University of Szeged, Hungary
Faculty of Natural Sciences and
Faculty of Medicine
Department of Medical Physics and Medical Informatics

H-6720 Szeged, Korányi fasor 9. Hungary
Phone: 36-62-543-518, 36-62-430-331
e-mail: pmaroti@sol.cc.u-szeged.hu

Az MTA doktori értekezés címe:

„A kétfotonos polimerizáció fejlesztése és alkalmazása biológiai vizsgálatokban”

Szerző: Dr. Kelemen Lóránd
Intézmény: HUN-REN SZBK Biofizikai Intézet

Szakmai bírálat

Általános értékelés

A benyújtott doktori értekezés rendkívül széles spektrumú, magas színvonalú és nemzetközi mércével is jelentős kutatási munkát foglal össze a kétfotonos polimerizáció (TPP) módszertanának fejlesztése, valamint annak biológiai és biofizikai alkalmazásai területén. A dolgozat különösen erős abban, hogy nem pusztán technológiai fejlesztéseket mutat be, hanem azokat komplex biológiai kérdések vizsgálatába integrálja. A munka multidiszciplináris jellege – amely ötvözi az optikát, lézerfizikát, mikrofabrikációt, anyagtudományt, mikrofluidikát, biofizikát és sejtbiofizikát – kiemelkedő értéke az értekezésnek.

A disszertáció logikusan felépített, áttekinthető, jól szerkesztett. Az irodalmi áttekintés részletes és korszerű, különösen a TPP fizikai alapjainak, a fotopolimerek működésének, valamint az optikai csipesz alkalmazásainak tárgyalása figyelemre méltó. A szerző kiválóan érzékelteti, hogy a TPP nem csupán egy mikrotechnológiai eszköz, hanem a biológiai kutatások számára új kísérleti paradigmákat teremtő platformtechnológia.

A dolgozat egyik legnagyobb erénye az, hogy a szerző végig saját fejlesztésű vagy jelentősen továbbfejlesztett rendszerekkel dolgozik, és a módszertani innovációkat következetesen konkrét biológiai problémák megoldására használja fel.

A dolgozat fő tudományos érdemei és újdonságai

1. A kétfotonos polimerizáció technológiai fejlesztése

A dolgozat jelentős eredményeket mutat be a TPP párhuzamosításában és optimalizálásában. Különösen értékes a diffrakciós optikai elemek és térbeli fázismodulátorok alkalmazása több fókuszpont létrehozására és koordinált mozgatására.

A szerző nem csupán adaptálja az ismert módszereket, hanem laboratóriumi rutinná fejleszt olyan eljárásokat, amelyek jelentősen növelik a mikroszerkezetek gyártási sebességét és reprodukálhatóságát. Ez a TPP egyik legfontosabb gyakorlati korlátját – az alacsony gyártási teljesítményt (throughput-ot) – célozza.

Kiemelendő továbbá a vastag SU-8 rétegekben történő polimerizáció optikai aberrációinak korrekciója, amely technikailag igen releváns probléma.

2. Optikailag hajtott mikromechanikai rendszerek

A dolgozat különösen erős része a fénnyel hajtott mikromechanikai rendszerek fejlesztése. A szerző olyan autonóm és optikailag manipulálható mikroszerkezeteket fejlesztett, amelyek demonstrálják a mikroméretű optikai impulzusátadás gyakorlati alkalmazhatóságát.

A mikromotorok, gördülő hengerek, csúszó ékek és fényvisszaverésen alapuló hajtási elvek nemcsak mérnöki szempontból érdekesek, hanem alapvető mikromechanikai és optikai erőhatásokat is modelleznek.

Különösen értékesnek tartom az optikai csipesz és TPP kombinációjának következetes alkalmazását. Ez a kombináció a jövő mikrorobotikai rendszereinek egyik potenciális alapja lehet.

3. Mikroszerkezetek funkcionalizálása és bioszenzorikai alkalmazások

A dolgozat egyik legerősebb tudományos aspektusa a mikrostruktúrák felület-funkcionalizálásának fejlesztése. A szerző sikeresen integrál fehérje-funkcionalizálást, fémbevonatokat, plazmonikus struktúrákat, SERS és MEF alkalmazásokat, valamint WGM-alapú jelölésmentes érzékelést.

Kiemelkedő a mobil mikroeszközök fejlesztése felületerősített Raman-spektroszkópiához, amely új utakat nyithat a lokális kémiai érzékelésben.

A WGM detektorok integrálása polimer mikrostruktúrákba különösen innovatív, mivel ez a rezonátor-alapú bioszenzorika és a TPP technológia szintézisét valósítja meg.

4. Egyedi sejtek biomechanikai és biofizikai vizsgálata

A szerző által fejlesztett mikroeszközök lehetővé teszik a sejtmigráció vizsgálatát, endotél sejtek rugalmasságának mérését és nanorészecske–sejt kölcsönhatások elemzését.

A biomechanikai vizsgálatok különösen aktuálisak, hiszen az egyedi sejtek mechanikai tulajdonságai ma már számos patológiás állapot biomarkerei.

A sejtekhez kapcsolódó mikroeszközök fejlesztése igen korszerű irányt képvisel az egyedi sejtek (single-cell) biofizikájában.

5. Mikrorobotikai és fejlett mikroszkópos alkalmazások

A dolgozat utolsó nagy egysége különösen előremutató. A szerző olyan rendszereket mutat be, amelyek többnézetű mikroszkópiát, sejtek 6 szabadsági fokú manipulációját, rugalmas mikrorobotokkal végzett sejtkezelést és sejt–sejt kölcsönhatások irányított létrehozását teszik lehetővé.

Ez a rész a mikrorobotika, biofizika és modern mikroszkópia rendkívül korszerű összeolvadását mutatja.

A doktori mű tudományos perspektívája

A dolgozat jelentős perspektívát nyit több tudományterület számára.

- Single-cell biofizika. A bemutatott mikroeszközök új generációs platformot jelenthetnek egyedi sejtek mechanikai, optikai és biokémiai vizsgálatára.

- Mikrorobotika és biohibrid rendszerek. A munka közvetlen kapcsolatot teremt a TPP, optikai manipuláció és mikrorobotika között. Ez a jövőben autonóm mikrorobotok, intelligens bioszenzorok és mikrofluidikai labor-on-a-chip (chipre ültetett laboratóriumi) rendszerek fejlődéséhez vezethet.

- Fejlett mikroszkópiás technikák. A többnézetű és lokális optikai manipulációt lehetővé tevő rendszerek új lehetőségeket nyithatnak a szuperrezolúciós mikroszkópiában, az élősejtes képalkotásban és a dinamikus sejt-interakciók vizsgálatában.

- Biomedikai mikrotechnológia. A dolgozat demonstrálja, hogy a TPP nem csupán mikrotechnológiai eszköz, hanem olyan platform, amely képes biológiai rendszerekkel közvetlenül kölcsönhatásba kerülni.

Az elért eredmények nemzetközi jelentősége, elhelyezése a tudományterület térképén.

A disszertáció és a hozzá kapcsolódó nemzetközi publikációk alapján a jelölt eredményeinek nemzetközi jelentőségét összességében erősnek, de az egyes eredménycsoportok között meglehetősen eltérőnek ítélem. Az értékelést nem automatikusan a hatás-(impact) faktorokra vagy idézettségre építem, hanem azt vizsgálom, miben volt ténylegesen korai vagy koncepcionálisan új a kutatás.

Fontosnak tartom pontosan megfogalmazni, miben látom a disszertáció erősségét ill. a jelölt legjelentősebb tudományos hozzájárulását nemzetközi téren: Dr. Kelemen Lóránd nem a kétfotonos polimerizáció teljes területének egyik meghatározó „alapító" alakja, hanem a TPP-vel előállított funkcionális mikroeszközök, optikai mikrorobotika és egyedi sejtek indirekt optikai manipulációja területén alakított ki nemzetközileg jól azonosítható és részben úttörő kutatási profilt.

A korai TPP-fejlesztések különösen figyelemre méltók. A dolgozatban bemutatott, diffraktív optikai elemekkel megvalósított párhuzamos polimerizáció 2007-ben olyan időszakban jelent meg, amikor a TPP még jóval kevésbé kiforrott technológia volt. A munka lényege az volt, hogy az egyetlen fókusz soros pásztázását több párhuzamos fókusz alkalmazásával váltsa fel. Nem csupán utólag tekinti ezt fontosnak a disszertáció: a 2007-es Kelemen–Valkai–Ormos-cikket egy későbbi, a lézeres megmunkálás adaptív optikáját áttekintő Light: Science & Applications tanulmány a terület korai párhuzamos/holografikus feldolgozási munkái között sorolja fel, közvetlenül a későbbi SLM-alapú fejlesztések előtt. Ez szerintem valódi bizonyítéka annak, hogy itt nem egy későn végrehajtott technikai variációról, hanem egy korai módszertani hozzájárulásról beszélünk.

Hasonlóan erősnek tartom a 2006-os integrált optikai motor munkát. A rendszer különlegessége az volt, hogy a TPP-vel készített mechanikai rotor és az azt meghajtó integrált fényvezető egy önálló mikromechanikai egységet alkotott; a működéshez nem volt szükség külső optikai csipeszre. Az Optica jelenlegi adatbázisa 64 idézést jelez erre a cikkre. Egy ilyen szűk mikromechanikai témában ez tisztességes nemzetközi hatást jelez. Az idézettség alapján nem tekinteném bombasikernek, de egyértelműen olyan munka, amely megmaradt a terület szakirodalmában.

Számomra azonban a dolgozat tudományos jelentősége nem elsősorban ezekben a korai TPP-technológiai fejlesztésekben, hanem az ezt követő koncepcionális lépésben van: a jelölt és munkatársai

a TPP-t nem önmagáért fejlesztették tovább, hanem feladatspecifikus mikrorobotok előállítási technológiájává alakították.

A mikrométeres gömb optikai csipesszel való mozgatása már régóta ismert volt. A Dr. Kelemen-csoport iránya ezzel szemben az, hogy előre megtervezett geometriájú, funkcionalizált, esetenként rugalmas 3D eszközt készítenek, majd ezt fogják meg a fénnyel, miközben maga a mikroeszköz lép kölcsönhatásba a biológiai objektummal. A disszertációban ezt már hat szabadsági fokú sejtmanipulációig vitték.

Ez a megközelítés egy valóban felismerhető „szegedi iskola". Már egy 2013-as, Laser & Photonics Reviews-ban megjelent optikai mikrorobotikai áttekintésben is megjelenik ez a kutatási vonal; A jelölt maga is meghívott szerzője volt a területet összefoglaló kapcsolódó munkának.

A többnézetű sejt-mikroszkópia ennek szép példája: itt a mikroeszköz nem egyszerűen mozgatja a sejtet, hanem annak precíz forgatását, majd különböző irányokból készített felvételek összeillesztésével az axiális felbontás mintegy 2,4-szeres javítását és a közel izotróp felbontást teszi lehetővé. A publikált munka 6 szabadsági fokú sejtmanipulációt ír le. Ez szerintem elegáns és eredeti, még ha nem is változtatta meg önmagában a mikroszkópia főáramát.

A legérdekesebb biológiai eredmények

A sejtek mechanikai vizsgálata és különösen a glutation–endotélsejt adhézió mérése erős példa arra, hogy a mikrotechnológia már új biológiai kérdés megválaszolását teszi lehetővé, nem egyszerűen technológiai demonstráció.

A disszertáció szerint a GSH–élő endotélsejt kölcsönhatás esetében ezek voltak az első közvetlen adhéziós erőmérések; a mikroeszközzel kapott eredményeket AFM-mel is összevetették. A kapcsolódó ACS Applied Materials & Interfaces-közlemény ezt az eljárást kifejezetten innovatív optikai módszerként írja le.

Ennek az újdonsága szerintem nagyon magas, de szűk. Nem olyan eredmény, amely egy teljes tudományág gondolkodását megváltoztatja, viszont az adott gyógyszerbejuttatási/BBB-kutatási kérdésben valóban új mérési információt ad.

A 2024-es deformálható mikrorobot szerintem külön kategória.

A disszertáció legizgalmasabb és nemzetközileg potenciálisan legnagyobb hatású eredményének a rugalmas, optikai csipesszel deformálható sejtmanipulátorokat tartom. Az eszközök már nem igénylik a sejt kémiai hozzákötését a mikrostruktúrához; mechanikusan megfogják, mozgatják, forgatják, majd elengedik a sejtet.

Az Advanced Materials 2024-es cikke ezt kifejezetten új, deformálható sejtmanipulátor-családként mutatta be, és a jelölt a közlemény levelező szerzője. Két év alatt az MTMT jelenleg 26 független idézést tart nyilván a cikkre. Ez egy 2024-es, szűk módszertani témájú közleménynél már kifejezetten erős korai nemzetközi érdeklődést jelez.

Ezt azért is fontosnak tartom, mert megmutatja, hogy nem egyszerűen egy 15–20 évvel ezelőtti sikeres kutatási program összefoglalásáról van szó: a kutatási vonal a disszertáció lezárásakor is képes magas szintű és eredeti eredményeket produkálni.

Azonban a bemutatott eredmények nem mindegyike éri el ezt a magasságot. A disszertációban vannak olyan részek, amelyekben az újdonság inkább integrációs vagy alkalmazástechnikai, mint alapvetően új tudományos elv.

Ilyennek érzem például az SU-8 felület funkcionalizálásának egy részét: maga a szilanizálás, PEG-kapcsolás, biotin–sztreptavidin rendszer természetesen nem új; az újdonság az, hogy ezeket a jelölt TPP-vel készített, optikailag mozgatható mikroeszközökre adaptálta. A disszertáció maga is lényegében így helyezi el ezeket a munkákat: már létező felületkezelési módszereket adaptáltak a mikroeszközökre.

Hasonlóan, a WGM-rezonátor fizikája nem a jelölt eredménye, de a rezonátornak közvetlenül mikrofluidikai rendszerbe történő integrálása és fehérjeszenzorként való demonstrálása technológiailag érdekes. A Lab on a Chip cikk jelenleg körülbelül 47 idézést gyűjtött össze egy nyilvános citációs adatbázisban, ami jelzi, hogy ez a munka is megtalálta a nemzetközi közönségét.

Ha a jelölt eredményeinek nemzetközi elfogadottságáról beszélünk, akkor szerintem fontos elkerülni mind a túlértékelést, mind az alulértékelést.

Ha az elismertségi térképet a „two-photon polymerization / multiphoton 3D nanofabrication" egészének szintjén rajzoljuk fel, akkor a jelöltet nem helyezném a legfelső, területdefiniáló nemzetközi körbe. Ez az a szint, amelyhez például a TPP fundamentális bevezetését, a szubdiffrakciós 3D litográfia alapvető áttöréseit, új anyagrendszerek és nagysebességű gyártási paradigmák létrehozását kötjük. Dr. Kelemen munkássága nem ilyen értelemben határozta meg az egész TPP-terület fejlődését.

Ha azonban a térképet leszűkítjük a TPP → funkcionális 3D mikroeszköz → optikai működtetés → biológiai egysejt-manipuláció tengelyre, akkor a nemzetközileg meghatározó, korai és tartósan aktív kutatók/csoportok közé helyezném.

Ez szerintem sokkal igazságosabb és tárgyszerűbb értékelés, mint ezen a szinten obligát módon egyszerűen azt írni, hogy a jelölt „világszínvonalú TPP-kutató".

A bibliometria is nagyjából ezt a képet támogatja: nem látok olyan egyetlen közleményt, amely több száz vagy ezer idézéssel az egész TPP-terület megkerülhetetlen alappublikációjává vált volna, viszont több, egymástól időben jelentősen eltérő munka ért el több tízes nemzetközi idézettséget, és a 2024-es Advanced Materials-cikk különösen gyorsan gyűjt idézeteket. Ez nem „egy nagy dobás" profilja, hanem közel két évtizeden át következetesen épített, nemzetközileg látható kutatási programé.

Kritikai megjegyzések, általam vélt hiányosságok és kérdések

A disszertáció formai elemzése

Nyelvhelyesség. A dolgozat magyar nyelve összességében világos, szakmailag jól követhető és természetes. A szerző általában jól magyarázza a fizikailag és biológiailag összetett kérdéseket. Ez kifejezett erőssége.

Ugyanakkor valódi nyelvhelyességi, helyesírási és nyelvtani hibák is maradtak benne, nem csupán vitatható stilisztikai megoldások. Számos kisebb elírás, helyesírási, központozási és esetenként mondatszerkesztési hiba maradt a végleges szövegben, amelyek egy gondos nyelvi korrektúrával kiküszöbölhetők lettek volna.

Egy-egy tipikus példa

Elírás: „Ez az eset egy alapvetőn 2D probléma" Helyesen: alapvetően

Egyeztetési hiba: „Ezekben a helyzetben pedig a test csapdázódik." Helyesen: Ezekben a helyzetekben

Helyesírási hiba: „mechanikailag ellenálóbbá” Helyesen: ellenállóbbá

A határozott névelő rendszeres elhagyása: „Eddigi tudományos munkám itt bemutatott összefoglalója…” Helyesen: Az eddigi tudományos munkám …

„… olyan eszközöket adhat kutatók kezébe”. Helyesen: olyan eszközöket adhat a kutatók kezébe

Felesleges igekötő használata: „…ez az ion reagál el a monomerrel.” Helyesen: …ez az ion a monomerrel reagál.

„…megpolimerizált térfogat” Helyesen: …polimerizált térfogat.

Mondatszerkesztési hiba a TPP párhuzamosításánál: „…kísérleteimet, melyekkel egyrészt …, másrészt pedig amelyet azóta rutinszerűen használunk…” – itt a vonatkozó névmások és az antecedens szerkezete szétesik.

Klasszikus központozási probléma a fejezetcímben szereplő „Az optikai csipesz, mint a PME-k mozgatásának egyik módja”. Itt a mint szerepet/funkciót jelöl, ezért nem kell elé vessző. A hiba ráadásul a tartalomjegyzékben és magában a fejezetcímben is megismétlődik.

A „több mint” szerkezetben is előfordul indokolatlan vessző: „több, mint tízszeres különbség”.

Nem feltétlenül hibás, de nehézkes magyar megfogalmazásból több is van. Különösen a fejezetcímek között találhatók olyan nominalizált szerkezetek, amelyek érthetők, de egy MTA doktori értekezésben elegánsabban is megfogalmazhatók. Például:

„Mikroszerkezetek felületkezeléses funkciónövelése” helyett természetesebb lenne „Mikroszerkezetek funkcionalitásának növelése felületkezeléssel”.

„WGM detektor készítése fehérje jelölésmentes érzékeléséhez” helyett például „WGM-detektor készítése fehérjék jelölésmentes érzékelésére”.

„Nanorészecske bejuttatást segítő molekulák endotél sejtekhez tapadása” nyelvileg és a helyesírás szempontjából is nehézkes; természetesebb: „A nanorészecske-bejuttatást segítő molekulák tapadása endotélsejtekhez”. Ezek a címek a tartalomjegyzékben jól láthatók.

A szaknyelvi összetételek írásmódja sem teljesen egységes: például WGM detektor, Raman spektroszkópia, endotél sejtek, sejt-sejt kölcsönhatás. Ezeknél egy egységes magyar helyesírási korrektúra indokolt lenne: pl. WGM-detektor, Raman-spektroszkópia, endotélsejt, sejt–sejt kölcsönhatás.

Alaki megjelenés. Ezt összességében jónak, sőt kifejezetten rendezettnek tartom. A tördelés végig egységes, a margók, betűtípusok és oldalszámozás konzisztensek. A fejezetstruktúra könnyen követhető, az egyenletek és ábrák kulturáltan illeszkednek a szövegbe.

Van azonban néhány feltűnő apróság.

A legzavaróbb a minden oldal tetején megjelenő „dr. Kelemen.lorand_381_25” szöveg. Ez még a címlapon és a lényegében üres második oldalon is szerepel. Kétlem, hogy ez az MTA rendszer által kötelezően generált azonosító.

A tartalomjegyzékben az 5. fejezet címe egyedüliként ponttal zárul („Fénnyel hajtott mikromechanikai rendszerek.”), miközben a többi azonos szintű cím nem. Apróság, de jól jelzi, hogy a végső formai korrektúra nem volt teljes.

Elektronikus dokumentumként további apró hiányosság, hogy a PDF-ben nincs tartalomjegyzékhez kötött könyvjelzőstruktúra, és a PDF-metaadatok sem a kész disszertáció címét tükrözik. Ez tudományos tartalmi szempontból természetesen lényegtelen, de egy 140 oldalas elektronikus dokumentumban a könyvjelzők hasznosak lennének.

Ábrák. Az ábraanyag a disszertáció egyik erőssége. Sok, jól megválasztott és többnyire jó minőségű ábra van; a 75 ábra végig folyamatosan számozott. Az ábrák nem puszta illusztrációk, hanem valóban segítik az optikai, mikromechanikai és sejtbiológiai rendszerek megértését. A többpaneles ábrákhoz általában részletes ábraaláírás tartozik, de néhány sokpaneles ábra meglehetősen zsúfolt, az ábrán belüli betűk és tengelyfeliratok kicsik. PDF-ben még olvashatók, de nyomtatásban nem mindegyik optimális. Az angol nyelvű ábrán belüli feliratok és a magyar ábraaláírások keveredése szakmailag elfogadható — nyilván részben publikációkból származó ábrákról van szó —, de vizuálisan nem teljesen egységes.

Találtam azonban egy konkrét számozási/tördelési hibát: ugyanazon az oldalon előbb a 11. ábra, majd alatta a 10. ábra szerepel. Ez nem csak a szövegkinyerés mellékhatása, hanem a tényleges oldalképen is így van.

Irodalomjegyzék. A 223 hivatkozást tartalmazó lista erős. A bibliográfiai forma azonban nem teljesen egységes. Ugyanazoknak a folyóiratoknak hol teljes, hol rövidített neve szerepel: például Journal of Biomedical Optics és J Biomed Opt, illetve Nature Methods és Nat Methods, Optics Express és Opt Express. A PLOS ONE is többféle írásmóddal jelenik meg.

Vannak ennél konkrétabb bibliográfiai hibák is. A 72. referencia lényegében csak a szerzőket, címet és évszámot tartalmazza, folyóirat/konferencia és további bibliográfiai adatok nélkül; a címben ráadásul „Copolyrner” szerepel. A 77. tételben pedig „Protein AModified” látható.

Több közleménynél hiányzik az oldalszám vagy az article number, például a 88., 120., 189., 220. és 222. hivatkozásnál.

Az alaki-nyelvi hiányosságok azonban a dolgozat tudományos értékét érdemben nem csökkentik.

A szakmai megjegyzések és direkt kérdések (az olvasás sorrendjében)

A dolgozat magas színvonala mellett néhány kritikai észrevétel, illetve a módszertani és fizikai háttér pontosabb tisztázását célzó kérdés is megfogalmazható.

Bevezetés, irodalmi áttekintés, kísérleti eszközök.

1. Az 1. ábra B paneljén a kétfotonos gerjesztéshez tartozó lokalizált fluoreszcencia mellett jelentős háttérfluoreszcencia is látható. Mi ennek az eredete? Szórt gerjesztő fény, egyfotonos gerjesztés, a minta autofluoreszcenciája vagy a detektálás sajátossága okozza? Befolyásolja-e ez az ábra által demonstrálni kívánt térbeli lokalizáció értelmezését?

2. A dolgozat az SU-8 esetében (β≈28 cm/TW) és az OrmoCore-nál is (β≈28 cm/TW) makroszkopikus kétfotonos abszorpciós koefficienst ad meg, míg korábban a kétfotonos abszorpció molekuláris jellemzőjeként a δ, GM-ben megadott hatáskeresztmetszet szerepel. Hogyan kapcsolható össze ez a két mennyiség? A β és δ közvetlen átszámítása csak az abszorbeáló molekulák koncentrációjának ismeretében lehetséges. Ráadásul az OrmoComp pontos összetétele a dolgozat szerint sem nyilvános, és az OrmoCore adata csak egy hasonló anyagra vonatkozik. Elsősorban az abszorbeáló molekulák koncentrációja mellett milyen további adatok szükségesek ahhoz, hogy a makroszkopikus és molekuláris paraméterek összehasonlíthatók legyenek? Mennyire értelmezhető ezért az SU-8 és az

OrmoCore β-értékének összevetése a 2. ábrán szereplő DA és DAD molekulák GM-ben megadott adataival?

3. A 10. ábrával kapcsolatban több pontosítást kérnék.

a) Hogyan definiálja pontosan a laterális csapdaállandót? A fókusz közeli tartományban érvényes $F_x = -\kappa \cdot x$ kapcsolat meredekségéről van szó?

b) Mi az oka annak, hogy egyes mérési pontoknál hibahatár szerepel, másoknál nem, illetve néhány esetben igen nagy a bizonytalanság?

c) Az ábraaláírás szerint „a körök és a vonalak mérési pontokat jelölnek", miközben a folytonos és szaggatott görbék elméleti számításokat jelentenek. Nem kellene az ábraaláírást pontosítani?

d) A maximális csapdaállandó környékén ($\kappa \cdot a \approx 3$) a részecskeméret és a hullámhossz összemérhető. Ebben a tartományban a Mie-elmélet természetes referencia, míg sem a Rayleigh-, sem a geometriai optikai határeset nem teljesül jól. Mekkora hibával alkalmazható itt a geometriai optikai közelítés, és milyen mérettartománytól tekinthető valóban megfelelőnek?

4. A csapda-befogás determinisztikus tárgyalása a gradiens- és szóróerő egyensúlyára épül, a befogott mikrorészecske azonban folyamatos Brown-mozgást végez. Hogyan kellene ezt a termikus, sztochasztikus erőt (a Langevin-féle termikus erőt) beépíteni a csapda-befogás teljes fizikai leírásába? Önmagában elegendő-e a stabilitáshoz az, hogy a visszatérítő gradiens erő meghaladja a szóróerőt, vagy célszerűbb a csapda potenciálmélységét ($k_B \cdot T$)-hez viszonyítani? Hogyan határozható meg ebből a részecske fluktuációja és a csapdából való termikus kiszabadulás valószínűsége?

5. A disszertáció az optikai csapda-befogás feltételeként lényegében nem abszorbeáló részecskét feltételez. Mi történik, ha a részecske – például egy biológiai sejt – törésmutatója komplex, és a csapdába ejtő fényt nem elhanyagolható mértékben abszorbeálja? Hogyan módosul ekkor a sugárnyomás, a csapda egyensúlyi helyzete és merevsége? Felhasználható-e az egyensúlyi helyzetnek a fénynyaláb terjedési irányába történő eltolódása arra, hogy ugyanaz a fénycsipesz két (vagy több) részecskét fogjon be attól függően, hogy mennyire abszorbeálnak, vagyis lehet-e „abszorpció szerint válogató" fénycsipeszt készíteni?

Mekkora szerepe lehet emellett a lokális felmelegedésnek nagyobb fényintenzitásnál, amely termoforézist vagy konvekciót válthat ki? A 1064 nm-en végzett sejtes kísérleteknél kellett-e ezekkel számolni? Megjegyzem, hogy vannak olyan fotoszintetizáló baktériumok (pl. *Bl. viridis*), amelyek 1000 nm feletti hullámhosszúságú fotonokat képesek elnyelni, és fotokémiailag hasznosítani.

6. A dolgozat szerint a csapdázó mikroeszköz maximális mozgatási sebességét a viszkózus ellenállás határozza meg. Hogyan határozható meg az a kritikus sebesség, amelynél a részecske már kiesik a csapdából? Gömb esetén ez közelítőleg a maximális csapdaerő és a Stokes-féle ellenállás összevetéséből számítható; hogyan módosul ez összetett alakú mikroeszközök és közeli falak jelenlétében? A gyakorlatban ezt előzetesen számította, vagy kísérletileg határozta meg?

7. A biológiai alkalmazásoknál kritikus kérdés a mikroeszközök sterilizálhatósága és biokompatibilitása. Milyen sterilizálási eljárást alkalmazott az SU-8- vagy OrmoComp-alapú mikroeszközöknél, és igazolta-e, hogy ez nem változtatja meg sem a mikroszerkezet geometriáját és mechanikai tulajdonságait, sem a későbbi felület-funkcionalizálás lehetőségét? Hogyan zárta ki a visszamaradó monomerek, iniciátorok vagy előhívószer sejtkárosító hatását?

8. A kétfotonos abszorpció magyarázatában a dolgozat körülbelül 10^{-15} s „életidejű virtuális energiaszintről" beszél. Fizikailag mennyire helyes a virtuális állapothoz élettartamot rendelni? Nem

pontosabb-e a kétfotonos abszorpciót koherens másodrendű folyamatként kezelni, amelyben a virtuális állapot nem valódi, populálható köztes energiaszint? Hogyan értelmezendő ebben a képben az említett femtoszekundumos időskála?

9. A dolgozat a diffrakciós határnál kisebb TPP-vonalszélességet részben a kétfotonos abszorpció négyzetes intenzitásfüggésével magyarázza. Mekkora része tulajdonítható valóban az optikai kétfotonos gerjesztési tér szűkülésének, és mekkora része a polimerizáció küszöbjellegének? Hogyan különíthető el ebben a folyamatban az optikai PSF, az iniciátorképződés küszöb-értéke, a gyökdiffúzió és például az oxigéngátlás hatása?

10. Az OrmoComp kétfotonos abszorpciós koefficiensére nem áll rendelkezésre adat, ezért a dolgozat a hasonlóan alkalmazható OrmoCore β-értékét idézi, és a hasonló polimerizációs paramétereket ezzel összhangban lévőnek tekinti. Mennyire indokolt ebből hasonló kétfotonos abszorpcióra következtetni? A polimerizációs küszöböt a kétfotonos abszorpción kívül az iniciátor koncentrációja, kvantum-hatásfoka, a polimerizációs kémia és az oxigén jelenléte is befolyásolhatja.

11. A polimerizáló lézer impulzushosszát 100 fs-nak adja meg. Ezt az értéket a lézer kimenetén vagy a mintában, az objektív után mérték? A TPP a csúcsintenzitástól függ, ezért az optikai elemek és különösen a nagy NA-jú objektív diszperziója által okozott impulzusszélesedés jelentősen módosíthatja a tényleges polimerizáló intenzitást. Mérte-e vagy kompenzálta-e ezt?

12. A disszertáció a jelenlegi TPP-rendszert mutatja be, miközben jelzi, hogy a 2018 előtti eredmények több korábbi, azóta módosított rendszerrel készültek. Hogyan biztosítható ilyen esetben az egyes publikált eredmények reprodukálhatósága és egymással való összehasonlíthatósága? Mely rendszer-paraméterek változtak érdemben, és melyek maradtak állandók?

13. A többórás polimerizáció során saját fejlesztésű fókusztartó algoritmus stabilizálja a fókusz és a hordozó relatív helyzetét. Mekkora a rendszer maradék driftje az algoritmus működése mellett, és hogyan validálták ezt? Ha száz nanométer körüli részleteket kívánnak reprodukálni, már néhány tíz nanométeres hosszú idejű drift is jelentős lehet.

14. A piezoasztal 50 µm/s felett már nem követi pontosan az előírt pályát, ezért előkompenzációt alkalmazott. Mekkora a tényleges pozícióhiba előkompenzáció nélkül és azzal együtt, különösen a maximálisan alkalmazott 200 µm/s sebességnél? Hogyan hat ez a voxel méretére, a vonalszélességre és a komplex 3D szerkezetek geometriai pontosságára?

15. Az SLM-mel létrehozott több polimerizáló fókuszt „gyakorlatilag azonos teljesítményűnek” tekinti. Milyen pontossággal sikerül a teljesítményeket kiegyenlíteni? Mivel a kétfotonos folyamat az intenzitás négyzetével függ össze, egy viszonylag kis intenzitáskülönbség is lényegesen eltérő polimerizációs dózist és voxel-méretet okozhat. Hogyan kalibrálta ezt a párhuzamos polimerizáció során?

A TPP módszerének optimalizálása diffrakciós optikai elemekkel

1. A nagyon jó elvi igazolást adó (proof-of-principle) demonstrációk mellett a „jelentősen gyorsabb”, „teljesen alkalmas”, „megszünteti a deformációt” típusú erős kijelentésekhez helyenként hiányolom az egzakt, kvantitatív (statisztikai) mérés-kiértékelést: az ismétlésszámot, a bizonytalanság mértékét, a reprodukálhatóságot és a valódi (teljesítmény-) throughput- és érzékenységvizsgálatot.

2. A jelölt szerint „jelentősen gyorsabban” készíthetők a struktúrák, de nem látok egyértelmű (teljesítmény-) throughput-mérést. Öt fókusz például nem feltétlenül jelent ötszörös sebességet, mert

a lézerteljesítmény megoszlik, van diffrakciós veszteség, SLM-frissítési idő és polimerizációs küszöb. Hányszoros a valós időnyereség azonos szerkezetminőség mellett?

3. Öt-hat-kilenc nyaláb működik, de mi történne 20, 50 vagy 100 fókusznál? Mi korlátozza a párhuzamos fókuszok maximális számát? A lézer teljesítménye, az SLM pixelszáma, a diffrakciós hatásfok, a fókuszok intenzitás-uniformitása vagy a fotopolimer küszöbértéke lesz először limitáló?

4. A jelölt a módszert „teljesen alkalmasnak" tartja a párhuzamos polimerizációra. Mennyire általánosítható „a ±5%-os fókuszintenzitás-egyezés egyetlen 2×3-as konfigurációban? Szabadna-e kérnem ennek különböző hologramokkal, fókuszszámokkal és látómezőbeli pozíciókkal alátámasztott reprodukálhatóságát?

5. Ha a korrekció után a hullámfrontot és a fókuszt lényegében helyreállította, miért körülbelül 10%-kal kisebbek a voxelek, mint SLM nélkül? Ha valóban ugyanazt az optikai állapotot állította helyre, akkor a 10%-os eltérés magyarázatra szorul. A válaszhoz (szerintem) külön kellene választani a hullámfront alakját, a fókusz intenzitását, az SLM diffrakciós veszteségeit és a polimerizáció nemlineáris küszöbhatását.

6. Az SLM felületét 532 nm-en mérte, miközben a polimerizáció 785 nm-en történt. Mi garantálja, hogy a geometriai felületmérésből számított korrekció 785 nm-en megfelelő?

7. Mennyire jogos a fókuszálás leírására alkalmazott skaláris fázismodell NA = 1,25 esetén? Nagy numerikus apertúránál a fókusz elektromágneses tere vektoriális; polarizáció, apodizáció és a határfelületeken fellépő Fresnel-effektusok is megjelenhetnek. Miért elegendő a (7) és (8) egyenletben alkalmazott egyszerűbb leírás?

8. Nem túl erős-e az az állítás, hogy a korrekció a tér mindhárom irányában „megszünteti" a deformációt? Az összegzés ezt mondja, miközben korábban kb. 10%-kal kisebb voxelátmérőt és maradék mélységfüggést is leírnak. Nem lenne korrektebb a „megszüntette" megfogalmazás helyett a „jelentősen csökkentette" kitételt használni?

9. A helikális geometria által létrehozott fénynyomaték okozza-e a helikális struktúrák optikai csipeszben való forgását? A jelölt ezt mechanizmusként állítja. Mért-e forgási frekvencia–lézerteljesítmény kapcsolatot, illetve ellentétes kiralitású struktúráknál megfordul-e a forgás iránya? Ha nem, akkor ez inkább valószínű mechanisztikus értelmezés, mint bizonyított mechanizmus.

10. Mi a módszer általánosítható része, és mi rendszer-specifikus? Mit kell újramérnem, ha más objektívet, más NA-t, más hullámhosszat, más fotorezisztet vagy más SLM-et használok? Általános algoritmus-e a módszer, vagy lényegében minden rendszerhez új kalibráció szükséges?

Fénnyel hajtott mikromechanikai rendszerek.

1. A mikromotor esetében a két nyomatékbecslés $6{,}2\times10^{-18}$ Nm, illetve 19×10^{-18} Nm, tehát közel háromszoros különbséget mutat. Milyen alapon tekinthető ez „jó egyezésnek"? A jelölt ezt az egyszerűsítésekre hivatkozva elfogadhatónak minősíti. Melyik közelítés járul hozzá leginkább az eltéréshez, és becsülhető-e az egyes hibaforrások nagysága? Különösen erős pont, hogy a hidrodinamikai modellben a sebességgradiens lecsengési hosszát egyszerűen h = 2 μm-nek veszi. Mi indokolja ezt fizikailag?

2. A rotor hidrodinamikai ellenállását lapos, tömör hengerrel közelíti, miközben a tényleges rotor 12 fogú, erősen strukturált test. Miért várható, hogy ez a közelítés akár nagyságrendileg is helyes

nyomatékot ad? Mennyiben változna a kapott forgatónyomaték, ha a tényleges fogazott geometria körüli áramlást numerikus áramlástani, például CFD (Computational Fluid Dynamics) számítással határozná meg? Milyen mértékű eltérést kapna, ha a tényleges rotor-geometriát és a közeli falakat figyelembe vevő numerikus hidrodinamikai modellt alkalmazna? (A 12 fogú rotor valódi 3D geometriáját betenné például COMSOL-ba, ANSYS Fluent-be vagy OpenFOAM-ba, megadná a víz viszkozitását, a rotor forgási sebességét és a közeli falakat, majd kiszámítaná a rotor körüli sebességteret, a nyírófeszültségeket, a nyomáseloszlást, és végül a rotorra ható viszkózus fékezőnyomatékot.) Egy ilyen számítás elvégzése arra adhatna választ, hogy a $6{,}2\cdot10^{-18}$ Nm és $19\cdot10^{-18}$ Nm közötti csaknem háromszoros eltérésből (lásd a fenti kérdést) mennyit magyarázhat a nagyon leegyszerűsített hidrodinamikai modell.

3. Biztosan a visszavert fény impulzusátadása forgatja a motort, vagy lehetséges számottevő fototermikus, termooptikai vagy konvektív hozzájárulás is? A jelölt az abszorpció termikus hatását hátrányként említi, és a meghajtást reflexióhoz köti. Milyen kontrollkísérlet választotta szét ezeket a mechanizmusokat? Például változott-e a mozgás azonos optikai impulzusfluxus, de eltérő abszorpció mellett?

4. Az integrált mikromotort potenciális mikropumpa hajtásaként mutatja be, de maga a pumpálás nem valósult meg. Meddig tekinthető tehát igazoltnak az az állítás, hogy a motor mikromechanikai rendszerek „erőforrásaként használható fel”? A szöveg maga is jelzi, hogy a jelölt ezt az irányt nem vitte végig, és csak nem publikált szerkezeteket mutat be. Úgy érzem, hogy szükséges lenne a demonstrált kísérlet és a potenciális alkalmazás különválasztása.

5. Mi bizonyítja, hogy valóban a teljes belső visszaverődéskor bekövetkező impulzusváltozás hozza létre a transzlációs erőt a meghajlított fényvezetős szerkezetnél? A mechanizmus leírása intuitív, és az FDTD modell támogatja, de az a kérdésem, hogy van-e olyan geometriai vagy törésmutató-kontroll, amelynél a teljes visszaverődés megszűnik, és ezzel együtt a mozgás is eltűnik? Ez sokkal erősebb oksági bizonyíték lenne.

6. Mennyiben nevezhető valóban autonóm mozgásnak a „csúszó ék” esete? Az energia kívülről, homogén megvilágításból érkezik, és a mozgás irányát a részecske orientációja szabja meg. Tisztelettel kérem a jelöltet, hogy a tisztánlátás kedvéért definiálja az autonóm mozgást ebben a kontextusban, és különítse el az önhajtott, az aktív és az autonóm részecske fogalmát.

7. A jelölt szerint az ékek „gyakorlatilag súrlódásmentesen” mozognak a víz–levegő határfelületen. Valóban elhanyagolható ott az ellenállás? Mikroobjektumoknál a kapilláris, felületi és viszkózus hatások kifejezetten jelentősek lehetnek. Mi indokolja a „súrlódásmentes” megfogalmazást, és milyen szerepe lehetett a kontaktvonalnak vagy a meniszkusz deformációjának?

8. Valóban az optikai meghajtás tulajdonsága-e a 355 µm-es perzisztenciahossz, vagy részben egyszerűen a részecske nagy rotációs ellenállásának következménye? A jelölt a nagy perzisztenciahosszat az autonóm, orientáció által meghatározott mozgás jellemzőjeként mutatja be. Érdeklődöm, hogyan skálázódna ez a részecske méretével, a viszkozitással és a fényintenzitással?

9. A jelölt a 2D modelleknél előjelváltó nyomatékot talál a gördülő henger esetében. Ebből az egy konkrét kísérleti eredményből majdnem általános fizikai állítást tesz: homogén megvilágítás mellett folyamatos gördülés „csak akkor” jöhet létre, ha a probléma nem kétdimenziós. Ez matematikailag bizonyított általános tétel, vagy csak az itt vizsgált geometriai osztályra igaz? A „minden reflektív vagy refraktív 2D testre” állítás jóval erősebb, mint néhány szimulált geometriára kapott eredmény.

10. Hogyan választotta szét a gördülő hengereknél a fény által létrehozott forgatónyomatékot a geometriailag aszimmetrikus kontaktus okozta mechanikai preferenciától? A végükre külön gyűrűket is polimerizált a gördülés elősegítésére. Van-e preferált irány sötétben vagy nagyon alacsony teljesítménynél? Megfordítható-e a gördülés iránya a geometriai helicitás megfordításával? Ez nagyon erős kontroll lenne.

11. A jelölt ezekre az eszközökre egy általános fizikai jelenség „modellrendszereként" hivatkozik. Pontosan mit modelleznek? Az ékeknél kollektív mozgás vizsgálatát említi, de végül a részecskeszám ehhez kevés volt. Mi az a konkrét fizikai kérdés, amelyre ezek a mikrorészecskék olyan választ adtak, amit egyszerűbb modellrendszerből nem lehetett volna megkapni?

12. Mi az igazi tudományos újdonság a 2D és 3D optikai összeszerelésnél: a részecskék geometriája, az optikai manipuláció, az automatizálás vagy ezek kombinációja? Mivel a jelölt nagyon tisztességes (fair) módon elismeri, hogy optikai csipeszen alapuló mikroösszeszerelés már létezett, ezért azt kérdezném, hogy mi az a konkrét eredmény, amelyet ebben a munkában először demonstráltak, és mi az, ami már korábban ismert optikai manipulációs technika volt?

13. A 3D összeillesztett szerkezetekről azt írja, hogy termikus fluktuáció hatására sem estek szét és „hosszú ideig" egyben maradtak. Mit jelent itt kvantitatívan a hosszú idő, és milyen erő (súrlódás, geometriai reteszelés, adhézió, van der Waals-erő vagy ezek kombinációja) tartja össze őket? Mérhető-e a kötés felszakításához szükséges effektív erő?

Mikroszerkezetek felületkezeléses funkciónövelése

Itt is egy-egy megfogalmazás erősebbre sikerült annál, mint amit a kísérlet közvetlenül bizonyít.

1. Mennyire tekinthető specifikusnak a sztreptavidin–biotin alapú sejtkapcsolás, ha a funkcionalizált mikroeszközök a nem biotinált sejtekhez is körülbelül 30%-os gyakorisággal hozzátapadtak? A kívánt kombinációnál ugyan ~90% a tapadás, de a 30%-os „negatív kontroll" meglehetősen magas. Mi okozhatja ezt a jelentős és nem specifikus kötődést, és nem korlátozza-e ez a módszer alkalmazhatóságát olyan esetekben, ahol valóban szelektíven egy bizonyos sejtet kívánunk megfogni?

2. A doktori mű szerint a kötési erő legalább 30 pN, mert ennél nagyobb hidrodinamikai terhelésnél már a mikroeszköz esett ki az optikai csapdából, de a sejtről nem vált le. Mit tudunk ebből valójában a kötési erőről, mert a mérésből csak alsó korlát származik? Nem tudjuk, hogy a kötés 35 pN, 300 pN vagy 3 nN. Ráadásul több párhuzamos sztreptavidin–biotin kötés lehet jelen. Meg lehet-e ebből akár a kialakult molekuláris kötések számát becsülni?

3. Mennyire tekinthető abszolút molekulaszámnak a fluoreszcenciából számított $5–8·10^3$, illetve PEG-diaminnal $4·10^4$ sztreptavidin/μm^2 felületi koncentráció? Az APTES-alapú felület-funkcionalizálási rendszernél a jelölt ezt még 20–35%-os monorétegnek is megfelelteti. Hogyan kalibrálta a fluoreszcencia-intenzitást abszolút molekulaszámra? Figyelembe vette-e a fluorofór/molekula arány eloszlását, a fluoreszcencia kioltását, az orientációt, a lokális környezetet és a többrétegű fedést? Ez azért különösen fontos, mert a jelölt később a PEG-es értéket már kb. két összefüggő sztreptavidin-rétegként értelmezi.

4. Valóban fehérje-detektor-e, vagy ezen a fejlettségi szinten inkább proof-of-concept refraktometriai szenzor-e a WGM-rendszer? A Q-faktor csak $5·10^3$, szemben az említett optimális $1·10^5$ nagyságrenddel, a törésmutató-változás detektálási határa ~0,005 RIU, a fehérjekísérlet pedig 500 nM sztreptavidinnel

és akár 22 órás inkubációval történt. Mekkora volt a koncentrációban kifejezett érzékenységi határ, és hogyan igazolta a biológiai specificitást egy ugyanolyan koncentrációjú nem kötődő kontrollfehérjével?

5. Miből következik, hogy a 22 óra után kialakult plató a „maximálisan lehetséges mennyiségű fehérje” kitapadását jelenti? A spektrális jel platója ezt önmagában nem feltétlenül bizonyítja, mert akár a diffúzió, a tömegtranszport, a hozzáférhető kötőhelyek részleges kimerülése vagy akár a szenzor-drift is okozhatja a telítődést. Milyen kísérlet különítené el ezeket?

6. A jelölt abból, hogy 250 nm-nél és még mikrométeres távolságokon is van erősítés, arra következtet, hogy nem a plazmonikus hatás dominál, hanem a beeső és visszavert gerjesztő, illetve emittált fény interferenciája. Ez esetben előjön az emitter–tükör távolság, a dipólusorientáció, a spektrális sávszélesség, az emissziós élettartam, a begyűjtési hatásfok és a lokális fotonállapot-sűrűség kérdése, vagyis az egyszerű modell alkalmazhatósága kérdésessé válik. Milyen értelemben beszélhetünk az emittált fluoreszcens fény és saját reflexiója interferenciájáról, és milyen feltételek mellett indokolt az erősítést egyszerűen a gerjesztési és emissziós intenzitásnövekedés szorzataként kezelni?

7. Hogyan különítette el az interferencia okozta valódi emissziónövekedést attól, hogy a reflektáló szerkezet egyszerűen több fluoreszcens fényt irányít a detektáló objektív felé? A mért mennyiség végül detektált intenzitás. A tükröző réteg egyszerre változtathatja meg a gerjesztési intenzitást, a spontán emisszió térbeli eloszlását és a mikroszkóp begyűjtési hatásfokát. Ha ezek nincsenek külön mérve, akkor az „emisszió erősítése” és a „detektált jel erősítése” fizikailag nem feltétlenül ugyanaz.

8. Hogyan állítható a SERS-részben, hogy a mobil eszköz „több nagyságrendnyi erősítést” biztosít, ha az erősítési tényezőt közvetlenül nem tudta meghatározni? A szöveg ezt világosan ki is mondja: a bevonat nélküli esetben nem volt mérhető Raman-jel, ezért az erősítést más munkák citrátos AgNP-rétegeinek 10^5–10^6 értékéből, illetve egy másik AgNP-réteggel való intenzitás-összehasonlításból becsülte. Nem túl erős-e több nagyságrendnyi SERS-erősítésről beszélni, ha az erősítési (enhancement) faktort nem mérte meg, hanem egy másik rendszer szakirodalmi enhancement faktorából következtetett rá?

Ehhez kapcsolódóan: hogyan állapítható meg külön a nanorészecske-méret és a felületi sűrűség hatása a SERS-jelre, ha a két paramétert ugyanazzal a megvilágítási idővel változtatta, tehát egymástól nem függetlenül? A szöveg maga felismeri ezt a problémát. Szerintem ebből a kísérletből nem lehet külön hatást tulajdonítani a két tényezőnek; ehhez faktoriális vagy más kontrollált kísérletsorozat kellene.

Egyedi sejtek jellemzése polimer mikroeszközökkel

Ebben a fejezetben három olyan területet látok, amely további módszertani tisztázást igényel: a sejtmigráció értelmezése, a Young-modulus mérés modellfeltevései, illetve a GSH–endotél tapadás biológiai specificitása.

1. A sejtmigrációs kísérletben honnan tudható, hogy a megfigyelt „szétesés és újraegyesülés” valóban ugyanannak a sejtnek a fragmentációja és rekonstrukciója volt, nem pedig sejttörmelék, több sejt átfedése vagy optikai képalkotási műtermék? A dolgozat szerint a PC3 sejtek akár több darabra esve jutottak át a szubmikrométeres csatornán, majd ismét egyesültek, sőt egy esetben másik sejt darabjait is integrálhatták. Volt-e membrán-, sejtmag- vagy citoplazma-specifikus jelölés, amellyel bizonyítható a folytonosság és az azonosság? Pusztán fáziskontraszt/optikai mikroszkópos képekből nagyon erős biológiai következtetésnek tűnik.

2. A daganatsejteknél az érfalon keresztül az érből a környező szövetbe való áthaladás (extravazáció) az áttétképzés egyik lépése: a keringésben lévő tumorsejt kitapad az endotélhez, majd áthatol az érfalon

és kijut a szövetek közé. A disszertáció a szubmikrométeres mikrocsatornán való áthaladást az áttétképződés modelljeként fogalmazza meg. Mennyire tekinthető ez megfelelő modellnek, hiszen a rendszer csupán fizikai szűkületet tartalmaz, de a valódi érfalnál endotél sejtek, szoros sejtkapcsolat (tight junction), bazális membrán, extracelluláris mátrix és aktív sejt–sejt kölcsönhatások is jelen vannak. Kérdésem: a modell pontosan melyik részfolyamatot reprezentálja, és melyiket nem? Nem túl erős-e „áttétképződési modellnek" nevezni, ha valójában főleg extrém geometriai deformálhatóságot vizsgál?

3. Mennyire jogos a fluoreszcein diffúziójából az EGF-koncentrációgradiens időbeli fennmaradására következtetni? A jelölt a diffúziót fluoreszceinnel ellenőrzi, miközben a sejtkísérletben EGF a kemoattraktáns. A két molekula mérete, diffúziós együtthatója, felületi adszorpciója és esetleges degradációja eltérhet. Fontos módszertani kérdésnek tartom, hogy mérte-e ténylegesen az EGF-gradienst, vagy csak fluoreszceinből következtetett rá?

4. Az FBS jelenlétében a sejtek nem migráltak, FBS nélkül viszont igen. Hogyan különítette el az EGF kemotaktikus hatását az éhezés és az általános tápanyaggradiens hatásától? A dolgozat szerint csak FBS-mentes EGF és 13 órás szérummegvonás mellett történt átkelés. Mi történt EGF nélküli, de ugyanúgy FBS-mentes környezetben? Ha ilyen kontroll nincs, nehéz eldönteni, hogy valóban EGF-vezérelt migrációt látunk-e.

5. A Young-modulus mérésnél mennyire érvényes a Hertz-modell egy élő sejtmembrán ilyen kis, 10–90 nm-es benyomásánál? A Hertz-modell homogén, izotróp, lineárisan rugalmas, félvégtelen anyagot feltételez; a sejt viszont vékony membránból, cortexből, citoszkeletonból és viszkoelasztikus citoplazmából áll. A dolgozat $\nu = 0{,}5$ Poisson-állandó értékkel használja a Hertz-modellt. Mit jelent fizikailag az így kapott „Young-modulus"? Valódi anyagállandó-e, vagy inkább látszólagos effektív merevség?

6. A szerző azt állítja, hogy a legfeljebb 90 nm-es benyomódás „nagy valószínűséggel csak a sejtmembránt deformálja", a membrán alatti aktinhálózatot gyakorlatilag nem. Mi ennek a kísérleti bizonyítéka? A plazmamembrán vastagsága néhány nanométer; már nagyon kis deformációnál is a membrán–cortex rendszer együtt viseli a terhelést. Nem helyesebb-e membrán–cortex effektív mechanikai választ mérni?

7. Mi indokolja, hogy a 100 nm-es és 500 nm-es két fő görbületi sugár egyszerű számtani átlagát, 300 nm-t használják a Hertz-modellben? A mikroeszköz hegye erősen anizotróp, a kontaktmechanika pedig a lokális görbületektől függ. Jogos-e egyetlen „átlagos" görbületi sugarat behelyettesíteni a gömbi Hertz-képletbe egy ellipszoidális/aszférikus indenternél? Mekkora hibát okozhat ez a Young-modulus meghatározásánál?

8. Az 55.B ábra szerint a Young-modulus erősen függ a benyomódás mértékétől, és a számított érték monoton csökken a benyomódással. Szerintem ez a megfigyelés éppen azt jelzi, hogy a Hertz-modell feltételei nem teljesülnek. Ha egy valóban lineárisan rugalmas, homogén anyagot mérnénk megfelelő modellben, a Young-modulusnak nem kellene szisztematikusan függenie a benyomódástól. Miért választ akkor egy bizonyos tartományból „megbízható" Young-modulust, ahelyett, hogy a mélység-függést biológiai/mechanikai információként modellezné?

9. Mennyire megalapozott az a kijelentés, hogy az 1 pN/s terhelési sebességnél „biztosan kizárható" a viszkózus hozzájárulás? A jelölt ebből arra következtet, hogy „tisztán elasztikus" tulajdonságokat mér. Az élő sejtek azonban eredendően viszkoelasztikusak. Lassú terhelésnél a viszkózus hatás nem feltétlenül tűnik el; inkább relaxáció, aktív citoszkeletális átrendeződés és creep jelenhet meg. Végzett-

e sebességfüggő vagy relaxációs kontrollmérést? A „tisztán elasztikus” megfogalmazást én nem tartom kellően megalapozottnak.

10. A jelölt a mérési módszer megbízhatóságát azzal támasztja alá, hogy az általa kapott értékek az irodalomban közölt endotél Young-modulus értékek tartományába esik. Az irodalmi tartományba esés azonban legfeljebb plauzibilitást, nem valódi bizonyítékot jelent, hiszen a szerző maga is megjegyzi, hogy különböző módszerekkel kapott eredmények között akár nagyságrendi eltérések vannak. Nem kellett volna ugyanazon sejteken közvetlen AFM összehasonlítást végezni?

11. Hogyan bizonyították a GSH–sejt tapadásnál, hogy a megnövekedett tapadás valóban specifikus GSH-receptor közvetítésű, és nem egyszerűen a GSH-bevonat által megváltoztatott felületi kémia következménye? A GSH-val bevont ellipszoidok 93%-ban tapadtak, a kontrollok 12%-ban; AFM-mel 94% vs. 0% volt az arány. Megszüntethető-e a GSH-val megnövelt sejttapadás receptorblokkolással vagy szabad GSH-val végzett versenyeztetéssel (kompetícióval)? Ha ilyen vizsgálat nincs, akkor a receptor-specifikusság sincs közvetlenül bizonyítva.

12. A GSH-bevonás igazolásánál a fluoreszcencia mindössze kb. 1,3-szor nagyobb a kontroll-felületekénél. Ezt nem találom eléggé erős effektusnak arra, hogy a felületi GSH mennyiségét kvantitatívan határozzuk meg. Ráadásul a CY5-NHS az aminocsoportokhoz köt, tehát nem kizárólag a GSH-t jelöli. Mennyire specifikus ez a felületkémiai bizonyítás?

13. A jelölt a tapadási erőt a „GSH és élő sejt közötti tapadási erőként” interpretálja, de a 15 µm²-es érintkezési felületen valószínűleg sok párhuzamos molekuláris kötés jön létre. Emiatt ez nem egyetlen GSH–receptor kötés szakítóereje, hanem sok kötés, membránmechanika, kontaktgeometria és esetleg membrántubulus-képződés együttes eredménye. Mit jelent akkor fizikailag a mért erő? Tisztelettel kérném, hogy a jelölt világosan különítse el a single-bond force és a cell–surface adhesion force fogalmát.

14. A jelölt az AFM-et bizonyítékként (validációként) használja, de az AFM-ben 100 pN előterhelést alkalmazott, míg az optikai csipesszel 10–30 pN-t. Valóban összehasonlítható a két mérés? A szerző maga is megjegyzi, hogy a nagyobb AFM-erő több molekuláris kötést hozhat létre. Emiatt a „jó egyezést adott” összegző állítás támadható: ha a kontaktterhelés, a geometria és a mérési érzékenység eltér, milyen értelemben hasonlíthatók össze az adatok, és tekinthető valódi módszertani bizonyítéknak?

Mikroszerkezetek alkalmazása egyedi sejtek mikroszkópos megfigyelésében

A fejezet kritikájánál a fényvezető egymódus üzemére, a felbontásjavulás valódi forrására, valamint a rugalmas mikrorobotok mechanikai és biológiai validációjára koncentrálok.

1. Valóban egymódusú-e az 1,5 µm vastag SU-8 fényvezető 532 nm-en, illetve 1064 nm-en? A jelölt kifejezetten azért választja ezt a méretet, hogy „egyetlen módus terjedjen benne”, miközben n_{SU8} =1,6, $n_{víz}$ =1,33. Egy egyszerű V-paraméter-becslés alapján egy 1,5 µm átmérőjű, ilyen nagy indexkontrasztú szál esetén 532 nm-en V = 7,9, 1064 nm-en V = 3,9, azaz mindkettő nagyobb 2,405-nél. Vagyis ezzel az egyszerű modellel a fényvezető egyik hullámhosszon sem lenne egymódusú, különösen nem 532 nm-en. Hogyan igazolta kísérletileg vagy módusszámítással az egymódusú működést? Az FDTD (Finite-Difference Time-Domain) elvileg választ adhatna arra, hogy valóban egyetlen módus terjed-e az 1,5 µm-es SU-8 fényvezetőben, de ilyen eigenmode-analízist a disszertáció nem tartalmaz. Hogyan ítéli meg az eigenmode-analízis várható eredményét?

2. A jelölt a 8 µm-es minimális hajlítási sugarat sugároptikai, teljes visszaverődéses érveléssel becsüli, miközben a fényvezető keresztmetszete a hullámhosszal összemérhető. Mennyire jogos itt egyáltalán a geometriai optikai közelítés?

3) Hogyan bizonyította a tézisben szereplő kb. 1 µm²-es lokális gerjesztési területet? A kísérletben 3 µm átmérőjű fluoreszcens golyók közül tudott egyet szelektíven gerjeszteni, miközben maga a kilépő fény „inhomogén és gyorsan szélesedő" volt. Az összegzés mégis kb. 1 µm²-es lokalizációt állít. Ez közvetlenül mért érték, számított érték vagy becslés?

4. A többnézetű mikroszkópiánál hogyan választották szét a dekonvolúció és a többnézetű fúzió felbontásjavító hatását? A teljes eljárás három egymást követő lépésből áll: dekonvolúció, regisztráció és Fourier-alapú fúzió. A végén az axiális szélesség 1,37 µm-ről 0,58 µm-re csökken. A közölt ~2,4-szeres javulásból mennyi származik önmagában a dekonvolúcióból, és mennyi a több nézet hozzáadott értéke? Ha nincs egy single-view + ugyanaz a dekonvolúció kontroll, akkor ez különösen fontos.

5. Nem áll-e fenn annak veszélye, hogy a dekonvolúció részben mesterségesen „élesíti" a 100 nm-es gyöngyök képét? Az iterációk számát részben éppen abból választják meg, hogy a Gauss-szélesség addig csökken, amíg el nem éri a rendszer várható felbontását. Nem körkörös-e úgy megválasztani a dekonvolúció iterációszámát, hogy a gyöngykép szélessége elérje az elvárt felbontást, majd ugyanezen gyöngyképszélességgel igazolni a felbontás javulását? Milyen független kritérium zárja ki az over-deconvolution-t?

6. Összehasonlítható-e közvetlenül a Gauss-profil 1/e szélessége a Rayleigh-kritériumból számított optikai felbontással? A disszertáció korábban Rayleigh-kritériummal 305 nm laterális és 830 nm axiális felbontást számol, később viszont a gyöngyképekre illesztett Gauss-görbék szélességével kvantifikálja a felbontást. Nem keveredik-e itt két különböző felbontás-definíció?

7. A regisztráció átlagos hibája ~130 nm, miközben a végső laterális képszélesség ~500 nm, az axiális pedig ~580 nm. Mennyiben korlátozza maga a regisztráció a végső izotropikus felbontást? Ráadásul a sejt fluktuációja 50–120 nm. Készült-e teljes hibabecslés, amelyben a PSF, a regisztrációs hiba, a mechanikai fluktuáció és a gyöngyök esetleges relatív mozgása együtt szerepel?

8. Mennyire jogos „közel izotróp felbontásról" beszélni, amikor a javulást mesterségesen a sejt felszínére kötött 100 nm-es fluoreszcens gyöngyökön validálta? A módszert mitokondriumok is demonstrálják, de ott már inkább kvalitatív a felbontásjavulás. Van-e kvantitatív bizonyíték arra, hogy ugyanez a módszer a tényleges intracelluláris struktúrákra is ugyanekkora felbontásjavulást eredményez?

9. A képalkotás előnyeként többször felmerül, hogy az indirekt optikai manipuláció elkerüli a sejtek fotokárosodását. De a többnézetű képalkotási kísérletekhez glutáraldehiddel fixált K562 sejteket használt. Hogyan igazolható ebből az élő sejtekre vonatkozó előny? Vizsgálta-e ténylegesen a technológia élősejt-kompatibilitását, vagy ez ebben a munkában még csak potenciális előny?

10. A rugalmas mikrorobotoknál a 200 nm széles Ormocomp szál Young-modulusa mindössze 3,5 MPa, szemben a tömbi anyag kb. 1 GPa-os értékével. A különbség közel három nagyságrend, miközben erre az eredményre épül a deformálható mikrorobotok koncepciója. Később ráadásul a polimerizációs teljesítmény 2,6-ról 7,2 MPa-ra változtatja a mért Young-modulust. A jelölt ezt a megfigyelést a nanoszkopikus mérettartományban jelentkező anyagi tulajdonságként értelmezi. Mennyire bizonyítható, hogy itt valódi méretfüggő anyagi tulajdonságról van szó, és nem például a tényleges keresztmetszet bizonytalanságának, a térben inhomogén polimerizációnak, a keresztkötési sűrűség

változásának vagy az alkalmazott mechanikai modellnek az eredőjéről? Milyen független mérési módszerrel lehetne ezt eldönteni?

11. Mennyire érzékeny a keresztmetszet hibájára a nanoszál Young-modulusának meghatározása? Hajlításnál a merevség erősen — tipikusan a keresztmetszeti méret harmadik-negyedik hatványával — függ a geometriai mérettől. Egy 200 nm körüli struktúránál már néhány tíz nanométeres gyártási vagy mérési eltérés is nagyon nagy moduluseltérést okozhat. Mekkora a 2,6–7,2 MPa-os értékek bizonytalansága pusztán a geometriai mérési hibából eredően?

12. A sejtcsipesznél azt írja, hogy az egyes rudak 4–15 pN-nal nyomják a sejtet, és „a sejtek egyáltalán nem deformálódnak". Hogyan állapította ezt meg? A demonstrációhoz ráadásul glutáraldehiddel fixált sejteket használt. Egy fixált sejt mechanikája alapján lehet-e egyáltalán következtetni arra, hogy egy élő sejt mechanikailag vagy biológiailag nem károsodik?

13. A „sejtkímélő" működés kijelentéséhez elegendő-e az, hogy optikai mikroszkóppal nem látható alakváltozás? Egy sejt mechanoszenzitív válasza, membránfeszülése vagy citoszkeletális átrendeződése jóval azelőtt változhat, hogy morfológiai deformáció látható lenne. Milyen életképességi, membrán-integritási vagy funkcionális kontroll szükséges ahhoz, hogy valóban sejtkímélő módszernek lehessen nevezni?

14. A sejt–sejt kontaktus kezdetére több esetben a sejt elmozdulásából, megbillenéséből vagy a szerkezet defókuszálódásából lehet következtetni. Milyen pontossággal ismert ekkor a tényleges membrán–membrán távolság és a kontaktfelület? Ha a módszer fő előnye a kölcsönhatás tér- és időbeli kontrollja, akkor ez kulcsfontosságú: milyen bizonytalansággal definiálható a „t = 0", vagyis a valódi molekuláris kontaktus kezdete?

15. A sejt–sejt kölcsönhatási eszközt olyan rendszerként mutatja be, amellyel akár a sejtek szétválasztásához szükséges erő is mérhető, feltéve, hogy az 50 pN értéknél kisebb. Ez ténylegesen demonstrált eredmény, vagy csak tervezett alkalmazás? A szöveg itt inkább lehetőséget fogalmaz meg. Doktori tézisben fontos különválasztani: mit valósított meg ténylegesen, és mit tesz csupán lehetővé az eszköz.

A tudományterület perspektívájára vonatkozó kérdések

1. Van-e a TPP párhuzamosításának fundamentális optimuma?

A dolgozat egyik fontos módszertani eredménye a TPP több fókusz alkalmazásával történő párhuzamosítása. A fókuszok számának növelésével azonban az egy fókuszra jutó teljesítmény csökken, nőhetnek az optikai aberrációk és a fókuszok közötti intenzitáskülönbségek. Lát-e a jelölt fundamentális vagy gyakorlati felső határt a párhuzamosításban? Másként fogalmazva: van-e olyan pont, amely fölött a fókuszok számának további növelése már nem növeli az effektív gyártási sebességet?

A disszertáció eleve abból indul ki, hogy a TPP egyik fő korlátja a szekvenciális pásztázás, és ezt több fókusz létrehozásával gyorsítja. A saját módszerrel jelentős gyorsítást demonstrált. Ezzel közvetlenül az egyik fő tézis skálázhatóságára kérdezek rá.

2. Milyen fő akadályait látja a TPP szélesebb ipari elterjedésének?

A TPP legnagyobb előnye a rendkívül nagy térbeli felbontás és a valódi 3D szabadformájú gyártás. Elérhetők vele olyan belső mikrostruktúrák, amelyek más módszerekkel pl. PDMS-soft litográfiával, DLP/SLA 3D nyomtatással vagy termoplasztikus replikációval nehezen, vagy egyáltalán nem készíthetők.

Ugyanakkor a TPP fő korlátja továbbra is a lassú gyártás, a kis gyártási térfogat, a drága berendezés, a korlátozott anyagválaszték és a nehézkes skálázás. Hogyan próbálnak a legújabb fejlesztések ezen javítani?

3. Precizitás versus throughput – nem éppen az optikai manipuláció lesz-e a szűk keresztmetszet?

A jelölt jövőbeli célként nagy áteresztőképességű, egyedi sejtek vizsgálatára alkalmas rendszereket jelöl meg. A bemutatott módszerek ugyanakkor rendkívül precíz, de jellemzően egyedi objektumok kiválasztásán, optikai befogásán, pozicionálásán és manipulációján alapulnak. Ha a TPP gyártási sebességét sikerül nagyságrendekkel növelni, nem az optikai manipuláció válik-e a rendszer valódi throughput-limitáló lépésévé? Hogyan képzelhető el ennek automatizálása?

Ez a kérdés a dolgozat két sikeres irányát ütközteti egymással: precíz individuális manipuláció versus high-throughput rendszer. A high-throughput integráció kifejezetten szerepel a jövőbeli tervek között.

4. Hol végződik a proof-of-concept és hol kezdődik a mérőműszer?

A disszertáció számos rendkívül kreatív mikroeszköz-koncepciót és demonstrációt mutat be. Milyen kritériumokat tartana a jelölt szükségesnek ahhoz, hogy egy ilyen eszközt ne csak fizikai proof-of-conceptnek, hanem kvantitatív mérőműszernek tekintsünk? Reprodukálhatóság, kalibrálhatóság, inter-device variabilitás, mérési bizonytalanság vagy valamely más paraméter lenne a döntő?

5. A klinikai transzláció lehetőségei

A dolgozatban bemutatott eredmények jól demonstrálják, hogy kétfotonos polimerizációval komplex, funkcionalizálható, akár mikrofluidikai környezetben mozgatható mikroeszközök állíthatók elő. A jelölt korrekt módon hangsúlyozza, hogy a TPP korlátozottan alkalmas nagy példányszámú gyártásra. Ugyanakkor érdekes lett volna részletesebb elemzés arról, hogy

a) mely alkalmazások transzlálhatók klinikai irányba, milyen sterilizálási vagy szabályozási akadályok vannak, és milyen anyagtudományi korlátok akadályozzák az in vivo felhasználást.

b) Mely TPP-alapú fejlesztéseit látja leginkább klinikailag transzlálhatónak a következő 10 évben?

c) Lát-e reális lehetőséget arra, hogy ez a technológia a jövőben intravascularis eszközök – például betegspecifikus stentek, katétervégi mikrostruktúrák vagy aktív microrobotok – előállításában is szerepet kapjon?

d) Melyek azok a fizikai, anyagtudományi és biológiai korlátok, amelyek jelenleg kizárják, hogy a TPP alapú mikroeszközök például súlyosan meszes coronaria-léziók kezelésében a ma alkalmazott rotációs, lézeres stb. atherectomiás vagy intravascularis lithotripsiás (IVL) katéterek valódi alternatívájává váljon?

6. Mely tulajdonságokat kell feláldozni a klinikai/transzlációs alkalmazásért?

A dolgozatban használt SU-8 mechanikailag robusztus, az OrmoComp pedig megfelelő polimerizációs paraméterekkel rendkívül rugalmas nanoszerkezeteket ad. Ha azonban a cél egyszer nem csak in vitro kutatási, hanem in vivo vagy implantálható eszköz volna, biokompatibilis vagy biodegradábilis alapanyagra lenne szükség. A jelölt szerint a TPP-platform melyik jelenlegi előnyét lenne a legnehezebb megtartani ilyen anyagváltoztatás (csere) esetén: a geometriai felbontást, a mechanikai tulajdonságokat, a funkcionalizálhatóságot vagy az optikai manipulálhatóságot?

Nyilatkozat a doktori tézisek elfogadásáról

A doktori mű téziseit új tudományos eredményeknek ismerem el.

A doktori disszertációban bemutatott adatokat és az azokból levont következtetéseket (a fent részleteiben említett kritikai észrevételek erejéig) hitelesnek tartom.

Összegzés

A jelölt tudományos eredményeinek jelentős részét nemzetközi szinten is újszerűnek és figyelemre méltónak tartom. A dolgozat multidiszciplináris szemlélete, technológiai innovációi és alkalmazás-orientált megközelítése különösen értékes. Kiemelten jelentősek a kétfotonos polimerizáció korai párhuzamosításához, a fénnyel hajtott mikromechanikai rendszerekhez, valamint a TPP-vel előállított, optikai csipesszel működtetett mikroeszközök fejlesztéséhez kapcsolódó eredmények. A kutatási program legkarakteresebb és nemzetközileg leginkább megkülönböztethető eleme a feladatspecifikus mikroeszközök alkalmazása egyedi sejtek indirekt optikai manipulációjára, mechanikai jellemzésére és mikroszkópos vizsgálatára. Kiemelkedően érdekesnek tartom a hat szabadsági fokú sejtmanipulációt, a glutation és élő endotélsejtek közötti adhéziós erő közvetlen meghatározását, valamint a legújabb, deformálható optikai mikrorobotok fejlesztését. Az utóbbi eredmény magas presztízsű nemzetközi folyóiratban jelent meg, és rövid idő alatt számottevő nemzetközi visszhangot ért el. A dolgozatban szereplő egyes felületkezelési és szenzorikai eredmények újdonsága inkább a már ismert módszerek innovatív integrációjában rejlik, ezért ezeket kisebb tudományos súlyúnak ítélem. Összességében a jelöltet a TPP-alapú optikai mikrorobotika és az indirekt egysejt-manipuláció nemzetközileg elismert, e szűkebb területen úttörő és ma is élvonalbeli képviselőjének tartom.

Mindezek alapján úgy ítélem meg, hogy az értekezés minden tekintetben megfelel az MTA doktori cím követelményeinek. A doktori művet nyilvános vitára alkalmasnak tartom, és nyilvános vitára bocsátását javaslom.

A bírálatot formai nyilatkozattétellel zárom:

Az elbírált doktori disszertáció és annak összefoglalója alapján a jelölt tudományos eredményeit elismerem, elegendőnek tartom az MTA doktori cím megszerzéséhez, és a nyilvános védés kitűzését javaslom.

Szeged, 2026. szeptember 22.

Maróti Péter.

kiérdemesült egyetemi tanár