

# Részecske- és sejttranszport modellezése mikrofluidikai rendszerekben



Leelőssyné Tóth Eszter

PhD disszertáció tézisfüzet

Témavezetők:

dr. Iván Kristóf

dr. Fürjes Péter

PÁZMÁNY PÉTER KATOLIKUS EGYETEM

INFORMÁCIÓS TECHNOLÓGIAI ÉS BIONIKAI KAR

Budapest, 2019



# 1. Bevezetés és célkitűzés

A bioszenzorika ugrásszerű fejlődésének köszönhetően olyan újfajta diagnosztikai módszerek váltak elérhetővé az orvosok és pacienseik számára, melyek rutinszerű elvégzésére eddig nem csak áruk, de az időigényük miatt sem volt lehetőség. A betegágy mellett elvégezhető gyorsesztek sikeres elterjedésében nagy szerepe van a mikrofluidika területén végzett kutatásoknak, melyek lehetővé tették akár néhány csepp vér hatékony, szennyezésmentes mozgatását és a tesztre való előkészítését az analitikai rendszerekben. Ezekben a rendszerekben a folyadéktranszportot mikronos karakterisztikus mérettel rendelkező csatornák biztosítják. A csatorna méretének csökkentésével a felület-térfogat arány megnövekszik, és mikroskálán a felületi és térfogati erők aránya megváltozik. Emiatt olyan rutinfeladatok válnak kihívássá, mint például két folyadék megfelelő összekeverése, vagy válnak lehetővé, mint a részecskék szeparációja. A mikrofluidikai kutatások hosszú távú célja tehát a mikrocsatornában kialakuló áramlási jelenségek megértése, leírása, majd lehetőség szerinti tervezése.

A mikrofluidikai és a laboratórium egy chipen (Lab-on-a-Chip - LoC) rendszerek tervezésének mára szerves része lett a numerikus modellezéssel segített paraméteroptimalizálás. **Kutatómunkám célja az volt, hogy a mikroáramlási rendszerek multimodális modellezésével megismerhessem, beazonosíthassam a mikrocsatornák komplex geometriája, illetve külső hatások által befolyásolt összetett áramlási folyamatokat, különös tekintettel a kiterjedéssel rendelkező objektumok viselkedésére a mikrofluidikai rendszerekben.** A mikrocsatornák tervezésénél minden esetben fontos szempont azok nagyobb, komplex rendszerbe való integrálhatósága,

hiszen a mintaelőkészítés fontos részét képezi a mikrofluidikai rendszereknek funkcióinak. A részecskéket is tartalmazó biológiai mintáknál ez olyan összetett feladat, melyet a legtöbb esetben a vizsgálat előtt, nagy méretű készülékeken kell elvégezni. Dolgozatomban különböző alapfunkciókat integráló mikrofluidikai rendszerek viselkedését elemeztem. ***Mikrokeverők és mikroszeparátorok*** működését vizsgáltam alakos elemek jelenlétében és javaslatot tettem azok optimális geometriájára és működtetési paramétereire.

A halszájka ***mikrokeverő*** egy fotonikai elven működő bioszenzor mikrofluidikai mintaelőkészítő egységének részét képezi. Tervezésénél arra a kérdésre kerestem a választ, hogy a folyadéktranszport egy adott úthosszán milyen a másodlagos mikrocatornák megfelelő elrendezése a minél jobb keveredés elérése érdekében.

A mikroszeparátorok esetében kétféle elválasztási feladat megoldása volt a cél: a részecskék áramlástól való elválasztása, valamint a részecskék méret szerinti elválasztása. A ***Zweifach-Fung bifurkáción alapuló plazmaelválasztást*** alkalmaztam kaszkád rendszerben hatékonyan egy csatornafal menti sejtmentes réteg kialakításával és a kivezetések után történő újbóli létrehozásával. Az elválasztott vérplazma később egy nanopórusokon keresztüli transzportmodulációt kihasználó diagnosztikai eszköz bemenete lehet.

Az MTA-ELTE Immunológiai Kutatócsoportjával való együttműködés keretei között olyan eszközt terveztünk, mely külső mintaelőkészítés nélkül alkalmas emberi vérminta AB0 vércsoportjának meghatározására. A plazmaszeparáció a diagnosztikai ötlet fontos része, melynek kialakulása adja a teszt eredményét. A tervezés során olyan mikrocatorna modellt hoztam létre, amely alkalmas a

csatornában letapadt *vörösvértestek áramlásmódosító hatásának* pontos leírására.

A részecskék áramlástól való elválasztásának egyik módja lehet a *mágneses csapdázás* is. Munkám során olyan *multidomén modellt* hoztam létre, mely képes a chip alatt elhelyezett permanens mágnes terét és a mikrocsatornában létrehozott áramlást egyszerre kezelni a paramágneses részecskék trajektóriájának kiszámításánál. A mikrocsatorna egy aptamer szelekciós rendszer alegysége lesz, mely a mágneses részecskékhez kötődött molekulákat választja el a többi molekulától. Különböző térfogatáramok mellett vizsgáltam a csapdázott részecskék arányát, hogy meghatározzam azt a működési tartományt, ami mellett az egység el tudja látni a feladatát.

A részecskék méret szerinti elválasztásának feladata egy légszennyezettséget vizsgáló eszköz fejlesztésénél merült fel. A mikrofluidikai mintaelőkészítő alegység feladata pollenek *méret szerinti elválasztása passzív hidrodinamikai módszerrel*. A tervezés során kétféle hidrodinamikai részecskeszeparációs módszer (Pinched Flow Fractionation, Multiorifice Flow Fractionation) együttes alkalmazása mellett értékeltém a részecskék méret szerinti elválasztásának hatékonyságát.

## 2. Módszerek

A mikrocsatornák modellezése a *COMSOL végeselemes numerikus modellezőszoftiverrel* történt.

A *mikrokeverők modellezése* során stacionárius lamináris áramlás, valamint híg anyagok transzportjának stacionárius diffúziós modelljét számítottam ki. A numerikus diffúzió jelensége miatt a számítási hálón konvergenciavizsgálatot végeztem a mikrokeverő egy keverési egységének visszacsatolt periodikus modelljét létrehozva. Az időfüggő trajektória alapú modellt szintén a stacionárius lamináris áramlási mező eredményét átvéve futtattam le. A modelleredményeket a programból exportálva elkészítettem a csatornához tartozó fázisportrét, kiszámítottam a Ljapunov-exponenseket, valamint a keverés jósági tényezőjét. A mikrocsatornákat kétrétegű PDMS technológiával valósítottuk meg. A diffúzió alapú keveredés kvalitatív és kvantitatív elemzéséhez festéket, valamint fluoreszcensen jelölt humán szérum albumint (HSA) használtam fluoreszcens mikroszkópiával vizsgálva. A részecskealapú keveredés vizsgálatához a vörösvértestek méreteloszlásához hasonló élesztőgombákat használtam sötétlátóteres mikroszkópiával. A felvételek intenzitáselemzését ImageJ szoftverrel végeztem el.

A hidrodinamikai alapon működő passzív szeparátorok modellezésénél szintén stacionárius áramlási mezőre helyeztem rá az időfüggő trajektóriamodellt. A *Zweifach-Fung bifurkáción alapuló plazmaszeparációs eszköz* modellezése után kiszámítottam a csatorna fala mentén található sejtmentes réteg vastagságát. A kísérletek során élesztőgombák oldatát juttattam a mikrocsatornába, majd sötétlátóteres mikroszkóppal készítettem felvételeket. A felvételek

intenzitáselemzését és a sejtmentes réteg vastagságának meghatározását az ImageJ szoftverrel végeztem el.

A *részecskék méretük szerint elválasztó eszköz* modellezése a plazmaszeparációs eszközhöz hasonló módon történt. Ennél a modellnél azonban két különböző átmérőjű részecskepopuláció homogén keverékét definiáltam a bemeneten. A modelleredmények feldolgozása során a két populáció kimeneten vett eloszlásgörbéjét számítottam ki, valamint az általuk átfedő terület méretét. A kísérlet során a kétféle átmérőjű részecske kétféle fluoreszcens festék jelölte, melyekről két különböző szűrővel készítettem felvételeket. A felvételeken felvettem az intenzitásgörbéket, majd többcsatornás képpé illesztettem azokat össze.

A *letapadt vörösvértestek áramlásmódosító hatásának vizsgálatához* a csatorna alján elhelyezett akadályok véletlenszerű, átfedésmentes geometriáját Matlab-ban generáltam, majd a modellek futtatása a numerikus modellező szoftverben az előbbieken leírt módon történt. Eredményeik feldolgozásánál a részecskék kumulált y-z irányú elmozdulását számítottam ki.

Az *aktív mágneses részecskeszeparáció*s eszköznél a modellezés első lépéseként a mikrocsatorna alatt elhelyezett neodímium állandó mágnes stacionárius mágneses terét modelleztem, majd ennek eredményét átvéve futtattam le a stacionárius lamináris áramlási és az időfüggő trajektória modelleket. Az eredmények feldolgozása során a részecskék permalloy rácson kialakuló eloszlási térképét készítettem el. A mérés során hagyományos mikroszkóppal készítettem felvételeket a mágnesezhető részecskékről, majd a képfeldolgozó szoftverben számítottam ki a rácspontokon a helyfüggő eloszlásértékeket.

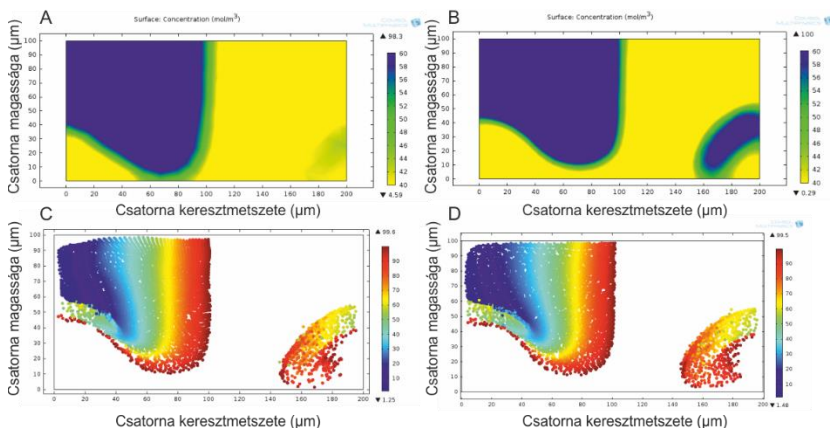
### 3. Új tudományos eredmények

- I. Részecsketrajektória alapú csatolt végeelem modellt dolgoztam ki kaotikus mikrokeverők működésének hatékony leírására, mely alkalmas teljesítőképességük kvantifikálására és ezáltal eltérő geometriák összehasonlítására. A modell eredményeit kísérleti eredményekkel validáltam.**
- I.a. Összehasonlítottam a koncentráció- és a trajektóriaalapú modellek teljesítőképességét és erőforrásigényét. Megmutattam, hogy a trajektóriaalapú modell alkalmazásával a numerikus diffúzió hibája elkerülhető, ezáltal alacsonyabb hálófelbontás mellett, kisebb erőforrásigénnyel kvalitatívan megfelelő pontosságú szimulációs eredmény kapható közel egy nagyságrendnyi futásidőcsökkenés mellett. [F4, K9]**

A numerikus diffúzió jelensége megnöveli a mikrokeverők modellezésének számítási igényeit. Nem megfelelő hálófelbontás esetén a modell hamis diffúzióval túlbecsüli a keveredés mértékét. Trajektória alapú modellezésnél a numerikus diffúzió kiküszöbölhető, így kevésbé finom számítási hálófelbontás mellett is jó közelítő eredményt kaphatunk a keveredési jelenségek szimulációjakor (3.1. ábra). A számítási háló diffúziós modellezéséhez szükséges konvergenciavizsgálat során a mikrokeverő egy alegységére periodikusan visszacsatolt modellt készítettem, mely lehetővé tette a kb. 7 500 000 elemszámú hálón végzett számítást a rendelkezésre álló szerveren. A diffúziós modellnél elfogadott (0,5% hiba mellett) számítási hálón a futásidő 1 óra 3 perc 16 másodperc volt, míg a trajektória alapú modellnél csupán 6 perc 51 másodperc. A futásidő tehát közel egy nagyságrenddel csökkent a részecske alapú modellezés esetében. Míg a diffúziós modellben a molekulák



populációként nem megkülönböztethető módon jelennek meg, addig a trajektóriamodellel lehetővé teszi az egyes részecskék helyzetének időfüggő követését.



3.1. ábra – A koncentrációmező és részecskeeloszlás a kimeneten a legrosszabb (A, C) és a legjobb (B, D) felbontású számítási háló mellett. A koncentráció alapú modellben a hálófelbontás csökkentésével jelentős az információvesztés, a részecskemodellnél kicsi az eltérés (13% a legjobb és a legrosszabb felbontású háló esetében).

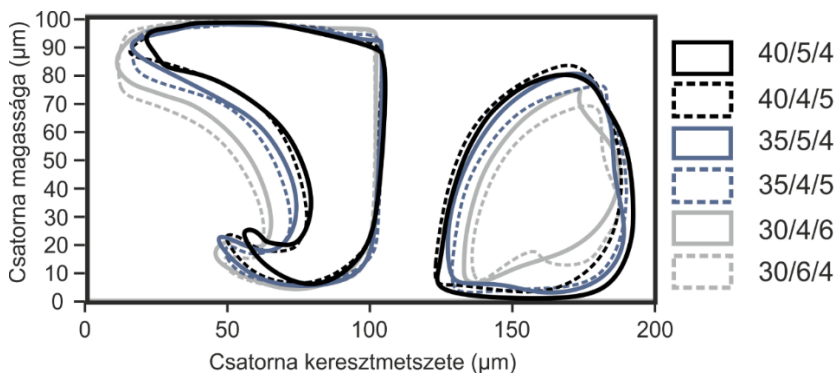
**I.b. Elemeztem az aszimmetrikus halszájka típusú kaotikus mikrokeverő geometriájának a részecskekeveredési hatékonyságra gyakorolt hatását. Megmutattam, hogy a halszájka vastagságának és ciklusonkénti darabszámának növelésével kevesebb keverési ciklus mellett is duplájára növelhető a keverés hatékonysága az általam vizsgált paraméterterben. [F1-F4, K1-K9]**

A korábbi vizsgálatok nem taglalták, hogy rögzített csatornahossz mellett mekkora a kedvező halszájka szélesség, illetve a cikluson belüli darabszám: a több transzverzális csatorna kialakítása, vagy több keverési ciklus vezet-e jobb

keveredéshez. E paraméterek vizsgálatára hatféle geometriát hoztam létre háromféle halszálka szélességgel, valamint a halszálkák ciklusonkénti darabszámának és a ciklusok számának változtatásával. A keveredés hatékonyságát kétféle paraméterrel is jellemeztem: a csatorna két ellentétes téréfélén adott pillanatban található részecskék arányszámával (3.1. táblázat), illetve a Ljapunov-kitevővel. A keveredésről kvalitatív képet a Poincaré-metszetek befoglaló körvonalának definiálásával és azok területének összehasonlításával kaptam (3.2. ábra). A vizsgált geometriákban a halszálka csatornák szélességét változtattam 30-35-40  $\mu\text{m}$  között, és ennek megfelelően választottam meg a cikluson belüli számukat és a ciklusok számát is 4/6, 6/4, 4/5, 5/4, 4/5, 5/4. A legjobb keveredést a 40/5/4-es elrendezés nyújtotta 0,4526-os hatékonysági index mellett (az optimális keveredésnél ez az index 0,5 lenne – minkét téréfélben ugyanannyi részecske lenne található), melynél a halszálkák szélessége 40  $\mu\text{m}$ , egy keverési alegység 5 db halszálkát tartalmaz, és a keverő 4 keverési egységből áll. Az eredmények alapján megállapítottam, hogy a halszálkák szélességének és a keverési egységenkénti darabszámának növelésével a keveredés javítható kevesebb keverési ciklus mellett is. A legrosszabb és a legjobb hatékonyságú geometriák között az eltérés kétszeres volt.

3.1. táblázat – Keverés hatékonysága a különböző halszálka elrendezéseknél.

Név	30/4/6	30/6/4	35/4/5	35/5/4	40/4/5	40/5/4
<b>Hatékonyság</b>	0,1984	0,2105	0,2998	0,3655	0,4513	0,4526

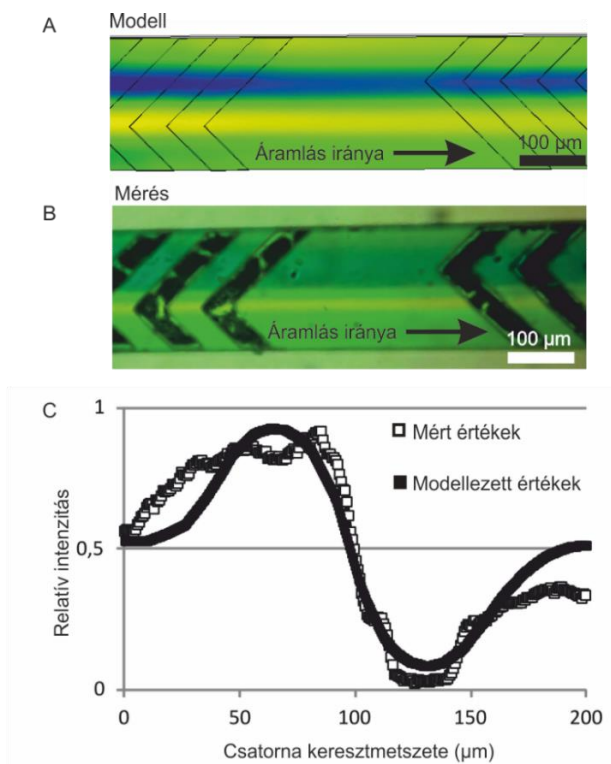


3.2. ábra – A különböző paraméterrel rendelkező keverők hatékonyságának összevetése. A részecskék által elfoglalt területeket megjelölve láthatóvá válik, ahogy a bal oldalon elfoglalt terület zsugorodik, a jobb oldalon elfoglalt terület pedig nő, a keverés hatékonyságának növekedésével. [F4]

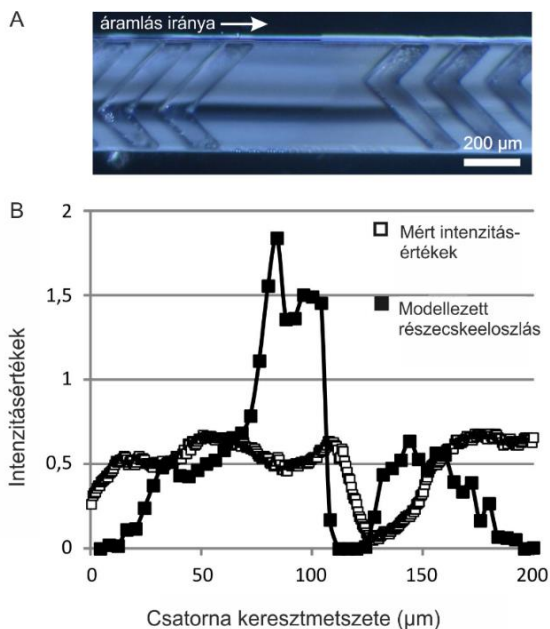
**I.c. A szimulációs eredményeket mind molekula- mind részecskekeveredési kísérletekkel validáltam PDMS-ben kétrétegű lágylitográfiával megvalósított mikrofluidikai rendszerekben. Megállapítottam, hogy az általam definiált modell korlátozott erőforrásigény mellett is alkalmas mikrofluidikai rendszerek kvalitatív jellemzésére. [F1-F4, K1-K9]**

A halszájka-keverő kísérleti elemzése során megvizsgáltam a diffúzió- és a trajektória alapú keveredést is. A diffúzió alapú keveredés vizsgálatánál festési módszerrel kvalitatív, fluoreszcens mikroszkópiával pedig kvantitatív mérési eredményekhez jutottam. A jelölt molekulával készített felvételen a csatorna kimenetén felvett intenzitásgörbét hasonlítottam össze a modell kimeneti koncentráció-eloszlásával (3.3. ábra). Az eredmények jó egyezést mutattak. A trajektória alapú modell esetében az élesztőgombák sötétlátóteres mikroszkóppal készült felvételén vett kimeneti intenzitásgörbét vettem össze a modellezett kimeneti részecskeeloszlással (3.4. ábra). A mérési eredmény itt

kis mértékben eltért a modellezett eloszlástól, melyet azzal magyarázhatunk, hogy az intenzitás nem lineáris függvénye az adott képsíkban található gombok számának. A görbén a lokális csökkenés helye megegyezik a modellezett eloszláscsúcs helyével.



3.3. ábra – A modell (A) és a mérés (B) eredményeinek kvalitatív és kvantitatív összehasonlítása. A relatív pixel intenzitásokat felvéve és összevetve (C) látszik a jó egyezés. [F4]









3.4. ábra – A részecskemodell validálása élesztőgombák sötétlátóteres vizsgálatával (A). A képen megfigyelhető a kevert és a keveretlen régiók váltakozása. Az intenzitásanalízisnél (B) a részecskeszegény régió jó egyezést mutat az élesztőgombaszegény régióval, a mérésnél a csúcs azonban elmarad. [F4]

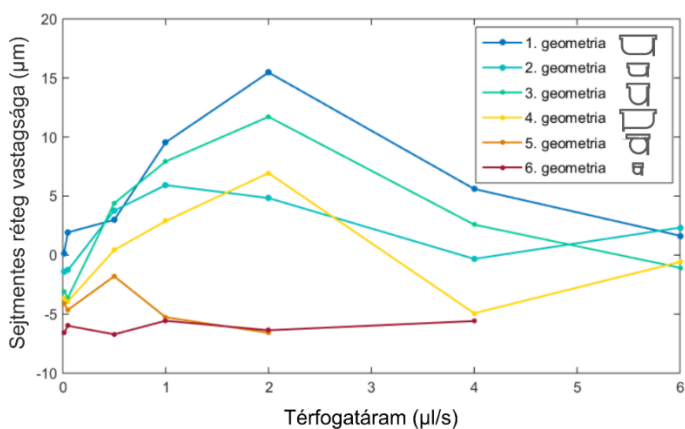
**II. Az általam felépített trajektóriaalapú modell alkalmazásával vizsgáltam a részecsketranszport paraméterfüggését komplex mikrofluidikai szeparációs rendszerekben. A szimulációs eredmények alapján megvalósított mikrorendszerek viselkedésének kísérleti vizsgálata után javaslatot tettem a tervezett elválasztási funkciókhoz optimalizált eszközök strukturális felépítésére.**

**II.a. Zweifach-Fung bifurkáción alapuló vérplazma-szeparációs elvet alkalmazó kaszkád mikrofluidikai elrendezés esetén vizsgáltam ismétlődő áramlástranszformációs alrendszerek integrálásának hatását a plazmaelválasztásra. Modellszámításokkal és kísérleti módszerekkel bizonyítottam, hogy az általam javasolt geometria alkalmas sejtmentes réteg létrehozására és annak periodikus megújítására kaszkád rendszerben. [F5, K10, K11]**

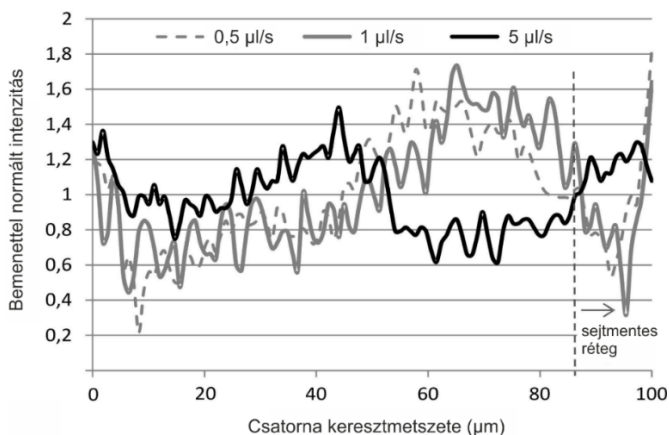
Hatféle geometria hidrodinamikai vizsgálatát végeztem el, melynek során tanulmányoztam a különféle kiszélesedésekben megjelenő örvényeket, illetve meghatároztam kimeneti csatornáik plazmahozamát (3.2. táblázat). Trajektória modellel vizsgáltam a sejtmentes réteg létrejöttét különböző térfogatáramok mellett. Megállapítottam, hogy a kiszélesedéseket tartalmazó mikrocatornáknak 0,5–2  $\mu\text{l/s}$  térfogatáram-tartományban működési optimuma van (3.5. ábra). A mérések során igazoltam, hogy a különböző térfogatáram-tartományokban különböző módon alakulnak ki örvények a kamrákban. A hat geometriában a mérés során minden esetben kialakult a sejtmentes réteg, annak vastagságát azonban a 2. és a 4. geometria esetében a modell alulbecsülte. A kísérletek során sikerült igazolni a működési optimumot is a megadott térfogatáram-tartományban (3.6. ábra).

3.2. táblázat – A különböző geometriák hatása az elválasztás hozamára a modellezés alapján.

Geometria	1. geometria	2. geometria	3. geometria	4. geometria	5. geometria	6. geometria
						
Hozam	0,4 %	1 %	1,1 %	1,1 %	1,4 %	2,3 %



3.5. ábra – Sejtmentes réteg vastagsága a térfogatáram függvényében. A szeparátorok 0,5-4 μl/s térfogatáram tartományban működnek optimálisan.



3.6. ábra – Sejtmentes réteg kialakulása a mikrofluidikai csatornában különböző térfogatáramok mellett. [F5]

**II.b. Létrehoztam egy aktív időfüggő háromdimenziós magnetoforetikus elválasztási elvű modellt, amelyben a részecsketranszport aktív mágneses elven vezérelhető. A modell tartalmazza a mágnesezhető anyagok tulajdonságait és több mérettartományt és fizikai elvet kezel hierarchikusan. Kísérleti elrendezésben demonstráltam a szeparációs elv működését. [F6, K12, K13]**

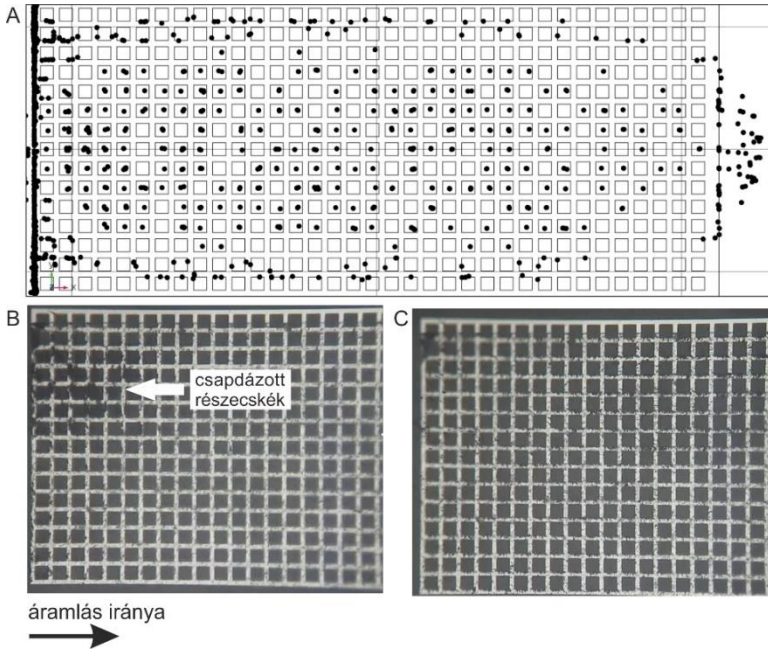
A magnetoforetikus elven történő elválasztás esetén célom a mágneses részecskék csapdázása volt a mikrocsatornában. A chip alatt elhelyezett neodímium mágnes által létrehozott mágneses teret a mikrocsatorna alján kialakított mágnesezhető permalloy réteg lokálisan erősíti úgy, hogy a részecskék csapdázása megadott helyen történjen meg. A modellezés során a mágneses modellre épült az áramlási modell, annak az eredményére pedig a trajektória modell. A modellezés során megvizsgáltam a permalloy négyzetrács



hatását a mágneses részecskék csatornabeli eloszlására a térfogatáram függvényében. Megállapítottam, hogy 4  $\mu\text{l/s}$  térfogatáram alatti tartományban a részecskék csapdázása teljes, valamint 4-20  $\mu\text{l/s}$  térfogatáram-tartományban a részecskék csapdázása 51-91%-os (3.3. táblázat). A modellezés során tehát meghatároztam azt a működési tartományt, melynél a részecskék csapdázása úgy lehetséges, hogy közben felettük folyadék áramlik. A kísérlet során a mágneses részecskék csapdázása sikeres volt (3.7. ábra). Magasabb térfogatáram mellett a részecskék a négyzetrács hosszanti élei mentén rendezve hagyták el a vizsgált területet, ahogy azt a modell mutatta.

3.3. táblázat – Csapdázott részecskék aránya különböző térfogatáramok esetén

<b>Térfogatáram</b> ( $\mu\text{l/s}$ )	4	6	8	10	12	14	16	18	20
<b>Rácson csapdázott részecskék aránya</b>	96%	83%	75%	68%	62%	59%	55%	52%	49%
<b>Csatornában csapdázott részecskék aránya</b>	100%	91%	80%	71%	65%	62%	58%	56%	51%



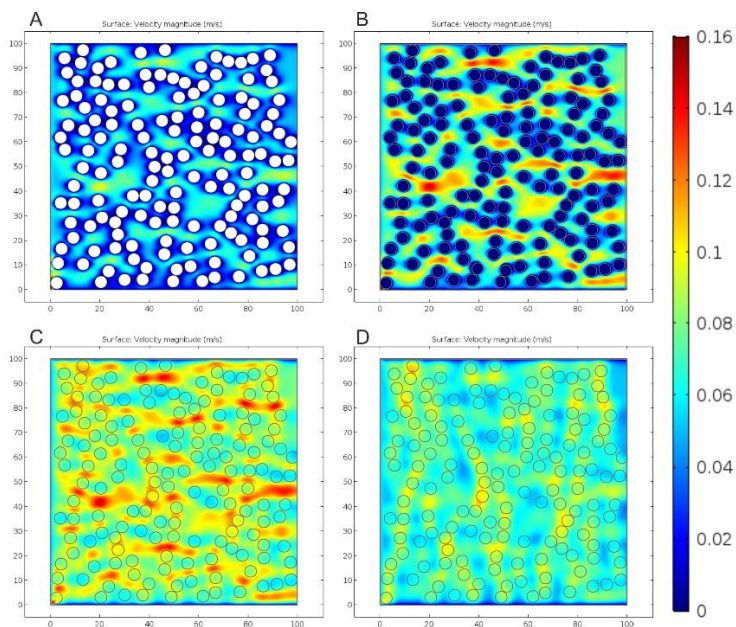
3.7. ábra – Részecskék teljes mágneses csapdázása a numerikus modellben  $3,5 \mu\text{l/s}$  térfogatáram mellett (A). A csapdázás az első élnél a legerősebb, a nagyobb sebességgel rendelkező részecskék eloszlanak a csatorna teljes hosszában. A részecskék elfogása és elengedése mikroszkópos felvételen (B), a részecskék itt is a belépő élt részesítik előnyben. A folyadék balról jobbra áramlik mindkét esetben.

**III. Demonstráltam a trajektóriamodell alkalmazhatóságát LOC rendszerek tervezéséhez.**

**III.a. Trajektóriamodell segítségével modelleztem immobilizált vörösvértetek hatását az áramlási térre, illetve az áramlással együtt haladó sejtekre. Megmutattam, hogy a modell alkalmas a letapadt sejtek áramlásmódosító és sejtekre vonatkozó retenciós hatásának pontos leírására, ezáltal segítve a diagnosztikai eszköz működésének megértését és tervezhetőségét. Javaslatot tettem az optimális csatornamagasságra, ami a vörösvértetek legkisebb méretének közel kétszeresére adódik. [F7]**

A letapadt vörösvérteteket tartalmazó mikrocsatorna modellezése során a vizsgált csatornageometriák létrehozására Matlab szkriptet készítettem, mely a COMSOL-nak adott utasításokkal generálja a csatorna alján véletlenszerűen elhelyezkedő vörösvérteteket reprezentáló akadályokat. Az akadályok áramlásmódosító, és ezáltal a sejtek mozgására gyakorolt hatását a mozgó sejtek kumulált y-z irányú elmozdulásával jellemeztem. Összevettem 7  $\mu\text{m}$  magas csatorna esetén 2-6  $\mu\text{m}$  magasság között indított részecskék kumulált elmozdulását, mely alapján az 5  $\mu\text{m}$  magas mikrocsatorna használata, valamint a 2  $\mu\text{m}$  magas indítási magasság mellett döntöttem. Ezen paraméterek használata mellett megvizsgáltam az akadályok áramlásmódosító hatását, mely az 5  $\mu\text{m}$  magas mikrocsatornában 2  $\mu\text{m}$  magas akadályok mellett 4  $\mu\text{m}$  magasságban készített áramlási metszeten látható (3.8. ábra). Kiszámítottam a kumulált elmozdulást 0%, 10%, 20%, 30% valamint 40% csatornalefedettség esetén, mely alapján megállapítottam, hogy 30%-nál nagyobb lefedettség esetén a részecskék kumulált elmozdulása visszaesik (3.4. táblázat), mivel a felületi borítottság miatt az oldalirányú elmozdulások elmaradnak. A modell eredményeit kísérleti

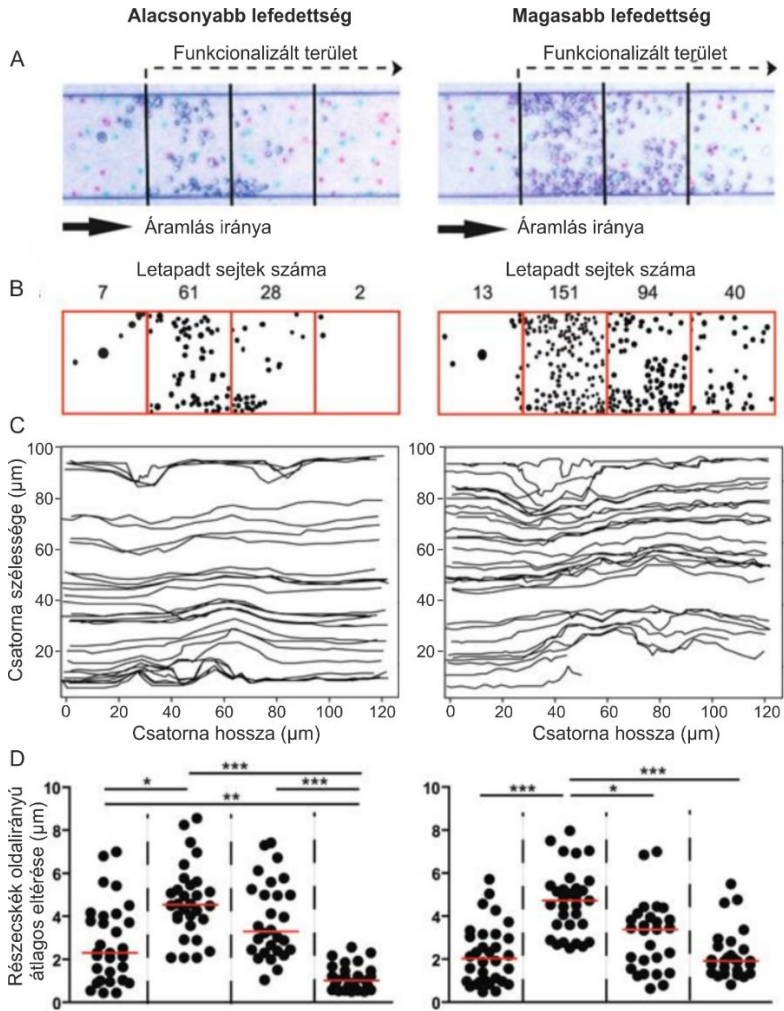
eredményekkel vettem össze, ahol a részecskék oldalirányú elmozdulásának csatornalefedettségtől való szignifikáns függését tapasztalták (3.9. ábra). A modell eredményei jó egyezést mutattak a kísérleti eredményekkel. A kísérletek alapján a letapadt vörösvértestek áramlásmódosító hatása képes volt a teljes vér vörösvértestjeit visszatartani, és plazmaszeparációt indukálni a mikrofluidikai rendszerben.



3.8. ábra – Sebességmező  $x$ - $y$  metszetei az 5  $\mu\text{m}$  magas csatornában 1  $\mu\text{m}$ -nél (A), 2  $\mu\text{m}$ -nél (B), 3  $\mu\text{m}$ -nél (C) és 4  $\mu\text{m}$ -nél (D) a csatorna aljától mérve. A 2  $\mu\text{m}$  magas akadályok áramlásmódosító hatása 2  $\mu\text{m}$ -rel az akadályok felett is jelentős.

3.4. táblázat – Kumulált  $y$ - $z$ -irányú elmozdulások különböző lefedettségek esetén

Lefedtség	0%	10%	20%	30%	40%
<b>Kumulált elmozdulás</b>	2,93 $\mu\text{m}$	15,94 $\mu\text{m}$	24,33 $\mu\text{m}$	41,52 $\mu\text{m}$	20,28 $\mu\text{m}$

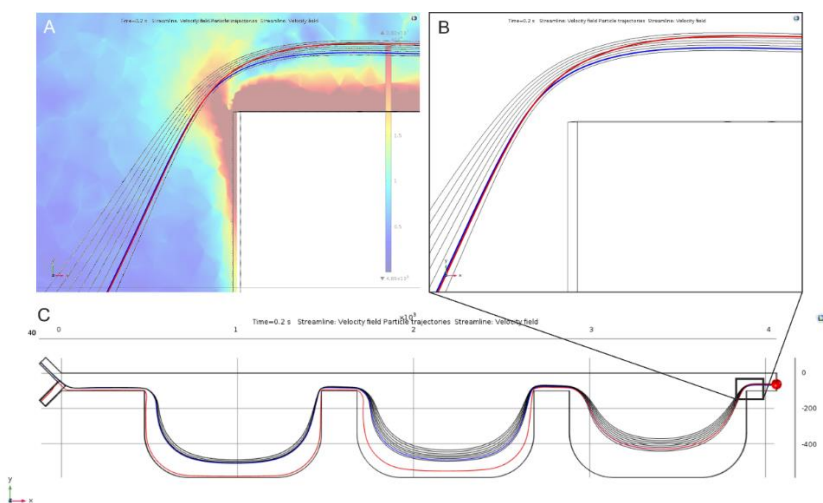


3.9. ábra – A letapadt vörösvértesteket tartalmazó mikrocsatorna mérési eredményei. Mikrocsatorna mikroszkópos felvétele a funkcionizált terület megjelölésével (A), letapadt sejtek száma a funkcionizált területen, a vörösvértesteket fekete pont jelöli (B). 30 mozgó vörösvértest trajektóriája (C) és a részecskék oldalirányú átlagos eltérése a felosztott területeken belül (D). [F7]

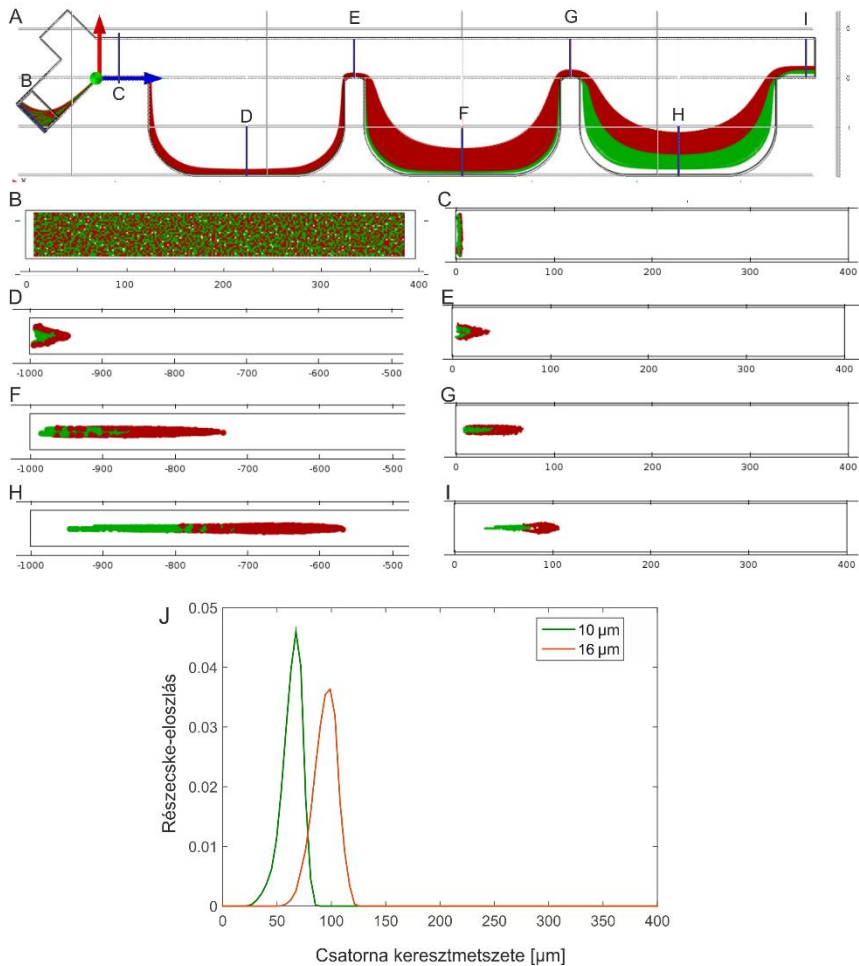
**III.b. Szimulációs és kísérleti eszközökkel vizsgáltam részecskék transzportjának térfogatáramtól és részecskemérettől való függését szekvenciális mikrofluidikai rendszerben. Megmutattam az áramlásszűkületek hatására kialakuló nyírófeszültség trajektóriamódosító hatását, mely megalapozza a részecskék méretfüggő szeparációját. Az elválasztás hatékonysága növelhető a kiszélesedések és a szűkületek számának növelésével. [F8, K14-K16]**

A méret szerinti szeparációt megvalósító mikrocsatorna modellezésénél megvizsgáltam a nyomáseloszlást, valamint a nyírósebességet a kamrákat és szűkületeket tartalmazó geometriában. A nyomásesés jelentős része a szűkületekre jut, valamint a folyadékrétegek között fellépő sebességkülönbségből adódó nyírás is itt a legjelentősebb. A trajektória modellel megmutattam, ahogy egy részecske a magas nyírású területen tér át egy csatorna középvonala felé eső áramvonalra arról az áramvonalról, amelyen eredetileg haladt (3.10. ábra). A két különböző részecskeméret együtt történő modellezésénél megmutattam, hogy a szűkületekben a részecskék méretük szerint különválnak (3.11. ábra). A szeparáció kvantitatív vizsgálatára a két részecskeeloszlás-görbe által átfedő területet vezettem be mérőszámként és megvizsgáltam a bemeneti térfogatáram-arányok hatását az elválasztás hatékonyságára. Az átfedés mértéke meredeken csökkent a térfogatáram-arány növekedésével (3.12. ábra). Két térfogatáram-aránypár, 0,1  $\mu\text{l/s}$  és 5  $\mu\text{l/s}$  valamint 1  $\mu\text{l/s}$  és 5  $\mu\text{l/s}$  mellett vizsgáltam a két részecske méretkülönbségének hatását az elválasztásra. A szeparáció hatékonysága mindkét esetben nőtt a második részecske méretének növekedésével, a növekedés azonban meredekebb volt a nagyobb térfogatáram-különbség esetében. Megmutattam, hogy az elválasztás hatékonysága bizonyos mértékig javítható a szűkületek számának

növelésével (4-5 szűkület alkalmazása), ez a változás azonban csak olyan paraméterek mellett jelentős, ahol egy szűkületet tartalmazó csatorna vizsgálata során is kimutatható a jelenség, tehát az átfedés 90% alatti volt. A kísérletek során készített többcsatornás felvételekkel, valamint azok intenzitáselemzésével megmutattam, hogy csatornában a 10  $\mu\text{m}$  és 16  $\mu\text{m}$  átmérőjű részecskék szeparációja végbemegy (3.13. ábra), 5  $\mu\text{l/s}$  és 10  $\mu\text{l/s}$  bemeneti térfogatáramok mellett az átfedés mértéke csupán 27%-os. A mérések során igazoltam az elválasztás térfogatáram-arány függését.

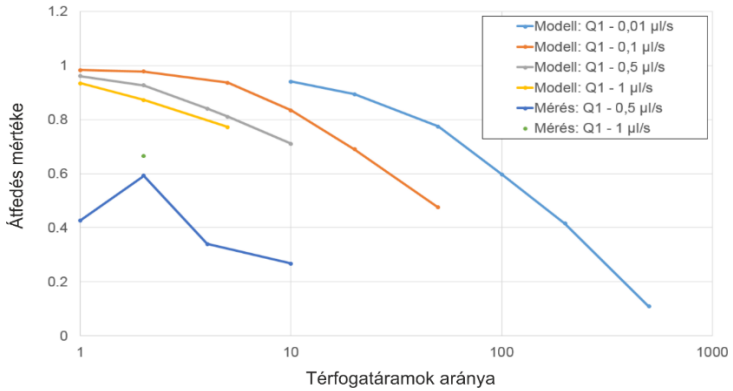


3.10. ábra – Részecske trajektória elválása a folyadék áramvonalaktól. A részecske trajektóriáját piros, az áramvonalakat fekete és kék vonalak jelölik. A színskála a nyírófeszültséget mutatja. Látható, hogy a részecske a magas nyírású csatornarészen tért le az addig követett áramvonalról. Az áramlás jobbról balra halad.

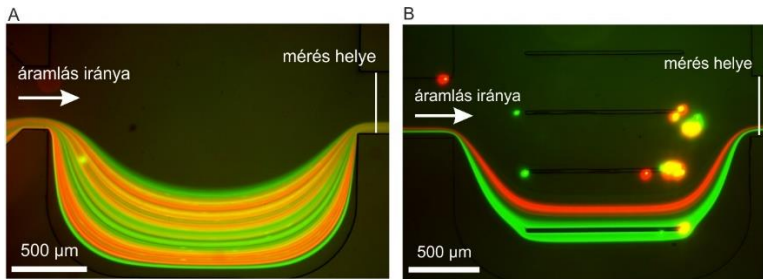


3.11. ábra – Poincaré metszetek a csatorna mentén. A metszetek helyét az A ábrán található vonalak jelölik. A bemenethez közel (B) a részecskék összekeverve helyezkednek el, a pufferozat a részecskéket a csatorna oldalához szorítja (C), majd a kiszélesedéshez érve a részecskék jobban széthúzódnak (D). A szűkületekben a két részecskeméret (10 μm – zöld, 16 μm – piros) egyre jobban elválik egymástól. A kimenetnél (I) a két részecskehalmaz jól elkülönül. A részecskék kimeneti metszetéből számolt eloszlási görbék (J). A két populáció közötti átfedés minimális.





3.12. ábra – Bemeneti térfogatáram-arányok hatása az elválasztás hatékonyságára. Az arány növelésével javul az elválasztás hatékonysága. Minél kisebb a minta bemenetének térfogatárama, annál meredekebben javul az elválasztás hatékonysága.



3.13. ábra – Méréssel rögzített, két csatornából illesztett képek a bemeneti (A) és a kimeneti (B) mérőablakoknál. A 10 μm átmérőjű részecskéket zöld, a 16 μm átmérőjű részecskéket piros színnel jelöltük. A bemeneten még összekevert részecskék a kimenetre elválnak egymástól.

## 4. Az eredmények alkalmazási területei

Napjaink mikrofluidikai rendszerei a mintaelőkészítést – főleg részecskéket vagy sejtes elemeket tartalmazó minta esetén – az eszközhöz tervezett, finomhangolt részegységekkel valósítják meg. Az általam vizsgált keverést és a szeparációt különféle módszerekkel megvalósító mikrocsatornák is ilyen rendszerekhez készültek, legtöbb esetben kutatócsoportok közötti együttműködés vagy Európai Unió projekt keretei között kerültek megvalósításra.

*A halszájka mikrokeverő a P3SENS: Polymer Photonic multiparametric biochemical SENSOR for Point of care diagnostics* Európai Unió által támogatott projektben alkalmazott mikrofluidikai mintaelőkészítő kazetta része. Ez az egység felel a minta (puffer, szérum vagy teljes vér) előkészítéséért és a fotonikus bioszenzor érzékelési területére történő transzportjáért. A transzport során a keverő biztosította a minta és a reagensek keveredését azonos transzportutak mellett. A numerikus modellezés segítségével a csatornageometriát, nyomásesést és az úthosszakat úgy határoztuk meg, hogy az optimális geometriát definiáljuk a megfelelő keveredési folyamat biztosítására.

*A Zweifach-Fung bifurkáción alapuló kaszkád mikrofluidikai szeparációs modul a CAJAL4EU: Nanoszenzorok az orvosdiagnosztikában* projektben egy nanopóruson keresztüli transzport-moduláción alapú diagnosztikai eszköz egyik lehetséges plazma-elválasztó, mintaelőkészítő alegységeként szerepelt. Az orvosdiagnosztikai platform 8 ország 25 partnerének szoros együttműködésének eredménye. A projekt egyik célja a detektálható biomarkerek spektrumának szélesítése is, mely specifikus aptamer receptorok keresését is magába foglalja. *A magnetoforetikus elven működő szeparációs eszköz* kapcsán a SELEX

aptamer szelekciós módszer mikrofluidikai megvalósításában való alkalmazhatóságát vizsgáltam meg. A módszer egyik fontos lépése a mágneses gyöngyöz bekötődött aptamer jelöltek elválasztása a többi aptamertól a pufferoldat folyamatos áramoltatása mellett. A számítási és kísérleti eredmények alapján a tervezett mikrocsatorna jó jelölt ennek a lépésnek a megvalósítására.

A *részecskék méret szerinti szeparációját* megvalósító passzív mikrofluidikai eszköz a *PAMIAQ: Új típusú integrált, széles körben használható légszennyezőanyag érzékelőtechnológia fejlesztése* című EUREKA projekt eredménye. A különböző légszennyezőanyagok között a pollenek vizsgálatát is tervezik az eszközzel. A projekt részfeladataként készült el a mikrofluidikai mintaszállító rendszer első verziója, melyet mesterséges részecskék szuszpenziójával elemeztünk, és bebizonyítottuk annak méret szerinti elválasztásra való alkalmasságát.

A *letapadt vörösvértesteket tartalmazó mikrocsatorna* vizsgálatának eredményei az MTA-ELTE Immunológiai Kutatócsoporttal való együttműködés keretében elkészült *vércsoport meghatározásra alkalmas autonóm mikrofluidikai eszközben* hasznosultak. Az eszköz a rácseppentett vért két csatornába szívja be, melyek anti-A-val és anti-B-vel kezeltek. Az A vagy B vércsoportú vörösvértestek kitapadnak a megfelelő oldalon, akadályt képezve a többi vörösvértest számára a csatornában. Így a kialakuló áramlási sebességváltozás, illetve a plazmaszeparáció szabad szemmel is megfigyelhető. A vércsoport esetén az anti-A-t tartalmazó csatornában történik szeparáció, B vércsoport esetén az anti-B-t tartalmazó ágban. AB esetén mindkettőben, 0 vércsoportnál pedig egyikben sem. Az eszköz chipen kívüli mintaelőkészítést és külső folyadékáramoltatást nem igényel.

## 5. A jelölt publikációi

### 5.1. A tézisek alapjául szolgáló publikációk

#### 5.1.1. Folyóiratcikkek

- [F1] Z. Fekete, E. G. Holczer, E. Tóth, K. Iván, and P. Fürjes, “Stochastic mixing in microfluidics integrable in bioanalytical systems,” *PROCEDIA ENGINEERING*, köt. 25, o. 1229–1232, 2011.
- [F2] P. Fürjes, Z. Fekete, E. G. Holczer, E. Tóth, K. Iván, and I. Bársony, “Particle Mixing by Chaotic Advection in Polymer Based Microfluidic Systems,” *PROCEDIA ENGINEERING*, köt. 47, o. 454–457, 2012.
- [F3] P. Fürjes, E. G. Holczer, E. Tóth, K. Iván, Z. Fekete, D. Bernier, F. Dortu és D. Giannone, „PDMS microfluidics developed for polymer based photonic biosensors”, *MICROSYSTEM TECHNOLOGIES*, ápr. 2014.
- [F4] E. L. Tóth, E. G. Holczer, K. Iván, és P. Fürjes, „Optimized Simulation and Validation of Particle Advection in Asymmetric Staggered Herringbone Type Micromixers”, *MICROMACHINES*, köt. 6, sz. 1, o. 136–150, dec. 2014.
- [F5] E. L. Tóth, E. Holczer, K. Iván, és P. Fürjes, „Effect of Geometric Singularities on Plasma Separation Performance in Cascade Zweifach-Fung Bifurcations”, *PROCEDIA ENGINEERING*, köt. 120, o. 1083–1086, 2015.
- [F6] E. L. Tóth, E. Holczer, P. Földesy, K. Iván, és P. Fürjes, „Simulation and experimental validation of particle trapping in microfluidic magnetic separation (MMS) system”, *PROCEDIA ENGINEERING*, köt. 168, o. 1458–1461, 2016.

- [F7] É. Sautner, K. Papp, E. Holczer, E. L. Tóth, R. Ungai-Salánki, B. Szabó, P. Fürjes, J. Prechl „Detection of red blood cell surface antigens by probe-triggered cell collision and flow retardation in an autonomous microfluidic system”, *SCIENTIFIC REPORTS*, köt. 7, sz. 1, o. 1008, 2017.
- [F8] E. L. Tóth, E. Holczer, P. Földesy, K. Iván, és P. Fürjes, „Microfluidic Particle Sorting System for Environmental Pollution Monitoring Applications”, *PROCEDIA ENGINEERING*, köt. 168, o. 1462–1465, 2016.

### **5.1.2. Konferencia publikációk**

- [K1] Z. Fekete, E. G. Holczer, E. Tóth, K. Iván, P. Fürjes, Design and Realisation Microfluidic Stochastic Mixers Integrable in Bioanalytical Systems, *MME 2011*, Tonsberg, Norway, 2011
- [K2] Z. Fekete, E. Holczer, E. Tóth, K. Iván, P. Fürjes, Stochastic Mixing in microfluidics Integrable in bioanalytical Systems, *Euroensors 2011*, Athens, Greece,
- [K3] P. Fürjes, Z. Fekete, E. G. Holczer, E. Tóth, K. Iván, I. Bársony: Particle mixing by chaotic advection in polymer based microfluidic systems, *Euroensors 2012*, Krakow, Poland, 2012
- [K4] P. Fürjes, E. Holczer, Z. Fekete, E. Tóth, F. Dortu, D. Giannone, Development of a polimer based microfluidics for polimer based photonic biosensors, *Microfluidics 2012*, Heidelberg, Germany, 2012
- [K5] P. Fürjes, Z. Fekete, E. Holczer, E. Tóth, K. Iván, I. Bársony, Chaotic mixing of particles in microfluidic systems, *Microfluidics 2012*, Heidelberg, Germany, 2012

- [K6] P. Fürjes, E. Holczer, E. Tóth, Z. Fekete, Polymer Based Microfluidics for Biomedical Applications, *MITT2013 Conference*, Budapest, Hungary, 2013
- [K7] E. Tóth, K. Iván, P. Fürjes, Design and comparison of micromixers using COMSOL simulations, *From Medicine to Bionics, 1st European Ph.D. Conference*, Budapest, Hungary, 2013
- [K8] E. Tóth, K. Iván, P. Fürjes, Z. Fekete, E. Holczer, Design, Realisation and Validation of Microfluidic Stochastic Mixers Integrable in bioanalytical Systems Using CFD Modeling, *BioCAS 2013*, Rotterdam, Netherlands, 2013
- [K9] E. Tóth, K. Iván, P. Fürjes, Optimization of the herringbone type micromixer using numerical modeling and validation by measurements, *Comsol Conference 2014*, Cambridge, United Kingdom, 2014 – **Best Poster Award**
- [K10] E. Tóth, K. Iván, P. Fürjes, Separation performance of cascade Zweifach-Fung bifurcations enhanced by inertial subsystems, *Microfluidics 2014*, Heidelberg, Germany, 2014
- [K11] E. L. Tóth, E. Holczer, K. Iván, P. Fürjes, Effect of geometric singularities on plasma separation performance in cascade Zweifach-Fung bifurcations, *Euroensors 2015*, Freiburg, Germany, 2015
- [K12] E. L. Tóth, A. Füredi, E., K. Iván, P. Fürjes, Multiphysics modelling of magnetic bead trajectories in microfluidic magnetic separation systems, *NanoBioTech 2015*, Montreux, Switzerland, 2015
- [K13] E. L. Tóth, A. Füredi, K. Iván, P. Fürjes, Simulation and experimental validation of particle trapping in microfluidic magnetic separation (MMS) system, *Euroensors 2016*, Budapest, Hungary, 2016

- [K14] E. Tóth, P. Fürjes, Trajectory model of particle transport in passive microfluidic systems, *Mátrafüred 2013*, Visegrád, Hungary, 2014
- [K15] E. L. Tóth, E. Holczer, P. Földesy, K. Iván, P. Fürjes, Lateral migration based particle sorting in microfluidic systems, *From Medicine to Bionics, 3rd European Ph.D. Conference*, Budapest, Hungary, 2016
- [K16] E. L. Tóth, E. Holczer, P. Földesy, K. Iván, P. Fürjes, Microfluidic particle sorting system for environmental pollution monitoring applications, *Euroensors 2016*, Budapest, Hungary, 2016

## 5.2. Egyéb publikációk

### 5.2.1. Folyóiratcikk

A. Nagy, E. L. Tóth, K. Iván, and A. Gáspár, “Design and modeling of microfluidic systems for multiple chromatographic separations,” *Microchemical Journal*, köt. 123, o. 125–130, Nov. 2015.

### 5.2.2. Konferencia publikációk

A. Nagy, E. Tóth, K. Iván, A. Gáspár, Simulation of microfluidic systems with COMSOL Multiphysics, *14<sup>th</sup> International Symposium and Summer School on Bioanalysis, CEEPUS*, Bratislava, Slovakia, 2014

A. Nagy, E. Tóth, K. Iván, A. Gáspár, Simulation of microfluidic systems by using COMSOL Multiphysics software, *30<sup>th</sup> International Symposium on Chromatography*, Salzburg, Austria, 2014

A. B. Tóth, E. Holczer, E. L. Tóth, K. Iván, P. Fürjes, Modelling and Characterisation of Droplet Generation and Trapping in Cell Analytical Two-Phase Microfluidic System, *Euroensors 2017*, Paris, France, 2017