



ÓBUDAI EGYETEM
ÓBUDA UNIVERSITY

DOKTORI (PhD) TÉZISFÜZET

BATÓ LILIA

INTEGRÁLT MIKROFLUIDIKAI RENDSZEREK SEJTANALITIKAI CÉLOKRA

Témavezető:

Dr. Fürjes Péter

ANYAGTUDOMÁNYOK ÉS TECHNOLÓGIÁK
DOKTORI ISKOLA

Budapest,
2026. június 12.

1. A kutatás előzményei

A mikrofluidikai rendszerek és különböző alkalmazásai számos területen megjelennek, így biológiai, kémiai, orvosdiagnosztikai és gyógyszervegyészeti szempontból is rendkívül perspektivikusak¹. Az egyik legfontosabb feladatuk az úgynevezett Lab-on-a-Chip (LoC) rendszerekben a mintapreparációs funkciók megoldása. A LoC eszközök olyan komplex érzékelő rendszerek, melyek integráltan képesek akár laboratóriumi preparációs lépéseket, akár mérési feladatokat egyaránt elvégezni. Ennek megfelelően a mikrofluidikai rendszerek vizsgálata és fejlesztése sokoldalú felhasználásuknak köszönhetően az elmúlt évtizedben népszerű kutatási témává vált².

A LoC rendszerek sejtes alkalmazásra történő továbbfejlesztésével létrejöttek a mikrofiziológiai, illetve az Organ-on-Chip (OoC) rendszerek, melyek különböző sejtek, vagy akár emberi szövetek beható vizsgálatára fókuszálnak. A különféle szövetek összekapcsolása segíthet megérteni a sejtek és szervek közötti komplex kölcsönhatásokat, illetve követni a környezeti hatásokra adott válaszfolyamatokat³. Segítségükkel felgyorsítható a gyógyszerek tesztelése és fejlesztése, hiszen a hatóanyagok célzott bejuttatása és hatásuk nyomon követése a vizsgált biológiai modell-rendszerben kontrollált módon megvalósítható. Ezek a rendszerek jelenthetik a megoldást az állatkísérletek számának csökkentésére és hosszú távú megszüntetésére, mivel lehetővé teszik a mesterséges környezetben fenntartott sejtek és szövetek alkalmazását a pre-klinikai vizsgálatok során, mely gyógyszer-hatóanyagok tesztelésénél pontosabb eredményeket nyújthat az állatkísérleteknél, mivel az állatok és az ember metabolizmusa eltérhet. Az OoC rendszerek a rákkutatás fejlődését is elősegíthetik, hiszen alkalmasak lehetnek az érintett szövetek, a bennük zajló folyamatok⁴, hatóanyagokra való reagálásuk⁵, illetve tumorsejtek egészséges sejtekkel való kölcsönhatásának vizsgálatára⁶ és elválasztására is⁷. Ennek megfelelően az OoC rendszerek a személyre szabott gyógyászat elterjedésében is meghatározó szerepet játszhatnak.

Kutatásom során elsődleges célom olyan mikrofluidikai struktúrák megtervezése, létrehozása és vizsgálata volt, melyek alkalmasak kontrollált kémiai környezet kialakítására, sejtek csapdázására és tulajdonságaik nyomon követésére.

Ezek nemcsak a sejtanalitikai feladatok megvalósítását segítik, hanem elektródák integrálásával lehetőséget nyújtanak non-invazív és jelölésmentes mérési technikák alkalmazására, így a csapdázott sejtek tulajdonságai zavartalanul vizsgálhatóak. A mikroszkopikus mérettartományban kialakított kémiai gradiens segítségével a struktúra képes hatóanyagok szabályozott koncentrációban történő bejuttatására. A rendszer lehetővé teszi a benne csapdázott sejtek optikai vizsgálatát, valamint fluoreszcens festéssel a sejtek különböző hatóanyagokra adott válaszainak tanulmányozását. A sejtek életképességének és szaporodásának nyomon követése fontos lépés egy olyan eszköz kifejlesztésében, mely hosszú távon hozzájárulhat a rákkutatáshoz, illetve új utakat nyithat a baktériumok antibiotikum-rezisztenciájának gyors vizsgálatában.

Munkám során a mikrofluidikai chippek, illetve elektródák előállítását és a rajtuk folytatott méréseket a HUN-REN Energiatudományi Kutatóközpont Műszaki Fizikai és Anyagtudományi Intézetének Mikrorendszerek Laboratóriumában végeztem.

2. Célkitűzés

Kutatómunkám célja olyan mikrofluidikai rendszerek kialakítása, melyek az optikai vizsgálatok helyett elektromos mérési módszereket alkalmaznak, mivel az optikai módszerekben általánosan használt fluoreszcens festékek befolyásolhatják a sejtek működését, megváltoztathatják viselkedésüket, és toxikusak is lehetnek. A sejtek egyéb befolyás nélküli válaszána követésére alkalmas módszer az impedancia spektroszkópia, mely számos kémiai és sejtanalitikai módszer alapja. Célom ennek a módszernek mikrofluidikai rendszerben történő integrálása, mely non-invazív és jelölésmentes mérési módszert valósít meg a struktúrában belül.

A sejtek és sejt kultúrák vizsgálatánál fontos szempont a tesztelendő hatóanyagok és terápiás szerek eloszlásának és koncentrációjának nyomon követése. A munkám kezdetén először célom a mikrofluidikai struktúrába juttatott hatóanyagok viselkedésének vizsgálata és követésének megvalósítása volt. Ehhez a kémiai gradiens kontrollált kialakulását vizsgáltam az erre a célra tervezett mikrofluidikai rendszerben.

A fejlesztés következő szakaszában célom a sejtcspadázás mikrofluidikában történő megvalósítása volt, mely elengedhetetlen a sejtek tulajdonságainak lokális tanulmányozásához. Ehhez a célnak megfelelően módosított mikrocsatornában sejtcspadázási módszereket teszteltem.

A sejtek életképességének nyomon követésének kidolgozása szerves részét képezte a munkámnak, ugyanis a különböző hatóanyagok hatásmechanizmusának követése esetén fontos a sejtek viabilitásának monitorozása. A viabilitás párhuzamos optikai és elektromos vizsgálatához olyan nyáklapot alkalmaztam, mely integrált mikrofluidikai struktúra segítségével egyszerre valósítja meg a fluoreszcens jelek megfigyelését és az impedancia spektrumok felvételét. Ezen fejlesztési szakaszban történt az elektródák integrálása és funkcionális validációja.

A kutatás során a rendszer működőképességének igazolására (proof-of-concept) modell sejteként élesztőgombákat használtam (*S. cerevisiae*), mivel ezekkel lényegesen egyszerűbb és biztonságosabb dolgozni, mint magasabb rendű, vagy humán sejtekkel. A sejt munkákban a HUN-REN TTK Gyógyszerrezisztencia Csoportjának együttműködése és segítsége elengedhetetlen volt.

3. Vizsgálati módszerek

3.1. Mikrofluidikai rendszerek kialakítása

A mikrofluidikai struktúrák lágy litográfiával, valamint fotolitográfiával készültek, melyek geometriai elrendezését a CleWin5 és CleWin6 (WieWeb szoftver) alaprajztervező szoftver segítségével rajzoltam. A mintázat króm maszkja direkt litográfiával (Heidelberg DWL 66) készült. A mikrostruktúrákat meghatározó litográfiai ábra szilícium vagy üveg szeleten történő megfelelő kialakításához maszkillesztő berendezést alkalmazunk (Süss MicroTech MA6). A SU-8 negatív tónusú fotorezisztet megvilágítva áll elő a struktúra negatív öntőformája. Lágy litográfiához a két komponensből keverhető poli-dimetilsziloxán (PDMS) polimert használtam (Sylgard 184).

Az elektródák integrálása során a fémek leválasztása vékonyréteg leválasztási módszerekkel, vákuumporlasztással (Vaksis MiDAS 3M) és vákuumpárologtatással (AJA International ATC-M) történt. Az elektródák elrendezésének kialakítása lift-off litográfiával valósult meg. Az elektródák anyagának vizsgálatához pásztázó elektronmikroszkópiát és energiadiszperzív röntgenspektroszkópiát alkalmaztam (Zeiss LEO 1540 XB), további megmunkálásuk fókuszált ionsugaras marással (ThermoScientific Scios 2) történt.

3.2. Fluoreszcens vizsgálatok

A kémiai gradiens kialakulását és a csapdázott sejtek optikai vizsgálatát fluoreszcens spektroszkópiával végeztem. A méréseket egy Zeiss Axio Vert.A1 fluoreszcens mikroszkóppal végeztem, mely Zeiss Axio 512 mono kamerával van felszerelve. Az adott hullámhosszon felvett képeket a ZEN 2.6 (Blue Edition) szoftverben dolgoztam fel, majd a diffúziós profilekat az ImageJ 1.52a program segítségével vettem fel.

3.3. Elektromos mérések

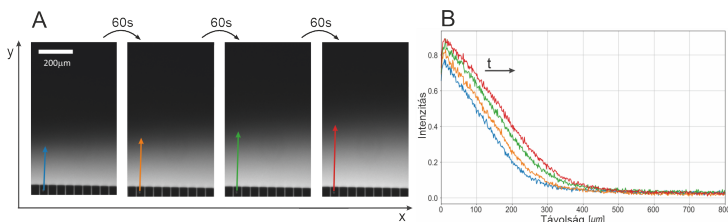
Az elektródák funkcionális validációjához és a csapdázott sejtek vizsgálatához elektrokémiai impedancia spektroszkópiát alkalmaztam. A méréseket egy PalmSense4 potenciosztással végeztem, az adatokat a hozzá tartozó PS Trace 5.8 szoftverrel értékeltem ki.

4. Új tudományos eredmények

[T1] Szabad molekuladiffúzió vizsgálatára alkalmas mikrofluidikai rendszert terveztem és alakítottam ki, mely lehetővé teszi fluoreszcens molekulák diffúziós állandóinak optikai detektáláson alapuló meghatározását, az időben változó koncentráció gradiens profil követésével és elemzésével.

[P1] [C2] [C3]

- (i) A mikrofluidikai rendszer szerkezete egyedülálló módon, akadályok és membránok nélkül teszi lehetővé szabad molekuladiffúzió vizsgálatát. Megmutattam, hogy az általam tervezett architektúra – megfelelő mérési protokoll mellett – biztosítja az állandó felületi koncentráció kialakulását a főcsatornában, lehetővé téve a komplementer hibafüggvény alkalmazását a diffúziós folyamat matematikai leírására. A szimmetrikus csatornarendszer, a nagy (7mm) átmérőjű bemeneti nyílások és a jelentős hidrodinamikai ellenállással rendelkező – $10\mu\text{m}$ (m) $\times$ $6\mu\text{m}$ (sz) $\times$ $800\mu\text{m}$ (h) – mintainjektáló kapillárisok csökkentik a hidrosztatikai nyomáskülönbségekből adódó konvektív hatásokat.
- (ii) Megmutattam, hogy a fejlesztett eszköz és módszer megbízhatóan alkalmas lokális optikai zajt létrehozó folyamatok (pl. fehérje aggregáció) hatásainak kiküszöbölésére és lehetővé teszi fehérjék diffúziós állandóinak gyors, 10 percen belüli mérését.
- (iii) Az optikai mérés kiértékeléséhez fejlesztett Python programkód alkalmazásával meghatároztam három, különböző nagyságrendbe eső tesztmolekula – BSA, IgG és RhB – diffúziós állandóit, melyek a definiált 1%-os függvény-illesztési hiba kritérium esetén, molekulák méretétől és a referencia mérési módszertől függően 1-10%-os eltéréssel megegyeztek az irodalmi értékekkel.

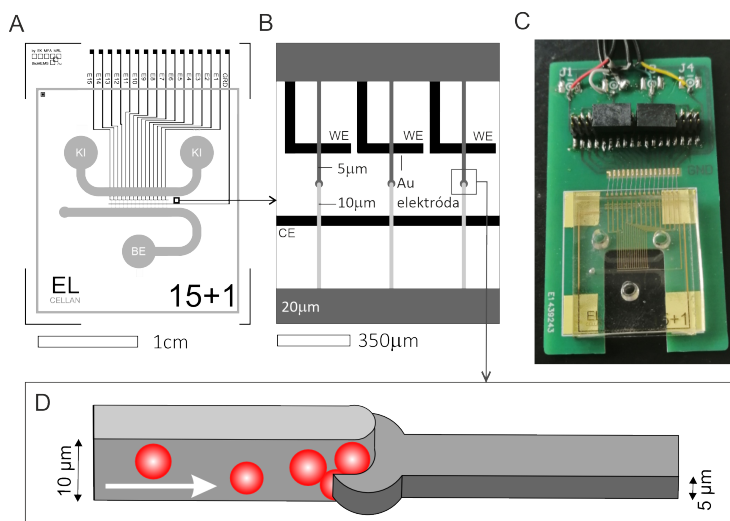


1. ábra. (A) A BSA diffúziójának fluoreszcens képei egy perces időkülönbséggel és (B) a hozzájuk tartozó intenzitásprofilok ábrázolása

[T2] Integrált elektródákat és vertikális csapdaszerkezetet tartalmazó PDMS alapú mikrofluidikai rendszert hoztam létre, mely képes sejtszámok, vagy egyedi sejtek csapdázására, illetve a sejtek számának párhuzamos optikai és elektromos nyomon követésére.

[P2] [P3] [C4]

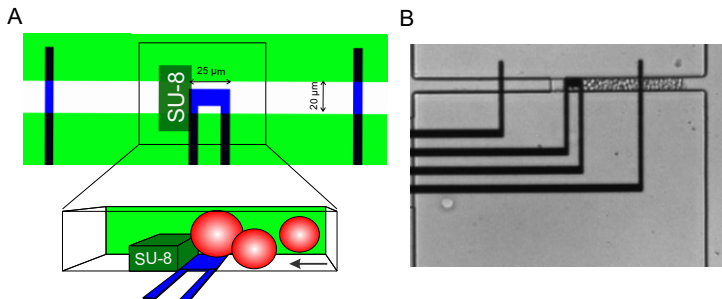
- (i) Megmutattam, hogy a mikrofluidika rendszer egyedi csatornáinak médiummal való feltöltése 1 kHz-es frekvencián végzett folytonos impedancia méréssel követhető.
- (ii) A megvalósított mikrofluidikai rendszerben elektrokémiai impedancia spektroszkópiával vizsgáltam a sejtszám spektrumra gyakorolt hatását *S.cerevisiae* élesztő sejtek esetén. Megállapítottam, hogy a javasolt módosított Randles ekvivalens áramköri modell illesztése során a töltésátadási ellenállás $r = 0.92$ korrelációs együtthatóval korrelál a sejtszámok változásával, alacsony sejtszámok (< 20) esetén.



2. ábra. (A) A mikrofluidikai chip tervezett elrendezése (szürke) és az integrált elektródarendszer (fekete). (B) A csapdázási régió nagyított képe, melyen jól látszik a keresztcsatornák (szürke) és az elektródák elrendezése. (C) A kész eszköz: a legyártott mikrofluidikai chip és a speciálisan tervezett nyáklap, az alsó optikai betekintő ablakkal. (D) A csapdázás sématis ábrája, mely mutatja, hogy a csatornán belül magasságkülönbség hogyan csapdázza a sejteket.

[T3] Közvetlenül SU-8-ban kialakított csatornákat és csapdaszerkezeteket, illetve integrált elektródákat tartalmazó mikrofluidikai rendszert hoztam létre, mely képes sejtsoportok viabilitásának párhuzamos optikai és elektromos nyomon követésére. [C5] [C9]

- (i) Az integrált elektródák anyagának, geometriájának és elhelyezkedésének optimalizálásával javítottam az impedancia mérésen alapuló analitikai rendszer érzékenységét. Megmutattam, hogy a Pt elektródák alkalmazása javítja a rendszer hosszú távú stabilitását, az elektródák felületének növelése és távolságuk csökkentése javítja a töltésátadási ellenállást.
- (ii) 10^6 sejt/ml koncentrációjú *S.cerevisiae* élesztő sejteket tartalmazó oldat esetén elektrokémiai impedancia spektroszkópiával vizsgáltam a sejtéletképesség UV besugárzás hatására történő változását és igazoltam, hogy a rendszer alkalmas a viabilitás elektromos követésére az ekvivalens áramköri illesztés paramétereinek változását felhasználva. Megállapítottam, hogy az élesztősejtek viabilitásának csökkenése a töltésátadási ellenállás jelentős növekedését, illetve a kettősréteg kapacitást jellemző konstans fáziselem csökkenését okozta.
- (iii) Humán rákos MES-SA sejtek vizsgálata esetén megállapítottam, hogy a mikrofluidikai eszköz megfelelő geometriai adaptáció után az optikai és az elektromos módszerek kombinációjával alkalmas a sejtek halálának nyomon követésére.



3. ábra. (A) A sejtszűrés sématisztikus ábrája, a csatorna SU-8-ban (zöld) kialakítva, nagyított képe (középen), az elektródák (kék) elrendezése, a központi gát (sötétzöld) és a sejtek (piros). (B) A szűrészt élesztősejtek mikroszkópos képe.

5. Az eredmények hasznosíthatósági lehetősége

Az általam fejlesztett eszköz lehetőséget teremt különböző sejtek non-invazív, valós idejű vizsgálatára, mely utat nyithat az elektromos mérés technikával kombinált kompakt mikrofiziológiai rendszerek fejlesztése felé. Ez számos területen előrelépést jelenthet, mint például a betegségmechanismusok, terápiás lehetőségek Organ-on-Chip rendszerekben végzett kutatása, vagy az antibiotikum szuszeptibilitás mikrofluidikai környezetben való gyorsított elemzése terén. A felvázolt mikrofiziológiai, vagy Organ-on-Chip rendszerek olyan kísérleti platformok, melyek lehetővé teszik élő sejtek vagy szövetek laboratóriumi fenntartását és integrált szenzorokkal történő folyamatos monitorozását. A remények szerint ezek az új fejlesztések képesek lesznek az emberi biológia megértésére és az új gyógyszerek tesztelésére irányuló kísérletek felgyorsítására.

A PhD dolgozatban bemutatott eredmények közvetlenül hasznosultak az IN-BIOM (TKP2021-EGA-04) projekt fejlesztéseiben. A projekt során a közvetlen cél olyan kompakt, moduláris mérési elvek demonstrálása, melyek lehetővé teszik sejtpopulációk közvetlen vizsgálatát - akár gyógyszerhatóanyagtesztek során is. A vizsgált sejtek detektálása, viselkedésük és életképességük követése integrált szenzorok alkalmazásával tovább egyszerűsítheti ezeket a hatóanyagteszteket. A fejlesztett optikai és elektromos mérési (EIS, EIT) módszerek képesek támogatni a terápia tervezését (pl. gyógyszer-rezisztencia vizsgálatok) vagy akár a személyre szabott terápiák kialakítását.

6. A tézispontokhoz kapcsolódó tudományos közlemények

6.1. Publikációk

- [P1] Lilia Bató, Péter Fürjes, "Diffusion coefficient measurement with fluorescent detection in free-diffusion based microfluidics" *Microfluidics and Nanofluidics*, 28 (8) pp. 56, 2024; doi:10.1007/s10404-024-02752-w
- [P2] Lilia Bató, Péter Fürjes, "Vertical Microfluidic Trapping System for Capturing and Simultaneous Electrochemical Detection of Cells" *Sensors*, 24 (20), pp. 6638, 2024; doi: 10.3390/s24206638
- [P3] Lilia Bató, Péter Fürjes, "Microfluidic System with Integrated Electrode Array for High-Throughput Electrochemical Impedance Spectroscopy Analysis of Localised Cells" *Proceedings*, 97 (1), 187, 2024; doi: 10.3390/proceedings2024097187
- [P4] Lilia Bató, János M. Bozorádi, Zoltán Vizvári and Péter Fürjes, "Microfluidic System With Integrated Electrode Array for Impedance Tomography of Cell Cultures," 2025 Symposium on Design, Test, Integration and Packaging of MEMS/MOEMS (DTIP), Split, Croatia, 2025, pp. 1-5; doi: 10.1109/DTIP66728.2025.11099198
- [P5] Lilia Bató, Péter Fürjes, János M. Bozorádi, Vladimir Tadic, Péter Odry, Zoltán Vizvári, "Sensitivity Analysis of Localized Electrochemical Impedance Spectroscopy Towards Tomography-on-a-Chip" *Sensors*, 25 (20), pp.6393, 2025, doi:10.3390/s25206393

6.2. Konferencia részvételek

- [C1] Lilia Bató and Péter Fürjes, "Individual cell trapping and viability testing in microfluidic device," *Matrafüred – International Meeting on Chemical Sensors*, June 12-17, 2022, Visegrád, Hungary (poszter)
- [C2] Lilia Bató and Péter Fürjes, "A fluorescent detection method to measure the diffusion coefficients of proteins in a free-diffusion based microfluidic system," *Lab-on-a-Chip and Microfluidics Europe*, June 21-22, 2022, Rotterdam, The Netherlands (poszter)
- [C3] Lilia Bató and Péter Fürjes, "An obstacle-free microfluidic system for monitoring protein diffusion," *MBFT XXIX. Congress*, August 28-31, 2023, Budapest, Hungary (előadás)

- [C4] Lilia Bató and Péter Fürjes, "Microfluidic system with integrated electrode array for EIS analysis of localised cells," Eurosensors 2023 Conference, September 10 - 13, 2023, Lecce, Italy (poszter)
- [C5] Lilia Bató, János M. Bozorádi, Zoltán Vizvári, Péter Fürjes "Microfluidic device for impedance tomography" Mátrafüred - International Conference on Chemical Sensors, June 16-21, 2024, Visegrád, Hungary (poszter)
- [C6] Lilia Bató, János M. Bozorádi, Zoltán Vizvári, Péter Fürjes, "Microfluidic device for EIS and optical monitoring of cells" EUROoCS Annual Meeting, July 3-5, 2024, Milan, Italy (poszter)
- [C7] Lilia Bató, János M. Bozorádi, Zoltán Vizvári, Péter Fürjes, "Microfluidic device with integrated microelectrodes for enhanced EIS sensitivity ," Eurosensors 2024 Conference, September 1 - 4, 2024, Debrecen, Hungary (előadás)
- [C8] Lilia Bató, János M. Bozorádi, Zoltán Vizvári, Péter Fürjes, "Microfluidic System With Integrated Electrode Array for Impedance Tomography of Cell Cultures," DTIP 2025 Conference, June 1 - 4, 2025, Split, Croatia (előadás)
- [C9] Lilia Bató, János M. Bozorádi, Zoltán Vizvári, Péter Fürjes, "Real-Time Cell Viability Testing in Microfluidic System by EIS," MPS 2025 World Summit, June 10 - 13, 2025, Brussels, Belgium (poszter)

7. További tudományos közlemények

- [P6] Bányai Anita, Bató Lilia, Leelőssyné Tóth Eszter, Varga Máté, Fürjes Péter, "Áramlástanai jelenségek mikroszkopikus mérettartományban – mikrofluidikai rendszerek és alkalmazásaik", Fizikai Szemle (0015-3257): 73 (11) pp. 383–389, 2023
- [P7] Barbara Beiler, Ágnes Sáfrány, Lilia Bató, Zsombor Szomor, Miklós Veres "Effect of binary porogen mixtures on polymer monoliths prepared by gamma-radiation initiated polymerization" Heliyon, 10 (19), 2024; doi: 10.1016/j.heliyon.2024.e38852
- [P8] Zsombor Szomor, Lilia Bató, Silvia Stagl, Orsolya Hakkell, Attila Sulyok, Csaba Dücső, Zsófia Baji and Péter Fürjes, "Non-stoichiometric titanium-oxide gate electrodes for EGFET based pH sensors," Proceedings, 97 (1), 187, 2024
doi: 10.3390/proceedings2024097187
- [P9] Zsombor Szomor, Lilia Bató, Orsolya Hakkell, Csaba Dücső, Zsófia Baji, Attila Sulyok, Erzsébet Dodony, Katalin Balácsi, János M. Bozorádi, Zoltán Szabó and Péter Fürjes, "Characterisation of Titanium-Oxide Thin Films for Efficient pH Sensing in Low-Power Electrochemical Systems," Sensors, 25 (19), 6113, 2025
doi: 10.3390/s25196113

8. Hivatkozások

- [1] B. Gupte, U. Jadhav, S. Gosavi, and S. Jagtap, „Lab on chip for medical and clinical applications,” *Sensors & Diagnostics*, vol. 4, no. 11, pp. 939–965, 2025.
- [2] J. P. Lafleur, A. Jönsson, S. Senkbeil, and J. P. Kutter, „Recent advances in lab-on-a-chip for biosensing applications,” *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 76, pp. 213–233, 2016.
- [3] C. Zhang, Z. Zhao, N. A. A. Rahim, D. van Noort, and H. Yu, „Towards a human-on-chip: Culturing multiple cell types on a chip with compartmentalized microenvironments,” *Lab on a Chip*, vol. 9, no. 22, 2009.
- [4] D. Wood, D. M. Weingeist, S. Bhatia, and B. Engelward, „Single cell trapping and DNA damage analysis using microwell arrays,” *National Academy of Sciences*, vol. 107, no. 22, pp. 10008–10013, 2010.
- [5] D. Caballero, S. Kaushik, V. M. Correlli, J. M. Oliveira, R. Reis, and S. C. Kunku, „Organ-on-chip models of cancer metastasis for future personalized medicine: from chip to the patient,” *Biomaterials*, vol. 149, pp. 98–115, 2017.
- [6] E. Biselli, E. Agliari, A. Barra, F. R. Bertani, A. Gerardina, A. De Ninno, A. Mencattini, D. Di Giuseppe, M. Fabrizio, G. Schiavoni, V. Lucarini, E. Vacchelli, G. Kroemer, C. Di Natale, E. Martinelli, and L. Buscinaro, „Organs on chip approach: a tool to evaluate cancer -immune cells interactions,” *Scientific Reports*, vol. 7, no. 1, 2017.
- [7] K.-A. Hyun, T. Y. Lee, and H.-I. Jung, „Negative enrichment of circulating tumor cells using a geometrically activated surface interaction chip,” *Analytical Chemistry*, vol. 85, no. 9, pp. 4439–4445, 2013.