

A projekt célja a sejtek mikrokörnyezetét meghatározó paramétereket kontrolláló mikrofluidikai rendszer, illetve annak meghatározó elemeinek kifejlesztése volt. A sejtek viselkedését dinamikusan befolyásolja a 3D környezete. Ez helyfüggő kémiai ingereket, elektromágneses tereket, kémiai attraktánsok gradiensét, haptotaxist takar. Ahhoz, hogy modellezzük a sejtek szerveken belüli természetes környezetét, új koncepciók szükségesek a sejtek viselkedését befolyásoló tényezők előállítására tekintetében. A projekt egy bio-mimikai platform fejlesztését tűzi ki célul, amely a sejtek külső stimulusokra adott válaszainak kvantitatív vizsgálatára alkalmas térben és időben. A platform tartalmaz érzékelőket, amelyek érzékelik a sejtek válaszait, alkalmasak ingerek adására, és sejtek mozgásának, irányítására, mechanikai befolyásolására van bennük mód. A platform tartalmaz formázott topo-kémiai gradienseket, mikroelektrodákat az elektromos tér modulálására, illetve irányított hatóanyag bevitelre, sejt jelátalakítókat, optikai és elektromos nanoérezékelőket., mindezt mikrofluidikai környezetben.

A pályázatban végzett munka ilyen új tulajdonságokkal rendelkező mikrofluidikai eszközök kifejlesztésére, azok alkalmazására irányult. A folyamat során a megfelelő speciális tulajdonságokkal rendelkező mikrofluidikai eszközök építését végeztük, ezen eszközökben optikai érzékelésre alkalmas eljárások fizikai alapjait vizsgáltuk, illetve ezeken alapuló komponenseket állítottunk elő, működésüket validáltuk. A pályázat előrehaladtával összetett biológiai rendszerek modellezésére alkalmas mikrofluidikai rendszereket is kialakítottunk, amelyekkel bonyolult és fontos biológiai szereppel bíró szerveket modelleztünk.

Alább röviden ismertetem a kutatás fontos mérföldköveit.

1. Integrált optikai szenzorok mikrofluidikai eszközökben. Munkánk a korábban általunk kialakított integrált optikai szenzorok biológiai felületekkel való további érzékenyítése. A szenzorok működésének alapja a fényvezető felületén megjelenő evaneszcens hullám kölcsönhatása a felületen levő anyaggal. A felület kezelését arany réteggel végezzük kooperációban az olasz CNR Bologna (FabioBiscarini) csoporttal, új közlemény a munkából még nem született. E témában további új munkánk a lokális fényerősítésre vonatkozik. Kulcskérdés a mikrofluidikai integrált optikai szenzorokban és csapdáknál a megfelelő fényintenzitás elérése. A lokális intenzitás növelésének nagy hatású módját kísérleteztük ki segítségül hívva a plazmonikát. A fényvezető mikrostruktúrák felületét arany nanorészecskékkel vonjuk be, és a létrejövő plazmonikus tér lokális fluoreszcencia gerjesztést erősít, jobb detektálási körülményeket teremtve. E munkából közlemény született:

Aekbote, B. L.; Schubert, F.; Ormos, P.; Kelemen L.: Gold nanoparticle-mediated fluorescence enhancement by two-photon polymerized 3D microstructures, OPTICAL MATERIALS Vol: 38 301-309 (2014)

2. A mikrofluidikai rendszerek, mikroeszközök kialakításában alapvető módszerünk a kétfotonos gerjesztésű lézeres fotopolimerizáció, ezzel az eljárással lehet tetszőleges bonyolultságú háromdimenziós mikrostruktúrákat létrehozni. Tradicionálisan úgy történik a

folyamat, hogy a lézerefényt nagy numerikus apertúrájú mikroszkóp objektívvel a fényre keményedő polimerbe fókuszáljuk, és a mintát a fókusz mozgásával rajzoljuk ki. A mozgás piezoelektromos lineáris mozgatókkal, komputer vezérléssel történik – azaz mechanikus úton. Számos előnye lenne, ha nem kellene mechanikai mozgással együtt járnia a folyamatnak, ezért kutatásokat folytattunk ebben az irányban is. A polimerizáló lézerefényt úgynevezett optikai térmodulátorral (Spatial Light Modulator-SLM) lehet tetszőlegesen eltéríteni. Az eljárás nehézsége onnan adódik, hogy az eltérítés holografikus úton történik, és az egyes eltérítésekhez külön-külön ki kell számítani a megfelelő hologramot. Ezt megvalósítottuk, megoldottuk, hogy akár másodpercenként 60-szor (ez a TV frekvenciával működő SLM sebessége) újra számoljuk a hologramot, vagyis megoldottuk az eltérítés valós idejű változtatását. Így tetszőleges számú (akár több tíz) fénysugárral végezhetjük a polimerizációt, mechanikai mozgás nélkül. Az eljárás leírása közleményben történt. Vizsnyiczai, G.; Kelemen, L.; Ormos, P.: Holographic multi-focus 3D two-photon polymerization with real-time calculated holograms, OPTICS EXPRESS Vol. 22 pp. 24217-24223 (2014)

2. A fém nanorészecskékkel borított felület közelében plazmon rezonancia révén nagy lokális fényintenzitás erősítés érhető el, amint azt az előző munkában megerősítettük, illetve megalapoztuk az alkalmazását mikrofluidikai rendszerünkben. Az eljárást lényegesen továbbfejlesztve lokális mikrospektroszkópiai eszközt készítettünk, amely ezen elvet felhasználva működik. Kétfotonos fotopolimerizációval létrehoztunk mikrométeres méretű eszközöket, amelyeket optikai mikromanipulátorral lehet tetszőlegesen mozgatni, és a fém nanorészecskékkel borított aktív végével kis területre lokalizálva tudunk fluoreszcencia erősítést kiváltani. Ezen eszközzel nagy térbeli feloldású lokális fluoreszcencia vizsgálatra van lehetőség. A munkának az is lényeges eredménye, hogy először valósítottuk meg azt, hogy mikrostruktúra felületét szelektíven, csak a kívánt területen borítsuk be fém nanorészecskékkel – így vált megvalósíthatóvá a lokális fényerősítő próba. A munkából közlemény született.

Vizsnyiczai, G; Lestyan, T; Joniova, J; Aekbote, BL; Strejckova, A; Ormos, P; Miskovsky, P; Kelemen, L; Bano, G : Optically Trapped Surface-Enhanced Raman Probes Prepared by Silver Photoreduction to 3D Microstructures, LANGMUIR Volume: 31, 10087-10093 (2015)

3. Mikroorganizmusok mozgásának egyik legfontosabb meghatározója bizonyos kémiai anyagok lokális koncentrációja, koncentráció-változása. Ezek az anyagok alapvetően a táplálkozással kapcsolatosak, illetve jelző molekulák. A mozgások megértésében nagyon fontos precízen beállított, jól szabályozott koncentrációgradiensek előállítása illetve fenntartása – legyen az tápanyag vagy jelző molekula. Alapvető célunk volt egy jól használható, koncentráció gradiens előállítására képes mikrofluidikai eszköz kialakítása. Az eszközben szabadon úszó sejteket tudunk tanulmányozni precízen szabályozott környezetben, ráadásul lehetőség van optikai csipesz alkalmazására is, így gyorsan tudjuk a sejteket különböző de jól jellemzett ionkörnyezetbe helyezni. Úgy gondoljuk, általánosan használható univerzális eszközt készítettünk. Az eszközt részletesen jellemeztük, bemutatásából, illetve kémiai attraktánsok vizsgálatára történő alkalmazásáról két tudományos közleményt jelentettünk meg.

Nagy, K; Sipos, O; Gombai, E; Kerényi, A; Valkai, S; Ormos, P; Galajda, P :Interaction of Bacterial Populations in Coupled Microchambers, CHEMICAL AND BIOCHEMICAL ENGINEERING QUARTERLY 28, 225-231 (2014)

Nagy, K; Sipos, O; Valkai, S;Gombai, E; Hodula, O; Kerényi, A;Ormos, P; Galajda, P : Microfluidic study of the chemotactic response of Escherichia coli to amino acids, signaling molecules and secondary metabolites
BIOMICROFLUIDICS Volume: 9 044105 (2015)

4. Egészen új mikrofluidikai kutatás a mikrofluidikai vér-agy-gát modell kifejlesztése. E téma használja a speciális alakú és topológiájú mikrofluidikai csatornákat, az aktív felületeket és a csatornában létrehozott elektromos tereket (az elektromos tér és E. coli baktériumok kölcsönhatásának a vizsgálata jelenleg is folyik).

Közismert az agyi érfalak nem áteresztő tulajdonsága, az úgynevezett vér-agy-gát, óriási szerepe van az agy védelmében, illetve az agyi sérülések gyógyításában. Különböző makroszkopikus rendszereket használnak a modellezésére. Az SZBK Neurobiológiai csoportjával együttműködve az új kidolgozott technológiát alkalmazva kifejlesztettünk egy mikrofluidikai vér-agy-gát modellt, amelyben sokkal jobban szabályozott körülményeket tudunk biztosítani a folyamatok modellezésére. A mikrofluidikai rendszerben a megfelelő sejtek beépítésével létrehoztuk az agyi vérerek (és környezetük) modelljét. Két térrészt elválasztó lyukacsos membránon hoztuk létre az érfal modelljét, mellé telepíthető a valószerű sejt-környezet. A vér-agy-gát intaktságát elektromos ellenállás mérésével jellemezzük. Az egész rendszer behelyezhető egy fénymikroszkópba. A rendszerben tudjuk mérni az agyi érfal modell permeabilitási tulajdonságait, az átjutó anyagokat követni tudjuk, illetve az idegen sejtek átjutását mikroszkópiai úton láthatóvá tudjuk tenni. Sokat várunk a rendszertől, a vér-agy-gáton kívül más, nagyon fontos endotél rétegeknek (pl. bélfal, gyomorfallal, stb.) az eddigieknél sokkal alaposabb vizsgálatára ad módot. További munkáinkban egy kulcsrendszer lesz, úgy gondoljuk, komoly jövője van. A bemutató közlemény:

Walter, S Valkai, A Kincses, A Petneházi, T Czeller, S Veszélka, P Ormos, M A. Deli, A Dér:
A versatile lab-on-a-chip tool for modeling biological barriers, Sensors and Actuators B 222
1209–1219 (2016)

5. Munkánk része a biológiai mozgások modellezésére is irányul. A biológiai modellrendszereket kétfotonos lézeres fotopolimerizációval állítjuk elő, és mozgásukat fényvel érzük el. Robot-modellünk különlegessége, hogy bár a mozgáshoz a fény szolgáltatja az energiát, a mozgás irányára a fénynek nincs hatása, autonóm módon mozog (ez nem nyilvánvaló, mert a fény egyszerű módon vagy a haladási irányában tud hajtani testet, vagy optikai csipeszben rögzítve, de ez esetben a csapdát kell vezérelten mozgatni). Rendszerünk úgy működik, hogy a vízszintes felületen gurulni képes rotorokat felülről függőlegesen megvilágítjuk, és azok a helyzetük által meghatározott irányban, de a fény energiáját felhasználva mozognak. A rendszert megvalósítottuk. Ráadásul, felismertünk egy általános fizikai törvényszerűséget arra vonatkozóan, milyen feltételei vannak a fény hajtotta

forgásnak a fény és a test kölcsönhatásakor fellépő fényszórás dimenzionális tulajdonságaira vonatkozóan. A munkából készült közlemény jelenleg publikálás alatt van.

L Oroszi, A Búzás, P Galajda, L Kelemen, A Mathesz, T Vicsek, G Vizsnyiczay and P Ormos: Dimensionality constraints of light-induced rotation Applied Physics Letters, in press (2015)

Az elvégzett munkából hét referált közlemény született, összesen 21.6 impakt faktoral.