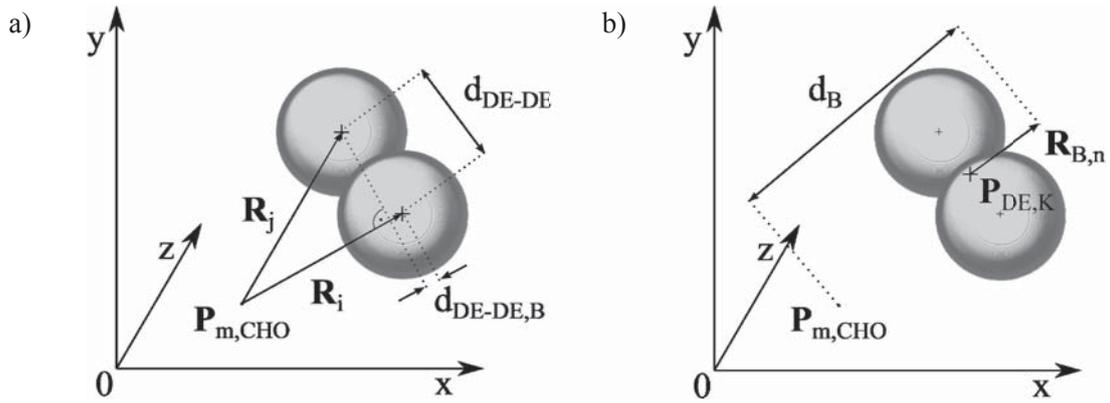


Abbildung 46: Geometrische Berechnungen zu wirkenden Kräfte auf Basis der elastischen Biegeenergie.

Zu Beginn der Simulation wurde aufgrund der kugelschalenförmigen Membran vereinfacht $E_{\text{Biegung}} \approx N_{\text{DE},O} F_{\text{DE-DE,B}} d_{\text{DE-DE,B}}$ berechnet. Hierfür wird eingangs der geometrische Mittelpunkt der modellierten CHO-Zelle $\mathbf{P}_{m,\text{CHO}}$ aus der Mittelung der Positionskoordinaten aller der Plasmamembran zugehörigen DE bestimmt.

11.3.2 Membranriss

Die Implementierung eines Modells zur mechanisch-fundierten Charakterisierung eines Membranriss-Ereignisses blieb bisher ohne Erfolg. Das Kriterium einer kritischen Membranflächenvergrößerung (vgl. Kapitel 5.2) konnte aufgrund der komplexen Abhängigkeit des Flächeninhaltes von den Seitenlängen (hier: $d_{\text{DE-DE}}$) mit den Dreiecksflächen nicht eindeutig implementiert werden. Bei einer Unterteilung der Membranflächen in Vierecke würde Ähnliches erwartet. Wird das Membranriss-Ereignis nur an $d_{\text{DE-DE}}$ festgemacht, bleibt die Frage nach der geeigneten Bezugsfläche. Das Kriterium der kritischen lateralen Spannung (vgl. Kapitel 5.2) ließ sich mit der genutzten Entwicklungsumgebung (vgl. Kapitel 11.1) bisher nicht implementieren. Einerseits ist der Schritt „Aktualisierung“ in der Sequenz (siehe Abbildung 39) dem Anwender nicht zugänglich und andererseits hätte eine eigens geschriebener Algorithmus zur Erfassung der resultierenden Kräfte auf jedes DE aus den Schritten „Kontaktkräfte“ und „Externe Kräfte“ zu einer erheblichen Steigerung der Rechenzeit geführt. Der Status „Membranriss“ wäre möglicherweise mit dem „optionalen“ Speicher, für die Speicherung der Gesamtkraft auf ein DE, in Kombination mit programm-extern gespeicherten Daten zu den ermittelten Dreiecks- und Vierecks-Flächen im Schritt „Externe Kräfte“ zu bestimmen gewesen.

11.3.3 Zytoplasma und Zellkern

Es wurden sämtliche Organellen, das Zytoskelett und die flüssigen, zähflüssigen und festen Edukte, Zwischenprodukte und Produkte des Metabolismus im Zytoplasma sowie im Zellkern zur Vereinfachung als Eins angesehen. Dafür wurde den DE dieses Zellbestandteils eine Massendichte von 1000 kg/m^3 zugeordnet, die eigentlich etwas größer sein müsste (vgl. Kapitel 5.6.1). Die zähflüssigen Eigenschaften beider Bereiche wurden mit der Gl. (43):

$$\begin{aligned} \mathbf{F}_{\text{DE-DE},i} = & -m_{\text{DE},i} \sum_{j=1}^n \left(m_{\text{DE},j} \left(\frac{p_{\text{DE},i}}{\rho_{\text{DE},i}^2} + \frac{p_{\text{DE},j}}{\rho_{\text{DE},j}^2} \right) \frac{\mathbf{R}_i - \mathbf{R}_j}{|\mathbf{R}_i - \mathbf{R}_j|} \frac{\partial W_{ij}}{\partial \mathbf{R}_i} \right) \\ & + m_{\text{DE},i} \sum_{j=1}^n \left(\frac{m_{\text{DE},j} (\eta_{\text{DE},i} + \eta_{\text{DE},j}) \mathbf{v}_{\text{DE-DE,rel}}}{\rho_{\text{DE},i} \rho_{\text{DE},j}} \frac{1}{|\mathbf{R}_i - \mathbf{R}_j|} \frac{\partial W_{ij}}{\partial \mathbf{R}_i} \right) \end{aligned} \quad (43)$$

modelliert, welche aus Morris & Fox (Morris & Fox, 1997) entnommen und zur Modellierung des Zellinneren von pflanzlichen Speichergewebezellen bereits angewendet wurde (Liedekerke, et al., 2010). Die Kraftwirkung zwischen zwei interagierenden DE wird als Summe eines Druck- und eines Viskositätsterms berechnet. Es ist $|\mathbf{R}_i - \mathbf{R}_j| = d_{\text{DE-DE}}$. Die Eigenschaften des als flüssig angenommenen Zytoplasmas, wie die Massendichte (ρ_{DE}), die dynamische Viskosität (η_{DE}) und der statische Druck (p_{DE}) sowie die Massen der DE (m_{DE}), wurden als zeitlich und örtlich konstant gewählt. Dies ist eine Vereinfachung, obwohl lokale Dichte- und Viskositätsunterschiede in eukaryotischen Zellen aufgrund örtlich verschiedener, intrazellulärer Strukturen generell vorkommen.

Die Glättungsfunktion (W_{ij}), als Bindeglied des Kontinuums- und Diskrete Elemente Modells, in Gl. (43) beinhaltet die Glättungslänge (h). Diese Größe h bestimmt den Radius der Domain, in welcher andere DE noch mit dem gerade betrachteten DE (Index i) wechselwirken können (Liu & Liu, 2003). In dieser Arbeit wurde der „quintic spline kernel“ aus Morris (Morris & Fox, 1997) entnommen und wegen seiner besseren Stabilität gegenüber dem vielfach genutzten „cubic spline kernel“ (Morris & Fox, 1997) zur Berechnung von $f(d_{\text{DE-DE}}/h)$ in Gl. (44) genutzt.

$$W_{ij} = \frac{1}{h^f} f\left(\frac{d_{\text{DE-DE}}}{h}\right) \quad (44)$$

Für die DE des Zytoplasma und des Zellkern wurden $\eta = 2905 \text{ Pa}$ und $\eta = 2 \cdot 2905 \text{ Pa}$ (Giuilak et al., 2000) verwendet. Der erstgenannte Wert bezieht sich jedoch auf die dynamische Viskosität einer ganzen CHO-Zelle (vgl. Tabelle 3). Für den initialen intrazellulären Druck wurde $p_{\text{DE},i} = p_{\text{PD},j} = 101325 \text{ Pa}$ festgelegt.



Für die Wahl des Zeitschrittes sind mehrere Bedingungen zu erfüllen (Morris & Fox, 1997). Im Rahmen dieser Arbeit wurden nur das Courant-Friedrichs-Lewy (CFL) – Kriterium, um die Ausbreitungsgeschwindigkeit einer Störung möglichst realistisch nachzubilden, und jenes für viskose Diffusion (VD) verwendet. Das Kriterium zu Relativbeschleunigungen zweier DE wurde vernachlässigt, da z.B. keine Explosion modelliert wird. In Tabelle 16 sind Zeitschritt-kriterien für verschiedene d_{DE} -Werte und $h = d_{DE}$ zusammengefasst. Durch die Wahl von $h < d_{DE}$, mit der nur direkt benachbarte DE erfasst werden, muss kein zusätzliches Skript zur Bestimmung umliegender DE verfasst werden. Es bleibt zu untersuchen, ob h als groß genug gewählt wurde. Für die Berechnung von CFL wurde die Schallgeschwindigkeit in Wasser bei $T = 20 \text{ °C}$ von $v_{\text{Schall}} = 1400 \text{ m/s}$ (Herwig, 2008) zugrunde gelegt.

Tabelle 16: Maximale Zeitschritte zur Berechnung des SPH-Modells.

		$d_{DE} [\mu\text{m}]$			
		4	2	1	0,5
CFL	[s]	$7 \cdot 10^{-10}$	$4 \cdot 10^{-10}$	$2 \cdot 10^{-10}$	$9 \cdot 10^{-11}$
VD	[s]	$7 \cdot 10^{-13}$	$2 \cdot 10^{-13}$	$5 \cdot 10^{-14}$	$1 \cdot 10^{-14}$

Die Tabelle 16 zeigt, dass nach beiden Kriterien sehr kleine Zeitschritte für die Berechnung der eigentlich flüssigen Phase des Zytoplasmas vonnöten sind, was für die numerischen Berechnungen zu langen realen Rechenzeiten führt.

11.3.4 Intrazelluläre Grenzflächen

Die Grenzfläche zwischen der Plasmamembran und dem Zytoplasma ist im Wesentlichen durch einen Lipid-Wasser-Übergang und den Verankerungen des Zytoskeletts charakterisiert. In diesem Kapitel werden zwei Modelle für Zug- und Druckbelastung vorgestellt. Für Ersteres wurde eine entsprechende Kopplungsstärke $\sigma_{PZ} [\text{J/m}^2]$ aus Merkel et al. (Merkel, et al., 2000) entnommen, welche allerdings mithilfe von Schleimpilzen bestimmt wurde (vgl. Kapitel 5.3, letzter Abschnitt). Basierend auf der Größe σ_{PZ} wurde ein Federmodell mit der Federkonstante k_{PZ} und einer scheinbaren Dehnung δ entwickelt:

$$E_{\text{Adhäsion}} = \sigma_{PZ} A_{PZ} = \int_{\delta=0}^{\delta=\delta_{\text{max}}} (k_{PZ} s) ds \approx \frac{1}{2} k_{PZ} \delta_{\text{max}}^2 \quad (45)$$

In der Realität wird die Rückstellkraft bei einem Rissereignis durch Zugbeanspruchung stark abfallen. Dieses Phänomen lässt sich mit der Kontaktauflösung zweier DE modellieren, wobei eines zur Plasmamembran und das andere zum Zytoplasma gehört. Es wäre $\delta_{\max} = d_{DE}$ bei gleicher Größe der beiden DE. Zur Charakterisierung der Bezugsfläche A_{PZ} wurde die kreisförmige Projektionsfläche eines der betreffenden DE gewählt, da es sich um eine konstante Größe handelt. Der Flächeninhalt eines planaren Dreiecks (Abbildung 45) – oder ein Anteil hiervon – wäre hierfür zu groß und schwer zu definieren. Die Überlappungsfläche der beiden DE würde sich mit wachsendem δ verkleinern. Die Gesamtflächenbilanz der Grenzfläche zwischen Plasmamembran und Zytoplasma geht mit dem gewählten Vorgehen jedoch nicht auf. Trotzdem wurde die Kraft durch Umformung der Gl. (45) nach der entwickelten Gl. (46):

$$\mathbf{F}_{DE-DE,Ad,i} = \frac{2\sigma_{PZ}\pi d_{DE}^2}{4\delta_{\max}^2} \delta \mathbf{R}_{DE-DE,n,i}, \quad (46)$$

berechnet. Für die Druckbeanspruchung zwischen der Plasmamembran und dem Zytoplasma wurde ein ähnlicher Ansatz zu Lennard-Jones verwendet, welcher eigentlich für molekulare Wechselwirkungen entwickelt wurde. In Liu & Liu (Liu & Liu, 2003) wird für den geschwindigkeitsabhängigen Parameter empfohlen, diesen im Größenbereich der größten und quadrierten Geschwindigkeit eines DE zu wählen. Da dieser Wert zeitlich variiert, wurde immer die größere absolute Geschwindigkeit der zwei betrachteten DE gewählt. Die entsprechend modifizierte Formel aus Liu & Liu (Liu & Liu, 2003) wurde für $d_{DE-DE,initial}/d_{DE-DE} \leq 1$ angewendet und ist in Gl. (47) dargestellt:

$$\mathbf{F}_{LJ,Druck} = \frac{|v_{i=\max(|v_i|)}|}{d_{DE-DE}^2} \left[\left(\frac{d_{DE-DE,initial}}{d_{DE-DE}} \right)^{12} - \left(\frac{d_{DE-DE,initial}}{d_{DE-DE}} \right)^4 \right] \frac{\mathbf{R}_i - \mathbf{R}_j}{|\mathbf{R}_i - \mathbf{R}_j|}. \quad (47)$$

Die in diesem Kapitel vorgestellten Modelle wurden auch für die Grenzflächen zwischen Zytoplasma und Kernmembran sowie zwischen Kernmembran und Zellkern verwendet.

11.3.5 Extrazelluläre Grenzflächen

Um die Grenzflächenkräfte zwischen der CHO-Zelle und dem Wandmaterial der Düsenbarriere zu modellieren, wurde ein entsprechendes Modell aus Leong et al. (Leong et al., 2010) verwendet, welches von Agresar et al. (Agresar et al., 1998) adaptiert wurde. Die Vektoren $\mathbf{R}_{DE-Wand,n}$ und $\mathbf{R}_{DE-Wand,n}^{\perp}$ in der entsprechenden Gl. (48):

$$\mathbf{F}_{\text{Adh}} = \sigma_G U_G \mathbf{R}_{\text{DE-Wand},n} + K_{AA} (A_{i,t=t+\Delta t} - A_{i,t}) \mathbf{R}_{\text{DE-Wand},n}^\perp, \quad (48)$$

stellen die normalisierten Richtungsvektoren in normaler und tangentialer Richtung des Kontaktes dar. Der Umfang des Kontaktkreises ist U_G :

$$U_G = \frac{\pi}{2} \sqrt{d_{\text{DE}}^2 - d_{\text{DE-DE}}^2}. \quad (49)$$

Eine Grenzflächenspannung von $\sigma_G = 0,023 \text{ N/m}$ wurde aus Norotte et al. (2008) übernommen. Jene Autoren bestimmten diesen Wert für ein CHO-Zellaggregat mit einem Durchmesser von $300 \mu\text{m}$. Das hier verwendete Flächendehnungsmodul K_{AA} besitzt die Einheit Pa, im Gegensatz zu K_A (vgl. Kapitel 5.2) und wurde mit $K_{AA} = 10^4 \text{ Pa}$ aus Leong et al. (2010) übernommen.

Um den externen Einflüssen der umliegenden flüssigen Phase und dem Atmosphärendruck gerecht zu werden, muss ein extrazellulärer Druck modelliert werden. Die entsprechende Kraft auf die DE der Plasmamembran soll dabei in Richtung des geometrischen Mittelpunktes der modellierten CHO-Zelle wirken. Damit kann die Gl. (50):

$$\mathbf{F}_{p,\text{ext},i} = A_{\text{DE},\text{proj}} (p_{\text{atm}} + p_{\text{hydr}}(y)) (-\mathbf{R}_1), \quad (50)$$

für die externe Druckkraft $\mathbf{F}_{p,\text{ext},i}$ aufgestellt werden, in der der atmosphärische (p_{atm}) und hydrostatische Druck (p_{hydro}) berücksichtigt sind. Das Negativzeichen vor dem Richtungsvektor \mathbf{R}_1 zeigt im Vergleich zur Darstellung in Abbildung 46 die entgegengesetzte Wirkrichtung.

Zeitlich nach dem Membranriss muss $\mathbf{F}_{p,\text{ext},i}$ auf die hinter dem Riss befindlichen DE des Zytoplasmas einwirken. Für eine entsprechende Modellierung ist von Bedeutung, an welchen Bereichen der Oberfläche eines Zytoplasma-DE Kontakte zu anderen DE bestehen.

11.4 Zusammenfassung und Ausblick

Bisherige Simulationen ergaben ein anormal rasches Bersten der modellierten CHO-Zelle bei $t \approx 10^{-12} \text{ s}$ (siehe dazu Abbildung 47). Die beige-grünen, orangen und roten DE stehen dabei für ihre Zugehörigkeit zur Plasmamembran, zum Zytoplasma und zum Zellkern. Die DE der Kernmembran (in schwarz) sind nicht sichtbar. Dieses Bersten basiert auf teilweise noch fehlenden und fehlerhaften Modellen.

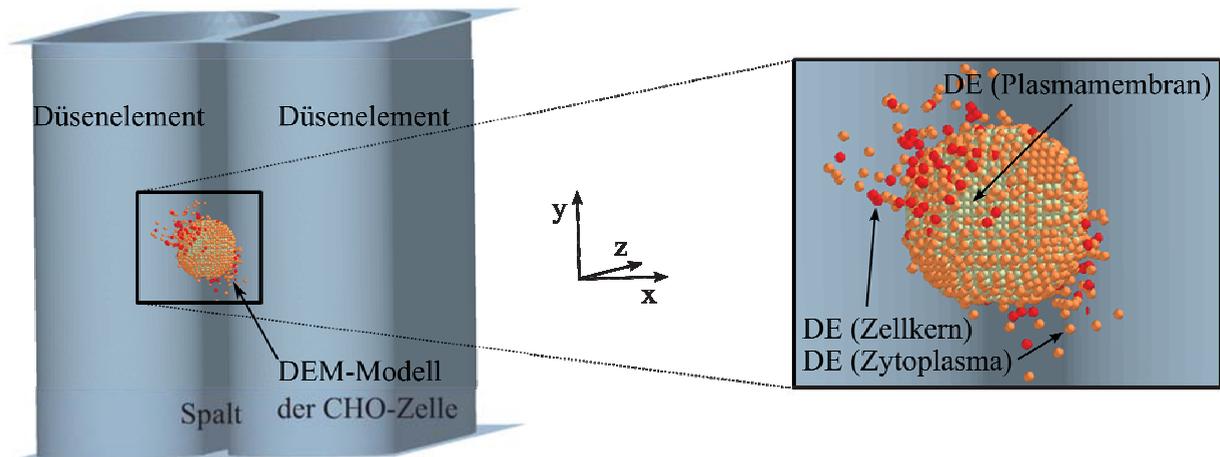


Abbildung 47: DEM-modellierte CHO-Zelle beim Bersten. Modifiziertes Bild von Schnegas (Schnegas et al., 2012).

Im initialen Zustand der modellierten CHO-Zellmembran können aufgrund der Positionierungsmethode entlang von Knotenpunkten eines kubisch-primitiven Gitters und $\sqrt{2}d_{DE-DE} > d_{DE}$ (siehe Kapitel 11.2) keine Dreiecke erkannt werden. Der Algorithmus funktioniert derzeit nur bei vielen Kontakten je DE, da hierbei die Wahrscheinlichkeit zur Bildung von Dreiecken am größten ist. Ein Flächenmodell mit Vierecken wäre möglicherweise besser zu handhaben, da diese zu Beginn existieren.

An den intrazellulären Grenzflächen wurden die Wechselwirkungen in tangentialer Richtung nicht berücksichtigt. Daneben ist das Modell für die intramembrane Druckbelastung (Gl. (41)) mit Hinblick auf die Feder- und Dämpferkonstanten noch optimierungsbedürftig. Die Wahl von h im SPH-Modell (vgl. Kapitel 11.3.3) ist entscheidend für die Qualität des modellierten Zytoplasmas. Der Einfluss des Zytoskeletts auf die Strömungsmechanik im Zytoplasma wurde aus Komplexitätsgründen vernachlässigt. Zudem wurde mit einem inkorrekten Druckverhältnis zwischen dem Zellinneren und -äußeren simuliert, da der externe Druck noch nicht umfassend implementiert war. Existierte ein Loch in der modellierten Plasmamembran nach dem Membranriss, so muss der externe Druck an dem entstandenen Loch auf die freiliegenden DE des Zytoplasmas wirken, was ebenfalls noch nicht implementiert wurde.

Die Modellierungen mithilfe des Lennard-Jones-Potentials (Gl. (47)) reagierten sehr empfindlich auf kleine Änderungen von d_{DE-DE} . Diese Änderungen hängen letztendlich auch vom gewählten Zeitschritt für die numerischen Berechnungen ab, der jedoch mit Rücksicht auf das SPH-Modell (Tabelle 16) gewählt wurde. Daneben wurde jenes Potential eigentlich für die Modellierung intra- und intermolekularer Wechselwirkungen entwickelt.



Machbarkeit von CFD-DEM gekoppelten Simulationen

Im Rahmen dieser Arbeit wurden aufgrund der Überlappungssituationen (Abbildung 41) im modellierten Zellinneren keine CFD-DEM-gekoppelten, dynamischen Simulationen einer CHO-Zelle zur Analyse der Deformation in den Spalt der Düsenbarriere durchgeführt. Damit die Gln. (7) und (8) numerisch gelöst und Strömungswiderstandsmodelle trotzdem noch gerechnet werden können, dürfen die Volumina der DE nicht jene der Gitterzellen zur Modellierung des Modellraumes an der Düsenbarriere übertreffen (Solutions, 2011). Die Qualitäten der geometrischen Auflösung der Düsenbarriere sowie die der CHO-Umströmung müssen daher mit der geometrischen Modellierung dieser CHO-Zelle einher gehen. Die generelle Machbarkeit soll mit folgendem Gedankenexperiment untersucht werden. Mithilfe der Abbildung 13 und den Abmessungen zu Tabelle 8 lässt sich das Modellraumvolumen nach Gl. (51):

$$V_{\text{Modellraum}} = h \left(w l - \pi R_2^2 - 2(l_D - R_2) \right) \Big|_{\text{Modell}}, \quad (51)$$

zu $V_{\text{Modellraum}} \approx 138792 \mu\text{m}^3$ berechnen. Eine 3D-Gitterzelle des Modellraumes sei zur rechnerischen Vereinfachung würfelförmig und besäße eine Kantenlänge mit äquivalenter Größe zu d_{DE} . Mit $d_{\text{DE}} = 0,2 \mu\text{m}$ (siehe Kapitel 11.2, letzter Abschnitt) wären über $17,3 \cdot 10^6$ Gitterzellen zur homogenen Vernetzung der Modellraums nötig. Mit den vorhandenen Ressourcen (siehe Anhang B) wäre jedoch eine Vernetzung bei $d_{\text{DE}} = 0,5 \mu\text{m}$ ($1,1 \cdot 10^6$ Vernetzungszellen) oder $d_{\text{DE}} = 1 \mu\text{m}$ (weniger als $0,2 \cdot 10^6$ Vernetzungszellen) realisierbar gewesen (vgl. dazu Kapitel 11.2). Dadurch wäre die Spaltbreite in der Düsenbarriere jedoch mit nur maximal 6 Vernetzungselementen unterteilt, womit die dortigen Geschwindigkeitsgradienten nicht mehr optimal aufgelöst werden könnten. Zudem würden die Rundungen der düsenförmigen Elemente kantig werden.

Mit Kontaktradii $> d_{\text{DE}}/2$, die in EDEM festgelegt werden können, wären solche gekoppelten Simulationen möglicherweise realisierbar.

Alternative zu CFD-DEM gekoppelte Simulationen

Um das anfängliche Deformationsverhalten der CHO-Zelle vor dem Düsenpalt (siehe Kapitel 10.1.4) näher zu untersuchen, könnte ein entsprechendes DEM-Modell ohne Kopplung zur Strömungsmechanik erstellt werden (Draufsicht in Abbildung 48). Die normalen- ($\mathbf{F}_{H,n}$) und tangentialen Kontaktkräfte ($\mathbf{F}_{H,t}$) an der Wand der Düsenbarriere würden dabei zum Beispiel über Gl. (48) berechnet.

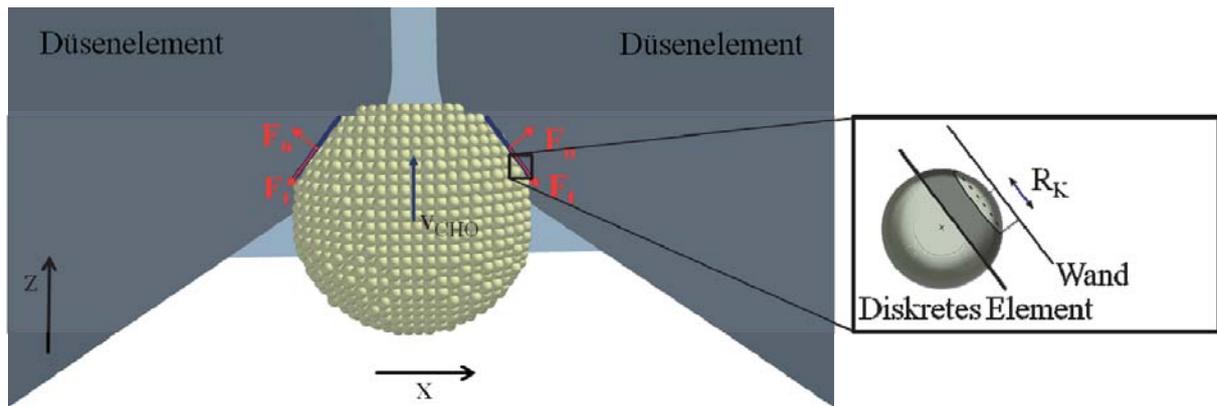


Abbildung 48: DEM-Modellierung der CHO-Zelle vor dem Spalt der Düsenbarriere (Schnegas et al., 2012).

Die Strömungskräfte könnten als Kräfteprofil auf die DEM-modellierte CHO-Zelloberfläche angewendet werden. Als Beispiel wurden Kräfteprofile über eine CHO-Zelloberfläche ($d_{\text{CHO}} = 7 \mu\text{m}$, $y_{\text{CHO},1}$, $\dot{V} = 500 \mu\text{l}/\text{min}$, Düsenbarriere) ohne Berücksichtigung von p_{atm} aus den stationären Simulationen (vgl. Kapitel 8.1.3) nach dem Prinzip $F_{z,i} = (\tau_{wz,i} + p) \cdot A_{\text{CHO},z,i}$ berechnet (Abbildung 49). Das z in den Indizes von τ und A_{CHO} steht dabei für den projizierten Anteil in z -Richtung.

In Abbildung 49 liegt der Mittelpunkt der modellierten CHO-Zelle bei $\mathbf{P}_{\text{CHO},S} = (x_s, y_s, z_s) = (21,5 \mu\text{m}, 25 \mu\text{m}, 4,51 \mu\text{m})$. Die Kräfteprofile für $F_y(y)$ und $F_z(z)$ zeigen scheinbar lineare Verläufe. Diese können mit der zentralen Position $y_{\text{CHO},1}$ und des umgebenen symmetrischen Modellraums erklärt werden. Es sind $F_z = \sum(F_z(z)) > 0 \mu\text{N}$ und $F_y = \sum(F_y(y)) \approx 0 \mu\text{N}$ erkennbar, was mit der Lage der quadratischen Symbole in Abbildung 24 übereinstimmt. Aufgrund der symmetrischen Modellierung sollte $F_x = \sum(F_x(x)) \approx 0 \mu\text{N}$. Die scheinbar größere Anzahl an Werten im Bereich $F_x > 0 \mu\text{N}$ (Abbildung 49c) führt hier jedoch zu der Annahme: $F_x = \sum(F_x(x)) > 0 \mu\text{N}$. Die Richtigkeit des zu $x = x_s$ scheinbaren symmetrischen Profil $F_x(x)$ ist in Frage zu stellen, da eine Ausgewogenheit wie bei $F_y(y)$ zu erwarten gewesen wäre.

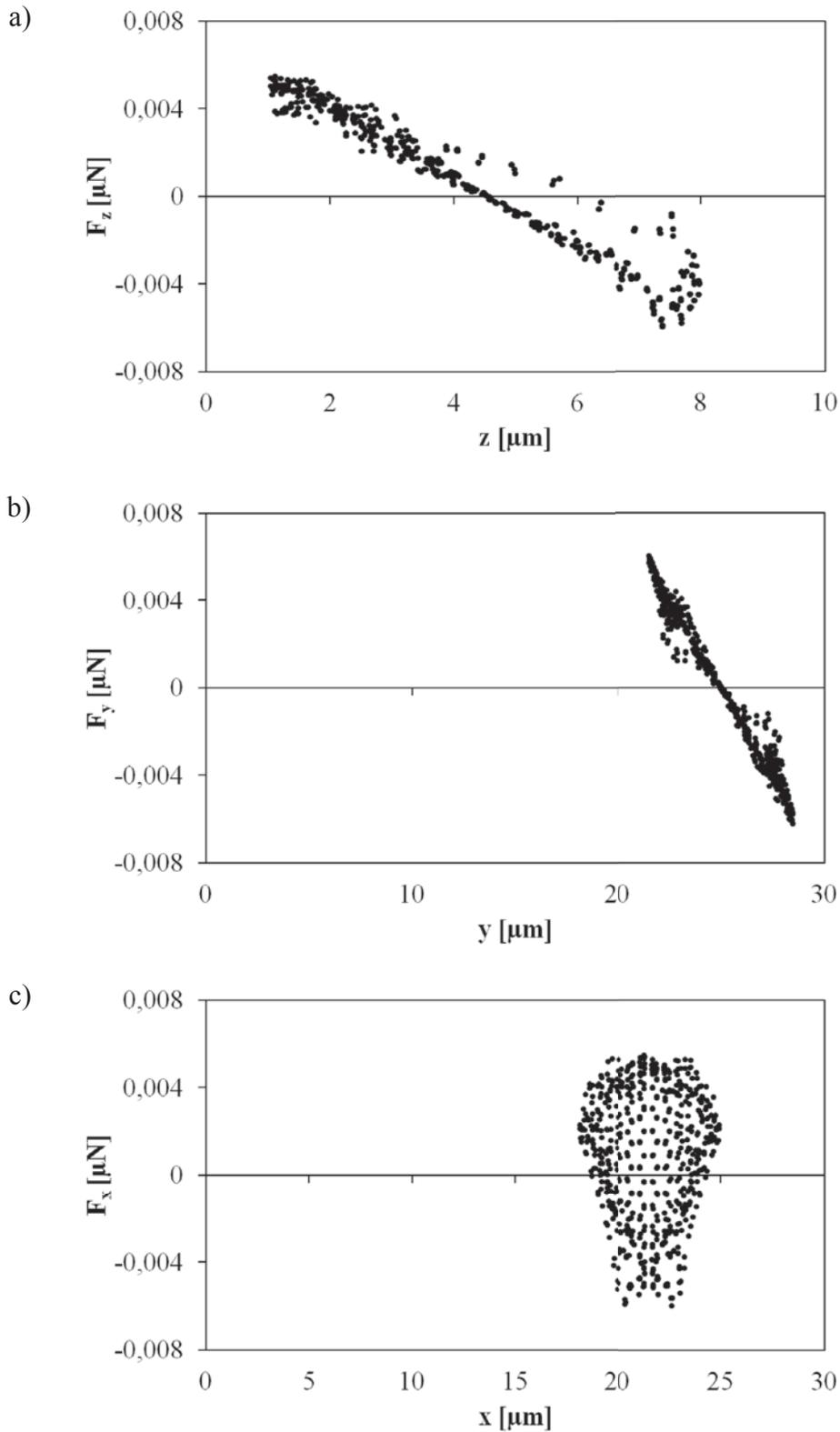


Abbildung 49: Kräfteprofil über eine modellierte CHO-Zelle vor der Düsenbarriere bei $\dot{V} = 500 \mu\text{l}/\text{min}$ und $y_{\text{CHO},1}$.

In Bezug auf Ergebnisvergleiche in nachfolgenden Arbeiten muss bedacht werden, dass in den Ergebnissen aus Abbildung 49 die Kontaktkräfte zwischen modellierter CHO-Zelle und Wand der Düsenbarriere (vgl. Kapitel 7.1.5, letzter Abschnitt) nicht berücksichtigt wurden.





Zusammenfassung

Chinese-Hamster-Ovary (CHO) Zellen werden zur Produktion von Wirkstoffen in der pharmazeutischen Industrie eingesetzt. Die mechanischen Eigenschaften solcher Zellen spielen für ihre Aufbereitung und die Grundlagenforschung eine wesentliche Rolle, insbesondere bei z.B. der Auslegung integrierter Systeme wie Chiplabore, in denen Zellaufschluss stattfindet. Im Rahmen des Projekts „SysCompart“ als Teil des vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) initiierten Programms „Neue Methoden in der Systembiologie“ wurde ein solches Chiplabor an der TUHH entwickelt.

In dieser Arbeit werden mechanische Beanspruchungen auf suspensions-adaptierte CHO Zellen durch Umströmung sowie deren Antwortverhalten in Zusammenhang mit dem Kanalsystem eines solchen Chiplabors beschrieben. Der Schwerpunkt liegt auf Situationen, in denen die CHO-Zelle mit einer Wand in Kontakt steht. Im Speziellen wurden das Ablösen haftender CHO-Zellen von Wänden und das Treffen solcher Zellen auf sieb-artige Barrieren mit quader- und düsenförmigen Elementen auf Basis experimenteller Daten numerisch untersucht.

Die strömungsseitige Belastung und das Antwortverhalten der CHO-Zellen werden dabei getrennt betrachtet, da gekoppelte Simulationen zur Bestimmung der dynamischen Deformation solcher Zellen aufgrund fehlender experimenteller Daten zur Validierung und Komplexitätsgründen nicht durchgeführt wurden. Die Strömungskräfte auf solche Zellen werden deswegen mittels statischer Strömungssimulationen bestimmt, wogegen das Antwortverhalten durch dynamische Simulationen abgeschätzt wird. Zusätzlich werden Ansätze, ähnlich zur Diskretelemente-Methode (DEM), hinsichtlich geometrischer und mechanischer Modellierung einer CHO-Zelle mit mechanisch-relevanten Bestandteilen präsentiert.

Für die Strömungssimulationen wurden die CHO-Zellen als starre Objekte modelliert, um die aus Drücken und Schubspannungen resultierenden, maximalen Kräfte auf diese Zellen zu identifizieren. Ein Schwarmverhalten von CHO-Zellen oder der Einfluss von Zellresten an den Barrieren blieb bei den Modellierungen zur Vereinfachung unberücksichtigt. Zur Ablösesituation konnte ferner eine Zellverformung mit quasi-stationären Deformationsphasen nachgebildet werden. Neben charakteristischen Strömungskräften wurden erstmalig auch Widerstands- und Reibungskoeffizienten bestimmt.



Zusammenfassung

Für die dynamischen Simulationen wurde eine Differentialgleichung aus einem modifizierten Hertz-Modell, zur Berechnung von Elastizitätsmodulen, und Modellen aus der Theorie bezüglich Wechselwirkungskräfte in zweiphasigen Strömungen erstellt und damit ein normaler Stoß zwischen CHO-Zelle und Wand modelliert. Zusätzlich wurde in Ansätzen theoretisch untersucht, ob für solche Zellen ein Restitutionskoeffizient bestimmt werden kann.

Der vorhandene Datenbestand zu mechanischen Größen von CHO-Zellen bezieht sich fast vollständig auf adhärent-wachsende Zellen. Für die Modellierungen des Antwortverhaltens und der Ansätze zur Modellierung von Zellbestandteilen wurden daher auch bekannte mechanische Größen anderer eukaryotischer Zellen verwendet.

Die Ergebnisse können wie folgt zusammengefasst werden:

An der Düsenbarriere sind die maximalen Strömungskräfte auf die auftreffenden CHO-Zellen erwartungsgemäß größer als an der Quaderbarriere und hängen anscheinend proportional von der Zellgröße und reziprok proportional von der Prozesstemperatur ab. Bei Betrachtung der letztgenannten Einflussparameter in Bezug auf die Düsenbarriere scheint die Zellgröße in den betrachteten Bereichen der Zellgrößen, Volumenströme und Prozesstemperaturen gewichtiger zu sein. Die ermittelten Kraftgrößen liegen in der Nano-Newton- und Mikro-Newton-Skala, wobei die Druckanteile dieser Kräfte nahezu immer überwiegen. Das tatsächlich verwendete Medium TC42+Glutamin zum Transport der CHO-Zellen besitzt ähnliche mechanische Eigenschaften wie demineralisiertes Wasser, weshalb beinahe gleiche Kräfte auf die CHO-Zellen bei einem Ergebnis-Vergleichstest festzustellen waren.

Auf Basis der Ergebnisse aus dem simulierten Antwortverhalten der CHO-Zellen wäre ein kontinuierlicher Zellaufschluss für CHO-Zellen mit einem Durchmesser von 12 μm durch die Düsenbarriere theoretisch möglich. Tatsächliche Zellaufschlüsse werden mit den Daten aus den experimentellen Versuchen des Institutes für Bioprozess- und Biosystemtechnik bestätigt. Ein kontinuierlicher Betrieb wird jedoch aufgrund lokaler bis flächendeckender Verstopfung widerlegt. Zur Quaderbarriere bestehen der theoretische Verdacht und die experimentelle Gewissheit, dass zumindest kleinere CHO-Zellen bei den verwendeten Volumenströmen nicht aufgeschlossen werden. In Bezug auf die strömungsseitige Belastung der CHO-Zellen ist die Düsenbarriere der Quaderbarriere vorzuziehen.

Es konnten charakteristische Strömungskräfte zum Ablösen haftender CHO-Zellen für verschiedene Zellgrößen und -Formen bestimmt werden. Mit den gewonnen Daten kann angenommen werden, dass die Haftkräfte zwischen CHO-Zelle und den Elementrundungen der



Zusammenfassung

Düsenbarriere beim größten betrachteten Volumenstrom überwunden werden. Eine Übertragung der gewonnenen Daten auf die Auftreffsituation am Eingang der Quaderbarriere wird aufgrund zu großer Modellunterschiede nicht empfohlen.

Es wird prognostiziert, dass Restitutionskoeffizienten ungleich Null von CHO-Zellen schwer zu bestimmen sind, da der geringe Dichteunterschied zwischen CHO-Zelle und einer wässrigen, extrazellulärer Phase eine hohe Relativgeschwindigkeit verhindert. Für erkennbare Kompressionsphasen wären Versuche mit Apparaturen notwendig, die nach dem Prinzip von z.B. Zentrifugen arbeiten.

Mit der Modellierung von mechanisch-relevanten Bestandteilen einer CHO-Zelle über kugelförmige Elemente sind noch folgende Konflikte zu bewältigen:

- Die realen Größenverhältnisse dieser Zellbestandteile können am Beispiel der Plasmamembran und des Zytoplasmas nur bei ausreichender Rechenkapazität modelliert werden.
- Für die numerischen Berechnungen dieser Zellbestandteile bei fast gleicher Originalgröße sind sehr kleine Zeitschritte notwendig, die zu langen Rechenzeiten führen.
- Für die Berechnungen der Grenzflächen zwischen Zellbestandteilen fehlen noch experimentelle Daten auf Basis der Kontinuums-Theorie zu Druck-, Scher- und Zugbelastungen.
- Bei lokaler Flächendehnung der Plasmamembran bis zum Riss ist ein Kompromiss zu kritischer Flächendehnung und Kontaktauflösung benachbarter Elemente zu finden.





Anhang

A Summenverteilungen

Die Anzahlsummenverteilung Q_0 (Abbildung 43) wurde nach Gl. (52) berechnet und enthält den normalisierten Abstand ($d_n = d_{DE-DE} / d_{DE}$), die Gesamtanzahl der Kontakte zwischen DE der modellierten Plasmamembran (N_K) und die Anzahl der Kontakte mit gleichem (d_n (N_i)), die mit steigendem d_n summiert wurden.

$$Q_0(d_{n,j+1}) = \frac{\sum_{i=1}^j N_i(d_{n,i})}{N_K} \quad (52)$$

Die Flächensummenverteilungen Q_2 (Abbildung 15), hier in Abhängigkeit des Flächeninhaltes der planaren, dreieckigen Elemente ($A_{Gitter,i}$), wurden nach Gl. (53) berechnet. Im Zähler wurden die Flächen der Flächenelemente mit steigendem Flächeninhalt summiert.

$$Q_2(A_{Gitter,j+1}) = \frac{\sum_{i=1}^j A_{Gitter,i}}{\sum_{i=1}^{N_{CHO}} A_{Gitter,i}} \quad (53)$$

B Rechnersystem und Skripte

Die im Folgenden aufgeführten Skripte wurden in den Programmiersprachen C und C++ verfasst. Die Skripte in C wurden von ANSYS Fluent interpretiert und zu Beginn der Strömungssimulationen als Randbedingung geladen (Anhänge B.1 und B.2) oder nach Ende dieser Simulationen auf die Ergebnisdaten angewandt (Anhang B.3). In den Anhängen B.1, B.2 und B.3 werden die numerischen Berechnungen der Gln. (9) und (13) dargestellt und für Gl. (24) auf die Publikation verwiesen, aus der das Skript kopiert wurde.

Die Skripte in C++ (Anhänge B.4 und B.5) zur Berechnung der Kompressionsphase, Gln. (38) und (39), wurden mit Microsoft Visual Studio 2008 erstellt und ausgeführt. Als Basis diente jeweils das Betriebssystem Microsoft Windows 7 Professional in der Version 6.1.7601 Service Pack 1 Build 7601. Die Berechnungen fanden auf einem 64-bit System mit einem Intel® Core™ i5 CPU 760 @2.8 GHz 2.8 GHz Prozessor und 8 GB RAM statt.



B.1 2D-Geschwindigkeitsprofil

Zur Anwendung in ANSYS Fluent (12.0.16):

```
#include "udf.h"
```

```
#include <math.h>
```

```
DEFINE_PROFILE( inlet_z_velocity, thread, position )
```

```
{
```

```
    const double   Volumenstrom   = 0.00000005/60., // [m3/s] →  $\dot{V} = 50 \mu\text{l}/\text{min}$ 
```

```
                  Kanalbreite     = 0.00175,      // [m]
```

```
                  Kanalhoehe      = 0.00005;      // [m]
```

```
    real           x[ ND_ND ], y;
```

```
    face_t         f;
```

```
    begin_f_loop( f, thread )
```

```
    {
```

```
        F_CENTROID( x,f,thread );
```

```
        y = x[1];
```

```
        F_PROFILE( f, thread, position ) = 6. * Volumenstrom * ( Kanalhoehe*y - y*y)/
```

```
            ( Kanalbreite*pow( Kanalhoehe, 3) );
```

```
    }
```

```
    end_f_loop( f, thread )
```

```
}
```



B.2 3D-Geschwindigkeitsprofil

Zur Anwendung in ANSYS Fluent (12.0.16):

```
#include "udf.h"
```

```
#include <math.h>
```

```
DEFINE_PROFILE( profile_z, thread, position )
```

```
{
```

```
    const double Volumenstrom = 0.0000000551/60., // [m³/s] → 55,1 µl/min  
                Kanalbreite   = 0.00032,         // [m]  
                Kanalhoehe    = 0.00006,         // [m]  
                PI             = 3.1415926535;    // Kreiszahl [-]
```

```
    real          x[ ND_ND ], x_, y;
```

```
    face_t        f;
```

```
    double        Counter, x1, y1, Zaehler, Nenner, Zaehler_Summe, Nenner_Summe,  
                KoZ, KoN;
```

```
    int           i
```

```
KoZ = 12 * Volumenstrom / ( 0.5 * Kanalbreite * 0.5 * Kanalhoehe * pow( PI, 3 ) );
```

```
KoN = 192 * Kanalbreite / ( Kanalhoehe * pow( PI, 5 ) );
```

```
begin_f_loop( f, thread )
```

```
{
```

```
    F_CENTROID( x,f,thread );
```

```
    x_ = x[ 0 ];
```

```
    y  = x[ 1 ];
```

```
Zaehler_Summe = 0.0; Nenner_Summe = 0.0;
```

```
for( i = 1 ; i < 1001 ; i++ )
```

```
{
```

```
    Counter = ( double ) ( 2 * i - 1 ); // Anpassung der Zaehlervariable
```

```
    x1      = x_;
```

```
    y1      = y - Kanalhoehe / 2; // Anpassung des Koordinatensystems
```



Anhang

```
Zaehler = pow( (-1.0), ( Counter - 1.0 )/2 ) *  
          ( 1 - cosh( Counter*PI*y1/Kanalbreite ) /  
            cosh( Counter*PI*Kanalhoehe/( 2 * Kanalbreite ) ) ) *  
          cos( Counter*PI*x1/Kanalbreite ) / pow( Counter, 3 );  
  
Nenner = tanh( Counter*PI*Kanalhoehe/( 2 * Kanalbreite ) ) /  
         pow( Counter, 5 );  
  
Zaehler_Summe = Zaehler_Summe + Zaehler;  
Nenner_Summe = Nenner_Summe + Nenner;  
}  
  
F_PROFILE( f, thread, position ) = KoZ * ( Zaehler_Summe /  
                                           ( 1 - KoN * Nenner_Summe ) );  
}  
end_f_loop( f, thread )  
}
```

B.3 Energiedissipation pro Zeit und Volumen

Das Vorgehen wurde aus Mollet (Mollet, Physiological effects of hydrodynamic forces on animal cells, 2004) adaptiert.

B.4 CHO-Wand-Stoß: Kompressionsphase

```
#include <fstream>  
#include <iostream>  
#include <string>  
#include <sstream>  
#include <fstream>  
#include <math.h>  
#include <stdio.h>  
#include <stdlib.h>  
#include <utility>  
#include <vector>
```



Anhang

```
#include <algorithm>
#include <map>

using namespace std;

const double PI = 3.1415926535; // Kreiszahl Pi

double d_Zellgroesse = 0.000012, //  $d_{\text{CHO}}$  [m]
       v_Poisson = 0.5, // Querkontraktionszahl [-]
       rho = 1050.0, //  $\rho_{\text{CHO}}$  [kg/m3]
       rho_f = 1000.0, //  $\rho_f$  [kg/m3]
       eta_f = 0.0008, //  $\eta_f$  [Pa·s]
       R_Spitze = 0.0000264, // Radius der AFM-Spitze
       Gravitation = 9.81, // Beschleunigung [m/s2]
       Delta_dm = d_Zellgroesse / 1000.0, // init. Kompressionsstrecke [m]
       dm = 0.0, //  $\delta$  [m]
       m_CHO = rho*PI*pow(d_Zellgroesse, 3.0)/6.0, //  $m_{\text{CHO}}$  [kg]
       m_CHO_v = (2.0/3.0)*rho_f*PI* // virtuelle Masse zu  $m_{\text{CHO}}$ 
                pow(d_Zellgroesse/2.0, 3.0),
       k_St = 300.0/log(60.0/0.7); //  $k_{\text{St}}$  [Pa/log[m/s]]

double v_CHO, v_CHO_LOG, E_Modul, F_AFM, dm_modify, F_deltaP, Re_p, F_Umstroemung,
       Beschleunigung;

std::vector<double> Temp;

int main(int argc, char *argv[])
{
    F_deltaP = m_CHO * ( 1.0 - rho_f / rho ) * Gravitation;

    // Berechnung der Sinkgeschwindigkeit
    v_CHO = F_deltaP / ( 3.0 * PI * eta_f * d_Zellgroesse );

    if ( v_CHO * d_Zellgroesse * rho_f / eta_f > 0.25 )
    {
        //Gleichung zur Berechnung der Sinkgeschwindigkeit: Gültigkeitsverletzung
    }
    else
    {
        // Keine Aktion
    }

    double dt = Delta_dm / v_CHO; // Delta_dm = 12 nm

    for( int t = 1; t < 1000; t++ )
    {
```



Anhang

```
dm = v_CHO * dt + dm;

// Berechnung der Strömungswiderstandskraft
Re_p = v_CHO * d_Zellgroesse * rho_f / eta_f;

if ( Re_p < 0.5 )
{
    F_Umstroemung = 3 * PI * eta_f * d_Zellgroesse * v_CHO;
}
else
{
    F_Umstroemung = ( 27.0/8.0 ) * PI * pow( pow( eta_f, 4.0 ) * rho_f *
        pow( d_Zellgroesse, 6.0 ) * pow( v_CHO, 6.0 ), (1.0/5.0) ) *
        dm;
}

// Berechnung der Widerstandskraft gegenüber Zelldeformation
v_CHO_LOG = v_CHO * pow( 10.0, 6.0 );

E_Modul = k_St * log( v_CHO_LOG ) + 2000.0 * dm / ( 3.0 * d_Zellgroesse ) +
    1075.0/3.0;

F_AFM = ( 4.0/3.0 ) * E_Modul * pow( R_Spitze, 0.5 ) * pow( dm, 3.0 / 2.0 );

// Entschleunigung
Beschleunigung = ( F_deltaP - F_AFM - F_Umstroemung ) / ( m_CHO - m_CHO_v );

v_CHO = v_CHO + Beschleunigung * dt;

Temp.push_back( dm );
Temp.push_back( (double) t*dt );
}

return EXIT_SUCCESS;
}
```

B.5 CHO-Düse-Stoß: Kompressionsphase

```
#include <cstdlib>
#include <iostream>
#include <fstream>
#include <string>
#include <sstream>
#include <fstream>
#include <math.h>
#include <stdio.h>
```



Anhang

```
#include <stdlib.h>
#include <utility>
#include <vector>
#include <algorithm>
#include <map>

using namespace std;

const double PI = 3.1415926535; // Kreiszahl Pi

double d_Zellgroesse = 0.000012, //  $d_{\text{CHO}}$  [m]
       v_Poisson     = 0.5, // Querkontraktionszahl [-]
       rho           = 1050.0, //  $\rho_{\text{CHO}}$  [kg/m3]
       rho_f         = 1000.0, //  $\rho_f$  [kg/m3]
       eta_f         = 0.0008, //  $\eta_f$  [Pa·s]
       R_Spitze      = 0.0000264, // Spitzenradius
       vf_50         = 0.014285714, //  $v_{\text{max}}$  bei  $\dot{V} = 50$   $\mu\text{l}/\text{min}$  und  $y_{\text{CHO},1}$ 
       vf_100        = 0.028571429, //  $v_{\text{max}}$  bei  $\dot{V} = 100$   $\mu\text{l}/\text{min}$  und  $y_{\text{CHO},1}$ 
       vf_500        = 0.142857143, //  $v_{\text{max}}$  bei  $\dot{V} = 500$   $\mu\text{l}/\text{min}$  und  $y_{\text{CHO},1}$ 
       Delta_dm      = d_Zellgroesse / 1000.0, // Deformationsschritt [m]
       dm            = 0.0, //  $\delta$  [m]
       vf            = vf_100, // VARIABLE

       m_CHO         = rho*PI*pow(d_Zellgroesse,
       m_CHO_v       = (2.0/3.0)*rho_f*PI*pow(d_Zellgroesse/2.0, // virtuelle Masse
       k_St          = 300.0/log(60.0/0.7),
       dt            = 8.4*pow(10.0, -8); // = Delta_dm/vf_500

int Zaehler = 1;

double v_CHO, v_CHO_LOG, E_Modul, F_AFM, Re_p, F_Umstroemung, Beschleunigung;

std::vector<double> Temp;

std::ofstream DATAPOINT;

int main(int argc, char *argv[])
{
    v_CHO = vf;
```



Anhang

```
for( int t = 1; t < 1000000; t++ )
{
    dm = v_CHO * dt + dm;

    // Berechnung der Strömungswiderstandskraft
    Re_p = ( vf - v_CHO ) * d_Zellgroesse * rho_f / eta_f;

    if ( Re_p < 0.5 )
    {
        F_Umstroemung = 3.0 * PI * eta_f * d_Zellgroesse * ( vf - v_CHO );
    }
    else
    {
        F_Umstroemung = ( 27.0/8.0 ) * PI * pow( pow( eta_f, 4.0 ) * rho_f*
            pow( d_Zellgroesse, 6.0 ) *
            pow( vf - v_CHO, 6.0), ( 1.0/5.0 ) ) * dm;
    }

    // Berechnung der Widerstandskraft gegenüber Zelldeformation
    v_CHO_LOG = v_CHO*pow( 10.0, 6.0 );

    E_Modul = k_St * log( v_CHO_LOG ) + 2000.0 * dm / ( 3.0*d_Zellgroesse ) +
        1075.0/3.0;

    F_AFM = ( 4.0/3.0 ) * E_Modul * pow( R_Spitze, 0.5 ) * pow( dm, 3.0/2.0 );

    // Entschleunigung: Daher wird die virtuelle Masse subtrahiert
    Beschleunigung = ( F_Umstroemung - F_AFM ) / ( m_CHO - m_CHO_v );

    v_CHO = v_CHO + Beschleunigung * dt;
}
```



Anhang

```
if ( Zaehler == 1 ) //Ausdünnung der Ergebnisse
{
    Temp.push_back( dm );
    Temp.push_back( ( double ) t*dt );
}
else if ( Zaehler == 10 )
{
    Zaehler = 0;
}
Zaehler++;
}
system("PAUSE");
return EXIT_SUCCESS;
}
```





Literaturverzeichnis

Agresar, G., Linderman J.J., T. G., & Powell, K. (1998). An adaptive, cartesian, front-tracking method for the motion, deformation and adhesion of circular cells. *J Comput Phys* 143, S. 346-380.

Alberts, B., Bray, D., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., et al. (1998). *Essential Cell Biology, An Introduction to the Molecular Biology of the Cell*. New York & London: Garland Publishing, Inc.

Anderson, E., Petersen, D., & Tobey, R. (1970). Density invariance of cultured Chinese Hamster Cells with stage of the mitotic cycle. *Biophys J* 10, S. 630-645.

ANSYS. (2009). *ANSYS Fluent 12.0 Theory Guide*. ANSYS, Inc.

Antonyuk, S. (2006). *Deformations- und Bruchverhalten von kugelförmigen Granulaten bei Druck- und Stoßbeanspruchung*. Dissertation, Otto-von-Guericke-Universität, Magdeburg.

Arfsten, J., Bradtmöller, C., Kampen, I., & Kwade, A. (2008). Compressive testing of single yeast cells in liquid environment using a nanoindentation system. *J Mater Res* 23 (12), S. 3153-3160.

Arfsten, J., Kampen, I., & Kwade, A. (2009). Mechanical testing of single yeast cells in liquid environment: Effect of the extracellular osmotic conditions on the failure behavior. *Int J Mat Res* 7, S. 978-983.

Avanti. (2012). Avanti® Polar Lipids, Inc. . <http://avantilipids.com>, Zugriff: 04.09.2012 .

Bahnemann, J. (2014). *Neue Ansätze zur systembiologischen Untersuchung der Mitochondrien und des Metabolismus in tierischen Zellkulturen*. Hamburg: Technische Universität Hamburg-Harburg.

Bell, G., Dembo, M., & Bongrand, P. (1984). Cell adhesion – competition between nonspecific repulsion and specific bonding. *Biophys J* 45, S. 1051-1064.

Besser, A. (2009). *Modeling the coupling of mechanics and biochemistry in cell adhesion*. Inaugural-Dissertation, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, Heidelberg.



- Bhatia, N., & Nachbar, W. (1968). Finite indentation of an elastic membrane by a spherical indenter. *Int. J. Non-Linear Mechanics* 3 (3), S. 307-324.
- Bluestein, M., & Mockros, L. (1969). Hemolytic effects of energy dissipation in flowing blood. *Med Biol Eng* 7, S. 1-16.
- Boal, D. (2002). *Mechanics of the cell*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Born, C., Zhang, Z., Al-Rubeai, M., & Thomas, C. (1992). Estimation of disruption of animal cells by laminar shear stress. *Biotechnol Bioeng* 40, S. 1004-1010.
- Boyer, P. (1983). *The Enzymes, Third Edition, XVI Lipid Enzymology*. New York: Academic Press Inc.
- Brunsting, A., & Mullaney, P. (1974). Differential light scattering from spherical mammalian cells. *Biophys J* 14, S. 439-453.
- Bruus, H. (2008). *Theoretical Microfluidics*. Oxford: Oxford University Press.
- Butler, J., Mohandas, N., & Waugh, R. (2008). Integral protein linkage and the bilayer-skeletal separation energy in red blood cells. *Biophys J* 95, S. 1826-1836.
- Cabral, F., M.M., G., Zimmerman, S., & Steinert, P. (1981). Intermediate filaments from Chinese hamster ovary cells contain a single protein. Comparison with more complex systems from baby hamster kidney and mouse epidermal cells. *J Biol Chem* 256 (3), S. 1428-1431.
- Canetta, E., Duperray, A., Leyrat, A., & Verdier, C. (2005). Measuring cell viscoelastic properties using a forcespectrometer: influence of protein-cytoplasm interactions. *Biorheology* 42(5), S. 321-333.
- Carl, P., & Schillers, H. (2008). Elasticity measurement of living cells with an atomic force microscope: data acquisition and processing. *Pflugers Arch – Eur J Physiol* 457, S. 551–559.
- Castilho, L., & Anspach, B. (2003). CFD-Aided Design of a Dynamic Filter for Mammalian Cell Separation. *Biotechnol Bioeng* 83(5), S. 514-524.
- CHO. (2012). Consortium for Chinese Hamster Ovary Cell Genomics. http://hugroup.cems.umn.edu/CHO/cho_press.html, Zugriff: 03.09.2012 .
- Chun, B., & Ladd, A. (2006). Inertial migration of neutrally buoyant particles in a square duct: An investigation of multiple equilibrium positions. *Phys Fluids* 18 031704 .



Coskun, H., & Mackey, M. (2007). Ameboid cell motility: A model and inverse problem, with an application to live cell imaging data. *J Theor Biol* 244 (2), S. 169-179.

DEM Solutions. (2010). *DEM Solutions – Engineering with Confidence*. Abgerufen am 27. Mai 2010 von EDEM 2.3 Programming Guide, 3B: <http://www.dem-solutions.com/>

Di Carlo, D. (2009). Inertial microfluidics. *Lab Chip* 9, S. 3038-3046.

Di Carlo, D., Edd, J., Humphry, K., Stone, H., & Toner, M. (2009). Particle segregation and dynamics in confined flows. *Phys Rev Lett* 102 094503 .

Di Carlo, D., Jeong, K.-H., & Lee, L. (2003). Reagentless mechanical cell lysis by nanoscale barbs in microchannels for sampler preparation. *Lap Chip* 3, S. 287-291.

Dingermann, T., Hänsel, R., & Zündorf, I. (2002). *Pharmazeutische Biologie – Molekulare Grundlagen und klinische Anwendung*. Berlin Heidelberg NewYork: Springer-Verlag.

Dinhof, P. (2001). *Untersuchung zur Beeinflussung der Scherempfindlichkeit von CHO-Zellen durch Lipide und Cyclodextrine in proteinfreiem Medium*. Hannover: Fachbereich Chemie der Universität Hannover.

Dittmeyer, R., Keim, W., Kreysa, G., & Oberholz, A. (2003). Winnacker-Küchler: Chemische Technik. In R. Dittmeyer, W. Keim, G. Kreysa, & A. Oberholz, *Band 2: Neue Technologien*. Weinheim: WILEY-VCH.

Dong, C., & Lei, X. (2000). Biomechanics of cell rolling: shear flow, cell-surface adhesion, and cell deformability. *J Biomech* 33, S. 35-43.

Drasdo, D., & Höhme, S. (2005). A single-cell-based model of tumor growth in vitro: monolayers and spheroids. *Phys Biol* 2, S. 133-147.

Durst, F., Ray, S., Ünsal, B., & Bayoumi, O. (2005). The development lengths of laminar pipe and channel flows. *J Fluid Eng-T ASME* 127, 1154-1160.

Ehrhard, P., & Meisel, I. (2002). Strömungs- und Transportprozesse in Mikrokanälen. *Nachrichten – Forschungszentrum Karlsruhe* 34 2-3, 137-142.

Engelmann, D. (2005). Membranes are more mosaic than fluid. *Nature* 438, doi:10.1038/nature04394 .



Epps, B. (kein Datum). *MIT – Massachusetts Institute of Technology*. (MIT, Hrsg.) Abgerufen am 25. Dezember 2012 von

http://web.mit.edu/2.016/www/handouts/Added_Mass_Derivation_050916.pdf

Ethier, C., & Simmons, C. (2007). *Introductory Biomechanics: From Cells to Organisms*. Cambridge: Cambridge University Press.

Evan, E., Heinrich, V., Ludwig, F., & Rawicz, W. (2003). Dynamic Tension Spectroscopy and Strength of Biomembranes. *BIOPHYS J* 85, S. 2342-2350.

Evans, E. (1974). Bending resistance and chemically induced moments in membrane bilayers. *BIOPHYS J* 14, S. 923-931.

Evans, E., & Rawicz, W. (1990). Entropy-driven tension and bending elasticity in condensed-fluid membranes. *Phys Rev Lett* 64 (17), S. 2094-2099.

Fries, L. (2012). *Discrete particle modeling of a fluidized bed granulator*. Dissertation, Hamburg University of Technology.

Garcia-Manyes, S., & Sanz, F. (2010). Nanomechanics of lipid bilayers by force spectroscopy with AFM: A perspective. *Biochimica et Biophysica Acta* 1798, S. 741–749.

Garcia-Saez, A., Chiantia, S., & Schwille, P. (2007). Effect of line tension on the lateral organization of lipid membranes. *J Biol Chem* 282 (46), S. 33537-33544.

Gierloff-Emden, H.-G. (1979). *Lehrbuch der allgemeinen Geographie, Band 5/2: Geographie des Meeres- Ozeane und Küsten, Teil 2*. Berlin, New York: Walter de Gruyter.

Gittes, F., Mickey, B., Nettleton, J., & Howard, J. (1993). Flexural Rigidity of Microtubules and Actin Filaments Measured from Thermal Fluctuations in Shape. *J Cell Biol* 120(4), S. 923-934.

Giuilak, F., Tedrow, J., & Burgkart, R. (2000). Viscoelastic Properties of the Cell Nucleus. *Biochem Biophys Res Co* 269, S. 781-786.

Godoy, R. (2008). *Lethal and sub-lethal effects of hydrodynamic forces on animal cell culture*. Dissertation, Ohio State University.

Goldman, R., Grin, B., Mendez, M., & Kuczmarski, E. (2008). Intermediate filaments: versatile building blocks of cell structure. *Curr Opin Cell Biol* 20, S. 28-34.



- Gregoriades, N., Clay, J., Ma, N., Koelling, K., & Chalmers, J. (2000). Cell damage of microcarrier cultures as a function of local energy dissipation created by a rapid extensional flow. *Biotechnol Bioeng* 69 (2), S. 171-182.
- Guzman, C., Jeney, S., Kreplak, L., Kasas, S., & Kulik, A. (2006). Exploring the mechanical properties of single vimentin intermediate filaments by atomic force microscopy. *J Mol Biol* 360, S. 623–630.
- Hansson, J., Karlsson, J., Haraldsson, T., van der Wijngaart, W., & Russom, A. (2011). Transducers'11. *Inertial particle focusing in parallel microfluidic channels for high-throughput filtration (T4D.005)*, (S. 1777-1780). Beijing.
- Hennesthal, C. (2003). *Herstellung porenüberspannter Lipidmembranen und deren Charakterisierung mittels Rasterkraftmikroskopie*. Dissertation, Westfälischen-Wilhelms-Universität, Münster.
- Herwig, H. (2008). *Strömungsmechanik – Einführung in die Physik von technischen Strömungen*. Wiesbaden: Vieweg+Teubner Verlag.
- Hochmuth, R., & Marcus, W. (2002). Membrane tethers formed from blood cells with available area and determination of their adhesion energy. *Biophys J* 82, S. 2964-2969.
- Hosu, B., Sun, M., Marga, F., Grandbois, M., & Forgacs, G. (2007). Eukaryotic membrane tethers revisited using magnetic tweezers. *Phys. Biol.* 4, S. 67-78.
- Hur, S., Henderson-MacLennan, N., McCabe, E., & Di Carlo, D. (2011). Deformability-based cell classification and enrichment using inertial microfluidics. *Lap Chip* 11, S. 912-920.
- Iordan, A., Duperray, A., & Verdier, C. (2007). A fractal approach to the rheology of concentrated cell suspensions. *arXiv:0709.3671v1 [cond-mat.soft]* .
- Jamali, Y., Azimi, M., & Mofrad, M. (2010). A Sub-Cellular Viscoelastic Model for Cell Population Mechanics. *PLoS ONE* 5 (8), S. e12097.
- Janmey, P., Euteneuer, U., Traub, P., & Schliwa, M. (1991). Viscoelastic Properties of Vimentin Compared with Other Filamentous Biopolymer Networks. *J Cell Biol* 113 (1), S. 155-160.
- Jones jr., O. (1976). An improvement of the calculation of turbulent friction in rectangular ducts. *J Fluid Eng-T ASME*, S. 173-181.



- Judy, J., Maynes, D., & Webb, B. (2002). Characterization of frictional pressure drop for liquid flows through microchannels. *Int J Heat Mass Tran* 45, S. 3477-3489.
- Juliano, R., & Gagalang, E. (1976). The adhesion of Chinese Hamster Cells. *J Cell Physiol* 92, S. 209-220.
- Kast, W. (2006). Bewegung fester Partikel in Gasen und Flüssigkeiten. In *VDI-Wärmeatlas* (10. Ausg., S. Lca 4). Berlin Heidelberg: Springer-Verlag .
- Keane, J., Ryan, D., & Gray, P. (2002). Effect of shear stress on expression of a recombinant protein by Chinese Hamster Ovary cells. *Biotechnol Bioeng* 81 (2), S. 211-220.
- Kleinig, H., & Sitte, P. (1999). *Zellbiologie, 4. Auflage/neubearb. von Hans Kleinig und Uwe Maier*. Jena: Gustav Fischer Verlag.
- Kockmann, K. (2008). *Transport Phenomena in Micro Process Engineering*. London: Springer Verlag.
- Kohl, M., Abdel-Khalik, S., Jeter, S., & Sadowski, D. (2005). An experimental investigation of microchannel flow with internal pressure measurements. *Int J Heat Mass Tran* 48, S. 1518-1533.
- Koshiyama, K., & Wada, S. (2011). Molecular dynamics simulations of pore formation dynamics during the rupture process of a phospholipid bilayer caused by high-speed equibiaxial stretching. *J Biomech* 44, S. 2053-2058.
- Kreplak, L., Herrmann, H., & Aebi, U. (2008). Tensile Properties of Single Desmin Intermediate Filaments. *Biophys J* 94, S. 2790–2799.
- Kürten, H., Raasch, J., & Rumpf, H. (1966). Beschleunigung eines kugelförmigen Feststoffteilchens im Strömungsfeld konstanter Geschwindigkeit. *Chem-Ing-Tech* 38, S. 941-948.
- Landau, L., & Lifschitz, E. (1991). Band VI: Hydrodynamik. In L. Landau, & E. Lifschitz, *Lehrbuch der theoretischen Physik* (S. 57-59). Berlin: Akademie Verlag GmbH.
- Laurien, E., & Oertel jr., H. (2009). *Numerische Strömungsmechanik, Grundgleichungen und Modelle – Lösungsmethoden – Qualität und Genauigkeit, 3. Auflage*. Wiesbaden: Vieweg+Teubner.



- Leonenko, Z., Finot, E., Ma, H., Dahms, T., & Cramb, D. (2004). Investigation of temperature-induced phase transitions in DOPC and DPPC phospholipid bilayers using temperature-controlled scanning force microscopy . *Biophys J* 86, S. 3783-3793.
- Leong, F., Li, Q., Lim, C., & Chiam, K.-H. (2010). Modeling cell entry into a micro-channel. *Biomech Model Mechanobiol*: DOI 10.1007/s10237-010-0271-1 .
- Liedekerke, P., Ghysels, P., Tijssens, E., G., S., Smeedts, B., Roose, D., et al. (2010). A particle-based model to simulate the micromechanics of single-plant parenchyma cells and aggregates. *Phys Biol* 7, S. doi:10.1088/1478-3975/7/2/026006.
- Lieleg, O., Claessens, M., & Bausch, A. (2009). Structure and dynamics of cross-linked actin networks. *Soft Matter* 6, S. 218–225.
- Liu, G., & Liu, M. (2003). *Smoothed Particle Hydrodynamics, a meshfree particle method*. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd.
- Loodts, J., Tijssens, E., Wei, C., Vanstreels, E., Nicolai, B., & Ramon, H. (2006). Micromechanics: Simulating the elastic behavior of onion epidermis tissue. *J Texture Stud* 37, S. 16-34.
- Loth, E. (2008). Drag of non-spherical solid particles of regular and irregular shape. *Powder Technol* 182, S. 342-353.
- Luna, E., & Hitt, A. (1992). Cytoskeleton-Plasma membrane interactions. *Science*, S. 955-964.
- Ma, N., Koelling, K., & Chalmers, J. (2002). Fabrication and use of a transient contractional flow device to quantify the sensitivity of mammalian and insect cells to hydrodynamic forces. *Biotechnol Bioeng* 80 (4), S. 428-437.
- MacQueen, L., Buschmann, M., & Wertheimer, M. (2010). Mechanical properties of mammalian cells in suspension measured by electro-deformation . *J Micromech Microeng* 20: 065007 (11pp) .
- Mashmouhy, H., Zhang, Z., & Thomas, C. (1998). Micromanipulation measurement of the mechanical properties of baker's yeast cells. *Biotechnol Tech* 12 (12), S. 925–929.
- Maul, G., & Deaven, L. (1977). Quantitative determination of nuclear pore complexes in cycling cells with differing DNA content. *J Cell Biol* 73, S. 748-760.



- McGarry, J., & Prendergast, P. (2004). A three-dimensional Finite-Element-Model of an adherent eukaryotic cell. *European Cells and Materials* 7, S. 27-34.
- Merkel, R., Simson, R., Simson, D., Hohenadl, M., Boulbitch, A., Wallraff, E., et al. (2000). A micromechanic study of cell polarity and plasma membrane cell body coupling in Dictyostelium. *Biophys J* 79, S. 707-719.
- Mey, I. (2009). *Elastizität porenüberspannender Membranen: Eine kraftmikroskopische Studie*. Dissertation, Johannes Gutenberg-Universität, Mainz.
- Mollet, M. (2004). *Physiological effects of hydrodynamic forces on animal cells*. Dissertation, The Ohio State University, Ohio.
- Mollet, M., Godoy-Silva, R., Bergudo, C., & Chalmers, J. (2007). Acute hydrodynamic forces and apoptosis: A complex question. *Biotechnol Bioeng* 98 (4), S. 772-788.
- Morris, J., & Fox, P. (1997). Modeling Reynolds Number Incompressible Flows Using SPH. *Journal of Computational Physics* 136, S. 214-226.
- Murakoshi, M., Gomi, T., Iida, K., Kumano, S., Tsumoto, K., Kumagai, I., et al. (2006). Imaging by Atomic Force Microscopy of the Plasma Membrane of Prestin-Transfected Chinese Hamster Ovary Cells. *JARO* 7, S. 267-278.
- N'Dri, N., Shyy, W., & Tran-Son-Tay, R. (2003). Computational modeling of cell adhesion and movement using a continuum-kinetics approach. *Biophys J* 85, S. 2273-2286.
- Needham, D., & Nunn, R. (1990). Elastic deformation and failure of lipid bilayer membranes containing cholesterol. *BIOPHYS J* 58, S. 997-1009.
- Newman. (2005). Modeling multicellular systems using subcellular elements. *Math Biosci Eng* 2 (3), S. 611-622.
- Nichols-Smith, S., Teh, S.-Y., & Kuhl, T. (2004). Thermodynamic and mechanical properties of model mitochondrial membranes. *Biochimica et Biophysica Acta* 1663, S. 82– 88.
- Norotte, C., Marga, F., Neagu, A., Kosztin, I., & Fogas, G. (2008). Experimental evaluation of apparent tissue surface tension based on the exact solution of the Laplace equation. *EPL* 81, doi: 10.1209/0295-5075/81/46003 .



- Pan, J., Tristram-Nagle, S., Kucerka, N., & Nagle, J. (2008). Temperature dependence of structure, bending rigidity, and bilayer interactions of dioleoylphosphatidylcholine bilayers. *Biophys J* 94, S. 117-124.
- Pappu, V., Doddi, S., & Bagchi, P. (2008). A computational study of leukocyte adhesion and its effect on flow pattern in microvessels. *J Theor Biol* 254, S. 483-498.
- Park, H. (2010). A method to determine zeta potential and Navier slip coefficient of microchannels. *J Colloid Interf Sci* 347, S. 132-141.
- Paschedag, A. (2004). *CFD in der Verfahrenstechnik- Allgemeine Grundlagen und mehrphasige Anwendungen*. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Pathmanathan, P., Cooper, J., Fletcher, A., Mirams, G., Murray, P., Osborne, J., et al. (2009). A computational study of discrete mechanical tissue models. *Phys Biol* 6, S. 036001.
- Popov, L. (2009). *Kontaktmechanik und Reibung- Ein Lehr- und Anwendungsbuch von der Nanotribologie bis zur numerischen Simulation*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
- Qin, Z., Kreplak, L., & Buehler, M. (2009). Hierarchical Structure Controls Nanomechanical Properties of Vimentin Intermediate Filaments. *PLoS ONE* 4 (10), doi:10.1371/journal.pone.0007294 .
- Rawicz, W., Olbrich, K., McIntosh, T., Needham, D., & Evans, E. (2000). Effect of Chain Length and Unsaturation on Elasticity of Lipid Bilayers. *Biophys J* 79, S. 328-339.
- Richter, A., & Nikrityuk, P. (2012). Drag forces and heat transfer coefficients for spherical, cuboidal and ellipsoidal particles in cross flow at sub-critical Reynolds numbers. *Int J Heat Mass Tran* 55, S. 1343-1354.
- Sackmann, E., & Merkel, R. (2010). *Lehrbuch der Biophysik*. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Sandersius, S., & Newman, T. (2008). Modelling cell rheology with the Subcellular Element Model. *Phys Biol* 5, S. 015002.
- Sartorius. (2013). *Sartorius AG*. Abgerufen am 19. Februar 2013 von <http://www.sartorius.de/de/startseite/>
- Satcher, R., & Dewey, C. (1996). Theoretical Estimates of Mechanical Properties of the Endothelial Cell Cytoskeleton. *Biophys J* 71, S. 109-118.



Schnegas, S., Antonyuk, S., & Heinrich, S. (2013). 3D modeling and Computational Fluid Dynamics simulations of surface-attached CHO-K1 cells going to detach from a microchannel wall. *Powder Technol*, S. doi: 10.1016/j.powtec.2012.12.042.

Schnegas, S., Antonyuk, S., & Heinrich, S. (2012). *DEM approach to model mechanical behavior of eukaryotic cells*. (S. Schnegas, Interpret) AICHEMA 2012, Frankfurt a.M., Hessen, Deutschland .

Schnegas, S., Antonyuk, S., Heinrich, S., Rajabi, N., & Müller, J. (2014). Fluid paths inside a spiral-shaped microchannel: A CFD study with discussion about possible Chinese Hamster Ovary cell trajectories. *Microfluid Nanofluid* (submitted March 2014) .

Schulze, C., Müller, K., Käs, J., & Gerdemann, J. (2009). Compaction of cell shape occurs before decrease of elasticity in CHO-K1 cells treated with actin cytoskeleton disrupting drug cytochalasin D. *Cell Motil Cytoskeleton* 66 (4), S. 193-201.

Seewöster, T., & Lehmann, J. (1997). Cell Size Distribution as a Parameter for the Predetermination of Exponential Growth During Repeated Batch Cultivation of CHO Cells. *Biotechnol Bioeng* 55 (5), S. 793-797.

Shay, J., Portner, K., & Prescott, D. (1974). The Surface Morphology and Fine Structure of CHO (Chinese Hamster Ovary) Cells Following Enucleation. *Proc Nat Acad Sci USA* 71 (8), S. 3059-3063.

Simson, R. (1998). *Untersuchung der elastischen und plastischen Eigenschaften von Zellen und Zellmodellen mittels mikro-optischer und mikromechanischer Methoden*. München: Herbert Utz Verlag GmbH.

Solsona, C., Innocenti, B., & Fernandez, J. (1998). Regulation of exocytotic fusion by cell inflation. *Biophys J* 74, S. 1061-1073.

Solutions, D. (2011). *EDEM-CFD Coupling for FLUENT – User Guide, EDEM 2.3, Revision 4B*. Edinburgh: Zugriff: 09.06.2011.

Sommerfeld, M. (1996). *Modellierung und numerische Berechnung von partikelbeladenen turbulenten Strömungen mit Hilfe des Euler/Lagrange-Verfahrens*. Aachen: Shaker Verlag.

Spurk, J., & Aksel, N. (2006). *Strömungslehre – Einführung in die Theorie der Strömungen* (6. Ausg.). Berlin Heidelberg New York: Springer.



Steltenkamp, S. (2006). *Mechanische Eigenschaften von freitragenden artifiziellen und nativen Membranen*. Mainz: Johannes Gutenberg-Universität.

Stieß, M. (2009). *Mechanische Verfahrenstechnik – Partikeltechnologie 1* (3., vollst. neu bearb. Ausg.). Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.

Tittel, K. (2003). *Beschreibende und funktionelle Anatomie des Menschen, 14. Auflage*. München, Jena: Urban & Fischer Verlag.

van der Pol, L., & Tramper, J. (1998). Shear sensitivity of animal cells from a culturemedium perspective. *Trends Biotechnol* 16 (8), S. 323-328.

Velve-Casquillas, G., Le Berre, M., & Piel, M. (2010). Microfluidic tools for cell biological research. *Nano Today* 5, S. 28-47.

Wagner, W. (2006). Stoffwerte für Wasser. In V. D. Ingenieure (Hrsg.), *VDI Wärmeatlas* (10. Ausg., S. Dba 2). Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.

Wang, C., Wang, L., & Thomas, C. (2004). Modelling the Mechanical Properties of Single Suspension-Cultured Tomato Cells. *Ann Bot* 93, S. 443-453.

Weigl, B. (2004). *Trennkraft zwischen Mikroorganismen, Partikeln und Oberflächen*. Dissertation, Technische Universität München.

Weinzierl, D. (2008). *Herstellung von hohlen mineralischen Strukturen auf der Basis von Hefezellen*. Dissertation, Universität Regensburg.

White, F. (2011). *Fluid Mechanics* (7. Ausg.). New York: McGraw-Hill Companies.

White, F. (1991). Viscous fluid flow – Second edition. In *McGraw-Hill series in Mechanical Engineering*. United States of America: McGraw-Hill, Inc.

Whitesides, G. (2006). The origins and the future of microfluidics. *Nature* 442, S. 386-373.

Wibel, W. (2008). *Untersuchungen zu laminarer, transitioneller und turbulenter Strömung in rechteckigen Mikrokanälen*. Dissertation, Technische Universität Dortmund.

Williams, T., Nagarajan, S., Selvaraj, P., & Zhu, C. (2001). Quantifying the impact of membrane microtopology on effective two-dimensional affinity. *J Biol Chem* 276, S. 13283-13288.



Wurm, M. (2011). Development of an integrated microfluidic system for metabolomic analysis of mammalian cells. *Hamburg University of Technology* .

Wurm, M., & Zeng, A.-P. (2012). Mechanical disruption of mammalian cells in a microfluidic system and its numerical analysis based on computational fluid dynamics. *Lab Chip 12*, S. 1071-1077.

Wurm, M., Schoepke, B., Lutz, D., Muller, J., & Zeng, A.-P. (2010). Microtechnology meets Systems biology: The small molecules of metabolome as next big targets. *J Biotechnol 149*, S. 33-51.

Yoon, Y., Pitts, K., & McNiven, M. (2002). Studying Cytoskeletal Dynamics in Living Cells Using Green Fluorescent Protein. *Mol Biotechnol 21 (3)*, S. 241-250.

Zastawny, M., Mallouppas, G., Zhao, F., & van Wachem, B. (2012). Derivation of drag and lift force and torque coefficients for non-spherical particles in flows. *Int J Multiphas Flow 39*, S. 227-239.

Zeng, L., Balachandar, S., & P, F. (2005). Wall-induced forces on a rigid sphere at finite Reynolds number. *J Fluid Mech 536*, S. 1-25.

Zhang, X., Jones, P., & Haswell, S. (2008). Attachment and detachment of living cells on modified microchannel surfaces in a microfluidic-based lab-on-a-chip system. *Chem Eng J 135S*, S. 82-88.

Zhang, Z., Al-Rubeai, M., & Thomas, C. (1993). Estimation of disruption of animal cells by turbulent capillary flow. *Biotech Bioeng 42*, S. 987-993.

Zhao, M., Srinivasan, C., Burgess, D., & Huey, B. (2006). Rate- and depth-dependent nanomechanical behavior of individual living Chinese hamster ovary cells probed by atomic force microscopy. *J Mater Res 21(8)*, S. 1906-1912.

Zhou, Y., & Raphael, R. (2005). Effect of Salicylate on the Elasticity, Bending Stiffness, and Strength of SOPC Membranes. *BIOPHYS J 89*, S. 1789-1801.

Zhou, Y., & Raphael, R. (2007). Solution pH Alters Mechanical and Electrical Properties of Phosphatidylcholine Membranes: Relation between Interfacial Electrostatics, Intramembrane Potential, and Bending Elasticity. *Biophys J 92*, S. 2451–2462.



Literaturverzeichnis

Zündorf, I. (5. Mai 2010). *Neue rekombinante Arzneimittel*. Abgerufen am 4. 12 2012 von Goethe Universität – Frankfurt am Main: http://user.uni-frankfurt.de/~dingerma/Podcast/Cottbus_Gentech.pdf





Liste der Veröffentlichungen

Artikel

S. Schnegas, S. Antonyuk, S. Heinrich:

3D modeling and Computational Fluid Dynamics simulations of surface-attached CHO-K1 cells going to detach from a microchannel wall.

Powder Technol 237 (2013), S. 529-536

S. Schnegas, V. Salikov, S. Antonyuk, S. Heinrich, N. Rajabi, J. Müller:

Fluid paths inside a spiral-shaped microchannel: A CFD study with discussion about possible Chinese Hamster Ovary cell trajectories.

Microfluid Nanofluid (2014), DOI: 10.1007/s10404-014-1468-x

Ausgewählte Konferenzen

S. Schnegas (Vortrag), S. Antonyuk und S. Heinrich:

Mechanischer Zellaufschluss in mikrofluidischen Systemen: Modellierungsansätze.

ProcessNet-Jahrestagung und 30. Jahrestagung der Biotechnologen

September 2012

S. Schnegas (Oral presentation), S. Antonyuk und S. Heinrich:

DEM approach to model mechanical behavior of eukaryotic cells.

ACHEMA 2012

Juni 2012

S. Schnegas (Oral presentation), S. Antonyuk, S. Heinrich, M. Wurm, J. Bahnemann, S. Kayo und A.-P. Zeng:

Theoretical investigation of fluid-dynamic conditions in micro channels for cell disruption.

1st European Congress of Applied Biotechnology

September 2011



Lebenslauf

Name	Schnegas
Vorname	Stefan
Geburtsdatum	04.02.1982
Geburtsort, -land	24837 Schleswig, Deutschland
1988 - 1992	Dannewerk-Grundschule in Schleswig
1992 - 1998	Dannewerk-Realschule in Schleswig
1998 - 2001	Berufliche Schulen des Kreises Schleswig-Flensburg (technisches Gymnasium) in Schleswig, Abschluss: Allgemeine Hochschulreife
09.2001 - 06.2002	Zivildienst
08.2002 - 09.2002	Industriepraktikum: Bartsch Stahl- und Metallbau in Schleswig
10.2002 - 09.2004	Studium der Energie- und Umwelttechnik an der Technischen Universität Hamburg-Harburg, Abschluss: Vordiplom
10.2004 - 04.2009	Studium der Verfahrenstechnik an der Technischen Universität Hamburg-Harburg, Abschluss: Diplom
01.2010 - 02.2013	Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Feststoffverfahrenstechnik und Partikeltechnologie in Hamburg



